

استفاده از زیست‌سنجی غیرمستقیم کمی بذر به‌عنوان روشی سودمند جهت ارزیابی تحمل به علف‌کش‌ها در کولتیوارهای گندم

سمیه عباسیان^۱، *سید علی پیغمبری^۲، محمدرضا بی‌همتا^۲، حسن علیزاده^۲، رضا معالی امیری^۲
۱-۲- دانشجوی دکتری و استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۲/۲۰)

چکیده

این پژوهش با هدف استفاده از روش زیست‌سنجی غیرمستقیم کمی بذر و برآورد متغیر غلظت مؤثر ۵۰ درصد ماده فعال علف‌کش، به‌عنوان روشی سودمند جهت ارزیابی تحمل به علف‌کش در کولتیوارهای گندم در برنامه‌های به‌نژادی انجام شد. ابتدا با استفاده از زیست‌سنجی مقدماتی و اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناختی مختلف در سطح پتری‌دیش روی گیاهچه‌های هفت کولتیوار گندم تحت تیمار چندین غلظت از علف‌کش‌های بروموکسینیل+ام‌سی‌پی‌آ، توفوردی+ام‌سی‌پی‌آ و متری‌بوزین، حداکثر غلظت قابل تحمل و متحمل‌ترین کولتیوار و بهترین صفت برای آزمون زیست‌سنجی انتخاب شد. سپس در آزمایش زیست‌سنجی بذر، با اندازه‌گیری صفات مختلف ریخت‌شناختی روی گیاهچه‌های کشت شده در پتری‌دیش، کولتیوار متحمل‌تر انتخاب شده در آزمون مقدماتی، تحت تیمار هشت غلظت از علف‌کش‌ها به‌همراه شاهد بدون علف‌کش قرار گرفت و به‌کمک روش‌های مبتنی بر رگرسیون غیرخطی، مقدار غلظت مؤثر ۵۰ درصد محاسبه شد که برای علف‌کش‌های بروموکسینیل+ام‌سی‌پی‌آ، توفوردی+ام‌سی‌پی‌آ و متری‌بوزین به‌ترتیب ۰/۵۱۷ و ۰/۰۹۸ و ۰/۲۸۵ لیتر و کیلوگرم از ماده‌ی فعال در هکتار برآورد شد. بر اساس نتایج، صفت طول اندام هوایی گیاهچه‌ها، صفتی مطلوب برای انجام زیست‌سنجی بذر بود. در طی دو مرحله آزمون، در میان ارقام انتخابی، کولتیوار قدس نسبت به علف‌کش مورد استفاده متحمل‌تر بود که می‌تواند جهت برآورد متغیر غلظت مؤثر ۵۰ درصد ماده فعال در هکتار مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: بروموکسینیل+ام‌سی‌پی‌آ، توفوردی+ام‌سی‌پی‌آ، رگرسیون غیرخطی، غلظت مؤثر ۵۰ درصد، متری‌بوزین.

Indirect quantitative seed bioassay as a useful method for evaluating herbicide tolerance in wheat cultivars

Sommayeh Abbasyan¹, Seid-Ali Peyghambari^{*1}, Mohhamad-Reza Bihamta¹, Hassan Alizadeh¹ and Reza Maalee-Ammiri¹

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, Agriculture Faculty, University of Tehran, Iran.

(Received: October 31, 2018 - Accepted: May 10, 2019)

ABSTRACT

This study was conducted to utilise indirect quantitative seed bioassay and estimation of 50% effective concentration (EC₅₀) variable of herbicide active ingredient (a.i.) as a useful method for evaluating herbicide tolerance of wheat cultivars in breeding programs. Using primary bioassay in petri dish on seedlings of seven wheat cultivars treated with several concentrations of metribuzin, bromoxynil+MCPA, and 2,4-D+MCPA herbicides, maximum tolerable concentration, the most tolerant cultivar and the best trait was selected for bioassay by measuring morphological traits. Then, the seed bioassay carried out by measuring different morphological traits upon seedlings of the tolerantest selected cultivar in primary test under eight concentrations of herbicides and control (without herbicide) in petri dish. active ingredient EC₅₀ calculated based on nonlinear regression that were 0.517 and 0.98 liter and 0.285 kg of a.i. ha⁻¹ of metribuzin, bromoxynil+MCPA, and 2,4-D+MCPA respectively. According to the results, length of shoots was a desirable trait for seed bioassay. Quds was the most tolerant cultivar to applied herbicides among the selected cultivar in two steps of test and it can be used to estimation of active ingredient EC₅₀.

Keywords: 2, 4-D+MCPA, bromoxynil+MCPA, EC₅₀, metribuzin, nonlinear regression.

* Corresponding author E-mail: alipey@ut.ac.ir

مقدمه

پاسخ‌های کمی^۳ و غیرمستقیم مبتنی بر پاسخ‌های گسسته^۴ می‌باشد. در مورد زیست‌سنجی‌های غیرمستقیم کمی، ابتدا رابطه بین هر دز علف‌کش و پاسخ نمونه‌ها تعیین می‌شود. سپس دز مربوط به هر پاسخ، با استفاده از روابط به‌دست‌آمده و برای هر نمونه به‌طور جداگانه به‌دست می‌آید. روش‌های مختلفی برای زیست‌سنجی وجود دارد که می‌توان به سنجش درجه‌بندی شده^۵، روش درون‌یابی^۶، زیست‌سنجی بذر^۷ و غیره اشاره نمود. استفاده از روش زیست‌سنجی بذر، مقیاسی تعیین‌کننده و آزمایشگاهی است و روشی برای ارزیابی سمی بودن هر ماده‌ای در محصولات سودآور به‌ویژه غلات است (Saha, 2002; Goyal, 2008; Panuganti, 2015).

