مجله دانش علف‌های‌هرز
دورهٔ ۱۶، شمارهٔ ۲، ۱۳۹۹ (ص ۱۶۸-۱۵۵)

Iranian Journal of Weed Science
Vol 16, No 2, 2021 (155-168)
DOI: 10.22092/ijws.2020.128343.1355

شناسایی توده‌های علف خونی سنبله کوتاه (*Phalaris brachystachys* Link.) مقاوم به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase به روش زیست‌سنجی بذر

ساجده گل محمد زاده[۱]، جاوید قرخلو*[۲]، بهنام کامکار[۳]، فرشید قادری فر[٤]،آنتونیا روخانو-دلگادو[٥]، ماریا اسونا[٦]، رافائل دپرادو[۷]

۱و۲و۳و٤- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار، استاد و دانشیار، گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ٥و۷- محقق و استاد، گروه شیمی کشاورزی، دانشگاه کوردوبا اسپانیا، ٦- محقق، مرکز تحقیقات علمی و فناوری اکسترمادورا، باداخوز، اسپانیا.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۸/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۲/۱٤)

چکیده

به‌منظور پی‌جویی مقاومت علف خونی سنبله کوتاه (*Phalaris brachystachys*) به علف‌کش‌های بازدارنده استیل کو آنزیم A کربوکسیلاز در مزارع گندم استان گلستان، ۴۳ توده مشکوک به مقاومت از مناطق مختلف و یک توده حساس از منطقه‌ای بدون سابقه مدیریت شیمیایی در سال ۱۳۹۷ جمع‌آوری شدند. این آزمایش در سه مرحله شامل تعیین غلظت تفکیک‌کننده برای توده حساس، غربال توده‌های مشکوک به مقاومت *P. brachystachys* با غلظت تفکیک‌کننده و آزمایش غلظت-پاسخ در سال ۱۳۹۷ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان اجرا شد. بر اساس آزمایش زیست‌سنجی بذر انجام‌شده، غلظت‌تفکیک‌کننده برای کلودینافوپ پروپارژیل، دیکلوفوپ متیل، هالوکسی فوپ-آر-متیل، سیکلوکسیدیم و پینوکسادن، به‌ترتیب ۰/۰۲، ۱/۳۶، ۰/۰۳، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ میلی‌گرم ماده مؤثر در لیتر برآورد شد. در آزمایش غربال توسط غلظت تفکیک‌کننده، به‌ترتیب ۳۶ (۸۴ درصد)، ۳۶ (۸۴ درصد)، ۱۹ (۴۴ درصد)، ۲۳ (۵۳ درصد) و ۲۱ (۴۸ درصد) بیوتیپ به‌عنوان بیوتیپ‌های مقاوم به علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، دیکلوفوپ متیل، هالوکسی فوپ-آر-متیل، سیکلوکسیدیم و پینوکسادن تعیین شدند. به‌طورکلی نتایج نشان داد که بیوتیپ‌های موردبررسی، از نظر مقاومت به گروه‌های مختلف علف‌کش‌های بازدارنده ACCase، الگوهای متنوعی داشتند. همچنین نتایج آزمون غلظت-پاسخ نشان داد که از میان ۴۳ توده مشکوک به مقاومت، ۱۹ بیوتیپ دارای مقاومت عرضی به هر پنج علف‌کش موردمطالعه بودند.

کلمات کلیدی: آزمون غربالگری، درجه مقاومت، غلظت-پاسخ، غلظت تفکیک‌کننده.

Identifying short-spike canarygrass (*Phalaris brachystachys*) accessions resistant to ACCase-inhibiting herbicides using seed bioassay technique

Sajedeh Golmohammadzadeh[1], Javid Gherekhloo*[1], Behnam Kamkar[1], Farshid Ghaderi-Far[1], Antonia Rojano-Delgado[2], Maria Osuna[3] and Rafael De Prado[2]

1. Department of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,
2. Department of Agricultural Chemistry and Soil Science, University of Córdoba, Spain, 3. Center for Scientific and Technological Research of Extremadura (CICYTEX), Badajoz, Spain.

(Received: November 4, 2019 - Accepted: May 3, 2020)

ABSTRACT

In order to investigate the resistance of short spike canarygrass (*Phalaris brachystachys*) biotypes to acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides in wheat fields of Golestan province, 43 suspected resistance were collected from different areas in 2018. The susceptible biotype was also collected from regions with no chemical control record. The study was carried out in three steps including determination of discriminating concentration for susceptible biotype, screening *P. brachystachys* biotypes with the discriminating concentrations, and concentration-response experiment for suspected resistant biotypes at Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources in 2018. According to the seed bioassay test, the discriminating concentration of sensitive biotype for clodinafop propargyl, diclofop methyl, haloxyfop-r-methyl, cycloxydim and pinoxaden were 0.02, 1.36, 0.03, 0.06 and 0.08 mg a.i.L-1, respectively. In the screening test using the discriminating concentration, 36 (84%), 36 (84%), 19 (44%), 23 (53%) and 21 (48%) out of 43 biotypes were identified as suspected resistant to clodinafop propargyl, diclofop methyl, haloxyfop-R-methyl, cycloxydim and pinoxaden, respectively. In general, the results showed that the studied biotypes had different patterns in terms of resistance to different groups of ACCase-inhibiting herbicides. The results of the concentration-response test also showed that among 43 suspected resistant, 19 biotypes were resistant to all five herbicides.

Keywords: Concentration-response, discriminating concentration, screening test, seed bioassay, resistance factor.

* Corresponding author E-mail: Gherekhloo@gau.ac.ir

مقدمه

باوجود شرایط اقلیمی متنوع ایران، گندم به‌عنوان غذای اصلی مردم کشور تقریباً در تمام نقاط کشور کشت می‌شود، به‌گونه‌ای که از ۱۰/۹۹ میلیون هکتار سطح زیر کشت محصولات زراعی در سال ۱۳۹۷، حدود ۵/۹۳ میلیون هکتار (٤۹/٤٦ درصد) به کشت گندم اختصاص یافته است که این موضوع، بیانگر اهمیت این محصول در بخش کشاورزی کشور است (Ahmadi *et al*., 2019). تاکنون بالغ بر ۳۰ علف‌کش برای کنترل علف‌های‌هرز گندم ثبت‌شده است که اکنون از این تعداد، ۲۰ علف‌کش (شش بارک‌برگ‌کش، نه پهن‌برگ‌کش و پنج علف‌کش دومنظوره) برای کنترل علف‌های‌هرز مزارع گندم کشور مورداستفاده قرار می‌گیرد (Zand *et al*., 2020). متأسفانه استفاده مکرر و غیراصولی از علف‌کش‌هایی با نحوه عمل یکسان، سبب بروز پدیده مقاومت به علف‌کش شده است. تا سال ۲۰۲۰ میلادی، ۵۱۲ گونه علف‌هرز مختلف شامل ۲٦٦ گونه دولپه و ۲٤٦ گونه تک‌لپه در ۷۸ محصول در ۷۲ کشور جهان به علف‌کش‌ها مقاوم شده‌اند (Heap, 2020). این مشکل سبب بروز نگرانی برای کشاورزان، محققین و شرکت‌های تولیدکننده علف‌کش شده است. علف‌کش‌های بازدارنده استیل کو آنزیم آ کربوکسیلاز (ACCase)، به‌شکل گسترده‌ای به‌صورت علف‌کش های انتخابی پس رویشی برای کنترل علف‌های‌هرز باریک‌برگ در محصولات زراعی پهن‌برگ و نیز باریک‌برگ مورداستفاده قرار می‌گیرند. علف‌کش‌های این گروه که اولین بار در سال ۱۹۷۰ معرفی شدند، به‌دلیل مقدار مصرف کم، کارایی بالا، انتخابی بودن در محصولات مختلف و طیف گسترده کنترل علف‌های‌هرز، به‌طور وسیعی در گیاهان مختلف به کار می‌روند (Hochberg *et al*., 2009). از یک‌سو افزایش مصرف این گروه علف‌کش‌ها (به دلیل کنترل مؤثر و اقتصادی علف‌های‌هرز) و از طرف دیگر، بروز سریع مقاومت نسبت به این خانواده از علف‌کش‌ها، سبب افزایش بروز مقاومت به بازدارنده‌های ACCase شده است(Gherekhloo *et al*., 2016)، به‌طوری‌که بر اساس گزارش‌ها، هم‌اکنون ٤۹ مورد مقاومت به این خانواده در دنیا گزارش‌شده است (Heap, 2020).

