

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CYLAMEN COUM, COLCHİCUM TURCİCUM VE COLCHİCUM
BORNMUELLERİ BİTKİLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİOKSİDAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatih ÖZCAN

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ
Tez Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi Kenan TUNÇ

Aralık 2020

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CYLAMEN COUM, COLCHİCUM TURCİCUM VE COLCHİCUM
BORNMUELLERİ BİTKİLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE
ANTİOKSİDAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatih ÖZCAN

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Bu tez 23/12/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi
Kenan TUNÇ
Jüri Başkanı

Dr. Öğr. Üyesi
Hülya DEMİRHAN
Üye

Doç. Dr.
Mehmet SAĞIROĞLU
Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Fatih ÖZCAN

23/12/2020

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Kenan TUNÇ'a;

Tez çalışmama konu olan bitkilerin araziden toplanmasında deneyimleriyle yol gösteren Doç Dr. Mehmet SAĞIROĞLU'na, çalışmamın her anında bir an olsun desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Uzm. Biyolog Alican Bahadır SEMERCİ'ye,

Tez çalışmamı hazırlarken kendilerine daha az vakit ayırmamı anlayışla karşılayıp sabırla bekleyen eşim Neşe'ye çocuklarım Kerem ve İpek'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ	vii
ÖZET	viii
SUMMARY	xi
 BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
 BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Geofitler	5
2.1.1. <i>Cyclamen coum</i> Miller	6
2.1.2. <i>Colchicum sp.</i>	9
2.1.2.1. <i>Colchicum bornmuelleri</i> Freyn.....	11
2.1.2.2. <i>Colchicum turcicum</i> Janka	12
2.1.2.3. <i>Colchicum</i> türleri üzerine yapılan farmokolojik araştırmalar	12
2.2. Test Mikroorganizmaları	14
2.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.2.2. <i>Escherichia coli</i>	15
2.2.3. <i>Enterococcus faecalis</i>	15
2.2.5. <i>Bacillus subtilis</i>	16
2.2.6. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	16

2.2.7. <i>Salmonella typhimurium</i>	17
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1. Materyal	18
3.1.1. Materyal eldesi	18
3.1.2. Kullanılan test mikroorganizmalar	18
3.1.3. Kullanılan araç gereç ve test malzemeler	18
3.2. Yöntem	19
3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması	19
3.2.2. Direkt özütleme	20
3.2.3. Çözücülerin uzaklaştırılması	20
3.2.4. Besiyerlerinin hazırlanması	21
3.2.5. Kullanılan kimyasalların hazırlanması	21
3.2.6. Test mikroorganizmalarının hazırlanması	22
3.2.7. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi	22
3.2.8. Toplam fenolik maddenin belirlenmesi	23
3.2.9. Antioksidan aktivite	23
BÖLÜM 4.	
ARAŞTIRMA BULGULARI	25
4.1. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	25
4.1.1. <i>Colchicum turcicum</i> bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi	25
4.1.2. <i>Colchicum bornmuelleri</i> bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi ...	28
4.1.3. <i>Cyclamen coum</i> bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi	28
4.2. Toplam Fenolik Madde Sonuçları	32
4.3. Antioksidan Aktivite Sonuçları	32
BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA VE SONUÇ	34
KAYNAKLAR	39

ÖZGEÇMİŞ	44
----------------	----



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzde
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
ATCC	: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
<i>B. subtilis</i>	: <i>Bacillus subtilis</i>
<i>C. albicans</i>	: <i>Candida albicans</i>
<i>C. bornmuelleri</i>	: <i>Colchicum bornmuelleri</i>
<i>C. turcicum</i>	: <i>Colchicum turcicum</i>
<i>C. coum</i>	: <i>Cyclamen coum</i>
cm	: Santimetre
Dk	: Dakika
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecalis</i>	: <i>Enterococcus faecalis</i>
g	: Gram
m	: Metre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
N. Kontrol	: Negatif Kontrol
Na ₂ CO ₃	: Sodyum Karbonat
°C	: Derece santigrat
<i>P. aeruginosa</i>	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
pH	: Bir çözeltinin asitlik ve bazlık derecesi
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	: <i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>S. typhimurium</i>	: <i>Salmonella typhimurium</i>

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. <i>Cyclamen coum</i> ' un ülkemizdeki dağılışı haritası (Url_2).....	7
Şekil 2.2. <i>Cyclamen Coum</i> A) Bulb B) Yaprak ve çiçek.....	8
Şekil 2.3. Türkiye'de <i>Colchicum bornmuelleri</i> yayılış alanları.....	11
Şekil 2.4. A) <i>Colchicum bornmuelleri</i> , B) <i>Colchicum turcicum</i>	11
Şekil 2.5. Türkiye'de <i>Colchicum turcicum</i> yayılış alanları.....	12
Şekil 2.6. Kolşisin kimyasal formülü.....	13
Şekil 3.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması A) Öğütme, B) Süzme, C) Uçurma, D) Konsantrasyon ayarlama.....	20
Şekil 3.2. A) Bakteri yoğunluğunun ayarlanması, B) Bakteri ekimi, C) Disk Yerleştirme D) İnhibisyon zon çapları.....	23
Şekil 4.1. <i>Colchicum</i> türlerinin A) <i>E. coli</i> , B) <i>S. epidermidis</i> , C) <i>S. aureus</i> , D) <i>E. faecalis</i> , E) <i>B. subtilis</i> , F) <i>S.typhimurium</i> üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi.....	27
Şekil 4.2. <i>Cyclmen coum</i> A) Yaprak ekstraktının <i>S. aureus</i> ' ta B) Çiçek ekstraktının <i>B. subtilis</i> ' te C) Çiçek ekstraktının <i>S. epidermidis</i> ' te D) Yaprak ekstraktının <i>E. coli</i> ' de E) Bulb ekstraktının <i>E. faecalis</i> ' te F) Çiçek ekstraktının <i>C. albicans</i> ' ta gösterdikleri antimikrobiyal etki.....	30
Şekil 4.3. Gentamicin'in A) <i>E. coli</i> , B) <i>B. subtilis</i> , C) <i>E. faecalis</i> , D) <i>S.epidermidis</i> , E) <i>S. aureus</i> , F) <i>S.typhimurium</i> üzerineki antimikrobiyal etkisi.....	31
Şekil 4.4. Etanol ekstraktlarının toplam fenolik miktarı (Cbtü: <i>C. bornmuelleri</i> toprak üstü, Cbta: <i>C. bornmuelleri</i> toprak altı, Ctü: <i>C. turcicum</i> toprak üstü, Cta: <i>C. turcicum</i> toprak altı, Ccb: <i>C. coum</i> bulb, Ccy: <i>C. coum</i> yaprak)	32

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1. Türkiye’de yetişen ve sonbaharda çiçek açan <i>Colchicum</i> türleri.....	10
Tablo 2.2. Türkiye’de yetişen ve ilkbaharda çiçek açan <i>Colchicum</i> türleri.....	10
Tablo 2.3. <i>Colchicum bornmuelleri</i> bitkisinden elde edilen alkaloidler, flavonlar ve fenolik asitler.....	13
Tablo 2.4. <i>Colchicum turcicum</i> bitkisinden elde edilen alkaloidler	14
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler	19
Tablo 3.2. Kullanılan sarf malzemeler	19
Tablo 4.1. <i>Colchicum turcicum</i> ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi.....	26
Tablo 4.2. <i>Colchicum bornmuelleri</i> ekstraktlarının test bakterileri üzerindeki antibakteriyel aktivitesi.....	28
Tablo 4.3. <i>Cyclamen coum</i> ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi	29
Tablo 4.4. DPPH %50 süpürme sonuçları (IC50).....	33

ÖZET

Anahtar kelimeler: Cyclamen, Colchicum, antibakteriyel aktivite, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde

Bu çalışmada etanol ile hazırlanan *Cyclamen coum* Mill., *Colchicum bornmuelleri* Freyn ve *Colchicum turcicum* Janka ekstraktlarının disk difüzyon yöntemi ile *B. subtilis* ATCC 6633, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. typhimurium* ATCC 14028, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 1029, *S. aureus* ATCC 29213 mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Ayrıca hazırlanan ekstraktlarının DPPH süpürme aktivitesi ile antioksidan aktiviteleri ve Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik madde miktarları belirlenmiştir.

Cyclamen coum bitkisinden elde edilen ekstraktların *C. albicans* üzerinde orta derecede antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *Colchicum turcicum* ve *colchicum bornmuelleri* bitkilerinin toprak üstü ekstraktlarının *E. faecalis* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu ekstraktlar diğer test mikroorganizmaları üzerinde antibakteriyel aktivite göstermemiştir.

Hazırlanan ekstraktlardan elde edilen en yüksek ve en düşük antioksidan aktivite sonuçları (IC50 değerleri) *Colchicum turcicum* toprak üstü 14,2 µg/mL, *C. bornmuelleri* toprak altı 768,65 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan ekstraktlar standart antioksidan madde olan askorbik asit ile karşılaştırıldığında *C. bornmuelleri* toprak üstü ve *C. turcicum* toprak üstü ekstraktlarının yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı *C. bornmuelleri* bitkisinin toprak üstü kısmından elde edilen ekstraktlarda 191,85 mg GA/100g olarak belirlenmiştir.

Cyclamen coum, *Colchicum turcicum* ve *Colchicum bornmuelleri* geofit türleri potansiyel antioksidan kaynağı olarak ilaç endüstrisi, takviye edici gıda ürünleri ve gıda koruyucu maddeler olarak çok çeşitli alanlarda kullanılabileceği düşünülmektedir.

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT EFFECT OF CYCLAMEN COUM COLCHICUM TURCICUM AND COLCHICUM BORNMUELLERI PLANTS

SUMMARY

Keywords: Cyclamen coum, Colchicum, antibacterial activity, antioxidant activity, total phenolic compounds

In this study, antimicrobial effects of *Cyclamen coum* Mill., *Colchicum bornmuelleri* Freyn and *Colchicum turcicum* Janka extracts prepared with ethanol against *B. subtilis* ATCC 6633, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. typhimurium* ATCC 14028, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* ATCC 1029 and *S. aureus* ATCC 29213 microorganism were investigated by using disk diffusion method. In addition, DPPH scavenging activity, antioxidant activities and total phenolic substance amounts were determined with Folin-Ciocalteu method.

It was determined that extracts obtained *Cyclamen coum* plant showed moderate antifungal activity on *Candida albicans*. It has been determined that aboveground extracts of *Colchicum bornmuelleri* and *Colchicum turcicum* plants have antibacterial effects on *E. faecalis*. These extracts did not show antibacterial activity on other test microorganisms.

The highest and lowest antioxidant activity results (IC₅₀ values) obtained from the extracts were determined as *Colchicum turcicum* above ground 14.2 µg/mL, *Colchicum bornmuelleri* underground 768,65 µg/mL. When the extracts used in this study were compared with the standard antioxidant ascorbic acid, it was found that the aboveground extracts of *C. bornmuelleri* and *C. turcicum* showed high antioxidant activity. The total amounts of phenolic substances were determined as 191,85 mg GA/100g in the extracts obtained from the above ground part of the *C. bornmuelleri* plant.

Cyclamen coum, *Colchicum turcicum* and *Colchicum bornmuelleri* geophyte species are thought to be used in a wide variety of fields as potential antioxidant sources in pharmaceutical industry, food supplements and food preservatives.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

İnsanoğlu, tarih boyunca giyinme, barınma, beslenme gibi çok temel ihtiyaçlarını karşılamak için bitkileri kullanmıştır. Bu temel ihtiyaçlara ek olarak bitkilerin hastalıklara karşı iyileştirici etkilerini deneyimlemesi de en eski yazılı kaynaklarda dahi görülmektedir. Hastalıkları önlemek ve iyileştirmek amacıyla ilaç olarak kullanılan tıbbi bitkiler hakkında bilinen en eski kitabın M.Ö 3700 yılında eski Çin imparatoru Shin-nong tarafından yazıldığı bilinmektedir (Temel ve ark, 2018). Hitit dönemine ait tıbbi tabletlerde reçete formüllerine rastlanılmış olması Anadolu'da insanların bitkilerden ilaç olarak faydalandığının en eski kanıtıdır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013).

Ülkemiz sahip olduğu coğrafi konum ve farklı iklimatik özellikleri, deniz seviyesinden 5000 metreye kadar farklılık gösteren yükseltisi, Avrupa, Akdeniz, İran-Turan olmak üzere üç büyük floral gen bölgesinin kesişim noktasında olması ile zengin bir bitki biyoçeşitliliğine sahiptir. Türkiye Florası, 4000 civarında endemik olmak üzere yaklaşık 13000 bitki türünü içermektedir. Bu sayı dünyadaki bitki türlerinin %4' ünü oluşturmaktadır (Url_1).

Ülkemizin zengin florasında tıbbi ve aromatik bitkiler önemli bir yer tutmaktadır. Anadolu topraklarında doğal olarak yayılış gösteren ve ekimi de yapılan bu bitkilere haşhaş, kimyon, nane, kekik, lavanta, adaçayı, rezene, çörek otu, soğan, sarımsak ve semizotu gibi bitkiler örnek verilebilir (Acıbuca ve Bostan, 2018).

Kirli havaya maruz kalma, doğal olmayan besinlerdeki katkı maddeleri ve hareketsiz yaşam vücutta serbest radikal adı verilen maddelerin oluşumuna neden olmaktadır. Serbest radikaller özellikle hücrelere ve bağışıklık sistemine zarar vermektedir. Vücuttaki serbest radikallerin etkisini en aza indiren ya da durduran, çok sayıda

hastalığa ve erken yaşlanmaya neden olabilecek zincir reaksiyonları önleyen maddeler “antioksidan” madde olarak adlandırılmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013).

