

ارزیابی گلخانه‌ای برای پی‌جویی مقاومت علف‌هرز فالاریس به علف‌کشهای آریلوکسی‌فنوکسی پروپیونات

جاوید قرخلو^۱، محمدحسن راشد محصل^۲، مهدی نصیری محلاتی^۳، اسکندر زند^۴، علی قنبری^۲، رافائل دپردو^۴

چکیده

به منظور بررسی و پی‌جویی مقاومت به علف‌کشهای بازدارنده ACCase در توده‌های علف‌هرز فالاریس مشکوک جمع‌آوری شده از مزارع گندم دو استان فارس و گلستان، آزمایش دز-پاسخ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی مشهد انجام شد. نتایج نشان داد که توده‌های AR، SR3، MR4، FR2، FR4 و FR8 از استان فارس و GR2-1 از استان گلستان با درجات مختلفی به علف‌کش دایکلوپوپ-متیل مقاوم شده‌اند. وجود سطوح مختلف مقاومتی، احتمالاً بدلیل وجود مکانیسم‌های متفاوت مقاومت به این علف‌کش در توده‌های یادشده می‌باشد. توده‌های AR، SR3 و MR4 به علف‌کشهای بکار برده شده دارای مقاومت عرضی بوده و بین ۵-۱۱ برابر به علف‌کش دایکلوپوپ-متیل و ۷-۸ برابر به کلودینوفوپ-پروپارزایل مقاوم شده‌اند. در این بین توده SR3 بالاترین درجه مقاومت را به هر دو علف‌کش نشان داد.

واژه‌های کلیدی: فالاریس، علف‌کش، مقاومت و بازدارنده‌های ACCase.

مقدمه

گندم در ایران از نظر تولید و سطح زیر کشت مهمترین محصول کشاورزی محسوب می‌شود. طبق آخرین آمار، سطح زیر کشت گندم کشور، ۶/۵ میلیون هکتار برآورد شده است (۳).

علف‌های هرز باریک برگ از جمله علف‌هرز فالاریس با رقابت بر سر منابع، باعث کاهش عملکرد گندم می‌شوند. در ایران خسارت ناشی از علف‌های هرز در مزارع گندم معادل ۱۵/۳ تا ۲۸ درصد گزارش گردیده است (۴). فالاریس علف‌هرز یکساله‌ای است که باعث کاهش کمی و کیفی برخی از محصولات زمستانه می‌شود. اما به دلیل شباهت مورفولوژی و نیازهای رشدی یکسان، بیشترین خسارت را به گندم زمستانه وارد می‌کند (۳۱). در حال حاضر ۲۲ گونه از این جنس شناخته شده است که ۱۱ گونه آن بومی مناطق مدیترانه‌ای است. فالاریس علف‌هرز غالب

در مناطق شمالی هند می‌باشد و در پاکستان نیز مهمترین علف‌هرز گندم زمستانه محسوب می‌شود (۱۱). هم‌اکنون این گیاه هرز بطور گسترده‌ای در تمام قاره‌های دنیا پراکنده شده است (۳۱). به نظر می‌رسد در ایران نیز مانند کشور هند (۳۰)، پس از معرفی ارقام پاکوتاه گندم، علف‌هرز فالاریس به یکی از علف‌های هرز مهم گندم در برخی از استانهای کشور از جمله خوزستان، فارس، گلستان و مازندران تبدیل شده است. رایجترین روش برای کنترل این علف‌هرز استفاده از بازدارنده‌های آنزیم استیل کوآنزیم A^۴ می‌باشد (۹ و ۱۸). این علف‌کش‌ها، گروه مهمی از علف‌کش‌های تجاری هستند که خاصیت انتخابی داشته و کارایی بالایی دارند (۱۵). این علف‌کشها با عنوان علف‌کشهای گروه A (۷) و یا علف‌کشهای گروه ۱ (۲۴) نیز شناخته شده و شامل گروه‌های APP^۵ و CHD^۶ می‌باشند. از هنگام معرفی این علف‌کشها در دهه ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰،

۱. دانشجوی دکترا، ۲. اعضای هیأت علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۳. موسسه تحقیقات، آفات و بیماریهای گیاهی و ۴. دانشگاه کوردوبا، اسپانیا.

4. acetyl coenzyme A carboxylase (ACCCase) inhibitors

5. aryloxyphenoxy-propionate

6. cyclohexanedione

مطالعه پی جویی و ارزیابی مقاومت توده‌های علف هرز فالاریس مشکوک جمع آوری شده از مناطق مختلف استان فارس به علف کشتهای رایج در کشور یعنی دایکوفوپ-متیل و کلودینافوپ پروپارژیل در شرایط گلخانه بود.

مواد و روش‌ها

بذور علف هرز فالاریس طی سالهای ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ و توسط کارشناسان مراکز تحقیقاتی استانهای فارس و گلستان و طی یک برنامه هماهنگ با بخش تحقیقات علف‌های هرز موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور و پس از پایش مناطق مورد نظر، از سطح مزارع مشکوک جمع آوری شد. در نهایت ۳۹ توده شامل ۳۴ توده مشکوک به مقاومت و ۵ توده حساس از مزارعی که سابقه سمپاشی نداشتند، جمع آوری و پس از کدگذاری به دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی فرستاده شد. انتخاب توده حساس برای هر منطقه جهت انجام آزمایشهای دز-پاسخ ضروری می‌باشد.

آزمایش غربال اولیه

به منظور یکنواختی در سبز شدن گیاهچه‌ها، ابتدا بذور در ژریمیناتور جوانه‌دار شده، سپس از هر توده تعداد ۴ بذور جوانه دار به گلدان‌هایی به قطر ۹ سانتی‌متر و حجم ۵۰۰ سانتی‌متر مکعب منتقل و کشت شد. هر گلدان به منزله یک تکرار بوده و آزمایش با سه تکرار برای هر توده انجام شد. برای هر تکرار نیز یک گلدان به عنوان شاهد سمپاشی نشده در نظر گرفته شد تا داده‌های حاصل برحسب در صد نسبت به شاهد سمپاشی نشده مورد ارزیابی قرار گیرند. در مرحله ۳-۴ برگی، علف‌های هرز با دز توصیه شده علف کش کلودینافوپ پروپارژیل (تاپیک)، یعنی ۶۰ گرم ماده موثره در هکتار، سمپاشی شدند. این آزمایش برای علف کش دایکوفوپ متیل (ایلوکسان) با دز توصیه شده ۹۰۰ گرم ماده موثره در هکتار انجام شد. توده‌هایی که در آزمون غربال اولیه توانسته بودند ۸۰٪ درصد وزن خشک خود را نسبت به شاهد سمپاشی نشده حفظ کنند (۸)، به عنوان توده‌هایی با پتانسیل مقاومت انتخاب شدند.

بصورت گسترده‌ای برای کنترل طیف وسیعی از علفهای هرز باریک‌برگ در بسیاری از محصولات زراعی، مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۲۹ و ۲۱ و ۱۵ و ۱۴). از زمان معرفی بازدارنده‌های ACCase، گونه‌های بسیاری از علف‌های هرز باریک‌برگ به این علف‌کش‌ها مقاوم شده‌اند (۲۱ و ۱۴). بطوریکه کاربرد مداوم این گروه از علف‌کشها منجر به بروز مقاومت در ۳۵ گونه علف هرز باریک‌برگ در ۲۷ کشور شده است که این گونه‌های مقاوم در سطحی حدود ۴/۶-۳ میلیون هکتار از اراضی زراعی دنیا پراکنده‌اند (۲۰).

با توجه به مدت زمان طولانی که از به ثبت رسیدن باریک برگ کشتهای گروه APP در ایران می‌گذرد و نیز اتکای شدید کشاورزان به این باریک‌برگ کشتهای برای مبارزه با علف‌های هرزی چون یولاف، فالاریس و ... و با علم به اینکه تکرار مصرف علف‌کش‌های این گروه به میزان ۴-۵ بار (۴-۵ سال) متوالی در یک مزرعه باعث بروز مقاومت علف‌های هرز باریک برگ به این علف‌کش‌ها می‌شود (۱۶)، وقوع مقاومت به این گروه از علف‌کش‌ها در برخی از مناطق و استانهای کشور قطعی و در برخی مناطق نیز محتمل می‌باشد. بعلاوه نارضایتی گندمکاران برخی از استان‌ها در چند ساله اخیر از عدم کارایی علف‌کشهای توزیع شده در کنترل علف‌های هرز باریک برگ یولاف و فالاریس (زند، مکاتبات شخصی)، بر احتمال بروز مقاومت در علفهای هرز این مناطق قوت بخشیده است. وقوع این پدیده تبعات اکولوژیکی از قبیل تغییر در فلور گیاهی و امکان جریان ژن^۱ مقاومت به خویشاوندان نزدیک و همچنین عواقب زیست محیطی و خیم‌تر بدلیل افزایش مصرف سموم علف‌کشی جهت کنترل علف‌های هرز مقاوم و نیز مصرف چند نوع علف‌کش در مورد علفهای هرز دارای مقاومت چندگانه^۲ را در بر خواهد داشت. 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. با توجه به اینکه در گلخانه امکان شبیه‌سازی شرایط مزرعه‌ای وجود دارد (۳۲) هدف از این

1. Gene Flow

2. Multiple resistance

آزمایش پاسخ به دز علف کش

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد (۸). در این آزمایش واکنش توده های حساس و توده هایی که در آزمایش غربال اولیه مشکوک به مقاومت شدند، در مقابل دزهای مختلف علف کش (شامل ۹ دز صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲ برابر دز توصیه شده برای هر علف کش) مورد بررسی گرفتند. این آزمایش بطور جداگانه برای ۲ علف کش رایج در مزارع گندم کشور یعنی کلودینافوپ پروپارژیل (تاپیک) و دیکلوفوپ متیل (ایلوکسان) انجام شد.

برای انجام این آزمایش نیز بذور از قبل جوانه دار شده و سپس ۴ بذور جوانه دار در گلدانهایی به قطر ۹ سانتی متر و حجم ۵۰۰ سانتی متر مکعب کشت شدند. در هر دو آزمایش فوق (آزمایش غربال اولیه و آزمایش پاسخ به دز علف کش)، خاک گلدانها شامل مخلوطی از لوم، ماسه و پیت به نسبت های ۲، ۱ و ۱ بود. گلدانهای کشت شده در درون گلخانه با ۱۶ ساعت روز و درجه حرارت ۲۰ درجه سانتی گراد و نیز ۸ ساعت شب با درجه حرارت ۱۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. آبیاری گلدانها برحسب نیاز انجام شده و هر دو هفته یک بار گلدانها با محلول ۲/۴ گرم در لیتر ازت که تقریباً معادل ۴۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار می باشد، آبیاری شدند تا دچار تنش مواد غذایی نشوند (۸). تیمار علف کش در مرحله ۳-۴ برگگی علف هرز و توسط دستگاه سمپاش پشتی شارژی مدل MATABI elegance plus با نازل بادبزی ۸۰۰۱ که بر روی ریلی تعبیه شده بود، اعمال شد. مجموعه این دستگاه، سرعت و فشار ثابت و نهایتاً پاشش یکنواخت محلول سمپاشی را فراهم می آورد. پس از ۴ هفته بوته های زنده جمع آوری و پس از خشک کردن در آون با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد، توزین شد.

تجزیه داده ها

برای تجزیه آماری منحنی واکنش به دز علف کش^۱ از آنالیز رگرسیون و مدل ارائه شده توسط ریتز و استریبگ (۲۸) استفاده شد.

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

که پارامترهای ارائه شده در این فرمول:

b: شیب منحنی در نقطه e

c: حد پایین منحنی پاسخ

d: حد بالای منحنی پاسخ

e: دز بیان کننده GR₅₀

البته در مواردی که c=0، این پارامتر از تابع ۱ حذف و در حالت جدید تابع سه پارامتره به داده های مربوطه برازش داده شد تا برآورد دقیق تری از سایر پارامترها به دست آید (۲۸).

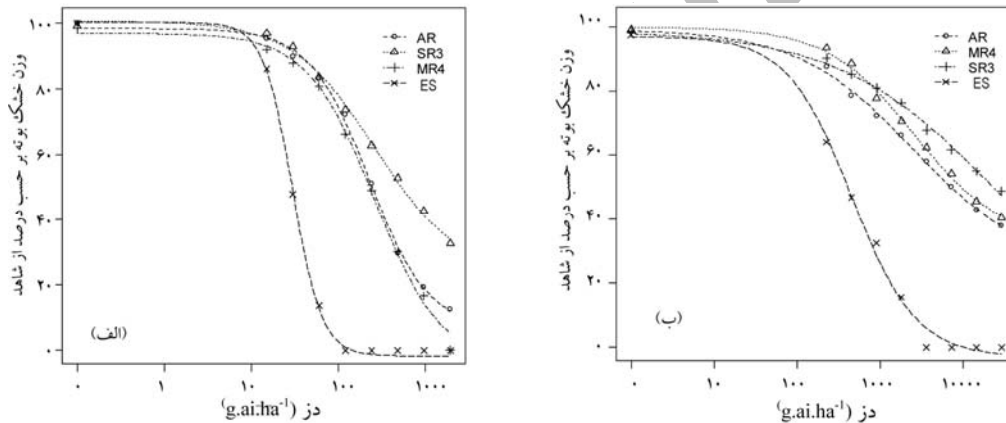
سپس مدل فوق با استفاده از محیط نرم افزاری R و بسته نرم افزاری drc که به همین منظور طراحی شده است (۶) به داده های حاصل، برازش و اختلاف نمودارهای برازش داده شده با نمودار حاصل از داده های مربوط به توده حساس مورد بررسی قرار گرفت. درجه و یا فاکتور مقاومت^۲ (RF) یعنی نسبت GR₅₀ توده مقاوم به GR₅₀ توده حساس نیز شاخصی بود که برای بررسی و مقایسه میزان مقاومت توده ها به علف کش ها مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

نتایج آزمون غربال اولیه یاد شده نشان داد که از میان توده های مشکوک جمع آوری شده، احتمالاً توده های AR، MR4 و SR3 به کلودینافوپ پروپارژیل و توده های AR، FR2، FR4، FR8، MR4 و SR3 از استان فارس و توده GR2-1 از استان گلستان به دایکلوفوپ متیل مقاوم هستند (نتایج آورده نشده است). در مورد سایر توده ها، احتمالاً خطا در سمپاشی اعم از سمپاشی نشدن تمام سطح مزرعه، کالیبره نبودن سمپاش و ... منجر به زنده ماندن توده های جمع آوری شده در مزرعه شده بوده است. با توجه به اینکه آزمایشهای دز- پاسخ زمان بر بوده و همچنین به مکان زیادی نیاز دارد، انجام آزمون غربال اولیه باعث صرفه جویی در این موارد خواهد شد. همچنین بر اساس نتایج آزمون یاد شده، توده های ES و GS که کمترین میزان بقا و ماده خشک را پس از اعمال دز توصیه شده داشتند، به عنوان توده های حساس بترتیب برای استان های فارس و گلستان انتخاب شدند.

دایکولوفوپ متیل ($28800 \text{ g.ai.ha}^{-1}$)، از بین نرفتند بلکه حتی با افزایش دز به بیشتر از این مقدار نیز توده‌های مذکور زنده مانده و بطور کامل از بین نمی‌روند و حداقلی از ماده خشک را تولید می‌کنند. این موضوع در باره توده‌های AR و SR3 و علف کش کلودی‌نافوپ پروپارژیل نیز صادق بود. مقایسه پارامترهای مربوط به توده‌های ES و GS در پاسخ به علف کش دایکولوفوپ متیل نشان داد که منحنی‌های مربوطه از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (جدول ۱) و می‌توان منشا داده‌ها را یکسان در نظر گرفت. بدین ترتیب توده ES به عنوان توده حساس برای هر دو استان انتخاب گردید.

آزمایش دز-پاسخ در مورد هر دو علفکش نشان داد که وزن خشک فالاریس با افزایش دز، طی روندی سیگموئیدی و با تبعیت از تابع لجستیک (تابع ۱) کاهش می‌یابد (شکل ۱). نتایج این آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. آزمون فقدان برازش، بیانگر آن بود که توابع برازش داده شده، توجیه قابل قبولی از روند داده‌ها ارائه می‌کنند. همانطوریکه ملاحظه می‌شود، حد پایین در مورد برخی از توده‌ها، صفر شده و یا مقدار برآورد شده اختلاف معنی‌داری با صفر نداشته است. اما این پارامتر در مورد توده‌های AR، SR3 و MR4 دارای برآورد عددی بیشتر از صفر می‌باشد. بدین معنا که نه تنها این توده‌ها در ۳۲ برابر دز توصیه شده علف کش



شکل ۱: روند پاسخ توده‌های مقاوم AR، SR3 و MR4 و حساس به دزهای مختلف علف کش کلودی‌نافوپ پروپارژیل (الف) و دایکولوفوپ متیل (ب)

جدول ۱: تجزیه واریانس آزمون کمی رشد جدایه‌های سینوریزوبیوم در غلظتهای متفاوت نمک NaCl و PEG در محیط کشت مایع (به‌طور جداگانه)

علف کش	توده	حد پایین (c)	حد بالا (d)	شیب منحنی (b)	GR ₅₀ (e)	احتمال فقدان برازش	درجه مقاومت
دایکولوفوپ متیل	AR	۲۵/۰۲(۵/۰۷)	۹۹/۱۲(۱/۳۶)	۰/۶۲(۰/۰۶)	۲۴۳۹/۱۶(۶۳۸/۳۶)	۰/۲۵	۵/۶۷ *
	SR3	۳۲/۰۴(۶/۶۵)	۹۸/۰۱(۱/۱۲)	۰/۶۲(۰/۰۷)	۵۱۰۵/۵(۱۸۶۰/۰)	۰/۱۸	۱۱/۸۷ *
	MR4	۳۳/۱۶(۳/۶۶)	۹۹/۸۳(۱/۴)	۰/۸۳(۰/۰۸)	۲۵۵۷/۳۶(۴۴۸/۲۱)	۰/۳۶	۵/۹۵ **
	FR2	۰	۹۹/۲۷(۲/۵۷)	۱/۲۱(۰/۰۷)	۸۱۹/۶۲(۶۲/۴۰)	۰/۱۱	۱/۹۶ **
	FR4	۰	۹۶/۶۲(۲/۸۴)	۱/۲۰(۰/۰۹)	۸۳۱/۷۲(۷۱/۵۹)	۰/۲۳	۱/۹۳ **
	FR8	۰	۹۶/۳۷(۲/۵۴)	۱/۲۱(۰/۰۹)	۱۸۵۹/۲(۱۵۸/۲۵)	۰/۱۶	۴/۳۲ **
	ES	۰	۹۶/۶۲(۲/۴۷)	۱/۲۲(۰/۰۸)	۴۳۰/۰۱(۳۱/۱۴)	۰/۱۷	-
	GR2-1	۰	۱۰۰/۰۱(۲/۲۸)	۱/۲۰(۰/۰۶)	۷۷۸/۳۶(۵۱/۸۲)	۰/۱۸	۱/۷۹ **
کلودی‌نافوپ پروپارژیل	GS	۰	۹۷/۴۵(۲/۵۳)	۱/۲۱(۰/۰۸)	۴۳۵/۳۱(۳۱/۸۵)	۰/۳	-
	AR	۶/۶۵(۲/۸۴)	۹۸/۲۸(۱/۴۵)	۱/۲۸(۰/۱۱)	۲۲۳/۹۰(۱۵/۶۰)	۰/۳۶	۷/۶۵ hs
	SR3	۲۳/۴۲(۴/۲۲)	۱۰۰/۵۴(۱/۲۸)	۰/۹۱(۰/۰۸)	۲۶۰/۴۵(۳۹/۹۴)	۰/۱۶	۸/۹ hs
	MR4	۰	۹۶/۱۷(۱/۵۵)	۱/۲۲(۰/۰۷)	۲۳۷/۹۲(۱۳/۲۷)	۰/۱۹	۸/۱۳ hs
ES	۰	۹۹/۸۴(۱/۱)	۲/۷(۱/۱۱)	۲۹/۲۶(۰/۵۳)	۰/۶۳	-	

اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشد. * : معنی‌دار در سطح ۵ درصد. ** : معنی‌دار در سطح ۱ درصد. hs: highly significant