اولین گام و یکی از مهم‌ترین گام‌ها در مدیریت علف‌های‌هرز مقاوم، شناسایی آن‌ها می‌باشد و برای یک تشخیص صحیح و کارآمد، نیاز به آزمون‌های سریع، دقیق، ارزان و آسان است (Tatari *et al*., 2018). در ارزیابی مقاومت به علف‌کش‌ها، زمان لازم جهت تعیین بروز مقاومت در توده‌ها از جنبه مدیریت مقاومت، بسیار مهم می‌باشد (Beckie *et al*., 2000). بر این اساس، محققین به دنبال روش‌های سریع برای ارزیابی مقاومت بوده‌اند و در این راستا، روش‌هایی نظیر آزمایش‌های پتری دیش، جوانه‌زنی دانه گرده، سنجش آنزیمی و روش‌های مولکولی ابداع و مورداستفاده قرارگرفته است (Borgus *et al*., 2013). محققان مختلفی از روش زیست‌سنجی بذر در شناسایی توده‌های مشکوک به مقاومت به بازدارنده‌های ACCase استفاده کرده‌اند (Yang *et al*., 2007; Najari *et al*., 2013, Tatari *et al*., 2018). از زیست‌سنجی بذر برای تشخیص توده‌های مقاوم چچم (*Lolium rigidum*)، فالاریس (*P. minor*) و دم روباهی کشیده(*Alopecurus myosuroides*) به علف‌کش‌های دیکلوفوپ متیل، فنوکساپروپ پی اتیل و کلودینافوپ پروپارژیل استفاده شده است (Tal *et al*., 2000).

امروزه مدیریت علف‌های‌هرز مقاوم به علف‌کش، یکی از چالش‌های مهم در مدیریت علف‌های‌هرز است. در این راستا، کاهش فشار انتخاب، به‌عنوان اصلی‌ترین راهکار برای به تعویق انداختن یا جلوگیری از گسترش

علف‌های‌هرز مقاوم مطرح است (Gherekhloo *et al*., 2016). مدیریت علف‌های‌هرز مقاوم، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، به‌طوری‌که اطلاع از ظهور بیوتیپ‌های جدید و شناسایی محل ظهور و گستردگی نواحی آلوده، از اصول اولیه مدیریت این بیوتیپ‌ها به شمار می‌رود. در حال حاضر در ایران، سطح آلودگی به علف‌های‌هرز مقاوم به علف‌کش در محصولات زراعی مختلف، به‌ویژه گندم رو به افزایش است. با توجه به نارضایتی کشاورزان در برخی از مزارع گندم استان گلستان، این تحقیق با هدف استفاده از آزمون سریع برای غربال توده‌های مشکوک به مقاومت علف خونی سنبله کوتاه، تعیین غلظت تفکیک‌کننده و درجه مقاومت بیوتیپ‌های مقاوم اجرا شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و محل اجرا

پژوهش حاضر در سال ۱۳۹۷ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. در این پژوهش، بذرهای علف خونی سنبله کوتاه مشکوک به مقاومت از مزارع گندم پنج شهرستان استان گلستان شامل علی‌آباد (۳۰ توده)، کردکوی (سه توده)، بندر ترکمن (سه توده)، گرگان (چهار توده)، رامیان (سه توده) و نیز یک توده به‌عنوان توده حساس از منطقه‌ای که سابقه هیچ‌گونه مدیریت، خصوصاً مدیریت شیمیایی نداشتند (حاشیه باغات)، جمع‌آوری شد. بذور گیاهان مشکوک به مقاومت از مزارعی جمع‌آوری شد که کشاورزان از کارایی باریک‌برگ‌کش‌های رایج مورد استفاده در مزارع گندم رضایت نداشتند و حداقل چهار تا پنج سال سابقه کاربرد یکی از علف‌کش‌های بازدارنده ACCase مانند دیکلوفوپ متیل یا کلودینافوپ پروپارژیل را داشتند و پس از مصرف یکی از علف‌کش‌های فوق، هنوز هم مزرعه به علف‌هرز علف خونی سنبله کوتاه آلوده بود. توده‌های جمع‌آوری شده بر اساس نام شهر کدگذاری شدند (علی‌آباد (AL)، گرگان (G)، کردکوی (Kr)، رامیان (Rm)، بندر ترکمن (B) و حساس (S)).

آماده‌سازی و جوانه‌زنی بذرها

به‌منظور یکنواختی در جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهچه ها، ابتدا بذرها جوانه‌دار شدند تا واریانس ناشی از عدم هم‌زمانی جوانه‌زنی به حداقل مقدار خود برسد. بدین منظور، ابتدا بذرهای هر توده به مدت ۳/۵ دقیقه در سولفوریک اسید غلیظ (۹۸٪) غوطه‌ور شدند و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند (Golmohammadzadeh, 2020). پس از اعمال تیمار رفع خواب، بذرهای هر توده بر روی کاغذ صافی در پتری دیش‌هایی به قطر ۱۲ سانتی‌متر قرار داده شدند. به هر پتری دیش مقدار هشت میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و پس از آن، به انکوباتور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد (شرایط تاریکی و رطوبت ٦٥ درصد) منتقل شدند. در نهایت، بذرهای جوانه‌زده جدا شدند و در آزمون زیست‌سنجی بذر در پتری دیش مورد استفاده قرار گرفتند. معیار جوانه‌زنی، خروج ریشه‌چه و رسیدن طول آن به یک میلی‌متر در نظر گرفته شد (Burgos, 2015). در این تحقیق، از پنج علف‌کش بازدارنده ACCase استفاده شد که مشخصات علف کش‌های مورد آزمایش در این مطالعه، در جدول ۱ خلاصه شده است.

تعیین غلظت تفکیک‌کننده در توده حساس

به‌منظور تعیین غلظت تفکیک‌کننده برای علف هرز علف خونی سنبله کوتاه، نه غلظت برای هر علف‌کش در نظر گرفته شد (جدول ۲). لازم به ذکر است که جهت انتخاب غلظت‌های مناسب هر علف‌کش، ابتدا چندین غلظت به‌صورت تجربی بر روی بیوتیپ حساس اعمال شد و بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، غلظت‌های مربوطه در نظر گرفته شد. بذرهای بیوتیپ های مقاوم و حساس علف خونی سنبله کوتاه بلافاصله

بعد از جوانه‌زنی، به پتری دیش‌هایی به قطر نه سانتی‌متر و حاوی یک لایه کاغذ واتمن (شماره ۱) منتقل شدند. در هر پتری دیش، ۱۰ بذر با آرایشی منظم قرار داده شد. سپس برای هر غلظت علف‌کش در هر پتری دیش، پنج میلی‌لیتر محلول علف‌کش و برای تیمار شاهد پنج میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. این آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار بر روی بذور توده حساس (S) انجام شد. پتری دیش‌ها در انکوباتور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد (شرایط تاریکی و رطوبت ٦٥ درصد) قرار داده شدند و بعد از هفت روز، طول ساقه‌چه‌ها اندازه‌گیری شد و به‌صورت درصد نسبت به شاهد محاسبه شد.

جدول ۱- مشخصات علف‌کش‌های مورد آزمایش

Table 1. Characteristics of the studied herbicides

Common name	Trade name	Mode of action	Formulation	Manufacturer, city, Country	Field dose (per hectare)
Clodinafop-propargyl	Topik	ACCase inhibitor (Fop)	8% EC*	Kavosh, Kerman, Iran	0.8-1
Diclofop- methyl	Iloxan	ACCase inhibitor (Fop)	36% EC	Kavosh, Kerman, Iran	2.5
Haloxyfop-r-methyl	Galant super	ACCase inhibitor (Fop)	10.8% EC	Kavosh, Kerman, Iran	0.75
Pinoxaden	Axial	ACCase inhibitor (Den)	4.5% EC	Syngenta, Basel, Switzerland	1.5
Cycloxydim	Focus	ACCase inhibitor (Dim)	10% EC	BASF, Germany	1-1.5

* مایع امولسیون شونده

* Emulsifable concentration

جدول ۲- غلظت‌های مورداستفاده علف‌کش‌ها برای تعیین غلظت تفکیک‌کننده

Table 2. The concentrations of the herbicide used to determine the discriminating concentration

Herbicides	Discriminating concentration (mg ai/L)
Clodinafop propargyl	0, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.32, 0.64, 1.28, 5.12
Diclofop-methyl	0, 0.001, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8
Haloxyfop-r –methyl	0, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.32, 0.64, 5.12
Pinoxaden	0, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.32, 0.64, 1.28
Cycloxydim	0, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08, 0.16, 0.32, 0.64, 1.28

غربال توده‌های مشکوک به مقاومت توسط غلظت تفکیک‌کننده

بعد از مشخص نمودن غلظتی از علف‌کش که باعث ۵۰٪ بازدارندگی از رشد ساقه‌چه بیوتیپ حساس در آزمایش تعیین غلظت تفکیک‌کننده در بیوتیپ حساس شده بود، در آزمایش جداگانه‌ای، غلظت تفکیک‌کننده برای تمام توده‌های *P. brachystachys* به‌کار برده شد. این آزمایش نیز به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد که یکی از تکرارها به‌عنوان شاهد آب مقطر بود و پس از آماده‌سازی بذرها به روش ذکرشده در آزمایش قبل، غلظت تفکیک‌کننده بر تمامی توده‌های آزمایش اعمال شد.

