

ACTA BIOLOGICA TURCICA

© 1950-1978 Biologi, Türk Biologi Dergisi, Türk Biyoloji Dergisi, Acta Biologica
E-ISSN: 2458-7893, <http://www.actabiologicturcica.info>

Lichen secondary metabolites: Synthesis pathways and biological activities

Gülşah ÇOBANOĞLU ÖZYİĞİTOĞLU*, Birkan AÇIKGÖZ, Cenk SESAL

Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Göztepe Yerleşkesi, İstanbul.

*Corresponding author: gcoban@marmara.edu.tr

Abstract: Lichens, which are formed by symbiotic relationship between algae and fungi, synthesize naturally many secondary metabolites with different properties and functions, in response to environmental stress. Although lichen secondary metabolites resemble those of other organisms' (fungi, plants, etc.), most of them are unique chemical compounds formed only through the association between fungi and algae. The adaptation to environmental conditions and self-preservation of lichens, which grow slowly and can survive even in extreme conditions, are made possible by the secondary metabolites. Although it's known that lichens for a long time have been used for various purposes, the synthesis mechanism of the secondary metabolites is yet to be determined. The studies continue even today. Basically, the idea of three pathways is developed and the mechanism is revealed partially by trying to explain the acetyl polymalonyl pathway, shikimic acid pathway and mevalonic acid pathway. It is of great importance to understand the purpose of metabolites in lichens and to reveal biosynthesis mechanism exactly to increase the quantity, quality and the utilization areas. These substances formed as a natural product by their metabolism, lichens have much potential utilization in industries including medicine, pharmaceuticals, food, perfume and dye. Studies uncover new biological activities of these metabolites, such as antibacterial, antifungal, antiviral and anticancer, and increase their importance every day. In this study, current information on the synthesis pathways of secondary metabolites produced in lichen developmental process and various biological activities shown by lichen species were compiled from a lot of studies in the world and in Turkey from the 1950s to the present.

Keywords: Lichen, Secondary metabolites, Synthesis pathways, Biological activity.

Liken sekonder metabolitleri: Sentez yolları ve biyolojik etkinlikleri

Özet: Alg ve mantarın simbiyotik ilişkisi sonucu oluşan likenler, çevresel strese yanıt olarak, metabolizmalarının doğal ürünü olan, çeşitli işlev ve özelliklere sahip çok sayıda sekonder metabolit sentezlemektedir. Liken sekonder metabolitlerinin bir kısmı likenleşmemiş mantarlar, yüksek bitkiler vb. diğer organizmaların sekonder metabolitleri ile benzerlik göstermesine karşın, çoğunluğu likenlere özgüdür ve mantarın ancak alg ile birlikteliği sonucu üretebildiği kimyasal bileşiklerdir. Yavaş büyüyen ve çok ekstrem koşullarda dahi yaşamını sürdürebilen likenlerin farklı çevresel koşullara uyum sağlaması ve kendilerini koruması ürettikleri sekonder metabolitler ile mümkün olmaktadır. Çok eski zamanlardan beri likenlerin çeşitli amaçlarla kullanıldığı bilindiği halde üretmiş oldukları sekonder metabolitlerin sentez mekanizması tam olarak belirlenememiştir. Bu alanda çalışmalar günümüzde de sürmektedir. Liken metabolitlerinin sentez mekanizması asetil-polimalonil yolağı, şikimik asit yolağı ve mevalonik asit yolağı olmak üzere başlıca üç yolak ile açıklanmaktadır. Temelde bu üç yolak ile liken metabolitlerinin sentezlendiği fikri geliştirilmiş ve mekanizma kısmen açığa çıkarılmıştır. Metabolitlerin liken içindeki görevlerini anlamak, sentez oranlarını, kalitesini ve kullanım amaçlarını artırmak için biyosentez mekanizmasının tam olarak ortaya çıkarılması büyük önem taşımaktadır. Bu özgün maddeler sayesinde likenler, tıptan eczacılığa, parfüm ve boya endüstrisinden besin endüstrisine kadar birçok alanda kullanım potansiyeline sahiptir. Yapılan çalışmalar her geçen gün bu sekonder metabolitlerin antibakteriyel, antifungal, antioksidan, antiviral, antikanser ve benzeri, yeni bir biyolojik etkinliğini ortaya çıkarmakta ve önemini artırmaktadır. Bu çalışmada, liken gelişim sürecinde üretilen sekonder metabolitlerin sentez yolları üzerine güncel bilgiler ile liken türlerinin gösterdiği çeşitli biyolojik etkinlikler, dünyada ve Türkiye'de 1950'lerden günümüze kadar olan pek çok çalışmadan derlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Liken, Sekonder metabolitler, Sentez yolları, Biyolojik etkinlik.

Giriş

Liken metabolitlerine genel bakış: Likenler, yeşil alg ve/veya siyanobakteriler ile mantar türleri simbiyotik (birbirine fayda sağlayan) ortaklıkları sonucu oluşan, morfolojik ve fizyolojik olarak kendini oluşturan organizmalardan farklılaşmış özelliklere sahip organizmalardır. Diğer bir deyişle “likenler”, fotosentetik bakteri ve alg hücreleriyle hayatlarını birleştiren “likenleşmiş mantarlar”dır. Liken oluşturan mantarlar çoğunlukla (%98) Ascomycota üyeleridir. Likenler bu yeni oluşan sistem metabolizmasının doğal ürünleri olarak, bir kısmı mantar bir kısmı alg ortak tarafından sentezlenen proteinler, aminoasitler, polioller, karotenoidler, polisakkaritler ve vitaminler gibi pek çok canlıda bulunan ve yaşamsal işlevler ile doğrudan ilişkili “primer (birincil veya intraselüler) metabolitler” ve bununla birlikte, temel yaşamsal işlevler ile doğrudan ilişkisi olmayan “sekonder (ikincil veya ekstraselüler) metabolitler” üretmektedirler (Romagni ve Dayan, 2002; Shukla ve ark., 2010). Liken yaşamında sekonder metabolitler, çevresel koşullara uyum sağlama, savunma, korunma, hayatta kalma, neslini sürdürme ve ekosistemle ilişkilerini düzenleme konularında birçok göreve sahiptirler. En tipik liken kaynaklı sekonder metabolitler mantar orijinali biyosentezleri liken oluşturmeyen mantarlarla benzerlik göstermektedir. Liken sekonder metabolitlerinin sentezinde fotobiyontun (alg bileşeni) gerekli olmadığı düşüncesi yaygındır. Çünkü likenden izole edilen mantarların kültür ortamında uygun şartlar sağlandığında bu metabolitleri sentezleyebildiği görülmüştür. Ancak pek çok sekonder metabolit ise sadece likenleşmiş mantarlar tarafından üretilmektedir ve izole edilen mantarlar simbiyotik mantarlardan farklı metabolitler üretebilmektedir (Ahmadjian, 1993). Bütün bunlar fotobiyont varlığının çoğu metabolitin uygun bir şekilde sentezlenmesi için gerekli şartların oluşmasını sağladığını düşündürmektedir. Bununla beraber, bazı sekonder metabolitlerin fotobiyont metabolizmasını ve primer metabolizma içinde önemli enzimleri düzenleyici olduğu da düşünülmektedir (Lawrey, 2009). Genellikle asit özellikte bileşikler olmaları nedeniyle “liken asitleri” de denen bu liken maddelerinin veya liken bileşiklerinin sadece bir kısmı diğer mantarlar ve bitkiler tarafından sentezlenebilmektedir, çoğunluğu tamamen likenlere özgüdür (Huneck, 2001; Romagni ve Dayan, 2002; Shukla ve ark., 2010). Bu likene-özgü sekonder metabolitlerin kimyasal yapıları genellikle poliketidler,

polifenoller, kinonlar veya terpenoidlerdir (Eisenreich ve ark., 2011).

Liken türüne bağlı olarak, sentezlenen liken asitlerinin sayısı ve çeşitliliği değişmektedir. Dolayısıyla farklı liken türleri farklı liken asitleri içermektedir (Tablo 1). Günümüzde kimyasal yapısı aydınlatılmış olarak 1050 kadar liken asidi bilinmektedir (Stocker-Wörgötter, 2008). Bir liken türü birden çok sayıda özgün sekonder metabolit sentezleyebilmekte ve likenin bulunduğu koşullara göre metabolitin cinsi ve miktarı değişiklik göstermektedir (Deduke ve ark., 2012). Tür sayısı 400’ü aşan *Cladonia* cinsi içinde 60’dan fazla sekonder metabolit olduğu ve önemli metabolitlerden 30 tanesinin ise yüksek konsantrasyonda bulunduğu belirlenmiştir (Ahti, 2000). *Ramalina* cinsine ait türlerden *R. americana* Hale türünün tek başına 55’den fazla metabolit içerdiği belirtilmektedir (Culberson ve ark., 2000). Çok büyük bir cins olan *Xanthoparmelia* türlerinin ise 38’den fazla büyük metabolit, en az 53 tane de yardımcı metabolit içerdiği rapor edilmiştir (Hale, 1990).

Liken sekonder metabolitleri morfolojik olarak ayırımı zor olan likenlerin sınıflandırılmasında ve tayininde (identifikasyon) sıklıkla kullanılmaktadır ve bu açıdan büyük önem taşımaktadırlar (Huneck ve Yoshimura, 1996). Uygulanan pratik spot testlere verdikleri reaksiyonlar cins veya tür belirlenmesinde ayırt edici olabilmektedir (Orange ve ark., 2001). Bununla birlikte sadece spot testler ile değil; TLC, HPLC vb. kimyasal yöntemler ile daha detaylı şekilde likenlerin madde içerikleri belirlenebilmekte ve türlerin, tür altı kategorilerin ve kemotiplerin sistematik analizlerinde kullanılmaktadır. Pek çok madde tür için karakteristik özellik göstermektedir. Örneğin, sadece kimyasal açıdan farklılık gösteren iki varyeteye sahip *Thamnia vermicularis* (Sw.) Ach. ex Schaerer. türüne ait Antartika’da yaygın olan *T. vermicularis* var. *vermicularis* (Sw.) Schaer. thamnolik asit içermekteyken, arktik zonda yaygın olan *T. vermicularis* var. *subuliformis* (Ehrh.) Schaer. bayomisesik ve skuamatik asit içermektedir (Deduke ve ark., 2012). Bununla birlikte genetik mirasla kimyasal maddeler arasında da bir ilişki söz konusudur. Bu düşünceyle, sekonder metabolitlerin sentezlenmesinde etkili genler ve sekonder metabolit içeriğindeki farklılıklar üzerine yapılan çalışmalar, türlerin filogenetik ayırımında önemli yer tutmaktadır (LaGreca, 1999; Miao, 2001; Kroken, 2003; Frisvad, 2008).

