آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۷۴، شماره ۲، اسفند ۱۳۸۵

مقاومت بیوتیپ‌های علف‌هرز یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*) به علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل

Resistance of wild oat (*Avena ludoviciana*) biotypes to clodinafop-propargil herbicide

فاطمه بناکاشانی[1]*، اسکندر زند[2] و حسن محمد علیزاده[1]

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم زراعی و دامی دانشگاه تهران

۲- بخش تحقیقات علف‌های هرز، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران

(تاریخ دریافت: مهر ۱۳۸۴، تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۸۵)

چکیده

به منظور بررسی مقاومت یولاف وحشی (*Avena ludoviciana* Durieu.) به علف‌کش کلودینافوپ ـ پروپارژیل، آزمایش‌های گلخانه‌ای و زیست‌سنجی بذر در ظرف پتری در طی سال‌های ۸۳-۱۳۸۱ صورت گرفت. آزمایش‌های گلخانه‌ای شامل آزمایش‌های غربال کردن و تعیین درجه مقاومت و آزمایش‌های زیست‌سنجی در ظرف پتری شامل تعیین دزی از علف‌کش که باعث ۵۰٪ بازدارندگی طول ساقه‌چه توده حساس (ID_{50})، تعیین میزان حساسیت توده‌ها به علف‌کش‌ها و تعیین درجه مقاومت بود. آزمایش‌ها بر روی ۱۲ توده یولاف‌وحشی جمع‌آوری شده از سه استان فارس، مرکزی و خوزستان با علف‌کش کلودینافوپ - پروپارژیل، انجام گرفت. آزمایش‌های غربال کردن توده‌ها در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. در این آزمایش‌ها توده‌های یولاف وحشی در مرحله ٤-۲ برگی با دز توصیه شده علف‌کش سم‌پاشی شدند. چهار هفته بعد از سم‌پاشی درصد وزن خشک توده‌ها و درصد گیاهان زنده مانده هر توده نسبت به شاهد (بدون علف‌کش) محاسبه و نمره‌دهی بر اساس استاندارد EWRC انجام شد. در مرحله بعد واکنش توده‌ها در برابر ۰/۱ تا ۱۶ برابر دز توصیه

* Corresponding author: Nedabk79@yahoo.com

شده علف‌کش کلودینافوپ - پروپارژیل ارزیابی و درجه مقاومت آن‌ها محاسبه شد. آزمایش‌های زیست‌سنجی بذر در ظرف پتری در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفتند. در این آزمایش‌ها درصد طول ساقه‌چه توده‌ها نسبت به شاهد (آب مقطر)، ۷ روز پس از اعمال تیمار علف‌کش به بذرهای جوانه‌زده سنجیده شد. ID_{50} توده حساس تعیین گردید و در مرحله بعد واکنش کلیه توده‌ها به آن سنجیده شد. درجه مقاومت توده‌ها نیز محاسبه شد. نتایج حاصل از کلیه آزمایش‌های گلخانه‌ای و زیست‌سنجی بذر نشان داد که سه توده KR_1، KR_2 و KR_3 از استان خوزستان به علف‌کش کلودینافوپ ـ پروپارژیل مقاوم می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: مقاومت به علف‌کش، یولاف وحشی، کلودینافوپ- پروپارژیل، زیست‌سنجی بذر

مقدمه

یولاف وحشی (*Avena* spp.) علف‌هرز بیش از ۲۰ گیاه زراعی در ۵۵ کشور جهان و بی‌تردید مهم‌ترین علف‌هرز کشیده برگ مزارع گندم، جو و سایر غلات در سراسر جهان است (Dezfoli, 1997). روش‌های مختلفی برای کنترل این علف‌هرز مشکل‌ساز وجود دارد که یکی از مهم‌ترین آن‌ها استفاده از علف‌کش‌ها می‌باشد. معمولاً برای کنترل انتخابی این علف‌هرز و بسیاری از علف‌های هرز باریک برگ در غلات، از باریک‌برگ کش‌های انتخابی خانواده آریلوکسی فنوکسی پروپیونات[۱] (APP) که از بازدارنده‌های سنتز آنزیم استیل کوآنزیم-آ کربوکسیلاز (ACCase)[۲] هستند، استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر استفاده مداوم از علف‌کش‌های این خانواده منجر به بروز مقاومت در بعضی از گونه‌های باریک برگ بویژه یولاف وحشی شده است (Murry *et al*., 1995). اولین مورد مقاومت به بازدارنده‌های ACCase در سال ۱۹۸۰ و درست مدت کوتاهی پس از معرفی این علف‌کش‌ها گزارش شد که مربوط به مقاومت علف‌هرز چچم (*Lolium rigidum* Gaudin.) به علف‌کش دیکلوفوپ متیل در مزرعه

۱- Aryloxyphenoxy propionate

۲- Acethyl Co-A Carboxylase

گندمی در استرالیا بود (Murry *et al.*, 1996). از آن تاریخ به بعد افزایش استفاده از باریک‌برگ کش‌های این خانواده باعث شد که جمعیت علف‌های هرز مقاوم به این علف‌کش‌ها بویژه در علف‌هرز یولاف وحشی افزایش یابد (Tal *et al.*, 2000).

مقاومت یولاف وحشی به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase در بسیاری از کشورهای دنیا گزارش شده است به طور مثال مقاومت *Avena fatua* L. به دیکلوفوپ- متیل در استرالیا، آفریقا، آمریکای شمالی و جنوبی و مقاومت *Avena ludoviciana* Durieu. در ایتالیا و انگلستان گزارش شده است (Heap, 2005). همچنین گزارش‌هایی مبنی بر مقاوم شدن *Avena sterilis* Durieu. به این خانواده علف‌کشی در آمریکای شمالی، استرالیا و انگلستان وجود دارد. علاوه بر موارد ذکر شده فوق وجود جمعیت‌های مقاوم یولاف وحشی به علف‌کش‌های CHD, APP[1] در کشورهای فرانسه، بلژیک و شیلی نیز گزارش شده است (Heap, 2005).

