نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 30، شماره 2، تابستان 1395، ص. 358-347

Journal of Plant Protection
Vol. 30, No. 2, Summer 2016, P. 347-358

پی‌جویی توده‌های علف‌های‌هرز خردل‌وحشی (*Sinapis arvensis* L.) و شلمی (*Rapistrum rugosum* L.) مقاوم به علف‌کش تری‌بنورون‌متیل در مزارع گندم استان گلستان و معرفی روشی نوین برای تشخیص جمعیت‌های مقاوم در این گونه‌های‌هرز

زهرا حاتمی مقدم[1*] - جاوید قرخلو[2] - رافائل دپرادو[3] - حمیدرضا صادقی پور[4]

تاریخ دریافت: 1394/08/12
تاریخ پذیرش: 1394/10/30

چکیده

تحقیق حاضر جهت تعیین درجه مقاومت و پیدا کردن روشی سریع و مقرون به‌صرفه جهت تشخیص مقاومت در دو علف‌هرز خردل‌وحشی (*Sinapis arvensis* L.) و شلمی (*Rapistrum rugosum* L.) مقاوم به علف‌کش تری‌بنورون متیل[6] (گرانستار) از خانواده بازدارنده‌های آنزیم استو هیدروکسی اسید سینتاز[7] (AHAS) یا استولاکتات سنتاز[8] (ALS) شکل گرفت. در ابتدا جمع‌آوری بذور مشکوک به مقاومت از مزارع گندم استان گلستان که به طور متوالی تحت سمپاشی با این سم قرار گرفته‌اند و گزارش‌هایی مبنی بر بروز مقاومت وجود دارد، انجام گردید. همچنین بذور توده‌های حساس نیز از مناطقی که سابقه سمپاشی نداشتند، جمع‌آوری شد. جهت غربال اولیه توده‌های جمع‌آوری شده، گیاهچه‌های حاصل از آنها در مرحله 3 تا 4 برگی، مورد سمپاشی با دز توصیه شده علف‌کش قرار گرفتند. توده‌هایی که پس از گذشت چهار هفته زنده مانده و حداقل 80 درصد زیست توده خود را نسبت به شاهد سمپاشی نشده، حفظ کردند به عنوان توده مقاوم شناخته شدند. از بین روش‌های موجود برای تعیین سطح مقاومت جمعیت‌های مقاوم، روش سنجش پاسخ گیاه کامل به دزهای مختلف علف کش تری‌بنورون متیل و زیست‌سنجی گیاهچه در پتری‌دیش، مورد استفاده قرار گرفت. در این دو روش دز و یا غلظتی از علف‌کش که باعث 50 درصد بازدارندگی می‌شود (GR50) از منحنی‌های رگرسیونی غیرخطی لگ لجستیک[9] به‌دست آمد. درجه مقاومت به دست آمده از آزمایش های گلخانه‌ای برای توده‌های مقاوم خردل وحشی بین 2/22 تا 16/77 و برای شلمی حدود 2/5 تا 6/59 بود. با وجودی که درجه مقاومت در روش زیست‌سنجی گیاهچه در پتری‌دیش کمی بالاتر و به ترتیب برای خردل وحشی و شلمی بین 2/30 تا 17/47 و 2/86 تا 9/56 بود اما، همبستگی بالایی بین درجات مقاومت به دست آمده از روش گلخانه‌ای و آزمایشگاهی مشاهده شد (0/90 برای خردل وحشی و 0/83 برای شلمی). نتایج آزمون سریع هم راستای نتایج آزمایش های گلخانه‌ای بود که نشان می دهد آزمون سریع می‌تواند به عنوان روشی سریع و ارزان برای تشخیص مقاومت به علف‌کش تری‌بنورون متیل در خردل وحشی و شلمی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آزمایش‌های دز- پاسخ، تری‌بنورن متیل، زیست‌سنجی در پتری‌دیش، علف‌کش بازدارنده ALS

مقدمه

علف‌های‌هرز با توجه به اثرات تداخلی می‌توانند باعث افزایش تلفات، کاهش قابل توجهی در بازدهی و سودآوری سیستم‌های کشاورزی جهان شوند (29) به همین دلیل، امروزه مبارزه با علف‌های هرز جزء جدایی‌ناپذیر کشاورزی نوین محسوب می‌شود. علف‌کش‌ها وسیله‌ای مطمئن، با کارایی بالا، آسان و اقتصادی بوده و تقریباً مورد استقبال تمام کشاورزان قرار گرفته‌اند، اما استفاده مستمر از علف‌کش‌ها در طی سال‌های اخیر باعث بروز پدیده‌ای به نام مقاومت علف‌های‌هرز به علف‌کش‌ها شده است. مقاومت به علف‌کش ویژگی مستقل ذاتی و وراثتی یک بیوتیپ علف هرز است، که می‌تواند پس از تیمار با مقادیر بیشتر از دز توصیه شده که گونه‌های وحشی را از بین می‌برد، زنده مانده و چرخه زندگی خود را تکمیل کند (28). کاربرد مدیریت نشده علف‌کش‌ها در دهه‌های اخیر، مقاومت علف‌های‌هرز به

1 و 2- دانشجوی دکتری و دانشیار گروه زراعت، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(*- نویسنده مسئول: Email: Z.Hatami@yahoo.com)
3- استاد گروه شیمی کشاورزی، دانشگاه کوردوبا- اسپانیا
4- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان

5- Tribenuron methyl
6- Acetohydroxyacid Synthase
7 - Acetolactate Synthase
8 - Log Logistic

علف‌کش‌ها را به یک معضل جهانی تبدیل کرده است، به طوری‌که تا اواخر سال 2015 میلادی 460 بیوتیپ علف هرز از 246 گونه گیاهی (103 گونه تک لپه و 143 گونه دو لپه) به 22 گروه از 25 گروه علف‌کش موجود بر اساس نحوه عمل و یا به عبارتی به 157 علف‌کش مختلف مقاوم شده‌اند که در حال حاضر، گونه‌های علف‌هرز مقاوم به علف‌کش‌های بازدارنده آنزیم استولاکتات سنتاز (ALS) با تعداد 156 بیوتیپ (61 گونه تک لپه و 95 گونه دو لپه)، نسبت به هر گروه علف‌کشی دیگر بیشتر هستند (11).

محققان علف‌هرز و افراد دست اندرکار در کنترل گیاهان هرز مهاجم با چالش‌های نگران کننده زیادی در مورد تکنیک‌های کنترل موجود، مواجه هستند. در هنگام آزمایش کنترل شیمیایی علف‌های-هرز، سه پیامد مهم در پیش روی محققان علف‌هرز وجود دارد: 1- مقاومت علف‌هرز نسبت به مکانیزم عمل علف‌کش‌های موجود، 2- از رده خارج شدن علف‌کش‌های قدیمی و خصوصاً علف‌کش‌هایی با مکانیزم‌های عمل خاص و 3- فقدان علف‌کش‌های جدید خصوصاً علف‌کش‌هایی با مکانیزم‌های عمل جدید (30).

سازگاری سریع علف‌های‌هرز به علف‌کش‌ها، منجر به ایجاد برخی نگرانی‌ها شده است. اتکا به تعداد کمی علف‌کش برای کنترل علف‌های‌هرز در محصولات اصلی زراعی منجر به ایجاد فشار بر دیگر علف‌کش‌ها جهت پایین آوردن قیمت‌ها می‌شود که به تثبیت صنعت یکسری خاص از علف‌کش‌ها کمک می‌کند. بازگشت کمتر سرمایه، در سرمایه‌گذاری بر روی علف‌کش‌های جدیدتر، افزایش تقاضا در سراسر جهان برای نظارت در تولید مواد شیمیایی ایمن و قوانین سختگیرانه بهداشت و محیط زیست در ثبت مواد شیمیایی جدید، از عوامل مؤثر در معرفی کمتر علف‌کش‌ها و کمبود علف‌کش‌هایی با مکانیزم‌های عمل جدید از سال 1993 میلادی می‌باشد (17). در برخی از محصولات زراعی عمده، اتکا بیش از حد بر مصرف یک علف‌کش برای کنترل علف‌های‌هرز، موجب فشار گزینشی زیادی جهت توسعه مقاومت شده است. از آنجا که ما علف‌کش‌های قدیمی در دسترس کمی به علت مسائل نظارتی و اقتصادی داریم و علف-کش‌های کمتری با مکانیزم عمل جدید در دست بررسی هستند، اگر مقاومت وسیع به دلیل استفاده مکرر و زیاد از علف‌کش‌ها به وقوع بپیوندد، باعث پیچیده‌تر شدن این مسئله می‌گردد (30).

