

Serpil KARAN

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI



İSKENDERUN TEKNİK

ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**DOKTORA
TEZİ**

**DENİZ BÖRÜLCESİ
[SALICORNIA EUROPAEA] 'NİN
TIBBİ VE KOZMETİK
ALANLARINDA KULLANIMI**

Serpil KARAN

SU ÜRÜNLERİ
ANABİLİM DALI

TEMMUZ 2021

TEMMUZ 2021





**DENİZ BÖRÜLCESİ (*SALICORNIA EUROPAEA*)'NİN TIBBİ VE KOZMETİK
ALANLARINDA KULLANIMI**

Serpil KARAN

**DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2021

Serpil KARAN tarafından hazırlanan “DENİZ BÖRÜLCESİ (*SALICORNIA EUROPAEA*)’NİN TIBBİ VE KOZMETİK ALANLARINDA KULLANIMI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile İskenderun Teknik Üniversitesi Su Ürünleri Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Cemal TURAN

Su Ürünleri Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Başkan: Prof. Dr. Cemal TURAN

Su Ürünleri Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Prof. Dr. Mustafa Kemal SANGÜN

Analitik Kimya Anabilim Dalı, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Doç. Dr. Ersin BAHÇECİ

Metarülji ve Malzeme Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Prof. Dr. Ahmet BOZKURT

Su Ürünleri Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Dr. Öğr. Üyesi. Mevlüt GÜRLEK

Su Ürünleri Anabilim Dalı, İskenderun Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Prof. Dr. Deniz AYAS

İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Mersin Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Doç. Dr. Deniz YAĞLIOĞLU

Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Düzce Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 16/07/2021

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Doç. Dr. Ersin BAHÇECİ
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

İskenderun Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu,
 - Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmza

Serpil KARAN

16/07/2021

DENİZ BÖRÜLCESİ (*SALICORNIA EUROPAEA*)'NİN TIBBİ VE KOZMETİK ALANLARINDA KULLANIMI

(Doktora Tezi)

Serpil KARAN

İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2021

ÖZET

Bu tez çalışmasında, denizel bitkisel materyal olarak Deniz Börülcesi (*Salicornia europaea*) türünden elde edilen çeşitli ekstraktların biyomedikal ve kozmetik alanlarındaki potansiyel kullanımı tespit edilmiş ve değerlendirilmiştir. Deniz Börülcesi *Salicornia europaea* türü Adana/Tuzla Lagünü'nden elde edilmiştir. Üç bölümden oluşan tez çalışması kapsamında birinci bölümde *S. europaea* türünün biyomedikal ve kozmetik alanlarında kullanımı için kimyasal yapı analizleri yapılmıştır. Bu amaçla; *S. europaea* türünün türünün Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen sabit yağı GC/MS cihazı ile analizi yapılarak gerçekleştirilmiştir. Mineral değerleri ICP/AES analizi ile, vitamin E (α -tokoferol) oranı ise LC/MS-MS analizi ile tespit edilmiştir. Kristalografik dokusu ve bileşimi X Işını Kristalografisi (XRD) analizi ile gerçekleştirilen *S. europaea*'nın elementel kompozisyonu ve kimyasal yapısı SEM-EDS analizleri ile tespit edilmiştir. *S. europaea*'nın sabit yağ oranı %15,15 olarak bulunmuştur. ICP/AES cihazında elde edilen mineral oranları, sırasıyla Sodyum (47 ppm), Magnezyum (51,98 ppm), Potasyum (45,86 ppm) ve Kalsiyum (14,27 ppm) olarak tespit edilmiştir. LC/MS-MS analizi sonucu vitamin E (Alphatocopherol) oranını hekzan ile muamele edilen örnekte 2,1/100g, zeytinyağı ile muamele edilen örnekte ise 551,98 μ g/ml olarak bulunmuştur. XRD analizi sonucunda ise %54,5 oranında Stronsiyum Lantan Demir (III) Kalay (IV) Oksit bulunmuştur. EDS kullanılarak elde edilen elementel kompozisyonunda ise Oksijen (O), Sodyum (Na), Magnezyum (Mg), Potasyum (K) ve Kalsiyum (Ca) elementleri en yüksek enerji seviyesinde tespit edilmiştir.

İkinci bölümde *S. europaea*'nın antimikrobiyal aktivitesine bakılmış ve, *S. europaea*'dan aseton, metanol, etanol ve saf su kullanarak elde edilen ekstraktlar gram negatif bakteri suşlarından *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*, gram pozitif bakteri suşlarından ise *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve *C. parapsilosis* maya suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Araştırmada Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon ve Disk difüzyon yöntemleri kullanılmıştır. Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon yöntemi için en güçlü antimikrobiyal aktivite, 8,35 μ L MİK değeri ile metanol ekstaraktından *E. coli* bakterisine karşı belirlenmiştir. Disk difüzyon yöntemi için ise en yüksek, *B. subtilis* bakterisi üzerinde 3,8 mm'lik inhibisyon zon çapı ile metanol ekstaraktında belirlenmiştir. *S. europaea*'nın antimikrobiyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Üçüncü bölümde ise DNA barkodlama tekniği ile *Salicornia europaea*'nın diğer benzer türlerden ayırımı çalışması yapılmıştır. DNA dizi analizi sonucunda kullanılan rpln32-trnl gen bölgesinin uzunluğu 805 bp olarak bulunurken, 800 bp'lik kısmı evrimsel süreçten etkilenmemiş bölge 5 bp'lik kısmı değişen bölge, 2 bp'lik kısmı ise parsimoni anlamlı bölge görevi görmüştür. Nükleotid kompozisyonu A= %37,9, T= %11,9, C= %37,6 ve G= %12,6

olarak tespit edilmiştir. Türlerin dizin analizi ile 21 haplotip gözlenirken, türler arası haplotip çeşitliliği 0,9217 olarak bulunmuştur. Tüm türler arasındaki ortalama genetik çeşitlilik değeri 0,01721 olarak bulunmuştur. Türler arasındaki genetik ilişki Maksimum Parsimoni ve Komşu Kalıtlımlı Soyağacı kullanarak test edilmiş ve her iki ağaç da benzer dallanmalar göstermiştir. Buna göre *S. europaea*'nın her iki ağaçta da kendi içinde dallanma göstererek diğer türlerden ayrıldığı tespit edilmiştir.

Tez Çalışmasından elde edilen sonuçlar, *S. europaea*'dan elde edilen yağ ve ekstraktlardaki biyoaktif maddeler kullanılarak denizel kaynaklı doğal bir ürün olarak kozmetik ve tıbbi alanlarda kullanabileceğini göstermiştir.



Anahtar Kelimeler : Deniz Börülcesi, *Salicornia europaea*, biyomateryal, kozmetik, antimikrobiyal aktivite, DNA barkodlama

Sayfa Adedi : 58

Danışman : Prof. Dr. Cemal TURAN

USE OF GLASSWORT (*SALICORNIA EUROPAEA*) IN MEDICAL AND COSMETIC APPLICATIONS

(Ph. D. Thesis)

Serpil KARAN

ISKENDERUN TECHNICAL UNIVERSITY
INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

July 2021

ABSTRACT

In this thesis, the potential use of various extracts obtained from Glasswort (*Salicornia europaea*) as marine herbal material in biomedical and cosmetic applications have been determined and evaluated. Glasswort *Salicornia europaea* species were obtained from Adana / Tuzla Lagoon. Thesis study is consist of three parts. In the first part, chemical structure analyzes were made for the use of *S. europaea* in biomedical and cosmetic fields. For this purpose, oil yields analysis of *S. europaea* species were carried out by GC / MS analysis. Mineral values were determined by ICP/AES analysis, and vitamin E (α -tocopherol) ratio was determined by LC/MS-MS analysis. The crystallographic texture and composition of *S. europaea*, which was performed by X-Ray Crystallography (XRD) analysis, were determined by SEM-EDX analyzes. The fixed oil rate of *S. europaea* was found to be 15.15%. The mineral ratios obtained in the ICP / AES device were determined as Sodium (Na) 47 ppm, Magnesium (Mg) (51.98 ppm), Potassium (K) (45.86 ppm) and Calcium (14.27 ppm), respectively. LC / MS-MS analysis result of vitamin E (alphatocopherol) ratio in samples treated with hexanes 2.1 / 100g, while the samples treated with olive oil 551.98 mg / ml, respectively. As a result of XRD analysis, 54.5% Strontium Lanthanum Iron (III) Tin (IV) Oxide was found. In the elemental composition obtained by using EDX, Oxygen (O), Sodium (Na), Magnesium (Mg), Potassium (K) and Calcium (Ca) elements were detected at the highest energy level.

In the second part, the antimicrobial activity of *S. europaea* was examined and extracts obtained from *S. europaea* using acetone, methanol, ethenol and purified water were found to be gram negative (*Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*), gram positive (*Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*) bacterial strains and yeast (*Candida albicans* and *C. parapsilosis*) strains were determined by Disk diffusion and Spectrophotometric Broth Microdilution methods. The strongest antimicrobial activity for the spectrophotometric Broth Microdilution method was determined against *E. coli* bacteria from methanol extract with a MIC value of 8.35 μ L. For the disk diffusion method, methanol extract with 3.8 mm inhibition zone diameter was found to be most effective against *B. subtilis* bacteria. It has been determined that *S. europaea* has an antimicrobial effect.

In the third part, the differentiation of *Salicornia europaea* from other similar species was done by DNA barcoding technique. As a result of DNA sequence analysis, the length of the rpln32-trnl gene region was found to be 805 bp; while, the 800 bp part was not affected by the evolutionary process, the 5 bp part served as the changed region, and the 2 bp part served as the parsimony significant region. The nucleotide composition was determined as A = 37.9%, T = 11.9%, C = 37.6% and G = 12.6%. While 21 haplotypes were observed by

sequence analysis of the species, the haplotype diversity between species was found to be 0.9217. The average value of genetic diversity among all species was found to be 0.01721. The genetic relationship between the species was tested using Maximum Parsimony and Neighbor-Joining, and both trees showed similar branching. Accordingly, it has been determined that *S. europaea* differs from other species by showing branching within itself in both trees.

The results obtained from the thesis study showed that it can be used in pharmaceuticals and cosmeceutical applications as a marine-derived natural product by using extract and oil of *S. europaea*.

Key Words : Glasswort, *Salicornia europaea*, biomaterial, cosmetics, antimicrobial, activity, DNA barcoding
Page Number : 58
Supervisor : Prof. Dr. Cemal TURAN

TEŞEKKÜR

İlk olarak, tez çalışmamın belirlenmesinde, çalışmalarımın yürütülmesinde ve yazım sürecinde kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile büyük bir titizlik ve özveriyle bana her türlü desteği sağlayan değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Cemal TURAN'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın yürütülmesi ve yazım aşamalarında bilgi ve önerileri ile destekleyen değerli Tez İzleme Komitesi üyesi sayın Prof. Dr. Mustafa Kemal SANGÜN ve Doç. Dr. Ersin BAHÇECİ hocalarıma şükranlarımı sunarım.

Antimikrobiyal analizlerimin gerçekleştirilmesinde gerekli laboratuvar desteğini sağlayan, analizlerin sonuçlandırılması ve teze uyarlanmasında yardımlarını esirgemeyen sayın Dr. Öğr. Üyesi Elif Ayşe ERDOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın yürütülmesi sırasında yardımlarından ötürü çalışma arkadaşım Dr. Ali UYAN'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca beni yalnız bırakmayan, umudumu yitirdiğim her anda bana devam etme gücü veren ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen annem Ayşe Gül KARAN, babam Ahmet KARAN, abim Selçuk KARAN ve ablam Yasemin CANDAN KARAN'a sonsuz minnettarım.

2020LTP-01 numaralı BAP projesiyle gerekli kimyasalları ve malzemeleri temin etmemizi sağlayan İSTE BAP'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma TÜBİTAK 2211-C Yurtiçi Öncelikli Alanlar Doktora Burs Programı ve 100/2000 YÖK Doktora Bursu tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiv
RESİMLERİN LİSTESİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
2.1. Biyokimyasal İçerik İle İlgili Yapılan Çalışmalar	5
2.2. Antimikrobiyal Aktivite İle İlgili Yapılan Çalışmalar	6
2.3. DNA Barkodlama İle İlgili Yapılan Çalışmalar	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	10
3.1. Materyal	10
3.1.1. Materyalin sistematiikteki yeri	10
3.1.2. <i>Salicornia europaea</i> 'ı diğer türlerden ayıran özellikler	10
3.1.3. Örneklem bölgeleri	11
3.2. Yöntem.....	11
3.2.1. Örneklerin Elde Edilmesi ve Korunması.....	11
3.2.2. Birinci bölüm: Kozmetik.....	12
3.2.2. İkinci bölüm: Antimikrobiyal Analiz	16
3.2.3. Üçüncü Bölüm: Genetik Barkodlama	20
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	26
4.1. Kozmetik Sonuçları.....	26
4.1.1. <i>Salicornia europaea</i> örneklerinin nem analizi sonuçları	26

	Sayfa
4.1.2. Sabit yağ asitleri analizi sonuçları.....	26
4.1.3. Mineral analizleri sonuçları.....	27
4.1.4. E Vitamini analizi sonuçları.....	27
4.1.5. <i>Salicornia europaea</i> örneklerinin X ışını kristalografisi analizi sonuçları .	28
4.1.6. Taramalı elektron mikroskobu ve enerji yayımlı X-ışını analizi sonuçları.	29
4.1.7. Krem Formülasyonu Hazırlama	30
4.2. Antimikrobiyal Analiz Sonuçları	31
4.2.1. Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon Sonuçları	31
4.2.2. Disk difüzyon sonuçları	33
4.3. Genetik sonuçlar	35
4.3.1. <i>Salicornia europaea</i> genetik sonuçları.....	35
4.3.2. <i>Salicornia</i> türleri arasındaki genetik sonuçlar.....	36
5. TARTIŞMA.....	43
5.1. Kozmetik.....	43
5.1.1. Nem Analizi	43
5.1.2. Yağ Analizi	43
5.1.3. Mineral Analizi	44
5.1.4. E Vitamini analizi.....	44
5.1.5. X ışını kristalografisi (XRD) analizi	44
5.1.6. Taramalı elektron mikroskobu ve enerji yayımlı X-ışını analizi	45
5.2. Antimikrobiyal aktivite	45
5.3. DNA Barkodlama	46
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR.....	53
DİZİN.....	58

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. rpl32-trnL lokusuna ait primer dizisi.....	23
Çizelge 3.2. GenBanktan alınan türler ve GenBank numaraları.....	25
Çizelge 4.1. <i>S. europaea</i> 'nın yağ asidi bileşimi.....	27
Çizelge 4.2. XRD sonuçlarına göre <i>Salicornia europaea</i> bitkisinin içerdiği bileşenler..	28
Çizelge 4.3. Spektrofotometrik Mikrodilasyon yöntemine göre <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>B. subtilis</i> ve <i>S. aureus</i> ile ayrı ayrı inkübe edilmiş <i>S. europaea</i> ekstraktlarının MİK değerleri.....	32
Çizelge 4.4. Spektrofotometrik Mikrodilasyon yöntemine göre <i>C. albicans</i> ve <i>C.</i> <i>parapsilosis</i> ile ayrı ayrı inkübe edilmiş <i>S. europaea</i> ekstraktlarının MİK değerleri.	33
Çizelge 4.5. <i>S. europaea</i> ekstraktlarının disk difüzyon methodu ile elde edilen inhibisyon zon çapları.....	34
Çizelge 4.6. <i>S. europaea</i> ekstraktlarının disk difüzyon methodu ile elde edilen inhibisyon zon çapları.	35
Çizelge 4.7. <i>S. europaea</i> dizileri arası karşılaştırmalı genetik çeşitlilik değerleri.....	36
Çizelge 4.8. <i>Salicornia</i> türlerindeki rpln32-trnL haplotiplerinin frekansları ve türlere göre dağılımı	38

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. <i>S.europaea</i> örnekleme haritası.....	11
Şekil 3.2. DNA dizin analizi sonucu elde edilen rpL32–trnL geninin BioEdit programı ile incelenmesi.....	24
Şekil 4.1. <i>S. europaea</i> 'nın yağ asidinin majör bileşikleri.....	27
Şekil 4.2. LC-MS/MS kromatogramları.....	28
Şekil 4.3. <i>S. europaea</i> 'da bulunan bileşiklerin XRD sonuçlarını gösteren grafiksel görüntüsü.....	29
Şekil 4.4. <i>S. europaea</i> 'nın 40 µm (a), 50 µm (b), 50 µm (c), 400 µm (d) ölçeklerinde yüzey görüntüleri.....	29
Şekil 4.5. Elementlerin varlığını gösteren EDS analizi grafiği.....	30
Şekil 4.6. Haplotipler arasındaki ilişkileri gösteren asgari tarama ağacı.....	39
Şekil 4.7. <i>Salicornia</i> türlerinin genetik ilişkisini gösteren komşu katılımlı ağaç.....	41
Şekil 4.8. <i>Salicornia</i> türlerinin genetik ilişkisini gösteren maximum parsimoni ağaç..	42

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. <i>S. europaea</i> örneklerinin toplanması	12
Resim 3.2. Nem tayini öncesi tartılan yağ örnekler	13
Resim 3.3. Soxhlet analizi	13
Resim 3.4. Soxhlet ekstraksiyonu sonucu elde edilen yağ	14
Resim 3.5. Ekstraksiyon sonucu elde edilen örneğin süzülmesi	15
Resim 3.6. Tartılmış toz <i>S. europaea</i> 'nın özüt hazırlama aşaması	17
Resim 3.7. Hazırlanan çözeltilerin vakum evaporatörde uzaklaştırılması işlemi	18
Resim 3.8. MHA'lı petrideki boş antimikrobiyal disklerle ekstakt yerleştirme işlemi ..	20
Resim 3.9. DNA ekstraksiyonu sırasında santirifüj işleminde oluşan katmanlar	21
Resim 3.10. DNA ekstraksiyonu sırasında örneklerin yeni tüplere aktarılması	21
Resim 3.11. DNA ekstraksiyonu sonucunda <i>S. europaea</i> 'dan elde edilen pelet	22
Resim 3.12. DNA ekstraksiyonu sonucu elde edilen DNA'nın %0,7'lik agaroz jel üzerinde kontrolü	23
Resim 3.13. PZR sonucu elde edilen PZR'ın %1,5'lik agaroz jel üzerinde kontrolü....	24
Resim 4.1. Nem tayini sonrası etüvden alınan örnekler	26
Resim 4.2. <i>Salicornia europaea</i> ekstarktı kullanılarak krem oluşturma	30

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

°C
µl
bç
g
mg
ml

Açıklamalar

Derece santigrat
Mikrolitre
Baz çifti
Gram
Miligram
Mililitre

Kısaltmalar

A2415
A4815
A7215
A2430
A4830
A7230
E2415
E4815
E7215
E2430
E4830
E7230
EDS
GC/MS
ICP/AES
M2415
M4815
M7215
M2430
M4830
M7230
MİK
LC/MS-MS
S2415
S4815
S7215
S2430
S4830
S7230
SEM
XRD

Açıklamalar

Asetonda 24 saat bekletilmiş 15 gramlık örnek
Asetonda 48 saat bekletilmiş 15 gramlık örnek
Asetonda 72 saat bekletilmiş 15 gramlık örnek
Asetonda 24 saat bekletilmiş 30 gramlık örnek
Asetonda 48 saat bekletilmiş 30 gramlık örnek
Asetonda 72 saat bekletilmiş 30 gramlık örnek
Etanolda 24 saat bekletilmiş 15 gramlık örnek
Etanolda 48 saat bekletilmiş 15 gramlık örnek
Etanolda 72 saat bekletilmiş 15 gramlık örnek
Etanolda 24 saat bekletilmiş 30 gramlık örnek
Etanolda 48 saat bekletilmiş 30 gramlık örnek
Etanolda 72 saat bekletilmiş 30 gramlık örnek
Enerji yayımlı X-ışını analizi
Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
Metanolda 24 saat bekletilmiş 15 gramlık örnek
Metanolda 48 saat bekletilmiş 15 gramlık örnek
Metanolda 72 saat bekletilmiş 15 gramlık örnek
Metanolda 24 saat bekletilmiş 30 gramlık örnek
Metanolda 48 saat bekletilmiş 30 gramlık örnek
Metanolda 72 saat bekletilmiş 30 gramlık örnek
Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi
Saf suda 24 saat bekletilmiş 15 gramlık örnek
Saf suda 48 saat bekletilmiş 15 gramlık örnek
Saf suda 72 saat bekletilmiş 15 gramlık örnek
Saf suda 24 saat bekletilmiş 30 gramlık örnek
Saf suda 48 saat bekletilmiş 30 gramlık örnek
Saf suda 72 saat bekletilmiş 30 gramlık örnek
Taramalı elektron mikroskobu
X Işını Kristalografisi

1. GİRİŞ

Biyoteknoloji, biyolojik sistem ve canlı organizmaları ya da bunların türevlerini kullanarak spesifik bir kullanım için ürün veya işlemleri dönüştürmek veya oluşturmak amacıyla kullanan teknolojik uygulamalardır. Farklı bir çok açıdan değerlendirilen biyoteknoloji, geleneksel biyoteknoloji ve modern biyoteknoloji olmak üzere ayrılmaktadır. Geleneksel biyoteknoloji; doymuş ve oturmuş bir teknoloji anlamı taşırken, modern biyoteknoloji; sürekli yenilenen, giderek büyümesine rağmen potansiyeli sınırsız olan “moleküler biyoloji”de yapılan temel bilim araştırmalarına bağımlı bir teknolojidir (DPT, 2000). İnsanlık tarihinden itibaren mevcut olan geleneksel biyoteknoloji, son yıllarda moleküler biyoloji ve genetik alanlarında yapılan bilimsel çalışmalar sayesinde yeni bir anlam ve öneme sahip olmuştur (Şahin, 2003). Biyoteknolojik uygulamaların bir çok alanda kullanımı bulunmaktadır. Multidisipliner özelliğe sahip olan bu uygulamalar; İlaç endüstrisi, kimya endüstrisi, gıda endüstrisi, tarım ve ziraat, elektronik endüstrisi, kâğıt endüstrisi, çevre temizliği, kriminal çalışmalarda DNA analizleri gibi alanlarda kullanılmaktadır.