Tıbbi aromatik bitkilerin içerdikleri alkaloidler, tanenler, flavonoidler, fenolik bileşikler ve yağ asitlerinden dolayı antimikrobiyal ve antioksidan özellik gösterdikleri bilinmektedir (İnceçayır ve ark, 2019). Bu bileşiklerin serbest radikalleri temizleme, metal şelatlama, reaktif oksijen oluşumunu azaltma veya engelleme şeklinde etki mekanizmaları vardır. Bunlara ek olarak, içerdikleri aromatik halkaların hidroksil gruplarındaki hidrojeni vererek besin maddelerinin serbest radikallerce okside olmalarını engellemektedirler (Çoban ve Batır, 2010).

Çoklu yağ asitleri bakımından zengin olan gıdalarda oksidatif bozulmalar oluşabilmektedir. Gıda sektöründe oksidasyon ile gerçekleşen kötü tat ve kokunun engellenmesi için antioksidanlar kullanılmaktadır. Antioksidanlar oksidasyon sonucu meydana gelen kötü tat oluşumunu ortadan kaldırmaz ya da oluşmakta olan süreci geri çevirmezler, henüz bozulma oluşmadan bu süreci geciktirir ya da başlamadan engellerler. Bu sebeple doğal antioksidanların eldesi ve kullanımı hakkında bir çok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalara göre bitkilerden elde edilen antioksidanların sentetik olanlara göre daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu nedenle gıda endüstrisinde hem tüketici hem de üretici açısından gıdalarda koruyucu doğal ürünlerin kullanılması önem arz etmektedir (Gedikoğlu ve ark., 2019; Özbek, 2019).

Son dönemlerde antibiyotiklerin aşırı miktarda kullanımına bağlı olarak mikroorganizmaların bu antibiyotiklere karşı oluşturdıkları direnç her geçen gün daha da artmaktadır. Dünyanın gelişmekte olan ülkelerinde ölümlerin neredeyse yarısı salgın hastalıklardan kaynaklanmaktadır. Bu ülkelerin küresel sağlık hizmetlerinde karşılaştıkları sorunların en başında mikrobiyal enfeksiyonları tedavi etmek için yeni, etkili ve uygun fiyatlı ilaçların eksik olması yer almaktadır. *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp. ve *Enterobacteriaceae* üyeleri gibi solunum ve deri enfeksiyonlarına yol açan, gastrointestinal, ürogenital hastalıklara ve yara kontaminasyonlarına neden olan mikroorganizmalar bilinen eski antibiyotiklerin neredeyse tamamına karşı direnç göstermektedir. Yapılan çalışmalarda hastane

kaynaklı enfeksiyonların önde gelen nedenlerinden biri olan *Staphylococcus aureus*' un klinik izolatları, penisilin, gentamisin, tobramisin, amikasin, siprofloksasin, klindamisin, eritromisin, kloramfenikol, trimetoprimin gibi bir dizi antimikrobiyal maddeye karşı dirençli olduklarını göstermiştir.

Antimikrobiyal maddelere karşı dirençli bakteri türlerinin çoğalması, antibiyotiklerin yaygın ve uygun olmayan şekilde kullanımı ve antimikrobiyal etkili maddelerin besicilik sektöründe büyüme artırıcı olarak yaygın kullanımı gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır. Mikrobiyologlar ve farmakologlarca insanlarda ve hayvanlarda antibiyotik direnci sorununun uzun süre devam edeceği tartışmalarının arka planında, bulaşıcı hastalıkların tedavisi için bitkilerden elde edilen kimyasalların güçlü alternatif tedavi yaklaşımları oluşturacağı yapılan çalışmalarla kanıtlanmaktadır (Elisha ve ark, 2017).

Hindistan'da 16 farklı tıbbi bitkinin kök, yumru, kabuk, yaprak ve tohumlarından elde edilen metanol, kloroform ve sulu ekstraktlarının antimikrobiyal ve fitokimyasal aktiviteleri araştırılmış, kullanılan bitkilerin en fazla *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* türlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (Pandya ve ark., 2019).

Gishen ve ark. (2020) Etiyopya'da 6 farklı tıbbi bitki türü (*Lavandula angustifolia*, *Cymbopogon citratus*, *Mentha piperita*, *Chenopodium ambrosioides*, *Aloe ankoberensis*, *Aloe pulcherima*) ile yaptıkları çalışma sonucunda *L. Angustifolia*, *C. citratus*, *M. piperita* türlerinin yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirtmiştir.

Güney Afrika'da 11 tıbbi bitki ile yapılan çalışmada *Typa capensis*'in aseton ekstrelerinin anti-enflamatuar ve antioksidan etki ortaya koyduğu, bu türden elde edilen bileşiklerin doğal bir antienflamatuar ilaç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Ondua ve ark., 2019).

Yapılan başka bir çalışmada Çin, Güney Kore ve Endonezya'dan toplanan dokuz farklı bitkinin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri araştırılmış, *Syzygium*

aromaticum , *Pueraria lobata* , *Plantago asiatica* ve *Kalopanax pictus* türlerinin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Chang ve ark., 2020).

Bu çalışmada *Cyclamen coum* türünün bulb, yaprak ve çiçeklerinden, *Colchicum turcicum* ve *Colchicum bornmuelleri* türlerinin ise toprak altı ve toprak üstü kısımlarından etanol ile hazırlanan ekstraktlarının test mikroorganizmalara karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Ayrıca elde edilen etanolik ekstraktların DPPH yöntemi kullanılarak antioksidan aktiviteleri ve toplam fenolik içeriklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.



BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Geofitler

Geofit bitkiler, gövdeleri farklılaşarak toprak altında besin depo edebilen soğanlı, yumrulu ve rizomlu bitkilere verilen genel isimdir. Geofitlerin gövdeleri toprak altında bulunduğundan olumsuz çevre koşullarına karşı direnci diğer çiçekli bitkilere oranla daha yüksektir. Geofit bitkiler hem tıbbi ve aromatik bitkiler olarak hem de hoş görünüşleriyle park ve bahçelerde peyzaj bitkisi olarak kullanılmaktadır (Seyidoğlu, 2009). Geofit bitkiler Amaryllidaceae, Ranunculaceae, Primulaceae, Araceae, Geraniaceae, Liliaceae, Iridaceae, Oxalidaceae olmak üzere toplam 8 familya altında incelenmektedir (Özbucak ve ark., 2017). Dünya üzerinde geofitlerin yayılım gösterdiği alanlar, Akdeniz ikliminin varlığını sürdürdüğü, kışları nemli ve ılık, yazları ise kurak ve sıcak olan bölgelerdir.

Dünya üzerinde Geofit türlerinin en fazla görüldüğü yerler Türkiye, Kuzey Afrika İspanya, Yunanistan gibi Akdeniz'e kıyısı olan ülkeler, Çin, Rusya, Japonya gibi Asya ülkeleri, Amerika Kıtası'nda Şili ile Washington arasında kalan bölgeler ile Kanada' da British Columbia eyaletine kadar uzanan dağlık alanlar ve en çok cinsi barındıran Güney Afrika olarak sıralanabilir. Doğal geofitler Akdeniz ikliminin hüküm sürdüğü alanlar dışında Orta Asya, Afganistan, İran ve subtropikal yerlerde yayılış göstermektedir (Tanrıverdi, 2019).

Türkiye florasında geofitler yaklaşık 1000 takson içermektedir. Özhatay'a (2013) göre, Türkiye florasında bulunan 1056 taksondan 424 adedi endemik olup endemizm oranı %40' ır. Monokotiledon sınıfındaki 927 taksonun 386 adedi endemik iken endemizm oranı %30 olarak belirlenmiştir. Dikotiledon sınıfına mensup 129 taksonun ise 38 adedi endemiktir ve endemizm oranı %30 olarak hesaplanmıştır.

İnsanlık tarihi boyunca geofitler, sahip olduğu çok çeşitli özellikleri nedeniyle, peyzaj bitkisi, tıbbi ve aromatik amaçlı olarak geniş bir şekilde kullanılmıştır. Geçmiş yıllarda geleneksel halk hekimliğinde kullanılan geofitlerden günümüzde modern tıpta da yararlanılmaktadır. *Lilium candidum* L. soğanları, içerdiği saponinlerden dolayı geleneksel halk hekimliğinde yanık ve şişliklerin tedavisinde kullanılmaktadır (Özel ve Erden, 2010). *Crocus sativus* içerdiği glikozidik krosetin, pikrokrosin ve safranal bileşiklerinden dolayı antioksidan, antikanserojenik, antimutajenik etkiler göstermektedir (Liakopoulou-Kyriakides, 2002). *Alium* türlerinin yapısındaki kükürtlü bileşiklere bağlı olarak antimikrobiyal, antioksidan etkileri olduğu kanıtlanmıştır (Semerci, 2019). *Galanthus cilicicus* türü zengin alkaloid içermesinden dolayı antienflamatuar özellik taşımaktadır (Kaya ve ark., 2017).

2.1.1. *Cyclamen coum* Mill.

Yumrulu bitki cinslerinden birisi olan *Cyclamen*, peyzaj için tercih edilen ve uluslararası boyutta ticareti en sık yapılan bitkilerdendir.

Cyclamen ismi latince ‘kuklamis, kuklamiren’ kelimelerinden köken almaktadır. Latince “kuklos” veya “cyclos” kelimeleri daire anlamına gelmektedir. Theophrastus (M.Ö. 370-285), yumrularının ve yapraklarının yuvarlak olmasından ve meyve saplarının helezonik şekilde aşağı doğru uzanışından esinlenerek bu bitkilere ilk kez *Cyclamen* ismini kullanan bilim insanı olmuştur (Aydın ve ark., 2015).

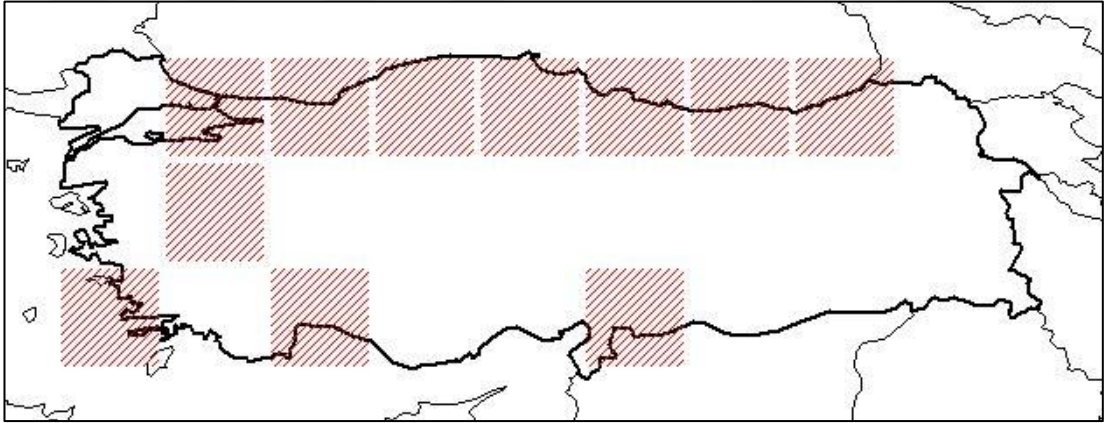
Cyclamen cinsinin dünyada yayılış alanları batıdan doğuya doğru Blear adaları’ndan İran’a kadar; kuzeyden güneye doğru ise Alp ve Karpat Dağları’ndan Ortadoğu ve Kuzey Afrika’ya kadar uzanmaktadır (Müftüoğlu ve Altay, 2006).

Siklamen bitkisinin Türkiye’de yayılış alanları kuzeyde; Amasya, Artvin, Bolu, Trabzon, Rize, Giresun; güneyde Antalya, Isparta, Adana, Mersin, Osmaniye, Kahramanmaraş; batıda ise Muğla, İzmir, Aydın, Balıkesir, Çanakkale, Denizli ve Eskişehir olmak üzere toplam 24.578 ha’dır (Cengiz, 2019).

Çalışma konumuzda yer alan *C. coum* Miller' in sistematığı aşağıda verilmiştir.

Alem	:	Plantae
Altalem	:	Tracheobionta
Şube	:	Magnoliophyta
Sınıf	:	Magnoliopsida
Takım	:	Ericales
Aile	:	Primulaceae
Cins	:	Cyclamen
Tür	:	<i>Cyclamen coum</i> Miller
Alttür	:	<i>Cyclamen coum</i> subsp. <i>coum</i> Miller

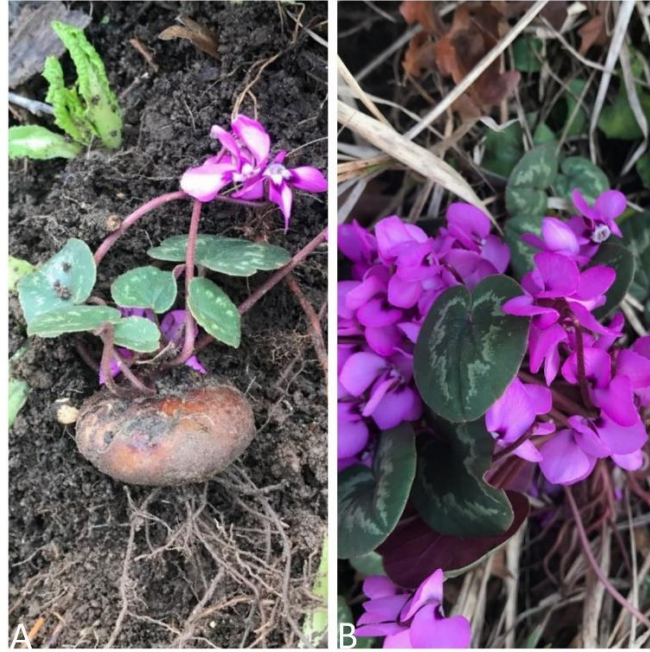
Cyclamen coum, ülkemizde deniz seviyesinden 2100 metre yükseltiye kadar humuslu topraklarda, iğne yapraklı ormanlıklar alanlarda, bodur ağaçlarla ve çalılarla kaplı nemli bölgelerde ve nemli kayalık alanlarda doğal olarak yayılış gösterebilmektedir (Koçak, 2019).



