

Evaluation of the Wild oat (*Avena ludoviciana*) Resistance Trend to Acetyl coAcarboxylase Inhibitor Herbicides in Fars Province's Wheat Fields

Zohre Aghajani¹, Mehdi Raštgo^{2*}, Eskandar Zand³, Abdolreza Bagheri⁴

1. PhD student, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad.
2. Associate professor, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad (Corresponding author).
3. Professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran.
4. Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad.

Received: January 2021 Accepted: May 2021- DOI: 10.22092/aj.2021.353115.1525

Extended Abstract

Aghajani, Z., Raštgo, M., Zand, E., Bagheri, A., Evaluation of the Wild oat (*Avena ludoviciana*) Resistance Trend to Acetyl coAcarboxylase Inhibitor Herbicides in Fars Province's Wheat Fields **Applied Research in Field Crops Vol 34, No. 1, 2021 7-9: 29-54**(in Persian)

Introduction:

Winter wild oat (*Avena ludoviciana* Durieu.) is one of the most important weeds in wheat fields. The wheat farming relies on chemical control. Most of the registered herbicides for these fields are in group of Acetyl CoA carboxylase (ACCase). These group of herbicides are the most effective ones to control weeds with low active ingredients and low toxicity for mammals, making their application extensive all over the world. To date, 49 weed species have been identified as resistance to ACCase inhibitor herbicides. (Heap, 2021). Resistance to herbicides in *Avena* spp. have been frequently reported in wheat fields of Iran. The first instance of resistance to ACCase inhibitors was reported in 2006. This study was conducted on some *Avena ludoviciana* Durieu. populations collected in 2014 from wheat fields (in Fars province) which their weed herbicide resistance had been studied in 2009 (Sasanfar, 2017). The aim of this study was to investigate the effect of chemical management on the control of resistant winter wild oats and the trend of resistance evaluation.

Email address of the corresponding author: m.raštgo@um.ac.ir

Materials and Methods:

In order to monitor the trend of resistance, the seeds of 11 *Avena ludoviciana* Durieu. populations, which were suspected to be resistant, were collected from Marvdasht, Estahban, Sepidan and were screened along with a sensitive population using 8 herbicides of Acetyl CoA carboxylase group. Also the resistance index for the resistant population to the herbicide clodinafop propargyl was measured in a dose-response test using 9 doses. The greenhouse studies (resistance screening and dose-response tests) were conducted with five replications. Fresh weight reduction in single stand/plant related to untreated control and survival percentages was evaluated 28 days after herbicide applications. Based on screening data, resistant populations were classified with R classification system (Moss *et al.*, 2007) and three-parameter log-logistic model was fitted to dose-response data. Some molecular markers were used to detect mutations conferring herbicide resistance in ACCase enzyme gene. Ultimately, the results of assays were compared with the same ones reported in the past resistance survey of these fields to understand the trends of resistance.

Results and Discussion:

All populations were resistant to three fop herbicides used in this study: clodinafop propargyl, fenoxaprop-p-ethyl and diclofop methyl. Cross-resistance of three populations of Marvdasht (M1, M2 and M4) was confirmed where M1 and M2 populations were cross resistant to pinoxaden. The results of applying sulfonylureas herbicides indicated that multiple herbicide resistance occurred in ES2, ES4 and M4 populations .

Results of dose-response tests showed that, despite ED_{50} being 22.37 g ai/ha for the susceptible population, the range of the measured ED_{50} in the resistant populations were between 81.2 to 270.9 g a. i/ha; Therefore, the RI values for the most resistant population, ES4, to clodinafop propargyl herbicide based on fresh weight as percentage of untreated control is more than 12 and for the least resistant population, S2, was 3.8. Resistance in some populations could not be measured because it was not possible to reduce their fresh weight below 50% even with the application of herbicide doses, which were 32 times more than the recommended dose. According to the survival percentage data, the most resistant population was M3 from Marvdasht but the evaluated ED_{50} values of S2, ES2, ES3 and ES4 were less than the values evaluated on the basis of fresh weight. It seems that the seeds of these populations are not uniform but their resistant plant individuals exhibit

good growth rate and could be crop competitive in fields.

