

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İKİ *VERBASCUM* TÜRÜNÜN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİBİYOFİLM AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mehmet GÖSE

Biyoloji Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İKİ *VERBASCUM* TÜRÜNÜN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİBİYOFİLM AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mehmet GÖSE

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: **26/06/2019**

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU

ÇANAKKALE

Mehmet GÖSE tarafından Doç. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU yönetiminde hazırlanan ve **26/06/2019** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan "**İki *Verbascum* Türünün Antimikrobiyal ve Antibiyofilm Aktivitelerinin Araştırılması**" başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Doç. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU ……

Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR ……

Üye

Dr. Öğr. Üyesi. Derya DOĞANAY ……

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:……

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FYL-2018-2693

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Mehmet GÖSE

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU'ya, tez materyallerim olan bitki türlerinin arazi, teşhis ve tanımlanmalarında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Ersin KARABACAK hocama, tez çalışmamı destekleyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na, çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen, hayatımın her evresinde bana destek olan değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mehmet GÖSE

Çanakkale, Haziran 2019

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATCC	American Type Culture Collection, Rockville, Maryland, USA
BHI	Brain Heart Infusion Broth
g	Gram
%	Yüzde oranı
^{o}C	Santigrat derece
cm	Santimetre
DMSO	Dimetil sülfoksit
DSMZ	German Collection of Microorganisms and Cell Cultures
dk	Dakika
Fe	Demir
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MFK	Minimum Fungisidal Konsantrasyon
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
MEB	Malt Extract Broth
mL	Mililitre
mm	Milimetre
µL	Mikrolitre
µg	Mikrogram
Mn	Manganez
NRRLB	Agricultural Research Service Culture Collection
NY100	Nistatin
P10	Penisilin
S10	Streptomisin
Zn	Çinko

ÖZET

İKİ *VERBASCUM* TÜRÜNÜN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİBİYOFİLM AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mehmet GÖSE

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU

26/06/2019, 43

Bu araştırmada, *Verbascum pinnatifidum* Vahl. ve *Verbascum antinori* Boiss. & Hedr. bitki türlerinden elde edilen etanol, metanol, aseton ve etil asetat ektraktlarının bazı test mikroorganizmalarına karşı (*Escherichia coli* NRRL B-3704, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus haemolyticus* ATCC 43252, *Candida albicans* ATCC 10231) antimikrobiyal ve antibiyofilm aktiviteleri araştırılmıştır.

Bulgularımıza göre *V. pinnatifidum* bitkisinin *P. aeruginosa* ATCC 27853 test bakterisine, *V. antinori* bitkisinin ise *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *A. baumanii* ATCC 19606 bakterilerine karşı yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte her iki bitki türünden elde edilen ekstraktların *B. subtilis* ATCC 6633, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. vulgaris* ATCC 13315, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. haemolyticus* ATCC 43252 bakterilerine karşı önemli bir biyofilm giderici özellik taşıdıklarıda belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: *Verbascum pinnatifidum* Vahl., *Verbascum antinori* Boiss. & Hedr., Antimikrobiyal Aktivite, Antibiyofilm Aktivite.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTIBIOFILM ACTIVITIES OF TWO *VERBASCUM* SPECIES

Mehmet GÖSE

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Biology Science

Advisor: Assocc. Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU

26/06/2019, 43

In this study, antimicrobial and antibiofilm activities of ethanol, methanol, acetone and ethyl acetate extracts from *Verbascum pinnatifidum* Vahl. and *Verbascum antinori* Boiss. & Hedr.plant species were investigated against some test microorganisms (*Escherichia coli* NRRL B-3704, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus haemolyticus* ATCC 43252, *Candida albicans* ATCC 10231).

According to our findings, it wasdetermined that *V. pinnatifidum* has high antibacterial activity against *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *V. antinori* has high antibacterial activity against *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *A. baumanii* ATCC 19606 bacteria. However, extracts from both plant species were determined to be an important biofilm inhibitor against *B. subtilis* ATCC 6633, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. vulgaris* ATCC 13315, *S. aureus* ATCC 25923 and *S. haemolyticus* ATCC 43252 bacteria.

Keywords: *Verbascum pinnatifidum* Vahl., *Verbascum antinori* Boiss. & Hedr., Antimicrobial Activity, Antibiofilm Activity.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI iii
TEŞEKKÜR iv
SİMGELER VE KISALTMALAR v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
ŞEKİLLER DİZİNİ x
ÇİZELGELER DİZİNİ xi
BÖLÜM 1
GİRİŞ 1
BÖLÜM 2
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 4
2.1. Antibiyotiklerin Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri 4
2.2. Biyofilmler ve Mikroorganizmalardaki Önemi 5
2.3. Bitkilerin Antimikrobiyal ve Antibiyofilm Aktiviteleri 7
BÖLÜM 3
MATERYAL VE YÖNTEM 15
3.1. Materyal 15
3.1.1. Örnek Toplanması ve Teşhis 15
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Bitki Türleri ve Tanımları 15
3.1.2.1. *V. pinnatifidum* Vahl. Bitkisinin Genel Özellikleri 15
3.1.2.2. *V. antinori* Boiss. & Hedr. Bitkisinin Genel Özellikleri 16
3.2. Yöntem 18
3.2.1. Ekstraktların Elde Edilmesi 18
3.2.1.1. Ekstrakt Verimi Analizi 18
3.2.2.Test Mikroorganizmaları 19
3.2.3. Antimikrobiyal Etkilerin Belirlenmesi 19
3.2.3.1. Disk Difüzyon Yöntemi 19
3.2.3.2. Mikrodilüsyon Yöntemi 20
3.2.4. Antibiyofilm Aktivite Tayini 20
BÖLÜM 4
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 21
4.1. Ekstraktların Ürün Verimliliği 21
4.2. Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivite Bulguları 21

4.2.1. *V. pinnatifidum* Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi 21
4.2.2. *V. antinori* Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi 22
4.3. Bitki Ekstraktlarının Antibiyofilm Aktivite Bulguları 30
4.3.1. *V. pinnatifidum* Bitkisinin Antibiyofilm (Biyofilm Oluşumunu Giderme Yüzdesi) Aktivitesi 31
4.3.2. *V. antinori* Bitkisinin Antibiyofilm (Biyofilm Oluşumunu Giderme Yüzdesi) Aktivitesi 31
BÖLÜM 5
SONUÇ VE ÖNERİLER 34
KAYNAKLAR 36
ÖZGEÇMİŞ I

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1a. *V. pinnatifidum* bitkisinin genel görünümü (http://www.plantarium.ru/page/image/id/160990.html) (23.01.2019) 16
Şekil 3.1b. *V. pinnatifidum* bitkisinin çiçek görüntüsü ..... (https://www.greekflora.gr/el/flowers/2612/*Verbascum pinnatifidum*) (23.01.2019) 16
Şekil 3.2a. *V. antinori* bitkisinin Tip örneği ..... (MNHN-P-P03287499) Paris herbaryumu ..... (http://portal.cybertaxonomy.org/flora-greece/cdm_dataportal/taxon/724d9391-4647-4e5a-b068-3592fa60910c) (23.01.2019) 17
Şekil 3.2b. *V. antinori* bitkisinin çiçek görüntüsü ..... (http://portal.cybertaxonomy.org/flora-greece/cdm_dataportal/taxon/724d9391-4647-4e5a-b068-3592fa60910c) (23.01.2019) 18
Şekil 4.1. *V. pinnatifidum* bitkisinin *B. subtilis* ATCC 6633 bakteri kültürüne karşı disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi 27
Şekil 4.2. *V. pinnatifidum* bitkisinin *C. albicans* ATCC 10231 maya kültürüne karşı disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi; 1:etanol ekstraktı, 2: aseton ekstraktı, 3: metanol ekstraktı, 4: etil asetat ekstraktı, ... 27
Şekil 4.3. *V. pinnatifidum* bitkisinin *E. coli* NRRLB 3704 bakteri kültürüne karşı disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi; 1: etanol ekstraktı, 2: metanol ekstraktı, 3: aseton ekstraktı 27
Şekil 4.4. *V. antinori* bitkisinin *P. vulgaris* ATCC 13315 bakteri kültürüne karşı disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi; 1: etanol ekstraktı, 2: metanol ekstraktı, 3: aseton ekstraktı, 4: etil asetat ekstraktı 28
Şekil 4.5. *V. antinori* bitkisinin *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakteri kültürüne karşı disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi; 1: etanol ekstraktı, 2: etil asetat ekstraktı 28
Şekil 4.6. *V. antinori* bitkisinin *S. aureus* ATCC 6538P bakteri kültürüne karşı disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi; 1: etanol ekstraktı, 2: metanol ekstraktı, 3: aseton ekstraktı 28
Şekil 4.7a. *V. pinnatifidum* bitkisinin test mikroorganizmalarına karşı metanol ekstraktının MİK sonuçları 29
Şekil 4.7b. *V. antinori* bitkisinin test mikroorganizmalarına karşı aseton ekstraktının MİK sonuçları 29
Şekil 4.8. *V. pinnatifidum* bitkisinin ..... *S. haemolyticus* ATCC 43252 bakterisine karşı etil asetat ekstraktının MBK sonuçları 29
Şekil 4.9. *V. antinori* bitkisinin ..... *A. baumanii* ATCC 19606 bakterisine ..... karşı metanol ekstraktının MBK sonuçları 30

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılacak olan bitki örnekleri 15
Çizelge 4.1. Ekstraktların ürün verimliliği 21
Çizelge 4.2. *V. pinnatifidum* bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi..... 25
Çizelge 4.3. *V. antinori* bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi 26
Çizelge 4.4. *V. pinnatifidum* bitki ekstraktlarının antibiyofilm (% inhibisyon) aktivitesi... 32
Çizelge 4.5. *V. antinori* bitki ekstraktlarının antibiyofilm (% inhibisyon) aktivitesi 33

BÖLÜM 1
GİRİŞ

Evrende tüm canlılar özellikle bitki, hayvan ve insan toplulukları birbiriyle önemli bir dengeye sahiptirler. Mitolojik bilgiler özellikle bitkilerin tanrıların insanoğlu için en kıymetli ödül olduğunu ortaya koymaktadır. Yüzlerce yıldır insan ve bitki türleri arasındaki kurulan ilişki günümüzde etnobotanik denilen bilim dalının doğmasına sebep olmuştur. Etnobotanik çalışmalar beraberinde insan sağlığı ve hastalıkların sağaltımında- ilk kez Fransız hekim Henri Leclerc (1870-1955) tarafından kullanılmış olan "Tıbbi bitkilerle tedavi" anlamına gelen "Fitoterapi" terimini ortaya çıkarmıştır. Günümüzde bitkiler tarafından birer savunma mekanizması olarak üretilen doğal ürünler olan primer ve sekonder metabolitler tıbbi pek çok ürünün hammaddesi konumuna gelmiştir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Bitkiler, yaşamlarına devam edebilmek için gerçekleştirdikleri metabolik faaliyetleri sonucunda insan vücudunun kullanabileceği önemli bileşikler meydana getirirler. Oluşturulan bu metabolik ürünler arasında bulunan eterik yağlar (uçucu yağlar, esanslar), alkaloidler, tanenler ve acı maddeler vb. bileşenler aynı zamanda insanlık tarihi boyunca pek çok hastalığın tedavisi için doğal birer kaynak olma özelliği taşımıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre Dünya nüfusunun %80'ini (yaklaşık 4 milyar) hastalıkların ve sağlık sorunlarının ilk tedavi basamağı olarak bitkisel drogları kullanmıştır. Bugün kullanılan reçeteli ilaçların yaklaşık %25'i bitkisel kaynaklı etken maddeler içermektedir (Farnsworth ve ark., 1985).

Mikroorganizmalardan ya da sentetik olarak kimyasal yollarla elde edilen ve çok seyreltik oranlarda bile patojen mikroorganizma türleri üzerinde etkili olup gelişimlerini durduran veya tamamen öldüren maddeleri antibiyotikler olarak adlandırmaktayız. İlk antibiyotik Penisilin keşfinden bu yana, tedavide ya da klinikte kullanılan binlerce antibiyotik keşfedilmiştir. Ancak elde edilen yeni antibiyotik türevleri beraberinde alerjik etki, teratojenik etki, gıdalarda ilaç kalıntılarının birikmesi, endotoksik şok, doğal floranın bozulması gibi yan etkiler ile günümüzde tüm ülkelerin en önemli sağlık sorunlarından biri haline gelen antibiyotik direnç sorununu ortaya çıkarmıştır (Alsan, 1999).

Biyofilmler, yeterli nemin bulunduğu yüzeylerdeki hücre dışı matriks (EPS)'de bulunan mikroorganizma topluluklarıdır (Ceyhan, 2008). Mikroorganizmalar, zeminlere tutunup çoğalırlar ve kendilerini hücre dışı polimerik maddelerden oluşan yapışkan matris içine gömerler. Bu yapılar biyofilm formunu oluşturmaktadır (Simoes ve ark., 2010). Bakterilerin çoğu biyofilm oluşturma yeteneğindedir. Biyofilm oluşumu karmaşık bir biyolojik yapıdır ve genellikle ardışık safhalarda gerçekleşen bir işlemdir (Dheilly ve ark., 2010). Biyofilm oluşumu patojenik bakterilerin virülansı ile ilişkilidir ve biyofilm içinde yer alan bakteriler, planktonik bakterilere göre antibiyotik ve dezenfektanlara karşı 1000 kat daha dayanıklıdırlar (Donlan ve Costerton, 2002; Caraher ve ark., 2007; Monds ve O'Toole, 2009).

Bakteriyel patojenler arasında biyofilm oluşumu ve antibiyotik dirençlilik, bu patojenlerin neden olduğu hastalıkların tedavisinde önemli bir engel teşkil etmektedir (Rogers ve ark., 2010). Bakteriyel biyofilmler kronik veya dirençli enfeksiyonlara neden olurlar. Enfeksiyonlara neden olan bakteriler kataterler veya yapay eklemler gibi tıbbi cihazlarda biyofilm oluşturmaları nedeniyle "Biyofilm enfeksiyonları" olarak adlandırılırlar. Diş veya ağız içi yumuşak dokular üzerinde oluşan biyofilmler çürük, periodontitis ve mukozal gibi hastalıkların başlıca nedenlerindendir (Maezono ve ark., 2011). Ayrıca biyofilmler özellikle bira, süt, taze ürünler, kümes hayvanları ve kırmızı et işletmeleri gibi gıda sanayi sektörlerinde de problem yaratmaktadır (Frank ve ark., 2003; Jessen ve Lammert, 2003; Chen ve ark., 2007).

Son yıllarda mevcut kullanılan antibiyotiklerin, antibiyotik direnç sorununu beraberinde getirmesi ve ayrıca bakteriler ve bazı maya türlerince oluşturulan biyofilm katmanlarının da bu direnç mekanizmalarına katkı sağlaması; düşük toksisite ve maliyete sahip, aynı zamanda mikroorganizmaların iletişim mekanizmalarının önemli bir sonucu olan biyofilmlerinde giderimini sağlayabilecek alternatif ilaç kaynakları niteliğindeki tıbbi bitkiler üzerine çalışmaları yoğunlaştırmıştır.