Şekil 2.1. *Cyclamen coum*' un ülkemizdeki dağılışı haritası (Url_2)

Cyclamen coum yumruları, genellikle 3,5 cm'den küçük çaplı olup fazlaca basık küre şeklinde, tüylü, tabanından köklenmektedir. Yapraklar -çiçeklenme zamanından önce- kışın veya erken ilkbaharda ortaya çıkar. Küre benzeri veya kalbe benzer şekilde, 2-7 cm boyutunda olabilen yaprakların rengi mat yeşil ya da üstü benekli, kenar boşlukları tam ya da bazen düzensiz dişlidir (Davis, 1978). Taç yapraklar kırmızı, pembe, beyaz

renkli; lopları kısa, küt ve genellikle 10 mm'den kısadır. Meyve, kapsül şeklindedir (Cengiz, 2019).



Şekil 2.2. *Cyclamen coum* A) Bulb B) Yaprak ve çiçek

Cyclamen coum bitkisi Anadolu' da yer somunu, domuz turbu, domuz elması gibi yöresel adlarla da bilinmektedir.

Cyclamen coum süs bitkisi olarak kullanılmasının dışında içerdiği sekonder metabolitler nedeniyle ilaç ve kimya endüstrisinde de kullanılmaktadır. Literatür çalışmalarında *Cyclamen coum* bitkisinden coumoside, cyclominorin, deglucocyclamine, cyclacumin, mirabilin lacton, cyclamiretin ve cyclamigenin kimyasal maddeleri izole edilmiştir (Çalış ve ark., 1997; Yaylı ve ark., 1998; Bokov ve ark., 2020).

Yıldız ve ark., (2013) *Cyclamen coum* ekstraktları uygulanan akciğer kanseri ve rahim ağzı kanseri hücre hatlarında, kanser hücrelerinin ekstrakt içeriğindeki aktif maddelere karşı duyarlı olduklarını tespit etmiş ve bu aktif maddelerin potansiyel kemoterapötik ajan olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

2.1.2. *Colchicum* sp.

Ülkemizde doğal yayılış gösteren geofitlerden birisi olan *Colchicum* hem bir süs bitkisi olarak hem de içerdiği çeşitli alkaloidlerle tıbbi bir bitki olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Cinsin Latince isminin kökeni bolca yayılış gösterdiği Doğu Karadeniz, Batum ile Güney Kafkasya, arasındaki bölgenin eski ismi olan “Colchis” kelimesinden gelmektedir (Toplan, 2016).

Colchicum cinsi Kuzey Yarımküre’ de özellikle Akdeniz Bölgesi’nde daha fazla bulunmakla beraber Avrupa, Kuzey Afrika ve Himalayalar’ ın kuzeyine kadar yayılış göstermektedir (Düşen, 2015). Ülkemizde en bol bulunan doğal yayılış alanları ise Adana, Afyon, Antalya, Ankara, Artvin, Denizli, Eskişehir, Giresun, Isparta, İstanbul, Karaman, Konya, Manisa, Muğla, Rize ve Trabzon şehirleri olarak belirtilmiştir (Sarı, 2020). Yurdumuzda 35 *Colchicum* türü bulunmaktadır ve bu türlerden 15 tanesi endemiktir (Akan ve Eker, 2005).

Colchicum cinsine ait sistematik tablosu aşağıda verilmiştir.

Alem	:	Plantae
Altalem	:	Tracheobionta
Şube	:	Magnoliophyta
Sınıf	:	Magnoliopsida
Takım	:	Liliales
Aile	:	Colchicaceae
Cins	:	<i>Colchicum</i>

Colchicum türleri çiçeklenme zamanına göre iki gruba ayrılmaktadırlar. Sonbaharda çiçek açan *Colchicum* türlerinde çiçekler ve yapraklar farklı mevsimlerde meydana gelmektedir. Bu türlerde, yapraklar ilkbaharda ortaya çıkarlar. İlkbaharda çiçek açan türlerde ise çiçekler ve yapraklar bir arada görünmektedir. Sonbaharda çiçek açan türler, ilkbaharda çiçek açan türlere göre genellikle daha büyük soğana ve tohumlara sahiptirler (Toplan ve ark., 2016).

Tablo 2.1. Türkiye’de yetişen ve sonbaharda çiçek açan *Colchicum* türleri (Toplan, 2016)

<i>Colchicum balansae</i>	<i>Colchicum decaisnei</i>	<i>Colchicum variegatum</i>
<i>Colchicum heldreichii</i>	<i>Colchicum dolichantherum</i>	<i>Colchicum hirsutum</i>
<i>Colchicum inundatum</i>	<i>Colchicum baytopiorum</i>	<i>Colchicum micaceum</i>
<i>Colchicum boissieri</i>	<i>Colchicum macrophyllum</i>	<i>Colchicum chlorobasis</i>
<i>Colchicum percicum</i>	<i>Colchicum ignescens</i>	<i>Colchicum paschei</i>
<i>Colchicum chalconicum</i> subsp. <i>punctatum</i>	<i>Colchicum imperatoris-frederici</i>	<i>Colchicum chalconicum</i> subsp. <i>chalconicum</i>
<i>Colchicum micranthum</i>	<i>Colchicum bionae</i>	<i>Colchicum poryphyllum</i>
<i>Colchicum cilicicum</i>	<i>Colchicum kotschy</i>	<i>Colchicum sanguicolle</i>
<i>Colchicum davisii</i>	<i>Colchicum kurdicum</i>	<i>Colchicum stevenii</i>
<i>Colchicum soboliferum</i>	<i>Colchicum turcicum</i>	<i>Colchicum sieheanum</i>
<i>Colchicum speciosum</i>	<i>Colchicum lingulatum</i> subsp. <i>rigescens</i>	<i>Colchicum szovitsii</i> subsp. <i>branchyphyllum</i>

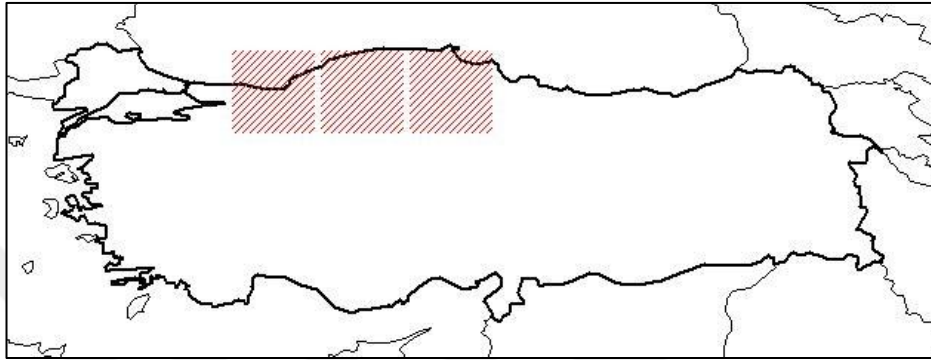
Colchicum türlerinden sonbaharda çiçek açanlarına Anadolu’ da Acıçığdem, Güzçığdemi, Öksüzali, Öksüz çiçeği, Ayı çiğdemi, İtboğan, Likofor, ve Tarhanaçiçeği gibi isimler verilmektedir (Düşen, 2015).

Tablo 2.2. Türkiye’de yetişen ve ilkbaharda çiçek açan *Colchicum* türleri (Toplan, 2016)

<i>Colchicum lagotum</i>	<i>Colchicum figlalii</i>	<i>Colchicum minutum</i>
<i>Colchicum atticum</i>	<i>Colchicum micranthum</i>	<i>Colchicum munzurensense</i>
<i>Colchicum manissadjianii</i>	<i>Colchicum leptanthum</i>	<i>Colchicum raddeanum</i>
<i>Colchicum crocifolium</i>	<i>Colchicum burtii</i>	<i>Colchicum triphyllum</i>
<i>Colchicum serpentinum</i>	<i>Colchicum trigynum</i>	<i>Colchicum szovitsii</i>
<i>Colchicum szovitsii</i> subs <i>szovitsii</i>		

2.1.2.1. *Colchicum bornmuelleri* Freyn

Çok yıllık ve otsu forma sahip olan *Colchicum bornmuelleri* Freyn. türü 1000-1900 m. yükseltide *Fagus* ve *Abies* ormanları arasında ve çayırılık alanlarda bulunmaktadır. Endemik olan tür ülkemizde Marmara'nın doğusu, Batı ve Orta Karadeniz ile Orta Anadolu'da yayılış göstermektedir.



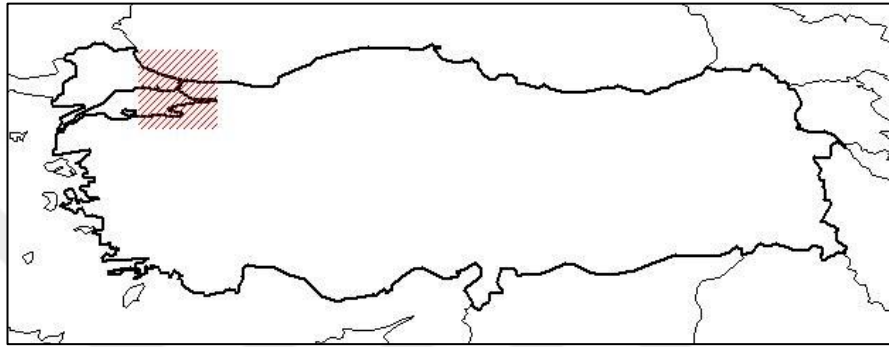
Şekil 2.3. Türkiye'de *Colchicum bornmuelleri* yayılış alanları (Url_2)



Şekil 2.4. A) *Colchicum bornmuelleri*, B) *Colchicum turcicum*

2.1.2.2. *Colchicum turcicum* Janka

Çok yıllık otsu forma sahip olan *Colchicum turcicum* türü yükseltisi 50 ile 200 m. arasında değişen bölgelerde, ıslak çayırılık alanlar ve tarla açıklıklarında yayılış göstermektedir. Yurdumuzda endemik olmamasına rağmen dar bir vejetasyon gösteren *C. turcicum* türüne Kuzey Batı Anadolu'nun İstanbul, Yalova, Kocaeli, Sakarya kısımlarında rastlanılmaktadır (Güner, 2012; Url_2).



Şekil 2.5. Türkiye’de *Colchicum turcicum* yayılış alanları (Url_2)

2.1.2.3. *Colchium* türleri üzerine yapılan farmakolojik çalışmalar

Colchicum türlerinde çok farklı colchiconoid alkaloidler bulunmaktadır. Antik çağlardan beri bilinen bu alkaloidlerin biyolojik aktivitelerinden çok çeşitli alanlarda yararlanılmıştır. Kolşisin alkaloidi ilk kez 16. yüzyılda *Colchicum* türlerinin soğanlarından, daha sonra 18. yüzyılda bitkilerin tohumlarından ekstrakte edilmiştir (Küçük ve ark., 2017).

Colchicum bitkisinden elde edilen alkaloidlerin en iyi bilineni Kolşisin (Şekil 2.3), antienflamatuar özelliklere sahip olduğu için Gut Hastalığı, Ailesel Akdeniz Ateşi, Behçet Hastalığı tedavisinde tercih edilen bir ilaç olarak kullanılmaktadır (Akbulut, 2009).

Kolşisin hücre bölünmesinin metafaz safhasında mikrotübüler polimerizasyonu engelleyerek güçlü bir antitümoral etki ortaya koymaktadır. Ancak tedavide letal doz

Tablo 2.4. *Colchicum turcicum* bitkisinden elde edilen alkaloidler (Husek ve ark., 1990)

3-Demethylcolchicine
3-Demethyldemecolcine
N-Deacetyl-N-formylcolchicine
Demecolcine
Cornigerine
2-Demethyldemecolcine
Colchifoline
Colchicine

2.2 Test Mikroorganizmaları

2.2.1. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus yaklaşık 1µm büyüklüğünde yuvarlak, sporsuz, kapsül bulundurmeyen bakterilerdir. Gram boyası ile boyandıklarında üzüm salkımı şeklinde gözükten bakteriler tek ikili ya da dörtlü halde görülebilmektedir (Ağaçfıdan, 2005).