The resistance report on the seeds collected in 2009 showed no resistance to dms and den herbicides in any population; except M4 which was resistant to sethoxydim. In our survey (on the seeds collected in 2014), Marvdasht populations were resistant to all three fop herbicides and cross-resistance to sethoxydim, cycloxydim and pinoxaden. The molecular studies confirmed three Ile-1781, Ile-2041 and Trp-2027 mutations in the resistant individual plants of wild oat (*A. ludoviciana*) populations. The comparison of the results of these two studies showed, although, the resistance-endowing *ACC* gene mutations in two populations M2 and S1 collected in 2009 and 2014 were the same; but there were changes in other populations in these two years. The 1781 and 2027 mutations were observed in Estahban and Marvdasht populations collected in 2014 for the first time, respectively.

Conclusion:

Resistance trend survey confirmed the expansion of cross resistance spectrum to three herbicide families (fops, dms and den) and enhanced resistance indices, suggesting longtime integrated management instead of chemical control is needed.

Keywords: Cross resistance, dose- response, mutation

References:

- Sasanfar, H.R. 2017. *Evaluating the mechanisms of cross-resistance to ACCase inhibitor herbicides in wild oat (Avena ludoviciana) populations*. PhD Dissertation, Faculty of agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran (In Persian with English Summary).
- Heap, I.M. 2021. International survey of herbicide resistant weeds. Available at: <http://www.weedscience.org> [Accessed February 4, 2021].
- Moss, S.R., Perryman, S.A.M., and Tatnell, L.V. 2007. Managing Herbicide-resistant Blackgrass (*Alopecurus myosuroides*): Theory and Practice. *Weed Technology*, 21(2): 300-309. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-06-087.1>

ارزیابی روند مقاومت یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*) به علف کش هایی از بازدارنده های استیل کوآنزیم آکربوکسیلاز در مزارع گندم استان فارس

Evaluation of the Wild oat (*Avena ludoviciana*) Resistance Trend to Acetyl coAcarboxylase Inhibitor Herbicides in Fars Province's Wheat Fields

زهرا آقاجانی^۱، مهدی راستگو^{۲*}، اسکندر زند^۳، عبدالرضا باقری^۴

۱. دانشجوی دکتری علوم علف های هرز، گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.
۲. دانشیار، گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد (نگارنده مسئول).
۳. استاد، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران.
۴. استاد، گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۰۱ - شناسانه برنمود رقمی: aj.2021.353115.1525/10.22092

چکیده

آقاجانی، ز.، راستگو، م.، زند، ا.، باقری، ع.،. ارزیابی روند مقاومت یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*) به علف کش هایی از بازدارنده های استیل کوآنزیم آکربوکسیلاز در مزارع گندم استان فارس
نشریه پژوهش های کاربردی زراعی دوره ۳۴ - شماره ۲ - پاییز ۱۳۱ تابستان ۱۴۰۰ صفحه: ۵۴-۲۹

یولاف وحشی زمستانه (*Avena ludoviciana* Durieu). یکی از مهم ترین علف های هرز مزارع گندم است. در این مطالعه به منظور پی جویی مقاومت، جمعیت های یولاف وحشی زمستانه مشکوک به مقاومت که از مزارع گندم سه شهرستان مرودشت، استهبان و سپیدان در استان فارس جمع آوری شده بود، همراه با یک جمعیت حساس با استفاده از ۸ علف کش از گروه بازدارنده استیل کوآنزیم آکربوکسیلاز غربال شدند. درجه مقاومت جمعیت های مقاوم به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل در آزمایش دُز- پاسخ با کاربرد نه دُز ارزیابی شد. در این آزمایش ها، وزن تر تک بوته و تعداد گیاهان زنده مانده چهار هفته پس از سمپاشی نسبت به شاهد بررسی شد. همچنین ۷ جهش القاکننده مقاومت به بازدارندگان ACCase به روش dCaps روی توده های مقاوم بررسی شد. نتایج این آزمایش ها با مطالعات مقاومتی پیشین این مزارع مقایسه شد تا روند بهتری از بروز مقاومت بررسی شود. نتایج نشان داد که همه جمعیت های مورد بررسی به علف کش های دیکلوفوپ متیل، فنوکساپروپ پی اتیل و کلودینافوپ پروپارژیل مقاوم بودند. از این میان، مقاومت عرضی به علف کش های سیکلوکسیدیم و ستوکسیدیم در جمعیت های M1، M2 و M4 و به علف کش پینوکسادن در جمعیت های M1 و M2 از مرودشت نیز تأیید شد. بیشترین سطح مقاومت برای جمعیت های ES2 و ES4 بیش از ۱۰ برابر دُز توصیه شده برای علف کش کلودینافوپ پروپارژیل محاسبه و وجود جهش در نقاط ۱۷۸۱، ۲۰۴۱ و ۲۰۲۷ در آنزیم ACCase در برخی از جمعیت های مقاوم تأیید شد. بررسی روند مقاومت، گسترش طیف مقاومت عرضی به سه خانواده فوپ، دیم و دن و افزایش درجات آن را نشان داد. نتایج این مطالعه، نیاز به استراتژی بلندمدت مدیریت تلفیقی علف های هرز در مزارع گندم استان فارس را تأیید می کند.

