T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

ETHYL METHANESULFONATE UYGULANAN KIRMIZI MERCİMEK ÇEŞİTLERİNDE İMAZAMOX HERBİSİTİNE TOLERANSININ BELİRLENMESİ

Engin YÜCEL

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA

2022

Prof. Dr. M. Ertuğrul GÜLDÜR .danışmanlığında,Arş. Gör. Engin YÜCEL'in hazırladığı "**Ethyl Methanesulfonate Uygulanan Kırmızı Mercimek Çeşitlerinde İmazamox Herbisitine Toleransının Belirlenmesi**" konulu bu çalışma ...../...../ ..... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Unvan Adı SOYADI **…….**

Üye : Unvan Adı SOYADI **…….**

Üye : Unvan Adı SOYADI **…….**

Bu Tezin ..... Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım

Prof. Dr. ..... Enstitü Müdürü

Bu Çalışma HÜBAK/DPT/TÜBİTAK Tarafından Desteklenmiştir. Proje No: (10 punto, koyu)

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
ÇİZELGELER DİZİNİ vi
1.GİRİŞ 1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 7
3.MATERYAL ve YÖNTEM 15
3.1.Materyal 15
3.1.2. Herbisit ve uygulanan dozlar 16
3.1.3 Herbisit uygulaması ve bitki yetiştirme materyalleri 17
3.1.4. Mutajen madde uygulaması için kullanılan materyaller 17
3.1.5. ALS enzim aktivitesinin belirlenmesi için kullanılan materyaller 18
3.2.Yöntem 18
3.2.1.Ethyl methanesulfonate uygulaması (EMS) 18
3.2.2.Farklı mercimek çeşitlerinin doğal dayanıklılıklarının belirlenmesi 21
3.2.3. Mutajen uygulanmış Fırat-87 çeşidinin sera çalışmaları 23
3.2.4. Mutajen uygulanmış Fırat-87 çeşidinin tarla çalışmaları 25
3.2.5. Tarla denemelerinde tolerant görülen bitkilerin serada herbisit uygulaması ile test edilmesi 28
3.2.5.1. Serada 100 ve 200 ml/da dozda imazamox uygulama çalışmaları 28
3.2.5.2. Serada 100 ve 300 ml/da dozda imazamox uygulama çalışmaları 28
3.3 Ölçümler 29
3.3.1 Görsel puanlama 29
3.3.2. Yaş ve kuru ağırlık ölçümleri 29
3.4. İstatistiksel Analizler 29
3.5.Faklı Herbisit Dozları Uygulaması Sonucunda Elde Edilen Bitkinin ALS Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi 30
4. BULGULAR ve TARTIŞMA 32
4.1. Mutajen Madde Uygulaması (Ethyl methanesulfonate (EMS) 32
4.2.Farklı Mercimek Çeşitlerinin Doğal Dayanıklılıklarının Belirlenmesi 32
4.3. Mutajen (EMS) Uygulanan Mercimek Çeşitlerinin İmazamox Etkili Maddeli Herbisit İle Testlenmesi 39
4.4. Tarla Koşullarında Mutajen Uygulanan Fırat 87 Kırmızı Mercimek Çeşitinin Ekimi 40
4.5. Tarla Denemesi Sonucunda Elde Edilen Tohumlarının Ekimi ve Imazamox Herbisitinin Önerilen Dozu (100ml/da) ve Önerilen Dozunun İki Katı (200ml/da) İle Testlenmesi 41
4.6. Serada 100 ve 300 ml/da Dozda İmazamox Uygulama Çalışmaları 49
4.7. Elde edilen tolerant bitkinin Imazamox Herbisitinin Önerilen Dozu (100ml/da) ve Önerilen Dozunun Katları (200ml/da, 300ml/da, 400ml/da,500ml/da) İle Testlenmesi 51
4.8. Acetolactate Sentez Aktivitesi'nin (ALS) Belirlenmesi 56
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 59
ÖZGEÇMİŞ 64

ÖZET

Doktora Tezi

ETHYL METHANESULFONATE UYGULANAN KIRMIZI MERCİMEK ÇEŞİTLERİNDE İMAZAMOX HERBİSİTİNE TOLERANSININ BELİRLENMESİ

Engin YÜCEL

Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Prof. Dr. M. Ertuğrul GÜLDÜR
Yıl:2023 Sayfa:64

Yabancı otlar, iklime ve kullanılan çeşide ek olarak mahsul verimini düşüren en önemli faktörler arasındadır. Farklı kültür bitkilerinin herbisitlere dirençli çeşitleri, son dönemde yabancı ot mücadelesini kolaylaştırmıştır; Bu nedenle mevcut germplazmada doğal direncin tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmanın amacı, farklı mercimek çeşitlerinin, yani 'Fırat 87', 'Çağıl' ve 'Altıntoprak'ın imazamox herbisitine doğal toleransının belirlenmesi ve EMS (etil metan sülfanat) ile imazamox herbisitine tolerans için mercimek mutant genotiplerinin elde edilmesi için en toleranslı çeşitlerin seçilmesidir. Doğal tolerans tespit çalışmaları sonuçları, 'Fırat 87' çeşidinin imazamoksa en toleranslı, 'Çağıl' çeşidinin ise en duyarlı olduğunu ortaya koydu. 'Çağıl', 'Altıntoprak' ve 'Fırat 87' için İ50 değerleri sırasıyla 14.05, 23.00 ve 38.47 ml/ha idi. Seçilen 'Fırat 87' tohumlarına 5 µM ve 10 µM EMS solüsyonları uygulandı. EMS uygulamalarından sonra 'Fırat 87' M2 üretimi tarla koşullarında yetiştirilerek imazamox herbisit (100ml/da) ile işleme tabi tutulmuştur. Hayatta kalan bitkiler hasat edilmiştir. M3 nesli kontrollü sera koşullarında ekildi ve farklı dozlarda ımazomox herbisit ile muamele edildi. Deneyde altı farklı imazamox dozu, uygulama yapılmayan kontrol ve önerilen dozun ¼, ½, 1, 2 ve 4 katı kullanıldı. Herbisit, bitkiler 4-6 yapraklı döneme geldiğinde uygulandı. Bitki örnekleri, herbisit uygulamasından 28 gün sonra toprak üstü kısımları hasat edilerek toplanmıştır. Genotipin herbisite tepkisi, bitki boyunun bir büyüme belirtisi olarak ölçülmesi ve 1-5 ölçek kullanılarak görsel puanlama yoluyla değerlendirildi. Toplanan örneklerin yaş ve kuru ağırlıkları kaydedildi. Toplanan veriler SAS istatistik yazılımı ile analiz edilmiştir. Test edilen çeşitler arasındaki farkları çıkarmak için varyans analizi kullanıldı ve popülasyonun yarısını (I50) etkileyen dozu belirlemek ve doz-tepki eğrileri oluşturmak için log-lojistik regresyon analiz modeli kullanıldı. Sonuçlar, 'Fırat 87'nin M5 jenerasyonundaki bazı bitkilerin belli seviyevelerde tolerant ve imazamox herbisitine toleranslı olduğunu ortaya koydu. ALS deneyi, kırmızı mercimek optik yoğunluk değerlerinin (OD) artan imazamoks konsantrasyonu ile hızla azaldığını ortaya koydu. Kırmızı mercimek için% 50 ALS aktivitesinin inhibisyonu 8.18 iken kontrol için 7.23 idi. Bu çalışmada tanımlanan orta derecede toleranslı ve toleranslı bitkiler, herbisit toleranslı mercimek çeşitlerinin geliştirilmesi için ıslah programlarında kullanılabilir.

ANAHTAR KELİMELER; Kırmızı Mercimek, Imazamox, Ethl Metansulfante, Herbisit Toleransı

ABSTRACT

PhD Thesis

DETERMINATION OF TOLERANCE TO IMAZAMOX HERBICIDE IN RED LENTIL VARIETIES TREATED WITH ETHYL METHANESULFONATE

Engin YÜCEL

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection

Prof. Dr. M. Ertuğrul GÜLDÜR
Year:2022 Pages:64

Weeds are among the most important factors that decrease crop yields in addition to climate and a variety used. Herbicide resistant varieties of different crops have made weed management easier in the recent era; therefore, deteriming natural resistance in the available germplasm is of significant importance. This study was aimed at determining natural tolerance of different lentil varieties, i.e., 'Fırat 87', 'Çağıl', and 'Altıntoprak' to imazamox herbicide and select most tolerant varieties for obtaining lentil mutant genotypes for tolerance to imazamox herbicide by treating EMS (etyhl methan sulfanate). The results for natural tolerance revealed that 'Fırat 87' cultivar was the most tolerant to imazamox, whereas 'Çağıl' was the most sensitive. The I50 values for 'Çağıl', 'Altıntoprak' and 'Fırat 87' were 14.05, 23.00 and 38.47 ml/ha, respectively. Selected 'Fırat 87' seeds were treated with 5 µM and 10 µM EMS solutions. After EMS treatments, 'Fırat 87' M2 generation was cultivated under field conditions and treated with imazamox herbicide (100ml/da). Survived plants were harvested. The M3 generation was planted in controlled greenhouse conditions and treated with different doses of imazomox herbicide. Six different imazamox doses, i.e., no application and ¼, ½, 1, 2, and 4-fold of the recommended dose were used in the experiment. The herbicide was applied at 4-6 leaves of plants. Plant samples were collected 28 days after herbicide application by harvesting the above-ground parts. Response of the genotype to the herbicide was evaluated via measuring the plant height as a sign of growth and visual scoring using 1 to 5 scale. The fresh and dry weights of the collected samples were recorded. The collected data were analyzed with SAS statistical software. Analysis of variance was used to infer the differences among tested varieties and log-logistic regression was used to determine the dose affecting half of the population (I50) and creating dose-response curves. The results revealed that some of the plants in M5 generation of 'Fırat 87' were moderatly tolerant and tolerant to imazamox herbicide. ALS assay revealed that red lentil optical density values (OD) rapidly decreased with increasing imazamox concentration. Inhibibition of 50% ALS activity for red lentil was 8.18, while 7.23 for control. Moderately tolerant and tolerant plants identified in the current study can be used in breeding programs for developing herbicide tolerant lentil cultivars.

KEY WORDS : Red Lentil, Imazamox, Ethyl MEthansulfanate, Herbicide Tolerance

TEŞEKKÜR

Çalışmamda bana desteklerini hep sunan sayın Prof. Dr. Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR'e, sayın Doç Dr. Abdullah KAHRAMANA, sayın Dr. Öğrt. Gör. Shahid FAROOQ'a, çalışmamın önemli bölümünde benimle bilgilerini paylaşıp bu çalışmayı yapmam için fırsat sunan sayın Prof. Dr. Bekir BÜKÜN'e ve tez savunmama katılan sayın hocalarıma teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Türkiye'de 2010 ile 2020 yılları arası mercimek (*Lens culinaris* Medik.) üretim ve verim miktarları 4
Şekil 3.1. Mercimek tohumlarının sera koşullarında plastik tepsilere ekilmesi……..15
Şekil 3.2. Herbisit uygulamalarının yapıldığı tam otomatik uygulama kabini……17
Şekil 3.3. Tohumların EMS solüsyonu ile muamele edilmesi……20
Şekil 3.4. Mercimek tohumlarının ekim işlemi……..22
Şekil 3.5. Tam otomasyonlu herbisit uygulama kabininde İmazamox uygulaması……22
Şekil 3.6 Laboratuarda ekim küvetlerinin hazırlanması ……...23
Şekil 3.7. . Ekimi yapılan tohumların kontrollü sera koşullarında yetiştirilmesi……...24
Şekil 3.8. Ekimi yapılan tohumların çıkışları ……24
Şekil 3.9. Tam otomasyonlu herbisit uygulama kabini ile imazamox uygulaması……25
Şekil 3.10.. Tarlaya M2 jenerasyonu Fırat 87 çeşidi Kırmızı Mercimek Ekimi……26
Şekil 3.11. Tarlaya M2 jenerasyonu Fırat 87 çeşidi Kırmızı Mercimek Ekimi……26
Şekil 3.12**.** İmazamox uygulaması sonrası tolerant bulunan bitkileri bayrakla işaretlenmesi ……27
Şekil 3.13**.** Tarla Denemesi Sonucunda Tolerant Bulunan Bitkilerin Hasadı ve Etiketlenmes……..27
Şekil 4.1. Uygulama sonrası denemeden genel görünüm……33
Şekil 4.2. Uygulama sonrası denemeden genel görünüm……33
Şekil 4.3. Uygulama sonrası denemeden genel görünüm……34
Şekil 4.4. Uygulama sonrası farklı imazamox dozları uygulanan mercimek çeşitlerindeki farklılıkları…….....34
Şekil 4.5. Altıntoprak mercimek çeşidinin İmazamox Herbisiti Uygulaması Doz Karşılaştırması…..35
Şekil 4.6. Çağıl mercimek çeşidinin İmazamox Herbisiti Uygulaması Doz Karşılaştırması……35
Şekil 4.7. Fırat 87 mercimek çeşidinin İmazamox Herbisiti Uygulaması Doz Karşılaştırması……35
Şekil 4.8. Altıntoprak, Çağıl ve Fırat87 mercimek Çeşitlerinin yaş ağırlık varyans analizi……..37
Şekil 4.9 Altıntoprak, Çağıl ve Fırat87 mercimek Çeşitlerinin kuru ağırlık varyans analizi…….38
Şekil 4.10. İmazamox Uygulaması Yapılan Altıntoprak, Çağıl ve Fırat 87Mercimek Çeşitlerinin Doz-Tepki Grafiği ve I50 Değerleri…….....39
Şekil 4.11. Tarla denemesinde İmazamox uygulaması sonrası tolerant ve hassas bitkiler…….40
Şekil 4.12..Önerilen Doz Ve 2 Katı Doz İmazamox Uygulanan Örnekler…….....42
Şekil 4.13. Denemeden Genel Görünüm……...42
Şekil 4.14. İmazamox Uygulanmış Örneklerin 14. Gün % Semptom Gözlem Değerler……..44
Şekil 4.15. İmazamox Uygulanmış Örneklerin 28. Gün % Semptom Gözlem Değerleri……....45
Şekil 4.16. Tolerant Örneğin 14. Gün % semptom Gözlem Değerleri……..46
Şekil 4.17. Tolerant örneğin 28.Gün % Semptom Gözlem Değerleri……47
Şekil 4.18. Tolerant örneğin 28. Gün Boy Ölçüm Değerleri…….....47
Şekil 4.19. Tolerant örneğin 100ml/da doz uygulamasının kontrolle karşılaştırılması……..48
Şekil 4.20. Tolerant örneğin 200ml/da doz uygulamasının kontrolle karşılaştırılması……..48
Şekil 4.21**.** Tarla Denemesi Sonucunda Tolerant Bulunan Bitkilerin Hasadı ve Etiketlenmesi…….....49
Şekil 4.22. Tarla denemesinde herbisite tolerans gösteren bitkilerin sera koşullarında 300ml/da dozunda herbisit uygulaması……49
Şekil 4.23. İmazamox Herbisitinden Etkilenmeyen ve Etkilenen Bitkilerin görüntüsü…….....50
Şekil 4.24**.** Uygulamadan Etkilenmeyen Örneklerin Saksıya Şaşırtılması……51
Şekil 4.25. Tolerant Görülen Hatların Saksıya Şaşırtılması ve Tohumları ……51
Şekil 4.26. Tolerant Görülen Hatların Saksıya Şaşırtılması ve Tohumları ……53
Şekil 4.27**.** İmazamox uygulanmış Fırat 87 ve M5 generasyonu ile uygulama yapılmamış Fırat87 çeşidinin karşılaştırması……53
Şekil 4.28. İmazamox uygulanmış Fırat 87 ve M5 generasyonu ile uygulama yapılmamış Fırat87 çeşidinin karşılaştırması…….....54
Şekil 4.29.. İmazamox uygulanmamış Fırat 87 ve uygulama yapılan M5 generasyonunun uygulama dozlarının karşılaştırılması …….....54
Şekil 4.30. İmazamox uygulanmamış Fırat 87 ve uygulama yapılan Fırat 87 çeşidinin uygulama dozlarının karşılaştırılması……...55
Şekil 4.31. M5 generasyonunun doz-tepki eğrisi ve I50 değeri……55

Şekil 4.32. M5 generasyonunun ve Fırat 87 çeşidinin doz Tepki eğrilerinin karşılaştırması ve I50 değerleri…….56
Şekil 4.33. ALS Enzim Aktivitesinin İmazamox Herbisit Dozlarına Göre Değişimi…….57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 4.1. Mercimek çeşitleri arasnda görsel değerlendirme tablosu…… 36
Çizelge 4.2. Altıntoprak mercimek çeşidi yaş ağırlık varyans analiz tablosu……... 37
Çizelge 4.3. Çağıl mercimek çeşidi yaş ağırlık varyans analiz tablosu……..… 37
Çizelge 4.4. Fırat 87 mercimek çeşidi yaş ağırlık varyans analiz tablosu …… 37
Çizelge 4.5. Altıntoprak mercimek çeşidi kuru ağırlık varyans analiz tablosu……..… 38
Çizelge 4.6. Çağıl mercimek çeşidi kuru ağırlık varyans analiz tablosu…….…… 38
Çizelge 4.7. Fırat 87 mercimek çeşidi yaş ağırlık varyans analiz tablosu…….. 38

1.GİRİŞ

Bugün Türkiye'nin güneyi ve Suriye'nin kuzeyi modern mercimeğin kültüre alındığı ilk muhtemel bölgelerdir (Cubero ve ark., 2009). Kültüre alındıktan sonra mercimek antik Yunan boyunca ve Tuna nehri boyunca batıda, Nil Deltası boyunca güneyde ve doğuda Hindistan'a doğru yayılır (Cubero ve ark., 2009)

Mercimek üretimini sınırlandıran iklim ve çeşit faktörlerinin yanı sıra yabancı otlar verimi azaltan en önemli unsurlar arasında yer almaktadır. Halila (1995), yabancı otların %60 düzeyinde verim kaybına neden oldukları ve yoğunlukları yüksek olduğunda verim kaybının %100'lere kadar varabileceğini belirtmektedir. Mercimek genellikle yavaş geliştiğinden yabancı otlar ilk gelişim evresinde mercimekle çok hızlı bir şekilde rekabete girmekte ve gelişimini sınırlandırmaktadırlar. Verim kayıpları yabancı ot yoğunluğuna ve türüne bağlı olarak değişebilmektedir (Bukun ve Guler, 2005).

Kültürel uygulamalar bir entegre yabancı ot yönetim planıdır, ancak mercimek tarlalarında tek başlarına yeterli yabancı ot kontrolünü sağlamak için yeterli olmayabilir (Panvar ve ark., 2017).

Imazamox, soya fasulyesi, yonca ve kuru fasulye gibi baklagillerde geniş yapraklı yabancı otları ve birçok diğer otu kontrol etmek için kullanılan bir imidazolinon herbisittir; Ancak fitotoksite nedeniyle kırmızı mercimekte imazamox kullanılamaz (Bukun ve ark., 2012).

