



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***PELTIGERA* CİNSİNE AİT LİKEN VE ENDOLİKENİK
FUNGUS ÖRNEKLERİNİN *PSEUDOMONAS*
AERUGINOSA ÜZERİNE ANTİ-QUORUM SENSİNG VE
ANTİ-BİYOFİLM ETKİNLİKLERİNİN *IN VITRO* VE *IN*
SILIKO YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

ARHUN ALİ BALKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nüzhet Cenk SESAL

EŞ-DANIŞMAN

Prof. Dr. Serdar DURDAĞI

İSTANBUL, 2020



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***PELTIGERA* CİNSİNE AİT LİKEN VE ENDOLİKENİK
FUNGUS ÖRNEKLERİNİN *PSEUDOMONAS*
AERUGINOSA ÜZERİNE ANTİ-QUORUM SENSİNG VE
ANTİ-BİYOFİLM ETKİNLİKLERİNİN *IN VITRO* VE *IN*
SILIKO YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

ARHUN ALİ BALKAN

520117010

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nüzhet Cenk SESAL

EŞ-DANIŞMAN

Prof. Dr. Serdar DURDAĞI

İSTANBUL, 2020



MARMARA UNIVERSITY
INSTITUTE FOR GRADUATE STUDIES
IN PURE AND APPLIED SCIENCES



**INVESTIGATION OF ANTI-QUORUM SENSING AND
ANTI-BIOFILM ACTIVITIES ON *PSEUDOMONAS
AERUGINOSA* OF *PELTIGERA* SPECIES BY LICHEN
AND ENDOLICHENIC FUNGUS SPECIMENS *IN VITRO*
AND *IN SILICO* METHODS**

ARHUN ALİ BALKAN

520117010

MASTER THESIS

Department of Biology

Biology Program

Thesis Supervisor

Assoc. Prof. Dr. Nüzhet Cenk SESAL

Thesis CO- Supervisor

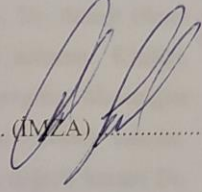
Prof. Dr. Serdar DURDAĞI

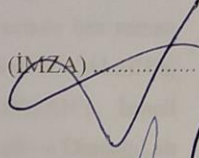
ISTANBUL, 2020

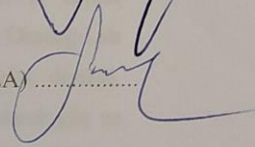
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

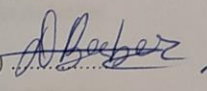
Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Arhun Ali BALKAN'ın "PELTIGERA CİNSİNE AIT LİKEN VE ENDOLİKENİK FUNGUS ÖRNEKLERİNİN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ÜZERİNE ANTİ-QUORUM SENSİNG VE ANTİ-BİYOFİLM ETKİNLİKLERİNİN IN VITRO VE IN SILIKO YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ" başlıklı tez çalışması, 07 Temmuz 2020 tarihinde savunulmuş ve jüri üyeleri tarafından başarılı bulunmuştur.

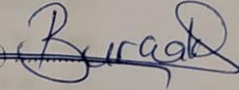
Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Nüzhet Cenk SESAL (Danışman)
Marmara Üniversitesi (İMZA) 

Prof. Dr. Serdar DURDAĞI (Eş-Danışman)
Bahçeşehir Üniversitesi (İMZA) 

Doç. Dr. Suzan ABDURRAHMANOĞLU (Üye)
Marmara Üniversitesi (İMZA) 

Dr. Öğr. Üyesi Didem BERBER (Üye)
Maltepe Üniversitesi (İMZA) 

Dr. Öğr. Üyesi Burçak GÜRBÜZ (Üye)
Marmara Üniversitesi (İMZA) 

O N A Y

Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ^{09.07.2020} tarih ve ^{2020/16-02} sayılı kararı ile Arhun Ali Balkan'ın Biyoloji Anabilim Dalı Biyoloji Programında Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Bülent EKİCİ



TEŞEKKÜR

Lisans, yüksek lisans sürecim ve meslek yaşantım boyunca yol göstericiliğini, bilgi ve tecrübelerini sakınmadan paylaşarak çalışmalarımın her basamağında yardımcım olan ve desteklerini daima hissettiğim değerli danışmanım Doç. Dr. Nüzhet Cenk SESAL'a en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Karakteri, bilgi birikimi, rehberliği ve deneyimleriyle akademik hayatımda yeni bir sayfa açan ve yol gösteren kıymetli eş danışmanım Prof. Dr. Serdar DURDAĞI'na en samimi duygularıyla teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tez ve akademik çalışmalarında laboratuvarlarının tüm imkanlarını sunan değerli hocalarım Prof. Dr. Jae-Seoun HUR, Doç. Dr. Burhan ŞEN, Doç. Dr. Bülent Oktay AKKOYUNLU ve Doç. Dr. Murat ERDEM'e teşekkürlerimi sunarım. Kişiliği, yardımseverliği ve yol göstericiliğiyle her anımda desteğini ve sevgisini hissettiğim canım hocam Dr. Öğr. Üyesi Didem BERBER'e tüm kalbimle teşekkür ederim. Akademik çalışmalarında tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Dr. Birkan AÇIKGÖZ'e ve laboratuvar çalışmalarında, tez yazım sürecinde her zaman yanımda olarak desteklerini asla esirgemeyen canım arkadaşlarım Barış GÖKALSIN'a, Tunahan Irmak BAŞARAN'a, Ayla YILDIZ'a, Busecan AKSOYDAN'a, İsmail EROL'a, Elif MURCAK'a, Hasan Can KÜÇÜKALİ'ye, tüm SesalLaB ve DurdağıLab üyelerine çok teşekkür ederim. Tanıştığımız ilk günden beri sonsuz sevgisi, desteği, kişiliği, karakteri ve içten arkadaşlığıyla her anımda her zaman yanımda olarak güç ve cesaret veren, her türlü zorlukla mücadelede ve tüm kararlarımda yanımda duran değerlim İpek TÜRKMENÖĞLU'na çok teşekkür ederim.

Varlıkları hayatımın en büyük armağanı olan, sonsuz sevgilerini ve desteklerini asla esirgemeyen, tercihlerimde her zaman yanımda durarak güvende hissettiğim yol arkadaşlarım güzel ailem canım annem Oya BALKAN'a, can parçalarım M. Eren BALKAN ve Ömer A. BALKAN'a ve canım babam Necati C. BALKAN'a en içten sevgi, minnet, teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Bu tez kapsamındaki çalışmalara FEN-C-YLP-130319-0067 no'lu proje ile destek olan Marmara Üniversitesi BAPKO'ya, 218S752 no'lu projeye destek olan TÜBİTAK'a ve TÜBİTAK 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı ile destek olan TÜBİTAK-BİDEB'e teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Temmuz / 2020

Arhun Ali Balkan

İÇİNDEKİLER	SAYFA
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
SEMBOLLER	xi
KISALTMALAR	xii
ŞEKİL LİSTESİ	xiv
TABLO LİSTESİ	xxxiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Antibiyotik Direnci Sorunu ve Sağlık - Ekonomik Boyutu	2
1.2. Quorum Sensing Mekanizması (QS - Salt Çoğunluk Algılama Sistemi)	3
1.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Hakkında Genel Bilgiler	5
1.3.1. Morfolojisi ve Genel Özellikleri	6
1.3.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'ya ait QS Mekanizmaları	6
1.3.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'da Biyofilm Formu	9
1.4. <i>In siliko</i> - Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı Yaklaşımları	11
1.5. Likenler Hakkında Genel Bilgiler	14
1.5.1. <i>Peltigera</i> Cinsi Hakkında Genel Bilgiler	16
1.6. Endolikenik Funguslar Hakkında Genel Bilgiler	17
2. MATERYAL ve YÖNTEM	20
2.1. Materyal	20
2.1.1. <i>In siliko</i>	20
2.1.1.1. Kullanılan Cihazlar	20
2.1.1.2. Kullanılan Yazılımlar	20
2.1.1.3. Kullanılan Veri Bankaları	20
2.1.2. <i>In vitro</i>	20

2.1.2.1. Bakteri Suşları	20
2.1.2.2. Kullanılan Sarf Malzemeler ve Kimyasallar	21
2.1.2.3. Kullanılan Cihazlar	23
2.1.3. Besiyerlerinin Hazırlanması	26
2.1.3.1. Sıvı Besiyeri – Lysogeny Broth (LB)	26
2.1.3.2. Sıvı Besiyeri - Potato Dextrose Broth (PDB)	26
2.1.3.3. Sıvı Minimal Besiyeri – M9 Minimal Medium (M9)	26
2.1.3.4. Katı Besiyeri – Lysogeny Agar (LB Agar)	26
2.1.3.5. Katı Besiyeri - Potato Dextrose Agar (PD Agar)	27
2.1.3.6. Katı Besiyeri - Malt Extract Agar (ME Agar)	27
2.1.3.7. Katı Besiyeri - Sabouraud %4 Dextrose Agar (SD Agar)	28
2.1.3.8. Katı Besiyeri - Rose Bengal Chloroamphenicol Agar (RBC Agar)	28
2.1.3.9. Katı Besiyeri - Czapek Dox Agar (CZ Agar)	28
2.1.4. Kimyasalların Hazırlanması	29
2.1.4.1. Fizyolojik Tuzlu Su (FTS)	29
2.1.4.2. Sodyum Hipoklorit (NaOCl)	29
2.1.4.3. Laktofenol Pamuk Mavisı Boyası	30
2.1.4.4. KCl Ekstraksiyon Tamponu (KCl Buffer)	30
2.2. Yöntem	30
2.2.1. <i>In siliko</i>	30
2.2.1.1. MetaCore / MetaDrug Analizi	30
2.2.1.2. Liken Sekonder Metabolit Kütüphanesinin Oluşturulması ve 3 Boyutlu Yapılarının Elde Edilerek Hazırlanması	31
2.2.1.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Quorum Sensing Sisteminde Görev Alan Proteinlerin Üç Boyutlu Yapılarının	33

Elde Edilerek Hazırlanması	
2.2.1.4. Çalışması Gerçekleştirilecek Proteinlerin Aktif Bölgelerinin Belirlenmesi	34
2.2.1.4.1. LasI Proteinin Aktif Bölgesinin Belirlenmesi	34
2.2.1.4.2. LasR Proteinin Aktif Bölgesinin Belirlenmesi	35
2.2.1.4.3. PqsR Proteinin Aktif Bölgesinin Belirlenmesi	35
2.2.1.5. Moleküler Kenetlenme Simülasyonları	35
2.2.2. <i>In vitro</i>	36
2.2.2.1. Likenlerin Toplanması ve Morfolojik Tür Tayini	36
2.2.2.2. Likenlerden Endolikenik Fungus - ELF İzolasyonu	37
2.2.2.3. ELF'lerin Morfolojik Boyaması ve Moleküler Tür Tayinleri	38
2.2.2.3.1. Morfolojik Boyama	38
2.2.2.3.2. DNA İzolasyonu	39
2.2.2.3.3. DNA Saflığının Belirlenmesi ve Konsantrasyonun Ölçülmesi	40
2.2.2.3.4. Hedef Bölgenin PZR ile Çoğaltılması	41
2.2.2.3.5. Jelden Geri Kazanım	43
2.2.2.3.6. Dizi Analizi	44
2.2.2.3.7. Filogenetik Analiz	44
2.2.2.4. Likenlerin ve İzole Edilen ELF'lerin Özütlelerinin Eldesi	48
2.2.2.4.1. Likenlerin Özütlelerinin Eldesi	48
2.2.2.4.2. İzole Edilen ELF'lerin Özütlelerinin Eldesi	48
2.2.2.5. Bakteri Suşlarının Temini, Çoğaltılması ve Saklanması	50

2.2.2.6. Liken ve ELF Özütlelerinin <i>P. aeruginosa</i> Suşlarına Uygulanarak Anti-bakteriyel ve Anti-QS Etkinliklerinin Belirlenmesi	51
2.2.2.7. Liken ve ELF Özütlelerinin <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 Suşuna Uygulanarak Anti-Biyofilm Etkinliklerinin Belirlenmesi	52
3. BULGULAR ve TARTIŞMA	54
3.1. Bulgular	54
3.1.1. <i>In siliko</i>	54
3.1.1.1. Ligandların Hazırlanması	54
3.1.1.2. Moleküler Kenetlenme Simülasyonları	54
3.1.1.3. MetaCore / MetaDrug Analizleri	69
3.1.2. <i>In vitro</i>	73
3.1.2.1. Liken Türleri	73
3.1.2.2. ELF'lerin Morfolojik ve Moleküler Tür Tayinleri	73
3.1.2.3. <i>Peltigera sp.</i> likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	98
3.1.2.4. ELF2 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	103
3.1.2.5. ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	108
3.1.2.6. ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	113
3.1.2.7. ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve	118

biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	
3.1.2.8. ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	123
3.1.2.9. ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	128
3.1.2.10. ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	133
3.1.2.11. ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	138
3.1.2.12. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	143
3.1.2.13. ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	148
3.1.2.14. ELF22 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	153
3.1.2.15. ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	158
3.1.2.16. ELF28 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	163
3.1.2.17. ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve	168

biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	
3.1.2.18. ELF59 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	173
3.1.2.19. ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	178
3.1.2.20. ELF104 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	183
3.1.2.21. <i>Peltigera praetextata</i> likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	188
3.1.2.22. ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	193
3.1.2.23. ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	198
3.1.2.24. ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	203
3.1.2.25. ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	208
3.1.2.26. ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	213
3.1.2.27. ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve	218

biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	
3.1.2.28. ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri	223
3.2. Tartışma	230
3.2.1. Liken ve ELF	230
3.2.2. <i>In siliko</i> Süreçler	231
3.2.3. Tür Tayinleri Süreçleri	234
3.2.4. <i>In vitro</i> Süreçler	238
4. SONUÇLAR	245
KAYNAKLAR	248
EKLER	270
ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

***PELTIGERA* CİNSİNE AİT LİKEN VE ENDOLİKENİK FUNGUS ÖRNEKLERİNİN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ÜZERİNE ANTI-QUORUM SENSİNG VE ANTI-BİYOFİLM ETKİNLİKLERİNİN *IN VITRO* VE *IN SILIKO* YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ**

Pseudomonas aeruginosa akut ve kronik enfeksiyonlardan sorumlu biyofilm formları nedeniyle çoklu antibiyotiklere dirençli olabilen fırsatçı patojen bakteridir. Quorum Sensing (QS) mekanizması, antibiyotik direnci, biyofilm formunun oluşumu ile virülans faktörlerin salınması ile ilişkilidir. Bu sebeple, bakterilerin gelişimini baskılamadan, ölüm stresi yaşatmadan hücre içi ve hücreler arası iletişimi ve QS ilişkili biyofilm formunu inhibe edebilecek yeni QS inhibitörlerine (QSI) ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada, özgün tıbbi ilaç özellikleri bildirilen sekonder metabolitleri üreten likenlerin n-Hekzan ve endolikenik fungusların (ELF) etil asetat özütlerinin QSI potansiyelleri araştırılmıştır. Liken sekonder metabolit kütüphanesi oluşturularak, terapötik ve toksisite testleri gerçekleştirilmiş ve toksisite göstermeyen 179 metabolitin *P. aeruginosa* QS sistemine dahil olan LasI/LasR, RhIR ve PqsR reseptör proteinleriyle moleküler kenetlenme simülasyonları gerçekleştirilmiştir. En başarılı bağlanma enerjisine sahip *Peltigera* cinsi likenlere ait 10 metabolit saptanmıştır. *In siliko* bulgular sonucunda, *in vitro* etkinliklerinin yüksek olabileceği düşünülen *Peltigera* cinsi liken türleri Artvin ve Bursa bölgelerinden toplanarak morfolojik tür tayinleri gerçekleştirilmiş daha sonra bu likenlerin talluslarından ELF izolasyonu ve moleküler tanımlamaları gerçekleştirilmiştir.

Peltigera cinsi likenlerin ve izole edilen ELF'lerin özütlerinin *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel, anti-biyofilm etkileri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* biyosensör suşları ile anti-QS etkileri incelenmiştir. Özellikle *P. horizontalis* likeninin ve bu türden izole edilerek *Penicillium sp.* olduğu saptanan ELF28'in özütlerinin *P. aeruginosa* üzerinde yüksek QSI ve anti-biyofilm potansiyelleri saptanmıştır. Bulgular değerlendirildiğinde, *in siliko* ve *in vitro* çalışmaların sonuçlarının birbirleriyle tutarlılıkları görülmüştür. *Peltigera* likeni ve içerdiği ELF özütlerinin alternatif olarak antibiyotik direnci problemine karşı etkili yeni QSI molekülleri içermeye potansiyeline sahip olabileceği ve bu tezin gelecekteki çalışmalar için literatüre katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTI-QUORUM SENSING AND ANTI-BIOFILM ACTIVITIES ON *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* OF *PELTIGERA* SPECIES BY LICHEN AND ENDOLICHENIC FUNGUS SPECIMENS *IN VITRO* AND *IN SILICO* METHODS

Pseudomonas aeruginosa is an opportunistic pathogen bacteria that can be resistant to multiple antibiotics due to its biofilm forms responsible for acute and chronic infections. The Quorum Sensing (QS) mechanisms is associated with antibiotic resistance, biofilm formation, and the release of virulence factors. Therefore, there is a need for new QS inhibitors (QSI) that can inhibit intracellular and intercellular communication and the QS-related biofilm form without suppressing the growth of bacteria and causing death stress. In this study, the QSI potentials of n-Hexane extracts of lichens and ethyl acetate extracts of endolichenic fungus (ELF), which produce secondary metabolites with unique medicinal drug properties, were investigated. By creating a lichen secondary metabolite library, therapeutic and toxicity tests were performed, and then molecular docking simulations of 179 metabolites that do not show any toxicity were performed with the LasI/LasR, RhlR and PqsR receptor proteins involved in the *P. aeruginosa* QS system. Ten lichen metabolites belonging to the genus of *Peltigera* were determined to have the most successful binding energy. As a result of *in silico* findings, the species belonging to *Peltigera* genus, which are thought to have high *in vitro* activities, were collected from Artvin and Bursa regions, and morphological identifications were performed, and then ELF isolation and molecular identifications of ELF's were made from the thalli of these lichen species

The extracts of lichens and ELFs, obtained from *Peltigera* species, were examined against *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 for anti-bacterial, anti-biofilm effects and *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* and *pqsA-gfp* biomonitor strains for anti-QS effects. In particular, high QSI and anti-biofilm potentials against *P. aeruginosa* were detected for the extracts of *P. horizontalis* and ELF28 isolated from *P. horizontalis* and identified as *Penicillium sp.* When the results were evaluated, the consistency in *in silico* and *in vitro* studies was observed. It is thought that the extracts of *Peltigera* and its ELFs may alternatively have the potential to contain new QSI molecules against antibiotic resistance problem and thus, in aid for future studies, this thesis is expected to contribute to academic literature.

SEMBOLLER

°C	: Santigrat Derece
%	: Yüzde
3-oxo-C12-HSL	: N-(3-oxododecanoyl)-L-Homoserin Lakton
C4-HSL	: N-bütiril Homoserin Lakton
HHQ	: 2-heptil-4-hidroksikinolon
G	: Gram
mg	: Miligram
ng	: Nanogram
µg	: Mikrogram
l	: Litre
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
M	: Molar
mM	: Milimolar
µM	: Mikromolar
m	: Mol
µmol	: Mikromol
NaOH	: Sodyum Hidroksit
HCl	: Hidroklorik Asit
NaCl	: Sodyum Klorür
MgSO ₄	: Magnezyum Sülfat
CaCl ₂	: Kalsiyum Klorür
KCl	: Potasyum Klorür
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
EtBr	: Etidyum Bromür

KISALTMALAR

AHL	: Açıl Homoserin Lakton (Acyl Homoserine Lactone)
AI	: Otoindüktör (Autoinducer)
AI - 1	: Otoindüktör - 1 (Autoinducer - 1)
AI - 2	: Otoindüktör - 2 (Autoinducer - 2)
AIP	: Otoindüktör Peptit
ALA	: Alanin
ARG	: Arjinin
ASN	: Asparajin
BLAST	: Temel Yerel Hizalama Araştırma Aracı (Basic Local Alignment Tool)
CADD	: Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı (Computer Aided Drug Design)
CECT	: İspanyol Tip Kültür Koleksiyonu (Colección Española de Cultivos Tipo)
CDC	: Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (Center of Diseases Control and Prevention)
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dNTP	: Deoksinükleozit Trifosfat
ECDC	: Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control)
ELF	: Endolikenik Fungus/Fungi
EYNS	: En Yüksek Negatif Skor
FTS	: Fizyolojik Tuzlu Su
GFP	: Yeşil Floresan Protein (Green Fluorescent Protein)
KEGG	: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
KF	: Kistik Fibrosis
LEU	: Lösin
LYS	: Lizin
MIC	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (Minimum Inhibition Concentration)
MD	: Moleküler Kenetlenme (Molecular Docking)
OD	: Optik Yoğunluk (Optical Density)

OPLS	: Optimized Potential for Liquid Simulations
PAI	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Otoindüktör Molekülleri
PDB	: Protein Veri Bankası (Protein Data Bank)
PHE	: Fenilalanin
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PQS	: <i>Pseudomonas</i> Kinolon Sinyali
RFU	: Görelî Floresans Birimleri (Relative Fluorescence Units)
RPM	: Dakikadaki Devir Sayısı (Revolutions Per Minute)
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
SER	: Serin
SP	: Standart Hassasiyet (Standard Precision)
TRP	: Triptofan
UV	: Ultraviyole (Ultraviolet)
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
VS	: Görsel Ligand Taraması (Virtual Screening)
QS	: Salt Çoğunluk Algılama (Quorum Sensing)
QSAR	: Nicel Yapı Etkinlik İlişkisi (Quantitative Structure Activity Relationship)
QSI	: Salt Çoğunluk Algılama İnhibitörü (Quorum Sensing Inhibitor)
QQ	: Salt Çoğunluk Baskılama (Quorum Quenching)
QQE	: Salt Çoğunluk Baskılama Enzimleri (Quorum Quenching Enzymes)

ŞEKİL LİSTESİ	SAYFA
Şekil 1.1. <i>P. aeruginosa</i> QS mekanizması yolakları ve gen regülasyonları	8
Şekil 1.2. <i>P. aeruginosa</i> QS mekanizmasında görev alan sinyal molekülleri	8
Şekil 1.3. <i>P. aeruginosa</i> QS mekanizmasının biyofilm formu aşamalarına genel bakış	10
Şekil 1.4. Son 10 yıl içerisinde ELF'ler ile ilgili yayınlanan makalelerin sayısı ve ELF'lerden yeni izole doğal metabolitler	17
Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan besiyerleri	29
Şekil 2.2. MetaCore/MetaDrug programı genel görünüm	31
Şekil 2.3. Schrödinger Moleküler Modelleme yazılımı Maestro modülü genel görünüm	36
Şekil 2.4. Morfolojik tür teşhisleri yapılan liken örnekleri	37
Şekil 2.5. Endolikenik fungus (ELF) izolasyonu aşamaları	38
Şekil 2.6. ITS1F ve ITS2 primerlerinin amplifikasyonu için kullanılan oligonükleotidlerin diyagramı	41
Şekil 2.7. PZR sonrası çoğaltılarak elde edilen hedef DNA bölgeleri	43
Şekil 2.8. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen endolikenik fungusların BioEdit programı hizalama örnek resmi	47
Şekil 2.9. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen endolikenik fungusların BioEdit programı hizalama örnek resmi	47
Şekil 2.10. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen endolikenik fungusların BioEdit programı hizalama örnek resmi	47
Şekil 2.11. Liken örneklerinin özüt aşamaları	48
Şekil 2.12. ELF örneklerinin özüt aşamaları	49
Şekil 2.13. Biyofilm testlerine ait resimler	53
Şekil 3.1. PDB 3IX3 kodlu protein ile penisillik asit inhibitörüne ait ligand etkileşim diyagramı	55
Şekil 3.2. PDB 1RO5 kodlu protein ile penisillik asit inhibitörüne ait ligand etkileşim diyagramı	55
Şekil 3.3. PDB 4JVI kodlu protein ile penisillik asit inhibitörüne ait ligand etkileşim diyagramı	56
Şekil 3.4. PDB 3IX3 kodlu protein ile perylene sekonder metabolitine ait	59

ligand etkileşim diyagramı	
Şekil 3.5. PDB 3IX3 kodlu protein ile peltigerine sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	60
Şekil 3.6. PDB 3IX3 kodlu protein ile methyl evernate sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	60
Şekil 3.7. PDB 3IX3 kodlu protein ile methyl lecanorate sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	61
Şekil 3.8. PDB 3IX3 kodlu protein ile evernik asit sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	61
Şekil 3.9. PDB 1RO5 kodlu protein ile ethyl orsellinate sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	63
Şekil 3.10. PDB 1RO5 kodlu protein ile peltigerine sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	63
Şekil 3.11. PDB 1RO5 kodlu protein ile perylene sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	64
Şekil 3.12. PDB 1RO5 kodlu protein ile adenosylhopane sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	64
Şekil 3.13. PDB 1RO5 kodlu protein ile lekanorik asit sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	65
Şekil 3.14. PDB 4JVI kodlu protein ile ethyl orsellinate sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	66
Şekil 3.15. PDB 4JVI kodlu protein ile methyl orsellinate sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	67
Şekil 3.16. PDB 4JVI kodlu protein ile perylene sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	67
Şekil 3.17. PDB 4JVI kodlu protein ile methyl gyrophorate sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -6.267)	68
Şekil 3.18. PDB 4JVI kodlu protein ile adenosylhopane sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı	68
Şekil 3.19. PDB 4JVI kodlu protein ile peltigerine sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -6.105)	69
Şekil 3.20. <i>Peltigera</i> sp. likeninden izole edilen ELF'lerin grup1 morfolojik	73

görüntüleri	
Şekil 3.21. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF'lerin grup2 morfolojik görüntüleri	74
Şekil 3.22. <i>P. horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF'lerin grup1 morfolojik görüntüleri	74
Şekil 3.23. <i>P. horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF'lerin grup2 morfolojik görüntüleri	74
Şekil 3.24. <i>P. praetextata</i> likeninden izole edilen ELF'lerin grup1 morfolojik görüntüleri	75
Şekil 3.25. <i>P. praetextata</i> likeninden izole edilen ELF'lerin grup2 morfolojik görüntüleri	75
Şekil 3.26. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF2 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	75
Şekil 3.27. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF2 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	76
Şekil 3.28. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF4 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	76
Şekil 3.29. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF4 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	76
Şekil 3.30. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF5 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	77
Şekil 3.31. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF5 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	77
Şekil 3.32. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF6 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	78
Şekil 3.33. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF6 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	78
Şekil 3.34. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF7 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	78
Şekil 3.35. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF7 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	79
Şekil 3.36. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF10 kodlu endolikenik	79

fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	
Şekil 3.37. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF10 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	80
Şekil 3.38. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF11 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	80
Şekil 3.39. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF11 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	80
Şekil 3.40. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF84 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	81
Şekil 3.41. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen ELF84 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	81
Şekil 3.42. <i>Peltigera sp.</i> likeninden izole edilen endolikenik fungusların BLAST sonuçlarına göre filogenetik ağaçlandırılması	82
Şekil 3.43. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF12 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	82
Şekil 3.44. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF12 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	83
Şekil 3.45. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF22 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	83
Şekil 3.46. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF22 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	83
Şekil 3.47. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF23 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	84
Şekil 3.48. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF23 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	84
Şekil 3.49. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF28 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	85
Şekil 3.50. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF28 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	85
Şekil 3.51. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF33 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	86
Şekil 3.52. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF33 kodlu	86

endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	
Şekil 3.53. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF59 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	87
Şekil 3.54. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF59 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	87
Şekil 3.55. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF79 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	88
Şekil 3.56. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF79 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	88
Şekil 3.57. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF104 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	88
Şekil 3.58. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen ELF104 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	89
Şekil 3.59. <i>Peltigera horizontalis</i> likeninden izole edilen endolikenik fungusların BLAST sonuçlarına göre filogenetik ağaçlandırılması	90
Şekil 3.60. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF21 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	91
Şekil 3.61. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF21 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	91
Şekil 3.62. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF37 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	91
Şekil 3.63. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF37 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	92
Şekil 3.64. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF52 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	92
Şekil 3.65. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF52 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	93
Şekil 3.66. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF60 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	93
Şekil 3.67. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF60 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	94
Şekil 3.68. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF69 kodlu	94

endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	
Şekil 3.69. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF69 kodlu	94
endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	
Şekil 3.70. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF102 kodlu	95
endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	
Şekil 3.71. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF102 kodlu	95
endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	
Şekil 3.72. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF103 kodlu	96
endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)	
Şekil 3.73. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen ELF103 kodlu	96
endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)	
Şekil 3.74. <i>Peltigera praetextata</i> likeninden izole edilen endolikenik	97
fungusların BLAST sonuçlarına göre filogenetik ağaçlandırılması	
Şekil 3.75. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>Peltigera sp.</i>	98
likenin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu	
üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	
Şekil 3.76. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>Peltigera sp.</i>	99
likenin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-	
QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	
Şekil 3.77. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>Peltigera sp.</i>	100
likenin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-	
QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	
Şekil 3.78. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>Peltigera sp.</i>	101
likenin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-	
QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	
Şekil 3.79. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>Peltigera sp.</i>	102
likenin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu	
üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	
Şekil 3.80. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF2 kodlu	103
endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122	
suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm	
grafiği	

Şekil 3.81. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF2 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	104
Şekil 3.82. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF2 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	105
Şekil 3.83. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF2 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	106
Şekil 3.84. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF2 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	107
Şekil 3.85. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	108
Şekil 3.86. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	109
Şekil 3.87. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	110
Şekil 3.88. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	111
Şekil 3.89. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	112
Şekil 3.90. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	113

Şekil 3.91. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	114
Şekil 3.92. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhIA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	115
Şekil 3.93. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	116
Şekil 3.94. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	117
Şekil 3.95. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	118
Şekil 3.96. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	119
Şekil 3.97. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhIA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	120
Şekil 3.98. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	121
Şekil 3.99. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	122
Şekil 3.100. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	123

Şekil 3.101. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	124
Şekil 3.102. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	125
Şekil 3.103. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	126
Şekil 3.104. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	127
Şekil 3.105. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	128
Şekil 3.106. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	129
Şekil 3.107. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	130
Şekil 3.108. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	131
Şekil 3.109. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	132
Şekil 3.110. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	133

Şekil 3.111. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	134
Şekil 3.112. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	135
Şekil 3.113. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	136
Şekil 3.114. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	137
Şekil 3.115. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	138
Şekil 3.116. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	139
Şekil 3.117. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	140
Şekil 3.118. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	141
Şekil 3.119. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	142
Şekil 3.120. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>P. horizontalis</i> likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	143
Şekil 3.121. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>P. horizontalis</i>	144

likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	
Şekil 3.122. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>P. horizontalis</i> likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	145
Şekil 3.123. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>P. horizontalis</i> likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	146
Şekil 3.124. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>P. horizontalis</i> likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	147
Şekil 3.125. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	148
Şekil 3.126. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	149
Şekil 3.127. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	150
Şekil 3.128. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	151
Şekil 3.129. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	152
Şekil 3.130. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF22 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	153
Şekil 3.131. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF22 kodlu	154

endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	
Şekil 3.132. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF22 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	155
Şekil 3.133. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF22 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	156
Şekil 3.134. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF22 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	157
Şekil 3.135. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	158
Şekil 3.136. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	159
Şekil 3.137. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	160
Şekil 3.138. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	161
Şekil 3.139. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	162
Şekil 3.140. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF28 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	163
Şekil 3.141. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF28 kodlu	164

endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	
Şekil 3.142. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF28 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	165
Şekil 3.143. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF28 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	166
Şekil 3.144. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF28 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	167
Şekil 3.145. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	168
Şekil 3.146. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	169
Şekil 3.147. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	170
Şekil 3.148. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	171
Şekil 3.149. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	172
Şekil 3.150. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF59 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	173
Şekil 3.151. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF59 kodlu	174

endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	
Şekil 3.152. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF59 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	175
Şekil 3.153. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF59 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	176
Şekil 3.154. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF59 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	177
Şekil 3.155. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	178
Şekil 3.156. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	179
Şekil 3.157. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	180
Şekil 3.158. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	181
Şekil 3.159. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	182
Şekil 3.160. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF104 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	183
Şekil 3.161. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF104 kodlu	184

endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	
Şekil 3.162. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF104 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	185
Şekil 3.163. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF104 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	186
Şekil 3.164. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF104 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	187
Şekil 3.165. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>P. praetextata</i> likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	188
Şekil 3.166. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>P. praetextata</i> likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	189
Şekil 3.167. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>P. praetextata</i> likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	190
Şekil 3.168. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>P. praetextata</i> likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	191
Şekil 3.169. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki <i>P. praetextata</i> likeninin n-Hekzan özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	192
Şekil 3.170. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	193
Şekil 3.171. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu	194

üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	
Şekil 3.172. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhIA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	195
Şekil 3.173. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	196
Şekil 3.174. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	197
Şekil 3.175. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	198
Şekil 3.176. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	199
Şekil 3.177. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhIA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	200
Şekil 3.178. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	201
Şekil 3.179. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	202
Şekil 3.180. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	203
Şekil 3.181. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu	204

üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	
Şekil 3.182. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhIA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	205
Şekil 3.183. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	206
Şekil 3.184. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	207
Şekil 3.185. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	208
Şekil 3.186. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	209
Şekil 3.187. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhIA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	210
Şekil 3.188. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	211
Şekil 3.189. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	212
Şekil 3.190. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	213
Şekil 3.191. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu	214

üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	
Şekil 3.192. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhIA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	215
Şekil 3.193. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	216
Şekil 3.194. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	217
Şekil 3.195. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	218
Şekil 3.196. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	219
Şekil 3.197. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhIA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	220
Şekil 3.198. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği	221
Şekil 3.199. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği	222
Şekil 3.200. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği	223
Şekil 3.201. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa lasB-gfp</i> suşu	224

üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiğı	
Şekil 3.202. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa rhlA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiğı	225
Şekil 3.203. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa pqsA-gfp</i> suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiğı	226
Şekil 3.204. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün <i>P. aeruginosa</i> PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiğı	227
EK 1-Şekil 1. Grafiklerin yorumlanabilmesi için verilen şablon grafik	270

TABLO LİSTESİ	SAYFA
Tablo 2.1. <i>Peltigera</i> cinsine ait sekonder metabolitlerin ve <i>P. aeruginosa</i> kontrol gruplarının PubChem veri tabanından indirilen kodları	32
Tablo 2.2. <i>P. aeruginosa</i> QS sinyal mekanizması incelenerek seçilen reseptör proteinlerin kategori, gen isimleri ve PDB kodları	34
Tablo 2.3. Moleküler tür tayininde kullanılan 5.8S gen bölgesine uygun primerler	41
Tablo 2.4. GenBank veri tabanından indirilen 5.8S gen bölgesi dizilerine ait erişim numaraları	45
Tablo 2.5. Liken ve endolikenik fungus özütleri	49
Tablo 2.6. Çalışmada kullanılan bakteri suşları	51
Tablo 3.1. Liken sekonder metabolitleri, agonist ve antagonist moleküllerin numaraları ve üç boyutlu yapıları	57
Tablo 3.2. 3IX3 proteini ile liken sekonder metabolitlerinin moleküler kenetlenme sonucu elde edilen skorlar	59
Tablo 3.3. 1RO5 proteini ile liken sekonder metabolitlerinin moleküler kenetlenme sonucu elde edilen skorlar	62
Tablo 3.4. 4JVI proteini ile liken sekonder metabolitlerinin moleküler kenetlenme sonucu elde edilen skorlar	65
Tablo 3.5. Liken sekonder metabolit moleküllerinin terapötik etkilerinin tahmin verileri	70
Tablo 3.6. Liken sekonder metabolit moleküllerinin toksik etkilerinin tahmin verileri	71
Tablo 3.7. Liken ve ELF özütlerinin QS ve biyofilm inhibisyon skorları	228

1. GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa, çok çeşitli ortamlarda hayatta kalabilen her yerde bulunabilen Gram negatif bir fırsatçı patojen bakteridir (Silby ve ark., 2011). Nozokomiyal enfeksiyonlar, vantilatörle ilişkili pnömoni, kistik fibrozis (CF) hastaları ve bağışıklığı baskılanmış bireylerde yüksek morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır (Sadikot ve ark., 2005; Barbier ve ark., 2013). Bir CF hastasının akciğeri bakteriyel büyüme ve kolonizasyon için elverişli bir ortamdır ve *P. aeruginosa*, CF akciğer enfeksiyonlarına neden olan baskın bir patojen olup kronik enfeksiyonları antibiyotik tedavisine karşı inatçıdır ve solunum fonksiyonlarında azalma ve sonuçta KF hastalarında mortalite ile sonuçlanmaktadır (Lyczak ve ark., 2002).

P. aeruginosa, CF hastalarının akciğerlerinde kolonize olarak kronik enfeksiyonlara neden olmaktadır ve DNA, proteinler ve ekzopolisakkaritlerin üretilmesiyle akciğer epitel hücre yüzeylerinde biyofilm yapısı oluşturmaktadır (Taylor ve ark., 2014). *P. aeruginosa* biyofilm formunun oluşumunun düzenlenmesi birden çok faktöre dayanmaktadır ancak esas olarak salt çoğunluk algılama “çekirdek algılama mekanizması (Quorum Sensing - QS)” görev almaktadır (Rasamiravaka ve ark., 2015). QS, hücre popülasyonu yoğunluğundaki değişikliklere yanıt olarak gen ekspresyonunu düzenleyen bakteriyel bir hücre-hücre iletişim sürecidir (Miller ve Bassler, 2001). *P. aeruginosa*'da olgun ve farklılaşmış biyofilm yapılarının oluşumuna katkıda bulunan üç ana QS sistemi, LasI-LasR, RhII-RhlR ve PqsR bulunmaktadır (de Kievit ve Iglewski, 2000; Storz ve ark., 2012; Kang ve ark., 2018).

P. aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisi, bu bakterinin şu anda mevcut olan antibiyotiklerin çoğuna direnme kabiliyeti nedeniyle büyük bir zorluk haline gelmiştir (Lister ve ark., 2009). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) son zamanlarda karbapenem dirençli *P. aeruginosa*'yı, enfeksiyonları tedavi etmek için yeni antibiyotiklerin geliştirilmesine kritik bir ihtiyaç duyulan üç bakteri türünden biri olarak listelemiştir (Tacconelli ve ark., 2017). Ayrıca tedavi sırasında aşırı antibiyotik kullanımı, çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa* suşlarının gelişimini hızlandırmakta ve bu mikroorganizmaya karşı antibiyotik tedavisinin etkisizliğine yol açmaktadır (Hirsch ve Tam, 2010).

P. aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisi için yeni antibiyotiklerin veya alternatif terapötik stratejilerin geliştirilmesi, enfeksiyonları konvansiyonel antibiyotiklere dirençli hastalar için acilen gereklidir (Pang ve ark., 2019).

1.1. Antibiyotik Direnci Sorunu ve Sağlık - Ekonomik Boyutu

Antibiyotiklere direnç gösteren fırsatçı bakterilerin giderek yaygınlaşması sonucunda tüm dünyada kronik enfeksiyon vakalarının sayısı artmakta ve halk sağlığı ciddi sorunlarla karşılaşmaktadır (Neufeld ve ark., 2017). Antibiyotik yanlış ve aşırı kullanımı, bakteri popülasyonunda zamanla dirençli suşların ortaya çıkmasına yol açan evrimsel bir stres cevabı yaratmıştır ve çeşitli bakteriyel türler arasında yaygın anti-bakteriyel direncin gelişmesine neden olmuştur (Koh ve Tham, 2011; Ahmed ve ark., 2019). Mevcut antibiyotikler, bakterilerin gelişimini durdurmaya yönelik temel süreçleri hedeflerler ve bu da seçici baskınların ve daha fazla ilaca dirençli varyantların oluşumuna yol açabilmektedir (Durão ve ark., 2018). Antibiyotiklerin bilinçsiz olarak kullanımı ve yeni antibiyotik keşfinin olmaması, tedavisi son derece zor olan ilaca dirençli patojenlerin gelişiminde zirveye ulaşan hızlı bir direnç evriminin görülmesine sebep olmuştur (Ahmed ve ark., 2019). Antibiyotik direncine bağlı olarak görülen bakteriyel enfeksiyonlar ile mücadelede ciddi tıbbi sorunlar oluşmakta ve yaşanmaktadır (Koh ve ark., 2013). Ayrıca insanlarda, hayvanlarda ve bitkilerde geleneksel olarak kullanılan anti-bakteriyellerin uygun olmayan şekillerde kullanımı, çoklu ilaca dirençli (MDR) patojenik bakteri türlerinin gelişmesine de sebep olabilmektedir (Gupta ve Singhal, 2018).

Anti-bakteriyel direnç giderek artan bir küresel sorundur ve Avrupa Birliği ülkelerinde her yıl antibiyotik ilaçlarına dirençli patojen bakteri kaynaklı enfeksiyonlar nedeniyle en az 25.000 kişinin vefat ettiği bildirilmektedir (E.C.D.C., 2015; van Belkum ve ark., 2019). Amerika Birleşik Devletleri (A.B.D.) Hastalık Kontrol ve Koruma Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention, C.D.C.) verilerine göre, A.B.D.'de çoklu antibiyotik direncine sahip bakteri kaynaklı enfeksiyonlar nedeniyle her yıl en az 2.000.000 kişi dolaylı olarak hastalanmakta ve her yıl en az 23.000 kişi ise doğrudan antibiyotik direncine bağlı olarak ölmektedir (C.D.C., 2013). Dünya çapında ise, çoklu ilaca dirençli enfeksiyonların yılda yaklaşık 700.000 kişinin ölümüne sebep olabildiği belirtilmiş ve 2050 yılına kadar yılda 10 milyon ölüme ulaşılacağı tahmin edilmiştir (Spaulding ve ark., 2018).

Antibiyotik direnci probleminin sağlık açısından büyük etkilerinin olmasının yanı sıra ekonomik açıdan da olumsuz yansımaları yaşanmaktadır. Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (European Centre for Disease Prevention and Control, E.C.D.C.) verilerine göre, Avrupa' da sağlık problemleri nedeniyle yılda yaklaşık 15 milyar Euro,

A.B.D.' de ise yaklaşık 35 milyar dolar maddi kayıp meydana gelmektedir (E.C.D.C., 2015). Dünya Bankası ise, anti-bakteriyel direncin (AMR) sadece bir sağlık problemi olarak problem oluşturmayacağını, 2050 yılında 2008–2009 küresel mali kriziyle karşılaştırılabilecek yurtiçi hasılanın azalmasına sebebiyet vererek büyük ekonomik sorunlara yol açacağını öngörmektedir (Padiyara ve ark., 2018).

Antibiyotiklere direnç gösteren fırsatçı bakterilerin giderek yaygınlaşması sonucunda tüm dünyada kronik enfeksiyon vakalarının sayısı artmakta ve halk sağlığı ciddi sorunlarla karşılaşmaktadır (Neufeld ve ark., 2017). Diğer birçok patojenik bakterilerde olduğu gibi, fırsatçı bir patojen olan *Pseudomonas aeruginosa*'nın virülansı ve patojenitesi, biyofilm oluşumu, bakteri ilaç direnci ve diğer virülans faktörleri “Quorum Sensing” mekanizması ile yakından ilişkilidir ve bu mekanizma *P. aeruginosa*'nın enfeksiyon oluşumu ve ilaç direnci için çok önemlidir (Pustelny ve ark., 2009; Lee ve ark., 2018).

1.2. Quorum Sensing Mekanizması (QS - Salt Çoğunluk Algılama Sistemi)

Salt çoğunluk algılama - Quorum sensing (QS) mekanizması hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilerde popülasyon yoğunluğuna dayanarak; biyofilm oluşumunu, virülans faktörlerin salınımını, biyoluminesansı ve antibiyotik üretimini düzenlemek için otoindüktörler (AI) adı verilen sinyal moleküllerini üretmek, algılamak ve bunlara cevap vermek yoluyla kontrol edilen bir kimyasal hücre-hücre iletişim mekanizmasıdır (Waters ve Bassler, 2005).

Quorum sensing ilk olarak 1970 yılında biyolojik ışıltama (lüminesans) özelliğine sahip deniz bakterileri olarak bilinen *Vibrio fischeri* ve *Vibrio harveyi*'de gösterilmiştir. Bu bakterilerin biyoluminesans özelliği üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda, QS sisteminin detayları ortaya çıkarılmıştır. *V. fischeri* ve *V. harveyi*'nin lüminesans özellikleri, bakteri üreme eğrisinin lag fazından sonra kolayca izlenebilmektedir. Sabit fazda olduğu gibi, erken log faz kültürlerinde maksimum lüminesansa ulaşmak için, sabit fazdan hücre içermeyen süpernatantın ortama eklenebileceği bildirilmiştir. AI sinyal moleküllerinin konsantrasyonu, düşük hücre yoğunluklarında daha düşük seviyelerde kalırken, daha yüksek hücre yoğunluklarında bir konsantrasyon eşiğine kadar birikmektedir. *V. fischeri*'de ilk tanımlanan AI (VAI); N-3 (okzohekzanoil)-homoserin lakton (3OC6HSL) olarak bildirilmiştir (Eberhard ve ark., 1981). VAI biyosentezinin, pozitif feedback mekanizmasında luxI geni tarafından

kodlandığı iyi bilinmektedir. Bakteriyel popülasyon yoğunluğundaki artış, çevredeki ortamda daha yüksek konsantrasyonlarda VAI moleküllerinin birikmesine yol açmaktadır. Bu sinyal molekülleri ve LuxR geni arasındaki etkileşim, luxICDABE operonunun transkripsiyonunu sağlamaktadır. Daha sonra, luxCDABE operonu tarafından lusiferaz kodlanır ve QS aktivasyonu lüminesans yoluyla görünür hale gelmektedir. Diğer yandan, düşük hücre yoğunlukları nedeniyle düşük VAI konsantrasyonları luxR ve luxI genlerini aktive etmek için yetersiz kalmakta ve lusiferaz kodlanamamaktadır.

Yüksek seviyelerdeki bakteri popülasyon yoğunluğu, tür içi, türler arası veya alemler arası etkileşim için QS sistemini tetiklemektedir. Otoindüktörler (AI) küçük ve difüze olabilen kimyasal sinyal molekülleri olup, bakterinin kendi çevresine salgılanmaktadır. Üç tür ana AI tanımlanmıştır: (i) Gram negatif bakteriler tarafından kullanılmakta olan “AHL”ler (Açıl Homoserin Lakton; N-açillenmiş L homoserin laktonları) (AI-1); (ii) Gram pozitif bakteriler arasındaki türler arası etkileşim için “Otoindükleyici peptitler” (AIP); (iii) Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hem tür içi hem de türler arası iletişimini sağlamak amacıyla “Otoindüktör-2”ler (AI-2) bildirilmiştir (Jayaraman ve Wood, 2008; Rutherford ve Bassler, 2012; Garg ve ark., 2014). QS sistemi, QS regülasyonundan sorumlu beş elementten oluşur: AI molekülleri, sinyal sentaz enzimleri, reseptörler, regülatörler ve genler. Çoğu patojenik bakteri, virülans faktörlerini, antibiyotik direncini ve biyofilm oluşumunu QS sistemi tarafından düzenler (Li ve Tian, 2012).

Gram negatif bakteriler, LuxI/R tipi QS sistemini kullanmaktadır. LuxI/R tipi QS sistemi, AI'lar olarak açıl homoserin lakton (AHL) moleküllerinin üretilmesini sağlayan LuxI-tipi otoindükleyici sentazları ve LuxR-tipi reseptörleri içermektedir. LuxR-tipi reseptörler, AI'lar ile etkileşime girerek, QS yolaklarına aracılık eden bir transkripsiyonel düzenleyici protein sınıfıdır. LuxR, LasR ve TraR gibi LuxR-tipi proteinler, AI'lar olmadan oldukça kararsızdır ve düşük hücre yoğunluğunda AI'ların konsantrasyonu orantılı olarak düşük olur (Smith ve ark., 2008). Hücre yoğunluğu arttığında, AI konsantrasyonu da artar ve bu birikmiş AHL'ler LuxR reseptörü ile etkileşime girerek, LuxR-AHL kompleks stabilizasyonuna yol açar. Daha sonra, LuxR-AHL kompleksi ilgili promotör bölgeye bağlanır ve akış aşağı genlerin ekspresyonuna yol açar (Papenfort ve Bassler, 2016).

AHL moleküllerinin sadece bakteri hücre popülasyonu yoğunluğu arttığında ve AHL'nin belirli eşik seviyeleri elde edildiğinde QS sinyalleri olarak işlev gördüğü belirtilmiştir. QS sisteminin düzenlenmesi için AHL'lerin AHL sentaz yoluyla sentezi ve bu sinyallerin popülasyon yoğunluğuna bağlı olarak daha yüksek konsantrasyonlarda birikmesi gerekir. Bu nedenle, QS sistemleri AHL monitörizasyonu ile değerlendirilebilmektedir. QS mekanizması, anti-virülans tedavi yaklaşımları için üzerinde en yoğun çalışılan hedeflerden biridir. QS sistemi, bakterilerin gelişmesi için elzem olmadığından ve bazı virülans faktörlerin birlikte düzenlenmesine izin verdiği için, QS sistemi hedef alınmaktadır. Böylece, seçici hayatta kalmanın ve antibiyotik direncinin ortaya çıkışı sınırlandırılırken, bakteriyel patogenezin kontrol edilmesi sağlanmış olur (LaSarre ve Federle, 2013). Bu nedenle, QS sistemlerine müdahale, antibiyotik direncinin ortaya çıkışını ve yayılmasını önlemek için umut verici bir strateji olarak düşünülmektedir (Defoirdt, 2018). QS sistemine müdahale eden bileşikler doğal veya sentetik kökenli olabilir ve sinyal molekülü biyosentezi, sinyal molekülünü tanıma veya sinyal iletiminin inhibitörleri veya agonistleri olarak işlev görerek QS hücre-hücre iletişim sürecinin farklı aşamalarını hedef alabilmektedir.

P. aeruginosa biyofilm formunun oluşumunun düzenlenmesi birden çok faktöre dayanmaktadır ancak esas olarak salt çoğunluk algılama “çekirdek algılama mekanizması (Quorum Sensing - QS)” görev almaktadır (Rasamiravaka ve ark., 2015).

1.3. *Pseudomonas aeruginosa* Hakkında Genel Bilgiler

Pseudomonas aeruginosa, oldukça invaziv, toksijenik, farklı yüzeylere ve dokulara adapte olabilen Gram negatif bir bakteridir (Shrivastava ve ark., 2018; WHO, 2018;). Pnömoni ve özellikle kan dolaşımı, idrar yolu ve cerrahi bölge enfeksiyonları olmak üzere çeşitli enfeksiyonların ve yanık yaralarının yaygın nedenidir. Ayrıca, *P. aeruginosa* enfeksiyonları bağışıklığı baskılanmış kişilerde özellikle kistik fibrozis (KF), kanser veya AIDS hastalarında veya uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik kullananlarda ortaya çıkmaktadır (Driscoll ve ark., 2007; WHO, 2018). Bu enfeksiyonların, özellikle KF hastalarında tedavisi zorlu bir süreçtir. KF'nin yüksek mortalite ve morbidite oranlarının ana nedeni biyofilm kolonizasyonudur (Caldas ve Boisramé, 2015). *P. aeruginosa* fırsatçı bir patojen olup, mutasyon, dış membran porinleri, efflux pompaları ve biyofilm oluşumu nedeniyle birçok antibiyotiğe karşı en dirençli Gram-negatif bakterilerden biridir (Smith ve ark., 2017). Antibiyotiklerin yaygın

ve yanlış olarak kullanımı, bakterilere karşı verilen savaşta tedavilerin başarısızlığına yol açan çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa* suşlarının gelişimini arttırmaktadır (Pang ve ark., 2018). *P. aeruginosa* suşlarının aminoglikozitler, sefalosporinler, florokinolonlar ve karbapenemler dahil olmak üzere birçok antibiyotiğe dirençli olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Chaudhary, 2016; Pang ve ark., 2019). 2017 yılında karbapenem dirençli *P. aeruginosa* suşları, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından acil olarak yeni tedavilere ihtiyaç duyan patojenler arasında kritik kategorisinde listelenmiştir (Tacconelli ve ark., 2018; WHO, 2018). Bu bağlamda, enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisi için yeni ve alternatif stratejilerin belirlenmesi esastır.

1.3.1. Morfolojisi ve Genel Özellikleri

Gram negatif bir bakteri olan *P. aeruginosa*, 5-1.0 µm en genişliğinde ve 1.5-5 µm boy uzunluğundadır. Düz ya da hafif kıvrımlı basil veya kokobasil morfolojisindedir. Optimal üreme sıcaklığı 37°C ve üreme tipi sporsuzdur. Nonfermantatif bir bakteridir. Tek bir kutbunda bulunan 1 adet flagellası ile hareket edebilmektedir. Mikroskop objektifi altında genellikle tek olarak, bazen de uç uca eklenmiş bir zincir şeklinde gözlenebilmektedir. *P. aeruginosa*'nın en karakteristik özelliklerinden birisi de “piyosyanin” isimli yeşil renkli pigmentler üretebilmesidir. Bazı suşları piyorubin (kırmızı-kahverengi), piyoverdin (fluoressein-sarı), ve piyomelanin (siyah) gibi pigmentler oluşturmaktadır (Pier ve ark., 2010; Brown ve ark., 2012).

1.3.2. *Pseudomonas aeruginosa* QS Mekanizmaları

P. aeruginosa, türler arası iletişim için hiyerarşik olarak birbiri ile ilişkili dört QS sistemine sahiptir: LasI/LasR ve RhII/RhlR sistemleri (Pesci ve ark., 1997), PqsABCDE PqsR sistemi (Dubern ve Diggle, 2008) ve AmbBCDE IqsR sistemi (Lee ve ark., 2013). Her sistemin kendi AI'ü bulunmaktadır: (i) 3-oksododekanoil-L-homoserin lakton (3-okso-C12-HSL), (ii) N-bütanoil homoserin lakton (C4-HSL), (iii) 2-heptil-3-hidroksi-4-kinolon (*Pseudomonas* kinolon sinyali - PQS) ve (iv) 2-(2-hidroksifenil)-tiyazol-4-karbaldehid (IQS) (Lee ve Zhang, 2015). N-(3-oksododekanoil) homoserin laktonu (3-okso-C12-HSL, OdDHL), LasI sentaz tarafından sentezlendikten sonra bu otoindüktör LasR reseptörüne bağlanmaktadır ve lasA proteaz, lasB elastaz, alkalın proteaz ve ekzotoksin A gibi virülans genlerin transkripsiyonu gerçekleşmektedir.

Rhl sistemi RhII, RhlR ve otoindüktör olarak N-butanoil-homoserin laktonu (C4-HSL, BHL) içermektedir. C4-HSL üretimi ramnolipid, piyosyanin, elastaz, hidrojen

siyanür ve lektinlerin üretimini tetiklemektedir.

Pseudomonas quinolone sinyal (pqs) sistemi, PqsR, pqsABCDE-phnAB operonu, pqsH ve sinyal molekülleri olarak 2-alkil-4-kinolonları (AQ) içermektedir. Pqs sisteminin, piyosiyanın, lektin ve ramnolipidlerin ekspresyonundan sorumlu olduğu bildirilmiştir.

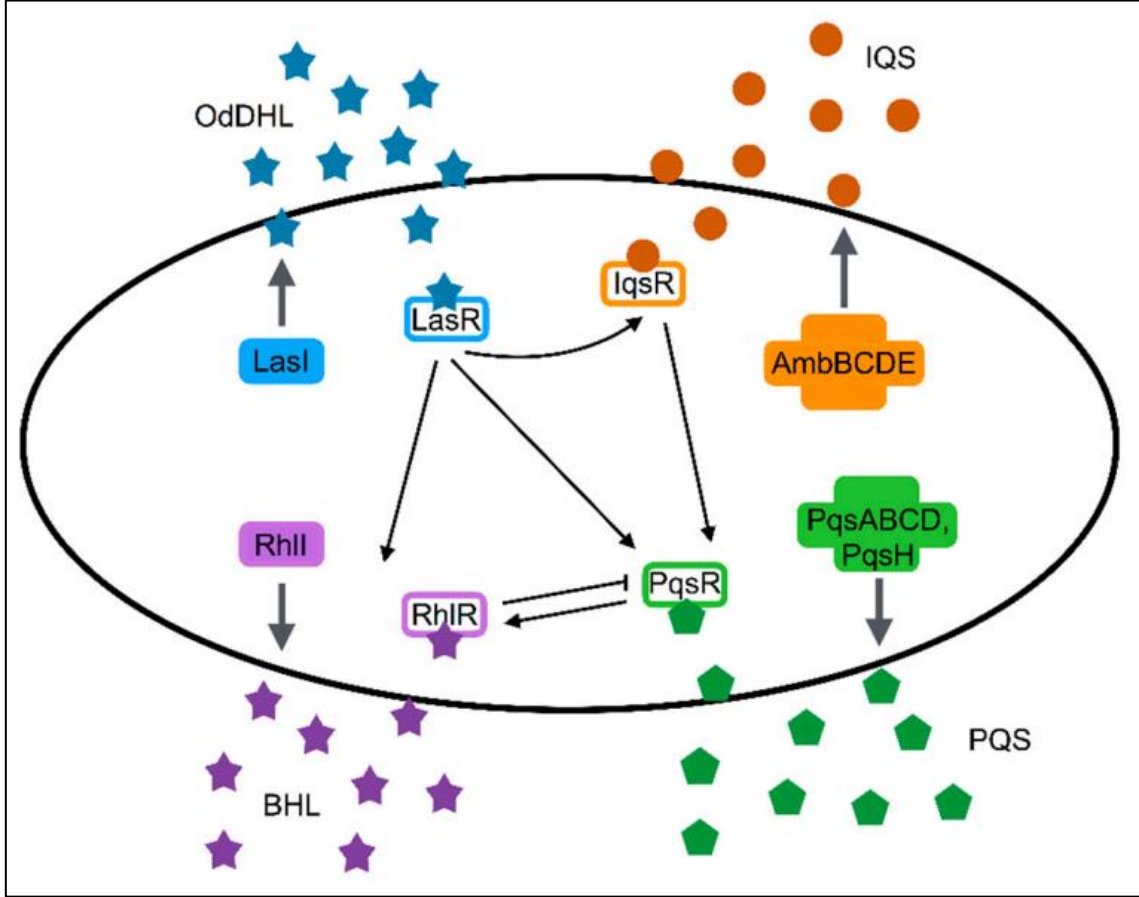
Son yıllarda, literatürdeki çalışmalarda dördüncü bir QS sisteminin (iqs) varlığı gösterilmiştir ve sisteminin fosfat eksikliği gibi çevresel stres altında görev aldığı bildirilmiştir (Lee ve ark., 2013; Papenforf ve Bassler, 2016). Iqs sisteminin sinyal olarak 2-(2-hidroksifenil)-tiyazol-4-karbaldehid kullandığı belirtilmiştir (Lee ve ark., 2015).

Bu sistemler kaskadında hiyerarşinin en üstünde LasI/R ile iyi organize edilmiştir. LasI/LasR sistemi diğer tüm üç sistemi düzenler, RhII/RhlR ve PqsABCDE/PqsR sistemleri birbirini düzenler ve PqsABCDE/PqsR sistemini düzenleyen AmbBCDE/IqsR sistemidir. Bu sistemler ayrıca motilite, biyofilm oluşumu, immüniteden kaçış ve antibiyotik direnci ile ilgili çeşitli genlerin ekspresyonunu düzenler (Jakobsen ve ark., 2013).

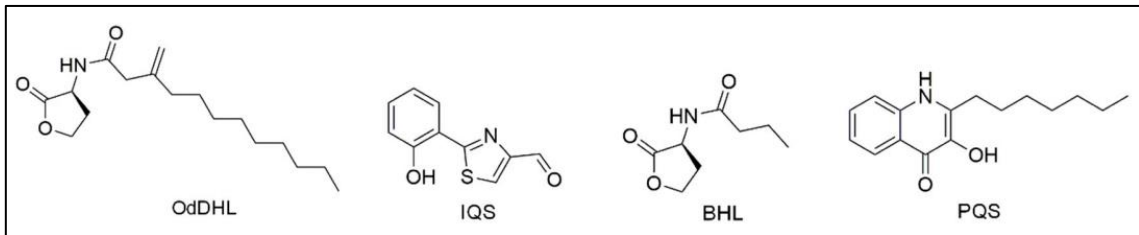
N-(3-oksododekanoil)-l-homoserin lakton (3OC12-HSL), LasR ile etkileşime girdiğinde, lasI sentaz dahil olmak üzere birçok akış aşağı genlerini aktive ederek 3OC12-HSL üretimine açmaktadır. LasR-3OC12-HSL kompleksi ayrıca rhlR rhII, pqsR ve pqsABCDE genlerini pozitif olarak düzenleyerek QS sistemlerinin ekspresyonunu başlatır. RhlR, *N*-butanoil-l-homoserin lakton (C4-HSL) ile etkileşime girdiğinde ise, virülans faktörlerin üretimi ve biyofilm oluşumu için gerekli olan birçok gen aktive edilmektedir (Erickson ve ark., 2002; Scoffone ve ark., 2019). (Şekil 1.1)

P. aeruginosa ve diğer birçok patojenin, virülans faktörlerinin çoğunu QS sistemi ile düzenlediklerinin detaylı olarak gösterilmesi ilaç keşiflerine yeni bir yön vermiştir (Williams, 2017; Defoirdt, 2018; Deryabin, 2019). Birçok çalışmada, QS mekanizmasını engelleyerek biyofilm oluşumunun ve virülans faktörlerin üretiminin etkili bir şekilde azaltılabileceği ortaya konulmuştur (O'Loughlin ve ark., 2013; Brackman ve Coenye, 2015; Scoffone ve ark., 2019). Geleneksel antibiyotiklerin aksine, QS inhibitörleri (QSI'lar) bakterileri öldürmez, bunun yerine sadece bakteriyel patojeniteyi etkisiz hale getirir ve bakterilerin direnç kazanmalarını engeller (Whiteley ve ark., 2017). Bu nedenle, QS sistemine müdahale, özellikle çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa* ile mücadelede uygulanabilir ve potansiyel bir alternatif yaklaşım olarak kabul edilmektedir (Kalia,

2013). Sonuç olarak, QS sistemine müdahale edebilen ilaçlar, patojenik bakterilerin konakçı savunma mekanizmalarına ve klirens karşı duyarlılığını artırma eğilimindedir (Bjarnsholt ve Givskov, 2007).



Şekil 1.1. *P. aeruginosa* QS mekanizması yolları ve gen regülasyonları (Scoffone ve ark., 2019). (OdDHL, *N*-(3-oxododecanoyl) Homoserin lakton; BHL, *N*-butyryl-L-homoserin lakton; PQS, *Pseudomonas* Kinolon sinyali).



Şekil 1.2. *P. aeruginosa* QS mekanizmasında görev alan sinyal molekülleri (Scoffone ve ark., 2019).

1.3.3. *Pseudomonas aeruginosa*'da Biyofilm Formu

Biyofilm oluşumu, organize bakteri topluluklarının mikrobiyal hücrelerinin çeşitli biyotik veya abiyotik yüzeylere tutunarak ekzopolisakkarit matriksine (EPS) çevrildiği 3 boyutlu sonsuz bir döngüdür (Donlan, 2002; Karatan ve Watnick, 2009; Dey ve ark., 2020). Biyofilm oluşumu, var olan tüm mikrobiyal enfeksiyonların %65-80'inde belirleyici faktör olarak öne çıktığı düşünülmektedir (Costerton ve ark., 1999; Hentzer ve ark., 2005).

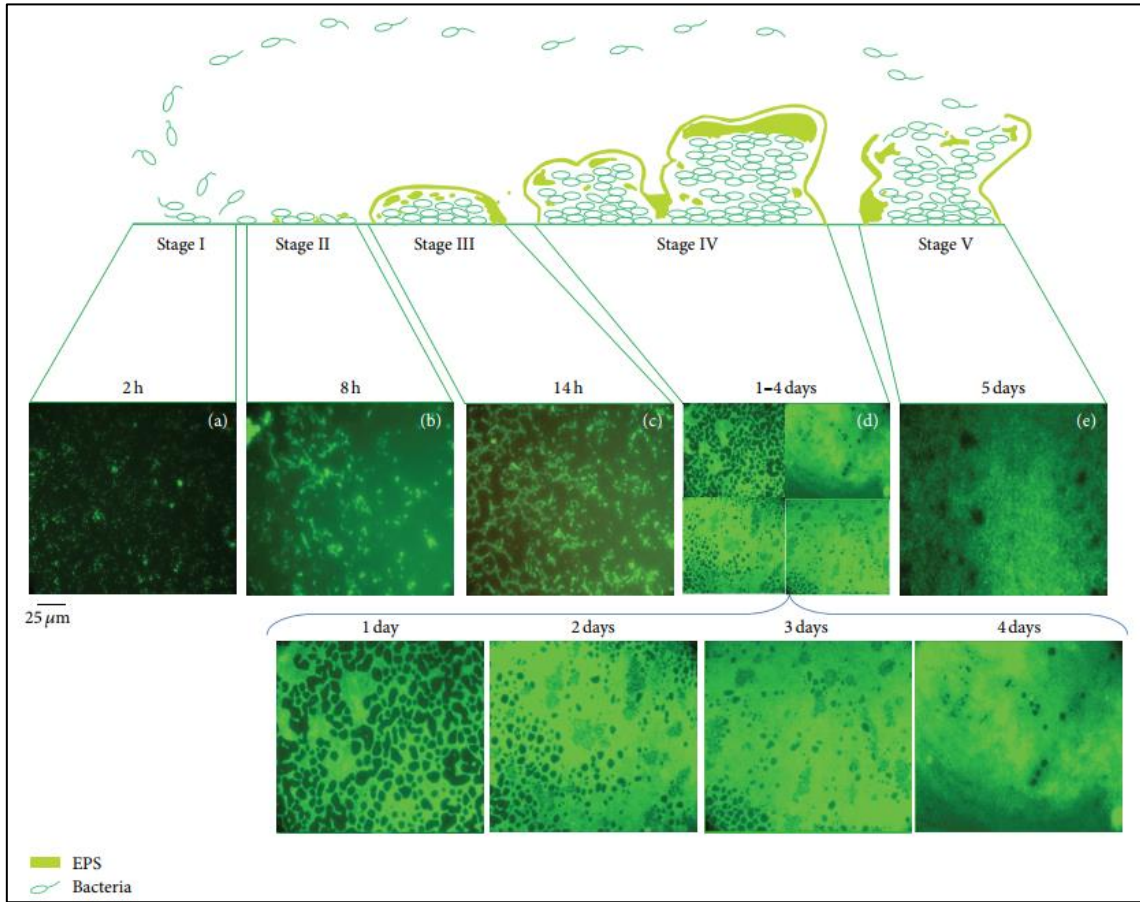
P. aeruginosa biyofilm formunun oluşumunun düzenlenmesi birden çok faktöre dayanmaktadır ancak esas olarak salt çoğunluk algılama - QS mekanizması rol oynamaktadır (Rasamiravaka ve ark., 2015). Biyofilm oluşumunun ve bakterilerin iletişiminin engellenebilmesi QS mekanizmasının bloke edilmesiyle sağlanabilmektedir (Christiaen ve ark., 2014). *P. aeruginosa*'da olgun ve farklılaşmış biyofilm yapılarının oluşumuna katkıda bulunan üç ana QS sistemi, LasI-LasR, RhlI-RhlR ve PqsR bulunmaktadır (de Kievit ve Iglewski, 2000; Storz ve ark., 2012; Kang ve ark., 2018).

P. aeruginosa'da virülans faktörlerinin ifadesi çok çeşitlidir (Sauer ve ark., 2002). PqsABCDE/PqsR sisteminin, kararlı ve olgun biyofilmlerin oluşumu için önemli olan bir matriks bileşeni olan hücre dışı DNA (eDNA)'nın üretimini (Whitchurch ve ark., 2002; Allesen-Holm ve ark., 2006) ve biyofilm oluşumunu, kolonizasyonu ve enfeksiyon oluşumunu arttıran LecA ve LecB gibi lektinlerin üretimini etkilediği (Adam ve ark., 1997; Lee ve Zhang, 2015) bildirilmiştir. RhlI/RhlR sistemi, geç evre biyofilm oluşumu, konağın bağışıklık hücrelerine karşı tolerans ve biyofilm dispersiyonu için önemli olan ramnolipidlerin ekspresyonunu kontrol etmektedir (Davey ve ark., 2003; Lequette ve Greenberg, 2005; Jensen ve ark., 2007). Bu sistem ayrıca *P. aeruginosa* biyofilmlerinde toksik nitrik oksit birikmesini önler (Ciofu ve ark., 2015).

P. aeruginosa bakterisinin biyofilm yaşam döngüsü 5 ana fenotipik aşamayla meydana gelmektedir (Şekil 1.3):

- i. 1.Aşamada, planktonik bakterilerin büyüme için biyotik veya abiyotik uygun bir yüzeye tersinir tutunmasıyla başlar. Bu tutunma oldukça zayıf ve geri dönüşümü bir bağlanma olup bu sayede mikroorganizmalar tutunacakları yüzeye kolayca bağlanabilmekte veya ayrılabilir.
- ii. 2.Aşamada, mikroorganizmaların ekzopolisakkarit matriksinde (EPS) mikrokoloniler oluşturarak geri dönüşümsüz tutunma gerçekleşmektedir.

- iii. 3.Aşamada, mikrokoloniler hızla çoğalarak yayılırlar, genişlerler ve birleşerek kolonize edilmemiş alanlara yayılırlar.
- iv. 4.Aşamada, yüzey üzerindeki tüm kolonize olunabilecek alanlara yayılım gerçekleşir.
- v. 5.Aşamada, bakteriler sesil yapıdan ayrılarak diğer yüzeylere yayılmak ve kolonize etmek amacıyla planktonik halde saçılım gösterirler (Davey ve ark., 2003; Karatan ve Watnick, 2009).



Şekil 1.3. *P. aeruginosa* QS mekanizmasının biyofilm formu aşamalarına genel bakış (Pérez-Rasamirayaka ve ark., 2015). 1)Planktonik bakterinin abiyotik yüzeye tutunması, 2)Hücrelerin yüzeye geri dönüşümsüz olarak bağlanmaları, 3)Mikrokolonilerin oluşması, 4)Mikrokolonilerin büyüyerek olgunlaşması, 5) Farklı bölgelere tutunarak koloni oluşturulmak üzere planktonik hücrelerin biyofilm formundan kopması.

1.4. *In siliko* - Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı Yaklaşımları

Hesaplamalı ve bilgisayar destekli ilaç keşifleri, ilaç keşfi ve geliştirme sürecini hızlandırmak ve ekonomikleştirmek için etkili bir stratejidir. Biyolojik makro molekül ve küçük molekül bilgilerinin mevcudiyetindeki dramatik artış nedeniyle, hesaplamalı ilaç keşfi genişletilmiş ve ilaç keşfi ve geliştirilmesinde hemen hemen her aşamaya geniş çapta uygulanmıştır. Hedef tanımlama ve doğrulama, olası müşteri keşfi ve optimizasyonu ve klinik öncesi testleri içeren iş akışı. Son yıllarda, moleküler yerleştirme, farmakofor modelleme ve haritalama, de novo tasarımı, moleküler benzerlik hesaplaması ve sekans tabanlı sanal tarama gibi hesaplamalı ilaç keşif yöntemleri büyük ölçüde geliştirilmiştir (Ou-Yang ve ark., 2012).

İlaç tasarımı, biyolojik yapılar ve hedef moleküller temel alınarak yeni ve özgün ilaç geliştirilmesi için izlenen adımların toplamı olarak açıklanmaktadır. Bu süreç içerisinde, *in vitro* laboratuvar çalışmalarının yanında *in siliko* yani bilgisayar tabanlı yöntemler ve hesaplamaların kullanılması, yeni nesil ilaçların keşfinde etken bir rol oynayarak ilaç geliştirme süreçlerinde zaman ve maliyet kazancı sağlamaktadır (Hill, 2012). Modern ilaç keşfinde protein-ligand veya protein-protein kenetleme, ligandın ya da etkin olduğu düşünülen metabolitin, bir protein reseptörüne veya enzimine bağlanarak, onu ölçmek için şekil ve elektrostatik etkileşimler kullanarak, ilgili yapının yönelimini tahmin etmede önemli bir rol oynar. İlaç tasarımında ilk adımın, bir hastalığı tedavi etmek ya da hastalıktan korunmak için en iyi hedefleri saptayabilmek olduğu literatürce görülmektedir (Alberg ve Schreiber, 1993; Hill, 2012). Bu hedefler de genellikle hastanın vücudundaki ya da hastalığa sebep olan mikroorganizmanın yapısındaki proteinlerdir. Dikkat edilmesi gerekli nokta, doğru proteini hedef olarak belirleyebilmektir. Hedef olarak belirlenmiş proteine bağlanacak molekülü bulmak amacıyla ilaç tasarımının modern uygulaması bilgisayar yardımıyla gerçekleşmektedir ve “bilgisayar destekli ilaç tasarımı” olarak isimlendirilmektedir. Kullanılan bilgisayar destekli yöntemler arasında moleküler kenetlenme (molecular docking, moleküler yerleştirme, MD) ve görsel tarama (sanal tarama, virtual screening vs.) yer almaktadır. Bu tip çalışmaların başlaması ve yürütülebilmesi için, ilgili moleküllerden (protein, ligand vb.) en az birinin üç boyutlu yapısının bilinmesi gerekmektedir. *In siliko* tekniklerinin, birçok protein ve protein-ligand kompleksinin detaylı yapılarının açığa çıkarılmasına katkıda bulunduğu görülmektedir (Alberg ve Schreiber, 1993; Meng ve ark., 2011; Hill, 2012).

1980'lerden bu yana, bilgisayar destekli ilaç tasarımı (CADD) destek veren bilgisayar teknolojileri ilaç keşif sürecine uygulanmaktadır (Van Drie, 2007). CADD teknikleri temel olarak üç nedenden dolayı kullanılır: sanal tarama hedef/ öncü optimizasyonu ve yeni bileşiklerin tasarımı. Sanal taramada, bir hedef için bağlanma kapasitesi araştırılarak büyük bir bileşik veritabanı incelenir ve bir bileşik alt kümesi seçilir ve *in vitro* test için önerilir; amaç deneysel olarak test edilecek bileşiklerin sayısını azaltarak yeni ilaçların isabet oranını arttırmaktır. CADD'nin ikinci uygulaması, bir yapı-aktivite ilişkisinin rasyonelleştirilmesiyle yönlendirilen bir hedef/öncü bileşiğinin optimizasyonudur. Bağlanma için anahtar elemanların bireyselleştirilmesinden sonra, yeni bileşiklerin tasarımı denenebilir (Salmaso, 2018).

CADD yöntemleri, hedef yapının mevcudiyetine ve istihdamına bağlı olarak ligand esaslı (LB) ve yapı esaslı (SB) olarak sınıflandırılabilir (Sliwoski ve ark., 2014). CADD çerçevesinde, yapı bazlı ilaç tasarımı (SBDD) yöntemleri, ilgili yapı eksikse Protein Veri Bankası'ndaki homoloji modelleri için şablonlar olarak kullanılabilen deneysel olarak çözülmüş yapıların çok olması özelliğinden yararlanmaktadır (Berman ve ark., 2000). SBDD, hedef yapının bilgisinin, ligand hedef etkileşimlerine tamamlayıcılıklarının aracılık ettiği için bağlamayı rasyonelleştirmeye ve optimize etmeye yardımcı olabileceği öncülüne dayanmaktadır (Miller ve Dill, 1997). Liganda bağlanma modlarını tahmin etme ve bağlanma süreçlerini yorumlama olasılığı, yeni ligandları bireyselleştirmek, optimize etmek ve önermek için değerlidir ve bu nedenle, yeni hesaplama teknikleri geliştirmek için büyük çabalar sarf edilmektedir (Salmaso ve Moro, 2018). Yapı bazlı ilaç tasarımı, geleneksel yöntemle göre daha hızlı ve daha düşük maliyetli olduğu için ilaç keşfinde önemli bir araç haline gelmiştir. Genomik, proteomik ve yapısal çalışmalar, gelecekteki ilaç keşfi için yüzlerce yeni hedef ve fırsat sağlamıştır (Batool ve ark., 2019).

İlaç keşif sürecinde, terapötik hedeflerle potansiyel etkileşimleri olan yeni ilaçların geliştirilmesi merkezi öneme sahiptir. Geleneksel olarak, umut vaat eden öncü tanımlama, deneysel yüksek verimli tarama (HTS) ile yapılabilir, ancak zaman alıcı ve pahalıdır (Cheng ve ark., 2012). Hedef tanımlamadan FDA onaylı bir ilacın piyasaya sürülmesine kadar tipik bir ilaç keşif döngüsünün tamamlanmasının yaklaşık 800 milyon dolarlık maliyetle 14 yıla kadar sürdüğü bildirilmiştir (Song ve ark., 2009; Lavecchia ve Di Giovanni, 2013). Bununla birlikte, son zamanlarda, klinik çalışmaların

farklı aşamalarındaki yaşanan başarısızlıklar nedeniyle pazardaki yeni ilaç sayısında bir azalma kaydedilmiştir (Lavecchia ve Cerchia, 2016). Kasım 2018'de, yeni FDA onaylı ilaçların geliştirilmesinde toplam maliyeti tahmin etmek üzerine yapılan bir çalışmada, 2015-2016 döneminde FDA tarafından onaylanan 59 yeni ilacın etkinlik maliyeti 19 milyon dolar olarak belirtilmiştir (Moore ve ark., 2018). Bu nedenle, geleneksel ilaç keşif yöntemlerinde yaşanan kısıtlamaların, etkin, düşük maliyetli ve geniş spektrumlu hesaplama alternatifleriyle aşılması önem kazanmaktadır.

Geleneksel ilaç keşif yönteminin (klasik veya ileri farmakoloji) aksine, akılcı ilaç tasarımı etkili ve ekonomiktir. Akılcı ilaç tasarım yöntemi, ters farmakoloji olarak da bilinir. Bu yöntemde, ilk adım hedef proteinleri tanımlamaktır ve bu proteinler daha sonra küçük molekül kütüphanelerinin taranması için kullanılmaktadır (Swinney ve Anthony, 2011). Biyomoleküler spektroskopik yapı belirleme yöntemlerindeki ilerlemelerle birlikte yapısal ve moleküler biyolojide çarpıcı ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu yöntemlerle, 100.000'den fazla proteinin üç boyutlu (3D) yapıları elde edilmiştir (Ferreira ve ark., 2015). İnsan Genom Projesinin tamamlanması ve biyoinformatikte alanında yaşanan ilerlemeler, çok sayıda hedef proteinin mevcudiyeti nedeniyle ilaç geliştirme hızını artırmıştır (Anderson, 2003).

Moleküler kenetlenme (docking), moleküler etkileşimlerin sanal simülasyonu tekniğidir (Prada-Garcia ve ark., 2016). Bu teknik, hedef bir aktif bölge içindeki ligandların yüksek doğrulukla konformasyonu ve bağlanması hakkında öngörü sağlamaktadır (Kitchen ve ark., 2004; Meng ve ark., 2011). Bu yöntem, bir ligand bağlanma pozu ve bir kompleksin stabilitesi için moleküller arası etkileşimler gibi önemli moleküler olayları incelemek için uygulanabilir (Huang ve Zou, 2010).

İlaç keşfi hala (i) sanal tarama yöntemlerinin etkinliğini artırmak, (ii) hesaplamalı kemogenomik çalışmaları geliştirmek, (iii) hesaplamalı web kaynaklarının kalitesini ve sayısını artırmak, (iv) çoklu hedefli ilaçların yapısını geliştirmek, (v) toksisite tahmini için algoritmaları geliştirmek ve (vi) daha iyi potansiyel öncü tanımlama ve optimizasyonu için diğer ilgili çalışma alanlarıyla iş birliği yapmak gibi zorluklarla karşılaşmaktadır. Bilgisayar destekli yapı bazlı ilaç tasarımı, multidisipliner çalışmanın ayrılmaz bir parçasıdır. Bilgisayar destekli ilaç keşfi kombinatoriyal kimya ile kombinasyon halinde kullanılabilir (López-Vallejo ve ark., 2011).

1.5. Likenler Hakkında Genel Bilgiler

İnsanlarla bitkiler arasındaki ilişkileri ele alan etnobotanik bilim dalı içerisinde yer alan “etnolikenoloji” likenler ile insanlar arasındaki ilişkiler üzerinde çalışmaktadır (Brodo ve ark., 2001). Dünyadaki insan kültürleri likenleri tıp, gıda, boyalar, kozmetikler ve diğer birçok nedenle çeşitli amaçlar için kullanmışlardır. Dünya çapında kullanılan likenler geleneksel ilaçların temelinde yer almaktadır. Bildirilen likenlere ek olarak, birçok likenin daha bu listeye katıldığı literatürde bildirilmiştir. Bu likenlerin özellikle enfeksiyöz ve inflamatuvar hastalıklara karşı etkili oldukları belirtilmiştir (Shrestha ve Clair, 2013; Crawford, 2019). Avrupa, Hindistan ve Çin gibi dünyanın farklı bölgelerinde likenlerin geleneksel kullanımı hakkında birçok yazar: Smith (1921), Llano (1948), Richardson (1974), Sharnoff (2001), Upreti ve Chatterjee (2007), Malhotra ve ark. (2008), Wang (2013), Çobanoğlu-Özyiğitoğlu (2016), Crawford (2019) ve Gökalsın (2019) tarafından literatüre çeşitli araştırmalar derlenmiştir. Etkili tedavi edici özellikleri dikkate alındığında, likenler hakkındaki bu etnomedikal bilgi nesiller boyunca aktarılmalıdır.

Likenler mikobiyont (mantar) ve fotobiyont (yeşil alg veya siyanobakteriler) birlikteliği ile oluşan simbiyotik organizmalar olarak bilinmektedir. Bu simbiyotik ilişkide, alglar fotosentez yoluyla mantar için hayati besinler sağlarken, mantar mekanik olarak alg partnerini desteklemektedir (Nash, 1998). Bu organizmaların doğal yaşam alanları, çeşitli coğrafi bölgelerde (kutup veya tropikal bölgeler, çöl veya en yüksek dağlar ve tropikal veya ılıman ormanlar) yer alan birçok ekosistemdir. Spesifik habitatları (substrat) kayalar, odunsu bitkilerin kabuğu ve toprak olabilir (Bhattacharyya ve ark., 2016). Likenler, ayrıca metal, plastik, cam ve beton gibi insan yapımı substratlar gibi çeşitli yüzeylerde gelişebilme özelliği gösterebilmektedir. Likenler Dünya yüzeyinin en az %8'i üzerine yayılış göstermektedir. Likenler, filogeni ve ekoloji açısından çeşitli mantarlara ev sahipliği yapma yeteneğine sahiptir ve yeni doğal ürünlerin keşfi için yeni bir yol haline gelmiştir (Balasubramanian ve Nirmala, 2014). Bu organizmalar, düşük molekül ağırlıklı çok sayıda sekonder metabolit üretebildiklerinden büyük öneme sahiptirler (Molnár ve Farkas, 2010). Liken maddeleri veya liken asitleri olarak da adlandırılan bu metabolitlerin özgün olduğu ve diğer yüksek organizmalar tarafından üretilmediği literatürde yer almaktadır. Ayrıca mantar partneri tarafından liken tallusunun yüzeyine salgılanan liken maddelerinin; patojenler, UV ışığı, kuraklık ve

oksidatif stres gibi aşırı koşullara karşı koruma sağladığı bildirilmiştir (Shukla ve ark., 2016). Birçok çevresel faktörün liken metabolitlerinin üretimi üzerinde etkisi vardır. Alifatik, sikloalifatik, aromatik ve terpenik bileşikler (%0.1-10, bazen kuru ağırlığın %30'u kadar) dahil yaklaşık 1050'den fazla likenlere ait sekonder metabolit maddesini tanımlamak için gelişmiş analitik teknikler kullanılmıştır (Molnár ve Farkas, 2010; Ari ve ark., 2015).

Likenlerin metabolizma ürünü olarak ürettikleri özgün sekonder metabolitler ve bu metabolitlerin anti-bakteriyel (Pathak ve ark., 2015; Gunasekaran ve ark., 2016; Shrestha ve ark., 2016; Savale ve ark., 2016; Oran ve ark., 2016; Xu ve ark., 2016), anti-QS (Gökalsın ve ark., 2019), anti-biyofilm (Nithyanand ve ark., 2015a; Nithyanand ve ark., 2015b), anti-oksidan (Emsen ve ark., 2016; Xu ve ark., 2016), anti-tümöral (Özenoğlu ve ark., 2013; Schinkovitz ve ark., 2014; Yang ve ark., 2015; Studzińska-Sroka ve ark., 2016;), anti-viral (Guo ve ark., 2008), bitki büyüme inhibitörü (Beckett ve ark., 2013; Kalinowska ve ark., 2015), anti-herbivor (Emsen ve ark., 2012), enzim inhibitörü (Jain ve ark., 2016; Saeed ve ark., 2016), nöroprotektif (Fernandez-Moriano ve ark., 2015) gibi birden çok çeşitli etkinlikleri literatürde bildirilmektedir. Likenlerin ekolojik indikatör olarak kullanılabileceği literatürdeki çeşitli kaynaklarda yer almaktadır (Beckett ve ark., 2013; Shukla ve ark., 2016). Literatürde yer alan çalışmalarda HPLC, UV, NMR, FTIR ve benzeri çeşitli kimyasal testler kullanılarak biyolojik aktiviteye sahip likenlerin içerdikleri sekonder metabolitler belirlenmiştir (Oetl ve ark., 2014; Latkowska ve ark., 2015; Le Pogam ve ark., 2015; Li ve ark., 2015; Komaty ve ark., 2016). Liken sekonder metabolitlerin *in vitro* ve *in vivo* toksik etkileri çeşitli kaynaklarda bildirilmektedir (Plsikova ve ark., 2014; Polat ve ark., 2016).

Dünya genelinde yaklaşık 20.000 liken türü mevcuttur ve bunların yaklaşık 2000'i Türk liken mikotasında kaydedilmiştir (John ve Türk, 2017). Türkiye'deki bazı liken türlerinin kimyasal bileşimi ve biyolojik aktiviteleri daha önce incelenmiş olsa da (Yılmaz ve ark., 2004; Gulluce ve ark., 2006; Coskun ve ark., 2015; Çobanoğlu ve ark., 2016; Sesal ve ark., 2016; Yang ve ark., 2018), terapötik potansiyellerini değerlendirmek için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

1.5.1. *Peltigera* Hakkında Genel Bilgiler

Peltigera cinsi Lecanorales takımında Peltigeraceae familyasına ait olup, Ascomycota mantarlarını içermektedir. *Peltigera* türleri çoğunlukla toprak, ağaç kabuğu, epifitik veya epilitik yosunlar, ormanların altındaki kaya çatlakları ve açıkta kalan habitatlarda ve antropojenik etkinin düşük olduğu az ya da çok nemli ve doğal habitatlarda yetişir. Ayrıca, *Peltigera* türleri, nemli ortamlarda, yosunlu orman yollarının kenarları veya doğrudan *Cladonia* ve diğer liken türleriyle toprak üzerinde yaşam alanlarını işgal eden en yaygın liken türlerinden biridir ve özellikle aşırı otlatma gibi antropojenik etkilerin baskın olduğu bölgelerde, kayalarda, çatlaklarda, çoğunlukla toprak ve yosunlarda yetişir (Zúñiga ve ark., 2015). Tallusları foliozdur ve çoğunlukla ılıman ormanlarda olmak üzere nemli ve gölgeli habitatlarda toprak veya yosunlarda görülür (Purvis ve ark., 1992). *Peltigera* cinsine ait liken oluşturan mantarlar genellikle folioz, subfrutikoz olmaları ile karakterizedir ve bazı *Peltigera* türleri siyanobakterileri (Nostoc), bazılarıda birincil fotobiyont olarak yeşil algleri (Coccomyxa) içermektedirler (Türk ve ark., 2015). Azot bakımından zengin tarım alanlarına yakın bölgelerde, *Peltigera* türlerinin daha küçük tallus yapısı göstererek geniş dağılımları olduğu gözlemlenmiştir. Bu alanlarda, *P. canina* ve *P. rufescens* gibi yüksek ekolojik toleransa sahip türler yaygındır (Türk ve ark., 2015). *Peltigera* cinsi, 34'ünün Avrupa'da olduğu bilinen 75 türe (Miadlikowska ve Lutzoni, 2004) sahip kozmopolit bir liken cinsidir (Wei ve ark., 2009).

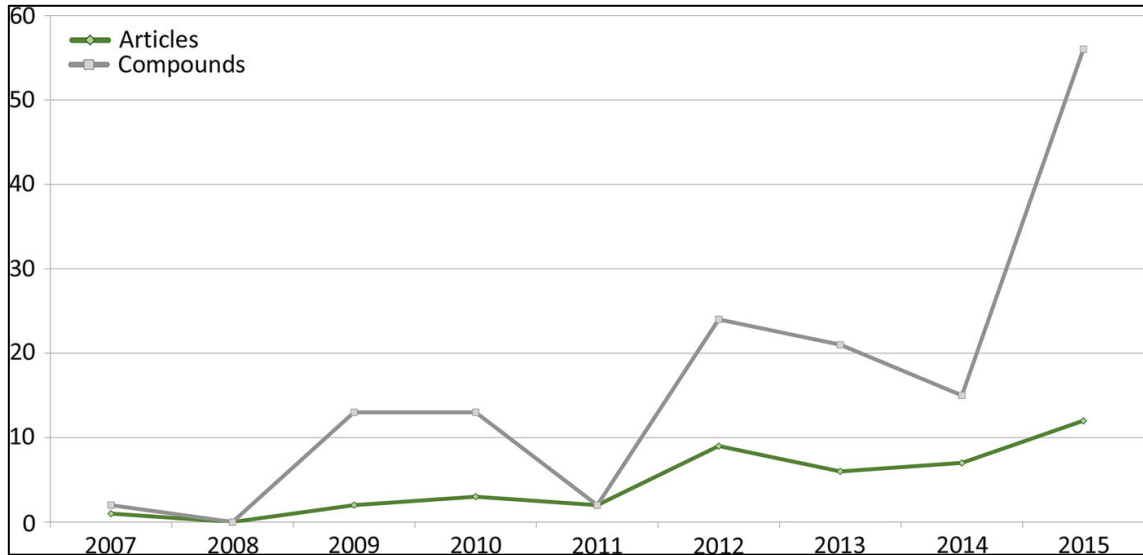
Peltigera türlerinin tarihte yaraları, idrar bozukluklarını, pamukçuk, tüberküloz ve kuduzu tedavi etmek için kullanıldığı literatürde yer almaktadır (Negi ve Kareem, 1996; Moerman, 1998; Brodo ve ark., 2001). *P. apthosa* ise öksürük ve infantil aft tedavisinde kullanılmıştır (Perez-Llano, 1944; Vartia, 1950).

Peltigera horizontalis (Hudson) Baumg, *Peltigeraceae* familyasına aittir. *P. horizontalis*'in tıbbi amaçlar için kullanıldığı tarihte fazla sayıda bildirilmemiştir ve biyoaktiviteleri ile ilgili literatürde çok az kaynakça bulunmaktadır. *P. horizontalis* ve *P. praetextata* liken türlerinden elde edilen çeşitli özütlerin kolinesteraz aktivite, anti-bakteriyel, anti-genotoksik ve anti-oksidan özellikleri literatürdeki çeşitli çalışmalarda incelenmiştir (Nardemir ve ark., 2015; Stojanović ve ark., 2020). *P. horizontalis*'in tenuiorin, metil gyrophate, gyrophoric acid, (6a) -hopan-6,22- diol, (6a, 7a) -hopan-6,7,22-triol ve tanımlanamayan terpenoidler gibi ikincil metabolitler ürettiği literatürde bildirilmiştir (Lumbsch ve ark., 2004).

Peltigera cinsi liken türlerinin genel olarak tridepsidler, triterpenoidler ve içeriği henüz içeriği açığa çıkarılamamış sekonder metabolitler içerdikleri literatürde bildirilmektedir (Wei ve ark. 2009).

1.6. Endolikenik Funguslar Hakkında Genel Bilgiler

Likenlerin talluslarında mikobiyont yapısıyla birlikte mikrofunguslar yer almaktadır. Bu mikrofunguslara “Endolikenik Funguslar” (ELF) denilmektedir. ELF, liken tallus yapısının iç kısmında asemptomatik olarak bulunan filamentöz mantar gruplarıdır (Díaz ve ark., 2016; Suryanarayanan ve ark., 2017). ELF’ler, bitkilerde yaşayan endofitik mantarlarla benzerlik göstermektedirler. Çeşitli liken türlerinden izole edilen ELF’lerden elde edilen doğal bileşikler, yeni yapılara sahip olan ve farklı yapısal sınıfları temsil eden biyoaktif metabolitleri üretme potansiyelleri ile ilgi çekmektedir. Son yıllarda ELF örnekleri benzersiz ilaç molekülleri uygulaması kabiliyetleriyle umut verici yeni doğal kaynaklar olarak öne çıkmaktadırlar (Suryanarayanan ve ark., 2017; Bajpai ve ark., 2020). ELF’lerin etkili molekülleri ilk olarak Paranagama ve ark.’ları tarafından 2007 yılında saptanmıştır (Paranagama ve ark., 2007). Son 10 yıl içinde, ELF’lere ait sekonder metabolitlerin ilk kez bildirilmesinden bu yana, ELF metabolitleri üzerine gerçekleştirilen akademik yayınların sürekli artış gösterdiği Şekil 1.3’te açıkça görülmektedir (Kellogg ve Raja, 2017).



Şekil 1.4. Son 10 yıl içerisinde ELF’ler ile ilgili yayınlanan makalelerin sayısı ve ELF’lerden yeni izole doğal metabolitler (Kellogg ve Raja, 2017).

ELF tarafından üretilen biyoaktif metabolitler, çoklu biyosentetik yollardan köken almaktadır. Steroidler, kinonlar, terpenoidler, peptitler, ksantonlar, kükürt içeren kromenonlar vb. dahil olmak üzere farklı kimyasal yapı sınıflarına ait kimyasal bileşikler üretmektedirler (Singh ve ark., 2017). ELF metabolitlerinin de yine likenlerde olduğu gibi, anti-kanser, anti-oksidan, anti-viral, anti-bakteriyel, anti-fungal, anti-genotoksik, anti-mutajenik, iltihap önleyici, anti-hepatoksik ve anti-Alzheimer gibi çok geniş çeşitli farmakolojik biyoaktivite özelliklerine sahip birçok sekonder metabolit içerdikleri ve ürettikleri bilgisi literatürde yer almaktadır (Biosca ve ark., 2016; Muggia ve ark., 2016; Kellogg ve Raja, 2017; Suryanarayanan ve Thirunayukkarasu, 2017).

ELF örneklerinin içerdikleri eşsiz ve güçlü kimyasallar, son yıllarda özellikle biyomedikal ilaçlar alanındaki araştırmacıların dikkatlerini ve keşiflerini çekmektedir (Singh ve ark., 2017). 30'dan fazla ELF, içerdikleri sekonder metabolitler bakımından araştırılmıştır. ELF'lerde bulunan kinonların ve oksijen heterosiklik bileşiklerinin mikroplara karşı etkili olduğu ve güçlü sitotoksik özelliklere sahip olduğu bildirilirken, içerdikleri basit aromatik bileşiklerin de güçlü antioksidan ve anti-kanser aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir (Kellogg ve Raja, 2017; Singh ve ark., 2017). Benzer olarak, kinonlar ve heterosiklik bileşikler gibi ELF'lerden üretilen bileşiklerin, güçlü sitotoksik ve anti-bakteriyel aktiviteye ve yine fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Agrawal ve ark., 2020). ELF'lerin diğer farmakolojik aktiviteleri arasında anti-viral, anti-inflamatuar, U.V. koruyucu, A β 42 agregasyonunun inhibisyonu ve anti-Alzheimer özelliklerinin bulunduğu bildirilmiştir (Singh ve ark., 2017; Cimmino ve ark., 2019).

Hastalığa neden olan mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnci giderek artmaktadır, bu da mevcut antibiyotiklerin bakterilerle savaşmasını zorlaştırmaktadır. Araştırmacılar ilgilerini anti-bakteriyel bileşikler olabilecek alternatif kaynaklar olarak doğal ürünlere doğru değiştirdikçe, biyoaktiviteye sahip zengin bileşik kaynağı olan mantarların farmakolojik önemi literatürde vurgulanmaktadır (Radić ve Štrukelj, 2012). Ancak, ELF'lerin biyoaktiviteleri ve metabolitleri üzerine araştırmalar çok sınırlıdır. Bu nedenle, daha pahalı ve daha toksik antibiyotiklere alternatif olabilecek biyoaktif bileşiklerin üretiminde endolikenik mantarların potansiyelini daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Tez çalışmamızda, global bir problem olan ve giderek artış gösteren antibiyotik direncine karşı önlem alınabilmesi ve yardımcı yeni çözümler keşfedilmesi amacıyla;

- *In silico* analizler sonucunda *Peltigera* cinsi liken türlerinin *P. aeruginosa* üzerinde potansiyel QSI özellikte olabilecekleri kanısına varılmıştır ve çalışmamızda bu liken türleri tercih edilmiştir.
- Artvin-Borçka ve Bursa-Kestel bölgesinden *Peltigera* cinsi liken türleri toplanarak morfolojik tür tayinleri gerçekleştirilmiş ve sırasıyla *Peltigera horizontalis*, *Peltigera sp.* ve *Peltigera praetextata* liken örnekleri elde edilmiştir.
- Elde edilen likenlerin tallus yapılarından yüzey sterilizasyon metoduyla endolikenik funguslar (ELF) izole edilerek saflaştırılmış ve kültüre edilmiştir.
- ELF örneklerinin morfolojik boyama ve seçici besiyeri saf kültürleri elde edilmiştir.
- İzole edilerek kültüre edilen ELF'lerin genomik DNA'ları izole edilerek 5.8S ITS gen bölgesi PZR metoduyla çoğaltılmıştır.
- Elde edilen gen bölgesiyle moleküler dizileme işlemi gerçekleştirilmiş ve çeşitli biyoinformatik programları kullanılarak ELF'lerin moleküler tür tayinleri gerçekleştirilmiştir.
- Likenlerin n-Hekzan ve ELF'lerin etil asetat özütleri elde edilerek belirlenen konsantrasyon oranlarında çözeltileri hazırlanmıştır.
- Özütler, *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde uygulanarak anti-bakteriyel ve anti-biyofilm % inhibisyon etkinlikleri incelenmiştir.
- Özütler, *P. aeruginosa lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* biyosensör suşları ile uygulanarak anti-QS % inhibisyon etkinlikleri incelenmiştir.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. *In silico*:

2.1.1.1.Kullanılan Cihazlar

Bu tez çalışmasında *in silico* işlemlerin gerçekleştirilebilmesi için yüksek işlemci gücüne sahip kişisel bir bilgisayar ve DurdağıLab'a ait yüksek işlemci gücüne sahip bir bilgisayar kullanılmıştır (Intel(R) Core(TM) i7-9750H 9th Gen, 16GB RAM, 128GB SSD, 1TB HDD, NVIDIA GEFORCE GTX1650 4GB; Intel(R) Core(TM) i7-4.4GHz, 16GB RAM, 128GB SSD).

2.1.1.2.Kullanılan Yazılımlar

1. Schrödinger Moleküler Modelleme
2. MetaCore / MetaDrug
3. Cambridge Soft ChemOffice: ChemBioDraw, ChemBio3D

2.1.1.3.Kullanılan Veri Bankaları

1. RCSB Protein Data Bank - RCSB PDB
2. KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) Veritabanı
3. ZINC Veritabanı
4. PubChem Veritabanı

2.1.2. *In vitro*:

2.1.2.1.Bakteri Suşları

1. *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 CECT4122 Yabanıl Tip (Wild type)
2. *Pseudomonas aeruginosa lasB-gfp*
3. *Pseudomonas aeruginosa rhlA-gfp*
4. *Pseudomonas aeruginosa pqsA-gfp*

2.1.2.2.Kullanılan Sarf Malzemeler ve Kimyasallar

1. LB Broth Besiyeri (Sigma-Merck - Almanya)
2. PD Broth Besiyeri (BD - A.B.D.)
3. M9 Minimal Besiyeri (Amresco - A.B.D.)
4. ME Broth Besiyeri (BD - A.B.D.)
5. RBC Agar Besiyeri (Merck - A.B.D.)
6. SD %4 Agar Besiyeri (Merck - A.B.D.)
7. CZ Agar Besiyeri (Merck - A.B.D.)
8. Bacto agar (Liofilchem - Hollanda)
9. Agar Agar (Sigma - Almanya)
10. Biyoteknolojik agar (Hi-Media - Almanya)
11. Nitril Eldiven (Broche - Türkiye)
12. Alüminyum Folyo (Koroplast - Türkiye)
13. Portüp (Sinanson - Türkiye)
14. Cam Deney Tüpleri (Sinanson - Türkiye)
15. Kapsenberg Tüp Kapağı (Sinanson - Türkiye)
16. Bek Alevi
17. Eküvyon Çubuk
18. Platin Öze
19. Cam Baget
20. Cam Boncuk 1mm (Sinanson - Türkiye)
21. Ayırma Hunisi 250ml (Sinanson - Türkiye)
22. Cam Huni 100mm (Sinanson - Türkiye)
23. Şilifli Cam Balon NS29/32 250ml (Isolab - Türkiye)

24. Erlen 250ml (Isolab - Türkiye)
25. Cam Şeffaf 250ml ve 500ml Otoklavlanabilir Şişe (Sinanson - Türkiye)
26. Porselen Havan ve Havan Eli (Isolab - Türkiye)
27. Plastik Steril Petri Kapları 60mm (Sinanson - Türkiye)
28. Plastik Steril Petri Kapları 90mm (FıratMed - Türkiye)
29. Polistiren 96 Kuyucuklu Siyah Optik Mikroplaka (Thermo NUNC - A.B.D.)
30. Polistiren 96 Kuyucuklu Şeffaf Mikroplaka (Sigma Aldrich - Almanya)
31. Etil Alkol %96 (Merck - A.B.D.)
32. Aseton (Merck - A.B.D.)
33. Etil Asetat (Merck - A.B.D.)
34. n-Hekzan (Merck - A.B.D.)
35. Gliserol %80-84 (Isolab - Türkiye)
36. Dimetil sülfoksit - DMSO (Merck - A.B.D.)
37. 0.45 µm'lik Steril Filtre (Whatman - İngiltere)
38. Pipet Ucu (10µl, 100µl, 200µl, 1000µl) (Axygen - A.B.D.)
39. Quartz Spektrofotometre Küveti (1400µl) (Hellma - Almanya)
40. Ultra Saf Su (ddH₂O)
41. %37 HCl (Merck - A.B.D.)
42. NaOH
43. Gentamisin (Duchefa - Hollanda)
44. Kloramfenikol (Eczacıbaşı - Türkiye)
45. Kazamino asitler (BD - A.B.D.)
46. Tiyamin (Duchefa - Hollanda)
47. Glukoz - (Merck - A.B.D.)

