

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی مقاومت بیوتیپ‌های یولاف وحشی زمستانه به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase در مزارع گندم شهرستان رامیان

مهتاب هروی^۱ - جاوید قرخلو^{۲*} - آسیه سیاهمرگویی^۳ - حسین کاظمی^۴ - سعید حسن پور بورخیلی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۲۴

چکیده

به منظور بررسی بروز مقاومت یولاف وحشی زمستانه (*Avena ludoviciana* Dur.) به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase، آزمایش‌هایی در سال ۱۳۹۶ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. بیوتیپ‌های مشکوک به مقاومت از مزارع گندم شهرستان جمع‌آوری گردید. یک بیوتیپ حساس نیز از مزارعی که هیچ‌گونه سابقه سمپاشی نداشتند جمع‌آوری شد. ابتدا بیوتیپ‌های مشکوک با غلظت تفکیک‌کننده به دست آمده، مورد غربال قرار گرفتند. سپس واکنش بیوتیپ‌های مقاوم و حساس این علف‌هرز در مقابل دزهای مختلف علف‌کش بررسی شد. نتایج این تحقیق، بروز مقاومت به علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، فنوکسپروپیل اتیل و دیکلوفوپ متیل در ۵۸ بیوتیپ را تأیید نمود. درجه مقاومت به علف‌کش‌های فنوکسپروپیل اتیل، دیکلوفوپ متیل و کلودینافوپ پروپارژیل به ترتیب بین ۴۸/۶۹ تا ۸۵۱/۳۳، ۵۲/۵۷ تا ۷۵۲/۵۷ و ۳۱۰/۲۷ تا ۱۴۴۳/۹۰ بود. جهت بررسی بیشتر واکنش بیوتیپ‌های مقاوم، سه علف‌کش هالوکسی‌فوپ-آر متیل استر، کلتودیم و پینوکسازن جهت آزمون پتری دیش انتخاب شدند. دو مورد از بیوتیپ‌های با شاخص مقاومتی بالا (ram1، ram18) و دو مورد از بیوتیپ‌های با کمترین شاخص مقاومتی (ram15، ram4) به عنوان نمونه مورد مطالعه قرار گرفتند. در تیمار هالوکسی‌فوپ-آر متیل استر، بیشترین و کمترین درجه مقاومت در بیوتیپ ram1 به میزان ۴۲۴/۳۵ و بیوتیپ ram15 به میزان ۲۸۴/۵۰ به دست آمد. در دو علف‌کش دیگر درجه مقاومت تفاوت معنی‌داری با ۱ نداشت. نقشه پراکنش مزارع آلوده به علف‌های هرز مقاوم با استفاده از سامانه اطلاعات جغرافیایی ترسیم و مشخص شد. برآورد بالای درجات مقاومت گویای مدیریت انفعالی در کنترل یولاف وحشی زمستانه می‌باشد. نتایج این تحقیق می‌تواند جهت اجرای برنامه‌های مدیریت علف‌های هرز مقاوم و ممانعت از توسعه آن‌ها به سایر مناطق به کار رود.

واژه‌های کلیدی: آزمایش غلظت-پاسخ، درجه مقاومت، مقاومت به علف‌کش، نقشه پراکنش

(ludoviciana Dur.) است.

مقدمه

در ۴۰ سال گذشته، ۱۰۸ علف‌کش با جایگاه‌های عمل مختلف در ایران به ثبت رسیده است که ۲۸ مورد برای کنترل انتخابی علف‌های هرز گندم و جو می‌باشد (۵) عمومی‌ترین روش برای کنترل علف‌های هرز باریک‌برگ در مزارع گندم، استفاده از بازدارنده‌های آنزیم استیل‌کو آنزیم‌آکربوکسیلاز می‌باشد. سه گروه شناخته‌شده از این علف‌کش‌ها عبارتند از آریلوکسی فنوکسی پروپیونات (APP)، سیکلوهاگزان دیون (CHD) و فنیل پیرازولین‌ها که علیرغم ساختمان متفاوت، مکانیسم عمل مشابهی داشته و هر دو مانع عمل ACCase کلروپلاستی می‌شوند (۹).

مقاومت به علف‌کش عبارت است از توانایی وراثتی یک بیوتیپ علف‌هرز در زنده ماندن، پس از کاربرد مقداری از علف‌کش که باعث از بین رفتن گونه‌های وحشی می‌شود (۱۴). اولین مورد مقاومت به علف‌کش در سال ۱۹۷۰ از یک نهالستان کاج در کشور آمریکا گزارش

علف‌های هرز اغلب گونه‌های گیاهی وحشی هستند که تهدیدی جدی برای تولید پایدار محصولات کشاورزی به حساب می‌آیند (۲۳). در مزارع گندم و جو کشور متجاوز از ۴۰۰ گونه علف‌هرز متعلق به ۴۴ خانواده گیاهی وجود دارد که ۷۴ درصد این گونه‌ها در ۶ خانواده گیاهی قرار دارند (۲۲). یولاف وحشی به‌عنوان یکی از دردمسازترین علف‌های هرز پاییزه در مزارع کشاورزی غلات گزارش شده است (۱۱) که گونه غالب در ایران، یولاف وحشی زمستانه (*Avena*

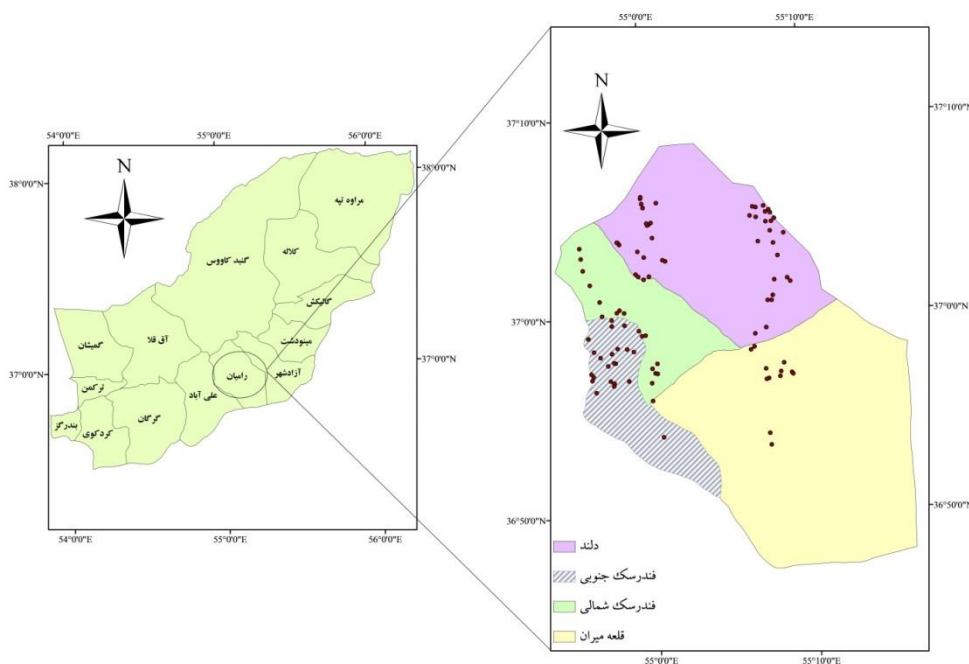
۱، ۲، ۳، ۴ و ۵- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز، دانشیار، استادیار، دانشیار و دانش‌آموخته دکتری اکولوژی گیاهان زراعی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(*) نویسنده مسئول: Email: gherekhlou@gau.ac.ir

علف‌کش‌ها منجر به بروز مقاومت در یولاف وحشی زمستانه در مزارع گندم استان گلستان شده است (۶).

اولین گزارش از بروز مقاومت علف هرز یولاف وحشی زمستانه نسبت به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase مربوط به سال ۱۹۹۸ از فرانسه می‌باشد و نخستین گزارش از ایران مربوط به سال ۲۰۰۶ می‌باشد (۶). در سال ۲۰۱۰ نیز گزارشی مربوط به مقاومت چندگانه علف هرز یولاف وحشی زمستانه از ایران به ثبت رسیده است (۶). از سال ۱۳۹۲ تحقیقاتی در زمینه مقاومت علف‌های هرز مزارع گندم در شهرستان‌های استان گلستان به همراه نقشه پراکنش بیوتیپ‌های مقاوم انجام شد که بیانگر گسترش مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها می‌باشد. از نقشه‌های پراکنش علف‌های هرز می‌توان در مدیریت متناسب با مکان برای اعمال صحیح عملیات مختلف کنترل، کاهش مصرف و افزایش کارایی علف‌کش‌ها استفاده کرد (۸). تحقیق پیشرو با هدف شناسایی بیوتیپ‌های مقاوم علف‌های هرز یولاف وحشی زمستانه به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase و تهیه نقشه‌های پراکنش بیوتیپ‌های مقاوم در مزارع گندم شهرستان رامیان انجام شد.