Okyanuslar ve denizlerin yerküremizin %70'ini kapsayan ve tüm küresel biyoçeşitliliğin yaklaşık %50'sini oluşturan zengin kaynaklar olduğu ele alındığında deniz ekosistemi karasal ekosistemle kıyaslandığında daha zengin biyoaktif kaynağı olarak görülmekte olduğundan denizel biyotada yapılan çalışmalar “Blue Biotechnology” olarak tanımlanarak hızlı bir gelişim sürecine girmiştir (Bollinger, Thies, Katzkeve, Jaeger, 2018). Bu amaçla denizel ve/veya tatlısu biyolojik kaynaklarından biyomateryallerin eldesi ve bunlardan proteinlerin, enzimlerin ve sekonder metabolitlerin çıkartılmasına olanak sağlayacak teknolojileri geliştirmek, gıdada, kozmetikte ve sağlıkta yeni ticari ürünler sunarak sucul biyomateryal olarak polimerler, enzimler ve biyolojik materyaller gibi sucul kökenli işletilebilir ürünlerin geliştirilmesi önem arz etmektedir.

Denizde yaşayan canlı organizmalardan ya da bu organizmalardan biyoteknolojik yöntemlerle elde edilen doğal ürünlerden teknoloji, enerji ve hizmet üretilmesi ise “denizel biyoteknoloji” olarak tanımlanmaktadır. Denizel kaynaklı gıdaların üretiminin sağlanması, deniz canlılarından insan sağlığı için kullanılacak biyomoleküllerin eldesi, biyopolimerlerin ve bir çok farklı amaç için kullanılacak çeşitli biyomateryallerin üretimi, denizel biyoteknolojinin kullanım alanlarıdır.

Denizin; yeni ve biyoaktif bileşikler elde etmek için zengin bir kaynak olarak tanınması artmaktadır. Birçok deniz kaynaklı etken maddenin deniz canlılarının dokularında olduğu ve bu nedenle o canlıya özgü ürünler olduğu bilinmektedir (Özkaya, Erdoğan ve Altunok, 2013). Bununla birlikte daha pek çok ürün, o canlı ile endobiyotik ya da epibiyotik ilişkiye sahip mikroorganizmalarca da üretilmektedir. Denizel kaynaklı sekonder metabolitlerin de sahip olduğu antitümör, antiproliferatif, fotoprotektif, antibiyotik ve antimalaryal aktiviteler gibi aktiviteler farmasötik için her geçen gün daha da artarak ilgi çekici bir alan haline gelmiştir (Cragg ve Newman, 2013). Savunma, farklılaşma, düzenlenme, morfogenez, taşıma, hücrel haberleşme gibi olayların gerçekleşmesinde sekonder metabolitler etkili rol oynarlar. Günümüzde en çok araştırması yapılan bitki sekonder metabolitleri alkaloidler, terpenoidler ve fenolik bileşiklerdir. Tıbbi uygulamalar ve endüstride sabun, parfüm, bitkisel yağ, boya, yapışkan, doğal plastik, pestisit ve insektisitlerin üretiminde resinler, antosiyaninler, taninler, saponinler ve uçucu yağlar kullanılmaktadır (Oskay ve Oskay, 2009).

Denizel biyoçeşitlilik açısından oldukça zenginliğe sahip olan ülkemizde denizel biyoteknoloji ve genomik üzerine çalışmalar gerçekleştirerek öncelikli olarak ilaçlar, tedaviler ve biyomateryallerin oluşturulması için kullanılacak bilgilere ulaşmak için denizel biyoçeşitliliğe sahip multidisipliner çalışmaların geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu nedenle doğal laboratuvar özelliği taşıyan denizel alanlarda biyoteknolojik çalışmaları geliştirmek oldukça önemli bir ihtiyaç olmuştur.

Denizel biyotadan elde edilen sekonder metabolitlerin ürettiği bileşikler, yapılan bir çok araştırma sonucunda hastalıkların tedavisi için veya kozmetik alanında kullanılabilecek olan ürünlerin merkezini oluştururlar. Kozmetik formülasyonlarda bitkisel ekstraktların kullanımı, son yıllarda hayvansal kaynaklı ekstraktlara göre oldukça artmıştır. Etkili madde olarak monoetanolamin, dietanolamin, sodyum lauril sülfat, trietanolamin gibi sentetik maddeleri içeren kozmesötik ürünlerinde alerjik kontakt dermatit (derinin birtakım maddelerle teması sonucu oluşan reaksiyon), irritan kontakt dermatit (cilde dışarıdan temas eden bir takım kimyasal maddelerin, cildi tahriş etmesi), fototoksisite (derinin ışığa karşı aşırı duyarlılık göstermesi) ve fotoalerjik reaksiyonlar (ışığa maruz kalan deride alerji meydana gelmesi) gibi yan etkilere neden olmaları bitkisel ekstrelelere olan ilgiyi oldukça arttırmıştır. Doğal cilt bakım ürünleri yüzeysel katmanlardan kolaylıkla absorbe olmakta ve genellikle hipoalerjenik olarak bilinmektedir (Maity, Nema, Abedy, Sarkar ve Mukherjee, 2011). Bitki kısımlarının cilt bakımında kullanım alanları, serbest radikal süpürücü,

antienflamatuvar (iltihap azaltıcı), yaşlanma karşıtı ve cilt koruyucu etkileri yanında kuruluk, egzema ve akne tedavisi olarak sayılabilir. Saç bakımında da saç uzama stimulanı, saç renklendirici ve kepek gibi saç ve saç derisi şikayetlerinde kullanılırlar. Bunun yanı sıra uçucu yağlar da cildi yumuşatmak ve elastikiyetini arttırmak, parfümeride güzel koku vermek, saç bakım ürünlerinde ise parlaklık vermek ve nemlendirmek amacıyla kullanılmaktadır (Aburjai ve Natsheh, 2003).

Bitkilerin tür tayininde, yeterli fenotipik özellik bulunmadığında ya da morfolojik açıdan birbirine benzer özellik gösterdiğinde DNA dizileri çok sayıda karakter sağladıklarından daha çözümlenici olabilirler. Bu amaçla herhangi bir organizmaya ait DNA'nın PZR ile çoğaltılacak büyüklükteki kısa ve standart bir fragmanın dizilenmesi ile tanımlanmasını sağlayan DNA barkodlama (Yatkın ve Güz, 2018), canlıların sınıflandırılması, filogenetik yaklaşımlar ve kriptik türlerin ortaya çıkarılmasında (Hebert, Penton, Burns, Janzen ve Hallwachs, 2004) kullanılmaktadır. DNA barkodlama yöntemi standart bir DNA bölgesinin hızlı, doğru ve otomatik şekilde türlerin tanımlanmasında kullanılması ve türler arasında karşılaştırma yapmak amacıyla dört farklı nükleotidin karışımından oluşan kısa bir DNA dizisinin kullanılması prensibine dayanmaktadır (Arnot, Roper ve Bayoumi, 1993). Bu kısa diziler türler için çok yönlü ve kapsamlı bir analiz sağlayarak akrabalıklarının ve tanımlanmalarına da olanak sağlamaktadır (Hajibabaei, Singer, Hebert ve Hickey, 2007).

Son yıllarda insan sağlığı ve tüketiminin bitkisel kökenli medikal ve kozmetik sektöründe alternatif bir kullanım olarak ivme kazanması üç tarafı denizlerle çevrili ve deniz biyoçeşitliliği açısından oldukça zengin olan ülkemizde, bu konuda biyoteknolojik çalışma yapma amacı oluşturmuştur.

Salicornia europaea Atlantik ve Akdeniz kıyılarında yaygın olan, ıslak veya kumlu zeminde bulunan denizel bir bitki olan ıspanak (Amaranthaceae) familyasına ait bir bitki türüdür. *S. europaea*, tadı nedeniyle insanlar tarafından tüketilen yıllık bir halofitik bitkidir (Davy, Bishop ve Costa, 2001). *Salicornia* cinsinin yedi türünün rapor edildiği (Piirainen, 1991) çok benzer ve ayırt edilemeyen *S. pusilla*, *S. europaea*, *S. obscura*, *S. ramosissima*, *S. nitens*, *S. fragilis*, *S. dolichostachya* türleri vardır.

Tez çalışması kapsamında; sahip olduğumuz denizel kaynakların biyoçeşitliliğinden yararlanarak sucul bitkilerden olan Deniz Börülcesi (*Salicornia europaea*)'nın biyomateryal olarak faydalı bileşikler eldesi ile, daha ucuz ve kolay ulaşılabilen, insan sağlığına zarar verebilen kimyasal içerikli ürünlere alternatif olan ve yeni çözümler oluşturma özelliğine

sahip olan tıbbi ve kozmetik ürünlerinin ortaya çıkarılması için biyokimyasal ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda moleküler düzeyde DNA barkodlama yöntemi kullanarak tür tespitini yaptığımız *Salicornia europaea*'dan elde edilen biyomateryallerden mineral içerikleri, yağ içeriği ve oranları, antimikrobiyal aktivitesi araştırılması ve gerekli ürün formülasyonlarının geliştirilmesi ile krem, antibakteriyel ve antifungal özellikli sabun gibi ürünlerin elde edilmesi için biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda, morfolojik olarak benzer özellik gösteren ve genetik açıdan tür tayini ülkemizde gerçekleştirilmemiş olan *Salicornia europaea* türünün tayini için DNA barkodlama tekniğinin kullanılarak farmasötik ve kozmesötik uygulamalarda doğru türlerin kullanımına katkıda bulunması da hedeflenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Biyokimyasal İçerik İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Anwar, Bhangar, Nasir, ve İsmail ve diğeleri (2002) Pakistan'da yetiştirilen *Salicornia bigelovii* tohum yağının analitik karakterizasyonunu araştırdıkları çalışmalarında hekzan ile ekstrakte edilmiş yağ içeriğini %27,2-32,0 olarak bulmuşlardır. Yağda bulunan tokoferol miktarını ise 200 mg/kg olarak bulmuşlardır.

Rupérez (2002) yenilebilir deniz yosunlarından olan *Laminaria digitata*, *Fucus vesiculosus*, *Undaria pinnatifida*, *Chondrus crispus*, *Porphyra tenera* türlerinin mineral içeriğini inceledikleri çalışmalarında yosun küllerini atomik absorpsiyon spektrofotometrisi kullanarak analiz etmişlerdir ve makrominarellerin (8,083–17,875 mg/100g; Na, K, Ca, Mg) ve iz elementlerin (5,1–15,2 mg/100 g; Fe, Zn, Mn, Cu) yenilebilir kara bitkilerinden daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Eganathan, Subramanian, Latha ve Rao (2006) çalışmalarında *Salicornia brachiata* tohumlarında yağ analizi gerçekleştirmişlerdir. Hekzan ekstraksiyonu yaparak *S. brachiata* tohumlarından %22,4 maksimum yağ içeriği sağlamışlardır.

El-Said ve El-Sikaily (2013) Mısır'daki farklı deniz yosunlarının kimyasal kompozisyonunu araştırdıkları çalışmalarında kırmızı yosunlardan; *Gracilaria verrucosa*, *Jania rubens*, *Pterocladia capillacea*, *Gracilaria compressa* ve *Hypnea musciformis*, yeşil yosunlardan; *Enteromorpha intestinalis*, *Ulva lactuca*, *Codium tomentosum* ve kahverengi yosunlardan *Colpomenia sinuosa*, *Sargassum linifolium* türlerini incelemişlerdir. Araştırma sonuçlarında yeşil yosunlardaki kalsiyum oranının kırmızı ve kahverengiye göre daha fazla olduğunu, kırmızı ve kahverengi yosunların Sodyum ve Potasyum oranlarının ise yeşil türlere göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Elsebaie, Elsanat, Gouda ve Elnemr (2013) *Salicornia fruticosa* tohumlarının yağ ve yağ asit kompozisyonunu incelemişlerdir. Kloroform ve metanol karışımı ekstraksiyonu ile *S. fruticosa* tohumlarından %28,59 yağ elde etmişlerdir.

Bertin ve diğeleri (2014) iki farklı bölgede yetişen *Sarcocornia ambigua* türünün biyoaktif içeriğini de araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, Sodyum, Potasyum, Magnezyum ve Kalsiyum miktarlarını Palhoça sahilinden yaptıkları örneklemede sırasıyla; 10,19 mg/g, 2,9

mg/g, 0,92 mg/g ve 0,54 mg/g bulmuşlardır. Florianopolis'dan yaptıkları örneklemede ise sırasıyla 16,57 mg/g, 1,81 mg/g, 1,30 mg/g ve 0,53 mg/g olarak bulmuşlardır.

Yabalak, Emire, Adıgüzel, Könen Adıgüzel ve Gizir (2020) *Origanum munzurense*'nin elementel kompozisyonunu; Sodyum için 13,13 ppm, Potasyum için 128,1 ppm, Magnezyum için 38,3 ve Kalsiyum için 161,57 ppm olarak bulmuşlardır.

Turan, Sangün, Karan ve Turan (2021) beyaz nilüfer *Nymphaea alba*'nın biyoaktif içeriğini araştırdıkları çalışmalarında mineral içeriklerini Sodyum, Magnezyum, Potasyum ve Kalsiyum için sırasıyla 12864, 1864,14, 5144,35, 8262,34 ppm olarak bulmuşlardır. Ayrıca, *N. alba*'nın yağ oranını %1,7, alfatokeforol oranını ise 5,6/100 g olarak bulmuşlardır.

2.2. Antimikrobiyal Aktivite İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Manikandan, Neelakandan ve Rani (2009) *Salicornia brachiata*'nın antibakteriyel etkinliğini agar difüzyon ve seyreltme yöntemleri ile çalışmışlardır ve *S. brachiata* yapraklarının metanolik özütünün *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Micrococcus luteus* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı sulu özütünden daha etkin olduğunu bulmuşlardır.

Çoban, Bıyık ve Uzun (2009) *Salicornia europaea*'nin da bulunduğu ve *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivitenin araştırıldığı çalışmalarında aseton, eter, etanol ve su kullanarak hazırladıkları ekstraktlarda, *Salicornia europaea*'nin eter ekstraktlarının diğer ekstraktlara göre çalışılan tüm bakteri ve maya suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Yu, Zhang, Shao ve Xu (2012) *Salicornia herbacea* ekstraktlarının antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri üzerine gerçekleştirdikleri çalışmalarında *Lactobacillus casei*, *E. coli*, *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Aureobasidium pullulans* bakterilerini kullanmışlardır. En yüksek inhibisyon oranını *E. coli* ve *S. cerevisiae*i gösterdiğini ve her ikisinin de *L. casei*'ye yaklaşık 12 kat daha fazla inhibisyon oranı değeri oluşturduğu sonucuna varmışlardır.

Essaidi ve diğerleri (2013) *Salicornia herbacea* L., metanol ekstresinin antioksidan, antimikrobiyal ve sitokrom P450 (CYP'ler) inhibe edici aktivitelerini fitokimyasal olarak incelemişlerdir. Bu amaçla iki gram pozitif bakteri (*Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus*) ve 4 gram negatif bakteriyi (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*) disk difüzyon yöntemi ile test

etmişlerdir. Gram pozitif bakterilerin literatürde yakın zamanda bildirilen gram negatif bakterilerden daha büyük inhibisyon bölgesi gösterdiği sonucuna varmışlardır.

Kannan, Arumugam, Iyapparaj, Thangaradjou ve Anantharaman (2013) yaptıkları araştırmada *Halodule pinifolia* ve *Cymodocea rotundata* türlerinin *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella paratyphi* ve *Shigella boydii*'ye karşı baskın antimikrobiyal ajanlara sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Rad, Alfatemi, ve Rad (2014) *Salicornia herbacea* L. tohumunun antibakteriyel aktiviteleri iki gram negatif ve iki gram-pozitif bakteri agar disk difüzyonu ve MİK yöntemleriyle değerlendirmişlerdir. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* için inhibisyon bölgelerini sırasıyla 9,5 mm, 6,2 mm, 4 mm ve 3,5 mm olarak bulmuşlardır. *S. aureus* ve *E. coli* bakterileri için MİK değerlerini sırasıyla 189,5 mg/ml ve 420 mg/ml olarak bulmuşlardır.

Santhanakrishnan, Shankar ve Chandrasekaran (2014) *Salicornia brachiata*'nin antibakteriyel verimliliğini de çalıştıkları araştırmalarında bitkinin metanolik özünden mikro dilisyon yöntemiyle iki gram pozitif (*Bacillus subtilis* ve *Streptococcus* sp.) ve iki Gram negatif (*Klebsiella pneumoniae* ve *Vibrio parahaemolyticus*) tür olan bakterileri test etmişlerdir. Araştırma sonucunda sırasıyla, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus* sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio parahaemolyticus* için değerleri 25 mg/L, 12,5 mg/L, 50 mg/L ve 100 mg/L olarak bulmuşlardır.

Kharrati-Koopae ve diğerleri (2016) *Salicornia iranica*'nın *Salmonella typhimurium*'a karşı antimikrobiyal aktivitesini asetil asetat, n-hekzan, butanol, etanol, metanol ve diklorometan kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, butanol ekstraktı en yüksek etkiye sahip olurken sırasıyla diklorometan, etanol, metanol, n-heksan ve asetil asetatın da *S.typhimurium*'a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Rahmani ve Heydarian (2016) *Salicornia iranica*'nın in vitro antifungal aktivitesini *Aspergillus niger* ve *Candida albicans* olmak üzere iki mantar türünde araştırmışlardır. Sonuç olarak, *S. iranica*'nın test edilen mantarlar üzerinde inhibitör etkisinin olmadığını bulmuşlardır.

2.3. DNA Barkodlama İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Chen ve diğerleri (2010) Tıbbi bitki türlerinin belirlenmesi için ITS2 bölgesinin yeni bir DNA barkodu çalışmışlardır. Bu amaçla şifalı bitki türlerinden yedi aday DNA barkodunu (psbA-trnH, matK, rbcL, rpoC1, ycf5, ITS2 ve ITS) karşılaştırmışlar ve 753 ayrı cinse ait 4800 türe ait 6600'den fazla bitki örneğinde ITS2'nin ayırt edici özelliklerini test etmiş ve ITS2 ile başarılı bir şekilde tespit edilme oranının türler düzeyinde %92,7 olduğunu bulmuşlardır.

de Vere ve diğerleri (2012) Galce florası, Rubus, Taraxacum ve Hieracium'un apomiktik grupları için agrega türlerini kullanan 1143 yerli ve arkeofit çiçekli bitki ve kozalaklı türünü (455 cins, 95 aile ve 34 sıra) içeren toplam 4272 birey örnekledikleri çalışmalarında DNA barkod kaynağı oluşturmak adına bitki DNA'sı barkodlamak için kullanılan rbcL and matK işaretliyicilerini kullanmışlardır. RbcL geni kullanarak elde ettikleri 3304 sekansın %97,7'si, matK geni kullanarak elde ettikleri 2419 sekansın %90,2'sinin eşleşme sağladığını bulmuşlardır.

Zhang ve diğerleri (2012) Lysimachia (Myrsinaceae) türleri ile yakın ilişkili grupların test edilmesi için yaptıkları DNA barkod çalışmasında çekirdek barkod (rbcL ve matK) ve iki ek aday barkod (trnH-psbA ve nükleer ribozomal ITS) kullanmışlardır. Araştırma sonucunda Lysimachia gruplarında rbcL+matK ile kombine edilmiş TrnH-psbA iyi bir sonuç göstermezken, ITS tek başına ya da rbcL+matK ile kombine edilmiş haliyle yüksek ayrıştırma özelliği sunduğunu ortaya çıkarmışlardır.

Yang, Geraldino ve Kim (2013) Kırmızı alg *Gracilaria salicornia* Manila, Filipinler, Asya ve Hint Okyanusu'na dağılım gösterdiğinden dolayı yaşanan tür tanımlama ve genetik çeşitliliği karmaşını gidermek amacıyla mitokondriyal genomun COI genini kullanarak DNA barkod çalışması yapmışlardır. Türler içinde COI geni %0,0-1,3 nükleotid farklılık ile 2 dizi verdiğini, bu farklılığın kırmızı algler için türler içi farklılıktan daha yüksek olduğunu ve *G. salicornia* için Filipinler'den H1-H3; Japonya'daki Okinawa'dan H4; Malezya, Tayland ve Çin'den H5 – H7; ve Tayland'dan H8 toplam 8 haplotip bulmuşlardır.

Dong, Liu, Yu, Wang ve Zhou (2012), yüksek değişken kloroplast belirteçleri kullanarak bitki filogenisini değerlendirmek için DNA barkodlama yapmışlardır. Rpl32-trnL lokusunun önemli uzunluk varyasyonu ve taksonlar arasında yüksek seviyede konumsal varyasyon

gösterdiğini ve diziler açıkça hizalanabilirse, rpl32-trnL bölgesinin tür tanımlaması için uygun olacağını bildirdiler.

Peterson, Romaschenko ve Soreng (2014), *Leptochloa* s.l.'deki DNA barkodlarını matK, rbcL, rpl32-trnL ve (ITS) kullanarak belirttiği çalışmalarında rpl32-trnL bölgesinin taksonomik olarak yakından ilişkili türler arasında yüksek düzeyde bir dizi varyasyonu gösterdiğini ve *Dinebra chinensis*'in doğru bir şekilde tanımlanmasına izin veren benzersiz bir dizi sunduğunu bildirmişlerdir.

Brandt, Lomonosova, Weising, Wagner ve Freitag (2015), Suaeda subg. Brezia ve rpl32-trnL markörünün en yüksek güvenilir performansı ve en yüksek çeşitliliği ortaya çıkardığını belirtmişlerdir.

Steffen, Ball, Mucina ve Kadereit (2015), *Sarcocornia* ve *Salicornia*'nın biyocoğrafik kalıpları çıkarmak için tanımlanması için nükleer ribozomal DNA (harici transkripsiyonlu aralayıcı) ve kloroplast DNA'nın (atpB-rbcL, rpl32-trnL) uygulanabilirliğini değerlendirdikleri çalışmalarında *Salicornia*'nın *Sarcocornia*'da açıkça yerleştiğini bulmuşlardır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma İskenderun Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi'nde bulunan Moleküler Ekoloji ve Balıkçılık Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Tez çalışmasında denizel bitkilerden olan Deniz Börülcesi *Salicornia europaea* türü kullanılmıştır.

3.1.1. Materyalin sistematikteki yeri

ALEM : Plantae
 ALT ALEM : Tracheobionta
 BÖLÜM : Magnoliophyta
 SINIF : Magnoliopsida
 ALT SINIF : Caryophyllidae
 TAKIM : Caryophyllales
 FAMILYA : Chenopodiaceae
 CİNS : *Salicornia*
 TÜR: : *Salicornia europaea* L.