48. NaCl (Merck - A.B.D.)
49. Kristal Viyole (Sigma - Almanya)
50. Taq DNA Polimeraz (5U/ μ L) (Thermo Scientific - A.B.D.)
51. dNTP mix (25mM) (Fermentas - A.B.D.)
52. MgCl₂ (25mM) (Thermo Scientific - A.B.D.)
53. 10X Buffer PZR Tampon Çözeltisi (Thermo Scientific - A.B.D.)
54. Lizozim
55. RNAaz A
56. KCl (Merck - A.B.D.)
57. Tris.HCl (Merck - A.B.D.)
58. EDTA
59. NaOCl (Thermo Scientific - A.B.D.)
60. Laktofenol Pamuk Mavisi
61. İzopropanol %100 (Merck - A.B.D.)
62. Kloroform (Merck - A.B.D.)
63. Etidyum Bromür

2.1.2.3.Kullanılan Cihazlar

1. **Cytation3 Multimod Mikroplaka Okuyucu ve Görüntüleyici (BioTek-A.B.D.):** Bakterilerin absorbans, floresans ve biyofilm ölçümleri için kullanılmıştır.
2. **MultifloFX Otomatik Mikroplaka Yıkama Dispanseri (BioTek-A.B.D.):** Bakterilerin biyofilm deneyleri için kullanılmıştır.
3. **BioSpa8 Otomatik Mikroplaka İnkübatörü (BioTek-A.B.D.):** Bakterilerin absorbans, floresans ve biyofilm deneyleri sırasında inkübasyon ortamları için kullanılmıştır.
4. **Yüksek İşlemcili Bilgisayar (Asus-Tayvan):** *In silico* deney aşamalarında ve

hesaplamalarda kullanılmıştır.

5. **Yüksek İşlemcili Bilgisayar (Lenovo-Çin):** *In siliko* deney aşamalarında ve hesaplamalarda kullanılmıştır.
6. **AxioLab A1 Kameralı Işık Mikroskobu (Zeiss-Almanya):** ELF örneklerinin morfolojik boyanmaları sonrası görüntülenmesi aşamalarında kullanılmıştır.
7. **Stemi305 Kameralı Stereo Işık Mikroskobu (Zeiss-Almanya):** Liken örneklerinden ELF izolasyonu sırasında ve ELF örneklerinin morfolojik saptamasında kullanılmıştır.
8. **Derin Dondurucu (Vestel-Türkiye):** Primer, PZR kitleri ve DNA örneklerinin -20 °C’de saklanması için kullanılmıştır.
9. **Ultra Derin Dondurucu (Esco-Singapur):** Suşların -80 °C’de uzun aralıklı saklanması (3-6 ay) kullanılmıştır.
10. **Buzdolabı (Siemens-Almanya):** Hazırlanan katı-sıvı besiyerlerinin, özütlerin ve kimyasalların +4 °C’de muhafazaları için kullanılmıştır.
11. **pH Metre (Thermo-A.B.D.):** NaOH (Sodyum hidroksit) ve HCl (Hidroklorik asit) kullanılarak kimyasalların ve besiyerlerinin pH ayarlamasında kullanılmıştır.
12. **Manyetik Karıştırıcı (WiseStir-Almanya):** Besiyerleri ve kimyasalların otoklav öncesi homojenizasyonunda kullanılmıştır.
13. **Vorteks (Heidolph-Almanya):** Sıvı bakteri kültürlerinin, kimyasalların ve özütlerin çalkalanmasında kullanılmıştır.
14. **Soğutmalı Santrifüj Allegra X-30 (Beckman Coulter-A.B.D.):** DNA (deoksiribonükleik asit) ve PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) izolasyonlarında kullanılmıştır.
15. **Mikrosantrifüj Microfuge18 (Beckman Coulter-A.B.D.):** DNA izolasyonu ve jelden geri kazanım safhalarında örneklerin çöktürülmesi sırasında kullanılmıştır.
16. **UV-VIS Spektrofotometre (Beckman Coulter-A.B.D.):** Sıvı bakteri kültürlerinin optik densitelerinin ölçümünde kullanılmıştır.
17. **Ultra Distile Saf Su Cihazı (Millipore-A.B.D.):** Besiyeri, kimyasal ve PZR

solüsyonlarının hazırlanması sırasında kullanılmıştır.

- 18. Dijital Hassas Terazı (Ohaus-A.B.D.):** Katı kimyasalları, besiyerlerini ve özütleri tartmak için kullanılmıştır.
- 19. Otoklav (Nüve-Türkiye):** Besiyerlerinin ve tüm deney malzemelerinin sterilizasyon işlemleri sırasında kullanılmıştır.
- 20. İnkübatör (Mettler-Almanya):** Besiyerlerine inoküle edilen ve ekilen suşların inkübasyonu için kullanılmıştır.
- 21. Mikrodalga Fırın (Phillips-Almanya):** Besiyerleri hazırlanması için kullanılmıştır.
- 22. Rotary Evaporatör (Heidolph-Almanya):** Liken ve ELF özütlerinin eldesi için kullanılmıştır.
- 23. Mikropipetler (10µl, 100µl, 300µl, 1000µl) (Thermo/Finnpipette-A.B.D.):** Besiyerleri, sıvı kimyasallar ve sıvı bakteri kültürlerinin aktarımlarında kullanılmıştır.
- 24. Agaroze Jel Elektroforezi Ekipmanları (Thermo-A.B.D.):** DNA izolasyonu ve PZR işlemleri sonucu elde edilen ürünlerin varlığı ve miktarının tespitinde kullanılmıştır.
- 25. Isıtmalı Çalkalayıcı Tabla (Esco-Singapur):** DNA izolasyonu deneyleri safhasında kullanılmıştır.
- 26. MagNa Lyser (Roche-Almanya):** DNA örneklerinin fiziki parçalanmalarında ve homejenizasyon işleminde kullanılmıştır.
- 27. PZR Termal Döngü Cihazı (Biorad-A.B.D.):** DNA örneklerinden hedeflenen bölgenin PZR uygulamasıyla *in vitro* ortamda çoğaltılmasında kullanılmıştır.
- 28. Class II Ayaklı Steril Güvenlik Kabini (Faster ve Esco-İtalya ve Singapur):** *In vitro* süreçte uygulaması yapılan tüm deneylerin gerçekleştirilmesi, özütlerin hazırlanması, kimyasalların hazırlanması ve DNA örneklerinin kontamine olmasını engellemek için kullanılmıştır.
- 29. UV Transilluminatör (Vilber Lourmat-Fransa):** DNA izolasyonu ve PZR işlemi sonucunda oluşan ürünlerin UV ışık altında varlığı tespitinde kullanılmıştır.
- 30. UV Görüntüleme Kabini (Camag-İsviçre):** Agaroze jelden hedeflenen bölgenin geri kazanımı için UV ışıktan korunma amacıyla kullanılmıştır.

2.1.3. Besiyerlerinin Hazırlanması:

2.1.3.1.Sıvı Besiyeri - Lysogeny Broth (LB Broth)

- 10 g Tripton
- 5 g Maya özütü
- 5 g NaCl

Toz halinde bulunan LB broth, 20 g tartılarak bir miktar distile suda çözündürülerek hacmi 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Ardından otoklavda 121 °C'de 15 dakika süresince steril edilmiştir.

2.1.3.2.Sıvı Besiyeri - Potato Dextrose Broth (PD Broth)

- 4 g Patates nişastası
- 20 g Dekstroz

Toz halinde bulunan PD broth, 24 g tartılarak bir miktar distile suda çözündürülerek hacmi 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Ardından otoklavda 121 °C'de 15 dakika süresince steril edilmiştir.

2.1.3.3.Sıvı Minimal Besiyeri - M9 Minimal Medium (M9)

- 10,5 g M9 broth
- 5 g Glukoz
- 5 g Kazamino asitler
- 2 mM MgSO₄
- 0,1 mM CaCl₂

LB broth besiyerinin oto-floresansı sebebiyle ölçümleri etkilememesi için deneylerde M9 minimal besiyeri kullanılmıştır. Toz halinde bulunan M9 broth, 10,5 g tartılarak bir miktar distile suda çözündürülerek otoklavda 121 °C'de 15 dakika süresince steril edilmiştir. Otoklav sonrasında M9 besiyeri oda sıcaklığına ulaştığında sırasıyla glukoz, kazamino asitler, tiyamin, MgSO₄ ve CaCl₂ eklenmiş ve son hacmi steril didistile su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Biyosensör suşlar için 50 µg/ml son konsantrasyon olacak şekilde gentamisin antibiyotiği besiyerine eklenmiştir (Hentzer ve ark., 2002; Jakobsen ve ark., 2011).

2.1.3.4.Katı Besiyeri - Lysogeny Agar (LB Agar)

- 10 g Tripton
- 5 g Maya özütü
- 5 g NaCl

- 16 g Bacto agar

Toz halinde bulunan LB broth ve Bacto agardan sırasıyla 20 g ve 16 g tartılarak bir miktar distile suda çözdürülerek hacmi 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Ardından otoklavda 121 °C'de 15 dakika süresince steril edilmiştir.

Otoklav işlemi sonrasında besiyeri 45-50 °C'ye kadar soğutulmuştur ve ardından steril şartlar altında 90 mm çapındaki steril petri kaplarına uygun miktarlarda (10-15 ml) dağıtılmıştır. Katılaştıran besiyerleri kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.1.3.5.Katı Besiyeri - Potato Dextrose Agar (PD Agar)

- 4 g Patates nişastası
- 20 g Dekstroz
- 16 g Agar agar

Toz halinde bulunan PD broth ve Agar agardan sırasıyla 24 g ve 16 g tartılarak bir miktar distile suda çözdürülerek hacmi 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Ardından otoklavda 121 °C'de 15 dakika süresince steril edilmiştir.

Otoklav işlemi sonrasında besiyeri 45-50 °C'ye kadar soğutulmuştur ve ardından steril şartlar altında 60 mm çapındaki steril petri kaplarına uygun miktarlarda (10-15ml) dağıtılmıştır. Katılaştıran besiyerleri kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.1.3.6.Katı Besiyeri - Malt Extract Agar (ME Agar)

- 30 g Malt ekstrat
- 3 g Pepton
- 15 g Agar agar

Toz halinde bulunan ME broth ve Agar agardan karışımından 48 g tartılarak bir miktar distile suda çözdürülerek hacmi 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Ardından otoklavda 121 °C'de 15 dakika süresince steril edilmiştir.

Otoklav işlemi sonrasında besiyeri 45-50 °C'ye kadar soğutulmuştur ve ardından steril şartlar altında 60 mm çapındaki steril petri kaplarına uygun miktarlarda (10-15ml) dağıtılmıştır. Katılaştıran besiyerleri kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.1.3.7.Katı Besiyeri - Sabouraud %4 Dextrose Agar (SD Agar)

- 10 g Pepton
- 40 g D(+) glukoz
- 15 g Agar agar ş

Toz halinde bulunan SD broth ve Agar agardan karışımından 65 g tartılarak bir miktar distile suda çözündürülerek hacmi 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Ardından otoklavda 121 °C'de 15 dakika süresince steril edilmiştir.

Otoklav işlemi sonrasında besiyeri 45-50 °C'ye kadar soğutulmuştur ve ardından steril şartlar altında 60 mm çapındaki steril petri kaplarına uygun miktarlarda (10-15ml) dağıtılmıştır. Katılaştıran besiyerleri kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.1.3.8.Katı Besiyeri - Rose Bengal Chloroamphenicol Agar (RBC Agar)

- 5 g Mikolojik pepton
- 10 g Glukoz
- 1 g Potasyum dihidrojen fosfat
- 0,5 g MgSO₄
- 0,05 g Rose bengal
- 0,1 g Kloramfenikol
- 15,5 g Agar agar

Toz halinde bulunan RBC broth ve Agar agardan karışımından 32,2 g tartılarak bir miktar distile suda çözündürülerek hacmi 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Ardından otoklavda 121 °C'de 15 dakika süresince steril edilmiştir.

Otoklav işlemi sonrasında besiyeri 45-50 °C'ye kadar soğutulmuştur ve ardından steril şartlar altında 60 mm çapındaki steril petri kaplarına uygun miktarlarda (10-15ml) dağıtılmıştır. Katılaştıran besiyerleri kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.1.3.9.Katı Besiyeri - Czapek Dox Agar (CZ Agar)

- 30 g Sükroz
- 3 g NaNO₃
- 0,5 g KCl
- 0,5 g MgSO₄

- 0,01 g $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$
- 1,0 g K_2HPO_4
- 15 g Agar agar

Toz halinde bulunan CZ broth ve Agar agardan karışımından 48 g tartılarak bir miktar distile suda çözündürülerek hacmi 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Ardından otoklavda 121 °C'de 15 dakika süresince steril edilmiştir.

Otoklav işlemi sonrasında besiyeri 45-50 °C'ye kadar soğutulmuştur ve ardından steril şartlar altında 60 mm çapındaki steril petri kaplarına uygun miktarlarda (10-15ml) dağıtılmıştır. Katılaştıran besiyerleri kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan besiyerleri. 1-PD agar. 2-PD broth. 3-ME agar, RBC agar, SD agar ve CZ agar.

2.1.4. Kimyasalların Hazırlanması:

2.1.4.1.Fizyolojik Tuzlu Su (FTS)

- 9 g Sodyum klorür - NaCl

Toz halinde bulunan NaCl, 9 g tartılarak bir miktar distile suda çözündürülerek hacmi 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Ardından 0,45 µm'lik filtrelerden filtrelenerek otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. Kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.1.4.2.Sodyum Hipoklorit (NaOCl)

- 1 L Sodyum Hipoklorit - NaOCl

Sıvı halde bulunan NaOCl, %0,1 oranında steril distile su ile seyreltilerek ve 0,45 µm'lik filtrelerden filtrelenerek hazırlanmıştır. Kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.1.4.3.Laktofenol Pamuk Mavisi Boyası

- 20 ml Laktik asit
- 20 g Fenol kristal
- 40 ml Gliserin
- 0,075 g Pamuk mavisi boyası
- 20 ml Distile su

Distile su, laktik asit ve gliserin karıştırılır. Hafif ateşte ısıtılırken fenol kristalleri ilave edilerek karıştırılır. Pamuk mavisi boya ilave edilerek eritilir.

Laktofenol pamuk mavisi boyası Sinanson şirketinden (İstanbul, Türkiye) temin edilmiştir.

2.1.4.4.KCl Ekstraksiyon Tamponu (KCl Buffer)

- 1.2 M KCl
- 10 mM EDTA (pH:8.0)
- 100 mM Tris.HCl (pH:8.0)
- Steril distile su

Toz halinde bulunan KCl 1.2 M olarak 400 ml hacimde, toz halinde bulunan EDTA 0,5 M olarak 10 ml hacimde, toz halinde bulunan Tris.HCl 1 M 50 ml hacimde hazırlanarak 40 ml steril distile su ile karıştırılmış ve 500 ml'ye tamamlanarak KCl ekstraksiyon tamponu hazırlanmıştır. KCl Ekstraksiyon tamponunun hazırlanmasında Park ve arkadaşlarının 2014 yılında literatürde bildirdikleri protokol modifiye edilerek uygulanmıştır (Park ve ark., 2014).

2.2. Yöntem

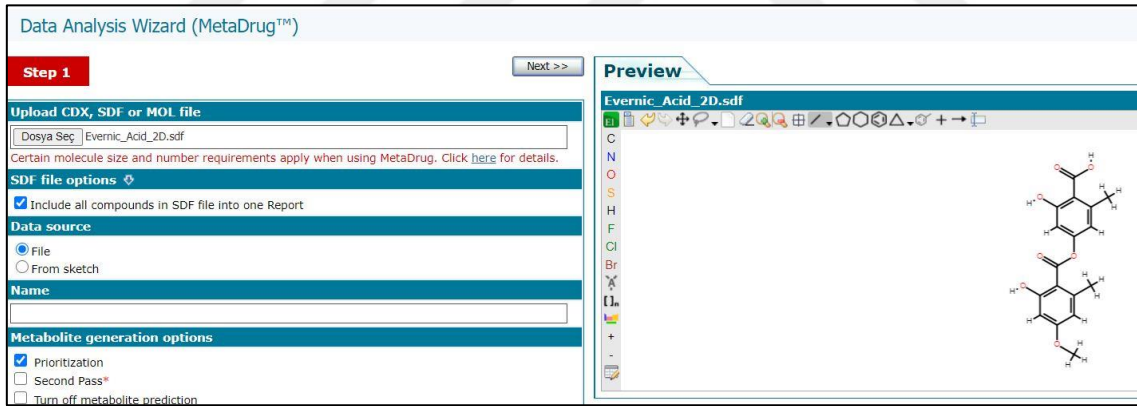
2.2.1. *In siliko*:

2.2.1.1.MetaCore / MetaDrug Analizi

MetaCore / MetaDrug, Clarivate Analytics'in web tabanlı, ilaç adayı moleküllerin terapötik aktivite, farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerini analiz etmek için geliştirilmiş kapsamlı bir sistem biyolojisi analiz sunucusu platformudur (Şekil 2.2). İlaç adayı moleküllerin yapısında bulunan benzerlikleri bulmak için Tanimoto Önceliklendirme (TP) özelliğini kullanmaktadır.

Metacore / MetaDrug, içerisinde türetilen modellerin kalitesi, moleküler etkileşimler, gen-hastalık ilişkileri, kimyasal metabolizma, toksisite, hassasiyet,

doğruluk, özgüllük ve Matthews Korelasyon Katsayısı (MCC) ile değerlendirilir. 25 adet terapötik aktivitenin (Alerji, Alzheimer, Anjin, Artrit, Astım, Bakteriyel, Kanser, Depresyon, Diyabet, HIV, Kalp Yetmezliği, Hiperlipidemi, Hipertansiyon, İnflamasyon, Migren, Mantar Hastalığı, Obezite, Osteoporoz, Ağrı, Parkinson, Sedef Hastalığı, Şizofreni, Deri Hastalıkları, Tromboz, Viral Hastalıklar) değerlendirme tahminini ve 26 adet toksik etkinin (AMES, Anemi, Karsinojenite, Dişi ve Erkek Farelerde Karsinojenite, Dişi ve Erkek Sıçanlarda Karsinojenite, Kardiyotoksisite, Sitotoksisite Modeli, -log GI50(M), Epididim Toksisitesi, Genotoksisite, Hepatotoksisite, Böbrek Nekrozu, Böbrek Büyümesi, Karaciğer Kolestazı, Karaciğer Lipid Birikimi, Karaciğer Nekrozu, Karaciğer Nekrozu, Karaciğer Büyümesi, Önerilen Maksimum Terapötik Doz (MRTD), Nazal Patoloji, Nefron Hasarı, Nefrotoksisite, Nörotoksisite, Akciğer Toksisitesi, Cilt Hassasiyeti, Testis Toksisitesi) değerlendirme tahminini, QSAR modelleri ile gerçekleştirmektedir. Tahmini hesaplanan terapötik aktivite değerinin ≥ 0.50 ve toksik etki değerinin ≤ 0.50 aralığında olması gerekmektedir (Durdağı ve ark., 2018). Çalışmamızda literatürce taranarak elde edilen liken sekonder metabolit kütüphanesinin MetaCore / MetaDrug terapötik ve toksisite tahminleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.2. MetaCore / MetaDrug programı genel görünüm

2.2.1.2. Liken Sekonder Metabolit Kütüphanesinin Oluşturulması ve Üç Boyutlu Yapılarının Elde Edilerek Hazırlanması

Likenlerin var oluşunda içerdikleri sekonder metabolitler, çevresel koşullara uyum sağlama, koruma, savunma, hayatta kalma, neslini devam ettirme ve ekosistemle ilişkilerini düzenleme konularında birçok göreve sahiptirler. Günümüzde kimyasal yapısı aydınlatılmış 1050'den fazla liken asidi bulunmaktadır (Özyiğitoğlu ve ark., 2017). Çalışmamızda literatürce çeşitli etkinlikleri bildirilen liken türlerinin sekonder

metabolitleri taranarak 637 moleküllük liken sekonder metabolit kütüphanesi oluşturulmuştur. 637 liken sekonder metaboliti içeren kütüphanemizin 458 liken molekülünün toksik özellik gösterme eğilimlerinin yüksek olduğu MetaCore / MetaDrug programı kullanılarak saptanmış olup, moleküler kenetlenme simülasyonları işlemlerinde 179 sekonder metabolit test edilmiştir. 179 liken sekonder metabolit, kontrol grubu olarak penisillik asit gibi bilinen inhibitör bir molekül kullanılarak moleküler kenetlenme yoluyla *P. aeruginosa* QS sinyal mekanizmasındaki ilgili proteinlerle eşleştirilmiştir.

Elde edilen veriler ışığında, *Peltigera* cinsi liken türlerinin içerdikleri sekonder metabolitlerin (Stojanović ve ark., 2020) etkili sonuçları saptanmış ve PubChem veritabanından üç boyutlu yapıları sdf formatında indirilerek elde edilmiştir (Tablo 2.1). LasI/R, RhIR ve PqsR reseptör proteinlerine ait sinyal moleküllerinin üç boyutlu yapıları da PubChem veritabanından sırasıyla; 3-oxo-C12-HSL, C4-HSL ve 2-nonylquinolin-4(1H)-one (NNQ) olarak sdf formatında elde edilmiştir. Ek olarak çalışmamızda kontrol grubu olarak kullanılacak olan antagonist moleküllerden olan penisillik asit ve 3-amino-7-chloro-2-nonylquinazolin-4(3H)-one (QZN) moleküllerinin de üç boyutlu yapıları, sdf formatında, PubChem veritabanından indirilmiştir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. *Peltigera* cinsine ait sekonder metabolitlerin ve *P. aeruginosa* kontrol gruplarının PubChem veritabanından indirilen kodları.

PubChem ID Kodu	Molekül / Metabolit İsmi
3246941	3-oxo-C12-HSL
10130163	C4-HSL
9856730	2-nonylquinolin-4(1H)-one (NNQ)
1268111	Penisillik asit
71627415	3-amino-7-chloro-2-nonylquinazolin-4(3H)-one (QZN)
101590733	5alpha-Hopane-22-28-diol
21574563	7beta-Acetyloxyhopan-22-ol
102514953	Adenosylhopane
15595748	Aphthosin
233185	Ergosterol Peroxide
75653	Ethyl orsellinate
10829	Evernik asit
135728	Gyrophoric Asit
10115	Hopane
52951751	Hopane-6beta-7beta-22-Triol
99613	Lekanorik asit

597048	Methyl evernate
10096758	Methyl gyrophorate
102318054	Methyl lecanorate
76658	Methyl orsellinate
103598360	Palmarumycins
101521658	Peltigerine
9142	Perylene
101306765	Phlebic asit A
14488632	Phlebic asit B
14488634	Phlebic asit C
101526600	Phlebic asit D
188231	Solorinine
10391110	Tenuiorin

Ligandların hazırlanması sürecindeki tüm uygulamalarda Schrödinger Moleküler Modelleme yazılımı içerisinde yer alan Maestro programındaki LigPrep protokolü kullanılmıştır. Elde edilerek indirilen tüm moleküller, LigPrep protokol modülü kullanılarak, OPLS2005 kuvvet alanına göre hazırlanmıştır. Ligandların protonasyon durumlarının ayarlanması için PROPKA donanımı ve fizyolojik pH'da (pH=7.4) iyonlaşmalarını ve totomerik durumlarını tahmin etmek için de Epik (Shelley ve ark., 2007) kullanılmıştır. Elde edilen ligandların enerjilerini minimize etmek için MacroModel modülü kullanılmıştır. Tüm ligandlar OPLS2005 kuvvet alanında, 0.005 kcal/mol yakınsama ve 2500 yineleme parametreleri ile minimize edilmiştir.

2.2.1.3. *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Sisteminde Görev Alan Proteinlerin Üç Boyutlu Yapılarının Elde Edilerek Hazırlanması

KEGG sisteminin KEGG PATHWAY veritabanı, moleküler etkileşimlerin, reaksiyonların ve bağlantıların şematik diyagram ağını içeren web tabanlı bir haritadır. Bu veritabanı kullanılarak, *P. aeruginosa* fırsatçı patojen bakterisinin QS sinyal mekanizması ve biyofilm oluşumu ile direkt ilişkili reseptör proteinler incelenmiş ve RCSB PDB programından ilgili reseptör proteinlerin üç boyutlu yapıları, Protein Hazırlama Sihirbazı (PrepWizard) protokolü (Sastrey ve ark., 2013) ile moleküler kenetlenme işlemine hazırlanmıştır.

Moleküler kenetlenme için seçilen kategorize edilen tüm proteinlerin kristal yapıları RCSB PDB veri tabanından elde edilmiştir. Elde edilen proteinlerin içerisindeki

eksik hidrojen atomları ve eksik atomlar, Protein Hazırlama Sihirbazı modülü tarafından tamamlanmıştır. Ligandların 5 Å civarındaki su molekülleri tutularak civarlarındaki diğer su molekülleri hesaplamalara alınmamıştır. Ligandların pKa tahmini ve protonasyon durumu, pH 7.4'te hesaplanmıştır. Protein rezidülerinin protonasyon durumlarını belirlemek için PROPKA donanımı kullanılmıştır. Tüm protein reseptörleri OPLS2005 kuvvet alanında hazırlanmıştır (Li ve ark., 2005; Bas ve ark., 2008). *P. aeruginosa* için seçilen proteinlerin kategorizasyonu, gen isimleri ve 4 haneli RCSB PDB kodları Tablo2.2'de belirtilmiştir.

Tablo 2.2. *P. aeruginosa* QS sinyal mekanizması incelenerek seçilen reseptör proteinlerin kategori, gen isimleri ve PDB kodları.

Kategori	Gen İsmi - Protein	PDB Kodu
Quorum Sensing (Temel Mekanizma)	LasI	1RO5
	LasR	3IX3
	PqsR	4JVI

2.2.1.4. Çalışması Gerçekleştirilecek Proteinlerin Aktif Bölgelerinin Belirlenmesi

P. aeruginosa'nın QS sistemi mekanizmasında rol oynayan 1RO5 (LasI), 3IX3 (LasR) ve 4JVI (PqsR) proteinlerinin aktif bölgelerine ait bilgilerin saptanması amacıyla, RCSB PDB (Protein Data Bank) veri tabanı kullanılarak, referans literatür makalelerinden ilgili proteinlerin kristal yapıları elde edilmiştir.

2.2.1.4.1. LasI Proteinin Aktif Bölgesinin Belirlenmesi

Gould ve ark. (2004), AHL Sentaz proteini olan LasI (1RO5)'nın aktif bölgesinde aminoasit rezidü varlığını ve 3-oxo-C12-HSL molekülünün 3-oxo-dodecanoyl kısmının uzunlamasına bir konformasyon ile LasI'da var olan hidrofobik tünele kolay bir biçimde bağlandığını bildirmişlerdir. İlgili tüneli oluşturan rezidüler; TRP33, TRP69, MET79, LEU102, PHE105, THR121, LEU122, MET125, LEU140, THR142, THR144, VAL148, MET151, MET152, ALA155, LEU157, LEU18 ve VAL188'dir. Ek olarak, V şeklindeki tünelin bitişik yakınında bir elektrostatik rezidü var olduğu belirtilmektedir. Bu rezidüler; ARG23, ASP42, ASP44, ASP47, ARG70, GLU101, SER103 ve ARG104 olarak bildirilmekte ve gerçekleştirilen mutagenез çalışmaları sonucunda bu rezidüleri AHL sentezi için gerekli olduğunu belirtmektedir. LasI proteininde GLU101'e bağlanan su molekülü, AHL sentezlerinde genel olarak korunan bir su molekülü olup AHL

sentezlerinin katalitik mekanizmasında bulunmaktadır. SAM bağlanma bölgesini içeren rezidüler; PHE27, ARG30 ve TRP33'tür.

Literatürdeki bilgiler değerlendirildiğinde çalışmada yer alan ve kullanılacak LasI (IRO5) proteini için saptanan aktif bölge içinde bulunan rezidüler; LEU18, ARG23, ARG30, TRP33, ASP42, ASP44, ASP47, TRP69, ARG70, MET79, GLU101, LEU102, SER103, ARG104, PHE105, THR121, LEU122, MET125, LEU140, THR142, THR144, VAL148, MET151, MET152, ALA155, LEU157 ve VAL188'tir.

2.2.1.4.2. LasR Proteinin Aktif Bölgesinin Belirlenmesi

LasR reseptörü için PDB kod numarası 3IX3 olan protein kristali kullanılmıştır. Protein, endojen ligand (3-oxo-C12-HSL) ile kristallendirildiği için aktif bölgesinin konumu ve içerdiği rezidüleri belirlidir. Proteinin literatürde yer alan referans makalesine göre (Bottomley ve ark., 2009), LasR dimerizasyonunun meydana gelmesiyle birlikte, promoter DNA'nın bağlanması ve quorum sensing mekanizması kontrollü genlerin transkripsiyonel aktivasyonunun gerçekleştiği bildirilmiştir.

LasR proteini kristal yapısındaki ligand bağlanma bölgesinde 3-oxo-C12-AHL endojen ligandı bulunmaktadır. LasR proteininde altı adet moleküller arası hidrojen bağları gözlenmektedir. Bunlar sırasıyla TYR5, TRP60, ARG61, ASP73, THR75 ve SER129'dur. TYR56, TRP60, ASP73 ve SER129 bağları aynı HSL ana gruplarına sahip AHL'ler tarafından paylaşılan aktivasyon mekanizmasını gösteren LuxR homologlarında güçlü bir şekilde var olmakta ve korunmaktadır.

2.2.1.4.3. PqsR Proteinin Aktif Bölgesinin Belirlenmesi

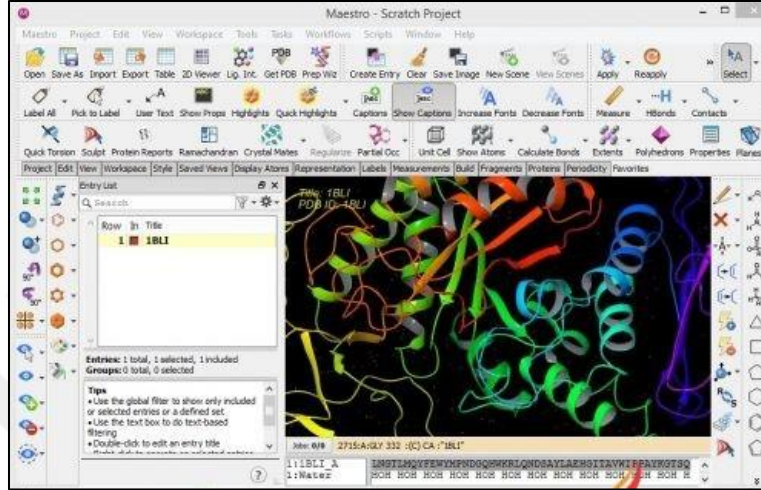
PqsR reseptörü için antagonist molekülü (QZN) ile kristallendirilmiş PDB kod numarası 4JVI olan protein, molekül kenetlenme simülasyonları için kullanılmıştır. 4JVI proteini, ligand (QZN) ile kristallendirildiği için aktif bölgesi bilinmektedir.

4JVI proteininin literatürde yer alan referans makalesinin bildirdiği bilgilere göre (İlangoon ve ark., 2013), hidrofobik etkileşim kuran rezidüleri; ILE149, ALA168, VAL170, ILE186, LEU189, LEU207, LEU208, ILE236 ve TYR258 olarak belirtilmektedir.

2.2.1.5. Moleküler Kenetlenme Simülasyonları

Liken sekonder metabolit kütüphanesi moleküllerinin *P. aeruginosa* QS sistemine ait aktif bölgeleri saptanmış proteinler ile ayrı ayrı moleküler kenetlenme (docking) simülasyonları işlemleri, Schrödinger Moleküler Modelleme yazılımı (Şekil 2.3)

içerisinde yer alan Maestro programındaki Glide/SP (Standard Precision) (Halgren ve ark., 2004, Friesner ve ark., 2004) protokolü uygulanarak varsayılan (default) değerlerde gerçekleştirilmiştir. Simülasyon kutusu, ilgili kristalin ligand bağlanma bölgesini içeren aminoasit rezidüleri ile tanımlanmış ve her bir ligand için maksimum 15 poz hedeflenmiştir.



Şekil 2.3. Schrodinger Moleküler Modelleme yazılımı Maestro modülü genel görünüm

2.2.2. In vitro:

2.2.2.1. Likenlerin Toplanması ve Morfolojik Tür Tayini

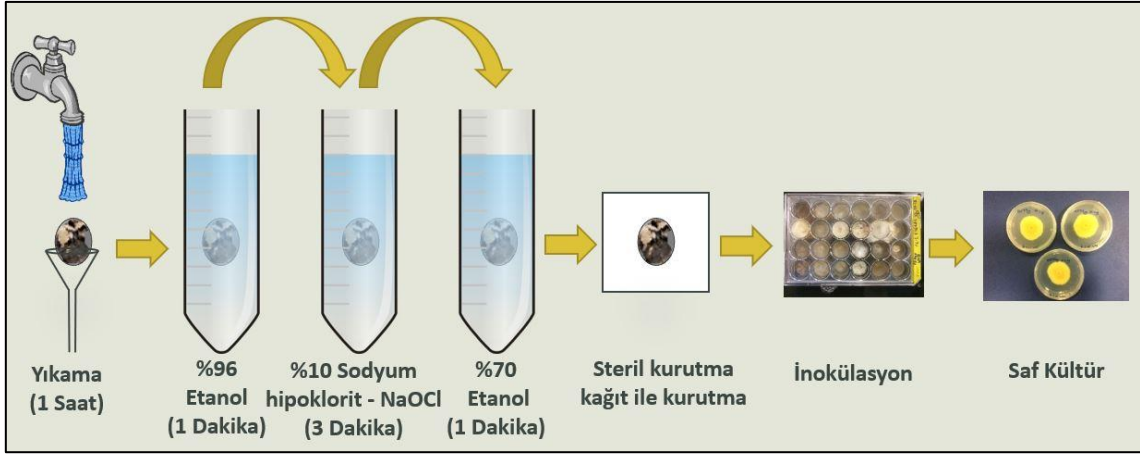
Bursa-Kestel (40°08'45.0676"N 29°17'44.2318"E 700m), Bursa-Kestel (40°06'22.2995"N 29°17'28.5762"E 1400m), Bursa-Kestel (40°06'12.5973"N 29°17'16.8171"E 1500m), Bursa-Kestel (40°06'08.7222"N 29°17'15.1792"E 1600m), Bursa-Uludağ (40°06'58.4"N 29°17'10.0"E 1800m) ve Artvin-Borçka (41°23'18.3"N 41°51'18.3"E 1480m), bölgelerinden toplanan *Peltigera* cinsine ait oldukları düşünülen liken örnekleri, ağzı kapalı saklama kutularında ve kağıt zarflarda, Marmara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Herbayumu'na getirilmiştir. Toplanan liken örneklerinin bir kısmı Doç. Dr. Gülşah ÇOBANOĞLU ÖZYİĞİTOĞLU ve ekibi tarafından morfolojik tür teşhisleri gerçekleştirilmiş (Şekil 2.4) ve temel kaynak olarak Smith ve ark. (2009) kullanılmıştır (Smith ve ark., 2009). Liken örneklerinin bir kısmı ile likenlerin özütlerinin eldesi ve endolikenik fungus (ELF) izolasyonu gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.4. Morfolojik tür teşhisleri yapılan liken örnekleri (1- *Peltigera* sp., 2-*P. horizontalis*, 3- *P. praetextata*).

2.2.2.2.Likenlerden Endolikenik Fungus - ELF İzolasyonu

ELF örneklerinin likenlerden izolasyonu için öncelikle literatürde yer alan yüzey sterilizasyon metotları modifiye edilerek uygulanmıştır (Guo ve ark., 2003). Arazi çalışmalarından toplanarak kontaminelerinden arındırılmış taze liken örnekleri, steril pamuklara sarılarak 1 saat süresince akan su altında yıkanmıştır. Yıkanmış liken örnekleri ilk olarak 1 dakika %96'lık etanol içerisinde düşük devirde santrifüjlenmiş daha sonra 3 dakika %10'luk sodyum hipoklorit (NaOCl) solüsyonu içerisinde düşük devirde santrifüjlenmiş ve son olarak 1 dakika %70'lik etanol içerisinde düşük devirde santrifüjlenerek bekletilmiştir (Arnold ve ark., 2007). Daha sonra liken örnekleri steril koşullarda kurutma kağıtları üzerinde kurutularak 1x1mm boyutlarında küçük parçacıklara ayrılarak, içerisinde PD agar bulunan 24 kuyucuklu polistren plakalara ve petri kaplarına inoküle edilmiştir. İnoküle edilen petri kapları parafilm ile sarılarak oda sıcaklığında ve karanlık ortamda yaklaşık 1 ay süresince inkübasyona bırakılmıştır. Üreme gösteren fungus türleri saptanarak birer kültürleri PD agar besiyerlerine üç nokta ekim pasaj yöntemi ile geçilerek inokülasyon yapılmış ve saf fungus kültürleri elde edilmiştir. Uygulanan aşamalar Şekil 2.5'de belirtilmiştir.



Şekil 2.5. Endolikenik fungus (ELF) izolasyonu aşamaları

2.2.2.3. ELF'lerin Morfolojik Boyaması ve Moleküler Tür Tayinleri

2.2.2.3.1. Morfolojik Boyama

Peltigera cinsi likenlerden izole edilen ELF'lerin morfolojik boyamaları, Finegold ve arkadaşlarının (1982) ve Lennette ve arkadaşlarının (1985) uluslararası literatürde bildirdikleri laktofenol pamuk mavisi boyama metotlarından uyarlanarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem fungusların hif ve sporlarını incelemek amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Laktofenol pamuk mavisi içerisinde bulunan fenol; mikroorganizmaların öldürülmesini, laktik asit; fungus yapısının korunmasını, pamuk mavisi boyası ise, fungusların hücre duvarlarında bulunan kitin moleküllerinin boyanmasını gerçekleştirir. İzole edilen ELF örneklerinin morfolojik tür teşhislerinin bir kısmı Doç. Dr. Burhan ŞEN ve Dr. Öğr. Üyesi İskender KARALTI yardımcılığında gerçekleştirilmiş ve temel kaynak olarak Barnett ve Hunter (1998) kullanılmıştır (Barnett ve Hunter, 1998).

Protokole uygun olarak preparat morfolojik boyama için;

- İzole edilen ELF örnekleri, PD agar besiyerlerinde 7 gün süresince inkübe edilerek taze duruma getirilmiştir.
- Temiz lam üzerine pastör pipeti ile 1 damla etil alkol damlatılmıştır.
- Öze ya da steril iğne ucu yardımıyla bir miktar ELF kültür örneği alınarak etil alkol içinde karıştırılmıştır.
- Preparat üzerine pastör pipeti ile 1 damla laktofenol pamuk mavisi boyası damlatılarak üzeri temiz lamel kapatılmıştır.
- Lam etrafına yayılan fazla boyalar kurutma kağıdı ile alınmış ve preparat kısa bir

süre ateş ile fiksasyon edilerek boyanın örneğe işlemesi sağlanmıştır.

Protokole uygun olarak pratik morfolojik boyama için;

- İzole edilen ELF örnekleri, PD agar besiyerlerinde 7 gün süresince ve 26°C’de inkübe edilerek taze kondisyonlarına getirilmiştir.
- Temiz lam üzerine pastör pipeti ile 1 damla laktofenol pamuk mavisi eriyiğinden eklenir.
- Şeffaf selofan bandın yapışkan tarafı petri kabında üretilmiş olan ELF örneği kolonisi üzerine temas ettirilmiştir.
- Bant üzerindeki ELF örneği, lamin üzerindeki laktofenol pamuk mavisi boyası üzerine bastırılarak yapışkan kısmın lamin yüzeyine yapışması sağlanmıştır.

Işık mikroskobu yardımıyla tüm preparatlar incelenmiş ve boyanan fungus örnekleri açık mavi renkte gözlemlenmiştir.

2.2.2.3.2. DNA İzolasyonu

Peltigera sp., *Peltigera horizontalis* ve *Peltigera praetextata* likenlerinden izole edilen endolikenik fungusların kültürlerinden gerçekleştirilen DNA izolasyonu, literatürde yer alan yöntemler modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir (Açıkgöz, 2011; Park ve ark., 2014).

Protokole uygun olarak DNA izolasyonu için;

- İzole edilen ELF örnekleri, PD agar besiyerlerinde 7 gün süresince ve 26°C’de inkübe edilerek taze kondisyonlarına getirilmiştir.
- Steril eppendorflara 400 µl KCl Buffer ve bir miktar steril cam boncuk eklenmiştir.
- Steril öze, iğne ucu veya neşter ucu yardımıyla her bir ELF örneğinin sadece yüzeyi kazınmış ve kültür örneği eppendorflara aktarılır.
- Örnekler MagNa Lyser cihazında 5000 devir 10 saniye aralıklarla tekrarlanarak toplam 1 dakika süresince fiziksel parçalamaya uğratılmıştır.
- Örnek tüplerinin içerisine 10’ar µl proteinaz K (10 mg/ml) ve 5’er µl RNAaz (10 mg/ml) eklenerek 37°C’de 30 dakika ve sonra 55°C’de 15 dakika sürelerince çalkalamalı ısıtıcı inkübatörde bekletilmiştir.
- Örnek tüplerinin içerisine 400 µl kloroform eklenerek nazik el hareketleriyle karıştırılmıştır ve sonrasında 12000 devirde 3 dakika süresince +4°C’de santrifüj işlemine tabii tutulmuştur.

- Santrifüj işlemi devamı sırasında yeni 1.5 ml'lik steril tüpler barkodlanmış ve santrifüj sonrasında her bir örneğin üst fazlarından, mikropipet yardımıyla, 250'şer µl çekilerek yeni tüplere aktarılmıştır.
- Yeni tüplere aktarılan örneklerin üzerine 160 µl soğuk, saf izopropanol eklenerek nazik el hareketleriyle karıştırılmıştır.
- 12000 devirde 2 dakika süresince +4°C'de santrifüj işlemine tabii edilen örneklerin süpernatant kısımları dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmıştır.
- Örnek tüplerinin içerisine 200 µl %70'lik soğuk etanol eklenerek tekrardan 12000 devirde 2 dakika süresince +4°C'de santrifüj işlemine tabii tutulmuştur.
- Süpernatantlar dikkatli bir şekilde uzaklaştırıldıktan sonra tüpler, steril kabin içerisinde çalkalamalı ısıtıcılı inkübatörde 10-15 dakika süresince 55°C'de alkolün uzaklaştırılması için bekletilmiştir.
- Alkolün tamamen uzaklaştırılması sonrasında örnek tüplerine 100'er µl 1X TBE Buffer eklenmiş ve DNA içeriği var olduğu düşünülen örneklerin buffer içerisinde çözünmesi için tüpler 55°C'de çalkalamalı ısıtıcılı inkübatörde bekletilmiştir.
- Örnekler DNA saflığı ve konsantrasyonu saptanana kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.2.3.3. DNA Saflığının Belirlenmesi ve Konsantrasyonun Ölçülmesi

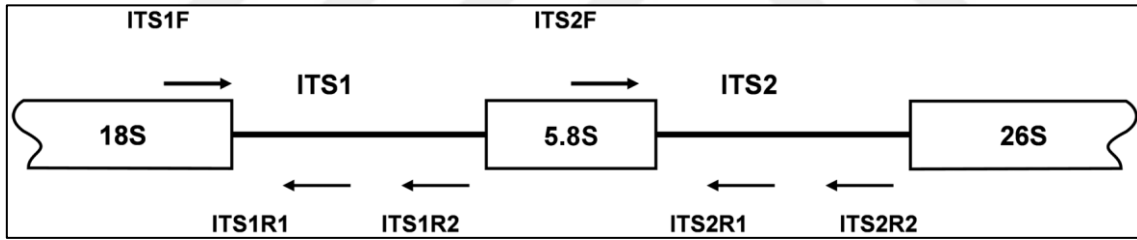
İzolasyon ürünlerinin saflık derecelerinin ve miktarlarının belirlenebilmesi için 2 farklı yöntem uygulanmıştır. Birinci yöntem olarak agaroz jel elektroforezinde (Thermo); etidyum bromür boyası içeren %0.8-1'lik agaroz jel üzerinde yürütülen izolasyon ürününün DNA içerip içermediği jel görüntüleme sisteminde saptanmıştır. %1'lik agaroz jel hazırlamak için 100 ml 1X TBE tamponuna 1 gr agaroz eklenerek mikrodalga fırın içerisinde ısıtılarak tamamen homojen hale getirilmiştir. Bu işlem sonrasında çözelti 45°C'ye kadar soğutulmuş ve içerisine 3 µl Etidyum bromür (EtBr) (10mg/ml) eklenerek homojen kıvamına gelene kadar karıştırılmıştır ve uygun taraklar yerleştirilmiş kasete jel aktararak donması beklenmiştir. Agaroz jelin donması sonrasında kaset elektroforez tankına yerleştirilmiş ve tankın içerisine agaroz jelin yüzeyini kaplayıncaya kadar 1X TBE tamponu eklenmiştir. Daha sonra 5 µl'lik izole edilen ürün üzerine aynı miktarda 6X yükleme boyası (Loading Dye) eklenerek agaroz jelin kuyucuklarına ürünler yüklenmiştir. Moleküler ağırlık cetveli olarak "Thermo Scientific" firmasının 100 bp'lik

cetveli kullanılmıştır. Elektroforez işlemi 100 voltta ve 1 saat süresince koşturularak gerçekleştirilmiştir. Jel görüntüleme sisteminde gözlenen DNA varlığı fotoğraflanarak kaydedilmiştir.

İkinci yöntem olarak Cytation 3 (BioTek) cihazı kullanılmıştır. İzolasyon sonucu elde edilen DNA'ların konsantrasyonları ve 260/280 nm dalga boylarının birbirlerine oranlarına göre saflıkları saptanmıştır. Saptanan konsantrasyon değerlerine göre tüm örnekler için dilüsyon oranları hesaplanmış ve her bir tüpte 50 ng/μl olacak şekilde aligotlara ayrılarak kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.2.3.4. Hedef Bölgenin PZR ile Çoğaltılması

Örneklerin moleküler tür tayinini gerçekleştirmek amacıyla izole edilen ve konsantrasyonları saptanan DNA örneklerinin 18S rRNA kısmı, Ribozomal DNA transkripsiyon arası (ITS1, ITS2) bölgelerinin tamamı ve 5.8S rDNA gen bölgesinin tamamının çoğaltılması polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile gerçekleştirilmiştir. Hedef bölgenin çoğaltılması için funguslara özgü ITS primerleri tercih edilmiştir (Choi ve ark., 2012; Blaallid ve ark., 2013). ITS primerleri ile ilgili diyagram Şekil 2.6'da çalışmada kullanılan primerler ise Tablo 2.3'te gösterilmiştir.



Şekil 2.6. ITS1F ve ITS2 primerlerinin amplifikasyonu için kullanılan oligonükleotidlerin diyagramı (Choi ve ark., 2012)

Tablo 2.3. Moleküler tür tayininde kullanılan 5.8S gen bölgesine uygun primerler

Primer Kodu	Primer Adı	Primer Dizisi	Tm (°C)
Primer F	ITS1F	CTTGGTCATTAGAGGAAGTAA	57
Primer R	ITS2	GCTGCGTTCTTCATCGATGC	57

Stok konsantrasyonları 100 pmol olacak şekilde sulandırılarak hazırlanan primerler, PZR deneyleri sırasında kullanılmak üzere 10 pmol konsantrasyonuna seyreltilip, aligotları hazırlanmıştır. PZR işleminde istenilen hedef gen bölgesinin çoğaltılması amacıyla ilgili protokole göre PZR cihazı (BIORAD MyCycler Personal

Thermal Gradient Cycler) ile istenilen gen bölgesinin kopyalanma işlemleri gerçekleştirilmiştir.

PZR için belirlenen protokol,

Reaksiyon bileşenleri

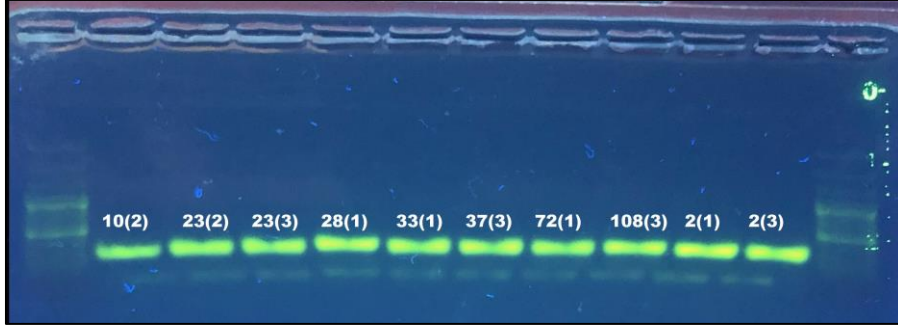
DNA (50 ng/μl)	1 μl
Tampon çözelti (10X)	2.5 μl
MgCl ₂ (50 mM)	1.25 μl
dNTP karışımı (2 mM)	2.5 μl
Taq DNA polimeraz (5U / μl)	0.2 μl
Primer F (10 pmol)	1 μl
Primer R (10 pmol)	1 μl
Steril ultra saf su	15.55 μl

Toplam hacim 25 μl

Döngü Koşulları

95 °C 4 dakika (ilk denaturasyon)	
95 °C 1 dakika (denaturasyon)	} 35 siklus
57 °C 1 dakika (primer bağlanması)	
73 °C 1 dakika (uzama)	
73 °C 7 dakika (son uzama)	
4 °C ∞ son	

PZR için uygulanan protokol sonucunda elde edilmiş PZR ürünleri, elektroforezde (Thermo) %1.8'lik agaroz jelde 6X yükleme boyası ile karıştırılarak hazırlanan 10 μl'lik örneklerin her biri ayrı ayrı kuyucuklara yüklenerek 100 voltta 1 saat süresince yürütülmüştür. Çoğaltılan hedef DNA bölgelerinin moleküler ağırlığı 100 bp'lik moleküler ağırlık cetveli kullanılarak saptanmıştır. Elde edilen ürünlerin agaroz jel üzerindeki fotoğrafları, jel görüntüleme sistemi (Vilber Lourmat - Fransa) kullanılarak görüntülenmiştir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. PZR sonrası çoğaltılarak elde edilen hedef DNA bölgeleri

2.2.2.3.5. Jelden Geri Kazanım

UV Jel Görüntüleme Cihazında (CAMAG UV Cabinet II) görüntülenen en belirgin ve parlak bantlar jelden geri kazanılmıştır. Geri kazanım işlemleri için yüksek saflıktaki PZR ürünlerinin pürifikasyon kiti (Thermo Scientific) tercih edilmiştir. ITS bölgesinin agaroz jelden pürifikasyonu, ilgili kitin üretici firması tarafından belirtilen protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Geri kazanım basamakları;

- Jelden %70 alkol ile temizlenmiş bir jilet, neşter ucu veya skapel yardımıyla ultraviyole ışık altında kesilen PZR ürünleri 1.5 ml'lik steril eppendorf tüplere aktarılmıştır.
- 1.5 ml'lik tüplerde bulunan yaklaşık 100-200 mg olan agaroz jel üzerine 300-400 µl bağlayıcı solüsyon (Binding buffer) eklenmiştir.
- Tüpler 15-20 saniye süresince nazik el hareketleriyle karıştırıldıktan sonra 56 °C'ye ayarlanmış çalkalayıcılı ısıtmalı inkübatörde 15 dakika süresince inkübe edilmiştir.
- İnkübasyon sırasında kit ile gelen filtreli tüpler toplama tüplerinin içine yerleştirilmiştir. Jel eriyik duruma geldikten sonra örnekler mikropipet yardımıyla filtrelerin üst yüzeyine bırakılmıştır.
- Hedef DNA bölgesinin filtreye yapışması için 14000 devirde 1 dakika süresince santrifüj (Beckman Coulter) işlemi gerçekleştirilmiş ve daha sonra toplama kabında biriken atıklar dökülerek, filtreli tüpler tekrar toplama kaplarına yerleştirilmiştir.
- Filtreli tüplerin içerisine 150'şer µl bağlayıcı solüsyon eklenerek 14000 devir 1 dakika süresince santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra toplama

kaplarında biriken atıklar dökülmüştür ve filtreli tüpler tekrar yerleştirilmiştir.

- Tüplere 700 µl yıkama solüsyonu (Washing buffer) filtrenin üzerine denk gelecek şekilde eklenerek 14000 devir 1 dakika süresince santrifüj işlemine tabii tutularak DNA parçalarının jel atıklarından uzaklaştırılması sağlanmıştır.
- Toplama kaplarındaki atıklar tekrar boşaltılarak filtreler yeniden toplama kaplarına yerleştirilmiştir.
- Filtreli tüplere 200 µl yıkama solüsyonu eklenerek 14000 devir 1 dakika süresince santrifüj işlemi gerçekleştirilmiş ve toplama tüpleri atılmıştır.
- İçerisinde örnekler bulunan filtreler, 1.5 ml'lik steril eppendorf tüplere yerleştirilerek üzerlerine 50 µl ayırma solüsyonu (Elution buffer) tam filtrenin üzerine gelecek şekilde mikropipet ile bırakılmış ve 3 dakika süresince bekletilmiştir.
- Tüpler 14000 devir 1 dakika süresince santrifüj edilerek istenilen DNA bölgelerinin ayırma solüsyonuyla birlikte steril tüpe geçmesi sağlanmıştır.

Elde edilen son jelden geri kazanım ürünleri, elektroforezde (Thermo) %1,2'lik agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiştir ve kayıt altına alınmıştır.

2.2.2.3.6. Dizi Analizi

Hedeflenen DNA bölgesi, PZR işlemleri sonucunda çoğaltılarak elde edilmiş ve jelden geri kazanım yapılarak moleküler dizi analizine alınmıştır. Pürifikasyon işlemleri ile elde edilen moleküler ürünler, yeni nesil dizileme (sekanslama) sistemi (Applied Biosystems) ile dizileme işlemine tabi tutulmuştur. Çift yönlü sekansların kendi aralarında tutarlılıkları ve uyumları kontrol edilerek elde edilen verilerin doğruluğu ve geçerlilikleri kontrol edilmiş ve moleküler diziler GenBank (NCBI) veri tabanında bulunan verilerle BLAST programına tabi tutularak kontrol edilmiştir. Moleküler sekansların eşleşme yüzdelere göre moleküler tür tayini gerçekleştirilmiştir.

2.2.2.3.7. Filogenetik Analiz

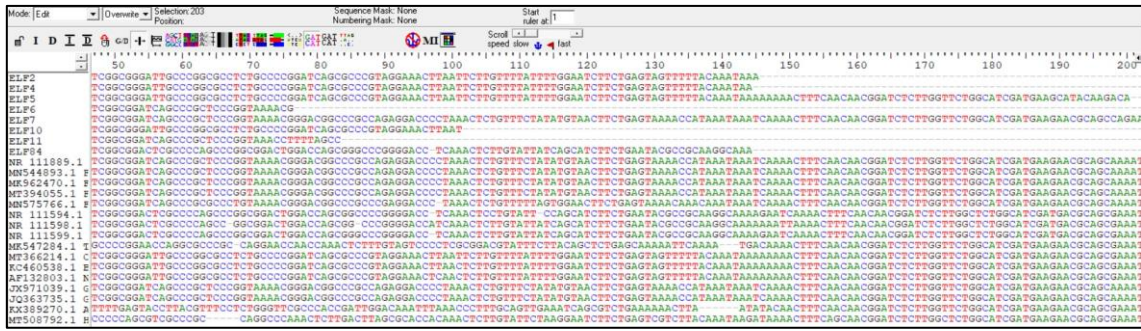
Endolikenik fungus örneklerine ait moleküler diziler BLAST'lanarak GenBank veri tabanını ile uygunluğu belirlenmiştir. BLAST işlemi sonrasında sonuç veren fungus cinslerinin moleküler dizileri NCBI veri tabanından FASTA formatında indirilmiştir (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Elde edilen moleküler dizilere ait erişim numaraları Tablo 2.4'te belirtilmektedir.

Tablo 2.4. GenBank veri tabanından indirilen 5.8S gen bölgesi dizilerine ait erişim numaraları

Tür Adı	GenBank Erişim Numarası
<i>Ascomycota sp.</i>	KX389270.1
<i>Beauveria bassiana</i>	NR_111594.1
<i>Beauveria pseudobassiana</i>	NR_111598.1
<i>Beauveria varroae</i>	NR_111599.1
<i>Beauveria varroae</i>	KU058600.1
<i>Bionectria sp.</i>	HQ731621.1
<i>Bionectria ochroleuca</i>	KC460538.1
<i>Clonostachys rosea</i>	MT366214.1
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	KU097223.1
<i>Cordyceps bassiana</i>	JN695776.1
<i>Cordyceps taishanensis</i>	FJ008929.1
<i>Curvularia senegalensis</i>	JN006788.1
<i>Fungal sp.</i>	MK177182.1
<i>Fungal sp.</i>	MN256658.1
<i>Fungal sp.</i>	KY776180.1
<i>Fusarium acuminatum</i>	LC193726.1
<i>Fusarium armenicum</i>	MT393873.1
<i>Fusarium avenaceum</i>	FJ478097.1
<i>Fusarium brachygibbosum</i>	MN498031.1
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	MN575766.1
<i>Fusarium circinatum</i>	NR_120263.1
<i>Fusarium equiseti</i>	NR_121457.1
<i>Fusarium foetens</i>	NR_159865.1
<i>Fusarium fujikuroi</i>	NR_111889.1
<i>Fusarium mangiferae</i>	MT358795.1
<i>Fusarium oxysporum</i>	MK962470.1
<i>Fusarium petersiae</i>	NR_156397.2
<i>Fusarium proliferatum</i>	MT394055.1
<i>Fusarium pseudograminearum</i>	MT465500.1
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	KU948933.1
<i>Fusarium solani</i>	NR_163531.1
<i>Fusarium tricinctum</i>	LC500064.1
<i>Fusarium verticillioides</i>	MN544893.1
<i>Gibberella intermedia</i>	JX971039.1
<i>Gibberella moniliformis</i>	JX139583.1
<i>Gibberella thapsina</i>	JQ363735.1
<i>Hypocreales sp.</i>	MT508792.1
<i>Hypocrea lixii</i>	AB375268.1

<i>Nectria gliocladioides</i>	AF132803.1
<i>Nectria gliocladioides</i>	AJ509864.1
<i>Penicillium sp.</i>	MN900719.1
<i>Penicillium sp.</i>	MT498093.1
<i>Penicillium chrysogenum</i>	NR_077145.1
<i>Penicillium cyclopium</i>	NR_163529.1
<i>Penicillium echinulatum</i>	KF939053.1
<i>Penicillium expansum</i>	NR_077154.1
<i>Penicillium melanoconidium</i>	NR_160219.1
<i>Penicillium melanoconidium</i>	JN097810.1
<i>Penicillium polonicum</i>	NR_103687.1
<i>Penicillium tricolor</i>	NR_077206.1
<i>Trichoderma sp.</i>	MK547284.1
<i>Trichoderma harzianum</i>	MK615748.1
<i>Uncultured fungus</i>	JX364246.1

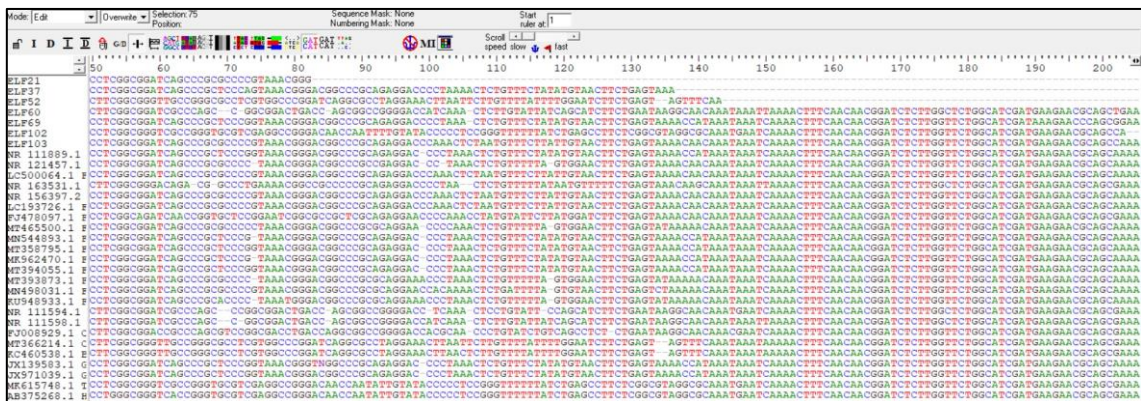
Tüm moleküler dizilerin BioEdit, ClustalW, ClustalX 2.0 ve MEGA7 programları ile çoklu dizi hizalaması (Multiple Alignment) gerçekleştirilmiştir. Hazır olan hizalanmış moleküler diziler, MEGA7 programında Maximum Likelihood Tree (ML) metodu kullanılarak, türlerin filogenetik ağaçlandırılmaları (dendrogram) yapılmıştır. Elde edilen dendrogramların güvenilirliği 500 kez “Bootstrap” testi uygulanarak kontrol edilmiştir (Thompson ve ark., 1997; Hall, 2001; Tamura ve ark., 2007). Çalışmada izole edilen endolikenik funguslara ait hizalama örnek resimleri Şekil 2.8, Şekil 2.9 ve Şekil 2.10’da belirtilmiştir.



Şekil 2.8. *Peltigera* sp. likeninden izole edilen endolikenik fungusların BioEdit programı hizalama örnek resmi



Şekil 2.9. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen endolikenik fungusların BioEdit programı hizalama örnek resmi

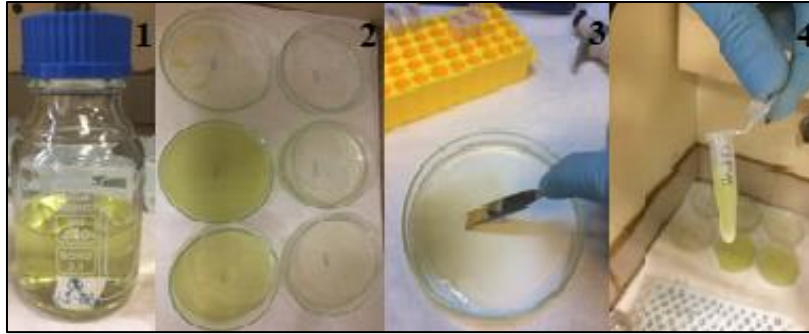


Şekil 2.10. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen endolikenik fungusların BioEdit programı hizalama örnek resmi

2.2.2.4. Likenlerin ve İzole Edilen ELF'lerin Özütlerinin Eldesi

2.2.2.4.1. Likenlerin Özütlerinin Eldesi

Arazi çalışmalarından toplanan liken örnekleri yabancı artık maddelerinden uzaklaştırılmış ve yıkanarak kurutulmaya bırakılmıştır. Temizlenen liken örnekleri 5'er g tartılarak seramik steril havanlarda ufak parçalara ayrılarak toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen liken örneklerinin her biri steril schottlara alınarak üzerlerine 100 ml saf n-Hekzan çözücüsü eklenmiş ve 24 saat süresince karanlık bir ortamda oda sıcaklığında bekletilmiştir. *Peltigera* cinsi likenlerin içerdikleri sekonder metabolitlerin çeşitliliği gereği ve gerçekleştirilen ön çalışma sonucu özütlerinin elde edilmelerinde en iyi verim için çözücü olarak n-Hekzan seçilmiştir. Bir gün süresince çözücü içerisinde bekletilen örnekler filtre kağıtları ile süzülerek katı artıklarından ayrılmış ve sıvı kısımları cam petrilere aktarılacak çözücünün ortamdan uzaklaşması için 24 saat bekletilmiştir. Toz halindeki kuru özütler steril spatüller ile kazınarak önceden boş ağırlığı ölçülmüş santrifüj tüplerine aktarılmıştır (Şekil 2.11). Toz halindeki kuru özütlerin net ağırlıkları belirlenerek üzerlerine son konsantrasyonları 8 mg/ml olacak şekilde %100 dimetil sülfoksit (DMSO) ilave edilmiştir. Liken+DMSO çözeltisinden 60 µl çekilerek steril fizyolojik tuzlu su (FTS) ile 1000 µl'ye tamamlanmış ve DMSO oranı %100'den %6'ya seyreltilmiştir. Hazırlanan seyreltik özütler 0.45 µm'lik filtrelerden geçirilerek steril edilmiştir ve kullanılıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.11. Liken örneklerinin özüt aşamaları. 1-n-Hekzan çözücüsü ile muamale. 2-Steril cam petrilere aktarma. 3-Steril spatül ile kuru özüt eldesi. 4-Tüplere dağıtım

2.2.2.4.2. İzole Edilen ELF'lerin Özütlerinin Eldesi

Saflaştırılmış taze endolikenik fungus kültürlerinden 150 ml PD broth besiyerlerine kültüre pasaj geçilerek oda sıcaklığında, 14 gün süresince, çalkalamalı ve karanlık ortamda inkübasyon gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonrasında sıvı kültürler

0.45 µm'lik filtrelerden geçirilerek ayırma hunilerine aktarılmış ve üzerlerine 1:1 oranında etil asetat çözücüsü eklenerek iyice çalkalanmış ve karanlık ortamda yarım saat süresince iki ayrı fazın ayrılması beklenilmiştir. Literatürden edinilen bilgiler ışığında ELF'ler için en verimli çözücü etil asetat seçilmiştir. Alt kısımda kalan sıvı besiyeri fazı erlen mayere aktarılmış ve etil asetat olan üst faz steril kurutma kağıdı ile süzölmüştür. Besiyeri fazı toplamda üç defa 1:1 oranında etil asetat çözücüsü ile muamele edilerek etil asetat fazları her seferinde süzölmüştür. Her bir ELF örneği için toplamda 150 ml etil asetat çözeltisi elde edilmiş ve Rotary-evaporatör (Heidolph) ile etil asetat fazları uçurulmuştur. Böylece sıvı ELF kültürlerinin kuru etil asetat özütleri elde edilmiştir (Şekil 2.12). Kuru özütler, net ağırlıkları belirlendikten sonra son konsantrasyonları 16 mg/ml olacak şekilde %100 DMSO içerisinde çözdürölmüştür. Özüt+DMSO çözeltisi steril FTS kullanılarak %6 DMSO miktarı içerecek şekilde seyreltilmiştir. Hazırlanan seyreltik özütler 0.45 µm'lik filtrelerden geçirilerek steril edilmiştir ve kullanılıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Tez çalışmasında kullanılmak üzere hazırlanarak elde edilen tüm özütler Tablo 2.5'te belirtilmiştir.



Şekil 2.12. ELF örneklerinin özüt aşamaları.

Tablo 2.5. Liken ve endolikenik fungus özütleri.

No	Tür	Çözücü	Stok Konsantrasyon %100 DMSO (mg/ml)	Aliquot %6 DMSO (µg/ml)
1	<i>Peltigera sp.</i>	n-Hekzan	8	1000
2	<i>Peltigera horizontalis</i>	n-Hekzan	8	1000
3	<i>Peltigera praetextata</i>	n-Hekzan	8	1000
4	ELF2	Etil asetat	16	1000
5	ELF4	Etil asetat	16	1000
6	ELF5	Etil asetat	16	1000
7	ELF6	Etil asetat	16	1000

8	ELF7	Etil asetat	16	1000
9	ELF10	Etil asetat	16	1000
10	ELF11	Etil asetat	16	1000
11	ELF12	Etil asetat	16	1000
12	ELF21	Etil asetat	16	1000
13	ELF22	Etil asetat	16	1000
14	ELF23	Etil asetat	16	1000
15	ELF28	Etil asetat	16	1000
16	ELF33	Etil asetat	16	1000
17	ELF37	Etil asetat	16	1000
18	ELF52	Etil asetat	16	1000
19	ELF59	Etil asetat	16	1000
20	ELF60	Etil asetat	16	1000
21	ELF69	Etil asetat	16	1000
22	ELF79	Etil asetat	16	1000
23	ELF84	Etil asetat	16	1000
24	ELF102	Etil asetat	16	1000
25	ELF103	Etil asetat	16	1000
26	ELF104	Etil asetat	16	1000

2.2.2.5. Bakteri Suşlarının Temini, Çoğaltılması ve Saklanması

Floresans biyosensör bakteri suşları, QS ile regüle edilen *lasB*, *rhlA* ve *pqsA* genleri ile GFP füzyonu ve marker olarak gentamisin direnç geni bulundurmaktadır. Bu şekilde QS mekanizması aktif iken ilgili genlerin ekspresyonu gerçekleşmekte, buna bağlı olarak GFP sentezlenmekte ve floresans ışına ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle floresans miktarı, bakteri yoğunluğu ve QS mekanizmasının çalışmasıyla orantılı olarak gerçekleşmektedir.

Çalışmada kullanılan biyosensör bakteri suşları Kopenhag Üniversitesi, Tim Holm Jakobsen ve Michael Givskov tarafından, *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu Yeditepe Üniversitesi'nden temin edilmiştir (Tablo 2.6). Bakteri stok kültürleri -86 °C'de ve %50 gliserol içerisinde muhafaza edilmiştir. Stok bakteri kültürlerinden deneyler sırasında kullanılmak üzere LB broth besiyerlerine ardı ardına 2 kez pasaj alınmıştır. Sıvı besiyerlerinde gelişen kültürlerin saflığı çizgi plak yöntemi ile kontrol edilmiştir.

Tablo 2.6. Çalışmada kullanılan bakteri suşları.

<i>P. aeruginosa</i>	Suş	Açıklama
	PAO1	CECT4122 Yabanıl tip (Wild type)
	<i>lasB-gfp</i>	Gm ^{r-30γ} ; PAO1-ATCC, <i>P_{lasB-gfp}</i> (ASV)- <i>P_{lac-lasR}</i> -mini-Tn5 türevi: pMHLAS (Yang ve ark., 2009)
	<i>rhlA-gfp</i>	Gm ^{r-30γ} ; PAO1-ATCC, <i>P_{rhlA-gfp}</i> (ASV)- <i>P_{lac-rhlR}</i> -mini-Tn5 türevi: pMHRA (Hentzer ve ark. 2002)
	<i>pqsA-gfp</i>	Gm ^r ; PAO1-ATCC, <i>P_{pqsA-gfp}</i> (ASV)- <i>P_{lac-lasR}</i> -mini-Tn7 türevi-eGFP: pMHLAS (Yang ve ark., 2007)

2.2.2.6. Liken ve ELF Özütlerinin *P. aeruginosa* Suşlarına Uygulanarak Anti-bakteriyel ve Anti-QS Etkinliklerinin Belirlenmesi

96 kuyucuklu polistren optik siyah mikropalakalar ile Cytation 3 (BioTek) multimod mikropalaka okuyucu kullanılarak, seri mikrodilüsyon yöntemiyle, çalışmada elde edilen özütlerin anti-bakteriyel ve QS inhibisyon testleri gerçekleştirilmiştir. Mikropalaka kuyucuklarına 100'er µl M9 minimal besiyeri eklenmiştir. Yatay sıralarda bulunan ilk kuyucuklara her biri ayrı ayrı kuyucuklara olmak üzere 100'er µl liken ve ELF özütleri eklenmiştir ve pipetaj işlemi yapılarak kuyucuklardan 100'er µl çekilmiş ve bir sonraki kuyucuğa eklenmiştir. Aynı işlem ikinci ve üçüncü kuyucuklara da yapılarak son kuyucuktan 100 µl çekilerek işlem tamamlanmıştır. Seri dilüsyon yapılarak her bir özüt grubunun ½ oranında azalan konsantrasyonları elde edilmiştir. Negatif kontrol olarak seçilen kuyucuklara özüt ilavesi yapılmamıştır. Biyosensör suşlar 1 McFarland (yaklaşık 3x10⁸ kob/ml) standardına ayarlanarak kör olarak belirlenen kuyucuklar hariç bütün kuyucuklara 100'er µl olarak eklenmiştir. Kör grubu olarak M9 minimal besiyeri, negatif kontrol grubu olarak M9 besiyeri ile bakteri süspansiyonu kullanılmıştır. Biyosensör suşların GFP ekspresyon miktarları multimod mikropalaka okuyucu ile 37 °C'de 14 saat süresince 485 nm eksitasyon ve 535 nm emisyon dalga boylarındaki floresans ölçümleri ile büyüme miktarlarını gözlemlemek için ise OD 450 nm absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Tüm testler 3 defa tekrarlanmıştır.

P. aeruginosa PAO1 CECT4122 suşu kullanılarak liken ve ELF özütlerinin anti-bakteriyel etkileri, multimod mikropalaka okuyucu ile LB broth besiyerinde, 37 °C'de 14

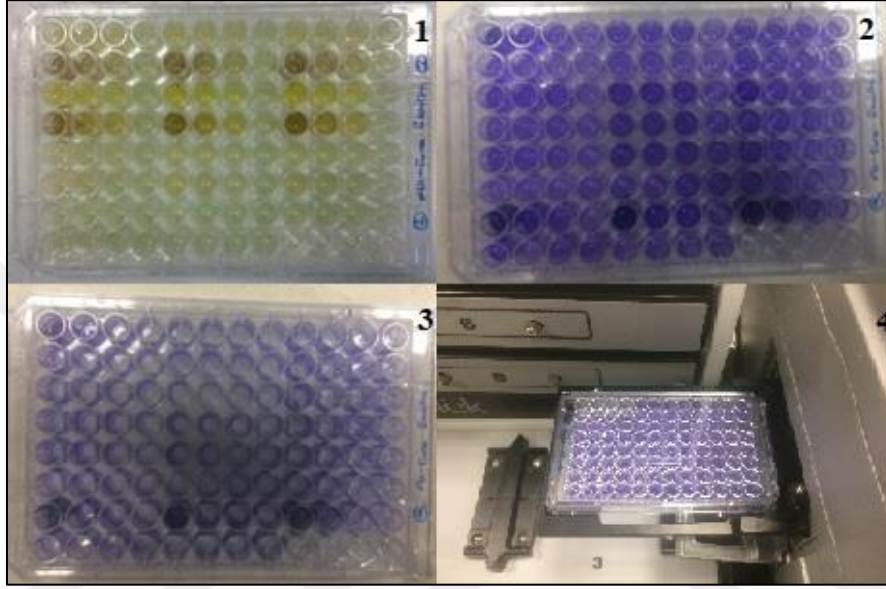
saat süresince OD 450 nm absorbans ölçümleri gerçekleştirilerek belirlenmiştir. Optik mikropalakaların hazırlanışı QS inhibisyon testlerinde olduğu gibi hazırlanmış ancak her bir özüt için 6 farklı konsantrasyon olacak şekilde seri mikrodilüsyon gerçekleştirilmiştir. Tüm testler 3 defa tekrarlanmıştır.

2.2.2.7. Liken ve ELF Özütlerinin *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 Suşuna Uygulanarak Anti-Biyofilm Etkinliklerinin Belirlenmesi

Liken ve endolikenik fungus özütlerinin *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu biyofilm formu üzerine inhibisyonu testleri 96 kuyucuklu şeffaf polistren mikropalakalar kullanılarak seri mikrodilüsyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Mikropalaka kuyucuklarına 50'şer µl LB broth besiyeri eklenmiştir. Yatay sıralarda bulunan ilk kuyucuklara her biri ayrı ayrı kuyucuklara olmak üzere 50'şer µl liken ve ELF özütleri eklenmiştir ve pipetaj işlemi yapılarak kuyucuklardan 50'şer µl çekilmiş ve bir sonraki kuyucuğa eklenmiştir. Aynı işlem ikinci ve üçüncü kuyucuklara da yapılarak son kuyucuktan 50 µl çekilerek işlem tamamlanmıştır. Seri dilüsyon yapılarak her bir özüt grubunun ½ oranında azalan konsantrasyonları elde edilmiştir. Negatif kontrol olarak seçilen kuyucuklara özüt ilavesi yapılmamıştır. Bir gecelik taze *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 bakteri suşu OD 600 nm: 0.02 olacak şekilde spektrofotometrede ayarlanmış ve kör olarak belirlenen kuyucuklar hariç bütün kuyucuklara 50'şer µl olarak eklenmiştir. Kör grubu olarak LB broth besiyeri, negatif kontrol grubu olarak LB broth besiyeri ile bakteri süspansiyonu kullanılmıştır. Mikropalakalar 37 °C'de 24 saat süresince inkübe edilmiştir.

24 saatlik inkübasyonun sonunda mikropalakadaki tüm kuyucuklar planktonik bakteri hücrelerinin uzaklaştırılması için boşaltılmış ve mikropalaka dağıtıcı ile birlikte 3 kere steril FTS ile yıkanmıştır. Yıkanan mikropalakalar 60 °C'de 30 dakika süresince kurumaya bırakılmıştır. İşlem sonrasında mikropalakaların her bir kuyucuklarına 125 µl %0.1'lik kristal viyole solüsyonu eklenmiş ve 37 °C'de 10 dakika süresince karanlık ortamda plakalar bekletilmiştir. Bekleme süresi tamamlandığında fazla boyanın ortamdaki uzaklaştırılması için mikropalakalar 3 defa distile su ile yıkanmış ve 60 °C'de 30 dakika süresince kurumaya bırakılmıştır. Mikropalakalar kuruduktan sonraki aşamada tüm kuyucuklara içerlerinde yer alan kristal viyole solüsyonunu çözüp absorbans ölçümü

sağlayabilmek amacıyla 125'şer µl %96'lık etanol eklenmiştir. *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formu üzerine inhibisyon testleri multimod mikropılaka okuyucu cihazı kullanılarak OD 590 nm'de absorbans ölçümleri alınarak gerçekleştirilmiştir. Tüm testler 3 defa tekrarlanmıştır ve inhibisyon oranlarının ortalamaları alınarak % standart hatalar hesaplanmış ve değerleri $\pm$ işaretiyle birlikte belirtilmiştir. Deneylere ait resimler Şekil 2.13'te gösterilmiştir.



Şekil 2.13. Biyofilm testlerine ait resimler. 1-24 saatlik inkübasyon sonrasındaki bakteri kültürleri. 2-Biyofilm yapısının kristal viyole ile boyanması. 3-%96'lık alkol ile kristal viyole boyasının çözülmesi. 4-Cytation 3 cihazında biyofilm absorbans ölçümü.

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Bulgular

3.1.1. *In silico*:

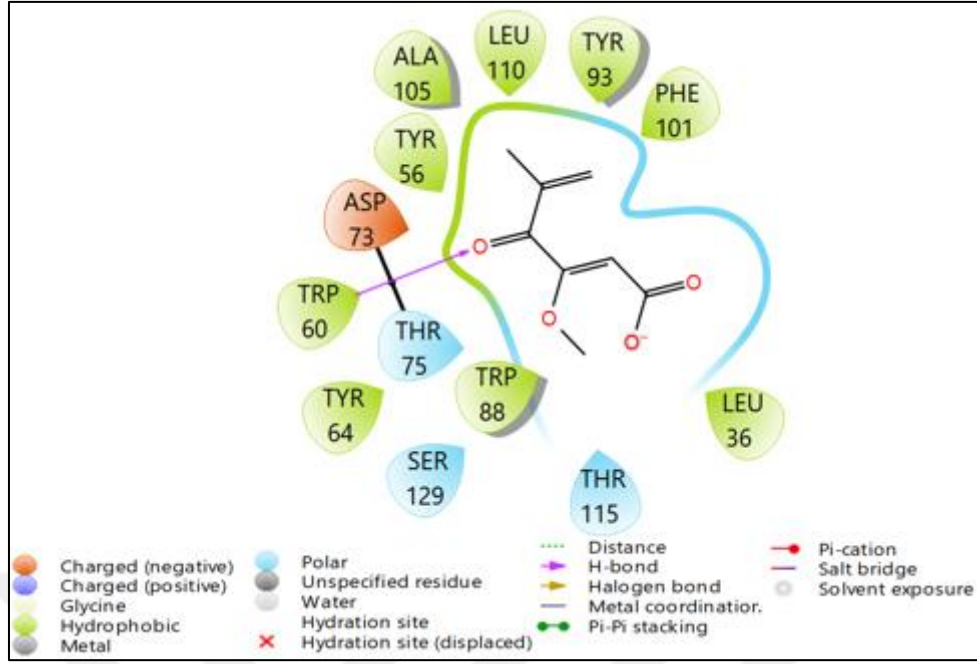
3.1.1.1. Ligandların Hazırlanması

Çalışmada kullanılan bütün ligandlar Schrödinger Moleküler Modelleme yazılımının LigPrep modülünde pH 7.4'te ve OPSL2005 kuvvet alanında hazırlanmıştır. Tüm moleküller için ideal ve mümkün olan tüm düşük enerjili konformerlerinin bulunması sağlanmıştır. 657 adetlik liken sekonder metabolit kütüphanesine ait moleküller PubChem veri tabanından indirilerek ve MetaCore / MetaDrug toksisite analizleri gerçekleştirilerek 179 adet metabolit saptanmıştır. Bu moleküllerle birlikte *P. aeruginosa* için agonist ve antagonist moleküller de (Tablo 3.1) PubChem veri tabanından indirilerek ligandlar hazırlanmıştır.

3.1.1.2. Moleküler Kenetlenme Simülasyonları

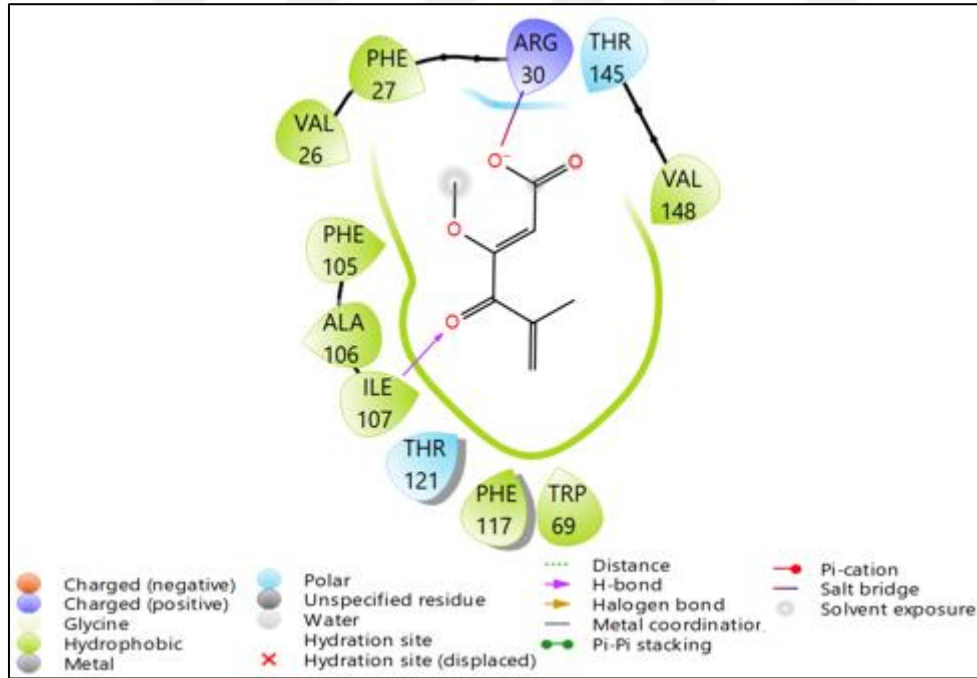
P. aeruginosa QS sisteminde görev alan LasI, LasR ve PqsR reseptör proteinleri protokole göre Schrödinger Moleküler Modelleme programının PrepWizard modülü ile moleküler kenetlenme için hazırlanmıştır. LasI ve LasR reseptör proteinlerin aktif bölgeleri (grid generation) belirlenmiştir. LasI (1RO5), LasR (3IX3) ve PqsR(4JVI) için oluşturulan gridlerle hazırlanan ligandların moleküler kenetlenme simülasyonlarında protokolde bildirilen Glide modülünün SP (Standard Precision) protokolü kullanılmıştır.

P. aeruginosa QS sinyal mekanizması için literatürde yer alan penisillik asit inhibitör molekülünün, ilgili PDB 3IX3, 1RO5 ve 4JVI kodlu reseptör proteinler ile olan kenetlenme skorları ve ligand etkileşim diyagramları Şekil 3.1, Şekil 3.2 ve Şekil 3.3'te gösterilmiştir.



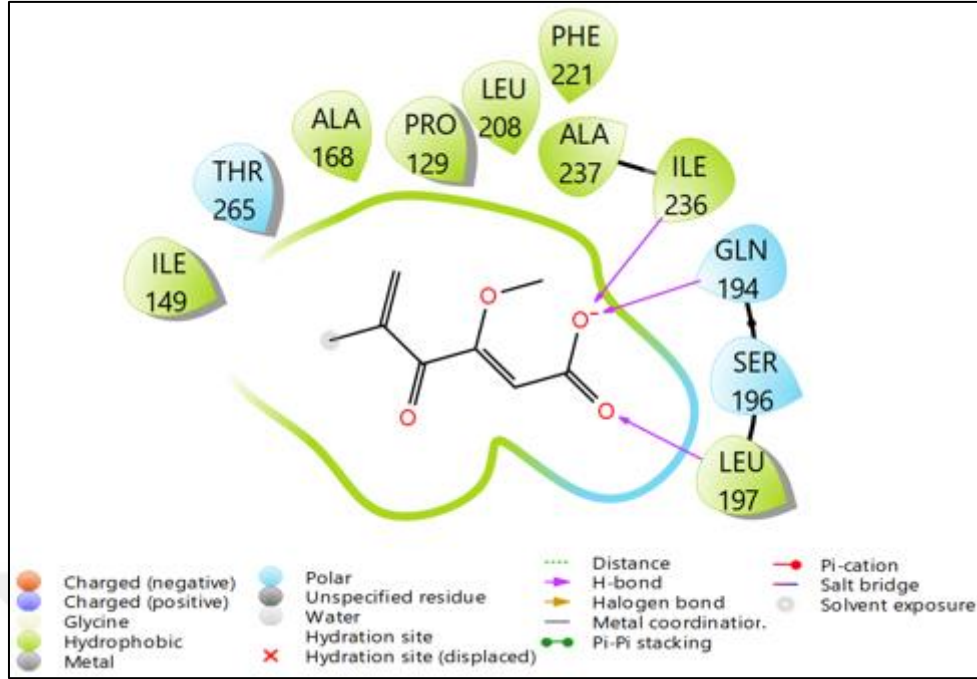
Şekil 3.1. PDB 3IX3 kodlu protein ile penisillik asit inhibitörüne ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -2.860 kcal/mol).

3IX3 - penisillik asit kompleksinde penisillik asit; TRP60 ile hidrojen bağı kurmuştur.



Şekil 3.2. PDB 1RO5 kodlu protein ile penisillik asit inhibitörüne ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -3.510 kcal/mol).

1RO5 - penisillik asit kompleksinde penisillik asit; ARG30 ile tuz köprüsü ve ILE107 ile hidrojen bağı kurmuştur.

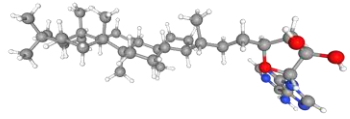
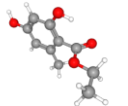
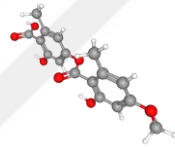
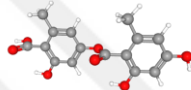
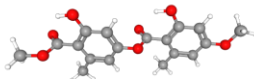
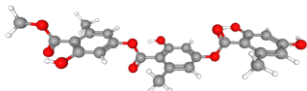
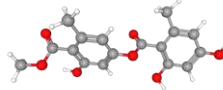
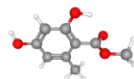


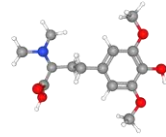
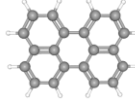
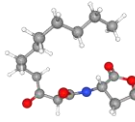
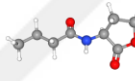
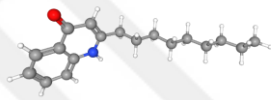
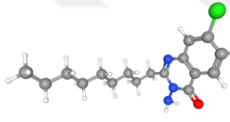
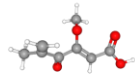
Şekil 3.3. PDB 4JVI kodlu protein ile penisillik asit inhibitörüne ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -4.792 kcal/mol).

4JVI - penisillik asit kompleksinde penisillik asit; ILE236, GLN194 ve LEU197 ile hidrojen bağı kurmuştur.

P. aeruginosa QS mekanizmasında işlev gören 3IX3, 1RO5 ve 4JVI reseptör proteinleri ile hazırlanan ligandların moleküler kenetlenme simülasyonları sonucunda en iyi skor veren metabolitlerin çoğunluğunun *Peltigera* cinsi liken türlerinin içerdikleri sekonder metabolitleri olduğu saptanmıştır. Saptanan 24 adet *Peltigera* cinsi liken türlerinin içerdikleri sekonder metabolitler içerisinde moleküler kenetlenme skorları en iyi 10 metabolitin ve *P. aeruginosa* için agonist ve antagonist moleküllerin PubChem kod numaralı ve üç boyutlu yapıları Tablo 3.1’de, ek olarak bu metabolitlerin ligand etkileşim diyagramları da Şekil 3.4 ile Şekil 3.19 arasında belirtilmektedir.

Tablo 3.1. Liken sekonder metabolitleri, agonist ve antagonist moleküllerin numaraları ve üç boyutlu yapıları.

Molekül / Metabolit İsmi	PubChem Numarası	Üç Boyutlu Yapı
Adenosylhopane	102514953	
Ethyl orsellinate	75653	
Evernik asit	10829	
Lekanorik asit	99613	
Methyl evernate	597048	
Methyl gyrophorate	10096758	
Methyl lecanorate	102318054	
Methyl orsellinate	76658	

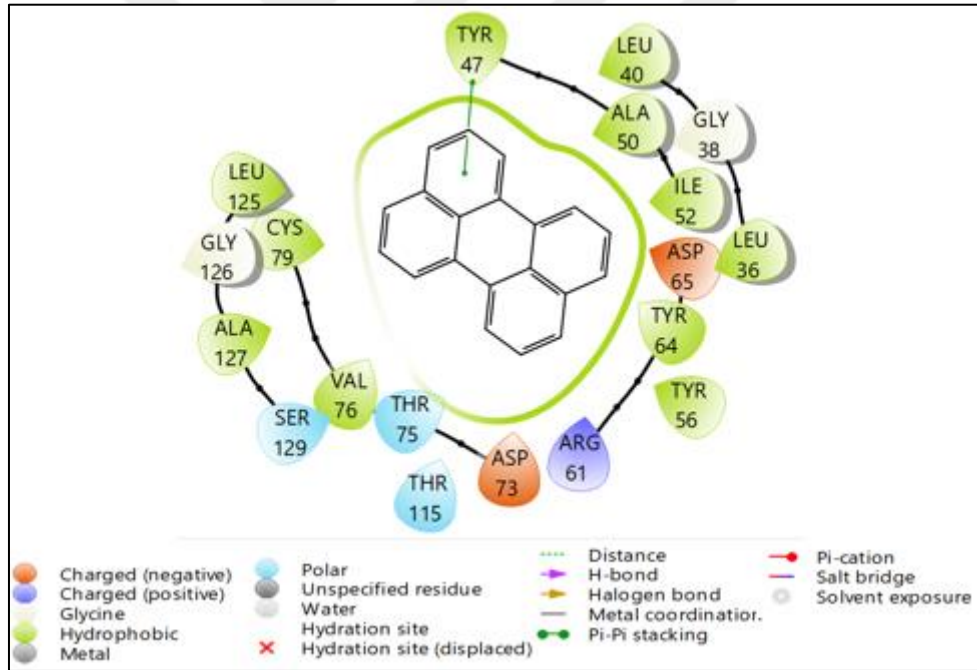
Peltigerine	101521658	
Perylene	9142	
3-oxo-C12-HSL	3246941	
C4-HSL	10130163	
2-nonylquinolin-4(1H)-one (NNQ)	9856730	
3-amino-7-chloro-2-nonylquinazolin-4(3H)-one (QZN)	71627415	
Penisillik asit	1268111	

P. aeruginosa QS sinyal mekanizmasında görev alan 3IX3 PDB kodlu reseptör proteinin liken sekonder kütüphanesi ile gerçekleştirilen moleküler kenetlenme sonuçlarına göre en yüksek kenetlenme skoru veren metabolitler Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. 3IX3 proteini ile liken sekonder metabolitlerinin moleküler kenetlenme sonucu elde edilen skorlar.

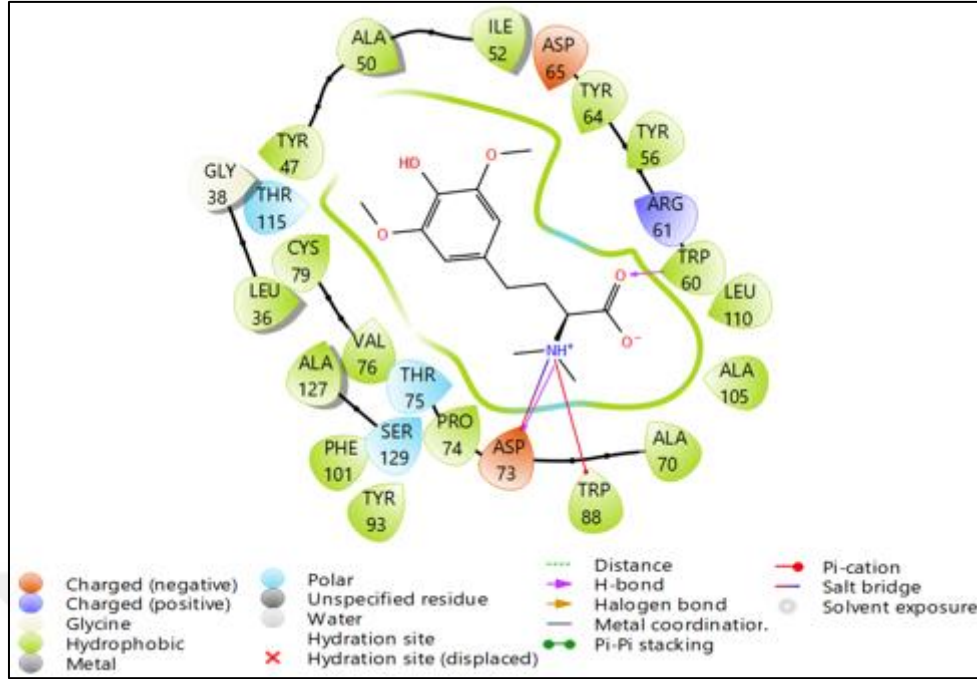
Liken Sekonder Metabolitler	3IX3 Kenetlenme Skorları (kcal/mol)
Perylene	-8.119
Peltigerine	-7.812
Methyl evernate	-7.263
Methyl lecanorate	-7.223
Evernik asit	-6.194
Penisillik asit	-2.860

3IX3 PDB kodlu reseptör protein ile en yüksek kenetlenme skorları elde edilen 5 liken sekonder metabolitin ligand etkileşim diyagramları Şekil 3.4 ile Şekil 3.8 arasında belirtilmiştir.



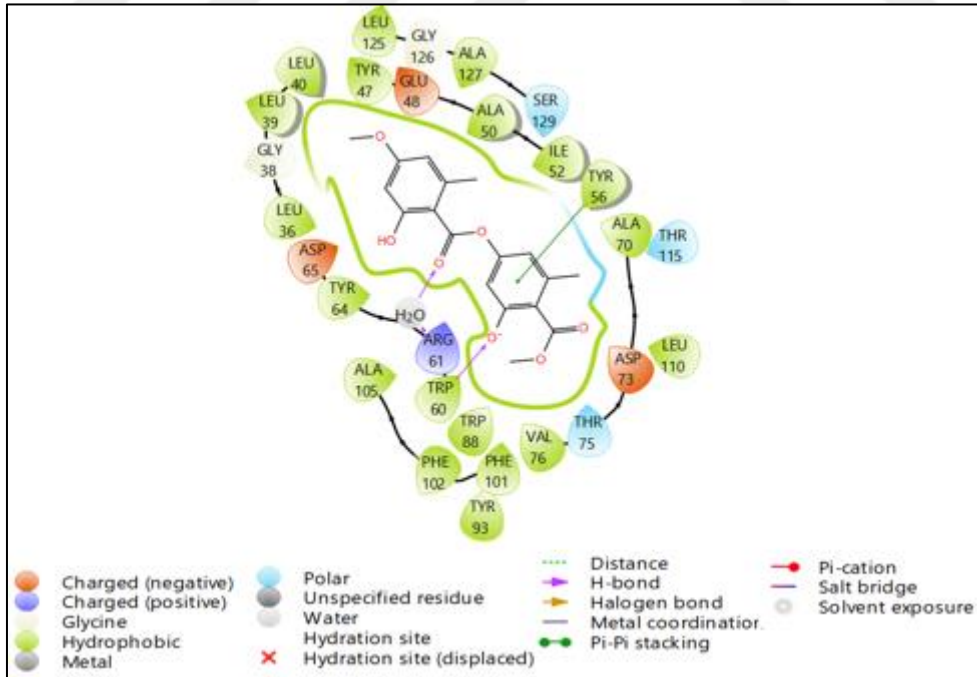
Şekil 3.4. PDB 3IX3 kodlu protein ile perylene sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -8.119).

3IX3 - perylene kompleksinde perylene; TYR47 ile pi-pi istiflenme etkileşimi kurmuştur.



Şekil 3.5. PDB 3IX3 kodlu protein ile peltigerine sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -7.812).

3IX3 - peltigerine kompleksinde peltigerine; TRP60 ve ASP73 ile hidrojen bağı, TRP88 ile pi-kasyon ve ASP73 ile tuz köprüsü etkileşimi kurmuştur.



Şekil 3.6. PDB 3IX3 kodlu protein ile methyl evernate sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -7.263).

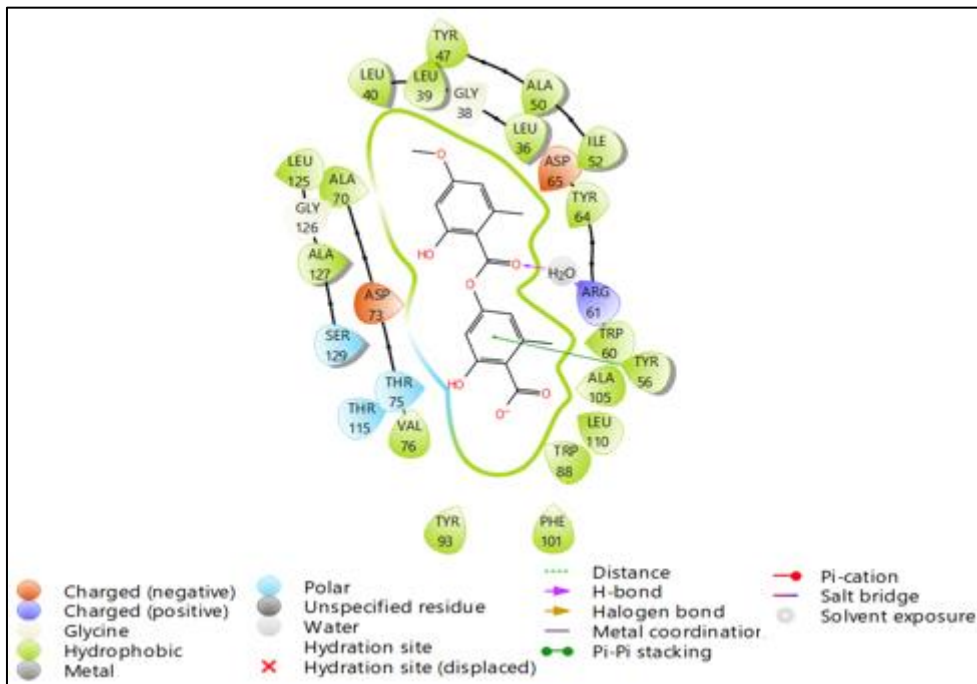
3IX3 - methyl evernate kompleksinde methyl evernate; TYR56 ile pi-pi istiflenme

Diagram illustrating the binding site of the 19S subunit of the 26S proteasome, showing various residues and their interactions with a ligand.

Legend:

- Charged (negative)
- Charged (positive)
- Glycine
- Hydrophobic
- Metal
- Polar
- Unspecified residue
- Water
- Hydration site
- Hydration site (displaced)
- Distance
- H-bond
- Halogen bond
- Metal coordinator
- Pi-Pi stacking
- Pi-cation
- Salt bridge
- Solvent exposure

3IX3 - methyl lecanorate kompleksinde methyl lecanorate; SER129, TYR56 ve TRP60 ile hidrojen bağı kurmuştur.



Şekil 3.8. PDB 3IX3 kodlu protein ile evernik asit sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -6.194).

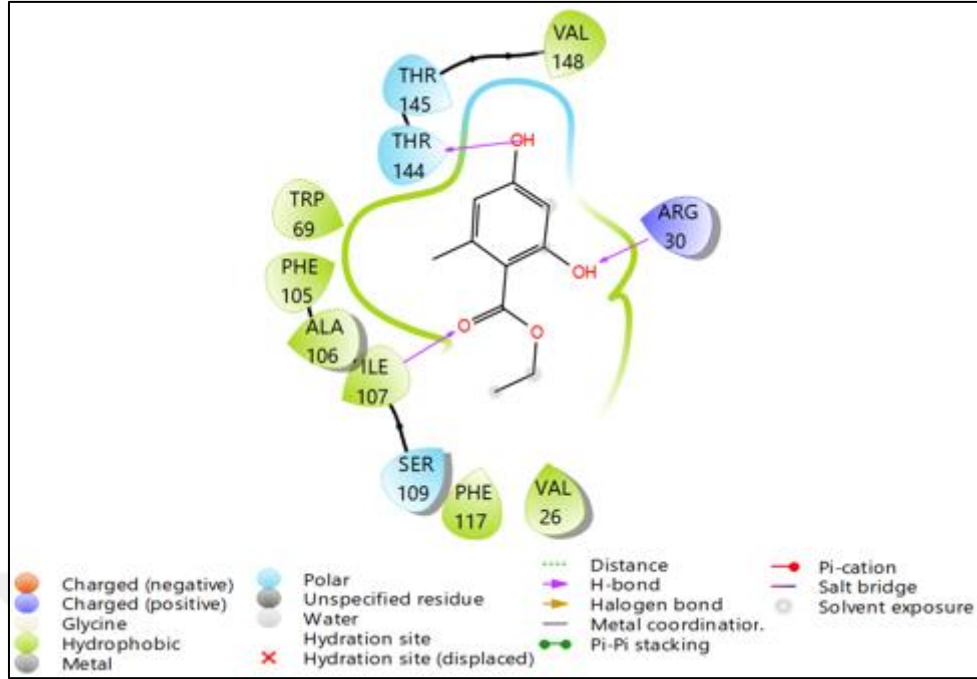
3IX3 - evernik asit kompleksinde evernik asit; TYR56 iel pi-pi istiflenme etkileşimi kurmuştur.

P. aeruginosa QS sinyal mekanizmasında görev alan 1RO5 PDB kodlu reseptör proteinin liken sekonder kütüphanesi ile gerçekleştirilen moleküler kenetlenme sonuçlarına göre en yüksek kenetlenme skoru veren metabolitler Tablo 3.3'te gösterilmiştir.

