

T.C.

İSTANBUL KÜLTÜR ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE’DE EKİMİ YAYGIN OLARAK YAPILAN ÇELTİK ÇEŞİTLERİNDE
İMİ HERBİSİT TOLERANSLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SELİM SERDAR

2000006359

Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Programı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Alp AYAN

TEMMUZ 2025

T.C.

İSTANBUL KÜLTÜR ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE'DE EKİMİ YAYGIN OLARAK YAPILAN ÇELTİK ÇEŞİTLERİNDE
İMİ HERBİSİT TOLERANSLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SELİM SERDAR

2000006359

Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Programı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Alp AYAN

Jür: Prof. Dr. Çimen ATAĞ

Prof. Dr. Özgür ÇAKIR

TEMMUZ 2025

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, lisansüstü öğrenimim süresince edindiğim bilgi ve deneyimlerin bir ürünü olup, bilimsel araştırma ve akademik gelişim sürecime önemli katkılarda bulunmuştur. Çalışmam boyunca edindiğim veriler, yalnızca akademik bir gerekliliği yerine getirmekle kalmamış; aynı zamanda araştırma becerilerimi geliştirmeme, sabır, disiplin ve kararlılıkla çalışma alışkanlığı kazanmama katkı sağlamıştır. Tez çalışmamın her aşamasında bana yol gösteren, bilgi ve tecrübeleriyle yönlendiren, eleştirel yaklaşımıyla bilimsel bakış açımı geliştirmemde büyük pay sahibi olan değerli danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Alp AYAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Kendisinin rehberliği, bu çalışmanın bilimsel bir zemine oturmasında büyük rol oynamıştır.

Çalışmalarım sırasında laboratuvar olanaklarını benimle paylaşan, her türlü bilimsel ve teknik konuda desteğini esirgemeyen T.C. İstanbul Kültür Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü akademisyenlerine; lisans öğrencilerinden Eylül KOÇ ve özellikle laboratuvar uygulamalarında hep yanımda olan sürekli beni motive etmeye çalışan, Ece SEZERLER'e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her koşulda yanımda olan, sevgileri, sabırları ve destekleriyle bana güç veren sevgili eşim Tülay SERDAR'a sonsuz teşekkür ederim.

Temmuz, 2025

Selim SERDAR

ÖNSÖZ.....	i
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	vii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	viii
ÖZET.....	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	4
2.1. Çeltik (<i>Oryza sativa</i> L.).....	4
2.1.1. Clearfield (CL) Çeltik	7
2.2. Bitkilerde Stres.....	10
2.2.1. Abiyotik Stres Faktörleri.....	11
2.2.2. Biyotik Stres Faktörleri.....	15
2.2.2.1. Çeltik Beyaz Uç Nematodu (<i>Aphelenchoides besseyi</i>)	16
2.2.2.2. Funguslar.....	16
2.2.2.3. Çayır Sineği (<i>Tipula orientalis</i> Laskchewitz).....	18
2.2.2.4. Tepegöz (<i>Triops concolorformis</i> Bosc.)	18
2.2.2.5. Çeltik Kulak Böceği (<i>Leptocoris oratoria</i>).....	19
2.2.2.6. Sarı Cüce Virüsü	19
2.2.2.7. Çekirgeler.....	20
2.2.2.8. Çeltik Tarımının Yapıldığı Alanlarda Gelişen Yabancı Otlar	20
2.3. Herbisitler	24
2.3.1. Herbisit Çeşitleri ve Etki Mekanizmaları	24
2.3.2. İmidazol (IMI) Grubu Herbisitler	30
2.3.3. ALS ve NAL1 Genlerinin Bitki Gelişimi Üzerindeki Etkileri	32
2.3.4. IMI Grubu Herbisitler ile AHAS Enzimi Arasındaki Etkileşim.....	33
2.3.5. AHAS Gen Mutasyonu ve İmidazol Toleransı.....	35
2.4. Bitkilerde Oksidatif Stres ve Serbest Oksijen Türleri	39
2.5. Bitkilerde Antioksidan Savunma Sistemleri	42
2.5.1. Enzimatik Olmayan Savunma Mekanizması	42
2.5.2. Enzimatik Olan Savunma Mekanizması.....	43
3. MATERYAL ve METOD	45
3.1. Bitki Materyalinin Seçilmesi	45
3.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi.....	45
3.3. Çeltik Çeşitlerinde İmazamoks Herbisit Toleransının Belirlenmesi	47
3.4. Biyokimyasal Analizler	48
3.4.1. Lipid Peroksidasyon Tayini.....	48
3.4.2. Fotosentetik Pigment Miktarı Tayini.....	48
3.5. Çeltik Çeşitlerinde İmazamoks Herbisiti Etkisine Bağlı ALS Gen Anlatım Farklarının Analizi	49
3.5.1. Total RNA İzolasyonu	49

3.5.2. RNA Örneklerinin AgaroZ Jel Elektroforezleri	50
3.5.3. cDNA Sentezi	50
3.5.3. qRT-PZR Analizleri.....	52
3.6. İstatistiksel Analizler	53
4. BULGULAR.....	54
4.1. Çeltik Çeşitlerinde İmazamoks Herbisit Hassasiyetinin Belirlenmesi.....	54
4.2. Herbisit Uygulamasının Bitki Gelişimine Etkisi	55
4.3. Biyokimyasal Analizler	58
4.3.1. Lipid Peroksidasyon Analizi.....	58
4.3.2. Fotosentetik Pigment Miktarı Tayini.....	59
4.3.3. ALS ve NAL1 Genlerinin Anlatım Profillerinin Belirlenmesi.....	62
5. TARTIŞMA	65
KAYNAKLAR	71



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Çeltik tohumunun anatomik yapısı [29].	5
Şekil 2.2 Çeltik çiçeğinin anatomik yapısı [29].	6
Şekil 2.3 Çeltik, CL121 ve CL141 geliştirilmesi; (A) etil metansülfonat (EMS) uygulaması ile mutasyona uğratılmış AS3510 (M ₀) tohumlarının geliştirilmesi sağlanmıştır, (B) Mutasyona uğratılmış AS3510'un M ₂ tohumları üretmek üzere kendi kendine tozlaşmasına izin verilmiştir, (C) M ₂ fideleri imazetapir püskürtülerek hayatta tek başına kalan 93-AS3510 elde edilmiştir. İmazetapire toleranslı olan 93-AS3510 mutanları ata çeltikler olarak sırasıyla Cocodrie ve Maybelle ile hibridizasyon yoluyla CL121 ve CL141 çeşitleri elde edilmiştir [32].	8
Şekil 2.4 Abiyotik stres faktörlerine karşı bitki cevaplarının dinamikleri [44].	13
Şekil 2.5 İmidazol herbisitler; imizapir: R=H, imizapik: R=CH ₃ , imazetapir: R=CH ₃ -CH ₂ , imazamoks: R=CH ₃ -O-CH ₂ [9].	31
Şekil 2.6 Dallı zincir amino asit biyosentez yolu ile AHAS enzimi tarafından katalize edilen reaksiyonlar [145].	32
Şekil 2.7 Arabidopsis thaliana' da AHAS enziminin kısmi amino asit dizilimi ile bitkilerde yaygın olarak görülen beş amino asit mutasyon konumu gösterilmiştir [9].	37
Şekil 4.1 IMI dirençsiz Osmancık-97 ile IMI toleranslı Reis CL, Yaprak CL, Değirmen CL, Ormanlı CL çeltik çeşitlerinde doz hassasiyetinin belirlenmesi	55
Şekil 4.2 Yetiştirilmiş Osmancık-97, Reis CL, Yaprak CL, Ormanlı CL, Değirmen CL kontrol ve stres bitkilerinin 29 günlük görüntüleri.	56

Şekil 4.3 Osmancık-97 ile IMI toleranslı Değirmen CL, Reis CL, Yaprak CL, Ormanlı CL çeltik çeşitlerinin kontrol ve %4,5'lik imazamoks uygulanan gruplarında ortalama bitki yaş ağırlıklarında meydana gelen değişimler (Farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar, 0,05 seviyesinde önemlidir)	57
Şekil 4.4 Osmancık-97 ile IMI toleranslı Değirmen CL, Reis CL, Yaprak CL, Ormanlı CL çeltik çeşitlerinin kontrol ve %4,5'lik imazamoks uygulanan gruplarında ortalama bitki boylarında meydana gelen değişimler (Farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar, 0,05 seviyesinde önemlidir).....	57
Şekil 4.5 %4,5 imazamoks uygulamasının Osmancık-97 ile IMI toleranslı Reis CL, Yaprak CL, Değirmen CL, Ormanlı CL çeltik çeşitleri lipid peroksidasyonu üzerine etkisi.	59
Şekil 4.6 %4,5 imazamoks uygulamasının Osmancık-97 çeltik çeşidinin fotosentetik pigment konsantrasyonları üzerine etkisi.....	60
Şekil 4.7 %4,5 imazamoks uygulamasının Reis CL çeltik çeşidinin fotosentetik pigment konsantrasyonları üzerine etkisi.....	60
Şekil 4.8 %4,5 imazamoks uygulamasının Yaprak CL çeltik çeşidinin fotosentetik pigment konsantrasyonları üzerine etkisi.....	61
Şekil 4.9 %4,5 imazamoks uygulamasının Değirmen CL çeltik çeşidinin fotosentetik pigment konsantrasyonları üzerine etkisi.....	61
Şekil 4.10 %4,5 imazamoks uygulamasının Ormanlı CL çeltik çeşidinin fotosentetik pigment konsantrasyonları üzerine etkisi.....	62
Şekil 4.11 RNA örneklerinin agaroz jel bant profilleri M: Markör, 1: Osmancık-97, 2: Osmancık-97 %4,5 imazamoks, 3: Reis CL, 4: Reis CL%4,5 5 imazamoks, 5: Yaprak CL, 6: Yaprak CL%4,5 5 imazamoks, 7: Değirmen CL, 8: Değirmen CL%4,5 5 imazamoks, 9: Ormanlı CL, 10: Ormanlı CL %4,5 5 imazamoks.....	63
Şekil 4.12 %4,5 imazamoks uygulamasının rölatif ALS gen ekspresyonu üzerine etkisi.	64

Şekil 4.13 %4,5 imazamoks uygulamasının rölatif ALS gen ekspresyonu üzerine etkisi.	64
---	----



TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Bitkilerde stres faktörleri [34].....	11
Tablo 2.2 Özgül reaksiyonlara göre herbisitlerin etki mekanizmaları [128].....	27
Tablo 2.3 Herbisit sınıfları, aktif maddeleri ve etki mekanizmaları [137].....	28
Tablo 2.4 Çeltikte IMI herbisitlere karşı AHAS enziminde amino asit direnci [172].	38
Tablo 3.1 Trakya Tarımsal Araştırma Enstitü'snden temin edilen çeltik çeşitleri ve tarımsal özellikleri.....	46
Tablo 3.2 Yoshida besin solüsyonu içeriği [225].....	47
Tablo 3.3 Kontrol grubu çeltik çeşitlerine göre cDNA sentezi tepkime karışımı bileşenleri ve hacimleri	51
Tablo 3.4 Stres grubu çeltik çeşitlerine göre cDNA sentezi tepkime karışımı bileşenleri ve hacimleri	51
Tablo 3.5 cDNA sentezi tepkime koşulları	52
Tablo 3.6 Kullanılan qRT-PZR primerlerine ait diziler ve T _m sıcaklığı	52
Tablo 3.7 qRT-PZR tepkime karışımı ve konsantrasyonları.....	53
Tablo 3.8 qRT-PCR Tepkime Koşulları.....	53

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
$O_2^{\cdot-}$	: Superoksit radikali
$OH^{\cdot-}$	: Hidroksil radikali
O_2^1	: Singlet oksijen radikali
H_2O_2	: Hidrojen peroksit radikali
A	: Absorbans
Δ	: Delta
Dk	: Dakika
g	: gram
kg	: kilogram
L	: Litre
Lux	: Lüks
m	: metre
cm	: Santimetre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
μL	: Mikrolitre
M	: Molar
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
pH	: Hidrojen iyon konsantrasyonu
rpm	: Dakikada döngü sayısı

Sn : Saniye
T_m : Erime sıcaklığı
V : Hacim
V : Volt
μA : Mikroamper
μg : Mikrogram



Kısaltmalar Açıklama

ALS	: Asetolaktat sentaz
AHAS	: Asetohidroksi asit sentaz
Bç	: Baz çifti
BM	: Birleşmiş Milletler (United Nations)
CAT	: Katalaz
cDNA	: Tamamlayıcı DNA (complementary DNA)
CL	: Clearfield
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Nukleozid trifosfat
dH ₂ O	: Distile su
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (Food and Agriculture Organization of United Nations)
HCl	: Hidroklorik asit
IMI	: İmidazol
MDA	: Malondialdehit
MÖ	: Milattan önce
mRNA	: Haberci RNA
NAL1	: Dar yaprak geni (Narrow leaf)
PEPCK	: Fosfoenolpiruvat karboksikinaz
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik asit
ROS	: Reaktif oksijen türevi (Reactive Oxygen Species)
SOD	: Superoksit dismutaz
T.C.	: Türkiye Cumhuriyeti
TA	: Taze ağırlık

TBA	: Thiobarbiturik asit
TBE	: Tris-borat EDTA
TCA	: Trikloroasetik asit
TAGEM	: Tarımsal Araştırma ve Politikalar Genel Müdürlüğü
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UN	: Birleşmiş Milletler (United Nations)
vb	: Ve benzeri
WHO	: Birleşmiş Milletler Dünya Sağlık Örgütü
yy	: Yüz yıl



Enstitü: Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik
Programı: Moleküler Biyoloji ve Genetik Tezli Yüksek Lisans
Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Alp AYAN
Tez Türü ve Tarihi: Yüksek Lisans-Temmuz 2025

ÖZET

TÜRKİYE’DE EKİMİ YAYGIN OLARAK YAPILAN ÇELTİK ÇEŞİTLERİNDE IMI HERBİSİT TOLERANSLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Selim SERDAR

Bu tez çalışmasında, ülkemizde yaygın olarak ekimi yapılan IMI toleranssız Osmancık-97 ile IMI toleranslı Yaprak CL, Değirmen CL, Reis CL ve Ormanlı CL çeltik çeşitlerinin, imazamoks etken maddeli IMI herbisite karşı gösterdikleri tolerans düzeyleri karşılaştırılması amaçlanmaktadır. Toleranslı ve toleranssız çeltik tohumları, T.C. İstanbul Kültür Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü’ne ait iklim odasında çimlendirilerek bitkiler elde edilmiştir. Deney grubu bitkilerine %1,5, %3, %4,5 ve %6 konsantrasyonlarında imazamoks uygulanmış, en etkili dozun %4,5 olduğu belirlenmiştir. Bu doz, gelişimin 25. gününde Yoshida besin çözeltisi ile toleranslı ve toleranssız bitkilere uygulanmıştır.

Hasat zamanı olarak belirlenen 29. günde (2-3’lü yapraklı evre), IMI toleranslı ve toleranssız çeltik bitkilerinin yapraklarında herbisit uygulamasına karşı oluşan biyokimyasal tepkileri değerlendirmek amacıyla, lipid peroksidasyonu (MDA düzeyi) ile fotosentetik pigment konsantrasyonları (klorofil-a, klorofil-b, toplam klorofil ve karotenoid) analiz edilmiştir. Bitki gelişimi ve morfolojik özelliklerin değerlendirilmesi için ise ortalama bitki boyu ve yaş ağırlıkları ölçülmüştür. Yaprak dokularından izole edilen RNA’lar kullanılarak, %4,5 imazamoks uygulamasına karşı OsALS ve OsNAL1 genlerinin anlatım profilleri qRT-PZR yöntemi ile belirlenmiştir. Lipid peroksidasyonu göstergesi MDA düzeyi tüm çeltik çeşitlerinde artmış, en yüksek değer 0,089 $\mu\text{mol.g}^{-1}\text{TA}$ ile Yaprak CL çeşidinde ölçülmüştür. Klorofil-a, klorofil-b ve toplam klorofil düzeyleri tüm çeşitlerde azalmıştır. Karotenoid düzeyi ise Ormanlı CL, Değirmen CL ve Yaprak CL çeşitlerinde sabit kalırken Osmancık-97 ve Reis CL’de düşmüştür.

OsALS gen anlatımı, Osmancık-97, Ormanlı CL ve Reis CL çeşitlerinde anlamlı şekilde azalmış, Değirmen CL’de değişmemiş, Yaprak CL’de ise 1,6 kat artmıştır. Benzer şekilde, OsNAL1 gen anlatımı Osmancık-97’de sabit kalmış, diğer üç çeşitte azalmış, Yaprak CL’de ise 1,4 kat artış göstermiştir.

Sonuç olarak, lipid peroksidasyonu, fotosentetik pigment düzeyleri ile OsALS ve OsNAL1 gen anlatımları değerlendirildiğinde, yalnızca Yaprak CL çeşidinin imazamoksa karşı etkin tolerans gösterdiği, diğer çeşitlerin ise bu özelliği yeterli düzeyde göstermediği belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Çeltik, IMI tolerans, ALS, qRT-PZR

Institute: Postgraduate School of Education
Department: Molecular Biology and Genetics
Program: Molecular Biology and Genetics Thesis Master's Degree
Thesis Advisor: Dr. Lecturer Alp AYAN
Thesis Type and Date: Master's Degree-July 2025

ABSTRACT

COMPARISON OF IMI HERBICIDE TOLERANCES IN RICE VARIETIES WIDELY PLANTED IN TURKEY

Selim SERDAR

This thesis study aims to compare the tolerance levels of IMI-resistant Osmancık 97 rice variety, which is widely planted in our country, with IMI-resistant Yaprak CL, Değirmen CL, Reis CL and Ormanlı CL rice varieties against IMI herbicide with the active ingredient of imazamox. Resistant and non-resistant rice seeds were germinated in the climate chamber of the Department of Molecular Biology and Genetics of Istanbul Kültür University and as a result plants were obtained. Imazamox was applied to the experimental group plants at concentrations of 1.5%, 3%, 4.5% and 6%, and the most effective concentration was determined to be 4.5%. This concentration was applied to resistant and non-resistant plants with Yoshida nutrient solution on the 25th day of development.

On the 29th day which was determined as the harvest time (2-3 leaf stage), the lipid peroxidation (MDA level) and the photosynthetic pigment concentrations (chlorophyll-a, chlorophyll-b, total chlorophyll and carotenoid) were analyzed in order to evaluate the biochemical responses to herbicide application in the leaves of IMI-resistant and non-resistant rice plants. The average plant height and fresh weights were measured to evaluate the plant development and morphological characteristics. Using RNAs, isolated from leaf tissues, the expression profiles of OsALS and OsNAL1 genes against 4.5% imazamox application were determined by qRT-PCR method.

The lipid peroxidation indicator MDA levels were increased in all rice varieties, the highest value was measured in Yaprak CL variety with 0.089 $\mu\text{mol.g}^{-1}\text{TA}$. Chlorophyll-a, chlorophyll-b and total chlorophyll levels decreased in all varieties. Carotenoid levels were not statistically changed in Ormanlı CL, Değirmen CL ve Yaprak CL varieties, while they were decreased in Osmancık-97 and Reis CL.

OsALS gene expression decreased significantly in Osmancık-97, Ormanlı CL and Reis CL varieties, did not change in Değirmen CL, and increased 1.6 fold in Yaprak CL. Similarly, OsNAL1 gene expression remained stable in Osmancık-97, decreased in the other three varieties, and increased 1.4 fold in Yaprak CL.

As a result, when the lipid peroxidation, the photosynthetic pigment levels and OsALS and OsNAL1 gene expressions were evaluated together, it was determined that only Yaprak CL variety showed effective resistance to imazamox, while other varieties did not show this feature at a sufficient level.

Key Words: Rice, IMI tolerance, ALS, qRT-PCR

1. GİRİŞ

İnsanlığın yerleşik yaşama geçmesinde tarımsal faaliyetlerin oldukça büyük önemi bulunmaktadır. Yapılan arkeolojik çalışmalar tarımın 10.000-12.000 yıl öncesinde başladığını, tarımla birlikte insanlığın yerli bitki örtüsü yerine kendi ihtiyaçlarına göre bitkileri tercih ederek ekosistemler üzerindeki etkisini artırdığı görülmektedir [1].

Poaceae familyasından olan çeltik (*Oryza sativa L.*) en eski kültürü yapılan tahıl bitkilerinden bir tanesidir. Su içinde çimlenebilen, kök yapısı sudaki çözünmüş oksijenden faydalanmayı sağlayacak şekilde farklılaşmıştır. Karbonhidrat bakımından oldukça zengin, sindirimi kolay proteine sahip; fosfor, demir, kalsiyum ile düşük oranda vitamin içeren tahıl ürünleri içerisinde buğdaydan sonra gelen önemli bir besin kaynağıdır [2]. Tahıllar, beslenme ve gıda endüstrisi açısından temel kaynaklar arasında bulunup; başta fermente içecekler, un, yağ ve çeşitli işlenmiş ürünler olmak üzere, çeşitli alanlarda hammadde olarak ve bu yönü açısından geniş bir kullanım alanına sahiptir.

Birleşmiş Milletler'in 2022 yılında yayımladığı rapora göre [3] dünya nüfusunun 2022'de 8 milyara, 2030'ta 8,5 milyara, 2050'de 9,7 milyar, 2100'de 10,4 milyara ulaşması beklenmektedir. Uluslararası alanda Birleşmiş Milletler ve Avrupa Birliği (AB), nüfus konusunda ülkeler arası karşılaştırılabilir istatistikler elde etmek için sonu "0" ile biten yıllara yakın yıllarda ülkelerin nüfus ve konut sayımı yapmalarını önermektedir. Bu kapsamda, Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) tarafından AB üyeleriyle uyumlu şekilde idari kayıtların temel alındığı "Nüfus ve Konut Sayımı (NKS)" gerekli yıllarda yapılmaktadır.

Cumhuriyetin ilk yıllarında 1927 yılında yapılan genel nüfus sayımına göre Türkiye nüfusu 13 milyon 648 bin 280 kişi, Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 8 Şubat 2024 raporuna göre Türkiye nüfusunun 2023 yılında 85 milyon 372 bin 377 kişiye ulaştığı belirlenmiştir [4]. Tahıl ve ülkemizde artan nüfus göz önünde bulundurulduğunda tahıl ürünleri ile çeltik tarımının önemi her geçen gün artacaktır. TÜİK 2024 bitkisel üretim verilerine göre tahıl ve diğer bitkisel ürünlerin üretimi 2021 yılında 61,7 milyon ton,

2022 yılında 68,2 milyon ton, 2023 yılında 77,7 ton çeltik üretiminin ise 2021 yılında tahıl ve diğer bitkisel ürünler arasında %1,6, 2022 yılında %1,4, 2023 yılında %0,66 olduğu belirlenmiştir [5].

Çeltik dünyada 7 milyar insanın yarısından fazlası için besin kaynağı olarak görev yapan önemli bir tahıl ürünüdür [6]. Küresel iklim değişikliği etkisiyle meydana gelen iklimsel değişimler çeltik bitkisinin gelişimini etkileyen birçok biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Çeltik üretiminde kuraklık, sel, su altında kalma, tuzluluk, sıcak ve soğuk gibi abiyotik stres faktörleri ürün kalitesinin düşmesine ve verim kaybına yol açmaktadır [7]. Çeltik gelişimini etkileyen diğer abiyotik faktörler arasında aşırı ışık seviyeleri (düşük veya yüksek), radyasyon (UV-A, UV-B), sıcaklık (ısı şoku veya donma), kimyasal faktörler (ağır metaller, pH, tuzluluk, gerekli makro ve mikro elementlerde yetersizlik), gaz kirleticileri (ozon, sülfür oksit), mekanik faktörler (kuvvetli rüzgâr) sıralanabilir. Bitki ekosistemlerine yerleşerek hızlıca çoğalan yabancı otlar bitki gelişimini etkileyen biyotik faktörlerin başında gelmektedir. Yabancı otlar, çeltik yetiştirilen bölgelerde mücadelesi zor biyotik faktörlerden bir tanesi olup mücadele edilmediği takdirde yetiştiricilik sistemlerine, çeltik çeşitlerine zarar verip yaklaşık %40'tan fazla verim kaybına yol açabilmektedir [8].

İklimsel koşulların değişmesi, dünyadaki ulaşım ağının genişlemesiyle istilacı türler ve yabancı otların yayılış alanları her geçen gün artmaktadır. Farklı coğrafik alanlar arasında yayılış gösteren yabancı otlarla mücadelede etmek için yeni herbisitlerin keşfi her geçen gün zorlaşmakta ve yeni etkiye sahip bitkisel ilaçların bulunması daha da zorlaşmaktadır. 1940'lı yıllarda yeni bir herbisit keşfi için 500 farklı bileşiği incelemek gerekirken bugün bu sayı 500.000 bileşik olarak ifade edilmektedir [9].

Çeltik ekim alanlarının oldukça geniş yer kapladığı Avrupa, Amerika, Asya ülkelerindeki yabancı otlar incelendiğinde *Echinochloa*, *Cyperus* ve *Alisama* cinsine ait türlerin oldukça dikkat çektiği ve bu cinslere ait yabancı otlarla mücadelenin zor olduğu görülmektedir [10]. Büyük çoğunluğu yabancı ot olarak kabul edilen *Echinochloa* cinsinin 250'den fazla türü olup bunların içerisinde en yaygın olanları *Echinochloa crus-galli* L., *E. oryzicola* (Vasinger), *E. oryzoides*, *E. kolonia* L., *E. phyllopogon* türleri gelmektedir [11]. *Cyperus difformis* çeltik verimini %22-43 oranında düşüren önemli yabancı otlar arasında yer almaktadır [12]. Ülkemizde çeltik

retiminin %95'i Marmara ve Karadeniz bölgelerinde, %5'i Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yapılmakta olup *E. oryzoides*, *E. crus-galli*, *C. difformis*, *A. plantago-aquatica* eltik üretim alanlarında yaygın olarak görülmektedir [13].

Herbisitler; yabancı otların, tarımsal alanlarda istenmeyen bitkilerin büyümesi ve gelişimiyle ilgili çeşitli metabolik ya da fizyolojik evrelerde görev yapan önemli enzimlerin etkilerini önleyen kimyasal maddelerin geneline denir. Özellikle yabancı otlar eltik bitkisi ile su, mineral, ışık gibi ekolojik kaynaklar için rekabete girerek eltik gelişimini olumsuz yönde etkileyerek tarımsal verimliliğin düşmesine yol açar. IMI grup herbisitler dünya genelinde seçici toksite ilkesine oldukça uygundur [14]. IMI grup herbisitler dallı zincir amino asitlerden olan valin, lösin ve izolösin amino asitlerinin sentezinde görev alan AHAS enzimini inhibe etmektedir. AHAS enziminin aktivitesi hayvanlarda bulunmazken bitkilerin genelinde tespit edilmiştir [15]. Bu gruptaki herbisitler diğer herbisitlere oranla daha düşük konsantrasyonda etki gösterir [16].

Herhangi bir yabancı gen eklenmeden EMS (etil metan sülfonat) mutasyonu ve geri melezleme yöntemiyle hibrit CL (Clearfield) eltik eşitleri geliştirilmiştir [17]. IMI grubu herbisitlerden özellikle imazamoks, imazapir, imazapik geniş spektrumlu etkileri ve özellikle selektivite özellikleri nedeniyle eltik tarımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu herbisitler AHAS enziminin inhibitörleri olarak görev yapar ve hem dar hem de geniş yapraklı yabancı otların kontrolünde yüksek etkinlik gösterir.

Herbisit tolerans teknolojisinin gelişmesi ile yabancı otlar ile mücadelede herbisitlere toleranslı, genetiği değiştirilmiş birçok tarım ürünü geliştirilerek, ticarileştirildi [18]. Son dönemlerde dünyada ve lkemizde Clearfield eltik teknolojisinin gelişmesi ile yabancı otlar ile mücadele oldukça kolaylaştı. Bu tez çalışmasında ülkemizde yaygın olarak tarımı yapılan Osmancık-97 eltik çeşidi ile CL (Clearfield) teknolojisi ile geliştirilen IMI toleranslı Reis CL, Değirmen CL, Ormanlı CL, Yaprak CL çeşitlerine imazamoks herbisiti uygulamasının yapılması ile ALS (herbisit hedefi) ve NAL1 genleri (yaprak morfolojisiyle ilişkili) zerindeki gen anlatım değişimleri araştırılacaktır. Böylece, imazamoksun toleranslı ve toleransız eltik eşitleri metabolizmasına etkileri moleküler ve morfolojik düzeyde ortaya konulacaktır.

2. GENEL KISIMLAR

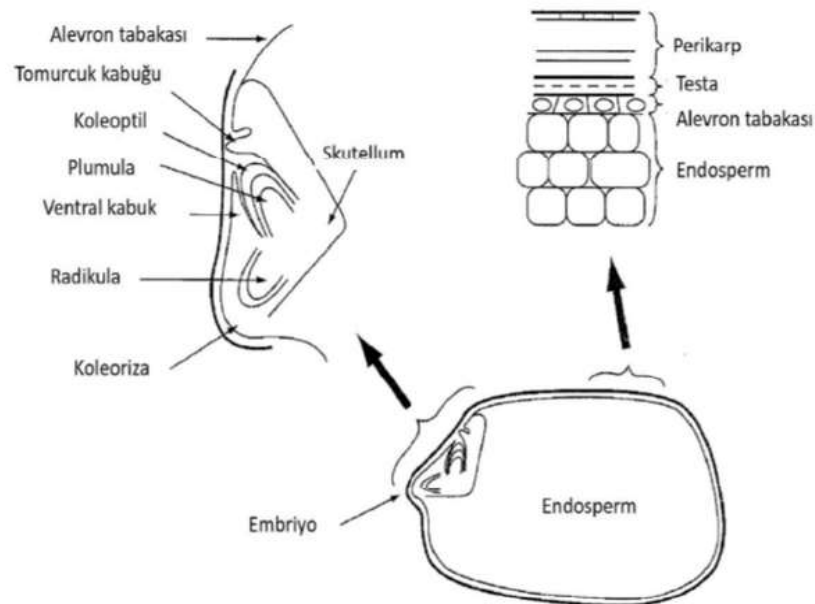
2.1. Çeltik (*Oryza sativa* L.)

Çeltik (*Oryza sativa* L.) karbonhidrat, protein, vitamin gibi organik bileşiklerin yanında bakır gibi önemli mineralleri içermesi sebebiyle tarımı yapılan bitkiler arasında ilk sıralarda yer almaktadır [2]. Yapılan arkeolojik çalışmalar çeltik, buğday (*Triticum aestivum*) ve mısır (*Zea mays* ssp.) tarımının 5000 ile 10000 yıl öncesine dayandığını göstermektedir [19]. İnsan beslenmesinde önemli bir yeri olan çeltiğin tarımının ilk olarak M.Ö. 3000’li yıllarda Hindistan’da başlamış olduğu ve oradan Orta Çağ’da Avrupa’ya yayılış gösterdiği belirlenmiştir. Türkiye’ye ise Mısır üzerinden giriş yaptığı ve 500 yıllık bir geçmişe sahip olduğu düşünülmektedir [20] *Poaceae* ailesinin bir üyesi olan çeltiğin 347 cins ve 2239 taksona sahip olduğu bilinmektedir [2]. Çeltik bitkisinin *Oryza rufipogon* ve *Oryza nivara* yabani türlerinden köken aldığı, ilk çeşitlerinin Çin (*O. sinica*), Hindistan (*O. indica*) ve Endonezya’da (*O. javanica*) yetiştirildiği bilinmektedir [21]. Günümüzde, tespit edilen 25 çeltik türü olup bunlardan *Oryza sativa* ile *Oryza glaberrima*’nın kültürü yapılabilmektedir [22]. Çeltiğin haploid 12 kromozoma ($n=12$) sahiptir. Bunun yanında diploid ve tetraploid türleride bulunmaktadır. Kültürü yapılan *O. sativa* ile *O. glaberrima* diploid 24 kromozoma sahiptir [23].

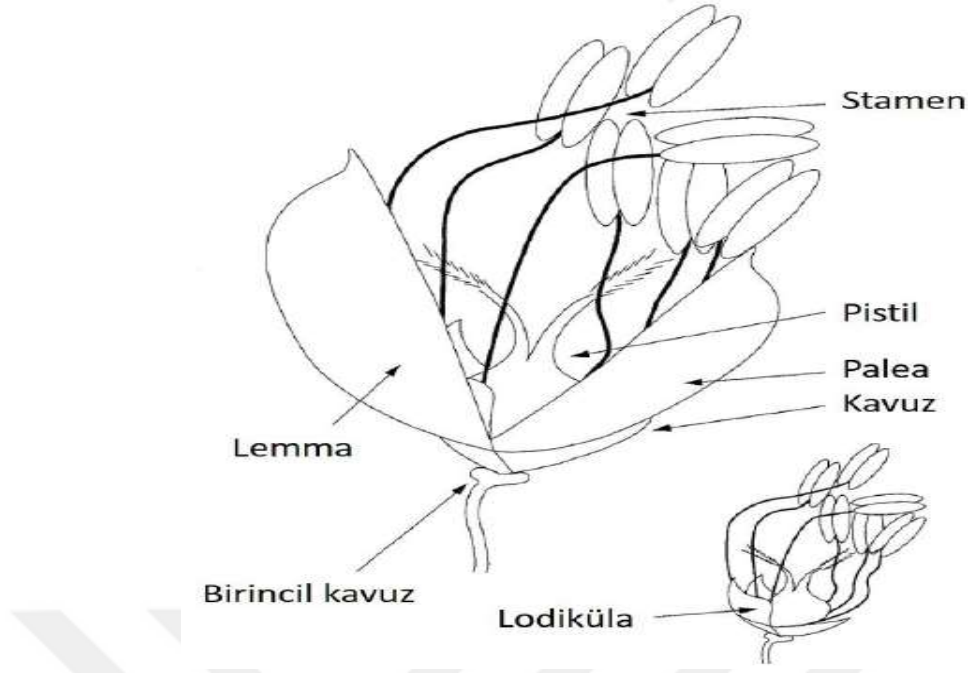
Çeltik, süper kıta Gondwana’dan Asya ve Afrika kıtalarına yayılmıştır [24]. Tarımsal alanlarda yaygın olarak Asya çeltiği *O. sativa* ile Afrika çeltiği *O. glaberrima* türleri yetiştirilmektedir. *O. sativa* tüm dünyada, *O. glaberrima* ise ekolojik koşullardan dolayı dünyada daha sınırlı bölgelerde yetiştirilir. *O. sativa*, *O. rufipogon* yabani türünden; *O. glaberrima* ise *O. longistaminata* yabani türünden farklılaşmıştır [25].

