



# Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

## *Ramalina farinacea* (L.) Ach. ve *Usnea intermedia* (A.Massal.) Jatta Likenlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Araştırmalar<sup>‡</sup>

Neslihan ŞİRİN<sup>a,\*</sup>, Başaran DÜLGER<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Biyoloji Anabilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

<sup>b</sup>Biyoloji Bölümü, Fen Edebiyat Fakültesi, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

\*Sorumlu yazarın e-posta adresi: nesli-sirin@yandex.com

### ÖZET

Bu çalışmada Bursa-Uludağ Milli Park civarından toplanan *Ramalina farinacea* (L.) Ach. ve *Usnea intermedia* (A.Massal.) Jatta likenlerinin *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus licheniformis* ATCC 14580, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25992, *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Proteus vulgaris* ATCC 8427, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enteridis* ATCC 13076, *Salmonella typhimurium* CCM 5445, *Shigella flexneri* ATCC 12022, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 3699, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Yersinia pestis* ATCC 19428, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida glabrata* ATCC 90030, *Candida lipolytica* ATCC 8660, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida tropicalis* ATCC 4563, *Cryptococcus neoformans* ATCC 32045, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9796 türlerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.

Bulgulara göre; *Ramalina farinacea* (L.) Ach. likeninin en yüksek antimikrobiyal aktivitesi *Salmonella enteridis* ATCC 13076 ve *Candida albicans* ATCC 90028 türlerine karşı bulunurken, *Usnea intermedia* (A.Massal.) Jatta likeninin en yüksek antimikrobiyal aktivitesi *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 ve *Candida albicans* ATCC 90028 türlerinde ölçülmüştür. Liken türlerinin diğer tüm mikroorganizmalara karşı farklı seviyelerde antimikrobiyal aktivite gösterdikleri saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal Aktivite, *Ramalina farinacea*, *Usnea intermedia*

## The Studies on Antimicrobial Activities of the Lichens *Ramalina farinacea* (L.) Ach. and *Usnea intermedia* (A.Massal.) Jatta

### ABSTRACT

In this study, *Ramalina farinacea* (L.) Ach. and *Usnea intermedia* (A Massal.) Jatta lichens which were collected from The National Park around Bursa-Uludağ were investigated antimicrobial activity against the bacterial cultures; *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus licheniformis* ATCC 14580, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25992, *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Proteus vulgaris* ATCC 8427, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enteridis* ATCC 13076, *Salmonella typhimurium* CCM 5445, *Shigella flexneri* ATCC 12022, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 3699, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Yersinia pestis* ATCC 19428 and the yeast cultures; *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida glabrata* ATCC 90030, *Candida*

*lipolytica* ATCC 8660, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida tropicalis* ATCC 4563, *Cryptococcus neoformans* ATCC32045, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9796. According to the findings; while the highest antimicrobial activity of *Ramalina farinacea* (L.) Ach. was found against *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 and *Candida albicans* ATCC 90028, the highest antimicrobial activity of *Usnea intermedia* (A.Massal) Jatta was evaluated against *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 and *Candida albicans* ATCC 90028. Lichen species were determined to show at different levels of antimicrobial activity against all other microorganisms.

**Keywords:** Antimicrobial activity, *Ramalina farinacea*, *Usnea intermedia*

## I. GİRİŞ

**L**İKENLER mantar (mikobiyont) ile fotosentetik yeşil alg ve/veya siyanobakterinin (fotobiyont) oluşturduğu kararlı ve sürekli ototrofik mutualistik birliklerdir [1]. Eski zamanlardan beri halk tıbbında likenlerden faydalanılmıştır. Ağız, mide, bağırsak, anüs, vajina, burun, kulak ve deri mantarları, sistemik mantar enfeksiyonları, saçları güçlendirmede, idrar yolları sorunlarında, kemik kırıklarının tedavisinde vb. birçok hastalıkta kullanılmıştır. *Usnea* genusunun türleri terlemeyi, baş dönmesini, soğuk algınlığını, ağrıyı ve balgam oluşumunu önlemede, ülser, bağırsak bozukluklarının tedavisinde, akciğer sorunları, astım hastalığında tedavisinde kullanılmaktadır. Yüksek oranda antibakteriyel olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca *Ramalina* genusunun türlerinden boya yapımında faydalanılmıştır [2].

Likenler, liken maddeleri adı verilen, yapılan son çalışmalarla sayısı 1.000'e ulaştığı bilinen ve pek çoğu likenlere özgü olan çeşitli metabolitler sentezlemektedirler [1]. Bu liken metabolitleri antibiyotik, antimikotik, antiviral, anti-inflamatuvar, analjezik, antipiretik, antiproliferatif ve sitotoksik etkileride içeren geniş çaplı kullanımı bulunmaktadır [3].

Likenlerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine ülkemizde yapılan çalışmalar oldukça yetersizdir. Bu çalışmada, ülkemizde doğal olarak gelişen *Ramalina farinacea* (L.) Ach. ve *Usnea intermedia* (A.Massal.) Jatta liken türlerinden hazırlanan etanol ekstraktların antimikrobiyal spektrumu disk difüzyon yöntemi ile çeşitli maya ve bakterilere karşı saptanmaya çalışılmıştır.

## II. YÖNTEM

### *A. LİKEN MATERYALİ*

*Ramalina farinacea* (L.) Ach. ve *Usnea intermedia* (A.Massal.) Jatta likenleri Bursa- Uludağ Milli Park sonrası 4.km, sırasıyla; 1608 m [40°06'37.2"K, 29°05'43.4"D (06/05/2012)], 1659 m' de [40°06'41.4"K, 29°06'12.3"D (11/07/2012)] *Abies* sp. üzerinden Dr. Seyhan ORAN (Uludağ Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bursa) tarafından toplanmış ve teşhis edilmiştir.

### B. TEST MİKROORGANİZMALARI

Test mikroorganizmaları (*Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus licheniformis* ATCC 14580, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25992, *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Proteus vulgaris* ATCC 8427, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Salmonella typhimurium* CCM 5445, *Shigella flexneri* ATCC 12022, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 3699, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Yersinia pestis* ATCC 19428, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida glabrata* ATCC 90030, *Candida lipolytica* ATCC 8660, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida tropicalis* ATCC 4563, *Cryptococcus neoformans* ATCC 32045, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9796) Düzce Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bakteriyoloji ve Mikoloji Araştırma Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

### C. EKSTRAKTLARIN HAZIRLANIŞI

Likenler, herbaryum teknikleriyle uygun şartlarda kurutulup teşhisi yapıldıktan sonra aseptik şartlarda blender (mekanik parçalayıcı) ile toz haline getirildi. Her bir likenden 15 g tartılarak 180 mL etanol (% 96'lık) ile soxhlet cihazında 12 saatlik ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur [4].

### D. DİSK DİFÜZTON YÖNTEMİ

Est mikroorganizmalarını aktifleştirmek için Muller Hinton Broth (OXOID) dolu tüplere, steril şartlarda bir öze dolusu stok bakteri ve maya kültürleri ekildi ve bakteriler 35-37 °C'de 24-48 saat, mayalar 25-28 °C'de 48-72 saat inkübe edildi. Muller Hinton Agar'lı (OXOID) petrilere 1 mL aktifleştirilmiş mikroorganizmalar ekildi ve 15-20 dk oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Liken ekstraktları 6mm çaplı steril disklerle 25µL, 50µL ve 75µL konsantrasyonlarda emdirildi ve petrilere yerleştirildi. Bakteriler 35-37 °C'de 24-48 saat, mayalar 25-27 °C'de 48-72 saat inkübe edildi. Süre zonunda inhibisyon zonları ölçüldü. İnhibisyon zonları, disk ile beraber inhibisyon zonunun tüm sınırı ölçülerek milimetrik olarak kaydedildi. Kontrol için çözücü emdirilmiş diskler kullanıldı. Kontrol olarak kullanılan çözücünün zon çapı 0-1 mm arasında ölçüldü. Deneylerin her biri üç tekrarlı olarak denenmiştir [5-6].

## III. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, *Ramalina farinacea* (L.) Ach. ve *Usnea intermedia* (A.Massal.) Jatta liken türlerinin etanol ekstraktlarının 16 bakteri ve 8 maya türü üzerine olan antimikrobiyal etkilerini saptamak amacıyla disk difüzyon yöntemi kullanılmış (Şekil 1 a-b-c), ekstraktların kullanılan test mikroorganizmalarına karşı oluşturdukları inhibisyon zonları belirlenmiştir (Tablo 1 a-b-c-d). Kontrol olarak kullanılan çözücünün zon çapı 0-1 mm arasında ölçülmüştür.

*R. farinacea* ekstraktları (R25, R50, R75) mayalar üzerinde (*C. albicans* ATCC 90028, *C. glabrata* ATCC 90030, *C. lipolytica* ATCC 8660, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 4563, *C. neoformans* ATCC 32045, *D. hansenii* DSM 70238, *S. cerevisiae* ATCC 9796) standart antibiyotiklerden (GRS, ITR, CLT, 5FC, KTC, MCZ, FLU, AMB, NY) ve *U. intermedia* ekstraktlarından (U25, U50, U75) daha fazla etkili olmuştur.

