

Bazı Meşe ve Gül Türlerinin Galli ve Galsiz Bireylerindeki, Total Protein İçeriğinin Farklı Yöntemler Kullanılarak Araştırılması

Sevgi DURNA DAŞTAN^{*1}, Nuray ZONUS¹, İbrahim YALÇIN¹, Taner DAŞTAN²

¹ Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 58140 Sivas

Department of Biology, Faculty of Sciences, Cumhuriyet University 58140 Sivas, Turkey.

² Fırat Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Elazığ

Department of Chemistry, Faculty of Science and Literature, Fırat University, Elazığ, Turkey

Received: 22.02.2012, Accepted: 07.06.2012

Özet. Parazit veya simbiyoz olarak bitki üzerinde yaşayan böcek, nematod, akar, bakteri ya da mantarların neden olduğu tahriş ve beslenme fizyolojisinden doğan olumsuzluklara karşı bitkilerin savunma tepkimesi olarak oluşturdukları anormal büyüme şekli gal olarak tanımlanmaktadır. En kompleks, en iyi organize olmuş gallerin birçoğu, gal arıları (Hymenoptera: Cynipidae) tarafından meydana getirilirler. En çok tanınan cynipid galleri gül ve meşelerde yer almaktadır. Bu çalışmada; Sivas çevresinde yetişen, bazı meşe ve gül türlerinin, gal oluşturmeyen ve yoğun olarak sürgün ve meyva gali oluşturan bireylerinden yaprak, meyva ve sürgün gal örnekleri toplanmıştır. Yaprak, meyva ve gallerdeki total protein miktarları, Bradford Mikro Assay, Biüret, Lowry yöntemleri ve ayrıca Ultraviyole (UV) spektrofotometresi kullanılarak 280 nm de ölçümleri yapılmak suretiyle hesaplanmıştır. Bu şekilde elde edilen veriler üzerinden hem galli ve galsiz bireyler arasındaki protein miktarları açısından farklılıklar hem de kullanılan dört farklı yöntem arasındaki farklılıklar karşılaştırılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda; galli bireylerdeki total protein miktarının galsiz bireylere göre anlamlı şekilde fazla olduğu saptanmıştır. Yine meşelerdeki protein içeriğinin güllerdeki protein içeriğine göre yaklaşık 2 katı değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Aylara göre protein içeriğindeki farklılıklara baktığımızda ise, meşeler için eylül ayında, kuşburnu bitkisi için ise ağustos ayında daha fazla protein içeriği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gal, *Rosa* sp., *Quercus* sp., Cynipidae, Total protein içeriği

A Study of Total Protein Content in some Oak and Rose Species with and without Galls

Abstract. Plant galls are an abnormal growth pattern that plants develop as a defense reaction to irritations and

* Corresponding author. Email address: sdurna@cumhuriyet.edu.tr

Sevgi DURNA DAŞTAN, Nuray ZONUS, İbrahim YALÇIN, Taner DAŞTAN

negative nutritional physiology caused by insects, nematodes, mites, bacteria and fungi living in a parasitic or symbiotic relationship with the plant. Many of the most complex and organized galls are created by gall wasps (*Hymenoptera: Cynipidae*). The most common cynipid types are seen in oak and rose species. In this research, samples of leaves, fruit and shoot galls were collected from oak and rose species, some of which create these galls intensely. Total protein levels were calculated using four methods: Bradford Micro Assay, Biuret, Lowry methods and UV spectrophotometer at 260/280 nm. The results were compared in terms of the protein levels of plants with or without galls, and of the four different methods used. Total protein was significantly higher in plants with galls than those with no galls. Protein content in oaks was double that of roses. When the data were analyzed by months, higher protein content was observed in september for oaks, and in august for rose hips.

Keywords: Gall, *Rosa* sp., *Quercus* sp., Cynipidae, Total protein content

GİRİŞ

Bitki galleri indükleyici bir organizma ile konak bitkinin etkisi altında gelişen kompleks oluşumlardır. Gal yapıcının uyarmasıyla bitki hücreleri anormal farklılıklara ve büyümelere uğrayarak, gal yapıcıyı barındıran karakteristik şekiller alırlar [1]. Büyüme fazı esnasında galler, fotoasimilasyon ürünleri ve besleyici mineralleri kullanan yeni bir organ gibi hareket ederken [2], bitkinin kimyasal kompozisyonunda da gal yapıcıya karşı savunma amaçlı bir dizi değişimler meydana gelir [3]. Gal dışındaki dokularda temelde böcek larvalarının beslenmesine karşı caydırıcı bir etken olarak salınan tanen ve fenoliklerin sentezlendiği bilinmektedir [3,4].

Araştırmamızda kullandığımız, *Quercus macranthera* ssp. *sysprens* (İspir meşesi), Türkiye'ye özgü endemik meşe alttürü olup, 7 m'ye kadar boylanabilen bir ağaçtır. Diğer meşe türlerine göre dayanıklılığı oldukça yüksektir. Soğuk ve kuraklığa dayanıklı olup orman vejetasyonunun üst sınırlarında taşlık ve kayalık bölgelerde yetişebilir. Ak meşeler grubunda yer alır. Çalışılan bölgede özellikle *Andricus quercustozae*' nin neden olduğu ve çok miktarda meydana gelen sürgün galleri görülmektedir. *Q. robur* ssp. *robur* (İngiliz meşesi-Saplı meşe) ise, 25-35 metreye kadar boylanabilen, 400-500 sene yaşayabilen bir orman ağacıdır. Çalışılan bölgede bu türde gal oluşumu gözlenmemiştir. *Rosa canina* (Kuşburnu) bitkisi, meyvaları kuşburnu olarak adlandırılan ve ekonomik açıdan önem taşıyan türlerden biridir. Genellikle bayırlar, kayalık yokuşlar, ormanlar ve açık alanlar ve özellikle kireçli topraklarda 30-1700 metrede yayılış gösteren çalı formunda bitkilerdir. Bu bitki üzerinde belirlenmiş gal etkeni

Bazı Meşe ve Gül Türlerinin Galli ve Galsiz Bireylerinde, Total Protein İçeriğinin Araştırılması

cynipid gal arılarından *Diplolepis mayri* olup, meyva gallerini oluşturmaktadır. Çeşitli ülkelerde meşe türlerinin (*Quercus* sp.) farklı bitki kısımlarındaki protein düzeylerini ve amino asit çeşitliliklerini incelemeye yönelik birçok çalışma yapılmakla beraber, Türkiye’ de bulunan 20 meşe taksonundaki protein ve amino asit içeriği Özcan (2006) tarafından araştırılarak, taksonlar arasındaki protein ve amino asit bakımından farklılıklar belirlenmeye çalışılmıştır [13]. Bu çalışmanın sonuçlarına göre meşe palamutlarından elde edilen total protein miktarı % 2,75- 8,44 arasında ciddi bir varyasyon göstermektedir [13]. Günümüzde bu bitkiler üzerindeki galler ve gal etkenleri üzerinde de çeşitli çalışmalar yapılmış olmakla beraber, gallerin protein içeriği üzerine etkisini araştıran, içerdikleri total protein düzeylerini belirlemeye yönelik bir çalışma yapılmamıştır [5-13].