مطالعه بروز مقاومت به علف‌کش‌ها در ایران از سابقه چندانی برخوردار نمی‌باشد. پژوهش‌های انجام گرفته در دهه 80 خورشیدی، نشان داد که به دلیل استفاده مداوم از برخی علف‌کش‌ها مانند بازدارنده‌های استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز، در برخی از مناطق کشور در بیوتیپ‌هایی از علف‌های‌هرز باریک‌برگ مقاومت به این علف‌کش-ها بروز پیدا کرده است (1، 7، 40، 27، 10، 9 و 31). در مورد بررسی مقاومت علف‌های‌هرز پهن‌برگ به علف‌کش‌ها، تاکنون پژوهش‌های کمی در کشور انجام شده است. برای نخستین بار پرتوی و همکاران (21) بروز مقاومت به علف‌کش کلریدازون (پیرامین) را در یک بیوتیپ سلمه‌تره (*Chenopodium murale* L.) در مزارع چغندرقند استان خوزستان گزارش کردند.

در ایران میانگین خسارت ناشی از علف‌های‌هرز در مزارع گندم 23 تا 30 درصد گزارش شده است (16). به دلیل راحتی استفاده از علف‌کش‌ها و مقرون به صرفه بودن آنها، گزینه رایج در مبارزه با علف‌های‌هرز مزارع گندم استفاده از علف‌کش‌ها می‌باشد. علف‌کش تری‌بنورون متیل علف‌کش متداول در مبارزه با علف‌های‌هرز پهن-برگ مزارع گندم است که به دلیل کارایی بالا، میزان مصرف کم و قیمت مناسب کشاورزان تمایلی به جایگزین کردن این علف‌کش با سایر علف‌کش‌های متعلق به گروه‌های شیمیایی دیگر ندارند.

روند افزایش تعداد کل مزارع آلوده به علف‌های‌هرز مقاوم و تعداد هر یک از علف‌های‌هرز یولاف وحشی (*Avena fatua* L.)، علف قناری (*Phalaris minor* Retz)، چچم (*Lolium temulentum* L.)، خردل‌وحشی (*Sinapis arvensis*) و شلمی (*Rapistrum rugosum*) مقاوم به علف‌کش‌ها در طی سال‌های 1383 تاکنون، حاکی از افزایش مزارع آلوده به بیوتیپ‌های مقاوم است. در ایران اولین گزارش‌ها از بروز مقاومت علف هرز خردل‌وحشی نسبت به علف‌کش‌های بازدارنده فعالیت آنزیم استولاکتات سنتاز مربوط به سال 2009 میلادی در کشت گندم زمستانه می‌باشد که از استان گلستان گزارش شده است (11). در سال 2012 میلادی نیز گزارش مقاومت شلمی به علف‌کش تری‌بنورون‌متیل از همین استان منتشر شد (6).

تشخیص اولیه مقاومت به علف‌کش در یک بیوتیپ علف هرز مشکوک به مقاومت مستلزم انجام یکسری آزمایش است که بتواند واکنش بیوتیپ علف‌هرز را نسبت به دزهای مختلف علف‌کش نشان دهد. در این آزمایش باید واکنش گیاه کامل بیوتیپ مشکوک به مقاومت نسبت به بیوتیپی که حساسیت آن نسبت به علف‌کش مورد نظر محرز است را در دامنه‌ای از دزهای علف‌کش و در یک آزمایش گلخانه‌ای مورد مطالعه قرار داد (4). روساریو و همکاران (29) بیان داشتند که درجات متغیر مقاومت بیوتیپ‌های خردل سفید (*Sinapis alba* L.) به علف‌کش تری‌بنورون متیل با توجه به سابقه کم مصرف این علف‌کش، نشان‌دهنده گسترش سریع سطوح بالای مقاومت به بازدارنده‌های ALS می‌باشد که بایستی در مدیریت کنترل علف‌های-هرز با علف‌کش‌هایی با نحوه عمل متفاوت، جایگزین شوند. زو و همکاران (35) نیز درجات بالایی از مقاومت علف‌هرز خاکشیر اصل (*Descurainia sophia* L.) را به تری‌بنورون متیل تأیید کردند.

سنجش کلاسیک کل بوته نیاز به مقدار زیادی فضا دارد، و برای به دست آوردن نتایج 2 ماه زمان لازم است، همچنین برای آزمایش-هایی در مقیاس بزرگ مناسب نیست. هرچند استفاده از چندین دز، توانایی تشخیص را در جمعیت هایی که اندازه مقاومت آنها متغیر است افزایش می‌دهد، ولی حجم کاری که باید انجام شود، زیاد بوده و

قابل توجیه نیست (39). تلاش‌های زیادی جهت توسعه تکنیک‌های سنجش مقاومت صورت گرفته تا کاربران بتوانند از اطلاعات مربوط به مقاومت جهت تصمیم‌گیری در زمان مناسب برای مدیریت فعلی کنترل علف‌های‌هرز استفاده کنند. اما در حال حاضر، هیچ روش واحدی متناسب با تمام شرایط وجود ندارد، و هر روشی در ابتدا نیاز به آزمایش‌هایی برای انطباق با گونه و علف‌کش مورد نظر دارد. تعداد کمی از این آزمون‌ها تجاری شده‌اند که روش زیست‌سنجی گیاهچه در پتری‌دیش یکی از روش‌های شناخته شده و کارآمد است [کمیته کاری مقاومت به علف‌کش‌ها (HRAC[1])، 12]. نتایج زو و همکاران (35) نشان داد که بیوتیپ‌هایی از علف‌هرز خاکشیر اصل جمع‌آوری شده از مزارعی با سابقه طولانی در استفاده از علف‌کش تری‌بنورون متیل، در آزمون پتری‌دیش مقاوم تشخیص داده شدند و نتایج با شرایط مقاومت مشاهده شده در مزرعه منطبق بود.

تری‌بنورون متیل علف‌کشی انتخابی، سیستمیک، از گروه سولفونیل اوره‌ها است که فرم تجاری آن به صورت گرانستار[2] یا اکسپرس[3] (75% DF) می‌باشد که در ایران برای کنترل علف‌های‌هرز پهن‌برگ در مزارع گندم به میزان 10 تا 20 گرم ماده مؤثره در هکتار، از ابتدا تا انتهای پنجه‌زنی گندم و هنگامی که علف‌های‌هرز کوچک و در زمان رشد سریع می‌باشند، بکار می‌رود (38).

با توجه به مطالب مذکور، تحقیق حاضر با هدف (1) غربال‌گری توده‌های جمع‌آوری شده علف‌های‌هرز خردل وحشی و شلمی با دز توصیه شده علف‌کش تری‌بنورون متیل، (2) تعیین درجه مقاومت توده‌های مقاوم در گلخانه و (3) ارزیابی درجه مقاومت توده‌های حساس و مقاوم و غربال آنها با استفاده از آزمون سریع، شکل گرفت.

مواد و روش‌ها

بررسی‌های مزرعه‌ای جهت ارزیابی مقاومت

در این تحقیق، آزمایش‌ها بر روی بذر توده‌های شلمی و خردل‌وحشی جمع‌آوری شده از مزارع گندم استان گلستان صورت گرفت. بدین منظور بذور چندین توده مشکوک به مقاومت از علف‌های‌هرز خردل وحشی و شلمی در طی سال‌های 1390، 91 و 92 از سطح مزارع گندم شهرستان‌های گرگان، کردکوی، علی‌آباد و آق‌قلا استان گلستان جمع‌آوری شدند. بذور توده‌های مشکوک به مقاومت از مزارعی جمع‌آوری می‌شدند که دارای خصوصیات زیر باشند:

الف- حداقل 4 تا 5 سال سابقه مصرف علف‌کش تری‌بنورون‌متیل در آن‌ها وجود داشته باشد. ب- کشاورز از کارایی این علف‌کش در مزارع گندم رضایت نداشته باشد. ج- پس از مصرف علف‌کش هنوز هم مزرعه به این گونه‌های‌هرز آلوده باشد.

قبل از جمع‌آوری بذور نیز در مورد صحت سمپاشی و عوامل مؤثر در الگوی سمپاشی اطمینان حاصل شده و در نظر گرفته می‌شد که حضور علف‌های‌هرز در مزرعه به عواملی غیر از مدیریت سمپاشی مربوط باشد. بذور توده‌های حساس به علف‌کش مربوط به این دو گونه نیز از مناطقی جمع‌آوری شدند که تاکنون سابقه مبارزه شیمیایی با این علف‌های‌هرز را نداشته باشند. با توجه به ماهیت روغنی بذرها، تا شروع آزمایش‌ها توده‌های بذری در یخچال با دمای 8 درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند (29).

آزمایش غربال اولیه

به منظور غربال اولیه توده‌های مقاوم، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه انجام شد. در ابتدا جهت از بین بردن خواب، بذرها در اسید جیبرلیک 2000 پی‌پی‌ام به مدت یک شبانه‌روز غوطه‌ور شده و سپس به مدت 24 ساعت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از این مدت به دمای اتاق منتقل شدند (20). تعداد 5 عدد بذر جوانه‌دار از هر توده در گلدان‌هایی با اندازه مناسب کشت شدند. 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 درصد نسبت به شاهد سمپاشی نشده مورد ارزیابی قرار گیرند.

