

پی جویی یولاف وحشی (*Avena ludoviciana Dur.*) مقاوم به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل در مزارع گندم خوزستان به روش زیست سنجی بذر

مهدی راستگو^۱، محمد حسن راشد محصل^۲، اسکندر زند^۲، مهدی نصیری محلاتی^۲

چکیده

بمنظور پی جویی یولاف وحشی مقاوم به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل (تاپیک) در مزارع گندم خوزستان آزمایشی با استفاده از روش زیست سنجی بذر در سال ۱۳۸۵ در آزمایشگاه علفهای هرز دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد بر روی توده های جمع آوری شده از ۷ شهر استان خوزستان شامل اهواز، اندیمشک، شوش، شوشتر، رامهرمز، سوسنگرد (دشت آزادگان)، و دزفول (مجموعاً ۴۵ توده مشکوک به مقاومت) به همراه یک توده حساس که از مناطق بدون سابقه مدیریت شیمیایی جمع آوری شده بود، انجام شد. آزمایش در سه مرحله شامل تعیین دز تفکیک کننده برای توده حساس، غربال توده های یولاف وحشی توسط دز تفکیک کننده و آزمایش پاسخ به دز توده های مشکوک به مقاومت، اجرا شد. در تمامی آزمایشها طول ساقه چه نسبت به شاهد ۷ روز پس از تیمار با علف کش در داخل پتری دیش، بعنوان شاخص رشدی گیاه در نظر گرفته شد. بر اساس آزمایش زیست سنجی بذر انجام شده، دز تفکیک کننده برای توده حساس به میزان ۰/۰۲ میلی گرم ماده موثره در لیتر بدست آمد. در آزمایش غربال توسط دز تفکیک کننده، ۱۷ توده به عنوان توده های مشکوک به مقاومت تعیین شدند. بطور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که در برخی توده های یولاف وحشی مزارع گندم استان خوزستان مقاومت ایجاد شده است.

واژه های کلیدی: یولاف وحشی (*Avena ludoviciana Dur.*)، مقاومت به علف کش، زیست سنجی بذر، کلودینافوپ پروپارژیل (تاپیک)، دز تفکیک کننده.

مقدمه

در هکتار می باشد و بر این اساس کل تولید گندم در خوزستان حدود یک میلیون تن (حدود ۸ درصد کل تولید گندم در ایران) بر آورد شده است. علف های هرز باریک برگ و مخصوصاً یولاف وحشی (*Avena sp.*) در مزارع گندم بسیار مشکل ساز می باشند (۴). این علف هرز از طریق رقابت و آلودپاتی، عملکرد دانه و حتی درصد پروتئین دانه غلات را کاهش داده و اختلاط بذور این علف هرز با بذور غلات در زمان برداشت سبب افت ارزش تجاری و کیفیت غله تولید شده می شود (۲۵). بنابراین کنترل این علف هرز در مزارع گندم موجب می شو د که افت عملکرد و هزینه ناشی از مصرف علف کش ها کاهش یابد. امروزه علف کش ها یکی از نهاده های مهم و ضروری در سیستمهای کشت پیشرفته محسوب شده و بخش قابل توجهی از عملکرد

گندم با سطح زیر کشت حدود ۲۱۶ میلیون هکتار و متوسط عملکرد ۲/۹ تن در هکتار یکی از مهمترین غلات در دنیا بحساب می آید (۷). این محصول در ایران نیز از نظر تولید و سطح زیر کشت مهمترین محصول کشاورزی محسوب می شود. طبق آخرین آمار سطح زیر کشت گندم کشور ۶/۷ میلیون هکتار برآورد شده است که ۶۲/۵ درصد آن زیر کشت گندم دیم می باشد (۳). همچنین بر اساس همین آمار سطح زیر کشت این محصول در استان خوزستان حدود ۴۲۲ هزار هکتار (حدود ۷ درصد از کل سطح زیر کشت گندم در کشور) می باشد که از این نظر مقام چهارم را در کشور به خود اختصاص داده است. متوسط عملکرد گندم آبی و دیم در این استان به ترتیب ۳/۲ تن و ۰/۶۳ تن

۱ و ۲- به ترتیب اعضای هیات علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد و موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی تهران.

محصولات زراعی مرهون مصرف سموم علف کش است. اما در سالهای اخیر بروز مقاومت در اثر مصرف مکرر و مداوم علف کش ها موجب عدم کنترل مطلوب علف های هرز شده است (۱۶).

بر اساس تحقیقات انجام شده تا سال ۲۰۰۹، ۳۲۳ بیوتیپ علف هرز از ۱۸۷ گونه مختلف (۱۱۲ گونه دولپه ای و ۷۵ گونه تک لپه ای) در ۵۵ کشور نسبت به علف کش های مختلف مقاوم شده اند (۱۲). مقاومت به علف کش ها در علف های هرز معمولاً به علت استفاده مداوم از علف کش های یکسان و یا علف کش هایی با محل عمل یکسان به وجود می آید (۲۰ و ۲۴).

علف کشهای بازدارنده استیل کوآنزیم A کربوکسیلاز (ACCCase) به شکل گسترده ای بصورت علف کشهای انتخابی پس از سبز شدن برای کنترل علفهای هرز باریک برگ در محصولات زراعی پهن برگ و نیز باریک برگ مورد استفاده قرار می گیرند (۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱۴). این نوع علف کشها منجر به ایجاد اثر بازدارندگی در آنزیم استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز می شوند. این آنزیم در فرایند بیوسنتز اسیدهای چرب نقش حیاتی داشته و منجر به تبدیل بیکربنات به مالونات می شود. در نتیجه، این نوع علف کشها فرایند تولید اسیدهای چرب را مختل کرده و از این طریق منجر به اختلال در غشای سلولی نیز شده و شیب پروتونی را دچار اختلال می کنند (۱۵). آریلوکسی فنوکسی پروپیوناتها (AOPPs) یا فوپها و سیکلوهاگزانییدیونها (CHDs) یا دیمها دو گروه از علف کشهای بازدارنده ACCCase می باشند که از نظر ویژگیهای شیمیایی تفاوت دارند ولی محل عمل هر دو یکسان است (۱۴). علف کش کلودینافوپ پروپارژیل با نام تجاری تاپیک و فرمولاسیون EC ۸٪ از جمله علف کشهای دسته اول یعنی فوپها می باشد که در سال ۱۳۷۲ در ایران ثبت شده است و بصورت علف کش پس رویشی و به میزان حدود ۰/۸ لیتر در هکتار و در مرحله ۲ تا ۴ برگ علف هرز، جهت کنترل علفهای هرز باریک برگ گندم از جمله یولاف وحشی توصیه می شود (۶).

