

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NOHUTTA (*Cicer arietinum* L.) YABANCI OT İLACINA
(IMIDAZOLINONE) DAYANIKLILIĞIN KALITIMI**

Fatma Öncü CEYLAN BALOĞLU

**DOKTORA TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

2017

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NOHUTTA (*Cicer arietinum* L.) YABANCI OT İLACINA
(IMIDAZOLINONE) DAYANIKLILIĞIN KALITIMI**

Fatma Öncü CEYLAN BALOĞLU

**DOKTORA TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2014. 03. 0121.002 nolu proje ile desteklenmiştir.

2017

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NOHUTTA (*Cicer arietinum* L.) YABANCI OT İLACINA
(IMIDAZOLINONE) DAYANIKLILIĞIN KALITIMI**

Fatma Öncü CEYLAN BALOĞLU

**DOKTORA TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

Bu tez/...../2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cengiz TOKER (Danışman)

Prof. Dr. Salih ÜLGER

Prof. Dr. Bülent UZUN

Prof. Dr. Erkut PEKŞEN

Prof. Dr. Ercan CEYHAN

ÖZET

NOHUTTA (*Cicer arietinum* L.) YABANCI OT İLACINA (IMIDAZOLINONE) DAYANIKLILIĞIN KALITIMI

Fatma Öncü CEYLAN BALOĞLU

Doktora Tezi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Cengiz TOKER

Ocak 2017, 111 sayfa

Dünyada nohut (*Cicer arietinum* L.) üretimini sınırlandıran en önemli canlı stres faktörlerinden biri yabancı otlardır. Yabancı otlar, gerek kışlık gerekse erken nohut ekimlerinde görülen en büyük problemlerden biridir. Kışlık ekilmiş nohut alanlarında yabancı otlar %98'e kadar verim kaybına neden olmaktadır. Yabancı otlar kültürel, biyolojik ve kimyasal yöntemlerle kontrol edilebilmelerine rağmen, çevreyi en iyi koruyan yöntemler kültürel yöntemlerdir. Bununla beraber, kültürel yöntemlerden olan elle yabancı otların çekilmesi ve çapalanması nohut yetiştirilen ülkelerde işgücünün artmasından dolayı özellikle geniş alanlarda pahalı bir uygulamadır. Bunun yerine, nohutta kullanılabilen birçok yabancı ot ilacı (herbisit) vardır. Bunlar ekim öncesi, çıkış öncesi ve çıkış sonrası kullanılmaktadırlar. İlk iki uygulama, sonra çimlenen yabancı otları kontrol etmekte etkili değildirler. Çıkış sonrası kullanılabilen yabancı ot ilaçlarından da nohut olumsuz etkilenmekte ve zarar görmektedir. Yabancı otları kontrol etmede en etkili yöntemlerden biri imidazolinone (IMI) tolerant çeşit kullanmaktır. Acetohydroxyacid sentez (AHAS) olarak bilinen enzim mutasyon ıslahı ve klasik ıslah yaklaşımlarıyla değiştirilerek IMI tolerant çeşitler bulunmaya çalışılmıştır. Mutasyon ıslahıyla, kültürü yapılan nohutla kolay melezlenebilen *Cicer reticulatum* Ladiz.'de imidazolinone (IMI) dayanıklı özel bir mutant bulunmuştur.

Bu çalışmada; (i) *Cicer reticulatum*'deki bu gen(ler)i kültürü yapılan nohuda aktarmak, (ii) yabancı ot ilacına toleranslılığın (IMI toleranslılığı) kalıtımını belirlemek, (iii) AHAS ya da ALS (acetolactate synthase) enzimini ve (iv) bazı amino asitleri IMI-hassas ve IMI-toleranslı nohut hatlarında karşılaştırmak amaçlanmıştır. Bu proje, tarla ve sera denemesi olarak iki bölümden oluşmaktadır. Antalya ekolojik koşullarında yürütülen tarla denemesi Antalya ili Aksu ilçesinde bulunan Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM) Tarla Bitkileri Bölümünde yürütülmüştür. *Cicer arietinum* (ACC 1054) (♀), *C. reticulatum* mutanı (AWC 611HR) (♂), bu anaçlardan elde edilen F₁, F₂ ve BC₁ (ACC 1054 x F₁ ve F₁ x AWC 611HR) bitkileri bitki materyali olarak kullanılmıştır. Bitkilere fide döneminde önerilen dozda (20 ml/da) litrede 100 g Imazethapyr etkili maddeli herbisit (Pursuit®, BASF) uygulaması yapılmıştır. Herbisit uygulamasından sonra nohutlar herbisite tolerans için 1–3 skalası üzerinden (1 = Toleranslı ve 3 = Hassas) ve fenolojik, morfolojik ve tarımsal karakterler bakımından değerlendirilmiştir. Ayrıca IMI herbisit uygulamasından 7, 14 ve 21 gün sonra klorofil ölçümü yapılmıştır. Bu ölçümler her bitkide ve kontrol grubunda (hiç ilaç uygulanmamış) ayrı ayrı belirlenmiştir. Klorofil ölçümlerinin ardından 10. ve 20. günlerde alınan yaprak örneklerinde lizin, izolösin, valin amino asitlerinin herbisitlere dayanıklılıkla ilişkisi ile toleranslı ve hassas bitkilerde AHAS ya da ALS enzimleri belirlenmiştir.

Sera denemesi Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tohumculuk ve Tarımsal Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Antalya seralarında yürütülmüştür. Serada ana ve baba bitkilerde, seçtiğimiz IMI grubu herbisitinin ön denemesi yapılmıştır. Dört ayrı saksıya ana ve babadan üçer tane tohum ekilmiştir. Bitkiler fide dönemine geldiği zaman her genotipten bir saksı kontrol olarak ayrılmıştır. Diğer üç saksının birine önerilen dozun yarısı (10 ml/da), önerilen dozda (20 ml/da) ve önerilen dozun iki katı (40 ml/da) oranında 100 g/L Imazethapyr etkili maddeli herbisit uygulaması yapılmıştır. İlaç uygulamasından sonraki 7. 14. ve 21. günlerde bitkilerdeki değişiklikler gözlemlenmiştir ve klorofil ölçümleri yapılmıştır. Seraya fidelikte çimlendirilen nohut anaçları, melez hatlar (F₁, F₂), ve geri melez hatları (BC₁) dikilmiştir. Dikilen F₁ bitkilerinden bir sıraya fide döneminde önerilen dozda (20 ml/da) 100 g/L Imazethapyr etkili maddeli herbisit uygulaması yapılmıştır. Uygulamadan sonra nohutlar herbisite tolerans için 1–3 skalası üzerinden değerlendirilmiştir. Diğer genotipler normal büyüme ve gelişme periyodunu tamamlamıştır. Serada yetiştirilen tüm hatlar fenolojik, morfolojik ve tarımsal karakterler bakımından değerlendirilmiştir. İlaç uygulanan genotiplerde uygulamanın 7., 14. ve 21. günlerinde klorofil ölçümü yapılmıştır. İlaç uygulanmayan bitkilerde de aynı şekilde klorofil ölçümü yapılmıştır. İlaç uygulanan bitkilerde klorofil ölçümlerinin ardından 10. ve 20. günlerde alınan yaprak örneklerinde de lizin, izolösin, valin amino asitleri ve AHAS ya da ALS enzimleri toleranslı ve hassas bitkilerde belirlenmiştir. F₁ bitkilerinde melez azmanlığı ya da heterosis (%) belirlenmiştir. Ayrıca bitkide bakla ve dane sayısı ile biyolojik verim ve dane verimi için heterobeltiosis (%) saptanmıştır. F₂ bitkilerinde türler arası melezlemeler yapıldığı ve melezlemede mutant bitkiler kullanıldığı için verim ve verim kriterleri bakımından yoğun olarak transgresif açılımlar belirlenmiştir.

F₁ bitkilerine yabancı ot ilacı uygulamasından sonara bu bitkilerin tamamı öldüğü için IMI dayanıklılıkta rol oynayan gen veya genlerin resesif olduğu sonucuna varılmıştır. F₂ ve geri melez bitkilerdeki IMI toleranslı ya da IMI hassas kontrol eden genlerin stoplazmada değil, hücrede bulundukları sonucuna varılmıştır. IMI dayanıklılığının poligenik olduğu belirlenmiştir. AHAS enzimi, IMI toleranslı nohutlarda, hassaslara göre daha yüksek bulunmuştur. IMI toleranslı nohutlarda klorofil miktarı kontrol grubuna yakın bulunmuştur. IMI hassas bitkilerde ise klorofil miktarında azalma belirlenmiştir. IMI dayanıklı bitkilerde lizin, izolösin ve valin amino asitleri hassas bitkilere oranla daha yüksek bulunmuştur. Bitkilerdeki AHAS seviyesiyle markör destekli seleksiyonun (MAS) kolay bir şekilde yapılabileceği kanısına varılmıştır.

ANAHTAR KELİMELELER: AHAS, ALS, *Cicer arietinum*, *Cicer reticulatum*, herbisite tolerans, imidazolinone, izolösin, lizin, Nohut, valin, yabancı ot kontrolü

JÜRİ: Prof. Dr. Cengiz TOKER (Danışman)
Prof. Dr. Salih ÜLGER
Prof. Dr. Bülent UZUN
Prof. Dr. Erkut PEKŞEN
Prof. Dr. Ercan CEYHAN

ABSTRACT

INHERITANCE FOR RESISTANCE TO HERBICIDES (IMIDAZOLINONE) IN CHICKPEA (*Cicer arietinum* L.)

Fatma Öncü CEYLAN BALOĞLU

PhD Thesis in Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Cengiz TOKER

January 2017, 111 pages

One of the most important biotic stress factors which limit the chickpea (*Cicer arietinum* L.) production in the world is weeds. Weeds are one of the widespread problems for both winter and early spring-sown chickpeas. Weeds cause up to 98% loss of yield in winter sown chickpea fields. Even the weeds can be controlled by cultural, biological and chemical methods, cultural methods are the best ones to protect the environment. Nevertheless, cultural methods like rooting the weeds and grubbing up by hand are expensive applications especially in wide areas due to increasing labour costs in chickpea grower countries. Instead of these, there are variety of herbicides that can be used as pre-sowing, pre-emergence and post-emergence. First two of the applications are not effective to control weeds which germinate later and chickpea is adversely affected by post-emergence herbicides. One of the most effective methods to control the weeds is to use imidazolinone (IMI) tolerant varieties. There have been efforts to find out IMI tolerant varieties by altering acetohydroxyacid synthase (AHAS) enzyme using mutation breeding and classical breeding methods. By using mutation breeding, a special mutant of *Cicer reticulatum* Ladiz. which can be easily crossed with the cultivated chickpea has been found which is tolerant against imidazolinone (IMI).

In this study, it is aimed to: (i) intrograte IMI-tolerant gene(s) from *Cicer reticulatum* Ladiz. into the cultivated chickpea, (ii) determine the heritability of herbicide tolerance, (iii) compare with AHAS or ALS (acetolactate synthase) enzymes and (iv) some amino acids in IMI-susceptible and IMI-tolerant chickpea genotypes. This project consists of two parts as field and greenhouse trials. Field trial which was conducted in ecological conditions of Antalya in which Department of Field Crops, Bati Akdeniz Agricultural Research Institute (BATEM), Ministry of Food Agriculture and Live Stock, located at Aksu, Antalya. *Cicer arietinum* L. (ACC 1054) (♀), the mutant of *C. reticulatum* (AWC 611HR) (♂) and F₁ and F₂ obtained from these parents and BC₁ (ACC 1054 x F₁ ve F₁ x AWC 611HR) plants were used as plant materials. Herbicide with ai (active ingredient) of 100 g Imazethapyr (Pursuit®, BASF) was applied as suggested dose of 20 ml/da during seedling stage. After the application, chickpeas were evaluated for their phenological, morphological and agricultural traits according to 1-3 Scale (1=Tolerant and 3=Susceptible). Also, chlorophyll amounts were measured 7, 14 and 21 days after IMI herbicide application. These measurements were determined separately for each plant and control group (no herbicide application). 10 and 20 days after chlorophyll measurements, the relation between lysine, isoleucine, valine amino acids and resistance against herbicides and AHAS and ALS enzymes were determined for tolerant and susceptible plants by taking leaf samples.

Greenhouse trial was conducted in ecological conditions at Akdeniz University Seed Growing and Agricultural Biotechnology Research and Application Center, Antalya. Pre-trials of selected IMI group herbicide was completed on parent plants in greenhouse. Three seeds of parents were sown in each of four pots. One pot was reserved from each genotype as control when the plants reached seedling stage. Herbicide with 100 g/L Imazethapyr active matter was applied as the half of the suggested dose (10ml/da), suggested dose (20ml/da) and two times of the suggested dose (40ml/da) to one each of three remaining pots. 7, 14 and 21 days after the application, changes at the plants were observed and chlorophyll amounts were measured. Chickpea parents, hybrids (F₁, F₂) and back crosses (BC₁) which were germinated at the nursery were transplanted in the greenhouse. Herbicide with 100 g/L Imazethapyr ai was applied to the one row of sown F₁ plants at suggested dose of 20 ml/da. After the application, chickpeas were evaluated for tolerance against the herbicide according to 1-3 scale (1= Tolerant and 3= Susceptible). Other genotypes completed their normal growth and development periods. All the plant materials grown in the greenhouse were evaluated for their phenological, morphological and agricultural traits. 7, 14 and 21 days after the application, chlorophyll amounts of the treated genotypes were measured. Similarly, chlorophyll amounts of the untreated genotypes were also measured. 10 and 20 days after chlorophyll measurements, the relation between lysine, isoleucine, valine amino acids and resistance against herbicides and AHAS and ALS enzymes were determined for tolerant and susceptible plants by taking leaf samples. Because of interspecific breeding, hybrid vigour or heterosis (%) was determined at F₁ plants. Besides, heterobeltiosis (%) was detected for number of pods and seeds per plant and biological yield and seed yield. Because of interspecific breeding and using mutant plants for breeding F₂ plants, intensive transgressive segregations were detected by the means of yield and yield criterias.

In the light of gathered findings; it is determined that the genes related with IMI resistance can be intrograte into the cultivated chickpea by hybridizations. As all of the F₁ plants died after herbicide application, it is concluded that the gene or genes playing role in IMI tolerance were recessive. It is also determined that IMI resistance is polygenic by concluding that the genes controlling the divergences (IMI tolerant or IMI susceptible) of F₂ and back crossed plants were located in the nucleus instead of the cytoplasm. AHAS enzyme was found to be higher in IMI tolerant chickpeas compared to the susceptible ones. Amount of chlorophyll was found to be similar in IMI tolerant chickpeas compared to the control group. In contrast, decrease of chlorophyll amount was detected in IMI susceptible plants. Lysine, isoleucine and valine amino acids were found to be higher at IMI resistant plants compared to susceptible ones. According to the findings; it is surmised that marker assisted selection (MAS) can be easily done with the AHAS level of the plants.

KEYWORDS: AHAS, ALS, Chickpea, *Cicer arietinum*, *Cicer reticulatum*, herbicide tolerance, imidazolinone, isoleucine, lysine, valine, weed control

COMMITTEE: Prof. Dr. Cengiz TOKER (Supervisor)
Prof. Dr. Salih ÜLGER
Prof. Dr. Bülent UZUN
Prof. Dr. Prof. Dr. Erkut PEKŞEN
Prof. Dr. Prof. Dr. Ercan CEYHAN

ÖNSÖZ

Dünyada nohut yetiştirilen alanlardaki özellikle de kışlık ve erken yazlık nohut ekim alanlarında çözülmemiş en önemli problemlerden biri yabancı otlardır. Nohudun gelişiminin erken dönemlerinde yabancı otlarla rekabeti diğer birçok bitki türüne göre zayıftır. Bundan dolayı, nohut yabancı otlara daha duyarlıdır. Yabancı otlar nohut bitkisinin gelişimin ilk evrelerinde kontrol edilmezse, yabancı otlar ürünü azaltmaktadır. Yabancı otlardan dolayı meydana gelen ürün kaybı % 40-90 olarak rapor edilmiştir. Yabancı otlar mekanik yöntemlerle ve ayrıca elle çekilerek (yolunarak) kontrol edilebilmelerine rağmen, bu yaklaşımlar; zaman alıcı, geniş alanlarda uygulanması zor ve pahalı yöntemlerdir. Kimyasal yöntemlere gelince, farklı ülkelerde yabancı ot kontrolü için ve bitki toleransı için kullanılan birçok yabancı ot ilacı (herbisit) bulunmaktadır. Kimyasal yabancı ot ilaçları ekim öncesi, çıkış öncesi ve çıkış sonrası kullanılmaktadırlar. Ekim öncesi ve çıkış öncesi kullanılan yabancı ot ilaçları sınırlı yabancı ot kontrolü yaptıkları için çıkış sonrası uygulanan yabancı ot ilaçları önem kazanmaktadır. Çıkış sonrası kullanılan bazı yabancı ot ilaçları ise bitkiye zarar (toksik etki) vermektedir.

Yabancı ot ilaçlarına toleranslı olarak dünya çapında tanıtımı yapılan bitkiler olmakla birlikte, bunlar genelde genetiği değiştirilmiş organizmalardır (GDO). GDO bitkiler Glyphosate dayanıklıdır. GDO dışında geleneksel ıslah yöntemleri kullanılarak da imidazolinone (IMI) grubu herbisitlere dayanıklı bitkiler ortaya çıkarılmıştır. Geleneksel yöntemler kullanılarak birçok bitki türünde IMI'a dayanıklı ticari çeşit geliştirilmiştir. Bu çeşitler GDO değildir. Bu çalışmanın amacı; çıkış-sonrası kullanılan herbiside (IMI) dayanıklı nohut genotiplerini, melez hatları gözlemlemek ve IMI-toleranslılığın kalıtımını belirlemektir. Böylece elde edilen toleranslı hatların ıslah programlarında kullanılıp kullanılamayacağı, bilime ve insanlığa faydası olması ve bundan sonraki çalışmalara ışık tutması amaçlanmıştır.

Bu tez çalışması 2011–2015 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümünde Prof. Dr. Cengiz TOKER danışmanlığında yürütülmüştür. Araştırmanın genetik materyalini sağlayan, çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda engin fikirleriyle, tecrübesiyle yetismeme ve gelişmeme katkıda bulunan danışman hocama sevgi, saygı ve şükranlarımı sunarım.

Bu çalışmada tez izleme komitesinde yer alarak olumlu-olumsuz eleştirileri, katkı ve önerileriyle bana her zaman destek olan Sayın Prof. Dr. Salih ÜLGER'e (Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü), Sayın Prof. Dr. Bülent UZUN'a (Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü), Sayın Yrd. Doç. Dr. Cengiz İKTEN'e (Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü) teşekkür ederim. Tez jürisinde bulunarak yaptıkları düzeltmeler ve katkılardan dolayı Sayın Prof. Dr. Erkut PEKŞEN (Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü) ve Sayın Prof. Dr. Ercan CEYHAN'a (Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü) teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmada; Tarla Bitkileri Uygulama ve Araştırma arazisini kullanımına açan Ziraat Fakültesi dekanlığına, Tarla Bitkileri Bölüm Başkanlığına, bu çalışmayı

maddi olarak destekleyen Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine, denemenin bir kısmını yürüttüğüm Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM) Tarla Bitkileri Bölümüne, BATEM’de yürüttüğüm tarla denemelerinde yardımlarına esirgemeyen Dr. Cengiz ERDURMUŞ’a (Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü), analizlerin yapımında ve toprak örneklerinin değerlendirilmesi sırasında tecrübeleriyle beni yönlendiren Dr. Işın KOCABAŞ OĞUZ’a, analizlerim sırasında her aşamada yanımda olan, bana labarotuvanlarını açan ve bilgilerini-tecrübelerini sonuna kadar paylaşan Gıda Yük. Müh. Fidan-Mert KARAOĞLAN çiftine ve adını zikredemediğim çalışma arkadaşlarıma ve tüm dostlarıma teşekkür ederim.

Öğrenciliğim ve tüm hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen, tez yazım aşamamda gece gündüz yanımda olan canım annem Gülnihal CEYLAN’a, benim huzurum ve bir tebessümüm için sağlığını hiçe sayan, bilgileriyle ve engin görüşleriyle beni aydınlatan sevgili babam Murat CEYLAN’a katkılarından dolayı sevgi, saygı ve şükranlarımı sunarım. Ayrıca, çalışmalarım sırasında her zaman yanımda olan, beni anlayışla karşılayan ve destekleyen, sevgi ve ilgisiyle bir ömür yanımda olacak sevgili eşim ve meslektaşım Zir. Yük. Müh. Güney Hikmet BALOĞLU’na, zaman zaman çalışmalarımın dolaylı ihmal ettiğim canım kızlarım Nurgün Doğa BALOĞLU’na ve Ada BALOĞLU’na sevgi ve minnetterliliğimi sunmak benim için bir onurdur.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI	4
2.1. Nohut.....	4
2.1.1. Nohutun sistematigi.....	4
2.1.2. Kökeni.....	5
2.1.3. Botanik özellikleri.....	6
2.1.4. Kimyasal bileşimi.....	9
2.1.5. Dünyada ve Türkiye’de ekiliş, üretim, verim ve ticareti.....	10
2.2. Nohutta Yabancı Otlar ve Mücadelesi.....	13
2.3. İmidazolinone Herbisitler.....	17
2.4. İmidazolinone Herbisitlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	18
2.5. İmidazolinone Herbisitlerin Etki Mekanizmaları.....	18
2.6. Herbisit-Asetohidroksiasit Sentez Etkileşimi.....	19
2.7. Asetohidroksiasit Sentez’in Biyokimyası ve Moleküler Biyolojisi.....	19
2.8. Dayanıklılık/Tolerans Mekanizmaları.....	19
2.8.1. Metabolizma-tabanlı dayanıklılık.....	20
2.8.2. Hedef bölge dayanıklılığı.....	21
2.8.3. Absorbsiyon ve translokasyon (yer değiştirme).....	22
2.9. AHAS’ın Bitkilerde Katalitik Fonksiyon ve Geribesleme Regülasyonu (Düzenlemesi).....	22
2.10. AHAS Enziminin Yapısı.....	24
2.11. Bitki Asetohidroksiasit Sentez Genlerinin Moleküler Karakterizasyonu.....	25
2.12. Enzim Düzeyinde AHAS Dayanıklılığının Araştırılması: Bir <i>in vitro</i> Analiz.....	26
2.13. İmidazolinone Dayanıklı Bitkilerin Agronomik Performansları.....	27
2.14. Mutasyon İslahı Çalışmaları.....	28
2.15. Bitkilerde IMI-Dayanıklılık Çalışmaları.....	30
2.16. IMI Dayanıklılıkta AHAS-ALS Enziminin Rolü.....	34
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	39
3.1. Materyal.....	39
3.1.1. Denemelerde kullanılan bitki materyalleri.....	39
3.1.2. IMI-uygulamalarının yürütüldüğü yerler	42
3.1.3. Deneme yerinin iklim özellikleri.....	42
3.1.4. Deneme yerinin toprak yapısı ve analiz sonuçları.....	44
3.1.4.1. Tarla denemesi.....	44
3.1.4.2. Sera denemesi.....	45
3.1.4.3. Sera saksı ön denemesi.....	47
3.2. Yöntem.....	48

3.2.1.Bitkilerin yetiştirilmesi.....	48
3.2.1.1. Tarlada bitkilerin yetiştirilmesi.....	48
3.2.1.2. Serada bitkilerin yetiştirilmesi.....	51
3.2.1.3. Sera saksı ön denemesi.....	54
3.2.2. Kullanılan yabancı ot ilacı ve uygulama dozları	56
3.2.3. IMI-dayanıklılık için fenotipleme	58
3.2.4. Arazide ve serada ölçülen diğer özellikler.....	58
3.2.5. Analizler için yaprak örneklerinin alınması.....	60
3.2.6. Amino asit analizleri.....	60
3.2.7. AHAS enzimi ölçümleri	61
3.2.8. İstatistiksel Analiz Yöntemleri.....	62
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	63
4.1. Denemeden Elde Edilen Melezler.....	63
4.2. F ₁ Bitkilerinde Melez Azmanlığı	65
4.3. Klorofil Miktarları.....	68
4.4. Aminoasit Miktarları.....	70
4.5. AHAS Miktarları.....	73
4.6. IMI Dayanıklılığın Kalıtımı.....	75
5. SONUÇ.....	80
6. KAYNAKLAR.....	81
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

N: Azot
P: Fosfor
K: Potasyum
Ca: Kalsiyum
Mg: Magnezyum
Na: Sodyum
Fe: Demir
Zn: Çinko
Mn: Mangan
Cu: Bakır
 μ : Mikro
mg: Mili gram
g: Gram
Kg: Kilo gram
dS: Desi simens
%: Yüzde
°C: Santigrat derece
cm: Santi metre
mm: Mili metre
m²: Metre kare
CaCO₃: Kalsiyum karbonat
NO₃: Nitrat
 α : Alfa (alpha)
 β : Beta
 γ : Gama
 δ : Delta

Kısaltmalar

AHAS: Acetohydroxyacid Synthase
ALS: Acetolactate Synthase
BATEM: Gıda Tarım ve Hayv. Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü
BC1(Back cross 1)
DES: Dietil sülfat
EC: Elektriksel kondaktivite (Tuzluluk)
EMS: Etil metan sülfonat
ENU:N-etil-N-Nitrosüre
FAO: Food and agriculture Organization
GDO: Genetiği değiştirilmiş Organizma
IAEA: International Atomic Energy Agency
IMI: Imidazolinone
Mak: Maksimum
MAS: Markör destekli seleksiyon
Min: Minimum
Ort: Ortalama
Öd: Önemli değil
pH: Hidrojenin gücü (Power of Hydrogen)
Ss: Standart sapma
TSE: Türk Standardları Enstitüsü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Koçbaşı, kuşbaşı ve bezelyemsi (yuvarlak) nohutlar.....	6
Şekil 2.2. Kültür nohutlarında yaprak şekilleri (1. Çok parçalı, 2. Basit ve 3. Normal).....	7
Şekil 2.3. Nohutta farklı çiçek rengi, antosiyanin ve tüylülük.....	8
Şekil 2.4. Meyve bağlanma noktasındaki çıkıntı ve çift bakla.....	9
Şekil 2.5. Imidazolinone herbisitlerinin kimyasal yapısı.....	18
Şekil 2.6. Dallı zincir amino asitleri valin, lösin ve izolösin'in biyosentetik metabolik yolunun BCAA biyosentezinde görev alan çeşitli enzimleri gösteren genellemesi.....	23
Şekil 2.7. EMS'den bir alkil grubunun ilgili bazlara verilmesi ile Guaninin O-6 –ethylguanine ve timinin O-4-ethylthymine dönüşümü. Alkilleştirilen baz analogları, guanin ve sitozin ile timin ve adenin arasındaki normal baz çifti çekimini aksatırlar.....	29
Şekil 2.8. Dallanmış amino asitler (Soldan sağa: Lisin, İzolisin ve Valin).....	34
Şekil 2.9. Dallanmış zincirli aminoasit sentezinin izyolu. Kullanılan kısaltmalar: TD, treonin deaminaz; KARI, ketol-asit redüktoizomeraz; DH, dihidroksiasit dehidrataz; TA, transaminaz; IPMS, 2-izopropilmalat sentaz; IPMI, izopropilmalat izomeraz; IPMD, 3-izopropilmalat dehidrojenaz.....	36
Şekil 3.1. Melezlemede kullanılan materyaller.....	39
Şekil 3.2. Arazide yapılan melezleme çalışmaları.....	40
Şekil 3.3. <i>Cicer arietinum</i> L. (♀) x <i>C. reticulatum</i> Ladiz. (♂) melezi.....	40
Şekil 3.4. ACC 1054 ♀ (<i>C. arietinum</i> L.) ve AWC 611HR ♂ (<i>C. reticulatum</i> mutant) tohumu ve baklaları AWC 611HR.....	41
Şekil 3.5. ACC 1054 X AWC 611HR melezlerinden elde edilen tohumlar ve baklaları (F ₁ generasyonu).....	41
Şekil 3.6. Ana (solda), baba (ortada) ve melez (sağda).....	41
Şekil 3.7. Tarla denemesinin bitki yetiştirme dönemine ait iklim verileri.....	43
Şekil 3.8. Sera denemesinin bitki yetiştirme dönemine ait iklim verileri.....	43
Şekil 3.9. Fidelikte çimlendirilen nohut bitkileri (AWC 611HR ♂).....	48
Şekil 3.10. Fidelikte çimlendirilmiş fideler.....	49
Şekil 3.11. Tarla denemesinden genel görüntü.....	49
Şekil 3.12. Fide dönemindeki melezlerin arazideki görünümü.....	50
Şekil 3.13. Fide dönemindeki geri melezler (BC ₁).....	50
Şekil 3.14. Fide döneminde F ₁ hatları.....	51
Şekil 3.15. Melez bitki (solda) ve baba bitki (sağda).....	51
Şekil 3.16. Viyollerde çimlendirilen F ₂ bitkileri (sol) ve anaçlar (sağ).....	52
Şekil 3.17. Yerleşkede sera toprağına dikilen materyallerin fide dönemi (F ₁ , BC ₁ , F ₂ ve anaçlar).....	53
Şekil 3.18. Serada IMI dayanıklı geri melez, [AWC 611M x F ₁], ana ve baba (sol ve soldaki sıranın devamı), BC ₁ [F ₁ x ACC 1054] (orta sıra), ve F ₂ bitkileri sıraları (sağ sıra).....	53
Şekil 3.19. Seranın çiçeklenme dönemi genel görüntüsü.....	54
Şekil 3.20. Saksıdaki ACC 1054 bitkileri.....	55
Şekil 3.21. Saksıdaki AWC 611HR bitkileri.....	55
Şekil 3.22. Farklı ilaç dozlarının ana bitkilere etkisi (1. Önerilen dozun yarısı	56

(10 ml/da), 2. Önerilen dozda (20 ml/da), 3. Önerilen dozun iki katı (40 ml/da)).....	
Şekil 3.23. Farklı ilaç dozlarının baba bitkilere etkisi.....	56
Şekil 3.24. Yabancı ot ilacı uygulamasından sonra bitkide oluşan hasar.....	57
Şekil 3.25. İlaç uygulanan ve uygulanmayan F ₂ bitkilerinin seradaki görünümü..	57
Şekil 3.26. Serada IMI herbisit uygulamasından sonra hassas (sağdaki bitki) ve toleranslı (soldaki bitki) F ₂ bitkileri.....	58
Şekil 3.27. Minolta spad 502 klorofilmetre.....	60
Şekil 3.28. Acetoin kurvesi [x eksenini acetoin (µmol) ve y absorbans].....	61
Şekil 3.29. BSA kurvesi [x eksenini acetoin (µmol) ve y absorbans].....	62
Şekil 4.1. Melezlemede kullanılan ve yanıklık hastalığına yakalanan materyaller	63
Şekil 4.2. Ana (ACC 1054), ACC 1054 x AWC 611M ve baba bitki (AWC 611M) (Soldan sağa).....	64
Şekil 4.3. Heterosis (%) değerleri.....	66
Şekil 4.4. Heterobeltiosis (%) değerleri.....	67
Şekil 4.5. IMI herbisit uygulaması yapıldıktan 7 gün sonraki klorofil miktarı. Veriler ortalama ± standart hata şeklindedir.....	68
Şekil 4.6. IMI herbisit uygulaması yapıldıktan 14 gün sonraki klorofil miktarı. Veriler ortalama ± standart hata şeklindedir.....	69
Şekil 4.7. IMI herbisit uygulaması yapıldıktan 21 gün sonraki klorofil miktarı. Veriler ortalama ± standart hata şeklindedir.....	69
Şekil 4.8. IMI herbisitine hassas ACC 1054 ve dayanıklı AWC 611HR genotiplerinde herbisit uygulamasından 10 gün önce ve sonra valin, izolösin ve lösin içerikleri.....	71
Şekil 4.9. IMI herbisitine hassas ACC 1054 ve dayanıklı AWC 611HR genotiplerinde herbisit uygulamasından 10 gün önce ve sonra ölçülen diğer aminoasitlerin içerikleri.....	71
Şekil 4.10. IMI herbisitine hassas ACC 1054 ve dayanıklı AWC 611HR genotiplerinde herbisit uygulamasından 10 gün önce ve sonra toplam aminoasit içerikleri.....	72
Şekil 4.11. IMI herbisitine hassas ACC 1054 ve dayanıklı AWC 611HR genotiplerinde herbisit uygulamasından 20 gün sonra valine, isoleucine ve leucine içerikleri.....	72
Şekil 4.12. IMI herbisitine hassas ACC 1054 ve dayanıklı AWC 611HR genotiplerinde herbisit uygulamasından 20 gün önce ve sonra ölçülen diğer aminoasitlerin içerikleri.....	73
Şekil 4.13. IMI herbisitine hassas ACC 1054 ve dayanıklı AWC 611HR genotiplerinde herbisit uygulamasından 20 gün sonra toplam aminoasit içerikleri.....	73
Şekil 4.14. Ana, baba ve F1 bitkilerinde AHAS (mmol/saat) aktivitesi.....	75
Şekil 4.15. Ana, baba ve F1 bitkilerinde AHAS miktarı (mg).....	75
Şekil 4.16. F2 generasyonunda bitkilerin dağılımı.....	77

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Nohutun sistematığı.....	4
Çizelge 2.2. Nohut türlerine ilişkin gen havuzları.....	5
Çizelge 2.3. Ülkemizde yetiştirilen tescilli nohut çeşitleri.....	11
Çizelge 3.1. Melezlemelerde kullanılan ana ve baba hatlar.....	39
Çizelge 3.2. Yerleşkede saksılarda, sera toprağında ve BATEM tarlasında ekilen ana, baba, F ₁ , F ₂ ve BC ₁ bitkileri.....	42
Çizelge 3.3. Tarla denemesi alanının toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	45
Çizelge 3.4. Sera denemesi alanının toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	47
Çizelge 3.5. Sera saksı denemesi için alanının toprak örneklerinin fiziksel ve Kimyasal özellikleri (Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümüne ait 2 nolu parsel).....	47
Çizelge 4.1. Yapılan melezlemelerden elde edilen tohum sayıları.....	63
Çizelge 4.2. Serada yapılan melezlemeler ve elde edilen melez tohum sayısı.....	64
Çizelge 4.3. Ana, baba ve F ₁ bitkilerinde ölçülen özelliklere ait tanımlayıcı istatistikler.....	65
Çizelge 4.4. Herbisit uygulamasından sonra gözlenen ve beklenen değerler.....	76

1. GİRİŞ

Yemeklik baklagiller, yeterli ve kaliteli beslenmede besin değeri yönünden zengin oldukları için önemli bir yer almaktadır. Yemeklik baklagillerin kuru daneleri bileşiminde % 18-36 protein içerir ve bu proteinlerin sindirilme dereceleri oldukça yüksektir. Aynı zamanda vitamin (A, B, C, D) ve mineral maddelerce (fosfor, potasyum, kalsiyum ve demir) zengin olup, beslenme için mutlak gerekli amino asitler yönünden tahıllara göre daha üstündür. Dünyada insan beslenmesindeki bitkisel proteinin % 22'si, karbonhidratların % 7'si; hayvan beslenmesindeki proteinlerin % 38'i ve karbonhidratların % 5'i yemeklik baklagillerden sağlanmaktadır (Wery ve Grinac 1983). İnsan ve hayvan beslenmesindeki faydalarının yanı sıra, baklagiller yetiştirildiği bölgelerde toprakların verimliliklerini arttırmırlar. Baklagillerin *Rhizobium* bakterileriyle toprağa bağladıkları azot miktarı çeşide ve çevre koşullarına göre değişmektedir. Genel olarak yılda 5-20 kg/da azot bağlarlar. Ortalama 10 kg/da olarak kabul edildiğinde % 21'lik amonyum sülfat gübresinden 50 kg'a karşılık gelmektedir (Azkan 1999).

Nohut (*Cicer arietinum* L.) Uzak ve Yakın Doğu, Afrika ve Akdeniz Ülkelerinde binlerce yıldan bu yana bilinen, insan ve hayvan beslenmesinde kullanılan önemli bir yemeklik baklagil bitkisidir. Yemeklik baklagiller içerisinde önemli bir yere sahip olan nohut, FAO 2014 yılı rakamlarına göre, dünyada yaklaşık 14 milyon ha alanda yetiştirilmekte ve 13,7 milyon ton üretilmektedir (FAOSTAT 2016a). Nohut yemek yapılarak tüketildiği gibi leblebi olarak da daha kolay ve hızlı tüketimi sağlanmaktadır. Nohut kuru tanelerinde % 38,1 -73,3 karbonhidrat, % 16,4-31,2 protein, % 1,5-6,8 yağ, % 1,5-9,0 selüloz bulunmaktadır. Nohut yemeklik baklagiller içinde yağ oranı açısından en zengin türlerden biridir. İçeriğindeki proteini özellikle lizin, lösin ve izolösin, fenilalin, tirosin ve valin gibi insan beslenmesinde önemli rol oynayan amino asitlerce zengin, fakat sistin, metionin, triptofan yönünden fakirdir (Şehirli 1988).

Nohut Türkiye'de 388,518 ha ekim alanı, 450,000 t üretim ve 1158 kg ha⁻¹ verimiyle yemeklik baklagiller arasında ilk sırayı almaktadır (FAOSTAT 2016a). Ayrıca, FAO 2013 rakamlarına göre, nohut baklagiller arasında ihracat miktarı (1,629,915 t) ve değerine (1,152,295 bin \$) göre en önemli ürünlerden biridir (FAOSTAT 2016b).

Nohut ekim alanlarında görülen en büyük problemlerden biri yabancı ot sorunudur (Solh ve Pala 1990). Sulanan nohut alanlarında da yabancı otlar büyük bir problemdir (Lyon ve Wilson 2005). Nohut, gelişiminin erken dönemlerinde yabancı otlarla rekabeti zayıftır ve yabancı otlara çok duyarlı bir bitkidir. Yabancı otlar nohut bitkisinin gelişiminin ilk evrelerinde kontrol edilmezse, ürün azaltmaktadır (Yenish 2007). Nohutta yabancı otlardan dolayı % 40-90 verim kaybı görülmektedir (Bhan ve Kukula 1987). Bu kayıp, kışlık nohut ekiminde % 98'e ulaşmaktadır (Solh ve Pala 1990). Yabancı otlardan kaynaklanan verim kaybı yabancı otların yoğunluğuna, yabancı ot türüne, yazlık-kışlık ekime ve sulama durumuna göre değişmektedir (Bhan ve Kukula 1987, Solh ve Pala 1990, Ramakrishna vd 1992, Chopra vd 2003, Mohammadi vd 2005).

Yabancı otlar genel olarak koruyucu, kültürel, mekaniksel, biyolojik ve kimyasal yöntemlerle kontrol edilebilirlerse de (Bhan ve Mishra 1997, Yaduraju ve Mishra 2004, Yenish 2007), çevreyi en iyi koruyan yöntem kültürel önlemlerden elle yabancı ot temizliğidir (Yeğen 1993, Bond ve Grundy 2001). Elle yabancı ot kontrolü, zaman alıcı, geniş alanlarda uygulaması zor ve hatta nohut yetiştiriciliği yapılan ülkelerde işgücünün pahalı olmasından dolayı uygulanması zor bir yöntemdir (Young vd 2000).

Kimyasal yöntemlere gelince, farklı ülkelerde yabancı ot kontrolü için birçok herbisit kullanılmaktadır. Kimyasal herbisitler ekim öncesi, çıkış öncesi ve çıkış sonrası kullanılmaktadırlar (Mahoney 1981, Mahoney 1984, Malik vd 1982, Dhingra vd 1982, Bhan ve Kukula 1987, Calcagno vd 1987, Auld vd 1989, Kumar vd 1989, Bhan ve Mishra 1997, Kantar vd 1999, Malik vd 2001, Singh vd 2003, Yenish 2007). Nohutta herbisit kullanılmasıyla yabancı otların çoğunlukla kontrol altına alınabildiği ve dane veriminde artış sağlandığı bildirilmiştir (Şehirali 1988, Sepetoğlu 2002). Herbisitlerle yabancı ot kontrolü yabancı ot kontrolü yapılmayan (otlu) kontrollere göre verim artışı sağlamaktadır. Ekim-öncesi ve çıkış-öncesi kullanılan yabancı ot ilaçları ekimden sonra çimlenen ve gelişen yabancı otları sınırlı bir şekilde kontrol edebilmektedir. Geniş yapraklı yabancı otlar yeterince kontrol edilememektedir (Yenish 2007). Ekim öncesi ve çıkış öncesi kullanılan herbisitler sınırlı yabancı ot kontrolü yaptıkları için çıkış sonrası uygulanan herbisitler öne çıkmaktadır. Çıkış sonrası kullanılan bazı herbisitler ise nohut bitkisine oldukça toksik etki yapmaktadır (Singh vd 1991, Ceylan ve Toker 2006ab). Toksik olmayan herbisitler ise sınırlı yabancı ot kontrolü yapmaktadırlar (Ceylan ve Toker 2006b).

Singh vd (1991) ICARDA germplasm kaynaklarını ekim ve çıkış-öncesi kullanılan herbisitlere dayanıklılık için gözlemlemişlerdir. Aynı şekilde çıkış-sonrası herbisitlere dayanıklılık için çalışma 256 genotiple Ceylan ve Toker (2006ab) tarafından yapılmıştır. Hem yabani nohutlarda hem de kültür formunda uygulanan herbisitlere dayanıklılık bakımından büyük bir varyasyon olduğu bildirilmiştir (Ceylan ve Toker 2006 ab). Taran vd (2010) 169 desi ve 130 kabulü nohut tipini herbisite imidazilnone (IMI) dayanıklılık açısından tarayarak, 8 hattın 21 gün sonra herbisite dayanıklı olduğunu belirlemişlerdir. Gaur vd (2013) 300 farklı nohut genotipini çıkış sonrası kullanılan iki farklı herbisite (IMI) dayanıklılık için gözlemlemişler ve 16 dayanıklılık kaynağı belirlemişlerdir. GDO olmayan ve aynı zamanda belli grup yabancı ot ilaçlarına dayanıklı bitkiler de vardır. Geleneksel ıslah yöntemleriyle de IMI, sulfonilurea (SU) ve metribuzin grubu yabancı ot ilaçlarına dayanıklı bitkiler de elde edilmiştir (Tan vd 2005, Si vd 2010). Geleneksel ıslah yöntemlerinden mutasyon ıslahı yaklaşımlarıyla geliştirilmiş IMI dayanıklı bitkiler mısır, buğday, çeltik, ayçiçeği ve kanola olarak verilmiştir (Shaner 1999, Tan vd 2005). Mercimek (Fedoruk ve Shirliffe 2011) ve kültürü yapılan nohutta (Taran vd 2010; Thomson ve Taran 2014) IMI dayanıklılık elde edilmiştir. IMI herbisitler imazapyr, imazapic, imazethapyr, imazamox, imazamethabenz ve imazaquin olarak bilinirler ve yabancı otları acetohydroxyacid synthase (AHAS) ya da acetolactate synthase (ALS) olarak bilinen bir enzimi engelleyerek kontrol ederler. AHAS bitkilerde amino asitlerin biyosentezinde rol oynayan kritik bir amino asittir. IMI dayanıklılığını sağladığı bilinen birkaç farklı AHAS geni bitkilerde mutasyon ve seleksiyon ıslahı teknikleriyle ortaya konmuştur (Tan vd 2005).

Bu çalışmada, melez hatlara (*Cicer arietinum* x *Cicer reticulatum*) yabancı ot ilacı uygulanarak, dayanıklılığın kalıtımı ve genetiği araştırılmıştır. F₁, F₂ ve BC₁ generasyonlarında yapılacak ilaçlı testleme ile IMI dayanıklılığın kalıtımı belirlenmeye çalışılmıştır. Yabancı ot ilacına dayanıklı ve hassas bitkilerin seleksiyonundan sonra, nohutta potansiyel biyokimyasal seleksiyon kriterlerini belirlemek için yabancı ot ilacına maruz bırakılan ve yabancı ot ilacı uygulanmayan nohut bitkilerinde lizin, izolösin ve valin amino asitleri ve AHAS-ALS enzimleri gibi bazı biyokimyasal seleksiyon kriterleri belirlenmeye çalışılmıştır.



2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

2.1. Nohut

Nohut (*Cicer arietinum* L.), dünyada ve Türkiye’de çoğunlukla danesi için yetiştirilen tek yıllık bir yemeklik baklagil türüdür. Kültür nohudunun kromozom sayısı $2n=16$ ve genom büyüklüğü 732 Mb olarak bildirilmiştir (Varshney vd 2013).