Çeşitli ekolojik koşullara bağlı olarak Güney, Güneydoğu ve Doğu Asya’nın farklı bölgelerinde *indica*, *japonica* ve *javanica* olarak adlandırılan çeltik ekotipleri ortaya çıkmıştır [26]. Çeltiğin önemli alt türlerinden bir tanesi olan *japonica* stres direnci,

Çeltik bitkisi genellikle kendi kendine dölleme özelliği olan, monokotil, tek yıllık bir kısa gün bitkisidir. Olgunlaşmış olan çeltik embriyosu dikotillerin aksine skutellum olarak adlandırılan endosperm dokusu içeren bir tane büyük kotiledona sahiptir. Skutellum, endosperde depolanan karbonhidratları biriktirerek çimlenme sürecinde embriyoya destek olur. Embriyo geliştikçe, hücre bölünmesi kademeli olarak sürgünün apikal meristemiyle sınırlanarak skutellumun bir tarafından ortaya çıkar. Apikal meristemler, embriyonun alt ucundan radikulayı, üst ucundan plumulayı oluşturur. Radikula koleoriza, plumula ise koleoptil tarafından korunmaktadır (Şekil 2.1). Çeltik bitkisinin çimlenmesinden çiçeklenmesine kadar üç ay süre gerekir [29]. Çeltik bitkisinin çiçekleri bir karpel, altı stamen, iki lodikül, iki asimetrik kavuz (lemma ve palea) taşımaktadır. Şekil 2.2’de görüldüğü gibi çeltik bitkisinin çiçekleri petal içermemektedir [29]. Çeltik, genom projesi ilk tamamlanan, en küçük genoma (389 Mb) sahip tahıl bitkisidir [2]. Bu özelliği sayesinde monokotil bitkilerin genom çalışmaları için model bitki görevi görmektedir [30].



5



Şekil 2.2 Çeltik çiçeğinin anatomik yapısı [29].

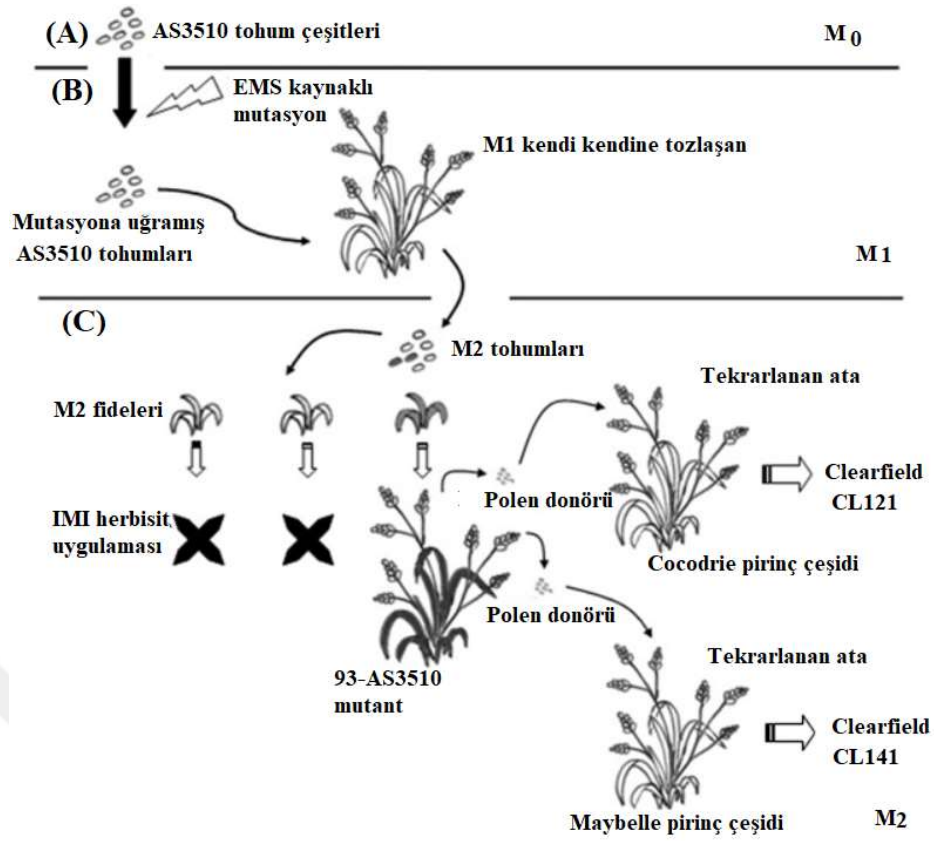
En büyük bileşeni karbonhidrat olan çeltik tiamin, niasin, riboflavin, D vitamini, magnezyum, fosfor, demir ve kalsiyum bakımından oldukça zengindir [2]. Tahıllar arasında sindirimi en kolay proteini içerip, yağ içeriği bakımından doymamış yağ asidi oranı oldukça yüksektir. Çeltik çeşitleri gluten içermediğinden gluten tüketemeyen bireyler için önemli besin kaynakları arasında yer almaktadır.

Çeltik besin içeriği ve değeri bakımından önemli tahıl ürünlerinin başında gelip Türkiye’de tüketim oranı oldukça yüksek seviyededir. 2021 yılı ve sonrasında ortalama TÜİK verilerine göre ülkemizde çeltik üretiminin yıllık 1 milyon tona ulaştığı kişi başı ortalama çeltik tüketimi 10 kilograma ulaşmıştır. TÜİK verilerine göre ülkemizde bölgelere ve illere göre çeltik üretimi değerlendirildiğinde 2021 yılı itibarıyla; %70,2 oranında Marmara Bölgesinde, %19,4 oranında Karadeniz Bölgesinde, %8,6 oranında İç Anadolu Bölgesinde, %1,8 oranında ise diğer bölgelerde üretildiği bilinmektedir. İllere göre çeltik üretiminin %40,2’sinin Edirne, %15,3’nün Samsun, %13,7’sinin ise Balıkesir illerinde yapılmaktadır.

2.1.1. Clearfield (CL) Çeltik

Yabani çeltik kültürü yapılan çeltikle (*Oryza sativa L.*) aynı cins ve türe ait olduğundan morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal açıdan çok sayıda benzer özelliğe sahiptir. Çeltik ile aynı alanlarda yetişebilen, tarımsal açıdan ürün kaybına yol açan, çeltikle rekabete giren, çeltik tarlalarını işgal eden yabani ot türleri mevcuttur. Tarımsal alanlarda ekimi yapılan çeltiğe zarar vermeden yabani otların çoğalmasının kontrol edilmesi oldukça zordur. Yabani otlar ile kültürü yapılan çeltik yakın türden olduklarında çok sayıda ortak fizyolojik özelliklere sahip olurlar. Bundan dolayı tarım alanlarında yabani ot ile mücadele etmek oldukça zorlaşmaktadır [31]. Bu sebeple yabani otları yok eden herbisitler kültürü yapılan çeltiğe de zarar vermektedir [17]. Herhangi bir yabancı gen eklenmeden mutasyonlar ile imidazol (IMI) toleransı olan Clearfield çeltik çeşitleri geliştirilmiştir [32]. IMI toleranslı mısır ilk defa 1992 yılında ticari olarak piyasaya sürülmüştür [9]. Ticari olarak imidazol herbisitine toleranslı bitkilerin geliştirilmesi ve kullanılması tarımsal açıdan verimi artırarak yabani otlar ile mücadeleyi oldukça kolay hale getirmiştir. İmidazol herbisitine toleranslı çeltik çeşitleri geliştirmek için çeltik tohumları etil EMS (etil metansülfonat) uygulamasıyla ALS (asetolaktat sentaz) enzimini kodlayan gende mutasyon oluşumu sağlanmıştır [32].

EMS uygulaması ile elde edilen AS3510 tohumlarının geliştirilmesiyle CL121 ve CL141 çeltik çeşitleri elde edilmiştir (Şekil 2.3). Clearfield çeltik ilk olarak A.B.D. Louisiana Eyalet Üniversitesi tarafından 2002 yılında CL121 ve CL141 olarak piyasaya sürülerek ticarileştirilmiştir [9].



Şekil 2.3 Çeltik, CL121 ve CL141 geliştirilmesi; (A) etil metansülfonat (EMS) uygulaması ile mutasyona uğratılmış AS3510 (M_0) tohumlarının geliştirilmesi sağlanmıştır, (B) Mutasyona uğratılmış AS3510'un M_2 tohumları üretmek üzere kendi kendine tozlaşmasına izin verilmiştir, (C) M_2 fideleri imazetapir püskürtülerek hayatta tek başına kalan 93-AS3510 elde edilmiştir. İmazetapire toleranslı olan 93-AS3510 mutantı ata çeltikler olarak sırasıyla Cocodrie ve Maybelle ile hibridizasyon yoluyla CL121 ve CL141 çeşitleri elde edilmiştir [32].

Çeltik tarımının yoğun olarak yapıldığı Asya, Amerika ve Avrupa ülkelerinde *Echinochloa* cinsine ait yabancı ot türlerinin yoğun olarak bulunduğu ve kontrollerinin oldukça güç olduğu bildirilmektedir. *Echinochloa* cinsine ait olan ve birçok ülkede görülen *E. oryzicola* Vasinger. [syn: *E. phyllopogon*] ile istila süreci tam olarak bilinmeyen kırmızı çeltik olarak da adlandırılan *Oryza sativa* L. Marmara ve Karadeniz bölgelerinde görülmektedir [33]. Türkiye ve çeltik tarımının yapıldığı birçok ülkede kırmızı çeltik gibi yabancı ve istilacı otlarla mücadeleleri kolaylaştıran IMI grubu herbisitlerin kullanımı oldukça yaygın hale gelmiştir. Türkiye’de Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından geri melezleme yöntemiyle IMI grubu herbisitlere karşı toleranslı olan Clearfield çeltik çeşitleri geliştirilmiştir. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından IMI Çeşit x Durağan (Sur CL, IMI 2521 CL),

IMI Çeşit x Ece (Köprü CL, Kristal CL, Efsane CL), IMI Çeşit x Edirne (Özgür CL, Güneş CL), IMI Çeşit x Halilbey (Rekor CL, Damla CL, İskender CL, IMI 2554 CL), IMI Çeşit x Kızıltan (Turbo CL), IMI Çeşit x Neğiş (Pınar CL), IMI Çeşit x Osmancık-97 (Ormanlı CL, Değirmen CL, Yaprak CL, Reis CL) melezlerinden IMI toleranslı çeltik çeşitleri geliştirilmiştir. Yapılan bu tez çalışmasında Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan konvansiyonel Osmancık-97, Ormanlı CL, Değirmen CL, Yaprak CL, Reis CL çeltik tohumları kullanılmıştır.

Osmancık-97, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından Rocca x Europa melezinden geliştirilip 1997 yılında tescil ettirilen bir çeltik çeşididir. Boyu 95 - 100 arasında cm olup yaprakları dik ve koyu yeşildir. Sağlam saplı, yatmaya dayanıklı, çeltik taneleri sarı renkli ve uzundur. Çeltik 1000 dane ağırlığı 33- 34 gr arasındadır. 130- 135 günde olgunlaşan, yüksek verim potansiyeline sahip, farklı ekolojik koşullara uyum sağlayabilmiş bir çeşittir. Pirinç randımanı %60 – 65 arasında, danesi uzun, camsı ve mat görünüşte olup pirinç 1000 dane ağırlığı 24-25 gr'dır.

Değirmen CL, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından Osmancık-97 x IMI çeşit geri melezinden geliştirilip 2019 yılında tescil ettirilen bir çeltik çeşididir. Boyu 95- 100 cm olup yaprakları yarı dik, salkımları yarı düşük yapıdadır. Çeltik taneleri sarı renkli ve uzundur. Çeltik 1000 dane ağırlığı 34- 36 gr arasındadır. 125- 130 günde olgunlaşıp, orta seviyede verim potansiyeline sahiptir. Dekara 800- 1000 kg arsında verim potansiyeline sahiptir. IMI grubu yabancı ot ilaçlarına dayanıklıdır. Bu durumdan dolayı IMI grubu yabancı ot ilaçlarından imazamox etkili maddeye sahip ilaçların kullanılmasıyla kırmızı çeltik kontrolünde kullanılabilmektedir. Pirinç randımanı %60 – 65 arasında, camsı ve mat görünüşte olup, tane uzunluğu 7,1 mm ve genişliği 2,7 mm'dir. Pirinçte 1000 dane ağırlığı 26- 27 gr'dır.

Ormanlı CL, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından Osmancık-97 x IMI çeşit geri melezinden geliştirilip 2020 yılında tescil ettirilen bir çeltik çeşididir. Boyu ortalama 100 cm olup, yaprakları yarı dik, salkımları yarı dik yapıdadır. Çeltik 1000 dane ağırlığı 32- 33 gr arasındadır. Arasında günde olgunlaşan, dekara 800- 1000 kg arasında verim potansiyeline sahiptir. IMI grubu yabancı ot ilaçlarına dayanıklıdır. Bu durumdan dolayı IMI grubu yabancı ot ilaçlarından imazamox etkili maddeye sahip ilaçların kullanılmasıyla kırmızı çeltik kontrolünde kullanılabilmektedir. Pirinç

randımanı %65 – 67 arasında, camsı görünüşte olup, tane uzunluğu ortalama 6,4 mm ve genişliği 2,7 mm'dir. Pirinçte 1000 dane ağırlığı 23- 25 gr'dır.

Reis CL, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından Osmancık-97 x IMI çeşit geri melezinden geliştirilip 2020 yılında tescil ettirilen bir çeltik çeşididir. Boyu ortalama 105 cm olup yaprakları yarı dik, salkımları yarı dik yapıdadır. Çeltik 1000 dane ağırlığı 33- 35 gr'dır. 125- 130 günde olgunlaşan, dekara 800 - 1000 kg arasında verim potansiyeline sahip bir çeşittir. IMI grubu yabancı ot ilaçlarına dayanıklıdır. Bu durumdan dolayı IMI grubu yabancı ot ilaçlarından imazamox etkili maddeye sahip ilaçların kullanılmasıyla kırmızı çeltik kontrolünde kullanılabilmektedir. Pirinç randımanı %63- 68 camsı görünüşte olup tane uzunluğu ortalama 6,3 mm ve genişliği 2,8 mm'dir. Pirinçte 1000 dane ağırlığı 23- 25 gr'dır.

Yaprak CL, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından Osmancık-97 x IMI çeşit geri melezinden geliştirilip 2021 yılında tescil ettirilen bir çeltik çeşididir. Boyu ortalama 80- 85 cm olan bir çeltik çeşididir. Çeltik 1000 dane ağırlığı ortalama 30 gr'dır. 125- 130 günde olgunlaşmaktadır. Dekara 750- 900 kg arasında verim potansiyeline sahiptir. IMI grubu yabancı ot ilaçlarına dayanıklıdır. Bu durumdan dolayı IMI grubu yabancı ot ilaçlarından imazamox etkili maddeye sahip ilaçların kullanılmasıyla kırmızı çeltik kontrolünde kullanılabilmektedir. Pirinç randımanı 23- – 65 arasında, camsı görünüşlü olup tane uzunluğu ortalama 6,1 mm ve genişliği 2,7 mm, pirinçte 1000 dane ağırlığı ortalama 23 - 24 gr'dır.

2.2. Bitkilerde Stres

Tüm canlılarda olduğu gibi bitkiler de yaşadıkları ekosistemin biyotik ve abiyotik bileşenleri ile sürekli etkileşim halindedir. Ekosistemlerin biyotik ve abiyotik bileşenlerde meydana gelebilecek herhangi bir değişim, bitki büyüme ve gelişimini de olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Biyotik ve abiyotik stres etmenlerinin etkisi altında bitkilerde ortaya çıkan değişimler stres olarak ifade edilmektedir [34]. Biyolojik anlamdaki stres kavramı fizik biliminden türetilmiş bir tanımdır. Buna göre fiziksel stres, herhangi bir nesneye uygulanan kuvvettir. Gerilim ise nesnenin ebatlarında oluşan değişimdir. Bu tanımdan yola çıkarak, ekolojik anlamda stres bitki doğal yaşam alanı içinde metabolik iç dengeyi bozan ya da değiştiren, büyüme

durumunda herhangi bir değişiklik olarak tanımlanmaktadır [35]. Strese yol açan faktörlere stres faktörü adı verilir. Stres faktörleri, canlı (biyotik) ve cansız (abiyotik) olabilmektedir [36]. Stres faktörlerine bağlı olarak canlı bireyler üzerinde biyolojik gerilimlerin de görölmesi beklenmektedir. Biyolojik gerilim, bitki metabolizması ve morfolojisindeki değişimler ve büyümedeki azalma olarak yorumlanabilir. Bitkiler yaşadıkları ortamlardaki faktörlere karşı maksimum seviyede yanıt verebiliyorsa, çevresel faktörler tarafından stres boyutunda etkilenmeye başlamamış demektir [37]. Tersine faktörlerde, uygun değerlerin dışında gelişen değişimler, gerilim etkisiyle bitkinin cevap verme seviyesinde değişimlere yol açarsa, bu durum stres olarak ifade edilir [38]. Bitkileri etkileyen biyotik ve abiyotik stres faktörleri bitkilerin metabolik, fizyolojik ve morfolojik gelişimlerini olumsuz yönde etkilediği için ürün miktarı ve kalitesi önemli ölçüde azalmaktadır [36]. Tablo.2.1’de bitkilerin en yaygın maruz kaldığı biyotik ve abiyotik stres etmenleri listelenmiştir.

Tablo 2.1 Bitkilerde stres faktörleri [34].

Abiyotik etmenler		Biyotik etmenler
Fiziksel etmenler	Kimyasal etmenler	
Kuraklık	Hava kirliliği	Yabancı bitkiler
Sıcaklık	Bitki besin elementleri	Böcekler
Su baskını	Pestisitler	Mikroorganizmalar (virüs, bakteri, mantar)
Mekanik etkiler (rüzgâr, kar ve buz örtüsü)	Toksinler	Hayvanlar
Radyasyon	Tuzlar	Hastalıklar
Toprak çözeltisi pH’si		

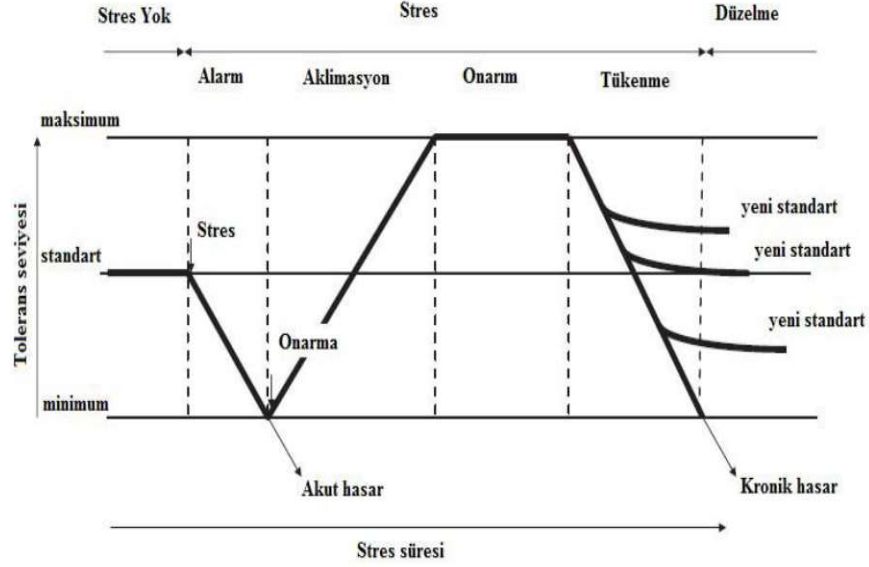
2.2.1. Abiyotik Stres Faktörleri

Bitkilerde cansız stres tepkilerini anlamak, bitki araştırmalarında önemli ve zorlu bir konudur. Abiyotik stres faktörleri tarımsal faaliyetlerin aksamasına yol açarak önemli derecede ürün kaybına ve çevrenin bozulmasına yol açabilen önemli tehditlerdir.

Abiyotik stres faktörleri, karmaşık çevresel şartların sebep olduğu çeşitli etmenleri kapsar [39]. Abiyotik streslere karşı tolerans, tüm bitkide ve hücresele seviyelerde çok karmaşık bir yapı sergiler [40]. Bu durum kısmen stres faktörleri ile bitki büyümesini ve gelişimini etkileyen çeşitli moleküler, biyokimyasal ve fizyolojik olaylar arasındaki etkileşimlerin karmaşıklığından kaynaklanmaktadır. Abiyotik stres faktörleri birbirleri ile yakından ilişkili olup bitkilerde benzer hasarlara yol açabilir [41]. Örneğin, mevsimsel olmasına rağmen soğuk stresi kuraklık stresi ile benzer fizyolojik etki göstermektedir. Suyun donmasıyla içerisinde bulunan çözünmüş madde derişimi artar ve buna bağılı olarak su kıtlığı ortaya çıkar [42]. Bitkiler abiyotik ve biyotik stres faktörlerine karşı koyma ve hayatta kalabilme özelliklerine sahiptir. Bitkiler stres etkilerine genellikle dört aşamalı bir cevap oluştururlar. Bu cevaplar başlangıç alarm evresi, aklımasyon evresi, onarım evresi ve tükenme evresi (Şekil 2.4.) olarak sıralanabilir.

Başlangıç alarm evresi stres tepkisinin ilk evresidir. Strese duyarlı uyarıcı yollar ile oksidatif stresin başlangıç evresi olup stres toleransı düşmeye başlar. Aklımasyon evresi birkaç gün sürmekte olup stres toleransını yükseltir. Stres koruyucusu şaperon proteinleri ile antioksidanlar, karotenoidler, tokofenol (prolin ve glisinbetain) bileşiklerinin sentezi yapılarak stres altındaki bitkinin yeni homeostatik dengesi oluşturulmaya çalışılır. Onarım evresinde bitkinin stres toleransı sabit olup şaperon gibi koruyucu proteinlerin bozulmasına yol açan sürecin etkin hale geldiği evredir. Tükenme evresi stres kaynaklı homeostasinin korunamadığı, stresle mücadelenin en uzun sürdüğü evre olup, çevre şartlarının normale dönmesiyle homeostatik dengenin yeniden sağlandığı gözlemlenebilir.

Abiyotik stres faktörlerine karşı bitki tepkileri için sinyal iletim yolunun genel bileşenleri arasında sinyal algısı için reseptör kinazlar, sinyal amplifikasyonu için ikinci haberciler, bir dizi sinyal iletim bileşeni ve transkripsiyon faktörleri sıralanabilir [43].



Şekil 2.4 Abiyotik stres faktörlerine karşı bitki cevaplarının dinamikleri [44].

Meteorolojik anlamda kuraklık; toprakta bulunan suyun bitki gelişiminde yetersiz kalması ile bitki gelişiminde aksamaya yol açacak kadar uzun süren yağışsız dönem olarak ifade edilebilir. Yağışsız dönemde kuraklığın ortaya çıkması evapotranspirasyon hızı ile toprağın su tutma kapasitesine bağlıdır [45]. Bitkiler tarafından geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz cevap oluşturmaya yol açabilen stres faktörleri, suyun yaşam ortamında az olması (fiziksel kuraklık) veya donma, mineral azlığı ya da fazlalığı, toprakta su birikimi sebebiyle bitki tarafından topraktan yeterli oranda su alınamamasından (fizyolojik kuraklık) kaynaklanır [46]. Fiziksel kuraklık streslerinde bitki fizyolojisi bakımından ortak özelliği negatif su potansiyeli görülmesidir. Yaşam alanında suyun azalmasına bağlı olarak protoplazmada meydana gelen negatif su potansiyeli etkisiyle gelişen durum stres olup, su yetersizliği stres toleransı tüm bitki türlerinde görülür [47]. Fizyolojik kuraklık durumunda soğğun bitkilerde fiziksel tahribata yol açmasıyla birlikte, topraktaki suyun donmasını sağlayarak bitki tarafından alınamamasına sebep olur [37]. Bitkilerde kuraklık stresi mekanik, metabolik ve oksidatif etkilere yol açarak bitki gelişimini aksatabilmektedir. Kuraklık stresi fotosentez, hücresel solunum, iyon alımı, su potansiyeli, stoma kapanması, translokasyon, şeker ve besin metabolizması, antioksidan sistem, fitohormonlar gibi fizyolojik ve biyokimyasal faaliyetleri etkileyerek bitki büyüme ve gelişimini sınırlandırmaktadır.

Topraktaki tuz derişimi, bitki büyüme ve gelişimini etkileyen önemli abiyotik stres faktörleri arasında yer alır. Tuzlu topraklarda yetişen bitki türleri beslenme bozukluğu, iyon toksisitesi ve ozmotik stres semptomları sergiler. Bu faktörler toprağın fiziksel durumunu bozmanın yanı sıra bitki verimliliğini önemli derecede düşürür [48]. Dünya genelinde toprakların yaklaşık %7'si, tarım yapılan alanların %20'si ve sulanan alanların %50'si toprak tuzluluğundan etkilenmektedir [49]. Topraktaki tuzluluk oranının değişmesinde sulama, tarım gübrelerinin toprakta birikimi, yanlış sulama, küresel iklim değişikliği gibi faktörler etkili olmaktadır. Sodyum, klorid ve sülfat gibi bazı iyonların topraktan fazla birikmesi sebebiyle hücre içerisinde iyon dengesizliği ortaya çıkmaktadır. Toprakta tuzluluk oranının artmasında çeşitli anyon ve katyonlar rol oynamaktadır. Toprakta biriken katyonların başında; Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , anyonların başında Cl^- , HCO_3^- , CO_3^{-2} , SO_4^{-2} ve NO_3 gelmektedir [50]. Bitkilerde tuz stresi reaktif oksijen türevleri (ROS) (H_2O_2 , O_2^- , $^1\text{O}_2$, $\text{OH}^\cdot$) üretiminde artışa yol açarak DNA hasarı, hücre zarında lipid peroksidasyon, protein denatürasyonu gibi çeşitli hücresel yapılara zarar verir [51]. Tuzluluk stresi, birçok önemli kısıtlamaya yol açarak bitki büyümesi ve gelişimini engellemektedir. Bu kısıtlamalardan ilki, bitkinin su alma yeteneğini tehlikeye atan ozmotik strestir. İkincisi ise Na^+ 'nın hücre duvarı bileşenlerine bağlanarak hücre duvarında çeşitli modifikasyona yol açmasıdır [52]. Bitkilerde ozmotik stres stomaların hızlıca kapanmasına yol açar. Bu durumda CO_2 alımını yavaşlatır [51]. Stomaların hızlı kapanması, tuzluluk stresine eşlik eden ksilemdeki basıncın hızlı bir şekilde düşmesi ile açıklanır [53]. Tuzluluk stresinin ortaya çıkardığı ikinci kısıtlama ise iyonik dengesizliktir. Hücre içerisinde Na^+ ve Cl^- birikimiyle enzimlerin üzerinde inhibitör etki ortaya çıkar.

Ekosistemlerin verimliliğini çeşitli abiyotik faktörler belirlese de sıcaklık ve soğuk, süresi ve şiddetine bağlı olarak bitkilerde metabolik aktiviteyi, büyüme, gelişmeyi sınırlandırmaktadır. Her bitki türünün gelişimini sürdürdüğü maksimum ve minimum sıcaklık değerleri bulunmaktadır. Bitkilerde soğuk stresi 0°C ile 15°C arasında değişmektedir. Soğuk stresine karşı bitkiler genel olarak iki fizyolojik cevap oluşturur. Bunlardan ilki ekstraselüler alanda buz oluşturup hızlı su dehidrasyonunu sağlamaktır. İkincisi ise intraselüler alanda küçük buz kristalleri oluşturmaktır [37]. Bitkilerde soğuk stresinin dikkat çeken ilk tanısı toprakta yeterli oranda su bulunmasına rağmen bitki yapraklarında solma olgusu olup bu olgu üç sebeple ortaya çıkar. Düşük sıcaklık

değerinde kök hücre membranlarında geçirgenliğin düşmesiyle yeterli oranda su alınamaması, suyun vizkozitesinin artması ve soğuk koşullarda stomaların açık kalması ya da çok az kapanması bu sebepler arasındadır [34]. Soğuk stresi bitkilerde metabolik ve fizyolojik faaliyetlerin üzerinde olumsuz etki yaparak, enzimatik etkinliği düşürmektedir. Hücre membranı yapısını etkilenerek protoplazmanın akışkanlığını azalır ve fotosentez reaksiyonları üzerinde olumsuz etki ortaya çıkar [54].

Yeryüzünde kurak ve yarı kurak ekolojik bölgelerde toprak yüzey sıcaklığının 50 °C'yi aşması ile bitki popülasyonlarında önemli ölçüde azalmaya görüldüğü bilinmektedir [55]. Bitkilerin optimum büyüme sıcaklıklarında meydana gelen 1,5- 6 °C'lik artış, fotosentez reaksiyonlarında inhibisyona, hücre membranında kararsızlıklara, senesense bağlı olarak bitki büyüme ve gelişimini engelleyen ve geri dönüşümü olmayan hasarlara sebep olmaktadır [56]. Bitkilerin büyük çoğunluğu 44- 55 °C sıcaklıklarda ölsede, bazı bitki türleri daha yüksek sıcaklıkları tolere edebilmektedir [37]. Diğer birçok organizma gibi bitkilerde yüksek sıcaklık stresine karşı spesifik proteinlerin üretiminin yanı sıra HSP olarak adlandırılan ısı şoku proteinlerini üretmektedir. Bitkilerde yüksek sıcaklıklara bağlı HSP üretilmediği durumlarda hücre membranlarının daha geçirgen hale geçmesi sebebiyle, hücre dışından sitoplazmaya ve vakuollere giren iyonların nükleik asit sarmalını bozduğu belirlenmiştir [57]. HSP'ler, protein katlanmasını kolaylaştıran, protein toplanmasını baskılayan şaperonlar gibi davranarak transkripsiyon mekanizması üzerinde önemli düzenleyici rollere sahiptir [58].

2.2.2. Biyotik Stres Faktörleri

Biyotik stres faktörleri bitkilerde çeşitli biyokimyasal reaksiyonların bozulmasına yol açarak bitki büyüme ve gelişiminde aksamalara yol açar. Bu aksamalar tarımsal üretimde verim kaybına sebep olmaktadır. Çeltik gelişimini etkileyen biyotik stres faktörlerinin başında nematodlar, mantarlar, çayır sineği, tepegöz, çayır çekirgeleri, virüsler, yabani otlar ve çeşitli hayvanlar gelmektedir. Biyotik faktörlerin bitki gelişimindeki etkileri yabancı bitkiler ile kaynak rekabeti şeklinde olabileceği gibi allelopatik ve parazitik etki şeklinde de olabilmektedir. Mikroorganizmalar bitkilerin

kök ve gövde gelişimini önleyerek topraktan su ve besin alınımını önleyebilir. Hayvanlar aşırı otlama ve ezilme etkisi ile bitkilere zarar verebilir.

2.2.2.1. Çeltik Beyaz Uç Nematodu (*Aphelenchoides besseyi*)

Bitki paraziti nematodların dünya genelinde 4100'den fazla türü olup tahıllar, meyveler, sebzeler ve yağlı tohumlar dahil olmak üzere çeşitli tarım ürünlerinin veriminin düşmesine yol açmaktadır [59]. Nematodlar bitkilerin çiçeklenmesinden hemen önce çiçek salkımları kın içinde bulunurken bitkiye giriş yaparak ovaryumda, stamende ve embriyoda ektoparazit olarak yaşamlarını sürdürebilmektedir [60]. Çeltik bitkisinde zararlı olan nematod türleri beslenme şekillerine göre toprak üstü kısımlar (gövde, yaprak ve çiçek salkımları) ile köklerde parazit olarak iki gruba ayrılır [61]. *Aphelenchoides besseyi*, tohum kaynaklı bir nematod olup çeltik ve diğer tahıllarda tohumla ve sulama suyu ile tarladan tarlaya taşınabilmektedir. *Aphelenchoides besseyi*, çeltik yaprağının ektoparazit ve endoparaziti olup yaprağın üst kısmının beyazlamasına, daha sonra yaprağın nekrotik hale gelmesine, salkımı çevreleyen yaprağın kırışmasına ve daha sonra yaprağın ölümüne yol açmaktadır [62]. Çeltik beyaz uç nematodunun hayat döngüsü incelendiğinde tohumun ekilmesiyle suyla temas haline geçen nematodlar aktif hale geçer. Çeltiğin büyüme noktaları olan gövde ve yapraklarına doğru hareket eder. Uç yapraklarda beyaz uç nematod belirtileri ortaya çıkar. Çiçeklenme döneminde, generatif organda nematodlar çoğalır. Hasat dönemine doğru nematodlar uyku haline geçer. Nematodlar çeltik tohumunda 2 - 3 yıl canlı kalabilmektedir [63]. Çeltik tarımının yapıldığı alanlarda gelişen yabancı otların çeltik verimini düşürdüğü düşünülmektedir. Darıcan (*Echinocloa crus gali*) çeltik tarlalarında gelişen önemli bir yabancı ottur. Yapılan incelemeler sonucunda, *Aphelenchoides besseyi*'nin *Echinocloa crus gali*'nin çiçeklenme ve tane bağlama dönemlerinde tüm yeşil aksamı ile çiçek salkımlarında rastlanmış olup, darıcan bitkisinin *Aphelenchoides besseyi* nematoduna konukçuluk ettiği belirlenmiştir [63].

2.2.2.2. Funguslar

Ülkemizde ve dünyada yaygın olarak görülen çeltik yanığı [*Pyricularia oryzae* Cava (telemorf: *Magnaporthe orza*)] hastalığı önemli derecede ürün kaybına yol açmaktadır. *Pyricularia oryzae* Cava fungusunun neden olduğu bu hastalık çeltik tarımını tehdit eden hastalıkların başında yer almaktadır [64]. *Pyricularia oryzae*

Cavara, tarımsal bitkilerin en zararlı on fungal patojenden bir tanesidir [65]. Hastalığa sebep olan fungus, *Ascomycota* grubunda yer alıp sporları 1 - 3 bölmeli armut biçimindedir. Bu sporlar, basit konidioforlardan oluşup rüzgarla çevreye yayılmaktadır. Fungus, çeltiğin tüm gelişim aşamalarında hava ile temas eden yaprak, yakacık, kulakçık (kın), sap, boğum, başçık sapı ve kavuzlar üzerinde lezyonlar oluşturur [66]. Çeltik yapraklarının semptomik lezyonu merkezde gri veya beyazımsı eliptik bir şekli vardır [67]. Fungus için uygun hava koşullarında, lezyonlarda konidyumlar üretilir ve enfeksiyon döngüsünü yeniden başlatmak için rüzgâr ve yağmur ile çevreye yayılır [67].

Başka bir fungus çeşidi olan *Bipolaris oryzae*, çeltikte kahverengi yaprak lekesine yol açmaktadır [68]. *Bipolaris oryzae*'nin sebep olduğu kahverengi yaprak lekesi tane renginin bozulmasıyla ürünün verimini yaklaşık %16 ile %43 oranında azaltan bir çeltik zararlısı fungus hastalığıdır [69]. Fungus çeltik bitkisinin yaprak, kın, salkım dalları ve kavuzlarında enfeksiyona yol açabilmektedir. Fungus, çeltik bitkisini fide döneminde de enfekte ederek kök hücrelerinde hasara yol açarak kök hücrelerinde siyah renk oluşturabilmektedir. İstilacı miselyum çeltik yaprağının stomalarından girebileceği gibi doğrudan epidermal hücreleri de enfekte edebilir [68]. Epidermal hücrelerdeki inokülasyondan 18 saat sonra yaprakta lezyonlar ortaya çıkar ve lezyonların gelişmesiyle fungal miselyumu içeren hücrenin yanındaki hücreler kahverengimsi renk alarak çöker [70]. *Bipolaris oryzae* tarafından üretilen toksinlerin etkisiyle yaprak parankima hücreleri ölmektedir.