Ülkemizin önemli bitki zenginliklerinden olan *Verbascum* cinsine ait türler de, geleneksel tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerdendir. Türkiye'de 233 türle temsil edilen *Verbascum* cinsine ait türlerle yapılmış çok sayıda fitokimyasal araştırmalar ve biyoaktivite çalışmaları mevcuttur. Bu nedenle *Verbascum* cinsi tarım, tıp, eczacılık, kozmetik gibi farklı endüstri alanlarında önemli ölçüde faydalanılan bir bitki grubudur. Aynı zamanda içerdikleri sekonder metabolitler ile de antimikrobiyal, antikanser, antioksidan, antimutajenik vb. özelliklere sahip olabilen bu cins Türkiye'de taşıdığı yüksek orandaki çeşitlilikle önemli bir tıbbi bitkidir. Geniş bir biyolojik aktivite

çeşitliliğine sahip *Verbascum* türlerinin antibiyofilm aktivitesi ile ilgili ise literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Benzer şekilde diğer tıbbi bitki türleri üzerinde yapılan antibiyofilm çalışmaları ise oldukça sınırlıdır (Bazargani ve Rohloff, 2016; Sanchez ve ark., 2016; Teanpasian ve ark., 2017).

Bu çalışma kapsamında Çanakkale ilinden arazi çalışmaları sonucunda toplanan iki farklı *Verbascum* (*Verbascum pinnatifidum* Vahl. ve *Verbascum antinori* Boiss. & Hedr.) türünün önemli patojen mikroorganizma grupları olan 7 farklı test bakterisi ve 1 adet maya kültürüne karşı Agar Disk Difüzyon, Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK), Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsatrasyonları (MBK/MFK) ile antimikrobiyal aktiviteleri ve bunlara ilave olarak antibiyofilm aktivitelerinin ortaya konmasına çalışılmıştır. Tez kapsamında, *Verbascum* cinsi üyesi iki bitki türünün antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra antibiyofilm aktivitelerinin de ortaya konmasının mikrobiyal hastalıkların tedavisinde yeni farmakolojik stratejilerin geliştirilmesine önemli katkılar sunması beklenmektedir.

BÖLÜM 2
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Antibiyotiklerin Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri

Hastalık etmeni mikroorganizmaların kontrolü, bu organizmaların çoğalmasının, yayılımının sınırlandırılması ve durdurulması ile öldürülmelerini sağlamak için uygulanan yöntemleri kapsar. Böylece enfeksiyon etmenlerinin diğer insanlara bulaşmasının önüne geçilebilmektedir. Bu amaçla 2 önemli metot kullanılmaktadır.

I- Kimyasal Maddelerin kullanılması

II- Fiziksel Yöntemlerin kullanılması

Enfeksiyon etmenlerinin giderimin de kullanılan kimyasal ajanlar ise antimikrobiyal maddeler ve dezenfektanlar olarak sınıflandırılabilirler (Hacıoğlu, 2010).

Antimikrobiyal maddeler, mikroorganizmaların çoğalmalarının durdurulması veya öldürülmelerini sağlamak amacıyla kullanılan maddelerdir. Böylece infeksiyöz ajanlar etrafa yayılmadan, başka kişilere bulaşmadan ve enfeksiyon yaygınlaşmadan kontrol altına alınabilmekte, gerekli koruyucu ve tedavi edici önlemler için de zaman kazanılmış olmaktadır (Arda, 1997).

Antimikrobiyal maddeler, etki ettikleri bölgeye göre mikroorganizmaların hücre duvarı sentezini inhibe edenler, sitoplazmik membranı etkileyenler, protein sentezini inhibe edenler, nükleik asit fonksiyonunu ve sentezini bozanlar gibi gruplara ayrılmaktadırlar (Alsan, 1999; Hacıoğlu, 2010).

Antimikrobiyal ilaçlar, uzun bir süre enfeksiyonların tedavisinde oldukça etkili olmuştur. Fakat antimikrobiyal ajanlara karşı bazı mikroorganizmalarca direnç mekanizmalarının geliştirilmesi, teratojenik ve alerjik etki gibi yan etkilerin ortaya çıkması bu ajanların tedavi olanaklarını sınırlamıştır (Piddock ve Wise, 1989; Shahidi, 2004; Zaidan ve ark., 2005; Bezares ve ark., 2006; Pulcini ve ark., 2012). Antibiyotiklerin bilinçsiz kullanılması, özellikle çocuklarda, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde epidemiyolojik geleneklere ve gereklere uyulmaması, yetişkin dönemlerinde bağışık sistemlerinin baskılanmasına ve antibiyotik etkinliğinin çok azalmasına sebep olmaktadır. Ayrıca antibiyotiklerle yapılan tedavilerin çok yaygınlaşması, enfeksiyon etkenlerinin antibiyotiklerle karşılaşma sıklıklarının aşırı artması dirençli ve güçlü enfeksiyon etkenleri popülasyonlarının oluşmasına neden olmuştur. Bu durumun bertaraf edilmesinde yeni ve doğal olan maddelerle çalışmaların yapılması gerekmektedir.

2.2. Biyofilmler ve Mikroorganizmalardaki Önemi

Biyofilmler yeterli nemin bulunduğu yüzeylerdeki hücre dışı matriks (EPS)'de bulunan mikroorganizma topluluklarıdır (Ceyhan, 2008). Mikroorganizmalar, zeminlere tutunup çoğalırlar ve kendilerini hücre dışı polimerik maddelerden oluşan yapışkan matriks içine gömerler. Bu yapılar biyofilm formunu oluşturmaktadır (Simoes ve ark., 2010). Yüzeyler mikrobiyal habitatları oluşturarak, besin maddelerinin tutunduğu ve besin kaynağının yüksek olduğu ortamlardır. Bu doğal durum mikrobiyal metabolizma için oldukça önemlidir. Yüzeyler üzerindeki mikrobiyal aktivite, mikroorganizma sayısı ve çeşitliliği serbest su yüzeylerine kıyasla çok daha yüksektir. Yüzeylerde yapılan mikrobiyal kolonizasyon çalışmaları, mikroorganizmaların çoğunun biyofilmler içinde paketlenmiş ve çevresi kuşatılmış halde yüzeylere tutunduğunu kanıtlamıştır (Benlioğlu ve Özyılmaz, 2017). Bakterilerin çoğu biyofilm oluşturma yeteneğindedir. Biyofilm oluşumu karmaşık bir biyolojik yapıdır ve genellikle ardışık safhalarda gerçekleşen bir işlemdir (Dheilly ve ark., 2010). Bakterilerin farklı biyofilm türleri oluşturdukları bilinmekle birlikte bazen tek bir bakteri farklı çevresel koşullar altında birkaç farklı türde biyofilm oluşturabilmektedir (Karatan ve Watnick, 2009). Biyofilmlerin oluşumu, gelişimi ve boyut artışı, substrat yapısı, içeriği, ortamda bulunan mikroorganizma çeşidi gibi pekçok faktöre bağlıdır (Augustin ve ark., 2004).

Biyofilmler, mikroorganizmalara habitat oluşturmanın yanında sahip olduğu damar veya su kanalı benzeri yapılarla paketlenmiş ve koloni oluşturmuş mikroorganizma populasyonlarının gelişmesi için besin maddelerinin yakalanmasına da hizmet eder. Ayrıca bu damarlar sistemi hücrelerin yüzeyden kopup ayrılmasını da engeller. Biyofilmler günümüzde tıbbın, sanayinin vb. alanların önemli birer sorunu konumuna gelmiştir. İnsan vücudunda biyofilm içinde bulunan patojenler vücudun bağışıklık sisteminin saldırısından korunabilmektedirler. Benzer şekilde dental plak oluşumunun nedeni asit oluşturan bakteri gruplarının meydana getirdiği biyofilmdir (Benlioğlu ve Özyılmaz, 2017). Diş veya ağız içi yumuşak dokular üzerinde oluşan biyofilmler çürük, periodontitis ve mukozal gibi hastalıkların başlıca nedenlerindendir (Maezono ve ark., 2011). Ayrıca endüstride özellikle fabrikalardaki boru sistemlerinde biyofilm oluşturan mikroorganizmaların kolonize olmasıyla su ve yağ akışının engellenmesi oldukça önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (Benlioğlu ve Özyılmaz, 2017).

Biyofilm oluşumu patojenik bakteri ve mayaların virülansı ile ilişkilidir ve biyofilm içinde yer alan bakteriler, planktonik bakterilere göre antibiyotik ve dezenfektanlara karşı 1000 kat daha dayanıklıdırlar (Donlan ve Costerton, 2002; Caraher ve ark., 2007; Monds

ve O'Toole, 2009). Biyofilm oluşumunda yer alan bakterilerin dirençliliğini arttıran birçok neden vardır. Mikro çevre oluşturma, ortama eklenen kimyasal madde ve dezenfektanların biyofilmdeki hücrelere nüfuzunun mümkün olmaması, çeşitli enzimlerin üretimi ve biyofilmdeki mikroorganizmalar arasındaki genetik madde değişimi bu nedenler arasında sayılabilir (Augustin ve ark., 2004; Ceyhan, 2008).

Bakterilerde biyofilm üretimi ve antibiyotiklere karşı ortaya çıkan direnç yeni biyofilm kontrol stratejilerine ihtiyaç doğurmuştur (Sidhu ve ark., 2001; Simoes ve ark., 2010). Tıpta ve endüstride karşılaşılan biyofilm sorununu ortadan kaldırmak için besin kaynaklarının ortamdan giderimi ile biyofilm oluşturmayı engelleme, mekanik temizleme, antimikrobiyal madde kullanımı, mikrobiyal yapışmaları engellemek ve biyokütle çıkarımının desteklenmesi gibi pekçok yönteme başvurulmaktadır (Jass ve Walker, 2000; Stewart ve ark., 2000; Ceyhan, 2008). En çok tercih edilen 2 yöntem mekanik temizleme ve antimikrobiyal madde kullanımıdır (Ceyhan, 2008). Mekanik parçalama yöntemleri çeşitli donanım ve iş gücü kullanımını gerektirdiği için oldukça maliyetli yöntemlerdir. Kimyasal maddelerin (dezenfektan vb.) kullanılması ise biyofilmde yer alan mikroorganizmalardaki muhtemel antibiyotik dirençliliği oluşturmaları sebebiyle etkili olmayabilir (Stewart ve ark., 2000; Thormann ve ark., 2005; Ceyhan, 2008). Bu sebeple biyofilmdeki mikroorganizmaların besinlerin giderimi yoluyla biyofilm varlığı yok etme çalışmaları devam etmektedir (Thormann ve ark., 2005; Ceyhan, 2008). Bu strateji ortamdaki besinlerin kontrol edilemediği durumlarda ve ortamlarda kullanılamamaktadır. Ancak bu stratejilerin çoğu hedef olan bakterileri öldürecek ya da sonlandıracak mekanizmalara dayanmamaktadır.

Hastalıklara sebep olan mikroorganizmaların giderimi ve enfeksiyonun ortadan kaldırılması için kullanılan genel ve en yaygın tedavi yöntemi antimikrobiyal maddelerle tedavidir. Fakat son yıllarda yüksek oranda karşılaştığımız antimikrobiyal maddelere direnç sorunu ve beraberinde yeni antimikrobiyal madde sentezleme çalışmalarının devam ediyor olması patojen mikroorganizmalarla meydana gelen hastalıkların tedavi süreçlerini oldukça aksatmaktadır. Birbirini takip eden bu tedavi basamakları özellikle Bakteriyel patojen populasyonlarda antibiyotik direnç gen düzeyinin artmasına sebep olmaktadır (Clatworthy ve ark., 2007; Hawkey, 2008; Spellberg ve ark., 2008; Boucher ve ark., 2009).

Oluşan bu direnç durumuna ilaveten mikroorganizmaların planktonik yaşam yerine biyofilm oluşturarak mikro çevre içinde yaşamaları da hastalık tedavilerine önemle derecede ket vurmaktadır (Wilkins ve ark., 2014).

Ticari olarak hâlihazırda kullanılan birçok antibiyotikte karşılaşılan yan etkiler, antibiyotik direnci ve biyofilm oluşturma gibi mikroorganizmaların direnç profillerini yükselten faktörler araştırmacıların antimikrobiyal ve aynı zamanda antibiyofilm aktiviteye sahip yeni doğal kaynakları taramasını gerekli kılmıştır (Buommino ve ark., 2014).

2.3. Bitkilerin Antimikrobiyal ve Antibiyofilm Aktiviteleri

Bitkiler, insanoğlunun var olduğu günden bu güne yaşamın vazgeçilmez ana unsurlarından biri olmuştur. İlkçağlardan bugüne kadar bitkiler beslenme, barınma, ısınma ve etnobotanik vb. pek çok amaçla çok çeşitli kullanımlara sahiptir. Bitkilerin özellikle etnobotanik ve tıbbi amaçlarla kullanımına dair ilk kayıtlara M.Ö.3000'li yıllarda rastlanmaktadır. İçinde bulunduğumuz Anadolu coğrafyasının tıbbi bitkilerle ilişkisinin kökenleri ise Hititler dönemine kadar uzanmakta olup, şifahanelerde kullanılması Selçuklu dönemine kadar dayanmaktadır. Bitkisel kaynaklı droglar çok eski çağlardan beri hastalıkların tedavisinde kullanılırken içeriğindeki etkin bileşikler ve etkileri XIX. yüzyılın ortalarında araştırılmaya başlanmıştır. Bugün kullanılmakta olan pek çok ilaç ve ilaç hammaddelerin ana kaynağını bitkiler oluşturmaktadır. Son yıllarda çeşitliliği artan veya mevcutta bulunan ancak tedavisinde çok çeşitli sorunlarla karşılaşılan pek çok hastalığın tedavisi için geliştirilmiş olan sentetik ilaçların yetersiz kalması ve yan etkilerinde görülen artış sebebiyle doğal ürünlerin kullanımı alanında yüksek oranda artış görülmüştür. Bu ve benzeri nedenlerle yeni doğal ilaç hammadde arayışı gün geçtikçe artmaktadır (Ahıskalıoğlu, 2007; Erdoğan, 2014).

Verbascum cinsi ülkemizde "sığırkuyruğu veya kral şamdanı" isimleri ile tanınmakta ve Türkiye Florası'nda 185'i endemik olmak üzere 233 türü ve 100'den fazla hibriti bulunmaktadır. Flos Verbasci olarak bilinen drog Türkiye'de özellikle *V. phlomoides, V. thapsiforme* ve *V. thapsus* türleri ile bu grupta bulunan diğer türlerin stamenleri ile birlikte toplanıp gölgede kurutulmuş korollasından elde edilmektedir. Bu türler 50-200 cm yükseklikte, parlak sarıçiçekli, büyük tüylü yapraklı ve iki yıllık bitkilerdir. Dağ ve yol kenarlarında bol olarak bulunmaktadır (Baytop, 1999). Bazı *Verbascum* türlerinin yaraları iyileştirmede ve gastroprotektif olarak Anadolu'da en az 2000 yıldır kullanıldığı bildirilmiştir (Gürbüz ve ark., 2005). Bazı türler – ör: *V. sinuatum* L. türü gibi - tohumlarında bulunan saponin sebebiyle zehirli bitki türleri olup halk tarafından bu tohumlar balık avlamak için kullanılmaktadır (Baytop, 1999). Türkiye tıbbi bitki potansiyeli açısından önemli bir ülke olup; bu bitkiler üzerindeki çalışmalar yeterli düzeye ulaşamamıştır. Türkiye'de *V. phlomoides, V. thapsiforme* ve *V. thapsus* türleri halk

arasında yaygın olarak kullanılan türlerdir ve çiçeklerinden diüretik, sedatif ve ekspektoran amaçla yararlanılmaktadır (Dülger ve Gönüz, 2004). Anadolu'da *Verbascum* türlerinin infüzyonları; terletici, balgam söktürücü, yatıştırıcı, idrar arttırıcı ve göğüs yumuşatıcı etkisi nedeniyle kullanılırken; bazı *Verbascum* türlerinden haricen yaraların kurutulmasında, anal fistul ve ürogenital organlarda pürüritik durumlarda faydalanılmaktadır (Tatlı ve ark., 2002; Akdemir ve ark., 2004).