Bazı herbisitlere karşı tolerans tüm bitkiler için doğal olarak görülür. Bu selektif yabancı ot kontrolünün temelini sağlamıştır. Araştırmacılar tarımsal ürün çeşitlerine tolerans sağlamak için bu doğal direnci kullanmaktadırlar (Gray ve ark., 2010)

Yabancı otlar ürün verimini etkileyen en önemli unsurlar arasında yer almakta ve verimliliği olumsuz etkilemektedirler dolayısıyla da karlı bir üretim açısından

mutlak surette yabancı ot kontrolü gerekmektedir. Ancak kırmızı mercimek gibi bazı ürünlerde özellikle çıkış sonrası büyük sorun oluşturan geniş yapraklı yabancı otlara karşı ruhsatlı herbisit bulunmadığından ya da mevcut herbisitlerin mercimeğe yüksek oranda zarar vermelerinden dolayı kullanılamamaktadırlar. Buna çözüm olarak yeni herbisitlerin keşfedilmesi gerekmektedir. Ancak, günümüzde kimya sanayinde yeni seçici bir molekülün bulunması neredeyse imkansız hale gelmiştir (Gressel, 2002).

Geçmiş zamanlarda, örneğin 1940 yıllarında yeni bir herbisit bulmak için 500 maddeyi incelemek gerekirken bugün bu rakam 500.000 bileşik olarak ifade edilmektedir (Tan ve ark., 2005). Yeni bir herbisit keşfinin zorluğundan dolayı hali hazırda mevcut olan herbisitlere karşı birçok yabancı ot türünün dayanıklı hale gelmiş olması, mevcut herbisitlere dayanıklı ürün yetiştirilmesi suretiyle iyi bir metot olarak karşımıza çıkmaktadır. Dayanıklılığın genetiksel olarak sağlanmış olması ve bunun doğal yollarla yapılmış olması bu önemi daha da arttırmaktadır. Çünkü birçok insan ve ülke genetiksel olarak modifiye edilmiş bitkiler hakkında bazı olumsuz yargılara sahip olduklarından bunlar bu özelliklere sahip ürünleri tercih etmemektedir. Dolayısıyla klasik ıslah yöntemlerine dayanan bir dayanıklılığın sağlanması yabancı ot mücadele programlarına büyük katkılar kazandıracaktır.

Imidazolinone herbisitler yabancı otlardaki acetohydroxyacid synthase (AHAS) veya acetolactate synthase (ALS) olarak adlandırılan enzimleri inhibe ederek, bunların kontrolünü sağlamaktadırlar, (Tan ve ark., 2005). Bu enzimler bitkilerdeki dallanmış amino asitlerin sentezlenmesinde çok önemli yer almaktadırlar. Bu herbisitler çok düşük dozlarda birçok dar ve geniş yapraklı yabancı otun kontrolünde kullanılabilmekte ve çevreye, memelilere ve suda yaşayan bir organizma ve balıklara çok düşük oranda toksisiteye sahiptirler, (Tan ve ark., 2005). Bu özelliklerinden dolayı imidazolinone grubu herbisitler çevresel açıdan çok tercih edilmektedirler. Çevresel açıdan güvenilir olan bu herbisit grubu birçok üründe başarıyla kullanılabilmekte olup, özellikle son yıllarda yabancı otların herbisitlere olan dayanıklılıklarının önüne geçmede daha doğrusu dayanıklılık sorunu olan yabancı otların mücadelesinin yapılmasının mümkün kılınmasında imidazolinone herbisit kullanımı çok başarılı bir yabancı ot kontrol programı oluşturulmasında büyük önem kazanacaktır.

Hava koşulları genellikle herbisitlerin etkinliği ve seçiciliğini etkiler. Örneğin, metribuzin önerilen dozlarda uygulandığında, yabancı ot kontrolünde istenen etkinliğini sağlar, ama soğuk hava ve düşük nem gibi stresli koşullar altında kültür bitkisinde fitotoksite oluşturabilir (Delchev, 2022)

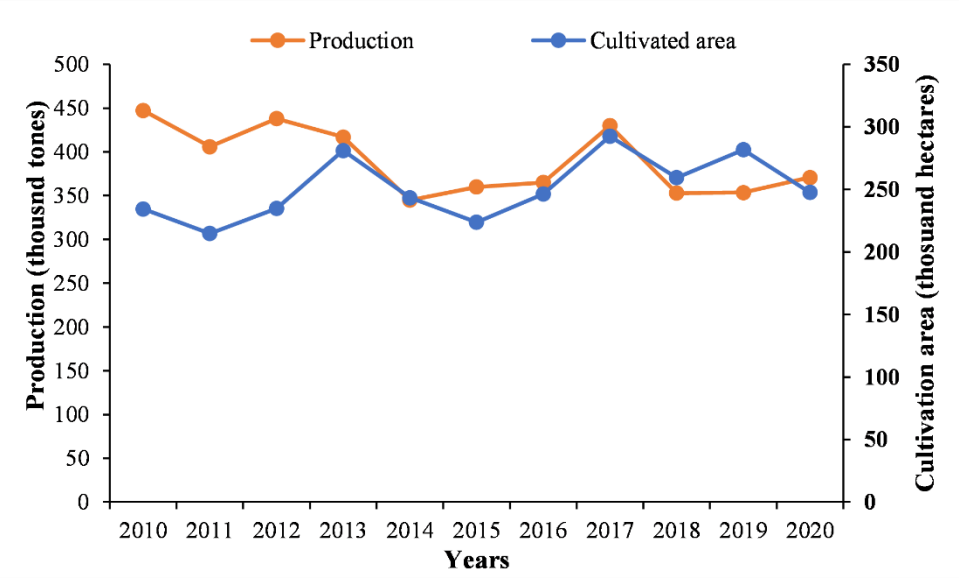
Mercimek yapı itibarı ile çok fazla büyümediğinden yabancı otlar ile rekabette çok zayıf kalmakta bu rekabetten dolayı da yüksek verim kayıpları oluşturmaktadır. Kısa yapısı, herbisitlere düşük toleransı ve çok az sayıda herbisitin ruhsatlı olması nedeniyle yabancı ot kontrolü mercimekte en büyük sorunu teşkil etmektedir (Ball ve ark., 1997).

Kimyasal yabancı ot kontrolü yabancı otları kontrol altına alarak mercimek üreticilerine daha az toprak işleme için yardımcı olabilir. Bununla birlikte, uygulanabilirliği ve başarısı mercimek tarlalarındaki yetiştiricilik sistemlerine, arazi hazırlama yöntemlerine, toprak koşullarına ve yabancı ot sorunun durumuna bağlıdır (Panwar ve ark. 2017).

Imidazolinonlar; ALS (Asetolaktat sentaz) inhibitörü olaraksınıflandırılırlar. Bu grupta imazamethabenz-methyl, imazamox, imazapic, imazapyr, imazaquin, imazethapyr aktifleri bulunur ve asetohidroksiasit sentaz (AHAS) veya diğer adıyla asetolaktatın sentezini inhibe ederler (Vencill, 2002).

İmazamox herbisiti İmidazolinone herbisit grubunda bulunan, acetolactate synthase (ALS) veya acetohydroxyacid synthase (AHAS) olarak ta adlandırılan enzimleri inhibe ederek yabancı otların kontrolünü sağlamaktadır (Tan ve ark., 2005).

Mercimek (*Lens culinaris* Medik.), Hindistan, Kanada, Türkiye, Nepal, İran, Avustralya, Bangladeş, Suriye, ABD, Fas ve Etiyopya'da yaygın olarak yetiştirilen önemli bir baklagil bitkisidir. Türkiye'de mercimek üretimi 2010 yılında 447.400 ton, 2015 yılında 360.000 ton ve 2020 yılında 370.815 ton olmuştur (FAOSTAT, 2022).



Şekil 1.1. Türkiye'de 2010 ile 2020 yılları arası mercimek (*Lens culinaris* Medik.) üretim ve verim miktarları

Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) 2022 verilerine göre dünya genelinde 5,0 milyon hektar alanda 6,5 milyon ton mercimek üretildi. En yüksek mercimek üretim alanları 2017 yılında kaydedilirken, 2018 ve 2019 yıllarında üretim alanında düşüş gözlendi. FAO'ya göre 2010-2020 yılları arasında Kanada, Hindistan ve Türkiye önde gelen mercimek üreticileri olurken, Türkiye 3. sırada yer aldı. (FAO, 2022).

Mercimek yetiştiriciliği, verimde önemli yıllık farklılıklardan muzdariptir ve Türkiye'de yönetim sorunları ve çeşitli biyotik ve abiyotik streslere duyarlılık nedeniyle son beş yılda net bir düşüş ortaya çıkmıştır (Şekil 1.1.). Türkiye'de mevcut mercimek çeşitlerinin verimi 1450 ile 1950 kg/da arasında değişmekte olup, kötü yabancı ot mücadelesi nedeniyle verim önemli ölçüde düşebilmektedir (Aktar ve ark., 2013). Nüfus artışı sonucu gıda maddesi ihtiyacı özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde artmaktadır. Bu nedenle nispeten ucuz olan baklagil ürünlerine talep giderek artırmaktadır.

Kırmızı mercimek, Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu bölgesinde Şanlıurfa, Adıyaman Gaziantep, Diyarbakır, Şırnak ve Mardin, illerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir. Mercimek üretimini sınırlayan iklim ve çeşitli faktörlerin yanı sıra verimi azaltan en önemli etkenlerin başında yabancı otlar gelmektedir Halila (1995).

Yabancı otların % 60'a kadar verim kaybına neden olduğu ve yüksek yabancı ot istilası altında% 100'e ulaşabildiği vurgulanmaktadır. Mercimek bitkisi yavaş büyüdüğü için yabancı otlar onları ilk gelişme döneminde hızlı bir şekilde bastırabilir ve gelişmelerini sınırlayabilir. Mercimek kısa boylu olduğu için yabancı otlarla zayıf bir rakiptir ve rekabetten dolayı yüksek verim kayıplarına uğrar. Herbisitlere karşı toleranslarının düşük olması ve çok az ruhsatlı herbisit olması nedeniyle mercimekte yabancı ot kontrolü en büyük sorundur (Ball ve ark., 1997).

Yabancı otlar mahsul verimini olumsuz etkileyen en önemli faktörlerden biridir; bu nedenle, karlı üretim için yabancı ot kontrolü gereklidir. Ancak mercimekte yüksek verim kayıplarına neden olan geniş yapraklı yabancı otlara karşı lisanslı herbisitler bulunmadığından kırmızı mercimek gibi bazı ürünlerde yabancı ot kontrolü zordur. Yeni herbisitler keşfetmeye ihtiyaç vardır; ancak kimya endüstrisinde yeni seçici molekül bulmak neredeyse imkansız hale gelmiştir (Gressel, 2002). Yeni bir herbisit keşfetmenin zorluğu ve yabani otlarda herbisit direncinin evrimi, mevcut herbisitlere dirençli büyüyen mahsullerin yabani ot yönetiminde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Direnç genetik bir olgudur ve doğal olarak oluşur. Genetiği değiştirilmiş bitkiler, herbisit direncini indüklemek için kullanılabilir. Bununla birlikte, genetiği değiştirilmiş organizmalar içeren birkaç ülke. Bu nedenle klasik ıslah yoluyla direncin sağlanması bu ülkelerde yabancı ot mücadelesine önemli katkılar sağlayacaktır. Türkiye, genetiği değiştirilmiş organizmaların veya ürünlerinin tercih edilmediği; bu nedenle, direnç başlangıcı klasik üreme tekniklerine dayanır.

İlk kez 1982'de İmi-tolerant kültür bitkisi olarak mısır üretimi başlamıştır. Ancak ticarileştirilmesi ilk defa 1992'de gerçeklerşmiştir. İlk olarak 1992'te STS (sulfonylurea tolerant) soya çeşitleri ve herbisit dayanıklı bitki olarak IMI mısır hibriti herbisit dayanıklı olarak kullanılan bitkiler olmuştur, (Naidu ve Ranganath, 2011).

İmi-tolerant bitkiler, kimyasal mutajen kullanılarak doğal olarak oluşan ALS mutasyonları veya gen varyantları seçilerek ve bitkilere herhangi bir yabancı gen

eklenmeden geliştirilmiştir (Tan ve ark., 2005). Modifiye edilmiş ALS enzimi, imidazolinone herbisitlere daha az duyarlı hale gelmektektedir. Buna bağlı olarak asetolaktat ve 2- asetohidroksibutirat sentezleri, tolerant bitkilerde imidazolinonlardan daha az etkilenmektedir (Shaner ve ark., 1996).

Bu çalışma, 3 farklı mercimek çeşidinin genetik varyasyonunu imazomox çıkış sonrası herbisite toleransları açısından değerlendirmiş ve herbisite dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde potansiyel kullanım için tolerans derecelerini belirlemiştir. Yüksek tolerans derecesine sahip çeşit, mevcut çalışmaya dayalı olarak imazamox'a tolerans sağlamak için gelecekteki mutasyon ıslah çalışmalarında kullanılabilir.

Çalışmanın ana konusu çıkış sonrası birçok geniş ve dar yapraklı yabancı otları kontrol edecek olan imazamox herbisitine tolerant kırmızı mercimek yetiştirmektir. Bu metot transgenik ürüne alternatif aynı zamanda insan sağlığı ve çevre açısından herhangi bir olumsuz etkisi bulunmayan, seleksiyon ıslahına dayanmaktadır.

Çalışmada amaç kırmızı mercimekte Ethylmethanesulfonate'ın hangi konsantrasyonlarda mutasyon oluşturduğu ve oluşan bu mutasyonların İmazamox herbisitlere toleransının belirlenmesidir.

Çalışmada kullanılacak mercimek çeşitlerinin belirtilen mutajenlere tepkisi ve mutasyon derecesi farklı olacağından oluşan toleransın imazamox herbisitinin değişik dozlarına olan tepkisi de farklı olacaktır. Bu nedenle çeşitler için doz tepki denemesi yapılarak hangi oranda tolerant oldukları ortaya konulmuştur.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Türkiye, mercimek üretim ve ekim alanı ve açısından üçüncü sırada Hindistan ve Kanada'dan sonra yer almaktadır ve mercimek nohut'tan sonra ikinci sırada yetiştirilen en önemli baklagiller arasındadır (Erman ve ark., 2008).

İmidazolinone (IMI) herbisitler, yabancı otlarda asetohidroksiasit sentez (AHAS) veya asetolaktat sentaz (ALS) adı verilen enzimleri inhibe ederek kontrol sağlar (Stidham ve Singh, 2017). Bu enzimler, bitkilerde dallanmış amino asitlerin sentezinde önemli bir rol oynar. Bu herbisitler, birçok dar ve geniş yapraklı yabancı ot türünü kontrol etmek için çok düşük dozlarda kullanılabilir ve çevre, memeliler, suda yaşayan organizmalar ve balıklar için çok düşük toksisiteye sahiptir (Stidham ve Singh, 2017).

Mercimek üreticilerinin dar yapraklı yabancı otları kontrol altına almak için kullanabileceği bir dizi herbisiti vardır, ancak geniş yapraklı yabani otları kontrol etmek için aynı şey söylenemez. Mercimek ekim alanlarında geniş yapraklı yabancı otlara karşı kullanılabilen ruhsatlı herbisit sayısı çok sınırlıdır (Yadav ve ark., 2013; Kumar ve ark., 2018).

Herbisitlere tolerant bitki elde etmek için bir çok seçenek vardır. Bunlar; herbisitlerin aldığı hedef geni aşırı olarak üretilmesini sağlamak veya değiştirmek, herbisiti detoksifikasyonu (Tsaftaris, 1996), herbisitin translokasyonunu ve alımını kısıtlayarak herbisitin hedef aldığı bölgeye ulaşmasını engellemek (Knezevic ve Cassman, 2003), substrat akışını hızlandırmaktır ve herbisitin ayrı tutulmasını sağlamak (Tan ve ark.,2006).

Yabancı otlarla son derece zayıf rekabet ve sınırlı herbisit seçenekleri, mercimek için yabancı ot kontrolünde yeni yollar keşfetme ihtiyacını ortaya çıkarmaktadır. Sülfentrazon ve flutiaset metil, daha önce mercimek üretiminde kullanılmayan 14. grubun iki herbisitidir. Bu iki ürüne tolerans, elektrolit sızıntısı deneyleri ile birlikte

bir dizi saha denemesi ile araştırılmıştır. Saha denemelerinin sonucu, sülfentrazonun verim üzerinde daha önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Elektrolit sızıntısı tahlili sonuçları, değişken seviyelerde herbisit toleransını belirlemiştir (Pajic, 2019).

Grewal ve ark. (2022) mercimek genotiplerinde imezataphyr uygulamasının, ALS enzim aktivitesi, antioksidan kapasite, osmolit birikimi, büyüme ve verimle ilgili parametreler üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Yabancı otsuz, yabancı otlu ot kontrol ve imezataphyr uygulanmış iki imezataphyr tolerant (LL1397 ve LL1612) ve iki duyarlı (FLIP2004-7L ve PL07) mercimek genotipi yetiştirilmiş ve tolerant genotiplerde yüksek ALS aktivitesi tespit etmişlerdir.

İmidazolinone herbisitler, çok geniş yelpazede yabancı otlarda etkili olması, balıklar, kuşlar, hayvanlar, ve omurgasızlar üzerinde çok az toksisite göstermesiyle çevreye zararı minumum düzeydedir (Shaner, 2003). Hayvanlar, yaşam için ihtiyaç duydukları tüm aminoasitleri sentezleyemedikleri ve bazı aminoasitleri bitkilerden veya bakterilerden elde ettikleri için, imidazolinonlar, hayvanlar üzerinde farklı etki mekanizmasına sahip herbisitlere göre daha az toksik etkiye sahiptirler (Reade ve Cobb, 2002).

Çıkış sonrası bir herbisit olan Imazethapyr, iki yıl üst üste 180 mercimek genotipi üzerinde test edilmiş. Genotipler arasında Imazethapyr tolerans açısından anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. 1-5 ölçekte, ilk sezonda 12 genotip toleranslı, 46 orta derecede toleranslı, 112 duyarlı ve 10 yüksek duyarlı bulunmuş ve ikinci sezonda 11 genotip toleranslı, 51 orta toleranslı, 110 duyarlı ve 8 yüksek duyarlı bulundu. İlk yılın sonuçlarına dayanarak, herbisitin morfo-fizyolojik ve verim özellikleri üzerindeki etkisini belirlemek için hassas, oldukça hassas, orta derecede toleranslı ve toleranslı, reaksiyonları temsil eden 30 genotip değerlendirilmiş. Imazethapyr yan etkisi mercimeklerin büyüme ve verim özellikleri üzerinde anlamlıydı. LL699, LL1397, IPL406, EC78452 ve LL1203 olmak üzere beş genotip, çeşitli morfo-fizyolojik özellikler üzerinde sınırlı fitotoksik etkiye sahip imazetapyr'e tolerans göstermiştir. Bu genotipler, Imazethapyr ile muamele edilmiş arazilerde tohum verimi için kontrole kıyasla daha az hassasiyet (<%19) göstermiştir. Bu genotipler, mercimekte çıkış

sonrası herbisit toleranslı çeşitlerin geliştirilmesi için kapsam sunmaktadır (Sharma ve ark., 2018).