Bakanae ya da çeltik kök ve kökboğazı çürüklüğü tohumla taşınan bir fungus hastalığıdır. *Gibberella fujikuroi*, Sawada, Wollenworth; (teleomorf) (anamorf: *Fusarium fujikuroi* Nirenberg) Hindistan, Tayvan, Japonya, Taylanda olmak üzere dünyanın birçok ülkesinde çeltikte bakanae hastalığına yol açmaktadır [71]. *Fusarium fujikuroi*, çıkış öncesi fidelerin ölümünden başlayarak vejetatif aşamada uzama ve bodurlaşmaya, olgun dönemde tane enfeksiyonu gibi çeşitli şekillerde semptomlara sebep olmaktadır [72]. Bu fungus türü tohumla taşınabileceği gibi toprakta, hastalıklı bitki atıklarında bulunup, bitkiler tohum yoluyla ve ana tarlaya ekimden hemen sonra enfekte olabilir [73]. Çeltik bitkisinde kökboğazı çürüklüğü ya da bakanae hastalığının farklı şekillerde belirtileri olmaktadır. Bu belirtiler arasında tohum yatağında ve tarlada normal bitkilerden birkaç santim daha uzun olan enfekte bitkilerde sarımsı yeşil

yapraklı olma, ince bitkilerde soluk yeşil yapraklı olma, gelişimin erken döneminde fidelerin geriye doğru ölmesi, genç enfeksiyonda azalmış ve kurumuş yapraklar, olgunluk döneminde hayatta kalan bitkilerde kısmen dolu, steril veya boş taneler görülebilir [74].

2.2.2.3. Çayır Sineği (*Tipula orientalis* Laskchewitz)

Başlıca konukçusu çeltik olup larvası şeker pancarı, şeker kamışı, buğday, yonca, pamuk gibi tarımsal önemi büyük olan bitkiler ile ormanlardaki ağaçların kök ve genç sürgünlerine gelişebilmektedir. Çayır sineği; ilkbahar ve yaz aylarında akarsu kenarlarındaki gölgeli ve nemli alanlarda bulunup, uzun ekstremiteleri ve uçuş şekillerinden kolayca tanınabilmektedir. Çayır sineklerinin ergin formları tarımsal öneme sahip olan bitki türlerine herbivor olan larvaları yoluyla zarar vermektedir [75]. Herbivor olan larvalar yumurtadan çıkmış birinci evrede yumuşak algler ile beslenmektedir [76]. Çeltiğin yetiştirilme tekniğinden dolayı çayır sineklerinin larvaları çeltiğin büyüme döneminin ilk 5 - 6 haftalık periyodunda gelişmekte ve tarımsal zarara yol açmaktadır [75]. Fakat çeltik tarımının yapıldığı alanlarda ana zararlı değildir [77]. Ülkemizde çayır sineklerinin larvaları haziran ayının ikinci haftasında itibaren görülmeye başlayıp temmuz ayı ortalarında maksimum yoğunluğa ulaşmış temmuz sonlarından itibaren popülasyon yoğunluğunda önemli derecede azalma olmaktadır [75]. Çayır sineklerinin ergin bireylerinin doğal avcıları yarasa, sinek, arı iken larvalarının doğal avcıları balık, fare, kurbağa, köstebek ve yusufçuk larvalarıdır [77].

2.2.2.4. Tepegöz (*Triops concolor* Bosc.)

Triopsidae familyasına ait kabuklu bir canlı olan tepegözün dünya çapında 500 bilinen türü bulunmaktadır. 3000 yıldır yaşam sürdürmelerinden dolayı yaşayan fosil olarak adlandırılırlar [78]. Omnivor beslenme şekline sahip olan bu kabuklu türü su baskını ve su birikiminden hemen sonra çeltik tarlalarında görülüp, yeni bitki filizlerinin genç tomurcuk ve kökleriyle beslenmektedir [79]. Tepegözler hızlı bir yaşam döngüsüne sahip olup, olgun bireyleri gonokorik, hermafrodit veya androdioik olabilir [80]. Çeltiğin çimlenme döneminde tepegözün larva ve ergin bireyleri mandibulaları ile tohumları taşıyıp; çimlenen tohumların toprağa tutunup köklenmesini önlemekle birlikte çimlenen tohumların tepelerine zarar vererek tavalara bozulmasına yol

açabilmektedir. Larvaları ilkbaharda yaprak ve sürgünleri yiyerek çeltiğe büyük oranda zarar vermektedir. Japonya’da çeltik tarımının yapıldığı alanlarda yabancı otlar ile mücadelede herbisit kullanımını azaltmak için tepegözler kullanılmıştır [81].

2.2.2.5. Çeltik Kulak Böceği (*Leptocorisa oratoria*)

Alydidae familyasına ait olan çeltik kulak böceğinin dişilerinin çeltik tarımının yapıldığı alanlarda dönüm başına 200000 kadar yumurta bırakabilir [82]. Bu böcek türünün dişileri, çeltiğin farklı gelişim dönemlerinde yaprağa tek ya da çift sıra halinde aralıklar ile yumurtalarını bırakır [82]. Çeltik kulak böceği; çeltik tanelerinde dairesel lezyonlar ile karakterize edilen gaga hasarına yol açtığı bilinmekte olup, gaga hasarı çeltik tanelerinin ağırlığında azalmaya neden olmaktadır [83]. Bu böcek türü tohumların tane kalitesi ile tohumların canlılığını olumsuz yönde etkileyerek çeltik tarımında verimin düşmesini sağlar [84]. Çeltik tarımında bu böcek türünün etkisini kontrol etmek için zararlının potansiyel dağılımı ve habitat uygunluğu ile popülasyon yoğunluğunun iklimsel değişimlere verdiği cevapların değerlendirilmesi önem arz etmektedir. *Leptocorisa* cinsine ait çeltik başak böcekleri, doğrudan gelişmekte olan başaklardan beslenerek hasara yol açan tarım zararlıları arasında yer alır [85]. Hem yetişkin böcekler hem de nimfleri çeltik tanelerinin özüyle beslenirler. Çiçeklenme aşamasından başlayarak çeltikte tane veriminin düşmesine yol açmaktadırlar [86]. Çeltik böcekleri olarak adlandırılmalarına rağmen, çeltik tarımının yapıldığı alanlarda gelişen önemli bir yabancı ot cinsi olan *Echinochloa* bitkileri üzerinde de gelişimlerini sürdürebilmektedirler [87].

2.2.2.6. Sarı Cüce Virüsü

Sarı cüce başta buğday olmak üzere tüm tahıllarda ürün kaybına yol açan bir hastalıktır. Sarı cüce hastalığına arpa sarı cücelik virüsü (BYDV-PAV) (*Luteoviridae* familyası) ve tahıl sarı cücelik virüsü (CYDV) (*Luteoviridae* familyası) suşları yol açar [88]. BYDV-PAV virüsü bir yaprak biti olan *Rhopalosiphum padi* tarafından taşınır [89]. Bu virüs çeşidi *Poaceae* familyasındaki buğday, çeltik, arpa gibi bitkilerde translokasyonu engelleyerek yaprak dokusunda kloroza yol açar ve bitki gelişimini yavaşlatır [90]. Sıcaklık artışı yaprak bitlerinin üreme hızını artırmakta olup, sıcaklık artışıyla hızlıca çoğalan yaprak bitlerinin daha erken dönemlerde göçleri gerçekleşmektedir [91]. Olser ve diğerleri [92] 1980 yılında İtalya’da çeltik tarımının

yapıldığı alanlarda yaprak bitlerinin sarı cüce hastalığına neden olduğunu bildirmişlerdir. Türkiye’de ilk kez 1975 yılında Bremer ve Raatikainen tahıllardaki yaprak biti vektörleriyle sporadik YDV hastalığını bildirmiştir [93]. Trakya bölgesinde çeltik tarımın yapıldığı alanlarda YDV ve BYDV-PAV enfeksiyonlarına rastlanılmış olup yaprak saplarında renk değişimi ile yapraklarda yeşil renkten sarı ile turuncuya renk değişimleri gözlenmiştir [93].

2.2.2.7. Çekirgeler

Çekirgeler polifag zararlı böcekler olup birçok kültür bitkisi üzerinde beslendiği bilinmektedir. Madrap çekirgesi (*Locus migratoria* L.), yüzen çekirge (*Euprepocnemis plorans* Charp.), çayır çekirgesi (*Conocephalus fuscus* Fabricius), çizgili çekirge (*Thisioicetrinus pterostichus* F.W.), çizgili çayır çekirgesi (*Ailopus strepens* Latreille) bitkilere zarar verip tarımsal ürün kayıplarına yol açabilmektedir. Çekirgelerin bitkilere farklı şekillerde zarar verdiği bilinmektedir. Tek yıllık otsu yapılı bitkileri yemek, bitki saplarını kesmek; çok yıllık odunsu yapılı bitkilerin yeni filizlerini, yapraklarını, çiçek, tohumlarını ve meyvelerini yemek suretiyle tarımsal alanlarda verim kaybına yol açtığı bildirilmektedir. Madrap ve çayır çekirgeleri tarımsal alanlarda en yaygın görülen çekirge türleridir. Madrap ya da göçmen çekirgesi (*Locusta migratoria* L.) ekili ya da yabani bitkilerin gelişimini olumsuz etkiler. Soğuk ve sıcak alanlarda gelişme kabiliyetlerinin yüksek olmasından dolayı dünyada oldukça geniş alanlarda yayılış gösterirler [94]. Çayır çekirgesi (*Conocephalus fuscus*) otlarla beslenen fitofag bir tür olup tarımsal alanlarda önemli derecede ürün kaybına yol açmaktadır [95].

2.2.2.8. Çeltik Tarımının Yapıldığı Alanlarda Gelişen Yabancı Otlar

Yabani otlar, genellikle büyük popülasyonlara ve geniş coğrafik dağılımlara sahip oldukları için bitki aleminde hayatta kalma kabiliyetleri yüksektir [96]. Çeltik tarımında yabani otlar ile mücadele büyük önem taşımaktadır. Çünkü yabani otlar çeltik bitkisi ile besleyici mineraller, su kaynakları için rekabete girerek çeltik bitkisinin büyümesini engelleyerek ürün verimini azaltırlar. Ayrıca, yabani otlar gelişim döneminde çeltik bitkisini gölgede bırakarak fotosentezi olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Yabani otlar, çeltik yetiştirilen bölgelerde mücadelesi zor biyotik

faktörlerden bir tanesi olup yaklaşık %40'tan fazla verim kaybına yol açabilmektedir [8]. Çeltik tarımının yapıldığı alanlarda yetişen yabancı ot çeşitlerinin ve özelliklerinin bilinmesi yabancı otlar ile mücadeleyi oldukça kolaylaştıracaktır. Ülkemizde çeltik tarlalarında gelişen yabancı ot türleriyle mücadelede kullanılan herbisitler ekim öncesi, çıkış öncesi ve çıkış sonrasında uygulanmaktadır. Ekim öncesi ve çıkış öncesinde herbisit uygulamaları sırasında bir önceki dönemdeki yabancı otların durumu göz önünde bulundurulması kimyasal mücadeleyi kolaylaştırmaktadır.

Çeltik ekim alanlarının oldukça geniş yer kapladığı Avrupa, Amerika, Asya ülkelerindeki yabancı otlar incelendiğinde *Echinochloa*, *Cyperus* ve *Alisama* cinsine ait türlerin oldukça dikkat çektiği ve bu cinslere ait yabancı otlarla mücadelenin zor olduğu görülmektedir [97]. *Echinochloa* cinsine ait türler, dünya tarım sisteminde özellikle çeltik tarlalarında en sorunlu ve baskın yabancı otlar arasında yer alır [98]. *Echinochloa* cinsine ait yabancı otlar, küresel olarak tropikal bölgelerden ılıman bölgelere tarım alanları ve tarım dışı alanlar olmak üzere çeşitli habitatlara dağılım gösterdiği bilinmektedir. *Echinochloa* cinsine ait yabancı otlar yüksek oranda azot kullanımı, tarımsal önemi olan bitkileri taklit etme, allelopatik etki, herbisit direnci gibi çeşitli yabancı ot adaptasyonlarına sahiptir [99]. *Echinochloa* türleri tarafından allelokimyasalların biyosentezi ve salınımı çeltik gibi tarımsal önemi olan bitki türlerinin büyümesini baskılar ve patojen saldırılarına direnmesine olanak sağlar [11]. *Echinochloa*'nın rekabet baskısı çeltik veriminde %50 oranında azalmaya yol açar [100]. Herbisitler, *Echinochloa* ile mücadelede yaygın olarak kullanılmaktadır. *Echinochloa* cinsine ait yabancı otlar ALS (asetolaktat sentaz), asetil-CoA karboksilaz, 5-enolpiruvilşikimat, 3-fosfat sentaz (EPSPS), fotosistem-II ile uzun zincirli yağ asitlerinin inhibitörlerine karşı direnç içerir [101]. Çeltik tarımının yapıldığı alanlarda *Echinochloa* cinsine ait yabancı otlar arasında, *Echinochloa crus-galli* L., *E. oryzoides* L., *E. oryzicola* (Vasinger), *E. kolonia* L., *E. phyllopogon* yaygın olarak bulunur [11]. Ayrıca *Ammania coccinea*, *Cyperus difformis*, *Diplachne fusca*, *Persicaria hydropiper* türlerinin de çeltik tarlalarında geliştiği bilinmektedir.

Echinochloa crus-galli L. (darıcan) çeltik ve diğer tarım ürünlerinin yetiştirildiği alanlarda görülen en zararlı yabancı otlar arasında yer alır [102]. Tek yıllık tropik bir bitki olan *E. crus-galli* L., karbon fiksasyonunda C₄ yolunu kullanan, 9 - 13 saatlik fotoperiyot aralığına sahip, topraktaki düşük oksijen potansiyeli altında gelişebilen,

kökleri lifli yapıda olan bir bitki türüdür [11]. *E. crus-galli* L., nemli topraklar ile su altında gelişimini sürdürebilmektedir [103]. Erken gelişim aşamasında çeltiğe benzeyen *E. crus-galli* L., yabancı otlar ile mücadele aşamasında gözden kaçabilmekte ve dünya genelinde çeltik veriminde %35 civarında azalmaya yol açtığı tahmin edilmektedir [104]. *E. crus-galli* L., tohumlarının tümü aynı anda çimlenmeye girmez. Tohumları dormansi sürecine girer ve sadece uygun koşullarda çimlenir. Bu durum çoğalmasının kontrolünü karmaşık bir hale getirmektedir [105]. *E. crus-galli* L., besleyici mineral, ışık, su ve diğer ekolojik kaynaklar için başta çeltik bitkisi olmak üzere bitkiler ile rekabet halinde olan bir türdür. *E. crus-galli*'nin karbon fiksasyonunun C₄ olması, karbon fiksasyonu C₃ olan çeltiğe oranla ışık, besleyici mineral ve diğer ekolojik kaynakları daha verimli kullanmasına imkân sağlayarak çeltiğe oranla rekabette başarılı olmasına katkıda bulunmaktadır [106]. Rekabet yeteneği, fizyolojik üstünlüğü, morfolojik esnekliği, allelopatik etkisi *E. crus-galli*'nin tarımsal alanlara hızlıca yayılan bir istilacı tür olmasında etkili olmuştur [107].

Echinochloa oryzoides (çeltiksi darıcan) dünya çapında çeltik tarımının yapıldığı alanlarda yaygın olarak görülen, mevcut herbisitlerin çoğuna karşı direnci tespit edilmiş yabancı otlar arasında yer almaktadır [108]. *Echinochloa oryzoides*, *Echinochloa crus-galli* ve diğer *Echinochloa* cinsine ait yabancı otlara oldukça benzer olduğu için kesin olarak tanımlanması oldukça zordur [109]. *E. oryzoides* daha erken çimlenir. Özellikle *E. crus-galli* türüne oranla çimlenme oranı daha yüksektir. Daha iri taneli tohumlara ve çeltik herbisitlerine karşı daha fazla toleransa sahip olduğu düşünülmektedir [110]. *Echinochloa oryzoides*'in başarılı bir yabancı ot olmasında değişen ekolojik koşullara karşı koymasını sağlayan özellikleri ön plana çıkmaktadır. *E. oryzoides*'in morfolojik esnekliği, ışık stresine bağlı dokularında kuru madde dağılımındaki farklılıklar, çeltiğe oranla yaprak alanının 2 - 5 kat yüksek olması, yaprak alanını koruma ve artırma yeteneğine bağlı fotosentez veriminin yüksek olması, gölgeye toleransının yüksek olması [108], hızlı çimlenmesi, tarımsal gelişim süresi boyunca ortaya çıkma aralığı, hızlı dik büyüme, yüksek oranda tohum üretim yeteneği, genetik çeşitliliğinin olması [109] rekabette başarılı olmasında avantaj sağlamaktadır.

Asya, Amerika ve Avrupa ülkelerinde çeltik tarımının yapıldığı alanlara bakıldığında, sorun olan istilacı yabancı ot türleri arasında *E. oryzicola* Vasinger de yer alır. Çeltik

tarımının yapıldığı diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de Marmara ve Karadeniz bölgelerinde *E. oryzicola* Vasinger önemli sorun haline gelmiştir [13]. *E. oryzicola* Vasinger., fide döneminden başaklanmasına kadar çeltik bitkisini taklit eder. Toprağa gömülen tohumları uykuda kalır ve yıllık döngüler sergiler. Uykuda olmayan tohumlar, çeltik yetiştiricileri fide yataklarını ve tarlalarını ekim için hazırlamaya başladıkları zaman ilkbaharda tekrar tekrar ortaya çıkar. Uykuda olmayan tohumlar alkol fermentasyonu yoluyla çimlenmek ve büyümek için su altındaki koşullara metabolik olarak uyum sağlarlar [111]. *E. oryzicola* Vasinger su basmış çeltik tarlalarında karmaşık hayatta kalma stratejileri sebebiyle en baskın tür olup, C₄ fotosentetik yoluna sahip olma özelliğinden dolayı C₃ fotosentetik yoluna sahip tarım ürünleriyle birlikte büyüdükları zaman rekabette avantaj göstermektedirler [111]. *E. oryzicola* Vasinger transkripsiyon faktörleri gibi gen ekspresyon düzenleyicilerini değiştirme adaptasyonundan dolayı su baskını olmuş tarlalara kolayca yerleşerek çoğalmaktadır [112]. Suya batmaya toleranslı türlerde, etilene duyarlı transkripsiyon faktörleri etkisiyle su altında kalma stresiyle başa çıkmada önemli rol oynar [113].

Diğer bir istilacı tür olan kırmızı çeltik, Türkiye'ye son yıllarda girmiş olup çeltik tarımının yapıldığı alanlarda seleksiyon etkisiyle uyum sağlamış yabancı ot özelliği kazanmıştır. Kırmızı çeltik, *O. sativa* ile *O. glaberrima*'nın özelliklerine sahip, kültürü yapılan çeltik türlerinin otsu biotipidir [114]. Bu yabancı ot türü hemen hemen çeltik tarımının yapıldığı tüm alanlarda yaygın olarak görülür. Yüksek tohum parçalama özelliği, uzun süre uykuda kalması, boyca uzun olması, kırmızı perikarplı tane yapısı gibi baskın gelişme özellikleri göstermesinden dolayı hızlı çoğalmaktadır [115].

Cyperus difformis (kız otu), C₃ fotosentetik yoluna sahip olan, yüksek oranda kendi kendini dölleme özelliği gösteren, tek yıllık bir bitki türüdür [116]. Kız otu, karasal ve sucul alanlarda yüksek oranda adaptasyon özelliği etkisiyle çeltik tarımının yapıldığı tarım bölgelerinde gelişen yabancı ot türleri arasında yer alır [117]. Çeltik tarımının yapıldığı alanlarda gelişen kız otunun yüksek oranda üreme yeteneği, kök morfolojisi, hızlı büyümesi, toprağa yüksek oranda tohum bırakması, tek yıllık oluşu gibi karakteristik özellikleri bu türün yüksek oranda dağılışı göstermesini açıklamaktadır [117]. *C. difformis*, çeltik tarımında %22 - 43 oranında verim kaybına yol açtığı bilinmektedir. Kontrolünde ALS'yi inhibe eden azimsulfuron, bensulfuron-metil, bispiribak-sodyum, siklosulfamuron, etoksisülfuron, halosülfuron-metil, imazamoks,

imazethapir, imazosulfuron, ortosulfamuron, penoksulam ve pirazosulfuron-etil etkilidir [118].

Alisama plantago-aquatica (çobandüdüğü), çeltik tarımının yapıldığı alanlarda gelişen ALS inhibitörlerine karşı direnç kazanmış, Avrupa, Kuzey Asya ve Kuzey Amerika'ya özgü olan iki yıllık bir su bitkisidir [13]. *A. plantago-aquatica* genellikle iki yıllık bir bitki olarak görülmesine rağmen çeltik tarımının yapıldığı birçok ülkede yabancı ot gibi davranmaktadır [119]. Bu yabancı ot türünün çimlenmesi, kök gelişimi ve kök kuru ağırlık azaltma özellikleri bakımından çeltik bitkisinden farklılık gösterip yaprak özütlerinin allelopatik etkisi çeltik tarımında %16 - 43 oranında verim kaybına yol açar [120].

Diplachne fusca L. (baraj otu) iki ya da çok yıllık olabilen, dik, tüysüz, 150 cm'e kadar uzayabilen çeltiklerin çimlenme ve fide çıkışı dönemlerinde gelişen yabancı ot türleri arasında yer alır [121]. Çok yıllık bir tür olan bu yabancı ot türü, diğer yabancı ot çeşitlerinin büyüyemediği tuzlu suya doymuş topraklarda iyi gelişir [122]. Topraktaki CaCO_3 'ü çözen lifli ve sağlam bir kök sistemine sahip olup derin kökleriyle suyla doymuş topraklarda kolayca çoğalabilmektedir [123]. Çeltik bitkisinin çıkışının seyrek olduğu alanlarda tarımsal zararı daha fazladır. Baraj otuyla kimyasal mücadelede çıkış sonrası herbisitlerin kullanılması etkili olmaktadır.

2.3. Herbisitler

2.3.1. Herbisit Çeşitleri ve Etki Mekanizmaları

Pestisitler tarım alanlarında, evlerde zararlıları yok etmek için kullanılan kimyasal madde veya maddeler karışımıdır [124]. Pestisitler olarak adlandırılan madde grubu insektisitler, fungusitler, herbisitler, kemirgen öldürücüler, yumuşakça öldürücüler ve nematisitlerdir [125].

Herbisitler yabancı otlar ile mücadelede kullanılan önemli bir kimyasal madde grubudur [126]. Dünya nüfusunun her geçen gün artması, tarımsal ürün verimliliğinin önemini daha da artırmaktadır. Tarımsal üretim yapılan alanlarda, yabancı otlar ile mücadelede herbisitlerin uygulamasının kolay olması, kısa sürede etki göstermesi, iş gücünü en aza indirmesi gibi etmenlerden dolayı herbisitlerin kullanımı artış sergilemiştir. İlk herbisit 1940'lı yılların başlarında ortaya çıkmıştır. Yeni herbisitlik

etki mekanizmaları 1950'lilerin başlarından 1980'lerin ortalarına kadar her iki yılda bir sabit oranla bulunmaya devam etmiştir [127]. Dünya genelinde herbisitler, kullanılan pestisitlerin yaklaşık %60'ını temsil etmekte ve büyük ölçekli mahsul üretim sistemlerinin çoğu, yabancı otlarla mücadelede sentetik herbisitleri kullanmaktadır [128]. Gelişmiş ülkeler yabancı otlar ile mücadelede en çok glifosat herbisitini kullanmaktadır [129]. Glifosata karşı toleranslı bitki grupları ilk olarak sert otlarda tespit edilmiştir [130]. Glifosata toleranslı tarım ürünlerinin piyasaya sürülmesinden sonra, yabancı otlar ile mücadelede yeni herbisit hedef bölgelerinin belirlenmesi için çalışmalar başlatılmıştır [128].

Ekim nöbeti eksikliği, aynı etki mekanizmasına sahip herbisitlerin sürekli kullanılması gibi faktörler dünyada ve Türkiye'de herbisit direncini artırmıştır. Dünya genelinde, yabancı otlar ile mücadelede kullanılan herbisitlere karşı direncin ortaya çıkması alternatif mücadele yöntemlerinin önemini artırmıştır. Herbisitlerin kimyasal içerikleri, etki yollarının bilinmesi, uygulama zamanı ve periyotlarının iyi planlanması, herbisitlere karşı gelişen direnç genlerinin bilinmesi yabancı otlar ile mücadeleyi oldukça kolaylaştırıp tarımsal verimliliğin artmasına ortam hazırlayacaktır.

Son yıllarda, dünya genelinde çeltikte herbisitlere tolerans genlerinin araştırılması ve uygulaması yaygın hale gelmiştir. Özellikle glifosat, glufosinat, asetolaktat sentaz inhibitörü, asetil-CoA karboksilaz inhibitörü, hidroksihenilpiruvat dioksijenaz (HPPD) inhibitörü ile dinitroanilin herbisitlerine başta çeltik olmak üzere birçok bitki türünde tolerans mutasyonlarının varlığı belirlenmiştir [131].

Tarımsal alanlarda istenmeyen bitkileri kontrol etmede kullanılan herbisitlerin etkisi istenmeyen bitki türüne, herbisit türüne, uygulama yöntemi ve zamanına, dozajına, çevresel faktörler gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Yabancı otlarla mücadelede kullanılan herbisitler bitkiye özgü reaksiyonları hedef alıp kimyasal reaksiyon çeşitlerine göre etkisi üç ana kategoride incelenebilir. Birincisi fotosentezle ilgili biyokimyasal yolları ve fizyolojik süreçleri hedef alan herbisitlerdir. İkincisi organik bileşik monomerleri (şekerler, amino asitler ve yağ asitleri) ve bunların oluşumlarını hedef alan herbisitlerdir. Üçüncüsü ise diğer etki mekanizmalarına sahip olan herbisitlerdir (Tablo 2.2). Herbisitlerin yan etkileri dikkate alındığında yanlış uygulanması ve kontrolsüz bir şekilde kullanılması çevreye

zarar verebilir. İstenmeyen bitkilerin ve organizmaların öldürülmesinin yanı sıra toprak verimliliğini olumsuz yönde etkileyebilir [132].

Dünyada 16 farklı etki mekanizmasına göre herbisitler sınıflandırıldığında bazıları dihidropteroat sentaz engelleyiciler, hücre membranı oluşumu engelleyiciler, oksin taşınması engelleyiciler, asetolakto sentetaz enzimi engelleyicileri, fotosentez tepkimeleri engelleyicileri, kök gelişimi engelleyicileri, lipid sentezi engelleyicileri, EPSP sentaz engelleyicileri, pigment engelleyicileri, glutamin sentetaz engelleyicileri, Asetil-CoA ve karboksilaz engelleyicileri şeklinde bulunmaktadır (Tablo 2.3). Herbisitler özgünlüğü, kimyasal yapısı, uygulama zamanı ve etki şekillerine göre sınıflandırılabilir. [133]. Büyüme düzenleyici herbisitler geniş yapraklı yabancı otların kontrolünde kullanılıp doğal hormonlar gibi bitki büyümesini etkilerler. Örneğin: 2, 4-diklorofenoksiasetik asidin herbisidal etkisi sentetik oksin hormonuna benzer [134]. Büyüme inhibitörü herbisitler arasında yer alan tiyokarbamatlar ve asit amidler kök ve sürgün inhibitörü olarak fonksiyon gösterir. Fotosentez inhibitörü herbisitler (triazin gibi) hücre membranı yapısını bozacak şekilde görev yaparlar [133]. Atrazin, simazin gibi triazin grubu herbisitler plastokinon II ile rekabet ederek fotosentezi inhibe etme yoluyla fotosistem II'de elektron taşınmasını bloke ederler [135]. Amino asit biyosentezi inhibitörü herbisitler valin, lösin, izolösin gibi amino asitlerin biyosentezinde görev alan asetohidroksiasit sentazı (AHAS) veya tirozin katabolizması ve karotenoid sentezinde görev alan 4- hidroksifenilpiruvat dioksijenazı inhibe edebilir [15]. Pirimidinilbenzoatlar ile sülfonilamino-karbonil-triazolinon herbisitleri dallı zincir amino asit biyosentezinde ilk görev alan asetohidroksiasit sentaz (AHAS) enzimini inhibe eder [136]. Lipid biyosentezi inhibitörü fluazifop, sethoxydim gibi herbisitler lipid metabolizmasını engelleyerek çoğunlukla çimlerin gelişiminin baskılanmasında kullanılırlar [133].

Tablo 2.2 Özgül reaksiyonlara göre herbisitlerin etki mekanizmaları [128].

Grup	Tip	Mekanizma/Hedef
Fotosentezle ilgili biyokimyasal yollar ve fizyolojik süreçler	Işık reaksiyonu	Fotosistem II Fotosistem I
	Karotenoid	Deoksiksilülöz-5-fosfat sentaz Fitoen desatüraz
	Plastokinon	p -Hidroksifenilpiruvat dioksijenaz Homojenleştirilmiş solanesiltransferaz
		Solanil difosfat sentaz
	Klorofiller Ayırıcılar	Protoporfirinojen oksidaz Oksidatif (foto)fosforilasyon
Organik monomerlerin oluşumu bunların makromoleküller halinde birleştirilmesi	Amino asitler	5-enolpiruvilşikimat-3-fosfat (EPSP) Sentaz Asetolaktat sentaz Glutamin sentetaz Dihidroksi-asit dehidrataz
		Asetil-CoA karboksilaz Yağ asidi tioesteraz Çok uzun zincirli yağ asidi uzatmaları
	Lipitler	
	Hücre duvarları	Selüloz sentaz ve diğerleri
	Mikrotübül düzeneği	α - ve/veya β -Tubulin
	Mikrotübül organizasyonu	Mikrotübül düzenleme merkezleri
	Folatlar	Dihidropteroat sentetaz Dihidrofolat redüktaz
	Nükleik asitler	
		DNA giraz Dihidroorotat dehidrojenaz
Diğer süreçler	Protein sentezi	Peptid deformilaz
	Protein düzenlemesi	Serin-treonin protein fosfatazları
	Hormon	Sentetik oksinler Oksin taşıma inhibisyonu

Tablo 2.3 Herbisit sınıfları, aktif maddeleri ve etki mekanizmaları [137].

Etki mekanizmaları	Kimyasal sınıf	Aktif maddeler
Asetolakto Sentetaz (ALS) Enzimi Engelleyicileri	Imidazolinone	imazamox
	Pyrimidinyl(thio)benzoate	bispyribac-Na
	Sulfonylaminocarbonyl-triazolinone	flucarbazone-Na, propoxycarbazon-Na
	Sulfonylurea	amidosulfuron, azimsulfuron, bensulfuron-methyl, chlorsulfuron, ethametsulfuron-methyl, ethoxysulfuron, foramsulfuron, halosulfuron-methyl, mesosulfuron, metsulfuron-methyl, nicosulfuron, rimsulfuron, orthosulfamuron, sulfosulfuron, thifensulfuron-methyl, triasulfuron, tribenuron-methyl, trifloxysulfuron, tritosulfuron
		florasulam, penoxulam, pyroxsulam
		pyrazon = chloridazon
		desmedipham, phenmedipham
		terbuthylazine
		metamitron, metribuzin
		lenacil
		diuron, fluometuron, linuron
Fotosentez Engelleyicileri	Benzothiadiazinone	bentazon
	Phenyl-pyridazine	pyridate
	Nitriles	bromoxynil, ioxynil
	Bipyridylum	diquat
	Pyridinecarboxamide	diflufenican
Pigment Engelleyicileri (Beyazlatıcı Herbisitler)	Diğer (PDS)	flurochloridone
	Benzoylcyclohexanedione	tembotrione
	Isoxazole	isoxaflutole
	Triketone	mesotrione
	Triazolone	thiencarbazon-methyl
	Diphenylether	aclonifen

	Triazole	amitrole
	Urea	fluometuron
	Isoxazolidinone	clomazone
PPO	Diphenylether	oxyfluorfen
(Protoporfirinojen	Oxadiazole	oxadiazon
oksidaz) Enzimi	Phenylpyrazole	pyraflufen-ethyl
Engelleyicileri	Triazolinone	carfentrazone-ethyl
	Aryloxyphenoxypropionate 'FOPs'	clodinafop-propargyl, cyhalofop-butyl, diclofop- methyl, fenoxaprop-P-ethyl, fluaizifop-P-butyl, haloxyfop-R-methyl, propaquizafop, quizalofop- P-ethyl, quizalofop-P-tefuryl
Asetil CoA	Cyclohexanedione	clethodim, cycloxydim, profoxydim, tepraloxymidin
Karboksilaz	'DIMs'	tralkoxydim
(ACCase) Enzimi	Phenylpyrazoline 'DEN'	pinoxaden
Engelleyicileri	Glycine	glyphosate
EPSP Sentaz	Benzofuran	ethofumesate
Engelleyicileri	Thiocarbamate	molinate, prosulfocarb, triallate
Lipid Sentezi	Benzamide (Mikrotubulüs oluşumu engelleyicileri)	propyzamide = pronamide
Engelleyicileri	Dinitroaniline	benefin = benfluralin, pendimethalin
	Carbamate (Mitoz oluşumu engelleyiciler)	chlorpropham
Kök Gelişimi	Acetamide	napropamide
Engelleyicileri	Chloroacetamide	dimethanamid, metazachlor, metolachlor
	Oxyacetamide	flufenacet
	Pyrazole	pyroxasulfone
	Alkylazine	indaziflam
Hücre Duvarı	Benzamide	isoxaben
(Selüloz) Sentezi	Quinoline carboxylic acid	quinmerac
Engelleyicileri	Phosphinic acid	glufosinate-ammonium
Glutamin sentetaz	Benzoic acid	dicamba
Engelleyicileri	Phenoxy carboxylic acid	2,4-D, aminopyralid, clopyralid, fluroxypyr, MCPA, mecoprop = MCPP = CMPP, picloram, triclopyr
Sentetik Oksinler	Quinoline carboxylic acid	quinmerac

Pigment bozucu inhibitör paraquat ve diquat gibi herbisitler ışıkla aktifleştikten sonra yapraklarda kahverengileşmeye (nekroz) yol açarak etki ederler. Pigment biyosentezi inhibitörü klomazon gibi herbisitler klorofili ışıktan koruyan karotenoid adı verilen fotosistemlerde bulunan pigmentlerin biyosentezini engelleyerek klorofil pigmentinin görev yapmasını önleyerek fotosentez reaksiyonlarının durmasına yol açarlar [133].

Herbisitlerin etki mekanizmalarını anlamak ve bitkilerin herbisitlere karşı direnç kazanmasına yol açan genlerin ve gen yolaklarının araştırılması yabancı otlar ile mücadeleyi kolaylaştırarak tarımın sürdürülebilirliği açısından önem taşımaktadır. Biyoteknolojik çalışmaların ilerlemesi ile çeltikte herbisitlere direnç genlerinin araştırılması ve uygulamasında büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Çeltikte glifosat, glufosinat, asetolaktat sentaz inhibitörü herbisitler, asetil CoA karboksilaz inhibitörü herbisitler, hidroksihenilpiruvat dioksijenaz (HPPD) inhibitörü herbisitler, dinitroanilin inhibitörü herbisitlerin hedef genlerinde çeşitli direnç mutasyonlarının varlığı bilinmektedir [131].