از میان غلات، گندم (*Triticum aestivum* L.) مهم‌ترین گیاه زراعی در سراسر جهان است (Raj Kumar *et al.*, 2002). در مزارع گندم از علف‌کش‌های متنوعی استفاده می‌شود (Schulze *et al.*, 2005). روش‌های استاندارد زیست‌سنجی بذر با علف‌کش به چهار دسته اصلی تقسیم می‌شوند که شامل جذب پیش‌ماده (قرار گرفتن بذر در معرض علف‌کش در طول آزمایش)، خیساندن بذر (قرار دادن بذر در معرض علف‌کش به مدت حدود ۱۶ ساعت)، اسپری (اسپری گیاهچه در گلخانه یا آزمایشگاه) یا ترکیبی از جذب و روش‌های خیساندن بذر است (Bolan *et al.*, 2018). از عمده کاربردهای زیست‌سنجی بذر در بررسی‌های آزمایشگاهی مختلف می‌توان به بررسی اثرات آللوپاتی گیاهان بر روی یکدیگر (Aliotta & Cafiero, 2001)، بررسی تأثیر

به‌طور متداول در طی فرآیند انتخاب در برنامه‌های به‌نژادی سنتی، به پاسخ کولتیوارها به علف‌کش توجه نمی‌شود و این یکی از دلایلی است که نشان می‌دهد چرا برخی از کولتیوارها هنگام تیمار با علف‌کش، در کشت مزرعه‌ای با مشکل روبرو می‌شوند. کولتیوارها اختلافات وسیعی در پاسخ به علف‌کش‌ها از خود بروز می‌دهند و در بسیاری از موارد، غلظت خاصی از علف‌کش برای کنترل علف‌های هرز یا علف‌هرز خاصی مدنظر است که برای گیاه زراعی کشنده نباشد. معمولاً پاسخ انتخابی گیاه زراعی به علف‌کش، تحت کنترل عوامل ژنتیکی است. همواره باید فهم عوامل ژنتیکی کنترل‌کننده تحمل به علف‌کش‌ها همواره در توسعه یک کولتیوار جدید گیاه زراعی و پیاده‌سازی مدیریت علف‌های هرز در سیستم زراعی در نظر گرفته شود (Sandín-españa *et al.*, 2011).

از روش‌های ساده و کم‌هزینه‌ای که جهت ارزیابی پاسخ‌های اولیه گیاه به علف‌کش و ارزیابی تحمل می‌توان استفاده نمود، زیست‌سنجی^۱ است. زیست‌سنجی روشی در جهت ارزیابی اثرات ناشناخته‌ی یک ماده بر روی موجودات زنده (در شرایط طبیعی) یا بافت‌های جداشده (در شرایط آزمایشگاهی)، است (Agatonovic-kustrin *et al.*, 2015; Hemanta *et al.*, 2014). آزمایش زیست‌سنجی به‌طور معمول نسبت به سایر کارهای آزمایشگاهی به تجهیزات ویژه‌ی کم‌تری نیاز دارد و می‌تواند با سایر روش‌های معمولی آزمایشگاه بذر، به‌طور نسبتاً آسانی ادغام شود (Bolan *et al.*, 2018). سه نوع اصلی آزمون زیست‌سنجی شامل سنجش‌های مستقیم^۲، غیرمستقیم مبتنی بر

^۴ Indirect Assays based upon quantal responses

^۵ Graded Assay

^۶ Interpolation Method

^۷ Seed Bioassay

^۱ Bioassay

^۲ Direct Assays

^۳ Indirect Assays based upon quantitative responses

حاوی دو لایه کاغذ صافی، در شرایط دمایی و نوری مناسب و آبیاری با آب مقطر انجام شد. در روز دهم، تعداد بذور جوانه زده شمارش شد و نتایج بر حسب درصد محاسبه شد که درصد جوانه‌زنی تمامی کولتیوارهای مورد آزمون، بالای ۹۵ درصد بود. تیمارهای علف‌کش شامل متری‌بوزین (سنکور)، توفوردی + ام‌سی‌پی‌آ و بروموکسینیل + ام‌سی‌پی‌آ (برومایسیدام) و شاهد بدون علف‌کش (آب مقطر) بود. این پژوهش در دو مرحله صورت پذیرفت و در هر دو مرحله، از روش جذب سوبسترا از طریق ریشه و کلئوپتیل استفاده شد. نکته قابل توجه این است که ترکیب تیماری مورد استفاده در این پژوهش شامل علف‌کش‌های اکسین مصنوعی (توفوردی و ام‌سی‌پی‌آ) و بازدارنده‌های فتوسنتز دو (بروموکسینیل و متری‌بوزین) بود. بازدارنده‌های فتوسنتز دو از طریق برگ و ساقه و نیز ریشه جذب می‌شوند اما اکسین‌های مصنوعی، برگ مصرف هستند و بر روی اندام هوایی استفاده می‌شوند. پژوهش‌های انجام شده توسط ایر و همکاران (Eyer et al., 2016) نشان می‌دهد که می‌توان اکسین‌های مصنوعی همچون توفوردی را در مخلوط با محیط کشت آگار، جهت آزمون زیست‌سنجی استفاده کرد و اثرات بازدارنده‌گی آن‌ها را بر رشد ریشه بررسی نمود. نتایج برخی از پژوهش‌ها، حاکی از انتقال اکسین-های مصنوعی از ریشه به اندام هوایی از طریق آوند چوبی و در نتیجه تجمع آن در مرستم‌های انتهایی گیاه است (Sandall, 2018)؛ پس به این طریق، علف‌کش-های اکسین مصنوعی از طریق سیستم آوندی، از ریشه خود را به اندام‌های هوایی می‌رسانند و اثرات سمی خود را روی بخش هوایی نشان می‌دهند. به همین دلیل، صفت طول ریشه همراه با طول اندام هوایی اندازه‌گیری شد. با این وجود و به دلیل استفاده از آب و کاغذ صافی

بقایای علف‌کش موجود در خاک بر گیاه زراعی بعدی (Castro et al., 2002)، ارزیابی تحمل و یا مقاومت به علف‌کش در علف‌های هرز یا گیاهان زراعی اشاره نمود. برای مثال ویلارویا و همکاران (Villarroya, et al., 2000) با استفاده از روش زیست‌سنجی بذر و اندازه‌گیری تغییرات وزن بوته توانستند وراثت‌پذیری تحمل به علف‌کش متری‌بوزین را با استفاده از نسل‌های اول تا سوم حاصل تلاقی دو رقم حساس و متحمل به این علف‌کش، به صورت نیمه غالبیت^۱ برآورد نمایند. تحمل به علف‌کش با استفاده از زیست‌سنجی بذر توسط وانگ و همکاران (Wang et al., 2014) در بلوگراس یکساله و قره‌خلو و همکاران (Gherekhlou et al., 2008) در توده‌های فالاریس تحت تیمار با چندین بازدارنده‌ی استیل‌کوآنزیم-آ کربوکسیلاز نیز، بررسی شد.