180 farklı mercimek genotipi metribuzin toleransını tanımlamak taranmış. Metribuzin toleransına yanıt olarak genotipler arasında büyük genetik farklılıklar gözlenmiştir. genotipler görsel bazda hassas, oldukça hassas, orta derecede toleranslı ve toleranslı olarak kategorize edilmiş (Sharma ve ark., 2017).

Mercimek genotipi LL1203, 1000 tohumu, herbisit toleransını teşvik etmek amacıyla gama radyasyonuna (300 Gy, 60 °C) maruz bırakılmış. Hayatta kalan 530 M1 bitkisinin tohumları ayrı ayrı hasat edilmiş ve M2 neslini iki farklı arazide yetiştirmek için ikiye bölünmüştür. Hayatta kalan 530 M1 bitkisinin tohumları ayrı ayrı hasat edilmiş ve M2 neslini iki farklı arazide yetiştirmek için ikiye bölünmüş. Her arsaya ekimden 50 gün sonra 375 l/ha su kullanılarak imazetapir (75g/ha) ve metribuzin (250g/ha) herbisitler uygulanmış. Tek tek M2 bitkileri için herbisit toleransına ilişkin veriler, herbisit uygulamasından 14 gün sonra 1-5 skalasına göre kaydedilmiş; burada 1 = oldukça toleranslı (kloroz veya solmayan bitkiler) ve 5 = oldukça hassas (yapraklar ve sürgün dalları tamamen yanmış) olarak kayıt edilmiş. M2 bitkilerinin hiçbiri imazetapire karşı yüksek düzeyde tolerans göstermedi. Bununla birlikte, metribuzine karşı daha yüksek herbisit toleransına sahip 14 mutant tespit edilmiştir (Singh ve ark., 2021).

Mutasyon ıslahı, mevcut germplazmada yeterli düzeyde değişkenlik yoksa, belirli bir özellik için yeni değişkenlik oluşturmak için kullanışlıdır. Herbisit toleransı için yeni değişkenlik oluşturmak üzere çeşitli mutajenler kullanılmış ve M2 Jenerasyonunda ve ardından farklı mahsullerdeki popülasyonlarda istenen tolerans seviyesine sahip mutantlar seçilmiştir

Mercimeklerde herbisitlere tolerans tespit etmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Hanson ve Thill, 2001; Yadav ve ark., 2013). Avustralya'da mercimeklerde metribuzin toleransı tespit edilmiştir (Mcmurray, 2019).

IMI herbisitler, çeşitli gıda baklagillerinde geniş bir yabani ot yelpazesini kontrol etmede etkilidir (Taran ve ark., 2010). IMI herbisitler, Türkiye'de (Kantar ve ark., 1999) ve Hindistan'da (Kumar ve ark., 2016) gıda baklagillerindeki geniş yapraklı yabani otların kontrolü için tescillidir. Bu özelliklerinden dolayı IMI herbisitler çevresel açıdan oldukça tercih edilmektedir. Çevre açısından güvenli olan bu herbisitler, birçok üründe başarıyla kullanılabilir. Yabancı otlarda herbisit direncinin gelişmesini önlemek için başarılı bir yabancı ot kontrol programı oluşturmada IMI herbisit kullanımı önemli bir önem kazanacaktır.

Mercimek yapı itibariyle çok fazla büyümediğinden yabancı otlar ile rekabette çok zayıf kalmakta bu rekabetten dolayı da verim kayıpları yüksek düzeyde oluşmaktadır. Kısa yapısı, herbisitlere düşük toleransı ve çok az sayıda herbisitin ruhsatlı olması nedeniyle yabancı ot kontrolü mercimekte en büyük sorunu teşkil etmektedir (Ball ve ark., 1997).

AHAS bitkilerde dallanmış zincirli amino asitlerin biyosentezinde kritik bir öneme sahiptir. AHAS geninin birkaç çeşidi değişik kültür bitkilerinde (Mısır, Buğday, Çeltik, Kolza ve Ayçiçeği) mutajen uygulanarak veya seleksiyon yoluyla imidazolinone'lara tolerans sağladığı keşfedilmiştir (Tan ve ark., 2005). Bu kültür bitkileri konvensiyonel ıslah metotları kullanılarak, Clearfield bitkiler olarak ticari üretimleri yapılmıştır. İmazamox hebisiti çok sayıda dar ve geniş yapraklı yabancı ot kontrolünü sağlamakta, düşük dozlarda dahi çok etkili olabilmekte ve memeliler için düşük oranda toksisiteye sahip olup, çevreye diğer herbisitlere oranla çok düşük oranda zararlıdırlar (Tan ve ark., 2005).

Soya genellikle belli başlı imidazolinone herbisitlerini çok çabuk şekilde metebolize ettiğinden AHAS dayanıklılığına ihtiyaç duyulmaksızın güvenli şekilde imidazolinone herbisitleri kullanılabilmektedir (Tecle ve ark., 1993).

Yabancı otlar beslenme faktörleri olan su, besin elementleri ve yer açısından rekabet ederek tür ve yoğunluğa bağlı olarak değişik oranlarda verim kayıpları oluşturmaktadır (Bukun ve Guler, 2005).

Yabancı ot rekabetinden ortaya çıkan verim kayıpları, yabancı ot istilasının düzeyine ve yaygın yabancı ot türlerine bağlı olarak önemli ölçüde değişir. Mercimeklerde verim kayıpları yabancı ot istilasına bağlı olarak %20-80 arasında tahmin edilmektedir (Al-Thahabi ve ark., 1994; Halila 1995; Tepe ve ark., 2005; Yenish ve ark., 2009) ve yabancı ot istilasının kritik dönemi 30 ila 80 gün arasında değişmektedir (Yaduraju ve Mishra, 2005). Bu nedenle, erken aşamada yabani ot yönetimi, daha yüksek verim ve daha kaliteli hasat için çok önemlidir.

Yabancı otların mercimekte oluşturdukları verim kayıpları %60 ve daha fazla olduğu belirtilmektedir (Halila, 2005).

Bazı yabancı otlar yok edilmedikleri zaman kültür bitkisinden daha hızlı gelişerek kültür bitkisinin üzerini örtmek suretiyle güneş alınımını engelleyerek fotosentezi olumsuz etkilemekte ve dolayısıyla da üretimi kısıtlamaktadırlar (Rao, 2000).

Mercimekte dar yapraklı yabancı otlara karşı ruhsatlı çıkış sonrası birçok herbisit bulunurken, geniş yapraklı yabancı otlara karşı çıkış sonrası ruhsatlı bir herbisitin bulunmayışı yabancı ot sorununu daha da önemli kılmaktadır. Üründe büyük kayıplara neden olan yabancı otların mücadelesinde kullanılacak olan birçok geniş ve dar yapraklı yabancı otu kontrol eden düşük dozda dahi yabancı ot kontrolünü iyi sağlamalayan, imidazolinone grubu herbisitler, memelilere düşük oranda toksik etkili olmaları ve çevre açısından minimum zarara sahip olmalarından dolayı imidazolinone tolerant mercimek geliştirmesinde ideal herbisitlerdir,(Tan ve ark., 2005).

İmidazolinone toleransı elde etmek için seçilen ilk bitki türü mısırdır. İmidazolinona tolerant olarak geliştirilmiş İmi-tolerant mısır, tolerant bitkilerin en iyi özelliklerine sahip olanıdır (Newhourse ve ark., 1990). Standart mısır melezlerine gör,e İmi-tolerant mısır melezleri, imazetaphayr ve imazapiclere karşı çok yüksek düzeyde toleranslıdır (Newhouse ve ark., 1990).

İlk olarak 1992 yılında imidazolinone tolerant mısır geliştirilip piyasaya çıkana kadar ticari olarak dört farklı ürünün daha satışına başlanmıştır (Tan ve ark., 2005). Değişik karakterler ve multi herbisitler üzerine bir çok araştırma devlet ve özel sektör iş birliği ile gerçekleştirilmiş ve bunlardan bir çok veri elde edilmiştir (Shaner ve ark., 1996).

Ticari olarak üretilen bütün imidazolinone tolerant ürünlerde mekanizma hedef bölge toleransı olarak adlandırılan, örneğin AHAS genindeki farklılıktan kaynaklanmaktadır. İmidazolinone tolerant ürünlerde dışarıdan yabancı bir DNA yerleştirilmediğinden, tamamen klasik ıslah kuralları içerisinde transgenik olamayan ve Clearfield ürünler olarak adlandırılmaktadırlar (Shaner ve ark., 1996).

Imidazolinone tolerant mısır, çeltik, kanola ve buğdayda AHAS enzimindeki Ser653 geninin Asn653 olarak yer değiştirmesi sonucunda meydana gelmiştir. Ayrıca mısır ve kanola'da Trp574 geni Leu574 olarak değiştiğinden tolerant hale gelmiştir (Tan ve ark., 2005).

Bütün ticari olarak tescil ettirilen imidazolinone tolerant özellik, yarı dominant olup, sağlanmış olan tolerans mutasyonun tipi ve herbisitin dozuna göre değişebilmektedir (Tan ve ark., 2005).

Şeker pancarında üç mutantın AHAS inhibitörü herbisitlere dayanıklı olduğu saptanmıştır (Wright ve Pener, 1998). Burada Mutant Sir-13 geninin amino asitlerinde Ala122 yerine Thr122 olduğu imidazolinone tolerant olduğu ancak sulfonylurea'lara tolerant olmadığı belirtilmektedir. Tersine Sur çeşidinde Pro197 yerine Ser197 de ise sulfonylurea ve triazolpyrimidinlere tolerant olduğu buna karşılık imidazolinone tolerant olmadığı belirtilmektedir. Mutant 93R30B şekerpancarının ise her üç herbisit grubuna çapraz dayanıklı olduğu belirtilmektedir (Wright ve Penner, 1998).

İki mutant pamuk çeşidinin AHAS inhibitörü herbisitlere dayanıklı olduğu bildirilmektedir (Subramanian ve ark., 1990). Bunlardan birincisi DO-2, imezathapyr ve pyrımidinylthibenzoat'lara yüksek oranda toleranslı fakat sulfonylurea,

triazolpyrimidinlere düşük derecede toleranslı diğer mutan ise triazolpyrimidinlere yüksek derecede toleranslı ancak imidazolinone ve pyrimidinylthiobenzoat' lara karşı düşük derecede dayanıklı olan PS-3 olduğu belirtilmektedir.

Soya genellikle belli başlı imidazolinone herbisitlerini çok çabuk şekilde metabolize ettiğinden AHAS dayanıklılığına ihtiyaç duyulmaksızın güvenli şekilde imidazolinone herbisitleri kullanılabilmektedir (Tecle ve ark., 1993).

Yukarıdaki tüm araştırıcıların yapmış oldukları çalışmalardan da anlaşılacağı üzere birçok kültür bitkisinde imidazolinone toleransı gerek mutasyonla gerekse doğal olarak bitkinin kendisinin toleranslı olmasından dolayı elde edilebilmekte ve böylece değişik dozda herbisit kullanımını mümkün kılmaktadır.

İmidazolinone tolerant mercimek geliştirme çalışmaları ilk olarak Kanada'nın Saskatchewan eyaletinde BASF firması ve baklagil yetiştiricileri ortaklaşa çalışması sonucunda elde edilmiştir (Chant ve ark., 2009). Yıllar boyu genetik ve agronomik çalışmalar yürütülmüştür. Çalışmalar özellikle Odyssey adlı herbisite karşı dayanıklılığın genetik kalıtımı ve diğer özelliklerin RH44 çeşidine olan etkisi araştırılmıştır. Daha sonra imidazolinone toleranslı orijinal hat yetiştirilmiştir. Bu çalışmalar daha sonra agronomik çalışmaları da içeren imidazolinone'ların uygulama zamanı, dozu ve diğer herbisitlere çapraz dayanıklılığını içerecek şekilde devam ettirilmiştir. İlk imidazolinone tolerant mercimek 1997 de bulunmuş ve daha sonra imidazolinone toleransın genetik çalışmaları başlatılmıştır. RH44 ve diğer bazı mercimek çeşitleri ile çaprazlama yapılmış, F1, F2 ve F3 yavrularına, çıkış sonrası herbisit olan Odyssey (imazethapyr + imazamox) uygulanmıştır. Agronomik deneyler tarla ve laboratuvar koşullarında 1) İmazamox un uygulama zamanı 2) uygulama dozunu belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Bunlara ek olarak imazamox'un 1x ve 2x dozlarının RH44 ve diğer 7 mercimek hattına olan etkisi, RH44'ün diğer 2 herbisit grubuna olan toleransının boyutu, zararlanma düzeyi ile Odyssey in uygulanması sonucundaki mercimekte yabancı ot kontrolüne olan etkinliği araştırılmıştır (Chant ve ark., 2009). F2 ve F3 popülasyonlarının RH44 ile çaprazlanmasının genetik

çalışmaları imidazolinone herbisitlere dayanıklılığın tek dominant bir genden kaynaklandığı ortaya koymuştur.

CSR1 proteini nin *A. thaliana*'da imidazolinone herbisitlerin tek hedef bölgesi olduğu düşünülmektedir ve tek bir amino asit mutasyonu imidazolinonelara tolerantlık sağlamaktadır (Manabe ve ark., 2007).

AHAS engelleyici kompleksin 3 yönlü bilgisayar modellemesinde birçok aminoasitin iddia edilen engelleyici bağlantı grubunda oluşturulan suni mutasyonlar, muhtemel imidazolinone grubu herbisit dayanıklılığını ortaya çıkarmaktadır. AHAS enziminin bağlantı noktalarında yapılacak mutasyonlarla imidazolinone herbisitlerden herhangi biri için herbisite dayanıklı türler geliştirmek mümkün olur (Manabe ve ark., 2007).

İmidazolinone dayanıklı buğday çeşitlerinin ABD'de 2002 yılında üretime başladığını ve tek yıllık dar yapraklı yabancı ot kontrolünde üreticilere yeni teknoloji sunduğu belirtilmektedir (Hanson ve ark., 2006). Çalışmada imidazolinone toleranslı buğdayların mutasyondan kaynaklanan nedenden dolayı ALS inhibitörü herbisitlere dayanıklı olduğu ve genellikle D-genomu üzerinde dayanıklılık özelliğinin bulunduğu oysaki ticari buğdayların bir çoğunda hem kışlık hem de yazlık buğdaylarda bu özelliklerin A, B, veya D genomlarıyla olabileceğini ve bunların geliştirme safhalarında olduğu vurgulanmaktadır.

Ayrıca imidazolinone grubu herbisitlere dayanıklılık AHAS genlerindeki amino-asitlerin değişiminden kaynaklandığından ve bu herbisitlerin de hedef bölge herbisitleri olmasından dolayı her çeşidin ve hatta hattın toleransı farklı olabilmektedir. Toleranslı olmayan çeşit ya da hatlarda ethyl methanesulfonate veya sodium azide gibi mutajenler yardımıyla belli seviyede mutasyonlar oluşturabilmekte ve mutasyonlar sonucunda tolerans sağlanmaktadır. Ancak imidazolinone herbisitlere karşı oluşan toleransın derecesi de farklı olabilmektedir.

3.MATERYAL ve YÖNTEM

3.1.Materyal

3.1.1. Mercimek tohumu ve ön testleme

Çalışmada bölgede en çok ekilen kırmızı mercimek çeşidi Fırat-87, Çağıl ve Altıntop mercimek çeşitlerinin tohumları kullanılmıştır.

Bu çeşitlerin tohumları plastik tepsilere (15×20 cm) ekilmiş ve kontrollü sera koşullarında büyütülmüştür (Şekil 3.1.). Tepsilere ekilmeden önce tohumların yüzeyi %1 NaOCl (h/h) solüsyonu ile sterilize edildi. Tepsiler, tohum çimlenene kadar günlük olarak sulandı. Sera sıcaklığı 8 – 13 Cº olarak ayarlanmıştır.

Deneme, Şanlıurfa Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü serasında kurulmuştur. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekrarlı olarak kurulmuştur. Ekilen tohum miktarı tarla koşullarına göre optimize edilmiştir (14-15 kg/da). Herbisit dozlarının uygulanmasından sonra taze ve kuru ağırlığı kaydetmek için her küvetten toplam 15 bitki toplanmıştır.



Şekil 3.1. Mercimek tohumlarının sera koşullarında plastik tepsilerde yetiştirilmesi

Eldeki mevcut kırmızı mercimek çeşitlerinin doğal olarak imazamox herbisitine dayanıklı olup olmadığı ve dayanıklı ise dayanıklılık derecesi çalışmada kullanılacak herbisitin, uygulama yapılmayan kontrol, ¼, ½, 1, 2 ve 4 kat dozlardaki tepkisi ölçülmüştür. Bu sayede doz tepki eğrisi oluşturularak ön testleme yapılmıştır.

3.1.2. Herbisit ve uygulanan dozlar

Çalışmada imidazolinone grubu herbisitlerden, imazamox herbisiti kullanılmıştır.

Imazamox: (2-[4,5-dihydro-4-methyl-4-(1-methyl)-5-oxo-1*H*-imidazol-2-yl]-5-(methoxymethyl)-3-pyridinecarboxylic acid, ammonium salt) tavsiye edilen dozu 35-45 g ai ha^{-1} olup (100ml/da), ¼, ½,1 ve 2, kat dozları denenmiştir. Ayrıca herbisit uygulaması yapılmamış olan kontrol örnekleri ile Ethyl methanesulfonate'ın farklı konsantrasyonları uygulanan kırmızı mercimeklerin herbisitin faklı dozlarına tepkileri bitki kuru ağırlıklarının ölçülmesi ile belirlenmiştir.

Imazamox (2-(4,5-Dihidro-4-metil-4-(1-metil etil)-5-okso-1H-imidazol-2-il)-5-(metoksimetil)-3-piridinkarboksilik asit) Türkiye'de bezelye, soya fasulyesi ve fasulyede önerilen doz 100 ml/da ile ruhsatlandırılmıştır. Imazamox herbisit, 300 kPa basınçta düz bir fan nozulu kullanılarak 50 L ha-1 su hacmine sahip tam otomatik bir kabin püskürtücü (Şekil 3.2.) kullanılarak uygulanmıştır. Bu kısımda materyalden bahsettiğin için otomatik ilaçlama kabininin özelliklerinden biraz bahsedebilirsin.



Şekil 3.2. Herbisit uygulamalarının yapıldığı tam otomatik uygulama kabini

Bitkiler 6-8 boğum aşamasındayken herbisit kontrol, önerilen dozda ve önerilen dozun ¼, ½, 1, 2 ve 4 katı olarak uygulanmıştır

3.1.3 Herbisit uygulaması ve bitki yetiştirme materyalleri

Çalışmada ayrıca herbisit uygulamaları için sabit basınçta (3 atm) uygulama yapan tam otomasyonlu herbisit uygulama kabini, Bitkilerin yetiştirilmesi için çeşitli ebatlarda ekim küvetleri ve saksılar ve ışıklanma süresi ve sıcaklığı kontrol edilen sera çalışmanın diğer materyallerini oluşturmaktadır.