در مرحله 3 تا 4 برگی، سمپاشی علف‌کش تری‌بنورون متیل با دز توصیه شده (15 گرم ماده موثره در هکتار) و با دستگاه سمپاش استاندارد مجهز به نازل تی جت 8001 که در فشار 2 بار و برای میزان پاشش250 لیتر محلول سم در هکتار کالیبره شده بود، انجام شد. چهار هفته پس از سمپاشی تعداد گیاهان زنده در هر گلدان یادداشت شده و به صورت درصد از تعداد گیاهان قبل از سمپاشی محاسبه گردید. بدین ترتیب میزان تأثیر علف‌کش بر تعداد و شکل ظاهری علف‌هرز با روش استاندارد نمره‌دهی 1 تا 9 (EWRC[4]) از لحاظ کنترل علف‌های‌هرز چهار هفته بعد از سمپاشی نیز ارزیابی گردید (8). وزن خشک بوته‌های باقیمانده، پس از قرار دادن بوته‌ها به مدت 48 ساعت در آون با دمای 80 درجه سانتی‌گراد توزین شده و بر حسب درصد به وزن خشک بوته‌های شاهد سمپاشی نشده محاسبه شد.

تعیین درجه مقاومت

برای یافتن درجه مقاومت علف‌های‌هرز، بهترین روش استفاده از آزمایش‌های دز- پاسخ[5] می‌باشد که با استفاده از آن می‌توان، مستقل از نوع مکانیسم، درجه مقاومت را بدست آورد؛ سایر روش‌های

1- Herbicide resistance action committee
2- Granstar
3- Express

4- European weed research council
5- Dose response assays

آزمایشگاهی بسته به مکانیزم عمل مقاومت، می‌توانند بازتاب درجه مقاومت باشند. از بین روش‌های موجود برای تعیین سطح مقاومت توده‌های مقاوم، روش سنجش پاسخ کل گیاه به دزهای مختلف علف‌کش تری‌بنورون متیل و زیست‌سنجی گیاهچه در پتری‌دیش، مورد استفاده قرار گرفت (9).

زیست‌سنجی پاسخ گیاه کامل

توده‌هایی که در برابر دز توصیه شده علف‌کش مقاومت نشان دادند و 50 درصد بقاء و 80 درصد وزن خشک خود را نسبت به شاهد سمپاشی نشده حفظ کردند، انتخاب و به منظور بررسی درجه مقاومت این توده‌ها، آزمایش زیست‌سنجی واکنش به دز گیاه کامل، برای هر توده به صورت جداگانه انجام شد. به منظور یکنواختی در سبز شدن گیاهچه‌ها و به حداقل رساندن تغییرات ناشی از عدم همزمانی در جوانه‌زنی، ابتدا خواب بذرها با روش توضیح داده شده در قبل، شکسته شد و پس از آن تعداد 5 بذر پیش جوانه‌دار شده به گلدان‌هایی با اندازه مناسب منتقل شد. هر گلدان به منزله یک تکرار بوده و برای هر دز سه تکرار در نظر گرفته شد. با توجه به گونه علف‌هرز، در مرحله رشدی سه تا چهار برگی با دستگاه سمپاش استاندارد و با دزهای بالاتر و پایین‌تر از دز توصیه شده سمپاشی انجام گرفت. غلظت‌های در نظر گرفته شده 0، 0/25، 0/5، 1، 2، 4، 8، 16 و 32 برابر دز توصیه شده یا به عبارتی 0، 3/75، 7/5، 15، 30، 60، 120، 240 و 480 گرم ماده مؤثره تری‌بنورون متیل در هکتار بود (20). پس از طی مدت 4 هفته، تعداد گیاهان زنده باقیمانده یادداشت شده و وزن خشک اندام‌های هوایی بوته به صورت درصد نسبت به شاهد بیان شد.

روش زیست‌سنجی گیاهچه در پتری‌دیش

این روش بیشتر برای تشخیص مقاومت به بازدارنده‌های آنزیم استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز و گلایفوسیت توسعه یافته است (14، 36، 22 و 33). آزمون سریع تشخیص مقاومت در مورد بازدارنده‌های ALS توسط اینکوک و همکاران (15) بر روی علف‌هرز *Monochoria vaginalis* (L.) و در مورد علف‌کش‌های گروه دی-نیتروآنیلین بر روی علف‌هرز ارزنی سبز (*Setaria viridis* L.) توسط بکی و همکاران (2) انجام گرفت. از آنجا که این روش آزمایشگاهی در اکثر موارد بر روی علف‌های‌هرز باریک برگ انجام شده است، بنابراین بهینه‌سازی این روش برای پهن‌برگ‌ها ارزشمند خواهد بود.

دز تفکیک‌کننده، غلظتی از سم مورد نظر می‌باشد که بیشترین اختلاف عمودی را بین منحنی‌های دز- پاسخ مربوط به توده‌های مقاوم و حساس ایجاد می‌کند و حداقل باعث 80 درصد بازدارندگی در رشد توده حساس می‌شود (3). غلظت‌های مورد استفاده علف‌کش تری‌بنورون‌متیل 0، 2، 5، 31، 78، 195، 488 و 1220 میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر بود (35). ابتدا شکستن خواب بذرها مانند روش قبل انجام و سپس بذور در ژرمیناتور با دمای 20 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. زمانی که طول ریشه‌چه به حدود کمتر از یک میلی‌متر رسید بذرها به صورت پنجاه‌تایی در پتری‌دیش‌ها قرار داده شدند. دزهای مختلف علف‌کش با استفاده از ماده تکنیکال و ماده تجاری علف‌کش تهیه شدند. دو سری آزمایش طراحی شد که در یک سری از علف-کش تجاری و در سری دیگر از ماده تکنیکال علف‌کش جهت تیمار بذرها استفاده گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد که هر پتری‌دیش به منزله یک تکرار محسوب می-گردید. سپس بذرها تحت تیمار با دزهای مختلف علف‌کش قرار گرفتند. طول ریشه‌چه و ساقه‌چه هفت روز بعد از اعمال تیمار علف-کش تعیین و به صورت درصد از شاهد برای هر توده محاسبه شد.

محاسبات آماری

پاسخ‌ها بسته به متغیر مورد ارزیابی (وزن خشک اندام‌های هوایی، یا طول ریشه‌چه) متفاوت هستند. هر کدام از این پاسخ ها می‌توانند به منظور برآورد سطح مقاومت یا مقدار علف‌کشی که باعث کاهش رشد به یک سطح خاص و یا کنترل کامل می‌شود، مورد استفاده قرار گیرند. جهت برآورد دزی از علف‌کش که موجب کاهش رشد گیاه تا 50٪ ($^1EC_{50}/GR_{50}$) در مقایسه با شاهد می‌گردد، از طریق برازش مدل رگرسیونی غیرخطی لگ لجستیک چهار پارامتره (تابع 1) به داده‌های وزن خشک و طول ریشه‌چه هر توده و با استفاده از نرم افزار R و بسته نرم افزاری drc انجام گردید (28). مقادیر GR_{50} در هر دو توده مقاوم (R) و حساس (S) برای محاسبه شاخص مقاومت ($GR_{50}R / GR_{50}S$) ^{2}(RF) مورد استفاده قرار گرفت.

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

که در این تابع: y وزن خشک بخش هوایی یا طول ریشه‌چه به صورت درصد از تیمار شاهد، c و d ضرایب مربوط به حد پایین و بالا، x میزان دز علف‌کش، e میزان دز مؤثر برای حصول 50 درصد پاسخ مشاهده شده بین حد پایین و بالا و b شیب خط در نقطه e می‌باشد. در صورتی‌که از لحاظ آماری مقدار حد پایین منحنی با صفر تفاوت معنی‌داری نداشته باشد، c برابر با صفر در نظر گرفته شده و از تابع 1 حذف و در حالت جدید، تابع سه پارامتره (تابع 2) به داده‌های مربوطه برازش داده می‌شود تا برآورد دقیق‌تری از سایر پارامترها به‌دست آید.