2.1.1. Nohutun sistematigi

Nohut Magnoliophyta şubesinin, Dicotyledone alt şubesinin Fabales takımının, Fabaceae (Leguminosae) familyasının, Faboideae (Papilionideae) alt familyasının, *Cicer* cinsine ait bir türdür (van der Maesen 1972, 1984, 1987). *Cicer* cinsinin, 9 adet tek yıllık, 40 adet çok yıllık takson (taxa) olmak üzere 49 taksonu olduğu bildirilmiştir. Kültür formu olan *Cicer arietinum* L. tek yıllıktır. (van der Maesen 1987, Dönmez 2011; Öztürk 2013). Çizelge 1’de Nohutun sistematigi verilmiştir (Bakis vd 2011).

Çizelge 2.1. Nohutun sistematigi

Alem	Plantae
Alt Alem	Tracheobionta
Şube	Magnoliophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Alt Sınıf	Rosidae
Takım	Fabales
Familiya	Fabaceae
Cins	<i>Cicer</i>
Tür	<i>Cicer arietinum</i> L.

Muehlbauer (1993) tarafından verilen gen havuzları temel alınarak, kendi aralarında melezlenme durumları dikkate alınmış ve nohutta gen havuzu güncellenmiştir (Toker 2003). Çizelge 2’de verilen gen havuzları arasında *C. arietinum* ile *C. reticulatum* melezleri tamamen fertildir. *C. arietinum* ile *C. echinospermum* melezleri kısmen fertildir ve F_2 generasyonunda oldukça kısır bitkiler olduğu bildirilmiştir (Ladizinsky ve Adler 1976; Jaiswal vd 1986; Ladizinsky vd 1988; Pundir ve Mengesha 1995; Singh ve Ocampo 1997; Gaur ve Gour 2002). *C. arietinum* ile *C. judaicum* (Verma vd 1995) ve *C. arietinum* ile *C. pinnatifidum* (Mallikarjuna 1999) arasında melezlemelerden fidecikler embriyo kurtarma teknikleri yardımıyla elde edilmiştir. Yapılan yoğun çalışmalar *C. arietinum* ile *C. bijugum* arasında yapılan melezlemelerden hibrit fideler elde edildiği bildirilmiştir (Lulsdorf vd 2005, Clarke vd 2006). Yapılan türler arası melezleme çalışmalarının başarısı, kullanılan yabani tür kadar melezlemede kullanılan kültür formu anacın da önemli olduğunu göstermektedir.

Çizelge 2.2. Nohut türlerine ilişkin gen havuzları

Bitki	Birinci gen havuzu	İkinci gen havuzu	Üçüncü gen havuzu
Nohut	<i>C. arietinum</i>	<i>C. judaicum</i>	<i>C. chorassanicum</i>
	<i>C. reticulatum</i>	<i>C. pinnatifidum</i>	<i>C. cuneatum</i>
	<i>C. echinospermum</i>	<i>C. bijugum</i>	<i>C. yamashitae</i>
			<i>Diğerleri</i>

2.1.2. Kökeni

Nohut kültüre alınan en eski kültür bitkilerinden biridir ve muhtemelen Güney-Doğu Anadolu bölgesi ve Suriye'nin Kuzeyindeki bölgeden köken almıştır. Çünkü nohut ile yakın ilişkili türler olan *Cicer bijugum*, *C. echinospermum* ve *C. reticulatum* bahsedilen bölgelerde yaygın olarak bulunmaktadır (van der Maesen 1987). Günümüzden yaklaşık 10.000 yıl önce kültüre alındığı tahmin edilmektedir (Toker 2009) çünkü en eski nohut kalıntıları Kuzey Batı Suriye'de M.Ö. 7560 yılına aittir (Tanno ve Willcox 2006). Nohut antik çağda yaşayan insanlar tarafından Türkiye'de kültüre alınan en eski (Popelka ve Higgins 2007) ve ıslah edilen ilk baklagil bitkisidir (Saxena 1990).

Vavilov (1951), nohut için iki gen merkezi olduğunu; birincisinin Güney-Batı Asya ve Akdeniz bölgesi ve ikincisinin Etiyopya olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, iri daneli nohutların Akdeniz bölgesinden köken aldığını, küçük daneli ve tohum kabuğu renkli olan nohutların doğu bölgelerinden köken aldığını bildirmiştir. Bununla birlikte, büyük tohumlu nohut türlerinin, iki yüzyıl öncesine dayanan ve Kabuli Chana (chana: nohut) adıyla Hindistan'da yetiştirildiğine dair kanıtlar bildirilmiştir (van der Maesen 1972, Singh 1997). Yapılan sitolojik ve genetik çalışmalar nohudun ilkel formunun *Cicer reticulatum* Ladiz. olduğu ve bu yabancı nohudun Güney Doğu Türkiye'den köken aldığı bildirilmiştir (Ladizinsky 1975). Harlan ve de Wet (1971) tarafından önerilen gruplandırmayı temel alan Moreno ve Cubero (1994) *C. reticulatum* Ladiz. türünü kültür formunun bir alt türü olarak değerlendirmişlerdir [*C. reticulatum* subsp. *reticulatum* (Ladiz.) Moreno & Cubero]. Günümüze dek yapılan sitolojik, protein bantları ve DNA parmak izi yöntemleri *C. reticulatum* Ladiz. türünün *C. arietinum* L. türünün bir alt türü olabileceğine işaret etmektedir. Ladizinsky vd (1988) bu türü bir alt tür olarak vermiştir. Morfolojik olarak da *C. reticulatum* Ladiz. kültür formuna çok benzemektedir.

Nohutun ilk kez Ortadoğu'da ıslah edildiğini botanik ve arkeolojik kanıtlar da desteklemiş ve ilk çağlardan bu yana Ortadoğu, Hindistan, Akdeniz Havzası ve Etiyopya'da yaygın olarak kültüre alındığı bildirilmiştir (Duke 1981). Tek yıllık ekilen ve aynı gen havuzunda bulunan *C. reticulatum* Ladizinsky ve *C. echinospermum* P. H. Davis kalıntılarına dayanarak Türkiye'nin güneydoğusu ile Suriye sınırı yakınları olduğu bildirilmiştir (van der Maesen 1987, Muehlbauer ve Tullu 1997). Yapılan karyotip (Ocampo vd 1992), izozim özellikleri (Labdi vd 1996) ve türler arası melezleme (Singh ve Ocampo 1993) ve DNA analizleri çalışmaları da (Ahmad 2000) nohutun kökeninin Türkiye'nin güneydoğusu ile Suriye sınırı yakınları olduğunu desteklemektedir.

Nohut Şili, Peru, Arjantin, Meksika, Amerika ve Avusturalya’da yetiştiriciliği yapılan önemli bir bitkidir. Afganistan, İran, Türkiye ve Orta Asya’da nohutun yabancı türleri yayılış göstermekte olup, bu bölgelerde yetiştiriciliği yapılan önemli bir üründür.

2.1.3. Botanik özellikleri

Tarımı yapılan nohutlar dane şekline göre 3 gruba ayrılmıştır: (i) Desi (Hint dilinde yerel nohut anlamındadır. Çiçek rengi pembe ve mavi tonlarında, daneleri değişik renklerde, daneler küçük ve bitki antosiyanlıdır), (ii) Kabuli (Dane krem renkli ve çiçek renkleri beyaz olan iri daneli nohutlardır) ve (iii) Bezelyemsi (yuvarlak daneli) (Singh 1987; Muehlbauer ve Singh 1987; Singh 1997; Upadhyaya vd 2003). Desi nohut çeşitleri genellikle kısa boyludur (15-60 cm) ve yaprakçıkları küçüktür. Baklalarının içinde genellikle iki adet dane oluşturur. 1000 dane ağırlığı 100-300 g arasında değişmekte olup, daneleri küçük ve düzensiz şekillerdedir. Dane renkleri sarı, yeşil, kahverengi, siyah renklerde olup, dane renkleri çok çeşitlilik göstermektedir. Tohum kabukları kalındır. Dünya üretiminin yaklaşık % 80’i kabuli tipi nohutlardır ve Avusturya, Etiyopya, Hindistan, Afganistan ve İran gibi ülkelerde yaygın olarak yetiştirilmektedir (Leport vd 2006, Kaur vd 2005). Kabuli (İspanyol) tipi nohut çeşitleri daha uzun boyludur (1 m’ye kadar boylanabilir) ve yaprakçıkları daha büyüktür. Çiçek rengi beyazdır. Baklalar içinde genellikle tek dane oluşur. Olgunlaşan bakla daneleri çok iri, daha düzgün, koçbaşı şeklinde olup, krem rengi ya da beyaz renktedir. Tohum kabukları daha ince olup, 100 dane ağırlığı ortalama 40-60 g’dır (Babaoğlu 2003).



Şekil 2.1. Koçbaşı, kuşbaşı ve bezelyemsi (yuvarlak) nohutlar

Kültürü yapılan nohut ilk bakışta göze batan bir şekilde 20-60 cm (100 cm) boylanabilen çiçeğin taç yaprakları ve kökü dışında tüm bölgeleri tüylü ve tüycükleri özel bir salgı üreten tek yıllık bir türdür. Bitkideki bu salgı temelde oksalik asit, malik

asit, süksinik asit, quinic asit ve citrik asitten ibarettir. Bu salgı tadılınca tuzlu bir tat verir. Gövdesi yassı ve sağlam, enine kesiti hafif dört köşeli bir görünüm arz eder. Gövde dik, yatık ya da yarı yatık formlarda az ya da çok dallanır (Knights 1993).

Yapraklar genellikle bileşik yaprak şeklinde, yaprak uçları dişli yaprakçıktan ibaret olup bitkide alternatif bir şekilde yerleşmiştir. Yaprakların uç kısmı yaprakçıkla son bulur. Bazı spontan (doğal) ve yapay mutantlarda yaprak basit yaprak şeklindedir. Farklı tipte basit yapraklar mevcuttur. En sık karşılaşılan basit yaprak şekli parçalı ve yaprak sapının gövdeye bağlandığı yere kadar yaprak ayası olanıdır. Diğer tip basit yapraklar gövdeye sade ve uzun bir yaprak sapı ile bağlıdır (Toker 1997). Yaprakçıkların uç kısımları dişli, şekilleri oval ile eliptik şekiller arasında değişen şekillerde ve 6-20 mm uzunluğunda x 3-14 mm genişliğindedirler. Yaprak sapının gövdeye bağlandığı yerde iki adet genellikle üçgen şekilli ve 2-6 uçlu kulakçık bulunur. Muehlbauer ve Singh (1987) tarafından rapor edildiği üzere bitkide genel olarak 5 farklı yaprak ve yaprakçık şekli belirlenmiştir. Pundir vd (1981) nohutta 4 tip yaprak şekli olduğunu (bipinnate, basit, dar ve bileşik) bildirmiştir. Reddy vd (1995) nohutta temelde 3 yaprak şeklinin olduğunu diğer rapor edilen yaprak şekillerinin temel 3 yaprak tipinin varyasyonları olduğunu ifade etmiştir. Temelde 3 yaprak şekli vardır. Diğerleri bunların varyasyonlarıdır (Şekil 2.2)



Şekil 2. 2. Kültür nohutlarında yaprak şekilleri (1. Çok parçalı, 2. Basit ve 3. Normal)

Çiçekler yaprak koltuklarından çıkan çiçek saplarında 1-2 adettir. Çiçek sapları başlangıçta düz olmakla beraber, meyve bağlama ile beraber kıvrılmış ve kıvrım yerinde bir çıkıntı oluşturmuş şekildedir. Çiçekler yaprak koltuklarından çıkar. Yaprak koltuklarına salkım sapları ile bağlıdır ve çiçekler de salkımlara kendi çiçek sapları ile bağlanırlar. Çiçek salkım sapları 0,6-3 cm; her bir çiçek sapı 0,5-1,3 cm uzunluğundadır. Çanak yapraklar 7-10 mm ve taç yapraklar 0,8-1,2 cm uzunluğundadır. Çiçekler kelebek çiçek şeklinde, beyaz, pembe ile mor ve mavi renklidirler (Şekil 2.3). Erkek organlar 9+1 şeklindedir ve kendine döllenir. Dişi organ ise sapsız (yapışık), tüylü ve şişkindir. Yumurtalıkta 1-4 arasında yumurta hücresi mevcuttur (Van der Maesen 1987, Cubero 1987).



Şekil 2.3. Nohutta farklı çiçek rengi, antosiyanin ve tüylülük

Meyveler bakla ya da çakıldak olarak adlandırılır ve 14-29 mm x 8-20 mm boyutunda uçlarında gaga şeklinde çıkıntı bulunur. Tek dikişli, şişkin, sert, etsiz 0,3 mm kalınlığında olan baklalar salgı tüyleriyle kaplı bir kabuktan oluşmaktadır. Bitkide sayıları 1-1000'den fazla olabilir. Bu değer ekim zamanı, lokasyon, üretim sezonu gibi birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Baklaların şekilleri dikdörtgen, paralel kenar ya da oval olabilir. Baklalar 1-2, nadiren 4 dane içerir. Daneler krem ile kahverengi, yeşil ya da siyah renkli, dane yüzeyleri düz ya da kıvrımlıdır. Nohutlar dane şekli, büyüklüğü ve tohum kabuğu rengine göre koçbaşı, kuşbaşı ve bezelyemsi olarak üç ana gruba ayrılmışlardır (van der Maesen 1972; Aucland ve van der Maesen 1980). 100 dane ağırlıkları 8-70 g aralığında farklılık gösterir (Singh vd 1991).



Şekil 2.4. Nohutta meyve bağlanma noktasındaki çıkıntı ve çift bakla

2.1.4. Kimyasal bileşimi

Nohutun kimyasal bileşimi çeşite ve yetiştirme yerinin ekolojik koşullarına göre varyasyon göstermektedir. Nohut insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir protein ve

karbonhidrat kaynağıdır. Nohut daneleri % 20-25 protein, % 40-60 karbonhidrat içerir (Babaoğlu 2003). Ayrıca içeriğindeki kalsiyum, magnezyum, çinko, potasyum, demir, fosfor gibi mineral ve vitaminler (tiyamin, niasin) açısından insan beslenmesinde ve hayvan yemi olarak kullanımda önemlidir (Kaur vd 2005, Soltan vd 2001). Nohut daneleri ortalama % 3 lif, % 38-59 karbonhidrat, % 4,8-5,5 yağ, %3 kül, % Ca, % 0,3 P içerirler (Hulse 1991). 100 nohut danesi 14,0-24,6 g protein, 5-23 mg Fe, 0-225 µg β-karoten, 0,21-1,1 µg tiyamin, 0,12-0,33 mg ribaflavin, 1,3-2,9 mg niasin, % 4,5-15,7 nem ve ortalama 357 kaloridir (Duke 1981, Huisman ve Van der Poel 1994). Danelerin amino asit açısından değerlendirildiği zaman, 5,2 g serin, 4,3 g prolin, 16,0 g glutamik asit, 11,7 g aspartik asit, 4,1 g alanin, 6,6 g valin, 7,6 g lösin, 4,4 g izolösin, 7,2 g lisin, 1,4 g metionin, 8,8 g arjinin, 4 g glisin, 2,3 g histidin içerdiği bildirilmiştir (Duke 1981, Huisman ve Van der Poel 1994, Muehbauer ve Tullu 1997).

2.1.5. Dünyada ve Türkiye’de ekiliş, üretim, verim ve ticareti

FAO (2014) istatistiklerine göre nohut Dünyada yaklaşık olarak 14,8 milyon hektarlık ekilişi olan bir türdür. Üretim miktarı gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelere göre farklılık göstermektedir. Gelişmiş ülkelerde verim 1000 kg/ha iken, gelişmekte olan ülkelerde 72 kg/ha’dır. Dünyada en fazla nohut üreten ülkeler; Hindistan, Avustralya, Pakistan, Türkiye ve Myanmar olarak sıralanır. Nohut dünya ekiliş üretimine göre de serin mevsim yemeklik baklagiller içinde en önemli baklagillerden biridir.

Türkiye ekiliş alanı bakımından İran’dan sonra beşinci sırada yer almaktadır. Türkiye’de 2014 yılı rakamlarına göre yaklaşık 388,518 ha ekiliş, 450,000 ton üretim ve 1158 kg/ha verim vardır. Bu verilerle nohut Türkiye’de ekiliş ve üretim bakımından en büyük paya sahiptir ve en önemli baklagillerden biridir. Türkiye de nohut tarımı iki ilin dışında tüm illerde yapılmaktadır ve en fazla nohut üreten iller sırasıyla Kırşehir, Mersin, Antalya, Yozgat, Konya, Kütahya, Karaman, Gaziantep şeklinde sıralanmaktadır (TÜİK 2013). Ayrıca nohut, mercimek ve bezelyeden sonra ihracatını en çok yaptığımız üçüncü yemeklik dane baklagildir (FAO 2013).

Ülkemizde yapılan ıslah çalışmaları sonucunda hastalıklara, zararlılara, kuraklığa vb. dayanıklı veya toleranslı olarak geliştirilmiş ve tescil edilmiş 24 çeşit vardır. Bu çeşitler ekilen yerel çeşitlere göre daha dayanıklı ve verimleri yüksektir. Gıda Tarım ve Hayvancılık bakanlığına bağlı araştırma enstitülerinde geliştirilen ve Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon merkezince tescil edilen bu çeşitler Çizelge 3’te verilmiştir (Anonim 2008).

Nohudun deniz seviyesinden 5000-5500 m yüksekliklere kadar, ekvator kuşağında kuzeyde 50-52 paralele (Rusya) ve güneyde 35-36 paralele (Avusturya) kadar uzanan bölgelerde oldukça geniş bir alanda yetiştiriciliği yapılmaktadır (Babaoğlu 2003).

Çizelge 2.3. Ülkemizde yetiştirilen tescilli nohut çeşitleri

No	Çeşit Adı	Tescil Yılı	Geliştirilen Araştırma Enstitüsü
1	Akçin-91	01.05.1991	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
2	ILC-482	01.05.1991	Güneydoğu An. Tar. Arş. Ens. Müd.
3	İzmir-92	11.05.1992	Ege Tarımsal Arş. Ens. Müd.
4	Menemen-92	11.05.1992	Ege Tarımsal Arş. Ens. Müd.
5	Aydın-92	11.05.1992	Ege Tarımsal Arş. Ens. Müd.
6	Damla-89	16.05.1994	Karadeniz Tar. Arş. Ens. Ens. Müd.
7	Aziziye	16.05.1994	Doğu Anadolu Tar. Arş. Ens.
8	Diyar-95	20.04.1995	Güneydoğu An. Tar. Arş. Ens. Müd.
9	Gökçe	09.05.1997	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
10	Sarı-98	15.05.1998	Ege Tarımsal Arş. Ens. Müd.
11	Cevdetbey-98	15.05.1998	Ege Tarımsal Arş. Ens. Müd.
12	Küsmen-99	30.04.1999	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
13	Uzunlu-99	30.04.1999	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
14	Er-99	30.04.1999	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
15	Çağatay	27.04.2005	Karadeniz Tar. Arş. Ens. Ens. Müd.
16	Gülümser	27.04.2005	Karadeniz Tar. Arş. Ens. Ens. Müd.
17	İnci	30.04.2003	Çukurova Tarımsal Arş. Ens.
18	Yaşa-05	27.04.2005	Anadolu Tarımsal Arş. Ens. Müd.
19	Işık-05	27.04.2005	Anadolu Tarımsal Arş. Ens. Müd.
20	TAEK-Sağel	12.04.2006	TAEK
21	Dikbaş	12.04.2006	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
22	Hisar	04.04.2008	Anadolu Tarımsal Arş. Ens. Müd.
23	Azkan	06.04.2009	Anadolu Tarımsal Arş. Ens. Müd.
24	Aksu	06.04.2009	Kahramanmaraş Tar. Arş. Ens.

Desi tipi nohutlar yarı kurak bölgelerde, kabuli tipi nohutlar sıcak bölgelerde yetiştirilmektedir (Muehlbauer ve Singh 1987, Malhotra vd 1987). Nohut üretimi için yıllık yağışın 600-1000 mm ve optimum sıcaklığın (gece 18-26 °C ve gündüz 21-29 °C) sağlanması en ideal koşullardır (Duke 1981, Muehlbauer ve Singh 1987). Soğuğa karşı hassas olmasına rağmen, bazı çeşitler -9,5 °C'ye kadar dayanmaktadır. Nohut 'nötr gün bitkisi' olarak tanımlanmasına karşın, nicelik bakımından uzun gün bitkisidir ve her fotoperiyotta çiçekleri uyarılabilir (Simitson vd 1985).

Dünyada ve Türkiye'de, nohut üretim alanları genellikle yüksek sıcaklıklara sahip, zararlılara maruz kalınan ve kurak noktalardadır. Nohut, sulama, gübreleme ve başarılı bitki koruma uygulamaları olmayan marjinal alanlarda yetiştirilmektedir (Muehlbauer 1993). Kışların çok sert geçmediği Akdeniz ülkelerinde mercimek (*Lens culinaris* L.), bezelye (*Pisum sativum* L.) ve bakla (*Vicia faba* L.) gibi bazı serin mevsim yemeklik baklagiller kışlık olarak yetiştirilse de, nohut ekimi geleneksel şekilde yazlık olarak yapılmaktadır. Geleneksel şekilde yapılan yazlık ekimler, yanıklık (antraknoz) hastalığından (*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.) sakınmak amacıyla bahar yağışlarının bitiminden sonra gerçekleştirilmektedir. Bahar yağışlarının az ve düzensiz bir dağılım gösterdiği bu bölgelerde, yüksek sıcaklık ve kuraklık stresinden dolayı yazlık ekilen nohudun veriminde azalmalar meydana gelmektedir (Silim ve Saxena

1993). İsrail’de yapılan ekim zamanı çalışmalarında erken sonbaharda ekilen nohutlardan daha sonra ekilenlere göre daha çok verim elde edildiği saptanmıştır (Eshel 1967). Türkiye’de nohut ekimi bölgelere göre farklılık göstermektedir. Nohut genel olarak Mart sonu-Nisan ortasında; Akdeniz bölgesi ve çevresinde Şubat-Nisan aylarında toprak ısınınca ya da yağmurlar bittiği zaman ekilir (Babaoğlu 2003). Özellikle antraknoz hastalığının etkisini en aza indirmek için ekimler Mayıs ayı ortalarına kadar çekilmektedir. Ancak geç dönemde gelen yağışlar bitkinin antraknoz hastalığına yakalanma riskini arttırabilir. Desi tipi nohutlar kabulü tipi nohutlara göre soğuğa daha dayanıklıdır. Bu nedenle erken ekilebilirler. Kabulü tip nohutlarda minimum toprak sıcaklığı 10 °C, desi tipinde ise 5 °C olmalıdır (Babaoğlu 2003).

Akdeniz Bölgesinde; kuraklık ve yüksek sıcaklık stresi olan bölgelerde, nohutta verimini artırmak için iki yaklaşım yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi; kışları çok sert geçmeyen bölgelerde sonbahar ekimiyle kışlık yetiştiriciliktir (Toker vd 2007). İkincisi ise kışları sert geçen yerlerde erken ekimdir (ICARDA 1993). Kışlık nohut ekimi, geleneksel bahar ekimlerine göre % 70 (692 kg/ha) daha fazla verim gerçekleştirmektedir (Singh vd 1997). Solh ve Pala (1990) tarafından toprak işleme ve ekim yöntemleri ile kışlık nohut çeşitlerinin ekim zamanlarının yabancı ot kontrolü üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca kışlık ekimde yabancı ot kontrolü yapılmadığında 1250 kg/ha olan verimin, yabancı ot kontrolü yapıldığında 1500 kg/ha’a kadar çıktığı, yazlık ekimde ise yabancı ot kontrolü yapılırsa verimin 1150 kg/ha’dan 1250 kg/ha’a yükseldiği bildirilmiştir.

Gerek kışlık gerekse erken nohut ekimlerinde görülen en büyük problemlerden biri yabancı ot sorunudur (Bhan ve Kukula 1987). Sulanan nohut alanlarında da yabancı otlar büyük bir problemdir (Lyon ve Wilson 2005). Nohut, gelişiminin erken dönemlerinde yabancı otlarla rekabeti zayıftır ve yabancı otlara daha duyarlı olan bir bitkidir. Yabancı otlar nohut bitkisinin gelişiminin ilk evrelerinde kontrol edilmezse, yabancı otlar ürünü azaltmaktadır. Yabancı otlardan kaynaklanan verim kaybı yabancı otların yoğunluğuna, yabancı ot türüne, yazlık-kışlık ekime ve sulama durumuna göre değişmektedir (Bhan ve Kukula 1987; Solh ve Pala 1990; Ramakrishna vd 1992; Chopra vd 2003; Mohammadi vd 2005).

İşler (2003), Tokat ve Zile yöresinde nohut ekim alanlarda 23 familyaya ait 71 yabancı ot türünü yaygın olarak belirlemiş ve bunlar arasında kısır yabancı yulafın (*Avena sterilis*) en yoğun olduğunu tespit etmiştir. Eroğlu (2006), Karaman ve yöresinde nohut ekim alanlarında 17’ye yakın yabancı ot türünün bulunduğunu bunlardan en yaygın türlerin sırasıyla sirken (*Chenopodium album.*), tarla sarmaşığı (*Convolvulus arvensis* L.), horozibiği (*Amaranthus retroflexus*) olduğunu tespit etmiştir.

Singh vd (1991) ICARDA germplasm kaynaklarını ekim-öncesi ve çıkış-öncesi kullanılan herbisitler için gözlemlenmişlerdir. Çıkış-sonrası yabancı ot kontrolünde herbisitler için çok sayıda nohut genotipi Ceylan ve Toker (2006ab) tarafından değerlendirilmiştir. Hem yabancı nohutlarda hem de kültür formunda uygulanan herbisitlere dayanıklılık bakımından büyük bir varyasyon olduğu bildirilmiştir. Kanada’da yapılan bir çalışmada, 169 desi ve 130 kabulü nohut imidazilnone (IMI) yabancı ot ilacına dayanıklılık açısından taranmış ve 8 hattın 21 gün sonra herbisite dayanıklı olduğunu belirlemişlerdir (Taran vd 2010). ICRISAT’ta, 300

farklı nohut genotipi çıkış sonrası kullanılan iki farklı herbisite (IMI) dayanıklılık için gözlemlemiş ve 16 dayanıklılık kaynağı belirlemişlerdir (Gaur vd 2013).

2.2. Nohutta Yabancı Otlar ve Mücadelesi

İnsan beslenmesine, toprak verimliliğine ve toprağın biyolojik yapısına, hayvan beslenmesine ve ekosisteme sayısız yararları olan yemeklik baklagiller yabancı otlardan dolayı büyük oranda verim ve kalite kaybına uğrarlar (Sepetoğlu 2002). Ülkemizde en çok yetiştiriciliği yapılan yemeklik baklagil nohuttur. Kışlık ya da erken nohut ekimlerinde görülen büyük problemlerden biri de yabancı ot sorunudur (Solh ve Pala 1990). Sulanan nohut alanlarında da yabancı otlar büyük bir problemdir (Lyon ve Wilson 2005). Nohutun fide dönemimde yabancı otlarla rekabeti zayıftır ve yabancı otlara oldukça duyarlı bir bitkidir. Nohut bitkisinin gelişiminin ilk evrelerinde yabancı ot kontrolü yapılmazsa, yabancı otlar verimi azaltmaktadır (Yenish 2007). Nohutta yabancı otlardan dolayı % 40–90 verim kaybı görülmektedir (Bhan ve Kukula 1987). Bu kayıp kışlık nohut ekiminde %98'e ulaşmaktadır (Solh ve Pala 1990). Yabancı otların sebep olduğu verim kayıplarının Hindistan da % 40-94, Batı Asya da % 40-75, Kuzey Afrika da % 13-98 ve İtalya da %35 olduğu çeşitli çalışmalarla tespit edilmiştir. Etkili bir yabancı ot kontrolü ile nohut verimi % 17-105 arasında artırılabilir. (Şanlı vd 2009). Yabancı otlardan kaynaklanan verim kaybı yabancı otların yoğunluğuna, yabancı ot türüne, yazlık-kışlık ekime ve sulama durumuna göre farklılık göstermektedir. (Bhan ve Kukula 1987; Solh ve Pala 1990; Ramakrishna vd 1992; Chopra vd 2003; Mohammadi vd 2005).

Yabancı otlar genel olarak genel olarak koruyucu, kültürel, mekaniksel, biyolojik ve kimyasal yöntemlerle kontrol edilebilmektedir (Bhan ve Mishra 1997; Yaduraju ve Mishra 2004; Yenish 2007). Kültürel önlemlerden elle yabancı ot temizliği çevreyi en iyi koruyan yöntemdir. Fakat elle yabancı ot kontrolü, zaman alıcı, geniş alanlarda uygulaması zor ve hatta nohut yetiştiriciliği yapılan ülkelerde işgücü pahalı bir yöntemdir (Young vd 2000).

Kimyasal yöntemlere gelince, farklı ülkelerde yabancı ot kontrolü için birçok herbisit test edilmiştir. Kimyasal herbisitler ekim öncesi, çıkış öncesi ve çıkış sonrası kullanılmaktadırlar (Mahoney 1981; Mahoney 1984; Malik vd 1982; Dhingra vd 1982; Bhan ve Kukula 1987; Calcagno vd 1987; Auld vd 1989; Kumar vd 1989; Bhan ve Mishra 1997; Kantar vd 1999; Malik vd 2001; Singh vd 2003, Yenish 2007). Herbisitlerle yabancı ot kontrolü, yapılmayan (otlu) kontrollere göre verim artışı sağlamaktadır. Fakat elle yapılan yabancı ot kontrolü ilaçlarla (herbisitlerle) yapılan yabancı ot kontrolünden daha iyi sonuç vermektedir (Pala ve Mazid 1992). Kantar vd (1999) tarafından Aziziye-94 nohut çeşidiyle Erzurum koşullarında yapılan bir çalışmada dane verimi üzerine otlu kontrol ve elle ot alımı ile 9 herbisit etkileri karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır. Etkili herbisitlerin Erzurum şartlarında nohutta kullanılması ile otlu kontrole göre ürün artışı sağlanabileceği, bununla birlikte bir kez elle yabancı ot alımıyla da yabancı otların kontrol altına alınabileceği kanısına varılmıştır. Ekim-öncesi ve çıkış-öncesi kullanılan yabancı ot ilaçları ekimden sonra çimlenen ve gelişen yabancı otları sınırlı bir şekilde kontrol edilebilmektedir. Geniş yapraklı yabancı otlar yeterince kontrol edilememektedir (Yenish 2007). Ekim öncesi ve çıkış öncesi kullanılan herbisitler sınırlı yabancı ot kontrolü sağladıkları için çıkış

sonrası uygulanan herbisitler önem kazanmaktadır. Çıkış sonrası kullanılan bazı herbisitler ise oldukça toksik etki yapmaktadır (Ceylan ve Toker 2006ab). Toksik olmayan herbisitler ise sınırlı yabancı ot kontrolü yapmaktadırlar. Nohutta herbisit kullanılmasıyla yabancı otların çoğunlukla kontrol altına alınabildiği ve dane veriminde artış sağlandığı bildirilmiştir (Şehirli 1988; Sepetoğlu 2002).

Dünya genelinde yabancı ot ilaçlarına dayanıklı olarak lanse edilen çeşitler olmasına rağmen, bunlar genetiği değiştirilmiş organizmalardır (GDO) ve glyphosate dayanıklıdır (Dill vd 2005; Owen ve Zelaya 2005). GDO'lar (transgenik) belli etkili maddeye sahip yabancı ot ilaçlarına dayanıklılık göstermektedirler. Bunlardan en yaygını glyphosate grubuna dayanıklı GDO'lardır. 1996 yılından beri ABD'de yetiştirilmektedirler. 5-Enylpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) enzimi glyphosate tarafından engellenen bir enzimdir (Amrhein vd 1980). Bu bitkiler ekim alanlarına göre şöyle sıralanmaktadırlar; soya (54,2 milyon ha), mısır (13,2 milyon ha), pamuk (5,1 milyon ha), kanola (2,3 milyon ha) ve yonca (0,1 milyon ha). Günümüzde, ABD, Arjantin, Brezilya ve Kanada gibi ülkeler 74 milyon ha'dan fazla GDO üreten ülkeler olarak dikkat çekmektedir (Gill vd 2005).

GDO olmayan ve aynı zamanda belli grup yabancı ot ilaçlarına dayanıklı bitkiler de vardır. Geleneksel ıslah yöntemleriyle de imidazolinone (IMI) ve sulfonilurea (SU) grubu yabancı ot ilaçlarına dayanıklı bitkiler de elde edilmiştir (Tan vd 2005). Geleneksel ıslah yöntemlerinden mutasyon ıslahı yaklaşımlarıyla geliştirilmiş IMI dayanıklı bitkiler mısır, buğday, çeltik, ayçiçeği ve kanola olarak verilmiştir (Tan vd 2005). Mercimekte de IMI dayanıklılık elde edilmiştir (Toker vd 2007). IMI herbisitler imazapyr, imazapic, imazethapyr, imazamox, imazamethabenz ve imazaquin olarak bilinirler ve yabancı otları acetohydroxyacid synthase (AHAS) ya da acetolactate synthase (ALS) olarak bilinen bir enzimi engelleyerek kontrol ederler. AHAS bitkilerde dallanmış-zincir amino asitlerinin biyosentezinde rol oynayan kritik bir amino asittir. IMI dayanıklılığını sağladığı bilinen birkaç farklı AHAS geni bitkilerde mutasyon ve seleksiyon ıslahı teknikleriyle ortaya konmuştur (Tan vd 2005).

Ekim-öncesi ve çıkış-öncesi kullanılan yabancı ot ilaçları ekimden sonra çimlenen ve gelişen yabancı otları sınırlı bir şekilde kontrol edebilmektedir. Geniş yapraklı yabancı otlar yeterince kontrol edilememektedir (Yenish 2007). Ekim öncesi ve çıkış öncesi kullanılan herbisitler sınırlı yabancı ot kontrolü sağladıkları için çıkış sonrası uygulanan herbisitler önem kazanmaktadır. Çıkış sonrası kullanılan bazı herbisitler ise toksik etki yapmaktadır (Singh vd 1991; Ceylan ve Toker 2006ab). Toksik olmayan herbisitler ise sınırlı yabancı ot kontrolü yapmaktadırlar (Ceylan ve Toker 2008). Nohutta herbisit kullanılmasıyla yabancı otların çoğunlukla kontrol altına alınabildiği ve dane veriminde artış sağlandığı bildirilmiştir (Şehirli 1988; Sepetoğlu 2002).

Hindistan'da 1992-1996 yılları arasında yürütülen nohutta entegre yabancı ot mücadelesi konulu araştırmada; en yüksek yem ve tane verimi ile en yüksek net karın ekimden 30-35 gün sonra elle yapılan yabancı ot mücadelesi ve birlikte uygun ekim

yönteminden elde edildiği, elle yapılan ot alımı yanında kullanılan kimyasalların da etkili olduğu bildirilmiştir (Sukhadia vd 1999).

Nohut yabancı otlarla rekabete girmekte yetersiz kalmakta, bu nedenle mutlaka iyi planlanmış bir yabancı ot kontrol programının yapılması gerekmektedir. Bunun için de bir önceki seneden kalan bitki artıklarının araziden temizlenmesi, ekim veya çıkış öncesi Glyphosate uygulaması tavsiye edilmektedir. Bunun yanında dar yapraklı yabancı otlara karşı Sethoxydim ve Quizalofop, geniş yapraklı yabancı otlara karşı da Trifluralin ve Pendimethalin ile ilaçlama yapılması, ekim veya çıkış öncesi de Imazethapyr ile ilaçlama yapılması önerilmektedir (Corp vd 2004).

Alachlor, Metolachlor, Pyridate, Terbutryn, Fomesafen ve Imazethaphry'in nohuda zarar vermeden yabancı otları öldürebildiği, tek yıllık buğdaygil yabancı otlarının sorun olduğu durumlarda ise Sethoxydim'in oldukça etkili olduğu ve nohuda zarar vermediği bildirilmiştir (Weiss 1988, Graph ve Kleifeld 1988, Graph vd 1988).

Kantar vd (1999) tarafından nohutta kimyasal ve kültürel yabancı ot kontrolü üzerinde yapılan çalışmada, 1996 ve 1997 yılı Erzurum şartlarında Terbutryne+Fluazifop-p-buthyl, Imazethapyr, Linuron+Propyzamide uygulamalarının her iki yılda da etkili olurken, Methabenzthiazuron'un yağışlı geçen 1997'de yeterli, kurak geçen 1996'da ise zayıf etki gösterdiği bildirilmiştir.

Diyarbakır ve Ceylanpınar'da ILC 482 nohut çeşidinde yabancı otlarla en uygun mücadele yönteminin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada, linuron, terbutryn, cyanazin, trifluralin, imazethapyr (çıkış öncesi ve çıkış sonrası) etkilimaddeli herbisitlerin ve çapalama işleminin nodulasyon üzerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre nohutta en etkili yabancı ot mücadele yönteminin çapa uygulaması olduğu ve nodulasyona olumsuz etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada Diyarbakır'da imazethapyr (çıkış öncesi) ve linuron; Ceylanpınar'da terbutryn ve linuron etkili maddeli herbisitlerin uygulamasının yabancı ot kontrolü ve verim açısından diğer herbisitlere oranla daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir (Demir vd 2005).

Erzurum kuru şartlarında, 1996 ve 1997 yıllarında Aziziye-94 nohut çeşidinde, verim üzerine otlu parsel, elle ot alımı (1 ve 2 kere) ile 9 herbisit (linuron, methabenzthiazuron, terbutryne, imazethapyr, fluazifop-p-butyl terbutryne +propyzamide, methabenzthiazuron + propyzamide, linuron + propyzamide, terbutryne+fluazifop-p-butyl) etkilerini araştırmışlar ve uygulamaların verim ve verim öğeleri üzerine önemli derecede etki ettiğini gözlemişlerdir. Hasattaki bitki sayısının uygulamalardan etkilenmediğini, buna karşın metrekarede çıkış yapan bitki sayısının 31.33 ile terbutryne + fluazifop-p-butyl uygulamasında en yüksek, iki defa elle ot alma uygulamasında ise 22.14 ile en düşük olduğunu saptamışlardır. Yine en yüksek bitki boyu 44.21 cm olarak terbutryne+fluazifop-p-butyl uygulamasında bulunurken, en düşük ise 36.83 cm olarak methabenzthiazuron uygulamasında saptanmıştır. Bitkide bakla sayısı en yüksek imazethapyr uygulamasında 16.38 olarak tespit edilirken, en düşük değer ise fluazifop-p-butyl uygulamasında 10.76 olarak tespit edilmiştir. Bin tane ağırlığında linuron uygulamasında 487.96 g ile en yüksek değer elde edilirken, otlu parsellerde 456.56 g ile en düşük değer elde edilmiştir. Ayrıca hasat indeksinin

linuron+propryzamide uygulamasında %46.76 ile en yüksek olduğu, bir defa elle ot alma uygulamasında ise %34.46 ile en düşük değerin elde edildiği bildirilmiştir (Kantar vd 1998).

İtalya'nın killi ve kumlu topraklarında (Gallina ve Caltagirone) 1993-1995 yıllarında 3 yıl süreyle yürütülen bir çalışmada, Sultano nohut çeşidinde çıkış öncesi yabancı ot kontrolünde hektara 2-4 litre imazethapyr+pendimethalin, 3-4 litre imazafos+pendimethalin ve 5 litre pendimethalin uygulanmış ve bu herbisitlerin etkinliği ve seçiciliği araştırılmıştır. Araştırmacılar, çıkış öncesi söz konusu herbisitlerin uygulaması ile killi topraklarda (Gallina'da) bitkilerde fitotoksik belirtilere rastlanmadığını ve verimin arttığını, fakat kumlu topraklarda (Caltagirone'de) bitki gelişmesi ve verimi azaltan fitotoksik etkilerin görüldüğünü saptamışlardır (Bacchi vd 1998).

Güney Avustralya'da; buğday, arpa, nohut, bakla, bezelye tarlalarında yapışkanotu (*Galium tricornotum* Dandy)'nın seçici herbisitlerle kontrolü amacıyla 1991-1994 yılları arasında yürüttüğü çalışmada; imazethapyr etkili maddeli herbisiti bakla, nohut ve bezelyede çıkış öncesi ve çıkış sonrası, flumetsulam etkili maddeli herbisiti ise çıkış sonrası uygulamış ve nohudun imazethapyr'e, baklanın da her iki herbisite karşı çıkış sonrası uygulamalarda toleranslı olmadığını saptamıştır. Baklagil bitkilerinde yapışkanotun kontrolünde çıkış öncesi uygulanan seçici herbisitlerin çıkış sonrası uygulanan herbisitlere göre daha etkili olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca araştırmacı baklagillerde bentazone, pyridate, diflufenican, simazine ve metribuzin etkili maddeli herbisitlerin yapışkanotu kontrolünde başarısız olduğunu bildirmiştir (Moerkerk 1999).

Şanlı vd (2009) 2005 ve 2006 yıllarında Gökçe nohut çeşidinde, yabancı otlarla en uygun mücadele yöntemini belirlemek amacıyla linuron, aclonifen, imazethapyr etkili maddeli herbisitler ve elle kontrol (çıkıştan sonra 12. 24. 36. 48 ve 60. günlerde) yöntemlerini kullanarak bir çalışma yürütmüşlerdir. Deneme sonunda, nohutta en etkili yabancı ot mücadele yönteminin çıkıştan sonra 36. günde yapılan elle kontrol uygulaması olduğunu tespit etmişlerdir. Herbisitlerden ise imazethapyr'in yabancı ot kontrolü ve verim yönünden diğer herbisitlere göre daha iyi sonuç verdiğini gözlemişlerdir. Çalışmada, yabancı ot mücadelesi yapılan uygulamalarda mücadele yapılmayan kontrol parsellerine göre % 105 ile % 142'ye varan verim artışı olduğu bildirilmiştir. Denemede en yüksek bitki boyu 34,2 cm ile 24. gün elle kontrol uygulaması ile elde edilirken, en düşük bitki boyu ise 29 cm. ile linuron uygulamasında bulunmuştur. En yüksek bakla sayısı 30,5 adet/bitki ve en yüksek tane sayısı 29,4 adet/bitki ile 36. gün elle kontrol uygulaması ile tespit edilmiş, en düşük bakla sayısı 11,1 adet/bitki ve en düşük tane sayısı 10,4 adet/bitki otlu parsellerde elde edilmiştir. Yine 1000 dane ağırlığında 418 g ve verim ortalamasında 143 kg/da ile en yüksek veriler 36. gün elle kontrol uygulaması ile saptanırken en düşük 1000 tane ağırlığı 378 g ve en düşük verim 59kg/da olarak otlu parsellerde bulunmuştur. Hasat indeksi 36. gün elle kontrol uygulamasında %49,6 ile en yüksek, otlu parsellerde %41,6 ile en düşük değerleri vermiştir.

Ege bölgesinde iki farklı lokasyonda (Bornova ve Tavas) 1996 ve 1997 yıllarında yürütülen çalışmada; nohutta ekim öncesi, çıkış öncesi ve çıkış sonrası herbisit uygulaması yapılmış ve ayrıca 1 ya da 2 kez çapalama ve nohut bitkisinin

kapsül bağlama döneminde elle yabancı ot yolma yöntemleri uygulanmıştır. Sonuçta uygun toprak ve yağış koşullarında çapalama, ekim öncesi ve çıkış öncesi uygulanan kimyasalların verim artışı sağladığı, kurak geçen yıllarda herbisitlerin etkinliğinin azaldığı ve çıkış sonrası uygulanan herbisitlerin nohutta % 80-85 oranında fitotoksiteye neden olduğu bildirilmiştir (Uzun ve Topuz 1998).

Taran vd (2012) imazethapyr ve imazamox gibi IMI grubu herbisitlerle muamele edilen nohut bitkilerinde cüceleşme ve klorozun sık görülen bir durum olduğunu bildirmişlerdir. Altı nohut çeşidi ile yapılan bir çalışma göstermektedir ki; imazamox, metribuzin ve imazethapyr çimlenmeden hemen sonra uygulandığında nohut bitkilerine çok yoğun zarar vermekte, dane verimini olumsuz etkilemekte ve olgunlaşma süresini uzatmaktadır (Taran vd 2012).

