

## Konya Bölgesindeki Bazı *Vicia L. (Leguminosae)* Türlerinin Tohum Protein Profillerinin SDS-PAGE Yöntemi ile Belirlenmesi

Şerife BEYAZBENLİ, Hüseyin DURAL<sup>1</sup>, Emine ARSLAN, Kuddisi ERTUĞRUL

Selçuk Üniv. Fen Edeb. Fak. Biyoloji Bölümü, Kampus, KONYA

**Özet:** Bu çalışmada, Konya bölgesindeki *Vicia L. (Leguminosae)* türlerinin tohum depo protein profilleri SDS-PAGE yöntemi ile belirlenmiştir. *V. cracca* L. subsp. *stenophylla* Vel., *V. canescens* Lab. subsp. *gregaria* (Boiss.&Heldr.) P.H.Davis, *V. caesarea* Boiss.&Bal., *V. ervilia* (L.) Willd., *V. peregrina* L., *V. sativa* L. subsp. *nigra* (L.) Ehrh. var. *nigra*, *V. narbonensis* L. var. *narbonensis*, *V. galilaea* Plitm.&Zoh. ve *V. faba* L. türleri arasındaki genetik uzaklıklar SDS-PAGE yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. *V. narbonensis* var. *narbonensis* ve *V. galilaea* türleri Davis'in Türkiye Florası'ndaki gibi birbirine oldukça yakın bulunurken aynı grupta yer alan *V. canescens* subsp. *gregaria* ve *V. caesarea* diğer *Vicia* türlerine oldukça uzak bulunmuştur. Protein profili *Vicia* türlerinin sınıflandırılmasında morfolojik incelemelere ilave olarak faydalı bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Vicia*, SDS-PAGE, Protein profili

## Determination of Seed Protein Profiles of Some *Vicia L. (Leguminosae)* Species from the Konya Region by SDS-PAGE Method

**Abstract:** In this study, seed store protein profiles of *Vicia L. (Leguminosae)* species were determined by SDS-PAGE method. Genetic distances between *V. cracca* L. subsp. *stenophylla* Vel., *V. canescens* Lab. subsp. *gregaria* (Boiss.&Heldr.) P.H.Davis, *V. caesarea* Boiss.&Bal., *V. ervilia* (L.) Willd., *V. peregrina* L., *V. sativa* L. subsp. *nigra* (L.) Ehrh. var. *nigra*, *V. narbonensis* L. var. *narbonensis*, *V. galilaea* Plitm.&Zoh. and *V. faba* L. species were determined by using SDS-PAGE method. While *V. narbonensis* var. *narbonensis* and *V. galilaea* species were found rather close to each other as it was also determined by Davis in The Flora of Turkey, *V. canescens* subsp. *gregaria* and *V. caesarea* that were placed in the same group were found to be rather close to other *Vicia* species in the classification of the *Vicia* species protein profiling was found to be useful in addition to the morphological investigations.

**Key Words:** *Vicia*, SDS-PAGE, Protein profile

<sup>1</sup> E-mail: hdural@selcuk.edu.tr

## Giriş

Çalışma materyalini oluşturan *Vicia* L. cinsi'ne ait taksonlar *Leguminosae* familyası içinde yer almaktadır. *Leguminosae* familyasının ülkemizde 69 cinsi vardır ve bunlara ait takson sayısı 1128 olup, endemik tür takson sayısı ise 375'dir. Buna göre familyadaki endemizm oranı %39.1'dir. *Vicia* L. cinsine ait tür sayısı ise 87 iken bunların 5'i endemiktir. Endemizm oranı %8.5'dir [1]. *Legume* tohumları, yüksek protein miktarı (20-50%) nedeniyle insan ve hayvan beslenmesinde önemlidir. Protein miktarı, geleneksel temel ürünlerin çok üzerinde ve tahıl tohumlarında bulunan seviyenin iki katıdır [2]. *Vicia* L. cinsinin birçok türü (*V. sativa*, *V. faba*, *V. ervilia* vb.) ülkemizde kültüre alınmıştır ve halen tarımı yapılmaktadır. Bu cinsine ait türler arasında oldukça yüksek varyasyona rastlanılır, tür altı kategorilerdeki birey sayısı da oldukça yüksektir [3]. Vavilov (1950), Türkiye'nin adi fiğın (*Vicia sativa* L.) gen merkezi olduğunu belirtmektedir [4]. Tamkoç ve Avcı (1997), yabancı kökenli fiğ hatları üzerinde yaptıkları çalışmalarda, hatlar arasında bazı önemli özellikler bakımından farklılıklar olduğunu ve bunlardan bitki ıslahında faydalanılabileceğini ortaya koymuşlardır [5].