در ایران نیز بر اساس گزارش سالانه سازمان حفظ نباتات در سال زراعی ۷۸-۱۳۷۷ یولاف وحشی در ۲۲ استان کشور به عنوان مهم‌ترین علف‌هرز باریک برگ مطرح بوده است (Montazeri *et al.*, 2005)، و سال‌ها است که از علف‌کش‌های خانواده آریلوکسی فنوکسی پروپیونات برای کنترل علف‌های هرز باریک برگ مزارع غلات بویژه یولاف وحشی استفاده می‌شود (Zand *et al.*, 2002). اخیراً در ۳ استان فارس، خوزستان و مرکزی، موارد متعددی از عدم کنترل موفقیت‌آمیز علف‌هرز یولاف وحشی در مزارع گندم گزارش شده است (مکاتبات شخصی با سازمان حفظ نباتات) که با توجه به سابقه مصرف علف‌کش‌های خانواده آریلوکسی فنوکسی پروپیونات در مزارع غلات این استان‌ها، یکی از فرضیاتی که می‌توان برای کنترل نامناسب یولاف وحشی توسط علف‌کش‌های رایج ارایه نمود، مقاوم شدن علف‌هرز یولاف وحشی به علف‌کش‌های این خانواده می‌باشد. از این رو به منظور بررسی مقاومت علف‌هرز یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*) به علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل از علف‌کش‌های خانواده آریلوکسی فنوکسی‌ها، در طی سال‌های ۱۳۸۳-۱۳۸۱ آزمایش‌های زیست‌سنجی گیاه کامل و بذر به ترتیب در گلخانه و آزمایشگاه بخش تحقیقات علف‌های هرز مؤسسه تحقیقات

۱- Cyclohexanediones

آفات و بیماری‌های گیاهی تهران صورت گرفت.

روش بررسی

آزمایش‌ها بر روی ۱۲ توده بذر یولاف وحشی جمع‌آوری شده از سه استان فارس، مرکزی و خوزستان صورت گرفت. بذرهای مشکوک به مقاومت از مزارعی جمع‌آوری شدند که دارای خصوصیات زیر بودند: ۱- کشاورز از کارایی باریک‌برگ‌کش‌های رایج در مزارع گندم رضایت نداشت. ۲- حداقل ٤ تا ٥ سال سابقه مصرف یکی از علف‌کش‌های بازدارنده ACCase مانند: دیکلوفوپ- متیل یا ایلوکسان، کلودینافوپ- پروپارژیل یا تاپیک و فنوکساپروپ- پی- اتیل یا پوماسوپر را داشتند. ۳- پس از مصرف یکی از علف‌کش‌های فوق، هنوز هم مزرعه به علف‌هرز یولاف وحشی آلوده بود. در این حالت در مورد 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.

در هر استان ۲۰ مزرعه که حداقل یکی از شرایط فوق را داشت انتخاب شد و سپس از بین این مزارع، ۵ مزرعه که بیشترین ملاک‌های مربوط به مقاومت را داشتند، جهت نمونه‌برداری مشخص گردید. بذرهای یولاف حساس به علف‌کش نیز از مناطقی جمع‌آوری شدند که تا کنون سابقه مبارزه شیمیایی با یولاف‌وحشی را نداشتند. نمونه‌برداری بذرهای با الگوی W صورت گرفت. توده‌های جمع‌آوری شده بر اساس نام استان و حساسیت یا مقاومت پیش‌بینی شده کدگذاری شدند، به این ترتیب که حرف M برای توده‌های مربوط به استان مرکزی، F برای توده‌های استان فارس و K برای توده‌های استان خوزستان منظور شد. حرف S برای توده‌های حساس و حرف R نیز برای توده‌های مشکوک مقاوم به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase در نظر گرفته شد. توده‌ها و مناطق جمع‌آوری آن‌ها در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. قابل ذکر است که توده MS به عنوان توده حساس برای ارزیابی احتمال بروز مقاومت در توده‌های مشکوک به مقاومت استان مرکزی و فارس بکار برده شد.

جدول ۱- توده‌های علف‌هرز یولاف‌وحشی مشکوک به مقاومت و حساس به علف‌کش جمع‌آوری شده از استان‌های مختلف ایران

Table 1- Resistant and susceptible wild oat biotypes that were collected from different provinces of Iran

کد توده **Biotype code**	استان جمع‌آوری شده **Province**	وضعیت توده **Status of resistance**
MS	Markazi	Susceptible to herbicides
MR_1	Markazi	Suspected to be resistant
MR_2	Markazi	Suspected to be resistant
MR_3	Markazi	Suspected to be resistant
FR_1	Fars	Suspected to be resistant
FR_2	Fars	Suspected to be resistant
FR_3	Fars	Suspected to be resistant
FR_4	Fars	Suspected to be resistant
KS	Khuzestan	Susceptible to herbicides
KR_1	Khuzestan	Suspected to be resistant
KR_2	Khuzestan	Suspected to be resistant
KR_3	Khuzestan	Suspected to be resistant

آزمایش‌ها به ۲ دسته آزمایش‌های گلخانه‌ای و آزمایش‌های زیست‌سنجی بذر[۱] تقسیم شدند. آزمایش گلخانه‌ای شامل آزمایش غربال کردن[۲] توده‌ها و آزمایش واکنش به دز[۳] و تعیین درجه مقاومت بود. آزمایش زیست‌سنجی بذر که در ظرف پتری انجام شد نیز در برگیرنده آزمایش تعیین دزی از علف‌کش که باعث ۵۰٪ بازدارندگی رشد ساقه‌چه[۴] توده حساس، آزمایش ارزیابی واکنش کلیه توده‌ها به ID_{50} توده حساس و آزمایش واکنش به دز و تعیین درجه مقاومت بود.