شد که علف هرز زلف پیر (*Senecio vulgaris* L.) به علف‌کش آترزین مقاومت نشان داد (۶). پس از آن و با افزایش مصرف علف‌کش‌ها، گزارش‌های مربوط به علف‌های هرز مقاوم بتدریج افزایش یافت. در حال حاضر ۵۱۲ مورد مقاومت علف هرز به علف‌کش در دنیا گزارش شده است که شامل ۲۶۲ گونه (۱۵۲ گونه دولپه و ۱۱۰ گونه تک‌لپه) می‌باشد. این بیوتیپ‌های علف‌های هرز نسبت به ۱۶۷ علف‌کش ۲۳ گروه از ۲۶ گروه علف‌کش موجود، مقاوم شده و حضور آن‌ها در ۹۲ گیاه زراعی و در ۷۰ کشور گزارش شده است. در ایران نیز ۱۶ مورد از مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها گزارش شده است (۶). وجود تنوع ژنتیکی در جوامع علف هرز، به همراه فشار انتخاب شدید علف‌کش‌ها، اصلی‌ترین عوامل تکامل مقاومت به علف‌کش‌ها هستند (۲۲).

همان‌طور که در فوق ذکر شد، یولاف وحشی زمستانه یکی از علف‌های هرز مهم غلات به شمار می‌رود که در صورت عدم کنترل خسارت جدی به عملکرد محصول وارد می‌آورد. کشاورزان استان گلستان معمولاً جهت مبارزه با این علف هرز در گندم از علف‌کش‌های بازدارنده ACCase نظیر کلودینافوب پروپارژیل، دیکلوفوپ‌متیل و فنوکسپروپیل‌اتیل استفاده می‌نمایند. هرچند، کاربرد متوالی این



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی شهرستان رامیان در استان گلستان و نقشه پراکنش مزارع گندم مورد بررسی در این شهرستان
Figure 1- Geographical position of Ramiyan in Golestan Province and distribution map of surveyed wheat fields in this Township

جدول ۱- برخی مشخصات سموم علف‌کش مورد آزمایش در مطالعه
Table 1- Common properties of the herbicides applied in the experiment

نام عمومی Common name	نام تجاری Trade name	خانواده شیمیایی Chemical family	فرمولاسیون Formulation	دوز توصیه شده (گرم ماده مؤثر در هکتار) Recommended dose (g ai.ha ⁻¹)
کلودینافوپ پروپارژیل Clodinafop propargyl	تاپیک Topik	آریلوکسی فنوکسی پروپیونات (فوپ) Aryloxyphenoxypropionate (Fop)	EC (8%)*	0.8-1
دیکلوفوپ متیل Diclofop methyl	ایلوکسان Iloxan	آریلوکسی فنوکسی پروپیونات (فوپ) Aryloxyphenoxypropionate (Fop)	EC (36 %)	2.5
فنوکسaproپ-پی اتیل Fenoxaprop-P ethyl	پوما سوپر Puma super	آریلوکسی فنوکسی پروپیونات (فوپ) Aryloxyphenoxypropionate (Fop)	EC (7.5 %)	0.8-1
پینوکسادن Pinoxaden	آکسیال Axial	فنیل پیرازولین (دن) Phenyl pirazoline (Den)	EC (4.5%)	1.5
کتودیم Clethodim	سلکت سوپر Select super	سیکلو هگزاندیون (دیم) Cyclohexanedione (Dim)	EC (12%)	0.8-1
هالوکسی فوپ-آر متیل استر Haloxypop-R methyl ester	گالانت سوپر Gallant super	آریلوکسی فنوکسی پروپیونات (فوپ) Aryloxyphenoxypropionate (Fop)	EC (10.8%)	0.75

* مایع امولسیون شونده
* Emulsifiable concentrate

برخی مشخصات سموم علف‌کش مورد آزمایش در مطالعه در جدول ۱ خلاصه شده است.

ابتدا بذور یولاف وحشی زمستانه با دست پوست‌کنی شدند. برای این کار درون پوشینه و برون پوشینه از بذور جدا شدند. برای تحریک جوانه‌زنی، بذور به پتری‌دیش‌های ۹ سانتی‌متری حاوی یک لایه کاغذ صافی منتقل شده و پس از مرطوب شدن با ۲/۵ میلی‌متر آب مقطر به مدت ۳ روز در دمای ۴ تا ۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی (داخل یخچال معمولی) قرار گرفتند (۲۰). بعد از تیمار پیش‌سرما، پتری‌دیش‌های حاوی بذور جهت جوانه‌زنی در دمای اتاق نگهداری شدند.

برای مطالعه مقاومت بیوتیپ‌های علف‌های هرز باریک‌برگ نسبت به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase از روش زیست‌سنجی در پتری‌دیش استفاده شد. زیست‌سنجی بذور در پتری‌دیش شامل سه مرحله تعیین غلظت تفکیک‌کننده، غربال بیوتیپ‌های مشکوک به مقاومت با استفاده از غلظت تفکیک‌کننده و آزمایش غلظت-پاسخ در بیوتیپ‌های مقاوم بود. به‌منظور تعیین غلظت تفکیک‌کننده برای علف‌هرز یولاف وحشی و وحشی غلظت‌هایی طبق جدول ۲ برای هر علف‌کش در نظر گرفته شد. غلظت‌ها بر اساس آزمایش‌های اولیه و آزمون و خطا انتخاب شدند.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر طی سالهای ۹۷-۱۳۹۶ در گلخانه و آزمایشگاه پژوهش علف‌های هرز دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. مواد گیاهی این پژوهش شامل بذور ۸۰ توده یولاف وحشی وحشی زمستانه مشکوک به مقاومت بود که از سطح ۱۰۰ مزرعه گندم شهرستان رامیان جمع‌آوری شد. موقعیت جغرافیایی شهرستان رامیان و مزارع مورد نمونه برداری در شکل ۱ نشان داده شده است. همچنین یک بیوتیپ به عنوان بیوتیپ حساس از مناطقی در شهرستان رامیان که هیچ‌گونه سابقه سمپاشی نداشتند (مناطق غیرزراعی نظیر حاشیه جاده‌ها و دامنه تپه‌ها)، جمع‌آوری شد. پس از نمونه‌برداری، بذور جمع‌آوری شده، در داخل پاکت‌های کاغذی قرار داده شده و تا زمان شروع آزمایش در دمای اتاق نگهداری شدند.

در این پژوهش از سه علف‌کش بازدارنده استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز (ACCase) شامل کلودینافوپ پروپارژیل، دیکلوفوپ متیل و فنوکسaproپ-پی اتیل، که از باریک‌برگ‌کش‌های رایج در مزارع گندم کشور می‌باشند، برای بررسی بروز مقاومت در بیوتیپ‌های یولاف وحشی زمستانه استفاده شد. از سه علف‌کش پینوکسادن، کلتودیم و هالوکسی فوپ-آر متیل استر جهت بررسی امکان استفاده به عنوان علف‌کش‌های جایگزین در بیوتیپ‌های مقاوم استفاده گردید.

جدول ۲- غلظت‌های مورد استفاده از علف‌کش‌های اعمال شده بر بیوتیپ حساس یولاف وحشی وحشی

علف‌کش Herbicide	غلظت (mg a.i.L ⁻¹) Concentration (mg a.i.L ⁻¹)									
	کلودینافوپ پروپارژیل Clodinafop propargyl	0	0.005	0.02	0.08	0.32	1.28	5.12	10.24	-
دیکلوفوپ متیل Diclofop methyl	0	0.1	0.5	1	2	4	8	16	-	-
فنوکساپروپ‌پی‌اتیل Fenoxaprop-P ethyl	0	0.25	0.5	1	2	4	8	-	-	-
پینوکسادن Pinoxaden	0	0.01	0.08	0.16	0.32	0.64	1.28	-	-	-
کلتودیم Clethodim	0	0.001	0.005	0.01	0.02	0.04	0.08	-	-	-
هالوکسی‌فوب-آر متیل استر Haloxypop-R methyl ester	0	0.0001	0.001	0.005	0.01	0.02	0.04	0.08	0.16	0.32

v.9 انجام شد.

برای تجزیه آماری منحنی واکنش به غلظت علف‌کش از آنالیز رگرسیون و مدل لگ لجستیک چهار پارامتره (۱۸) استفاده شد (تابع (۱)). که پارامترهای ارائه شده در این تابع عبارتست از: *b*، شیب منحنی در نقطه *e*؛ *d*، حد بالای منحنی پاسخ؛ *c*، حد پایین منحنی پاسخ و *e*، غلظت بیان‌کننده GR₅₀ در مواردی که *c*=0 باشد، این پارامتر از تابع ۱ حذف و در حالت جدید، تابع سه پارامتره (تابع ۲) به داده‌های مربوطه برازش داده می‌شود تا برآورد دقیق‌تری از سایر پارامترها به دست آید (۱۷).

تابع (۱)

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

مدل فوق با استفاده از محیط نرم‌افزاری R و بسته نرم‌افزاری drc

که به همین منظور طراحی شده است به داده‌های حاصل، برازش و اختلاف نمودارهای برازش داده شده با نمودار حاصل از داده‌های مربوط به بیوتیپ حساس مورد بررسی قرار می‌گیرد. درجه و یا فاکتور مقاومت یعنی نسبت GR₅₀ بیوتیپ مقاوم به GR₅₀ بیوتیپ حساس شاخصی است که برای بررسی و مقایسه میزان مقاومت به علف‌کش مورد استفاده قرار می‌گیرد.

برای تهیه نقشه پراکنش بیوتیپ‌های مقاوم به علف‌کش مورد نظر ابتدا مختصات جغرافیایی محل مورد نظر با استفاده دستگاه GPS map6 ثبت گردید. داده‌های ثبت شده به فرم قابل اجرا در نرم‌افزار GIS توسط نرم‌افزار mapsource تبدیل شدند. جهت اطمینان از صحت محدوده نمونه‌برداری، مختصات نقاط ثبت شده با نقشه های Google earth تطبیق داده شد. پس از ایجاد پایگاه داده‌ها در محیط ArcMap10.3، تهیه نقشه‌های پراکنش بر اساس سیستم مختصات UTM صورت پذیرفت.

برای انجام آزمون، ده بذر پیش‌جوانه‌دار از بیوتیپ حساس علف‌هرز روی یک لایه کاغذ صافی در پتری‌دیش‌های ۹ سانتی‌متری قرار گرفت و سپس کاغذهای صافی با ۲/۵ میلی‌لیتر محلول از هر غلظت علف‌کش مرطوب شدند. برای هر غلظت، سه پتری‌دیش به منزله سه تکرار در نظر گرفته شد. همچنین از آب‌مقطر به عنوان محلول شاهد استفاده شد. پتری‌دیش‌ها در دمای اتاق قرار داده شدند. بعد از گذشت ۷ روز طول ساقه‌چه اندازه‌گیری شد.

غلظت تفکیک‌کننده بر روی تمامی توده‌های جمع‌آوری شده اعمال شد و مشابه با آزمون اعمال غلظت تفکیک‌کننده، طول ساقه‌چه بعد از ۷ روز اندازه‌گیری شد. بعد از قرارگیری در معرض غلظت تفکیک‌کننده، توده‌هایی که اختلاف معنی‌داری از نظر متوسط طول ساقه‌چه با بیوتیپ حساس داشتند جهت تعیین درجه مقاومت در مرحله بعدی مورد آزمایش قرار گرفتند.

پس از آزمون غربال، بیوتیپ‌های مقاوم و حساس در معرض چندین غلظت مختلف از هر علف‌کش که بر اساس غلظت تفکیک‌کننده انتخاب شده بود، قرار گرفتند تا درجه مقاومت آنها تعیین شود. بر این اساس غلظت‌های مورد استفاده از هر علف‌کش برای بیوتیپ‌های مقاوم علف‌هرز در جدول ۳، خلاصه شده است. غلظت‌ها برای بیوتیپ‌های حساس، مشابه غلظت‌های استفاده شده برای تعیین غلظت تفکیک‌کننده بودند (جدول ۲). در جدول ۳ غلظت‌های مورد استفاده علف‌کش‌های مختلف برای بیوتیپ‌های مقاوم یولاف وحشی ذکر شده است.

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در مرحله غربال اجرا شد که در آن هر پتری (در آزمون سریع) یا هر گلدان (آزمایش گلخانه‌ای) به منزله یک تکرار بود. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS

جدول ۳- غلظت‌های مورد استفاده از علف‌کش‌های اعمال شده بر بیوتیپ‌های مقاوم یولاف وحشی وحشی
Table 3- Concentrations of the herbicides applied on the resistant winter wild oat biotypes

علف‌کش Herbicide	غلظت (mg a.i.L ⁻¹) Concentration (mg a.i.L ⁻¹)							
کلودینافوپ پروپارژیل Clodinafop propargyl	0	0.64	2.56	10.24	20.48	40.96	81.92	-
دیکلوفوپ متیل Diclofop methyl	0	20	40	80	160	320	640	-
فنوکسaproپ پی اتیل Fenoxaprop-P ethyl	0	1.6	3.2	6.4	12.8	25.6	51.2	102.4
پینوکسادن Pinoxaden	0	0.08	0.32	1.28	12.5	10.24	20.48	-
کتودیم Clethodim	0	0.001	0.005	0.01	0.02	0.04	0.08	-
هالوکسی فوب-آر متیل استر Haloxypfop-R methyl ester	0	5.12	10.24	20.48	40.96	81.92	163.84	512

جدول ۵- غلظت تفکیک‌کننده کلودینافوپ پروپارژیل، دیکلوفوپ متیل و فنوکسaproپ پی اتیل برای بیوتیپ‌های حساس یولاف وحشی وحشی زمستانه

Table 5- Discriminating concentration of clodinafop propargyl, diclofop methyl and fenoxaprop-P ethyl for the susceptible winter wild oat biotype

علف‌کش Herbicide	حد پایین (c) Lower limit (c)	حد بالا (d) Upper limit (d)	شیب منحنی (b) Slope (b)	EC ₅₀ mg a.i.L ⁻¹	EC ₈₀ mg a.i.L ⁻¹
کلودینافوپ پروپارژیل Clodinafop propargyl	-	99.14(5.04)	0.81(0.12)	0.01(0.00)**	0.05 (0.01) **
فنوکسaproپ پی اتیل Fenoxaprop-P ethyl	-	98.85(5.86)	0.66(0.66)	0.13(0.05) **	1.7 (0.48) **
دیکلوفوپ متیل Diclofop methyl	-	99.41 (5.84)	1.06 (0.18)	0.3 (0.05) **	1.08 (0.18) **

** معنی داری در سطح احتمال p≤0.01

** Significant at p≤0.01

اعداد داخل پرانتز نمایانگر خطای معیار می‌باشد.

The values in the parentheses denote standard error.

علف‌کش فنوکسaproپ پی اتیل

نتایج و بحث

جهت کنترل ۵۰ درصدی بیوتیپ‌های حساس طبق نتایج نیاز به ۰/۱۳ میلی گرم ماده موثره در لیتر از علف‌کش فنوکسaproپ پی اتیل می‌باشد (جدول ۷). برای ۵۰ درصد کاهش طول گیاهچه بیوتیپ‌های مقاوم یولاف وحشی زمستانه نسبت به شاهد، غلظت‌های مختلفی از علف‌کش فنوکسaproپ پی اتیل لازم بود. به طوری که مقادیر EC₅₀ برای بیوتیپ‌های مقاوم یولاف وحشی زمستانه از ۶/۴۳ میلی گرم ماده موثره در لیتر با شاخص درجه مقاومت ۴۸/۶۹ تا بیش از ۱۰۲/۴ میلی گرم ماده موثره در لیتر با شاخص درجه مقاومت ۸۵۱/۳۳ متفاوت می‌باشد (جدول ۷). بیوتیپ‌هایی که EC₅₀ آنها بزرگتر از ۱۰۲/۴ میلی گرم ماده موثره بر لیتر می‌باشد، بیوتیپ‌هایی هستند که توانسته‌اند در بالاترین غلظت اعمال شده طول گیاهچه خود را حفظ کنند و ۸۵۱/۳۳ شاخص مقاومت به دست آمده برای بیوتیپ ram 20 است، این بیوتیپ بالاترین شاخص مقاومتی را در بین بیوتیپ‌هایی دارد که با غلظت‌های اعمال شده حداقل طول گیاهچه را داشته‌اند.

بر اساس نتایج تحقیق حاضر برای غربال توده‌های مشکوک به مقاومت علف هرز یولاف وحشی زمستانه بر مبنای EC₈₀ از علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، دیکلوفوپ متیل و فنوکسaproپ پی اتیل به ترتیب به میزان ۰/۰۵، ۱/۰۸ و ۱/۷ میلی گرم ماده موثره در لیتر استفاده شد (جدول ۵). از ۱۰۰ مزرعه نمونه برداری شده، ۸۰ مزرعه آلوده به علف هرز یولاف وحشی زمستانه بوده که نتایج آزمون غربال اولیه نشان داد با فراوانی ۷۲/۵ درصد، ۵۸ بیوتیپ قادر به حفظ بیش از ۸۰ درصد رشد گیاهچه در حضور غلظت تفکیک‌کننده علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، فنوکسaproپ پی اتیل و دیکلوفوپ متیل می‌باشند (جدول ۶).

۱- به دلیل زیاد بودن تعداد اشکال و جداول، از ارائه اشکال خودداری شد.

جدول ۶- نتایج حاصل از غربال بیوتیپ‌های مشکوک به مقاومت یولاف وحشی و وحشی با غلظت تفکیک‌کننده علف‌کش‌های فنوکساپروپ پی اتیل، دیکلوفوپ متیل و کلودینافوپ پروپارژیل (نتایج بر اساس طول گیاهچه برحسب درصد از شاهد محاسبه شده است)

Table 6- Results obtained from the screening of putatively resistant winter wild oat biotypes with the discriminating concentrations of fenoxaprop-P ethyl, diclofop methyl and clodinafop propargyl (The results are calculated as percent of control)