Verbascum türlerinden *V. thapsus* İngilizce ismi ile 'Common Mullein' veya 'Wooly Müllein' çok eski zamanlardan beri tıbbi bitki olarak halk arasında diyare, hemoroit, ateş, kan toplanması, allerji, deri hastalıkları, siğil tedavisi, karın ağrıları, migren, tümör oluşumu, kolik, nezle, boğaz hastalıkları, zatürree, bademcik ve diğer akciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bitki diüretik etkili olup, üriner sistemde antienflamatuvar etkisinden dolayı kullanılırken orta etkili bir sedatif, ayrıca antiseptik ve antimalaryal etkilere de sahip olan bir türdür. Bitkinin yaprak ve çiçekleri ekspektoran ve demulsan etki nedeniyle bronşit, kuru öksürük, boğmaca öksürüğü, tüberküloz, astım ve ses kısılması gibi solunum yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bitkinin ekspektoran etkisi, sahip olduğu saponozitlerden ileri gelmektedir (Türker ve Camper, 2002). Demulsan ve emoliyan etki bitkinin yapısında bulunan müsilaj ve zamktan kaynaklanırken; antienflamatuvar etkinin nedeni ise iridoit glikozitler ve flavonoidlerdir. Bu bitkinin tohumlarının afrodizyak ve narkotik etkisi olduğu da kayıtlıdır (Khuroo ve ark., 1988; Türker ve Gurel, 2005). *V. thapsus* çiçeklerinin yağlı maseratı, kulak ağrılarında yardımcı olarak kullanılırken ekzema ve diğer iltihaplı cilt hastalıklarının tedavisinde de haricen uygulanmaktadır. Ayrıca bitki astrenjan etkisinden dolayı hemoroid ve diyare tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan deneysel araştırmalarda bitkinin antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkisi de belirtilmiştir (McCutcheon ve ark., 1995; Türker ve Camper, 2002).

V. nigrum ve *V. lychnitis* türleri başta Polonya olmak üzere nerdeyse Avrupa'nın tamamında yayılış gösteren 2 yıllık bitkilerdir. Her iki taksonda çiçekler, *V. phlomoides* ve *V. thapsiforme*'den daha küçük ve infloresansı az veya çok dallanmıştır. Bunlar çoğu zaman homeopati ve geleneksel tıpta *V. thapsiforme* ve *V. phlomoides* de olduğu gibi öksürük kesici, antienflamatuvar ve antiviral hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Klimek ve ark., 1992; Klimek, 1995). *V. phlomoides*, tıbbi drog olarak kabul edilen Flos Verbasci'nin elde edildiği türlerden biridir. Drogtan öksürüğe karşı çay hazırlanıp kullanılmaktadır (Klimek, 1996). *V. sinaiticum* Benth. türü Etiyopya'da geleneksel tıpta; şarbon, doğum sonrası diyare, romatizma ağrıları, fil hastalığı, kızamık, belsoğukluğu,

cüzzam, frengi, yüzeysel fungal enfeksiyonlar ve yara tedavisinde kullanılırken; bitkiden antihelmintik olarak da yararlanılmaktadır (Geyid ve ark., 2005; Tadeg ve ark., 2005).

Verbascum cinsine ait bazı türler üzerinde yapılmış fitokimyasal araştırmalar ve biyoaktivite çalışmaları alanında pek çok araştırma mevcuttur.

Tatlı ve ark. (2003), *V. lasianthum* ve *V. pterocalycinum* bitkilerinden elde edilen 16 bileşiğin doğal antifungal bileşiklerini incelemişlerdir. Elde edilen verilere göre bileşikler güçlü bir antifungal aktiviteye sahip olup; özellikle *V. pterocalycinum* var. *mutense* biyolojik olarak aktif olduğu bildirilmiştir.

Dülger ve ark. (2005), beş farklı *Verbascum* (*V. pseudoholotrichum, V. cymigerum, V. cholorostegium, V. linguifolium, V. pellitum*) türünden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkisini *E. coli* ATCC 11230, *S. aureus* ATCC 6538P, *Klebsiella. pneumoniae* UC57, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. vulgaris* ATCC 8427, *B. cereus* ATCC 7064, *Mycobacterium smegmatis* CCM 2067, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313, *Micrococcus luteus* CCM 169, *C. albicans* ATCC 10231, *Rhodotorula rubra* DSM 70403 ve *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608 test mikroorganizmalarına karşı test etmişler ve çalışılan bitki türlerinin Gram pozitif bakterilere ve mayalara karşı antimikrobiyal etkinlik sergilediğini ortaya koymuşlardır.

Dülger ve Hacıoğlu (2008), üç endemik *Verbascum* türünün antimikrobiyal aktivitelerini (*V. cariense*, *V. adenophorum* ve *V. inulifolium*), test mikroorganizma türlerine karşı disk difüzyon metoduna göre araştırmışlar ve Gram pozitif bakterilerle maya türlerine karşı güçlü bir antagonistik etki saptanırken, Gram negatif bakteriler üzerinde etkilerinin olmadığını bildirmişlerdir.

Dülger ve Hacıoğlu (2009), üç endemik *Verbascum* türünün (*V. obtusifolium, V. chinophyllum* ve *V. linearilobum*) 35 adet Metisilin Dirençli *S. aureus* (MRSA) hastane izolatına karşı antibakteriyel aktivitelerini araştırdıkları çalışmalarında bitkilerin etanolik ekstraktlarının daha etkili olduğunu saptamışlardır.

Şener ve Dülger (2009), *V. sinuatum* bitkisinin idrar yolu infeksiyonu etmeni *Enterococcus faecalis, E. coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa, P. mirabilis* ve *C. albicans* bakteri ve maya izolatlarına karşı antibakteriyel ve antifungal etkisini araştırmışlar ve *E. faecalis, P. mirabilis* ve *C. albicans* izolatlarına karşı güçlü antagonistik etki tespit etmişlerdir.

Özcan ve ark. (2010), *V. antiochium* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesini çeşitli bakteri ve bir maya türüne karşı test etmişlerdir. Çalışmada agar kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılmış ve elde edilen sonuçlara göre, ekstraktların *E. coli* ve *C. albicans*

strainlerine karşı antimikrobiyal etki göstermediği, ancak diğer mikroorganizmalar üzerinde etki gösterdiği bildirmişlerdir. Bununla beraber *Haemophilus influenzae* diğerlerine kıyasla en hassas bakteri olarak tespit edilmiştir. *V. antiochium*'un metanol ekstraktının antioksidan aktivitelerini belirlemek için yapılan DPPH testine göre ekstraktın DPPH yöntemi ile serbest radikal süpürme etkisi 4,80 mg/mL olarak, β-karoten / linoleik asit testi sonucunda ise bitki ekstraktının linoleik asit oksidasyonunu %79,92 oranında önlediği belirlenmiştir.

Vogt ve ark. (2010), *V. thapsus* bitkisinin n-hekzan, kloroform, metanol, soğuk ve ılık su ekstraktlarının antifungal ve fitotoksik özelliklerini inceledikleri araştırmalarında *Fusarium graminearum* ve *Macrophomina phaseolina*'ya karşı güçlü bir antifungal etkisinin olduğunu bununla beraber soğuk ve ılık sulu ekstraktlarının *Lycopersicon esculentum* ve *Triticum aestivum* üzerinde hiçbir toksik etkisi olmadığı ve metanol ve kloroform ekstraktlarının çimlenmeyi olumsuz etkilediği tespit etmişlerdir.

Amirnia ve ark. (2011), *V. speciosum*'un çiçeklerinden elde edilen su ve etanol ekstraktlarının *B. subtilis*, *B. cereus* ve *E. coli* olmak üzere üç bakteri strainine karşı antimikrobiyal etkisini incelemişlerdir. Bakteriler, disk difüzyon yöntemi kullanılarak, üç farklı konsantrasyonda (12,5, 25 ve 50 ug/mL) ekstrakt ile test edilmiştir. Bitki ekstraktları üç bakteri üzerinde tüm konsantrasyonlarda etkili bulunmuş ayrıca etanol ekstraktı, üç bakteri üzerinde su ekstraktına göre daha fazla etki göstermiştir. Hem etanol hem de su ekstraktı *B. cereus* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı maksimum antibakteriyel aktivite göstermiştir ve *E. coli* en dirençli strain olarak kaydedilmiştir.

Kahraman ve ark. (2011), yedi farklı *Verbascum* türünün (*V. dudleyanum, V. latisepalum, V. mucronatum, V. olympicum, V. stachydifolium, V. uschackense*) metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini inceledikleri araştırmalarında *V. mucronatum* ve *V. olympicum* türlerinin *S. aureus* bakterisine karşı antibakteriyel, *V. latisepalum* bitkisinin ise *C. krusei* maya kültürüne karşı antifungal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Özcan ve ark. (2011), *V. pinetorum* türünün antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini agar-difüzyon metodu ve serbest radikal süpürücü (DPPH) ve β-karoten/linoleik asit test sistemleri ile araştırmışlardır. Hekzan ekstraktının düşük antimikrobiyal aktivitesi bulunurken; diklorometan, metanol ve metanol/kloroform ekstraktlarının geniş çapta etkili olduklarını ayrıca *Haemophilus influenzae* bakterisinin en duyarlı test organizması olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca *V. pinetorum* bitkisinin içerdiği iridoid glikozidler, flavonoidler, saponinler ve fenolik bileşiklerle önemli bir antioksidan

kaynak olduğu ortaya konmuştur.

Morteza-Semnani ve ark. (2012), *V. thapsus* bitkisinin GC ve GS-MS analizleri ile esansiyal yağlarını çıkarmışlar ve 92 bileşen tespit etmişlerdir. Bununla beraber bitki ekstraktları *B. subtilis* PTCC 1023, *S. aureus* PTCC 1112, *S. typhi* PTCC 1639, *P. aeruginosa* PTCC 1074 ve *Aspergilus niger* PTCC 5011 bakteri ve küf strainlerine karşı yüksek aktivite gösterirken; *E. coli* PTCC 1330 ve *C. albicans* PTCC 5027 kültürlerine karşı herhangi bir etki saptanamamıştır.

Noori ve ark. (2012), *V. speciosum* bitki türünün farklı konsantrasyonlarda ağır metallerle kontamine olmuş çiçeklerinin sulu ekstraktlarının antibakteriyel etkilerini test etmişlerdir. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkisinin incelenmesi için 10 toprak örneği ve 10 farklı bakteri straini (*B. cereus, B. megaterium, B. subtilis, Citrobacter amalonaticus, E. aerogenes, K. pneumoniae, P. vulgaris, P. aeruginosa, S. parathyphi, Serratia marcescences*) kullanılmıştır. Kirli topraklarda yüksek konsantrasyonda Fe, Mn ve Zn saptanırken, kontamine bitkilerin kontrol örneklerine kıyasla yüksek oranda Fe konsantrasyonuna sahip olduğu belirlenmiştir. *B. subtilis, E. aerogenes* ve *P. vulgaris* ile birlikte *S. paratyphi* bakterisi, ekstraktların etki gösterdiği bakterilerden olurken diğer bakteriler üzerinde ekstraktların etkili olmadığı anlaşılmıştır.

Şen ve ark. (2012) çalışmalarında, *V. lagurus, V. gnaphalodes* ve *V. xanthophoeniceum* bitkilerinin toprak üstü kısımlarınının metanol, kloroform, etil asetat ve su ile elde edilen ekstraktlarının *S. aureus, S. epidermidis, P. aeruginosa, C. albicans* test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitelerinin test etmişlerdir. Sonuçlar, *V. lagurus* bitki ekstraktlarının 156-625 mg/L'lik bir MİK değeri ile *S. aureus* bakterisine karşı güçlü bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Etil asetat ekstraktlarının ise *S. epidermidis* bakterisine karşı antibakteriyal aktivite göstermiş ve metanol özütlerinin sadece *P. aeruginosa*'ya karşı etki gösterdiği bildirilmiştir. Tüm ekstraktlar ayrıca *C. albicans* maya kültürüne karşı antifungal etki sergilemiştir.

Dülger ve ark. (2015), *V. thapsus* bitkisinin etanol ekstraktının idrar yolu infeksiyonu etmeni *E. faecalis, E. coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa, P. mirabilis* ve *C. albicans* bakteri ve maya izolatlarına karşı antibakteriyel ve antifungal etkisini araştırmışlar ve *E. faecalis, E. coli* ve *C. albicans* izolatlarına karşı güçlü antagonistik etki tespit etmişlerdir.

Ghasemi ve ark. (2015), *V. thapsus* bitkisinin su-alkol ekstraktları ve uçucu yağının bakteri ve fungus strainlerine (*Streptococcus pyogenes, E. coli, S. aureus, C. albicans* ve *Aspergillus fumigatus*) karşı antimikrobiyal etksini incelemişlerdir. *V. thapsus* bitkisinin

metanol ekstraktının, su ve etanol ekstraktlarına kıyasla *E. coli* ve *S. pyogenes*'de daha fazla büyüme önleyici etkisi olduğunu ve ayrıca *V. thapsus*'un uçucu yağının antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin bulunmadığını saptamışlardır.

Moghaddam ve ark. (2015), üç oral straine karşı (*S. mutans* 1683ATCC35.668, *S. sanguinis* 1449CIP53.15 ve *S. salivarius* 1448CIP55.128) *V. thapus*'un etanol ekstraktının antimikrobiyal ve anti-adherent aktivitelerini incelemişlerdir. *V. thapus*'un etanol ekstraktının biyofilm oluşumu engelleme etkinliğini test etmek için mikrodilüsyon testi ve mikrotiter plaka testi kullanılmışlardır. Sonuçlara göre, *V. thapus*'un etanol ekstraktı (yapraklar ve kök), üç oral streptokokun biyofilm oluşumunu, kontrol grubuna kıyasla düşürdüğü tespit edilmiştir. Sonuçlar ayrıca *V. thapsus*'un etanol ekstraktının bakteri büyümesini ve biyofilm oluşumunu azalttığını ortaya koymuştur.

Nofouzi (2015), *V. speciosum* bitkisinin toprak üstü kısımlarının metanol ekstraktının antioksidan ve antifungal etkilerini çalışmıştır. Folin-Ciocalteau ve DPPH serbest radikal süpürme testi bitki özlerinin fenolik ve flavonoid içeriği ile antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, *C. parapsilosis* ve *Alternaria* küf türlerine karşı en yüksek antifungal aktivite gözlenmiş ve farklı mantar türleri arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Bu sonuçlarla, araştırmacı metanol ekstraktlarının mantar hastalıklarının tedavisinde kullanılabilecek güçlü bir antifungal aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir.