آزمایش غلظت-پاسخ در بیوتیپ‌های مقاوم

پس از اعمال غلظت تفکیک‌کننده برای تمامی توده‌های مشکوک به مقاومت و بر اساس میانگین درصد رشد ساقه‌چه نسبت به شاهد، توده‌هایی که دارای بیش از ۵۰ درصد رشد ساقه‌چه نسبت به شاهد بودند، به‌عنوان بیوتیپ مقاوم در نظر گرفته شدند و جهت تعیین درجه مقاومت و نیز غلظتی که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در رشد ساقه‌چه بیوتیپ‌های مقاوم می‌شود (EC_{50}) مورد آزمایش غلظت-پاسخ قرار گرفتند. در این آزمایش چندین غلظت بالاتر و پایین‌تر از غلظت تفکیک‌کننده بیوتیپ حساس، بر بیوتیپ‌های مقاوم به هرکدام از علف‌کش‌های مورداستفاده در این آزمایش اعمال شد. بر این اساس، برای هر علف‌کش ۱۰ غلظت

شامل ۰، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، یک، دو، چهار، هشت، ۱۶ و ۳۲ برابر غلظت تفکیک‌کننده علف‌کش مورد نظر اعمال شد. این آزمایش دارای چهار تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ بذر بود.

تجزیه داده‌های مربوط به درصد تغییرات طول ساقه‌چه نسبت به شاهد، در آزمون غربال اولیه با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد و برای انجام مقایسه میانگین، از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. برای تجزیه آماری غلظتی از علف‌کش که موجب کاهش رشد گیاه تا ۵۰ درصد (EC_{50}) در مقایسه با شاهد می‌شود، از برازش مدل رگرسیونی غیرخطی لگ لجستیک سه پارامتره ارائه‌شده توسط ریتز و استربیگ (Ritz and Streibig, 2005) استفاده شد (رابطه ۱):

$$y = \frac{d}{1+(\exp\{b(\log(x)-\log(e)\})} \quad \text{رابطه (۱)}$$

که در این رابطه، y: طول ساقه‌چه به‌صورت درصد از تیمار شاهد، b: شیب منحنی در نقطه e، d؛ ضریب مربوط به حد بالا منحنی پاسخ و e: میزان غلظت مؤثر برای حصول ۵۰ درصد پاسخ مشاهده‌شده می‌باشد. مدل فوق با استفاده از محیط نرم‌افزاری R و بسته نرم‌افزاری drc که به همین منظور طراحی‌شده است، به داده‌های حاصل، برازش داده شد و اختلاف نمودارهای برازش داده شده با نمودار حاصل از داده‌های مربوط به توده حساس، مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر EC_{50} هر دو بیوتیپ مقاوم و حساس برای محاسبه شاخص مقاومت (RF) مورداستفاده قرار گرفت (رابطه ۲):

$$RF=\frac{EC_{50}R}{EC_{50}S} \quad \text{رابطه (۲)}$$

نتایج و بحث

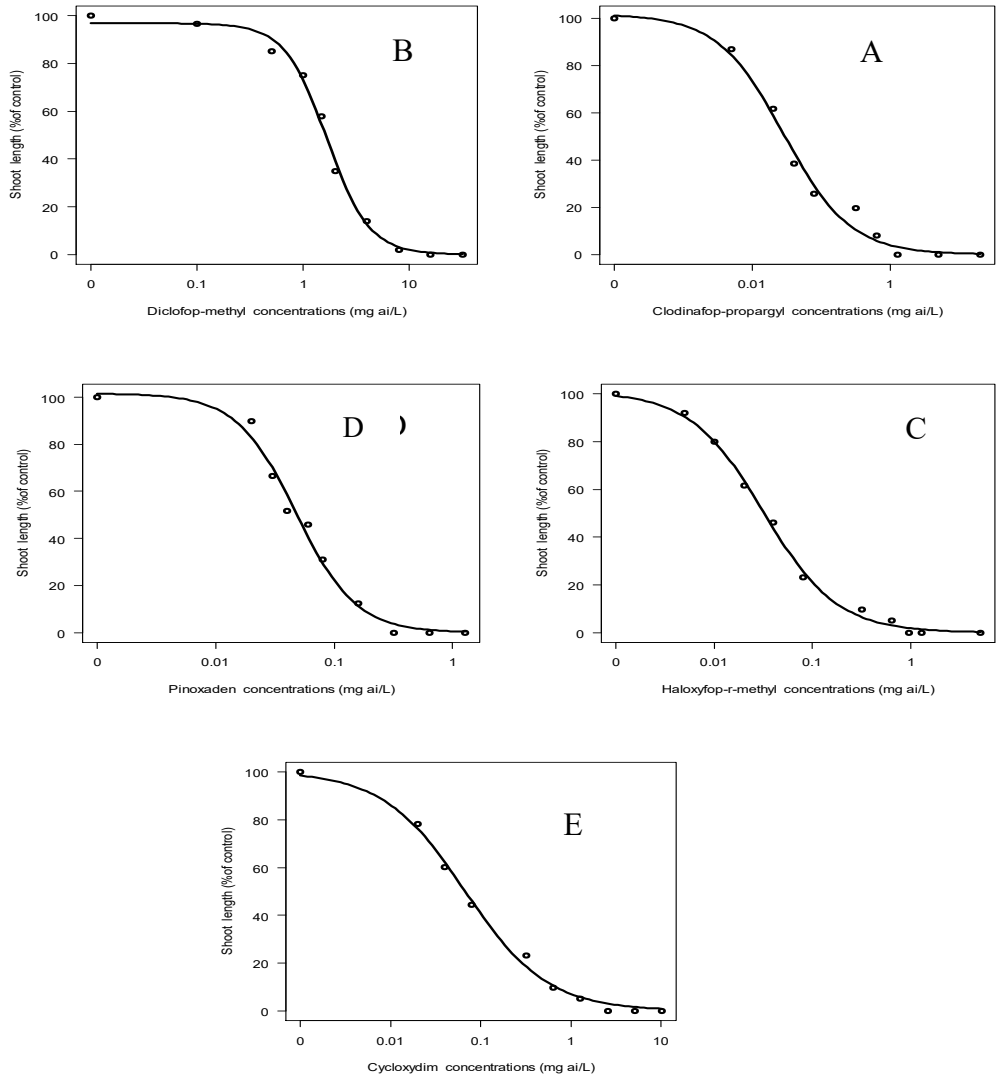
غلظت تفکیک‌کننده

با برازش مدل سه پارامتره لگ لجستیک، غلظتی از علف‌کش که طول ساقه‌چه (EC_{50}) توده حساس *P. brachystachys* را ۵۰ درصد نسبت به شاهد کاهش کاهش داد، برآورد شد (شکل ۱). در این تحقیق، غلظت تفکیک‌کننده برای علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، دیکلوفوپ متیل، هالوکسی فوپ-آر-متیل، سیکلوکسیدیم و پینوکسادن، به‌ترتیب ۰/۰۲، ۱/۳۶، ۰/۰۳، ۰/۰۶ و ۰/۰۸ میلی‌گرم ماده مؤثر در لیتر برآورد شد. این غلظت در مرحله بعدی برای غربال توده‌های مقاوم از حساس استفاده شد. قرخلو و همکاران (Gherekhloo *et al*., 2008) بر مبنای ۵۰ درصد بازدارندگی در رشد توده حساس، غلظت تفکیک کننده علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، فنوکساپروپ-پی اتیل و دیکلوفوپ متیل برای علف‌هرز *P. minor* را به ترتیب ۰/۰۲، ۰/۲۹ و ۲/۴۴ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر گزارش کردند. الهی‌فرد و همکاران (Elahifard *et al*., 2008) نیز در آزمون زیست‌سنجی *P. minor*، غلظت تفکیک‌کننده را برای علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، فنوکساپروپ-پی اتیل و دیکلوفوپ متیل بر مبنای ۵۰ درصد بازدارندگی در رشد ساقه‌چه توده حساس، بهترتیب معادل ۰/۰۱، ۰/۰۸ و ۰/۴ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر گزارش کردند.

غربال توده‌های مشکوک به مقاومت با غلظت تفکیک‌کننده

جدول ۳، مقایسه میانگین توده‌ها ازنظر درصد کاهش طول ساقه‌چه نسبت به شاهد هر توده بعد از اعمال غلظت تفکیک‌کننده برای هر علف‌کش را نشان می‌دهد. به‌طورکلی نتایج غربال توده‌های مشکوک به مقاومت نشان داد که از میان ۴۳ توده علف خونی سنبله کوتاه، به‌ترتیب ۳۶ (۸۴ درصد)، ۳۶ (۸۴ درصد)، ۱۹ (۴۴ درصد)، ۲۱ (۴۸ درصد) و ۲۳ (۵۳ درصد) بیوتیپ، قادر به حفظ بیش از ۵۰ درصد از رشد ساقه‌چه خود در حضور غلظت تفکیک‌کننده بیوتیپ حساس به علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، دیکلوفوپ متیل، هالوکسی فوپ-آر-متیل، پینوکسادن و

سیکلوکسیدیم بودند (جدول ۳). بیوتیپ‌های ذکرشده به‌عنوان بیوتیپ مقاوم در نظر گرفته شدند و به‌منظور تعیین درجه مقاومت، در آزمون غلظت-پاسخ به‌کار رفتند.



شکل ۱- تغییرات طول ساقه‌چه توده حساس *P. brachystachys* در پاسخ به غلظت‌های مختلف علف‌کش‌های A) کلودینافوپ پروپارژیل،B) دیکلوفوپ متیل، C) هالوکسی فوپ آر متیل، D) پینوکسادن و E) سیکلوکسیدیم

Figure 1. Changes in shoot length of susceptible *P. brachystachys* in response to different A) clodinafop-propargyl, B) diclofop-methyl, C) haloxyfop-r-methyl, D) pinoxaden and E) cycloxydim concentrations.

آزمون غلظت-پاسخ

واکنش طول ساقه‌چه بیوتیپ‌های حساس و مقاوم علف خونی سنبله کوتاه به غلظت‌های مختلف علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل با استفاده از برازش تابع لگ-لجستیک سه پارامتره بررسی شد (جدول ٤). نتایج آزمون غلظت-پاسخ، نشان‌دهنده بروز مقاومت به علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل در بیوتیپ‌های مورد مطالعه بود. با این حال، پاسخ بیوتیپ‌ها به غلظت‌های مختلف علف‌کش و میزان مقاومت آن‌ها به این علف-کش متفاوت بود.

جدول ۳- نتایج آزمون غربالگری توده‌های مشکوک به مقاومت *P. brachystachys* با غلظت تفکیک‌کننده علف‌کش‌های موردمطالعه

Table 3. Screening test results of suspected resistant of *P. brachystachys* accessions with studied herbicides discrimination concentrations

Accessions code	Shoot length (% of Control) according to discrimination concentration									
	Clodinafop propargyl		Diclofop methyl		Haloxyfop-r-methyl		Pinoxaden		Cycloxydim	
AL01	84.23a	R*	73.56b	R	42d	S*	29.44b	S	31.12b	S
AL02	88.64a	R	77.98b	R	37d	S	37.43b	S	34.34b	S
AL03	90.34a	R	70.34b	R	71b	R	57.23a	R	60.34a	R
AL04	88.34a	R	83.97a	R	58cd	R	60.32a	R	63.87a	R
AL05	82.78a	R	71.09b	R	62c	R	58.12a	R	60.98a	R
AL06	80.65a	R	77.45b	R	82a	R	67.34a	R	56.36a	R
AL07	61.45b	R	89.56a	R	72b	R	54.9a	R	59.87a	R
AL08	58.45b	R	85.67a	R	76b	R	56.09a	R	62.97a	R
AL09	60.76b	R	87.65a	R	41d	S	30.65b	S	31.01b	S
AL10	61.45b	R	71.98b	R	41d	S	29.87b	S	57.98a	R
AL12	83.56ba	R	69.87b	R	43d	S	27.98b	S	29.68b	S
AL13	84.87a	R	58.98c	R	40d	S	37.76b	S	60.7a	R
AL14	91.87a	R	90.99a	R	64c	R	63.87a	R	63.98a	R
AL15	60.35b	R	75.97b	R	56cd	R	60.98a	R	56.98a	R
AL16	83.98a	R	59.98c	R	44d	S	28.46b	S	31.11b	S
AL17	60.56b	R	57.78c	R	38d	S	31.67b	S	30.05b	S
AL18	57.98b	R	71.98b	R	46d	S	33.34b	S	29.04b	S
AL19	57.87b	R	54.34c	R	35d	S	30.65b	S	28.03b	S
AL20	60.45b	R	56.98c	R	37c	S	29.45b	S	27.8b	S
AL21	82.87a	R	90.45a	R	69bc	R	60.35a	R	67.34a	R
AL22	83.98a	R	73.23b	R	36c	S	30.45b	S	36.05b	S
AL23	89.87a	R	75.04b	R	65c	R	55.98a	R	54.9a	R
AL24	62.76b	R	68.98b	R	70b	R	54.22a	R	56.09a	R
AL26	27.30c	S	21.01d	S	32	S	29.50b	S	31.22b	S
AL28	59.45b	R	58.87c	R	37c	S	28.45b	S	34.31b	S
AL30	27.56c	S	20.90d	S	27	S	30.45b	S	30.04b	S
AL31	83.98a	R	71.46b	R	33c	S	59.56a	R	67.97a	R
AL32	80.76a	R	53.98c	R	42c	S	31.56b	S	29.23b	S
AL33	90.76a	R	65.30c	R	85a	R	54.9a	R	55.98a	R
AL34	61.87b	R	76.20b	R	68c	R	56.09a	R	54.22a	R
G01	29.20c	S	21.23d	S	31	S	28.67b	S	36.04b	S
G02	25.06c	S	22.76d	S	36	S	31.45b	S	34.76b	S
G03	27.04c	S	21.03d	S	30	S	29.56b	S	33.18b	S
G04	59.89b	R	61.98c	R	73b	R	60.34a	R	55.32a	R
B01	26.98c	S	21.34d	S	31f	S	29.34b	S	32.1b	S
B02	87.98a	R	61.97c	R	47d	S	60.34a	R	66.12a	R
B03	91.76a	R	71.87b	R	71b	R	58.56a	R	65.98a	R
Rm16	27.42c	S	20.31d	S	38	S	29.87b	S	31.60b	S
Rm17	58.98b	R	64.98c	R	65c	R	60.98a	R	57.23a	R
Rm18	60.34b	R	68.65c	R	66c	R	56.36a	R	60.32a	R
Kr14	87.20a	R	76.87b	R	74b	R	59.87a	R	58.12a	R
Kr15	91.56a	R	85.33a	R	81a	R	64.86a	R	67.34a	R
Kr16	88.45a	R	77.80b	R	36d	S	31.56b	S	27.60b	S
S	21.23c	-	19.98d	-	19f	S	23.12b	S	26.78b	S

R: مقاوم، S: حساس.

R= Resistant *S= Susceptible

جدول ٤-پارامترهای برآورد شده حاصل از برازش تابع لگ لجستیک سه پارامتره در آزمون غلظت-پاسخ بیوتیپ‌های علف خونی سنبله کوتاه با علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل و دیکلوفوپ متیل، هالوکسی فوپ آر متیل، سیکلوکسیدیم و پینوکسادن

Table 4. Estimated parameters of fitting three parameters log logistic function for *P. brachystachys* accessions in response to Clodinafop-propargyl and diclofoop-methyl, haloxyfop-R-methyl, cycloxydim and pinoxaden concentration response experiments

Biotypes code	Diclofop methyl		Clodinafop propargyl		Haloxyfop-R-methyl		Cycloxydim		Pinoxaden	
	EC_{50} (SE)	RF	EC_{50} (SE)	RF	EC_{50} (SE)	RF	EC_{50} (SE)	RF	EC_{50} (SE)	RF
AL01	3.08 (0.47)	2.26 (0.38)	0.17 (0.02)	6.07 (1.44)	-	-	-	-	-	-
AL02	2.44 (0.29)	1.79 (0.24)	0.18 (0.03)	6.40 (1.56)	-	-	-	-	-	-
AL03	2.36 (0.32)	1.73 (0.26)	0.26 (0.04)	9.19 (2.22)	0.06 (0.008)	2.01 (0.34)	0.21 (0.04)	3.26 (0.80)	0.21 (0.02)	2.48 (0.44)
AL04	6.30 (0.85)	4.62 (0.70)	0.18 (0.03)	6.53 (1.74)	0.05 (0.009)	1.70 (0.4)	0.14 (0.02)	2.09 (0.51)	0.16 (0.02)	2.00 (0.35)
AL05	2.23 (0.47)	2.37 (0.38)	0.21 (0.03)	7.41 (1.87)	0.06 (0.001)	1.91 (0.49)	0.18 (0.03)	2.73 (0.70)	0.21 (0.02)	2.55 (0.45)
AL06	3.09 (0.43)	2.26 (0.35)	0.19 (0.03)	6.82 (1.71)	0.07 (0.001)	2.23 (0.58)	0.23 (0.04)	3.43 (0.92)	0.21 (0.03)	2.52 (0.48)
AL07	2.23 (0.59)	3.10 (0.48)	0.08 (0.01)	3.03 (0.80)	0.07 (0.001)	2.33 (0.54)	0.13 (0.02)	2.03 (0.56)	0.17 (0.02)	2.09 (0.39)
AL08	3.25 (0.48)	2.38 (0.38)	0.11 (0.02)	3.89 (0.98)	0.06 (0.001)	2.17 (0.56)	0.17 (0.03)	2.64 (0.74)	0.16 (0.02)	1.95 (0.35)
AL09	4.09 (0.53)	3.00 (0.44)	0.14 (0.02)	4.95 (1.20)	-	-	-	-	-	-
AL10	3.07 (0.44)	2.25 (0.35)	0.13(0.02)	4.53 (1.28)	-	-	0.11 (0.02)	1.75 (0.45)	-	-
AL12	3.41 (0.47)	2.49 (0.38)	0.16 (0.02)	5.63 (1.37)	-	-	-	-	-	-
AL13	1.86 (0.19)	1.37 (0.17)	0.16 (0.03)	5.79 (1.56)	-	-	0.14 (0.02)	2.10 (0.56)	-	-
AL14	5.92 (0.88)	4.34 (0.71)	0.23 (0.05)	8.33 (2.32)	0.06 (0.013)	2.12 (0.48)	(0.03) 0.16	2.50 (0.65)	0.30 (0.04)	3.58 (0.66)
AL15	3.53 (0.50)	2.58 (0.41)	0.13 (0.02)	4.55 (1.19)	0.05 (0.001)	1.79 (0.43)	0.11 (0.02)	1.70 (0.47)	0.23 (0.02)	2.71 (0.48)
AL16	2.31(0.29)	1.69 (0.24)	0.21 (0.05)	7.42 (2.27)	-	-	-	-	-	-
AL17	2.62 (0.42)	1.92 (0.33)	0.15 (0.03)	5.39 (1.40)	-	-	-	-	-	-
AL18	3.66 (0.38)	2.68 (0.33)	0.12 (0.02)	4.30 (1.06)	-	-	-	-	-	-
AL19	2.44 (0.36)	1.78 (0.29)	0.10 (0.01)	3.67 (0.88)	-	-	-	-	-	-
AL20	1.93 (0.28)	1.42 (0.23)	0.12 (0.02)	4.38 (1.21)	-	-	-	-	-	-
AL21	6.07 (0.86)	4.44 (0.70)	0.17 (0.02)	6.12 (1.45)	0.06 (0.001)	2.14 (0.59)	0.17 (0.04)	2.63 (0.76)	0.16 (0.01)	2.10 (0.31)
AL22	3.13 (0.49)	2.29 (0.39)	0.14 (0.03)	5.11 (1.43)	-	-	-	-	-	-
AL23	4.25 (0.52)	3.11 (0.44)	0.20 (0.03)	7.12 (1.63)	0.04 (0.008)	1.30 (0.29)	0.12 (0.02)	1.81 (0.53)	0.31 (0.03)	3.95 (0.59)
AL24	3.65 (0.41)	2.67 (0.35)	0.12 (0.02)	4.32 (1.12)	0.09 (0.002)	2.97 (0.79)	0.13 (0.02)	2.01 (0.48)	0.19 (0.20)	2.39 (0.38)
AL28	3.99 (0.55)	2.92 (0.45)	0.08 (0.01)	3.05 (0.75)	-	-	-	-	-	-
AL31	2.92 (0.41)	2.14 (0.33)	0.19 (0.04)	6.82 (1.81)	-	-	0.13 (0.02)	1.99 (0.44)	0.16 (0.02)	2.09 (0.33)
AL32	1.82 (0.28)	1.33 (0.22)	0.15 (0.02)	5.28 (1.26)	-	-	-	-	-	-
AL33	4.03 (0.61)	2.95 (0.49)	0.25 (0.05)	8.84 (2.37)	0.07 (0.001)	2.22 (0.53)	0.19 (0.03)	2.93 (0.70)	0.17 (0.02)	2.23 (0.38)
AL34	5.21 (0.69)	3.82 (0.56)	0.13 (0.02)	4.54 (1.07)	0.06 (0.001)	1.98 (0.45)	0.12 (0.02)	1.85 (0.41)	0.20 (0.02)	2.63 (0.41)
B02	2.30 (0.36)	1.68 (0.28)	0.15 (0.03)	5.38 (1.45)	-	-	0.17 (0.03)	2.66 (0.63)	0.16 (0.02)	2.10 (0.37)
B03	3.77 (0.56)	2.78 (0.45)	0.23 (0.05)	8.23 (2.27)	0.07 (0.016)	2.34 (0.62)	0.21 (0.04)	3.26 (0.80)	0.21 (0.03)	2.84 (0.53)
Kr14	2.49 (0.34)	1.83 (0.27)	0.25 (0.05)	8.73 (2.31)	0.06 (0.001)	2.11 (0.34)	0.16 (0.03)	2.38 (0.77)	0.17 (0.02)	2.35 (0.40)
Kr15	4.33 (0.62)	3.17 (0.50)	0.29 (0.06)	10.27 (2.78)	0.09 (0.002)	3.10 (0.83)	0.33 (0.09)	4.98 (0.98)	0.22 (0.03)	3.00 (0.55)
Kr16	3.15 (0.36)	2.31 (0.37)	0.17 (0.03)	5.96 (1.53)	-	-	-	-	-	-
G04	2.39 (0.32)	1.75 (0.26)	0.07 (0.01)	2.77 (0.71)	0.05 (0.008)	1.84 (0.35)	0.18 (0.03)	2.82 (0.64)	0.28 (0.03)	3.52 (0.57)
Rm17	1.92 (0.23)	1.41 (0.19)	0.15 (0.01)	5.29 (1.12)	0.05 (0.001)	1.71 (0.38)	0.18 (0.03)	2.74(0.64)	0.16 (0.02)	2.58 (0.47)
Rm18	2.45 (0.34)	1.79 (0.28)	0.12 (0.02)	4.36 (1.13)	0.06 (0.003)	1.85 (0.45)	0.14 (0.03)	2.19 (0.74)	0.17 (0.02)	2.27 (0.41)
S	1.36 (0.09)	-	0.02 (0.004)	-	0.03 (0.005)	-	0.06 (0.001)	-		0.08 (0.01)

EC50: میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر T، RF: درجه مقاومت .اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشد.

EC_{50}: mg a.i/L, RF: resistance factor. Numbers in parentheses indicate the standard error.

برای کاهش ۵۰ درصدی طول ساقه‌چه بیوتیپ حساس *P.brachystachys*، ۰/۰۲ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر از علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل لازم بود، حال آن که برای کاهش ۵۰ درصدی طول ساقه‌چه بیوتیپ‌های مقاوم، به مقادیر بیشتری از علف‌کش احتیاج بود (جدول ٤). لازم به ذکر است که مقدار EC_{50} برای بیوتیپ حساس در آزمون غلظت-پاسخ برای تمام علف‌کش‌های موردبررسی در این پژوهش، مشابه غلظت تفکیک‌کننده برآورده شده بود. مقادیر EC_{50} برآورده شده برای بیوتیپ‌های مقاوم *P. brachystachys*، بین ۰/۰۷ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر برای بیوتیپ G04 تا ۰/۲۹ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر برای بیوتیپ Kr15 متغیر بود. بر این اساس، شاخص درجه مقاومت متفاوتی برای بیوتیپ‌های موردمطالعه به دست آمد و مقادیر EC50 بیوتیپ G04 با شاخص درجه مقاومت ۲/۷۷، کمترین و بیوتیپ Kr15 با شاخص درجه مقاومت ۱۰/۲۷، بیشترین میزان مقاومت به علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل را دارا بودند.

همچنین نتایج، حاکی از بروز مقاومت به علف‌کش دیکلوفوپ متیل در بیوتیپ‌های *P. brachystachys* جمع‌آوری‌شده از مزارع گندم بود. بر اساس برازش تابع به داده‌های طول ساقه‌چه، برای کاهش ۵۰ درصدی طول ساقه‌چه بیوتیپ حساس *P.brachystachys* به ۱/۳٦ میلی‌گرم ماده مؤثره دیکلوفوپ متیل در لیتر احتیاج بود، اما مقادیر EC_{50} متفاوتی برای بیوتیپ‌های مقاوم به دست آمد (جدول ٤). این مقادیر برای بیوتیپ AL32 با شاخص درجه مقاومت ۱/۳۲ تا بیوتیپ AL04 با شاخص مقاومت ٤/٦۲ متفاوت بود. نجاری و همکاران (Najari *et al*., 2013) در بررسی‌های مقاومت توده‌های فالاریس دو گونه *P. paradoxa* و *P. minor* در زیست‌سنجی بذر برای کلودینافوپ پروپارژیل، شاخص درجه مقاومتی بین ۱/۹۹ تا ۷/۱۷ گزارش دادند.

هالوکسی فوپ-آر-متیل در غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر، باعث بازدارندگی ۵۰ درصدی طول ساقه‌چه بیوتیپ حساس نسبت به شاهد شد، درحالی‌که این غلظت برای سایر بیوتیپ‌ها، بین ۰/۰۵ تا ۰/۰۹ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر بود. بر این اساس، شاخص درجه مقاومت متفاوتی برای بیوتیپ‌های موردمطالعه به دست آمد. بر اساس مقادیر EC_{50}، بیوتیپ Kr15 از شهرستان کردکوی با شاخص درجه مقاومت ۳/۱۰ بیشترین و بیوتیپ AL23 از شهرستان علی‌آباد با شاخص درجه مقاومت ۱/۳۰ کمترین میزان مقاومت به این علف‌کش را نشان دادند (جدول ٤).

با افزایش غلظت علف‌کش سیکلوکسیدیم، طول ساقه‌چه بیوتیپ‌های حساس و مقاوم کاهش یافت؛ با این حال پاسخ بیوتیپ‌ها ازنظر طول ساقه‌چه به غلظت‌های علف‌کش متفاوت بود. به‌عبارت‌دیگر، در مقایسه با بیوتیپ حساس، کاهش طول ساقه‌چه بیوتیپ‌های مقاوم، در غلظت‌های بیشتری از علف‌کش سیکلوکسیدیم اتفاق افتاد. بر این اساس و با توجه به برازش معادله سه پارامتره لگ لجستیک، مقادیر متفاوت EC_{50} برای بیوتیپ‌های *P. brachystachys* به دست آمد. مقادیر EC_{50} برآورد شده برای بیوتیپ مقاوم، بین ۰/۱۱ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر برای بیوتیپ AL10 تا ۰/۲۳ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر برای بیوتیپ AL06 متفاوت بود (جدول ٤).

مقایسه روند پاسخ بیوتیپ حساس و سایر بیوتیپ‌های مربوط به شهرهای مختلف به غلظت‌های مختلف علف‌کش پینوکسادن نیز نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین بیوتیپ‌های مقاوم و حساس بود. همان‌طور که در جدول ٤ مشاهده می‌شود، پاسخ طول ساقه‌چه بیوتیپ‌های مختلف به غلظت‌های مختلف علف‌کش پینوکسادن متفاوت بود. درجه مقاومت محاسبه‌شده برای بیوتیپ‌های مشکوک به مقاومت نیز مؤید این

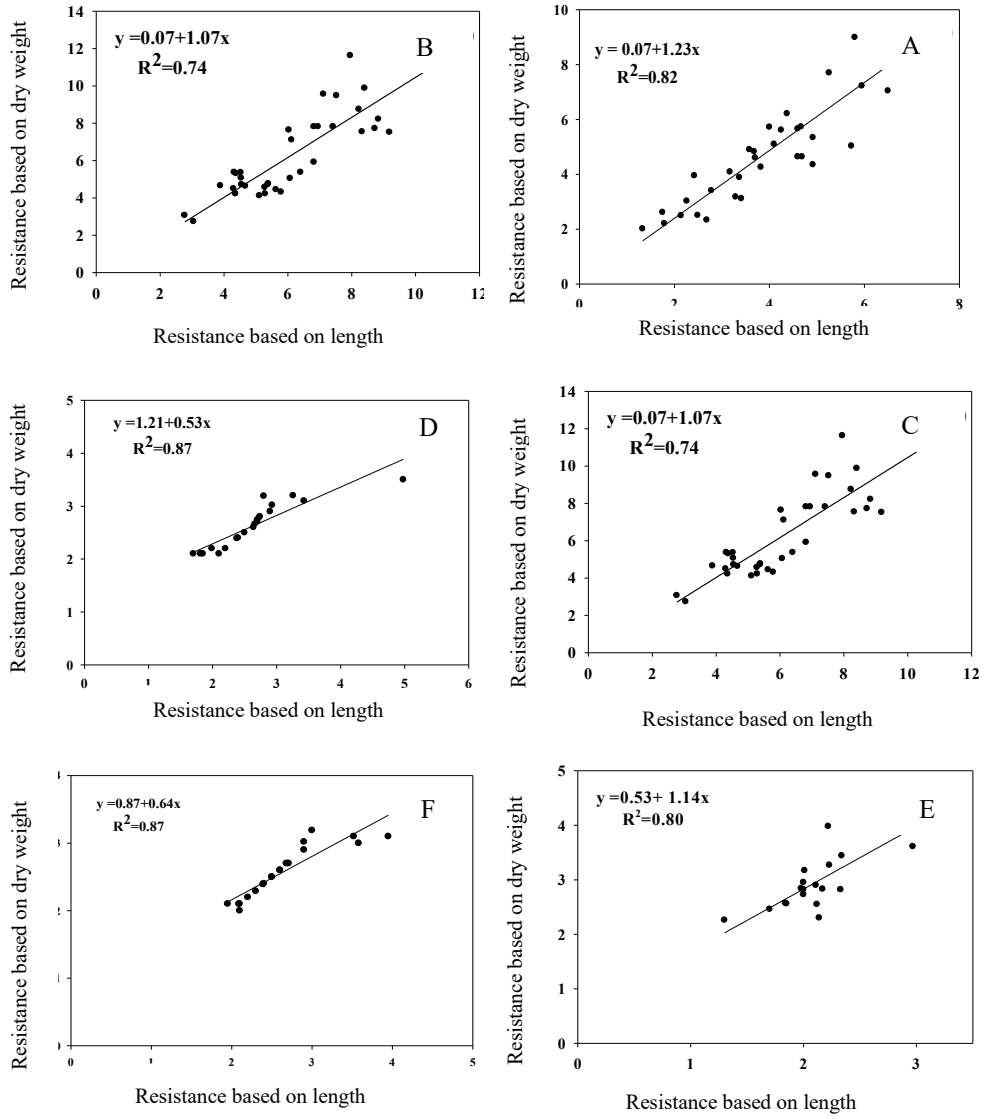
موضـــوع می‌باشـــد. مقادیر EC_{50} برآورد شـــده برای بیوتیپ های مقاوم *P. brachystachys* بین ۰/۱٦ تا ۰/۳۱ میلی گرم مـاده مؤثره در لیتر متفـاوت بود (جدول٤).

نتایج نشان داد که به‌جز هفت بیوتیپ که به علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل حساس بودند، سایر بیوتیپ‌ها به آن مقاومت نشـان دادند. بررسـی واکنش بیوتیپ‌ها ازنظر درصد کاهش طول ساقه‌چه نسب به شاهد بدون علف‌کش در اثر اعمـال علف‌کش‌هـای گروه‌هـای مختلف نشان داد که بیوتیپ‌های مقاوم به کلودینافوپ پروپارژیل، دارای مقاومت عرضـی به دیکلوفوپ متیل می‌باشـــند. همچنین بیوتیپ‌های AL04 و AL21 که دارای بیشـــترین ســـطح مقاومت به کلودینافوپ پروپارژیل هســـتند، به دیکلوفوپ متیل نیز مقاومت بالایی نشـان دادند. از بین ۳٦ بیوتیپ مقاوم به این دو علف‌کش، ۱۹ بیوتیپ به هالوکســـی فوپ-آر-متیل مقاومت نشان دادند و سایر بیوتیپ‌ها به این علف‌کش حســـاس بودند. همچنین نتایج نشـــان‌دهنده مقاومت عرضی ۲۱ بیوتیپ به پینوکسادن می‌باشد، درحالی‌که سایر بیوتیپ‌ها به این علف‌کش مقاومت نشان ندادند. ۱۵ بیوتیپ که به علف‌کش‌های فوپ مقاومت نشـــان دادند، به پینوکسادن حساس بودند و بیوتیپ‌هایی که مقاومت بالایی به کلودینافوپ پروپارژیل داشـــتند، مقاومت کمی به پینوکسادن نشان دادند. وجود مقاومت به علف‌کش‌های گروه فوپ و دیم در بیوتیپ‌های *P. brachystachys* نمی‌تواند دلیلی قطعی مقاومت به علف‌کش پینوکســـادن باشـــد، چراکه اختلاف اصـــلی پینوکسـادن با سـایر علف‌کش‌های بازدارنده ACCase در این اســـت که علف‌کش‌های متعلق به خانواده‌های فوپ و دیم، اساساً فرم پلاستیدی آنزیم ACCase را مورد هدف قرار می‌دهند، حال‌آن‌که پینوکسادن، هر دو فرم پلاســـتیدی و ســـیتوســـولی آنزیم را هدف قرار می‌دهد (Délye, 2005)؛ بنابراین، برخی از بیوتیپ‌ها که به علف‌کش های فوپ و دیم مقاوم بودند، به پینوکســـادن مقاوم نبودند و حســـاســـیت نشـــان دادند. چوکار و شارما (Chhokar & Sharma, 2008) گزارش کردند که توده‌های فالاریس که مقاومت بالایی به کلودینافوپ پروپارژیل و فنوکســـاپروپ پی اتیل داشتند، به علف‌کش پینوکسادن مقاومت عرضی کمی نشان دادند که دلیل آن این است که این دو علف‌کش، متعلق به گروه‌های شـیمیایی متفاوتی هسـتند اما محل عمل یکسان آن‌ها، باعث مقاومت عرضی شده است. علف‌کش سیکلوکسیدیم، بیوتیپ‌های Kr16، AL12 و AL32 را مانند بیوتیپ حســـاس کنترل کرد، اما ۲۳ بیوتیپ به این علف‌کش مقاومت نشـــان دادند. در مجموع از بین بیوتیپ‌های جمع‌آوری‌شده، ۱۹ بیوتیپ به همه علف‌کش های مورد آزمایش در این تحقیق مقاوم بودند.

ارتباط بین درجات مقاومت حاصل از زیست‌سنجی گیاه در پتری دیش و گلدان

نتایج مطالعه پیشین، نشان‌دهنده وجود درجات مقاومت مختلف در بیوتیپ‌های مورد بررسی به علف‌کش‌های مورد مطالعه بر اساس آزمون دز-پاسخ بود (Golmohammaszadeh *et al*., 2019). مقایسه روش ارزیابی گیاه کامل در شرایط گلخانه‌ای با زیست‌سنجی بذر نشان داد که درجه مقاومت بر اساس وزن خشک، همبستگی بالایی با آزمایش‌های غلظت-پاسخ داشت (شکل ۲). تال و همکاران (Tal *et al*., 2000) گزارش کردند که مقادیر درجه مقاومت در روش گلدانی نسبت به روش زیست‌سنجی بذر بالاتر بود که علت آن را تفاوت در شرایط (نوع جذب علف‌کش) و متدولوژی (نحوه کاربرد علف‌کش) بیان داشتند. یانگ و همکاران (Yang *et al*., 2007) گزارش دادند که سطح مقاومت به هالوکسی فوپ در دم روباهی در آزمون پتری دیش، کمتر از آزمون دز-پاسخ گلدانی در گلخانه بود. از این رو، می‌توان آزمون پتری دیش را روشی مناسب برای

جداسازی جمعیت‌های حساس و مقاوم دانست.



شکل ۲- ارتباط بین درجات مقاومت آزمون غلظت-پاسخ گلدانی و آزمون پتری دیش در پاسخ به علف‌کش‌های A) کلودینافوپ پروپارژیل، B) دیکلوفوپ متیل، C) هالوکسی فوپ آر متیل، D) سیکلوکسیدیم، و E) پینوکسادن.

Figure 2. Relationship among resistance factors based on pot and petri dish assaies in response to A) Clodinafop propargyl, B) Diclofop methyl, C) haloxyfop R methyl, D) Cycloxydim, and E) Pinoxaden.

تشخیص علف‌های‌هرز مقاوم، از مهم‌ترین مراحل مدیریت مقاومت است و برای یک تشخیص صحیح و کارآمد، به آزمون‌های سریع، دقیق، ارزان و آسان نیاز است. در ارزیابی مقاومت به علف‌کش‌ها، زمان لازم جهت تعیین بروز مقاومت در بیوتیپ‌ها، از جنبه مدیریت مقاومت بسیار مهم است (Beckie *et al.*, 2000). آزمایش‌های گلخانه‌ای به زمان و مکان بیشتری نیاز دارند و از آن‌جاکه به شرایط مزرعه نزدیک‌تر می‌باشند، نتایج به‌دست‌آمده قابل‌اعتمادتر است. با این حال، استفاده از روش‌های سریع‌تر و کم‌هزینه‌تر برای بررسی بیوتیپ‌های مشکوک به مقاومت، ازلحاظ کاربردی بسیار مهم می‌باشد (Gherekhloo *et al.*,

(2008. در چنین آزمایش‌هایی، مسئله همسویی با واقعیت‌های موجود و نتایج آزمایش‌های گلدانی، معیار مناسب بودن روش می‌باشد (Burgos, 2015). به‌طورکلی، روش زیست‌سنجی بذر از دقت کمتری در مقایسه با زیست‌سنجی گلدانی برخوردار است، اما یک آزمون سریع و ارزان برای غربال تعداد زیادی نمونه می‌باشد (Sasanfar *et al*., 2017). آزمایش پتری دیش در مقایسه با روش‌های دیگر، ساده‌تر و کم‌هزینه‌تر است و از همه مهم‌تر، زمان ارزیابی را نسبت به روش گلدانی به میزان قابل‌توجهی کاهش می‌دهد (Beckie *et al*., 2000). اطلاعات دقیقی در مورد تاریخچه مصرف علف‌کش‌ها در سال‌های گذشته و میزان پراکنش علف‌های‌هرز مقاوم در سطح کشور در دسترس نیست؛ بنابراین، چنین روش‌هایی جهت به دست آوردن اطلاعات برای مدیریت مقاومت مفید می‌باشند، زیرا با استفاده از آن‌ها می‌توان در کم‌ترین زمان ممکن، به اطلاعات کافی در ارتباط با بروز پدیده مقاومت دست یافت. ازآن‌جاکه ارزیابی گلخانه‌ای مقاومت به علف‌کش‌ها، به فضای زیادی نیاز دارد و زمان‌بر است، استفاده از روش‌های سریع‌تر و کم‌هزینه‌تر برای بررسی توده‌های مشکوک به مقاومت به علف‌کش‌های مختلف، از اهمیت بسیاری برخوردار است. تاکنون از روش زیست‌سنجی بذر برای نشان دادن مقاومت در تعداد زیادی از علف‌های‌هرز ازجمله یولاف وحشی زمستانه مقاوم به پینوکسادن و سیکلوکسیدیم (Sasanfar *et al*., 2017)، دم‌روباهی برگ کشیده مقاوم به علف‌کش هالوکسی فوپ (Yang *et al*., 2007)، دم‌روباهی (Délye *et al*., 2002) و قیاق (*Sorghum halepense* L. Pers.) (Burke *et al*., 2006) استفاده شد است. در این تحقیق، علت افزایش بیوتیپ‌های مقاوم *P. brachystachys* که از علف‌های‌هرز باریک برگ مزارع گندم کشور هستند، مصرف متوالی و مدیریت نشده علف‌کش‌های بازدارنده ACCase در طی سال‌های گذشته است. لازم به ذکر است که تفاوت در سطوح و الگوی مقاومت عرضی در علف‌هرز، فرضیه وجود اختلاف در پاسخ گیاهان به علت بروز جهش‌های مختلف را تأیید می‌کند (Sasanfar *et al*., 2017). در اغلب موارد، آنزیم‌های ACCase جهش‌یافته، سطح قابل‌توجهی از مقاومت به اغلب علف‌کش‌های فوپ و دیم را ایجاد می‌کنند (Cruz-Hipolito *et al*., 2012). این حالت، مانع کاربرد هر بازدارنده ACCase دیگری به‌منظور کنترل بیوتیپ‌های مقاوم می‌شود و استفاده از علف‌کش‌هایی با نحوه عمل متفاوت یا روش‌های دیگر کنترل را ضروری می‌سازد.

البته موارد دیگری از مقاومت به بازدارنده‌های ACCase در گونه‌های دیگر فالاریس در برخی مناطق ایران مانند استان گلستان نیز گزارش‌شده است (Gherekhloo *et al*., 2016). نجاری و همکاران (Najari *et al*., 2013) بروز مقاومت در دو گونه *P. minor* و *P. paradoxa* را به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase و قرخلو و درخشان (Gherekhloo & Derakhshan, 2013) مقاومت عرضی علف‌هرز *P. minor* به علف‌کش‌های سیکلوهگزاندیون و فنیل پیرازولین را در مزارع گندم گلستان گزارش و تأیید کردند.