Tablo 3.3. 1RO5 proteini ile liken sekonder metabolitlerinin moleküler kenetlenme sonucu elde edilen skorlar.

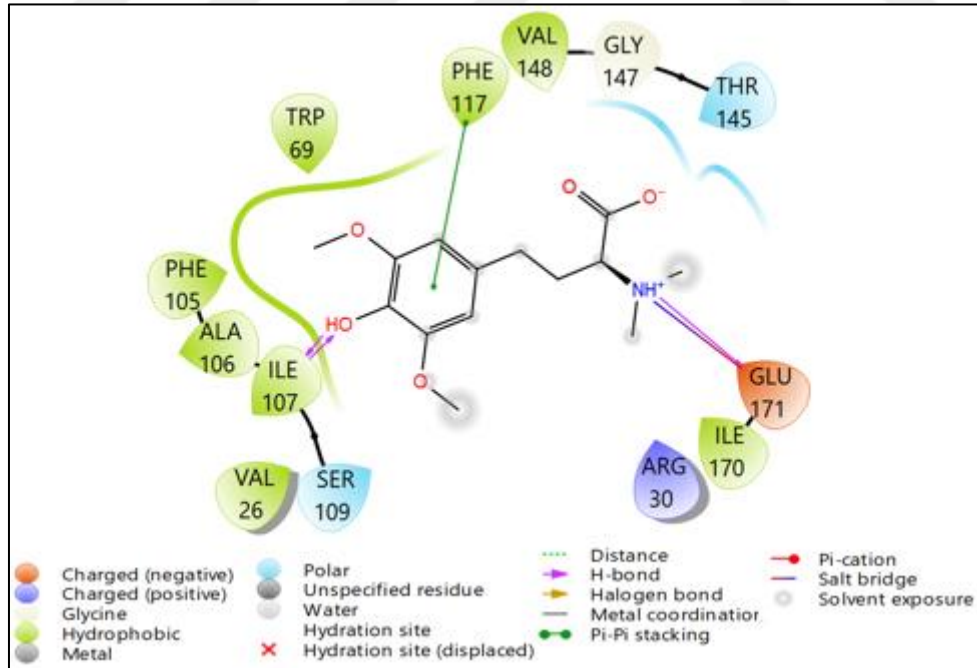
Liken Sekonder Metabolitler	1RO5 Kenetlenme Skorları (kcal/mol)
Ethyl orsellinate	-5.848
Peltigerine	-5.426
Perylene	-5.256
Adenosylhopane	-5.036
Lekanorik asit	-5.034
Penisillik asit	-3.510

1RO5 PDB kodlu reseptör protein ile en yüksek kenetlenme skorları elde edilen 5 liken sekonder metabolitin ligand etkileşim diyagramları Şekil 3.9 ile Şekil 3.13 arasında belirtilmiştir.



Şekil 3.9. PDB 1RO5 kodlu protein ile ethyl orsellinate sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -5.848).

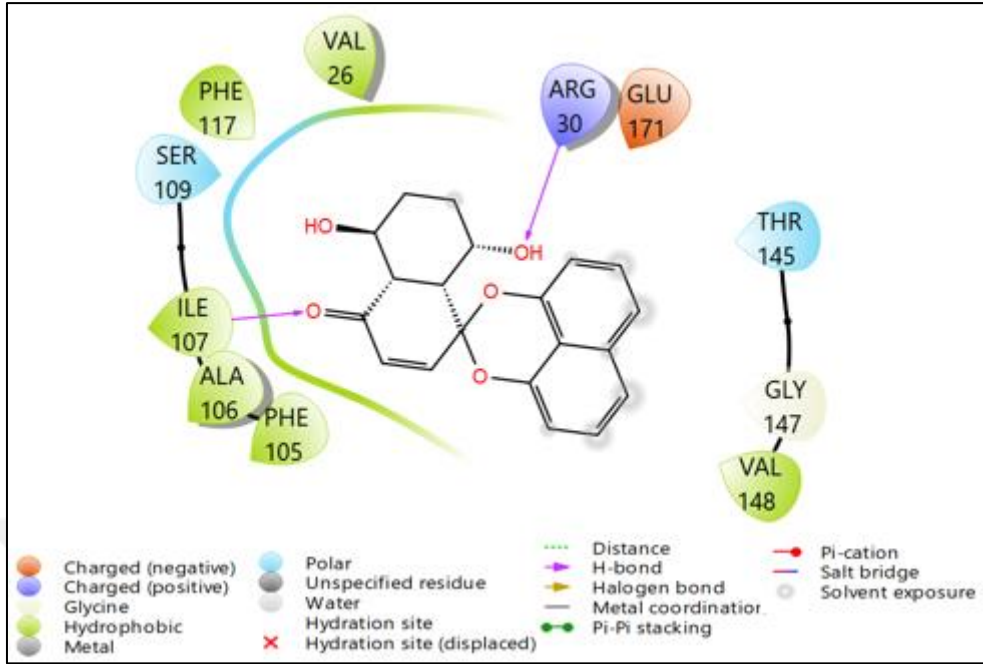
1RO5 - ethyl orsellinate kompleksinde ethyl orsellinate; ILE107, ARG30 ve THR144 ile hidrojen bağı etkileşimi kurmuştur.



Şekil 3.10. PDB 1RO5 kodlu protein ile peltigerine sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -5.426).

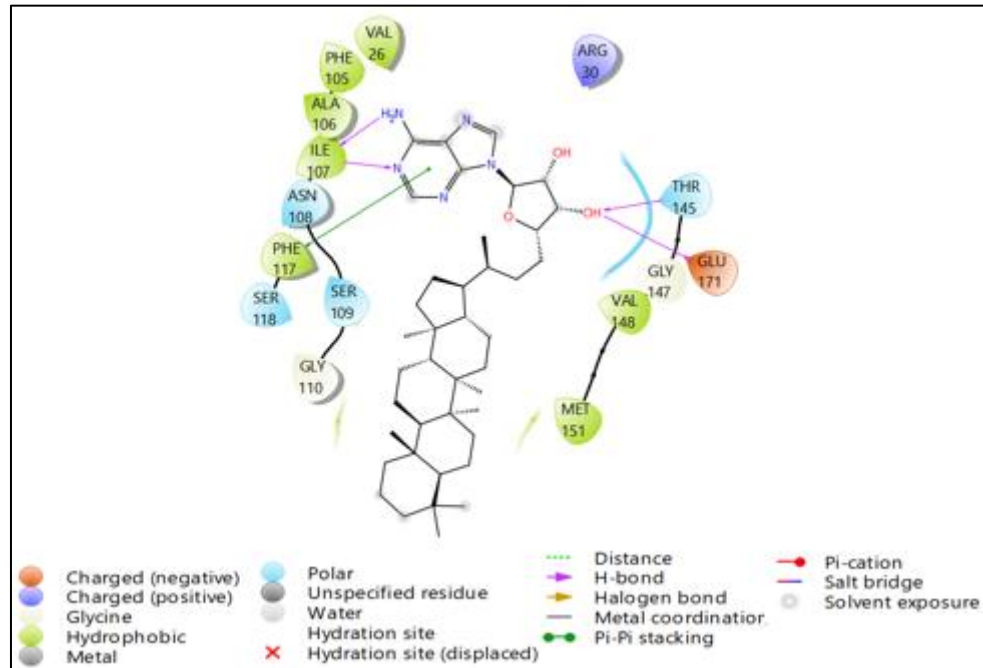
1RO5 - peltigerine kompleksinde peltigerine; ILE107 ve GLU171 ile hidrojen bağı,

PHE117 ile pi-pi istiflenme etkileşimi ve GLU171 ile tuz köprüsü etkileşimi kurmuştur.



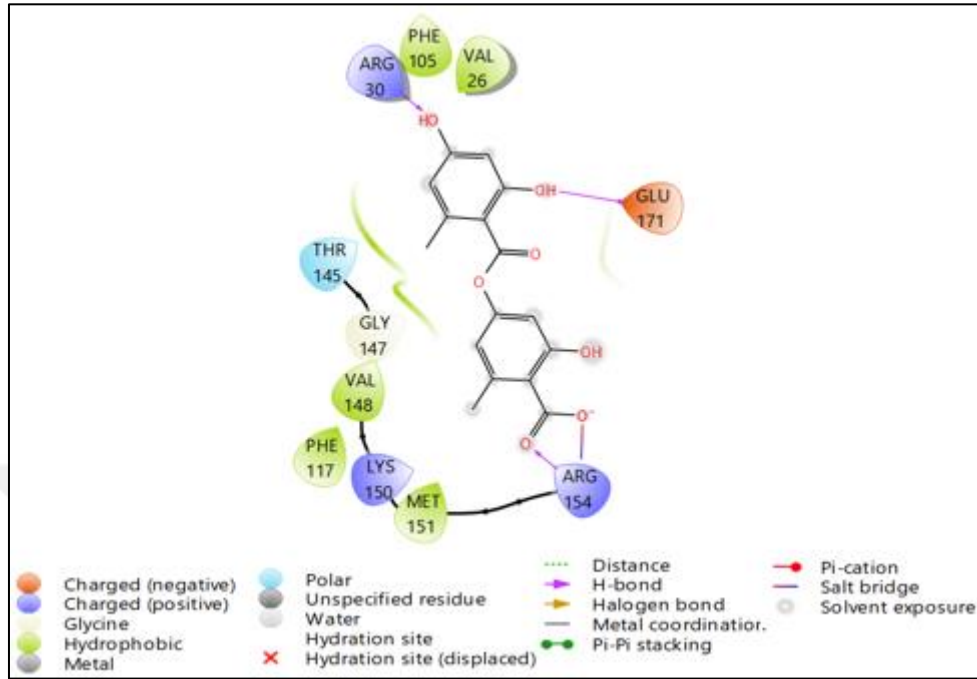
Şekil 3.11. PDB 1RO5 kodlu protein ile perylene sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -5.256).

1RO5 - perylene kompleksinde perylene; ARG30 ve ILE107 ile hidrojen bağı etkileşimi kurmuştur.



Şekil 3.12 PDB 1RO5 kodlu protein ile adenosylhopane sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -5.727).

1RO5 - adenosylhopane kompleksinde adenosylhopane; PHE117 ile pi-pi istiflenme ve ILE107, THR145 ve GLU171 ile hidrojen bağı etkileşimi kurmuştur.



Şekil 3.13. PDB 1RO5 kodlu protein ile lekanorik asit sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -5.034).

1RO5 - lekanorik asit kompleksinde lekanorik asit; ARG30, ARG154 ve GLU171 ile hidrojen bağı etkileşimi kurmuştur.

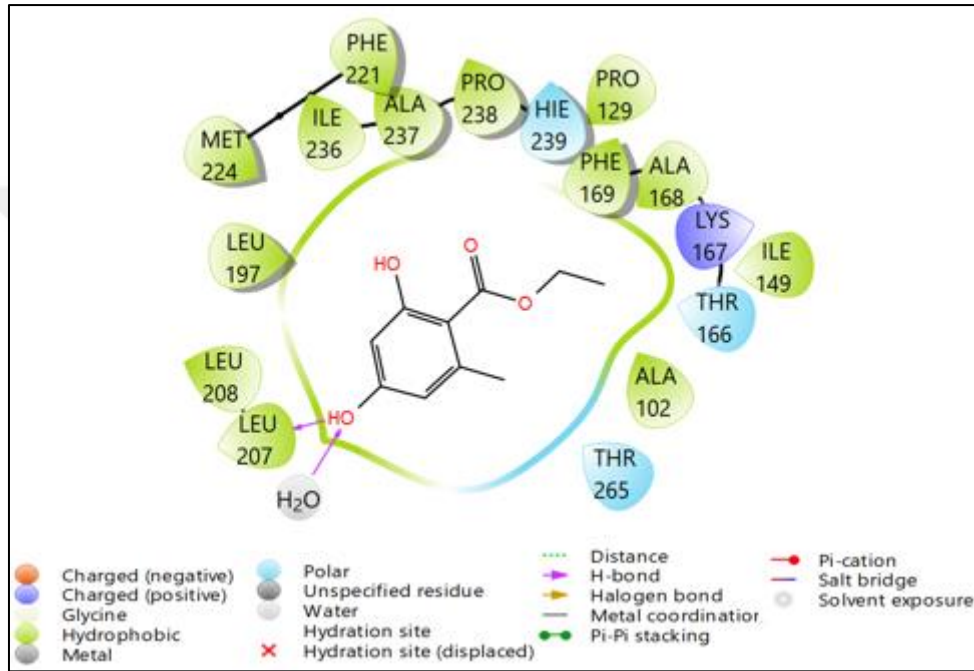
P. aeruginosa QS sinyal mekanizmasında görev alan 4JVI PDB kodlu reseptör proteinin liken sekonder kütüphanesi ile gerçekleştirilen moleküler kenetlenme sonuçlarına göre en yüksek kenetlenme skoru veren metabolitler Tablo 3.4'te gösterilmiştir.

Tablo 3.4. 4JVI proteini ile liken sekonder metabolitlerinin moleküler kenetlenme sonucu elde edilen skorlar.

Liken Sekonder Metabolitler	4JVI Kenetlenme Skorları (kcal/mol)
Ethyl orsellinate	-6.935
Methyl orsellinate	-6.601
Perylene	-6.294
Methyl gyrophorate	-6.267

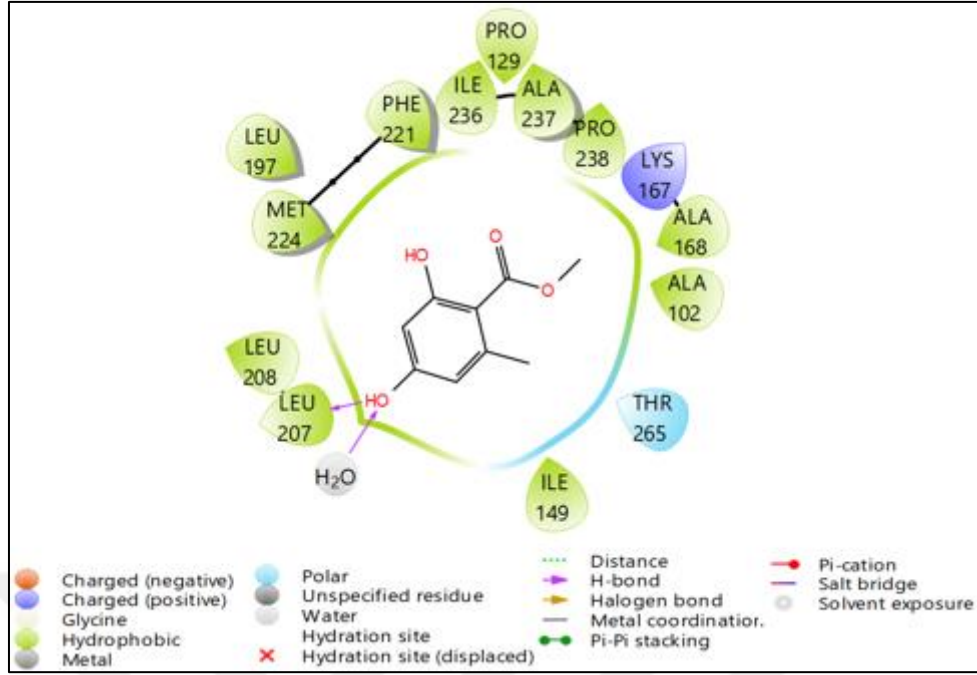
Adenosylhopane	-6.151
Peltigerine	-6.105
Penisillik asit	-4.792

4JVI PDB kodlu reseptör protein ile en yüksek kenetlenme skorları elde edilen 6 liken sekonder metabolitin ligand etkileşim diyagramları Şekil 3.14 ile Şekil 3.19 arasında belirtilmiştir.



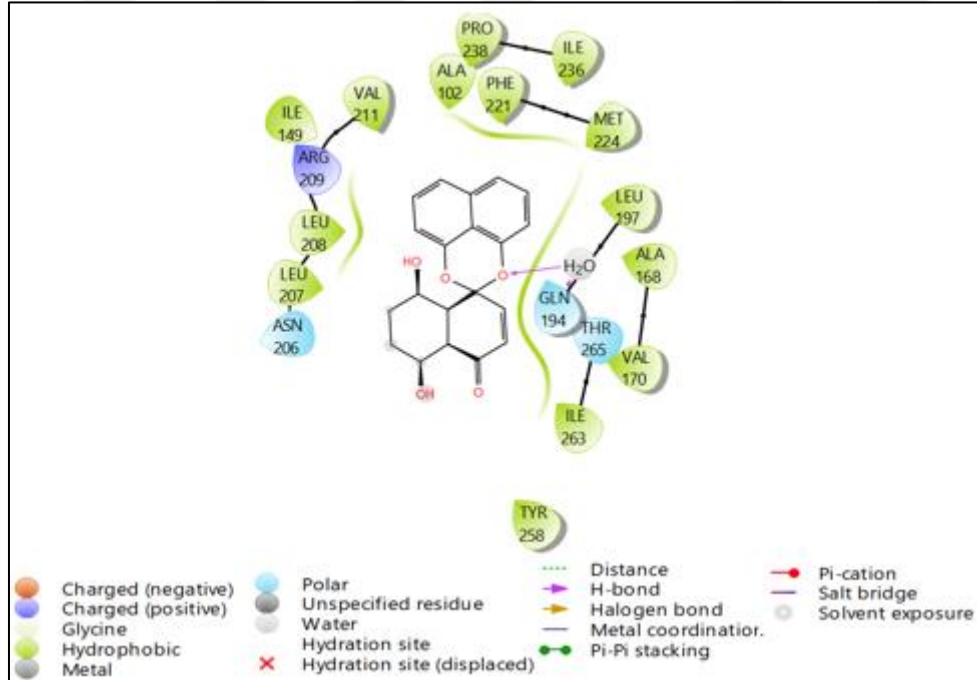
Şekil 3.14. PDB 4JVI kodlu protein ile ethyl orsellinate sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -6.935).

4JVI - ethyl orsellinate kompleksinde ethyl orsellinate; LEU207 ile hidrojen bağı etkileşimi kurmuştur.



Şekil 3.15. PDB 4JVI kodlu protein ile methyl orsellinate sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -6.601).

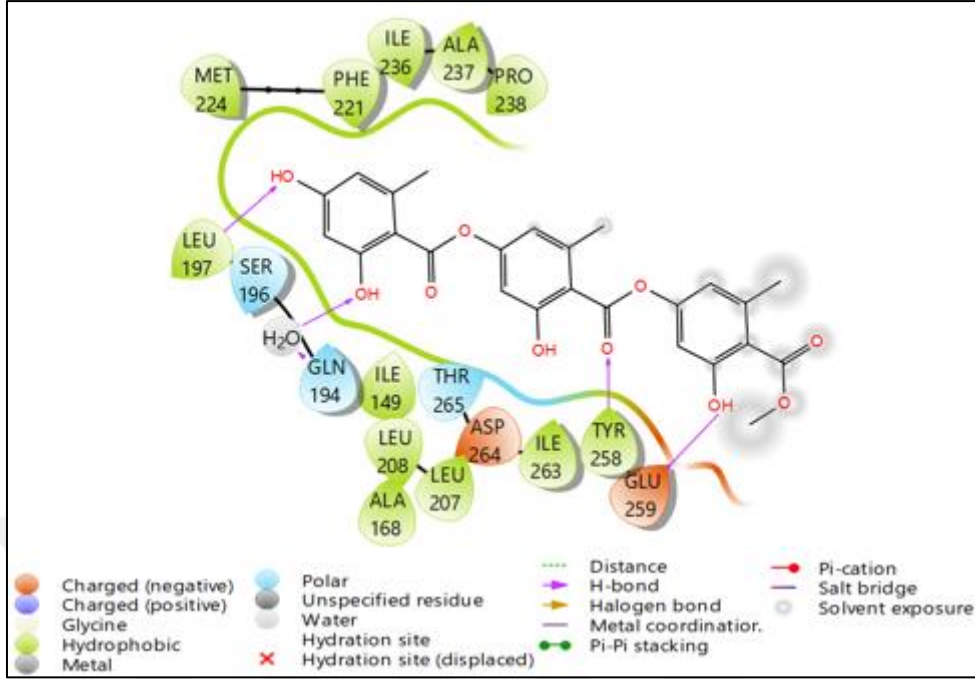
4JVI - methyl orsellinate kompleksinde methyl orsellinate; LEU207 ile hidrojen bağı etkileşimi kurmuştur.



Şekil 3.16. PDB 4JVI kodlu protein ile perylene sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -6.294).

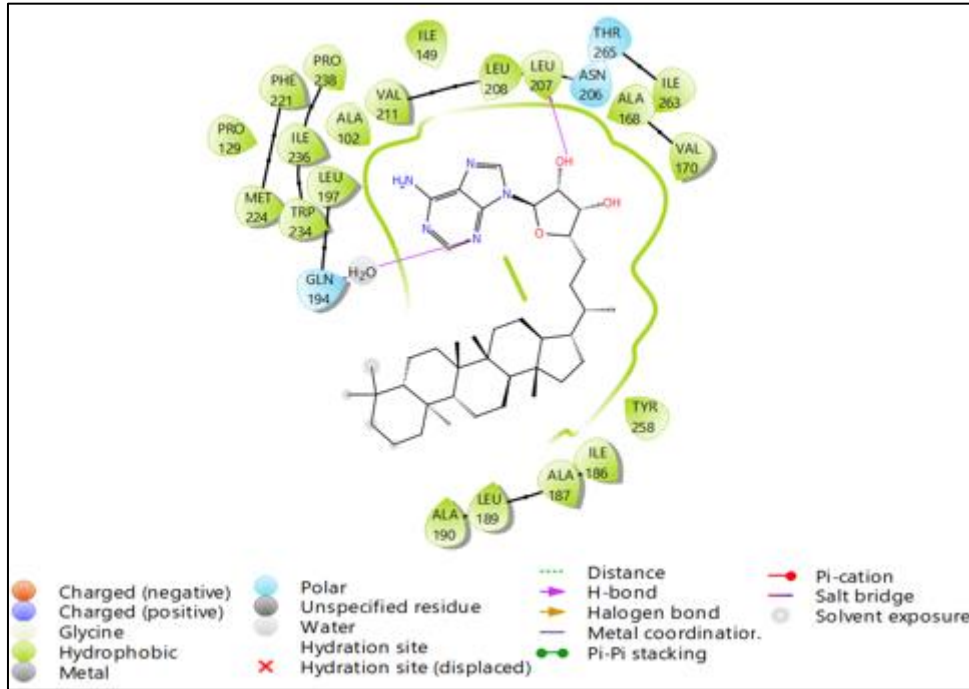
4JVI - perylene kompleksinde perylene; su molekülleri ile hidrojen bağı etkileşimi

kurmuştur.



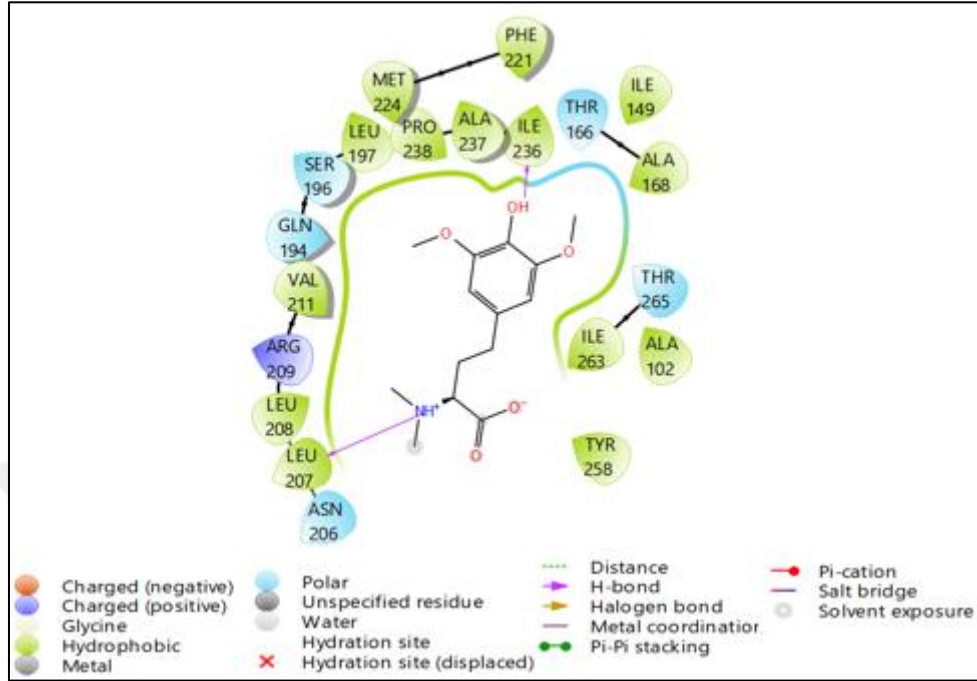
Şekil 3.17. PDB 4JVI kodlu protein ile methyl gyrophorate sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -6.267).

4JVI - methyl gyrophorate kompleksinde methyl gyrophorate; LEU197, TYR258 ve GLU259 ile hidrojen bağı etkileşimi kurmuştur.



Şekil 3.18. PDB 4JVI kodlu protein ile adenosylhopane sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -6.151).

4JVI - adenosylhopane kompleksinde adenosylhopane; LEU207 ile hidrojen bağı etkileşimi kurmuştur.



Şekil 3.19. PDB 4JVI kodlu protein ile peltigerine sekonder metabolitine ait ligand etkileşim diyagramı (Kenetlenme skoru: -6.105).

4JVI - peltigerine kompleksinde peltigerine; LEU207 ve ILE236 ile hidrojen bağı etkileşimi kurmuştur.

3.1.1.3. MetaCore / MetaDrug Analizleri

Literatür taramaları ve moleküler kenetlenme simülasyonları sonucu elde edilen 24 adet liken sekonder metaboliti ve literatürce bilinen QSI molekül olan penisillik asidi içeren molekül kütüphanesinin MetaCore / MetaDrug analizleri sonucunda terapötik aktivite ve QSAR toksisite modellerinden başarılı olan moleküller ön çalışma olarak saptanmıştır. Tablo 3.5’te ve Tablo 3.6’da çalışmada kullanılan moleküllerin MetaCore / MetaDrug analizleri sonucunda elde edilen 10 adet molekülün terapötik aktivite ve toksisite etki tahminleri belirtilmiştir.

Tablo 3.5. Liken sekonder metabolit moleküllerinin terapötik etkilerinin tahmin verileri.

Terapötik Aktivite Tahmini (TP)					
Moleküller / Metabolitler	Bakteriyel	Kanser	Ağrı	İltihap	Deri Hastalığı
Adenosylhopane	0.63 (60.70)	0.63 (81.60)	0.41 (40.40)	0.24 (36.94)	0.36 (43.60)
Ethyl orsellinate	0.41 (59.57)	0.24 (45.33)	0.66 (60.38)	0.24 (56.15)	0.79 (46.49)
Evernik asit	0.34 (70.49)	0.52 (50.62)	0.29 (78.30)	0.43 (63.79)	0.70 (44.07)
Lekanorik asit	0.30 (70.49)	0.35 (50.62)	0.39 (78.30)	0.49 (63.79)	0.72 (44.07)
Methyl evernate	0.37 (70.49)	0.51 (50.62)	0.28 (78.30)	0.43 (63.79)	0.71 (44.07)
Methyl gyrophorate	0.60 (70.49)	0.41 (50.62)	0.00 (78.30)	0.18 (63.79)	0.78 (44.07)
Methyl lecanorate	0.35 (70.49)	0.34 (50.62)	0.24 (78.30)	0.43 (63.79)	0.73 (44.07)
Methyl orsellinate	0.42 (65.12)	0.28 (48.11)	0.82 (65.31)	0.23 (56.73)	0.78 (41.96)
Perylene	0.56 (21.74)	0.83 (89.47)	0.73 (18.75)	0.59 (22.39)	0.80 (24.53)
Peltigerine	0.40 (58.59)	0.19 (58.04)	0.52 (58.04)	0.14 (59.23)	0.36 (58.33)
Penisillik asit	0.47 (32.94)	0.26 (34.78)	0.81 (29.91)	0.26 (37.04)	0.79 (29.85)

Tablo 3.5'te liken metabolit kütüphanesine ve penisillik asit moleküllerine ait terapötik aktivite analizlerinde 5 adet hastalığa ait QSAR modeli belirtilmektedir. Terapötik aktivite değerleri ≥ 0.50 den yüksek olan değerler moleküllerin belirtilen QSAR modelinde aktivitenin olumlu yönde olduğuna işaret etmektedir ve yeşil renk ile belirtilmektedir. Kırmızı ile işaretlenen kısımlarda belirtilen QSAR modelinde molekülün terapötik aktivitelerinin olmadığını belirtmektedir.

Tablo 3.6. Liken sekonder metabolit moleküllerinin toksik etkilerinin tahmin verileri.

Toksosite Etkileri Tahmini (TP)											
Etkinlikler	Adenosylhopane	Ethyl orsellinate	Evernik asit	Lekanorik asit	Methyl evernate	Methyl gyrophorate	Methyl lecanorate	Methyl orsellinate	Perylene	Peltigerine	Penisillik asit
AMES	0.49 (49.80)	0.12 (78.02)	0.45 (78.30)	0.48 (78.30)	0.52 (78.30)	0.19 (78.30)	0.59 (78.30)	0.16 (79.75)	0.84 (100.00)	0.56 (48.55)	0.19 (31.76)
Sitotoksik model, -log GI50 (M)	5.10 (82.83)	4.77 (69.61)	5.03 (53.60)	5.01 (53.60)	5.20 (53.60)	5.34 (53.60)	5.00 (53.60)	4.74 (65.00)	5.01 (36.59)	5.08 (60.84)	4.76 (38.68)
MRTD Maksimum Terapötik Doz	0.48 (91.03)	0.62 (67.82)	0.33 (63.79)	0.24 (63.79)	0.33 (63.79)	0.17 (63.79)	0.33 (63.79)	0.68 (74.68)	0.37 (21.88)	0.72 (62.30)	1.42 (37.04)
Anemi	0.14 (72.24)	0.41 (46.61)	0.27 (50.62)	0.40 (50.62)	0.23 (50.62)	0.16 (50.62)	0.26 (50.62)	0.52 (42.24)	0.89 (100.00)	0.53 (47.29)	0.57 (36.65)
Karsinojenite	0.13 (91.03)	0.41 (62.93)	0.14 (63.79)	0.16 (63.79)	0.15 (63.79)	0.03 (63.79)	0.13 (63.79)	0.34 (56.73)	0.89 (100.00)	0.29 (59.23)	0.45 (37.72)
Dişi Farede Karsinojenite	0.12 (91.03)	0.27 (55.81)	0.18 (63.79)	0.14 (63.79)	0.14 (63.79)	0.11 (63.79)	0.15 (63.79)	0.29 (56.73)	0.71 (78.95)	0.29 (56.20)	0.49 (30.51)
Erkek Farede Karsinojenite	0.17 (77.19)	0.47 (55.81)	0.15 (47.15)	0.08 (47.15)	0.14 (47.15)	0.03 (47.15)	0.06 (47.15)	0.40 (50.78)	0.85 (100.00)	0.33 (56.20)	0.53 (30.00)
Dişi Sıçanda Karsinojenite	0.10 (91.03)	0.35 (53.91)	0.13 (63.79)	0.09 (63.79)	0.11 (63.79)	0.03 (63.79)	0.13 (63.79)	0.34 (56.73)	0.91 (100.00)	0.32 (55.70)	0.44 (37.72)
Erkek Sıçanda Karsinojenite	0.12 (60.70)	0.54 (56.48)	0.28 (63.79)	0.27 (63.79)	0.28 (63.79)	0.05 (63.79)	0.28 (63.79)	0.54 (56.73)	0.92 (100.00)	0.36 (55.70)	0.56 (37.72)
Kardiyotoksisite	0.57 (67.07)	0.88 (44.60)	0.62 (58.27)	0.62 (58.27)	0.88 (58.27)	0.84 (58.27)	0.88 (58.27)	0.88 (47.33)	0.77 (15.38)	0.68 (53.02)	0.65 (26.45)
Genotoksisite	0.17 (91.03)	0.35 (54.95)	0.20 (63.79)	0.20 (63.79)	0.20 (63.79)	0.10 (63.79)	0.20 (63.79)	0.51 (57.29)	0.68 (57.58)	0.64 (62.30)	0.46 (30.51)
Hepatoksisite	0.23 (91.03)	0.75 (65.22)	0.58 (63.79)	0.60 (63.79)	0.58 (63.79)	0.43 (63.79)	0.53 (63.79)	0.79 (67.09)	0.92 (100.00)	0.58 (59.38)	0.81 (100.00)
Nefrotoksisite	0.20 (73.23)	0.72 (69.61)	0.44 (70.94)	0.45 (70.94)	0.42 (70.94)	0.37 (70.94)	0.41 (70.94)	0.69 (67.09)	0.84 (100.00)	0.51 (47.77)	0.60 (37.04)
Nörotoksisite	0.20 (71.96)	0.75 (52.88)	0.47 (45.90)	0.65 (45.90)	0.47 (45.90)	0.16 (45.90)	0.56 (45.90)	0.68 (57.29)	0.67 (27.59)	0.52 (55.70)	0.73 (28.37)
Karaciğer	0.35	0.65	0.70	0.70	0.70	0.60	0.70	0.65	0.65	0.64	0.65

Kolestazı	(44.72)	(53.91)	(63.79)	(63.79)	(63.79)	(63.79)	(63.79)	(56.73)	(42.11)	(62.30)	(27.73)
Karaciğer Lipid Birikimi	0.34 (91.03)	0.49 (60.92)	0.58 (70.94)	0.58 (70.94)	0.58 (70.94)	0.48 (70.94)	0.58 (70.94)	0.60 (67.09)	0.65 (58.06)	0.46 (59.38)	0.61 (30.82)
Karaciğer Nekrozu	0.23 (91.03)	0.68 (55.96)	0.59 (45.81)	0.49 (45.81)	0.61 (45.81)	0.39 (45.81)	0.62 (45.81)	0.84 (50.00)	0.98 (32.65)	0.93 (59.38)	0.20 (28.92)
Karaciğer Büyümesi	0.21 (44.72)	0.59 (65.22)	0.43 (70.94)	0.43 (70.94)	0.43 (70.94)	0.31 (70.94)	0.43 (70.94)	0.74 (66.28)	0.99 (100.00)	0.83 (59.38)	0.61 (28.75)
Böbrek Nekrozu	0.23 (67.07)	0.64 (60.92)	0.47 (63.79)	0.37 (63.79)	0.48 (63.79)	0.42 (63.79)	0.48 (63.79)	0.67 (67.09)	0.82 (27.59)	0.69 (58.33)	0.65 (27.71)
Böbrek Büyümesi	0.13 (71.67)	0.90 (65.22)	0.43 (50.62)	0.68 (50.62)	0.31 (50.62)	0.21 (50.62)	0.41 (50.62)	0.90 (58.24)	0.88 (26.67)	0.51 (44.23)	0.87 (28.75)
Nefron Hasarı	0.18 (73.23)	0.79 (60.64)	0.36 (63.79)	0.28 (63.79)	0.36 (63.79)	0.17 (63.79)	0.35 (63.79)	0.77 (66.28)	0.94 (100.00)	0.51 (51.02)	0.73 (37.04)
Cilt Hassasiyeti	19.95 (26.33)	22.04 (63.39)	20.45 (69.81)	19.84 (69.81)	19.28 (69.81)	19.36 (69.81)	19.57 (69.81)	20.49 (59.09)	4.81 (46.88)	9.56 (58.18)	20.47 (28.57)
Nazal Patoloji	0.07 (33.00)	0.35 (47.37)	0.12 (60.45)	0.09 (60.45)	0.16 (60.45)	0.19 (60.45)	0.14 (60.45)	0.49 (49.21)	0.59 (78.95)	0.24 (55.00)	0.65 (27.45)
Testis Toksisitesi	0.38 (46.56)	0.38 (78.02)	0.43 (60.45)	0.43 (60.45)	0.46 (60.45)	0.29 (60.45)	0.49 (60.45)	0.39 (71.11)	0.88 (100.00)	0.23 (59.23)	0.28 (37.04)
Akciğer Toksisitesi	0.13 (91.03)	0.65 (54.46)	0.28 (49.54)	0.27 (49.54)	0.28 (49.54)	0.14 (49.54)	0.27 (49.54)	0.52 (48.65)	0.94 (100.00)	0.43 (49.57)	0.43 (32.94)
Epididim Toksisitesi	0.25 (46.56)	0.72 (69.15)	0.62 (50.85)	0.60 (50.85)	0.72 (50.85)	0.62 (50.85)	0.67 (50.85)	0.72 (64.13)	0.86 (100.00)	0.35 (59.23)	0.49 (37.04)

Tablo 3.6’da liken metabolit kütüphanesine ve penisillik asit moleküllerine ait 26 adet QSAR modelinde toksisite tahminleri verilmiştir. Toksisite değerleri ≥ 0.50 den yüksek olan değerler moleküllerin belirtilen QSAR modelinde toksik olduğuna işaret etmektedir ve kırmızı renk ile belirtilmektedir. Yeşil ile işaretlenen kısımlarsa belirtilen QSAR modelinde molekülün toksik olmadığını belirtmektedir.

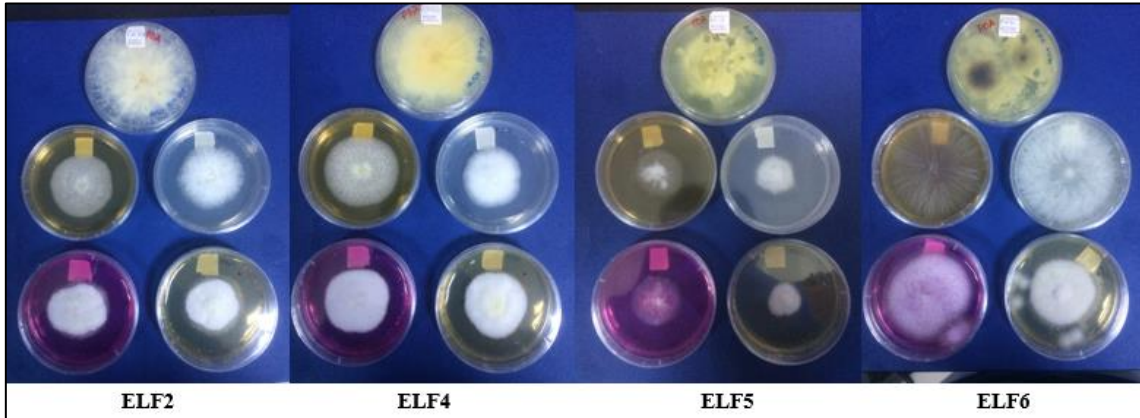
3.1.2. *In vitro*:

3.1.2.1. Liken Türleri

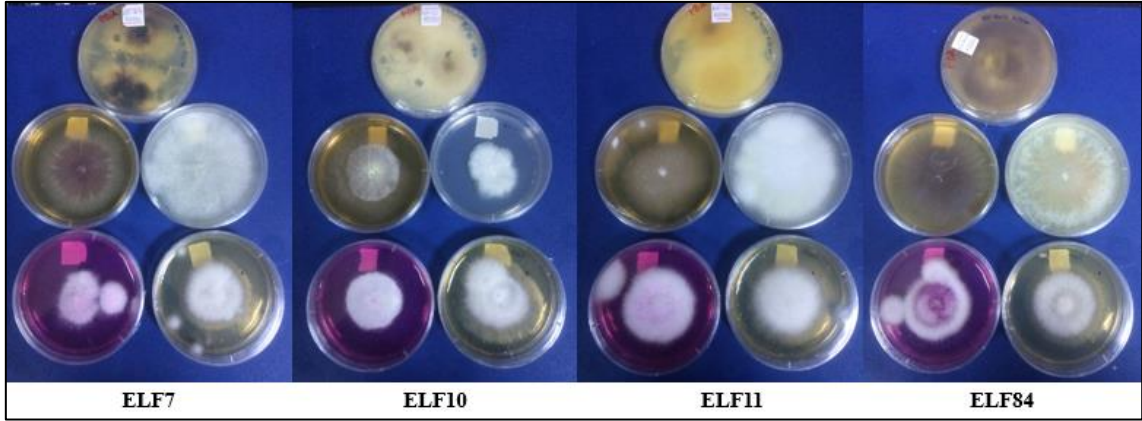
Bursa-Kestel (40°08'45.0676"N 29°17'44.2318"E 700m), Bursa-Kestel (40°06'22.2995"N 29°17'28.5762"E 1400m), Bursa-Kestel (40°06'12.5973"N 29°17'16.8171"E 1500m), Bursa-Kestel (40°06'08.7222"N 29°17'15.1792"E 1600m), Bursa-Uludağ (40°06'58.4"N 29°17'10.0"E 1800m) ve Artvin-Borçka (41°23'18.3"N 41°51'18.3"E 1480m), bölgelerinden toplanan *Peltigera* cinsine ait oldukları düşünülen liken örneklerinin morfolojik olarak tür tayinleri gerçekleştirilmiştir. Tür tayinleri sırasında temel kaynak olarak Smith ve ark. (2009) kullanılmıştır. Bursa-Kestel, Bursa-Uludağ ve Artvin-Borçka bölgelerinden toplanan liken örnekleri sırasıyla *Peltigera sp.*, *Peltigera praetextata* ve *Peltigera horizontalis* türleri olarak teşhis edilmişlerdir.

3.1.2.2. ELF'lerin Morfolojik ve Moleküler Tür Tayinleri

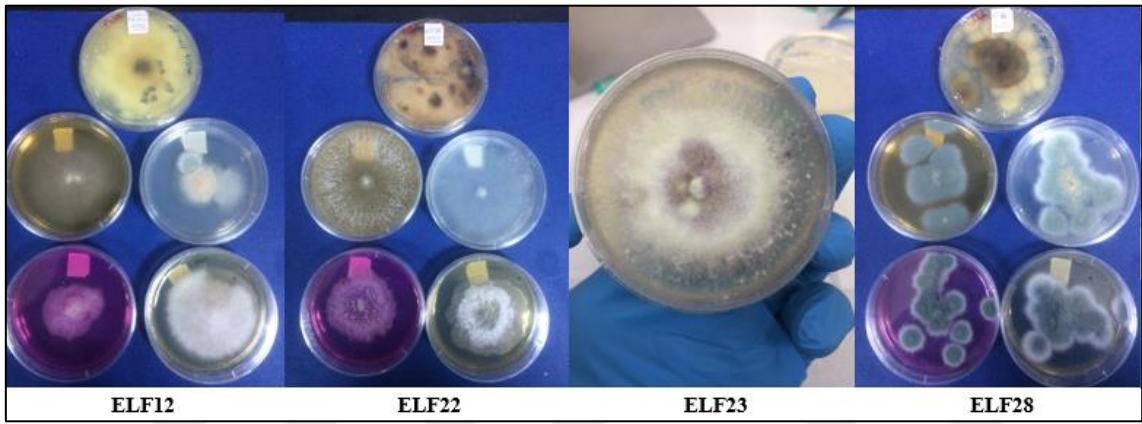
Peltigera sp. türü likeninden ELF2, ELF4, ELF5, ELF6, ELF7, ELF10, ELF11 ve ELF84 kodları olmak üzere 8 adet ELF türü izole edilmiştir. *P. horizontalis* türü likeninden ELF12, ELF22, ELF23, ELF28, ELF33, ELF59, ELF79 ve ELF104 kodları olmak üzere 8 adet ELF türü izole edilmiştir. *P. praetextata* türü likeninden ELF21, ELF37, ELF52, ELF60, ELF69, ELF102 ve ELF103 kodları olmak üzere 7 adet ELF türü izole edilmiştir. İzole edilen tüm ELF'lerin morfolojik ve moleküler tür tayinleri yapılmıştır.



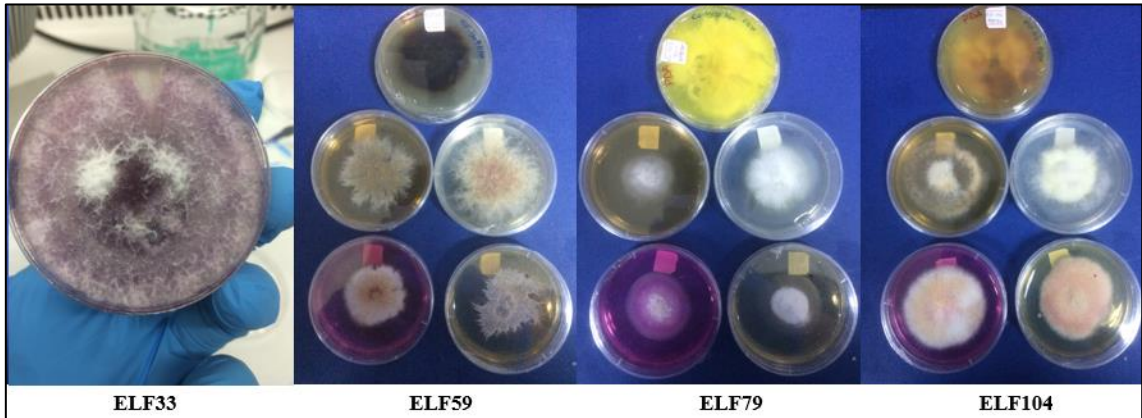
Şekil 3.20. *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF'lerin grup1 morfolojik görüntüleri



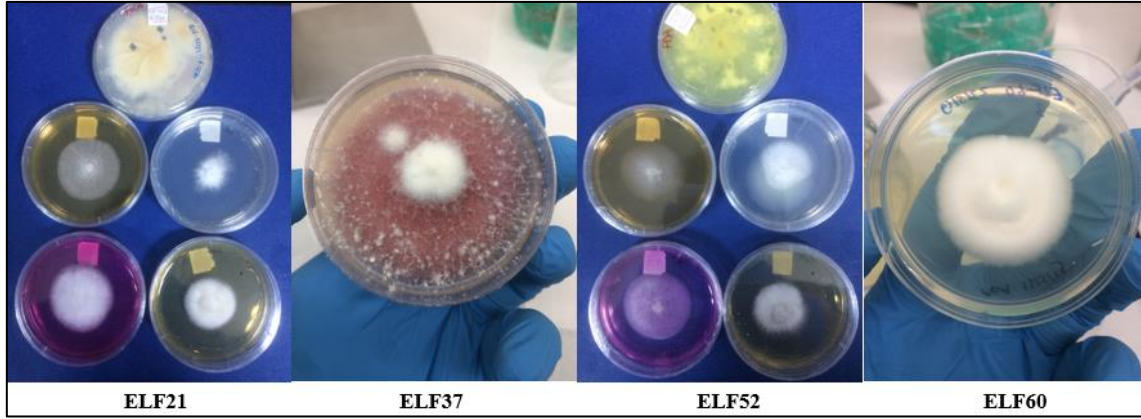
Şekil 3.21. *Peltigera* sp. likeninden izole edilen ELF'lerin grup2 morfolojik görüntüleri



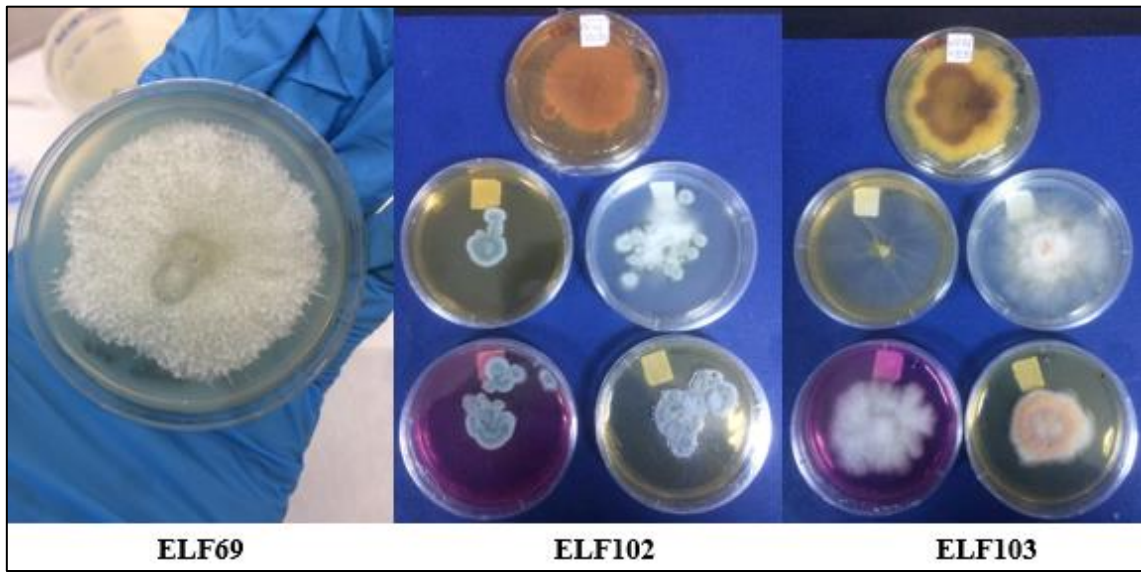
Şekil 3.22. *P. horizontalis* likeninden izole edilen ELF'lerin grup1 morfolojik görüntüleri



Şekil 3.23. *P. horizontalis* likeninden izole edilen ELF'lerin grup2 morfolojik görüntüleri



Şekil 3.24. *P. praetextata* likeninden izole edilen ELF'lerin grup1 morfolojik görüntüleri



Şekil 3.25. *P. praetextata* likeninden izole edilen ELF'lerin grup2 morfolojik görüntüleri

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Clonostachys rosea isolate ZB11060971 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	270	270	96%	1e-68	100.00%	KX783357.1
Clonostachys rosea voucher SWFUYHL2-5 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	267	267	94%	1e-67	100.00%	MG857582.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203184 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	265	265	94%	5e-67	100.00%	MK870442.1
Trichoderma sp. isolate yi0337_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	265	265	94%	5e-67	100.00%	MH284311.1
Clonostachys rosea strain 3WBY1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	265	265	94%	5e-67	100.00%	KU350700.1
Clonostachys rosea strain LQC 62 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	263	263	93%	2e-66	100.00%	MG489966.1
Clonostachys rosea strain Zbf-R3 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	254	254	90%	1e-63	100.00%	KX064981.1
Bionectria ochroleuca strain MS-05 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	252	252	89%	4e-63	100.00%	JX675045.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203703 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	267	267	96%	1e-67	99.32%	MK870437.1
Trichoderma sp. isolate yi0332_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	267	267	96%	1e-67	99.32%	MH284310.1

Şekil 3.26. *Peltigera* sp. likeninden izole edilen ELF2 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Uncultured fungus clone 035A9743 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	68.0	68.0	96%	2e-08	89.09%	JX364246.1
Uncultured fungus clone 034A2406 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	68.0	68.0	96%	2e-08	89.09%	JX320109.1
<i>Clonostachys rosea</i> strain CanS-56 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene	68.0	68.0	96%	2e-08	89.09%	JF817331.1
Uncultured fungus clone 036A27444 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	65.3	65.3	96%	2e-07	88.89%	JX381551.1
Uncultured fungus clone 034A2175 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	65.3	65.3	96%	2e-07	88.89%	JX319884.1
Uncultured fungus clone Singleton (236-1579 3267) 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete	65.3	65.3	96%	2e-07	88.89%	FJ779986.1
Uncultured fungus clone 036A22141 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	64.4	64.4	92%	2e-07	88.68%	JX376361.1
Uncultured fungus genes for 18S rRNA, ITS1 and 5.8S rRNA, partial sequence, clone: K4-28	65.3	65.3	98%	2e-07	87.50%	AB581097.1
<i>Clonostachys rosea</i> isolate 18-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer	63.5	63.5	96%	8e-07	87.27%	MT463392.1
<i>Clonostachys rosea</i> isolate Potato root internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed	63.5	63.5	96%	8e-07	87.27%	MT448899.1

Şekil 3.27. *Peltigera* sp. likeninden izole edilen ELF2 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF2 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %100 *Clonostachys rosea*, %100 *Trichoderma* sp. ve %89,09 *Clonostachys rosea* türü funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<i>Clonostachys rosea</i> strain GFR45 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA	244	244	86%	7e-61	100.00%	MT447550.1
<i>Clonostachys</i> sp. strain ZMGRS2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal	244	244	86%	7e-61	100.00%	MT446186.1
Uncultured fungus clone 4248 575 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal	244	244	86%	7e-61	100.00%	MT236638.1
Fungal sp. isolate W10 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal tra	244	244	86%	7e-61	100.00%	MK177182.1
<i>Clonostachys rosea</i> isolate SRRB-150 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S rib	244	244	86%	7e-61	100.00%	MT003112.1
<i>Clonostachys rosea</i> isolate SRRB-71 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribe	244	244	86%	7e-61	100.00%	MT003072.1
<i>Clonostachys rosea</i> isolate 2sidE3C2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosom	244	244	86%	7e-61	100.00%	MK752440.1
<i>Clonostachys rosea</i> isolate 1sidE4C2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosom	244	244	86%	7e-61	100.00%	MK752439.1
<i>Clonostachys rosea</i> isolate MzE3C3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosom	244	244	86%	7e-61	100.00%	MK752438.1
<i>Clonostachys rosea</i> isolate R2R small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosom	244	244	86%	7e-61	100.00%	MK752436.1

Şekil 3.28. *Peltigera* sp. likeninden izole edilen ELF4 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fungal sp. isolate PS2326 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	67.1	67.1	94%	6e-08	90.38%	KY776180.1
Fungal sp. isolate PS1494 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	67.1	67.1	94%	6e-08	90.38%	KY775949.1
Uncultured fungus clone 036A23584 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	67.1	67.1	94%	6e-08	90.38%	JX377780.1
Uncultured fungus clone 036A21816 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	67.1	67.1	94%	6e-08	90.38%	JX376042.1
Uncultured fungus clone 036A19551 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	67.1	67.1	94%	6e-08	90.38%	JX373812.1
Uncultured fungus clone 036A27444 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	64.4	64.4	94%	2e-07	90.20%	JX381551.1
Uncultured fungus clone Singleton (236-1579 3267) 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete	64.4	64.4	94%	2e-07	90.20%	FJ779986.1
<i>Clonostachys rosea</i> isolate 18-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spa	62.6	62.6	94%	7e-07	88.46%	MT463392.1
<i>Clonostachys rosea</i> isolate Potato root internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrib	62.6	62.6	94%	7e-07	88.46%	MT448899.1
<i>Clonostachys rosea</i> strain GFR45 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal F	62.6	62.6	94%	7e-07	88.46%	MT447550.1

Şekil 3.29. *Peltigera* sp. likeninden izole edilen ELF4 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF4 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak,

sırasıyla %100 *Clonostachys rosea* ve %90,38 *Fungal sp.* türü funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Trichoderma sp. isolate SDAS203708 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	346	346	89%	3e-91	100.00%	MK871126.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203683 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	346	346	89%	3e-91	100.00%	MK871122.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203703 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	346	346	89%	3e-91	100.00%	MK870437.1
Trichoderma sp. isolate y0225_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	346	346	89%	3e-91	100.00%	MH285050.1
Trichoderma sp. isolate y0372_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	346	346	89%	3e-91	100.00%	MH285039.1
Trichoderma sp. isolate y0332_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	346	346	89%	3e-91	100.00%	MH284310.1
Clonostachys rosea isolate ZB11060971 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	346	346	89%	3e-91	100.00%	KX783357.1
Clonostachys rosea strain 3WBY1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	346	346	89%	3e-91	100.00%	KU350700.1
Clonostachys rosea strain Zbf-R3 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	337	337	87%	2e-88	100.00%	KX064981.1
Bionectria ochroleuca strain MS-05 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA and internal transcribed spacer 1	335	335	87%	6e-88	100.00%	JX875045.1

Şekil 3.30. *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF5 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Clonostachys rosea isolate ACM941 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene	359	359	96%	3e-95	99.00%	MK411420.1
Trichoderma sp. isolate y1252_1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	359	359	96%	3e-95	99.00%	MH284648.1
Clonostachys rosea strain pP3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	359	359	96%	3e-95	99.00%	KY703873.1
Clonostachys rosea strain CanS-48 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	359	359	96%	3e-95	99.00%	JF817324.1
Bionectria sp. Macof 02 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	359	359	96%	3e-95	99.00%	HQ731621.1
Bionectria ochroleuca strain ATCC 48395 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	359	359	96%	3e-95	99.00%	GU256754.1
Bionectria ochroleuca isolate SB_Bac6 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	359	359	96%	3e-95	99.00%	EU484314.1
Nectria gliocladioides 5.8S rRNA gene, 28S rRNA gene (partial), ITS1 (partial) and ITS2, strain S9A6	359	359	96%	3e-95	99.00%	AJ509864.1
Clonostachys rosea strain qiz6 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	355	355	96%	4e-94	98.51%	KX058045.1
Fungal sp. BVK-SMA-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete	355	355	96%	4e-94	98.51%	KM000126.1

Şekil 3.31. *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF5 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF5 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %100 *Trichoderma sp.*, %100 *Clonostachys rosea*, %100 *Bionectria ochroleuca* ve %99 *Clonostachys rosea*, %99 *Trichoderma sp.*, %99 *Bionectria sp.* türü funguslarına benzerlik göstermiştir.

moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Gibberella thapsina clone 9 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and in	348	348	97%	7e-92	98.97%	GU257902.1
Fusarium sp. strain blx-2-66 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RN	344	344	96%	9e-91	98.96%	MN944553.1
Fusarium verticillioides isolate PFSRFv81 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribos	344	344	96%	9e-91	98.96%	MN652648.1
Fusarium verticillioides isolate PFSRFv27 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribos	344	344	96%	9e-91	98.96%	MN652642.1
Fungal sp. isolate PDR7 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene,	344	344	96%	9e-91	98.96%	MN256658.1
Fusarium proliferatum isolate FF103 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S riboso	344	344	96%	9e-91	98.96%	MN004768.1
Fusarium verticillioides isolate FM15 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S riboso	344	595	96%	9e-91	98.96%	MK790051.1
Fusarium verticillioides isolate FM14 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S riboso	344	344	96%	9e-91	98.96%	MK790050.1
Fusarium verticillioides isolate FM4 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S riboso	344	344	96%	9e-91	98.96%	MK790043.1
Fusarium verticillioides isolate FM2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal f	344	652	96%	9e-91	98.96%	MK790042.1

Şekil 3.35. *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF7 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF7 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %100 *Fusarium oxysporum*, %100 *Gibberella intermedia* ve %98,97 *Gibberella thapsina*, %98,96 *Fusarium verticillioides* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Bionectria ochroleuca strain N SBA35(BJTC) 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal	180	180	90%	1e-41	99.00%	HQ385971.1
Clonostachys rosea strain LQC 62 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed sp	172	172	87%	2e-39	98.96%	MG489966.1
Clonostachys rosea isolate F8195 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed sp	171	171	86%	7e-39	98.95%	MN429245.1
Clonostachys rosea strain WBS027 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene	171	171	86%	7e-39	98.95%	KU350736.1
Clonostachys rosea strain 6WBK1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene,	171	171	86%	7e-39	98.95%	KU350709.1
Clonostachys rosea strain 6WBY4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene,	171	171	86%	7e-39	98.95%	KU350706.1
Clonostachys rosea strain E310 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spac	169	169	85%	3e-38	98.94%	KJ540101.1
Clonostachys rosea voucher MO367749 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcrip	167	167	84%	9e-38	98.92%	MN055899.1
Clonostachys rosea strain Zbf-R3 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed sp	167	167	84%	9e-38	98.92%	KX064981.1
Bionectria ochroleuca strain MS-05 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA and internal transcribed spacer	165	165	83%	3e-37	98.91%	JX675045.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203703 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcriber	180	180	93%	1e-41	98.06%	MK870437.1

Şekil 3.36. *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF10 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Clonostachys sp. strain ZMGRS2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	1018	1018	95%	0.0	100.00%	MT446186.1
Clonostachys sp. isolate PCR34 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	1018	1018	95%	0.0	100.00%	KY436102.1
Clonostachys sp. OTU073 AN-2016 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	1018	1018	95%	0.0	100.00%	KU556555.1
Clonostachys rosea strain PAL413RZ 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	1014	1014	95%	0.0	100.00%	KM519669.1
Ascomycota sp. isolate LTS538 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	1002	1002	94%	0.0	100.00%	MH430684.1
Clonostachys rosea isolate CLR small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	996	996	93%	0.0	100.00%	MN186772.1
Uncultured fungus clone ZB041603612(42) small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	1020	1020	96%	0.0	99.82%	MF962949.1
Clonostachys rosea strain CBS 226.48 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	1003	1003	94%	0.0	99.82%	MH856318.1
Clonostachys rosea strain FIEF-P3 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	1002	1002	94%	0.0	99.82%	MF281323.2
Clonostachys rosea isolate HP111 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	1000	1000	94%	0.0	99.82%	KT323180.2
Hypocreales sp. r158 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence and internal transcribed spacer 2, partial sequence	996	996	94%	0.0	99.82%	HQ649882.1
Fungal sp. strain inoculum M2-1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	1029	1029	97%	0.0	99.65%	MN096589.1

Şekil 3.37. *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF10 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF10 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %99 *Bionectria ochroleuca*, %98,96 *Clonostachys rosea* ve %100 *Clonostachys sp.*, %100 *Clonostachys rosea* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium proliferatum isolate 9-17-F_D05 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	99.0	99.0	70%	2e-17	96.67%	KX529087.1
Fusarium proliferatum isolate TY190-26 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	99.0	99.0	70%	2e-17	96.61%	MT090018.1
Fusarium sp. isolate 23 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	99.0	99.0	70%	2e-17	96.61%	MH389052.1
Uncultured Fusarium clone CDR2C29 internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	99.0	99.0	70%	2e-17	96.61%	KJ591743.1
Fusarium proliferatum strain CEF-026 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	99.0	99.0	70%	2e-17	96.61%	KF998982.1
Fusarium fujikuroi strain DC-1-77 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	99.0	99.0	70%	2e-17	96.61%	KC215122.1
Gibberella intermedia strain Af/4/1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	99.0	99.0	70%	2e-17	96.61%	JN624882.1
Gibberella intermedia strain MD-13 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	99.0	99.0	70%	2e-17	96.61%	JQ886421.1
Fusarium proliferatum isolate TY190-34 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	97.1	97.1	69%	8e-17	96.55%	MT090024.1
Fusarium fujikuroi clone LS199 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	97.1	97.1	69%	8e-17	96.55%	MN955528.1
Clonostachys rosea strain E310 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	102	102	77%	2e-18	95.38%	KJ540094.1

Şekil 3.38. *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF11 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Uncultured fungus clone Singleton (211-1675_3125) 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	75.2	75.2	88%	2e-10	92.45%	FJ781774.1
Uncultured fungus clone 107A62594 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	74.3	74.3	88%	6e-10	90.57%	JX328781.1
Fusarium sp. F6020TNW-T internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	74.3	74.3	88%	6e-10	90.57%	KF293363.1
Uncultured Fusarium clone OTU49 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	70.7	70.7	88%	7e-09	89.29%	KM871006.1
Uncultured Fusarium clone OTU76 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	69.8	69.8	88%	7e-09	89.29%	KM871034.1
Uncultured fungus clone 039A55146 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	68.0	68.0	88%	2e-08	88.89%	JX346390.1
Fusarium oxysporum isolate TVD_Fungal-Culture73 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	69.8	69.8	88%	7e-09	88.68%	KF494071.1
Fusarium verticillioides isolate Sab.I.Aq internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	66.2	66.2	85%	9e-08	88.24%	MH520063.1
Uncultured Fusarium clone OTU41 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	68.9	68.9	88%	2e-08	87.72%	KM870998.1
Uncultured Fusarium clone OTU30 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	68.0	68.0	88%	2e-08	87.72%	KM870987.1

Şekil 3.39. *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF11 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF11 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %96,67 *Fusarium proliferatum* ve %92,45 *Uncultured fungus* funguslarına benzerlik göstermiştir.

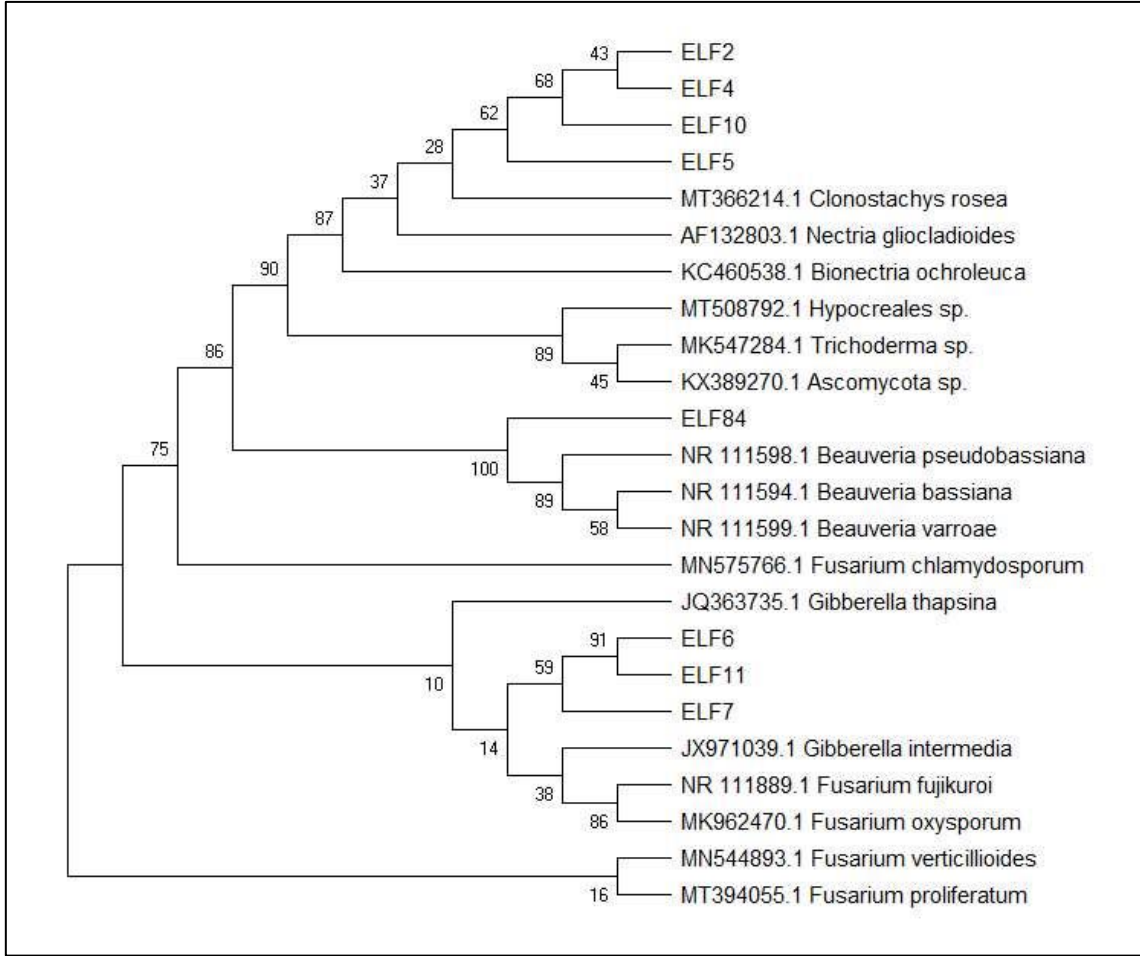
Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Beauveria varroae internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	252	252	94%	4e-63	98.60%	KU058600.1
Beauveria bassiana strain MTCC 9968 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	252	252	94%	4e-63	98.60%	JQ266153.1
Beauveria bassiana 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 2, complete	252	252	94%	4e-63	98.60%	JF792883.1
Beauveria pseudobassiana genomic DNA sequence contains ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, strain TM1529	241	241	90%	8e-60	98.54%	LT220537.1
Uncultured fungus clone 9 9 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete	246	246	94%	2e-61	97.92%	MF156038.1
Beauveria sp. strain BUB732 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete	246	246	94%	2e-61	97.92%	MG642829.1
Beauveria sp. strain BUB283 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete	246	246	94%	2e-61	97.92%	MG642828.1
Beauveria sp. strain BUB205 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete	246	246	94%	2e-61	97.92%	MG642827.1
Beauveria varroae strain FUM03-saz small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete	246	246	94%	2e-61	97.92%	MF667767.1
Beauveria varroae isolate B4 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete	246	246	94%	2e-61	97.92%	MH374535.1

Şekil 3.40. *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF84 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Beauveria bassiana isolate SUA16 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	73.4	73.4	71%	7e-10	95.92%	MT239489.1
Beauveria bassiana isolate SUA07 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	73.4	73.4	71%	7e-10	95.92%	MT239419.1
Beauveria bassiana isolate SUAm04 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	73.4	73.4	71%	7e-10	95.92%	MT239418.1
Beauveria bassiana isolate SUAI65 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	73.4	73.4	71%	7e-10	95.92%	MT239417.1
Beauveria bassiana isolate SUAI34 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	73.4	73.4	71%	7e-10	95.92%	MT239416.1
Beauveria bassiana isolate SUAI20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	73.4	73.4	71%	7e-10	95.92%	MT239415.1
Beauveria bassiana isolate SUAI55 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	73.4	73.4	71%	7e-10	95.92%	MT239414.1
Beauveria bassiana isolate SUAb31 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	73.4	73.4	71%	7e-10	95.92%	MT239413.1
Beauveria bassiana isolate SUAA46 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	73.4	73.4	71%	7e-10	95.92%	MT239412.1
Beauveria bassiana isolate SUAQ04 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete	73.4	73.4	71%	7e-10	95.92%	MT239411.1

Şekil 3.41. *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF84 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF84 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %98,60 *Beauveria bassiana* ve %95,92 *Beauveria bassiana* funguslarına benzerlik göstermiştir.



Şekil 3.42. *Peltigera* sp. likeninden izole edilen endolikenik fungusların BLAST sonuçlarına göre filogenetik ağaçlandırılması

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Trichoderma sp. isolate SDAS203708 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	350	350	95%	2e-92	98.48%	MK871126.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203683 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	350	350	95%	2e-92	98.48%	MK871122.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203184 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	350	350	95%	2e-92	98.48%	MK870442.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203703 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	350	350	95%	2e-92	98.48%	MK870437.1
Trichoderma sp. isolate y0225_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	350	350	95%	2e-92	98.48%	MH285050.1
Trichoderma sp. isolate y0372_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	350	350	95%	2e-92	98.48%	MH285039.1
Trichoderma sp. isolate y0337_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	350	350	95%	2e-92	98.48%	MH284311.1
Trichoderma sp. isolate y0332_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	350	350	95%	2e-92	98.48%	MH284310.1
Clonostachys rosea isolate ZB11060971 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	350	350	95%	2e-92	98.48%	KX783357.1
Clonostachys rosea strain 3WBY1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 1	350	350	95%	2e-92	98.48%	KU350700.1
Clonostachys rosea strain Zbf-R3 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	340	340	93%	1e-89	98.45%	KX064981.1
Bionectria ochroleuca strain MS-05 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA and internal transcribed spacer 1	339	339	92%	4e-89	98.44%	JX675045.1

Şekil 3.43. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF12 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Trichoderma sp. isolate yi1252 1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	335	335	93%	5e-88	98.43%	MH284648.1
Clonostachys rosea strain pP3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	335	335	93%	5e-88	98.43%	KY703873.1
Clonostachys rosea strain CanS-56 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	335	335	93%	5e-88	98.43%	JF817331.1
Clonostachys rosea strain CanS-48 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	335	335	93%	5e-88	98.43%	JF817324.1
Bionectria sp. Macof 02 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	335	335	93%	5e-88	98.43%	HQ731621.1
Bionectria ochroleuca strain ATCC 48395 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	335	335	93%	5e-88	98.43%	GU256754.1
Bionectria ochroleuca isolate SB Bac6 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	335	335	93%	5e-88	98.43%	EU484314.1
Nectria gliocladioides 5.8S rRNA gene, 28S rRNA gene (partial), ITS1 (partial) and ITS2, strain S9A6	335	335	93%	5e-88	98.43%	AJ509864.1
Clonostachys rosea isolate ACM941 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	333	333	92%	2e-87	98.42%	MK411420.1
Uncultured fungus clone 036A27802 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	333	333	94%	2e-87	97.93%	JX381893.1

Şekil 3.44. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF12 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF12 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %98,48 *Trichoderma sp.*, %98,48 *Clonostachys rosea* ve %98,48 *Trichoderma sp.*, %98,48 *Clonostachys rosea* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Trichoderma sp. isolate SDAS203708 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	257	257	92%	8e-65	100.00%	MK871126.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203683 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	257	257	92%	8e-65	100.00%	MK871122.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203184 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	257	257	92%	8e-65	100.00%	MK870442.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203703 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	257	257	92%	8e-65	100.00%	MK870437.1
Clonostachys rosea voucher SWFUYHL2-5 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	257	257	92%	8e-65	100.00%	MG857582.1
Trichoderma sp. isolate yi0225 1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	257	257	92%	8e-65	100.00%	MH285050.1
Trichoderma sp. isolate yi0372 1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	257	257	92%	8e-65	100.00%	MH285039.1
Trichoderma sp. isolate yi0337 1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	257	257	92%	8e-65	100.00%	MH284311.1
Trichoderma sp. isolate yi0332 1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	257	257	92%	8e-65	100.00%	MH284310.1
Clonostachys rosea isolate ZB11060971 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	257	257	92%	8e-65	100.00%	KX783357.1
Clonostachys rosea strain 3WB1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	257	257	92%	8e-65	100.00%	KU350700.1
Clonostachys rosea strain LQC 62 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	255	255	92%	3e-64	100.00%	MG489966.1
Clonostachys rosea strain Zb-R3 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	246	246	88%	2e-61	100.00%	KX064981.1
Bionectria ochroleuca strain MS-05 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	244	244	88%	6e-61	100.00%	JX675045.1

Şekil 3.45. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF22 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fungal sp. isolate PS2326 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	61.7	61.7	94%	2e-06	88.68%	KY776180.1
Fungal sp. isolate PS1494 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	61.7	61.7	94%	2e-06	88.68%	KY775949.1
Uncultured fungus clone 035A9743 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	61.7	61.7	94%	2e-06	88.68%	JX364246.1
Uncultured fungus clone 034A2406 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	61.7	61.7	94%	2e-06	88.68%	JX320109.1
Uncultured fungus clone 036A27444 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	59.0	59.0	94%	8e-06	88.46%	JX381551.1
Uncultured fungus clone Singleton (236-1579 3267) 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	59.0	59.0	94%	8e-06	88.46%	FJ779986.1
Clonostachys rosea isolate 18-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	57.2	57.2	94%	3e-05	86.79%	MT463392.1
Clonostachys rosea isolate Potato root internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	57.2	57.2	94%	3e-05	86.79%	MT448899.1
Clonostachys rosea strain GFR45 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	57.2	57.2	94%	3e-05	86.79%	MT447550.1
Clonostachys rosea strain GFRS26 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	57.2	57.2	94%	3e-05	86.79%	MT447494.1
Clonostachys sp. strain ZMGRS2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	57.2	57.2	94%	3e-05	86.79%	MT446186.1

Şekil 3.46. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF22 kodlu endolikenik

fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF22 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %100 *Trichoderma sp.*, %100 *Clonostachys rosea* ve %88,68 *Fungal sp.* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium proliferatum isolate LrBF16 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	235	235	96%	3e-58	100.00%	MG543734.1
Fusarium sp. isolate L41 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	233	233	96%	1e-57	100.00%	MG198910.1
Fusarium fujikuroi isolate LrBF8 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	231	231	95%	4e-57	100.00%	MG543726.1
Fusarium proliferatum isolate A9 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	226	226	93%	2e-55	100.00%	MT039382.1
Fusarium fujikuroi isolate DL3.2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	226	226	93%	2e-55	100.00%	MN947247.1
Fusarium verticillioides strain DFRP3 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	226	226	93%	2e-55	100.00%	MN871798.1
Fusarium verticillioides strain DFRP2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	226	226	93%	2e-55	100.00%	MN871797.1
Fusarium fujikuroi clone LS142 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	226	226	93%	2e-55	100.00%	MN871563.1
Fusarium circinatum isolate 1120150L2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	226	226	93%	2e-55	100.00%	MN559641.1
Fusarium proliferatum isolate MP1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	226	226	93%	2e-55	100.00%	MK105817.1

Şekil 3.47. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF23 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium mangiferae genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, isolate: 21	292	292	66%	4e-75	98.79%	LC131361.1
Fusarium sp. isolate GF6-1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	291	291	67%	1e-74	97.66%	MN504654.1
Fusarium fujikuroi strain YT-4 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	291	291	67%	1e-74	97.65%	MT477706.1
Fusarium dlamini strain YT-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	291	291	67%	1e-74	97.65%	MT477704.1
Curvularia senegalensis isolate 15-384 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	291	291	67%	1e-74	97.65%	MT476859.1
Fusarium fujikuroi strain 21P5B4-1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	291	291	67%	1e-74	97.65%	MT421938.1
Fusarium oxysporum isolate GW internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	291	291	67%	1e-74	97.65%	MT254999.1
Uncultured fungus clone S15 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	291	291	67%	1e-74	97.65%	MT252005.1
Uncultured fungus clone S12 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	291	291	67%	1e-74	97.65%	MT252004.1
Uncultured fungus clone F16 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	291	291	67%	1e-74	97.65%	MT252000.1

Şekil 3.48. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF23 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF23 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %100 *Fusarium proliferatum* ve %98,79 *Fusarium mangiferae* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Penicillium sp. isolate CG5int internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	224	224	83%	9e-55	97.01%	KY006829.1
Penicillium sp. KO23 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	220	220	83%	1e-53	96.27%	KJ639037.1
Penicillium polonicum isolate Cpp1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, complete sequence	217	217	81%	2e-52	96.21%	MK385644.1
Penicillium polonicum clone NS18 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	217	217	81%	2e-52	96.21%	KX268358.1
Penicillium polonicum strain HBU-114 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	211	211	80%	7e-51	96.12%	MN623481.1
Penicillium polonicum isolate PaF042 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	220	220	85%	1e-53	95.65%	KT962852.1
Penicillium polonicum isolate ContM5int internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, complete sequence	219	219	84%	4e-53	95.59%	KX944172.1
Penicillium echinulatum isolate SVUP internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	213	395	85%	2e-51	95.52%	MK258200.1
Penicillium sp. qv-Pen10 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	213	213	83%	2e-51	95.52%	JF909351.1
Penicillium tricolor strain P295_D1_2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	217	217	85%	2e-52	95.00%	JF311938.1
Penicillium sp. GZU-BCECA56-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	217	217	85%	2e-52	94.96%	GU565118.1
Penicillium sp. WZLA009 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	215	215	85%	6e-52	94.93%	JX029065.1
Penicillium melanocordium strain CBS 109605 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	213	213	84%	2e-51	94.89%	JN097810.1
Penicillium cyclopium strain CBS 123.14 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	213	213	85%	2e-51	94.33%	MH854633.1

Şekil 3.49. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF28 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Penicillium polonicum strain TBS417 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	187	187	86%	9e-44	97.30%	MK805454.1
Penicillium polonicum strain TBS412 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	187	187	86%	9e-44	97.30%	MK805453.1
Penicillium sp. isolate PSF557 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	187	187	86%	9e-44	97.30%	MK789196.1
Penicillium polonicum strain 18FB internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	187	187	86%	9e-44	97.30%	MT267821.1
Penicillium polonicum strain PF16 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	187	187	86%	9e-44	97.30%	MT267819.1
Penicillium polonicum isolate F141 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	187	187	86%	9e-44	97.30%	MN809123.1
Penicillium polonicum strain UBOCC-A-118176 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	187	187	86%	9e-44	97.30%	MT133792.1
Penicillium polonicum isolate EP 67 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	187	187	86%	9e-44	97.30%	MT158684.1
Penicillium polonicum isolate TY175-10 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	187	187	86%	9e-44	97.30%	MT090000.1
Penicillium polonicum strain QH03-09 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	187	187	86%	9e-44	97.30%	MT072049.1
Penicillium polonicum isolate SCBK2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence	187	187	86%	9e-44	97.30%	MT071401.1
Penicillium expansum isolate SCBK1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	187	187	86%	9e-44	97.30%	MT071400.1

Şekil 3.50. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF28 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF28 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %97,01 *Penicillium sp.*, %96,21 *Penicillium polonicum* ve %97,30 *Penicillium polonicum* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium oxysporum isolate T3 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	220	220	90%	9e-54	100.00%	MN435605.1
Fusarium oxysporum strain Ps-4 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	220	220	90%	9e-54	100.00%	MK811209.1
Fungal sp. strain DS2-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	215	215	87%	4e-52	100.00%	MK172767.1
Fusarium oxysporum isolate WF internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	222	222	93%	3e-54	99.19%	MK681347.1
Fusarium oxysporum isolate Passionforaedulisf.flavicarpaDeg internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	219	219	92%	3e-53	99.18%	MK621321.1
Fusarium verticillioides strain LZ49 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	217	217	91%	1e-52	99.17%	MN533760.1
Fusarium verticillioides isolate ZB11263590 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	217	217	91%	1e-52	99.17%	KX783344.1
Fusarium oxysporum isolate B9-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	215	215	90%	4e-52	99.17%	KT876657.1
Fusarium oxysporum strain kw2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	215	215	90%	4e-52	99.17%	KF671955.1
Gibberella moniliformis strain LK3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	215	215	90%	4e-52	99.17%	JQ288105.1
Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum strain FUS ITS 08 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	215	215	90%	4e-52	99.17%	HQ384394.1
Fusarium equiseti isolate keF-6 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	213	213	90%	2e-51	99.16%	MT450222.1

Şekil 3.51. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF33 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium oxysporum isolate H17 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT482508.1
Fusarium oxysporum isolate H2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT482501.1
Fusarium fujikuroi strain YT-4 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT477706.1
Fusarium dlamini strain YT-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT477704.1
Fusarium fujikuroi strain 21P5B4-1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT421938.1
Fusarium oxysporum isolate R24 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT420651.1
Fusarium oxysporum isolate R36 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT420633.1
Fusarium oxysporum isolate R29 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT420627.1
Fusarium oxysporum isolate R25 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT420624.1
Fusarium oxysporum isolate R12 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT420611.1
Fusarium oxysporum strain 21Y5B1121 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT413140.1
Fusarium oxysporum strain 5Y5A331 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT413139.1
Fusarium foetens isolate SK17 88F internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	78.7	78.7	76%	1e-11	100.00%	MT406749.1

Şekil 3.52. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF33 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF33 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %100 *Fusarium oxysporum* ve %100 *Fusarium oxysporum* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Beauveria bassiana isolate RUF-BB2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	370	370	92%	2e-98	100.00%	MK651127.1
Beauveria pseudobassiana isolate Pa-7 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	372	372	94%	4e-99	99.51%	MK544083.1
Beauveria bassiana strain CBS 125.36 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	372	372	94%	4e-99	99.51%	MH855731.1
Uncultured fungus clone L049675A01 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	372	372	94%	4e-99	99.51%	JX135686.1
Beauveria bassiana isolate 1222 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	372	372	94%	4e-99	99.51%	KC753395.1
Beauveria pseudobassiana isolate Pa-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	372	372	94%	4e-99	99.51%	MK544078.1
Beauveria bassiana isolate PaF076 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	372	372	94%	4e-99	99.51%	KT962857.1
Beauveria bassiana isolate PaF009 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	372	372	94%	4e-99	99.51%	KT962855.1
Beauveria bassiana isolate PaF004 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	372	372	94%	4e-99	99.51%	KT962854.1
Uncultured fungus clone L049676F02 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	372	372	94%	4e-99	99.51%	JX135763.1
Uncultured fungus clone L049675B07 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	372	372	94%	4e-99	99.51%	JX135689.1
Beauveria bassiana strain CBS 133.36 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	372	372	95%	4e-99	99.04%	MH855738.1
Beauveria sp. isolate LTB05 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	368	368	94%	6e-98	99.03%	MK884892.1

Şekil 3.53. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF59 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Uncultured fungus clone OTU367 18S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 2	361	361	96%	9e-96	98.54%	MF971371.1
Beauveria bassiana genomic DNA sequence contains 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, isolate 0312MAR'	361	361	96%	9e-96	98.54%	LN808947.1
Cordyceps taishanensis strain A-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	361	361	96%	9e-96	98.54%	FJ008928.1
Beauveria bassiana isolate MW113 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	361	361	96%	9e-96	98.54%	GU109336.1
Beauveria bassiana isolate Bb 9024 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	361	361	96%	9e-96	98.54%	AY334542.1
Beauveria bassiana isolate Bb 9023 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	361	361	96%	9e-96	98.54%	AY334541.1
Cordyceps bassiana isolate NG_p28 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	355	355	96%	4e-94	98.05%	HQ115700.1
Beauveria bassiana isolate P2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	355	355	96%	4e-94	98.05%	GU189521.1
Beauveria bassiana isolate M1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	355	355	96%	4e-94	98.05%	GU189519.1
Beauveria bassiana isolate K1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	355	355	96%	4e-94	98.05%	GU189518.1
Beauveria bassiana isolate C1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	355	355	96%	4e-94	98.05%	GU189516.1
Beauveria pseudobassiana strain Dm-5 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	353	353	96%	2e-93	98.05%	KM875708.1
Beauveria bassiana strain NBAIL-Bb-3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	353	353	97%	2e-93	97.60%	JF837139.1
Beauveria bassiana isolate KTU-68 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	353	353	97%	2e-93	97.60%	FJ792830.1
Beauveria sp. voucher JLF7482 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2	350	350	96%	2e-92	97.56%	MT101858.1

Şekil 3.54. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF59 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF59 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %100 *Beauveria bassiana* ve %98,54 *Beauveria bassiana* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Clonostachys rosea strain CR-BRK1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed	342	342	91%	3e-90	99.47%	MH424135.1
Clonostachys rosea isolate VGCR15-7 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribe	340	340	91%	1e-89	99.47%	MF671812.1
Clonostachys rosea isolate VGCR16-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribe	340	340	91%	1e-89	99.47%	MF663694.1
Clonostachys rosea isolate VGCR16-3 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribe	339	339	90%	4e-89	99.46%	MF663693.1
Clonostachys rosea isolate CrMq-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed sr	337	337	90%	2e-88	99.46%	MT441901.1
Clonostachys rosea isolate CrMq-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed s	337	337	90%	2e-88	99.46%	MT441900.1
Clonostachys rosea isolate CrKm-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed s	337	337	90%	2e-88	99.46%	MT441899.1
Clonostachys rosea isolate CrFn-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed sr	337	337	90%	2e-88	99.46%	MT441898.1
Clonostachys rosea isolate CrFn-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed sr	337	337	90%	2e-88	99.46%	MT441897.1
Fungal sp. strain F4 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, compl	337	337	90%	2e-88	99.46%	MH917685.1

Şekil 3.55. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF79 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Clonostachys rosea isolate ACM941 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1 and 5.8S riboso	351	351	96%	5e-93	98.51%	MK411420.1
Trichoderma sp. isolate v1252_1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RN	351	351	96%	5e-93	98.51%	MH284648.1
Clonostachys rosea strain pP3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, an	351	351	96%	5e-93	98.51%	KY703873.1
Clonostachys rosea strain CanS-48 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene	351	351	96%	5e-93	98.51%	JF817324.1
Bionectria sp. Macof 02 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and intern	351	351	96%	5e-93	98.51%	HQ731621.1
Bionectria ochroleuca strain ATCC 48395 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RN	351	351	96%	5e-93	98.51%	GU256754.1
Bionectria ochroleuca isolate SB_Bac6 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA ç	351	351	96%	5e-93	98.51%	EU484314.1
Nectria gliocladioides 5.8S rRNA gene, 28S rRNA gene (partial), ITS1 (partial) and ITS2, strain S9A6	351	351	96%	5e-93	98.51%	AJ509864.1
Clonostachys rosea strain qlz6 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, an	348	348	96%	7e-92	98.02%	KX058045.1
Clonostachys rosea isolate GS57 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal R	346	346	96%	3e-91	98.01%	MN511326.1
Clonostachys rosea strain MF22417 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal	346	346	96%	3e-91	98.01%	MH911376.1
Clonostachys sp. isolate GETM11 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene,	346	346	96%	3e-91	98.01%	KX343160.1

Şekil 3.56. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF79 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF79 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %99,47 *Clonostachys rosea* ve %98,51 *Clonostachys rosea* funguslarına benzerlik göstermiştir.

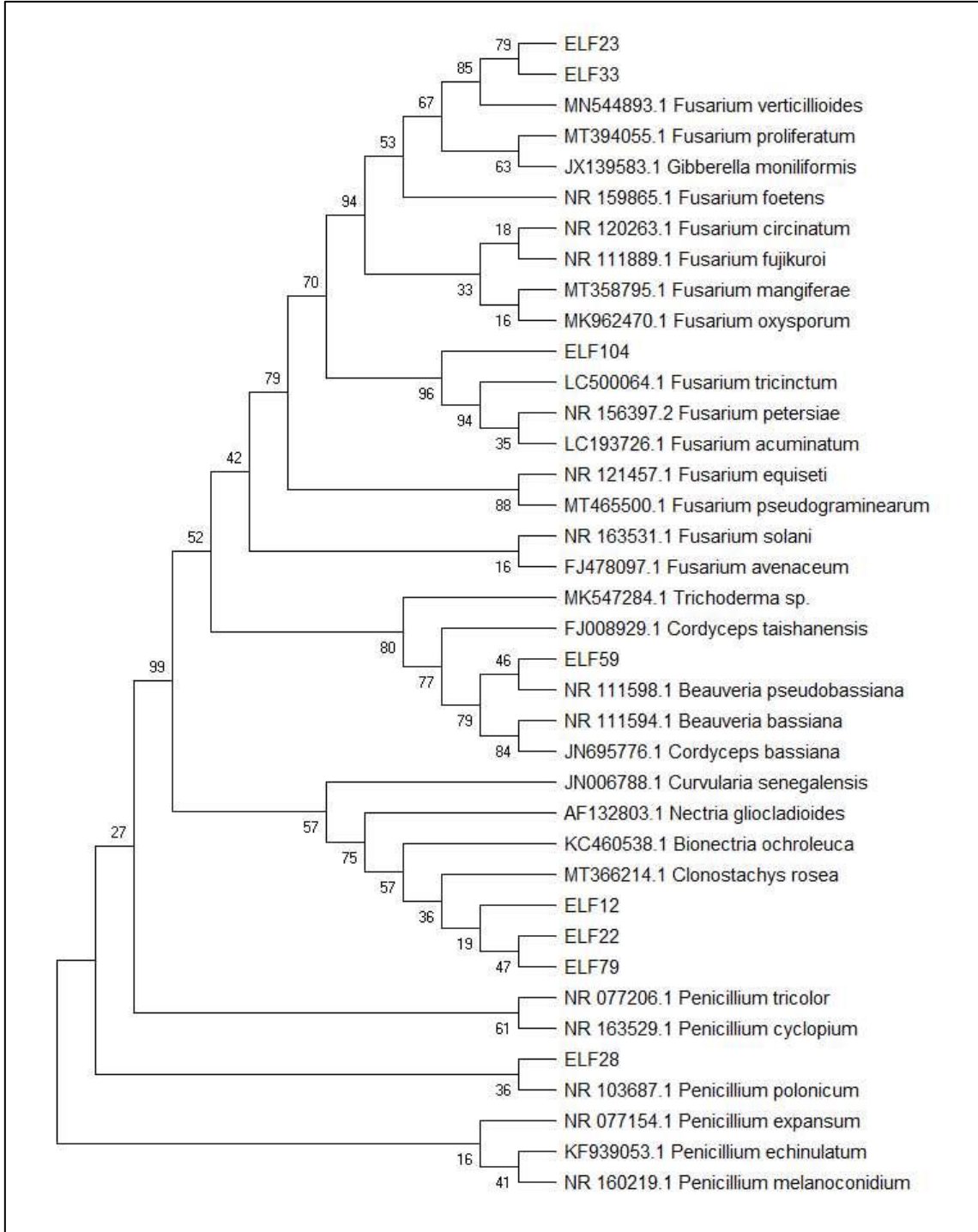
Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium tricinctum strain ZMI11 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed sp	351	351	93%	5e-93	100.00%	MK102643.1
Fusarium tricinctum strain ZMI10 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed sp	351	351	93%	5e-93	100.00%	MK102642.1
Fungal sp. isolate 13 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, com	351	351	93%	5e-93	100.00%	MK752580.1
Fusarium tricinctum strain WS11790 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA ge	351	351	93%	5e-93	100.00%	JX406512.1
Fungal sp. isolate 6 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, comp	350	350	92%	2e-92	100.00%	MK752573.1
Fusarium tricinctum strain WBS020 18S ribosomal RNA gene, partial sequence: internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA ge	350	350	92%	2e-92	100.00%	KU350730.1
Fusarium sp. isolate ITS1 region from genomic DNA internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and int	348	348	92%	7e-92	100.00%	MN982764.1
Fusarium tricinctum isolate 37 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spaci	348	348	92%	7e-92	100.00%	MN907441.1
Fusarium sp. isolate Vtm8 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2,	348	348	92%	7e-92	100.00%	MN733026.1
Fusarium pseudograminearum strain ZMI17 internal transcribed spacer 1, partial sequence: 5.8S ribosomal RNA gene and internal tra	348	348	92%	7e-92	100.00%	MK102640.1

Şekil 3.57. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF104 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium solani 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	339	339	92%	4e-89	100.00%	JF776160.1
Fusarium petersiae isolate UFMGCB 13607 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S	337	337	91%	1e-88	100.00%	MT373288.1
Fusarium sp. isolate sv11 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and intern	337	337	91%	1e-88	100.00%	MK250515.1
Fusarium tricinctum isolate IVA-256 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and intern	337	337	91%	1e-88	100.00%	MN833356.1
Fusarium acuminatum isolate SCUA-Nem-H4 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S	337	337	91%	1e-88	100.00%	MN633385.1
Uncultured fungus clone HT-20-10P 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and intern	337	337	91%	1e-88	100.00%	HQ446052.1
Fusarium tricinctum isolate C7 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and intern	337	337	91%	1e-88	100.00%	HQ703409.1
Fusarium tricinctum culture-collection WAC-11486 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and intern	337	337	91%	1e-88	100.00%	JF776663.1
Fusarium sp. Jlan53 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete	335	335	91%	5e-88	100.00%	KP939362.1
Fusarium avenaceum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal tran	335	335	91%	5e-88	100.00%	JX402181.1

Şekil 3.58. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen ELF104 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF104 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %100 *Fusarium tricinctum* ve %100 *Fusarium solani* funguslarına benzerlik göstermiştir.



Şekil 3.59. *Peltigera horizontalis* likeninden izole edilen endolikenik fungusların BLAST sonuçlarına göre filogenetik ağaçlandırılması

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium sp. shz-2.27 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	121	121	87%	4e-24	98.53%	EU818693.1
Fusarium armeniacum isolate N24R3 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	117	117	84%	6e-23	98.48%	MT135008.1
Alternaria tenuissima strain 31 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	117	117	84%	6e-23	98.48%	MG211070.1
Fusarium brachygibbosum isolate SFDwAC-7 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	117	117	84%	6e-23	98.48%	MH885520.1
Fusarium sp. Ks/1/3/2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	117	117	84%	6e-23	98.48%	JN624896.1
Fusarium sporotrichioides isolate shz-150 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	117	117	84%	6e-23	98.48%	EU840994.1
Fusarium sp. LD-101 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	117	117	84%	6e-23	98.48%	EU336990.1
Fusarium brachygibbosum strain Fu1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	115	115	83%	2e-22	98.46%	MN557809.1
Fusarium oxysporum isolate DOBPGPF V28 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	115	115	83%	2e-22	98.46%	MH169559.1
Fusarium sp. isolate FBPD1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	113	113	82%	7e-22	98.44%	MN401011.1

Şekil 3.60. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF21 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Uncultured fungus clone 036A24761 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	76.8	76.8	74%	6e-11	97.73%	JX378934.1
Uncultured fungus clone 038A45888 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	76.8	76.8	74%	6e-11	97.73%	JX362586.1
Uncultured fungus clone 037A35655 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	76.8	76.8	74%	6e-11	97.73%	JX352693.1
Uncultured fungus clone 039A51822 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	76.8	76.8	74%	6e-11	97.73%	JX343191.1
Fusarium brachygibbosum isolate FIR 16 ITS internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	75.0	75.0	74%	2e-10	97.73%	MT420888.1
Fusarium oxysporum isolate CF13 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	75.0	75.0	74%	2e-10	97.73%	MT410578.1
Fusarium brachygibbosum isolate AF2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	75.0	75.0	74%	2e-10	97.73%	MT393976.1
Fusarium brachygibbosum isolate PF10a small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	75.0	75.0	74%	2e-10	97.73%	MT393975.1
Fusarium brachygibbosum strain SUF160 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	75.0	75.0	74%	2e-10	97.73%	MT081524.1
Fusarium sp. strain CBS 07 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	75.0	75.0	74%	2e-10	97.73%	MN973665.1

Şekil 3.61. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF21 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF21 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %98,53 *Fusarium armeniacum* ve %97,73 *Fusarium oxysporum* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium oxysporum isolate T3 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	211	211	90%	6e-51	98.35%	MN435605.1
Fusarium oxysporum strain Ps-4 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	211	211	90%	6e-51	98.35%	MK811209.1
Fungal sp. strain DS2-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	206	206	88%	3e-49	98.31%	MK172767.1
Fusarium oxysporum isolate WF internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	211	211	92%	6e-51	97.58%	MK681347.1
Fusarium oxysporum strain Y8 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	209	209	91%	2e-50	97.56%	KX894287.1
Fusarium oxysporum isolate B9-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	207	207	91%	7e-50	97.54%	KT876657.1
Fusarium oxysporum strain kw2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	207	207	90%	7e-50	97.54%	KF671955.1
Gibberella moniliformis strain LK3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	207	207	91%	7e-50	97.54%	JQ288105.1
Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum strain FUS ITS 08 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	207	207	91%	7e-50	97.54%	HQ384394.1
Fusarium equiseti isolate KerF-6 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	206	206	90%	3e-49	97.52%	MT450222.1
Fusarium verticillioides isolate KerF-5 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 5.8S ribosomal RNA gene	206	206	90%	3e-49	97.52%	MT450221.1

Şekil 3.62. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF37 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium mangiferae genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, isolate: 17	91.6	91.6	85%	2e-15	100.00%	LC131357.1
Fusarium mangiferae genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, isolate: 12	91.6	91.6	85%	2e-15	100.00%	LC131352.1
Fusarium mangiferae genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, isolate: 9	91.6	91.6	85%	2e-15	100.00%	LC131348.1
Fusarium mangiferae genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, isolate: 7	91.6	91.6	85%	2e-15	100.00%	LC131346.1
Fusarium mangiferae genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, isolate: 4	91.6	91.6	85%	2e-15	100.00%	LC131343.1
Fusarium oxysporum f. cubense internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	86.1	86.1	85%	9e-14	98.00%	MH423287.1
Fusarium mangiferae genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, isolate: 21	86.1	86.1	85%	9e-14	98.00%	LC131361.1
Fusarium mangiferae genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA, partial and complete sequence, isolate: 1	86.1	86.1	85%	9e-14	98.00%	LC131340.1
Fusarium oxysporum f. sp. ciceris isolate FOC-41 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	86.1	86.1	85%	9e-14	98.00%	EU442584.1
Fusarium sp. isolate JGE-116 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	84.2	84.2	87%	3e-13	96.15%	MK431044.1
Fusarium oxysporum isolate NKCFu2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2	84.2	84.2	87%	3e-13	96.15%	MN784484.1
Gibberella intermedia strain TFRh6 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	84.2	166	87%	3e-13	96.15%	HQ443247.1

Şekil 3.63. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF37 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF37 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %98,35 *Fusarium oxysporum* ve %100 *Fusarium mangiferae* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Clonostachys rosea isolate ZB11060971 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	257	257	95%	8e-65	99.30%	KX783357.1
Clonostachys rosea voucher SWFUYHL2-5 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	252	252	93%	4e-63	99.28%	MG857582.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203708 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	250	250	93%	1e-62	99.28%	MK871126.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203683 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	250	250	93%	1e-62	99.28%	MK871122.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203184 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	250	250	93%	1e-62	99.28%	MK870442.1
Trichoderma sp. isolate yi0225_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	250	250	93%	1e-62	99.28%	MH285050.1
Trichoderma sp. isolate yi0372_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	250	250	93%	1e-62	99.28%	MH285039.1
Trichoderma sp. isolate yi0337_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	250	250	93%	1e-62	99.28%	MH284311.1
Clonostachys rosea strain 3WBY1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	250	250	93%	1e-62	99.28%	KU350700.1
Clonostachys rosea strain LOC 62 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	248	248	92%	5e-62	99.27%	MG489966.1
Clonostachys rosea strain Zbf-R3 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	239	239	89%	3e-59	99.24%	KX064981.1
Bionectria ochroleuca strain MS-05 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA and internal transcribed spacer 2	237	237	88%	1e-58	99.24%	JX675045.1

Şekil 3.64. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF52 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fungal sp. isolate PS2326 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	65.3	65.3	97%	2e-07	90.20%	KY776180.1
Fungal sp. isolate PS1494 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	65.3	65.3	97%	2e-07	90.20%	KY775949.1
Uncultured fungus clone 036A23584 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	65.3	65.3	97%	2e-07	90.20%	JX377780.1
Uncultured fungus clone 036A21816 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	65.3	65.3	97%	2e-07	90.20%	JX376042.1
Uncultured fungus clone 036A19551 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	65.3	65.3	97%	2e-07	90.20%	JX373812.1
Uncultured fungus clone 036A27444 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	62.6	62.6	97%	6e-07	90.00%	JX381551.1
Uncultured fungus clone 034A2175 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; and	62.6	62.6	97%	6e-07	90.00%	JX319884.1
Uncultured fungus clone Singleton (236-1579 3267) 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete	62.6	62.6	97%	6e-07	90.00%	FJ779986.1
Clonostachys rosea isolate 18-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer	60.8	60.8	97%	2e-06	88.24%	MT463392.1
Clonostachys rosea isolate Potato root internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed	60.8	60.8	97%	2e-06	88.24%	MT448899.1
Clonostachys rosea strain GFR45 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene	60.8	60.8	97%	2e-06	88.24%	MT447550.1
Clonostachys rosea strain GFRS26 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed	60.8	60.8	97%	2e-06	88.24%	MT447494.1
Clonostachys sp. strain ZMGRS2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal	60.8	60.8	97%	2e-06	88.24%	MT446186.1

Şekil 3.65. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF52 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF52 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %99,30 *Clonostachys rosea* ve %90,20 *Fungal sp.* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Beauveria bassiana isolate RUF-BB2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed	368	368	94%	6e-98	99.51%	MK651127.1
Beauveria pseudobassiana isolate Pa-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed	368	368	94%	6e-98	99.51%	MK544078.1
Uncultured fungus clone L049676F02 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed	368	368	94%	6e-98	99.51%	JX135763.1
Uncultured fungus clone L049675B07 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed	368	368	94%	6e-98	99.51%	JX135689.1
Beauveria bassiana isolate 1222 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and	368	368	94%	6e-98	99.51%	KC753395.1
Beauveria bassiana isolate P4-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int	366	366	94%	2e-97	99.50%	KT876586.1
Beauveria bassiana isolate BbYN8702 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed	368	368	96%	6e-98	99.03%	MH483769.1
Beauveria sp. isolate LTB05 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA	364	364	94%	7e-97	99.02%	MK884892.1
Beauveria sp. isolate LTB10 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA	364	364	94%	7e-97	99.02%	MK884891.1
Beauveria sp. isolate LTB08 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA	364	364	94%	7e-97	99.02%	MK884882.1

Şekil 3.66. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF60 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Beauveria bassiana strain NBAII-Bb-54 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	351	351	94%	5e-93	98.98%	JF837086.1
Beauveria bassiana isolate J4 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	351	351	94%	5e-93	98.98%	GU189517.1
Beauveria bassiana genomic DNA sequence contains 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, isolate 0312MAR	363	363	98%	3e-96	98.55%	LN808947.1
Uncultured fungus clone OTU367 18S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	361	361	97%	9e-96	98.54%	MF971371.1
Cordyceps taishanensis strain A-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	361	361	97%	9e-96	98.54%	FJ008928.1
Beauveria bassiana isolate MW113 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	361	361	97%	9e-96	98.54%	GU109336.1
Beauveria bassiana isolate Bb 9024 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	361	361	97%	9e-96	98.54%	AY334542.1
Beauveria bassiana isolate Bb 9023 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	361	361	97%	9e-96	98.54%	AY334541.1
Beauveria bassiana isolate P2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	357	357	98%	1e-94	98.07%	GU189521.1
Beauveria bassiana isolate M1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	357	357	98%	1e-94	98.07%	GU189519.1
Beauveria bassiana isolate K1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	357	357	98%	1e-94	98.07%	GU189518.1
Beauveria bassiana isolate C1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	357	357	98%	1e-94	98.07%	GU189516.1
Beauveria pseudobassiana strain Dm-5 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	355	355	97%	4e-94	98.06%	KM875708.1

Şekil 3.67. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF60 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF60 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %99,51 *Beauveria bassiana* ve %98,98 *Beauveria bassiana* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium proliferatum strain JAH1H7 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	340	340	95%	1e-89	98.95%	MN880220.1
Fusarium proliferatum strain T5 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	340	534	95%	1e-89	98.95%	KP407870.1
Fusarium sp. Fc671TNW-T internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	335	335	93%	5e-88	98.93%	KF293358.1
Fusarium sp. Fsh119PPB-L internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	335	335	93%	5e-88	98.93%	KF293308.1
Fusarium sp. Fsh185PPB-L-Nawanshahr-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	335	335	93%	5e-88	98.93%	KF293301.1
Fusarium proliferatum isolate LrBF42 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	329	329	92%	2e-86	98.91%	MG543760.1
Fusarium sp. Fe002TNPB1-TR internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	329	329	92%	2e-86	98.91%	KF293346.1
Fusarium oxysporum strain FOCCB-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	329	329	92%	2e-86	98.91%	HQ451889.1
Fusarium fujikuroi strain Zbf-S13 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence	344	344	98%	9e-91	98.47%	KX065004.1
Gibberella moniliformis isolate FKC8-008 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	340	340	97%	1e-89	98.45%	EU314968.1

Şekil 3.68. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF69 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fungal sp. isolate PDR7 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	340	340	94%	1e-89	100.00%	MN256658.1
Fusarium verticillioides isolate FM15 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	340	593	94%	1e-89	100.00%	MK790051.1
Fusarium verticillioides isolate FM14 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	340	340	94%	1e-89	100.00%	MK790050.1
Fusarium verticillioides isolate FM4 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	340	340	94%	1e-89	100.00%	MK790043.1
Fusarium verticillioides isolate FM2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	340	650	94%	1e-89	100.00%	MK790042.1
Colletotrichum gloeosporioides isolate LSC-51 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	340	340	94%	1e-89	100.00%	KU097223.1
Colletotrichum gloeosporioides isolate LSC-18 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	340	340	94%	1e-89	100.00%	KU097218.1
Fusarium proliferatum strain AQGWD 20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; internal transcribed spacer 2, partial sequence	340	340	94%	1e-89	100.00%	KP721580.1
Fusarium sp. strain bix-2-66 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	339	339	93%	4e-89	100.00%	MN944553.1
Fusarium verticillioides isolate PFSRFv81 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	339	339	93%	4e-89	100.00%	MN652648.1
Fusarium verticillioides isolate PFSRFv27 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2, 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	339	339	93%	4e-89	100.00%	MN652642.1
Fusarium proliferatum isolate FF103 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 2 and 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence	339	339	93%	4e-89	100.00%	MN004768.1

Şekil 3.69. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF69 kodlu endolikenik

fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF69 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %98,95 *Fusarium proliferatum* ve %98,98 *Fusarium verticillioides* funguslarına benzerlik göstermiştir.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Trichoderma sp. isolate SDAS204174 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	453	453	98%	2e-123	100.00%	MK871045.1
Trichoderma sp. isolate y0415_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	453	453	98%	2e-123	100.00%	MH284941.1
Hypocrea lixii isolate sun-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 1	444	444	96%	1e-120	100.00%	FJ517550.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203100 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	442	442	95%	4e-120	100.00%	MK871130.1
Trichoderma sp. isolate SDAS204134 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	442	442	95%	4e-120	100.00%	MK870871.1
Trichoderma sp. isolate y0552_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	442	442	95%	4e-120	100.00%	MH285042.1
Trichoderma sp. isolate y0484_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	442	442	95%	4e-120	100.00%	MH284736.1
Trichoderma harzianum isolate ZOIC2C1M internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	442	442	95%	4e-120	100.00%	KY548381.1
Trichoderma harzianum strain NZD-mf15 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	442	442	95%	4e-120	100.00%	KM278121.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203083 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	440	440	95%	1e-119	100.00%	MK870139.1
Trichoderma sp. isolate y0862_1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	440	440	95%	1e-119	100.00%	MH283933.1
Trichoderma harzianum strain WJF52 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 1	440	440	95%	1e-119	100.00%	KU877615.1

Şekil 3.70. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF102 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Trichoderma sp. GJS 88-80 internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	433	433	98%	2e-117	98.78%	AF275340.1
Trichoderma harzianum isolate Mc2151 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	431	431	97%	8e-117	98.77%	MK738146.1
Trichoderma harzianum clone HC-1 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	431	431	97%	8e-117	98.77%	MK552405.1
Trichoderma harzianum strain LZ19 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	431	431	97%	8e-117	98.77%	MN533732.1
Trichoderma harzianum strain LZ16 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	431	431	97%	8e-117	98.77%	MN533729.1
Trichoderma harzianum strain LZ07 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	431	431	97%	8e-117	98.77%	MN533720.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203928 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	431	431	97%	8e-117	98.77%	MK870181.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203914 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	431	431	97%	8e-117	98.77%	MK870111.1
Trichoderma sp. isolate SDAS203833 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	431	431	97%	8e-117	98.77%	MK870108.1
Fungal sp. strain UBDFT12 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence	431	431	97%	8e-117	98.77%	MK116422.1

Şekil 3.71. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF102 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

ELF102 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %100 *Trichoderma sp.* ve %98,78 *Trichoderma sp.* funguslarına benzerlik göstermiştir.