Total protein içeriğinin belirlenmesi, gıda, protein kimyası, biyokimya, fizyoloji, tıbbi araştırmalar, ekoloji, klinik analizler ve pek çok farklı araştırma alanında kullanılmaktadır. Bunun için spektrofotometri, kromatografi, polarografi, vb. gibi farklı analitik prosedürleri kullanan pek çok metod total protein içeriğinin belirlenmesi için geliştirilmiştir. Cihaz ve prosedürün düşük maliyetli olması, aynı zamanda analitik kimya konusunda ileri düzeyde bilgi sahibi olmayı gerektirmediği için çoğunlukla boya-bağlama esaslı ve UV-VIS spektrofotometrik metodlara dayalı analizler geniş çapta kullanılmaktadır. Bu analizlerin en yaygını, Bradford tarafından geliştirilen ve Coomassie Brilliant Blue G-250 boyasının kullanıldığı metoddur [14]. Bunun dışında Biüre, Lowry yöntemleride yine proteinlerin boya bağlama özelliklerine dayanmaktadır. Yöntemler oldukça duyarlıdır ve organik boyaların, proteinlerdeki asidik ve bazik gruplarla yani proteindeki amino asit bileşimleriyle etkileşerek renk oluşturmasını esas alırlar [15].

Biüre yönteminde, alkali ortamdaki Cu^{+2} iyonları protein ve peptitlerdeki peptit bağı azotuyla etkileşerek mavi-menekşe renkli kompleks vermektedir. Renk şiddeti 540 nm de fotometrik olarak tayin edilebilir, duyarlığı düşüktür (1-10 mg protein mL^{-1}). Kullanılan reaktiflerin ucuz, hazırlanmasının kolay olması ve diğer yöntemlere göre girişim etkilerinin daha az olmasından dolayı kullanılmaktadır.

Lowry Yöntemi, Fosfomolibdik/fosfotungstik asit çözeltisinin (Folin-Ciocalteu reaktifi) alkali koşullarda proteinlerdeki fenolik amino asitlerle verdiği tepkimeye dayanmaktadır. Bu yöntemin hassasiyeti 30-150 $\mu g mL^{-1}$ civarındadır. Absorbans okuması cam

Sevgi DURNA DAŞTAN, Nuray ZONUS, İbrahim YALÇIN, Taner DAŞTAN

veya polistiren küvetler kullanılarak 750 nm yapılır. Biüre yöntemine göre 50-100 kez daha hassastır.

Warburg-Christian yöntemi ise, tirozindeki fenolik grup ve triptofandaki indolik grup nedeniyle birçok proteinin 280 nm'de maksimum absorpsiyon göstermesi özelliği esas alınarak, örnekteki protein miktarının yaklaşık olarak bulunması amacıyla geliştirilmiş hızlı bir yöntemdir. Çok duyarlı olmamakla beraber, kolaylığı ve hızlı sonuç vermesi nedeniyle çok kullanılan bir tekniktir. Ancak, 260 nm'de maksimum absorpsiyon gösteren nükleik asitlerin 280 nm'de de absorpsiyon yetenekleri olduğu unutulmamalıdır. Bu nedenle nükleik asit artıkları ile kontamine durumdaki ilk kaba ekstratlarla çalışıldığında hatalı sonuçlar elde edilebilir. Bunun önüne geçmek için, Warburg ve Christian [16] tarafından geliştirilmiş bir seri hata düzeltme faktörü genel olarak tüm proteinler için kullanılmakta ve bu yöntemde ortaya çıkabilecek hata payı daha aza indirgenebilmektedir.

Laboratuar çalışmalarında örneklerdeki protein içerikleri, genellikle bovine serum albumin (BSA) veya immunoglobulin gibi bir protein standartıyla karşılaştırmak suretiyle ölçülür, bazı nadir durumlarda ise protein miktarları spesifik antikorlar ve aynı proteinin daha önceden saflaştırılmış standartları gibi referanslar kullanarak immünojenik olarak ölçülmektedir [15, 17-18].

Bu çalışmada *Quercus robur*, *Quercus macranthera* ve *Rosa canina*'nın galsiz bireyleri ile *Andricus quercustozae*'nin gal oluşturduğu *Quercus macranthera* ve *Diplolepis mayri*'nin gal oluşturduğu *Rosa canina*'nın galli bireylerinin, farklı bitki kısımlarındaki total protein içeriklerinin, farklı metodlar kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Örneklerin Toplanması

Çalışmada kullandığımız *Q.macranthera*, *Q.robur* ve *R.canina* türlerine ait galli ve galsiz örnekler Sivas çevresinde yetiştikleri doğal ortamlarından yaz ve erken sonbahar aylarında toplandı (Çizelge 1).

Protein Ekstraksiyonu

Tepkime ortamında % 0.5 (w/v) derişimde olacak şekilde Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) deterjanı kullanılarak bitki dokularında mevcut olan proteinlerin daha etkin bir şekilde

Bazı Meşe ve Gül Türlerinin Galli ve Galsiz Bireylerinde, Total Protein İçeriğinin Araştırılması

çözündürülmesi sağlandı. Deneyler için homojenizasyon ortamında 0.1 M fosfat tamponu (KH_2PO_4) (pH=6.0) kullanıldı. Daha önceden etiketlenmiş olan bitki örnekleri, sıvı azot ve öğütücü (blender) kullanılarak toz haline getirildi. Toz haline getirilen örnekten 0.5 g tartıldı ve üzerine 1500 μL fosfat tamponu eklendi. Daha sonra tüplerdeki bu karışımların üzerine SDS deterjanı eklenip homojen bir karışım elde etmek üzere karıştırıcı içinde bir süre bekletildi. Ekstraksiyon işlemi Soniprep 150 Ultrasonikatör ile buz içerisinde gerçekleştirildi.

Protein Derişiminin Belirlenmesi

Her bir bitki örneğinden elde edilen çözeltilerin, Bradford Coomassie Brilliant Blue mikro assay yöntemi (595 nm), Biüre yöntemi (540 nm), Lowry yöntemi (750 nm) ve WarburgChristain yöntemi (280/260 nm) protokollerinin uygulanmasıyla belirtilen dalga boylarında spektrofotometrik olarak ölçülen absorbans değerlerine göre derişimleri belirlendi.