Staphylococcus aureus, yüksek virulansa sahip, yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara neden olabilen ve çevresel koşullara çok iyi adapte olabilen gram pozitif bir bakteri türüdür. Hastane kaynaklı enfeksiyonların en önde gelen sebepleri arasında yer alan *S. aureus* toplum kökenli enfeksiyonlarda da giderek daha fazla yer edinmektedir. Gram pozitif bakteri kaynaklı enfeksiyonlarda en çok görülen *S.aureus*, dermatolojik doku enfeksiyonları, ameliyat sonrası gelişen enfeksiyonlar , zatürre, kemik iltihabı, endokardit gibi pek çok ciddi enfeksiyonlara da sebep olmaktadır. *S. aureus* enfeksiyonları, 1940'lı yılların başlarında penisilin ile kolaylıkla tedavi edilirken, kısa süre içinde özellikle nozokomiyal enfeksiyonlarda penisiline direnç kazanmıştır. 1950'li yıllarda eritromisine ve tetrasikline direnç gözlenmiş, 1961'de ise metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) tanımlanmıştır. Metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşlarından kaynaklanan enfeksiyonların tedavisi zor, mortalite ve morbiditesi yüksektir (Güngör ve ark, 2012).

2.2.2. *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae familyasından *Escherichia coli* (*E. coli*), gram boyası ile boyandığında kırmızı görünen, genellikle hareketli fakültatif anaerob, sporsuz, bir bakteri türüdür. Basit besiyerinde 18-24 saatte çoğalabilmektedirler. Katı besiyerinde çeşitli formlarda kolonizasyon oluştururlar (S, M veya R). 15 ile 45 °C aralığında üreme gösterebilen *E. coli* için optimum üreme sıcaklığı 37 °C olarak belirtilmiştir. Diğer bakteri suşlarından farklı olarak 44°C’ de üreyebilmektedirler. Buyyon ve jeloz gibi genel besiyerlerinde pH 7.2’de kolaylıkla gelişirler. Jelozda kabartı şeklinde, yuvarlak, düzgün, küçük çaplı, mat olmayan S tipi koloniler yaparlar (Bilgehan, 1995; Ağaçfıdan, 2005).

Konak hücrelere tutunma şekilleri ile etkileri, toksin üretimi ve yayılma gibi virulens faktörlerini kapsayan virotipik sınıflandırmaya göre, sindirim sistemi hastalıklarına yol açan *E. coli*’ nin 5 virotipi bildirilmektedir. İdrar yolu enfeksiyonlarına neden olan patojenler arasında en yaygın görülen *E. coli*’ dir (Çetin ve ark., 2006). Su ve gıdalarda *E. coli* varlığı, bunlara dışkı bulaşı olduğunun göstergesidir (Balpetek, 2009).

2.2.3. *Enterococcus faecalis*

Enterokok cinsi bakteriler 10-45 °C’de üreyebilen, 60 °C’de 30 dakika canlı kalabilen, %6.5 NaCl içeren ortamda üremeyi sürdürebilen bakterilerdir. Ayrıca pH’ ı yüksek ortamlarda, %40 sifra tuzu içeren ortamlarda üreyebilirler. Fakültatif anaerob olan bu bakteriler sitokrom enzimleri bulunmadığı için katalaz negatiftirler. 32 farklı tür içeren enterokokların en önemli üyeleri *E. faecalis* ve *E. faecium* olup bu türler insan sindirim sistemde doğal olarak yaşayabilmektedirler.

Enterokoklar dışkı kaynaklı olmaları ve olumsuz çevresel faktörlere karşı dirençli olmaları sebebiyle genellikle gıda, bitki, su ve toprakta görülebilmektedir. Enterokoklar çok çeşitli konakçı dağılımına sahiptirler. İnsan ve hayvanların derisinde gastrointestinal sisteminde, üreme ve boşaltım sistemlerinde bulunabilirler. Canlı ortamlar dışında, yüzey sularında, akarsularda, kanalizasyonda, toprakta ve çeşitli gıda

maddelerinde enterokoklar bulunabilirler. Enterokokların virulansı dar olmasına rağmen, toplum ve hastane merkezli enfeksiyonların önemli nedenleridir. *E. faecalis* ve *E. faecium*' un metabolik faaliyetleri sonrasında açığa çıkan sitolizin, insan ve hayvan eritrositleri için hemolitik aktivite gösterir. Ayrıca *E. faecalis*' te gözlenen biyofilm oluşumu bu patojenin kalp kapaklarında ve boşaltım sistemi kısımlarında koloniler oluşturmalarını kolaylaştırmaktadır. Son dönemde Enterokokların amfisilin ve penisiline karşı direnç göstermeleri bu antibiyotiklerin kullanımını kısıtlamaktadır (Matyar ve Dinçer, 2010).

2.2.4. *Bacillus subtilis*

Bacillaceae familyasına dahil olan *Bacillus subtilis*, çürümüş bitki artıkları toprak, su, havada gibi çok çeşitli ortamlarda bulunabilen gram pozitif bir bakteridir. Saprofit bir bakteri olan *Bacillus subtilis* doğada madde döngüsüne önemli katkı sağlamaktadır. Bu bakteriler genellikle oksijen içeren ortamda yaşamalarına rağmen oksijen içermeyen nitratlı ortamlarda da gelişebilmektedirler. *Bacillus subtilis*, sıcaklık ve kuraklığın hüküm sürdüğü ekstrem koşullarda endospor oluşturarak canlılığını korumaktadır. Endosporları fiziksel ve kimyasal faktörlere karşı çok dayanıklı olan *Bacillus subtilis*, doğada genellikle spor formunda bulunmaktadır. Bu bakterilerin metabolik faaliyetleri sonucunda ürettikleri çeşitli maddeler ve enzimler ortamda yer alan diğer mikroorganizmaları baskılamaktadır. Bu özelliği ile uzun yıllardır gıda, yem ve tarım sanayiinde kullanılmaktadır (Yönsel, 2010).

Bacillus bakterilerinin ürettiği amilaz, proteaz, lipaz benzeri enzimler, antibiyotikler ve bakteriyosinler endüstriyel öneme sahip metabolitler gıda farmakoloji ve kimya endüstrilerinde kullanılmaktadır (Vaikundamoorthy ve ark., 2018).

2.2.5. *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis, gram pozitif, katalaz pozitif ve koagülaz negatif bir bakteridir. Mikroskop altında hücreler salkım halinde izlenebilmektedir. Fakültatif anaerob özellik sergilemelerine rağmen ancak oksijenli ortamlarda daha iyi ürerler.

15-45 °C üreme gösteren bu bakteriler için optimum sıcaklık 30-37 °C' dir. *S.epidermidis* optimum üreme potansiyelini %10 NaCl içeren ortamda göstermektedir (Ağaçfıdan ve ark., 2005).

Staphylococcus epidermidis deride baş, koltuk altı, burun delikleri gibi bölgelerde yer alan normal bir flora bakterisidir. Son dönemlerde hastane kaynaklı enfeksiyonlarda sıklıkla karşılaşılan bir tür olan *S. epidermidis*'in etken olduğu enfeksiyonların çoğu kateter, kalp kapakçığı protezleri, eklem protezleri ve diğer cerrahi implantların vücuda yerleştirilmesinden sonra görülmektedir. *S. epidermidis* 'in biyofilm oluşturma özelliği de bulunmaktadır (Eryılmaz ve Gürpınar, 2017).

2.2.6. *Salmonella typhimurium*

Enterobacteriaceae familyasına ait olan *Salmonella typhimurium* çomak şeklinde hareketli, sporsuz, kapsülsüz gram negatif bir bakteridir. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanmaktadırlar.

Salmonella bakterileri çok çeşitli besiyerlerinde kolaylıkla üreyebilen aerob veya fakültatif anaerob özellik gösteren mikroorganizmalardır. Geniş üreme sıcaklık aralığına (20-42 °C) sahip olan bu bakteri türü için optimum üreme sıcaklığı 37 °C' dir. Düşük alkali ortamlarda optimum büyüme gösteren *S. typhimurium*, buyyon ve benzeri sıvı besiyerinde homojen bulanık bir görüntü ortaya koymaktadır. Jelozda 2-3 mm çapında yuvarlak, düzgün yüzeyli veya kenarlı koloniler yaparlar. (Bilgehan, 1995).

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Materyal eldesi

Çalışmamızda kullanılan *Cyclamen coum* Sakarya ili Pamukova ilçesi Çilekli köyü karışık orman altından 2019 yılının Mart ayında toplanmıştır. *Colchicum turcicum* türü 2020 yılının Ekim ayında Çilekli Köyü merasından, *Colchicum bornmuelleri* türü ise 2019 yılının Ekim ayında Sakarya ili Taraklı ilçesi Tuzla Köyü çıkışından toplanmıştır. Alınan örnekler Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı Bitki koleksiyonunda saklanmıştır.

3.1.2. Kullanılan test mikroorganizmalar

B. subtilis ATCC 6633, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. typhimurium* ATCC 14028, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 1029, *S. aureus* ATCC 29213 suşları kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan araç gereç ve sarf malzemeler

Çalışmada kullanılan araç ve gereç ve sarf malzemeleri Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı, Sakarya Üniversitesi Herbaryum'u ve Sakarya Üniversitesi Bitki Fizyolojisi Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Bu araç ve gereçler Tablo 3.1.'de sarf malzemeler ise Tablo 3.2.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan araç ve gereçler

Etüv(NUVE)	Kumpas
Mikropipet (GILSON)	Mikropipet Ucu
Otoklav (Alp CI-32I)	Baget
Hassas Terazı	Manyetik Karıştırıcı (IKA RCT Classic)
Erlen	Öze
Filtre Kağıdı	Pipet
Uv Spektrometre	Cam Balon
Densitometre (Biosan Den-1)	Deney Tüpü
Rotary Evaporatör	Beher
Pens	Blender (ARZUM)
Folyo	Mikropipet 100-1000 Ml

Tablo 3.2. Kullanılan sarf malzemeler

Metil alkol (SİGMA)	Patates Dekstraz Agar
Etil alkol(SİGMA)	Mueller Hinton Agar (MERCK)
Aseton(SİGMA)	Streç film
DPPH(SİGMA)	Ölçüm kabı
9 mm çapında steril petri	Gentamisin
Antibiyotik Diskler (HIMEDIA)	Otoklav poşeti
Triptik Soy Broth (MERCK)	Eküvyon Çubuk
Parafilm	Flukonozol
Numune şişesi	

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması

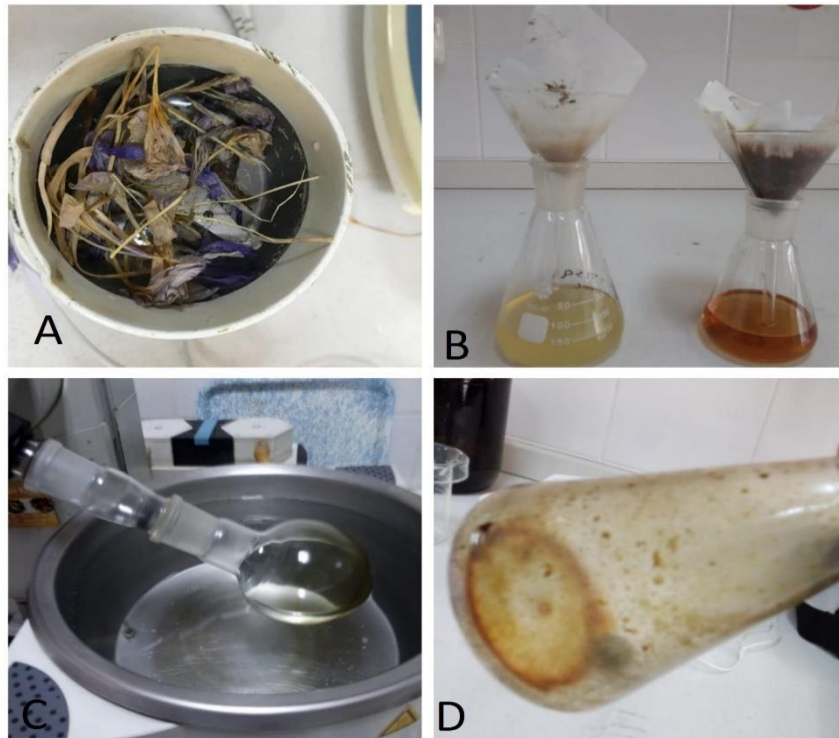
Alınan bitki örneklerinden *Cyclamen coum* bulbları, *Colchicum turcicum* ve *Colchicum bornmuelleri* türlerinin toprak altı kısımları distile su ile yıkanarak topraklarında arındırılmıştır. Tüm materyal yedi gün süre ile gölgede oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan örnekler kısımlarına göre sınıflandırılarak elektrikli öğütücü ile toz haline getirilmiştir.

3.2.2. Direkt özütleme

Öğütülen tüm bitki kısımları 100 gr olacak şekilde ayrı ayrı hassas terazi ile tartılıp vida kapaklı cam şişelere konulmuştur. Şişelere konulan materyaller üzerlerine 100 ml etanol eklenerek manyetik karıştırıcıda 72 saat karıştırılmıştır.

3.2.3. Çözücülerin uzaklaştırılması

Özütleme işlemi sonrasında çözeltiler Whatman kağıdı ile daha önceden darası alınmış cam balonlara süzölmüştür. Süzölen bitki ekstraktlarını çözücülerden uzaklaştırmak için 40 - 45° C’de rotary evaporatör kullanılmıştır. Hazırlanan ekstraktlar kullanılacağı zamana kadar +4 °C’de saklanmıştır. Antimikrobiyal aktivite deneyleri için 6400 µg/disk antioksidan aktivite ve toplam fenolik içerik için 1000 µg/mL stoklar hazırlanmıştır. Deney aşamaları Şekil 3.1.’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Bitki ekstraktlarının hazırlanması A) Öğütme, B) Süzme, C) Uçurma, D) Konsantrasyon ayarlama

3.2.4. Besiyerlerinin hazırlanması

Çalışmamızda mikroorganizmaları üretmek amacıyla Triptik Soy Broth, Mueller Hinton Agar besiyeri kullanılmıştır. Aseptik koşullarda toz halindeki TSB ve MHA laboratuvar ortamında hazırlanmıştır. TSB besiyeri, 30 gr granül haldeki besiyeri üzerine deiyonize su eklenerek 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Deney tüplerine 5 mL olacak şekilde besiyeri doldurularak 121°C'de, 1 atm basınç altında 15 dakika boyunca steril edilmiştir. İşlem sonrasında besiyerlerinin kapakları kapatılarak deney süresine kadar +4 °C'de saklanmıştır.

