مجله پژوهش علف‌های هرز
جلد ۱۱، شماره ۱، ۱۳۹۸
صفحات ۱۶-۱

شناسایی مقاومت *Phalaris brachystachys* Link. به علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل در مزارع استان گلستان

Identification of *Phalaris brachystachys* Link. resistance to haloxyfop-R-methyl herbicide from fields of Golestan province

ساجده گل محمد زاده[۱]، جاوید قرخلو[۲]*، آنتونیا روخانو-دلگادو[۳]، ماریا اسونا[۴]، بهنام کامکار[۵]، فرشید قادری فر[۶]، راقائل دپرادو[۷]

چکیده

به منظور بررسی مقاومت بیوتیپ‌های فالاریس (*Phalaris brachystachys* Link.) به علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل، آزمایشی در سال ۱۳۹۶ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ۳۶ بیوتیپ فالاریس مشکوک به مقاومت و یک بیوتیپ حساس بودند که از مزارع گندم استان گلستان جمع‌آوری شدند. آزمایش‌ها شامل تعیین غلظت تفکیک‌کننده، غربال بیوتیپ‌ها با غلظت تفکیک‌کننده، آزمون غلظت-پاسخ و دز-پاسخ برای بیوتیپ‌های مقاوم بود. در آزمون زیست‌سنجی بذر در پتری‌دیش، بعد از تعیین غلظت تفکیک‌کننده و غربالگری همه بیوتیپ‌ها، دامنه‌ای از غلظت‌های مختلف علف‌کش اعمال شد. در آزمایش دز-پاسخ واکنش بیوتیپ‌های فالاریس در دامنه‌ای از دزها شامل ۰/۲۵ تا ۸ برابر دز توصیه شده علف‌کش بررسی شد. براساس نتایج آزمون زیست‌سنجی بذر، غلظت تفکیک‌کننده برای بیوتیپ حساس ۰/۰۳ میلی گرم ماده مؤثره در لیتر بود. نتایج آزمون غربالگری نشان داد که از بین بیوتیپ‌های مورد بررسی، ۱۹ بیوتیپ مقاوم بودند. درجه مقاومت به دست آمده از آزمایش‌های گلخانه‌ای برای بیوتیپ‌های مقاوم فالاریس بین ۲ و ٤ بود. همچنین، همبستگی بالایی بین درجات مقاومت به دست آمده از روش گلخانه‌ای و آزمایشگاهی مشاهده شد (۸۷٪). بررسی نقشه پراکنش بیوتیپ‌های مقاوم حاکی از پراکنش غیریکنواخت این بیوتیپ‌ها در سطح مزارع گندم استان گلستان بود.

کلمات کلیدی: غلظت تفکیک کننده، زیست سنجی بذر، دز-پاسخ، نقشه پراکنش

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۷

۱ - دانشجو دکتری زراعت، گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.
۲ - دانشیار گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.
۳ - محقق، گروه شیمی کشاورزی، دانشگاه کوردوبا، اسپانیا.
۴ - محقق، مرکز تحقیقات علمی و فناوری اکسترمادورا، باداخوز، اسپانیا.
۵ - استاد گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.
۶ - دانشیار گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.
۷ - پروفسور، گروه شیمی کشاورزی، دانشگاه کوردوبا، اسپانیا.
*نویسنده مسئول: E-mail: Gherekhloo@gau.ac.ir

مقدمه

یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد گیاهان زراعی، تداخل علف‌های هرز است که به عنوان یک موضوع کلیدی در مباحث اکوفیزیولوژی جوامع گیاهی محسوب می‌شود (Ghorbani *et al*.,2012). حضور علف‌های هرز با توجه به اثرات رقابتی باعث افزایش تلفات، کاهش قابل‌توجه در بازدهی و سودآوری نظام‌های کشاورزی می‌شود (Rosario *et al*., 2011). به همین دلیل، امروزه مبارزه با علف‌های هرز جزو جدایی ناپذیر کشاورزی نوین محسوب می‌شود.

فالاریس (*Phalaris* sp.) علف هرزی یکساله، باریک برگ از خانواده گندمیان (*Poaceae*) است که به دلیل نیازهای رشدی و مورفولوژیکی مشابه، حضور آن در مزارع غلات خسارت‌زا شده است (Sing *et al*.,1999). در حال حاضر ۲۲ گونه از جنس فالاریس شناخته شده است که ۱۱ گونه آن بومی مناطق مدیترانه‌ای است و ۳ گونه *Phalaris minor* Retz، *Phalaris paradoxa* L و *Phalaris brachystachys* Link به عنوان علف هرز مزارع در مناطق مختلف ایران پراکنده هستند (Keshavarzi *et al*., 2012). علف‌کش‌های مختلفی در ایران برای کنترل این باریک برگ‌ها به ثبت رسیده است، از جمله علف‌کش‌هایی که برای کنترل باریک برگ‌های هرز در مزارع کشور به ثبت رسیده است، می‌توان به بازدارنده‌های ACCase اشاره کرد (Zand *et al*., 2007). این علف‌کش‌ها شامل سه خانواده شیمیایی آریلوکسی فنوکسی پروپیونات (APP)، سیکلوهگزاندیون (CHD) و فنیل پیرازولین (PPZ) است که با وجود ساختمان متفاوت، مکانیسم عمل مشابهی داشته و مانع فعالیت آنزیم استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز (ACCase) کلروپلاستی می‌شوند (Powles and Yu, 2010). بازدارنده‌های ACCase از کارایی بالایی در کنترل گیاهان هرز باریک برگ برخوردار هستند و از این‌رو، باعث وابستگی شدید کشاورزان به این گروه از علف‌کش‌ها شدند (Collavo *et al*., 2011). کارآیی بالا بر علیه علف‌های هرز باریک برگ و امکان مصرف این گروه از علف‌کش‌ها به صورت پس‌رویشی در گیاهان زراعی مختلف از عوامل مهم تأثیرگذار در استفاده گسترده از آن‌ها طی سال‌های گذشته محسوب می‌شود (Cruz Hipolito *et al*., 2015)، امروزه نقش محوری در مدیریت علف‌های هرز ایفا می‌کنند و به طور گسترده در اکثر محصولات زراعی از جمله گندم، مورد استفاده قرار می‌گیرند.

با وجود آنکه علف‌کش‌ها ابزار بسیار مؤثری در مدیریت علف‌های هرز به شمار می‌روند استفاده مکرر و غیراصولی از علف‌کش‌ها با نحوه عمل یکسان سبب بروز پدیده مقاومت به علف‌کش‌ها شده است و 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 تأثیری بر روی این جمعیت نداشته باشد (Delye *et al*., 2013). کاربرد مدیریت نشده علف‌کش‌ها در دهه‌های اخیر، مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها را به یک معضل جهانی تبدیل کرده است. بررسی‌های انجام شده حاکی از آن است که حدود ۵۰۰ گونه علف هرز (۲۶۱ تک لپه‌ای و ۲۳۹ دو لپه‌ای) در ۹۳ محصول در ۷۰ کشور نسبت به علف‌کش‌های مختلف مقاوم شده‌اند. کاربرد مداوم علف کش‌های بازدارنده ACCase منجر به بروز مقاومت در ۴۸ علف‌هرز باریک برگ در ۴۱ کشور شده است (Heap, 2019). در ایران مقاومت به علف‌کش‌های باریک برگ نسبت به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase برای اولین بار در سال ۱۳۸۳ گزارش شد (Zand *et al*., 2007) و تا کنون مقاومت علف‌های هرز یولاف وحشی (*Avena ludiciana* Dur.)، خونی واش (*P. minor*, *P. paradoxa*, *P. brachystachys*) و چچم (*Lolium rigium* Gud.) در سطح وسیعی از مزارع گندم کشور گزارش شده‌است (Gherekhloo *et al*., 2016). به نظر می‌رسد که برای بروز مقاومت به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase، ۵ تا ۷ سال گزینش توسط این علف‌کش‌ها کافی باشد. البته در صورتی

که علف‌کش بیش از یک بار در سال مصرف شود، این دوره کوتاه‌تر می‌شود (Topuz *et al*., 2015).