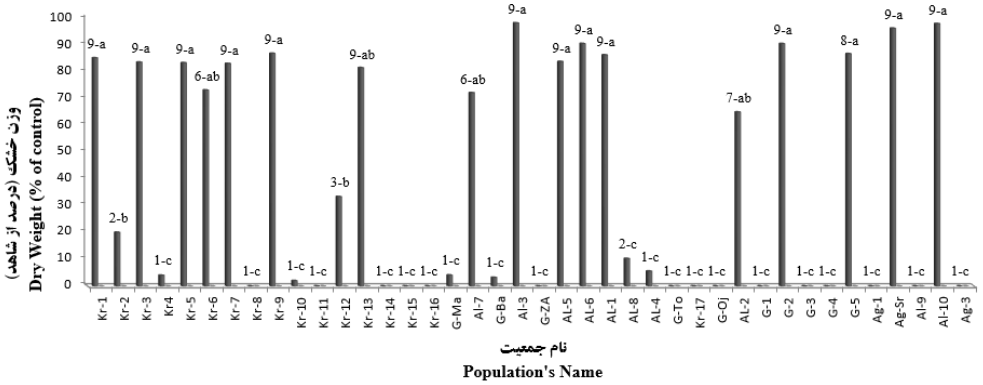
1- Effective concentration or growth rate
2- Resistance factor

$$y = \frac{d - c}{1 + (exp\{b(\log(x) - \log(e))\}} \quad (2)$$

نتایج و بحث

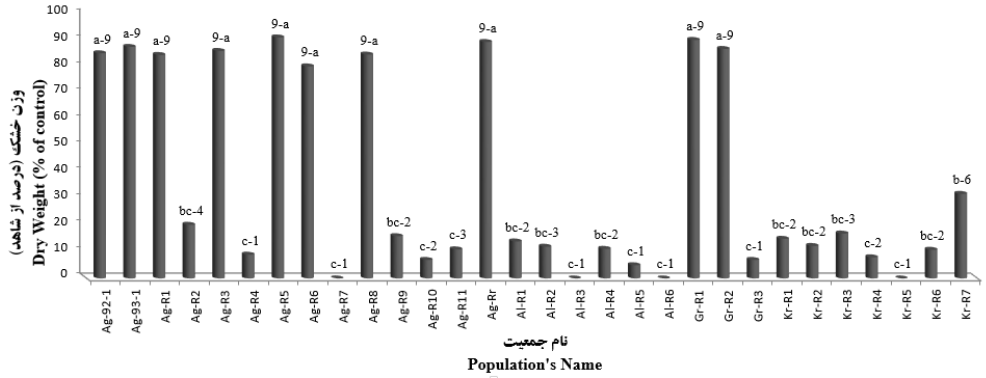
آزمون غربال اولیه

پاسخ سی توده جمع‌آوری شده شلمی و چهل توده خردل وحشی نسبت به دز تفکیک کننده یا توصیه شده تری‌بنورون متیل به منظور تعیین اثر علف‌کش بر وزن خشک و درجه زنده‌مانی آنها بررسی شد. تفاوت‌های معنی‌داری در میزان وزن خشک و تعداد بوته‌های زنده در بین توده‌ها وجود داشت. نمره‌دهی به روش EWRC نیز به خوبی تحت تأثیر قرار گرفتن جمعیت‌های حساس را بعد از تیمار با دز توصیه شده علف‌کش نشان می‌دهد (شکل 1 و 2). در دز توصیه شده، وزن خشک اندام‌های هوایی و تعداد بوته در همه جمعیت‌ها 0 تا 100٪ (نسبت به شاهد کنترل) بود. همانطور که انتظار می‌رفت، دز توصیه شده علف‌کش تری‌بنورون متیل باعث از بین رفتن کامل جمعیت‌های حساس شد، اما جوامع مقاوم آسیب کمتری دیده که قابل برگشت بود. کاهش نسبی زیست توده با توجه به شاهد کمتر از 20٪ برای 14 توده خردل وحشی و 10 توده شلمی بود که به عنوان توده‌های مقاوم به علف‌کش تری‌بنورون متیل شناخته شدند.



شکل 1- تأثیر دز توصیه شده تری‌بنورون متیل (15 گرم ماده موثره در هکتار) بر وزن خشک توده‌های مختلف خردل وحشی (حروف کوچک و اعداد بالای هر ستون به ترتیب نشان‌دهنده وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین جمعیت‌های تیمار شده با شاهد تیمار نشده بر اساس آزمون LSD (α=0.05) و نمره‌دهی ظاهری بر اساس روش EWRC می‌باشد

Figure 1- Effect of tribenuron-methyl at 15 g a.i ha^{-1} on dry weight of *Sinapis arvensis* population (lowercase letters and numbers above each bar indicate significant differences between untreated and treated plants in each population according to a LSD test (α= 0.05) and visual assessment or EWRC score, respectively)



شکل 2- تأثیر دز توصیه شده تری‌بنورون متیل (15 گرم ماده موثره در هکتار) بر وزن خشک توده‌های مختلف شلمی (حروف کوچک و اعداد بالای هر ستون به ترتیب نشان‌دهنده وجود یا عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین جمعیت‌های تیمار شده با شاهد تیمار نشده بر اساس آزمون LSD (α=0.05) و نمره-دهی ظاهری بر اساس روش EWRC می‌باشد

Figure 2- Effect of tribenuron-methyl at 15 g a.i ha^{-1} on dry weight of *Rapistrum rugosum* population (lowercase letters and numbers above each bar indicate significant differences between untreated and treated plants in each population according to a LSD test (α= 0.05) and visual assessment or EWRC score, respectively)

منحنی دز- پاسخ گیاه کامل

با توجه به آزمون غربال اولیه، 10 توده مقاوم از شلمی و 14 تـوده مقاوم از خردل وحشی برای بررسی پاسخ توده‌های مقاوم به غلظـت-های مختلف علف‌کش انتخاب شدند. داده‌های حاصل از وزن خشـک توده‌های حساس و مقاوم به خوبی با مدل رگرسیونی لگ- لجسـتیک برازش داده شد. دز مؤثری کـه باعـث 50% کـاهش در وزن خشـک اندام‌های هوایی در جمعیت حساس می‌شود، به ترتیـب بـرای خـردل وحشی و شلمی 9/93 و 10/90 گرم ماده مؤثره در هکتار برآورد شـد. در حالی‌که این مقدار برای توده‌های مقاوم خردل وحشی از 22/14 تا 166/55 و برای شلمی از 27/25 تا 71/79 گرم ماده مؤثره در هکتـار بود. به عبارتی جهت کاهش رشد اندام‌های هوایی تا 50 درصـد بایـد غلظت علف‌کش را برای جمعیت‌های مقاوم خردل وحشی 2/2 تـا 17 برابر و برای شـلمی 2/5 تـا 6/6 برابـر دز توصـیه شـده افـزایش داد (جداول 1 و 2). به دلیل زیاد بودن تعداد جمعیت‌هـای مـورد بررسـی، روند پاسخ به افزایش غلظت علف‌کش تنهـا بـرای تـوده‌هـای دارای حداکثر و حداقل درجه مقاومت نسـبت بـه شـاهد، آورده شـده اسـت (شکل‌های 3 و 4) زیرا منحنی سایر توده‌ها در بین این دو نمودار قرار خواهند گرفت. اطلاعات مربوط به پارامترهای منحنی و درجه مقاومت سایر توده‌های مقاوم در جداول 1 و 2 گزارش شده است.

زیست‌سنجی گیاهچه در پتری‌دیش

روش ارزیابی توده‌های مقاوم با استفاده از زیسـت‌سـنجی بـذر در پتری‌دیش به خوبی در خصوص این دو گونه علف‌هرز بـه‌کـار گرفتـه شد. نتایج به دست آمده از تیمار بذور با فرم تجاری علـف‌کـش قابـل تحلیل نبود و همچنین اندازه‌گیری طول ساقه‌چـه نیـز بیـانگر تفـاوت معنی‌داری بین توده‌های حساس و مقاوم در هر دو سری تیمار با فـرم تجاری و تکنیکال نبود (داده‌هـا نشـان داده نشـده اسـت). امـا طـول ریشه‌چه در جمعیت‌های تیمار شده با ماده تکنیکال تحت تـأثیر قـرار گرفت. پاسخ توده‌ها به افزایش غلظت علف‌کش کاملاً متفاوت از توده حساس بود و به خوبی از روند سیگموئیدی و توابع لگ- لجستیک در پاسخ به افزایش غلظت علف‌کش تری‌بنورون متیل تبعیت می‌کرد. در علف‌هرز شلمی، تری‌بنورون متیل در غلظت 8/36 میلی‌گـرم در لیتـر باعث بازدارندگی 50 درصدی طول ریشه‌چه نسـبت بـه شـاهد تیمـار شده با آب مقطر شد در حالی‌که این غلظت برای سایر تـوده‌هـا بـین 23/99 تا 80/19 میلی‌گرم در لیتر بود. به عبارتی، غلظت علـف‌کـش مورد نیاز برای بازدارندگی رشد ریشه‌چه تا 50 درصد شـاهد 2/86 تـا 9/56 برابر بیشتر از جمعیت حساس مـی‌باشـد (جـدول 1). $Ag\text{-}R_5$ و $Ag\text{-}R_8$ به ترتیب دارای بیشـترین و کمتـرین درجـه مقاومـت بودنـد (شکل 4).

در مورد خردل وحشی نیز Al-3 و G-2 با داشتن سطح مقاومـت 17/47 و 2/30 برابری توده حساس به عنوان جمعیت‌های مقاومی بـا بیشترین و کمترین درجه مقاومت شناخته شدند (جدول 2 و شـکل 4) که در نتایج زیست‌سنجی کل بوته در شـرایط گلخانـه‌ای نیـز نتیجـه مشابهی به دست آمد. غنی‌زاده و همکاران (8) نشان دادند کـه طـول هیپوکوتیل و ریشه‌چه گیاهچه‌های سلمه (*Chenopodium album* L.) با افزایش غلظت علف‌کش دیکامبا کاهش می‌یابد. نتایج مشابهی برای خردل وحشی و کلزا (*Brassica napus*) زمانی که با محلـول-های مختلف علف‌کش‌های اکسینی تیمار می‌شوند به دست آمد (24 و 34).