MHA besiyeri yapmak için 34 gr toz dehidre besiyerine deiyonize su eklenerek 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Vida kapaklı cam şişe içerisinde süspansiyon iyice karıştırılarak kapakları gevşek bırakılarak kapatılmıştır. Vida kapaklı cam şişe 121 °C'de, 1 atm basınç altında 18 dakika otoklavda sterilizasyona maruz bırakılmıştır. Sterilizasyon sonrasında 50 °C'ye kadar soğutulan besiyerleri laminar flow kabin içerisinde 9 mm'lik steril petri kaplarına dökülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerleri çalışma anına kadar +4 °C'de saklanmıştır.

3.2.5. Kullanılan kimyasalların hazırlanması

%0,004' lük DPPH çözeltisi: 0,02 g 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl reaktifi 0,5 L etanol ile çözülerek elde edilmiştir.

1 mg/mL Askorbik asit: 20 mg Askorbik asit üzerine 20 mL metanol eklenerek hazırlanmıştır.

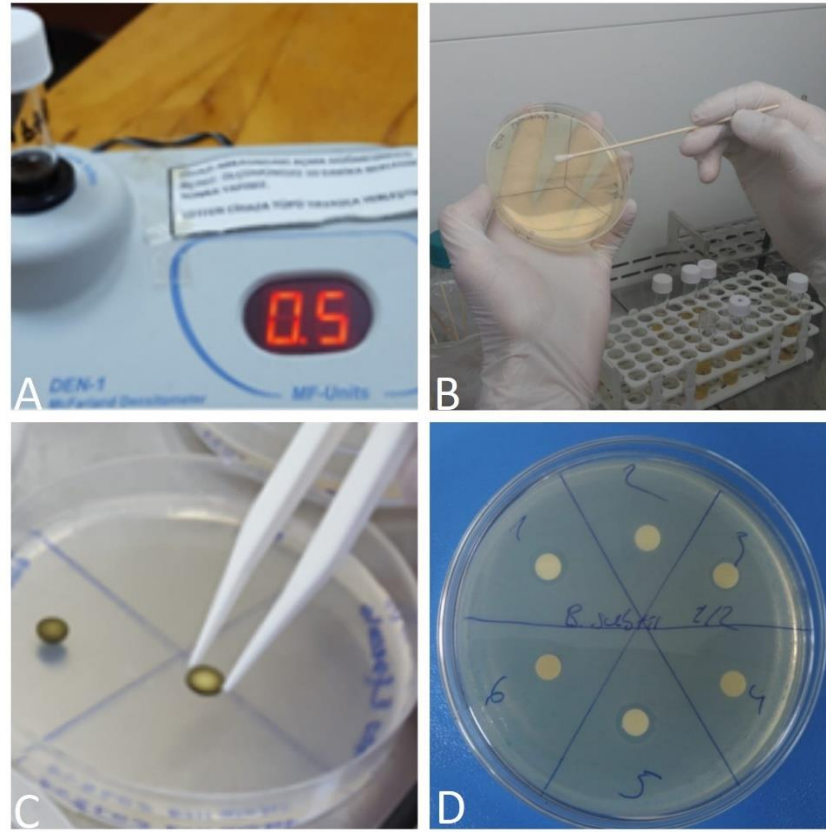
%50'lik Folin-Ciocalteu reaktifi: 1000 µL Folin-Ciocalteu reaktifi ile 1000 µL distile su karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.2.6. Test mikroorganizmalarının hazırlanması

Deneyde kullanılacak olan mikroorganizmalar Triptik Soy Broth besiyerine inoküle edilmiş ve 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Aktifleştirilen taze kültürlerden alınan bakteriler 9 mL’lik deney tüplerindeki Triptik Soy Broth besiyerine aktararak 0,5 McFarland (10^8 CFU/mL) bakteri yoğunluğu ayarlanmıştır.

3.2.7. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Çalışmamızda kullanılan ekstraktların antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde Disk Difüzyon Yöntemi kullanılmıştır. 6400 µg/disk konsantrasyonda hazırlanan bitki ekstraktlarından 15 µL alınarak steril boş disklerle emdirilmiştir. Diskler, karanlıkta ve oda sıcaklığında 2 saat kurumaya bırakılmıştır. 0,5 McFarland yoğunluğunda hazırlanan mikroorganizma süspansiyonlarından MHA besiyerlerine eküvyon çubuk ile steril ortamda ekim gerçekleştirilmiştir. Bitki ekstraktı emdirilmiş diskler ekim yapılan MHA besiyerine pens yardımıyla bırakılarak 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Çalışmada etanol emdirilmiş diskler negatif kontrol, Gentamisin yüklü diskler de pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. 24 saat sonra bitki ekstraktlarının mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkisi dijital kumpas yardımıyla disk etrafındaki inhibisyon zon çapları (mm) ölçülerek değerlendirilmiştir. Tüm deneyler üç paralel olarak tekrarlanmıştır. Disk Difüzyon Yöntemi Şekil 3.2.’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. A) Bakteri yoğunluğunun ayarlanması B) Bakteri ekimi C) Disk Yerleştirme D) inhibisyon zon çapları

3.2.8. Toplam fenolik maddenin belirlenmesi

Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile değerlendirilmiştir. Singleton ve Rossi (1965) Folin-Ciocalteu yöntemi üzerinde ufak değişiklikler yapılarak çalışılmıştır. Hazırlanan ekstraktan 100 μ L alınarak, 200 μ L %50'lik Folin-Ciocalteu reaktifi eklenerek ve 2 dakika bekletilmiştir. Üstüne 1 mL %2'lik sodyum karbonat çözeltisi ilave ederek 1 saat karanlıkta dinlendirilmiş ve 760 nm'de absorbansları spektrometrede ölçülmüştür. Ekstraktların toplam fenolik madde miktarı gallik asit eğrisi kullanılarak mg/ 100 g değerinde hesaplanmıştır.

3.2.9. Antioksidan aktivite

1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH) radikal süpürme testi ilk olarak 1958'de Blois tarafından yapılmıştır. Sonraki yıllarda birçok araştırmacı tarafından modifiye edilerek kullanılmıştır. Bitki örnekleri için en sık kullanılan antioksidan analizlerinden biridir

(İnceçayır ve ark ,2019). Farklı konsantrasyonda hazırlanan ekstraktlardan ve askorbik asitten 1 mL alınarak, üzerine 1 mL %0,04'lük DPPH çözeltisi eklenmiştir. Vorteks ile karıştırıldıktan sonra karanlıkta oda sıcaklığında 30 dk bekletilmiş ve 517 nm'de absorbansları kaydedilmiştir. Kontrol için, 1 mL etanol çözücüsüne 1 mL DPHH eklenerek hazırlanmıştır. Standart olarak Askorbik asit konsantrasyonları kullanılmıştır. Ekstraktın % DPPH süpürme aktivitesi aşağıdaki eşitlik kullanılarak (Denklem 3.1) hesaplanmıştır. Antioksidan aktivite sonuçları DPPH konsantrasyonun %50 inhibisyonunu sağlayan konsantrasyon değeri olan IC50 ile değerlendirilmiştir.

$$\% \text{ DPPH giderme aktivitesi} = \frac{A_{kontrol} - A_{örnek}}{A_{kontrol}} \times 100 \quad (3.1)$$

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Cyclamen coum, *Colchicum turcicum* ve *Colchicum bornmuelleri* bulb, toprak altı ve toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktların *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *S. epidermidis* ATCC 12228, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. albicans* ATCC 1029 mikroorganizma suşlarına karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda hazırlanan ekstraktların tümünde en az bir test mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal etki saptanmıştır. En yüksek antimikrobiyal aktivitenin gözlemlendiği ekstrakt *Colchicum turcicum* toprak altı etanol ekstraktı olarak kaydedilmiştir. *Cyclamen coum* ekstraktlarının *Candida albicans* üzerinde orta seviyede antifungal aktivite gösterdiği ortaya konmuştur.

Çalışmada kullanılan bitki kısımları arasındaki antimikrobiyal etki kıyaslandığında *Colchicum* türlerinde en yüksek aktivitenin toprak altı kısım ekstraktlarından, *Cyclamen coum* türünde ise çiçek ekstraktlarından elde edildiği belirlenmiştir.

4.1.1. *Colchicum turcicum* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi

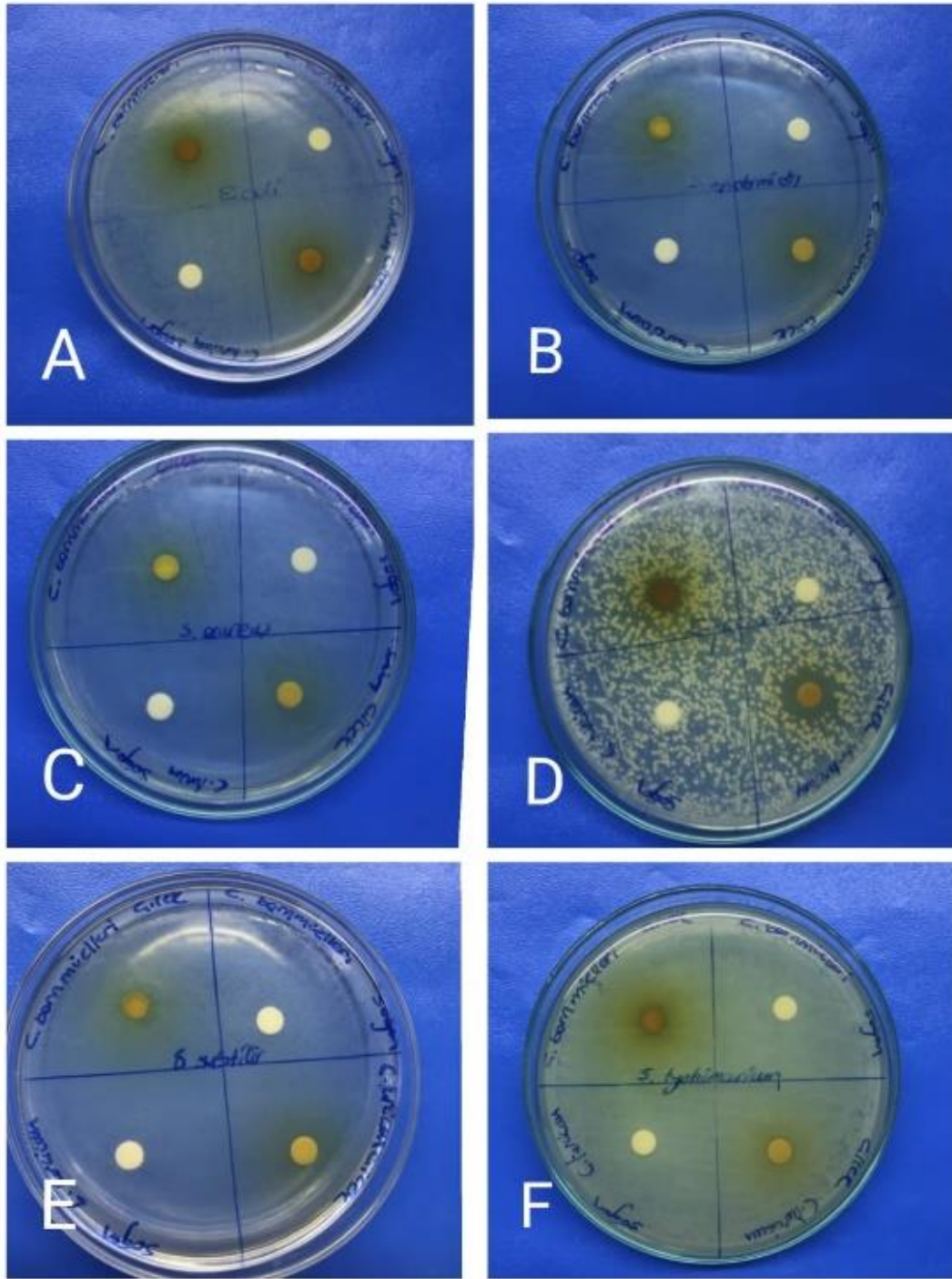
Colchicum turcicum toprak altı ve toprak üstü kısımlarından elde edilen etanolik ekstraktların çalışmada kullanılan test bakterileri üzerindeki antibakteriyel aktivitesi Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. *Colchicum turcicum* ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi

Test mikroorganizmaları	İnhibisyon Zon Çapı(mm)			
	Toprak üstü	Toprak altı	P. kontrol	N.kontrol
<i>B. subtilis</i>	0	0	17	0
<i>S.typhimurium</i>	0	0	21	0
<i>E. coli</i>	0	7	19	0
<i>E. faecalis</i>	16,5	0	20	0
<i>S. epidermidis</i>	0	0	21	0
<i>S. aureus</i>	0	0	20	0

P. Kontrol: Pozitif Kontrol (Gentamicin), N. Kontrol: Negatif Kontrol (Etanol)

Tablo 4.1.'de elde edilen verilere göre *Colchicum turcicum* toprak altı ekstraktının *E.coli* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Toprak üstü ekstraktının *E. faecalis* üzerinde 16,5 mm. inhibisyon zon çapı oluşturduğu belirlenmiştir. *Colchicum turcicum* ekstraktlarının *B. subtilis*, *S.typhimurium* , *S. epidermidis* ve *S. aureus* mikroorganizmaları üzerinde antibakteriyel aktivitesinin olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. *Colchicum* türlerinin A) *E. coli*, B) *S. epidermidis*, C) *S. aureus*, D) *E. faecalis*, E) *B. subtilis*, F) *S. typhimurium* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi

4.1.2. *Colchicum bornmuelleri* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi

Colchicum bornmuelleri bitkisinin toprak altı ve toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol ekstraktlarının test bakterileri üzerindeki antibakteriyel aktivitesi Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. *Colchicum bornmuelleri* ekstraktlarının test bakterileri üzerindeki antibakteriyel aktivitesi

Test mikroorganizmaları	İnhibisyon Zon Çapı(mm)			
	Toprak üstü	Toprak altı	P. kontrol	N.kontrol
<i>B. subtilis</i>	0	0	17	0
<i>S.typhimurium</i>	0	0	21	0
<i>E. coli</i>	0	7	19	0
<i>E. faecalis</i>	10,5	0	20	0
<i>S. epidermidis</i>	0	0	21	0
<i>S. aureus</i>	0	0	20	0

P. Kontrol: Pozitif Kontrol (Gentamicin), N. Kontrol: Negatif Kontrol (Etanol)

Tablo 4.2. 'de elde edilen verilere göre *Colchicum bornmuelleri* bitkisinin toprak üstü ekstraktının *E. faecalis* üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği gözlenmiştir. Toprak altı ekstraktının *E. coli* bakterisi üzerinde 7 mm. inhibisyon zon çapı oluşturduğu belirlenmiştir.