۱- آزمایش گلخانه‌ای:

الف- آزمایش غربال کردن: به منظور تشخیص اولیه توده‌های مقاوم به باریک برگ کش کلودینافوپ- پروپارژیل آزمایشی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل ۱۲ توده یولاف وحشی (۱۰ توده مشکوک به مقاومت به علف‌کش و۲ توده حساس) بود. برای هر گلدان سم پاشی شده نیز یک گلدان شاهد بدون سم‌پاشی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. ابتدا خواب بذرهای یولاف وحشی با جداکردن پوست بذرهای (لما و پالهآ) و ٢٤ ساعت سرمادهی شکسته شد. سپس بذرهای جوانه دار و بذرهای جوانه‌زده به گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۲ سانتی‌متر که حاوی ۱ قسمت رس، ۱ قسمت شن و ۱ قسمت کود دامی پوسیده بودند، منتقل شدند. در هر گلدان ۲۰ عدد بذر جوانه زده در عمق ۱/۵ سانتی‌متری خاک کشت شد. سپس گلدان‌های کشت شده در گلخانه‌ای با شرایط ١٦ ساعت روشنایی با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. تیمار علف‌کش در مرحله ٤-۳ برگی یولاف وحشی توسط سمپاش پشتی با نازل با پاشش یکنواخت[۵] زرد رنگ با عرض پاشش ۱ متر و بر اساس پاشش ۳۵۰ لیتر در هکتار محلول سم با دز توصیه شده ۰/۸ لیتر در هکتار علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل

۱- Seed bioassay

۲- Screening experiment

۳- Dose response experiment

۴- ID_{50}

۵- Even nozzle

(امولسیون شونده با ۸٪ ماده مؤثره) سمپاشی شد. قبل از سم‌پاشی بوته‌های داخل هر گلدان تنک شده و برای کاهش قدرت رقابتی به تعداد ۷ بوته در هر گلدان کاهش یافت. بعد از پاشیدن علف‌کش به مدت چهار هفته، هر ۷ روز یکبار گلدان‌ها بر اساس نمره‌دهی سیستم استاندارد اروپایی (EWRC)[1] چهار بار نمره‌دهی شدند (Beckie *et al.*, 2000). در هفته چهارم بعد از سم‌پاشی بعد از ثبت تعداد گیاهان زنده داخل هر گلدان بوته‌ها از سطح خاک برداشت شده و به مدت ٤٨ ساعت در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس توسط ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شدند. سپس درصد گیاهان زنده مانده و درصد وزن خشک تک بوته هر توده تیمار شده با علف‌کش نسبت به شاهد خودش (گلدان تیمار نشده با علف‌کش از همان توده) محاسبه شد.

ب- آزمایش واکنش به دز: به منظور بدست آوردن درجه مقاومت توده‌هایی که در آزمایش غربال کردن در برابر دز توصیه شده علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل مقاومت نشان دادند (KR_1, KR_2, KR_3)، آزمایش واکنش به دز برای هر توده به صورت جداگانه ولی همزمان در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار صورت گرفت. تیمارهای آزمایش شامل ده دز از علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل (۰/۱ تا ١٦ برابر دز توصیه شده) بود. دزها عبارت بودند از:۰، ٦/٤، ١٦، ٣٢، ٦٤، ١٢٨، ٢٥٦، ٣٨٤، ٥٢٨ و ١٠٥٦ گرم ماده مؤثره در هکتار. در این آزمایش بوته‌های یولاف وحشی در مرحله ۳-۲ برگی (حدود ٤-۳ هفته بعد از کاشت) توسط دستگاه سم‌پاش با نازل پاشش یکنواخت متحرک، سم پاشی شدند. کلیه مراحل داشت و شرایط گلخانه‌ای مشابه آزمایش غربال کردن بود.

بعد از سم پاشی چهار نوبت نمره‌دهی بوته‌ها بر اساس سیستم نمره‌دهی استاندارد EWRC به فاصله یک هفته انجام شد و چهار هفته بعد از سم پاشی، درصد گیاهان زنده مانده و درصد وزن خشک تک بوته هر توده تیمار شده با علف‌کش نسبت به شاهد خودش (علف‌کش نخورده از همان توده) محاسبه شد.

۱- European Weed Research Council

۲- زیست‌سنجی بذر در ظرف پتری:

الف- دز تفکیک کننده[1]: به منظور رسیدن به دزی از علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل که باعث ۵۰٪ بازدارندگی رشد ساقه‌چه توده حساس به این علف‌کش‌ها می‌شود، آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ۹ غلظت علف‌کش (۰، ۰/۰۱، ۰/۰٤، ۰/۰۸، ۰/۱، ۱۰، ۲۰، ٤۰ و ۸۰ قسمت در میلیون[2] ماده مؤثره) بود. قابل ذکر است که قبل از انتخاب دزهای فوق ابتدا به صورت تجربی چند دز مختلف شامل (۰، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون) از علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل بر توده حساس اثر داده شد و بر اساس نتایج بدست آمده دزهای فوق در آزمایش انتخاب گردید. بذرهای توده حساس مشابه آنچه که در روش‌های قبل ذکر شد در شرایط لازم تحریک جوانه‌زنی قرار داده شدند. بلافاصله بعد از مشاهده اولین علائم نشان دهنده خروج ریشه‌چه بذرها، آن‌ها به ظرف‌های پتری با قطر ۹ سانتی‌متر، حاوی کاغذ صافی منتقل شدند. در هر ظرف پتری ۱۰-۷ عدد بذر قرار داده شد، سپس برای هر دز علف‌کش به هر ظرف پتری ۸ میلی‌لیتر محلول علف‌کش و برای شاهد ۸ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و بعد از ۷ روز طول ساقه‌چه‌ها اندازه‌گیری شد و به صورت درصد نسبت به شاهد محاسبه گردید. بعد از مشخص شدن دزی از علف‌کش که باعث ۵۰٪ بازدارندگی رشد ساقه‌چه توده حساس شده بود، این دز در آزمایش جداگانه‌ای بر تمام توده‌های یولاف وحشی جمع‌آوری شده از سه استان اعمال شد.

