

***Tortella tortulosa* (Hedw.) Limpr. Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi**

***Ergin Murat ALTUNER¹, Barbaros ÇETİN², Cumhuri ÇÖKMÜŞ²**

¹Kastamonu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kastamonu

²Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

*Sorumlu yazar: ergin.murat.altuner@gmail.com

Geliş Tarihi: 25.11.2009

Özet

Bu çalışmada, *Tortella tortulosa* (Hedw.) Limpr. özütlerinin antimikrobiyal etkisinin gözlenmesi amaçlanmaktadır. Çalışmada sekiz farklı çözücü (kloroform, benzen, dietil eter, etil alkol, metil alkol, etil asetat, sdH₂O ve 0.5M Tris-HCl tamponu (pH: 8.0)) kullanılarak özütler elde edilmiş ve bunların *in vitro* antimikrobiyal etkileri disk difüzyon testi kullanılarak denenmiştir. Disk difüzyon testi ile elde edilen sonuçlar; minimum inhibisyon konsantrasyonu, minimum bakterisidal konsantrasyonu ve minimum fungisidal konsantrasyonu testleri ile desteklenmiştir. Çalışmada ayrıca sekiz adet referans antibiyotik pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Sonuç olarak, elde edilen özütlerin *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 95071, *Shigella flexneri* (klinik izole) ve *Trichophyton rubrum* (klinik izole) suşlarına karşı etkili olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Tortella tortulosa*, antimikrobiyal aktivite, disk difüzyon testi, MIC, MBC/MFC

Antimicrobial Activity of *Tortella tortulosa* (Hedw.) Limpr. Extracts

Abstract

This study aims to observe the antimicrobial activity of *Tortella tortulosa* (Hedw.) Limpr. extracts. Eight different extraction solvents (chloroform, benzene, diethyl ether, ethyl alcohol, methyl alcohol, ethyl acetate, sdH₂O and 0.5M Tris-HCl buffer (pH:8.0)) were used in the study and all the extracts were investigated for *in vitro* antimicrobial activity by using the disc diffusion method. The results were supported with the minimum inhibitory concentration, the minimum bactericidal concentration and the minimum fungicidal concentration tests. Six reference antibiotics were used as positive controls to compare the results. As a result, the extracts present activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 95071, *Shigella flexneri* (clinical isolate) and *Trichophyton rubrum* (clinical isolate).

Keywords: *Tortella tortulosa*, antimicrobial activity, disc diffusion method, MIC, MBC/MFC

Giriş

Bitkiler, yüzyıllardan beridir çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (Jones, 1996). Günümüzde de birçok gelişmiş ülkede, hastalıkların tedavisinde kullanılan maddelerin %80'inin bitkisel kökenli olduğu göze çarpmaktadır (Baytop, 1999; Keleş ve ark., 2001). Hastalıkların tedavisi için kullanılabilir yeni etken maddeleri keşfetmek amacıyla bilim insanları; bitkilerin antimikrobiyal, antitümoral gibi tıbbi kullanım alanlarını sürekli araştırmaktadır (Rajakaruna ve ark., 2002). Yapılan araştırmalardan biri olan antimikrobiyal aktivite çalışmalarının çok çeşitli kullanım alanları bulunmaktadır. Bitkilerden elde edilen antimikrobiyal maddelerin kullanım alanları ham veya

işlenmiş gıdaların korunmasından, ilaç hammaddesi olarak kullanılmalarına; alternatif tıptan, doğal terapilere kadar uzanmaktadır (Reynolds, 1996; Lis-Balchin ve Deans, 1997).

Bitkiler âlemi altında incelenen Bryofitler, yaklaşık olarak 14,500 türü içeren geniş bir gruptur (Veljic ve ark., 2008). Bryofitleri bazı kuş ve böcekler besin kaynağı olarak kullanırken, diğer birçok canlı besin olarak bunları kullanmamaktadır (Saxena ve Harinder, 2004). Hatta birçok karayosunu bazı çürükçül organizmalara karşı gösterdiği etki sebebiyle uzun yıllar bozulmadan kalabilmektedir.

Antimikrobiyal maddelerin kaynağı olarak yüksek bitkiler çok sık kullanılmasına

rağmen, Bryofitler'in bu amaçla kullanımları yaygın değildir (Basile ve ark., 1998).