Liken metabolitlerinin biyosentez yolları: Likenlerin

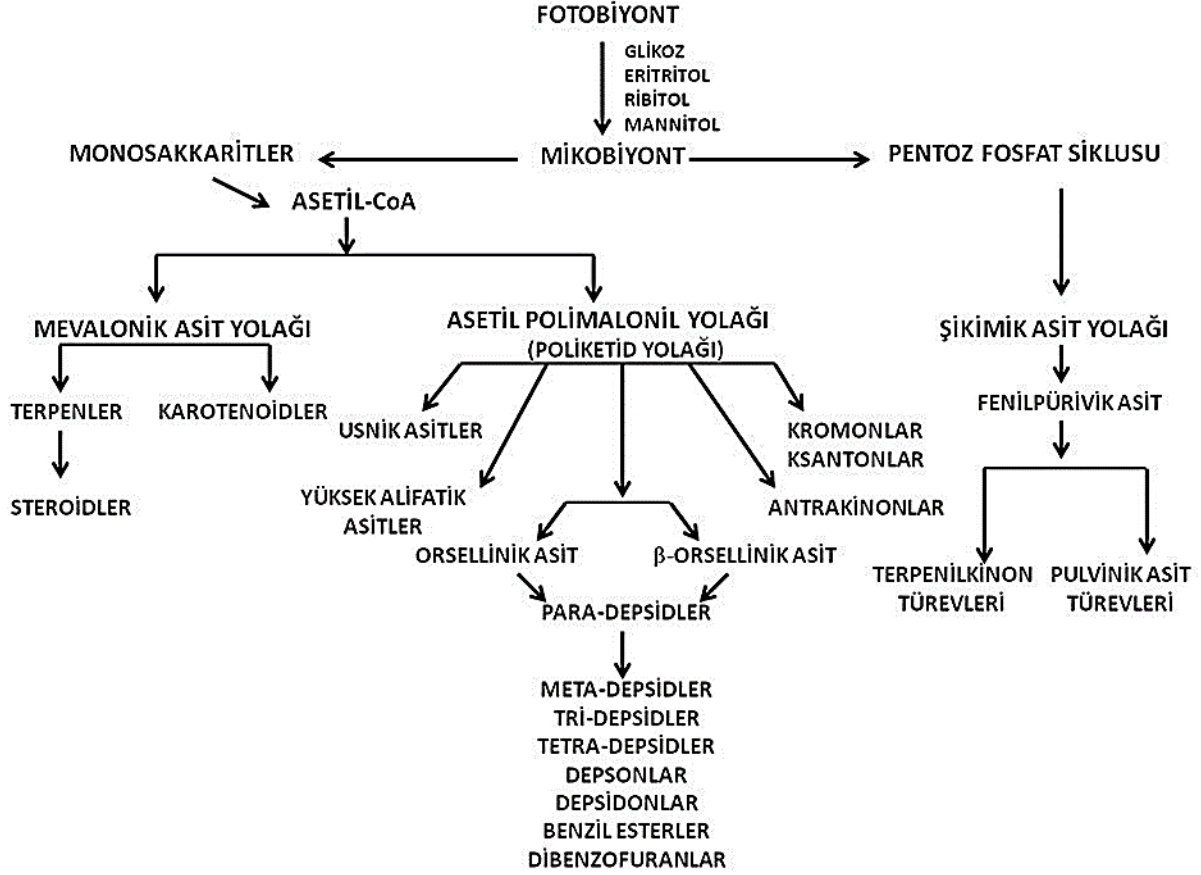
Tablo 1. Liken metabolitlerinin sentez yollarına göre kimyasal gruplarına dağılımı ve sentezlendiği liken taksonları [Romagni ve Dayan (2002) ve Elix (1996)'dan derlenmiştir].

YOLAK	GRUBU	LİKEN METABOLİTİ	LİKEN
ASETİL POLİMALONİL [POLİKETİD]	Para-depsid	Anziaik asit, Atranorin, Barbatik asit, Bayomisesik asit, Diffraktaik asit, 4-O-dimetilbarbatik asit, Divarikatik asit, Evernik asit, Kloroatranorin, Perlatolik asit, Obtusatik asit, Skuamatik asit	<i>Alectoria</i> spp., <i>Evernia</i> spp., <i>Cladina stellaris</i> , <i>Usnea</i> spp., <i>Parmelia</i> spp., <i>Ramalina</i> spp.,
	Meta-Depsid	Boninik asit, Sekikaik asit, Tamnolik asit	<i>Cladonia</i> spp., <i>Ramalina</i> spp., <i>Thamnolia</i> spp.
	Tri-Depsid	Giyoforik asit	<i>Hypogymnia subphysodes</i>
	Depsidon	Alektoronik asit, Divaronik asit, Fisodalik asit, Fumarprotosetrarik asit, Galbinik asit, Hipoprotosetrarik asit, Lobarik asit, Norstiktik asit, Pannarin, Protosetrarik asit, Psoromik asit, Stiktik asit, Salazinik asit, Vikanikin, Virensik asit	<i>Alectoria</i> spp., <i>Cetraria</i> spp., <i>Usnea</i> spp., <i>Parmelia</i> spp., <i>Ramalina</i> spp.
	Difenileter	Misareik asit	<i>Micarea prasina</i>
	Depson	Pikrolikenik asit	<i>Pertusaria amara</i>
	Dibenzofuran	Alektosarmentin, Didimik asit, Pannarik asit	<i>Alectoria</i> spp., <i>Cladonia</i> spp.
	Usnik asit	[+] ve [-] Usnik asit, [+] ve [-] İzousnik asit	<i>Alectoria</i> spp., <i>Evernia</i> spp., <i>Cladina stellaris</i> , <i>Usnea</i> spp.
	Kromon	Leprarik asit, Ögenitin	<i>Flavoparmelia euplecta</i>
	Ksanton	Artotelin, Likeksanton, Vinetorin	<i>Lecanora</i> spp.
Antrakınon	Emodin, Kiyodektonik asit, Parietin, Solorinik asit	<i>Xanthoria parietina</i> , <i>Solorina crocea</i> , <i>Nephroma laevigatum</i> , <i>Herpothallon sanguineum</i>	
MEVALONİK ASİT	Diterpen	16 α -hidroksikauran	<i>Ramalina ceruchis</i>
	Triterpen	Friedelin, Piksiniik asit, Taraksen, Ursolik asit, Zeorin	<i>Alectoria</i> spp., <i>Pyxine endocrycina</i> <i>Cladonia</i> spp.
	Steroidler	Ergosterol, Sitosterol	<i>Lecanora</i> spp.
ŞİKİMİK ASİT	Pulvinik Asit	Pinastrik asit, Pulvinik asit, Rhizokarpik asit, Vulpinik asit,	<i>Sticta</i> spp.
	Türevleri		<i>Acarospora</i> spp.
	Terpenkuinon	Poliporik asit, Teleporik asit	<i>Sticta coronata</i> <i>Lobaria</i> spp.

çok sayıda biyo-aktif sekonder metabolit barındırması araştırmacıları bu metabolitlerin sentez yollarını araştırmaya yöneltmiştir. Çeşitli araştırmalarda liken metabolitlerinin biyosentez mekanizması incelenmiş ve öncelikle yolları belirlenmiştir. Bu konu ile ilgili ilk çalışma Asahina ve Shibata (1954) tarafından gerçekleştirilmiştir. Ancak zamanla yapılan çalışmalar (Culberson ve Elix, 1989) ile bu yollar değişmektedir (Nash, 2008). Sekonder metabolitler ve oluşum yolları açısından likenlerin kimyası, gelişmekte olan metodoloji

ile keşfedilmeye devam etmektedir.

Bugünkü bilgilere göre; fotosentez sonucu oluşan ürünler, likenin yapısındaki fotobiyont siyanobakteri olduğunda glikoz; yeşil alg simbiyontu olduğunda ise şeker alkoller (eritritol, ribitol, sorbitol, mannitol) olarak mantar simbiyontuna geçmektedir. Monosakkaritler mikobiyonta geçtikten sonra Glikoliz veya Pentoz Fosfat döngülerinden birine girerek oradan başlıca üç muhtemel yolak ile çeşitli kimyasal formlarda bileşikler meydana getirmektedirler. Asetil-Polimalonil (Poliketid) Yolağı,



Şekil 1. Liken sekonder metabolitlerinin muhtemel biosentez yolları [Nash (2008)'den sadeleştirilerek modifiye edilmiştir].

Şikimik Asit Yolağı ve Mevalonik Asit Yolağı olmak üzere bu üç yolak ile liken sekonder metabolitlerinin sentezi gerçekleşmektedir (Culberson ve Elix, 1989; Huneck, 2001; Romagni ve Dayan, 2002; Nash, 2008; Stocker-Wörgötter, 2008; Shukla ve ark., 2010). Tüm yolaklar merkez molekül olarak glikoz katabolizmasının ana ürünü olan Asetil-CoA ile başlamaktadır. Fakat likenler için en önemli yolak, depsidler, depsidonlar vb. likenlere has metabolitlerin çoğunun sentezlendiği asetil-polimalonil yolağıdır (Şekil 1).