Çizelge 1. Bitki örneklerinin toplandığı zaman ve Sivas ili bölge bilgileri

Örnek	Bitki adı	Gal taşıma durumu	Periyot	Bölge (Sivas ili)
1	<i>Q.macranthera</i>	Galsiz	Temmuz	Ulaş
2	<i>Q.macranthera</i>	Galli	Temmuz	Ulaş
3	<i>Q.macranthera</i>	Galli	Temmuz	Karaçayır
4	<i>Q.macranthera</i>	Galsiz	Ağustos	Ulaş
5	<i>Q.macranthera</i>	Galli	Ağustos	Ulaş
6	<i>Q.macranthera</i>	Galli	Ağustos	Karaçayır
7	<i>Q.macranthera</i>	Galsiz	Eylül	Ulaş
8	<i>Q.macranthera</i>	Galli	Eylül	Ulaş
9	<i>Q.macranthera</i>	Galli	Eylül	Karaçayır
10	<i>Q.macranthera</i>	Doğrudan Gal Örneği	Eylül	Ulaş
11	<i>Q.macranthera</i>	Doğrudan Gal Örneği	Eylül	Karaçayır
12	<i>Q. robur</i>	Galsiz	Temmuz	Ulaş
13	<i>Q. robur</i>	Galsiz	Ağustos	Ulaş

14	<i>Q. robur</i>	Galsiz	Eylül	Ulaş
15	<i>Rosa canina</i>	Galsiz Yaprak	Temmuz	Karaçayır
16	<i>Rosa canina</i>	Galsiz Yaprak	Haziran	Karaçayır
17	<i>Rosa canina</i>	Galsiz Yaprak	Ağustos	Karaçayır
18	<i>Rosa canina</i>	Galsiz Meyva	Ağustos	Karaçayır
19	<i>Rosa canina</i>	Galsiz Meyva	Temmuz	Karaçayır
20	<i>Rosa canina</i>	Galli Yaprak	Haziran	Karaçayır
21	<i>Rosa canina</i>	Galli Yaprak	Temmuz	Karaçayır
22	<i>Rosa canina</i>	Galli Yaprak	Ağustos	Karaçayır
23	<i>Rosa canina</i>	Galli Birey-Galsiz Meyva	Ağustos	Karaçayır
24	<i>Rosa canina</i>	Galli Birey- Galli Meyva	Ağustos	Karaçayır
25	<i>Rosa canina</i>	Galli Birey- Galli Meyva	Temmuz	Karaçayır

Bradford (Coomassie Blue) Yöntemi

50 mg Coomasie-Brillant Blue G-250, 25 mL hacimce % 95'lik etanolde, ısıtılarak çözüldü. Hazırlanan çözelti 50 mL hacimce % 85'lik fosforik asitle karıştırılarak süzüldü. Son hacim 500 mL olacak şekilde distile su ile tamamlanarak Bradford Coomassie Blue boyası hazırlanmış oldu [19]. Hazırlanan boya, 595 nm'de köre karşı okutularak, çalışma için uygun kararlılıkta olması sağlandı.

Sığır serum albumini (Bovine Serum Albumin, BSA) çözeltisi belirli derişimlerde hazırlanarak, standart çözeltiler oluşturuldu. Standart çözeltilerin hepsi spektrofotometrede okutularak, absorbans değerleri elde edildi ve bu değerlere göre standart eğri çizildi.

Daha önceden hazırlanmış ve +4 °C'de saklanmış olan bitki örnekleri, spektrofotometrede absorbanslarının ölçülebilmesi için, 1200 kat seyreltilerek kullanıldı. Seyreltilen örnekler Bradford Coomassie Blue boyasıyla birlikte, 595 nm'de kör küvetine karşı ve üç tekrarlı olacak şekilde okundu. Elde edilen absorbans değerleri kaydedilerek ortalamaları alındı ve standart eğriden yararlanarak her bir örnek için protein derişimleri hesaplandı.

Sevgi DURNA DAŞTAN, Nuray ZONUS, İbrahim YALÇIN, Taner DAŞTAN

Biüre Yöntemi

0.15 g bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) ve 0.6 g Na, K-tartarat 50 mL distile suda çözüldü. 30 mL % 10'luk NaOH ilave edildi ve hacim 100 mL'ye tamamlanarak Biüre belirteci hazırlandı. BSA proteini içeren standartlar ve tayini yapılacak protein örnekleri ile kör örnek üzerine 4 mL biüre reaktifi ilave edilerek karıştırıldı. 30 dk oda sıcaklığında bekletilerek kararlı hale getirilmeleri sağlandıktan sonra 540 nm dalga boyunda Cecil marka spektrofotometrede 3 tekrarlı okuma yapılarak tüm örneklerin absorbans değerleri kaydedildi. Daha sonra standart eğriden yararlanılarak her bir örnek için protein derişimleri hesaplandı.

Lowry Yöntemi

Spektrofotometrik analizlere geçmeden önce tepkimelerde kullanılacak olan reaktifler öncelikle hazırlandı. Bu kapsamda A reaktifi için 1g Na veya K-tartarat ve 0.5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 100 mL distile suda çözüldü ve çözeltinin ışıktan korunması sağlandı. B Reaktifi için, 20 g Na_2CO_3 ve 4 g NaOH bir litre distile suda çözüldü. C Reaktifi için, 1 mL A reaktifi + 50 mL B reaktifi karıştırılarak, esas tepkimede kullanılacak olan çözelti hazırlandı [20]. Diğer taraftan BSA standart çözeltileri hazırlandı. Bütün çözeltilere 2,5 mL C reaktifi eklendi ve karıştırılarak, oda sıcaklığında 10 dk bekletildi. 0.25 mL Folin– Ciocalteu reaktifi hızla ve vorteksle karıştırılarak eklendi. Daha sonra 30 dk karanlıkta bekletilen örneklerin 750 nm'de absorbansları ölçüldü. Bu sırada yöntemin pH'a çok fazla bağlı (pH 10-10.5) olmasından dolayı, uygun bir pH'ın sağlanabilmesi için ihtiyaç duyulduğunda reaktifin seyreltilmesi yoluna gidildi. Standart eğri grafiği hazırlanarak örnekteki protein derişimleri bulundu.

Warburg-Christain Yöntemi

Bu yönteme göre mevcut bitki örneklerinden elde edilmiş çözeltilerin doğrudan 260 nm ve 280 nm' de 3 tekrarlı olacak şekilde absorbansları ölçüldü. Her bir örnek için A_{280}/A_{260} oranı belirlendi. Hata düzeltme faktörleri göz önüne alınarak oluşturulmuş olan farklı formüllerden, 280 nm ve 260 nm'de ölçülen absorbans değerleriyle protein miktarının hesaplanabileceği 1 numaralı eşitlikten yararlanılarak her bir örnek için protein derişimleri hesaplandı [21].

$$\text{Protein Derişimi}(\text{mg mL}^{-1}) = (1.5 \times A_{280}) - (0.75 \times A_{260}) \quad (1)$$

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler Windows'ta SPSS 15.0 ile yapıldı (SPSS Inc., Chicago, IL). Tüm analitik belirlemeler üç tekrarlı olarak yapıldı ve ortalamalar rapor edildi. Total protein içerikleri SPSS 15.0 istatistik programında, Compare Means –Varyans analizi (ANOVA) ve Pearson korelasyon analizleri kullanılarak karşılaştırıldı ve anlamlı hale getirildi. Ortalamalar arasındaki farklılıklar $p \leq 0.05$ değerinde önemli olarak kabul edildi.