Bryofitlerin bir üyesi olan karayosunları, yüzyıllar önce de yaraları iyileştirme ve yaralarda enfeksiyon riskini azaltma amacıyla kullanılmıştır. Çinliler ve Amerika yerlileri çeşitli karayosunu türlerini yaraları iyileştirmek için kullandığı bilinmektedir (University of Michigan, 2003). Örneğin; *Philonotis*, *Bryum*, *Mnium*, cinslerine ait bazı türler ezilerek bir çeşit macun hâline getirilmiş ve yaraların üzerine merhem olarak sürülmüştür (Glime, 2007). Hindistan'ın Himalaya bölgesinde karayosunu küllerinin karışımı, yağ ve bal ile karıştırılarak; kesikler, yanıklar ve yaralar üzerine sürülmüştür (Pant ve ark., 1986). Ayrıca Çinlilerin; tonsilit, bronşit, sistit, deri hastalıkları ve yanıkların tedavisi için yaklaşık 40 çeşit Bryofit'i kullandığı kayıtlarda bulunmaktadır (Altuner, 2008). Her ne kadar Bryofitler'in Çin'de tıbbi amaçla 400 yıldır kullanıldıkları bilinse de (Asakawa, 1990), son 20 yıldır bunların bilimsel olarak incelendiği ve bu çalışmaların yayınlandığı görülmektedir (Garnier ve ark., 1961; Ando ve Matsuo, 1984).

Yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere, bakteri ve mantarların sürekli direnç kazandığı göz önüne alındığında, yeni antimikrobiyal maddelerin araştırılması ve yeni antimikrobiyal maddelerin tespit edilmesinin önemi belirgin bir şekilde açığa çıkmıştır (Erdogru, 2002).

Bu çalışmanın amacı, bir karayosunu olan *Tortella tortulosa* (Hedw.) Limpr. özütlerinin *in vitro* antimikrobiyal etkisinin incelenmesidir.

Materyal ve Metot

Karayosunu örnekleri

Tortella tortuosa (Hedw.) Limpr. örnekleri, Bolu - Gerede, Aktaş Ormanı, Toprak üzeri, 1200 m'den toplanmış; örneklerin teşhisi Prof. Dr. Barbaros ÇETİN ve Doç Dr. Güray UYAR tarafından yapılmıştır.

Ekstraksiyon yöntemi

Ekstraksiyon öncesinde karayosunu örnekleri topraktan arındırmak için steril

distile su (sdH₂O) ile iyice yıkanmıştır. Örneklerden ekstraksiyonu kolaylaştırmak amacıyla, sıvı azot kullanılmıştır. Bu sayede türlerin tamamen toz hâline getirilmesi sağlanmıştır. Ekstraksiyon için 50 mg karayosunu tozu, 2 ml çözücü içinde bekletilmiştir. Çözücü olarak kloroform (Riedel - de - Haën / 24216), benzen (Riedel - de - Haën / 24515), dietil eter (Riedel - de - Haën / 24005), etil alkol (Carlo ERBA / 414 608002), metil alkol (Riedel - de - Haën / 24229), etil asetat (Riedel - de - Haën / 27227), sdH₂O ve 0.5M Tris-HCl tamponu (pH: 8,0) kullanılmıştır.

Çözücüler içinde 1 saat bekletilen örnekler deneylerde kullanılmıştır.

Mikroorganizmalar

Yapılan çalışmada antimikrobiyal aktivitenin gözlenmesi amacıyla; *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Yersinia enterocolitica* O3, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Candida albicans* ATCC 95071, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Shigella flexneri* (klinik izole) ve *Trichophyton rubrum* (klinik izole) suşları kullanılmıştır.

Kültürlerin hazırlanması

Bakteri suşları 37°C'de 24 saat, *C. albicans* ATCC 95071 ve *T. rubrum* suşları ise 27°C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. Kültürler, morfolojik olarak benzer olan kolonilerin %0,9 steril tuzlu su çözeltisine, çözeltinin bulanıklığı 0,5 McFarland standardına eşit olacak şekilde aktarılmasıyla elde edilmiştir. Sonuçta, bakteri kültürlerinde yaklaşık 10⁸ cfu.ml⁻¹, *C. albicans* ATCC 95071 ve *T. rubrum* kültürlerinde ise yaklaşık 10⁷cfu.ml⁻¹ hücre elde edilmiştir (Hammer ve ark., 1999).