3.1.4. Mutajen madde uygulaması için kullanılan materyaller

Ethyl methanesulfonate (EMS), pipet, Çeker ocak, ölçüm kapları, EMS uygulaması için bidonlar ve uygulama için tohumların konulduğu keseler mutajen madde uygulama materyallerini oluşturmaktadır.

3.1.5. ALS enzim aktivitesinin belirlenmesi için kullanılan materyaller

Bitki büyütme kabini, steril kabin, pH metre, otoklav, analitik elektronik terazi, su banyosu, ultra saf su ünitesi, etüv, ısıtıcılı manyetik karıştırıcılar, mikrodalga fırın, çalkalayıcı (Yatay), soğutmalı masaüstü mikrosantrifüj, vakum pompası, muhtelif cam malzemeler, beherler, raklar, buzdolabı, -20 ve -80 °C derin dondurucular, PCR cihazı, jel görüntüleme sistemi, elektroforez sistemi (yatay ve dikey), buz makinesi, Li-Cor 4200 DNA sequencer ve spektrofotometre materyalleri oluşturmaktadır.

3.2.Yöntem

3.2.1.Ethyl methanesulfonate uygulaması (EMS)

Uygulanan mutajen Ethyl methanesulfonate konsantrasyonları ve süreleri biber (*Capsicum annuum*) (Alcantara ve ark., 1996) ve Soya'da yapılmış olan çalışmalar (Sebastian ve ark., 1989) da kullanılan metotlar referans olarak alınmıştır. Bu çalışmada mutasyon çalışmalarının başlangıç bilgilerini oluşturulurmuş ve bu çalışmalarda kullanılan materyaller çalışmada mutajenlerin doz ayarları, uygulama süreleri yapılmış olan uyarlamalarla belirlenmiştir.

Çalışmada fazla işleme gerek duyulmayan sıvı ethyl methansulfonate mutajen olarak kullanılmıştır. Her bir mercimek hattından 2 kg tohum sıvıyı sızdırabilen yapıda olan bir torbaya konularak 6 L su ile dolu 20 L' lik bidonda gece boyunca bekletilmiş, daha sonra tohumlar süzülerek ve bidona tekrardan 6 L taze su eklenerek %0.75 konsantrasyonu baz alınarak değişik konsantrasyonlar denenmiştir. Konsantrasyon ayarlanması tamamen tohumların canlı kalmalarına göre arttırılmış veya azaltılmıştır. Daha sonra mercimek tohumları 4 saat boyunca bu konsantrasyon içerisine daldırılıp çıkarılmıştır. Her defasında 6 L su ile 3 kez iyice yıkanmış, yıkama 15 dakika boyunca devam ettirilmiştir. Daha sonra tohumlar serilerek kurutulmuş ve herbisit doz denemelerine tabi tutulmuştur. Tohumlar serada olgunlaşıp tohum bağlayana kadar yetiştirilmiştir.

Ethyl methanesulfonate farklı konsantrasyonları ile muamele edilen kırmızı mercimek çeşitleri serada çimlendirilerek yetiştirilmiş ve bu mutajenin farklı dozlarının kırmızı mercimeğin gelişmesine etkileri belirlenmeye çalışılmış ve uygulama için uygun mutajen konsantrasyonu tespit edilmiştir.

Yeterli miktarda mutajen ile muamele edilen tohum elde edilerek herbisitin önerilen dozu ile tarla denemesi yapılmıştır. Ethyl methanesulfonate'ın çalışmada belirlenen uygun dozu ile muamele edilen ve uygun görülen bir kırmızı mercimek çeşidi arazi çalışması için uygun dönemde tarlaya ekilmiş ve herbisitin ticari olarak önerilen dozu ile muamele edilmiştir. Herbisit uygulaması sonucu canlı kalan bitkilerden tohum alınarak serada testlenmiştir.



Şekil 3.3. Tohumların EMS solüsyonu ile muamele edilmesi

3.2.2.Farklı mercimek çeşitlerinin doğal dayanıklılıklarının belirlenmesi

Denemede kullanılan kırmızı mercimek çeşitleri olan ‘Fırat-87’, ‘Çağıl’ ve ‘Altıntoprak’ mercimek çeşitlerinin imazamox herbisitinin farklı dozlarına tepkilerinin tespit edilmesi amacıyla herbisitin uygulama yapılmayan kontrol, ¼, ½, 1, 2 ve 4 kat dozlardaki imazamox herbisiti ile muamele edilmiştir. Bitkiler 4-6 yapraklı dönemlerindeyken ilaçlama yapılmış ve ilaçlama yapıldıktan 30 gün sonra toprak üstü aksamları hasat edilerek yaş ve kuru ağırlıkları alınmıştır. Deneme Bitki Koruma Bölümü serasında Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuş ve 2 kez tekrarlanmıştır.

Elde edilen veriler SAS istatistik analiz programında ANOVA analizleri yapılmış ve Log-Logistik analiz formülü kullanılarak yapılan uygulamalarda populasyonun yarısını etkileyen doz (I_{50}) değeri bulunarak doz-tepki grafiği elde edilmiştir.

Bu sayede bu mercimek çeşitlerinin imazamox herbisitine doğal dayanıklılıkları belirlenmeye çalışılmıştır. Doğal olarak dayanıklılığı yüksek bulunan ‘Fırat 87’ çeşidi mutasyon çalışmaları için kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Mercimek tohumlarının ekim işlemi



Şekil 3.5. Tam otomasyonlu herbisit uygulama kabininde İmazamox uygulaması

3.2.3. Mutajen uygulanmış Fırat-87 çeşidinin sera çalışmaları

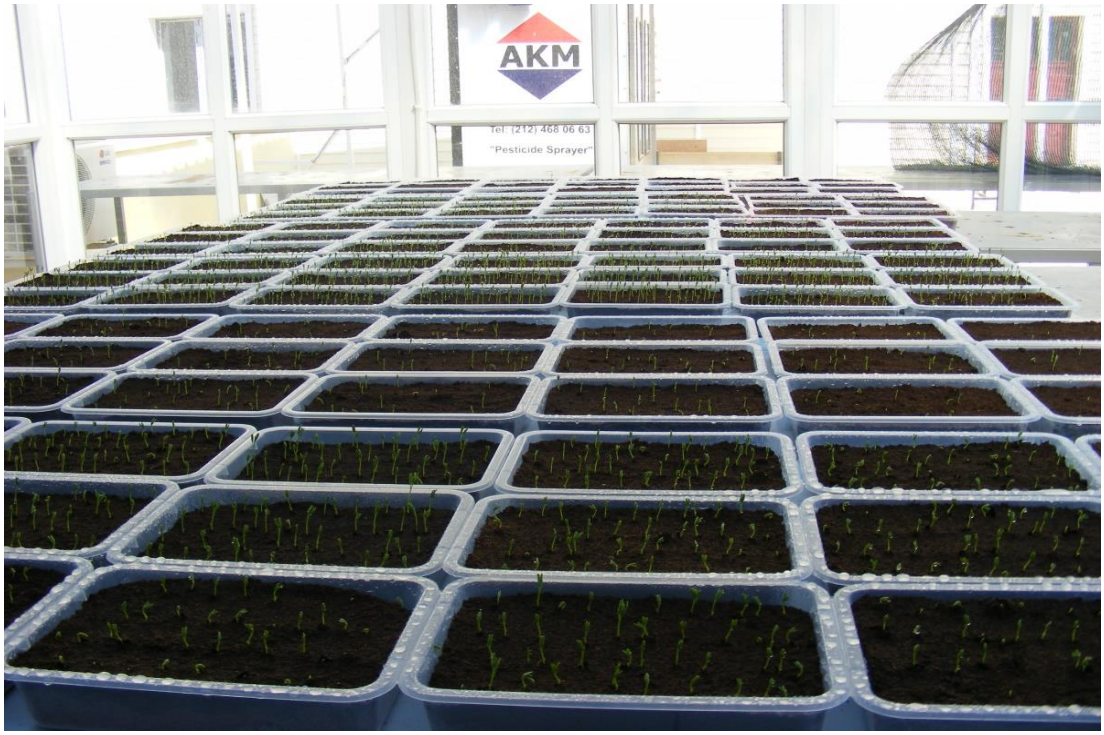
EMS ile muamele edilen tohumlar Bitki Koruma Bölümü serasında küvetlere ekimleri yapılarak 4-6 yapraklı döneme geldiklerinde İmazamox herbisiti ile muamele edilmiştir. Bu uygulama sonunda mercimekler 30 gün boyunca kontrol edilerek normal gelişimine devam edenler ayıklanarak tohum bağlamaları beklenmiş ve bu alınan tohumlar M2 generasyonu olarak tekrar ekilmiş ve aynı işleme tabi tutulmuşlardır. Normal gelişimine devam etmeyen örnekler değerlendirmeden çıkartılmıştır.



Şekil 3.6. Laboratuarda ekim küvetlerinin hazırlanması



Şekil 3.7. Ekimi yapılan tohumların kontrollü sera koşullarında yetiştirilmesi



Şekil 3.8. Ekimi yapılan tohumların çıkışları



Şekil 3.9. Tam otomasyonlu herbisit uygulama kabini ile imazamox uygulaması

3.2.4. Mutajen uygulanmış Fırat-87 çeşidinin tarla çalışmaları

10 da alanda dekara 12 kg tohum hesabıyla ekim yapılmış (3.000.000 (üç milyon) M2 tohumları ekilmiştir) ve Nisan 2012 ayının ilk haftasında bitkiler yaklaşık 15-20 cm boyuna ulaştıklarında 100 ml/da dozda imazamox herbisiti uygulanmıştır ve çiçeklenme sonrası ve hasattan 15 gün önce iki gözlem yapılarak dayanıklı bitki olup olmadığı belirlenmiştir. Ekimi yapılan tarlada gözle görülebilen morfolojik mutasyonların oluştuğu (klorofil mutasyonları gibi) çimlenen bitkilerde gözlemlenmiş ve bu bitkiler uygulamadan yaklaşık 1 ay sonra tekrar kontrol edilmiştir. İki farklı konsantrasyonda EMS uygulanan örneklerin ekimi yapılmıştır. Bunlar 5 µM ve 10 µM konsantrasyonlarda mutajen uygulanan örneklerdir.



Şekil 3.10. Tarlaya M2 jenerasyonu Fırat 87 çeşidi Kırmızı Mercimek Ekimi



Şekil 3.11. Tarlaya M2 jenerasyonu Fırat 87 çeşidi Kırmızı Mercimek Ekimi

Kontrol sonrasında imazamox uygulamasından dolayı herhangi bir zararlanma görülmeyen bitkilerin yanına işaret olarak bayraklar (1 m uzunluğunda ve ucunda kırmızı renkli plastik bulunan çubuklar) dikilerek (Şekil 4.21.) hasat zamanı geldiğinde herbisitten etkilenmeyen her bitki ayrı ayrı hasat edilmiştir.



Şekil 3.12. İmazamox uygulaması sonrası tolerant bulunan bitkileri bayrakla işaretlenmesi



Şekil 3.13. Tarla Denemesi Sonucunda Tolerant Bulunan Bitkilerin Hasadı ve Etiketlenmesi

3.2.5. Tarla denemelerinde tolerant görülen bitkilerin serada herbisit uygulaması ile test edilmesi

Denemede 43 adet bitki farklı viyolde ekilerek büyütülmüş ve bitkiler 4-6 yapraklı dönemlerine geldiklerinde imazamox herbisitinin önerilen dozu 100ml/da 200ml/da ve 3 katı olan 300 ml/da dozda uygulama yapılmıştır. Uygulama sonucunda her iki tekerrürde de imazamox uygulamasından etkilenmeyen örnekler ayrıca test edilmek üzere denemeye alınmıştır. Ekimler her küvete 25'er adet tohum olacak şekilde yapılmıştır.

3.2.5.1. Serada 100 ve 200 ml/da dozda imazamox uygulama çalışmaları

Tarla denemesinde Imazamox Herbisit ile muamele edilerek tolerans gösteren bireylerin tohumları kullanılmıştır. 44 adet farklı bitkiden elde edilen tohumlar ekilmiştir. Kontrol olarak 'Fırat 87' kullanılmıştır. İmazamox Herbisitinin Önerilen Dozu (x) ve bu dozun iki katı (2x) olan 100ml/da ve 200ml/da kullanılmıştır.14. Gün ve 28. gün % olarak etkilenme oranları kaydedilmiştir. 28. Gün bitki boyları ölçülmüştür

Hasad edilen bitkilerden elde edilen tohumlar (M3 tohumları) serada ekilerek yetiştirilmiş ve bitkiler 4-6 yapraklı dönemlerine geldiklerinde, 100 ml/da ve 200ml/da dozda imazamox uygulanmıştır.

3.2.5.2. Serada 100 ve 300 ml/da dozda imazamox uygulama çalışmaları

Bu deneme Haziran 2012 tarihinde yapılmıştır. Denemede 44 adet bitki farklı küvetlere ekilerek büyütülmüş ve bitkiler 4-6 yapraklı dönemlerine geldiklerinde imazamox herbisitinin önerilen dozu 100ml/da ve 3 katı olan 300 ml/da dozda uygulama yapılmıştır. Uygulama sonucunda her iki tekerrürde de imazamox uygulamasından etkilenmeyen örnekler ayrıca test edilmek üzere denemeye alınmıştır. Ekimler her küvete 25'er adet tohum olacak şekilde yapılmış olup, bitkiler 4-6 yapraklı dönemlerine geldiklerinde imazamox uygulanmıştır. Çalışmada 10mM

konsantrasyonu uygulanan bitkiler mutajenin olumsuz etkisinden dolayı denemelerden çıkartılmış ve sadece 5mM konsantrasyon mutajen ile muamele edilmiş bitkiler test edilmiştir.

3.3 Ölçümler

3.3.1 Görsel puanlama

Gaur ve ark. (2013) kullanmış oldukları yöntem esas alınarak, 1 yüksek derecede toleranslı (mükemmel bitki görünümü, kloroz yok / daralma / yapraklarda yanma), 2 toleranslı (hafif kloroz / daralma / yanma ile iyi bitki görünümü), 3 orta derecede toleranslı (orta derecede toleranslı adil bitki görünümü) kloroz / yapraklarda daralma / yanma), 4 hassas (yapraklarda şiddetli kloroz / daralma / yanma ile birlikte zayıf bitki görünümü) ve 5 oldukça hassas (yaprakların tamamen yanması, çoğu bitkinin ölümüne yol açar), görsel değerlendirme yapılmıştır

3.3.2. Yaş ve kuru ağırlık ölçümleri

Herbisit uygulamasından 28 gün sonra her küvetten 15 bitkinin toprak üstü kısımları hasat edilmiş ve bunların yaş ve kuru ağırlıkları ölçülmüştür.

3.4. İstatistiksel Analizler

Varyans analizi (ANOVA), SAS istatistiksel analiz programında çeşitler arasındaki farklılıkları anlamak için kullanılır. Log-lojistik regresyon formülü kullanılan uygulamalarda popülasyonun yarısını etkileyen I50 değeri bulunarak doz-yanıt eğrisi elde edildi (Formül 3.1).

$$y = C + \frac{D-C}{1+exp\{b.[\log(z)-\log(ED50)]\}} \quad (3.1)$$

y = Bağımlı Değişken (kuru ağırlık)

z = Bağımsız Değişken (Herbisit Dozu)

D = y' üst sınırı

C = y' alt sınırı

ED_{50} = D ve C arasında kuru ağırlık veren doz

b = ED_{50} etrafındaki eğrinin nispi eğimi

3.5.Faklı Herbisit Dozları Uygulaması Sonucunda Elde Edilen Bitkinin ALS Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

İmazamox herbisitinin dozlarına göre ALS enzim aktivitesinin belirlenmesi için invitro koşullarda yapılan Singh ve ark. (1988)' larından uyarlanmış bir yöntemdir.

Sera koşullarında saksı karışımı kullanırak 74'e 26 cm'lik flatlerde tolerant bulunan Kırmızı Mercimek (Fırat 87) tohumları ekilmiştir.

Bitkinin büyüme noktalarından elde edilen 2 gr'lık örnekler sıvı nitrojen ile muamele edilerek ve 10 mM pyruvate, 5 mM $MgCl_2$, 4 µM thiamine pyrophosphate (TPP) and 20 µM flavin adenine dinucleotide (FAD) içeren 100µM potasyum fosfat buffer (pH 7.5) homojenize edilerek ALS enzimi elde edilmiştir.

ALS denemesi Westerfeld (1945) metodu izlenerek 50 µM reaksiyon buffer 50 µM protein örneği ve 50 µM of imazamox konsantrasyonu (100 µM - 0,78 µM) eklenerek 96- well plateler kullanılarak yapılmıştır.

Reaksiyonlar 37 °C'de 90 dakika inkube edilmiş ve 25 µL sulfuric asit ile durdurulmuştur. Daha sonra reaksiyonlar 60 °C'de 15 dakika decarboxylate acetolactate ile inkube edilmiştir.

Elde edilen acetolactate, acetoın'e dönüştürülerek 535 nm absorbans spektrofotometre de ölçülmüştür.

Toplam protein konstantrasyonu bovine serum albümin (BSA) ve Bradford (1976) metodu kullanılarak değerlendirimiştir.

Tolerant örnek için veriler I_{50} değeri hesaplanarak sigmodial doz-repons eğrileri çıkarılarak analiz edilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Mutajen Madde Uygulaması (Ethyl methanesulfonate (EMS)

Çalışmada iki farklı konsantrasyonda mutajen madde (EMS) kullanılmıştır. Bu konsantrasyonlar 10µM ve 5µM konsantrasyonları olmuştur. 10µM konsantrasyonu uygulanan bitkiler mutajenin olumsuz etkisinden dolayı denemelerden çıkartılmış ve sadece 5µM konsantrasyon mutajen ile muamele edilmiş bitkiler test edilmiştir. Yüksek dozda mutajene maruz kalan mercimek tohumlarında çıkış ve gelişim sorunları oluşmuştur.

4.2.Farklı Mercimek Çeşitlerinin Doğal Dayanıklıklarının Belirlenmesi

Şekil 4.9., Şekil 4.10., Şekil 4.11.'de ıygulamadan 28 gün sonra dozlar arasında karşılaştırmalar yapılmıştır, Yaş ve Kuru ağırlık ölçümleri yapılmış, elde edilen verilerin varyans analizleri yapılmıştır (Şekil 4.12., Şekil 4.13.). Yapılan analizler sonucu bu mercimek çeşitlerinden imazamox herbisitine en tolerant olarak 'Fırat 87' bulunmuştur. 'Çağıl' ise en hassas çeşit olarak görülmüştür. Sırasıyla 'Çağıl'ın' I50 değeri 14,05 ml/ha, 'Altıntoprak'ın' I50 değeri 23 ml/ha ve 'Fırat 87'nin' I50 değeri 38,47 ml/ha olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.14.). İmazamox herbisitinin önerilen dozunun 100ml/ha olduğu düşünülürse önerilen dozun çok altlarında dozlarda herbisit bu mercimek çeşitlerini oldukça etkilemektedir.