Şengül ve ark. (2015), *V. georgicum* bitkisinin antimikrobiyal etkilerini inceledikleri çalışmalarında *C. albicans*'a ve 10 farklı bakteri türüne karşı metanol ekstraktlarının etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Amin ve ark. (2015), *C. albicans, B. subtilis, S. aureus, S. epidermidis, E. coli* ve *P. aeruginosa* mikroorganizmalarına karşı *V. sinuatum* bitkisinin su ve organik çözücülerle hazırlanan ekstraktların antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmada kuyucuk difüzyon yöntemi ve seri seyreltme yöntemi kullanılmışlar ve kuyu difüzyon yönteminde *P. aeruginosa* ve *C. albicans* dışındaki tüm mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gözlemlerken; seri dilüsyon yönteminde tüm mikroorganizmalara karşı aktivite tespit etmişlerdir.

Anil ve ark. (2016), *V. caesareum* bitkisinin toprak üstü kısımlarını su, kloroform, metanol, etil asetat ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini mikrodilüsyon yöntemini kullanarak çalışmışlardır. Etil asetat ve su ekstraktları 2 gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 12228), üç gram negatif (*P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922 ve *K. pneumoniae* ATCC 4352) bakteri ve 1 maya

kültürüne (*C. albicans* ATCC 10231) karşı test edilmiştir. Etil asetat ekstraktı tüm mikroorganizmalara karşı 1250 µg/mL konsantrasyonu ile MİK değeri gösterirken; su ekstraktı *S. aureus, S. epidermidis* ve *E. coli* strainlerine karşı 2500 µg/mL MİK değeri ve *K. pneumoniae, P. aeruginosa, P. mirabilis* ve *C. albicans* test organizmalarına karşı ise 1250 µg/mL MİK değeri sergilediği bildirilmiştir.

Boğa ve ark. (2016), endemik *V. pinetorum* bitkisinin fitokimyasal içerik ve antioksidant antikolinesteraz ve DNA hasar koruma aktivitelerini incelemişler ve malik asit, palmitik ve stearik asitler içeriklerini tespit etmişlerdir. Ayrıca DPPH serbest radikal temizleme aktivitesinde, aseton ve metanol ekstraktları, test edilen tüm konsantrasyonlarda BHT'den daha yüksek aktivite göstermiştir. Aseton, metanol ve su ekstraktları, güçlü inhibisyon gösterirken, aseton ekstraktı sırasıyla, ABTS katyon radikal süpürücü ve bakır azaltıcı antioksidan kapasite analizlerinde standart olarak kullanılan BHT ve a-tokoferol'den daha iyi aktivite göstermiştir. Tüm ekstraktların antialzheimer aktivitesinde inaktif olduğu bulunmuş; aseton ekstraktının, *C. albicans* maya kültürüne karşı orta düzeyde antimikrobiyal aktivitesi olduğu ve metanol ekstraktının DNA bölünme koruması üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir.

Prakash ve ark. (2016), *E. coli, Yersinia pestis, B. cereus, P. aeruginosa, Listeria monocytogenes* ve *S. aureus* gibi tıbbi açıdan önemli patojenlere karşı *V. thapsus* bitkisinin metanol ve aseton ekstraktlarının antibakteriyel etkisini çalışmışlardır. Kuyucuk agar difüzyonu yöntemi farklı konsantrasyonlarda (%25, %50, %75 ve %100) uygulanmıştır. Belirtilen bakteri strainlerine karşı zayıftan güçlüye kadar değişen antibakteriyel aktivite saptanmıştır. Metanol yaprak ekstraktı, aseton yaprak ekstraktı ile karşılaştırıldığında patojen bakterilere karşı daha fazla etkiye sahip olduğu ispatlanmıştır. Yine her iki ekstraktın gram pozitif bakteriler üzerinde diğerlerine nazaran daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Alahmer (2017), 8 farklı *Verbascum* türünün (*V. speciosum, V. chaeriantifolium, V. nudatum* var. *nudatum, V. pycnostachyum, V. cariense, V. lasianthum, V. domulosum* ve *V. georgicum*) etil alkol (%60) ve su (%40) karışımından oluşan çözücü ile elde edilen ekstraktlarının farklı mikroorganizmalara (*B. subtilis* DSMZ 1971, *E. aerogenes* ATCC 13048, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium, E. coli* ATCC 25922, *K. pneumonia, P. aeruginosa* DSMZ 50071, *P. fluorescens* P1, *S. enteritidis* ATCC 13075, *S. infantis, S. kentucky, S. typhimurium* SL 1344, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* DSMZ 20044 ve *C. albicans* DSMZ 1386) karşı antimikrobiyal aktivitelerini disk difüzyon yöntemi ve MİK yöntemlerini kullanarak araştırmıştır. En yüksek etkinin *V. dumulosum* tarafından 14

mm'lik zon çapı ile *C. albicans* 'a karşı ve aynı zon çapı ile *V. georgium*'un *B. subtilis*'e karşı etki gösterdiği bildirilmiştir.

Dülger ve Dülger (2018), *V. antinori* bitkisinin metanol ekstraktının *S. aureus* ATCC 6538P, *P. vulgaris* ATCC 8427, *K. pneumoniae* UC57, *M. luteus* CCM 169, *E. coli* ATCC 11230, *L. monocytogenes* ATCC 15313, *B. cereus* ATCC 7064 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesini disk difüzyon yöntemiyle inceledikleri çalışmalarında bitki ekstraktının Gram pozitif bakterilere karşı güçlü antagonistik etkiye sahipken; Gram negatif bakteriler üzerinde ise etkisiz olduğunu bildirmişlerdir.

BÖLÜM 3
MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Örnek Toplanması ve Teşhis

Materyal olarak Çanakkale ilinden toplanmış olan *V. pinnatifidum* Vahl. ve *V. antinori* Boiss. & Hedr. bitki türleri kullanılacaktır. Toplanan bitki örnekleri Türkiye Florası'ndan (Huber-Morath, 1978; Davis ve ark., 1988; Ekim ve ark., 2000) yararlanılarak Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ersin KARABACAK tarafından teşhis edilmiştir. Her iki örnek Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Herbaryumunda saklanmaktadır (Çizelge 3.1; Şekil 3.1a ve b; Şekil 3.2a ve b).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılacak olan bitki örnekleri

Tür	Toplandığı alan	Toplayıcı
Verbascum pinnatifidum	Çanakkale: Kumkale, fener yakını, d.s. kumullar 40.008101 N, 26.203127 E	E. Karabacak
Verbascum antinori	Çanakkale: Ayvacık, Balabanlı, Sivrice köyü yolu, 300 m, volkanik kayalıklar, 39.495868 N, 26.218705 E, 4 viii 2018	E. Karabacak

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Bitki Türleri ve Tanımları

3.1.2.1. *V. pinnatifidum* Vahl. Bitkisinin Genel Özellikleri

15-50 cm boyunda, gevşekçe grimsi tomentos tüylü'den çıplaklaşan iki yıllık otsu bitkiler. Gövdeler tabandan itibaren dallanmış, ince ya da çalımsı, yuvarlak. Taban yaprakları dikdörtgenimsi ilâ mızraksı, 3-17x6 cm, parçalanmış dişli ile derince pinnatlı, loblar dikdörtgenimsi, tam kenarlı, dişli veya pinnatifid; üst gövde yaprakları testere dişli-dişli, dikdörtgenimsi ilâ üçköşeli. Çiçek durumları çok sayıda ince dallı, 2-4 çiçeğin gevşekçe düzenlendiği kümelerin oluşturduğu piramit şeklindeki salkımlardan oluşur. Brakteler yüreksi ile üç köşeli-yumurtamsı, testere dişli-dişli. Çiçekler sapsız; brakteoller mızraksı, sıklıkla dişçikli. Kaliks 5-8 mm, loblar şeritsi-mızraksı, uçları sivri. Korolla sarı, 20-30 mm çapında, çok sayıda saydam salgı tüyü bulunur, dış tarafı yıldızsı-tomentos tüylü. Stamenler 5 adet, anterler böbreksi, filamentler beyazımsı-sarı yünlü tüylü, 2 alt stamen tepesine yakın çıplak. Kapsül eliptik-yumurtamsı, 4-5×3,5-4 mm, tomentos tüylü ve az çok çıplaklaşan (Huber-Morath, 1978).

Çiçeklenme: Mayıs-Ağustos.

Yetişme Yeri Özellikleri: Sahil kumulları, deniz seviyesindeki sabitleşmiş kumullar.

Yayılış: Çoğunlukla Kuzey-Batı Anadolu'da ve adalarda yayılış gösterir. Yunanistan, Kırım, Transkafkasya, Doğu Akdeniz elementi.

Diğer Özellikleri: Yörede " Dedengil" adı ile tanınır.



Şekil 3.1a. *V. pinnatifidum* bitkisinin genel görünümü (http://www.plantarium.ru/page/image/id/160990.html) (23.01.2019)



Şekil 3.1b. *V. pinnatifidum* bitkisinin çiçek görüntüsü (https://www.greekflora.gr/el/flowers/2612/*Verbascum pinnatifidum*) (23.01.2019)

3.1.2.2. *V. antinori* Boiss. & Hedr. Bitkisinin Genel Özellikleri

30-100 cm boyunda, bütün her tarafı yoğun beyaz-keçemsi tüylü iki yıllık otsu bitkilerdir. Gövdeler ince, yuvarlak ve birkaç dallı. Taban yaprakları ters yumurtamsı-mızraksı, 7-10×3-4,5 mc, ondüleli kenarlı ve genellikle uçları yuvarlakımsı yırtıklı loblu, yaprak sapı 2-4 cm; gövde yaprakları ondüleli, hemen hemen düz uçlu, kıyıları aşağı doğru kayıcı. Çiçek durumları dallanmış, 2-7 çiçeğin gevşekçe düzenlendiği kümelerin oluşturduğu dar bir salkım şeklinde. Brakteler üçköşeli-yüreksi, sivri uçlu, tomentos tüylü, çok sayıda sapsız salgı tüyü bulunur. Çiçek sapları 3 mm'ye kadar; brakteoller yumurtamsı. Kaliks 4-6 mm, yoğun salgı tüylü ve yıldızsı-tomentos tüylü, loblar mızraksı

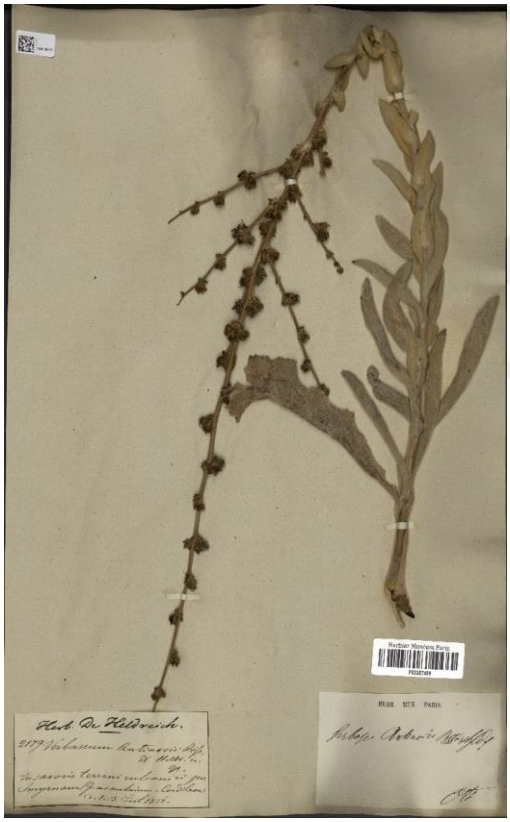
ilâ yumurtamsı. Korolla sarı, 20-30 mm çapında, saydam salgı tüyleri bulunmaz, dış tarafı tomentos tüylü. Stamenler 5 adet, anterler böbreksi, filamentler beyazımsı-sarı yünlü tüylü, 2 alt stamen yukarı kısımlarında çıplak. Kapsüller yumurtamsı ilâ küremsi, 4-6×3-5 mm, tomentos tüylü ve az çok çıplaklaşan.

Çiçeklenme: Nisan-Temmuz.

Yayılış: Kuru volkanik yamaçlar, kayalıklar, harabelikler, deniz seviyesinden-50 m'ye kadar yayılış gösterir.

Batı Anadolu'da ve Ege adalarında yayılış gösterir (Huber-Morath, 1978).

Diğer Özellikleri: Endemik, Doğu Akdeniz elementi. Yörede "Sıskasığırkuyruğu" adı ile tanınır.



Şekil 3.2a. *V. antinori* bitkisinin Tip örneği (MNHN-P-P03287499) Paris herbaryumu (http://portal.cybertaxonomy.org/flora-greece/cdm_dataportal/taxon/724d9391-4647-4e5a-b068-3592fa60910c) (23.01.2019)



Şekil 3.2b. *V. antinori* bitkisinin çiçek görüntüsü (http://portal.cybertaxonomy.org/flora-greece/cdm_dataportal/taxon/724d9391-4647-4e5a-b068-3592fa60910c) (23.01.2019)

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekstraktların Elde Edilmesi

Bitki materyalleri oda sıcaklığında yapılan kurutmanın ardından aseptik şartlarda mekanik parçalayıcı yardımıyla toz haline getirilmiştir. 15 g olarak tartılan her iki bitki materyali 150 mL'lik etanol, aseton, metanol ve etil asetat (%96) çözgenleri içinde Sokslet cihazında 12 saat süre ile ekstraksiyona tabi tutulmuşlardır. İşlemler bittikten sonra, evaporatör (Spektral, Heidolph, Laborota 4001) ile çözgenleri uçurulup elde edilen ham ekstraktlar buzdolabında (0-4 ºC) deney basamağına kadar muhafaza edilmiştir. Deneyler için dimetil sülfoksit (DMSO)'da çözülerek farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstraktlar, membran filtre (0,2 µm) ile steril edilmiş ve çalışılmaya hazır hale getirilmişlerdir (Hacıoğlu, 2010).

3.2.1.1. Ekstrakt Verimi Analizi

Her iki bitki türünün 4 farklı çözgende yapılan ekstraksiyonları sonucunda ekstrakt verimliliği Güner (2011)'e göre tespit edilmiştir. Bu amaçla tüm ekstrakların ürün verimi

aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

Verim (%) = Ekstrakt ağırlığı (g) / 15 g toz bitki örneği x 100 (3.1)

3.2.2.Test Mikroorganizmaları

Antimikrobiyal ve antibiyofilm çalışmalarında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Kültür Koleksiyonu'ndan temin edilmiş olan Gram negatif (*Escherichia coli* NRRL B-3704, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Acinetobacter baumanii* ATCC 19606), Gram pozitif (*Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. haemolyticus* ATCC 43252) bakterileri ile *Candida albicans* ATCC 10231 maya kültürü olmak üzere toplam 8 adet mikroorganizma kullanılmıştır.

3.2.3. Antimikrobiyal Etkilerin Belirlenmesi

Ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon ve mikrodilüsyon metotları kullanılarak tespit edilmiştir.

3.2.3.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Çalışmada kullanılan bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde disk difüzyon metodu kullanılmıştır (Bauer, 1966). Çalışmada bakteri ve mayaların antimikrobiyal aktivitesini belirlemede besiyeri olarak Mueller Hinton Agar (MHA, OXOID, UK) kullanılmıştır. Test bakterilerinin canlandırması, Brain Heart Infusion Broth (BHI, OXOID, UK) besiyerine bir öze dolusu bakteri kültürü alınarak 37±0.1°C'de 24 saat inkübasyonla yapılırken, maya kültürü için Malt Extract Broth (MEB, OXOID, UK) besiyerinde 30±0.1 °C'de 24 saat süreyle yapılmıştır. Test kültürleri %0,9'luk tuzlu su ile 0,5 McFarland seviyesine seyreltilmiştir. Canlandırılmış test mikroorganizmalarından MHA besiyeri yüzeyine 100 µL pipetlenmiş ve L baget yardımıyla tüm yüzeye yayılmıştır. Ekstrakt emdirilmiş diskler steril pens ile petri kabına bırakılmıştır. İnokule edilen plaklardaki bakteriler 37±0.1°C'de, maya kültürü ise 30±0.1 °C'de 24 s inkübe edilmiştir. Steril kağıt disklere (6 mm çap) ekstraktlardan 50 µL emdirilmiştir. 24 saatlik sürenin ardından disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür. Ayrıca negatif kontrol olarak sadece çözgen emdirilmiş olduğu diskler, pozitif kontrol için ise standart antibiyotik diskleri [Penisilin (P10), Nistatin (NYS 100), Streptomisin (S10), BIOANALYSE, TÜRKİYE] kullanılmıştır (CLSI, 2006).

