



Araştırma/Research

Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci, 32 (2017)

ISSN: 1308-8750 (Print) 1308-8769 (Online)

doi: 10.7161/omuanajas.320414



Buğday ekim alanlarında sorun olan *Bifora radians* Bieb. (Kokarot)'ın ALS inhibitörü herbisitlere dayanıklılığının PCR temelli olarak belirlenmesi

Emine Kaya Altop^{a*}, Hüsrev Mennan^a, Doğan Işık^b

^aOndokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü 55139 Atakum Samsun

^bErciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Kayseri

*Sorumlu yazar /corresponding author:kayae@omu.edu.tr

Geliş/Received 01/11/2016

Kabul/Accepted 22/05/2017

ÖZET

Yabancı otlar buğdayda verimi etkileyen en önemli unsur olup yabancı ot mücadelesi buğday üretiminde önemli bir yer tutmaktadır. Buğday ekim alanlarında yoğun olarak herbisit kullanımına bağlı olarak bazı önemli yabancı otlar kullanılan herbisitlere dayanıklılık geliştirmektedir. Bu amaçla geniş yapraklı tek yıllık rekabetçi bir bitki olan ve birçok kültür bitkisinde olduğu gibi buğday ekim alanlarında da sorun olan *Bifora radians* Bieb. yabancı otuna ruhsatlı ve mücadelede geniş kullanım alanı bulan ALS (Acetolactatae synthase) inhibitörü herbisitlerle çalışılmıştır. Çalışmada Türkiye'de buğday yetiştirilen ve bu yabancı otun sorun olduğu İç Anadolu ve Orta Karadeniz Bölgesinin önemli illerinden toplam 1371 tarladan tohumlar toplanmıştır. Serada saksı koşullarında bioassay yöntemleriyle dayanıklı biyotipler ile bunların dayanıklılık dereceleri belirlenmiştir. Bazı populasyonların herbisit uygulamasından etkilenmedikleri ve hayta kaldığı saptanmıştır. Bu populasyonlar doz-etki çalışmalarını alınmış ve ED₅₀ değerlerinin elde edilmesi için Weibull modeli ile R paket programında analiz edilmiştir. *Bifora radians*'in 22 populasyonunun ALS inhibitörü herbisitlerle kontrol edilemediği ve dayanıklı olduğu saptanmıştır. Ayrıca dayanıklılık gösteren biyotiplerde dayanıklılık, moleküler yöntemler kullanılarak ve dayanıklılığa neden olan gen bölgesinin sekans analizi yapılmak suretiyle tespit edilmiştir. Sekans sonucu çalışılan türlerde mutasyon varlığına rastlanılmamıştır.

Anahtar Sözcükler:

Bifora radians
ALS inhibitörü
herbisitler
Dayanıklılık
Bioassay
Moleküler

PCR-based detection of resistance to ALS-inhibiting herbicides of *Bifora radians* Bieb. (Bifra) in Wheat Fields

ABSTRACT

Weeds are one of the most important yield limiting factors in wheat which makes an effective weed control an integral part of production. Due to intensive herbicide use in wheat growing areas in Turkey is resistance problems in some important weed species. There are some observations concerning the efficacy failures of some ALS inhibitor herbicides on some important weed species, such as *Bifora radians*. With this aim weed seeds will be collected from different wheat growing provinces in Central Anatolia and Black Sea Region of Turkey, in total from 1371 different wheat fields. After initial screening for resistance in pot experiments, biotypes that are supposed to be resistant will be submitted to bioassays to determine the resistance grades. Some accession exhibited the highest survival to treatment with field rates of these herbicides. The Weibull dose-response curve, an asymmetric sigmoid curve, was fitted to data to obtain ED₅₀ in R program. Twenty-two of *B. radians* accessions tested did not controlled by ALS inhibitor and they were accepted as a resistant population. Based on the results of bioassays, resistant biotypes tested by means of molecular methods. The gene region of resistant biotypes was determined through sequence analyses and mutation wasn't found.

Keywords:

Bifora radians
ALS inhibitor
herbicides
Resistance
Bioassay
Molecular

© OMU ANAJAS 2017

1. Giriş

Göstermiş olduğu varyasyondan dolayı dünya genelinde yaygın olarak tarımı yapılan buğday, birçok ülkede insanların temel ihtiyaç maddelerinden biridir. Ülkemizde her yıl yaklaşık olarak ekilen 78 milyon hektar alandan 22,6 milyon ton ürün elde edilmekte ve ortalama verim 287 kg/da'dır. Elde edilen ortalama verim dünya ortalamasından oldukça düşüktür (FAO, 2016). Ülkemizdeki artan nüfusa paralel olarak buğday talebi de sürekli artış göstermekle birlikte, kişi başına ortalama tüketimimiz 225 kg/yıl'dır. Buğday, ülkemizde ekmeğin yanında tarıma dayalı sanayinin hammaddesi olduğundan, aynı kalite ve standartta buğdayın düzenli ve istenilen miktarda üretilmemesinden dolayı büyük oranda ithal edilmektedir. Türkiye'nin hemen hemen her bölgesinde üretimi yapılan buğday daha çok İç Anadolu ve geçit bölgelerinde yetiştirilmektedir (TUİK, 2015).

Birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de buğday üretimini sınırlandıran bitki koruma sorunlarının başında yabancı otlar gelmektedir. Her yıl mücadele edilmesine rağmen %25-35 arasında değişen bir ürün kaybına neden olmaktadır (Radosevich ve Holt, 1984; Özer, 1993; Vencill ve ark., 1993; Savary ve ark., 1997; 2000). Gerek ülkemizde ve gerekse de dünya genelinde buğday ekim alanlarında sorun olan yabancı ot türlerine bakıldığında ekolojik şartlara bağlı olarak dar ve geniş yapraklı yabancı otların geniş bir spektrumda sorun olduğu görülmektedir (Challaiah ve ark., 1986; Roebuck, 1987; Malik ve Vanden Born, 1988; Mennan ve Uygur, 1994; Christensen, 1995; Kadioğlu ve ark., 1998; Ogg ve Seefeldt, 1999; Uygur ve ark., 1999; O'donovan ve ark., 2000). Bununla beraber *Avena sterilis* L., *Lolium temulentum* L., *Alopecurus myosuroides* Huds., *Phalaris* spp., *Sinapis arvensis* L., *Galium aparine* L., *Bifora radians* Bieb. ve *Cirsium arvense* (L.) Scop. gibi türlerin ülkemizin değişik coğrafik alanlarına bağlı olarak buğdayda önemli olduğu bilinmektedir (Uygur ve ark., 1999).

Buğdayın geniş ekim alanı bulduğu Orta ve Batı Karadeniz ile Orta Anadolu Bölgelerinde geniş yapraklı yabancı otlardan *Bifora radians* en çok sorun teşkil eden türlerin başında gelmektedirler (Mennan, 1998; Mennan ve Uygur, 1994; Taştan, 1988). *B. radians* ülkemizle birlikte Kafkasya, Kırım, Yunanistan ve İtalya'da buğday ekim alanlarında sorun olan önemli türlerden biridir. Bununla birlikte istilacı olma özelliğinden dolayı son yıllarda Orta Avrupa, bazı Akdeniz ülkeleri ile birlikte İran ve Kuzey Amerika'da gün geçtikçe problem olmaya başlamıştır (Lasagna ve ark., 1984; Milijic, 1987; Tasthan, 1988; Caussanel ve ark., 1998; Skorda ve ark., 1998; Mennan ve Uygur, 1994). Azot içeren ve alkali toprakları tercih eden bu tür rekabetçi özelliği ve salgılamış olduğu bazı allelopatik maddelerden dolayı buğday ve diğer bitkilerle çok hızlı bir rekabete girerek yüksek oranda verim kaybına neden olabilmektedirler (Latrasse ve ark., 2005; Mennan ve Zandstra, 2005).