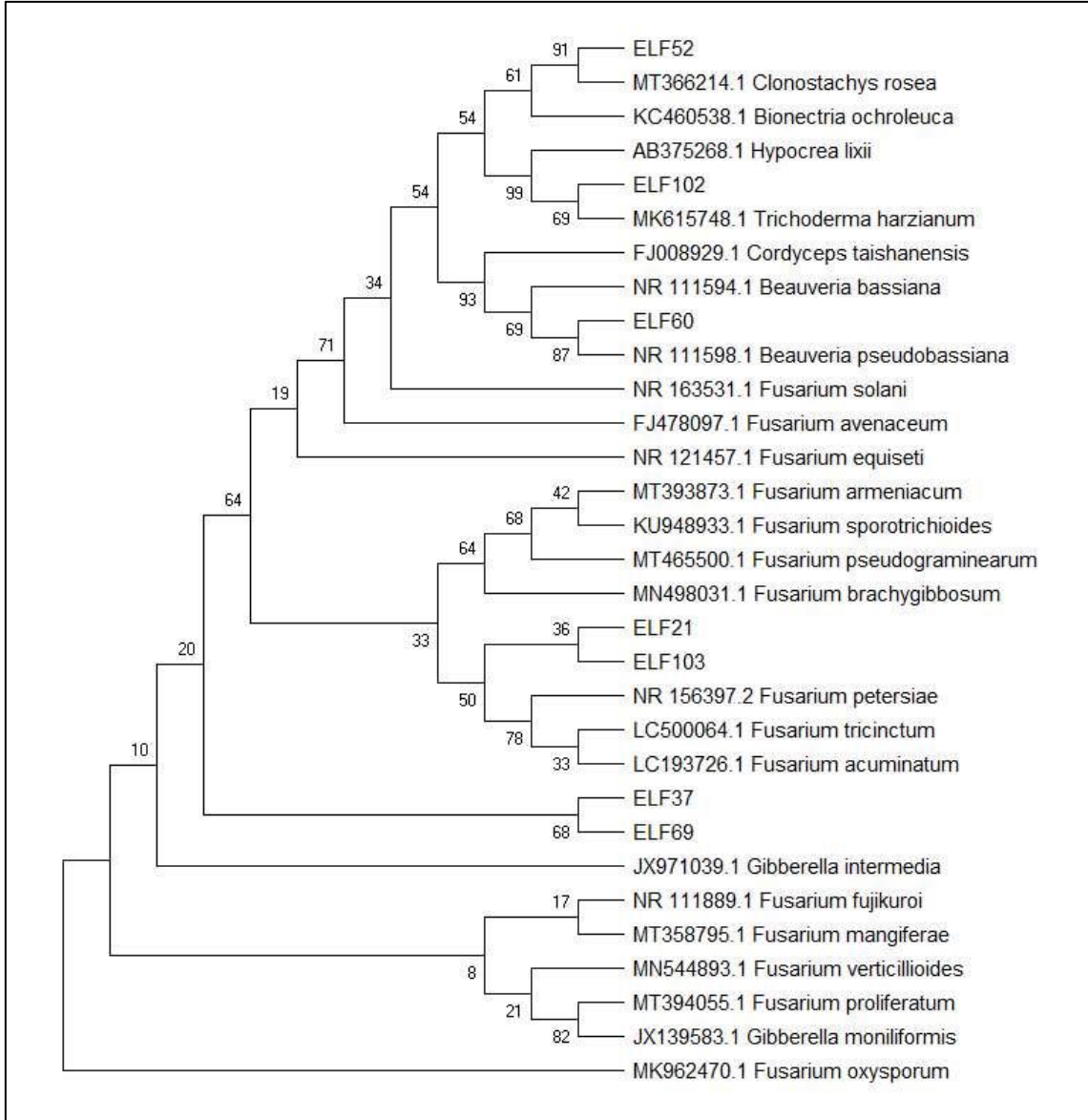
Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium tricinctum isolate 37 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	355	355	96%	4e-94	99.49%	MN907441.1
Fusarium sp. isolate ATMa9 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	355	355	96%	4e-94	99.49%	MH790320.1
Fusarium sp. isolate Vtm8 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	353	353	96%	1e-93	99.49%	MN733026.1
Fusarium pseudograminearum strain ZMI17 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	353	353	96%	1e-93	99.49%	MK102640.1
Fusarium tricinctum isolate FDW1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	353	353	96%	1e-93	99.49%	MK934343.1
Fusarium sp. isolate Z-Y-66 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	353	353	96%	1e-93	99.49%	MK367511.1
Fusarium tricinctum strain WBS031 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	353	353	96%	1e-93	99.49%	KU350740.1
Fusarium pseudograminearum strain Fus 10 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	353	353	96%	1e-93	99.49%	KP726905.1
Fusarium tricinctum isolate SH10 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	353	353	96%	1e-93	99.49%	KP193137.1
Fungal endophyte isolate 7 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	353	353	96%	1e-93	99.49%	EU747836.1

Şekil 3.72. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF103 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer F: ITS1F)

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Fusarium solani 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	339	339	91%	4e-89	100.00%	JF776160.1
Fusarium petersiae isolate UFMGCB 13607 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene	337	337	91%	1e-88	100.00%	MT373288.1
Fusarium sp. isolate svf11 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	337	337	91%	1e-88	100.00%	MK250515.1
Fusarium tricinctum isolate IVA-256 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	337	337	91%	1e-88	100.00%	MN833356.1
Fusarium acuminatum isolate SCUA-Nem-H4 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene	337	337	91%	1e-88	100.00%	MN633385.1
Uncultured fungus clone HT-20-10P 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	337	337	91%	1e-88	100.00%	HQ446052.1
Fusarium tricinctum isolate C7 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	337	337	91%	1e-88	100.00%	HQ703409.1
Fusarium tricinctum culture-collection WAC-11486 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	337	337	91%	1e-88	100.00%	JF776663.1
Fusarium sp. Jian53 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete	335	335	90%	5e-88	100.00%	KP939362.1
Fusarium avenaceum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2	335	335	90%	5e-88	100.00%	JX402181.1

Şekil 3.73. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen ELF103 kodlu endolikenik fungusun moleküler tür tayini sonucu (Primer R: ITS2)

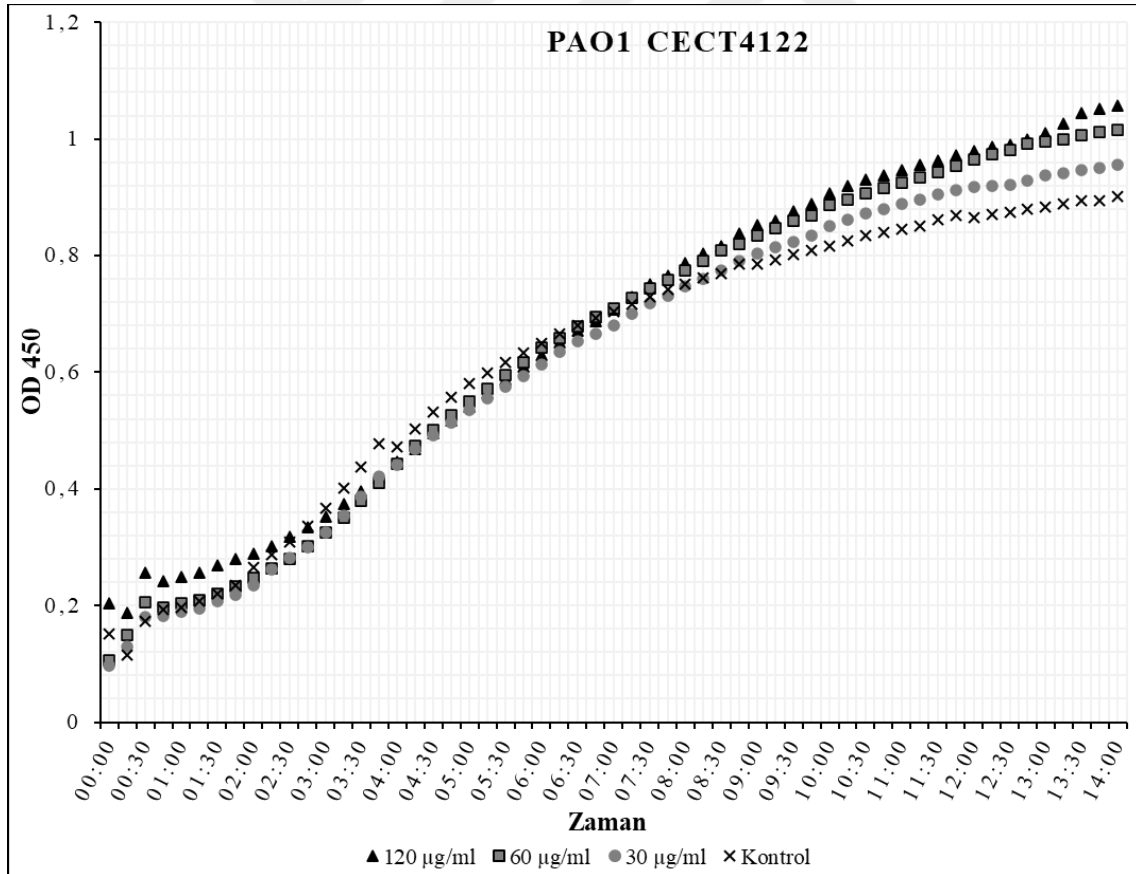
ELF103 kodlu endolikenik fungus, ITS1F ve ITS2 primer dizileri ile BLAST'lanarak, sırasıyla %99,49 *Fusarium tricinctum* ve %100 *Fusarium solani* funguslarına benzerlik göstermiştir.



Şekil 3.74. *Peltigera praetextata* likeninden izole edilen endolikenik fungusların BLAST sonuçlarına göre filogenetik ağaçlandırılması

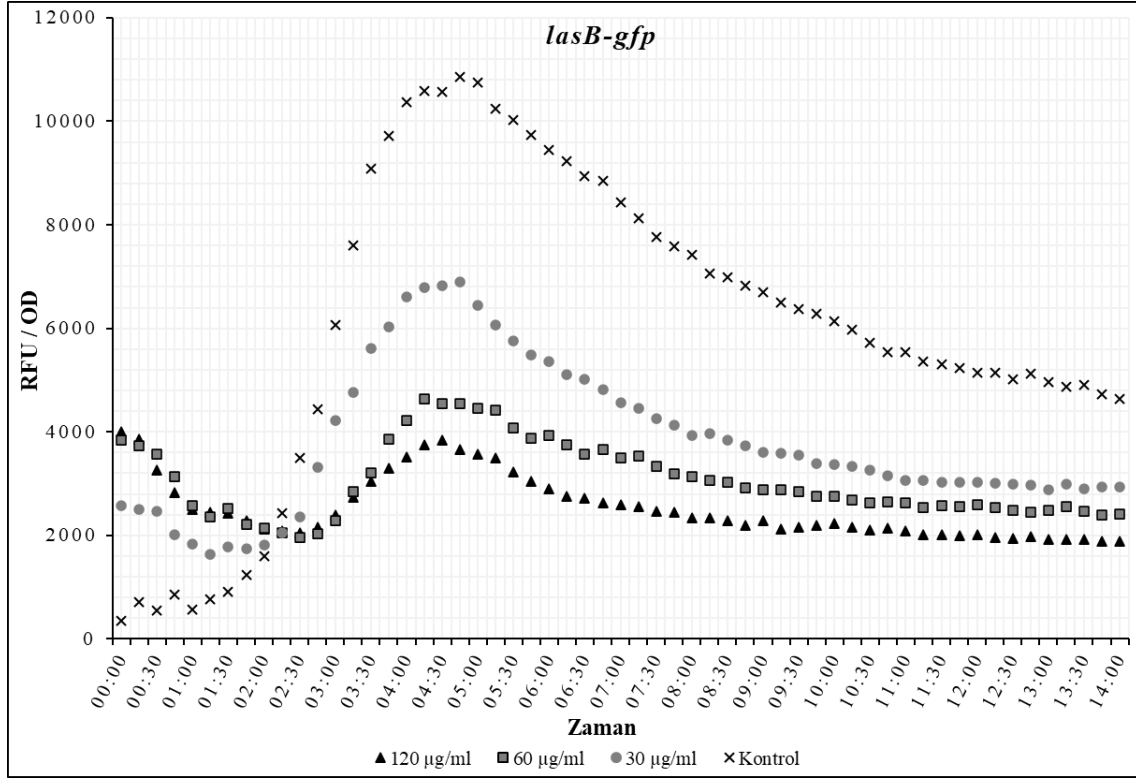
3.1.2.3. *Peltigera sp.* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

Peltigera sp. likeninin n-Hekzan özütünün 120, 60 ve 30 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır. QS inhibisyonu testleri için her 15 dakikada bir ölçüm kayıt alınmıştır. Tüm GFP ekspresyonları, bakterilerin büyüme miktarları ile normalize edilmiştir. Ölçümleri gerçekleştirilen tüm floresans ölçümleri, aynı zamanda ölçümü alınan absorbans değerlerine oranlanmıştır. Bu nedenle QS inhibisyon grafikleri, Görelî floresans birimi (RFU) / Absorbans 450 nm (OD) olarak ifade edilmiştir. Tez çalışmasında verilen grafiklerin yorumlanabilmesi için şablon grafik EK 1-Şekil 1'de belirtilmiştir.



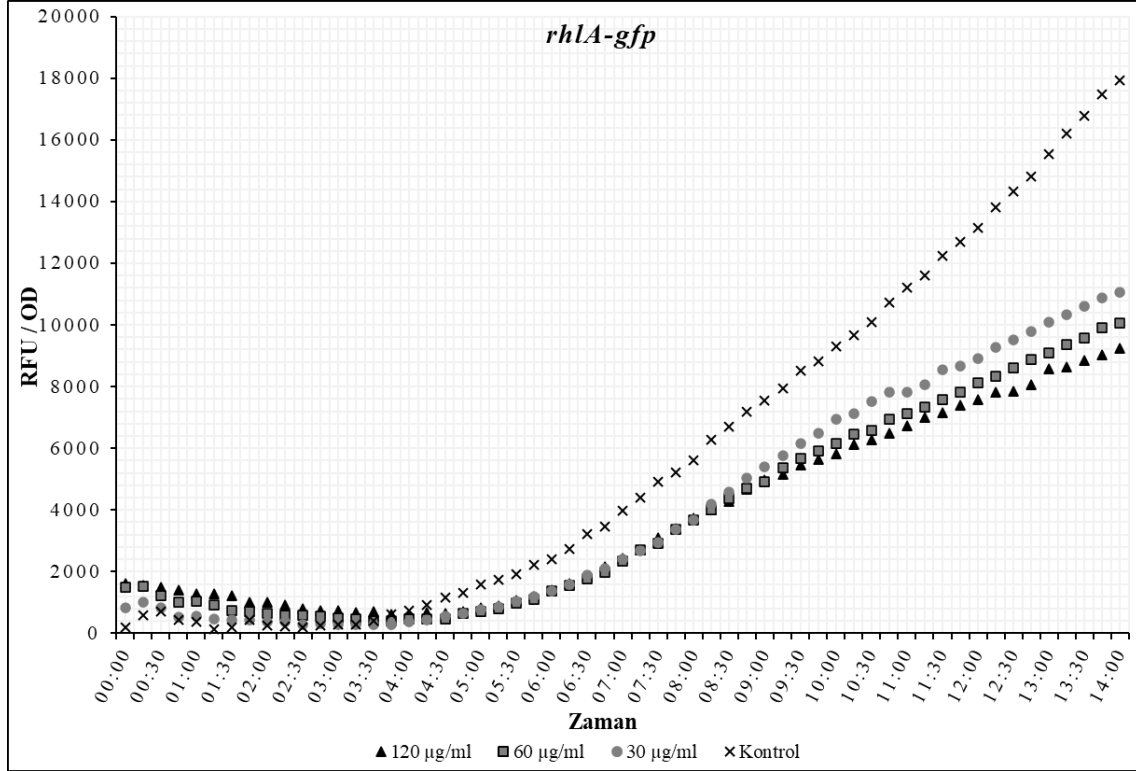
Şekil 3.75. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *Peltigera sp.* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait

zamana bağılı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna *Peltigera sp.* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.



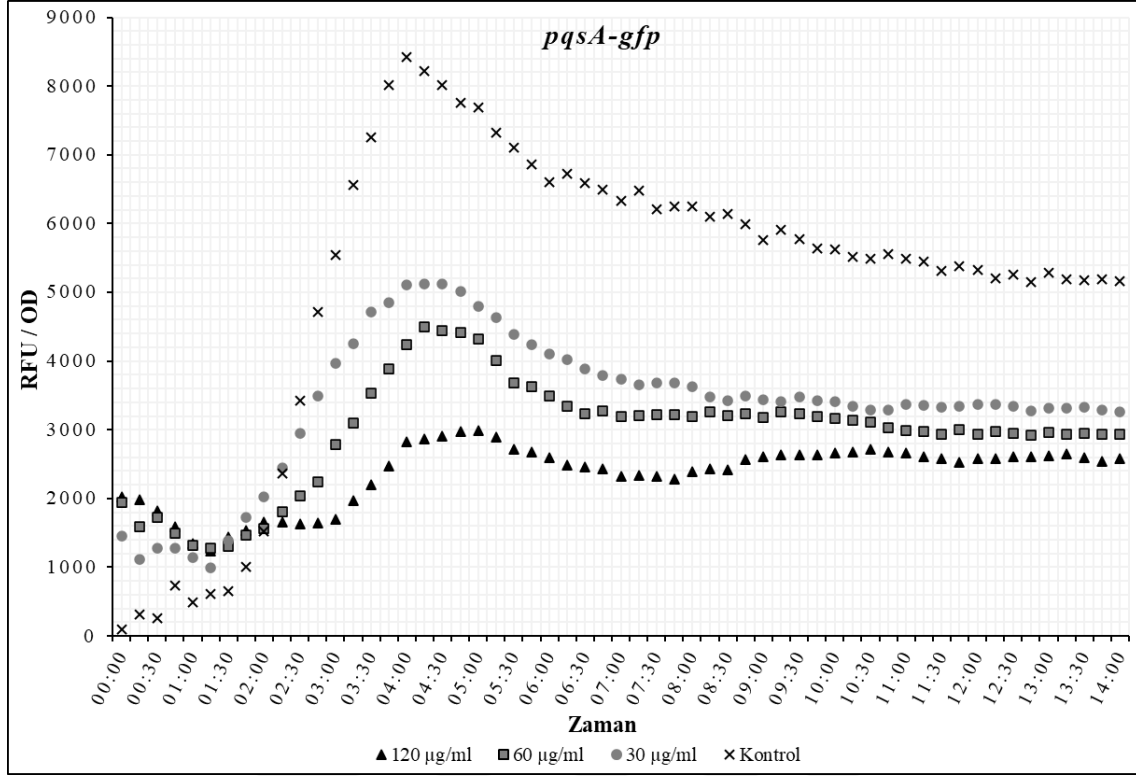
Şekil 3.76. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *Peltigera sp.* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna *Peltigera sp.* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.

Peltigera sp. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki n-Hekzan özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %59.20, %48.08 ve %41.06 olarak saptanmıştır.



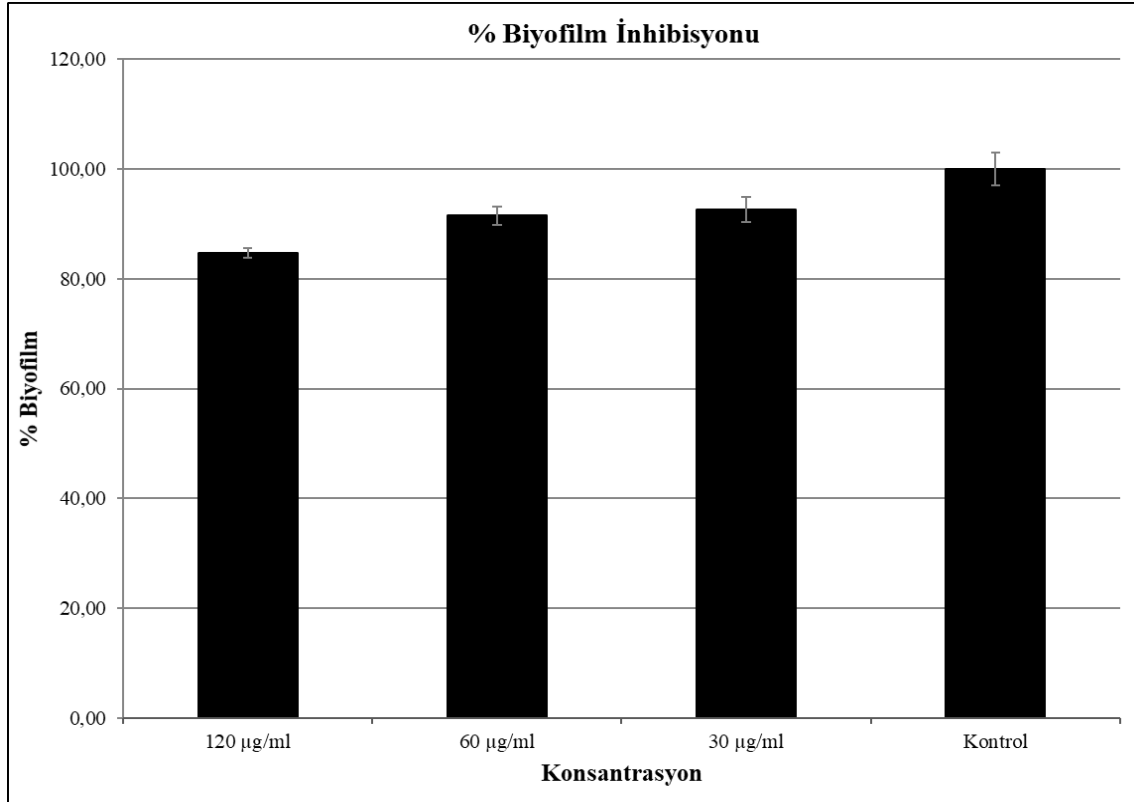
Şekil 3.77. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *Peltigera sp.* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna *Peltigera sp.* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.

Peltigera sp. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki n-Hekzan özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %48.33, %43.88 ve %38.33 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.78. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *Peltigera sp.* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna *Peltigera sp.* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.

Peltigera sp. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki n-Hekzan özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %49.88, %43.08 ve %36.94 olarak saptanmıştır.

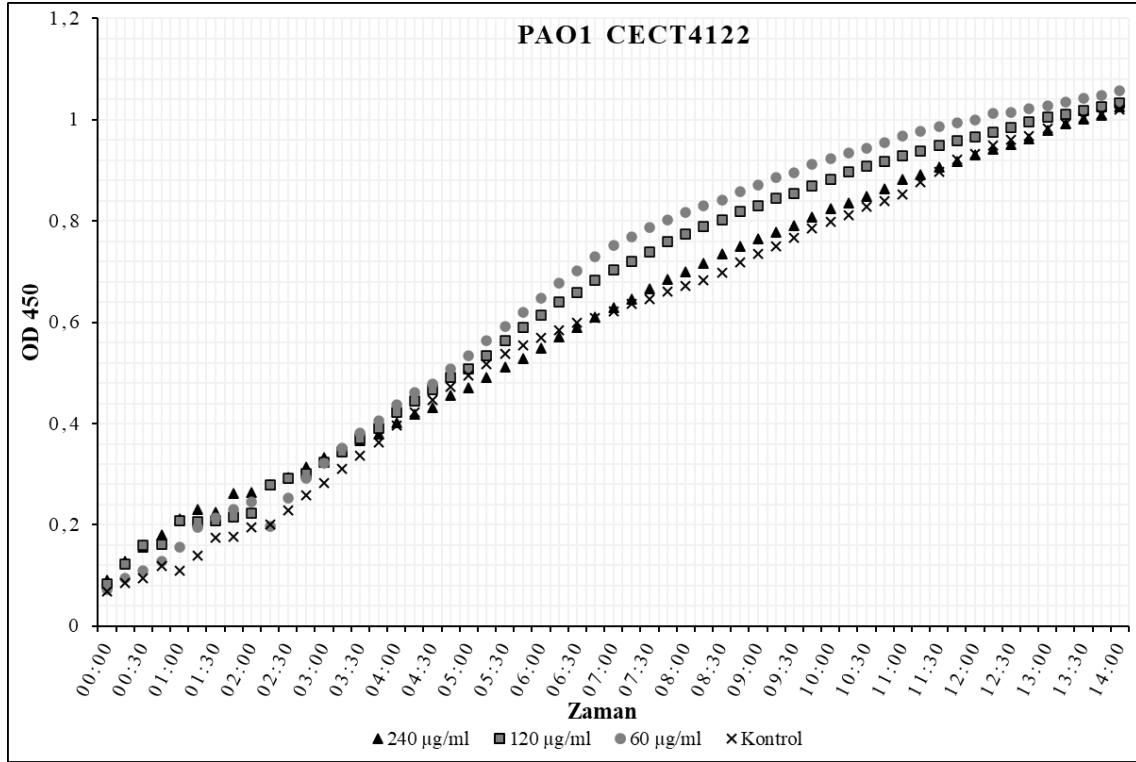


Şekil 3.79. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *Peltigera sp.* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna *Peltigera sp.* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.

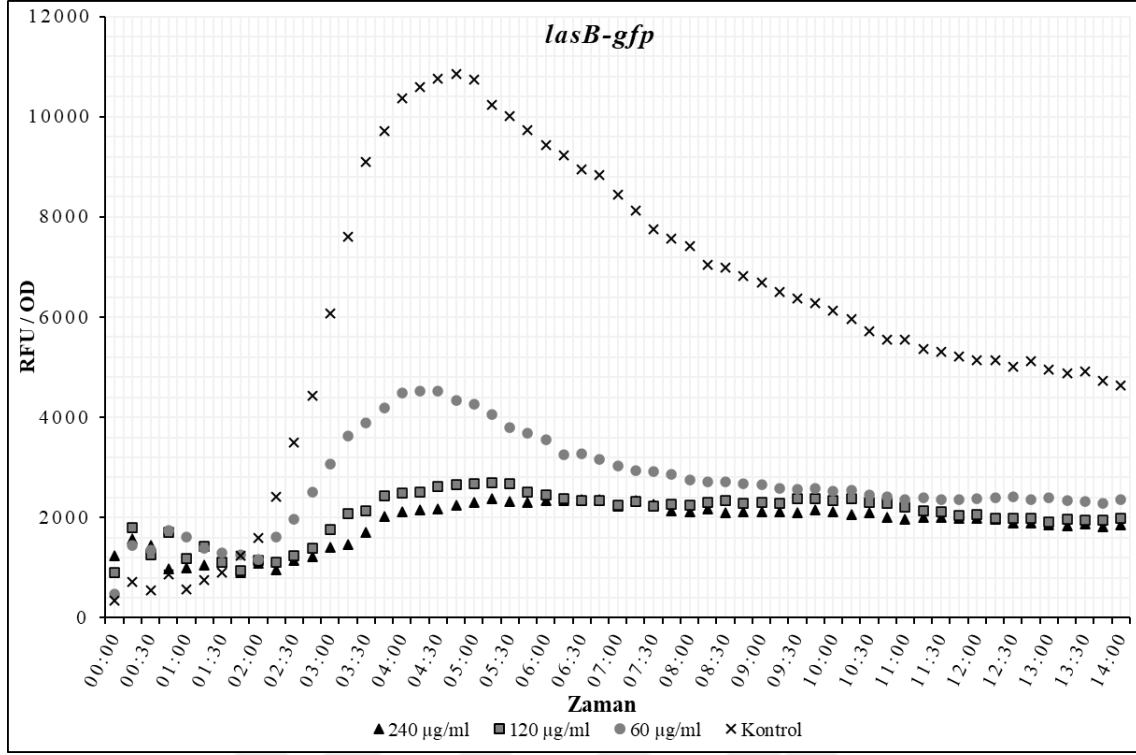
Elde edilen bulgulara göre, *Peltigera sp.* likeninin n-Hekzan özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %15.30 (± 0.79), %8.53 (± 1.60) ve %7.38 (± 2.29) olarak saptanmıştır.

3.1.2.4. ELF2 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF2 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

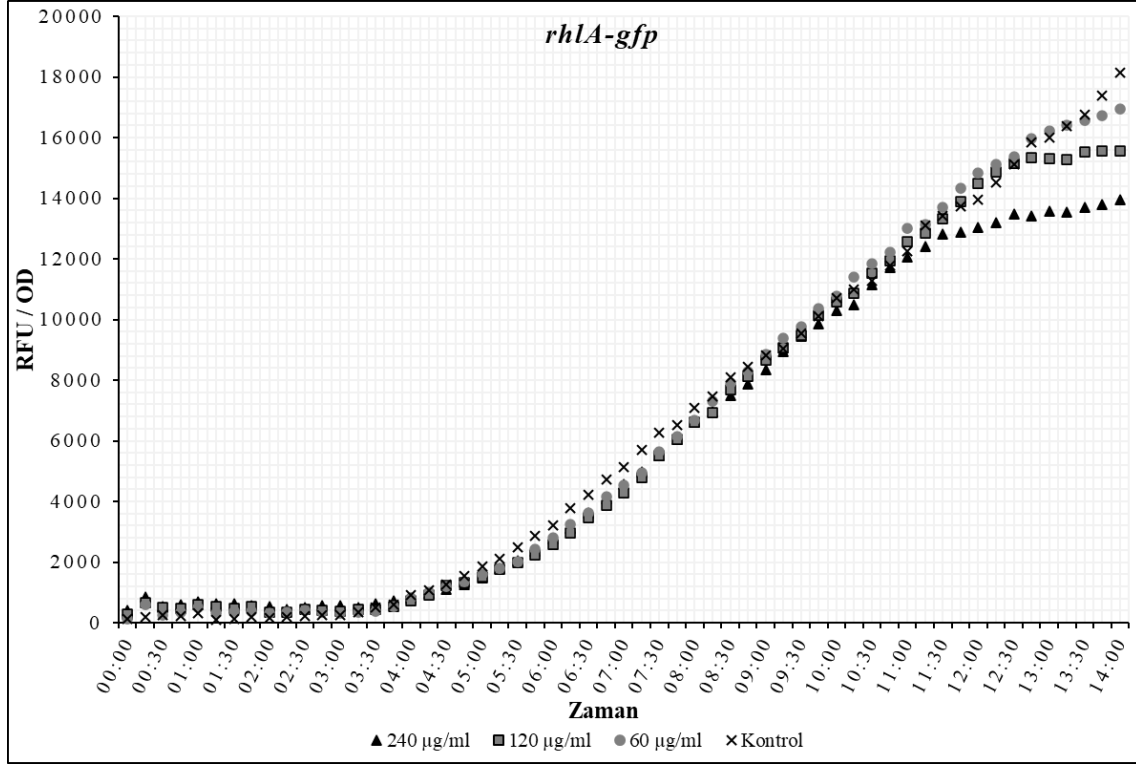


Şekil 3.80. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF2 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF2 etil asetat özütü eklenmemiştir.



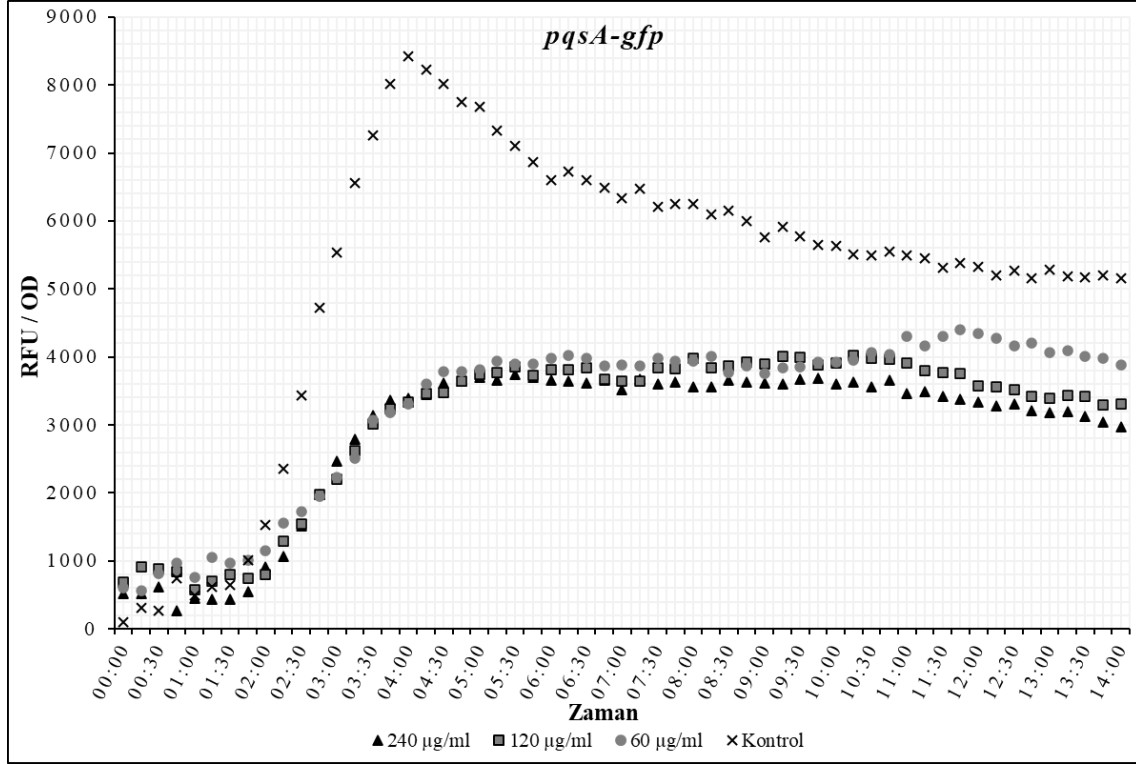
Şekil 3.81. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF2 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF2 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF2 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %60.09, %56.94 ve %49.11 olarak saptanmıştır.



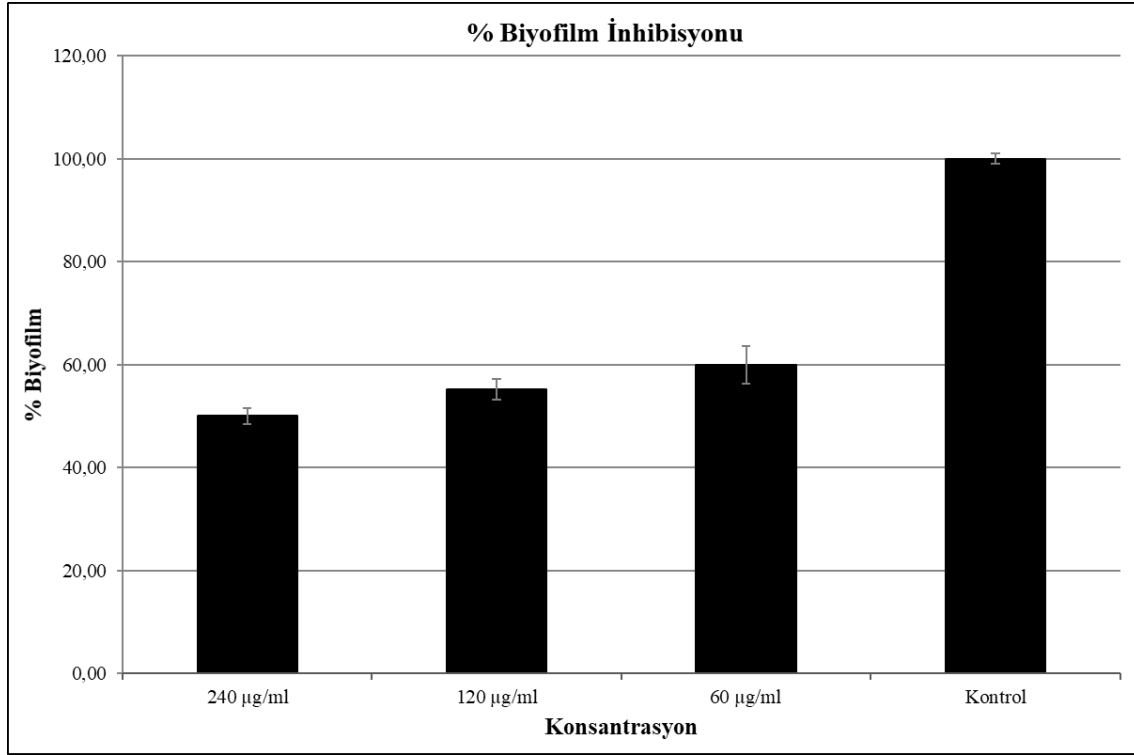
Şekil 3.82. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF2 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF2 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF2 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %23.07, %14.25 ve %6.58 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.83. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF2 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF2 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF2 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %42.32, %35.89 ve %24.93 olarak saptanmıştır.

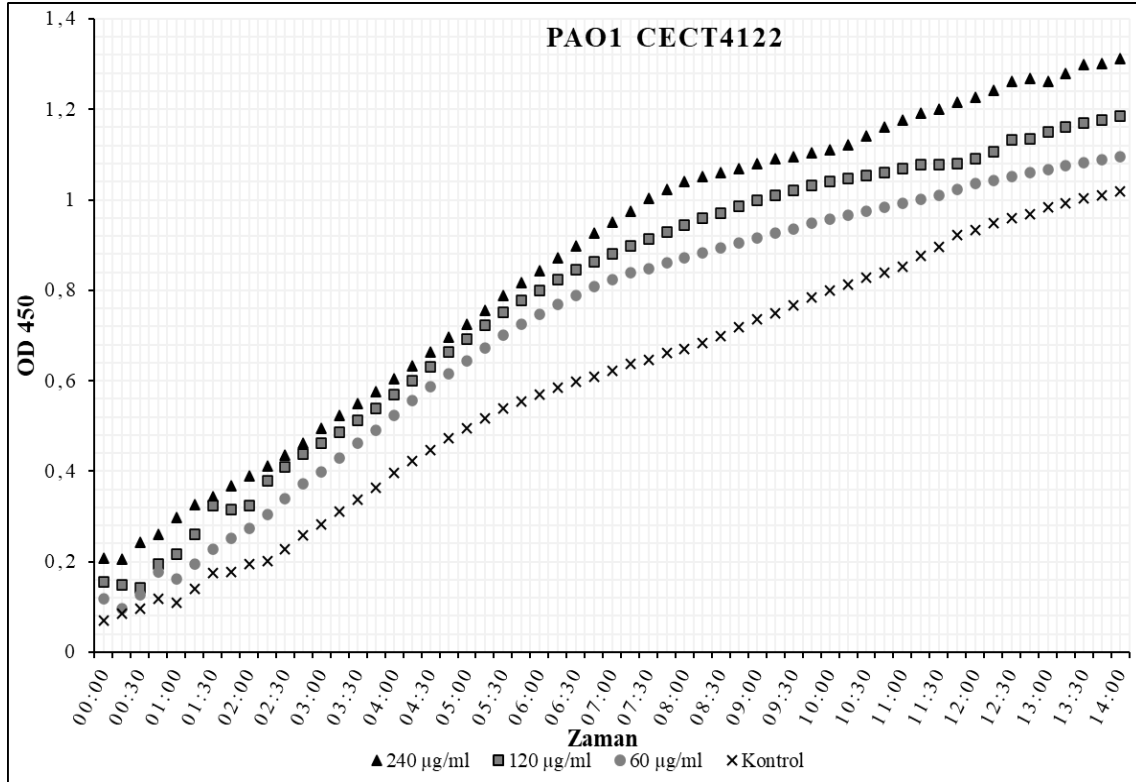


Şekil 3.84. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF2 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF2 etil asetat özütü eklenmemiştir.

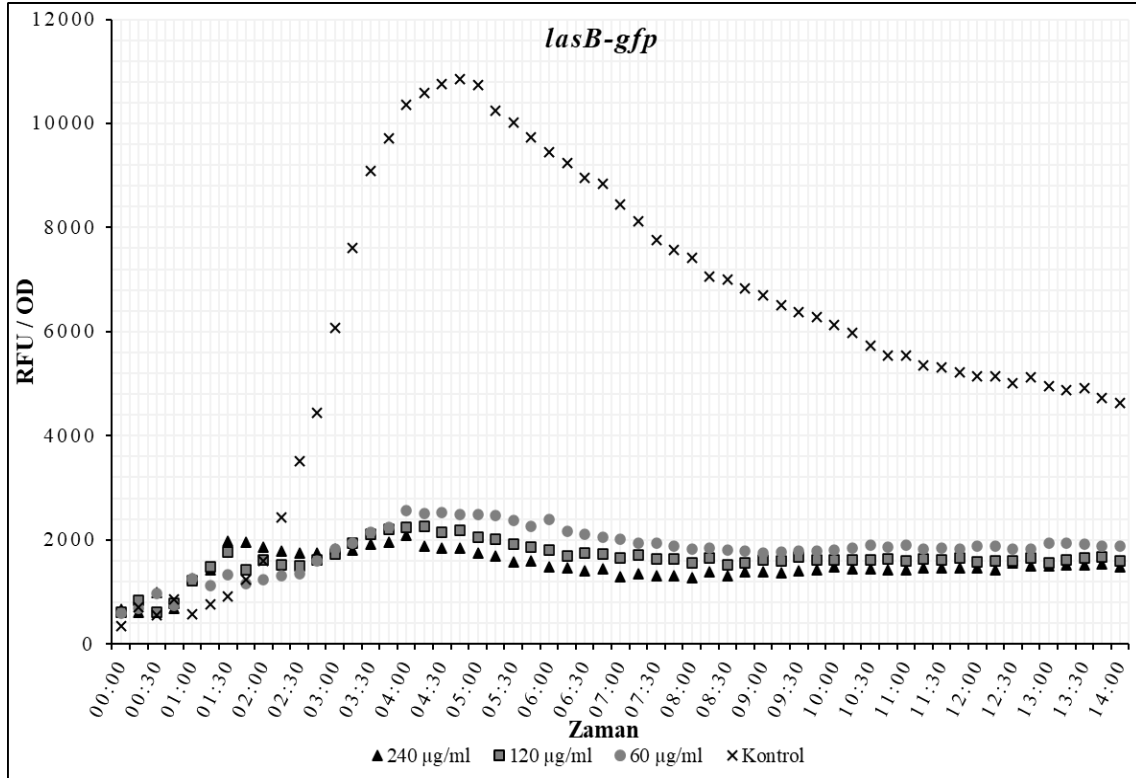
Elde edilen bulgulara göre, ELF2 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %49.97 (± 1.58), %44.72 (± 2) ve %40.08(± 3.68) olarak saptanmıştır.

3.1.2.5. ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

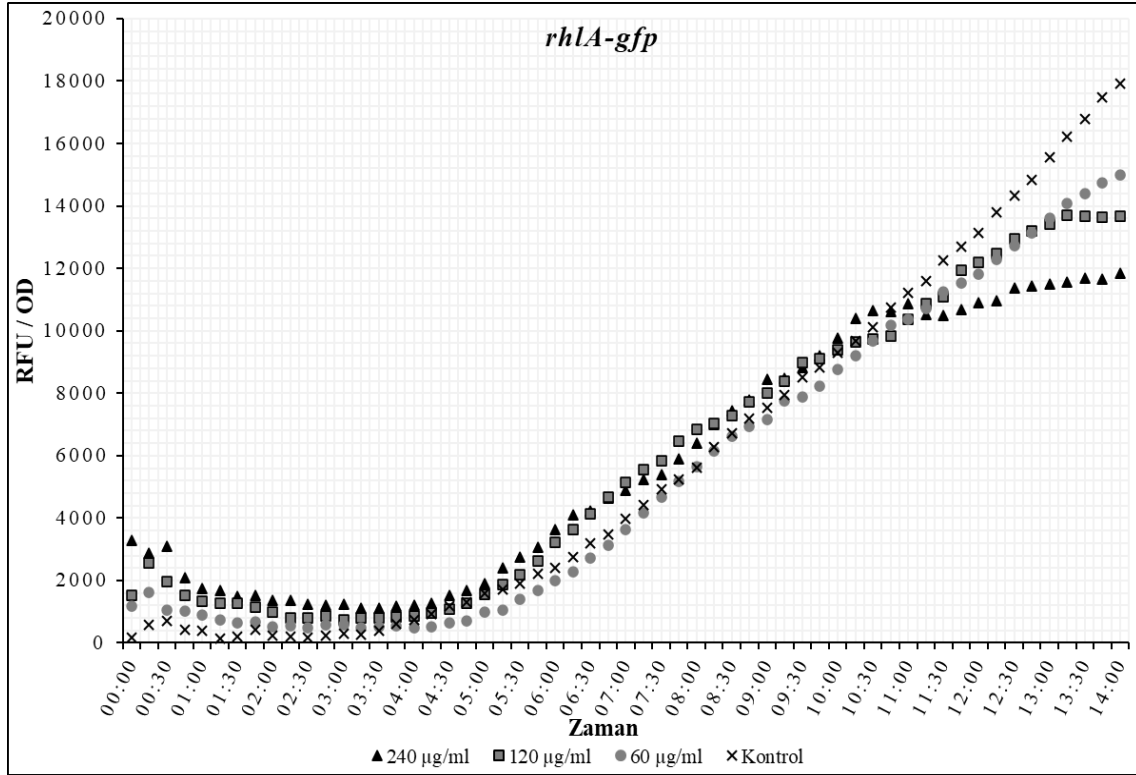


Şekil 3.85. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF4 etil asetat özütü eklenmemiştir.



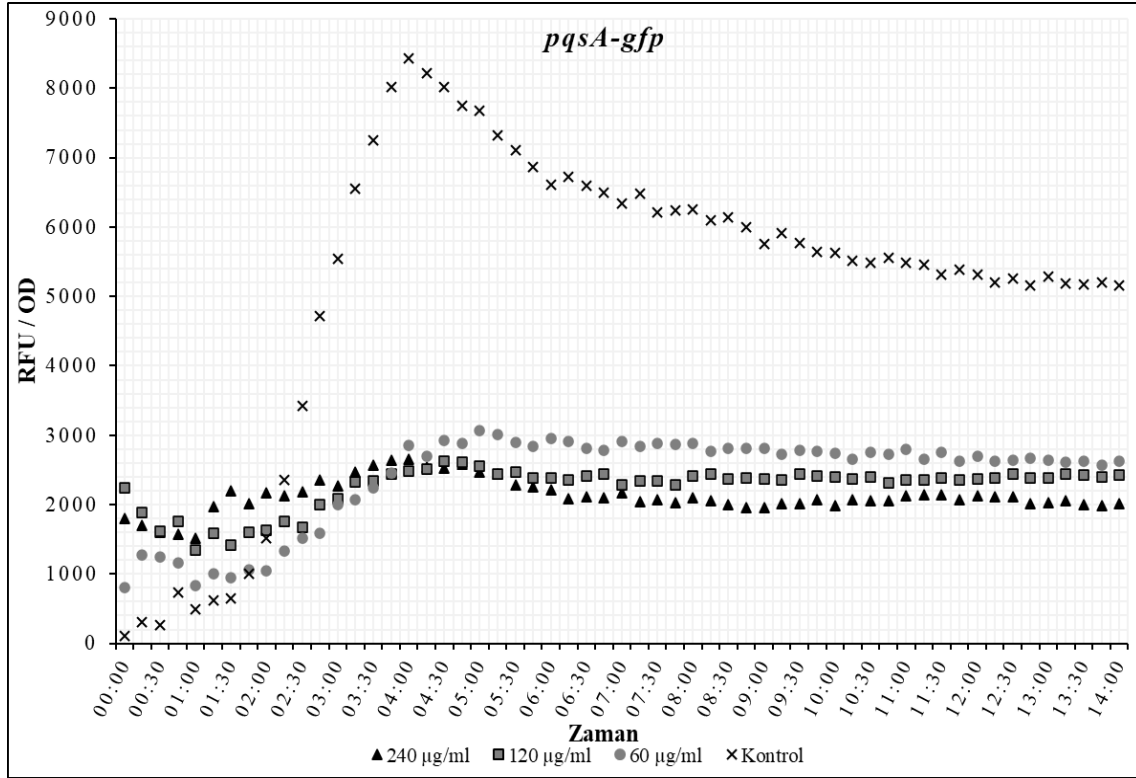
Şekil 3.86. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF4 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF4 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %68.08, %65.43 ve %59.42 olarak saptanmıştır.



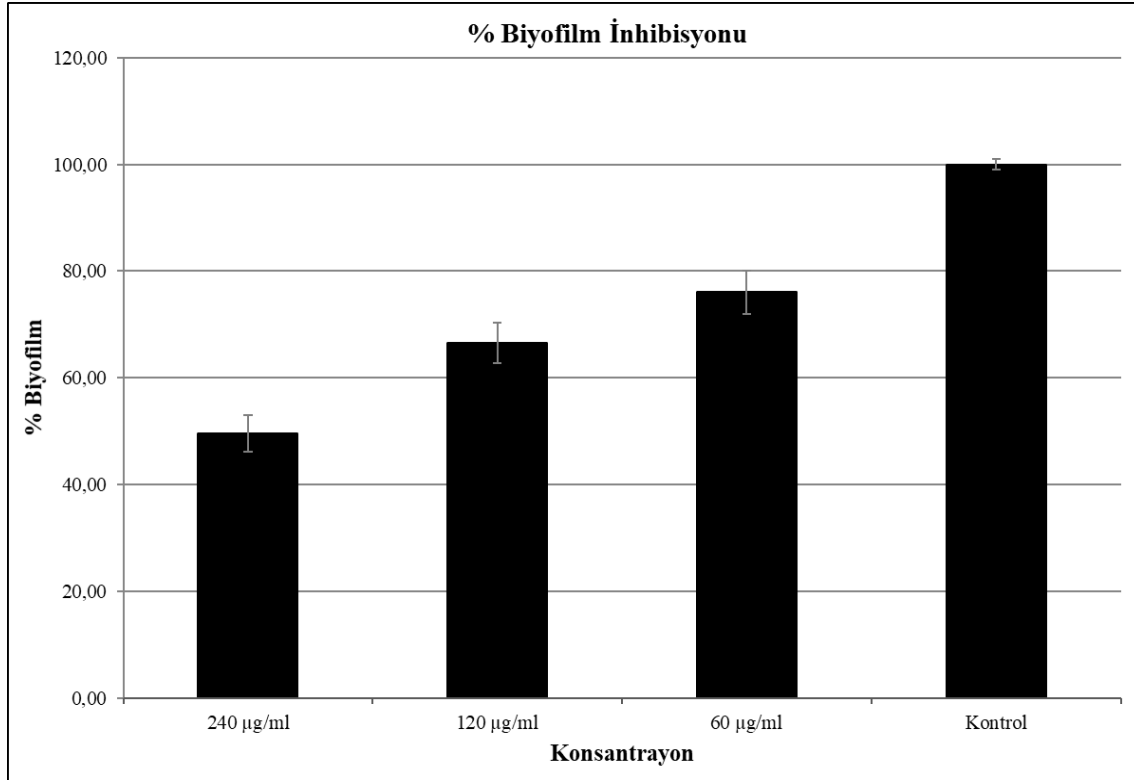
Şekil 3.87. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF4 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF4 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %33.96, %23.61 ve %11.78 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.88. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF4 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF4 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %61.10, %53.14 ve %49.28 olarak saptanmıştır.

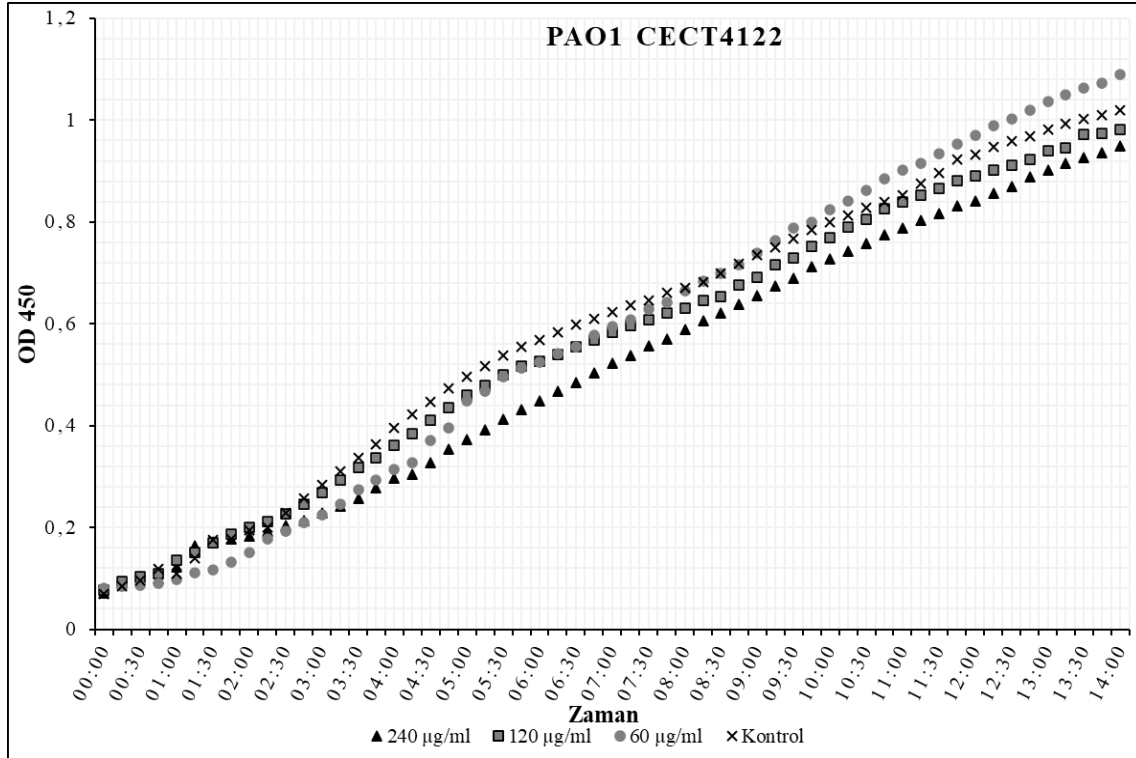


Şekil 3.89. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF4 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF4 etil asetat özütü eklenmemiştir.

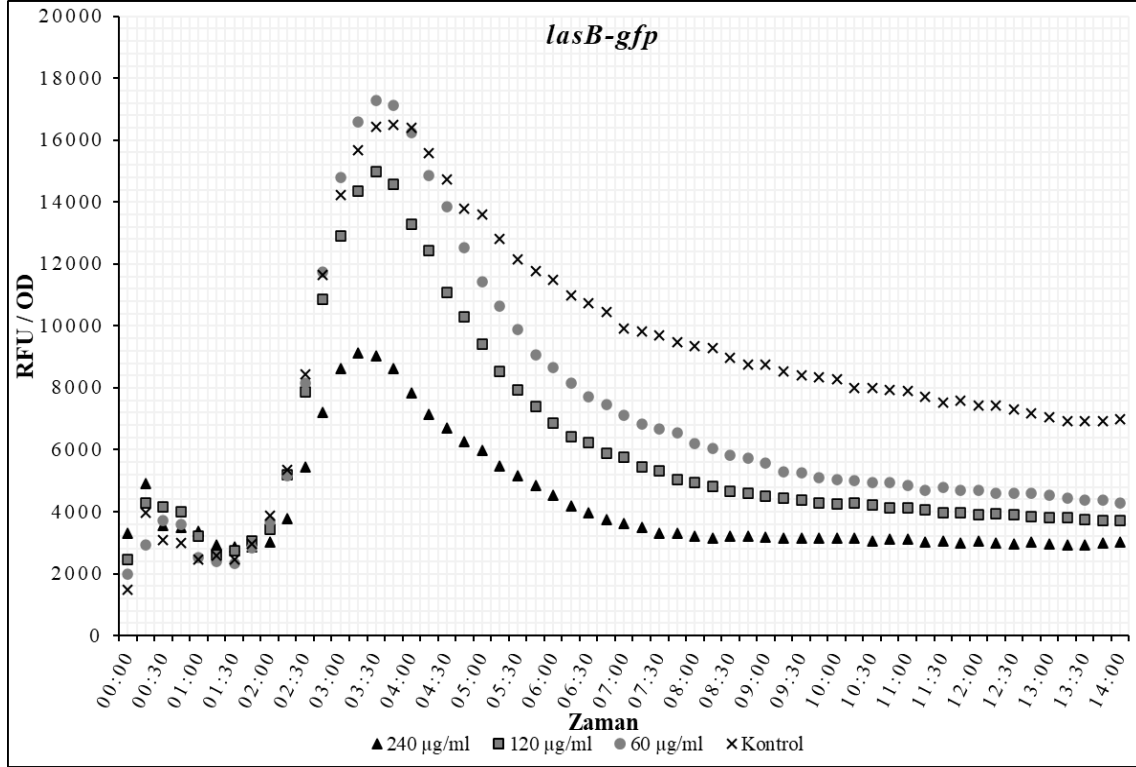
Elde edilen bulgulara göre, ELF4 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %50.42 (±3.42), %33.38 (±3.82) ve %23.93 (±4.10) olarak saptanmıştır.

3.1.2.6. ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

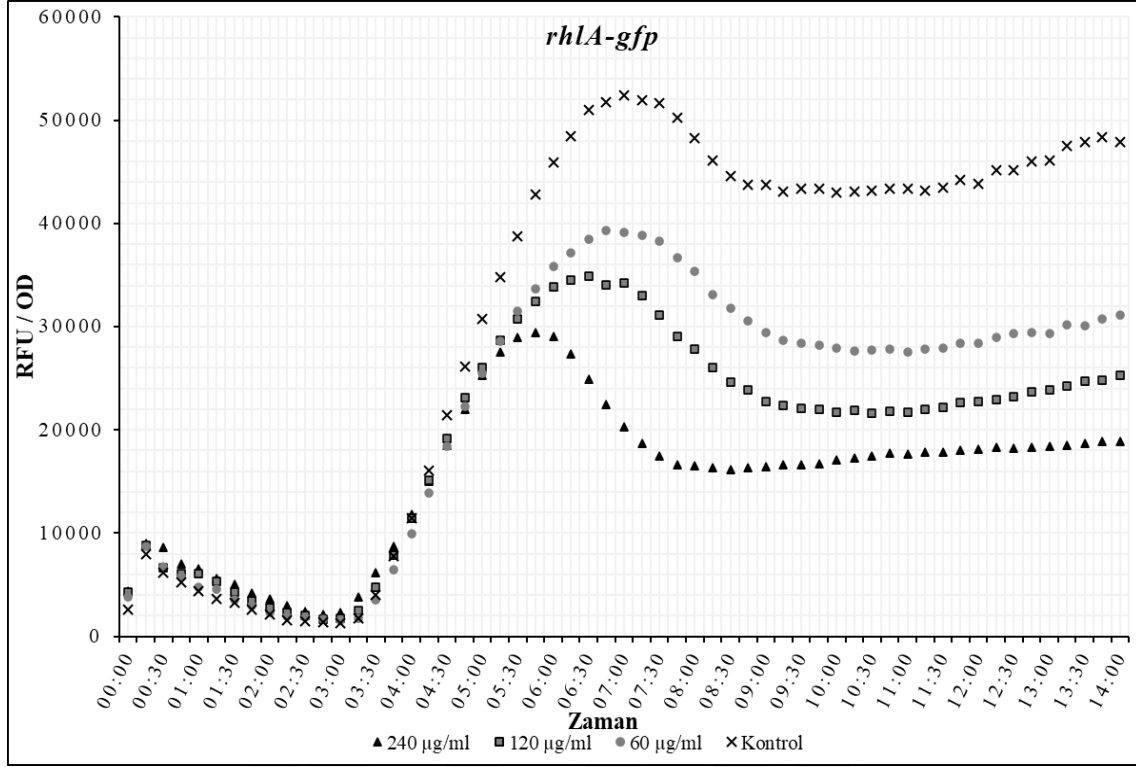


Şekil 3.90. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF5 etil asetat özütü eklenmemiştir.



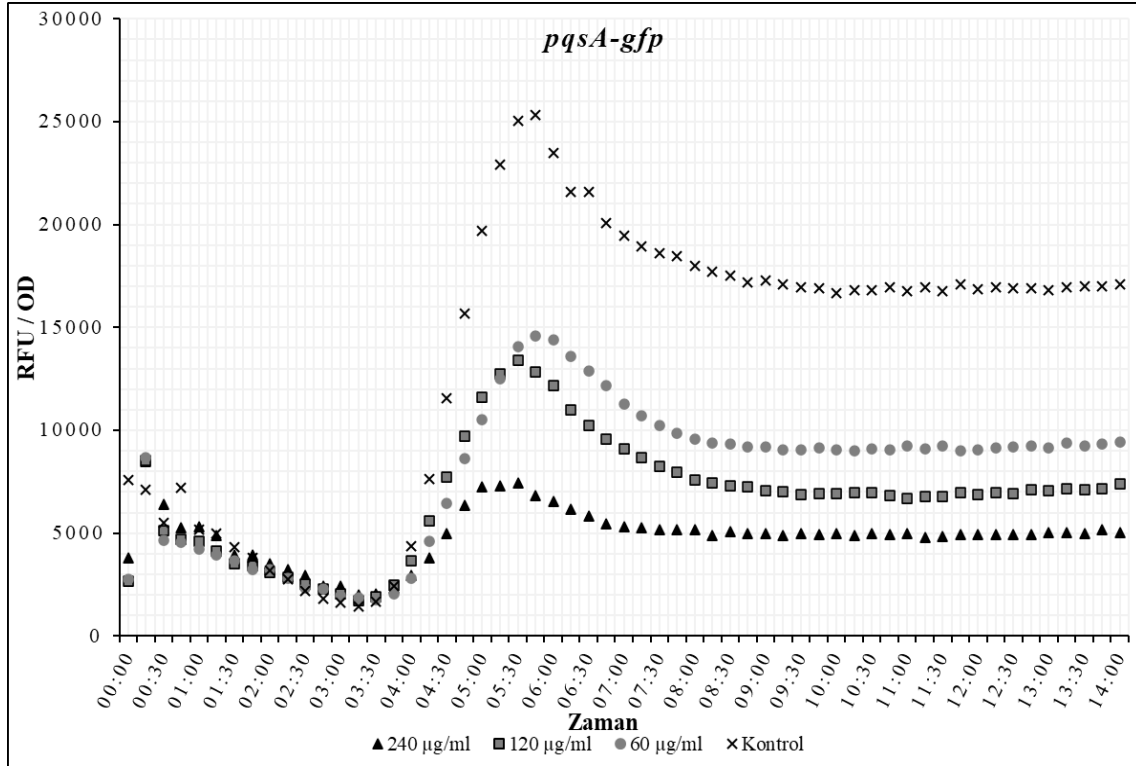
Şekil 3.91. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF5 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF5 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %57.43, %49.98 ve %36.44 olarak saptanmıştır.



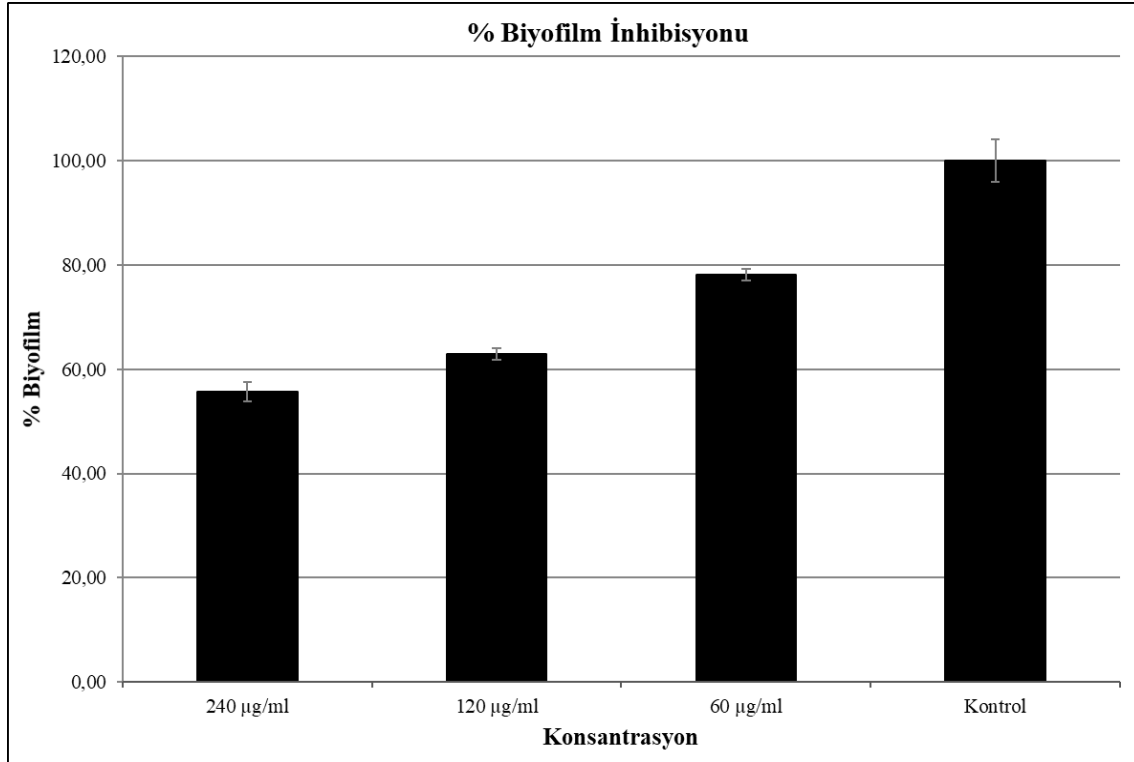
Şekil 3.92. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF5 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF5 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %60.85, %45.50 ve %34.53 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.93. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF5 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF5 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %70.38, %55.95 ve %45.29 olarak saptanmıştır.

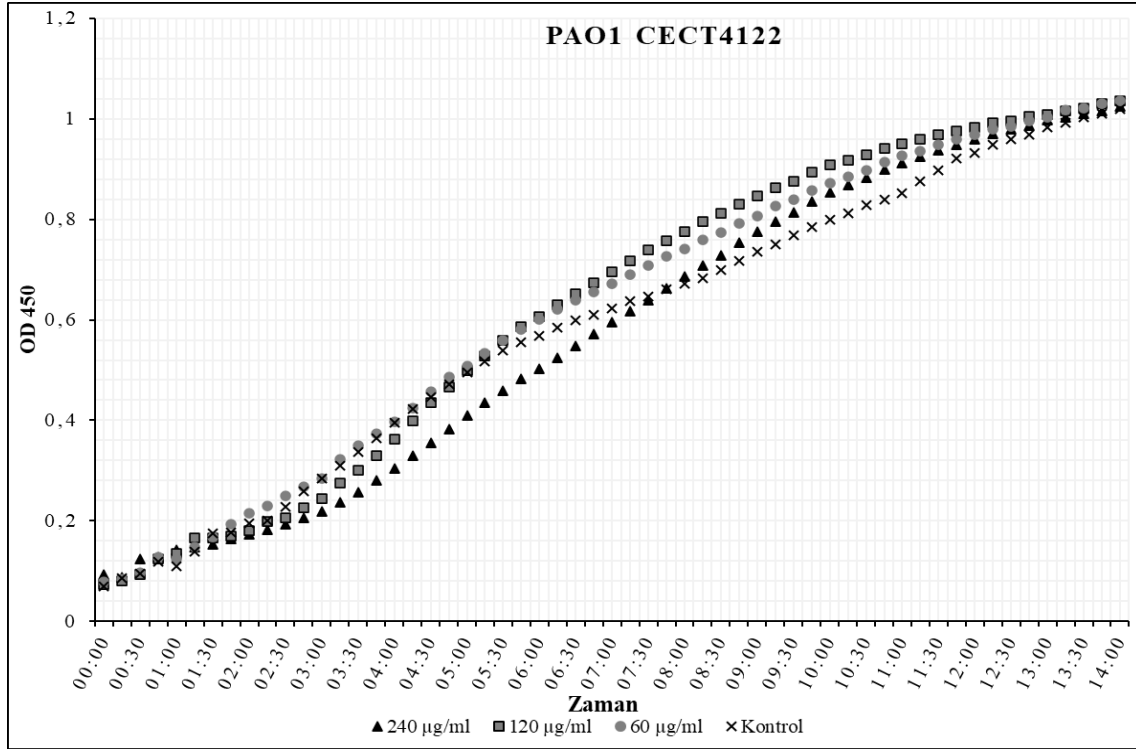


Şekil 3.94. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF5 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF5 etil asetat özütü eklenmemiştir.

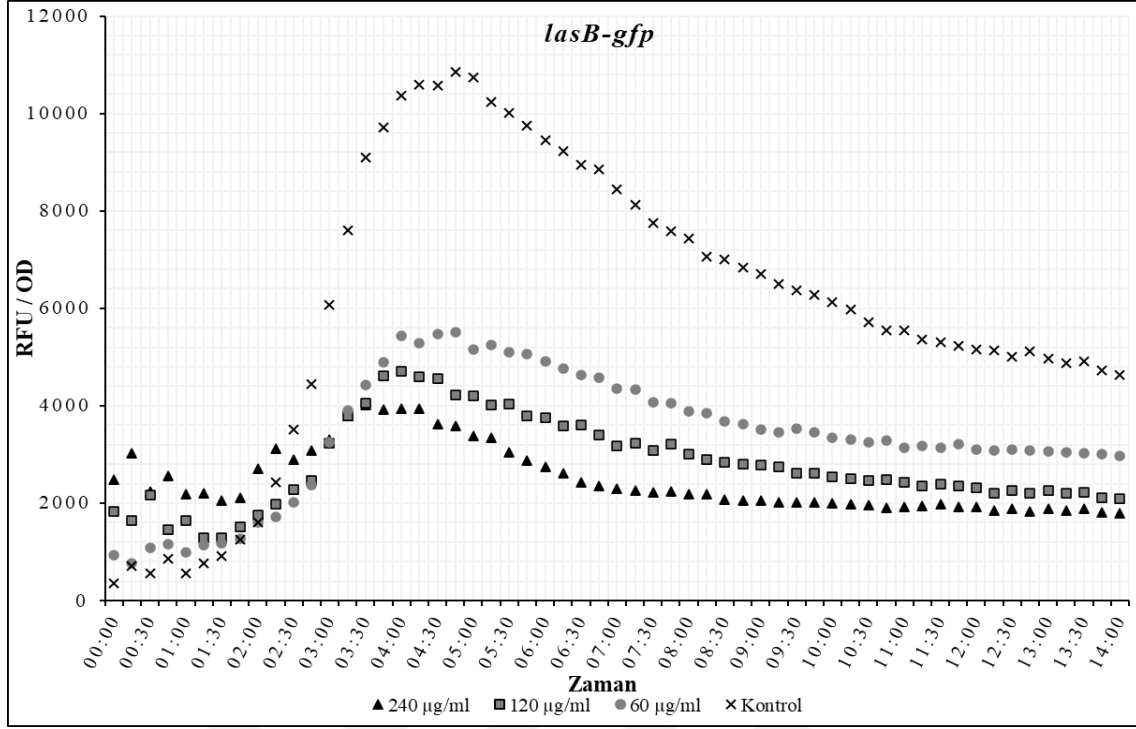
Elde edilen bulgulara göre, ELF5 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %44.33 (± 1.85), %37.06 (± 1.08) ve %21.82 (± 1.13) olarak saptanmıştır.

3.1.2.7. ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

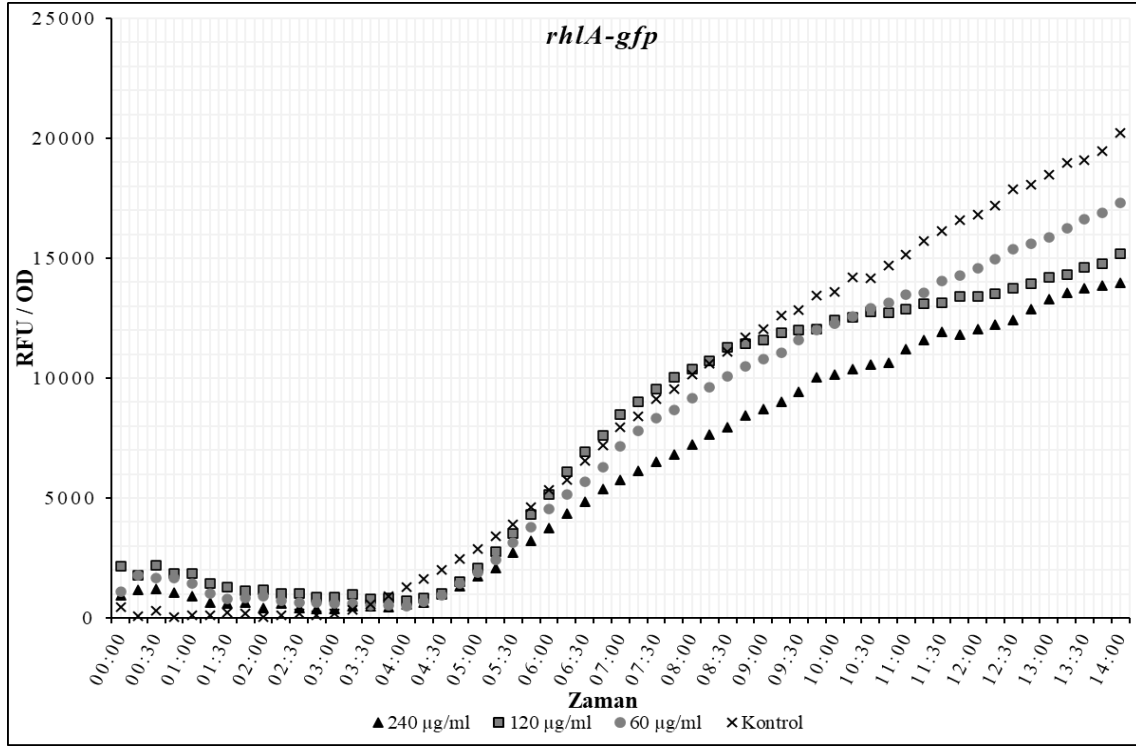


Şekil 3.95. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF6 etil asetat özütü eklenmemiştir.



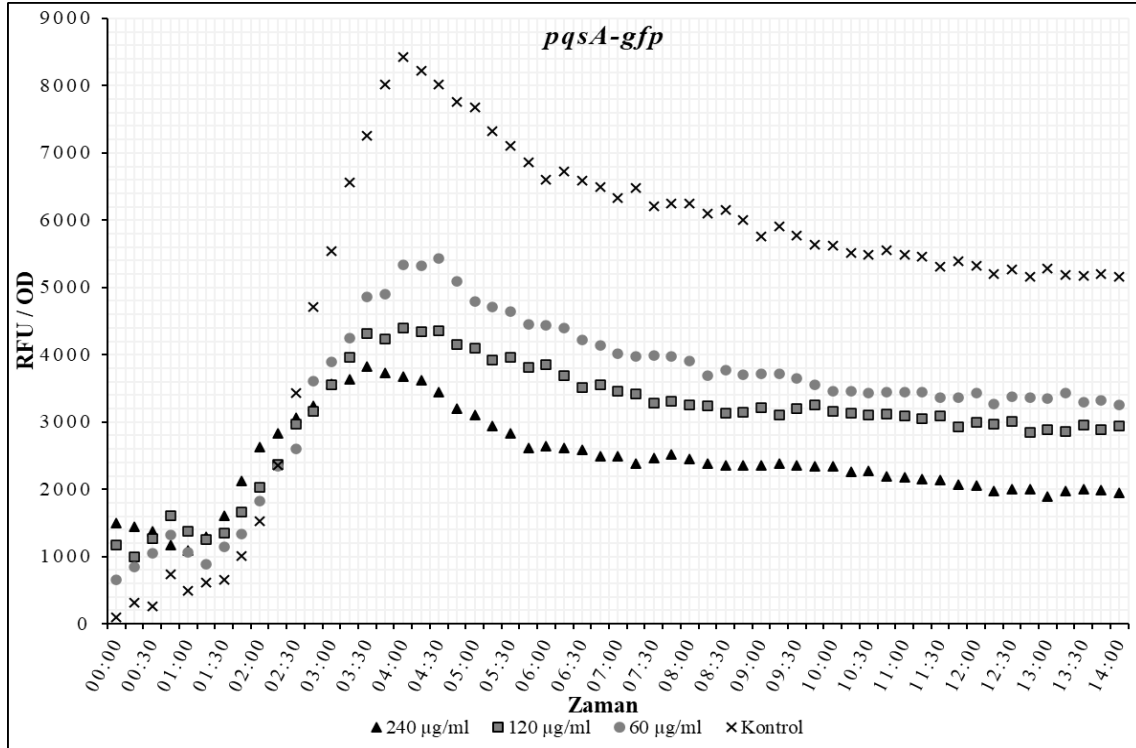
Şekil 3.96. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF6 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF6 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %61.29, %55.01 ve %35.89 olarak saptanmıştır.



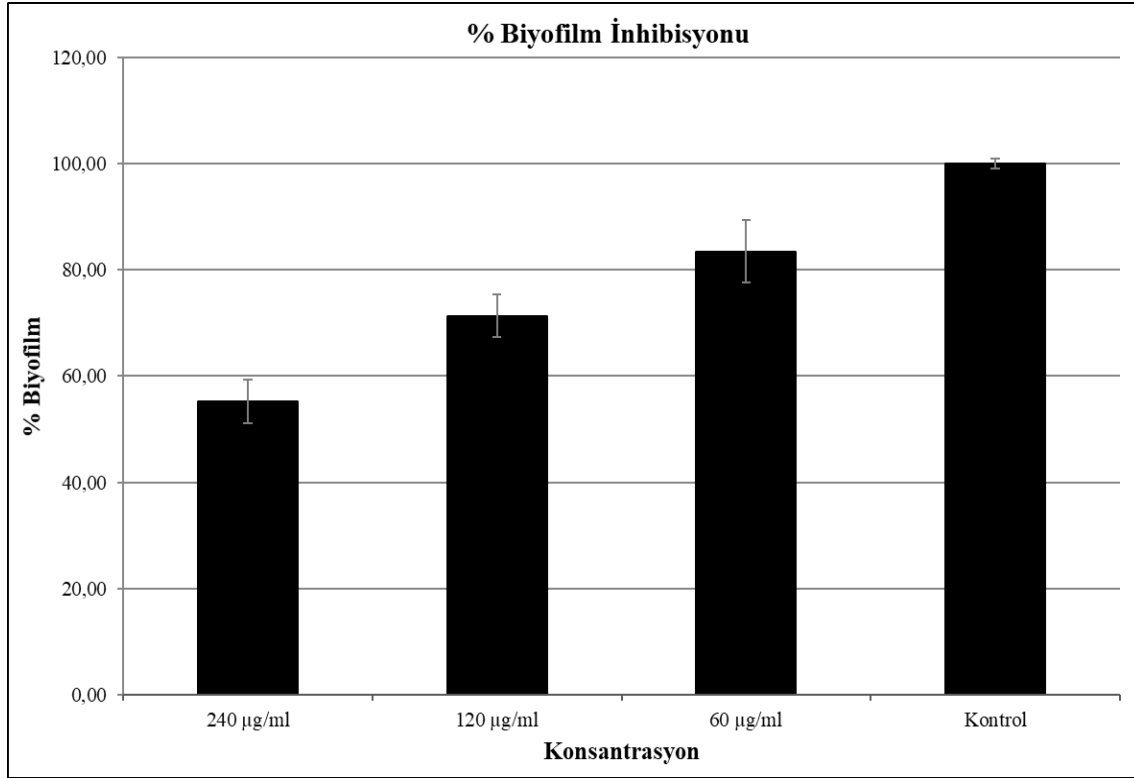
Şekil 3.97. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF6 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF6 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %30.82, %24.90 ve %14.30 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.98. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF6 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF6 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %62.24, %42.92 ve %36.86 olarak saptanmıştır.

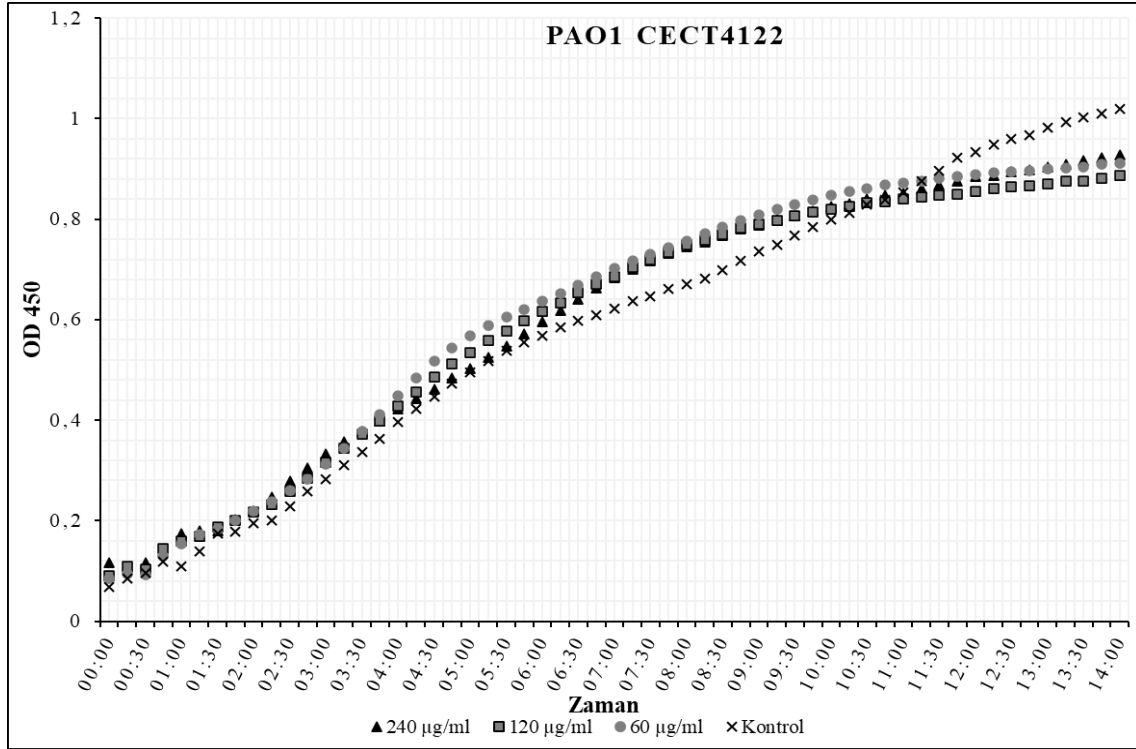


Şekil 3.99. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF6 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF6 etil asetat özütü eklenmemiştir.

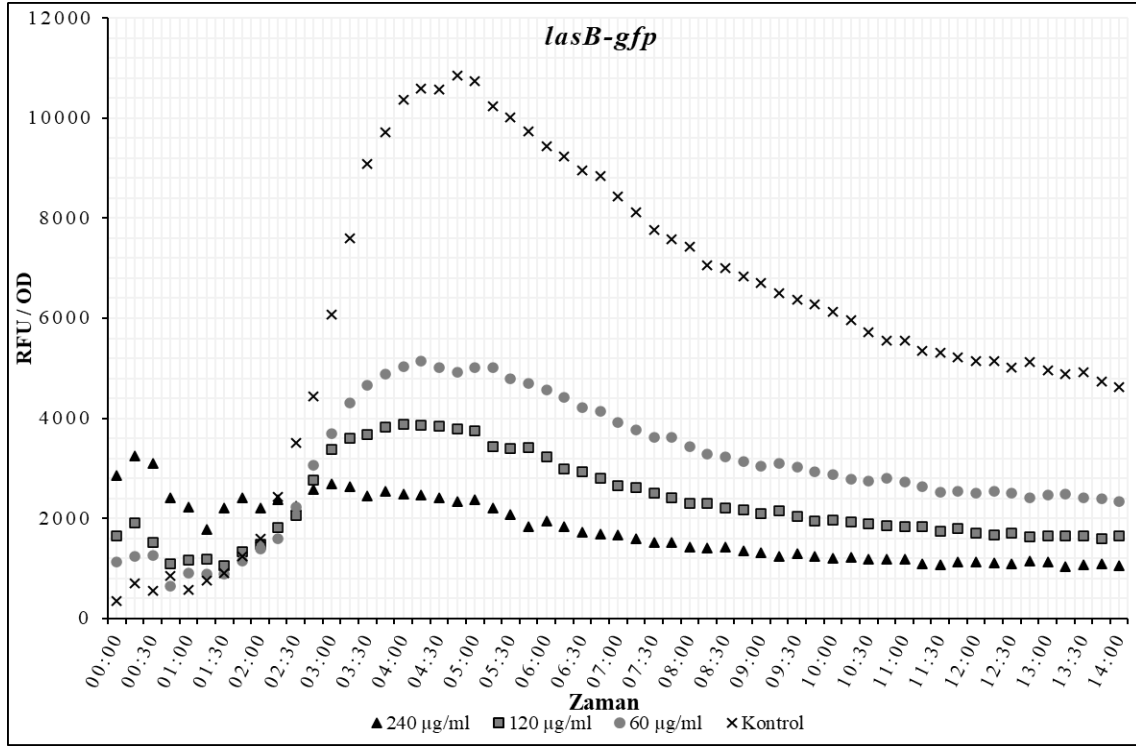
Elde edilen bulgulara göre, ELF6 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %44.71 (± 4.11), %28.63 (± 1.04) ve %16.57 (± 5.86) olarak saptanmıştır.

3.1.2.8. ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

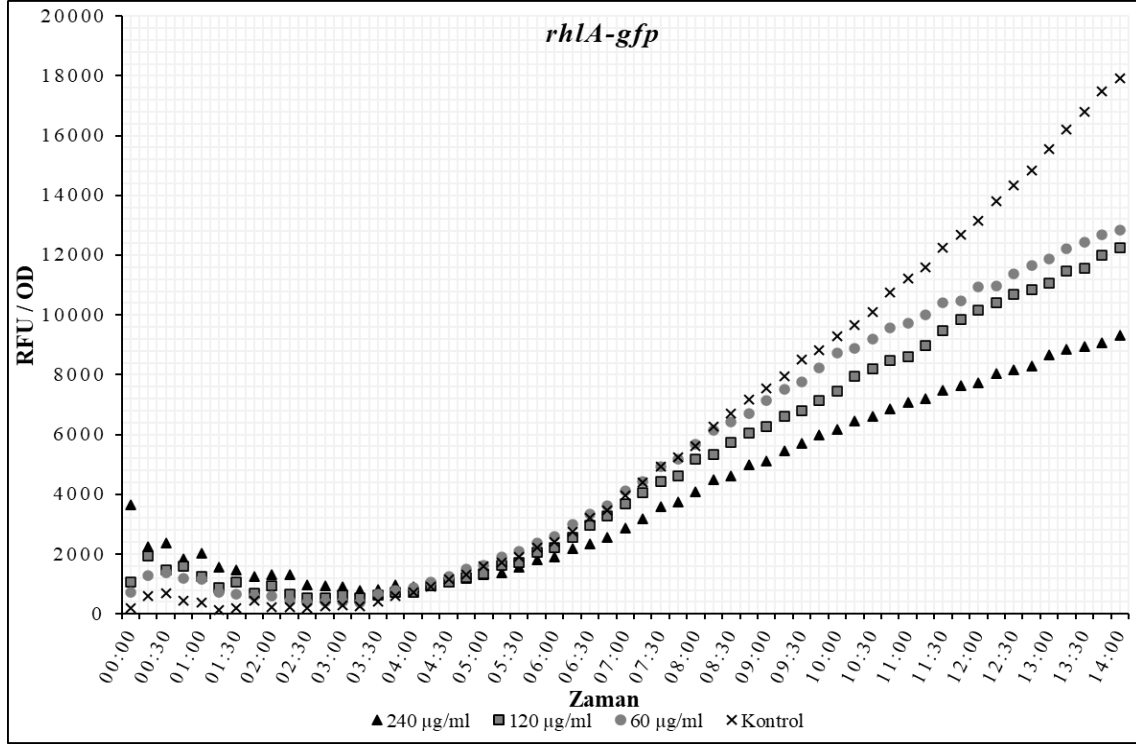


Şekil 3.100. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF7 etil asetat özütü eklenmemiştir.



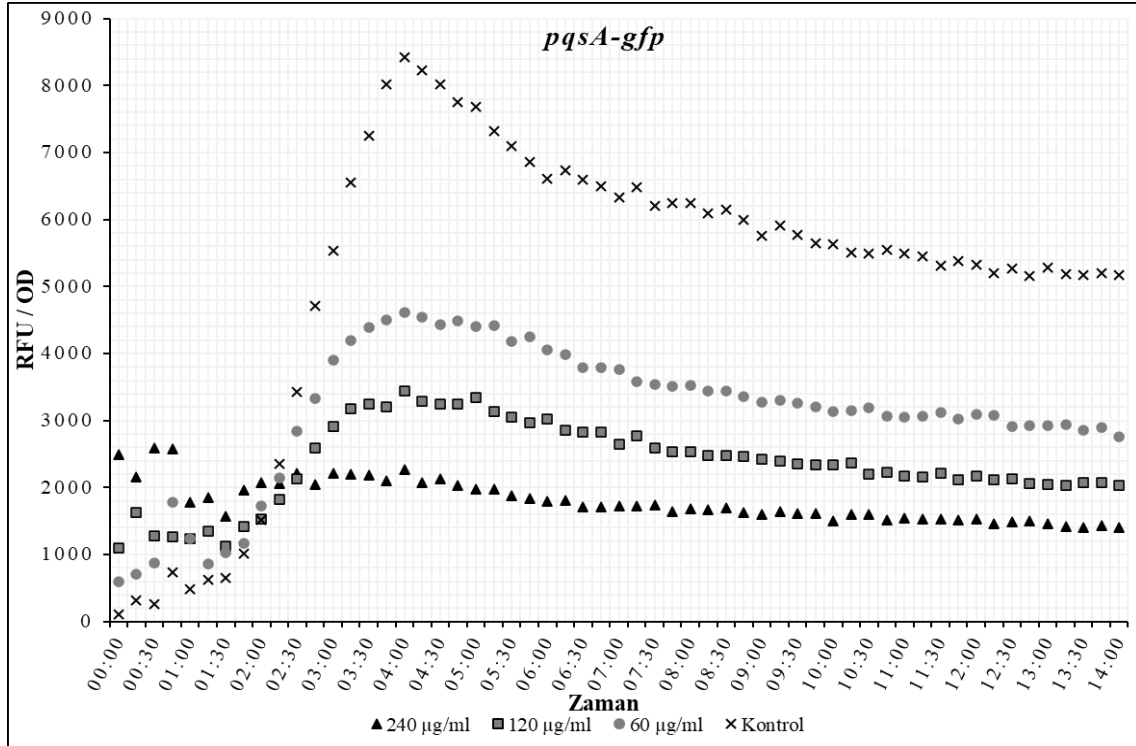
Şekil 3.101. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF7 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF7 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %77.09, %64.18 ve %49.34 olarak saptanmıştır.



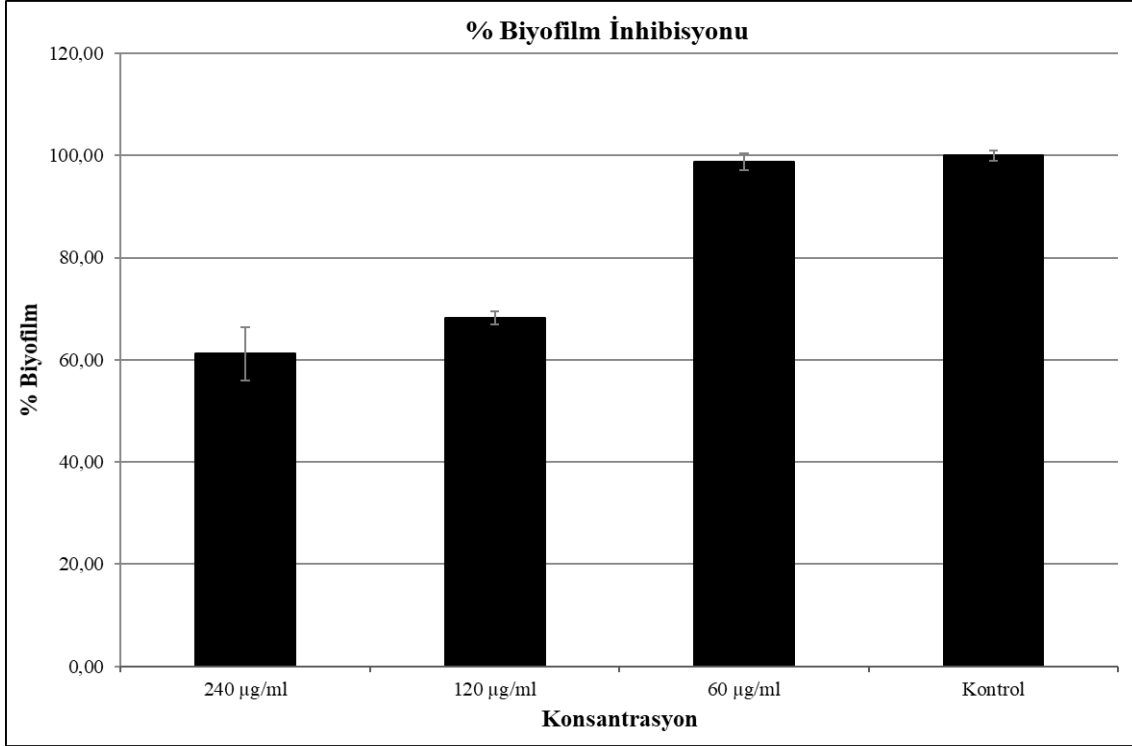
Şekil 3.102. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF7 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF7 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %47.94, %31.62 ve %28.42 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.103. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF7 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF7 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %72.81, %60.55 ve %46.52 olarak saptanmıştır.

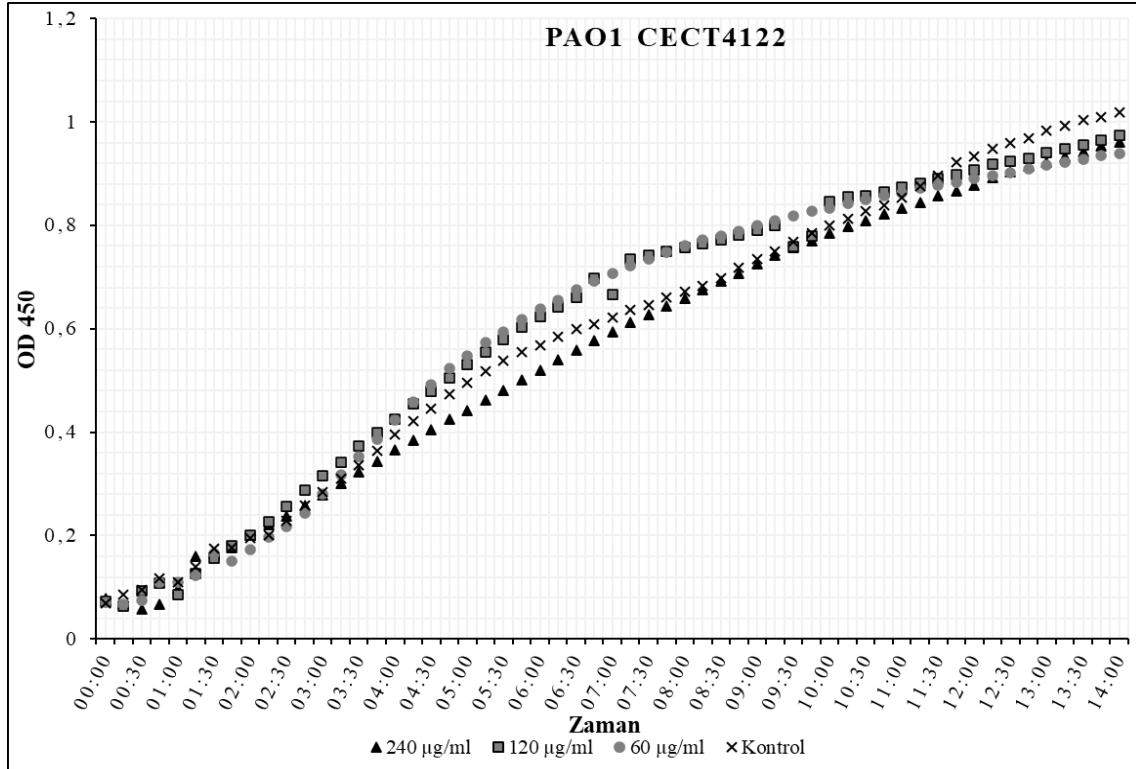


Şekil 3.104. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF7 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF7 etil asetat özütü eklenmemiştir.