امروزه با توجه به اینکه باریک برگ‌کش‌های مصرفی 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 (Zand *et al*., 2010) و با توجه به سطح وسیع زمین‌های زیرکشت گندم (*Triticum aestivum* L.) و کلزا (*Brassica napus* L.) در کشور، احتمال بروز مقاومت در علف‌های هرز این مزارع نسبت به بازدارنده‌های ACCase چندان دور از ذهن نیست (Gherekhloo *et al*., 2008). با توجه به مدت زمان طولانی که از به ثبت رسیدن باریک برگ‌کش‌های گروه APP در ایران می‌گذرد و نیز اتکای شدید کشاورزان به این باریک برگ‌کش‌ها برای مبارزه با علف‌های هرزی چون یولاف، علف خونی و ...، وقوع مقاومت به این گروه از علف‌کش‌ها در برخی از مناطق و استان‌های کشور قطعی و در برخی مناطق نیز محتمل می‌باشد (Elahifard *et al*., 2008; Aghajani *et al*., 2009; Gherekhloo *et al*., 2011). در استان گلستان سابقه مصرف علف‌کش‌های بازدارنده ACCase به بیش از سه دهه می‌رسد. در سال‌های اخیر گزارش‌هایی مبنی بر نارضایتی کشاورزان در خصوص عدم کارایی مناسب این نوع علف‌کش‌ها در کنترل علف هرز فالاریس و گسترش آلودگی آن در برخی از مناطق استان گلستان ارائه شده است و بروز مقاومت علف‌های هرز به این گروه از علف‌کش‌ها به دلیل مصرف متوالی، در برخی از مناطق استان گلستان گزارش شده‌است (Gherekhloo *et al*., 2008; Najari *et al*., 2013). وقوع پدیده مقاومت تبعات اکولوژیکی از قبیل تغییر در فلور گیاهی، امکان جریان ژن مقاومت به خویشاوندان نزدیک، عواقب زیست محیطی وخیم به دلیل افزایش مصرف سموم علف‌کشی جهت کنترل علف‌های هرز مقاوم و مصرف چند نوع علف‌کش در مورد علف‌های هرز دارای مقاومت چندگانه را در بر خواهد داشت (Kaundun and Windass, 2006). از این نظر پایش مستمر مناطقی که در معرض خطر بروز پدیده مقاومت به علف‌کش‌ها می‌باشند و بررسی توده‌های مشکوک به مقاومت و شناسایی توده‌های مقاوم، به منظور جلوگیری و یا به تعویق انداختن بروز مقاومت و گسترش آن، ضروری می‌نماید. اولین گام در جهت تدوین یک برنامه مدیریتی صحیح در مهار علف‌های هرز مقاوم به علف‌کش، شناسایی علف‌های هرز مقاوم در مناطق مختلف و مشخص نمودن علف کش‌های پرخطر از این نظر است. بررسی بروز مقاومت به علف‌کش‌ها، شناسایی مزارع آلوده به علف‌هرز مقاوم و حساس و همچنین تهیه نقشه پراکنش آن‌ها اطلاعات مفیدی در خصوص مدیریت موثر علف‌هرز، به خصوص مدیریت مقاومت در اختیار قرار خواهد داد. با استفاده از دستگاه GPS و سامانه اطلاعات جغرافیایی GIS می‌توان به تهیه نقشه پراکنش علف‌های هرز پرداخت. از این رو این تحقیق با هدف شناسایی بیوتیپ‌های مقاوم فالاریس (*P. brachystachys*) جمع‌آوری شده از مزارع گندم استان گلستان به علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل استر و همچنین، تهیه نقشه‌های مربوط به پراکنش بیوتیپ‌های مقاوم در استان گلستان انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: در این تحقیق آزمایش‌ها بر روی بذرهای بیوتیپ‌های *P. brachystachys* جمع‌آوری شده از مزارع گندم برخی شهرستان‌های استان گلستان صورت گرفت. بدین منظور بذرهای ۳۶ بیوتیپ مشکوک به مقاومت در سال ۱۳۹۶ از سطح مزارع گندم شهرستان‌های گرگان، کردکوی، رامیان، علی‌آباد و بندر ترکمن استان گلستان جمع‌آوری شدند. بذر بیوتیپ حساس نیز از مناطقی که تاکنون سابقه مبارزه شیمیایی با این علف هرز را نداشتد، جمع‌آوری شد. لازم به ذکر است بیوتیپ‌های جمع‌آوری شده براساس حرف اول نام شهرستانی که بیوتیپ‌ها از مزارع آن جمع‌آوری شدند (علی‌آباد (AL)،

گرگان (G)، کردکوی (Kr)، رامیان (Rm) و بندرترکمن (B)) کدگذاری شدند.

آماده سازی و جوانه‌زنی بذرها: جهت اجرای آزمایش‌های مقاومت از جمله زیست‌سنجی بذر و آزمون دز پاسخ، به منظور یکنواختی در جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهچه‌ها، ابتدا بذرها جوانه‌دار شدند تا واریانس ناشی از عدم هم‌زمانی جوانه‌زنی به حداقل مقدار خود برسد. بدین منظور خواب بذرهای فالاریس که عمدتاً ناشی از پوسته سخت آن می‌باشد، شکسته شد. برای این کار ابتدا بذرها به مدت ۳/۳۰ دقیقه در سولفوریک اسید غلیظ (٪۹۸) غوطه‌ور و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از رفع خواب، بذرها بر روی کاغذ صافی در پتری‌دیش‌هایی به قطر ۱۲ سانتی‌متر قرار داده شدند. به هر پتری دیش مقدار هشت میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و پس از آن به انکوباتوری با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. در نهایت بذرهای جوانه‌زده جدا و در آزمون زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفتند. معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه و رسیدن طول آن به یک میلی‌متر در نظر گرفته شد.

تعیین غلظت تفکیک‌کننده: غلظت تفکیک‌کننده، غلظتی از علف‌کش مورد نظر می‌باشد که بیشترین اختلاف عمودی را بین منحنی‌های دز-پاسخ مربوط به توده‌های مقاوم و حساس ایجاد می‌کند و حداقل باعث ۸۰ درصد بازدارندگی در رشد توده حساس می‌شود (Bekie *et al.*, 2000). به منظور تعیین غلظت تفکیک‌کننده، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی بذرهای بیوتیپ حساس (S) انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ده غلظت ۰، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲، ۰/۶۴، ۱/۲۸ و ۵/۱۲ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر از علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل بود. لازم به توضیح است که جهت انتخاب غلظت‌های مناسب، ابتدا چندین غلظت به صورت تجربی بر روی بیوتیپ حساس اعمال شد و بر اساس نتایج بدست آمده، غلظت‌های مذکور در نظر گرفته شد. بذرهای فالاریس بلافاصله بعد از جوانه‌زنی، به پتری دیش‌هایی به قطر ۹ سانتی‌متر و حاوی کاغذ صافی منتقل شدند. در هر پتری‌دیش ۱۰ بذر با آرایشی منظم قرار داده‌شد، سپس برای هر غلظت علف‌کش در هر پتری‌دیش ۵ میلی‌لیتر محلول علف‌کش و برای تیمار شاهد ۵ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. پتری‌دیش‌ها در انکوباتوری با دمای متناوب ۲۵/۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از هفت روز طول ساقه‌چه‌ها اندازه‌گیری شد و به صورت درصد نسبت به شاهد محاسبه گردید (Burgos, 2015).

غربال بیوتیپ‌های مشکوک به مقاومت توسط غلظت تفکیک‌کننده: بعد از مشخص نمودن غلظتی از علف‌کش که باعث ۵۰٪ بازدارندگی در رشد ساقه‌چه بیوتیپ حساس شده بود، این غلظت بر روی تمامی بیوتیپ‌های فالاریس جمع‌آوری شده اعمال شد و برای هر بیوتیپ یک شاهد بدون علف‌کش نیز در نظر گرفته شد. این آزمایش بصورت طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. همچنین، از آب مقطر به عنوان شاهد استفاده شد و پس از آماده‌سازی بذرها به روش ذکر شده در آزمایش قبل، غلظت تفکیک‌کننده بر تمامی بیوتیپ‌های آزمایش اعمال شد. بعد از قرارگیری در معرض غلظت تفکیک‌کننده، بیوتیپ‌هایی که اختلاف معنی‌داری از نظر طول ساقه‌چه با بیوتیپ حساس داشتند، جهت تعیین درجه مقاومت در مرحله بعدی مورد آزمایش قرار گرفتند.