علف‌کش Herbicide				علف‌کش Herbicide			
کلودینافوپ پروپارژیل Clodinafop propargyl	دیکلوفوپ متیل Diclofop methyl	فنوکساپروپ پی اتیل Fenoxaprop-P ethyl	بیوتیپ Biotype	کلودینافوپ پروپارژیل Clodinafop propargyl	دیکلوفوپ متیل Diclofop methyl	فنوکساپروپ پی اتیل Fenoxaprop-P ethyl	بیوتیپ Biotype
12.76(S)	8.83(S)	12.05(S)	ram41	85.55(R)	84.05(R)	90.54(R)	ram1
91.03(R)	90.54(R)	91.87(R)	ram42	91.55(R)	91.43(R)	87.44(R)	ram2
87.06(R)	84.33(R)	84.67(R)	ram43	86.04(R)	91.05(R)	85.03(R)	ram3
85.12(R)	91.43(R)	90.54(R)	ram44	90.33(R)	83.34(R)	87.70(R)	ram4
85.17(R)	84.54(R)	87.33(R)	ram45	88.87(R)	91.54(R)	88.65(R)	ram5
89.22(R)	90.45(R)	90.43(R)	ram46	86.90(R)	88.06(R)	86.76(R)	ram6
91.43(R)	86.06(R)	87.56(R)	ram47	90.00(R)	85.07(R)	91.87(R)	ram7
91.67(R)	88.30(R)	86.77(R)	ram48	12.06(S)	9.78(S)	10.09(S)	ram8
90.54(R)	91.55(R)	88.87(R)	ram49	90.54(R)	91.43(R)	90.01(R)	ram9
90.43(R)	91.89(R)	88.90(R)	ram50	12.67(S)	10.13(S)	15.43(S)	ram10
90.39(R)	85.90(R)	83.09(R)	ram51	91.98(R)	86.07(R)	87.43(R)	ram 11
91.65(R)	83.08(R)	86.12(R)	ram52	85.09(R)	87.09(R)	84.07(R)	ram12
91.73(R)	83.08(R)	85.10(R)	ram53	83.32(R)	91.32(R)	86.09(R)	ram 13
13.23(S)	11.05(S)	17.54(S)	ram54	90.65(R)	91.05(R)	83.43(R)	ram 14
16.23(S)	10.22(S)	9.87(S)	ram55	87.07(R)	90.07(R)	90.55(R)	ram15
14.44(S)	12.04(S)	11.09(S)	ram56	9.08(S)	16.32(S)	14.67(S)	ram16
86.32(R)	88.56(R)	88.06(R)	ram57	88.54(R)	90.12(R)	90.06(R)	ram17
91.07(R)	90.02(R)	84.03(R)	ram58	84.43(R)	91.04(R)	85.08(R)	ram 18
7.11(S)	11.22(S)	14.54(S)	ram59	90.23(R)	89.44(R)	89.81(R)	ram 19
86.06(S)	84.02(S)	83.56(S)	ram60	86.22(R)	87.54(R)	87.90(R)	ram 20
13.66(S)	12.04(S)	9.75(S)	ram61	86.78(R)	87.06(R)	88.50(R)	ram 21
88.87(R)	85.34(R)	13.43(s)	ram62	89.98(R)	86.56(R)	90.05(R)	ram 22
91.08(R)	88.45(R)	83.35(R)	ram63	89.11(R)	90.78(R)	85.08(R)	ram 23
83.05(R)	88.78(R)	91.56(R)	ram64	86.12(R)	89.90(R)	90.40(R)	ram24
7.57(S)	16.09(S)	12.09(S)	ram65	87.43(R)	86.08(R)	85.54(R)	ram25
86.90(R)	88.76(R)	85.50(R)	ram66	12.89(S)	14.55(S)	8.90(S)	ram26
9.01(S)	10.77(S)	12.98(S)	ram67	7.05(S)	13.78(S)	11.08(S)	ram27
84.45(R)	88.08(R)	83.07(R)	ram68	90.04(R)	83.98(R)	90.04(R)	ram28
13.23(S)	16.00(S)	11.11(S)	ram69	91.23(R)	88.45(R)	86.89(R)	ram29
10.44(S)	12.00(S)	9.45(S)	ram70	89.12(R)	86.65(R)	83.09(R)	ram30
87.65(R)	86.00(R)	91.67(R)	ram71	83.16(R)	85.87(R)	83.65(R)	ram 31
9.07(S)	13.00(S)	16.09(S)	ram72	90.45(R)	87.56(R)	83.77(R)	ram 32
86.06(R)	88.00(R)	88.65(R)	ram73	14.32(R)	11.08(R)	15.89(R)	ram33
11.11(S)	6.00(S)	10.05(S)	ram74	90.12(R)	90.76(R)	83.90(R)	ram34
85.43(R)	83.00(R)	85.10(R)	ram75	90.11(R)	91.63(R)	86.76(R)	ram35
6.33(S)	7.00(S)	5.23(S)	ram76	91.11(R)	88.45(R)	91.66(R)	ram36
85.06(R)	85.00(R)	91.23(R)	ram77	85.32(R)	83.09(R)	89.08(R)	ram37
12.07(S)	12.00(S)	14.04(S)	ram78	7.34(S)	9.06(S)	13.31(S)	ram38
88.60(R)	85.00(R)	90.45(R)	ram79	87.43(R)	85.06(R)	84.65(R)	ram39
87.11(R)	86.00(R)	87.45(R)	ram80	11.45(S)	14.67(S)	10.98(S)	ram40
13.50	10.80	12.11	LSD	13.50	10.80	12.11	LSD

(R) Resistant مقاوم (R)
(S) Susceptible حساس (S)

جدول ۷- پارامترهای برآورد شده از برازش تابع لگ- لجستیک به طول گیاهچه بیوتیپ‌های مقاوم و حساس علف هرز یولاف وحشی وحشی در پاسخ به علف‌کش فنوکساپروپ پی اتیل (نتایج بر اساس طول گیاهچه برحسب درصد از شاهد محاسبه شده است).

Table 7- Parameters estimated from the fitting of log-logistic function to coleoptile length of susceptible and resistant biotypes of winter wild oat in response to of fenoxaprop-P ethyl herbicide (The results are calculated as percent of control).

درجه مقاومت	GR ₅₀ (mg a.i.L ⁻¹)	کد بیوتیپ	درجه مقاومت	GR ₅₀ (mg a.i.L ⁻¹)	کد بیوتیپ
Resistance factor		Biotype code	Resistance factor		Biotype code
133.85(55.29)**	>102.4**	ram37	-	0.13(0.05)**	(S) حساس
63.28(30.41)**	30.36(7.02)**	ram38	491.39(249.07)**	64.88(21.47)**	ram1
360.89(176.2)**	57.82(15.03)**	ram39	331.54(162.13)**	43.78(13.46)**	ram2
309.04(112.74)**	40.80(4.90)**	ram40	48.69(24.05)**	6.43(2.03)**	ram3
>851.33**	>102.4**	ram43	131.26(60.57)**	17.33(4.53)**	ram4
147.26(68.62)**	7.65(1.70)**	ram44	>851.33**	>102.4**	ram5
>851.33**	>102.4**	ram45	367.46(173.39)**	>102.4**	ram6
62.25(26.78)**	8.22(1.43)**	ram46	355.62(141.72)**	48.52(13.55)**	ram7
57.96(26.20)**	19.44(4.85)**	ram47	256.43(113.12)**	46.95(5.59)**	ram9
457.40(193.98)**	60.39(13.42)**	ram48	515.04(210.35)**	33.86(8.52)**	ram11
85.86(32.61)**	11.34(1.33)**	ram49	>851.33**	68.00(12.81)**	ram12
74.695(31.12)**	11.14(1.27)**	ram50	>851.33**	>102.4**	ram13
762.33(398.01)**	100.65(37.94)**	ram51	68.25(28.08)**	>102.4**	ram14
333.21(156.79)**	44.00(10.32)**	ram52	168.57(77.19)**	9.01(1.41)**	ram15
127.69(52.47)**	16.86(3.30)**	ram53	>851.33**	22.26(5.68)**	ram17
649.09(382.90)**	85.70(36.52)**	ram54	97.17(36.50)**	>102.4**	ram18
>851.33**	>102.4**	ram57	84.33(31.87)**	12.83(1.27)**	ram19
229.93(106.01)**	30.36(7.53)**	ram58	851.33(420.08)**	11.14(1.18)**	ram20
94.56(42.84)**	12.48(2.91)**	ram60	304.71(118.76)**	>102.4**	ram21
136.78(60.68)**	18.06(4.65)**	ram62	127.8(52.62)**	40.23(7.33)**	ram22
134.57(55.49)**	17.77(3.53)**	ram63	288.29(116.96)**	16.86(3.31)**	ram23
>851.33**	>102.4**	ram64	811.28(342.07)**	38.06(8.16)**	ram24
72.75(33.75)**	9.61(2.12)**	ram66	229.93(98.82)**	38.06(8.16)**	ram25
378.19(186.66)**	49.93(13.88)**	ram68	80.46(31.08)**	10.62(1.83)**	ram29
64.941(29.64)**	8.57(1.75)**	ram71	133.85(55.29)**	>102.4**	ram30
752.33(298.01)**	100.69(36.07)**	ram73	63.28(30.41)**	30.36(7.02)**	ram31
170.79(89.49)**	73.58(25.77)**	ram75	360.89(176.2)**	57.82(15.03)**	ram32
159.44(75.23)**	21.89(4.42)**	ram77	309.04(112.74)**	40.80(4.90)**	ram33
170.79(89.49)**	22.55(7.42)**	ram79	>851.33**	>102.4**	ram35
159.44(75.23)**	51.92(13.24)**	ram80	147.26(68.62)**	7.65(1.70)**	ram36

** معنی‌داری در سطح احتمال p<0.01

** Significant at p<0.01

اعداد داخل پرانتز نماینگر خطای معیار می‌باشد.

The values in the parentheses denote standard error.