بطور کلی درجه مقاومت به دست آمده از نتایج زیست‌سنجی بـذر در آزمایشگاه نسبت به شرایط گلخانه، برای تمامی توده‌ها بالاتر بـود، ولی نتایج به دست آمده از لحاظ روند کلی تا حد زیـادی مشـابه مـی باشد. بورک و همکـاران (5) گـزارش دادنـد کـه سـطح مقاومـت بـه کلتودیم و فلوآزیفـوپ در قیـاق (*Sorghum halepense*) در آزمـون پتری¬دیش بیش از آزمایش‌های دز- پاسخ گلدانی در گلخانه بود. بـا وجود بالا برآورد کردن درجه مقاومت، میتوان آزمون پتـری¬دیـش را روشی مناسب برای جداسازی جمعیت‌های مقـاوم و حسـاس دانسـت (3).

اگرچه آزمایش‌های گلخانه‌ای به زمان و مکان بیشتری نیاز دارنـد ولی از آنجایی که شبیه‌سازی بهتری از شرایط مزرعه می‌باشند، نتـایج به دست آمده قابل اعتمادتر و حساس‌تر بـه تغییـرات درجـه مقاومـت می‌باشد. از طرفی، زیست‌سنجی گیاهچه در پتری‌دیش نسبت به سایر روش‌های برآورد درجه مقاومت (زیست‌سـنجی کـل بوتـه و سـنجش فعالیت آنزیم هدف) از مزایای بیشتری برخوردار است. چرا که در زمان کمی انجام می‌شـود، نیـاز بـه نیـروی انسـانی و فضـای کمـی دارد و خصوصاً نسبت به آزمایش‌های آنزیمی، کم هزینه‌تر می‌باشد (9).

از این تحقیق مشخص شد که زیست‌سنجی گیاهچه می‌تواند بـه عنوان یک روش عملی برای تشـخیص جمعیـت‌هـای مقـاوم خـردل وحشی و شلمی توسعه یابـد. بـا ایـن حـال، گـام مهـم در ایـن روش یکسان بودن جوانه‌زنی بـذر اسـت (18). در حـال حاضـر، روش‌هـای زیادی برای شکستن خواب ذاتی بذر وجـود دارد، از جملـه تیمارهـای سرمادهی، مکانیکی، شیمیایی با نیترات پتاسـیم و اسـید جیبرلیـک و غیره (13 و 32). نکته مهم دیگر استفاده از ماده تکنیکال علـف‌کـش برای تیمار بذور بود. همانطور که قبلاً هم اشاره شد، استفاده از علف-کش تجاری نتایج قابل قبولی ارائه نداد که شاید به دلیل وجود برخـی از مواد افزودنی در فرم تجاری علف‌کش می‌باشد.

علاوه بر این، بایستی صحت این آزمون برای سایر علف‌کش‌های بازدارنده ALS هم برآورد شود تا بتوان در مدت زمان کمی وجـود یـا

عدم وجود مقاومت عرضی را در بذور مشکوک به مقاومت جمع‌آوری شده از مزارع تعیین کرد. در صورت موفقیت آمیز بودن این روش و قابل اعتماد بودن آن، می‌تواند جایگزین آزمایش‌های گلخانه‌ای گردد و در ابتدا از این آزمون برای تفکیک توده‌های حساس و مقاوم استفاده کرد و در صورت نیاز برای اطمینان بیشتر آزمایش‌های گلخانه‌ای را انجام داد (37).

همچنین از این روش می‌توان برای پیدا کردن علف‌کش مناسب جهت کنترل توده‌های مقاوم استفاده کرد. البته ابتدا باید کاربردی بودن روش زیست‌سنجی گیاهچه در پتری دیش برای علف‌هرز مورد نظر و علف‌کش‌های مختلف اثبات شود.

همبستگی بین درجات مقاومت حاصل از سنجش‌های گلخانه‌ای و آزمایشگاهی

همانگونه که مشاهده می‌شود، درجات مقاومت بر اساس وزن خشک همبستگی بالائی با آزمایش‌های پتری‌دیش دارند و این همبستگی برای خردل وحشی بیش از شلمی می‌باشد (شکل 5). ماری و همکاران (19) همبستگی خوبی را بین نتایج آزمایش‌های گلدانی و پتری‌دیش گزارش کردند. تال و همکاران (33) بین نتایج به دست آمده از زیست‌سنجی گلدانی و سنجش آنزیم همبستگی نزدیکی را پیدا کردند. در کل دانشمندان زیادی آزمون زیست‌سنجی بذر را به عنوان روشی مطمئن، سریع و ارزان به منظور شناسائی بیوتیپ‌های مقاوم علف‌های‌هرز و تشخیص وجود مقاومت عرضی به ویژه در گیاهان هرز باریک برگ به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase و گلایفوسیت عنوان کرده‌اند (1، 4، 7 و 23). اگر چه روش زیست-سنجی بذر نمی‌تواند مانند زیست‌سنجی گلدانی، یک روش دقیق باشد، ولیکن برای غربال تعداد زیادی نمونه، آزمونی سریع و ارزان می‌باشد (3).

جدول 1- پارامترهای برآورد شده از برازش توابع لجستیک سه و چهار پارامتره در آزمون دز- پاسخ توده‌های شلمی در زیست‌سنجی گیاه کامل در گلخانه و گیاهچه در پتری‌دیش با علف‌کش تری‌بنورون متیل

Table 1- Estimated 3 and 4 logistic regression parameters for *R. rugosum* populations in response to tribenuron methyl dose-response experiments, based on the shoot biomass in the green house and root length in the petri dish experiments

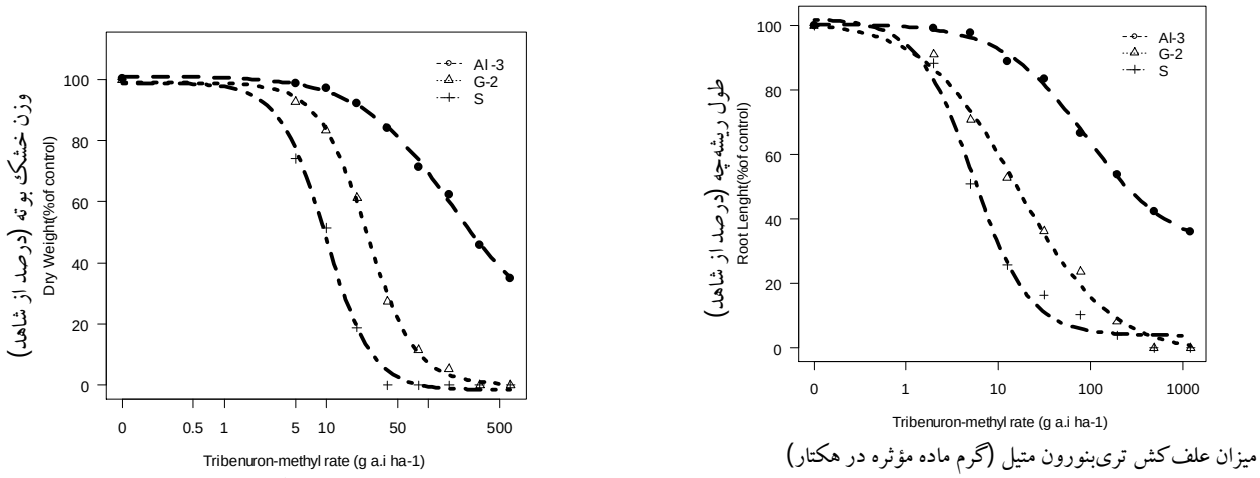
نام جمعیت Name of Population	حد پایین Lower Limit		حد بالا Upper Limit		شیب Slop		EC_{50}/GR_{50}		RF	
	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bio Assay	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bio Assay	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bio Assay	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bio Assay	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bio Assay
Ag-R5	15.58 ± 2.77	0	99.89 ± 2.87	94.27 ± 1.94	0.67 ± 0.10	0.69 ± 0.07	71.79 ± 3.83	80.19 ± 3.77	6.59	9.56
Gr-R1	9.59 ±1.40	0	98.51 ± 3.46	97.33 ± 2.63	0.8 ± 0.13	0.73 ± 0.06	52.91 ± 2.19	75.69 ± 3.60	4.85	9.05
Ag-92-1	11.95 ± 2.22	7.67 ± 1.98	93.33 ± 5.62	92.76 ± 2.64	0.85 ± 0.21	0.76 ± 0.05	49.99 ± 3.56	55.36 ± 3.09	4.59	6.62
Gr-R2	0	0	100.47 ± 7.62	104.83 ± 3.80	0.79 ± 0.11	1.00 ± 0.18	45.15 ± 5.60	54.01 ± 2.75	4.14	6.46
Ag-93-1	12.02 ± 1.65	0	102.49 ± 4.53	100.53 ± 2.63	0.70 ± 0.06	0.87 ± 0.04	44.96 ± 8.76	36.48 ± 4.65	4.12	4.36
Ag-R6	13.17 ± 1.15	0	98.14 ± 3.19	101.17 ± 3.75	0.91 ± 0.10	0.95 ± 0.07	35.51 ± 3.98	39.87 ± 2.62	3.26	4.77
Ag-Rr	10.53 ± 2.04	4.97 ± 1.18	101.56 ± 2.94	103.00 ± 4.64	0.94 ± 0.19	1.14 ± 0.18	30.17 ± 4.55	32.50 ± 3.64	2.77	3.88
Ag-R3	10.84 ± 2.65	0	100.67 ± 5.18	94.25 ± 4.76	0.96 ± 0.07	1.15 ± 0.15	28.08 ± 1.34	30.38 ± 4.09	2.58	4.71
Ag-R1	0	0	101.33 ± 2.62	98.87 ± 6.86	0.95 ± 0.13	0.88 ± 0.08	27.78 ± 3.67	27.75 ± 5.64	2.55	3.32
Ag-R8	11.79 ± 3.06	0	96.48 ± 1.63	98.24 ± 1.27	1.2 ± 0.20	0.96 ± 0.05	27.25 ± 2.58	23.99 ± 2.63	2.50	2.86
حساس S	0	0	97.42 ± 3.65	102.20 ± 3.54	1.40 ± 0.17	1.02 ± 0.16	10.90 ± 1.47	8.36 ± 1.08	-	-