*R. farinacea* ve *U. intermedia* ekstreleri genel olarak bakteriler üzerinde (*B. cereus* ATCC 7064, *B. licheniformis* ATCC 14580, *C. freundii* ATCC 8090, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25992, *K. oxytoca* ATCC 8724, *L. innocua* ATCC 33090, *P. vulgaris* ATCC 8427, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. enteritidis* ATCC 13076, *S. typhimurium* CCM 5445, *S. flexneri* ATCC 12022, *S. aureus* ATCC 6538P, *S. epidermidis* ATCC 3699, *S. pyogenes* ATCC 19615, *Y. pestis* ATCC 19428) mukayese edilen standart antibiyotikler (E, K, IPM, FF, VA, S, N, TE, AK, TOB, P, NR) kadar etkili olmasada *S. enteritidis* ATCC 13076 üzerinde antibiyotiklerden daha fazla etkili olmuştur.

*Ramalina* genusuna ait farklı türlerle yapılan çalışmalardan birinde Gulluce ve diğ. [7] metanol ekstrelerinin aktivitesi araştırmış, *P. vulgaris* A 161, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *P. aeruginosa* ATCC 27859, *P. aeruginosa* F 5, *S. enteritidis* ATCC 13076, *S. aureus* A 215, *S. aureus* ATCC 29213, *S. epidermidis* A 233, *S. pyogenes* KUKEM 676 türleri üzerine ekstrelerin etki etmediğini, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* A 1, *P. vulgaris* KUKEM 1329 türleri üzerinde 7-10 mm arasında inhibisyon zonları oluştuğunu saptamışlardır. Bir diğer çalışmada Saenz ve diğ. [8] *Ramalina* genusunun iki türünün de dahil olduğu, likenlerin antimikrobiyal aktivite deneylerinde farklı konsantrasyonlarda aseton ekstraktlarla çalışmışlar, *E. coli* ve *P. aeruginosa* üzerinde aktivite olmadığını ve *S. aureus*, *B. cereus* ve *Bacillus megaterium* türlerinde 7- 22 mm arasında verilerin olduğunu saptamışlardır. Bu liken türleri çalıştığımız liken türünden farklı olmasına rağmen *Ramalina* genusunda bulunan usnik asitin [8,9-11] mevcudiyeti yüksek antimikrobiyal aktivite oluşturmakta ve tüm türlerde benzer etkilerin ortaya çıkmasını sağlamaktadır.

Esimone ve Adikwu (1999) [11] tarafından yapılan çalışmada, *R. farinacea* likenden elde ettikleri etanol ekstraktlarının *C. albicans* ve *E. coli* ATCC 9637 üzerine oluşturduğu inhibisyon zon değerleri, çalışmamızdaki *C. albicans* ATCC 90028 ve *E. coli* ATCC 25992 üzerindeki inhibisyon zon değerleri ile benzerlik gösterirken, *S. aureus* ATCC 13709 ve *P. aeruginosa* üzerindeki inhibisyon zon değeri, kullanmış olduğumuz *S. aureus* ATCC 6538P ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 türleri üzerindeki daha yüksek saptanmıştır. *R. farinacea* metanol ekstraktının tetrasiklin antibiyotiği ile birleştirilerek farklı konsantrasyonlarda yapılan deneyde [12] *S. aureus* klinik izolatları üzerinde en yüksek inhibisyon değeri 19 mm olarak saptanmıştır ve benzer bir çalışmada [13] ampisilin antibiyotiği ile *R. farinacea* özütleri kombinasyon yapılarak *S. aureus* klinik izolatları karşı en yüksek değer 19,5 mm olarak kaydedilmiştir. Etanol ekstraktlarımızda en yüksek antifungal etki *S. cerevisiae* ATCC 9796 (28,3 mm) ve antibakteriyel etki *S. enteritidis* ATCC 13076 (29,6 mm) türlerine karşı bulunmuştur. Bu farklılık ve

benzerlik çözücü, konsantrasyon ve tür farkından kaynaklanmaktadır.

*Usnea* genusu ile yapılan farklı çalışmalar bulunmasına rağmen *U. intermedia* (A.Massal.) Jatta liken türüne ait literatür bilgisine rastlanılmamıştır. Aynı genusa ait farklı türlerle, aynı veya farklı çözücülerle yapılan çalışmalardan birinde [3], *Usnea ghattensis* likeninin metanol, aseton ve etanol ekstraktları ile çalışılmış ve *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 14579 ve *P. aeruginosa* ATCC 29853 türleri üzerinde aktivite olduğunu *E. coli* ATCC 25922 ve *S. typhimurium* ATCC 13311 türleri üzerinde aktivite olmadığını saptanmış, bir diğer çalışmada [14] metanol, aseton ve petrolüm ekstraktları kullanılarak *S. aureus* ve *B. licheniformis* türleri üzerinde aktivite olduğu saptanmıştır. *U. intermedia* ekstraktlarımızda da en belirgin aktivite *C. albicans* ATCC 90028 ve *S. pyogenes* ATCC 19615 türlerine karşı saptanmıştır. *Usnea* genusundaki sekonder metabolitlerin [10,15] varlığı mikroorganizmalar üzerinde kayda değer verilerin elde edilmesini sağlamaktadır.