3.1.2. *Salicornia europaea* 'ı diğer türlerden ayıran özellikler

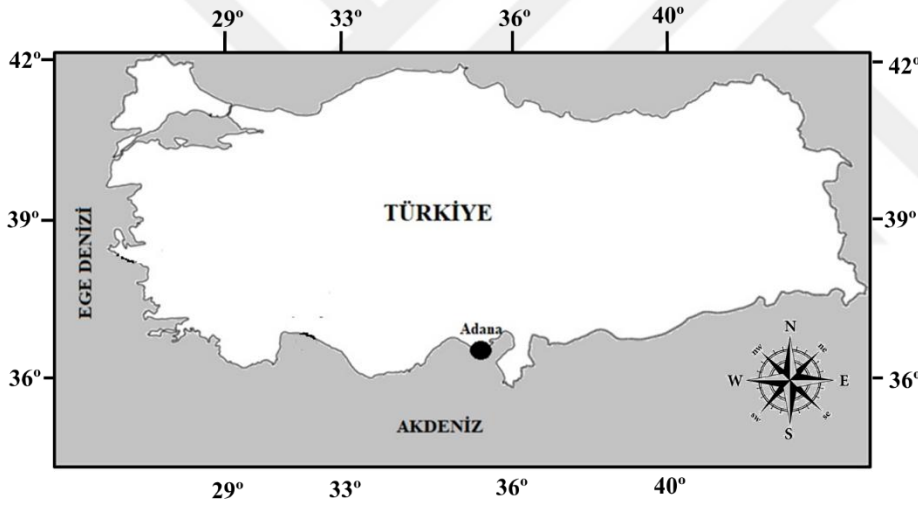
Deniz Börülcesi etli, tek yıllık otsulardandır. Yaprakları karşılıklı ve dekussat, pulsu, her bir çiftin tabanı etlidir. Gövdesi 40 cm'ye kadar boylanabilen, sürünücü veya dik duruşlu tuzcul bir bitkidir. Çok dallı olup önceleri yeşil olan gövde meyve olgunlaştıkça sarı, kırmızı-erguvan veya mat erguvan rengine dönüşür. Meyveleri kapsül şekline sahip olan, kurşun otu veya Tuzlu ot olarak da bilinen, Deniz Börülcesi, ıspanakgiller (Amaranthaceae) familyasında bir bitkidir. Bu isim altında morfolojik olarak çok benzer ve ayırt edilmesi zor olan alt türler bulunur (Piirainen, 1991). *S. pusilla*, *S. europaea*, *S. obscura*, *S. ramosissima*, *S. nitens*, *S. fragilis*, *S. dolichostachya* türleri genelde bilinen türlerdir. Boyları ortalama 10-45 cm arasında olan türün renkleri ise yeşilin tonları, kahverengi, pembemsi, sarı ve mor olarak değişim göstermektedir (Davy ve diğerleri, 2001; Karan, Turan, Sangun ve Eluz, 2021).

En çok dağılım gösterdiği yerler kuzey yarım kürede orta enlemlerdeki deniz ve tuzlu göl kıyılarıdır. Su altında kalma ve tuza dayanıklılık özelliklerinden dolayı denize doğru en fazla

yayılım gösteren bitkiler içindedirler. Avrupa'da Baltık Denizi, Atlantik Okyanusu ve Akdeniz kıyılarında oldukça yayılım göstermektedir. Ayrıca tuzlu göllerin kıyılarında da görülebilir. Bitkiler açık gelgit çamurları üzerinde saf ayaklar olarak yetişir ve ayrıca diğer halofitlerle ilişkili oldukları tuz bataklıklarında da bulunur (Wiehe, 1935; Ball ve Brown, 1970; Brereton, 1971). Sukulent gövdelerden oluşan ve gelişim özellikleri bölgelere göre farklılık gösteren bir bitkidir. Popülasyonu ve morfolojik özellikleri esnek olan, (Davy ve diğerleri, 2001) deniz kıyılarında gel-git olayından sonra sular çekildiğinde yetişen bir türdür.

3.1.3. Örnekleme bölgeleri

Deniz börülcesi örnekleri, türün dağılım gösterdiği Adana-Tuzla bölgesinden toplanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. *S.europaea* örnekleme haritası

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Elde Edilmesi ve Korunması

Doktora tezi kapsamında gerçekleştirilen çalışmalara deniz börülcesi *Salicornia europaea*'nın doğal ortamından toplanması ve analizlere hazırlanması ile başlanmıştır. Bunun için, Adana/Tuzla Lagün'üne arazi çalışması gerçekleştirilmiş ve örnekler toplanarak polietilen torbalara aktarılmıştır (Resim3.1).



Resim 3.1. *S. europaea* örneklerinin toplanması

Toplanan örnekler Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi'nde bulunan Moleküler Ekoloji ve Balıkçılık Laboratuvarı'na götürülmüştür. Laboratuvara getirilen örnekler tür tayini gerçekleştirildikten sonra yıkanarak bir kısmı kurutulmaya bırakılmış bir kısmı ise analizler için yaş halde bırakılmıştır.

3.2.2. Birinci bölüm: Kozmetik

Tezin ilk bölümünde, sahip olduğumuz denizel kaynakların biyoçeşitliliğinden yararlanarak denizel bitki olan *S. europaea* türü kullanılmıştır. *S. europaea* türünü biyomateryal olarak ele alarak faydalı bileşikleri ortaya çıkartarak tıbbi ve kozmetik ürünlerin eldesi için kimyasal yapısının araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, daha ucuz ve kolay ulaşılabilen, insan sağlığına zarar verebilen kimyasal içerikli ürünlere alternatif olabilme ve yeni çözümler oluşturma özelliğine sahip ürünlerin kullanılabilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Salicornia europaea örneklerinin nem analizi

Bitkinin içerdiği nem miktarını tespit etmek amacı ile yaş halde ayırılmış olan örneklerden nem analizini gerçekleştirilmiştir. Nem analizinde, içeriğindeki madde bilinen bir bileşimde değişmez bir kütleye gelinceye kadar ısıtma işlemine tabi tutulan sabit tartım yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, 3 tekerrür olmak üzere 3 ayrı petri kabı tartılarak 105°C etüvde 2,4 ve 6 saat bekletilerek sabit tartıma gelmesi beklenmiştir. Sabit tartıma gelen petrilerin üzerine sırasıyla 10,017 g, 10,032 g, 10,019 g bitki örneği eklenmiştir ve tekrar 105°C etüvde 2,4 ve 6 saat bekletilmiş, süre sonunda etüvden çıkartılan örnekler vakumlu desikatör

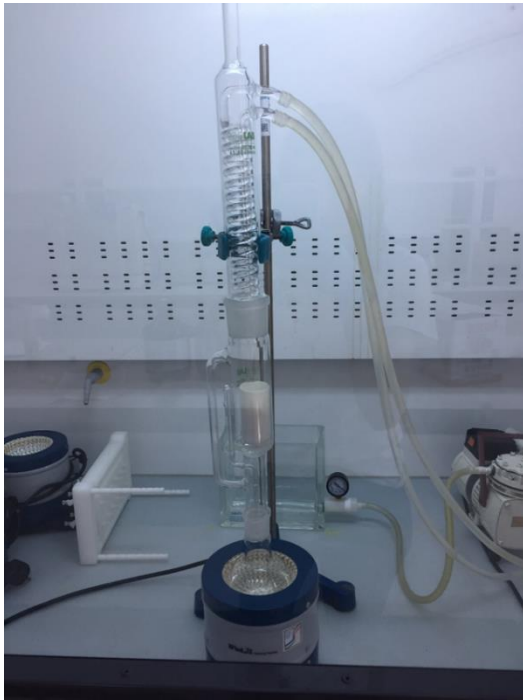
yardımıyla oda sıcaklığına getirilmiş ve tartımı yapılmıştır. Bu işlemler bitkilerde sabit tartıma gelene kadar tekrarlanmıştır (Resim 3.2).



Resim 3.2. Nem tayini öncesi tartılan yaş örnekler

Sabit yağ asitleri analizi

Deniz Börülcesi'nin sabit yağ asitlerini tespit etmek için Soxhlet analizi yapılmıştır. Soxhlet analizi Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi'ndeki Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Analiz için ayrılmış olan yaş örnekten 95,909 g tartılmış ve örnekler küçük parçalara ayrılmıştır. Soxhlet cihazında kartuşa konulan örnekler, çözücü olarak n-Hekzan kullanılarak 400° C'de muamele görmüştür (Resim 3.3). İşlem sonucunda elde edilen yağ 0,20 µm kalıģındaki şırınga filtre yardımıyla süzölmüştür ve GC/MS analizine hazır hale getirilmiştir.

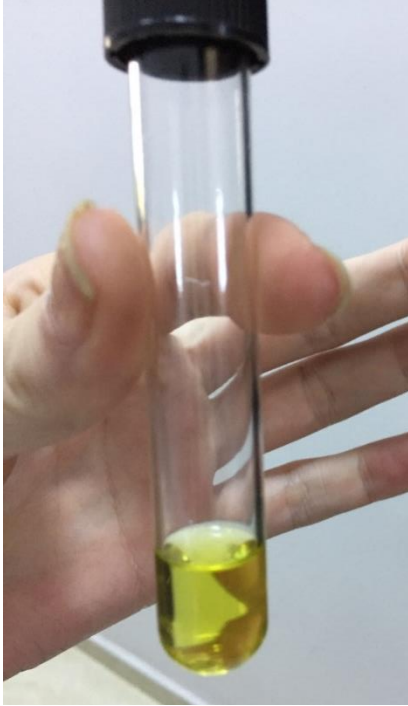


Resim 3.3. Soxhlet analizi

Elde edilen ürünün sabit yağ asitlerini belirlemek için Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Teknoloji ve Araştırma Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde GC/MS analizi gerçekleştirilmiştir. GC/MS analizi, AGILENT (Hewlett Packard 6890) markalı cihaz kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Mineral analizleri

S. europaea bitkisinin mineral içeriklerini ortaya çıkartmak için yağ yakma metodu kullanılarak ICP/AES cihazı kullanılmıştır. Yağ yakma için, küçük parçalara ayrılıp 1 gr tartılmıştır ve üzerine 8 ml %65 nitrik asit eklenmiş örnek hotplate üzerinde 300-350°C'de ısıtılarak üzerine 2 ml Perklorik asit eklenmiştir. Yakma işlemi tamamlandıktan sonra soğumaya bırakılan örnek daha sonra 1 numara külsüz whatman filtre kağıdından geçirilerek süzülerek, analiz için ICP/AES cihazında okuması yapılmıştır (Resim 3.4).



Resim 3.4. Soxhlet ekstraksiyonu sonucu elde edilen yağ

E Vitamini analizi

S. europaea bitkisinin içeriğinde bulunan E vitamin oranını elde etmek için LC/MS-MS analizi yapılmıştır. Bu amaçla örnekleri analize hazırlamak için Ultrasonik Ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Ekstraksiyon için öncelikle 9 ml methanol (%30), 21 ml Etil Asetat (%70) ile 30 ml çözelti hazırlanmıştır. 2 tekerrür yapılan deneyde ilk numuneye sadece methanol eklenirken ikinci numuneye hazırlanan 30 ml'lik çözeltilerden eklenmiş ve toplamda

1 saat süreyle ultrasonik su banyosunda tutulmuştur. Cihazdan çıkartılan örnekler şırıngalı filtre ile süzülükten sonra LC/MS-MS cihazında analizi yapılmıştır (Resim 3.5).

S. europaea bitkisinden yağ elde etmek amacıyla kimyasal çözenlere alternatif olarak doğal bir yöntem olan saf zeytinyağında bekletilerek infüzyon yöntemiyle yağ eldesi sağlanmıştır. Bu amaçla 200 ml saf zeytinyağı içerisinde 9,82 g yaş *S. europaea* örnekleri 1 ay süreyle bekletilmiştir. Bekletilen örnekler 1,5 saat Ultrasonik su banyosunda muamele edilmiştir. Cihazdan çıkartılan örnekler şırıngalı filtre ile süzülerek, LC/MS-MS cihazında analizi gerçekleştirilmiştir.



Resim 3.5. Ekstraksiyon sonucu elde edilen örneğin süzülmesi

Salicornia europaea örneklerinin X Işını Kristalografisi (XRD) analizi

Salicornia europaea örneklerinin, Optik mikroskop yöntemleri ile belirlenemeyecek kadar küçük tane boyutuna sahip minerallerinin kristal yapısını inceleyerek mineralojik bileşimini bulmak için X Işını Kristalografisi (XRD) tekniği kullanılmıştır.

Analizi yapılacak *Salicornia europaea* örneği öncelikle kurutularak öğütücülerde 22 mikron altına geçecek boyutta toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen numune alimünyum numune tutucunun içini dolduracak şekilde yerleştirilmiş ve numune en az yönlendirme ile yani dik preslenerek analize uygun hale getirilmiştir. Analiz RIGAKU Smart Lab markalı

X-ışın toz difraktometresi'nde, Hatay MKÜ'de bulunan Teknoloji ve Araştırma Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (MARGEM) gerçekleştirilmiştir.

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Enerji yayımlı X-Işını Analizi (EDS)

S. europaea örneklerinin elementel kompozisyonu, yüzey topografyası, kristal yapı, kimyasal bileşimini öğrenmek amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Enerji yayımlı X-Işını Analizi (EDS) analizleri yapılmıştır. Analizler Çukurova Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda (ÇÜMERLAB) gerçekleştirilmiştir. Toz haline getirilen *Salicornia europaea* örnekleri numune tutucusuna (stub) ilâştirilmiştir. Enerji yayımlı X-Işını Analizi (EDS) ile elementel kompozisyonu belirlenmiş, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile numunenin yüzeyi yüksek enerjili elektronlarla taranarak görüntü elde edilmiştir.

3.2.2. İkinci bölüm: Antimikrobiyal Analiz

Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması İşlemi

Tez çalışması kapsamında *S. europaea* bitkisini kullanarak medikal ve kozmetik kremin elde edilmesi ve krem formülasyonunda kullanılacak özüt miktarının belirlenmesi amacıyla bakteri ve mayalar kullanılarak antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.

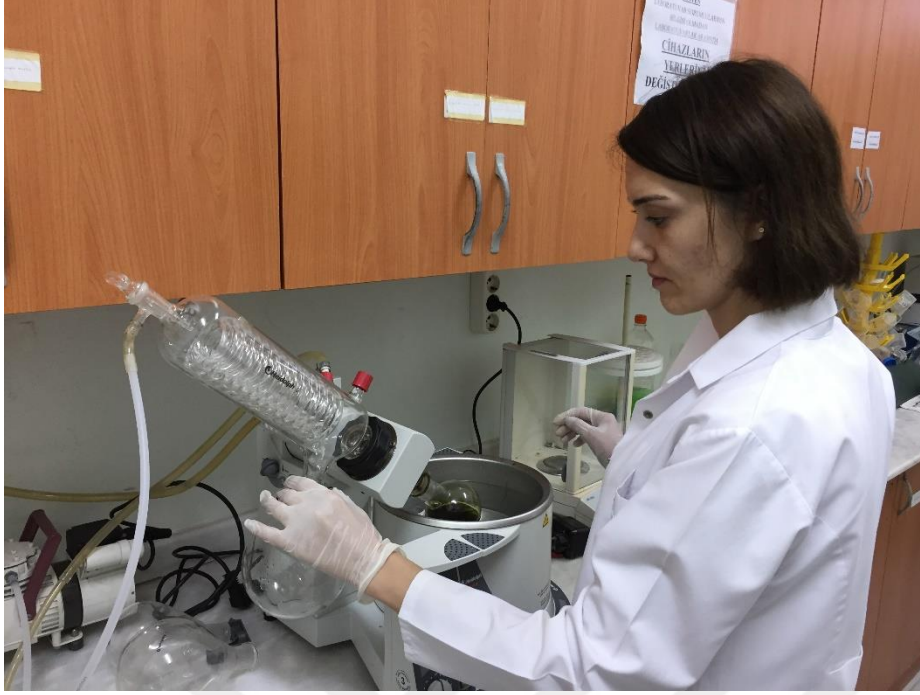
Özüt Hazırlama İşlemi

S. europaea özütlerinin ve farklı konsantrasyonlarının elde edilmesinde kurutulmuş ve toz haline getirilmiş olan *S. europaea* kullanılmıştır. Yöntem paralel olarak 15 g ve 30 g olarak tartılan örneklerin farklı bekletme sürelerinde yürütülmüş ve ekstraksiyonda bekletme süresi olarak 24, 48 ve 72 saat olarak belirlenmiştir. Buna göre, ilk olarak toz Deniz Börülcesinden 15 g (0,001 hassasiyet) tartılmış ve beherlerin içerisine koyulmuştur. 100'er ml etanol, metanol, aseton ve saf su toz deniz börülcelerinin üzerine ilave edilmiştir (Resim 3.6).



Resim 3.6. Tartılmış toz *S. europaea*'nın özüt hazırlama aşaması

Karanlık bir ortamda 24, 48 ve 72 saat boyunca bekletilmiştir. İkinci olarak, toz Deniz Börülcesinden 30 g (0,001 hassasiyet) tartılarak beherlerin içerisine koyulmuştur. Her birine olmak üzere 100 ml etanol, metanol, aseton ve saf su toz deniz börülçelerinin üzerine ilave edilmiştir. Karanlık bir ortamda 24, 48 ve 72 saat boyunca bekletilmiştir. Sonra her bir karışım filtre kağıdından süzülerek 1000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Her bir çözelti vakum evaporatörde 50-60°C'de 5-10 dk'da buharlaştırılarak uzaklaştırılmıştır (Resim 3.7). Kalan özüt miktarları tek tek tartıldıktan sonra özütlerden 1'er g alınarak 10 ml (0,1g/ ml) saf su ile çözülmüştür. Hazırlanan özütler antimikrobiyal analiz için +4°C de bekletilmiştir.



Resim 3.7. Hazırlanan çözeltilerin vakum evaporatörde uzaklaştırılması işlemi

Bakteri Suşlarının Hazırlanması İşlemi

S. europaea türünden elde edilen özütlerin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması işlemi Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezi (MEİTAM), Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Çalışmada, *Escherichia coli* (ATCC 25922) ve *Klebsiella pneumoniae* türleri gram negatif bakteri suşları olarak, *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) ve *Staphylococcus aureus* ise gram pozitif bakteri suşları olarak kullanılmıştır. Mayalardan ise *Candida albicans* ve *C. parapsilosis* kullanılarak antimikrobiyal aktivite araştırılmıştır. Testten önce bakterilerin TSA (TSA-triptik soya agar), mayaların ise SDA (Sabouraud dextrose agar) katı besiyerlerine ekimleri gerçekleştirilmiş ve 37°C'de 1 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bir günlük inkübasyondan sonra agar plağındaki tek düşmüş kolonilerden doğrudan bir öze ile koloni alınarak serum fizyolojik ile McFarland (Bakteriler için $\sim 10^4$ CFU, mantarlar için $\sim 10^3$ CFU) sayısı ayarlanmıştır (McFarland, 1987). Ampisilin pozitif kontrol antibiyotiği olarak bakteriler için, flukonazol ise mantarlar için kullanılmıştır. *S. europaea* özütlerinin antimikrobiyal aktiviteleri spektrofotometrik broth mikrodilüsyon ve disk difüzyon yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır.

Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon Yöntemi

Hazırlanan *S. europaea* özütlerinin her biri için ayrı steril 96 kuyucuklu plakalar hazırlanmıştır. Teste başlamadan önce tüm suşlar katı besiyerine (TSA- triptik soya agar)

ekim yapılmış ve 37°C'de 18-24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bir gün süren inkübasyondan sonra agar plağındaki tek düşmüş kolonilerden doğrudan bir öze ile alınarak serum fizyolojik ile McFarland 0,5 olarak bulanıklık ayarlanmıştır (McFarland, 1987). Spektrofotometrik broth mikrodilüsyon yöntemine göre; steril 96 kuyucuklu mikropiplardaki bulunan kuyucuklara 50 µl mikroorganizmalar için hazırlanmış olan Mueller Hinton Broth besiyerinden konulmuştur. Daha sonra, ilk kuyucuğa 50 µl konsantrasyonu hazırlanmış madde solüsyonundan ilave edilmiş ilk on sıra boyunca çift katlı dilüsyonu yapılmıştır. Son iki sütuna ise pozitif kontrol, besiyeri kontrol ve negatif kontroller yerleştirilmiştir. En son, 10 µl bakteri madde ve antibiyotik bulunan kuyucuklara eklenmiştir ve inkübasyona bırakılmıştır. Bakteriler için 600 nm'de, mayalar için ise 415 nm'de İnkübasyon öncesi (t₀.saat) ve inkübasyon sonrasında (t₂₄. Saat) spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirilmiştir. Ek olarak, maddelerin dilüsyona bağlı renk değişimleri spektrofotometrik olarak aynı absorpsiyonda (600 ve 415 nm) ölçülmüş ve sonuçlardan çıkarılmıştır. Deneyler 3 tekerrür olarak yapılmış ve ortalama değerlerin yüzde inhibisyon değerleri ($= 1 - (OD_{testt24-t0} / OD_{kontrolt24-t0}) * 100$) olarak hesaplanmıştır. İnhibisyon grafikleri çizilerek, elde edilen doğrusal eğim çizgisi olan R² üzerinden ve MİK (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu; mikroorganizmaların %99,9'unu öldüren madde konsantrasyonu) hesabı yapılmıştır (Patton, Barrett, Brenna ve Moran, 2005, Erdogan Eliuz, Ayas ve Göksen, 2017). Elde edilen MİK verileri Tek Yönlü Anova, Post-Doc (Tukey) testleri ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (p<0,01).

Disk Difüzyon Yöntemi

Mikroorganizma çözeltilisi belirli orandaki McFarland 0,5'e göre ayarlanmış, MHA agarlı petriye yayılmış ve üç farklı alana boş antimikrobiyal diskler (6 mm çapında) yerleştirilmiştir. Her diske, 5 µl ekstrakt damlatılarak 37°C'de bir gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır (Resim 3.8). Sonuçlar değerlendirilirken, inhibisyon bölgelerinin çapları milimetrik kumpas ile ölçülmüştür. Negatif kontrol olarak ise steril distile su kullanılmış ve bütün testler üç tekerrür olarak yapılmıştır (Tepe, Daferera, Sokmen, Sokmen ve Polissiou, 2005; Bouhadjera, Bendahou ve Tabti, 2005).