ب- تعیین درجه مقاومت: به منظور رسیدن به دزی از علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل که باعث ۵۰٪ بازدارندگی رشد ساقه‌چه توده‌های مقاوم به این علف‌کش می‌شود و ارزیابی درجه مقاومت توده‌های مقاوم، آزمایش واکنش به دز توده‌های مقاوم صورت گرفت. در این آزمایش چندین دز بالاتر از دزی که باعث کاهش ۵۰٪ رشد ساقه‌چه توده حساس می‌شود، بر توده‌های مقاوم به این علف‌کش اعمال شد که دزها عبارت بودند از:۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰٤، ۰/۰٦، ۰/۰۸، ۰/۱ قسمت در میلیون ماده مؤثره.

۱- Discriminating dose

۲- ppm

قبل از انجام تجزیه واریانس به منظور بررسی نرمال بودن خطاهای آزمایشی از آزمون نرمالیتی استفاده گردید. سپس داده‌هایی که بر حسب درصد بودند با تبدیل زاویه‌ای ARCSIN ((SQRT (X. 100)) و داده‌های نمره‌دهی با تبدیل جذری SQRT (X+1) نرمال شدند. همچنین به منظور بررسی یکنواختی واریانس خطاهای آزمایشی از آزمون بارتلت استفاده شد. تجزیه واریانس داده‌ها در تمام آزمایش‌های گلخانه‌ای توسط نرم افزار SAS در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و در آزمایش‌های زیست‌سنجی بذر در ظرف پتری در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت و مقایسه میانگین داده توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. برای بدست آوردن منحنی‌های واکنش به دز توده‌های مقاوم و توده حساس به علف‌کش مورد آزمایش، داده‌های مورد نظر توسط نرم‌افزار Sigmaplot به معادله رگرسیونی غیرخطی (سیگموئیدی) زیر برازش داده شدند (O'donovan *et al*., 1996; Murry *et al*., 1996).

$$Y = K / \left(1 + e^{(bg)}{}_x{}^b\right) + d$$

در این معادله: Y= متغیر وابسته (طول ساقه‌چه یا وزن خشک یا تعداد گیاهان زنده مانده به صورت درصدی از شاهد بدون علف‌کش)، x = غلظت علف‌کش، d = پایین ترین حد واکنش (طول ساقه‌چه یا درصد وزن خشک یا درصد تعداد گیاهان زنده مانده مربوط به یک توده)، b, g = شیب خط، e = لگاریتم بر پایه نپرین است.

درجه مقاومت توده‌های مقاوم به علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل از نسبت دزی از علف‌کش که باعث ۵۰٪ بازدارندگی رشد (GR_{50}) توده مقاوم بر GR_{50} توده حساس بدست آمد (Beckie *et al*., 2000).

نتیجه و بحث

۱- آزمایش گلخانه‌ای:

الف- آزمایش غربال کردن: همانگونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، مقایسه میانگین توده‌ها از نظر درصد وزن خشک نسبت به شاهد در چهار هفته بعد از سم‌پاشی ۰/۸ لیتر در هکتار علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل، نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین توده‌ها از نظر

سطوح آماری وجود دارد، بطوریکه توده KR_1, KR_2, KR_3 به ترتیب بالاترین درصد وزن خشک را نسبت به شاهد بدون علف‌کش دارا بودند، که این بازدارندگی رشد بسیار کم، نشانه مقاومت آن‌ها در برابر علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل است. در صورتی که توده‌های مربوط به استان فارس (FR_1, FR_2, FR_3) و مرکزی (MR_1, MR_2, MR_3) علی‌رغم تحمل بیشتر به علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل در مقایسه با توده حساس (MS)، به دلیل اینکه میزان وزن خشک آن‌ها نسبت به شاهد خود کمتر از ۵۰٪ بود، لذا به عنوان توده‌های غیرمقاوم طبقه‌بندی گردیدند (Beckie *et al*., 2000).

مقایسه میانگین توده‌ها از جهت درصد گیاهان زنده هر توده چهار هفته بعد از پاشش کلودینافوپ- پروپارژیل نشان می‌دهد که توده‌ها با هم اختلاف معنی‌داری دارند به این صورت که توده KR_3 با داشتن ۱۰۰٪ گیاه زنده سطح آماری a را به خود اختصاص داد و توده‌های KR_1 و KR_2 به ترتیب با ۸۳/۷۵ ٪ و ۸۷/۸۵ ٪ گیاه زنده در گروه آماری بعدی جای گرفتند. سایر توده‌ها نیز به غیر از توده KS در گروه‌های آماری d و e جای گرفته‌اند (جدول ۲). بنابراین همانطورکه در مورد درصد وزن خشک اشاره شد، علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل قادر به کنترل توده‌های استان خوزستان (KR_1, KR_2, KR_3) نبوده، که این امر به علت مقاومت این سه توده در برابر این علف‌کش می‌باشد. این در حالی است که سایر توده‌ها به این علف‌کش حساسیت داشتند.

مقایسه میانگین نمره‌دهی (چهار هفته بعد از سم‌پاشی کلودینافوپ- پروپارژیل) نشان داد که توده KR_3 با دریافت نمره ۹ (صفر درصد خسارت) با توده‌های KR_1 و KR_2 با نمره ۸/۲۵ (حدوداً ۱۰-۰٪ خسارت) اختلاف معنی‌داری نداشتند و در بالاترین گروه آماری (a) جای گرفتند. بنابراین، علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل قادر به کنترل مؤثر این توده‌ها نبوده است، در حالی که سایر توده‌ها در اثر تیمار کلودینافوپ- پروپارژیل خسارت زیادی دیدند.