Bitkiler ve mikroorganizmalar, ilk reaksiyonun AHAS tarafından katalize edildiği yaygın bir yolla valin, lösin ve izolösin sentezlerler. Bu enzimin büyük bir önemi vardır çünkü sulfonylurea ve imidazolinone gruplarının tüm üyelerinin de dâhil olduğu birçok herbisit hedefinde yer alır. Ancak, AHAS inhibisyonuna müdahale eden mutasyonlar sonucu ortaya çıkan yabancı otlar şu anda tüm dünyada problemdir. Herbisitlere dayanıklı AHAS mutantları, dayanıklı organizmalardan doğal olarak elde edilebildiği gibi, laboratuvar da sentezlenebilmektedir. Etkili ve çevreye dost AHAS inhibitörü herbisitlerin kullanılabilirliğini korumak için AHAS dayanıklılığının moleküler düzeyde anlaşılması çok önemlidir (Ronald vd 2008).

2.3. İmidazolinone Herbisitler

İmidazolinone herbisitleri günümüzde BASF bilim insanları tarafından 1970'lerin başında keşfedilmiştir. İmidazolinone'lar 20-500 g aktif madde (ai) ha⁻¹ içeren uygulamalarda etkin olan geniş spektrumlu herbisitlerdir (Newhouse vd 1991; Warren ve Coble 1999). Bu tür düşük kullanım oranları, üretim yapılan alanlarda daha az herbisit kullanılarak yabancı otların kontrol edilmesi ve çevreye daha az zarar vermesi açısından tanıtılmıştır. İmidazolinone'lar memeliler için toksik değildir. Çünkü sadece bitkilerde biyokimyasal yolda bir aktif bölgeyi inhibe ederek faaliyet gösterirler (Newhouse vd 1991). Ticari olarak temin edilebilen altı (6) IMI grubu herbisit vardır. Bunlar; imazapyr, imazetahpyr, imazaquin, imazamethabenz-methyl, imazamox ve imazapic'tir. İmazaquin soya [*Glycine max* (L.) Merr.] için çıkış öncesi ve sonrasında kullanılan selektif (seçici) bir herbisittir (Lee vd 1991; Tecle vd 1993). Imazetahpyr soya (*Glycine max* L. Merr), yer fıstığı (*Arachis hypogaea* L.) ve imidazolinone dirençli mısır (*Zea mays* L.), kanola (*Brassica napus* L.) gibi baklagillere, tek yıllık-çok yıllık çimenlere ve geniş yapraklı yabancı otlara karşı kullanılan geniş spektrumlu tescilli bir herbisittir (Lee vd 1991).

Imazapyr tarımsal üretimin yapılmadığı sanayi bölgeleri, orman alanları ve demiryolu yatakları gibi alanlarda çıkış sonrası kullanılan bir herbisit olarak kaydedilmiştir (Lee vd 1991). Imazamethabenz-methyl, yabani yulaf (*Avena sativa* L.) gibi duyarlı türlerde canlı içinde metabolik olarak aktive olabilen, inaktif herbisit molekülü olarak formüle edilir (Brown vd 1987, Pillmor and Caseley 1987). Imazapic tek yıllık-çok yıllık çimler, soya, çeltik (*Oryza sativa* L.), mısır, pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) ve yer fıstığı gibi bazı geniş yapraklı yabancı otların çıkış öncesi ve çıkış sonrasında kullanılan selektif bir herbisittir. Imazamox çim bitkilerinin ve geniş

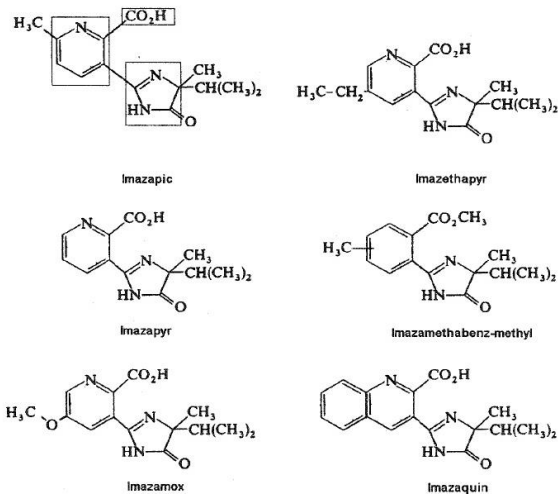
yapraklı yabancı otların kontrolünde kullanıldığı, Imidazolinone dayanıklı kanola ve bezelyede seçicilik gösterdiği bildirilmiştir.

2.4. Imidazolinone Herbisitlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Imidazolinone herbisitleri; yapısındaki üç farklı grup ile kimyasal olarak karakterize edilirler. Imidazolinone halkası, karboksilik asit, aromatik omurga halkası olarak 3 kısımdan oluşur ve bunların her biri herbisit aktivitesi için gereklidir (Ladner 1990; Ladner 1991). Imazamethabenz-metil haricinde; aromatik halka karboksilik grup orta imidazolinone halkası içerir. Imazamethabenz-metil bir metil ester grup içerir ve hassas türlerde metabolik olarak hidrolizle bir karboksilik asite dönüştürülür (Pillmor and Caseley 1987). Imidazolinone grubu herbisitlerle diğer herbisitler arasındaki ana fark; imidazolinone ailesinde aromatik omurga halkasına bağlı bu sınıf herbisitleri karakterize eden üç omurga yapısının bulunmasıdır. Imazamethobenz-metil bir benzen halkası içerirken, imazapyr, imazamox, imazapic ve imazethapyr piridin halkası içerir. Imazaquin ise, kinolin omurga halkası içerir (Şekil 2.4).

2.5. Imidazolinone Herbisitlerin Etki Mekanizmaları

Bir herbisitlin etki şekli, yabancı otları öldüren biyokimyasal ya da fiziksel bir mekanizmadır. Herbisitlerin çoğu, bitkilerde lipit biyosentezi, fotosentez, mitoz, büyüme düzenleyiciler ya da aminoasit biyosentezi gibi bir ya da birden çok kritik metabolik yolları bozarak bitkileri öldürürler (Devine vd 1993). Bir herbisitlin etki alanı bitkide hücresel düzeyde toksitesi gösterilen yerdir. Imidazolinone'lar dallanmış zincirli amino asitler olan valin, lösin ve izolösinin biyosentez yatağındaki ilk enzim olan ALS olarak bilinen AHAS'ı hedefler. AHAS'ın diğer herbisit inhibitörleri; sulfonilurea (Ray 1984), triazolopyrimidinler (Gerwick vd 1990), primidiloxibenzoatlar (Subramanian vd 1990) ve sulfonilaminokarboksil-triazolinonlardır (Santel vd 1999). Bu herbisitlerin her biri yapısal olarak imidazalinone'lardan farklıdır. Hassas türlere AHAS inhibe eden herbisitlerin uygulanması valin, lösin ve izolösin seviyelerinde bir azalma ile sonuçlanabilir ve AHAS inhibitörlerinin etkisi bu aminoasitlerin takviyesiyle ters çevrilebilir (Chaleff ve Mauvais 1984; Ray 1984).



Şekil 2.5. Imidazolinone herbisitlerinin kimyasal yapısı

2.6. Herbisit-Asetohidroksiasit Sentez Etkileşimi

Herbisite dayanıklı mutantlar araştırmacılara AHAS engelleyici farklı herbisit ailelerinin etki mekanizmalarını daha iyi anlamak için fırsat vermektedir. Farklı türlerin herbisite dayanıklı mutantları herbisitlerin her birine farklı çapraz dayanıklılık desenleri göstermektedir. Çapraz dayanıklılık, birden çok herbisit ailesine dayanıklılık sunan tek bir dayanıklılık mekanizması evrimleştirmiş bitki türlerini tanımlar. Sülfonilürelere (Lee vd 1988; Wiersma vd 1989; Mourad ve King 1992), imidazolinonelere (Haughn vd 1988; Wright vd 1998; Newhouse vd 1991; Sathasivan vd 1991; Newhouse vd 1992; Bernasconi vd 1995) ve tüm AHAS engelleyici herbisitlere (Lee vd 1998; Bernasconi vd 1995; Hattori vd 1995) selektif dayanıklılığa sahip olan mutantlar belirlenmiştir. Bu çapraz dayanıklılık desenleri, AHAS engelleyen herbisitlerin AHAS'taki üstüste binen farklı bağlanma alanlarını paylaştığını belirtir (Singh ve Shaner 1995). Schloss vd (1988) AHAS'ın piruvatif oksidaz'dan (PO) evrildiğini ileri sürmüştür ve AHAS üzerindeki herbisit-bağlayan cebin, PO'nun koenzim bağlayan alanının evrimsel izi olduğunu tahmin etmiştir. Bu hipotezin desteği bu koenzim homologlarının in vitro koşullarda AHAS'ın güçlü (etkili) inhibitörleri olmasıdır (Schloss vd 1988).

2.7. Asetohidroksiasit Sentaz'ın Biyokimyası ve Moleküler Biyolojisi

Asetohidroksiasit sentaz, bakterilerde (Schloss vd 1985), mantarlarda (Polaina 1984) ve yüksek bitkilerde (Durner ve Boger 1988; Lee ve Duggleby 2001; Lee ve Duggleby 2002) bulunmaktadır. Bir *Homo sapiens* cenin beyni cDNA kütüphanesinde, funguslardan elde edilen AHAS ile yaygın amino asit sırası homolojisini paylaşan bir gen sırası izole edilmiştir (Joutel vd 1996; Duggleby 1997), ancak elde edilen protein için AHAS benzeri bir fonksiyonu destekleyecek kanıt sınırlıdır (Duggleby vd 2000). Tüm bitki organları, mRNA'nın ölçümü ile gösterildiği gibi, AHAS içermektedir (Schmitt ve Singh 1991). Tüm bitkilerde, tüm bitki dokularında temel olarak en az bir AHAS geni ifade edilmektedir. Hücresel düzeyde, funguslarda biyosentez mitokondrilerde lokalize olmuşken bitkilerde BCAA sentezi kloroplastlarla sınırlandırılmıştır (Schulze-Siebert vd 1984).

2.8. Dayanıklılık/Tolerans Mekanizmaları

Herbisit toleransı, bir yabancı ot ya da ürün popülasyonunda, popülasyonun, diğer bitki türlerini seçici olarak öldüren bir dozdaki herbisiti tolere etmesine izin veren ve doğal olarak ortaya çıkan bir özellik olarak değerlendirilir. Herbisit dayanıklılığı, bir bitki türünün, belirli türleri daha önce öldürmüş bir dozdaki herbisiti tolere etmesine imkân veren evrimsel ya da kalıtsal bir özelliktir. Bitkilerin herbisit selektivitesini belirleyen en az dört farklı mekanizması vardır. Herbisit selektivitesi farklı oranlardaki absorpsiyon, translokasyon, metabolizma ya da herbisit hedef alanının ayrışık (diferansiyel) hassasiyetinden kaynaklanabilir (Shaner ve Mallipudi 1991; Devine vd 1993). Bu dayanıklılık mekanizmalarının her biri imidazolinone herbisitler için dikkate alınacaktır.

2.8.1. Metabolizma-tabanlı dayanıklılık

Tüm AHAS engelleyen herbisitlere karşı doğal olarak oluşan toleransın en yaygın mekanizması, aktif herbisit, fitotoksik olmayan bileşiklere hızlı metabolik çevrimidir (Shaner ve Mallipudi 1991; Tecle vd 1993). Genel olarak, toleranslı bitkiler, AHAS engelleyen herbisitleri herbisit fitotoksik etkilerinden sakınmak için yeterli olacak hızda metabolize ederler, oysa hassas türler bunu yapamazlar (Devine vd 1993). Alternatif olarak, in vivo koşullarda bir herbisit, hassas bitkiler tarafından aktif moleküle metabolik olarak çevrilen ve fitotoksik olmayan molekül olarak da formüle edilebilir (Brown vd 1987; Pillmor ve Caseley 1987; Devine vd 1993).

Imidazolinoneler için en az iki detoksifikasyon (hücredeki zehirli maddelerin daha az zehirli bileşiklere çevrilerek atılması) modu bildirilmiştir.

Alkil yerine geçen aromatik omurga halkasının hidroksilasyonunu takiben hidroksillenmiş molekülün glükoz konjugasyonu ya da 2. imidazolinone halkasının kendisini yok etmesi gerçekleşir (Tecle vd 1993; Mallipudi vd 1994; Baerg ve Barnett 1996). Omurga halkasında alkil yerine geçen madde içeren imidazolinoneler (imazamethabenz serbest asit, imazetaphyr, imazapic ve imazomox; Şekil 2.4) için genel metabolik yol; alkil yerine geçen maddelerin hidroksilasyonunu içerir ve bunu bir O-glukosid oluşturacak glükoz konjugasyonu takip eder (Ladner 1990; Lee vd 1991; Tecle vd 1993). Imazetaphyr için bu metabolizma deseni, dayanıklı soya fasulyelerinde (Tecle vd 1993), yer fıstığı (Cole vd 1989) ve börülcede (*Vigna sinensis* L.) (Baerg ve Barrett 1996) gözlenmiştir ve absorbe edilmiş imazetaphyr'ın çoğunluğunun O-glukosid konjugatı olduğu görülmüştür. Benzer imazamox hidroksilasyonu ve glükoz konjugasyonu desenleri Adzuki fasülyesinde (*Phaseolus angularis* Willd.) (Ohba vd 1997), birleşik sakalotunda (*Aegilops cyindrica* Host) ve çavdarda (*Secale cereale* L.) (Bauer vd 1995) not edilmiştir. Şekerlerin glukosiltransferaz (EC 2.4.2.35) vasıtasıyla primer metabolitlerle konjugasyonu yaygındır, özellikle ana herbisit molekülünün hidroksilasyonu bunu takip eder (Devine vd 1993; Cole 1994). O-glukosidin herbisit aktivitesi yoktur ve meristem dokusuna transloke olmaz (Tecle vd 1993).

Imazamethabenz-methyl, yaygın buğday ve mısırdaki selektif yabancı ot kontrolü için bir non-herbisit metil ester bileşiği olarak formüle edilmiş tek imidazolinone'dur (Brown vd 1987; Pillmor ve Caseley 1987). Yaygın buğday ve mısır, Imazamethabenz-methyl'e iki nedenden dolayı toleranslıdır. Birincisi, yabancı yulaf gibi hassas yabancı ot türleri in vivo koşullarda metil ester grubunu fitotoksik aside hidrolize ederken, yaygın buğday ve mısır bunu yapmazlar. Buğday ve mısır ayrıca alkil yerine geçenleri ve konjugat glükosu birincil metabolitlere hidroksile eder, bu da aktif olmayan bir moleküle sonuçlanır (Pillmor ve Caseley 1987). Bu yabancı yulafta gerçekleşmez.

Bazı türlerde, birincil imidazolinone metabolitinin glükosidasyonu gerçekleşmez ve terminal metabolit, hidroksile imidazolinone'dur. Mısırdaki, primer metabolitin minör glükosidasyonu ile imazetaphyr'ın terminal metaboliti hidroksietil-imazetaphyr'dir (Mallipudi vd 1994). Yapraklı sütlegende (*Euphorbia esula* L.) imazapic metabolizmasının terminal metaboliti hidroksietil-imazapic olarak gösterilmiştir

(Thompson vd 1998). Bir polar moleküldeki hızlı hidroksilasyon sonucu molekülün membran çözünürlüğü ve floem hareketliliği azalır, böylece herbisitlerin gelişen bitkilerdeki meristematik bölgelere hareketi kısıtlanır (Shaner 1991; Thompson vd 1998). Ancak, Hidroksietil metaboliti halâ herbisittir, ancak ana bileşikle kıyaslandığında daha az bir orandadır (Shaner ve Mallipudi 1991). Bu nedenle, hidroksilasyonun tek başına primer detoksifikasyon mekanizması olarak görev yapması için, çok hızlı gerçekleşmelidir, böylece hidroksile imidazolinone'nun aktif olarak büyüyen dokuya translokasyonuna engel olmalıdır (Shaner 1991; Tecle vd 1993; Mallipudi vd 1994).

Imazaphyr ve imazaquin omurga halkasında alkil yerine geçenleri içermezler (Şekil 2.4) ve bu iki herbisitlerin metabolizmalarının ilk fazı diğer imidazolinone'lar için tartışıldan farklıdır. Bu herbisitler için, karboksil karbon ve imidazolinyl azotun halka kapanmasının takip ettiği imidazolinone halkasının hızlı hidroksilasyonu sonucunda bir inaktif herbisit metaboliti oluşur (Ladner 1990; Lee vd 1991; Tecle 1993). Örnek olarak, soya fasülyesi, imazaquin'in imidazolinone halkasını hızla hidroksile eder ve pyrdiyk carboxyl grup ile imidazolinyl azotla birleşir ve bu da imazaquin'in kapsamlı bir degradasyonuna yol açar (Lee vd 1991; Shaner ve Mallipudi 1991; Tecle vd 1993). Primer metabolit daha sonra suda çözünür bir metabolite hidrolize olacak ikincil bir metabolit oluşturmak üzere dehidrate olur (Tecle vd 1993). Bu proses, dayanıklı soya fasülyesinde çok hızlı gerçekleşir, böylece herbisit uygulamasından 48 saat sonra hemen hemen hiç ana herbisit molekülü kalmaz (Tecle vd 1993).

2.8.2. Hedef bölge dayanıklılığı

AHAS inhibitör herbisitlerinin selektivitesi, herbisitlerin hedef enziminde meydana gelen değişime bağlı olarak herbisitlerin dayanıklı bitkilerde bağlanmasını ve AHAS'ın katalitik kabiliyetini engellemesine bağlı olabilir. Bir şok enzim inhibitörü substratların ya da alosterik (Bir metabolik yolun son ürünü) regülâtörlerin analoglarıdır ve bu nedenle enzimdeki normal olarak bu moleküller tarafından doldurulan noktalara bağlanırlar. Ancak, AHAS'ı engelleyen herbisitler dıştan gelen nokta engelleyicileridir ve substrat ya da alosterik regülâtör (düzenleyici) bağlantı noktalarına bağlanmazlar, ancak aktif bölgeden uzak bir noktaya bağlanırlar (Schloss 1990). Hassas türlerde, herbisitler hedef enzime bağlanarak AHAS'ın fonksiyonuna engel olurlar. Bir ya da birden çok AHAS engelleyici herbisite yüksek seviyede dayanıklılık gösteren birçok herbisit dayanıklı mutant bitki doku kültürü, anter kültürü, mikrospor ve tohum mutagenesi yoluyla seçilmiştir (Haughn vd 1988; Wiersma vd 1989; Sathasivan vd 1991; Newhouse vd 1991; Harms vd 1992; Mourad ve King 1992; Newhouse vd 1992; Hattori vd 1995; Wright vd 1998). Dayanıklı mutantlardan elde edilen AHAS ile yapılan in vitro denemelerde, dayanıklı hatlarda bulunan herbisite duyarsız enzimlerin I_{50} değerlerinin (in vitro'da AHAS aktivitesinin %50'sini engellemek için gerekli herbisit konsantrasyonu) hassas hatlarla kıyaslandığında 4 ila 4000 kat fazla olduğu bulunmuştur (Ray 1984; Sebastian vd 1989; Swanson vd 1989; Mourad ve King 1992; Newhouse vd 1991). Sıçan kulağı dâhil bazı ot türleri (*Stellaria media* (L.) Vill. Svenska) (Hall ve Devine 1990; Hall ve Devine 1993), Rus eşekdikeni (*Salsola iberica* Sennen & Pau), İngiliz çimi (*Lolium perenne* L.), ve süpürge otu (*Kochia scoparia* L.) (Saari vd 1992), yabancı marul (*Lactuca serriola* L.) (Mallory-Smith vd 1990), yumuşak kazayağı (*Amaranthus hybridus* L.) (Manley vd 1999), false Yapışkan otu (*Galium*

spurium L.) (Hall vd 1998), ve annual tek yıllık karaçayır (*Lolium rigidum* L.) (Christopher vd 1992) çeşitli AHAS engelleyicilere dayanıklı olarak bulunmuştur. Bütün bu durumlarda, AHAS'ın dayanıklı bir biçimi, çok yüksek derecede dayanıklılık ortaya koymaktadır.

2.8.3. Absorbsiyon ve translokasyon (yer değiştirme)

Asetohidroksiasit sentaz bakterilerde (Schloss vd 1985), funguslarda (Polaina 1984) ve yüksek bitkilerde bulunmuştur (Durner ve Boger 1988; Lee ve Duggleby 2001; Lee ve Duggleby 2002). Bir *Homo sapiens* ceninin beyin cDNA kütüphanesinden izole edilen bir gen dizilimi fungustan gelen AHAS ile kapsamlı bir amino asit dizilimi homolojisini paylaşmaktadır (Joutel vd 1996; Duggleby 1997), ancak söz konusu proteinin AHAS benzeri fonksiyonunu destekleyecek kanıtlar kısıtlıdır. Tüm bitki organları mRNA'nın miktarı (Ouellet vd 1992; Keeler vd 1993) ve enzim aktivitesi (Schmitt ve Singh 1991) ile belirtilen AHAS içerir. Tüm bitkilerde, metabolik olarak aktif mersitem dokularında aktif olarak bulunan en yüksek transkripsiyon seviyesine sahip en az bir AHAS geni esas olarak aktarılır (Schmitt ve Singh 1991; Ouellet vd 1992; Keeler vd 1993; Southan ve Copeland 1996).

2.9. AHAS'ın Bitkilerde Katalitik Fonksiyon ve Geribesleme Regülasyonu (Düzenlemesi)

BCAA en fazla genç dokularda olmak üzere tüm bitki organlarında sentezlenir (Schmitt ve Singh 1991). Metabolik yolun bir ana özelliği, bir metabolik yolla valine oluşturulmasına ve ikinci bir yolla da izolösin oluşturulmasına imkân veren paralel yolların kullanılmasıdır (Şekil 2.5). Lösin biyosentezi valin metabolik yolu üzerinden (2-keto-isovalerate) bir reaksiyon ara maddesi kullanarak sürer. Asetohidroksiasit sentezi, biyosentetik yoldaki paralel reaksiyonların ilk adımını katalize eder (Şekil 2.5).

Valin ve lösin ortak bir yolla sentezlenirken, izolösin paralel bir yolda sentezlenir. Asetohidroksiasit sentaz, üç amino asitte ortak olan ilk enzimdir (Stidham ve Singh'den değiştirilerek alınmıştır 1991).

Valin oluşturan yoldaki AHAS'ın ilk reaksiyonu pirüvat'ın bir ilk dekarboksilasyonunu içerir. Sonuçta ortaya çıkan asetaldehit, enzime bağlı kalır ve ikinci pirüvat molekülü ile yoğunlaşır (Singh ve Shaner 1995). Treonin dehidratat (EC.4.2.1.16; TD), 2-ketobütrat ve amonyak oluşturmak üzere treonini deamine ve dehidre ederek izolösin yolunun ilk adımını katalize eder (Singh 1999). İzolösin biyosentetik yolunda, AHAS, pirüvat ve 2-ketobütratın yoğunlaşmasını katalize ederek asetohidroksiasitbütratın oluşmasını sağlar (Şekil 2.5) (Singh ve Shaner 1995).

2.10. AHAS Enziminin Yapısı

Bitkilerdeki AHAS enziminin yapısı tam anlaşılabilmiş değildir çünkü enzimi saflaştırma denemeleri hızlı aktivite kayıpları ve BCAA'nın geri besleme inhibisyonu ile sonuçlanmıştır (Durner ve Boger 1988; Singh vd 1988b; Singh vd 1992; Southan ve Copeland 1996). Aksine, kısmen saflaştırılmış bitki AHAS'ının BCAA tarafından inhibe edildiği bildirilmiştir (Durner ve Boger 1988; Newhouse vd 1991; Newhouse vd 1992; Southan ve Copeland 1996). Ayrıca öyle görünüyor ki, AHAS'ın moleküler büyüklüğü, kullanılan saflaştırma prosedürüne ve saflaştırma işleminde kullanılan substrat ve enzim kofaktörlerinin konsantrasyonlarına göre değişmektedir. Ortamda enzimin bir kofaktörü olan flavin adenin dinükleotidi (FAV) olması durumunda arpadan saflaştırılan AHAS'ın 58 kDa altbiriminde homo-oktamerler olduğu bildirilirken, ortamda 50µM pirüvat olması durumunda enzim 200 kDa'lık daha küçük biçimlere ayrılmıştır (Durner ve Boger 1988). Mısır hücre kültürlerinden elde edilmiş protein ekstraktlarının büyüklük dışlanımlı kromatografisi göstermiştir ki aynı enzimin farklı oligomerik biçimlerine karşılık gelen ve 193 ve 55 kDa moleküler kütlelerinde iki AHAS tepesi bulunmaktadır (Singh vd 1988b). Southan ve Copeland (1996) arpadan AHAS'ı kısmen saflaştırmışlardır. Araştırmacılar 15 kDa polipeptitin bakterilerde olduğu gibi AHAS enziminin küçük bir ayarlayıcı altbirimi olabileceği yorumunda bulunmuşlardır (Schloss vd 1985). Monoklonal antiserumlar kullanarak Bekkaoui vd (1993) kanoladan elde edilen AHAS'ın 66 ve/veya 65 kDa katalitik altbirimlerinin işlevsel bir dimeri olduğunu bildirmişlerdir. Benzer olarak, bir *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh) gen kodundaki AHAS katalitik altbirimlerinin overekspresyonundan (bir genin diğerine göre daha çok okunması) elde edilmiş poliklonal antiserumlar kullanarak, Singh vd (1991a) pirinçte, tütünde (*Nicotiana tabacum* L.), ekmeklik buğdayda, arpada, mısırdaki, *A. thaliana*'da, sorgumda (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), soya fasülyesinde, ıspanakta (*Spinacea oleracea* L.), bezelyede ve lime fasülyesinde (*Phaseolus limensis* L.) 65 kDa'lık tek bir polipeptit belirlemişlerdir. Singh vd (1991b) ayrıca mısırın monoklonal antiserumlarından elde edilmiş bir *Zea mays* katalitik altbirimi kullanarak mısır, ekmeklik buğday, arpa ve pirinçte tek bir 65 kDa polipeptiti belirlemişlerdir. Ancak monoklonal antiserum dikoetiledon bitkilerden elde edilen AHAS ile reaksiyona girmemektedir (Singh vd 1991b). Araştırmacılar arpa (Durner ve Boger 1988) ve ekmeklik buğdayda (Southan ve Copeland 1996) belirlenen daha küçük polipeptitlerin, saflaştırılmış enzimlerin parçalanmış ürünleri gibi gözüktüğünü belirlemişlerdir.

A. thaliana ve kıvırcık yapraklı tütünden elde edilen AHAS'ın düzenleyici alt birimleri için gen kodlamasının moleküler karakterizasyonu, bir kloroplast transit peptit ve bir 50 kalıntı bağlayıcı ile ayrılmış yaklaşık 180 kalıntının dâhili duplikasyonunu işaret etmektedir (Hershey vd 1999; Lee ve Duggleby 2001). Kıvırcık yapraklı tütün ve *A. thaliana* arasındaki amino asit dizileri özellikle tekrar bölgelerinde yüksek derecede korunmuştur, buralarda amino asitlerin %80'inden fazlası korunmuş durumdadır. Fungal ve bakteriyel altbirimler bu sıranın sadece bir kopyasını içerdiğinden bu yapısal tekrar bitki AHAS'ının düzenleyici altbirimine özgüdür (Lee ve Duggleby 2001; Lee ve Duggleby 2002). *A. thaliana*'dan elde edilmiş AHAS'ın düzenleyici alt biriminin bölgeye yönlendirilmiş mutajenezini kullanarak, Lee ve Duggleby (2002), alt birimin lōsin (1nci tekrar) ve izolōsin (2nci tekrar) için ayrı bağlanma noktaları şeklinde iki alana sahip olduğunu onaylayan birkaç mutasyon yaratmışlardır.

2.11. Bitki Asetohidroksiasit Sentez Genlerinin Moleküler Karakterizasyonu

A. thaliana (Haughn vd 1988; Sathasivan vd 1991), tütün (Lee vd 1988), kanola (Wiersma vd 1989; Rutledge vd 1991), pamuk (Rajasekaran vd 1996), mısır (Fang vd 1992; Bernasconi vd 1995), şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) (Wright vd 1998), pirinç (Shimizu vd 2000) ve süpürge otu (Gutteri vd 1995) gibi birçok bitki türünden AHAS'ın katalitik alt ünitesi klonlanmış ve karakterize edilmiştir. Yüksek bitkilerde AHAS'ın katalitik alt ünitesini kodlayan genlerin birçok ortak özelliği vardır. Bitkilerdeki tüm katalitik alt ünite kodlayan genler nükleusta şifrelenmiştir, ancak olgun enzim kloroplastlarda faaliyet gösterir (Devine ve Eberlein 1997). Bugüne kadar dizilimi çözülen katalitik alt ünite genlerinin hiç birinde intronlar yoktur ve mRNA'ların yaklaşık 1,9 ila 2,1 kb arasında bir büyüklüğe sahip olduğu tahmin edilmektedir (Wiersma vd 1989; Singh vd 1991a; Fang vd 1992; Rutledge vd 1991; Grula vd 1995). Tüm bitki AHAS enzimleri, transkripsiyon sonrası enzimi kloroplastlara yönlendirme görevini yürüten ve amino (N) terminusunda bulunduğu varsayılan bir transit peptit içerirler (Rutledge vd 1991). N terminusu, kloroplast transit peptitlerinin tipik özelliği olarak çok sayıda serine rezidüleri içerir (Tsutsumi vd 1996). Bugüne kadar izole edilmiş tam katalitik alt ünite gen dizilimlerinin yaklaşık 71kDa'lık boyutuyla (Bekkaoui vd 1993; Duggleby ve Pang 2000) kıyaslandığında bitkilerdeki katalitik alt ünitenin 65 kDa'lık boyutu (Singh vd 1991a; Singh vd 1991b) dikkate değer şekilde küçük kaldığından, transit peptitinin kloroplastlara translokasyonu sırasında ayrıldığı düşünülmektedir (Bascomb vd 1987; Singh vd 1991a). 65 kDa'lık moleküler ağırlık *A. thaliana*'nın transit peptitinin yaklaşık 85 amino asit uzunluğunda olduğunu göstermektedir. Mazur vd (1987) *A. thaliana* ve tütün katalitik alt birimleri arasındaki amino asit dizilim homolojisi 85'nci amino asitte başlamaktadır ve bu da *A. thaliana*'nın AHAS katalitik alt birimindeki amino asitlerin kloroplast peptit enzimi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Kloroplast transit amino asit dizilimleri türler arasında muhafaza edilmezler (Mazur vd 1987; Rutledge vd 1991; Tsutsumi vd 1996).

AHAS'ın katalitik alt biriminin nükleotid ve amino asit dizilimleri bitki türleri içi ve arasında yüksek derecede korunmaktadır. Fang vd (1992) mısırdaki iki olgun AHAS proteininin %95'inin oranında özdeş ve nükleotid diziliminin iki gen arasında %94 oranında homolog olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca mısır AHAS genlerinin nükleotid seviyesinde tütün AHAS genleri ise %65 özdeş olduğunu da bildirmişlerdir. Mazur vd (1987) tütün ve *A. thaliana*'nın AHAS genleri arasında amino asit rezidüsü 85'ten sonra (kloroplast transit peptiti varsayılan) aminoasitlerin %85 ve nükleotidlerin %73 oranında korunduğunu bulmuşlardır.

Bitkilerde AHAS katalitik alt birim sayısı değişiklik gösterir. *A. thaliana* (Mazur vd 1987), pirinç (Shimizu vd 2000), domuz pıtrağı (Bernasconi vd 1995) ve arpa (Duggleby vd 1998) gibi diploid türlerde tek bir gen karakterize edilmiştir. Allotetraploid tütünde AHAS katalitik alt birimlerini kodlayan iki gen tanımlanmış ve karakterize edilmiştir ve *SurA* ve *SurB* olarak adlandırılmıştır (Mazur vd 1987; Lee vd 1988; Keeler vd 1993). Allotetraploid kanolada beş üye içeren (*Als1-Als5*) bir çoklu gen ailesi tanımlanmıştır (Rutledge vd 1991). Pamukta, altı farklı AHAS geni içeren bir AHAS gen ailesi tanımlanmıştır (Grula vd 1995). Mısır esas olarak aktarılan iki AHAS genine sahiptir (Fang vd 1992), bu da mısırın tetraploid olabilmesine bir kanıt sağlar.

Benzer olarak Gutteri vd (1995) süpürge otundan iki AHAS gen dizilimini izole etmiştir.

A. thaliana ve kıvırcık yapraklı tütün AHAS düzenleyici alt birimlerinin gene kodlamasının moleküler karakterizasyonu varsayımsal bir kloroplast transit peptitini ve 50 rezidüel bir bağlayıcı ile ayrılan yaklaşık 180 rezidüel bir dâhili duplikasyonu işaret etmektedir (Hershey vd 1999; Lee ve Duggleby 2001). Kıvırcık yapraklı tütün ve *A. thaliana* arasındaki amino asit dizilimleri amino asitlerin %80'inden fazlasının korunduğu kısmen tekrar bölgelerinde yüksek derecede korunmuştur. Fungus ve bakteri alt birimleri bu dizilimin sadece bir kopyasına sahip oldukları için bu yapısal tekrar bitki AHAS'ının düzenleyici alt birimine özgüdür (Lee ve Duggleby 2001; Lee ve Duggleby 2002). *A. thaliana*'dan elde edilen AHAS düzenleyici alt biriminin bölge yönlendirmeli mutajenesisi ile, Lee ve Duggleby (2002) lösün (1. tekrar) ve valin ve izolösün (2. tekrar) için ayrı bağlanma noktaları olan iki alanlı alt birimi teyit etmişlerdir.

2.12. Enzim Düzeyinde AHAS Dayanıklılığının Araştırılması: Bir *in vitro* analiz

In vitro AHAS analiz, AHAS inhibitörü herbisitlere olan bitki dayanıklılığının AHAS enziminin değişmiş bir şeklinden dolayı olup olmadığının belirlenmesi için kullanılmaktadır (Ray 1984; Singh vd 1988a; Hall ve Devine 1990; Newhouse vd 1991; Newhouse vd 1992; Hall ve Devine 1993; Southan ve Copeland 1996; Wright vd 1998). AHAS analizi, AHAS'ın genç meristematik dokudan ekstraksiyonu ve kısmi saflaştırılmasını ve enzimin ortamda bulunan substrat (pirüvat), AHAS kofaktörleri ve uygun AHAS inhibitörü ile analiz edilmesini içeren kesikli ve kolorimetrik bir analizdir (Singh vd 1988a).

Hemen hemen bütün türlerdeki Asetohidroksiasit sentaz, ThDP ve pirüvat arasında ilk reaksiyon ara ürününü oluşturacak kofaktörler olan tiyamin difosfat (ThDP, eski adı tiyamin pirofosfat) ve divalent metal iyonuna ihtiyaç duyar (Singh ve Shaner 1995; Duggleby ve Pang 2000). Bu ara ürün hidroksietil-ThDP oluşturmak üzere dekarboksile olur ve pirüvatın (valin ve lösün yolu) ikinci molekülü ya da 2-ketobütrat (izolösün yolu) için bir nükleofil rolü oynar (Singh ve Shaner 1995). AHAS analizlerinden metal iyonlarının dikkatli bir şekilde ayrılması ile, Mg^{+2} eklenerek düzeltilebilecek olan tam bir enzim aktivite kaybı meydana gelir (Schloss vd 1985). Diğer ThDP-bağımsız enzim yapılarından elde edilen sonuçlara göre, metal iyonunun rolü ThDP'yi enzim üzerindeki yerinde tutmaktır (Bakınız Duggleby ve Pang 2000). Asetolaktat ve asetohidroksiasitbütrat sentezlerinde açık bir oksidasyon ya da indirgenme olmamasına rağmen, birkaç araştırmacı flavin adenin dinükleotidin (FAD) AHAS aktivitesi için bir gereklilik olduğunu ve enzim analizlerine eklenmesi gerektiğini göstermişlerdir (Singh vd 1988a).

AHAS aktivitesi *in vitro* reaksiyon ürünü asetolaktatın asetoine dekarboksilasyonunun sülfürik asit vasıtasıyla tahmini ile ölçülür. α -naftol ve kretin ile inkübasyonundan sonraki asetoin miktarı, 520 nm-545 nm'lik optimum soğurganlığa ayarlanmış bir fotospektrometre kullanılarak elde edilen optik yoğunluğa bağlı olarak belirlenir (Singh vd 1988a). Reaktif α -naftol, oksijen olması durumunda asetoinin 2,3-

bütandiyona (diyasetil) oksidayonunu katalize eder. 2,3-bütandiyon daha sonra guanidin içeren kretin gibi bileşiklerle reaksiyona girerek pembemsi-kırmızı renk kompleksini oluşturur. Renk kompleksinin yoğunluğu (absorbsiyon ile ölçülür) *in vitro* analiz sırasında AHAS tarafından oluşturulan asetolaktat miktarına oranlıdır. nM konsantrasyonlarında (sülfonilüreler) (Ray 1984; Haughn vd 1988; Hall ve Devine 1990; Hall ve Devine 1993) ya da µM konsantrasyonlarında (imidazolinoneler) (Newhouse vd 1991; Newhouse vd 1992; Lee vd 1999) AHAS inhibitörü herbisitlerin dâhil edilmesi, hassas türlerden elde edilen AHAS'ın katalitik kabiliyetini inhibe eder ve öyle ki *in vitro*'da çok az asetolaktat üretilir ya da hiç üretilmez. Eğer dayanıklılık AHAS'ın değişmiş bir şeklinden kaynaklanıyorsa, reaksiyon AHAS inhibe eden enzimler tarafından inhibe edilmez ve analizin bitirilmesi ile mevcut asetoin miktarı ölçüldüğünde asetolaktatın artmış seviyeleri belirlenecektir. Bu enzim analizi ayrıca her aminoasitin µM miktarlarının yalnız ya da birlikte eklenmesi vasıtasıyla AHAS'ın BCAA tarafından inhibisyonunun geri beslemesinin çalışılması için de sıklıkla kullanılır (Newhouse vd 1992; Hattori vd 1995; Southan ve Copeland 1996). Bu kolorimetrik analiz hassastır ve ölçülecek enzimin düşük aktivitelerine izin verir. Ancak analizin kesikli doğası, reaksiyon oranının hassas tahminine izin vermez ve bu nedenle enzimin detaylı kinetik analizine uygun değildir (Duggleby ve Pang 2000).

2.13. Imidazolinone Dayanıklı Bitkilerin Agronomik Performansları

Çeşit hassasiyeti herbisit dayanıklılığı için önemli bir faktördür (Green ve Ulrich 1993). Tolerans seviyelerindeki çeşit farklılıkları mısırdaki sülfonilürelerde (Green ve Ulrich 1993) ve fasulyedeki imidazolinone'larda (Bauer vd 1995) bildirilmiştir. AHAS'ın herbisitlere dayanıklı bir şeklini taşıyan bitkilerde imidazolinone'lara yüksek derecede arazi dayanıklılığı bildirilmiştir. Mikrospor mutajenezi ve regenerasyondan sonra seçilen Kanola bitkileri 500 g/ha imazethapyre dayanabilirken, hassas ebeveyn hattı 20 g/ha'dan az dozda ölmüştür (Swanson vd 1989). Krausz vd (1997) 140 g/ha imazaquin uygulamasının hassas mısır hibritlerinde bitki boyunu ve verimi sırasıyla %75'e ve %95'e kadar azalttığını ancak yakın-izojenik dayanıklı hibritlerde hafif düşüşler olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle poliploid türlerde arazideki dayanıklılık, mevcut olan mutant dayanıklılık genlerinin bir fonksiyonu gibi görünmektedir. Swanson vd (1989) tek bir dayanıklılık geni için homozigot olan iki kanola hattının veriminin 800 gr/parsel imazamethabenz-methyl uygulamasında 950 gr/parsel ve 900 gr/parsel olduğunu, iki dayanıklılık genini de taşıyan hibrid hatlarda bunun 1100 gr/parsel olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar AHAS'ın değiştirilmiş bir formundan kaynaklanan dayanıklılığın toplamsal olduğu ve birden fazla dayanıklılık geni taşıyan hatlarda yüksek seviyede dayanıklılığın mümkün olduğu sonucuna varmışlardır.

Değiştirilmiş hedef bölgeleri üzerinden herbisit dayanıklılığını elde etmek için önemli bir kısıtlayıcı, değiştirilmiş enzimin doğal olarak meydana gelen enzim kadar etkin fonksiyon göstermeyebilişi olabilir (Siehl vd 1996). Birçok araştırma göstermektedir ki, herbisit dayanıklılığı elde etmek için değiştirilmiş hedef bölgesi kullanmak hedef enzimin bağlanma yeteneğini ve işlevselliğini azaltabilmektedir. s-

triazine dayanıklı herbisitlere karşı dayanıklı kanolalar elde eden *psbA* geninde tek baz çiftli bir mutasyonun çiçeklenmeyi iki gün geciktirdiği ve verimi de %20-30 azalttığı bildirilmiştir (Beversdorf vd 1988). Haughn vd (1988) ortamda herbisit olmadığı durumda, değiştirilmiş bir AHAS dayanıklılık geni taşıyan transgenik tütün bitkisi doku ekstraktlarında AHAS aktivitesinin önemli ölçüde düşük olduğunu bulmuşlardır. Magha vd (1993) chlorsulfuron ve imidazolinone dayanıklı kanola hatlarının verim performanslarının yabani tip hatlara göre dikkate değer şekilde düşük olduğunu bildirmişlerdir.

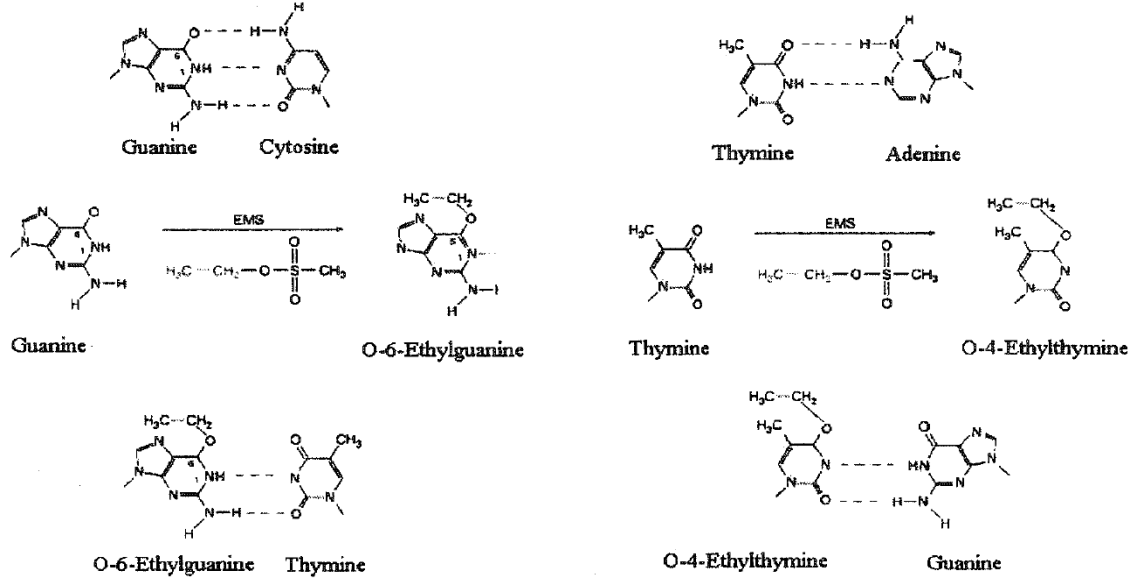
Araştırmacılar verimdeki düşüşün değiştirilmiş enzim fonksiyonundan dolayı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ancak, değerlendirilen hassas ve dayanıklı hatlar farklı genetik kaynaklardan gelmektedir ve verim azalmasına sebep olacak nihai kanıt elde edilememiştir. Ayrıca verim düşüşünün imidazolinone dayanıklı mısır hibritleriyle ilgili olabileceği de ortaya atılmıştır (Kelly ve Dysinger 1996). Ancak, AHAS'ı inhibe eden herbisitlerin enzimin aktif bölgesinden uzak bir bölgeye bağlanmakta olduğu gerçeğinden yola çıkarak AHAS'ın değiştirilmiş bir formundan kaynaklanan herbisit dayanıklılığı genellikle verim azalmasıyla ilgili olmadığı sonucuna varılmaktadır (Schloss vd 1989). Chlorsulfuron ve imazethapyr ile muamele edilen hassas ve transgenik keten (*Linum usitatissimum* L.) (McSheffrey vd 1992) ya da kanola (Blackshaw vd 1994) bitkilerinde verim, bitki boyu ve çiçeklenme zamanı açısından fark gözlenmemiştir. Yakın-izojenik (near-isogenic) imidazolinone dayanıklı ve hassas mısır hibritlerinin, değiştirilmiş AHAS kaynaklı imidazolinone dayanıklılığı ile ilişkili verim kaybı göstermediğine dair çeşitli raporlar bulunmaktadır (Boerboom ve LAuer 1997; Krausz vd 1997; Sprague vd 1997).