Asetil-polimalonil (poliketid) yolağı: Likene özgü olan sekonder metabolitlerin çoğunluğu asetil-polimalonil yolu ile üretilmektedir (Elix, 1996). Özellikle "Poliketid" grubunda yer alan kimyasal bileşik sınıfları olarak depsid, depsidon, dibenzofuran, usnik asit, depsone, kromon, ksanton, antrakinon gibi kompleks sekonder metabolitler asetil-polimalonil yolu ile sentezlenmektedir (Romagni ve Dayan, 2002; Nash, 2008; Lawrey, 2009; Stocker-Wörgötter, 2008; Shukla ve ark., 2010). Bu yolda çok sayıda MalonilCoA molekülü Asetil-CoA molekülleri ile birleşerek poliketid ana zincirini oluşturmaktadır. Ana

zincirin elde edilmesinden sonra metilasyon veya farklı halkalanma şekilleri ile farklı özelliklere sahip metabolitler sentezlenmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar para-depsidlerin daha büyük moleküller olan meta-depsid, depson, depsidon, difenil eter ve dibenzofuranların öncü maddesi olduğunu ortaya çıkarmıştır. Barbatik asit, difraktaik asit, 4-Odemetilbarbatik asit, atranorin, kloroatranorin, baeomisesik asit, skuamatik asit, lekanorik asit, divarikatik asit, obtusatik asit, perlatolik asit vb. para depsidler ise iki veya üç orsinol ve β -orsinol moleküllerinin kendi halinde ester, karbon-karbon bağları ya da eter bağları yoluyla sentezlenmektedir (Nash, 2008; Shukla ve ark., 2010). Orsinol ve β -orsinol türevleri [depsid, depsidon ve dibenzofuran] likenlerde ortak yaşamın kurulmasında partnerler arasında ve çevreyle etkileşim kurulmasında muhtemelen rol oynamaktadır (Armaleo ve ark., 2008, 2011). Depsid, depsidon ve depsonlar 2 orsellinik asit fenol grubunun birbirine bağlanmasıyla oluşmaktadır. Daha sonra yapısında bulunan fonksiyonel (R) grubun yapısına ve fenil

üzerindeki sayısına göre birbirinden farklı metabolitler ortaya çıkmaktadır. Dibenzofuranlar ise orsellinik asit halkalanması yoluyla elde edilen fenol yapı bloğundan türetilmektedir (Romagni ve Dayan, 2002). Streptisilin, alektosarmentin, didimik asit ve pannarik asit bu şekilde oluşturulan dibenzofuranlara örnektir. Usnik asitler de dibenzofuranlara benzer yapı gösterirler ancak usnik asitlerin yapısında orsellinik asit tip fenol grupları yerine 2 metil-flor asetofenon halkaları bulunmaktadır. Asetil-polimalonil yolağı ile sentezlenen kromon, ksanton, antrakınon gibi aromatik bileşikler ise poliketid zincirinin iç halkalanması yoluyla düzenlenmektedir. Bu ürünler liken oluşturmeyen mantarların ve yüksek bitkilerin metabolitleri ile aynı ya da benzerdir. Çeşitli antrakınonlar, naftakinonlar ve naftazarinler likenlerde yaygın bulunan pigment maddelerini oluştururlar (Stocker-Wörgötter, 2008).

Şikimik asit yolağı: Şikimik asit sentez yolağı kökenli bileşikler ise pulvinik asit ve terpenilkinon türevlerini içerir. Bu bileşikler, iki adet fenilpürivatın birleşmesi ile elde edilir. Özellikle *Stictaceae* familyasına ait likenlerde bu gruba ait metabolitler geniş yer tutmaktadır (Shukla ve ark., 2010). *Rhizocarpon*, *Acaraspora* türleri gibi çoğu sarı tonlarındaki renklerde liken pigmentleri fenilpropan birimlerinden oluşmaktadır. Sadece *Letharia vulpina* ve *Vulpicidia pinastri* türlerinde bulunan toksik vulpinik asit ise pulvinik asidin metil esteri olup zehir olarak kullanıldığı rapor edilmektedir (Stocker-Wörgötter, 2008).

Mevalonik asit yolağı: Liken sekonder metabolitlerinin az bir kısmı mevalonik asit yolağı ile üretilir. Özellikle karotenoidler, terpenler ve terpenoidler gibi bu yolakla sentezlenen moleküller çoğunlukla diğer canlılarda sentezlenenlerle ortaktır. Ancak özellikle triterpenler likenlerde sıklıkla görülmektedir. Farklı likenlerden 20 farklı triterpen türetilmiştir. Zeorin metaboliti çeşitli likenlerde bulunan başlıca triterpenlerdendir (Shukla ve ark., 2010). Likenler aynı zamanda ergosterol ve sitosterol denilen birkaç sterol de sentezlemektedir. Bu moleküller skualen tip öncünün halkalanması ile elde edilmektedir (Romagni ve Dayan, 2002).

Likenin yaşamında sekonder metabolitlerin rolü: Likenler çok sayıda biyotik ve abiyotik strese maruz kalırlar ve sekonder metabolitlerin üretimi bu stres ile başa çıkmanın birçok yolundan biridir (Lawrey, 2009; Deduke ve ark., 2012). Çevre şartlarının değişmesi ile likenler strese bağlı yanıt verirler. Öyle ki, fiziksel ve biyolojik stres koşulları,

likens sekonder metabolitlerinin kimyasal yapısında hem kalitatif hem kantitatif hem de pozisyonel değişiklikler oluşturur. Uzun ömürlü ve yavaş büyüyen likenlerin ekstrem koşullarda yaşamını sürdürmesini ve çevresel etmenlere karşı kendisini korumasını sağlayan bu liken asitleri allelopatik etki gösterirler. Liken metabolitlerinin, liken talluslarında patojen veya parazit olan ve “likenkol mantarlar” olarak bilinen mantar türlerinin büyümesini ve gelişmesini önlediği bilinmektedir. Biryofitlerin, tohumlu bitkilerin ve diğer likenlerin kimyasal olarak inhibisyonunu sağlarlar ve ayrıca mikoriza mantarlarını engelleyerek dolaylı şekilde de rakip bitkileri etkilerler. Diğer tehdit unsurları olan böcekler, salyangoz vb. canlılara karşı likenin kendini korumasında büyük öneme sahiptirler (Dayan ve Romagni, 2001; Asplund, 2011; Vatne ve ark., 2011). Örneğin İrlanda’da *Cladonia glauca* liken koleksiyonu içinde sıkça bulunan nematod faunası olarak; mantar ortağından beslenen *Nothanguina Aphelenchoides lichenicola* sp. nov. ve alg ortağının paraziti olan *Ottolenchus cabi* sp. nov., ayrıca bunların yanında *Belondira*, *Chilwoodius*, *Discotnyctus* ve *Rotylenchulus* cinslerine ait çeşitli türlerde nematodlar rapor edilmiştir (Siddiqi ve Hawksworth, 1982). Liken bileşiklerinden anti-beslenme aktivitesine sahip (-)-usnic asit, (+)-usnic asit, vulpinik asit ve stiktik asidin, herbivor polifag (çeşitli besinlerle beslenen) *Spodoptera littoralis* böcek larvalarına karşı çok güçlü toksik etkileri olduğu kaydedilmiştir (Emmerich ve ark., 1993).

Suda çözünmeyen, ancak organik çözücülerle çözünebilir sekonder metabolitler, mantar hiflerini oluşturan hücrelerin dış yüzeylerinde birikerek, özellikle öz bölgesinde hava boşluklarını korumaya yardımcı olurlar ve böylece fotobiyont hücreleri etrafındaki gaz değişimini, aynı zamanda mantar hifleri içinde suyun kalıcılığını sağlarlar (Armaleo ve ark., 2008). Renkli olan sekonder metabolitler çoğunlukla likenin üst yüzeyine yakın kısımlarda birikim gösterirken, öz kısmı renksizdir. Liken yüzeyi, liken metabolitlerinin (pigmentler) varlığı nedeniyle, genellikle sarı, turuncu, gri veya kahverengi gibi çok değişik renklerde ve çoğu bitki gibi parlak yeşil değildir. Üst yüzeyde bulunan bazı metabolitler ışık koruyucu olarak görev yapar ve fotobiyont hücrelerini zararlı UV ışınlarından korurlar (Lawrey, 2009). Çünkü bu bileşikler, güneş ışığını filtreleyerek alttaki hassas fotobiyont hücrelerini fazla ışıktan koruma yeteneğine sahip pigmentlerdir. Örneğin, *Cladonia subtenuis* fazla ışıklı ortamlarda yüksek konsantrasyonda usnik asit

üretmiştir (Rundel, 1969). Yine ribitol ve ışık kombinasyonunun test edilmesi sonucunda, usnik asit sentezinin uyarılmasında artış olduğu kaydedilmiştir (Solhaug ve Gauslaa, 2004). Likenlerden elde edilen bileşiklerin UV ışınlarına karşı etkileri *in vitro* deneylerle, ticari ürünlerdeki UV-koruyucu maddelerle karşılaştırmalı olarak incelenmiş, özellikle usnik asidin en iyi UV-filtre edici olduğu kaydedilmiştir (Rancan ve ark., 2002; Eryılmaz ve ark., 2013; Rojas ve ark., 2015; Varol ve ark., 2015).

Benzer şekilde *Xanthoria parietina* likeninin ışığa maruz kalan habitatlarda daha fazla parietin metabolitine sahip olduğu belirlenmiştir. Nybakken ve ark. (2004), *X. parietina* türünü kullanarak gerçekleştirdikleri deneyler sonucunda, UV-B'nin parietin maddesinin sentezinin uyarılması için gerekli olduğunu ve bu uyarılmanın yüksek ışık yoğunluğunda daha hızlı olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Bazı likenler ise ışık koruyucu melanin üretmektedir. Likenlerde melanin konsantrasyonu, ışık yoğunluğuna, fotosentetik aktif ışığa ve UV-B yeteneğine göre değişmektedir. Bazı likenlerin yüksek ışıklı bölgelere taşınması durumunda, artan melanin varlığına bağlı olarak daha koyu üst yüzeye sahip oldukları görülmüştür (Nybakken ve ark., 2004). Bunların yanında, yapılan bazı çalışmalar, izole mikobiyontların da bu maddeleri ürettiklerini ancak bu üretimin ışığa daha az duyarlı olduğunu ortaya koymuştur (Ahmadjian ve Jacobs, 1985; Hamada, 1991). Bu durum, doğal ortamda bozulmamış liken simbiyozu içinde madde miktarındaki değişimin çok daha etkili olduğunu göstermektedir (Lawrey, 2009).