Şekil 4.1. Uygulama sonrası denemeden genel görünüm



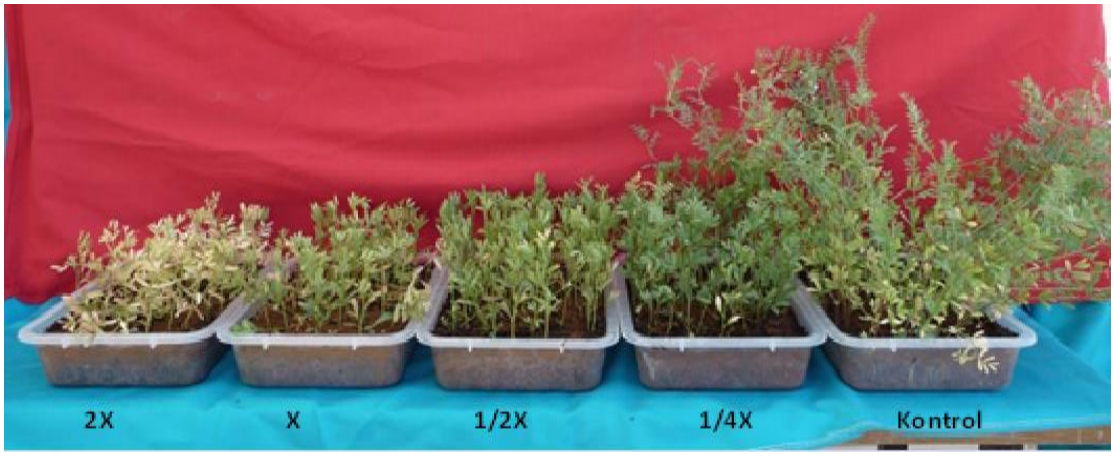
Şekil 4.2. Uygulama sonrası denemeden genel görünüm



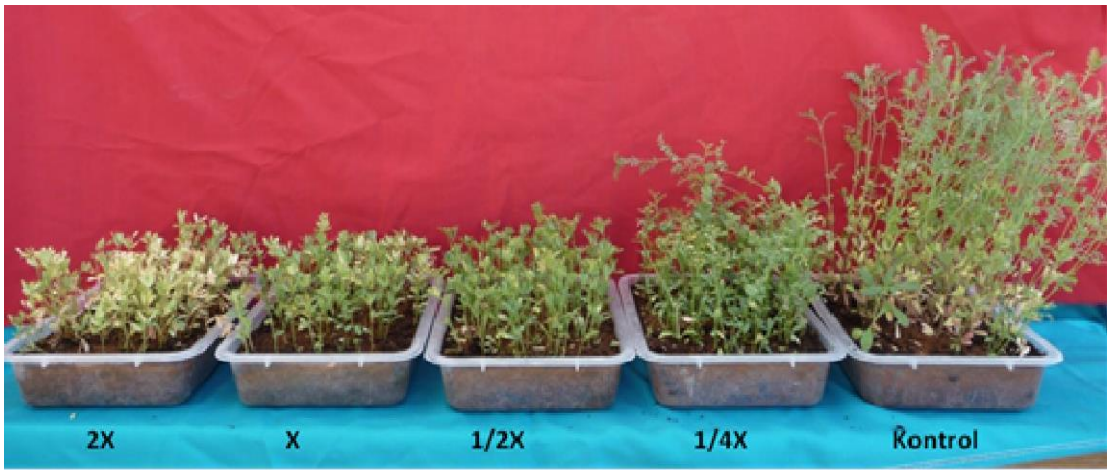
Şekil 4.3. Uygulama sonrası denemeden genel görünüm



Şekil 4.4. Uygulama sonrası farklı imazamox dozları uygulanan mercimek çeşitlerindeki gelişim farklılıkları



Şekil 4.5 Altıntoprak mercimek çeşidinin İmazamox Herbisiti Uygulaması Doz Karşılaştırması



Şekil 4.6. Çağıl mercimek çeşidinin İmazamox Herbisiti Uygulaması Doz Karşılaştırması



Şekil 4.7. Fırat 87 mercimek çeşidinin İmazamox Herbisiti Uygulaması Doz Karşılaştırması

Çizelge 4.1.'de 1-5 skalasına göre çeşitler arasındaki görsel değerlendirme gösterilmiştir. Fırat 87 çeşidin,n görsel değerlendirmes sonucu tolerant olarak bulunmuştur. Altıntoprak çeşidi düşük seviyede tolerant gözükürken Çağıl çeşidi ise herbisitten oldukça etkilenmiş ve hassas olarak değerlendirilmiştir

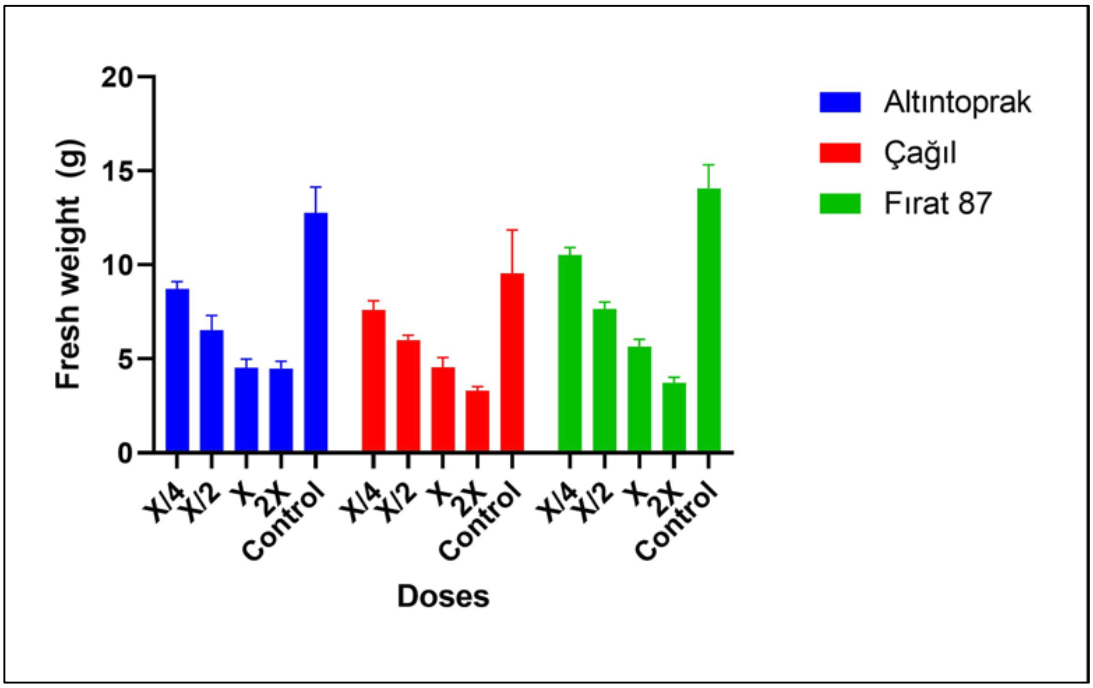
Çizelge 4.1. Mercimek çeşitleri arasnda görsel değerlendirme tablosu

5 Skalası (uygulamadan 14 gün sonra)	
Fırat 87	T
Altıntoprak	MT
Çağıl	S

T: Tolerant MT: Kısmi Tolerant S: Hassas

Çizelge 4.2., 4.3. ve 4.4.'te çeşitlerin varyans analiz tabloları verilmiştir. Kuru ağırlıklar ele alınarak yapılmıştır. Bu analizlere göre Fırat 87 çeşidi Altıntoprak ve Çağıl çeşitlerine göre daha tolerant bulunmuştur.

Yapılan değerlendirmeler sonucunca diğer iki mercimek çeşitlerine göre tolerant olması ve bölgede yaygın olarak tarımının yapılması nedeni ile çalışmaların devamında Fırat 87 çeşidinin kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.8. Altıntoprak, Çağıl ve Fırat87 mercimek Çeşitlerinin yaş ağırlık varyans analizi

Çizelge 4.2. Altıntoprak mercimek çeşidi yaş ağırlık varyans analiz tablosu

Varyans Kaynağı	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-değeri*	*F ölçütü*
Gruplar Arasında	144,33	4	36,08	58,91	6,48 E-07	3,47805
Gruplar İçinde	6,12	10	0,61			
Toplam	150,45	14				

SS = karelerin toplam, df = srebestlik derecesi, MS = karelerin ortalaması,

Çizelge 4.3. Çağıl mercimek çeşidi yaş ağırlık varyans analiz tablosu

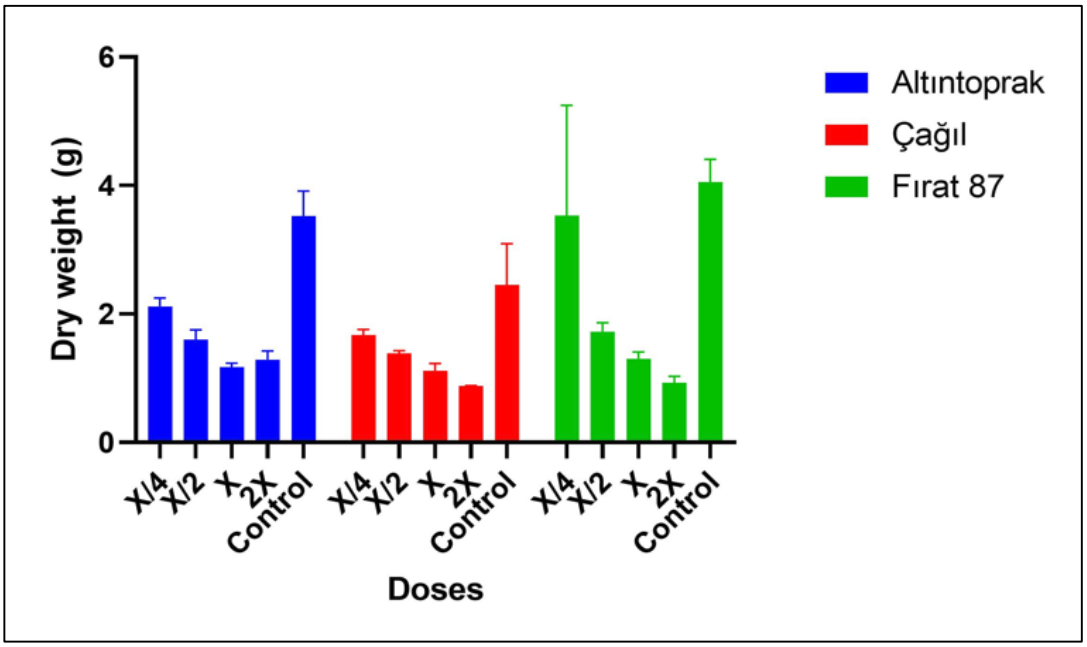
Varyans Kaynağı	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-değeri*	*F ölçütü*
Gruplar Arasında	200,1865	4	50,04662	118,1422	2,25E-08	3,47805
Gruplar İçinde	4,236133	10	0,423613			
Toplam	204,4226	14				

SS = karelerin toplam, df = srebestlik derecesi, MS = karelerin ortalaması

Çizelge 4.4. Fırat 87 mercimek çeşidi yaş ağırlık varyans analiz tablosu

Varyans Kaynağı	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-değeri*	*F ölçütü*
Gruplar Arasında	73,16657	4	18,29164	15,47543	0,000276	3,47805
Gruplar İçinde	11,8198	10	1,18198			
Toplam	84,98637	14				

SS = karelerin toplam, df = srebestlik derecesi, MS = karelerin ortalaması



Şekil 4.9. Altıntoprak, Çağıl ve Fırat87 mercimek Çeşitlerinin kuru ağırlık varyans analizi

Çizelge 4.5. Altıntoprak mercimek çeşidi kuru ağırlık varyans analiz tablosu

Varyans Kaynağı	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-değeri*	*F ölçütü*
Gruplar Arasında	11,00513	4	2,751283	64,84797	4,1E-07	3,47805
Gruplar İçinde	0,424267	10	0,042427			
Toplam	11,4294	14				

SS = karelerin toplam, df = srebestlik derecesi, MS = karelerin ortalaması

Çizelge 4.6. Çağıl mercimek çeşidi kuru ağırlık varyans analiz tablosu

Varyans Kaynağı	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-değeri*	*F ölçütü*
Gruplar Arasında	23,35697	4	5,839243	9,338307	0,002077	3,47805
Gruplar İçinde	6,253	10	0,6253			
Toplam	29,60997	14				

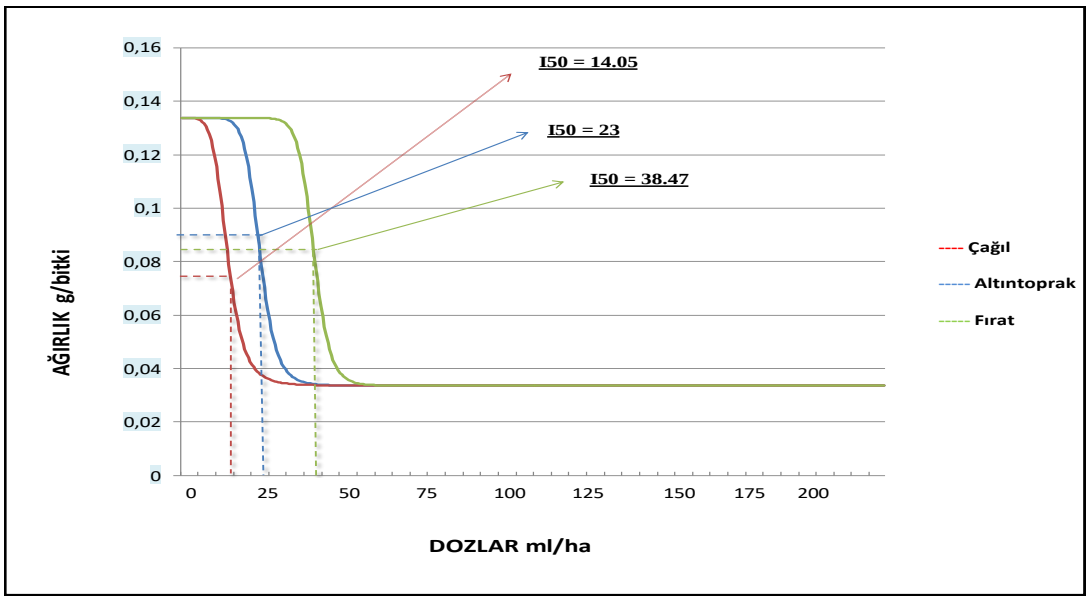
SS = karelerin toplam, df = srebestlik derecesi, MS = karelerin ortalaması

Çizelge 4.7. Fırat 87 mercimek çeşidi yaş ağırlık varyans analiz tablosu

Varyans Kaynağı	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-değeri*	*F ölçütü*
Gruplar Arasında	4,43364	4	1,10841	12,6425	0,000635	3,47805
Gruplar İçinde	0,876733	10	0,087673			
Toplam	5,310373	14				

SS = karelerin toplam, df = srebestlik derecesi, MS = karelerin ortalaması

Yapılan çalışma sonucunda elde verilerde imazamox herbisitine diğer çeşitlere oranla daha tolerant olması ve üretici tarafından hastalıklara dayanıklı ve yüksek verim nedeniyle en çok üretimi yapılan çeşit olmasından dolayı 'Fırat 87' kırmızı mercimek çeşidi mutajen uygulanarak imazamox herbisitine tolerant çeşit geliştirme çalışmalarında kullanılmıştır.



Şekil 4.10. İmazamox Uygulaması Yapılan Altıntoprak, Çağıl ve Fırat 87Mercimek Çeşitlerinin Doz-Tepki Grafiği ve I50 Değerleri

4.3. Mutajen (EMS) Uygulanan Mercimek Çeşitlerinin İmazamox Etkili Maddeli Herbisit İle Testlenmesi

Bu uygulama sonunda mercimekler imazamox herbisiti ile muamele edilmişve 30 gün boyunca kontrol edilerek normal gelişimine devam edenler ayıklanarak tohum bağlamaları beklenmiş ve bu alınan tohumlar M2 generasyonu olarak tekrar ekilmiş ve aynı işleme tabi tutulmuşlardır. Sera koşullarında sınırlı sayıda örnek testlenebildiği için dayanıklı bitki elde etmek mümkün olmamıştır. tarla koşullarında daha geniş alanda daha fazla sayıda tohumla çalışma şansı olması nedeniyle tarlaya ekim yapılarak tolerant birey bulma şansı artırılmıştır.

4.4. Tarla Koşullarında Mutajen Uygulanan Fırat 87 Kırmızı Mercimek Çeşitinin Ekimi

Serada yapılan çalışmalarda her hangi bir dayanıklılık saptanamamıştır. Bunun nedeni sınırlı alanda az sayıdaki tohum kullanılmasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Çünkü arzu edilen mutasyon frekansı çok düşük olduğundan bu tür çalışmalarda daima yüksek sayıda bitki ile çalışılması gereklilik duyulmuştur.



Şekil 4.11. Tarla denemesinde İmazamox uygulaması sonrası tolerant ve hassas bitkiler

Tolerat bulunarak bayrakla işaretlenen bitkiler ayrı ayrı hasat edilerek kese kağıtlarına alınıp numaralandılırılmıştır (Şekil 4.22.). Sera denemelerinde tekrar testlenmek amacı ile laboratuvara götürülmüş ve tohumları ayıklanmıştır

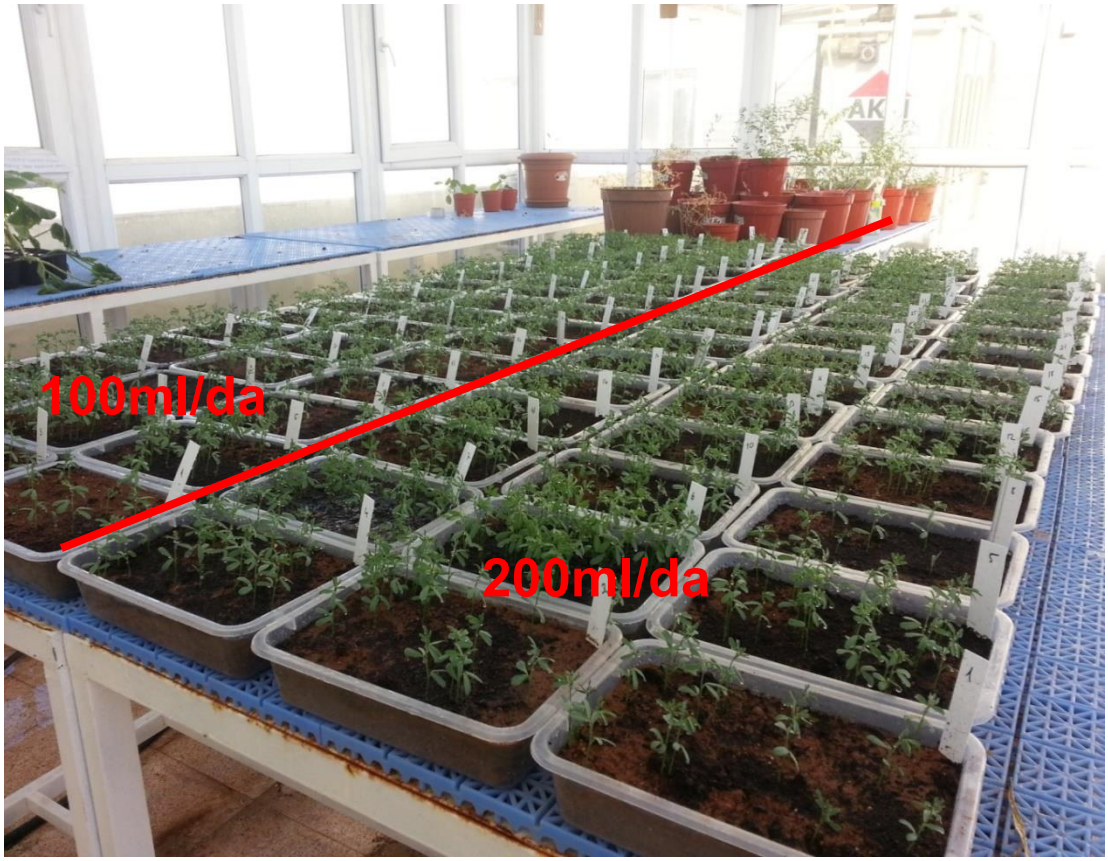
Ayrıca tarla gözlemleri sonucu şeçilen bitkiler hasat edildikten sonra kalan bitkiler hem 5 mM konsantrasyonda EMS uygulanmış hemde 10 mM konsantrasyonda EMS uygulanmış olanlar ayrıca toplu olarak hasat edilmişlerdir. Daha sonra hasat edilen bitkilerden elde edilen tohumlar serada flatlere ekilerek yetiştirilmiş ve bitkiler 4-6 yapraklı dönme ulaştıklarında, 100 ml/da dozda imazamox uygulanmıştır. Bu şekilde gözden kaçmış olabilecek tolerant bireyler bulunmaya çalışılmıştır.