2.14. Mutasyon Islahı Çalışmaları

İndüklenmiş mutasyonların potansiyeli bitkilerdeki önemli genetik gelişmelerden kaynaklanmaktadır. İndüklenmiş mutasyonların kullanımının bitki türleri içinde hızlı şekilde varyeteler yaratmak için kullanışlı bir araç olduğu ispatlanmıştır (Maluszynski vd 1995). Bir mutasyon, bir organizmanın genetik materyalinde genetik rekombinasyondan kaynaklanamayan herhangi bir kalıtsal değişikliktir. Genellikle mutajenik etmenler iki ana kategoriye ayrılırlar: radyasyon ve kimyasallar. Nükleer, kloroplast ve mitokondriyal genomlar tüm mutajenik etmenlerin etkilerine karşı savunmasızdır. Gamma ışınları ve X-ışınları (elektromanyetik radyasyon) ve hızlı nötron ya da protonlar (parçacık radyasyonu) etkileşime geçtikleri iyonize etme yeteneğinde bir yüksek enerji seviyesine sahiptir. Gamma ışını ve X-ışını radyasyonu kromozomal bir kırılmadan kaynaklanan yapısal kromozom mutasyonlarına yol açar (van Harten 1998). Dört tip yapısal mutasyon belirlenmiştir ve bunlar delesyonlar, duplikasyonlar, inversiyonlar ve translokasyonlardır. Yapısal mutasyonların yoğunluğu radyasyon tipi, uygulanan doz ve doz uzunluğunun bir fonksiyonudur (van Harten 1998).

En yaygın mutajenik kimyasallar alkilleyici etmenlerdir ve etil metan sülfonat (EMS), N-etil-N-nitrosüre (ENU), dietil sülfat (DES), etilen imin (EI) ve bazı ilgili bileşikler kapsarlar (Gottschalk ve Wolff 1983; van Harten 1998). EMS gibi alkilleyici etmenlerin guanin ve timin üreten O-6 -ethylguanine ve O-4-ethylthymine'i alkillediği, bilinmektedir. O-6 -ethylguanine molekülü adeninin baz analogu olarak görev yapar ve

bu nedenle timin ile yanlış çiftlenir (Şekil 2.6) (Snow vd 1984). DNA replikasyonunun sonradan gelen döngüleri sırasında, O-6 –ethylguanine adenin ile yer değiştirerek GC→AT değişim mutasyonuna nedne olur. Benzer olarak 4-ethylthymine sitozinin adeninin baz analogu olarak görev yapar ve bu nedenle guanin ile yanlış çiftlenir (Şekil 2.6) ve DNA replikasyonunun sonraki aşamalarından sonra bir TA→CG değişim mutasyonu ortaya çıkar.



Şekil 2.7 EMS’den bir alkil grubunun ilgili bazlara verilmesi ile Guaninin O-6 – ethylguanine ve timinin O-4-ethylthymine dönüşümü. Alkilleştirilen baz analogları, guanin ve sitozin ile timin ve adenin arasındaki normal baz çifti çekimini aksatırlar

Kimyasal mutajen EMS, radyasyonla ilgili yapısal mutasyonlara yol açmadan geniş çaplı mutasyonlar yarattığından dolayı en popüler kimyasal mutajenlerden biridir (van Harten 1998). EMS ile indüklenen mutasyonların moleküler karakterizasyonu büyük ihtimalle timini yanlış eşleyen O-6 –ethylguanine eklentilerinin sonucu olarak öncelikle GC→AT değişimlerini göstermektedir (Snow vd 1984). Sonuçlar ayrıca EMS’nin 5’-purine-G-3’ motiflerine güçlü bir meyili olduğunu göstermektedir ve birçok mutasyon üç ya da daha fazla G bazının germesinde bir G’de meydana gelir (Bently vd 2000). EMS kullanarak yedi özgün granül bağlı nişasta sentaz (GBSS; EC 2.4.1.21) mutantları sıralamıştır ve mutasyonlarının %80’inin tek bazlı çift GC→AT değişimleri olduğunu belirtmiştir. Bently vd (2000) sperme EMS uygulaması ile 16 meyve sineği (*Drosophila melanogaster*) mutantı izole etmiştir.

Mutajenesis kullanarak yaratılan mutantların yaklaşık %98’inin nedeni resesif mutasyonlardır (Gottschalk ve Wolff 1983). Gen mutasyonlarının resesif kalıtımı genellikle bir genin sıfır formunu veren bir “gen fonksiyon kaybı” mutasyonunun sonucudur. Bir bitki heterozigotu sıfır gen için hem yabani tip alelleri hem de fonksiyon kaybı alelleri içerir. Yabani tip alelin aktarım seviyesi, özellikle poliploid türlerde yabani tip fenotipi oluşturmak için genellikle yeterlidir (haployeterli). Diploid türlerde olduğu gibi birçok durumda, mutant bir fenotipe sadece karşılık gelen genotip

homozigot durumdaysa görülebilir. Poliploid türlerde, mutasyon belirteci genomlarının ploidi tarafından engellenir. Diğer genomlardaki yabancı tip genler normal olarak fonksiyon gösterecek ve yabancı tip genotip büyük ihtimalle aktarılacağından dolayı gen mutasyonları genellikle fenotipik olarak aktarılmaz. Fonksiyon kazanma mutasyonları ortaya çıkan mutasyon yeni bir fonksiyonla ilişkilendirilen yeni bir allel yaratırsa ortaya çıkar. Fonksiyon kazanma alleli içeren heterozigot bireyler yeni fenotipi aktaracaklardır ve böylece dominant bir şekilde kalıt alacaktır. Lundqvist ve Lundqvist (1988) yedi farklı mutajenik uygulama kullanarak 1580 mutant *eceriferum* hattı oluşturmuşlardır. Sadece bir dominant mutasyon gözlenmiştir. Tohum mutajenesisi *A. thaliana* (Haughn ve Sommerville 1986), soya (Sebastian vd 1989), ve ekmeklik buğdayda (Newhouse vd 1992) AHAS inhibitörüne dayanıklı (dominant, fonksiyon kazanım mutasyonları) mutantlar oluşturmak için etkili olmuştur.

Mutasyon fikri ilk olarak Hugo de Vries (1901) tarafından “Die Mutationstheorie” de ortaya atılmıştır. Yapay mutasyonlar ilk defa meyve sineğinde (*Drosophila melanogaster* L.) keşfedilmiştir (Muller 1927). X-ışınlarının yapay mutasyona neden olduğu keşfedildikten sonar, Stadler (1928) yapay mutasyon elde etmek için X-ışınlarının gücünü keşfetmiştir ve X-ışınlarının arpaya (*Hordeum vulgare* L.) uygulanmasını göstermiştir. 2000 yılının sonundan önce Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Uluslararası Atom Enerjisi Kurumu (IAEA) Mutant Çeşit Veri Tabanında resmi olarak tescilli ve kayıtlı mutant çeşit sayısı 2 252 den fazladır. Bu mutant varyetelerden, yapay mutasyonlar kullanılarak geliştirilmiş 265 yemeklik baklagil çeşidi 32 ülkede tescil edilmiştir (Bhatia vd 2001a). Kharkwal vd (2010) ise bu sayıyı 3 100’den fazla olarak güncellemişlerdir. 2015 yılı verilerine göre 3 182 mutant ticari çeşit tescil ettirilmiştir (IAEA 2015). Bu varyetelerden 431 mutant dane baklagil olarak kayıtlara geçmiştir (Bhatia vd 2001ab; Kharkwal vd 2010; IAEA 2015). Fiziksel mutagenler en çok kullanılan mutagenlerdir. Gama ışınları radyasyonla tetiklenmiş mutant varyetelerin genlerini değiştirmede % 65’lik payla en sık kullanılan yöntemdir (Maluszynski vd 2000; Ahloowalia vd 2004).

Nohuttaki mutasyon çalışmaları büyük ihtimalle ilk olarak Hindistan’da başlamıştır (Sharma vd 1999). Çalışmalar kullanışlı varyasyon yaratmak için FAO/IAEA tarafından desteklenmiştir. Bu çalışmalar bitki ıslahı programlarında kullanmak için birçok özgün mutasyon yaratmıştır. Bugüne kadar, ticari üretim için 12 mutant nohut elde edilmiştir. Literatürde 50’den fazla mutant nohut bulunmaktadır (Singh 1987; Bhatia vd 2001b; Malusynsky 2003). Nohuttaki mutasyon ıslahı çalışmaları melezlemeye göre daha kısa sürede özgün mutantlar yaratmıştır.

Devin ve Shukla (2000), ALS inhibitörlerine dayanıklı türler/biyotipler bulunduğunu ve bazı biyotiplerde daha hızlı herbisit detoksifikasyonu mekanizması olmasının yanında birçok durumda bu herbisitlere dayanıklılığın, hedef bölge mutasyonları ile gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

2.15. Bitkilerde IMI-Dayanıklılık Çalışmaları

Al-Khatip vd (1998) tarafından, İlk imidazolinone (IMI) tolerant bitki tesadüfen yabancı ayçiçeklerde bulunmuştur. IMI-dayanıklı yabancı ayçiçeği kültür formu ile melezlenerek ticari olarak kayıtlara geçen ilk ayçiçeği çeşidi (“Imisun”) elde edilmiştir

(Al-Khatip vd 1998). Imisun çeşidinde IMI-dayanıklılık kısmi dominant iki gen (*Ahas1-1* ve *Imr2*) tarafından kontrol edilmektedir (Bruniard ve Miller 2001; Miller ve Al-Khatip 2002). Ayrıca, Ayçiçeği bitkisinde IMI ve SU grubu herbisitlere dayanıklılığın *AHAS1*, *AHAS2* ve *AHAS3* genleri tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir (Kolkman vd 2004). Ayçiçeğinde bitkisinde IMI-dayanıklı ikinci ticari çeşit “CLPlus” dır. Bu çeşitte IMI-dayanıklılık nükleer kısmi dominant bir gen (*Ahas1-3*) tarafından kontrol edilmektedir. *Ahas1-1*, *Imir1* ya da *Arpur* olarak da adlandırılmaktadır. Bu genlerin dayanıklılık seviyeleri farklılık göstermektedir (Sala vd 2012).

Triticum aestivum L. cv. Fidel için tohum mutajenesisini takiben, Newhouse vd (1992), imidazolinone'ye orta seviyede dayanıklı dört mutant buğday hattını tanımlamışlardır. Dayanıklılığın genetik ve biyokimyasal analizi, dayanıklılığın AHAS'ın imidazolinone'ye dayanıklı bir biçimini kodlayan tek bir nükleer genden kaynaklandığını göstermişlerdir. Bitkinin tümünde ya da enzim seviyesinde sulfonylurea'ya çapraz dayanıklılık görülmemiştir. Genetik çalışmalar dört hattın her birindeki dayanıklılık genlerinin alelik olduğunu göstermiştir. Dayanıklılık geni *FS-4* olarak tanımlanmıştır. *FS-4* taşıyan hatların toplam AHAS aktivitesinin yaklaşık 1/3'ünün imezathapyr'e dayanıklı olduğu belirtilmiştir. Bu bulgular ışığında, araştırmacılar ekmeklik buğdayda katalitik alt birimlerin çoklu kopyalarının olduğu sonucuna varmışlardır (büyük ihtimalle üç; yani AHAS aktivitesinin 1/3'ü bu üç genin her biri ile kodlanıyor). Ekmeklik buğday bir heksaploid olduğundan, üç gen bulunması sürpriz olmayacaktır. Araştırmacılar herbisit dayanıklılığının bitkinin hiçbir noktasında istenmeyen bir etkisini görmemişlerdir.

IMI herbisitlerine çok yüksek dayanıklılık gösteren bir Arjantin yabani ay çiçeği populasyonunda yapılan genetik analizler ve ko-segresyon testlerinden elde edilen verilerle, populasyonunda dayanıklılığın kaynağının kısmi dominant nükleer tek bir gen olduğu ve bu genin dört farklı AHAS-inhibitörü herbisite dayanıklılığı kontrol ettiği ortaya konulmuştur. Pseudo-allelizm testi, bu tolerant alel genin *Ahas1-1*'in alelik bir varyantı olduğunu onaylamıştır ve bu da *Ahas1-4* olarak isimlendirilmiştir (Sala and Bulos 2012).

Mazur vd (1987) bitkilerde sulfonylurea grubu herbisitlere karşı dayanıklılığı araştırdıkları çalışmada, maya ALS geni ile tütün ve Arabidopsis bitkisinin ALS genlerini melezlemişler ve yeni tipte ALS genleri izole etmişlerdir. Bu genlerin mutant alellerinin gelecekte sulfonylurea'ye doğal dayanıklılığı olan çeşitler elde edilmesinde faydalı olabileceğini bildirmişlerdir.

IMI grubu herbisitlere hassas ve bunlardan 20 ila 100 kat dayanıklı ay çiçeği genotipleri ile yapılan bir araştırma (Vega vd 2012) AHAS'ın katalitik alt ünitesini kodlayan *lmr1* lokusu için homozigot ve heterozigot genotiplerin ayırımını yapmaya olanak vermiştir. Bu çalışmada değerlendirilen yöntem, herbisit dayanıklılığı anlamında farklılık gösteren ay çiçeği genotiplerinin seçiminde ve IMI dayanıklı genotiplerin ıslahı için faydalı olarak bildirilmiştir.

Breccia vd (2013) yaptıkları bir çalışmada zincir amino asit biyosentezinin ilk reaksiyonunu katalize eden ve IMI grubu da dahil birçok herbisitin hedefi olan AHAS

enziminin sentezlenmesinden sorumlu ahas1, ahas2 ve ahas3 genlerinin ay çiçeği bitkisinde aktarımını ve farklı dokulardaki AHAS aktivitesini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda IMI grubu herbisitlere dayanıklılığı Ahas1-1 aleli olarak bilinen mutasyonun sağladığını, ayrıca dayanıklılığın yapraklarda köklere göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca her iki dokuda da ahas3 transkripsiyonunun daha fazla olduğunu, hassas genotiplerde ahas1 ve ahas2 transkripsiyon seviyeleri arasında önemli bir fark görülmediği ve Ahas1-1 aleli taşıyan genotiplerin yapraklarında daha yüksek ahas1 ve köklerinde daha yüksek ahas1 ve ahas2 transkript seviyeleri belirlendiği bildirilmiştir. Buna dayanarak hassas genotipte AHAS aktivitesi yüksek oranda engellenmektedir.

Gaur vd (2013) Imazethapyr ve Metribuzin herbisitlerine tolerans açısından nohuttaki geniş genetik varyasyonları inceledikleri çalışmada, ilgili herbisitlere maruz bırakılan 300 farklı nohut genotipinden sekizinin (ICC 3239, ICC 7867, ICC 1710, ICC 13441, ICC 13461, ICC 13357, ICC 7668, ICC 13187) imazetaphyr'e ve sekizinin (ICC 1205, ICC 1164, ICC 1161, ICC 8195, ICC 11498, ICC 9586, ICC 14402 ICC 283) metribuzin'e toleranslı olduklarını ortaya koymuşlardır.

Jefferies vd (2015) geleneksel ve IMI-dayanıklı nohut genotiplerinin çıkış sonrası uygulanan imazamox ve/veya imazethapyr herbisitlerine tepkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, geleneksel çeşitler olan CDC Luna ve CDC Corinne'nin orta-yoğun derecede zarar görürken dayanıklı genotipler olan CDC Alma ve CDC Cory'nin hiç ya da çok az zararla uygulamayı atlattığını bildirmişlerdir.

Pozniak ve Hucl (2004) tarafından 1A, 9A, 10A, 11A, 15A ve 16A buğday hatlarında IMI herbiside dayanıklılık test edilmiştir. Testleme sonunda dayanıklılığın 1A, 9A, 10A, 11A ve 16A genotiplerinde kısmi dominant tek bir nükleer gen tarafından idare edildiğini bildirmişlerdir. 15A genotipinde ise dominant iki gen tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir. Yapılan allelizm testinde ise *Imi1*, *Imi2* ve *Imi3* genlerinin varlığı bildirilmiştir.

Sulfonylurea (SU) grubu herbislere dayanıklı 82 soya çeşidinde *Als1* geni için testleme ve haritalama yapılmıştır. Dayanıklılığın yarı dominant bir gen (*Als1*) tarafından idare edildiği bildirilmiştir (Ghio vd 2013).

Thompson ve Taran (2014) tarafından nohutta yapılan bir çalışmada, nohut genomunda IMI herbiside dayanıklılığı sağlayan *AHAS1* ve *AHAS2* adında iki homolog gen olduğu bildirilmiştir. Kültür nohudunda IMI herbiside dayanıklılığın *AHAS1* geni (kısmi dominant etkili) tarafından kontrol edildiğini bildirmişlerdir. Dayanıklılıkla ilgili bir allele özgün (allel specific) SNP (KASP) markörü geliştirmişler ve rekombinant kendilenmiş nohut popülasyonlarında dayanıklılığın kromozom 5 üzerinde olduğunu belirlemişlerdir. Bir çok bitki türünde, IMI dayanıklılığı, acetohydroxyacid synthase (AHAS) geninde oluşan nokta mutasyonlarının sonucunda herbisit moleküle bağlanmasını engelleyen bir amino asit ikamesi ile gerçekleşmekte olduğu bildirilmiştir.

Jain ve Tar'an (2014) imidazolinone (IMI) herbisitlerine dayanıklı nohut bitkilerinde yaptıkları çalışmada acetohydroxyacid synthase1 (*AHAS1*) geninde

Ala194'ten Val194'e bir aminoasit ikamesine yol açan C581'den T581'e bir nokta mutasyonunun dayanıklılığa yol açtığını belirlemişlerdir. Ancak, dayanıklılığa yol açan mekanizma tam olarak anlaşılmamıştır ve birçok bitki türünde IMI'ye karşı dayanıklı ve hassas genotiplerin AHAS geninin zıt transkripsiyon seviyelerini içerdiği ortaya konmuştur (Jain ve Tar'an 2014).

AHAS genindeki tek bir hedef-noktalı mutasyonun AHAS engelleyici herbisitlere dayanıklılığa yol açabileceği ve teknik olarak birçok kültür bitkisinde imidazolinone-dayanıklılık özelliği geliştirmenin mümkün olabileceği bildirilmiştir (Tan vd 2005). Tan vd (2005), AHAS engelleyici herbisitlere dayanıklılığa yol açabilecek mutasyonların AHAS LSU'nda en çok Ala122, Pro197, Ala205, Trp574, ve Ser653 konumlarında olabileceğini, Ser643'ün imidazolinone'e karşı dayanıklılık geliştirirken, diğer AHAS inhibitörlerine karşı çapraz dayanıklılık geliştiremeyeceğini ortaya koymuşlardır. Bunun yanında Trp574'teki mutasyonlar AHAS engelleyici herbisitlerin farklı ailelerine karşı dayanıklılık sağlarken, Ala122 ve Ala205'deki mutasyonların imidazolinone'lere karşı kabul edilebilir düzeyde dayanıklılık sağladığı da bildirilmiştir.

İki imidazolinone toleranslı şekerpancarı hattına IMI grubu herbisitler uygulanmıştır. Bu hatlardan Sir-13 varyetesinin imidazolinone herbisitlerine dayanıklı olduğu gözlemlenmiştir (IMI-R). Sir-13 büyük olasılıkla yarı-dominant bir çeşittir ve çok yüksek bir dayanıklılık ortaya koymaktadır. Birçok diğer ALS-herbisit dayanıklı bitki de yarı-dominant dayanıklılık sergilemektedir (Wright ve Penner 1998).

Volenberg vd (2001), tilkikuyruğu bitkisinde imazethapyr dayanıklılığının kalıtımını inceledikleri bir çalışmada, dayanıklı ve hassas bitkilerden elde edilen F2 genotiplerinde, dayanıklı-orta-hassas bitkilerin dağılımının sırasıyla (1:2:1) olduğunu ve bunun da özelliğin tek bir nükleer yarıdominant alelle kontrol edildiğini ortaya çıkardığını bildirmişlerdir.

Volenberg vd (2002) yaptıkları çalışmada yeşil kirpi darının (*Setaria viridis*) ALS inhibitörlerine dayanıklı olduğunu ve bu dayanıklılığın hassas olmayan bir ALS enzimine bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

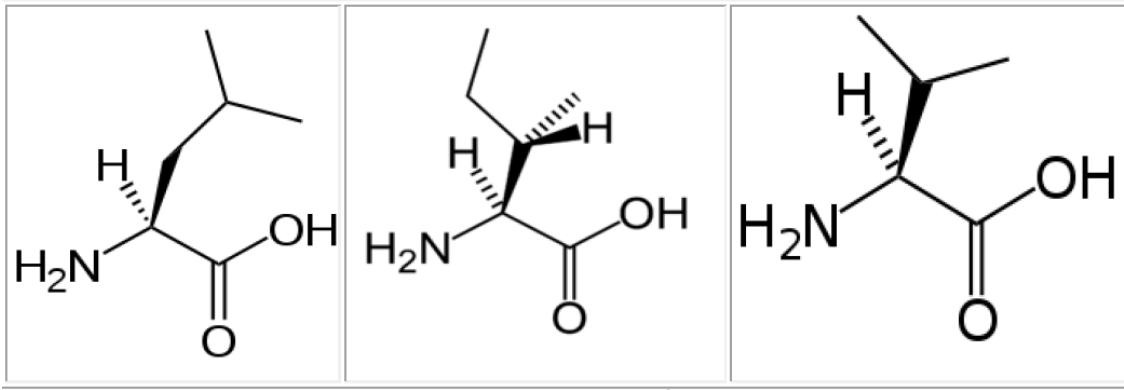
Farklı yabancı otlarda ALS etki noktası odaklı herbisitlere karşı dayanıklılığı aktaran sekiz noktada 20'den fazla amino asit ikamesi bulunduğu ve mutasyonlar içinde Pro197'deki ikameler en yaygınken Trp574 ve Ser653'teki ikamelerin bunu takip ettiği bildirilmiştir (Beckie ve Tardif 2012).

Rajasekaran vd (1996) herbisitlere dayanıklı transgenik pamuk bitkisinin (*Gossypium hirsutum* L.) *Agrobacterium* ve biyolistik transformasyon sayesinde elde edilen acetohydroxyacid synthase (AHAS) geninin mutant formlarını taşıdığını bildirmiştir. Yerel gen A19, prekursor polipeptitinin rezidü 563 ve rezidü 642'de amino asit ikameleri yaratmak amacıyla *in vitro* koşullarda mutasyona uğratıldığı da bildirilmektedir (Rajasekaran vd 1996).

2.16. IMI Dayanıklılıkta AHAS-ALS Enziminin Rolü

AHAS ya da ALS; valin, lizin ve izolisin gibi temel amino asitlerin (Şekil 2.7) biyosentezinde rol oynayan ilk enzimdir (Ray 1984).

Asetolaktat sentaz (ALS; EC 4.1.3.18 veya asetohidroksi asit sentaz; AHAS) dallanmış-zincir yapısındaki aminoasitler olan: valin, lösin ve izolösinin biyosentezindeki ilk genel basamağı sentez etmesi nedeniyle, bu metabolik yol bitkilerde ve mikroorganizmalarda oldukça önemlidir. Modern ve birbiriyle ilişkili olmayan sülfonilüre (SU), imidazolinonlar (IMI), triazolopirimidinler (TP), pirimidiniloksibenzoatlar (POB), ve sulfonilamino-karbonil-triazolin (SCT) sınıfı farklı kimyasal yapıdaki herbisidlerin hedefinin ALS enzimi olduğu bilinmektedir. Bu nedenle bu tip herbisidler "ALS-inhibitörü herbisit" olarak da adlandırılmaktadır (Corbett ve Tardif 2006; Karaboz ve Meriçli-Yapıcı 2008).



Şekil 2.8. Dallanmış amino asitler (Soldan sağa: Lizin, İzolisin ve Valin)

AHAS'ın iki belirgin metabolik rolü vardır. Bulunduğu birçok organizmada görevi dallanmış zincirli aminoasitlerin biyosentezidir. Ancak, bazı mikroorganizmalarda bir fonksiyonu daha vardır, butanediol ve ilgili bileşikleri oluşturan fermantasyon iz yolu. Bu iki enzimin varlığı isimlendirmede kafa karıştırıcı bir artışa yol açmıştır, çünkü butanediol fermantasyonunun katabolik sürecine dâhil olan AHAS, dallanmış zincirli aminoasitlerin biyosentezinde görev alan anabolik muadilinden birçok açıdan farklıdır. Bu nedenle, bazı makale yazarları enzimleri farklı isimlerle anmaktadırlar. Bu nedenle, katabolik enzim eski literatürde "pH 6 asetolaktat-oluşturan enzim" olarak anılırken, daha yenilerde α -asetolaktat sentaz olarak geçmektedir. Gollop vd (1989) anabolik enzimin asetohidroksiasit sentaz (ya da asetohidroksi asit sentaz) ve katabolik enzimin de asetolaktat sentaz (ALS olarak kısaltılmıştır) olarak isimlendirilmesini önermişlerdir. Bu önerilerin gerekçesi katabolik enzimin sadece asetolaktat oluşturma kabiliyetinin olmasına rağmen, anabolik enzimin her iki tür enzimi de oluşturabiliyor olmasıdır: asetolaktat ve asetohidroksi-bütirat. Ne yazık ki, bu isimlendirme geniş bir kabul görmemiş ve birçok yayın anabolik enzim için asetolaktat sentaz adını kullanmaya devam etmiştir. İkisini ayırt etmek için anabolik ve katabolik AHAS şeklinde kullanılabilir (Duggleby ve Pang 2000).

Valin, lösin ve izolösin mikroorganizmalarda ve bitkilerde ortak bir izyolu ile sentezlenir (Şekil 2.8). Bu izyolunun olağandışı bir özelliği, valin ve lösin oluşumuna önayak olan paralel adımların görev almasıdır. Bu paralel adımlar dört enzimden oluşurlar: anabolik AHAS, ketol-asit redüktoizomeras, dihidroksiasit dehidrataz ve hafifçe farklı iki farklı reaksiyonu katalize edebilen her birinin bir transaminazı. Bu aminoasitlerin ortak öncülünün, merkez metabolit pirüvat olması nedeniyle bu pirüvat-türevi aminoasitlerin bir alt kümesini oluşturur. Ek olarak, izolösin ikinci bir öncül olan 2-ketobütirat'a ihtiyaç duyar. 2-ketobütirat'ın kaynağı treonin deaminaz ile katalize olan treonin deaminasyonudur.

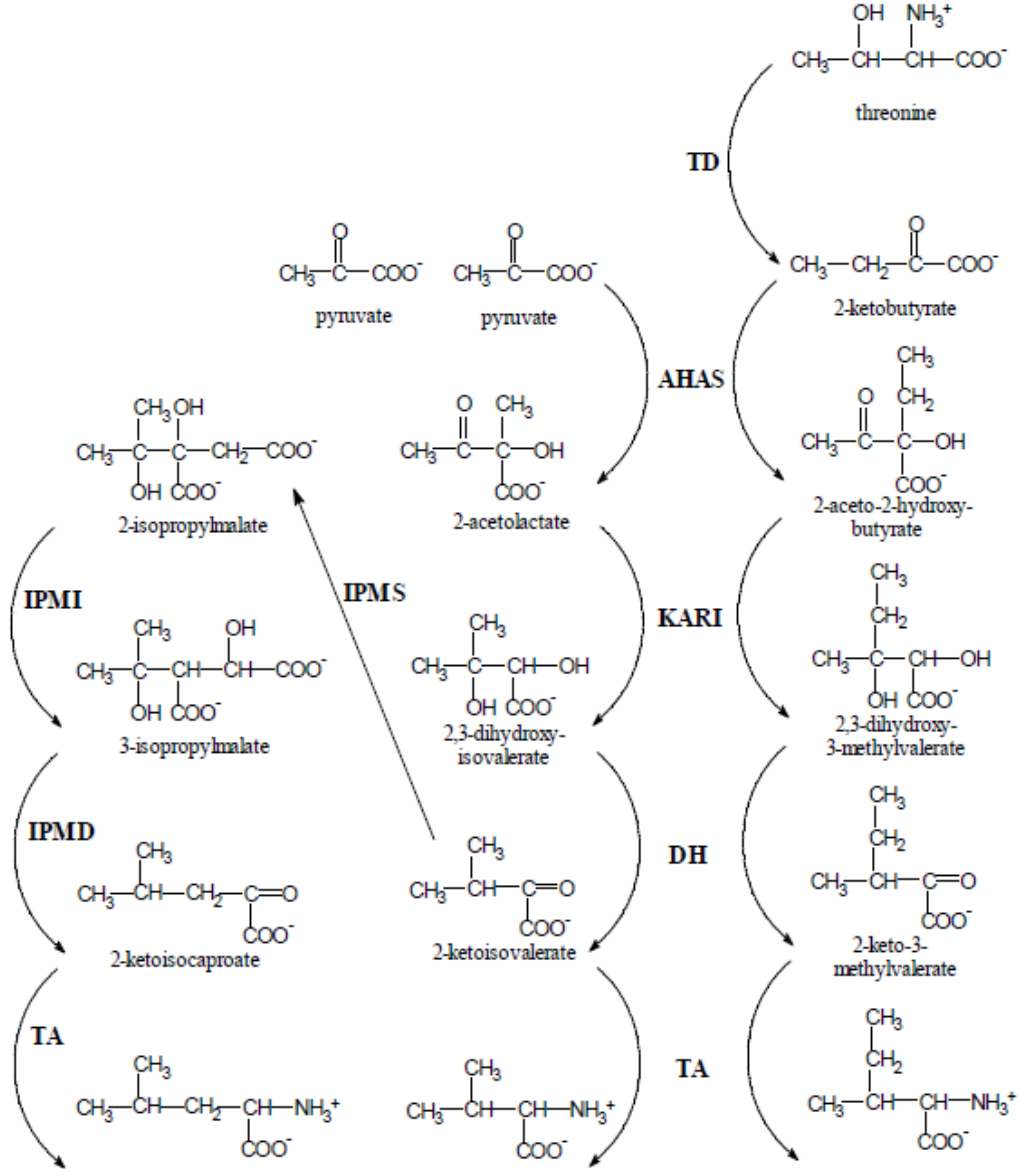
Anabolik AHAS, paralel adımların ilkinin katalize eder ve bu adım iz yolunun kritik bir dal noktasıdır çünkü bunun reaksiyonları karbonun dallanmış zincirli aminoasitlere akışının derecesini belirleyecektir. Reaksiyonlar, pirüvatın geri dönüşümsüz dekarboksilasyonu ve asetaldehid parçasının 2-asetolaktat vermek üzere ikinci bir pirüvat molekülü ile ya da 2-aseto-2-hidroksibütirat vermek üzere bir 2-ketobütirat molekülü ile yoğunlaşmasında görev alır. Her bir ürün üç reaksiyonda daha değiştirilir, sırasıyla valin ve izolösin vermek üzere ketol-asit redüktoizomeras, dihidroksiasit dehidrataz ve bir transaminaz ile katalize olurlar. Sentezin başlama noktası olarak valin öncülü 2-ketoizovaleratı kullanarak lösin biyosentezi için dört ek enzim gereklidir (Şekil 2.8).

Dallanmış zincirli aminoasitlerin biyosentezinin düzenlenmesi karmaşıktır ve dikkatle kontrol edilir. Bu regülasyon, hücrelerde dengeli bir amino asit kaynağını garantilemek için olduğu kadar ara ürünlerinin diğer hücrel metabolik izyollarıyla etkileşime girmesi nedeniyle de gereklidir. Mikroplar ve bakteriler ortak bir dallanmış zincirli aminoasit biyosentezi izyolunu paylaşırlar da düzenlenmesi organizmalar arasında farklılık gösterebilir ve tam anlamıyla anlaşılamamıştır. Regülasyon üzerine yapılan bir çok çalışma *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* kullanılarak yürütülmüştür. Regülasyon, çoklu izoenzimlerin varlığını, enzimlerin aktarımının kontrol eden farklı mekanizmaları, aktivite üzerinde son ürün geri besleme engellemesi gibi alosterik etkileri ve ökaryotlarda olduğu gibi biyosentetik izyolunun bölünmesini içerir (Duggleby ve Pang 2000).

Anabolik AHAS bakteri, fungus, alg ve bitkilerde bulunur ve bunun sonucu olarak bu organizmalar dallanmış zincirli aminoasitler bakımından ototroftirler. Aktiviteye bir ya da daha fazla izoenzim tarafından katkı yapılır (Duggleby ve Pang 2000).

Bitkilerde AHAS'ın Sulfonilurea (Ray 1984) ve imidazolinone herbisitlerinin aktivite noktası olarak tanımlanması, enzimi ve bitkilerdeki fonksiyonunun biyosentetik izyolunu anlamamızı çok ilerletmiştir. İlk iki bitki geni Mazur vd (1987) tarafından heterolog hibridizasyon probu olarak maya geni *ilv2*'yi kullanarak *Arabidopsis thaliana* ve *Nicotiana tabacum*'dan izole etmiştir. Bundan sonra, birçok bitki AHAS geni klonlanmış ve karakterize edilmiştir. Bunlardan bazıları *Brassica napus* (Rutledge vd 1991), *Zea mays* (Fang vd 1992), *Gossypium hirsutum* (Grula vd 1995) ve *Xanthium* sp. (Bernasconi vd 1995) bitkilerinden elde edilmiştir. Bu organizmalar tek bir AHAS aleli (*A. thaliana* ve *Xanthium* spp.) ve iki AHAS kopyasından (*N. tabacum* ve *Z. mays*) daha karmaşık gen familyalarına kadar değişiklik göstermektedir (*B. napus* 5 gene ve *G.*

hirsutum 6 gene sahiptir). Bitki genlerinin ortaya çıkan amino asit dizilişleri birbiri ve bakteri ve maya katalitik alt birimleri ile N-terminal transit peptit dizilimi hariç kolineerdir.



Şekil 2.9. Dallanmış zincirli aminoasit sentezinin izyolu. Kullanılan kısaltmalar: TD, treonin deaminaz; KARI, ketol-asit redüktoizomeraz; DH, dihidroksiasit dehidrataz; TA, transaminaz; IPMS, 2-izopropilmalat sentaz; IPMI, izopropilmalat izomeraz; IPMD, 3-izopropilmalat dehidrojenaz

Olası bitki AHAS düzenleyici alt birim dizilimleri EST veri tabanında teşhis edilmiştir (Duggleby 1997) ve Hershey vd (1999) *Nicotiana plumbaginifolia*'nın olası AHAS düzenleyici alt birimini klonlamış ve aktarmışlardır. Aktarılan enzimler kloroplastta görev yapmak üzere nakledilirken bugüne kadar teşhis

edilen bitki katalitik alt birim genlerinin hiç birinde intron yoktur ve hepsi nükleer genomda şifrelenmiştir (Bascomb vd 1987).

İncelenen tüm bitki türlerinde, en az bir AHAS geni temel tarzda aktarılmıştır ancak buna rağmen aktarım seviyesi dokular ve gelişim dönemleri arasında değişiklik gösterebilir. En yüksek AHAS transkripsiyon ve aktivitesi metabolik olarak aktif meristem hücrelerinde bulunmuştur (Schmitt ve Singh 1991; Ouellet vd 1992, Keeler vd 1993). Bu temel genler referans genler olarak da bilinirler. Hepsi de allotetraploid olan *N. tabacum*, *B. napus* ve *G. hirsutum* örneklerinde çoklu AHAS genlerinin varlığı, diploid ebeveynlerinden türetilmiş genomların kombinasyonunun kısmi bir sonucudur (Lee vd 1988; Rutledge vd 1991; Grula vd 1995). Bu bitkiler her biri benzer seviyelerde aktarılan iki referans gene sahiptirler. Bu temel genlere ek olarak, *B. napus* ve *G. hirsutum*'un dokuya özgü tarzda aktarılan bir diğer AHAS geni vardır ve fonksiyonel olarak belirgin bu AHAS genlerinin mRNA'ları sadece üreyebilen dokularda belirlenmiştir. Bu genlerin özel işlevi ve regülasyonu bilinmemektedir.

(i) Sulfonylurea (SU), (ii) Imidazolinone (IMI), (iii) Triazolopyrimidine (TP), (iv) Pyrimidinyl-Thiobenzoates (PTB) ve (v) Sulfonyl-aminocarbonyl-triazolinone (SCT) gibi beş kimyasal yabancı ot ilacında AHAS enziminin hedef etkili olduğu bildirilmiştir (Yu ve Powles 2014). 1980'li yılların başından beri AHAS engelleyen yabancı ot ilaçları düşük dozlarda yabancı otlara etkili oldukları, memelilere az toksik oldukları (çevreye duyarlı oldukları) ve birçok bitkide seçici oldukları için yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca, bu grup yabancı ot ilaçlarının ABD'de yaygın kullanımı bazı yabancı otlarda (*Lolium rigidum* Gaudin ve *Lactuca serriola* L.) kısa sürede dayanıklılık sağlamıştır (Malory-Smith vd 1990). Heap (2015) tarafından yapılan bir çalışmada bu yabancı ot ilaçlarına dayanıklı 141 bitki türü kayıtlara geçmiştir (Heap 2015). Bugün bu tür ilaçların üzerindeki kullanım klavuzunda (propektüsünde) bunların 2 yıl üst üste aynı tarlada kullanılmamaları tavsiye edilmektedir. ALS-inhibe edici herbisidler özellikle çeşitli ekinlerin yabancı ot mücadelesi için son yıllarda Dünya'da yaygın olarak kullanılmaktadır. Tarımsal sistemlerde herbisitlerin uygulanmasının toprak mikrobiyotası üzerinde yan etkileri ortaya çıkabilir ve mikrobiyal komünite yapısında bazı değişikliklere yol açabilir (Allievi ve Gigliotti 2001; Karaboz ve Meriçli-Yapıcı 2008).

Yabancı ot ilaçlarına dayanıklılığı; hedef-etkili (target-site resistance) dayanıklılık ve hedef-etkili olmayan (non-target-site resistance) dayanıklılık olarak temelde 2 gruba ayırmışlardır. Hedef-etkili yabancı ot ilaçlarına dayanıklılık nokta gen mutasyonlarıyla sağlanmaktadır. Burada yabancı ot ilaçlarına dayanıklılık genelde nükleer dominant tek gen tarafından kontrol edilmektedir. Hedef-etkili olmayan yabancı ot ilaçlarına dayanıklılıkta AHAS enzimine herbisitlerin ulaşımı azaltılmakta ve bitkinin yaşaması sağlanmaktadır (Yu ve Powles 2014). Bu şekilde dayanıklılık çok fazla çalışılmamıştır. Fakat bir ayırık türünde (*Lolium rigidum* Gaudin) poligenik bulunmuştur (Busi vd 2013).

Garijo vd (2012) fasülye bitkisinde yaptıkları çalışmada AHAS inhibitörlerinin dallanmış aminoasitlerin sentezini engelleyerek çözünür protein içeriğinin azalmasına yol açtıklarını, ancak bazı bitkilerin mevcut proteinlerini parçalayarak yeni protein

sentezleme olarak bilinen proteoliz yeteneğini geliştirerek AHAS aktivitesinin engellenmesine rağmen hayatta kalabildiklerinin bildirmişlerdir.

AHAS inhibitörü herbisitlere karşı dayanıklılık ya ileri düzey metabolik faaliyetler sonucu ya da AHAS geninin herbisit bağlanma noktasında tek bir amino asit rezidüsünün değişimi ile ortaya çıkmaktadır ve bakteri, fungus ve bitkilerde AHAS dayanıklılığı ortaya çıkaran en az 17 amino asit rezidüsü belirlenmiştir (Duggleby vd 2008). Duggleby vd (2008), herbisite dayanıklı AHAS mutantlarının dayanıklı organizmalardan doğal izolatlar ya da laboratuvarında elde edilenler şeklinde kataloglandığını, mutasyonların AHAS inhibitörlerine moleküler düzeyde çapraz dayanıklılık oluşturabileceğini ve bu çapraz dayanıklılıkların genellikle sulfonilureas ve triazolopyrimidines ya da imidazolinones ve pyrimidyl(oxy/thio) benzoates gibi dört grup arasında olabileceğini bildirmiştir.

Park vd (2011) Colfax, Washington'da görülen bir adi eşek marulu biyotipinin thifensulfuron ve diğer ALS inhibitörü herbisitlere dayanıklılığını belirlemek için yapılan bir çalışma sonucunda sulfonilurea (SU) grubu thifensulfuron, metsulfuron ve prosulfuron ile imidazolinone (IMI) grubu, imazamox ve imazethapyr gibi herbisitlere yüksek dayanıklılık gösterdiğini; ALS genleri için nükleotid ve amino asit dizilişleri analiz edildiğinde bu dayanıklılığın als1 geninde C'den T'ye bir tek noktalı mutasyon ile ortaya çıktığını ve ilgili biyotipte pozisyon 197'de lösin ve prolin aminoasitlerinin yer değiştirdiğini bildirmişlerdir.

Rutledge vd (1991) kolzada AHAS multigen ailesinin karakterizasyonu ve genetik kökeni konusunda yaptıkları çalışmada, bitkinin AHAS1-5 arası aile üyelerini içerdiğini, AHAS1 ve AHAS3'ün aşırı derecede benzer homolojide olduklarını ve bitki büyümesi ve gelişmesini sağladıklarını, polipeptit ve transpeptit kodlamalarında görev alan AHAS2'nin bunlardan çok farklı olduğunu, AHAS4 ve AHAS5'in ise kodlama bölgelerinin durdurulmuş olup etkisiz olabileceklerini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Denemelerde kullanılan bitki materyalleri

Bu çalışmada kullanılan genetik materyal, kültürü yapılan nohut (*Cicer arietinum* L.) ve kültür nohudunun atası olarak bilinen tek yıllık yabani (*C. reticulatum* L.) nohut mutanları melezlerini kapsamaktadır. Araştırmada kullanılan genotiplerin bazı özellikleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Melezlemelerde kullanılan ana ve baba hatlar

Ana (♀) ve Baba (♂)	Özellikler
<i>C. reticulatum</i> mutant (♂) (AWC 611HR)	IMI-dayanıklı, yanıklık hastalığına hassas, çok küçük daneli, iri daneli (kabuli) nohutlar gibi beyaz ve tek çiçekli, antosiyansız ve açık kahverengli tohumlu, tek baklalı, normal yapraklı.
<i>C. arietinum</i> (♀) (ACC 1054)	Soğuğa toleranslı, yanıklık hastalığına toleranslı, küçük daneli, beyaz ve çift çiçekli, çift baklalı, antosiyansız ve yuvarlak daneli, normal yapraklı.

ACC 1054 ve IMI dayanıklı yabani nohut (AWC 611HR) genotipleri Şubat 2012 tarihinden itibaren yaklaşık 50 cm sıra arası ve 10 cm sıra üzeri mesafe ile Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme alanına ekilmişlerdir (Şekil 3.1). Bitkiler çiçeklenmeye başlayınca sabah erken saatlerde emaskülasyondan sonra tozlama ve melezleme çalışmaları başlatılmıştır ve son çiçeklere kadar devam ettirilmiştir (Şekil 3.2). Melezlemede başarıyı artırmak için çalışma serada da tekrarlanmıştır. Şekil 3.3’de *Cicer arietinum* L. (♀) x *C. reticulatum* Ladiz. (♂) melezi görülmektedir.



Şekil 3.1. Melezlemede kullanılan materyaller



Şekil 3.2. Arazide yapılan melezleme çalışmaları



Şekil 3.3. *Cicer arietinum* L. (♀) x *C. reticulatum* Ladiz. (♂) melezi

Şekil 3.4’de ana ve baba’nın bakla ve tohumları görülmektedir. Şekil 3.5’de ve Şekil 3.6’da elde edilen melez hatların tohumları ve baklaları verilmiştir.

F₁’ler ve anaçlar 14 Aralık 2012 tarihinde 50 cm sıra arası ve 10 cm sıra üzeri mesafe olacak şekilde yaklaşık 6 cm derine 4 m uzunluğundaki sıralara ekilmişlerdir. 2013 yılında tekrar resiprok olacak şekilde melezlemeler yapılmıştır. Aynı zamanda geri melezlemeler de yapılmıştır.