Sekonder metabolit üretiminde çevresel parametrelerin etkileri: Liken sekonder metabolitlerinin üretiminde liken morfogenezi ve gelişim basamaklarının etkili olduğu bilinmektedir. Örneğin *Cladonia crinita* ana metaboliti olan fumarprotosetrarik asit, ancak podesyumları geliştikten sonra üretilmektedir. Mantar ortağının sekonder metabolizmasının, bir ölçüde kromozomsal organizasyona bağlı olan biyosentez genlerinin (PKS - Poliketid Sentez Genleri) kontrolü altında olduğu düşünülmektedir. Likenlerde yüksek oranda sekonder metabolit üretiminin sebepleriyle ilgili açıklamalardan biri de likenlerin yavaş gelişim göstermeleri hipotezine dayanmaktadır. Bu maddeler likenlere buldukları habitata adaptasyon özelliği kazandırarak ekolojik niş içinde hayatlarını sürdürebilmesi için avantaj sağlamaktadır. Birçok çevresel faktör, liken sekonder

metabolitlerinin üretiminde görevli PKS gen ekspresyonu üzerinde etkili olmaktadır (Deduke ve ark., 2012). Bu çevresel parametreler aşağıda kısa başlıklar halinde sıralanmıştır.

Abiyotik etkenler: Liken türlerinin yayılışında önemli bir etken olan “habitat heterojenliği”, likenlerde metabolit üretimi üzerinde de etkili olmaktadır. İklimsel abiyotik faktörlerden olan sıcaklık, ışık, pH, nem veya kuraklık gibi etmenlerin seviyeleri ve miktarlarının değişmesine bağlı olarak doğada likenlerin geliştiği habitatın ve üzerinde bulunduğu substratın özellikleri değişebilmektedir. Bu parametrelerin etkisiyle likenlerin sentezledikleri sekonder metabolitler de farklılıklar gösterebilmektedir.

Coğrafi yayılışın etkisi: Bir liken türünün coğrafi dağılımının değişimi ile beraber sekonder metabolitlerin üretiminde varyasyon görülebilir. Bunun nedeni türlerin zorlu çevresel koşullara karşı geliştirdikleri korunma ve uyum sağlama mekanizmasıdır. Coğrafi lokasyona bağlı varyasyonlar iklimsel farklılıklar yüzünden daha çok kuzey-güney doğrultusunda görülmektedir. Örneğin, Arktik ve Antarktik yayılış gösteren liken popülasyonlarında, UV ışığı emen bir korteks bileşiği olan usnik asit üretiminde iklimsel ve coğrafi varyasyonlar olduğu bildirilmiştir.

Küresel ısınma etkisi: Küresel ısınma nedeniyle iklim değişikliği ile ilgili olarak likenlerde meydana gelen bazı fizyolojik değişiklikler neticesinde, ikincil metabolit üretiminin de etkilenmesi beklenebilir. Çünkü su ve besin kaynağı olarak yağmur az güvenilir olurken kuraklığa dayanıklı olan türler diğer türlerin yerini alacak ve dayanıklı olmayan türler azalacaktır.

Karbon ve nitrojen kaynağı etkisi: Likenlerin habitat koşullarına adaptasyon yeteneği, liken mantarının alg ortağını seçimiyle -örneğin yüksek ışığa dayanıklı alg türleri gibi- yakın ilişkilidir. Alg ve/veya siyanobakteri tarafından sağlanan karbon kaynağı olarak glikoz veya şeker alkollerinin ve bununla birlikte nitrojen miktarının, hava kalitesine, farklı ekolojik koşullara ve bulunduğu mikro-habitata göre değişkenlik göstermesi sonucu likende sekonder metabolit yolları ve poliketid üretimi etkilenmektedir.

Hava kirliliğinin etkisi: Doğal ekolojik habitatlarda değişen karbon ve nitrojen miktarından etkilenirken, kirliliğe maruz alanlarda ise likenler gelişim ve metabolizmaları açısından çok daha fazla zarar görmektedir. Çünkü likenlerin hava kirliliğine karşı

duyarlılıkları 100 yılı aşkın bir süreden beri iyi bilinmektedir (Çobanoğlu, 2015). Metalleri biriktirme ve tolerans yeteneklerine bağlı olarak, liken türlerinin bu duyarlılıkları türe özgüdür (Molnar ve Farkas, 2010). Özellikle SO₂, CO_x, NO_x, O₃, PAN, PM, ağır metaller vb. atmosferik kirleticilerin, öncelikle fotosentez sonra solunum olmak üzere liken fizyolojisi üzerinde olumsuz etkileri saptanmıştır (Nash, 2008). Dolayısıyla hava kalitesinin, havadaki ağır metaller ve diğer kirleticilerin seviyesiyle ilişkili olarak, liken kimyasını ve sekonder metabolit sentez yollarını doğrudan etkileyebilen önemli bir faktör olduğu görülmektedir.

Likenlerin ekonomik kullanım potansiyeli: Doğada birçok hayvan, likeni besin ya da barınak olarak kullanırken bazı uzak doğu ve kuzey ülkelerinde ise insanlar likenleri yiyecek olarak tercih etmektedir. Bazı kuşların, örneğin sinek kuşu, yuvalarını çeşitli liken türlerinden yaptıkları yaygın olarak görülmektedir. Ekolojik denge içindeki yerlerinin yanı sıra likenler, insanların fayda sağlayabileceği birçok alanda da ekonomik önem taşımaktadırlar. Ürettikleri kendilerine özgü doğal metabolik ürünler sayesinde likenler; tıptan, eczacılığa, parfümeriden boya ve besin endüstrisine kadar birçok sektörde kullanım potansiyeline sahiptirler (Llano, 1950; Aslan, 2000; Miao ve ark., 2001; Molnar ve Farkas, 2010; Shukla ve ark., 2014, Şen ve ark., 2014). Örnek olarak, Fransa ve Yugoslavya'da büyük miktarlarda toplanan *Evernia prunastri* ve *Pseudevernia furfuracea*'den makyaj pudrası yapımında yararlanılmaktadır (Huneck, 1999). *Rocella* türlerinden ise kimyada kullanılan turnusol boyası ile orsey isimli kırmızı ve mor boya maddeleri elde edilmektedir (Nash, 2008). Ayrıca maket, çelenk vb. yapımında ve diğer dekoratif amaçlarla da likenlerden yararlanılmaktadır.

Tıp tarihinde ve halk tıbbında likenler: Çok eski tarihlerden günümüze, doğuda Çin tıbbından batıda Plinius, Dioscorides, Ebubekir Razi ve İbn-i Sina'ya kadar uzanan büyük bilginlerin eserlerinde yer alan likenlerin, örneğin *Bryoria*, *Evernia*, *Lobaria*, *Parmelia*, *Peltigera*, *Usnea*, *Xanthoria* gibi liken türlerinin, önemli tıbbi değer taşımış oldukları kaydedilmiştir (Romagni ve Dayan, 2002; Çobanoğlu ve Yavuz, 2003; Çobanoğlu, 2005; Malhotra ve ark., 2008; Yavuz ve Çobanoğlu, 2010; Yavuz, 2013). Halk tıbbında, birçok *Cladonia* türü akciğer tüberkülozu tedavisinde, *Usnea* türleri ise ağrı kesici ve ateş kontrolü için Asya, Afrika ve Avrupa'da kullanılmıştır. Finlandiya'da *Ramalina thrausta* yarıları

iyileştirmede, ayak mantarı ve diğer deri hastalıklarının tedavisinde, bunun yanında boğaz ve diş ağrılarında karşı kullanılmıştır (Ingolfsdottir, 2002). Kuzey Avrupa ülkelerinde Ren geyiğinin besinini oluşturan *Cetraria islandica*'nın çayının eskiden beri öksürüğe ve nezleye iyi geldiği bilinmektedir (Nash, 2008).

Liken sekonder metabolitlerinin biyolojik etkinlikleri: Pek çok liken türünün geleneksel etno-likenolojik kullanımına ait bilgilerin yanında, günümüzdeki bilimsel çalışmalarla liken metabolitlerinin her geçen gün yeni bir biyolojik aktivitesi ortaya konulmaktadır. Son yıllardaki biyokimyasal çalışmalarda likenlerin içerdiği sekonder metabolitlerin saptanması ve tanımlanması için daha ayrıntılı analizler yapılmaktadır. Disk difüzyon, sıvı dilüsyon vb. yöntemlerle liken özütlerinin ve/veya İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) veya Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile izole edilen liken maddelerinin çok çeşitli biyolojik etkinlikleriyle ilgili güncel sonuçlar rapor edilmektedir. Aşağıda antibakteriyel, antifungal, antioksidan, anti-inflamatuar, antiviral, anti-ülser, sitotoksik ve antikanser etkinliklerine kısa başlıklar altında ayrı ayrı değinilmiştir. Bunların yanı sıra likenlerin antiproliferatif, apoptotik, analjezik, anti-allerjen, antiplatelet, antitrombotik, anti-genotoksik, entimutajenik, antiprotozoal, antiherbivor, bitki büyüme inhibitörü, enzim inhibitörü vb. birçok biyolojik özelliklere sahip olduğu literatürde yer almaktadır. Liken maddeleri arasında en fazla öne çıkan, güçlü antibiyotik etkisiyle ve çok yönlü biyolojik etkinlikleriyle "usnik asit" olmuştur (Prateeksha ve ark., 2016). Bununla birlikte Usnik asidin likenlerle yoğun temas halinde olan orman işçileri vb. insanlarda dermatolojik olarak alerjen etkileri olduğu bildirilmiştir (Cocchietto ve ark., 2002; Aalto-Korte ve ark., 2005).

