مجله دانش علف‌های‌هرز

مجله دانش علف‌های‌هرز ۷ (۱۳۹۰) ۸۸-۷۷

بررسی مقاومت بیوتیپ‌های یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*) به علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، پینوکسادن و مخلوط آنها

زینب نجفی[۱]، سید وحید اسلامی[۲]، اسکندر زند[۳]

[۱]کارشناس ارشد رشته شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، [۲] استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، [۳]عضو هیئت علمی بخش تحقیقات علف‌های هرز موسسه گیاه پزشکی کشور

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۲۸

تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۱۰

چکیده

به منظور بررسی مقاومت بیوتیپ‌های یولاف وحشی جمع آوری شده از استان‌های خوزستان و فارس به علف‌کش‌های کلودینافوپ‌پروپارژیل، پینوکسادن و مخلوط آنها (تراکسوس)، آزمایش‌های زیست سنجی بذر در گلدان و در پتری‌دیش بر روی هشت بیوتیپ یولاف وحشی مشکوک به مقاومت و یک بیوتیپ حساس به علف‌کش، طی سال‌های ۸۹-۱۳۸۸ در موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور انجام گرفت. در آزمایش‌های زیست سنجی گلدانی که در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار انجام گرفت، بیوتیپ‌های یولاف وحشی در مرحله ۲ تا ۴ برگی در دامنه ای از ۰/۲۵ تا ۱۶ برابر دز توصیه شده از هر علف‌کش سم پاشی شدند. بر این اساس با توجه به دز توصیه شده هر علف‌کش (۰/۸، ۰/۴۵و ۱/۵ لیتر در هکتار به ترتیب برای کلودینافوپ‌پروپارژیل ،پینوکسادن و تراکسوس) دزهای به کار رفته برای کلودینافوپ‌پروپارژیل شامل ۰، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶، ۵۱۲ و ۱۰۲۴ گرم ماده موثره در هکتار، علف‌کش پینوکسادن ۰، ۱۱/۲۵، ۲۲/۵، ۴۵، ۹۰، ۱۸۰، ۳۶۰ و ۷۲۰ گرم ماده موثره در هکتار و علف‌کش تراکسوس ۰، ۱۶/۸۷، ۳۳/۷۵، ۶۷/۵، ۱۳۵، ۲۷۰، ۵۴۰ و ۱۰۸۰ گرم ماده موثره در هکتار بودند. در آزمایش‌های زیست‌سنجی در پتریدیش، بعد از تعیین غلظت تفکیک کننده(۰/۰۵، ۰/۰۳ و ۰/۰۱ میلی‌گرم ماده موثره در لیتر به ترتیب برای کلودینافوپ‌پروپارژیل ، پینوکسادن و تراکسوس) دامنه‌ای از ۰/۲۵ تا ۱۶ برابر غلظت تفکیک کننده از هر علف‌کش بر روی بذور جوانه زده اعمال شد. نتایج حاصل از این آزمایش‌ها نشان داد که تمام بیوتیپ‌ها به کلودینافوپ‌پروپارژیل مقاوم می‌باشند و مقاومت عرضی به علف‌کش‌های کلودینافوپ‌پروپارژیل، پینوکسادن و مخلوط آنها (تراکسوس) در بیوتیپ‌های مورد مطالعه خوزستان وجود داشت. بیش از ۳۷٪ درصد بیوتیپ‌ها توسط پینوکسادن و یا تراکسوس کنترل شدند و درجه مقاومت تمام بیوتیپ‌ها به تراکسوس پایین تر از درجه مقاومت آنها به سایرعلف‌کش‌ها بود.

واژه‌های کلیدی: مقاومت عرضی، دز تفکیک کننده، دز-پاسخ.

مقدمه

علف‌های‌هرز معمولا گیاهان ناخواسته‌ای هستند که وارد زیست بوم‌های زراعی می‌شوند و برای کسب منابع محدود رقابت می‌کنند. این گیاهان عملکرد محصولات زراعی را کاهش می‌دهند و بخش قابل توجهی از نیروی کار و فن‌آوری صرف جلوگیری از کاهش عملکرد ناشی از رقابت با علف-های‌هرز می‌شود (Akboundu, 1991). یولاف وحشی از مهم-ترین علف‌های‌هرز خانواده گندمیان محسوب می‌شود. گونه غالب در ایران، یولاف‌وحشی زمستانه یا *Avena ludoviciana* (Duriue) است. این گیاه اواسط اردیبهشت وارد دوره زایشی می‌گردند و بذور قبل از رسیدن خوشه گندم به زمین ریخته و موجب آلودگی مزرعه گندم می‌گردند (Dezfooli, 1997) و همچنین به عنوان یکی از دردسر سازترین علف های هرز پاییزه در در مزارع کشاورزی غلات استان خوزستان گزارش شده است (Montazeri *et al*., 2005). هر چه مدت زمان بیشتری به یولاف وحشی اجازه‌ی رشد داده شود کاهش عملکرد گندم بیشتر می‌شود به طوری که بیشترین کاهش عملکرد در رشد تمام فصل یولاف وحشی به میزان ۴۱ درصد گزارش شده است (David *et al*., 1991).

تکرار استفاده از یک علف‌کش یا علف‌کش‌های با نحوه عمل مشابه، از طریق فشار انتخاب بر روی بیوتیپ‌های مقاوم، باعث می‌شود که با گذشت زمان جمعیت‌های مقاوم زیاد شده و پس از گذشت چند سال، علف‌کش مورد نظر تاثیری بر روی این جمعیت نداشته باشد (Mallory –Smith & Namuth, 2006). علف‌کش‌های آریلوکسی‌فنوکسی‌پروپیونات و سیکلوهگزان‌دیون‌ها بیش از دو دهه است که به عنوان علف‌کش‌های پس‌رویشی در کنترل علف‌های هرز باریک‌برگ در محصولات دولپه‌ای و برخی تک لپه‌ای‌ها کاربرد دارند. هر دو علف کش از لحاظ شیمیایی به عنوان بازدارنده‌های استیل‌کوانزیم‌آکربوکسیلاز[1] (ACCase) عمل می‌کنند (Moss, 1995). آنزیم استیل‌کوآنزیم آ کربوکسیلاز در اولین مرحله ساخت اسیدهای چرب مشارکت می‌کند، این آنزیم سبب تبدیل استیل‌کوآنزیم آ به مالونیل کوآنزیم آ می‌شود (Sasaki & Nagano, 2004). موفقیت گسترده این دو علف‌کش در کنترل علف‌های‌هرز در سراسر دنیا باعث ظهور تعداد زیادی جمعیت علف‌هرز مقاوم شده است، به طوری که مقاومت به بازدارنده های استیل‌کوآنزیم‌آ-کربوکسیلاز در علف‌های‌هرز باریک‌برگ در حال توسعه می-باشد (Tharayil-Santhakumar, 2002).