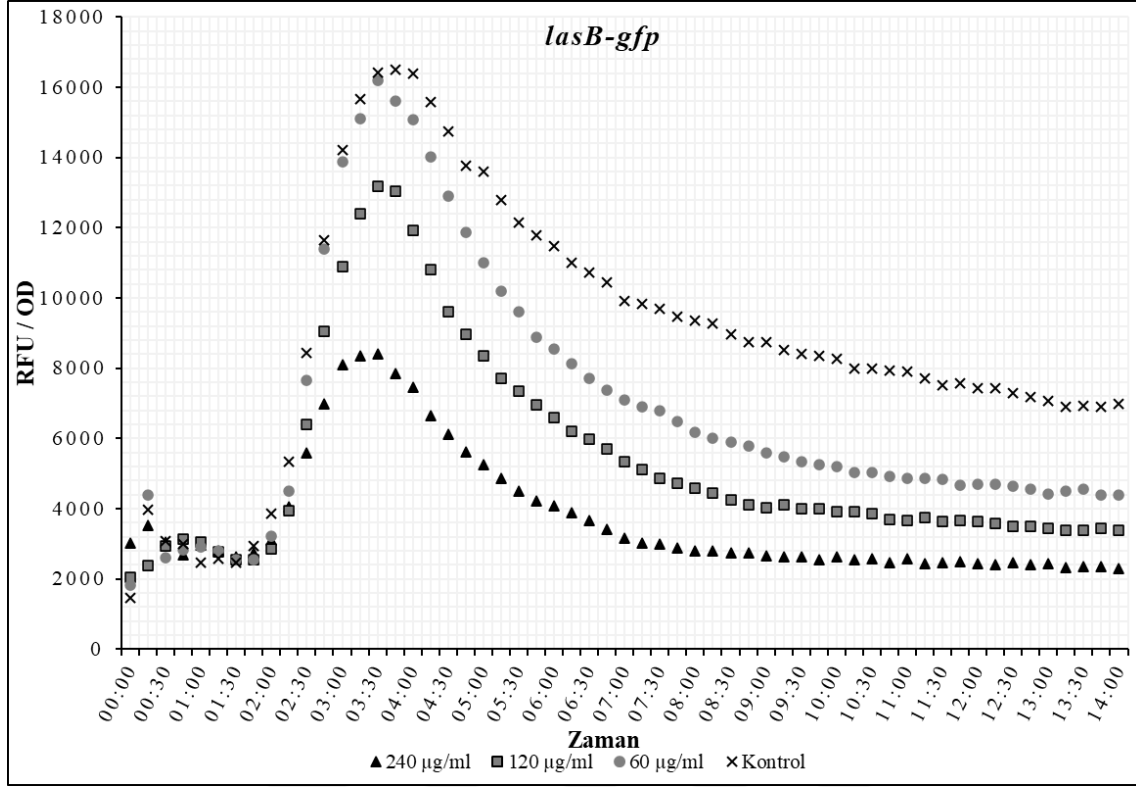
Elde edilen bulgulara göre, ELF7 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %38.81 (± 5.17), %31.85 (± 1.28) ve %1.16 (± 1.64) olarak saptanmıştır.

3.1.2.9. ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

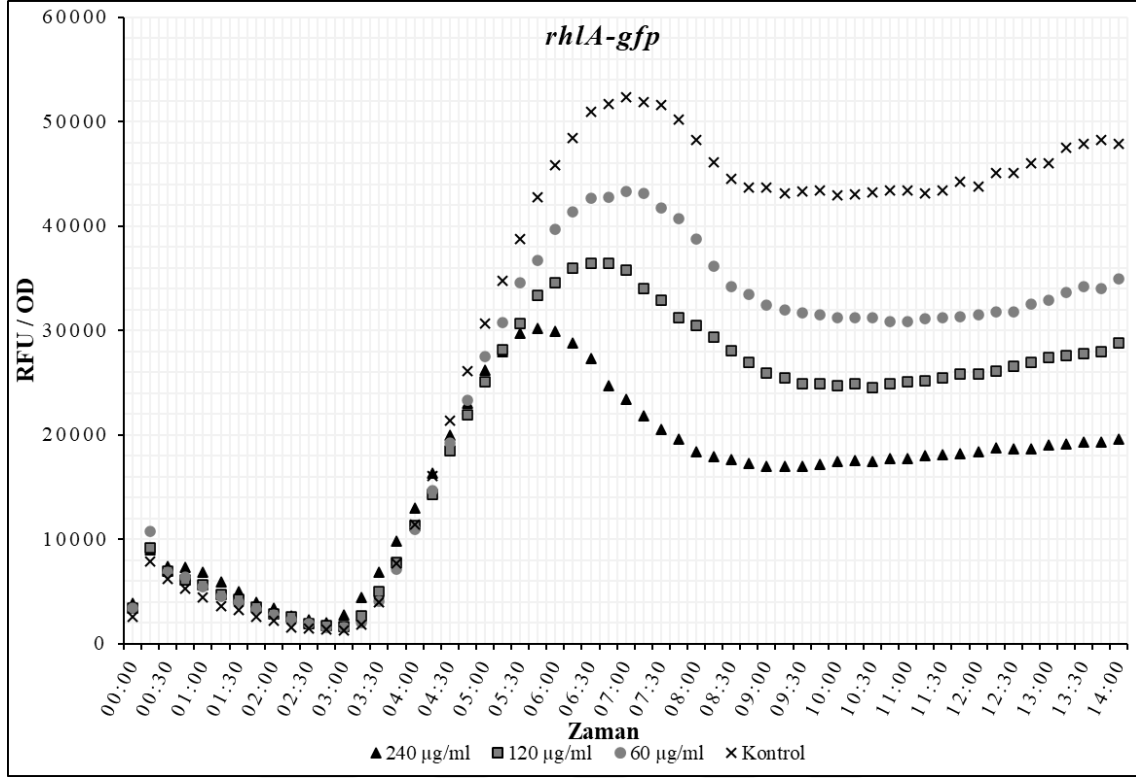


Şekil 3.105. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF10 etil asetat özütü eklenmemiştir.



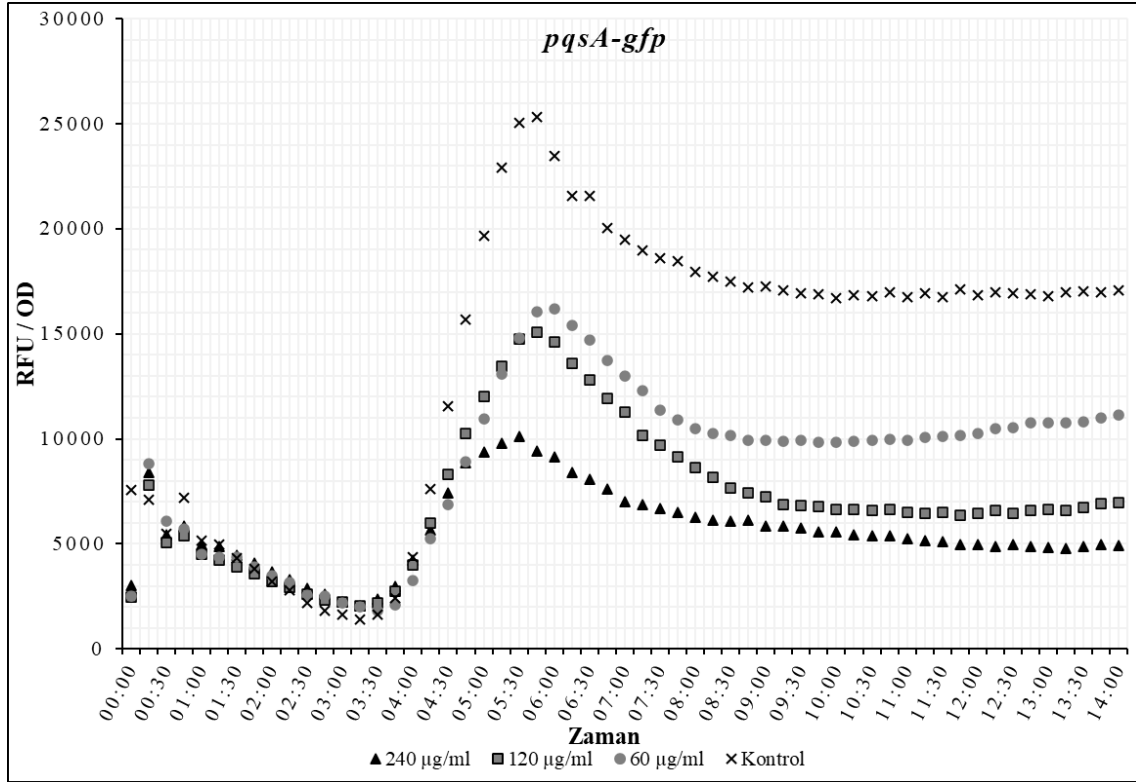
Şekil 3.106. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF10 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF10 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %66.95, %51.38 ve %37.23 olarak saptanmıştır.



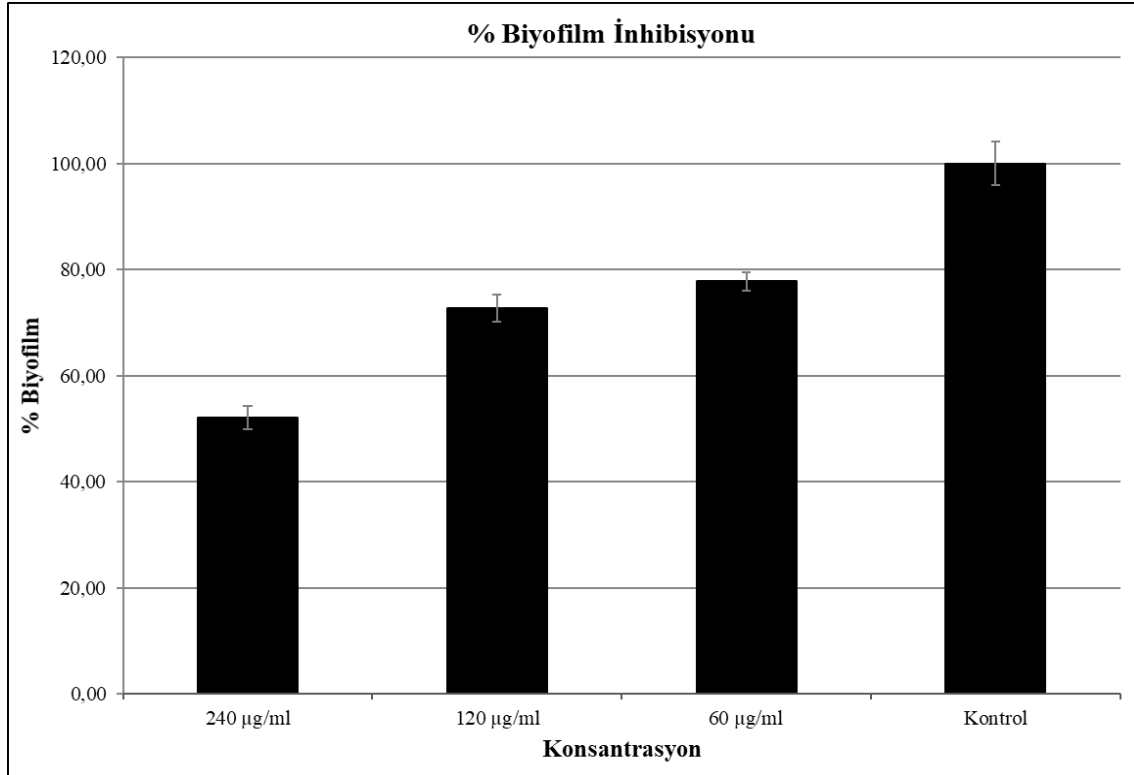
Şekil 3.107. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF10 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF10 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %59.10, %39.81 ve %26.96 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.108. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF10 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF10 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %71.01, %59.15 ve %34.82 olarak saptanmıştır.

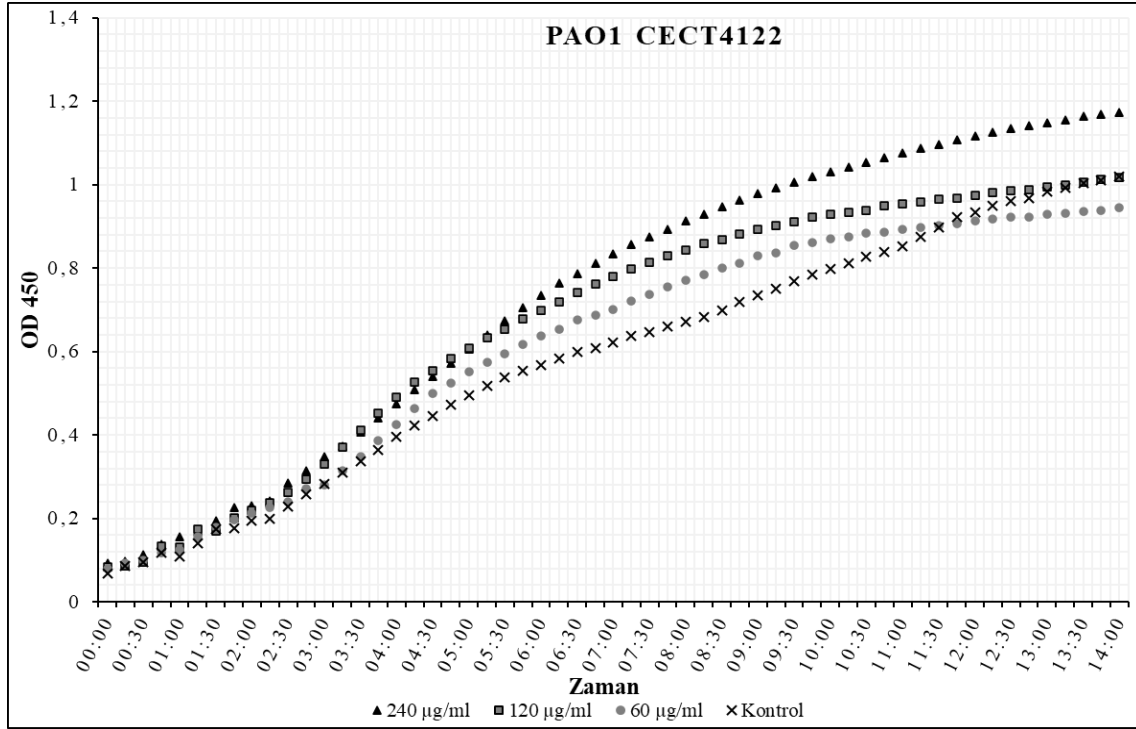


Şekil 3.109. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF10 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF10 etil asetat özütü eklenmemiştir.

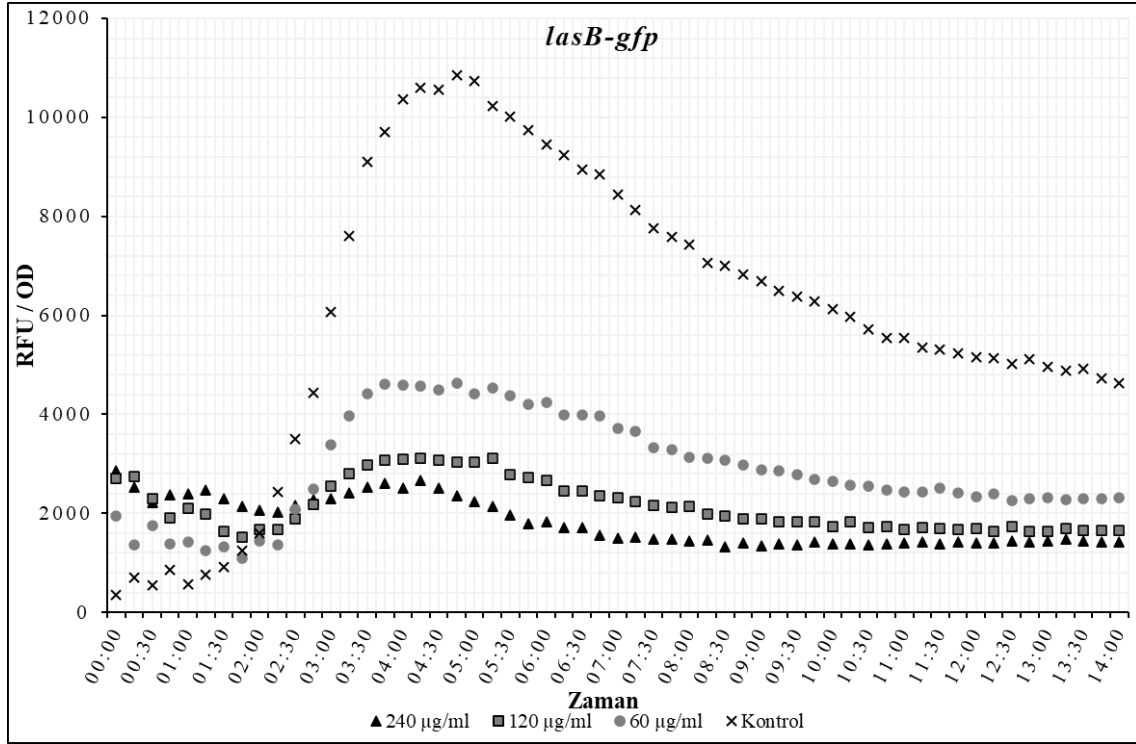
Elde edilen bulgulara göre, ELF10 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %47.84 (± 2.18), %27.28 (± 2.64) ve %22.25 (± 1.73) olarak saptanmıştır.

3.1.2.10. ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

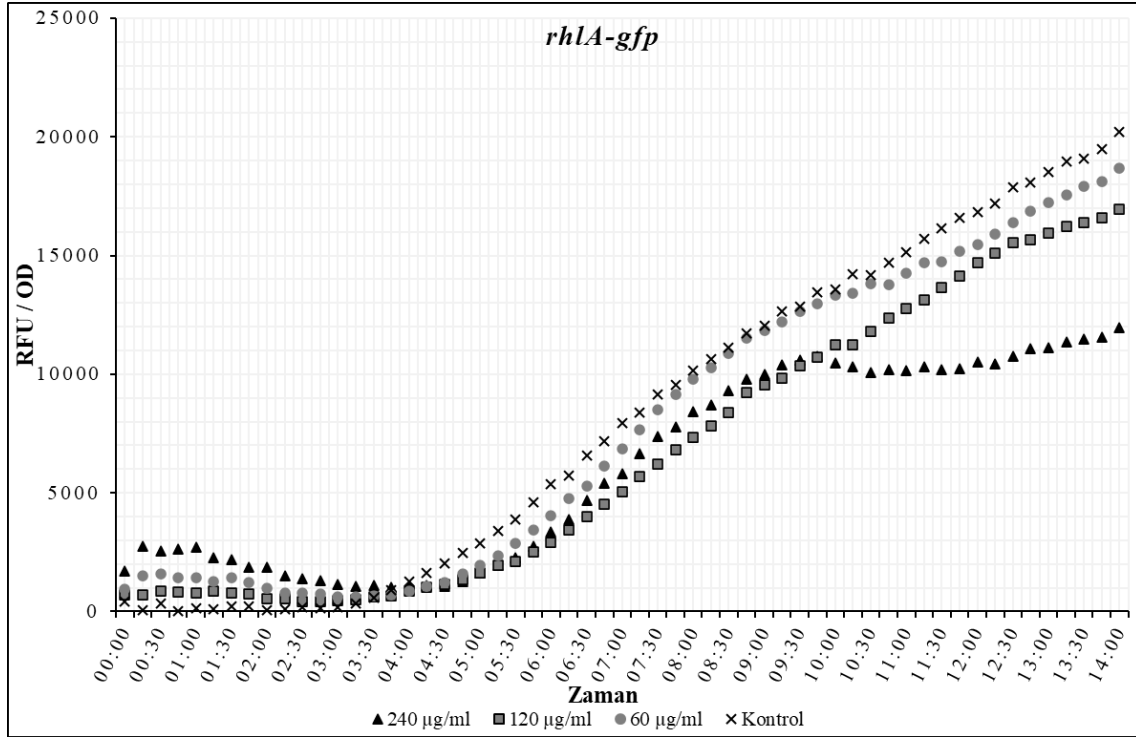


Şekil 3.110. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF11 etil asetat özütü eklenmemiştir.



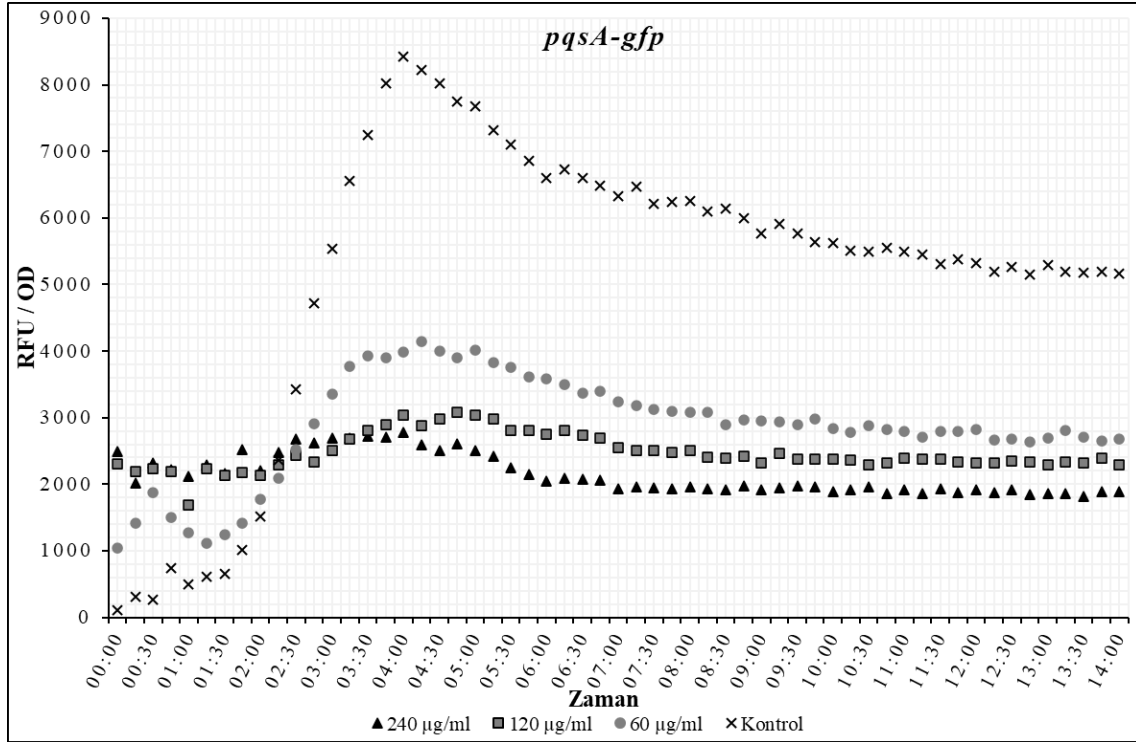
Şekil 3.111. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF11 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF11 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %69.33, %64.10 ve %50.13 olarak saptanmıştır.



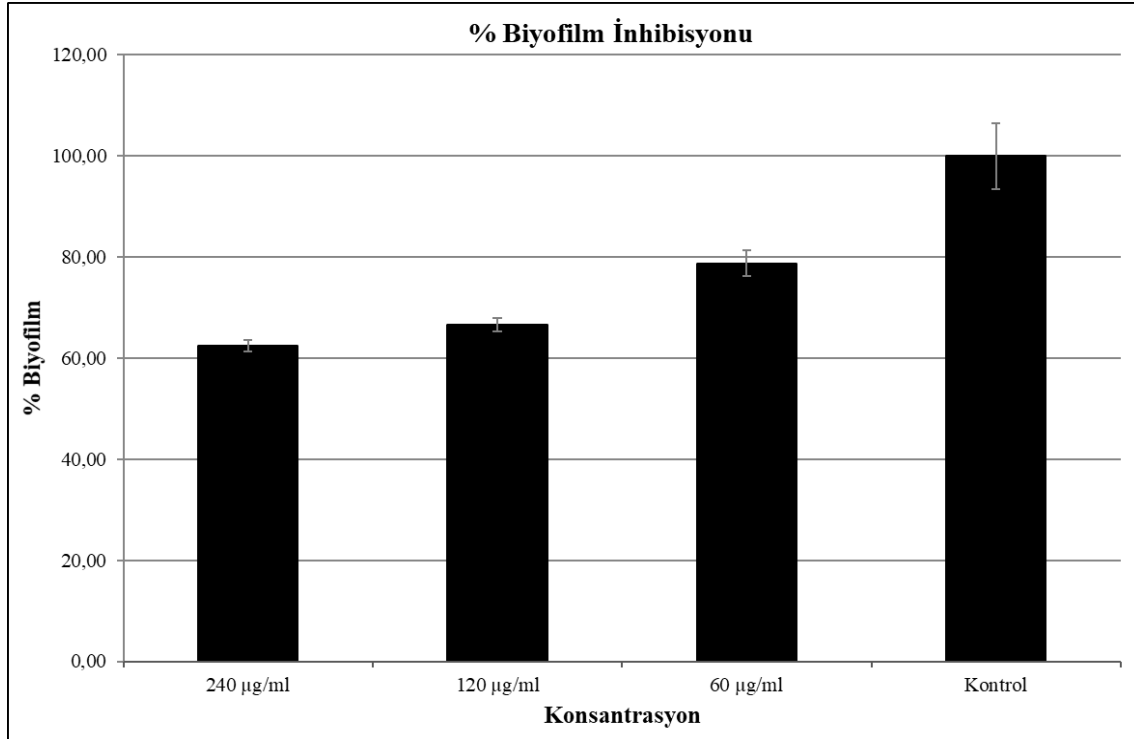
Şekil 3.112. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF11 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF11 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %40.80, %16.08 ve %7.64 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.113. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF11 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF11 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %63.48, %55.68 ve %48.20 olarak saptanmıştır.

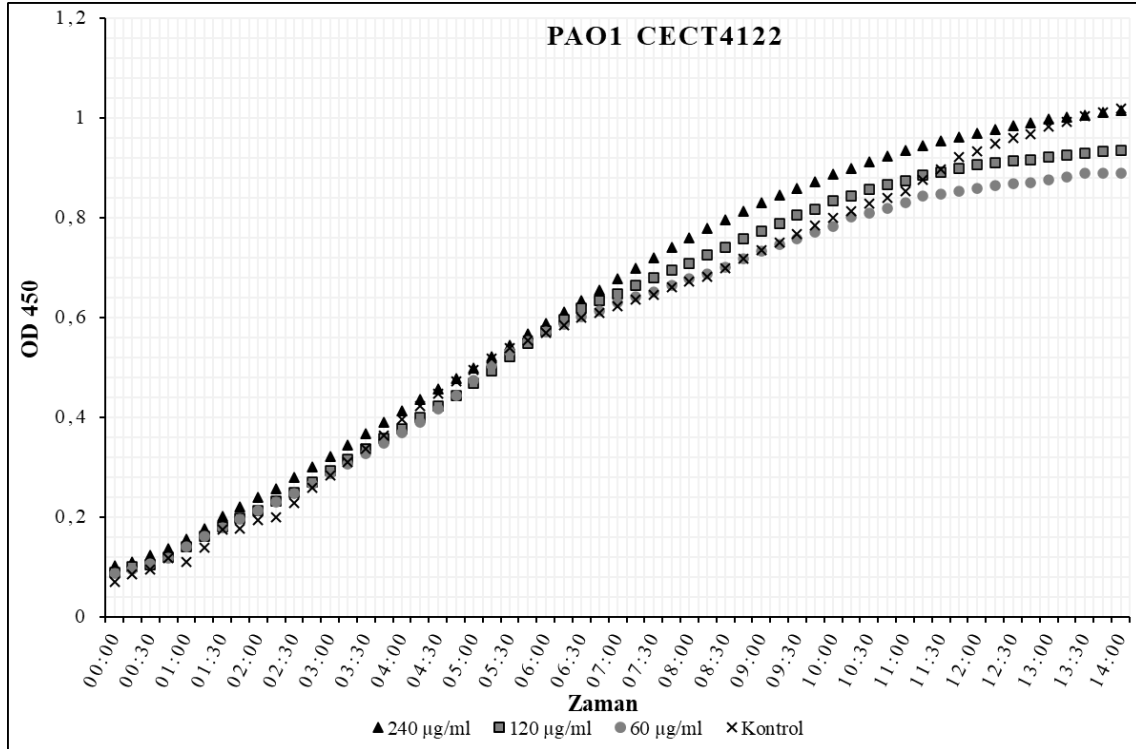


Şekil 3.114. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF11 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF11 etil asetat özütü eklenmemiştir.

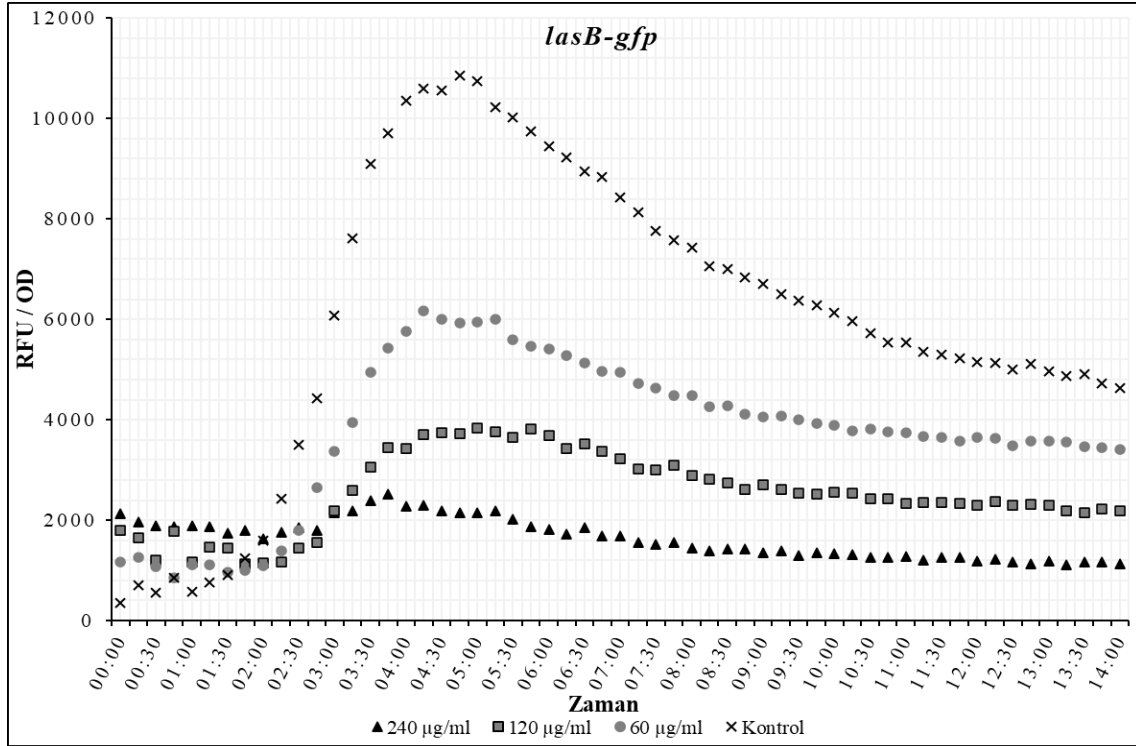
Elde edilen bulgulara göre, ELF11 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %37,56 ($\pm 1,09$), %33,46 ($\pm 1,33$) ve %21,23 ($\pm 2,52$) olarak saptanmıştır.

3.1.2.11. ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

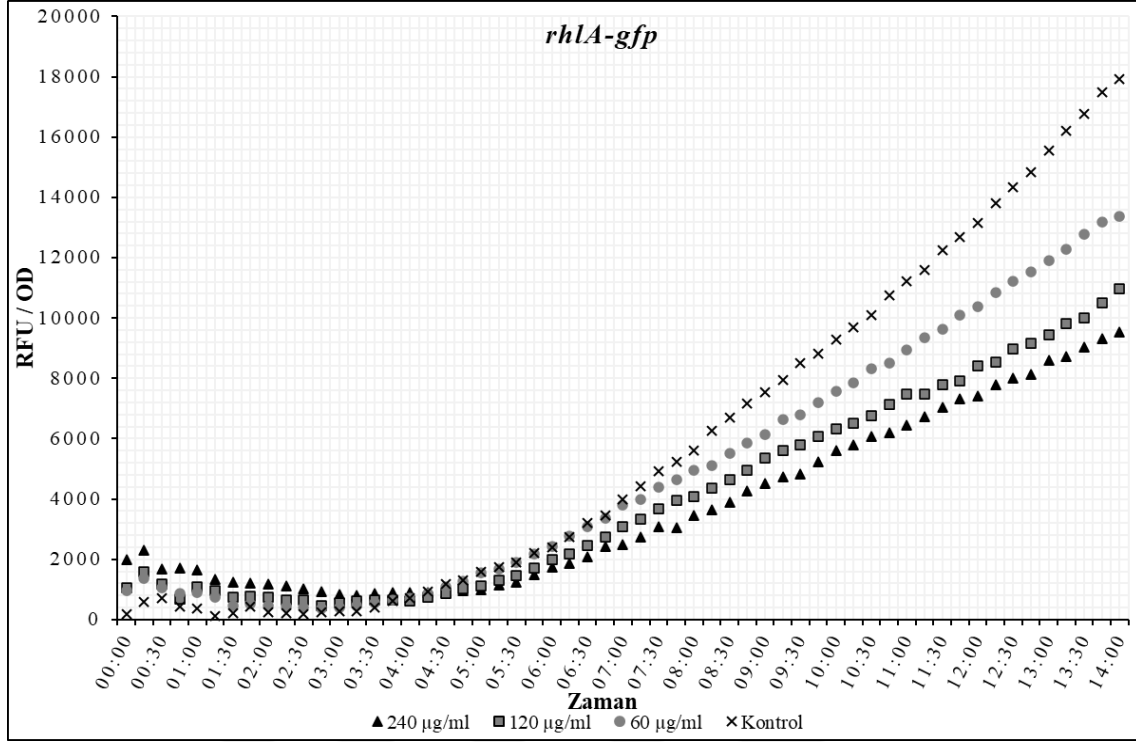


Şekil 3.115. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF84 etil asetat özütü eklenmemiştir.



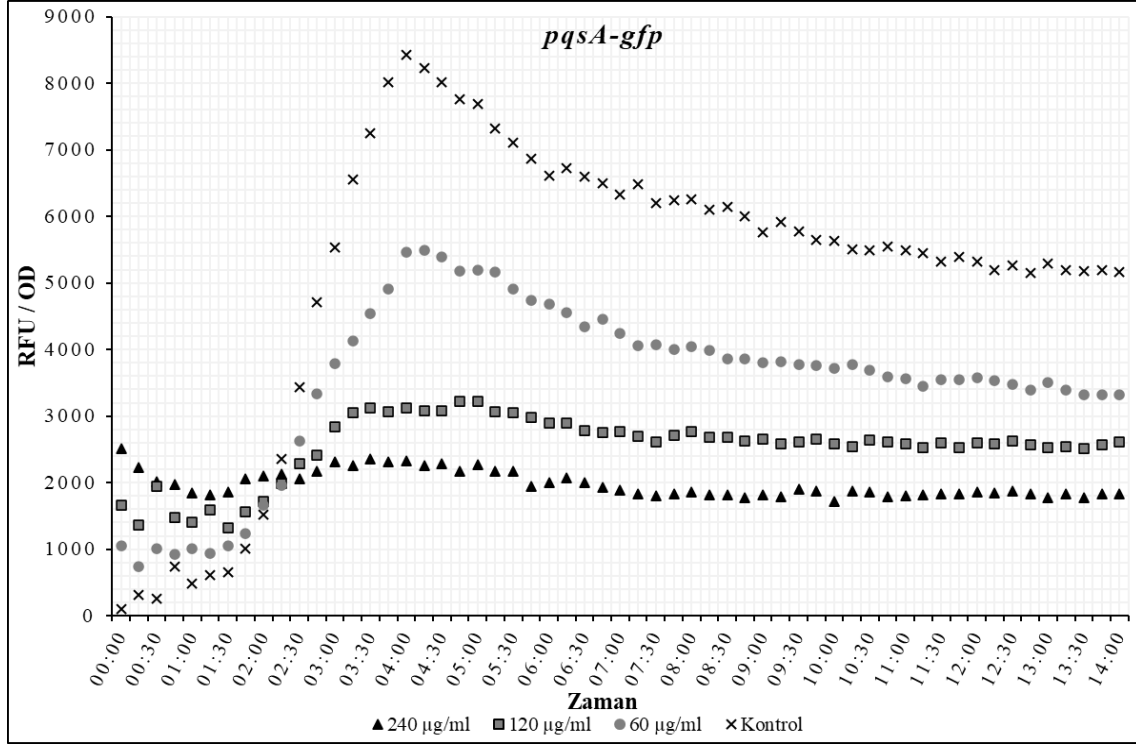
Şekil 3.116. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF84 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF84 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %75.68, %52.85 ve %26.26 olarak saptanmıştır.



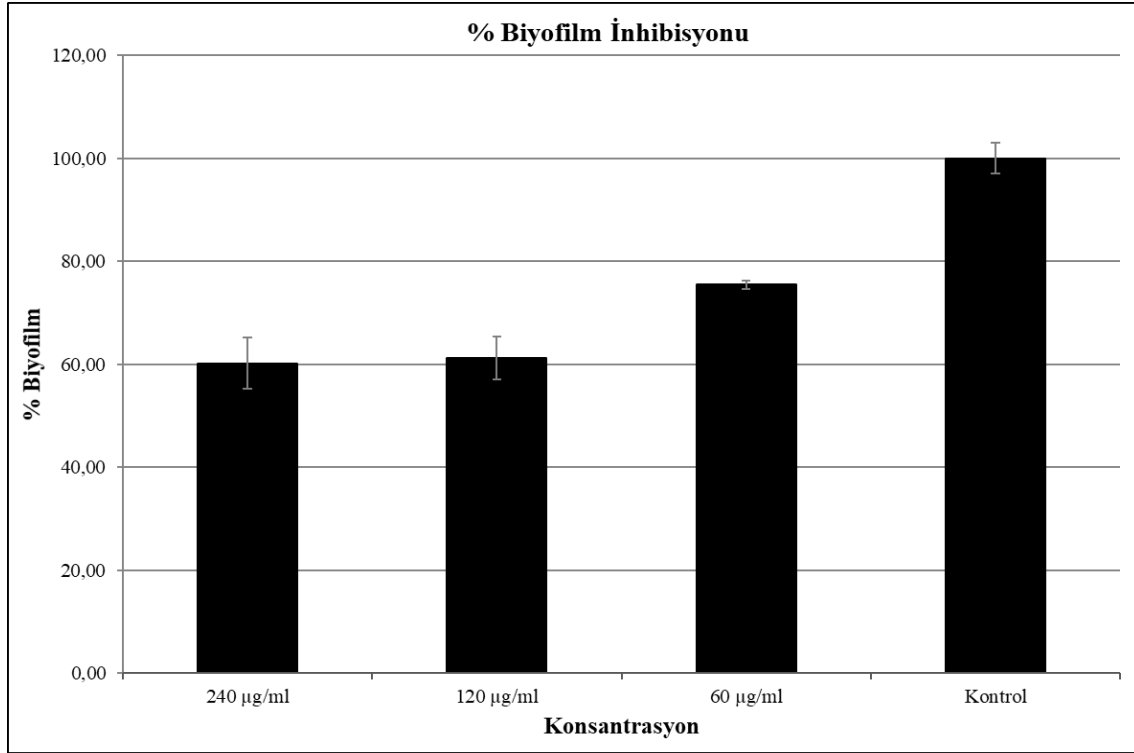
Şekil 3.117. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF84 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF84 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %46.77, %38.76 ve %25.40 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.118. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF84 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF84 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %64.52, %49.37 ve %35.57 olarak saptanmıştır.

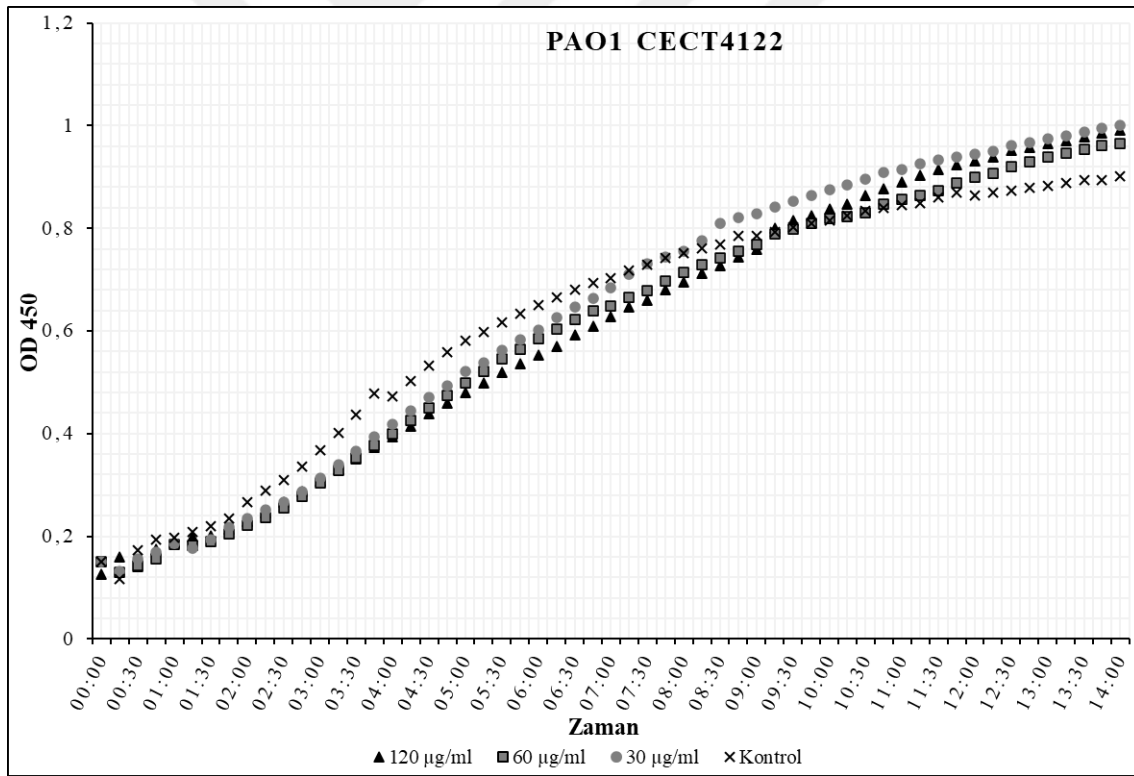


Şekil 3.119. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF84 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF84 etil asetat özütü eklenmemiştir.

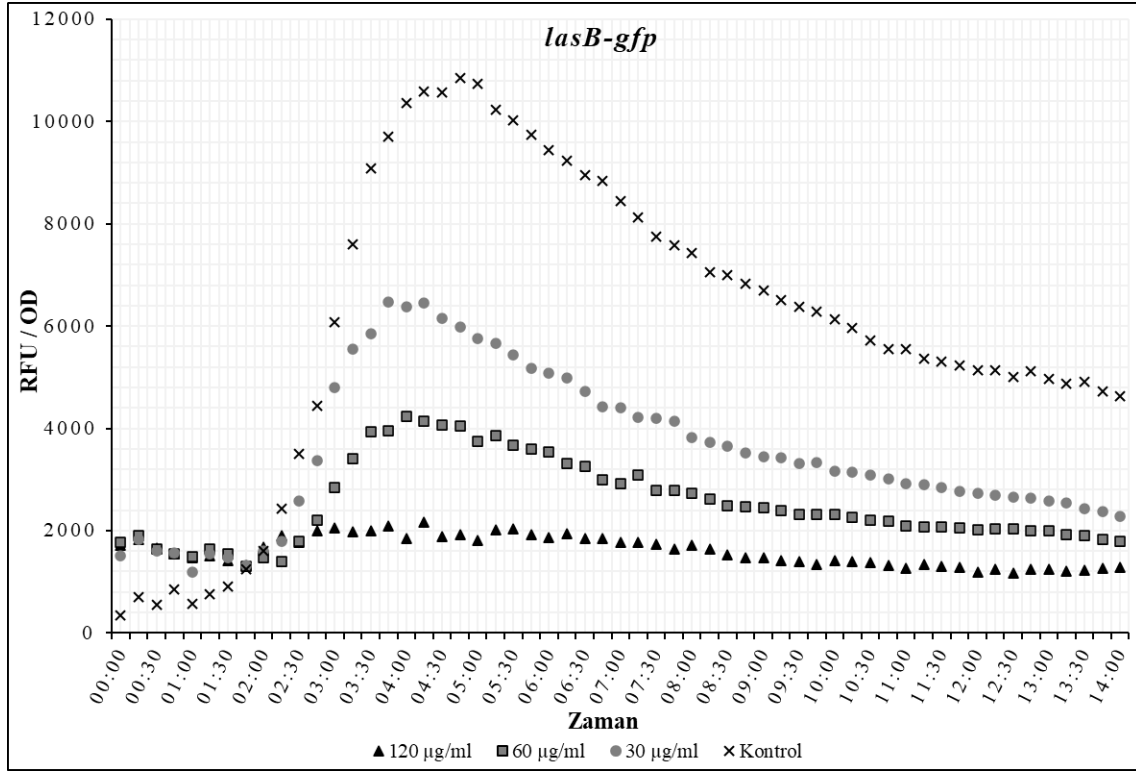
Elde edilen bulgulara göre, ELF84 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %39.76 (± 4.94), %38.74 (± 4.21) ve %24.51 (± 0.78) olarak saptanmıştır.

3.1.2.12. *Peltigera horizontalis* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

Peltigera horizontalis likeninin n-Hekzan özütünün 120, 60 ve 30 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır. QS inhibisyonu testleri için her 15 dakikada bir ölçüm kayıt alınmıştır. Tüm GFP ekspresyonları, bakterilerin büyüme miktarları ile normalize edilmiştir. Ölçümleri gerçekleştirilen tüm floresans ölçümleri, aynı zamanda ölçümü alınan absorbans değerlerine oranlanmıştır. Bu nedenle QS inhibisyon grafikleri, Görelî floresans birimi (RFU) / Absorbans 450 nm (OD) olarak ifade edilmiştir.

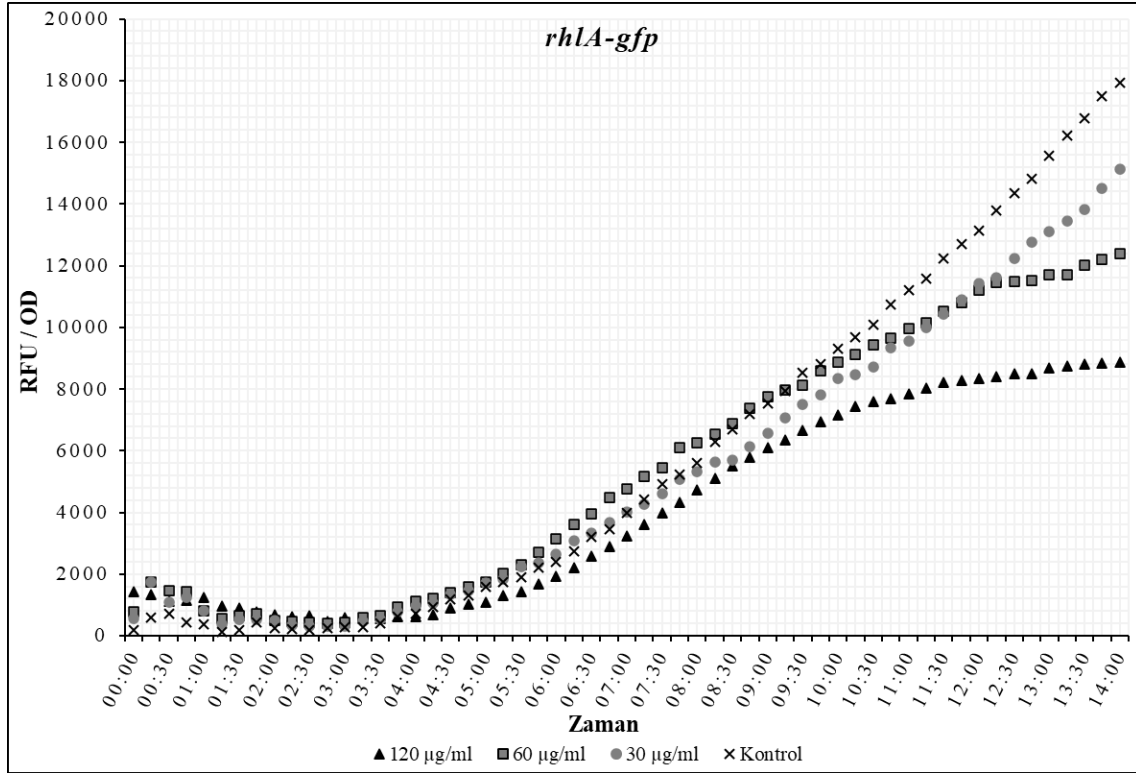


Şekil 3.120. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *P. horizontalis* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna *P. horizontalis* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.



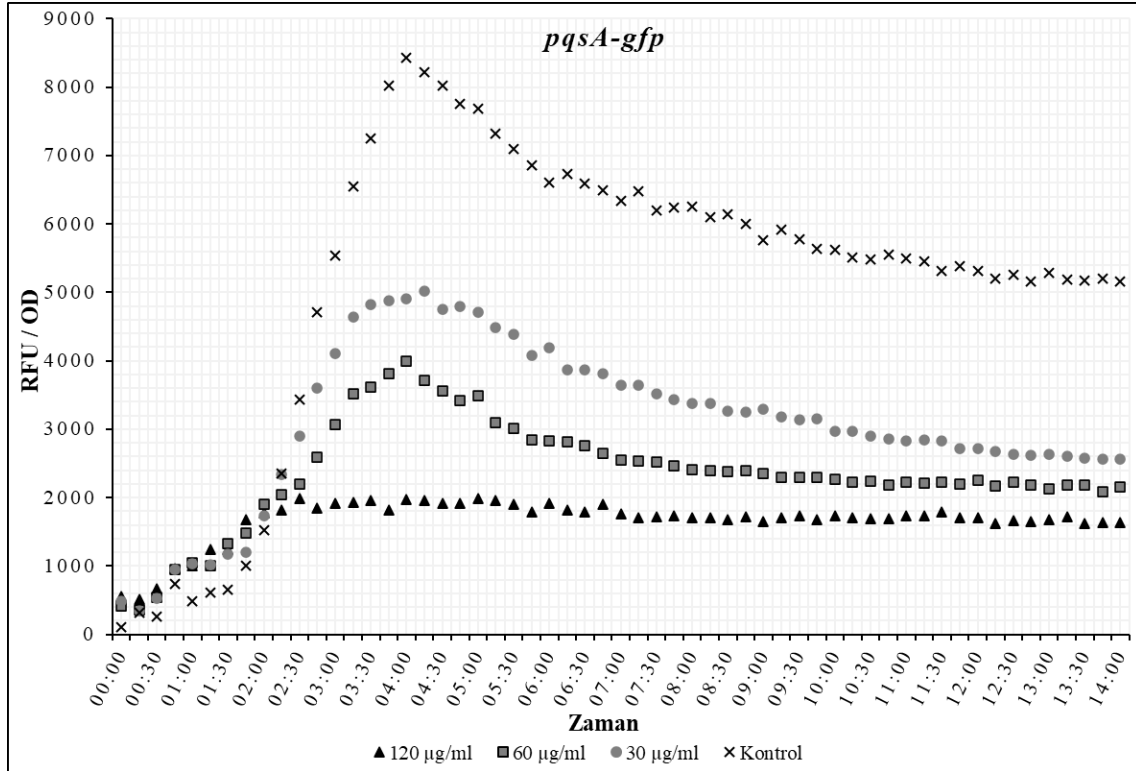
Şekil 3.121. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *P. horizontalis* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna *P. horizontalis* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.

P. horizontalis 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki n-Hekzan özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %72.16, %61.22 ve %50.58 olarak saptanmıştır.



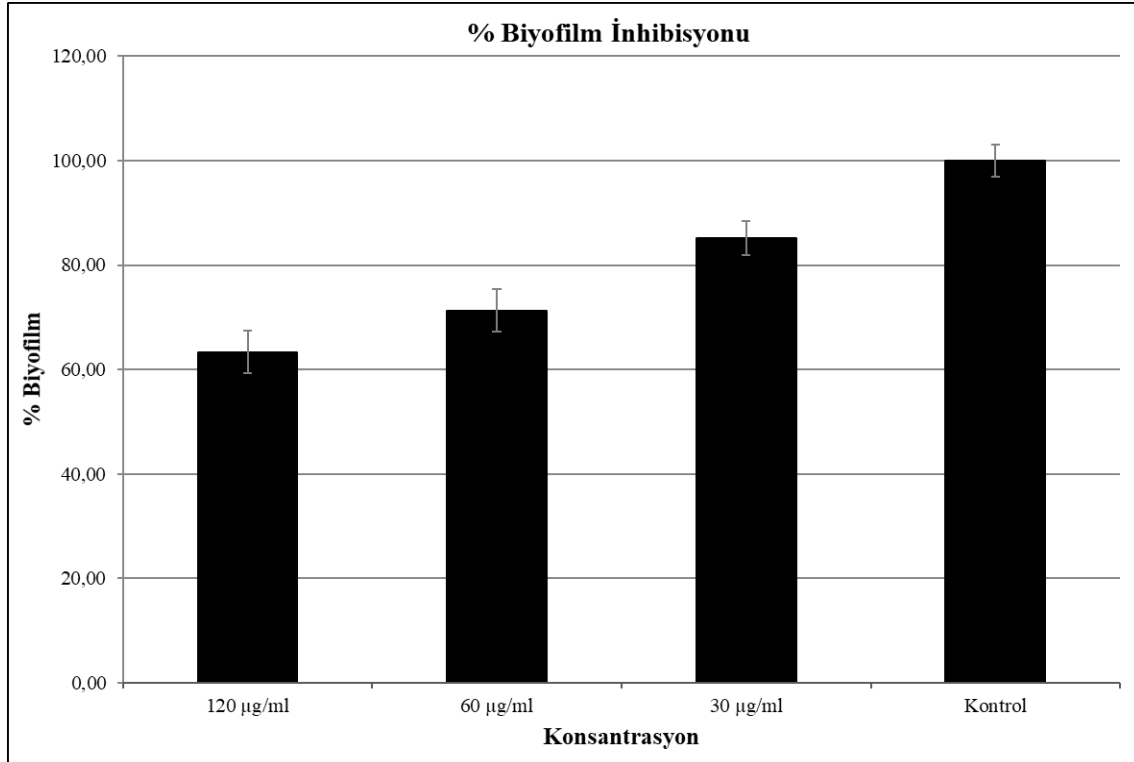
Şekil 3.122. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *P. horizontalis* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna *P. horizontalis* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.

P. horizontalis 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki n-Hekzan özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %.50.40, %30.76 ve %15.49 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.123. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *P. horizontalis* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna *P. horizontalis* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.

P. horizontalis 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki n-Hekzan özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %68.25, %58.13 ve %50.47 olarak saptanmıştır.

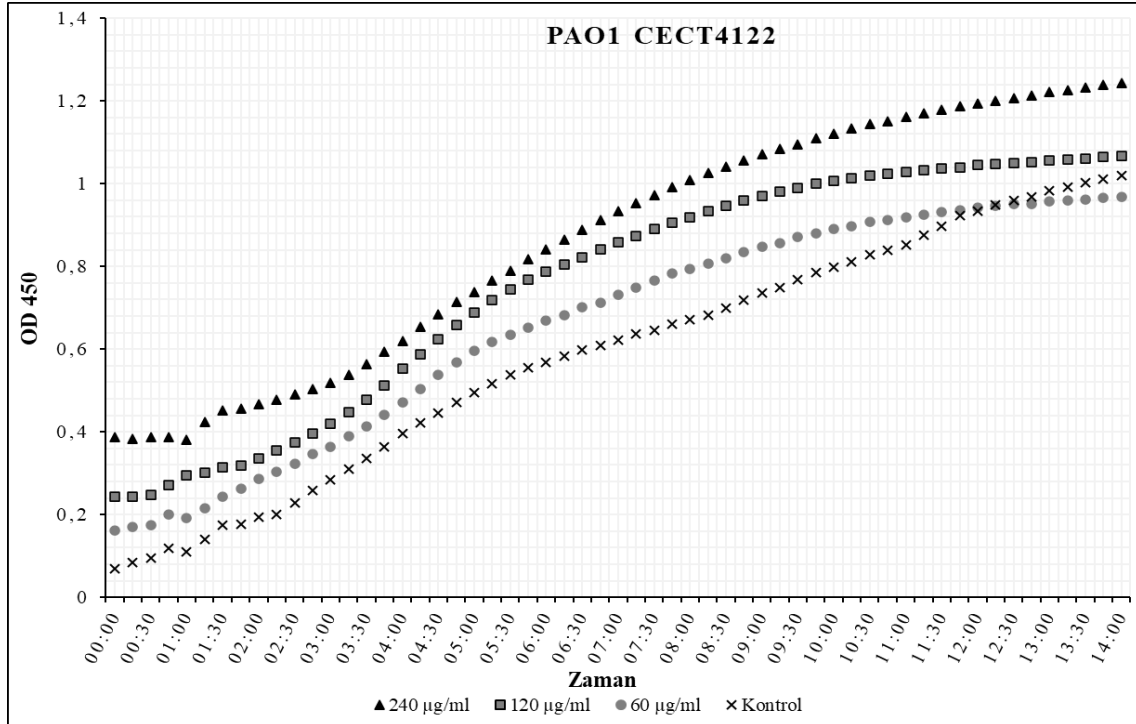


Şekil 3.124. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *P. horizontalis* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna *P. horizontalis* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.

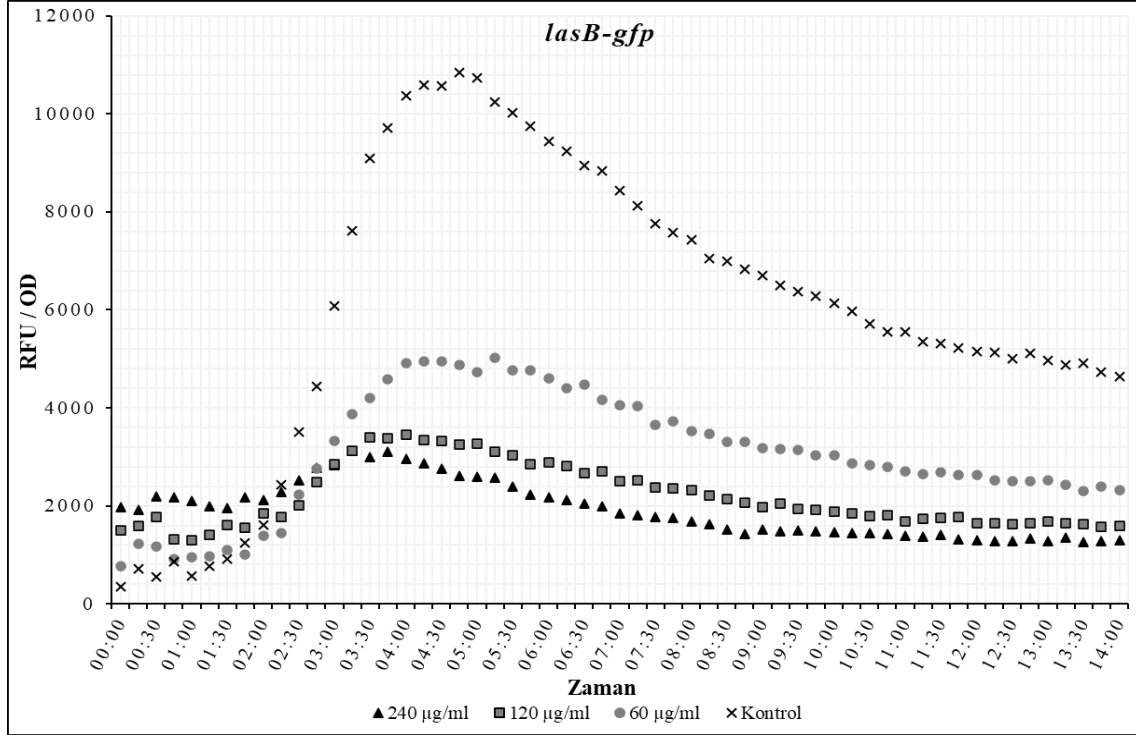
Elde edilen bulgulara göre, *P. horizontalis* likeninin n-Hekzan özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %36.67 (± 4.11), %28.70 (± 4.11) ve %14.85 (± 3.22) olarak saptanmıştır.

3.1.2.13. ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

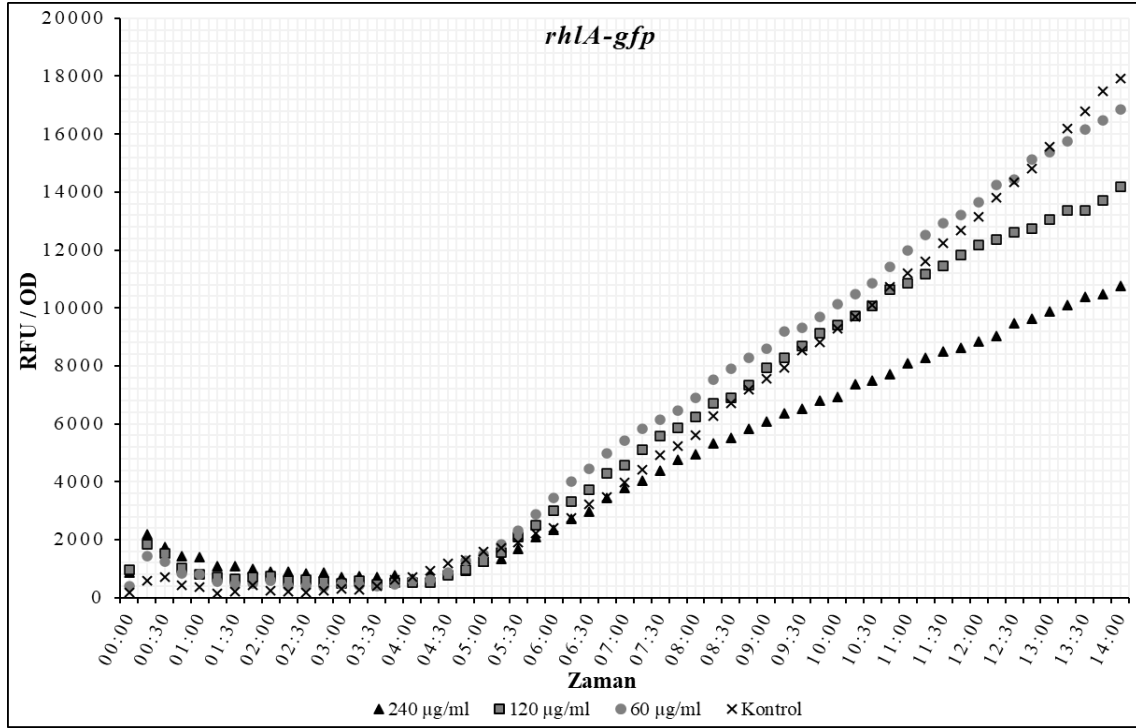


Şekil 3.125. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF12 etil asetat özütü eklenmemiştir.



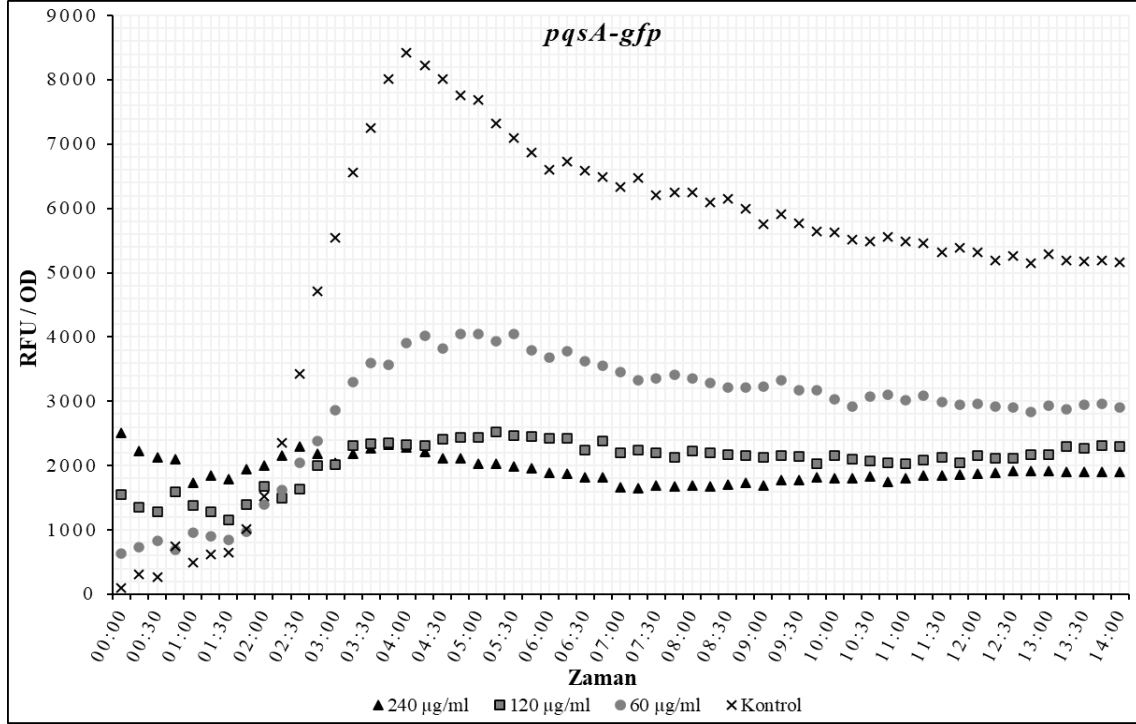
Şekil 3.126. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF12 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF12 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %72.11, %65.66 ve %49.75 olarak saptanmıştır.



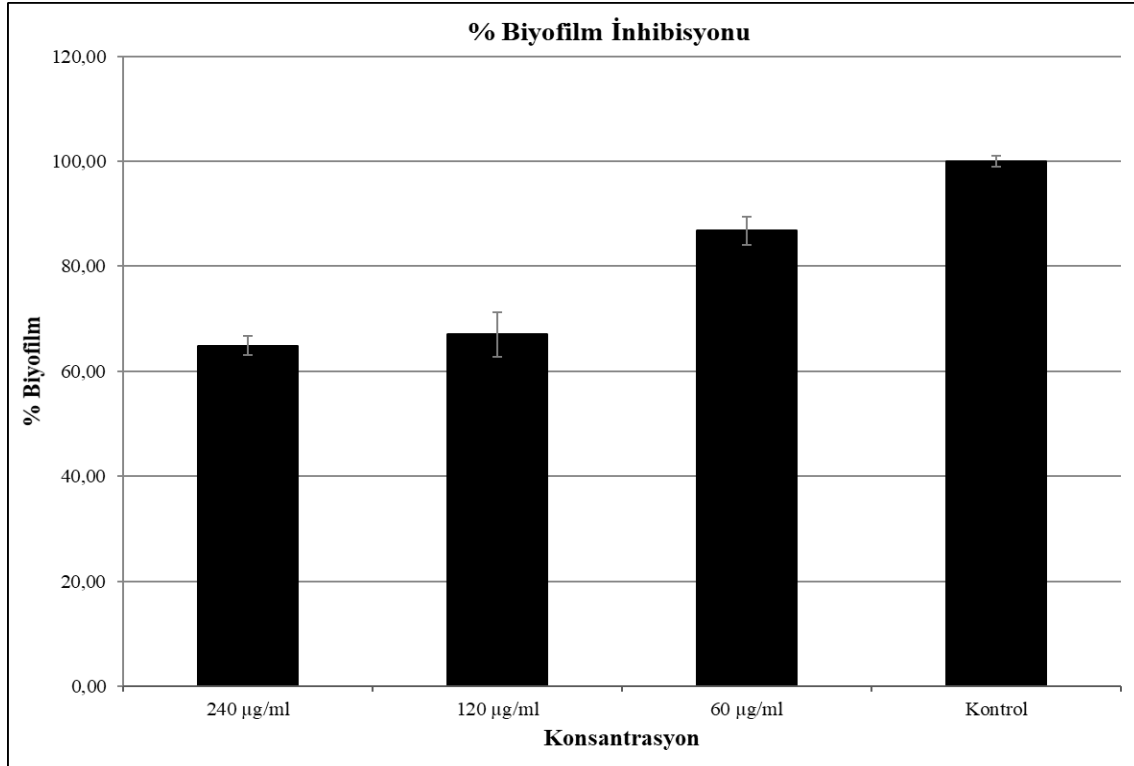
Şekil 3.127. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF12 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF12 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %39.88, %20.79 ve %5.95 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.128. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF12 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF12 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %63.07, %55.60 ve %43.75 olarak saptanmıştır.

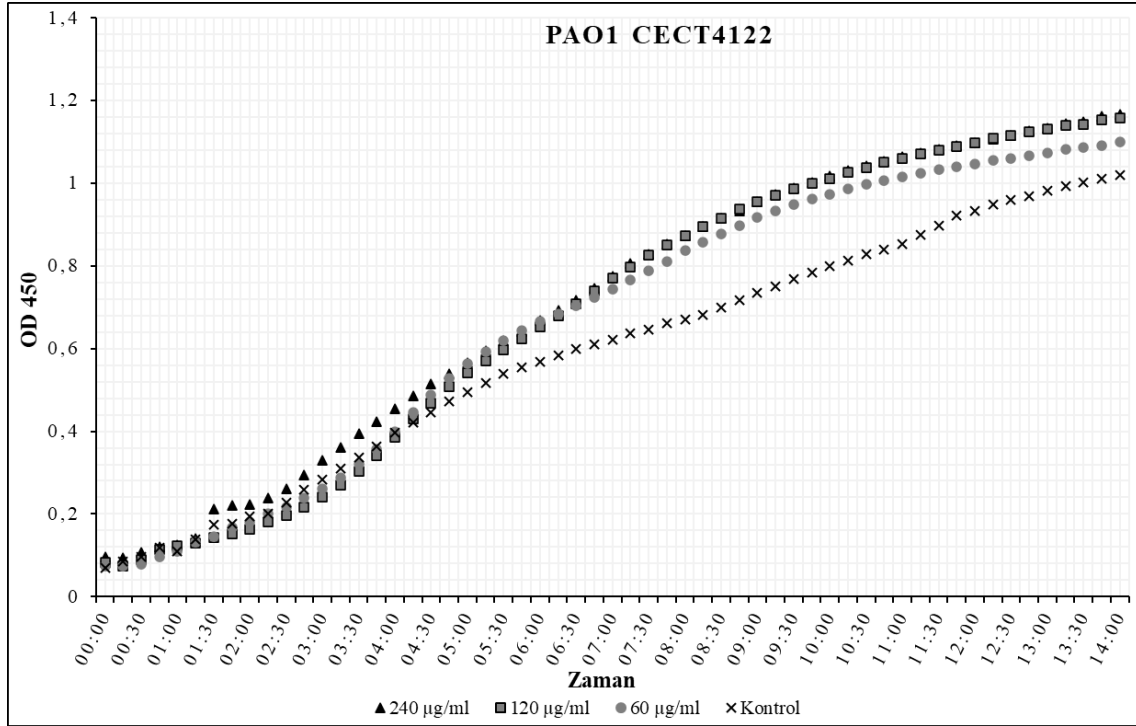


Şekil 3.129. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF12 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF12 etil asetat özütü eklenmemiştir.

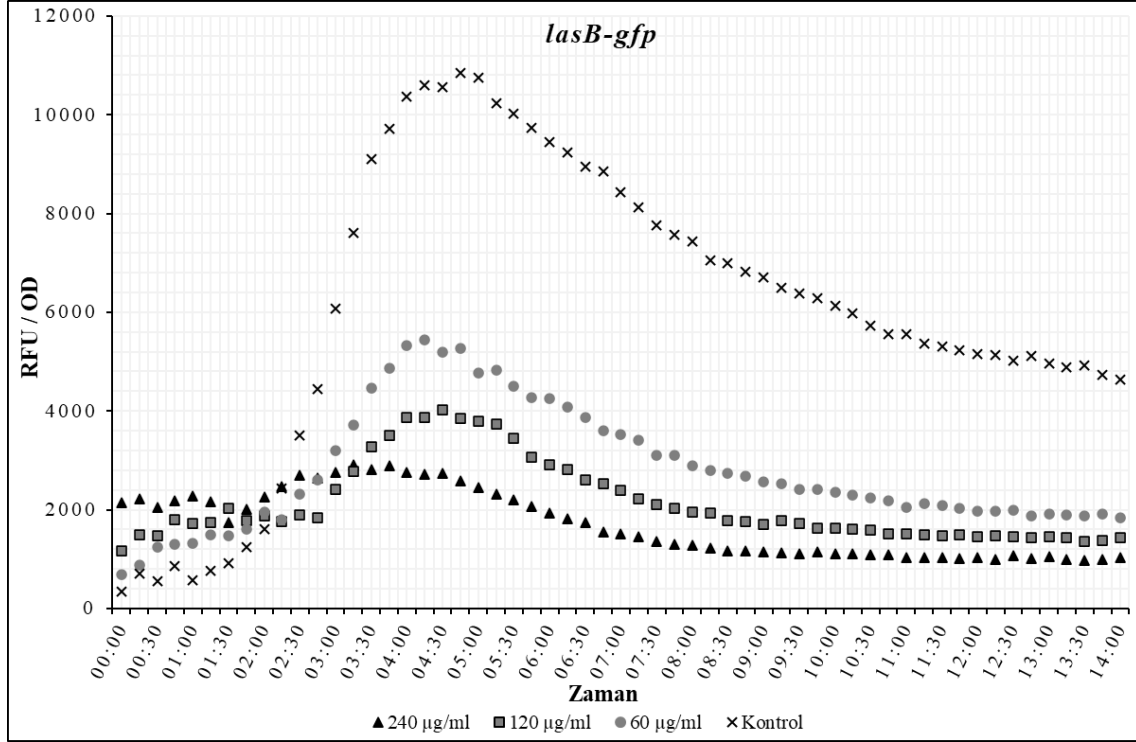
Elde edilen bulgulara göre, ELF12 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %35.08 (± 1.85), %32.98 (± 4.20) ve %13.24 (± 2.62) olarak saptanmıştır.

3.1.2.14. ELF22 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF22 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

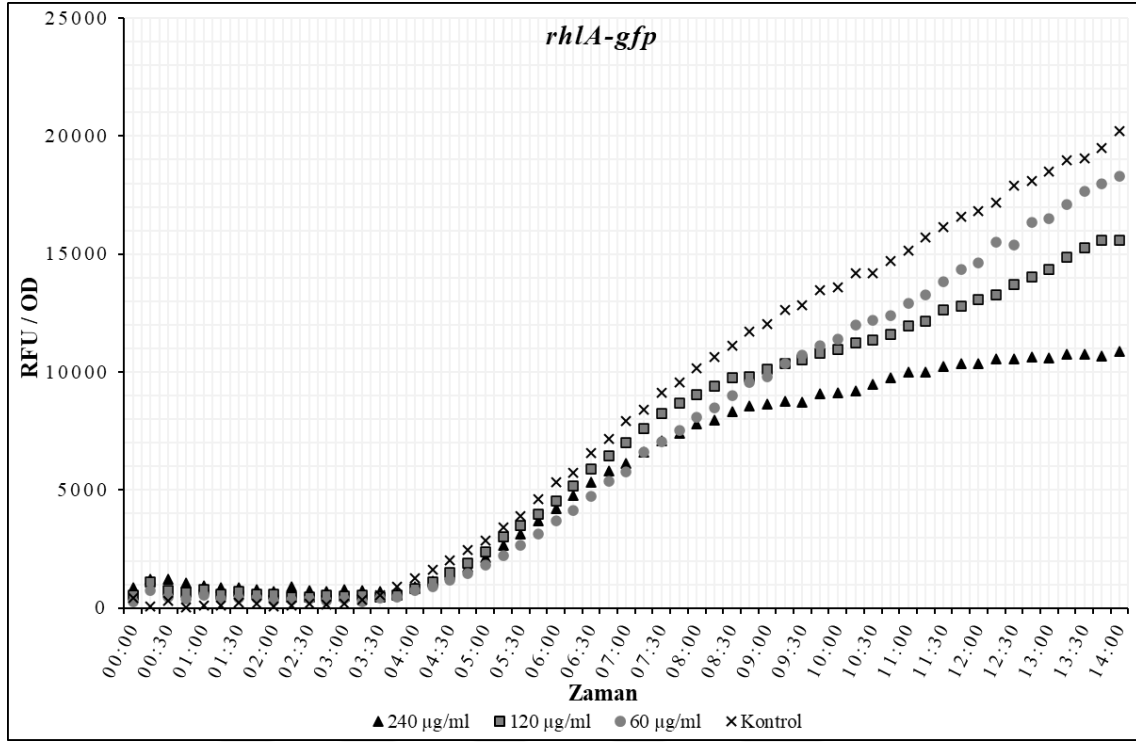


Şekil 3.130. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF22 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF22 etil asetat özütü eklenmemiştir.



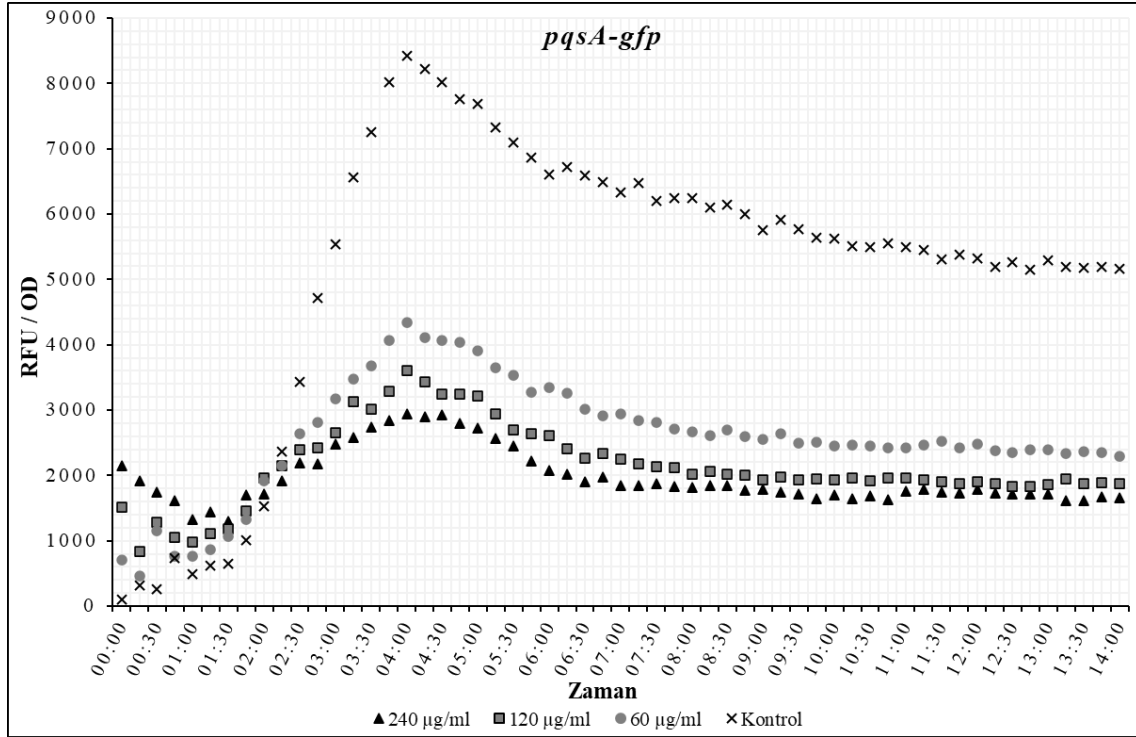
Şekil 3.131. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF22 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF22 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF22 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %77.87, %68.83 ve %60.13 olarak saptanmıştır.



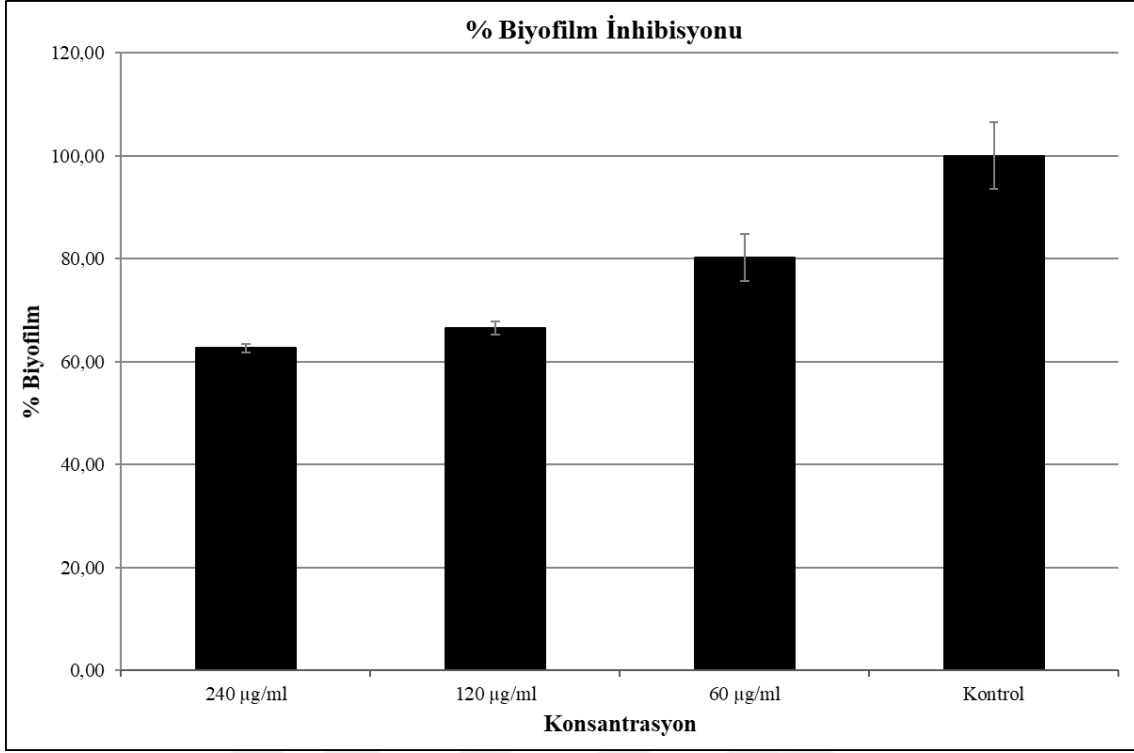
Şekil 3.132. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF22 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF22 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF22 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %46.19, %22.94 ve %9.51 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.133. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF22 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF22 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF22 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %67.84, %63.68 ve %55.71 olarak saptanmıştır.

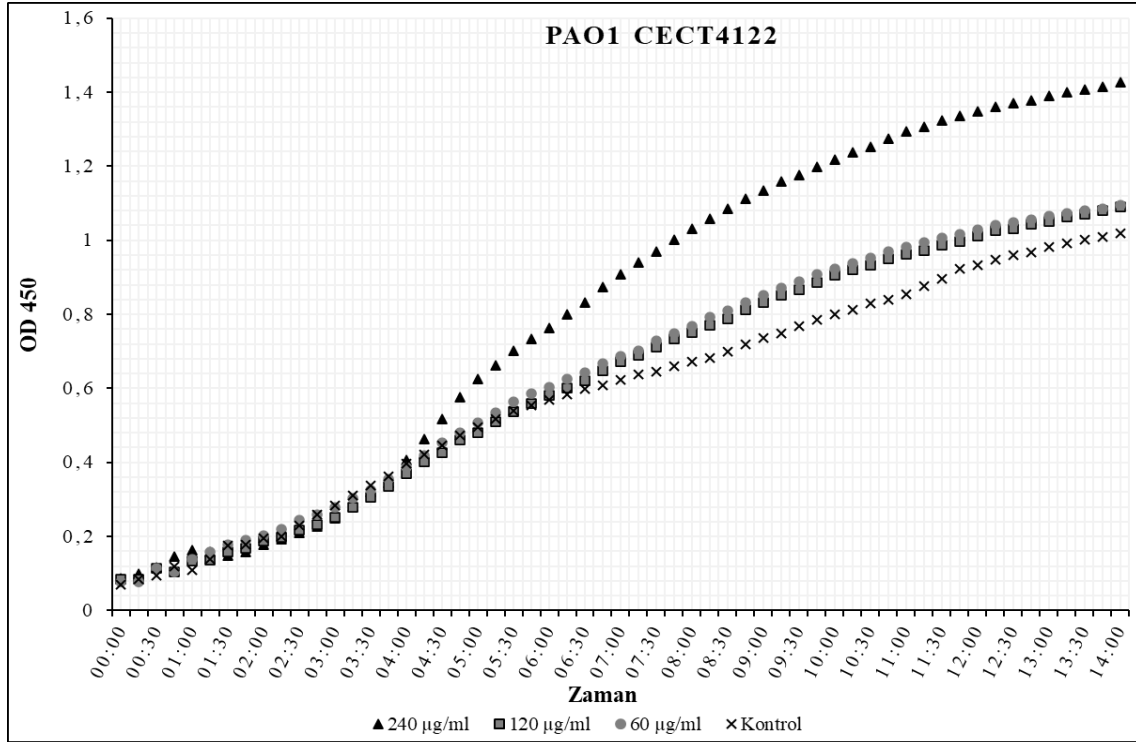


Şekil 3.134. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF22 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF22 etil asetat özütü eklenmemiştir.

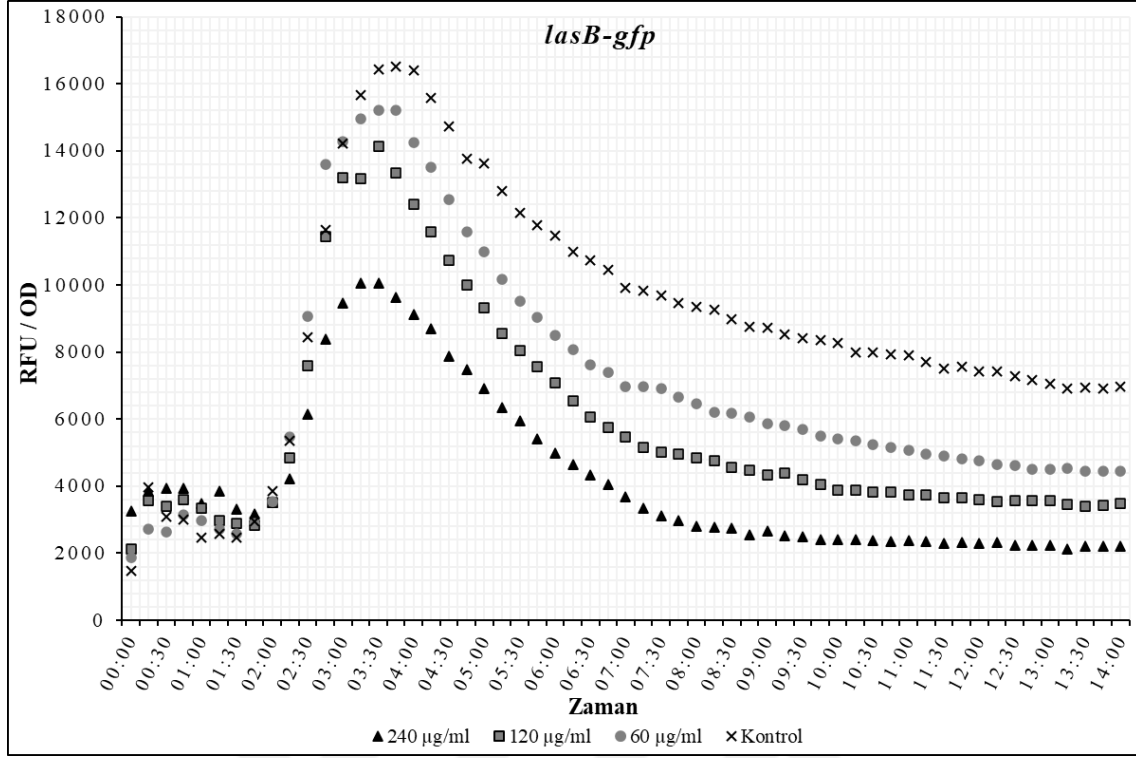
Elde edilen bulgulara göre, ELF22 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %37.36 (± 0.81), %33.46 (± 1.33) ve %19.76 (± 4.61) olarak saptanmıştır.

3.1.2.15. ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

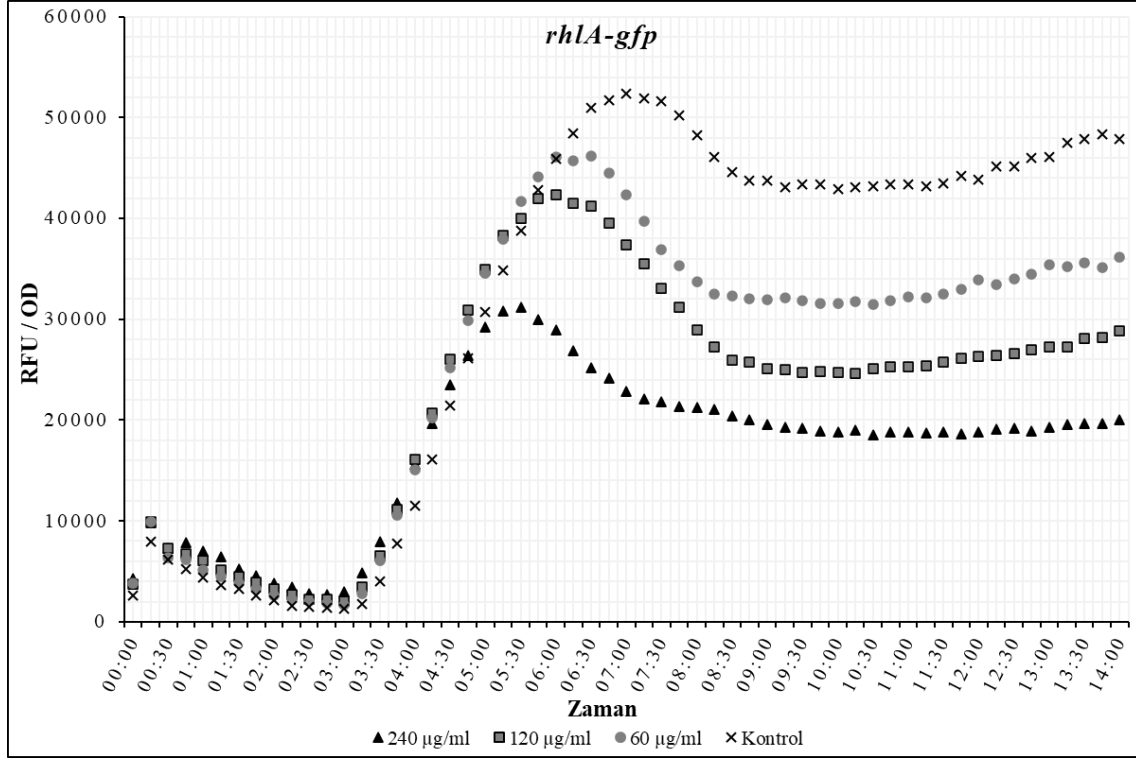


Şekil 3.135. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF23 etil asetat özütü eklenmemiştir.



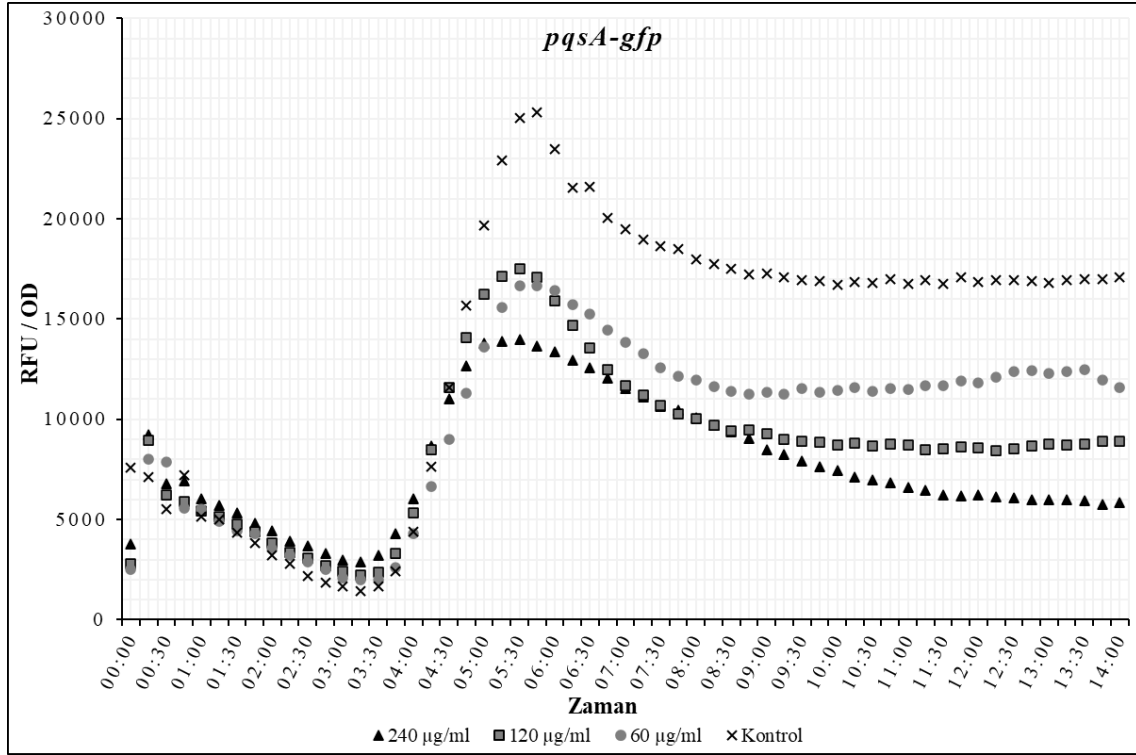
Şekil 3.136. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF23 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF23 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %68.32, %49.92 ve %36.07 olarak saptanmıştır.



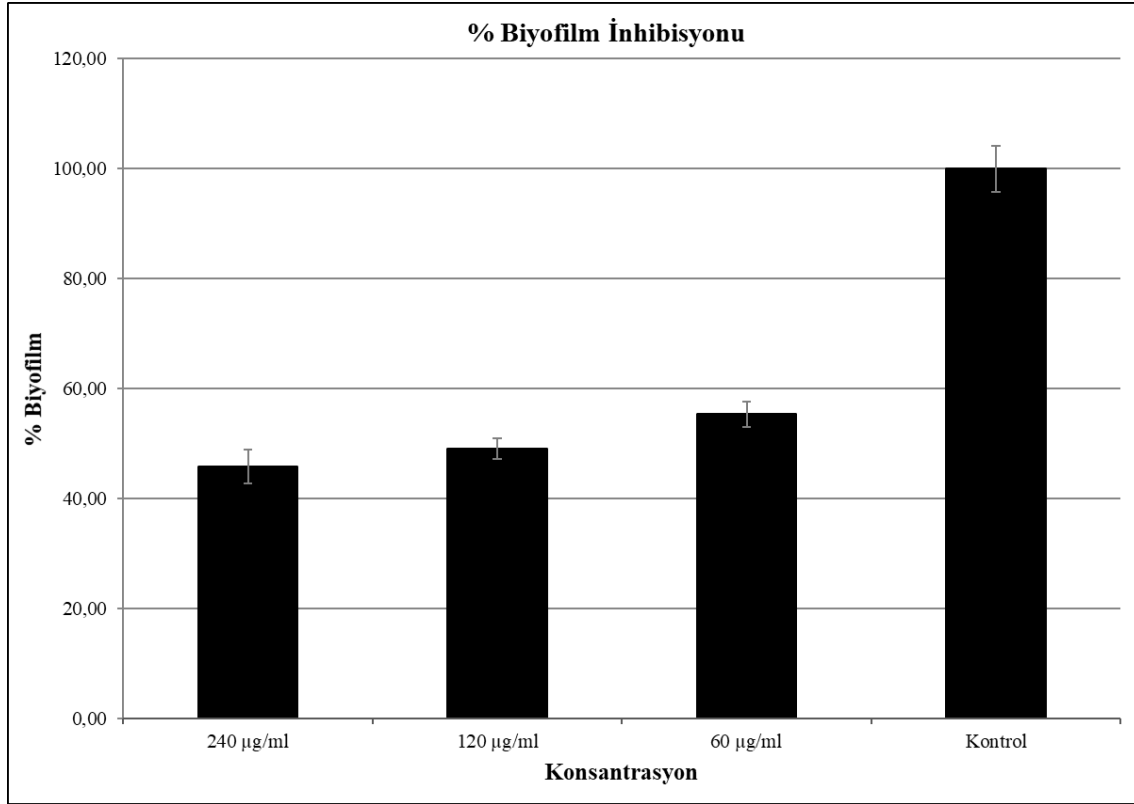
Şekil 3.137. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhIA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF23 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF23 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhIA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %58.13, %39.80 ve %24.48 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.138. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF23 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF23 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %67.48, %48.37 ve %38.20 olarak saptanmıştır.

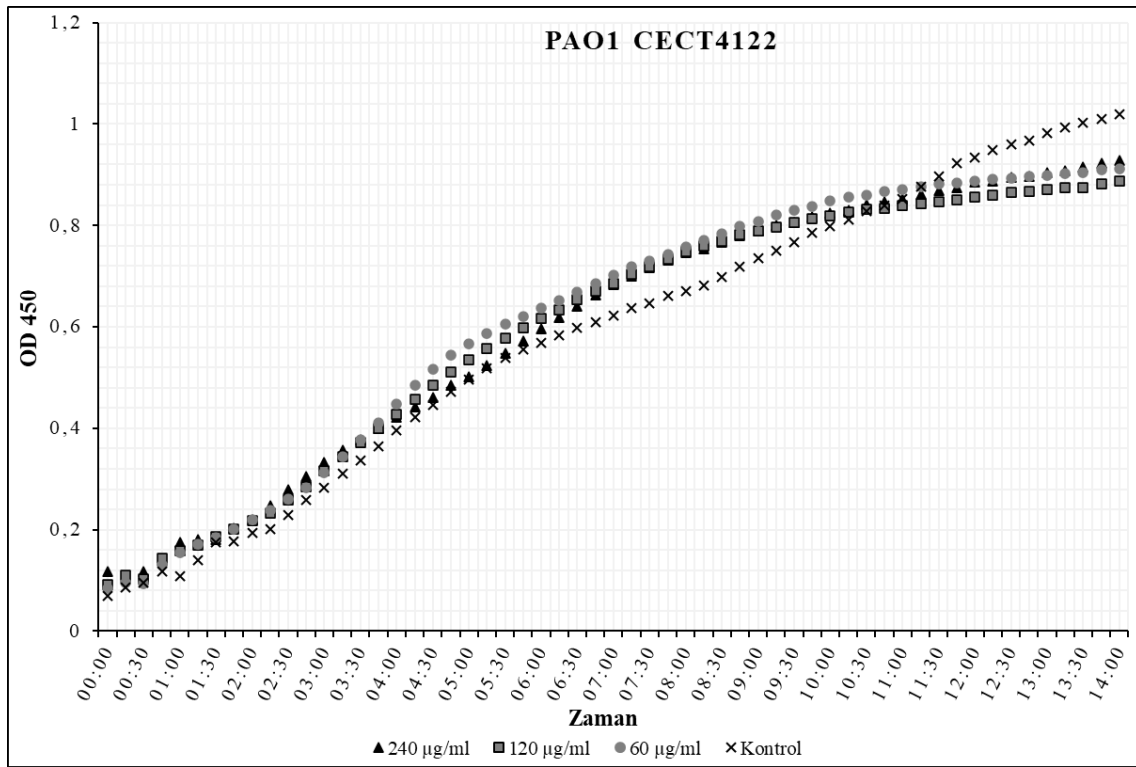


Şekil 3.139. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF23 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF23 etil asetat özütü eklenmemiştir.

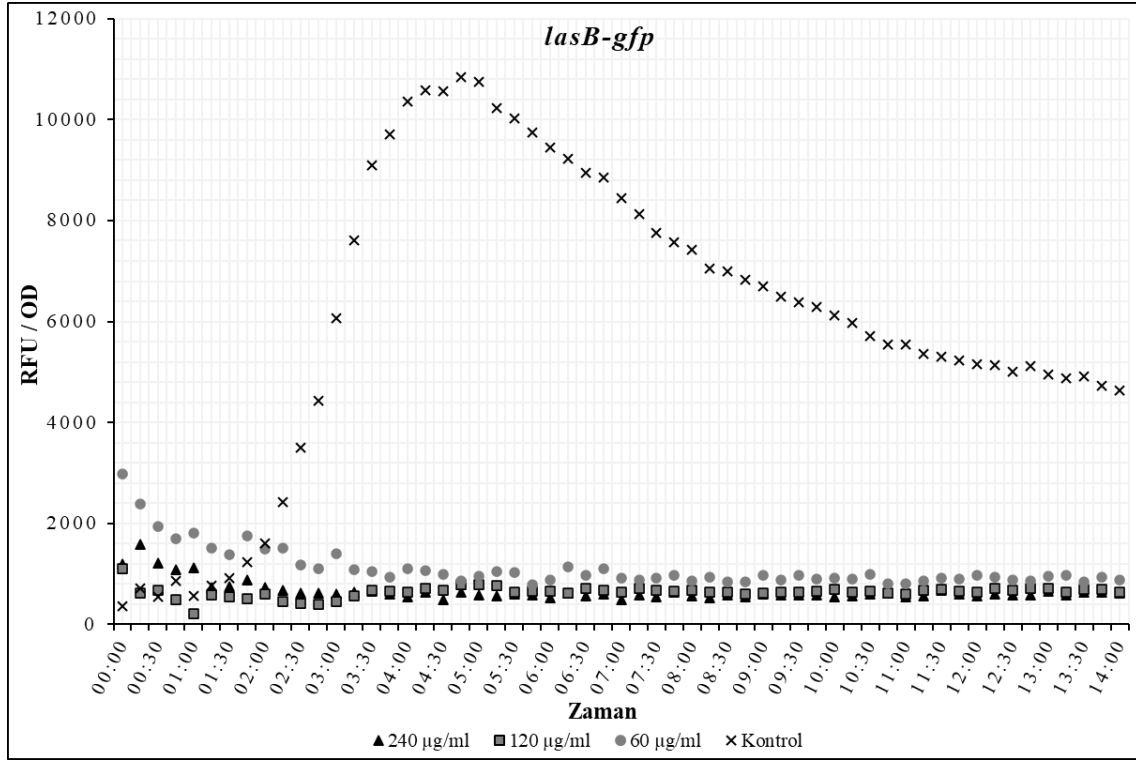
Elde edilen bulgulara göre, ELF23 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %54.17 (± 3.03), %50.96 (± 1.89) ve %44.68 (± 2.35) olarak saptanmıştır.