Resim 3.8. MHA'lı petrideki boş antimikrobiyal disklere ekstakt yerleştirme işlemi

3.2.3. Üçüncü Bölüm: Genetik Barkodlama

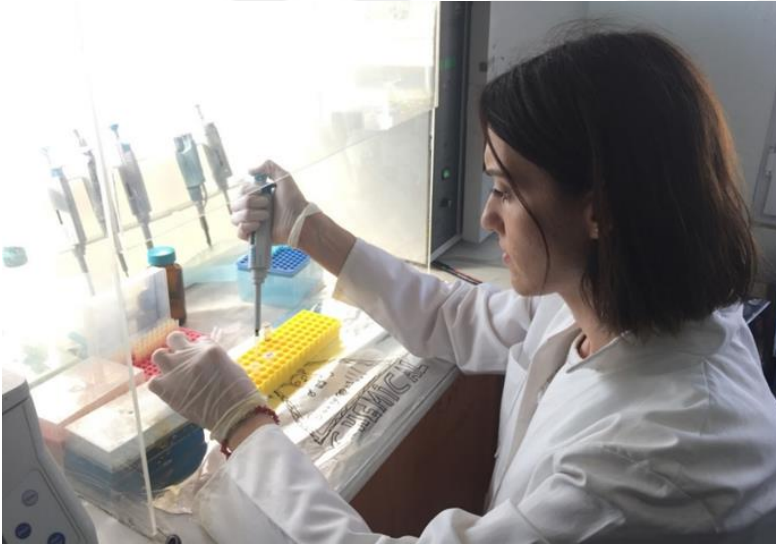
Tez çalışmasının üçüncü bölümünde, morfolojik olarak benzer özellik gösteren ve genetik açıdan tür tayini ülkemizde gerçekleştirilmemiş olan *Salicornia europaea* türünün tayini için DNA barkodlama tekniğinin kullanılarak farmasötik ve kozmesötik uygulamalarda doğru türlerin kullanımına katkıda bulunması amaçlanmıştır.

DNA ekstraksiyonu

Deniz börülcesi bitkisinin genetik analizler kısmı için ilk aşama olarak DNA eldesi gerçekleştirilmiştir. DNA eldesi için çeşitli protokoller denenmiş, sonuç elde edilememiştir. Son olarak modifiye edilmiş standart fenol-kloroform yöntemi uygulanmıştır (Sambrook, Fritsch ve Maniatis, 1989). Kurutulmuş bitki örnekleri 0,16 g tartılarak vida kapaklı tüplere aktarılmış ve üzerlerine 1 ml CTAB eklenerek 55°C' de 30 dk boyunca etüvde bekletilmiştir. Etüvden çıkan örnekler üzerine 1 ml kloroform-isoamil alkol eklenmiş ve 1 dk boyunca vortexlenmiştir. Daha sonra 13,000 rpm'de 2 dk santrifüjlenmiş ve elde edilen katman yeni tüplere aktararak (Resim 3.9; 3.10) kloroform reaksiyonu yeniden tekrarlanmıştır.

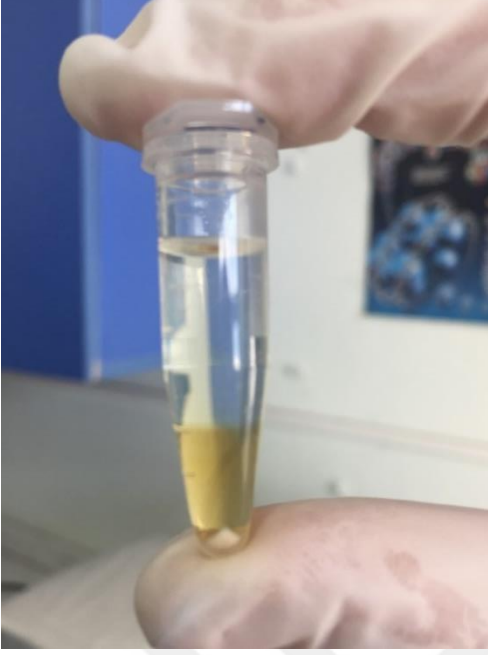


Resim 3.9. DNA ekstraksiyonu sırasında santirifüj işleminde oluşan katmanlar



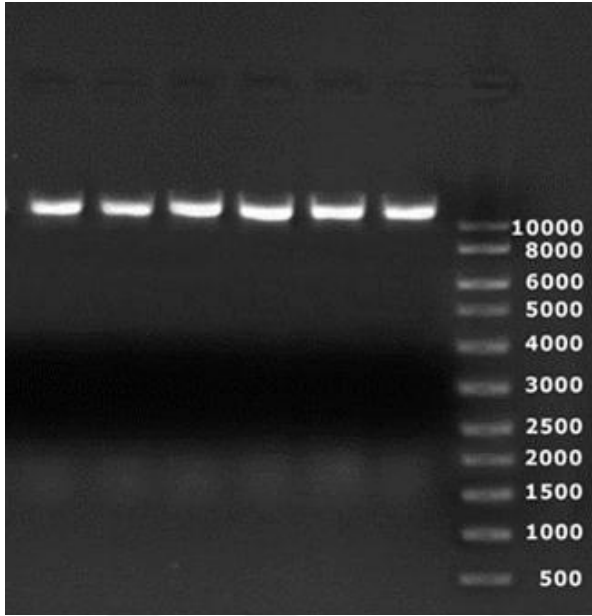
Resim 3.10. DNA ekstraksiyonu sırasında örneklerin yeni tüplere aktarılması

Elde edilen üst katman yeni tüplere aktarılarak üzerine 2/3 hacminde soğuk isopropanol alkol eklenmiştir ve 30 dk -20°C 'de çökmeye bırakılmıştır. Buzluktan alınan örnekler 13,000 rpm'de 10 dk boyunca santrifüjlenmiş ve üst kısmı boşaltılmıştır. Üzerlerine 1 ml etanol eklenerek 10,000 rpm'de 5 dk süreyle santrifüjlenmiştir (Resim 3.11). Son olarak tüplerden etanol uzaklaştırılarak kuruması için oda sıcaklığına bırakıldıktan sonra üzerlerine 100 μl ultra safsu eklenmiş ve kontrol için %0,7'lik agoroz jelde yürütülmüştür.



Resim 3.11. DNA ekstraksiyonu sonucunda *S. europaea*'dan elde edilen pelet
DNA'nın kalite ve kantitesinin belirlenmesi

DNA örneklerinin miktarı belirlendikten sonra kalitesinin tespiti için % 0,7'lik agaroz jel üzerinde yürütülmüştür. Bunun için 0,175 g agaroz tartılmış üzerine 25 ml saf su eklendikten sonra karıştırılıp mikrodalga fırında homojen hale getirilmiştir. Homojene hale gelmiş jel üzerine 0,5 ml seyreltilmiş 1x TBE Buffer ve 1,5 µl Ethidium Bromide eklenmiş ve 60°C'ye kadar soğutulan jel elektroforez küvetine dökülerek soğumaya bırakılmıştır. Jel soğuduktan sonra, içerisinde seyreltilmiş 10xTBE Buffer bulunan elektroforez tankına koyulmuş ve 3 µl DNA örneğinden 6 µl'lik loading buffer çözeltisinden karıştırılarak sırasıyla jeldeki kuyulara yerleştirilmiştir. Güç kaynağı 10 dk süre ile 25 mA ve 50 V olarak ayarlanmıştır. Elektroforetik göç sonrası jel, elektroforezden alınmış ve UV transilluminatör cihazında, örneklerin DNA yapıları gözlenmiştir (Resim 3.12).



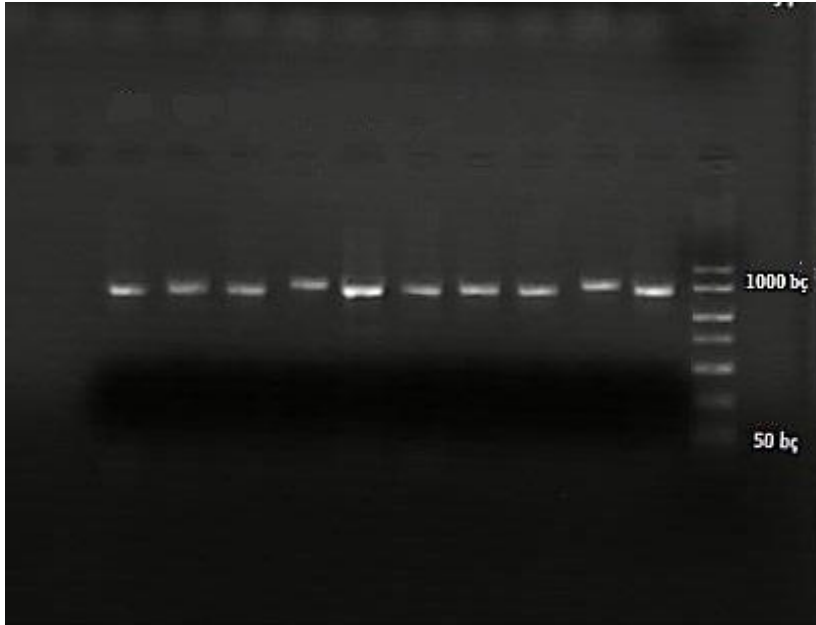
Resim 3.12. DNA ekstraksiyonu sonucu elde edilen DNA'nın %0,7'lik agaroz jel üzerinde kontrolü

Polimeraz Zincir Reaksiyonu İle rpL32-trnL Spacer Geninin Çoğaltılması

Deniz Börülcesi populasyonları arasındaki genetik farklılığın derecesini belirlemek amacıyla Kloroplast DNA (cpDNA) rpL32-trnL (Shaw, Lickey, Schilling ve Smith, 2007) geni kullanılmıştır. DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildikten sonra, bitkiler için universal olan primerler kullanarak PZR ile cpDNA rpL32-trnL genleri çoğaltılmıştır (Steffen ve diğerleri, 2015). PZR ile uygulamasında; ilk önce 94°C'de 60 saniye denatürasyon işlemi uygulanmıştır. Bunu takiben amplifikasyon işlemi 94°C'de 30 sn, 52°C'de 50 sn, 72°C'de 60 sn PZR sıcaklık profili 35 döngü olacak şekilde uygulandı ve 72°C'de 8 dakika son uzama safhası izlenmiştir. Bunun için aşağıda dizinleri verilen universal primerden yararlanılmıştır (Çizelge 3.1). PZR ürünü elde edildikten sonra kalitesinin tespiti için % 1,5'lik agaroz jel üzerinde yürütülmüştür (Resim 3.13).

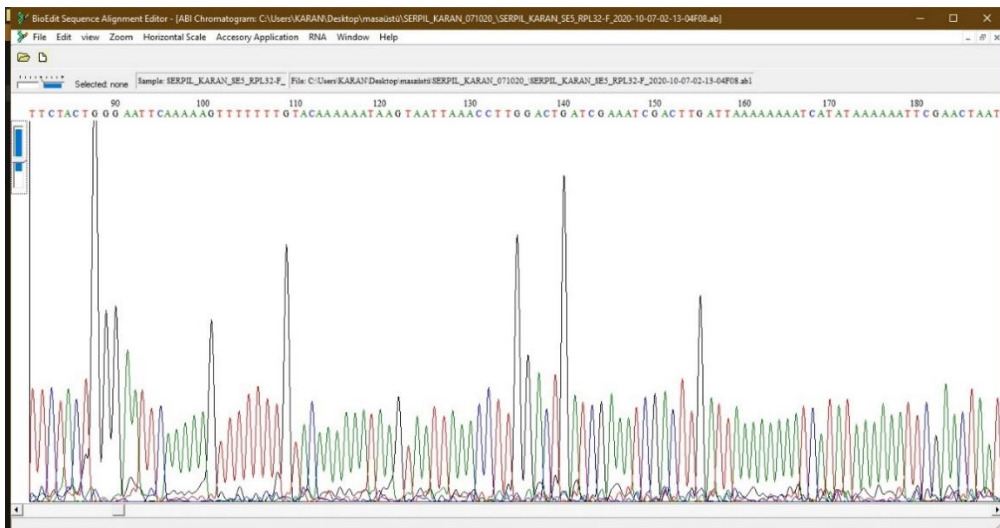
Çizelge 3.1. rpL32-trnL lokusuna ait primer dizisi

Marker	Primer Dizilim
rpL32-trnL	5'-CTGCTTCCTAAGAGCAGCGT-3'
	5'-CAGTTCCAAAAAACGTA CTTC-3'



Resim 3.13. PZR sonucu elde edilen PZR'ın %1,5'lik agaroz jel üzerinde kontrolü
Kloroplast DNA Dizin Verilerinin Analizi

Anlaşmalı firmaya PZR ürünü temizlendikten (pürüfikasyon) sonra gönderilen ve firma tarafından DNA dizin analizi yapılan örnekler BioEdit (Hall, 1999) programında kontrol edilmiş ve oldukça sağlıklı dizin analizleri elde edilmiştir (Şekil 3.2). Genetik verilerin analizinde MEGA (Tamura ve diğerleri, 2011) ve DnaSP (Librado ve Rozas, 2009) bilgisayar paket programı kullanılmıştır. Haplotip ve Nükleotid çeşitliliği analizleri için ARLEQUİN v3.5. (Excoffier, Laval ve Schneider, 2005) kullanılmıştır.



Şekil 3.2. DNA dizin analizi sonucu elde edilen rpl32-trnL geninin BioEdit programı ile incelenmesi

Salicornia türlerinin sekansların GenBanktan alınmıştır (Çizelge 3.2). RpL32–trnL sekanslarının dizilemeleri BioEdit (Hall, 1999) ile gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2. GenBanktan alınan türler ve GenBank numaraları

Tür	Gen Bank No.	Tür	Gen Bank No.
<i>Sarcocornia ambigua</i>	KM984553	<i>Sarcocornia mossiana</i>	KM984530
<i>Sarcocornia andina</i>	KM984554		KM984531
<i>Sarcocornia blackiana</i>	KM984508		KM984532
<i>Sarcocornia capensis</i>	KM984510		KM984533
	KM984515	<i>Sarcocornia natalensis</i>	KM984541
	KM984514		KM984542
	KM984511		KM984543
	KM984509		KM984544
	KM984513		KM984545
	KM984512	<i>Sarcocornia neei</i>	KM984556
<i>Sarcocornia cf. pulvinata</i>	KM984560		KM984555
<i>Sarcocornia decumbens</i>	KM984517	<i>Sarcocornia pacifica</i>	KM984558
	KM984518		KM984557
	KM984519	<i>Sarcocornia pillansii</i>	KM984536
<i>Sarcocornia decussata</i>	KM984521,		KM984537
	KM984522,		KM984538
	KM984523		KM984539
<i>Sarcocornia freitagii</i>	KM984546,	<i>Sarcocornia aff. pillansii</i>	KM984540
	KM984547	<i>Sarcocornia pillansii</i> x	KM984535
		<i>Sarcocornia mossiana</i>	
<i>Sarcocornia fruticosa</i>	KM984528	<i>Sarcocornia pillansii</i> x	KM984534
		<i>Sarcocornia tegetaria</i>	
	KM984529	<i>Sarcocornia tegetaria</i> :	KM984520
<i>Sarcocornia littorea</i>	KM984524	<i>Sarcocornia terminalis</i>	KM984548
	KM984525		KM984549
	KM984526		KM984550
	KM984527		KM984551
<i>Sarcocornia utahensis</i>	KM984561		
	KM984559		

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Kozmetik Sonuçları

4.1.1. *Salicornia europaea* örneklerinin nem analizi sonuçları

Salicornia europaea örneklerinin nem miktarını belirlemek amacıyla sabit tartım yapılmış ve % nem miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Resim 4. 1).

$$\% Nem = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100$$

m_1 : Kurutulmuş boş kurutma kabı ve kapağının ağırlığı (g)

m_2 : Analiz örneği + kurutma kabı ve kapağının ağırlığı (g)

m_3 : İçinde analiz örneği bulunan kurutma kabı ve kapağının kurutma işleminden sonraki ağırlığı (g)

Nem analizi sonucuna göre *S. europaea*'nın nem miktarı %8,69 olarak bulunmuştur (Resim 4.1).



Resim 4.1. Nem tayini sonrası etüvden alınan örnekler

4.1.2. Sabit yağ asitleri analizi sonuçları

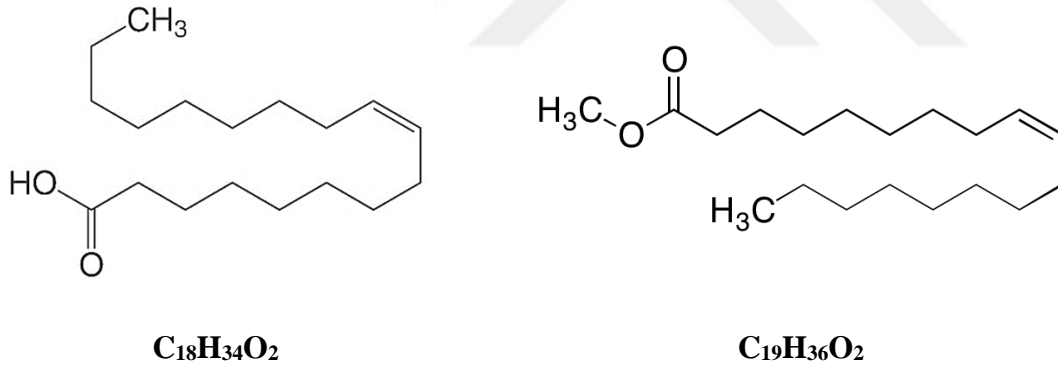
Sabit yağ asitlerini elde etmek için n-Hekzan ile muamele edilerek Soxhlet ile gerçekleştirilen analiz sonucunda *S. europaea* bitkisinin yağ oranı %15,15 olarak bulunmuştur. GC/MS analizi ile *S. europaea*'dan elde edilen yağdan 12 adet yağ asidi bileşiği elde edilmiştir (Çizelge 4.1). Elde edilen bu bileşikler içerisinde Oleik asit (%36,55), 9-Oktadekenoik asit, metil ester (%13,77), 8-Oktadekenoik asit, metil ester (%10,63), 7-Oktadekenoik asit, metil ester (%11,31) majör bileşikler olarak bulunmuştur (Şekil 4.1). Diğer bileşikler ise Palmitik asit (%5,12), Stearik asit (%4,07), 10-Oktadekenoik asit, metil ester (%3,48), 11-Eikosenoik asit, metil ester (%3,42), 11-Oktadekenoik asit,

metil ester (%3,35), Palmitoleik asit (%3,27), 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexzan (%2,30) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. *S. europaea*'nın yağ asidi bileşimi

Süre (dk)	KE	Yağ Asidi	Formül	Moleküler Ağırlık	Yüzde (%)
36,27	2315	Palmitik asit	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256,42	5,12
37,71	2387	Palmitoleik asit	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268,43	3,27
38,21	2411	Oleik asit	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282,46	36,55
49,38	3120	7-Oktadekenoik asit, metil ester	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296,49	11,31
49,52	3128	8-Oktadekenoik asit, metil ester	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296,49	10,63
49,94	3153	9-Oktadekenoik asit, metil ester	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296,49	13,77
50,18	3167	9- Oktadekenoik asit (Z)-, metil ester	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296,49	2,73
50,31	3175	10-Oktadekenoik asit, metil ester	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296,49	3,48
50,41	3181	Stearik asit	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298,50	4,07
58,94	3553	11-Oktadekenoik asit, metil ester	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326,56	3,35
61,40	3684	11-Eikosenoik asit, metil ester	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	324,54	3,42
72,77	4285	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexzan	C ₃₀ H ₅₀	410,39	2,30

KE: Kovats Endeksi



Şekil 4.1. *S. europaea*'nın yağ asidinin majör bileşikleri

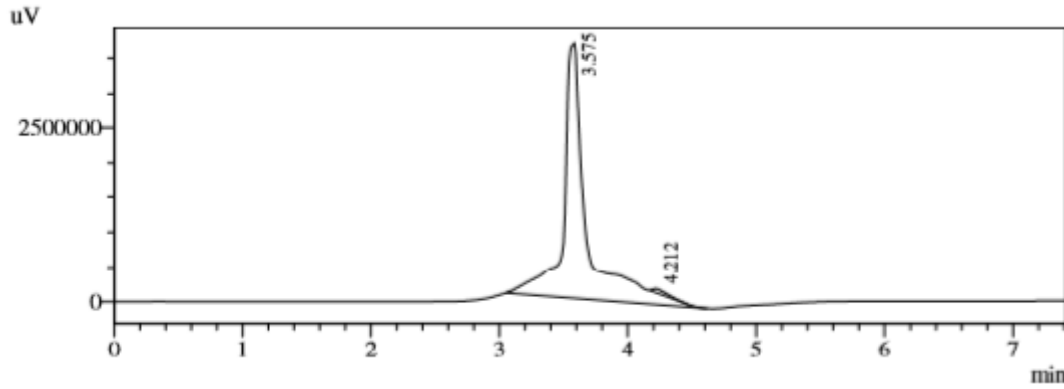
4.1.3. Mineral analizleri sonuçları

Mineral içeriklerini ortaya çıkarmak için ICP/AES cihazında yaptığımız analiz sonucunda *S. europaea* bitkisinde Sodyum miktarı 47 ppm, Magnezyum miktarı 51,98 ppm, Potasyum miktarı 45,86 ppm ve Kalsiyum miktarı 14,27 ppm olarak tespit edilmiştir.