3.2.3.2. Mikrodilüsyon Yöntemi

Çalışma konusunu oluşturan bakteri ve maya kültürleri üzerine bitki ektraktlarının Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değerleri mikrodilüsyon metoduna göre saptanmıştır (Wikler, 2006). Canlandırma yapılmış kültürler üzerine bitki ekstraktlarının seri dilüsyonlarında (20, 15, 10, 5, 2,5, 1,25 mg/mL) inhibisyon dozlarının belirlenebilmesi için 96 kuyucuklu mikroplaklar kullanılmıştır. Mikroplak kuyucuklarına 50 µL Mueller Hinton Broth (MHB, OXOID, UK), 50 µL ekstrakt, 50 µL bakteri ve maya kültürü konulmuştur. Bakteri kültürleri 37±0.1 °C'de, maya kültürü ise 30±0.1 °C'de 24 s inkübe edilmiş ve bulanıklığın görülmediği ilk kuyu MİK olarak belirlenmiştir. Ölçümler üç tekrarlı olarak yapılmış ve MİK değerleri ölçümleri Mikroplaka Okuyucu cihazında 550 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir.

MİK değerinin elde edildiği seyreltme ve MİK değerinin üstünde gözle görünür üremenin olmadığı kuyucuklardan MHA besiyerine damla plak yöntemiyle 10 µL inokülasyon yapılmış bakteri kültürleri 37±0.1 °C'de, maya kültürü ise 30±0.1 °C'de 24 s inkübasyona tabi tutulmuştur. Petri kabında gözle görünür üremenin olmadığı ekstrakt konsantrasyonu bakteriler için Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) maya kültürü içinde Minimum Fungisidal Konsantrasyon (MFK) kabul edilmiştir.

3.2.4. Antibiyofilm Aktivite Tayini

Her iki bitki türünden elde edilen ekstraktların test mikroorganizmalarının biyofilm oluşturma kabiliyetlerini giderme üzerine etkileri MİK ve MİK altı konsantrasyonlarda Merritt ve ark. (2005)'e göre yapılmıştır. Yapılan bir seri işlemden sonra mikroplakaya örnekler alınmış ve son optik dansiteleri Mikroplaka Okuyucu ile 550 nm'de okunmuştur. Çalışma 3 kontrol grubu kullanılmıştır: 1. grup negatif kontrol grubu olup sadece besiyeri ortamı içerirken; 2. grup pozitif kontrol olup besiyeri ortamına bakteriler ve maya kültürü inoküle edilmiştir. 3. grupta ise bakteri inoküle edilecek olan besiyeri ortamına bitkilerden elde edilen ekstraktlar ilave edilmiştir. Üç tekrarlı yapılan denemelerde ekstraktların antibiyofilm etkisinin ölçülmesi yüzde indirgeme formülasyonu ile yapılmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{kontrol} - A_{örnek} / A_{kontrol}) \times 100 \quad (3.2)$$

$A_{kontrol}$: Kontrol reaksiyonunun absorbansı

$A_{örnek}$: Test bileşiklerinin absorbansı

BÖLÜM 4
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Ekstraktların Ürün Verimliliği

Her iki bitki türünün 4 farklı çözgende yapılan ekstraksiyonları sonucunda elde edilen ekstrakt verimliliği bulguları Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Ürün verimliliği bakımından her iki bitki türü kıyaslandığında *V. pinnatifidum* bitkisine nazaran *V. antinori* bitkisinin nispeten üstün olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte metanol dışındaki diğer üç çözgeninde *V. antinori* bitkisi içerisinde bulunan muhtemel etken maddeleri çözmede yüksek verimlilikte çalıştıkları tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Ekstraktların ürün verimliliği

Çözgen	**Ekstrakt ağırlığı (g)**		**Verim (%)**	
	V. pinnatifidum	*V.antinori*	*V. pinnatifidum*	*V.antinori*
Etanol	0,13	2,07	0,89	13,80
Metanol	1,13	0,39	7,58	2,60
Aseton	0,19	4,40	1,31	29,38
Etil asetat	0,29	1,99	1,94	13,29

4.2. Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivite Bulguları

V. pinnatifidum ve *V.antinori* bitki materyallerinin 4 farklı çözgenden elde edilen ekstraktlarının test kültürleri üzerine antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla yaptığımız çalışmanın bulguları Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'de verilmiştir.

4.2.1. *V. pinnatifidum* Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi

V. pinnatifidum bitki türünün etanol, metanol, aseton ve etil asetat ekstraktlarının disk difüzyon metoduna göre *E. coli* NRRLB 3704 (Şekil 4.3), *A. baumanii* ATCC 19606, *S. aureus* ATCC 6538P, *S. haemolyticus* ATCC 43252 bakteri kültürlerine ve *C. albicans* ATCC 10231 maya kültürüne karşı (aseton ekstraktı hariç) (Şekil 4.2) yok denecek kadar az antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. *P. vulgaris* ATCC 13315 (etanol ekstraktı hariç) ve *B. subtilis* ATCC 6633 (Şekil 4.1) test bakterilerine karşı ise *V. pinnatifidum* bitkisinden elde edilen tüm ekstraktların mukayese antibiyotiği P10'dan düşük olmakla beraber kayda değer antibakteriyel etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. *V. pinnatifidum* bitki türünün tüm ekstraktlarının *P. aeruginosa* ATCC 27853 test bakterisine

karşı ise mukayese antibiyotiği P10'dan yüksek antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.2).

Kontrol amacıyla sadece etanol, metanol, aseton ve etil asetat emdirilen disklerin etrafında 0-1 mm çapında zonlar ölçülmüştür.

Araştırmada, *V. pinnatifidum* bitkisinden elde edilen 4 farklı ekstraktın tüm test edilen bakteri ve maya kültürlerine karşı 0,3125-20 µg/mL aralığında değişen oranlarda MİK değerleri tespit edilmiştir. *P. vulgaris* ATCC 13315, *A. baumanii* ATCC 19606 ve *S. aureus* ATCC 6538P bakterilerinin sadece metanol; *S. haemolyticus* ATCC 43252 bakterisinin sadece etanol ekstraktı mukayese antibiyotiği S10'a göre daha düşük MİK değerine sahipken; *B. subtilis* ATCC 6633 test bakterisinin etanol ve metanol ekstraktının ve *C. albicans* ATCC 10231 maya kültürünün aseton hariç üç ekstraktının MİK değerlerinin mukayese antibiyotiği S10 ile elde edilen MİK değerinden daha düşük olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2; Şekil 4.7a).

V. pinnatifidum bitkisinden elde edilen 4 farklı ekstraktın tüm test edilen bakteri ve maya kültürlerine MBK değerleri 5-20 µg/mL aralığında değişim gösterirken; en düşük MBK oranının ise 5 µg/mL ile *S. haemolyticus* ATCC 43252 test bakterisine karşı *V. pinnatifidum* etil asetat ekstraktından elde edildiği görülmektedir (Çizelge 4.2; Şekil 4.8).

4.2.2. *V. antinori* Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi

V. antinori bitki türünün etanol, metanol, aseton ve etil asetat ekstraktlarının disk difüzyon metoduna göre çalışılan tüm test kültürlerine karşı değişen oranlarda önemli derecede antagonistik etki gösterdiği görülmektedir. Bununla birlikte elde edilen antimikrobiyal değerlerin *E.coli* NRRLB 3704, *P. vulgaris* ATCC 13315 (Şekil 4.4), (etil asetat ekstraktı hariç), *B. subtilis* ATCC 6633 (etanol ve etil asetat ekstraktları hariç), *S. aureus* ATCC 6538P (Şekil 4.6), *S. haemolyticus* ATCC 43252 bakteri kültürleri ile *C. albicans* ATCC 10231 maya kültürüne karşı mukayese antibiyotikleri P10 ve NY100'e kıyasla daha düşük kaldığı görülmüştür. *V. antinori* bitkisinin tüm ekstraktlarının ise *P. aeruginosa* ATCC 27853 (Şekil 4.5) ve *A. baumanii* ATCC 19606 test strainlerine karşı mukayese antibiyotiği P10'a kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Kontrol amacıyla sadece etanol, metanol, aseton ve etil asetat emdirilen disklerin etrafında 0-1 mm çapında zonlar ölçülmüştür.

Araştırmada, *V. antinori* bitkisinden elde edilen 4 farklı ekstraktın tüm test edilen bakteri ve maya kültürlerine karşı 2,5 - 20 µg/mL aralığında değişen oranlarda MİK

değerleri tespit edilmiştir. Tüm ekstraktların MİK değerlerinin mukayese antibiyotiğinin MİK değerinden daha yüksek olduğu tespit edilmiş olup; sadece *C. albicans* ATCC 10231 maya kültürüne karşı *V. antinori* etanol ekstraktının mukayese antibiyotiğine eşdeğerde ve *B. subtilis* ATCC 6633 bakterisine karşı *V. antinori* etanol ekstraktının mukayese antibiyotiğinden daha düşük MİK değerine sahip olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.3; Şekil 4.7b).

V. antinori bitkisinden elde edilen 4 farklı ekstraktın tüm test edilen bakteri ve maya kültürlerine MBK değerleri 2,5 - 20 µg/mL aralığında değişim gösterirken; en düşük MBK oranının *V. antinori* etanol ekstraktıyla 2,5 µg/mL ile *B. subtilis* ATCC 6633 bakterisi ve 5 µg/mL MBK değeriyle *C. albicans* ATCC 10231 maya kültürüne karşı elde edildiği görülmektedir (Çizelge 4.3; Şekil 4.9).

Literatürde *Verbascum* cinsi üyelerini kapsayan (özellikle *V. speciosum, V. mucronatum, V. thapsus*) çok sayıda antimikrobiyal aktivite çalışması olduğu görülmektedir (Şener ve Dülger (2009; Amin ve ark., 2015; Dülger ve ark., 2015; Ghasemi ve ark., 2015; Anil ve ark., 2016). Çalışma materyalimizi oluşturan *V. pinnatifidum* bitki türü ile yapılan bu kapsamdaki çalışmalara rastlanılamamışken; *V. antinori* türü ile Dülger ve Dülger (2018), tarafından yapılan antimikrobiyal aktivite çalışması tespit edilmiştir.

Dülger ve Dülger (2018), *V. antinori* bitkisinin metanol ekstraktının *S. aureus* ATCC 6538P, *P. vulgaris* ATCC 8427, *K. pneumoniae* UC57, *M. luteus* CCM 169, *E. coli* ATCC 11230, *L. monocytogenes* ATCC 15313, *B. cereus* ATCC 7064 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesini incelemişler ve Gram pozitif bakterilere karşı etkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca *S. aureus* ATCC 6538P, *B. cereus* ATCC 7064, *L. monocytogenes* ATCC 15313, *M. luteus* CCM 169 bakterilerine karşı sırasıyla elde edilen 22,6 mm, 20,4 mm, 14,2 mm ve 17,4 mm zon çaplarının mukayese antibiyotiklerinden dahi yüksek orana sahip olduğunu da belirtmişlerdir.

Çalışmamızda Dülger ve Dülger (2018)'e benzer şekilde Gram pozitif bakteriler üzerine antibakteriyel etki saptanmış olmakla birlikte; *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *A. baumanii* ATCC 19606 Gram negatif bakterilerine karşı elde edilen yüksek antagonistik ilişki bu çalışmadan farklılık arz etmektedir.

Özcan ve ark. (2010), çalışmalarında *V. antiochium* bitkisinin *E. coli* ve *C. albicans* strainlerine karşı antimikrobiyal etki göstermediğini; Amin ve ark. (2015), *V. sinuatum* bitki ekstraktlarının *P. aeruginosa* ve *C. albicans* dışındaki test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite gözlemlerken; Morteza-Semnani ve ark. (2012), *V. thapsus* bitkisinin *B. subtilis* PTCC 1023, *S. aureus* PTCC 1112, *S. typhi* PTCC 1639, *P.*

aeruginosa PTCC 1074 ve *Aspergilus niger* PTCC 5011 üzerine etkili; *E. coli* PTCC 1330 ve *C. albicans* PTCC 5027 kültürlerine karşı ise anatagonistik etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmalarda çalışılan *Verbascum* türlerinin genel olarak Gram pozitif bakterilerde etkili iken Gram negatif bazı bakterilerde ve *C. albicans* türünde etkisiz olduğu belirtilmiştir.

Bu konuda yapılan diğer bazı çalışmalarda ise yukarıdaki verilerin aksine çalışma materyali olan *Verbascum* bitki türlerinin özellikle *E. coli* gibi Gram negatif bakterilerde ve *C. albicans* maya kültürü üzerinde etkili oldukları bildirilmiştir (Şener ve Dülger, 2009; Noori ve ark., 2012; Dülger ve ark., 2015; Ghasemi ve ark., 2015).