نخستین بار بررسی‌های زند و همکاران (Zand *et al*., 2006a) در زمینه پی جوئی مقاومت به علف‌کش‌ها در برخی استان-های کشور نشان داد که تا اواخر دهه ۱۳۷۰، هیچ علف هرزی نسبت به علف‌کش‌ها مقاوم نشده بودند و زند و همکاران (Zand *et al*., 2006b) مقاومت یولاف وحشی به علف‌کش‌های ACCase را پس از ده سال از ثبت علف‌کش کلودینافوپ-پروپارژیل در مزارع استان خوزستان گزارش کردند. امروزه با توجه به اینکه باریک‌برگ کش‌های مصرفی در مزارع گندم از نظر محل عمل از تنوع مناسبی برخوردار نیستند و مبارزه با باریک برگ‌ها عمدتاً توسط علف‌کش‌های متعلق به یک گروه با نحوه عمل یکسان صورت می‌گیرد و باتوجه به سطح وسیع زمین‌های زیرکشت گندم و جو کشور، احتمال بروز مقاومت در علف‌های هرز این مزارع نسبت به بازدارنده های ACCase چندان دور از ذهن و تعجب برانگیز نیست (Gherekhloo & Zand, 2010).

هدف از پژوهش حاضر بررسی مقاومت بیوتیپ‌های یولاف وحشی *Avena ludoviciana* به علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل ، پینوکسادن و مخلوط آنها است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر طی سال‌های ۸۹-۱۳۸۸در بخش تحقیقات علف‌های هرز، واقع در موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، انجام گرفت. مواد گیاهی این پژوهش، شامل بذر ۸ بیوتیپ

[1] Acetyl- CoAcarboxylase

علف‌هرز یولاف وحشی مشکوک به مقاومت و ۱ بیوتیپ حساس به علف‌کش بود (جدول ۱). تمامی بیوتیپ‌های مشکوک به مقاومت حداقل سابقه ۵ سال مصرف علف کش کلودینافوپ پروپارژیل را در مزارع داشته‌اند. در این آزمایش از سه علف‌کش بازدارنده استیل‌کوآنزیم‌آکربوکسیلاز که شامل کلودینافوپ‌پرورپارژیل (با نام تجاری تاپیک، EC8%) از خانواده آریلوکسی‌فنوکسی‌پروپیونات (فوپ)، پینوکسادن (آکسیال، EC 10%) از خانواده فنیل پیرازولین‌ها (دن) و علف-کش جدیدی که ترکیبی از کلودینافوپ‌پروپارژیل و پینوکسادن (تراکسوس ، EC 4.5%) (از نام تجاری تراکسوس به جای نام عمومی استفاده شده است.) می‌باشد، استفاده شد.

جدول ۱- برخی از مشخصات بیوتیپ های مورد آزمایش.

Table 1-Some characteristics of studied biotypes.

Code	Year	Location	Province	R or S
D2	1386	Dezfool	Khozestan	R
AN3	1385	Andimeshk	Khozestan	R
SH1	1386	Shosh	Khozestan	R
SH2	1386	Shosh	Khozestan	R
S1	1385	Sepidan	Fars	R
S2	1385	Sepidan	Fars	R
M4	1385	Marvdasht	Fars	R
M5	1385	Marvdasht	Fars	R
S	1385	Marvdasht	Fars	S

پیش از اجرای آزمایش‌های گلدانی و پتری دیش، بذور یولاف‌های وحشی توسط دست، پوست‌کنی شد و لما و پالئا از بذرها جدا شدند (Beckie *et al*., 2000). سپس به منظور ضدعفونی بذرها و جلوگیری از آلودگی احتمالی قارچی، بذرها به مدت ۲ تا ۳ دقیقه در محلول هیپوکلریت‌سدیم ۱ درصد قرار گرفته، آنگاه به ترتیب توسط آب معمولی و آب مقطر، هر یک به مدت ۱ دقیقه شستشو داده شدند (Kern *et al*., 1996).

آزمایش‌های گلدانی: به منظور حذف خواب بذرها و تحریک جوانه زنی، به بذرهای ضدعفونی شده، اسید جیبرلیک با غلظت ۱۰ قسمت در میلیون اضافه شد و سپس به منظور شبیه‌سازی شرایط لازم برای شروع جوانه زنی، بذرها به مدت ۲ تا ۵ روز (بسته به نوع بیوتیپ بذر) در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت و ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت و در شرایط تاریکی قرار داده شدند (Beckie *et al*., 2000). سه آزمایش جداگانه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با چهار تکرار برای هر علف‌کش در گل‌خانه انجام گرفت. تیمارها شامل هشت دز از هر علف‌کش (۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ٤، ۸ و ۱٦ برابر دز توصیه شده) بود. بر این اساس با توجه به دز توصیه شده هر علف‌کش (۰/۸، ۰/٤۵و ۱/۵ لیتر در هکتار به ترتیب برای کلودینافوپ‌پروپارژیل ،پینوکسادن و تراکسوس) دزهای به کار رفته برای کلودینافوپ‌پروپارژیل شامل ۰، ۱٦، ۳۲، ٦٤، ۱۲۸، ۲۵٦، ۵۱۲ و ۱۰۲٤ گرم ماده موثره در هکتار، برای علف‌کش پینوکسادن شامل ۰، ۱۱/۲۵، ۲۲/۵، ٤۵، ۹۰، ۱۸۰، ۳٦۰ و ۷۲۰ گرم ماده موثره در هکتار و برای علف‌کش تراکسوس شامل ۰، ۱٦/۸۷، ۳۳/۷۵، ٦۷/۵، ۱۳۵، ۲۷۰، ۵٤۰ و ۱۰۸۰ گرم ماده موثره در هکتار بود. گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۲ سانتی‌متر و با حجم حدود ۵۰۰ میلی لیتر با ۱ قسمت خاک رس، ۱ قسمت خاک شن و ۱ قسمت کود پوسیده دامی به همراه مقداری پرلیت (به منظور حفظ رطوبت خاک) پرشدند. ده عدد بذر جوانه زده در گلدان‌ها کاشته شد، سپس گلدان‌ها به گل‌خانه-ای با شرایط ۱٦ ساعت روشنایی با درجه حرارت ۲۰ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی با درجه حرارت ۱۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. کود مایع کامل زربار با غلظت ۵ در هزار نیز به منظور جلوگیری از هر گونه کمبود احتمالی عناصر غذایی، در طی دوره رشدی گیاه در گلدان‌ها توزیع شد. پیش از سم‌پاشی بوته‌های داخل هر گلدان تنک شده و به منظور کاهش رقابت بین بوته‌ها به تعداد ۸ بوته در هر