Disk difüzyon testi

Disk difüzyon testi BSAC (2003) kaynağında belirtildiği şekilde yapılmıştır. Besi yeri, 120 mm steril petri kutularına ortalama 4.0 mm ± 0.5 mm derinlikte olacak şekilde dökülmüştür. Her özütten 20 µl alınarak, 6 mm'lik steril boş antibiyotik

disklerine (HiMedia SD 067) emdirilmiştir (Mahasneh ve El-Oqlah, 1999). Disklere yüklenen özütlerde bulunan çözücülerin sonucu etkilememesi amacıyla diskler 24 saat boyunca steril ortamda kurutulmuştur (Silici ve Koc, 2006). Besi yerlerinin yüzeyine kültürler eküvyon ile yayıldıktan sonra besi yerleri oda sıcaklığında 5 dk bekletilmiş, daha sonra diskler besi yerlerinin yüzeyine uygulanmıştır. Bütün testleri üç paralel olarak gerçekleştirilen çalışmada; petri kapları inkübe edilmiş, inhibisyon zonlarının ortalamaları milimetre cinsinden ifade edilmiştir.

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC)

MIC testi, Basile ve arkadaşlarının (1998) belirttiği şekilde, Broth seyreltme metoduyla yapılmıştır. 2 katlı seyreltmeler yapılarak, 0,0039 - 2 mg.ml⁻¹ arasında konsantrasyonlar elde edilmiş ve gözle görülebilir bakteri gelişiminin inhibe edildiği en düşük konsantrasyon, MIC değeri olarak ifade edilmiştir.

Minimum bakterisit konsantrasyonu (MBC) ve minimum fungusit konsantrasyonu (MFC)

MBC ve MFC testleri, bulanık olmayan MIC tüplerinden alınan örneklerin besi yerine ekilmesi ile yapılmıştır. Bakteri ya da mantar gelişimini inhibe eden en düşük konsantrasyon MBC veya MFC değeri olarak ifade edilmiştir.

Kontroller

Özütlerin elde edilmesinde kullanılan bütün çözücüler ve boş steril antibiyotik diskleri negatif kontrol olarak kullanılırken; Cephalothin (30µg), Gentamicin (10µg), Cefuroxime (30µg), Ampicilline (10µg), Sulfamethoxazole - Trimethoprim (23.75 - 1.25 µg) ve Vancomycin (30µg) antibiyotik diskleri pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

İstatistiksel hesaplamalar

Bütün testler 3 kez tekrarlanmış, değerlerin ortalamaları alınmış ve sonuçlar MACANOVA (Version 5.05) programı kullanılarak yorumlanmıştır ($P < 0.05$).

Bulgular

Bu çalışmanın amacı, *Tortella tortulosa* (Hedw.) Limpr. özütlerinin antimikrobiyal etkisinin incelenmesidir. Bu amaçla önce disk difüzyon testi uygulanmıştır. Bu testte, özütler steril ve boş antibiyotik disklerine emdirildikten sonra diskler, mikroorganizma kültürleri üzerinde denenmiştir. Mikroorganizma üzerinde etki gösteren özütler, besi yerlerinde inhibisyon zonu oluşturmuştur. Bu inhibisyon zonlarının çapı milimetre olarak kaydedilmiştir ve sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. Özütlerin antimikrobiyal etki göstermediği mikroorganizmalar Tablo 1'de belirtilmemiştir.

Buna göre, *B. subtilis* ATCC 6633, *Y. enterocolitica* O3, *S. enteritidis* ATCC 13076, *E. coli* ATCC 11230, *E. coli* O157:H7 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 bakterileri üzerine hiçbir özüt etki göstermemiştir.

S. flexneri bakterisine, karayosunu türünün kloroform özütü hariç diğer özütlerin etkisi olduğu gözlenmiştir. Ancak gözlenen etki, Ampicillin hariç diğer bütün referans antibiyotiklerinin neden olduğu etkiden çok düşüktür.

S.aureus ATCC 25923 bakterisi üzerine karayosununun sadece kloroform özütü etki göstermiş olup; bu etki, Vancomycin'den daha etkili iken Gentamicin ve Sulfamethoxazole - Trimethoprim'in etkisine çok yakındır.