Yapılan gözlemler neticesinde bazı bireylerin herbisitten etkilenmedikleri belirlenmiştir. Bu bireyler daha sonra dayanıklı olup olmadıklarını belirlemek amacıyla bir kaç kez daha test edilmiştir. Sera şartlarında yapılan herbisite dayanıklılık testlerinde 1 adet birey ümitvar bulunmuş ve iki defa imazamox herbisiti ile test edilmiştir. Birinci denemede imazamox herbisitinin önerilen dozu olan 100ml/da ve 200 ml/da kullanılmış İkinci denemede İmazamox herbisitinin 100ml/da dozu ve 3 katına (300 ml/da) çıkarılarak uygulama yapılmış ve ümitvar olan bitkinin herbisitin 3x dozundan da olumsuz etkilenmediği gözlemlenmiştir.

4.5. Tarla Denemesi Sonucunda Elde Edilen Tohumlarının Ekimi ve Imazamox Herbisitinin Önerilen Dozu (100ml/da) ve Önerilen Dozunun İki Katı (200ml/da) İle Testlenmesi

Tarla denemesinde Imazamox Herbisit ile muamele edilerek tolerans gösteren bireylerin tohumları kullanılmıştır. Tarladan hasad edilirken en iyi durumda olduğu belirlenen ve not edilen bitkiler seçilmiştir. 43 adet farklı bitkiden elde edilen tohumlar ekilmiştir Kontrol olarak ‘Fırat 87’ kullanılmıştır. İmazamox Herbisitinin Önerilen Dozu (x) ve bu dozun iki katı (2x) olan 100ml/da ve 200ml/da kullanılmıştır.14. Gün ve 28. gün % olarak etkilenme oranları kaydedilmiştir. 28. Gün bitki boyları ölçülmüştür, (Şekil 4.21., Şekil 4.22.).

Arazi denemesinden elde edilen tohumlar kullanılmıştır. Hasad edilen bitkilerden elde edilen tohumlar (M3 tohumları) serada ekilerek yetiştirilmiş ve bitkiler 4-6 yapraklı döneme ulaştıklarında, 100 ml/da ve 200ml/da dozda imazamox uygulanmıştır. İmazamox herbisitinin önerilen dozu olan 100ml/da X ile, önerilen dozun iki katı olan 200ml/da 2X ile temsil edilmiştir.



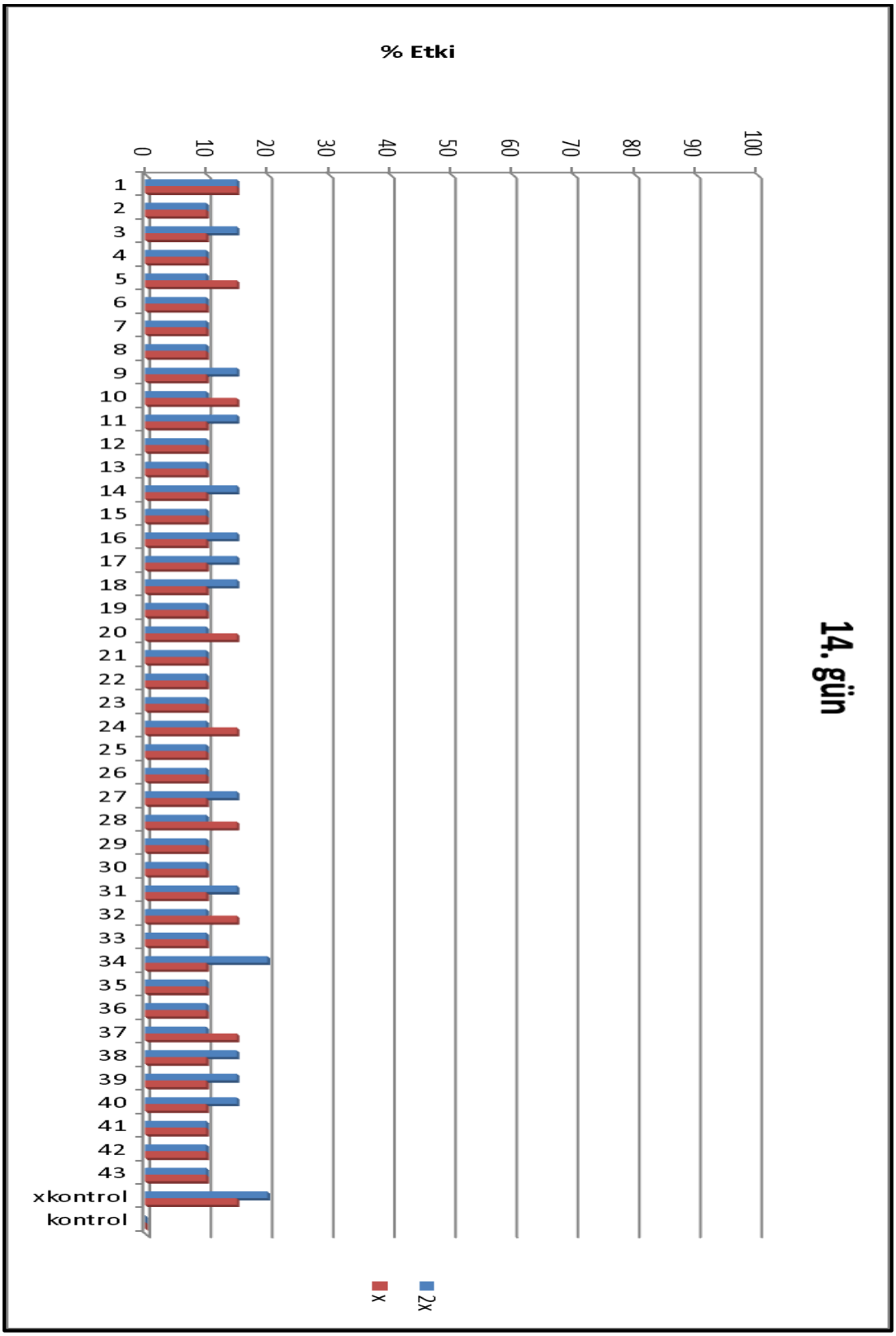
Şekil 4.12. Önerilen Doz Ve 2 Katı Doz İmazamox Uygulanan Örnekler



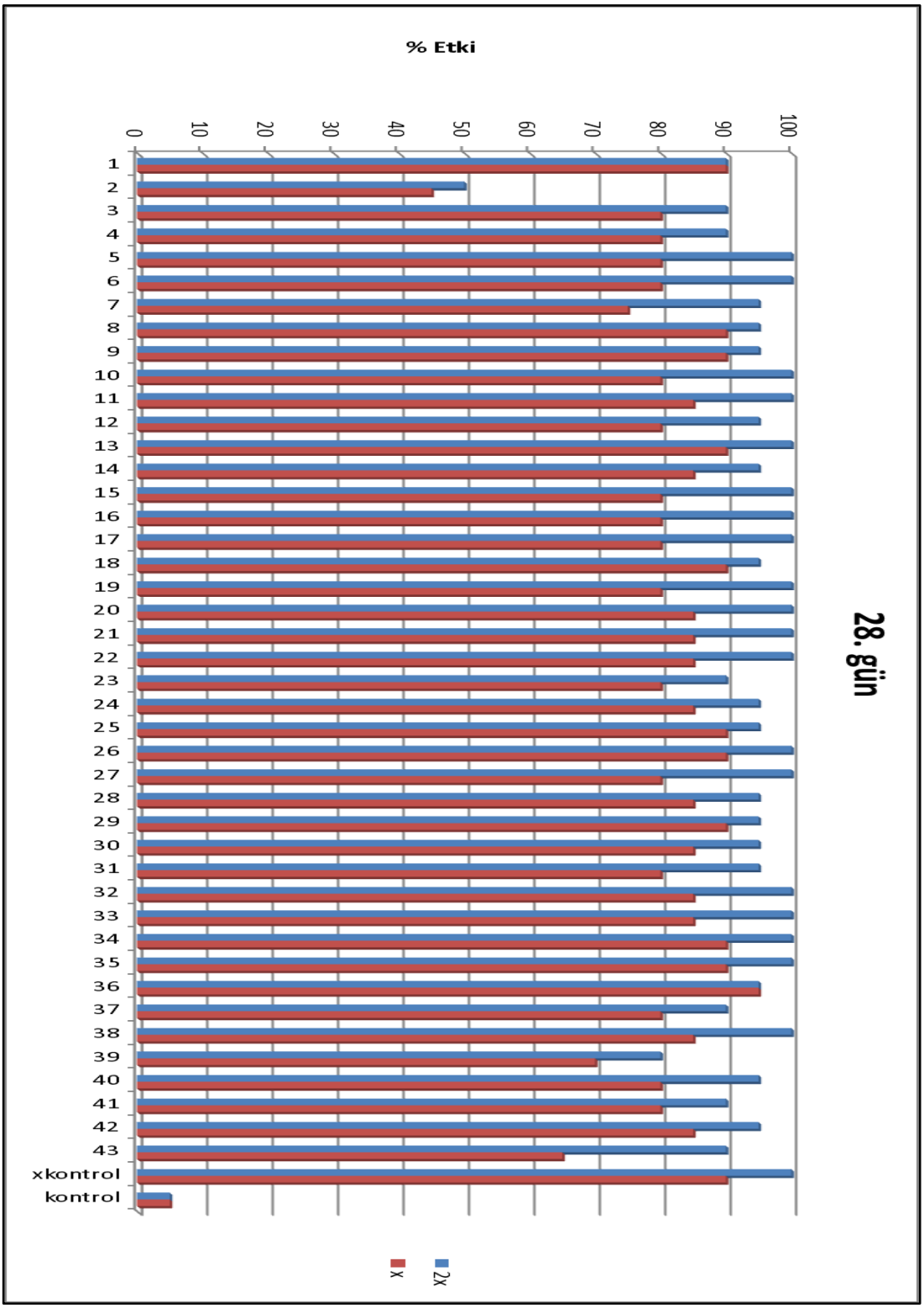
Şekil 4.13. Denemeden Genel Görünüm

Bitkiler yaklaşık olarak 4-6 yapraklı döneme geldiğinde ilaçlama yapılmıştır. İmazamox Herbisitinin önerilen dozu 100 ml/da ve iki katı 200 ml/da olarak uygulama yapılmıştır. İlaçlamadan 14 gün sonra ve 28 gün sonra % simptom olarak imazamox herbisitinin verdiği zararlanma % semptom olarak gözlemlenmiştir. 28. gün sonunda tolerant olarak belirlenen bitkilerin boyları ölçülerek kontrolle karşılaştırması yapılmıştır. Her iki uygulama dozunda da Fırat 87 kırmızı mercimek çeşidi hem uygulama dozları kullanılarak hem de uygulama yapılmadan kontrol olarak kullanılmıştır. Uygulama yapılan kontrole X kontrol uygulama yapılmayan kontrole Kontrol olarak isim verilmiştir.

Elde edilen sonuçların karşılaştırılması yapılarak her bitki için aynı grafikte hem 100ml/da hem de 200 ml/da doz uygulama sonuçları 14. Gün (Şekil 4.26.) ve 28. Gün (Şekil 4.27.) olarak gösterilmiştir.

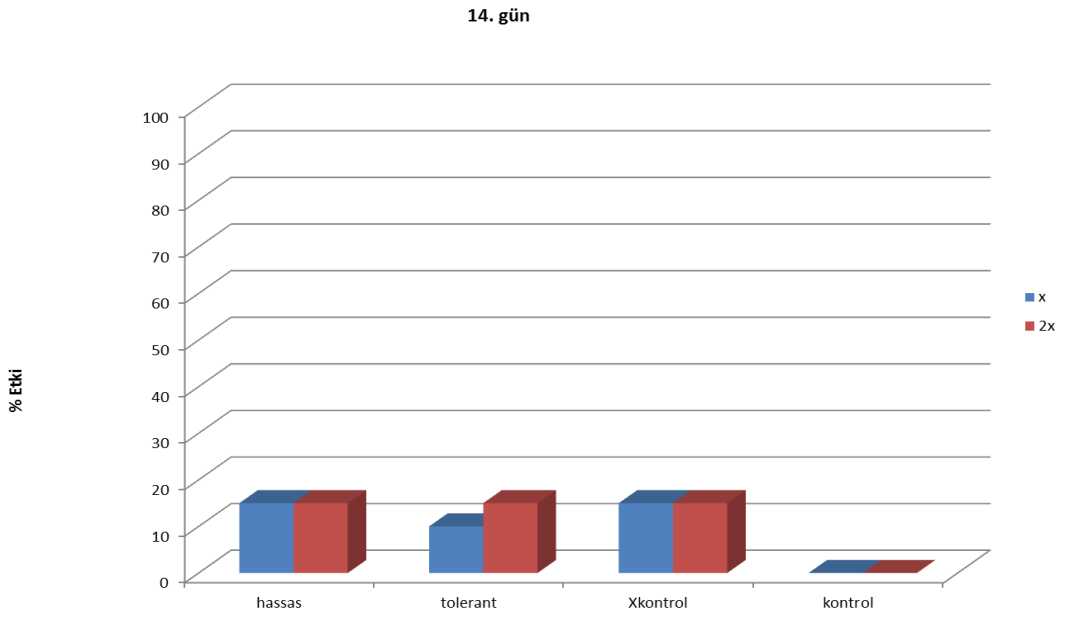


Şekil 4.14. İmazamox Uygulanmış Örneklerin 14. Gün % Semptom Gözlem Değerleri

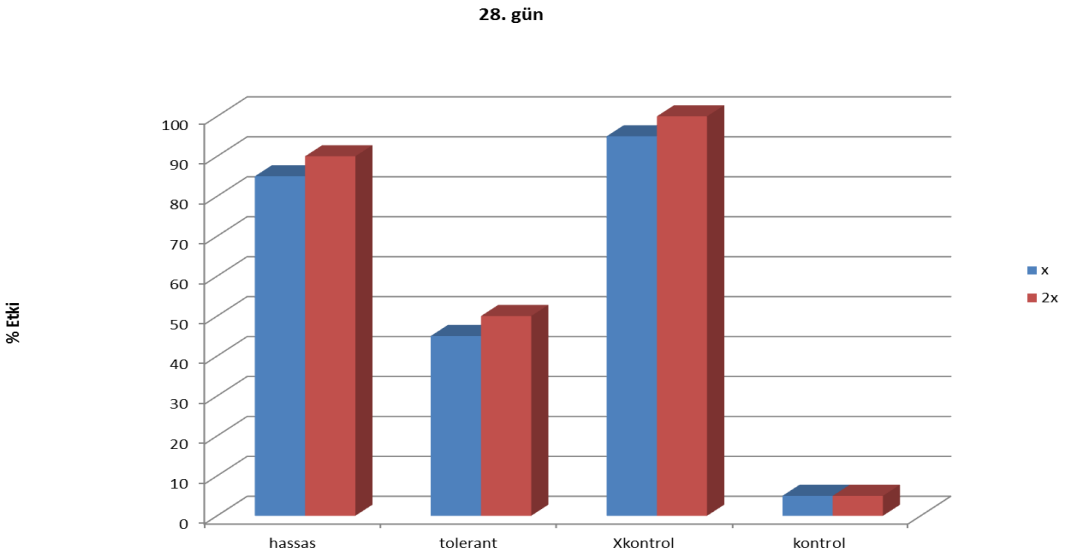


Şekil 4.15. İmazamox Uygulanmış Örneklerin 28. Gün % Semptom Gözlem Değerleri

Yukarıdaki grafiklerden elde edilen sonuçlara göre 2 numaralı örnek hem 14. Gün hem de 28. Gün gözlemlerinde iki dozda da tolerant bulunmuştur. Bununla birlikte 43 numaralı örnek 28. Gün gözlemlerinde önerilen doz uygulamasında kısmi tolerant olarak saptanmıştır. Tolerant bulunan 2 numaralı örnek diğer uygulamaya tabi tutulmuş, hassas bulunan örneklerin ortalamaları alınarak, 'Fırat 87'nin uygulama yapılmış (x kontrol) ve uygulama yapılmamış (kontrol) örnekleri ile karşılaştırılmıştır, (Şekil 4.25., Şekil 4.26.).