استفاده مداوم از این نوع علف کشها منجر به ظهور بیوتیپهای مقاوم علفهای هرز باریک برگ مختلف به این علف کشها شده است (۶، ۲۰، ۲۱ و ۲۲). بر اساس

گزارشات موجود ۲۸ بیوتیپ علف هرز در ۲۴ کشور دنیا نسبت به علف کشهای بازدارنده ACCCase مقاوم شده اند. مقاومت به این نوع علف کشها در چچم (*Lolium sp.*) و یولاف وحشی تولید غلات را در کشورهایی مانند استرالیا، کانادا، شیلی، فرانسه، عربستان سعودی، آفریقای شمالی، اسپانیا، انگلستان و ایالات متحده تهدید می کند. علفهای هرز باریک برگ مقاوم به علفکش از اهمیت اقتصادی بسیار زیادی در مقیاس جهانی برخوردار هستند، چراکه سطح زیادی از زمین های زراعی به علفهای هرز باریک برگ آلوده بوده و از سوی دیگر علف کشهای کنترل کننده این نوع علفهای هرز، محدود می باشند (۲۶).

پی جویی مقاومت به علف کشها یکی از اجزای حیاتی مورد نیاز در مدیریت پایدار علفهای هرز می باشد (۱۸). بطور کلی یک روش تشخیص مناسب برای پی جویی مقاومت به علف کشها می بایست سریع، دقیق و ارزان بوده و به راحتی قابل اجرا باشد (۱۸، ۲۶). روشهای مختلفی برای شناسایی مقاومت ابداع شده است که از آن جمله می توان به مشاهدات مزرعه ای، آزمایشهای مزرعه ای، زیست سنجی با استفاده از گیاه کامل، زیست سنجی بذر، کلروفیل فلورسانس، غوطه وری دیسکهای برگ در علفکش، جوانه زنی دانه گرده و استخراج آنزیم و مطالعه مستقیم بر روی آنزیم اشاره کرد (۱۸).

محققان مختلفی از روش زیست سنجی بذر در شناسایی توده های یولاف وحشی مقاوم به بازدارنده های ACCCase استفاده کرده اند (۸، ۱۷، ۱۹، ۲۶). لتوز و همکاران (۱۷) نیز مقاومت دم روباهی کشیده (*Alopecurus mysuroides*) و چچم (*Lolium rigidum*)، به علف کش های بازدارنده ACCCase را با استفاده از این روش ارزیابی کردند. تال و همکاران (۲۶) از روش زیست سنجی بذر برای تشخیص توده های مقاوم چچم و فالاریس (*Phalaris minor*) و دم روباهی کشیده به علف کشهای دیکلوفوپ متیل، فنوکسپروپ پی اتیل و کلودینافوپ پروپارژیل استفاده نمودند که نزدیکی بسیار زیاد نتایج با آزمایش مربوط به گیاه کامل را تایید کرد. همچنین بناکاشانی و همکاران (۲) و الهی فرد (۱) نیز به ترتیب این روش را برای ارزیابی مقاومت توده های یولاف وحشی و فالاریس به علف کشهای آریلوکسی فنوکسی پروپیونات بکار برده و آنرا

از مناطقی که سابقه هیچ گونه مدیریتی و خصوصاً مدیریت شیمیایی نداشتند، از جمله حاشیه باغات، جمع آوری شدند. گیاهان مشکوک به مقاومت از مزارعی جمع آوری شدند که کشاورز از کارایی باریک برگ کش‌های رایج در مزارع گندم رضایت نداشت، حداقل ۴ تا ۵ سال سابقه مصرف یکی از علف کش‌های بازدارنده ACCase مانند: دیکلوفوپ متیل یا ایلوکسان، کلودینافوپ پروپارژیل یا تاپیک و فنوکساپروپ پی اتیل یا پوماسوپر را داشتند و پس از مصرف یکی از علف کش‌های فوق، هنوز هم مزرعه به علف‌هرز یولاف وحشی آلوده بود. در این حالت درمورد صحت سمپاشی و عوامل مؤثر در الگوی سمپاشی اطمینان حاصل شد و در نظر گرفته شد که آلودگی مزرعه به علف‌هرز یولاف وحشی به عواملی غیر از مدیریت سمپاشی مربوط می‌شود. نمونه برداری بذور با الگوی W صورت گرفت. توده‌های جمع آوری شده بر اساس نام شهر و حساسیت یا مقاومت پیش بینی شده کدگذاری شدند (به ترتیب VR برای اهواز، NR برای اندیمشک، SOR برای شوش، STR برای شوشتر، ZR برای رامهرمز، AR برای سوسنگرد (دشت آزادگان)، DR برای دزفول و S برای توده حساس).

پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، بذور از گیاهان جدا شدند و در معرض بوجاری اولیه قرار گرفتند و در داخل پاکت و در شرایط مساعد جهت نگهداری قرار گرفتند و سپس جهت اجرای آزمایش‌های ارزیابی مقاومت به دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شدند.