کلمات کلیدی: مقاومت عرضی، جهش، مقاومت عرضی

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: m.rastgoo@um.ac.ir

مقدمه

علف کش ها ابزارهای مناسبی برای مدیریت علف های هرز و از عناصر مؤثر در حفظ نظام های بدون شخم یا با شخم کم در کشاورزی هستند (Naylor, 2008). علف کش های بازدارنده آنزیم استیل کوآنزیم آکربوکسیلاز (ACCase)^۱ یا علف کش های گروه A (بر اساس طبقه بندی کمیته کاری مقاومت به علف کش ها (HRAC)^۲)، علف های هرز خانواده گندمیان را در گیاهان زراعی پهن برگ و با چند ماده فعال محدود در گیاهان زراعی باریک برگ از جمله گندم به صورت اختصاصی کنترل می کنند (Busi et al., 2018). این گروه از علف کش ها به سه خانواده شیمیایی آریلوکسی فنوکسی پروپیونات (فوپ)، سیکلو هگزان دیون (دیم) و فیل پیرازولین (دن) تقسیم می شوند (Takano et al., 2019). مطالعات کینتیک آنزیمی به خوبی نشان می دهند که این سه خانواده بازدارنده های رقابتی سوبسترای استیل کوآنزیم آ در مسیر سنتز اسیدهای چرب هستند و با جلوگیری از مرحله ترانس کربوکسیلاسیون (با اتصال به دامنه CT) در ACCase هومومریک پلاستییدی روی گیاهان باریک برگ، که حاوی این نوع ACCase اختصاصی هستند، عمل می کنند (Devine, 2002؛ Xia et al., 2016). تاکنون، مقاومت ۴۹ گونه از علف های هرز به این خانواده علف کشی تأیید شده است (Heap, 2021). مقاومت علف های هرز در برابر بازدارنده های ACCase اهمیت اقتصادی ویژه ای دارد، زیرا تعداد علف کش با

مکانیسم عمل جایگزین بسیار محدود و نقش آنها در مدیریت علف های هرز تک لپه بسیار زیاد است (Takano et al., 2019). این پدیده با فشار انتخاب در نظام های زراعی که مصرف این علف کش ها تنها راه مدیریت علف های هرز مزرعه می باشد، روی خواهد داد (Devine, 2002). اولین مورد مقاومت به این علف کش ها در علف هرز چچم (*Gaud. Lolium rigidum*) در سال ۱۹۸۲، فقط چهار سال پس از ورود آنها به بازار در مزارع گندم استرالیا اتفاق افتاد (Heap & Knight, 1982). زند و همکاران (Zand et al., 2006) با بررسی جمعیت های جمع آوری شده در سال ۱۳۸۰ برای اولین بار مقاومت یولاف وحشی زمستانه (*Avena ludoviciana* Durieu.) به علف کش های خانواده فوپ در مزارع گندم استان خوزستان و فارس را گزارش کردند.

مقاومت به علف کش های بازدارنده ACCase ممکن است ناشی از مکانیسم های مقاومتی محل هدف یا غیر محل هدف باشد (Delye et al., 2013). مقاومت غیر محل هدف با کاهش جذب و انتقال علف کش، افزایش متابولیسم علف کش و سمیت زدایی از آن، توقف در واکوتل ها و تضعیف فعالیت علف کشی باشد (Powles & Yu, 2010). مقاومت محل هدف بر اثر جهش هایی است که محل اتصال علف کش به آنزیم را تغییر می دهند و نیز ممکن است بر اثر بیان بیش از حد ژن محل هدف اتفاق افتد (Heap, 2020). جهش های متداولی که ممکن است الگوهای متنوعی از مقاومت به علف کش های بازدارنده ACCas ایجاد کنند در مکان های Ile-1781، Trp-1999، Trp-2027،

^۱ Acetyl CoA carboxylase

^۲ Herbicide resistance action committee

(پینوکسادن) نیز توسط بناکاشانی و همکاران (Benakashani *et al.*, 2010) گزارش شد. در همان زمان، مقاومت به سه خانواده از این علف کش ها یعنی کلودینافوپ، ستوکسیدیم و پینوکسادن ثبت شد (Sasanfar *et al.*, 2009). لازم به ذکر است که علف کش پینوکسادن به دلیل تفاوت ساختار شیمیایی در ماده مؤثر مورد استفاده، در ایران برای کنترل موارد مقاومت به سایر خانواده های شیمیایی بازدارنده های ACCase پیشنهاد شده بود (Zand & Baghestani, 2008). پس از آن، مصرف مکرر علف کش های دومنظوره در مزارع استان خوزستان تنها پس از سه سال ثبت مقاومت یولاف به علف کش های بازدارنده های ACCase و ALS را رقم زد (Aghajani, 2010). با توسعه مقاومت چندگانه، مزارع درگیر مقاومت علف کش های توصیه شده در دسترس برای کنترل علف های هرز خود را از دست می دهند.

با توجه به سطح گسترده کشت گندم در استان فارس و گزارش های مجدد از نارضایتی کشاورزان این استان از کنترل ناکافی علف کش های مصرفی و به منظور پایش روند مقاومت در مزارعی که سابقه مقاومت آنها در سال ۸۵ بررسی شده بود (Sasanfar, 2017)، بذور جمعیت های یولاف وحشی زمستانه مشکوک که با علف کش های مورد استفاده کنترل نشده بودند از مزارع در مرودشت (زنگی آباد- نقش رستم)، سپیدان (بیضا) و استهبان (روستای خیر) جمع آوری شد تا نوع مقاومت موجود در این مناطق و درجه مقاومت آنها بررسی شود. هدف از این پی جویی، بررسی اثر مدیریت شیمیایی

Asp- (Delye, 2005) Gly-2096 ,Ile-2041 Liu) Trp-1999 (Collavo *et al.*, 2011) 2078 (Yu *et al.*, 2013) Cys-2088 و (et al., 2007) قرار دارند.

علف هرز یولاف وحشی زمستانه (*Avena sterilis* subsp. *ludoviciana* Durieu) که به اولین علف هرز مقاوم در ایران معروف شده است؛ در کنار خونی واش (*Phalaris minor* Retz) و چچم یکساله (*Lolium rigidum* Gaud) از علف های هرز مشکل ساز در غلات است که عدم کنترل آن، کاهش شدید عملکرد در گندم را به دنبال خواهد داشت (Baghestani *et al.*, 2009). یولاف وحشی با رقابت پس از جوانه زنی و دگرآسیبی از طریق اثرات ترکیبات تولیدی ریشه و بقایا بر رشد جوانه های تازه روئیده گیاه زراعی باعث کاهش عملکرد گندم می شود (Sharma & Vanden Born, 1987).

پس از تأیید اولین مقاومت این گونه به علف کش های بازدارنده ACCase در استان فارس و خوزستان (Zand *et al.*, 2006) و تأیید مقاومت جمعیت های مقاوم آن در کرمانشاه به کلودینافوپ پروپارژیل (Benakashani *et al.*, 2006)، راستگو و همکاران (Rastgoo *et al.*, 2006) مقاومت عرضی یولاف در خوزستان را به علف کش های دیکلوفوپ متیل، فنوکساپروپ پی اتیل، و کلودینافوپ پروپارژیل گزارش کردند. مقاومت عرضی در یولاف وحشی زمستانه در جمعیت هایی از استان خوزستان به دو خانواده از علف کش ها فوپ ها (دیکلوفوپ متیل و کلودینافوپ پروپارژیل) و دیم ها (ترالکوکسیدیم) و احتمال مقاومت به دن