Şekil 3.4 ACC 1054 ♀ (*C. arietinum* L.) ve AWC 611HR ♂ (*C. reticulatum* mutant) tohumu ve baklaları AWC 611HR



Şekil 3.5. ACC 1054 X AWC 611HR melezlerinden elde edilen tohumlar ve baklaları (F₁ generasyonu)



Şekil 3.6. Ana (solda), baba (ortada) ve melez (sağda)

Sonraki yıl (2014 yılında) her melez bir sonraki generasyona taşınmıştır. Elde edilen melezler ve geri melezler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Yerleşkede saksılarda, sera toprağında ve BATEM tarlasında ekilen ana, baba, F₁, F₂ ve BC₁ bitkileri

Deneme Yerleri	Ana (♀) ve Baba (♂)	F ₁ / BC ₁	F ₂
1. Yerleşke serada (saksıda)	32 (♀) ve 32 (♂)	100 BC ₁ *	128
2. BATEM tarlada	40 (♀) ve 59 (♂)	35 F ₁ ve 25 BC ₁ *	79
3. Yerleşke serada (toprakta)	20 (♀) ve 20 (♂)	43 + 13 BC ₁ **	200

* 100 ve 25 BC₁ [F₁ (♀) x ACC 1054 (♂)], ** 43 BC₁ [F₁ (♀) x ACC 1054 (♂)] ve 13 BC₁ [AWC 611M (♀) x F₁ (♂)]

3.1.2. IMI-uygulamalarının yürütüldüğü yerler

Bu araştırmanın tarla denemesi Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM) Tarla Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama Arazisinde 2013-2014 yılları arasında yürütülmüştür. Deneme yerinin denizden yüksekliği yaklaşık 19 m olup, 36° 55' kuzey enlemi ve 30° 58' doğu boylamında yer almaktadır.

Bu araştırmanın sera denemeleri Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Üretim seralarında 2013-2014 yılları arasında yürütülmüştür. Deneme yerinin denizden yüksekliği yaklaşık 51 m olup, 36° 52' kuzey enlemi ve 30° 44' doğu boylamında yer almaktadır.

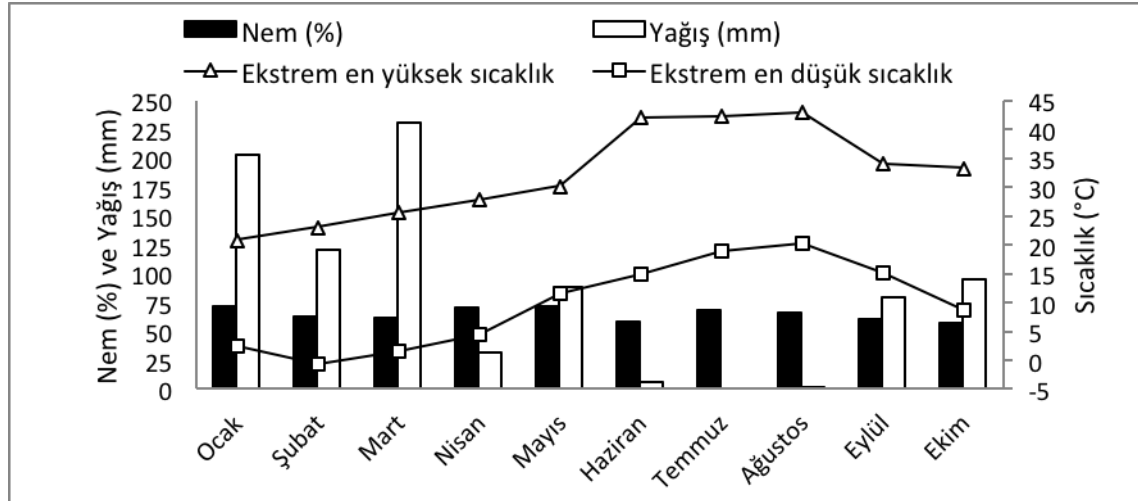
Ekimden önce toprak 18:46:0 gübresinden dekara yaklaşık 2 kg azot ve 5 kg fosfor gelecek şekilde gübrenmiştir. Fide döneminde ve çiçeklenme öncesi dönemde yabancı otlar elle temizlenmiştir.

3.1.3. Deneme yerinin iklim özellikleri

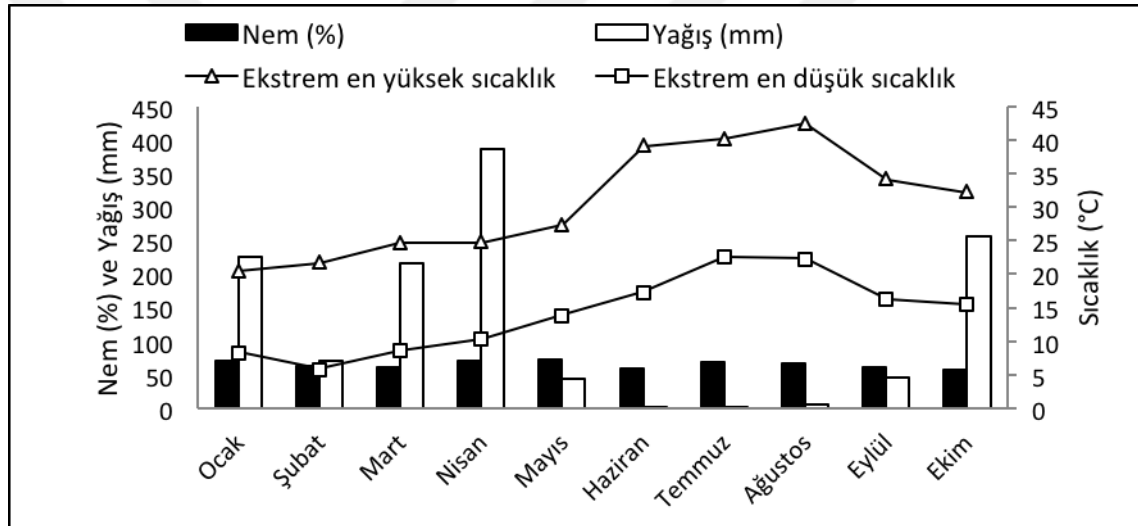
Tarla denemesine ve sera çalışmasına ait iklimsel veriler Antalya Devlet Meteoroloji İşleri Bölge Müdürlüğünden temin edilmiştir. Sera içi nem ve sıcaklık değerleri ise taşınabilir termometreyle ölçülmüştür. Melezlemelerin yapıldığı yıllara ait iklim verileri kayıt altına alınmamıştır.

Tarla denemesinin iklimsel verileri, 2014 yılı Antalya-Aksu merkez istasyonuna ait gözlemlerin yer aldığı aylık yağış, nem ve sıcaklık değerleri Şekil 3.7'de, gösterilmektedir. Tarla denemesinin yürütüldüğü BATEM araştırma istasyonunda 2014 yılında en düşük ortalama yağış 0,2 mm-1,60 mm ile Temmuz ve Ağustos aylarında; en yüksek ortalama yağış 230,7 mm ile Mart ayında saptanmıştır. (Şekil 3.7). Aynı alanda en düşük ortalama sıcaklık -0,8 °C ile Şubat ayında; en yüksek ortalama sıcaklık ise 42,8 °C ile Ağustos ayında kaydedilmiştir.

Sera denemesinin iklimsel verileri, 2014 yılı Antalya-Merkezde bulunan devlet meteoroloji işleri merkez istasyonuna ait gözlemlerin yer aldığı aylık yağış, nem ve sıcaklık değerleri Şekil 3.8'da gösterilmektedir.



Şekil 3.7 Tarla denemesinin bitki yetiştirme dönemine ait iklim verileri.



Şekil 3.8 Sera denemesinin bitki yetiştirme dönemine ait iklim verileri

Sera denemesinin yürütüldüğü, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi üretim seralarının bulunduğu alanda 2014 yılında en düşük ortalama yağış 1,8 mm ile Temmuz ayında; en yüksek ortalama yağış 386 mm ile Nisan ayında saptanmıştır (Şekil 3.8). Denemenin yürütüldüğü Antalya merkezde 2014 yılında en düşük ortalama sıcaklık 5,8 °C ile Şubat ayında; en yüksek ortalama sıcaklık 42,6 °C ile Ağustos ayında saptanmıştır.

Denemelerin yürütüldüğü her iki alanda da bitkilerin bakla bağlama döneminde sıcaklıklar 42-43 °C'ye kadar yükselmiştir. Denemenin yapıldığı yıl yerleşkede 859,4 ve Aksu'da 1254 mm yağış kaydedilmiştir. Bölgede bitkinin gelişme döneminde yağışlar kış aylarından bahar aylarına doğru keskin bir şekilde azalmaktadır.

3.1.4. Deneme yerinin toprak yapısı ve analiz sonuçları

3.1.4.1. Tarla denemesi

Bu araştırmanın tarla denemeleri BATEM Tarla bitkileri bölümü araştırma tarlasında yürütülmüştür. Nohut bitkisinin kök yapısı dikkate alınarak, 0-30 cm toprak derinliğinden dikim öncesinde toprak örnekleri alınmıştır. Alınan toprak örnekleri laboratuvarında hava kurusu haline getirildikten sonra 2 mm'lik elekten elenmiş ve Chapman vd (1961)'nin bildirdiği esaslara uygun olarak analize hazır hale getirilmiştir. Toprak Analizleri Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının merkez yerleşkesinde bulunan toprak bitki su ve gübre analiz laboratuvarında yapılmıştır. Toprak örneklerinin analizinde kullanılan metotlar aşağıda verilmiştir.

Toprak pH'sı: Analize hazır hale getirilen toprak örneklerinin pH'ları 1:2.5 oranında toprak su karışımında Jackson (1967), tarafından bildirildiği şekilde 20 g toprak alınarak üzerine 50 ml saf su ilave edildikten sonra toprak su karışımı düzenli aralıklarla karıştırılmış ve 30 dakika sonra okuma yapılmıştır.

Kalsiyum karbonat (CaCO_3): Çağlar (1949) tarafından bildirildiği şekilde Scheibler Kalsimetresi ile tayin edilmiştir.

Eriyebilir toplam tuz: Jackson (1962) tarafından bildirildiği şekilde 20 g toprak alınarak üzerine 50 ml saf su ilave edildikten sonra toprak su karışımı düzenli aralıklarla karıştırılmış ve 30 dakika sonra elektriki iletkenlik, kondaktivite aletiyle ölçülmüştür.

Bünye: Bouyoucos (1955) tarafından bildirildiği şekilde hidrometre yöntemine göre % kum, silt ve kil miktarları belirlenerek sonuçlar bünye üçgenine uygulanmış ve toprak bünye sınıfları saptanmıştır.

Organik madde: Modifiye Walkley-Black metoduna göre yapılmıştır (Black 1965).

Toplam Azot: Modifiye Kjeldahl yöntemiyle tayin edilmiştir (Kacar 1962).

Alınabilir Fosfor: Olsen metoduna göre 0.5 M NaHCO_3 ekstraktında belirlenmiştir (Olsen ve Sommers 1982).

Değişebilir K, Ca ve Mg: 1 N amonyum asetat (pH 7) metoduna göre Kacar (1962) tarafından bildirildiği şekilde elde edilen ekstraksiyonda Ca, Fleymfotometre; K ve Mg, atomik absorbsiyon spektrofotometre ile belirlenmiştir.

Alınabilir Fe, Zn, Mn ve Cu: Lindsay ve Norvell (1978) tarafından bildirildiği şekilde 10 g toprak 0,005 M DTPA, 0,01 M CaCl_2 ve 0,1 M TEA içeren 20 ml ekstraksiyon çözeltisi (pH 7,3) ile iki saat çalkalandıktan sonra filtre edilerek elde edilen süzükte atomik absorbsiyon spektrofotometre ile tayin edilmiştir.

Çizelge 3.3. Tarla denemesi alanının toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Toprak özellikleri	Analiz sonucu	Değerlendirme	Toprak özellikleri	Analiz sonucu	Değerlendirme
Silt	% 46	Siltli-killi-tınlı	P	8,0 mg/kg	Orta
Kum	% 20		K	0,64 me/100 gr	İyi
Kil	% 34		Ca	20,99me/100 gr	İyi
pH (1:2,5)	8,4	Alkali	Mg	4,09 me/100 gr	Çok yüksek
EC	0,94 dS/m	Tuzsuz	Fe	9,4 mg/kg	İyi
Kireç (CaCO₃)	% 22,7	Aşırı kireçli	Zn	0,2 mg/kg	Noksan
Organik Madde	%1	Az	Mn	8 mg/kg	Yeterli
Toplam N	%0,07	Fakir	Cu	1,48 mg/kg	Yeterli

Deneme yerinin toprakları alkali karakterli, tuzsuz, kalsiyum karbonat içeriğince zengin olup, organik madde bakımından fakirdir. Deneme alanı toprağı % 46 silt, % 34 kil ve % 20 kumdan oluşan siltli-killi-tınlı bünyeye sahiptir. Deneme alanın toprağı; toplam N içeriğince fakir, değişebilir K içeriğince iyi, alınabilir Fe içeriğince iyi, alınabilir Zn içeriğince noksan, alınabilir P içeriğince orta, değişebilir Ca ve Mg, alınabilir Mn ve Cu içeriğince yeterli durumda olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.3).

3.1.4.2. Sera denemesi

Bu araştırmanın sera denemeleri Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Uygulama ve araştırma seralarında yürütülmüştür. Nohut bitkisinin kök yapısı dikkate alınarak, 0-30 cm toprak derinliğinden dikim öncesinde toprak örnekleri alınmıştır. Alınan toprak örnekleri laboratuvarında hava kurusu haline getirildikten sonra 2 mm'lik elekten elenmiş ve Chapman vd'nin (1961) bildirdiği esaslara uygun olarak analize hazır hale getirilmiştir. Toprak Analizleri Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü toprak analizi laboratuvarında yapılmıştır. Toprak örneklerinin analizinde kullanılan metotlar aşağıda verilmiştir.

Toprak bünyesi: Bouyoucos (1955) tarafından bildirilen esaslara göre, hidrometre yöntemiyle analiz yapılmış ve analiz sonuçlarına göre bünye sınıflarının belirlenmesinde, toprak bünyesi sınıflandırma üçgeninden yararlanılmıştır (Black 1957).

Toprak reaksiyonu (pH): Analize hazırlanmış olan toprak örneklerinin pH'ları 1:2,5 toprak-su karışımın WTW pH metre cihazında ölçülmüş (Jakson 1967) ve Kellog'a (1952) göre sınıflandırılmıştır.

Elektriksel iletkenlik (EC): Toprak EC değerleri 1:2,5 toprak su karışımından elde edilen süzükte WTW-720 EC metre cihazında belirlenmiş ve Soil Survey Staff'a (1951) göre sınıflandırılması yapılmıştır.

Kireç (CaCO_3): Toprak örneklerinin CaCO_3 içerikleri Scheibler kalsimetresi ile ölçülerek, sonuçlar % CaCO_3 olarak hesaplanmış (Çağlar 1949) ve toprakların CaCO_3 içerikleri Aereboe ve Falke'ye göre sınıflandırılmıştır (Evliya 1964).

Organik madde: Modifiye Walkley-Black metoduna göre tayin edilerek (Black 1965), sonuçlar % olarak hesaplanıp Jackson'a (1967) göre sınıflandırılmıştır.

Toplam Azot: Modifiye Kjeldahl metoduna göre tayin edilerek (Kacar 1995); sonuçlar % olarak verilmiş ve Loue'ya (1968) göre sınıflandırılmıştır.

Alınabilir Fosfor: Toprakların alınabilir fosfor miktarları Olsen metoduna göre belirlenerek, sonuçlar mg/kg olarak verilmiş ve Olsen ve Sommers'a (1982) göre sınıflandırılmıştır.

Değişebilir potasyum, kalsiyum ve magnezyum: Topraklar 1N Amonyum Asetat (pH:7) metodu kullanılarak (Kacar 1995) ekstrakte edilmiş ve potasyum, kalsiyum, magnezyum miktarları ICP-OES Perkin Elmer 7000 DV cihazı kullanılarak belirlenmiş, sonuçlar me/100 g olarak verilmiştir. Potasyum sonuçları Pizer'e (1967), kalsiyum ve magnezyum sonuçları Loue'ya (1968) göre sınıflandırılmıştır.

Alınabilir demir, çinko, mangan ve bakır: DTPA ekstraksiyonu yolu ile elde edilen süzüklerde demir, çinko, mangan ve bakır miktarları ICP-OES Perkin Elmer 7000 DV cihazı kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar mg/kg olarak hesaplanarak Lindsay ve Norvell'a (1978) göre değerlendirilmiştir.

Toprakta nitrat analizi: Toprakta nitrat içeriği kadminyum metalinin toprak örneklerindeki nitratı nitrite indirgemesi esasına dayanarak yapılmıştır. Tüm ölçümler DR 2800 (Hach-Lange, USA) Spektrofotometresinde HACH marka standart test kitleri (Nitra Ver 5 Nitrate Reagent Powder Pillow) kullanılarak belirlenmiştir.

$\text{NO}_3\text{-N}$ analizi: 1:10 nemli toprak/ 0,01M CaSO_4 karışımı Whatman-42 filtre kağıdı yardımı ile ekstrakt kaplarına süzölmüştür (Carter 1993). Bu süzükten alınan 10 ml numune ile Nitra Ver 5 Nitrate Reagent Powder Pillow (HACH) 1 dk süre karıştırılarak 5 dk bekletilmiş ve numunedeki nitrat miktarı daha önce kör numuneye göre kalibre edilmiş spektrofotometrede 500 nm dalga boyunda mg/l olarak ölçölmüştür. Toprakta $\text{NO}_3\text{-N}$ sonuçları Anonim'e (2010) göre değerlendirilmiştir.

Deneme yerinin toprakları alkali karakterli, tuzsuz, kalsiyum karbonat içeriğince zengin olup, organik madde bakımından fakirdir. Deneme alanı toprağı % 51,52 kum, % 29,2 kil ve % 19,27 siltten oluşan kumlu killi tınlı bünyeye sahiptir. Deneme alanın toprağı; toplam N içeriğince fakir, değişebilir K içeriğince orta, alınabilir Fe ve Zn içeriğince iyi, alınabilir P içeriğince yüksek, değişebilir Ca ve Mg, alınabilir Mn ve Cu içeriğince çok yüksek durumda olduğıu tespit edilmiştir (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Sera denemesi alanının toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Toprak özellikleri	Analiz sonucu	Değerlendirme	Toprak özellikleri	Analiz sonucu	Değerlendirme
Silt	%19,27	Kumlu-killi-tınlı (Soil-servey staff)	P	27,41 mg/kg	Yüksek
Kum	%51,52		K	0,45 me/100 gr	Orta
Kil	%29,2		Ca	32,6 me/100 gr	Çok yüksek
pH	8	Alkali	Mg	1,20 me/100 gr	Çok yüksek
EC	0,22 dS/m	Tuzsuz	Fe	5,11 mg/kg	İyi
Kireç (CaCO₃)	%17,6	Çok yüksek	Zn	1,00 mg/kg	İyi
Organik Madde	%1,2	Az	Mn	27,74 mg/kg	Çok yüksek
Toplam N	%0,09	Fakir	Cu	1,26 mg/kg	Çok yüksek

3.1.4.3. Sera saksı ön denemesi

Bu araştırmanın sera saksı denemeleri Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Uygulama ve Araştırma seralarında yürütülmüştür. Ön denemenin yapıldığı saksıların toprakları Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümüne ait 2 nolu parselden alınmıştır. Bu alandan, 0-30 cm toprak derinliğinden dikim öncesinde toprak örnekleri alınmıştır. Alınan toprak örnekleri laboratuvarında hava kurusu haline getirildikten sonra 2 mm'lik elekten elenmiş ve analize hazır hale getirilmiştir. Toprak Analizleri Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü toprak analizi laboratuvarında yapılmıştır. Toprak örneklerinin analizinde kullanılan metotlar yukarıda verilmiştir.

Çizelge 3.5. Sera saksı denemesi için alanının toprak örneklerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri (Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümüne ait 2 nolu parsel)

Toprak özellikleri	Analiz sonucu	Değerlendirme	Toprak özellikleri	Analiz sonucu	Değerlendirme
Silt	% 23,64	Kumlu-killi-tınlı (Soil-servey staff)	P	9,37 mg/kg	Yüksek
Kum	% 45,08		K	0,61 me/100 gr	İyi
Kil	% 31,28		Ca	37,71 me/100 gr	İyi
pH	7,96	Alkali	Mg	7,12 me/100 gr	Çok yüksek
E.C.	0,93 dS/m	Tuzsuz	Fe	3,56 mg/kg	İyi
Kireç (CaCO₃)	% 26,5	Çok yüksek	Zn	1,00 mg/kg	İyi
Organik Madde	% 1,87	Az	Mn	27,74 mg/kg	Noksanlık gösterebilir
Toplam N	%0,10	Fakir	Cu	1,36 mg/kg	İyi

Saksılarda kullanılan toprağın alkali, aşırı kireçli ve toprak bünyesinin de kumlu-killi-tınlı olduğu belirlenmiştir. Tuzluluk tehlikesi olmayan deneme yerinin organik maddece fakir olduğu, buna karşılık potasyum (P) seviyesinin yüksek, demir (Fe) ve çinkonun (Zn) iyi olduğu saptanmıştır. Magnezyum (Mg) elementinin ise eksiklik gösterebileceği belirlenmiştir (Çizelge 3.5).

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitkilerin yetiştirilmesi

3.2.1.1. Tarlada bitkilerin yetiştirilmesi

BATEM Tarla Bitkileri Bölümü araştırma tarlasında yürütülmüş olan denemede kullanılan nohut anaçları (ACC 1054 ♀ ve AWC 611HR ♂), melez hatlar, F₂ hatları ve geri melez hatlar (BC₁) fidelikte viyollerde çimlendirilmiştir. Şekil 3.9-3.10'da çimlendirilmiş fideler viyollerde görülmektedir. Deneme arazisi 2013 bahar sezonunda pullukla sürülmüş üzerinden goble disk ve tapan geçilerek tesviye edilmiştir. Her bir genotipin fidesi hazırlanan bloklara markör ve çepen yardımı ile açılmış sıralara 20 Şubat 2014 tarihinde 50 x 30 cm sıra arası ve sıra üzeri mesafede dikilmiştir. Bu çalışmada ilaç uygulaması, genotiplerin dallanma durumları ve yanıklık (antraknoz) hastalığı dikkate alınarak fideler 50 x 30 cm sıra arası ve sıra üzeri mesafede dikilmiştir (Şekil 3.11-3.15).

Hava sıcaklığı ve yağış durumuna göre bitkilere salma sulama yapılmıştır. Fide, çiçeklenme ve bakla bağlama dönemlerinde elle yolarak ve çapalamayla yabancı ot kontrolü yapılmıştır.



Şekil 3.9. Fidelikte çimlendirilen nohut bitkileri (AWC 611HR ♂)



Şekil.3.10. Fidelikte çimlendirilmiş fideler



Şekil 3.11. Tarla denemesinden genel görüntü



Şekil 3.12. Fide dönemindeki melezlerin arazideki görünümü



Şekil 3.13. Fide dönemindeki geri melezler (BC₁)



Şekil 3. 14. Fide döneminde F₁ hatları



Şekil 3.15. Melez bitki (solda) ve baba bitki (sağda)

3.2.1.2. Serada bitkilerin yetiştirilmesi

Çalışmanın sera denemesi Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Uygulama ve Araştırma seralarında yürütülmüştür Toprak işleme yapıldıktan sonra, ekimden önce

deneme alanına 18:46:0 gübresinden dekara yaklaşık 2 kg azot ve 5 kg fosfor gelecek şekilde gübreleme yapılmıştır.

Fidelikte çimlendirilen nohut bitkileri (ACC 1054 ♀ ve AWC 611HR ♂), melez hatlar, F₁ hatları ve geri melez hatları (BC₁) 23 Mart 2014 tarihinde seraya dikilmiştir. Dikilen fidelerin viyollerdeki durumu Şekil 3.16’de görülmektedir. Seraya döşenecek damla sulama sistemleri, ilaç uygulaması ve bitkilerin dallanma durumları göz önüne alınarak, fideler 50 x 40 cm sıra arası ve sıra üzeri mesafede dikilmiştir (Şekil 3.17). Dikimden sonra ayda bir damlama sulama ile birlikte 15 kg/ha N ve 15 kg/ha P₂O₅ verilmiştir.

Sulama hava sıcaklığına ve sera içi nemi göz önünde bulundurularak damla sulama sistemiyle yapılmıştır. Fide döneminde, çiçeklenme ve bakla bağlama dönemlerinde yabancı ot kontrolü elle yolarak ve çapalamayla yapılmıştır. Şekil 3.18 ve 3.19’da seranın genel görüntüsü ve çiçeklenme durumu görülmektedir.



Şekil 3.16. Viyollerde çimlendirilen F₂ bitkileri (sol) ve anaçlar (sağ)



Şekil 3.17. Yerleşkede sera toprağına dikilen materyallerin fide dönemi (F_1 , BC_1 , F_2 ve anaçlar)



Şekil 3.18. Serada IMI dayanıklı geri melez, [AWC 611M x F_1], ana ve baba (sol ve soldaki sıranın devamı), BC_1 [F_1 x ACC 1054] (orta sıra), ve F_2 bitkileri sıraları (sağ sıra)



Şekil 3.19. Seradaki bitkilerin çiçeklenme dönemindeki genel görüntüsü

3.2.1.3. Sera saksı ön denemesi

ACC 1054 (♀) ve AWC 611HR (♂) hatlarında, seçtiğimiz IMI grubu herbisit ön denemesi Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Uygulama ve Araştırma seralarında yapılmıştır. Dört ayrı saksıda ACC 1054 ve AWC 611HR'den üçer tane tohum 23 Aralık 2013 tarihinde çimlendirilmek için ekilmiştir (Şekil 3.20 ve 3.21). Saksıların toprakları Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümüne ait 2 nolu parselden alınmıştır. Hava sıcaklığı, sera içi sıcaklık göz önüne alınarak sulama elle yapılmıştır. Bitkiler fide dönemine geldiği zaman her genotipten bir saksı kontrol olarak ayrılmıştır. Diğer üç saksının birine önerilen dozun yarısı (10 ml/da), önerilen dozda (20 ml/da) ve önerilen dozun iki katı (40 ml/da) oranında litrede 100 g Imazethapyr etkili maddeli herbisit uygulaması yapılmıştır. İlaç uygulamasından sonraki 7. 14. ve 21. günlerde bitkilerdeki değişiklikler gözlemlenmiştir ve klorofil ölçümleri yapılmıştır. Şekil 3.22 ve 3.23'te önerilen dozun yarısı (1), önerilen doz (2) ve önerilen dozun iki katı (3) uygulama yapılan ana ve baba bitkiler görülmektedir.



Şekil 3.20. Saksıdaki ACC 1054 bitkileri



Şekil 3.21. Saksıdaki AWC 611HR bitkileri



Şekil 3.22. Farklı ilaç dozlarının ana bitkilere etkisi (1. Önerilen dozun yarısı (10 ml/da), 2. Önerilen dozda (20 ml/da), 3. Önerilen dozun iki katı (40 ml/da))



Şekil 3.23. Farklı ilaç dozlarının baba bitkilere etkisi (Farklı ilaç dozlarının ana bitkilere etkisi (1. Önerilen dozun yarısı (10 ml/da), 2. Önerilen dozda (20 ml/da), 3. Önerilen dozun iki katı (40 ml/da))

3.2.2. Kullanılan yabancı ot ilacı ve uygulama dozları

Yukarıdaki doz uygulama çalışmalarına ek olarak, genotiplere çıkış sonrası kullanılan litrede 100 g Imazethapyr etkili maddeli herbisit (Pursuit®, BASF) fide döneminde önerilen dozda (20 ml/da) uygulanmıştır. Kullanılan bu herbisit genellikle nohutta geniş yapraklı yabancı otları kontrol etmektedir. Herbisit bu konuda daha önce çalışmış araştırmacıların (Toker vd 2012) çalışmaları dikkate alınarak seçilmiştir.

Ayrıca seraya dikilen IMI hassas AWC 1054 ve IMI dayanıklı AWC 611M bitkilerde büyümeyi azaltan dozun (GR₅₀) belirlenmesi için bir çalışma yapılmıştır. Hassas ve dayanıklı bitkiler 4 saksıda (4 tekerrürlü olarak) ve her bir saksıda 3 bitki olacak şekilde yetiştirilmişlerdir. Fide döneminde önerilen dozun yarısı (10 ml/da), önerilen doz (20 ml/da) ve önerilen dozun iki katı (40 ml/da) şeklinde litrede 100 g Imazethapyr etkili maddeli herbisit uygulaması yapılmıştır. IMI herbiside dayanıklı nohut seçmek için Gaur vd (2013) de etkili maddesi ve ticari adı aynı olan bu ilaç da aynı şekilde çalışmışlardır.

BATEM’de yürütülen tarla denemesinde ACC 1054 ve AWC 611HR’nin birer sırası kontrol grubu olarak ilaç uygulamadan ayrılmıştır. ACC 1054 ve AWC 611HR’nin diğer sıralarına, F₁ ve BC₁ hatlarının tamamına fide döneminde önerilen dozda (20 ml/da) litrede 100 g Imazethapyr etkili maddeli herbisit uygulaması yapılmıştır.

Serada yürütülen denemede sadece F₂ hatlarının bir sırasına fide döneminde önerilen dozda litrede 100 g Imazethapyr etkili maddeli herbisit uygulaması yapılmıştır. Uygulama sonrasında bitkide oluşan hasar Şekil 3.24 de görülmektedir. Diğer F₂ hatları, ACC 1054, AWC 611HR, BC₁ hatları ilaç uygulanmadan yetiştirilmiştir (Şekil 3.25)



Şekil 3.24. Yabancı ot ilacı uygulamasından sonra bitkide oluşan hasar



Şekil 3.25. İlaç uygulanan ve uygulanmayan F₂ bitkilerinin seradaki görünümü

3.2.3. IMI-dayanıklılık için fenotipleme

Yukarıda belirtilen herbisit prospektüsünde yer alan etkili doz üzerinden (20 ml/da) fide döneminde uygulanmıştır. Herbisite toleransı değerlendirmek için yabancı ot ilacını fide döneminde uygulamadan sonra, 10. ve 20. günlerde tüm genotipler 1-3 skalasına göre değerlendirilmiştir. Kullanılan 1-3 skası Ceylan ve Toker (2006a,b)'den geliştirilmiştir.

1-3 Skası:

- 1. Toleranslı:** Yabancı ot ilacından zarar görmeyen bitkiler.
- 2. Orta:** Zarar gören fakat sonradan kendini toparlayan bitkiler. Bunlar bakla bağlayamamışlardır. Ancak, ölü bitki yoktur. Bunlar nihai değerlendirmede hassas olarak değerlendirilmişlerdir.
- 3. Hassas:** İlaç toksitesinden bitkilerin tamamı ölmüştür.

Serada IMI herbisit uygulamasından sonra ölen (hassas) ve yaşayan (toleranslı) F₂ bitkileri (Şekil 3.26). Materyalin hepsinin elden çıkmaması için serada toprakta yetiştirilen F₂ bitkilerinin bir sırasına IMI herbisit uygulanmıştır (Şekil 3.25). Şekil 3.26'de görüldüğü gibi IMI-hassas ya da dayanıklı olarak değerlendirilmişlerdir.



Şekil 3.26. Serada IMI herbisit uygulamasından sonra hassas (sağdaki bitki) ve toleranslı (soldaki bitki) F₂ bitkileri

3.2.4. Arazide ve serada ölçülen diğer özellikler

Herbisitlere dayanıklılık gözlemi yanısıra, bitkilerin hasat olgunluğuna eriştiği dönemde aşağıdaki morfolojik özelliklerde belirlenmiştir. İlaç uygulamasından sonraki 7., 14. ve 21. günlerde bitkilerde yapraktan klorofil yoğunluğu ölçülmüştür.

Çiçeklenme (% 50 çiçeklenme): Çiçeklenmeden sonra sıradaki bitkilerin en az yarısının çiçeklendiği zamandır.

Salkımdaki bakla sayısı: 1–2 [1=Tek baklalı ve 2=Çift baklalı) skalasına göre belirlenmiştir.

Bitki boyu: Bitkiler olgunlaşmadan önce toprak yüzeyinden bitkinin en üst yaprakçığına kadar olan kısmı cm cinsinden ölçülerek belirlenmiştir.

İlk bakla yüksekliği: Toprak yüzeyinden ilk baklanın olduğu boğuma kadar olan kısım cm cinsinden ölçülerek belirlenmiştir.

Ana dal sayısı: Bitkinin birinci dal sayıları ana dal sayısı olarak belirlenmiştir.

Bitkideki bakla sayısı (adet/bitki): Bitkiler üzerinde bulunan gelişmiş tüm baklalar ayrı ayrı sayılarak belirlenmiştir.

Taç genişliği: Bitki olgunlaşmadan önce bitkinin bir dalının ucundan diğer dalının ucuna kadar olan mesafe cm cinsinden bulunmuştur.

Biyolojik verim (g/bitki): Bitkilerin hasat edildikten sonra kuru ağırlığının tartılmasıyla belirlenmiştir.

Dane verimi (g/bitki): Biyolojik verimi belirlenen bitkinin harman işleminden sonra dane ağırlığının g olarak kaydedilmesiyle dane verimi elde edilmiştir.

Hasat indeksi: $(\text{Dane verimi} / \text{Biyolojik verim}) \times 100$ eşitliği ile hesaplanmıştır.

100-dane ağırlığı: Bitkinin bütün dane ağırlığının bitkinin dane sayısına oranlanması ile gram olarak saptanmıştır.

Değerlendirmede serada ve tarlada tüm bitkilerde tek bitki hasadı yapılmıştır. Yukarıda belirtilen özellikler her bir bitki için ayrı ayrı ölçülmüş, tartılmış ve değerlendirilmiştir.

Klorofil yoğunluğu: Tarla ve sera denemesinde yabancı ot ilacı uygulamadan önce ve uygulamadan sonraki 7., 14. ve 21. günlerde her bitkiden, tesadüfen belirlenen 3 dalın yaprak örneği alınarak Minolta Spad 502 Plus klorofilmetre aleti kullanılarak (Şekil 3.27) renk yoğunluğu değerleri tespit edilmiştir.



Şekil 3. 27. Minolta Spad 502 Plus klorofilmetre

3.2.5. Analizler için yaprak örneklerinin alınması

Sera ve tarla denemelerinde, ilaç uyguladıktan sonra belirlenen dayanıklı ve hasas hatlardan yaprak örnekleri alınarak -18 °C’de derin dondurucuda analizler yapılmaya kadar muhafaza edilmiştir.

3.2.6. Amino asit analizleri

Amino asit analizleri Gratzfeld-Huesgen (1999) ve Henderson vd (2000) tarafından verilen yöntemlere göre aşağıdaki koşullarda gerçekleştirilmiştir. Agilent 1100 HPLC kullanılmıştır. Kromatografik sistem: (i) Vacuum Degasser C.1379A, (ii) Binary Pompa C.1312A, (iii) Termostatlı otosampler C.1329A, (iv) Kolon fırın C.1316 A, (v) Floresan dedektör C.1316A ve (vi) UV Dedektör G 1314 A’dan oluşmaktadır.

Mobil faz: A: 0,4 mol/L NaH_2PO_4 , B: 45:45:10 MetOH:ACN:Su ve Mobil faz: 2 mL/dak olarak ayarlanmıştır. ZORBAX Eclipse-AAA (4.6*150mm,3.5 μm) HPLC kolon kullanılmıştır. Floresan dedektör olarak Ex: 340, Em: 450 nm ve UV dedektör 338 nm kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 400C’ye ayarlanmıştır. SIGMA (AAS18) Aminoasit standardı kullanılmıştır. Örnekler; (i) Fenol+hidroklorik asit, (ii) CYS, MET

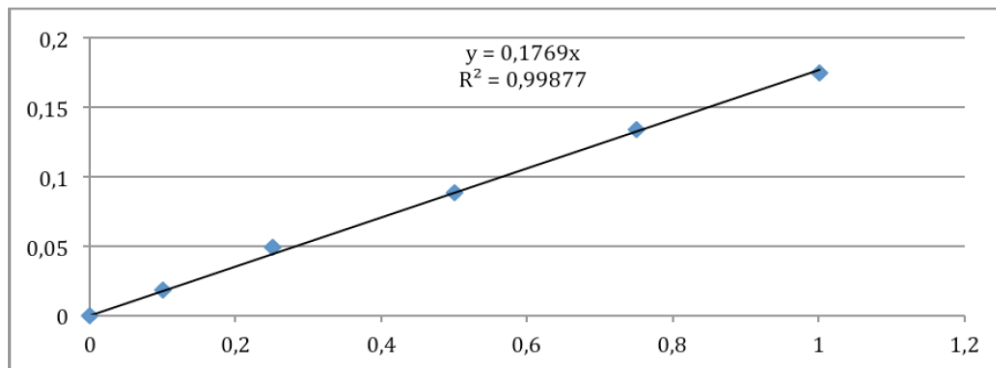
ve TYR için $\text{Na}_2\text{SO}_3 + \text{HCL}$ ve (iii) 110°C sıcaklıkta etüvde 24 saat bekletilerek hidroliz edilerek hazırlanmıştır. Kalibratörlerden elde edilen grafiklerden pik alanına göre konsantrasyon değerlerine ulaşılmıştır. Sonuçlar g/100g olarak hesaplanmıştır.

3.2.7. AHAS enzimi ölçümleri

Toplam protein ekstraksiyonu, Jin vd (2010)'nin yöntemine göre modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Taze nohut yaprakları (5,0 g), 5 ml tampon çözelti (50 mM Tris-HCl, pH 7,8, 0,5 mM MgCl_2 , 1 mM EDTA ve 1 mM DTT) içinde homojenize edilmiştir. Toplam protein ekstraktı 10.000 g'de 4°C 'de 20 dakika süre ile santrifüjlenerek elde edilmiştir. Elde edilen ekstrakt ALS enzim aktivitesi analizinde kullanılmıştır.

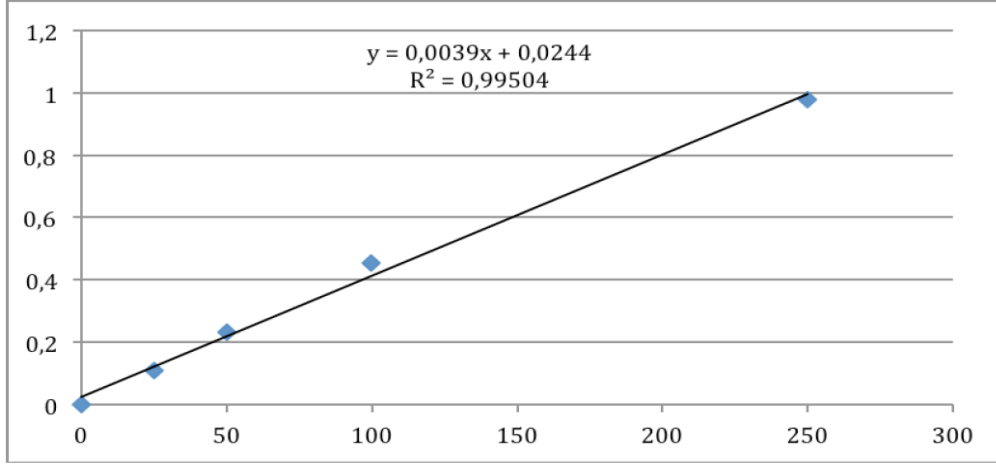
AHAS/ALS enzim aktivitesinin belirlenmesinde Young vd (2000)'de belirtilen yöntem modifiye edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan yöntem gereği; reaksiyon tamponu; 20 mM sodium pyruvate, 100 mM Phosphate buffer (PH:7), 1 mM MgCl_2 , 4 mM Thiamine pyrophosphate içermektedir. 100 μl enzim ekstraktı (süpernatant) 1 ml reaksiyon tamponu ile karıştırılmıştır. Bu karışım 37°C 'de 20 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur (su banyosunda). 20 dakikanın sonunda 100 μl % 50 H_2SO_4 ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Ardından 37°C 'de 25 dakika inkübasyona devam edilmiştir (bu aşamada oluşan asetolaktatın asetoine dönüşümü gerçekleşmektedir).

Reaksiyon çözeltisinden 200 μl alınarak, 800 μl 0,45 N NaOH, 500 μl %5 α -naphthol (%5 α -naphthol çözeltisi, 2,5 N NaOH içinde hazırlanmıştır) ve 500 μl %0,5 creatin çözeltisi ile karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 30 dakika boyunca çalkalamalı olarak inkübe edilmiştir. Ardından spektrofotometrede 530 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Kurve olarak, inkübasyonu 0. dk'da 100 μl % 50 H_2SO_4 eklenerek durdurulmuş örnek kullanılmıştır. Kurve örnekler, her bir örnek için ayrı hazırlanmış, aktivitesi ölçülecek örneğe yapılan tüm muameleler kör için de aynı şekilde yapılmıştır. Spesifik enzim aktivitesi, saatte miligram protein başına 1 μmol acetoin oluşturan enzim miktarı olarak ifade edilmiştir. Standart kurve farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış acetoin ile oluşturulmuştur (Şekil 3.28). Örneğe uygulanan tüm işlemler aynı şekilde standartlara uygulanmıştır.



Şekil 3.28. Acetoin kurvesi [x eksenine acetoin (μmol) ve y absorbans]

Protein ölçümü Bradford Assay Kit (Thermo Scientific, ABD) kullanılarak, üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Protein miktarının hesaplanmasında kullanılacak standart kurve BSA (Bovine Serum Albumin) kullanılarak hazırlanmıştır (Şekil 3.29).



Şekil 3.29. BSA kurvesi [x eksenini acetoin (µmol) ve y absorbans]

3.2.8. İstatistiksel Analiz Yöntemleri

Araştırmada uygulama konularının incelenen özellikler üzerine etkisini belirlemek için her bir özelliğe ait ortalama değerler bilgisayar ortamında MINITAB 13.1 paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen veriler kullanılarak varyans analizi (ANOVA), ortalama±standard hata, maksimum ve minimum değerler elde edilmiştir (MINITAB, 2000). F₂ bitkilerinde yapılan IMI herbisit gözlemleri hassas: dayanıklı bitki oranı 15:1 açılımına uygunluk bakımından khi-kare (χ^2) testine tabi tutulmuştur (Steel ve Torrie 1980).

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Denemeden Elde Edilen Melezler

Denemenin yürütüldüğü ilk yıl ortalama 1500-2000 çiçekte melezleme yapılmıştır. Yapılan melezlemeler sonucunda 22 adet *C. arietinum* L. (ACC 1054) X *C. reticulatum* Ladiz. (IMI Dayanıklı AWC 611M) melezi elde edilmiştir. Melezlemelerin yapıldığı dönemde hava sıcaklığının çok yüksek olmasından dolayı yapılan melezlerin çok az miktarı tutmuş ve tohum bağlayabilmiştir. Ayrıca çalışmanın yapıldığı dönemde epidemi şeklinde görülen antraknoz (yanıklık) hastalığı [*Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.] da tutan melezlerin ölmesine neden olmuştur (Şekil 4.1). *Ascochyta* yanıklığı birinci derecede ürün kaybına neden olan abiyotik stres faktörlerinden biridir (Akalin vd 2011). Bu alanda antraknoz hastalığının hızlı bir şekilde yayılmasında, aynı tarlada uzun yıllardır nohut denemeleri yapıyor olması önemli bir etken olarak düşünülmektedir. Bunun yanında Türkiye'nin birçok bölgesinden toplanmış yanıklık hastalığı tüm patotiplerini içeren inokulantların geçmiş yıllarda bitkilere bulaştırılmış olması ve azar-azar fakat sürekli yağın yağmurun da antraknozun hızlı yayılmasında etkili olduğunu söyleyebiliriz.