هدف از این پژوهش، استفاده از زیست‌سنجی بذر به عنوان روشی ساده، آسان، ارزان و قابل اعتماد، جهت غربال ارقام حساس و متحمل گندم نسبت به علف-کش‌های مرسوم و غیرمرسوم مزارع این گیاه در برنامه-های به‌نژادی است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در آزمایشگاه‌های گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم و مهندسی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، از سال ۱۳۹۵ تا ۱۳۹۶ انجام شد. کولتیوارها^۲ شامل بهار، پیشناز، سپاهان، قدس، چمران، روشن و شیراز بود که از ذخایر بذر بانک ژن پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران تهیه شد و از طریق آزمون قوه نامیه، از سلامت بذور اطمینان حاصل شد. آزمون با کشت ۱۰۰ بذر ضدعفونی شده از هر کولتیوار، در پتری‌دیش‌های

^۲ به وارته‌ای که در سطح وسیع و تجاری کشت شود کولتیوار یا رقم تجاری گفته می‌شود.

^۱ Semi-dominant

به‌عنوان محیط کشت در مرحله اول آزمون و خمش کلئوپتیل در پتری دیش‌های سر بسته در مرحله دوم، بی‌گمان، گیاهچه‌ها به‌خوبی در معرض تیمار قرار گرفتند و اثرات علف‌کش‌ها را نشان دادند؛ از این رو، صفت طول کلئوپتیل نیز اندازه‌گیری شد. البته بایستی در نظر داشت که میزان سطحی از گیاه که با علف‌کش در تماس است، یک فاکتور تعیین‌کننده در اختلافات مورد مشاهده است و تفاوت در سطوح تماس یافته می‌تواند اختلافات معنی‌داری در نتایج ایجاد نماید و به‌همین علت، استفاده از نمونه‌برداری چند مشاهده‌ای (وجود چندین نمونه در هر پلات) حائز اهمیت است.

زیست‌سنجی مقدماتی

ابتدا ۵۰ بذر از کولتیوارهای انتخابی، ضد عفونی شدند و پس از قرار گرفتن در پتری دیش استریل حاوی دو لایه کاغذ صافی، در شرایط مناسب جوانه‌زنی (دمای اتاق (22 ± 1) در روز و (16 ± 1) در شب) قرار داده شدند. جهت تعیین حداکثر غلظت قابل استفاده از علف‌کش‌های مورد آزمون، گیاهچه‌ها در روز دهم یعنی در مرحله ۱۲ زادوکس (در این مرحله برگ اول به‌خوبی توسعه یافته است، برگ دوم نیز ظاهر شده است، سرعت رشد نسبتاً بالاست و تغییرات رشد و نموی به‌طور روزانه مشهود و قابل اندازه‌گیری است) با غلظت‌های سه، چهار، پنج و شش برابر مقدار ماده‌ی فعال^۱ توصیه‌شده در هکتار از علف‌کش‌های انتخابی تیمار شد. مقدار توصیه‌شده علف‌کش متری بوزین در گندم زمستانه و جو، در دامنه ۰/۰۵ تا ۰/۸۴ کیلوگرم ماده‌ی فعال در هکتار گزارش شده است که بر اساس هدف کشت و نوع کولتیوار، این مقدار تغییر می‌کند (Senseman, 2007). برای انجام این آزمون، مقدار متوسط ۰/۴۰ کیلوگرم در هکتار ماده فعال علف‌کش، به‌عنوان مقدار پایه در نظر گرفته شد. مقدار مناسبی از هر علف‌کش انتخابی بر اساس واحد سطح پتری دیش

محاسبه شد و همراه ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به پتری دیش‌ها اضافه شد. اطراف محیط آزمایش، با یک پوشش نایلونی پوشانده شد و روی ریشه گیاهچه‌ها با پرلیت شسته شده پوشش داده شد و با توجه به شرایط دما و رطوبت محیط آزمایش، تبخیر سطحی در حداقل مقدار نگه داشته شد. علف‌کش‌ها به سرعت توسط ریشه و کلئوپتیل گیاهچه‌ها جذب شدند و در مدت زمان بسیار کوتاهی توانستند اثرات خود را به‌خوبی نشان دهند. در غلظت‌های بالا و به‌دلیل نرخ بالای رشد گیاهچه‌ها در اتاقک رشد، علائم وجود سم، ظرف مدت ۴۸ ساعت مشاهده شد. ۷۲ ساعت پس از تیمار و بر اساس پاسخ گیاهچه‌ها، بالاترین سطح غلظت قابل تحمل برای هر علف‌کش تعیین شد و آزمون با همین غلظت ادامه یافت. از هر پتری دیش تحت تیمار با بالاترین سطح غلظت قابل تحمل، ۱۰ گیاهچه کامل به‌طور تصادفی انتخاب شدند و صفات ریخت‌شناختی شامل طول اندام هوایی (سانتی‌متر)، طول ریشه (سانتی‌متر)، طول کلئوپتیل (سانتی‌متر)، وزن تر (گرم) و وزن خشک (گرم) اندام‌های هوایی و ریشه اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری طول اندام هوایی، ریشه و کلئوپتیل، از نرم‌افزار Digimizer استفاده شد و وزن تر و خشک بافت‌ها اندازه‌گیری از ترازوی حساس، تا چهار رقم اعشار محاسبه شد. پس از اندازه‌گیری وزن تر، نمونه‌ها در دستگاه خشک‌کن با جریان هوای فشرده در دمای ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها در دسیکاتور (به‌منظور جلوگیری از جذب رطوبت هوا) قرار گرفتند و یک‌به‌یک، وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. داده‌های آزمون مقدماتی به‌صورت Two Factor ANOVA بدون تکرار و با استفاده از بسته DATAanalyser آنالیز شدند و مقایسه میانگین به روش والر-دانکن و با نسبت کای ۵۰۰، توسط بسته DSASTAT در نرم‌افزار

^۱ Active ingredient

آزمون زیست‌سنجی این آزمایش شامل نه غلظت مختلف در بازه صفر تا پنج برابر مقدار ماده فعال توصیه‌شده در هکتار برای علف‌کش بروموکسینیل+ام‌سی‌پی‌آ (صفر تا سه لیتر ماده فعال در هکتار، صفر تا سه برابر مقدار ماده فعال توصیه‌شده در هکتار) برای علف‌کش‌های توفوردی+ام‌سی‌پی‌آ (صفر تا ۲/۰۲۵ لیتر ماده فعال در هکتار) و صفر تا سه برابر مقدار میانگین ماده فعال توصیه‌شده از علف‌کش متری‌بوزین (صفر تا ۱/۲ کیلوگرم ماده‌ی فعال در هکتار) انجام پذیرفت. غلظت-های مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است.