Verbascum cinsi üyesi bitki türlerinin aynı test mikroorganizmaları üzerinde farklı sonuçlar vermesinin nedeninin bitkinin toplandığı lokalite, ekolojik durum, mevsim farklılıkları ile ekstraksiyon yöntemlerindeki çeşitlilik, ürün verimliliği ve çalışılan farklı bakteri türü veya straini (*A. baumanii* ATCC 19606) ile ilgili sebeplerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.2. *V. pinnatifidum* bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi

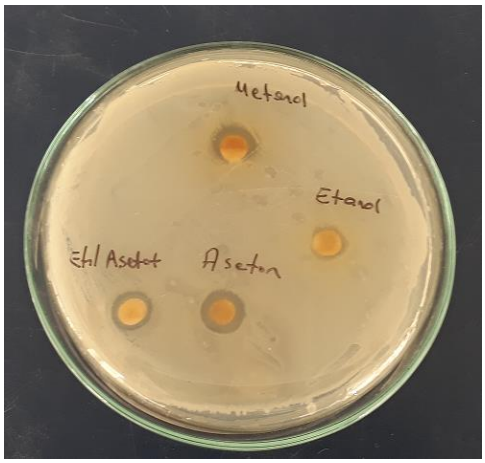
Test Mikroorganizmaları	**Antimikrobiyal Test Yöntemleri**																			
	***Disk Difüzyon[a]**						**MİK**						**MBK/MFK**				**MBK ya da MFK/MİK**			
	Bitki Ekstraktları (mm)				**Kontrol (mm)**		**Bitki Ekstraktları (µg/mL)**				**Kontrol**		**Bitki Ekstraktları (µg/mL)**				**Bitki Ekstraktları**			
	E1	**E2**	**E3**	**E4**	**P10**	**NY100**	**E1**	**E2**	**E3**	**E4**	**S10**	**NY100**	**E1**	**E2**	**E3**	**E4**	**E1**	**E2**	**E3**	**E4**
E. coli NRRLB 3704	8,0	8,0	8,3	8,0	16,0	D	10,0	5,0	5,0	5,0	4,0	D	10,0	20,0	20,0	20,0	1,0	4,0	4,0	4,0
P. aeruginosa ATCC 27853	10,0	10,3	12,3	10,0	8,0	D	5,0	5,0	20,0	10,0	1,0	D	10,0	20,0	20,0	20,0	2,0	4,0	1,0	2,0
P. vulgaris ATCC 13315	13,3	11,0	9,3	9,3	13,0	D	10,0	2,5	10,0	20,0	4,0	D	10,0	20,0	20,0	20,0	1,0	8,0	2,0	1,0
A. baumanii ATCC 19606	8,3	7,6	7,0	7,3	12,0	D	2,5	0,3125	5,0	5,0	2,0	D	20,0	20,0	20,0	20,0	8,0	64,0	4,0	4,0
B. subtilis ATCC 6633	9,3	11,3	11,3	11,3	14,0	D	0,3125	0,3125	20,0	5,0	4,0	D	20,0	20,0	20,0	10,0	64,0	64,0	1,0	2,0
S. aureus ATCC 6538P	7,0	7,3	7,0	7,6	15,0	D	5,0	2,5	20,0	10,0	4,0	D	20,0	20,0	20,0	10,0	4,0	8,0	1,0	1,0
S. haemolyticus ATCC 43252	7,0	8,0	7,0	7,0	14,0	D	2,5	5,0	20,0	5,0	5,0	D	10,0	20,0	20,0	5,0	4,0	4,0	1,0	1,0
C. albicans ATCC 10231	7,0	7,0	10,3	8,3	D	16,0	0,625	2,5	10,0	1,25	D	2,5	20,0	20,0	20,0	10,0	32,0	8,0	2,0	8,0

E1: Etanol ekstraktı, E2: Metanol ekstraktı, E3: Aseton ekstraktı, E4: Etil asetat ekstraktı; (*): Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. P10 = Penisilin (10 µg/disc); NY100: Nistatin (100 µg/disc); S10: Streptomisin (10 µg/disc); D: Denenmedi

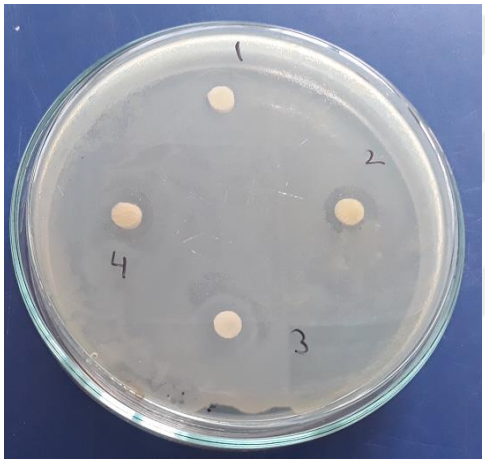
Çizelge 4.3. *V. antinori* bitki ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi

Test Mikroorganizmaları	Antimikrobiyal Test Yöntemleri																			
	*Disk Difüzyon[a]						MİK						MBK/MFK				MBK ya da MFK/MİK			
	Bitki Ekstraktları (mm)				Kontrol (mm)		Bitki Ekstraktları (µg/mL)				Kontrol		Bitki Ekstraktları (µg/mL)				Bitki Ekstraktları			
	E1	E2	E3	E4	P10	NY100	E1	E2	E3	E4	S10	NY100	E1	E2	E3	E4	E1	E2	E3	E4
E. coli NRRLB 3704	12,0	11,0	12,0	11,0	16,0	D	20,0	10,0	10,0	20,0	4,0	D	20,0	20,0	20,0	20,0	1,0	2,0	2,0	1,0
P. aeruginosa ATCC 27853	12,0	9,0	10,0	12,0	8,0	D	10,0	10,0	5,0	10,0	1,0	D	10,0	20,0	10,0	10,0	1,0	2,0	2,0	1,0
P. vulgaris ATCC 13315	11,0	10,0	12,0	15,0	13,0	D	10,0	10,0	20,0	20,0	4,0	D	20,0	20,0	20,0	20,0	2,0	2,0	1,0	1,0
A. baumanii ATCC 19606	11,6	13,3	15,3	13,0	12,0	D	10,0	10,0	20,0	20,0	2,0	D	10,0	20,0	20,0	20,0	1,0	2,0	1,0	1,0
B. subtilis ATCC 6633	15,0	11,0	12,0	16,0	14,0	D	2,5	5,0	10,0	10,0	4,0	D	2,5	10,0	10,0	10,0	1,0	2,0	1,0	1,0
S. aureus ATCC 6538P	11,0	12,0	12,0	11,0	15,0	D	10,0	10,0	10,0	10,0	4,0	D	20,0	20,0	20,0	10,0	2,0	2,0	2,0	1,0
S. haemolyticus ATCC 43252	12,0	11,0	11,0	11,0	14,0	D	10,0	10,0	20,0	20,0	5,0	D	20,0	20,0	20,0	20,0	2,0	2,0	1,0	1,0
C. albicans ATCC 10231	10,0	10,0	10,0	10,0	D	16,0	2,5	5,0	10,0	10,0	D	2,5	5,0	10,0	20,0	20,0	2,0	2,0	2,0	2,0

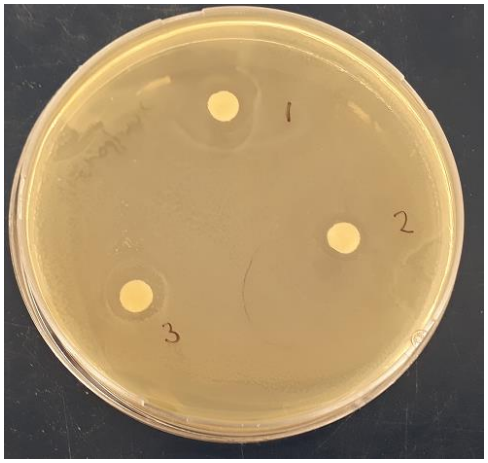
E1: Etanol ekstraktı, E2: Metanol ekstraktı, E3: Aseton ekstraktı, E4: Etil asetat ekstraktı; (*): Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. P10 = Penisilin (10 µg/disc); NY100: Nistatin (100 µg/disc); S10: Streptomisin (10 µg/disc); D: Denenmedi



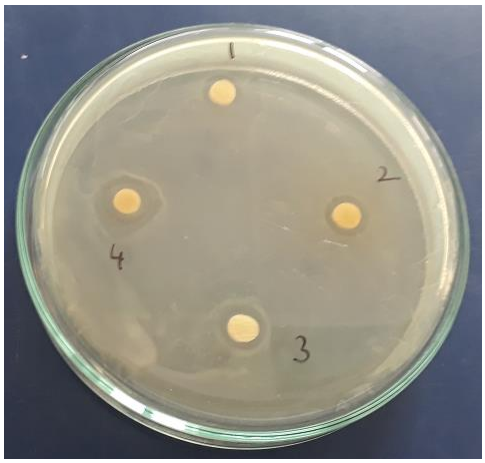
Şekil 4.1. *V. pinnatifidum* bitkisinin *B. subtilis* ATCC 6633 bakteri kültürüne karşı disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi



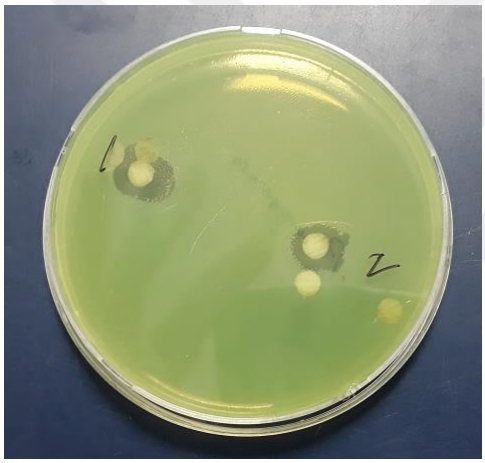
Şekil 4.2. *V. pinnatifidum* bitkisinin *C. albicans* ATCC 10231 maya kültürüne karşı disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi; 1:etanol ekstraktı, 2: aseton ekstraktı, 3: metanol ekstraktı, 4: etil asetat ekstraktı,



Şekil 4.3. *V. pinnatifidum* bitkisinin *E. coli* NRRLB 3704 bakteri kültürüne karşı disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi; 1: etanol ekstraktı, 2: metanol ekstraktı, 3: aseton ekstraktı



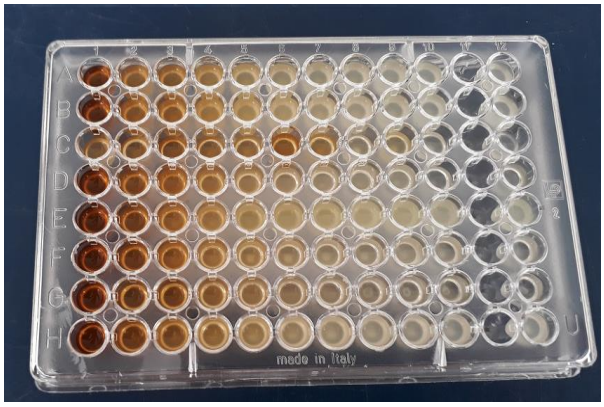
Şekil 4.4. *V. antinori* bitkisinin *P. vulgaris* ATCC 13315 bakteri kültürüne karşı disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi; 1: etanol ekstraktı, 2: metanol ekstraktı, 3: aseton ekstraktı, 4: etil asetat ekstraktı



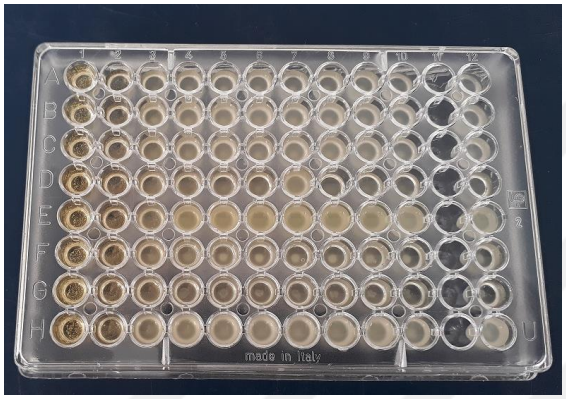
Şekil 4.5. *V. antinori* bitkisinin *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakteri kültürüne karşı disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi; 1: etanol ekstraktı, 2: etil asetat ekstraktı



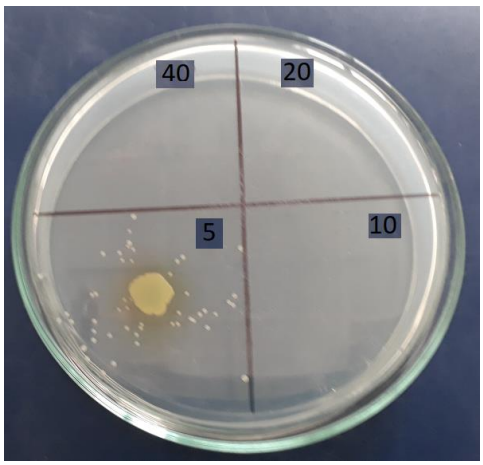
Şekil 4.6. *V. antinori* bitkisinin *S. aureus* ATCC 6538P bakteri kültürüne karşı disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisi; 1: etanol ekstraktı, 2: metanol ekstraktı, 3: aseton ekstraktı



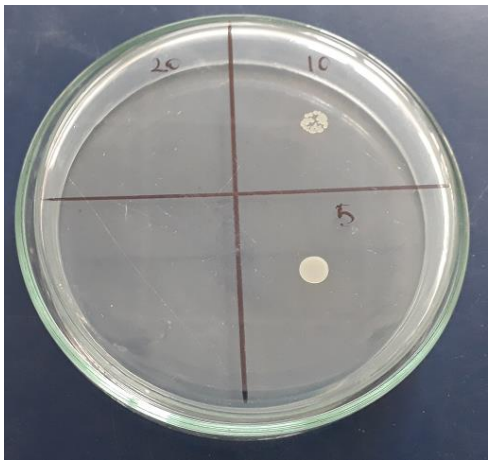
Şekil 4.7a. *V. pinnatifidum* bitkisinin test mikroorganizmalarına karşı metanol ekstraktının MİK sonuçları



Şekil 4.7b. *V. antinori* bitkisinin test mikroorganizmalarına karşı aseton ekstraktının MİK sonuçları



Şekil 4.8. *V. pinnatifidum* bitkisinin
S. haemolyticus ATCC 43252 bakterisine karşı etil asetat ekstraktının MBK sonuçları



Şekil 4.9. *V. antinori* bitkisinin *A. baumanii* ATCC 19606 bakterisine karşı metanol ekstraktının MBK sonuçları

4.3. Bitki Ekstraktlarının Antibiyofilm Aktivite Bulguları

Test materyalleri olan *V. pinnatifidum* ve *V.antinori* bitki türlerinin 4 farklı çözgende elde edilen ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerine antibiyofilm (biyofilm oluşumunu giderme yüzdesi) aktivitelerine ait bulgular Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'de verilmiştir.

4.3.1. *V. pinnatifidum* Bitkisinin Antibiyofilm (Biyofilm Oluşumunu Giderme Yüzdesi) Aktivitesi

V. pinnatifidum bitkisinin 4 farklı ekstraktının test mikroorganizmalarına karşı MİK ve MİK (MİK/2, MİK/4, MİK/8) altı değerleriyle yapılan antibiyofilm (biyofilm giderim yüzdesi) aktivite bulguları Çizelge 4.4'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek biyofilm giderme oranı aseton (E3) ve etanol (E1) ekstraktlarında sırasıyla %92,31 ve %92,18 oranlarıyla *B. subtilis* ATCC 6633 bakterisine karşı elde edilmiştir. Aynı ekstraktların en düşük antibiyofilm aktivite yüzdesi ise *E. coli* NRRLB 3704 bakterisi (tüm ekstraktlar) ile *C. albicans* ATCC 10231 maya kültürüne [aseton (E3) ve etil asetat (E4) hariç] karşı saptanmıştır. Diğer tüm bakterilere karşı ise farklı yüzdelerde yüksek oranda antibiyofilm aktivite tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

4.3.2. *V. antinori* Bitkisinin Antibiyofilm (Biyofilm Oluşumunu Giderme Yüzdesi) Aktivitesi

V. antinori bitkisinden elde edilen 4 farklı ekstraktın test mikroorganizmalarına karşı MİK ve MİK (MİK/2, MİK/4, MİK/8) altı değerleriyle yapılan antibiyofilm (biyofilm

giderim yüzdesi) aktivite bulguları Çizelge 4.5'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek biyofilm giderme oranı etanol (E1), metanol (E2), etil asetat (E4) ve aseton (E3) ekstraktlarında sırasıyla %92,19, %91,19, %91,10 ve %90,01 oranlarıyla *B. subtilis* ATCC 6633 bakterisine karşı elde edilmiştir. En düşük antibiyofilm aktivite yüzdesi ise *E. coli* NRRLB 3704 bakterisine (tüm ekstraktlar) karşı saptanmıştır. Diğer tüm bakterilere karşı ise farklı yüzdelerde yüksek oranda antibiyofilm aktivite tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

Bitkilerden elde edilen preparatlardan mikroorganizmaların biyofilm giderimi üzerine yapılan çalışmalar oldukça yeni bir araştırma alanıdır (Moghaddam ve ark., 2015; Bazargani ve Rohloff 2016; Sanchez ve ark., 2016; Teanpaisan ve ark., 2017). Yapılan literatür taramalarında her iki bitki türünde mikroorganizmaların biyofilmlerinin giderimi üzerine yapılmış herhangi bir çalışma tespit edilememiştir. Dolayısıyla her iki bitki türünün ektraktlarından elde edilen antibiyofilm aktivite bulguları ilk olma niteliği taşımaktadır.