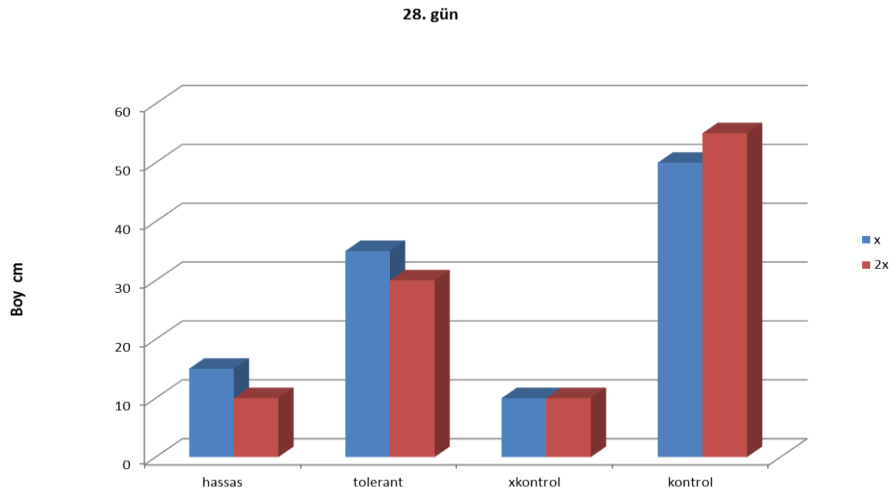


Şekil 4.16.Tolerant Örneğin 14. Gün % semptom Gözlem Değerleri



Şekil 4.17. Tolerant örneğin 28.Gün % Semptom Gözlem Değerleri

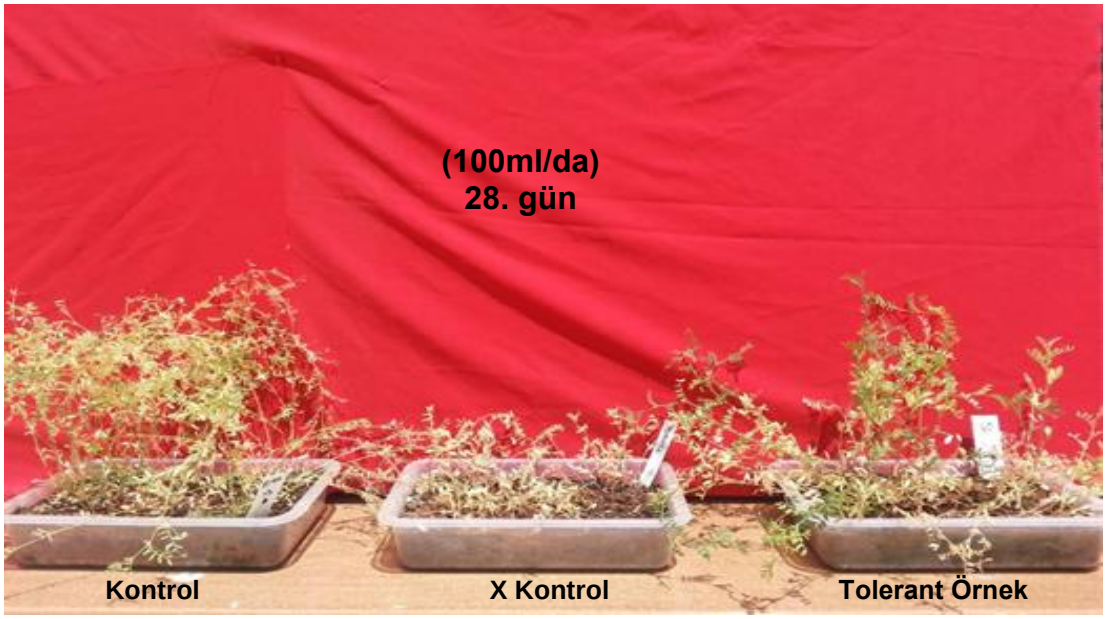
Uygulama yapılmasından 28 gün sonra bitki boyları ölçülerek kaydedilmiş ve yine tolerant olarak tespit edilen örnek diğer hassas olarak belirlenen örnekler ile karşılaştırılmıştır (Şekil 4.27.).



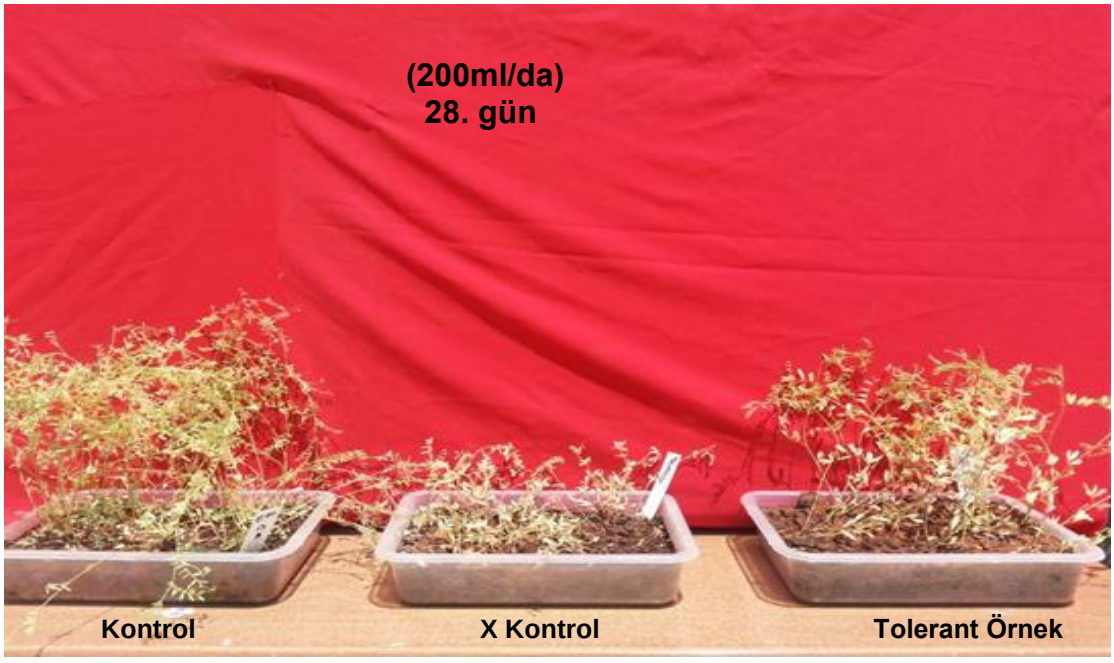
Şekil 4.18. Tolerant örneğin 28. Gün Boy Ölçüm Değerleri

Grafiklerden de anlaşılacağı üzere tolerant bulunan örnek diğer tüm örneklere göre her iki dozda da imazamox herbisitine karşı tolerant olarak gözükmüştür. 28. Gün

sonunda kontrollerle karşılaştırıldığında 100 ml/da uygulama dozunda ve 200 ml/da uygulama dozunda farklar gözükmektedir (Şekil 4.31., Şekil 4.32.).



Şekil 4.19. Tolerant örneğin 100ml/da doz uygulamasının kontrolle karşılaştırılması



Şekil 4.20. Tolerant örneğin 200ml/da doz uygulamasının kontrolle karşılaştırılması

4.6. Serada 100 ve 300 ml/da Dozda İmazamox Uygulama Çalışmaları

Denemede 4 adet bitki farklı viyolde ekilerek büyütülmüş (Şekil 4.33.) ve bitkiler 4-6 yapraklı dönme geldiklerinde imazamox herbisitinin önerilen dozu 100ml/da ve 3 katı olan 300 ml/da dozda uygulama yapılmıştır (Şekil 4.34.) Uygulama sonucunda her iki tekerrürde de imazamox uygulamasından etkilenmeyen örnekler ayrıca test edilmek üzere denemeye alınmıştır. Çalışma iki defa tekrar edilmiştir. Ekimler her küvete 25'er adet tohum olacak şekilde yapılmış olup, bitkiler 4-6 yapraklı geldiklerinde imazamox uygulanmıştır. Çalışmada 10mM konsantrasyonu uygulanan bitkiler mutajenin olumsuz etkisinden dolayı denemelerden çıkartılmış ve sadece 5mM konsantrasyon mutajenle muamele edilmiş bitkiler test edilmiştir.

İlaçlama sonrasında herbisit uygulamasından etkilenmeyen bitkiler saksılara alınarak tohum alınıncaya kadar yetiştirilmişlerdir. Daha sonra tohum bağlayan bitkiler hasat edilerek bir sonraki çalışmada yine herbisit uygulaması sonrasında gelişimleri gözlenmiştir. Bu sayede her hangi bir olumsuz durumun (ilaçtan kaçış gibi) ortadan kaldırılması hedeflenmiştir.



Şekil 4.21. Tarla denemesinde tolerant görülen bitkilerin serada yetiştirilmesi



Şekil 4.22. Tarla denemesinde herbisite tolerans gösteren bitkilerin sera koşullarında 300ml/da dozunda herbisit uygulaması



Şekil 4.23. İmazamox Herbisitinden Etkilenmeyen ve Etkilenen Bitkilerin görüntüsü

İlaçlamadan 14 gün sonra ilk kontrolleri yapılmıştır ve % olarak etkilenme oranları kaydedilmiştir. 1. gün kontrolünden yaklaşık 10 gün sonra bunlardan sadece 1 adet bitki etkilenmediği belirlenmiş bunun dışındakilerin ise öldükleri belirlenmiştir, (Şekil 4.35.). Bu tek bitki tohum elde etmek amacı ile saksılara şaşırtılmış diğer örnekler denemeye alınmamıştır (Şekil 4.34.). Saksıya alınan bitkilerin tohum bağlaması beklenmiş (Şekil 4.35.) ve tohumları hasat edilerek tekrar testlenmiştir.



Şekil 4.24. Uygulamadan etkilenmeyen örneklerin saksıya şaşırtılması



Şekil 4.25. Tolerant Görülen Hatların Saksıya Şaşırtılması ve Tohumları

4.7. Elde edilen tolerant bitkinin Imazamox Herbisitinin Önerilen Dozu (100ml/da) ve Önerilen Dozunun Katları (200ml/da, 300ml/da, 400ml/da,500ml/da) İle Testlenmesi

Tarla denemesinde Imazamox Herbisit ile muamele edilerek tolerans gösteren bireylerin tohumları kullanılmıştır. Elde edilen tohumlar ekilmiştir. Kontrol olarak Fırat 87 kullanılmıştır. İmazamox Herbisitinin Önerilen Dozu (x) 100ml/da, bu dozun

iki katı (2x) olan 200ml/da, önerilen dozun üç katı (3X) 300ml/da, dört katı (4x) 400ml /da ve beş katı (5X) 500 ml/da kullanılmıştır. % olarak etkilenme oranları kaydedilmiştir. Hasat edilen bitkilerin kuru ağırlıkları ölçülmüştür

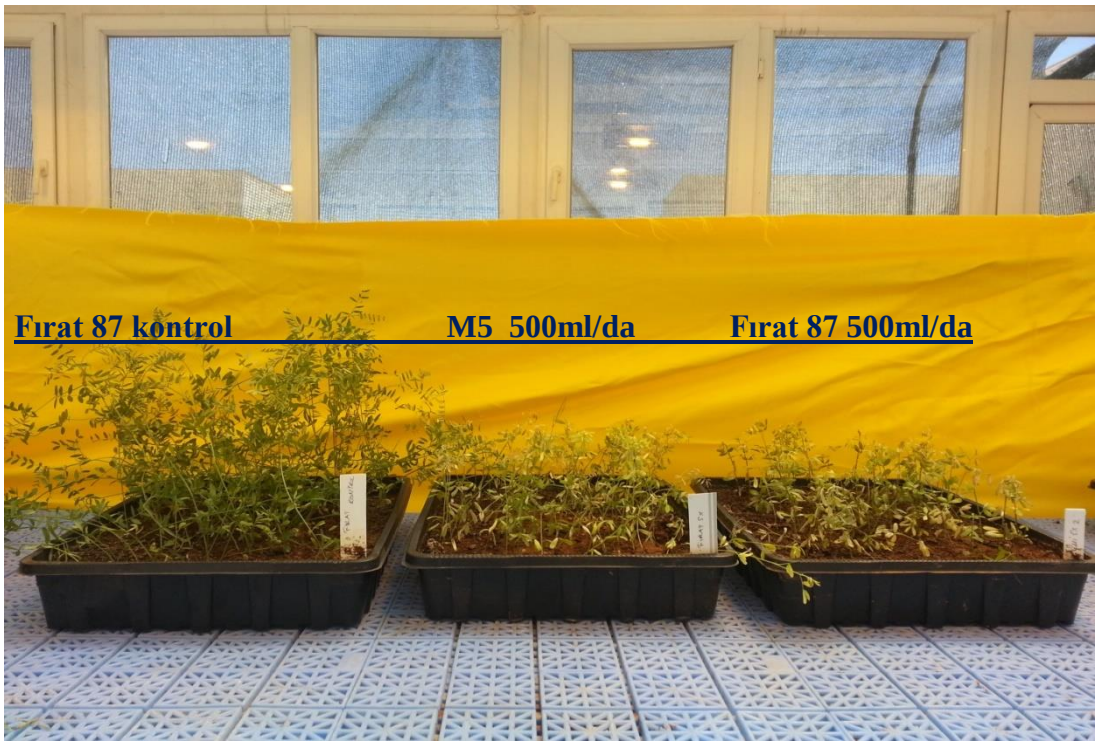
Hasad edilen bitkilerden elde edilen tohumlar (M5 tohumları) serada ekilerek yetiştirilmiş ve bitkiler 4-6 yapraklı döneme ulaştıklarında, 100 ml/da , 200ml/da, 300ml/da ,400ml/da ve 500ml/da dozlarda imazamox herbisiti uygulanmıştır. İmazamox herbisitinin önerilen dozu olan 100ml/da X ile, önerilen dozun iki katı olan 200ml/da 2X ile, , önerilen dozun üç katı olan 300ml/da 3X ile, önerilen dozun dört katı olan 400ml/da 4X ile, önerilen dozun beş katı olan 500ml/da 5X ile temsil edilmiştir.

Deneme sera koşullarında kurulmuştur. Paralel olarak iki adet deneme kurulmuştur. 3 tekerür olarak kurulan denemelerde İmazamox herbisitinin önceden belirtilen dozları kullanılmıştır. Hem M5 generasyonu bitkiler hem de Fırat 87 kırmızı mercimek çeşidi bitkiler aynı dozlarda muamele edilmiştir. Serada ekimi yapılan tohumlar uygulama yapmak için gerekli olgunluğa geldiğinde İmazamox herbisitinin önerilen dozu olan 100ml/da (X) ile, önerilen dozun iki katı olan 200ml/da (2X) ile, önerilen dozun üç katı olan 300ml/da (3X) ile, önerilen dozun dört katı olan 400ml/da (4X) ile, önerilen dozun beş katı olan 500ml/da (5X) ile muamele edilmiştir.

Uygulamadan 28 gün sonra % simptom olarak zararlanma simptoları kaydedilmiş ve örnekler alınarak kuru ağırlıkları tartılmıştır.



Şekil 4.26. İmazamox uygulanmış Fırat 87 ve M5 generasyonu ile uygulama yapılmamış Fırat87 çeşidinin karşılaştırması



Şekil 4.27. İmazamox uygulanmış Fırat 87 ve M5 generasyonu ile uygulama yapılmamış Fırat87 çeşidinin karşılaştırması



Şekil 4.28 İmazamox uygulanmış Fırat 87 ve M5 generasyonu ile uygulama yapılmamış Fırat87 çeşidinin karşılaştırması

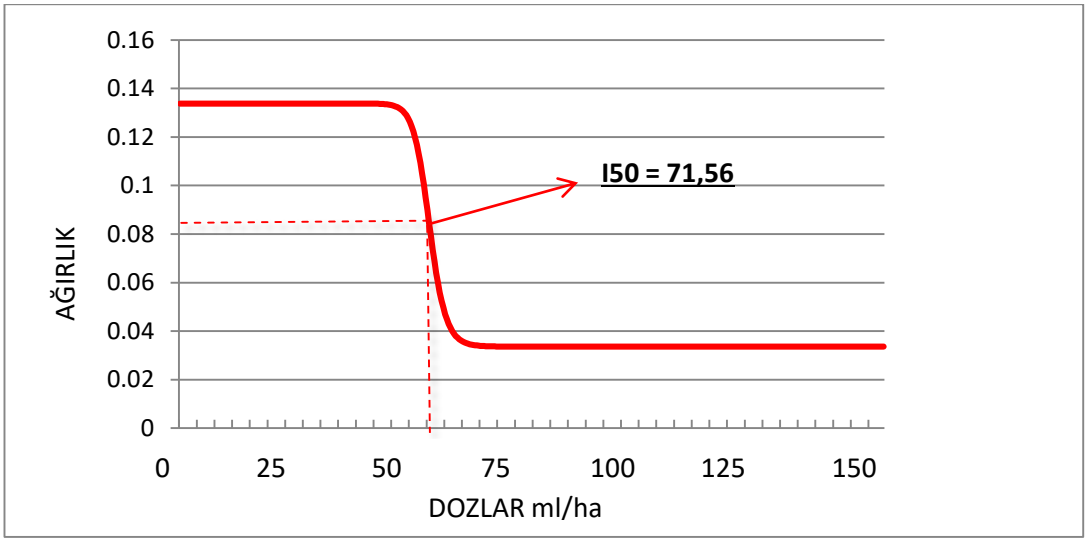


Şekil 4.29. İmazamox uygulanmamış Fırat 87 ve uygulama yapılan M5 generasyonunun uygulama dozlarının karşılaştırılması

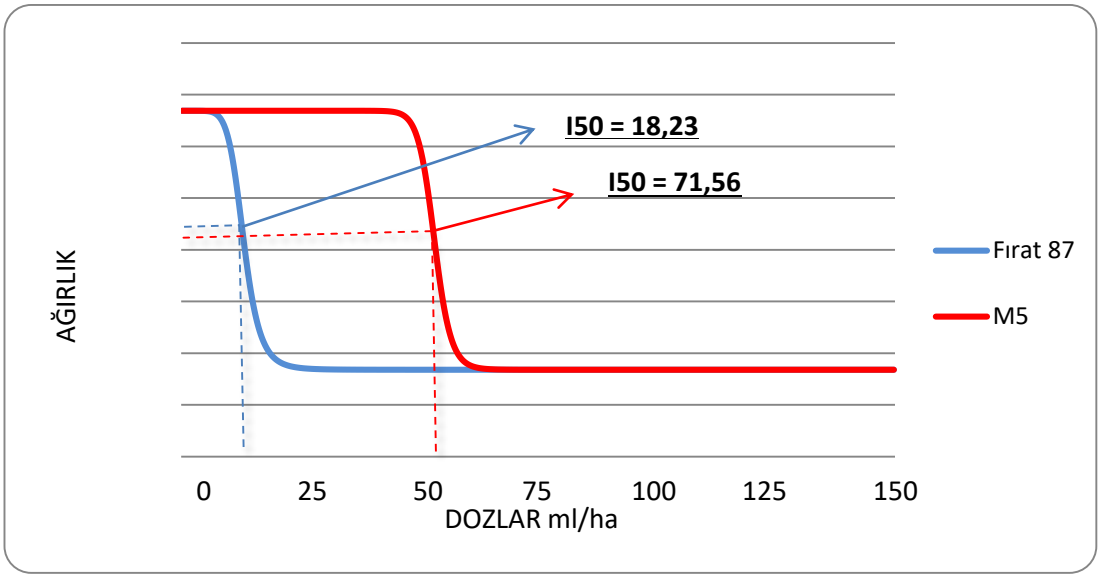


Şekil 4.30. İmazamox uygulanmamış Fırat 87 ve uygulama yapılan Fırat 87 çeşidinin uygulama dozlarının karşılaştırılması

Her saksıdan alınan örnekler tartılmıştır ve M5 generasyonu için doz-tepki eğrisi için SAS istatistik analiz programı Log-lojistik regresyon formülü kullanılarak I50 (popülasyonun yarısını zararlandıran doz) değeri bulunmuştur.