Excel انجام شد. روش والر- دانکن (Waller & Duncan, 1972) روشی مبتنی بر توزیع بیزین است که از سخت‌گیری معادل با روش دانکن و درجه اعتمادی معادل با روش LSD برخوردار است. نسبت کای ۵۰۰ (نسبت خطای نوع یک به دو) نیز مطابق سطوح آلفا یک درصد در آزمون‌های مقایسه میانگین متداول است. بر اساس نتایج مرحله اول آزمون، یک صفت و یک کولتیوار از میان کولتیوارهای انتخابی به‌عنوان کولتیوار متحمل برای هر سه علف‌کش انتخاب شد و به‌وسیله آن، مرحله دوم آزمون یعنی زیست‌سنجی صورت پذیرفت.

جدول ۱- غلظت‌های به‌کار رفته (برحسب ماده فعال در هکتار) در زیست‌سنجی.

Table 1. Concentrations of applied herbicides (a.i. ha⁻¹) in bioassay.

%	Type of herbicides		
	Bromoxynil +MCPA (L a.i. ha ⁻¹)	2,4-D +MCPA (L a.i. ha ⁻¹)	Metribuzin (kg a.i. ha ⁻¹)
0	0	0	0
1	0.25	0.2	0.2
2	0.5	0.4	0.3
3	0.75	0.6	0.4
4	1.0	0.8	0.5
5	1.25	1.0	0.6
6	1.5	1.25	0.7
7	2.0	1.5	0.8
8	3.0	2.025	1.2

Plot، منحنی دز- پاسخ، بر اساس مدل رگرسیونی و به داده‌های صفت انتخابی، برازش داده شد. تابع این منحنی محاسبه شد و در پایان، «غلظت مؤثر ۵۰ درصد ماده فعال» (غلظت ماده فعال میانه) تعیین شد. این میزان، به غلظتی از سم گفته می‌شود که در نیمه‌راه بین مقدار اولیه و حداکثر، پس از یک زمان معین، منجر به پاسخ می‌شود. می‌توان از غلظت مؤثر ۵۰ درصد ماده فعال برای اندازه‌گیری اثرات سم در سیستم بیولوژیکی بهره برد (Nyman et al., 2015).

پس از انجام محاسبات، در هر پتری دیش، ۱۰ میلی‌لیتر محیط آگار (۰/۰۶ درصد)، حاوی غلظت مشخصی از علف‌کش ریخته شد و پنج بذر جوانه‌دار شده در آن قرار گرفت. این مرحله از آزمون با پنج تکرار انجام شد. پس از ۲۱ روز (مرحله ۱۲ زادوکس در نمونه شاهد)، صفات ریخت‌شناختی طول ریشه، طول اندام هوایی و سطح برگ نمونه‌ها با استفاده از نرم‌افزار Digimizer محاسبه شد. ابتدا تمامی صفات به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار، برای غلظت‌های مختلف علف-کش و با استفاده از بسته DSAATAT در نرم‌افزار Excel تجزیه شدند. سپس با استفاده از نرم‌افزار Sigma

نتایج و بحث

زیست‌سنجی مقدماتی

در زیست‌سنجی مقدماتی، گیاهچه‌ها توانستند تا پنج برابر غلظت توصیه‌شده علف‌کش بروموکسینیل + ام‌سی‌پی‌آ (سه لیتر ماده فعال در هکتار) و سه برابر غلظت ماده فعال توصیه‌شده علف‌کش متری‌بوزین (۱/۲ کیلوگرم در هکتار) را تحمل کنند و روند رشد خود را ادامه دهند. اما در مورد علف‌کش توفوردی + ام‌سی‌پی‌آ، غلظت بالای سه برابر (۲/۰۲۵ لیتر ماده فعال توصیه‌شده از علف‌کش در هکتار)، منجر به خشکیدگی سریع گیاهچه‌ها در کم‌تر از ۲۴ ساعت شد؛ در نتیجه این غلظت از علف‌کش توفوردی + ام‌سی‌پی‌آ، اثرات کشنده روی گیاهچه‌ها داشت و در مورد دو علف‌کش دیگر، دارای اثرات بازدارنده رشد بود. سپس این غلظت‌ها (شامل ۲/۰۲۵ لیتر، ۱/۲ کیلوگرم و ۳ لیتر ماده فعال توصیه‌شده در هکتار، به ترتیب از علف‌کش‌های توفوردی + ام‌سی‌پی‌آ، متری‌بوزین و بروموکسینیل + ام‌سی‌پی‌آ)، به عنوان حداکثر غلظت قابل تحمل در نظر گرفته شد و صفات هدف روی آن‌ها اندازه‌گیری شدند. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر علف‌کش‌های به‌کاربرده شده روی صفات طول اندام هوایی، طول ریشه، طول کلئوپتیل، وزن تر اندام هوایی و وزن تر

ریشه، تفاوت بسیار معنی‌داری ($p \leq 0/001$) داشت. همچنین اختلاف میان کولتیوارهای مختلف برای صفات طول اندام هوایی و طول کلئوپتیل، بسیار معنی‌داری ($p \leq 0/001$) بود و اختلاف معنی‌داری ($p \leq 0/05$) نیز برای صفت وزن تر ریشه و طول ریشه مشاهده شد. در مقابل، این اثرات روی صفت وزن خشک اندام هوایی و ریشه اختلاف معنی‌دار نبود. میانگین صفات معنی‌دار شده در تجزیه واریانس برای سطوح تیماری کولتیوارها و نوع علف‌کش شامل طول اندام هوایی، طول ریشه و طول کلئوپتیل برای سطح تیماری کولتیوار در جدول ۲ و صفات طول اندام هوایی، طول ریشه، طول کلئوپتیل، وزن تر اندام هوایی و وزن تر ریشه برای سطوح نوع علف‌کش در جدول ۳ به صورت (خطای استاندارد \pm میانگین) آمده است.

در جدول‌های ۲ و ۳، میانگین‌هایی که دارای بیش‌ترین مقدار آن صفت بودند و بر اساس روش آزمون مقایسه میانگین والر-دانکن با نسبت کای ۵۰۰، با سایر سطوح تیماری، اختلاف آماری معنی‌دار داشتند، به صورت پررنگ نمایش داده شده است. بر اساس نتایج مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده، اختلاف معنی‌داری میان کولتیوارهای مورد آزمون وجود داشت (جدول ۲).

جدول ۲- میانگین‌های صفات ریخت‌شناختی (میانگین \pm خطای استاندارد) کولتیوارهای مختلف گندم تحت تأثیر علف‌کش‌های مختلف در زیست‌سنجی مقدماتی.

Table 2. Effects of different herbicides on the means of different wheat cultivar morphological traits. (Mean \pm Standard Error) in primary bioassay.