گلدان کاهش یافت. تیمارهای علف‌کش حدود ٤ هفته پس از کاشت در مرحله ۲ تا ٤ برگی یولاف وحشی و توسط دستگاه سم‌پاش ثابت خودکار دارای نازل بادبزنی یکنواخت (شماره نازل:۱۱۰۰۳) با حجم کاربردی ۲۰۰ لیتر در هکتار و فشار ۲ بار اعمال شد. در هفته دوم و چهارم پس ازسم‌پاشی، گیاهان بر اساس سیستم درجه‌بندی استاندارد EWRC ارزیابی چشمی و نمره‌دهی شدند و در هفته چهارم بعد از سم پاشی، گیاهان از سطح خاک برداشت شدند. نمونه‌های مربوط به هر گلدان درون پاکت‌های جداگانه قرار داده شدند و به مدت ٤٨ ساعت به دستگاه آون با دمای ۷۵ درجه سانتی گراد منتقل و خشک شده و سپس وزن خشک آنها اندازه گیری شد. میانگین وزن خشک اندام هوائی برای هر تک‌بوته، از طریق تقسیم وزن خشک بر تعداد بوته زنده مانده محاسبه شد. سپس وزن خشک تک بوته هر بیوتیپ تیمارشده با علف‌کش نسبت به شاهد خودش (تیمار نشده با علف‌کش از همان بیوتیپ) بر حسب درصد محاسبه شد (Beckie *et al*., 2000).

آزمایش‌های زیست سنجی بذر در پتری‌دیش: در این مرحله دو آزمایش انجام شد. آزمایش اول برای تعیین دز تفکیک کننده و آزمایش دوم برای انجام دز – پاسخ در پتری دیش بود. هر یک از این آزمایش‌ها در زیر به تفصیل توضیح داده شده است.

آزمایش‌های تعیین دز تفکیک کننده: دز تفکیک کننده غلظتی از سم مورد نظر می‌باشد که بیشترین اختلاف عمودی را بین منحنی‌های دز–پاسخ مربوط به بیوتیپ‌های مقاوم و حساس ایجاد کند و حداقل باعث ۸۰ درصد بازدارندگی رشد (GR80) در بیوتیپ حساس شود (Beckie *et al*., 2000; Bourgeois & Morrison, 1997). بدین منظور سه آزمایش جداگانه در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار بر روی بذور بیوتیپ حساس (S) انجام گرفت. به منظور جلوگیری از احتمال واکنش اسید جیبرلیک با محلول های علف کشی، از تیمار سرمادهی و نیترات پتاسیم به منظور شکستن خواب بذور استفاده شد (Sasanfar, 2008). بلافاصله پس از مشاهده اولین نشانه‌های خروج ریشه‌چه‌ی بذرها، آن‌ها را به پتری-دیش‌هائی با قطر ۹ سانتی‌متر و حاوی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ منتقل شدند. در هر پتری‌دیش ۸ عدد بذر با آرایش منظم قرار داده شد. برای محاسبه‌ی GR_{80} ابتدا به صورت تجربی و بر اساس نتایج سایر پژوهشگران، چند دزغلظت مختلف از هر علف‌کش، بر بیوتیپ حساس اعمال شد. این آزمایش‌ها تا رسیدن به دز مورد نظر، یعنی دزی که باعث ۸۰ درصد بازدارندگی شود، تکرار شد. دزهای به کار رفته شده برای کلودینافوپ پروپارژیل شامل ۰/۰۳، ۰/۰۵، ۰/۰۸، ۰/۱٦، ۰/۳۲ و ۰/۵ میلی‌گرم ماده موثره در لیتر، علف‌کش پینوکسادن شامل ۰/۰۱، ۰/۰۳، ۰/۰۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم ماده موثره در لیتر و علف‌کش تراکسوس شامل ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم ماده موثره در لیتر بود که با استفاده از محلول‌های تجارتی تهیه شده و به میزان ۸ میلیاز هر محلول به پتریدیش‌ها افزوده شد. سپس پتری‌دیش‌ها به مدت ۷ روز (شرایط ۲۰ درجه با ۱٦ ساعت روشنائی و ۱۰ درجه با ۸ ساعت تاریکی) در داخل ژرمیناتور قرار داده شدند (Sasanfar, 2008). پس از این مدت، طول گیاهچه تک تک بذرهای هر پتری‌دیش اندازه‌گیری شد. در این آزمایش‌ها نیز داده‌ها بصورت درصد نسبت به شاهد تیمارنشده از همان بیوتیپ بیان شد.

آزمایش‌های دز پاسخ در پتریدیش: بعد از تعیین دز تفکیک کننده برای هر علف‌کش، مشابه آزمایش‌های گلدانی به منظور تعیین درجه مقاومت و الگوهای مقاومت عرضی، بیوتیپ‌های مختلف یولاف وحشی مورد زیست‌سنجی بذر قرار گرفت. بدین منظور سه آزمایش جداگانه با چهار تکرار برای هر علف‌کش، انجام گرفت. در این آزمایش‌ها، چند دز بالاتر و پایین‌تر از دز تفکیک کننده برای هر علف‌کش که باعث ۸۰ درصد بازدارندگی در بیوتیپ حساس می‌شود، به کار گرفته شد. بر این اساس برای هر علف‌کش هشت دز شامل ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ٤، ۸ و ۱٦ برابر دز تفکیک کننده علف‌کش مورد نظر اعمال شد. بر این اساس دزهای به کار رفته برای