Yapılan tüm çalışmalardaki benzerlik ve farklılıklar; kullanılan mikroorganizmadan, çözücünden ve çözücünün farklı konsantrasyonlarından, uygulanan farklı metodlardan, likenlerin farklı habitatlarda yetişmesinden kaynaklanmaktadır. Bazı çalışmalarda [1,8-11,15] belirtilen liken sekonder metabolitlerinin oluşturduğu antimikrobiyal etki de bu benzerlik ve farklılığın oluşmasında büyük rol oynamıştır. Ayrıca artan konsantrasyonlarda uyguladığımız ekstraktların bazı türlerdeki inhibe edici etkisinde kademeli artış gözlemlenirken Saenz ve diğ. [8], Ritika ve Jayanthi [16] ve Balaji ve Hariharan'da [17] da olduğu gibi bazılarında tam tersi durum görülmüştür. Bu farklılık antagonistik etkinin belli bir seviyeden sonra doygunluğa ulaşarak etkisini azaltmasına bağlanabilir.

**Tablo 1 (a)** *Ramalina farinacea* likeninin antifungal aktivitesi

| Test Mikroorganizmaları                   | İnhibisyon Zonları (mm)* |      |      |                          |        |        |       |        |        |        |         |        |
|---|--------------------------|------|------|--------------------------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|---------|--------|
|   | Ekstraktlar              |      |      | Mukayese Antibiyotikleri |        |        |       |        |        |        |         |        |
|   | R 25                     | R 50 | R 75 | GRS 10                   | ITR 10 | CLT 10 | 5FC 1 | KTC 10 | MCZ 10 | FLU 25 | AMB 100 | NY 100 |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 90028        | 24.0                     | 27.0 | 26.6 | 16.0                     | 14.0   | 18.0   | 12.0  | 10.0   | 12.0   | 19.0   | 20.0    | 10.0   |
| <i>Candida glabrata</i> ATCC 90030        | 20.3                     | 23.0 | 27.3 | 16.0                     | 7.0    | 10.0   | 12.0  | 15.0   | 10.0   | 17.0   | 13.0    | 11.0   |
| <i>Candida lipolytica</i> ATCC 8660       | 19.6                     | 22.3 | 21.0 | 16.0                     | 14.0   | 16.0   | 16.0  | 16.0   | 8.0    | 24.0   | 15.0    | 14.0   |
| <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019    | 21.0                     | 23.0 | 23.3 | 13.0                     | 13.0   | 7.0    | 18.0  | 15.0   | 10.0   | 12.0   | 14.0    | 8.0    |
| <i>Candida tropicalis</i> ATCC 4563       | 20.6                     | 23.6 | 19.6 | 12.0                     | 16.0   | 8.0    | 12.0  | 15.0   | 12.0   | 18.0   | 15.0    | 14.0   |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 32045 | 23.3                     | 22.0 | 23.0 | 12.0                     | 14.0   | 7.0    | 16.0  | 18.0   | 18.0   | 20.0   | 7.0     | 10.0   |
| <i>Debaryomyces hansenii</i> DSM 70238    | 20.0                     | 22.3 | 19.3 | 16.0                     | 10.0   | 10.0   | 17.0  | 22.0   | 18.0   | 22.0   | 16.0    | 10.0   |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9796 | 19.6                     | 23.6 | 28.3 | 15.0                     | 8.0    | 12.0   | 14.0  | 14.0   | 14.0   | 14.0   | 14.0    | 20.0   |