بر اساس این نتایج می‌توان بیان داشت که با ادامه روش‌های جاری در مدیریت علف‌های‌هرز، مقاومت به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase در توده‌های نمونه‌برداری شده از این مناطق در حال گسترش می‌باشد. گندم از محصولات عمده این مناطق است و به‌طور مداوم در این اراضی کشت می‌شود و تنها روشی که برای مبارزه با علف‌هرز در این مزارع استفاده می‌شود، کاربرد علف‌کش‌ها است؛ بنابراین، اجرای تناوب می‌تواند با کاهش فشار گزینش، از سرعت بروز آلل‌های مقاوم در منطقه بکاهد (Scursoni *et al*., 2014).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش، وجود مقاومت در توده‌های *P. brachystachys* جمع‌آوری‌شده از مزارع گندم استان گلستان به علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، دیکلوفوپ متیل، هالوکسی فوپ-آر-متیل، سیکلوکسیدیم و پینوکسادن را تائید کرد. این علف کش‌ها به‌ترتیب در سال‌های ۱۳۵۹، ۱۳۷۲، ۱۳۸۷، ۱۳۷۵ و ۱۳۸۶ در ایران به ثبت رسیده‌اند (Zand *et al*., 2012). یکی از مهم‌ترین دلایل بروز مقاومت در تعدادی از بیوتیپ‌های *P. brachystachys*، استفاده متوالی و مکرر این علف‌کش‌ها در مناطق گفته شده بوده است. شاخص درجه مقاومت نیز بین بیوتیپ‌های مختلف متفاوت بود و همچنین نتایج تحقیق حاضر، وجود مقاومت عرضی به علف‌کش‌های موردمطالعه را در بعضی از بیوتیپ‌ها تأیید کرد. هم‌خوانی نتایج آزمون گلدانی و پتری دیش بیانگر آن بود که می‌توان از روش زیست‌سنجی بذر در پتری دیش به‌عنوان پیش‌آزمون و حصول اطمینان از بروز مقاومت در یک جمعیت مشکوک به مقاومت استفاده نمود. این روش در عین سادگی، از سرعت بالایی برخوردار است و در تمایز بین بیوتیپ‌های مقاوم و حساس، بسیار کارآمد بود. ازآن‌جاکه گندم یک محصول استراتژیک در ایران است، بررسی و شناسایی علف‌های‌هرز مقاوم به علف‌کش در مزارع گندم، مسئله حائز اهمیت می‌باشد. از این رو و به دلیل حساس بودن مسئله مقاومت، می‌توان با پی‌جویی مداوم آن، بررسی راهکارهای پیشگیری‌کننده و با مدیریت صحیح مزرعه، از بروز و گسترش این پدیده مخاطره‌آمیز جلوگیری کرد. در نهایت، با توجه به گسترش مقاومت و به‌ویژه مقاومت عرضی در استان گلستان باید در رابطه با مدیریت علف‌هرز مقاوم *P. brachystachys* اندیشید و با کنترل تلفیقی، سهم کنترل شیمیایی را در برنامه‌های مدیریتی کاهش داد تا از گسترش هر چه بیشتر مقاومت به بازدارنده‌های ACCase و احتمال بروز مقاومت به سایر گروه‌های علف‌کشی جلوگیری کرد. بنابراین شناسایی مزارع با توده‌های مشکوک به مقاومت و تهیه نقشه مربوط به گسترش این توده‌ها، جهت اجرای برنامه‌های حذف گیاهان مقاوم و ممانعت از توسعه این گیاهان به سایر مناطق، از اولویت‌های اصلی در جهت مدیریت مقاومت ایجاد شده می‌باشد.

منابع

Ahmadi, K., Ebadzadeh, H.R., Hatami, F., Abdshah, H. and Kazemian, A. 2019. Agricultural statistics, Years 2016-2017, Volume 1: Crop products. Publication of Ministry of Jihad Agriculture, Department of Planning and Economics, Center of Information and Communication Technology.

Beckie, H.J., Heap, I.M., Smeda, R.J. and Hall, L.M. 2000. Screening for herbicide resistance in weeds. Weed Technol. 41:523-534.

Burgos, N.R., Tranel, P.J., Strebig, J.C., Davis, V.M., Shaner, D., Norsworthy, J.K. and Ritz, C. 2013. Review: Confirmation of resistance to herbicides and evaluation of resistance levels. Weed Sci. 61(1): 4-20.

Burgos, N.R. 2015. Whole-plant and seed bioassays for resistance confirmation. Weed Sci. 63: 152–165.

Burke, I.C., Thomas, W.E., Burton, J.D., Spears, J.F. and Wilcut, J.W. 2006. A seedling assay to screen aryloxyphenoxypropionic acid and cyclohexanedione resistance in johnsongrass (*Sorghum halepense*). Weed Technol. 20: 950–955.

Cruz-Hipolito, H., Domínguez-Valenzuela, J., Osuna, M.D. and De Prado, R. 2012. Resistance mechanism to acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides in *Phalaris paradoxa* collected in Mexican wheat fields. Plant Soil. 355: 121–130.

Chhokar, R.S. and Sharma, R.K. 2008. Multiple herbicide resistance in littleseed canarygrass (*Phalaris minor*): a threat to wheat production in India. Weed Biol Manag. 8: 112-123.

Délye, C., Zhang, X.G., Michel, S., Matejicek, A. and Powles, S. 2002. Molecular bases for sensitivity to

Acetyl-Coenzyme A Carboxilase inhibitors in black-grass. Plant Physiol. 137: 794–80.
Délye, C. 2005. Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: An update. Weed Sci. 53: 728-746.
Elahifard, E., Rashed Mohassel, M.H., Zand, E. and Nassiri Mahallati, M. 2008. The investigation of the resistance against fenoxaprop P ethyl herbicide in little seed canary grass (*Phalaris minor*). J Agric. Nat. Resour. Sci. 14(6): 53-61.
Golmohammadzadeh, S., Gherekhloo, J., Rojano-Delgado, A.M., Osuna-Ruiz, M.D, Kamkar, B., Ghaderi-Far, F. and De Prado, R. 2019. The first case of short-spiked Canarygrass (*Phalaris brachystachys*) with cross-resistance to ACCase-inhibiting herbicides in Iran. Agron. 9: 377-389.
Golmohammadzadeh, S. 2020. Studying some mechanisms of resistance to aryloxyphenoxy propionate herbicides and relative fitness of resistant shortspike canarygrass (*Phalaris brachystachys* Link.) biotypes in wheat fields of Golestan province (Doctoral dissertation). Agriculture and Natural Resources Science of Gorgan. 210 Pp.
Gherekhloo J. and A. Derakhshan. 2013. Investigating cross resistance of resistant-*Phalaris minor* to ACCase herbicides. Weed. Res. 4(1):15-25.
Gherekhloo, J., Rashed Mohassel, M.H., Nassiri Mahalati, M., Zand, E., Ghanbari, A., Osunam M.D. and De Prado, R. 2008. Seed bioassay and ACCase enzyme assay to study the resistance of *Phalaris minor* to aryloxyphenoxypropionate (APP) inhibitors. Environ. Sci. 4: 43-52.
Gherekhloo, J., Rashed Mohassel, M.H., Nassiri Mahalati, M., Zand, E., Ghanbari, A., Osuna, M.D. and De Prado, R. 2011. Confirmed resistance to aryloxyphenoxypropionate herbicides in *Phalaris minor* populations in Iran. Weed Biol. Manag. 11: 29–37.
Gherekhloo, J., Oveisi, M., Zand, E. and De Prado, R. 2016. A review of herbicide resistance in Iran. Weed Sci. 64: 55–561.
Heap, I. 2020. International survey of herbicide resistant weeds. Available at: http://www.weedscience.org (accessed February 03/2020).
Hochberg, O., Sibony, M. and Rubin, B. 2009. The response of ACCase-resistant *Phalaris paradoxa* populations involves two different target site mutations. Weed Res. 49: 37–46.
Najari Kalantari, N., Gherekhloo, J. and Kamkar, B. 2013. Tracing and map of canary grass (*Phalaris minor*) and hood grass (*P. paradoxa*) biotypes resistant to clodinafoppropargyl herbicide in wheat fields of Aq-qala. Weed Res. 5(1): 85-97.
Ritz, C. and J.C. Streibig. 2005. Bioassay analysis using R. J. Stat. Softw. 12: 1–22.
Sasanfar, H., Zand, E., Baghestani, M.A., Mirhadi, M.J. and Mesgaran, M.B. 2017. Cross-resistance patterns of winter wild oat (*Avena ludoviciana*) populations to ACCase inhibitor herbicides. Phytoparasitica. 45: 419-48.
Tal, A., Kotoula-Syka, E. and Rubin, B. 2000. Seed-bioassay to detect grass weeds resistant to acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides. Crop Prot. 19: 467-472.
Tatari, S., J. Gherekhloo, A. Siahmarguee and H. Kazemi. 2018. Identification of resistant *Avena ludoviciana* Dur. accessions to ACCase inhibitor herbicides in Gonbad-E Kavus wheat fields and mapping their distribution. Plant Prod. 41(2): 103-116.
Yang, C.H., Dong, L.Y., Li, J. and Moss, S.R. 2007. Identification of Japanese foxtail (*Alopecurus japonicus*) resistant to haloxyfop using three different assay techniques. Weed Sci. 55: 537–540.
Zand, E., Baghestani, M.A., Shimi, P., Nezamabadi, N., Mousavi, M.R and Mousavi, S.K. 2012. Chemical weed control guideline for major crops of Iran (In Persian). 176 Pp.
Zand, E., Baghestani, M.A., Shimi, P., Nezamabadi, N. and Mousavi, M. 2020. Chemical weed control guide of Iran (Sixth Edition) (In Persian). 216Pp.