Genotype	Length of coleoptile (cm)	Length of root (cm)	Length of aerial organs (cm)
Bahar	2.90 \pm 0.13	5.97 \pm 1.55	13.58 \pm 1.49
Pishtaz	2.80 \pm 0.47	8.48 \pm 1.81	16.85 \pm 1.66
Shiraz	2.00 \pm 0.46	9.75 \pm 1.34	12.77 \pm 1.63
Roshan	3.76 \pm 0.72	8.86 \pm 2.54	18.52 \pm 2.09
Quds	1.97 \pm 0.29	9.66 \pm 0.43	16.58 \pm 0.99
Chamran	2.27 \pm 0.36	7.49 \pm 0.83	14.27 \pm 2.26
Sepahan	1.93 \pm 0.46	10.58 \pm 1.00	15.52 \pm 1.89

مشاهده اختلاف معنی‌دار میان علف‌کش‌ها، به زمان بیشتری پس از تیمار نیاز است؛ به همین دلیل و نیز به دلیل کند بودن نرخ رشد در محیط کشت آگار،

در مورد تمامی این صفات، علف‌کش‌های به‌کار رفته، اختلاف معنی‌داری نداشتند اما اختلاف آن‌ها با شاهد بدون علف‌کش معنی‌دار بود (جدول ۳). بی‌گمان برای

به شاهد نشان می‌دهد. به‌منظور نمایش بهتر نتایج در جدول ۴، خانه‌های با رنگ خاکستری روشن، مربوط به صفاتی است که بیش‌ترین درصد کاهش نسبت به شاهد را داشتند و خانه‌های با رنگ خاکستری تیره، مربوط به صفاتی است که کم‌ترین درصد کاهش و یا حتی درصد افزایش (نشان داده شده با اعداد پررنگ‌تر) نسبت به شاهد را نشان دادند.

مدت‌زمان بیش‌تری برای بروز اثرات تیمار در مرحله دوم آزمون در نظر گرفته شد. برای نمایش بهتر نتایج، درصد تغییرات صفات مختلف در زیست‌سنجی مقدماتی نسبت به شاهد برآورد شد (جدول ۴). این مقادیر، نسبت درصد تغییرات صفت به شاهد بدون علف‌کش را نشان می‌دهند و مقادیر منفی، نشان دهنده کاهش است و مقادیر مثبت، افزایش آن صفت را نسبت

جدول ۳- اثر علف‌کش‌های مختلف بر میانگین‌های صفات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی (میانگین \pm خطای استاندارد) گیاهچه‌های کولتیوارهای مختلف گندم.

Table 3. Effects of different herbicides on the means of morphological and physiological traits. (Mean \pm Standard Error of different wheat cultivar seedlings in pre-test).

Type of herbicide	Fresh weight of root (g)	Fresh weight of aerial organs (g)	Length of coleoptile (cm)	Length of root (cm)	Length of aerial organs (cm)
Control	1.164 \pm 0.19	1.27 \pm 0.13	3.50 \pm 0.34	12.14 \pm 0.87	20.19 \pm 1.13
Bromoxynil+MCPA	0.727 \pm 0.09	0.75 \pm 0.14	2.46 \pm 0.45	7.59 \pm 1.08	12.99 \pm 0.5
2,4-D+MCPA	0.798 \pm 0.07	0.60 \pm 0.07	2.32 \pm 0.23	7.68 \pm 0.91	14.17 \pm 0.75
Metribuzin	0.858 \pm 0.05	0.56 \pm 0.05	1.79 \pm 0.19	7.32 \pm 0.71	14.41 \pm 1.11

کولتیوار قدس از نظر صفت طول ریشه برای سه علف‌کش، کم‌ترین کاهش (به‌ترتیب ۱۲/۴ و ۵/۴ درصد کاهش و ۸/۴ و ۸/۴ درصد افزایش) و کولتیوارهای روشن (به‌ترتیب ۴۵/۸، ۵۸/۷ و ۷۳/۸ درصد کاهش)، بهار (به‌ترتیب ۵۰/۰، ۶۰/۵ و ۶۳/۱ درصد کاهش) و پیش‌تاز (برای علف‌کش متری‌بوزین ۶۳/۸ درصد کاهش)، بی‌ترین کاهش نسبت به شاهد مشاهده شد. در کولتیوار بهار از نظر صفت طول کلئوپتیل برای سه علف‌کش فوق کم‌ترین کاهش (به‌ترتیب ۱۷/۶، ۰/۱ و ۰/۶ درصد کاهش) و سپاهان، بیش‌ترین کاهش (به‌ترتیب ۶۲/۷، ۴۵/۳ و ۵۶/۱ درصد کاهش) نسبت به شاهد مشاهده شد.

کولتیوار قدس از نظر صفت طول اندام هوایی برای سه علف‌کش متری‌بوزین، توفوردی + ام‌سی‌پی‌آ و بروموکسینیل + ام‌سی‌پی‌آ (به‌ترتیب ۱۹/۴، ۲۲/۱ و ۱۸/۹ درصد کاهش) و کولتیوار شیراز برای دو علف‌کش متری‌بوزین و توفوردی + ام‌سی‌پی‌آ (به‌ترتیب ۱۲/۳، ۵/۵ و ۴۷/۴ درصد کاهش)، کم‌ترین کاهش را در میان کولتیوارهای مورد بررسی داشتند و برای سه علف‌کش متری‌بوزین، توفوردی + ام‌سی‌پی‌آ و بروموکسینیل + ام‌سی‌پی‌آ، کولتیوار چمران (به‌ترتیب ۴۳/۳، ۳۷/۶ و ۴۶/۷ درصد کاهش) و پس از آن سپاهان، بیش‌ترین کاهش (به‌ترتیب ۳۲/۶، ۳۵/۷ و ۳۸/۰ درصد کاهش) نسبت به شاهد را نشان دادند. در

جدول ۴- اثر علف‌کش‌های مختلف بر درصد تغییرات صفات مختلف نسبت به شاهد در کولتیوارهای گندم در زیست‌سنجی مقدماتی.

Table 4- Effects of different herbicides on percentage of different wheat cultivar trait changes compared to control in primary bioassay.