این پژوهش دارای چند مرحله به شرح زیر بود:

- تعیین دز تفکیک کننده^۱ در توده حساس: به منظور رسیدن به دزی از علف کش کلودینافوپ - پروپارژیل که باعث ۵۰٪ بازدارندگی رشد ساقه‌چه توده حساس به این علف کش‌ها می‌شود، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. در این آزمایش بر اساس نتایج آزمایش بناکاشانی و همکاران (۲) بذور توده حساس در معرض ۹ غلظت علف کش شامل ۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲، ۰/۶۴ میلی گرم ماده موثره در لیتر) قرار گرفتند. ابتدا بذور توده حساس یولاف وحشی توسط دست پوست کنی (جدا کردن لمان و پاله آ) شد و بمنظور جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی توسط محلول

بعنوان روشی مناسب برای ارزیابی مقاومت در این گونه معرفی کردند. این روش نسبت به استفاده از گیاه کامل به زمان و فضای کمتری نیاز دارد و در مقایسه با روش استخراج آنزیمی نیز نیاز به تجهیزات کمتر و ارزان تری دارد (۲۶). در این ارزیابی طول ریشه چه یا ساقه چه بعنوان شاخص رشدی گیاه در معرض غلظت‌های مختلف علف کش، معیاری برای درجه مقاومت خواهد بود (۲۶).

بر اساس گزارش سالانه سازمان حفظ نباتات در سال زراعی ۱۳۷۷-۷۸ یولاف وحشی در ۲۲ استان کشور به عنوان مهمترین علف‌هرز باریک برگ مطرح بوده است و سالهاست که از علف کش‌های خانواده آریلوکسی فنوکسی پروپیونات از جمله کلودینافوپ پروپارژیل برای کنترل علف‌های هرز باریک برگ مزارع غلات بویژه یولاف وحشی استفاده می‌شود (۷). اخیراً در استان خوزستان موارد متعددی از عدم کنترل موفقیت آمیز علف‌هرز یولاف وحشی در مزارع گندم توسط کشاورزان محلی گزارش شده است (۱ و ۲) که با توجه به سابقه مصرف علف کش‌های این خانواده در مزارع غلات این استان، یکی از فرضیه‌هایی که می‌توان برای کنترل نامناسب یولاف وحشی توسط علف کش‌های رایج ارایه نمود، مقاوم شدن علف‌هرز یولاف وحشی به علف کش‌های این خانواده می‌باشد. این مساله توسط بناکاشانی و همکاران (۲) مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص شد که برخی از توده‌های جمع آوری شده دارای مقاومت نسبتاً بالایی به علف کش‌های خانواده آریلوکسی فنوکسی پروپیونات می‌باشند. لذا این آزمایش بمنظور بررسی مجدد نتایج حاصل از آزمایش‌های قبلی و نیز ارزیابی سریع میزان مقاومت توده‌های یولاف وحشی مزارع گندم استان خوزستان به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل، به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

در بهار سال ۱۳۸۵ بوته‌های یولاف وحشی مشکوک به مقاومت به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل از مزارع گندم کشاورزان ۷ شهر استان خوزستان شامل اهواز (۷ توده)، اندیمشک (۱۴ توده)، شوش (۸ توده)، شوشتر (۲ توده)، رامهرمز (۵ توده)، سوسنگرد (دشت آزادگان) (۱ توده)، دزفول (۸ توده) و نیز یک توده بعنوان توده حساس

آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد، توسط نرم افزار SAS انجام شد. برای رسم نمودارهای واکنش به دز توده های مقاوم و توده حساس به علف کش مورد آزمایش، معادله رگرسیونی غیر خطی (لجستیک سه پارامتره) (معادله ۱)، با استفاده از بسته نرم افزاری drc در محیط نرم افزاری R به داده ها برازش داده شد (۲۳):

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

در این معادله، (Y): طول ساقه چه (درصد از شاهد)، (x): غلظت علف کش، (d): بالا ترین حد واکنش (طول ساقه چه مربوط به یک توده)، (b): شیب خط، و (e): میزان GR₅₀ مربوط به توده مورد نظر می باشد. در انتها نیز درجه مقاومت توده های مقاوم به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل از نسبت GR₅₀ توده مقاوم بر GR₅₀ توده حساس بدست آمد (۲۳).

نتایج و بحث

دز تفکیک کننده در توده حساس

با برازش معادله سه پارامتره لجستیکی به رابطه دز علف کش و طول ساقه چه نسبت به شاهد در توده حساس یولاف وحشی، دز تفکیک کننده و عبارت دیگر دزی که سبب ۵۰ درصد بازدارندگی در رشد ساقه چه شد برای علف کش کلودینافوپ پروپارژیل حدود ۰/۰۲ میلی گرم در لیتر ماده مؤثره تعیین شد (شکل ۱). بنا به تعریف دز تفکیک کننده دزی از علف کش است که حداکثر اختلاف بین توده حساس و مقاوم را سبب شود و عمدتاً بر اساس آزمایشهای مقدماتی دز - پاسخ تعیین شده و برای هر آزمایش نیز مقدار خاصی می باشد که می بایست برای توده حساس تعیین شود (۸). از جمله الهی فرد و همکاران (۱) در آزمایش پتری دیش خود با علف هرز فالاریس مقادیر دز تفکیک کننده را برای علف کشهای کلودینافوپ پروپارژیل، دیکلوفوپ متیل و فنوکسپروپ پی اتیل را بر مبنای ۵۰ درصد بازدارندگی به ترتیب به میزان ۰/۰۱، ۰/۰۴ و ۰/۰۸ قسمت در میلیون ماده مؤثره تعیین کردند. بنا کاشانی و همکاران (۲) نیز این مقادیر را برای آزمایشهای پتری دیش علف کشهای کلودینافوپ پروپارژیل، دیکلوفوپ متیل و فنوکسپروپ پی اتیل را بر مبنای ۵۰ درصد بازدارندگی به

هیپوکلریت سدیم ۱ درصد بمدت ۲ تا ۳ دقیقه ضد عفونی شده و به ترتیب با آب معمولی و آب مقطر شستشو داده شد. بمنظور حذف خواب و تحریک جوانه زنی، بذور ضد عفونی شده بمدت ۵ روز در دمای ۵ درجه سانتیگراد در شرایط تاریکی و در داخل پتری دیشهای ۹ سانتی متری حاوی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ مرطوب قرار گرفتند (۸). سپس برای شروع جوانه زنی، بذور بمدت ۲ روز در شرایط ۱۲ ساعت نور با دمای ۲۰ درجه سانتیگراد و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۱۶ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. بعد از مشاهده اولین علائم خروج ریشه چه، بذور به پتری دیش هایی با قطر ۹ سانتیمتر و حاوی کاغذ صافی منتقل شدند. در هر پتری ۱۰ عدد بذور قرار داده شد، سپس برای هر دز علف کش به هر پتری ۸ میلی لیتر محلول علف کش و برای شاهد ۸ میلی لیتر آب مقطر افزوده شد و بعد از ۷ روز طول ساقه چه ها اندازه گیری و به صورت درصد نسبت به شاهد محاسبه گردید.