Karayosunun kloroform, metil alkol, etil asetat ve sdH₂O özütlerinin *C. albicans* ATCC 95071 üzerine etkisi gözlenmiştir. Kloroform, metil alkol ve etil asetat özütlerinin etkisi, bu mikroorganizma üzerine etki gösteren referans antibiyotiklerin çok altında kalırken, sdH₂O özütü Ampicillin ve Gentamicin'in etkisine yakın bir etki göstermiştir.

Antimikrobiyal maddeler, bakteri ve mantarları öldürücü (letal) veya bunların üremesini baskılayıcı etki gösterirler. Uygulanacak disk difüzyon testi, letal ve üremeyi baskılayıcı dozu söylemek için tek başına yeterli değildir. Etkinin cinsini belirlemek amacıyla disk difüzyon testine ek olarak, MIC ve MBC/MFC testlerinin

Tablo 1. Disk difüzyon testi sonuçları (İnhibisyon zonları - mm)

Mikroorganizmalar	Tortella tortulosa ekstraktları							Antibiyotikler						
	Kloroform	Benzen	Dietil Eter	Etil Alkol	Metil Alkol	Etil Asetat	sdH ₂ O	Tampon	CF	GM	CXM	AM	SXT	VA
<i>Shigella flexneri</i>	-	7.00	7.33	7.33	7.00	7.33	7.33	7.00	22.00	22.00	29.00	-	26.00	14.00
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	24.00	-	-	-	-	-	-	-	56.00	27.00	44.00	54.00	27.00	23.00
<i>Candida albicans</i> ATCC 95071	9.00	-	-	-	8.00	9.00	19.00	-	-	24.00	-	22.00	-	38.00
<i>Trichophyton rubrum</i>	-	10.33	10.00	11.00	-	-	10.00	-	x	x	x	x	x	x

“-”: Herhangi bir etki gözlenmemiştir

“x”: Uygulanmamıştır

CF: Cephalothin, GM: Gentamicin, CXM: Cefuroxime, AM: Ampicillin, SXT: Sulfamethoxazole - Trimethoprim, A: Vancomycin

Tablo 2. MIC ve MBC/MFC testi sonuçları (Aktif konsantrasyon - mg.ml⁻¹)

Mikroorganizmalar		Tortella tortulosa ekstraktları							
		Kloroform	Benzen	Dietil Eter	Etil Alkol	Metil Alkol	Etil Asetat	sdH ₂ O	Tampon
<i>Shigella flexneri</i>	MIC	-	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00
	MBC/MFC	-	>40.00	>40.00	>40.00	>40.00	>40.00	>40.00	>40.00
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	MIC	5.00±0.00	-	-	-	-	-	-	-
	MBC/MFC	5.00	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i> ATCC 95071	MIC	40.00	-	-	-	40.00	40.00	5.00	-
	MBC/MFC	>40.00	-	-	-	>40.00	40.00	5.00	-
<i>Trichophyton rubrum</i>	MIC	-	40.00	40.00	40.00	-	-	40.00	-
	MBC/MFC	-	>40.00	>40.00	>40.00	-	-	>40.00	-

“-”: Herhangi bir etki gözlenmemiştir

uygulanması gerekir. Letal etki gösteren ajanların MBC/MFC değerleri MIC değerlerine yakındır. Üremeyi baskılayıcı etki gösteren özütlerde MIC değerleri MBC/MFC değerlerinden çok düşüktür.

Mikroorganizmaların gelişmesini görsel olarak inhibe eden en düşük konsantrasyon olarak belirlenen ve mg.ml⁻¹ şeklinde ifade edilen MIC değerleri Tablo 2'de verilmektedir.

MIC testinin yapıldığı tüplerden, görsel olarak bulanıklık olmayan tüplerin, agar ortamına çekilmesi ile belirlenen ve mg.ml⁻¹ şeklinde ifade edilen MBC ve MFC değerleri de Tablo 2'de verilmiştir.

Yapılan çalışmada sonuçlar standart antibiyotik testleri ile karşılaştırılmıştır. Karayosunu özütlerinin etki gösterdiği mikroorganizmalara karşı standart antibiyotik testlerinin etkisine ait veriler de Tablo 1'de bulunmaktadır.