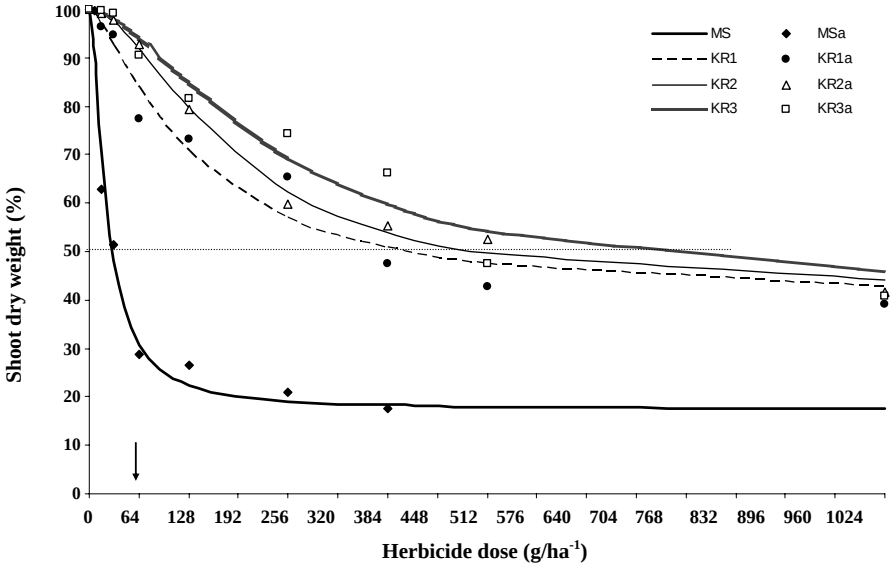
در دستورالعمل‌های غربال کردن اینگونه بیان شده که اگر درصد وزن خشک و یا درصد گیاهان زنده مانده یک توده نسبت به شاهد بدون علف‌کش خود بیش از ۵۰٪ باشد نشانه مقاومت احتمالی این توده می‌باشد (Beckie *et al*., 2000).

محل قرارگیری جدول شماره ۲

همچنین محققین معتقدند، بروز مقاومت زمانی تأیید می‌شود که بیوتیپ مشکوک به مقاومت در دزی که بیوتیپ حساس کنترل شده است، کنترل نشود (Cirujeda *et al*., 2001). بنابراین با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین سه صفت ذکر شده در آزمایش می‌توان به این نتیجه رسید که توده‌های KR_1, KR_2, KR_3 از استان خوزستان به علف‌کش کلودینافوپ – پروپارژیل مقاوم بوده، و دلیل عدم کنترل این علف‌های هرز در مزارع گندم، مقاومت آن‌ها به این علف‌کش می‌باشد. در حالی که در بیوتیپ‌های دیگر دلایل عدم کنترل مناسب می‌تواند دلایلی غیر از مقاومت و عمدتاً مرتبط با نحوه کاربرد علف‌کش، عدم انتخاب دز مناسب و یا شرایط محیطی نامناسب باشد.

ب- آزمایش واکنش به دز:

۱- واکنش به دز از نظر درصد وزن خشک نسبت به شاهد: در منحنی‌های واکنش به دز توده‌های مورد نظر در رابطه با درصد وزن خشک توده‌ها نسبت به شاهدشان چهار هفته بعد از سم پاشی، مشاهده می‌شود که واکنش سه توده KR_3, KR_2, KR_1 نسبت به افزایش دز علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل با واکنش توده‌های MS کاملاً متفاوت است. بطوریکه با افزایش دز علف‌کش، درصد وزن خشک توده MS بطور ناگهانی کاهش یافته در حالیکه در رابطه با توده‌های KR_3, KR_2, KR_1 چنین حالتی مشاهده نمی‌شود (شکل ۱). به عنوان مثال، حتی در بالاترین دز بکار رفته کلودینافوپ – پروپارژیل (۱۰۲٤ گرم ماده مؤثره در هکتار) که معادل ۱٦ برابر دز توصیه شده بود، توده KR_3 با درصد وزن خشک ٤٥/۸۳٪ نسبت به شاهدش، تنها ٥٤/۱۷٪ کاهش وزن خشک نشان داد. در مقابل، دز ۳۲ گرم ماده مؤثره کلودینافوپ- پروپارژیل در هکتار که معادل ۵۰٪ دز توصیه شده علف‌کش بود، باعث ۵۲٪ کاهش وزن خشک توده MS نسبت به شاهدش شد. درجه مقاومت توده‌ها به علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل نشان داد که در بین توده‌های مورد آزمایش توده KR_3 با درجه مقاومت ۲۲/٦٦ مقاوم‌ترین توده به کلودینافوپ- پروپارژیل بوده و توده‌های KR_2 با درجه مقاومت ۱٦/٦ و KR_1 با درجه مقاومت ۱۳/۷۳ در رتبه‌های بعدی جای گرفتند (جدول ۳).



شکل ۱- واکنش توده حساس (MS) و مقاوم (KR_1, KR_2, KR_3) بـه غلظـت‌هـای مختلـف علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل از نظر درصد وزن خشک توده‌ها نسبت به شـاهد. خطـوط نشان دهنده خط برازش داده شده و علامت‌ها نشان دهنده داده‌های واقعی می‌باشند.

Fig. 1- Effect of different concentrations of clodinafop-propargil herbicide on shoot dry weight of susceptible (MS) and resistant (KR_1, KR_2, KR_3) biotypes, as a percentage of untreated controls. Symbols and lines represent actual and estimated response of resistant and susceptible biotypes, respectively.