Türler arası ve tür içi polimorfizmlerin belirlenmesi, kültürler arası teşhisi, tür kimliğini kontrol etmeyi, biyosistematiğe analize yardım etmeyi ve türlerin filogenetik akrabalıklarını araştırmayı sağlar [6]. Bu amaçla biyokimyasal yöntemler ve moleküler yöntemler başarı ile kullanılmaktadır. Biyokimyasal yöntemlerden Sodyum Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroferez (SDS-PAGE), bitki koleksiyonlarının genetik yapısını tanımlamadaki kolaylığı ve geçerliliği nedeniyle oldukça geniş kullanım alanına sahiptir [7]. Ghafoor ve ark. (2000) tohum depo proteinlerinin elektroferezle elde edilen bantlarının her tür için özel ve doğrudan doğruya genotipe bağlı olduğu için pek çok türün taksonomik ve evrimsel problemlerini çözdüğünü belirtmişlerdir [7].

Bu çalışmada SDS-PAGE yöntemi ile *Vicia* L. cinsine ait, *V. cracca* subsp. *stenophylla*, *V. canescens* subsp. *gregaria*, *V. caesarea*, *V. ervilia*, *V. peregrina*, *V. sativa* subsp. *nigra* var. *nigra*, *V. narbonensis* var. *narbonensis*, *V. galilaea* ve *V. faba* türlerinin birbirine olan yakınlık derecelerinin *Vicia* türlerinde polimorfizmin belirlenmesinde kullanılabilirliğinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

**Bitki materyali:** Araştırmada kullanılan *Vicia* cinsinin türlerine ait tohum örnekleri Doç Dr. Hüseyin DURAL'ın koleksiyonundan ve arazi çalışması sonucunda temin edilmiştir. *Vicia* türleri ile toplandıkları lokaliteler hakkındaki bilgiler Tablo 1' de verilmiştir.

**Tablo 1:** Çalışmada kullanılan türler ve toplandıkları lokaliteler

Tür adı	Toplandığı yer	Toplandığı yükseklik	Toplayan
<i>V. cracca</i> subsp. <i>stenophylla</i>	C4 Konya Sille Büyükgevele tepesi batı yamacı.	1450-1700m	H. DURAL
<i>V. canescens</i> subsp. <i>gregaria</i>	C4 Konya Bozkır Küçükgeyik Dağı	2000m	H. DURAL
<i>V. caesarea</i>	C4 Konya Sille Büyükgevele tepesi batı yamacı	1450m	H. DURAL
<i>V. ervilia</i>	C4 Konya Karapınar Karacadağ Akören Köyü üstü	1350m	H. DURAL
<i>V. peregrina</i>	C4 Konya Karapınar Karacadağ Akören Köyü üstü meşelik yerler.	1350m	H. DURAL
<i>V. sativa</i> subsp. <i>nigra</i> var. <i>nigra</i>	C4 Konya Karapınar Karacadağ Oymak Köyü Kemerhan Yaylası.	1450m	H. DURAL
<i>V. narbonensis</i> var. <i>narbonensis</i>	C4 Konya Seydişehir Gölyüzü Köyü arası <i>Quercus libani</i> birliği.	1200m	H. DURAL
<i>V. galilaea</i>	C4 Konya Karapınar Karacadağ Akören Köyü	1300m	H. DURAL
<i>V. faba</i>	C4 Konya kültür	-	Ş. BEYAZBENLİ

### Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroferez (SDS-PAGE):

Türlerin tohum depo protein izolasyonları Saraswati ve ark. (1993)'na göre yapılmıştır [8]. Türler için toplam protein izolatlarına SDS-PAGE uygulamasında, Laemmli (1970)'nin önerdiği yöntem esas alınmıştır [9]. Elektroferez işlemleri %10'luk poliakrilamid jel ile gerçekleştirilmiş olup 20 mA sabit akımda, 8-10 saat devam etmiştir. Jel Demiralp ve ark.(2000)'na göre boyanmış [10 saf su ile birkaç kez yıkandıktan sonra fotoğrafı alınmıştır.