3.1.2.16. ELF28 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF28 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

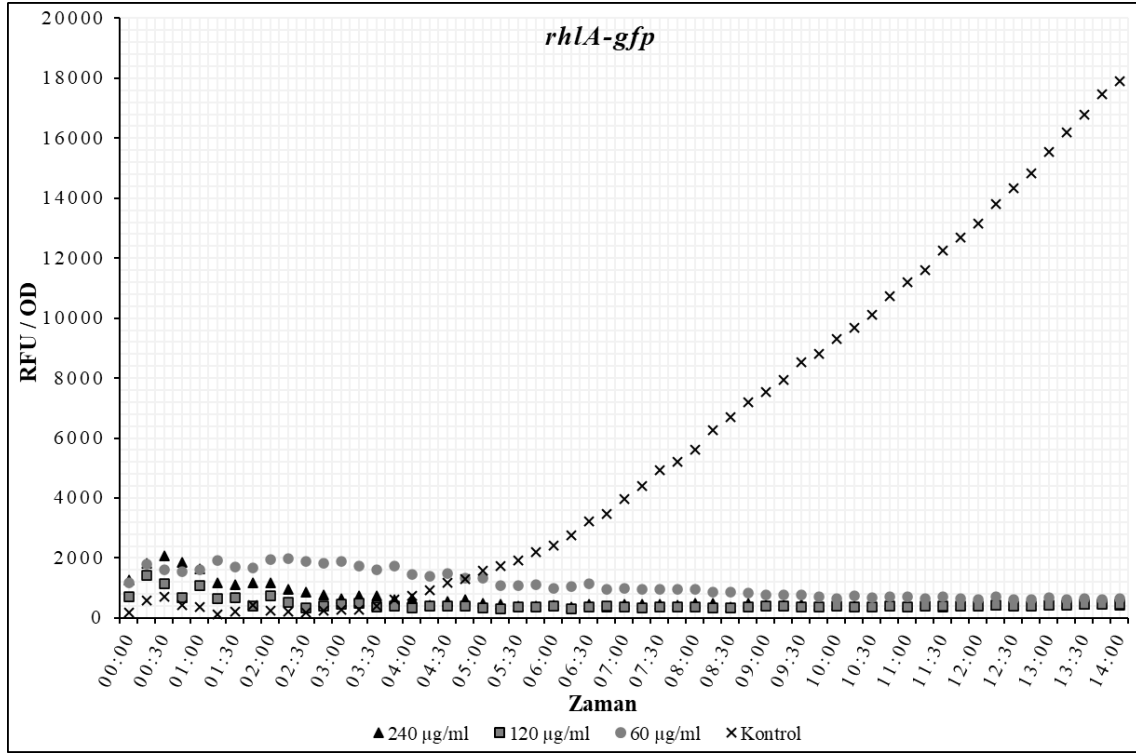


Şekil 3.140. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF28 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF28 etil asetat özütü eklenmemiştir.



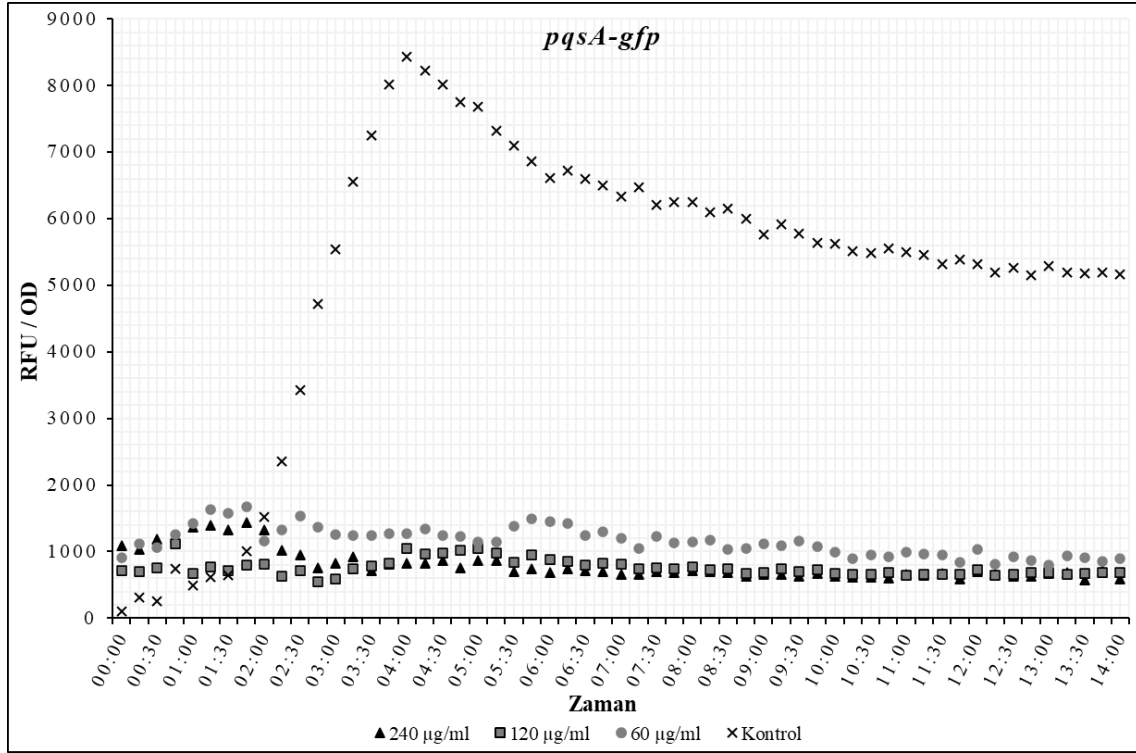
Şekil 3.141. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF28 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF28 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF28 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %86.60, %86.06 ve %80.83 olarak saptanmıştır.



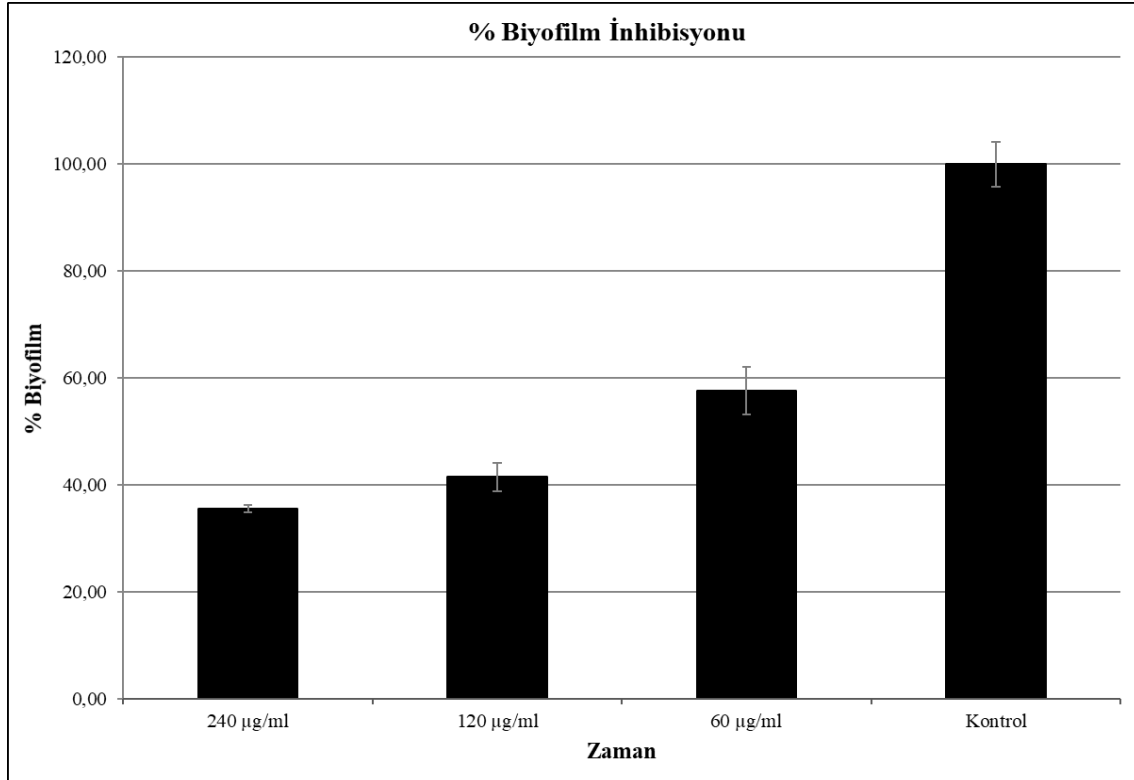
Şekil 3.142. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF28 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF28 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF28 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %97.60, %97.51 ve %96.47 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.143. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF28 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF28 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF28 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %88.64, %86.75 ve %82.75 olarak saptanmıştır.

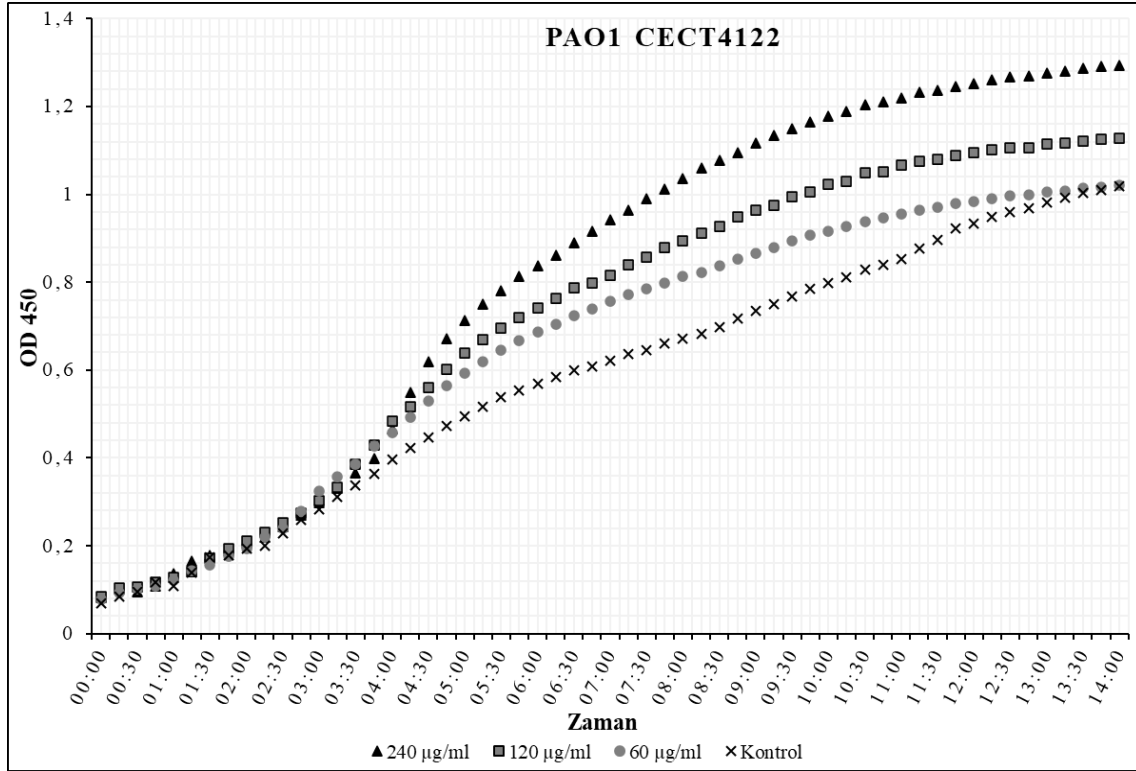


Şekil 3.144. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF28 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF28 etil asetat özütü eklenmemiştir.

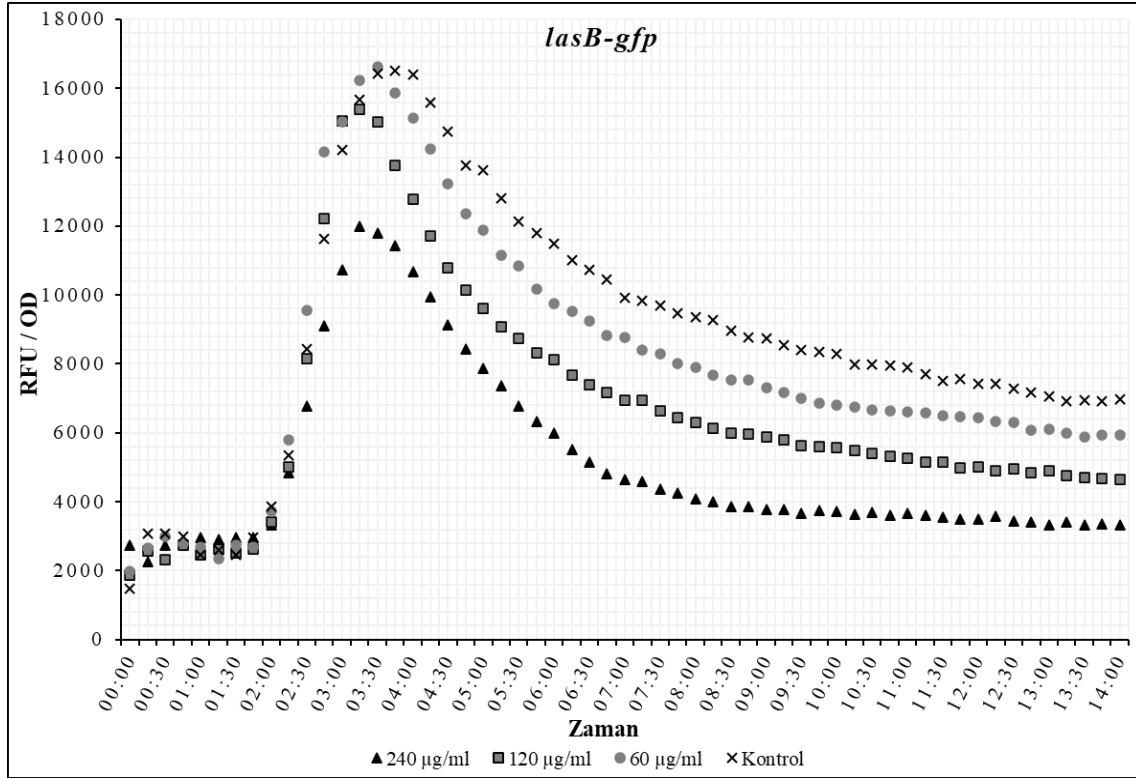
Elde edilen bulgulara göre, ELF28 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %64.45 (± 0.72), %58.52 (± 2.59) ve %42.37 (± 4.49) olarak saptanmıştır.

3.1.2.17. ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

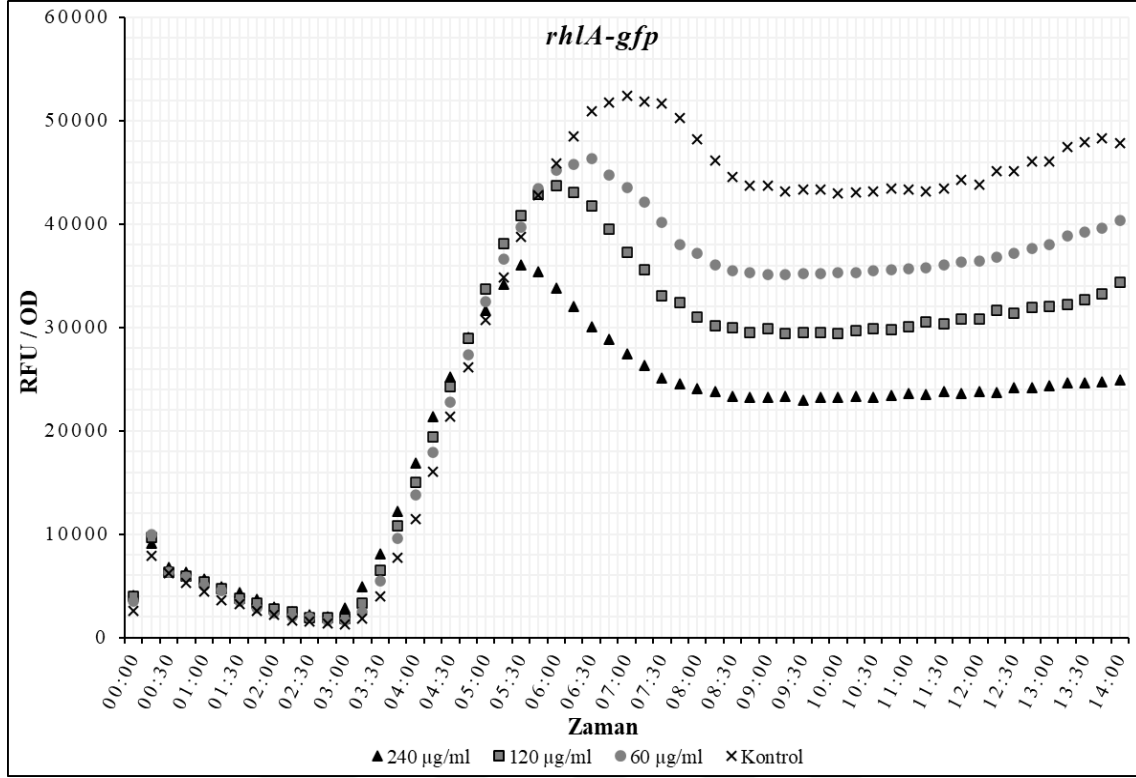


Şekil 3.145. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF33 etil asetat özütü eklenmemiştir.



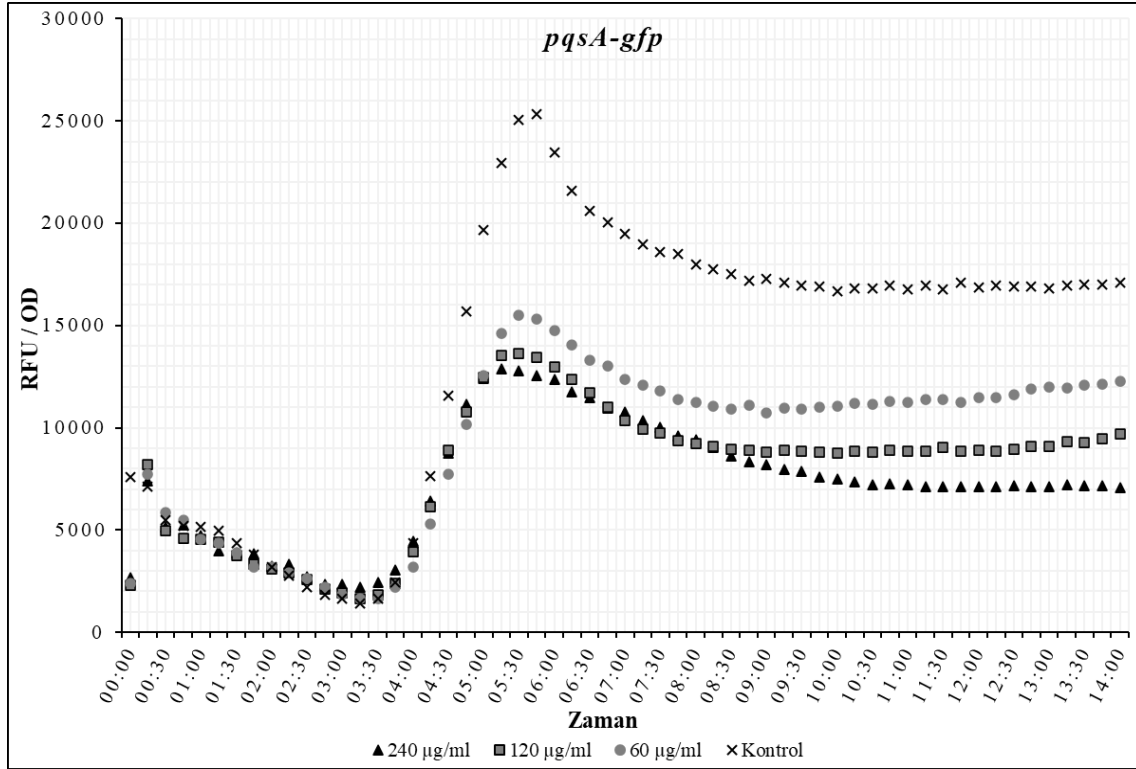
Şekil 3.146. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF33 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF33 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %52.20, %33.52 ve %15.10 olarak saptanmıştır.



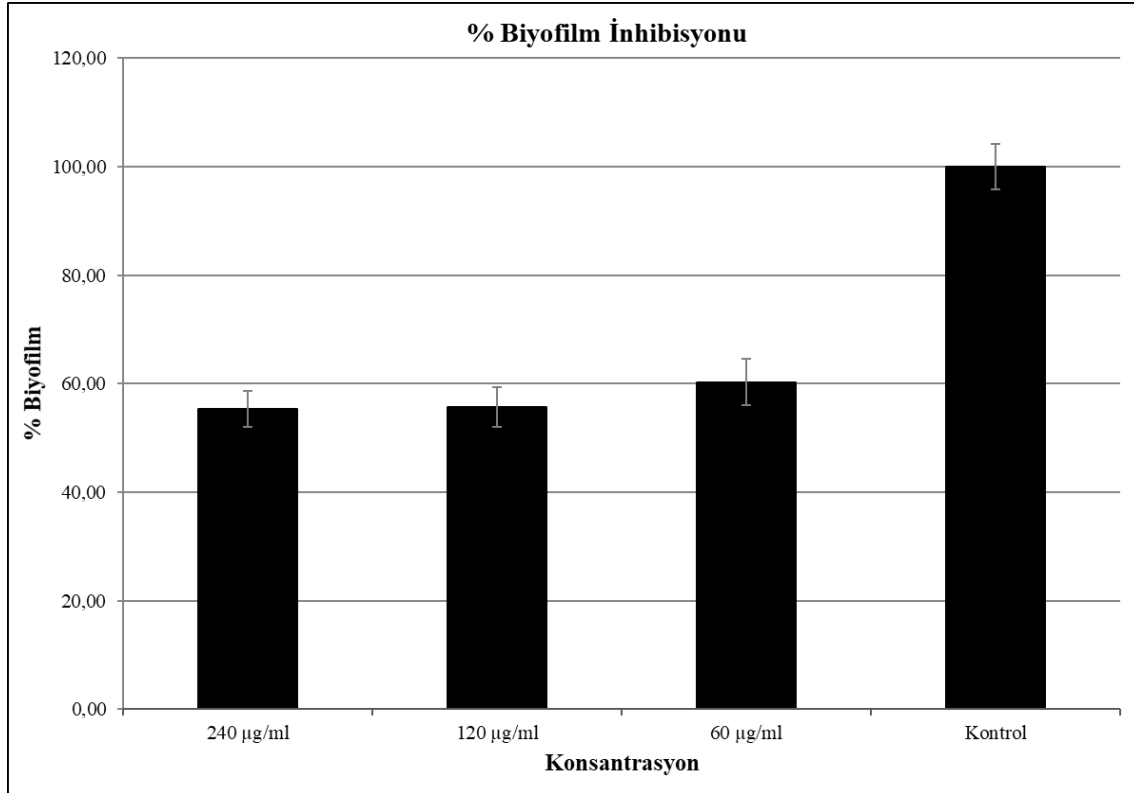
Şekil 3.147. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF33 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF33 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %47.85, %28.30 ve %15.80 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.148. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF33 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF33 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %58.48, %43.13 ve %28.21 olarak saptanmıştır.

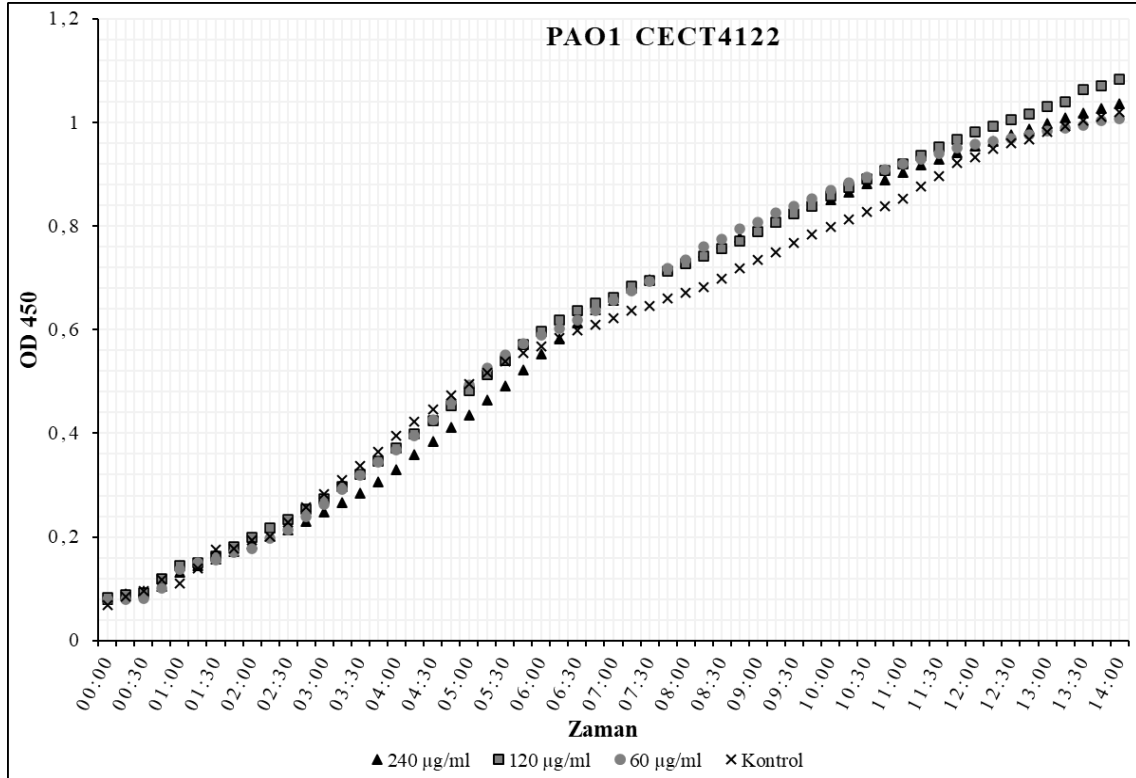


Şekil 3.149. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF33 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF33 etil asetat özütü eklenmemiştir.

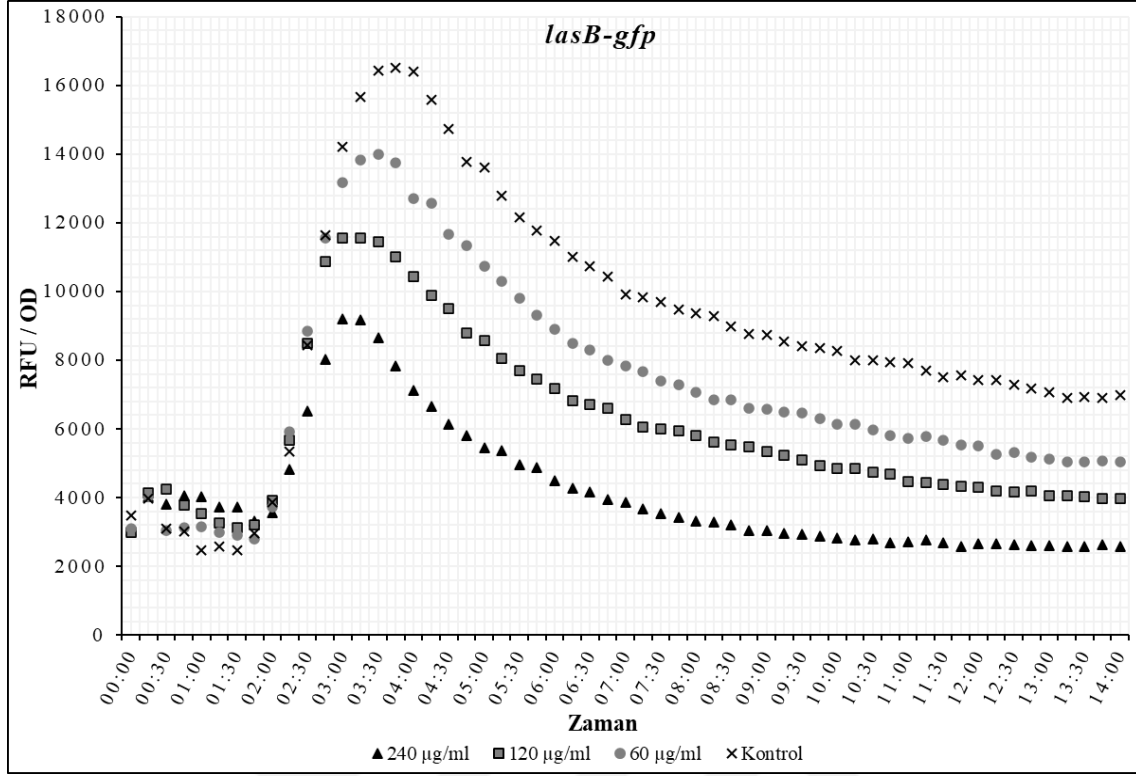
Elde edilen bulgulara göre, ELF33 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %44.61 (± 3.33), %44.28 (± 3.66) ve %39.69 (± 4.32) olarak saptanmıştır.

3.1.2.18. ELF59 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF59 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

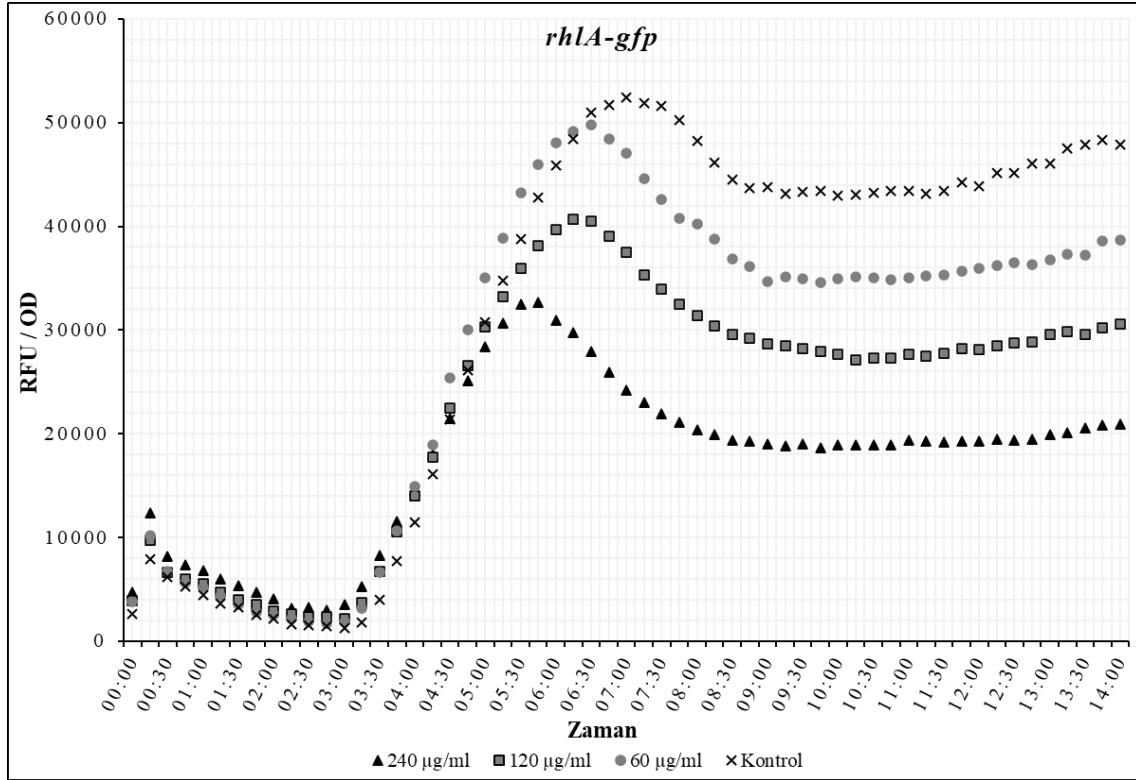


Şekil 3.150. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF59 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF59 etil asetat özütü eklenmemiştir.



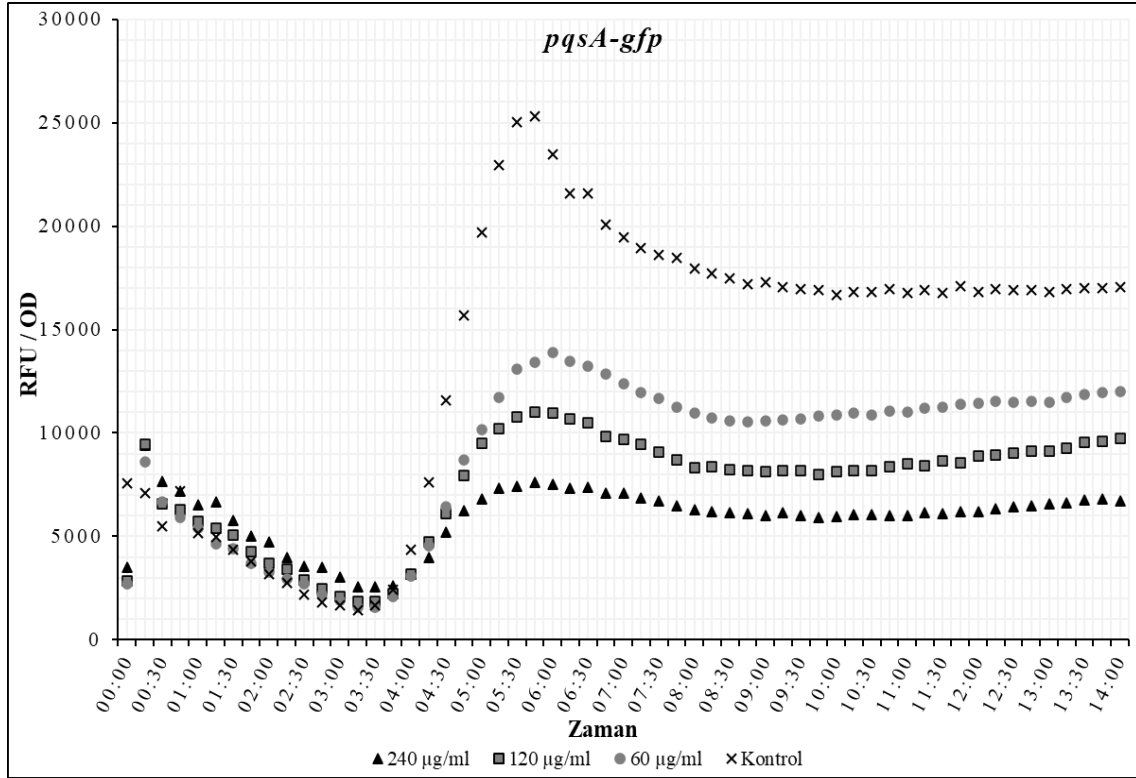
Şekil 3.151. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF59 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF59 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF59 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %63.03, %43.06 ve %27.86 olarak saptanmıştır.



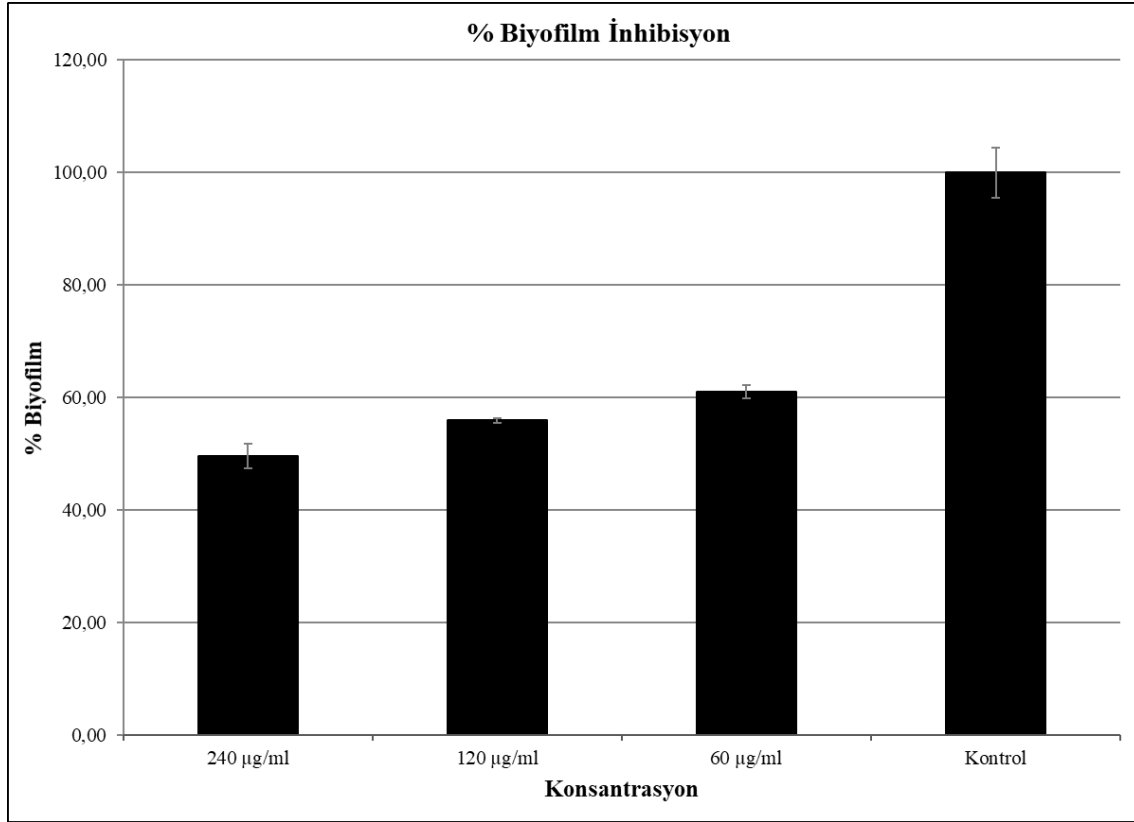
Şekil 3.152. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF59 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF59 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF59 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %56.21, %37.65 ve %21.62 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.153. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF59 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF59 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF59 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %60.58, %42.93 ve %29.65 olarak saptanmıştır.

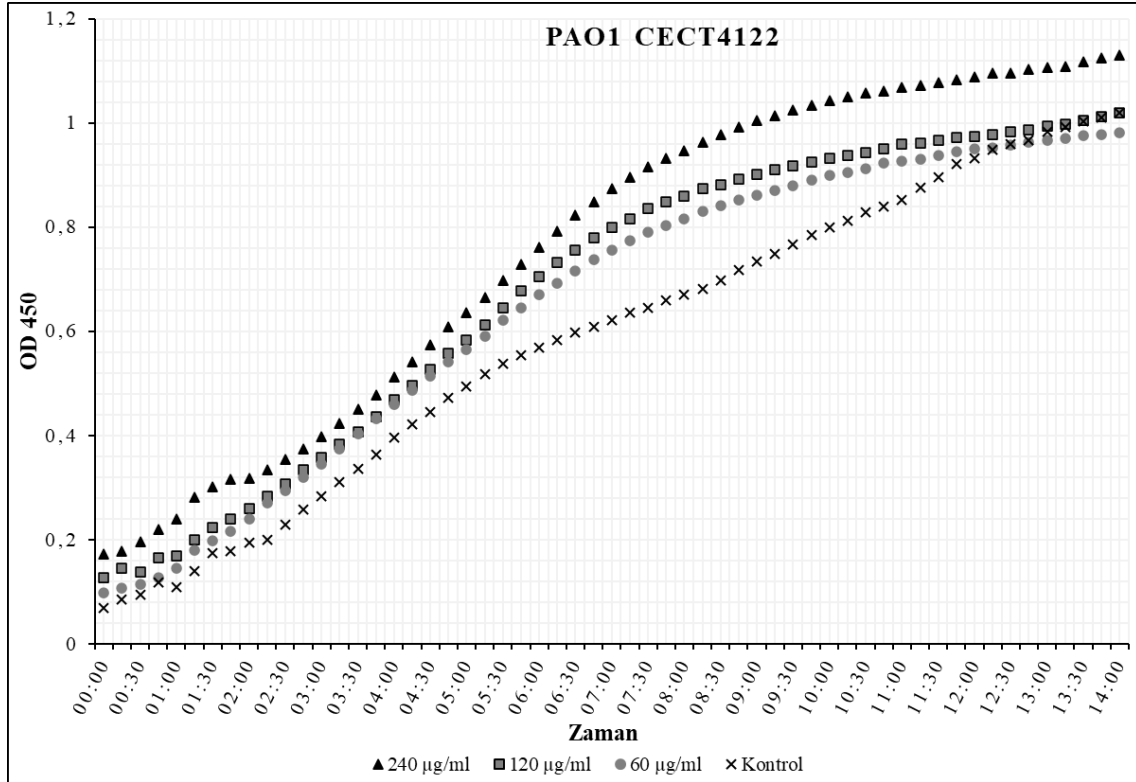


Şekil 3.154. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF59 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF59 etil asetat özütü eklenmemiştir.

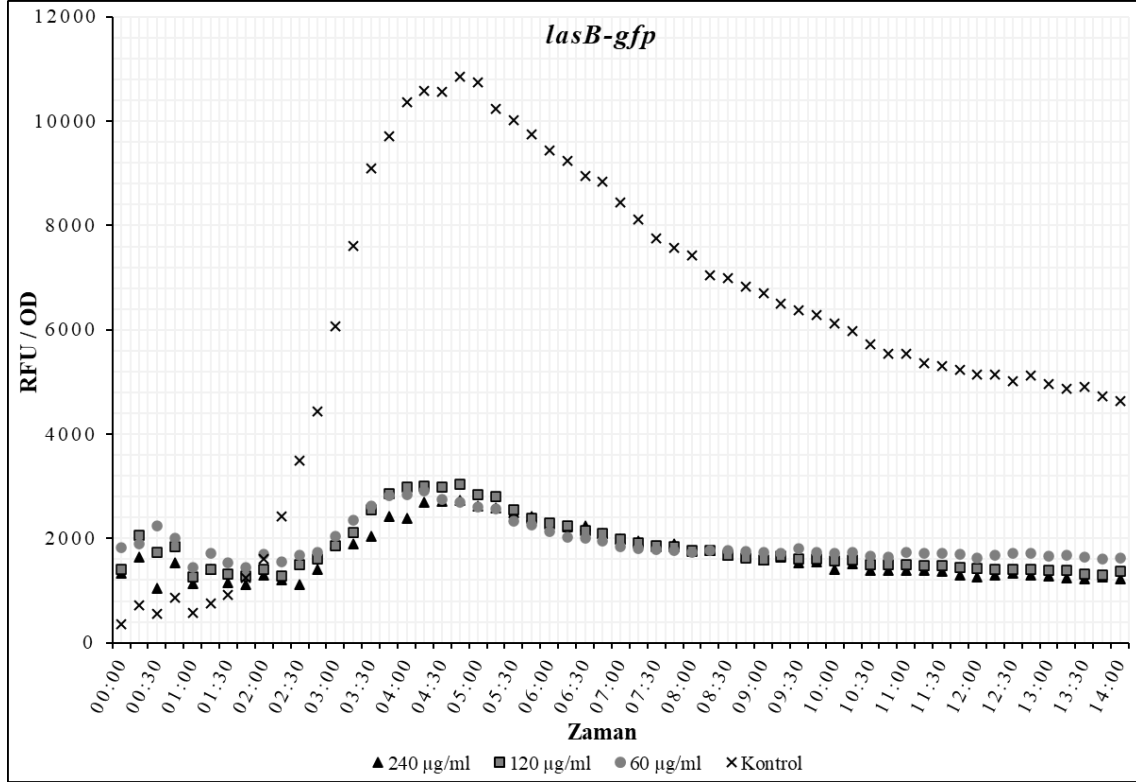
Elde edilen bulgulara göre, ELF59 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %50.34 (±2.21), %44.09 (±0.42) ve %39.02 (±1.20) olarak saptanmıştır.

3.1.2.19. ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

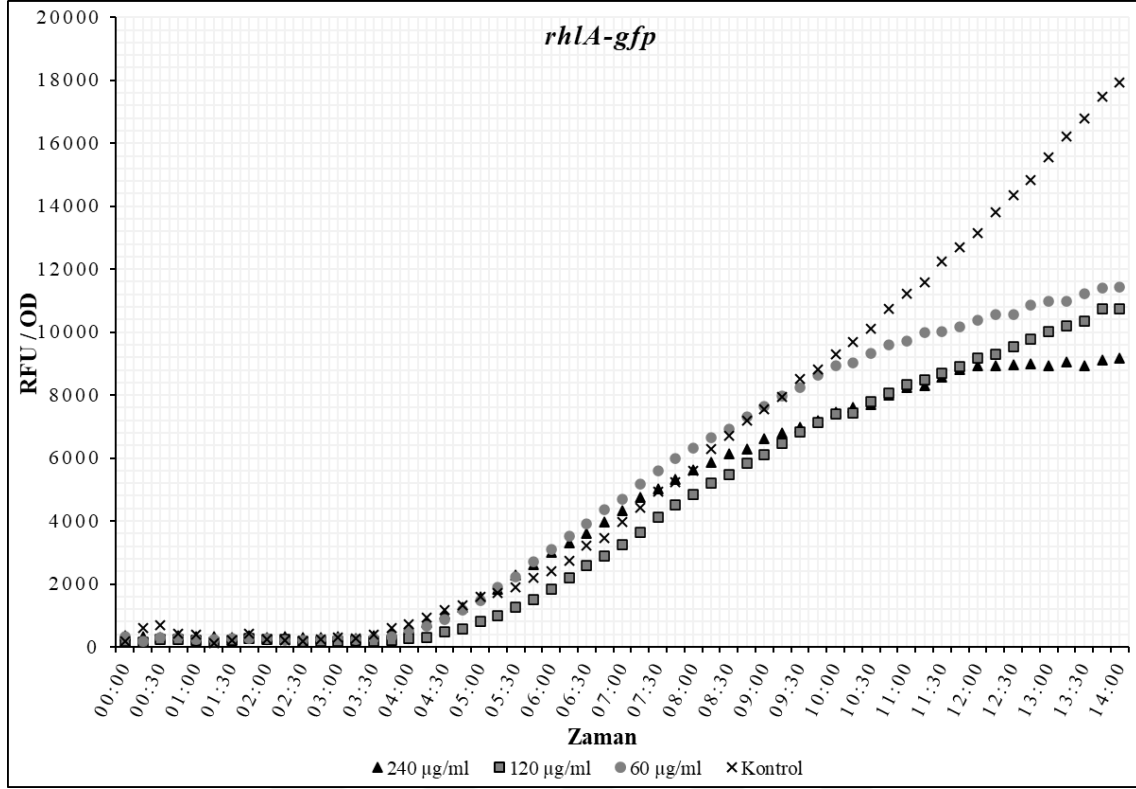


Şekil 3.155. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF79 etil asetat özütü eklenmemiştir.



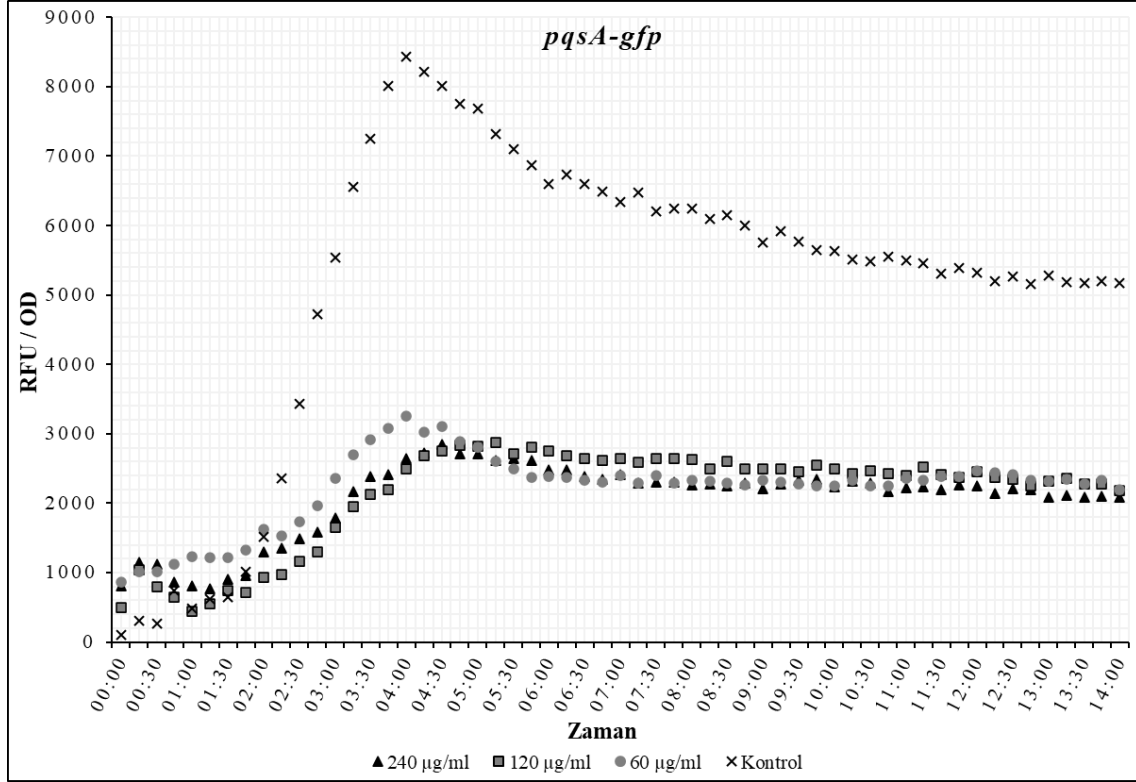
Şekil 3.156. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF79 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF79 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %73.51, %70.43 ve %64.74 olarak saptanmıştır.



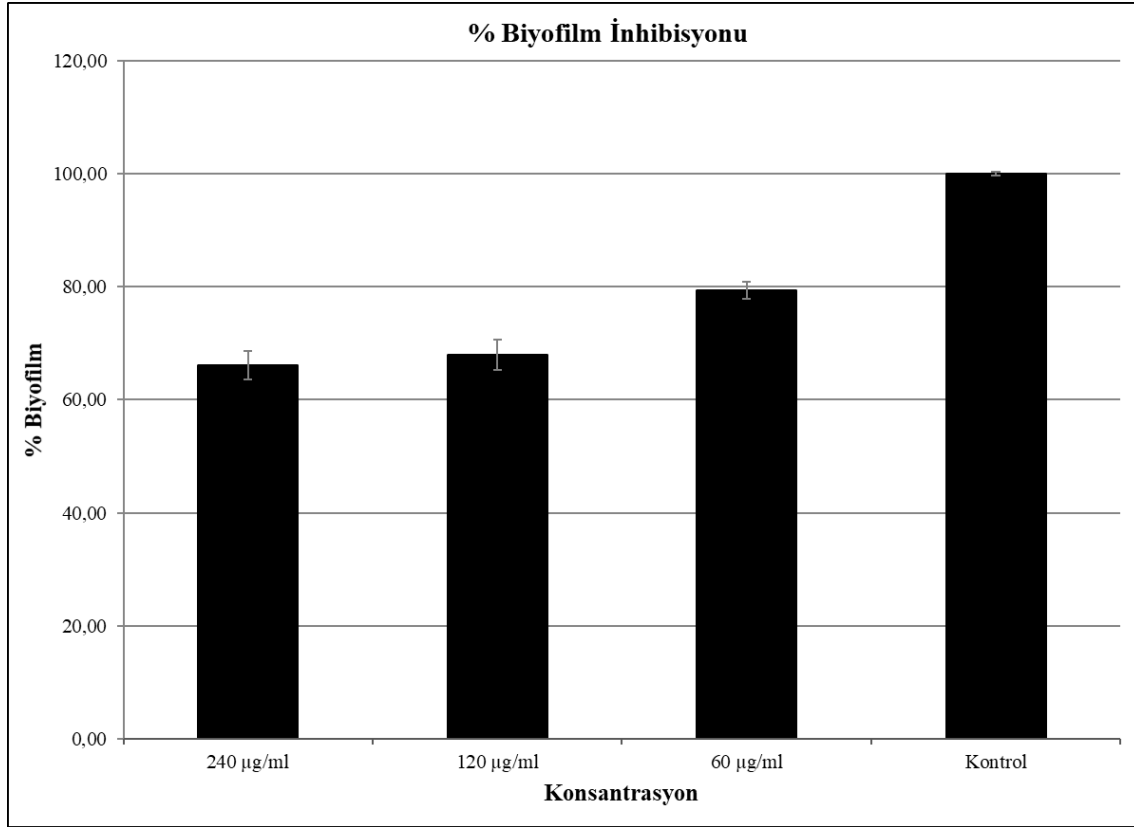
Şekil 3.157. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF79 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF79 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %48.79, %39.98 ve %36.17 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.158. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF79 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF79 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %59.62, %57.75 ve %57.44 olarak saptanmıştır.

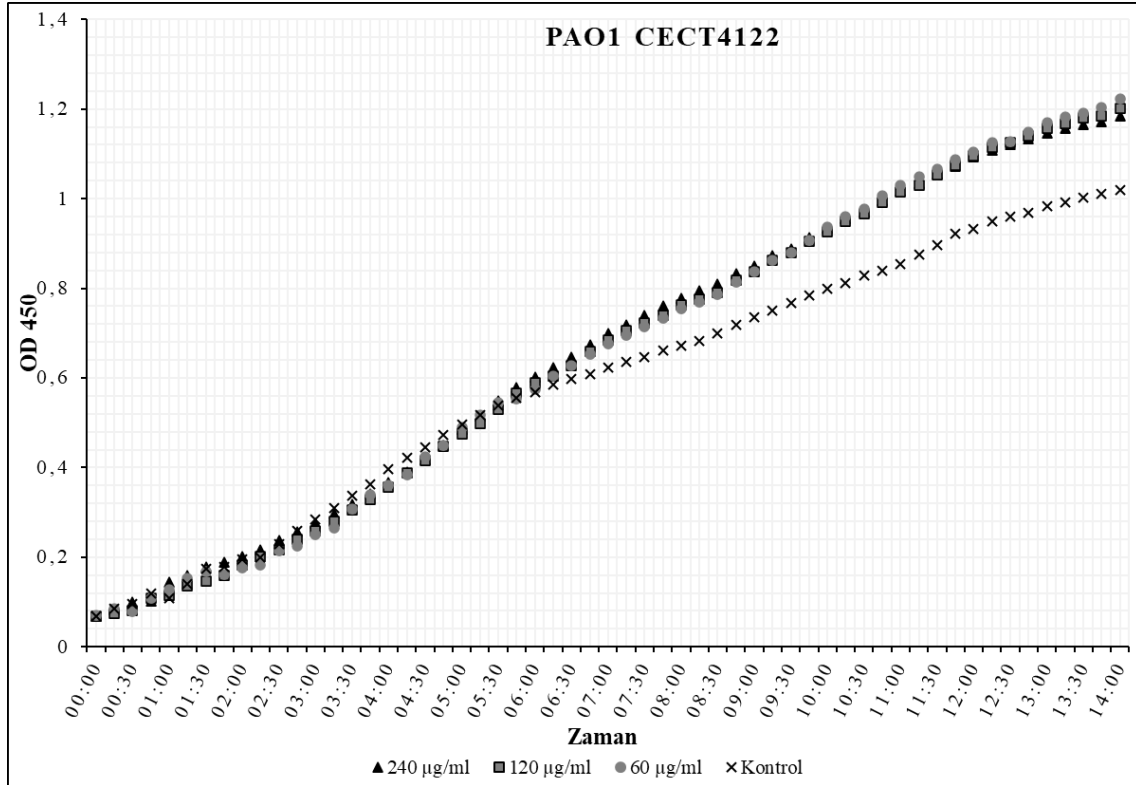


Şekil 3.159. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF79 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF79 etil asetat özütü eklenmemiştir.

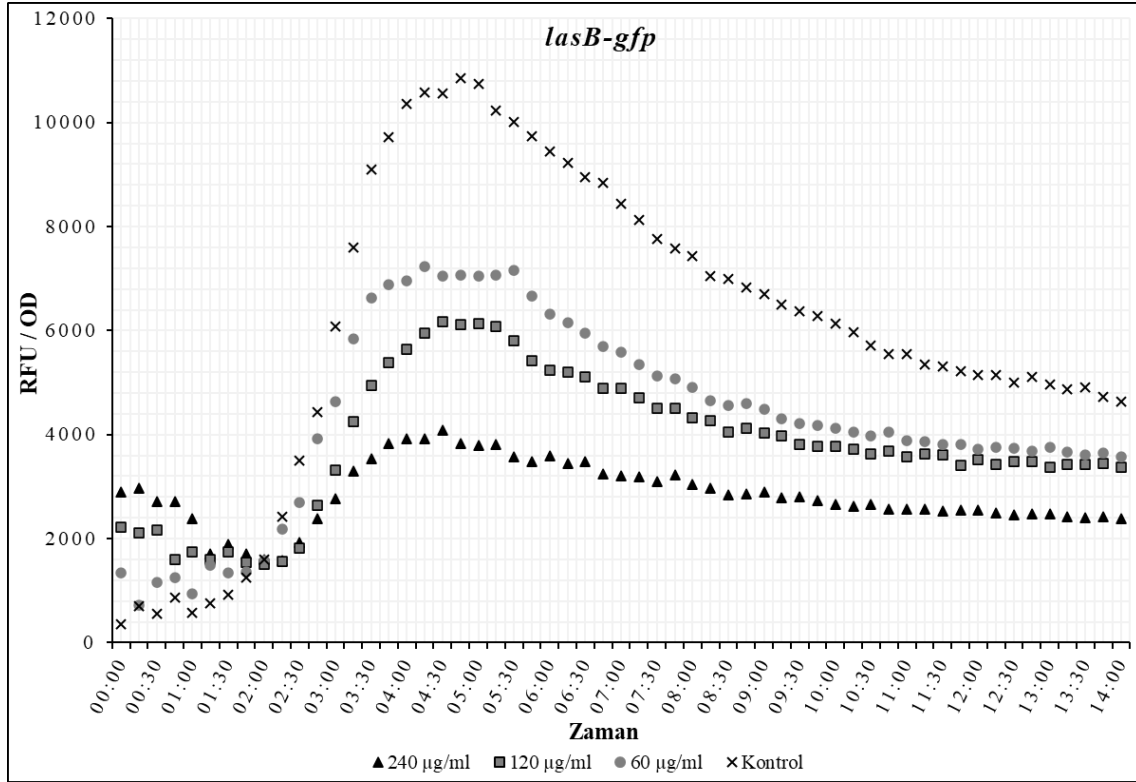
Elde edilen bulgulara göre, ELF79 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %33.86 (± 2.54), %32.02 (± 2.62) ve %20.63 (± 1.57) olarak saptanmıştır.

3.1.2.20. ELF104 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF104 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

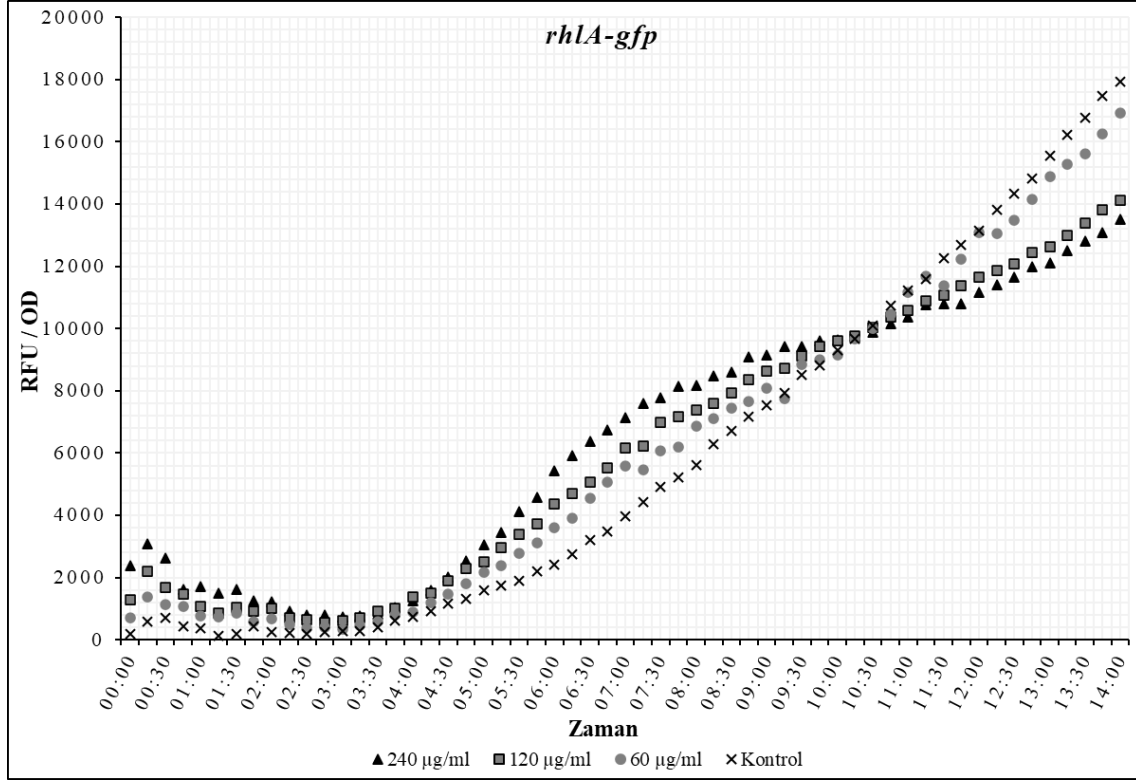


Şekil 3.160. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF104 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF104 etil asetat özütü eklenmemiştir.



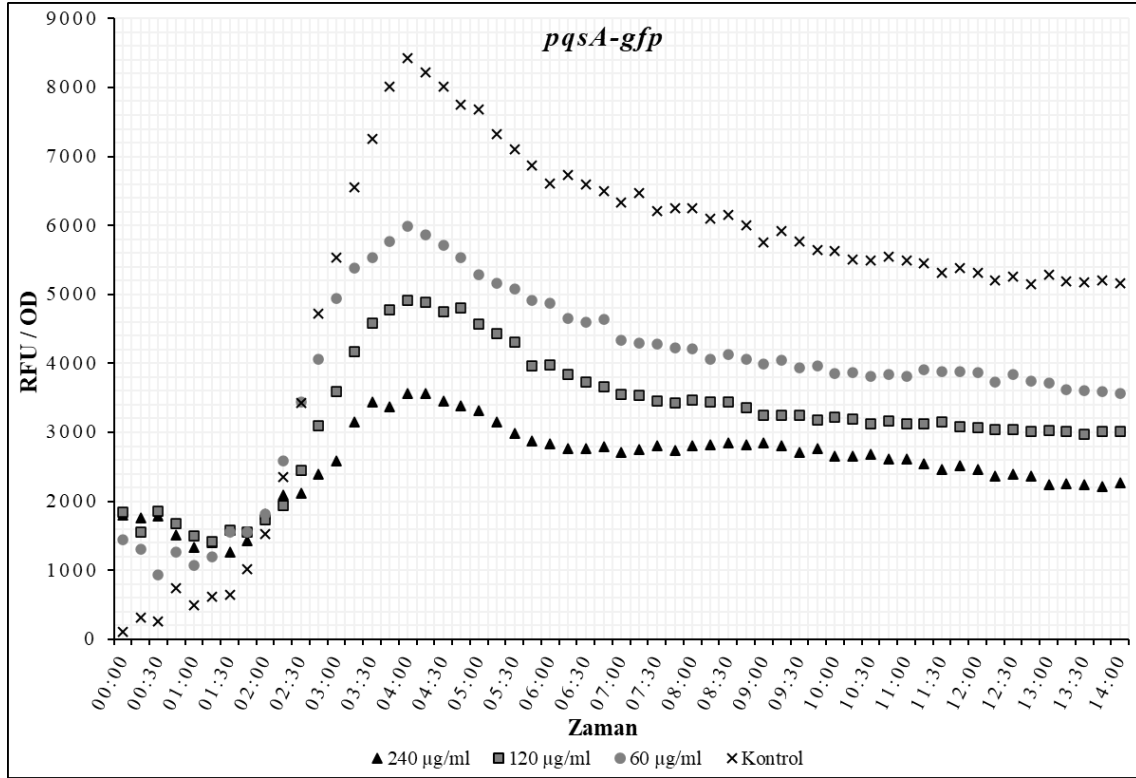
Şekil 3.161. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF104 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF104 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF104 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %48.39, %27.29 ve %22.88 olarak saptanmıştır.



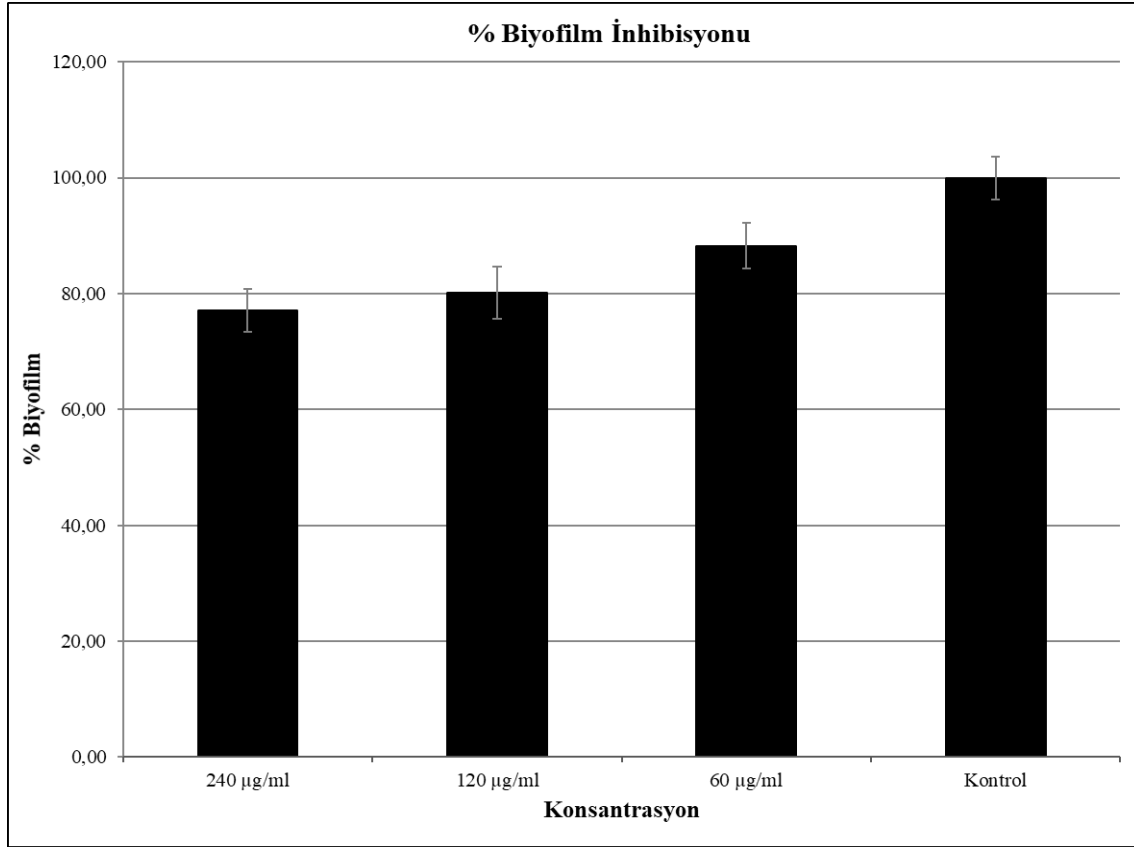
Şekil 3.162. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF104 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF104 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF104 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %24.57, %21.19 ve %5.62 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.163. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF104 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF104 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF104 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %56.05, %41.58 ve %31.09 olarak saptanmıştır.

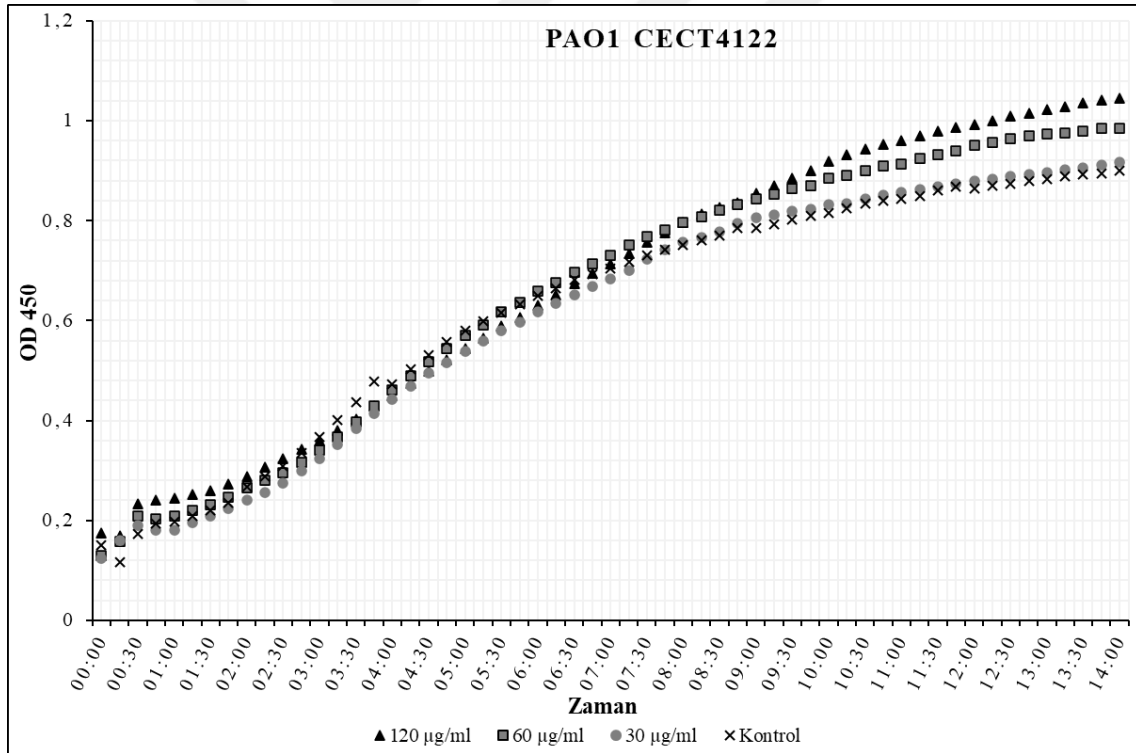


Şekil 3.164. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF104 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF104 etil asetat özütü eklenmemiştir.

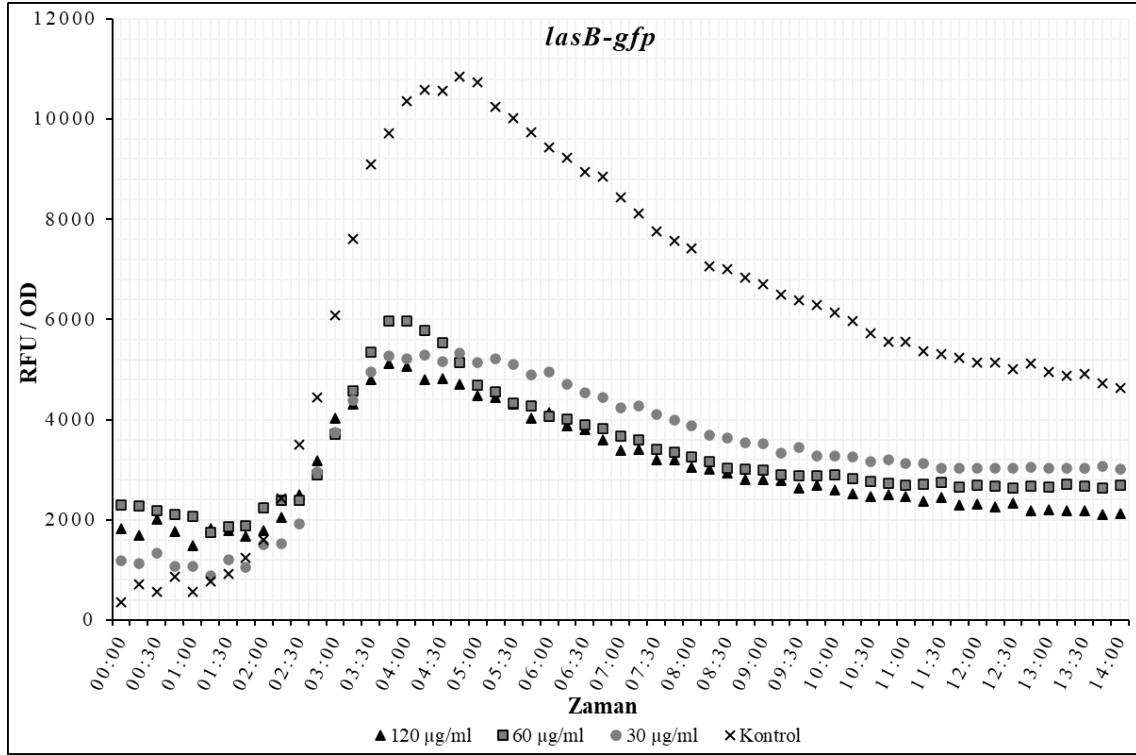
Elde edilen bulgulara göre, ELF104 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %22.84 (± 3.70), %19.87 (± 4.49) ve %11.74 (± 3.90) olarak saptanmıştır.

3.1.2.21. *Peltigera praetextata* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

Peltigera praetextata likeninin n-Hekzan özütünün 120, 60 ve 30 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır. QS inhibisyonu testleri için her 15 dakikada bir ölçüm kayıt alınmıştır. Tüm GFP ekspresyonları, bakterilerin büyüme miktarları ile normalize edilmiştir. Ölçümleri gerçekleştirilen tüm floresans ölçümleri, aynı zamanda ölçümü alınan absorbans değerlerine oranlanmıştır. Bu nedenle QS inhibisyon grafikleri, Göreli floresans birimi (RFU) / Absorbans 450 nm (OD) olarak ifade edilmiştir.

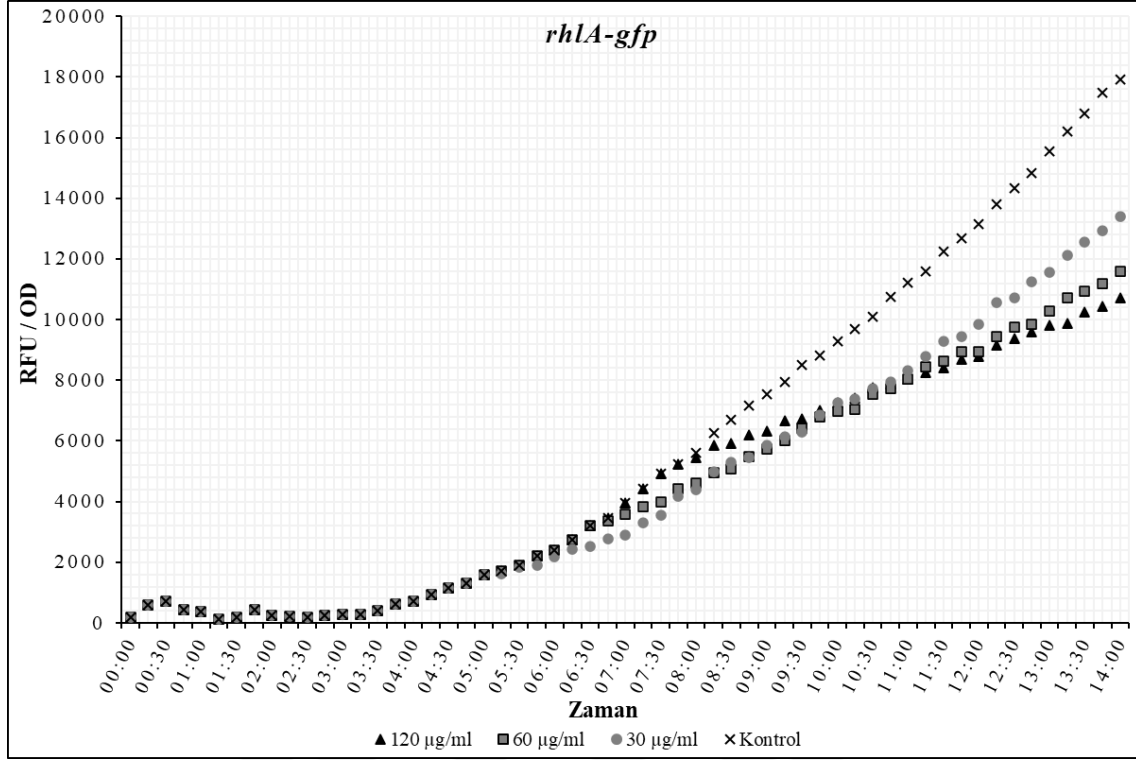


Şekil 3.165. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *P. praetextata* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna *P. praetextata* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.



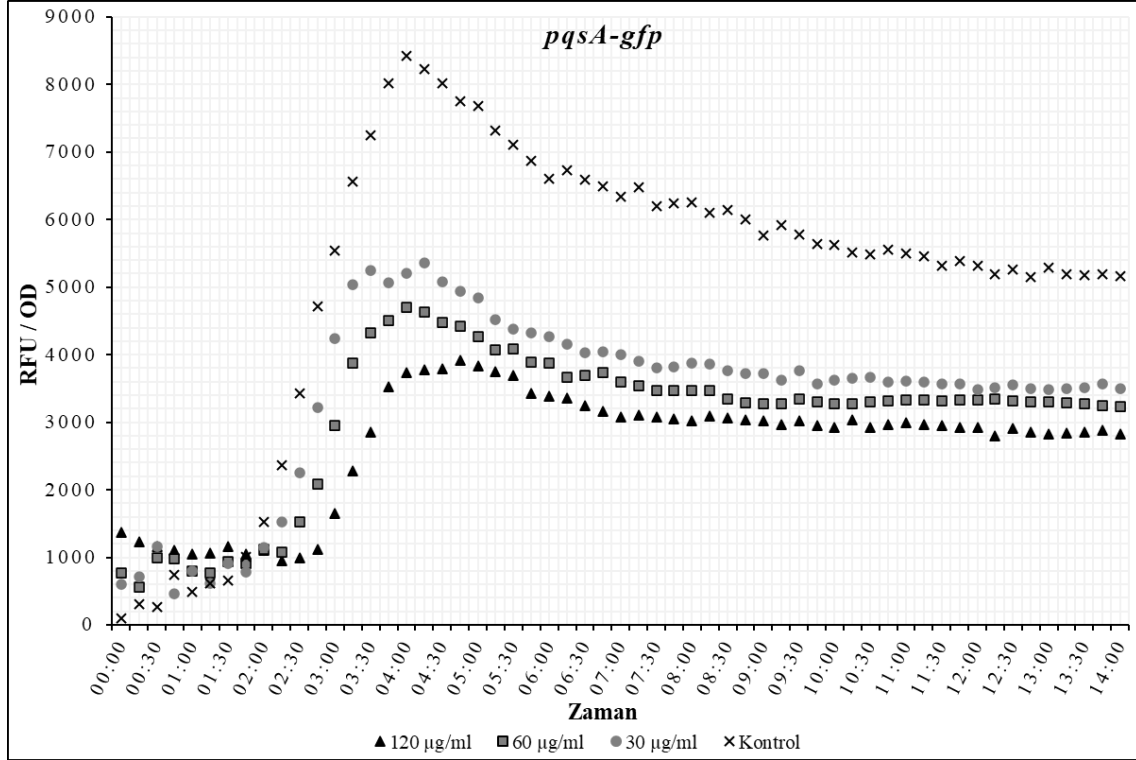
Şekil 3.166. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *P. praetextata* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna *P. praetextata* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.

P. praetextata 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki n-Hekzan özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %54.19, %42.07 ve %34.90 olarak saptanmıştır.



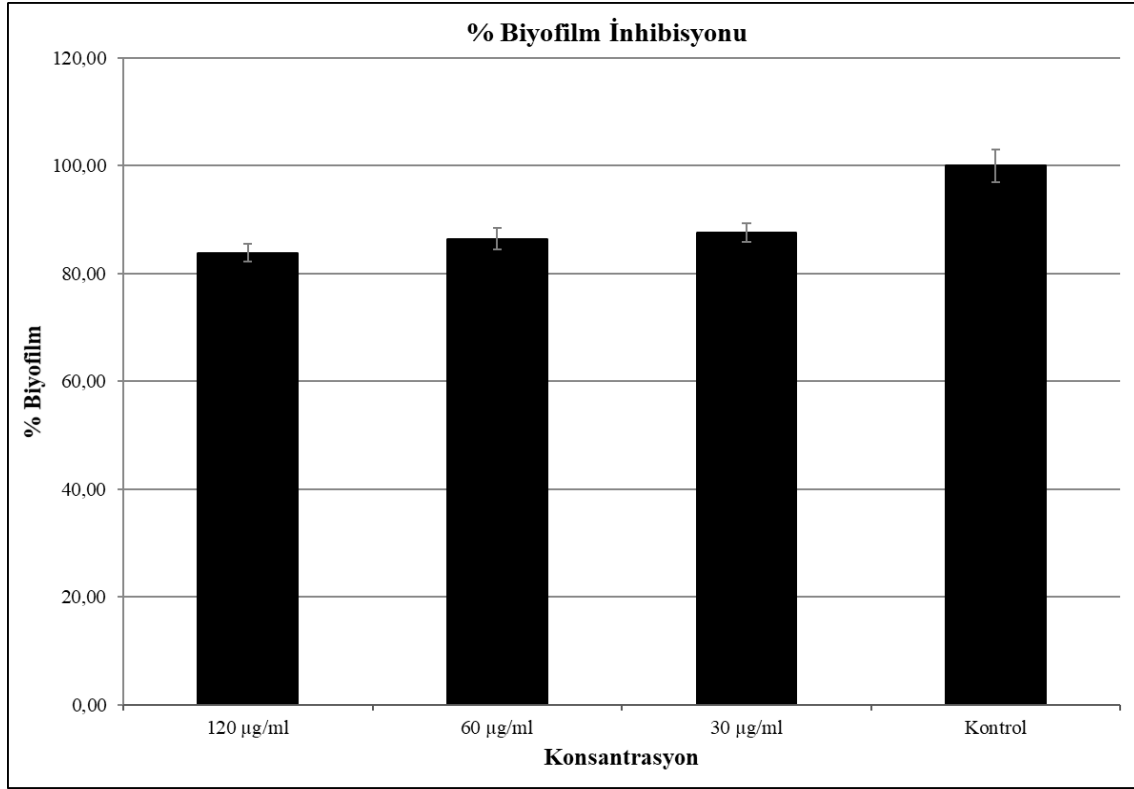
Şekil 3.167. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *P. praetextata* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna *P. praetextata* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.

P. praetextata 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki n-Hekzan özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %40.22, %35.31 ve %25.21 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.168. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *P. praetextata* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna *P. praetextata* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.

P. praetextata 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki n-Hekzan özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %45.33, %34.76 ve %32.17 olarak saptanmıştır.

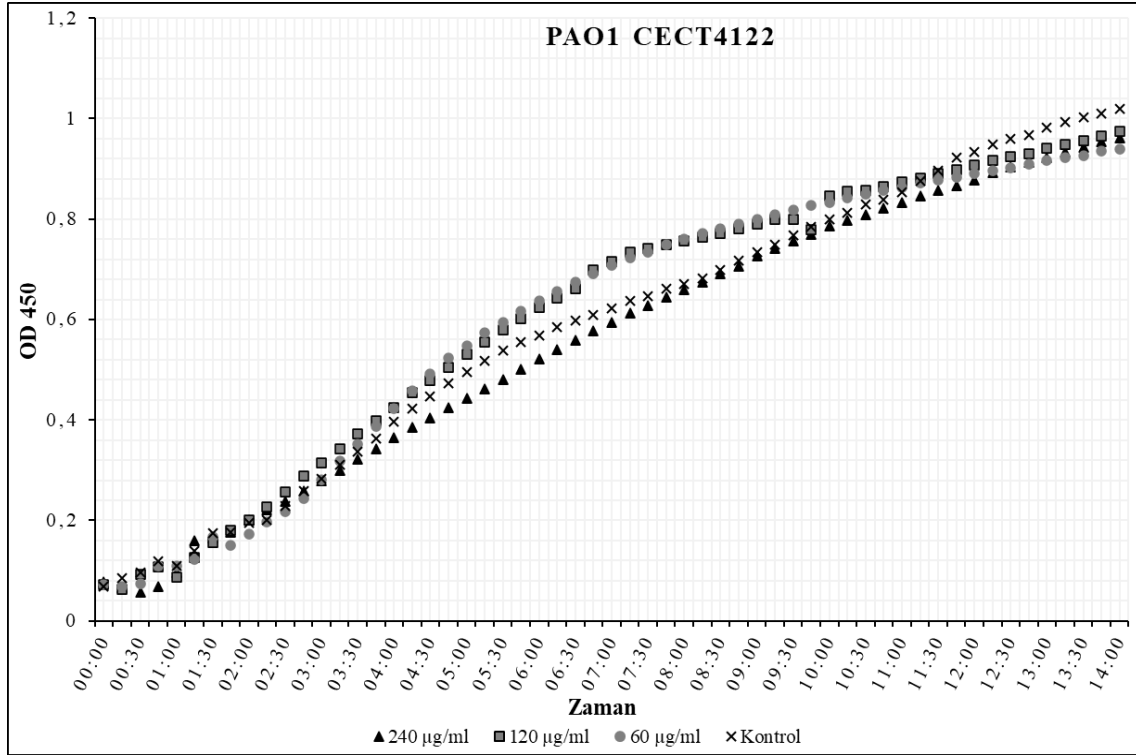


Şekil 3.169. 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki *P. praetextata* likeninin n-Hekzan özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna *P. praetextata* n-Hekzan özütü eklenmemiştir.

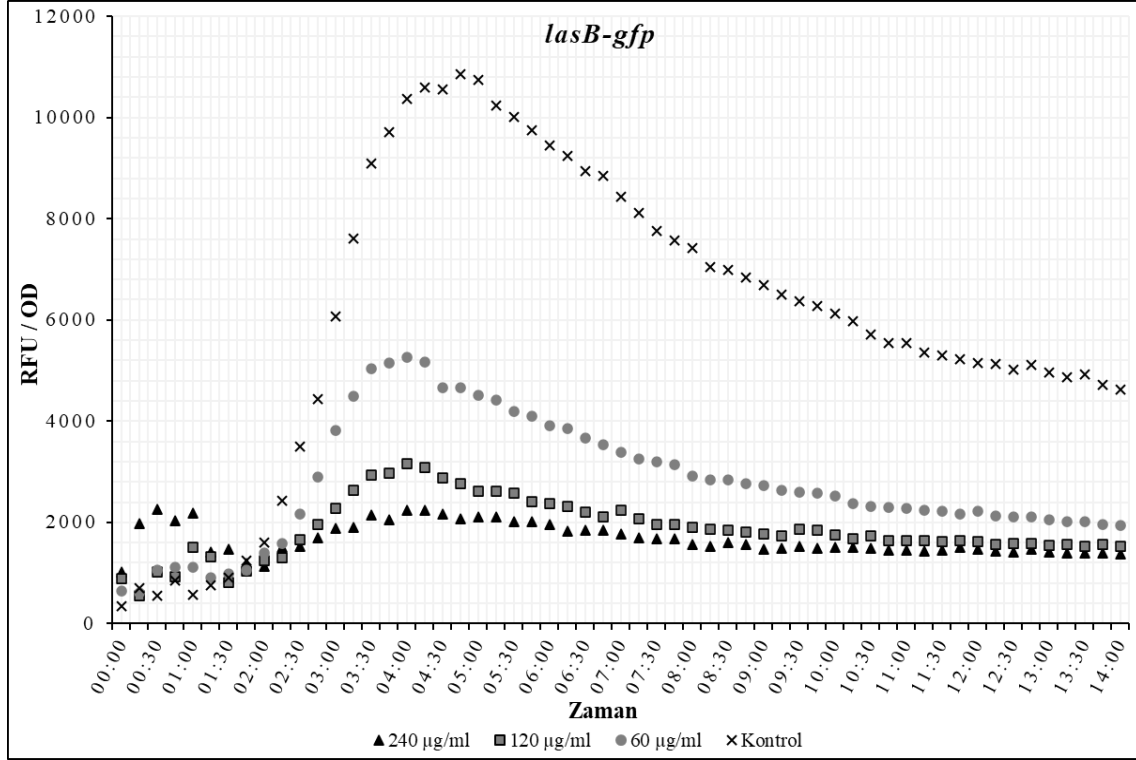
Elde edilen bulgulara göre, *P. praetextata* likeninin n-Hekzan özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %16.17 (± 1.66), %13.58 (± 2) ve %12.44 (± 1.74) olarak saptanmıştır.

3.1.2.22. ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

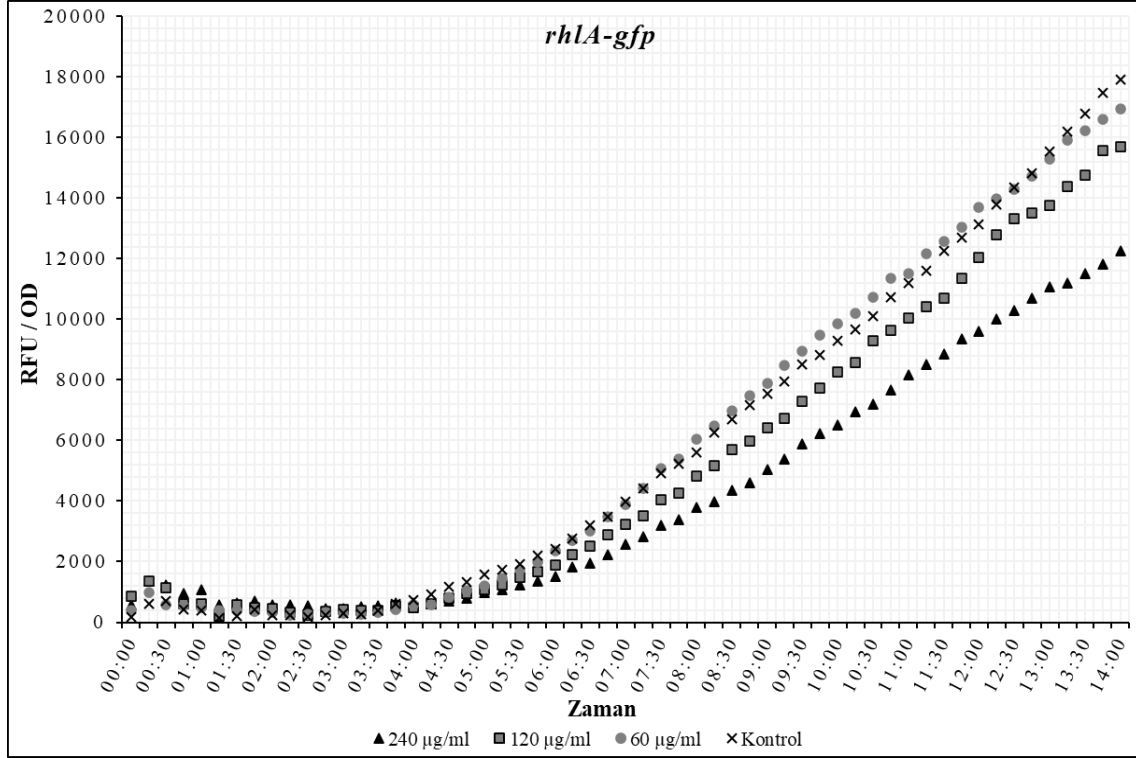


Şekil 3.170. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF21 etil asetat özütü eklenmemiştir.



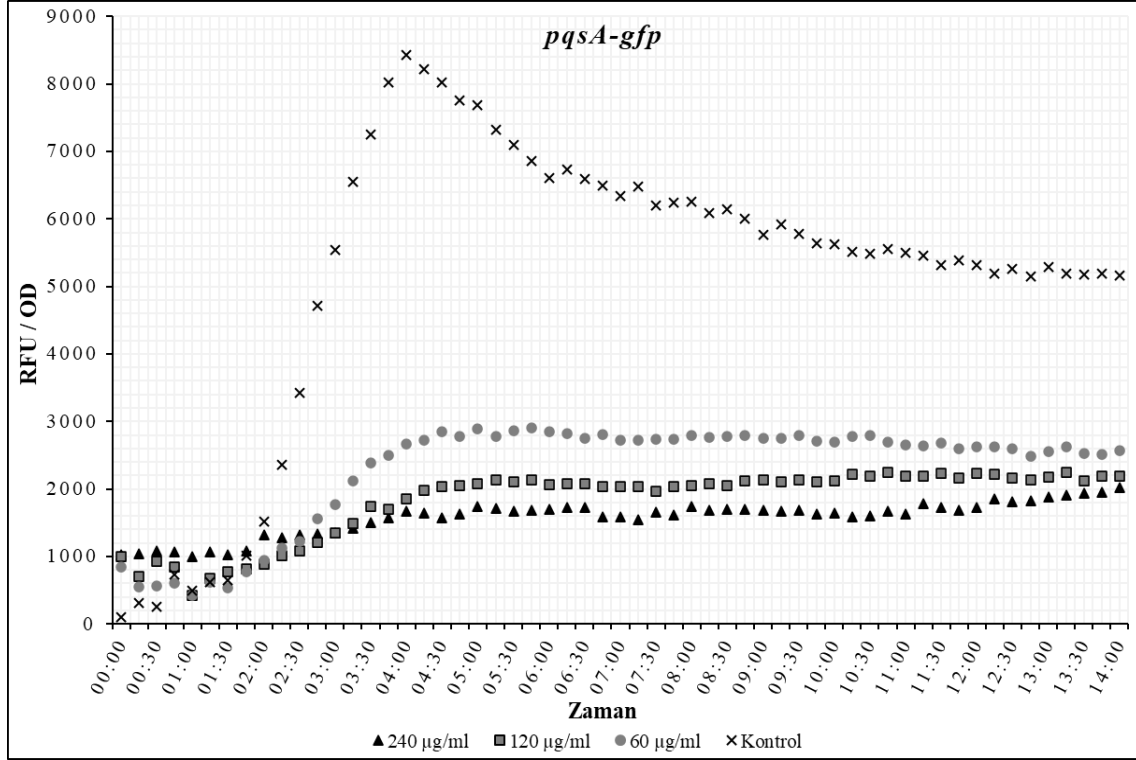
Şekil 3.171. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF21 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF21 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %70.15, %66.97 ve %57.92 olarak saptanmıştır.



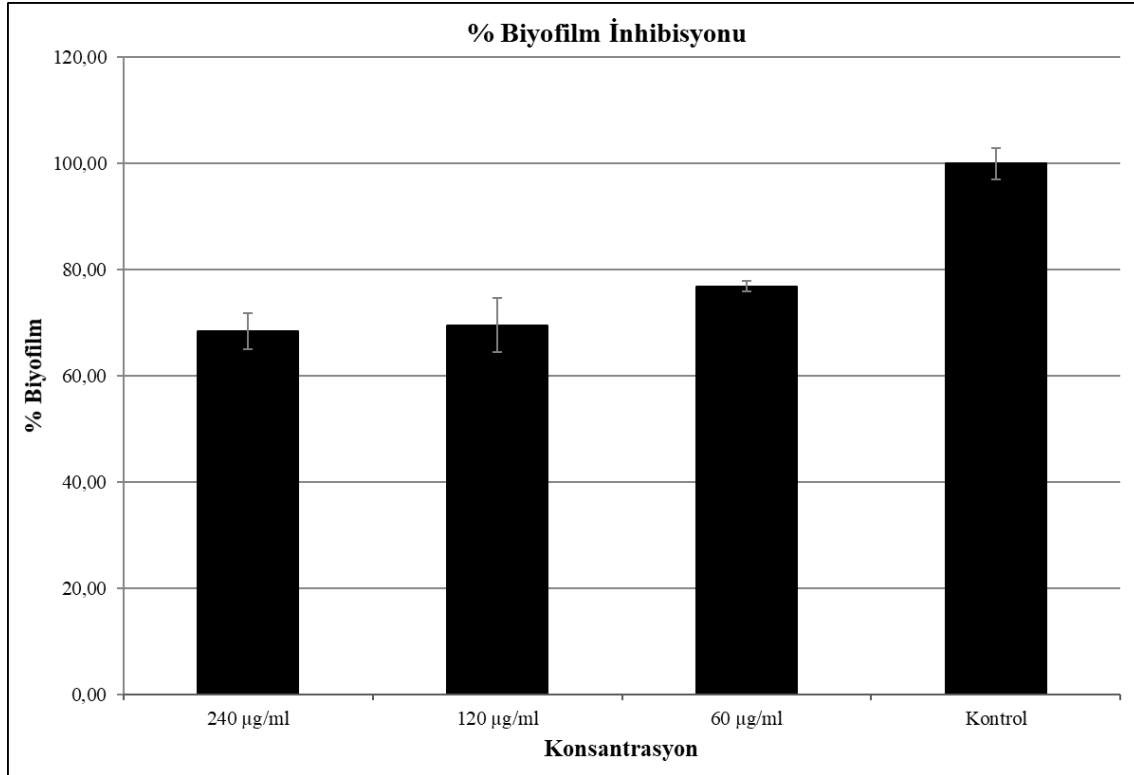
Şekil 3.172. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF21 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF21 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %31.61, %12.36 ve %5.42 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.173. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF21 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF21 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %60.92, %57.71 ve %50.29 olarak saptanmıştır.

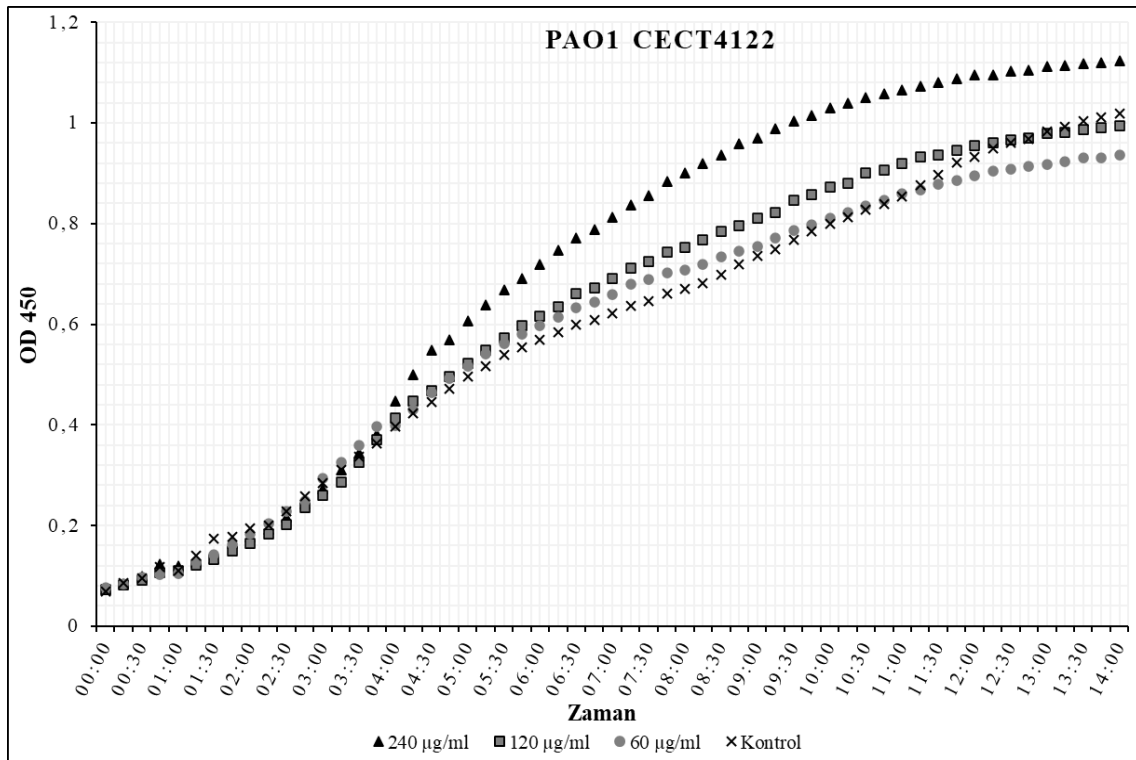


Şekil 3.174. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF21 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF21 etil asetat özütü eklenmemiştir.

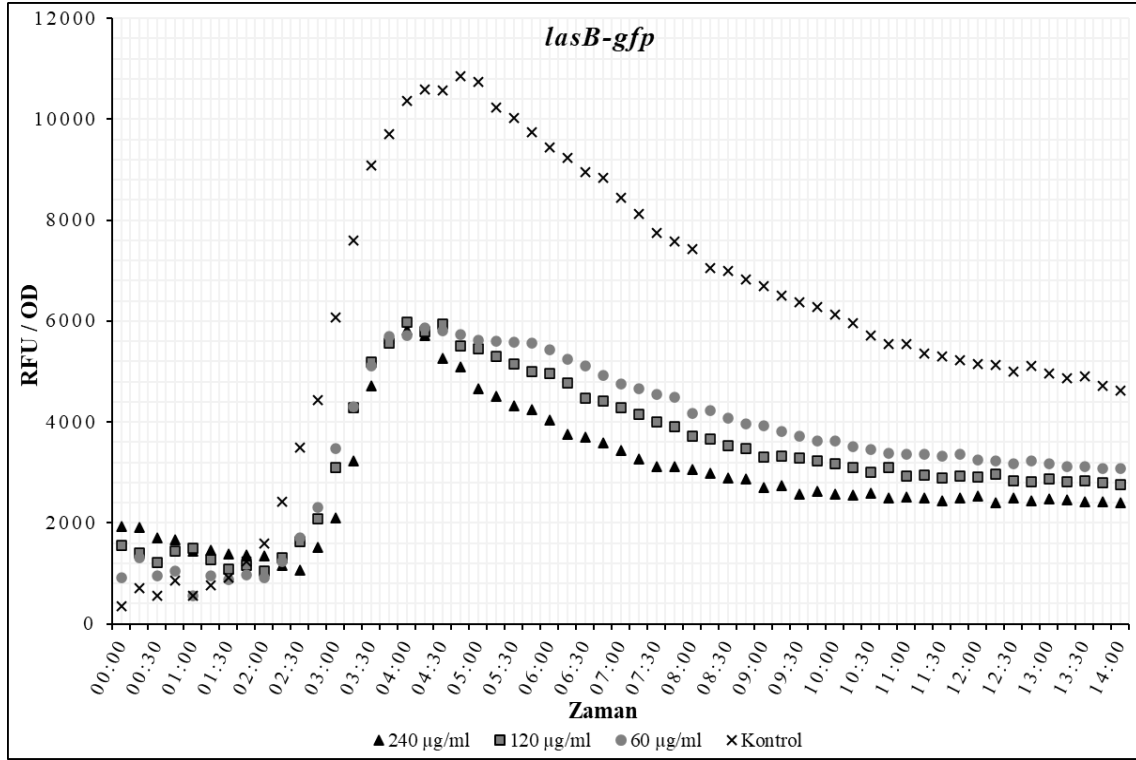
Elde edilen bulgulara göre, ELF21 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %31.56 (± 3.36), %30.44 (± 5.09) ve %23.07 (± 0.92) olarak saptanmıştır.