**Tablo 1(b) Ramalina farinacea likeninin antibakteriyel aktivitesi**

| Test Mikroorganizmaları                        | İnhibisyon Zonları (mm)* |      |      |      |                          |        |       |       |      |      |       |       |        |       |        |
|--|--------------------------|------|------|------|--------------------------|--------|-------|-------|------|------|-------|-------|--------|-------|--------|
|  | Ekstraktlar              |      |      |      | Mukayese antibiyotikleri |        |       |       |      |      |       |       |        |       |        |
|  | R 25                     | R 50 | R 75 | E 15 | K 30                     | IPM 10 | FF 50 | VA 30 | S 10 | N 30 | TE 30 | AK 30 | TOB 10 | P 10U | NR 100 |
| <i>Bacillus cereus</i><br>ATCC 7064            | 13.0                     | 13.6 | 15.0 | 28.0 | 22.0                     | 17.0   | 19.0  | 14.0  | 30.0 | 24.0 | 16.0  | 20.0  | 25.0   | 10.0  | 15.0   |
| <i>Bacillus licheniformis</i><br>ATCC 14580    | 16.3                     | 16.0 | 18.0 | 13.0 | 20.0                     | 37.0   | 22.0  | 18.0  | 27.0 | 18.0 | 24.0  | 24.0  | 20.0   | 11.0  | 16.0   |
| <i>Citrobacter freundii</i><br>ATCC 8090       | 18.0                     | 21.3 | 21.0 | 15.0 | 20.0                     | 39.0   | 22.0  | 18.0  | 25.0 | 22.0 | 30.0  | 25.0  | 21.0   | 8.0   | 16.0   |
| <i>Enterococcus faecalis</i><br>ATCC 29212     | 12.6                     | 10.3 | 10.6 | 28.0 | 20.0                     | 20.0   | 20.0  | 15.0  | 16.0 | 20.0 | 27.0  | 30.0  | 28.0   | 22.0  | 18.0   |
| <i>Escherichia coli</i><br>ATCC 25992          | 17.3                     | 16.0 | 10.0 | 36.0 | 24.0                     | 36.0   | 22.0  | 14.0  | 14.0 | 20.0 | 18.0  | 25.0  | 25.0   | 7.0   | 18.0   |
| <i>Klebsiella oxytoca</i><br>ATCC 8724         | 13.3                     | 13.6 | 16.0 | 20.0 | 21.0                     | 28.0   | 20.0  | 17.0  | 24.0 | 20.0 | 30.0  | 20.0  | 24.0   | 15.0  | 20.0   |
| <i>Listeria innocua</i><br>ATCC 33090          | 14.3                     | 16.3 | 16.0 | 26.0 | 22.0                     | 24.0   | 14.0  | 12.0  | 21.0 | 22.0 | 18.0  | 30.0  | 28.0   | 24.0  | 14.0   |
| <i>Proteus vulgaris</i><br>ATCC 8427           | 16.0                     | 21.6 | 20.0 | 30.0 | 15.0                     | 32.0   | 26.0  | 18.0  | 30.0 | 18.0 | 12.0  | 21.0  | 14.0   | 12.0  | 16.0   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>ATCC 27853    | 13.6                     | 15.0 | 12.6 | 25.0 | 23.0                     | 26.0   | 26.0  | 22.0  | 25.0 | 16.0 | 8.0   | 27.0  | 30.0   | 26.0  | 20.0   |
| <i>Salmonella enteritidis</i><br>ATCC 13076    | 18.6                     | 23.0 | 29.6 | 8.0  | 10.0                     | 14.0   | 23.0  | 23.0  | 12.0 | 14.0 | 10.0  | 11.0  | 12.0   | 10.0  | 20.0   |
| <i>Salmonella typhimurium</i><br>CCM 5445      | 10.0                     | 13.0 | 10.0 | 39.0 | 24.0                     | 20.0   | 18.0  | 15.0  | 28.0 | 24.0 | 22.0  | 26.0  | 26.0   | 7.0   | 16.0   |
| <i>Shigella flexneri</i><br>ATCC 12022         | 15.0                     | 17.3 | 15.6 | 36.0 | 24.0                     | 26.0   | 18.0  | 18.0  | 30.0 | 22.0 | 13.0  | 25.0  | 26.0   | 7.0   | 20.0   |
| <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC 6538P     | 13.6                     | 14.6 | 22.6 | 25.0 | 21.0                     | 25.0   | 30.0  | 15.0  | 24.0 | 22.0 | 12.0  | 20.0  | 26.0   | 12.0  | 12.0   |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i><br>ATCC 3699 | 15.6                     | 17.6 | 19.3 | 29.0 | 18.0                     | 32.0   | 20.0  | 17.0  | 27.0 | 18.0 | 17.0  | 24.0  | 20.0   | 10.0  | 10.0   |
| <i>Streptococcus pyogenes</i><br>ATCC 19615    | 16.3                     | 17.6 | 15.6 | 30.0 | 30.0                     | 32.0   | 18.0  | 15.0  | 27.0 | 25.0 | 18.0  | 29.0  | 30.0   | 9.0   | 14.0   |
| <i>Yersinia pestis</i><br>ATCC 19428           | 10.3                     | 14.0 | 13.0 | 27.0 | 22.0                     | 35.0   | 17.0  | 15.0  | 22.0 | 30.0 | 23.0  | 20.0  | 30.0   | 20.0  | 14.0   |