4.1.4. E Vitamini analizi sonuçları

S. europaea bitkisinin E vitamini varlığını ve miktarını tespit etmek amacıyla çözgen olarak metanol ve zeytinyağı kullandığımız analizler sonucunda, hekzan ile muamele edilen örnekte vitamin E (Alpha tocopherol) oranını $2,1 \pm 0,3$ mg/100g bulunmuşken, zeytinyağı

ile muamale edilen örnekte bu oran 551,98 µg/ml olarak bulunmuştur. Elde edilen LC-MS/MS kromatogramları Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. LC-MS/MS kromatogramları

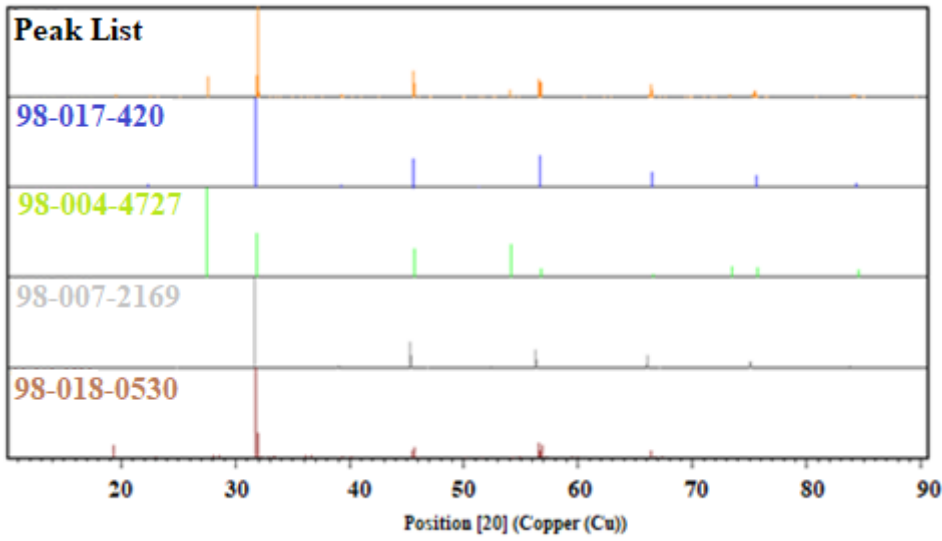
4.1.5. *Salicornia europaea* örneklerinin X ışını kristalografisi analizi sonuçları

S. europaea bitkisinin X Işını Kristalografisi (XRD) analizi sonucunda kristallografik doku ve kompozisyonunda en yüksek %54,5 oranında Strontium Lanthanum Iron (III) Tin (IV) Oxide olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.2. XRD sonuçlarına göre *Salicornia europaea* bitkisinin içerdiği bileşenler

%	Ref. kodu	Bileşen Adı	Kimyasal Formül
*16,6	98-017-4207	Perovskit	Mo ₁ O ₃ Sr ₁
*19,0	98-004-4727	Kalsiyum-alfa	Ca ₁
*54,5	98-007-2169	Stronsiyum Lantan Demir (III) Kalay (IV) Oksit	Fe ₁ La ₁ O ₆ Sn ₁ Sr ₁
*9,9	98-018-0530	Potasyum Demir Dioksit	Fe ₁ K ₁ O ₂

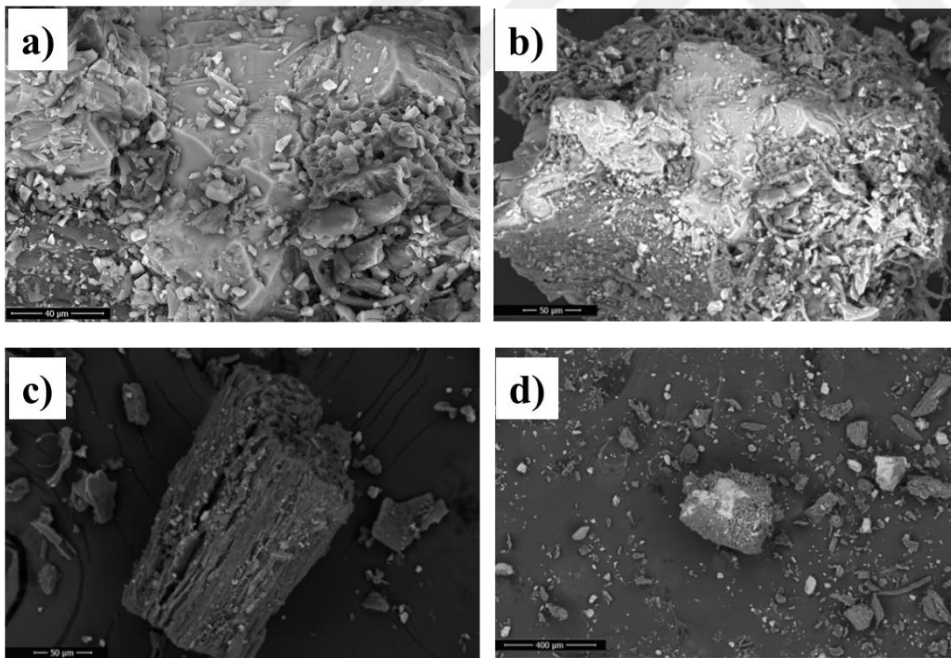
XRD analizi sonucunda bitkinin içeriğinde bulunan bileşenlerin grafiksel görüntüsü de elde edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *S. europaea*'da bulunan bileşiklerin XRD sonuçlarını gösteren grafiksel görüntüsü

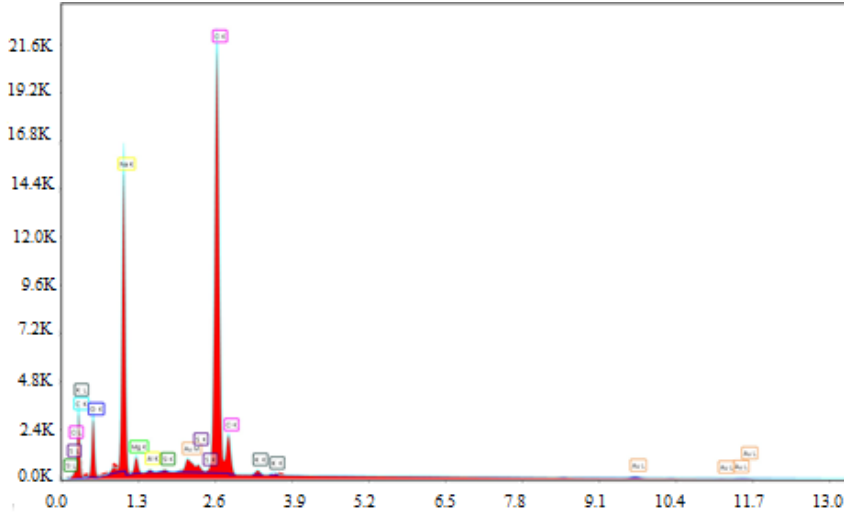
4.1.6. Taramalı elektron mikroskobu ve enerji yayımlı X-ışını analizi sonuçları

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile *S. europaea* yüzey görüntüsü 40 μm , 50 μm , 50 μm ve 400 μm ölçeklerinde büyütülerek elde edilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. *S. europaea*'nın 40 μm (a), 50 μm (b), 50 μm (c), 400 μm (d) ölçeklerinde yüzey görüntüleri

Enerji yayımlı X-ışını Analizi (EDS) kullanılarak elde edilen sonuçlara göre *S. europaea* bitkisinin elementel kompozisyonu elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre, tespit edilen elementler sırasıyla Oksijen, Sodyum, Magnezyum, Potasyum ve Kalsiyum olarak bulunmuştur (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Elementlerin varlığını gösteren EDS analizi grafiği

4.1.7. Krem Formülasyonu Hazırlama

Çalışmada elde edilen biyokimyasal veriler ile su içinde yağ (O / W) emülsiyon bazlı bir krem (yarı katı formülasyon) formüle edilmiştir. Emülgatör olarak (stearik asit) kullanılarak, yağda çözünür bileşenlerden Setil alkol ve badem yağı yağ fazında iyice çözümlenerek 75°C'ye ısıtılmıştır. Koruyucular ve diğer suda çözünür bileşenler (Metil paraben, Propil paraben, Trietanolamin) *Salicornia europaea*'nın etanol özütü olan propilen glikol, sulu fazda çözümlenmiş ve 75°C'ye ısıtılmıştır. Isıtıldıktan sonra sulu faz, emülgatörün soğuması gerçekleşene kadar sürekli karıştırarak yağ fazına yavaş yavaş eklenmiştir (Resim 4.3).



Resim 4.2. *Salicornia europaea* ekstarktı kullanılarak krem oluşturma

4.2. Antimikrobiyal Analiz Sonuçları

S. europaea türünün antimikrobiyal aktivitesinin farklı bakteri ve mayalar üzerine etkisi farklı çözücü, farklı süre ve farklı konsantrasyon dozları için araştırılmıştır.

4.2.1. Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon Sonuçları

Etanol, metanol, aseton ve su ekstraktların MİK değerleri, çalışılan bakteri ve mayalarda 8,35 ile 4671,03 µl arasında değer göstermiştir. En yüksek MİK değeri, 15 gram'lık örnek içeren 72 saat bekletilerek elde edilen metanol ekstraktından *E. coli*'ye karşı gözlemlenmiştir. Etanol, metanol, aseton ve su ekstraktların MİK değerleri Çizelge 3'te gösterilmiştir (P<0,05).

İstatistiksel olarak, *B. subtilis*'e karşı 15 gramda 72 saatte hazırlanan etanol ekstraktının antimikrobiyal aktivitesinin, 15 gramda 48 saatte hazırlanan saf su ekstraktından önemli ölçüde farklı olduğu bulunmuştur (P<0,05). *C. albicans*'a karşı 15 gramda 24 saatte hazırlanan metanol ekstraktı ve *C. parapsilosis*e karşı gramda 48 saatte hazırlanan sulu ekstraktın diğer ekstraktlardan önemli ölçüde farklı olduğu bulundu (P <0,05).

Genel olarak, 100 µl'nin altındaki tüm ekstraktlar mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdi. En yüksek MİK değerini, *E. coli*'ye karşı 15 gramda 72 saatte hazırlanan Metanol ekstarktı (8,35 µL), ardından *E. coli*'ye karşı 30 gramda 72 saatte hazırlanan aseton ekstarktı (8,75 µL), göstermiştir. 30 gram 72 saatte hazırlanan aseton ekstraktı *K. pneumoniae*'ye karşı (9,11 µL), 30 gramda 24 saatte hazırlanan etanol ekstraktı (9,57 µL), 15 gramda 48 saatte hazırlanan aseton özü ekstraktı ise *C. parapsilosis*'e karşı (9,64 µL) göstermiştir (Çizelge 4.2; 4.3).

Çizelge 4.3. Spektrofotometrik Mikrodilasyon yöntemine göre *E. coli*, *K. pneumoniae*, *B.subtilis* ve *S. aureus* ile ayrı ayrı inkübe edilmiş *S. europaea* ekstraktlarının MİK değerleri

Ekstraktlar (µl)/ Süre (Saat)		MİK+ OSH *			
Ağırlık (g)	Aseton	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
15	24	14,15 ^a ±1,94	94,69 ^{ab} ±3,2	12,98 ^{ab} ± 2,4	616,37 ^a ±594,1
	48	197,88 ^a ±187,1	24,43 ^b ±13,4	23,98 ^{ab} ± 2,4	14,10 ^a ±0,5
	72	13,01 ^a ±0,96	16,48 ^b ±7,5	22,92 ^{ab} ±5,4	24,70 ^a ±8,8
30	24	13,94 ^a ±2,2	13,61 ^b ±2,7	14,79 ^{ab} ± 2,7	79,83 ^a ±67,8
	48	177,98 ^a ±165,6	36,59 ^b ±22,5	16,63 ^{ab} ±2,5	38,77 ^a ±22,3
	72	8,75 ^a ±0,2	9,11 ^b ±0,2	11,83 ^{ab} ±0,3	12,98 ^a ±1,0
Etanol					
15	24	12,68 ^a ±0,6	10,42 ^b ±0,1	19,90 ^{ab} ±9,8	27,94 ^a ±2,8
	48	12,08 ^a ±0,2	10,82 ^b ±0,5	11,30 ^{ab} ±0,9	25,34 ^a ±7,8
	72	11,17 ^a ±0,9	11,00 ^b ±1,8	10,83 ^a ±0,4	24,81 ^a ±7,9
30	24	23,90 ^a ±2,5	13,83 ^b ±2,3	19,90 ^{ab} ±10,5	9,57 ^a ±0,7
	48	15,96 ^a ±2,4	15,15 ^b ±4,2	12,76 ^{ab} ±1,9	13,15 ^a ±0,5
	72	22,29 ^a ±3,7	33,66 ^b ±15,6	13,16 ^{ab} ±3,3	19,33 ^a ±6,0
Metanol					
15	24	337,71 ^a ±317,4	12,96 ^b ±1,4	42,62 ^{ab} ±12,6	41,73 ^a ±18,1
	48	22,57 ^a ±0,6	11,78 ^b ±0,4	18,77 ^{ab} ±4,8	20,15 ^a ±2,6
	72	8,35 ^a ±0,15	11,56 ^b ±0,3	14,21 ^{ab} ±0,28	47,69 ^a ±33,4
30	24	19,38 ^a ±1,7	40,84 ^b ±9,2	12,66 ^{ab} ±0,5	35,48 ^a ±13,7
	48	67,33 ^a ±23,5	151,06 ^a ±83,5	16,7 ^{ab} ±2,6	27,75 ^a ±7,41
	72	13,80 ^a ±2,2	36,32 ±6,2	22,10 ^{ab} ±6,8	25,14 ^a ±2,4
Safsu					
15	24	10,96 ^a ±0,9	15,84 ^b ±1,6	29,60 ^{ab} ±6,68	47,06 ^a ±20,08
	48	10,36 ^a ±0,2	43,77 ^b ±16,43	49,52 ^b ±24,6	20,43 ^a ±4,61
	72	10,60 ^a ±0,03	15,60 ^b ±1,7	12,73 ^{ab} ±0,1	75,47 ^a ±34,8
30	24	63,42 ^a ±26,8	20,55 ^b ±6,5	18,69 ^{ab} ± 4,02	24,59 ^a ±12,5
	48	11,67 ^a ±0,006	11,31 ^b ±0,4	29,21 ^{ab} ±4,09	21,56 ^a ±10,4
	72	17,11 ^a ±3,66	13,32 ^b ±0,8	23,19 ^{ab} ±1,4	14,5 ^a ±1,1
	A	16 ±0,06	16 ±0,1	32 ±0,4	32 ±0,3
	F	-	-	-	-

* OSH: Ortalamanın standart hatası. Ortalama MİK, standart sapma (±) ve anlamlılık düzeyi Tukey testi ile ifade edildi (ANOVA, P <0,05). Aynı sütunda farklı üstel harflerle işaretlenen değerler 0,05 düzeyinde istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. A: Ampisilin (µg / ml), F: Flukonazol (µg / ml).

Çizelge 4.4. Spektrofotometrik Mikrodilasyon yöntemine göre *C. albicans* ve *C. parapsilosis* ile ayrı ayrı inkübe edilmiş *S. europaea* ekstraktlarının MİK değerleri.

Ekstraktlar (µl)/ Süre (Saat)		MİK+ OSH *	
Ağırlık (g)	Aseton	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>
15	24	10,32 ^b ±0,1	15,64 ^b ±1,8
	48	14,84 ^b ±1,9	9,64 ^b ±0,04
	72	30,76 ^b ±2,4	15,00 ^b ±2,8
30	24	21,00 ^b ±5,0	18,04 ^b ±0,2
	48	366,09 ^b ±86,6	15,36 ^b ±0,6
	72	30,05 ^b ±13,7	41,53 ^b ±2,3
Etanol			
15	24	58,24 ^b ±47,8	19,24 ^b ±4,1
	48	15,25 ^b ±2,6	17,05 ^b ±2,7
	72	15,59 ^b ±5,06	20,12 ^b ±2,5
30	24	24,71 ^b ±3,30	18,38 ^b ±5,04
	48	16,40 ^b ±0,37	17,14 ^b ±1,4
	72	11,30 ^b ±0,33	13,28 ^b ±0,06
Metanol			
15	24	4671,03 ^a ±33792	68,18 ^b ±5,5
	48	18,71 ^b ±0,3	41,30 ^b ±18,58
	72	16,80 ^b ±3,1	22,16 ^b ±1,7
30	24	17,32 ^b ±1,45706	22,30 ^b ±7,01
	48	152,25 ^b ±45,01	83,95 ^b ±58,8
	72	11,13 ^b ±1,14	22,78 ^b ±1,8
Safsu			
15	24	25,82 ^b ±10,9	25,85 ^b ±7,5
	48	18,38 ^b ±6,2	623,10 ^a ±307,2
	72	1576,49 ^b ±15231	74,63 ^b ±31,5
30	24	20,21 ^b ±3,3	21,15 ^b ±0,3
	48	21,13 ^b ±1,9	15,26 ^b ±4,2
	72	121,76 ^b ±101,9	13,89 ^b ±2,6
	A	-	-
	F	128±3,5	128±0,5

* OSH : Ortalamanın standart hatası. Ortalama MİK, standart sapma (±) ve anlamlılık düzeyi Tukey testi ile ifade edildi (ANOVA, P <0,05). Aynı sütunda farklı üstel harflerle işaretlenen değerler 0,05 düzeyinde istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. A: Ampisilin (µg / ml), F: Flukonazol (µg / ml).

4.2.2. Disk difüzyon sonuçları

Salicornia europaea'nın Etanol, metanol, aseton ve sulu ekstraktların bakteri ve mayalara karşı aktivitesi Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'te gösterilmiştir. Buna göre en yüksek inhibisyon çapı 30 gram'lık örnek içeren 48 saat bekletilerek elde edilen metanol ekstraktından *B. subtilis* bakterisine karşı gözlemlenirken (3.8 mm), bunu takiben yine 30 gram'lık örnek

içeren 24 saat bekletilerek elde edilen metanol ekstaraktından *C. albicans*'a karşı gözlemlenmiştir (2.5 mm).

Çizelge 4.5. *S. europaea* ekstraktlarının disk difüzyon methodu ile elde edilen inhibisyon zon çapları

Ağırlık (g)	Ekstraktlar (µl)/ Süre (Saat)	İnhibisyon Çapı (mm) + OSH *			
	Aseton	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
15	24	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0	0,2 ±0,2
	48	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,5 ^b ±0,5	0,3 ^{bc} ±0,3
	72	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,6 ^b ±0,6	0,0 ^b ±0,0
30	24	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0	0,7 ^a ±0,4
	48	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0	1,1 ^a ±0,0
	72	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0	0,4 ^{bc} ±0,4
Etanol					
15	24	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	1,9 ^a ±0,2	0,0 ^b ±0,0
	48	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,4 ^b ±0,4	0,0 ^b ±0,0
	72	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,2 ^b ±0,2	0,0 ^b ±0,0
30	24	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	1,0 ^{bc} ±0,5	1,4 ^{ad} ±0,1
	48	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0	0,3 ^{bd} ±0,3
	72	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0	0,0 ^b ±0,0
Metanol					
15	24	1,5 ^b ±0,4	0,0 ^a ±0,0	0,7 ^b ±0,7	0,0 ^b ±0,0
	48	1,9 ^b ±0,3	1,3 ^a ±0,8	1,3 ^b ±0,7	0,9 ^a ±0,5
	72	2,1 ^b ±0,7	1,4 ^a ±0,9	1,1 ^{bc} ±0,7	1,0 ^a ±1,0
30	24	0,9 ^{ab} ±0,9	1,2 ^a ±0,6	2,0 ^a ±0,1	0,0 ^b ±0,0
	48	1,5 ^b ±0,2	1,7 ^a ±0,9	3,8 ^a ±0,6	1,9 ^a ±0,2
	72	0,0 ^a ±0,0	2,4 ^a ±1,7	2,7 ^{ac} ±0,6	1,5 ^{ac} ±0,2
Safsu					
15	24	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0	0,0 ^b ±0,0
	48	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0	0,0 ^b ±0,0
	72	0,0 ^a ±0,0	0,5 ^a ±0,5	0,0 ^b ±0,0	0,0 ^b ±0,0
30	24	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0	0,0 ^b ±0,0
	48	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0	0,0 ^b ±0,0
	72	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0	0,0 ^b ±0,0
	A	10.1±0,1	12.0±0.4	4.3±0.8	7.7±1.1
	F	-	-	-	-

* OSH: Ortalamanın standart hatası. Ortalama İnhibisyon Çapı, standart sapma (±) ve anlamlılık düzeyi Tukey testi ile ifade edildi (ANOVA, P <0,05). Aynı sütunda farklı üstel harflerle işaretlenen değerler 0,05 düzeyinde istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. A: Ampisilin (µg / ml), F: Flukonazol (µg / ml).

Çizelge 4.6. *S. europaea* ekstraktlarının disk difüzyon methodu ile elde edilen inhibisyon zon çapları.

Ağırlık (g)	Ekstraktlar (µl)/ Süre (Saat)	İnhibisyon Çapı (mm) + OSH *	
		<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>
	Aseton		
15	24	2,0 ^a ±1,0	0,0 ^b ±0,0
	48	0,8 ^a ±0,7	0,0 ^b ±0,0
	72	2,2 ^a ±1,1	0,0 ^b ±0,0
30	24	0,2 ^a ±0,1	0,1 ^a ±0,0
	48	0,0 ^a ±0,0	0,1 ^a ±0,0
	72	0,1 ^a ±0,1	0,0 ^b ±0,0
	Etanol		
15	24	1,4 ^a ±1,3	0,0 ^b ±0,0
	48	1,1 ^a ±0,6	0,0 ^b ±0,0
	72	1,4 ^a ±0,5	0,0 ^b ±0,0
30	24	1,0 ^a ±0,8	0,0 ^b ±0,0
	48	2,8 ^a ±0,5	0,0 ^b ±0,0
	72	1,5 ^a ±1,3	0,0 ^b ±0,0
	Metanol		
15	24	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0
	48	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0
	72	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0
30	24	2,5 ^a ±0,9	0,0 ^b ±0,0
	48	2,3 ^a ±2,3	0,0 ^b ±0,0
	72	0,7 ^a ±0,7	0,0 ^b ±0,0
	Safsu		
15	24	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0
	48	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0
	72	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0
30	24	0,4 ^a ±0,4	0,0 ^b ±0,0
	48	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0
	72	0,0 ^a ±0,0	0,0 ^b ±0,0
	A	-	-
	F	1.1±0.18	2.4±0.1

* OSH: Ortalamanın standart hatası. Ortalama İnhibisyon Çapı, standart sapma (±) ve anlamlılık düzeyi Tukey testi ile ifade edildi (ANOVA, P <0,05). Aynı sütunda farklı üstel harflerle işaretlenen değerler 0,05 düzeyinde istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. A: Ampisilin (µg / ml), F: Flukonazol (µg / ml).

4.3. Genetik sonuçlar

4.3.1. *Salicornia europaea* genetik sonuçları

Yapılan model test sonucu verilerimize uygun en iyi model Tamura 3-parameter modeli bulunmuştur (Tamura, 1994) ve *Salicornia europaea* örnekleri arasındaki genetik çeşitlilik

ve farklılaşmanın derecesi bu model esas alınarak belirlenmiştir. Elde edilen verilerden Neighbor-Joining metodu kullanılarak türler arasındaki genetik ilişkinin şekli belirlenmiştir. Analiz edilen rpln32-trnl bölgesinin uzunluğu 805 bç olarak saptanmıştır. Dizi analizi sonucunda elde edilen nükleotid kompozisyonu analizini gerçekleştirdiğimiz *S. europaea* için; A bazının oranı %37,9 olarak, T bazının oranı %11,9 olarak, C bazının oranı %37,6 olarak, G bazının oranı %12,6 olarak belirlenirlenmiştir.

DNA dizi analizi yapılarında gösterilen 805 bç'lik bölgesi çalışılan rpln32-trnl geninin 800 bç'lik kısmı evrimsel süreçten etkilenmemiş bölgelerden oluşurken 5 bç'lik kısmı ise türler arasında çeşitli sebeplerden dolayı değişen bölge olarak tespit edilmiştir. 2 bç'lik bölge ise türler arasında parsimoni anlamlı bölge görevi görmüştür. Örnekler arası ortalama haplotip çeşitliliği ise 0,8222 olarak bulunmuştur.