آزمون غلظت- پاسخ در پتری‌دیش: پس از تفکیک بیوتیپ‌های مقاوم از بیوتیپ‌های مشکوک به مقاومت براساس آزمون غربال، بیوتیپ‌های مقاوم در معرض چندین غلظت مختلف از علف‌کش قرار گرفتند تا درجه مقاومت آن‌ها تعیین شود. در این آزمایش، چند دز بالاتر و پایین‌تر از غلظت تفکیک‌کننده در بیوتیپ حساس به کار گرفته شد. بر این اساس نه غلظت شامل ۰، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۱۶، ۰/۳۲، ۱/۲۸، ۵/۱۲ و ۱۰/۲۴ میلی‌گرم ماده مؤثره هالوکسی فوپ آر متیل است اعمال شد. در این آزمایش نیز طول ساقه‌چه، هفت

روز بعد از اعمال تیمار علف‌کش تعیین و به صورت درصد از شاهد برای هر بیوتیپ محاسبه شد.

آزمون دز-پاسخ در گلدان: در این آزمایش واکنش بیوتیپ‌های حساس و بیوتیپ‌هایی که در آزمون غلظت پاسخ مقاومت نشان دادند، در مقابل دزهای در نظرگرفته شده علف‌کش (شامل هفت دز صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸ برابر دز توصیه هالوکسی فوپ آر متیل) مورد بررسی قرار گرفتند. دزهای مورد استفاده شامل ۰، ۲۷، ۵۴، ۱۰۸، ۲۱۶، ۴۳۲ و ۸۶۴ گرم ماده مؤثره علف‌کش در هکتار بود. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تعداد ۵ عدد بذر جوانه-دار از هر بیوتیپ در گلدان‌هایی با قطر ۱۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر کشت شدند. هر گلدان به منزله یک تکرار بوده و آزمایش با سه تکرار برای هر بیوتیپ انجام شد. برای هر تکرار نیز یک گلدان به عنوان شاهد سم‌پاشی نشده در نظر گرفته شد تا داده‌های حاصل برحسب درصد نسبت به شاهد سم‌پاشی نشده مورد ارزیابی قرار گیرند. تیمار غلظت‌های مختلف علف‌کش در مرحله ۳-۴ برگی علف هرز با استفاده از دستگاه سم‌پاش استاندارد مجهز به نازل تی جت ۸۰۰۱ که در فشار ۲ بار و برای میزان پاشش ۲۵۰ لیتر محلول سم در هکتار کالیبره شده بود، انجام شد. چهار هفته بعد از سم‌پاشی بوته‌های باقی‌مانده از سطح خاک برداشت شده، در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و وزن خشک آن‌ها محاسبه شدند.

تجزیه آماری: تجریه واریانس داده‌های مربوط به درصد تغییرات طول ساقه‌چه نسبت به شاهد در آزمون غربال اولیه با استفاده از نرم افزار SAS (Ver. 9.2) انجام شد و برای انجام مقایسه میانگین از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. برای تجزیه آماری غلظت یا دزی از علف‌کش که موجب کاهش رشد گیاه تا ۵۰٪ (EC_{50}/GR_{50}) در مقایسه با شاهد می‌گردد، از برازش مدل مدل رگرسیونی غیر خطی لگ لجستیک سه پارامتره ارائه شده توسط Ritz and Streibig (2005) استفاده شد (تابع ۱)

تابع (۱):

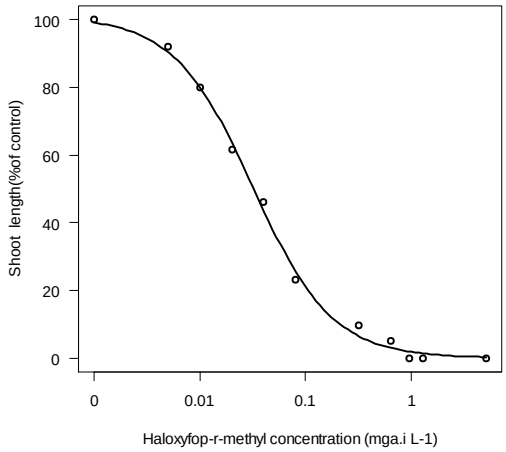
$$y = \frac{d}{1 + (exp\{b(\log(x) - \log(e))\}}$$

که پارامترهای ارائه شده در این تابع عبارتست از: y وزن خشک بخش هوایی یا طول ساقه‌چه به صورت درصد از تیمار شاهد، b، شیب منحنی درنقطه e؛ d ، ضریب مربوط به حد بالا منحنی پاسخ؛ و e، میزان غلظت با دز موثر برای حصول ۵۰ درصد پاسخ مشاهده شده می‌باشد. مدل فوق با استفاده از محیط نرم‌افزاری R و بسته نرم‌افزاری drc که به همین منظور طراحی شده است به داده‌های حاصل، برازش و اختلاف نمودارهای برازش داده شده با نمودار حاصل از داده‌های مربوط به بیوتیپ حساس مورد بررسی قرار می‌گیرد. مقادیر GR_{50} و EC_{50} هر دو بیوتیپ مقاوم و حساس برای محاسبه شاخص مقاومت (RF) ($GR_{50}R/GR_{50}S$) و ($EC_{50}R/EC_{50}S$) مورد استفاده قرار گرفت. هنگام نمونه‌برداری، مختصات جغرافیایی مناطق آلوده با استفاده از دستگاه GPS Map60 ثبت گردید. تبدیل داده‌های ثبت شده به فرم قابل اجرا در نرم افزار GIS توسط نرم افزار MapSource انجام شد. نقشه پراکنش علف های هرز با استفاده از نرم افزار ArcGIS تهیه گردید.

نتایج و بحث

با برازش مدل سه پارامتره لگ لجیستیک، غلظتی از علف‌کش که سبب ۵۰ درصد کاهش در طول ساقه‌چه (EC_{50}) بیوتیپ حساس فالاریس نسبت به شاهد شد، حدود ۰/۰۳ میلی گرم ماده مؤثره در لیتر برآورد شد (شکل ۱). غلظت تفکیک‌کننده حداقل دزی از علف‌کش است که بیشترین اختلاف بین منحنی‌های غلظت-پاسخ بیوتیپ‌های حساس و مقاوم را موجب شود و براساس آزمایش‌های

مقدماتی غلظت-پاسخ برای بیوتیپ حساس تعیین می‌شود. این غلظت در مرحله بعدی برای غربال بیوتیپ‌های مقاوم از حساس استفاده می‌شود.



شکل ۱- تغییرات طول ساقه‌چه بیوتیپ حساس فالاریس در پاسخ به غلظت‌های مختلف علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل

Figure 1. Changes in shoot length of susceptible *P. brachystachys* in response to different haloxyfop-r-methyl Concentrations

مقایسه میانگین بیوتیپ‌ها از نظر درصد کاهش طول ساقه‌چه نسبت به شاهد هر بیوتیپ بعد از اعمال غلظت تفکیک‌کننده علف‌کش (EC_{50}=0.03 mg ai.L^{-1}) هالوکسی فوپ آر متیل نشان داد که بیوتیپ‌های Kr15 و AL33 و AL06 بیش از ۸۰ درصد از طول ساقه‌چه را نسبت به شاهد حفظ کردند (جدول ۱). به طور کلی، نتایج غربال بیوتیپ‌های مشکوک به مقاومت نشان داد که از میان ۳۷ بیوتیپ مورد مطالعه، ۱۹ بیوتیپ قادر به حفظ بیش از ۵۰ درصد از رشد ساقه‌چه خود در حضور غلظت تفکیک‌کننده علف‌کش بودند که این امر نشان‌دهنده مقاومت این بیوتیپ‌ها نسبت به این علف‌کش می‌باشد. لازم به ذکر است که به دلیل کمبود بذر در ۴ بیوتیپ (Kr14, Rm18, AL03, AL34)، این بیوتیپ‌ها در آزمایش بعدی استفاده نشدند و ۱۵ بیوتیپ باقی‌مانده جهت آزمایش‌های بعدی و تعیین درجه مقاومت انتخاب شدند.