4.1.3. *Cyclamen Coum* bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi

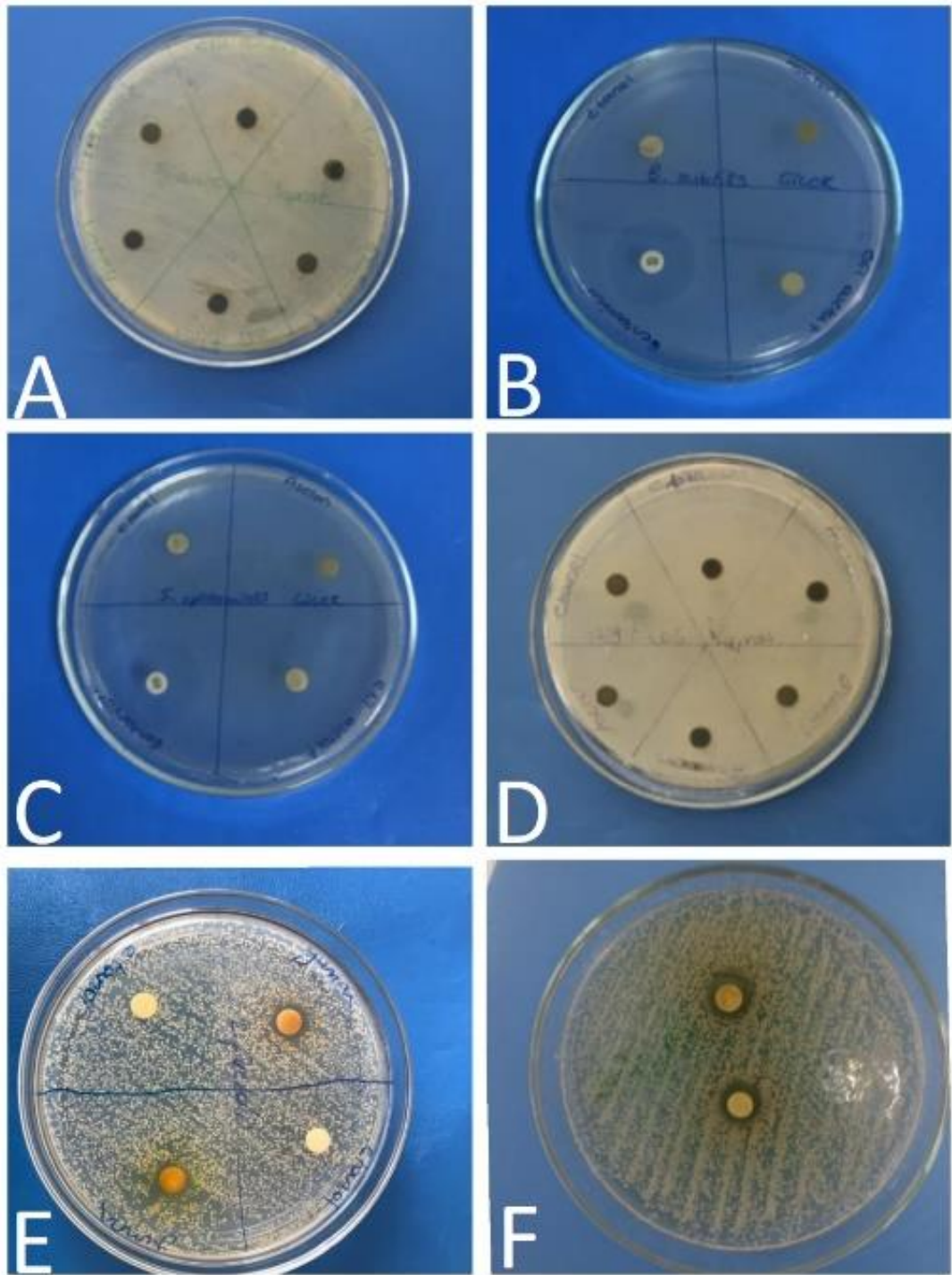
Cyclamen coum bitkisinin bulb, yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen ekstraktların test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal etkisi incelenmiştir.

Tablo 4.3. *Cyclamen coum* ekstraktlarının test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi

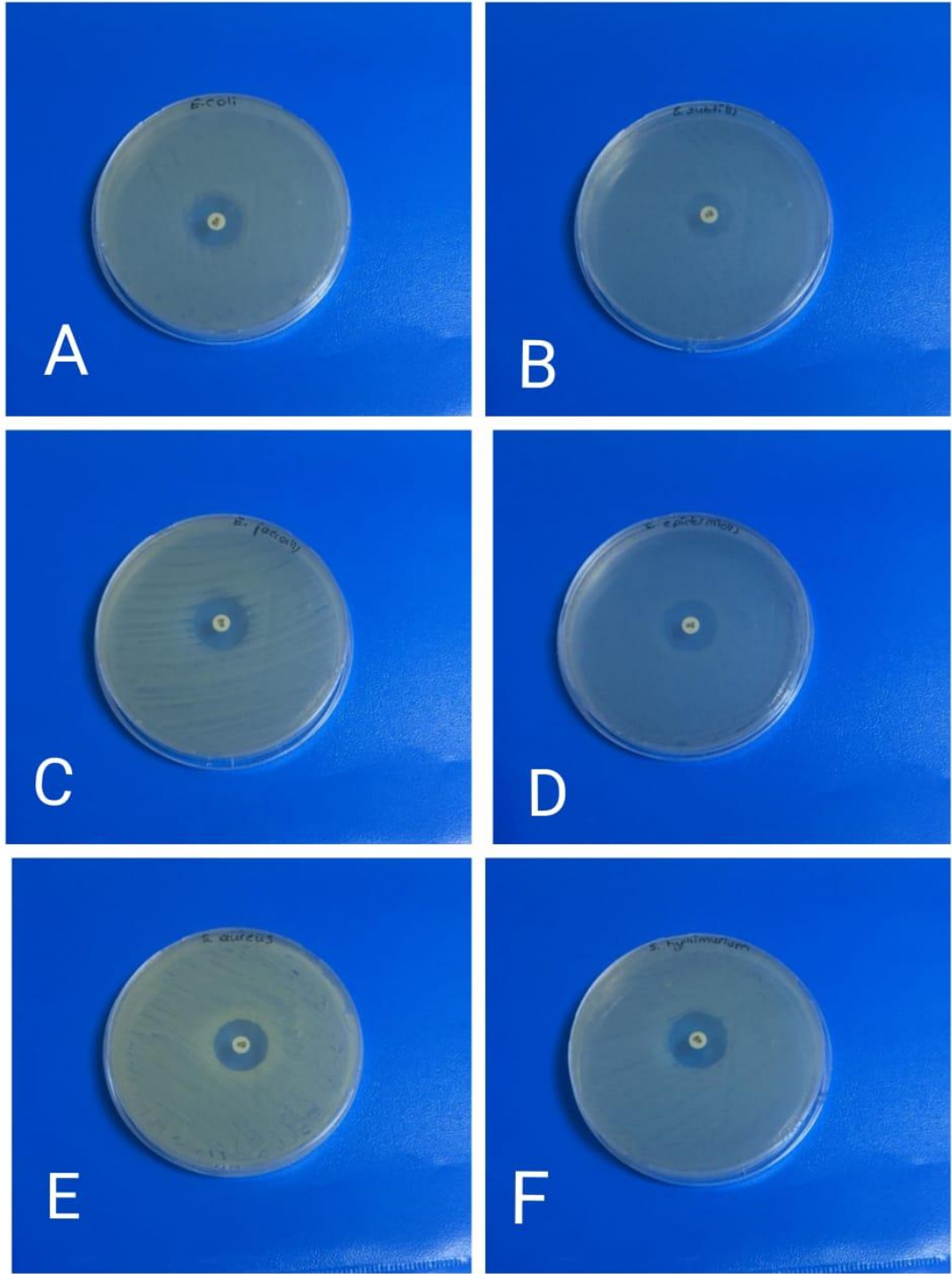
Test mikroorganizmaları	İnhibisyon Zon Çapı(mm)				
	Bulb	Yaprak	Çiçek	P. kontrol	N.kontrol
<i>B. subtilis</i>	0	0	0	17	0
<i>S.typhimurium</i>	0	0	0	21	0
<i>E. coli</i>	0	0	0	19	0
<i>E. faecalis</i>	8	0	0	20	0
<i>S. epidermidis</i>	0	0	0	21	0
<i>S. aureus</i>	0	0	0	20	0
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	20	0
<i>C. albicans</i>	8	0	11	16	0

P. Kontrol: Pozitif Kontrol (Gentamicin), N. Kontrol: Negatif Kontrol (Etanol)

Cyclamen coum bulb ekstraktının test mikroorganizmaları arasında etki gösterdiği *E. faecalis* inhibisyon zon çapı 8 mm. olarak belirlenmiştir. Bulb ekstraktının *C. albicans* üzerindeki inhibisyon zon çapı da 8 mm olarak hesaplanmıştır. *Cyclamen coum* bitkisinden elde edilen diğer ekstraktların test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal etki göstermediği gözlemlenmiştir.



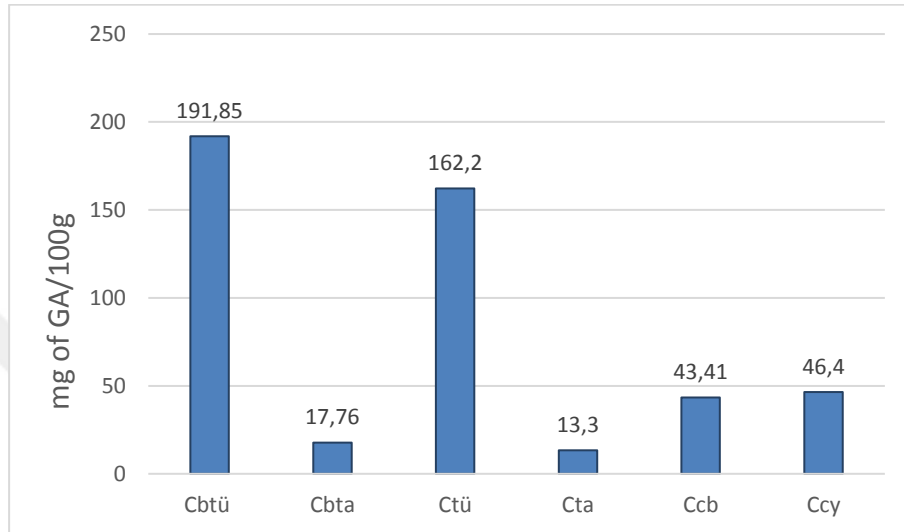
Şekil 4.2. *Cyclmen coum* A) Yaprak ekstraktının *S. aureus*' ta B) Çiçek ekstraktının *B. subtilis*' te C) Çiçek ekstraktının *S. epidermidis*' te D) Yaprak ekstraktının *E. coli*' de E) Bulb ekstraktının *E. faecalis*' te F) Çiçek ekstraktının *C. albicans*' ta gösterdikleri antimikrobiyal etki



Şekil 4.3. Gentamicin'in A) *E. coli*, B) *B. subtilis*, C) *E. faecalis*, D) *S. epidermidis*, E) *S. aureus* F) *S. typhimurium* üzerineki antimikrobiyal etkisi

4.2. Toplam Fenolik Madde Sonuçları

Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenen toplam fenolik madde içeriği sonuçları Şekil 4.3.'te belirtilmiştir. Toplam fenolik madde galik asit standardı kullanılarak mg/100 g cinsinden değerlendirilmiştir.