Modeltest sonucu en iyi model Tamura 3-parameter modeli seçilmiş olup analizler bu modele göre yapılmıştır. *S. europaea* örnekleri arasındaki ortalama genetik çeşitlilik değeri 0,00202 olarak bulunmuştur. Örnekler arası genetik çeşitlilik değerleri Çizelge 4.7' de verilmiştir.

Çizelge 4.7. *S. europaea* dizileri arası karşılaştırmalı genetik çeşitlilik değerleri

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 <i>S. europaea</i> -1	-								
2 <i>S. europaea</i> -2	0,0025	-							
3 <i>S. europaea</i> -3	0,0037	0,0012	-						
4 <i>S. europaea</i> -4	0,0050	0,0025	0,0012	-					
5 <i>S. europaea</i> -5	0,0025	0,0000	0,0012	0,0025	-				
6 <i>S. europaea</i> -6	0,0037	0,0012	0,0000	0,0012	0,0012	-			
7 <i>S. europaea</i> -7	0,0025	0,0000	0,0012	0,0025	0,0000	0,0012	-		
8 <i>S. europaea</i> -8	0,0050	0,0025	0,0012	0,0000	0,0025	0,0012	0,0025	-	
9 <i>S. europaea</i> -9	0,0025	0,0000	0,0012	0,0025	0,0000	0,0012	0,0000	0,0025	-
10 <i>S. europaea</i> -10	0,0062	0,0037	0,0025	0,0012	0,0037	0,0025	0,0037	0,0012	0,0037

4.3.2. *Salicornia* türleri arasındaki genetik sonuçlar

Yapılan model test sonucu verilerimize uygun en iyi model Tamura 3-parameter modeli bulunmuştur (Tamura, 1994) ve *Salicornia europaea* örnekleri arasındaki genetik çeşitlilik ve farklılaşmanın derecesi bu model esas alınarak belirlenmiştir. Elde edilen verilerden Neighbor-Joining metodu kullanılarak türler arasındaki genetik ilişkinin şekli belirlenmiştir. Analiz edilen rpln32-trnl bölgesinin uzunluğu 805 bç olarak saptanmıştır. Genbanktan alınan *Salicornia* türleri ile birlikte yapılan dizi analizi sonucunda elde edilen nükleotid

kompozisyonu A, T, C, G bazları için sırasıyla % 37,3, % 11,6, % 38,1 ve % 13,0 olarak belirlenmiştir.

DNA dizi analizi yapılarında gösterilen 805 bç'lik bölgesi çalışılan rpln32-trnl geninin 737 bç'lik kısmı evrimsel süreçten etkilenmemiş bölgelerden oluşurken 68 bç'lik kısmı ise türler arasında çeşitli sebeplerden dolayı değişen bölge olarak tespit edilmiştir. 54 bç'lik bölge ise türler arasında parsimoni anlamlı bölge görevi görmüştür.

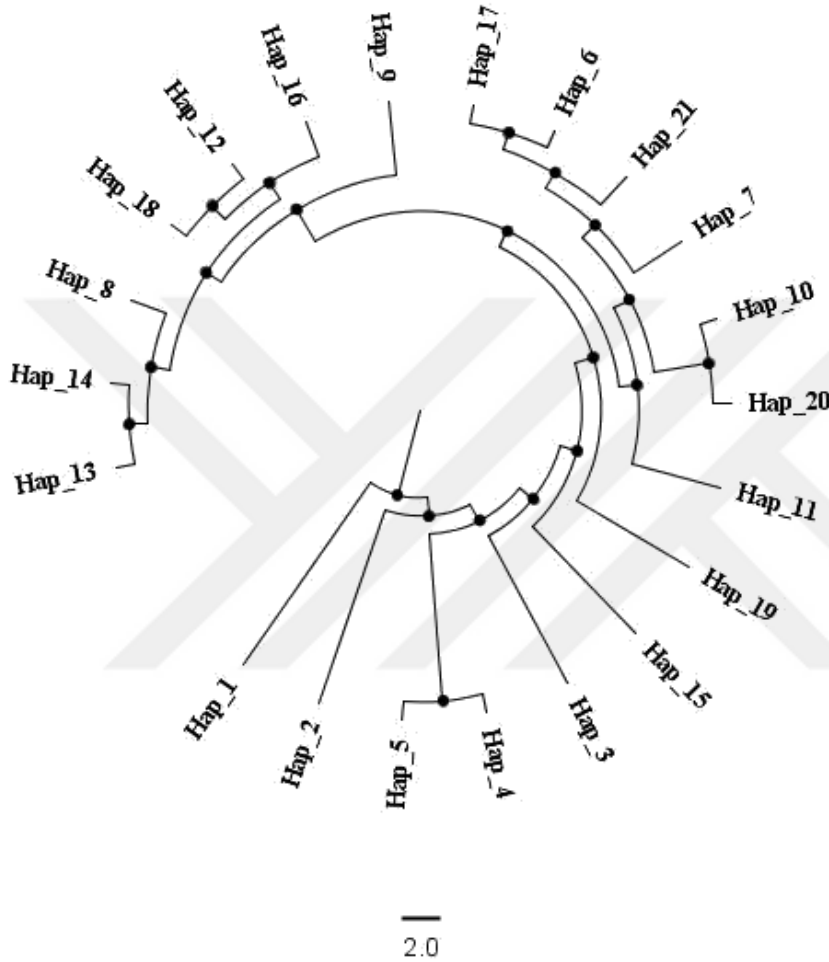
Tüm türler kullanılarak gerçekleştirilen DNA dizin analizi ile 62 sekansda toplam 21 haplotip gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Haplotip 1, Haplotip 2, Haplotip 3, Haplotip 4 ve Haplotip 5 sadece *Salicornia europea* türünde, Haplotip 6 *S. ambigua*, Haplotip 7 *S. andina* ve *S. neei*, Haplotip 8 *S. blackiana*, Haplotip 9 *S. capensis* ve *S. decussata*, Haplotip 10 *S. cf. pulvinata*, Haplotip 11 *S. decumbens* ve *S. capensis*, Haplotip 12 *S. freitagii*, Haplotip 13 ve Haplotip 14 *S. fruticosa*, Haplotip 15 *S. littorea*, Haplotip 16 *S. mossiana* ve *S. natalensis*, Haplotip 17 *S. pacifica*, Haplotip 18 *S. pillansii*, *S. aff. pillansii*, *S. pillansii x S. ossiana*, *S. pillansii x tegetaria* ve *S. terminalis*, Haplotip 19 *S. tegetaria*, Haplotip 20 ve Haplotip 21 *S. utahensis* türlerinde belirlenmiştir. Türler arası ortalama haplotip çeşitliliği ise 0,9217 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.8. *Salicornia* türlerindeki rpln32-trnl haplotiplerinin frekansları ve türlere göre dağılımı

Haplotip	<i>S. europea</i>	<i>S. ambigua</i>	<i>S. andina</i>	<i>S. neei</i>	<i>S. blackiana</i>	<i>S. capensis</i>	<i>S. decussata</i>	<i>S. cf. pulvinata</i>	<i>S. decumbens</i>	<i>S. freitagii</i>	<i>S. fruticosa</i>	<i>S. littorea</i>	<i>S. mossiana</i>	<i>S. natalensis</i>	<i>S. pacifica</i>	<i>S. pillansii</i>	<i>S. aff. pillansii</i>	<i>S. pillansii x</i> <i>S. ossiana</i>	<i>S. pillansii x</i> <i>tegetaria</i>	<i>S. terminalis</i>	<i>S. tegetaria</i>	<i>S. utahensis</i>	
Ha 1	1																						
p1																							
Ha 4	4																						
p2																							
Ha 2	2																						
p3																							
Ha 2	2																						
p4																							
Ha 1	1																						
p5																							
Ha 1	1																						
p6		1																					
Ha 1			1	2																			
p7																							
Ha 1					1																		
p8						5	3																
Ha 1								1															
p10									3														
Ha 2					2					2													
p11											1												
Ha 1											1												
p12												4											
Ha 4													4	5									
p15																							
Ha 4																							
p16																							
Ha 2															2								
p17																							
Ha 4																4	1	1	1	4			
p18																							
Ha 1																						1	
p19																							
Ha 1																							1
p20																							
Ha 1																							1
p21																							
Tot al	10	1	1	2	1	7	3	1	3	2	2	4	4	5	2	4	1	1	1	4	1	2	

Salicornia türlerindeki nükleotid farklılıklarına dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren ağaç oluşturmada asgari tarama ağacı (Minimum spanning tree, MST) yöntemi kullanılmıştır (Şekil 4.6). Asgari tarama ağacına göre; Haplotip 1 başlangıç noktasındadır ve Haplotip 1 haploidinden dallanmış olan Haplotip 2 haploidi görülmektedir. Haplotip 2 haploidinden ise Haplotip 4 ve Haplotip 5 haploidleri dallanırken, Haplotip 4 ve Haplotip 5'ten Haplotip 3 haploidi dallanmıştır. Haplotip 3 haploidinden Haplotip 15 ve Haplotip 19 ve Haplotip 11 haploidi dallanmıştır. Haplotip 11'den Haplotip 7, 10 ve 20 haploidi, Haplotip 7'den ise

Haplotip 6, 17 ve 21 haploidleri dallanmıştır. Haplotip 19 haploidinden Haplotip 9 haploidinin dallandığı görülmektedir. Haplotip 9'dan Haplotip 16 dallanırken; Haplotip 16'dan Haplotip 12 ve Haplotip 18 dallanmış, Haplotip 8'den ise Haplotip 13 ve Haplotip 14 haploidinin dallandığı görülmektedir.



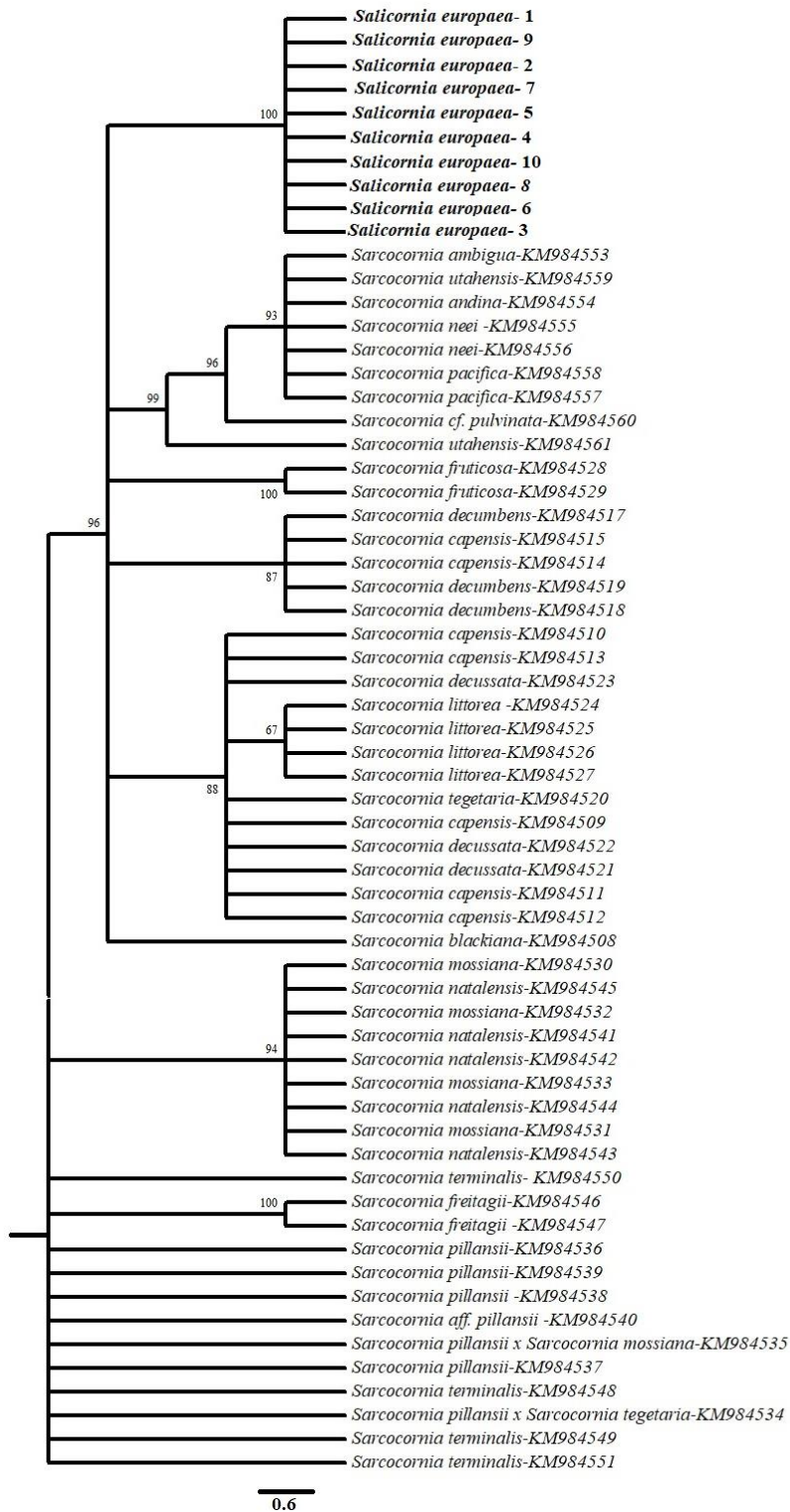
Şekil 4.6. Haplotipler arasındaki ilişkileri gösteren asgari tarama ağacı

Modeltest sonucu en iyi model Tamura 3-parameter modeli seçilmiş olup analizler bu modele göre yapılmıştır. Tüm türler arasındaki ortalama genetik çeşitlilik değeri 0,01721 olarak bulunmuştur. Türler arası genetik farklılık düzeyi incelendiğinde en yüksek genetik çeşitlilik değeri (0,0352) *S. fruticosa* ile *S. europea* türleri arasında bulunmuştur. Türler içi genetik farklılık düzeyi incelendiğinde en yüksek genetik farklılaşma düzeyi 0,0125 ile *S. utahensis* türünde bulunmuştur.

Türler arasındaki genetik ilişkiyi göstermek adına negatif branş uzunluğuna izin verilen Komşu Kalıtmımlı Soyağacı ve Maksimum Parsimon ağacı kullanılmıştır. Soyağacının oluşturulmasında güvenilirliği sağlamak için her bir ağaca 1000 tekrarlı bootstap testleri

uygulanmıştır. Her iki ağaçta birbirine benzer dallanmalar gerçekleştirmiştir. Komşu kalıtmıli soyağacına göre, iki ana filogenetik dallanma tespit edilmiştir; ilk ana dallanmada *S. pillansii*, *S. terminalis*, *S. freitagii*, *S. pillansii* x *S. tegetaria*, *S. pillansii* x *S. mossiana* birlikte gruplanmıştır. İkinci ana dallanmada 5 dal tespit edilmiş; Birinci dalda *S. natalensis* ve *S. mossiana*, ikinci dalda *S. blackiana* gruplanmıştır. Üçüncü kolda ise *S. decumbens*, *S. capensis*, *S. decussata*, *S. tegetaria* ve *S. littorea* kardeş grup olarak gruplanmıştır. *S. utahensis* ve *S. cf. pulvinata*, *S. fruticose* dördüncü, *S. europaea* dizileri ise beşinci olarak kendi türünde gruplanmıştır (Şekil 4.7).

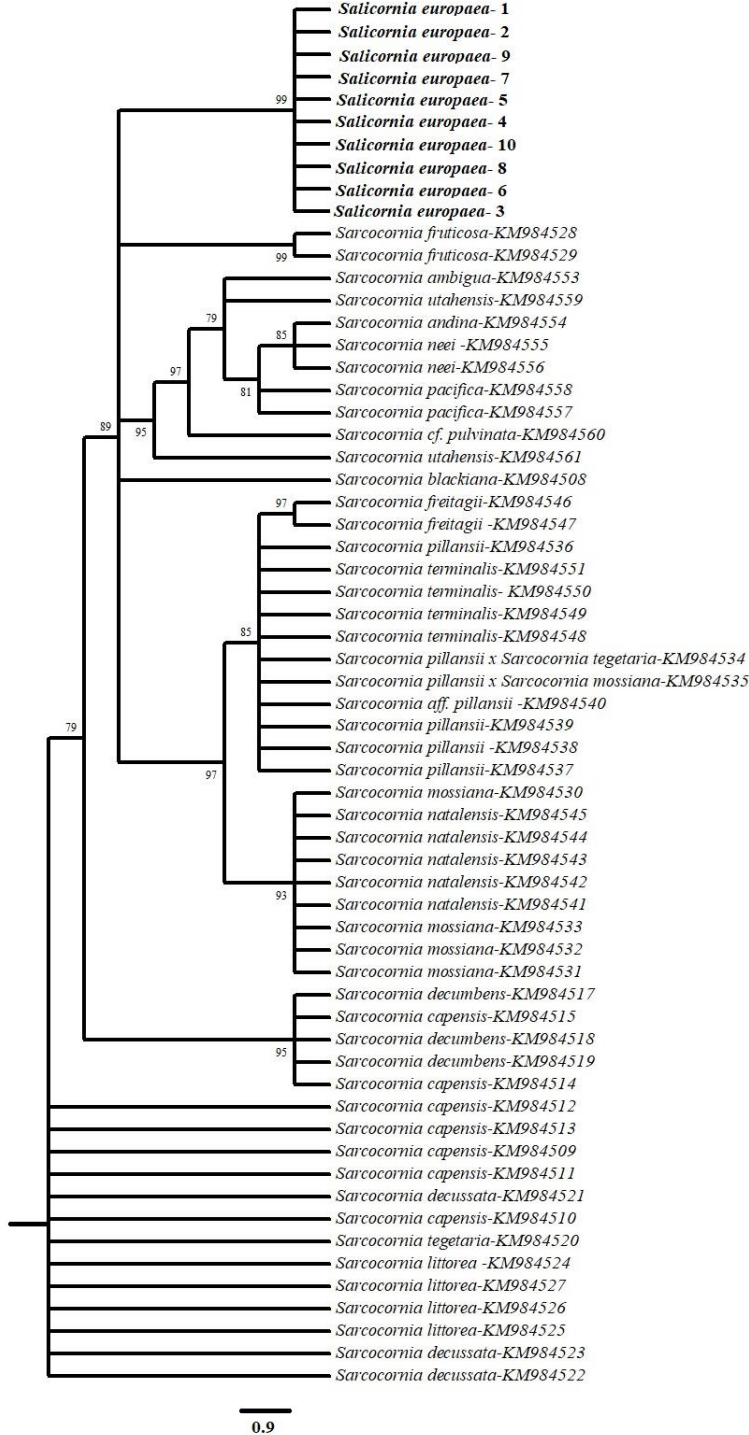




Şekil 4.7. *Salicornia* türlerinin genetik ilişkisini gösteren komşu katılımlı ağaç

Maximum Parsimony filogenetik ağacında iki ana filogenetik dallanma tespit edildi; ilk dallanmada *S. capensis*, *S. decussate*, *S. tegetaria* ve *S. littorea* birlikte gruplanmıştır. *S. natalensis* ve *S. mossiana* gruplanırken, *S. pillansii*, *S. terminalis*, *S. freitagii*, *S. pillansii* x *S. tegetaria*, *S. pillansii* x *S. mossiana* gruplanmıştır. *S. utahensis*, *S. cf. pulvinata*, *S. fruticosa*, *S. pacifica*, *S. neei*, *S. andina* ve *S. ambigua* birlikte gruplandığı görülmüştür. *S.*

europaea dizileri ise aynı dalda gruplanmıştır (Şekil 4.8). Komşu kalıtlımlı soyağacı ve Maksimum Parsimoni filogenetik yaklaşımları, benzer ağaç topolojileriyle sonuçlandığı görülmüştür.



Şekil 4.8. Salicornia türlerinin genetik ilişkisini gösteren maximum parsimoni ağaç

5. TARTIŞMA

Tez çalışmasının birinci bölümünde, *S. europaea* türünün GC/MS analizi ile sabit yağ analizi, ICP/AES analizi ile mineral değerleri tespit edilmiştir. LC/MS-MS analizi ile ise vitamin E (α -tokoferol) oranı belirlenmiştir. Ek olarak, *S. europaea*'nın kristalografik dokusu ve bileşimi X Işını Kristalografisi (XRD) analizi kullanılarak belirlenmiştir. Elementel kompozisyonu, kimyasal yapısı SEM-EDS analizleri ile tespit edilmiştir. İkinci bölümde, *S. europaea*'dan elde edilen aseton, metanol, etenol ve saf su ekstarkları gram pozitif ve gram negatif bakteri suşlarına ve mayalara karşı antimikrobiyal aktivitesi tespit edilmiştir. Üçüncü bölümde ise, *S. europaea*'nın tür tayini DNA barkodlama tekniği kullanılarak taksonomik olarak araştırılmıştır.

5.1. Kozmetik

5.1.1. Nem Analizi

Nem analizi sonucuna göre *S. europaea*'nın nem miktarı %8,69 olarak bulunmuştur (Resim 19). Min ve diğerleri (2002) *Salicornia herbacea* L.'nin kimyasal kompozisyonunu ve nem içeriğini inceledikleri çalışmalarında nem oranını %9,09 olarak bulmuşlardır. Barroca ve diğerleri (2020), *Sarcocornia perennis*'in fiziko-kimyasal özelliklerini de araştırdıkları çalışmalarında *S. perennis*'in nem oranını %11,09 olarak bulmuşlardır. Bertin ve diğerleri (2014), iki farklı bölgeden örnekledikleri *Sarcocornia ambigua* türünün besin kompozisyonu incelemişlerdir ve yaptıkları araştırmada nem miktarı sırasıyla %88,15 ve %88,57 bulmuşlardır. Lu ve diğerleri (2010), *Salicornia bigelovii*'nin beslenme karakterizasyonu araştırmışlardır ve nem oranını %88,42 olarak bulmuşlardır. Örnekleme yaz mevsiminde gerçekleştirmemiz suların çekilmiş olması sebebiyle nem miktarının diğer çalışmalara göre düşük çıkmasının nedeni olarak açıklanabilir.

5.1.2. Yağ Analizi

Sabit yağ asitlerini elde etmek için n-Hekzan ile muamele edilerek Soxhlet ile gerçekleştirilen analiz sonucunda *S. europaea* bitkisinin yağ oranı %15,15 olarak bulunmuştur. Oleik asit miktarı ise %36,55 olarak bulunmuştur. Anwar ve diğerleri (2002), *Salicornia bigelovii*'nin tohum yağının analitik karakterizasyonunu araştırdıkları çalışmalarında yağ oranını %29,2 olarak bulmuşlardır. Eganathan ve diğerleri (2006), *Salicornia brachiata* tohumlarındaki yağ miktarını bulmak için hekzan ile ekstrakte

etmişlerdir ve yağ miktarını %22,4 olarak bulmuşlardır. Elsebaie ve diğerleri (2013), *Salicornia fruticosa* tohumlarında %28,59 yağ oranı tespit etmişlerdir.