Şekil 4.1. Melezlemede kullanılan ve yanıklık hastalığına yakalanan materyaller

Çizelge 4.1. Tarla koşullarında yapılan melezlemelerden elde edilen tohum sayıları

Ana bitki (♀)	Baba bitki (♂)	Elde edilen melez tohum sayısı
<i>C. arietinum</i> L. (ACC 1054)	<i>C. reticulatum</i> Ladiz. (IMI Dayanıklı AWC 611M)	22
<i>C. arietinum</i> L. (LMR 202)	<i>C. reticulatum</i> Ladiz. (IMI Dayanıklı AWC 611M)	3
<i>C. arietinum</i> L. (Sierra)	<i>C. reticulatum</i> Ladiz. (IMI Dayanıklı AWC 611M)	4
<i>C. arietinum</i> L. (CA 2969)	<i>C. reticulatum</i> Ladiz. (IMI Dayanıklı AWC 611M)	12

İlk yıl *C. reticulatum* (♀) x *C. arietinum* (♂) melezlemeleri yapılmasına rağmen, melezlemelerde başarı sağlanamamıştır. İkinci yıl serada yetiştirilen bitkilerde hem *C. reticulatum* (♀) x *C. arietinum* (♂) melezleri yapılmıştır hem de resiprokal geri melezlemeler yapılmıştır. Bir diğer ifade ile bir önceki yıl *C. arietinum* (♀) x *C. reticulatum* (♂) melezlerinden elde edilen F₁ bitkileri hem ana ile hem de baba ile geriye melezlenmiştir. Serada yapılan melezlemelerden elde edilen tohum sayıları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Serada yapılan melezlemeler ve elde edilen melez tohum sayısı

Ana (♀) x Baba (♂)	Melez tohum sayısı
<i>C. arietinum</i> L. (ACC 1054) x <i>C. reticulatum</i> Ladiz. (AWC 611M)	488
<i>C. arietinum</i> L. (ACC 1054)	494
<i>C. reticulatum</i> Ladiz. (AWC 611M)	432
<i>C. arietinum</i> L. (ACC 1054) x F ₁	68
<i>C. reticulatum</i> Ladiz. (AWC 611M) x F ₁	22

ACC 1054 (♀) x AWC 611M (♂) melezinden elde edilen F₁ bitkilerinin daneleri yuvarlak ve irilik bakımından ana ve babanın ortasında bulunmuştur. Ana bitkinin daneleri ve baklaları daha iri, baba bitkinin dane ve baklaları ise küçük ve danelerin üzerleri ağsı yapıdadır (Şekil 4.2). Baba bitkinin danesi en küçüktür. Singh ve Ocampo (1997) *C. arietinum* (♀) x *C. reticulatum* (♂) melezlerinde yaptıkları çalışmada kalite ve dane özellikleri anlamında kültüre alınmış ebeveyn ile benzer yapıda melezler elde etmişlerdir, ancak yabani ebeveyn verim anlamında bir artış sağlamıştır. Jaiswal and Singh (1990) de bu iki türü melezledikleri çalışmada melezlerin kültüre alınmış ebeveynlerinden dane verimi ve kuru madde miktarı anlamında daha üstün olduğunu bildirmişlerdir. Buna ek olarak, Kabuli (kültür) ve Desi (yabani) tipi nohutların melezlenmesinden elde edilen F₂ bitkilerinin, verim ve verim bileşenleri açısından en iyi ebeveynden bile daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir (Yaşar vd 2014).



Şekil 4.2. Ana (ACC 1054), ACC 1054 x AWC 611M ve baba bitki (AWC 611M) (Soldan sağa)

4.2. F₁ Bitkilerinde Melez Azmanlığı

ACC 1054 (soğuğa dayanıklı) ve AWC 611M (IMI dayanıklı mutant) ebeveynleri antraknoz hastalığından çok az etkilenmiştir. Bu bitkilerin melezlenmesinden elde edilen 6 F₁ bitkisi hayatta kalabilmiştir. Bitkilerde önemli tarımsal ve morfolojik özellikler kaydedilmiştir. Bu özelliklere ait tanımlayıcı istatistikler (ortalama, ortalamanın standart hatası, en küçük ve en büyük değerler) Çizelge 4.3’de verilmiştir. *C. reticulatum* Ladiz. türü kültürü yapılan nohutla (*C. arietinum* L.) kolay melezlenebildiği (Muehlbauer 1993; Singh ve Ocampo 1997; Toker 2009) için IMI-dayanıklılık özelliği kültür formuna aktarılmıştır.

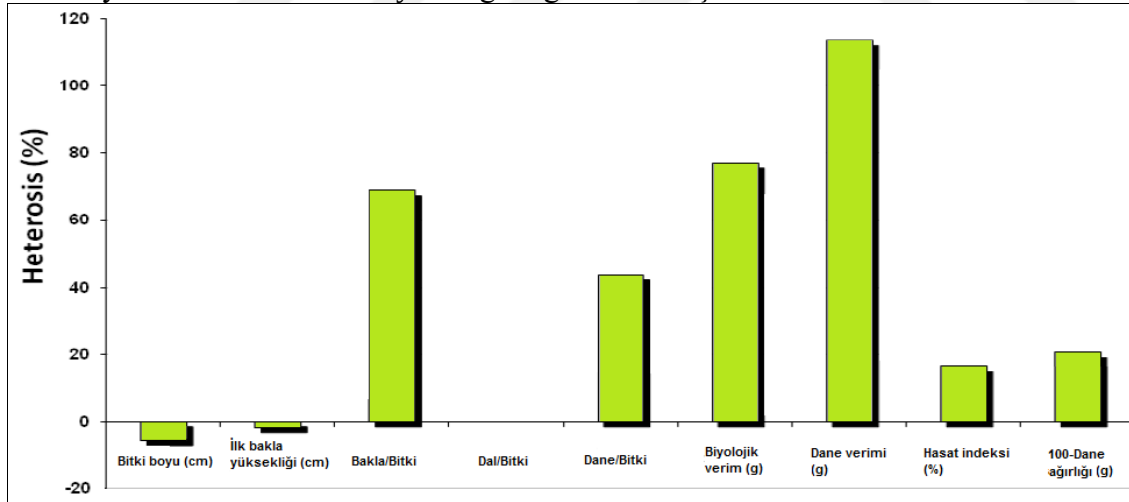
Çizelge 4.3. Ana, baba ve F₁ bitkilerinde ölçülen özelliklere ait tanımlayıcı istatistikler

Özellik	♀/♂/ F ₁	$\bar{x}$	$\pm S_{\bar{x}}$	En küçük	En yüksek
Bitki boyu (cm)	ACC 1054 (♀)	58.5	± 4.3	52.0	71.0
	AWC 611M (♂)	45.8	± 6.7	33.0	62.0
	F ₁	49.2	± 3.6	36.0	61.0
İlk bakla yüksekliği (cm)	ACC 1054 (♀)	22.0	± 3.2	16.0	30.0
	AWC 611M (♂)	13.5	± 3.0	5.0	19.0
	F ₁	17.5	± 1.5	11.0	21.0
Dal/Bitki (Adet)	ACC 1054 (♀)	1.3	± 0.3	1.0	2.0
	AWC 611M (♂)	1.3	± 0.3	1.0	2.0
	F ₁	1.3	± 0.2	1.0	2.0
Bakla/Bitki (Adet)	ACC 1054 (♀)	31.8	± 3.6	22.0	39.0
	AWC 611M (♂)	42.5	± 5.9	28.0	54.0
	F ₁	52.7	± 13.4	11.0	106.0
Dane/Bitki (Adet)	ACC 1054 (♀)	20.8	± 3.3	15.0	30.0
	AWC 611M (♂)	30.3	± 6.1	18.0	45.0
	F ₁	36.8	± 13.9	4.0	96.0
Biyolojik verim (g)	ACC 1054 (♀)	18.8	± 1.3	15.0	20.0
	AWC 611M (♂)	22.5	± 4.8	10.0	30.0
	F ₁	36.7	± 9.5	10.0	70.0
Dane verimi (g)	ACC 1054 (♀)	5.1	± 0.9	3.1	7.3
	AWC 611M (♂)	3.6	± 0.9	2.1	6.2
	F ₁	9.4	± 4.0	0.3	27.0
Hasat indeksi (%)	ACC 1054 (♀)	26.9	± 4.2	15.8	36.3
	AWC 611M (♂)	19.4	± 5.9	6.9	31.0
	F ₁	19.4	± 5.1	3.2	38.6
100-Dane ağırlığı (g)	ACC 1054 (♀)	24.2	± 2.0	18.5	27.4
	AWC 611M (♂)	12.0	± 1.6	8.9	15.5
	F ₁	21.5	± 3.1	8.0	28.8

Yaklaşık 59 cm ile ortalama en yüksek bitki boyu ana olarak kullanılan kültür formu ACC 1054’de bulunmuştur. Baba olarak kullanılan IMI dayanıklı AWC 611M’nin bitki boyu yaklaşık 46 cm olarak ölçülmüştür. F₁ bitkilerinin ortalama bitki boyunun ise 49 cm olduğu görülmüştür (Çizelge 4.3). Elde edilen bulgular ilk bakla yüksekliği için de aynı doğrultudadır. Bu özellikler makinalı hasat-harman için oldukça önemlidir (Muehlbauer ve Singh 1987). Bitkide dal sayısı için ortalama değerlerin ana, baba ve F₁ bitkilerinde birbirine eşit olduğu belirlenmiştir. Bitkide ortalama bakla

sayısı, dane sayısı, biyolojik verim ve dane veriminin F₁ bitkilerinde en yüksek olduğu görülmüştür. ACC 1054 genotipine ait hasat indeksi ve 100-dane ağırlığı özellikleri en yüksek ortalama değerlere sahiptir. Singh ve Singh (2009), *C. arietinum* (K 850) ve *C. reticulatum* (ICCW 8) hatlarını melezleyerek yaptıkları çalışma sonucunda bitki veriminin 100-dane ağırlığı, baklada dane sayısı ve bitkide bakla sayısı ile genotipik ve fenotipik olarak doğru yönde bir korelasyon içinde olduğunu bildirmişlerdir. Singh ve Ocampo (1997) yaptıkları bir çalışmada, ILC 482 (*C. arietinum*) ve ILWC 124 (*C. reticulatum*) hatlarını melezlemiş ve 2 yıl boyunca elde ettikleri 12 hattın dane verimlerinin ebeveyn bitkilerden çok daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca F₁ generasyonunda yüksek seviyede heterosis gözlenmiştir. Bunun yanında yeni hatların yabani ebeveynlerdeki çalılışma, baklada çatlama ve düzensiz olgunlaşma gibi istenmeyen özelliklere sahip olmadıklarını bildirmişlerdir.

Guo ve Simons (2011) kültür bitkilerinde yaptıkları ve bitki organlarının büyüklüğünü belirleyen genleri inceledikleri çalışma sonucunda bu genlerde meydana gelen heterosis ile birçok bitkinin daha ileri gelişim ve verim gösterdiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da ana bitki olarak kullanılan kültür bitkisi ACC 1054 gelişimsen benzer özellik göstermektedir. Immadi vd (2016) sorgum bitkisinde ortaya çıkan bir mutanti inceledikleri çalışma kapsamında, bu mutanti altı farklı genotiple melezlemiş ve elde ettikleri F₁ melezlerinin bitki boyu olarak neredeyse tamamının ve bitki başına dal ve yaprak sayısı olarak da tümünün ebeveynlerinden daha üstün olduğunu bildirmişlerdir. Karabanotunda yapılan bir çalışmada (Sharma vd 1992) gama ışını kullanılarak elde edilen mutantların melezlenmesi ile sırasıyla ham ecza, biyokütle, çiçeklenme zamanı, bitki boyu, sürgün ve yaprak sayısı olarak ekonomik anlamı yüksek heterosisler meydana geldiği bildirilmiştir.

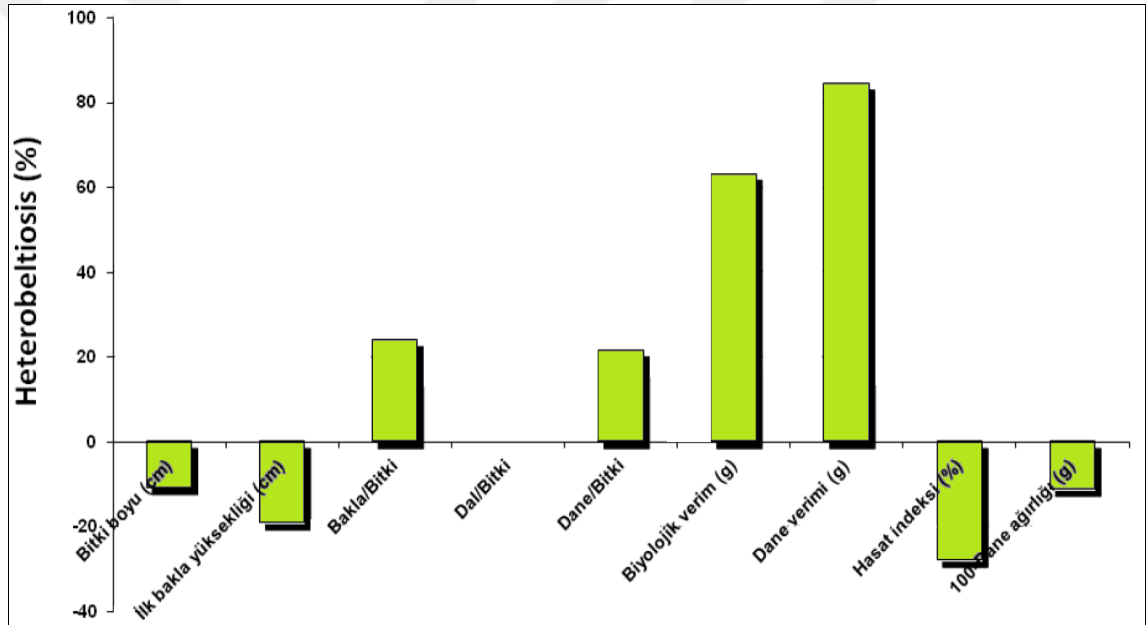


Şekil 4.3. Heterosis (%) değerleri.

Heterosis değerinin, bitki boyu ve ilk bakla yüksekliği gibi özellikler için negatif olduğu görülürken, yapılan rakamsal yuvarlamalardan dolayı bitkide dal sayısı için anlamlı bir değer bulunamamıştır. Dane verimindeki heterosis % 113,6 ile en yüksek değeri verirken, biyolojik verim % 77,3, bitkide bakla sayısı % 68,9, bitkide dane sayısı % 43,8, 100-dane ağırlığı % 18,8 ve hasat indeksi % 16,4 değerleri ile bunu takip etmiştir (Şekil 4.3). Gadekar ve Dodiya (2013) altı nohut geneotipi ile yaptıkları melezleme çalışmasında elde edilen dilen iki melezin dane verimi açısından heterosis

değerinin yüksek olduğunu ve bu melezlerin üstün transgresif açılmalar için faydalı olabileceğini bildirmişlerdir. Singh vd (2015) nohutta yabancı ve kültür formlarında (*Cicer arietinum*, *Cicer reticulatum*, *Cicer echinospermum*) yaptıkları melezlemelerde elde edilen F₁ generasyonlarında bitkide bakla ve dane verimi için yüksek oranda bir heterosis saptandığını bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada 14 nohut çeşidinden elde edilen F₁ melezleri, farklı özellikler bakımından heterosis ve kalıtım için incelenmiş, genotipler arasında çalışılan tüm karakterler için büyük farklılıklar belirlenmiştir. İkincil dallar, biyolojik verim, bakla sayısı, dane verimi ve bitki boyu için yüksek heterotik etkiler saptanmıştır. Melezlerden biri dal sayısı, biyolojik verim ve bakla sayısı için maksimum heterosis gösterirken, bir diğer melez dane verimi için maksimum heterotik etkiyi ortaya koymuştur (Sharif vd 2001). Heterobeltiosis ise sadece bitkide bakla (% 24) ve dane sayısı (% 21,5), biyolojik verim (% 63,1) ve dane verimi (% 84,3) özellikleri için görülmüştür (Şekil 4.4).



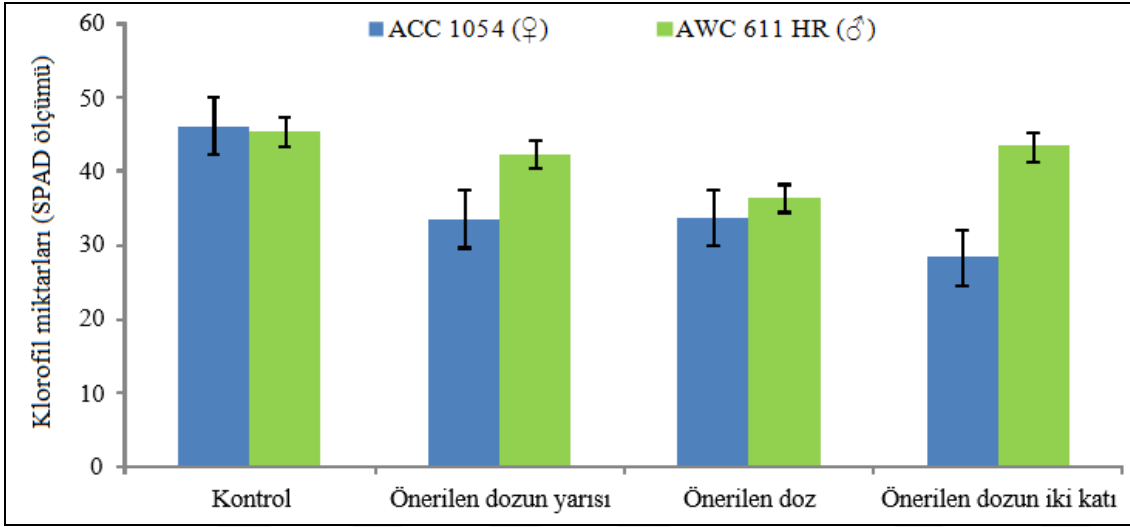
Şekil 4.4. Heterobeltiosis (%) değerleri

Diğer özellikler için anlamlı bir değer bulunamamıştır (Şekil 4.4). Bakhsh vd (2001) nohutta heterosis ve heterobeltiosis inceledikleri bir çalışmada dokuz F₁ melezi ve ebeveynlerini karşılaştırmışlar ve melezlerden birinin ana ve yan dallar ile dane verimi ve biyolojik verim açısından; diğer bir melezin ise bakla sayısı özellikleri bakımından maksimum heterobeltiosis gösterdiklerini bildirmişlerdir. Güvercin bezelyesinin kaynaşma ve heterosis kabiliyetinin araştırıldığı bir çalışmada (Kumar vd 2009) incelenen melezlerden 6 tanesinin verim ve verim özellikleri açısından kayda değer miktarda heterosis ve heterobeltiosis gösterdikleri bildirilmiştir. Nohutta Kabuli ve Desi tiplerinin melezlendiği bir çalışmada F₁ bitkilerinde verim açısından heterosis gözlemlendiği ve F₂ bitkilerinin daha iyi performans gösterdiği bildirilmiştir (Yaşar vd 2014).

4.3. Klorofil Miktarları

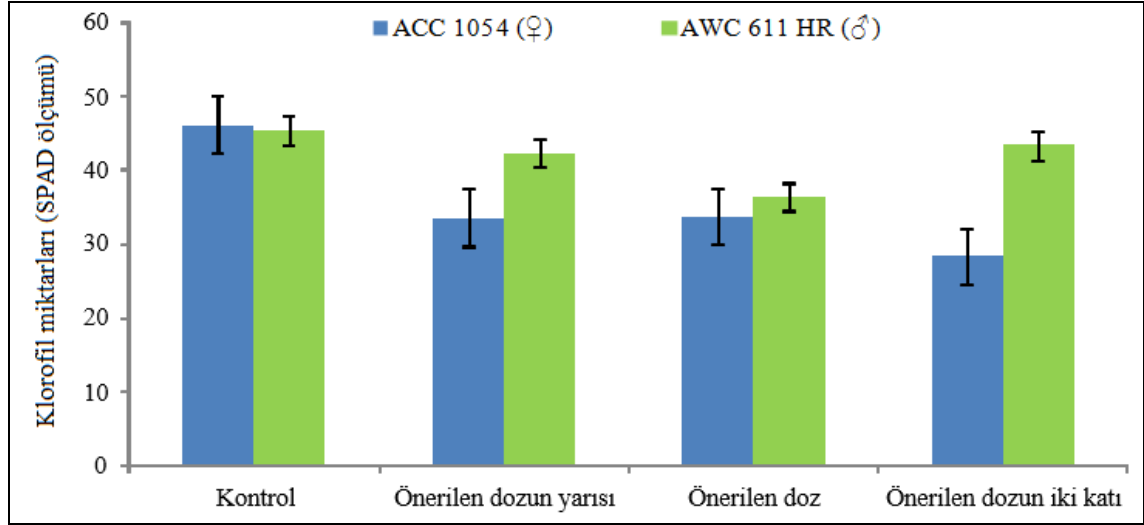
Denemede uygulanan ilaç oranlarının bitkilerin klorofil spad ölçüm değerlerinde yarattığı etkilere ilişkin sonuçlar ve her üç döneme ait bitkilerin klorofil spad ölçüm değerleri verilmiştir (Şekil 4.5-4.7).

IMI herbisit uygulamasından sonra hassas genotip ACC 1054 bitkisinin sürgün ve yaprakçıklarında solma ve kırılmalar olmasına karşın, dayanıklı AWC 611M genotipinde sadece hafif sararma olmuştur. Bu görsel gözlemler klorofil içeriklerine ilişkin ölçümlerde de aynı şekilde gözlenmiştir (Şekil 4.5-4.7).

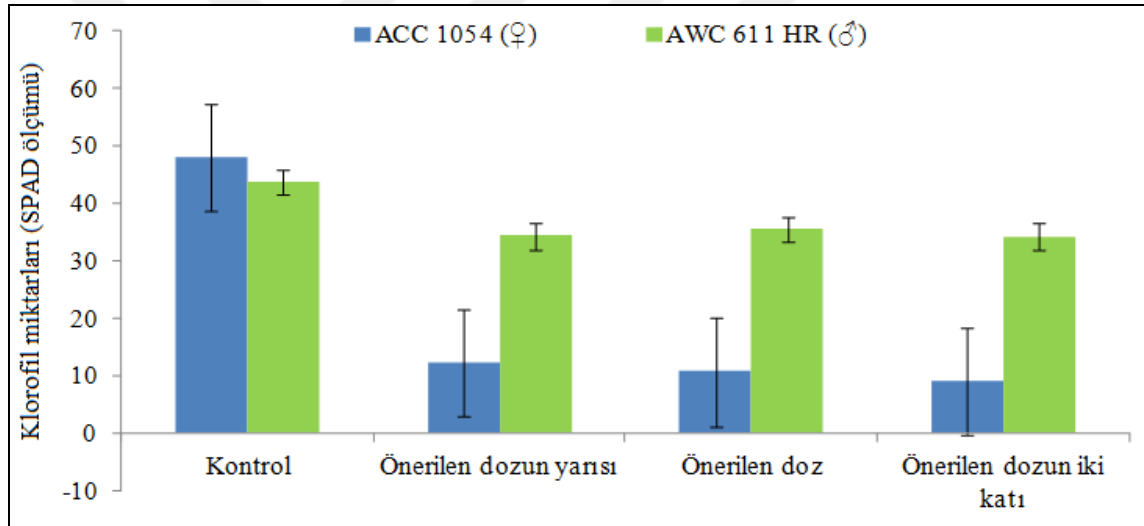


Şekil 4.5. IMI herbisit uygulaması yapıldıktan 7 gün sonraki yaprak klorofil miktarı. Veriler ortalama $\pm$ standart hata şeklindedir

Uygulamalar arasında istatistikî olarak önemli farklılıklar bulunmuştur. Önerilen dozun iki katı IMI herbisit uygulandığı zaman ACC 1054 (hassas) genotipinin tüm yaprakları sararmış, en uçtaki büyüme noktaları kurumuş ve sonrasında tüm bitkiler ölmüştür. AWC 611M (dayanıklı) da ise yapraklarda hafif bir sararma olmasına rağmen, bitkide önemli bir deformasyon gözlenmemiştir (Şekil 6). Hassas genotip AWC 1054 için GR50 değeri önerilen dozun yarısı kadardır (10 ml/da). Vasilakoglou vd (2013) farklı baklagillerin herbisit dayanımlarını inceledikleri bir çalışmada, 0.04 kg ha⁻¹ dozunda ve çıkış sonrası uygulanan imazamox etken maddeli herbisitlerin nohut ve mercimek bitkilerinde zamanla bir miktar azalan ama başta dikkate değer düzeyde bakla zararı ve dal-yaprak klorozuna neden olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 4.6. IMI herbisit uygulaması yapıldıktan 14 gün sonraki klorofil miktarı. Veriler ortalama $\pm$ standart hata şeklindedir



Şekil 4.7. IMI herbisit uygulaması yapıldıktan 21 gün sonraki klorofil miktarı. Veriler ortalama $\pm$ standart hata şeklindedir

Mevsimsel farklılıklar, bitkilerde meydana gelen morfolojik ve fizyolojik değişikliklerin etkisiyle klorofil miktarlarında değişimler gözlenebilmektedir. Bu dönemlerde bitkileri daha güçlü kılabilmek için özellikle azot uygulamalarının toplam klorofil değerini artırdığı bildirilmiştir (Oğuz 2014).

Pusa-256 and BG-1053 çeşitlerine ait toplam 400 daneye ayrı ayrı ve kombine şekilde fiziksel (gamma ışını kaynağı olarak ^{60}Co radyoizotopu ile 100, 200, 300 ve 400

Gy uygulamaları) ve kimyasal (%0,1, 0,2, 0,3 ve 0,4'lük EMS-etilmetan sülfonat) mutajen uygulamaları yapılmıştır. Bu danelerden elde edilen M₁ bitkilerinin taze yaprakları analiz edilerek NRA (nitrat redüktaz aktivitesi), klorofil ve karotenoid miktarlarının kontrol grubuna göre uygulama dozlarından bağımsız şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Fiziksel ve kimyasal uygulamaların kombine uygulandığı bitkilerde bu azalma daha çok olmuştur (Kozgar 2014). Bu sonuçlara göre nohutta yapılan kimyasal mutajen uygulamalarının klorofil miktarını azalttığı kanısına varılmıştır. Benzer şekilde ACC 1054 ve AWC 611 M genotiplerinde de kimyasal yabancı ot ilacı kullanıldığı zaman klorofil miktarında bir miktar azalma görülmüştür.

ACC 1054 ve AWC 611 M nohut fidelerine uygulamada önerilen dozun yarısı, önerilen doz ve önerilen dozun iki katı Imazethapyr etkili maddeli herbisit uygulaması yapılmıştır. Bu sonuçlara benzer sonuçlar Wei vd (2015) tarafından mısır fidelerinin imazamox yabancı ot ilacına verdiği tepkiyi görmek amacıyla yaptıkları çalışmada ifade edilmiştir. Farklı tiplerde ve dozlarda (önerilen dozun yarısı, iki katı, iki buçuk katı, beş katı ve on katı ile önerilen doz) imazamox uygulamışlardır. Spektrofotometre ile yapılan ölçümlerde klorofil miktarının yarı dozda ortalama % 42 ve on kat dozda ortalama % 75 azaldığını bildirmişlerdir. Yine benzer sonuçlar Hsiao vd (2014) tarafından da bildirilmiştir. Farekulağı (*Arabidopsis thaliana*) bitkisinde imazaphyr yabancı ot ilacının etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada bitkilere farklı dozlarda (önerilen doz, önerilen dozun onda biri ve on katı) uygulama yapılmıştır. Uygulamadan 10 gün sonra yapılan ölçümleri önerilen dozda, önerilen dozun onda biri ve on katı uygulama yapılan bitkilerde klorofil miktarlarının kontrol grubuna göre sırasıyla % 25, % 45 ve % 50 azaldığı belirlenmiştir.

Brighenti (2012), ay çiçeğinin AHAS inhibitörü yabancı ot ilaçlarına direncini araştırdığı çalışmasında iki ayrı melez hatta imazapyr ve imazethaphyr yabancı ot ilaçlarını iki ayrı dozda uygulamış ve uygulamadan itibaren 13. ve 21. günlerde bitkilerin klorofil içeriklerini kayıt altına almıştır. Elde edilen veriler ışığında uygulamalar yapılan bitkilerde klorofil içeriğinin kontrol grubuna göre azaldığı bildirilmiştir. 7., 14. ve 21. gün sonunda yapılan klorofil ölçümlerinde kontrol grubuna göre klorofil içeriğinde benzer sonuçlar bulunmuştur.

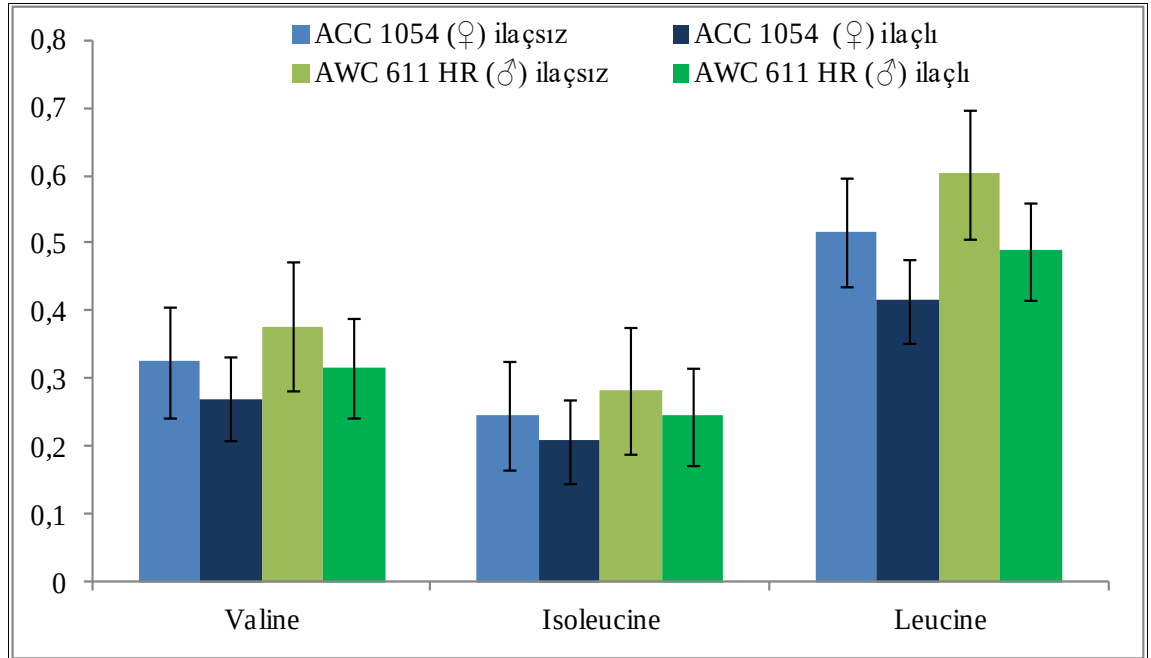
4.4. Amino Asit Miktarları

AHAS; bitkilerde lösin, izölösün ve valin gibi dallanmış amino asitlerin biyosentezini katalize eden kritik bir enzimdir (Menegat vd 2016). Bu katalizasyon işlemi birçok mikroorganizmada bir “son ürün denetim mekanizması” ile sınırlandırılmaktadır (feedback inhibition). Sentezlenmiş valin, lösin ve izölösün molekülleri; katalizör enzim AHAS'a farklı bir noktadan bağlanarak enzimin şeklini değiştirmekte ve işlevini yitirmesine yol açmaktadır. Valin molekülünün yol açtığı yüksek son ürün denetimine dayanıklılık için AHAS küçük alt birimi mutasyonları geniş olarak kullanılmaktadır. Herbisit dayanıklılığı geliştirilmesinde kullanılmak üzere daha fazla bağlantı noktasının tanımlanması gerekmektedir (Liu vd 2016).

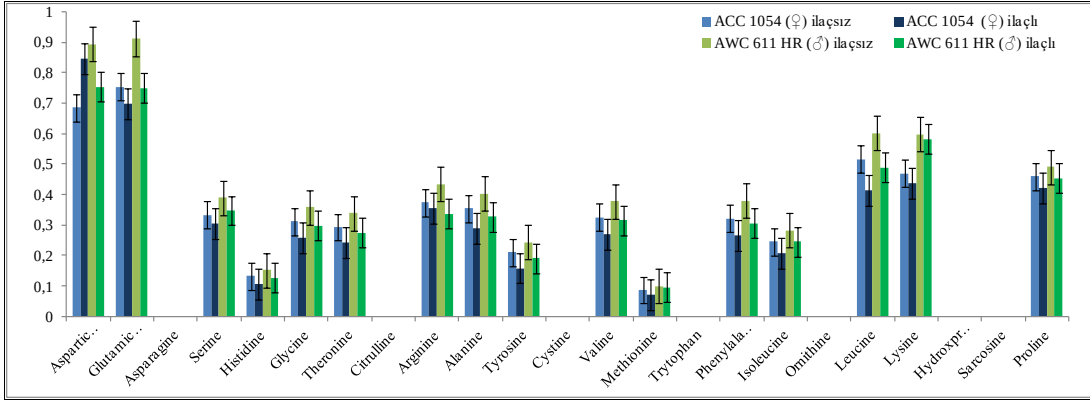
Imidazolinone herbisidi AHAS ya da ALS adıyla bilinen ve bitkiler için hayati önemi olan enzimi engelleyerek yabancı otları kontrol etmektedir (Tan vd 2005). IMI dayanıklılığını sağladığı bilinen birkaç farklı AHAS geni bitkilerde mutasyon ve seleksiyon ıslahı teknikleriyle ortaya konmuştur (Tan vd 2005). Dallanmış amino

asitlerden lizin, isoleusin ve valin IMI dayanıklı ve hassas genotiplerde ilaç uygulaması yapılmadan ve yapıldıktan sonra 10. ve 20. günlerde belirlenmiştir. Bu amino asitler bakımından uygulama dozları ve genotipler arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Şekil 4.8'de görüldüğü gibi IMI herbisite dayanıklı AWC 611M genotipinde bu 3 amino asit hem ilaç uygulanmadan hem de ilaç uygulandıktan 10 gün sonra daha yüksek bulunmuştur (Şekil 4.8). ACC 1054 genotipinde ise ilaç uygulandıktan sonra bir düşüş görülmüştür (Şekil 4.8). ACC 1054 genotipinde ilaç uygulamasından sonra sadece aspartic asit miktarı artmış, glutamic asit, serine, histidine, glycine, threonine, arginine, alanine, tyrosine, valine, methionine, phenylalanine, isoleucine, lysine, proline aminoasitleri azalmıştır. Asparagine, citrulline, cystine, tryptophan, ornithine, hydroxyproline, sarcosine aminoasitleri ise ölçüm aralığında bulunamamıştır (Şekil 4.9). AWC 611 genotipinde ilaç uygulamasından 10 gün sonra yapılan analizde ise; AWC 611 genotipinin tamamında ACC 1054 genotipine göre daha fazla aspartic asit, glutamic asit, serine, histidine, glycine, threonine, arginine, alanine, tyrosine, valine, methionine, phenylalanine, isoleucine, lysine, proline amino asitleri olduğu görülmektedir. Aynı şekilde AWC 611 genotipinde de asparagine, citrulline, cystine, tryptophan, ornithine, hydroxyproline, sarcosine aminoasitleri ise ölçüm aralığında bulunamamıştır (Şekil 4.9). Her iki genotipte de herbisit uygulamasından sonra toplam amino asit miktarında azalma görülmüştür (Şekil 4.10).

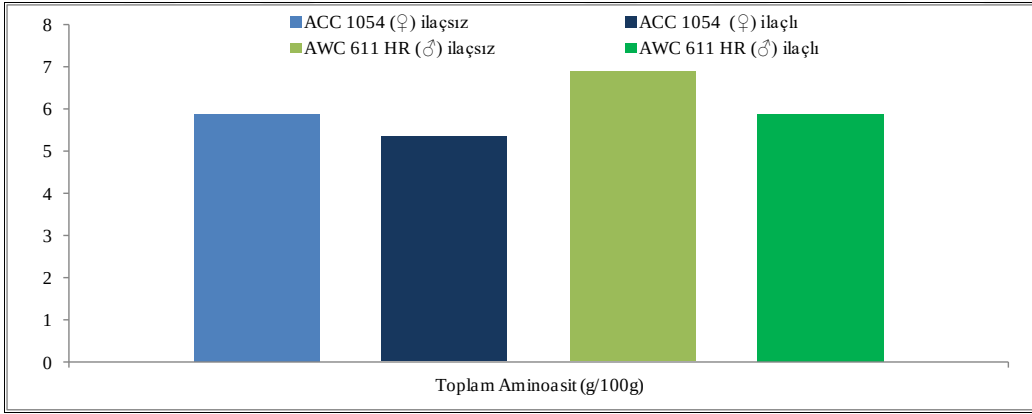
García-Garijo vd (2013) tarafından *Vicia sativa* L. bitkisinde imazamox herbisiti uygulamasının 2. ve 7. günlerinde yapılan analizlerde genç ve olgun yapraklarda valin ve lösin miktarlarının azaldığı, genç yapraklarda toplam amino asit miktarının ise arttığı tespit edilmiştir. 7., 14. ve 21. günlerde yapılan valin, lösin ve izölösin amino asit miktarı pozitif ilişkili bulunmuştur. Toplam aminoasit miktarı açısından ise negatif ilişki bulunmuştur.



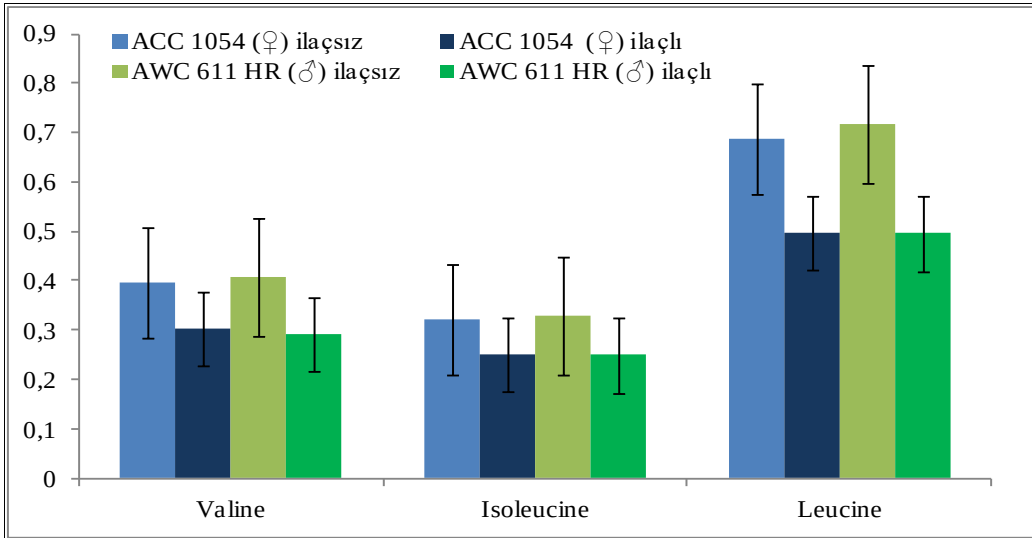
Şekil 4.8. IMI herbisitin hassas ACC 1054 ve dayanıklı AWC 611HR genotiplerinde herbisit uygulamasından 10 gün önce ve sonra valin, izölösin ve lösin içerikleri



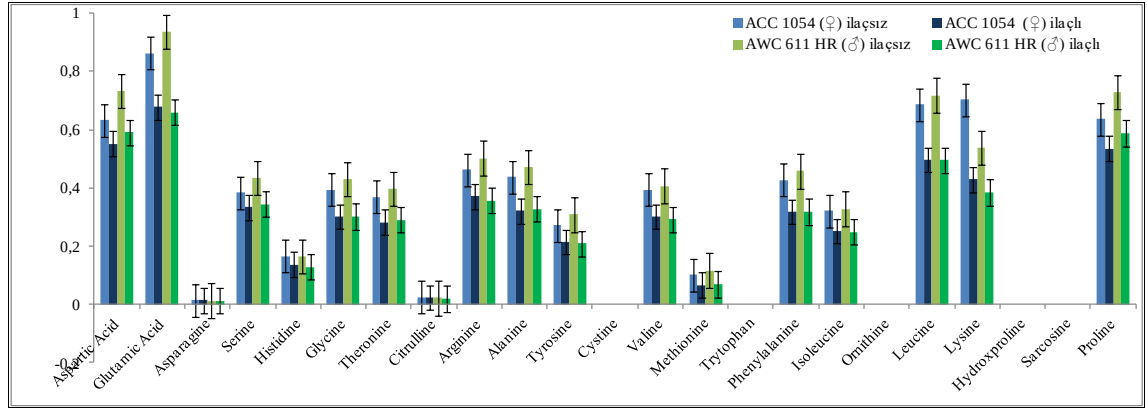
Şekil 4.9. IMI herbisitine hassas ACC 1054 ve dayanıklı AWC 611HR genotiplerinde herbisit uygulamasından 10 gün önce ve sonra ölçülen diğer aminoasitlerin içerikleri



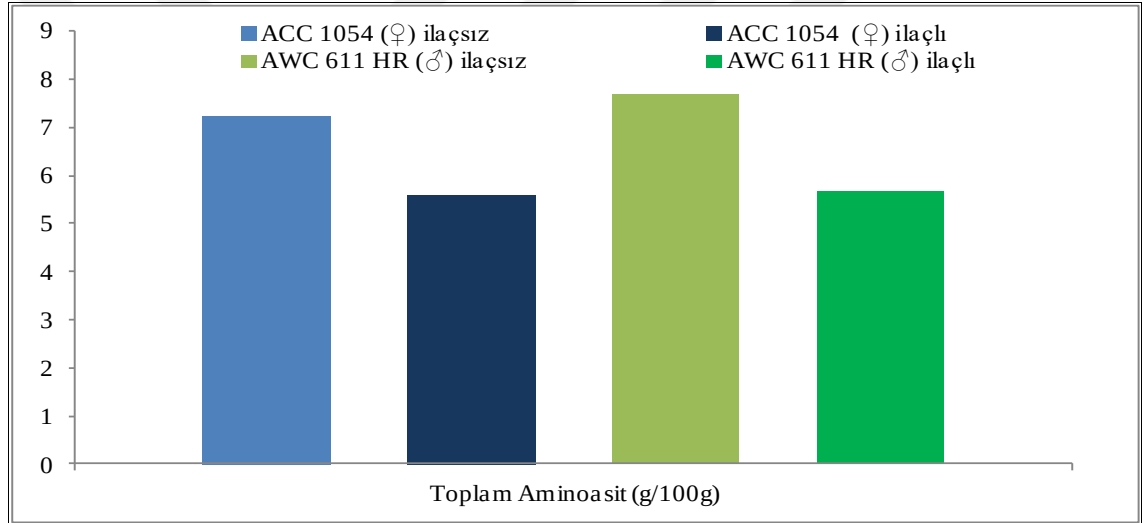
Şekil 4.10. IMI herbisitine hassas ACC 1054 ve dayanıklı AWC 611HR genotiplerinde herbisit uygulamasından 10 gün önce ve sonra toplam aminoasit içerikleri



Şekil 4.11. IMI herbisitine hassas ACC 1054 ve dayanıklı AWC 611HR genotiplerinde herbisit uygulamasından 20 gün sonra valine, isoleucine ve leucine içerikleri



Şekil 4.12. IMI herbisitine hassas ACC 1054 ve dayanıklı AWC 611HR genotiplerinde herbisit uygulamasından 20 gün önce ve sonra ölçülen bazı aminoasitlerin içerikleri



Şekil 4.13. IMI herbisitine hassas ACC 1054 ve dayanıklı AWC 611HR genotiplerinde herbisit uygulamasından 20 gün sonra toplam aminoasit içerikleri

4.5. AHAS Miktarları

Ana, baba ve F₁ bitkilerinde AHAS aktivitesi (U/mg/saat) ve AHAS miktarı (mg/mL) belirlenmiştir (Şekil 4.9). Şekilden görüldüğü gibi AHAS aktivitesi IMI-dayanıklı AWC 611M (baba) bitkide en düşük bulunmuştur. Hassas ACC 1054 (ana) ve F₁ bitkilerinde daha yüksek bulunmuştur.