غلظت‌های مختلف علف‌کش، مقادیر EC₅₀ متفاوتی برای بیوتیپ‌های مقاوم به دست آمد. این مقادیر از ۴۳/۲۲ میلی‌گرم ماده موثره در لیتر با شاخص مقاومت ۵۲/۵۷ تا بیش از ۶۴۰ میلی‌گرم ماده موثره در لیتر با شاخص مقاومت ۷۵۲/۵۷ متفاوت بود (جدول ۸). بیوتیپ‌هایی که EC₅₀ آنها بزرگتر از ۶۴۰ میلی‌گرم ماده موثره می‌باشد، بیوتیپ‌هایی هستند که توانسته‌اند در بالاترین غلظت اعمال شده طول گیاهچه خود را حفظ کنند و ۷۵۲/۵۷ شاخص مقاومت به دست آمده برای بیوتیپ ram 60 می‌باشد، این بیوتیپ بالاترین شاخص مقاومتی را در بین بیوتیپ‌هایی دارد که با غلظت‌های اعمال شده حداقلی از طول گیاهچه را حفظ کرده‌اند.

علف‌کش دیکلوفوپ متیل

نتایج آزمون غلظت-پاسخ حاکی از بروز مقاومت به علف‌کش دیکلوفوپ متیل در بیوتیپ‌های یولاف وحشی و وحشی زمستانه جمع‌آوری شده از مزارع گندم شهرستان رامیان بود. EC₅₀ به دست آمده برای بیوتیپ حساس، ۰/۳ میلی‌گرم ماده موثره از علف‌کش دیکلوفوپ متیل می‌باشد مقادیر EC₅₀ برآورد شده برای بیوتیپ‌های مقاوم یولاف وحشی زمستانه بین ۲/۸۲ تا بیشتر از ۸۱/۹۲ میلی‌گرم ماده موثره در لیتر متفاوت بود. از میان بیوتیپ‌های جمع‌آوری شده از شهرستان رامیان، ۵۸ بیوتیپ یولاف وحشی و وحشی زمستانه به این علف‌کش مقاومت نشان دادند. بر اساس برازش تابع لگ لجستیک به داده‌های طول گیاهچه بیوتیپ‌های یولاف وحشی زمستانه در برابر

جدول ۸- پارامترهای برآورد شده از برازش تابع لگ-لجستیک به طول گیاهچه بیوتیپ‌های مقاوم و حساس علف هرز یولاف وحشی وحشی در پاسخ به علف کش دیکلوفوپ متیل (نتایج بر اساس طول گیاهچه برحسب درصد از شاهد محاسبه شده است).

Table 8- Parameters estimated from the fitting of log-logistic function to coleoptile length of susceptible and resistant biotypes of winter wild oat in response to diclofop methyl herbicide (The results are calculated as percent of control).

درجه مقاومت	GR ₅₀ (mg a.i.L ⁻¹)	کد بیوتیپ	درجه مقاومت	GR ₅₀ (mg a.i.L ⁻¹)	کد بیوتیپ
Resistance factor		Biotype code	Resistance factor		Biotype code
>752.57**	403.66(117.28)**	ram37	-	0.3 (0.05)	حساس (S)
>752.57**	>640**	ram38	>752.57**	>640**	ram1
>752.57**	442.73(157.77)**	ram40	>752.57**	>640**	ram2
144.79(91.33)**	43.23(6.72)**	ram43	174.26(51.29)**	52.021(10.97)**	ram3
>752.57**	499.43(10.00)**	ram44	592.53(181.35)	176.88(44.49)**	ram4
>752.57**	>640**	ram45	>752.57**	>640**	ram5
258.49(68.17)**	77.16(11.08)**	ram46	>752.57**	>640**	ram6
>752.57**	>640**	ram47	>752.57**	442.73(175.38)**	ram7
450.61(123.94)**	134.50(21.99)**	ram48	652.99(168.95)**	194.93(30.68)**	ram9
>752.57**	374.33(136.13)**	ram49	>752.57**	372.09(55.78)**	ram11
529.60(146.52)**	158.1(9.60)**	ram50	>752.57**	>640**	ram12
731.33(200.00)**	218.32(9.60)**	ram51	>752.57**	>640**	ram13
>752.57**	264.14(10.00)**	ram52	>752.57**	>640**	ram14
>752.57**	>640**	ram53	234.20(52.99)**	69.92(6.64)**	ram15
>752.57**	>640**	ram54	>752.57**	317.53(111.86)**	ram17
310.59(65.89)**	92.72(9.50)**	ram57	>752.57**	>640**	ram18
>752.57**	>640**	ram58	>752.57**	323.74(56.81)**	ram19
752.57(174.52)**	224.65(31.56)**	ram60	481.62(125.66)**	143.78(23.14)**	ram20
286.00(68.47)**	85.37(13.03)**	ram62	>752.57**	>640**	ram21
365.63(118.68)**	109.15(22.78)**	ram63	>752.57**	>640**	ram22
356.25(81.40)**	106.35(14.34)**	ram64	623.06(186.8)	186.00(45.36)**	ram23
>752.57**	>640**	ram66	>752.57**	387.98(77.09)**	ram24
>752.57**	463.81(78.70)**	ram68	>752.57**	349.00(44.62)**	ram25
>752.57**	561.53(146.73)**	ram71	>752.57**	400.95(79.34)**	ram29
>752.57**	>640**	ram73	365.62(83.26)**	109.15(15.98)**	ram30
>752.57**	278.68(49.90)**	ram75	354.81(75.736)**	105.92(13.03)**	ram31
553.50(476.06)**	165.23(49.88)**	ram77	274.83(72.71)**	82.04(15.86)**	ram32
365.63(118.68)**	142.11(31.51)**	ram79	534.88(158.35)**	159.66(31.42)**	ram33
>752.57**	451.35(193.85)**	ram80	175.62(62.42)**	52.43(8.80)**	ram35
			646.95(280.83)**	193.11(72.13)**	ram36

** معنی‌داری در سطح احتمال $p \leq 0.01$

** Significant at $p \leq 0.01$

اعداد داخل پرانتز نماینده خطای معیار می‌باشد.

The values in the parentheses denote standard error.

مقادیر EC₅₀ برآورد شده برای بیوتیپ‌های مقاوم یولاف وحشی زمستانه بین ۲/۸۲ تا بیشتر از ۸۱/۹۲ میلی‌گرم ماده موثره در لیتر متفاوت بود. بر این اساس، شاخص درجه مقاومت متفاوتی برای بیوتیپ‌های مورد آزمون به دست آمد. شاخص‌های به دست آمده از مقدار ۳۱۰/۲۷ تا بیش از ۱۴۴۳/۹۰ متغیر بوده است (جدول ۹). بیوتیپ‌هایی که EC₅₀ آنها بزرگتر از ۸۱/۹۲ میلی‌گرم ماده موثره می‌باشد، بیوتیپ‌هایی هستند که توانسته‌اند در بالاترین غلظت اعمال شده طول گیاهچه خود را حفظ کنند و ۱۴۴۳/۹۰ شاخص مقاومت به دست آمده برای بیوتیپ ram 63 می‌باشد، این بیوتیپ بالاترین شاخص مقاومتی را در بین بیوتیپ‌هایی دارد که با غلظت‌های اعمال شده حداقل طول گیاهچه را داشته‌اند.

علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل

واکنش طول گیاهچه بیوتیپ‌های حساس و مقاوم یولاف وحشی وحشی زمستانه به غلظت‌های مختلف علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل با استفاده از برازش مدل لگ-لجستیک بررسی شد. نتایج آزمایش غلظت- پاسخ حاکی از بروز مقاومت به علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل در بیوتیپ‌های مورد آزمون بود. با این حال پاسخ بیوتیپ‌ها به غلظت‌های مختلف علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل و در نتیجه میزان مقاومت آن‌ها به این علف‌کش متفاوت بود. برای کنترل ۵۰ درصدی بیوتیپ حساس یولاف وحشی وحشی زمستانه ۰/۰۱ میلی‌گرم ماده موثره در لیتر از علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل لازم بود.

جدول ۹- پارامترهای برآورد شده از برازش تابع لگ-لجستیک به طول گیاهچه بیوتیپ‌های مقاوم و حساس علف هرز یولاف وحشی وحشی در پاسخ به علف‌کش کلودینافوپ پروپازیل (نتایج بر اساس طول گیاهچه برحسب درصد از شاهد محاسبه شده‌است).

Table 9- Parameters estimated from the fitting of log-logistic function to coleoptile length of susceptible and resistant biotypes of winter wild oat in response to of clodinafop propargyl herbicide (The results are calculated as percent of control).

درجه مقاومت Resistance factor	GR ₅₀ (mg a.i.L ⁻¹)	کد بیوتیپ Biotype code	درجه مقاومت Resistance factor	GR ₅₀ (mg a.i.L ⁻¹)	کد بیوتیپ Biotype code
1386.4(371.27)**	12.25(1.38)**	ram37	-	0.01(0.00)**	حساس (S)
>1443.9**	>81.92**	ram38	>1443.9**	>81.92**	ram1
>1443.9**	17.03(3.45)**	ram40	>1443.9**	>81.92**	ram2
1302.90(429.37)**	11.86(2.59)**	ram43	310.27(104.52)**	2.82(0.67)**	ram3
>1443.9**	58.01(11.97)**	ram44	942.24(348.10)**	8.58(2.42)**	ram4
>1443.9**	44.84(17.54)**	ram45	>1443.9**	65.88(15.82)**	ram5
409.48(185.10)**	3.73(1.24)**	ram46	>1443.9**	>81.92**	ram6
>1443.9**	>81.92**	ram47	>1443.9**	25.41(6.69)**	ram7
405.04(128.28)**	3.68(0.71)**	ram48	992.12(305.68)	9.03 (1.62)**	ram9
>1443.9**	34.00(7.48)**	ram49	>1443.9**	33.31(6.34)**	ram11
945.31(391.01)**	8.61(2.40)**	ram50	>1443.9**	>81.92**	ram12
1209.5(292.12)	11.01(1.07)**	ram51	>1443.9**	>81.92**	ram13
>1443.9**	36.26(8.24)**	ram52	>1443.9**	>81.92**	ram14
>1443.9**	18.27(1.55)**	ram53	656.91(224.63)**	5.98(1.47)**	ram15
>1443.9**	>81.92**	ram57	>1443.9**	15.01(3.41)**	ram17
>1443.9**	>81.92**	ram58	>1443.9**	13.26(3.32)**	ram18
>1443.9**	19.53(3.13)**	ram60	1400.00(388.25)**	12.74(2.11)**	ram19
>1443.9**	79.48(17.90)**	ram62	>1443.9**	40.44(5.72)**	ram20
1443.90(497.68)**	13.14(2.97)**	ram63	>1443.9**	31.04(4.93)**	ram21
1162.4(335.89)**	10.58(1.74)**	ram64	>1443.9**	>81.92**	ram22
>1443.9**	32.83(6.57)**	ram66	>1443.9**	19.53(3.74)**	ram25
>1443.9**	23.55(4.99)**	ram68	>1443.9**	>81.92**	ram23
>1443.9**	56.42(21.65)**	ram71	>1443.9**	75.36(24.15)**	ram24
>1443.9**	>81.92**	ram73	>1443.9**	>81.92**	ram29
>1443.9**	20.52(3.75)**	ram75	>1443.9**	13.25(2.54)**	ram30
>1443.9**	19.31(3.95)**	ram77	>1443.9**	13.88(3.70)**	ram31
>1443.9**	32.38(4.56)**	ram79	>1443.9**	20.32(4.63)**	ram 32
>1443.9**	>81.92**	ram80	>1443.9**	21.31(4.44)**	ram 33
			310.26(108.44)**	2.82(0.70)**	ram35
			983.48(377.37)**	8.95(2.63)**	ram36

** معنی‌داری در سطح احتمال p<0.01

** Significant at p<0.01

اعداد داخل پرانتز نمایشگر خطای معیار می‌باشد.

The values in the parentheses denote standard error.

مقاومت در یولاف وحشی و وحشی زمستانه نسبت به بازدارنده‌های ACCase توسط زرد و باغستانی (۲۱)، بناکاشانی و همکاران (۱)، راستگو (۱۵) تأیید و گزارش شده‌است. مقاومت عرضی یولاف وحشی وحشی را در استان گلستان توسط نجاری (۱۳) در شهرستان آق قلا ۳۰ درصد، کلامی (۷) در شهرستان کردکوی ۲۱ درصد، طاطاری (۲۰) در شهرستان گنبد ۶ درصد، رازقندی (۱۶) در شهرستان علی‌آباد ۴۹ درصد و صوفی‌زاده (۱۹) در کلاله ۱۱/۴۳ درصد گزارش کردند. باتوجه به نتایج شهرستان رامیان، ۵۸ بیوتیپ یولاف وحشی و وحشی زمستانه به هر سه علف‌کش کلودینافوپ پروپازیل، فنوکسپروپ پی اتیل و دیکلوفوپ متیل دارای مقاومت عرضی بودند که بیانگر تکوین پدیده مقاومت این شهرستان در سال‌های گذشته می‌باشد. با توجه به بالا بودن شاخص‌های مقاومتی در بیوتیپ‌های یولاف

نتایج این تحقیق بروز مقاومت به علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپازیل، فنوکسپروپ پی اتیل و دیکلوفوپ متیل در ۵۸ بیوتیپ یولاف وحشی زمستانه جمع‌آوری شده از مزارع گندم شهرستان رامیان را تأیید می‌کند. در میان بیوتیپ‌های مقاوم یولاف وحشی وحشی زمستانه، شاخص درجه مقاومت متفاوتی به علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپازیل، فنوکسپروپ پی اتیل و دیکلوفوپ متیل به دست آمد. برخی از بیوتیپ‌ها در هر سه علف‌کش دارای شاخص مقاومتی بسیار بالایی بوده‌اند. در علف‌کش کلودینافوپ پروپازیل ۴۲ بیوتیپ دارای شاخص مقاومتی بالاتراز ۱۴۴۳/۹۰ بوده و همچنین در علف‌کش‌های دیکلوفوپ متیل و فنوکسپروپ پی اتیل به ترتیب ۳۸ و ۱۱ بیوتیپ شاخص مقاومتی بالای ۷۵۲/۵۷ و ۸۵۱/۳۳ داشته‌اند.

برای بیوتیپ ram 15 به دست آمد. در دو علف کش دیگر شاخص های مقاومتی پایین بوده و EC₅₀ بیوتیپ های مورد بررسی تفاوت معناداری با بیوتیپ حساس نداشتند (جدول ۱۱ و ۱۲).

غلظت تفکیک کننده براساس EC₅₀ در آزمون سریع در بیوتیپ مقاوم قیاق (*Sorghum halepense* L.) با استفاده از علف کش کلتودیم معادل ۰/۰۹ میلی گرم در لیتر به دست آمد (۳). این غلظت برای علف کش ستوکسیدیم و در علف هرز دم رویاهی (*Setaria faberi* Herrm.) برابر با ۱۰ میلی گرم در لیتر بود (۱۶). مطالعه اثر چند علف کش متعلق گروه های شیمیایی مختلف از خانواده بازدارنده های ACCase روی یولاف وحشی وحشی (*Avena fatua* L.) نشان داد که غلظت تفکیک کننده برای علف کش های فنوکساپروپ پی اتیل، کلودینافوپ پروپازیل، کلتودیم، ستوکسیدیم و ترالوکسیدیم که موجب ۸۰٪ کاهش طول گیاهچه نسبت به شاهد می شود به ترتیب برابر با ۱۰، ۳، ۵، ۱، ۵ و ۵ میکرومول در لیتر بود (۲).

وحشی برای داشتن یک برنامه مدیریتی، نیازمند اطلاعات بیشتر از واکنش بیوتیپ های یولاف وحشی زمستانه در برابر سایر علف کش ها می باشد. به این منظور و در جهت بررسی واکنش بیوتیپ های مقاوم، سه علف کش هالوکسی فوپ-آر متیل استر، کلتودیم و پینوکسازن از خانواده آریلوکسی فنوکسی پروپیونات، سیکلو هگزاندیون و فنیل پیرازولین ها جهت تست پتری انتخاب شدند. دو بیوتیپ از بین بیوتیپ هایی با شاخص مقاومتی بالا ram 18، ram 1 و دو بیوتیپ از بین بیوتیپ هایی با کمترین شاخص مقاومتی ram 4 و ram 15 به عنوان نمونه مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج در جداول (۱۰، ۱۱، ۱۲) گنجانده شده است.

در ۴ بیوتیپ مورد بررسی باتوجه به برازش تابع لگ-لجستیک به داده ها، طول گیاهچه بیوتیپ یولاف وحشی زمستانه در برابر غلظت های مختلف هالوکسی فوپ-آر متیل استر مقدار EC₅₀ برای بیوتیپ حساس ۰/۰۱۳ میلی گرم ماده موثره در لیتر برآورد شد (جدول ۱۰). در بیوتیپ ram 1 مقدار EC₅₀ برابر ۳/۵۸ با شاخص مقاومتی معادل ۴۵۴/۳۵ و کمترین مقدار شاخص مقاومتی معادل ۲۸۴/۵۰

جدول ۱۰- پارامترهای برآورد شده از برازش تابع لگ-لجستیک به طول گیاهچه بیوتیپ های مقاوم و حساس علف هرز یولاف وحشی وحشی زمستانه در پاسخ به هالوکسی فوپ-آر متیل استر

Table 10- Parameters estimated from the fitting of log-logistic function to coleoptile length of susceptible and resistant biotypes of winter wild oat in response to haloxyfop-R methyl ester

کد بیوتیپ Biotype code	حد بالا (d) Upper limit (d)	شیب منحنی (b) Slope (b)	EC ₅₀ mg a.i.L ⁻¹	شاخص مقاومت Resistance factor
حساس (S)	98.84(2.14)	0.65(0.05)	0.013(0.0007)	-
ram1	99.97(3.67)	1.23(0.23)	3.58(0.62)	424.35(69.45)
ram15	100.05(3.67)	0.92(0.11)	5.35(0.81)	284.50(52.27)
ram4	100.12(3.67)	1.33(0.28)	3.69(0.62)	292.93(53.03)
ram18	99.92(3.68)	0.93(0.12)	5.08(0.79)	403.11(67.31)

** معنی داری در سطح احتمال p≤0.01

() اعداد داخل پرانتز نماینگر خطای معیار می باشد.

** Significant at p≤0.01

() values in parentheses denote standard error.