Ayrıca, yapılan testler sonucunda, negatif kontrollerin (çözücüler ve steril boş disk) herhangi bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Çalışmada sekiz farklı çözücü kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; bu sekiz çözücünden, kloroform ve sdH₂O, antimikrobiyal maddelerin ekstrakte edilmesi bakımından en etkili çözücüler olmuştur.

Tortella tortulosa (Hedw.) Limpr. özütlerinden kloroform özütü, *S. aureus* ATCC 25923 üzerine diğer özütlerle karşılaştırıldığında yüksek bir antimikrobiyal etki gösterirken; aynı düzeydeki bir etkiyi sdH₂O özütü *C. albicans* ATCC 95071 üzerine göstermiştir. Belirtilen etkilerin dışında farklı ekstraktların, farklı mikroorganizmalar üzerinde etkisi gözlenmiş olsa da (Tablo 1 ve Tablo 2) bu etkiler diğer ikisi ile karşılaştırıldığında çok düşük kalmaktadır.

Cowan (1999) ve Altuner (2008) yaptıkları çalışmalarda, hangi çözücünün hangi etken maddeyi çözdüğünü göstermişlerdir. Bu çalışmalara göre benzen, dimetil eter, etil alkol, metil alkol ve etil asetat aynı anda çözünebilen tek bir etken madde vardır, o da terpenoidlerdir. Bu nedenle, *S. flexneri* üzerine etki eden etken maddenin bir terpenoid olduğu düşünülebilir. Ancak, bunu söylemek için daha ileri analizler yapılmalıdır.

Tablo 1 ve Tablo 2 incelendiğinde *S. aureus* ATCC 25923 üzerine sadece kloroform ekstraktının etki ettiği görülmektedir. Bir çözücü

olarak kloroformun ekstrakte edebileceği maddeler için, Cowan (1999) bu maddelerin ya terpenoid ya da flavonoid olabileceğini öne sürmektedir. Bu örnekte ekstrakte edilen madde; Cowan (1999) kaynağında açıklandığı üzere terpenoid veya flavonoid olabileceği gibi, başka bir madde de olabilir. Bu etken maddenin kesin teşhisi için de daha ileri analizler gerekmektedir.

Tablo 1'deki sonuçlar karşılaştırıldığında, *S. flexneri* üzerine etki gösteren *Tortella tortulosa* (Hedw.) Limpr. ekstraktları, standart antibiyotik diskleri ile karşılaştırıldığında, bu ekstraktların sadece Ampicillin'nin etkisinden daha yüksek bir etki gösterdikleri görülür. Kloroform ekstraktının *S. aureus* ATCC 25923 üzerine etkisi standart antibiyotik diskleri ile karşılaştırıldığında ise bu ekstraktın Vancomycin'den daha yüksek, Gentamicin ve Sulfamethoxazole - Trimethoprim'e yakın bir etki gösterdiği görülür.

Karayosununun sdH₂O ekstraktının *C. albicans* ATCC 95071 üzerine etkisi ile standart antibiyotik disklerinin etkisi karşılaştırıldığında; ekstraktın, Cephalothin, Cefuroxime ve Sulfamethoxazole - Trimethoprim'den daha yüksek, Ampicillin ve Gentamicin'e yakın bir etki gösterdiği göze çarpar.

MIC ve MBC/MFC testlerinin sonuçlarının verildiği Tablo 2 incelendiğinde, *S. aureus* ATCC 25923 üzerine etki eden kloroform ekstraktı ve *C. albicans* ATCC 95071 üzerine etki eden sdH₂O ekstraktı için MIC ve MBC/MFC değerlerinin eşit olduğu görülür. Bu sonuçlara göre bu iki ekstraktın belirtilen iki mikroorganizma üzerine etkisinin letal olduğunu söylemek mümkündür. Ayrıca etil asetat ekstraktının *C. albicans* ATCC 95071 üzerine etkisi de letaldir, fakat diğer letal etkiye sahip iki ekstraktla karşılaştırıldığında bu etkinin daha yüksek bir konsantrasyonda gerçekleştiği görülür. Ancak bu ekstraktlar dışında kalan diğer ekstraktların MBC/MFC değerleri MIC değerlerinden daha yüksek olduğu için bu ekstraktların mikroorganizmalar üzerine etkisinin "üremeyi baskılayıcı" olduğunu söylenebilir.