جدول ۳- پارامترهای بدست آمده معادله برازش شده به داده‌های درصد وزن خشک توده‌های حساس و مقاوم نسبت به شاهد، چهار هفته بعد از سم‌پاشی علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل

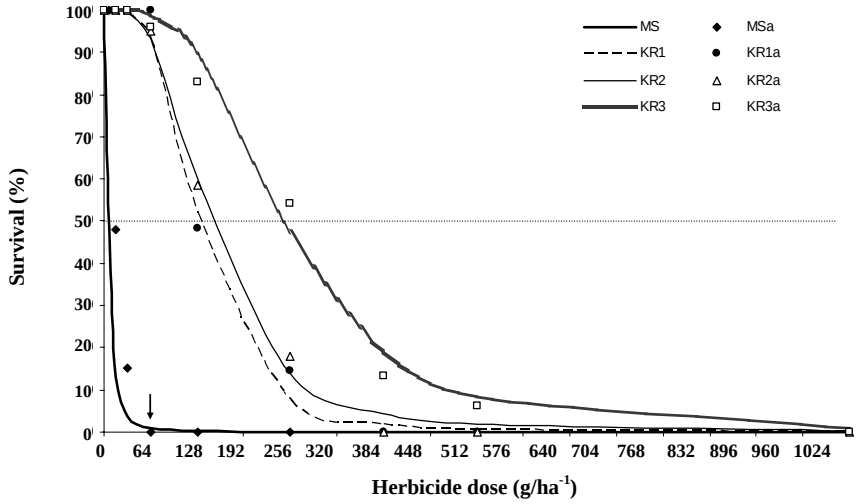
Table 3- Parameters estimates obtained for shoot dry weight of susceptible and resistant biotypes as a percentage of untreated controls, 4 week after spraying clodinafop- propargil.

[1]R/S	GR_{50}	R^2	k	d	b	g	biotype
	30	0.97	82.53	17.47	1.62376	-3.13487	**MS**
13.73	412	0.95	61	39	1.36073	-4.90932	**KR_1**
16.6	498	0.99	58.49	41.51	1.75797	-5.2028	**KR_2**
22.66	680	0.95	59.28	40.71	1.6550	-5.50564	**KR_3**

۲- واکنش به دز از نظر درصد گیاه زنده نسبت به شاهد: روند واکنش توده‌ها به افزایش دز کلودینافوپ- پروپارژیل از نظر درصد گیاهان زنده مانده هر توده نسبت به تیمار شاهد صفر خود نیز با هم متفاوت بود، بطوریکه تفاوت توده‌های مقاوم و حساس به خوبی از روی نمودار مشهود است (شکل ۲). به عنوان مثال در دز ۲۵٦ گرم ماده مؤثره در هکتار، که معادل ٤ برابر دز توصیه شده علف‌کش می‌باشد، ٤۷/۲۷٪ از گیاهان توده KR_3، ۱٤/۰٤٪ از گیاهان توده KR_2 و ۷/۷۲٪ از گیاهان توده KR_1 باقی ماندند. اما حتی در دز توصیه شده کلودینافوپ- پروپارژیل (٦٤ گرم ماده مؤثره در هکتار) فقط کمتر از ۱٪ گیاهان توده حساس (MS) زنده ماندند (تقریباً ۱۰۰٪ کنترل). درجه مقاومت توده‌ها در جدول ٤ نشان داده شده است.

محققین با استفاده از بررسی واکنش بیوتیپ‌های مختلف یولاف وحشی به غلظت‌های مختلف علف‌کش‌های بازدارنده ACCase درجه مقاومت این بیوتیپ‌ها را تعیین کردند (Heap *et al*., 1993).

1- The GR_{50} ratio of resistant populations to the susceptible



شکل ۲- واکنش توده‌های حساس و مقاوم به غلظت‌های مختلف علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل از نظر درصد گیاهان زنده مانده توده‌ها نسبت به شاهد. خطوط نشان دهنده خط برازش داده شده و علامت‌ها نشان دهنده داده‌های واقعی می‌باشند.

Fig. 2- Effect of different concentrations of clodinafop-propargil herbicide on survival of susceptible (MS) and resistant (KR_1, KR_2, KR_3) biotypes, as a percentage of untreated controls. Symbols and lines represent actual and estimated response of resistant and susceptible biotypes, respectively.

جدول ۴- پارامترهای بدست آمده معادله برازش شده به داده‌های درصد گیاهان زنده مانده توده‌های حساس و مقاوم نسبت به شاهد، چهار هفته بعد از سم‌پاشی علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل

Table 4- Parameter estimates obtained for survival of susceptible and resistant biotypes as a percentage of untreated controls, 4 week after spraying clodinafop- propargil

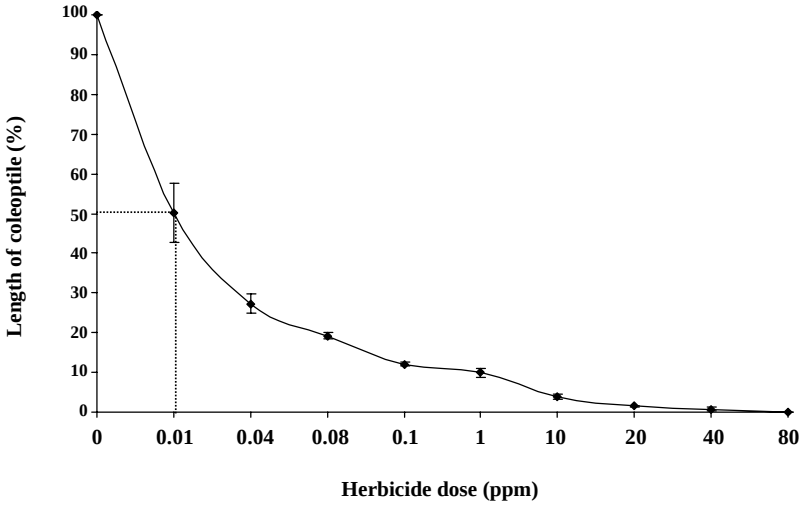
R/S	GR_{50}	R^2	k	d	b	g	biotype
	6.21	0.99	100	0	2.00238	-1.82715	MS
21.03	130.6	0.99	100	0	3.68591	-4.87221	KR_1
23.42	145.5	0.99	100	0	3.20926	-4.98062	KR_2
39.87	247.6	0.99	100	0	3.29622	-5.51203	KR_3

بطور کلی نتایج حاصل از منحنی‌های واکنش به دز توده‌ها از نظر دو صفت اندازه‌گیری شده درصد وزن خشک و درصد گیاهان زنده مانده توده‌های مورد آزمایش نسبت به شاهد چهار هفته بعد از سم‌پاشی، نشان دهنده مقاومت بالای توده‌های KR_3, KR_2, KR_1 به گراس‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل بود. ترتیب مقاومت توده‌ها از بالاترین درجه مقاومت به کم‌ترین به صورت $KR_3>KR_2>KR_1$ بود. بنابراین با توجه به درجه مقاومت بالای این توده‌ها، استفاده از دزهای بالاتر از دز توصیه شده به منظور کنترل آن‌ها موثر نخواهد بود.