جدول 2- پارامترهای برآورد شده از برازش توابع لجستیک سه و چهار پارامتره در آزمون دز- پاسخ توده‌های خردل وحشی در زیست‌سنجی گیاه کامل در گلخانه و گیاهچه در پتری‌دیش با علف‌کش تری‌بنورون متیل

Table 2- Estimated 3 and 4 logistic regression parameters for *S. arvensis* populations in response to tribenuron methyl dose-response experiments, based on the shoot biomass and root length in the green house and root length in the petri dish experiments

نام جمعیت Name of Population	حد پایین Lower Limit		حد بالا Upper Limit		شیب Slop		EC_{50}/GR_{50}		RF	
	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bio Assay	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bio Assay	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bio Assay	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bio Assay	زیست سنجی کل گیاه Whole Plant Assay	زیست سنجی بذر Seed Bio Assay
AL-3	20.07 ± 7.16	7.92 ± 1.64	101.42 ± 2.94	100.61 ± 2.76	0.70 ± 0.11	0.60 ± 0.13	166.55 ± 39.57	155.62 ± 23.35	16.77	17.47
Kr-9	0	0	100.55 ± 2.17	101.64 ± 4.80	0.60 ± 0.26	0.62 ±0.08	126.21 ± 12.41	126.21 ± 30.98	12.71	14.40
Kr-5	8.06 ± 2.09	0	105.48 ± 2.29	105.41 ± 3.78	0.85 ± 0.16	0.85 ±0.14	83.44 ± 2.57	83.44 ± 13.44	8.40	9.41
G-5	10.85 ± 1.23	8.14 ± 1.15	102.31 ± 2.36	102.35 ± 3.81	0.91 ± 0.14	0.93 ±0.18	72.75 ± 2.35	100.79 ± 16.53	7.32	11.31
Kr-7	9.41 ± 1.83	0	102.46 ± 2.44	104.15 ± 4.29	0.90 ± 0.15	0.75 ±0.17	63.70 ± 3.37	40.71 ± 3.64	6.41	4.57
Ag-Sr	17.13 ± 5.66	29.49 ± 3.66	102.81 ± 2.22	101.45 ± 4.55	1.40 ± 0.13	0.70 ±0.27	51.60 ± 1.24	41.48 ± 2.93	5.20	4.65
Kr-3	0	16.04 ± 3.01	98.55 ± 2.35	102.46 ± 3.10	0.81 ± 0.15	0.97 ±0.08	51.17 ± 6.70	33.76 ± 9.32	5.15	3.80
AL-1	8.37 ± 4.62	25.41 ± 3.04	100.80 ± 2.32	100.80 ± 2.64	0.95 ± 0.27	0.97 ±0.19	28.54 ± 9.74	45.53 ± 2.49	2.87	5.11
Kr-1	13.41 ± 3.54	13.41 ± 4.11	101.70 ± 2.17	101.67 ± 3.34	0.87 ± 0.08	0.87 ±0.21	26.94 ± 1.73	49.88 ± 5.68	2.71	5.60
AL-10	27.69 ± 3.60	26.70 ± 5.17	102.44 ± 2.08	103.76 ± 2.85	1.03 ± 0.22	0.94 ±0.27	25.01 ± 10.99	30.50 ± 2.04	2.52	3.42
AL-5	7.53 ± 1.81	24.15 ± 3.15	101.83 ± 2.20	1.0.82 ± 2.46	1.20 ± 0.12	1.4 ±0.26	23.89 ± 4.76	24.69 ± 7.87	2.41	2.78
AL-6	11.47 ± 5.71	27.68 ± 4.62	102.72 ± 2.37	101.18 ± 2.19	1.22 ± 0.09	1.03 ±0.18	22.40 ± 3.92	25.09 ± 2.03	2.25	2.81
Kr-13	10.35 ± 7.05	28.70 ± 9.22	100.30 ± 2.20	101.84 ± 3.82	1.50 ± 0.16	1.27 ±0.20	22.36 ± 1.57	23.89 ± 1.14	2.24	2.68
G-2	0	32.77 ±11.15	102.74 ± 2.34	102.76 ± 2.73	1.05 ± 0.08	1.27 ±0.12	22.14 ± 7.99	22.19 ± 2.42	2.22	2.30
حساس S	0	0	99.61 ± 2.10	98.14 ± 1.67	1.18 ± 0.16	1.82 ±0.23	9.93 ± 2.35	8.90 ± 1.14	-	-

پارامترهای مربوط به توابع سیگموئیدی در جداول 1 و 2 آورده شده است. عدم صفر شدن حد پایین در توده‌ها نشان می‌دهد که حتی در دزهای بالاتر از دز توصیه شده هم توده‌های مذکور زنده مانده و حداقلی از زیست توده را تولید می‌کنند. شاخص درجه مقاومت در تمامی توده‌های مورد مطالعه بیشتر از یک بوده که نشان‌دهنده معنی-دار بودن مقاومت از نظر آماری می‌باشد. شیب منحنی در نقطه EC_{50} یا RG_{50} بیانگر میزان حساسیت توده‌های مورد بررسی می‌باشد. همانگونه که در شکل‌ها دیده می‌شود، سرعت نزول منحنی در توده-ای با درجه مقاومت بالا (Al-3, Ag-R5) کمتر و در توده‌ای با کمترین درجه مقاومت (G-2, Ag-R8) و شاهد بیشتر از سایر توده-ها می‌باشد. به عبارتی هرچه درجه مقاومت بالاتر باشد پاسخ کاهش رشد ریشه‌چه و یا وزن خشک به افزایش دز علف‌کش با سرعت کمتری نسبت به بقیه صورت می‌گیرد.

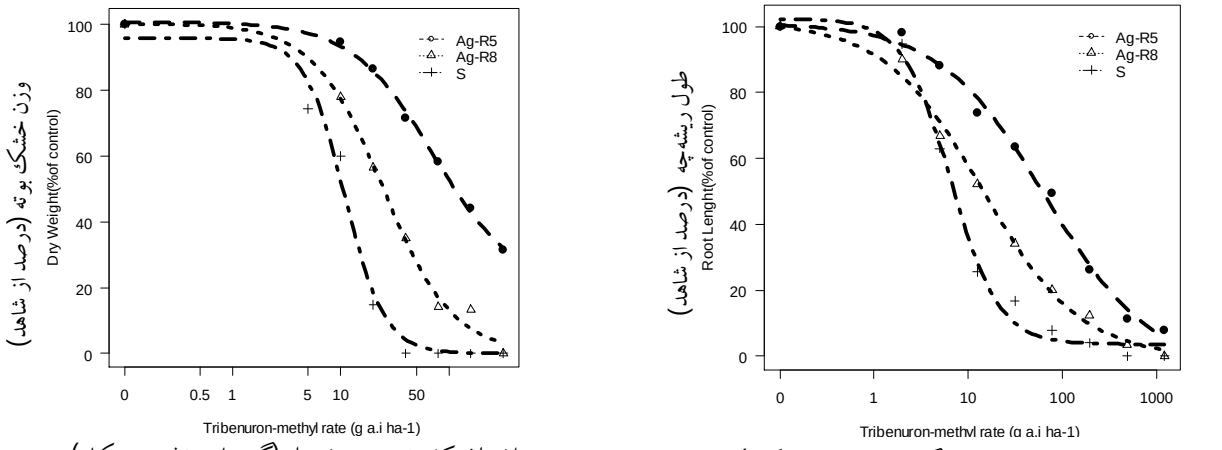


الف میزان علف کش تری‌بنورون متیل (گرم ماده مؤثره در هکتار)