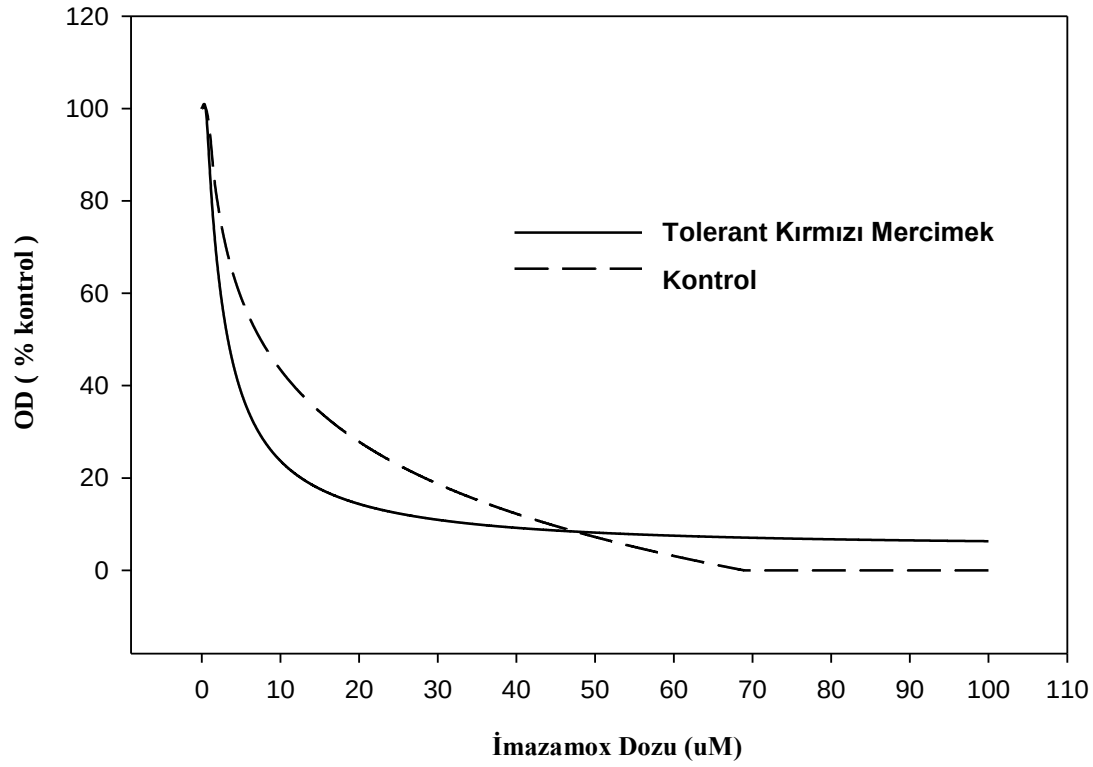
Şekil 4.31. M5 generasyonunun doz-tepki eğrisi ve I50 değeri



Şekil 4.32. M5 generasyonunun ve Fırat 87 çeşidinin doz respons eğrilerinin karşılaştırması ve I50 değerleri

4.8. Acetolactate Sentez Aktivitesi'nin (ALS) Belirlenmesi

ALS deneyi göstemiştir ki imazamox konsantrasyonu arttıkça tolerant kırmızı mercimek optikal yoğunluk değerleri (OD) hızlı bir şekilde azalmıştır. ALS aktivitesinin %50 inhibasyonu tolerant kırmızı mercimek için 8.38 olarak hesaplanırken kontrol için 7.21 hesaplanmıştır (Şekil 4.45.)



Şekil 4.33. ALS Enzim Aktivitesinin İmazamox Herbisit Dozlarına Göre Değişimi

Kültür Bitkilerinin herbisitlere karşı direnci, esas olarak hedef bölgenin değişmesinden veya herbisitin metabolik detoksifikasyonun da kaynaklanmaktadır. Genetik modifikasyon ile bu mekanizmalardan biri geliştirerek, kültür bitkilerinde herbisit direnci sağlanabilir. IMI- Tolerant kültür bitkileri , transgenik bitkiler değillerdir. Clearfield® markası ile kullanıma sunulmuşlardır. İmidazolinonlara direnç sağlayan basit mekanizmalar laboratuarda taranabilirken, karmaşık direnç mekanizmaları saksılarda veya tarla koşullarında değerlendirilebilir

Theologidoua ve ark (2016) Yunan Mercimeğinde yaptıkları benzer çalışmada laboratuvar ve tarla koşullarında herhangi bir tolerant genotip görülmediğini belirtmektedir. Bu çalışma sonucunda kullanılan ‘’Fırat 87’ çeşidinden elde edilen M5.genotipinin imazomox herbisitine tolerant olmasını sağlayan gen taşıdığı anlaşılmıştır. Bu genotip ile yapılacak ilerki çalışmalarda imazamoxa tolerantlık sağlayan mekanizmanın tespit edilmesi ve ıslah yolları ile bu mekanizmaya sahip bir çeşit geliştirilmesi mümkündür. Günümüxde özellikle yabancı otlarda ALS inhibitörü

herbisitlere karşı oluşan dirence karşı, yeni seçici herbisitlerin geliştirilmesi ve pazarda yer edinmesi gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır. Bu sorunlar göz önünde bulundurulduğunda IMI- tolerant çeşitlerin kullanılması herbisitlerin tescilinde meydana gelen zorlukların üstesinden gelmede başarılı bir yöntem olabilecektir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Mercimek, küçük yapılı olması, yabancı otlarla güçlü rekabet edememesi ve kısıtlı su koşullarında yetiştirildiğinden, yabancı otlanmadan kaynaklanan verim kayıpları, yabancı ot tür ve yoğunluğuna bağlı olarak %60 ile %100 arasında değişebilmektedir, Yabancı otlardan kaynaklanan yüksek orandaki verim kayıplarının önlenmesi açısından çalışmadan elde edilen sonuçlar ülke ekonomisine önemli katkı sağlayacaktır.

Yabancı otlarla mücadelede alternatif çözüm olarak imidazolinone herbisitlere toleranslı clearfield ürünler yetiştirmektir. Bu herbisitlerin sorun olan birçok dar ve geniş yapraklı yabancı ot türüne karşı kullanılabilmesi, çok düşük dozlarda yüksek etki gösterebilmesi ve çevreye en az düzeyde zararlı olmaları nedeniyle iyi bir çözüm sunmaktadırlar. Çalışma ileride diğer kültür bitkilerinde sorun olan yabancı otlara karşı benzer yöntemlerle mücadele imkanı sağlaması açısından kaynak olması nedeniyle önem arz etmektedir.

Birçok önemli yabancı ot türünde son dönemde ALS inhibitörü herbisitlerine karşı yaygın bir direnç görülmektedir. ALS grubu herbisitlere karşı 2021 yılı sonuna kadar dünya genelinde 191 yabancı ot türünde dayanıklılık vakası tespit edilmiş ve bu rakam artmaya devam etmektedir (Heap, 2021). Herbisit kullanımında ruhsatlı ve uygun dozların uygulanması gerekmektedir. Böylece hem kültür bitkisinde meydana gelebilecek fitotoksite hem de yabancı otlarda ortaya çıkabilecek direnç sorunları engellenmiş olacaktır. Geniş ve dar yapraklı yabancı otlara karşı mücadele tek bir uygulamayla yapılmış olacak ve bu sayede tarla işleme azaltılarak enerji tasarrufu elde edilip CO2 salınımının düşürülmesi (Ali ve ark., 2014) yetiştiricilik yönetimi kolaylığı ve esnekliği sağlayabilecektir. Yabancı otlarda herbistilere karşı direnç sorununa karşı yeni seçici etkili maddelerinin geliştirilmesi ve herbisitlerin pazarda yer edinmesi gibi sorunlar ortaya çıkmaktadır. Yeni ticari herbisitlerin tescilinde bu anlamda meydana gelen zorlukların aşılmasında imi-tolerant bitkilerin kullanımının başarılı bir yöntem

olabileceği düşünülmektedir. Yabancı ot mücadele problemine alternatif bir çözüm sunmasıyla yeni bir tekniktir (Prakash ve ark., 2020)

Çalışmanın ülkemizde kırmızı mercimekte yabancı ot mücadelesine hem üreticiler hemde bilim adamlarına kaynak açısından katkı yapması beklenmektedir.

Elde edilen tolerant hat daha ileri derecede tolerant hatlar elde edilmesi için yapılacak çalışmalara kaynak olarak kullanılacaktır. Bitki ıslahı yöntemleri ile imazamox herbisitine tolerant saf hatların elde edilmesi için gerekli olan ana laynağı oluşturmaktadır.

Mercimek tarımında en büyük sorun olan yabancı otların kontrolünde herbisitlerin kullanılması, mercimeğin herbisitlere karşı hassas olmasından dolayı mümkün olmamaktadır. Elde edilen tolerant çeşit ile ilerideki dönemlerde mercimek üretiminde yabancı otlarla mücadelede herbisit kullanımı mümkün hale gelecebilecektir.

Çalışamanın gelecekte sağlayacağı faydalar

1. Mercimekte yabancı ot kontrolünde herbisit kullanımının sağlanması
2. İleri generasyonlar devam ettirilerek imi-tolerant ticari mercimek geliştirilmesi.
3. Spesifik mutasyonlar tespit edilerek yerli ve milli çeşit geliştirilmesi devam edecek olan çalışmalar ile sağlanabilecektir

KAYNAKLAR

AKTAR, S., HOSSAIN, M. A., SIDDIKA, A., NAHER, N.,and AMIN, M.R. (2013). Efficacy of herbicides on the yield of lentils (Lens culinaris Medik). The Agriculturists, 11(1): 89-94.

ALİ, M. A., REHMAN, I., IQBAL, A., DİN, S., RAO, A. Q., LATİF, A., HUSNAİN, T., 2014. Nanotechnology, a newfrontier in Agriculture. Adv life sci, 1(3), 129-138

AL-THAHABI, SA., YASIN, J. Z., ABU-IRMAILEH, B. E., HADDAD, N.I., and SAXENA M.C. (1994). Effect of weed removal on productivity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and lentil (*Lens culinaris* Med.) in a Mediterranean environment. J. Agron Crop Sci. 172(5), 333-341

BALL D. A., A. G. OGG. JR., AND P. M. CHEVALIER, 1997. The influence of sedling rate on weed control in small-red lentil (*Lens Culinaris*). Weed Science 45, 296-300.

BUKUN B, B.H. GULER, 2005. Densities and importance values of weeds in lentil production. Int. J. Bot. 1: 15-18.

BUKUN, B., NISSEN, S. J., SHANER, D. L., and VASSIOS, J. D. (2012). Imazamox absorption, translocation, and metabolism in red lentil and dry bean. *Weed science*, *60*(3), 350-354.

CHANT S., J. BERTHOLET, M. KUCHURAN, R. HOLM AND B. VANDENBERG, 2009. Development of Imidazolinone Tolerant Lentil Varieities. www.ssca.ca/conference/conference2006/Chant.pdf

CUBERO, J. I., PÉREZ, D. L. V., and FRATINI, R. (2009). Origin, phylogeny, domestication and spread. In W. Erskine, F. Muehlebauer, A. Sarker and B. Sharma (Eds.), The Lentil: Botany, Production and Uses (13-33). CABI Wallingford.

DELCHEV, G. (2022). Efficacy of herbicides, herbicide combinations and herbicide tank mixtures on lentil (Lens culinaris Medik.). *Agricultural Science and Technology (1313-8820)*, *14*(3).

FAOSTAT. 2022. The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database.

GAUR, P.M., JUKANTI, A.K., SAMINENI, S., CHATURVEDI, S.K., SINGH. S., TRIPATHI, S., SINGH, I., SINGH, G., 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 3:524–36

GRAY, J., SHATTUCK, J., BRADFORD, K., 2010. Herbicide Tolerance in Agricultural Crops, Biotechnology for Sustainability, https://ucanr.edu/sites/sbc/files/191417.pdf

GRESSEL J, 2002. Molecular biology of weed control, Taylor & Francis,London.

GREWAL, S. K., GILL, R. K., KAUR VIRK, H., & BHARDWAJ, R. D. (2022). Impact of post-emergent imazethapyr on morpho-physiological and biochemical responses in lentil (Lens culinaris Medik.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *28*(9), 1681-1693.

HALILA MH. 1995. Status and potential of winter-sowing of lentil in Tunisia. In: Proceedings of the Workshop on Towards Improved Winter-sown Lentil

Production for the West Asia and North African Highlands, December 12-13, 1994, Antalya, Turkey
HANSON BD, THILL DC (2001) Effects of imazethapyr and pendimethalin on lentil (Lens culinaris), pea (Pisum sativum), and a subsequent winter wheat (Triticum aestivum) crop. Weed Technology 15, 190–194. doi:10.1614/0890-037X(2001)015[0190:EOIAPO]2.0.CO;2
HANSON, B. D., D. L. SHANER, P. WESTRA, and S. J. NISSEN, 2006. Response of selected hard red wheat lines to imazamox as affected by number and location of resistance genes, parental bacground, and growth habit. Crop Sci. 46: 1206-1211.
HEAP, I., 2021. The International Herbicide-Resistant Weed Database. http://www.weedscience.org/Pages/SOASummary.aspx
KANTAR F, ELKOCA E, ZENGIN H. 1999. Chemical and agronomical weed control in chickpea (Cicer arietinum L. cv. Aziziye-94). Turk J Agric For. 23:631–635
KNEZEVİC, S. Z., CASSMAN, K. G., 2003. Use of herbicide- tolerant crops as a component of an integrated weed management program. Crop Management, 2(1), 1-7.
KUMAR A, NANDAN R, PANDEY I AND PATIL S, 2018. Weed dynamics and performance of lentil as affected by weed management practices under rainfed conditions. Indian Journal of Weed Science, 50, 46-50.
MANABE, Y., TINKER, N., COLVILLE, A., MIKI, B. 2007 CSR1, the Sole Target of Imidazolinone Herbicide in *Arabidopsis thaliana.* Plant and Cell Phisology., 48:1340-1358
MCMURRAY LS (2019) Improving metribuzin tolerance in lentil (Lens culinaris). PhD Thesis, University of Adelaide, School of Agriculture, Food and Wine, Adelaide, SA, Australia
NAIDU, V. S. G. R., RANGANATH, A. R. G., 2011. Herbicide Tolerant Crops Emerging Tool in Weed Management. pp. 173, 173.
NEWHOUSE, K. E., SHANER, D. L., WANG, T., FİNCHER, R., 1990. Genetic modification of crop responses to imidazolinone herbicides.
OLSEN, O., X. WANG and D.V. WETTSTEIN, 1993. Sodium azide mutagenesis: Preferential generation of AT -> GC transitions in the barley Antl8 gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 90, pp. 8043-8047.
PAJIC, V. (2019). Genetıcs Of Group 14 Herbıcıde Tolerance In Lentıl (*Doctoral dissertation, University of Saskatchewan*).
PANWAR, G. S., CHOUDHURY, S. R., KUMAR, S., KUMAR, A., YADAV, A., SINGH, R. G., and SINGH, S. (2017). Herbicides for weed management in lentil under rainfed drought prone ecology of Bihar. *Indian Journal of Weed Science*, *49*(4), 350-355.
PRAKASH, N. R., CHAUDHARY, J. R., TRİPATHİ, A., JOSHİ, N., PADHAN, B. K., YADAV, S., KUMAR, R., 2020. Breeding for herbicide tolerance in crops: a review
RAO, V. S., Prenciples of weed science. 2nd ed. Science publishers, Inc, NH, USA. Pp-555.
READE, J. P. H., COBB, A. H., 2002. Herbicides: Modes of Action and Metabolism. Weed Management Handbook.
RIZWAN, M. et al. (2015) Development of herbicide resistant crops through induced mutations. Advances in Life Sciences 3, 1–8.

RIZWAN, M. et al. (2017) Pre-breeding of lentil (Lens culinaris Medik.) for herbicide resistance through seed mutagenesis. PLoS ONE 12(2), e0171846.

SHANER D. L., BACSOMB N.F. and W. SMITH, 1996. Imidazolinone resistant crops: selection, characterization and management in herbicide resistant crops, ed by Duke S. O, CRC Press, Boca Raton, pp143-157.

SHARMA, S., AGRAWAL, S. K., PATIL, S., SINGH, S., KAUR, J., GILL, R.K., AGGARWAL, N., KUSHWAH, A., 2018. Genetic Variation for Tolerance to Herbicide Imazethapyr in Lentil (Lens culinaris Medik.). Archives of Agronomy and Soil Science, 64(13), pp. 1818-1830.

SHARMA, S., SINGH, S., AGGARWAL, N., KUSHWAH, A., AND KUMAR, S. 2017 .Biochem. Cell. Arch. Vol. 17, No. 1, pp. 49-56,

SINGH, S., SHARMA, S. R., GILL, R. K., and KUMAR, S. (2021). Induced variation for post-emergence herbicide tolerance in lentil. In *Mutation breeding, genetic diversity and crop adaptation to climate change* (pp. 220-225). Wallingford UK: CABI.

STIDHAM MA. 1991. Herbicides that inhibit acetohydroxyacid synthase. Weed Sci. 39:428– 434.

TAN S, EVANS RR, DAHMER ML, SINGH BK and SHANER DL. (2005). Imidazolinone-tolerant crops: history, status, and future. Pest Management Science. 61:246-257. doi: 10.1002/ps.993 PMID: 15627242

TARAN B, HOLM F, BANNIZA. 2013. Response of chickpea cultivars to pre- and post-emergence herbicide applications. Can J Plant Sci. 93:279–286.

TECLE, B., A. D. CUNHA AND D.L. SHANER. 1993. Differantial routes of metabolism of imidazolinones: basis for soybean (*Glycine max*) selectivity. Pesticide Biochem Physiol 46:120-130.

TEPE I, ERMAN M, YAZLIK A, LEVENT R, IPEK K. 2005. Comparison of some winter lentil cultivars in weed–crop competition. Crop Prot. 24:585–589.

THEOLOGİDOU, G. S., TSİALTAS, J. T., KALOUMENOS, N., and ELEFTHEROHORİNOS, I. G. (2016). From Petri dish to field: testing Greek lentil accessions for imazamox tolerance. International Journal of Plant Production 10(3): 265-274

TSAFTARİS, A., 1996. The development of herbicide-tolerant transgenic crops. Field Crops Research, 45(1-3), 115- 123.

VENCİLL, W. K. 2002. Herbicide hand book. Weed Science Society of America. pp. 493

YADAV R, VIVEK B, SINGH R AND YADAV K, 2013. Weed management in lentil. Indian Journal of Weed Science, 45, 113-119

YADURAJU NT, MISHRA JS. 2005. Weed management. In: Singh, G, Sekhon, HS, Kolar, JS, editors. Pulses. Udaipur (India): Agrotech Publishing Academy; p 359-373

YENISH JP, BRAND J, PALA M, HADDAD A. 2009. Weed Management. In: Erskine, W, Muehlbauer, FJ, Sarker, A, Sharma, B, editors. The lentil: Botany, Production and Uses. Wallingford (UK): CAB International.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : EnginYÜCEL
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Adıyaman- 1975
Telefon :
Faks :
e-mail : eyucel@harran.edu.tr

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise :	Şanlıurfa Anadolu Lisesi	1993
Üniversite :	Akdeniz Üniversitesi	2000
Yüksek Lisans :	Çukurova Üniversitesi	2004
Doktora :	Harran Üniversitesi	2023

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2002	Harran Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

UZMANLIK ALANI

Herboloji

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR