

پاسخ علف‌هرز بید علفی (*Epilobium ciliatum* Raf.) مقاوم به پاراکوات، دایکوات و گلايفوسیت به

برخی از علف‌کش‌های جایگزین

بهروز خلیل طهماسبی^۱، محمد تقی آل ابراهیم^{۲*}، اسکندر زند^۳، حمید رضا ساسانفر^۴، رافائل دپرادو^۵

۱- مرکز تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی جنوب استان کرمان، ۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، ۳ و ۴- بخش تحقیقات علف‌های هرز مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، ۵- استاد دانشگاه کوردوبا، اسپانیا
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۹ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۲)

چکیده

بید علفی (*Epilobium ciliatum* Raf.) علف‌هرزی رایج در مزارع و باغات می‌باشد. این گونه، اغلب توسط علف‌کش‌های دایکوات، پاراکوات (گروه دی) و گلايفوسیت (گروه جی) کنترل می‌شود اما گزارشها حاکی از وقوع مقاومت در این گونه به هر دو گروه از علف‌کش‌های نام برده می‌باشد. با هدف کنترل این علف‌هرز، آزمایشی در سال ۲۰۱۷ و با کاربرد چهار گروه از علف‌کش‌ها شامل گلو فوسینیت (بازدارنده گلو تامين سینتاز)، ام‌سی‌بی‌آ و فلورکسی‌پیر (شبه اکسین)، فلازاسولفورن (بازدارنده‌های استولاکتات سینتاز) و پری فلوفن-اتیل و کارفن‌ترازون (بازدارنده‌های پروتوپرفیرینوژن اکسیداز) در دانشگاه کوردوبا (اسپانیا) صورت گرفت. بررسی کارایی علف‌کش‌های مذکور بر توده‌های حساس و مقاوم بید علفی، با کاربرد هشت دز از هر علف‌کش در هشت تکرار صورت گرفت. ۲۱ روز پس از تیمار علف‌کش‌ها، دز کاهش دهنده تعداد بوته (LD_{50}) و کاهش وزن تر (GR_{50}) تا ۵۰ درصد اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که درجات مختلفی از مقاومت (FR) بین دو بیوتیپ حساس و مقاوم بید علفی، از نظر وزن تر و تعداد بوته‌های زنده مانده پس از کاربرد تمام علف‌کش‌ها وجود داشت. اگرچه نتایج نشان داد که بجز فلورکسی‌پیر که برای کنترل بیوتیپ مقاوم به دز (۳۶۳/۰۵ گرم در هکتار)، به بیشتر از دز توصیه شده (۳۰۰ گرم در هکتار) نیاز داشت، تمام علف‌کش‌ها توانستند در مقدار کمتر از دز توصیه شده، هر دو بیوتیپ مقاوم و حساس را به خوبی کنترل نمایند. نتایج نشان می‌دهد که گونه مقاوم، به علف‌کش بیشتری نیاز داشت؛ از این رو، می‌توان از همه علف‌کش‌های مورد مطالعه به منظور مدیریت مناسب این علف‌هرز، با احتیاط بیشتر، استفاده نمود.

کلمات کلیدی: دز پاسخ، علف‌کش، مقاومت، LD_{50} ، GR_{50}

Response of paraquat, diquat and glyphosate resistant willowherb (*Epilobium ciliatum* Raf.) to some different alternative herbicides

Behroz Khalil Tahmasbi¹, Mohammad Taghi Alebrahim^{2*}, Eskandar Zand³, Hamidreza Sasanfar³, Rafael De Prado⁴

1. Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, south of Kerman province, Iran,

2. Department of Agronomy and plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili,

3. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO),

4. Department of Agricultural Chemistry, University of Córdoba, Spain

(Received: Nov. 30, 2018 - Accepted: Sep. 24, 2019)

ABSTRACT

Willowherb (*Epilobium ciliatum*), a common weed in fields and gardens, is often controlled by diquat, paraquat and glyphosate herbicides, but reports showed appearance of resistance in this species to both groups of above herbicides. Due to this purpose, an experiment was performed in the University of Cordoba, 2017, as an alternative to control this weed using four groups of herbicides including glufosinate (GS inhibitor), MCPA and Fluroxypyr (synthetic auxin), flazasulfuron (ALS inhibitor) and pyraflufen-ethyl and Carfentrazone (PPO inhibitor). To investigate the effect of the mentioned herbicides, each herbicide used at eight doses and eight replicates. Finally, the lethal dose (LD_{50}) and dry weight loss (GR_{50}) were measured 21 days after treatments. The results showed the different degree of resistance between sensitive and resistant biotypes of willowherb in terms of the fresh weight and number of survivals after treatment with

* Corresponding author E-mail: m_ebrahim@uma.ac.ir

each herbicide. Also the except for fluroxypyr which needed 365.05 gr h⁻¹ higher dose than the recommended dose (300 gr h⁻¹) to control resistant biotype, the rest of the herbicides controlled both the resistant and sensitive biotypes well at lower doses than recommended ones. As a result, the resistant species needed more herbicides, therefore, all studied herbicides could be used with more caution in the proper management of this herb.

Keywords: Dose response, GR₅₀, herbicide, LD₅₀, resistance

مقدمه

واریته‌های این خانواده به لحاظ مرفولوژی، سیتولوژی و اکولوژی، دارای تنوع زیادی می‌باشند. به دلیل افزایش خسارت وارده توسط این گیاه به محصولات باغی و زراعی در مناطق مرطوب و نیمه مرطوب در سراسر دنیا، امروزه این گونه مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است (Myerscough & Whitehead, 1966). برای اولین بار *E. ciliatum* در سال ۱۸۹۱ از انگلستان گزارش شد و بعد از آن‌جا به سایر مکان‌ها گسترش یافت. یک تک بوته از این علف‌هرز به صورت متوسط قادر به تولید هزار بذر در یک فصل می‌باشد. با توجه به گستردگی اکولوژیکی، این گونه قادر است تا سطح ۳۰۰۰ متری از سطح دریا و در خاک‌های خشک، مزارع، جاده‌ها، جنگل‌ها و مراتع رشد کند (Myerscough & Whitehead, 1967). به طور معمول در سراسر دنیا برای کنترل این علف‌هرز، از بازدارنده‌های فتوسیستم I (PSI) و انول پیروویل شیکیمات-۳-فسفات سیتتاز (EPSPS) استفاده می‌کنند.

به‌طور معمول در اروپایی شمالی، این گیاه به وسیله علف‌کش‌های پس رویشی مانند پاراکوات و دایکوات (PSI) در محصولات چندساله از قبیل قلمستان‌ها، باغات و مزارع سویا کنترل می‌شود (Himme et al., 1986). اگرچه پاراکوات یکی از سمی‌ترین علف‌کش‌هایی است که در ۶۰ سال اخیر استفاده می‌شود، اما هنوز در بیش از ۱۰۰ کشور و ۱۰۰ گونه محصول زراعی مورد استفاده قرار می‌گیرد. پاراکوات نه تنها یک علف‌کش غیرانتخابی پس از برداشت

اگرچه بعد از کشف علف‌کش‌ها انقلابی در کنترل علف‌های هرز رخ داد، اما با شروع پدیده مقاومت در علف‌های هرز، نگرانی‌های در این باب به وجود آمد که با افزایش چشم‌گیر گیاهان مقاوم در این دهه، بر این نگرانی افزوده شد. هرچند این مسئله دور از تصور نبود؛ چراکه مقاومت به آفت‌کش‌ها شامل حشره‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها و باکتری‌کش‌ها، قبل از مشاهدات مقاومت در علف‌های هرز مطرح شده بود. هیپ (Heap, 2001) مقاومت را شامل ژنوتیپ‌های جهش‌یافته ژنتیکی دانست که ممکن است از قبل وجود داشته‌اند و یا بعداً ایجاد شود. در کل، مقاومت به علف‌کش‌ها، یک پدیده تکاملی است که به علف‌هرز این امکان را می‌دهد که بعد از در قرار گرفتن در معرض دز توصیه‌شده از یک علف‌کش، رشد خود را با علائم کم یا بدون هیچ علائمی ادامه دهد (Fernandez-Moreno et al., 2017a). پژوهشگران، مقاومت به علف‌کش‌ها را وابسته به چهار فاکتور ژنتیک، زیست‌شناسی و اکولوژی علف‌های هرز، مشخصات علف‌کش‌ها و الگوی مصرف آن‌ها دانستند (Holt 1990; Powles & Yu, 2010).

بید علفی با نام علمی *Epilobium ciliatum* Raf. علف‌هرزی چندساله از خانواده Onagraceae می‌باشد که با عنوان خانواده بید علفی^۱ یا گل مغربی^۲ شناخته شده است و تقریباً شامل ۱۷۰ گونه می‌باشد.

^۱ Willowherb

^۲ Evening primrose

بیش از حد آنزیم EPSPS (Dinelli et al., 2008; Gherekhloo et al., 2017)، جایگزینی پرولین (Pro) با ترئونین (Thr) در موقعیت ۱۰۶ در EPSPS در محل هدف و کاهش جذب در محل غیر هدف در *Conyza sumatrensis* (González-Torralva et al., 2014)، محبوس کردن در واکنش در *Conyza canadensis* (Ge et al., 2010; Nol et al., 2012)، ترکیب کاهش جذب و انتقال علف‌کش در *Conyza bonariensis* (Moretti & Hanson, 2017) و سم‌زدایی سریع گلايفوسیت (Bracamonte et al., 2012; González-Torralva et al., 2016) اشاره کرد. در هر صورت، پس از استفاده از علف‌کش گلايفوسیت، گیاه مقاوم زنده می‌ماند و این علف‌کش به‌تنهایی قادر به کنترل علف‌هرز مقاوم نخواهد بود. به دلیل مصرف گسترده گلايفوسیت، امروزه ۴۱ گونه علف‌هرز از ۲۹۱ نقطه از سراسر دنیا به این علف‌کش مقاوم نشان داده‌اند (Heap, 2019).

پژوهشگران بیان کردند که ترکیبی از علف‌کش‌هایی با نحوه عمل متفاوت، چه به‌صورت متناوب یا به‌صورت مخلوط در مخزن سم‌پاش می‌تواند باعث جلوگیری از شروع و یا به تأخیر انداختن سیر مقاومت شود (Ganie & Jhala, 2017). با این وجود، در بسیاری از شرایط، به علت عدم استفاده از گزینه‌های شیمیایی با طیف گسترده یا غیر انتخابی (مانند استولاکتات سینتاز، ALS و یا پروتوپورفیرینون اکسیداز، PPO) و تحت یک تناوب علف‌کشی برای کنترل علف‌های هرز مقاوم به گلايفوسیت، انتظار می‌رود که تأثیر کنترل علف‌هرز، کاهش‌یافته باشد و یا حتی باعث ایجاد مقاومت چندگانه شده باشد (Fernandez et al., 2017b; Khalil Tahmasebi et al., 2018b). کشاورزان با مشاهده عدم کارایی دو گروه از علف‌کش‌های مهارکننده PSI و EPSPS، به صورت

می‌باشد بلکه یک اکسیدکننده قوی است که سبب تنش پراکسیداسیون در گیاهان می‌شود (Fuerst & Vaughn, 1990; Lewinsohn & Gressel, 1984). با شروع کاربرد دایکوات و پاراکوات از سال ۱۹۷۰، روند مقاومت به این گروه از علف‌کش‌ها نیز شروع شد (Vaughn, 2003). تاکنون ۳۲ گونه علف‌هرز در سراسر جهان به دایکوات و پاراکوات مقاومت نشان داده‌اند و همچنین مقاومت *E. ciliatum* در بلژیک و انگلستان نیز گزارش شده است (Heap, 2019). معمولاً پژوهشگران، مقاومت در برابر علف‌کش‌های پاراکوات و دایکوات را نتیجه کاهش انتقال علف‌کش از ناحیه تیمار شده می‌دانند (Khalil Tahmasebi et al., 2018a; Yu et al., 2007; Hawkes, 2014). علاوه بر این، گزارش‌های دیگر نشان می‌دهند که آنزیم‌های محافظ نیز می‌توانند باعث ایجاد مقاومت شوند (Hawkes, 2014).

گلايفوسیت یک علف‌کش غیرانتخابی و پس‌رویشی است که به‌صورت گسترده در سرتاسر دنیا و برای کنترل علف‌های هرز در محصولات یک‌ساله و چندساله (González-Torralva et al., 2010, 2014) و همچنین در مناطق غیر کشاورزی مانند حاشیه جاده‌ها، خطوط راه‌آهن و مناطق تفریحی استفاده می‌شود (Urbano et al., 2007). این علف‌کش، از طریق سطح برگ و دیگر بافت‌های سبز، جذب گیاه می‌شود و از طریق آوند آبکش به سلول‌های مرستم انتقال می‌یابد و در گیاهان حساس، با مهار سنتز ۵- اینول پیرویل شیکیمیت ۳- فسفات سنتاز، با مسدود کردن سنتز اسیدهای آمینه حلقوی عمل می‌کند و سنتز پروتئین را متوقف می‌کند (Maeda & Dudareva, 2012). مقاومت به گلايفوسیت در گونه‌های علف‌های هرز، با مکانیسم‌های گسترده‌ای گزارش شده است که می‌توان به مواردی از قبیل تغییر در ژن EPSPS (Gherekhloo et al., 2017)، تولید

مذکور از باغستان‌های پایتخت شیلی، لول^۱ که در طی ۲۰ سال توسط علف‌کش‌های دایکوات، پاراکوات، گلایفوسیت و در نهایت توسط علف‌کش‌های جایگزین تیمار شده بود جمع‌آوری شدند. بذور بیوتیپ حساس نیز از محل نزدیکی که هیچ‌گاه مورد تیمار علف‌کش‌ها قرار نگرفته بود جمع‌آوری شدند. بذره‌های جمع‌آوری شده برای جوانه‌زنی در پتری دیش قرار گرفتند و سپس در اتاقک رشد، در دمای ۲۸/۱۸ درجه سانتی‌گراد (روز/شب) و با دوره نوری ۱۶ ساعت، به همراه شدت فوتون فتوستتزی ۸۵۰ (میکرومول فوتون بر متر مربع)^۲ و رطوبت نسبی ۸۰٪ قرار داده شدند. پس از جوانه‌دار شدن، در هر گلدان با حجم ۲۵۰ cm^۳ که حاوی نسبت یک به دو (حجمی/حجمی) ماسه و پیت بود، یک گیاهچه کاشت شد و به گلخانه‌ای با دمای ۲۸/۱۸ درجه سانتی‌گراد (روز/شب)، با دوره نوری ۱۶ ساعت منتقل شدند. برای تأمین رطوبت، گیاهچه‌ها به صورت روزانه و در حد نیاز آبیاری شدند.

آزمون غربال‌گری

برای جداسازی توده مشکوک به مقاومت به علف‌کش‌های بیان شده، آزمایش‌های گلدانی با چهار تکرار انجام شد. گلدان‌ها در مرحله رشد روزت (BBCH 12-14) در اتاقک رشد و توسط یک دستگاه سمپاش آزمایشگاهی (SBS-060) دوریس مانت ساخت کشور هلند) مجهز به نازل تی‌جت بادبزن مسطح EVS ۸۰۰۲ با قابلیت پاشش ۲۰۰ لیتر بر هکتار در فشار ۲۵۰ کیلو پاسکال در ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری سمپاشی شدند. چهار هفته پس از سمپاشی، تعداد گیاهان زنده مانده برای هر تیمار یادداشت شدند و درصد گیاهان باقیمانده نسبت به پیش از سمپاشی محاسبه شد. پس از ثبت تعداد

جایگزین از چهار گروه علف‌کشی از جمله بازدارنده GS، شبه اکسین، بازدارنده ALS و بازدارنده PPO بیشتر از سایر گروه‌های علف‌کشی استفاده می‌کنند (Ganie & Jhala, 2017). مزیت این علف‌کش‌ها، طیف وسیع کنترلی آن‌ها (کارایی بالای در کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ و باریک‌برگ) و سرعت عمل آن‌ها می‌باشد. امروز این علف‌کش‌ها به صورت گسترده برای کنترل *E. ciliatum* مقاوم به پاراکوات، دایکوات و گلایفوسیت در سراسر دنیا مورد استفاده قرار می‌گیرند (Ganie & Jhala, 2017).

از آن‌جایی که مدت‌هاست از علف‌کش‌های جایگزین برای کنترل علف‌هرز *E. ciliatum* در اروپای شمالی استفاده می‌شود و تاکنون مطالعه خاصی بر روی کارایی یا عدم کارایی علف‌کش‌های مذکور بر گونه *E. ciliatum* صورت نگرفته است، این پژوهش با هدف بررسی کارایی علف‌کش‌هایی با نحوه عمل متفاوت و مقاومت احتمالی آن‌ها روی بید علفی انجام شد.

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش و مواد گیاهی

به منظور بررسی کارایی چهار گروه از علف‌کش‌های مختلف شامل گلوکوسینیت (بازدارنده GS)، ام‌سی‌بی‌آ و فلورکسی‌پیر (بازدارنده اکسین)، فلازاسولفورن (بازدارنده ALS) و پری فلوفن-اتیل و کارفن‌ترازون (بازدارنده PPO) بر علف‌هرز بید علفی، آزمایشی در سال ۲۰۱۷ در دانشگاه کوردبا (اسپانیا) انجام شد. برای این منظور، بذور یک توده *E. ciliatum* که مقاومت آن به بازدارنده‌های PSI و EPSPS توسط دانشگاه کوردوبا قبلاً تایید شد بود، مورد استفاده قرار گرفت (Khalil Tahmasebi et al., 2018). توده

¹Lolol

²($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

بیوتیپ مقاوم و حساس انجام گرفت (جدول ۱). علف‌کش‌ها شامل پری فلوفن‌اتیل (هشت، شش، سه، یک و صفر گرم ماده موثره در هکتار)، کارفن ترازون (۱۰۰، ۶۰، ۳۰، ۱۵، ۷/۵، ۳/۷۵ و صفر گرم ماده موثره در هکتار)، فلازاسولفورون (۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۴۰، ۲۰، ۱۰، پنج و صفر گرم ماده موثره در هکتار)، ام‌سی‌بی‌آ (۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۷۵۰، ۵۰۰، ۲۵۰ و صفر گرم ماده موثره در هکتار)، فلورکسی‌پیر (۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵ و صفر گرم ماده موثره در هکتار)، گلو فوسینیت (۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵/۵ و صفر گرم ماده موثره در هکتار) بودند. سمپاشی در مرحله رشد روزت (BBCH 12-14) صورت گرفت و در نهایت، زنده‌مانی و کاهش وزن تر، ۲۱ روز پس از تیمار اندازه‌گیری شدند.

گیاهان زنده مانده، بوته‌های زنده هر گلدان از سطح خاک قطع شدند و پس از جمع‌آوری، وزن‌تر آن‌ها با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شد. میانگین وزن‌تر اندام هوایی برای هر تک بوته محاسبه شد و سپس درصد وزن‌تر بوته‌های هر توده تیمار شده با علف‌کش نسبت به شاهد خودش (تیمار نشده با علف‌کش) محاسبه شد.

آزمون واکنش به دز

با هدف بررسی درجه مقاومت توده‌های غربال شده، پاسخ توده‌ها در یک آزمایشی گلدانی بررسی شد. تمامی شرایط رشد تا زمان تیمار (مرحله رشد روزت) و سپس سمپاشی و برداشت بوته‌ها، مشابه آزمایش غربالگری بود. برای این منظور، آزمایش‌هایی با کاربرد هشت دز از پنج علف‌کش و در هشت تکرار روی

جدول ۱- مشخصات عمومی علف‌کش‌های مورد استفاده در آزمایش

Table 1- General characteristics of applied herbicides in the experiments

Herbicide	Group* (WSSA)/(HRAC)	Mode of Action**	Recommended Dose (g a.i. ha ⁻¹)	Dose-response	Application Time
Pirafufen-ethyl	14 / E	PPO	6-20	0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10	post emergence
Carfentrazone	14/E	PPO	100	0, 1.5, 3.75, 7.5, 15, 30, 60, 100	early post emergence
MCPA	4/O	Auxinic	750	0, 250, 500, 750, 1000, 2000	post emergence
Fluoroxipir	4 / O	Auxinic	300	0, 12.5, 25, 50, 100, 200, 400	post emergence
Glufosinate	10 / H	GS	750	0, 12.5, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 2000	post emergence
Flazasulfuron	B	ALS	80	0, 5, 10, 20, 40, 50, 100, 200	early post emergence

*: گروه علف‌کش بر اساس تقسیم‌بندی انجمن علمی علف‌های‌هرز آمریکا و کمیته کاری مقاومت به علف‌کش‌ها (WSSA/HRAC).

** : مکانیسم عمل: پروتوپورفیرینوژن اکسیداز (PPO)، شبه آکسین (SA)، گلوتامین سنتتاز (GS)، استولاکتات سنتتاز (ALS)

*: Herbicide group according to the Weed Science Society of America and the Herbicide Resistance Action Committee (WSSA/HRAC)

** : Mode of action: protoporphyrinogen oxidase (PPO), synthetic auxins (Auxinic), glutamine synthetase (GS), acetolactate synthase (ALS)

منحنی دز- پاسخ و e، غلظت بیان‌کننده ED₅₀ بود. برای بقاء، پارامتر e به صورت LD₅₀ (دز مورد نیاز برای کاهش زنده‌مانی یا بقاء به میزان ۵۰ درصد نسبت به شاهد) و برای وزن تر، به صورت GR₅₀ (دز مورد نیاز برای کاهش وزن تر به میزان ۵۰ درصد نسبت به شاهد) محاسبه شد.

برای تجزیه آماری منحنی واکنش به دز علف‌کش، از آنالیز رگرسیون لگ لجستیک سه پارامتره (معادله ۱) ارائه شده توسط ریتز و استریبیک (Ritz & Streibig, 2005) استفاده شد (معادله ۱).

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

که در آن، b، شیب منحنی در نقطه e؛ d، حد بالای

نشده است).

آزمون دز-پاسخ

علف‌کش‌های بازدارنده‌ی پروتوپورفیرینوژن اکسیداز^۱

نتایج آزمون دز-پاسخ با دو علف‌کش پیرافلوفن و کارفن ترازون نشان داد که بین توده مقاوم و حساس بید علفی اختلاف معنی داری وجود داشت (جدول ۲). توده‌های بید علفی مقاوم، پس از کاربرد این دو علف‌کش، درجات مختلفی از مقاومت را بر مبنای وزن‌تر و زنده‌مانی از خود نشان دادند به طوری که توده مقاوم با دارا بودن درجه مقاومتی معادل ۲۳۵/۰۶ (بر مبنای درصد کاهش وزن‌تر) و ۶/۶۱ (بر مبنای درصد کاهش زنده‌مانی) نسبت به توده حساس، مقاومت بالایی به علف‌کش کارفن ترازون از خود نشان داد. به عبارت دیگر، در حالی که میزان $1/64 \pm 1/067$ گرم ماده مؤثر کارفن ترازون در هکتار باعث کاهش تعداد بوته‌های زنده مانده توده حساس به میزان ۵۰ درصد شد، این مقدار برای کاهش ۵۰ درصدی تعداد بوته‌های زنده توده مقاوم بید علفی معادل $1/05 \pm 7/050$ گرم ماده مؤثر در هکتار برآورد شد. به بیانی دیگر، برای بدست آوردن LD₅₀ مشابه بین بیوتیپ حساس و مقاوم، باید دز مصرفی در بیوتیپ مقاوم، ۶/۶۱ برابر بیشتر نسبت به بیوتیپ حساس در نظر گرفته شود. همچنین می‌توان درجه مقاومت ۲/۸۳ (از نظر درصد کاهش بوته‌های زنده مانده) و ۳/۷۷ (برای کاهش وزن‌تر) نسبت به توده حساس برای علف‌کش پیرافلوفن-اتیل در نظر گرفت.

آنالیز رگرسیون توسط بسته **drc** با برنامه‌ی **R ver 5,3,2** انجام گرفت (Ritz et al. 2015). پیش از آنالیز، با استفاده از آزمون فقدان برازش، داده‌های از نظر مناسب بودن مدل مورد نظر ارزیابی شدند. همچنین نمودارها توسط نرم‌افزار سیگما پلات، نسخه ۱۱ (systat software, Inc. USA) ترسیم شدند. نسبت ED₅₀ توده مقاوم به ED₅₀ توده حساس (معادله ۲)، به عنوان شاخصی برای بررسی و مقایسه میزان مقاومت توده‌ها مورد استفاده قرار گرفت (Ritz et al. 2015).

$$RF = \frac{\text{توده مورد نظر ED}_{50}}{\text{توده حساس ED}_{50}} \quad \text{معادله ۲}$$

نتایج و بحث

آزمون غربال‌گری

از آن‌جا که وزن‌تر به عنوان یک شاخص مناسب برای غربال اولیه توده‌های مشکوک به مقاومت مورد استفاده قرار می‌گیرد (Moss et al. 2007)، پس از کاربرد دز توصیه شده، غربالگری توده‌ها انجام شد به طوری که توده‌هایی که درصد کاهش وزن‌تر آن‌ها نسبت به شاهد بین صفر تا ۳۶، ۳۶-۷۲، ۷۲-۸۱ و ۸۱-۱۰۰ درصد بود، به ترتیب در گروه‌های **RRR** (قطعاً مقاوم)، **RR** (مقاوم)، **R?** (مشکوک به مقاومت) و **S** (حساس) قرار گرفتند (Moss et al., 2007).

نتایج غربالگری توده حساس و مقاوم بید علفی نشان داد که در میان دو توده مورد بررسی، توده مقاوم با کاهش حدود صفر تا ۳۶ درصد وزن‌تر، نسبت به علف‌کش فلورکسی و بر اساس این سیستم رتبه‌بندی، در گروه **RRR** (قطعاً مقاوم) قرار می‌گیرد. توده مقاوم به دلیل کاهش درصد وزن‌تر حدود ۳۶-۷۲، نسبت به سه علف‌کش کارفن ترازون، پیرافلوفن-اتیل و فلازاسولفورن در گروه **RR** (مقاوم) و نسبت به دو علف‌کش گلافوزینات و ام‌سی‌پی‌آ در گروه **R?** (مشکوک به مقاومت) قرار گرفت (داده‌ها نشان داده

¹ protoporphyrinogen oxidase (PPO)

جدول ۲- محاسبه پارامترهای برآورده شده بقاء (LD₅₀) و وزن تر (GR₅₀) (علف‌کشهای مختلف گرم ماده موثره در هکتار) در جمعیت *E. ciliatum* با استفاده از مدل سه پارامتره لوک لجستیک

Table 2. Log-logistic equation parameters used to calculate the different herbicides (g a.i. ha⁻¹) required for 50% survival (LD₅₀) and 50% reduction of fresh weight (GR₅₀) of *E. ciliatum* population

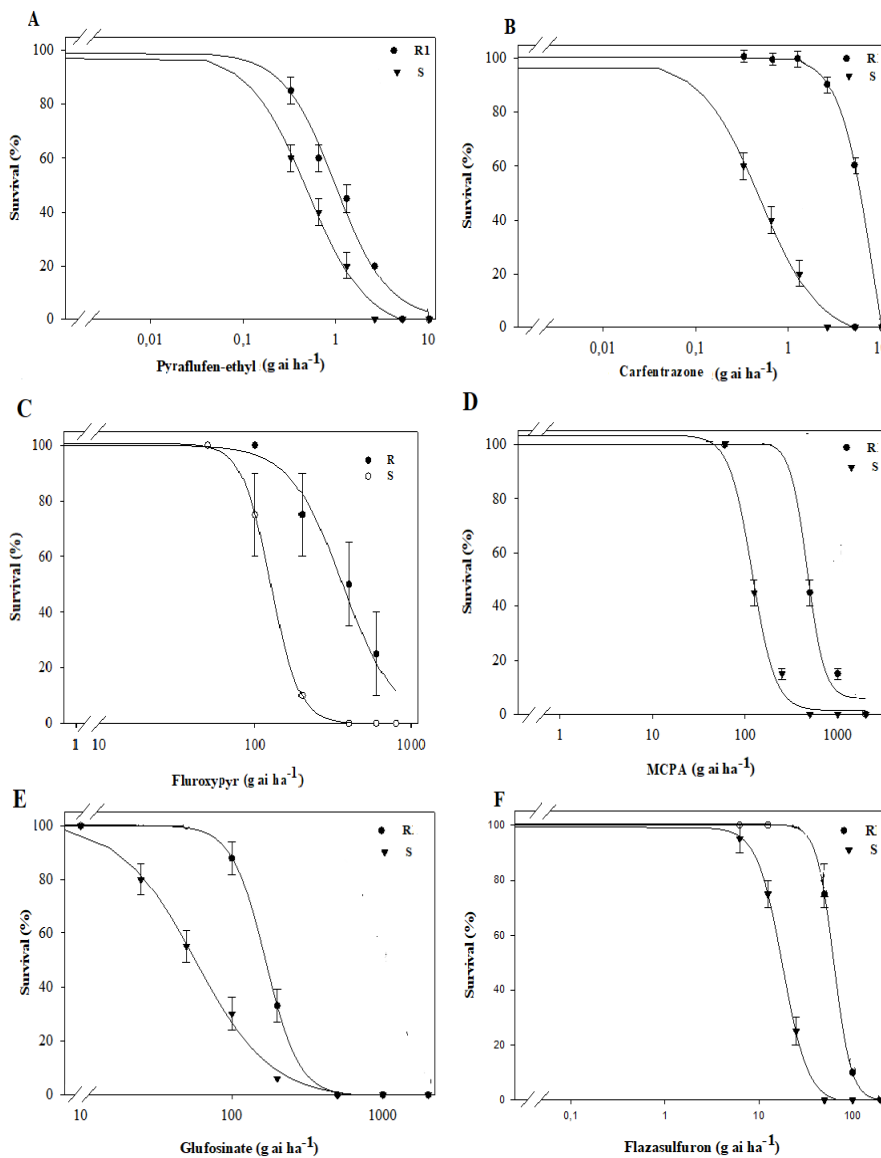
Herbicide	Population	LD ₅₀ parameters						GR ₅₀ parameters					
		d	b	LD ₅₀ ^a (g a.i.ha ⁻¹)	R ²	RF	p-value	d	b	GR ₅₀ ^a (g a.i.ha ⁻¹)	R ²	RF ^b	p-value
Carfentrazone	R	100.42	2.37	7.050 ± 1.05	0.99	6.61	0.0001	100.42	2.37	1.42 ± 1.05	0.99	235.07	0.0001
	S	100.37	1.76	1.067 ± 1.64	0.98			100.37	1.76	0.01 ± 1.64	0.98		
Pyraflufen-ethyl	R	99.33	1.53	1.05 ± 0.31	0.99	1.72	0.0001	100.04	2.13	0.41 ± 0.08	0.99	5.85	0.0001
	S	99.66	1.34	0.61 ± 0.06	0.99			100.01	0.68	0.07 ± 0.01	0.97		
Fluroxypyr	R	100.18	3.81	363.052±3.71	0.99	2.89	0.0001	100.18	3.40	113.04 ± 6.59	0.99	1.94	0.0001
	S	101.06	1.73	125.637 ± 4.10	0.99			101.06	1.30	58.14 ± 0.43	0.99		
MCPA	R	101.07	4.60	430.48 ± 25.51	0.97	3.94	0.0001	101.30	1.69	160.75 ± 24.81	0.99	3.27	0.0001
	S	103.05	3.51	109.13 ± 7.91	0.99			101.10	1.15	59.10 ± 3.14	0.98		
Glufosinate	R	100.18	3.91	167.05 ± 22.81	0.99	2.93	0.0001	102.05	1.14	60.38 ± 19.72	0.98	1.63	0.1012
	S	101.66	1.73	56.91 ± 3.41	0.98			101.95	1.52	36.89 ± 4.66	0.98		
Flazasulfuron	R	100.31	4.73	63.40 ± 6.59	0.99	3.35	0.0001	93.35	2.12	37.44 ± 3.94	0.99	7.78	0.0001
	S	99.16	3.21	18.89 ± 1.97	0.99			102.09	1.58	4.81 ± 0.43	0.99		