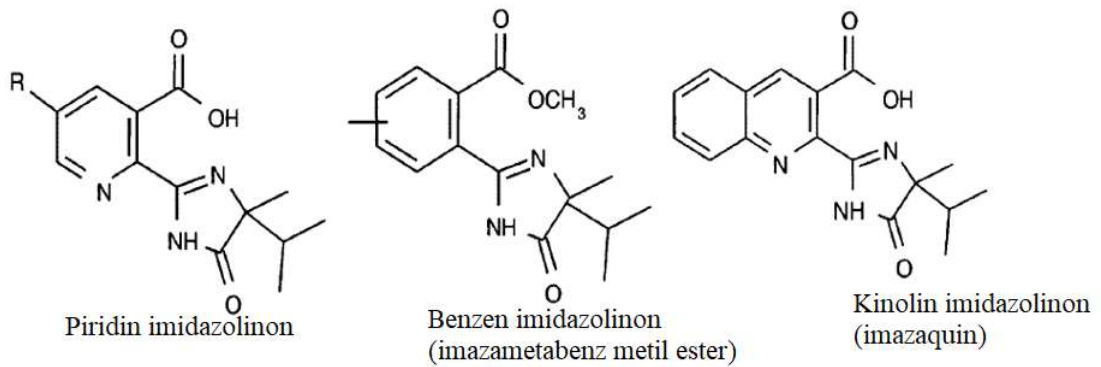
2.3.2. İmidazol (IMI) Grubu Herbisitler

AHAS enzimi aktivitesi hayvanlarda bulunmazken bitkilerin birçoğunda tespit edilmiştir [15]. Hayvanlarda AHAS geni bulunmadığından, imidazol grubu herbisitler dünya çapında kullanılan seçici toksisite ilkesini takip etmektedir [14]. Bu herbisitler oldukça seçicidir ve düşük konsantrasyonlarda etki göstermektedir [16]. *Arabidopsis thaliana*'da AHAS (AtAHAS) enzimi için inhibitör olarak kullanılan klorimuron etil (CE) 10,8 nM'lık derişimde etki gösterirken, IMI grup imazaquin (IQ) 3 µM'lık derişimde etki göstermektedir. Aradaki derişim farkı 300 kat civarındadır [138]. İmidazol grubu herbisitlerin dünyada kullanım oranının yüksek olmasında düşük uygulama oranı, yüksek verimde ürün elde edilmesi, yabancı ot seçiciliği ile hayvanlar üzerindeki düşük toksisitesi etkili olmaktadır.

Herhangi yabancı bir gen eklenmeden elde edilen Clearfield çeltiği ve imidazol herbisiti kullanılarak yabani çeltik ve diğer yabani otlarla tarımsal mücadele başta ülkemiz olmak üzere Orta ve Güney Amerika, Çin, Orta Afrika, Hindistan, Kuzey Avustralya gibi bölgelerde oldukça yaygın hale gelmiştir. Çeltik tarımında karşılaşılan sorunların başında besin, ışık gibi abiyotik kaynaklar için çeltikle rekabet halinde olan

yabancı otlar gelmektedir. Yabancı otların istilasına bağlı olarak çeltikte ürün kaybı, bitkinin hayatta kalma ve üretkenliğinde azalma gibi olumsuzluklar ortaya çıkabilmektedir. Yabancı otlar ile mücadelede kullanılan stratejiler arasında herbisitler ucuz ve etkili oldukları için tercihlerin başında gelir [139]. Herbisit tolerans teknolojisinin gelişmesi ile yabancı otlar ile mücadelede herbisitlere toleranslı, genetiği değiştirilmiş birçok tarım ürünü geliştirilerek, ticarileştirilmiştir [18].

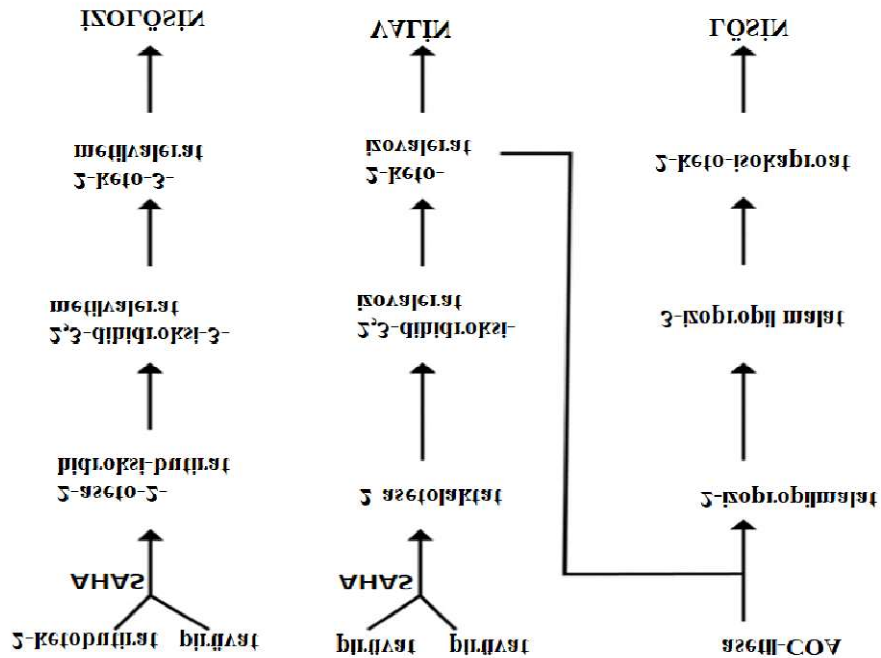
1980’lerde AHAS’ı inhibe eden herbisitlerin tarımsal üretime dahil edilmesinden bu yana düşük dozajları, çevre dostu olmaları, memelilerde düşük toksisitesi olması, geniş ürün seçiciliği ve yüksek etkileri sebebiyle yabancı otların kontrolünde önemli araç haline gelmişlerdir [140]. İmidazoller, sülfoniller, triazolopirimidinler, pirimidinil tiyobenzoatlar ile sülfonilamino-karboniltriazolinon herbisitleri AHAS enzimini inhibe ederler [141]. İmidazol herbisitleri arasında imizapir, imazapik, imazetapir, imazamoks, imazametabenz ile imazakin yer alır (Şekil 2.5). İsimlerinden de anlaşılacağı gibi tüm imidazoller moleküler yapılarında bir imidazol parçasına sahiptir [142]. İmidazol halkası haricinde, moleküllerin ikincil siklik yapısına göre üç grup bulunmaktadır. İmazaquin’in bir kinolin kısmı, imazamethabenz’in bir benzen halkası ve diğer imidazollerin bir piridin halkası olup piridin halkalı imidazoller yalnızca piridin halkasının beşinci pozisyonunda farklılık gösteren dört analogla ayrıt edilirler (Şekil 2.5.). İmidazol grubu herbisitler, GDO’suz yaklaşımla herbisitlere dayanıklı tarımsal öneme sahip ürünleri geliştirmede tercih edilen herbisitlerin başında yer alır [143].



Şekil 2.5 İmidazol herbisitler; imizapir: R=H, imizapik: R=CH₃, imazetapir: R=CH₃-CH₂, imazamoks: R=CH₃-O-CH₂ [9].

2.3.3. ALS ve NAL1 Genlerinin Bitki Gelişimi Üzerindeki Etkileri

ALS geni, asetolaktat sentaz (ALS ya da AHAS) enzimini kodlar. Dallı zincir amino asitlerin biyosentezinde kilit role sahiptir. Özellikle ALS inhibitörü herbisitlere karşı tolerans geliştirme açısından önemli bir hedef gen olarak ön plana çıkmaktadır. Bitkiler, valin, lösin ve izolösin dallı zincir amino asitlerini pirüvat ve 2-ketobutirat gibi basit karbon iskeletlerinden sentezlemektedir. Asetohidroksi asit sentaz (AHAS) enzimi iki pirüvat molekülünün harcanmasıyla valin, lösin amino asitlerini, 2-ketobutiratın harcanması ile de izolösin amino asidinin biyosentezini gerçekleştirir (Şekil 2.6). Dallı zincir amino asit sentezinin engellenmesi durumunda bitki gelişiminde durma, yaprak klorozu, klorofil içeriğinde azalma gibi aksaklıklar ortaya çıkmaktadır [144]. AHAS enzimi, birçok herbisit hedefi olduğundan, bu enzimin regülasyon alt biriminde meydana gelen mutasyonlar, bitkilerde valin toleransı ve herbisit direnci kazandırabilir [145]. Özellikle imidazol grubu herbisitlerinden imazamoks ve imazapir çeşitlerinin AHAS enzimi ile doğrudan etkileşime girerek ALS gen anlatım seviyesinde değişimlere yol açtığı birçok bilimsel çalışmada rapor edilmiştir.



Şekil 2.6 Dallı zincir amino asit biyosentez yolu ile AHAS enzimi tarafından katalize edilen reaksiyonlar [145].

Geçtiğimiz yıllarda yapılan çalışmalar NAL1 geninin çeltik bitkisinin yaprak morfolojisi, damar deseni, başak yapısı, tane sayısı, bitki boyu gibi birçok agronomik özelliği etkileyen pleiotropik etkilerini göstermiştir. Çeltik ıslahında önemli bir gen olarak tanımlanmaktadır [146], [147]. NAL1, serin proteaz olarak işlev görmektedir [148]. Çeltik bitkisinde kök, gövde, yaprak morfolojisi üzerinde, tane verimi, klorofil içeriği ve fotosentez hızı üzerinde etkisi bulunmaktadır [147], [148]. Mevcut bilimsel çalışmalar, NAL1 geninin doğrudan herbisitlerin hedefi olmadığı ve herbisitlere karşı direnç mekanizmasında işleve sahip olmadığını göstermektedir. Ancak NAL1 geninin bitki gelişimindeki etkileri göz önünde bulundurulacak olursa herbisit uygulamalarına karşı bitki gelişiminin değerlendirilmesinde karşılaştırma fırsatı sunmaktadır.

2.3.4. IMI Grubu Herbisitler ile AHAS Enzimi Arasındaki Etkileşim

Kinolin, benzen ve piridin halkaları taşıyan imidazollerin AHAS enzimi üzerinde farklı inhibisyon etkilerinin bulunması, imidazollerin dış halkası dışında ikinci siklik yapısı ile de AHAS inhibisyonuna katılabildiğini düşündürmektedir [149]. Valin, lösin, izolösin amino asitleri bitkilerde hücre bölünmesi sırasında görev alan proteinlerin sentezi için gereklidir. IMI grubu herbisitler, ALS enziminin rekabetçi olmayan inhibitörü olarak hareket ederek valin, lösin, izolösin amino asitlerinin sentezini durdurmaktadır [150]. İmidazol grubu herbisitler moleküler substrat erişim kanalını bloke ederek ilgili amino asitlerin eksikliğini ortaya çıkarır [151]. Protein sentezinde ortaya çıkan azalma, hücre bölünmesinin yavaşlamasına yol açarak bitki büyümesinin azalmasına ve bitki ölümüne yol açar [152]. AHAS ya da ALS enzimi tarafından gerçekleştirilen reaksiyon, pirüvatın dekarboksilasyonunu katabolize eder ve ardından sırasıyla 2-asetolaktat veya 2-aseto-2-hidroksibutirat oluşturmak üzere pirüvat veya 2-ketobutirat ile etkileşime girerek etki gösterir [153] [153]. Bu reaksiyonların gerçekleşmesi tiamin difosfat (ThDp), magnezyum iyonu (Mg^{+2}) ile flavin adenin dinükleotid (FAD) kofaktörlerine bağlıdır [154]. Tiamin difosfat (ThDp), dallı zincir amino asitlerin sentezinde kovalent ara maddelerin oluşumunu sağladığı için AHAS enzimi için önemli bir kofaktördür. Flavın kofaktörü ise AHAS'ın fizyolojik reaksiyonunda kimyasal olarak yer almamasına rağmen enzimin yapısal bütünlüğü ve aktivitesi için gereklidir [155]. Katalitik döngü, substratların ürünlere redoks dönüşümünü içermese de AHAS enziminin katalitik aktivitesi için FAD'ın AHAS'a bağlanması zorunludur [156].

Ökaryotik AHAS'ın önce mayalarda sonra bitkilerde benzer bir alt birim düzenlenmesi oluşturulmuştur [157]. Maya AHAS'ın kristal yapısının analizi ile ökaryotik AHAS enziminin bir katalitik alt birim ve düzenleyici alt birimden oluştuğunu belirlenmiştir [158]. Katalitik alt birim iki büyük alt birimin katlanmasıyla oluşan bir homodimerdir. Her alt birim bir AHAS polipeptidinin monomeri olup üç alana sahiptir [160][159]. Benzer büyüklükteki düzenleyiciler α , β ve γ alt birimlerinin ökaryotlarda bir AHAS küçük alt biriminin olduğunu gösterir [159], [160]. AHAS'ın küçük alt birimi birçok bitki türünde korunmuştur [161].

AHAS'ı inhibe eden herbisitlerin etkisine iki önemli faktör katkıda bulunur. Bu faktörlerden birincisi herbisitinin katalitik cebe bağlanmasıdır. Bu etki şekli substrat erişim kanalını bloke eder ve substrat tükenmesi yoluyla enzim inhibisyonuna yol açar [162]. İkincisi ise zamana bağlı birikimli inhibisyon olarak adlandırılan bir süreçte enzimin herbisit tarafından oksidatif inaktivasyonunu içerir [163].

AHAS'ı inhibe eden herbisitlerin bağlanma bölgesi, AHAS'ın katalitik alt birimindeki iki büyük alt birimin monomerinin ara yüzünde yer alan aktif bölgeye yakındır [164]. AHAS enzimi α , β ve γ olarak adlandırılan benzer büyüklükteki üç alandan oluşan homodimeri olup herbisit direnç mutasyonları üç alanın tümüne yayılır. Ancak protein molekülü bu alt birimleri ara yüzünde tek bir bölgede bir araya getirecek ve girişte uygun bir herbisit bölgesini tanıyacak şekilde katlanır [165].

AHAS enzimini hedef alan herbisitler, AHAS'ı doğrudan etkilemelerinin yanı sıra enzimin oksidatif inaktivasyonu ve tiamin difosfat (ThDP) kofaktörünün kimyasal değişimini sağlar [136]. AHAS enziminin oksidatif inaktivasyonu, FAD kofaktörünün oksidasyonunu içeren ve enzimin inhibisyonuna yol açan bir süreç olup reaksiyon tarafından üretilen ROS aktif bölgeye tutunarak FAD kofaktörünün redoks durumunun değişmesine yol açan oksidasyon reaksiyonlarını başlatır [163]. Bu tip oksidatif inhibisyon, birikimli ve geri dönüşümlü olarak tanımlanmış olup enzimin aktif olması için azaltılmış bir FAD kofaktörünün gerekli olduğunu gösterir [136].

Herbisit, enzime bağlanarak inaktivasyonunu teşvik eder. Daha sonra salınarak enzime yardımcı moleküllerin inaktivasyonunu sağlayarak inaktive edilmiş enzimin birikimine yol açar. Aynı zamanda geri dönüşümlü birikimli inhibisyon, zamana bağlı bir süreç olup, inaktive edilmiş enzimin birikimi inaktive edilmiş enzimin birikim hızı

ile enzim geri kazanım hızı arasında dengeye ulaşana kadar zamanla artar [162]. AHAS'ın piruvat oksidaz yan reaksiyonuyla FAD azalmasının karakteristik yavaşlama hızı, birikimli ve geri dönüşümlü inhibisyonun sebeplerinden biridir [163]. Oksidatif inhibisyonun temeli, AHAS'ın doğal oksijenaz yan reaksiyonuyla ilişkili olup reaksiyonlar tarafından üretilen ROS türleri (perasetat, singlet oksijen) oksidatif reaksiyonları başlatır [162]. Herbisitler, AHAS'ın önemli bir kofaktörü olan ThDP'yi C₂ karbonun çıkarıldığı bozulmuş bir forma [tiamin aminoetentiyol (ThAthDP)] veya bir karbonil oksijenin eklendiği oksitlenmiş bir forma [tiamin tiazolon difosfat (ThThDP)] dönüştürür [162]. Hem ThAthDP hem de ThThDP, AHAS katalizini sürdüremez, yalnızca bunların sağlam bir ThDP ile değiştirilmesi aktiviteyi geri dönüştürebilir. Piruvat ile reaksiyona giremeyen perasetat, FAD kofaktörünü oksitleyerek AHAS'ın inaktivasyonuna yol açar ve AHAS'ın POX aktivitesi ile FAD'ın azaltılması, enzimin yeniden aktifleşmesinde etkili olur. ThAthDP ve ThThDP'nin ThDP'ye dönüşmesi gereklidir [162]. Herbisitlerin bağlanma cebindeki bazı amino asitler, AHAS'ın imidazole karşı direncinin artmasını sağlarken, cepteki diğer amino asitler AHAS'ın imidazole duyarlılığını artırır [165][164]. Yabancı ot türlerinde çoğunda AHAS inhibitörü direnç şekli, katalitik bölgedeki bağlanma cebinin topolojisini değiştiren amino asit bölgeleri sebebiyle AHAS'ın herbisite duyarlılığının azalmasıyla ilişkilidir [166], [167].

2.3.5. AHAS Gen Mutasyonu ve İmidazol Toleransı

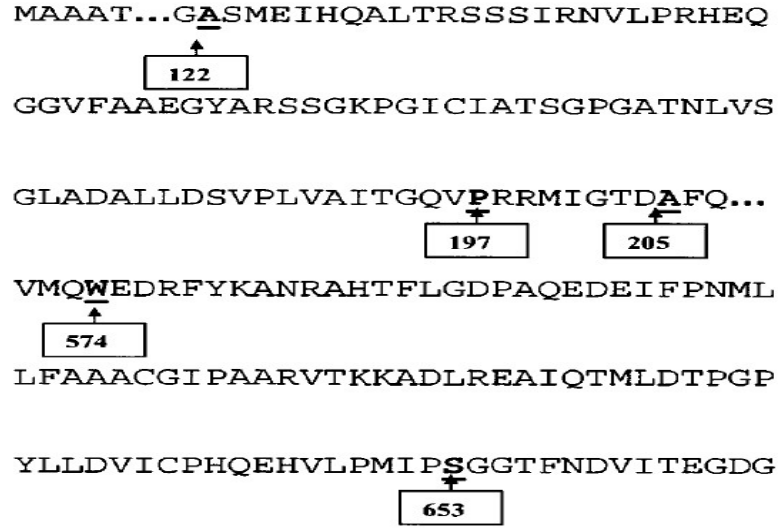
Tarım alanlarında çoğalarak ürün kaybına yol açan yabancı otlarla mücadelede çeşitli herbisit grupları kullanılmaktadır. Yabancı otların herbisitlere karşı tolerans kazanması tarımsal mücadeleyi zorlaştırmaktadır. Dünya genelinde bildirilen 512 herbisit tolerans vakasında, asetohidroksiasit sentaz (AHAS) inhibitörlerine tolerans en sık görülenidir. AHAS enzimi, dünya çapında ticari olarak kullanılan imidazol grubu (IMI) herbisitler ile 50'den fazla herbisitin hedefidir [168]. Bitkilerde herbisitlere karşı tolerans, herbisit seçim baskısıyla doğal olarak gelişebileceği gibi genetik mühendisliği ya da mutajenez yoluyla gelişebilir.

Tarımsal öneme sahip olan bitkilerin herbisit toleransı üç temel mekanizma ile tanımlanmıştır. Bunlar etki yerinde tolerans, metabolik detoksifikasyon ve herbisitin etki alanına ulaşmasının engellenmesi şeklindedir [9]. Dallı zincir amino asit

sentezinde asetohidroksiasit sentaz (AHAS) ya da asetolaktat sentaz (ALS) enzimi görev alır [150]. AHAS'ın nükleotid ve amino asit dizileri ile imidazollere karşı toleransa sebep olan mutasyonlar Arabidopsis'te iyi karakterize edilmiştir [169].

Sentetik herbisitlerin geniş çapta başarılı bir şekilde kullanımı, güçlü ve yaygın seçim baskısını ortaya çıkarmış ve birçok yabancı ot türünde herbisit toleransının oluşmasına yol açmıştır. Genellikle herbisitlere karşı tolerans mekanizmaları iki kategoriye ayrılır. Hedef bölge direnci (TSR) ve hedef dışı bölge direnci (NTRS) olup kategorilerinden TSR genellikle, herbisitlerin protein hedeflerini kodlayan genlerdeki mutasyonları içerir. Bu mutasyonlar, herbisitin katalitik alanlarda veya bunlara erişimi etkileyen bölgelerde bağlanmasını değiştirir [170]. Bu mutasyonların çoğu SNP'lerdir. Ancak birden fazla kodondaki polimorfizimler veya tüm kodon delesyonları da tespit edilmiştir [170]. TSR, hedef enzimin amino asit sekanslarındaki değişikliklerin bir sonucu olarak hedef bölge duyarlılığının azalmasıyla ilgilidir. Bu da herbisit bağlanmasının azalmasıyla sonuçlanır [171]. Hedef bölgeyi kapsayan direnç, gen promötörü veya transkripsiyon faktöründeki modifikasyonlar yoluyla hedef enzimlerin aşırı ekspresyonu ile sağlanabilir [167]. NTRS mekanizmaları, hedef bölge proteini ile etkileşime girmek için mevcut aktif herbisit konsantrasyonunu azaltan tüm mekanizmaların yanı sıra hedef bölge inhibisyonu yolu ile, herbisitin hedef bölgeye ulaşmasını azaltarak, herbisitin daha az toksik bileşiklere parçalanmasını arttırarak, herbisit detoksifikasyonunun artırılmasını sağlar [170]. Çoğu AHAS inhibitörü direnç şekli, katalitik bölgedeki bağlanma cebinin topolojisini değiştiren amino asit bölgeleri sebebiyle AHAS'ın herbisite duyarlılığının azalmasıyla gerçekleşir [167][167].

AHAS enziminin katalitik büyük alt biriminin birincil yapısı türden türe farklılık gösterip 670 amino asitten oluşur [164] [159]. İmidazol grubu herbisitlere toleranslı mutasyonların çoğu amino asitlerin konumundan kaynaklanıp α ve γ alanlarında görülür [172]. Yapılan çalışmalarda AHAS geninin herbisitlere karşı tolerans kazandırdığı gözlemlenmiştir. AHAS inhibitörlerine tolerans kazandıran en yaygın mutasyonlar AHAS'ın büyük alt birimindeki Ala122, Pro197, Ala205, Trp574 ve Ser653 konumlarında olduğu belirlenmiştir (Şekil 2.7). Ser653'teki mutasyon imidazollere karşı tolerans kazandırıp diğer AHAS inhibitörlerine çapraz tolerans sağlamaz [9].



Şekil 2.7 *Arabidopsis thalina*' da AHAS enziminin kısmi amino asit dizilimi ile bitkilerde yaygın olarak görülen beş amino asit mutasyon konumu gösterilmiştir [9].

Ala122, Ala205 ve Trp574'teki mutasyonlar genellikle AHAS'ı inhibe eden herbisit çeşitlerine karşı toleranslı olup imidazole toleranslı ürünlerin geliştirilmesinde kullanılmıştır [174][173]. Pro197'deki mutasyon genellikle imidazollere karşı toleransı olmayıp, sülfonillere karşı toleransı yüksektir [174]. Ticari olarak geliştirilmiş tarım ürünlerinin çoğunda Ala205, Trp574 ve Ser653 mutasyonları yaygın olarak görülür [175]. Ser653Asn mutasyonu, AHAS enziminin herbisit bağlanma bölgesinde yapısal değişikliklere yol açarak herbisit enzime bağlanmasını engellemiştir [176]. Ayrıca bu mutasyonun enzim aktivitesini ciddi şekilde etkilemediği, dolayısıyla bitki büyüme ve gelişimini önemli derecede aksatmadığı görülmüştür.

Dünya genelinde 94 yabancı bitki türünde IMI toleransla ilişkili 22 kadar AHAS gen mutasyonu rapor edilmiştir. Bu mutasyonlar Ala122 (8 tür), Pro197 (16 tür), Ala205 (6 tür), Asp376 (8 tür), Trp574 (30 tür), Ser653 (10 tür), Gly654'tür (2 tür). Bunlardan üç lokus (Ala122, Ser653, Gly654) çeltik bitkisiyle ilişkilidir (Tablo 2.4).

Tablo 2.4 Çeltikte IMI herbisitlere karşı AHAS enziminde amino asit direnci [171].

Amino asit konumu	Direnç sebebi	Tür	Yıl	Direnç sağlayan herbisitler
Ala-122	Thr ^a	<i>Oryza sativa</i> var. <i>sylvatica</i>	2002	imazethapyr, imazapic
	Asn ^b	<i>Oryza sativa</i> var. <i>sylvatica</i>	2002	imazethapyr
	Asp ^a	<i>Oryza sativa</i> var. <i>sylvatica</i>	2006	imazethapyr, imazapic
Ser-653	Asn ^c	<i>Oryza sativa</i> var. <i>sylvatica</i>	2010	imazamox
	Asn ^d	<i>Oryza sativa</i> var. <i>sylvatica</i>	2013	imazethapyr, imazamox
	Asn ^e	<i>Oryza sativa</i> var. <i>sylvatica</i>	2020	imazethapyr, imazapic
	Glu ^a	<i>Oryza sativa</i> var. <i>sylvatica</i>	2006	imazethapyr
Gly-654	Glu ^f	<i>Oryza sativa</i> var. <i>sylvatica</i>	2008	imazethapyr, imazapic

Türk ve Avrupalı çiftçiler, yetiştirme gelenekleri ve ekonomik kaygıları sebebiyle ortak bir monokültür çeltik tarımı uygulaması yapmaktadır. Monokültür çeltik tarımı uygulamalarının yapılması sırasında yabancı ot istilasını önemli sorunların başında gelir [177]. Yoğun monokültür, aynı ya da benzer etkiye sahip herbisitlerin kullanımına yol açmıştır [178]. Bu durumda başka yabancı ot yönetimi stratejilerinin yokluğunda, herbisite dirençli yabancı otların hızla ortaya çıkmasına ortam hazırlamıştır [177]. Başta çeltik olmak üzere tarım ürünlerinin her gelişim mevsiminde tek bir herbisit defalarca aşırı kullanımı, dünya çapında tarımda büyük bir endişe haline gelen dirençli yabancı otların potansiyel evrim riskini artırır [179]. Bundan dolayı yabancı otlar ile mücadelede güvenilir yaklaşımlar geliştirilmelidir. Clearfield® teknolojisinin gelişmesiyle IMI toleranslı çeşitli çeltik çeşitleri elde edilmiştir. IMI grubundaki herbisitlerin düşük dozdaki etkisi diğer herbisit çeşitlerine göre daha avantajlıdır [180]. Çeltik tarımında verimi artırmak için IMI toleranslı çeltik mutant soylarının

geliştirilmesi ve kullanım oranının artırılması yabancı otlarla mücadelede güvenilir bir yaklaşım sağlayacaktır.

2.4. Bitkilerde Oksidatif Stres ve Serbest Oksijen Türleri

Aerobik hücre sel solunumda ve enerji metabolizmasında gerekli olan oksijen molekülü aynı zamanda canlılar üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. Molekül halinde aktifliği az olsa da çeşitli stres koşullarında (radyasyon, kuraklık, sıcaklık, ağır metal, herbisit vb.) ileri derece toksik ara molekül oluşturur [181]. Atmosferik oksijen temel durumda bulunup, gaz halinde bulunan diğer elementlerden oldukça farklıdır. Aktive edilmediği sürece organik bileşikler ile reaksiyona giremez. Eşlenmemiş halde bulunan elektronlar zıt spinlere sahip olmalarından dolayı organik bileşikler için reaktif değildir. Fakat elektronlar oksijende paralel spinlere sahip oldukları zaman aktivasyon özelliği kazanırlar. Bundan dolayı oksijen molekülü fiziksel ya da kimyasal yolla aktif hale getirilmelidir [181]. Fiziksel aktifleşme, uyarılmış olan pigmentteki enerjinin moleküler oksijene aktarılması ile gerçekleşir. Kimyasal yolla aktifleşme ise moleküler haldeki oksijenin birer elektronunun indirgenmesi ile gerçekleşir. Canlılarda oksijenin toksik etkileri oksijen radikalleri olarak isimlendirilen ve hücredeki çeşitli metabolik aktiviteler sonucunda oluşan reaktif türlerden kaynaklanır [182]. Reaksiyonlar her zaman atomların dış orbitallerindeki elektronlar düzeyinde gerçekleşir. Serbest radikal, atomik veya moleküler yapısında eşlenmemiş tek elektron bulundurur [183]. Başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere reaktif oksijen türleri (ROS) adı verilir. Bitkilerde ROS'lar plazma membranı düzeyinde, kloroplast, mitokondri, peroksizom, sitoplazma ve endoplazmik retikulumda sitokrom P450 tarafından katalize edilen detoksifikasyon reaksiyonları ile hücre dışı olarak apoplastta üretilir [184]. Hücrelerde oluşabilen serbest oksijen bileşikleri farklı şekillerde ifade edilse de bunların arasında süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikalleri ($OH^{\cdot}$) ile singlet oksijen (O_2^1) yaygın olarak bulunur [185].

Süperoksit radikalleri ($O_2^{\cdot-}$) oksitleyici ve indirgeyici özelliğe sahip olup moleküler oksijenin bir elektron almasıyla meydana gelir. Bu radikal anyonun ana üretim yeri PSI'in tilakoid membranına bağlı olan birincil elektron alıcısıdır [186]. Süperoksit radikalleri genellikle ilk üretilen ROS olup doğrudan hücrelere zarar vermezler.

Hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikalleri ($OH^\cdot$) ile singlet oksijen (O_2^1) gibi daha reaktif ROS'ların üretimini tetikleyerek membran lipidlerinde peroksidasyonu başlatır. Bazı antioksidan bileşikler oksitleyebilmektedir [187][185].

Singlet oksijen (O_2^1) eşlenmemiş elektron taşıması sebebiyle radikal olmayan reaktif oksijen çeşidi, yüksek enerjili elektronlarından dolayı ise reaktif oksijen çeşitleri arasında yer almaktadır. Serbest reaktif reaksiyonları ile oluşabileceği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da yol açabilmektedir [188]. Çeşitli biyolojik moleküller için oksitleyici bir maddedir. Protein, fotosentetik pigment, nükleik asitler ve proteinler ile reaksiyona girebilmektedir. Işık kaynaklı PSI'in aktivitesini düşürerek bitki ölümünü tetikleyebilmektedir [189].

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit ($O_2^\cdot$) radikaline bir elektron eklenmesi (süperoksit dismutasyonu) ile ya da moleküler oksijenin (O_2) direkt indirgenmesi ile oluşmaktadır [190]. Süperoksit dismutasyonu kendiliğinden ya da süperoksit dismutaz enzimi aracılığı ile katalizlenebilmektedir. Hidrojen peroksit diğer ROS çeşitlerine oranla daha uzun yarı ömre sahiptir. Hücre membranından kolaylıkla geçebilir. Difüzyonla daha uzak mesafelere yayılabilir. Bazı organellerin membran yapısına katılarak hücrede sinyal iletici molekül olarak görev alabilmektedir [191], [192]. Özellikle bitkisel dokularda yaşlanma, fotorespirasyon, fotosentez, stoma hareketi, hücre döngüsü, büyüme ve gelişme gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli bir düzenleyicidir. Hidrojen peroksit, proteinlerin yapısında bulunan bakır ve demir ile reaksiyona girerek yüksek oksidasyon düzeyinde olan ağır metal formlarını meydana getirebilmektedir [193]. Bu metaller, biyolojik sistemler için en toksik ve en reaktif radikaller olarak bilinen hidroksil radikallerinin ($OH^\cdot$) üretilmesini sağlayarak hücre membranındaki lipid peroksidasyonu reaksiyonlarını başlatabilmektedir [194].

Hidroksil radikalleri ($OH^\cdot$) bilinen en reaktif ROS'lar arasında yer alır. Fe ve Cu gibi geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonları ile nötr pH'de hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit ($O_2^\cdot$) radikallerinden üretilebilir [186], [195]. Hidroksil radikallerinin ($OH^\cdot$) hücrelerde oksijen toksisitesine büyük oranda aracılık ettiği düşünülmektedir. Reaktivitesinden dolayı biyolojik sistemlerde DNA, protein, lipid ve su dahil ortamda rastladığı her biyomolekül ile etkileşime girebilir [196]. ROS'lara bağlı gelişen oksidatif hasarlar hücre ölümüne sebep olmakla birlikte membran lipid

peroksidasyonu, protein oksidasyonu ile nükleik asitlere önemli derecede hasar verebilir [197].

Lipid peroksidasyonu zarar verici zincir reaksiyonları ile doğrudan membran yapısına, dolaylı olarak da reaktif aldehytlerin meydana getirilmesi ile hücredeki çeşitli bileşenlerde hasar oluşturur [198]. Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan malondialdehit (MDA) karsinojenik, genotoksik, mutajenik etkiler meydana getirebileceği gibi, membran kısımlarının çapraz bağlanması ve polimerizasyona sebep olmaktadır [194]. Bu durum membran akışkanlığını azaltmaktadır. Ayrıca fosfolipitlerde çift tabakanın iki yarısı arasında madde alışverişi yapmasını kolaylaştırmaktadır. Membran proteinlerine zarar vererek reseptörleri, enzimleri, iyon kanallarını etkisiz hale getirebilmektedir [186], [194]. Stresin uzun süreli etkisi veya yüksek şiddette seyretmesi halinde hücre ölüm süreci tetiklenebilir [144].

Protein oksidasyonu, ROS veya oksidatif stresin yan ürünleri tarafından indüklenen bir proteinin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanır [186]. Protein karbonilasyonu, protein oksidasyonunun yaygın bir belirticidir [199].

Bitki genomu çok stabil olmasına rağmen, biyotik ve abiyotik stres faktörlerine bağlı oluşan ROS'ların etkisiyle DNA molekülünde hasarlar oluşabilir. Gen ekspresyonu seviyesinde değişimler görülebilir. Endojen olarak oluşan DNA hasarı, reaktif metabolitler ($\text{OH}^\cdot$, $\text{O}_2^\cdot$) tarafından üretilen spontan DNA hasarı olarak bilinir [186]. Hidroksil radikalleri ($\text{OH}^\cdot$) en reaktif radikaller olup DNA molekülünün tüm bileşenlerine, pürin ve pirimidin bazlarına, deoksiriboz omurgasına zarar verdiği bildirilmiştir [200]. Singlet oksijen (O_2^1) öncelikle guanin bazına saldırır: Hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit ($\text{O}_2^\cdot$) radikalleri ile reaksiyona girmez [201]. ROS'lar baz delesyonu, pirimidin dimerleri, çapraz bağ oluşumu, protein sentezinde azalma, fotosentetik proteinlere zarar verme, transkripsiyonun durması, sinyal iletim yollarının indüklenmesi, replikasyon hataları gibi aksamalara yol açabilir [202], [203].

Oksidatif stres ürünü olan ROS'lar fotosentez de ETS sistemine ve tilakoid zara zarar vermektedir [204]. Hücredeki serbest oksijen radikallerinin tilakoid zarın protein ve lipid moleküllerinin oksidatif yıkımına sebep olarak, klorofil miktarında azalmaya yol açmaktadır [205].