Antibakteriyel etkinlik: Liken asitlerinden protolikesterinik asit, pulvinik asit türevleri, depsid grubundan evernik, olivetorik asit, tridepsid grubundan giroforik asit, depsidon grubundan fisodik, lobarik, fumarprotosetrarik asitler ile dibenzofuran türevlerinden usnik asidin antimikrobiyal etkileri saptanmıştır (Romagni ve Dayan, 2002). Liken sekonder metabolitleri kullanılarak üretilen antibiyotikler çoğunlukla *Cladonia*, *Evernia*, *Cetraria*, *Usnea*, *Alectoria*, *Ramalina* cinslerinde bulunan usnik asit, vulpinik asit, evernik asit ve bazı liken yağ asitlerinin karışımlarından elde edilmektedir (Shukla ve ark., 2010). Özellikle *Usnea* türlerinin antibakteriyel etkileri kanıtlanmıştır ve usnik asidin "Usno" adı verilen

antiseptik krem şeklinde ticari olarak kullanımı mevcuttur (Nash, 2008; Lawrey, 2009). Klinik uygulamalarda usnik asit, metisiline dirençli *Staphylococcus* suşlarının tedavisinde tercih edilmektedir (Cocchietto ve ark., 2002; Elo ve ark., 2007). Liken asitlerinden usnik asit ile evernik asidin karışımından elde edilen evosin maddesinin kuvvetli bir antibiyotik etkisi vardır. Gram pozitif koklara, *Mycobacterium tuberculosis* (verem basili) ve *Corynebacterium diphtheria* (difteri basili) karşı etkili olduğu literatürde belirtilmektedir. Usnik asidin sodyum tuzlarının da *Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Mycobacterium*'a karşı kuvvetli bir antibiyotik etkisi olduğu tespit edilmiştir (Romagni ve Dayan, 2002). Ayrıca usnik asidin, bazı bakterilerin sinyal mekanizması sonucu oluşturdukları daha güçlü bir formu olan "biyofilm" oluşumuna karşı önleyici etkileri de tespit edilmiştir (Francolini ve ark., 2004). İzlanda likeninde (*Cetraria islandica*) bulunan protolikesterinik asidin, mide ve oniki parmak bağırsağı ülseri semptomlarına neden olan *Helicobacter pylori* bakterisine karşı *in vitro* güçlü etkileri rapor edilmiştir (Ingolfsdottir ve ark., 1997). Liken maddelerinin Gram pozitif bakterilere karşı daha etkili olduğu birçok çalışmada kaydedilirken, bazı liken türlerinin *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* gibi patojen Gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel etki gösterdikleri de tespit edilmiştir (Çobanoğlu ve ark., 2010; 2016; Rankovic ve ark., 2010; Mitrovic ve ark., 2011). Örneğin *Cladonia convoluta* kloroform özütlerinin *E. coli*'ye karşı güçlü antimikrobiyal etkinlik gösterdiği kaydedilmiştir (Açıkgöz ve ark., 2013).

Likenlerin antimikrobiyal etkinlikleri üzerine Türkiye'de 1995-2013 yılları arasında yapılan çalışmalar Kaptaner İğci (2013) tarafından derlenmiştir. Bu çalışmalarda genellikle etil asetat, kloroform, aseton, etanol ve metanol gibi çözücüler ile liken özütlerinin hazırlandığı ve buna bağlı olarak bakterilere karşı etkinliklerinin değişiklik gösterdikleri belirtilmiştir.

Antifungal etkinlik: Bazı liken maddelerinin *Candida albicans* mayasına ve diğer bazı patojen mantarlara karşı önleyici etkileri tespit edilmiştir. Açıkgöz ve ark. (2013), *Cladonia convoluta* kloroform özütlerinin *Candida albicans*'a karşı engelleyici etkisini rapor etmişlerdir. Basile ve ark. (2015) *Xanthoria parietina* likeninden, Manojlovic ve ark. (2005) *Caloplaca cerina* liken türünden izole edilen parietin maddesini önemli antifungal ajan olarak rapor etmişlerdir. Schmeda-Hirschmann ve ark. (2008), *Protousnea poeppigii* ve

Usnea florida'dan elde edilen izodivarikatik asit, 5-propilresorsinol, divarikatinik asit ve usnik asit maddelerini *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* ve *T. rubrum* insan patojen mantarlarına karşı etkili bulmuşlardır. Başka bir çalışmada, *Parmelia sulcata*, *Flavoparmelia caperata*, *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes*, *Cladonia foliacea* metanol özütlerinin antimikrobiyal etkinlikleri rapor edilmiştir (Mitrovic ve ark., 2011).

Antioksidan etkinlik: Likenler, doğal antioksidan maddelerin elde edilebileceği kaynaklar arasındadır. Oksidatif stres liken tallusunda da ortaya çıkar ve likenler, UV ışığı tarafından oluşturulan serbest radikallere karşı kendi ürettikleri sekonderbileşikler ile koruma sağlarlar. Liken sekonder maddelerinin antioksidan potansiyeli üzerine *in vitro* yapılan çalışmalarda şimdiye dek en çok çalışılan *Parmeliaceae* familyası olmuş, çok sayıda liken türünden elde edilen özütlerin ve 65 kadar bileşiğin antioksidan etkinlik gösterdikleri belirtilmiştir (Fernandez-Moriano ve ark., 2016). En iyi antioksidan aday olan "fenolik bileşikler" in *Lobaria pulmonaria* ve *Usnea longissima* gibi likenlerde bulunduğu vurgulanmıştır (Atalay ve ark., 2011). Çeşitli çalışmalarda, liken *Parmotrema stippeum*'dan elde edilen orsenillat, orsenillik asit, atranorin ve lekanorik asit gibi fenolik bileşenlerin, *Usnea articulnucata*'dan elde edilen stiktik asit türevlerinin ve *Cetraria islandica* sulu özütünün (Gülçin ve ark., 2002) önemli antioksidan aktivite gösterdikleri rapor edilmiştir (Malhotra ve ark., 2008).

Birçok liken türünün, *Anaptychya ciliaris*, *Nephroma parile*, *Ochrolechia tartarea* ve *Parmelia centrifuga* (Rankovic ve ark., 2010); *Parmelia sulcata*, *Flavoparmelia caperata*, *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes* ve *Cladonia foliacea* (Mitrovic ve ark., 2011); *Cetraria islandica*, *Lecanora atra*, *Parmelia pertusa*, *Pseudoevernia furfuraceae* ve *Umbilicaria cylindrica* (Kosonic ve Rankovic, 2011) antioksidan kapasiteleri çeşitli metotlarla incelenmiş ve önemli antioksidan etkilere sahip oldukları belirlenmiştir. *Usnea longissima*, *Usnea florida* ve *Lobaria pulmonaria* türlerinin antioksidan etkinlikleri metanol ve su özütleri karşılaştırılarak incelenmiştir (Odabaşoğlu ve ark., 2004). *Usnea longissima* metanol özütünün, insan lökosit hücrelerinde Aflatoxin B₁'in neden olduğu süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri üzerindeki olumsuz etkileri azaltarak oksidatif hasara karşı etkinlik gösterdiği ve aynı zamanda muhtemel antioksidant potansiyelinden

kaynaklanan kuvvetli antigenotoksik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Ağar ve ark., 2011). *Rhizoplaca chrysoleuca* ve *Rhizoplaca melanophthalma* metanol özütlerinin mutajenik, antimutajenik ve antigenotoksik etkileri araştırılmış ve bu doğal liken bileşiklerinin mutajen maddelerin etkisini azaltabilecek yeteneğe sahip oldukları kaydedilmiştir (Ağar ve ark., 2010).

Usnea longissima'dan elde edilen sekonder bileşik difraktaik asidin, antioksidan savunmayı artırarak, farelerde gastrik mukozal lezyonları, oksidatif stres ve mide dokularındaki nötrofil infiltrasyonu üzerinde inhibe edici etkileri saptanmıştır (Bayır ve ark., 2006). *Cetraria islandica* ve *Pseudevernia furfuracea* likenlerinin su özütlerinin, deneysel insüline bağımlı şeker hastalığı olan sıçanların hematolojik parametreleri üzerinde etkilerinin incelendiği bir çalışma sonucunda, antioksidan savunmayı artırmalarına bağlı olarak likenlerin anti-hematolojik etkiler gösterdikleri görülmüştür (Çolak ve ark., 2014). Likenlerin antioksidan etkinlikleriyle ilgili Türkiye'de yapılan çalışmaların kısa bir derlemesi literatürde bulunmaktadır (Oran, 2013).

Anti-inflamatuar etkinlik: Eski tıpta Çin'de *Usnea* türleri ve *Cetraria islandica* ağız ve yutak mukozasının yumuşak iltihaplı yaralarını iyileştirmede kullanılmıştır (Malhotra ve ark., 2008). Anti-inflamatuar etkinlik gösteren maddeler, tedavide ateş düşürücü (antipiretik) ve iltihaplanmayı azaltıcı etkileriyle analjezik (ağrı kesici) olarak kullanılan ilaç grubudur. Likenler ateş düşürücü ve ağrı kesici ilaçların elde edilmesine aday organizmalar olarak görülmektedir (Molnar ve Farkas, 2010). *Lobaria pulmonaria* sulu özütlerinin orta derecede anti-inflamatuar etkinlik gösterdikleri tespit edilmiştir (Süleyman ve ark., 2003). *Pseudevernia furfuracea*'nın belirgin anti-inflamatuar etkisi saptanmıştır (Güvenç ve ark., 2012).

Antiviral etkinlik: *Usnea complanta* aseton özütünün uçuk virüsüne (HSV) karşı etkinlik gösterdiği rapor edilmiştir (Vijayan ve ark., 2004). *Teloschistes chrysoththalmus*'dan izole edilen usnik asitin ve *Ramalina celastri* likeninden izole edilen parietinin arena virüslerinden Junin ve Takarib'e karşı antiviral etkinliğe sahip oldukları tespit edilmiştir (Fazio ve ark., 2007). *Xanthoria parietina* su özütü ile *Xanthoparmelia tinctoria* etanol özütünün, insan paraflorenza virüsü tip 2 (HPIV-2) üzerinde belirgin antiviral etkinlik gösterdikleri ve Vero hücrelerine karşı sitotoksik etkileri kaydedilmiştir (Karagöz ve Aslan, 2005).