- غربال^۱ توده ها توسط دز تفکیک کننده: در آزمایش جداگانه ای دز تفکیک کننده بر تمام توده های یولاف وحشی جمع آوری شده از شهرهای استان بکار برده شد (آزمایش غربال^۱). این آزمایش نیز بصورت طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد که یکی از تکرارها بعنوان شاهد آب مقطر بود و پس از آماده سازی بذرها به روش ذکر شده در آزمایش قبل، دز تفکیک کننده بر تمامی توده های آزمایش اعمال شد.

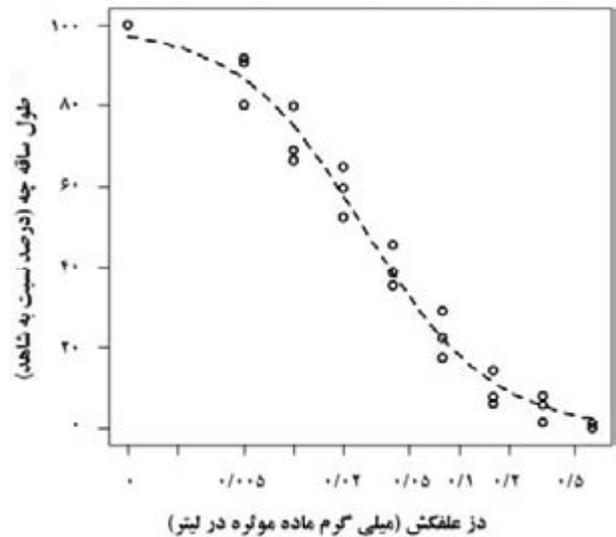
- آزمایش پاسخ به دز در توده های مشکوک به مقاومت: پس از اعمال دز تفکیک کننده بر تمامی توده ها و بر اساس میانگین درصد رشد ساقه چه نسبت به شاهد، توده هایی که دارای مقدار بیش از ۵۰ درصد بودند جهت تعیین درجه مقاومت و نیز دزی که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در رشد ساقه چه می شود (GR₅₀^۱) مورد آزمایش واکنش به دز قرار گرفتند. در این آزمایش چندین دز بالاتر و پایین تر از دزی که باعث کاهش ۵۰٪ رشد ساقه چه توده حساس می شود، بر توده های مقاوم به این علف کش اعمال شد که دزها عبارت بودند از: ۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲، ۰/۶۴، ۱/۲۸ میلی گرم ماده مؤثره در لیتر. این آزمایش دارای ۳ تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ بذور بود. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده ها بروش

جدول ۱: مقایسه میانگین درصد طول ساقچه توده‌های مورد آزمایش نسبت به شاهد خود (آب مقطر)، هفت روز بعد از کاربرد علف کش.

نام شهر	توده	میانگین طول ساقچه (نسبت به شاهد (درصد) هفت روز پس از اعمال علف کش	
اهواز	VR1	۳۵/۰۷ ± ۱/۲۲ g*	
	VR2	۲۲/۲۴ ± ۱/۲۲ h	
	VR4	۲۴/۳۰ ± ۱/۲۲ h	
	VR5*	۷۰/۲۲ ± ۱/۲۲ ab	
	VR6	۲۸/۵۰ ± ۱/۲۲ gh	
	VR7	۱۶/۳۵ ± ۱/۲۲ h	
	VR9	۲۰/۰۴ ± ۱/۲۲ h	
	NR1	۲۹/۵۰ ± ۱/۲۲ gh	
	NR2	۴۳/۹۰ ± ۱/۲۲ ef	
	NR3*	۵۲/۰۹ ± ۱/۲۲ d	
اندیشک	NR4	۲۲/۲۵ ± ۱/۲۲ h	
	NR5	۴۵/۳۲ ± ۱/۲۲ f	
	NR6	۲۲/۲۵ ± ۱/۲۲ h	
	NR7	۶۱/۵۹ ± ۱/۲۲ c	
	NR8	۳۲/۵ ± ۱/۲۲ gh	
	NR9	۳۴/۲۰ ± ۱/۲۲ gh	
	NR10*	۵۹/۲۲ ± ۱/۲۲ cd	
	NR11	۳۷/۵۰ ± ۱/۲۲ fg	
	NR12	۲۲/۵۴ ± ۱/۲۲ gh	
	NR13	۵۲/۲۷ ± ۱/۲۲ d	
شوش	NR14	۶۳/۷۵ ± ۱/۲۲ c	
	SOR1	۶۸/۰۸ ± ۱/۲۲ bc	
	SOR2	۴۰/۲۲ ± ۱/۲۲ fg	
	SOR3	۲۴/۰۳ ± ۱/۲۲ h	
	SOR4*	۷۸/۶۵ ± ۱/۲۲ b	
	SOR5	۷۹/۲۵ ± ۱/۲۲ b	
	SOR6	۴۰/۴۴ ± ۱/۲۲ fg	
	SOR7	۳۵/۴۵ ± ۱/۲۲ gh	
رامهرمز	SOR8	۴۲/۳۰ ± ۱/۲۲ ef	
	ZR1	۶۲/۲۲ ± ۱/۲۲ c	
	ZR2	۵۴/۶۵ ± ۱/۲۲ d	
	ZR3	۷۰/۰۹ ± ۱/۲۲ ab	
	ZR4*	۸۶/۵۴ ± ۱/۲۲ a	
سوسنگرد (دشت آزادگان)	ZR5	۷۱/۱۲ ± ۱/۲۲ ab	
	AR4	۴۷/۱۴ ± ۱/۲۲ e	
	دزفول	DR1	۴۲/۲۲ ± ۱/۲۲ ef
		DR2	۴۲/۵۷ ± ۱/۲۲ ef
		DR3	۳۷/۰۹ ± ۱/۲۲ fg
		DR4	۷۲/۸۶ ± ۱/۲۲ ab
		DR5	۴۴/۷۰ ± ۱/۲۲ ef
		DR6	۲۲/۰۹ ± ۱/۲۲ gh
DR7		۳۱/۰۳ ± ۱/۲۲ g	
شوشتر	DR8	۱۵/۴۴ ± ۱/۲۲ h	
	STR1	۶۹/۴۰ ± ۱/۲۲ bc	
	STR2*	۶۲/۶۵ ± ۱/۲۲ c	