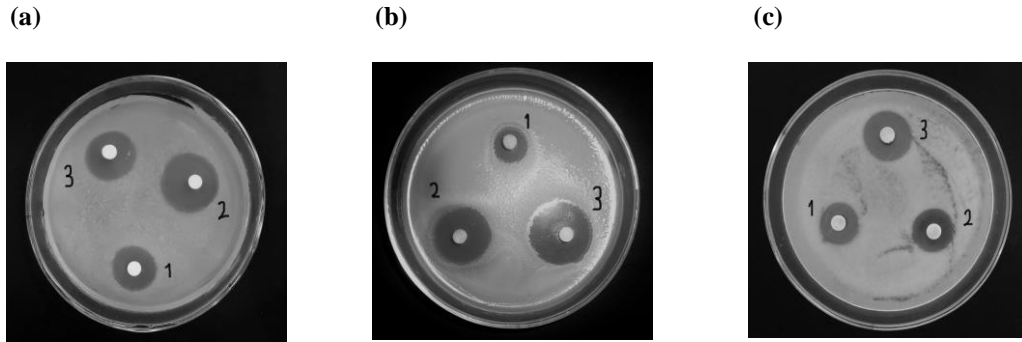
**Tablo 1 (c) Usnea intermedia likeninin antibakteriyel aktivitesi**

| Test Mikroorganizmaları                     | İnhibisyon zonları (mm)* |      |      |                          |      |        |       |       |      |      |       |       |        |       |        |
|---|--------------------------|------|------|--------------------------|------|--------|-------|-------|------|------|-------|-------|--------|-------|--------|
|   | Ekstraktlar              |      |      | Mukayese antibiyotikleri |      |        |       |       |      |      |       |       |        |       |        |
|   | U 25                     | U 50 | U 75 | E 15                     | K 30 | IPM 10 | FF 50 | VA 30 | S 10 | N 30 | TE 30 | AK 30 | TOB 10 | P 10U | NR 100 |
| <i>Bacillus cereus</i> ATCC 7064            | 16.0                     | 15.0 | 22.0 | 28.0                     | 22.0 | 17.0   | 19.0  | 14.0  | 30.0 | 24.0 | 16.0  | 20.0  | 25.0   | 10.0  | 15.0   |
| <i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580    | 13.0                     | 14,3 | 20,6 | 13.0                     | 20.0 | 37.0   | 22.0  | 18.0  | 27.0 | 18.0 | 24.0  | 24.0  | 20.0   | 11.0  | 16.0   |
| <i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090       | 17.0                     | 16,3 | 23.0 | 15.0                     | 20.0 | 39.0   | 22.0  | 18.0  | 25.0 | 22.0 | 30.0  | 25.0  | 21.0   | 8.0   | 16.0   |
| <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212     | 8,6                      | 17.0 | 9,6  | 28.0                     | 20.0 | 20.0   | 20.0  | 15.0  | 16.0 | 20.0 | 27.0  | 30.0  | 28.0   | 22.0  | 18.0   |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25992          | 16,3                     | 10,3 | 10.0 | 36.0                     | 24.0 | 36.0   | 22.0  | 14.0  | 14.0 | 20.0 | 18.0  | 25.0  | 25.0   | 7.0   | 18.0   |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> ATCC 8724         | 9,6                      | 10.0 | 11,6 | 20.0                     | 21.0 | 28.0   | 20.0  | 17.0  | 24.0 | 20.0 | 30.0  | 20.0  | 24.0   | 15.0  | 20.0   |
| <i>Listeria innocua</i> ATCC 33090          | 15,6                     | 12,3 | 14,6 | 26.0                     | 22.0 | 24.0   | 14.0  | 12.0  | 21.0 | 22.0 | 18.0  | 30.0  | 28.0   | 24.0  | 14.0   |
| <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427           | 26,3                     | 12,3 | 11.0 | 30.0                     | 15.0 | 32.0   | 26.0  | 18.0  | 30.0 | 18.0 | 12.0  | 21.0  | 14.0   | 12.0  | 16.0   |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853    | 9,6                      | 10.0 | 11,6 | 25.0                     | 23.0 | 26.0   | 26.0  | 22.0  | 25.0 | 16.0 | 8.0   | 27.0  | 30.0   | 26.0  | 20.0   |
| <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076    | 16.0                     | 16,3 | 27,3 | 8.0                      | 10.0 | 14.0   | 23.0  | 23.0  | 12.0 | 14.0 | 10.0  | 11.0  | 12.0   | 10.0  | 20.0   |
| <i>Salmonella typhimurium</i> CCM 5445      | 11,6                     | 15.0 | 15.0 | 39.0                     | 24.0 | 20.0   | 18.0  | 15.0  | 28.0 | 24.0 | 22.0  | 26.0  | 26.0   | 7.0   | 16.0   |
| <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022         | 22,3                     | 23.0 | 26,3 | 36.0                     | 24.0 | 26.0   | 18.0  | 18.0  | 30.0 | 22.0 | 13.0  | 25.0  | 26.0   | 7.0   | 20.0   |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P     | 20.0                     | 22.0 | 29,6 | 25.0                     | 21.0 | 25.0   | 30.0  | 15.0  | 24.0 | 22.0 | 12.0  | 20.0  | 26.0   | 12.0  | 12.0   |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 3699 | 15,6                     | 17,6 | 20,3 | 29.0                     | 18.0 | 32.0   | 20.0  | 17.0  | 27.0 | 18.0 | 17.0  | 24.0  | 20.0   | 10.0  | 10.0   |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615    | 24,3                     | 24,3 | 30,3 | 30.0                     | 30.0 | 32.0   | 18.0  | 15.0  | 27.0 | 25.0 | 18.0  | 29.0  | 30.0   | 9.0   | 14.0   |
| <i>Yersinia pestis</i> ATCC 19428           | 11,3                     | 10,6 | 13,6 | 27.0                     | 22.0 | 35.0   | 17.0  | 15.0  | 22.0 | 30.0 | 23.0  | 20.0  | 30.0   | 20.0  | 14.0   |

**Tablo 1 (d)** *Usnea intermedia* likeninin antifungal aktivitesi

| Test Mikroorganizmaları                   | İnhibisyon Zonları (mm)* |      |      |                          |        |        |       |        |        |        |         |        |
|---|--------------------------|------|------|--------------------------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|---------|--------|
|   | Ekstraktlar              |      |      | Mukayese Antibiyotikleri |        |        |       |        |        |        |         |        |
|   | U 25                     | U 50 | U 75 | GRS 10                   | ITR 10 | CLT 10 | 5FC 1 | KTC 10 | MCZ 10 | FLU 25 | AMB 100 | NY 100 |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 90028        | 16,3                     | 24,0 | 29,3 | 16,0                     | 14,0   | 18,0   | 12,0  | 10,0   | 12,0   | 19,0   | 20,0    | 10,0   |
| <i>Candida glabrata</i> ATCC 90030        | 14,0                     | 14,6 | 22,6 | 16,0                     | 7,0    | 10,0   | 12,0  | 15,0   | 10,0   | 17,0   | 13,0    | 11,0   |
| <i>Candida lipolytica</i> ATCC 8660       | 14,3                     | 19,3 | 18,0 | 16,0                     | 14,0   | 16,0   | 16,0  | 16,0   | 8,0    | 24,0   | 15,0    | 14,0   |
| <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019    | 16,3                     | 24,0 | 21,6 | 13,0                     | 13,0   | 7,0    | 18,0  | 15,0   | 10,0   | 12,0   | 14,0    | 8,0    |
| <i>Candida tropicalis</i> ATCC 4563       | 13,0                     | 10,3 | 23,3 | 12,0                     | 16,0   | 8,0    | 12,0  | 15,0   | 12,0   | 18,0   | 15,0    | 14,0   |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 32045 | 15,0                     | 18,0 | 21,3 | 12,0                     | 14,0   | 7,0    | 16,0  | 18,0   | 18,0   | 20,0   | 7,0     | 10,0   |
| <i>Debaryomyces hansenii</i> DSM 70238    | 10,0                     | 8,6  | 10,0 | 16,0                     | 10,0   | 10,0   | 17,0  | 22,0   | 18,0   | 22,0   | 16,0    | 10,0   |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9796 | 12,6                     | 18,3 | 21,6 | 15,0                     | 8,0    | 12,0   | 14,0  | 14,0   | 14,0   | 14,0   | 14,0    | 20,0   |

R25: *Ramalina farinacea* 25µL ekstraktı, R50: *Ramalina farinacea* 50µL ekstraktı, R75: *Ramalina farinacea* 75µL ekstraktı, U25: *Usnea intermedia* 25µL ekstraktı, U50: *Usnea intermedia* 50µL ekstraktı, U75: *Usnea intermedia* 75µL ekstraktı, GRS10: Griseofulvin 10µg, ITR10: Itraconazole 10µg, CLT10: Clotrimazole 10µg, KTC10: Ketoconazole 10µg, MCZ10: Miconazole 10µg, FLU25: Fluconazole 25µg, AMB100: Amphotericin 100µg, NY100: Nystatin 100µg, E15: Erythromycin 15µg, K30: Kanamycin 30µg, IPM10: Imipenem 10µg, FF50: Fosfomycin 50µg, VA30: Vancomycin 30µg, S10: Streptomycin 10µg, N30: Neomycin 30µg, TE30: Tetracycline 30µg, AK30: Amikacin 30µg, TOB10: Tobramycin 10µg, P10U: Penicillin G10Uµg, NR100: Nitrofurazone 100µg, (\*): Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir ve inhibisyon zonları, disk ile beraber inhibisyon zonunun tüm sınırı ölçülerek hesaplanmıştır.