تا ۱۲ مقاومت نشان دادند. تعیین درجه مقاومت، یکی از مهمترین نتایج حاصل از آزمون‌های دز-پاسخ بوده و تقریباً در تمام مطالعات بر روی مقاومت، این شاخص مورد بررسی قرار گرفته است (۲۸). دیرادو و همکاران (۲۰۰۰) در مطالعه‌ای بر روی مقاومت *Lolium multiflorum* به علف کش دایکوفوپ-متیل، درجه مقاومت آن را بیش از ۱۰ گزارش کرده‌اند (۱۳). تال و همکاران (۲۰۰۰)، در آزمایشی، درجه مقاومت *Alopecurus myosuroides* را به فنوکساپروپ پی اتیل، ۲۲/۸ و مقاومت *L. multiflorum* به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل را ۴۱/۵ گزارش کرده‌اند (۳۲). اما موضوع جالب توجه در رابطه با علف کش دایکوفوپ متیل اینکه با نگاه دقیق تری به درجات مقاومت، می‌توان سه گروه مقاومتی تشخیص داد. گروه اول که دارای درجه مقاومت بین ۱ تا ۵ هستند و شامل توده‌های GR2-1، FR2، FR4 و FR8 می‌باشد. گروه دوم که در برگیرنده توده‌های AR و MR4 می‌باشد، دارای فاکتور مقاومتی بین ۵ تا ۱۰ است. و نهایتاً گروه سوم با درجه مقاومت بیشتر از ۱۰ که صرفاً توده SR3 در این گروه جای می‌گیرد. این تفاوت‌ها بیانگر وجود احتمالی مکانیسم‌های مقاومتی مختلف در توده‌های مورد بررسی بوده و هر یک از آنها سطحی از مقاومت را باعث می‌شوند. تا کنون چهار مکانیسم اصلی برای توجیه مقاومت به بازدارنده‌های ACCase در علفهای هرز پیشنهاد شده است (۱۰): مقاومت بر پایه محل هدف^۱ و بدلیل وجود شکل غیر حساس آنزیم ACCase در علفهای هرز که در اغلب موارد مسئول بروز این مقاومت می‌باشد (۲۵ و ۱۰) و بالاترین سطح مقاومت را ایجاد می‌کند. این مکانیسم مقاومت در چچم یکساله (*L. rigidum*)، چچم ایتالیایی (*L. multiflorum*)، دم‌روپاهی سبز (*Setaria viridis* (L.) Beauv.)، دم‌روپاهی کیر (*S. faberi*)، یولاف وحشی بهاره (*A. fatua*)، یولاف وحشی زمستانه (*A. sterilis ssp. Ludoviciana*)، علف قناری (*Phalaris minor* Retz.)، *Digitaria ischaemum* و علف غاز (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.)، *Alopecurus myosuroides* و *Sorghum halepense* شناخته شده است (۲۵).

افزایش متابولیسم علفکش نیز مکانیسم دیگری است که برای مقاومت به بازدارنده‌های ACCase پیشنهاد شده است و این مکانیسم دلیل مقاومت *Digitaria sanguinalis* (۲۷) و

معمولاً شیب منحنی در توده‌های مقاوم کمتر از توده حساس می‌باشد. شیب هیل یا شیب در نقطه *e*، بیانگر میزان حساسیت توده‌های مورد بررسی به دزهای مختلف علف کش بوده و در واقع سرعت روند پاسخ توده‌ها به دزهای مختلف می‌باشد. همانگونه که در شکل ۱ دیده می‌شود، سرعت نزول منحنی در توده حساس (ES)، در همه موارد بیشتر از توده‌های مقاوم است. عبارتی منحنی مربوط به ES فاصله بین حداکثر تا حداقل پاسخ را سریعتر از منحنی مربوط به توده‌های مقاوم طی می‌کند. این پارامتر درک بهتری از موضوع و نیز برداشت مناسبتری از اشکال ارائه می‌دهد. برآوردهای ارائه شده در جدول ۱ نیز موید این موضوع می‌باشد.

با وجود این و بدلیل آنکه GR₅₀ اطلاعات بیشتری در اختیار قرار می‌دهد از آن برای بررسی میزان مقاومت به علف کش‌ها و نیز تعیین درجه مقاومت توده‌ها استفاده می‌شود. نتایج نشان داد که تنها ۴۳۰ گرم ماده موثره دایکوفوپ متیل توانسته است توده حساس ES را به میزان ۵۰٪ کنترل کند. در حالیکه توده‌های GR2-1 و SR3 بترتیب با حدود ۷۷۸ و ۵۱۰۵ گرم ماده موثره دایکوفوپ متیل دارای کمترین و بیشترین مقدار GR₅₀ می‌باشند. شاخص درجه مقاومت در تمامی توده‌های مورد مطالعه در آزمایش دز-پاسخ، بیشتر از ۱ بوده و این نسبت از نظر آماری معنی‌دار و نشان‌دهنده مقاومت معنی‌دار توده‌های مورد مطالعه به علف‌کشهای مورد استفاده می‌باشد. در این بین توده‌های SR3، MR4 و AR بترتیب با ۱۱/۸۷، ۵/۹۵ و ۵/۶۷ دارای بیشترین درجات مقاومت به علف کش دایکوفوپ متیل بودند.

در مورد علف کش تاپیک نیز در حالیکه حدود ۲۹ گرم ماده موثره کلودینافوپ پروپارژیل توانست رشد توده حساس ES را به میزان ۵۰٪ کنترل کند، این میزان برای توده‌های SR3، MR4 و AR بترتیب ۲۳۷/۹۲ و ۲۶۰/۴۵، ۲۲۳/۹۰ گرم ماده موثره بود. بنابراین هر سه توده یاد شده مقاومت بالایی به این علف کش نشان می‌دهند.

بحث

هفت توده از ۳۷ توده مشکوک اولیه مورد مطالعه، به علف کش دایکوفوپ متیل با درجات مختلفی بین حدود ۲

دو بیوتیپ *Alopecurus sp.* (۲۶ و ۱۶) دانسته شده است. مطالعات نشان داد که افزایش سطح آنزیم گلو تاتیون ترانسفراز (حداقل در بخشی) باعث مقاومت این دو بیوتیپ به علفکش فنوکساپروپ-اتیل است (۱۲). افزایش متابولیسم در مقاومت یولاف وحشی و چچم به بازدارنده‌های ACCase دخیل است (۱۰).

مکانیسم دیگر، پتانسیل الکتروژنی غشا پلاسمایی در قطبیت دوباره، پس از قرار گرفتن در معرض علفکش در بیوتیپهای مقاوم یولاف وحشی و بیوتیپهای مقاوم چچم می باشد (۱۹). و نهایتاً کاهش جذب و انتقال علفکشها بعنوان پتانسیلی برای مکانیسم مقاومت علفهای هرز به بازدارنده‌های ACCase آورده شده است. ولی تا کنون بیوتیپی با چنین مکانیسم مقاومتی شناخته نشده است (۱۰).

از آنجاییکه اطلاعات دقیقی در مورد تاریخچه مصرف علف کشها در سالهای گذشته مزارع مورد مطالعه در دست نیست، نمی توان وجود تفاوت بین توده‌ها را از نظر درجه مقاومت بخوبی توجیه نمود. اما بر اساس این تفاوت‌ها می توان اظهار داشت که با ادامه روش‌های جاری در مدیریت علفهای هرز، مقاومت به علف کشهای گروه فوپ^۱ در جمعیت‌های مورد نمونه برداری قرار گرفته از این مناطق در حال تکوین، ازدیاد و گسترش است. حداقل در ۲۰ سال گذشته، گندم از محصولات عمده این مناطق بویژه استان فارس بوده است و در این مدت، این اراضی بطور مداوم مورد کشت گندم واقع شده و تنها روشی که برای مبارزه با علفهای هرز در این مزارع استفاده می شده، کاربرد علف کشها بوده است. دایکوفوپ متیل با نام تجاری ایلوکسان اولین علف کش از گروه بازدارنده‌های APP است که برای کنترل علفهای هرز باریک برگ در ایران به ثبت رسیده (۴) و طی سالیان گذشته، بطور مستمر و در سطح وسیعی از گندمزارهای استان فارس و گلستان مورد استفاده قرار گرفته است. عدم تناوب زراعی و نیز عدم تناوب در علف کشهای مصرفی دلیل اصلی بروز مقاومت می باشد. گیل (۱۹۹۵) دریافت که توده‌های مقاوم *L. rigidum* حداقل ۷ بار توسط APP و CHD و یا چهار بار توسط سولفونیل اوره‌ها مورد سمپاشی قرار گرفته بوده‌اند (برداشت از ۳۳). چاوول و همکاران (۱۹۹۲) نیز گزارش کرده‌اند که توده‌های *A. myosuroides* که قبلاً در معرض سمپاشی با فنوکساپروپ

قرار نگرفته بودند، تنها پس از ۴ نسل که با این علف کش سمپاشی می شدند، به آن مقاومت نشان دادند (برداشت از ۳۳).

همچنین ملاحظه می شود که توده‌های AR، SR3 و MR4 که دارای بیشترین سطح از مقاومت به علف کش دایکوفوپ متیل هستند، به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل نیز مقاومت بالایی نشان می دهند (جدول ۱). این موضوع نشاندهنده وجود مقاومت عرضی در این توده‌ها به دو علف کش یاد شده می باشد. وجود مقاومت عرضی در *L. rigidum* به علف کشهای گروه APP توسط هیپ و نایت گزارش شده است (۲۲). دپردو و همکاران نیز مقاومت عرضی در *L. multiflorum* به علف کشهای بازدارنده ACCase را گزارش کرده‌اند (۱۳). بعضی بیوتیپ‌های *Lolium rigidum* مقاوم به دایکوفوپ متیل، نیز به سایر علف کش‌های APP شامل فلوآزیفوپ، هالوکسی فوپ، کوئیزالوفوپ و فنوکساپروپ نیز مقاومت نشان داده‌اند (۲۳). علف کش تاپیک نیز تقریباً بیش از یک دهه بعد از ثبت ایلوکسان در ایران برای کنترل باریک برگها در گندم به ثبت رسیده است (۴). احتمالاً مقاومت به APP ها ابتدا در نتیجه کاربرد مداوم ایلوکسان، در توده‌های مورد بررسی تحریک و بروز یافته و زمینه‌ای برای بروز مقاومت آنها به تاپیک شده است. زیرا همانطوریکه در جدول ۱ دیده می شود توده‌هایی که به کلودینافوپ پروپارژیل مقاومند، به دایکوفوپ متیل هم مقاومت نشان داده، در حالیکه عکس این حالت صادق نیست. البته ممکن است مقاومت به تاپیک مستقلاً و در اثر تداوم مصرف آن در این توده‌ها رخ داده و اصولاً توده‌های یاد شده دارای الگوی مقاومتی متفاوتی در برابر تاپیک باشند. اما همانگونه که قبلاً اشاره شد دلیل کمبود اطلاعات در مورد تاریخچه مصرف علف کشها در سالهای گذشته این مزارع، نمی توان در این مورد چندان اظهار نظر نمود. توده SR3 با داشتن درجات مقاومت ۸/۹ و ۱۱/۸ بترتیب در برابر علف کشهای کلودینوفوپ پروپارژیل و دایکوفوپ متیل بالاترین درجه مقاومت را در بین توده‌های مورد آزمایش دارا می باشد. احتمالاً این توده دارای دو یا چند مکانیسم مقاومتی بوده و یا ژن کد کننده آنزیم ACCase در این توده در بیشتر از یک نقطه دچار جهش شده است. با وجود اینکه مطالعه بر روی گیاهان کامل و در گلخانه بسیار

بازدارنده‌های ACCase گزارش و تایید کرده‌اند. این موضوع موییدی بر اهمیت بررسی و پایش مستمر مزارع نسبت به پدیده مقاومت به علف‌کش‌های مختلف است تا با تشخیص زودهنگام آن و با اتخاذ تدابیری از قبیل تناوب زراعی، تناوب در استفاده از علف‌کش‌های با نحوه عمل مختلف و ... از گسترش آن جلوگیری نمود. بدین منظور ارزیابی گلخانه‌ای مقاومت به علف‌کش‌ها علیرغم آنکه زمان بر است، اما در حال حاضر روشی مناسب، دقیق، قابل اعتماد و ارزان برای بررسی توده‌های مشکوک به مقاومت به علف‌کش‌های مختلف در مراکز تحقیقاتی کشور برای پایش مناطق و مزارع تحت پوشش آنها می‌باشد. از طرفی از این روش می‌توان برای بررسی کارایی علف‌کش‌های جدید بمنظور کنترل علفهای هرز و احتمال خسارت‌زایی آنها به گیاهان زراعی نیز استفاده نمود.

شبه شرایط مزرعه‌ای بوده و اطلاعات بدست آمده به واقعیت نزدیکی بیشتری داشته و معمولاً مطالعات بعدی نیز بر پایه نتایج این آزمایشها دنبال و انجام می‌شود، ولیکن اطلاعات چندانی در مورد دلایل فیزیولوژیکی و ملکولی مقاومت توده‌های مورد بررسی به ما ارائه نمی‌کند (۳۳). بنابراین مطالعات دیگری برای تعیین نوع مکانیسم مقاومتی در این توده‌ها مورد نیاز می‌باشد.

در مجموع نتایج این آزمایش بیانگر آنست که بروز مقاومت به علف‌کش‌های بازدارنده استیل کوآنزیم A کربوکسیلاز در جمعیت‌های علفهای هرز فالاریس برخی از مزارع کشور قطعی و انکار ناپذیر است. الهی‌فرد (۱) نیز مقاومت به علف‌کش‌های دایکوفوپ متیل و فنوکسپروپ پیل را در علف هرز فالاریس مزارع گندم خوزستان گزارش کرده است. همچنین بنا کاشانی و همکاران (۲) و راستگو (۵) بروز مقاومت در یولاف زمستانه به

منابع

- ۱- الهی‌فرد، ا. ۱۳۸۴. بررسی مقاومت *Phalaris minor* به علف‌کش‌های خانواده آریلوکسی فنوکسی پروپونات. پایان نامه کارشناسی ارشد علفهای هرز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۲- بناکاشانی، ف.، ا. زند، ح. محمدعلیزاده، و م. فریدون پور. ۱۳۸۴. بررسی بروز مقاومت در علف هرز یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*) در استان فارس. خلاصه مقالات اولین همایش علوم علفهای هرز ایران. ص. ۴۹۱-۴۸۸.
- ۳- بی‌نام. ۱۳۸۶. شبکه اطلاع رسانی گندم ایران. وزارت جهاد کشاورزی. قابل دسترسی در <http://www.iranwheat.ir/>
- ۴- بی‌نام. ۱۳۷۹. فهرست سموم مجاز کشور. انتشارات سازمان حفظ نباتات.
- ۵- راستگو، م. ۱۳۸۵. پی‌جویی یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*) مقاوم به علف‌کش‌های خانواده آریلوکسی فنوکسی پروپونات در مزارع گندم استان فارس. پایان نامه دکتری علفهای هرز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- 6-Anonymous. 2006. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Available at: <http://www.r-project.org>.
- 7-Anonymou. 2008. Herbicide resistance action committee. Available at: <http://www.hracglobal.com/Publications/ClassificationofHerbicideModeofAction/tabid/222/Default.aspx>. Accessed 19/Feb/2008
- 8-Beckie, H. J., I. M. Heap, R. J. Smeda, and L. Hall. 2000. Screening for herbicide resistance in weeds (Review). *Weed Technol.* 14:428-445.
- 9-Beckie, H. J., and K. J. Kirkland. 2003. Implication of reduced herbicide rates on resistance enrichment in wild oat (*Avena fatua*). *Weed Technol.* 17: 138-148.
- 10-Bradley, K. W., J. Wu, K.K. Hatzois, and E.S. Hagoood. 2001. The mechanism of resistance to aryloxyphenoxypionate and cyclohexanedione herbicides in a johnsongrass biotype. *Weed Sci.* 49:477-484.
- 11-Chhokar, R. S., and R. K. Malik. 2002. Isoproturon-resistant littleseed canarygrass (*Phalaris minor*) and its response to alternate herbicides. *Weed Technol.* 16: 116-123.
- 12-Cummins, I., S. Moss, D. J. Cole, and R. Edwards. 1997. Glutathione transferase in herbicide-resistant and herbicidesusceptible black-grass (*Alopecurus myosuroides*). *Petic. Sci.* 51:244-250.
- 13-De Prado, R., J. Gonzalez-Gutierrez, J. Menendez, J. Gasquez, J. W. Gronwald and R. Gimenez-Espinosa. 2000. Resistance to acetyl-CoA carboxylase inhibiting herbicides in *Lolium multiflorum*. *Weed Sci.* 48: 311-318.
- 14-De Prado, R., J. Jorin, and L. G. Torres. 1997. Weed and crop resistance to herbicides. Kluwer Academic

- Publishers.
- 15-Deyle, C. 2005. Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors: an update. *Weed Sci.* 53: 728-746
 - 16-Hall, L. M., H. J. Beckie, and T. M. Wolf. 1999. How herbicides work: biology to application. Edmonton, AB: Alberta Agriculture, Food, and Rural Development. 134 pp.
 - 17-Hall, L. M., S. R. Moss, and S.B. Powles. 1997. Mechanism of resistance to aryloxyphenoxypropionate herbicides in two resistant biotypes of *Alopecurus myosuroides* (Black grass); herbicide metabolism as cross-resistance mechanism. *Pestic. Biochem. Physiol.* 57: 87-98.
 - 18-Hassan, C. G. Muller-Warrant, and S. Griffith. 2002. Differential sensitivity of Italian ryegrass (*Lolium Multiflorum*) cultivars to fenoxaprop. *Weed Sci.* 50: 567-575.
 - 19-Hausler, R. E., J.A.M. Holtum, and S. B. Powles. 1991. Cross-resistance to herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*). IV. Correlation between membrane effects and resistance to graminicides. *Plant. Physiol.* 97:1035-1043.
 - 20-Heap, I. M. 2008. International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Available at: <http://www.weedscience.org/summary/MOASummary.asp>. Accessed 19/Feb/2008.
 - 21-Heap, I. M., and I. N. Morrison. 1996. Resistance to Aryloxyphenoxy-propionate and Cyclohexanedione herbicides in green foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Sci.* 44:25-30.
 - 22-Heap, I. M., and R. Knight. 1986. The occurrence of herbicide cross resistance among population of annual ryegrass, *Lolium rigidum*, resistant to diclofop-methyl. *Aust. J. Agric. Res.* 37:149-128.
 - 23-Kuk, Y. I., N. R. Burgos, and R. E. Talbert. 2000. Cross – and multiple resistance of diclofop – resistant *Lolium spp.* *Weed Sci.* 48: 412- 419
 - 24-Mallory-Smith, C. A., and E. J. Retzinger. 2003. Revised classification of herbicides by site of action for weed resistance management strategies. *Weed Technol.* 17: 605-619.
 - 25-Maneechote, C., S. Samanwong, and X. Zhang. 2005. Resistance to ACCase-inhibiting herbicides in sprangletop (*Leptochloa chinensi*). *Weed Sci.* 53: 290-295.
 - 26-Menedez, J., and R. De Prado. 1996. Diclofop-methyl cross resistance in a chlortoluron resistant biotype of *Alopecurus myosuroides*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 56:123-133.
 - 27-Preston, C. 1993. <http://www.weedscience.org/Case/Case.asp?ResistID=16>. Accessed 19/Feb/2008.
 - 28-Ritz, C., and J.C. Streibig. 2005. Bioassay analysis using R. *Journal of Statistical Software.* Vol.12. Issue 5.
 - 29-Shukla, A., S. Dupont, and M. D. Devine. 1997a. Resistance to ACCase inhibitors herbicides in wild oat: evidence for target site-based resistance in two biotypes from Canada. *Pestic. Biochem. Physiol.* 57: 147-155.
 - 30-Singh, S. 2007. Role of management practices on control of isoprturon-resistant littleseed canarygrass (*Phalaris minor*) in India. *Weed Technol.* 21:339-346.
 - 31-Singh, S., R.C. Kirkwood, and G. Marshall. 1999. Biology and control of *Phalaris minor* Retz. (littleseed canarygrass) in wheat(Review Article). *Crop Prot.* 18: 1–16.
 - 32-Tal, A., E. Kotoula-Syka, and B. Rubin. 2000. Seed-bioassay to detect grass weeds resistant to acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides. *Crop Prot.* 19: 467-472.
 - 33-Uludag, A., Y. Nemlia, A. Tal, and B. Rubin. 2007. Fenoxaprop resistance in sterile wild oat (*Avena sterilis*) in wheat fields in Turkey. *Crop Prot.* 26: 930–935.

Greenhouse assay to investigate resistance of littleseed canary grass (*Phalaris minor*) to aryloxyphenoxy propionate herbicides

J. Gharekhloo¹, M.H. Rashed Mohassel¹, M. Nassiri Mahallati¹,
E. Zand², A. Ghanbari¹, R. De Prado³

Abstract

In order to evaluate resistance of *Phalaris minor* biotypes, sampled from wheat fields of Fars and Golestan provinces, to ACCase inhibiting herbicides, a dose-response study was conducted under controlled conditions in greenhouse of Ferdwosi University of Mashhad. The results indicated that AR, SR3, MR4, FR2, FR4, and FR8 populations of Fars and GR2-1 biotype from Golestan have been resistant to diclofop-methyl. Different levels of resistance maybe are because of involving different mechanisms in studied populations. AR, SR3, and MR4 showed a cross-resistance to the applied herbicides. These biotypes indicated a 5- to 11-fold and a 7- to 8-fold increase in resistance to diclofop-methyl and clodinafop-propargyl, respectively compared with the susceptible biotype. Among these biotypes, SR3 showed the highest resistance to both herbicides.

Key words: *Phalaris minor*, herbicide resistance and ACCase inhibitor.

1. Contribution from College of Agriculture, Ferdwosi University of Mashhad, 2. Plant Protection Research Institute, 3. University of Córdoba, Spain.