BULGULAR

Standart eğriler yardımıyla, her bir örnek için elde edilen absorbans değerlerinin ortalamaları alınarak mevcut bitkiler için ayrı ayrı total protein içerikleri hesaplandı (Çizelge 2a-b). Buna göre Warburg-Christain yöntemine göre bitkilerden elde edilen ortalama total protein içeriği 112.50 mg protein mL⁻¹ (% 23.3) değeriyle diğer yöntemlere göre belirgin derecede yüksek bulunmuştur. 4 farklı yöntem karşılaştırıldığında 25 bitki örneğinin ortalamasından elde edilen total protein içeriği bakımından en düşük değer ise, Biüre metodunda (47.90 mg mL⁻¹ ; % 9.58) olduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde Bradford yöntemiyle çalışılan deney gruplarından elde edilen ortalama protein içeriğinin 57.54 mg protein mL⁻¹ (% 11.51) olduğu görülürken; Lowry yönteminde ise ortalama protein içeriğinin 50.03 mg protein mL⁻¹ (% 10.01) olduğu tespit edilmiştir. 4 farklı deney grubuna göre tespit edilen total protein içeriklerine göre 10 numaralı örnek olarak belirtilen *Q. macranthera* bitkisinin eylül ayı gal numunesinde total protein içeriğinin (376.10 mg mL⁻¹) tüm deney grupları içerisinde diğerlerinden daha yüksek olduğu görülürken, *Rosa canina*'nın ağustos ayı galsiz örneğinde 1.22 mg protein mL⁻¹ değeriyle hemen hemen tüm deney grupları içerisinde en düşük miktarda olduğu görülmektedir (Çizelge 2a-b). Diğer taraftan 376.10 mg protein mL⁻¹ 'lik en yüksek değer aynı zamanda yöntemlerin kıyaslaması yapıldığında Warburg-Christain yönteminden elde edildiği, 1.22 mg protein mL⁻¹ 'lik değer ise Lowry yönteminden elde edilen bulgular arasında olduğu görülmektedir. *Q. robur* örneklerine bakıldığında ise temmuz-ağustos arasında 3 farklı dönem halinde alınmış ve tamamı galsiz bitki örneklerinden oluşmakta olup bunların aylara göre taşıdıkları ortalama protein içerikleri bakımından aralarında önemli farklılıklar görülmemektedir.

Sevgi DURNA DAŞTAN, Nuray ZONUS, İbrahim YALÇIN, Taner DAŞTAN

Her 3 ay içinde alınan örneklerdeki toplam protein içeriği birbirine yakın değerler olarak bulunmuştur (12.52- 71.10 mg protein mL⁻¹ arasında değişmektedir). *Rosa canina* bitki örneklerinde ise galsiz yaprak ve meyva numunelerindeki total protein içeriklerinin ağustos ayına gidildikçe bir miktar arttığı farkedilse de genel olarak protein içerikleri galsiz örneklerde birbirine yakın değerlerde görülmektedir. *R. canina*'daki galli yaprak örneklerinde ise protein içeriği ağustos ayına doğru ciddi şekilde artmakta olup, galli meyva örneklerinin ağustos ayında en yüksek total protein içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca gül örneklerinin galli numunelerindeki protein içeriğinin galsiz numunelerden oldukça yüksek olduğu ve meşe örneklerinin de gül örneklerine göre daha yüksek protein içeriğine sahip olduğu dikkat çekmektedir (Çizelge 2a-b).

Çizelge 2a. Bitki Total Protein Miktarları (SPSS 15.0)

Protein Miktarları *									
No	Bitki	Bradford Metodu		Biüre Metodu		Lowry Metodu		Warburg-Christain Metodu	
		Total Protein ^z ± S.H	% Protein ± S.H t	Total Protein ^z ± S.H	% Protein ± S.H t	Total Protein ^z ± S.H	% Protein ± S.H t	Total Protein ^z ± S.H	% Protein ± S.H t
1	<i>Q.macranthera</i> , galsiz, temmuz	59.62 ± 9.12	11.92 ± 0.018 a	35.56 ± 4.35	7.11 ± 0.008 a	25.20 ± 3.68	5.04 ± 0.002 a	88.20 ± 6.91	17.64 ± 0.025 a
2	<i>Q.macranthera</i> , galli, temmuz	61.55 ± 9.20	12.31 ± 0.009 a	16.27 ± 2.12	3.25 ± 0.007 a	30.66 ± 3.91	6.13 ± 0.009 a	56.70 ± 5.18	11.34 ± 0.015 a
3	<i>Q.macranthera</i> , galli, temmuz	61.56 ± 9.15	12.31 ± 0.012 a	25.07 ± 3.13	5.01 ± 0.005 a	34.00 ± 2.65	6.8 ± 0.009 a	72.90 ± 7.51	14.58 ± 0.018 a
4	<i>Q.macranthera</i> , galsiz, ağustos	59.14 ± 7.60	11.83 ± 0.005 a	21.56 ± 3.38	4.31 ± 0.008 a	37.54 ± 4.12	7.51 ± 0.009 a	84.60 ± 7.63	16.92 ± 0.021 a
5	<i>Q.macranthera</i> , galli, ağustos	60.82 ± 6.90	12.16 ± 0.006 a	23.87 ± 3.34	4.77 ± 0.009 a	40.12 ± 4.01	8.02 ± 0.008 a	67.50 ± 6.23	13.50 ± 0.015 a
6	<i>Q.macranthera</i> , galli, ağustos	61.96 ± 10.30	12.39 ± 0.011 a	84.53 ± 6.55	16.91 ± 0.015 a	57.78 ± 5.02	11.56 ± 0.011 a	69.30 ± 6.18	13.86 ± 0.015 a
7	<i>Q.macranthera</i> , galsiz, eylül	61.82 ± 10.00	12.36 ± 0.013 a	35.41 ± 4.30	7.08 ± 0.008 a	41.80 ± 3.90	8.36 ± 0.010 a	85.50 ± 7.68	17.10 ± 0.012 a
8	<i>Q.macranthera</i> , galli, eylül	54.28 ± 7.30	10.86 ± 0.005 a	22.53 ± 3.45	4.51 ± 0.008 a	87.72 ± 8.15	17.54 ± 0.020 a	153.90 ± 13.19	30.78 ± 0.029 a
9	<i>Q.macranthera</i> , galli, eylül	66.04 ± 12.13	13.21 ± 0.021 a	41.78 ± 4.33	8.36 ± 0.015 a	70.90 ± 6.92	14.18 ± 0.015 a	107.10 ± 10.21	21.42 ± 0.019 a
10	<i>Q.macranthera</i> , gal, eylül	55.82 ± 8.60	11.16 ± 0.011 a	137.59 ± 11.39	27.52 ± 0.023 b	112.56 ± 11.13	22.51 ± 0.029 b	376.10 ± 25.41	75.22 ± 0.045 b
11	<i>Q.macranthera</i> , gal, eylül	61.92 ± 10.10	12.38 ± 0.020 a	80.27 ± 7.18	16.05 ± 0.021 a	131.82 ± 14.08	26.36 ± 0.031 b	131.40 ± 11.28	26.28 ± 0.020 a
12	<i>Q. robur</i> , galsiz, temmuz	59.24 ± 8.40	11.85 ± 0.013 a	23.35 ± 10.13	4.67 ± 0.004 a	32.88 ± 2.68	6.58 ± 0.003 a	61.20 ± 5.63	12.24 ± 0.011 a
13	<i>Q. robur</i> , galsiz, ağustos	57.88 ± 10.25	11,58 ± 0.009 a	12.52 ± 2.52	2.50 ± 0.003 a	45.20 ± 3.96	9.04 ± 0.005 a	47.70 ± 3.11	9.54 ± 0.010 a