Genotype	Fresh weight of root (g)			Fresh weight of aerial organs (g)			Length of coleoptile (cm)			Length of root (cm)			Length of aerial organs (cm)		
	Bromoxynil + MCPA	2,4-D+ MCPA	Metribuzin	Bromoxynil + MCPA	2,4-D+ MCPA	Metribuzin	Bromoxynil + MCPA	2,4-D+ MCPA	Metribuzin	Bromoxynil + MCPA	2,4-D+ MCPA	Metribuzin	Bromoxynil + MCPA	2,4-D+ MCPA	Metribuzin
Bahar	-1.0	-49.6	-47.6	-1.3	-60.5	-63.6	-0.6	-0.1	-17.6	-63.1	-60.5	-50.0	-35.5	-32.9	-29.7
Pishtaz	-61.0	-58.5	-29.3	-29.3	-49.6	-60.1	0.8	-34.4	-52.1	-30.9	-48.4	-63.8	-29.8	-31.8	-29.7
Shiraz	-36.6	-26.5	-24.6	-71.3	-34.1	-49.8	-61.9	-20.4	-57.9	-19.8	-46.9	-35.8	-47.4	-5.5	-12.3
Roshan	-48.3	-14.5	-19.5	-42.7	-68.5	-61.8	-20.9	-42.1	-61.5	-73.8	-58.7	-45.8	-35.6	-35.4	-28.6
Quds	-2.1	15.4	9.5	-49.9	-61.9	-25.1	-36.3	-35.7	-46.7	8.4	-5.4	-12.4	-18.9	-22.1	-19.4
Chamran	-26.9	31.5	24.9	-11.9	-50.7	-52.0	-43.2	-49.3	-32.2	-35.3	-14.7	-36.0	-46.7	-37.6	-43.3
Sepahan	-56.1	-58.5	-51.5	-72.8	-36.8	-68.4	-56.1	-45.3	-62.7	-33.4	-7.5	-26.9	-38.0	-35.7	-32.6

به شاهد را نشان دادند.

بر اساس نتایج آزمون زیست‌سنجی مقدماتی، با اندازه‌گیری صفات مختلف، پاسخ‌های متنوع و نسبتاً معنی‌داری در میان کولتیوارها نسبت به علف‌کش‌های انتخابی مشاهده شد که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی میان کولتیوارهای مورد استفاده است. غربال‌گری در برنامه‌های به‌نژادی گیاهان زراعی، بر پایه تنوع ژنتیکی است و انتخاب تنها امکان‌پذیر است که تنوع وجود داشته

صفت وزن تر اندام هوایی در میان کولتیوارهای مورد بررسی متغیر بود. در کولتیوارهای قدس (به‌ترتیب ۹/۵ و ۱۵/۴ درصد افزایش و ۲/۱ درصد کاهش) و چمران (به‌ترتیب ۲۴/۹ و ۳۱/۵ درصد کاهش و ۲۶/۹ درصد کاهش)، صفت وزن تر ریشه کم‌ترین کاهش را نسبت به شاهد داشتند و سپاهان (به‌ترتیب ۵۱/۵، ۵۸/۵ و ۵۶/۱ درصد کاهش) و پس‌از آن پشتاز (به‌ترتیب ۲۹/۳، ۵۸/۵ و ۶۱/۰ درصد کاهش)، بیش‌ترین کاهش نسبت

طول اندام هوایی و طول ریشه در مرحله دوم آزمون زیست‌سنجی، تحت تیمارهای بروموکسینیل+ام‌سی‌پی‌آ، توفوردی+ام‌سی‌پی‌آ و متری‌بوزین در سطح یک درصد معنی‌دار شدند که بیانگر آن است که از تمامی این صفات می‌توان برای برآزش رگرسیونی استفاده نمود. از طرفی و بر اساس این نتایج برای صفات فوق، اختلاف معنی‌داری میان غلظت‌های مختلف علف‌کش وجود داشت و در نتیجه از این غلظت‌ها جهت برآورد مدل زیست‌سنجی استفاده شد.

در مورد صفت طول اندام هوایی، همانند نتایج مرحله اول آزمون، میان علف‌کش‌های استفاده شده نسبت به شاهد و نیز میان کولتیوارها، اختلاف بسیار معنی‌داری برای این صفت مشاهده شد و میزان پاسخ برای هر کولتیوار در سطوح تیماری مورد آزمون برای این صفت تقریباً مشابه بود. همچنین این صفت در مرحله دوم آزمون، برآزش بهتری از مدل را نشان داد؛ از این رو، از داده‌های مربوط به صفت طول اندام هوایی برای ادامه آزمون زیست‌سنجی و ترسیم منحنی دز-پاسخ برای این صفت استفاده شد.

برآورد مدل با استفاده از نتایج آزمون زیست‌سنجی بذر برای یافتن مدل رگرسیونی، ابتدا داده‌ها به‌صورت درصد نسبت به شاهد تبدیل شدند و سپس برای مدل-های خطی و غیرخطی در نرم‌افزار Sigma Plot مورد آزمون قرار گرفتند و در نهایت مدلی که بهترین برآزش را داشت انتخاب شد. برای هر سه علف‌کش، بهترین مدل، رگرسیون غیرخطی به‌صورت سیگموئیدی-لجستیک سه پارامتری با برآزش بالای ۹۸ درصد و سطح معنی‌داری بسیار بالا برای هر یک از اجزای مدل بود (جدول ۵). این مدل بر پایه رابطه ۱ تعریف شده است.

$$f = \frac{a}{1 + \left| \frac{X-b}{X_0} \right|} \quad \text{رابطه ۱}$$

که در آن، a ، b و X_0 به ترتیب حد بالای منحنی پاسخ، شیب منحنی در نقطه a و دز بیان‌کننده‌ی غلظت مؤثر

باشد. از این رو می‌توان کولتیوارهای احتمالاً حساس و متحمل را تفکیک نمود و انتخاب کرد. نتایج این پژوهش با نتایج بکی و همکاران (Beckie, et al., 1990) در زمینه امکان تفکیک بیوتایپ‌های حساس و مقاوم به تری‌فلورالین در علف‌هرز دم‌روبه بر اساس صفات طول ریشه و طول ساقه و ویلارویا و همکاران (Villarroya, et al., 1997) در مشاهده تنوع ژنتیکی روی گیاهچه‌های ۱۰ روزه بذر گندم، جو و *Bromus diandrus* به‌روش آب‌کشت (هیدروپونیک) و تحت تیمار سولفونیل اوره مطابقت داشت. اسکولریال و همکاران (Escorial, et al., 2001) با استفاده از روش رگرسیون لجستیک در زیست‌سنجی، اندازه‌گیری طول کلئوپتیل در گندم و جو در پاسخ به گلیفوسیت را به‌عنوان یک پاسخ سریع در انتخاب لاین-های حساس و متحمل به این علف‌کش معرفی نمودند زیرا این روش به چهار تا پنج روز زمان نیاز دارد در حالی‌که استفاده از گیاه کامل، نیازمند ۳۰ تا ۴۵ روز است. آنان همچنین شاهد وجود تنوع ژنتیکی در میان لاین‌های مورد استفاده بودند. با توجه به این‌که صفات طول اندام هوایی، طول ریشه و وزن تر ریشه کولتیوار قدس، تحت تأثیر علف‌کش مورد استفاده در آزمون مقدماتی نسبت به سایر کولتیوارها، کم‌ترین کاهش را داشتند، از این رو از این کولتیوار به‌عنوان متحمل‌ترین کولتیوار در میان کولتیوارهای انتخابی جهت کشت در مرحله دوم آزمون استفاده شد. کولتیوارهای سپاهان و چمران برای سه علف‌کش مورد استفاده، در رده‌ی حساس‌ترین کولتیوارها در میان کولتیوارهای انتخابی قرار گرفتند.