Şekil 4.4. Etanol ekstraktlarının toplam fenolik miktarı (Cbtü: *C. bornmuelleri* toprak üstü, Cbta: *C. bornmuelleri* toprak altı, Ctü: *C. turcicum* toprak üstü, Cta: *C. turcicum* toprak altı, Ccb: *C. coum* bulb, Ccy: *C. coum* yaprak)

En yüksek toplam fenolik madde miktarı *C. bornmuelleri* toprak üstü kısmında 191,85 mg GA/100g olarak belirlenmiştir. *Colchicum* türlerine bakıldığında toprak üstü kısımların toplam fenolik madde miktarı toprak altı kısımlara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. *Cyclamen coum* bulb ekstraktının 43,41 mg GA/100g, yaprak ekstraktının ise 46,4 mg GA/100g toplam fenolik madde içerdiği tespit edilmiştir.

4.3. Antioksidan Aktivite Sonuçları

Colchicum turcicum ve *Colchicum bornmuelleri* bitkilerinin toprak altı ve toprak üstü kısımları ile *Cyclamen coum* bulb ve yaprak kısımlarından elde edilen etanol çözücülü ekstraktların IC50 değerleri Tablo 4.4' de verilmiştir. *C. bornmuelleri* ve *C. turcicum* bitkilerinin DPPH reaktifini %50 oranında süpürme değeri olan IC50 ölçümlerinin toprak üstü kısımlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.4. DPPH %50 süpürme sonuçları (IC50)

EKSTRAKT	IC50 $\mu\text{g/mL}(\pm\text{STD})$
<i>C. bornmuelleri</i> toprak üstü	23,78 $\pm$ 2,6
<i>C. bornmuelleri</i> toprak altı	768,65 $\pm$ 1,0
<i>C. turcicum</i> toprak üstü	14,2 $\pm$ 3,0
<i>C. turcicum</i> toprak altı	530,92 $\pm$ 5,9
<i>C. coum</i> bulb	145,15 $\pm$ 1,1
<i>C. coum</i> yaprak	151,68 $\pm$ 1,9
Askorbik asit	3,6 $\pm$ 0,1

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda *Cyclamen coum* bitkisinin bulb, yaprak ve çiçek kısımlarından, *Colchicum bornmuelleri* ve *Colchicum turcicum* bitkilerinin ise toprak altı ve toprak üstü yapılarından elde edilen ekstraktlar kullanılarak Disk Difüzyon Yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca *Colchicum* türlerinin toprak altı ve üstü yapılarının; *Cyclamen coum* bulb ve yapraklarının etanol ekstraktlarından DPPH kimyasalının %50 süpürme oranına dayalı olan antioksidan aktivite tayini ve Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak toplam fenolik madde miktarı tespit edilmiştir.

İnsan ve hayvan patojenik bakterilerinde çoklu ilaç direncinin ortaya çıkması ve ayrıca bazı antibiyotiklerin istenmeyen yan etkileri bitki kökenli yeni antimikrobiyal ilaçların araştırılmasına yönelik olan ilgiyi arttırmıştır. Geleneksel olarak kullanılan şifalı bitkiler bilinen terapotik özelliklere sahip çeşitli bileşikler üretmektedirler. Bitki kökenli antimikrobiyal bileşikler bitkilerin dallarında, köklerinde, yapraklarında, kabuk, çiçek veya meyvelerinde oluşabilirler (Albayrak ve Kaya, 2019). Antimikrobiyal ilaçların kaynağı olarak bitkilerin büyük potansiyeli göz önüne alınarak yapılan bu çalışma literatüre önemli katkılar sağlayacaktır (Ahmad ve Beg, 2001; De zoysa ve ark., 2019).

Çalışmamızın antimikrobiyal aktivite sonuçları değerlendirildiğinde her iki *Colchicum* türünün toprak üstü kısım ekstraktlarının *E. faecalis* bakterisi üzerine, orta derecede antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. *C. turcicum* ve *C. bornmuelleri* türlerinin toprak üstü ekstraktlarının diğer test mikroorganizmaları üzerinde antibakteriyel aktivite göstermedikleri belirlenmiştir. Aynı bitki türlerinin toprak altı ekstraktlarının *E. coli* bakterisi üzerinde düşük düzeyde antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenirken diğer test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermedikleri tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada *Colchicum balaense* bitkisinin bütün kısımları kullanılarak hazırlanan etanolik ekstraktın *S. aureus* üzerinde 10 mm, *E. faecalis* üzerinde 8 mm, *E. coli* üzerinde 9 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu tespit edilmiştir (Mammadov ve ark., 2009). Çalışmamızda *Colchicum* türlerinin toprak altı kısımlarından elde edilen ekstraktların *E. coli* üzerinde 7 mm, toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktların *E. faecalis* üzerinde 10.5 mm ve 16,5 mm inhibisyon zon çapı oluşturdukları gözlemlenmiştir. Çalışmalar arasındaki farklılık başta bitki türünün farklı olmasından kaynaklanabileceği gibi bitkilerin toplandığı yer, ekstrakt hazırlama yöntemleri ve ekstrakt hazırlarken farklı bitki kısımlarının kullanılmasından kaynaklanabilir. Çalışmamızla paralel şekilde Hanif ve ark. (2010) yapmış oldukları bir çalışmada *Colchicum autumnale* L. türünden elde edilen ekstraktların *B. subtilis* bakterisi üzerine antimikrobiyal aktivite göstermediğini bildirmişlerdir.

Türker ve Usta (2008) yapmış oldukları çalışmada *Cyclamen coum* yapraklarının sulu ekstraktlarının *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *S. aureus* üzerinde antibakteriyel etki göstermediğini bildirmişlerdir. Yaptığımız çalışmada da *Cyclamen coum* yaprak ekstraktlarının, kullanılan test mikroorganizmaları üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermedikleri saptanmıştır.

Semerci ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada *Cyclamen coum* çiçeklerinin metanolik ekstraktlarının *C. albicans* üzerinde 9,5 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda da benzer şekilde etanol çiçek ekstraktlarının *C. albicans* üzerinde 11 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu gözlemlenmiştir.

Cyclamen coum bulblarından butanol ile hazırlanan ekstraktların antibakteriyel etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, ekstraktların *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. typhi*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis* bakterileri üzerinde antimikrobiyal etki gösterdikleri belirlenmiştir (Saboora ve ark.,2019). Yaptığımız bu çalışmada etanol ile hazırlanan bulb ekstraktlarının sadece *E. faecalis* üzerinde antibakteriyel etki gösterdikleri görülmüştür. İki çalışma arasındaki farklılığın ekstrakt hazırlamada kullanılan çözücülerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Antimikrobiyal aktivitenin düşük

görülmesi bitkide biyoaktif bileşiklerin bulunmadığı veya bitkinin mikroorganizmalara karşı aktivitesinin olmadığı anlamına gelmemektedir. Ekstrelerin antimikrobiyal aktivite göstermek için yetersiz miktarlarda aktif bileşen içermesi de olumsuz sonuçlara neden olabilmektedir.

Bitkiler, ilaç ve sağlık ürünleri olarak her zaman önemli bir kaynak oluşturmaktadırlar. Doğal ilaca olan ilgi, tedavide gelenekel olarak kullanılan şifalı bitkiler üzerine odaklanmaktadır. İçerdikleri polifenoller gibi sekonder metabolitler ile vücudu serbest radikallere karşı savunmada çok önemli bir rol üstlenirler. Tıbbi bitkiler genellikle flavonoidler, tanenler, kumarinler, lignanlar vb. fenolik bileşikler bakımından zengindir. Polifenollerin antioksidan özellikleri indirgeyici ajan ve hidrojen verici olma , metal şelatör olarak hareket etme ve reaktif oksijeni bağlama gibi redoks özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Polifenolikler antibakteriyel, antiviral, antienflamatuar, antialerjik, antikanserojenik gibi çok çeşitli biyolojik etkiler ortaya koymaktadırlar. Bu biyolojik aktivitelerin yanısıra yüksek oranda serbest radikalleri giderdikleri için antioksidan aktivite ile ilişkili oldukları pek çok çalışmada gösterilmiştir(Piluzza ve Bullitta, 2011; Ben Yakoub ve ark., 2018).

Bu çalışmada *Colchicum* türlerinden elde edilen ekstraktlarda toprak üstü kısımların daha yüksek antioksidan aktivite ve toplam fenolik içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir. En yüksek antioksidan aktivitenin *Colchicum turcicum* bitkisinin toprak üstü kısmından hazırlananan ekstraktta olduğu saptanmıştır. En düşük antioksidan aktivite ise *Colchicum bornmuelleri* bitkisinin toprak altı kısımlarından elde edilen ekstraktlarda gözlenmiştir.

Kılıç ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada *Colchicum turcicum* bitkisinin kök ve gövde kısımlarından elde edilen su ve aseton ekstratlarının sırasıyla IC₅₀ değerlerini 29,98 µg/mL, 45,74 µg/mL olarak hesaplamışlardır. Aynı çalışmada su ile hazırlanan ekstraktın toplam fenolik madde miktarı 0,454 mg/g, aseton ile hazırlanan ekstraktın toplam fenolik madde miktarı ise 2,172 mg/g olarak belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda etanol ile hazırlanan toprak altı ekstraktının IC₅₀ değeri 530,92 µg/mL olarak, toplam fenolik değeri ise 13,3 mg GA/100 g olarak hesaplanmıştır. Çalışmalardaki farklılık

bitkinin toplandığı yere göre, ekstrakt hazırlamada kullanılan çözücülere göre, kullanılan bitki kısımlarına göre değişiklik gösterebilmektedir.

Mammadov ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada *Colchicum balaense* bitkisinin toprak üstü ve toprak altı kısımlarından elde edilen ekstraktların % DPPH süpürme oranı kullanarak antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda kullanılan *C. balaense* bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktların daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada *Colchicum autumnale* bitkisinden hazırlanan etanolik bulb ekstraktlarının DPPH maddesini süpürme oranı %34, çiçek ekstraktlarını süpürme oranı ise %52 olarak hesaplanmıştır (Suica-Bungez ve ark., 2017). Bizim çalışmamız da literatürdeki diğer çalışmalar gibi *Colchicum türlerinin* toprak üstü kısımlarının toprak altı kısımlarına göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Jaradat ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada *Cyclamen coum* bitkisinin toprak üstü kısımlarını kullanarak elde ettikleri metanol ekstraktlarında IC50 değerini 31 µg/mL olarak, toplam fenolik madde miktarını ise 32,7 mg GA/100 g olarak hesaplamışlardır. Bu çalışmada *Cyclamen coum* bitkisinin etanol ile hazırlanan yaprak ekstraktlarının IC50 değeri 151,68 µg/mL, toplam fenolik madde miktarı ise 46,4 mg GA/100 g olarak hesaplanmıştır. Çalışmalar arasında toplam fenolik madde miktarı benzerlik gösterirken DPPH süpürme aktivitesinde farklılıklar olduğu görülmüştür. Karşılaştırılan değerlerin farklı olmasının nedenleri kullanılan çözücülerin ve ekstraktlar hazırlanırken faydalanan bitki kısımlarının aynı olmaması olarak düşünülmüştür.

Sonuç olarak çalışma bitkilerinden *Colchicum turcicum* ve *Colchicum bornmuelleri* türlerinin toprak üstü kısımlarının antioksidan aktivitelerinin standart antioksidan madde olan askorbik asit ile karşılaştırıldığında yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiş olup bu bitkilerin potansiyel antioksidan kaynağı olarak ilaç endüstrisi, takviye edici gıda ürünleri ve gıda koruyucu maddeleri gibi çok çeşitli alanlarda kullanılabileceği düşünülmektedir. Çalışmada kullanılan bitkilerin yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olmadıkları görülse de içerikleri biyoaktif maddelerin

farklı çözücülerle saflaştırılarak kimyasal yapılarının aydınlatılmasının önemli olduğunu düşünmekteyiz. Tıbbi ve aromatik özelliklere sahip olan bu bitkiler ile yaptığımız çalışma sonucunda elde edilen veriler bitkilerin geleneksel kullanımalarını destekler niteliktedir. Anadolu’ da doğal yayılış gösteren geofitler üzerinde benzer şekilde yapılacak ileri çalışmaların ülkemiz biyoçeşitliliğinin ekonomik katma değerini arttıracığına inanmaktayız.



KAYNAKLAR

- Acıbuca, V Budak, D.B., 2018. Dünya’da ve Türkiye’de Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Yeri ve Önemi. Çukurova J. Agric. Food Sci, 33(1): 37-44.
- Ağaçfıdan, A. 2005. Tıbbi Mikrobiyoloji 2, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, sf. 4,9.
- Ahmad, I. Beg, A.Z. 2001. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. Journal of Ethnopharmacology 74: 113–123.
- Akan, E. Eker, İ., 2005. Check-List of the Genus *Colchicum* in the Flora of Turkey. Turk J Bot., 29: 327-331.
- Akbulut, S. 2009. Hamsiköy Yöresinde Odun Dışı Bitkisel Ürün Olarak *Alchemilla* Spp. Ve *Colchicum Speciosum*’ un Envanteri Üzerine Bir Araştırma. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Mühendisliği Bölümü, Doktora Tezi.
- Albayrak, S. Kaya, O. 2019. Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Endemic *Astragalus argaeus* Boiss. from Turkey. Hacettepe J. Biol. & Chem., 47 (1): 87–97
- Aydın, Ç. Özay, C., Mammadov, R. 2015. Türkiye’de Yayılış Gösteren *Cyclamen* L. Türleri Üzerinde Yapılan Çalışmalar. Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy, 34 (2): 96-112.
- Azadbakht , M. Khoshvishkaie, E., Davoodi, A., Hosseinimehr, S.J., Azadbakht, M., Emami, S., Jouybari, H.B., Mirzae, F., Ghadiri, K. 2020. Optimization of Ultrasound-Assisted Acidic-Solvent Extraction of Colchicine from *Colchicum kurdicum* (Bornm.) Stef. Using Response Surface Methodology, Research Journal of Pharmacognosy ,7(3): 5-13.
- Balpetek, D. 2009. Bazı Et Ürünlerinde *E. Coli* 0157:H7 Varlığının Araştırılması. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi (Vet) Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Ben Yakoub,A.R. Abdehedic, O., Jridic, M.,Elfallehd, W., Nasric, M., Ferchichi,A. 2018. Flavonoids, phenols, antioxidant, and antimicrobial activities in various extracts from Tossa jute leave (*Corchorus olitorus* L.). Industrial Crops & Products 118: 206–213.
- Bilgehan, H. 1995. Klinik Mikrobiyoloji, Fakülteler Kitapevi Barış Yayınları, İzmir.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free. Radical Nature, 181: 1199-1200.