### Genetik uzaklık tayini:

Fotoğrafı alınan elektroforetik profilden *Vicia* türlerinin bantları var-yok esasına göre 1 ve 0 olarak skorlanmıştır. Veriler Syntax bilgisayar programında Jaccard yöntemine göre analiz edilerek dendrogramları çıkarılmıştır.

### Sonuç ve Tartışma

Bu çalışmada, *Vicia* cinsine ait türlerden *V. cracca* subsp. *stenophylla*, *V. canescens* subsp. *gregaria*, *V. caesarea*, *V. ervilia*, *V. peregrina*, *V. sativa* subsp. *nigra* var. *nigra*, *V. narbonensis* var. *narbonensis*, *V. galilaea* ve *V. faba* türlerinin SDS-PAGE yöntemi ile protein profilleri çıkarılmıştır (Şekil 1).

Çalışmada kullanılan türler arasındaki genetik ilişkiler, bantların varlığı (1) ve yokluğu (0)'na göre değerlendirilmesi sonucu Syntax bilgisayar programı ile elde edilen dendrogram ile belirlenmiştir (Şekil 2). Oluşan dendrograma göre *Vicia* türleri iki ana gruba ayrılmıştır. Bu grup üyelerinin genetik uzaklıkları % 18 ile %70 değerleri arasında değişirken *Vicia* türlerinin toplam protein sayılarının da 16 ile 33 arasında değiştiği görülmüştür. Birinci grup üyesi olan *V. canescens* subsp. *gregaria* ve *V. caesarea* türleri birbirine %52 oranında uzak olduğu görülürken iki ana dal üyelerinin birbirlerinden %70 oranında uzak oldukları belirlenmiştir. İkinci grup kendi içinde de iki alt gruba ayrılmıştır. Alt grubun biri, birbirine %60 oranında uzak olan *V. ervilia* ve *V. cracca* subsp. *stenophylla*'dan oluştuğu görülmektedir. İkinci alt grup kendi içinde küçük gruplar oluştururken *V. galilaea* ve *V. narbonensis* var. *narbonensis* birbirine oldukça yakın olduğu (% 82) saptanmıştır. *V. faba*'nın bu iki türe en yakın tür olduğu görülmüştür. *V. sativa* ise bu üç türe % 50 yakın bulunmuştur. *V. peregrina* ise bu küçük gruba oldukça uzakta yer almıştır (%62).

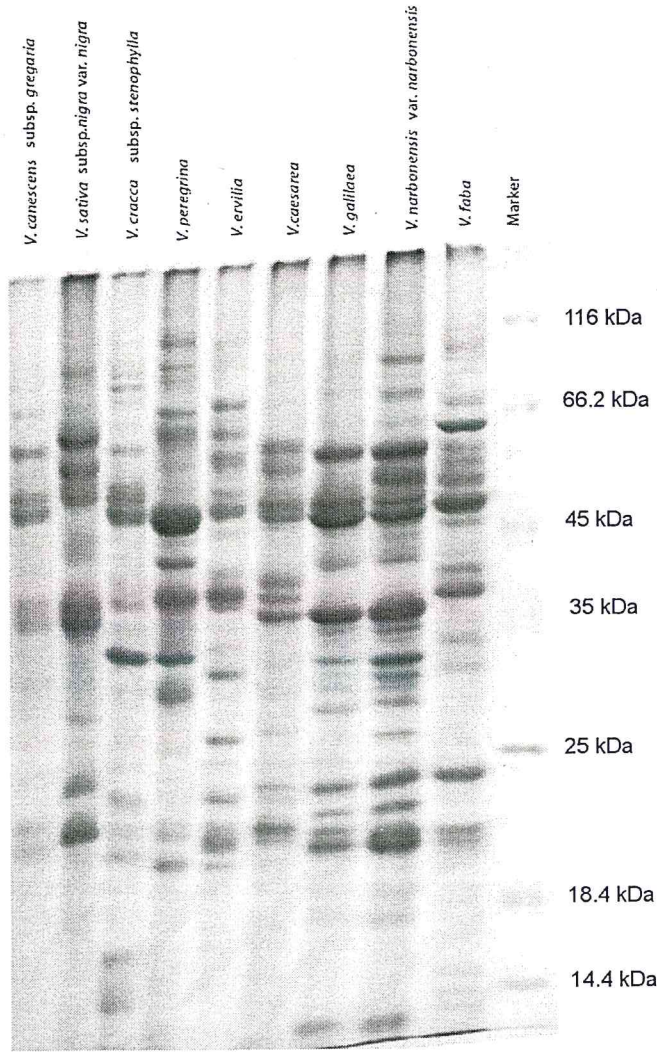
SDS-PAGE ile ortaya konulan *Vicia* türleri arasındaki uzaklıklar Davis'in (1970) Türkiye Florası'nda belirtmiş olduğu türler arası uzaklıklarla benzer bulunmuştur [3]. *V. canescens* subsp. *gregaria* ve *V. caesarea* farklı seksiyonlarda yer almasına rağmen filogenetik olarak birbirine yakın olması SDS-PAGE sonuçları ile uyumlu çıkmıştır. Dördüncü seksiyonda yer alan *V. narbonensis* var. *narbonensis*, *V. galilaea* ise SDS-PAGE sonuçlarına göre oldukça benzer bulunurken *V. faba* %55 oranda bu iki türün yanında yer almıştır. Floradan farklı olarak bu gruba *V. sativa* subsp. *nigra* da dahil olmuştur ve *V. peregrina* oldukça uzak bulunmuştur. *V. cracca* subsp. *stenophylla* ve *V. ervilia* floraya göre farklı seksiyonlarda yer almasına rağmen bu seksiyonlar birbirinin ardışıdır. SDS-PAGE sonucuna göre bu iki tür aynı grupta, %58 oranında birbirine genetik olarak uzak bulunmuştur. Dolayısı ile, *Vicia* cinsine ait incelenen türlerin sınıflandırılmasında morfolojik incelemelere ilave olarak SDS-PAGE yönteminin de faydalı olduğu gözlenmiştir.