پرلیت (به منظور حفظ رطوبت خاک) پر شده بودند، کاشته شد (Beckie et al., 2000). گلدان ها به گلخانه با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی با دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد منتقل و بسته به نیاز رطوبتی خاک و نیاز آبی تا حد ظرفیت مزرعه آبیاری شدند. پس از سبز شدن بوته ها، بوته های داخل هر گلدان به ۶ عدد تنک شد تا رقابت مانع از پاسخ مناسب نشود. این پژوهش گلخانه ای در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در پنج تکرار با در نظر گرفتن یک شاهد بدون سمپاشی برای هر جمعیت انجام شد. به منظور بررسی مقاومت، جمعیت های یولاف وحشی در مرحله ۲ تا ۴ برگی با دز توصیه شده از علف کش های گروه بازدارنده استیل کوآنزیم آکربوکسیلاز (جدول ۲) توسط دستگاه سم پاش ثابت با نازل متحرک بادبزی یکنواخت (حجم پاشش ۱۷۸ لیتر در هکتار و در فشار ۲ بار) سمپاشی شدند. چهار هفته پس از سمپاشی، بعد از شمارش و ثبت تعداد گیاهان زنده مانده درون هر گلدان، بوته ها از ناحیه طوقه جدا شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند و وزن تر هر بوته توسط ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه گیری شد. درصد کاهش زیست توده یولاف وحشی (Beckie et al., 2000) با تقسیم زیست توده تک بوته در گلدان های تیمار شده نسبت به گلدان های شاهد و ضرب آن در ۱۰۰ محاسبه شد (معادله ۱).

در کنترل یولاف وحشی مقاوم در مزارع گندم و روند تکامل مقاومت بود.

مواد و روش ها

جمع آوری بذور

این مطالعه در بخش تحقیقات علف های هرز مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور انجام شد. بذور ۱۱ جمعیت علف هرز یولاف وحشی مشکوک به مقاومت بر اساس پروتکل بکی و همکاران (Beckie et al., 2000) از مزارع گندم سه شهرستان مرودشت، سپیدان، و استهبان در استان فارس در سال ۹۴ جمع آوری شدند. این جمعیت ها از مناطقی جمع آوری شدند که در سال ۱۳۸۵ نیز مقاومت آنها بررسی شده بود و گزارش کاملی از نوع و درجه مقاومت آنها موجود است (Sasanfar, 2017). جمعیت حساس مورد بررسی در این آزمایش، از منطقه ای (در استهبان-بیضا) که تاکنون سابقه مبارزه شیمیایی با یولاف وحشی رانداشته جمع آوری شد (جدول ۱). نامگذاری و شماره گذاری جمعیت ها با توجه به نام محل جمع آوری آنها انجام شد (Es=استهبان، S=سپیدان، M=مرودشت).

آزمایش غربال

بذرها جمع آوری شده توسط دست پوست کنی شدند و روی دو کاغذ صافی اشباع از آب، درون پتری های شیشه ای ۹ سانتی متری قرار گرفتند و به منظور حذف خواب، به مدت یک هفته در دمای ۵ درجه سانتی گراد در تاریکی سرمادهی شدند (Beckie et al., 2000). پس از آن، ۱۰ بذر جوانه زده در گلدان های پلاستیکی ۵۰۰ گرمی، که با خاک لومی شنی و کود دامی پوسیده و ضد عفونی شده با نسبت برابر و کمی

(معادله ۱)

۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲ برابر دُز توصیه شده (۶۴ گرم ماده مؤثر در هکتار؛ این مقدار ماده مؤثره صرفاً به منظور ایجاد مبنای مقایساتی مشترک با آزمایش روی جمعیت‌های سال ۸۵ (Sasanfar, 2017) در مرحله دز-پاسخ انتخاب شده است) از علف کش کلودینافوپ پروپارژیل قرار گرفت. در هفته چهارم پس از سمپاشی وزن تر تک بوته نسبت به شاهد سمپاشی نشده و درصد زنده‌مانی به ترتیب از طریق معادله ۱ و ۲ محاسبه شدند.

$$SU(\%) = \frac{SUt}{SUC} \times 100 \quad (\text{معادله ۲})$$

در این معادله SU، درصد گیاهان زنده مانده جمعیت تیمار شده نسبت به شاهد، SUt، تعداد بوته زنده مانده تیمار شده و SUC، تعداد بوته در شاهد می باشد.