کلودینافوپ‌پروپارژیل شامل ۰، ۰/۰۱۲۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/٤ و ۰/۸ میلی گرم ماده موثره در لیتر ، علف‌کش پینوکسادن ۰، ۰/۰۰۷۵، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳، ۰/۰٦، ۰/۱۲، ۰/۲٤و ۰/٤۸ میلی گرم ماده موثره در لیتر و علف‌کش تراکسوس ۰، ۰/۰۰۲۵، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰٤، ۰/۰۸ و ۰/۱٦ میلی گرم ماده موثره در لیتر بودند. در این آزمایش‌ها نیز طول گیاهچه، هفت روز بعد از اعمال تیمار علف‌کش تعیین و به صورت درصد از شاهد برای هر بیوتیپ محاسبه گردید.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشی از تجزیه رگرسیونی استفاده شد. این کار از طریق برازش معادله‌های چهار پارامتره (معادله ۱) و سه پارامتره (معادله۲) لجستیک (Seefeldt *et al*., 1995; Streibig, 1988) به داده ها و با استفاده از نرم افزار Sigma plot ver.10 انجام گرفت.

$$Y = \frac{d - c}{1 + exp\{b(\log(x) - log(e))\}}$$

معاله (۱)

در این معادله Y= میزان پاسخ (درصد نسبت به شاهد) در دز x، x= دز علف‌کش، c= حد پایین منحنی، d= حد بالای منحنی، b= شیب منحنی در نقطه e و e= میزان GR_{50} می‌باشد.

$$Y = \frac{d}{1 + exp\{b(\log(x) - \log(e))\}}$$

(معادله ۲)

پس از اطمینان از مناسب بودن تابع مورد نظر، مقدار GR_{50} برآورد شد و میزان درجه مقاومت (معادله ۳) برای هر بیوتیپ تعیین شد (Beckie *et al*., 2000).

$$\text{درجه مقاومت} = \frac{GR50 \text{ توده مورد نظر}}{GR50 \text{ توده حساس}}$$

(معادله ۳)

نتایج و بحث

آزمایش‌های گلدانی

درجات مقاومت متفاوتی بر اساس وزن خشک بیوتیپ‌ها نسبت به علف‌کش کلودینافوپ‌پروپارژیل دیده شد (جدول ۲). بیوتیپ S1 از سپیدان بیشترین درجه مقاومت و بیوتیپ M5 از مرودشت فارس کمترین درجه مقاومت را نسبت به کلودینافوپ‌پروپارژیل به خود اختصاص دادند. سایر بیوتیپ‌ها نیز درجه مقاومت‌های نسبتا بالایی را نشان دادند. همچنین بیوتیپ‌ها درجات مقاومت مختلفی را نسبت به علف‌کش پینوکسادن نشان دادند (جدول ۲)، به طوری که درجه مقاومت در بیوتیپ AN3 تقریبا چهار برابر بیشتر از بیوتیپ حساس بود در حالیکه بیوتیپ‌های S2، M4 و M5 نسبت به بیوتیپ حساس، حساسیت بیشتری نشان دادند. اولداگ و همکاران (Uludag *et al* ., 2008) در یک زیست سنجی گلدانی، مقاومت ۵ بیوتیپ یولاف وحشی(*Avena fatua* (L.) را نسبت به علف‌کش‌های خانواده فوپ، دیم و دن مورد بررسی قرار دادند. بیوتیپ‌های مورد بررسی ۲ تا ٤ برابر مقاومت بیشتری نسبت به فنوکساپروپ، دیکلوفوپ و کوئیزالوفوپ، در مقایسه با بیوتیپ حساس نشان دادند. در بین بیوتیپ‌ها، فقط بیوتیپ R2 در برابر علف‌کش‌های ترالکوکسیدیم و پینوکسادن به ترتیب ۳۵ و۱٦ بار مقاومت بیشتری نسبت به بیوتیپ حساس از خود نشان داد. کوک و همکاران (Kuk *et al*., 2008) با بررسی ۳٦ بیوتیپ چچم (*Lolium multiflorum* L.) شاخص‌های مقاومت برای علف‌کش‌های دیکلوفوپ، کلودینافوپ و پینوکسادن را به ترتیب بالاتر از ٤۰۰ و بیش از ۱٦۵ و ۱۲ برآورد کردند. در تحقیق حاضر مقدار ۰/۸٤ تا ۷۵/٤۳ گرم ماده موثره پینوکسادن در هکتار باعث کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک بیوتیپ ها شد در حالیکه در مطالعات اولداگ و همکاران (Uludag *et al*., 2008) مقدار ٤۰ گرم ماده موثره پینوکسادن در هکتار باعث کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک بیوتیپ R2 شد. مقدار ۳۲/۸۲ گرم ماده موثر در هکتار از علف‌کش تراکسوس باعث کاهش ۵۰ درصد وزن خشک بیوتیپ حساس شد که این مقدار کاهش برای بیوتیپ AN3 در دز ۸٤/٦۹ گرم ماده موثره در هکتار رخ داد و بیشترین درجه مقاومت را به خود اختصاص داد، همچنین بیوتیپ‌های S1، S2 وM5 حساسیت

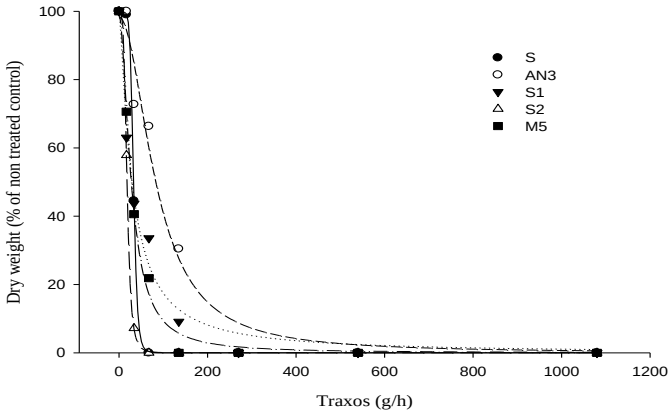
بالائی به علف‌کش تراکسوس از خود نشان دادند (شکل ۱). در کنترل این بیوتیپ‌ها می‌باشد.
حساسیت شدید این ۳ بیوتیپ نشان از کارائی موثر تراکسوس

جدول ۲- پارامترهای برآورد شده از تابع دز-پاسخ و نسبت های مقاومت به حساسیت بر اساس وزن خشک بیوتیپ های یولاف وحشی مقاوم و حساس به بازدارنده‌های ACCase.