Anti-ülser etkinlik: Bazı sekonder metabolitlerin mide ülserine karşı etkileri de denenmiştir. Sepulveda ve ark. (2013), ilk kez farelerde HCl/etanol modelinde mide ülseri üzerinde yaptıkları deneyler sonucunda 6 liken bileşiğinin (lobarik asit, atranorin, psoromik asit, variolarik asit, difraktaik asit, perlatolik asit) değişik oranlarda önleyici etkileri olduğunu ve likenlerin potansiyel gastroprotektif (mide koruyucu) moleküller içerdiğini rapor etmişlerdir. *Lobaria pulmonaria* sulu özütlerinin yüksek anti-ülser etkileri olduğu tespit edilmiştir (Süleyman ve ark., 2003).

Sitotoksik ve antikanser etkinlik: Son on yılda kanser vakalarının artmasıyla alternatif tedavi yöntem ve ilaçları aranırken likenlerin anti-kanser etkinlikleri üzerine çalışmalar da hem dünyada hem ülkemizde (Özenoğlu ve ark., 2013) yoğunlaşmıştır. *Cladonia rangiformis* ve *Cladonia convoluta* likenlerinin metanol ve kloroform özütlerinin insan göğüs kanseri hücreleri üzerinde sitotoksik, antiproliferatif ve apoptotik etkileri tespit edilmiş ve bu türlerin güncel kanser tedavileri için yeni adaylar olabilecekleri rapor edilmiştir (Açıkgöz ve ark., 2013, Coskun ve ark., 2015). Sekiz liken türünün (*Cladonia convoluta*, *C. rangiformis*, *Evernia prunastri*, *Flavoparmelia caperata*, *Parmotrema perlatum*, *Platismatia glauca*, *Ramalina cuspidata*, *Usnea rubicunda*) iki fare ve dört insan kanser hücre hattı üzerinde sitotoksik etkileri kaydedilmiştir (Bézivin ve ark., 2003). *U. filipendula* metanol özütünün, insan göğüs kanseri hücre hattında genotoksik, sitotoksik ve apoptotik etkileri test edilmiş ve yüksek dozlarda genotoksik olabilecekken düşük dozlarda apoptotik hücre ölümüne neden olabileceği belirtilmiştir (Kasımoğulları ve ark., 2014). Kolon kanseri adenokarsinoma hücre hattında, *Parmelia sulcata*, *Flavoparmelia caperata*, *Evernia prunastri*, *Hypogymnia physodes* ve *Cladonia foliacea* liken türlerinin antiproliferatif etkileri test edilmiş ve tümünün apoptotik etkinlik yeteneği gösterdiği rapor edilmiştir (Mitrovic ve ark., 2011). *Lethariella zahlbruckneri* türünün de yine insan kolon kanseri hücrelerinde anti-proliferatif etkisi tespit edilmiştir (Ren ve ark., 2009). Fare miyoloma hücrelerinde, *Xanthoria parietina* metanol özütünün hücre çoğalmasını belirgin olarak azalttığı rapor edilmiştir (Triggiani ve ark., 2009).

(+)-Usnik asidin genotoksik ve antigenotoksik potansiyeli *in vitro* deneyde kemoterapötik ajan metil metansülfonat (MMS) kullanılarak uyarılan memeli hücrelerinde araştırılmış ve kromozom ve DNA hasarına

karşı koruyucu etkileri saptanmıştır (Leandro ve ark., 2013).

Liken kültürü çalışmaları: Son derece yavaş-gelişen organizmalar olmaları nedeniyle doğal kaynak olarak likenlerden liken maddelerinin yeterli miktarlarda sağlanmasında bazı güçlüklerle karşılaşmaktadır. Bu konuda çözüm olarak görülen liken kültürü çalışmaları henüz istenen düzeyde başarılı olamamış olsa da kültür yöntemleri geliştirilmeye devam edilmektedir. Özellikle çeşitli tıbbi uygulamalar için gereksinim duyulan liken metabolitlerinin önemli miktarda elde edilebilmesi için kültür ortamındaki stres altında liken türlerince çoğaltılması gerekmektedir (Lobakova ve Smirnov, 2012; Nakajima ve ark., 2015).

Yeni çalışmalarda kültür mikobiyotların orijinal likende üretilen poliketidlerin yerine yağ asitleri sentezledikleri kaydedilmiştir. Yapılan deneylerde PKS genlerinin engellenerek FAS (Fatty Asit Sentaz) enzimlerinin aktifleştiği belirtilmiştir (Stocker-Wörgötter, 2008). Liken sekonder metabolit sentezinin genetik kontrol altında olduğu anlaşılmıştır.

Sonuçlar ve tartışma

Likenler, simbiyotik sistemlerinden kaynaklanan karakteristik biyokimyasal ve ekolojik özelliklere sahip olmalarından dolayı, bitkisel kökenli ilaç etken maddelerinin elde edilebileceği potansiyel organizmalar arasında yer almaktadırlar. Dünyada gün geçtikçe artan liken kimyası ve biyolojik aktivite çalışmalarına dayanan bulgular likenlerin bu durumunu desteklemektedir. Liken çeşitliliği bakımından zengin olan ülkemizde de liken maddeleriyle ilgili son yıllarda yapılan çalışmalar dünya literatürüne önemli yeni veriler sağlamaktadır. Liken sekonder metabolit çeşitliliğinin hem genetik bazlı olarak hem de likenin yaşadığı ortama, hassas oldukları hava kirliliği (SO₂) seviyesine ve yükselti, nem gibi diğer ekolojik faktörlere göre değişkenlik gösterebilecekleri göz önüne alınmalıdır. Bunun sonucu olarak bölgesel seçicilik gösteren liken türlerinin ürettiği metabolitlerde de farklılıklar meydana gelecektir. Tıbbi uygulamalarda kullanılacak liken maddelerinin elde edileceği türlerin belirlenmesi için bu bilgilerin dikkate alınması gerekmektedir.

Yapılan çalışmaların değerlendirmesinden çıkarılabilecek önemli sonuçlar aşağıdaki maddeler halinde sıralanabilir: Liken sekonder metabolitleri,

1- liken gelişim sürecinde, çevresel koşullara uyum

sağlama, savunma, korunma, hayatta kalma, neslini sürdürme ve ekosistemle ilişkilerini düzenleme konularında birçok göreve sahiptirler.

2- hassas fotobiyont hücrelerini fazla ışıktan ve zararlı UV ışınlarından koruma yeteneğine sahip pigmentlerdir.

3- likenlerin sınıflandırılmasında ve tayininde (identifikasyon) ayırt edici karakter olarak sıklıkla kullanılırlar.

4- sentezlenmesinde etkili genler ve sekonder metabolit içeriğindeki farklılıklar üzerine yapılan çalışmalar, türlerin filogenetik ayrımında önemli yer tutmaktadır.

5- tıbbi tedavi amaçlı doğal ilaç hammadde üretiminde potansiyel kaynak olarak kullanılırlar. Enfeksiyona yol açan bakteriler, mantarlar ve virüslere olduğu kadar çağımızın hastalığı olan kansere karşı da etkin olmalarıyla ilgili bulgular ümit vericidir.

Güncel çalışmalarda liken maddelerinin etkinliği moleküler eşleştirme metodu ile desteklenmektedir (Sesal, 2014). Doğal liken maddelerinin biyolojik aktivite (antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiparazitik, sitotoksik vb.) potansiyelinin, öncelikle *in siliko* olarak moleküler eşleştirme gibi bilgisayar simülasyonu ile test edilmesi hedeflenmektedir. Daha sonraki aşamada, belirlenen etken biyoaktif bileşikler izole edilerek *in vivo* canlı-hayvan modellerinde deneyler gerçekleştirilmektedir. Bundan sonra hastalar üzerinde ilaç uygulaması yapılabilecektir. Bu anti-enfeksiyonel aktiviteyle ilgili geçerli ve güvenilir deneysel prosedürün basamaklarını Cos ve ark. (2006) detaylı şekilde açıklamışlardır.

Endüstriyel ve tıbbi açıdan pek çok alanda faydalanılan likenlerin kendilerine özgü sekonder metabolitleri her geçen gün biraz daha önem kazanmaktadır. Likenlerin iyileştirici güçlerini belirlemek için, etken maddeler hakkında bilgi sahibi olmak en önemli aşama olarak değerlendirilmektedir. Ancak likenlerin doğada olduğu kadar laboratuvar ortamında da oldukça yavaş büyüyen (başarılı kültürü henüz yapılamayan) organizmalar olması nedeniyle etken madde elde edilmesi açısından bitkilere oranla daha sınırlı bir materyal kaynağı oldukları düşünülmektedir. Bitkisel etken maddelerin eldesinde belirli miktarlarda kuru örneğe ihtiyaç duyulmaktadır. Likenleri doğadan çok miktarlarda toplamak bilinçli bir şekilde olmak zorundadır. Üstelik endüstriyel anlamda kullanmak için uygun miktarı bulmak bazı liken türleri bakımından oldukça zor olmaktadır. Bu nedenlerle son yıllarda alternatif yaklaşım olarak, liken maddelerinin daha hızlı

büyüyen canlılarda *in vivo* şartlarda çoğaltılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Ancak metabolitlerin liken içindeki görevlerini anlamak, sentezini ve kalitesini artırmak için sentez mekanizmasının ortaya çıkarılması büyük önem taşımaktadır. Bu sentez mekanizmasının tam olarak anlaşılması ile hem liken biyolojisinin hem de metabolitlerin işlevlerinin ve strese karşı nasıl yanıt oluşturdıklarının daha iyi anlaşılması likenolojik çalışmalara önemli katkılar sağlayacaktır. Böylece liken metabolitlerinin insanlık yararına kullanılma potansiyeli arttırılabilecektir.

Bugünkü literatür ışığında, likenlerin fitokimyasal potansiyele sahip organizmalar olduğu görülmektedir. Ancak klinik denemelere ulaşmak ve daha ileri uygulamalara geçebilmek için çok daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca liken maddelerinin farmasötik amaçlı çok miktarda üretilmesini sağlamak için liken kültürü çalışmalarına da ağırlık verilmesi gerekmektedir. Ayrıca, liken metabolitlerinin sentezlenmesinin genetik kontrol altında olduğu dikkate alınarak, mantarın PKS genleri tarafından kodlanan sentez zinciri ile moleküler analiz çalışmalarına hız verilmelidir.