2.5. Bitkilerde Antioksidan Savunma Sistemleri

Biyotik ya da abiyotik stres faktörlerine karşı hücrelerde biriken ROS'lar; güçlü oksidan etkileriyle makromoleküllere ve hücre membranına saldırarak biyolojik sistemlerde çeşitli hasarlara yol açmaktadır [206]. Aerobik canlılar, ROS'ların ya da oksidatif özellikteki bileşiklerin hücrelere vereceği hasarlara karşı enzim yapısında olan ya da olmayan çeşitli savunma sistemlerine sahiptir. Askorbik asit (C vitamini) ve α -tokoferol (E vitamini), flavonoidler, glutatyon (GSH), sistein, bazı alkoloidler, mannitol ile β - karoten enzimatik olmayan savunma mekanizmaları arasında yer alır [207]. Enzim yapısındaki antioksidan savunma sistemlerinde görev alan katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR), askorbat peroksidaz (AP), glutatyon peroksidaz (APX), fenilalanin amonyak liyaz (PAL) ile süperoksit dismutaz (SOD) oksijen ara ürünleri ile ROS'ları toplayarak, nötralize etme ile ortamdan uzaklaştırma işlevlerine sahiptir [208][200].

2.5.1. Enzimatik Olmayan Savunma Mekanizması

Enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmaları hücrede dört farklı şekilde etki gösterebilmektedir. Toplayıcı etkileri ile ROS'ları yakalamayabilirler. Bastırıcı etkileri ile ROS'lar ile etkileşip bir tane hidrojen aktararak aktivitelerini düşürebilirler. Zincir kırıcı etkileri ile ROS zincir reaksiyonlarını önleyebilirler. Onarıcı etkileri ile ROS'ların hücreye verdikleri zararların onarımını sağlayabilirler [209].

Askorbik asit (C vitamini) ROS'lar ile reaksiyona girme özelliğine sahip suda çözünen önemli bir antioksidandır. Güçlü bir indirgeyici ajan olan askorbik asit; singlet oksijen (O_2^1), süperoksit (O_2^-), hidroksil radikalleri ($OH^\cdot$), hidrojen peroksit (H_2O_2) radikalleri ile kolay bir şekilde reaksiyona girme ve bunların ortamdan uzaklaştırma özelliğine sahiptir [210].

Oldukça güçlü bir antioksidan olan α -tokoferol (E vitamini) yağda çözünen bir vitamin olup yapısındaki fenolik hidroksil gruplu aromatik halkanın etkisinden dolayı güçlü bir antioksidan etki göstermektedir. Hücre membranındaki ROS'ların asıl temizleyicisi olan α -tokoferoller, lipid peroksidasyonlarının zincir reaksiyonlarını sonlandırdığı için kırıcı antioksidan olarak bilinip önemli bir singlet oksijen (O_2^1) ile alkil peroksit temizleyicisidir [211].

Bitkilerde tilakoid zardaki fotosistemlerde bulunan karotenoid pigmentlerinin ışığın hasat edilmesine yardımcı olmasının yanı sıra fotooksidan zararlara karşı klorofilin korunmasında görev alır [212]. Çeşitli stres faktörleri hücrede karotenoid birikimine sebep olarak, oksidan zararlılarına karşı klorofil pigmentinin parçalanmasını engeller. Tamir edici özellik gösterdiği de rapor edilmiştir [213]. B-karoten A vitamini öncül maddesi, güçlü bir singlet oksijen (O_2^1) temizleyicisi olup aynı zamanda hidroksil, peroksil ve alkoksil radikalleri ile direkt reaksiyona girip lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını sonlandırma ve kırma özelliğine sahiptir [212].

Glutatyon (GSH), ROS'ları indirgeme özelliğine sahip olup özellikle hidroksil radikalleri ($OH^\cdot$), singlet oksijen (O_2^1) gibi oksidanları temizleme özelliğine sahiptir [214]. GSH aynı zamanda çeşitli enzimlerin prostetik grubu olup içerdiği tiyollerin ROS'lar ile yaptıkları bağlar sayesinde antioksidan enzimlerin koenzim veya kofaktörü olarak detoksifikasyon reaksiyonlarında rol almaktadır [214].

2.5.2. Enzimatik Olan Savunma Mekanizması

Hücrelerde solunum ve diğer oksidoredüktaz tepkimeleriyle oluşan süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) anyonu, hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikalleri ($OH^\cdot$) çeşitli hücresele molekülleer ile etkileşime girerek hücre hasarına yol açabilmektedir. Süperoksitler yüklü bir molekül olup biyolojik membranlardan geçemezler. Bundan dolayı süperoksitlerin hızlı bir şekilde uzaklaştırılması önem arz etmektedir. ROS'lar hücrelerde antioksidan özelliği olan enzim sistemleri ile ortadan kaldırılmaktadır. Biyotik ya da abiyotik stres koşullarında etkinliği artan ROS'lar çeşitli antioksidan enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonunu aktive ederek hücresele savunma sistemlerini devreye sokmaktadır [215].

Süperoksit dismutaz (SOD), hücrelerde antioksidan savunma sisteminin önemli bir parçası olup aerobik canlılarda süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikallerini serbest oksijen (O_2) ile daha az rekatif olan hidrojen peroksit (H_2O_2) katalizlenmektedir [216]. Aktif oksijen molekülleeri hücre zarı ve duvarına koruma mekanizmalarının olmaması halinde zarar verir. SOD'lar ROS'lara karşı ilk savunma mekanizmasını oluşturmaktadır.

Enzimler tarafından kullanılan yardımcı kofaktöre göre SOD'lar üçe ayrılır. Bunlar demir SOD (Fe SOD), mangan SOD (Mn SOD) ve bakır-çinko SOD'tur (Zn Cu SOD).

Fe SOD'lar kloroplastta, Mn SOD'lar mitokondri ve peroksizomda, Cu-Zn SOD'lar ise kloroplast, sitosol ve hücre dışı boşluklarda bulunur [215].

Katalaz (CAT) enzimi peroksizomlarda üretilen özel bir enzimdir. Biyotik ya da abiyotik stres faktörlerine karşı üretilen hidrojen peroksiti (H_2O_2), su (H_2O) ve moleküler oksijene (O_2) indirgeyerek enzimatik detoksifikasyonda görev almaktadır [217]. Hücrede yüksek oranda biriken hidrojen peroksit (H_2O_2) protein, lipid, DNA gibi moleküllerde oksidasyona neden olmaktadır. Hidrojen peroksin katalaz etkisiyle uzaklaştırılması SOD enzimi tarafından dismutasyon reaksiyonları ile meydana gelen hidrojen peroksin zararlı hidroksil radikallerine dönüşümü durdurulmuş olur.

Peroksidazlar (POD) aktif merkezinde demir ya da selenosistein bulunduran 4 alt birimden meydana gelir. Hidrojen peroksit ile lipid hidroksitlerin indirgenmesinden sorumlu olan antioksidan özelliği olan enzimlerdir [218]. Bitki hücrelerinde peroksidazların lignifikasyon, oksin katabolizması ile çeşitli stres faktörlerine karşı savunma gibi özel metabolik görevleri de bulunmaktadır [219]. Bitkilerde askorbat peroksidaz (APX), glutatyon peroksidaz (GPX) ve guaiakol peroksidaz (GuPX) olmak üzere üç çeşidi bulunur. APX bitkilerde kloroplast, sitozol, peroksizom, apoplazma ve vakuol gibi hücresel kısımlarda bulunur. Lignin sentezi ile bunların sekonder hücre duvarında birikiminde rol alan önemli bir hidrojen peroksit temizleyicisidir [220]. GuPX grubundaki peroksidazlar doğrudan vakuolde oluşan ya da diğer hücresel kısımlardan difüzyon yoluyla vakuole ulaşan hidrojen peroksit (H_2O_2) yıkımında rol almaktadır [221]. GPX grubundaki peroksidazlar genellikle elektron kaynağı olarak glutatyonu kullanmaktadır. GPX, glutatyonu glutatyon disülfite yükseltgenmesini sağlarken; H_2O_2 'nin suya dönüşümünü katalize ederek membran lipidlerini oksidan stresten korur [222].

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Bitki Materyalinin Seçilmesi

Bu tez çalışmasında, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilen Osmancık-97 ile Osmancık-97 x IMI çeşit geri melezlerinden geliştirilen IMI toleranslı Ormanlı CL, Yaprak CL, Değirmen CL, Reis CL çeltik tohumları kullanılmıştır. Belirtilen bu çeltik çeşitlerinin olgunlaşma gün sayısı, yaprak rengi, dane rengi ve özellikleri, 1000 dane ağırlığı, ortalama bitki boy uzunluğu, olgunlaşma gün sayısı, yatmaya karşı mukavemet, birim alandaki verim, ekolojik koşullara uyum sağlama durumu gibi çeşitli tarımsal özellikleri Tablo 3.1'de sunulmuştur. 1997 yılında Rocca x Europa melezinden Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından geliştirilen Osmancık-97 çeltik çeşidinin Türkiye'deki ekim alanı oldukça geniş olup yüksek derecede tarımsal verimlilik özelliklerine sahip, uzun ve küçük daneli olduğu bilinmektedir.

3.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi

Deneylerde kullanılacak olan çeltik tohumları çimlenmeleri için dolgu maddesi olarak perlit bulunduran 7 cm çapında, 8 cm yüksekliğinde sert plastik kaplara, her plastik kapta 10 adet tohum olacak şekilde ekilmiştir. Her örnek grubu için 5 adet plastik kap kullanılmıştır. Her örnek grubuna ait plastik kaplar 40 x 25 cm ebatlarındaki plastik küvet şeklindeki tepsilere yerleştirilmiştir. 10 günlük çimlenme sonrasında çeltik bitkileri 25. güne kadar Tablo 3.2'de içeriği verilen Yoshida (1971) besin solüsyonu ile sulanmıştır. Bitkiler 25 gün boyunca 24 °C'de 500 lux ledli ışık altında 16 saat aydınlık/8 saat karanlık periyodunda olacak şekilde T.C. İstanbul Kültür Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'ne ait iklimlendirme odasında uygun koşullarda yetiştirilmiştir [223]. 29. günde hasat edilen kontrol ve stres grubuna ait

bitkilerin yaprakları analizler için toplandı. Yaprakları toplanmayan kontrol ve stres grubuna ait bitkiler kullanılıncaya kadar -80 derecelik dondurucuda saklandı.

Tablo 3.1 Trakya Tarımsal Araştırma Enstitü'snden temin edilen çeltik çeşitleri ve tarımsal özellikleri

Çeşit/Özellikler	Ort. Bitki Boyu (cm)	Olgunluk Süresi (gün)	1000 Dane Ağırlığı (g)	Dane Özellikleri (mm)	Randıman (%)	Birim Alandaki Verim (kg/da)
Osmancık-97	95-100	130-135	33-34	Camsı ve mat görünümlü	60-65	800-1000
Ormanlı CL	100	120-130	32-33	Uzunluk (6,4), genişlik (2,7) camsı görünümlü	65-67	800-1000
Yaprak CL	80-85	125-130	30	Uzunluk (6,1), genişlik (2,7) camsı görünümlü	63-65	750-900
Değirmen CL	95-100	125-130	34-36	Uzunluk (7,1), genişlik (2,7) camsı ve mat görünümlü	60-65	800-1000
Reis CL	105	125-130	33-35	Uzunluk (6,3), genişlik (2,8) camsı görünümlü	63-68	800-1000

Tablo 3.2 Yoshida besin solüsyonu içeriği [224].

Element	Kimyasal	Stok Konsantrasyonu (g/L)
Azot (N)	NH ₄ NO ₃	914
Fosfor (P)	NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	403
Potasyum (K)	K ₂ SO ₄	714
Kalsiyum (Ca)	CaCl ₂	886
Magnezyum (Mg)	MgSO ₄ .7H ₂ O	3240
Mangan (Mn)*	MnCl ₂ .4H ₂ O	15
Molibden (Mo)*	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,74
Bor (B)*	H ₃ BO ₃	9,34
Çinko (Zn)*	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,35
Bakır (Cu)*	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,31
Demir (Fe)*	FeCl ₃ .6H ₂ O	77
Sitrik asit*	C ₆ H ₈ O ₇ .H ₂ O	119

* Kimyasallar ayrı ayrı çözündürülüp 500 mL sülfürik asit ilave edilip distile su ile 10 L 'ye tamamlanmıştır.

3.3. Çeltik Çeşitlerinde İmazamoks Herbisit Toleransının Belirlenmesi

Çalışmada kullanılacak optimum herbisit konsantrasyonunu belirlemek için çeltik çeşitlerinin imazamoks'a verdikleri cevaplar tespit edilmiştir. Çeltik çeşitlerine uygulanacak her bir kontrol ve stres grubu konsantrasyonu için 10'ar adet tohum dolgu maddesi perlit olan plastik bitki büyüme kaplarına ekilmiştir. 10 günlük çimlenme sonrasında çeltik bitkileri besleyici elementlere sahip yoshida solüsyonu ile sulanarak iklimlendirme odasında 25 gün boyunca 24 °C'de 500 lux agroledli ışık altında 16 saat aydınlık/8 saat karanlık periyodunda yetiştirilmiştir. 25. günün sonunda bitkiler 2 - 3 yapraklı dönemde Yoshida solüsyonuna %1,5, 3, 4,5 ve 6'lık konsantrasyonda İmazamoks ilave edilmesi ile 4 gün boyunca herbisite maruz bırakılmıştır. İmazamoks'un Osmancık-97, Değirmen CL, Reis CL, Ormanlı CL, Yaprak CL çeltik çeşitleri üzerindeki etkisi bitki boyu, gövde gelişimi ve ortalama bitki taze ağırlıkları üzerinden değerlendirilmiştir.

3.4. Biyokimyasal Analizler

Osmancık-97 ile IMI toleranslı olan Reis CL, Yaprak CL, Değirmen CL ile Ormanlı CL çeltik çeşitlerine imazamoks herbisit uygulamasının etkileri fotosentetik pigment konsantrasyonu ile lipid peroksidasyonu parametreleri üzerinden biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir.

3.4.1. Lipid Peroksidasyon Tayini

Çeltik çeşitlerine uygulanan imazamoks sonucunda meydana gelen ROS'ların yarattığı oksidatif strese bağlı oluşan lipid peroksidasyonu, thiobarbiturik asit ile reaksiyona giren (TBARS) başta malondialdehit (MDA) olmak üzere yan ürünlerin konsantrasyonu üzerinden kolorimetrik olarak ölçülmüştür. Stewart ve Bewley'in [225] metodu takip edilmiştir. MDA tayininde %0,5'lik thiobarbiturik asit (TBA) ile %20'lik trikloroasetik asit (TCA) çözeltilerinden faydalanılmıştır. Bitki yapraklarından alınan 0,1 g doku örnekleri 1 mL distile su ile havan yardımıyla homojenize edilmiştir. Homojenize edilen doku örnekleri üzerine içerisinde %0,5 thiobarbiturik asit (TBA) bulunan %20'lik trikloroasetik asit (TCA) çözeltisinde 1mL ilave edilerek tüplere alınmıştır. Tüplerdeki örnekler 30 dk 95°C'de inkübe edilmiştir. Kolorimetrik reaksiyonları sonlandırmak üzere örnekler buz banyosunda bekletilmiştir. Oda sıcaklığında 10000 x g hızda santrifüj edilen doku örneklerinin süpernatant kısımları yeni tüplere alınarak, absorbans değerleri 532 ve 600 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Hesaplama sonuçları $\mu\text{mol MDA/g.TA}$ cinsinden ifade edilmiştir.

3.4.2. Fotosentetik Pigment Miktarı Tayini

İmazamoks herbisit uygulamasının Osmancık-97 ile IMI toleranslı Reis CL, Yaprak CL, Değirmen CL ve Ormanlı CL çeltik çeşitlerinin fotosentetik pigmentleri (klorofil a, klorofil b, karotenoidler) üzerindeki etkileri Arnon [226] metoduna göre analiz edilmiştir. Bu metoda göre 0,1 g çeltik yaprak dokusu sıvı azot yardımıyla havanda toz halinde getirilerek 1 mL %80'lik soğuk aseton ile homojenize edilmiştir. Homojenatlar 20 dk buzda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında doku örnekleri 10000 x g hızda 15 dakika santrifüj edilmiştir. Yeni tüplere alınan üst fazlar 470, 645 ve 663 nm dalga boylarında kör örnek olarak %80'lik soğuk asetonun kullanılması ile

spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Fotosentetik pigmentlerin konsantrasyonları aşağıda verilen denklemlere göre hesaplanarak değerleri µg/g.TA cinsinden ifade edilmiştir.

$$\text{Klorofil } a = 11.24 \times A_{663} - 2.04 \times A_{645}$$

$$\text{Klorofil } b = 20.13 \times A_{645} - 4.19 \times A_{663}$$

$$\text{Total Klorofil} = 7.05 \times A_{663} + 13.09 \times A_{645}$$

$$\text{Karotenoid} = \frac{(1000 \times A_{470}) - (1.9 \times \text{Klfl } a) - (63.14 \times \text{Klfl } b)}{214}$$

3.5. Çeltik Çeşitlerinde Imazamoks Herbisiti Etkisine Bağlı ALS Gen Anlatım Farklarının Analizi

3.5.1. Total RNA İzolasyonu

RNA izolasyonu işlemi imazamoks toleranslı Değirmen CL, Ormanlı CL, Reis CL, Yaprak CL çeltik bitkileri ve imazamoksa toleranslı olmayan Osmancık-97 çeltik bitkilerine ait olan 300 mg örnekler kullanılarak, TRIzol TM Reagent ile yapıldı. RNA izolasyonu sırasında kullanılacak olan havanlar ile havan elleri etüvde 180 °C sıcaklıkta 180 dakika bekletilerek RNaz kontaminasyonundan arındırıldı. RNA izolasyonu yapılması sırasında nükleaz taşımayan steril pipet uçları ile santrifüj tüpleri kullanıldı. İzolasyonun yapılacağı alanlar ile pipetler RNaz kontaminasyonunu önlemek için %70'lik etanol ile temizlendi.

Çeltik bitkilerinden alınan 300 mg bitki örneği sıvı azotta havan ve havan eli yardımıyla ezilerek homojenize edildi. Homojenize edilen 300 mg bitki örneği 2 mL hacimde mikrosantrifüj tüpüne alındı. Mikrosantrifüj tüpündeki donmuş doku örneğinin çözünmesine izin vermeden örnek üzerine 1 mL TRIzol Reagent eklendi. Sonra tüp 20 sn yavaşça alt üst edildi. Bitki özütündeki nükleoprotein kompleksinin tam olarak çözünmesi için örnekler 22 - 24 °C'lik oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi. İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra, lizis için kullanılan her 1 mL TRIzol için deney tüplerine 200 µL kloroform eklenerek deney tüpleri 20 sn altüst edildi. Faz ayrımı için 3 - 5 dk inkübasyon yapıldı. 22 - 24 °C'lik oda sıcaklığında inkübe edilen

örnekler +4 °C’de 1200 x g hızında 15 dk santrifüj edildi. Bu aşamada karışım 3 faza ayrıldı (renksiz üst faz, ara faz ve açık kırmızı fenol-kloroform alt faz). RNA’ların bulunduğu renksiz üst fazdan 400 - 450 µL hacmindeki örnek mikropipet yardımıyla 2 mL hacmindeki yeni bir deney tüpüne aktarıldı. Çekilen üst faz üzerine, çekilen hacim kadar izopropanol eklenerek deney tüpü yavaşça altüst edildi. Örnekler 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 1200 x g hızda +4 °C’de santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında deney tüpünün altında yer alan pellete dokunmadan üst faz uzaklaştırıldı. Tüplerdeki pelletin 1 mL %75 etanol ile yavaş yavaş çözünmesi sağlandıktan sonra pelletin yıkanması için deney tüpü birkaç defa altüst edildi. Örnekler 7500 x g hızında +4 °C’de 5 d santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üst fazın uzaklaştırılması yapıldı. RNA pelletleri 22 - 24 °C’lik oda sıcaklığında etanol uzaklaşınca kadar kurumaya bırakıldı. Son aşamada pelletler RNaz içermeyen 50 - 80 µL hacmindeki su ile çözündürüldü. İzole edilen RNA moleküllerinin kalitatif analizleri %1,8’lik agaroz jel elektroforezi ile yapıldı.

3.5.2. RNA Örneklerinin Agaroz Jel Elektroforezleri

İzole edilen RNA moleküllerinden cDNA elde etmeden önce RNA moleküllerinde kırılma durumlarının olup olmadığının belirlenmesi amacı ile agaroz jel elektroforezi yapıldı. RNA’lar %1,8’lik agaroz jelde TRIS-Borat-EDTA (TBE) tampon sisteminden yararlanılarak 55 V sabit elektrik akımında 55 dakika süreyle yürütüldü. Örneklerden 3 µL alınarak 3 µL yükleme tamponu ile karıştırıldıktan sonra taraklar ile oluşturulan kuyucuklara yüklendi. Yürütme işlemi sonrasında agaroz jeller ChemiDoc MP Imaging System kullanılarak görüntülendi. Agaroz jelde kontrolü yapılan RNA örneklerinin cDNA’ya çevrilme işlemi yapıldı.

3.5.3. cDNA Sentezi

Çeltiklerden izole edilen RNA’ların Bio-Rad iScript cDNA sentez kiti ile cDNA sentezi yapıldı. İzole edilen RNA moleküllerinin konsantrasyonları Implen marka nanodrop ile ölçüldü. RNA konsantrasyonlarının belirlenmesinden sonra toplam reaksiyon hacmi 20 µL olacak şekilde nükleaz içermeyen su ile hacim protokole uygun şekilde tamamlandı. 5x iScript karışımının çözünmesi sırasında oluşabilecek çökelti riskine karşı karışımın iyice karıştırıldı. Tepkime bileşenlerinin karışımı ile tepkime

koşulları üretici firma tarafından önerilen prosedüre uygun olacak şekilde Tablo 3.3, Tablo 3.4 ve Tablo 3.5’te sunulan hali ile yapıldı.

Tablo 3.3 Kontrol grubu çeltik çeşitlerine göre cDNA sentezi tepkime karışımı bileşenleri ve hacimleri

	Osmancık- 97	Değirmen CL	Ormanlı CL	Yaprak CL	Reis CL
Bileşenler	Reaksiyon Hacmi (µL)				
5x iScript Tepkime Karışımı	4	4	4	4	4
iScript Reverse Transkriptaz	1	1	1	1	1
Nükleaz içermeyen su	13,6	13,8	14	14	13,7
RNA (200 ng)	1,4	1,2	1	1	1,3
Toplam Hacim	20	20	20	20	20

Tablo 3.4 Stres grubu çeltik çeşitlerine göre cDNA sentezi tepkime karışımı bileşenleri ve hacimleri

	Osmancık- 97	Değirmen CL	Ormanlı CL	Yaprak CL	Reis CL
Bileşenler	Reaksiyon Hacmi (µL)				
5X iScript Tepkime Karışımı	4	4	4	4	4
iScript Reverse Transkriptaz	1	1	1	1	1
Nükleaz içermeyen su	13,9	13,5	13,87	13,2	13,87
RNA (ng)	1,1	1,5	1,13	1,8	1,13
Toplam Hacim	20	20	20	20	20

Tablo 3.5 cDNA sentezi tepkime koşulları

Tepkime evresi	Sıcaklık (°C)	Süre (d)
Primer bağlanması	25	5
Reverse transkripsiyon	46	20
RT inaktivasyon	95	1
	4	∞

Sentezi yapılan cDNA'lar daha sonra yapılacak olan analizlerde kullanılmak üzere -20°C'de saklandı.

3.5.3. qRT-PZR Analizleri

OsALS, OsNAL1 genlerinin imazamoksa toleranslı ve toleranssız bitkilerindeki anlatım profilleri kantitatif-RT-PZR (qRT-PZR) yöntemiyle saptanmıştır. Kantitatif RT-PZR analizi IQ™ SYBR® Green Supermix kullanılarak, üretici firmanın önerdiği protokole uygun olacak şekilde, CFX Connect Time PZR cihazı kullanılarak yapıldı (Tablo 3.7 ve Tablo 3.8). OsALS ve OsNAL1 genleri için primerler <https://primer3plus.com/> kullanılarak tasarlandı (Tablo 3.6). Hedef genlerin anlatım düzeyindeki değişimleri belirlemek amacıyla, referans gen olarak UBQ5 (ubiquitin C) kullanılarak veriler normalleştirildi. Bu doğrultuda gen anlatımındaki rölatif değişimler delta-delta Ct ($\Delta\Delta Ct$) yöntemi temel alınarak hesaplandı [227].

Tablo 3.6 Kullanılan qRT-PZR primerlerine ait diziler ve T_m sıcaklığı

Primer	Primer Dizisi	T _m Sıcaklığı (°C)
OsALS	F:5'-CCCAGGTGTCACAGTTGTTG-3'	55
	R:5'-CGCCCTATTTGCCTTGTA-3'	
OsNAL1	F:5'-AGCTGACGGTGCATTTATCC-3'	55
	R:5'-CCATCACAGTCCCAGTTGTG-3'	
UBQ5	F:5'-ACCACTTCGACCGCCACTACT-3'	55
	R:5'-ACGCCTAAGCCTGCTGGTT-3'	

Tablo 3.7 qRT-PZR tepkime karışımı ve konsantrasyonları

Bileşen	Hacim (µL)	Son konsantrasyon
IQ™ SYBR® Green Supermix	10	1X
İleri ve geri primerler	0,5	250 nM
cDNA	1	50 ng
H ₂ O	8	-
Total tepkime hacmi	20	-

Tablo 3.8 qRT-PCR Tepkime Koşulları

Real Time PZR Sistemi	Mod	DNA polimeraz Aktivasyonu ve DNA Denatürasyonu 95°C	DNA Denatürasyonu 95°C	Primer bağlanması Ve cihaz okuması	Döngü Sayısı	Erime Eğrisi
Bio-Rad® CFX Connect™ Sistemi	SYBR®	3 dk	10 sn	30 sn	40	55-95 °C aralığında her 3 sn'de 0,5 °C artış ile

3.6. İstatistiksel Analizler

Çeltik bitkilerine ait kontrol ve farklı konsantrasyonlarda herbisit uygulanmış deneysel grupların büyüme parametrelerinden bitki boy uzunluğu ve taze ağırlıkları morfolojik zararlanma değerlendirilmesinden elde edilen veriler ile biyokimyasal analizlerinin (lipid peroksidasyon, fotosentetik pigment) değerlendirilmeleri GraphPad Prism 8 (<https://www.graphpad.com>) istatistik programı kullanılarak yapılmıştır. Programda tek yönlü ANOVA testi yapılmış ve testte istatistiksel olarak anlamlı bulunan grupların karşılaştırması Student- Newman Keuls testi ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Çeltik Çeşitlerinde İmazamoks Herbisit Hassasiyetinin Belirlenmesi

IMI toleranssız ve toleranslı çeltik çeşitlerinde imazamoks herbisidine karşı hassasiyetinin belirlenmesi için bir ön çalışma yapılmıştır. Yapılan bu ön çalışmada imazamoks herbisiti %1,5, %3, %4,5 ile %6 konsantrasyonlarda uygulanmıştır. Belirtilen konsantrasyonlar bitkilerin gelişimlerinin 25. gününde 4 gün süre ile uygulanmıştır.

Uygulanan konsantrasyonlar arasında %6'da tüm bitkiler analiz yapılamayacak şekilde canlılıklarını kaybetmiştir. Bu sebep ile analizlerin yapılabilmesine olanak sağlayacak en yüksek konsantrasyon olan %4,5 ile çalışılmasına karar verilmiştir.

Herbisit uygulanan gruplarda bitki gövdelerinde ve yapraklarda sararmalar ile bazı bitki örneklerinin yaprak uçlarındaki kararmalar gözlemlenmiştir (Şekil 4.1). Tüm konsantrasyonlarda ilk tepki gövdedeki sararmalar ile gözlemlenmiştir. Yaprak ayası ve uçlarında sararmalar daha sonra ortaya çıkmıştır.

IMI toleranslı ve toleranssız çeltik çeşitlerinde %1,5'lik ve %3'lük konsantrasyonlarda gözlemlenebilir morfolojik farklar oluşmamıştır (Şekil 4.1). Seçilen %4,5 konsantrasyonda biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesi için yeni bir deneme kurulmuştur.



Şekil 4.1 IMI toleranssız Osmancık-97 ile IMI toleranslı Reis CL, Yaprak CL, Değirmen CL, Ormanlı CL çeltik çeşitlerinde doz hassasiyetinin belirlenmesi

4.2. Herbisit Uygulamasının Bitki Gelişimine Etkisi

Osmancık-97 ile IMI toleranslı Reis CL, Yaprak CL, Ormanlı CL, Değirmen CL bitkileri uygun koşullar altında çimlendirilip üçlü yaprak evresine (Şekil 4.2) kadar sağlıklı bir şekilde gelişimi sağlanmıştır.

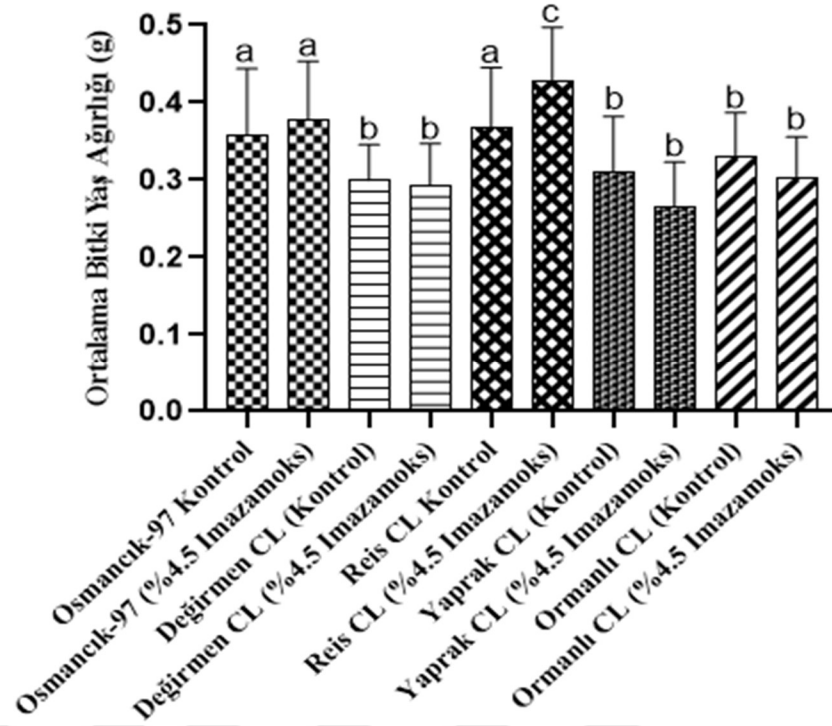


Şekil 4.2 Yetiştirilmiş Osmancık-97, Reis CL, Yaprak CL, Ormanlı CL, Değirmen CL kontrol ve herbisit uygulanan bitkilerin 29 günlük görüntüleri

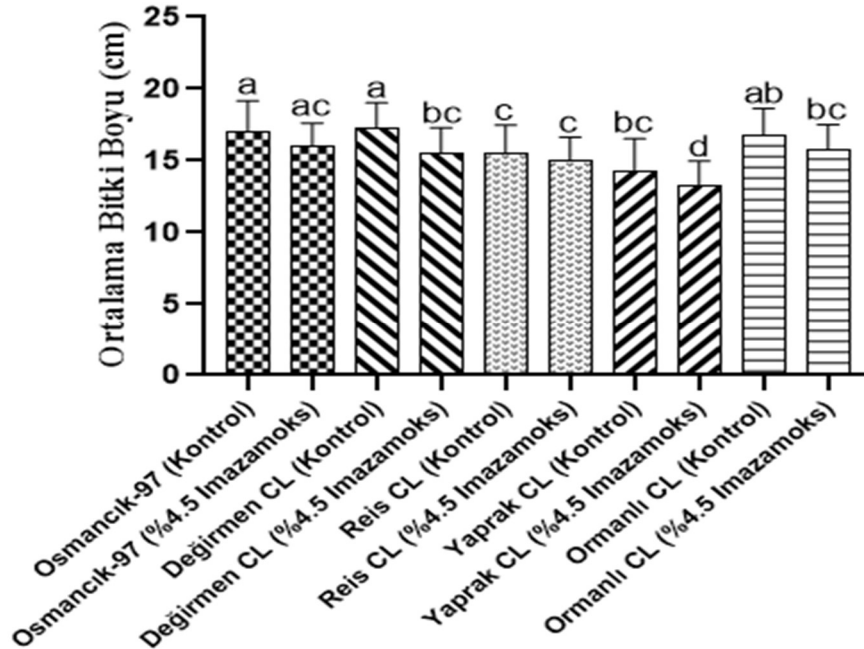
Herbisit uygulanacak çeşitlere ait 25 günlük bitkilere 4 gün süre ile %4,5 konsantrasyonda imazamoks uygulanmıştır. Moleküler ve biyokimyasal analizler için bitkiler gelişimin 29. gününde hasat edilmiştir. Her bitki grubundan alınan otuz beşer bitki üzerinde ölçümler yapılmıştır. Ölçümler sonucunda her bitki grubunun ortalama bitki yaş ağırlıklarında (Şekil 4.3) meydana gelen değişimler ile ortalama bitki uzunluklarında (Şekil 4.4) meydana gelen değişimler ölçülmüştür.

Herbisit uygulanmamış kontrol bitkilerinde Osmancık-97 ve Reis CL ortalama yaş ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Değirmen CL, Yaprak CL ve Ormanlı CL ortalama yaş ağırlıkları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. Ancak bu üç çeşidin ortalama yaş ağırlığı Osmancık-97 ve Reis CL çeşitlerinden az bulunmuş olup bu fark önemlidir.

Dört günlük herbisit uygulaması sonrasında ortalama bitki yaş ağırlığı açısından kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı tek farklılık Reis CL çeşidinde ölçülmüştür. Kontrolüne göre %15,76 artış sergilemiştir.



Şekil 4.3 Osmancık-97 ile IMI toleranslı Değirmen CL, Reis CL, Yaprak CL, Ormanlı CL çeltik çeşitlerinin kontrol ve %4,5'lik imazamoks uygulanan gruplarında ortalama bitki yaş ağırlıklarında meydana gelen değişimler (Farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar, 0,05 seviyesinde önemlidir)



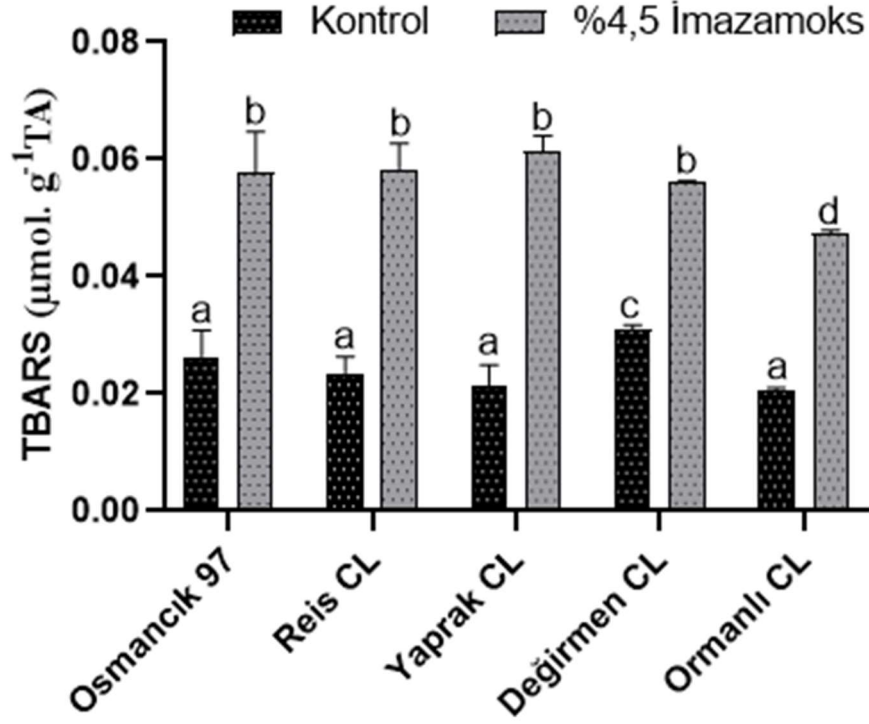
Şekil 4.4 Osmancık-97 ile IMI toleranslı Değirmen CL, Reis CL, Yaprak CL, Ormanlı CL çeltik çeşitlerinin kontrol ve %4,5'lik imazamoks uygulanan gruplarında ortalama bitki boylarında meydana gelen değişimler (Farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar, 0,05 seviyesinde önemlidir)

Dört gün süre ile uygulanan herbisit Değirmen CL ve Yaprak CL çeşitlerinde ortalama bitki boylarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmasına yol açmıştır (Şekil 4.4). Değirmen CL çeşidinde %10,26 azalma görülürken, Yaprak CL çeşidinde azalma %7,03 olmuştur. Osmancık-97, Reis CL ve Ormanlı CL çeşitlerinde ortalama bitki boyu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark ölçülmemiştir. En yüksek ortalama bitki boyları Osmancık-97, Değirmen CL ve Ormanlı CL çeşitlerinde ölçülmüştür.

4.3. Biyokimyasal Analizler

4.3.1. Lipid Peroksidasyon Analizi

%4,5 imazamoks uygulamasının IMI toleranssız Osmancık-97 ve IMI toleranslı Değirmen CL, Reis CL, Yaprak CL, Ormanlı CL çeltik çeşitleri üzerindeki oksidatif strese etkisi belirlenmiştir. Oluşan lipid peroksidasyonun ürünü olan malondialdehit (MDA) miktarının kalorimetrik ölçümü gerçekleştirilmiştir. İmazamoks herbisitinin meydana getirdiği oksidatif stres etkisine bağlı olarak tüm çeltik çeşitlerinde kontrollerine göre istatistiksel olarak anlamlı lipid peroksidasyon artışı ölçülmüştür (Şekil 4.5). Kontrol grupları arasında sadece Değirmen CL diğer çeşitlerden daha yüksek anlamlı bir fark sergilemiştir. Herbisit uygulamasından sonra tüm çeşitler arasında sadece Ormanlı CL diğer çeşitlerden daha düşük anlamlı bir fark sergilemiştir. Osmancık-97 çeşidinde TBARS miktarı $0,023 \mu\text{mol.g}^{-1}$ TA iken %4,5 imazamoks stres grubunda $0,058 \mu\text{mol.g}^{-1}$ TA; IMI toleranslı Yaprak CL çeşidinde $0,065 \mu\text{mol.g}^{-1}$ TA, Reis CL çeşidinde $0,061 \mu\text{mol.g}^{-1}$ TA, Değirmen $0,058 \mu\text{mol.g}^{-1}$ TA olduğu bulunmuştur.

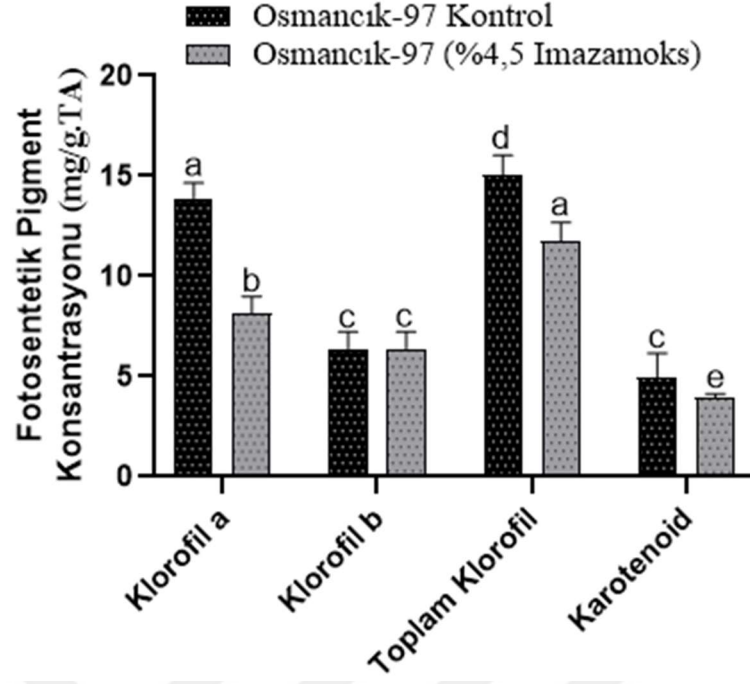


Şekil 4.5 %4,5 imazamoks uygulamasının Osmancık-97 ile IMI toleranslı Reis CL, Yaprak CL, Değirmen CL, Ormanlı CL çeltik çeşitleri lipid peroksidasyonu üzerine etkisi.

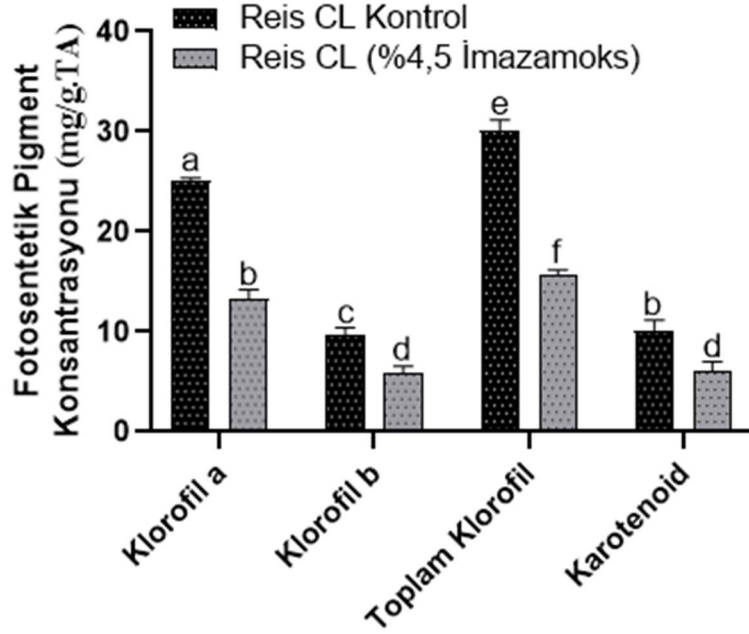
4.3.2. Fotosentetik Pigment Miktarı Tayini

%4,5 imazamoks stresinin Osmancık-97 ile IMI toleranslı Reis CL, Yaprak CL, Değirmen CL, Ormanlı CL çeltik çeşitlerinin fotosentetik pigment miktarları üzerine olan etkileri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Osmancık-97 çeşidinde klorofil a, total klorofil, karotenoid konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ölçülmüştür. Klorofil b konsantrasyonunda anlamlı bir değişim olmamıştır (Şekil 4.6).

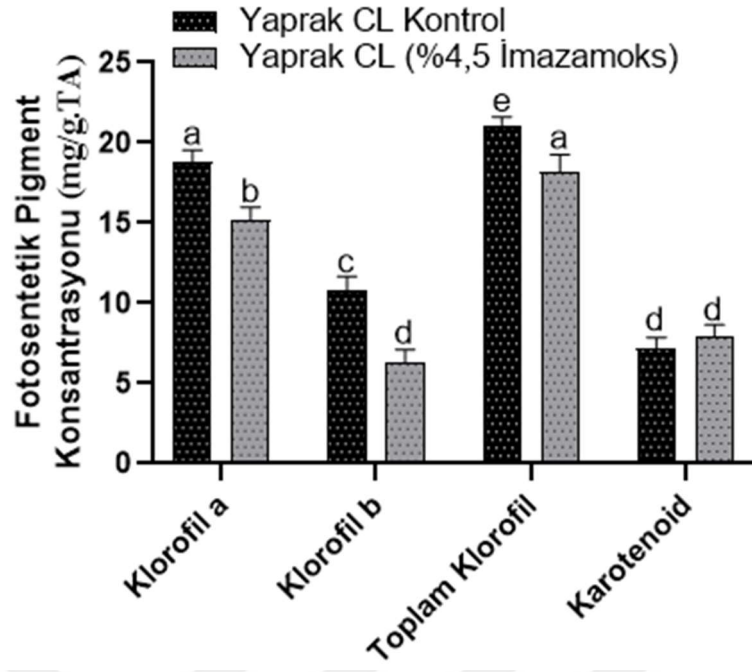
IMI toleranslı Reis CL çeşidinde klorofil a, klorofil b, total klorofil ile karotenoid konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır (Şekil 4.7). Yaprak CL, Değirmen CL ve Ormanlı CL çeşitlerinde klorofil a, klorofil b ile total klorofil konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilmiştir. Karotenoid konsantrasyonlarında anlamlı bir değişim olmamıştır (Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10). En yüksek total klorofil pigment konsantrasyonu 29,28 mg/g.TA değeri ile Reis CL çeşidinde ölçülmüştür. En düşük total klorofil konsantrasyonu ise 14,38 mg/g.TA değeri ile Osmancık-97 çeşidinde ölçülmüştür.



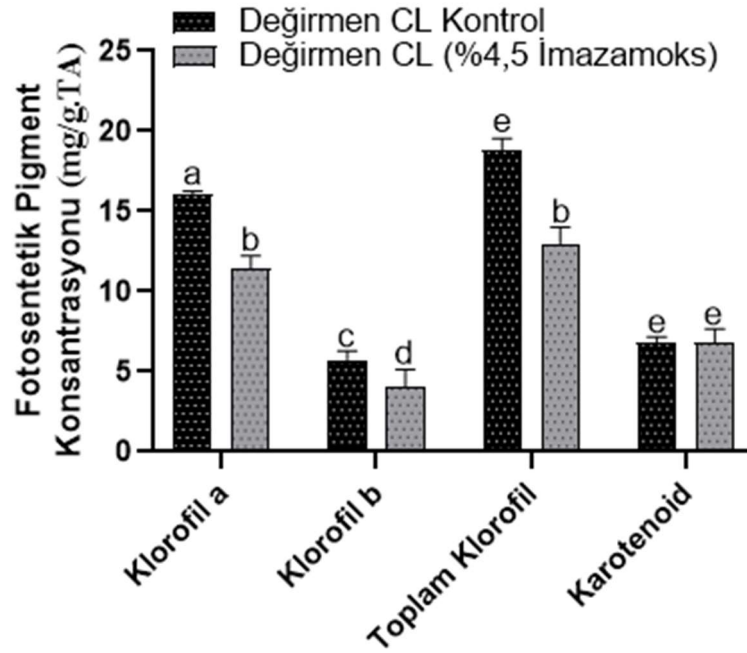
Şekil 4.6 %4,5 imazamoks uygulamasının Osmancık-97 çeltik çeşidinin fotosentetik pigment konsantrasyonları üzerine etkisi



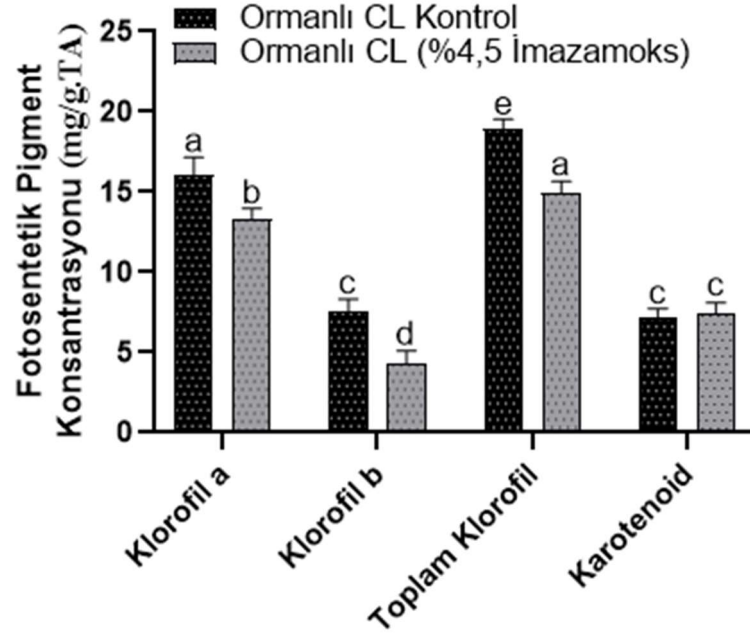
Şekil 4.7 %4,5 imazamoks uygulamasının Reis CL çeltik çeşidinin fotosentetik pigment konsantrasyonları üzerine etkisi.



Şekil 4.8 %4,5 imazamoks uygulamasının Yaprak CL çeltik çeşidinin fotosentetik pigment konsantrasyonları üzerine etkisi.



Şekil 4.9 %4,5 imazamoks uygulamasının Değirmen CL çeltik çeşidinin fotosentetik pigment konsantrasyonları üzerine etkisi.

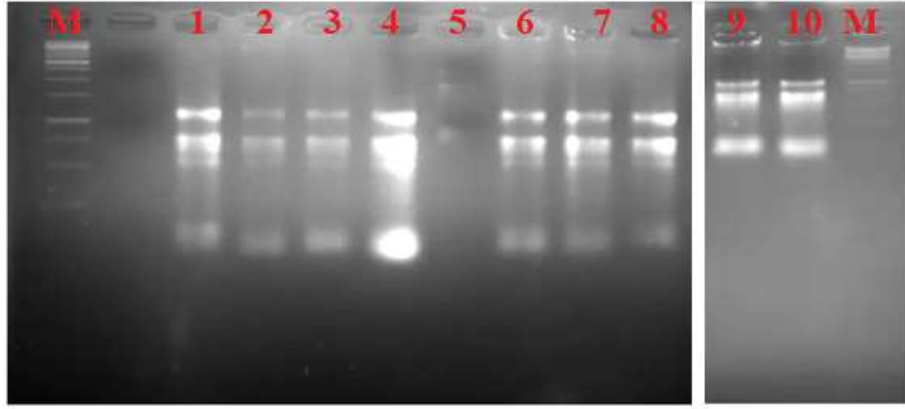


Şekil 4.10 %4,5 imazamoks uygulamasının Ormanlı CL çeltik çeşidinin fotosentetik pigment konsantrasyonları üzerine etkisi.

Herbisit uygulamasının ardından total klorofil konsantrasyonu açısından en büyük düşüş Reis CL çeşidinde ölçülmüştür. Düşüş %47,04 olarak hesaplanmıştır. Total klorofil pigmentindeki azalma Osmancık-97, Yaprak CL, Değirmen CL ve Ormanlı CL çeşitlerinde sırası ile %22,45, %16,15, %32,68 ve %22,06 olarak hesaplanmıştır.

4.3.3. ALS ve NAL1 Genlerinin Anlatım Profillerinin Belirlenmesi

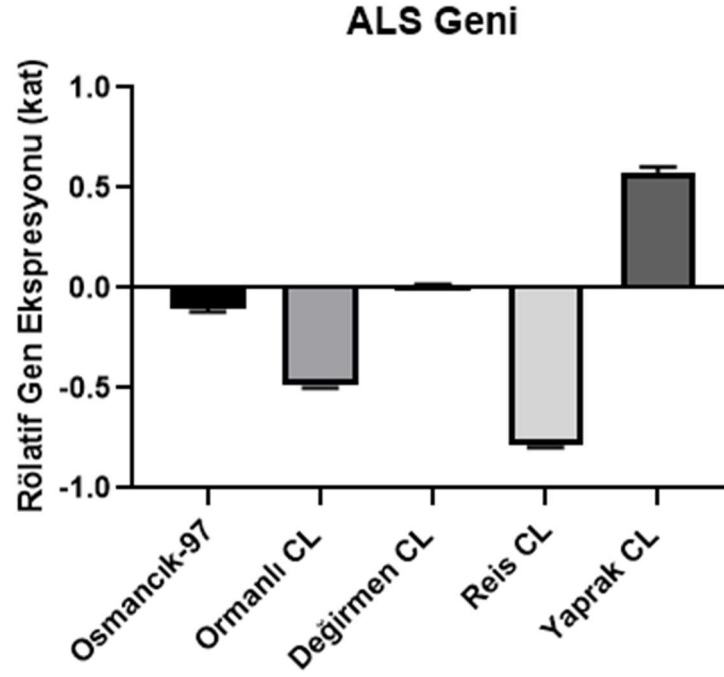
IMI toleranslı ve toleranssız çeltik bitkilerine ait yaprak dokularından izole edilen RNA örneklerinin cDNA'ya çevrilmeden önce RNA bütünlüğü ve kalitesini değerlendirmek için, izole edilen RNA'ların görüntülenmesi için agaroz jel elektroforezden faydalanıldı. RNA'lar %1,8'lik 1X Tris-borat-EDTA (TBE) tampon sisteminden yararlanılarak 55 V sabit elektrik akımında 55 dakika süreyle yürütüldü. İzolasyon sürecindeki olası kontaminasyon ve RNA'ların kırılma durumlarını saptamak üzere RNA örneklerine ait agaroz jel elektroforez görüntüleri (Şekil 4.11) elde edildi.



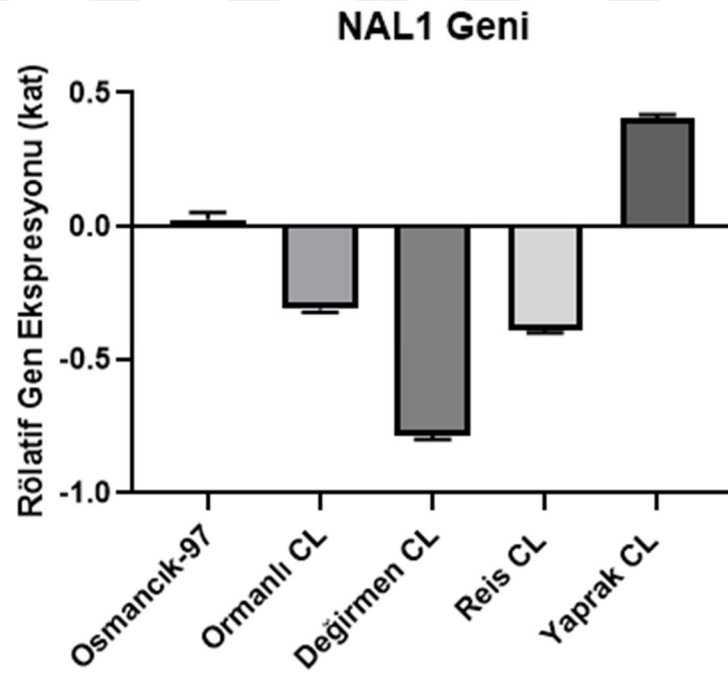
Şekil 4.11 RNA örneklerinin agaroz jel bant profilleri M: Markör, 1: Osmancık-97, 2: Osmancık-97 %4,5 imazamoks, 3: Reis CL, 4: Reis CL%4,5 5 imazamoks, 5: Yaprak CL, 6: Yaprak CL%4,5 5 imazamoks, 7: Değirmen CL, 8: Değirmen CL%4,5 imazamoks, 9: Ormanlı CL, 10: Ormanlı CL %4,5 imazamoks

IMI toleranssız Osmancık-97 ile IMI toleranslı Ormanlı CL, Değirmen CL, Reis CL, Yaprak CL bitkilerinin yaprak dokularında IMI toleranslı ile ilişkili ALS geninin ve bitkinin gelişim durumu ile ilişkili NAL1 geninin rölatif ekspresyon seviyeleri kantitatif PZR ile analiz edilmiştir. ALS gen ekspresyonunda Osmancık-97, Ormanlı CL ve Reis CL çeşitlerinde sırası ile 0,1, 0,5 ve 0,8 kat azalma hesaplanmıştır (Şekil 4.12). Değirmen CL çeşidinde ALS gen ekspresyonunda değişim olmamıştır. ALS gen ekspresyonunu arttıran tek çeşit 0,6 kat ile Yaprak CL olmuştur.

NAL1 gen ekspresyonunda Ormanlı CL, Değirmen CL ve Reis CL çeşitlerinde sırası ile 0,3, 0,8 ve 0,4 kat azalma hesaplanmıştır (Şekil 4.13). Osmancık-97 çeşidinde NAL1 gen ekspresyonunda değişim saptanmazken, ekspresyonunu arttıran tek çeşit 0,4 kat ile Yaprak CL olmuştur.



Şekil 4.12 %4,5 imazamoks uygulamasının rölatif ALS gen ekspresyonu üzerine etkisi.



Şekil 4.13 %4,5 imazamoks uygulamasının rölatif ALS gen ekspresyonu üzerine etkisi.

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, küresel düzeyde temel bir gıda kaynağı olan çeltik (*Oryza sativa* L.) bitkisinin IMI toleranssız Osmancık-97 çeşidi ile IMI toleranslı Yaprak CL, Ormanlı CL, Değirmen CL ve Reis CL çeşitlerinin, imazamoks etken maddeli IMI herbisite karşı gösterdikleri tolerans düzeylerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında, farklı genotiplerin herbisit uygulamasına verdiği tepkiler analiz edilerek, çeşitler arası tolerans düzeylerinin moleküler temelli farklılıkları ortaya konmuştur.

Yabani çeltik ile kültürü yapılan çeltik aynı tür (*Oryza sativa* L.) içinde yer aldıkları için birçok ortak fizyolojik özelliğe sahiptir. Bu benzerlik, tarım alanlarında yabani çeltikle mücadeleyi oldukça güçleştirmektedir. Bu sebeple yabani çeltiği yok eden herbisitler kültürü yapılan çeltiğe de zarar verir [17]. Herhangi bir yabancı gen eklenmeksizin, sadece mutasyon seleksiyonu yoluyla imidazolinon grubu herbisitlere tolerans kazandırılmış Clearfield™ çeltik çeşitleri geliştirilmiştir [32]. Bu yöntem, gen aktarımı içermemesi sebebiyle çevresel açıdan daha kabul edilebilir bir alternatif olarak değerlendirilmekte ve modern çeltik yetiştiriciliğinde yabancı ot mücadelesinde önemli bir avantaj sunmaktadır. Bu sebeple imidazol grubu herbisitler, GDO'suz yaklaşımla herbisitlere toleranslı çeltik geliştirmede tercih edilen herbisitlerin başında gelir [143].

T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü tarafından yayımlanan rapora göre, çeltik tarım alanlarında görülen yabancı otlarla mücadelede imazamoks herbisitinin yapraklara püskürtme yoluyla dekara 125 mL dozda ve 1 – 4 yapraklı dönemde IMI toleranslı çeltik çeşitlerinde ise bu uygulamanın 1 – 3 yapraklı dönemde yapılması tavsiye edilmektedir [228].

Bu çalışmada, çeltik bitkileri iklimlendirme odasında, düşük hacimli kaplar içerisinde yetiştirildiğinden, herbisit uygulaması yapraklara püskürtme şeklinde

uygulanmamıştır. Tarla uygulanmasından farklı olarak imazamoks herbisiti Yoshida besin çözeltilisine katılarak uygulanmıştır. Tarım bakanlığının dekarda önerdiği doz sulama şeklinde yapılan uygulamada etki göstermemiştir. Bu sebeple imazamoks herbisitin toleranslı ve toleransız çeltik çeşitleri ile ön deneme kurulmuştur. Artan konsantrasyonlar ile %1,5, %3, %4,5 ve %6 olacak şekilde Yoshida besin solüsyonuna ilave ile uygulanmıştır.

Yapılan ön denemelerde, %1,5'lik dozun tüm çeşitler üzerinde sınırlı bir etki gösterdiği belirlenmiştir. %6 konsantrasyonda analiz yapılmasına olanak sağlayacak canlılıkta bitki kalmadığından analiz yapılmasına olanak sağlayacak en yüksek konsantrasyon olarak %4,5 kullanılmasına karar verilmiştir.

Bu tez kapsamında IMI toleranslı ve toleranssız çeltik çeşitlerinin %4,5 imazamoks herbisiti etkisine bağlı gelişimleri incelendiğinde bitkiler arasında belirgin farkların olduğu gözlemlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda imidazol grubu herbisitlerin valin, lösin ve izolösin amino asitlerinin sentezini inhibe ettiği ve buna bağlı protein sentezinde ortaya çıkan azalma, hücre bölünmesinin yavaşlamasına yol açarak bitki büyümesinin azalmasına ve bitki ölümüne yol açtığı rapor edilmiştir [152]. İmidazol grubu herbisitler bitkilerin metabolik dengesini bozarak, gelişimsel süreçlerin duraksamasına, yaprak dokularında kloroz oluşumuna ve klorofil içeriğinde anlamlı düzeyde azalmaya sebep olmaktadır. Böylece bitki fizyolojisini ve genel bitki gelişimini olumsuz yönde etkilediği görülmüştür [145].

Bu tez çalışmasında herbisit uygulanmamış kontrol bitkilerinde Osmancık-97 ve Reis CL ortalama yaş ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Değirmen CL, Yaprak CL ve Ormanlı CL ortalama yaş ağırlıkları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark görülmezken, bu üç çeşidin ortalama yaş ağırlığı Osmancık-97 ve Reis CL çeşitlerinden istatistiksel olarak anlamlı şekilde az bulunmuştur. Dört günlük herbisit uygulaması sonrasında ortalama bitki yaş ağırlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı tek farklılık Reis CL çeşidinde ölçülmüştür.

Dört gün süre ile uygulanan herbisit Değirmen CL ve Yaprak CL çeşitlerinde ortalama bitki boylarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmasına yol açmıştır. Osmancık-97, Reis CL ve Ormanlı CL çeşitlerinde ortalama bitki boyu açısından istatistiksel

olarak anlamlı bir fark ölçülmemiştir. En yüksek ortalama bitki boyları Osmancık-97, Değirmen CL ve Ormanlı CL çeşitlerinde ölçülmüştür.

Abiyotik stres faktörleri, bitkilerde oksidatif stresin oluşumuna sebep olarak hücre membranlarının yapısında bulunan doymamış yağ asitlerini oksidasyona uğratmak suretiyle lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Bu süreç, hücre zarının yapısal bütünlüğünün bozulmasına, zar proteinlerinin denatürasyonuna ve yıkımına, ayrıca hücre içi iyon dengesini sağlayan taşıma sistemlerinin etkinliğinin azalmasına yol açarak bitkisel metabolizmanın ciddi şekilde zarar görmesine sebep olmaktadır. Stresin uzun süreli etkisi veya yüksek şiddette seyretmesi halinde hücrede ölüm süreci tetiklenebilir [144]. Hücre zarında bulunan lipid bileşenlerinin oksidasyonu sonucu oluşan bir yan ürün olan malondialdehit (MDA) başta olmak üzere thiobarbitirik asit ile reaksiyona giren tüm bileşenlerin (TBARS), bitkilerin çeşitli abiyotik ve biyotik stres koşullarına maruz kalmaları durumunda arttığını ortaya koyan çok sayıda bilimsel çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar, MDA birikiminin oksidatif stresin ve lipid peroksidasyonunun önemli bir biyokimyasal göstergesi olduğunu vurgulamaktadır [51], [229]. Ayrıca AHAS enzimini hedef alan herbisitlerin bitkilerde oksidatif inaktivasyona yol açtığı rapor edilmiştir [136]. Yapılan çalışmalarda IMI grup herbisit olan imazamoks uygulaması sonrasında çeltikte lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA artışı rapor edilmiştir [230], [231]. Başka bir çalışmada ayçiçeği bitkisine uygulanan IMI herbisiti sonrasında da MDA artışı rapor edilmiştir [232].

Çalışmamız kapsamında, IMI toleranssız Osmancık-97 çeşidi ile IMI toleranslı Ormanlı CL, Değirmen CL, Yaprak CL ve Reis CL çeltik çeşitlerine uygulanan %4,5 konsantrasyonda imazamoks, tüm çeltik çeşitlerinde kontrollerine göre istatistiksel olarak anlamlı lipid peroksidasyon artışına yol açmıştır. Kontrol grupları arasında sadece Değirmen CL diğer çeşitlerden daha yüksek, anlamlı bir fark sergilemiştir. Herbisit uygulamasından sonra tüm çeşitler arasında sadece Ormanlı CL diğer çeşitlerden daha düşük anlamlı bir fark sergilemiştir.

Herbisitler amino asit sentezi önleyici, fotosentez reaksiyonlarını durdurucu, fotosentetik pigment sentezi ve AHAS enzim sentez önleyiciler olarak sınıflandırılabilir [137]. Bitkilerde valin, lösin, izölösün amino asitlerinin inhibe edilmesi ile asetohidroksiasit sentazı (AHAS) ve karotenoid sentezinde görev alan 4-

hidroksifenilpiruvat dioksijenazı inhibe edebilir [233]. İmazamoks uygulaması ile valin, lösin ve izolösin amino asitlerinin sentezinin önlenmesi ile bitkilerin protein sentez hızında düşme, hücre bölünmesinde yavaşlama, fotosentetik pigment üretiminde aksamalar görülür [152]. Çeşitli stres faktörleri hücrede karotenoid birikimine sebep olur. Oksidan zararlılarına karşı klorofil pigmentinin parçalanmasını engelleyen ve onaran bu pigmentin koruyucu özellik gösterdiği rapor edilmiştir [213]. Yapılan çalışmalarda IMI grubu herbisitlerin çeltik bitkisinde klorofil a başta olmak üzere fotosentetik pigment içeriklerinde azalmaya sebep olduğu bildirilmektedir. Bitkinin fotosentetik kapasitesinde düşüşe ve dolayısıyla büyüme performansında gerilemeye yol açtığı rapor edilmiştir [234], [235] . Yapılan başka bir çalışmada IMI çeşit olan imazetapirin mercimek bitkisinde klorofil içeriğini azaltarak fotosistem II aktivitesinde bozulmaya sebep olduğu rapor edilmiştir [236].

Çalışmamız kapsamında %4,5 imazamoks uygulamasının Osmancık-97 ile IMI toleranslı Reis CL, Yaprak CL, Değirmen CL, Ormanlı CL çeltik çeşitlerinin fotosentetik pigment miktarları üzerine olan etkileri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Osmancık-97 çeşidinde klorofil a, total klorofil, karotenoid konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ölçülmüştür. Klorofil b konsantrasyonunda anlamlı bir değişim olmamıştır. IMI toleranslı Reis CL çeşidinde klorofil a, klorofil b, total klorofil ile karotenoid konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır. Yaprak CL, Değirmen CL ve Ormanlı CL çeşitlerinde klorofil a, klorofil b ile total klorofil konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilmiştir. Karotenoid konsantrasyonlarında anlamlı bir değişim olmamıştır. En yüksek total klorofil pigment konsantrasyonu Reis CL çeşidinde ölçülmüştür. En düşük total klorofil konsantrasyonu ise Osmancık-97 çeşidinde ölçülmüştür.

Bu tez çalışmasında %4,5 konsantrasyonda imazamoks herbisitinin uygulandığı IMI toleransız Osmancık-97 ile IMI toleranslı Yaprak CL, Ormanlı CL, Reis CL ve Değirmen CL çeşitlerinde valin, lösin, izolösin amino asitlerinin sentezinde rol alan ALS (asetolaktat sentaz) ile yaprak morfolojisi ile damar yapısının gelişiminde rol alan NAL1 (narrof leaf1) genlerinin anlatım düzeyleri kantitatif olarak q-PZR yöntemi ile analiz edilmiştir.

Yapılan alışmalar AHAS enziminin bk alt birimindeki Ala122, Pro197, Ala205, Trp574 ve Ser653 konumundaki mutasyonların IMI grubu herbisitlere karşı tolerans kazandırıp, diğerk AHAS inhibitörlerine karşı çapraz tolerans sağlamadığı rapor edilmiştir [9]. Ayrıca eltik bitkisinde Ser-653-Asn konumundaki nokta mutasyon IMI grubu herbisitlerden imazamoks, imazetapir ve imazapik çeşitlerine karşı tolerans sağladığı rapor edilmiştir [171]. Bu mutasyonun enzim aktivitesinde ciddi bir bozulmaya yol amadığı ve bitkinin bme ve gelişimini olumsuz yönde etkilemediği de rapor edilmiştir [14]. Çin’de yürütülen bir çalışmada IMI grubu bir herbisit olan imazamoksun eltik bitkisine uygulaması sonrasında AHAS enzimini kodlayan ALS geninin anlatım düzeyinde belirgin bir artış olduğu rapor edilmiştir [237]. Yapılan başka bir çalışmada yabancı yulaf (*Lolium multiflorum*) bitkisinin IMI tolerans gösteren çeşitlerine imazamoks uygulaması sonrasında ALS gen anlatımında anlamlı seviyede artış olduğu rapor edilmiştir [238].

Son yıllarda yapılan araştırmalar, eltik ıslahında önemli bir gen olarak tanımlanan NAL1’in yaprak morfolojisi, damar deseni, başak yapısı, tane sayısı ve bitki boyu gibi pek çok agronomik özelliği etkilediğini ortaya koymuştur [146]. NAL1, serin proteaz olarak işlev görmekte olup eltik bitkisinde kök, gövde ve yaprak morfolojisinin yanı sıra tane verimi, klorofil içeriği ve fotosentez hızı üzerinde de etkili olmaktadır [147].

Çalışmamızda elde edilen bulgular doğrultusunda %4,5 konsantrasyonda imazamoks herbisiti uygulaması sonrasında yapılan analizler, ALS ve NAL1 genlerinin anlatım düzeylerinin eltik eşitleri arasında anlamlı farklılıklar gösterdiğini ortaya koymuştur. ALS gen ekspresyonunda Osmancık-97, Ormanlı CL ve Reis CL eşitlerinde azalma olduğu belirlenmiştir. Değirmen CL eşidinde ALS gen ekspresyonunda değişim olmazken, Yaprak CL ekspresyon artışı sergileyen tek çeşit olmuştur. NAL1 gen ekspresyonunda bakımından Ormanlı CL, Değirmen CL ve Reis CL eşitlerinde azalma olduğu belirlenmiştir. Osmancık-97 eşidinde NAL1 gen ekspresyonunda değişim saptanmazken, ekspresyonunu arttıran tek çeşit yine Yaprak CL olmuştur.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde Yaprak CL haricinde IMI toleranslı olarak seçilen diğerk 3 eltik çeşidinde genotip özelliği fenotip ile uyum göstermemiştir. Bu eltik eşitleri ile bu konuda yapılmış yayınlanmış bir eser bulunmamaktadır. Rey-

Caballero ve ark. (2017) farklı çeltik çeşitleri ile yapmış oldukları çalışmada ALS mutasyonuna sahip olmayan yabancı tip çeşitlerde imazamoks toleransı fenotip özelliklerini tespit etmişlerdir. Yapılan analizler popülasyonda hidroksi imazamoks varlığını doğrulamıştır. Bu değişim hedef-dışı bölge direnci (non-target-site resistance, NTSR) olarak adlandırılan mekanizmadan kaynaklanmaktadır. Genel olarak imazamoksa yüksek tolerans tüm ALS inhibitör sınıfları için Trp574 yer değişim mutasyonu ile ilişkilendirilmektedir. Ancak ikinci bir tolerans mekanizması olarak ALS inhibitörü herbisitin, ALS'ye lethal konsantrasyonun altında ulaşmasının sağlanması da etkilidir. Düşük seviyeli absorpsiyon ve translokasyon nadiren ALS inhibitörüne toleransın başlıca sebebidir. Ancak mekanizmadaki kısmi rolü rapor edilmektedir [239] . IMI herbisite toleranslı çeşitler olan Ormanlı CL, Değirmen CL, Reis CL'de toleranslı fenotipe rağmen ALS gen ekspresyonunun azalması, lethal seviyenin üzerinde inhibitör etkisine işaret etmektedir. Ayrıca herbisit toleranslı Clearfield™ çeltik geliştirme süreçlerinde mutagen olarak uygulanan EMS'nin ardından seleksiyonlarda imazethapyr ve imazamox kombinasyonlu uygulama yapılmaktadır. ALS geninde farklı polimorfizmler ve imidazolinon grubu farklı IMI herbisit uygulanması gen ekspresyonu seviyelerini değiştirebilmektedir [240].