Buğdayda yabancı otlarla mücadelede kimyasal mücadele, uygulanabilirliğinin kolay olması, kısa sürede etki göstermesi ve diğer metotlara göre maliyetinin az olmasından dolayı günümüzde en çok tercih edilen yöntemdir. Buğdayda geniş yapraklı yabancı otlara karşı 2,4-D ve MCPA aktif maddeli herbisitlerin uzun süre kullanılması sonucu, bu herbisitlerin etkisiz kaldığı kokar ot yoğunluğu artmış ve tür önem kazanmıştır (Malik ve Vanden Born, 1988; Taştan, 1988; Schroeder ve ark., 1993).

ALS inhibitörü herbisitler düşük dozda uygulanması, memelilere karşı toksitesinin az olması, etki spektrumunun geniş olması ve uygulama dönemindeki esnekliklerden dolayı en fazla tercih edilen grup haline gelmiştir (Prado ve ark., 2004). Bu herbisitlerin yoğun olarak kullanılması sonucunda ALS inhibitörü herbisitlere dayanıklılık ile ilgili ilk vaka 1987 yılında *Lactuca serriola* L.'da bu herbisitlerin piyasaya girmesinden sadece 5 yıl sonra gerçekleşmiştir (Mallory-Smith ve ark., 1990). Dayanıklılığın ilk rapor edilmesinden bugüne kadar 159 biyotipe ALS inhibitörü herbisitlere karşı dayanıklılık tespit edilmiştir (Anonymous, 2016a). Bu grup herbisitler için diğer önemli bir problem ise çoklu dayanıklılık'tır. Bu durum *Kochia scoparia* (L.) Schrad., *Amaranthus rudis* Sauer., *Amaranthus blitoides* L., *Lolium rigidum* L. ve *Alopecurus myosuroides* Huds.'te rapor edilmiştir (Preston ve ark., 1996; Foes ve ark., 1998; 1999; Letouze ve Gasquez, 2003; Sibony ve Rubin, 2003). Ülkemizde ise 1980'li yılların sonunda kullanılmaya başlanan ALS inhibitörü herbisitlerden chlorsulfuron, tribenuron-methyl ve thifensulfuron-methyl+tribenuron-methyl yaklaşık 20 yıldır *B. radians*'in kontrolünde kullanılmaktadır. İlk kullanımından beş yıl sonra dayanıklılık başlayabilen bir grup için 20 yıl oldukça uzun bir süredir. ALS inhibitörü herbisitlerin yabancı otlardaki dayanıklılığına birçok mekanizma yol açarken bunlar içerisinde en önemli olanı bu enzimin DNA sekans kodunda meydana gelen mutasyonlarıdır (Devine ve Shukla, 2001; Grassel, 2002). Bu mutasyonlar genellikle beşten daha fazla değişken olmayan amino asitlere herbisitlerin bağlandığı noktadır (Boutsalis ve ark., 1999). Bu olay herbisitlerin hedef proteine bağlanmasını engellemekte ve dayanıklılık ortaya çıkmaktadır. ALS inhibitörü herbisitlere dayanıklılık mekanizması karmaşık bir olgu olup dayanıklılığın Ala122, Pro197, Ala205, Trp574 ve Ser653 aminoasit zincirlerindeki nokta mutasyonlarından meydana geldiği bildirilmektedir (Guttieri ve ark., 1992; Bernasconi ve ark., 1995; Guttieri ve ark., 1995; Wright ve ark., 1998; Devine ve Preston, 2000; Preston ve Mallory-Smith, 2001; Tranel ve Wright, 2002; Yu ve ark., 2003; Park ve Mallory-Smith, 2004; Tranel ve ark., 2009). Bu itibarla gelen şikayetler ve yapılan ön çalışmalar doğrultusunda dayanıklı biyotiplerinin oluşum sürecinin başlamış olabileceği ve kimyasal mücadelenin yetersiz kaldığı düşüncesi hakim olmuştur. Buğday ekim alanlarında sorun olan bu yabancı otların mücadelesinde daha etkin

sonuçların elde edilebilmesi için bu türe karşı ülkemizde ruhsatlı olan ALS inhibitörü herbisitlere karşı bu türün dayanıklılık durumu bioassay ve moleküler yöntemlerle araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. *Bifora radians* Bieb. (Kokarot)'in ALS inhibitörü herbisitlere dayanıklılık şüphesi olan biyotiplerine ait tohumların toplanması

Çalışmada yabancı ot tohumlarının olgunlaşma sürecine bağlı olarak 2010 yılı Mayıs sonundan Ağustos ayı başına kadar Orta ve Batı Karadeniz ile İç Anadolu Bölgesi'ne bağlı Samsun, Amasya, Sinop, Çorum, Kastamonu, Çankırı, Bartın, Zonguldak, Karabük, Kırıkkale, Ankara, Bolu ve Eskişehir illerinin buğday yetiştirilen alanlarından sırasıyla 131, 102, 25, 220, 58, 52, 3, 12, 18, 111, 430, 40 ve 169 olmak üzere herbisit uygulaması sonrası canlı kalan toplam 1371 popülasyona ait tohumlar toplanmıştır (Çizelge 1).

2.2. Dayanıklılık tarama testi

ALS inhibitörü herbisitlere dayanıklılık şüphesi taşıyan popülasyonların belirlenmesi amacıyla popülasyonlar amidosulfuron+iodosulfuron-methyl sodium+mefenpyr-diethyl (Safener) (12.5 ml da⁻¹), aminopyralid+florasulam (3 g/da), cyclosulfamuron (7 g/da), dicamba+triasulfuron (12.5 g da⁻¹), flumetsulam+florasulam (6 ml da⁻¹), mesosulfuron methyl+iodosulfuron methyl sodium (25 g da⁻¹), metosulam+ethylhexylester (120 ml da⁻¹), metsulfuron methyl (1 g da⁻¹), pyroxsulam+cloquintocet mexyl (Safener) (20+25 g da⁻¹), terbutryn+triasulfuron (25 g da⁻¹), thifensulfuron methyl+tribenuron methyl (2.5 g da⁻¹) ve tribenuron-methyl (1 g da⁻¹) aktif maddeleri tavsiye edilen dozlarda (Anonymous, 2011), Moss ve ark. (1999), tarafından geliştirilen ön dayanıklılık tarama testinden geçirilmiştir. Ruhsat dozu uygulanarak yapılan çalışmada aktif madde etkinliğinin %80'in altında görüldüğü popülasyonlar şüpheli olarak kabul edilip detaylı doz etki çalışmalarına alınmıştır. Etkinliğin %100 olduğu popülasyonlar duyarlı olarak değerlendirilmiştir.