۲- زیست‌سنجی بذر در ظرف پتری

الف- دز تفکیک کننده: نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول ساقه‌چه توده حساس MS هفت روز بعد از اعمال دزهای ذکر شده، نشان داد که غلظت ۰/۰۱ باعث ۵۰٪ بازدارندگی طول ساقه‌چه این توده نسبت به شاهد می‌شود (شکل ۳).

تجزیه واریانس توده‌ها از نظر درصد طول ساقه‌چه نسبت به شاهد (آب مقطر)، هفت روز بعد از اعمال دز ۰/۰۱ واحد در میلیون ماده مؤثره علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل اختلاف معنی‌داری را بین توده‌ها نشان داد.



شکل ۳- واکنش توده حساس MS بـه غلظـت‌هـای مختلـف علـف‌کـش کلودینـافوپ- پروپارژیل از نظر درصد طول ساقه‌چه نسبت به شاهد.

Fig. 3- Effect of different concentrations of clodinafop-propargil herbicide on the length of coleoptile of susceptible biotype (MS), as a percentage of untreated controls.

مقایسه میانگین توده‌ها از نظر درصد طول ساقه‌چه نسبت به شاهد صفر هر تـوده هفـت روز بعد از اعمال دز۰/۰۱ واحد در میلیون ماده مؤثره علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل نشان داد که توده‌های KR_3, KR_2, KR_1 از استان خوزستان به ترتیب با ۹۸/۹۹، ۹۹/۵۳و ۹۹/۸۰ درصـد طول ساقه‌چه در بالاترین گروه آماری (a) قرار گرفتند. اما توده‌های MR_1, MR_2, MR_3 از اسـتان مرکزی و توده‌های FR_1, FR_2, FR_3, FR_4 از استان فارس و توده KS از خوزستان با توده حساس به علف‌کش (MS) اختلاف معنی‌داری نداشتند و در یـک گـروه آمـاری (b) جـای گرفتنـد. در نتیجه می‌توان اینگونه استنباط کرد که دز ۰/۰۱ پی پی ام علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی طول ساقه‌چه توده حساس MS نسبت به شاهد آن شده است، بـر رشد ساقه‌چه توده‌های KR_1, KR_2, KR_3 اثر بازدارندگی نداشت که این امر نـشانه مقاومـت ایـن توده‌ها نسبت به کلودینافوپ- پروپارژیل می‌باشد.

جدول ۵- مقایسه میانگین درصد طول ساقه‌چه توده‌های مورد آزمایش نسبت به شاهد خود (آب مقطر) هفت روز بعد از کاربرد علف‌کش

Table 5- Means comparison of biotypes length of coleoptile as a percentage of untreated controls, 7 days after herbicide application

استان Province	توده Biotype	میانگین درصد طول ساقه‌چه نسبت به شاهد (آب مقطر) هفت روز پس از اعمال علف‌کش Length of coleoptile %, 7 days after herbicide application
Markazi	MS	49.66 ± 4.58 b
	MR_1	49.97 ± 2.80 b
	MR_2	52.2 ± 3.45 b
	MR_3	51.31 ± 3.37 b
Fars	FR_1	54.94 ± 1.92 b
	FR_2	50.09 ± 4.71 b
	FR_3	54.90 ± 5.44 b
	FR_4	52.74 ± 4.01 b
Khuzestan	KS	54.07 ± 0.89 b
	KR_1	98.99 ± 1.03 a
	KR_2	99.53 ± 0.39 a
	KR_3	99.80 ± 0.16 a

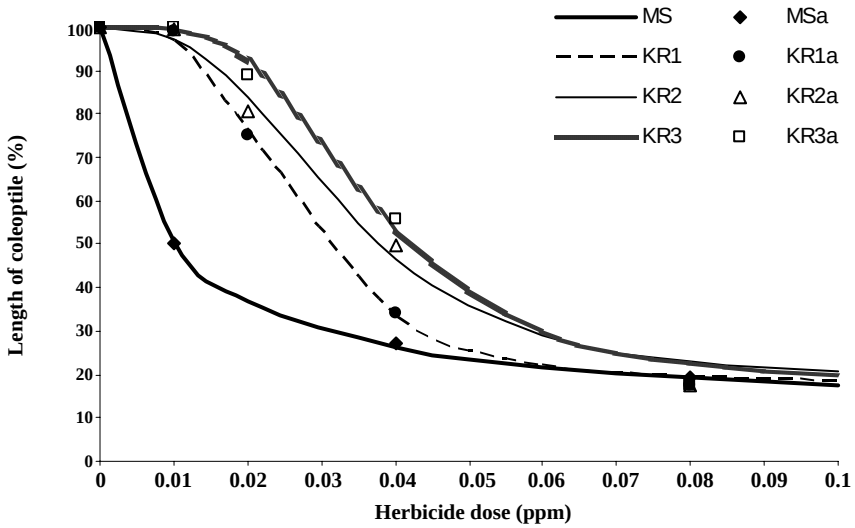
در هر ستون حروف مشابه بر اساس آزمون Duncan در سطح ۵٪ با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letter in each column are not significantly different at %5 level using Duncan's multiple range test.

اما سایر توده‌ها با توده حساس MS در یک سطح آماری جای گرفتند، که بازدارندگی مشابه طول ساقه‌چه آن‌ها نسبت به این توده نشانه حساسیت آن‌ها به علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل می‌باشد. همانگونه که مشاهده شد در آزمایش زیست‌سنجی بذر نیز مانند روش گلخانه‌ای مقاومت توده‌های KR_1, KR_2, KR_3 به علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل مشخص گردید.