Table 2- Estimated parameters from dose-response functions and resistant/susceptible ratios based on the above-ground biomass of the resistant and susceptible biotypes to ACCase inhibitors.

Herbicide	Biotype	d(SE)	C(SE)	b(SE)	GR_{50}(SE)	R^2	R/S ratio
Clodinafop propargyl	D2	74.72(3.23)	24.45(2.59)	5.36(1.42)	215.27(12.65)	0.99	25.06
	AN3	91.57(1.14)	8.82(0.88)	4.85(0.39)	145.98(2.35)	0.99	16.99
	SH1	104.47(6.440	-	1.31(0.29)	211.75(41.77)	0.94	24.65
	SH2	100.23(1.10)	-	2.40(0.15)	376.94(11.94)	0.99	43.88
	S1	100.17(0.45)	60.76(0.49)	6.16(1.61)	>376.94	0.99	>43.88
	S2	103.26(4.24)	-	1.19(0.17)	228.69(31.68)	0.97	26.62
	M4	103.27(3.73)	-	1.48(0.20)	188.73(20.59)	0.98	9.17
	M5	70.79(8.27)	28.71(4.13)	1.90(0.68)	26.27(5.48)	0.94	3.06
	S	99.96(2.74)	-	1.56(0.32)	8.59(1.61)	0.99	
Pinoxaden	D2	97.60(6.59)	-	1.22(0.23)	62.07(12.52)	0.96	2.93
	AN3	102.98(4.10)	-	1.99(0.32)	75.43(7.36)	0.98	3.55
	SH1	97.78(7.21)	-	1.77(0.39)	31.44(5.14)	0.96	1.48
	SH2	101.04(8.75)	-	1.12(0.25)	31.54(8.14)	0.94	1.49
	S1	95.82(8.20)	-	1.19(0.26)	46.17(11.61)	0.95	2.18
	S2	99.20(7.30)	-	0.74(0.15)	18.19(5.63)	0.95	0.86
	M4	99.59(1.00)	-	0.73(0.09)	0.84(0.34)	0.99	0.04
	M5	99.79(4.87)	-	0.68(0.11)	8.66(2.57)	0.98	0.41
	S	98.88(8.35)	-	1.41(0.34)	21.19(4.47)	0.95	
Traxos	D2	100.22(7.40)	-	1.54(0.34)	67.76(12.62)	0.96	2.06
	AN3	98.33(6.29)	-	2.01(0.48)	84.69(12.49)	0.97	2.58
	SH1	102.39(9.81)	-	2.05(0.64)	47.91(9.43)	0.94	1.46
	SH2	99.60(8.51)	-	0.98(0.21)	61.21(17.27)	0.94	1.86
	S1	99.26(4.98)	-	1.24(0.18)	28.65(3.99)	0.98	0.87
	S2	99.99(0.19)	-	4.16(0.04)	18.20(0.04)	1	0.55
	M4	101.56(4.56)	-	1.89(0.29)	66.84(6.78)	0.98	2.03
	M5	99.78(3.39)	-	1.77(0.18)	27.97(2.01)	0.99	0.85
	S	97.87(0.19)	-	7.82(0.59)	32.82(0.86)	1	

d=upper asymptote, c=lower asymptote, b= relative slope around GR_{50} and GR_{50} is the rate required to 50% growth reduction.



شکل ۱- اثر تراکسوس بر روی وزن خشک شاخساره بیوتیپ‌های حساس(S,S1,S2,M5) و مقاوم (AN3) یولاف وحشی.

Figure 1−The effect of traxos on the shoot dry weight of susceptible (S, S1, S2, M5) and resistant (AN3) wild oat biotypes

منگیستو و همکاران (Mengistu *et al*., 2003) تنوع درجات مقاومت برای۳ بیوتیپ یولاف وحشی را نسبت به علف‌کش‌های ایمازامتابنز، دایفنروکوآت، دیکلوفوپ، فنوکساپروپ، سیتوکسیدیم و ترالکوکسیدیم به ترتیب ۱۵، ۳، ١٤، ۱۰ و بیش از ١٦ و ۵ اعلام کردند. در مطالعه حاضر درجه مقاومت برای علف‌کش فوپ بین ۳ تا بیش از ٤٣/٨٨ و در مطالعه هیپ و موریسون (Heap & Morrison, 1996) درجات مقاومت بیوتیپ‌های دم روباهی سبز نسبت به علف‌کش‌های فوپ بین ۲ تا ٥٤ بار نسبت به بیوتیپ حساس گزارش شد. راستگو و همکاران(Rastgoo *et al*., 2006) مقاومت بیوتیپ‌های یولاف وحشی زمستانه به فوپ‌ها را در استان خوزستان مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که اغلب بیوتیپ‌ها به ایلوکسان، پوماسوپر و تاپیک مقاومت نشان دادند. در این مطالعه نیز تمامی بیوتیپ‌ها به تاپیک (کلودینافوپ پروپارژیل) مقاومت نشان دادند.

آزمایش‌های پتری‌دیش

در این آزمایش غلظت تفکیک کننده برای کلودینافوپ-پروپارژیل، پینوکسادن و تراکسوس به ترتیب ۰/۰۵، ۰/۰۳ و ۰/۰۱ میلی‌گرم ماده موثره در لیتر برآورد شد. بورجیوس و همکاران (Bourgeois *et al*., 1997) نیز برای علف‌کش‌های کلودینافوپ‌پروپارژیل و ستوکسیدیم غلظت‌های ۳ و ۵ میکرومول را در آزمایش‌های تعیین غلظت تفکیک کننده بر روی یولاف وحشی، عنوان کردند. همانند روش گلدانی درجات مقاومت متفاوتی در بین بیوتیپ ها مشاهده گردید (جدول ۳). بیوتیپ S1 با درجه مقاومت ۲۰ بیشترین درجه مقاومت را در بین بیوتیپ‌ها نسبت به کلودینافوپ‌پروپارژیل داشت. این بیوتیپ در آزمایش‌های گلخانه‌ای نیز بالاترین درجه مقاومت را نشان داد و بیوتیپ M5 نیز همانند روش گلخانه‌ای کمترین درجه مقاومت را نشان داد. این بیوتیپ حتی از بیوتیپ حساس هم، حساس‌تر بود. همانند روش گلخانه‌ای، بیوتیپ AN3 با درجه مقاومت ٤/٢٢ بیشترین درجه مقاومت در بین بیوتیپ‌ها را نسبت به سم پینوکسادن داشت. در حالیکه مقدار ۰/۰۰۱۳ میلی گرم ماده موثره تراکسوس باعث کاهش ۵۰ درصدی بیوتیپ حساس شده است، مقدار۰/۰۰۳۷میلی گرم ماده موثره بر روی بیوتیپ AN3 نیز باعث کاهش ۵۰ درصدی طول گیاهچه شد (جدول ۳). بیوتیپ‌های M5 S2, S1 نسبت به تراکسوس، از بیوتیپ حساس هم حساس‌تر می‌باشد. این سه بیوتیپ در آزمایشهای گل‌خانه‌ای هم چنین وضیعتی را نسبت به بیوتیپ حساس داشتند. بقیه بیوتیپ‌ها یعنی M4 SH2 D2، مقاومت‌های