ب میزان علف‌کش تری‌بنورون متیل (گرم ماده مؤثره در هکتار)

شکل 3- روند پاسخ وزن خشک (الف) و طول ریشه‌چه (ب) جمعیت‌های خردل وحشی به افزایش غلظت علف‌کش تری‌بنورون متیل

Figure 3- Response of shoot dry weight (a) and root length (b) of susceptible and resistant populations of *S. arvensis* to different doses of tribenuron methyl

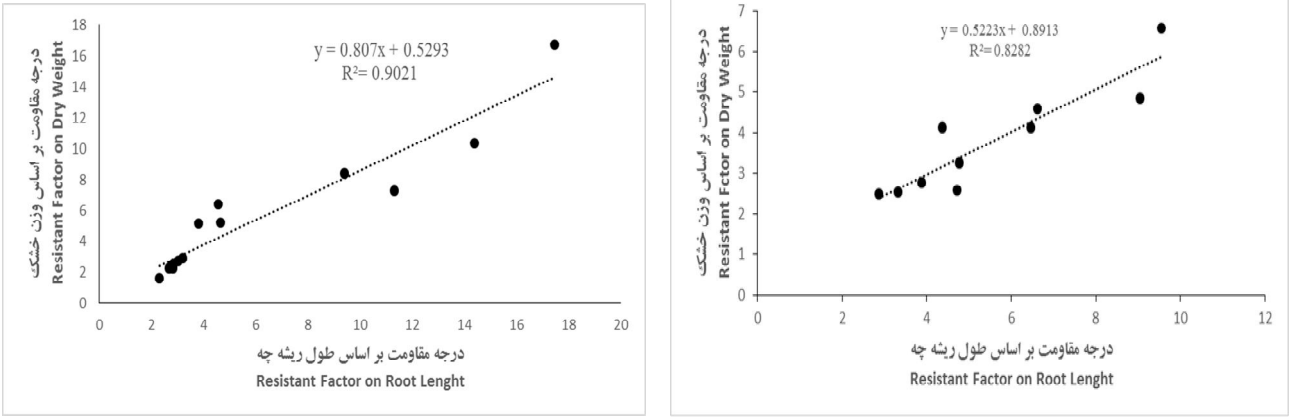


الف میزان علف‌کش تری‌بنورون متیل (گرم ماده مؤثره در هکتار)

ب میزان علف کش تری بنورون متیل (گرم ماده مؤثره در هکتار)

شکل 4- روند پاسخ وزن خشک (الف) و طول ریشه‌چه (ب) جمعیت‌های شلمی به افزایش غلظت علف‌کش تری‌بنورون متیل

Figure 4- Response of shoot dry weight (a) and root length (b) of susceptible and resistant populations of *R. rugosum* to different doses of tribenuron methyl



ب الف

شکل 5- ضریب همبستگی پیرسون بین درجات مقاومت حاصل از آزمایش‌های گلدانی و پتری‌دیش الف: خردل وحشی و ب: شلمی

Figure 5- Pearson's correlation coefficient between resistance factors based on pot and petri dish assays (a) *S. arvensis*, (b) *R. rugosum*

علف‌های‌هرز در مزرعه از لحاظ اندازه و فرم رشد مشابه گیاهچه-های رشد کرده در شرایط آزمایش‌های گلخانه‌ای می‌باشند، بنابراین احتمالاً سطح مقاومت به دست آمده از آزمایش‌های گلخانه‌ای مشابهت بیشتری با شرایط طبیعی و مزرعه دارد (4).

هرچند آزمون پتری‌دیش می‌تواند روشی سریع و قابل اعتماد برای تشخیص مقاومت باشد، اما معمولاً سطوح مقاومت را بیش از حد برآورد می‌کند که این موضوع توسط سایر محققان نیز تأیید شده است (8، 25، 26).

از آنجایی‌که اطلاعات دقیقی در مورد تاریخچه مصرف علف‌کش-ها در سال‌های گذشته و میزان پراکنش علف‌های‌هرز مقاوم در سطح کشور در دسترس نیست، بنابراین چنین روش‌هایی جهت به دست آوردن اطلاعات برای مدیریت مشکل مقاومت، مفید می‌باشند و می‌توان در مدت زمان کمی با استفاده از آزمون‌های سریع به چنین اطلاعاتی دست یافت. بر اساس اطلاعات موجود، این تحقیق اولین گزارش ارائه شده از ارزیابی مقاومت به تری‌بنورون متیل با استفاده از آزمون سریع برای علف‌های‌هرز خردل وحشی و شلمی می‌باشد.

بر اساس نتایج به دست آمده، می‌توان اظهار داشت که با ادامه روش‌های جاری در مدیریت علف‌های‌هرز، مقاومت به علف‌کش‌های بازدارنده آنزیم استولاکتات سنتاز (ALS) در جمعیت‌های مورد نمونه-برداری قرارگرفته از برخی مناطق استان گلستان در حال تکوین، ازدیاد و گسترش است. زیرا گندم از محصولات عمده این مناطق بوده است و این اراضی بطور مداوم مورد کشت گندم واقع شده و تنها روشی که برای مبارزه با علف‌های‌هرز در این مزارع استفاده می‌شده، کاربرد علف‌کش‌ها بوده است. از طرفی، علف‌کش‌های بازدارنده ALS جزء علف‌کش‌های پرخطر طبقه‌بندی می‌شوند و استفاده مکرر و متناوب از آنها باعث بروز پدیده مقاومت بعد از 4 تا 5 سال می‌گردد، اما ناآگاهی کشاورزان از این پدیده باعث شده است که دلیل حضور تعدادی از علف‌های‌هرز در مزرعه پس از سمپاشی را کاهش کارایی علف‌کش دانسته و در اولین واکنش اقدام به افزایش مصرف علف‌کش در واحد سطح کنند که به نوبه خود خطرات زیست محیطی ناشی از افزایش میزان مصرف یا دفعات مصرف علف‌کش، استفاده از چندین نوع علف‌کش برای کنترل علف‌های‌هرز و همچنین خسارت به گیاه زراعی را در پی خواهد داشت. علاوه بر این عواقب زیست محیطی، وقوع پدیده مقاومت تبعات اکولوژیکی از قبیل تغییر در فلور گیاهی منطقه و امکان جریان ژن[1] مقاومت به خویشاوندان نزدیک را نیز در بر خواهد داشت. از این رو آموزش کشاورزان و دست‌اندرکاران بخش کشاورزی جهت پایش مستمر مناطقی که در معرض خطر بروز پدیده مقاومت به علف‌کش‌ها می‌باشند و نیز یافتن روشی سریع، ساده و ارزان و در عین حال مطمئن برای بررسی توده‌های مشکوک به مقاومت و شناسایی توده‌های مقاوم، به منظور جلوگیری و یا به تعویق انداختن بروز مقاومت، ضروری می‌باشد.

عدم تناوب زراعی و نیز عدم تناوب در علف‌کش‌های مصرفی دلیل اصلی بروز مقاومت می‌باشد. در مجموع نتایج این آزمایش بیانگر آنست که بروز مقاومت به علف‌کش‌های بازدارنده آنزیم ALS در جمعیت‌های خردل وحشی در برخی از مزارع استان گلستان قطعی و انکار ناپذیر است. این موضوع مؤیدی 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 استفاده از مدیریت تلفیقی در کنترل علف‌های‌هرز، تناوب زراعی، تناوب در استفاده از علف‌کش‌هایی با نحوه عمل مختلف و غیره از گسترش آن

1- Gene flow

جلوگیری نمود (10).

از آنجایی‌که ارزیابی گلخانه‌ای مقاومت به علف‌کش‌ها نیاز به فضای زیادی داشته و زمان‌بر است، اخذ روش‌های سریع‌تر وکم هزینه‌تر برای بررسی توده‌های مشکوک به مقاومت به علف‌کش‌های مختلف بسیار با اهمیت می‌باشد. با قرار دادن بذور خردل وحشی و شلمی در پتری‌دیش‌های حاوی دز تفکیک کننده از علف‌کش تری-بنورون متیل، وجود یا عدم وجود مقاومت در مدت یک هفته مشخص می‌شود. در حالی که برای به دست آوردن نتایج مشابه از آزمایش‌های گلخانه‌ای علاوه بر فضای بیشتر به حداقل 8 برابر زمان بیشتری هم نیاز است. از طرفی از این روش می‌توان برای بررسی کارایی علف-کش‌های جدید به‌منظور کنترل علف‌های‌هرز نیز استفاده نمود.

روش زیست‌سنجی در پتری‌دیش برای تمامی علف‌های‌هرز پاسخگو نیست و اثر بخش بودن این روش بایستی با توجه به نوع علف‌هرز و علف‌کش ارزیابی شود. مطالعات بیشتری جهت بهینه کردن این آزمون برای سایر علف‌کش های بازدارنده ALS لازم است. همچنین تحقیقات بیشتری برای مشخص کردن دلیل تفاوت-های مشاهده شده در درجات مقاومت بین توده‌های مقاوم شلمی و خردل وحشی نیاز است.