*: Her veri üç tekrarin ortalamasıdır.
S.H :Standart hata.

z: 500 mg dokuda mg cinsinden total protein miktar
t: Her sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir .

Çizelge 2b. Bitki Total Protein Miktarları (SPSS 15.0)

Protein Miktarları *									
		Bradford Metodu		Biüre Metodu		Lowry Metodu		Warburg-Christain Metodu	
No	Bitki	Total Protein ^z ± S.H	% Protein ± S.H t	Total Protein ^z ± S.H	% Protein ± S.H t	Total Protein ^z ± SH	% Protein ± S.H t	Total Protein ^z ± S.H	% Protein ± S.H t
14	<i>Q. robur</i> , galsiz, eylül	55.10 ± 6.12	11.02 ± 0.008 a	16.92 ± 2.98	3.38 ± 0.004 a	39.52 ± 3.54	7.90 ± 0.004 a	71.10 ± 6.49	14.22 ± 0.013 a
15	<i>R. canina</i> , galsiz yaprak, temmuz	59.88 ± 8.36	11.98 ± 0.004 a	48.42 ± 3.65	9.69 ± 0.009 a	55.88 ± 5.11	11.18 ± 0.010 a	90.00 ± 8.71	18.00 ± 0.020 a
16	<i>R. canina</i> , galsiz yaprak, haziran	59.10 ± 7.68	11.82 ± 0.014 a	29.07 ± 2.30	5.81 ± 0.007 a	43.56 ± 3.91	8.71 ± 0.009 a	86.40 ± 8.91	17.28 ± 0.020 a
17	<i>R. canina</i> , galsiz yaprak, ağustos	52.64 ± 4.37	10.53 ± 0.006 a	20.30 ± 2.31	4.06 ± 0.003 a	55.68 ± 5.36	11.14 ± 0.010 a	118.80 ± 11.10	23.76 ± 0.027 a
18	<i>R. canina</i> , galsiz meyva, ağustos	49.06 ± 4.39	9.81 ± 0.005 a	52.78 ± 4.45	10.56 ± 0.008 a	1.22 ± 0.72	0.25 ± 0.001 c	83.70 ± 7.56	16.74 ± 0.030 a
19	<i>R. canina</i> , galsiz meyva, temmuz	54.18 ± 5.30	10.84 ± 0.007 a	90.38 ± 8.24	18.08 ± 0.035 a	2.50 ± 0.98	0.50 ± 0.001 c	75.60 ± 6.35	15.12 ± 0.033 a
20	<i>R. canina</i> , galli yaprak, haziran	47.86 ± 4.98	9.57 ± 0.004 a	41.43 ± 3.86	8.29 ± 0.008 a	60.80 ± 9.30	12.16 ± 0.011 a	96.30 ± 9.12	19.26 ± 0.025 a
21	<i>R. canina</i> , galli yaprak, temmuz	54.28 ± 5.85	10.86 ± 0.020 a	48.62 ± 5.73	9.72 ± 0.009 a	7.94 ± 1.40	1.59 ± 0.001 c	109.80 ± 10.54	21.96 ± 0.026 a
22	<i>R. canina</i> , galli yaprak, ağustos	55.88 ± 4.91	11.18 ± 0.023 a	66.93 ± 7.31	13.39 ± 0.011 a	60.44 ± 8.45	12.09 ± 0.011 a	117.00 ± 12.15	23.40 ± 0.021 a
23	<i>R. canina</i> , ağustos	50.40 ± 4.52	10.08 ± 0.009 a	40.13 ± 6.82	8.03 ± 0.009 a	3.80 ± 0.58	0.77 ± 0.002 c	70.20 ± 6.81	14.04 ± 0.019 a
24	<i>R. canina</i> , ağustos	61.40 ± 9.40	12.28 ± 0.033 a	93.94 ± 7.64	18.79 ± 0.050 a	98.64 ± 10.30	19.73 ± 0.025 a	280.80 ± 15.98	56.16 ± 0.036 b
25	<i>R. canina</i> , temmuz	57.12 ± 5.70	11.42 ± 0.026 a	88.20 ± 5.61	17.64 ± 0.045 a	72.80 ± 8.11	14.56 ± 0.018 a	211.80 ± 15.95	52.36 ± 0.045 b
Ortalama		57.54 ± 7.61	11.51 ± 0.012 a	47.90 ± 5.09	9.58±0.013 a	50.03±5.28 a	10.01 ±0.011 a	112.50 ± 9.59	23.3 ± 0.023 a

*: Her veri üç tekrarin ortalamasıdır.
S.H :Standart hata.

z: 500 mg dokuda mg cinsinden total protein miktar
t: Her sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir.

Bazı Meşe ve Gül Türlerinin Galli ve Galsiz Bireylerinde, Total Protein İçeriğinin Araştırılması

Yine bu çalışma kapsamında yer verilen ve total protein tayininde kullanılan yöntemleri kendi aralarında karşılaştırmak amacıyla SPSS 15.0 paket programında Pearson korelasyon analizi uygulandığında ise Warburg-Christain ve Lowry yöntemi arasında 0.747 oranında yüksek derecede pozitif korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Warburg - Christain yöntemiyle Biüre yöntemi arasında 0.601 oranında önemli bir pozitif korelasyon olduğu da görülmekte olup Bradford yöntemi ile de düşük düzeyde negatif korelasyona rastlanmaktadır (Çizelge 3). Dolayısıyla Lowry, Biüre ve Warburg-Christain yöntemleri arasında pozitif ve anlamlı bir paralelliğin olduğu Bradford yönteminin ise bunlardan biraz daha farklı sonuçlar ortaya çıkardığı görülmektedir.