متوسط تا ضعیفی را نسبت به این علف‌کش نشان دادند. درجات مقاومت بدست آمده در آزمایش پتری‌دیش کمتر از درجات مقاومت به دست آمده در روش گلخانه‌ای می‌باشند. تال و همکاران (Tal *et al.*, 2000) درجات مقاومت بیوتیپ-های فالاریس، چچم و دم روباهی کشیده را به ترتیب نسبت به علف‌کش‌های فنوکساپروپ، دیکلوفوپ و کلودینافوپ ۹/۳، ۳/۵ و ۳ برآورد کردند، همچنین به این نتیجه رسیدند که مقادیر درجه مقاومت در روش گلدانی نسبت به روش زیست سنجی پتری دیش بالاتر می باشد.

جدول ۳- پارامترهای برآورد شده از تابع دز-پاسخ و نسبت های مقاومت به حساسیت بر اساس طول گیاهچه بیوتیپ‌های یولاف وحشی مقاوم و حساس به بازدارنده‌های ACCase

Table 3- Estimated parameters from dose-response functions and resistant/susceptible ratios based on the seedling length of the resistant and susceptible biotypes to ACCase inhibitors.

Herbicide	Biotype	d(E)	B(E)	GR_{50}(E)	R^2	R/S ratio
Clodinafop propargyl	D2	96.86(7.62)	0.77(0.15)	0.06(0.018)	0.94	6
	AN3	98.49(4.42)	2.05(0.29)	0.03(0.002)	0.99	3
	SH1	99.35(3.28)	1.09(0.1)	0.020(0.002)	0.99	2
	SH2	98.57(0.18	0.91(0.18)	0.021(0.005)	0.95	2.1
	S1	87.14(4.22)	2.46(0.69)	0.20(0.035)	0.95	20
	S2	99.14(4.45)	1.52(0.21)	0.019(0.002)	0.98	1.9
	M4	99.31(7.91)	0.91(0.246)	0.011(0.004)	0.95	1.1
	M5	99.89(5.52)	1.23(0.42)	0.006(0.0024)	0.97	0.06
	S	99.62(6.53)	1.51(0.43)	0.010(0.002)	0.97	-
Pinoxaden	D2	93.94(7.99)	1.43(0.34)	0.026(0.005)	0.95	2.89
	AN3	84.25(5.68)	3.95(1.5)	0.038(0.004)	0.95	4.22
	SH1	97.51(8.32)	2.02(0.55)	0.012(0.002)	0.95	1.33
	SH2	99.19(5.04)	1.38(0.23)	0.009(0.001)	0.98	1
	S1	99.96(6.51)	1.45(0.29)	0.01(0.0010)	0.97	1.11
	S2	99.96(2.47)	1.60(0.27)	0.004(0.0006)	0.99	0.44
	M4	99.81(1.86)	1.61(0.11)	0.008(0.0004)	0.99	0.89
	M5	100.13(2.54)	1.85(0.19)	0.007(0.0005)	0.99	0.78
	S	99.85(2.57)	1.85(0.16)	0.009(0.0005)	0.99	-
Traxos	D2	99.05(6.63)	1.22(0.26)	0.0026(0.0005)	0.97	2
	AN3	98.94(5.95)	1.05(0.17)	0.0037(0.0007)	0.97	2.85
	SH1	99.78(5.26)	1.04(0.22)	0.0015(0.0004)	0.98	1.15
	SH2	99.91(3.20)	1.18(0.16)	0.0020(0.0002)	0.99	1.54
	S1	99.87(5.03)	1.07(0.3)	0.0010(0.0004)	0.98	0.77
	S2	99.92(4.390	1.07(0.28)	0.0009(0.0003)	0.98	0.69
	M4	99.58(6.19)	0.96(0.22)	0.0017(0.0005)	0.97	1.31
	M5	99.98(52.45)	1.18(0.29)	0.0006(0.0002)	0.99	0.46
	S	99.82(5.92)	1.22(0.36)	0.0013(0.0004)	0.97	-

d=upper asymptote, b= relative slope around GR_{50} and GR_{50} is the rate required to 50% growth reduction.

بررسی مقاومت عرضی

با توجه به آزمایش‌ها، بیوتیپ‌های جمع‌آوری شده از استان خوزستان به هر سه علف‌کش مقاومت عرضی نشان دادند.

بیوتیپ S1 از استان فارس مقاومت بالا به کلودینافوپ-پروپارژیل ، مقاومت بسیار پایین به پینوکسادن و عدم مقاومت نسبت به تراکسوس را داشت. سایر بیوتیپ‌های استان فارس مقاومت پایین تا متوسط به کلودینافوپ‌پروپارژیل و عدم مقاومت تا مقاومت پایینی به دو علف‌کش پینوکسادن و تراکسوس نشان دادند. در مجموع در میان تمام بیوتیپ‌ها، دو بیوتیپ D2 و AN3 از خوزستان، مقاومت بالایی به سه علف کش نشان دادند (جدول ٤). منگیستو و همکاران (Mengistu *et al*., 2003) علت فراوانی مقاومت به علف‌کش-های فوپ را این گونه عنوان کرده‌اند که بیوتیپ‌های یولاف وحشی مقاوم به علف‌کش های دیم از بیوتیپ‌هائی انتخاب شده‌اند که در ابتدا به یک علف‌کش فوپ مقاوم شده‌اند. چنین روندی در بیوتیپ‌های مورد آزمایش این تحقیق وجود داشت.