Sonuç olarak imazamoks herbisiti, diğer herbisitlere kıyasla daha düşük dozlarda etkili olması sebebiyle yabancı otlarla mücadelede önemli bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Ancak, Clearfield™ çeltik teknolojisi kapsamında imidazol grubu herbisitlere tolerans kazandırılmış bazı çeltik çeşitlerinde beklenen tolerans etkisinin görülmediği, bu çeşitlerin toleransız türlerle benzer tepkiler verdiği tespit edilmiştir. Bu durum, herbisite karşı geliştirilen tolerans mekanizmalarının çeşitler arasında farklılık gösterebileceğini ve toleranslı olduğu kabul edilen çeşitlerin herbisite karşı her zaman etkin bir yanıt veremeyebileceğini göstermektedir. Tarımsal verimliliğin sürdürülebilir şekilde artırılması ve yabancı otlarla etkili mücadele sağlanabilmesi için, imidazol grubu herbisit uygulamalarında hem toleranslı çeltik çeşitlerinin doğru seçilmesi hem de bu çeşitlerin genotipine etkili olan uygun imidazol grubu herbisitin belirlenmesi büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] A. Borém, M. A. P. Ramalho, and R. Fritsche-Neto, ‘Abiotic Stresses: Challenges for Plant Breeding in the Coming Decades’, in *Plant Breeding for Abiotic Stress Tolerance*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012, pp. 1–12. doi: 10.1007/978-3-642-30553-5_1.
- [2] A. Ayan, R. Programı, B. Anabilim, D. Danişman, and S. Altun, ‘Doktora Tezi Gama Radyasyonu ile Çeltik (*Oryza sativa* L.) Çeşitlerinde Tuzluluk Toleransının Teşviki’, 2019.
- [3] ‘World Population Prospects 2022 World Population Prospects 2022 Summary of Results’.
- [4] TÜİK, ‘Türkiye İstatistik Kurumu. (2024, Şubat 8). Adrese Dayalı Nüfus Kayıt Sistemi sonuçları’, TÜİK, 2024.
- [5] TÜİK, ‘Türkiye İstatistik Kurumu. (2024, Aralık 20). Bitkisel üretim istatistikleri, 2024 (Bülten No: 53447).’, 2024.
- [6] M. H. Dar *et al.*, ‘Abiotic stress tolerance-progress and pathways of sustainable rice production’, Feb. 02, 2021, *MDPI*. doi: 10.3390/su13042078.
- [7] R. Singh *et al.*, ‘From QTL to variety-harnessing the benefits of QTLs for drought, flood and salt tolerance in mega rice varieties of India through a multi-institutional network’, *Plant Science*, vol. 242, pp. 278–287, May 2015, doi: 10.1016/j.plantsci.2015.08.008.
- [8] K. D. Gibson, A. J. Fischer, T. C. Foinà, and J. E. Hillà, ‘Implications of delayed *Echinochloa* spp. germination and duration of competition for integrated weed management in water-seeded rice’, 2002. [Online]. Available: <http://www.ipm.ucdavis.edu>

- [9] S. Tan, R. R. Evans, M. L. Dahmer, B. K. Singh, and D. L. Shaner, 'Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future', *Pest Manag Sci*, vol. 61, no. 3, pp. 246–257, Mar. 2005, doi: 10.1002/ps.993.
- [10] J. K. Norsworthy, N. R. Burgos, R. C. Scott, and K. L. Smith, 'Consultant Perspectives on Weed Management Needs in Arkansas Rice', *Weed Technology*, vol. 21, no. 3, pp. 832–839, Jul. 2007, doi: 10.1614/wt-06-203.1.
- [11] A. A. Bajwa, K. Jabran, M. Shahid, H. H. Ali, B. S. Chauhan, and Ehsanullah, 'Eco-biology and management of *Echinochloa crus-galli*', *Crop Protection*, vol. 75, pp. 151–162, Sep. 2015, doi: 10.1016/j.cropro.2015.06.001.
- [12] S. Ntoanidou, N. Kaloumenos, G. Diamantidis, P. Madesis, and I. Eleftherohorinos, 'Molecular basis of *Cyperus difformis* cross-resistance to ALS-inhibiting herbicides', *Pestic Biochem Physiol*, vol. 127, pp. 38–45, Feb. 2016, doi: 10.1016/j.pestbp.2015.09.004.
- [13] H. Mennan and E. Kaya-Altop, 'Molecular Techniques for Discrimination of Late Watergrass (*Echinochloa oryzicola*) and Early Watergrass (*Echinochloa oryzoides*) Species in Turkish Rice Production ', *Weed Sci*, vol. 60, no. 4, pp. 525–530, Dec. 2012, doi: 10.1614/ws-d-11-00194.1.
- [14] Z. Piao *et al.*, 'Characterization of an acetohydroxy acid synthase mutant conferring tolerance to imidazolinone herbicides in rice (*Oryza sativa*)', *Planta*, vol. 247, no. 3, pp. 693–703, Mar. 2018, doi: 10.1007/s00425-017-2817-2.
- [15] R. G. Duggleby, J. A. McCourt, and L. W. Guddat, 'Structure and mechanism of inhibition of plant acetohydroxyacid synthase', *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 46, no. 3, pp. 309–324, Mar. 2008, doi: 10.1016/j.plaphy.2007.12.004.

- [16] M. Endo, K. Osakabe, K. Ono, H. Handa, T. Shimizu, and S. Toki, 'Molecular breeding of a novel herbicide-tolerant rice by gene targeting', *The Plant Journal*, vol. 52, no. 1, pp. 157–166, Oct. 2007, doi: 10.1111/j.1365-3113X.2007.03230.x.
- [17] E. Sudianto, S. Beng-Kah, N. Ting-Xiang, N. E. Saldain, R. C. Scott, and N. R. Burgos, 'Clearfield® rice: Its development, success, and key challenges on a global perspective', *Crop Protection*, vol. 49, pp. 40–51, Jul. 2013, doi: 10.1016/j.cropro.2013.02.013.
- [18] J. M. Green and M. D. K. Owen, 'Herbicide-Resistant Crops: Utilities and Limitations for Herbicide-Resistant Weed Management', *J Agric Food Chem*, vol. 59, no. 11, pp. 5819–5829, Jun. 2011, doi: 10.1021/jf101286h.
- [19] A. J. Garriss, T. H. Tai, J. Coburn, S. Kresovich, and S. McCouch, 'Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L.', *Genetics*, vol. 169, no. 3, pp. 1631–1638, Mar. 2005, doi: 10.1534/genetics.104.035642.
- [20] N. Taşlıgil, 'Türkiye'de Çeltik (*Oryza sativa* L.) Yetiştiriciliği ve Coğrafi Dağılımı', *Adiyaman University Journal of Social Sciences*, no. 6, pp. 182–182, Jan. 2013, doi: 10.14520/adyusbd.105.
- [21] S. Sandamal *et al.*, 'Population genetics and evolutionary history of the wild rice species *Oryza rufipogon* and *O. nivara* in Sri Lanka', *Ecol Evol*, vol. 8, no. 23, pp. 12056–12065, Dec. 2018, doi: 10.1002/ece3.4665.
- [22] Y. E. Arvas, 'Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi Türkiye'deki Yabancı Çeltik ve İşlenmiş Çeltik Ürünlerinde Genetiği Değiştirilmiş Organizmalarla İlgili Genetik Analizler', 2017.
- [23] B. Ghosh and N. Ali Md, 'Response of Rice under Salinity Stress: A Review Update', *Rice Research: Open Access*, vol. 4, no. 2, 2016, doi: 10.4172/2375-4338.1000167.

- [24] T.-T. Chang, 'The origin, evolution, cultivation, dissemination, and diversification of Asian and African rices', *Euphytica*, vol. 25, no. 1, pp. 425–441, Jan. 1976, doi: 10.1007/BF00041576.
- [25] G. S. Khush, 'Origin, dispersal, cultivation and variation of rice', Kluwer Academic Publishers, 1997.
- [26] E. T. Champagne, K. L. Bett-Garber, J. Thompson, R. Mutters, C. C. Grimm, and A. M. McClung, 'Effects of drain and harvest dates on rice sensory and physicochemical properties', *Cereal Chem*, vol. 82, no. 4, pp. 369–374, 2005, doi: 10.1094/CC-82-0369.
- [27] L. Guo *et al.*, 'Association mapping and resistant alleles' analysis for japonica rice blast resistance', *Plant Breeding*, vol. 134, no. 6, pp. 646–652, Dec. 2015, doi: 10.1111/pbr.12310.
- [28] W. Long *et al.*, 'Whole Genome Resequencing of 20 Accessions of Rice Landraces Reveals Javanica Genomic Structure Variation and Allelic Genotypes of a Grain Weight Gene TGW2', *Front Plant Sci*, vol. 13, Apr. 2022, doi: 10.3389/fpls.2022.857435.
- [29] T. Izawa and K. Shimamoto, 'Becoming a model plant: The importance of rice to plant science', *Trends Plant Sci*, vol. 1, no. 3, pp. 95–99, Mar. 1996, doi: 10.1016/S1360-1385(96)80041-0.
- [30] S. A. Jackson, 'Rice: The First Crop Genome', *Rice*, vol. 9, no. 1, p. 14, Dec. 2016, doi: 10.1186/s12284-016-0087-4.
- [31] D. R. GEALY, D. H. MITTEN, and J. N. RUTGER, 'Gene Flow Between Red Rice (*Oryza sativa*) and Herbicide-Resistant Rice (*O. sativa*): Implications for Weed Management 1', *Weed Technology*, vol. 17, no. 3, pp. 627–645, Jul. 2003, doi: 10.1614/wt02-100.
- [32] E. Sudianto, S. Beng-Kah, N. Ting-Xiang, N. E. Saldain, R. C. Scott, and N. R. Burgos, 'Clearfield® rice: Its development, success, and key

challenges on a global perspective', Jul. 2013. doi: 10.1016/j.cropro.2013.02.013.

- [33] E. Kaya-Altop, M. Şahin, K. Jabran, C. J. Phillippo, B. H. Zandstra, and H. Mennan, 'Effect of different water management strategies on competitive ability of semi-dwarf rice cultivars with *Echinochloa oryzoides*', *Crop Protection*, vol. 116, pp. 33–42, Feb. 2019, doi: 10.1016/j.cropro.2018.10.009.
- [34] Burhan. Kacar, Vahap. Katkat, and Ş. Öztürk, 'Bitki Fizyolojisi', 6th ed., Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti6, 2017, pp. 485–530.
- [35] V. Shulaev, D. Cortes, G. Miller, and R. Mittler, 'Metabolomics for plant stress response', Feb. 2008. doi: 10.1111/j.1399-3054.2007.01025.x.
- [36] M. Fujita *et al.*, 'Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks', Aug. 2006. doi: 10.1016/j.pbi.2006.05.014.
- [37] H. Korkmaz and A. Durmaz, 'Bitkilerin Abiyotik Stres Faktörlerine Verdiği Cevaplar Responses of Plants to Abiotic Stress Factors', vol. 7, no. 2, pp. 192–207, 2017, doi: 10.17714/gufbed.2017.07.013.
- [38] F. B. ve R. C. W. Salisbury, 'Salisbury, F. B. ve Ross, C. W. 1992. Plant Physiology. 4.ed. Wadsworth Publishing Company, Belmont, 682p.', 1992. *Plant Physiology. 4.ed. Wadsworth Publishing Company, Belmont, 1992.*
- [39] T. Hirayama and K. Shinozaki, 'Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future', *The Plant Journal*, vol. 61, no. 6, pp. 1041–1052, Mar. 2010, doi: 10.1111/j.1365-313X.2010.04124.x.

- [40] M. Ashraf and P. J. C. Harris, 'Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants', *Plant Science*, vol. 166, no. 1, pp. 3–16, Jan. 2004, doi: 10.1016/j.plantsci.2003.10.024.
- [41] A. Hediye Sekmen, İ. Türkan, and S. Takio, 'Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*', *Physiol Plant*, vol. 131, no. 3, pp. 399–411, Nov. 2007, doi: 10.1111/j.1399-3054.2007.00970.x.
- [42] M. Ashraf and M. R. Foolad, 'Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance', *Environ Exp Bot*, vol. 59, no. 2, pp. 206–216, Mar. 2007, doi: 10.1016/j.envexpbot.2005.12.006.
- [43] G.-T. Huang *et al.*, 'Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants', *Mol Biol Rep*, vol. 39, no. 2, pp. 969–987, Feb. 2012, doi: 10.1007/s11033-011-0823-1.
- [44] K. Kosová, P. Vítámvás, I. T. Prášil, and J. Renault, 'Plant proteome changes under abiotic stress — Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response', *J Proteomics*, vol. 74, no. 8, pp. 1301–1322, Aug. 2011, doi: 10.1016/j.jprot.2011.02.006.
- [45] J. Levitt, 'Responses of plants to environmental stresses. Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses.', 1980, Accessed: Mar. 04, 2024. [Online]. Available: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19810720211>
- [46] H. Greenway, R. M.-A. review of plant physiology, and undefined 1980, 'Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes', *annualreviews.orgH Greenway, R MunnsAnnual review of plant physiology, 1980•annualreviews.org*, vol. 31, no. 1, pp. 149–90, Jun. 1980, doi: 10.1146/annurev.pp.31.060180.001053.

- [47] C. A. Jaleel *et al.*, 'Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit', *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 59, no. 2, pp. 150–157, Oct. 2007, doi: 10.1016/j.colsurfb.2007.05.001.
- [48] M. G. Kibria and Md. A. Hoque, 'A Review on Plant Responses to Soil Salinity and Amelioration Strategies', *Open Journal of Soil Science*, vol. 09, no. 11, pp. 219–231, 2019, doi: 10.4236/ojss.2019.911013.
- [49] P. Shrivastava and R. Kumar, 'Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation', *Saudi J Biol Sci*, vol. 22, no. 2, pp. 123–131, Mar. 2015, doi: 10.1016/j.sjbs.2014.12.001.
- [50] D. L. Corwin, 'Climate change impacts on soil salinity in agricultural areas', Mar. 01, 2021, *Blackwell Publishing Ltd.* doi: 10.1111/ejss.13010.
- [51] C. Zhao, H. Zhang, C. Song, J.-K. Zhu, and S. Shabala, 'Mechanisms of Plant Responses and Adaptation to Soil Salinity', *The Innovation*, vol. 1, no. 1, p. 100017, May 2020, doi: 10.1016/j.xinn.2020.100017.
- [52] C. S. Byrt, R. Munns, R. A. Burton, M. Gilliam, and S. Wege, 'Root cell wall solutions for crop plants in saline soils', *Plant Science*, vol. 269, pp. 47–55, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.plantsci.2017.12.012.
- [53] L. H. Wegner, G. Stefano, L. Shabala, M. Rossi, S. Mancuso, and S. Shabals, 'Sequential depolarization of root cortical and stelar cells induced by an acute salt shock – implications for Na^+ and K^+ transport into xylem vessels', *Plant Cell Environ*, vol. 34, no. 5, pp. 859–869, May 2011, doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02291.x.
- [54] C. S. Ting, T. G. Owens, and D. W. Wolfe, 'Seedling Growth and Chilling Stress Effects on Photosynthesis in Chilling-Sensitive and

- Chilling-Tolerant Cultivars of *Zea mays*', *J Plant Physiol*, vol. 137, no. 5, pp. 559–564, Mar. 1991, doi: 10.1016/S0176-1617(11)80699-1.
- [55] P. S. Setimela, D. J. Andrews, J. Partridge, and K. M. Eskridge, 'Screening sorghum seedlings for heat tolerance using a laboratory method', *European Journal of Agronomy*, vol. 23, no. 2, pp. 103–107, Sep. 2005, doi: 10.1016/j.eja.2004.09.008.
- [56] MD. A. Karim, Y. Fracheboud, and P. Stamp, 'Photosynthetic activity of developing leaves of *Zea mays* is less affected by heat stress than that of developed leaves', *Physiol Plant*, vol. 105, no. 4, pp. 685–693, Apr. 1999, doi: 10.1034/j.1399-3054.1999.105413.x.
- [57] J. J. Burke and K. A. Orzech Usda-ARS, 'The heat-shock response in higher plants: a biochemical model', *Plant Cell Environ*, vol. 11, no. 6, pp. 441–444, Aug. 1988, doi: 10.1111/j.1365-3040.1988.tb01781.x.
- [58] M. Fujimoto and A. Nakai, 'The heat shock factor family and adaptation to proteotoxic stress', *FEBS J*, vol. 277, no. 20, pp. 4112–4125, Oct. 2010, doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07827.x.
- [59] W. Decraemer and E. Geraert, 'Ectoparasitic nematodes.', in *Plant nematology*, UK: CABI, 2006, pp. 153–184. doi: 10.1079/9781845930561.0153.
- [60] C. Huang and S. Huang, 'Bionomics of white-tip nematode, *Aphelenchoides besseyi* in rice florets and developing grains.', 1972, Accessed: Oct. 12, 2024. [Online]. Available: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19730804884>
- [61] M. Luc, R. A. Sikora, and J. Bridge, 'Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture', 2005, Accessed: Oct. 12, 2024. [Online]. Available: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/abs/10.1079/9780851997278.000>

- [62] K. Togashi, S. H.- Nematology, and undefined 2001, 'Distribution pattern and mortality of the white tip nematode, *Aphelenchoides besseyi* (Nematoda: Aphelenchoididae), among rice seeds', *brill.comK Togashi, S HoshinoNematology, 2001•brill.com*, Accessed: Oct. 12, 2024. [Online]. Available: https://brill.com/view/journals/nemy/3/1/article-p17_3.xml
- [63] A. Tulek and S. Cobanoglu, 'Distribution of the rice white tip nematode, *Aphelenchoides besseyi*, in rice growing areas in the Thrace region of Turkey', *Nematol Mediterr*, Dec. 2010, Accessed: Nov. 06, 2024. [Online]. Available: <https://journals.flvc.org/nemamedia/article/view/87040>
- [64] R. F. Nyvall, 'Diseases of Rice', in *Field Crop Diseases Handbook*, Boston, MA: Springer US, 1989, pp. 385–425. doi: 10.1007/978-1-4757-5221-2_14.
- [65] R. Dean *et al.*, 'The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology', *Mol Plant Pathol*, vol. 13, no. 4, pp. 414–430, May 2012, doi: 10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x.
- [66] A. E. Asibi, Q. Chai, and J. A. Coulter, 'Rice Blast: A Disease with Implications for Global Food Security', *Agronomy*, vol. 9, no. 8, p. 451, Aug. 2019, doi: 10.3390/agronomy9080451.
- [67] C. C. Nguyen *et al.*, 'Antifungal Activities of *Ageratum conyzoides* L. Extract against Rice Pathogens *Pyricularia oryzae* Cavara and *Rhizoctonia solani* Kühn', *Agriculture*, vol. 11, no. 11, p. 1169, Nov. 2021, doi: 10.3390/agriculture11111169.
- [68] R. F. Nyvall, 'Diseases of Rice', in *Field Crop Diseases Handbook*, Boston, MA: Springer US, 1989, pp. 385–425. doi: 10.1007/978-1-4757-5221-2_14.

- [69] A. Shamshad, M. Rashid, A. Hameed, and H. M. Imran Arshad, 'Identification of biochemical indices for brown spot (*Bipolaris oryzae*) disease resistance in rice mutants and hybrids', *PLoS One*, vol. 19, no. 4, p. e0300760, Apr. 2024, doi: 10.1371/journal.pone.0300760.
- [70] L. J. Dallagnol, F. Á. Rodrigues, M. V. B. Mielli, J. F. Ma, and L. E. Datnoff, 'Defective Active Silicon Uptake Affects Some Components of Rice Resistance to Brown Spot', *Phytopathology*, vol. 99, no. 1, pp. 116–121, Jan. 2009, doi: 10.1094/PHYTO-99-1-0116.
- [71] K. R. KINI, V. LETH, and S. B. MATHUR, 'Genetic Variation in *Fusarium moniliforme* Isolated from Seeds of Different Host Species from Burkina Faso Based on Random Amplified Polymorphic DNA Analysis', *Journal of Phytopathology*, vol. 150, no. 4–5, pp. 209–212, May 2002, doi: 10.1046/j.1439-0434.2002.00739.x.
- [72] S. K. Sunani *et al.*, 'Development of PCR and loop mediated isothermal amplification assay for the detection of bakanae pathogen *Fusarium fujikuroi*', *Eur J Plant Pathol*, vol. 154, no. 3, pp. 715–725, Jul. 2019, doi: 10.1007/s10658-019-01694-2.
- [73] S. K. Sunani, B. M. Bashyal, B. S. Kharayat, G. Prakash, S. G. Krishnan, and R. Aggarwal, 'Identification of rice seed infection routes of *Fusarium fujikuroi* inciting bakanae disease of rice', *Journal of Plant Pathology*, vol. 102, no. 1, pp. 113–121, Feb. 2020, doi: 10.1007/s42161-019-00390-8.
- [74] B. M. Bashyal *et al.*, 'Occurrence, identification and pathogenicity of *Fusarium* species associated with bakanae disease of basmati rice in India', *Eur J Plant Pathol*, vol. 144, no. 2, pp. 457–466, Feb. 2016, doi: 10.1007/s10658-015-0783-8.
- [75] M. Duman, Ç. Mutlu, and M. Büyük, 'Güneydoğu Anadolu Bölgesi çeltik alanlarında yeni bir zararlı: *Tipula orientalis* Laskschewitz, 1930

(Diptera: Tipulidae)', *Türkiye Entomoloji Bülteni*, vol. 4, no. 2, p. 67, Jul. 2014, doi: 10.16969/teb.38042.

- [76] K. K. DongSang and L. L. JongEun, 'Biology of three species of the genus *Tipula* (Diptera: Tipulidae) in Korea.', 2007, Accessed: Oct. 15, 2024. [Online]. Available: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20093331822>
- [77] H. Koç, 'Two new species of *Tipula* (*Lunatipula*) Edwards (Diptera: Tipulidae) from Turkey', *Annales de la Société entomologique de France (N.S.)*, vol. 43, no. 3, pp. 327–332, Jan. 2007, doi: 10.1080/00379271.2007.10697528.
- [78] L. Brendonck, D. C. Rogers, J. Olesen, S. Weeks, and W. R. Hoeh, 'Global diversity of large branchiopods (Crustacea: Branchiopoda) in freshwater', in *Freshwater Animal Diversity Assessment*, Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 167–176. doi: 10.1007/978-1-4020-8259-7_18.
- [79] F. Takahashi and M. Gohda, 'The type of egg production curve with respect to population preservation: Ecological studies of tadpole shrimps (Branchiopoda: Triopsidae) for the biological control of weeds in rice paddies', *SIL Proceedings, 1922-2010*, vol. 21, no. 3, pp. 1531–1540, Dec. 1981, doi: 10.1080/03680770.1980.11897227.
- [80] T. Zierold, J. Montero-Pau, B. Hanfling, and A. Gomez, 'Sex ratio, reproductive mode and genetic diversity in *Triops cancriformis*', *Freshw Biol*, vol. 54, no. 7, pp. 1392–1405, Jul. 2009, doi: 10.1111/j.1365-2427.2009.02191.x.
- [81] F. Takahashi, 'Generation carryover of a fraction of population members as an animal adaptation to unstable environmental conditions', *Popul Ecol*, vol. 18, no. 2, pp. 235–242, Mar. 1977, doi: 10.1007/BF02510850.

- [82] G. H. L. Rothschild, 'Observations on the Ecology of the Rice-Ear Bug *Leptocorisa oratorius* (F.) (Hemiptera: Alydidae) in Sarawak (Malaysian Borneo)', *J Appl Ecol*, vol. 7, no. 1, p. 147, Apr. 1970, doi: 10.2307/2401616.
- [83] D. Wang, F. E. Dowell, Y. Lan, M. Pasikatan, and E. Maghirang, 'Determining Pecky Rice Kernels Using Infrared Spectroscopy', *Int J Food Prop*, vol. 5, no. 3, pp. 629–639, Jan. 2002, doi: 10.1081/JFP-120015497.
- [84] G. C. Jahn, I. Domingo, M. Liberty, P. Almazan, and J. Pacia, 'Effect of Rice Bug *Leptocorisa oratorius* (Hemiptera: Alydidae) on Rice Yield, Grain Quality, and Seed Viability', *J Econ Entomol*, vol. 97, no. 6, pp. 1923–1927, Dec. 2004, doi: 10.1093/jee/97.6.1923.
- [85] S. Dutta, 'Life table and population dynamics of a major pest, *Leptocorisa acuta* (Thunb.) (Hemiptera: Alydidae), on rice and non-rice system', *Int J Pure Appl Biosci*, vol. 4, no. 1, pp. 199–207, Feb. 2016, doi: 10.18782/2320-7051.2202.
- [86] D. Patel, M. Stout, J. F.-F. Entomologist, and undefined 2006, 'Effects of rice panicle age on quantitative and qualitative injury by the rice stink bug (Hemiptera: Pentatomidae)', *BioOneDT Patel, MJ Stout, JR FuxaFlorida Entomologist, 2006•BioOne*, vol. 89, no. 3, pp. 321–327, 2006, Accessed: Nov. 06, 2024.
- [87] V. Baharally and S. Simon, 'Biological studies on Gundhi bug, *Leptocorisa oratorius* (Fabricius) (Hemiptera: Alydidae) under Allahabad, Uttar Pradesh (UP), India conditions.', 2014, Accessed: Nov. 06, 2024. [Online]. Available: https://www.academia.edu/download/34227625/5._Agri_-_IJASR_-_Biological_studies_on_gundhi_bug_-_Viviane_Baharally.pdf

- [88] M. E. Irwin and J. M. Thresh, 'Epidemiology of Barley Yellow Dwarf: A Study in Ecological Complexity', *Annu Rev Phytopathol*, vol. 28, no. 1, pp. 393–424, Sep. 1990, doi: 10.1146/annurev.py.28.090190.002141.
- [89] H. R. Parry, S. Macfadyen, and D. J. Kriticos, 'The geographical distribution of Yellow dwarf viruses and their aphid vectors in Australian grasslands and wheat', *Australasian Plant Pathology*, vol. 41, no. 4, pp. 375–387, Jul. 2012, doi: 10.1007/s13313-012-0133-7.
- [90] H. Lapierre and P. Signoret, 'Virus diseases of Poaceae.', 2004, Accessed: Oct. 19, 2024. [Online]. Available: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20043176432>
- [91] H. R. Parry, S. Macfadyen, and D. J. Kriticos, 'The geographical distribution of Yellow dwarf viruses and their aphid vectors in Australian grasslands and wheat', *Australasian Plant Pathology*, vol. 41, no. 4, pp. 375–387, Jul. 2012, doi: 10.1007/s13313-012-0133-7.
- [92] R. Osler, A. Amici, C. L.- Phytopathologische, and undefined 1980, 'Leersia oryzoides, a Natural Host and Winter Reservoir of the Rice" Giallume" Strain of Barley Yellow Dwarf Virus.', *search.ebscohost.com*, Accessed: Oct. 19, 2024.
- [93] Ö. Aydın and H. İlbaşı, 'First Report of Yellow Dwarf Viruses (YDVs) in the Rice Fields in the Trakya Region of Turkey', 2020. [Online]. Available: www.ekinjournal.com
- [94] M. Tokuda, S. Tanaka, and D. H. Zhu, 'Multiple origins of Locusta migratoria (Orthoptera: Acrididae) in the Japanese Archipelago and the presence of two major clades in the world: Evidence from a molecular approach', *Biological Journal of the Linnean Society*, vol. 99, no. 3, pp. 570–581, Mar. 2010, doi: 10.1111/J.1095-8312.2010.01386.X.
- [95] S. Sadiq, W. Panhwar, R. Sultana, ... M. S.-J. E. Z., and undefined 2017, 'New record of Conocephalus (Anisoptera) fuscus (Fabricius,

- 1793)(Conocephalinae: Tettigoniidae: Orthoptera) from Pakistan', *entomoljournal.com* S Sadiq, WA Panhwar, R Sultana, M Saeed, SA Wagan, S Ahmed *J Entomol Zool Stud*, 2017•*entomoljournal.com*, vol. 5, no. 3, pp. 1431–1434, 2017, Accessed: Nov. 06, 2024. [Online]. Available:
<https://www.entomoljournal.com/archives/2017/vol5issue3/PartT/5-3-164-680.pdf>
- [96] G. Sharma, J. N. Barney, J. H. Westwood, and D. C. Haak, 'Into the weeds: new insights in plant stress', *Trends Plant Sci*, vol. 26, no. 10, pp. 1050–1060, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.tplants.2021.06.003.
- [97] J. K. Norsworthy, N. R. Burgos, R. C. Scott, and K. L. Smith, 'Consultant Perspectives on Weed Management Needs in Arkansas Rice', *Weed Technology*, vol. 21, no. 3, pp. 832–839, Jul. 2007, doi: 10.1614/wt-06-203.1.
- [98] H. Kraehmer, K. Jabran, H. Mennan, and B. S. Chauhan, 'Global distribution of rice weeds – A review', *Crop Protection*, vol. 80, pp. 73–86, Feb. 2016, doi: 10.1016/j.cropro.2015.10.027.
- [99] H. J. Beckie and F. J. Tardif, 'Herbicide cross resistance in weeds', *Crop Protection*, vol. 35, pp. 15–28, May 2012, doi: 10.1016/j.cropro.2011.12.018.
- [100] C.-Y. Ye *et al.*, 'The Genomes of the Allohexaploid *Echinochloa crus-galli* and Its Progenitors Provide Insights into Polyploidization-Driven Adaptation', *Mol Plant*, vol. 13, no. 9, pp. 1298–1310, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.molp.2020.07.001.
- [101] D. Wu *et al.*, 'Genomic insights into the evolution of *Echinochloa* species as weed and orphan crop', *Nat Commun*, vol. 13, no. 1, p. 689, Feb. 2022, doi: 10.1038/s41467-022-28359-9.

- [102] A. N. Rao, D. E. Johnson, B. Sivaprasad, J. K. Ladha, and A. M. Mortimer, 'Weed Management in Direct-Seeded Rice', 2007, pp. 153–255. doi: 10.1016/S0065-2113(06)93004-1.
- [103] B. S. Chauhan and D. E. Johnson, 'Seed Germination Ecology of Junglerice (*Echinochloa colona*): A Major Weed of Rice', *Weed Sci*, vol. 57, no. 3, pp. 235–240, Jun. 2009, doi: 10.1614/WS-08-141.1.
- [104] E.-C. Oerke and H.-W. Dehne, 'Safeguarding production—losses in major crops and the role of crop protection', *Crop Protection*, vol. 23, no. 4, pp. 275–285, Apr. 2004, doi: 10.1016/j.cropro.2003.10.001.
- [105] L. M. Vleeshouwers and H. J. Bouwmeester, 'A simulation model for seasonal changes in dormancy and germination of weed seeds', *Seed Sci Res*, vol. 11, no. 01, pp. 77–92, Mar. 2001, doi: 10.1079/SSR200062.
- [106] F. Vidotto, F. Tesio, M. Tabacchi, and A. Ferrero, 'Herbicide sensitivity of *Echinochloa* spp. accessions in Italian rice fields', *Crop Protection*, vol. 26, no. 3, pp. 285–293, Mar. 2007, doi: 10.1016/j.cropro.2005.07.016.
- [107] P. Lorenzo, M. I. Hussain, and L. González, 'Role of Allelopathy During Invasion Process by Alien Invasive Plants in Terrestrial Ecosystems', in *Allelopathy*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013, pp. 3–21. doi: 10.1007/978-3-642-30595-5_1.
- [108] K. D. Gibson and A. J. Fischer, 'Relative growth and photosynthetic response of water-seeded rice and *Echinochloa oryzoides* (Ard.) Fritsch to shade', *Int J Pest Manag*, vol. 47, no. 4, pp. 305–309, Jan. 2001, doi: 10.1080/09670870110052086.
- [109] E. Kaya-Altop, M. Şahin, K. Jabran, C. J. Phillippo, B. H. Zandstra, and H. Mennan, 'Effect of different water management strategies on competitive ability of semi-dwarf rice cultivars with *Echinochloa*

- oryzoides', *Crop Protection*, vol. 116, pp. 33–42, Feb. 2019, doi: 10.1016/j.cropro.2018.10.009.
- [110] C. A. Damalas, K. V. Dhima, and I. G. Eleftherohorinos, 'Bispyribac–Sodium Efficacy on Early Watergrass (*Echinochloa oryzoides*) and Late Watergrass (*Echinochloa Phyllopogon*) as Affected by Coapplication of Selected Rice Herbicides and Insecticides', *Weed Technology*, vol. 22, no. 4, pp. 622–627, Dec. 2008, doi: 10.1614/WT-08-033.1.
- [111] Y. Yamasue, 'Strategy of *Echinochloa oryzicola* Vasing. for survival in flooded rice', *Weed Biol Manag*, vol. 1, no. 1, pp. 28–36, Mar. 2001, doi: 10.1046/j.1445-6664.2001.00008.x.
- [112] G. Nah *et al.*, 'Uncovering the Differential Molecular Basis of Adaptive Diversity in Three *Echinochloa* Leaf Transcriptomes', *PLoS One*, vol. 10, no. 8, p. e0134419, Aug. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0134419.
- [113] M. B. Jackson, 'Ethylene-promoted Elongation: an Adaptation to Submergence Stress', *Ann Bot*, vol. 101, no. 2, pp. 229–248, Sep. 2007, doi: 10.1093/aob/mcm237.
- [114] G. S. Khush, 'Origin, dispersal cultivation and variation of rice', *Plant Mol Biol*, vol. 35, no. 1/2, pp. 25–34, 1997, doi: 10.1023/A:1005810616885.
- [115] S. Foglitto, F. Vidotto, and A. Ferrero, 'Morphological characterisation of Italian weedy rice (*Oryza sativa*) populations', *Weed Res*, vol. 52, no. 1, pp. 60–69, Feb. 2012, doi: 10.1111/j.1365-3180.2011.00890.x.
- [116] S. C. H. Barrett and D. E. Seaman, 'The weed flora of Californian rice fields', *Aquat Bot*, vol. 9, pp. 351–376, Jan. 1980, doi: 10.1016/0304-3770(80)90036-4.
- [117] L. G. Holm, D. L. Plucknett, J. V. Pancho, J. S. Herbegeb, W. Hilbig, and S. Halle, 'The World's Worst Weeds. Distribution and Biology',

Pedobiologia (Jena), vol. 18, no. 4, pp. 296–297, Jul. 1978, doi: 10.1016/S0031-4056(23)00601-7.