جدول ۱- نتایج حاصل از آزمون غربال‌گری بیوتیپ‌های مشکوک به مقاومت فالاریس با غلظت تفکیک‌کننده علف کش هالوکسی فوپ آر متیل

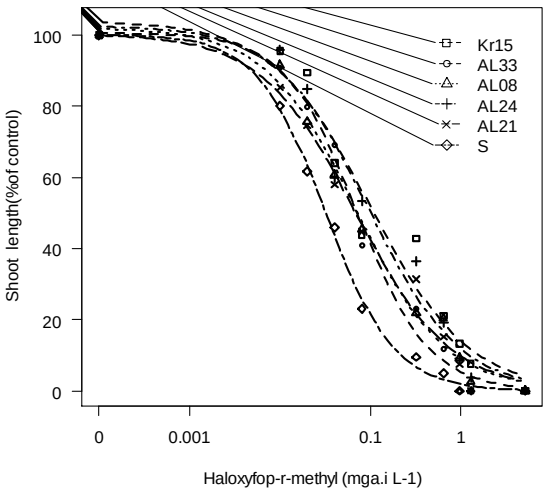
Table 1- Results of screening test for suspected resistance of *P. brachystachys* biotypes with haloxyfop-R-methyl discrimination concentration

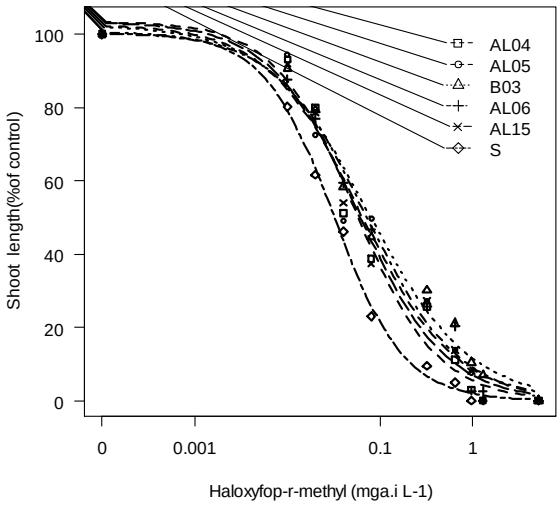
کد بیوتیپ Biotypes code	طول ساقه‌چه (درصد از شاهد) Shoot length (% of control)	وضعیت مقاومت Resistance status	کد بیوتیپ Biotypes code	طول ساقه‌چه (درصد از شاهد) Shoot length (% of control)	وضعیت مقاومت Resistance status
AL01	42d	S	AL20	37c	**S**
AL02	37d	S	AL21	69bc	**R**
AL03	71b	R	AL22	36c	**S**
AL04	58cd	R	AL23	65c	**R**
AL05	62c	R	AL24	70b	**R**
AL06	82a	R	AL28	37c	**S**
AL07	72b	R	AL31	33c	**S**
AL08	76b	R	AL32	42c	**S**
AL09	41d	S	AL33	85a	**R**
AL10	41d	S	AL34	68c	**R**
AL12	43d	S	B02	47d	**S**
AL13	40d	S	B03	71b	**R**
AL14	64c	R	Rm17	65c	**R**
AL15	56cd	R	Rm18	66c	**R**
AL16	44d	S	Kr14	74b	**R**
AL17	38d	S	Kr15	81a	**R**
AL18	46d	S	Kr16	36d	**S**
AL19	35d	S	G04	73b	**R**

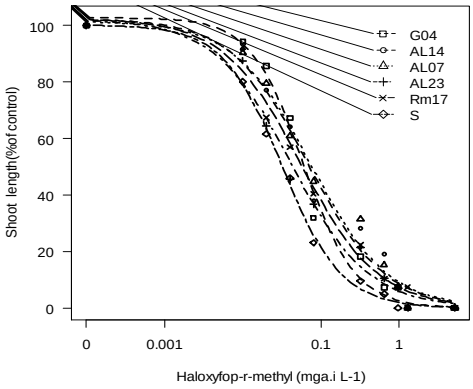
حروف کوچک هر ستون نشان‌دهنده وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین بیوتیپ‌های تیمار شده با شاهد تیمار نشده بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD α=0.05)

واکنش طول ساقه‌چه بیوتیپ‌های حساس و مقاوم فالاریس به غلظت‌های مختلف علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل با استفاده از برازش تابع لگ لجستیک سه پارامتره بررسی شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت علف‌کش، طول ساقه‌چه بیوتیپ‌های حساس و مقاوم کاهش یافت، با این حال پاسخ بیوتیپ‌های مورد آزمایش از نظر طول ساقه‌چه به غلظت علف‌کش متفاوت بود (شکل ۲).

به عبارت دیگر، در مقایسه با بیوتیپ حساس، کاهش طول ساقه‌چه بیوتیپ‌های مقاوم در غلظت‌های بیشتری از علف‌کش اتفاق افتاد. در بیوتیپ حساس، هالوکسی فوپ آر متیل در غلظت ۰/۰۳ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر باعث بازدارندگی ۵۰ درصدی طول ساقه‌چه نسبت به شاهد شد در حالی که 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 مورد آزمون بدست آمد. بر اساس مقادیر EC_{50}، بیوتیپ Kr15 از شهرستان کردکوی با شاخص درجه مقاومت ۳/۱۰ بیشترین و بیوتیپ AL23 از شهرستان علی آباد با شاخص درجه مقاومت ۱/۳۰ کمترین میزان مقاومت به علف‌کش را نشان دادند (جدول ۲). روش زیست سنجی بذر تاکنون برای نشان دادن نمونه‌های زیادی از مقاومت در علف هرزهایی مانند یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*) مقاوم به پینوکسادن و سیکلوکسیدیم (Sasanfar *et al*., 2017)، دم روباهی (*Alopecurus japonicas*) مقاوم به علف‌کش هالوکسی فوپ (Yang *et al*., 2007) استفاده شد.







شکل ۲- منحنی پاسخ طول ساقه‌چه بیوتیپ‌های فالاریس به غلظت‌های مختلف علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل

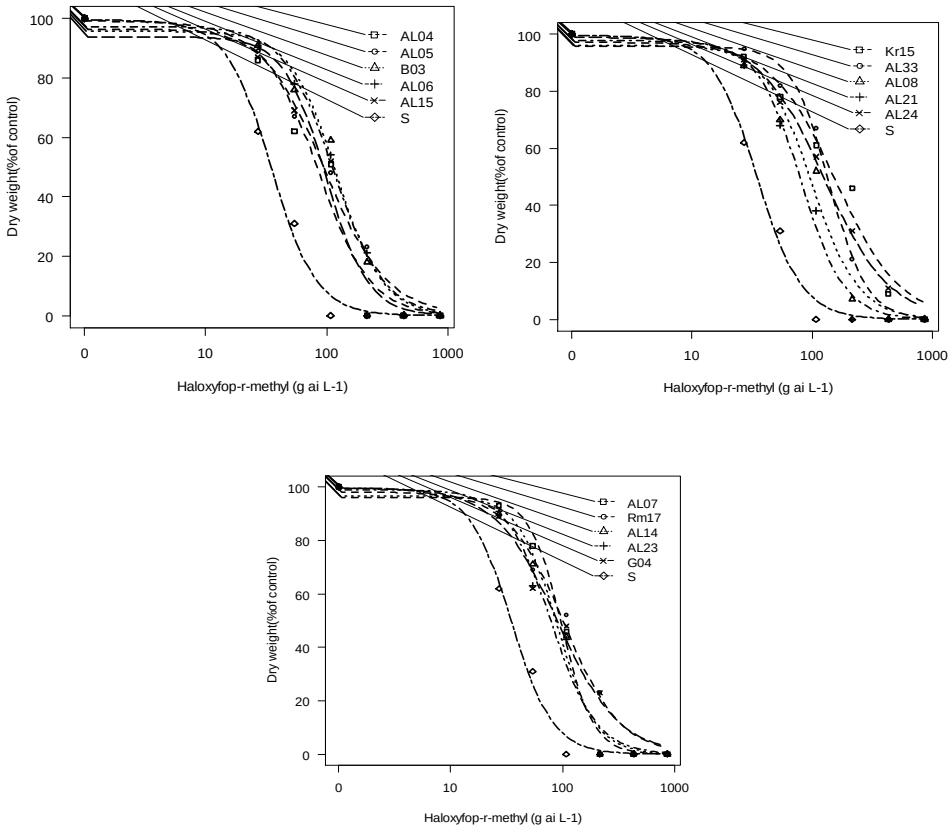
Figure 2- Response of shoot length of *P. brachystachys* biotypes to different holaxyfop-r-methyl concentrations