جدول٤- درجات مقاومت بیوتیپ‌های یولاف وحشی در زیست سنجی گلدانی نسبت به علف‌کش‌های مورد آزمایش.

Table 4- Resistance indices of wild oat biotypes to studied herbicides in pot bioassay.

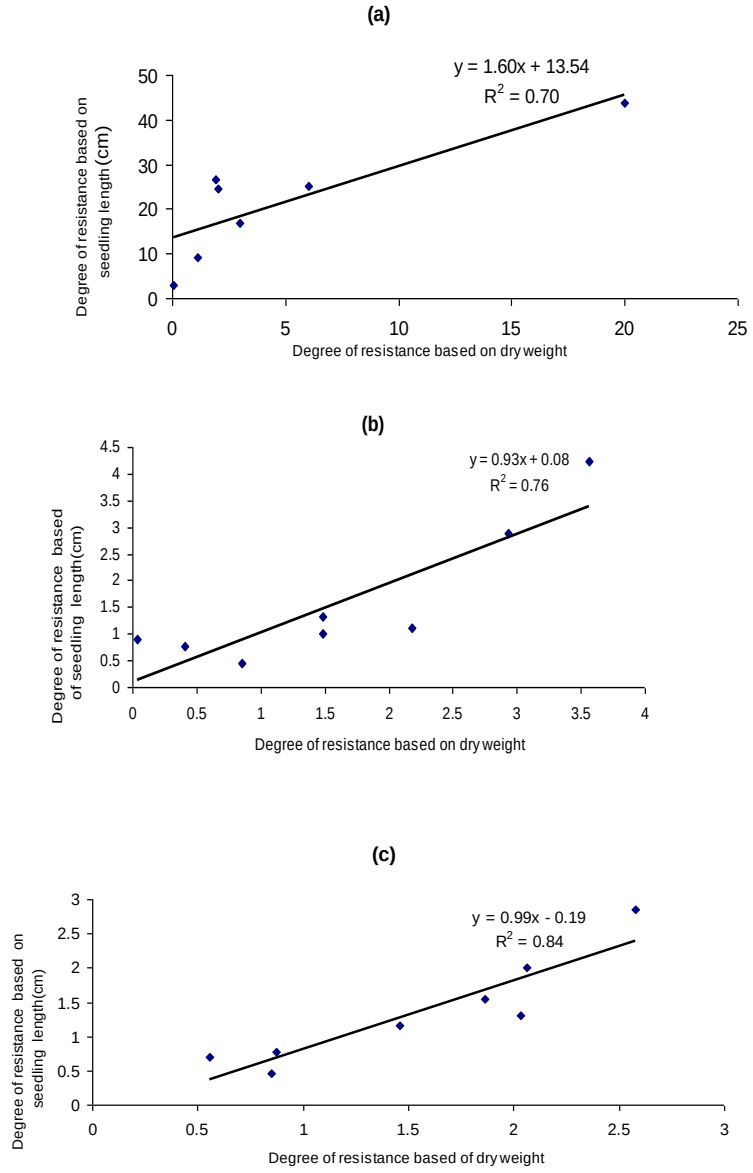
Herbicide Biotype	AN3	D2	SH1	SH2	S1	S2	M4	M5
Clodinafoppropagyl	25.06	17	24.65	43.88	>43.88	26.62	9.17	3.06
pinoxaden	2.93	3.55	1.48	1.49	2.18	-	-	-
Traxos	2.06	2.58	1.46	1.86	-	-	2.03	-

همبستگی بین آزمایش‌های گلدانی و پتری‌دیش

همانگونه که مشاهده می‌شود، درجات مقاومت بر اساس وزن خشک همبستگی بالائی با آزمایش‌های پتری‌دیش دارند و این همبستگی نسبت به علف‌کش تراکسوس مشهودتر از سایر علف‌کش‌ها بود (شکل ۲). ماری و همکاران (Murry *et al*., 1996) همبستگی خوبی را بین نتایج آزمایش-های گلدانی و پتری‌دیش گزارش دادند. تال و همکاران (Tal *et al*., 2000) همبستگی نزدیکی بین زیست سنجی گلدانی و سنجش آنزیم را گزارش دادند و آزمون زیست سنجی بذر را به عنوان روشی مطمئن، سریع و ارزان به منظور شناسائی بیوتیپ‌های مقاوم علف‌های هرز به ویژه مقاومت عرضی علف‌های هرز باریک برگ به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase عنوان کردند. اگر چه روش زیست سنجی بذر نمی تواند مانند زیست سنجی گلدان، یک روش دقیق باشد و لیکن یک آزمون سریع و ارزان برای غربال تعداد زیادی نمونه می‌باشد (Beckie *et al*., 2000).

نتیجه گیری

به نظر می‌رسد ترکیب دو علف‌کش پینوکسادن و کلودینافوپ‌پروپارژیل (تراکسوس) بسیار موفق تر از هر کدام از این علف‌کش ها به تنهایی‌باشد و قابل توصیه برای بیوتیپ های یولاف وحشی مقاوم به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase باشد. البته با توجه به درجات پایین مقاومت مشاهده شده در مورد تراکسوس در برخی بیوتیپ‌ها، در صورتیکه استفاده از این علف‌کش همراه با اعمال مدیریتی مناسب صورت نگیرد احتمال بروز مقاومت به این علف‌کش در آینده‌ای نه چندان دور وجود خواهد داشت.



شکل ۲- ضریب هبستگی پیرسون بین درجات مقاومت حاصل از آزمایش‌های گلدانی و پتری‌دیش (a) کلودینافوپ‌پروپارژیل، (b) پینوکسادن و (c) تراکسوس.

Figure 2- Pearson's correlation coefficient between resistance levels of pot and Petri dish studies (a)clodinafoppropargyl (b) pinoxaden and (c) traxos.

منابع

Akoboundu, I. O. 1991. Weeds in human in sub-Saharan Africa: Implications for sustainable food production. Weed Technol. 5: 680-690.

Beckie, H. J., Heap, I. M. Smeda, R. J. and Hall, L. M. 2000.Screening for herbicide resistance in weeds. Weed Technol. 14:428–445.

Bourgeois, L. and Morrison, I. N. 1997.A survey of ACCase inhibitor resistant wild oat in a high risk township in Manitoba. Can. J. Plant Sci. 77: 703-708.