2.3. Doz-etki denemeler

Ön dayanıklılık testlerinde ele alınan herbisitler dayanıklılık şüphesi bulunan popülasyonlara aktif maddelerin ruhsatlı dozu esas alınarak 0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 ve 16.0 katı dozlar uygulanmıştır. Buna göre a) amidosulfuron+iodosulfuron-ethylsodium+mefenpyr-diethyl (Safener) 0, 4.17, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ve 200 ml/da, b) aminopyralid+florasulam 0, 0.75, 1.50, 3, 6, 12, 24 ve 48 g da⁻¹, c) cyclosulfamuron 0, 1.75, 3.50, 7, 14, 28, 56

ve 112 g/da, d) dicamba+triasulfuron 0, 4.17, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ve 200 g/da, e) flumetsulam+florasulam 0, 1.5, 3, 6, 12, 24, 48 ve 96 ml/da, f) mesosulfuron methyl+iodosulfuron methyl sodium 0, 6.25, 12.50, 25, 50, 100, 200 ve 400 g/da, g) metosulam+ethylhexylester 0, 30, 60, 120, 240, 480, 960 ve 1920 ml/da, h) metsulfuron methyl 0, 0.25, 0.50, 1, 2, 4, 8 ve 16 g/da, i) pyroxsulam+cloquintocet mexyl (safener) 0, 5, 10, 20, 40, 80, 160 ve 320 g/da, j) terbutryn+triasulfuron 0, 6.25, 12.50, 25, 50, 100, 200 ve 400 g/da, k) thifensulfuron methyl+tribenuron methyl 0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 ve 40 g/da ve l) tribenuron-methyl 0, 0.25, 0.50, 1, 2, 4, 8 ve 16 g/da dozlarında denenmiştir. Uygulamaların farklı biyotipler üzerine olan etkisi haftalık olarak görsel olarak değerlendirilmiştir. Duyarlı biyotiplerde herbisitlerin önerilen dozunun en yüksek etki seviyesini gösterdiği dönemde (genellikle hava koşullarına ve kontrol bitkilerinin büyümesine bağlı olarak 2-3 hafta sonra) denemeler sona erdirilmiş ve yabancı otlar saksılardan hasat edilmiştir. Hasat edilen yabancı otlar daha sonra tartılarak kuru ağırlıkları belirlenmiş ve türün duyarlı ve dayanıklılığından şüphe edilen biyotipleri için ayrı ayrı doz-etki eğrileri oluşturulmuştur.

Denemeler 5 kg'lık saksılarda yürütülmüş ve her bir popülasyon ve her ilaç için 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Saksılar ilaçlamadan sonra 20 ±2 °C'de çalışan kontrollü seraya konmuştur. İlaçlama 3 atm. sabit basınçla çalışan 8004 nolu yelpaze huzmeli meme ile dekara 30 lt su hesabı ile bitkiler 4-6 yapraklı dönemeyken uygulanmıştır. Uygulamadan 7, 14 ve 28. günler sonunda gözlemler alınmış ve 0-100% skalasına göre değerlendirmeler yapılmıştır.

2.4. Veri analizi

Doz- etki çalışmalarına esas olacak veriler 28. gün sonunda hasat edilen ve 60 °C'de 72 saat kurutulan biomass ağırlıklarından yapılmıştır. Doz-etki analizleri drc paket programı ekli olan (version 2.03.0) R (version 2.15.2) paket programında ve doz etki eğrileri üç parametrelili log-logistic eğrisi Weibull modeline (Model 1) göre yapılmıştır (Ritz ve Streibig, 2005).

$$y = \frac{D}{1 + \exp(b(\log(x) - \log(ED_{50})))} \quad [1]$$

Bu formülde; Y biomass bitki⁻¹, D üst limit, b , e tarafından belirlenen regresyonun eğimi, ED_{50} %50 etkili doz.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen ED_{50} değerlerine göre tavsiye dozun iki katı dayanıklı olarak kabul edilmiştir. Ayrıca, dayanıklılık katsayısı, dayanıklı biyotipin ED_{50} 'sinin duyarlı biyotipin ED_{50} 'sine oranlanmasıyla bulunmuştur.

Çizelge 1. Buğday ekim alanlarından illere göre toplanan, testlenen ve dayanıklı bulunan populasyon sayısı.

İl adı	Toplanan örnek sayısı	Şüpheli populasyon sayısı	Dayanıklı populasyon sayısı	Dayanıklı populasyonların aktif maddelere göre dağılımı					
				A	B	C	D	E	F
Samsun	131	30	3	3	-	3	-	-	-
Amasya	102	31	2	2	2	2	-	2	-
Sinop	25	3	-	-	-	-	-	-	-
Çorum	220	68	4	4	4	-	4	-	4
Kastamonu	58	5	-	-	-	-	-	-	-
Çankırı	52	7	1	1	-	-	-	-	-
Bartın	3	-	-	-	-	-	-	-	-
Zonguldak	12	3	-	-	-	-	-	-	-
Karabük	18	2	-	-	-	-	-	-	-
Kırıkkale	111	26	2	2	2	2	2	2	-
Ankara	430	124	8	8	8	-	-	-	-
Bolu	40	5	-	-	-	-	-	-	-
Eskişehir	169	20	2	2	-	2	-	-	-
Toplam	1371	324	22	22	16	9	6	4	4

-Dayanıklılık şüphesi/dayanıklılık yoktur.

A: tribenuron-methyl, **B:** mesosulfuron methyl+iodosulfuron methyl sodium, **C:** thifensulfuron methyl+tribenuron methyl, **D:** aminopyralid+florasulam, **E:** flumetsulam+florasulam, **F:** amidosulfuron+iodosulfuron-methyl sodium+mefenpyr-diethyl (safener)

2.5. Moleküler analizler

2.5.1. DNA ekstraksiyonu

Doz etki analizi sonucu herbisitlere dayanıklılık gösteren 22 populasyon sera koşullarında yetiştirilmiş ve yabancı otlar 4-6 yapraklı döneme geldiğinde yaprak örneklerinden genomik DNA'lar DNeasy DNA ekstraksiyon kiti (Qiagen, Almanya) kullanılarak, kit protokolüne göre ekstrakte edilmiştir (Danquash ve ark., 2002).

2.5.2. PCR yöntemi

Her bir DNA örneğinin PCR uygulamalarında acetolactate synthase (ALS) inhibitör gen bölgelerini amplifiye edecek universal (Prado ve diğ., 2004) primerler kullanılmıştır (Çizelge 2). Bu amaçla universal primerler ile 295 ve 1170 DNA kodonlarını içeren ALS gen bölgelerinin 750 bp'lik bölgelerinin amplifikasyonu ve 1580 ve 2160 kodonlarını içeren 520 bp'lik bölgelerinin amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonu 25 µl toplam hacimde gerçekleştirilmiş olup, karışım bileşenleri: 10X PCR buffer, 70 ng Genomik DNA, herbir primerden 0,50 mM, 3,5 mM MgCl₂, 0,9 mM dNTP ve 0,5 Unite Taq DNA Polymerase'dir.

Çizelge 2. ALS gen bölgesi PCR ve baz dizisi analizinde kullanılacak primerler ve baz dizileri

	Primer	Nükleotid dizilimi	Hedef bant büyüklüğü (bp)
Universal	I	ALS-U-295	AAG GCC GATAtyctygtbgargc
		ALS-L-1170	tacramccntaCGTACCCTGACA
	II	ALS-U-1580	TGTGGGGCAGCACcaratgtggg
		ALS-L-2160	ATCACCTTCTGTGATCAyrTCyTTrAA

*U: Upper primer, L: Lower primer, Dejenerasyonda kullanılan standart kod: b (A olmayacak), n (bazlardan herhangi biri), m (A ya da C), r (A ya da G), y (C ya da T)

PCR koşullarında başlangıç denatürasyonu 94 °C →5 dk olup 94 °C →1 dk, 64 °C →1 dk, 72°C →1 dk periyotları 30 döngü ve 72 °C →10 dk olarak optimize edilmiştir. PCR sonrası elde edilen ürünlerden 10 µl ürün ve 3 µl loading solüsyonu olmak üzere toplam 13 µl hacimdeki karışım %2' lik agaroz jel elektroforezine tabi tutulmuştur.