*: علیرغم حایز بودن شرایط مورد نظر برای آزمایش پاسخ به دز، بدلیل کمبود بذر در آزمایش وارد نشد.

: میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد فاقد اختلاف معنی دار هستند.



شکل ۱: رابطه دز علف کش کلودینافوپ پروپارژیل و طول ساقچه توده حساس نسبت به شاهد (آب مقطر) ۷ روز پس از تیمار بر اساس تابع سه پارامتره لجستیکی. نقاط مشاهدات واقعی و خط حاصل از برازش تابع می‌باشد. $R^2 = 0.97$ ، $Y = \frac{95.5}{1 + \exp\{1/14(\log(x) - \log(0.02))\}}$

ترتیب به میزان ۰/۰۱، ۴ و ۰/۱ قسمت در میلیون ماده موثره برای یولاف وحشی تعیین کردند که از شباهت زیادی نسبت به نتایج این پژوهش برخوردار بود.

غریبال توده‌ها توسط دز تفکیک کننده

اثر علف کش کلودینافوپ پروپارژیل بر رشد ساقچه بلافاصله پس از جوانه زنی کاملاً مشهود بود و هفت روز پس از اعمال دز تفکیک کننده اختلاف معنی داری ($P \leq 0.05$) بین توده‌های مورد آزمایش از نظر بازدارندگی رشد ساقچه مشاهده شد (جدول ۱).

از میان توده‌های مورد مطالعه ۱۷ توده قادر به حفظ بیش از ۵۰ درصد رشد ساقچه در حضور دز تفکیک کننده علف کش بودند و مشکوک به مقاومت بنظر می‌رسیدند، با این حال بدلیل کمبود بذر در ۶ توده از این توده‌ها به ناچار این توده‌های در آزمایش بعد وارد نشدند و ۱۱ توده باقی مانده جهت آزمایش پاسخ به دز و تعیین درجه مقاومت به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل انتخاب شدند (جدول ۱).

آزمایش پاسخ به دز در توده‌های مشکوک به مقاومت

همانطور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود پاسخ توده‌های مختلف مورد آزمایش از نظر طول ساقه چه، به غلظت‌های مختلف علف کش کلودینافوپ پروپارژیل متفاوت بود و علیرغم روند نزولی، اختلافاتی مشاهده شد. بر این اساس و با توجه به برازش معادله لجستیکی سه پارامتره، مقدار GR₅₀ محاسبه شده برای توده‌های مختلف، متفاوت می‌باشد (جدول ۲). این معادله بخوبی به داده‌های آزمایش برازش داده شد (جدول ۲).

مقایسه روند پاسخ توده حساس و سایر توده‌های مربوط به شهرهای مختلف به غلظت‌های مختلف علف کش کلودینافوپ پروپارژیل نیز نشان دهنده اختلاف معنی دار موجود بین توده‌های مقاوم و حساس بود (شکل ۲). درجه مقاومت محاسبه شده برای توده‌های مشکوک به مقاومت نیز موید این موضوع می‌باشد (جدول ۲).

بطور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که در بین توده‌های مشکوک به مقاومت توده DR₄ از شهرستان دزفول، توده NR₁₃ از شهرستان اندیمشک، توده ZR₅ از شهرستان رامهرمز، NR₁₄ از شهرستان اندیمشک و STR₁ از شهرستان شوشتر، به ترتیب رتبه‌های اول تا پنجم را از نظر

مقاومت به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل در بین توده‌های مشکوک به مقاومت استان خوزستان، به خود اختصاص می‌دهند (جدول ۲). با اینحال سایر توده‌ها نیز از مقاومت بیشتری نسبت به توده‌های حساس برخوردارند. لذا بنظر می‌رسد که فرضیه بروز مقاومت در بین توده‌های یولاف وحشی مزارع گندم استان خوزستان قابل قبول می‌باشد. این مورد نیز در مطالعه بناکاشانی و همکاران (۲) تایید شده است.