Çizelge 3. Yöntemler arasındaki korelasyon (SPSS 15.0 Pearson korelasyon analizi)

		UV	Bradford	Lowry	Biüre
UV	Pearson Correlation	1	-,046	,747(**)	,601(**)
	Sig. (2-tailed)		,828	,000	,001
	N	25	25	25	25
Bradford	Pearson Correlation	-,046	1	-,014	,314
	Sig. (2-tailed)	,828		,946	,127
	N	25	25	25	25
Lowry	Pearson Correlation	,747(**)	-,014	1	,462(*)
	Sig. (2-tailed)	,000	,946		,020
	N	25	25	25	25
Biüre	Pearson Correlation	,601(**)	,314	,462(*)	1
	Sig. (2-tailed)	,001	,127	,020	
	N	25	25	25	25

** Korelasyon 0.01 seviyesinde önemlidir

Sevgi DURNA DAŞTAN, Nuray ZONUS, İbrahim YALÇIN, Taner DAŞTAN

TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüze değin çeşitli böcek gruplarının, bitkiler üzerinde parazit olarak yaşamasını ve beslenmesini, aynı zamanda belli bitki gruplarını spesifik konakçı olarak seçmelerini açıklayan farklı hipotezler öne sürülmüştür. Bitki-stres hipotezi, fizyolojik stres altındaki bitkilerin konakçılar için daha uygun olduğunu ve herbivor böceklerin stres altında olan bitkilerde daha çok toplandığını savunur [22]. Çünkü stres altındaki bitkiler, hayati fizyolojik süreçlerin korunması ve tamiri için daha fazla kaynağa ihtiyaç duyarlar. Bu bitkilerde genellikle protein sentezinin azaldığı, fakat dokularında fazla miktarda serbest amino asit biriktiği ve böylece böcekler için daha çok tercih edilen bir besin kaynağı olduğu ileri sürülmektedir. Düşük ve yüksek sıcaklık, tuzluluk vb. çeşitli çevresel stresler altında kalan veya biyotik bir stres kaynağı olarak gal yapıcıyla karşılaşan bitkilerde serbest prolin biriktiği çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir [23,24,25]. Total protein içeriğinin ise gal oluşumu ile giderek artarken, galin olgunluğa erişmesiyle birlikte düştüğü gösterilmiştir [25]. Yine afidlerin neden olduğu galli yaprakların floem içeriğindeki amino asit miktarlarının diğer galsiz dokulara oranla oldukça yüksek olduğu ve karbohidrat, lipid ve total protein içeriğinin gal odacığ gibi galli bitki kısımlarında artış gösterdiği çeşitli araştırmalarla da ortaya konmuştur [27-31]. Günümüzde diğer dokulara oranla gal dokusu protein içeriğinin gal yapıcıya bağlı olarak daha yüksek ya da daha düşük olabileceği düşünülse de, gallerde nitrojen içeriğinin artış gösterdiği bilinmektedir [32]. Farklı bir yaklaşım olan, bitki-güç hipotezinde ise herbivor böceklerin daha çok sağlıklı, ve güçlü bir şekilde büyüyen bitkileri konak olarak seçtikleri savunulmaktadır. Çünkü bu tür bitkilerde böceğin rahatlıkla büyüyüp gelişmesini sağlayacak besin içeriği bulunmaktadır [33]. Bitki-tolerans hipotezi ise, herbivor böceklerle karşılaşan bitkilerin, gal oluşturmaları ya da herbivorlar tarafından besin olarak kullanılmalarından kaynaklanan doku kayıplarını, tolere edebilme yetenekleri kazanmak üzere evrildikleri görüşü üzerine kurulmuştur. Bu toleransla birlikte, herbivorlar tarafından tüketilen bitkiler, böcek saldırısına maruz kalmamış diğer sağlam bitkilerle yine aynı miktarda tohum üretebilmekte ve hayatta kalabilme başarısı gösterebilmektedirler [34, 35]. Belirtilen bu 3 hipotezin bir sonucu olarak ise, herbivor saldırısına maruz kalan bitkilerin, hiç herbivor organizmayla karşılaşmamış bitkilere kıyasla daha fazla çiçek, meyva ve tohum üretebilme yeteneğine sahip oldukları öngörülmektedir [36]. Tolerant bitkilerin üremeyle ilgili yanıtları, artmış büyüme hızları veya zarar görmeden yaşayabilme başarıları bu bitkilerde oluşan artmış fotosentezden, dormansi halindeki

Bazı Meşe ve Gül Türlerinin Galli ve Galsiz Bireylerinde, Total Protein İçeriğinin Araştırılması

meristemlerin etkinliğe başlamasından, çeşitli protein ve polisakkarit gibi depolanmış kaynakların yeniden kullanılmaya başlanmasından kaynaklanabilir [37]. Bu çalışma kapsamında incelediğimiz bitki örneklerindeki galli bireylerde de prolin ve bazı amino asitlerin artışı olduğu daha önce yapılmış bir çalışmada bildirilmiştir [24]. Sonuç olarak, bu çalışma kapsamında spektrofotometrik olarak elde edilen absorbans verilerinin derişim değerlerine dönüştürülmesiyle birlikte *Q. macranthera*, *Q. robur* ve *R. canina* bitkileri üzerindeki galli ve galsiz numunelerde total protein içerikleri belirlenmiştir. Buna göre meşe örneklerindeki total protein içeriğinin, kuşburnu örneklerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Yine her iki gruba ait örnekler kendi içerisinde değerlendirildiğinde ise galli bireylerin yaprak ve gal örneklerindeki amino asit ve protein içeriğinin galsiz örneklere göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görülmektedir. Bu da yukarıda belirtilmiş olan ve bitkilerin çeşitli herbivor saldırılarına maruz kaldıklarında girdikleri stresle birlikte hayati süreçlerini devam ettirmek üzere çeşitli fizyolojik savunma mekanizmaları geliştirdiklerini açıklayan bitki-stres hipotezini destekler niteliktedir. Aslında her 3 hipoteze göre de gal taşıyan bitkilerde veya doğrudan herbivorların korunduğu ve yaşadığı gal dokusunun bizzat kendi içerisinde daha fazla amino asit ve protein bulunması gerektiği beklenmektedir. Fakat bu çalışmada seçilen bitkilerin gerçekten de herbivorların, yaşam alanı olarak tercih edebilecekleri kadar güçlü olup olmadıkları ya da olumsuz koşulları tolere etme yeteneği fazla olan bitkiler olup olmadıkları hususunda gözlemler yapılmadığı ve inceleme konusu olarak ele alınmadığı için tam olarak hangi hipotez/lerin desteklendiğini kesin olarak söylemek mümkün değildir. Bu konuda kesin bir fikir belirtebilmek için doğada uzun süreli ve hatta yıllarca sürececek gözlemler yapılması ve karbonhidrat, protein metabolizmaları, enzimatik tepkimeleri vb. gibi fizyolojik süreçleri daha ayrıntılı araştırmak gereklidir. Yine elde edilen bulguları da laboratuvarında çeşitli kontrollü deneylerle test etmek de bir sonraki basamak olarak çalışma konusuna eklenmelidir. Ayrıca sadece total protein içeriği olarak bitki kısımlarını ve galleri karşılaştırmak yeterli olmayıp, Özcan (2006)'ın meşe palamutları ile yapmış olduğu taksonomik çalışmadaki gibi amino asit seviyesindeki ve çeşitliliğindeki farklılıklarda araştırılmalıdır [13]. Bu çalışma kapsamında değinilmesi gereken bir husus da, bitki parçalarındaki total protein içeriğini ortaya koymak için seçtiğimiz yöntemlerin karşılaştırılmasıdır. Çizelgelerde belirtildiği gibi yöntemlerin bazıları birbirini destekler nitelikte birbirine yakın protein derişimleri ortaya çıkardığı halde bazı yöntemler arasında ciddi farklılıklar vardır. Bu durum daha önce yapılmış pek çok araştırmada da