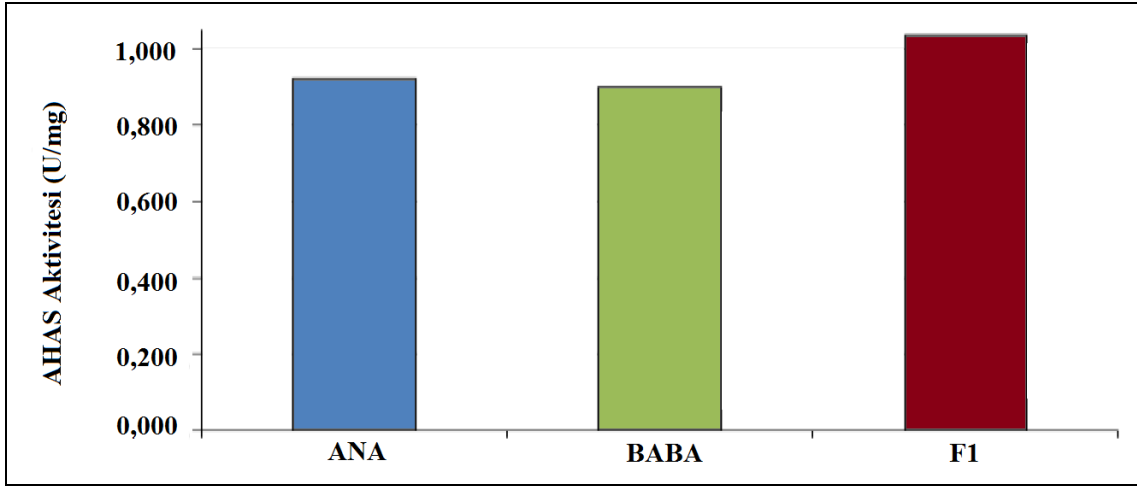
AHAS miktarı ana, baba ve F₁ bitkilerinde sırasıyla 6.251, 7.713 ve 6.059 mg/mL olarak belirlenmiştir (Şekil 4.9). AHAS miktarları arasında da istatistikî olarak önemli fark bulunmuştur ($P < 0.05$). AHAS miktarı IMI dayanıklı bitkide en yüksektir. Lee vd (2011), IMI-dayanıklı arpada (2.05 µg/mL) hassas Bob genotipine (1.41 µg/mL) göre daha fazla enzim belirlemiştir. İncelenen tüm bitki türlerinde, en az bir AHAS geni temel tarzda aktarılmıştır ancak buna rağmen aktarım seviyesi dokular ve gelişim

dönemleri arasında değişiklik gösterebilir. En yüksek AHAS transkripsiyon ve aktivitesi metabolik olarak aktif meristem hücrelerinde bulunmuştur (Schmitt ve Singh 1991; Ouellet vd 1992, Keeler vd 1993).

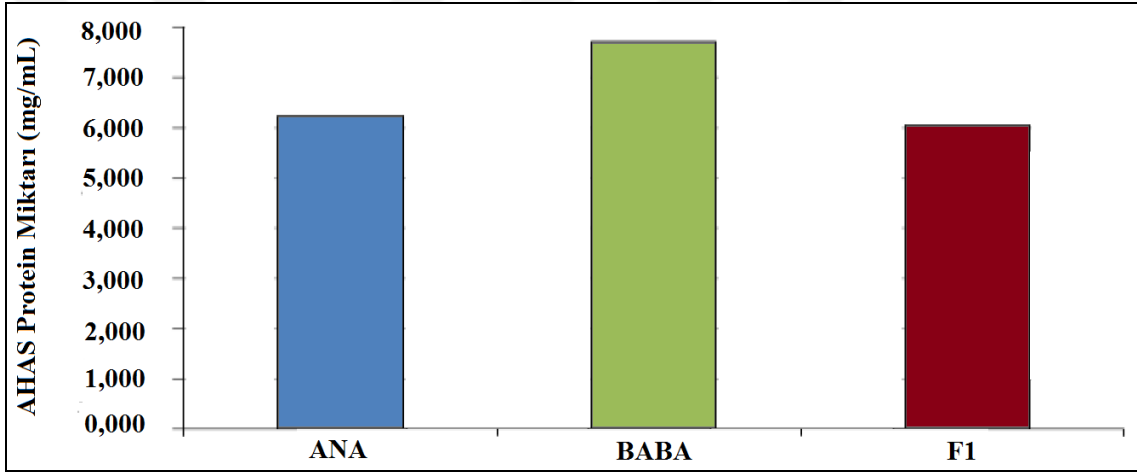
Vega vd (2012) kontrolle karşılaştırılınca, IMI dayanıklı ayçiçeğinde AHAS aktivitesinin hassas bitkilere göre daha yüksek seviyede olduğunu belirlemiştir. AHAS aktivitesi IMI-dayanıklı AWC 611M (baba) bitkide en düşük bulunduğu için negatif bir ilişki bulunmuştur.

Nohutta geniş yapraklı yabancı otları kontrol eden imazethapyr etkili maddeli herbisiti, hassas ve toleranslı bitkileri ALS açısından değerlendirmek amacıyla fide döneminde ve çiçeklenme döneminde uygulayarak 1-3 skalasına göre seleksiyon yapıldı. Benzer şekilde başka bir çalışmada Gaur vd (2013) nohutun geniş değişkenlik gösteren imazethapyr and metribuzin toleransını değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada, ALS inhibitörü herbisitlerin floem yoluyla taşınarak ALS aktivitesini engellediklerini ve bu durumdan dolayı önce meristem dokuların ardından da tüm bitkinin öldüğünü bildirmişlerdir.

IMI herbisite dayanıklılık gözlemleri yaşayan (dayanıklı) ve ölen bitkiler (hassas) üzerinden yapılmıştır. IMI uygulamasından sonra F₁ bitkilerinin tamamı herbisit zararından ölmüştür. F₁ bitkilerinin IMI hassas olmaları AWC 611M mutantındaki dayanıklılığın çekinik (resesif) gen(ler) tarafından idare edildiğini göstermektedir. Bernasconi vd (1995) bitkilerde doğal nokta mutasyonunlarını inceledikleri çalışmada, bir ya da birkaç noktada ortaya çıkan bu mutasyonların ALS'de değişiklik oluşturduğunu ve ALS aktivitesini engelleyen herbisitlere karşı geniş kapsamlı tolerans ortaya koyduğunu bildirmişlerdir. *Arabidopsis thaliana* bitkisinde bulunan ALS'deki 197. prolin'i ve tütün bitkisinde 196. pozisyonu etkileyen bir tek nokta mutasyonu sonucu SU grubu herbisitlere tolerans ortaya çıkmıştır. Laboratuvar koşullarında *A. thaliana* bitkisinin ALS geninde Ser⁶⁵³→Asp ve mısır bitkisinin ALS geninde Ala⁵⁶→Thr mutasyonları ile bu bitkiler IMI grubu herbisitlere karşı tolerans kazandıkları bildirilmiştir. Garijo vd (2012) fasülye bitkisinde yaptıkları çalışmada AHAS inhibitörlerinin dallanmış aminoasitlerin sentezini engelleyerek çözünür protein içeriğinin azalmasına yol açtıklarını, ancak bazı bitkilerin mevcut proteinlerini parçalayarak yeni protein sentezleme olarak bilinen proteoliz yeteneğini geliştirerek AHAS aktivitesinin engellenmesine rağmen hayatta kalabildiklerini bildirmişlerdir.



Şekil 4.14. Ana, baba ve F1 bitkilerinde AHAS (mmol/saat) aktivitesi



Şekil 4.15. Ana, baba ve F1 bitkilerinde AHAS miktarı (mg)

Birçok çalışmada, herbisit bağlanımını kısıtlayacak AHAS gen mutasyonlarını ortaya çıkaran herbisit dayanıklılığının, AHAS aktivitesinde de azalmaya yol açtığı rapor edilmiştir (Ashigh ve Tardiff 2007; Eberlain vd 1999). Ancak bazı AHAS mutasyonları aktivite artışına da yol açabilmektedir. Yu vd (2010) *Lolium rigidum*'da yaptıkları çalışmada, dayanıklılık oluşturan beş AHAS gen mutasyonunun her biri için homozigot olan bitkilerde dikkate değer derecede yüksek AHAS aktivitesi olduğunu bildirmişlerdir.

4.6. IMI Dayanıklılığın Kalıtımı

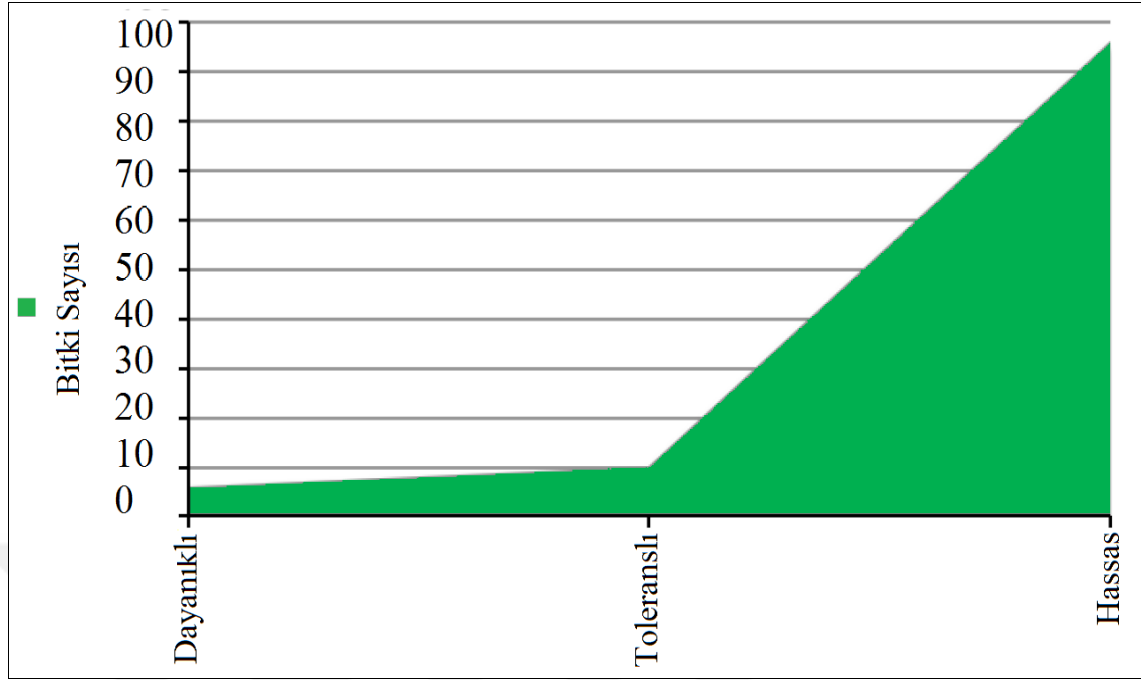
IMI herbisit uygulaması, 35 F₁, 112 F₂, 40 ana (ACC 1054), 59 baba (AWC 611HR) ve 22 geri melez (BC₁) bitkisine yapılmıştır. Uygulama dozu 20 ml/da olacak şekilde ayarlanmıştır. IMI herbiside dayanıklılık gözlemleri önce uygulamadan 7 gün sonra alınmıştır. Bitkilerin herbisit zararı 1-3 skalasına göre değerlendirilmiştir. IMI herbisit uygulamasından 14 ve 21 gün sonra bitkileri dayanıklı ve hassas olarak ayırmak

daha kolay hale gelmiştir. IMI herbisite dayanıklılık gözlemleri nihai olarak Haziran ayında yaşayan (dayanıklı) ve ölen bitkiler (hassas) üzerinden yapılmıştır. IMI uygulamasından sonra F_1 bitkilerinin tamamı herbisit zararından ölmüştür. F_1 bitkilerinin IMI hassas olmaları AWC 611M mutantındaki dayanıklılığın çekinik (resesif) gen(ler) tarafından idare edildiğini göstermektedir. 112 F_2 bitkisinden 96 bitki herbisit zararından ölürken, 16 bitki canlı kalmıştır. IMI herbisite dayanıklı 16 bitkiden 6 tanesi diğer 10 bitkiden herbisitten etkilenmedikleri için ayrılmıştır. $F_1 \times C. reticulatum$ Ladiz. geri melezinden 22 bitkinin 4 tanesi herbisite dayanıklı olarak bulunmuştur. IMI herbisit uygulamasından sonra F_2 generasyonu ve geri melezlemelerdeki açılımlar AWC 611M genotipindeki IMI dayanıklılığın sitoplazmik olmadığını, nükleer olduğunu göstermektedir. IMI herbisit uygulanan ana bitkilerin tamamı ölürken, baba bitkiler büyük çoğunlukla ayakta kalmıştır. Yapılan analiz sonucu Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Herbisit uygulamasından sonra gözlenen ve beklenen değerler

Bitkilerin IMI herbicide reaksiyonu	Gözlenen (G)	Beklenen (B)	(G-B)	(G-B) ² /B	χ^2	P
Dayanıklı	6	21	-5	0.19	0.46	0.90- 0.75
Hassas	96	91	5		0.27	
Toplam	112			112		
Dayanıklı	6	7	-1	0.14	0.15	0.95- 0.90
Hassas	106	105	1		0.01	
Toplam	112			112		

F_2 generasyonundaki açılımın önce 13:3 açılımına uygun olup olmadığı test edilmiştir. Çünkü toplamda 16 bitki IMI uygulamadan sonra ayakta kalmıştır. Daha sonra 16 bitkinin 6 tanesi diğer 10 bitkiden daha iyi olduğu için 15:1 açılımına uygunluk bakımında test edilmiştir. Fenotiplemenin dayanıklı ve hassas şeklinde 2 sınıfa ayrılması durumunda genetik sonuçların 13:3 açılımına; dayanıklı, toleranslı, hassas şeklinde fenotipleme değerlerinin 3 sınıfa ayrılması durumunda 15:1 açılımına uygun olduğu anlaşılmaktadır (Çizelge 4.3). Diğer taraftan, hassas bitkiler içinde daha hassaslar ve toleranslı bitkilerde de dayanıklılara yakın bitkiler olduğundan dolayı kısmen sürekli bir dağılım görülmektedir (Şekil 4. 16). Dayanıklı ve hassas olarak fenotipleme yapılırken, dayanıklı/toleranslı olarak belirlenen 16 bitki içinde bitkiler ikiden fazla sınıfta toplanabilir olmalarından dolayı dağılımın kalitatif/kesikli (birbirinden tamamen ayrılmış) olmalarından ziyade kısmen sürekli (kantitatif) dağılım gösterdikleri sonucuna varılmıştır. Ayrıca, F_2 generasyonunda dayanıklı olarak belirlenen bitkilerin hemen hemen hiçbirinin dayanıklı AWC 611M (baba) bitki kadar dayanıklılık sergileyememeleri de dayanıklılığın kalitatif değil kantitatif olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.16. F₂ generasyonunda bitkilerin dağılımı

Yu ve Powles (2014) yabancı ot ilaçlarına dayanıklılığı; (i) hedef-etkili yabancı ot ilaçlarına dayanıklılık genelde nükleer dominant tek bir gen tarafından idare edilmektedir. Hedef-etkili olmayan yabancı ot ilaçlarına dayanıklılık poligenik bulunmuştur. Hedef-etkili yabancı ot ilaçlarına dayanıklılık nokta gen mutasyonlarıyla sağlanmaktadır. Burada yabancı ot ilaçlarına dayanıklılık genelde nükleer dominant tek gen tarafından kontrol edilmektedir. Hedef-etkili olmayan yabancı ot ilaçlarına dayanıklılıkta AHAS enzimine herbisitini ulaşımı azaltılmakta ve bitkinin yaşaması sağlanmaktadır. Bu çalışmada bulunan gen, Thompson ve Taran (2014) tarafından kültür nohudunda IMI herbiside dayanıklılığı sağlayan genden farklıdır. *Cicer reticulatum* Ladiz türünün mutantında (AWC 611M) IMI herbiside dayanıklılık poligeniktir. Busi vd (2013) benzeri sonucu *Lolium rigidum* bitkisinde rapor etmiştir. Bunun yanında dünya çapında 108 yabancı ot biyotipinin AHAS herbisitlerine dayanıklılık geliştirdiği ve AHAS geninde korunmuş yedi amino asit kalıntısında toplam 22 dayanıklılık oluşturan gen mutasyonu tanımlandığı bildirilmiştir (Yu vd 2010).

Yabancı otlarda doğal olarak ortaya çıkan IMI dayanıklılığının yanı sıra mutasyon ıslahı ile de bitkilerde IMI dayanımı sağlanabilmektedir. Toker vd (2012) yaptıkları çalışmada nohutun yabani ve kültür formlarına mutajen uygulamışlar ve elde edilen mutantlar arasında yüksek IMI dayanımlı yabani formlar (*Cicer reticulatum* L.) bulunduğunu bildirmişlerdir. IMI dayanıklılığının verimle doğrudan ilişkisi olduğundan ticari anlamda da büyük önemi vardır. Dayanıklı ve hassas nohut çeşitleriyle yapılan bir çalışmada, geleneksel çeşitler CDC Luna ve CDC Corinne, IMI uygulamaları sonucu ciddi verim kaybı yaşarken, dayanıklılık gösteren CDC Alma ve CDC Cory çeşitlerinin hiçbir verim kaybına uğramadığı bildirilmiştir (Jefferies vd 2016). Taran vd (2010),

farklı nohut genotiplerinin imazethapyr/imazamox herbisitlerine dayanımlarını karşılaştırdıkları çalışmada, elde edilen sonuçların nohutun IMI herbisitlerine dayanım açısından geniş bir doğal varyasyon gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bu durumun imazethapyr/imazamox dayanımlı çeşitler geliştirilmesi için geleneksel ıslah yöntemlerinin kullanımını da mümkün kıldığı görüşünü bildirmişlerdir.

AHAS inhibitörü herbisitlere karşı dayanıklılık ya ileri düzey metabolik faaliyetler sonucu ya da AHAS geninin herbisit bağlanma noktasında tek bir amino asit rezidüsünün değişimi ile ortaya çıkmaktadır ve bakteri, fungus ve bitkilerde AHAS dayanıklılığı ortaya çıkaran en az 17 amino asit rezidüsü belirlenmiştir (Duggleby vd 2008). Duggleby vd (2008), herbisite dayanıklı AHAS mutantlarının dayanıklı organizmalardan doğal izolatlar ya da laboratuvarında elde edilenler şeklinde kataloglandığını, mutasyonların AHAS inhibitörlerine moleküler düzeyde çapraz dayanıklılık oluşturabileceğini ve bu çapraz dayanıklılıkların genellikle sulfonilureas ve triazolopyrimidines ya da imidazolinones ve pyrimidyl(oxy/thio) benzoates gibi dört grup arasında olabileceğini bildirmiştir.

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, nohut genomunda IMI herbiside dayanıklılığı sağlayan *AHAS1* ve *AHAS2* adında iki homolog gen olduğu bildirilmiştir (Thompson ve Taran 2014). Thompson ve Taran (2014), kültür nohudunda IMI herbiside dayanıklılığın kısmi dominant etkili tek bir gen (*AHAS1*) tarafından kontrol edildiğini bildirmişlerdir. Dayanıklılıkla ilgili bir allele özgün (allel specific) SNP (KASP) markörü geliştirmişler ve rekombinant kendilenmiş nohut popülasyonlarında dayanıklılığın kromozom 5 üzerinde olduğunu belirlemişlerdir. IMI herbiside dayanıklılık aşağıdaki çalışmalardan anlaşılabileceği üzere bitki türünden türüne ve tür içinde genotipten genotipe farklılık arz etmektedir. Haugh ve Somerville (1986) su grubu herbisidin *Arabidopsis italiana* bitkisinde tek bir dominant gen tarafından idare edildiğini bildirmiştir. Pozniak ve Hucl (2004) IMI herbiside dayanıklı buğdaylarda (1A, 9A, 10A, 11A, 15A ve 16A) dayanıklılığın 1A, 9A, 10A, 11A ve 16A genotiplerinde kısmi dominant tek bir nükleer gen tarafından idare edildiğini bildirmiştir. 15A genotipinde ise dominant iki gen tarafından kontrol edildiğini bildirmişlerdir. Allelizm testinde *Imi1*, *Imi2* ve *Imi3* genlerinin varlığı bildirilmiştir.

Mısır bitkisinde yapılan bir çalışmada, imidazolinone'a karşı dayanıklılık sağlayan *XA17* geni aktarılan mısır hatlarının imazaquin ve nicosülfuron herbisitlerine karşı dayanıklılık kazandığı bildirilmiştir (Tohidfar ve Khosravi 2015).

AHAS katalitik altbiriminin, bitkilerde birden çok genle kodlanabildiği ve ayçiçeği bitkisinde bu genlerin *AHAS1*, *AHAS2* ve *AHAS3* olarak adlandırıldığı; *AHAS1*'in yapraklarda, *AHAS2* ve *AHAS3*'ün ise olgunlaşmamış çiçek ve embryolarda daha fazla ifade edildiği bildirilmiştir (Ochogavia vd 2014). Kolkman vd (2004) IMI ve SU grubu herbisitlere dayanıklılığın bu genler tarafından kontrol edildiğini bildirmişlerdir. Ghio vd (2013) Williams 82 soya çeşidinde dayanıklılığın yarı dominant bir gen (*Als1*) tarafından idare edildiğini bildirmiştir.

Park vd (2011) Colfax, Washington'da görülen bir adi eşek marulu biyotipinin thifensulfuron ve diğer ALS inhibitörü, imazamox ve imazethapyr gibi herbisitlere yüksek dayanıklılık gösterdiğini; ALS genleri için nükleotid ve amino asit dizilişleri

analiz edildiğinde bu dayanıklılığın als1 geninde C'den T'ye bir tek noktalı mutasyon ile ortaya çıktığını ve ilgili biyotipte pozisyon197'de lösin ve prolin aminoasitlerinin yer değiştirdiğini bildirmişlerdir.

Rutledge vd (1991) kolzada AHAS mulitgen ailesinin karakterizasyonu ve genetik kökeni konusunda yaptıkları çalışmada, bitkinin AHAS1-5 arası aile üyelerini içerdiğini, AHAS1 ve AHAS3'ün aşırı derecede benzer homolojide olduklarını ve bitki büyümesi ve gelişmesini sağladıklarını, polipeptit ve transpeptit kodlamalarında görev alan AHAS2'nin bunlardan çok farklı olduğunu, AHAS4 ve AHAS5'in ise kodlama bölgelerinin durdurulmuş olup etkisiz olabileceklerini bildirmişlerdir.



5. SONUÇ

Bu çalışmada, melez hatlara (*Cicer arietinum* x *Cicer reticulatum*) yabancı ot ilacı uygulanarak, dayanıklılığın kalıtımı ve genetiği araştırılmıştır. *C. reticulatum* Ladiz. türü kültürü yapılan nohutla kolay melezlenebildiği için IMI-dayanıklılık özelliği kültür formuna aktarılmıştır. Nohutta türler arası melezlemelerin mutant bir anaç kullanılarak yapılması sonucunda elde edilen hatlarda önemli ölçüde melez azmanlığı görülmüştür. Buna ilaveten bitkide bakla ve dane sayısı, biyolojik verim ve dane verimi gibi özellikler açısından önemli derecede heterobeltiosis belirlenmiştir.

F₁, F₂ ve BC₁ generasyonlarında yapılan ilaçlı testleme ile IMI dayanıklılığın kalıtımı belirlenmeye çalışılmıştır. Yabancı ot ilacına dayanıklı ve hassas bitkilerin seleksiyonundan sonra, F₂ generasyonunda IMI-dayanıklı bitkilerde ve ilaçlanmayan (IMI-dayanımı belli olmayan) bazı hatlarda, ana ve baba bitkilerden daha iyi verim ve verim kriterlerine sahip oldukları belirlenmiştir. Ana ve babadan daha üstün özellik taşıyan bu hatlarda transgressif açılmalar olduğu görülmüştür. Böylece elde edilen bu hatlardaki transgressif açılmalar anaçlardan daha verimli döller elde edileceğine işaret etmektedir.

Nohutta potansiyel biyokimyasal seleksiyon kriterlerini belirlemek için yabancı ot ilacına maruz bırakılan (IMI-hassas/IMI dayanıklı) ve yabancı ot ilacı uygulanmayan nohut bitkilerinde yapılan klorofil ölçümleri fenotiplemeyi desteklemiştir. IMI-dayanıklı bitkilerde IMI uygulanınca 21. gün klorofil miktarında kontrole göre önemli bir azalma olmadığı saptanmıştır.

IMI dayanıklılığı belirleyen lizin, izölösün ve valin amino asitleri IMI-dayanıklı AWC 611M'de hassas genotipe göre yüksek bulunmuştur. Bu amino asitler yabancı ot ilacı uygulanan bitkilerde, yabancı ot ilacı uygulanmayan bitkilere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, IMI-dayanıklı AWC 611M genotipinde IMI ilaçlaması yapılıncaya, ilaçsız kontrole göre çok az bir azalma meydana geldiği gözükmemektedir.

Elde edilen IMI-dayanıklı bitkilerde AHAS protein miktarı hassas bitkilere göre daha yüksek seviyede belirlenmiştir. Bu bulgular ışığında, IMI-dayanıklı bitkilerin ilaçlama testleri yapılmadan fizyolojik parametrelerle (AHAS miktarı ile) seçilebileceği kanınısına varılmıştır. Fizyolojik bir biyokimyasal seleksiyon kriteri olan AHAS enzim miktarı ile kısa zamanda, fazla emek harcamadan, güvenilir ve ucuz bir şekilde markör destekli seleksiyon yapılabileceği kanatine varılmıştır.

AWC 611M nohut hattında IMI-dayanımını sağlayan faktör kantitatifdir. Bu özellik çok (poligenik) gen tarafından kontrol edilmektedir. Bu genler çekirdekte, nükleer olarak yer almaktadır. Yapılan melezlemeler ile bu genler kültür nohuduna aktarılmıştır. Elde edilen veriler ışığında seleksiyon çalışmaları devam etmektedir.

Kışlık nohut ekiminde en önemli problem yabancı ot sorunudur. Elde edilen sonuçlara göre; kışlık nohut ekimi daha yaygın hale getirerek ve kullanılan biyokimyasal seleksiyon kriterleri ıslah çalışmalarına ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahloowalia, B.S., Maluszynski, M. and Nichterlein, K. 2004. Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica*, 135: 187-204.
- Ahmad, F. 2000. A comparative study of chromosome morphology among the nine annual species of *Cicer* L.. *Cytobios.*, 101: 37-53.
- Akalın, M., Yanar, Y. ve Akdağ, C. 2011. Nohut Yanıklık Etmeni *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr.'ya Karşı Bazı Nohut Genotiplerinin Reaksiyonlarının Belirlenmesi. GOÜ, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28 (1): 21-26.
- Al-Khatib, K., Baumgartner, J.R., Peterson, D.E. and Currie, R.S. 1998. Imazethapyr resistance in common sunflower (*Helianthus annuus*). *Weed Science Society of America*, 46 (4): 403-407.
- Allievi, L. and Gigliotti, C. 2001. Response of the bacteria and fungi of two soils to the sulfonylurea herbicide cinosulfurone. *J. Env. Sci and Health*. Part B, Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes, 36 (2): 161–175.
- Amrhein, N., Deus, B., Gehrke, P. and Steinrucken, H.C. 1980. The site of inhibition of the shikimate pathway by glyphosate. 2. Interference of glyphosate with chorismate formation invivo and invitro. *Plant Physiology*, 66: 830–834.
- Anonim, 2008. Nohut (*Cicer arietinum* L.): Tescilli Çeşit Listesi. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkezi Müdürlüğü, Şubat Bülteni, 2008. www.ttsm.gov.tr. [Son Erişim Tarihi: 07.01.2015].
- Anonymous, 2010. Guidlines for interpretation of soil analyses. http://bolsalab.com/images/Soil_Guide.pdf. [Son erişim Tarihi: 07.01.2015].
- Ashigh, J. and Tardiff, F. 2007. An Ala205Val substitution in acetohydroxyacid synthase of Eastern black nightshade (*Solanum ptychanthum*) reduces sensitivity to herbicides and feedback inhibition. *Weed Science*, 55: 558-565.

- Auckland, A.K. and L.J.G. van der Maesen. 1980. Chickpea. In: Fehr, W.R. and H.H. Hadley (Eds.), Hybridization of Crop Plants. American Society of Agronomy-Crop Science Society of America, Publishers Madison, Wisconsin, pp. 249-259.
- Auld, D.L., Thill, D.C., Field, L.A. and Crock, J.C. 1989. Differential tolerance of chickpea to postemergence applications of dinoseb. *International Chickpea Newsletter*, 20: 21–23.
- Azkan, N. 1999. Yemeklik Tane Baklagiller. Uludağ Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Ders Notları: 40, Bursa, 170 s.
- Babaoğlu, M. 2003. Nohut ve Tarımı (*Cicer arietinum* L.). Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Edirne.
- Bacci, M., D'Alessandro, F., Gallo, G., Venora, G. and Maillet, J. 1998. Selectivity and efficacy of some pre-emergence herbicides in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Comptesrendus 6 Eme Symposium mediterraneen EWRS, Montpellier, France, 13-15 Mai1998. 321-322.
- Baerg, R.J. and Barrett, M. 1996. The basis of imazethapyr tolerance in cowpea (*Vigna sinensis*). *Weed Sci.*, 44: 769-775.
- Bakhsh, A., Arshad, M., Sharif, A., Haqqani, A.M. and Najma, S. 2001. Heterosis and Heritability Studies in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) *Pakistan Journal of Botany*. 33: 226-231.
- Bakis, Y., Babac, M.T. and Uslu, E. 2011. Updates and improvements of Turkish Plants Data Service (TÜBİVES) “In Health Informatics and Bioinformatics (HIBIT), 2011 6th International Symposium. 136-140.
- Bascomb, N.F., Gutteridge, J.K., Smith, J.K., and Leto, K.J. 1987. Import of in vitro synthesized acetolactate synthase into isolated pea chloroplasts. *J Cell Biochem Suppl.*, 1 IB: 88.

- Bauer, T.A., Renner, K.A., Penner, D., and Kelly, J.D.. 1995. Pinto bean (*Phaseolus vulgaris*) varietal tolerance to imazethapyr. *Weed Sci.*, 43: 417-424.
- Beckie, H.J. and Tardiff, F.J. 2012. Herbicide cross resistance in weeds. *Crop Protection*, 35: 15-28.
- Bekkaoui, F., Schorr, P. and Crosby, W.L. 1993. Acetolactate synthase from *Brassica napus*: Immunological characterization and quaternary structure of the native enzyme. *Physiol Plantarum.*, 88: 475-484.
- Bently, A., MacLennan, B., Calvo, I. and Dearolf, C.R. 2000. Targeted recovery of mutations in *Drosophila*. *Genetics*, 156: 1169-1173.
- Bernasconi, P. Woodworth, A.R., Rosen, B.A., Subramanian, M.V. and Siehl, D.L. 1995. A naturally occurring point mutation confers broad range tolerance to herbicides that target acetolactate synthase. *Journal of Biological Chemistry*, 29 (270): 17381-17385.
- Berversdorf, W.D., Hume, D.J. and Donnelly-Vanderloo, M.J. 1988. Agronomic performance of triazine resistant and susceptible reciprocal spring canola hybrids. *Crop Sci.*, 28: 932-934.
- Bhan, V.M. and Kukula, S. 1987. Weeds and their control in chickpea. In: Singh, K.B. and Saxena, M.C. (Eds.), *The Chickpea*. C.A.B. International, Wallingford, Oxon, UK, pp. 319-328.
- Bhan, V.M. and Mishra, J.S. 1997. Recent Advances in Pulses Research, Kanpur: Indian Society of Pulses Research and Development, Indian Institute of Pulses Research. *Integrated Approach to Weed Management in Pulse Crops*, 333-347.
- Bhatia, C.R., Maluszynski, M., Nichterlein, K., van Zanten, L. 2001a. Grain Legume cultivars derived from induced mutations, and mutation affecting nodulation. *Mutation Breeding*, 13: 1-44.

- Bhatia, C.R., Nichterlein, K. and Maluszynski, M. 2001b. Mutation affecting nodulation in grain legumes and their potential in sustainable cropping systems. In: Maluszynski, M. and Kasha, K.J. (Eds.), *Mutations, In Vitro and Molecular Techniques for Environmentally Sustainable Crop Improvement*. Kluwer academic Publisher, Dordrecht, pp: 313-345.
- Black, C.A. 1965. *Methods of Soil Analysis. Part 2*, Amer. Society of Agronomy Inc., Publisher, Maadison, Wisconsin; U.S.A., 1372-1376.
- Black, C.A. 1957. *Soil-Plant Relationships*, New York, USA.
- Blackshaw, R.E., Kanashiro, D., Moloney, M.M. and Crosby, W.L. 1994. Growth, yield, and quality of canola expressing resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. *Can J Plant Sci.*, 74: 745-751.
- Boerboom, C.M. and Lauer, J.G. 1997. Performance of imazethapyr-resistant com (*Zea mays*) compared with susceptible near-isogenic and commercial hybrids. *Weed Technol.*, 11:110-117.
- Bond, W. and Grundy, A. C. 2001. Non-chemical weed management in organic farming systems. *Weed Research*, 41: 383-405.
- Boyoucos, G.J, 1955. A Recalibration of The Hydrometer Metod for Making Mechanical Analysis of The Soil. *Agronomy Journal*, 4 (9): 434.
- Breccia, G., Vega, T., Felitti, S.A., Picardi, L. and Nestaresa, G. 2013. Differential expression of acetohydroxyacid synthase genes in sunflower plantlets and its response to imazapyr herbicide. *Plant Science*, 208: 28-33.
- Brighenti, A.M. 2012. Sunflower resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides. *Pesqui. Agropecu. Trop.*, 42 (2): 225-230.

- Brown, M.A., Chiu, T.Y. and Miller, P. 1987. Hydrolytic activation verses oxidation
Degradation of Assert herbicide, an imidazolinone aryl-carboxylate, in susceptible
wild oat versus tolerant corn and wheat. *Pest Biochem Physiol.*, 27: 24-29.
- Bruniard, J.M. and Miller, J.F. 2001. Inheritance of imidazolinone-herbicide resistance
in sunflower. *Helia*, 24 (35): 11-16.
- Busi, R., Neve, P. and Powles, S. 2013. Evolved polygenic herbicide resistance in *Lolium
rigidum* by low-dose herbicide selection within standing genetic variation.
Evolutionary Applications, 6, 231-242.
- Calcagno, F., Venora, G. and Gallo, G. 1987. Chemical weed control for chickpea in Sicily,
Italy. *International Chickpea Newsletter*, 17, 34-35.
- Carter, M. R. 1993. Soil Sampling and Methods of Analysis, Canadian Society of Soil
Science, Lewis Publishers, pp. 25-38, Canada.
- Ceylan, F.O. and Toker, C. 2006a. Selection for tolerance to post-emergence herbicides in
chickpea cultigen. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter*, 13, 21-22.
- Ceylan, F.O. and Toker, C. 2006b. Selection for tolerance to post-emergence herbicides in
annual wild *Cicer* species. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter*, 13, 23-
24.
- Chaleff, R.S. and Mauvais, C.J. 1984. Acetolactate synthase is the site of action of two
sulfonylurea herbicides in higher plants. *Science*, 224: 1443-1445.
- Chopra, N., Chopra, N.K. and Singh, H.P. 2003. Loss in seed yield and quality due to weed
stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 73,
350-351.
- Christopher, J.T., Powles, S.B., and Holtum, J.A.M. 1992. Resistance to acetolactate synthase
inhibiting herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) involves at least two
mechanisms. *Plant Physiol.*, 100: 1909-1913.

- Clarke, H.J., Wilson, J.G., Kuo, I., Lulsdorf, M.M., Mallikarjuna, N., Kuo, J. and Siddique, K.H.M. 2006. Embryo rescue and plant regeneration *in vitro* of selfed chickpea (*Cicer arietinum* L.) and its wild annual relatives. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 85 (2): 197-204.
- Cole, T.A., Wehtje, G.R., Wilcut, J.W. and Hicks, T.V. 1989. Behavior of imazethapyr in soybeans (*Glycine max*), peanuts (*Arachis hypogaea*), and selected weeds. *Weed Sci.*, 37: 639-644.
- Cole, D.J. 1994. Detoxification and activation of agrochemicals in plants. *Pestic Sci.*, 42: 209-222.
- Corbett, C-A.L. and Tardif, F.J. 2006. Detection of resistance to acetolactate synthase inhibitors in weeds with emphasis on DNA-based techniques: a review. *Pest Management Science*, 62: 584-597.
- Corp, M., Machado, S., Ball, D., Smiley, R., Petrie, S., Siemens, M. and Guy, S. 2004. Chickpea production guide. Oregon State University, Extension service.
- Cubero, J.I. 1987. Morphology of chickpea. In: K.B. Singh and M.C. Saxena (Eds.), *The Chickpea*. CAB International Publ., Wallingford, Oxon, UK, pp. 35-66.
- Çağlar, K.Ö. 1949. Toprak Bilgisi. Ankara Üni.Zir.Fak.Yayınları, Sayı:10
- Dhingra, K.K., Sekhon, H.S. and Triathi, H.P. 1982. Chemical control of weeds in chickpea. *International Chickpea Newsletter*, 6, 14.
- Devine, M.D., Duke, S.O., and Fedtke, C. 1993. Physiology of herbicide action. PTR Prentice-HallInc. Englewood, New Jersey, pp. 441.
- Devine, M.D. and Eberlein, C.V. 1997. Physiological, biochemical and molecular aspects of herbicide resistance based on altered target sites. In: Roe, R.M, Burton, J.D., and Kuhr, R.J. (Eds.), *Herbicide Activity: Toxicity, Biochemistry, and Molecular biology*. IOS Press, Amsterdam, pp 159-185.

- Devine, M.D. and Shukla, A. 2000. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. *Crop Protection*, 19: 881-889.
- Demir, A., Tepe, I. ve Erman, M. 2005. Nohutta (*Cicer arietinum* L.) Farklı Mücadele Yöntemlerinin Yabancı Otlanmaya, Verime, Bazı Verim Unsurlarına ve Nodülasyona Etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 15 (1): 71-77.
- Dill, G.M, CaJacob, C.A. and Padgett, S.R. 2005. Glyphosate-resistant crops: adoption, use and future considerations. *Pest Management Science*, 64, 326-331.
- Dönmez, A.A. 2011. *Cicer uludereensis* Dönmez: a new species of Cicer (Chickpea) (Fabaceae) from around the Fertile Crescent, SE Turkey. *Turk J Bot*, 35:71-76.
- Duggleby, R.G. 1997. Identification of an acetolactate synthase small subunit gene in two eukaryotes. *Gene*, 190: 245-249.
- Duggleby R.G, Diefenbach, R.J., Jerlstrom, P., Wilkins, R. and Chang, A.K. 1998. Partial sequence of barley acetohydroxyacid synthase. GenBank direct submission, Accession number AF059600, National Center for Biotechnology Information.
- Duggleby, R.G., Kartikasari, A.E.R., Wunsch, R.M., Lee, Y.T., Ki, M.W., Shin, J.Y., and Chang, S.I. 2000. Expression in *Escherichia coli* of a putative human acetohydroxyacid synthase. *JBiochem Mol Biol.*, 33: 195-201.
- Duggleby, R.G. and Pang, S.S. 2000. Acetohydroxyacid Synthase. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 33 (1): 1-36.
- Duggleby, R.G., Mccourt, J.A. and Guddat, L.W. 2008. Structure and mechanism of inhibition of plant acetohydroxyacid synthase. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46: 309-324.
- Duke, J.A. 1981. Handbook of legumes of world economic importance. Plenum Press, New York, USA, pp. 52-57.

- Durner, J. and Boger, P. 1988. Acetolactate synthase from barley (*Hordeum vulgare* L.): Purification and partial characterization. *Z Naturforsch*, 43c: 850-856.
- Eberlein, C.V., Guttieri, M.J., Berger, P.H., Fellman, J.K., Mallory-Smith, C.A., Thill, D.C., Baerg, R.J. and Belknap, W.R. 1999. Physiological consequence of mutation for ALS-inhibitor resistance. *Weed Science*, 47: 383-392.
- Eroğlu, N. 2006. Karamanda Nohutlarda Sorun Oluşturan Yabancı Otlar ve Kritik Periyodun Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, 44 s.
- Eshel, Y. 1967. Effect of Sowing Date on Growth and Seed Yield Components of Chickpea (*Cicer arietinum* L.), *Israel J. Agric. Res.*, 17, 193-197.
- Evliya, H. 1964. Kültür Bitkilerinin Beslenmesi. Ankara. Üniv. Ziraat Fak. Yayınları: 36, Ankara, 292-294.
- Fang, L.Y., Gross, P.R., Chen, C.H. and Lillis, M. 1992. Sequence of two acetohydroxyacid synthase genes from *Zea mays*. *Plant Mol Bio.*, 18: 1185-1187.
- Faostat, 2013. Food and Agriculture Organization of United Nations. (www.fao.org) [Son erişim tarihi: 11.11.2016].
- Faostat, 2014b. Food and Agriculture Organization of United Nations. (www.fao.org) [Son erişim tarihi: 15.11.2016].
- Fedoruk, L. K. and Shirtliffe, S. J., 2011. Herbicide Choice and Timing for Weed Control in Imidazolinone-Resistant Lentil. *Weed technology*, 25 (4): 620-625.
- Gadekar, M.S. and Dodiya, N.S. 2013. Heterosis and combining ability analysis for yield and yield contributing traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.) *Legume research*, 36 (5): 373-379.

- Garcia-Garijo, A., Palma, F., P., Lluch, C. and Tejera, N.A. 2013. Physiological and biochemical responses of common vetch to the imazamox accumulation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73: 321-325.
- Garijo, A.G., Palma, F., Iribarne, C., Lluch, C. and Tejera, N.A. 2012. Alterations induced by imazamox on acetohydroxyacid synthase activity of common bean (*Phaseolus vulgaris*) depend on leaf position. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 104: 72-76.
- Gaur, P.M. and V.K. Gour, 2002. A gene producing one to nine flowers per flowering node in chickpea. *Euphytica* 128: 231-235.
- Gaur, P.M., Jukanti, A.K., Samineni, S., Chaturvedi, S.K., Singh, S., Tripathi, S., Singh, I., Das, T.K., Aski, M., Mishra, N., Nadarajan, N. and Gowda, C.L.L. 2013. Large Genetic Variability in Chickpea for Tolerance to Herbicides Imazethapyr and Metribuzin. *Agronomy*, 3: 524-536.
- Gerwick, B.C., Subramanian, M.V. and Loney-Gallant VI. 1990. Mechanism of action of the 1,2,4-triazolopyrimidines. *Pestic Sci.*, 29: 357-364.
- Ghio, C., Ramos, M.L., Altieri, E., Bulos, M. and Sala, C.A. 2013 Molecular characterization of Als1, an acetohydroxyacid synthase mutation conferring resistance to sulfonylurea herbicides in soybean. *Theor Appl Genet*, 126: 2957–2968
- Gill, H., Boies K. & Finegan, J.E. & McNally, J. 2005. “Antecedent of Trust: Establishing a Boundary Condition for the Relation Between Propensity to Trust and Intention to Trust”, *Journal of Business and Psychology*. 19 (3): 287-303.
- Gottschalk, W. and Wolff, G. 1983. Induced mutations in plant breeding. Monographs on theoretical and applied genetics; 7. Springer-Verlag, New York, USA.
- Graph, S. and Kleifeld, Y. 1988 Selective Control of Moleculla Leavis in Chickpeas, *Phytoparasitica*, 16 (4): 391.
- Graph, S., Kleifeld, Y. and Herzlinger, G. 1988. Fomesafen, A selective pre-emergence herbicide for chickpea and vetches. *Phytoparasitica*, 16 (4): 392.

- Green, J.M. and Ulrich, J.F. 1993. Response of com (*Zea mays* L.) inbreds and hybrids to sulfonylurea herbicides. *Weed Sci.*, 41: 508-516.
- Gula, J.W., Hudspeth, R.L., Hobbs, S.L., and Anderson, D.M. 1995. Organization, inheritance and expression of acetohydroxyacid synthase genes in the cotton allotetraploid *Gossypium hirsutum*. *Plant Mol Bio.*, 28: 837-846
- Gratzfeld-Huesgen, A. 1999. Sensitive and reliable amino acid analysis in protein hydrolysates using the Agilent 1100 Series HPLC. Agilent Pub. 5968-5658EN.
- Gula, J.W., Hudspeth, R.L., Hobbs, S.L. and Anderson, D.M. 1995. Organization, inheritance and expression of acetohydroxyacid synthase genes in the cotton allotetraploid *Gossypium hirsutum*. *Plant Mol Bio.*, 28: 837-846
- Guttieri, M.J., Eberlein, C.V. and Thill, D.C. 1995. Diverse mutations in the acetolactate synthase gene confer chlorsulfuron resistance in *Kochia scoparia* biotypes. *Weed Sci.*, 43: 175-178.
- Hall, L.M. and Devine, M.D. 1990. Cross-resistance of a chlorsulfuron-resistant biotype of *Stellaria media* to a triazolopyrimidine herbicide. *Plant Physiol.*, 93: 962-966.
- Hall, L.M. and Devine, M.D. 1993. Cross-resistance of a chlorsulfuron-resistant biotype of *Stellaria media* to a triazolopyrimidine herbicide. *Plant Physiol.*, 93: 962-966.
- Hall, L.M., Stromme, K.M. and Horsman, G.P. 1998. Resistance to acetolactate synthase inhibitors and quinclorac in a biotype of false cleavers (*Galium spurium*). *Weed Sci.*, 46: 390-396.
- Harlan, J. and De Wet, J. 1971. Towards a rational classification of cultivated plants. *Taxon* 20: 509–517.