2.5.3. Sekans (nükleotid dizi) analizinin yapılması

Jel elektroforez sonrası her bir örneğin DNA moleküler ağırlığı belirlenerek bunlara forward ve reverse primerler ilave edilmiştir. Örnekler İntek firmasına (İstanbul) gönderilerek baz dizisi analizleri yaptırılmıştır. 5 farklı domain bölgesine ait [domain C-D-A (I. Bölge) ve B-E (II. bölge)] 1380 bp'lik sekans pozisyonunda mutasyon taraması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla *Arabidopsis thaliana* L.'nin ALS gen bölgesi baz alınmak suretiyle dayanıklı ve duyarlı populasyonların ALS genine ait sekans dizilimleri karşılaştırmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Elde edilen baz dizi analiz sonuçları EMBL/gen bankası ve mevcut yayınlarda elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılarak incelenen bölgelerdeki mutasyonlar ve farklılıklar belirlenmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Doz etki analizi

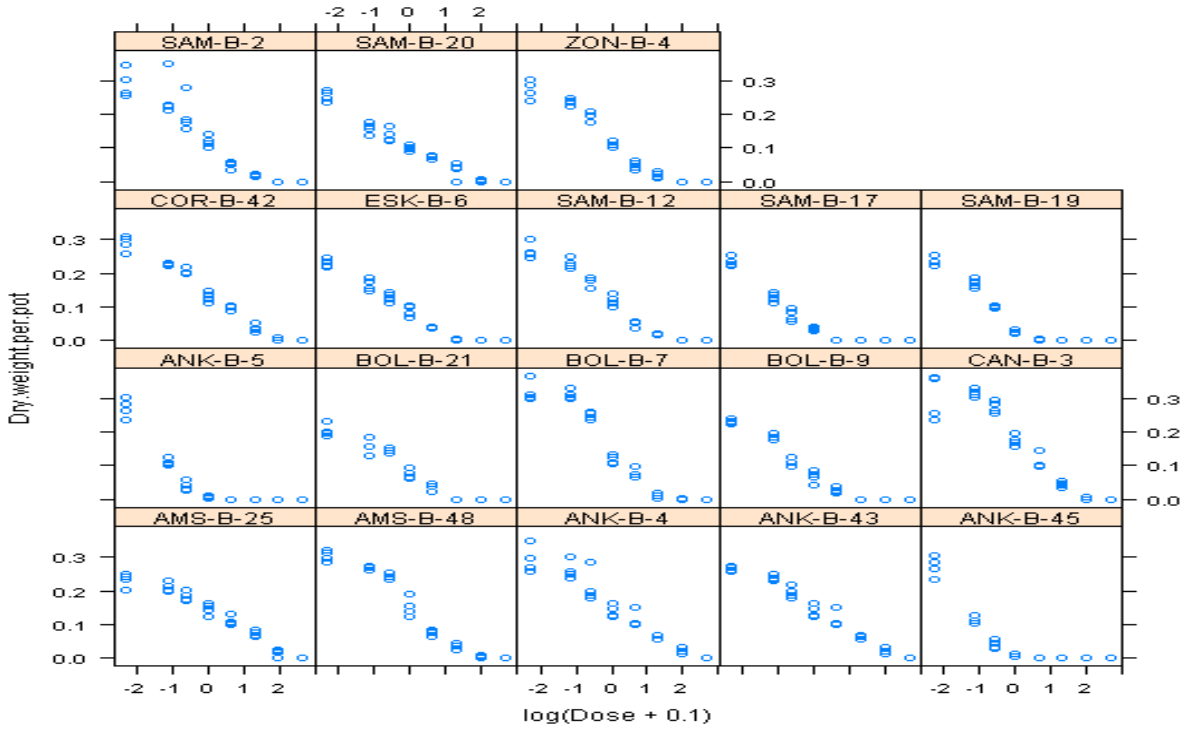
Farklı illerden toplanan 1371 populasyon ilk olarak herbisitlerin ruhsat dozunda Moss tarama testinden geçirilmiş ve buna göre %80'nin altında etkinlik görülen 324 populasyon doz-etki çalışmalarına alınmıştır. Çalışma sonunda 22 populasyonun

dayanıklılık gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 1). Doz-etki analizlerinde hassas populasyonlar tüm herbisitler tarafından kontrol altına alınan populasyonlardan seçilmiştir. Tarama testinde herhangi bir herbisite muhtemel dayanıklılık gösteren populasyonlar (Şekil 1) ise doz-etki çalışmalarına alınmış ve analiz sonucunda dayanıklı olup olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan doz-etki denemeleri sonucunda bazı herbisitlere karşı (cyclosulfamuron, dicamba+triasulfuron, metsulfuron methyl, terbutryn+triasulfuron) herhangi bir dayanıklı populasyon tespit edilememiş ancak etki kaybının olduğu ortaya konmuştur. Cyclosulfamuron aktif maddesine dünya genelinde farklı yabancı ot türlerinde sadece 11 olgu mevcut olup ülkemizde bu aktif maddesine ait bildirilen herhangi bir kayıt mevcut değildir. Ancak yine karışım bir ilaç olmayan metsulfuron methyl'de ise yine ülkemizde bulunmayan dayanıklılık durumunun dünyada 73 biyotipe kadar çıkmış olması dikkat çekicidir (Anonymous 2016b).

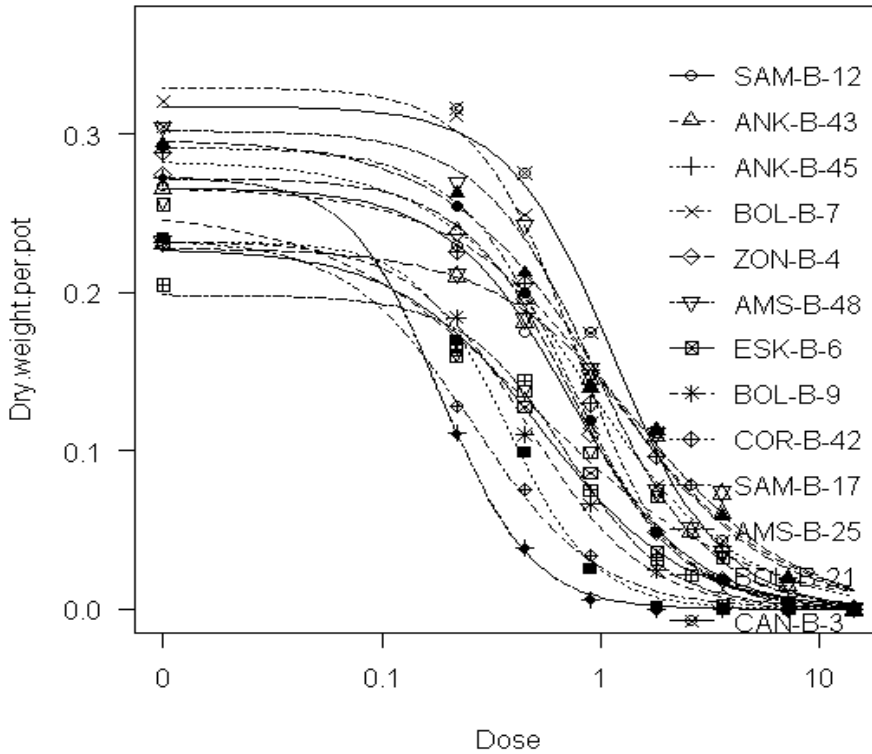
Çalışmada 22 populasyonun tamamı tribenuron-methyl'e dayanıklılık göstermiştir. Tribenuron-methyl'e dayanıklı populasyonların ED₅₀ değerleri ve dayanıklılık oranları incelendiğinde katsayının 1.1-5.2 (ANK-B-5/AMS-B25) arasında değiştiği (Çizelge 3) dikkat çekmektedir. Doz-etki çalışmalarında *B. radians*'ın değişik populasyonlarına uygulanan farklı tribenuron-methyl'e dozlarının uygulama tekrürlerinde düzenli bir dağılım görülmekte olup (Şekil 2), doz-etki eğrisinde ise populasyonlar arasında aktif maddeye farklı tepkilerin gösterildiği görülmektedir (Şekil 3). Bu aktif maddeye karşı 1987 yılından bu yana farklı yabancı ot türlerinde toplamda 88 dayanıklılık olgusu rapor edilmiş olup, çalışmamızdaki en yüksek dayanıklılık oranıyla bu durum desteklenmiştir (Anonymous 2016b).