بررسی منحنی واکنش وزن خشک بیوتیپ‌های فالاریس به دزهای مختلف علف‌کش با استفاده از برازش معادله لگ لجستیک نشان داد که بیوتیپ‌های فالاریس واکنش متفاوتی به دزهای مختلف علف‌کش نشان دادند، با افزایش دز علف‌کش وزن خشک بیوتیپ‌های حساس و مشکوک به مقاومت به صورت سیگموئیدی کاهش یافت (شکل۳). اختلاف بین منحنی‌های واکنش به دز بیانگر این مساله می‌باشد که درجات مقاومت مختلفی به علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل در بین بیوتیپ‌های مورد مطالعه وجود داشت، پارامترهای بدست آمده از توابع لجستیک مؤید این اختلاف می‌باشد (جدول ۲). دز مؤثری که باعث ۵۰ ٪ کاهش در وزن خشک اندام هوایی در بیوتیپ حساس می‌شود،۳۴/۸۲ گرم ماده مؤثره در لیتر (کمتر از نیمی از دز توصیه شده) است. این مقدار کاهش برای بیوتیپ Kr15 در دز ۱۵۷/۱۰ گرم ماده مؤثره در لیتر رخ داد و بیشترین درجه مقاومت را به خود اختصاص داد. مقدار GR_{50} در بیوتیپ‌های AL05، B03 و AL24 به ترتیب برابر ۹۵/۰۶، ۱۱۹/۸۱ و ۱۲۵/۸۴ گرم ماده مؤثره بود که از نظر آماری معنی‌دار بوده و بیانگر مقاومت در بیوتیپ‌های مورد مطالعه می‌باشد. در بین بیوتیپ‌های فالاریس، بیوتیپ Kr15 با شاخص ۴/۵۱ بیشترین درجه مقاومت را داشت، این بیوتیپ در زیست‌سنجی بذر در پتری دیش هم بالاترین درجه مقاومت را نشان داد و بیوتیپ AL23 همانند روش زیست‌سنجی بذر کمترین درجه مقاومت (۲/۲۳) را نشان داد.

با توجه به جدول ۲ شاخص درجه مقاومت در تمامی بیوتیپ‌های مورد مطالعه بیشتر از یک بوده که نشان‌دهنده معنی‌دار بودن مقاومت از نظر آماری می‌باشد. شیب منحنی در نقطه EC_{50} یا GR_{50} بیانگر میزان حساسیت بیوتیپ‌های مورد بررسی به دزهای مختلف علف‌کش می‌باشد و معمولا شیب منحنی در بیوتیپ مقاوم کمتر از بیوتیپ حساس می‌باشد. همانگونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، سرعت نزول منحنی در بیوتیپی با درجه مقاومت بالا (Kr15, AL33) کمتر و در بیوتیپ حساس بیشتر از سایر بیوتیپ‌ها می‌باشد. به عبارتی هرچه درجه مقاومت بالاتر باشد پاسخ کاهش طول ساقه‌چه و یا وزن خشک به افزایش دز علف‌کش با سرعت کمتری نسبت به بقیه صورت می‌گیرد. به طور کلی نتایج نشان داد، ۱۵ بیوتیپ از ۳۶ بیوتیپ مورد مطالعه، به علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل درجات مقاومتی بین حدود ۲ تا ۴ نشان دادند. این تفاوت در درجات مقاومت ممکن است به دلیل تفاوت در جهش منجر به بروز مقاومت یا مربوط به نوع مکانیسم‌های مقاومتی در بیوتیپ‌های مورد مطالعه باشد (Wrzesin *et al.*, 2016).

با توجه به شکل ۴ مشاهده می‌شود که درجات مقاومت براساس وزن خشک همبستگی بالایی با آزمایش‌های غلظت پاسخ داشتند. در مقایسه روش ارزیابی گیاه کامل در شرایط گلخانه‌ای و زیست‌سنجی بذر مشاهده شد که درجه مقاومت بیوتیپ‌های مقاوم در روش زیست‌سنجی بذر همواره کمتر از

درجه مقاومت آن‌ها در روش گلخانه‌ای بود (جدول ۲). در آزمایشی درجات مقاومت بیوتیپ‌های فالاریس (*Phalaris minor*)، چچم (*Lolium rigidum*) و دم روباهی کشیده (*Alopecurus myosuroides*) را به ترتیب ۳/۳۱، ۵/۴۵ و ۳/۴ نسبت به علفکش‌های فنوکساپروپ پی اتیل، دیکلوفوپ متیل و کلودینافوپ پروپارژیل برآورد کردند (Tal *et al*., 2000) همچنین به این نتیجه رسیدند که مقادیر درجه مقاومت در روش گلدانی نسبت به روش زیست‌سنجی بذر بالاتر است و علت این امر را به دلیل تفاوت در شرایط (نوع جذب علف‌کش) و متدولوژی (نحوه کاربرد علف‌کش) بیان داشتند. آزمایش‌های گلخانه‌ای به زمان و مکان بیشتری نیاز دارند و از آنجایی که شبیه‌سازی بهتری از شرایط مزرعه می‌باشند، نتایج بدست آمده قابل اعتمادتر و حساس‌تر به تغییرات درجه مقاومت می‌باشد، اما اخذ روش‌های سریع‌تر و کم هزینه‌تر برای بررسی بیوتیپ‌های مشکوک به مقاومت بسیار با اهمیت می‌باشد (Gherekhloo *et al*., 2008). روش زیست‌سنجی بذر نمی‌تواند مانند زیست‌سنجی گلدانی، یک روش دقیق باشد، اما یک آزمون سریع و ارزان برای غربال تعداد زیادی نمونه می‌باشد (Sasanfar *et al*., 2017). در بررسی مقاومت جمعیت‌های مقاوم دم روباهی نتایج نشان داد که سطح مقاومت به هالوکسی فوپ در دم روباهی در آزمون پتری دیش کمتر از آزمون دز-پاسخ گلدانی در گلخانه بود و با وجود پایین برآورد کردن درجه مقاومت،آزمون پتری‌دیش را روشی مناسب برای جداسازی جمعیت‌های حساس و مقاوم دانستند (Yang *et al*., 2007).



شکل۳- منحنی پاسخ وزن خشک بیوتیپ‌های فالاریس به دزهای مختلف علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل

Figure 3- Response of dry weight of *P. brachystachys* biotypes to different holaxyfop-r-methyl doses

جدول۲- پارامترهای برآورد شده حاصل از برازش تابع لگ لجستیک ۳ پارامتره در آزمون دز- پاسخ بیوتیپ‌های فالاریس در زیست‌سنجی گیاه کامل و زیست‌سنجی بذر با علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل

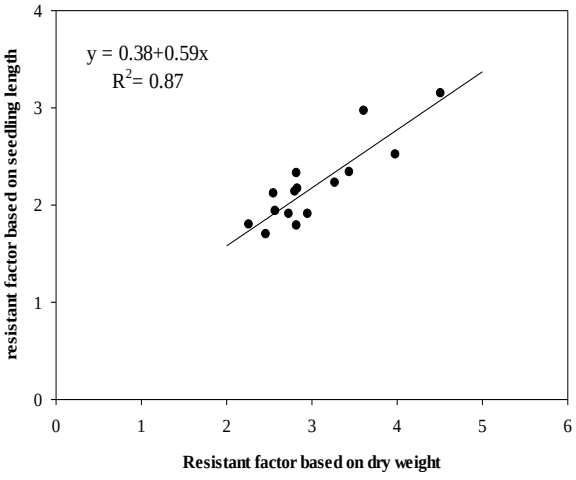
Table 2- Estimated parameters by fitting 3 parameters log logistic function for *P. brachystachys* biotypes in response to haloxyfop-R- methyl dose response experiments, based on the whole plant assay and seed bioassay experiments