- [118] A. Merotto, M. Jasieniuk, M. D. Osuna, F. Vidotto, A. Ferrero, and A. J. Fischer, ‘Cross-Resistance to Herbicides of Five ALS-Inhibiting Groups and Sequencing of the ALS Gene in *Cyperus difformis* L.’, *J Agric Food Chem*, vol. 57, no. 4, pp. 1389–1398, Feb. 2009, doi: 10.1021/jf802758c.
- [119] I. M. Calha, C. Machado, and F. Rocha, ‘Resistance of *Alisma plantago aquatica* to sulfonylurea herbicides in Portuguese rice fields’, in *Biology, Ecology and Management of Aquatic Plants*, Dordrecht: Springer Netherlands, 1999, pp. 289–293. doi: 10.1007/978-94-017-0922-4_41.
- [120] H. Mennan, M. Ngouajio, M. Sahin, D. Isik, and E. Kaya Altop, ‘Quantification of momilactone B in rice hulls and the phytotoxic potential of rice extracts on the seed germination of *Alisma plantago-aquatica*’, *Weed Biol Manag*, vol. 12, no. 1, pp. 29–39, Mar. 2012, doi: 10.1111/j.1445-6664.2012.00433.x.
- [121] S. McIntyre, D. S. Mitchell, and P. Y. Ladiges, ‘Germination and Seedling Emergence in *Diplachne fusca*: A Semi-Aquatic Weed of Rice Fields’, *J Appl Ecol*, vol. 26, no. 2, p. 551, Aug. 1989, doi: 10.2307/2404080.
- [122] F. Ahmad, ‘*Leptochloa fusca* cultivation for utilization of salt - affected soil and water resources in Cholistan Desert’, *Sociedade & Natureza*, vol. 22, no. 1, pp. 141–149, Apr. 2010, doi: 10.1590/S1982-45132010000100010.
- [123] Q. U. A. Rahat, M. Hameed, and M. S. A. Ahmad, ‘Contribution of root structural and functional features towards salinity tolerance in *Diplachne fusca* (L.) P. Beauv. ex Roem. & Schult. subsp. *Fusca*’, *Pak J Bot*, vol. 51, no. 3, Mar. 2019, doi: 10.30848/PJB2019-3(2).

- [124] J. Fenik, M. Tankiewicz, and M. Biziuk, 'Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables', *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 30, no. 6, pp. 814–826, Jun. 2011, doi: 10.1016/j.trac.2011.02.008.
- [125] M. Bernardes, M. Pazin, and L. Pereira, 'Pestisitlerin çevre ve insan sağlığına etkisi', *hücreler, ilaçlar üzerine çalışmalar...*, 2015, Accessed: Mar. 17, 2024.
- [126] W. Hopkins, 'A global evaluation of" new" herbicide activity, 1984-1988, its changing dynamics and a look at its future direction.', 1989, Accessed: Mar. 15, 2024. [Online]. Available: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19901141223>
- [127] R. Roe, J. Burton, and R. Kuhr, 'Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology', 1997, Accessed: Mar. 17, 2024.
- [128] F. E. Dayan, 'Current Status and Future Prospects in Herbicide Discovery', *Plants*, vol. 8, no. 9, p. 341, Sep. 2019, doi: 10.3390/plants8090341.
- [129] I. P. Brito, L. Tropaldi, C. A. Carbonari, and E. D. Velini, 'Hormetic effects of glyphosate on plants', *Pest Manag Sci*, vol. 74, no. 5, pp. 1064–1070, May 2018, doi: 10.1002/ps.4523.
- [130] S. Powles, D. Lorraine-Colwill, J. D.-W. science, and undefined 1998, 'Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in Australia', *cambridge.orgSB Powles, DF Lorraine-Colwill, JJ Dellow, C PrestonWeed science, 1998•cambridge.org*, Accessed: Mar. 18, 2024.
- [131] M. Jin, L. Chen, X. W. Deng, and X. Tang, 'Development of herbicide resistance genes and their application in rice', *Crop J*, vol. 10, no. 1, pp. 26–35, Feb. 2022, doi: 10.1016/j.cj.2021.05.007.

- [132] G. S. Johal and D. M. Huber, 'Glyphosate effects on diseases of plants', *European Journal of Agronomy*, vol. 31, no. 3, pp. 144–152, Oct. 2009, doi: 10.1016/j.eja.2009.04.004.
- [133] V. I. Lushchak, T. M. Matviishyn, V. V Husak, J. M. Storey, and K. B. Storey, 'Pesticide toxicity: a mechanistic approach.', *EXCLI J*, vol. 17, pp. 1101–1136, 2018, doi: 10.17179/excli2018-1710.
- [134] A. I.-H. and M. of Jablonkai and undefined 2011, 'Molecular mechanism of action of herbicides', *books.google.com I Jablonkai Herbicides—Mechanisms and Mode of Action, 2011•books.google.com*, 2011,
- [135] M. Devine, S. Duke, and C. Fedtke, 'Physiology of herbicide action.', 1992, Accessed: Apr. 14, 2024. [Online]. Available: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19932326666>
- [136] T. Lonhienne, M. D. Garcia, and L. W. Guddat, 'The Role of a FAD Cofactor in the Regulation of Acetohydroxyacid Synthase by Redox Signaling Molecules', *Journal of Biological Chemistry*, vol. 292, no. 12, pp. 5101–5109, Mar. 2017, doi: 10.1074/jbc.M116.773242.
- [137] A. Forouzesh, E. Zand, S. Soufizadeh, and S. Samadi Foroushani, 'Classification of herbicides according to chemical family for weed resistance management strategies – an update', *Weed Res*, vol. 55, no. 4, pp. 334–358, Aug. 2015, doi: 10.1111/wre.12153.
- [138] A. K. Chang and R. G. Duggleby, 'Herbicide-resistant forms of *Arabidopsis thaliana* acetohydroxyacid synthase: characterization of the catalytic properties and sensitivity to inhibitors of four defined mutants', *Biochemical Journal*, vol. 333, no. 3, pp. 765–777, Aug. 1998, doi: 10.1042/bj3330765.
- [139] V. K. Nandula, 'Herbicide Resistance Traits in Maize and Soybean: Current Status and Future Outlook', *Plants*, vol. 8, no. 9, p. 337, Sep. 2019, doi: 10.3390/plants8090337.

- [140] I. Heap, ‘Global perspective of herbicide-resistant weeds’, *Pest Manag Sci*, vol. 70, no. 9, pp. 1306–1315, Sep. 2014, doi: 10.1002/ps.3696.
- [141] C. Mallory-Smith and E. Retzinger, ‘Yabani otlara karşı direnç yönetimi stratejileri için herbisitlerin etki alanına göre sınıflandırılması revize edildi’, *Ot Teknolojisi*, 2003, Accessed: Apr. 17, 2024.
- [142] W. K. Vencill, ‘Herbicide handbook 8th ed.’, Lawrence, Kansas: Weed Science Society of America .
- [143] D. Shoba *et al.*, ‘Development and Genetic Characterization of A Novel Herbicide (Imazethapyr) Tolerant Mutant in Rice (*Oryza sativa* L.)’, *Rice*, vol. 10, no. 1, p. 10, Dec. 2017, doi: 10.1186/s12284-017-0151-8.
- [144] W. Huang, Y.-J. Yang, H. Hu, K.-F. Cao, and S.-B. Zhang, ‘Sustained Diurnal Stimulation of Cyclic Electron Flow in Two Tropical Tree Species *Erythrophleum guineense* and *Khaya ivorensis*’, *Front Plant Sci*, vol. 7, Jul. 2016, doi: 10.3389/fpls.2016.01068.
- [145] H. Chen, K. Saksa, F. Zhao, J. Qiu, and L. Xiong, ‘Genetic analysis of pathway regulation for enhancing branched-chain amino acid biosynthesis in plants’, *The Plant Journal*, vol. 63, no. 4, pp. 573–583, Aug. 2010, doi: 10.1111/j.1365-313X.2010.04261.x.
- [146] D. Fujita *et al.*, ‘NAL1 allele from a rice landrace greatly increases yield in modern *indica* cultivars’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 110, no. 51, pp. 20431–20436, Dec. 2013, doi: 10.1073/pnas.1310790110.
- [147] T. Takai *et al.*, ‘A natural variant of NAL1, selected in high-yield rice breeding programs, pleiotropically increases photosynthesis rate’, *Sci Rep*, vol. 3, no. 1, p. 2149, Aug. 2013, doi: 10.1038/srep02149.

- [148] W. Li *et al.*, ‘Serine protease NAL1 exerts pleiotropic functions through degradation of TOPLESS-related corepressor in rice’, *Nat Plants*, vol. 9, no. 7, pp. 1130–1142, Jun. 2023, doi: 10.1038/s41477-023-01449-2.
- [149] B. Tecle, D. Shaner, A. Cunha, P. Devine, and M. Ellis, ‘Comparative metabolism of imidazolinone herbicides.’, 1997, Accessed: Apr. 18, 2024. [Online]. Available: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19982301902>
- [150] D. L. Shaner, P. C. Anderson, and M. A. Stidham, ‘Imidazolinones Potent Inhibitors Of Acetohydroxyacid Synthase’, 1995. [Online]. Available: www.plantphysiol.org
- [151] M. D. Garcia, A. Nouwens, T. G. Lonhienne, and L. W. Guddat, ‘Comprehensive understanding of acetohydroxyacid synthase inhibition by different herbicide families’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 114, no. 7, Feb. 2017, doi: 10.1073/pnas.1616142114.
- [152] Q. Yu and S. B. Powles, ‘Resistance to <sc>AHAS</sc> inhibitor herbicides: current understanding’, *Pest Manag Sci*, vol. 70, no. 9, pp. 1340–1350, Sep. 2014, doi: 10.1002/ps.3710.
- [153] R. G. Duggleby, S. S. Pang, H. Yu, and L. W. Guddat, ‘Systematic characterization of mutations in yeast acetohydroxyacid synthase’, *Eur J Biochem*, vol. 270, no. 13, pp. 2895–2904, Jul. 2003, doi: 10.1046/j.1432-1033.2003.03671.x.
- [154] R. G. Duggleby, ‘Suicide inhibition of acetohydroxyacid synthase by hydroxypyruvate’, *J Enzyme Inhib Med Chem*, vol. 20, no. 1, pp. 1–4, Feb. 2005, doi: 10.1080/14756360400020553.
- [155] K. Tittmann *et al.*, ‘Electron transfer in acetohydroxy acid synthase as a side reaction of catalysis. Implications for the reactivity and partitioning of the carbanion/enamine form of (α ’, *ACS Publications* K Tittmann, K Schröder, R Golbik, J McCourt, A Kaplun, RG Duggleby, Z

BarakBiochemistry, 2004•*ACS Publications*, vol. 43, no. 27, pp. 8652–8661, Jul. 2004, doi: 10.1021/bi049897t.

- [156] J. V. Schloss, D. E. Van Dyk, J. F. Vasta, and R. M. Kutny, ‘Purification and properties of *Salmonella typhimurium* acetolactate synthase isozyme II from *Escherichia coli* HB101/pDU9’, *Biochemistry*, vol. 24, no. 18, pp. 4952–4959, Aug. 1985, doi: 10.1021/bi00339a034.
- [157] S. S. Pang and R. G. Duggleby, ‘Expression, Purification, Characterization, and Reconstitution of the Large and Small Subunits of Yeast Acetohydroxyacid Synthase’, *Biochemistry*, vol. 38, no. 16, pp. 5222–5231, Apr. 1999, doi: 10.1021/bi983013m.
- [158] H. P. Hershey, L. J. Schwartz, J. P. Gale, and L. M. Abell, ‘Cloning and functional expression of the small subunit of acetolactate synthase from *Nicotiana glauca*’, *Plant Mol Biol*, vol. 40, no. 5, pp. 795–806, Jul. 1999, doi: 10.1023/A:1006273224977.
- [159] S. S. Pang, R. G. Duggleby, and L. W. Guddat, ‘Crystal structure of yeast acetohydroxyacid synthase: a target for herbicidal inhibitors’, *J Mol Biol*, vol. 317, no. 2, pp. 249–262, Mar. 2002, doi: 10.1006/jmbi.2001.5419.
- [160] Y.-T. Lee and R. G. Duggleby, ‘Regulatory interactions in *Arabidopsis thaliana* acetohydroxyacid synthase’, *FEBS Lett*, vol. 512, no. 1–3, pp. 180–184, Feb. 2002, doi: 10.1016/S0014-5793(02)02253-6.
- [161] G. Kakefuda, C. Costello, M. Sun, 348,643 W Hu - ABD Patenti 6, and undefined 2002, ‘*Arabidopsis* asetohidroksi-asit sentaz küçük alt birimini kodlayan DNA dizileri ve kullanım yöntemleri’, *Google Patentleri*, 2002, Accessed: Apr. 23, 2024. [Online]. Available: <https://patents.google.com/patent/US6348643B1/en>
- [162] T. Lonhienne, M. D. Garcia, G. Pierens, M. Mobli, A. Nouwens, and L. W. Guddat, ‘Structural insights into the mechanism of inhibition of

AHAS by herbicides', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 115, no. 9, Feb. 2018, doi: 10.1073/pnas.1714392115.

- [163] T. Lonhienne *et al.*, 'Commercial Herbicides Can Trigger the Oxidative Inactivation of Acetohydroxyacid Synthase', *Angewandte Chemie*, vol. 128, no. 13, pp. 4319–4323, Mar. 2016, doi: 10.1002/ange.201511985.
- [164] K.-H. Ott, J.-G. Kwagh, G. W. Stockton, V. Sidorov, and G. Kakefuda, 'Rational Molecular Design and Genetic Engineering of Herbicide Resistant Crops by Structure Modeling and Site-directed Mutagenesis of Acetohydroxyacid Synthase', *J Mol Biol*, vol. 263, no. 2, pp. 359–368, Oct. 1996, doi: 10.1006/jmbi.1996.0580.
- [165] R. G. Duggleby, S. S. Pang, H. Yu, and L. W. Guddat, 'Systematic characterization of mutations in yeast acetohydroxyacid synthase', *Eur J Biochem*, vol. 270, no. 13, pp. 2895–2904, Jul. 2003, doi: 10.1046/j.1432-1033.2003.03671.x.
- [166] H. Menne, H. K.-M. crop protection compounds, and undefined 2007, 'HRAC classification of herbicides and resistance development', *Wiley Online Library* H Menne, H Köcher *Modern crop protection compounds, 2007* • *Wiley Online Library*, 2007, Accessed: Apr. 23, 2024. [Online]. Available:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9783527644179#page=80>
- [167] S. B. Powles and Q. Yu, 'Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides', *Annu Rev Plant Biol*, vol. 61, no. 1, pp. 317–347, Jun. 2010, doi: 10.1146/annurev-arplant-042809-112119.
- [168] M. D. Garcia, A. Nouwens, T. G. Lonhienne, and L. W. Guddat, 'Comprehensive understanding of acetohydroxyacid synthase inhibition by different herbicide families', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 114, no. 7, Feb. 2017, doi: 10.1073/pnas.1616142114.

- [169] K. Sathasivan, G. W. Haughn, and N. Murai, 'Molecular Basis of Imidazolinone Herbicide Resistance in *Arabidopsis thaliana* var Columbia', *Plant Physiol*, vol. 97, no. 3, pp. 1044–1050, Nov. 1991, doi: 10.1104/pp.97.3.1044.
- [170] T. A. Gaines *et al.*, 'Mechanisms of evolved herbicide resistance', *Journal of Biological Chemistry*, vol. 295, no. 30, pp. 10307–10330, Jul. 2020, doi: 10.1074/jbc.REV120.013572.
- [171] R. Ruzmi, M. S. Ahmad-Hamdani, M. Z. Z. Abidin, and N. Roma-Burgos, 'Evolution of imidazolinone-resistant weedy rice in Malaysia: the current status', *Weed Sci*, vol. 69, no. 5, pp. 598–608, Sep. 2021, doi: 10.1017/wsc.2021.33.
- [172] T. R. Wright, N. F. Bascomb, S. F. Sturmer, and D. Penner, 'Biochemical mechanism and molecular basis for ALS-inhibiting herbicide resistance in sugarbeet (*Beta vulgaris*) somatic cell selections', *Weed Sci*, vol. 46, no. 1, pp. 13–23, Feb. 1998, doi: 10.1017/S0043174500090111.
- [173] Tranel PJ and Wright TR, 'Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned?', vol. 50, no. 6, 2002.
- [174] Q. Yu, X. Q. Zhang, A. Hashem, M. J. Walsh, and S. B. Powles, 'ALS gene proline (197) mutations confer ALS herbicide resistance in eight separated wild radish (*Raphanus raphanistrum*) populations', *Weed Sci*, vol. 51, no. 6, pp. 831–838, Dec. 2003, doi: 10.1614/02-166.
- [175] P. Bernasconi, A. R. Woodworth, B. A. Rosen, M. V. Subramanian, and D. L. Siehl, 'A Naturally Occurring Point Mutation Confers Broad Range Tolerance to Herbicides That Target Acetolactate Synthase', *Journal of Biological Chemistry*, vol. 270, no. 29, pp. 17381–17385, Jul. 1995, doi: 10.1074/jbc.270.29.17381.
- [176] R. Ruzmi, M. S. Ahmad-Hamdani, and N. Mazlan, 'Ser-653-Asn substitution in the acetohydroxyacid synthase gene confers resistance in

- weedy rice to imidazolinone herbicides in Malaysia', *PLoS One*, vol. 15, no. 9, p. e0227397, Sep. 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0227397.
- [177] R. Unan, O. Azapoglu, İ. Deligoz, H. Mennan, and K. Al-Khatib, 'Gene flow and spontaneous mutations are responsible for imidazolinone herbicide-resistant weedy rice (*Oryza sativa* L.)', *Pestic Biochem Physiol*, vol. 198, p. 105746, Jan. 2024, doi: 10.1016/j.pestbp.2023.105746.
- [178] R. Ofosu, E. D. Agyemang, A. Márton, G. Pásztor, J. Taller, and G. Kazinczi, 'Herbicide Resistance: Managing Weeds in a Changing World', *Agronomy*, vol. 13, no. 6, p. 1595, Jun. 2023, doi: 10.3390/agronomy13061595.
- [179] D. Fartyal *et al.*, 'Developing dual herbicide tolerant transgenic rice plants for sustainable weed management', *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, p. 11598, Aug. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-29554-9.
- [180] G. Buffon, T. I. Lamb, M. C. B. Lopes, R. A. Sperotto, and L. F. S. M. Timmers, 'Push It to the Limit: Identification of Novel Amino Acid Changes on the Acetolactate Synthase Enzyme of Rice That Putatively Confer High Level of Tolerance to Different Imidazolinones', *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 8, Feb. 2020, doi: 10.3389/fbioe.2020.00073.
- [181] Perl-Treves and P. A. , R., 'Molecular Oxygen and its Reactive Derivates. (D. Inze and M. Van Montagu Eds.) Oxidative Stress in Plants', *Taylor & Francis Inc., London*, pp. 1–31, 2002.
- [182] N. Smirnoff, 'Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants', *Blackwell Publishing, Oxford.*, p. xiii, Nov. 2005, doi: 10.1002/9780470988565.
- [183] C. S. Foote and E. L. Clennan, 'Properties and Reactions of Singlet Dioxygen', in *Active Oxygen in Chemistry*, Dordrecht: Springer Netherlands, 1995, pp. 105–140. doi: 10.1007/978-94-007-0874-7_4.

- [184] G. P. Bolwell and P. Wojtaszek, 'Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence – a broad perspective', *Physiol Mol Plant Pathol*, vol. 51, no. 6, pp. 347–366, Dec. 1997, doi: 10.1006/pmpp.1997.0129.
- [185] R. G. Alscher, J. L. Donahue, and C. L. Cramer, 'Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells', *Physiol Plant*, vol. 100, no. 2, pp. 224–233, Jun. 1997, doi: 10.1111/j.1399-3054.1997.tb04778.x.
- [186] S. S. Gill and N. Tuteja, 'Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants', *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 48, no. 12, pp. 909–930, Dec. 2010, doi: 10.1016/j.plaphy.2010.08.016.
- [187] L. A. Del Río, L. M. Sandalio, F. J. Corpas, J. M. Palma, and J. B. Barroso, 'Reactive Oxygen Species and Reactive Nitrogen Species in Peroxisomes. Production, Scavenging, and Role in Cell Signaling', *Plant Physiol*, vol. 141, no. 2, pp. 330–335, Jun. 2006, doi: 10.1104/pp.106.078204.
- [188] M.-K. Shih and M.-L. Hu, 'Relative roles of metal ions and singlet oxygen in UVA-induced liposomal lipid peroxidation', *J Inorg Biochem*, vol. 77, no. 3–4, pp. 225–230, Nov. 1999, doi: 10.1016/S0162-0134(99)00205-6.
- [189] D. Wagner *et al.*, 'The Genetic Basis of Singlet Oxygen-Induced Stress Responses of *Arabidopsis thaliana*', *Science (1979)*, vol. 306, no. 5699, pp. 1183–1185, Nov. 2004, doi: 10.1126/science.1103178.
- [190] B. Halliwell, 'Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life', *Plant Physiol*, vol. 141, no. 2, pp. 312–322, Jun. 2006, doi: 10.1104/pp.106.077073.

- [191] S. I. Liochev and I. Fridovich, 'The effects of superoxide dismutase on H₂O₂ formation', *Free Radic Biol Med*, vol. 42, no. 10, pp. 1465–1469, May 2007, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.015.
- [192] J. Dat, S. Vandenabeele, E. Vranová, M. Van Montagu, D. Inzé *, and F. Van Breusegem, 'Dual action of the active oxygen species during plant stress responses', *Cell Mol Life Sci*, vol. 57, no. 5, pp. 779–795, May 2000, doi: 10.1007/s000180050041.
- [193] R. K. Tewari, P. Kumar, and P. N. Sharma, 'Antioxidant responses to enhanced generation of superoxide anion radical and hydrogen peroxide in the copper-stressed mulberry plants', *Planta*, vol. 223, no. 6, pp. 1145–1153, May 2006, doi: 10.1007/s00425-005-0160-5.
- [194] L.-P. Dai, Z.-T. Xiong, Y. Huang, and M.-J. Li, 'Cadmium-induced changes in pigments, total phenolics, and phenylalanine ammonia-lyase activity in fronds of *Azolla imbricata*', *Environ Toxicol*, vol. 21, no. 5, pp. 505–512, Oct. 2006, doi: 10.1002/tox.20212.
- [195] M. J. Burkitt and B. C. Gilbert, 'Model Studies of the Iron-Catalysed Haber-Weiss Cycle and the Ascorbate-Driven Fenton Reaction', *Free Radic Res Commun*, vol. 10, no. 4–5, pp. 265–280, Jan. 1990, doi: 10.3109/10715769009149895.
- [196] E. Vranová, S. Atichartpongkul, R. Villarroel, M. Van Montagu, D. Inzé, and W. Van Camp, 'Comprehensive analysis of gene expression in *Nicotiana tabacum* leaves acclimated to oxidative stress', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 99, no. 16, pp. 10870–10875, Aug. 2002, doi: 10.1073/pnas.152337999.
- [197] K. J. A. Davies, 'Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair, and Replacement Systems', *IUBMB Life*, vol. 50, no. 4–5, pp. 279–289, Oct. 2000, doi: 10.1080/713803728.

- [198] Celina M. Luna, Claudio A. Gonzalez, and Victorio S. Trippi, 'Oxidative Damage Caused by an Excess of Copper in Oat Leaves', *Plant Cell Physiol*, 1994, doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a078561.
- [199] I. M. Møller, P. E. Jensen, and A. Hansson, 'Oxidative Modifications to Cellular Components in Plants', *Annu Rev Plant Biol*, vol. 58, no. 1, pp. 459–481, Jun. 2007, doi: 10.1146/annurev.arplant.58.032806.103946.
- [200] B. Halliwell and J.M.C. Gutteridge, 'Free Radicals in Biology and Medicine', *Oxford University Press, Oxford*, 1999.
- [201] H. Wiseman and B. Halliwell, 'Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer', *Biochemical Journal*, vol. 313, no. 1, pp. 17–29, Jan. 1996, doi: 10.1042/bj3130017.
- [202] A. B. Britt, 'Molecular genetics of DNA repair in higher plants', *Trends Plant Sci*, vol. 4, no. 1, pp. 20–25, Jan. 1999, doi: 10.1016/S1360-1385(98)01355-7.
- [203] N. Tuteja, M. B. Singh, M. K. Misra, P. L. Bhalla, and R. Tuteja, 'Molecular Mechanisms of DNA Damage and Repair: Progress in Plants', *Crit Rev Biochem Mol Biol*, vol. 36, no. 4, pp. 337–397, Jan. 2001, doi: 10.1080/20014091074219.
- [204] R. L. Heath and L. Packer, 'Photoperoxidation in isolated chloroplasts', *Arch Biochem Biophys*, vol. 125, no. 1, pp. 189–198, Apr. 1968, doi: 10.1016/0003-9861(68)90654-1.
- [205] B. Halliwell and J. M. C. Gutteridge, 'Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease', *Biochemical Journal*, vol. 219, no. 1, pp. 1–14, Apr. 1984, doi: 10.1042/bj2190001.
- [206] J. Dat, S. Vandenabeele, E. Vranov□, M. Van Montagu, D. Inz□ *, and F. Van Breusegem, 'Dual action of the active oxygen species during plant

- stress responses', *Cell Mol Life Sci*, vol. 57, no. 5, pp. 779–795, May 2000, doi: 10.1007/s000180050041.
- [207] A. Polle, 'Dissecting the Superoxide Dismutase-Ascorbate-Glutathione-Pathway in Chloroplasts by Metabolic Modeling. Computer Simulations as a Step towards Flux Analysis', *Plant Physiol*, vol. 126, no. 1, pp. 445–462, May 2001, doi: 10.1104/pp.126.1.445.
- [208] J. G. Scandalios, 'Oxygen Stress and Superoxide Dismutases', *Plant Physiol*, vol. 101, no. 1, pp. 7–12, Jan. 1993, doi: 10.1104/pp.101.1.7.
- [209] N. Misra and A. K. Gupta, 'Effect of salinity and different nitrogen sources on the activity of antioxidant enzymes and indole alkaloid content in *Catharanthus roseus* seedlings', *J Plant Physiol*, vol. 163, no. 1, pp. 11–18, Jan. 2006, doi: 10.1016/j.jplph.2005.02.011.
- [210] R. Bodannes, P. C.-F. Ilett, and undefined 1979, 'Ascorbic acid as a scavenger of singlet oxygen', *core.ac.ukRS Bodannes, PC ChanFEBS lett, 1979•core.ac.uk*, vol. 105, 1979, Accessed: Feb. 12, 2025. [Online]. Available: <https://core.ac.uk/download/pdf/82649576.pdf>
- [211] B. Halliwell, 'Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life', *Plant Physiol*, vol. 141, no. 2, pp. 312–322, Jun. 2006, doi: 10.1104/pp.106.077073.
- [212] Carl Fedtke, 'Biochemistry and Physiology of Herbicide Action', *Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.*, 1982.
- [213] H. K. Lichtenthaler, '[34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes', 1987, pp. 350–382. doi: 10.1016/0076-6879(87)48036-1.
- [214] E. Morelli and G. Scarano, 'Copper-induced changes of non-protein thiols and antioxidant enzymes in the marine microalga *Phaeodactylum*

- tricornutum', *Plant Science*, vol. 167, no. 2, pp. 289–296, Aug. 2004, doi: 10.1016/j.plantsci.2004.04.001.
- [215] R. Grene, 'Oxidative Stress and Acclimation Mechanisms in Plants', *Arabidopsis Book*, vol. 1, p. e0036, Jan. 2002, doi: 10.1199/tab.0036.1.
- [216] J. M. McCord and I. Fridovich, 'The Reduction of Cytochrome c by Milk Xanthine Oxidase', *Journal of Biological Chemistry*, vol. 243, no. 21, pp. 5753–5760, Nov. 1968, doi: 10.1016/S0021-9258(18)91929-0.
- [217] H. Willekens, 'Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C₃ plants', *EMBO J*, vol. 16, no. 16, pp. 4806–4816, Aug. 1997, doi: 10.1093/emboj/16.16.4806.
- [218] H. Chimi, J. Cillard, P. Cillard, and M. Rahmani, 'Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants', *J Am Oil Chem Soc*, vol. 68, no. 5, pp. 307–312, May 1991, doi: 10.1007/BF02657682.
- [219] A. B. Szegediensis, S. Erdei, A. Hegedűs, G. Hauptmann, J. Szalai, and G. Horváth, 'Heavy metal induced physiological changes in the antioxidative response system', *abs.bibl.u-szeged.huS ErdeiActa biologica szegediensis, 2002•abs.bibl.u-szeged.hu*, vol. 46, no. 4, pp. 89–90, 2002, Accessed: Feb. 12, 2025. [Online]. Available: <http://abs.bibl.u-szeged.hu/index.php/abs/article/download/2253/2245>
- [220] S. Klapheck, H. Cosse, and I. Zimmer, 'Scavenging of Hydrogen Peroxide in the Endosperm of *Ricinus communis* by Ascorbate Peroxidase', *Plant Cell Physiol*, 1990, doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a077996.
- [221] Yamasaki H, 'A function of color', *Trends in Plants Science*, vol. 2, pp. 7–8, 1997.

- [222] H. Rennenberg, 'Glutathione metabolism and possible biological roles in higher plants', *Phytochemistry*, vol. 21, no. 12, pp. 2771–2781, Jan. 1982, doi: 10.1016/0031-9422(80)85045-X.
- [223] Ö. Çelik, S. Meriç, A. Ayan, and Ç. Atak, 'Epigenetic analysis of WRKY transcription factor genes in salt stressed rice (*Oryza sativa* L.) plants', *Environ Exp Bot*, vol. 159, pp. 121–131, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.envexpbot.2018.12.015.
- [224] S. Yoshida, D. Forno, and J. Cock, 'Laboratory manual for physiological studies of rice.', 1971, Accessed: Sep. 25, 2024. [Online]. Available: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19721703488>
- [225] R. R. C. Stewart and J. D. Bewley, 'Lipid Peroxidation Associated with Accelerated Aging of Soybean Axes', *Plant Physiol*, vol. 65, no. 2, pp. 245–248, Feb. 1980, doi: 10.1104/pp.65.2.245.
- [226] D. I. Arnon, 'Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*', *Plant Physiol*, vol. 24, no. 1, pp. 1–15, Jan. 1949, doi: 10.1104/pp.24.1.1.
- [227] M. W. Pfaffl, 'A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR', *Nucleic Acids Res*, vol. 29, no. 9, pp. 45e–445, May 2001, doi: 10.1093/nar/29.9.e45.
- [228] 'Bitki Koruma Ürünleri Veri Tabanı'. Accessed: Jul. 09, 2025. [Online]. Available: <https://bku.tarimorman.gov.tr/AktifMadde/Details/14>
- [229] H. Wu, X. Zhang, J. P. Giraldo, and S. Shabala, 'It is not all about sodium: revealing tissue specificity and signalling roles of potassium in plant responses to salt stress', *Plant Soil*, vol. 431, no. 1–2, pp. 1–17, Oct. 2018, doi: 10.1007/s11104-018-3770-y.
- [230] K. J. Pellerln, E. P. Webster, W. Zhang, and D. C. Bloun, 'Herbicide Mixtures in Water-Seeded Imidazolinone-Resistant Rice (*Oryza*

sativa)1', <https://doi.org/10.1614/wt-03-007r1>, vol. 17, no. 4, pp. 836–841, Oct. 2003, doi: 10.1614/WT-03-007R1.

- [231] S. Li *et al.*, 'Molecular Mechanism of Pyrroloquinoline Quinone-Mediated Rice Tolerance to Imidazolinone Herbicide Imazamox', *Agronomy*, vol. 14, no. 7, p. 1572, Jul. 2024, doi: 10.3390/AGRONOMY14071572/S1.
- [232] D. A. Balabanova, M. Paunov, V. Goltsev, A. Cuypers, J. Vangronsveld, and A. Vassilev, 'Photosynthetic Performance of the Imidazolinone Resistant Sunflower Exposed to Single and Combined Treatment by the Herbicide Imazamox and an Amino Acid Extract', *Front Plant Sci*, vol. 7, no. OCTOBER2016, p. 1559, Oct. 2016, doi: 10.3389/FPLS.2016.01559.
- [233] R. G. Duggleby, J. A. McCourt, and L. W. Guddat, 'Structure and mechanism of inhibition of plant acetohydroxyacid synthase', *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 46, no. 3, pp. 309–324, Mar. 2008, doi: 10.1016/j.plaphy.2007.12.004.
- [234] J. Hensley, E. Webster, D. Blouin, D. H.-... Technology, and undefined 2012, 'Impact of drift rates of imazethapyr and low carrier volume on non-Clearfield rice', *cambridge.orgJB Hensley, EP Webster, DC Blouin, DL Harrell, JA BondWeed Technology, 2012•cambridge.org*, 2012, doi: 10.2307/23264291.
- [235] C. Sousa, J. Pinto, E. Martinazzo, A. P.-P. Daninha, and undefined 2014, 'Chlorophyll a fluorescence in rice plants exposed of herbicides of group imidazolinone', *SciELO BrasilCP Sousa, JJO Pinto, EG Martinazzo, AT Perboni, ME Farias, MA BacarinPlanta Daninha, 2014•SciELO Brasil*, 2014, Accessed: Jul. 09, 2025. [Online]. Available: <https://www.scielo.br/j/pd/a/6hx6wMLkCZG8TjMRJZqQhyn/>
- [236] undefined Shivani, S. Grewal, R. Gill, ... H. K. V.-... and M. B., and undefined 2022, 'Impact of post-emergent imazethapyr on morpho-physiological and biochemical responses in lentil (*Lens culinaris Medik.*)', *SpringerShivani, SK*

Grewal, RK Gill, H Kaur Virk, RD Bhardwaj *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2022•Springer, 2022, doi: 10.1007/S11356-022-XXXX-X.

- [237] S. Li *et al.*, ‘Molecular mechanism of pyrroloquinoline quinone-mediated rice tolerance to imidazolinone herbicide imazamox’, *mdpi.com* S Li, S Hu, K Luo, T Tang, G Ma, D Liu, Y Peng, Y Liu, Y Zhang, L Bai *Agronomy*, 2024•*mdpi.com*, vol. 14, no. 7, Jul. 2024, doi: 10.3390/AGRONOMY14071572.

- [238] H. Xu *et al.*, ‘Characterization of acetolactate synthase genes and resistance mechanisms of multiple herbicide resistant *Lolium multiflorum*’, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 219, p. 109324, Feb. 2025, doi: 10.1016/j.plaphy.2024.109324.

- [239] J. Rey-Caballero, J. Menéndez, ... M. O.-P. B., and undefined 2017, ‘Target-site and non-target-site resistance mechanisms to ALS inhibiting herbicides in *Papaver rhoeas*’, *Elsevier*, 2017, Accessed: Jul. 09, 2025. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357517300822>

- [240] V. Shivrain, N. Burgos, M. Sales, Y. K.-C. Protection, and undefined 2010, ‘Polymorphisms in the ALS gene of weedy rice (*Oryza sativa* L.) accessions with differential tolerance to imazethapyr’, *Elsevier*, 2010, Accessed: Jul. 09, 2025. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219409002506>