Çizelge 4.4. *V. pinnatifidum* bitki ekstraktlarının antibiyofilm (% inhibisyon) aktivitesi

Ekstraktlar	Test Mikroorganizmaları								
	Konsantrasyon (µg/mL)	***E. coli* NRRLB 3704**	***P. aeruginosa* ATCC 27853**	***P. vulgaris* ATCC 13315**	***A. baumanii* ATCC 19606**	***B. subtilis* ATCC 6633**	***S. aureus* ATCC 6538P**	***S. haemolyticus* ATCC 43252**	***C. albicans* ATCC 10231**
E1	**MİK**	7,27±0,33	74,65±6,23	70,50±0,54	57,42±0,12	90,02±0,01	70,54±0,60	76,12±3,11	10,45±1,14
	MİK/2	3,34±0,08	65,33±5,67	60,03±1,55	43,12±0,10	70,01±0,10	-	58,41±3,12	5,45±0,99
	MİK/4	-	43,56±4,22	45,54±1,00	-	55,78±1,23	-	44,45±4,11	-
	MİK/8	-	34,76±1,76	40,01±0,23	-	43,26±1,43	-	23,56±1,56	-
E2	**MİK**	8,93±0,62	78,15±5,56	74,19±6,41	47,28±1,12	92,18±1,76	67,12±0,55	70,89±0,06	15,78±0,03
	MİK/2	5,67±0,45	66,45±1,77	60,03±3,13	33,16±1,23	76,15±1,00	-	41,06±1,45	10,16±1,13
	MİK/4	-	55,66±2,34	53,45±3,21	-	64,12±0,54	-	22,88±0,09	-
	MİK/8	-	43,21±4,12	34,56±1,22	-	50,10±0,45	-	10,12±0,03	-
E3	**MİK**	10,24±2,33	64,05±1,77	74,65±5,45	46,38±1,14	92,31±1,24	56,14±1,18	67,89±2,37	79,82±1,12
	MİK/2	8,45±1,23	53,12±0,34	48,49±3,10	36,12±1,10	80,01±1,45	-	46,98±0,44	65,67±2,56
	MİK/4	-	44,12±1,12	32,98±1,20	-	70,12±0,56	-	35,12±0,23	56,87±2,33
	MİK/8	-	31,14±1,00	27,62±2,11	-	55,65±0,12	-	15,67±0,15	44,18±1,54
E4	**MİK**	10,03±0,64	76,12±5,67	69,58±3,11	34,12±1,01	90,14±1,88	60,45±1,56	62,67±2,10	68,42±2,48
	MİK/2	5,65±0,55	67,34±3,32	51,43±0,65	-	78,12±1,24	-	51,45±0,64	56,74±2,13
	MİK/4	-	56,12±2,22	34,77±2,59	-	66,12±1,43	-	37,87±0,56	54,32±3,12
	MİK/8	-	40,09±1,10	21,24±1,21	-	56,12±0,05	-	21,76±1,43	34,15±1,12

E1: Etanol ekstraktı, E2: Metanol ekstraktı, E3: Aseton ekstraktı, E4: Etil asetat ekstraktı; (-): Sonuç elde edilemedi; (±): Değerler ortalama± standart sapma şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.5. *V. antinori* bitki ekstraktlarının antibiyofilm (% inhibisyon) aktivitesi

Ekstraktlar	Konsantrasyon (µg/mL)	Test Mikroorganizmaları							
		E. coli **NRRLB 3704**	***P. aeruginosa*** **ATCC 27853**	***P. vulgaris*** **ATCC 13315**	***A. baumanii*** **ATCC 19606**	***B. subtilis*** **ATCC 6633**	***S. aureus*** **ATCC 6538P**	***S. haemolyticus*** **ATCC 43252**	***C. albicans*** **ATCC 10231**
E1	**MİK**	28,17±1,18	82,70±5,62	72,31±5,43	56,98±1,12	92,19±1,14	75,65±0,05	68,93±2,98	48,28±0,21
	MİK/2	-	74,12±0,16	65,45±2,34	45,12±2,20	87,12±2,14	-	56,98±0,67	30,55±6,19
	MİK/4	-	71,18±0,33	56,12±2,21	-	60,09±3,45	-	45,12±0,76	12,80±0,01
	MİK/8	-	63,96±0,23	21,33±1,02	-	56,48±1,23	-	33,12±1,65	1,76±0,05
E2	**MİK**	14,56±1,13	65,21±2,73	70,08±3,65	60,08±1,14	91,19±5,45	74,19±2,32	70,04±4,86	38,35±1,76
	MİK/2	10,03±2,30	46,45±2,11	69,01±3,30	49,09±2,13	84,19±3,56	-	67,90±5,64	14,67±1,10
	MİK/4	-	26,65±1,11	54,46±2,20	-	73,14±3,78	-	50,12±4,98	5,67±1,02
	MİK/8	-	16,15±1,23	23,41±1,09	-	56,12±2,20	-	43,13±3,30	1,20±0,05
E3	**MİK**	15,16±2,15	74,03±1,39	80,88±3,78	67,04±2,13	90,01±1,52	70,60±2,13	65,87±5,69	65,43±5,76
	MİK/2	9,06±1,16	56,88±1,35	69,77±2,98	45,04±2,20	78,34±0,58	-	56,12±4,38	53,64±4,32
	MİK/4	-	43,02±2,86	55,43±1,08	-	67,12±3,65	-	43,23±4,32	37,45±2,20
	MİK/8	-	16,03±4,15	33,98±1,01	-	55,12±2,77	-	23,41±1,43	25,61±1,09
E4	**MİK**	20,98±1,09	61,99±0,68	76,81±3,09	60,03±3,12	91,10±2,34	69,58±4,30	70,12±6,87	35,76±3,21
	MİK/2	15,67±1,03	56,08±3,82	67,91±1,09	50,01±2,13	87,12±3,78	-	65,23±3,98	24,88±2,13
	MİK/4	-	46,55±2,11	54,06±1,04	-	76,76±0,54	-	43,12±2,20	8,76±1,01
	MİK/8	-	-	-	-	-	-	-	-

E1: Etanol ekstraktı, E2: Metanol ekstraktı, E3: Aseton ekstraktı, E4: Etil asetat ekstraktı; (-): Sonuç elde edilemedi; (±): Değerler ortalama±standart sapma şeklinde verilmiştir.

BÖLÜM 5
SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye doğal zenginlikleri, bitki ve hayvan çeşitliliği bakımından eşsiz konumdadır. *Verbascum* cinsi 185 endemik ve 233 tür ile bu zenginliğe önemli katkılar sağlamaktadır. Buna rağmen *Verbascum* cinsi ile yapılan biyolojik aktivite, etnobotanik ve farmakolojik çalışmalar belli başlı türlerle sınırlı kalmıştır. Bu çalışmada *V. pinnatifidum* ve *V. antinori* bitki türlerinden elde edilen ektraktların antimikrobiyal ve antibiyofilm aktiviteleri ortaya konmuştur. Buna göre *V. pinnatifidum* bitkisinin *P. aeruginosa* ATCC 27853, *V. antinori* bitkisinin ise *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *A. baumanii* ATCC 19606 Gram negatif bakterilerine karşı yüksek antibakteriyel aktivitesi tespit edilmiştir. Her iki bitkiden elde edilen ekstraktların tamamının özellikle *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterisine karşı göstermiş oldukları antibakteriyal aktivite, her iki bitki türününde *P. aeruginosa* bakterisi kökenli hastalıklara karşı tedavide kullanılabilecek doğal kaynaklar olabilecekleri konusunda fikir vermektedir.

Her iki bitki türü antimikrobiyal aktiviteleri bakımından kıyaslandığında *V. antinori* ekstraktlarının özellikle farklı test bakterileri üzerine mukayese antibiyotiğine yakın ya da daha yüksek antagonistik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durum ekstraktların ürün verimliliği bulguları ile pozitif korelasyon göstermekte olup; *V. antinori* ekstrakt verimliliğinin metanol hariç diğer üç çözgende *V. pinnatifidum* ekstrakt verimliliğinden üstün olduğunu ortaya koymuştur.

Dört çözgen ekstraksiyon verimliliği bakımından kıyaslandığında ise elde edilen antimikrobiyal değerler, *V. antinori* bitkisinin muhtemel etken madde içeriğinin çözdürülmesinde dört çözgeninde *V. pinnatifidum* bitkisine nazaran daha etkili olduğunu göstermektedir. Bu durum özellikle *V. pinnatifidum* bitkisinin biyolojik aktivite çalışmalarında araştırmamızda kullandığımız çözgenlerden farklı çözgen kullanımını gerekli kılmaktadır.

Antibiyofilm aktiviteleri bakımından ise her iki bitki türününde, özellikle Gram pozitif ve endosporlu *B. subtilis* ATCC 6633 bakterisi olmakla birlikte; *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. vulgaris* ATCC 13315, *S. aureus* ATCC 25923 ve *S. haemolyticus* ATCC 43252 bakterilerine karşı önemli bir biyofilm giderici özellik taşıdıklarıda belirlenmiştir.

Her iki bitki türününde hem Gram pozitif hemde Gram negatif test bakterileri üzerine biyofilm giderim oranlarının yüksek olması antimikrobiyal aktiviteleri ile farklılık

göstermekte ve bu alanda detaylı çalışmaları gerektirmektedir. Bununla birlikte yine antimikrobiyal aktivite sonuçlarından farklı olarak, *V. pinnatifidum* ve *V. antinori* bitkilerinin *C. albicans* ATCC 10231 maya kültürüne karşı sırasıyla özellikle aseton ve etil asetat (*V. pinnatifidum*) ve aseton (*V. antinori)* ekstraktlarındaki yüksek biyofilm giderim yüzdeleri, her iki bitkinin farklı patojen maya türleriyle yapılacak yeni antimikrobiyal ve antibiyofilm çalışmalarını da gerekli kılmaktadır.

Çalışmamız her iki bitki türünde bu kapsamda yapılmış ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır. Sonuçlarımız yüksek antibiyotik direnci ve beraberinde biyofilm sorunuyla mücadele edilen çağımızda her iki bitki türününde alternatif doğal kaynaklar olarak hem hastalıkların sağaltımında, hem de endüstriyel anlamda biyofilm gideriminde kullanılmasının mümkün olduğunu göstermektedir. Bu amaçla elde edilecek etken maddelerin biyolojik aktiviteleri, muhtemel kanser vb. hastalıklara karşı etkileri ve farmakolojik özelliklerinin ortaya konması ileride yapılacak kapsamlı çalışmaların konusunu oluşturmalıdır.

KAYNAKLAR

Ahıskalıoğlu A., 2007. *Anemone narcissiflora* Bitkisinin Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitesinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Karadeniz Teknik Üni., Türkiye.

Akdemir Ş.Z., Tatlı İ.İ., Bedir E., Khan A.I., 2004. Iridoid and Phenylethanoid Glycosides from *Verbascum lasianthum*. Turk. J. Chem., 28: 227-234.

Alahmer N.O., 2017. *Verbascum* Cinsine ait Bazı Türlerin Antimikrobiyal Aktivitesinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Kastamonu Üni., Türkiye.

Alsan S., 1999. Yarının Antibiyotikleri. Tübitak Bilim ve Teknik Derg., 376.

Amin J.N, Batool M., Abu-hadid M.M., 2015. Screening Antibacterial and Antifungal Activities and Evalution of Exhaustive Extractions Yields for *Verbascum sinuatum* L. International Research Ayurveda Pharmcy, 6: 105-110.

Amirnia R., Khoshnoud H., Alahyary P., Ghiyasi M., Tajbakhsh M., Valizadegan O., 2011. Antimicrobial Activity of *Verbascum speciosum* Against Three Bacteria Strains. Fresenius Environmental Bulletin, 20 (3): 690-693.

Anil S., Dosler S., Mericli A.H., 2016. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Verbascum caesareum*. Chemistry of Natural Compounds, 52 (1): 125-126.

Arda M., 1997 Mikrobiyal Üremenin Kontrolü, Temel Mikrobiyoloji, Medisan Yayınevi, Ankara. 558s.

Augustin M., Vehmas A., Atroshi F., 2004. Assessment of Enzymatic Cleaning Agents and Disinfectants Against Bacterial Biofilms. J. Pharm. Sci., 7: 55-65.

Bauer A.W., Kirby W.M., Sherris J.C., Turck M., 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. Am. J. Clin. Pathol., 45: 493-496.

Baytop T., 1999. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul. 334-336.

Bazargani M.M., Rohloff J., 2016. Antibiofilm Activity of Essential Oils and Plant Extract Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Biofilms. Food Control, 61: 156-164.

Benlioğlu K., Özyılmaz Ü., 2017. Mikrobiyoloji Ders Notları. Adnan Menderes Ü. Zir. Fak. Bitki Koruma B., Aydın s. 56.

Bezares B.R., Sáenz Y., Poeta P., Zarazaga M., Ruiz-Larrea F., Torres C., 2006. Assessment of Antibiotic Susceptibility within Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Wine. International Journal of Food Microbiology, 111 (3): 234-240.

Boğa M., Ertaş A., Yılmaz M.A., Kızıl M., Çeken B., Haşimi N., Özden T.Y., Demirci S., Yener İ., Deveci Ö., 2016. UHPLC-ESI-MS/MS and GC-MS Analyses on Phenolic, Fatty Acid and Essential Oil of *Verbascum pinetorum* with Antioxidant, Anticholinesterase, Antimicrobial and DNA Damage Protection Effects. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 15 (3): 393-405.

Boucher H.W., Talbot G.H., Bradley J.S., Edwards J.E., Gilbert D., Rice L.B., Bartlett J., 2009. Bad Bugs, No Drugs: no ESKAPE. An Update from the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases, 48 (1): 1-12.

Buommino E., Scognamiglio M., Donnarumma G., Fiorentino A., D'Abrosca B., 2014. Recent Advances in Natural Product-based Anti-biofilm Approaches to Control Infections. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 14 (14): 1169-1182.

Caraher E., Reynolds G., Murphy G., McClean S., Callaghan M., 2007. Comparison of Antibiotic Susceptibility of *Burkholderia cepacia* Complex Organisms When Grown Planktonically or as Biofilm in vitro, Eur. J. Clin. Microbiol., 26: 213-221.

Ceyhan N., 2008. Klinikte Biyofilmlerin Önlenmesi için Antibiyofilm Stratejileri, İnfek. Derg., 22: 227-240.

Chen J., Rossman M.L., Pawar D.M., 2007. Attachment of Enterohemorragic *Escherichia coli* to the Surface of Beef and a Culture Medium, Food Sci. Technol., 40: 249-254.

Clatworthy A.E., Pierson E., Hung D.T., 2007. Targeting vVrulence: A New Paradigm for Antimicrobial Therapy. Nature Chemical Biology, 3 (9): 541-548.

CLSI, 2006. Clinical and Laboratory Standarts Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Seventh Edition. M07- A7, Villanova, PA, USA.

Davis P.H., Mill R.R., Tan K. (eds.), 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands.

Edinburgh University Press, Edinburgh. 10: 191-193.