^aLD₅₀ و ^aGR₅₀ با گرم ماده موثره در هکتار بیان می شودند. ^bRF = درجه مقاومت که LD₅₀، GR₅₀ بیوتیپ مقاوم / LD₅₀، GR₅₀ بیوتیپ حساس است. R² سطح معنی داری احتمال مدل رگرسیون غیر خطی. ± = خطای استاندارد از می‌انگین (n=8)

^aGR₅₀ and ^aLD₅₀ expressed in g ai ha⁻¹. ^bRF = Resistance factor = GR₅₀ or LD₅₀ of the R biotype/GR₅₀ or LD₅₀ of the S biotype. ± Standard error of the mean (n = 8).

روند پاسخ درصد بوته‌های زنده مانده بید علفی نشان داد که با افزایش دز مصرفی علف‌کش، درصد وزن‌تر و تعداد بوته‌های زنده مانده به سرعت کاهش یافته است (شکل‌های A-۱ و B، A-۲ و B).

نتایج بدست آمده از ارزیابی چشمی علف‌کش پیرافلوفن-اتیل نشان داد که پس از یک هفته، تمام بوته‌های حساس از بین رفتند درحالی‌که تنها تعداد کمی از بوته‌های مقاوم از بین رفته بودند. بررسی



شکل ۱- درصد بوته‌های زنده مانده توده حساس و مقاوم *Epilobium ciliatum* نسبت به کاربرد غلظت‌های مختلف (A) پیرافلوفن (PPO)، (B) کارفن ترازون (PPO)، (C) فلوروکسی پیر (Auxinic)، (D) ام‌سی پی آ (Auxinic)، (E) گلو فوسینیت (GS) و (F) فلازاسولفورن (ALS) در ۲۱ روز پس از نشاء. میله‌ها خطای استاندارد میانگین‌ها را نشان می‌دهد (n=8)

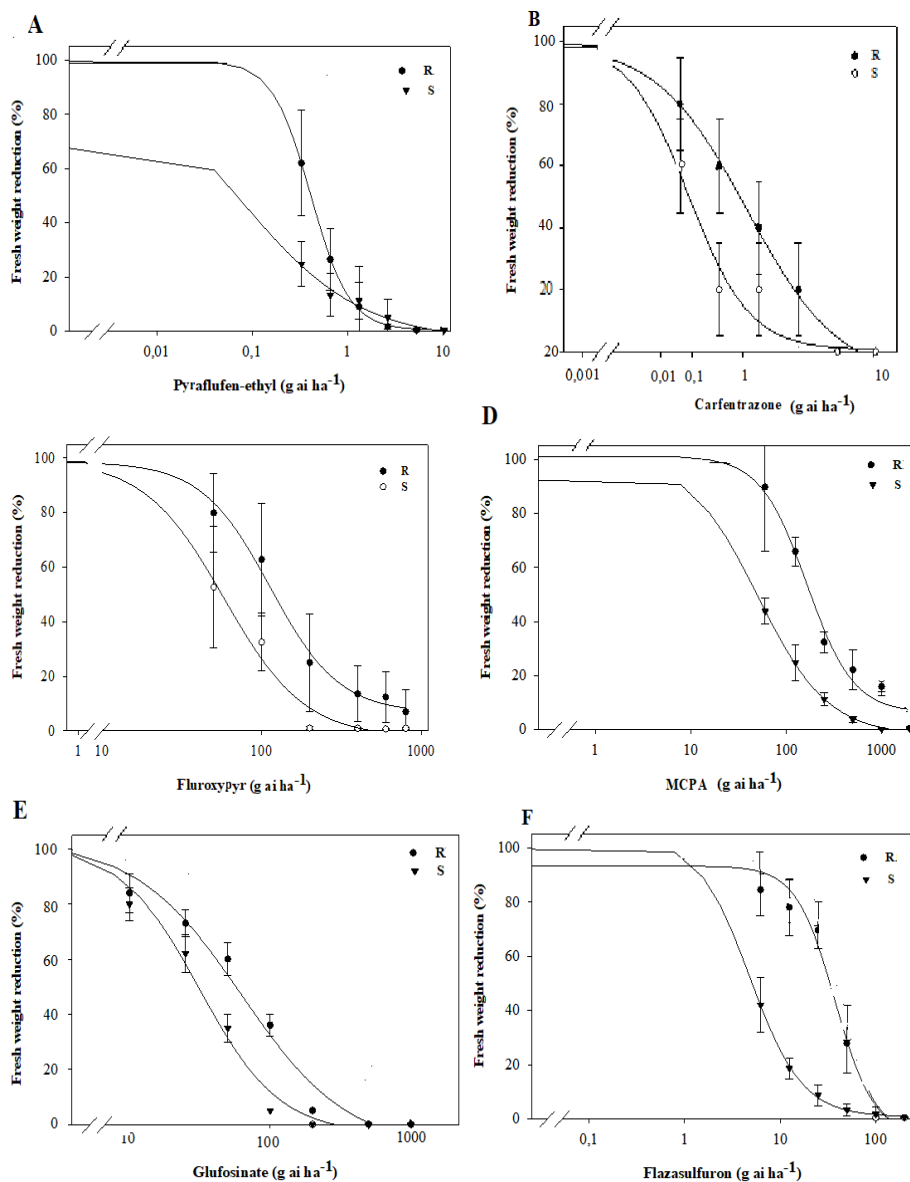
Figure 2. *Epilobium ciliatum* survival 21 DAT with different rates of Pyraflufen-ethyl (PPO), Carfentrazone (PPO), Fluroxypyr (Auxinic), MCPA (Auxinic), Glufosinate (GS) and flazasulfuron (ALS). Bars show standard error of the means (n = 8).

در آزمایشی، با کاربرد علف‌کش‌های PPO در دو گونه علف‌هرز تاج خروس (*Amaranthus palmeri*)، چندین برابر مقاوم‌تر از بیوتیپ‌های

مشاهده شد که بیوتیپ‌های مقاوم،

های‌هرز مقاوم به PPO در جهان گزارش شده است که ۱۰ مورد از آنها، به علف‌های‌هرز پهن‌برگ و تنها سه مورد از آنها به گونه‌های باریک‌تعلق دارد (Heap, 2018).

حساس بودند (Reiofeli et al., 2016). در همین رابطه، پژوهشگران بیان کردند که حذف کدون در موقعیت ۲۱۰ در ژن PPO، باعث جایگزینی گلایسین و در نتیجه ایجاد مقاومت به علف‌کش شده است (Patzoldt et al., 2006). تا کنون، ۱۳ مورد از علف



شکل ۲- درصد وزن تر توده حساس و مقاوم *Epilobium ciliatum* نسبت به کاربرد غلظت‌های مختلف (A) پیرافلوفن (PPO)، (B) کارفن ترازون (PPO)، (C) فلوروکسی پیر (Auxinic)، (D) ام‌سی‌بی‌آ (Auxinic)، (E) گلو فوسینیت (GS)، (F) فلازاسولفورن (ALS) در ۲۱ روز پس از نشاء. میله‌ها خطای استاندارد میانگین‌ها را نشان می‌دهد (n=8)

Figure 2. *Epilobium ciliatum* fresh weight 21 DAT with different rates of Pyraflufen-ethyl (PPO), Carfentrazone (PPO), Fluroxypyr (Auxinic), MCPA (Auxinic), Glufosinate (GS) and flazasulfuron (ALS). Bars show standard error of the means (n= 8).