- Bokov, D. O. Krasikova, M. K., Sergunova, E. V., Bobkova, N. V., TYu, K., Bondar, A., Marakhova A, Morokhina S, Krasnyuk I, Moiseev D. 2020. Pharmacognostic, Phytochemical and Ethnopharmacological Potential of *Cyclamen coum* Mill. *Pharmacognosy Journal*, 12(1): 204-212.
- Brossi, A. 1990. Bioactive Alkaloids. 4. Results of Recent Investigations with Colchicine and Physostigmine., *Journal Of Medicinal Chemistry*, 33(9).
- Cengiz, Ö 2019 *Cyclamen Coum* Ve *Cyclamen Persicum*'da Farklı Büyüme Düzenleyicileri, Eksplant Tipleri Ve Genotipin Organogenesis Üzerine Etkisi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Chang, H.J. Kim, Y.H., Kang, Y.K., Choi, M.H., Lee, J.H. 2020. Antioxidant and antibacterial effects of medicinal plants and their stick-type medicinal concentrated beverages, *Food Sci Biotechnol.*, 29(10):1413–1423.
- Çalış, İ. Yürüker, A., Tanke,r N., Wright, A.D., Sticher, O. 1997. Triterpene Saponins from *Cyclamen coum* var. *coum*. *Planta Med.*, 63(2): 166-70.
- Çetin, H. Öktem, F., Örmeci, A.R., Yorgancıgil, B., Yaylı, G. 2006. Çocukluk çağı idrar yolu enfeksiyonlarında *Escherichia coli* ve antibiyotik direnci. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.*, 3(2): 12-16.
- Çoban, Ö.E. Batır, B. 2010. Antioksidan Etkili Bazı Bitki ve Baharatların Gıdalarda Kullanımı, *Electronic Journal of Food Technologies* 5(2) 7-19.
- Davis, P.H. 1978 *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*, 6. Cilt, Edinburgh Univ. Press, London, 128–135.
- De Zoysa, M.H.N. Rathnayake, H., Hewawasam, R.P., Wijayarathne, W.M.D.G.B. 2019. Determination of In Vitro Antimicrobial Activity of Five Sri Lankan Medicinal Plants against Selected Human Pathogenic Bacteria. *Hindawi International Journal of Microbiology*.
- Düşen, O.D., 2004. Akdeniz Bölgesi'nde Yayılış Gösteren *Colchicum L.* (Liliaceae) Cinsine Ait Türlerin Taksonomik Yönden Araştırılması. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Elisha, I.L. Botha, F.S., McGaw, L.J., Eloff, J.N. 2017. The antibacterial activity of extracts of nine plant species with good activity against *Escherichia coli* against five other bacteria and cytotoxicity of extracts. *Complementary and Alternative Medicine*, 17:133.
- Eryılmaz, M. Gürpınar, S.S. 2017. Hastanelerde Sık Kullanılan Bazı Antiseptiklerin Biyofilm Oluşturan ve Oluşturmayan *Staphylococcus Epidermidis* Suşlarına Karşı Antibakteriyel Etkinliğinin Araştırılması. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 41(1): 1-8.
- Faydaoğlu, E. Sürücüoğlu, M.S., 2013. Tıbbi Ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri Ve Kullanım Olanakları. *Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* : 6(2): 233-265.
- Fouler, A. Deus-Neurnann, B., Bombardelli, E., Zenlc, M.H., 1994. Immunoassays For The Quantitative Determination Of Colchicine., *Planta Med.* 60: 7994.

- Gedikoğlu, A. Sökmen, M., Çivit, A. 2019. Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food Sci Nutr.*, 1–11.
- Gishen, N.Z. Taddese, S., Zenebe, T., Dires, K., Tedla, A., Mengiste, B., Shenkute, D., Tesema, A., Shiferaw, Y., Lulekal, E. 2020. In vitro antimicrobial activity of six Ethiopian medicinal plants against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. *European Journal of Integrative Medicine*, 36 :101-121.
- Güngör, S. Uzun, B.K., Yurtsever, S.G., Baran, N. 2012. Kan Kültürlerinden İzole Edilen *Staphylococcus Aureus* Suşlarında Antibiyotiklere Direnç. *ANKEM Derg.*, 26(4):171-175.
- Güner, A. 2012. Türkiye Bitkiler Listesi, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları Flora Dizisi 1
- Hanif, M.A. Bhatti, H.N., Jamil, M.S., Anjum, R.S., Jamil, A., Khan, M.M. 2010. Antibacterial and Antifungal Activities of Essential Oils Extracted from Medicinal Plants Using CO₂ Supercritical Fluid Extraction Technology *Asian Journal of Chemistry*, 22(10): 7787-7798.
- Husek, A. Sütülpınar, N., Sedmera, P., Voegeléin, F., Valka I., Simanek, V. 1990. Alkaloids and Phenolics of *Colchicum turcicum*. *Phytochemistry Vol.* 29(9): 3058-3060
- İnceçayır, D. Semerci, A.B., Mustafa, N., Tunç, K. 2019. *Catalpa bignonioides* Metanolik Çiçek Ekstraktının Biyolojik ve Kimyasal Aktivitesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 6(2): 230–234.
- Jaradat, N.A. Al-Masri, M., Hussien, F., Zaid, A.N., Ali, I., Tammam, A., Odeh, D.M., Shakarneh, O.H., Rajabi, A. 2017. Preliminary Phytochemical and Biological Screening of *Cyclamen coum* a Member of Palestinian Flora. *Pharmaceutical Sciences*, 23, 231-237
- Kaya, G.I. Uzun, K., Bozkurt, B., Onur, M. A., Somer, N. U., Glatzel, D. K., Fürst, R. 2017. Chemical characterization and biological activity of an endemic Amaryllidaceae species: *Galanthus cilicicus*. *South African Journal of Botany* 108: 256–260.
- Kılıç, I. Yesiloglu, Y., Bayrak, Y. 2014. Investigation on the Antioxidant Activity of Roots and Stem of *Colchicum turcicum* L. *Asian Journal of Chemistry*; 26(1): 5-9.
- Küçük, S. Ocak, A., Canım, B. 2017. Morphological And Anatomical Investigations On Some Species Of *Colchicum* L. *Bangladesh J. Bot.* 46(1): 223-231.
- Liakopoulou-Kyriakides, M. Kyriakidis, D. A. 2010. *Crocus Sativus* Biological Active Constituents. Atta-ur-Rahman (Ed.) *Studies in Natural Products Chemistry*, 26.
- Mammadov, R. Düşen, O., Demir, D.U, Köse, E. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of extracts from tubers and leaves of *Colchicum balansae* Planchon. *Journal of Medicinal Plants Research* ,3(10): 767-770.
- Matyar, F. Dinçer, S. 2010. Doğu Akdeniz’den İzole Edilen *Enterococcus faecalis* Bakterilerinin Antibiyotik ve Ağır Metal Dirençliliği. *SDU Journal of Science (E-Journal)*, 5 (2): 172-178.

- Müftüoğlu, N.M Altay, H. 2006. Rize’de Yeni Ürün Arayışları İçinde Cyclamen Coum’un Yeri ve Önemi. Rize Valiliği 1. Rize Sempozyumu, 485-489.
- Ondua, M. Njoya, E.M., Abdalla, M.A., McGaw, L.J. 2019. Journal of Ethnopharmacology, 234: 27-35.
- Özbek, Ç.Ö. 2019. Bazı Baharatlardaki Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonları ve Antimikrobiyal Etkileri. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.
- Özbucak, T. Akçin, Ö., Polat, G. 2017. Aynı Ortamda Yayılış Gösteren Bazı Geofit Bitkiler Üzerine Ekolojik Bir Çalışma. Ordu Univ. J. Sci. Tech., 7(1): 111-123.
- Özel, A. Erden, K. 2010. İhraç Edilen Bazı Geofitlerin Pazarlanabilir Soğan Üretme Kapasiteleri Ve Bazı Bitkisel Özelliklerinin Belirlenmesi. J.ASgric. Fac. HR.U., 14(2): 90-99.
- Özhatay, N. 2013. Türkiye’nin Süs Bitkileri Potansiyeli: Doğal Monokotil Geofitler. 5.Süs bitkileri Kongresi, Yalova, 1-12.
- Pandya, B.K. Patel, H.B., Bhatt, P.R., Patel, U.D.,Modi, C.M. 2019. *In vitro* antibacterial activity of sixteen medicinal plants collected from nearby region of Junagadh, Gujarat (India). The Pharma Innovation Journal 8(3): 662-667
- Piluzza, G. Bullitta, S. 2011. Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. Pharmaceutical Biology, 49(3): 240–247.
- Poulev, A. Neurnann B.D., Bornbardelli, E., Zenlc, M.H. 1993. Immunoassays for the Quantitative Determination of Colchicine. Planta Med., 60: 77-83.
- Saboora, A. Sajjadia, S.T., Mohammadib, P., Fallahib, Z. 2019. Antibacterial activity of different composition of aglycone and glycosidic saponins from tuber of Cyclamen coum Miller. Industrial Crops & Products 140, 111662.
- Sarı, M. 2020. Bazı *Colchicum* (Acı Çiğdem) Türlerinde Somatik Embriyogenezisin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.
- Semerci, A. B. 2019. *Allium Scodoprasum*, *Allium Staticiforme* ve *Allium Subhirsutum* Türlerinin Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.
- Semerci, A.B. Inceçayır, D., Tunç, K., Sağiroğlu, M. 2019. Antimicrobial Activity of Different Flower Extracts. Curr. Pers. MAPs, 2: 53-58.
- Seyidoğlu, N. 2009. Bazı Doğal Geofitlerin Peyzaj Düzenlemelerinde Kullanımı ve Üretimi Üzerine Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Doktora Tezi.
- Singleton, V.L. Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144–158.
- Suica-Bunghez, I.R. Ion, R.M., Teodorescu, S., Sorescu, A.A., Stirbescu, R.M., Stirbescu, N.M. 2017. Fitochemical And Antioxidant Characterization Of autumn

- Crocus (*Colchicum Autumnale*) Flowers and Roots Plant Extracts. Journal of Science and Arts, 3 (40), 539-546
- Tanrıverdi O, D. 2019. Yalova İli Geofitleri ve Peyzajda Kullanım Olanakları. Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.
- Temel, M. Tınmaz, A.B., Öztürk, M., Gündüz, O. 2018. Dünyada ve Türkiye’de Tıbbi -Aromatik Bitkilerin Üretimi ve Ticareti, KSÜ Tarım ve Doğa Derg., 21: 198-214.
- Toplan, G.G., 2016. *Colchicum Micranthum* ve *Colchicum Chalcedonicum* Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Farmakognozi Bölümü, Doktora Tezi.
- Toplan, G.G. Güner, Ç., Mat, A. 2016. Importance of *Colchicum* species in modern therapy and its significance in Turkey. J. Fac. Pharm. Istanbul, 46(2) :129-144
- Turker, A. U. Usta, C. 2008. Biological screening of some Turkish medicinal plant extracts for antimicrobial and toxicity activities. Natural Product Research, 22 (2):136–146.
- Url_1. www.bizimbitkiler.org, Erişim tarihi: 24.12.2020
- Url_2. www.tubives.com, Erişim Tarihi: 11.11.2020
- Vaikundamoorthy, R. Rajendran, R., Selvaraju, A., Moorthy, K. Perumal, S. 2018. Development of thermostable amylase enzyme from *Bacillus cereus* for potential antibiofilm activity. Bioorganic Chemistry, 77: 494–506.
- Yayli, N. Baltacı, C., Zengin, A., Küçükislamoglu, M., Genç, H. 1998. Triterpenoid saponin from *Cyclamen coum*. Phytochemistry, 48(5): 88, 1-4.
- Yildiz, M. Bozcuk, H., Tokgun, O., Karagür, E.G., Akyurt, O., Akca, H. 2013. *Cyclamen* Exerts Cytotoxicity in Solid Tumor Cell Lines: A Step Toward New Anticancer Agents?. Asian Pac J Cancer Prev., 5911-5913.
- Yönsel, Ş. 2010. *Bacillus subtilis* İçeren Küf ve Bakterilere Karşı Koruyucu Biyosidal Ürün. 1. Ulusal Biyosidal Kongresi, Antalya.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Fatih ÖZCAN

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Sakarya Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü /Biyoloji Bölümü	Devam ediyor
Lisans	Ege Üniversitesi /Fen Fakültesi /Biyoloji Bölümü	2007
Lise	Edime Lisesi	2001

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer	Görev
2015-Halen	Sakarya Cumhuriyet Anadolu lisesi	Öğretmeni

YABANCI DİL

İngilizce

HOBİLER

Tenis oynamak, bilim kurgu dizileri izlemek, tarihi roman okumak