Şekil 1. Çor-56 populasyonunun 2-4 yapraklı döneminde tavsiye edilen dozda uygulanan A) tribenuron-methyl B) mesosulfuron methyl+iodosulfuron methyl sodium herbisitlerinin 21. günde gösterdikleri etkinlikler.



Şekil 2. Doz-etki çalışmalarında *B. radians*'in değişik populasyonlarına uygulanan farklı tribenuron-methyl'e dozlarının uygulama tekrürlerinde gösterdiği dağılım.



Şekil 3. *Bifora radians*'in değişik populasyonlarına uygulanan farklı tribenuron-methyl dozlarının oluşturduğu doz-etki eğrisi.

Çizelge 3. *Bifora radians*'in tribenuron-methyl'e dayanıklı populasyonlarının ED₅₀ değerleri.

Populasyon no	Tahmin edilen ED ₅₀	Standart hata	ED ₅₀ alt limit	ED ₅₀ üst limit	Dayanıklılık katsayısı
SAM-B-12	1.73	0.08	1.27	2.56	3.5
ANK-B-43	2.15	0.13	1.27	2.18	4.4
ANK-B-45*	0.49	0.01	0.28	1.12	1.0
BOL-B-7	1.77	0.06	1.33	2.93	3.6
ZON-B-4	1.74	0.07	1.28	2.73	3.6
AMS-B-48	1.95	0.08	1.31	2.66	4.0
ESK-B-6	1.54	0.08	1.23	2.34	3.1
BOL-B-9	1.47	0.06	1.24	2.64	3.0
ÇOR-B-42	1.86	0.10	1.29	2.25	3.8
SAM-B-17	1.26	0.05	1.24	2.53	2.6
AMS-B-25	2.57	0.19	1.23	2.25	5.2
BOL-B-21	0.70	0.09	0.20	1.83	1.4
CAN-B-3	2.16	0.09	1.32	2.78	4.4
SAM-B-20	1.50	0.09	1.26	1.93	3.1
SAM-B-19	1.37	0.05	1.24	3.14	2.8
SAM-B-2	1.72	0.07	1.30	2.70	3.5
ANK-B-4	2.00	0.10	1.30	2.19	4.1
ANK-B-5	0.53	0.02	0.32	2.24	1.1

*Duyarlı populasyon; ED₅₀: Effective dose %50 (%50 etkili doz)

Aktif maddeler bazlı değerlendirildiğinde tribenuron-methyl haricinde mesosulfuron methyl+iodosulfuron methyl sodium'a 16 populasyonun, thifensulfuron methyl+tribenuron methyl'e 9 populasyonun, aminopyralid+florasulam'a 6 ve amidosulfuron+iodosulfuron-methyl sodium+mefenpyr-diethyl (Safener) ile flumetsulam+florasulam aktif maddelerine 4'er populasyonun dayanıklılık gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 1).

İllere göre dayanıklılık durumu değerlendirildiğinde Samsun ilinden toplanan 131 *B. radians* populasyonunun tamamı tarama testinden geçirilip 30 populasyon şüpheli bulunarak doz-etki çalışmasına alınmıştır (Çizelge 1). Çalışan bu populasyonlardan 3 tanesi tribenuron-methyl ve thifensulfuron methyl+tribenuron methyl'e dayanıklı olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda ele alınan diğer bir herbisit mesosulfuron methyl+iodosulfuron methyl sodium'da ise dayanıklılıktan ziyade bu aktifin yeterli derecede hasas populasyonlara dahi belirli dönemlerde etkin olmadığı tespit edilmiştir.

Amasya ilinden doz-etki çalışmaları sonucunda testlenen 31 *B. radians* populasyonundan ikisi, tribenuron-methyl, thifensulfuron methyl+tribenuron methyl, mesosulfuron methyl+iodosulfuron methyl sodium ve flumetsulam+ florasulam'a dayanıklı bulunmuştur. Sinop ilinden toplanan 25 populasyonun 3'ü doz-etki çalışmasına alınmıştır (Çizelge 1). Bu ilde polikültür tarımın yapılması ve herbisit kullanımının yaygın olmaması nedeniyle doz-etki çalışmasına alınan populasyonlarda herhangi bir risk ortaya çıkmamıştır (Çizelge 1).

Buğday ekim alanlarının yoğun olduğu ve herhangi bir farklı kültür bitkisinin nadir olarak yetiştirildiği

Çorum ilinden toplanan 220 populasyonun 68'i doz-etki çalışması alınmıştır. 4 populasyonun tribenuron-methyl, amidosulfuron+iodosulfuron-methyl-sodium, mesosulfuron methyl+iodosulfuron methyl sodium ve aminopyralid+florasulam'a dayanıklılık gösterdiği belirlenmiştir. Kastamonu ilinde doz-etki denemesine alınan 5 populasyonda herhangi bir dayanıklılığa rastlanmamış ancak etki kaybından söz edilebilecek bir populasyon olmuştur. Çankırı ilinden toplanan populasyonlar ile ilgili olarak yapılan ön tarama çalışmaları sonucunda *B. radians*'tan 7 populasyonun doz-etki çalışmasına karar verilmiştir. Çalışılan örneklerden sadece bir populasyonun tribenuron-methyl'e karşı dayanıklılığı tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Buğday ekim alanının az olduğu illerden olan Bartın, Karabük ve Zonguldak illerinde herbisite karşı etki kaybı gözlemlenmemiştir (Çizelge 1). Ancak buradaki populasyonlarda herbisitlere olan hassasiyetin azaldığı ve kontrol için tavsiye edilen dozun fazlasına gerek duyulduğu anlaşılmıştır.

Buğday ekim alanlarının yoğun olduğu illerden biri olan Kırıkkale'den toplanan populasyon sayılarına bakıldığında *B. radians* için 111 populasyon toplanmış 26 populasyondan 2 tanesi tribenuron-methyl, thifensulfuron methyl+tribenuron methyl, mesosulfuron methyl+iodosulfuron methyl sodium, flumetsulam+florasulam ve aminopyralid+florasulam'a karşı dayanıklılık oluşturduğu saptanmıştır. Ankara ilinden toplanan 430 *B. radians* populasyonundan 124 ön tarama testinde uygulanan herbisitlere tavsiye dozunda gerekli yanıtı vermemiş ve doz-etki çalışmalarına alınmıştır. Doz-etki çalışmaları sonuçlarına göre *B. radians* için sekiz populasyonda özellikle tribenuron-methyl ve mesosulfuron

methyl+iodosulfuron methyl sodium'a karşı dayanıklılık tespit edilmiştir (Çizelge 1).

Bolu ilinden testlenen populasyonların beşi doz-etki çalışmasına alınmıştır. Buna göre doz-etki çalışmasına alınan populasyonlardan bazıları mesosulfuron methyl+iodosulfuron methyl sodium ve tribenuron-methyl uygulaması sonucunda yeterli derecede kontrol edilmediği tespit edilmiş ancak bu durum dayanıklılık olarak adlandırılmamıştır. Eskişehir ili için toplanan populasyon sayılarına bakıldığında *B. radians* için 169 populasyonun tarandığı ve bunlardan yirmisinin doz-etki çalışmalarına alındığı görülmektedir. Bu türe ait iki populasyon thifensulfuron methyl+tribenuron methyl ve tribenuron-methyl'e dayanıklı olarak bulunmuştur (Çizelge 1).