علف‌کش‌های شبه اکسینی^۱

نتایج بدست آمده برای دو علف‌کش ام‌سی‌پی‌ا و فلورکسی پیر نیز نشان داد که بین مقادیر LD₅₀ و GR₅₀ برای توده حساس و مقاوم اختلاف معنی‌داری وجود دارد. نتایج بدست آمده برای علف‌کش ام‌سی‌پی‌ا نشان داد که بقاء بیوتیپ حساس با کاربرد دز ۱۰۹/۱۳ گرم در هکتار، به میزان ۵۰ درصد کاهش یافت؛ این درحالی بود که بیوتیپ مقاوم، به دز بالاتری (۴۳۰/۵ گرم بر هکتار) برای رسیدن به LD₅₀ مشابه نیاز داشت. شاخص مقاومت بدست آمده برای این علف‌کش، ۳/۹۴ بود که با عدد یک اختلاف معنی‌داری داشت. همچنین نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که دز ۳/۱۴ ± ۴۹/۱۰ گرم در هکتار از این علف‌کش توانست باعث کاهش ۵۰ درصدی رشد بیوتیپ حساس شود درحالی‌که برای کاهش ۵۰ درصدی رشد بیوتیپ مقاوم، به ۲۴/۸۱ ± ۱۶۰/۷۵ گرم در هکتار از علف‌کش ام‌سی‌پی‌ا نیاز است. شاخص مقاومت برای پارامتر GR₅₀ در بیوتیپ مقاوم، ۳/۲۸ بود که با عدد یک اختلاف معنی‌داری داشت.

نتایج بدست آمده برای علف‌کش فلوروکسی پیر نیز مشابه ام‌سی‌پی‌ا بود به طوری‌که توده مقاوم با دارا بودن درجه مقاومت ۲/۸۹ (از نظر درصد کاهش وزن‌تر) و ۱/۹۴ (از نظر درصد کاهش بوته‌های زنده مانده) نسبت به توده حساس، به میزان علف‌کش بیشتری برای کنترل نیازمند بود (جدول ۲). با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان چنین برآورد کرد که مقاومت در این بیوتپ در مزرعه بروز پیدا کرده است و برای جلوگیری از گسترش مقاومت باید هر چه سریعتر، روش‌های مورد نیاز برای مدیریت این گونه به کار گرفته شود. بورخارد و کابیلو (Burkhard

and Kabelo, 2016) بیان کردند که مقاومت در اکسین‌ها (توفوردی) در بیشتر مواقع، مربوط به آلل‌های غالب است و مقاومت با سرعت زیاد بروز می‌کند. لازم به ذکر است که روند درصد بقاء بین بیوتیپ مقاوم و حساس در این علف‌کش نیز مشابه روند سایر علف‌کش‌های مورد آزمایش در این تحقیق بود (شکل ۲). بر خلاف انتظار، پدیده هورموسیس در پاسخ توده‌ها (از نظر درصد کاهش وزن‌تر) نسبت به کاربرد ام‌سی‌پی‌ا مشاهده نشد که شاید عدم استفاده از سطوح پایین دزهای مورد استفاده بتواند این موضوع را توجیح نماید (شکل ۲). در اثر پاسخ رشد نسبت به کاربرد دز بسیار پایین از برخی از علف‌کش‌ها یا مواد زنبوبایوتیک این پدیده مشاهده می‌شود (Ritz & Streibig, 2005).

علف‌کش بازدارنده سنتز گلوتامین^۲

نتایج بدست آمده نشان داد که LD₅₀ برای گونه مقاوم و حساس به علف‌کش گلوفاوسینیت، به ترتیب ۱۶۷/۰۵ ± ۲۲/۸۱ و ۵۶/۹۱ ± ۳/۴۱ گرم در هکتار بود. همچنین GR₅₀ بیوتیپ مقاوم و حساس، به ترتیب ۶۰/۳۸ ± ۱۹/۷۲ و ۳۶/۸۹ ± ۴/۶۶ گرم در هکتار برآورد شد. در کل، بیوتیپ مقاوم مقادیر شاخص RF پایینی بر مبنای هر دو پارامتر LD₅₀ (۲/۹۳) و GR₅₀ (۱/۶۳) را برای گلوفاوسینیت نشان داد (جدول ۲، شکل‌های ۱E و ۲E). اگر چه اختلاف معنی‌داری بین دو بیوتیپ حساس و مقاوم نسبت به پارامتر LD₅₀ وجود داشت ولی شواهد نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین این دو بیوتیپ برای پارامتر GR₅₀ بود (جدول ۲). بررسی روند پاسخ بوته‌های بید علفی به افزایش دز گلوفاوسینیت نشان داد که با افزایش دز مصرفی علف‌کش، درصد وزن‌تر و تعداد بوته‌های زنده مانده به سرعت کاهش یافت (شکل‌های ۱E و ۲E)؛ اگرچه در این بین، تک‌بوته‌هایی وجود داشتند

² glutamine synthetase

¹ synthetic auxin

می‌شود، در بیوتیپ مقاوم، با افزایش دز مصرفی فلازاسولفورن، شیب کاهش درصد وزن تر توده مقاوم نسبت به شاهد کم بود. این حالت بیانگر درجه مقاومت بالای بیوتیپ مذکور به علف‌کش فلازاسولفورن می‌باشد. همچنین بررسی روند پاسخ بقاء، نشان دهنده واکنش متفاوت بین بیوتیپ مقاوم و حساس در دزهای کاربردی بود (شکل ۱). علف‌کش-های بازدارنده ALS، جزء علف‌کش‌های پرخطر طبقه‌بندی می‌شوند (Beckie, 2007) به طوری که نخستین گزارشات از مقاومت به این علف‌کش‌ها، در سال ۱۹۸۷ یعنی تنها پنج سال بعد از معرفی علف‌کش کلروسولفورن در علف‌های هرز کاهوی وحشی (Mallory-Smith et al.,) (*Lactuca serriola* L.) (1990) و علف جارو (*Kochia scoparia* (L.) (Schrader, 1990) (Primiani et al., 1990) ثبت شد. در اروپا، اولین مقاومت در دم‌روباهی کشیده (*Alopecurus myosuroides*) به علف‌کش گروه ALS، در سال ۱۹۹۱ در انگلستان و سپس در سایر کشورهای شمال اروپا گزارش شد (Thihi & Lemerle, 2001). با توجه به فشار گزینشی بالا در علف‌کش‌های خانواده ALS، از سال ۱۹۸۲ تاکنون، ۱۶۰ بیوتیپ علف‌هرز (۹۸ مورد پهن‌برگ و ۶۲ مورد نازک‌برگ) از سراسر دنیا به این خانواده مقاومت نشان داده‌اند (Heaps, 2018).

با این حال، تاکنون تنها دو گونه علف‌هرز پیرگیاه (*Senecio vulgaris*) و گونه‌ای اویارسلام (*Cyperus brevifolius*)، به علف‌کش فلازاسولفورن مقاومت نشان داده‌اند (Delye et al., 2016; Okuno et al., 2015). در بیشتر نمونه‌های مورد مطالعه در جهان، مقاومت به این علف‌کش‌ها ناشی از جهش یا جهش‌هایی در یک مکان یا مکان‌های مختلف ژن سنتز اسید لاکتیک است، اما ممکن است افزایش متابولیسم نیز تحت تاثیر یک آنزیم خاص، مقاومت به این گروه از

که در مقابل دزهای بالای گلوفاوسینیت، زنده ماندند که این امر می‌تواند نشانه شروع بروز مقاومت بید علفی به این علف‌کش باشد. با کاربرد متوالی بیش از سه بار، احتمال بروز مقاومت جدی در این گونه دور از ذهن نخواهد بود. نتایج تحقیقات مشابه‌ای که در مناطق مختلف ایالات متحده آمریکا صورت گرفت، حاکی از مقاومت چندگانه جنس *Amaranthus* (A. *retroflexus* A. *palmeri* *hybridus* (A. *rudis*) *tuberculatus*) به علف‌کش‌های گلوفاوسینیت، بازدارنده سنتز اسد لاکتیک و پروتوپورفیرینوژن اکسیداز بود (Legleiter & Bradley, 2008; Salas et al., 2016; Tranel et al., 2017).