Kaynaklar

Aalto-Korte K., Lauerma A., Alanko K. 2005. Occupational allergic contact dermatitis from lichens in present-day Finland. *Contact Dermatitis*, 52(1): 36-8.

Açıkgöz B., Karaltı İ., Ersöz M., Coşkun M.Z., Çobanoğlu G., Sesal C. 2013. Screening of antimicrobial and cytotoxic effects of two *Cladonia* species. *Zeitschrift für Naturforschung*, 68c: 191-197.

Agar G., Güllüce M., Alsan A., Bozarı S., Karadayı M., Orhan F. 2010. Mutation preventive and antigenotoxic potential of methanol extracts of two natural lichen. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(20): 2132-2137.

Ağar G., Aslan A., Kotan Sarıoğlu E., Alpsoy L., Çeker S. 2011. Protective activity of the methanol extract of *Usnea longissima* against oxidative damage and genotoxicity caused by aflatoxin B in vitro. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 41(6): 1043-1049.

Ahmadjian V. 1993. *The lichen symbiosis*. John Wiley & Sons, Inc., New York.

Ahmadjian V., Jacobs J.B. 1985. Artificial reestablishment of lichens. IV. Comparison between natural and synthetic thalli of *Usnea strigosa*. *Lichenologist*, 17: 149-165.

Ahti T. 2000. *Cladoniaceae*. Organization for Flora Neotropica and New York Botanical Garden, Flora Neotropica, Bronx, 78: 1-362.

Armaleo D., Zhang Y., Cheung S. 2008. Light might regulate

divergently depside and depsidone accumulation in the lichen *Parmotrema hypotropum* by affecting thallus temperature and water potential. *Mycologia*, 100(4): 565-576.

Armaleo D., Sun X., Culberson C. 2011. Insights from the first putative biosynthetic gene cluster for a lichen depside and depsidone. *Mycologia*, 103(4): 741-754.

Asahina Y., Shibata S. 1954. *Chemistry of lichen substances*. Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo.

Aslan A. 2000. Erzurum ve Artvin Çevresinden Toplanan Dört Liken Türünün Yün Boyama Özellikleri. *Herba Medica*, 7: 21-24.

Asplund J. 2011. Snails avoid the medulla of *Lobaria pulmonaria* and *L. scrobiculata* due to presence of secondary compounds. *Fungal Ecology*, 4: 356-358.

Atalay F., Halıcı M.B., Mavi A., Çakır A., Odabaşoğlu F., Kazaz C., Aslan A., Küfrevioğlu Ö.İ. 2011. Antioxidant phenolics from *Lobaria pulmonaria* L. Hoffm. and *Usnea longissima* Ach. lichen species. *Turkish Journal of Chemistry*, 35: 647-661.

Basile A., Rigano D., Loppi S., Di Santi A., Nebbioso A., Sorbo S., Conte B., Paoli L., De Ruberto F., Molinari A.M., Altucci L., Bontempo P. 2015. Antiproliferative, Antibacterial and Antifungal Activity of the Lichen *Xanthoria parietina* and Its Secondary Metabolite Parietin. *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 7861-7875.

Bayır Y., Odabaşoğlu F., Çakır A., Aslan A., Süleyman H., Halıcı M., Kazaz C. 2006. The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil-infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. *Phytomedicine*, 13: 584-590.

Bézin C., Tomasi S., Lohézic-Le Dévéhat F., Boustie J. 2003. Cytotoxic activity of some lichen extracts on murine and human cancer cell lines. *Phytomedicine*, 10(6-7): 499-503.

Cocchietto M., Skert N., Nimis P.L., Sava G. 2002. A review on usnic acid, an interesting natural compound. *Naturwissenschaften*, 89: 137-146.

Cos P., Vlietinck A.J., Berghe D.V., Maes L. 2006. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. *Journal of Ethnopharmacology*, 106: 290-302.

Coskun Z.M., Ersoz M., Acikgoz B., Karaltı I., Çobanoğlu G., Sesal C. 2015. Anti-proliferative and apoptotic effects of methanolic extracts from different *Cladonia* species on human breast cancer cells. *Folia Biologica (Praha)*, 61: 97-103.

Culberson C.F., Elix J.A. 1989. *Lichen substances*. Academic Press, London.

Culberson C.F., LaGreca S., Johnson A., Culberson W.L. 2000. Trivarinic acid, a new tridepside in the *Ramalina americana*

- chemotype complex (lichenized Ascomycota, Ramalinaceae). *Bryologist*, 102: 595-601.
- Çobanoğlu G. 2005. Likenlerin potansiyel kullanımlarına tarihsel bakış ve Türk tıp tarihinde likenler. *Türk Liken Topluluğu Bülteni*, 1: 14-16.
- Çobanoğlu G. 2015. The use of lichens for biomonitoring of atmospheric pollution-Atmosferik kirliliğin biyolojik izlenmesinde likenlerin kullanımı. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 33(4): 591-613.
- Çobanoğlu G., Yavuz M. 2003. Tıp tarihinde likenlerle tedavi. *Yeni Tıp Tarihi Araştırmaları*, 9: 37-90.
- Çobanoğlu G., Sesal C., Gökmen B., Çakar S. 2010. Evaluation of the antimicrobial properties of some lichens. *South Western Journal of Horticulture*, 1(2): 153-158.
- Çobanoğlu G., Sesal C., Açıkgöz B., Karaltı I. 2016. Evaluation of antimicrobial activity of the lichens *Physcia aipolia*, *Xanthoria parietina*, *Usnea florida*, *Usnea subfloridana* and *Melanohalea exasperata*. *Modern Phytomorphology*, 10: 21-26.
- Çolak S., Geyikoğlu F., Aslan A., Deniz G.Y. 2014. Effects of lichen extracts on haematological parameters of rats with experimental insulin-dependent diabetes mellitus. *Toxicology and Industrial Health*, 30(10):878-87.
- Dayan F., Romagni J.G. 2001. Lichens as a potential source of pesticides. *Pesticide Outlook*, 12: 229-232.
- Deduce C., Timsina B., Piercey-Normore M.D. 2012. Effect of environmental change on secondary metabolite production in lichen-forming fungi. In: Young S., (Ed.) *International Perspectives on Global Environmental Change*. InTech, pp: 197-230.
- Eisenreich W., Knispel N., Beck A. 2011. Advanced methods for the study of the chemistry and the metabolism of lichens. *Phytochemistry Reviews*, 10: 445-456.
- Elix J.A. 1996. Biochemistry and secondary metabolites. In (ed. Nash TH) *Lichen Biology*. Cambridge University Press, Cambridge. pp: 154-180.
- Elo H., Matikainen J., Peltari E. 2007. Potent activity of the lichen antibiotic (+)-usnic acid against clinical isolates of vancomycin-resistant enterococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Naturwissenschaften*, 94: 465-468.
- Emmerich R., Giez I., Lange O.L., Proksch P. 1993. Toxicity and antifeedant activity of lichen compounds against the polyphagous herbivorous insect *Spodoptera littoralis*. *Phytochemistry*, 33(6): 1389-1394.
- Eryılmaz E.I., İnal M.S., Ünal Özakça D. 2013. Effect of UV-C radiation on transcription level of polyketide synthase gene (pksI) and photosystem II D1 protein gene (psbA) in *Evernia prunastri*. *Digital Proceeding of THE ICOEST'2013-Cappadocia*. C.Ozdemir, S. Şahinkaya, E. Kalıpcı, M.K. Oden (editors), 18-21 June, Nevşehir, Turkey.
- Fazio A.T., Adler M.T., Bertoni M.D., Sepulveda C.S., Damonte E.B., Maier M.S. 2007. Lichen secondary metabolites from the cultured lichen mycobionts of *Teloschistes chrysophthalmus* and *Ramalina celastri* and their antiviral activities. *Zeitschrift für Naturforschung*, 62(7-8): 543-549.
- Fernandez-Moriano C., Gomez-Serranillos M.P., Crespo A. 2016. Antioxidant potential of lichen species and their secondary metabolites. A systematic review. *Pharmaceutical Biology*, 54(1): 1-17.
- Francolini I., Norris P., Piozzi A., Donelli G., Stoodley P. 2004. Usnic Acid, a Natural Antimicrobial Agent Able To Inhibit Bacterial Biofilm Formation on Polymer Surfaces. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(11): 4360-4365.
- Frisvad J.C., Anderson B., Thrane U. 2008. The use of secondary metabolite profiling in chemotaxonomy of filamentous fungi. *Mycological Research*, 112: 231-240.
- Gülçin İ., Oktay M., Küfrevioglu İ., Aslan A. 2002. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(3): 325-329.
- Güvenc A., Küpeli Akkol E., Süntar İ., Keles H., Yıldız S., Çalış İ. 2012. Biological activities of *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf extracts and isolation of the active compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, 144: 726-734.
- Hamada N. 1991. Environmental factors affecting the content of usnic acid in the lichen mycobiont of *Ramalina siliquosa*. *Bryologist*, 94: 57-59.
- Hale M.E. 1990. A synopsis of the lichen genus *Xanthoparmelia* (Vainio) Hale (Ascomycotina, Parmeliaceae). *Smithsonian Contributions to Botany*, 74: 1-250.
- Huneck S. 1999. The significance of lichens and their metabolites. *Die Naturwissenschaften*, 86: 559-570.
- Huneck S., Yoshimura I. 1996. Identification of lichen substances. Springer, Berlin. 493 p.
- Huneck S. 2001. New results on the chemistry of lichen substances. In: W. Herz, H. Falk, G.W. Kirby, R.E. Moore (Eds.), *Progress in the Chemistry of Organic Products*. Springer, New York. pp: 1-276.
- Ingolfssdottir K., 2002. Molecules of Interest - Usnic acid. *Phytochemistry*, 61: 729-736.
- Ingolfssdottir K., Hjalmarsdottir M.A., Sigurdsson A., Gudjonsdottir G.A., Brynjolfsdottir A., Steingrimsdottir O. 1997. In Vitro Susceptibility of *Helicobacter pylori* to Protolichesterinic Acid from the Lichen *Cetraria islandica*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 215-217.
- Kaptaner İğci B. 2013. Likenlerin antimikrobiyal etkileri üzerine Türkiye'de yapılan çalışmalar. *Liken Araştırmaları Derneği (LİKAD) Bülteni*, 2: 22-25.