3.2. ALS gen bölgesinin sekans (baz dizisi) analizi

Bifora radians'de çalışılan aktif maddelerine karşı meydana gelen dayanıklılığın mevcut bir mutasyon varlığından kaynaklı olup olmadığının belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmada bütün primer setlerinden elde edilen amplifikasyon ürünlerinden hedeflenen sekans sonuçlarına ulaşılabilmektedir.

Dizi analizi sonucu *B. radians*'in duyarlı ve dayanıklı populasyonlarının iki farklı primer setleriyle ALS geninin D-A domain bölgelerine ait yorumlanabilir sonuçlara ulaşılan 960 bp'lik baz dizilerinin kıyaslanması sonucu elde edilen farklılıklar Çizelge 4' de verilmiştir. Arabidopsis'e göre Ala 122 aminoasitini kapsayan 364-356 nükleotit pozisyonu ile Pro 197 aminoasitini kapsayan 589-591 nükleotit pozisyonlarında herhangi bir mutasyona rastlanılmamıştır.

Çizelge 4. *Bifora radians*'e ait nükleotid ve aminoasit dizilimleri

D Pop.	361	TTT	GCA	AGT	TTC	TTT	GAT	AGA	AAG	AAA	TCA	CAA	AAG	GGG	TAT	GTT	GCT	GCC	ATT	TTG	TAC	420
H Pop.	121	F	A	S	F	F	D	R	K	K	S	Q	K	G	Y	V	A	A	I	L	Y	140
D Pop.	361	TTT	GCA	AGT	TTC	TTT	GAT	AGA	AAG	AAA	TCA	CAA	AAG	GGG	TAT	GTT	GCT	GCC	ATT	TTG	TAC	420
H Pop.	121	F	A	S	F	F	D	R	K	K	S	Q	K	G	Y	V	A	A	I	L	Y	140
D Pop.	556	GGG	GTT	AAA	GAC	CAT	TCA	AAA	AAT	GAA	ATA	AAT	CCG	CTA	AAT	ATT	TTT	TTT	TTT	TAT	TTT	615
H Pop.	186	G	V	K	D	H	S	K	N	E	I	N	P	L	N	I	F	F	F	Y	G	208
D Pop.	556	GGG	GTT	AAA	GAC	CAT	TCA	AAA	AAT	GAA	ATA	AAT	CCG	CTA	AAT	ATT	TTT	TTT	TTT	TAT	TTT	615
H Pop.	186	G	V	K	D	H	S	K	N	E	I	N	P	L	N	I	F	F	F	Y	G	208

D: Dayanıklı populasyon, H: Hassas populasyon

4. Sonuç

Dünya genelinde yabancı otlarla istisnasız her yıl mücadele edilmesine ve mücadelede yoğun bir herbisit kullanılmasına rağmen %25-35 arasında değişen bir ürün kaybı yaşanmaktadır (Özer, 1993; Vencill ve ark., 1993; Radosevich ve Holt, 1984; Savary ve ark., 1997; 2000). Herhangi bir kontrol metodu uygulanmadığı takdirde, değişik kültür bitkilerinde bu oranın %45 ile %90 arasında ekolojik ve iklimsel şartlara bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Ampong-Nyarko ve De Data, 1991; Moody, 1996). Birçok ülkede olduğu gibi ülkemizde de buğdayda yabancı ot mücadelesi doğrudan herbisitlere bağımlı olarak sürdürülmektedir. Buğdayın geniş ekim alanı bulunduğu Orta ve Batı Karadeniz ile Orta Anadolu Bölgelerinde geniş yapraklı yabancı otlardan en çok sorun teşkil eden türlerden olan *B. radians* (Mennan ve Uygur, 1994; Taştan, 1998) mücadelesinde yoğun olarak kullanılan ALS inhibitörü herbisitlerin etkisiz kaldıklarına dair son zamanlarda bazı gözlemler ve çiftçi şikayetleri söz konusudur. Bu

bağlamda değerlendirildiğinde yabancı ot kontrolünden iyi ve etkin bir sonuç almak için sorunların çok iyi bilinmesine ve doğru tespit edilmesine ihtiyaç bulunduğu yargısından yola çıkarak ALS inhibitörü herbisitlere dayanıklılığın aydınlatılması yönünde çalışılan türe ait dayanıklılık bulgusu belirlenmiştir.

Bifora radians'den toplam 1371 populasyon toplanmış ve bunun 324 populasyonu ALS inhibitörü olan cyclosulfamuron, dicamba+triasulfuron, metsulfuron methyl, terbutryn+triasulfuron, tribenuron-methyl, thifensulfuron methyl+tribenuron methyl, mesosulfuron methyl+iodosulfuron methyl sodium, flumetsulam+ florasulam, aminopyralid+florasulam'a karşı doz-etki çalışmalarına alınmıştır. Bunun sonucunda cyclosulfamuron, dicamba+triasulfuron, metsulfuron methyl, terbutryn+triasulfuron'a karşı herhangi bir dayanıklı populasyon tespit edilememiş ancak etki kaybının olduğu ortaya konmuştur. Dayanıklılığın belirlendiği 22 populasyon, sadece etki kaybının görüldüğü herbisitler dışındaki diğer herbisitlere tavsiye edilen dozunun iki katında dahi

kontrol altına alınamamış ve dayanıklı olarak kabul edilmiştir. Dayanıklılığın belirlendiği herbisitler dayanıklı populasyon sayısı noktasında ayrı ayrı incelendiğinde aralarında belirgin bir farklılığa rastlanılmamıştır. Dayanıklılığın yayılım durumu gözden geçirildiğinde sorunun çalışma alanını kapsayan her iki bölgede var olduğu ancak iller bazında değerlendirildiğinde ise Sinop, Bartın, Zonguldak ve Bolu'da bu herbisitlere karşı herhangi bir dayanıklılık riskinin bulunmadığı görülmüştür. *B. radians*'in herbisitlere dayanıklılığı ile ilgili dünya literatüründe de herhangi bir bilgi mevcut değildir.

Dünya geneline bakıldığında herbisitlere dayanıklılık sorunun her yıl artarak katlandığı görülmektedir. Ülkemizde ise birkaç yabancı otla sınırlı kaldığı gözükken dayanıklılık problemi (Anonymous 2016b; Demirci ve Nemli, 1996; 1997; Uludağ, 2003; Aksoy ve ark., 2004) gelecek yıllarda bir çok kültür bitkisinde kendini göstererek tehdit edecek boyutlara ulaşabilecektir. Çalışma çıktıları ele alındığında *B. radians* için dayanıklılık sorunun yaygınlık kazanmadığı ancak etkinlik azalmasına birçok popülasyonda rastlandığı bu türlerin dayanıklılık meylili taşıdığını işaret etmektedir.