3.1.2.23. ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

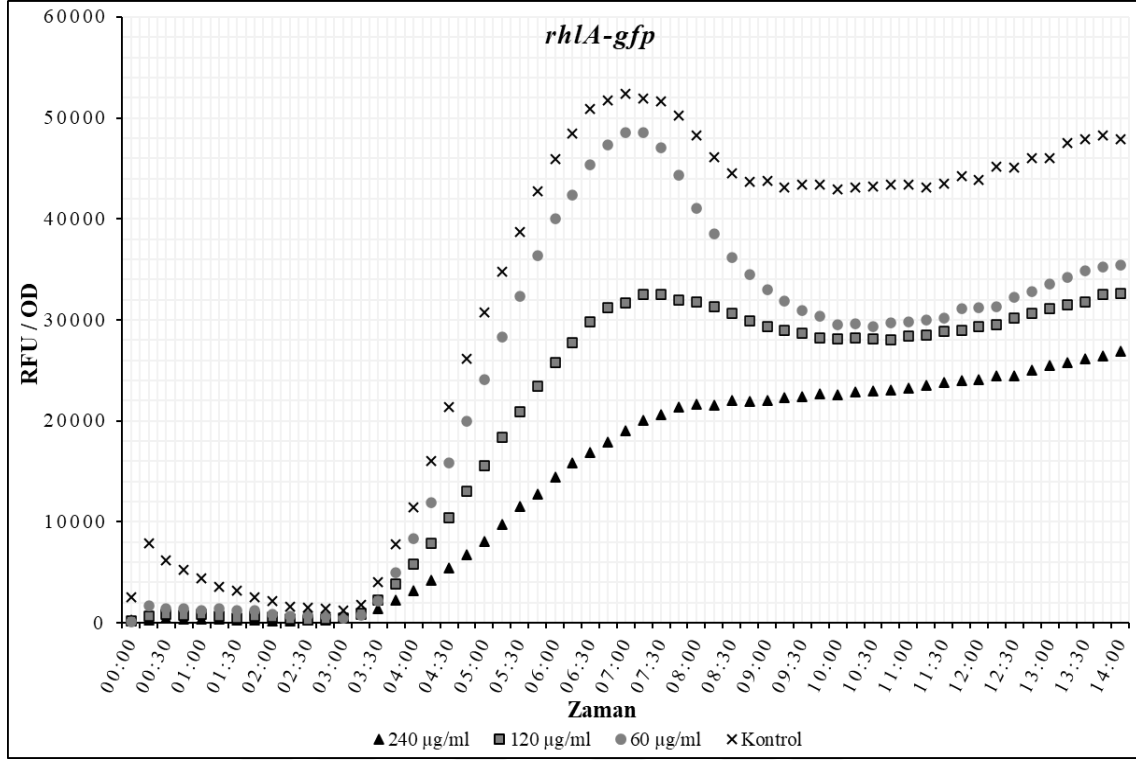


Şekil 3.175. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF37 etil asetat özütü eklenmemiştir.



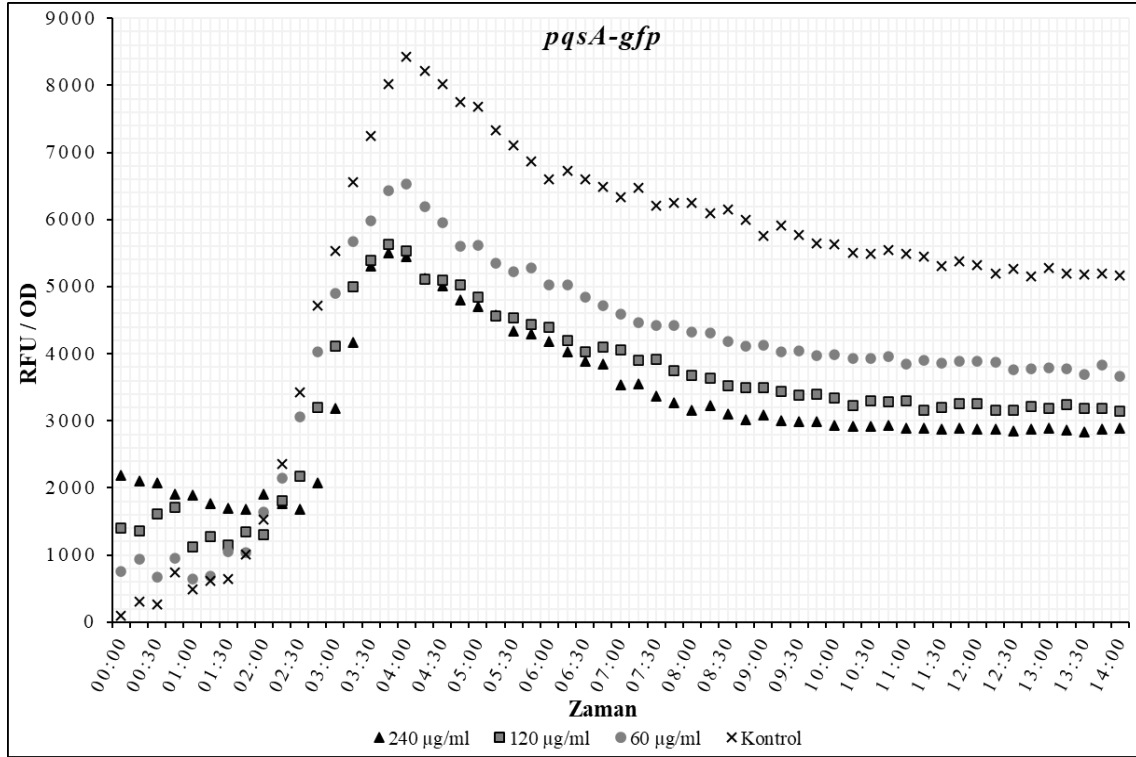
Şekil 3.176. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF37 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF37 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %48.11, %40.57 ve %33.43 olarak saptanmıştır.



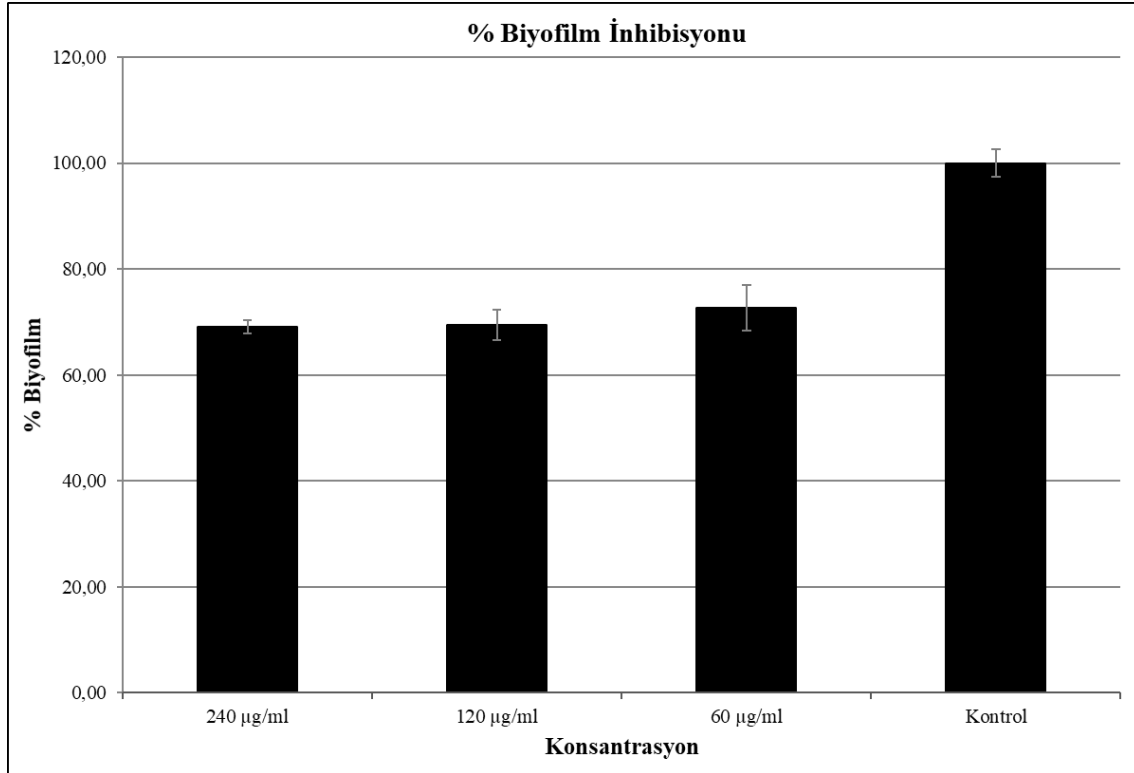
Şekil 3.177. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF37 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF37 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %43.80, %31.83 ve %26.05 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.178. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF37 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF37 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %43.91, %39.06 ve %29.01 olarak saptanmıştır.

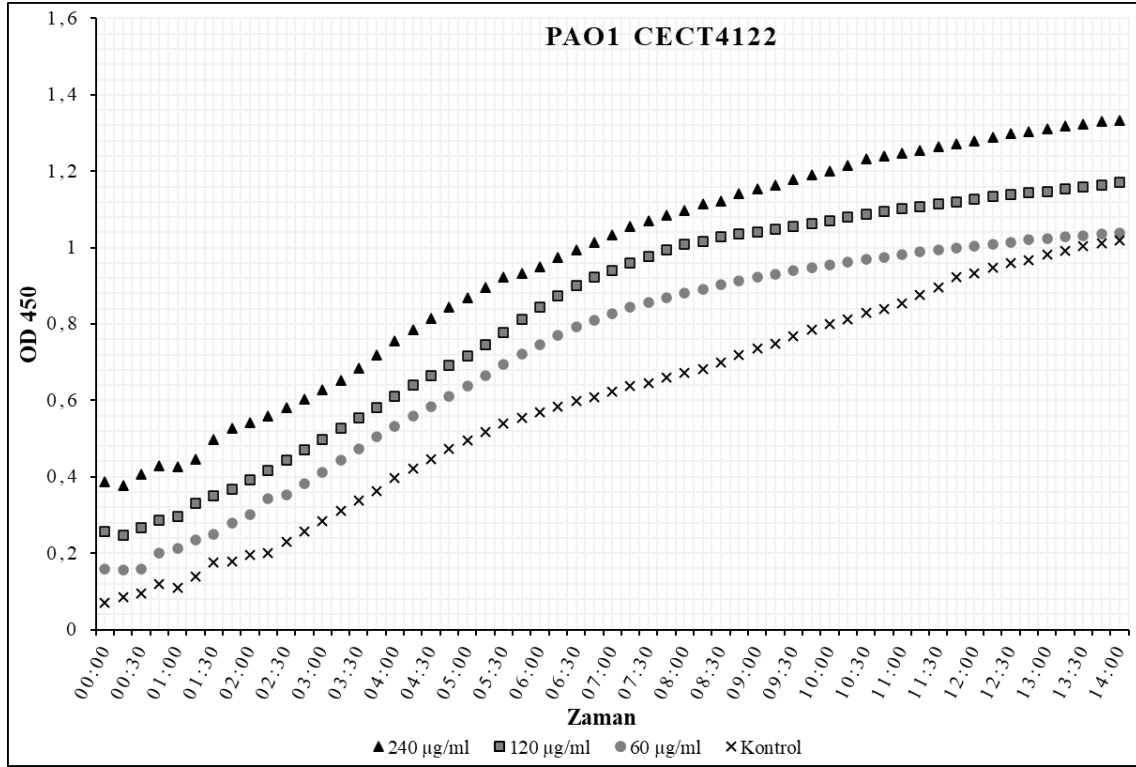


Şekil 3.179. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF37 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF37 etil asetat özütü eklenmemiştir.

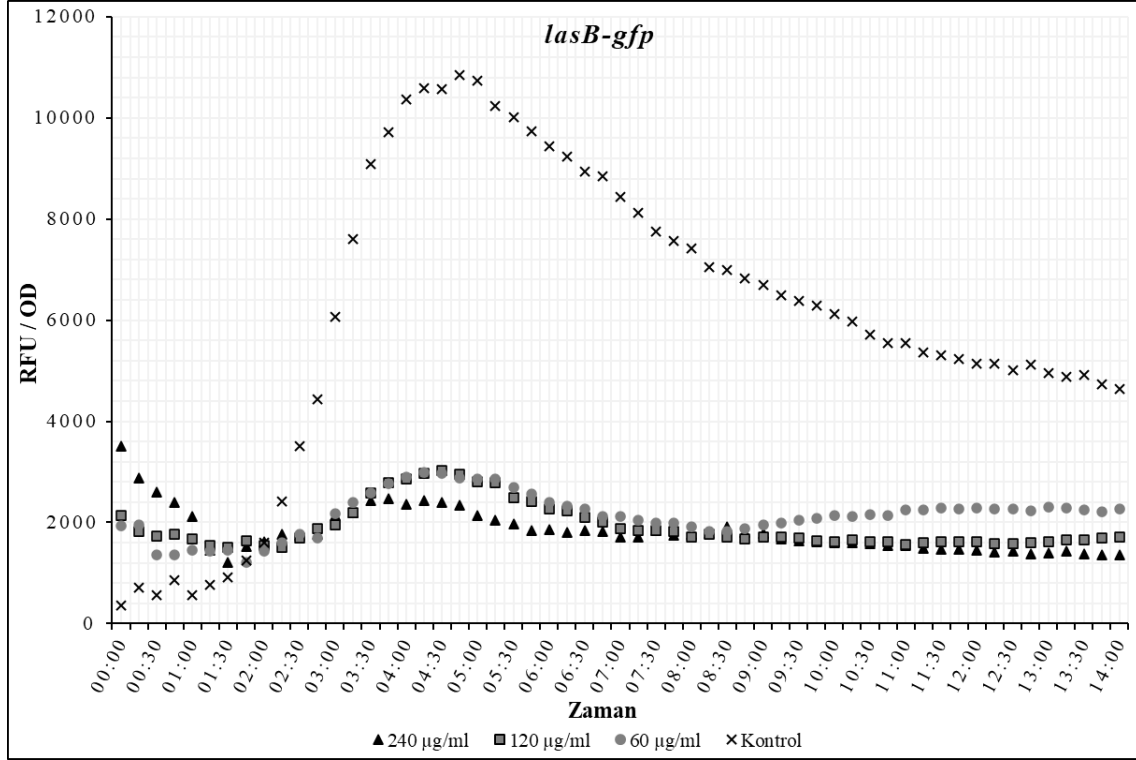
Elde edilen bulgulara göre, ELF37 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %30.95 (± 3.36), %30.53 (± 2.85) ve %27.37 (± 4.26) olarak saptanmıştır.

3.1.2.24. ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

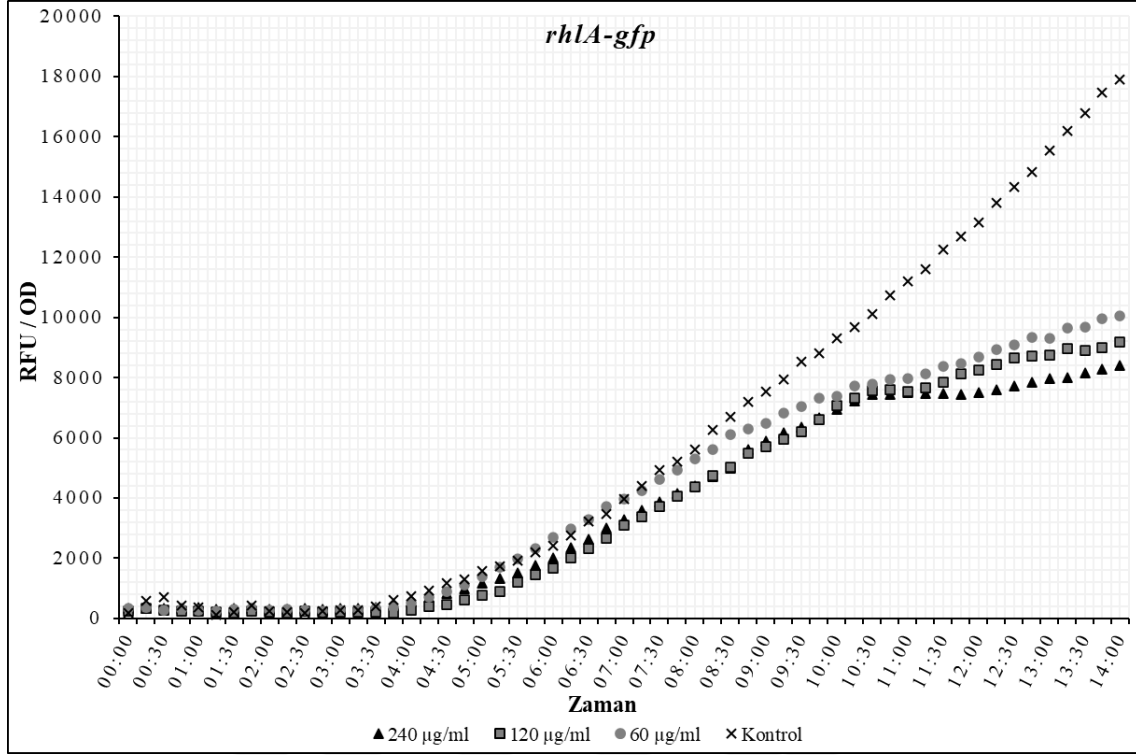


Şekil 3.180. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF52 etil asetat özütü eklenmemiştir.



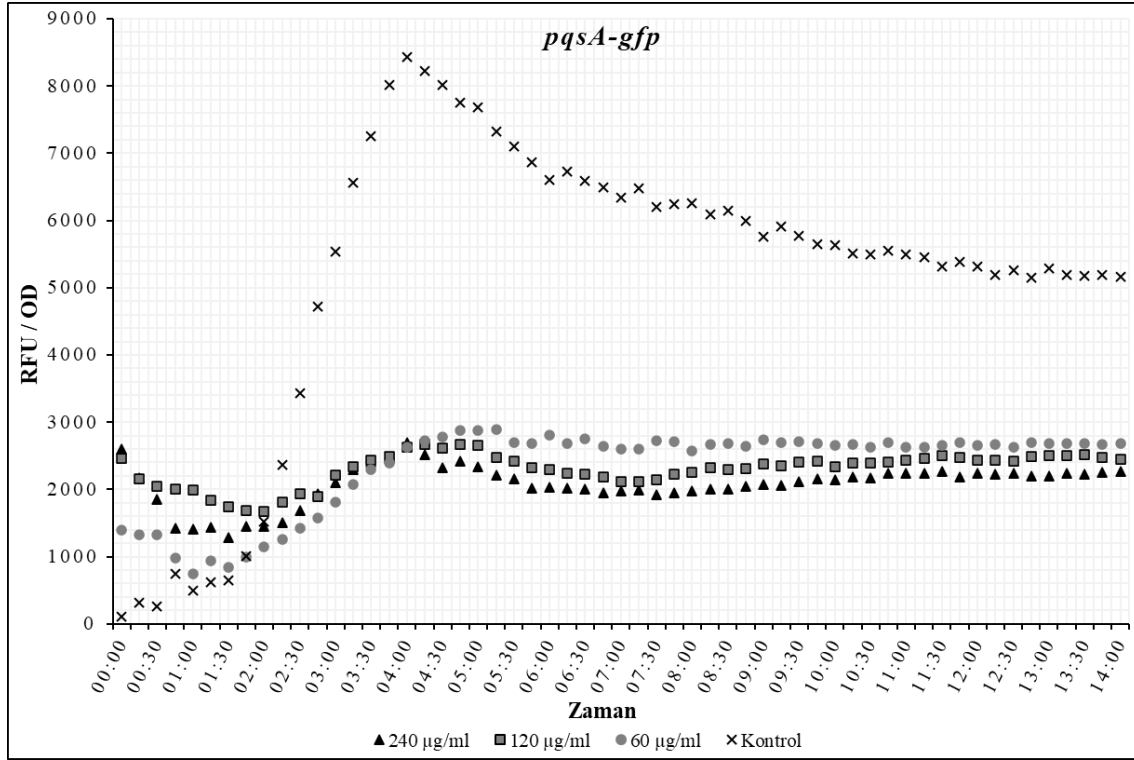
Şekil 3.181. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF52 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF52 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %70.59, %63.03 ve %54.19 olarak saptanmıştır.



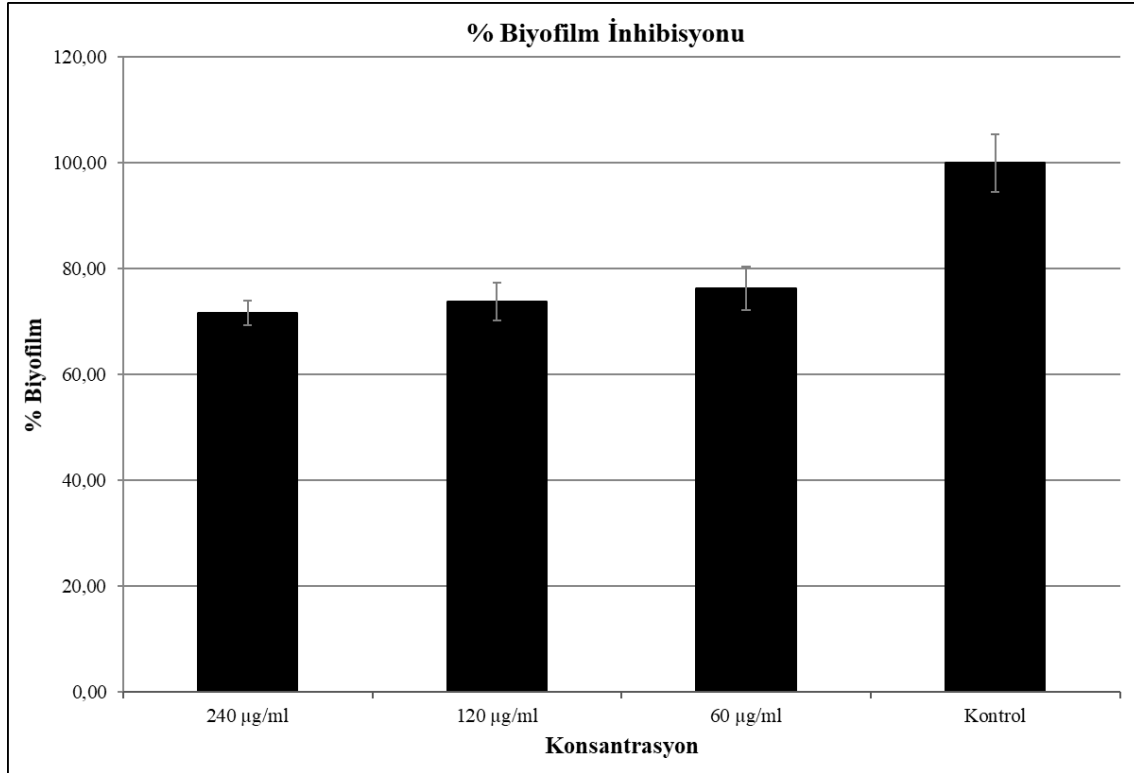
Şekil 3.182. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF52 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF52 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %53.06, %48.76 ve %43.97 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.183. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF52 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF52 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %56.14, %52.49 ve %48.12 olarak saptanmıştır.

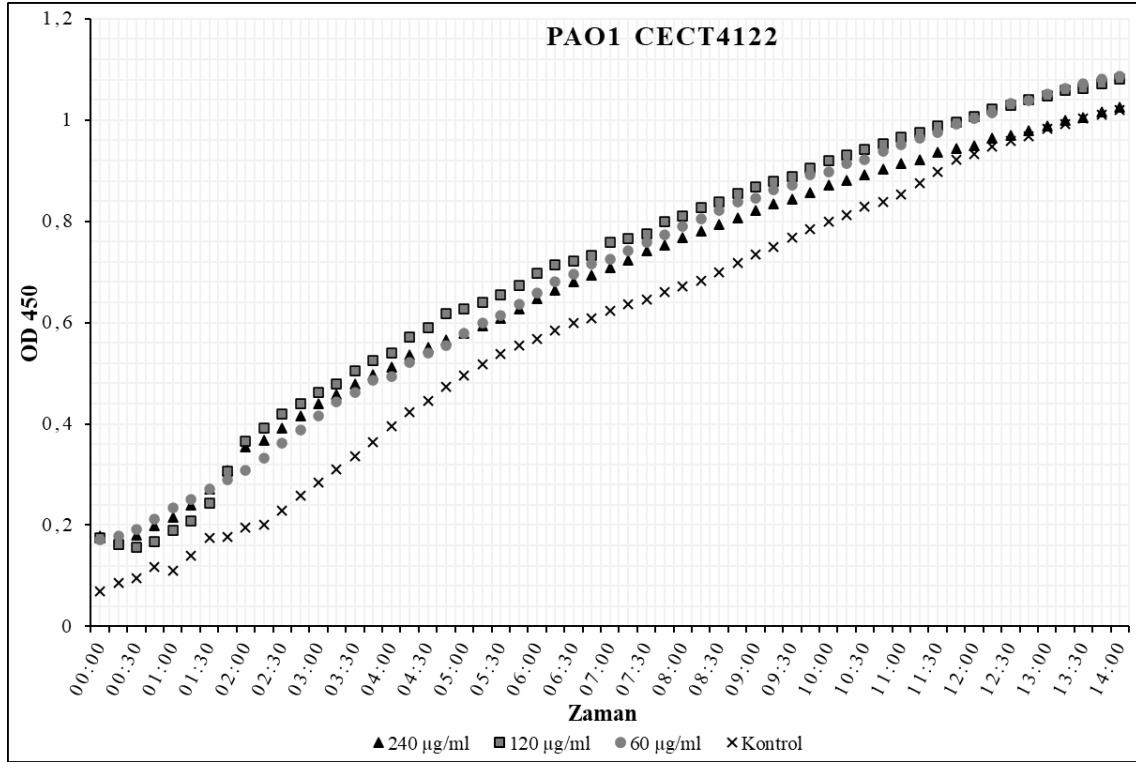


Şekil 3.184. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF52 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF52 etil asetat özütü eklenmemiştir.

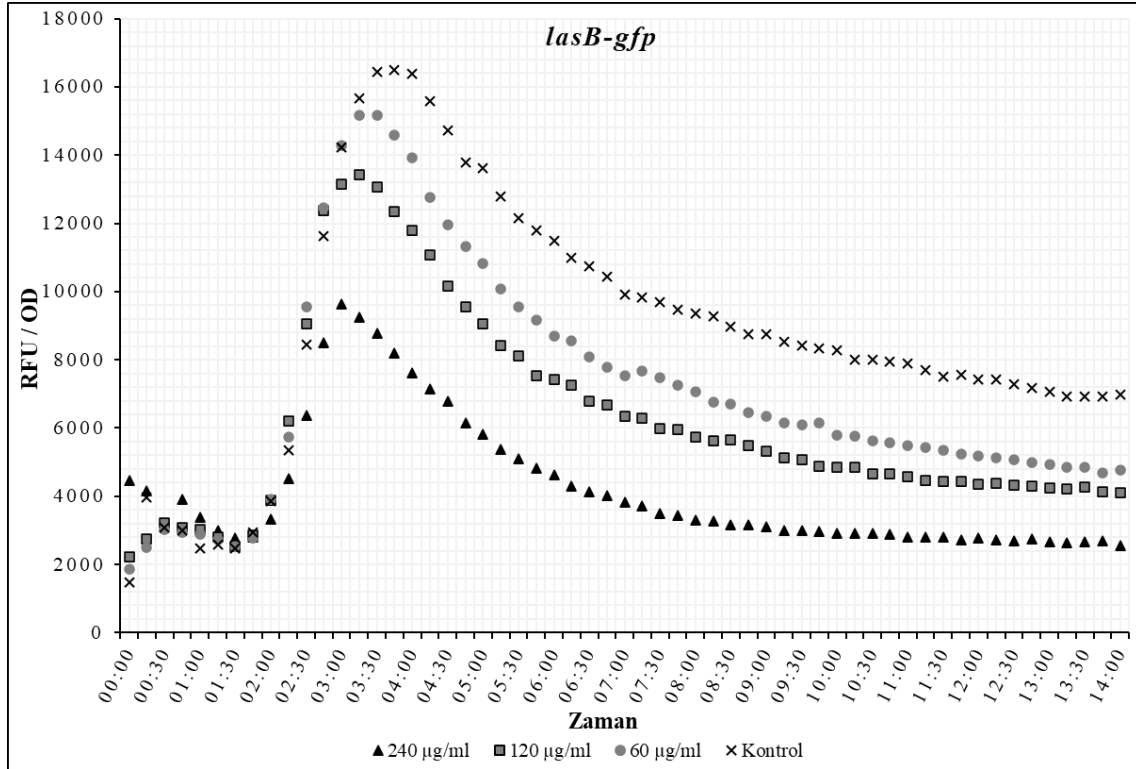
Elde edilen bulgulara göre, ELF52 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %28.34 (± 2.25), %26.14 (± 3.59) ve %23.67 (± 4.15) olarak saptanmıştır.

3.1.2.25. ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

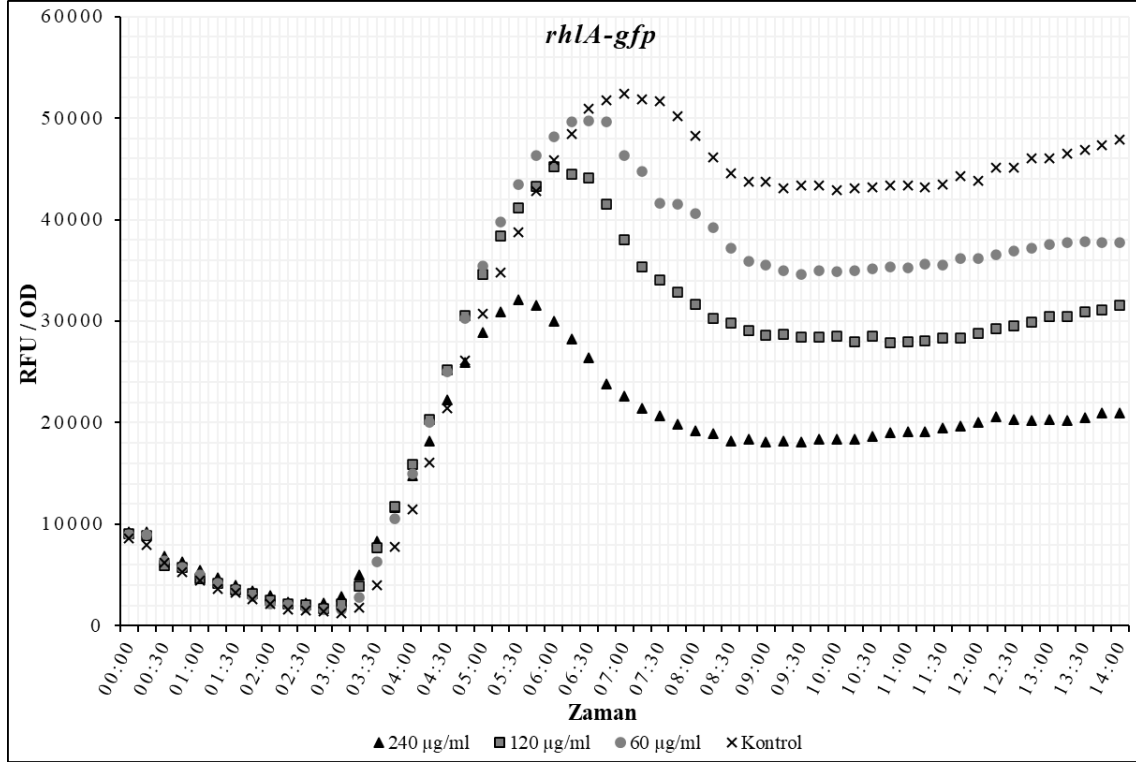


Şekil 3.185. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF60 etil asetat özütü eklenmemiştir.



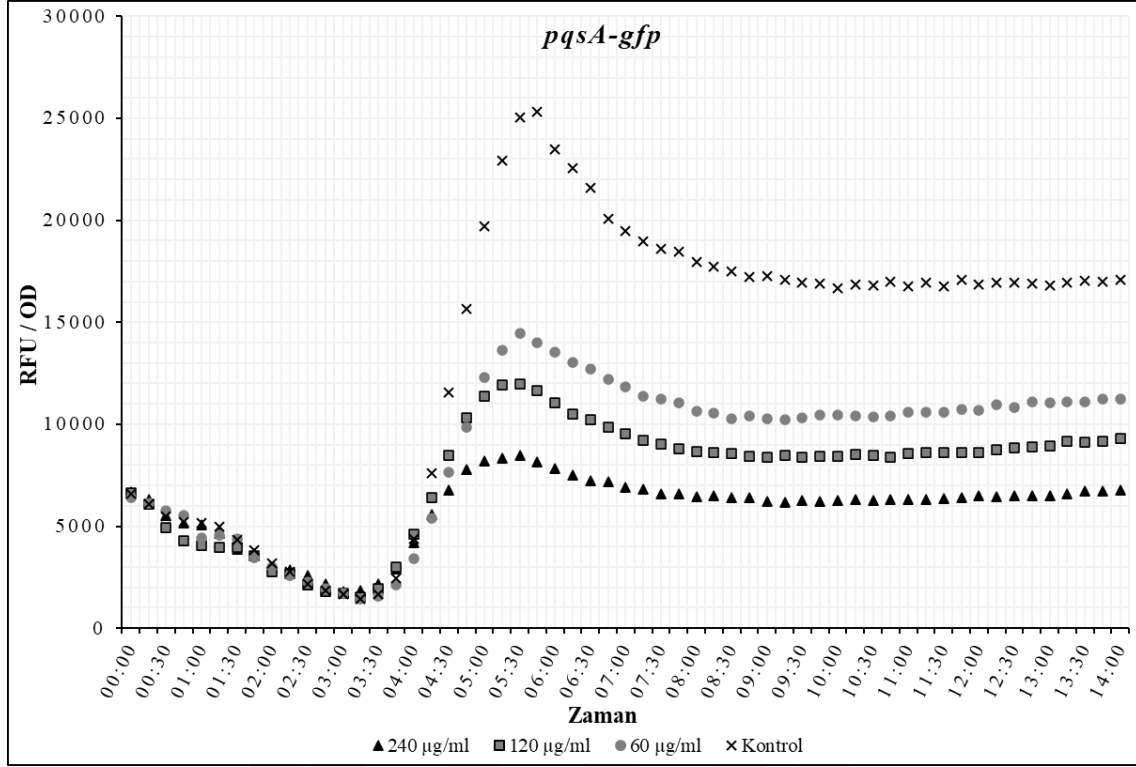
Şekil 3.186. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF60 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF60 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %63.53, %41.12 ve %31.55 olarak saptanmıştır.



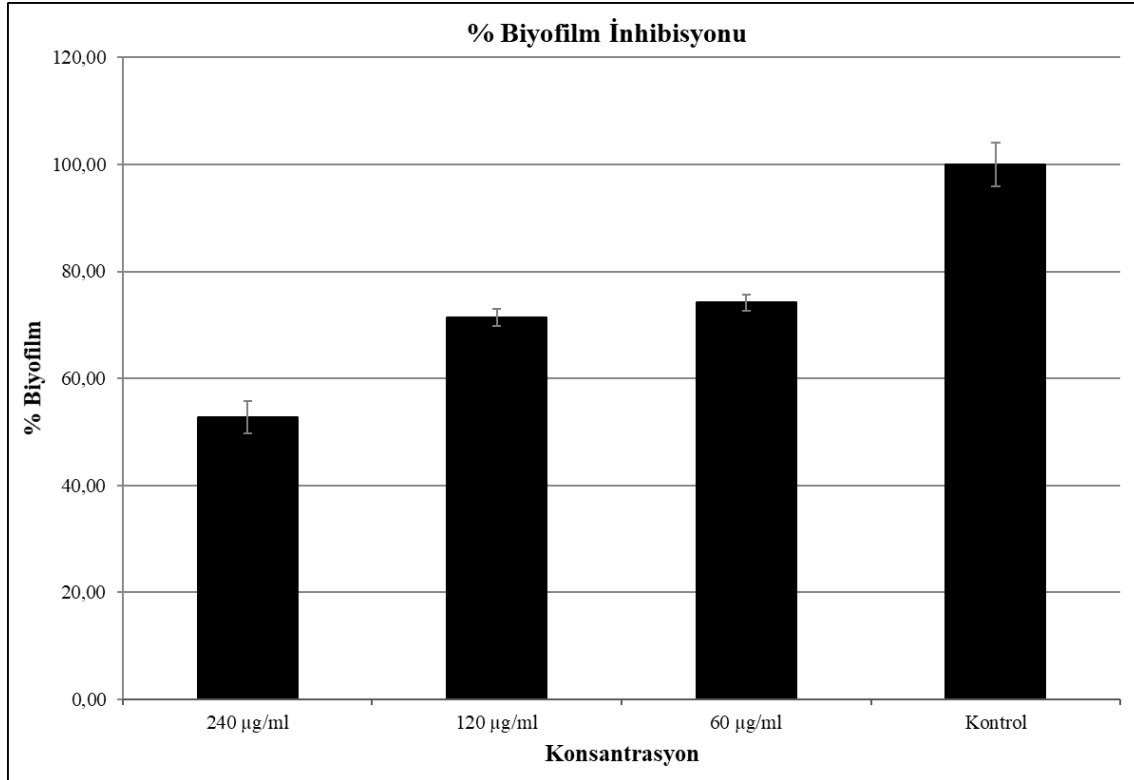
Şekil 3.187. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF60 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF60 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %56.21, %34.04 ve %21.14 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.188. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF60 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF60 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %60.39, %45.43 ve %34.25 olarak saptanmıştır.

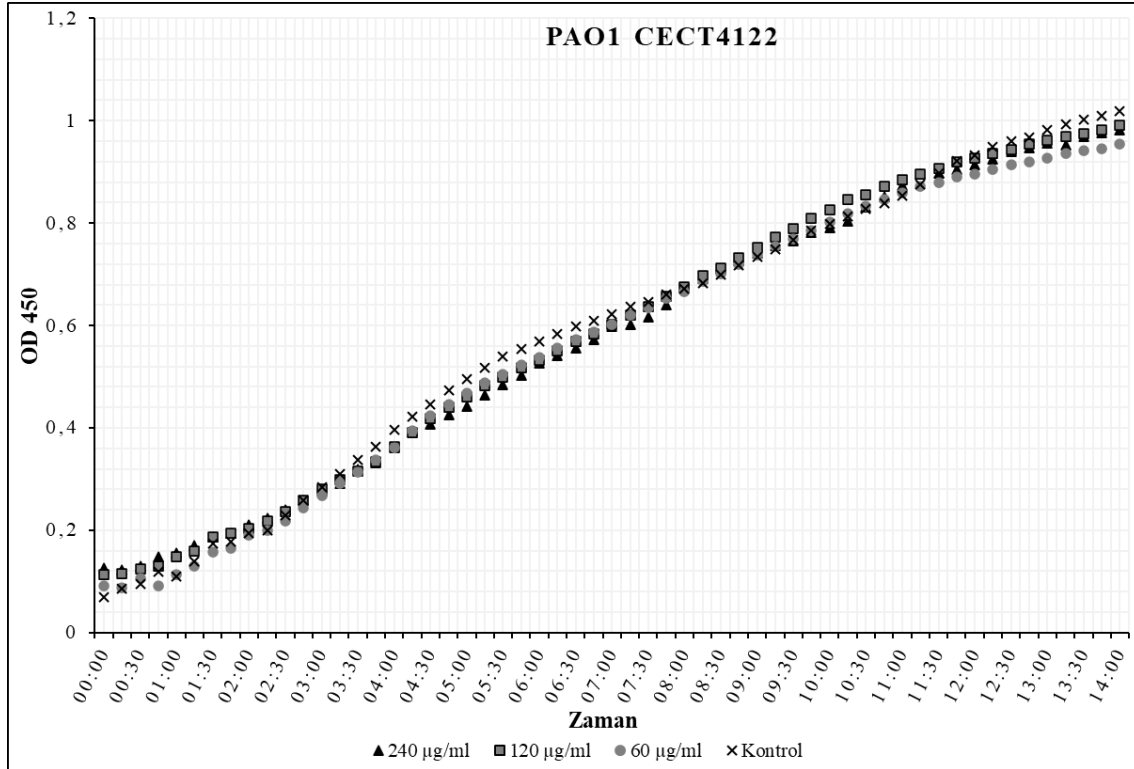


Şekil 3.189. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF60 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF60 etil asetat özütü eklenmemiştir.

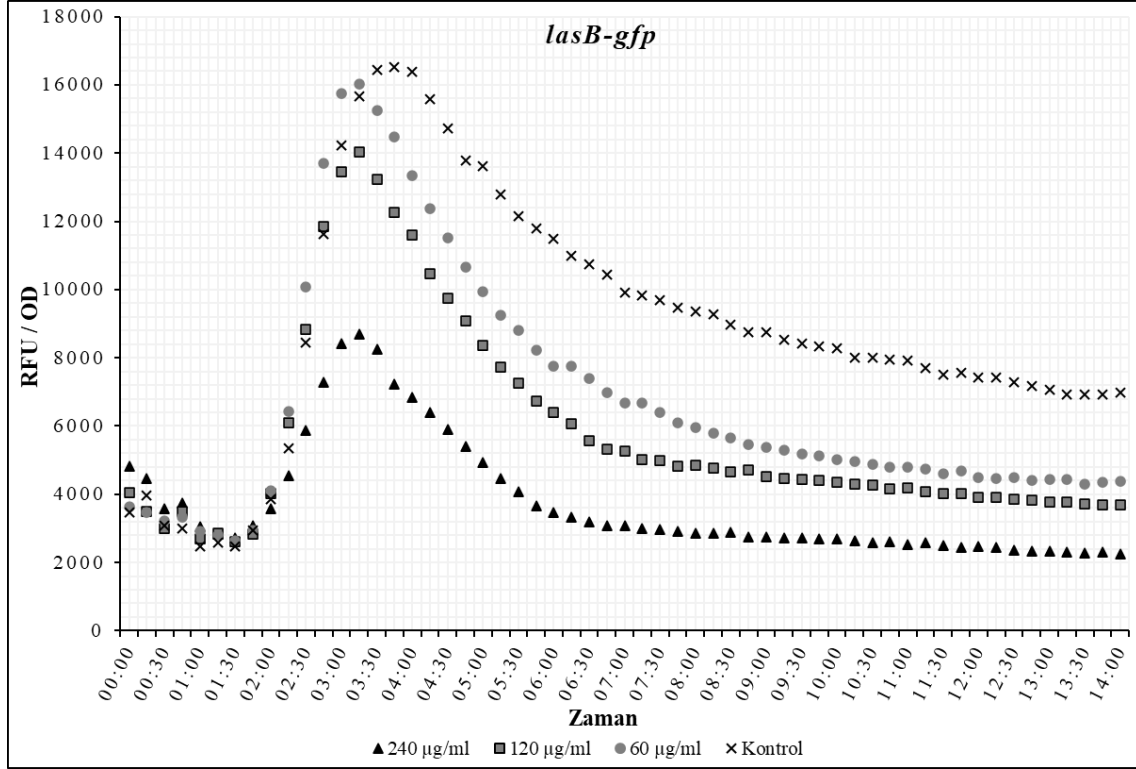
Elde edilen bulgulara göre, ELF60 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %47.30 (± 2.97), %28.59 (± 1.57) ve %25.83 (± 1.47) olarak saptanmıştır.

3.1.2.26. ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml’lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

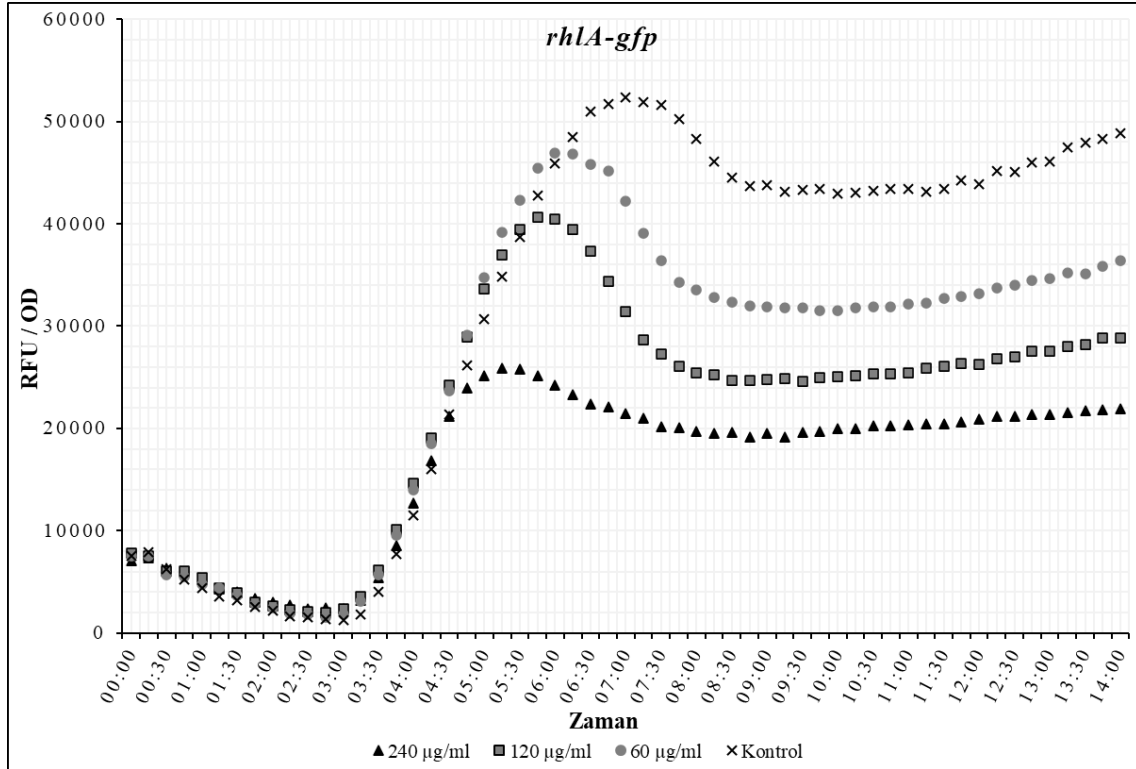


Şekil 3.190. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF69 etil asetat özütü eklenmemiştir.



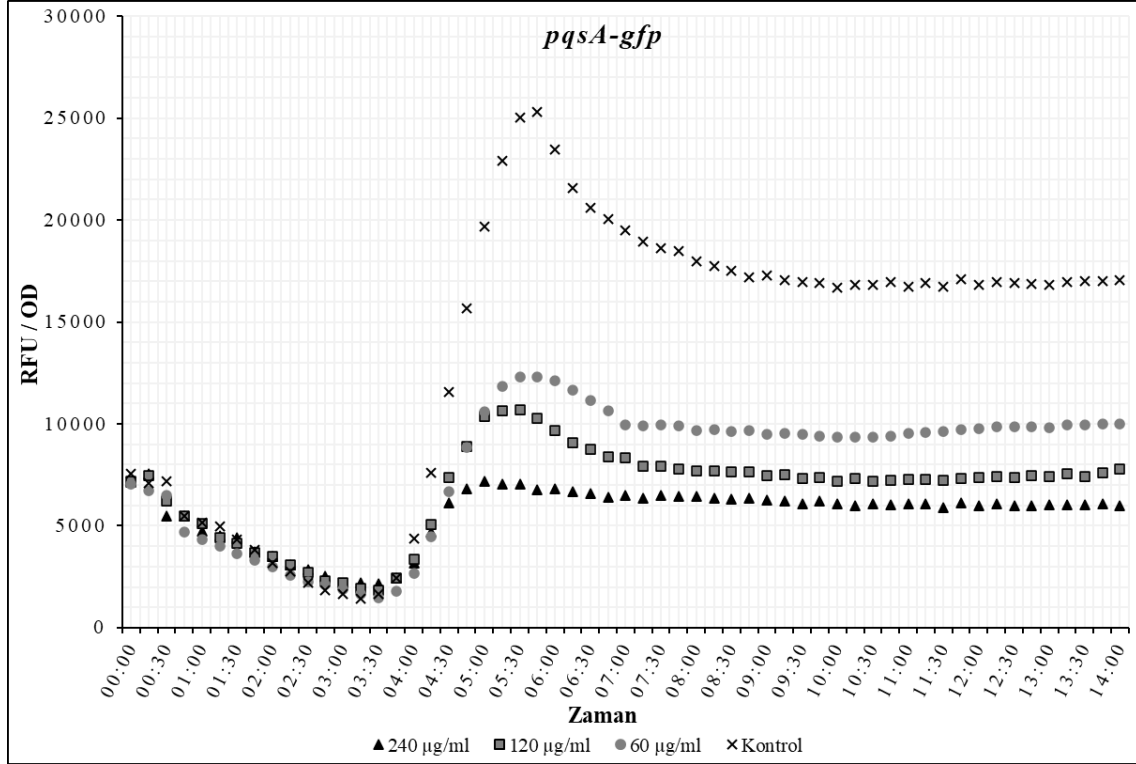
Şekil 3.191. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF69 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF69 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %67.72, %47.00 ve %37.08 olarak saptanmıştır.



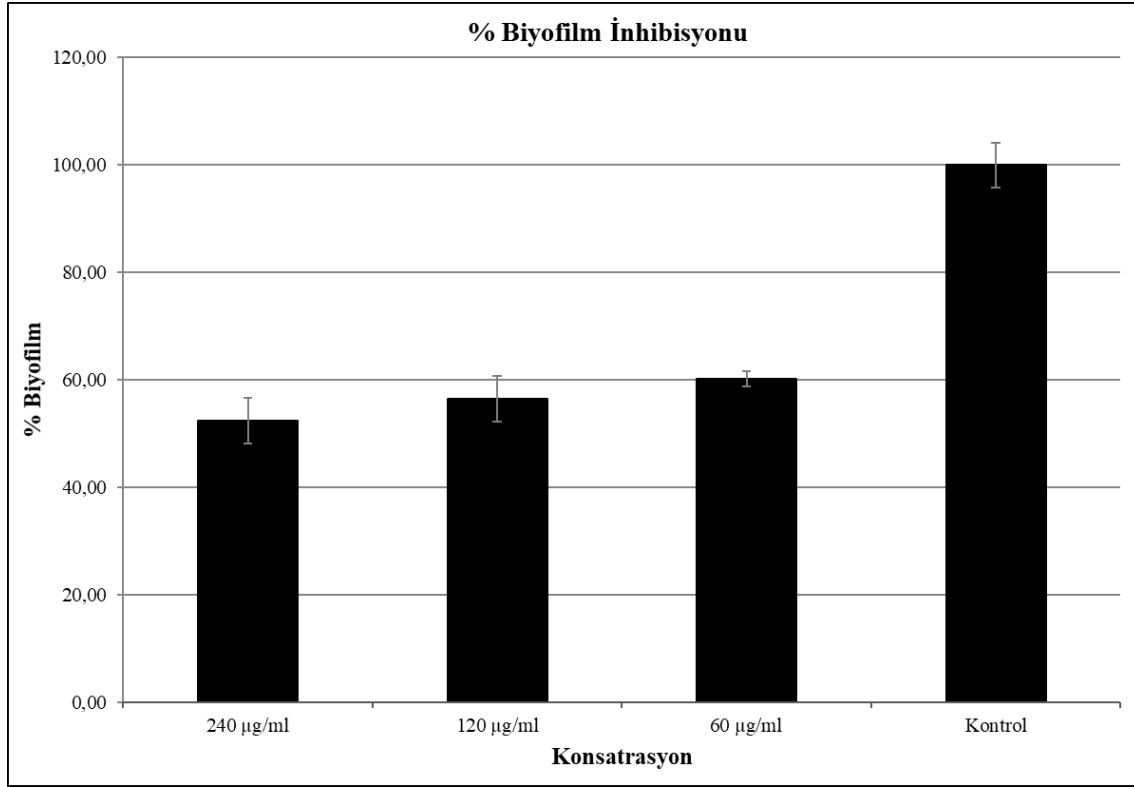
Şekil 3.192. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF69 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF69 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %55.11, %40.94 ve %25.46 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.193. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF69 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF69 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %64.88, %54.34 ve %41.49 olarak saptanmıştır.

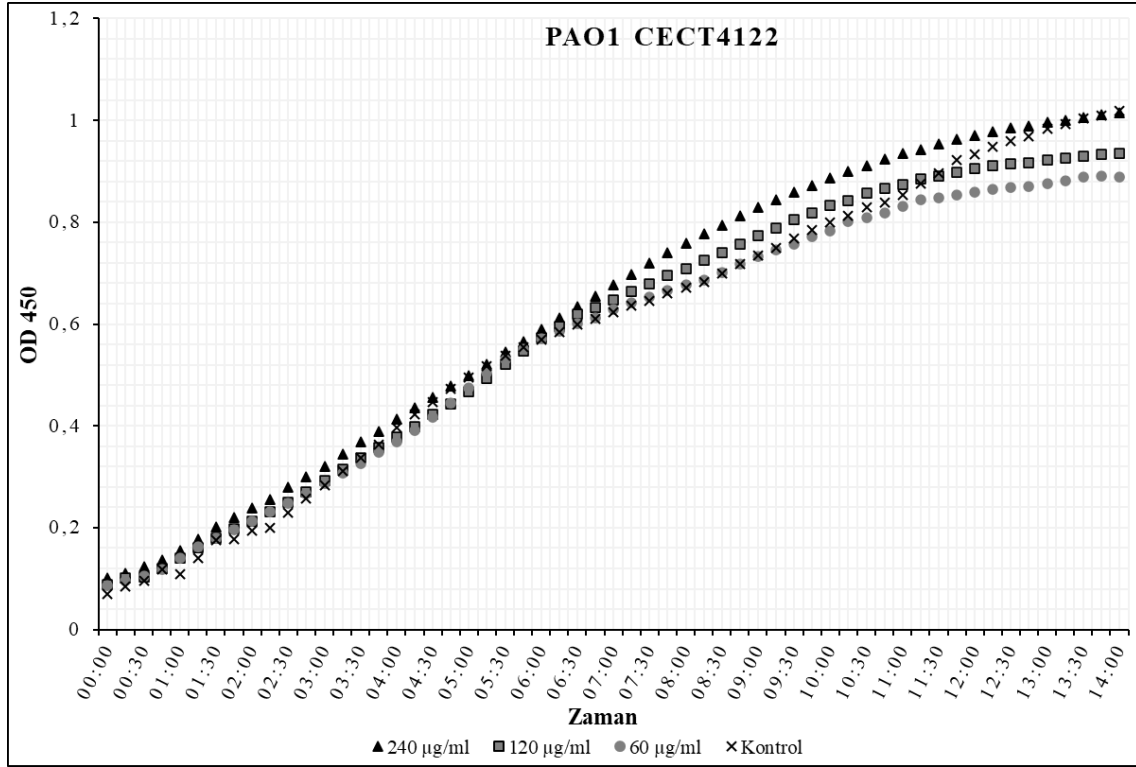


Şekil 3.194. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF69 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF69 etil asetat özütü eklenmemiştir.

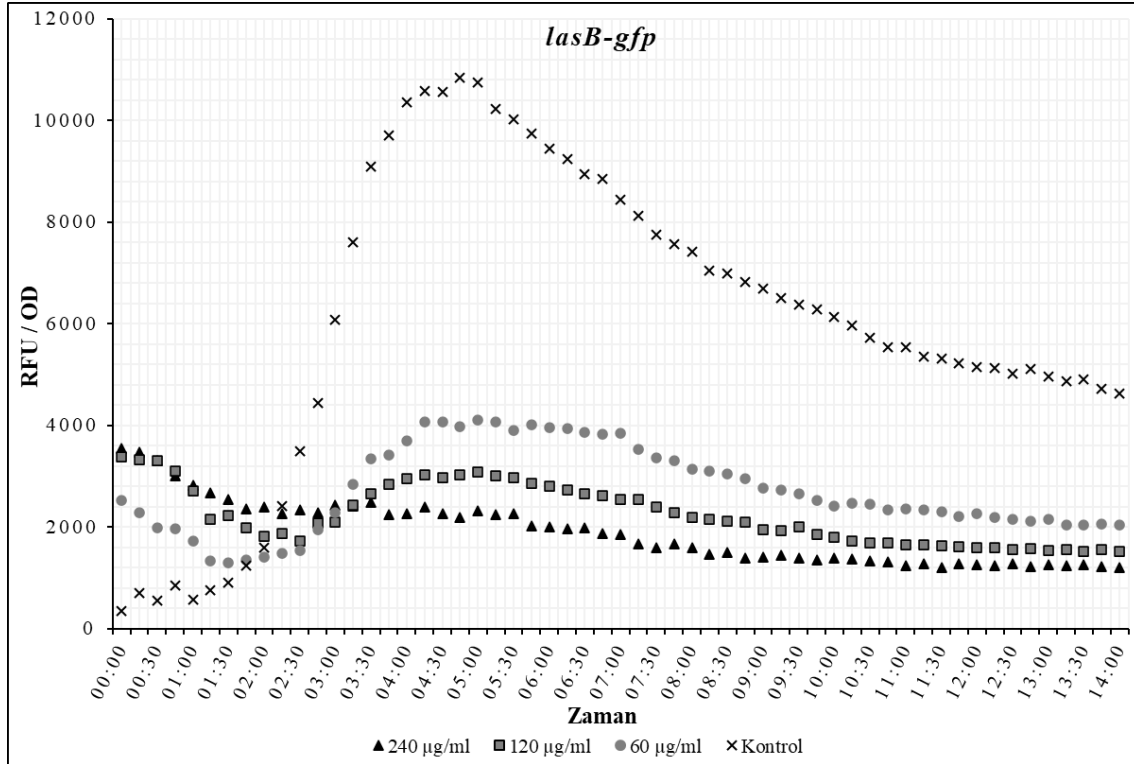
Elde edilen bulgulara göre, ELF69 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %47.55 (± 4.22), %43.49 (± 4.27) ve %39.83 (± 1.38) olarak saptanmıştır.

3.1.2.27. ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

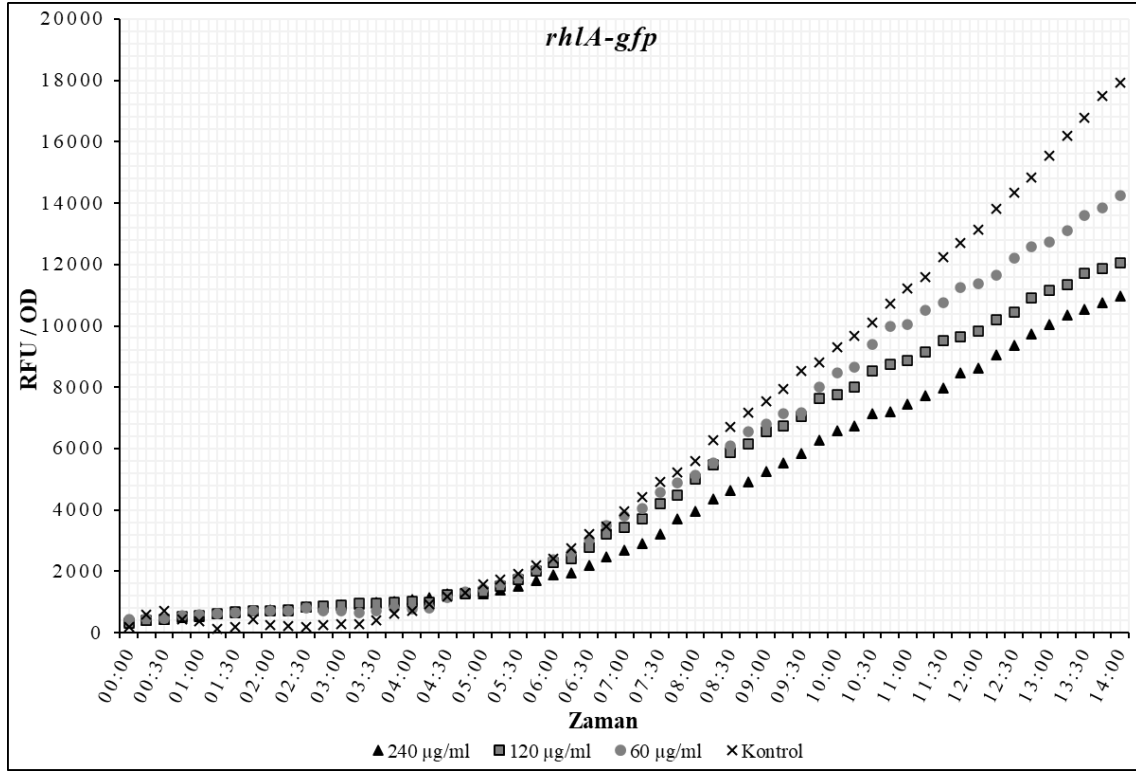


Şekil 3.195. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF102 etil asetat özütü eklenmemiştir.



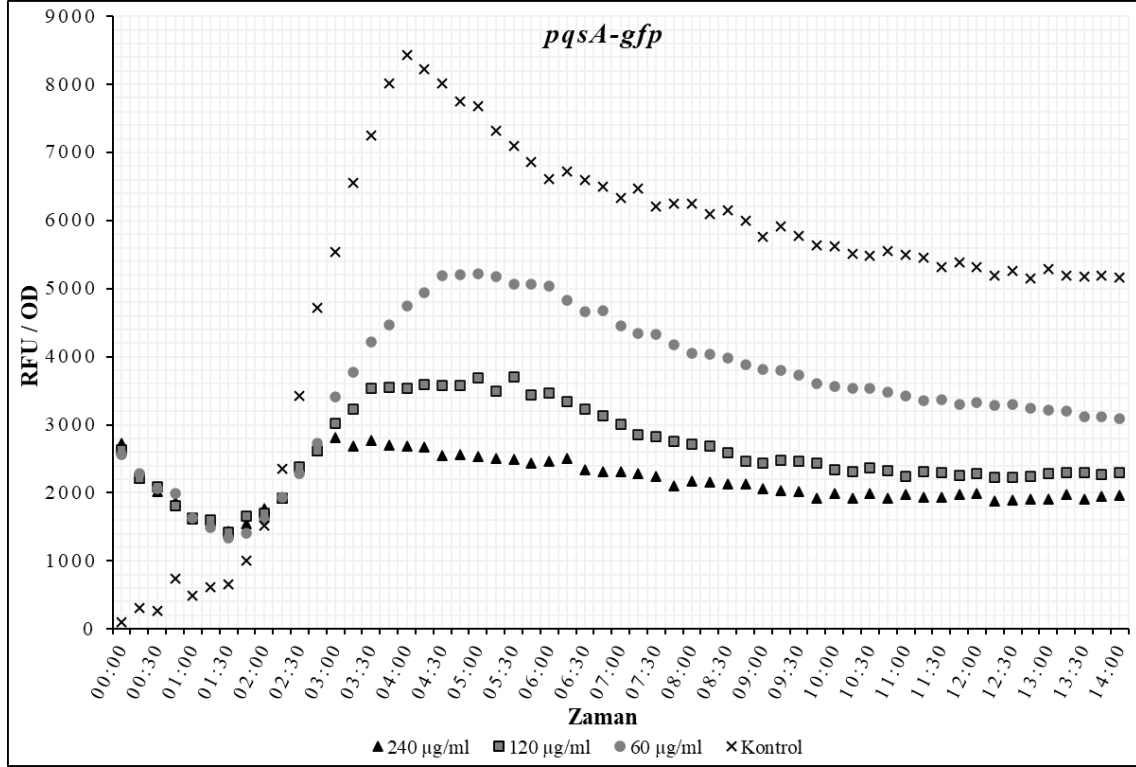
Şekil 3.196. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF102 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF102 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %73.83, %66.97 ve %55.78 olarak saptanmıştır.



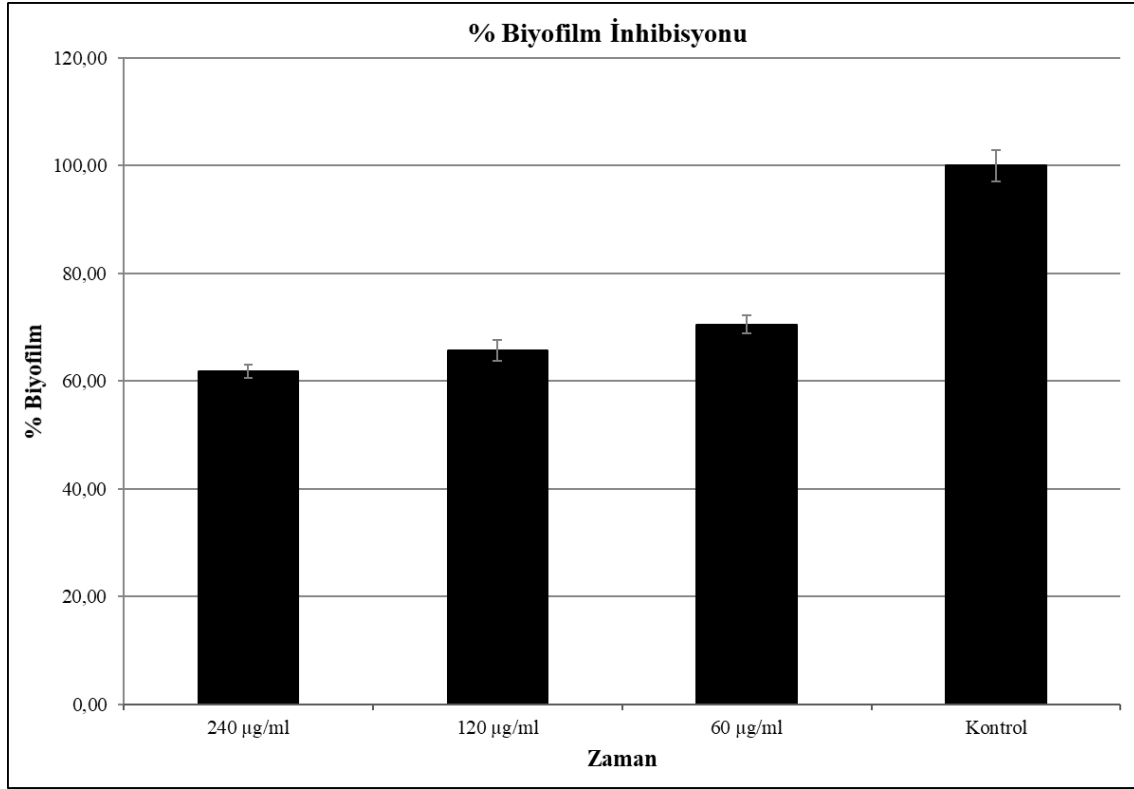
Şekil 3.197. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF102 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF102 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %38.79, %32.77 ve %20.42 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.198. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF102 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF102 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %61.95, %55.48 ve %40.14 olarak saptanmıştır.

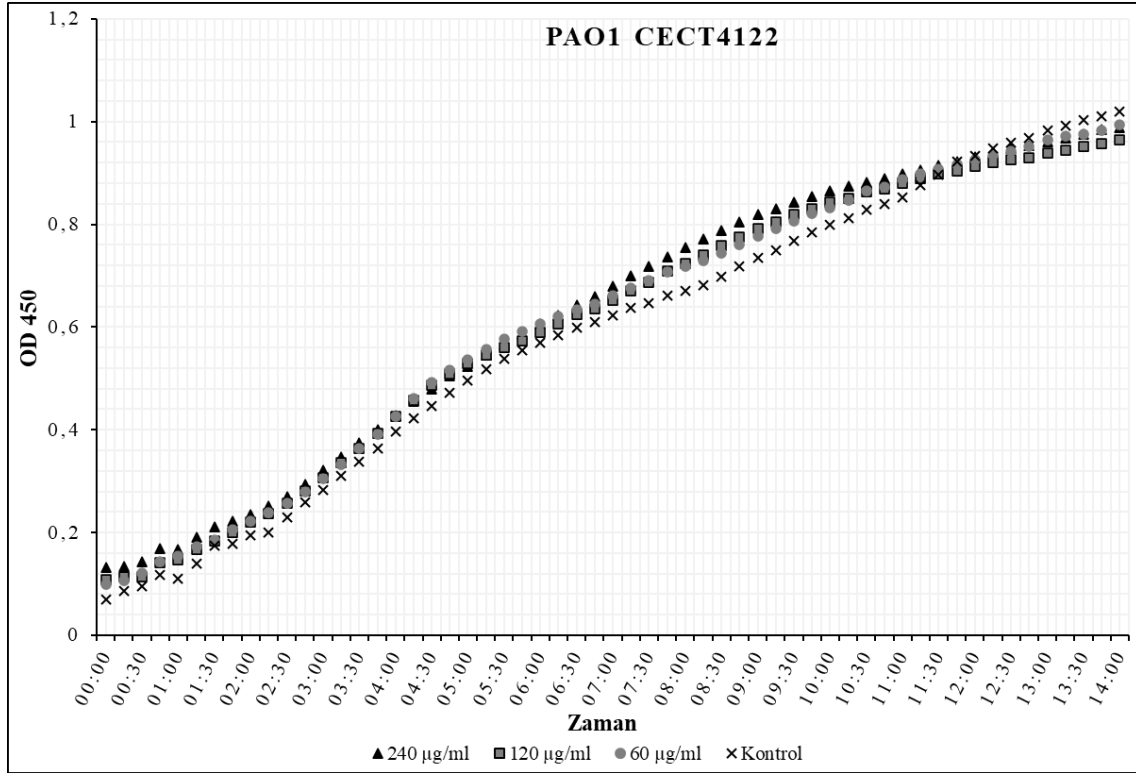


Şekil 3.199. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF102 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF102 etil asetat özütü eklenmemiştir.

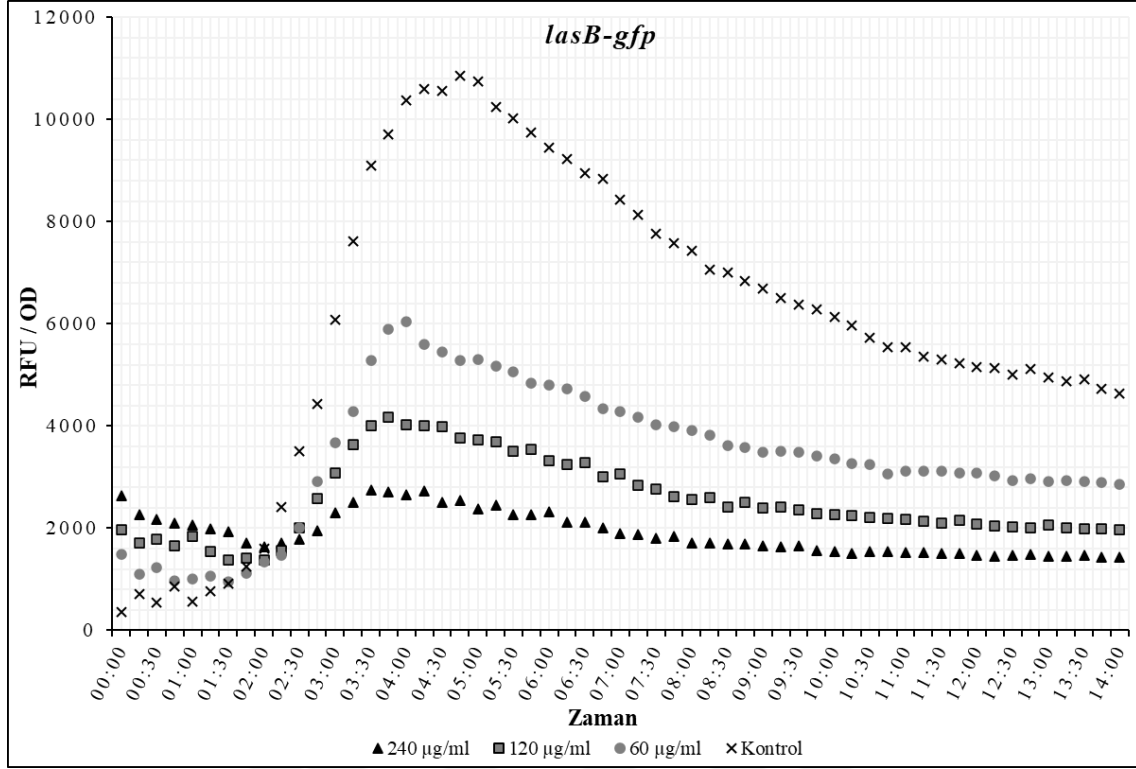
Elde edilen bulgulara göre, ELF102 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %28.21 (± 1.23), %34.27 (± 1.90) ve %29.45 (± 1.69) olarak saptanmıştır.

3.1.2.28. ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* suşlarının büyüme eğrileri, QS ve biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri

ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün 240, 120 ve 60 µg/ml'lik konsantrasyonları ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel ve anti-biyofilm etkinlik testleri ve *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları ile anti-QS etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. Özütün inhibisyon değerlerine ait grafikleri aşağıda belirtilmiş ve inhibisyon skorları saptanmıştır.

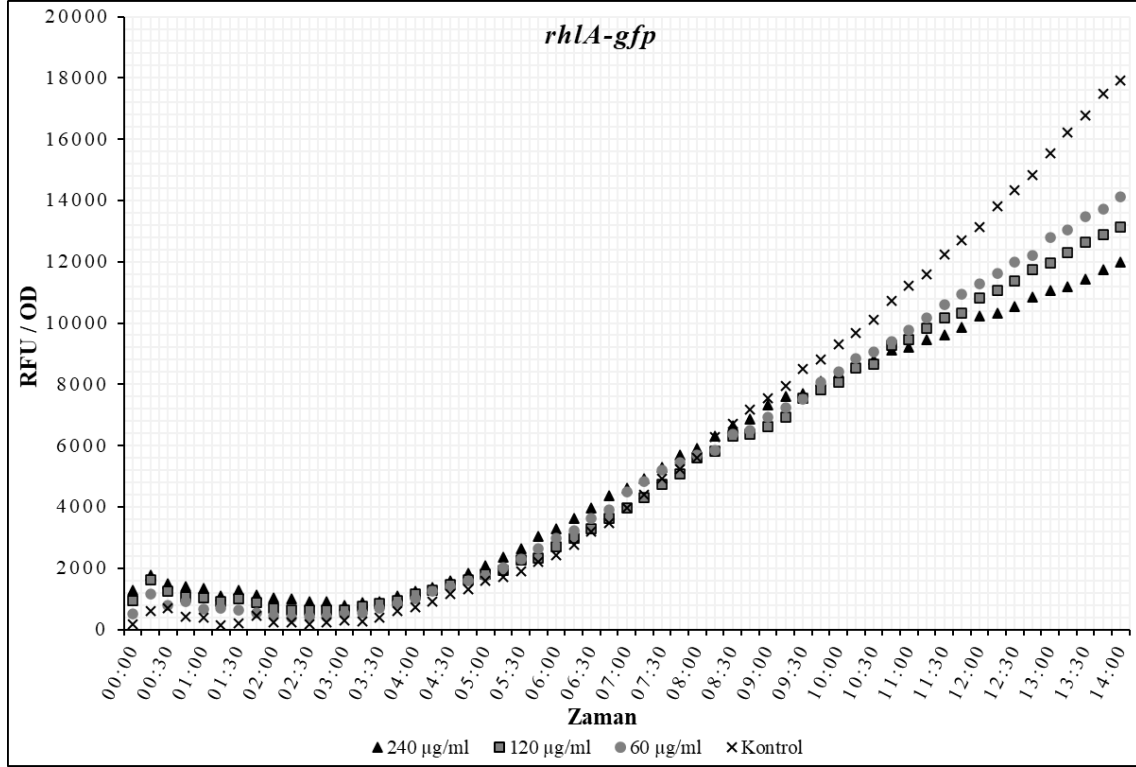


Şekil 3.200. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-bakteriyel etkinliğine ait zamana bağlı OD450 nm grafiği. Kontrol grubuna ELF103 etil asetat özütü eklenmemiştir.



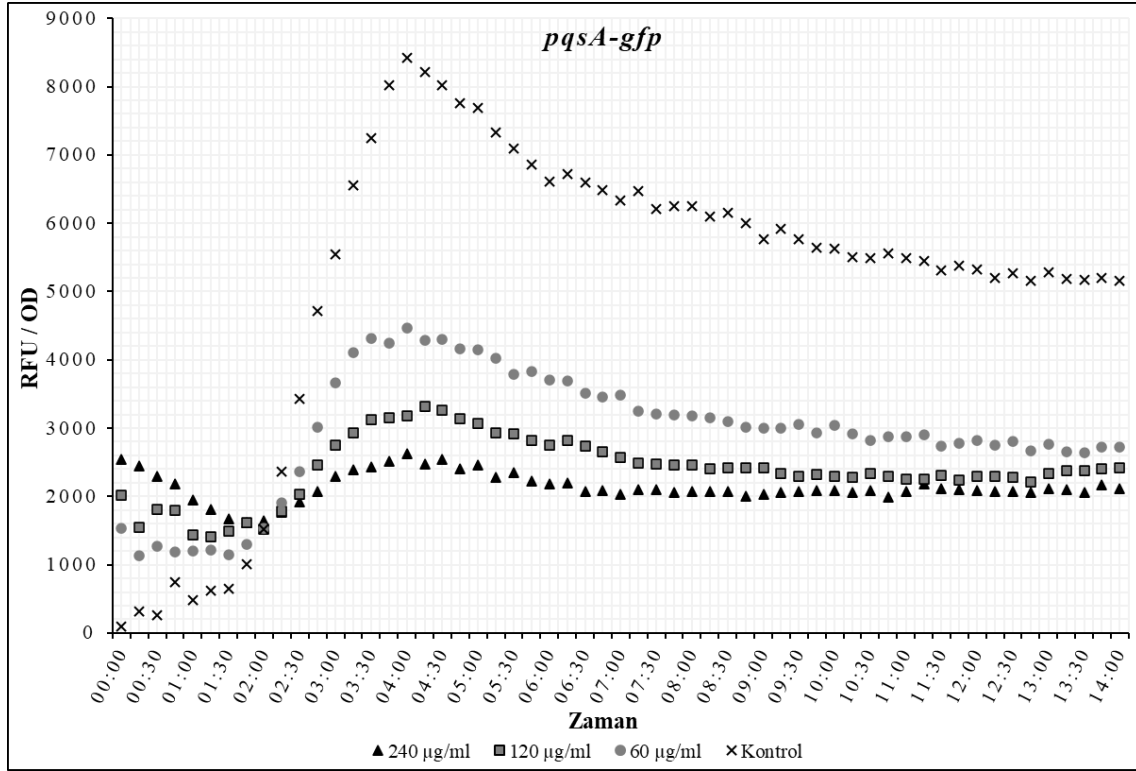
Şekil 3.201. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa lasB-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF103 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF103 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *lasB-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %69.05, %57.28 ve %38.20 olarak saptanmıştır.



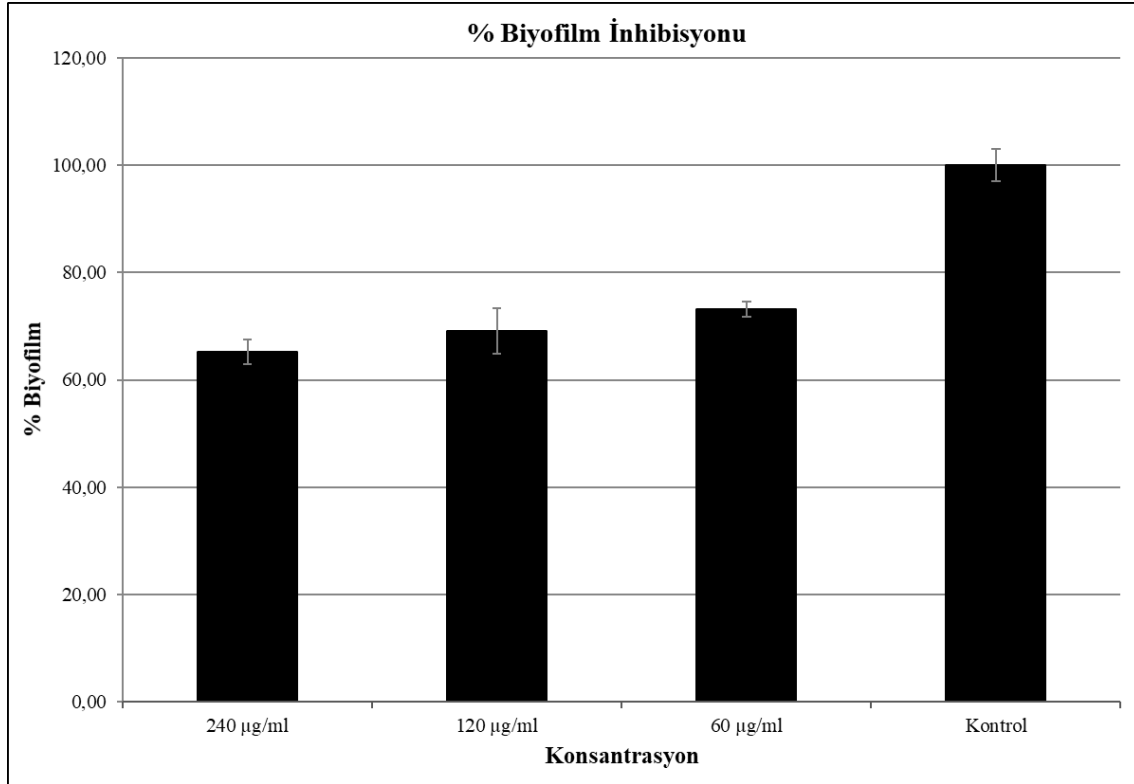
Şekil 3.202. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa rhlA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF103 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF103 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *rhlA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %33.12, %26.72 ve %21.23 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.203. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa pqsA-gfp* suşu üzerindeki anti-QS inhibisyonu etkinliğine ait RFU/OD grafiği. Kontrol grubuna ELF103 etil asetat özütü eklenmemiştir.

ELF103 kodlu endolikenik fungusun 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki etil asetat özütlerinin *pqsA-gfp* suşu üzerine QS inhibisyon skorları sırasıyla %59.06, %53.11 ve %47.38 olarak saptanmıştır.



Şekil 3.204. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki ELF103 kodlu endolikenik fungusun etil asetat özütünün *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerindeki anti-biyofilm (OD590 nm) inhibisyonu etkinliğine ait grafiği. Kontrol grubuna ELF103 etil asetat özütü eklenmemiştir.

Elde edilen bulgulara göre, ELF103 kodlu endolikenik fungus etil asetat özütünün uygulanan üç farklı dozunda *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşunun biyofilm formunu inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonlarındaki özütlerin biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla %34.83 (± 2.33), %30.91 (± 4.18) ve %26.85 (± 1.45) olarak saptanmıştır.

Liken ve endolikenik fungus özütlerinin *P. aeruginosa* QS sistemi ve biyofilm inhibisyonu skorları Tablo 3.7’de belirtilmektedir.

Tablo 3.7. Liken ve ELF özütlelerinin QS ve biyofilm inhibisyon skorları

	<i>lasB-gfp</i> RFU/OD % İnhibisyon			<i>rhlA-gfp</i> RFU/OD % İnhibisyon			<i>pqsA-gfp</i> RFU/OD % İnhibisyon			PAO1 CECT4122 OD590 % İnhibisyon		
<i>Peltigera sp.</i>	59.20 ⁴	48.08 ⁵	41.06 ⁶	48.33 ⁴	43.88 ⁵	38.33 ⁶	49.88 ⁴	43.08 ⁵	36.94 ⁶	15.30 ⁴	8.53 ⁵	7.38 ⁶
<i>Peltigera horizontalis</i>	72.16 ⁴	61.22 ⁵	50.58 ⁶	50.40 ⁴	30.76 ⁵	15.49 ⁶	68.25 ⁴	58.13 ⁵	50.47 ⁶	(±0.79)	(±1.60)	(±2.29)
<i>Peltigera praetextata</i>	54.19 ⁴	42.07 ⁵	34.90 ⁶	40.22 ⁴	35.31 ⁵	25.21 ⁶	45.33 ⁴	37.46 ⁵	32.17 ⁶	36.67 ⁴	28.70 ⁵	14.85 ⁶
ELF2	60.09 ¹	56.94 ²	49.11 ³	23.07 ¹	14.25 ²	6.58 ³	42.32 ¹	35.89 ²	24.93 ³	(±4.11)	(±4.11)	(±3.22)
ELF4	68.08 ¹	65.43 ²	59.43 ³	33.96 ¹	23.61 ²	14.78 ³	61.10 ¹	53.14 ²	49.28 ³	16.17 ⁴	13.58 ⁵	12.44 ⁶
ELF5	57.43 ¹	46.98 ²	36.44 ³	60.85 ¹	45.50 ²	34.53 ³	70.38 ¹	55.95 ²	45.29 ³	(±1.66)	(±2)	(±1.74)
ELF6	61.29 ¹	55.01 ²	35.89 ³	30.82 ¹	24.90 ²	14.30 ³	62.24 ¹	42.92 ²	36.86 ³	49.97 ¹	44.72 ²	40.08 ³
ELF7	77.09 ¹	64.18 ²	49.34 ³	47.94 ¹	31.62 ²	28.42 ³	72.81 ¹	60.55 ²	46.52 ³	(±1.58)	(±2)	(±3.68)
ELF10	66.95 ¹	51.38 ²	37.23 ³	59.10 ¹	39.81 ²	26.96 ³	71.01 ¹	59.15 ²	34.82 ³	50.42 ¹	33.38 ²	23.93 ³
ELF11	69.33 ¹	64.10 ²	50.13 ³	40.80 ¹	16.08 ²	7.64 ³	63.48 ¹	55.68 ²	48.20 ³	(±3.42)	(±3.82)	(±4.10)
ELF12	72.11 ¹	65.66 ²	49.75 ³	39.88 ¹	20.79 ²	5.95 ³	63.07 ¹	55.60 ²	43.75 ³	44.33 ¹	37.06 ²	21.82 ³
ELF21	70.15 ¹	66.97 ²	57.92 ³	31.61 ¹	12.36 ²	5.42 ³	60.92 ¹	57.71 ²	50.29 ³	(±1.85)	(±1.08)	(±1.13)
ELF22	77.87 ¹	68.83 ²	60.13 ³	46.19 ¹	22.94 ²	9.51 ³	67.84 ¹	63.68 ²	55.71 ³	44.71 ¹	28.63 ²	16.57 ³
ELF23	68.32 ¹	49.92 ²	36.07 ³	58.13 ¹	39.80 ²	24.48 ³	67.48 ¹	48.37 ²	38.20 ³	(±4.11)	(±4.04)	(±5.86)
ELF28	86.60 ¹	86.06 ²	80.83 ³	97.60 ¹	97.51 ²	96.47 ³	88.64 ¹	86.75 ²	82.75 ³	38.81 ¹	31.85 ²	1.16 ³
ELF33	52.20 ¹	33.52 ²	15.10 ³	47.85 ¹	28.30 ²	15.80 ³	58.48 ¹	43.13 ²	28.21 ³	(±5.17)	(±1.28)	(±1.64)
ELF37	48.11 ¹	40.57 ²	33.43 ³	43.80 ¹	31.83 ²	26.05 ³	43.91 ¹	39.06 ²	29.01 ³	47.84 ¹	27.28 ²	22.25 ³
ELF52	70.59 ¹	63.03 ²	54.19 ³	53.06 ¹	48.76 ²	43.97 ³	56.14 ¹	52.49 ²	48.12 ³	(±2.18)	(±2.64)	(±1.73)
ELF59	63.03 ¹	43.06 ²	27.86 ³	56.21 ¹	37.65 ²	21.62 ³	60.58 ¹	42.93 ²	29.65 ³	37.56 ¹	33.46 ²	21.23 ³
										(±1.09)	(±1.33)	(±2.52)
										35.08 ¹	32.98 ²	13.24 ³
										(±1.85)	(±4.20)	(±2.62)
										31.56 ¹	30.44 ²	23.07 ³
										(±3.36)	(±5.09)	(±0.92)
										37.36 ¹	33.46 ²	19.76 ³
										(±0.81)	(±1.33)	(±4.61)
										54.17 ¹	50.96 ²	44.68 ³
										(±3.03)	(±1.89)	(±2.35)
										64.45 ¹	58.52 ²	42.37 ³
										(±0.72)	(±2.59)	(±4.49)
										44.61 ¹	44.28 ²	39.69 ³
										(±3.33)	(±3.66)	(±4.32)
										30.95 ¹	30.53 ²	27.37 ³
										(±1.27)	(±2.85)	(±4.26)
										28.34 ¹	26.14 ²	23.67 ³
										(±2.25)	(±3.59)	(±4.15)
										50.34 ¹	44.09 ²	39.02 ³
										(±2.21)	(±0.42)	(±1.20)

ELF60	63.53 ¹	41.12 ²	31.55 ³	56.21 ¹	34.04 ²	21.14 ³	60.39 ¹	45.43 ²	34.25 ³	47.30 ¹	28.59 ²	25.83 ³
										(±2.97)	(±1.57)	(±1.47)
ELF69	60.09 ¹	56.94 ²	49.11 ³	23.07 ¹	14.25 ²	6.58 ³	42.32 ¹	35.89 ²	24.93 ³	49.97 ¹	44.72 ²	40.08 ³
										(±1.58)	(±2)	(±3.68)
ELF79	73.51 ¹	70.43 ²	64.74 ³	48.79 ¹	39.98 ²	36.17 ³	59.62 ¹	57.75 ²	57.44 ³	33.86 ¹	32.02 ²	20.63 ³
										(±2.54)	(±2.62)	(±1.57)
ELF84	75.68 ¹	52.85 ²	26.26 ³	46.77 ¹	38.76 ²	25.40 ³	64.52 ¹	49.37 ²	35.57 ³	39.76 ¹	38.74 ²	24.51 ³
										(±4.94)	(±4.21)	(±0.78)
ELF102	73.83 ¹	66.97 ²	55.78 ³	38.79 ¹	32.77 ²	20.42 ³	61.95 ¹	55.48 ²	40.14 ³	38.21 ¹	34.27 ²	29.45 ³
										(±1.23)	(±1.90)	(±1.69)
ELF103	69.05 ¹	57.28 ²	38.20 ³	33.12 ¹	26.72 ²	21.23 ³	59.06 ¹	53.11 ²	47.38 ³	34.83 ¹	30.91 ²	26.85 ³
										(±2.33)	(±4.18)	(±1.45)
ELF104	48.39 ¹	27.29 ²	22.88 ³	24.57 ¹	21.19 ²	5.62 ³	56.05 ¹	41.58 ²	31.09 ³	22.84 ¹	19.87 ²	11.74 ³
										(±3.70)	(±4.49)	(±3.90)

¹240 µg/ml - ²120 µg/ml - ³60 µg/ml - ⁴120 µg/ml - ⁵60 µg/ml - ⁶30 µg/ml

3.2. Tartışma

Antibiyotiklere direnç gösteren fırsatçı bakterilerin giderek yaygınlaşması sonucunda tüm dünyada kronik enfeksiyon vakalarının sayısı artmakta ve halk sağlığı ciddi sorunlarla karşılaşmaktadır (Neufeld ve ark., 2017). Bakterilerde antibiyotik direnci son yıllarda giderek artan küresel bir sağlık sorunudur ve Avrupa birliği ülkelerinde her yıl ilaçlara dirençli patojenler nedeniyle en az 25.000 kişinin vefat ettiği bildirilmektedir (van Belkum ve ark., 2019). Diğer birçok patojenik bakterilerde olduğu gibi, *P. aeruginosa*'nın virülansı ve patojenitesi, biyofilm oluşumu, bakteri ilaç direnci ve diğer virülans faktörleri QS mekanizması ile yakından ilişkilidir ve bu mekanizma *P. aeruginosa*'nın enfeksiyon oluşumu ve ilaç direnci için çok önemlidir (Pustelny ve ark., 2013; Lee ve ark., 2018). Bakterilerin kimyasal sinyal molekülleri vasıtasıyla gerçekleştirdikleri QS mekanizmasının bloke edilmesiyle biyofilm formu oluşumunun ve antibiyotik direncinin de önüne geçilebileceği düşünülmektedir (Brackman ve ark., 2015; Pérez-Pérez ve ark., 2017).

3.2.1. Liken ve ELF:

Literatürde yer alan çalışmalar içerisinde bitki, mantar, liken vb. doğal kökenli materyallerin elde edilen özütlerinin ve içerdikleri bazı metabolitlerinin bakterilerin QS sistemini inhibe ettikleri bildirilmektedir (Koh ve ark., 2013; Ahmed ve ark., 2019; Gökalsın ve ark., 2019). Özellikle likenlerin metabolizma ürünü olarak ürettikleri özgün sekonder metabolitler ve bu metabolitlerin anti-mikrobiyal (Pathak ve ark., 2015; Gunasekaran ve ark., 2016; Shrestha ve ark., 2016; Savale ve ark., 2016; Oran ve ark., 2016; Xu ve ark., 2016), anti-QS (Gökalsın ve ark., 2019), anti-biyofilm (Nithyanand ve ark., 2015a; Nithyanand ve ark., 2015b), anti-oksidan (Emsen ve ark., 2016; Xu ve ark., 2016), anti-tümöral (Özenoğlu ve ark., 2013; Schinkovitz ve ark., 2014; Yang ve ark., 2015; Studzińska-Sroka ve ark., 2016;), anti-viral (Guo ve ark., 2008), bitki büyüme inhibitörü (Beckett ve ark., 2013; Kalinowska ve ark., 2015), anti-herbivor (Emsen ve ark., 2012), enzim inhibitörü (Jain ve ark., 2016; Saeed ve ark., 2016), nöroprotektif (Fernandez-Moriano ve ark., 2015) gibi birden çok çeşitli etkinlikleri literatürde bildirilmektedir. Likenlerin ekolojik indikatör olarak kullanılabileceği literatürdeki çeşitli kaynaklarda yer almaktadır (Beckett ve ark., 2013; Shukla ve ark., 2016). Literatürde yer alan çalışmalarda HPLC, UV, NMR, FTIR ve benzeri çeşitli kimyasal testler kullanılarak biyolojik aktiviteye sahip likenlerin içerdikleri sekonder metabolitler belirlenmiştir (Oettl

ve ark., 2014; Latkowska ve ark., 2015; Le Pogam ve ark., 2015; Li ve ark., 2015; Komaty ve ark., 2016). Liken sekonder metabolitlerin *in vitro* ve *in vivo* toksik etkileri çeşitli kaynaklarda bildirilmektedir (Plsíková ve ark., 2014; Polat ve ark., 2016).

Likenler yapı olarak mantarlar (mikobiyont), mavi-yeşil algler (fotobiyont) ve bakteriler içeren kompozit organizmalardır. Özellikle likenlerin talluslarında mikobiyont yapısıyla birlikte mikrofunguslar bulunmaktadır. Bu mikrofunguslara “Endolikenik Funguslar” (ELF) denilmektedir. Son yıllarda ELF örnekleri benzersiz ilaç molekülleri uygulaması kabiliyetleriyle umut verici yeni doğal kaynaklar olarak öne çıkmaktadır (Suryanarayanan ve ark., 2017; Bajpai ve ark., 2020). ELF’lerin etkili molekülleri ilk olarak Paranagama ve ark.’ları tarafından 2007 yılında saptanmıştır (Paranagama ve ark., 2007). ELF’ler; anti-kanser, anti-oksidan, anti-viral, anti-bakteriyel, anti-Alzheimer, iltihap önleyici, anti-hepatotoksik, anti-genotoksik, anti-mutajenik dahil olmak üzere çok geniş farmakolojik özelliklere sahip birçok sekonder metabolit içermekte ve üretmektedirler (Kellogg ve ark., 2017). ELF örneklerinin içerdikleri eşsiz ve güçlü kimyasallar, son yıllarda özellikle biyomedikal ilaçlar alanındaki araştırmacıların dikkatlerini ve keşiflerini çekmektedir (Singh ve ark., 2017). Ek olarak liken ve endolikenik fungusların elde edilen özütlerinin ve sekonder metabolitlerinin potansiyel QSI özellikleri de son zamanlarda çalışılmaya başlanmıştır.

Çalışmamızda literatürce etkinlikleri öne çıkan liken türleri içerisinde çalışmada kullanılacak olan liken türü *in siliko* taramalar sonucunda saptanmış ve saptanan bu liken türünden izole ELF örneklerinin potansiyel QSI etkinlikleri test edilmiştir.

3.2.2. *In siliko* Süreçler:

İlaç keşif sürecinde, terapötik hedeflerle potansiyel etkileşimleri olabilecek yeni nesil ilaçların geliştirilmesi yüksek öneme sahiptir (Cheng ve ark., 2012). Moleküler kenetlenme, moleküler etkileşimlerin *in siliko* sanal simülasyonu tekniğidir (Prada-Gracia ve ark., 2016). Bir hedef aktif bölge içerişindeki ligandların yüksek doğrulukla yapılarını ve bağlanmalarını gerçekleştirir ve yapı bazlı ilaç tasarımı olarak nitelendirilir (Kitchen ve ark., 2004; Meng ve ark., 2011). İlaç endüstrisinde geleneksel yöntemlere göre daha hızlı ve düşük maliyetli keşiflere olanak sağlamaktadır (Batool ve ark., 2019). Yapı bazlı ilaç tasarımı, geleneksel yöntemle göre daha hızlı ve daha düşük maliyetli olduğu için ilaç keşfinde önemli bir araç haline gelmiştir. Genomik, proteomik ve yapısal çalışmalar, gelecekteki ilaç keşfi için yüzlerce yeni hedef ve fırsat sağlamıştır (Batool ve

ark., 2019).

Tez çalışmamızda literatürce çeşitli etkinlikleri bildirilen liken türlerinin sekonder metabolitleri taranarak 637 molekülük liken sekonder metabolit kütüphanesi oluşturularak, MetaCore / MetaDrug programıyla terapötik ve toksisite etkileri incelenmiştir. Analizler sonucunda 637 liken sekonder metaboliti içeren kütüphanemizin 458 liken molekülünün toksik özellik gösterme eğilimlerinin yüksek olduğu MetaCore / MetaDrug programı kullanılarak saptanmış olup, moleküler kenetlenme simülasyonları işlemlerinde 179 sekonder metabolit test edilmiştir. 179 liken sekonder metabolit, kontrol grubu olarak penisillik asit gibi bilinen inhibitör bir molekül kullanılarak moleküler kenetlenme yoluyla *P. aeruginosa* QS sinyal mekanizmasındaki ilgili proteinlerle eşleştirilmiştir. *Peltigera* cinsi likenlere ait 24 adet sekonder metabolit saptanarak *P. aeruginosa* QS sisteminde görevli LasI/LasR, RhlR ve PqsR reseptör proteinlerinin moleküler kenetlenme simülasyonları gerçekleştirilerek en başarılı bağlanma enerjisine sahip 10 metabolit belirlenmiştir.

Rasmussen ve Givskov'un (2006) yaptığı bir çalışmada, *P. aeruginosa* QS mekanizması inhibitörü olarak literatürde bildirilen doğal kökenli molekül olan penisillik asitin, QS regüle edilmiş genleri %60 oranında inhibe ettiği ve bu biyosensör bakterisi suşlarının *gfp* üretimini büyük ölçüde inhibe edebildiğini literatürde bildirmektedirler. Araştırmacılar, *Penicillium* cinsi küflerden izole ettikleri penisillik asitle gerçekleştirdikleri çalışmada *lasB-gfp* biyosensör suşunun 80 µM konsantrasyon dozda QS mekanizmasını neredeyse tamamen inhibe ettiklerini gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda izole edilen ELF28 kodlu örneğinde moleküler tür tayini sonucu *Penicillium* sp. olarak saptanmış ve yüksek QSI ve anti-biyofilm aktivite gözlemlenmiştir. Buradan yola çıkarak çalışmamızda kullanılan materyallerin literatürde yer alan kaynaklarla olumlu yönde tutarlılığının var olduğu kanısına varılmaktadır.

Gökalsın'ın tez çalışmasında (2015), *P. aeruginosa* üzerine QS inhibisyon etkinliği literatürce bilinen penisillik asit molekülünün 96 µM konsantrasyon dozundaki QSI özelliğini *lasB-gfp* ve *rhlA-gfp* floresan biyosensör suşları ile incelemiş ve 96 µM konsantrasyon dozlarında her iki suşta da neredeyse tamamen inhibisyon gözlemlemiştir (Gökalsın, 2015). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda *in vitro* QSI etkinliği çeşitli çalışmalar ile bildirilen penisillik asit molekülünü *in silico* hesaplamalarda pozitif kontrol olarak uygulamalara dahil edilmiştir.

Penisillik asitin moleküler kenetlenme simülasyonları sonucunda Ahumedo ve ark.'ları (2014) ve Capilato ve ark.'ları (2017) LasR antagonizmi için bildirdikleri aminoasit etkileşimlerinden TRP60, TYR64, ASP73 ve TRP88'i işaret etmişlerdir.

Tez çalışmamızda gerçekleştirilen penisillik asit molekülü ile *P. aeruginosa* QS sisteminde görevli LasI/LasR, RhlR ve PqsR reseptör proteinlerinin moleküler kenetlenme simülasyonları sonucunda 3IX3 - penisillik asit kompleksinde penisillik asit; TRP60 ile hidrojen bağı ile, 1RO5 - penisillik asit kompleksinde penisillik asit; ARG30 ile tuz köprüsü ve ILE107 ile hidrojen bağı ile ve 4JVI - penisillik asit kompleksinde penisillik asit; ILE236, GLN194 ve LEU197 ile hidrojen bağı kurmuştur. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda kullanılan penisillik asit molekülü de TRP60 rezidüleri ile etkileşim kurduğu gözlemlenmiştir.

Mukherjee ve ark.'larının (2017) yaptığı bir çalışmada, RhlR reseptör proteininin gen ekspresyonunu hem C4-HSL ile ilişkili hem de C4-HSL'den alakasız bir biçimde kontrol ettiğini gözlemlemişlerdir. RhlR reseptörü tarafından C4-HSL'den bağımsız regülasyonun büyük ölçüde biyofilm yapısıyla ilgili olduğunu belirtmişlerdir. RhlR proteininin RhlI yokluğunda çalışabileceği bir mekanizma, RhlR'nin bağılı ligand olmadan hedef genlerin transkripsiyonunu aktive edebileceğini, ek olarak bu yeteneğe sahip LuxR tipi regülatörler mevcut olduğunu literatüre açıklamışlardır. RhlR'nin bir ligand yokluğunda işlev görmesi olasılığı haricinde RhlR hakkında literatürce bilinenlerle daha tutarlı olan daha farklı bir olasılığın ise RhlR'nin transkripsiyon faktörü olarak işlev görmesini sağlayan alternatif bir ligandın varlığını ön görmüşlerdir. Bu bilgiler ışığında, *Peltigera* cinsi likenlere ait sekonder metabolitlerin genel olarak RhlR reseptör proteiniyle moleküler kenetlenme simülasyonları skorlarının beklenen ölçüde yüksek olmaması, ancak özellikle *P. horizontalis* özütlerinin *rhlA-gfp* biyosensör ve PAO1 CECT122 suşlarında etkili inhibisyon skorları elde etmeleri C4-HSL'den bağımsız bir mekanizmanın kullanmasıyla açıklanabilmektedir.

Elde edilen veriler ışığında *Peltigera* cinsi liken türleri Artvin-Borçka ve Bursa-Kestel bölgelerinden toplanarak morfolojik tür tayinleri gerçekleştirilmiş ve talluslarından ELF'ler izole edilerek moleküler tür tayinleri gerçekleştirilerek çeşitli özütleri, potansiyel yeni QSI olarak incelenmiştir. Bu çalışmada, *in siliko* süreçlerle metabolitlerinin etkinlikleri saptanan *Peltigera* sp., *P. horizontalis* ve *P. praetextata* liken türlerinin ve bu türlerden izole edilen ELF türlerinin *P. aeruginosa* bakteri suşları

üzerinde anti-bakteriyel, anti-QS ve anti-biyofilm etkinlikleri test edilerek QSI kaynağı olarak kullanım potansiyelleri araştırılmıştır.