Sonuç olarak, antibiyotik disklerine 1 mg.µl⁻¹ özüt emdirildiği göz önüne alındığında, disklere emdirilen ekstrakt miktarı artırıldığı takdirde; *Tortella tortulosa* (Hedw.) Limpr. özütlerinin (özellikle de kloroform ve sdH₂O özütlerinin) *S. aureus* ATCC 25923, *C. albicans* ATCC 95071, *S. flexneri* ve *T. rubrum*'a karşı standart

antibiyotik diskleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek bir etki gösterebileceği söylenebilir.

Kaynaklar

Altuner EM. 2008. Bazı Karayosunu Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Ando H., Matsuo A. 1984. Applied bryology. In, Advances in Bryology 2^{ed}. by J. Cramer, Vaduz, West Germany: Schultze-Motel W.

Asakawa Y. 1990. Biologically active substances from bryophytes. In; Bryophyte Development: Physiology and Biochemistry, ed. by R.N. Chopra and S.C. Bhatla, CRC Press, Boston.

Basile A., Vuotto ML., Ielpo TL., Moscatiello V., Ricciardi L., Giordano S., Cobianchi RC. 1998. Antibacterial activity in *Rhynchostegium riparoides* (Hedw.) Card. Extract (Bryophyta). Phytotherapy Research, 12: 146 - 148.

Baytop T. 1999. Geçmişte ve Bugün Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. 2nd Ed. Nobel Tıp Kitabevi Ltd Şti. İstanbul.

BSAC - British Society for Antimicrobial Chemotherapy. 2003. www.bsac.org.uk/_db/_documents/version215_nov_2003_.pdf.

Cowan MM. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 564-582.

Erdogrul ÖT. 2002. Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Used in Folk Medicine. Pharmaceutical Biology, 40:4, 269-273.

Garnier G., Bezanger-Beauquesne L., Debraux G. 1961. Ressources Medicinales de la Flore Française. Vigot Frères, Paris.

Glime JM. 2007. Bryophyte Ecology. Volume 1. Physiological Ecology. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. <http://www.bryoecol.mtu.edu/>.

Hammer KA., Carson CF., Riley TV. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology, 86: 985 - 990.

Jones FA. 1996. Herbs - useful plants. Their role in history and today. European Journal of Gastroenterology and Hepatology, 8: 1227-1231.

Keleş O., Ak S., Bakırel T., Alpınar K. 2001. Türkiye’de yetişen bazı bitkilerin antibakteriyel etkisinin incelenmesi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 25:559-565.

Lis-Balchin M., Deans SG. 1997. Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. Journal of Applied Bacteriology, 82: 759-762.

Mahasneh AM., El-Oqlah AA. 1999. Antimicrobial activity of extracts of herbal plants used in the traditional medicine of Jordan. Journal of Ethnopharmacology, 64: 271-276.

Pant G., Tewari SD., Pargaian MC., Bisht L.S. 1986. Bryological activities in North-West Himalaya - II. A bryophyte foray in the Askot region of district Pithoragarh (Kumaun Himalayas). The Bryological Times, 39: 2-3.

Rajakaruna N., Harris CS., Towers, GHN. 2002. Antimicrobial Activity of Plants Collected from Serpentine Outcrops in Sri Lanka. Pharmaceutical Biology, 40:3, 235-244.

Reynolds JEF. 1996. Martindale - the Extra Pharmacopoeia, thirty first ed. Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, London.

Saxena K., Harinder S. 2004. Uses of Bryophytes. Resonance, 9:6, 56-65.

Silici S., Koc AN. 2006. Comparative study of in vitro methods to analyse the antifungal activity of propolis against yeasts isolated from patients with superficial mycoses. Letters in Applied Microbiology, 43:318-324.

University of Michigan, Dearborn. 2003. Native American Ethnobotany, A database of plants used as drugs, foods, dyes, fibers, and more, by native Peoples of North America. <http://herb.umd.umich.edu/>.

Veljic M., Tarbuk M., Marin PD., Ciric A., Sokovic M., Marin M. 2008. Antimicrobial Activity of Methanol Extracts of Mosses from Serbia. Pharmaceutical Biology, 46:12, 871-875.