Sevgi DURNA DAŞTAN, Nuray ZONUS, İbrahim YALÇIN, Taner DAŞTAN

gözlenmekte olup, proteinlerin amino asit içeriklerine veya yöntemlerin prensiplerindeki benzerlik ya da farklılıklara bağlanmıştır [38, 39]. Nitekim en yüksek protein içerikleri Warburg-Christain yöntemine göre elde edilmiştir. 260/280 nm dalga boyunda doğrudan ölçümlere dayanan ve hassasiyeti düşük olduğu bilinen bu yöntemde elde edilen sonuçların yüksek olması, ham bitki izolatlarının herhangi bir saflaştırma yapılmadan doğrudan kullanılmasından ve buna bağlı olarak da özellikle nükleik asitler olmak üzere başka maddelerinde aynı dalga boyunda girişim göstermesinden kaynaklanabilmektedir. Yine Lowry yönteminde zamanın bir kısıtlayıcı faktör olması ve yine yöntemin pH' a çok fazla bağlı (pH 10-10.5) olması gibi çeşitli gerekçelerden dolayı yeterince net ölçümler elde edilememiş olabilir. Genel olarak çalışmamızda farklı yöntemler denenerek tespit edilen total protein içerikleri, geçmişte Özcan (2006) tarafından meşelerle yapılmış ve total protein içerikleri % 2-9 arasında belirtilmiş olan bir çalışmaya göre daha yüksek değerlerde bulunmuştur [13]. Bu nedenle çalışmalarda araştırılan bitki numunelerindeki total protein içeriklerini daha hassas ve kesin bir şekilde ortaya koyabilmek için öncelikle, ön saflaştırma işlemlerinin uygulanması ve ham izolat içerisinde proteinlerin ayrılmasından sonra, derişim ölçümüne geçilmesi en doğru sonucu verecektir. Bu çalışma ile, total protein içeriklerinin gal oluşumuyla birlikte bitkilerde çeşitli farklılıklar gösterebileceğini araştırmak üzere, genel düzeyde ve yapılacak sonraki ayrıntılı çalışmalar için bir başlangıç teşkil edecek veriler alabilmeyi ve bunu yaparken de en uygun yöntemi görebilmeyi sağlayacak bir inceleme hedeflenmiştir.

Teşekkür

Çalışmamızda kullandığımız *Rosa sp.* örneklerini temin ettiği için Hülya KOÇAK'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- [1] Mani, M.S., Ecology of plant galls. Dr. W. Junk, Publishers, The Hague. 1964.434p.
- [2] Bagatto, G., Paquette, L.C., Shorthouse, J.D., Influence of galls of *Phanacis taraxaci* on karbon partitioning within common dandelion, *Taraxacum officinale*. Entomol Exp Appl. 1996. 79:111-117.

Bazı Meşe ve Gül Türlerinin Galli ve Galsiz Bireylerinde, Total Protein İçeriğinin Araştırılması

[3] Abe, Y., Relationships between the gallwasp *Trichagalma serratae* (Ashmead) (Hymenoptera, Cynipidae) and 2 moth species *Andrioplecta pulverula* (Meyrick) (Lepidoptera, Tortricidae) and *Characoma ruficirra* (Hampson) (Lepidoptera, Noctuidae). Appl. Entomol. Zool. 1995. 30:83–89.

[4] Abe, Y., Well-developed gall tissues protecting the gall wasp, *Andricus mukaigawae*, (Mukaigawa) (Hymenoptera: Cynipidae) against the gall-inhabiting moth, *Oedematopoda* sp. (Lepidoptera: Stathmopodidae. Appl. Entomol. Zool., 1997. 32:135–41.

[5] Mani M.S., Introduction to Cecidology. In: Shorthouse JD, Rohfritsch O, eds. *Biology of insect-induced galls*. 1992. New York, NY, USA: Oxford University Press, 3–7.

[6] Rohfritsch, O., A fungus associated gall midge, *Lasioptera arundinis* (Schiner), on *Phragmites australis* (Cav.) Trin. Bulletin de la Societe Botanique de France, Letters Botaniques 1992. 139, 45-59.

[7] Yang, M.M. and Tung, G.S., The diversity of insect-induced galls on vascular plants in Taiwan: a preliminary report. In G. Csóka, W. J. Mattson, G. N. Stone, and P. W. Price (eds.), 1998, The Biology of Gall-Inducing Arthropods. Gen. Tech. Rep. NC-199. St. Paul, MN: USDA, Forest Service, North Central Forest Experiment Station, pp.44-53.

[8] Brooks S.E. and Shorthouse J.D., Developmental morphology of stem galls of *Diplolepis nodulosa* (Hymenoptera: Cynipidae) and those modified by the inquilines *Periclistus pirata* (Hymenoptera: Cynipidae) on *Rosa blanda* (Rosaceae). Can. J. Bot., 1998. 76(3): 365–381.

[9] Schönrogge K., Harper L.J., Brooks S.E., Lichtenstein C.P., The protein content of tissues in cynipids galls (Hymenoptera: Cynipidae); Similarities between cynipids gall and seeds. Plant, Cell and Environment., 2000. 23; 215-222.