Okumuş ve Gülümser (2004)'in bazı *Vicia* türlerinin tohum proteinlerinin genetik çeşitliliklerinin belirlenmesi üzerine yaptıkları çalışmada *Vicia* türlerinin %33 ve %83 arasında değişen oranda genetik benzerlik gösterdiklerini bulmuşlardır [11].

Sammour (1991), *Vicia* türlerinin filogenetik akrabalıklarını SDS-PAGE ile incelediği çalışmada *V. narbonensis* var. *narbonensis* ile *V. faba*'nın % 70 oranında benzer olduğunu göstermiştir. *V. faba*'nın da *V. sativa*'ya % 50 oranında benzer olduğunu bulmuştur [6]. Bu çalışmada da, *V. narbonensis* var. *narbonensis* ve *V. faba* % 55 oranında bu iki türe yakın bulunarak uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. El - Shanshoury ve Soliman (1996), *Vicia* cinsinin *Vicilla* alt cinsindeki dört seksiyon ile *Vicia* alt cinsindeki üç seksiyona ait toplam 26 *Vicia* türünün proteinleri SDS-PAGE elektroferez yöntemiyle incelemişler, sonuçları sayısal analiz yöntemiyle karşılaştırarak daha önce morfolojik özelliklere dayanan sonuçlara benzer sonuçlar elde etmişlerdir [12]. Kamel ve El-Mashad (2000), yaptıkları çalışmada *Vicia* cinsine ait dört

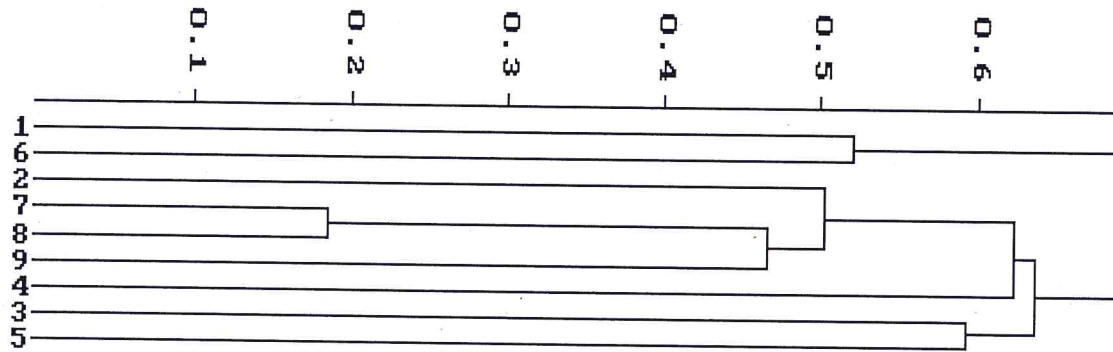
büyük seksiyonu temsil eden 16 farklı *Vicia* türü arasındaki akrabalık ilişkisini SDS-PAGE elektroforez yöntemiyle ortaya koymuşlardır. Sonuçta bu metodun 4 büyük seksiyonu kolayca ayırdığı ortaya konmuştur [13].