منابع

1- BanaKashani F., Znad E., and Alizareh H.M. 2007. Resistance of wild oat (*Avena ludoviciana*) biotypes to clodinafop-propargil herbicide. Applied Entomology and Phytopathology, 74(2): 127-150. (in Persian).
2- Beckie H.J., Friesen L.F., Nawolsky K.M., and Morrison I.N. 1990. A rapid bioassay to detect trifluralin-resistant green foxtail (*Setaria viridis*). Weed Technol. 4: 505–508.
3- Beckie H.J., Heap I., Smeda R., and Hall L. 2000. Screening for herbicide resistance in weeds. Weed Science, 14: 428-445.
4- Burgos N.R., Tranel P.J., Streibig J.C., Davis V.M., Shaner D., Norsworthy J.K., and Ritz C. 2013. Review: Confirmation of resistance to herbicides and evaluation of resistance levels. Weed Science, 61: 4–20.
5- Burke I.C., Thomas W.E., Burton J.D., Spears J.F., and Wilcut J.W. 2006. A seedling assay to screen aryloxyphenoxypropionic acid and cyclohexanedione resistance in johnsongrass (*Sorghum halepense*). Weed Technology, 20: 950-955.
6- Derakhshan A., and Gherekhloo J. 2012. Tribenuron-Methyl resistance turnipweed (*Rapistrum rugosum*) from Iran. The 6th international weed science congress. Hangzhou, China, 17-22 June, 2012.
7- Elahifard E., Rashed Mohassel M.H., Zand E., and Nassirimahllati M. 2008. The investigation of the resistance against fenoxaprop – P – ethyl herbicide in littleseed canarygrass (*Phalaris minor*). Journal of Agricultural Science and Natural Resource, 14(6): 53-62. (in Persian with English abstract).
8- Ghanizadeh H., Harrington K.C., James T.K., and Woolley D.J. 2015. A quick test using seeds for detecting dicamba resistance in fathen (*Chenopodium album*). Australian Journal of Crop Science, 9(4): 337-343.
9- Gherekhloo J., Rashed Mohassel M.H., Nassiri Mahalati M., Zand E., Ghanbari A., Osuna M.D., and De Prado R. 2008. Seed bioassay and ACCase enzyme assay to study the resistance of *Phalaris minor* to aryloxyphenoxy-propionate (APP) inhibitors. Environmental, 4: 43-52.
10- Gherekhloo J., Rashed Mohassel M.H., Nassiri Mahallati M., Zand E., Ghanbari A., and De Prado R. 2008. Greenhouse assay to investigate resistance of little seed canary grass (*Phalaris minor*) to aryloxyphenoxy propionate herbicides. Iranian Journal of Field Crops Research, 6(2): 353-361. (in Persian with English abstract).
11- Heap I. 2015. International survey of herbicide resistance weeds. Onlin Internet. 04 September 2015. Availal. www. weedscience. com.
12- [HRAC] Herbicide Resistance Action Committee. 2013. Herbicide resistance testing facilities. http://www.hracglobal.com/Publications/. Accessed: May 04, 2015.
13- Huang S.X. 2004. Studies on biology and resistance of *Alopecurus aequalis* Sobol. to acetyl-coenzyme A carboxylase inhibitors. M.A. thesis. Nanjing, China: Nanjing Agricultural University.
14- InKuk Y., Burgos N.R., and Talbert R.E. 2000. Cross and multiple resistance of diclofop-resistant *Lolium* spp. Weed Science, 48: 412–419.
15- InKuk Y., Jung H., Kwon O.D., Lee D.J., Burgos N.R., and Guh J.O. 2003. Rapid diagnosis of resistance to sulfonylurea herbicides in monochoria (*Monochoria vaginalis*). Weed Science, 51: 305–311.
16- Kochaki A.R., and Khajeh Hosseini M. 2008. Modern Agronomi. Jahad Daneshghahi Press, Mashhad. (in Persian).
17- Kraehner H., Schulz A., Laber B. 2007. Where are the new herbicides modes of action. FarmTechnology 2007 proceedings, 88-97.
18- Moss S.R. 1995. Techniques for determining herbicide resistance. Brighton Crop Protection conference. Weeds, 2: 547-556.
19- Murry B.G., Frisen L.F., Beaulieu k.j., and Morrison I.N. 1996. A seed bioassay to indentify acetyl-coA carboxylase inhibitor resistant wild oat (*Avena fatua*) populations. Weed Technology, 10: 85-89.

20- Najari N. 2013. Investigation of resistant weeds to ACCase and ALS inhibiting herbicides in wheat fields of Agh'ghala and preparing their map. MSc. thesis, Agricultural Sciences and Natural Resources of Gorgan University. (in Persian).
21- Partowi M., Zand E., Alizadeh H.M., and Makenali A. 2006. Investigating resistance of *Chenopodium murale* to cloridazon and desmedipham in Khouzestan suger beet (*Beta vulgaris*) fields. 1th Internatinal Weed Science Congress, Iran-Tehran, 496-499. (in Persian with English abstract).
22- Perez A., Kogan M. 2003. Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. Weed Research, 43: 12-19.
23- Perez-Jones A., Park K.W. Polge N. Colquhoun J. and Mallory-Smith C.A. 2007. Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. Plant Biology, 226, 395–404.
24- Polit J.T., Praczyk T., Pernak J., Sobiech L., Jakubiak E., and Skrzypczak G. 2014. Inhibition of germination and early growth of rape seed (*Brassica napus* L.) by MCPA in anionic and ester form. Acta Physiology Plant, 36: 699-711.
25- Preston C., Belles D.S., Westra P.H., Nissen S.J., and Ward S.M. 2009. Inheritance of resistance to the auxinic herbicide dicamba in kochia (*Kochia scoparia*). Weed Science, 57: 43-47.
26- Rahman A., James T., and Trolove M. 2014. Characteristics and control of dicamba-resistant common lambsquarters (*Chenopodium album*). Weed Biology Management, 14: 88-98.
27- Rastgoo M., Rashed Mohassel M.H., Zand E., and Nassiri Mahallati M. 2006. Resistance of winter wild oat (*Avena ludoviciana* Durieu.) to aryloxyphenoxy propionate herbicides in wheat fields of Khuzestan province: first screening test. Iranian Weed Science, 2: 96-104.
28- Ritz C. 2010. Toward a unified approach to dose–response modeling in ecotoxicology. Environmental Toxicology and Chemistry, 29:220–229.
29- Rosario J.M., Cruz-Hipolito H., Smeda R.J., and De Prado R. 2011. White mustard (*Sinapis alba* L.) resistance to ALS-inhibiting herbicides and alternative herbicides for control in Spain. European Journal of Agronomy, 35: 57–62.
30- Ruegg W.T., Quadranti M. Zoschke A. 2007. Herbicide research and development: challenges and opporatunities. Weed Research, 47: 271-275.
31- Sasanfar H.R., Zand E., Baghestani M.E., and MirHadi M.J. 2009. Investigation of resistance *Avena ludoviciana* populations to clodinafop-propargil. Journal of Environmental Science, 2: 22-25. (in Persian).
32- Sun B.Y. 1996. Studies on growth and decline of *Alopecurus* weed populations in wheats and identification of chlortoluron resistance. Ph.D dissertation. Nanjing, China: Nanjing Agricultural University.
33- Tal A., Kotula-Sykna E. and Rubin B. 2000. Seed bioassay to detect grass weeds resistance to acetyl coA carboxylase inhibiting herbicides. Crop Protection, 19: 467-472.
34- Wei Y., Zheng H., and Hall J.C. 2000. Role of auxinic herbicide-induced ethylene on hypocotyl elongation and root/hypocotyl radial expansion. Pest Management Science, 56: 377-387.
35- Yang C.H., Dong L.Y., Li J., and Moss S.R. 2007. Identification of Japanese foxtail (*Alopecurus japonicus*) resistant to haloxyfop using three different assay techniques. Weed Science, 55: 537–540.
36- Xu X., Wang G.Q., Chen S.L., Fan C.Q., and Li B.H. 2010. Confirmation of flixweed (*Descurainia sophia*) resistance to tribenuron-methyl using three different assay methods. Weed Science, 58: 56–60.
37- Zand E., Baghestani M.E. 2000. Resistance to herbicides in weeds. Jahad Daneshgahi Press, Mashhad. (in Persian).
38- Zand E., Baghestani M.E., Bitarafan M., and Shimi P. 2008. Guide registered herbicides in Iran (with approach of weed resistance management to herbicides). Jahad Daneshgahi Press, Mashhad. (in Persian).
39- Zand E., Baghestani M.E., Nezam Abadi N., and Shimi P. 2007. Main Herbicides and Weeds in Iran. Nashre Daneshgahi Press. (in Persian).
40- Zand E., Benakashani F., Baghestani M.A. Soufizadeh S., Maknali A. Minbashi M., Soufizadeh S., and Deihimfard R. 2006. Investigating the distribution of clodinafop-propargyl resistant wild oat (*Avena ludoviciana*) populations in South Western Iran. Environmental Science, 4: 85-92.