آزمون زیست‌سنجی بذر

در این مرحله از آزمون، از کولتیوار قدس برای زیست-سنجی بذر استفاده شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تمامی صفات مورد اندازه‌گیری شامل طول کل گیاهچه (طول اندام هوایی + طول ریشه)، سطح برگ،

بود. بر اساس نتایج جدول ۵، مقدار غلظت مؤثر ۵۰ درصد ماده فعال علف‌کش‌های مورد استفاده شامل بروموکسینیل+ام‌سی‌پی‌آ، توفوردی+ام‌سی‌پی‌آ و متری-بوزین به ترتیب ۰/۵۱۷ و ۰/۰۹۸ و ۰/۲۸۵ کیلوگرم برآورد شد.

۵۰ درصد ماده فعال می‌باشند. مقادیر هریک از اجزای مدل‌ها در جدول ۵ آمده است. با توجه به معنی‌داری هریک از اجزای مدل، تجزیه رگرسیون برای مدل غیرخطی سیگموئیدی-لجستیک سه پارامتری انجام شد که تجزیه واریانس مدل رگرسیونی فوق بسیار معنی‌دار

جدول ۵- ضرایب مدل رگرسیون غیرخطی سیگموئیدی-لجستیک سه پارامتری و میزان برازش مدل به علف‌کش‌های مختلف.

Table 5- Coefficients of 3-parameter sigmoid-logistic nonlinear regression model and fitness of model to different herbicides

Type of herbicide	R	R-square	Adjust R-square	Standard Error
Bromoxynil+MCPA	0.983	0.967	0.956	±6.08
2,4-D+MCPA	0.995	0.990	0.987	±3.42
Metribuzin	0.994	0.989	0.986	±3.74
		Coefficient	standard Error	t-test
Bromoxynil +MCPA	a	98.77	±6.02	16.40***
	b	1.19	±0.18	6.49***
	x ₀	0.52	±0.09	6.24***
2,4-D+MCPA	a	99.93	±3.42	29.25***
	b	0.98	±0.14	6.75***
	x ₀	0.10	±0.02	4.19***
Metribuzin	a	100.28	±3.70	27.09***
	b	2.27	±0.20	11.23***
	x ₀	0.29	±0.02	18.36***

خواهد. همچنین هرچه از بافت‌های جزئی‌تر گیاه مانند دیسک‌های برگ‌گی و یا حتی کشت سلولی در مقایسه با گیاه کامل استفاده شود، میزان حساسیت بیشتر خواهد شد (Olofdotter *et al.*, 1994). به همین دلیل، در این آزمون برای نزدیک‌تر شدن نتایج زیست‌سنجی به نتایج مزرعه‌ای مورد انتظار، از زیست‌سنجی بذر استفاده شد. از این رو، بخشی از نتایج این پژوهش به نتایج پژوهش ایزدی‌دربندی (Eizadi-Darbandi *et al.*, 2013) که در شرایط مزرعه و در مرحله سه تا چهار برگ‌گی گندم و جو انجام شده بود، نزدیک است و اندک اختلاف مشاهده شده می‌تواند ناشی از تفاوت در شرایط انجام آزمایش‌ها و ماهیت آن‌ها باشد. بر اساس کارهای انجام شده با استفاده از غلظت مؤثر به‌دست‌آمده برای علف‌کش متری‌بوزین و مقادیر توصیه شده ماده فعال در هکتار برای دو علف‌کش بروموکسینیل+ام‌سی‌پی‌آ و توفوردی+ام‌سی‌پی‌آ در این پژوهش و بررسی تأثیرات ریخت‌شناختی، فیزیولوژیکی و زیست-شیمیایی، میان کولتیوارهای مورد آزمون، اختلاف

به‌علت حساسیت گندم در مراحل اولیه رشد و مراحل زایشی به علف‌کش‌های خانواده اکسین‌های مصنوعی مانند توفوردی و ام‌سی‌پی‌آ، مقدار غلظت مؤثر ۵۰ درصد ماده فعال برآورده شده، بسیار کم‌تر از مقدار توصیه‌شده (۰/۶۷۵ تا ۱/۳۵ گرم ماده فعال در هکتار) برای این نوع علف‌کش‌هاست درحالی‌که مقدار برآورد شده برای بروموکسینیل+ام‌سی‌پی‌آ در میانه مقدار توصیه‌شده (۰/۳ تا ۰/۸ کیلوگرم ماده فعال در هکتار) برای این علف‌کش قرار گرفت.

بر اساس پژوهش ایزدی‌دربندی و همکاران (Eizadi-Darbandi *et al.*, 2013) روی علف‌کش متری‌بوزین، غلظت مؤثر پنجاه درصد ماده فعال در هکتار برای کولتیوارهای انتخابی در این پژوهش (به‌جز کولتیوار شیراز)، از دامنه ۰/۱۲۲ تا ۰/۱۲۲ کیلوگرم ماده فعال در هکتار برای کولتیوار چمران و بعد از آن ۰/۱۹۵ کیلوگرم ماده فعال در هکتار برای سپاهان تا ۰/۲۶۹ کیلوگرم ماده فعال در هکتار برای کولتیوار قدس متغیر بود. مسلماً حساسیت گیاهان در زیست‌سنجی نسبت به شرایط مزرعه بیش‌تر

و نیز زیست‌سنجی، به‌عنوان یک رقم متحمل به علف کش‌های انتخابی متری‌بوزین، توفوردی+ام‌سی‌پی‌آ و بروموکسینیل+ام‌سی‌پی‌آ انتخاب شود. از این‌رو انتظار می‌رود که در برنامه‌های به‌نژادی، با استفاده از روش زیست‌سنجی در آزمایشگاه در مقایسه با کشت مزرعه-ای، بتوان در کوتاه‌ترین زمان، میزان تحمل یا حساسیت به علف‌کش‌های مختلف را در گیاهان زراعی از جمله گندم ارزیابی و غربال نمود.