Sonuç olarak, çalışmamızda SDS-PAGE yöntemine göre *Vicia* türleri arasındaki akrabalık derecesi Davis' in Türkiye florasındaki morfolojik karakterlere göre belirlenmiş olan akrabalık derecesi ile uyumlu bulunurken birkaç tür floradan çok uzak olmamak kaydıyla farklı bulunmuştur.



**Şekil 1:** *Vicia* türlerinin SDS-PAGE yöntemi ile elde edilen elektroforogramı.

Marker:β galaktosidaz (116.0 kDa), bovine serum albumin (66.2 kDa), ovalbumin (45.0 kDa), laktate dehidrogenaz (35 kDa), RE Bsp 981 (25.0 kDa), β laktoglobulin (18.4 kDa), lizozim (14.4 kDa).



Şekil 2: *Vicia* türlerinin SDS-PAGE yöntemi ile elde edilen protein profiline ait dendrogram.

- 1) *V. canescens* subsp. *gregaria*
- 2) *V. sativa* subsp. *nigra* var. *nigra*
- 3) *V. cracca* subsp. *stenophylla*
- 4) *V. peregrina*
- 5) *V. ervilia*
- 6) *V. caesarea*
- 7) *V. galilaea*
- 8) *V. narbonensis* var. *narbonensis*
- 9) *V. faba*

#### Kaynaklar

1. Davis, P.H., Mill, R.R. & Kit Tan., *Flora of Turkey and the East Aegean Island* Vol. 10 (Supplement), Edinburgh University Pres. (1988)
2. Ustimenko – Bakumovsky, G.V., *Plant Growing in the Tropics and Subtropics*. New York: Macmillan Publication Copy. (1983)
3. Davis, P.H., *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* Vol.3, Edinburgh University Pres. (1970)
4. Vavilov, N.I., *The Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants. Chronica Botanica*. Vol. 13. (1949,1950)
5. Tamkoç, A., Avcı, M.A., *Yabancı Kökenli Fiğ Hatlarının (*Vicia sativa* L.) Adaptasyonu ve Bazı Tarımsal Özellikler Arası İlişkiler, Türkiye II. Tarla Bitkileri Kongresi*, 421-425. (1997)
6. Sammour, R.H., *Using Electrophoretic Techniques in Varietal Identification, Biosystematic Analysis, Phylogenetic Relations and Genetic Resources Management, Journal of Islamic Academy of Sciences*, 4: 3, 221-226. (1991)
7. Ghafoor, A Ahmad, Z, Qureshi, A.S, Bashir, M., *Genetic Relationship in *Vigna mungo* (L.) Hepper and *V. radiata* (L.) R. Wilczek Based on Morphological Traits and SDS-PAGE*, *Euphytica*, 123:367-378. (2000),
8. Saraswati, R., Matoh T., Phupaibul P., Lumpkin T.A., Kobayashi M., *Identification of Sesbania Species from Electrophoretic Patterns of Seed Protein*, *Trop. Agric. (Trinidad)*, 70(3): 282-285. (1993)
9. Laemmli, U.K., *Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of Bacteriophage T4.*, *Nature*, 227, 680-684. (1970)
10. Demiralp, H., Çelik S., Köksel H., *Effects of Oxidizing Agents and Defatting on the Electrophoretic Patterns of Flour Proteins During Dough Mixing*, *Eur. Food Res Technol*, 211: 322-325. (2000)
11. Okumuş, A., Gülümser A., *Determination of Genetic Diversity in Some Vetches (*Vicia* spp.) by Seed Proteins*, *International Journal of Biology and Biotechnology*, 1 (2), 149-152. (2004)
12. El-Shanshoury, A.R., Soliman, S.A., *Electrophoretic Evidence for Subgeneric and Sectional Relationships of Some Species in *Vicia* L.*, *Pakistan. Journal of Botany*. 28: 2, 173-182. (1996)

13. Kamel, E.A.R., El-Mashad , A.A.A., **Electrophoretic Studies of Seed Proteins and the Relationships of Some Species of the Genus *Vicia* L.**, FABIS Newsletter, 42, 5-11. ( 2000).