کد بیوتیپ	شیب منحنی (b)		حد بالا (d)		GR_{50}/EC_{50}		شاخص مقاومت	
	Hills slope		Upper limit				Resistance Factor	
Biotype code	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bioassay	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bioassay	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bioassay	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bioassay
AL04	2.01 (0.40)	0.99 (0.12)	96.45 (6.39)	103.41 (5.16)	85.79 (12.70)	0.05 (0.009)	2.46 (0.46)	1.70 (0.4)
AL05	1.66 (0.28)	0.86 (0.09)	99.14 (5.96)	102.60 (5.32)	95.06 (13.87)	0.06 (0.001)	2.73 (0.51)	1.91 (0.49)
AL06	2.10 (0.42)	0.87 (0.10)	97.30 (5.39)	100.76 (5.33)	114.10 (14.26)	0.07 (0.001)	3.27 (0.56)	2.23 (0.58)
AL07	3.07 (0.81)	0.89 (0.10)	96.06 (5.39)	101.52 (5.24)	98.20 (10.47)	0.07 (0.001)	2.82 (0.44)	2.33 (0.54)
AL08	2.12 (0.50)	0.87 (0.10)	96.03 (6.04)	102.03 (5.25)	98.72 (13.38)	0.06 (0.001)	2.83 (0.50)	2.17 (0.56)
AL14	2.05 (0.54)	0.89 (0.10)	96.59 (5.81)	102.46 (5.20)	98.10 (10.81)	0.06 (0.013)	2.55 (0.43)	2.12 (0.48)
AL15	2.19 (0.68)	0.91 (0.11)	93.80 (6.47)	103.24 (5.20)	98.49 (14.41)	0.05 (0.001)	2.82 (0.53)	1.79 (0.43)
AL21	2.18 (0.47)	0.83 (0.09)	97.68 (5.84)	100.31 (5.43)	80.21 (9.55)	0.06 (0.001)	2.30 (0.38)	2.14 (0.59)
AL23	2.15 (0.38)	0.87 (0.11)	98.97 (5.93)	102.21 (5.41)	79.02 (9.93)	0.04 (0.008)	2.26 (0.38)	1.30 (0.29)
AL24	1.59 (0.28)	0.86 (0.09)	98.89 (5.71)	102.57 (5.15)	125.84 (18.59)	0.09 (0.002)	3.61 (0.68)	2.97 (0.79)
AL33	2.16 (0.67)	1.09 (0.08)	95.63 (4.72)	100.61 (5.06)	138.65 (14.08)	0.07 (0.001)	3.98 (0.61)	2.22 (0.53)
B03	2.06 (0.52)	0.79 (0.08)	95.67 (5.56)	102.40 (5.27)	119.81 (15.11)	0.07 (0.016)	3.44 (0.59)	2.34 (0.62)
G04	1.56 (0.25)	1.29 (0.22)	99.71 (6.03)	102.74 (4.90)	89.63 (13.50)	0.05 (0.008)	2.57 (0.49)	1.84 (0.35)
Kr15	1.61 (0.30)	0.80 (0.02)	97.18 (5.70)	103.89 (5.09)	157.10 (24.64)	0.09 (0.002)	4.51 (0.88)	3.10 (0.83)
Rm17	1.72 (0.30)	0.88 (0.10)	98.14 (5.96)	102.46 (5.32)	102.87 (15.11)	0.05 (0.001)	2.95 (0.55)	1.71 (0.38)
S	2.78 (0.61)	1.16 (0.06)	99.85 (6.33)	100.90 (1.96)	34.82 (4.01)	0.03 (0.005)	-	-

- اعداد داخل پرانتز نشان دهنده خطای استاندارد می باشند
- The numbers in parentheses indicates the standard error

با استفاده از روش زیست‌سنجی بذر در پتری‌دیش سرعت عمل غربال کردن بیوتیپ‌های مقاوم و حساس نسبت به آزمایش‌های گلخانه‌ای افزایش خواهد یافت که در نتیجه، از نظر اقتصادی می‌توان تعداد بیشتری از بیوتیپ‌های مشکوک به مقاومت را با هزینه پایین‌تر غربال کرد. این موضوع توسط محققین دیگر نیز به اثبات رسیده‌است (Beckie, 2000). از این تحقیق مشخص شد که زیست‌سنجی بذر می‌تواند به عنوان یک روش عملی برای تشخیص جمعیت‌های مقاوم فالاریس استفاده نمود.

محققان دیگر نیز از روش زیست‌سنجی بذر در پتری‌دیش برای تشخیص مقاومت گونه‌های دیگر فالاریس به بازدارنده‌های ACCase استفاده کردند (Gherekhloo *et al*., 2008; Najari *et al*., 2013; Bhasker *et al*., 2004;Tatari *et al*., 2018).



شکل ۴. ضریب همبستگی پیرسون بین ضریب درجه مقاومت حاصل از آزمایش‌های گلدانی و پتری دیش

Figure 4. Pearson's correlation coefficient between resistance factors based on pot and petri dish assays

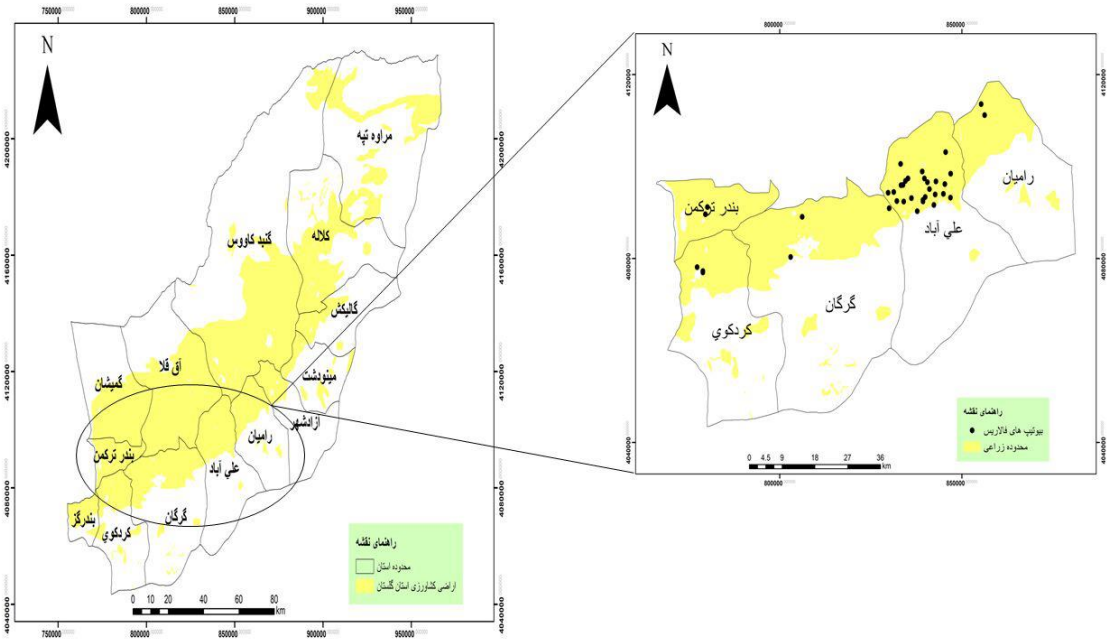
مدیریت کلان علف‌های هرز مقاوم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است به طوری‌که اطلاع از ظهور بیوتیپ‌های جدید و شناسایی محل ظهور و گستردگی نواحی آلوده از اصول اولیه مدیریت این بیوتیپ‌ها به شمار می‌رود (Derakhshan *et al*., 2015). با توجه به اهمیت محصول گندم و خسارت ناشی از ظهور علف‌های هرز مقاوم بر عملکرد آن، به نظر می‌رسد تهیه نقشه پراکنش علف‌های هرز مقاوم در گندم به عنوان اقدام اساسی در مدیریت تلفیقی علف‌های هرز آن به شمار می‌رود. همچنین، اطلاعاتی نظیر تراکم علف‌های هرز مقاوم در مکان نقطه‌یابی شده نیز بسیار مهم است. نقشه پراکنش بیوتیپ‌های فالاریس جمع‌آوری شده از سطح مزارع گندم شهرستان‌های استان گلستان در شکل ۴ نشان داده شده است. در پژوهش حاضر با توجه به پراکنش غیریکنواخت بیوتیپ‌های مقاوم فالاریس به علف کش هالوکسی فوپ آر متیل در نقشه ۵ به نظر می‌رسد که مقاومت به این علف‌کش در حال گسترش می‌باشد و بیشترین بیوتیپ‌های مقاوم مربوط به شهرستان علی آباد می‌باشد ضمن آنکه تعداد مزارع آلوده به فالاریس در این شهرستان بیشتر از شهرستان‌های دیگر بود، به طوری که پراکندگی بیوتیپ‌های مقاوم بیشتر از بیوتیپ‌های حساس بود. بنابراین، لازم است لکه‌ی مقاوم یا مشکوک به مقاومت پایش شده و از مصرف علف کش‌هایی با مکانیسم مشابه با علف‌کش‌های بازدارنده ACCase اجتناب شود. متخصصین جهاد کشاورزی با اتکا به این نقشه‌ها می‌توانند نسبت به توصیه سموم علف‌کش مناسب برای مناطق آلوده اقدام نمایند. همچنین در پژوهشی مشابه، پراکنش غیریکنواخت گونه‌های مقاوم *P.minor* و *P. paradoxa* به بازدارنده‌های ACCase در مزارع گندم شهرستان آق قلا گزارش شد (Najari *et al*., 2013). هالوکسی فوپ آر متیل علف‌کشی انتخابی و سیستمیک از گروه آریلوکسی فنوکسی پروپیونات (فوپ) می‌باشد که در سال ۱۳۸۷ برای کنترل علف‌های هرز یکساله باریک برگ مزارع کلزا در ایران به ثبت رسیده است (Zand *et al*., 2010). از آنجایی که در استان گلستان الگوی کشت محصولات زراعی به نحوی است که امکان قرارگیری کلزا و گندم در تناوب با یکدیگر وجود دارد، انتظار می‌رود که بروز پدیده مقاومت فالاریس به علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل استفاده مکرر از این