- Karagöz A., Aslan A. 2005. Antiviral and cytotoxic activity of some lichen extracts. *Biologia*, 60(3): 281-286.
- Kasımoğulları S.Ç., Oran S., Arı F., Ulukaya E., Aztopal N., Sarımahmut M., Öztürk Ş. 2014. Genotoxic, cytotoxic and apoptotic effects of crude extracts *Usnea filipendula* stirt. *in vitro*. *Turkish Journal of Biology*, 38: 940-947.
- Kosonic M., Rankovic B. 2011. Lichens as possible sources of antioxidants. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24(2): 165-170.
- Kroken S., Glass N.L., Taylor J.W., Yoder O.C., Turgeon B.G. 2003. Phylogenomic analysis of type I polyketide synthase genes in pathogenic and saprobic ascomycetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 15: 670– 675.
- LaGreca S. 1999. A phylogenetic evaluation of the *Ramalina americana* chemotype complex (lichenized Ascomycota, Ramalinaceae) based on rDNA ITS sequence data. *Bryologist*, 102: 602-618.
- Lawrey J.D. 2009. Chemical defense in lichen symbioses. Chapter 11. In: J. White, M. Torre (Eds.), *Diversity of Defensive Mutualisms*. Taylor & Francis Group Publishers, pp.167-181.
- Leandro L.F., Munari C.C., Sato V.L.F.L, Alves J.M., Oliveira P.F.O., Mastrocola D.F.P., Martins S.P.L., Moraes T.S., Oliveira A.I., Tozatti M.G., Cunha W.R., Tavares D.C. 2013. Assessment of the genotoxicity and antigenotoxicity of (+)-usnic acid in V79 cells and Swiss mice by the micronucleus and comet assays. *Mutation Research*, 753: 101-106.
- Llano G.A. 1950. Economic uses of lichens. *Annual Report, Smithsonian Institution, Washington D.C.*
- Lobakova E.S., Smirnov I.A. 2012. Experimental Lichenology. In: *Advances in Applied Biotechnology*, Prof. Marian Petre (Ed.). pp: 258-276.
- Malhotra S., Subban R., Singh A. 2008. Lichens-role in traditional medicine and drug discovery. *The Internet Journal of Alternative Medicine*, 5(2).
- Manojlovic N.T., Solujic S., Sukdolak S., Milosev M. 2005. Antifungal activity of *Rubia tinctorum*, *Rhamnus frangula* and *Caloplaca cerina*. *Fitoterapia*, 76(2): 244-6.
- Miao V., Coëffet-LeGal M.F., Brown D., Sinnemann S., Donaldson G., Davies J. 2001. Genetic approaches to harvesting lichen products. *Trends in Biotechnology*, 19: 349-355.
- Mitrović T., Stamenković S., Cvetković V., Tošić S, Stanković M., Radojević I., Stefanović O., Čomić L, Dačić D., Ćurčić M., Marković S. 2011. Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Five Lichen Species. *International Journal of Molecular Sciences*, 12: 5428-5448.
- Molnar K., Farkas E. 2010. Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: a review. *Zeitschrift für Naturforschung*, 65c: 157-173.
- Nakajima H., Hara K., Yamamoto Y., Itoh K. 2015. Effects of Cu on the content of chlorophylls and secondary metabolites in the Cu-hyperaccumulator lichen *Stereocaulon japonicum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113:477-82.
- Nash III TH. 2008. *Lichen biology*. 2nd ed., Cambridge University Press, Cambridge. 486 p.
- Nybakken L., Solhaug K.A., Bilger W., Gauslaa Y. 2004. The lichens *Xanthoria elegans* and *Cetraria islandica* maintain a high protection against UV-B radiation in Arctic habitats. *Oecologia*, 140: 211-216.
- Odabaşoğlu F., Aslan A., Çakir A., Süleyman H., Karagöz Y., Halici M., Bayir Y. 2004. Comparison of Antioxidant Activity and Phenolic Content of Three Lichen Species. *Phytotherapy Research*, 18: 938-941.
- Oran S. 2013. Türkiye'de likenlerin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi konusunda yapılan çalışmalar. *Liken Araştırmaları Derneği (LİKAD) Bülteni*, 2: 16-22.
- Orange A., James P.W., White F.J. 2001. *Microchemical methods for the identification of lichens*. British Lichen Society.
- Özenoğlu S., Aydoğdu G., Dinçsoy A.B., Taghidizaj A.F., Derici K., Yılmaz E., Aras S., Cansaran-Duman D. 2013. Liken sekunder bileşiklerinin farklı insan kanser hücre tipleri üzerine antikanserijenik etkisi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 70(4): 215-26.
- Prateeksha P.B.S., Bajpai R., Jadaun V., Kumar J., Kumar S., Upreti D.K., Singh B.R., Nayaka S., Joshi Y., Singh B.N. 2016. The genus *Usnea*: a potent phytomedicine with multifarious ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. *The Royal Society of Chemistry, RSC Adv.*, 6: 21672-21696.
- Rancan F., Rosan S., Boehm K., Fernandez E., Hidalgo M.E., Quihot W., Rubio C., Boehm F., Piazena H., Oltmanns U. 2002. Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens. *Journal of Photochemistry and Photobiology B*, 68(2-3): 133-139.
- Ranković, B., Ranković, D., Kosanić, M., Maric, D. 2010. Antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Anaptychya ciliaris*, *Nephroma parile*, *Ochrolechia tartarea* and *Parmelia centrifuga*. *Central European Journal of Biology*, 5(5): 649-655.
- Ren M.R., Hur J.S., Kim J.Y., Park K.W., Park S.C., Seong C.N., Jeong I.Y., Byun M.W., Lee M.K., Seo K.I. 2009. Anti-proliferative effects of *Lethariella zahlbruckneri* extracts in human HT-29 human colon cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2157-2162.
- Rojas J.L., Díaz-Santos M., Valencia-Islas N.A. 2015. Metabolites with antioxidant and photo-protective

- properties from *Usnea roccellina* Motyka, a lichen from Colombian Andes. UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences, 3(4): 18-26.
- Romagni J.G., Dayan F.E. 2002. Structural diversity of lichen metabolites and their potential use. In: R.J. Upadhyay (Ed.), Advances in Microbial Toxin Research and Its Biotechnological Exploitation. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, pp: 151-169.
- Rundel P.W. 1969. Clinal variation in the production of usnic acid in *Cladonia subtenuis* along light gradients. Bryologist, 72: 40-44.
- Schmeda-Hirschmann G., Tapia A., Lima B., Pertino M., Sortino M., Zacchino S., Arias A.R., Feresin G.E. 2008. A new antifungal and antiprotozoal depside from the Andean lichen *Protousnea poeppigii*. Phytotherapy Research, Mar 22(3): 349-55.
- Sepulveda B., Chamy M.C., Piovano M., Areche C. 2013. Lichens: Might be considered as a source of gastroprotective molecules? Journal of the Chilean Chemical Society, 58(2): 1750-1752.
- Sesal C. 2014. Liken Sekonder Metabolitlerinin *Pseudomonas aeruginosa* Antimikrobiyal Peptit Mekanizmasına Etkisinin in siliko ve in vitro Ortamda İncelenmesi”, XXXVI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 12-16 Kasım 2014, Antalya.
- Shukla V., Joshi G.P., Rawat M.S.M. 2010. Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: a review. Phytochemistry Reviews, 9: 303-314.
- Shukla P., Upreti D.K., Nayaka S., Tiwari P. 2014. Natural Dyes from Himalayan Lichens. Indian Journal of Traditional Knowledge, 13/1: 195-201.
- Siddiqi M.R. ve Hawksworth D.L. 1982. Nematodes associated with galls on *Cladonia glauca*, including two new Species. The Lichenologist, 14: 175-184.
- Solhaug K.A., Gauslaa Y. 2004. Photosynthates stimulate the UV-B induced fungal anthraquinone synthesis in the foliose lichen *Xanthoria parietina*. Plant, Cell, and Environment, 27: 167-176.
- Stocker-Wörgötter E. 2008. Metabolic diversity of lichen-forming ascomycetous fungi: culturing, polyketide and shikimate metabolite production, and PKS genes. Natural Product Reports, 25: 188-200.
- Süleyman H., Yıldırım D., Aslan A., Göçer F., Gepdiremen A., Güvenalp Z. 2002. An investigation of the anti-inflammatory effects of an extract from *Cladonia rangiformis* Hoffm. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 25(1): 10-13.
- Şen H., Aksoy A., Çobanoğlu G., Selvi S. 2014. Natural dyeing works on some lichens species distributed in Ayvacık (Çanakkale) and İvrindi (Balıkesir/Turkey). Biological Diversity and Conservation, 7/3: 184-189.
- Triggiani D., Ceccarelli D., Tiezzi A., Pisani T., Munzi S., Gaggi C., Loppi S. (2009). Antiproliferative Activity of Lichen Extracts on Murine Myeloma Cells. Biologia, 64/1: 59 -62.
- Varol M., Tay T., Candan M., Turk A., Koparal A.T. 2015. Evaluation of the sunscreen lichen substances usnic acid and atranorin. Biocell, 39(1): 25-31.
- Vatne S., Asplund J., Gauslaa Y. 2011. Contents of carbon based defense compounds in the old forest lichen *Lobaria pulmonaria* vary along environmental gradients. Fungal Ecology, 4: 350-355.
- Vijayan P., Raghu C., Ashok G., Dhanaraj S.A., Suresh B. 2004. Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris. Indian Journal of Medical Research, 120: 24-29.
- Yavuz M. 2013. Lichens in the prescriptions of Pliny the Elder. Oltenia, Studii și comunicări, Științele Naturii, 29(1): 115-119.
- Yavuz M., Çobanoğlu G. 2010. Ethnological uses and etymology of the word Usnea in Ebubekir Razi's "Liber Almansoris". The British Lichen Society Bulletin, 106: 3-12.