جدول ۱۱- پارامترهای برآورد شده از برازش تابع لگ-لجستیک به طول گیاهچه بیوتیپ های مقاوم و حساس علف هرز یولاف وحشی وحشی زمستانه در پاسخ به کلتودیم

Table 11- Parameters estimated from the fitting of log-logistic function to coleoptile length of susceptible and resistant biotypes of winter wild oat in response to clethodim

کد بیوتیپ Biotype code	حد بالا (d) Upper limit (d)	شیب منحنی (b) Slope (b)	EC ₅₀ mg a.i.L ⁻¹	شاخص مقاومت Resistance factor
حساس (S)	99.52(6.35)	0.64(0.12)	0.0011(0.0004)	-
ram1	99.05(6.40)	0.68(0.12)	0.0021((0.0007)	1.96(1.07)
ram15	99.25(6.38)	0.69(0.12)	0.0016(0.0006)	1.48(0.81)
ram4	99.43(6.36)	0.55(0.11)	0.0012(0.0006)	1.16(0.71)
ram18	99.47(6.35)	0.55(0.11)	0.0013(0.0006)	1.20(0.73)

** معنی داری در سطح احتمال p≤0.01

() اعداد داخل پرانتز نماینگر خطای معیار می باشد.

** Significant at p≤0.01

() values in parentheses denote standard error.

جدول ۱۲- پارامترهای برآورد شده از برازش تابع لگ-لجستیک به طول گیاهچه بیوتیپ‌های مقاوم و حساس علف هرز یولاف وحشی وحشی زمستانه در پاسخ به پینوکسادن

Table 12- Parameters estimated from the fitting of log-logistic function to coleoptile length of susceptible and resistant biotypes of winter wild oat in response to pinoxaden

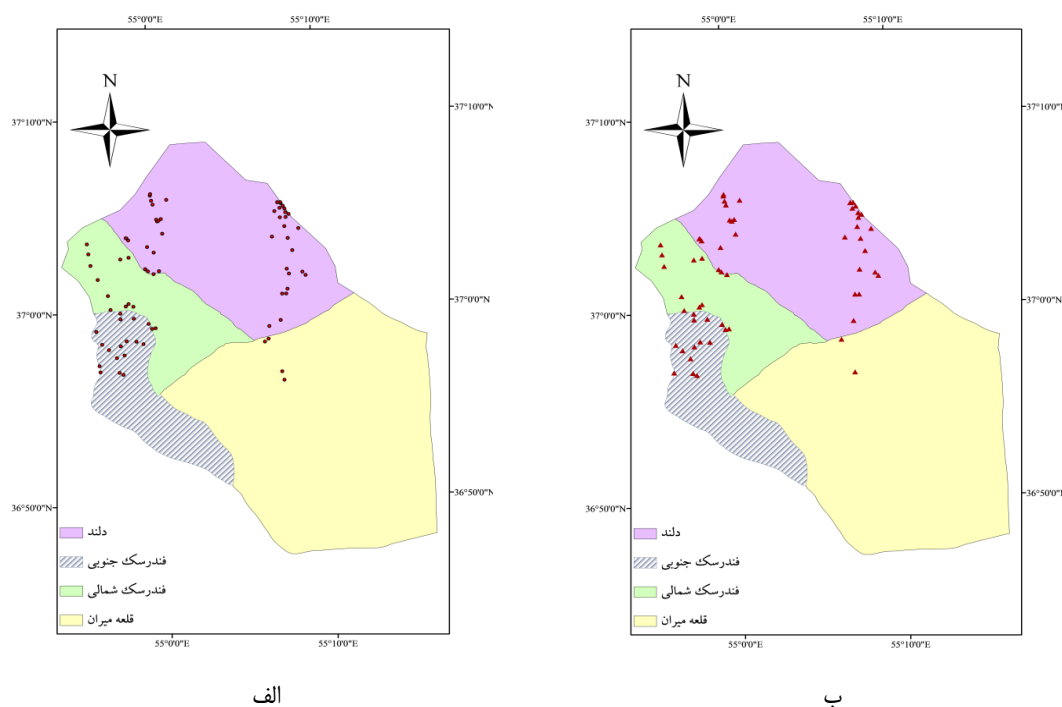
کد بیوتیپ Biotype code	حد بالا (d) Upper limit (d)	شیب منحنی (b) Slope (b)	EC ₅₀ mg a.i.L ⁻¹	شاخص مقاومت Resistance factor
حساس (S)	94.68(4.32)	1.71(0.34)	0.10(0.01)	-
ram1	100.71(5.48)	0.75(0.14)	0.14(0.04)	1.34(0.40)
ram15	100.56(5.51)	1.18(0.32)	0.11(0.02)	1.10(0.25)
ram4	100.29(5.53)	1.384(0.32)	0.12(0.02)	1.15(0.26)
ram18	100.30(5.53)	1.30(0.29)	0.12(0.02)	1.16(0.25)

** معنی‌داری در سطح احتمال $p \leq 0.01$

() اعداد داخل پرانتز نمایگر خطای معیار می‌باشد.

** Significant at $p \leq 0.01$

() values in parentheses denote standard error.



شکل ۲- (الف) نقشه پراکنش بیوتیپ‌های یولاف وحشی زمستانه مشکوک به مقاومت جمع آوری شده از مزارع شهرستان رامیان (ب) نقشه پراکنش بیوتیپ‌های یولاف وحشی مقاوم به کلودینافوپ پروپارگیل، فنوکساپروپ پی اتیل و دیکلوفوپ متیل

Figure 2- a) Distribution map of the fields putatively infested with winter wild oat b) Distribution map of winter wild oat biotypes resistant to fenoxaprop-P ethyl, diclofop methyl and clodinafop propargyl

بررسی نتایج، بیانگر درجه مقاومت بالا نسبت به علف‌کش‌های خانواده ACCase در این شهرستان می‌باشد. همچنین سعی شد با بیان نتایج تحقیقاتی که در استان گلستان در این سطح انجام شده است دیدی از کل استان پیش رو باشد. این نکته قابل‌الذکر است در آزمون تست پتری نسبت به آزمایش‌های گلدانی همواره شاخص‌های مقاومتی بالاتری از مقاومت برآورد می‌شود. برآورد بالای درجات مقاومت گویای دیرینه بودن و داشتن نگاه مدیریت انفعالی در کنترل

علف‌های هرز می‌باشد. مدیریت انفعالی^۱ مدیریتی است که از یک ابزار تا زمان داشتن کارایی استفاده می‌شود و سپس با شکسته شدن کارایی این ابزار به فکر جایگزینی با ابزار دیگر می‌شود. اما مدیریت غیر انفعالی^۲ مدیریتی است که با اجتناب از شکستن ابزار سعی در حفظ اثر ابزار دارد (۱۲). جهت داشتن یک برنامه برپایه مدیریت غیر

- 1- Reactive management
- 2- Proactive management

انفعالی نکات بسیاری باید بررسی و مدنظر قرار گرفته شود.

در مزارع شهرستان رامیان، تناوب زراعی شامل گندم، کلزا، توت فرنگی، نخودفرنگی، باقلا، گوجه فرنگی، خیار و... می‌باشد. شاید بدون در نظر گرفتن نوع سموم علف‌کشی مصرفی در محصولات ذکر شده برنامه تناوبی مناسبی در دست اجرا باشد. اما با بررسی‌های میدانی و پرسش و پاسخ از کشاورزان منطقه در می‌یابیم در محصولاتی که در برنامه تناوبی با گندم قرار گرفته‌اند برخلاف انتظار، کشاورزان جهت مبارزه با علف‌های هرز باریک‌برگ استفاده از سموم شیمیایی را بدون توجه به نوع خانواده شیمیایی جایگزین روش‌های مکانیکی و زراعی نموده‌اند. به صرفه بودن روش‌های شیمیایی در کنار سهولت استفاده نسبت به روش‌های مکانیکی و زراعی کاربرد علف‌کش‌های بازدارنده ACCase را در این محصولات پررنگ‌تر کرده است. هم‌چنین عدم برنامه‌ریزی کشاورزان در مدیریت علف‌های هرز محصولات سبب شده است به عنوان استراتژی دقیقه آخر، مبارزه شیمیایی انتخاب شده و بدون در نظر گرفتن تناوب علف‌کشی اجرا شود. همین عامل سبب فشار گزینشی شدیدی شده بطوری که تک بوته‌های باقیمانده از کنترل شیمیایی قادر به تغییر نسبت‌های ژنوتیپی و فنوتیپی فلور علف‌های هرز منطقه می‌باشند. تداوم این فشار باعث افزایش فراوانی آلل‌های مقاوم نسبت به

حساس می‌شود (۱۰ و ۵). استفاده از علف‌کش‌هایی که نحوه عمل متفاوت دارند، می‌تواند منجر به از بین رفتن بوته‌های حساس و مقاوم شود، ولی از سوی دیگر این امر به منزله اعمال فشار گزینشی جدیدی خواهد بود که در نهایت باعث تشدید مقاومت و حتی بروز مقاومت‌های عرضی و چندگانه خواهد شد (۴) و به همین دلیل توجه به سایر اجزای مدیریت تلفیقی از اهمیت به‌سزایی برای جلوگیری و یا به تاخیر انداختن پدیده مقاومت به علف‌کش‌ها برخوردار می‌باشد.

نقشه‌های پراکنش رسم شده توسط نرم‌افزار GIS به مدیران کشاورزی این توانایی را می‌دهد که با در نظر گرفتن مزارع آلوده به علف‌های هرز مقاوم برنامه‌های مدیریتی در جهت کاهش فشار گزینشی داشته باشند. عدم توزیع سموم علف‌کشی که باعث توسعه مقاومت در مناطق آلوده می‌شود از دسترس کشاورزان در کنار روش‌های زراعی سبب کاهش فشار گزینشی می‌شود. به‌کارگیری اصل تنوع گیاهان زراعی در حقیقت ابزاری است جهت برهم زدن تعادل و ثبات جوامع علف‌های هرز و نیز افزایش توان رقابتی گیاه زراعی که این فرایند در دراز مدت موجب کاهش حضور و به حداقل رسانیدن تعداد و میزان خسارت ناشی از حضور علف‌های هرز مقاوم و جلوگیری از افزایش آلل‌های مقاوم خواهد شد.