علف‌کش در مزارع کلزا باشد. از طرف دیگر، نتایج پژوهش اخیر، حاکی از بروز مقاومت در برخی بیوتیپ‌های این گونه علف‌هرز نسبت به دیگر علف‌کش‌های گروه فوپ در مزارع گندم استان گلستان می‌باشد. مقاومت عرضی در بین علف-کش‌های بازدارنده ACCase در بین علف‌های هرز باریک برگ پدیده‌ای معمول است و علف‌های هرز باریک برگ مقاوم به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase دارای تنوعی از الگوهای مقاومت عرضی می‌باشند (Devine, 1997) و احتمال وجود بیوتیپ‌های فالاریس مقاوم به دیگر علف‌کش‌های بازدارنده ACCase نیز دور از انتظار نیست. پیش از این نیز گزارش‌هایی مبنی بر بروز مقاومت برخی از بیوتیپ‌های فالاریس در استان گلستان ارائه شد. نجاری و همکاران (۲۰۱۳) بروز مقاومت در *P. minor* و *P. paradoxa* را به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase، ، قرخلو و درخشان (۲۰۱۳) مقاومت عرضی علف هرز *P. minor* به علف‌کش‌های سایکلوهگزادیونین و فنیل پیرازولین را در مزارع گندم گلستان گزارش و تأیید کردند.

بر اساس این نتایج می‌توان اظهار داشت که با ادامه روش‌های جاری در مدیریت علف‌های هرز، مقاومت به علف‌کش‌های گروه فوپ در بیوتیپ‌های نمونه‌برداری شده از این مناطق در حال گسترش می‌باشد، گندم از محصولات عمده این مناطق بوده است و این اراضی به طور مداوم مورد کشت گندم واقع شده و تنها روشی که برای مبارزه با علف هرز در این مزارع استفاده می‌شود، کاربرد علف‌کش‌ها می‌باشد. بروز مقاومت در فالاریس به علف‌کش‌های گروه فوپ، نیاز به اجرای تناوب زراعی و علف‌کشی در استان گلستان را مشخص می‌نماید. اجرای تناوب می‌تواند با کاهش فشار گزینش از سرعت بروز آلل‌های مقاوم در منطقه بکاهد (Scursoni *et al*., 2014).

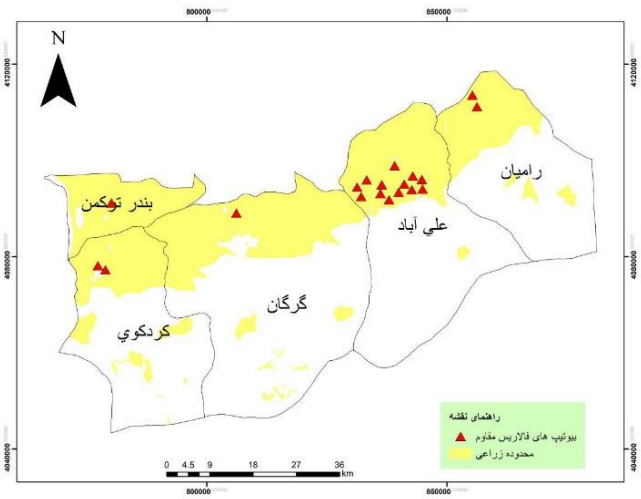
نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق مشخص شد که بیوتیپ‌های مختلف فالاریس به علف کش هالوکسی فوپ آرمتیل در مزارع گندم استان گلستان مقاومت داشتند و نتایج زیست سنجی گلدانی با زیست‌سنجی بذر در پتری دیش همسویی بالایی داشتند. علت افزایش بیوتیپ‌های مقاوم این علف هرز که از علف‌های هرز مهم باریک برگ مزارع گندم کشور هستند، مصرف متوالی و مدیریت نشده علف‌کش‌های بازدارنده ACCase در طی سال‌های گذشته در مزارع کشور است، مقاومت در گونه‌های دیگر فالاریس به بازدارنده‌های استیل کوآنزیم آ به دلیل استفاده مداوم در سایر تحقیقات نیز به اثبات رسیده‌است (Gherekhloo *et al*., 2011; Najari *et al*., 2013; Elahifard *et al*., 2008). این موضوع مؤیدی بر اهمیت بررسی و پایش مستمر مزارع نسبت به پدیده مقاومت به علف‌کش‌های مختلف است، تا با تشخیص زودهنگام آن از گسترش آن جلوگیری نمود. از این‌رو، بایستی با اتخاذ تصمیم مدیریتی مناسب از گسترش ژن مقاومت به مزارع و مناطق دیگر جلوگیری به عمل آید. در نهایت توصیه می‌شود به منظور کاهش سرعت گسترش مقاومت به علف‌کش‌ها در فالاریس و سایر گونه‌های علف هرز با تغییر الگوی مصرف علف‌کش‌ها از روش‌هایی مانند تناوب و اختلاط علف‌کش-ها، تناوب زراعی، شخم، آیش و دیگر عملیات مدیریتی برای پیشگیری و به تأخیر انداختن مقاومت به علف‌کش‌ها استفاده شود تا از فشار انتخاب مقاومت به سایر توده‌ها بکاهد. با این حال بهتر است به منظور جلوگیری از افزایش مقاومت به علف‌کش‌های خانواده ACCase که بر اساس این تحقیق به ویژه در استان گلستان رو به افزایش است از سایر علف‌کش‌ها با محل اثر متفاوت نیز استفاده نمود.



شکل ۵. موقعیت جغرافیایی شهرستان های مورد مطالعه و نقشه پراکنش بیوتیپ‌های *P. brachystachys* جمع‌آوری شده از مزارع گندم در استان گلستان

Figure 5. Geographical location of the studied city and distribution map of *P. brachystachys* biotypes collected from wheat fields of Golestan province counties.



شکل ۶. نقشه پراکنش بیوتیپ‌های *P. brachystachys* مقاوم به هالوکسی فوپ آر متیل در استان گلستان.

Figure 6. Distribution map of *P. brachystachys* resistant biotypes to haloxyfop-R-mehyl in Golestan province

References

فهرست منابع

Aghajani Z., E. Zand, M.A. Baghestani and M.J. Mirhadi. 2009. Resistance of wild oat (*Avena ludoviciana* Durieu) populations to iodosulfuron + mesosulfuron herbicide. Iranian Journal of Weed Science, 6(1):79-93.

Beckie, H.J., I.M. Heap, R.J. Smeda and L. Hall. 2000. Screening for herbicide resistance in weeds (Review). Weed Technology, 14:428-445.

Bhasker, P., R.S. Dhawan, P. Bhargav and P.S.I. Daniel. 2014. Seed bioassay study for rapid detection of aryloxyphenoxy-propionate resistant *Phalaris minor* biotypes in wheat. Annals of Biology, 30(4):589-592.

Burgos, N.R. 2015. Whole-Plant and Seed Bioassays for Resistance Confirmation. Weed Science, 63: 152–165.

Collavo, A., S. Panozzo, G. Lucchesi, L. Scarabel, and M. Sattin. 2011. Characterisation and management of Phalaris paradoxa resistant to ACCaseinhibitors. Crop Protection, 30:293–299.