Yapılan baz dizisi analiz sonuçlarına göre herbisitlere dayanıklılığın popülasyonlarındaki metabolik dayanıklılıktan ileri geldiği tespit edilmiştir. Aynı etkili maddenin veya aynı etki mekanizmasına sahip herbisitlerin uzun süre belirli bir alanda kullanılması sonucu yabancı otlarda dayanıklılığa neden olduğu bilinmektedir (Delye ve ark., 2005). ALS inhibitörü herbisitlerin yabancı otlardaki dayanıklılığına birçok mekanizma yol açarken bunlar içerisinde en önemli olanı bu enzimin DNA sekans kodunda meydana gelen mutasyonlarıdır (Devine ve Shukla, 2001; Grassel, 2002). Bu olayda herbisitlerin hedef proteine bağlanması engellenmekte ve dayanıklılık ortaya çıkmaktadır. Mutasyon tespitinde dünyada birçok araştırmada olduğu gibi yabancı ot çalışmalarında da model bitki olarak *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. kullanılmaktadır. *A. thaliana* standart alınarak daha önce yapılan gen sekans çalışmaları 6 doğal ALS gen mutasyonunu rapor etmektedir (Boutsalis ve ark., 1999). Buna göre mutasyonun gerçekleştiği aminoasit bölgeleri şu şekildedir. Treonin (Thr) ile Alanin 122 (Ala) arasında, çeşitli aminoasitler ile Prolin 197 (Pro) arasında, Valin (Val) ile Alanin 205 arasında, Glutamin (Glu) ile Aspartik asit 376 (Asp), Lösin ile (Leu) Triptofan 574 (Trp) ve Treonin yada Asparajin ile Serin 653 (Ser) arasında gerçekleşmektedir (Guttieri ve ark., 1995; Tranel ve Wright, 2002; Milliman ve ark., 2003; Christoffers ve ark., 2006; Preston ve ark., 2006; Whaley ve ark., 2007). *Bifora radians* için gerçekleştirilen sekans taramasında ise yorumlanabilir sonuçların elde edildiği baz dizilerinde Ala122 ve Pro197 pozisyonları yine mutasyon varlığının mevcut olmadığını göstermiştir. Bu bilgiler ışığında dayanıklı popülasyonlardaki dayanıklılığın sebebinin hedef bölge dayanıklılığı olarak ifade edilen genetik dayanıklılıktan

kaynaklanmadığı metabolik dayanıklılık olgusunun mevcudiyeti yargısına ulaşılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK TOVAG tarafından desteklenen 108O371 nolu proje kapsamında gerçekleştirilmiştir

Kaynaklar

- Aksoy, A., Mene H., Şimşek M., Büschbell T., 2004. Yabani yulaf (*Avena sterilis* L.)' in ve Tilki kuyruğu (*Alopecurus myosuroids* Huds.) 'nun farklı herbisitlere karşı dayanıklılığı üzerine çalışmalar. Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi, s.228, 8-10 Eylül, Samsun.
- Ampong-Nyarko, K., De Data, S.K., 1991. Handbook for weed control in rice. Int. RiceResearch Inst. Manila, Philippines.
- Anonymous, 2011. Ruhsatlı Zirai Mücadele ilaçları. T. C. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, s 127.
- FAO, 2016. Statistical Databases. <http://faostat.fao.org/> (Erişim Tarihi:16.10.2016)
- Anonymous, 2016a. Weed Science Society of America (WSSA) Resistance, WSSA Classification of Herbicide Resistance Mechanism of Action, pp. 1-6; <http://www.wssa.net>. (Erişim Tarihi: 08.10.2016)
- Anonymous, 2016b. International survey of herbicide resistant weeds.<http://www.weedscience.org/In.asp> (Erişim Tarihi: 08.10.2016)
- Bernasconi, P., Woodworth A.R., Rosen B.A., Subraminian M.W., Siehl D.L., 1995. A naturally occurring point mutation confers broad range tolerance to herbicides that target acetolactate synthase. Journal of Biological Chemistry, 270, 17381-17385.
- Boutsalis, P., Karotam J., Powles S.B., 1999. Molecular basis of resistance to acetolactate synthesis-inhibiting herbicides in *Sisymbrium orientale* and *Brassica tournefortii*. Pesticide Science, 55, 507-516.
- Caussanel, J.P., Bouhache, M., Mennan, H., Trouvelot, A., 1998. Biological and economical aspects in integrated management of some Umbelliferae and Leguminosae weeds in dryland cereals. In 6th EWRS Mediterranean Symposium, s.281-289, May 13-15, Montpellier, France. Oxford, UK: Blackwell.
- Challaiah, O.C., Burnside, Wicks, G.A., Johnson, V.A., 1986. competition between winter wheat (*Triticum aestivum*) cultivars and downy brome (*Bromus tectorum*). Weed Science, 34, 689-693.
- Christensen, S., 1995. Weed suppression ability of spring barley varieties. Weed Reseach, 35, 241-247.
- Christoffers, M.J., Nandula V.K., Howatt K.A., Wehking T.R., 2006. Target-site resistance to acetolactate synthase -inhibiting in wild mustard (*Sinapis arvensis*). Weed Science, 54, 191-197.
- Danquash, E.T., Johnson D.E., Riches C., Arnold G.M., Karp A., 2002. Genetic diversity in *Echinochloa* spp. collected from different geographic origins and within rice fields in Cote d'Ivoire. Weed Research, 42(5), 394.
- Delye, C., Zhang X.Q., Michel S., Matejcek A., Powles S.B., 2005. Molecular bases for sensitivity to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors in blackgrass. Plant Physiology, 137, 794-806.