3.2.3. Tür Tayinleri Süreçleri:

Bu tez çalışmasında *Peltigera* cinsi liken türleri Artvin-Borçka ve Bursa-Kestel bölgelerinden toplanarak morfolojik tür tayinleri gerçekleştirilmiş ve bu likenlerin tallus yapılarında yüzey sterilizasyon metodu ile izole edilen 23 adet ELF örnekleri sırasıyla; PD agar, ME agar, SD agar, RBC agar ve CZ agar besiyerlerinde saf kültürleri elde edilerek morfolojik tür tayinleri gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışmasında *Peltigera sp.*, *P. horizontalis* ve *P. praetextata* likenlerinden izole edilen toplam 23 adet ELF örneklerinin ITS1F ve ITS2 primerleriyle çoğaltılan gen bölgelerinin moleküler dizilerine BLAST işlemi uygulanmış, BioEdit, ClustalW, ClustalX 2.0 ve MEGA7 programları ile çoklu dizi hizalaması (Multiple Alignment) gerçekleştirilerek filogenetik ağaçlar, dendogramlar yardımıyla oluşturulmuştur (Thompson ve ark., 1994; Hall, 1999; Kumar ve ark., 2016).

Maduranga ve ark.'larının (2018) gerçekleştirdiği bir çalışmada, Sri Lanka bölgesinin farklı lokalitelerinden 32 farklı liken türü toplanarak her bir likenin talluslarından yüzey sterilizasyon metoduyla (Paranagama ve ark., 2007) ELF izolasyonları gerçekleştirilmiş ve toplamda 32 liken türünden 171 adet saf ELF kültürü elde ederek literatüre bildirmişlerdir. ELF'lerin genomik DNA'ları izole edilerek funguslar için spesifik gen bölgesi olan ITS1 ve ITS4 evrensel primerleri kullanılarak PZR işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler BioEdit programında işlenerek BLAST işlemine tabii tutulmuştur (Hall, 1999; Attanayake ve ark., 2009) ve *Aspergillus*, *Byssosclamyces*, *Cerrena*, *Daldinia*, *Diaporthe*, *Endomelanconiopsis*, *Hypoxylon*, *Lasiodiplodia*, *Neurospora*, *Nigrospora*, *Phomopsis*, *Preussia*, *Rigidoporus*, *Schizophyllum*, *Sordaria*, *Sordariomycetes*, *Talaromyces*, *Trichoderma*, *Xylaria* ve *Xylariaceae* türlerinde ELF örneklerini literatüre bildirmişlerdir Maduranga ve ark., 2018). Buradan da görüldüğü üzere literatürde çok sayıda ELF türü için moleküler barkodlamanın gerçekleştirilebileceği fungus türleri yer almaktadır.

Hawksworth ve Miadlikowska'nın (1997) gerçekleştirdiği bir çalışmada, *Peltigera* cinsi likenlerin tallus yapılarının çeşitli likenikol mantarlar ve ELF'ler için zengin bir ortama sahip olduklarını bildirmektedir. Araştırmacıların Polonya bölgesinden topladıkları çeşitli 5 adet *Peltigera* cinsi liken türlerinin talluslarından izole ettikleri

likenikol mantar veya ELF olduğu düşünölen 82 adet örneğin genomik DNA'larını izole ederek ITS 18S rDNA gen bölgeleri ile PZR işlemleri gerçekleştirilmiş moleküler tanımlamalarını gerçekleştirmişlerdir. Bu örnekler sırasıyla; *Acanthonitschkea peltigericola*, *Arthonia fuscopurpurea*, *Arthonia peltigerea*, *Arthonia peltigerina*, *Arthonia pelveti*, *Bacidia killiasii*, *Barya lichenophila*, *Capronia peltigerae*, *Cercidospora lichenicola*, *Corticifraga fuckelii*, *Corticifraga peltigerae*, *Dacampia engeliana*, *Dacampia rufescentis*, *Dinemasporium strigosum*, *Diplodina peltigerae*, *Fayodia arctica*, *Fayodia leucophylla*, *Fayodia xerophila*, *Fusarium peltigerae*, *Graphium aphthosae*, *Hawksworthiana peltigericola*, *Hemigrapha astericus*, *Hobsonia santessonii*, *Hystrix peltigericola*, *Illosporium carneum*, *Karsteniomyces peltigerae*, *Karsteniomyces tuberculosus*, *Lasiosphaeriopsis salisburyi*, *Leptosphaeria clarkii*, *Leptosphaerulina peltigerae*, *Libertiella curvispora*, *Libertiella didymospora*, *Libertiella fennica*, *Libertiella malmedyensis*, *Lichenopeltella peltigericola*, *Lichenopeltella santessonii*, *Nanostictis peltigerae*, *Nectria lecanodes*, *Neolamya peltigerae*, *Norrinia peltigericola*, *Omphalina cupulatoidea*, *Orbilina peltigerae*, *Paranectria superba*, *Pezizella epithallina*, *Phaeospora peltigericola*, *Phoma epiparmelia*, *Phoma peltigerae*, *Phyllactina guttata*, *Polyblastia gelatinosa*, *Polycoccum crassum*, *Polycoccum peltigerae*, *Polycoccum superficiale*, *Polydesmia lichenis*, *Pronectria erythrinella*, *Pronectria ornamentata*, *Pronectria robergei*, *Pronectria tenuispora*, *Protothelenella crocea*, *Protothelenella sphinctrinoides*, *Pyrenidium actinellum*, *Refractohilum peltigerae*, *Rhagadostoma lichenicola*, *Rinodina egedeana*, *Rinodina olivaceobrunnea*, *Rinodina turfacea*, *Sarcosagium campestre*, *Scutula aggregata*, *Scutula miliaris*, *Skyttella mulleri*, *Steinia geophana*, *Stigmidium peltideae*, *Stigmidium pseudopeltideae*, *Thelocarpon epibolum*, *Trichoconis lichenicola*, *Trichosphaeria lichenum*, *Vagnia cirriformia*, *Vezdaea aestivalis*, *Vezdaea retigera*, *Wentomyces peltigericola*, *Zwackhiomyces kiskianus*, *Zwackhiomyces peltigerae* ve *Zwackhiomyces sphinctrinoides* türleridir. Buradan da göröldüğü üzere literatürde çok sayıda Peltigera cinsi likenlerin içerdığı likenikol mantarların ve ELF türlerinin varlığı ve bu türler için moleküler barkodlamanın gerçekleştirilebileceğı bilgisi yer almaktadır.

Girlanda ve ark.'larının (1997) yaptığı bir çalışmada, İtalya'nın Aosta vadisi bölgesinden topladıkları *Peltigera praetextata* likeninin talluslarından sırasıyla *Alternaria alternata*, *Alternaria* sp., *Cylindrocarpon gracile*, *Cylindrocarpon*

heteronema, *Epicoccum purpurascens*, *Fusarium solani*, *Fusarium sp.*, *Geomyces pannorum*, *Mucor hiemalis*, *Penicillium griseofulvum*, *Penicillium melinii*, *Penicillium purpurogenum*, *Phoma putaminum*, *Phoma sp.*, *Tolypocladium geodes*, *Tolypocladium niveum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma polysporum*, *Trichoderma viride* ve *Mycelium sterile dematiaceum* ELF örneklerini izole etmişlerdir.,

Liu ve ark.'larının (2017) gerçekleştirdiği bir çalışmada, Çin'in Shennongjia orman bölgesinden topladıkları *Peltigera rufescens*, *Peltigera canina* ve *Peltigera leucophlebia* liken türlerinin talluslarından izole ettikleri ELF olduğu düşünülen örneklerin genomik DNA'sını izole ederek ITS gen bölgeleri ile PZR işlemi gerçekleştirilmiş örnekler sırasıyla *Creosphaeria sassafras*, *Annulohypoxylon multiforme* ve *Penicillium vulpinum* olarak saptanmıştır.

Bu bilgiler ışığında, tez çalışmamızda *Peltigera sp.* liken türünden 8 adet, *P. horizontalis* liken türünden 8 adet ve *P. praetextata* liken türünden 7 adet ELF izolasyonu likenlerin tallus yapılarından, yüzey sterilizasyon metodu (Guo ve ark., 2003) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda, *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF2, ELF4 ve ELF10 kodlu örnekler %99'un üzerinde *Clonostachys rosea* türü ile benzerlik göstermiştir. Aynı likenden izole edilen ELF5 kodlu örnek %100 oranında *Trichoderma sp.* türüne benzerlik göstermiştir. Aynı likenden izole edilen ELF6, ELF7 ve ELF11 kodlu örnekler sırasıyla %98.53 oranında *Fusarium fujikuroi*, %100 oranında *Fusarium verticillioides* ve %96.67 oranında *Fusarium proliferatum* türlerine benzerlik göstermişlerdir. Aynı likeninden izole edilen ELF84 kodlu örnek %98.60 oranında *Beauveria bassiana* türüyle benzerlik göstermiştir.

Çalışmamızda *P. horizontalis* likeninden izole edilen ELF12, ELF22, ELF23, ELF28, ELF33, ELF59, ELF79 ve ELF104 kodlu örnekler sırasıyla %98.48 oranında *Trichoderma sp.*, %100 oranında *Trichoderma sp.*, %100 oranında *Fusarium fujikuroi*, %97.30 oranında *Penicillium sp.*, %100 oranında *Fusarium fujikuroi*, %100 oranında *Beauveria bassiana*, %99.47 oranında *Clonostachys rosea* ve %100 oranında *Fusarium tricinctum* türlerine benzerlik göstermişlerdir.

Çalışmamızda, *P. praetextata* likeninden izole edilen ELF21, ELF37, ELF52, ELF60, ELF69, ELF102 ve ELF103 kodlu örnekler sırasıyla %98.53 oranında *Fusarium sp.*, %100 oranında *Fusarium mangiferae*, %99.30 oranında *Clonostachys rosea*, %99.51

oranında *Beauveria bassiana*, %100 oranında *Fusarium verticillioides*, %100 oranında *Trichoderma sp.* ve %100 oranında *Fusarium tricinctum* türlerine benzerlik göstermişlerdir.

Elde edilen bulgular ışığında çalışmamızda elde edilen 23 adet ELF türünün teşhislerinin literatürdeki çalışmalarla benzerlik gösterdiği kanısına varılmaktadır.

Samanthi ve ark.'larının (2015) gerçekleştirdiği bir çalışmada, Sri Lanka bölgesinden topladıkları *Parmotrema sp.* likeninin talluslarından izole ettikleri ve ELF olduğu düşünülen örneğin genomik DNA'sını izole ederek korunmuş ITS gen bölgelerinin ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak PZR işlemi gerçekleştirilmiş (Arnold ve Lutzoni, 2007) ve ELF örneğinin *Penicillium citrinum* türü olduğunu saptamışlardır (Samanthi ve ark., 2015). Bu bağlamda, *P. horizontalis* likeninden izole edilen ELF28 kodlu örneğinde moleküler sonucu %97.30 oranında *Penicillium sp.* olarak saptanmıştır. Çalışmamızda izole edilen ELF örneklerinin literatür ile tutarlılık gösterdikleri gözlemlenmektedir.

Lagarde ve ark.'larının (2019) gerçekleştirdiği bir çalışmada, Fransa bölgesinden topladıkları *Nephroma laevigatum* likeninden 18 adet endolikenik fungus izole ederek ITS gen bölgelerinin evrensel primerleri olan ITS5 forward ve ITS4 reverse primerleri kullanılarak PZR işlemi gerçekleştirilmiş ve moleküler tür tanımlamasını gerçekleştirerek *Nemania*, *Hypoxylon Daldinia*, *Coniochaeta hoffmannii* ve *Peziza* cinslerinde ELF örnekleri saptamışlardır (Lagarde ve ark., 2019).

Bu bilgilere dayanarak çalışmamızda *Peltigera* cinsi likenlerden izole edilen ELF'lerin içerisinde benzer türlerde ELF türleri saptanamamıştır.

Singh ve ark.'larının (2020) yaptığı bir çalışmada, doğu Hindistan'ın Himayala bölgesinden topladıkları *Usnea longissima* likeninin talluslarından izole ettikleri ve ELF olduğu düşünülen örneğin genomik DNA'sını standart fenol/kloroform metoduyla (Mamiatis ve ark., 1985) izole ederek LSU gen bölgesinin evrensel primerleri olan LR0R ve LR05 primerleri kullanılarak PZR işlemini gerçekleştirmişlerdir ve ELF örneğinin *Aspergillus quandricinctus* türü olduğunu saptamışlardır (Singh ve ark., 2020).

Zhao ve ark.'larının (2014) yaptığı bir çalışmada, Çin'in Jilin eyaletinin Changbai dağları bölgesinden topladıkları *Peltigera elisabethae* var. *mauritizi* (Gyeln.) likeninden *Aspergillus sp.* türü ELF izolasyonu gerçekleştirmişleridir (Zhao ve ark., 2014).

Bu iki çalışmadan yola çıkarak, likenlerden izole edilen ELF örneklerinin

içerisinde *Aspergillus* türü örneklerin bulunma potansiyelleri yüksektir. Ancak bu tez çalışmasında benzer türler saptanamamıştır.

Chagnon ve ark.'larının (2016) yaptığı bir çalışmada, endofitik ve endolikenik funguslar gibi simbiyotik mikro organizmaların içindeki topluluk yapısının düzenlenmesinden sorumlu ağ yapısını araştırmışlardır. Chagnon ve ekibi, endofitik fungusların endolikenik funguslara göre daha esnek ve daha az iç içe bağlantılı yapılarda olduğunu saptamışlardır. Bunun anlamı bitki konakçıları, endofitik fungusları, endolikenik fungusları barındıran likenlerden daha seçici olarak keşfedilmesidir. Ek olarak, endolikenik fungusların içinde meydana geldikleri likenler ile ilgili olarak konakçı generaller oldukları, ancak filogenetik olarak, saprobik mantarlara kıyasla endofitik mantarlarla daha yakından ilişkili oldukları belirlenmiştir U'Ren ve ark., 2010; Chagnon ve ark., 2016).

U'Ren ve ark.'larının (2010) gerçekleştirdiği bir çalışmada, toprak, yosun ve bitkilerdeki kültüre edilebilen endofitik mantar topluluklarının ve likenlerdeki kültüre edilebilen endolikenik fungus topluluklarının ITS rDNA dizileri kullanılarak tanımlamalarını gerçekleştirmişlerdir (U'Ren ve ark., 2010) ve sonuç olarak endolikenik funguslar ile endofitik fungusların birbirleriyle yakın benzerlik oranlarına sahip olduklarını literatüre bildirmişlerdir U'Ren ve ark., 2012).

Endofitik funguslar özellikle topraklarda ve toprak altında gömülü köklerde en yaygın olarak görülmektedir. Bu türlerin içerisinde sıklıkla *Clonostachys*, *Fusarium*, *Trichoderma* ve *Penicillium* türünde endofitik funguslar bulunabilmektedir (Evans ve ark. 2003; Hanada ve ark. 2008; Mejia ve ark. 2008). Bu bilgiler ışığında, bu tez çalışmasında *Beauveria* türüne ait ELF izolasyonun ilk defa bu tezde gerçekleştirildiği kanısına varılmaktadır.

Bu bağlamda, tez çalışmasında saptanan birçok liken türünün aynı zamanda endofitik funguslarla benzerlik gösterebilecekleri kanısına varılabilmektedir. *Peltigera* cinsi likenlerin genellikle toprak ve taş tabakalarında gelişmeleri ve içerdikleri mikro organizmaların bireysel veya simbiyotik ilişkileri de bu teoriyi destekler niteliktedir.

3.2.4. *In vitro* Süreçler:

Paudel ve ark.'larının yaptıkları çalışmada *Peltigera sp.* likeninin tallus metanol ve su özütlerinin Gram pozitif ve Gram negatif 6 farklı bakteri suşu üzerinde anti-bakteriyel etkinliği test edilmiş ve herhangi bir aktiviteye rastlanılmamıştır (Paudel ve

ark., 2012). Stojanović ve ark.'larının yaptıkları çalışmada *Peltigera horizontalis* likeninin tallus ve apotesyum aseton özütünün Gram pozitif ve Gram negatif olmak üzere 5 farklı bakteri suşu üzerinde anti-bakteriyel etkinliği test edilmiş ve herhangi bir aktiviteye rastlanılmamıştır (Stojanović ve ark., 2020). Karagöz ve ark.'larının yaptıkları çalışmada *Peltigera praetextata* likeninin tallus etanol ve su özütlerinin Gram pozitif ve Gram negatif olmak üzere 6 farklı bakteri suşu üzerinde anti-bakteriyel etkinliği test edilmiş ve herhangi bir aktiviteye rastlanılmamıştır (Karagöz ve ark., 2009).

Tez çalışmamızda benzer olarak *Peltigera sp.*, *P. horizontalis* ve *P. praetextata* likenlerine ait n-Hekzan özütlerinin 120, 60 ve 30 µg/ml olarak uygulanan dozlarının *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde herhangi bir anti-bakteriyel etki göstermediği ve üremelerini teşvik ettiği belirlenmiştir. Çalışmamızda *P. aeruginosa* suşu üzerinde anti-bakteriyel etkinlik göstermeyen üç liken türü de bakteri ölüm stresine sokmadan ve büyümelerini baskılamadan QS mekanizmasını bloke edebilecek potansiyel QSI ürünleri olarak değerlendirilmiştir.

Bu tez çalışmasında, üç farklı liken türünden izole edilen ELF örneklerinin *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşuna karşı anti-bakteriyel etkileri saptanmamıştır. Ancak bazı ELF özütlerinin bakteri popülasyon yoğunluğunu bir miktar azalttıkları gözlemlenmiştir. *Peltigera sp.* likeninden izole edilen 8 adet ELF'nin etil asetat özütlerinin bütün dozlarının on dördüncü saatteki durumları incelendiğinde ELF2, ELF4, ELF6 ve ELF11 kodlu özütlerin PAO1 suşu üzerinde anti-bakteriyel etkilerinin olmadığı anlaşılmıştır. ELF4 kodlu özütün bakteri üremesini teşvik ettiği belirlenmiştir. Aynı likenden izole edilen ELF5, ELF7, ELF10 ve ELF 84 kodlu özütlerin bütün dozlarının PAO1 suşu üzerinde bakteri popülasyon yoğunluğunu çok düşük oranlarda azalttıkları gözlemlenmiştir. Bu bilgiler ışığında, *Peltigera sp.* likeninin n-Hekzan özütünün PAO1 suşu üzerindeki popülasyon yoğunluğunu arttırıcı yöndeki etkisinin ELF2, ELF4, ELF6 ve ELF11 kodlu ELF'lerin herhangi birinden veya simbiyotik birlikteliği sonucunda kaynaklanabileceği düşünülmektedir. *P. horizontalis* likeninden izole edilen 8 adet ELF'nin etil asetat özütlerinin bütün dozlarının on dördüncü saatteki durumları incelendiğinde ELF12, ELF22, ELF23, ELF33, ELF59, ELF79 ve ELF104 kodlu özütlerin PAO1 suşu üzerinde anti-bakteriyel etkilerinin olmadığı anlaşılmıştır. ELF104 kodlu özütün tüm dozlarının bakteri üremesini yüksek oranda teşvik ettiği belirlenmiştir. Aynı likenden izole edilen ELF28 kodlu özütün bütün dozlarının PAO1 suşu üzerinde

bakteri popülasyon yoğunluğunu çok düşük oranlarda azalttıkları gözlemlenmiştir. *P. horizontalis* likeninin n-Hekzan özütünün PAO1 suşu üzerinde popülasyon yoğunluğunu arttırıcı yöndeki etkisinin ELF12, ELF22, ELF23, ELF33, ELF59, ELF79 ve ELF104 kodlu ELF'lerin herhangi birinden veya simbiyotik birlikteliği sonucunda kaynaklanabileceği düşünülmektedir. *P. praetextata* likeninden izole edilen 7 adet ELF'nin etil asetat özütlerinin bütün dozlarının on dördüncü saatteki durumları incelendiğinde ELF37, ELF52, ELF60 ve ELF69 kodlu özütlerin PAO1 suşu üzerinde anti-bakteriyel etkilerinin olmadığı anlaşılmıştır. ELF52 kodlu özütün bütün dozlarının bakteri üremesini yüksek oranda teşvik ettiği belirlenmiştir. Aynı likenden izole edilen ELF21, ELF102 ve ELF103 kodlu özütlerin bütün dozlarının PAO1 suşu üzerinde bakteri popülasyon yoğunluğu çok düşük oranlarda azalttıkları gözlemlenmiştir. *P. praetextata* likeninin n-Hekzan özütünün PAO1 suşu üzerinde popülasyon yoğunluğunu arttırıcı yöndeki etkisinin ELF37, ELF52, ELF60 ve ELF69 kodlu ELF'lerin herhangi birinden veya simbiyotik birlikteliği sonucunda kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında, üç liken türü ve talluslarından izole edilen ELF örneklerinin *P. aeruginosa* suşu üzerinde bakteri üremesini teşvik edici ve popülasyon yoğunluğunu arttırıcı etkinliklerinin simbiyotik iş birliktelikleri sonucunda olabileceği varsayılmaktadır.

Literatürde yer alan çalışmalarda, *P. aeruginosa*'nın çeşitli birçok ölüm stresi oluşturan antibiyotikler vb. anti-bakteriyel maddelere ve faktörlere karşı QS mekanizmasını aktifleştirdiği ve biyofilm formu oluşturarak direnç kazanabildiği bildirilmektedir (Irie ve ark., 2017, Pérez-Pérez ve ark., 2017). Bu bağlamda çalışmamızda, *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde anti-bakteriyel etki yaratmayan liken ve ELF özütlerinin *P. aeruginosa gfp* biyosensör suşları üzerinde QS inhibisyon etkinlik testleri gerçekleştirilmiştir. *P. aeruginosa*, QS mekanizması ve ilişkili biyofilm oluşumunu incelemek için başlıca model organizmalardan birisidir ve sıklıkla potansiyel QSI araştırmaları bu bakteriyle gerçekleştirilmektedir (Jayaraman ve ark., 2008; McDougald ve ark., 2008; Rybtke ve ark., 2015). QS inhibisyon skorlarının saptanması amacıyla gerçekleştirilen testlerde *P. aeruginosa lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* biyosensör suşları kullanılmıştır. *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* biyosensör suşlarının QS mekanizmasının gerçekleşmesi sonucunda GFP üretilmektedir ve bu üretime bağlı olarak bakteri suşları floresan ışığa gerçekleştirmektedir (Hentzer ve ark., 2002; Yang ve ark., 2007; Yang ve ark., 2009). Bu kapsamda çalışmamızda, *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-*

gfp biyosensör suşlar üzerinde QS inhibisyon testleri gerçekleştirilmiştir.

Gökalsın ve Sesal'ın (2016), özgün ve tıbbi öneme sahip sekonder metabolitleri ürettikleri bilinen liken kaynaklarından doğal kaynaklı potansiyel QSI taraması araştırmasında, *Evernia* türü likenlerden izole edilebilen evernik asit sekonder metabolitinin, 116 µM'lık konsantrasyonundaki dozlarının, *P. aeruginosa lasB-gfp* ve *rhlA-gfp* suşları QS sistemleri üzerinde sırasıyla %54 ve %50 oranlarında inhibisyon gerçekleştirdiklerini gözlemlemişlerdir (Gökalsın ve Sesal., 2016).

Çalışmamızda, *in siliko* yöntemlerle içerdikleri sekonder metabolitlerin etkili olabileceği düşünülerek toplanan *Peltigera* cinsi liken türlerinin n-Hekzan özütleri elde edilerek floresan ölçümleriyle QS inhibisyon oranları test edilmiş ve her üç biyosensör bakteride de en başarılı etkinliğe sahip tek liken örneğinin *P. horizontalis* n-Hekzan özütü olduğu saptanmıştır. Özütün 120 µg/ml konsantrasyonundaki dozlarının *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* QS mekanizmalarını sırasıyla %72.16, %50.40 ve %68.25 oranlarında inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Gökalsın ve Sesal'ın evernik asit sekonder metaboliti ile elde ettiği QS inhibisyon oranlarına göre çalışmamızda kullanılan *P. horizontalis* likeninin daha başarılı sonuçlar elde ettiği kanısına varılmıştır. Ek olarak, Gökalsın ve ark.'larının (2019) Bursa - Uludağ bölgesinden topladıkları *Platismatia glauca* likeninin aseton özütlerinin 120 µg/ml konsantrasyonundaki dozlarının *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* QS mekanizmalarını sırasıyla %77.43, %55.13 ve %47.61 oranlarında inhibe ettiklerini bildirmişlerdir (Gökalsın ve ark., 2019). Bu bilgiden yola çıkarak, *P. horizontalis*'in n-Hekzan özütlerinin de QSI potansiyellerinin bakteri patojenitesini kontrol edici virülans oluşumunu baskılayıcı olarak uygulanmaları imkanı bulunabileceği düşünülmektedir (El-Hamid, 2016).

Çalışmamızda yer alan üç farklı liken türünün özütlerinin *P. aeruginosa* QS sistemleri üzerinde farklı oranlarda inhibisyon skorları göstermesinin, likenlerin içerdikleri ve ürettikleri sekonder metabolitlerinin ve ELF türleri öncelikli olmak üzere liken tallus yapılarında bulunan diğer mikroorganizmaların bireysel veya simbiyotik birlikteliğiyle ürettikleri metabolitlerin farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Singh ve ark.'larının (2020) yaptığı bir çalışmada, doğu Hindistan'ın Himayala bölgesinden topladıkları *Usnea longissima* likeninin tallus yapılarından yüzey sterilizasyon metodu (Jayakumar ve ark., 2016) uygulanarak *Aspergillus quandricinctus*

türü ELF izole edilmiş ve bu ELF'nin aseton özütleri çıkarılarak QSI potansiyelini irdelenmiştir. Singh ve ekibi, *Chromobacterium violaceum* 12472 QS-AHL raportör suşu üzerinde, disk difüzyon metoduyla, 2 ile 10 mg/disk konsantrasyon aralıklarında *Aspergillus quandricinctus* aseton özütlerini uygulayarak *C. violaceum*'un QS ilişkili mor pigment (violacein) üretimini 6 mg/ml konsantrasyonunda yaklaşık %81 oranında inhibe ettiğini belirlemişlerdir (Singh ve ark., 2020). Bu bilgiler ışığında, likenlerden izole edilen ELF'lerin anti-QS potansiyellerinin yüksek oldukları kanısına varılabilmektedir.

Bu bağlamda tez çalışmamızda, Artvin ve Bursa bölgelerinden toplanan liken örneklerinden izole edilerek moleküler tür tayinleri gerçekleştirilen ELF'lerden sadece ELF37 ve ELF104 kodlu örnekler *lasB-gfp* suşu QS sistemi üzerinde %50'nin altında inhibisyon sağlamıştır. Geriye kalan 21 adet ELF türünün, 240 µg/ml konsantrasyonundaki dozlarının, *lasB-gfp* QS sistemi üzerinde %50'nin üzerinde inhibisyon gerçekleştirmiştir. Özellikle *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF7 örneği, *P. horizontalis* likeninden izole edilen ELF12, ELF22 ve ELF28 örnekleri, *P. praetextata* likeninden izole edilen ELF52, ELF79, ELF84 ve ELF102 kodlu örneklerinin, 240 µg/ml konsantrasyonundaki dozlarının, *lasB-gfp* suşu QS sistemi üzerinde %70'in üzerinde inhibisyon gerçekleştirdikleri belirlenmiştir. QSI taramaların devamında, *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF5 ve ELF10 örnekleri, *P. horizontalis* likeninden izole edilen ELF23, ELF28 ve ELF59 örnekleri, *P. praetextata* likeninden izole edilen ELF52 ve ELF60 kodlu örneklerin, 240 µg/ml konsantrasyonundaki dozlarının, *rhlA-gfp* suşu QS sistemi üzerinde %50'nin üzerinde inhibisyon gerçekleştirdikleri belirlenmiştir. QSI taramaların devamında, likenlerden izole edilen ELF'lerden sadece ELF2, ELF37 ve ELF69 kodlu örnekler *pqsA-gfp* suşu QS sistemi üzerinde %50'nin altında inhibisyon sağlamıştır. Geriye kalan 20 adet ELF türünün, 240 µg/ml konsantrasyonundaki dozlarının, *pqsA-gfp* suşu QS sistemi üzerinde %50'nin üzerinde inhibisyon gerçekleştirmiştir. Özellikle *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF5, ELF7 ve ELF10 örnekleri ve *P. horizontalis* likeninden izole edilen ELF28 örneğinin, 240 µg/ml konsantrasyonundaki dozlarının, *pqsA-gfp* suşu QS sistemi üzerinde %70'in üzerinde inhibisyon gerçekleştirdikleri belirlenmiştir.

Çalışmamızda, *Peltigera* cinsi liken n-Hekzan özütleri ile *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde gerçekleştirilen biyofilm testlerinde en fazla oranda anti-biyofilm özelliğini *P. horizontalis* likeni özütü göstermiştir. *P. horizontalis* n-Hekzan

özütünün 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarındaki dozları biyofilm formunu kontrol grubuna göre sırasıyla %36.67 (± 4.11), 28.70 (± 4.11) ve 14.85 (± 3.22) oranlarında inhibe etmiştir. *P. horizontalis* en başarılı anti-biyofilm etkinliğe sahip liken türü olarak öne çıkmıştır. Çalışmamızdaki diğer iki liken türlerinden olan *Peltigera sp.* ve *P. praetextata* likenlerinin 120 µg/ml konsantrasyonundaki dozlarının biyofilm inhibisyon skorları sırasıyla 15.30 (± 0.79) ve 16.17 (± 1.60) olarak saptanmıştır. Başaran'ın tez çalışmasında, *P. furfuracea*, *P. glauca* ve *P. sulcata* liken aseton özütlerinin tüm konsantrasyonlarının PAO1 suşunun biyofilm formunu daha fazla teşvik ettiklerini ve anti-biyofilm aktivite göstermediklerini gözlemlemişlerdir (Başaran., 2019). Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda kullanılan liken türlerinden *P. horizontalis*'in içerdiği metabolitleri veya simbiyotik mikroorganizmaları aracılığıyla potansiyel anti-biyofilm inhibitörü olabileceği düşünülmektedir.

Singh ve ark.'larının (2020) yaptığı bir çalışmada, doğu Hindistan'ın Himayala bölgesinden topladıkları *Usnea longissima* likeninin tallus yapılarından yüzey sterilizasyon metodu (Jayakumar ve ark., 2016) uygulanarak *Aspergillus quandricinctus* türü ELF izole edilmiş ve bu ELF'nin aseton özütleri çıkarılarak anti-biyofilm aktiviteleri incelenmiştir. Singh ve ekibi, *P. aeruginosa* PAO1 suşu üzerinde, 2,4 ve 6 mg/ml konsantrasyon aralıklarında *Aspergillus quandricinctus* aseton özütlerini uygulayarak PAO1 suşunda QS ilişkili biyofilm oluşumunun 4 mg/ml konsantrasyonunda yaklaşık %50 oranında inhibe olduğunu belirlemişlerdir (Singh ve ark., 2020). Bu bilgiler ışığında, likenlerden izole edilen ELF'lerin anti-biyofilm potansiyellerinin yüksek oldukları kanısına varılabilmektedir.

Bu bağlamda tez çalışmamızda, Artvin ve Bursa bölgelerinden toplanan liken örneklerinden izole edilerek moleküler tür tayinleri gerçekleştirilen bütün ELF örneklerinin *P. aeruginosa* PAO1 CECT 4122 suşu üzerinde anti-biyofilm etkinlikte olma potansiyelleri irdelenmiştir. Biyofilm formu incelemesi gerçekleştirilen toplam 23 ELF türünün tamamı PAO1 suşu üzerinde çeşitli düşük ve yüksek oranlarda anti-biyofilm etkinliği göstermiştir. Çalışmamızda, özellikle %50'nin üzerinde anti-biyofilm etkinliği gösteren dört adet ELF türü belirlenmiştir. *Peltigera sp.* likeninden izole edilen ELF4 ve *P. horizontalis* likeninden izole edilen ELF23, ELF28 ve ELF59 kodlu örneklerin, 240 µg/ml konsantrasyonundaki dozlarının, PAO1 suşu üzerinde biyofilm formu etkinlikleri sırasıyla %50.42 (± 3.42), %54.17 (± 3.03), %64.45 (± 0.72) ve %50.34 (± 2.21) olarak

belirlenmiştir. Bu veriler ışığında, özellikle *P. horizontalis* likeninin içerdiği sekonder metabolitlerin yapılarının, tallus yapılarındaki çeşitli simbiyotik birlikteliklerin ve izole edilen ELF örneklerinin anti-QS ve anti-biyofilm aktivitelerinin yüksekliği dikkat çekmektedir ve potansiyel doğal kaynaklı QSI olma potansiyelleri öne çıkmaktadır.

Tez çalışmamızda, en yüksek QSI aktivite *P. horizontalis* likeninden izole edilen ELF28 kodlu *Penicillium* sp. moleküler tanımlaması konulmuş örnekte belirlenmiştir. ELF28, herhangi bir anti-bakteriyel etki göstermeyip *P. aeruginosa* bakterisinin büyümesini baskılamamış ve ölüm stresine sokmamıştır. Ancak 240 µg/ml konsantrasyonundaki etil asetat özütü dozlarının, *lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* suşları QS sistemlerini üzerinde sırasıyla %86.60, %97.60 ve %88.64 oranlarında inhibe ettikleri gözlemlenmiştir. Ayrıca ELF28'in, 240, 120 ve 60 µg/ml konsantrasyonundaki, etil asetat özütü dozları, *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde sırasıyla %64.45 (± 0.72), 58.52 (± 2.59) ve 42.37 (± 4.49) olarak gözlemlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar ile literatürde yer alan çalışmalar değerlendirildiğinde *P. horizontalis* likeninin n-Hekzan özütünün ve aynı likenden izole edilerek BLAST işlemleri sonucunda *Penicillium* sp. türü olduğu saptanan ELF28 kodlu ELF örneğinin etil asetat özütünün *P. aeruginosa* üzerinde çok güçlü bir QSI, anti-biyofilm, anti-virülans inhibitörü olabileceği görülmüştür. *Peltigera* sp. ve *P. praetextata* liken türlerinin de ve içerdikleri ELF örneklerinin de *P. aeruginosa* QS mekanizması ve biyofilm formu oluşumunun inhibitörleri olarak yararlanılabileceği düşünülmektedir.

In silico bilgisayar destekli moleküler kenetlenme simülasyon hesaplamaları ile potansiyel QSI metabolitleri barındırdığı ön görülen *Peltigera* cinsi liken türlerinin ve izole edilen ELF'lerin özütleriyle, fırsatçı patojen *P. aeruginosa* bakterisi üzerine anti-bakteriyel, anti-QS ve anti-biyofilm etkinlik testleri gerçekleştirilmiş ve doğal kökenli yeni potansiyel QSI adayları incelenmiştir. Dünya çapında likenler ve liken sekonder metabolitleriyle gerçekleştirilen çalışmalar hız kazanmıştır. Ancak ELF örneklerinin özüt ve sekonder metabolit etkinliklerine ilişkin veri sayısı kısıtlı ve yeni bir çalışma alanıdır. Bu nedenle çalışmadan elde edilen bulguları karşılaştırmak için yeterli bilgi kaynağı literatürde yer almamaktadır. Bu tez çalışması, ilgili alanın konusunda hem *in silico* hem de *in vitro* çalışmaları içeren kapsamlı olarak elde edilen ilk verileri literatüre kazandırmış bulunmaktadır. İleride yeni birçok çalışmaya referans olacağı ve daha detaylı gerçekleştirilecek benzer çalışmalar ile daha net bilgilere ulaşılabileceği düşünülmektedir.

4. SONUÇLAR

Antibiyotiklerin yanlış, bilinçsiz, aşırı ve gereksiz kullanımları, antibiyotiklere direnç gösteren fırsatçı patojen bakterilerin giderek yaygınlaşması, tüm dünyada kronik enfeksiyon vaka sayılarının artmasına ve halk sağlığında ciddi sorunlara yol açmaktadır (Neufeld ve ark., 2017; Li ve Webster, 2018). Var olan birçok patojenik bakterilerde olduğu gibi, fırsatçı patojen bir bakteri olan *P. aeruginosa*'nın virülansı ve patojenitesi, biyofilm oluşumu, bakteri ilaç direnci ve diğer virülans faktörleri QS mekanizması ile yakından ilişkilidir ve bu mekanizma *P. aeruginosa*'nın enfeksiyon oluşumu ve antibiyotik ilaç direnci için çok önemlidir (Pustelny ve ark., 2009; Lee ve ark., 2018).

Öncelikle bitki, mantar, liken vb. doğal kökenli materyallerin elde edilen özütlerinin ve içerdikleri bazı metabolitlerinin bakterilerin QS sistemini inhibe ettikleri bildirilmektedir (Koh ve ark., 2013; Ahmed ve ark., 2019; Gökalsın ve ark., 2019). Özellikle likenlerin metabolizma ürünü olarak ürettikleri özgün sekonder metabolitler ve bu metabolitlerin biyoaktivite oranları yüksek öneme sahiptir.

Çeşitli liken türlerinden izole edilen ELF'lerden elde edilen doğal bileşikler, yeni yapılaraya sahip olan ve farklı yapısal sınıfları temsil eden biyoaktif metabolitleri üretme potansiyelleri ile ilgi çekmektedir. Son yıllarda ELF örnekleri benzersiz ilaç molekülleri uygulaması kabiliyetleriyle umut verici yeni doğal kaynaklar olarak öne çıkmaktadırlar (Suryanarayanan ve ark., 2017; Bajpai ve ark., 2020).

Bu tez çalışmasında, *in siliko* süreçlerle saptanan *Peltigera* cinsi liken türlerinin içerdikleri ve ürettikleri sekonder metabolitlerinin var olduğu düşünülen liken özütlerinin ve bu türlerden izole edilen ELF türlerinin özütlerinin *P. aeruginosa* bakteri suşları üzerinde anti-bakteriyel, anti-QS ve anti-biyofilm etkinlikleri test edilerek QSI kaynağı olarak kullanım potansiyelleri araştırılması amaçlanmıştır.

Tez çalışmamızda, global bir problem olan ve giderek artış gösteren antibiyotik direncine karşı önlem alınabilmesi ve yardımcı yeni çözümler keşfedilmesi amacıyla;

- Literatürde 1050 adetten fazla yer alan liken sekonder metabolitleri literatürde taranarak 637 adetlik bir liken sekonder metabolit kütüphanesi derlenmiş ve MetaCore / MetaDrug programı ile terapötik ve toksisite taramaları gerçekleştirilmiştir.
- Schrödinger Moleküler Modelleme programının Maestro modülü ile *P. aeruginosa*'nın QS yollarında görevli reseptör proteinlere liken sekonder

metabolitleri moleküler kenetlenme simülasyonlarına tabii tutulmuştur.

- *In siliko* analizler sonucunda *Peltigera* cinsi liken türlerine ait sekonder metabolitlerin *P. aeruginosa* üzerinde potansiyel QSI özellikte olabilecekleri kanısına varılmıştır ve tez çalışmamızda bu liken türleri tercih edilmiştir.
- Artvin-Borçka ve Bursa-Kestel bölgesinden *Peltigera* cinsi liken türleri toplanarak morfolojik tür tayinleri gerçekleştirilmiş ve sırasıyla *Peltigera horizontalis*, *Peltigera sp.* ve *Peltigera praetextata* liken örnekleri elde edilmiştir.
- Elde edilen likenlerin tallus yapılarından yüzey sterilizasyon yöntemiyle yaklaşık 132 adet endolikenik fungus (ELF) izole edilerek 23 adeti saflaştırılarak kültüre edilmiştir.
- ELF örneklerinin morfolojik boyama ve çeşitli seçici besiyerleri ile saf kültürleri elde edilmiştir.
- İzole edilerek kültüre edilen ELF'lerin genomik DNA'ları izole edilerek 5.8S ITS gen bölgesi PZR yöntemiyle çoğaltılmıştır.
- Elde edilen gen bölgesiyle moleküler dizileme işlemi gerçekleştirilmiş ve çeşitli biyoinformatik programları kullanılarak ELF'lerin moleküler tür tayinleri gerçekleştirilmiştir.
- *Peltigera sp.* liken türünden 8 adet ELF türü izole edilmiş ve kültüre alınarak morfolojik ve moleküler tanımlamaları gerçekleştirilmiştir.
- *Peltigera horizontalis* liken türünden 8 adet ELF türü izole edilmiş ve kültüre alınarak morfolojik ve moleküler tanımlamaları gerçekleştirilmiştir.
- *Peltigera praetextata* liken türünden 7 adet ELF türü izole edilmiş ve kültüre alınarak morfolojik ve moleküler tanımlamaları gerçekleştirilmiştir.
- Moleküler tanımlamalar sonucunda *Beauveria*, *Clonostachys*, *Trichoderma*, *Fusarium* ve *Penicillium* cinslerine ait çeşitli ELF türleri türler elde edilmiştir
- Likenlerin n-Hekzan özütleri elde edilerek sırasıyla 120, 60 ve 30 µg/ml doz konsantrasyon oranlarında özüt çözeltileri hazırlanmıştır.
- ELF'lerin etil asetat özütleri elde edilerek sırasıyla 240, 120 ve 60 µg/ml doz konsantrasyon oranlarında çözeltileri hazırlanmıştır.
- Tüm özütler, *P. aeruginosa* PAO1 CECT4122 suşu üzerinde uygulanarak anti-bakteriyel ve anti-biyofilm % inhibisyon etkinlikleri incelenmiştir.
- Çalışmamızda yer alan 3 adet liken ve 23 adet ELF özütlerinin *P. aeruginosa*

üzerine herhangi bir anti-bakteriyel etkinlikleri gözlemlenmemiştir.

- Çalışmamızda yer alan 3 adet liken özütü içerisinde *P. horizontalis* özütünün *P. aeruginosa* anti-biyofilm inhibisyonu etkinliği %36.67 (± 4.11) ile en yüksek skor olarak öne çıkmıştır
- İzole edilen ELF örneklerinin çoğunun *P. aeruginosa* üzerine anti-biyofilm inhibisyonu etkinlikleri yaklaşık %50 ve üzeri miktarlarda olarak saptanmışlardır.
- İzole edilen ELF örnekleri içerisinde ELF28 kodlu özütün *P. aeruginosa* anti-biyofilm inhibisyonu etkinliği %64.45 (± 0.72) ile en yüksek skor olarak öne çıkmıştır
- Tüm özütler, *P. aeruginosa lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp* biyosensör suşları üzerine uygulanarak anti-QS % inhibisyon etkinlikleri incelenmiştir.
- Çalışmamızda yer alan 3 adet liken özütü içerisinde *P. horizontalis* özütünün *P. aeruginosa* las, rhl pqs mekanizmaları üzerinde en yüksek anti-QS etkinliği gösterdiği çalışmamızda saptanmıştır. Özütün 120 µg/ml doz konsantrasyonunda *P. aeruginosa* QS mekanizmalarını sırasıyla %72.16, %50.40 ve %68.25 oranlarında inhibisyonu etkinliği tez çalışmasında elde edilmiştir.
- İzole edilen ELF örneklerinin çoğunun *P. aeruginosa* üzerine anti-QS inhibisyonu etkinlikleri %50 ve üzeri miktarlarda olarak saptanmışlardır.
- İzole edilen ELF örnekleri içerisinde ELF28 kodlu özütün *P. aeruginosa* las, rhl pqs mekanizmaları üzerinde en yüksek anti-QS etkinliği gösterdiği çalışmamızda saptanmıştır. Özütün 240 µg/ml doz konsantrasyonunda *P. aeruginosa* QS mekanizmalarını sırasıyla %86.60, %97.60 ve %88.64 oranlarında inhibisyonu etkinliği tez çalışmasında elde edilmiştir.

Tez çalışmasında elde edilen *in siliko* skor verileri ile *in vitro* bulgular birbirleriyle yüksek oranda uyumlu bir tutarlılık göstermiştir. *Peltigera* likeni ve içerdiği ELF özütlerinin içerdikleri ve ürettikleri tıbbi öneme sahip sekonder metabolitleri alternatif olarak antibiyotik direnci problemine karşı etkili yeni QSI molekülleri içerme potansiyeline sahip olabileceği ve bu tezin gelecekteki çalışmalar için literatüre katkıda bulunacağı ön görülmekte ve düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Açıkgöz, B. (2011). *Ramalina* Cinsine Ait Bazı Liken Türlerinin rDNA ITS Dizi Analizine Göre Moleküler Filogenisi. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
2. Adam, E. C., Mitchell, B. S., Schumacher, D. U., Grant, G., & Schumacher, U. (1997). *Pseudomonas aeruginosa* II lectin stops human ciliary beating: therapeutic implications of fucose. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 155(6), 2102-2104.
3. Agrawal, S., Deshmukh, S. K., Reddy, M. S., Prasad, R., & Goel, M. (2020). Endolichenic fungi: A hidden source of bioactive metabolites. *South African Journal of Botany*.
4. Ahmed, S. A., Rudden, M., Smyth, T. J., Dooley, J. S., Marchant, R., & Banat, I. M. (2019). Natural quorum sensing inhibitors effectively downregulate gene expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(8), 3521-3535.
5. Ahumado, M., Drosos, J. C., & Vivas-Reyes, R. (2014). Application of molecular docking and ONIOM methods for the description of interactions between anti-quorum sensing active (AHL) analogues and the *Pseudomonas aeruginosa* LasR binding site. *Molecular bioSystems*, 10(5), 1162-1171.
6. Alberg, D. G., & Schreiber, S. L. (1993). Structure-based design of a cyclophilin-calcineurin bridging ligand. *Science*, 262(5131), 248-250.
7. Allesen-Holm, M., Barken, K. B., Yang, L., Klausen, M., Webb, J. S., Kjelleberg, S., ... & Tolker-Nielsen, T. (2006). A characterization of DNA release in *Pseudomonas aeruginosa* cultures and biofilms. *Molecular microbiology*, 59(4), 1114-1128.
8. Allydice-Francis, K., & Brown, P. D. (2012). Diversity of antimicrobial resistance and virulence determinants in *Pseudomonas aeruginosa* associated with fresh vegetables. *International journal of microbiology*, 2012.
9. Anderson, A. C. (2003). The process of structure-based drug design. *Chemistry & biology*, 10(9), 787-797.
10. Ari, F., Ulukaya, E., Oran, S., Celikler, S., Ozturk, S., & Ozel, M. Z. (2015). Promising anticancer activity of a lichen, *Parmelia sulcata* Taylor, against breast cancer cell lines and genotoxic effect on human lymphocytes. *Cytotechnology*, 67(3),

531-543.

11. Arnold, A. E., Henk, D. A., Eells, R. L., Lutzoni, F., & Vilgalys, R. (2007). Diversity and phylogenetic affinities of foliar fungal endophytes in loblolly pine inferred by culturing and environmental PCR. *Mycologia*, 99(2), 185-206.
12. Arnold, A. E., & Lutzoni, F. (2007). Diversity and host range of foliar fungal endophytes: are tropical leaves biodiversity hotspots?. *Ecology*, 88(3), 541-549.
13. Attanayake, R. N., Glawe, D. A., Dugan, F. M., & Chen, W. (2009). Erysiphe trifolii causing powdery mildew of lentil (Lens culinaris). *Plant disease*, 93(8), 797-803.
14. Barbier, F., Andremont, A., Wolff, M., & Bouadma, L. (2013). Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: recent advances in epidemiology and management. *Current opinion in pulmonary medicine*, 19(3), 216-228.
15. Bhattacharyya, S., Deep, P. R., Singh, S., & Nayak, B. (2016). Lichen secondary metabolites and its biological activity. *Am. J. PharmTech Res*, 6(6), 29-44.
16. Bjarnsholt, T., & Givskov, M. (2007). Quorum-sensing blockade as a strategy for enhancing host defences against bacterial pathogens. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 362(1483), 1213-1222.
17. Bajpai, R., Yusuf, M. A., Upreti, D. K., Gupta, V. K., & Singh, B. N. (2020). Endolichenic fungus, *Aspergillus quandricinctus* of *Usnea longissima* inhibits quorum sensing and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Microbial Pathogenesis*, 140, 103933.
18. Balasubramanian, M., & Nirmala, P. (2014). Antimycobacterial activity of foliose lichens on plant and animal pathogens. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(11), 4825.
19. Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi* (No. Ed. 4). American Phytopathological Society (APS Press).
20. Bas, D. C., Rogers, D. M., & Jensen, J. H. (2008). Very fast prediction and rationalization of pKa values for protein–ligand complexes. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 73(3), 765-783.
21. Başaran, T. I. (2019). Liken ve Endolikenik Bakteri Özütlerinin *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Mekanizması ve Biyofilm Formu Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul/Türkiye, 136-137.

22. Batool, M., Ahmad, B., & Choi, S. (2019). A structure-based drug discovery paradigm. *International journal of molecular sciences*, 20(11), 2783.
23. Beckett, R. P., Minibayeva, F. V., & Liers, C. (2013). On the occurrence of peroxidase and laccase activity in lichens. *The Lichenologist*, 45(2), 277-283.
24. Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., ... & Bourne, P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic acids research*, 28(1), 235-242.
25. Biosca, E. G., Flores, R., Santander, R. D., Díez-Gil, J. L., & Barreno, E. (2016). Innovative approaches using lichen enriched media to improve isolation and culturability of lichen associated bacteria. *PLoS One*, 11(8), e0160328.
26. Blaallid, R., Kumar, S., Nilsson, R. H., Abarenkov, K., Kirk, P. M., & Kauserud, H. (2013). ITS 1 versus ITS 2 as DNA metabarcodes for fungi. *Molecular ecology resources*, 13(2), 218-224.
27. Bottomley, M. J., Muraglia, E., Bazzo, R., & Carfi, A. (2007). Molecular insights into quorum sensing in the human pathogen *Pseudomonas aeruginosa* from the structure of the virulence regulator LasR bound to its autoinducer. *Journal of Biological Chemistry*, 282(18), 13592-13600.
28. Brackman, G., & Coenye, T. (2015). Quorum sensing inhibitors as anti-biofilm agents. *Current pharmaceutical design*, 21(1), 5-11.
29. Brodo, I. M., Sharnoff, S. D., & Sharnoff, S. (2001). *Lichens of north America*. Yale University Press.
30. Caldas, R. R., & Boisramé, S. (2015). Upper aero-digestive contamination by *Pseudomonas aeruginosa* and implications in Cystic Fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*, 14(1), 6-15.
31. Campodónico, V. L., Llosa, N. J., Grout, M., Döring, G., Maira-Litrán, T., & Pier, G. B. (2010). Evaluation of flagella and flagellin of *Pseudomonas aeruginosa* as vaccines. *Infection and immunity*, 78(2), 746-755.
32. Capilato, J. N., Philippi, S. V., Reardon, T., McConnell, A., Oliver, D. C., Warren, A., ... & Perez, L. J. (2017). Development of a novel series of non-natural triaryl agonists and antagonists of the *Pseudomonas aeruginosa* LasR quorum sensing receptor. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 25(1), 153-165.

33. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2013) Antibiotic resistance threats in the United States. <http://www.cdc.gov/drugresistance/theat-report-2013/index.html>. Accessed 22 Dec 2015.
34. Chagnon, P. L., U'Ren, J. M., Miadlikowska, J., Lutzoni, F., & Arnold, A. E. (2016). Interaction type influences ecological network structure more than local abiotic conditions: evidence from endophytic and endolichenic fungi at a continental scale. *Oecologia*, 180(1), 181-191.
35. Chaudhary, A. S. (2016). A review of global initiatives to fight antibiotic resistance and recent antibiotics' discovery. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6(6), 552-556.
36. Cheng, T., Li, Q., Zhou, Z., Wang, Y., & Bryant, S. H. (2012). Structure-based virtual screening for drug discovery: a problem-centric review. *The AAPS journal*, 14(1), 133-141.
37. Choi, C. G., & Kim, J. M. (2012). Detection of Laminariaceae species based on PCR by family-specific ITS primers. *Fisheries and aquatic sciences*, 15(2), 157-162.
38. Christiaen, S. E., Matthijs, N., Zhang, X. H., Nelis, H. J., Bossier, P., & Coenye, T. (2014). Bacteria that inhibit quorum sensing decrease biofilm formation and virulence in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Pathogens and disease*, 70(3), 271-279.
39. Ciofu, O., Tolker-Nielsen, T., Jensen, P. Ø., Wang, H., & Høiby, N. (2015). Antimicrobial resistance, respiratory tract infections and role of biofilms in lung infections in cystic fibrosis patients. *Advanced drug delivery reviews*, 85, 7-23.
40. Cimmino, A., Nimis, P. L., Masi, M., De Gara, L., van Otterlo, W. A., Kiss, R., ... & Lefranc, F. (2019). Have lichenized fungi delivered promising anticancer small molecules?. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 1-36.
41. Crawford, S. D. (2019). Lichens used in traditional medicine. In *Lichen secondary metabolites* (pp. 31-97). Springer, Cham.
42. Coskun, Z. M., Ersoz, M., Acikgoz, B., Karalti, I., Cobanoglu, G., & Sesal, C. (2015). Anti-proliferative and apoptotic effects of methanolic extracts from different *Cladonia* species on human breast cancer cells. *Folia biologica*, 61(3), 97.
43. Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322.
44. Çobanoğlu, G., Sesal, C., Açıkgöz, B., & Karaltı, İ. (2016). Evaluation of antimicrobial activity of the lichens *Physcia aipolia*, *Xanthoria parietina*, *Usnea*

- florida*, *Usnea subfloridana* and *Melanohalea exasperata*. *Modern Phytomorphology*, 10, 19-24.
45. Davey, M. E., Caiazza, N. C., & O'Toole, G. A. (2003). Rhamnolipid surfactant production affects biofilm architecture in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Journal of bacteriology*, 185(3), 1027-1036.
 46. De Kievit, T. R., & Iglewski, B. H. (2000). Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infection and immunity*, 68(9), 4839-4849.
 47. Defoirdt, T. (2018). Quorum-sensing systems as targets for antivirulence therapy. *Trends in microbiology*, 26(4), 313-328.
 48. Deryabin, D., Galadzhieva, A., Kosyan, D., & Duskaev, G. (2019). Plant-Derived Inhibitors of AHL-Mediated Quorum Sensing in Bacteria: Modes of Action. *International journal of molecular sciences*, 20(22), 5588.
 49. Díaz, E. M., Sánchez Elordi, E., Santiago, R., Vicente Córdoba, C., & Legaz González, M. E. (2016). Algal-fungal mutualism: cell recognition and maintenance of the symbiotic status of lichens. *Journal of Veterinary Medicine and Research*, 3(3).
 50. Donlan, R. M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases*, 8(9), 881.
 51. Driscoll, J. A., Brody, S. L., & Kollef, M. H. (2007). The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs*, 67(3), 351-368.
 52. Dubern, J. F., & Diggle, S. P. (2008). Quorum sensing by 2-alkyl-4-quinolones in *Pseudomonas aeruginosa* and other bacterial species. *Molecular Biosystems*, 4(9), 882-888.
 53. Durão, P., Balbontín, R., & Gordo, I. (2018). Evolutionary mechanisms shaping the maintenance of antibiotic resistance. *Trends in microbiology*, 26(8), 677-691.
 54. Durdagi, S., Aksoydan, B., Erol, I., Kantarcioglu, I., Ergun, Y., Bulut, G., ... & Salmas, R. E. (2018). Integration of multi-scale molecular modeling approaches with experiments for the *in silico* guided design and discovery of novel hERG-Neutral antihypertensive oxazalone and imidazolone derivatives and analysis of their potential restrictive effects on cell proliferation. *European journal of medicinal chemistry*, 145, 273-290.

55. Eberhard, A., Burlingame, A. L., Eberhard, C., Kenyon, G. L., Nealson, K. H., & Oppenheimer, N. J. (1981). Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase. *Biochemistry*, 20(9), 2444-2449.
56. European Centre for Disease Prevention and Control - ECDC. (2015). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial-resistanceandconsumption/antimicrobial_resistance/pages/index.aspx.
57. El-Hamid, M. I. A. (2016). A new promising target for plant extracts: inhibition of bacterial quorum sensing. *Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 1(1), 1-3.
58. Emsen, B., Yildirim, E., Aslan, A., Anar, M., Ercisli, S. (2012). "Insecticidal Effect of the Extracts of *Cladonia foliacea* (Huds.) Willd. and *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale Against Adults of the Grain Weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)", *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 22(2), 145.
59. Emsen, B., Aslan, A., Togar, B., & Turkez, H. (2016). *In vitro* antitumor activities of the lichen compounds olivetoric, physodic and psoromic acid in rat neuron and glioblastoma cells. *Pharmaceutical biology*, 54(9), 1748-1762.
60. Erickson, D. L., Endersby, R., Kirkham, A., Stuber, K., Vollman, D. D., Rabin, H. R., ... & Storey, D. G. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing systems may control virulence factor expression in the lungs of patients with cystic fibrosis. *Infection and immunity*, 70(4), 1783-1790.
61. Evans, H. C., Holmes, K. A., & Thomas, S. E. (2003). Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. *Mycological Progress*, 2(2), 149-160.
62. Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7), 13384-13421.
63. Finegold, S. M., & Martin W. J. (1982). *Bailey and Scott's Diagnosis Microbiology*.
64. Friesner, R. A., Banks, J. L., Murphy, R. B., Halgren, T. A., Klicic, J. J., Mainz, D. T., ... & Shaw, D. E. (2004). Glide: a new approach for rapid, accurate docking and

- scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of medicinal chemistry*, 47(7), 1739-1749.
65. Garg, N., Manchanda, G., & Kumar, A. (2014). Bacterial quorum sensing: circuits and applications. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 105(2), 289-305.
66. Girlanda, M., Isocrano, D., Bianco, C., & Luppi-Mosca, A. M. (1997). Two foliose lichens as microfungial ecological niches. *Mycologia*, 89(4), 531-536.
67. Gould, T. A., Schweizer, H. P., & Churchill, M. E. (2004). Structure of the *Pseudomonas aeruginosa* acyl-homoserinelactone synthase LasI. *Molecular microbiology*, 53(4), 1135-1146.
68. Gökalsın, B. (2015) Quorum Sensing İnhibisyonunun *Pseudomonas aeruginosa*'da Floresan Işıma ve Krt-Pzr Yöntemleri Kullanılarak Kantitatif Olarak Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye.
69. Gökalsın, B., & Sesal, N. C. (2016). Lichen secondary metabolite evernic acid as potential quorum sensing inhibitor against *Pseudomonas aeruginosa*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(9), 150.
70. Gökalsın, B., Berber, D., & Sesal, N. C. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing and Biofilm Inhibition. In *Quorum Sensing* (pp. 227-256). Academic Press.
71. Gökalsın, B., Berber, D., Özyiğitoğlu, G. Ç., Yeşilada, E., & Sesal, N. C. (2019). Quorum sensing attenuation properties of ethnobotanically valuable lichens against *Pseudomonas aeruginosa*. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, (just-accepted), 1-13.
72. Gulluce, M., Aslan, A., Sokmen, M., Sahin, F., Adiguzel, A., Agar, G., & Sokmen, A. (2006). Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Platismatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine*, 13(7), 515-521.
73. Gunasekaran, S., Rajan, V. P., Ramanathan, S., Murugaiyah, V., Samsudin, M. W., & Din, L. B. (2016). Antibacterial and antioxidant activity of lichens *Usnea rubrotincta*, *Ramalina dumeticola*, *Cladonia verticillata* and their chemical constituents. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 20(1), 1-13.

74. Guo, L., Shi, Q., Fang, J. L., Mei, N., Ali, A. A., Lewis, S. M., ... & Frankos, V. H. (2008). Review of usnic acid and *Usnea barbata* toxicity. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 26(4), 317-338.
75. Gupta, V., & Singhal, L. (2018). Antibiotics and Antimicrobial Resistance. In *Infectious Diseases and Your Health* (pp. 215-224). Springer, Singapore.
76. Halgren, T. A., Murphy, R. B., Friesner, R. A., Beard, H. S., Frye, L. L., Pollard, W. T., & Banks, J. L. (2004). Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 2. Enrichment factors in database screening. *Journal of medicinal chemistry*, 47(7), 1750-1759.
77. Hall, T. A. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series* (Vol. 41, No. 41, pp. 95-98).
78. Hanada, R. E., de Jorge Souza, T., Pomella, A. W., Hebbar, K. P., Pereira, J. O., Ismaiel, A., & Samuels, G. J. (2008). *Trichoderma martiale* sp. nov., a new endophyte from sapwood of *Theobroma cacao* with a potential for biological control. *Mycological Research*, 112(11), 1335-1343.
79. Hawksworth, D. L., & Miądlikowska, J. (1997). New species of lichenicolous fungi occurring on *Peltigera* in Ecuador and Europe. *Mycological Research*, 101(9), 1127-1134.
80. Hentzer, M., Riedel, K., Rasmussen, T. B., Heydorn, A., Andersen, J. B., Parsek, M. R., ... & Kjelleberg, S. (2002). Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. *Microbiology*, 148(1), 87-102.
81. Hentzer, Á., Eberl, Á., & Givskov, Á. (2005). Transcriptome analysis of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development: anaerobic respiration and iron limitation. *Biofilms*, 2(1), 37.
82. Hill, R. G. (2012). *Drug Discovery and Development-E-Book: Technology in Transition*. Elsevier Health Sciences.
83. Hirsch, E. B., & Tam, V. H. (2010). Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes. *Expert review of pharmacoeconomics & outcomes research*, 10(4), 441-451.
84. Holban, A. M., Chifiriuc, M. C., & Lazăr, V. (2013). Host cells response in

- Pseudomonas aeruginosa* infections-role of quorum sensing molecules. *African Journal of Microbiology Research*, 7(20), 2140-2149.
85. Huang, S. Y., & Zou, X. (2010). Advances and challenges in protein-ligand docking. *International journal of molecular sciences*, 11(8), 3016-3034.
 86. Ilangoonav, A., Fletcher, M., Rampioni, G., Pustelny, C., Rumbaugh, K., Heeb, S., ... & Chhabra, S. R., Emsley, J., Williams, P.(2013). Structural basis for native agonist and synthetic inhibitor recognition by the *Pseudomonas aeruginosa*. *Quorum Sensing regulator PqsR (MvfR)*. *PLoS Pathog*, 9(7), e1003508.
 87. Irie, Y., Roberts, A. E., Kragh, K. N., Gordon, V. D., Hutchison, J., Allen, R. J., ... & Diggle, S. P. (2017). The *Pseudomonas aeruginosa* PSL polysaccharide is a social but noncheatable trait in biofilms. *MBio*, 8(3), e00374-17.
 88. Jain, P. K., & Jain, A. P. (2016). Effect of lichens on dermal wound healing with possible *Parmotrema reticulatum* antioxidant and antibacterial mechanism. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(1), 10-14.
 89. Jakobsen, T. H., Bjarnsholt, T., Jensen, P. Ø., Givskov, M., & Høiby, N. (2013). Targeting quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: current and emerging inhibitors. *Future microbiology*, 8(7), 901-921.
 90. Jayakumar, K., Babu, P. G., Theja, C. P., Kumari, S. G., Veena, D., & Paramageetham, C. H. (2016). Biomedical Potentials of *Talaromyces tratensis*-A New Endolichenic Fungi Associated with High Altitude Curstose Lichen *Lecanora* sp. *Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*, 7(5), 1412-1419.
 91. Jayaraman, A., & Wood, T. K. (2008). Bacterial quorum sensing: signals, circuits, and implications for biofilms and disease. *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 10, 145-167.
 92. Jensen, P. Ø., Bjarnsholt, T., Phipps, R., Rasmussen, T. B., Calum, H., Christoffersen, L., ... & Høiby, N. (2007). Rapid necrotic killing of polymorphonuclear leukocytes is caused by quorum-sensing-controlled production of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*, 153(5), 1329-1338.
 93. John, V., & Türk, A. (2017). Türkiye Likenleri Listesi (A checklist of the lichens of Turkey). *İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayını*.
 94. Kalia, V. C. (2013). Quorum sensing inhibitors: an overview. *Biotechnology advances*, 31(2), 224-245.

95. Kalinowska, R., Bačkor, M., & Pawlik-Skowrońska, B. (2015). Parietin in the tolerant lichen *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. increases protection of Trebouxia photobionts from cadmium excess. *Ecological Indicators*, 58, 132-138.
96. Kang, D., Turner, K. E., & Kirienko, N. V. (2018). PqsA promotes pyoverdine production via biofilm formation. *Pathogens*, 7(1), 3.
97. Karagoz, A., Dogruoz, N., Zeybek, Z., & Aslan, A. (2009). Antibacterial activity of some lichen extracts. *J Med Plants Res*, 3(12), 1034-1039.
98. Karatan, E., & Watnick, P. (2009). Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms. *Microbiology and molecular biology reviews*, 73(2), 310-347.
99. Kellogg, J. J., & Raja, H. A. (2017). Endolichenic fungi: a new source of rich bioactive secondary metabolites on the horizon. *Phytochemistry reviews*, 16(2), 271-293.
100. Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews Drug discovery*, 3(11), 935-949.
101. Koh, K. H., & Tham, F. Y. (2011). Screening of traditional Chinese medicinal plants for quorum-sensing inhibitors activity. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 44(2), 144-148.
102. Koh, C. L., Sam, C. K., Yin, W. F., Tan, L. Y., Krishnan, T., Chong, Y. M., & Chan, K. G. (2013). Plant-derived natural products as sources of anti-quorum sensing compounds. *Sensors*, 13(5), 6217-6228.
103. Komaty, S., Letertre, M., Dang, H. D., Jungnickel, H., Laux, P., Luch, A., ... & Tomasi, S. (2016). Sample preparation for an optimized extraction of localized metabolites in lichens: Application to Pseudevernia furfuracea. *Talanta*, 150, 525-530.
104. Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870-1874.
105. Lagarde, A., Millot, M., Pinon, A., Liagre, B., Girardot, M., Imbert, C., ... & Mambu, L. (2019). Antiproliferative and antibiofilm potentials of endolichenic fungi

- associated with the lichen *Nephroma laevigatum*. *Journal of applied microbiology*, 126(4), 1044-1058.
106. LaSarre, B., & Federle, M. J. (2013). Exploiting quorum sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 77(1), 73-111.
 107. Latkowska, E., Bober, B., Chrapusta, E., Adamski, M., Kaminski, A., & Bialczyk, J. (2015). Secondary metabolites of the lichen *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. and their presence in spruce (*Picea abies* (L.) H. Karst.) bark. *Phytochemistry*, 118, 116-123.
 108. Lavecchia, A., & Di Giovanni, C. (2013). Virtual screening strategies in drug discovery: a critical review. *Current medicinal chemistry*, 20(23), 2839-2860.
 109. Lavecchia, A., & Cerchia, C. (2016). *In silico* methods to address polypharmacology: current status, applications and future perspectives. *Drug Discovery Today*, 21(2), 288-298.
 110. Le Pogam, P., Schinkovitz, A., Legouin, B., Le Lamer, A. C., Boustie, J., & Richomme, P. (2015). Matrix-free UV-laser desorption ionization mass spectrometry as a versatile approach for accelerating dereplication studies on lichens. *Analytical chemistry*, 87(20), 10421-10428.
 111. Lee, J., Wu, J., Deng, Y., Wang, J., Wang, C., Wang, J., ... & Zhang, L. H. (2013). A cell-cell communication signal integrates quorum sensing and stress response. *Nature chemical biology*, 9(5), 339.
 112. Lee, J., & Zhang, L. (2015). The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein & cell*, 6(1), 26-41.
 113. Lennette, E. H., Balows, A., & Hausler Jr, W. J. (1985). Shadomy HJ, eds. *Manual of clinical microbiology*. 4th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology.
 114. Lequette, Y., & Greenberg, E. P. (2005). Timing and localization of rhamnolipid synthesis gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Journal of bacteriology*, 187(1), 37-44.
 115. Lister, P. D., Wolter, D. J., & Hanson, N. D. (2009). Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical microbiology reviews*, 22(4), 582-610.
 116. Liu, F., Yang, J., Han, L., & Guo, S. (2017). Biocontrol Activity of Three

- Endolichenic Fungi from *Peltigera*. *Advances in Microbiology*, 6(4), 91-97
117. López-Vallejo, F., Caulfield, T., Martínez-Mayorga, K., A Giulianotti, M., Nefzi, A., A Houghten, R., & L Medina-Franco, J. (2011). Integrating virtual screening and combinatorial chemistry for accelerated drug discovery. *Combinatorial chemistry & high throughput screening*, 14(6), 475-487.
 118. Lyczak, J. B., Cannon, C. L., & Pier, G. B. (2002). Lung infections associated with cystic fibrosis. *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 194-222.
 119. Li, H., Robertson, A. D., & Jensen, J. H. (2005). Very fast empirical prediction and rationalization of protein pKa values. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 61(4), 704-721.
 120. Li, Y. H., & Tian, X. (2012). Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms. *Sensors*, 12(3), 2519-2538.
 121. Li, X. B., Zhou, Y. H., Zhu, R. X., Chang, W. Q., Yuan, H. Q., Gao, W., ... & Lou, H. X. (2015). Identification and biological evaluation of secondary metabolites from the endolichenic fungus *Aspergillus versicolor*. *Chemistry & biodiversity*, 12(4), 575-592.
 122. Li, B., & Webster, T. J. (2018). Bacteria antibiotic resistance: New challenges and opportunities for implant-associated orthopedic infections. *Journal of Orthopaedic Research®*, 36(1), 22-32.
 123. Llano, G. A. (1948). Economic uses of lichens. *Economic Botany*, 2(1), 15.
 124. Maduranga, K., Attanayake, R. N., Santhirasegaram, S., Weerakoon, G., & Paranagama, P. A. (2018). Molecular phylogeny and bioprospecting of Endolichenic Fungi (ELF) inhabiting in the lichens collected from a mangrove ecosystem in Sri Lanka. *PloS one*, 13(8).
 125. Malhotra, S., Subban, R. A. V. I., & Singh, A. (2008). Lichens-role in traditional medicine and drug discovery. *The Internet Journal of Alternative Medicine*, 5(2), 1-5.
 126. Mamiatis, T., Fritsch, E. F., Sambrook, J., & Engel, J. (1985). Molecular cloning—A laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory. 1982, 545 S., 42\$. *Acta Biotechnologica*, 5(1), 104-104.

127. McDougald, D., Klebensberger, J., Tolker-Nielsen, T., Webb, J. S., Conibear, T., Rice, S. A., ... & Kjelleberg, S. (2008). *Pseudomonas aeruginosa*: a model for biofilm formation. *Pseudomonas: Model organism, pathogen, cell factory*, 215-253.
128. Mejía, L. C., Rojas, E. I., Maynard, Z., Van Bael, S., Arnold, A. E., Hebbar, P., ... & Herre, E. A. (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control*, 46(1), 4-14.
129. Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, 7(2), 146-157.
130. Miadlikowska, J., & Lutzoni, F. (2004). Phylogenetic classification of peltigeralean fungi (Peltigerales, Ascomycota) based on ribosomal RNA small and large subunits. *American Journal of Botany*, 91(3), 449-464.
131. Miller, D. W., & Dill, K. A. (1997). Ligand binding to proteins: the binding landscape model. *Protein science*, 6(10), 2166-2179.
132. Miller, M. B., & Bassler, B. L. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, 55(1), 165-199.
133. Moerman, D. E. (1998). *Native american ethnobotany*. Timber press.
134. Molnár, K., & Farkas, E. (2010). Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: a review. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 65(3-4), 157-173.
135. Moore, T. J., Zhang, H., Anderson, G., & Alexander, G. C. (2018). Estimated costs of pivotal trials for novel therapeutic agents approved by the US Food and Drug Administration, 2015-2016. *JAMA internal medicine*, 178(11), 1451-1457.
136. Muggia, L., Fleischhacker, A., Kopun, T., & Grube, M. (2016). Extremotolerant fungi from alpine rock lichens and their phylogenetic relationships. *Fungal Diversity*, 76, 119.
137. Mukherjee, S., Moustafa, D., Smith, C. D., Goldberg, J. B., & Bassler, B. L. (2017). The RhlR quorum-sensing receptor controls *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis and biofilm development independently of its canonical homoserine lactone autoinducer. *PLoS pathogens*, 13(7), e1006504.
138. Nardemir, G., Yanmis, D., Alpsoy, L., Gulluce, M., Agar, G., & Aslan, A. (2015). Genotoxic, antigenotoxic and antioxidant properties of methanol extracts obtained from *Peltigera horizontalis* and *Peltigera praetextata*. *Toxicology and Industrial*

Health, 31(7), 602-613.

139. Nash, T. H. (Ed.). (1996). *Lichen biology*. Cambridge University Press.
140. Negi, H. R., & Kareem, A. (1996). Lichens: The unsung heroes. *Amrut*, 1, 3-6.
141. Neufeld, B. H., Neufeld, M. J., Lutzke, A., Schweickart, S. M., & Reynolds, M. M. (2017). Metal–Organic Framework Material Inhibits Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Advanced Functional Materials*, 27(34), 1702255.
142. Nithyanand, P., Shafreen, R. M. B., Muthamil, S., & Pandian, S. K. (2015a). “Usnic acid, a Lichen Secondary Metabolite Inhibits Group A *Streptococcus* Biofilms”, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 107(1), 263-272.
143. Nithyanand, P., Shafreen, R. M. B., Muthamil, S., & Pandian, S. K. (2015b). “Usnic acid Inhibits Biofilm Formation and Virulent Morphological Traits of *Candida albicans*”, *Microbiological research*, 179, 20-28.
144. O’Loughlin, C. T., Miller, L. C., Siryaporn, A., Drescher, K., Semmelhack, M. F., & Bassler, B. L. (2013). A quorum-sensing inhibitor blocks *Pseudomonas aeruginosa* virulence and biofilm formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(44), 17981-17986.
145. Oettl, S. K., Hubert, J., Nuzillard, J. M., Stuppner, H., Renault, J. H., & Rollinger, J. M. (2014). Dereplication of depsides from the lichen *Pseudevernia furfuracea* by centrifugal partition chromatography combined to ¹³C nuclear magnetic resonance pattern recognition. *Analytica chimica acta*, 846, 60-67.
146. Oliver, A., Mulet, X., López-Causapé, C., & Juan, C. (2015). The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Drug Resistance Updates*, 21, 41-59.
147. Oran, S., Sahin, S., Sahinturk, P., Ozturk, S., & Demir, C. (2016). Antioxidant and antimicrobial potential, and HPLC analysis of stictic and usnic acids of three *Usnea* species from Uludag mountain (Bursa, Turkey). *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 15(2), 527.
148. Ou-Yang, S. S., Lu, J. Y., Kong, X. Q., Liang, Z. J., Luo, C., & Jiang, H. (2012). Computational drug discovery. *Acta Pharmacologica Sinica*, 33(9), 1131-1140.
149. Özenoğlu, S., Aydoğdu, G., Dinçsoy, A. B., Taghidizaj, A. A., Derici, K., Yılmaz, E., ... & Cansaran-Duman, D. (2013). Liken sekonder bileşiklerinin farklı insan kanser hücre tipleri üzerine antikanserojenik etkisi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 70(4), 215-26.

150. Padiyara, P., Inoue, H., & Sprenger, M. (2018). Global governance mechanisms to address antimicrobial resistance. *Infectious Diseases: Research and Treatment*, 11, 1178633718767887.
151. Pang, B., Armbruster, C. E., Foster, G., Learman, B. S., Gandhi, U., & Swords, W. E. (2018). Autoinducer 2 (AI-2) production by nontypeable *Haemophilus influenzae* 86-028NP promotes expression of a predicted glycosyltransferase that is a determinant of biofilm maturation, prevention of dispersal, and persistence in vivo. *Infection and immunity*, 86(12), e00506-18.
152. Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*, 37(1), 177-192.
153. Papenfort, K., & Bassler, B. L. (2016). Quorum sensing signal–response systems in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 576.
154. Paranagama, P. A., Wijeratne, E. K., Burns, A. M., Marron, M. T., Gunatilaka, M. K., Arnold, A. E., & Gunatilaka, A. L. (2007). Heptaketides from *Corynespora* sp. inhabiting the cavern beard lichen, *Usnea cavernosa*: first report of metabolites of an endolichenic fungus. *Journal of natural products*, 70(11), 1700-1705.
155. Pathak A., Shukla S.K., Pandey A., Mishra R. K., Kumar R., Dikshit A. 2015. “In Vitro Antibacterial Activity of Ethno Medicinally Used Lichens Against Three Wound Infecting Genera of Enterobacteriaceae”, Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci,1-8.
156. Park, S. Y., Jang, S. H., Oh, S. O., Kim, J. A., & Hur, J. S. (2014). An easy, rapid, and cost-effective method for DNA extraction from various lichen taxa and specimens suitable for analysis of fungal and algal strains. *Mycobiology*, 42(4), 311-316.
157. Paudel, B., Datta Bhattarai, H., Prasad Pandey, D., Seoun Hur, J., Gyu Hong, S., Kim, I. C., & Han Yim, J. (2012). Antioxidant, antibacterial activity and brine shrimp toxicity test of some mountainous lichens from Nepal. *Biological research*, 45(4), 387-391.
158. Pearson, J. P., Pesci, E. C., & Iglewski, B. H. (1997). Roles of *Pseudomonas aeruginosa* las and rhl quorum-sensing systems in control of elastase and rhamnolipid biosynthesis genes. *Journal of bacteriology*, 179(18), 5756-5767.

159. Pesci, E. C., Pearson, J. P., Seed, P. C., & Iglewski, B. H. (1997). Regulation of las and rhl quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of bacteriology*, 179(10), 3127-3132.
160. Perez-Llano, G. A. (1944). Lichens their biological and economic significance. *The Botanical Review*, 10(1), 1.
161. Pérez-Pérez, M., Jorge, P., Pérez Rodríguez, G., Pereira, M. O., & Lourenço, A. (2017). Quorum sensing inhibition in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: new insights through network mining. *Biofouling*, 33(2), 128-142.
162. Plsíková, J., Stepankova, J., Kasparkova, J., Brabec, V., Backor, M., & Kozurkova, M. 2014. "Lichen Secondary Metabolites as DNA-Interacting Agents", *Toxicology In Vitro*, 28(2), 182-186.
163. Polat, Z., Aydın, E., Türkez, H., & Aslan, A. 2016. "In vitro Risk Assessment of Usnic Acid", *Toxicology and industrial health*, 32(3), 468-475.
164. Prada-Gracia, D., Huerta-Yépez, S., & Moreno-Vargas, L. M. (2016). Application of computational methods for anticancer drug discovery, design, and optimization. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México (English Edition)*, 73(6), 411-423.
165. Purvis, O. W. (1992). *Lichen Flora of Great Britain and Ireland*. Natural History Museum Publications in association with the British Lichen Society.
166. Radić, N., & Štrukelj, B. (2012). Endophytic fungi—The treasure chest of antibacterial substances. *Phytomedicine*, 19(14), 1270-1284.
167. Rasamiravaka, T., Labtani, Q., Duez, P., & El Jaziri, M. (2015). The formation of biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*: a review of the natural and synthetic compounds interfering with control mechanisms. *BioMed research international*, 2015.
168. Rasmussen, T. B., & Givskov, M. (2006). Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. *International Journal of Medical Microbiology*, 296(2-3), 149-161.
169. Richardson, D. H. S. (1975). The Vanishing Lichens: Their History, Biology and Importance. *The Lichenologist*, 7(2), 193-194.
170. Rutherford, S. T., & Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(11), a012427.

171. Ryan, B. D., Lumbsch, H. T., Messuti, M. I., Printzen, C., Śliwa, L., Nash, T. H., ... & Bungartz, F. (2004). Lichen flora of the Greater Sonoran Desert region. *Lichens Unlimited*, 357.
172. Rybtke, M., Hultqvist, L. D., Givskov, M., & Tolker-Nielsen, T. (2015). *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: community structure, antimicrobial tolerance and immune response. *Journal of molecular biology*, 427(23), 3628-3645.
173. Sadikot, R. T., Blackwell, T. S., Christman, J. W., & Prince, A. S. (2005). Pathogen–host interactions in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 171(11), 1209-1223.
174. Saeed, A. (2016). Isocoumarins, miraculous natural products blessed with diverse pharmacological activities. *European journal of medicinal chemistry*, 116, 290-317.
175. Salmaso, V. (2018). Exploring protein flexibility during docking to investigate ligand-target recognition. Ph D. Thesis, University of Padova, Padova.
176. Salmaso, V., & Moro, S. (2018). Bridging molecular docking to molecular dynamics in exploring ligand-protein recognition process: An overview. *Frontiers in pharmacology*, 9, 923.
177. Samanthi, K. A. U., Wickramaarachchi, S., Wijeratne, E. M. K., & Paranagama, P. A. (2015). Two new antioxidant active polyketides from *Penicillium citrinum*, an endolichenic fungus isolated from *Parmotrema* species in Sri Lanka. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 43, 2.
178. Sauer, K., Camper, A. K., Ehrlich, G. D., Costerton, J. W., & Davies, D. G. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *Journal of bacteriology*, 184(4), 1140-1154.
179. Sastry, G.M., Adzhigirey, M., Day, T., Annabhimoju, R. & Sherman, W. Protein and ligand preparation: parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. *Journal of computer-aided molecular design* 27, 221-234 (2013).
180. Savale, S. A., Pol, C. S., Khare, R., Verma, N., Gaikwad, S., Mandal, B., & Behera, B. C. (2016). Radical scavenging, prolyl endopeptidase inhibitory, and antimicrobial potential of a cultured Himalayan lichen *Cetrelia olivetorum*. *Pharmaceutical biology*, 54(4), 692-700.
181. Schinkovitz, A., Kaur, A., Urban, E., Zehl, M., Páchníková, G., Wang, Y., ... & Krupitza, G. (2014). Cytotoxic constituents from *Lobaria scrobiculata* and a

- comparison of two bioassays for their evaluation. *Journal of natural products*, 77(4), 1069-1073.
182. Schrödinger Release 2015-4 : LigPrep, version 3.6, Schrödinger, LLC, New York, NY. (2015).
 183. Scoffone, V. C., Trespidi, G., Chiarelli, L. R., Barbieri, G., & Buroni, S. (2019). Quorum sensing as antivirulence target in cystic fibrosis pathogens. *International journal of molecular sciences*, 20(8), 1838.
 184. Sesal, C., Çobanoğlu, G., Karaltı, İ., & Açıkgöz, B. (2016). In vitro antimicrobial potentials of four *Ramalina* lichen species from Turkey. *Current Research in Environmental and Applied Mycology*, 6(3), 202-209.
 185. Shelley, J. C., Cholleti, A., Frye, L. L., Greenwood, J. R., Timlin, M. R., & Uchimaya, M. (2007). Epik: a software program for pK a prediction and protonation state generation for drug-like molecules. *Journal of computer-aided molecular design*, 21(12), 681-691.
 186. Shrestha, G., & Clair, L. L. S. (2013). Lichens: a promising source of antibiotic and anticancer drugs. *Phytochemistry reviews*, 12(1), 229-244.
 187. Shrestha, G., Thompson, A., Robison, R., & St. Clair, L. L. (2016). *Letharia vulpina*, a vulpinic acid containing lichen, targets cell membrane and cell division processes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmaceutical biology*, 54(3), 413-418.
 188. Shrivastava, S. R., Shrivastava, P. S., & Ramasamy, J. (2018). World health organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. *Journal of Medical Society*, 32(1), 76.
 189. Shukla, V., Patel, D. K., Bajpai, R., Semwal, M., & Upreti, D. K. (2016). Ecological implication of variation in the secondary metabolites in Parmelioid lichens with respect to altitude. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(2), 1391-1397.
 190. Silby, M. W., Winstanley, C., Godfrey, S. A., Levy, S. B., & Jackson, R. W. (2011). *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. *FEMS microbiology reviews*, 35(4), 652-680.
 191. Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., & Lowe, E. W. (2014). Computational methods in drug discovery. *Pharmacological reviews*, 66(1), 334-395.

192. Singh, B. N., Upreti, D. K., Gupta, V. K., Dai, X. F., & Jiang, Y. (2017). Endolichenic fungi: a hidden reservoir of next generation biopharmaceuticals. *Trends in biotechnology*, 35(9), 808-813.
193. Smith, A. L. (1921). *Lichens*. University Press.
194. Smith, C., Song, H., & You, L. (2008). Signal discrimination by differential regulation of protein stability in quorum sensing. *Journal of molecular biology*, 382(5), 1290-1297.
195. Smith, W. D., Bardin, E., Cameron, L., Edmondson, C. L., Farrant, K. V., Martin, I., ... & Alton, E. W. (2017). Current and future therapies for *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis. *FEMS microbiology letters*, 364(14).
196. Song, C. M., Lim, S. J., & Tong, J. C. (2009). Recent advances in computer-aided drug design. *Briefings in bioinformatics*, 10(5), 579-591.
197. Spaulding, C. N., Klein, R. D., Schreiber, H. L., Janetka, J. W., & Hultgren, S. J. (2018). Precision antimicrobial therapeutics: the path of least resistance?. *NPJ biofilms and microbiomes*, 4(1), 1-7.
198. Stojanović, G., Zrnzević, I., Zlatanović, I., Stanković, M., Stankov Jovanović, V., Mitić, V., & Đorđević, A. (2020). Chemical profile and biological activities of *Peltigera horizontalis* (Hudson) Baumg. thallus and apothecia extracts. *Natural product research*, 34(4), 549-552.
199. Studzińska-Sroka, E., Piotrowska, H., Kucińska, M., Murias, M., & Bylka, W. (2016). Cytotoxic activity of physodic acid and acetone extract from *Hypogymnia physodes* against breast cancer cell lines. *Pharmaceutical biology*, 54(11), 2480-2485.
200. Storz, M. P., Maurer, C. K., Zimmer, C., Wagner, N., Brengel, C., de Jong, J. C., ... & Hartmann, R. W. (2012). Validation of PqsD as an anti-biofilm target in *Pseudomonas aeruginosa* by development of small-molecule inhibitors. *Journal of the American Chemical Society*, 134(39), 16143-16146.
201. Suryanarayanan, T. S., & Thirunavukkarasu, N. (2017). Endolichenic fungi: the lesser known fungal associates of lichens. *Mycology*, 8(3), 189-196.
202. Swinney, D. C., & Anthony, J. (2011). How were new medicines discovered?. *Nature reviews Drug discovery*, 10(7), 507-519.

203. Tacconelli, E., Magrini, N., Kahlmeter, G., & Singh, N. (2017). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. *World Health Organization*, 27, 318-327.
204. Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., ... & Ouellette, M. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318-327.
205. Taylor, P. K., Yeung, A. T., & Hancock, R. E. (2014). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: towards the development of novel anti-biofilm therapies. *Journal of Biotechnology*, 191, 121-130.
206. Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic acids research*, 22(22), 4673-4680.
207. Türk, Ö. A., Halıcı, G. M., Demirel, H. H., Candan, M., & Yavuz, Y. (2015). The lichenized fungus genus *Peltigera* in Turkey. *Biological Diversity and Conservation*, 8(2), 146-156.
208. U'Ren, J. M., Lutzoni, F., Miadlikowska, J., & Arnold, A. E. (2010). Community analysis reveals close affinities between endophytic and endolichenic fungi in mosses and lichens. *Microbial ecology*, 60(2), 340-353.
209. U'Ren, J. M., Lutzoni, F., Miadlikowska, J., Laetsch, A. D., & Arnold, A. E. (2012). Host and geographic structure of endophytic and endolichenic fungi at a continental scale. *American Journal of Botany*, 99(5), 898-914.
210. Upreti, D. K., & Chatterjee, S. (2007). Significance of lichens and their secondary metabolites: a review. *Fungi*, 2, 169-188.
211. van Belkum, A., Bachmann, T. T., Lüdke, G., Lisby, J. G., Kahlmeter, G., Mohess, A., ... & Moran-Gilad, J. (2019). Developmental roadmap for antimicrobial susceptibility testing systems. *Nature Reviews Microbiology*, 17(1), 51-62.
212. Van Drie, J. H. (2007). Computer-aided drug design: the next 20 years. *Journal of computer-aided molecular design*, 21(10-11), 591-601.
213. Vartia, K. O. (1950). On the medicinal use of lichens. *Academic dissertation. Helsinki*, 1, 1-21.

214. Wang, L. S., & Qian, Z. G. (2013). Illustrated medicinal lichens of China. *Yunnan Science and Technology Press, Yunnan*, 1-176.
215. Waters, C. M., & Bassler, B. L. (2005). Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 21, 319-346.
216. Wei, X. L., Wang, X. Y., Koh, Y. J., & Hur, J. S. (2009). Taxonomic study of *Peltigera* (Peltigeraceae, Ascomycota) in Korea. *Mycobiology*, 37(3), 189-196.
217. Williams, P. (2017). Strategies for inhibiting quorum sensing. *Emerging Topics in Life Sciences*, 1(1), 23-30.
218. Whitchurch, C. B., Tolker-Nielsen, T., Ragas, P. C., & Mattick, J. S. (2002). Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. *Science*, 295(5559), 1487-1487.
219. Whiteley, M., Diggle, S. P., & Greenberg, E. P. (2017). Progress in and promise of bacterial quorum sensing research. *Nature*, 551(7680), 313-320.
220. World Health Organization (WHO). (2018). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. February 27, 2017.
221. Xu, M., Heidmarsson, S., Olafsdottir, E. S., Buonfiglio, R., Kogej, T., Omarsdottir, S. 2016. "Secondary metabolites from cetrarioid lichens: chemotaxonomy, biological activities and pharmaceutical potential", *Phytomedicine*, 23(5), 441-459.
222. Yang, L., Barken, K. B., Skindersoe, M. E., Christensen, A. B., Givskov, M., & Tolker-Nielsen, T. (2007). Effects of iron on DNA release and biofilm development by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*, 153(5), 1318-1328.
223. Yang, Y., Bhosle, S. R., Yu, Y. H., Park, S. Y., Zhou, R., Taş, İ., ... & Ha, H. H. (2018). Tumidulin, a lichen secondary metabolite, decreases the stemness potential of colorectal cancer cells. *Molecules*, 23(11), 2968.
224. Yang, L., Rybtke, M. T., Jakobsen, T. H., Hentzer, M., Bjarnsholt, T., Givskov, M., & Tolker-Nielsen, T. (2009). Computer-aided identification of recognized drugs as *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing inhibitors. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(6), 2432-2443.
225. Yang, Y., Park, S. Y., Nguyen, T. T., Yu, Y. H., Van Nguyen, T., Sun, E. G., ... & Ha, H. H. (2015). Lichen secondary metabolite, physciosporin, inhibits lung cancer cell motility. *PloS one*, 10(9).

226. Yılmaz, M., Türk, A. Ö., Tay, T., & Kıvanç, M. (2004). The antimicrobial activity of extracts of the lichen *Cladonia foliacea* and its (–)-usnic acid, atranorin, and fumarprotocetraric acid constituents. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59(3-4), 249-254.
227. Zhang, J. T., & Liang, X. (2014). One-way ANOVA for functional data via globalizing the pointwise F-test. *Scandinavian Journal of Statistics*, 41(1), 51-71.
228. Zhao, H., Wang, G. Q., Tong, X. P., Chen, G. D., Huang, Y. F., Cui, J. Y., ... & Gao, H. (2014). Diphenyl ethers from *Aspergillus* sp. and their anti-A β 42 aggregation activities. *Fitoterapia*, 98, 77-83.
229. Zúñiga, C., Leiva, D., Ramírez-Fernández, L., Carú, M., Yahr, R., & Orlando, J. (2015). Phylogenetic diversity of *Peltigera* cyanolichens and their photobionts in southern Chile and Antarctica. *Microbes and environments*, ME14156.

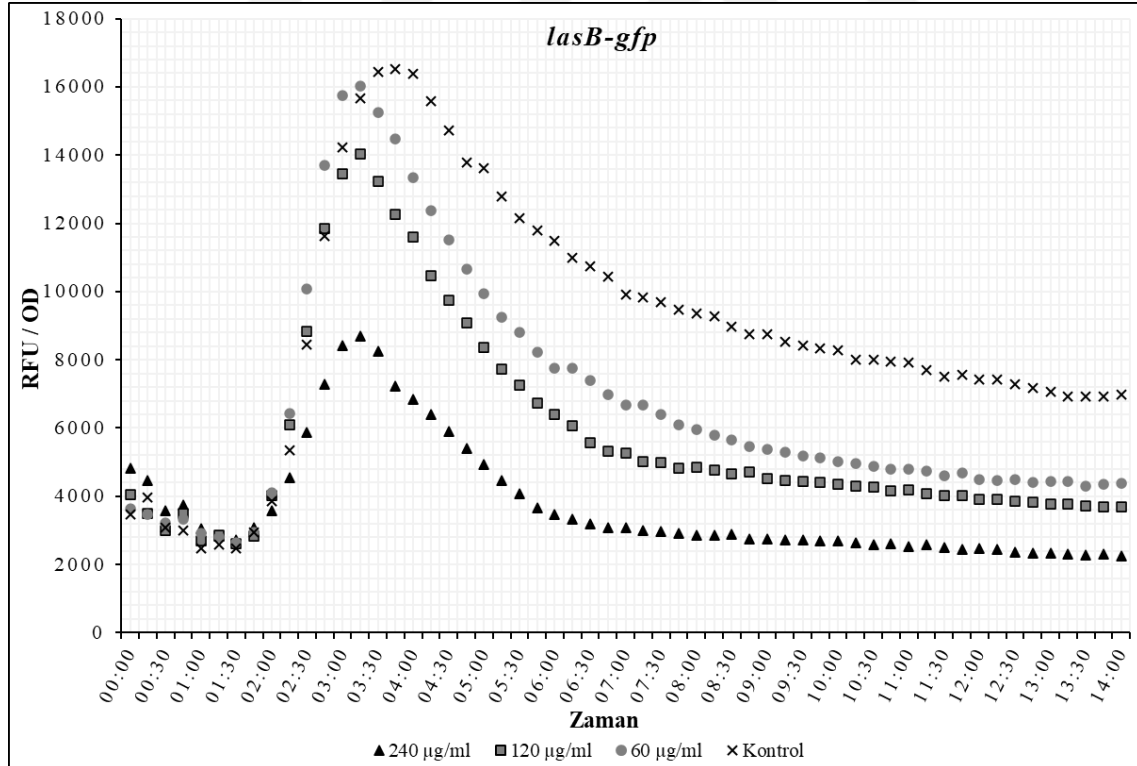
EKLER

EK - 1

Absorbans ve Floresans Grafiklerinin Yorumu

Tez çalışmasında verilen sonuç grafikleri ile ilgili açıklama örnek grafik üzerinde EK 1-Şekil 1 üzerinde belirtilmiştir. Çalışmada yer alan tüm grafikler, uygulama yapılmamış bakteri suşlarının bulunduğu kontrol grupları ile birlikte verilmiştir. Absorbans grafikleri OD 450 nm için yapılan ölçümleri göstermektedir ve kontrol grubuna göre düşük absorbans büyümesine sahip olan örnekler gerçekleşen inhibisyon miktarını belirtmektedir. Floresans ölçümleri, biyosensör suşlardaki QS bağlı promotör kaynaklı GFP ekspresyonunu belirtmektedir (Eksitasyon: 485 nm, Emisyon: 535 nm). Kontrol grubuna göre düşük floresans miktarı QS inhibisyonu miktarını kantitatif olarak göstermektedir.

“X” (×) çarpı işaretli eğriler, özüt veya fraksiyon uygulaması yapılmamış kontrol gruplarını; (▲), (■) ve (●) işaretli eğriler ise sırasıyla seri mikrodilüsyon halinde uygulanan özütlerin gruplarını ifade etmektedir.



EK 1-Şekil 1. Grafiklerin yorumlanabilmesi için verilen şablon grafik.

EK - 2

İstatiksel Analiz

Peltigera cinsi likenlerin ve izole edilen ELF'lerin özütlerinin *P. aeruginosa* QS mekanizması (*lasB-gfp*, *rhlA-gfp* ve *pqsA-gfp*) ve anti-biyofilm etkinlik testlerinde uygulanan özüt doz değişkenlerinin farklılıkları için tek yönlü varyans analizi ANOVA ve Tukey testi birlikte gerçekleştirilmiş ve analizleri için SPSS programı yazılımından yararlanılmıştır (Zhang ve Liang, 2014). $P < 0.05$ olan değerler, istatiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

P. aeruginosa las sisteminin istatiksel analizinde uygulanan tüm dozlar hem kendi aralarında hem de kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).

P. aeruginosa rhl sisteminin istatiksel analizinde uygulanan tüm dozlar hem kendi aralarında hem de kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).

P. aeruginosa pqs sisteminin istatiksel analizinde uygulanan tüm dozlar hem kendi aralarında hem de kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).

Anti-biyofilm testlerin istatiksel analizlerinde uygulanan tüm dozlar hem kendi aralarında hem de kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).

Tez çalışmamızda elde edilen *in vitro* inhibisyon skorları değerlendirildiğinde, elde edilen istatiksel analizlerle eşlenik olarak tüm deney uygulamalarında liken örnekleri için 120 µg/ml'lik ilk dozun ve ELF örnekleri için 240 µg/ml'lik ilk dozun en başarılı anti-QS doz değerleri oldukları saptanmıştır. Bütün deney uygulamalarında likenler için 120 µg/ml'lik ve ELF'ler için 240 µg/ml'lik doz değerleri baz alınarak gerçekleştirilen istatiksel analizlerin sonucunda anti-biyofilm etkinliği ile *P. aeruginosa* QS mekanizması sistemlerinin kendi aralarında birbirlerine göre anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$).

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Arhun Ali BALKAN
Yazışma Adresi : Rami Cuma Mahallesi, Ayten Sokak,
Naşıtbey Apartmanı, No:17, Daire:3,
Rami/Eyüpsultan/İSTANBUL
Doğum Tarihi ve Yeri : 28.06.1994 Bakırköy/İstanbul
E-posta : arhunali@gmail.com
Öğrenim Durumu : Yüksek Lisans

Derece	Alan	Kurum	Mezuniyet Yılı
Ortaöğretim	Sayısal	Şile Oya - Ali Osman Keçici Anadolu Öğretmen Lisesi	2012
Lisans	Biyoloji Öğretmenliği	Marmara Üniversitesi	2017

Yayınlar

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

Poster Sunumu - Mart 2020 - 3. Uluslararası Avrasya Biyolojik ve Kimyasal Bilimler Konferansı - “Investigation of Anti-Quorum Sensing and Anti-Biofilm Activities on *Pseudomonas aeruginosa* of *Peltigera* Species by Lichen and Endolichenic Fungus Specimens *in vitro* and *in silico* methods”

Poster Sunumu - Mart 2020 - 3. Uluslararası Avrasya Biyolojik ve Kimyasal Bilimler Konferansı - “Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing and Biofilm by Endolichenic Fungi Extracts from *Peltigera horizontalis* Lichen”

Poster Sunumu - Eylül 2019 - Uluslararası 2. Yeşil Biyoteknoloji Kongresi - “Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing by *Hypogymnia tubulosa* Lichen and Mycobiont Acetone Extracts”

Poster Sunumu - Eylül 2019 - Uluslararası 2. Yeşil Biyoteknoloji Kongresi - “*Cucurbita*

pepo Ethyl Acetate Extracts against *Staphylococcus aureus* Quorum Sensing and Biofilm”

Poster Sunumu - Aralık 2018 - 6. Uluslararası BAU İlaç Dizayn Kongresi - “*In silico* and *in vitro* Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing by Psoromic Acid”

Poster Sunumu - Aralık 2018 - 6. Uluslararası BAU İlaç Dizayn Kongresi - “Norlichexanthone against *Pseudomonas aeruginosa las* and *rhl* QS Systems”

Poster Sunumu - Aralık 2018 - 6. Uluslararası BAU İlaç Dizayn Kongresi - “Biofilm and pqs System Inhibition Properties of Norlichexanthone against *Pseudomonas aeruginosa*”

Poster Sunumu - Kasım 2018 - Uluslararası İVEK BİO Kongresi - “Anti-QS and Anti-Biofilm Activities of *Cucurbita pepo* Leaf Extracts against *Pseudomonas aeruginosa*”

Poster Sunumu - Kasım 2018 - Uluslararası 38. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Kongresi - “*In silico* and *in vitro* Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing by Ergosterol”

Poster Sunumu - Kasım 2018 - Uluslararası 38. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Kongresi - “Quorum Sensing Potential of *Halomonas pantelleriensis* on *Pseudomonas aeruginosa*”

Poster Sunumu - Kasım 2018 - Uluslararası 38. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Kongresi - “Zeytin Yapraklarından Elde Edilen Aseton ve Etil Asetat Özütlerinin *Pseudomonas aeruginosa* Üzerine Anti-Quorum Sensing ve Anti-Biyofilm Etkisi”

Proje Deneyimi

Bursiyer - 214S122, Acne Vulgaris Hastalığının Etmenlerinin *Propionibacterium Acnes* Bakterisinin Liken Türlerinden İzole Edilen Sekonder Metabolitler Kullanılarak Biyofilm Oluşturulmasının Engellenmesi, Uluslararası, Burslu, Sonuçlandı, ARDEB, SBAG - Sağlık Bilimleri Araştırma Destek Grubu, Projeye Katılma/Ayrılma Tarihleri: 11.12.2017 - 15.04.2018, Proje Başlangıç/Bitiş Tarihleri: 15.04.2015 - 15.04.2018.

Bursiyer - 216S885, Türk Liken Biyokaynakları Kullanılarak Bakteriyel Quorum Sensing İnhibitörü Yeni Antimikrobiyal Bileşenlerin Geliştirilmesi ve Sanayiye Aktarılması, Uluslararası, BİDEB Burslusu, Yürürlükte, ARDEB, SBAG - Sağlık Bilimleri Araştırma Destek Grubu, Projeye Katılma/Ayrılma Tarihleri: 12.09.2019 - 01.11.2019, Proje Başlangıç/Bitiş Tarihleri: 01.11.2017 - 01.11.2019.

Bursiyer - 218S752, Akciğer Kanseri İmmün Kontrol Noktası (Checkpoint) İle Çoğunluğu Algılama Sistemi (QS) Arasındaki Potansiyel İlişkinin Liken Sekonder Metabolitleriyle İnhibisyonun Araştırılması, Uluslararası, Burslu, Yürürlükte, ARDEB, SBAG - Sağlık Bilimleri Araştırma Destek Grubu, Projeye Katılma/Ayrılma Tarihleri: 04.11.2019 - 04.02.2020, Proje Başlangıç/Bitiş Tarihleri: 15.09.2019 - 15.09.2021.

Araştırmacı - FEN-C-YLP-130319-0067 no'lu Marmara Üniversitesi BAPKO projesi. *Peltigera* Cinsine Ait Liken ve Endolikenik Fungus Örneklerinin *Pseudomonas aeruginosa* Üzerine Anti- Quorum Sensing ve Anti-Biyofilm Etkinliklerinin *in vitro* ve *in siliko* Yöntemlerle İncelenmesi.

Destekler

TÜBİTAK BİDEB - Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı, Burs Almaya Hak Kazandı, 2018 - 2, 01.10.2018 - 30.09.2019.

Staj Deneyimi

Misafir Moleküler Mikrobiyolog - Korean Lichen Research Institute (KoLRI), Sunchon National University, Sunchon/South Korea. 16.07.2018 - 15.08.2018.

Stajyer Biyoloji Öğretmeni - Çapa Fen Lisesi, Milli Eğitim Bakanlığı, İstanbul/Türkiye. 12.07.2016 - 16.06.2017.