Cruz-Hipolito, H., P. Fernandez, R. Alcantara, J. Gherekhloo, M.D. Osuna and R. De Prado. 2015. Ile-1781-Leu and Asp-2078-Gly Mutations in ACCase Gene, Endow Cross-resistance to APP, CHD, and PPZ in Phalaris minor from Mexico. International Journal of Molecular Science, 16: 21363-21377.

Delye, C., M. Jasieniuk and C.L. Valerie. 2013. Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds. Trends in Genetics, 29: 649-658.

Derakhshan A., Najari Kalantari N., Gherekhloo J. and Kamkar B. 2015. Wild mustard (*Sinapis arvensis*) and annual bastardcabbage (*Rapistrum rugosum*) resistance to tribenuron-methyl in Agh Ghala. Journal of Plant Protection, 29(2):199-205.

Devine, M.D. 1997. Mechanism of resistance to acetyl- CoA Carboxylase inhibitors. Pesticides Science, 51:259-264.

Elahifard E., M.H. Rashed Mohassel, E. Zand and M. Nassiri Mahallati. 2008. The investigation of the resistance against fenoxaprop – P – ethyl herbicide in little seed canarygrass (Phalaris minor). Agriculture and Natural Resources Science of Gorgan, 14(6): 53-61.

Gherekhloo J. and A. Derakhshan. 2013. Investigating cross resistance of resistant-Phalaris minor to ACCase herbicides. Weed Research Journal, 4(1):15-25.

Gherekhloo J., M.H. Rashed Mohassel, M. Nassiri Mahalati, E. Zand, A. Ghanbari, M.D. Osuna and R. De Prado. 2008. Seed bioassay and ACCase enzyme assay to study the resistance of *Phalaris minor* to aryloxyphenoxypropionate (APP) inhibitors. Environmenta, 4: 43-52.

Gherekhloo, J., M. H. Rashed Mohasel, M. Nasiri Mahalati, E. Zand, A. Ghanbari and R. De Prado. 2010. Study the non-target site-based mechanisms of resistance in Aryloxyphenoxy Propionate Resistant-*Phalaris Minor* Retz. Biotypes. Iranian Journal of Weed Science, 2(6):79-89.

Gherekhloo, J. M. Oveisi, E. Zand and R. De Prado, 2016. A review of herbicide resistance in Iran. Weed Science, 64, 55–561.

Gherekhloo, J. M.H. Rashed Mohassel, M. Nassiri Mahalati, E. Zand, A. Ghanbari, M.D. Osuna and R., De Prado, 2011. Confirmed resistance to aryloxyphenoxypropionate herbicides in Phalaris minor populations in Iran. Weed Biology and Management, 2 11, 29-37.

Ghorbani, R., S.V. MirAlavi and M. Sabet Teimouri. 2012. Effect of planting date and crop density of autumn wheat (*Triticum aestivum* L.) on density and biomass of weeds. Agroecology, 4(4): 294-306.

Heap, I. 2019. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. http:// www. Weedscience .com (9 February 2019).

Kaundun, S.S. and J.D. Windass. 2006. Derived cleaved amplified polymorphic, a simple method to detect a key point mutation conferring acethyl CoA carboxylase inhibitor herbicide resistance in grass weeds. Weed Research, 46:34-39.

Keshavaezi, M., M. Khaksar and P. Ghadam.. 2012. Biosystematic study of Phalaris L. species (Poaceae) in Iran. Taxonomy and Biosystematics, 13: 25-30.

Najari Kalantari, N., J. Gherekhloo and B, 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. Journal of Weed Research, 5(1): 85-97.

Powles, S.B. and Q. Yu. 2010. Evolution in action: plants resistant to herbicides. Annual Review of Plant

Ritz, C and J.C. Streibig. 2005.. Bioassay analysis using R. Journal of Statistical Software. 12, 1–22.

Rosario, J.M., H. Cruz-Hipolito, R.J. Smeda, and R. De Prado. 2011. White mustard (Sinapis alba L.) resistance to ALS-inhibiting herbicides and alternative herbicides for control in Spain. European Journal of Agronomy. 35: 57-62.

Sasanfar, H., E. Zand, M.A. Baghestani, M.J. Mirhadi and M.B. Mesgaran. 2017. Cross-resistance patterns of winter wild oat (*Avena ludoviciana*) populations to ACCase inhibitor herbicides. Phytoparasitica, 45: 419-48.

Scursoni, J.A., R. Gigon, A. N. Martin, M. Vigna, E. S. Leguizamon, C. Istilart and R. Lopez. 2014. Changes in weed communities of spring wheat crops of Buenos Aires province of Argentina. Weed Science, 62: 51-62.

Singh, S., R.C. Kirkwood and G. Marshall. 1999. Biology and control of *Phalaris minor* Retz. (littleseed canarygrass) in wheat (Review Article). Crop Protection, 18: 1–16.

Tal. A. E. Kotoula-Syka and B Rubin. 2000. Seed-bioassay to detect grass weeds resistant to acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides. Crop Protection. 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. Journal of Plant Production, 41(2): 103-116.

Topuz M. Y. Nemli, T. Fatima and A.K. Mattoo. 2015. Seed dormancy is modulated in recently evolved chlorsulfuron-resistant Turkish biotypes of wild mustard (*Sinapis arvensis*). Frontiers in Chemistry, 3:46-52.

Wrzesinska, B., R. Kierzek and A. Obrepalska-steplowska. 2016. Evaluation of six commonly used reference genes for gene expression studies in herbicide resistant *Avena fatua* biotypes. Weed Research. 56(1):1-9.

Yang, C.H. L.Y. Dong, J. Li and S.R. Moss. 2007. Identification of Japanese foxtail (*Alopecurus japonicus*) resistant to haloxyfop using three different assay techniques. Weed Science, 55: 537–540.

Zand E., M.A. Baghestani, F. Bena Kashani and F. Dastaran. 2010. Investigating efficiency of some herbicides in control of resistant and susceptible wild oat (*Avena ludoviciana* Durieu) biotypes to acetyl -CoA carboxylase. Journal of Plant Protection, 24(3):242-251.

Zand, E. F. Bena Kashani, M.A. Baghestani, A. Meknali, M. Minbashi, S. Soufizadeh and R, Deihimfard. 2007. Investigating the distribiotion of clodinafop propargyl resistant Wild oat (*Avena ludoviciana*) populations in south western Iran. Environmental Science. 4:17-26.

Identification of *Phalaris brachystachys* Link. resistance to haloxyfop-R-methyl herbicide from fields of Golestan Province

S. Golmohammadzadeh[1], J. Gherekhloo[2*], A. Rojano-Delgado[3], M. Osuna[4], B. Kamkar[5], F. Ghaderi-Far[6], R. De Prado[7]

Abstract

In order to investigate the resistance of *Phalaris brachystachys* Link. to haloxyfop-R-methyl herbicide, a test was conducted at Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources in 2017. Experimental treatments included 36 biotypes of *P. brachystachys* suspected resistance and one susceptible biotype which were collected from wheat fields in Golestan province. The experiments included determination of discriminating concentration, screening all biotypes with discriminating concentration, concentration-response and dose-response tests for resistant biotypes. In the seed bioassay, after determining the discriminating concentration and screening all biotypes, a range of herbicide concentrations were applied. In the dose-response test, the response of *P. brachystachys* biotypes in a range of doses from 0.25 to 8 times the recommended dose herbicide was investigated. The resistance factor obtained of whole plant assay was 2 to 4. Also, there was a high correlation between resistance factor obtained from whole plant and seed bioassay methods (87%). Checking the distribution map of resistant biotypes indicated that these biotypes were not uniform in the wheat fields of Golestan province.

Key words: Distribution map, Discrimination concentration, Dose-response, seed bioassay

Received date: 22 July 2019 Accepted date: 5 February 2020

[1] - PhD student of Agronomy, Department of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran
[2] - Associate Professor, Department of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran
[3] - Researcher, Department of Agricultural Chemistry and Soil Science, University of Córdoba, Spain
[4] - Researcher, Center for Scientific and Technological Research of Extremadura (CICYTEX), Badajoz, Spain
[5] - Professor, Department of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran;
[6] - Associate Professor, Department of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran
[7] - Professor, Department of Agronomy, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.
*Corresponding author E-mail: Gherekhloo@gau.ac.ir