ب- تعیین درجه مقاومت: در منحنی‌های واکنش به دز مربوط به درصد طول ساقه‌چه توده‌های KR_1, KR_2, KR_3, MS نسبت به شاهدشان هفت روز بعد از سم‌پاشی، مشاهده می‌شود که واکنش سه توده KR_3, KR_2, KR_1 نسبت به افزایش دز علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل با واکنش توده MS کاملاً متفاوت است. بطوریکه حتی ۰/۰۱ واحد در میلیون ماده مؤثره علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل باعث ۵۰٪ بازدارندگی رشد ساقه‌چه توده MS نسبت به شاهدش (آب مقطر) شد. در حالیکه در ٤ برابر این دز (۰/۰٤ واحد در میلیون ماده مؤثره) درصد طول ساقه‌چه توده‌های KR_3, KR_2, KR_1 نسبت به شاهدشان به ترتیب عبارت بود از: ۳۳٪، ٤٦/٤۲٪، ۵۳/٦۵٪ (شکل۴). درجه مقاومت توده‌ها در جدول ۶ نشان داده شده است. بنابراین در این آزمایش نیز مانند آزمایش واکنش به دز گلخانه‌ای مقاومت توده‌های KR_3, KR_2, KR_1 به علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل اثبات شد.

محققان از روش زیست‌سنجی بذر در پتری برای تشخیص مقاومت یولاف به بازدارنده‌های ACCase استفاده کرده‌اند (Murry *et al*., 1996; Bourgeois & Morrison, 1997). Letouze & Gasquez (1999) نیز مقاومت (*Alopecurus myosuroides*) و (*Lolium rigidum*) به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase را با استفاده از این روش ارزیابی کردند. با استفاده از زیست‌سنجی بذر در ظرف پتری سرعت عمل غربال کردن توده‌های مقاوم و حساس نسبت به آزمایش‌های گلخانه‌ای افزایش خواهد یافت که در نتیجه از نظر اقتصادی می‌توان تعداد بیشتری از توده‌های مقاوم را با هزینه پایین‌تر غربال کرد، این موضوع توسط Beckie *et al*. (2000) نیز به اثبات رسیده است.



شکل ۴- واکنش توده‌های حساس و مقاوم به غلظت‌های مختلف علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل از نظر درصد طول ساقه‌چه توده‌ها نسبت به شاهد. خطوط نشان دهنده خط برازش داده شده و علامت‌ها نشان دهنده داده‌های واقعی می‌باشند.

Fig. 4- Effect of different concentrations of clodinafop-propargil herbicide on length of coleoptile of susceptible (MS) and resistant (KR_1, KR_2, KR_3) biotypes as a percentage of untreated controls, 7 days after application of clodinafop-propargil. Symbols and lines represent actual and estimated response of resistant and susceptible biotypes, respectively.

در مقایسه روش ارزیابی گیاه کامل در شرایط گلخانه‌ای و زیست‌سنجی بذر مشاهده شد که در هر دو روش نسبت R/S توده‌های مقاوم بالاتر از یک می‌باشد اما درجه مقاومت توده‌های مقاوم در روش زیست‌سنجی بذر همواره کمتر از درجه مقاومت آن‌ها در روش گلخانه‌ای بود (جدول ۷). Tal *et al.* (2000) نیز این مطلب را تأیید کردند و علت این امر را به دلیل تفاوت در شرایط (نوع جذب علف‌کش) و متدولوژی (نحوه کاربرد علف‌کش) بیان داشتند.

جدول ۶- پارامترهای بدست آمده معادله برازش شده به داده‌های درصد طول ساقه‌چه توده‌های حساس و مقاوم نسبت به شاهد، هفت روز بعد از اعمال علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل

Table 6- Parameter estimates obtained for length of coleoptile of susceptible and resistant biotypes as a percentage of untreated controls, 7 days after application of clodinafop-propargil

R/S	GR_{50}	R^2	k	d	b	g	Biotype
	0.01	0.99	98.65	10.35	0.964697	4.8182	**MS**
3	0.03	0.99	82.52	17.48	3.4064	3.6468	**KR_1**
1.25	0.0375	0.99	82.47	17.53	2.90926	3.46107	**KR_2**
4.2	0.042	0.99	82.34	17.66	3.64039	3.28535	**KR_3**

با توجه به نتایج حاصل از آزمایش‌های انجام شده در این تحقیق، در مجموع می‌توان گفت که بروز مقاومت در توده‌های ذکر شده یولاف وحشی استان خوزستان به علف‌کش کلودینافوپ- پروپارژیل قطعی می‌باشد. بنابراین باید تحقیقات و بررسی‌های گسترده‌تری در رابطه با توده‌های یولاف وحشی دیگر استان خوزستان صورت گرفته و با شناسایی توده‌های مقاوم و بکار بستن تدابیر مدیریتی صحیح از گسترش هر چه بیشتر آن‌ها جلوگیری شود. در استان فارس و مرکزی نیز علی رغم این که آزمایش‌ها بروز مقاومت را تأیید نکردند اما در صورت مصرف مکرر علف‌کش‌های مربوط به خانواده بازدارنده سنتز استیل کوآنزیم-آ کربوکسیلاز احتمال بروز مقاومت توده‌های یولاف وحشی این استان‌ها به علف‌کش‌های این خانواده در سال‌های آینده بسیار زیاد می‌باشد.

محل قرارگیری جدول ۷

سپاسگزاری

این طرح تحقیقاتی با حمایت مالی بخش تحقیقات علف‌های هرز مؤسسه گیاهپزشکی کشور انجام شد که بدینوسیله از این مؤسسه کمال تشکر و قدردانی را داریم.

نشانی نگارندگان: فاطمه بناکاشانی و دکتر حسن محمدعلیزاده،گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران؛ دکتر اسکندر زند، بخش تحقیقات علف‌های هرز، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، صندوق پستی ۱۴۵۴، تهران ۱۹۳۹۵، ایران.