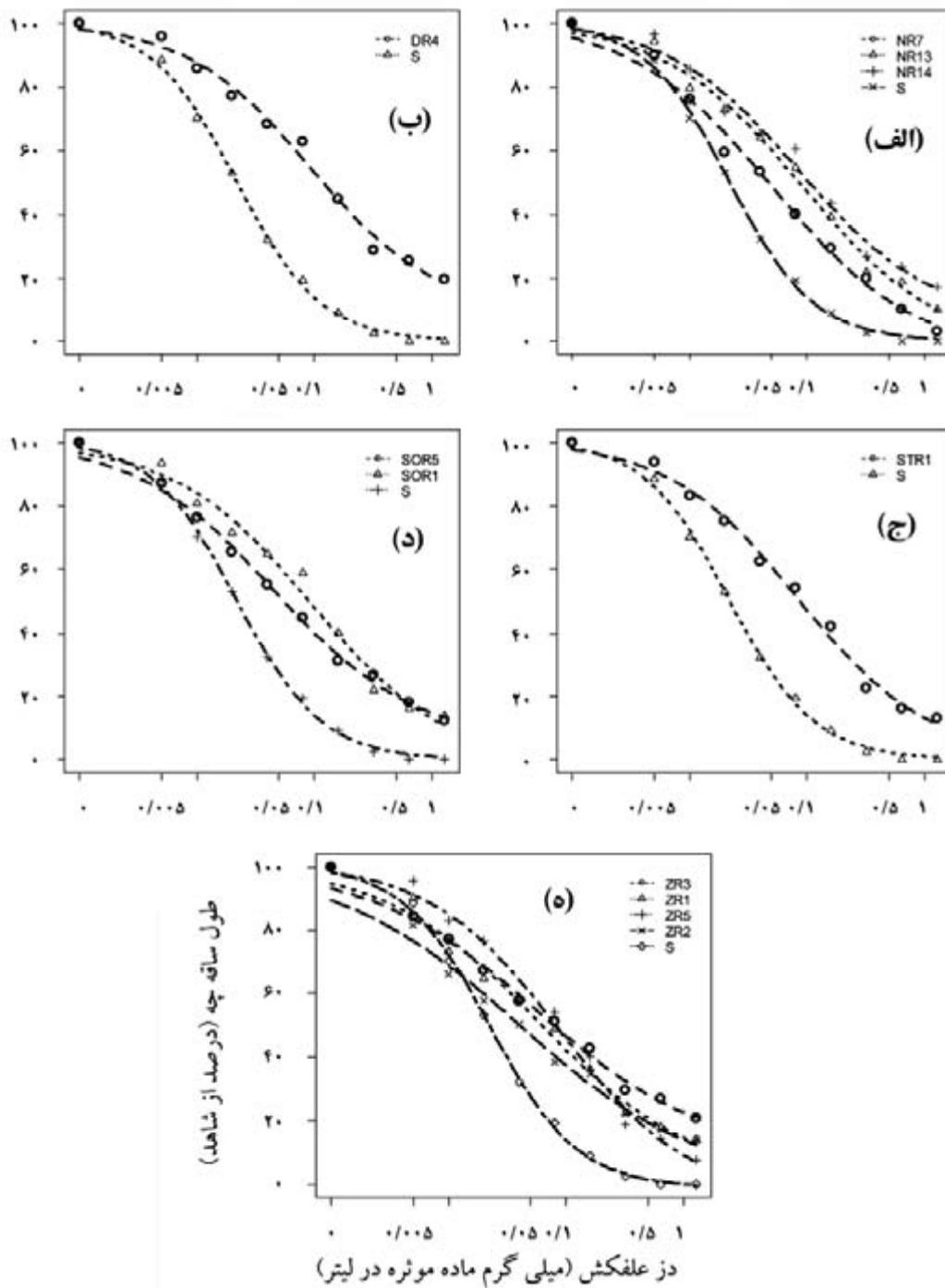
در ارزیابی مقاومت به علف کشها زمان لازم جهت تعیین بروز مقاومت در توده‌ها از جنبه مدیریت مقاومت بسیار مهم می‌باشد (۸ و ۱۸). بر این اساس محققین مختلفی در سراسر دنیا بدنبال روش‌های سریعتر ارزیابی مقاومت بوده‌اند و در این راستا روشهایی نظیر آزمایش‌های پتری دیش، جوانه زنی دانه گرده، سنجش آنزیمی و روشهای مولکولی ابداع و مورد استفاده قرار گرفته است (۸ و ۲۰).

در چنین آزمایشهایی مساله همسویی با واقعیت‌های موجود و نتایج آزمایشهای گلدانی، معیار مناسب بودن روش می‌باشد (۸). آزمایش پتری دیش در مقایسه با سایر روشهای ذکر شده ساده تر و کم هزینه تر بوده و از همه مهمتر اینکه زمان ارزیابی را نسبت به روش گلدانی به میزان

جدول ۲: پارامترهای حاصل از برازش معادله سه پارامتره لجستیکی در آزمایش زیست سنجی در پتری دیش و درجه مقاومت توده‌های مورد آزمایش به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل.

نام توده	حد بالا (d)	شیب منحنی (b)	GR ₅₀ (e)®	ضریب تبیین (R ²)	سطح احتمال #	درجه مقاومت (R/S)
DR ₄	۱۰۰/۲۹ (۲/۶۲)®	-/۸۱ (-/۱۰۵)	-/۰۹۲۰ (-/۰۱۸) a	۰/۹۶	-/۲۲۴ n.s.	۴/۱۲
NR ₇	۱۰۱/۵۷ (۲/۶۶)	۰/۷۰ (-/۰۰۷)	-/۰۵۱۴ (-/۰۱۰) cd	۰/۹۸	-/۳۶۱ n.s.	۲/۳۰
NR ₁₃	۱۰۰/۵۸ (۲/۶۷)	-/۷۳ (-/۰۰۸)	-/۰۹۱۰ (-/۰۲۰) a	۰/۹۷	-/۲۰۲ n.s.	۴/۰۸
NR ₁₄	۱۰۱/۲۷ (۲/۶۰)	-/۷۶ (-/۰۰۹)	-/۰۸۵۲ (-/۰۱۸) ab	۰/۹۷	-/۳۵۵ n.s.	۳/۸۲
SOR ₁	۹۹/۸۹ (۲/۷۱)	-/۷۵ (-/۰۰۸)	-/۰۶۴۶ (-/۰۲۰) bc	۰/۹۷	-/۲۶۱ n.s.	۲/۸۹
SOR ₅	۱۰۰/۶۰ (۲/۷۷)	-/۷۳ (-/۰۰۸)	-/۰۴۵۹ (-/۰۰۹) de	۰/۹۶	-/۲۰۲ n.s.	۲/۰۵
STR ₁	۱۰۰/۵۵ (۲/۶۲)	-/۷۹ (-/۰۰۹)	-/۰۸۴۴ (-/۰۱۶) ab	۰/۹۷	-/۲۵۵ n.s.	۲/۷۸
ZR ₁	۱۰۰/۷۲ (۲/۷۲)	-/۶۷ (-/۰۰۷)	-/۰۵۶۲ (-/۰۱۳) cd	۰/۹۶	-/۳۶۱ n.s.	۲/۵۲
ZR ₂	۱۰۰/۸۶ (۲/۷۷)	-/۵۶ (-/۰۰۹)	-/۰۲۸۹ (-/۰۱۴) e	۰/۹۶	-/۲۰۲ n.s.	۱/۷۴
ZR ₃	۱۰۰/۲۱ (۲/۷۶)	-/۶۱ (-/۰۰۸)	-/۰۵۵۰ (-/۰۱۷) cd	۰/۹۵	-/۳۵۵ n.s.	۲/۴۶
ZR ₅	۱۰۱/۲۰ (۲/۵۸)	-/۷۹ (-/۰۰۸)	-/۰۸۷۵ (-/۰۱۶) ab	۰/۹۶	-/۳۶۱ n.s.	۳/۹۲
S	۱۰۰/۹۳ (۲/۶۵)	۱/۱۶ (-/۱۰)	-/۰۲۲۲ (-/۰۰۲) f	۰/۹۹	-/۲۰۲ n.s.	-

* : اعداد داخل پرانتز خطای استاندارد است، # : سطح احتمال معنی داری آزمون Lack of fit. n.s. : بی معنی در سطح ۵ درصد. ® : اعداد با حروف یکسان بر اساس آزمون t در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.



شکل ۲: رابطه دز علف کش کلودینافوپ پروپارژیل و طول ساقه چه نسبت به شاهد در آزمایش زیست سنجی در پتری دیش در توده‌های یولاف وحشی جمع آوری شده از مزارع شهرهای الف- اندیمشک، ب- دزفول، ج- شوشتر، د- شوش ه- رامهرمز، براساس تابع سه پارامتره لجستیکی. نقاط میانگین داده‌ها و خطوط حاصل از برازش تابع می‌باشند.

قابل توجهی کاهش می دهد (۸).

لتوز و گاسکوینز (۱۷) یک روش آزمون سریع برای شناسایی مقاومت به فوبها در دم روباهی کشیده و چچم با استفاده از زیست سنجی در پتری دیش ارائه کردند. در آزمایش آنها دز تفکیک کننده علف کش فنوکساپروپ برای دم روباهی کشیده حدود ۶ میلی گرم ماده موثره در لیتر و برای دیکلوفوپ و چچم ۱۰ میلی گرم ماده موثره در لیتر تعیین شد. در دز تفکیک کننده علف کش فنوکساپروپ طول گیاهچه توده مقاوم و حساس به ترتیب بیشتر و کمتر از ۱۰ میلی متر بود، در حالی که در دز تفکیک کننده علف کش دیکلوفوپ طول گیاهچه برای توده مقاوم و حساس به ترتیب بیشتر و کمتر ۲۰ میلی متر بود.

تال و همکاران (۲۶) روش زیست سنجی پتری دیش را برای شناسایی توده های مقاوم و حساس علف های هرز *L. rigidum*، فالاریس و دم روباهی کشیده به علف کشهای دیکلوفوپ، فنوکساپروپ پی و کلودینافوپ مورد استفاده قرار دادند. دز تفکیک آنها برای این سه گونه برای علف کشهای مذکور به ترتیب ۶، ۸، ۰/۰۶ میلی گرم ماده موثره در لیتر بود. در آزمایش آنها همچنین درجات مقاومت در آزمایش زیست سنجی کل گیاه بیشتر از زیست سنجی بذر بدست آمد و ریشه چه حساسیت بیشتری از ساقه چه به علف کشها نشان داد که در نتیجه نمی تواند بعنوان شاخص مناسبی در نظر گرفته شود. در آزمایشی دیگر مورای و همکاران (۱۹) یک روش زیست سنجی با بذر بر روی کاغذ صافی و آگار را برای شناسایی سریع مقاومت

یولاف وحشی به علف کشهای فوپ و دیم مورد مطالعه قرار دادند و آنرا بعنوان روشی مناسب معرفی نمودند. فنوکساپروپ پی و ستوکسیدیم به ترتیب به مقادیر ۱۰ و ۵ پی پی ام پس از ۵ روز بطور کامل مانع توسعه ریشه چه و ساقه چه شد. بورگنیس و همکاران (۹) نیز در یک آزمایش پتری دیش به مطالعه مقاومت عرضی به بازدارنده های استیل کوآنزیم آکربوکسیلاز در توده های یولاف وحشی پرداختند. نتایج آنها نشان داد که طول ساقه چه نسبت به وزن تر شاخص قابل اعتمادتری در این نوع زیست سنجی ها می باشد. یافته های این تحقیق نتایج مطالعات قبلی در مورد ایجاد مقاومت به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل در برخی توده های یولاف وحشی استان خوزستان را تایید می نماید. لذا شناسایی مزارع با توده های مشکوک به مقاومت و تهیه نقشه مربوط به گسترش این توده ها، جهت اجرای برنامه های حذف گیاهان مقاوم و ممانعت از توسعه این گیاهان به سایر مناطق از اولویت های اصلی در جهت مدیریت مقاومت ایجاد شده می باشد. بعلاوه، پس از شناسایی توده های مشکوک به مقاومت، مرحله بعدی شناسایی مکانیزم مقاومت در توده های مقاوم می باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با همکاری بخش تحقیقات علفهای هرز موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی سازمان تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی انجام شده است که بدینوسیله قدردانی می شود.

منابع

- ۱- الهی فرد، ا. ۱۳۸۴. بررسی مقاومت فالاریس (*Phalaris minor*) به علف کش های خانواده آریلوکسی فنوکسی پروپیونات (ACCase). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۲- بناکاشانی، ف.، ا. زند، و ح. محمد علیزاده. ۱۳۸۵. مقاومت بیوتیپ های علف هرز یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*) به علف کش کلودینافوپ- پروپارژیل در جنوب غربی ایران. مجله آفات و بیماریهای گیاهی ۷۴: ۱۴۹-۱۲۷.
- ۳- بی نام. ۱۳۸۲. آمارنامه سازمان جهاد کشاورزی.
- ۴- دزفولی، م. ۱۳۷۶. گیاهان هرز کشیده برگ گندمیان ایران. مرکز نشر دانشگاهی تهران. ۲۷۶ ص.
- ۵- زند، ا.، و م. ع. باغستانی. ۱۳۸۱. مقاومت علف های هرز به علفکش ها. انتشارات جهاد دانشگاهی.
- ۶- منتظری، م.، ا. زند، و م. ع. باغستانی. ۱۳۸۴. علف های و کنترل آنها در کشتزارهای گندم ایران. موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی.

7-Anonymous. 2004. FAO Statistical database. Internet, www.FAO.org.

8-Beckie, H. J., Heap, I. M., Smeda, R. J. and L. M., Hall. 2000. Screening for herbicide resistance in weeds. Weed

- Technol. 41:523-534.
- 9-Bourgeois, L. and I. N., Morrison. 1997. Mapping risk area for resistance to ACCase inhibitor herbicides in Manitoba. *Can. J. Plant Sci.* 77:703-708.
- 10-Friesen, L. F., T. L. Jones, R. C. Van Aker, and I. N. Morrison. 2000. Identification of *Avena fatua* populations resistant to imazamethabenz, flumprop, and fenoxaprop-P. *Weed Sci.* 48:532-540.
- 11-Hall, L. M., J. Beckie, and T. M. Wolf. 1999. How herbicides work? Biology to application. Alberta Agriculture Food and Rural development.
- 12-Heap, I. 2009. International survey of herbicide resistance weeds. Online Internet. 11 February 2001. www.weedscience.org.
- 13-Heap, I., and I. N. Morrison. 1996. Resistance to Aryloxyphenoxy-propionate and Cyclohexanedione herbicides in green foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Sci.* 44:25-30.
- 14-Inclendon, B. J., and J. C. Hall. 1997. Acetyl-Coenzyme A Carboxylase: Quaternary Structure and Inhibition by Graminical Herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 57: 255-271
- 15-Kuk, Y. I., N. R. Burgos, and R. E. Talbert. 2000. Cross- and multiple resistance of diclofop-resistant *Lolium* spp. *Weed Science* 48: 412-419.
- 16-LeBaron, H.M., and J. Gressel. 1982. Herbicide Resistance In Plants. John Wiley & Sons, Inc.p. 401.
- 17-Letouze, A., and J. Gasquez. 1990. A rapid reliable test for screening aryloxyphenoxy-propionic acid resistance within *Alopecurus myosuroides* and *Lolium* spp. Populations. *Weed Res.*39: 37-48.
- 18-Moss, S. R. 1995. Techniques for determining herbicide resistance. Brighton Crop Protection Conference-Weeds: 547-556.
- 19-Murray, B. G., Friesen, L. F., Beaulieu, K. J., I. N., Morrison. 1996. A seed bioassay to identify acetyl-CoA carboxylase inhibitor resistant wild oat (*Avena fatua*) populations. *Weed Technol.* 10: 85-89.
- 20-Powles, S. B., C. Peterson, I. B. Bryan, and A. R. Jutsum. 1997. Herbicide resistance: Impact and management. *Adv. in Agron.* 58:57-93
- 21-Prado, R. D., J. Jorrin, and L. G. Torres. 1977. *Weed and Crop Resistance to Herbicides*. Kluwer Academic Publishers.
- 22-Rashid, A., C. I. Johnson, A. Aziz Khan, and J. T. O'Donovan. 1997. Effects of Triallate and Difenzoquat on Fatty Acid Composition in Young Shoots of Susceptible and Resistant *Avena fatua* Populations. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 57: 79-85.
- 23-Ritz, C., and J. C. Streibig. 2005. Bioassay analysis using R. *Journal of Statistical Software*12:1-21.
- 24-Schmidt, R. R. 1997. HRAC classification of herbicides according to mode of action. Brighton Crop Protection Conf. Weed. Vol 3. PP 1133-1140. Proc.
- 25-Sharma, M.P., and W. H., Vanden Born. 1978. The biology of canadian weeds.27.*Avena fatua*. *Can. J. Plant Sci.* 58: 141-157.
- 26-Tal, A., E. Kotoula-Syka, B. Rubin. 2000. Seed-bioassay to detect grass weeds resistant to acetyl coenzyme A carboxylase inhibiting herbicides. *Crop Protection* 19: 467-472.
- 27-Valverde, B. E., C. R. Riches, and J. C. Caseley. 2000. Prevention and management of resistant weeds in rice. Grafos, S. A., Cartago, Costa Rica. Herbicide.

Seed bioassay to detect wild oat (*Avena ludoviciana Dur.*) resistant to clodinafop-propargyl in Khuzestan wheat fields

M. Rastgoo¹, M. H. Rashed Mohassel², E. Zand³, M. Nasirri Mahallati²

Abstract

To detect wild oat resistant to clodinafop-propargyl (Topik) in Khuzestan wheat fields, a seed bioassay study was conducted in Weed Science Laboratory of Ferdowsi University of Mashhad, College of Agriculture, in 2006. Forty five wild oat biotypes were collected from 7 cities of Khuzestan province including Ahvaz, Andimeshk, Shush, Shushtar, Ramhurmuz, Susangerd (Dashte-Azadegan), along with a susceptible biotype, from regions with no chemical control record. The study was carried out in three steps including determination of discriminating dose for susceptible biotype, screening wild oat biotype with discriminating dose, and dose-response experiment for suspected biotypes. In all experiments shoot length (% of control) in petri dish, 7 days after herbicide application was used as a plant growth index. According to the seed bioassay test, the discriminating dose for sensitive biotype was detected as 0.02 mg a.i. L⁻¹. In the screening test with discriminating dose, 17 biotypes were determined as a suspected resistant. Our results showed that herbicide resistance is evolved in some wild oat biotypes in Khuzestan wheat fields.

Key words: Wild oat (*Avena ludoviciana Dur.*), herbicide resistance, seed bioassay, clodinafop – propargyl (Topik), discriminating dose, susceptible biotype

1, 2, 3- Contribution from College of Agriculture, Zanjan University, Ferdowsi University of Mashhad and Research Institute of Plant Pests and Diseases, Tehran, respectively.