- Demirci, M., Nemli Y., 1996. Pamuk alanlarında yapışkan otu (*Setaria verticillata*) (L.) P.B. mücadelesi için ekim öncesi dinitroanilin herbisitler. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 33.2-3, 129-134.
- Devine, M.D., Preston, C., 2000. The molecular basis of herbicide resistance. In: Cobb, A.H. and Kirkwood, R. C. (Eds). *Herbicides and Their Mechanisms of Action*. Boca Raton, FL: CRC Press., s.71-104.
- Devine, M.D., Shukla A., 2001. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. *Crop Protection*, 19, 881-889.
- Foes, M.J., Liu, L., Vigue, G., Stoller, E.W., Wax, L.M. and Tranel. P.J., 1999. A kochia (*Kochia scoparia*) biotype resistant to triazine and ALS-inhibiting herbicides. *Weed Science*, 47, 20-27.
- Foes, M.J., Liu, L., Tranel P.J. Wax, L.M., Stoller E.W., 1998. A biotype of common waterhemp (*Amaranthus rudis*) resistant to triazine and ALS herbicides. *Weed Science*, 46,514-520.
- Grassel, J., 2002. *Molecular Biology of Weed Control*, Taylor & Francis, London, s.157.
- Guttieri, M.J., Eberlein, C.V., Mallory-Smith, C.A., Thill, D.C., Hoffman, D.L., 1992. DNA sequence variation in domain A of acetolactate synthase genes of herbicide-resistant and -susceptible weed biotypes. *Weed Science*, 40, 670-676.
- Guttieri, M.J., Eberlein, C.V., Thill, D.C., 1995. Diverse mutations in the acetolactate synthase gene confer chlorsulfuron resistance in kochia (*Kochia scoparia*) biotypes. *Weed Science*, 43, 175-178.
- Kadıoğlu, İ., Üremiş, İ., Uluğ, E., Boz, Ö. ve Uygur, F.N., 1998. Researches on the Economic Thresholds of Wild Oat (*Avena sterilis* L.) in Wheat Fields in Çukurova Region of Turkey. *Türkiye Herboloji Dergisi*, 1(2), 18-24.
- Latrasse, A., Etienne, S., Quéré, J.L., 2005. Composition and major odorous compounds of the essential oil of *Bifora radians*, an aldehyde-producing weed. *Journal of High Resolution Chromatography*, 14(8), 549-553.
- Lasagna, C. A., Altobelli, O. and Lusetti, C., 1984. Five years of experience on pre and post-emergence weed control in wheat. *Atti del convegno su «La difesa dei cereali nell' ambito dei progetti finolizzati del CNR s.353-359: Roma, Italy.*
- Letouzé, A., Gasquez, J., 2003. Enhanced activity of several herbicide-degrading enzymes: a suggested Mechanism responsible for multiple resistance in black grass (*Alopecurus myosuroides* Huds). *Agronomie*, 23, 601-608.
- Malik, N., Vanden Born W.H., 1988. The biology of Canadian weeds. *Galium aparine* L. and *Galium spurium* L. *Canadian Journal of Plant Science*, 68, 481-499.
- Mallory-Smith, C.A., Thill, D.C., Dial, M.J., 1990. Identification of sulfonylurea herbicide-resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Technology*, 4, 163-168.
- Mennan, H. ve Uygur, F.N., 1994. Samsun İli Buğday Ekim Alanlarında Görülen Yabancı ot Türlerinin Saptanması. O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi 9(2), 25-35.
- Mennan, H.,1998. Samsun İli Buğday Ekim Alanlarında Önemli Zarara Neden Olan Kokarot (*Bifora radians* Bieb.) ve Yapışkanotu (*Galium aparine* L.)'nun Ekonomik Zarar Eşiklerinin ve Bazı Biyolojik Özelliklerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, p.137, Adana.
- Mennan, H. and Zandstra., B.H., 2005. Effect of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars and seedling rate on yield loss from cleavers (*Galium aparine*). *Crop Protection*, 24, 1061-1067.
- Milijic, S., 1987. The influence of erop rotation and fertilization on the floristic structure and eharacteristics of the weed synusium in wheat. Drugi kongres u korovima. Zbornik refercta, s.275-283, Yugoslavia.
- Milliman, L.D., Riechers D.E., Wax L.M., Simmons F.W., 2003. Characterization of two biotypes of imidazolinone-resistant eastern black nightshade (*Solanum ptycantum*). *Weed Science*, 51,139-144.
- Moody, K., 1996. Weed management in upland rice. In Auld, B.A. and Kim, K.V. (Eds). *Weed management in rice food and Agric. Organ of the United Nation*, s.89-98, Rome.
- Moss, S.R., Clarke, J.H., Blair, A.M., Culley, T.N., Read, M.A., Ryan, P.J., Turner, M., 1999. The occurrence of herbicide-resistant grass-weeds in the United Kingdom and a new system for designating resistance in screening assays. *Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference on Weeds*. s.179-184 Hampshire, UK: BCPC.
- O'donovan, J.T., Harker, Clayton, K.N., and Hall., L.M., 2000. Wild oat (*Avena fatua*) interference in Barley (*Hordeum vulgare*) is influenced by barley variety and seeding rate. *Weed Technology*, 14, 624-629.
- Ogg, A.G., and Seefeldt, S.S., 1999. Characterizing traits that enhance the competitiveness of winter wheat (*Triticum aestivum*) against jointed goat-grass (*Aegilops cylindrica*). *Weed Science*, 47, 74-80.
- Özer, Z., 1993. Niçin Yabancı Ot Bilimi (Herboloji). Türkiye 1. Herboloji Kongresi, s. 1-7, 3-5 Şubat 1993. Adana.
- Park, K.W., Mallory-Smith C.A., 2004. Physiological and molecular basis for the ALS inhibitor resistance in *Bromus tectorum* biotypes. *Weed Research*, 44, 7177.
- Prado, M.D., De Prado, R., Franco, A.R., 2004. Design and optimization of degenerated universal primers for the cloning of the plant acetolactate synthase conserved domains. *Weed Science*, 52, 487-491.
- Preston, C., Stone L., Rieger, M.A., Baker J., 2006. Multiple effects of a naturally occurring proline to threonine substitution within acetolactate synthase in two herbicide-resistant populations of *Lactuca serriola*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 84, 227-235.
- Preston, C., Mallory-Smith, C.A., 2001. Biochemical mechanisms, inheritance, and molecular genetics of herbicide resistance in weeds. Powles, S. and Shaner, D. (Eds). *Herbicide resistance and world grains*, Boca Raton, FL: CRC Press, Inc. s.23-60.
- Preston, C.R., Sved, J.A., Engels, W.R., 1996. Flanking duplications and deletions associated with P-induced male recombination in *Drosophila*. *Genetics*. 144(4), 1623-1638.
- Radosevich, S.R. and Holt, J.S., 1984. *Weed ecology: implications for management*. New York: John Wiley & Sons, 265 p.
- Ritz, C. and Streibig. J., 2005. Bioassay analysis using R. J. *Statistical Software*, 12, 1-22.
- Roebuck, J.F., 1987. Agriculture problems of weeds on the crop headland. BCPC. Monograph No. 35.
- Savary, S., Srivastava, R.K., Singh, H.M., Elazegui, F.A., 1997. A characterisation of rice pests and quantification of yield losses in the rice-wheat system of India. *Crop Protection*, 16, 387-398.

- Savary, S., Willocquet, L., Elazegui, F.A., Castilla, N.P., Teng, P.S., 2000. Rice pest constraints in tropical Asia: quantification of yield losses due to rice pests in a range of production situations. *Plant Disease*, 84, 357–369.
- Schroeder, D., Müller-Schroeder, H., Stinson, C.A., 1993. A European weed survey in 10 major crop system to identify targets [or biological control. *Weed Research*, 33(6),449–458.
- Skorda, E. A., Efthimiadis, P., Adamidis., T.H., 1998. The persistence and rise of *Bifora radians* in cereal crops. In 6th EWRS Mediterranean Symposium, s.234–235, May 13–15, Montpellier, France. Oxford, UK: Blackwell.
- Sibony, M. and Rubin, B., 2003. The ecological fitness of *Amaranthus retroflexus* and *A. blitoides* resistant to acetolactate synthase (ALS) inhibitors and atrazine. *Weed Research*, 43, 40-47.
- Taştan, R., 1988. Orta Anadolu Buğday Ekim Alanlarında Sorun Olan Kokar ot (*Bifora radians* Bieb.)'un Yayılışı, Biyolojisi ve Mücadele Metotları. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, p.137, Erzurum.
- Tranel, P.J. and Wright T.R., 2002. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned, *Weed Science*, 50, 700-712.
- Tranel, P.J., Wright T.R., Heap, I.M., 2009. ALS mutations from herbicide-resistant weeds. <http://www.weedscience.com> (Erişim tarihi: 10.08.2016).
- TÜİK, 2015. Bitkisel üretim istatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr>. (Erişim Tarihi: 17.10.2016)
- Uludağ, A., 2003. Doğu Akdeniz Bölgesinde Buğday Tarlalarındaki Yabancı Yulafın (*Avena sterilis*) Bazı Graminisitlere Oluşturduğu Dayanıklılık Üzerinde Araştırmalar. Doktora.Tezi, E.Ü Fen Bil Ens., p.129
- Uygur, F.N., Kadioğlu, İ., Boz, Ö. ve Mennan, H., 1999. Yabancı Otların Ekonomik Zarar Eşiği ve Dünya İle Türkiye'deki Uygulamaları. Bitki Korumada Ekonomik Zarar Eşiği Modelleri ve Uygulaması Workshop'u Bildirileri, s.170-225, Samsun.
- Vencill, W.K., Grayda L.J., Langdole G.W., 1993. Soil moisture relations and critical period of *Cynodon dactylon* (L.) Pers. (*Coastal bermudagrass*) competition in conservation-tillage cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Weed Research*, 33, 89-96.
- Yu, Q., Zhang X.Q., Hashem A., Walsh M.J., Powles S.B., 2003. ALS gene proline (197) mutations confer herbicide resistance in eight separated wild radish (*Raphanus raphanistrum*) populations. *Weed Science*, 51, 831-838.
- Whaley, C.M., Wilson H.P., Westwood J.H., 2007. A new mutation in plant ALS confers resistance to five classes of ALS-inhibiting herbicides. *Weed Science*, 55(2), 83-90.
- Wright, T.R., Bascomb, N.F., Sturmer, S.F., Penner, D., 1998. Biochemical mechanism and molecular basis for ALS-inhibiting herbicide resistance in sugarbeet (*Beta vulgaris*) somatic cell selections. *Weed Science*, 46, 13–23.