David, W. C., Jordan, L. S. and Hall. A. E. 1991. Effect of wild oat (*Avena fatua*) infestations on

light interception and growth rate of wheat (*Triticum aestivum*). Weed Sci. 39:175-179.

Dezfooli, M. 1997. Gramine grass weeds of Iran. University Press.480p. (In Persian with English summary).

Gherekhloo, J. and Zand, E. 2010. A short review on conducted herbicide-resistance researches in Iran. Key articles 11th Iranian Crop Science Congress. Tehran. pp,110-125. (In Persian with English summary)

Heap, I. M. and Morrison, I. N. 1996. Resistance to aryloxyphenoxypropionat and cyclohexanidione herbicides in green foxtail (*Setaria viridis*).Weed Sci. 44:25-30.

Kern, A. J., Colliver, C. T., Maxwell, B. D., Fay, P.K. and Dyer, W. E. 1996.Charactrization of wild oat (*Avena fatua* L.) population and an inbred line with multiple herbicide resistance. Weed Sci. 44:847-852.

Kuk, Y., Burgos, N. R. and Scott, R. C. 2008.Resistance profile of diclofop-resistant Italian ryegrass *(Lolium multiflorum*) to ACCase and ALS inhibiting herbicides in Arkansas-USA. Weed Sci. 56:614-623.

Mallory –Smith, C. and Namuth, D. 2006. Herbicide resistance: mechanisms, inheritance, and molecular genetics. Web peg: http://www.plantandsoil. Accessed: 16 May 2009.

Mengistu, L.W., Messersmith, C. G. and Christoffers, M .J. 2003. Diversity of herbicide resistance among wild oat sampled 36 years apart. Weed Sci. 51:764-773.

Montazeri, M., Zand, E. and Baghestani, M. A. 2005. Weeds and their control in wheat fields of Iran: Plant Pest & Disease Research Institute Press. 85p. (In Persian with English summary).

Moss, S. R. 1995.Techniques for determining herbicide resistance.Brighton Crop Prot. Cof.Weeds. 2:547-556.

Murry, B. G., Frisen, L. F., Beaulieu, k. j. and Morrison, I. N. 1996.A seed bioassay to indentify acetyl-coA carboxylase inhibitor resistant wild oat (*Avena fatua*) populations. Weed Technol. 10:85-89.

Rastgoo, M., Rashed, M. H. Zand, E. and Nasiri, M.2006. Resistance of winter wild oat (*Avena ludoviciana*) to aryloxyphenoxypropionat herbicides in wheat fields of Khozestan Province. Iran. J. Weed Sci.2:96-105.

Sasanfar, H. R. 2008. Investigation of cross-resistant of wild oat (*Avena ludoviciana*) populations collected from Fars province to ACCase inhibitor herbicides. M.Sc. Thesis, Islamic Azad University, Science and Research Branch,Tehran ,Iran. (In Persian with English summary)

Sasaki, y. and Nagano, Y. 2004. Plant Acetyl- coA carboxylase; structure, biosynthesis, regulation, and gen manipulation for plant breeding. Biosci. Biotechnol. Biochem. 68:1175-1184.

Seefeldt, S. S., Jensen, J .E. and Fuerst, E. P. 1995. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. Weed Technol. 9:218-227

Streibig, J. C. 1988. Herbicide bioassay. Weed Res. 28:479-484.

Uludag.A., K.W.Park, J. Cannon, and A. Mallory-smith.2008. Cross resistance of acetyl-coA carboxylase (ACCase) inhibitor-resistant wild oat (*Avena fatua*) biotypes in the pacific northwest. Weed Technol. 22:142-145.

Tharayil-santhakumar, N. 2002. Mechanism of herbicide resistance in weeds. Plant and Soil Sci. 8. 38p.

Tal. A., Kotula-Sykna, E. and Rubin, B. 2000. Seed bioassay to detect grass weeds resistance to acetyl coA carboxylase inhibiting herbicides. Crop Protect. 19: 467-472.

Zand, E., Benakashani, F., Alizadeh, H. M., Ramezani, K., Maknali, A. and Fereydounpoor. 2006a. Resistance to aryloxyhenoxyprpionate herbicides in wild oat (*Avenaludoviciana*). Iran. J. of Weed Sci. 2:17-31.

Zand, E., Makenali, A., Jamali, M. and Yonesi, M. 2006b.Investigation resistant weed to the common herbicides in wheat fields.Final report, Iran Plant Protection Research Institute. N.86/941.(In Persian with English summary).

Investigation of Wild Oat (*Avena ludoviciana*) Biotypes Resistance to the Clodinafoppropargyl, Pinoxaden Herbicides and their Mixture.

Zeinab Najafi[1], seyed Vahid Eslami[1], Eskanar Zand[2]

[1]Birjand University, [2] Iranian Plant Protection Research Institute

Abstract

In order to evaluate the resistance of wild oat bitypes to clodinafop-propargyle, pinoxaden and their mixture (traxos), collected from Fars and Khoozestan provinces, pot and Petri dish bioassay studies were conducted on 8 suspected to resistance wild oat biotypes as well as one susceptible biotype at Iranian Research Institute of Plant Protection during 2008-2009. In pot bioassay experiments which were conducted as RCBD with four replications, wild oat plants were sprayed during 2-4 leaves stage using 0.25-16 times the recommended dose. Based on herbicide recommended rates (0.8, 0.45 and 1.5 l/ha for clodinafop-propargyle, pinoxaden and traxos, respectively), the applied doses were 0, 16, 32, 64, 128, 256, 512 and 1024 g ai ha^{-1} for clodinafop-propargyle, 11.25, 22.5, 45, 90, 180, 360 and 720 g ai ha^{-1} for pinoxaden and 16.87, 33.75, 67.5, 135, 270,540 and 1080 g ai ha^{-1} for traxos. In Petri dish bioassay studies, after determination of discriminating dose for each herbicide (0.05, 0.03 and 0.01 mg ai/l for clodinafop-propargyle, pinoxaden and traxos respectively), dose response experiments using 0.25-16 times of the discriminating dose were conducted on germinated seeds. The results indicated that all biotypes was resistant to clodinafop propargyl and cross resistance to clodinafop-propargyle, pinoxaden and their mixture (traxos) in Khoozestan populations were confirmed. Greater than 37% of biotypes were controlled by pinoxaden or traxos herbicides and the resistance level of all biotypes to traxos was lower than other herbicides.

Key words: cross resistance, discriminate dose, dose-response