- Harms, C.T., Armour, S.L., DiMaio, J.J., Middlesteadt, L.A., Murray, D., Negrotto, D.V., Thompson-Tyler, H., Weymann, K., Montoya, A.L., Shillito, R.D. and Jen, G.C. 1992. Herbicide resistance due to amplification of a mutant acetohydroxyacid synthase gene. *Mol Gen Genet.*, 233: 427-435
- Hattori, J., Brown, D., Mourad, G., Labbe, H., Ouellet, T., Sunohara, G., Rutledge, R., King, J. and Miki, B. 1995. An acetohydroxyacid synthase mutant reveals a single site involved in multiple herbicide resistance. *Mol Gen Genet.*, 246: 419-425.
- Haughn, G.W. and Somerville, C.R. 1986. Sulfonylurea-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet.*, 204: 430-434.
- Haughn, G.W., Smith, J., Mazur, B. and Somerville, C. 1988. Transformation with a mutant *Arabidopsis* acetolactate synthase gene renders tobacco resistant to sulfonylureas. *Mol Gen Gent.*, 211: 266-271.
- Heap, I. 2015 International survey of herbicide resistant weeds.
<http://weedsience.org/account/faq.aspx#cite> [Son erişim tarihi: 30.05.2015].
- Henderson, J.W., Ricker, R.D. Bidlinmeyer, B.A. and Woodward, C. 2000. Rapid, accurate, sensitive and reproducible HPLC analysis of amino acid. Agilent Pub. 5989-1193E.
- Hershey, H.P., Schwartz, L.J., Gale, J.P. and Abell, L.M. 1999. Cloning and functional expression of the small subunit of acetolactate synthase from *Nicotiana glauca*. *Plant Mol Biol.*, 40: 795-806.
- Hsiao, Y.L., Yei-Shung, W. And Jui-Hung, Y. 2014. Enantioselective effects of herbicide imazapyr on *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Environmental Science and Health, Part B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 49:9, 646-653.
- Huisman, J. and Van Der Poel, A.F.B., 1994. Aspects of the nutritional quality and use of cool season food legumes in animal feed. In: F.J. Muehlbauer and W.J. Kaiser (Eds.), *Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 53-76,

- Hulse, J.H. 1991. Nature, composition and utilization of grain legumes. In: Uses of tropical Legumes: Proceedings of a Consultants Meeting, 27-30 March 1989, ICRISAT Center, India, pp. 11-27.
- IAEA, 2015. Uluslararası Atom Enerjisi Kurumu. www.iaea.org. [Son erişim tarihi: 30.05.2015]
- ICARDA, Germplasm Program: Annual Report for 1993. ICARDA, Aleppo.
- Immadi, S., Maralappanavar, M.S., Patil, S.S. and Sajjanar, G.M. 2016. Translation of phenotypic diversity of Sorghum bicolor axillary branched mutant into exploitable heterosis. *Plant Breeding*, 135 (2): 177-190.
- İşler, N. 2003. Tokat (Zile'de) Nohut (*Cicer arietinum*. L.) Yetiştirilen Alanlarda Sorun Olan Yabancı Otların Belirlenmesi ve Yabancı Ot Alımının Verim ve Nodozite Oluşumuna Etkileri Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, 75 s.
- Jackson, M.L., 1967. Soil Chemical Analysis. Prentice-Hall of India Private Limited, New Delhi.
- Jackson, M.L., 1962. Soil Chemical Analysis. Prentice-Hall Inc. 183: 219-284.
- Jain, P. and Tar'an, B. 2014. Analysis of acetohydroxyacid synthase1 gene in chickpea conferring resistance to imazamox herbicide. *Genome*, 57: 593-600.
- Jaiswal, H.K and Singh, R.K. 1990. Breeding for increased nitrogen fixing ability among wild and cultivated species of chickpea. *Annals of Applied Biology*, 117 (2): 415-419.
- Jaiswal, H.K., Singh, A.K., and Singh, R.M. 1986. Introgression of genes for yield and yield traits from *C. reticulatum* into *C. arietinum*. *International Chickpea Newsletter*, 14: 5-8.

- Jefferies, M.L., Willenborg, C.J. and Tar'an, B. 2015. Response of conventional and imidazolinone-resistant chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars to imazamox and/or imazethapyr applied post-emergence. *Can. J. Plant Sci*, 96: 48–58.
- Jefferies, M.L., Willenborg, C.J. and Tar'an B. 2016. Response of Chickpea Cultivars to Imidazolinone Herbicide Applied at Different Growth Stages. *Weed Technology*, 30 (3): 664-676.
- Joutel, A., Ducros, A., Alamowitch, S., Cruaud, C., Domenga, V., Marechal, E., Vahedi, K., Chabriat, H., Bousser, M.G. and Toumier, L.E. 1996. A human homolog of bacterial acetolactate synthase genes maps within the CADASIL critical region. *Genomics*, 38: 192-198.
- Kacar, B. 1962. Plant and Soil Analysis. University of Nebraska College of Agriculture, Department of Agronomy, Lincoln, Nebraska, U.S.A.
- Kacar, B. 1995. Bitki ve Toprağın Kimyasal analizler: III. Toprak Analizleri. A. Ü. Ziraat Fakültesi Geliştirme Vakfı Yayınları: 3.
- Kantar, F., Elkoca, E. and Zengin, H. 1998, Nohut (*Cicer arietinum* L CV.Aziziye-94)'ta kimyasal ve kültürel yabancı ot mücadelelerinin verim ve verim komponentleri üzerine etkisi, Doğu Anadolu Tarım Kongresi Bildiri Kitabı, 475-482.
- Kantar, F., Elkoca, E. and Zengin, H. 1999. Chemical and agronomical weed control in chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. Aziziye-94). *Turkish Journal of agriculture and Forestry*, 23, 631–635.
- Karaboz, İ. ve Yapıcı-Meriçli, B., 2008. *Azotobacter chroococcum* Strainlerinin Sulfonilüre ve Triazolopirimidin sınıfı ALS-İnhibitörü Herbisitlere in vitro Toleranslarının Belirlenmesi. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR* (Eski adı: OrLab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi) Yıl: 2008 Cilt: 06 Sayı: 01 Sayfa: 22-26.
- Kaur, M., Singh, N. and Sodhi, N.S. 2005. Physicochemical, cooking, textural and roasting characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *J. Food Eng.*, 69: 511-517.

- Keeler, S.J., Sanders, P., Smith, J.K. and Mazur, B.J. 1993. Regulation of tobacco acetolactate synthase gene expression. *Plant Physiol.*, 102: 1009-1018.
- Kharkwal, M.C., Cagiran, M.I., Toker, C., Shah, T., Islam, M.M., Nakagawa, H., Xu, X, Si, P. 2010. Legume Mutant Varieties for Food, Feed and Environmental Benefits. In: 5th International Food Legumes Research Conference (IFLRC V) and 7th European Conference on Grain Legumes (AEP VII), 26-30 Nisan 2010, Antalya, Türkiye, pp: 188.
- Knights, E.J. 1993. Fasciation in chickpea: genetics and evolution. *Euphytica* 69: 163–166.
- Kolkman, J.M, Slabaugh, M.B., Bruniard, J.M., Berry, S., Bushman, B.S., Olungu, C., Maes, N., Abratti, G., Zambelli, A., Miller, J.F., Leon, A. and Knapp, S.J. 2004. Acetohydroxyacid synthase mutations conferring resistance to imidazolinone or sulfonylurea herbicides in sunflower. *Theor Appl Genet.*, 109:1147–1159.
- Krausz, R.F., Kapusta, G. and Matthews, J.L. 1997. Acetolactate synthase-resistant and –susceptible com {*Zea mays*) response to imazethapyr, imazaquin, chlorimuron, and CGA-152005. *Weed Technol.*, 11: 810-816.
- Kumar, Y., Gupta, O.P. and Gill, O.P. 1989. Weed control studies in irrigated chickpea in Rajasthan, India. *International Chickpea Newsletter*, 21: 28-30.
- Labdi, M., Robertson, L.D., Singh, K.B. and Charrier, A. 1996. Genetic diversity and phylogenetic relations among the annual *Cicer* species as revealed by isozyme polymorphism. *Euphytica*, 88: 181-188.
- Ladizinsky, G. 1975. A new *Cicer* from Turkey. Notes of the Royal Botanic Garden Edinburgh, 34: 201-202.
- Ladizinsky, G. and Adler, A. 1976. The origin of Chickpea *Cicer arietinum* L. *Euphytica*, 25: 211–217.

- Ladizinsky, G., Pickersgil, B. and Yamamoto, K. 1988. Exploitation of Wild Relatives of the Food Legumes. In: Summerfield, R.J. (Ed.), World Crops: Cool Season Food Legumes, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp: 967-978.
- Ladner, D.W. 1990. Structure-activity relationships among the imidazolinone herbicides. *Pestic Sci.*, 29: 317-333.
- Ladner, D.W. 1991. Structure-activity relationships among the imidazolinones. In: Shaner, D.L. and O'Connor, S.L. (Eds.) The Imidazolinone herbicides. CRC Press, Boca Raton, pp 31-52.
- Lee, K.Y, Townsend, J., Tepperman, J., Black, M., Chui, C.F., Mazur, B., Dunsmuir, P. and Bedbrook, J. 1988. The molecular basis of sulfonylurea resistance in tobacco. *EMBO J.*, 7: 1241-1248.
- Lee, A.H., Gatterdam, P.E., Chin, T.Y., Mallipudi, N.M. and Fiala, R. 1991. Plant Metabolism. In: Shaner, D.L. and O'Connor, S.L. (Eds.), The Imidazolinone herbicides. CRC Press, Boca Raton, pp 151-166.
- Lee, Y.T., Chang, A.K., and Duggleby, R.G. 1999. Effect of mutagenesis at serine-653 of *Arabidopsis thaliana* acetohydroxyacid synthase on the sensitivity to imidazolinone and sulfonylurea herbicides. *FEBS Letters*, 452: 341-345.
- Lee, Y.T. and Duggleby, R.G. 2001. Identification of the regulatory subunit of *Arabidopsis thalian* acetohydroxyacid synthase and reconstitution with its catalytic subunit. *Biochem.*, 40: 6836-6844.
- Lee, Y.T. and Duggleby, R.G. 2002. Regulatory interactions in *Arabidopsis thaliana* acetohydroxyacid synthase. *FEBS Lett.*, 512: 180-184.
- Leport, L., Turner, N.C., Davies, S.L. and Siddique, K.H.M. 2006. Variation in Pod Production and abortion Among Chickpea Cultivars under Terminal Drought. *Europ. J. Agronomy*, 24: 236-246.

- Lindsay, W. L. and Norwell, W. A. 1978. Development of a DTPA Soil Test for Zinc, Iron, Manganese and Copper. *Soil Sci. Soc. Amer. Jour.* 42 (3).
- Liu, Y., Li, Y. and Wang, X. 2016. Acetohydroxyacid synthases: evolution, structure, and function. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100: 8633-8649.
- Loue, A. 1968. Diagnostic Petiolare de Prospection, Edutes Sur la Nutrition et al Fertilisation Potassiques de la Vigne Societe, Commerciale des Potasses d'Alsace Services Agronomiques, France, pp. 31-41.
- Lulsdorf, M., Clarke, H.J., Mallikarjuna, N., Taran, B. and Warkentin. T. 2005. Finding solutions for interspecific hybridization problems in chickpea. '4th International Food Legume Research Conference', New Delhi, India, pp. 44.
- Lundqvist, U. and Lundqvist, A. 1988. Mutagen specificity in barley for 1580 eceriferum mutants localized to 79 loci. *Hereditas*, 108: 1-12.
- Lyon, D.J. and Wilson, R.G. 2005. Chemical weed control in dryland and irrigated chickpea. *Weed Technology*, 19, 959-965.
- Magha, M.I., Guerche, P., Bregeon, M. and Renard, M. 1993. Characterization of a spontaneous rapeseed mutant tolerant to sulfonylurea and imidazolinone herbicides. *Plant Breed.*, 111: 132-141.
- Mahoney, J.E. 1981. Herbicide tolerance in chickpea. *International Chickpea Newsletter*, 5, 7-8.
- Mahoney, J.E. 1984. Broadleaf weed control in chickpea. *International Chickpea Newsletter*, 10, 8-10.
- Malhotra, R.S., Pundir, R.P.S. and Slinkard, A.E. 1987. Genetic resources of chickpea. In: Singh, K.B. and Saxena, M.C. (Eds.), *The Chickpea*. CAB International Cambrian News, Aberystwyth, UK, pp. 67-81.

- Malik, M.R., Haqqani, A.M., Habib-Ur Rehman, Ozair, C.A. and Malik, B.A. 2001. Economic efficiency of different pre- and post-emergence herbicides to control weeds in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Online Journal of Biological Sciences*, 1: 372-377.
- Malik, B.A., Hussain, S.A. and Haqqani, A.M., 1982. Efficiency of herbicides in chickpea. *International Chickpea Newsletter*, 6, 15.
- Mallikarjuna, N. 1999. Ovule and embryo culture to obtain hybrids from interspecific incompatible pollinations in chickpea. *Euphytica* 110:1-6.
- Mallipudi, N.M., Lee, A., Fiala, R., daCunha, A.R. and Safarpour, M. 1994. Metabolism of Imazethapyr (AC 263499) herbicide in com. *J Agric Food Chem.*, 42: 1213-1218.
- Mallory-Smith, C.A., Thill, D.C. and Dial, M.J. 1990. Identification of sulfonylurea herbicide resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Technol.*, 4: 163-168.
- Maluszynski, M., Ahloowalia, B.S. and Sigurbjornsson, B. 1995. Application of in vivo and invitro mutation techniques for crop improvement. *Euphytica*, 85; 303-315.
- Maluszynski, M., Nichterlein, K., van Zanten, L. and Ahloowalia, B.S. 2000., Officially released mutant varieties – the FAO/IAEA Database. *Mutation Breeding Review*, 12, 1-84.
- Maluszynski, M. 2003. Index Issue No. 21-44. *Mutation Breeding Newsletter*, 46, 1-80.
- Manley, B.S., Singh, B.K., Shaner, D.L. and Wilsoni H.P. 1999. Imidazolinone reistance in smooth pigweed is due to an altered acetolactate synthase. *Weed Technol.*, 13: 697-705.
- Mazur, B.J., Chui, C.F. and Smith, J.K. 1987. Isolation and Characterization of Plant Genes Coding for Acetolactate Synthase, the Target Enzyme for Two Classes of Herbicides. *Plant Physiol.*, 85: 1110-1117.

- McSheffey, S.A., McHughen, A. and Devine, M.D. 1992. Characterization of transgenic sulfonylurea resistant flax (*Linum usitatissimum*). *Theor Appl Genet.*, 84: 480-481.
- Menegat, A., Bailly, G.C., Aponte, R., Heinrich, G.M.T., Sievernich, B. and Gerhards, R. 2016. Acetohydroxyacid synthase (AHAS) amino acid substitution Asp376Glu in *Lolium perenne*: effect on herbicide efficacy and plant growth. *J Plant Dis Prot.*, 123:145-153.
- Miller J.F., Al-Khatib K. 2002. Registration of imidazolinone herbicide-resistant sunflower maintainer (HA 425) and fertility restorer (RHA 426 and RHA 427) germplasms. *Crop-Science*. 2002, 42: 3, 988-989.
- MINITAB (2000) Minitab statistical software vers. 13.1.
- Moerkerk, M.R. 1999. Chemical control of bedstraw (*Galium tricornutum* Dany) in wheat, barley, field peas, chickpeas, and faba beans in Southern Australia. *Plant Protection Quarterly*, 14 (1): 24-29.
- Mohammadi, G., Javanshir, A., Khooei, F.R., Mohammadi, S.A. and Zehtab, S.S. 2005. Critical period of weed interference in chickpea. *Weed Research*, 45: 57-63.
- Moreno, M.T. and Cubero, J.I. 1994. Variation in *Cicer arietinum* L. *Euphytica* 73: 1-10.
- Mourad, G. and King, J. 1992. Effect of four classes of herbicides on growth and acetolactate synthase activity in several variants of *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 188: 491-497.
- Muehlbauer, F.J. and Singh, K.B. 1987. Genetics of chickpea. In: Singh, K.B. and Saxena, M.C. (Eds.), *The Chickpea*. CAB. International, Wallingford, Oxon, UK, pp. 99-125.
- Muehlbauer, F.J. 1993. Use of wild species as a source of resistance in cool-season food legumes, In: Singh, K.B. and Saxena, M.C. (Eds.), *Breeding for Stress Tolerance in Cool-Season Food Legumes*, ICARDA, A Wiley-Sayce Co-Publication, John Wiley and Sons, Baffins Lane, Chichester, pp: 359-372.

- Muehlbauer, F.J. and Tullu, A. 1997. *Cicer arietinum* L. In: New Crop Fact Sheet, Purdue University, Center for New Crops and Plant Products.
<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/cropfactsheets/Chickpea.html>.
[Son erişim tarihi: 05.05.2015]
- Muller, H.J. 1927. Artificial transmutation of the gene. *Science*, LXVI, 84-87.
- Newhouse, K.E., Wang, T. and Anderson, P.C. 1991. Imidazolinone resistant crops. In: Shaner, D.L. and O'Connor, S.L. (Eds.), *The Imidazolinone herbicides*. CRC Press, Boca Raton, pp 139-150.
- Newhouse, K., Smith, W., Starrett, M., Schaefer, T. and Singh, B.K. 1992. Tolerance to imidazolinone herbicides in wheat. *Plant Physiol.*, 100: 882-886.
- Ocampo, B., Venora, G., Errico, A., Singh, K.B. and Saccardo, F. 1992. Karyotype analysis in genus *Cicer*. *J. Genet. Breed.*, 46: 229-240.
- Ochogavia, A.C., Breccia, G., VEGA, T., Felitti, S.A., Picardi, L.A. and Nestares, G. 2014. Acetohydroxyacid synthase activity and transcripts profiling reveal tissue-specific regulation of *ahas* genes in sunflower. *Plant Science*, 224: 144-150.
- Oğuz-Kocabaş, I. 2014. Doğadan toplanan ve farklı gübre uygulamaları ile yetiştiriciliği yapılan İzmir kekiği (*Origanum onites* l.) Bitkisinin uçucu yağ bileşenleri, bitki besin maddeleri ve nitrat içeriklerinin değerlendirilmesi. Doktora tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya.
- Ohba, K., Minoura, M., and Safarpour, M.M. 1997. Method of the determination of imazamox and its two hydroxy and glucose metabolites in Adzuki beans by capillary electrophoresis. *J Pesticide Sci.*, 22: 277-281.
- Olsen, S.R. and Sommers, L.E. 1982. Phosphorus Availability Indices. In: Page, A.L., Miller, R.H. and Keeney, D.R. (Eds.), *Phosphorus Soluble in Sodium Bicarbonate. Method of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*, pp. 404-430.

- Ouellet, T., Rutledge, R.G. and Miki, B.L. 1992. Members of the acetohydroxyacid synthase multigene family of *Brassica napus* have divergent patterns of expression. *Plant J.*, 2: 321-330.
- Owen, M.D.K., Zelaya, I.A. 2005. Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides. *Pest Manag Sci.*, 61, 301–311.
- Öztürk, M., Duran, A. and Hakkı, E.E., 2013. Cladistic and phylogenetic analyses of the genus *Cicer* in Turkey. *Plant Syst Evol.*, 299: 1955-1966.
- Pala, M. and Mazid, A. 1992. On-farm assessment of improved crop production practices in northwest Syria. I. Chickpea. *Experimental Agriculture*, 28, 175-184.
- Park, K.W., Kolkman, J.M. and Mallory-Smith, C.A. 2011. Point mutation in acetolactate synthase confers sulfonylurea and imidazolinone herbicide resistance in spiny annual sow-thistle [*Sonchus asper* (L.) Hill]. *Can. J. Plant Sci.*, 92: 303-309.
- Pillmor, J.B. and Caseley, J.C. 1987. The biochemical and physiological effects and mode of action of AC 222, 293 against *Alopecurus muosuroides* Huds. and *Avena fatua* L. *Pest Biochem Physiol.*, 27: 340-349.
- Pizer, N.H. 1967. Some Divisory Aspect Soil Potassium and Magnesium. *Tech. Bull.*, 14: 184.
- Polaina J. 1984. Cloning of the *ilv2*, *ilvS*, and *ilv5* genes of *Saccharomyces cerevisiae*. *Carlsberg Res Commun.*, 49: 577-584.
- Popelka, J.C. and Higgins, T.J.V. 2007. Chickpea. In: Pua, E.C. and Davey, M.R. (Eds.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Transgenic Crops IV*. Springer-Verlag, Vol. 59. Berlin Heidelberg, pp. 251-262.
- Pozniak, C.J., Hucl, P.J., 2004. Genetic analysis of imidazolinone resistance in mutation-derived lines of common wheat. *Crop Sci.*, 44 (1): 23-30.

- Pundir, R.P.S. and Mengesha, M.H. 1995. Cross compatibility between chickpea and its wild relative, *Cicer echinospermum* Davis. *Euphytica* 83: 241-245.
- Pundir, R.P.S. and van der Maesen, L.J.G. 1981. A spontaneous polycarpellary mutant in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International Chickpea Newsletter* 4, 7-8.
- Rajasekatan, K., Grula, J.W., Hudspeth, R.L., Pofelis, S. and Anderson, D.M. 1996. Herbicide-resistant Acala and Coker cottons transformed with a native gene encoding mutant forms of acetohydroxyacid synthase. *Molecular Breeding*, 2: 307-319.
- Ramakrishna, A., Rupela, O.P., Reddy, S.L.N. and Sivaramakrishna, C. 1992. Promising herbicides for weed-control in chickpea. *Tropical Pest Management*, 38: 398-399.
- Ray, T.B. 1984. Site of action of chlorsulfuron. Inhibition of valine and isoleucine biosynthesis in plants. *Plant Physiol.*, 75: 827-831.
- Rutledge, R.G., Quellet, T., Hattori, J. and Miki, B.L. 1991. Molecular characterization and genetic-origin of the brassica-napus acetohydroxyacid synthase multigene family. *Molecular&General Genetics*, 229: 31-40.
- Saari, L.L., Cotterman, J.C., Smith, W.F. and Primiani, M.M. 1992. Sulfonylurea herbicide resistance in chickweed, perennial ryegrass, and Russian thistle. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 42: 110-118.
- Sala, C.A. and Bulos, M. 2012. Inheritance and molecular characterization of broad range tolerance to herbicides targeting acetohydroxyacid synthase in sunflower. *Theor Appl Genet*, 124: 355-364.
- Sala, C.A., Mariano, B., Emiliano, A. and Ramos, M.L. 2012. Root biomass response to foliar application of imazapyr for two imidazolinone tolerant alleles of sunflower (*Helianthus annuus* L.) *Breed Sci.*, 62 (3): 235-240.

- Santel, H.J., Bowden, B.A., Sorenson, V.M., Mueller, K.H. and Reynolds, J. 1999. Flucarbazonenatrium—a new herbicide for grass control in wheat. *Proc. West. Soc. Weed Sci.*, 52: 124-125.
- Sasthasivan, K., Haughn, G.W. and Murai, N. 1991. Molecular basis of imidazolinone herbicide resistance in *Aradidopsis thaliana* var Columbia. *Plant Physiol.*, 97: 1044-1050.
- Saxena, M.C. 1990. Status of Chickpea in the Mediterranean Basin. CIHEAM Options *Méditerranéennes-Série Séminaires-n.*, 9; 17-24.
- Schloss, J.V., Ciskanik, L.M., and Van Dyk, D.E. 1988. Origin of the herbicide binding site of acetolactate synthase. *Nature*, 331: 360-362.
- Schloss, J.V., Van Dyk, D.E., Vasta, J.F. and Kutny, R.M. 1985. Purification and properties of *Salmonella typhimurium* acetolactate synthase isozyme II from *Escherichia coli* HB101/pDU9. *Biochem.*, 24: 4952-4959.
- Schloss, J.V. 1990. Acetolactate synthase, mechanism of action and its herbicide-binding site. *Pestic Sci.*, 29: 283-292.
- Schmitt, G.K. and Singh, B.K. 1991. Tissue distribution of acetohydroxyacid synthase activity at various developmental stages of Lima bean. *Pestic Sci.*, 30: 418-419.
- Schulze-Siebert, D., Heineke, D., Scharf, H. and Schultz, G. 1984. Pyruvate-derived amino acids in spinach chloroplasts: Synthesis and regulation during photosynthetic carbon metabolism. *Plant Physiol.*, 76: 465-471.
- Sebastian, S.A., Fader, G.M., Ulrich, J.F., Forney, D.R. and Chaleff, R.S. 1989. Semidominant soybean mutation for resistance to sulfonylurea herbicides. *Crop Sci.*, 29: 1403-1408.
- Sepetoğlu, H. 2002. Yemeklik dane baklagiller. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları: 24/4, İzmir, s: 194-195.

- Sharma, J.R., Lal, R.K., Mishra, H.O. and Sharma, S. 1992. Induced polygenic changes occurring simultaneously with major gene changes in black henbane (*Hyoscyamus niger* L). Theroretical and applied genetics, 85 (4): 445-450.
- Sharma, P.C. and Varshney, R.K. 1999. Induced mutations in chickpea improvement. In: Siddiqui, B.A. and Khan, S. (Eds.), Breeding in Crop Plants, Mutations and In Vitro Mutation Breeding. Kalyani Publishers, Ludhiana, pp: 57-67.
- Shaner, D.L. 1991. Physiological effects of the imidazolinone herbicides. In: Shaner, D.L. and O'Connor, S.L. (Eds.) The Imidazolinone herbicides. CRC Press, Boca Raton, pp: 129-138.
- Shaner, D.L. and Mallipudi, N.M. 1991. Mechanisms of selectivity of the imidazolinone herbicides. In: Shaner, D.L. and O'Connor, S.L. (Eds.) The Imidazolinone herbicides. CRC Press, Boca Raton, pp: 91-102.
- Shaner, D.L. 1999. Resistance to acetolactate synthase (ALS) inhibitors in the United States: history, occurrence, detection, and management. *Journal of Weed Science and Technology*, 44: 405-411.
- Sharif, A., Bakhsh, A., Arshad, M., Haqqani, A.M. and Najma, S. 2001. Identification of genetically superior hybrids in chickpea (*Cicer arietinum* L.) *Pak. J. Bot.*, 33 (4): 403-409.
- Shimizu, T., Kato, Y., Nakayama, I., Nakayama, K., Fukuda, A. and Tanaka, Y. 2000. Isolation and Expression of acetolactate synthase genes from *Oryza sativa*. GenBank directsubmission, Accession number AB049823, National Center for Biotechnology Information.
- Si, P., Chen, Y., Weerakoon, S., Quealy, J., Powles, S. and Erskine, W. 2010. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) breeding lines tolerant to metribuzin applied post-emergence. In: 5th International Food Legumes Research Conference (IFLRC V) and 7th European Conference on Grain Legumes (AEP VII), 26-30 Nisan 2010, Antalya, Türkiye, pp: 188.

- Siehl, D.L., Bengtson, A.S., Brockman, J.P., Butler, J.H., Kraatz, G.W., Lamoreaux, R.J. and Subramanian, M.V. 1996. Patterns of cross-tolerance to herbicides inhibiting acetohydroxyacid synthase in commercial com hybrids designed for tolerance to imidazolinones. *Crop Sci.*, 36: 274-278.
- Silim, S.N. and Saxena, M.C. 1993. Adaptation of springsown chickpea to the Mediterranean basin. II. Factor influencing yield under drought. *Field Crops Res.*, 34: 137-146.
- Singh, A. and Singh, N.P. 2009. Estimation of genetic parameters in recombinant inbred population derived from interspecific cross of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*. 69 (2): 122-126.
- Singh, B.K., Stidham, M.A. and Shaner, D.L. 1988a. Assay of acetohydroxyacid synthase. *Annual Biochem.*, 171: 173-179.
- Singh, B.K., Stidham, M.A. and Shaner, D.L. 1988b. Separation and characterization of two forms of acetohydroxyacid synthase from black Mexican sweet com cells. *J Chrom.*, 444: 251-261.
- Singh, B.K., Schmitt, G., Lillis, M., Hand, J.M. and Misra, R. 1991a. Overexpression of acetohydroxyacid synthase from Arabidopsis as an inducible fusion protein in *Escherichia coli*: Production of polyclonal antibodies and immunological characterization of the enzyme. *Plant Physiol.*, 97: 657-662.
- Singh, B.K., Lumanglas, A, and Wang, B.S. 1991b. Production of a monocot-specific monoclonal antibody against acetohydroxyacid synthase and its use in the purification and characterization of the enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 88: 4572-4576.
- Singh, B.K., Szamosi, I., Hand, J.M. and Misra, R. 1992. Arabidopsis acetohydroxyacid synthase expressed in *Escherichia coli* is insensitive to the feedback inhibitors. *Plant Physiol.*, 99: 812-816.
- Singh, B.K. and Shaner, D.L. 1995. Biosynthesis of branched chain amino acids: From test tube to field. *Plant Cell*, 7: 935-944.

- Singh, B.K. 1999. Biosynthesis of valine, leucine and isoleucine. In: Singh, B.K. (Ed.), Plant amino acids. Marcel Dekker Inc. New York, New York, pp. 227-247.
- Singh, K.B. 1987. Chickpea breeding, In: Saxen, M.C. and Singh, K.B. (Eds.), The Chickpea, Wallingford, Oxon, pp: 127-162.
- Singh, K.B., Holly, L., Bejiga, G. 1991. A Catalogue of Kabuli Chickpea Germplasm, ICARDA, Aleppo, Syria.
- Singh, K.B. and Ocampo, B. 1993. Interspecific hybridization in annual *Cicer* species. *J. Genet. Breed.*, 47: 199-204.
- Singh, K.B., 1997. Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Field Crops Research*, 53: 161-170.
- Singh, K.B. and Ocampo, B. 1997. Exploitation of wild *Cicer* species for yield improvement in chickpea. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 418-423.
- Singh, K.B., Malhotra, R.S., Saxena, M.C. and Bejiga, G. 1997. Superiority of winter sowing over traditional spring sowing of chickpea in the Mediterranean region. *Agronomy Journal*, 89, 112-118.
- Singh, M., Kumar, K., Bisht, I.S., Dutta, M., Rana, M.K., Rana, J.C., Bansal, K.C. and Sarker, A. 2015. Exploitation of wild annual *Cicer* species for widening the gene pool of chickpea cultivars. *Plant Breeding*. 134 (2): 186-192.
- Singh, R.V., Sharma, A.K. and Tomas, R.K.S. 2003. Weed control in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under late-sown condition. *Indian Journal of Agronomy*, 48: 114-116.
- Smithson, J.B., Thompson, J.A. and Summerfield, R.J. 1985. Chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: Summerfield, R.J. and Roberts, E.H. (Eds.), Grain Legume Crops, Collins, London, UK. pp. 312-390.
- Snow, E.T., Foote, R.S., and Mitra, S. 1984. Base-pairing properties of O-6-Methylguanme in template DNA during in vitro DNA replication. *J Biol Chem.*, 259: 8095-8100.

- Soil Survey Staff. 1951. Soil Survey Manual, Agricultural Research Administration, U.S. Dept. Agriculture (Handbook No: 18), U.S. Government.
- Solh, M. B. and Pala, M. 1990. Weed control in chickpea. Options Mediterraneennes–Serie Seminaires. 9: 93-99.
- Soltan., A., Khooie, F.R., Ghassemi-Golezani, K. and Moghaddam, M. 2001. A simulation study of chickpea crop response to limited irrigation in a semiarid environment. *Agr. Water Manage.*, 49: 225-237.
- Southan, M.D. and Copeland, L. 1996. Physical and kinetic properties of acetohydroxyacid synthase from wheat leaves. *Physiologia Plantarum*, 98: 824-832.
- Sprague, C.L., Stroller, E.W. and Wax, L.M. 1997. Common cocklebur (*Xanthium strumarium*) resistance to select ALS-inhibiting herbicides. *Weed Tech.*, 11: 241-247.
- Stadler, L.J. 1928. Mutations in barley induced by x-rays and radium. *Science*, LXVIII, 186-187.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. McGraw-Hill Book Company, New York.
- Stidham, M.A. and Singh, B.K. 1991. Imidazolinone-acetohydroxyacid synthase interactions. In: Shaner, D.L. and O'Connor, S.L. (Eds.), The Imidazolinone herbicides. CRC Press, Boca Raton, pp 71-90.
- Subramanian, M.V., Hung, H.Y., Dias, J.M., Miner, V.W., Butler, J.H. and Jachetta, J.J. 1990. Properties of mutant acetolactate synthases resistant to triazolopyrimidine sulfonanilide. *Plant Physiol.*, 94: 239-244.
- Sukhadia, N.M., Ramani, B.B., Modhwadia, M.M., Khanpara, V.D. and Asodaria, K.B. 1999. Integrated weed management in chickpea. *Gujarat Agricultural Univ. Research Journal*. 24 (2): 7-12.

- Swanson, E.B., Hergesell, M.J., Amoldo, M., Sippell, D.W. and Wong, R.S.C. 1989. Microspore mutagenesis and selection: Canola plants with field tolerance to imidazolinones. *Theor Appl Genet.*, 78: 525-530.
- Şanlı A., Kaya, M. ve Kara, B. 2009. Nohut (*Cicer arietinum* L.)'ta yabancı ot mücadele zamanları ile herbisit uygulamalarının verim ve bazı verim unsurlarına etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Anadolu Tarım Bilim Dergisi*, 24 (1): 13-20.
- Şehirali, S. 1988. Yemeklik Dane Baklagiller, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1089, Ders kitabı: 314, Ankara, pp: 435.
- Tan, S., Evans, R.R., Dahmer, M.L., Singh, B.K. and Shaner, D.L. 2005. Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Management Science*, 61: 246–257.
- Tanno, K. and Willcox, G. 2006. The origins of cultivation of *Cicer arietinum* L. and *Vicia faba* L.: early finds from Tell el-Kerkh, north-west Syria, late 10th millennium b.p. *Vegetation History and Archaeobotany*, 15 (3): 197-204.
- Taran, B., Warkentin, D., Vandenberg, A. and Holm, F.A. 2010. Variation in chickpea germplasm for tolerance to imazethapyr and imazamox herbicides. *Can. J. Plant Sci.*, 90: 139-142.
- Taran, B., Holm, F. and Banniza, S. 2012. Response of chickpea cultivars to pre- and post-emergence herbicide applications. *Can. J. Plant Sci.*, 93: 279-286.
- Tecle, B., Cunha, A.D. and Shaner, D.L. 1993. Differential routes of metabolism of imidazolinones: Basis for soybean (*Glycine max*) selectivity. *Pest Biochem Physiol.*, 46: 120-130.
- Thompson, W.M., Nissen, S.J. and Masters, R.A. 1998. AC263,222 absorption and fate in leafy spurge (*Euphorbia esula*). *Weed Sci.*, 46: 510-513.

- Thompson, C. and Tar'an, B. 2014. Genetic characterization of the acetohydroxyacid synthase (AHAS) gene responsible for resistance to imidazolinone in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Theor Appl Genet*, 127: 1583-1591.
- Tohidfar, M. and Khosravi, S. 2015. Transgenic crops with an improved resistance to biotic stresses. A review. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 19 (1): 62-70.
- Toker, C. 1997. Nohutta (*Cicer arietinum* L.) yapay mutasyon spekturumu ve frekansı üzerinde araştırmalar. Doktora tezi, Akdeniz Üniversitesi, Antalya.
- Toker, C. 2003. Yemeklik dane baklagiller ders notları. Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü.
- Toker, C., Lluch, C., Tejera, N.A., Serraj, R., Siddique, K.H.M. 2007. Abiotic stresses. In: Yadav, S.S., Redden, B., Chen, W. and Sharma, B. (Eds.), *Chickpea Breeding and Management*, CAB International, Wallingford, pp: 474-496.
- Toker, C. 2009. A note on the evolution of kabuli chickpeas as shown by induced mutations in *Cicer reticulatum* Ladizinsky. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Doi: 10.1007/s10722-008-9335-9.
- Toker, C., Çancı, H., Ertoyl Inci, N. and Ceylan, F.Ö. 2012. Improvement in imidazolinone resistance in *Cicer* species by induced mutation. *Plant Breeding*, 131: 535-539.
- Tsutsumi, N., Takusagawa, S., Suzuki, H. and Hirai, A. 1996. Molecular cloning and nucleotide sequencing of nuclear genes coding for the chloroplast ribosomal proteins LI3, L24, L28 of rice (*Oryza saliva* L.). *Plant Sci.*, 121: 167-174.
- TÜİK, 2013. Türkiye İstatistik Kurumu, (<http://www.tuik.gov.tr/>)
- Upadhyaya, H.D., Ortiz, R., Bramel, P.J. and Singh, S. 2003. Development of a groundnut core collection using taxonomical, geographical and morphological descriptors. *Genet. Resour. Crop Evol.*, 50:139-148.

- Uzun, A. ve M. Topuz, 1998. Ege Bölgesinde nohut alanlarında yabancı ot mücadelesi üzerinde araştırmalar. Türkiye II. Herboloji Kongresi 1-4 Eylül 1997, İzmir Ayvalık. Ege Üniv. Basımevi. S: 409-416.
- Van Der Maesen, L.J.G. 1972. *Cicer* L., A Monograph of the Genus with Special Reference to Chickpea (*Cicer arietinum* L.), its Ecology and Cultivation. Maded, Landbouw, Wageningen, pp. 72-10.
- Van Der Maesen, L.J.G. and Pundir, R.P.S. 1984. Availability and use of wild *Cicer* germplasm. *Plant Genet. Resour. Newsl.* 57: 282-285.
- Van Der Maesen, L.J.G. 1987. *Cicer* L., Origin, history and taxonomy of chickpea. In: Saxena, M.C. and Singh, K.B. (Eds.), The Chickpea. CAB. International Cambrian News Ltd., Aberystwyth, UK, pp. 11-34.
- Van Harten, A.M. 1998. Mutation breeding: Theory and practical applications. Cambridge University Press, Cambridge, England.
- Varshney, R.K.L., Song, C., Saxena, R.K., Azam, S., Yu, S., Sharpe, A.G., Cannon, S., Baek, J., Rosen, B.D., Tar'an, B., Millan, T., Zhang, X., Ramsay, L.D., Iwata, A., Wang, Y., Nelson, W., Farmer, A.D., Gaur, P.M., Soderlund, C., Penmetsa, R.V., Xu, C., Bharti, A.K., He, W., Winter, P., Zhao, S., Hane, J.K., Carrasquilla-Garcia, N., Condie, J.A., Upadhyaya, H.D., Luo, M.C., Thudi, M., Gowda, C.L., Singh, N.P., Lichtenzweig, J., Gali, K.K., Rubio, J., Nadarajan, N., Dolezel, J., Bansal, K.C., Xu, X., Edwards, D., Zhang, G., Kahl, G., Gil, J., Singh, K.B., Datta, S.K., Jackson, S.A., Wang, J., Cook, D.R. 2013. Draft genome sequence of chickpea (*Cicer arietinum*) provides a resource for trait improvement. *Nat Biotechnol.*, 31 (3): 240-6.
- Vasilakoglou, I., Vlachostergios, D., Dhima, K. and Lithourgidis, A. 2013. Response of vetch, lentil, chickpea and red pea to pre- or post-emergence applied herbicides. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11(4): 1101-1111.
- Vavilov, N.I., 1951. The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. Translated by Start K Chron. *Bot.*, 13: 1-366.

Vega, T., Breccia, G., Gil, M., Zorzoli, R., Picardi, L. and Nestares, G. 2012.

Acetohydroxyacid synthase (AHAS) in vivo assay for screening imidazolinone-resistance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 61:103-107.

Verma, M. M., Ravi, and Sandhu, J. S. 1995. Characterization of interspecific cross *Cicer arietinum* L. × *C. judaicum* (Bioss). *Plant Breed.*, 114: 549-551.

Warren, L.S. Jr and Coble, H.D. 1999. Managing purple nutsedge (*Cyperus rotundus*) populations utilizing herbicide strategies and crop rotation sequences. *Weed Technol.*, 13: 494-503.

Wei, J., Zhang, X., Li, X., Zeng, D. and Tan, H. 2015. Enantioselective Phytotoxicity of Imazamox Against Maize Seedlings. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 96 (2): 242-247.

Weiss, Y. 1988. Weed Control in Chickpeas. *Phytoparasitica*, 16: 392.

Wery, J. and Grinac, P. 1983. Use of Legumes and Their Economic Importance: Technical Hand Book on Symbiotik Nitrogen Fixation. FAO, Rome, Italy.

Wiersma, P.A., Schmiemann, M.G., Condie, J.A., Crosby, W.L. and Moloney, M.M. 1989. Isolation, expression and phylogenetic inheritance of an acetolactate synthase gene for *Brassica napus*. *Mol Gen Genet.*, 219: 413-420.

Volenberg, D.S., Stoltenberg, D.E. and Boerboom, C.M. 2001. Biochemical mechanism and inheritance of cross-resistance to acetolactate synthase inhibitors in giant foxtail. *Weed Science*, 19: 635-641.

Volenberg, D.S., Stoltenberg, D.E. and Boerboom, C.M. 2002. Green foxtail (*Setaria viridis*) resistance to acetolactate synthase inhibitors. *Phytoprotection*, 83, 99-109.

Wright, T.R. ve Penner, D. 1998. Cell selection and inheritance of imidazolinone resistance in sugarbeet (*Beta vulgaris*). *Theor Appl Genet.*, 96: 612-620.

- Wright, T.R., Bascomb, N.F., Stumer, S.F. and Penner, D. 1998. Biochemical mechanism and molecular basis for ALS-inhibiting herbicide resistance in sugar beet (*Beta vulgaris*) somatic cell selections. *Weed Sci.*, 46: 13-23.
- Yadujaru, N.T. and Mishra, J.S. 2004. Weeds-A serious challenge to sustainable productivity of pulse based cropping systems in different agro-eco regions. In: Pulses in New Perspective. Indian Society of Pulses Research and Development, Indian Institute of Pulses Research, Kanpur, India, pp: 301-313.
- Yaşar, M., Ceylan, F.O., Ikten, C and Toker, C. 2014. Comparison of expressivity and penetrance of the double podding trait and yield components based on reciprocal crosses of kabuli and desi chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Euphytica*, 3 (196): 331-339.
- Yang, J.H. and Kim, S.S. 1993. Purification and characterization of the valine sensitive acetolactate synthase from *Serratia marcescens* ATCC 25419. *Biochimica Biophysica Acta.*, 1157: 178-184.
- Yeğen, O. 1993. Yabancı otlar ve mücadelesi. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları Yayın No: 52, Antalya.
- Yenish, J.P. 2007. Weed management in chickpea. In: Yadav, S.S., Redden, B., Chen, W. and Sharma, B. (Eds.), Chickpea Breeding and Management, CAB International, Wallingford, pp: 233-245.
- Young, F. L., Matthews, J., Al-Menoufi, A., Sauerborn, J., Pieterse, A.H. and Kharrat, M. 2000. Integrated weed management for food legumes and lupins. In: Knight, R. (Ed.), Linking Research and Marketing Opportunities for Pulses in the 21 th Century, Kluwer Academic Publishers, Netherland, pp. 481–490.
- Yu, Q., Han, H., Vila-Aiub, M.M. and Powles, S.B. 2010. AHAS herbicide resistance endowing mutations: effect on AHAS functionality and plant growth. *Journal of Experimental Botany*, 61 (14): 3925-39.
- Yu, Q. and Powles, S.B. 2014. Resistance to AHAS inhibitor herbicides: current understanding. *Pest Management Science*, 70: 1340-1370.

ÖZGEÇMİŞ



Fatma Öncü CEYLAN BALOĞLU, 24.07.1980 Antalya (Akseki) doğumludur. İlk, Orta ve Lise öğrenimini Antalya’da tamamladı. 1998 yılında girdiği Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü’nden 2002 yılında Ziraat Mühendisi ünvanı ile mezun oldu. Mezun olduktan sonra bir yıl özel bir şirkette çalıştı. 2004 yılında Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Aynı bölüme 2005 yılında Araştırma Görevlisi olarak atandı. 2006 yılında “**Tek Yıllık Nohut Türlerinde (Cicer sp.) Herbisitlere Dayanıklılık İçin Gözlem ve**

Seleksiyon” başlıklı master tezini savunarak Ziraat Yüksek mühendisi ünvanını almaya hak kazandı. 2007 yılında Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda doktora programına başladı. 2015 yılı Şubat ayında Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’daki Araştırma Görevlisi görev süresi sona erdi ve ayrıldı. Şubat 2015 yılından bu yana Konayaltı Belediyesi Park Bahçeler Müdürlüğü’nde Ziraat Yüksek Mühendisi olarak çalışmakta olan Fatma Öncü CEYLAN BALOĞLU, evli ve iki kız çocuk annesidir.