علف‌کش‌های بازدارنده سنتز اسید لاکتیک^۱

علف‌کش فلازاسولفورن، یکی از علف‌کش‌هایی است که امروزه به صورت گسترده در جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. از آن‌جا که این علف‌کش به صورت جایگزین برای کنترل *E. ciliatum* مقاوم به گلایفوسیت مورد استفاده قرار گرفت، مقاومت و کارایی این علف‌کش نیز مورد بررسی قرار می‌گیرد. نتایج حاکی از اختلاف معنی داری بین بیوتیپ حساس و مقاوم در هر دو پارامتر (LD_{50} و GR_{50}) بررسی شده بود. نتایج بدست آمده برای LD_{50} در بیوتیپ مقاوم و حساس، به ترتیب $63/40 \pm 6/59$ و $18/89 \pm 1/97$ بود که این موضوع نشان دهنده درجه مقاومت $3/35$ برابری در بیوتیپ مقاوم نسبت به بیوتیپ حساس به علف‌کش می‌باشد. همچنین پارامتر GR_{50} بدست آمده برای بیوتیپ مقاوم و حساس، به ترتیب $37/44 \pm 3/94$ و $4/81 \pm 0/43$ بود که با توجه به شاخص مقاومت $7/78$ بدست آمده، نشان دهنده اختلاف بسیار معنی‌دار بین بیوتیپ مقاوم و حساس می‌باشد (جدول ۲). همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده

¹ acetolactate synthase

کارفن‌ترازون) را توجیه نماید. به‌طورکلی می‌توان عدم موفقیت در کنترل یک گونه علف‌هرز را استفاده از علف‌کش، در زمان رشدی بالاتر از زمان پیشنهاد شده و عدم توجه به برچسب در هنگام استفاده از علف‌کش‌ها دانست که این شرایط پس از گذشت چندین سال می‌تواند سبب بروز مقاومت شود (Fernandez-Moreno *et al.*, 2017b). مقاومت در بید علفی می‌تواند به دلایل ذکرشده در بالا و کاربرد متعدد علف‌کش‌ها طی سال‌های متوالی، افزایش دز توصیه‌شده در مزرعه و عدم استفاده از سایر علف‌کش‌ها با محل فعالیت متفاوت ایجاد شده باشد. از سوی دیگر، در صورتی که یک کشاورز، در مدیریت تلفیقی علف‌هرز (IWM)، علف‌کش مهم (گلایفوسیت) را برای مدتی طولانی به‌کار برد، خطرات جدی برای آن علف‌کش را به وجود می‌آورد. در همین رابطه و با توجه به اهمیت آن در کشاورزی، جدی‌ترین موارد مقاومت در برابر علف‌کش‌ها، نمونه‌های از مقاومت هستند که شامل مقاومت به گلایفوسیت می‌شوند؛ نیمی از گونه‌های مقاوم به گلایفوسیت، دارای مقاومت چندگانه هستند (Heap, 2017) که این امر نیز می‌تواند درجات مختلف مقاومت در علف‌کش‌های مورد استفاده در این پژوهش را توجیه نماید. در واقع، اگرچه هنوز چنین گزارشی از کشور ما در دست نیست اما شواهد حاکی از آن است که در ایران و با توجه به تاکید بر استفاده از علف‌کش‌های بازدارنده فتوسیستم یک و انول پیروویل شیکیمات-۳-فسفات سینتاز و همچنین عدم وجود یا استفاده علف‌کش‌های دیگر در باغات توسط کشاورزان، این پدیده نیز در بسیاری از گونه‌های علف‌های هرز آغاز شده است که به دلیل عدم بررسی‌های کافی، تاکنون پنهان مانده است یا در آینده‌ای نه چندان دور، با چنین پدیده‌ای رو به رو خواهیم شد.

علف‌کش‌ها را نیز به وجود آورد (Yu & Powles, 2014).

نتیجه‌گیری

هر چند نتایج بدست آمده از آزمایش دز پاسخ، حاکی از تفاوت معنی‌دار برای هر دو پارامتر LD₅₀ و GR₅₀ در بیوتیپ مقاوم و حساس در تمام علف‌کش‌ها (بجز GR₅₀ بدست آمده برای گلوپوسینیت) بود اما نتایج آزمایش‌های دز پاسخ نشان داد که تمام علف‌کش‌ها بجز فلورکسی‌پیر که برای کنترل بیوتیپ مقاوم، به دز (۳۶۳/۰۵ گرم در هکتار) بیشتر از دز توصیه شده (۳۰۰ گرم در هکتار) نیاز داشت، توانستند در مقدار کمتر از دز توصیه شده، هر دو بیوتیپ مقاوم و حساس را به خوبی کنترل نمایند. بنابراین می‌توان از علف‌کش‌های نام برده تحت یک مدیریت مناسب برای کنترل علف‌هرز بید علفی استفاده نمود. اما از سوی دیگر، با توجه به شاخص مقاومت بدست آمده برای سه علف‌کش کارفن‌ترازون، یرافلوفن-اتیل و فلازاسولفورن (به ترتیب به میزان ۶/۶۱، ۱/۷۲ و ۳/۳۵ برای LD₅₀ و ۲۳۵/۰۷، ۵/۸۵ و ۷/۷۸ برای GR₅₀) نیز می‌توان بیان کرد که درجاتی از حساسیت در این گونه نسبت به سه علف‌کش نام برده مشاهده شده است که در صورت عدم مدیریت علف‌کش‌های نام برده و عدم تلفیق با سایر روش‌های کنترلی، به زودی شاهد گسترش مقاومت بید علفی نسبت به علف‌کش‌های گفته شده خواهیم بود. پژوهشگران بر این باورند که شاخص مقاومت (RF) می‌تواند تحت تاثیر گونه مورد بررسی، بیوتیپ‌های حساسی که برای مقایسه جمعیت گونه مقاوم استفاده می‌شوند، وجود مقاومت چندگانه یا متقابل و همچنین نوع علف‌کش قرار گیرد و نتایج متنوعی بدست آید (Dominguez-Valenzuela *et al.*, 2017). وجود یکی از این عوامل نام برده می‌تواند شاخص‌های بالای مقاومت بدست آمده برای برخی از علف‌کش‌ها (برای مثال