[10] LeBlanc D.A. and Lacroix, C.R., Developmental Potential of Galls Induced by *Diplolepis rosaefolii* (Hymenoptera: Cynipidae) on the Leaves of *Rosa virginiana* and the Influence of *Periclistus* Species on the *Diplolepis rosaefolii* Galls. Int. J Plant Sci., 2001. 162 (1) : 29–46. 2001.

[11] Stone, G.N., Schönrogge, K., Atkinson, R.J., Bellido, D., Pujade-Villar, J., The Population Biology Of Oak Gall Wasps (Hymenoptera: Cynipidae). Annual Review of Entomology, 2002. 47(1): 633-668.

Sevgi DURNA DAŞTAN, Nuray ZONUS, İbrahim YALÇIN, Taner DAŞTAN

- [12] Strauss, S. Y., and Zangerl, A.R., Plant-insect interactions in terrestrial ecosystems. Pages 77-106 in C. M Herrera and O. Pellmyr, editors. *Plant-Animal Interactions: An Evolutionary Approach.*, 2002. Blackwell Publishing, Malden, MA.
- [13] Özcan, T., Total protein and amino acid compositions in the acorns of Turkish *Quercus L.* taxa. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2006. 53: 419–429.
- [14] Bradford, M. M., A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976. 72, 248–254.
- [15] Turner, S. R. Barratt, D.H.P., Casey, R., The effect of different alleles at the r locus on the synthesis of seed storage proteins in *Pisum sativum*. *Plant Mol. Biol.*, 1990. 14, 793–803.
- [16] Warburg, O., Christian W., Isolierung und kristallisation des garungsfermente enolase. *Biochem. Z.*, 1941. 310, 384 – 421.
- [17] Burstin, J., Marget, P., Huart, M., Moessner, A., Mangin, B., Duchene, C., Desprez, B., Munier-Jolain N., and Duc, G., Developmental Genes Have Pleiotropic Effects on Plant Morphology and Source Capacity, Eventually Impacting on Seed Protein Content and Productivity in Pea. *Plant Physiology*, 2007. 144:768-781.
- [18] Tar'an B., Warkentin, T., Somers, D.J., Miranda, D., Vandenberg, A., Blade, S., Bing, D., Identification of quantitative trait loci for grain yield, seed protein concentration and maturity in field pea (*Pisum sativum L.*) *Euphytica*, 2004. 136: 297– 306.
- [19] Bradford, M.M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. *Anal. Biochem.*, 1976. 72, 248-254.
- [20] Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr A.L. ve Randall, R.J., Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951. 193, 265-275.
- [21] Schleif, R. F. ve Wensink, P., *Practical Methods in Molecular Biology*, 1981. Springer-Verlag, New York.
- [22] White, T.C.R., *The Inadequate Environment. Nitrogen and the Abundance of Animals.*, 1993. Springer Verlag, Berlin.
- [23] Aspinall, D., Paleg L.G., Proline accumulation; Physiological aspect. 1981. In Paleg LG, Aspinall D, eds. *The physiology and biochemistry of drought resistance in plants.* Australia; Academic Press. 205-240.

Bazı Meşe ve Gül Türlerinin Galli ve Galsiz Bireylerinde, Total Protein İçeriğinin Araştırılması

- [24] Koçak, H., Sivas çevresinde yetişen kuşburnu (*Rosa canina* L.) bitkisinin gal oluşturan ve oluşturmeyen bireylerindeki fizyolojik değişikliklerin araştırılması, (Y. Lis. Tezi), 2007. Danışman Prof. Dr. İbrahim Yalçın.
- [25] Albert S, Padhiar A, Gandhi D and Nityanand P. Morphological, anatomical and biochemical studies on the foliar galls of *Alstonia scholaris* (Apocynaceae). *Revista Brasil. Bot.*, 2011. V.34, n.3, p.343-358.
- [26] Koyama Y, Yao I & Akimoto S. Aphid galls accumulate high concentrations of amino acids: a support for the nutrition hypothesis for gall formation. *The Netherlands Entomological Society Entomologia Experimentalis et Applicata* 2004. 113 : 35–44.
- [27] Scareli-Santos, C., Teixeira, S.P. & Varanda, E.M. Anatomy of foliar galls of *Pouteria torta* (Sapotaceae) induced by *Voungmyia* sp. (Diptera,Cecidomyiidae). *Phytomorphology* 2008.58:139-144.
- [28] Arora, D.K. & Patni, V. Localization of metabolites and enzymes in insect induced rachis gall and normal tissues of *Prosopis cineraria* (Linn.) Druce. *Journal of Phytological Research* 2001. 14:179-181.
- [29] El-Akkad, S.S.. Biochemical changes induced in *Populus nigra* leaves by galling aphids *Pemphigus populi*. *International Journal of Agricultural and Biology*, 2004. 6:659-664.
- [30] Bayer, M.H. Fatty acid composition of galactolipids and phospholipids in neoplastic plant tissues (cecidia) and normal leaf tissue. *Physiol. Plant*, 1991. 81, 313-318.
- [31] Bayer, M.H. Biochemical modification of the phenotype in cynipid gall: cell membrane lipids. In:Williams, M.A.J. (Ed.), *Plants Galls: Organisms, Interactions, Populations*. Clarendon Press, Oxford , 1994, pp. 429-446.
- [32] Harris, P., Shorthouse, J.D. Effectiveness of gall inducers in weed biological control. *Can. Entomol.*, 1996. 128, 1021-1055.
- [33] Price, P.W., The plant vigour hypothesis and herbivore attack. *Oikos*,1991.62:244-51.
- [34] Strauss, S.Y., and Zangerl, A.R., Plant-insect interactions in terrestrial ecosystems., 2002. Pages 77-106 in C. M Herrera and O. Pellmyr, editors. *Plant-Animal Interactions: An Evolutionary Approach*. Blackwell Publishing, Malden.
- [35] Sacchi, C., Herbivore Responses to Plant Vigor and Herbivore Impact on Plant Reproduction. *Teaching Issues and Experiments in Ecology*. 2006. v. 4. Bio 344, Predation Lab. Exercises. Adapted from Christopher F. Sacchi, 2006.

Sevgi DURNA DAŞTAN, Nuray ZONUS, İbrahim YALÇIN, Taner DAŞTAN

[36] Paige, K.N., and Whitham, T.G., Overcompensation in response to mammalian herbivory: the advantage of being eaten. *American Naturalist*, 1987. 129:419-428.

[37] Fornoni, J., Nunez-Farfan, J., and Valverde, P.L., Evolutionary aspects of tolerance to herbivory: advances and perspectives. *Comments on Theoretical Biology*, 2003. 8:643-663.

[38] Gornall, A.G., Bardawill, C.J., David, M.M., Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 1949. 177: 751-766.

[39] Zaia, D.A.M., Verri Jr. W.A., Zaia, C.T.B.V., Determination of total proteins in several tissues of rat: a comparative study among spectrophotometric methods. *Microchemical Journal*, 2000. 64: 235-239.