5.1.3. Mineral Analizi

Mineral içeriklerini ortaya çıkarmak için ICP/AES cihazında yaptığımız analiz sonucunda *S. europaea* bitkisinde Sodyum miktarını 47 ppm, Magnezyum miktarını 51,98 ppm, Potasyum miktarını 45,86 ppm ve Kalsiyum miktarını 14,27 ppm olarak tespit edilmiştir. Austenfeld (1986), *S. europaea* tohumlarını inceledikleri çalışmalarında Kalsiyum miktarını 30 mmol, Magnezyum miktarını ise 138 mmol bulmuşlardır. Lima ve diğerleri (2020), farklı tuzluluk oranlarında yetiştirilen *Salicornia ramosissima* türünün mineral kompozisyonlarını Sodyum için 8,36- 17,4 mg/g, Potasyum için 1,41-2,23 mg/g, Kalsiyum için 0,41- 1,45 mg/g ve Magnezyum için 0,17- 0,23 mg/g olarak bulmuşlardır. Rupérez (2002), deniz yosunları olan *Fucus vesiculosus*, *Laminaria digitata*, *Undaria pinnatifida*, *Chondrus crispus*, *Porphyra tenera* türlerini kullanarak yaptıkları çalışmalarında Na, K, Ca ve Mg mineral içeriklerini 8,083–17,875 mg/100g olarak bulmuşlardır. Bertin ve diğerleri (2014), yaptıkları çalışmalarında *Sarcocornia ambigua*'nın Sodyum, Potasyum, Magnezyum ve Kalsiyum miktarlarını Palhoça sahilinden yaptıkları örneklemede sırasıyla; 10,19 mg/g, 2,9 mg/g, 0,92 mg/g ve 0,54 mg/g, Barra da Lagoa, Florianopolis'dan yaptıkları örneklemede ise sırasıyla 16,57 mg/g, 1,81 mg/g, 1,30 mg/g ve 0,53 mg/g olarak bulmuşlardır.

5.1.4. E Vitamini analizi

Çalışmada hekzan ile muamele edilen örnekte vitamin E (Alphatocopherol) oranını $2,1 \pm 0,3$ mg/100g bulunmuşken, zeytinyağı ile muamale edilen örnekte bu oran 551,98 µg/ml olarak bulunmuştur. Choi ve diğerleri (2014) *Salicornia herbacea* tohumlarını kullanarak yaptıkları çalışmalarında Alphatocopherol oranını 249, 2 mg/kg olarak bulmuşlardır. Lima ve diğerleri (2020), çalışmalarında topraksız sistemlerde üretilen *Salicornia ramosissima* türünün farklı tuzluluk oranlarında ki besin kompozisyonu ve anti oksidan kapasitesini araştırmışlardır ve 35 mM tuzlulukta *S. ramosissima*'nın alphatocopherol oranını 241 ± 10 µg/100 g olarak bulmuşlardır.

5.1.5. X ışını kristalografisi (XRD) analizi

S. europaea bitkisinin X Işını Kristalografisi (XRD) analizi sonucunda kristalografik doku ve kompozisyonunda en yüksek eşleşme % 54,5 oranında Stronsiyum Lantan Demir (III)

Kalay (IV) Oksit olarak bulunmuştur. *S. europaea*'nın içerdiği diğer bileşikler ise Kalsiyum-alfa, Perovskit ve Potasyum Demir Dioksit olarak tespit edilmiştir.

5.1.6. Taramalı elektron mikroskobu ve enerji yayımlı X-ışını analizi

Taramalı Elektron Mikroskobu ile 40 µm, 50 µm, 50 µm ve 400 µm ölçeklerinde görüntü elde edilmiştir. Enerji yayımlı X-ışını Analizi ile elementel kompozisyonu en yüksek enerji seviyesi olan K seviyesinde Oksijen, Sodyum, Magnezyum, Potasyum ve Kalsiyum tespit edilmiştir.

5.2. Antimikrobiyal aktivite

Salicornia cinsine ait metabolitlerinin antimikrobiyalleri üzerine birçok çalışmanın yapıldığı görülmüştür (Rowley ve diğerleri, 2002; Kannan, Arumugam ve Anantharaman, 2010; Kannan, Arumugam ve Anantharaman, 2012). Santhanakrishnan ve diğerleri (2014), *S. brachiata*'nın *B. subtilis* ve *K. pneumoniae*'ye karşı metanolik ekstraktının MİK değerleri sırasıyla 25 ve 50 mg / mL olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda *S. europaea*'nın MİK değerini *B. subtilis* ve *K. pneumoniae* için sırasıyla 12,96 mg / mL ve 42,62 mg / mL olarak bulunmuştur. Rad ve diğerleri (2004), *Salicornia herbacea* tohumunun etanol özütünün *S. aureus*'a karşı MİK değerini 189,5 mg / mL, *E. coli*'ye karşı MİK değerini ise 420 mg / mL olarak bulmuşlardır. Tez çalışmasında ise *S. europea*'nın maksimum inhibisyon konsantrasyonunun 24 saatlik inkübasyonda MİK değerinin *S. aureus*'a karşı 9,57 mg / mL bulurken, 72 saatlik inkübasyonda *E. coli*'ye karşı 11,17 mg / mL olarak bulunmuştur. Manikandan ve diğerleri (2009), *Salicornia brachiata*'nın antibakteriyal aktivitelerini araştırdıkları çalışmalarında metanolik ekstraktının *B. subtilis* ve *S. aureus*'a karşı MİK değerini 1,7 mg / mL olarak bulurken, *K. pneumoniae* karşı MİK değerini ise 7,2 mg / mL olarak bulmuşlardır. Aynı zamanda sulu ekstraktların *B. subtilis* ve *S. aureus*'a karşı MİK değerini 7,2 mg / mL, *K. pneumoniae* karşı MİK değerini ise 6,1 mg / mL olarak belirlemişlerdir. Kharrati-Koopae ve diğerleri (2016), *Salicornia iranica*'nın *Salmonella typhimurium*' a karşı antimikrobiyal aktivitesini 6 farklı çözügen (Asetil asetat, n-hekzan, butanol, etanol, metanol ve Diklorometan) kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, butanol ekstarktı en yüksek etkiye sahip olurken sırasıyla diklorometan, etanol, metanol, n-hekzan ve asetil asetatın da *S.typhimurium*' a karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Çoban ve diğerleri (2009), *Salicornia europaea*'nın da bulunduğu ve *E. coli*, *S. aureus*, *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivitenin araştırıldığı çalışmalarında aseton, eter, etanol ve su kullanarak hazırladıkları ekstraktlarda, *Salicornia europaea*'nın eter ekstraktlarının diğer ekstraktlara göre çalışılan tüm bakteri ve maya suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Rahmani ve Heydarian (2016), *Salicornia iranica*'nın etanolik özütünün 72 saat inkübasyonun sonunda 25°C'de sonunda *Aspergillus niger* ve *Candida albicans*'a karşı antifungal aktiviteye sahip olmadığını gözlemlemişlerdir. Fakat tez çalışmasında *S. europaea* etanol özütünün 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonlarda *C. albicans*'a karşı çeşitli inhibisyon bölgeleri belirlenmiştir. 300 mg / mL konsantrasyonu için, 24 saatlik inkübasyonlardayken minimum bölge (1,0 mm) bulunurken, 48 saatlik inkübasyonlardayken maksimum bölge (2,8 mm) olarak bulunmuştur. Bu, *Salicornia* türlerinin farklı etanol özleri içeriğine sahip olduğunu göstermektedir. Essaidi ve diğerleri (2013), *Salicornia herbacea*'nın metanolik ekstraktının disk difüzyon yöntemi ile bazı patojenlere karşı antibakteriyel performansını inceledikleri çalışmalarında 20 mg / mL ekstraktın 24 saatlik inkübasyondan sonra *E. coli* ve *K. pneumoniae* üzerinde herhangi bir aktivitesinin olmamakla birlikte, 100 mg / mL ekstrakt 6 ila 10 mm bölge arasında inhibe ettiğini bulmuşlardır. Çalışmamızda ise, 300 mg / mL metanolik ekstraktın *E. coli* ve *K. pneumoniae*'ye karşı 1,5 mm bölgeye sahip olduğu bulunmuştur. Bu iki çalışmaya göre, diğer farklılıkların yanı sıra konsantrasyon farklılığının bölge genişliğini etkilediği açıktır.

Kannan ve diğerleri (2013), yaptıkları araştırmada *Halodule pinifolia* ve *Cymodocea rotundata* türlerinin *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella paratyphi* ve *Shigella boydii*'ye karşı baskın antimikrobiyal ajanlara sahip olduğunu bildirmişlerdir. Essaidi ve diğerleri (2013), *Cymodocea serrulata*, *Halophila ovalis* ve *Zostera capensis*'in farklı ekstraktlarının antibakteriyel özelliklerinin *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis* gibi bazı patojenlere karşı test ettikleri çalışmalarında en iyi aktivitenin etil asetat ve metanol ekstraktında olduğunu belirlemişlerdir. Benzer şekilde, çalışmamızda da disk difüzyon yöntemine göre metanol ekstraktının mikroorganizmaya karşı diğerlerinden daha aktif olduğu görülmüştür.

5.3. DNA Barkodlama

Tez çalışması kapsamında denizlerimizde bulunan *Salicornia* türünün barkod çalışması gerçekleştirilmiştir. Adana/Tuzla bölgesinde bulunan deniz börülcesinin genetik olarak tanımı ve dizilimi ortaya çıkarılmıştır. *Salicornia europaea* türü ile diğer türler arasında

ortak Haplotip tespit edilememiştir ve DNA barkod dizileri tüm *Salicornia* türleri arasındaki taksonomik durumu ortaya çıkarmıştır.

Türler içindeki genetik çeşitlilik, *S. decumbens*, *S. decussata*, *S. freitagii*, *S. littorea*, *S. mossiana*, *S. natalensis*, *S. neei*, *S. pacifica*, *S. pillansii* ve *S. terminalis* için sıfır olarak bulunmuştur. Bu düşük genetik çeşitlilik, bu çalışmada Genbank'tan alınan örnek sayısının az olmasıyla açıklanabilir.

Çalışmamızda, rpl32 – trnL bölgesi uzunluğu 805 bp olarak bulunmuştur. Nasrollahi, Kazempour-Osaloo, Saadati, Mozaffarian ve Zare-Maivan, (2019), iki plastid (rpl32-trnL ve trnH-psbA) markörü kullanarak *Onosma* türlerini araştırmış ve rpl32-trnL bölgesi için nükleotid uzunluğu 780 bp olarak bulmuşlardır. Rpl32-trnL gen bölgesinin ortalama uzunluğu 1018 bp'dir, ancak 543 ile 1417 bp arasında değiştiği belirtilmiştir (Shaw ve diğerleri, 2007). Çalışmamızda da baz uzunluğu bu değerler arasında bulunmuştur.

Bu çalışma, diğer benzer çalışmalara uygun olarak rpl32-trnL'nin tür tanımlaması için gücünü desteklemektedir. Steffen ve diğerleri, (2015), *Sarcocornia* ve *Salicornia*'nın biyocoğrafik kalıpları çıkarmak için tanımlanması için nükleer ribozomal DNA (harici transkripsiyonlu aralayıcı) ve kloroplast DNA'nın (atpB-rbcL, rpl32-trnL) uygulanabilirliğini değerlendirdikleri çalışmalarında *Salicornia*'nın *Sarcocornia*'da açıkça yerleştiğini bulmuşlardır. Kadereit, Mucina ve Freitag (2006), atpB-rbcL gen bölgesini kullanarak 67 *Salicornioideae* örneğinin filogenisini araştırmıştır. Dong ve diğerleri (2012), yüksek değişken kloroplast belirteçleri kullanarak bitki filogenisini değerlendirmek için DNA barkod yöntemini kullanmışlardır. Rpl32-trnL lokusunun önemli uzunluk varyasyonu ve taksonlar arasında yüksek seviyede konumsal varyasyon gösterdiğini ve diziler açıkça hizalanabilirse, rpl32-trnL bölgesinin tür tanımlaması için uygun olacağını bildirmişlerdir. Peterson ve diğerleri (2014), *Leptochloa* s.l.'deki DNA barkodlarını matK, rbcL, rpl32-trnL ve (ITS) kullanarak belirttiği çalışmalarında rpl32-trnL bölgesinin taksonomik olarak yakından ilişkili türler arasında yüksek düzeyde bir dizi varyasyonu gösterdiğini ve *Dinebra chinensis*'in doğru bir şekilde tanımlanmasına izin veren benzersiz bir dizi sunduğunu bildirmişlerdir. Brandt ve diğerleri (2015), Suaeda subg. *Brezia* ve rpl32-trnL markörünün en yüksek güvenilir performansı ve en yüksek çeşitliliği ortaya çıkardığını belirtmişlerdir. Tüm bu çalışmalar, plastid barkod dizileri arasında en yüksek dizi farklılığını gösteren ve kodlamayan bölgede büyük miktarda polimorfik alan içeren rpl32-trnL barkodları ile genetik

tanımlamanın (Shaw ve diğeri, 2007) türleri tanımlamak için yararlı bir araç sağlayabileceğini göstermiştir.

Literatüre bakıldığında DNA barkodlama tekniğinin yeni bir teknik olması ve bitkilerle ilgili ilk DNA barkodlaması çalışmasının 2005 yılı gibi yakın bir zamanda yapılması sebebiyle henüz bitkilerle ilgili fazla çalışmanın olmadığını görmekteyiz. Ancak DNA barkodlama tekniğinin çok fazla avantajı olması ve bitkilerle ilgili çok farklı alanlarda kullanılabilirliği olması sebebiyle bu teknikle ilgili ve bitkilere özgü evrensel bir barkodun bulunabilmesi için araştırmalar devam etmektedir. Daha önce bitkilerle ilgili gerçekleştirilmiş olan çalışmaların sonuçlarına baktığımız zaman birçok çalışmanın elde etmiş olduğumuz verilerle paralellik gösterdiği görülmüştür.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Deniz Börülcesi *Salicornia europaea* türünün tıbbi ve kozmetik alanlarında kullanımı ve genetik analizlerinin birlikte gerçekleştirildiği herhangi bir çalışmaya yapılan literatür araştırmasında rastlanmamıştır. Tez çalışmasında, Adana Tuzla Lagünü'nden örnekleme gerçekleştirilen *S. europaea* türünün GC/MS analizi ile sabit yağ oranı, ICP/AES analizi ile mineral değerleri belirlenmiştir. LC/MS-MS analizi ile α - tokoferol (vitamin E) oranı tespit edilmiştir. Kristalografik dokusu, bileşimi, elementel kompozisyonu ve kimyasal yapısı da sırasıyla, X Işını Kristalografisi (XRD) analizi ve SEM-EDS analizleri ile tespit edilmiştir. Aseton, metanol, etanol ve saf su kullanarak *S. europaea*'dan elde edilen ekstraktlar disk difüzyon ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir. *S. europaea*'dan metanol kullanılarak elde edilen ekstrakt, Spektrofotometrik Broth Mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak gram negatif bakteri suşlarından *E. coli* bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir. Disk difüzyon yöntemi kullanılarak yine metanol ekstaraktında gram pozitif bakteri suşlarından en yüksek *B. subtilis* bakterisi üzerinde etki gösterdiği belirlenmiştir.

S. europaea'nın GC/MS analizi ile gerçekleştirilen yağ asidi oranı %15,15 bulunurken, 12 adet yağ asidi bileşiği saptanmıştır. Elde edilen bu bileşikler içerisinde Oleik asit, 9-Oktadekenoik asit (%36,55), metil ester, 8-Oktadekenoik asit, metil ester (%10,63), 7-Oktadekenoik asit, metil ester (%11,31), Palmitik asit (%5,12), Stearik asit (%4,07) majör bileşiklerdir. Bitkisel yağların yağ asidi bileşikleri, yağın kullanımı hakkında daha fazla bilgi vericidir. Genellikle, yağ asidi bileşimi, bir yağın besleyiciliği veya uygulamalarda kullanımları için belirleyicidir (Çömlekçioğlu, Kocabaş, ve Aygan, 2020). Tespit ettiğimiz bu yağ asidi bileşiklerinden oleik asit; cilt hücrelerinde bol bulunan ve özellikle esnekliğin önemli olduğu cilt dokusunda bulunan yağ asitlerindedir. Oleik asit açısından zengin yağlar genellikle çok emicidir ve sonuç olarak cilt bakımı endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. (Hyde, Bahkali ve Moslem, 2010). Metil oleat (9-Oktadekenoik asit, metil ester) ise, kişisel bakım ürünlerinde, sabun yapımında, cilt bakım ürünlerinde emülgatör ve viskozite oluşturuçu olarak kullanılmaktadır. Tespit edilen bu yağ asidi bileşiklerinin *S. europaea*'nın yağının denizel kaynaklı bir metabolit olarak kozmetik ve medikal sektörlerinde hammadde olarak kullanılması sürecinde önemli bir yol gösterici olacaktır. LC/MS-MS analizi ile ise alfatokoferol tespit edilmiştir. Tokoferoller, antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinden dolayı obezite, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet ve

Alzheimer hastalığının önlenmesinde koruyucu bir role sahiptir (Shahidi ve De Camargo, 2016). Bu koruyucu etkilerinden dolayı dermatoloji ve kozmetik sektöründe birçok üründe kullanılmaktadır (Keen ve Hassan, 2016; Aksoz, Korkut, Aksit, ve Gokbulut, 2020). Bu özelliklere sahip olmasından dolayı, *S. europaea*'da bulunan alfatokoferol'ün kozmetik ve medikal ürünlerin içeriklerinde hammadde olarak kullanılması adına gerekli formülasyonların oluşturulup yapılması, kimyasal içeriklere alternatif olarak yeni bir yaklaşım sağlamak için yapılabilecek başka çalışmalara da yol gösterici olarak fayda sağlamış olacaktır.

Bitkiler eski zamanlardan beri gıda dışı ve şifa amaçlı olarak kullanılmaktadır. Kişisel bakım endüstrisindeki yeni eğilim, bitkilerin biyolojik aktivitesini kozmetik ve kişisel bakımla birleştiren "Kozmesötikler" adı verilen yeni bir kozmetik ürün kategorisi yaratmıştır (Dorni, Amalraj, Gopi, Varma ve Anjana, 2017). Kozmesötik terimi artık yaygın olarak farmasötik bir terapötik fayda sağlayan bir kozmetik ürünü tanımlamak için kullanılmaktadır (Choi ve Berson 2006). Bu nedenle kozmesötikler, tıbbi veya ilaca benzer yararları olduğu iddia edilen biyolojik olarak aktif bileşenlere sahip kozmetik ürünlerdir. Dermatolojik araştırmalar, kozmesötiklerde kullanılan biyoaktif bileşenlerin gerçekten de kremler, losyonlar ve merhemler gibi geleneksel kozmetiklerin ötesinde faydalara sahip olduğunu göstermektedir (Schürch, Blum ve Züllü, 2008). Kozmetik için bileşen olarak yaygın şekilde kullanılan bir dizi kimyasal bileşen vardır. Bu nedenle, son yıllarda kozmetiklerin ve içeriklerinin toksikolojik güvenliği giderek artan bir ilgi çekmiştir ve günümüzde, herhangi bir yan etkisi olmayan doğal içerikler içeren kişisel bakım ürünlerine yönelik artan bir tüketici talebi vardır (Antignac, Nohynek, Re, Clouzeau ve Toutain, 2011). Bu sebeple bitkilerden yeni ve yenilikçi doğal içerikleri keşfetmeye yönelik sürekli bir bilimsel merak ve endüstriyel talep oluşmuştur. Tez çalışmamız da, biyomedikal ve kozmetik uygulamalarda denizel bitkilerden elde edilen biyomateryallerin kullanımına yönelik bir araştırma alanına katkı sağlayabilecek sonuçları içermektedir.

Tez çalışmasında, *S. europaea* ekstraktlarının (etanol, metanol, aseton ve saf su) farklı ekstraksiyon sürelerinde antimikrobiyal etkileri ortaya çıkartılmıştır. Antimikrobiyal etki kozmetik, ilaç ve gıdalarda, kalite ve güvenliğin korunması açısından oldukça önemlidir. Kozmetikler arasında büyük miktarda su, karbon ve nitrojen kaynakları sağlayan besinler ve mikroorganizmalar tarafından kullanılabilen bitkilerden veya mikroorganizmalardan elde edilen doğal malzemeler bulunmaktadır. Kozmetiklerde ki mikrobiyal kontaminasyon, kokuları, renkleri, viskoziteyi değiştirerek ve hatta emülsiyonun daha da kötüye gitmesiyle

ürünün kalitesini düşürür ve tüketicinin sağlığını etkileyebildiğinden mikrobiyal kontaminasyona karşı hassastır ve bazı sorunlara neden olabilmektedir. Mikroorganizma ile kontamine olmuş bir kozmetik, yaralı cilde uygulanırsa enfeksiyon veya iltihaplanmaya neden olabilir. Bu sebeplerden dolayı, tez çalışmasında *S. europaea*'nın farklı protokellerle farklı ekstraktlar kullanarak antimikrobiyal aktivitesini ortaya çıkartarak kozmetik ve medikal ürünlerde kullanımı için bilgi verecek ve bu sonuçlardan yola çıkarak kozmetik formülasyonların oluşturulması adına da yol gösterici olacaktır.

Tez çalışmasının son bölümünde farmasötik ve kozmesötik uygulamalarda doğru türlerin kullanımına katkıda bulunması amacıyla DNA barkodlama yöntemi kullanılmıştır. DNA barkodlama için ilk olarak örneklerden DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA'lar bitkiler için universal olan cpDNA rpl32-trnI geni ile PZR metodu uygulanarak çoğaltılmıştır. Genetik analizlerde yapılan model test sonucu verilerimize uygun en iyi model Tamura 3-parameter modeli bulunmuştur (Tamura, 1994). Analiz edilen rpl32-trnI bölgesinin uzunluğu 805 bp olarak saptanmıştır. Dizi analizi sonucunda elde edilen nükleotid kompozisyonu analizini gerçekleştirdiğimiz *S. europaea* için; A bazının oranı %37,9 olarak, T bazının oranı %11,9 olarak, C bazının oranı %37,6 olarak, G bazının oranı %12,6 olarak belirlenmiştir. *S. europaea* örnekleri arasındaki ortalama genetik çeşitlilik değeri 0,00202 olarak bulunmuştur. *S. europaea*'nın diğer türlerle olan karşılaştırılmasını yapmak için Genbank'tan alınan verilerle yapılan analizlerde toplam 62 sekansda 21 haplotip gözlenirken, türler arası ortalama haplotip çeşitliliği ise 0,9217 olarak bulunmuştur. Genetik ilişkiyi belirlemek amacıyla Komşu Kalıtlı Soyağacı ve Maksimum Parsimon ağacı kullanılmıştır. Her iki ağaçta da benzer dallanmalar gözlenirken *S. europaea* örneklerinin kendi arasında gruplandığı görülmüştür.