منابع

- Beckie, H. J. 2007. Beneficial management practices to combat herbicide-resistant grass weeds in the Northern Great Plains. *Weed Technol.* 21: 290-299.
- Bracamonte, E., Fernández-Moreno, P.T., Barro, F. and De Prado, R. 2016. Glyphosate-resistant *Parthenium hysterophorus* in the Caribbean islands: Non target site resistance and target site resistance in relation to resistance levels. *Frontiers in Plant Science.* 7:1845.
- Burkhard, S. and Kabelo, S. 2016. 2,4-d transport and herbicide resistance in weed. *J. Exp. Bot.* 67(11): 3177-3179.
- Delye, C., Causse, R. and Michel, S. 2016. Genetic basis, evolutionary origin and spread of resistance to herbicides inhibiting acetolactate synthase in common groundsel (*Senecio vulgaris*). *Pest Manag. Sci.* 72: 89 – 102.
- Dinelli, G., Marotti, I., Bonetti, A., Catizone, P., Urbano, J.M. and Barnes, J. 2008. Physiological and molecular basis of glyphosate resistance in *Conyza bonariensis* (L.) Cronq biotypes from Spain. *Weed Rese.* 48: 257-265.
- Fernandez-Moreno, J.P., Alcántara, R., Osuna, M.D., Vila-Aiub, M.M. and De Prado, R. 2017a. Forward selection for multiple resistance across the non-selective glyphosate, glufosinate and oxyfluorfen herbicides in *Lolium* weed species. *Pest Manag. Sci.* 73:936-944.
- Fernandez-Moreno, J.P., Levy-Samoha, D., Malitsky, S., Monforte, A.J., Orzaez, D., Aharoni, A. and Granell, A. 2017b. Uncovering tomato quantitative trait loci and candidate genes for fruit cuticular lipid composition using the *Solanum pennellii* introgression line population. *J. Exp. Bot.* 68: 2703–2716.
- Fuerst, E.P. and Vaughn K.C. 1990. Mechanism of Paraquate Resistance. *Weed Technol.* 4: 150-156.
- Ganie, Z.A. and Jhala, A.J. 2017. Interaction of 2,4-D or dicamba with glufosinate for control of glyphosate-resistant giant ragweed (*Ambrosia trifida* L.) in glufosinate-resistant maize (*Zea mays* L.). *Front. Plant Sci.* 8: 1207.
- Ge, X., d'Avignon, D.A., Ackerman, J.J. and Sammons, R.D. 2010. Rapid vacuolar sequestration: the horseweed glyphosate resistance mechanism. *Pest Manag. Sci.* 66: 345–348.
- Gherekhloo, J., Fernández-Moreno, P.T., Alcántara-de la Cruz, R., Sánchez-González, E., Cruz-Hipolito H.E., Dominguez-Valenzuela J.A. and De Prado R. 2017. Pro-106-Ser mutation and EPSPS overexpression acting together simultaneously in glyphosate-resistant goosegrass (*Eleusine indica*). *Sci. Rep.* (7)1-10.
- González -Torralva, F., il-Humanes, J., Barro, F., Dominguez-Valenzuela, J.A. and De Prado, R. 2014. First evidence for a target site mutation in the EPSPS2 gene in glyphosate-resistant Sumatran fleabane from citrus orchards. *Agron. Sustain. Dev.* 34: 553–560.
- González-Torralva, F., Rojano-Delgado, A.M., Luque, M.D., Mülleder, N. and De Prado, R. 2012. Two non-target mechanisms are involved in glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.) biotypes. *Plant Physiol.* 169: 1673-1679.
- Hawkes, 2014. Mechanisms of resistance to paraquat in plants. *Pest management science.* 70:316–1323.
- Heap, I. 2011. International survey of herbicide resistant weeds. *Annu. Rep. inet.* <http://www.weed science.org>: Accessed: 10, 2011.
- Heap, I. 2018. International survey of herbicide resistant weeds. *Annu. Rep. inet.* <http://www.weed science.org>: Accessed: 7, 2018.
- Heap, I. 2019. International survey of herbicide resistant weeds. *Annu. Rep. inet.* <http://www.weed science.org>: Accessed: 12, 2019.
- Himme, M., van Bulcke, R. and Stryckers, J. 1986. Study of individual weeds: variability of *Epilobium ciliatum* Rafin. (syn. *E. adenocaulon* Hausskn.). *Mededeling van het Centrum voor Onkruidonderzoek van de Rijksuniversiteit.* Gent. 126 - 132.
- Khalil Tahmasebi, B., Alcántara-de la Cruz, R., Alcántara, E., Torra, J., Domínguez-Valenzuela A., Cruz-Hipólito, H.E., Rojano-Delgado, A.M. and De Prado, R. 2018a. Multiple resistance evolution in bipyridylum-resistant *Epilobium ciliatum* after recurrent selection. *Front. Plant Sci.*

- Khalil Tahmasebi, B., Alebrahim, M.T., Roldán-Gómez, R., Martinsda Silveira, H., Leonardo Biancode Carvalhod, L., Ricardo Alcántara-delaCruze, R. and De Prado, R. 2018b. Effectiveness of alternative herbicides on three *Conyza* species from Europe with and without glyphosate resistance. *Crop Prot.* 112: 350–355.
- Legleiter, T.R. and Bradley, K.W. 2008. Glyphosate and multiple herbicide resistance in common waterhemp (*Amaranthus rudis*) populations from Missouri. *Weed Sci.* 56: 582–587.
- Lewinsohn, E., and Gressel, J. 1984. Benzyl viologen-mediated counteraction of diquat and paraquat phytotoxicities. *Plant Physiol.* 76:125-130.
- Maeda, H. and Dudareva, N. 2012. The shikimate pathway and aromatic amino acid biosynthesis in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63:73-105.
- Mallory-Smith, C.A., Thill, D.C. and Dial, M.J. 1990. Identification of sulfonylurea herbicide-resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Technol.* 4:163–168.
- Moretti, M.L. and Hanson, B.D. 2017. Reduced translocation is involved in resistance to glyphosate and paraquat in *Conyza bonariensis* and *Conyza canadensis* from California. *Weed Res.* 57(1): 25-34.
- Moss S.R., Perryman S.A.M. and Tatnell L.V. 2007. Managing herbicide resistant black grass (*Alopecurus myosuroides*): Theory and practice. *Weed Technol.* 21(2): 300-309.
- Myerscough, P.J. and Whitehead, F.H. 1967. Comparative biology of *Tussilago farfara* L., *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop., *Epilobium montanum* L., and *Epilobium adenocaulon* Hausskn. II. Growth and ecology. *New Phytol.* 66:785-823.
- Nol, N., Tsikou, D., Eid, M., Livieratos, I.C. and Giannopolitis, C.N. 2012. Shikimate leaf disc assay for early detection of glyphosate resistance in *Conyza canadensis* and relative transcript levels of EPSPS and ABC transporter genes. *Weed Res.* 52: 233-241.
- Okuno, J., Iwakami, S., Uchino, A., Tsuchida, K. and Yokoyama, M. 2015. Response to halosulfuron-methyl and Flazasulfuron and mutation of acetolactate synthase gene of *Cyperus brevifolius* survived in turf grass on golf course. *JPN. Soc. Turfgrass Sci.* 43: 159-162.
- Patzoldt, W.L., Hager, A.G., McCormick, J.S. and Tranel, P. J. 2006. A codon deletion confers resistance to herbicides inhibiting protoporphyrinogen oxidase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103:12329–12334.
- Primiani, M., Cotterman, M.J.C. and Saari, L.L. 1990. Resistance of kochia (*Kochia scoparia*) to sulfonylurea and imidazolinone herbicides. *Weed Technol.* 4:169–172.
- Reiofeli, A.S., Nilda, R. B., Patrick, J.T., Shilpa, S., Les, G., Robert, C.S. and Robert, L.N. 2016. Resistance to PPO-inhibiting herbicide in *Palmer amaranth* from Arkansas. Published online in Wiley Online Library: 4 March 2016.
- Ritz C. and Streibig J.C. 2005. Bioassay analysis using R. . *Stat. Softw.* 12(1): 1-22.
- Thihi, D. C. and Lemerle, D. 2001. World wheat and herbicide resistance. Pages 165-169 in Powles, S. and D.L. Shaner. Eds. herbicide resistance and World Grains. CRC Press, London, UK.
- Urbano, J.M., Borrego, A., Torres, V., Leon, J.M., Jimenez, C., Dinelli, D. and Barnes, J. 2007. Glyphosate-resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) in Spain. *Weed Technol.* 21: 396-401.
- Vaughn, K.C. 2003. Herbicide resistance work in the United States Department of Agriculture–Agricultural Research Service. *Pest Manag. Sci.* 59:764–769.
- Yu, Q I., Cairns, A., and Powles, S.B. 2007. Glyphosate, paraquat and ACCase multiple herbicide resistance evolved in a *Lolium rigidum* biotype. *Planta.* 225(2): 499-513.
- Yu, Q. and Powles, S.B. 2014. Resistance to AHAS inhibitor herbicides: Current understanding. *Pest Manag. Sci.* 70: 1340-1350.