منابع

- Banakashani F., Zand E., and Alizadeh H.M., 2007. Resistance of wild oat (*Avena ludoviciana*) biotypes to clodinafop-propargil herbicide. *Applied Entomology and Phytopathology* 74: 127-149. (In Persian with English abstract)
- Bourgeois L., and Morrison I.N. 1997. Mapping risk areas for resistance to ACCase inhibitor herbicides in Manitoba. *Canadian Journal of Plant Science* 77: 173-179.
- 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(4): 950-955.
- Gherekhloo J., Osuna M.D., and De Prado R. 2012. Biochemical and molecular basis of resistance to ACCase-inhibiting herbicides in Iranian *Palaris* minor populations. *Weed Research* 52: 367-372.
- Gherekhloo J., Oveisi M., Zand E., and De Prado R. 2016. A review of herbicide resistance in Iran. *Weed Science* 64:551-561.
- Heap I. 2020. International survey of herbicide resistance weeds. www.weedscience.com. Accessed: 10 Jan 2019.
- Kalami R. 2014. Identification of resistant weeds to ACCase and ALS inhibitors in wheat fields of Kordkuy. MSc Thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. (In Persian)
- Koller M., and Lanini W.T. 2005. Site-specific herbicide applications based on weed maps provide effective control. *California Agriculture* 59: 182-187.
- Maneechote C., Preston C., and Powles S.B. 1997. A diclofop-methyl-resistant *Avena sterilis* biotype with a herbicide-resistant acetyl-coenzyme a carboxylase and enhanced metabolism of diclofop-methyl. *Pesticide Science* 49: 105-114.
- Maxwell B.D., Roush M.L., and Radosevich S.R. 1990. Predicting the evolution and dynamics of herbicide resistance in weed populations. *Weed Technology* 4: 2-13.
- Montazeri M., Zand E., and Baghestani M.A. 2005. Weeds and their control in wheat fields of Iran. *Advances in Agronomy* 58: 57-93.
- Mueller T.C., Mitchell P.D., Young B.G., and Culpepper A.S. 2005. Proactive versus reactive management of glyphosate-resistant or -tolerant weeds. *Weed Technology* 19(4): 924-933.
- Najjari Kalantari. 2013. Identification of resistant weeds to ACCase and ALS inhibitors in wheat fields of Aq Qala and preparing their distribution map. MSc Thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural

Resources. (In Persian)

- 14- Prather T.S., Ditomaso J.M., and Holt J.S. 2000. Herbicide resistance, definition and management strategies. Publication of Division of Agriculture and Natural Resources. UC Davis USA. Publication 8012.
- 15- Rastgoo M. 2007. Detecting of *Avena ludoviciana* resistant to aryloxyphenoxypropionate herbicides in wheat fields of Khuzestan province. PhD Thesis, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian)
- 16- Razghandi A. 2016. Identification of resistant biotypes to aryloxy phenoxy propionate and asetylactate synthase inhibitors in wheat fields of Aliabad-e katool and preparing their distribution map. MSc Thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. (In Persian)
- 17- Retrum J., and Forcella F. 2002. Giant foxtail (*Setaria faberi*) seedling assay for resistance to sethoxydim. Weed Technology 16(2): 464-466.
- 18- Ritz C., and Streibig J.C. 2005. Bioassay analysis using R. Journal of Statistical Software 12(5): 1-22.
- 19- Soofizadeh T. 2015. Identification of resistant biotypes to aryloxy phenoxy propionate and asetylactate synthase inhibitors in wheat fields of Kalaleh and preparing their distribution map. MSc Thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. (In Persian)
- 20- Tatari S., Gherekhloo J., Siahmarguee A., and Kazemi H. 2018. Identification of resistant *Avena ludoviciana* Dur accessions to ACCase inhibitor herbicides in Gonbad-E Kavus wheat fields and mapping their distribution. Plant Productions 41(2): 103-116.
- 21- Zand E., and Baghestani M.A. 2002. Weed resistance to herbicides. Jihad-e-Daneshgahi Press, 176pp.
- 22- Zand E., Baghestani M., Nezamabadi N., and Shimi P. 2017. Application guide of registered herbicides in Iran. Jihade-e-Daneshgahi Press, Mashhad, 223 pp.
- 23- Zhang Y., Li W., Zhou W., Jia H., Liu L., Li B., Han Y., and Qi S. 2020. Dissipation dynamics and dietary risk assessment of pyraclonil residues in rice (*Oryza sativa* L.). Microchemical Journal 152: 104440.

Investigating the Resistance of Winter Wild Oat Biotypes to ACCase Inhibitor Herbicide in Wheat Fields of Ramian County

M. Heravi¹- J. Gherekhloo^{2*}- A. Siahmarguee³- H. Kazemi⁴- S. Hassanpour- Bourkheili⁵

Received: 11-05-2020

Accepted: 14-09-2020

Introduction: Weeds are wild plant species which grow in agricultural ecosystems and compete with crops for resources such as water, nutrients, light, and space. Wild oat is reported as one of the most troublesome autumn weeds in croplands and its dominant species in Iran is winter wild oat (*Avena ludoviciana* Dur.). Herbicide resistance is the inherent ability of a weed biotype in survival after being exposed to a rate of herbicide which would be lethal to the wild type species. In the recent years, there have been several reports on the occurrence of herbicide resistance in Golestan province. The following research was conducted to identify the ACCase- resistant winter wild oat biotypes and generation of distribution map for the resistant biotypes in wheat fields of Ramian Township.

Materials and Methods: The present study was conducted in 2017-2018 at the greenhouse and Weed Science laboratory of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Plant material included 80 putatively resistant winter wild oat biotypes which were collected from 100 wheat fields of Ramian Township. The susceptible biotype was also collected from the regions with no history of herbicide spray. Three Acetyl coenzyme A carboxylase (ACCase) inhibiting herbicides including clodinafop propargyl, fenoxaprop-P ethyl, and diclofop methyl which are common graminicides applied in wheat fields of the country were used to confirm the occurrence of resistance in winter wild oat biotypes. Three herbicides including pinoxaden, clethodim, and haloxyfop-R methyl ester were also applied on the biotypes as the possible alternative herbicides. First the winter wild oat seeds were hulled by hand. To obtain a more uniform germination, the seeds were placed in 9 cm Petri dishes topped with a filter paper and 2.5 mL of distilled water was added to the Petri dishes. Then, the Petri dishes were transferred to a refrigerator with a temperature of 4-5°C under darkness conditions. After pre-chilling, the petri dishes were incubated at the room temperature to germinate. To perform the discriminating concentration, pre- screening and concentration- response assays, 10 pre- germinated seeds from each biotype were placed on the Petri dishes as described above, then were treated with various concentrations of the mentioned herbicides. Three Petri dishes were used for each concentration, with each Petri dish serving as a replicate. Also, the Petri dishes treated with distilled water were regarded as control. The Petri dishes were kept at the room temperature for seven days and then the length of their coleoptile was measured. Four parametered log-logistic function was fitted to the data using R software (drc package). ArcGis V.10.3 was used to generate the distribution map of the herbicide- resistant biotypes.

Results and Discussion: Results of the present study indicate the confirmation of resistance to clodinafop propargyl, fenoxaprop-P ethyl, and diclofop methyl herbicides in 58 out of 80 winter wild oat biotypes gathered from wheat fields of Ramian Township. Resistance factor to clodinafop propargyl, fenoxaprop-P ethyl, and diclofop methyl herbicides were 48.69 to >851.33, 52.57 to >752.57, and 310.27 to >1443.90, respectively. For further investigation on the response of these resistant biotypes, three herbicides including pinoxaden, clethodim, and haloxyfop-R methyl ester were applied on the biotypes as a Petri dish assay. Two biotypes with the highest resistance factors (ram1, ram18) and two with the lowest resistance factors (ram15, ram4) were selected for this assay. In the haloxyfop-R methyl ester treatment, the highest and lowest resistance factors were observed in ram1 with 423.35 and ram15 with 284.50, respectively. In the other two herbicide however, resistance factor had no significant difference with the value 1. Application of herbicides possessing different modes of action may lead to elimination of both susceptible and resistant biotypes. However, this will serve as a new selective pressure which will eventually result in intensification of resistance and furthermore, evolution of cross and multiple- resistant species. Thus, meticulous application of integrated weed management methods are of great importance to prevent or delay the evolution of resistance to herbicides.

Conclusion: Implementation of cultural methods for weed management and preventing the distribution of

1, 2, 3, 4 and 5- M.Sc. Graduate of Weed Science, Associate Professor, Assistant Professor, Associate Professor and Ph.D. Graduate of Crop Ecology, Plant Production Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: gherekhloo@gau.ac.ir)

herbicides to which the weeds have readily developed resistance will lead to reduction of selective pressure. Adoption of crop and herbicide rotation principles will serve as a tool to debilitate the weed in competition with the crop, which in long term may contribute to reduced frequency of resistant alleles.

Keywords: Concentration-response assay, Distribution map, Herbicide resistance, Resistance factor