Dheilly A., Soum-Soutera E., Klein G.L., Bazire A., Compere C., Haras D., Dufour A., 2010. Antibiyofilm activity of the Marine Bacterium *Pseudoalteromonas* sp. Strain 3J6, Appl. Environ. Microb., 11: 3452-3461.

Donlan R.M., Costerton J.W., 2002. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms, Clin. Microbiol. Rev., 15: 167-193.

Dülger B, Gönüz A., 2004. Antimicrobial Activity of Some Endemic *Verbascum*, *Salvia* and *Stachys* Species. Pharmaceutical Biology, 42 (4-5): 301-304.

Dülger B., Ugurlu E., Aki C., Suerdem T.B., Camdeviren A., Tazeler G., 2005. Evaluation of Antimicrobial Activity of Some Endemic *Verbascum*, *Sideritis* and *Stachys* Species from Turkey. Pharmaceutical Biology, 43 (3): 270-274.

Dülger B., Hacioğlu N., 2008. Antimicrobial Activity Of Some Endemic *Verbascum* And *Scrophularia* Species From Turkey. Asian Journal of Chemistry, 20: 3779-3785.

Dülger B., Hacioğlu N., 2009. Activity of Three Endemic *Verbascum* Species Against Hospital Isolates Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus*, Biotechnol. & Biotechnol. EQ., 23: 760-762.

Dülger G., Tutenocakli T., Dulger B., 2015. Antimicrobial Potential of The Leaves of Common Mullein (*Verbascum thapsus* L., Scrophulariaceae) on Microorganisms Isolated from Urinary Tract Infections. Journal of Medicinal Plants Studies, 3 (2): 86-89.

Dülger B., Dülger B., 2018. Antibacterial Activity of *Verbascum antinori*. Konuralp Medical Journal, 10 (3): 395-398.

Ekim T., Koyuncu M., Vural M., Duman H., Aytaç Z., Adıgüzel N., 2000. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı. 100. Yıl Üniv. ve Türkiye Tabiatını Kor. Der., Ankara.

Erdoğan E.A., 2014. Lamiaceae Familyasına Ait Bazı Bitkilerin Uçucu Yağ İçeriklerinin Belirlenmesi, Antimikrobiyal ve Antimutajenik Aktivitelerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Mersin Üni., Türkiye.

Farnsworth N.R., Akerev O., Bingel A.S., 1985. Medicinal Plants in Therapy. Bull. World Health Organ. 63: 9865-9871.

Faydaoğlu E., Sürücüoğlu M.S., 2011. Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. Kastamonu Üni., Orman Fak. Derg., 11 (1): 52–67.

Frank J.F., Ehlers J., Wicker L., 2003. Removal of *Listeria monocytogenes* and Poultry Soil-Containing Biofilms Using Chemical Cleaning and Sanitizing Agents Under Staticconditions. Food Protect. Trends., 23: 654-663.

Ghasemi F., Rezaei F., Araghi A., Tabari M.A., 2015. Antimicrobial Activity of Aqueous-Alcoholic Extracts and the Essential Oil of *Verbascum thapsus* L. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, 10 (3): 1-5.

Geyid A., Abebe D., Debella A., Makonnen Z., Aberra F., Teka F., Kebede T., Urga K., Yersaw K., Biza T., Mariam B.H., Guta M., 2005. Screening of Some Medicinal Plants of Ethiopia for Their Antimicrobial Properties and Chemical Profiles. Journal of Ethnopharmacology, 97: 421-427.

Gürbüz İ, Özkan AM, Yeşilada E, Kutsal O., 2005. Anti-ulcerogenic Activity of Some Plants Used in Folk Medicine of Pınarbası (Kayseri, Turkey). Journal of Ethnopharmacology, 13-318.

Güner B., 2011. In Vitro Culture, Biological Activity and Essential Oil Analysis of Yellow Loosestrife (*Lysimachia vulgaris* L.). Master Thesis (Yüksek Lisans Tezi). The Abant İzzet Baysal Uni., Türkiye.

Hacıoğlu N., 2010. Bazı Makrofungusların Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üni., Türkiye.

Hawkey P.M., 2008. The Growing Burden of Antimicrobial Resistance. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 62 (suppl1): i1-i9.

Huber-Morath A., 1978. *Verbascum* L. Şu eserde: Davis P.H. (ed). Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh, Edinburgh Uni. Press, 6: 461-603.

Jass J., Walker J.T., 2000. Biofilms and biofouling: Industrial Biofouling: Detection, Prevention and Control. Wiley, New York. 410p.

Jessen B., Lammert L., 2003. Biofilm and Disinfection in Meat Processing Plants, Int. Biodeter. Biodegr., 51: 265-269.

Kahraman A., Ekizoglu M., Kart D., Akdemir Z.Ş., Tatli I.I., 2011. Antimicrobial Activity of Some *Verbascum* Species Growing in Turkey FABAD Journal Pharmcy. Sci.., 36: 11-15.

Karatan E., Watnick P., 2009. Signals, Regulatory Networks, and Materials that Build and Break Bacterial Biofilms. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 73: 310-347.

Kendir G., Güvenç A., 2010. Etnobotanik ve Türkiye'de Yapılmış Etnobotanik Çalışmalara Genel Bir Bakış. Hacettepe Ü. Eczacılık Fak. Dergisi, 30 (3): 49-80.

Khuroo M.A., Qureshi M.A., Razdak T.K., Nichols P., 1988. Sterones, Iridoids and a Sesquiterpene from *Verbascum thapsus*. Phytochemistry, 27 (11): 3541-3544.

Klimek B, Lavaud C, Massiot G., 1992. Saponins from *Verbascum nigrum*. Phytochemistry, 31(12): 4368-4370.

Klimek B., 1995. Flavonoid Glucoronides from *Verbascum lychnitis* and *Verbascum nigrum*. Acta Poloniae Pharmaseutical Drug Research, 52 (1): 53-56.

Klimek B., 1996. Hydroxycinnamoly Ester Glycosides and Saponins from Flowers of *Verbascum phlomoides*. Phytochemistry, 43 (6): 1281-1284.

Maezono H., Noiri Y., Asahi Y., Yamaguchi M., Yamamoto R., Izutani N., Azakami H., Ebisu S., 2011. Antibiofilm Effects of Azitromycin and Erytromycin on *Porphyromonas gingivalis*. Antimicrob. Agents. Chem., 55: 5887-5892.

McCutcheon A.R., Roberts T.E., Gibbons E., Ellis M.S., Babiuk A.L., Hancock W.E.R., Towers N.H.G., 1995. Antiviral Screening of British Columbian Medicinal Plants. Journal of Ethnopharmacology, 49: 101-110.

Merritt J.H., Kadouri D.E, O'Toole, G.A., 2005. Growing and Analyzing Static Biofilms. Curr. Protoc. Microbiol., 1: 1- 17.

Moghaddam H., Mirzaii M., Khaksari M., Fazli M., Rahimi F., Behzadi A.A., 2015. Antibacterial and Anti-adherent Activity of Great Mullein (*Verbascum thapsus* L.) Ethanolic Extract on in vitro Biofilm Formation of Three Oral Streptococci. International Journal of Health Studies, 1 (2): 34-37.

Monds R.D., O'Toole G.A., 2009. The Developmental Model of Microbial Biofilms: Ten Years of a Paradigm up for Review. Trends Microbiol., 17: 73-87.

Morteza-Semnani K., Saeedi M., Akbarzadeh M., 2012. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Verbascum thapsus* L. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 15 (3): 373-379.

Nofouzi K., 2015. Study on the Antioxidant Activity and in vitro Antifungal Activity of *Verbascum speciosum* Methanolic Extract. Journal of Mycology Research, 2 (2): 97-103.

Noori M., Malayeri B., Moosaei M., Pakzad R., Piriye M.H., 2012. Effects of Heavy Metals on the Antibacterial Properties of *Verbascum speciosum* Schard. Revista Científica UDO Agrícola, 12 (2): 463-471.

Özcan B., Yilmaz M., Caliskan M., 2010. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Various Extracts of *Verbascum antiochium* Boiss. (Scrophulariaceae). Journal of Medicinal Food, 1147-1152

Özcan B., Esen M., Calışkan M., Mothana R.A., Cihan A.C., Yolcu H., 2011. Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Various extracts of *Verbascum pinetorum* Boiss. O. Kuntze (Scrophulariaceae). European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 15: 900-905.

Piddock K.J.V., Wise R., 1989. Mechanisms of Resistance to Quinolones and Clinical Perspective. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 23: 475–483.

Prakash V., Rana S., Sagar A., 2016. Studies on Antibacterial Activity of *Verbascum thapsus*. Journal of Medicinal Plants, 4 (3): 101-103.

Pulcini C., Bush K., Craig W.A., Frimodt-Møller N., Grayson M.L., Mouton J.W., Turnidge J., Harbarth S., Gyssens I.C., 2012. Forgotten Antibiotics: An Inventory in Europe, the United States, Canada, and Australia Reviews of Anti-Infective Agents, 54: 268-274.

Rogers S.A., Huigens R.W., Cavanagh J., 2010. Synergistic Effects Between Conventional Antibiotics and 2-aminoimidazole-derived Antibiofilm agents. J. Antimicrob. Chemother., 54: 2112-2118.

Sanchez E., Morales C.R., Castillo S., Leos-Rivas C., Garcia-Becerra L., Martinez D.M.O., 2016. Antibacterial and Antibiofilm Activity of Methanolic Plant Extracts Against Nosocomial Microorganisms. Evidence-Based Complementary and Alternative

Medicine, 1-8.

Shahidi S.G.H., 2004. Evaluation of Antimicrobial Properties of Iranian Medicinal Plants against *Micrococcus luteus, Serratia marcescens, Klebsiella pneumoniae* and *Bordetella bronchoseptica*. Asian J. Plant Sci., 3 (1): 82-86.

Şener A., Dulger B., 2009. Antimicrobial Activity of the Leaves of *Verbascum sinuatum* L. on Microorganisms Isolated from Urinary Tract Infection. African Journal of Microbiology Research, 3 (11): 778-781.

Şen B., Döşler S., Meriçli A.H., 2012. The Antimicrobial Activity Screening of Three *Verbascum* species in Marmara Region. Planta Medica, 78 (11): PI310.

Şengül M., Öğütcü H., Adigüzel A., Şahin F., Kara A.A., 2015. Antimicrobial Effects of *Verbascum georgicum* Bentham Extract. Turkish Journal of Biology, 29: 105-110.

Sidhu M.S., Landsrud S., Holck A., 2001. Disinfectans and Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria Isolated from Food Industry. Microbial. Drug Resistance., 7: 73-83.

Simoes M., Simoes L.C., Vieira M.J., 2010. A Review of Current and Emergent Biofilm Strategies. Food Sci. Tecnol., 43: 573-583.

Spellberg B., Guidos R., Gilbert D., Bradley J., Boucher H.W., Scheld W.M., 2008. The Epidemic of Antibiotic-resistant Infections: A Aall to Action for the Medical Community from the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases, 46 (2): 155-164.

Stewart P.S., McFeters G.A., Huang C.T., 2000. Biofilms II: Process analysis and applications. Wiley, New York: 232 p.

Tadeg H, Mohammed E, Asres K, Gebre-Mariam T., 2005. Antimicrobial Activities of Some Selected Traditional Ethiopian Medicinal Plants Used in the Treatment of Skin Disorders. Journal of Ethnopharmacology, 100: 168-175.

Tatlı İ.İ., Akdemir Ş.Z., Bedir E., Khan A.I., 2002. *Verbascum lasianthum*'dan Elde Edilen Katalpol Türevi Bileşikler. 14. BİHAT. Eskişehir, A-43.

Tatli I., Akdemir Z.S., Erdal B., Khan I.A., 2003. Search for Antifungal Compounds from Some *Verbascum* Species Growing in Turkey. FABAD Journal Pharmcy. Sci.., 28: 137-140.

Teanpaisan R., Kawsud P., Pahumunto N., Puripattanavong J., 2017. Screening for Antibacterial and Antibiofilm Activity in Thai medicinal Plant Extracts Against Oral Microorganisms. Journal of Traditional and Complementary Medicine, 7: 172-177.

Thormann K.M., Saville RM., Shukla S., Spormann A.M., 2005. Induction of Rapid Detachment in *Shewanella oneidensis* MR-1 biofilms. J. Bacteriol., 187: 1014-1021.

Türker UA, Camper ND. 2002. Biological Activity of Common Mullein, A Medicinal Plant. Journal of Ethnopharmacology, 82: 117-125.

Türker A.U., Gurel E., 2005. Common Mullein (*Verbascum thapsus* L.): Recent Advances in Research. Phytotherapy Research,19: 733-739.

Vogt V., Cravero C., Tonn C., Sabini L., Rosas S., 2010. *Verbascum thapsus*: Antifungal and Phytotoxic Properties. Idecefyn, 20: 105-108.

Wikler M.A., 2006. Methods for Dilition Antimicrobial Susceptibility Tests for bacteria That Grow Aerobically, Clinic Lab stand Ins, 61-64.

Wilkins M., Hall-Stoodley L., Allan R.N., Faust S.N., 2014. New Approaches to the Treatment of Biofilm-related Infections. Journal of Infection, 69: 47- 52.

Yücel E., Tülükoğlu A., 2000. Gediz (Kütahya) Çevresinde Halk İlacı Olarak Kullanılan Bitkiler. Çev-Kor., 9 (36): 12-14.

Zaidan M.R.S., Noor Rain A., Badrul A.R., Adlin A., Norazah A., Zakiah I., 2005. In vitro Screening of Five Local Medicinal Plants for Antibacterial Activity Using Disc Diffusion Method. Trop. Biomed., 22: 165-170.

Flora of the Greece Web (n.d.) http://portal.cybertaxonomy.org/flora-greece/cdm_dataportal/taxon/724d9391-4647-4e5a-b068-3592fa60910c) (23.01.2019)

greekflora.gr Thomas Giannakis 26/06/2014 https://www.greekflora.gr/el/flowers/2612/*Verbascum pinnatifidum*) (23.01.2019)

Groundarium Nikolay Dyakov 2012 http://www.plantarium.ru/page/image/id/160990.html) (23.01.2019)

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Mehmet GÖSE

Doğum Yeri: Mersin

Doğum Tarihi: 09.04.1993

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi,

Sağlık Yüksekokulu, Acil Yardım ve Afet Yönetimi

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi,

Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal

M. Göse, N.Hacioglu Doğru, **(2019).** Antimicrobial Activity of Two *Verbascum* Species. ISBR 2019 – 1st International Symposium on Biodiversity Research, (2–4 Mayıs 2019) Çanakkale, Türkiye, p.578. (Poster).

M. Göse, N.Hacioglu Doğru**, (2019)**. Antibiofilm Activity of *Verbascum pinnatifidum* Vahl. Ethanolic Extracts. 13th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighboring Regions, Stara planina Mt., (20-23 Haziran 2019) Niş, Sırbistan, p. 146. (Oral)

b) Katıldığı Projeler

N. Hacıoğlu Doğru, **M. Göse,** "İki *Verbascum* Türünün Antimikrobiyal ve Antibiyofilm Aktivitelerinin Araştırılması. (Araştırmacı) ÇOMÜ BAP (FYL-2018-2693) [11/10/2018-Devam ediyor]

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl: Çanakkale İl Ambulans Servisi-

Acil Tıp Teknisyeni, 2013 – Devam ediyor

İLETİŞİM

E-posta Adresi: m_gose@hotmail.com