معنی‌داری مشاهده شد و در میان آن‌ها، دوباره کولتیوارهای قدس و سپاهان، به ترتیب متحمل‌تر و حساس‌تر بودند (Abbasyan, In press).

نتیجه‌گیری کلی

صفت طول اندام هوایی، یکی از صفات مطلوب برای آزمون زیست‌سنجی بذر است و در میان ارقام مورد بررسی، رقم قدس توانست در زیست‌سنجی مقدماتی

منابع

- Abbasyan, S., Peyghambari S.A., Bihanta, M.R., Alizadeh, H., and Maalee-Ammiri, R. In press. Molecular assessment of tolerance to the xenobiotic effects of herbicides in wheat. Ph.D. thesis, (In persian) Tehran University, 259 Pp.
- Agatonovic-kustrin, S., Morton, D.W. and Yusof, A.P. 2015. Thin-layer chromatography - bioassay as powerful tool for rapid identification of bioactive components in botanical extracts modern chemistry and applications. *Modern Chem. Appl.* 3(1): 1–2.
- Aliotta, G. and Cafiero, G. 2001. Handbook of plant ecophysiology techniques: Chapter 1: seed bioassay and microscopy in the study of allelopathy: radish and purslane responses. Netherlands. Kluwer Ac. Pub. 2: 1–2.
- Beckie, H.J., Friesen, L.F., Nawolsky, K.M. and Morrison, I.N. 1990. A rapid bioassay to detect trifluralin-resistant green foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Technol.* 4(3): 505–8.
- Bolan, B., Grote, S., Miller, D., Simpson, M., Stahr, M. and Stimpson, D. 2018. Herbicide bioassay study guide, Society of Commercial Seed Technologists, Herbicide Bioassay Working Group. <http://www.analyzeseeds.com>. Accessed September 12, 2018.
- Castro, M.C., Bedmar, F., Monterubbianesi, M. G., Peretti, A. and Barassi, C. A. 2002. Determine of chlorimuron and metsulfuron residues in two soil of Argentina using a rapid seed-bioassay. *Environ. Biol.* 23(4): 353-358.
- Eizadi-Darbandi, A., Chitband, A.A., Abbasyan, A. and Heidare, M. 2013. Evaluation of tolerance of wheat and barley cultivars to the use of metribuzin herbicide. *Iranian J. Agric. Res.* 1: 161–152. (In persian).
- Escorial, M.C., Sixto, H. García-Baudín, M. and Chueca, M.C. 2001. A rapid method to determine cereal plant response to glyphosate a rapid method to determine cereal plant response to glyphosate. *Weed Technol.* 15(4): 697–702.
- Eyer, L., Vain, T., Pařízková, B., Okleštková, J., Barbez, E., Kozubíková, H., Pospíšil T., Wierzbicka R., Kleine-Vehn J., Fránek M., Strnad M., Robert S., and Novak O. 2016. 2,4-D and IAA acid conjugates show distinct metabolites in Arabidopsis. *Plos One.* 11(7): 1–18.
- Gherekhloo, J., Hasan, M., Mohassel, R. and Mahallati, M.N. 2008. Seed bioassay and ACCase enzyme assay to study the resistance of *Phalaris minor* to aryloxyphenoxy-propionate (APP) inhibitors. *Environ. Sci.* 6(1): 43–52.
- Goyal, R.K. 2008. Principles and methods of bioassay. *Pharmacol:* 1–27.
- Hemanta, M.R., Mane, V.K. and Bhagwat, A. 2014. Analysis of traditional food additive kolakhar for its physico-chemical parameters and antimicrobial activity. *J. Food Process Technol.* 5(11): 10–11.
- Nyman, E., Lindgren, I., Lövfors, W., Lundegård, K., Cervin, I., Arbring, T., Altimatas, J. and Cedersund, G., 2015. Mathematical modeling improves EC50 estimations from classical dose–response curves, *F.E.B.S. J.* 5(282): 951-962.
- Olofdotter, M., Olesen, A., Anderson, S.B., Streibi, J.C., Olofdotter, M., Olesen and *et al.*, 1994. A compare of herbicide bioassays in cell cultures and whole plants. *Weed Res.* 34(6): 387–394.
- Panuganti, S.J. 2015. Principles involved in bioassay by different methods: a mini-review. *Res. Rev.: Res. J. Biol.* 3(2): 1–18.
- Raj Kumar, S., Rao Veerabhadra, K. and Srivastava, G.C. 2002. Differential response of wheat genotypes

- to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Sci.* 163(5): 1037–46.
- Saha, G.M. 2002. Design and analysis for bioassays. *Indian Stat. Inst. Kolkata.* 25(29): 61–76.
- Sandall, L. 2018. Root absorption and xylem translocation. *Plant and Soil Sci.* eLib. Department of Agronomy and Horticulture, University of Nebraska, Lincoln. <http://passel.unl.edu/pages/informationmodule.php?idinformationmodule=1057703469&topicorder=5&maxto=6.htm>. Accessed September 12, 2018.
- Sandín-españa, P., Loureiro, I. and Escorial, C. 2011. *Herbicides, theory and applications.* 1th edn, India, In Tech.: 610 Pp.
- Schulze, E.D., Beck, E. and Müller-Hohenstein, K. 2005. *Plant ecology.* 1th edn. Germany, Springer Berlin, Heidelberg. 692 Pp.
- Senseman, S.A. 2007. *Herbicide Handbook.* 9th edition, Weed Sci. Society of America, Champaign: 159-161.
- Villarroya, M., Escorial, M.C., Garcia-Baudin, J.M. and Chueca, M.C. 2000. Inheritance of tolerance to metribuzin in durum wheat. *Weed Res.* 40(3): 293–300.
- Villarroya, M., Escorial, M.C., Garcia-Baudin, J.M. and Chueca, M.C. 1997. Glasshouse and laboratory response of some species of cereals and *Bromus diandrus* to the new herbicide MON 37500". *Brighton Crop Prot.Conf. Weeds* 3: 1037-1042.
- Waller, R.A. and Duncan, D.B. 1972. A bayes rule for the symmetric multiple comparison problem. *J. Am. Stat. Assoc.* 67: 253–255.
- Wang, H., Li, J., Lu, B., Zhu, X., Lou, Y. and Dong, L. (2014). Target-site mechanisms involved in annual bluegrass (*Poa Annua* L.) tolerance to fenoxaprop-p-ethyl. *J. Agric. Sci. Tech.* 15(9): 1457–1465.