**Şekil 1.** *Ramalina farinacea* likeninin etanol ekstraktlarının (a) *Citrobacter freundii* ATCC 8090 üzerine inhibisyon zonları, *Usnea intermedia* likeninin etanol ekstraktlarının (b) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ve (c) *Cryptococcus neoformans* ATCC 32045 üzerine inhibisyon zonları. 1: 25µL; 2: 50µL; 3: 75µL.



## IV. SONUÇ

Ülkemizde doğal olarak yetişen *R. farinacea* (L.) Ach. ve *U. intermedia* (A.Massal.) Jatta likenlerinin etanol ekstraktlarının antimikrobiyal spektrumunu araştırılarak kayda değer veriler elde edilmiştir. Ekstraktların genel olarak bakterilerden ziyade mayalar üzerinde daha etkili olduğu saptanmıştır. *Ramalina farinacea* türü ile farklı deneysel çalışmalar var olmasına karşın *Usnea intermedia* için, çalışmamız, bu likenin araştırıldığı ve etkili sonuçların elde edildiği ilk çalışma niteliğindedir.

Hali hazırda var olan antibiyotiklerin, bilinçsiz kullanımı ve gün geçtikçe direnç kazanan mikroorganizmalar yüzünden aktiviteleri azalmaktadır. Doğal ilaç hammaddelerin daha fazla araştırılıp keşfedilmesi gelecek neslin hastalıkla mücadeledeki ilaç sorunu yükünü azaltmaya olanak sağlayacaktır. *R. farinacea* (L.) Ach. ve *U. intermedia* (A.Massal.) Jatta likenlerinin içerdikleri bileşikler daha detaylı araştırılarak mikroorganizmalara karşı mücadelede, doğal biyoaktif materyalle ilaç yapımına önemli bir katkı sağlayacaktır.

**TEŞEKKÜR:** Liken materyallerinin toplanmasında ve teşhis edilmesinde yardımcı olan sayın Dr. Seyhan ORAN'a teşekkür ederiz.

## V. KAYNAKLAR

- [1] S. Özenoğlu, G. Aydoğdu, A. B. Dinçsoy, A. A. Taghidizaj K. Derici, K. Yılmaz, S. Aras, D. C. Duman *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* **70 (4) (2013)** 215-226.
- [2] A. Dilsizoğlu, Z. Kavuncuoğlu, D. Oba, G. Çobanoğlu *Bilim ve Teknik* (2004) 86-89.
- [3] P. Srivastava, D. K. Upreti, T. N. Dhole, A. K. Srivastava, M. T. Nayak, *Interdisciplinary Perspective on Infectious Diseases*, 2013 (2013).
- [4] N.H. Khan, M.S.A. Nur-e-Kamal, M. Rahman *Indian J. Res.* **87 (1988)** 395-397.
- [5] C.H. Collins, P.M. Lyne, J.M. Grance, *Microbiological Methods*, 6th edition, Butterworths, (1989).
- [6] CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standard, CLSI document M02-A11*, 11th edition, Clinical and Laboratory Standards Institute, (2012).
- [7] M. Gulluce, A. Salan, M. Sokmen, F. Sahin, A. Adiguzel, G. Agar, A. Sokmen *Phytomedicine* **13 (2006)** 515-521.
- [8] M. T. Saenz, M. D. Garcia, J. G. Rowe *Fitoterapia* **77 (2006)** 156-159.
- [9] T. Tay, A. Özdemir Türk, M. Yılmaz, H. Türk, M. Kıvanç, *Z. Naturforsch* **59 (2004)** 384-387.
- [10] G. Shrestha, L. L. Clair, *Bulletin of California Lichen Society*, **20 (1) (2013)**.
- [11] C. O. Esimone, M. U. Adikwu *Fitoterapia* **70 (1999)** 428-431.
- [12] A. Agboke, C. Jackson, M. Adedokun, M. A. Momoh *African Journal of Biotechnology* **10 (12) (2011)** 2314-2318.
- [13] A.A. Agboke, C.O. Esimone *Journal of Medicinal Plants Research* **5 (4) (2011)** 644-648.
- [14] B. C. Behera, N. Verma, A. Sonone, U. Makhija *Biotechnology Letters* **27 (2005)** 991-995.
- [15] N. Sultana, A.J. Afolayan *Journal of Asian Natural Products Research* **13 (12) (2011)** 1158-1164.

- [16] C. Ritika, A. Jayanthi *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* **16** (2013) 882-885.
- [17] P. Balaji, G. N. Hariharan *Research Journal of Botany*, **2** (1) (2007) 54-59.