Tür düzeyinde filogenetik sorunları çözmek veya DNA dizilerini kullanarak türleri tanımlamak için çok yüksek evrim oranlarına sahip bölgelerin tanımlanması gereklidir. DNA barkodlama da, genomda standart ve üzerinde anlaşmaya varılmış bir konumdan kısa bir DNA dizisi kullanarak organizma türlerini karakterize etmek kullanılan bir tekniktir. DNA barkodlama; kriptik türleri ortaya çıkarmada (Hebert ve diğerleri, 2004), ekolojik ve çevresel genomik çalışmalarda (Valentini ve diğerleri, 2009), türleri tespit ederek gıda güvenliği ve etiketlemenin gerçekliğini destekleme (Galimberti ve diğerleri, 2012; Huxley-Jones, Shaw, Fletcher, Parnell, ve Watts, 2012) gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Bitkiler için ise DNA barkodlama, farklı DNA bölgelerinin performans karşılaştırmalarının ötesine geçerek pratik uygulamalara doğru kaymaktadır. Bu uygulamalardan ilki tür düzeyinde

taksonomiye ilişkin içgörü sağlamak ve türlerin tanımlanması ve sınırlandırılmasına ilişkin taksonomik sürece katkıda bulunmaktır. İkinci ve ana uygulama ise, bilinmeyen örneklerin bilinen türlere tanımlanması sürecine yardımcı olmaktır. Bitkilerdeki DNA barkodlama, basit morfolojileri olan, çok geniş dağılımları olan, boyut olarak küçük olan ve/veya sahip oldukları çeşitliliği yeterli şekilde karakterize etmek için yetersiz taksonomik dikkati çeken gruplarda tür düzeyinde taksonomi hakkında fikir vermesi için kullanılır (Long, Paton, Squirrell, Woodhead ve Hollingsworthi, 2006; Miwa ve diğerleri, 2009). Tez çalışmamızda da tür tanımlanması morfolojik olarak zor olan ve ülkemizde DNA barkod tekniğine dayalı tür tespiti yapılmamış olan *S. europaea* türünün barkod çalışması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Deniz Börülcesi olarak adlandırılan türün *S. europaea* olduğunu göstermektedir ve bu türün kozmetik ve medikal ürünler için kullanımında ortaya çıkabilecek tür karmaşasına yol gösterici olacaktır.

KAYNAKLAR

- Aburjai, T. ve Natsheh, F. M. (2003). Plants used in cosmetics. *Phytotherapy Research*, 17(9), 987-1000.
- Aksoz, E., Korkut, O., Aksit, D., ve Gokbulut, C. (2020). Vitamin E (α -, β +, γ -and δ -tocopherol) levels in plant oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 35(5), 504-510.
- Antignac, E., Nohynek, G. J., Re, T., Clouzeau, J., ve Toutain, H. (2011). Safety of botanical ingredients in personal care products/cosmetics. *Food and Chemical Toxicology*, 49(2), 324-341.
- Anwar, F., Bhanger, M. I., Nasir, M. K. A., ve Ismail, S. (2002). Analytical characterization of *Salicornia bigelovii* seed oil cultivated in Pakistan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(15), 4210-4214.
- Arnot, D. E., Roper, C., Bayoumi, R. A. (1993). Digital codes from hypervariable tandemly repeated DNA sequences in the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite gene can genetically barcode isolates. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 61,15-24.
- Austenfeld, F.A. (1986). Nutrient reserves of *Salicornia europaea* seeds. *Physiologia Plantarum*, 68(3), 446-450.
- Ball, P. W., ve Brown, K. G. (1970). A biosystematic and ecological study of *Salicornia* in the Dee estuary. *Watsonia*, 8, 27-40.
- Barroca, M. J., Guiné, R. P. F., Amado, A. M., Ressurreiçao, S., da Silva, A. M., Marques, M. P. M., ve de Carvalho, L. B. (2020). The drying process of *Sarcocornia perennis*: impact on nutritional and physico-chemical properties. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 57, 4443-4458.
- Bertin, R. L., Gonzaga, L. V., Borges, G. D. S. C., Azevedo, M. S., Maltez, H. F., Heller, M., Micke, G. A., Benathar, L., Tavares, B., ve Fett, R. (2014). Nutrient composition and, identification/quantification of major phenolic compounds in *Sarcocornia ambigua* (Amaranthaceae) using HPLC–ESI-MS/MS. *Food Research International*, 55, 404-411.
- Bollinger, A., Thies, S., Katzke, N., ve Jaeger, K. E. (2018). The biotechnological potential of marine bacteria in the novel lineage of *Pseudomonas pertucinogena*. *Microbial Biotechnology*, 105(8), 2923–2928.
- Bouhadjera, K., Bendahou, Z. M., ve Tabti, B. (2005). Anti-microbial Activity of extracts from Algerian *Aristida pungens* L. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8(2), 206-210.
- Brandt, R., Lomonosova, M., Weising, K., Wagner, N., ve Freitag, H. (2015). Phylogeny and biogeography of Suaeda subg. Brezia (Chenopodiaceae/Amaranthaceae) in the Americas. *Plant Systematics and Evolution*, 301(10), 2351-2375.
- Brereton, A. J. (1971). The structure of the species populations in the initial stages of salt-marsh succession. *The Journal of Ecology*, 321-338.
- Chen, S., Yao, H., Han, J., Liu, C., Song, J., Shi, L., Zhu, Y., Ma, X., Gao, T., Pang, X., Luo, K., Li, Y., Li, X., Jia, X., Lin, Y., Leon, C. (2010). Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. *PloS one*, 5(1), e8613.
- Choi, C. M.,ve Berson, D. S. (2006). Cosmeceuticals. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, 25(3), 163-168.
- Choi, D., Lim, G. S., Piao, Y. L., Choi, O. Y., Cho, K. A., Park, C. B., Chang, Y. C., Song, Y. I., Lee, M. K., ve Cho, H. (2014). Characterization, stability, and antioxidant activity of *Salicornia herbacea* seed oil. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 31(12), 2221-2228.

- Comlekcioglu, N., Kocabas, Y.Z., Aygan, A. (2020). Kahramanmaraş'tan toplanan *Prunus divaricata* subsp. *Divaricata* Ledeb. m Meyvelerinin biyokimyasal özellikleri ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *Anadolu*, 30(1), 46-56.
- Cragg, G.M., Newman, D.J. (2013). Natural products: A continuing source of novel drug leads, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1830, 3670–3695.
- Çoban, E. P., Biyik, H., ve Uzun, C. (2009). Investigation of antimicrobial activity of some natural plants which are not-cultivated and are sold at bazaars in Aydın vicinity. *International Journal of Engineering Science*, 3, 59-62.
- Davy, A.J, Bishop, G F, Costa, C. S. B. (2001). Salicornia L. (*Salicornia pusilla* J. oods, *S. ramosissima* J. Woods, *S. europaea* L., *S. obscura* P.W. Ball & Tutin, *S. nitens* P.W. Ball & Tutin, *S. fragilis* P.W. Ball & Tutin and *S. dolichostachya* Moss). *Journal of Ecology*, 894, 681-707.
- de Vere, N., Rich, T. C., Ford, C. R., Trinder, S. A., Long, C., Moore, C. W., Satterthwaite, D., Davies, H., Allainguillaume, J., Ronca, S., Tatarinova, T., Garbett, H., Walker, K., Wilkinson, J.M. (2012). DNA barcoding the native flowering plants and conifers of Wales. *Plos one*, 7(6), e37945.
- Dong, W., Liu, J., Yu, J., Wang, L., ve Zhou, S. (2012). Highly variable chloroplast markers for evaluating plant phylogeny at low taxonomic levels and for DNA barcoding. *Plos one*, 7(4), 1-9.
- Dorni, A. C., Amalraj, A., Gopi, S., Varma, K., ve Anjana, S. N. (2017). Novel cosmeceuticals from plants—An industry guided review. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 7, 1-26.
- DPT. (2000). VIII. Beş Yıllık Kalkınma Planı, Biyoteknoloji Özel İhtisas Komisyonu: *Ulusal Moleküler Biyoloji Modern Biyoteknoloji ve Biyogüvenlik Raporu*, Ankara.
- Eganathan, P., Subramanian. H. S., Latha. R., Rao, C. S. (2006). Oil analysis in seeds of *Salicornia brachiata*. *Industrial Crops and Products*, 23(2), 177-179.
- El-Said, G. F., ve El-Sikaily, A. (2013). Chemical composition of some seaweed from Mediterranean Sea coast, Egypt. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(7), 6089-6099.
- Elsebaie, E. M., Elsanat, S. Y., Gouda, M. S., ve Elnemr, K. M. (2013). Oil and fatty acids composition in Glasswort *Salicornia fruticosa* seeds. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, 4(5), 6-9.
- Erdogan Eliuz, E. A., Ayas, D., Goksen, G. (2017). In vitro phototoxicity and antimicrobial activity of volatile oil obtained from aromatic plants. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 20(3), 758-768.
- Essaidi, I, Brahmi, Z, Snoussi, A, Koubaier, H. B. H., Casabianca, H, Abe, N, Omri, E. A, Chaabouni, M. M., Bouzouita N. (2013). Phytochemical investigation of Tunisian *Salicornia herbacea* L., antioxidant, antimicrobial and cytochrome P450 (CYPs) inhibitory activities of its methanol extract. *Food Control*, 32(1), 125-133.
- Excoffier, L., Laval, G., ve Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary bioinformatics*, 1, 117693430500100003.
- Galimberti, A., De Mattia, F., Losa, A., Bruni, I., Federici, S., Casiraghi, M., Martellos, S., ve Labra, M. (2012). DNA barcoding as a new tool for food traceability. *Food Research International*, 50, 55– 63.
- Hajibabaei, M., Singer, G.A.C., Hebert, P.D.N., Hickey, D.A. (2007). DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*, 23, 167-172.

- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, (41), 95-98.
- Hebert, P. D. N., Penton, E. H., Burns, J. M., Janzen, D. H. ve Hallwachs, W. (2004). Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(41), 14812–14817.
- Huxley-Jones, E., Shaw, J. L., Fletcher, C., Parnell, J., ve Watts, P. C. (2012). Use of DNA barcoding to reveal species composition of convenience seafood. *Conservation Biology*, 26,367– 371.
- Hyde, K. D., Bahkali, A. H., ve Moslem, M. A. (2010). Fungi—an unusual source for cosmetics. *Fungal diversity*, 43(1), 1-9.
- Kadereit, G., Mucina, L., ve Freitag, H. (2006). Phylogeny of Salicornioideae (Chenopodiaceae): diversification, biogeography, and evolutionary trends in leaf and flower morphology. *Taxon*, 55(3), 617-642.
- Kannan, R. R. R., Arumugam, R., Anantharaman, P. (2010) Antibacterial potential of three seagrasses against human pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(11), 890-893.
- Kannan, R. R. R., Arumugam, R., Anantharaman, P. (2012) Chemical composition and antibacterial activity of Indian seagrasses against urinary tract pathogens. *Food chemistry*, 135(4), 2470-2473.
- Kannan, R. R. R., Arumugam, R., Iyapparaj, P., Thangaradjou, T., Anantharaman, P. (2013) In vitro antibacterial, cytotoxicity and haemolytic activities and phytochemical analysis of seagrasses from the Gulf of Mannar, South India. *Food chemistry*, 136(3-4), 1484-1489.
- Karan, S., Turan, C., Sangun, M., & Eliuz, E. (2021). Bioactive compounds and antimicrobial activity of glasswort *Salicornia europaea*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 83(2), 229-237.
- Keen, M., Hassan, I. (2016). Vitamin E in dermatology. *Indian Dermatology Online Journal*, 7(4),311.
- Kharrati-Koopaei, H., Heydarian, Z., Shekarforoush, S. S., Golmakani, M. T., Kharrati-kopaei, M., ve Gorji-Makhsus, S. (2016). The antibacterial activities of six organic solvent extracts of *Salicornia iranica* against *Salmonella typhimurium*. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 8(2), 25-28.
- Librado, P., ve Rozas, J. (2009). DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451-1452.
- Lima, A. R., Castañeda-Loaiza, V., Salazar, M., Nunes, C., Quintas, C., Gama, F., Pestana, M., Correia, P., Santos, T., Varela, J., ve Barreira, L. (2020). Influence of cultivation salinity in the nutritional composition, antioxidant capacity and microbial quality of *Salicornia ramosissima* commercially produced in soilless systems. *Food Chemistry*, 333, 127525.
- Long, D. G., Paton, J. A., Squirrell, J., Woodhead, M., Hollingsworth, P. M. (2006) Morphological, ecological and genetic evidence for distinguishing *Anastrophyllum joergensenii* Schiffn. and *A. alpinum* Steph. (Hepaticae; Lophoziaceae). *Journal of Biyology*, 28, 108-117.
- Lu, D., Zhang, M., Wang, S., Cai, J., Zhou, X., & Zhu, C. (2010). Nutritional characterization and changes in quality of *Salicornia bigelovii* Torr. during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 43(3), 519-524.

- Maity, N., Nema, N. K., Abedy, M. K., Sarkar, B. K., ve Mukherjee, P. K. (2011). Exploring tagetes erecta linn flower for the elastase, hyaluronidase and MMP-1 inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(3), 1300-1305.
- Manikandan, T., Neelakandan, T., ve Rani, G. U. (2009). Antibacterial activity of *Salicornia brachiata*, a halophyte. *Journal of Phytology*, 1(6), 441-443.
- McFarland, J. (1987). Standardization of bacterial culture for the disc diffusion assay. *Journal of the American Medical Association*, 49, 1176-1178.
- Min, J. G., Lee, D. S., Kim, T. J., Park, J. H., Cho, T. Y., Park, D. I. (2002). Chemical Composition of *Salicornia herbacea* L. *Preventive Nutrition and Food Science*, 7(1), 105-107.
- Miwa, H, Odrzykoski, I. J., Matsui, A., Hasegawa, M., Akiyama, H., Jia, Y., Sabirov, R., Takahashi, H., Boufford, D. E., Murakami, N. (2009) Adaptive evolution of rbcL in Conocephalum (Hepaticae, bryophytes). *Gene*, 441,169–175.
- Nasrollahi, F., Kazempour-Osaloo, S., Saadati, N., Mozaffarian, V., ve Zare-Maivan, H. (2019). Molecular phylogeny and divergence times of Onosma (Boraginaceae ss) based on nrDNA ITS and plastid rpl32-trnL (UAG) and trnH-psbA sequences. *Nordic Journal of Botany*, 37(1), e02060.
- Oskay, D., Oskay, M. (2009). Bitki sekonder metabolitlerinin biyoteknolojik önemi, *Journal of New World Sciences Academy*, 4,(2), 31-41.
- Özkaya, F. C., Erdoğan, C., ve Altunok, M. (2013). Denizel biyoaktif bileşikler. *Su Ürünleri Dergisi*, 30(2), 85-92.
- Patton, T., Barrett, J., Brennan, J., ve Moran, N. (2005). Use of a Spectrophotometric Bioassay for Determination of Microbial Sensitivity to Manuka Honey. *Journal of Microbiological Methods*, 64(2006), 84-95.
- Peterson, P. M., Romaschenko, K., ve Soreng, R. J. (2014). A laboratory guide for generating DNA barcodes in grasses: a case study of *Leptochloa* sl (Poaceae: Chloridoideae). *Webbia*, 69(1), 1-12.
- Piirainen, M. (1991). Flora Nordica notes. 1. *Salicornia* (Chenopodiaceae) in northern Europe: Typification and taxonomic notes. *Annales Botanici Fennici*, 28, 81-85.
- Rad, J. S., Alfatemi, S. M. H., ve Rad, M. S. (2014). In vitro assessment of antibacterial activity of *Salicornia herbacea* L. seed extracts against multidrug resistant gram-positive and gram-negative bacteria. *International Journal of Biosciences*, 4, 217-222.
- Rahmani, N., ve Heydarian, Z. (2016). Investigation of in vitro antifungal activity of *Salicornia iranica* Akhani. *Traditional and Integrative Medicine*, 1(1), 44-46.
- Rowley, D. C., Hansen, M. S., Rhodes, D., Sotriffer, C. A., Ni, H., McCammon, J. A., ve Fenical, W. (2002). Thalassiolins A–C: new marine-derived inhibitors of HIV cDNA integrase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10(11), 3619-3625.
- Rupérez, P. (2002). Mineral content of edible marine seaweeds. *Food chemistry*, 79(1), 23-26.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., ve Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual* (No. Ed. 2). Cold spring harbor laboratory press.
- Santhanakrishnan, D. E. E. P. A., Shankar, S. N., ve Chandrasekaran, B. A. N. G. A. R. U. (2014). Studies on the phytochemistry, spectroscopic characterization and antibacterial efficacy of *Salicornia brachiata*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6, 430-432.
- Schürch, C., Blum, P., ve Zülfi, F. (2008). Potential of plant cells in culture for cosmetic application. *Phytochemistry Reviews*, 7(3), 599-605.

- Shahidi, F., De Camargo, A.C. (2016). Tocopherols and tocotrienols in com-mon and emerging dietary sources: Occurrence, applications, and health benefits. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(10), 1-29.
- Shaw, J., Lickey, E. B., Schilling, E. E., Smith, R. L. (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, 94, 275–288.
- Steffen, S., Ball, P., Mucina, L., ve Kadereit, G. (2015). Phylogeny, biogeography and ecological diversification of *Sarcocornia* (Salicornioideae, Amaranthaceae). *Annals of Botany*, 115(3), 353-368.
- Şahin, T. (2003). Su ürünleri yetiştiriciliğinde biyoteknoloji. *Sümae Yunus Araştırma Bülteni*, 3(1).
- Tamura, K. (1994). Model selection in the estimation of the number of nucleotide substitutions. *Molecular Biology and Evolution*, 11(1), 154-157.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., ve Kumar, S. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10), 2731-2739.
- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., ve Polissiou, M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food chemistry*, 90(3), 333-340.
- Turan, C., Sangün, M. K., Karan, S., ve Turan, F. (2021). Investigation of bioactive compounds of white water lily *Nymphaea alba* leaves. *International Journal of Pharmacognosy*, 8(1), 25-29.
- Valentini, A., Miquel, C., Nawaz, M. A., Bellemain, E., Coissac, E., Pompanon, F., Gielly, L., Cruaud, C., Nascetti, G., Wincker, P., Swenson, J. E., ve Taberlet, P. (2009). New perspectives in diet analysis based on DNA barcoding and parallel pyrosequencing: the trnL approach. *Molecular Ecology Resources*, 9, 51– 60.
- Wiehe, P. O. (1935). A quantitative study of the influence of tide upon populations of *Salicornia europea*. *The Journal of Ecology*, 323-333.
- Yabalak, E., Emire, Z., Adıgüzel, A. O., Könen Adıgüzel, S., ve Gizir, A. M. (2020). Wide-scale evaluation of *Origanum munzurense* Kit Tan & Sorger using different extraction techniques: Antioxidant capacity, chemical compounds, trace element content, total phenolic content, antibacterial activity and genotoxic effect. *Flavour and Fragrance Journal*, 35(4), 394-410.
- Yang, M. Y., Geraldino, P. J. L., ve Kim, M. S. (2013). DNA barcode assessment of *Gracilaria salicornia* (Gracilariaceae, Rhodophyta) from Southeast Asia. *Botanical Studies*, 54(1), 27.
- Yatkın, G ve Güz, N. (2018). Entomolojide DNA Barkodlama Tekniğinin Kullanımı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(1), 126-134.
- Yu, X. H., Zhang, Y. Q., Shao, R., ve Xu, W. (2012). Study on antibacterial and antioxidant activities of *Salicornia herbacea* extracts. In *Advanced Materials Research*, 421, 47-50.
- Zhang, C. Y., Wang, F. Y., Yan, H. F., Hao, G., Hu, C. M., ve Ge, X. J. (2012). Testing DNA barcoding in closely related groups of *Lysimachia* L.(Myrsinaceae). *Molecular Ecology Resources*, 12(1), 98-108.

DİZİN

A	28, 40, 41, 47, 50, 51, 52, 57, 58, 59, 60, 61	Minimum Inhibisyon Konsantrasyonu · 23
Alphatocopherol · iv, 31, 48	E	P
B	<i>Enterococcus fecalis</i> · iv, vi, 22	PZR · 7, 27, 28
<i>Bacillus subtilis</i> · iv, vi, 10, 11, 22, 36, 38	<i>Escherichia coli</i> · iv, vi, 10, 11, 22	R
biyoaktif · v, 5, 6, 9, 10, 60	F	rpL32–trnL · 27, 28
biyoçeşitlilik · 6, 7	farmasötik · 6, 8, 24, 55	S
biyomateryal · v, 5, 7, 16	filogenetik · 7, 42, 44, 45, 46	<i>S. europaea</i> · iv, v, vi, vii, 7, 14, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 26, 30, 31, 32, 33, 35, 36, 38, 39, 40, 44, 46, 47, 48, 49, 50, 53, 55, 58
Biyoteknoloji · 5	I	Sekonder metabolitler · 6
Blue Biotechnology · 5	ICP/AES · iv, 18, 31, 47, 48, 53	T
C	K	T
<i>C. parapsilosis</i> · iv, vi, 22, 37, 39	<i>Klebsiella pneumoniae</i> · iv, vi, 10, 11, 22	Taramalı Elektron Mikroskobu · 20
<i>Candida albicans</i> · iv, vi, 10, 11, 22, 50	kozmesötik · 6, 8, 24, 55	X
D	kozmetik · iv, v, 6, 7, 8, 16, 20, 53, 54	X Işını Kristalografisi · 19
Deniz Börülcesi · 14, 27	M	XRD · iv, vi, iv, 19, 32, 33, 47, 48, 53
Deniz Börülcesi · 7, 15, 17, 24, 53	medikal · 7, 20	
Deniz Börülcesi · iv, v, 15		
DNA · iv, v, vi, vii, 5, 7, 8, 12, 13, 24, 25, 26, 27,		



TEKNOVERSITE



teknoversite AYRICALIĞINDASINIZ

İSTE