شاخص مقاومت و منحنی‌های واکنش به دُز در جمعیت‌های مقاوم و حساس، با کمک نرم‌افزار R و بسته drc مشخص و ترسیم شد (Ritz & Streibig, 2005). از آنجا که برازش داده‌های مربوط به وزن تر به دلیل نداشتن حد پایین، با معادله چهارپارامتره لُجستیک امکان‌پذیر نبود (زیرا در دزهای بالای علف کش حد پایین این معادله صفر می‌شد) معادله سه‌پارامتره لُگ لُجستیک (معادله ۳) برای این کار استفاده شد. سپس شاخص مقاومت به دُز (RI) جمعیت‌ها از نسبت ED₅₀ جمعیت‌های مقاوم به جمعیت حساس (معادله ۴) محاسبه و ارائه شده است.

$$W(\%) = \frac{Wt}{Wc} \times 100$$

در این معادله W، درصد وزن تک بوته جمعیت تیمار شده نسبت به شاهد، Wt، وزن تک بوته تیمار شده و Wc، وزن تک بوته شاهد می باشد.

تعیین جمعیت مقاوم بر اساس نظریه موس و همکاران (Moss et al., 2007) و با سیستم R صورت گرفت. در سیستم رتبه‌بندی R، گیاهان از لحاظ مقاومت به چهار دسته تقسیم می‌شوند. در این روش، بیوتیپ‌هایی که درصد کاهش وزن تر آنها نسبت به شاهد بین صفر تا ۳۶ درصد هستند در گروه RRR (مقاومت بالا)، به احتمال زیاد اثر علف کش را کاهش می‌دهند) و بیوتیپ‌هایی که درصد کاهش وزن ترشان نسبت به شاهد بین ۳۶ تا ۷۲ درصد هستند در گروه RR (مقاومت تأیید می‌شود، احتمالاً اثر علف کش را کاهش می‌دهد)، بیوتیپ‌هایی که درصد کاهش وزن ترشان نسبت به شاهد بین ۷۲ تا ۸۱ درصد هستند در گروه R? (مشکوک به مقاومت، احتمالاً اثر علف کش را کاهش می‌دهد) و نهایتاً بیوتیپ‌هایی که درصد کاهش وزن ترشان نسبت به شاهد بین ۸۱ تا ۱۰۰ درصد هستند در گروه S (حساس) قرار خواهند گرفت.

بررسی درجه مقاومت جمعیت‌ها (آزمایش

دُز-پاسخ گلخانه ای)

در این آزمایش، هر یک از جمعیت‌های یولاف وحشی که در آزمایش غربال، مقاوم تشخیص داده شد، به منظور ارزیابی سطح مقاومت در معرض ۹ دُز شامل ۰، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵،

(معادله ۳)

$$Y = \frac{d}{1 + e^{(b(\log x - \log e))}}$$

در این معادله $Y =$ وزن تر یا تعداد گیاهان زنده باقی مانده به صورت در-صدی از شاهد بدون علف کش در دُز X ، $X =$ دُز علف کش بر حسب گرم ماده مؤثره در هکتار، $d =$ حد بالای منحنی دزیاسخ، و $b =$ شیب خط. ث $e = ED_{50}$ نیز بسته به صفت مورد نظر عبارت است از دُزی از علف کش که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی در زنده ماننی یا زیست توده علف هرز می شود.

(معادله ۴)

$$RI = \frac{ED_{50R}}{ED_{50S}}$$

در این معادله، RI ، شاخص مقاومت، ED_{50R} و ED_{50S} به ترتیب دز موثر ۵۰ درصد برای جمعیت های مقاوم و حساس می باشد.

بررسی جهش های ژنی القاکننده مقاومت

به منظور تعیین جهش های ژنی در جمعیت های مقاوم به علف کش های بازدارنده $ACCase$ ، جهش های مولکولی در نقاط ۱۷۸۱، ۲۰۴۱، ۲۰۸۸ و ۲۰۷۸ روی نتاج توده های مقاوم سال ۹۴ و در نقاط ۱۹۹۹، ۲۰۲۷ و ۲۰۹۶ روی نتاج همه توده های جمع آوری شده از سال ۸۵ و ۹۴ در دامنه کربوکسیل ترانسفراز (CT) ژن ACC با استفاده از روش $dCaps$

آنزیم های برشی بررسی شد. این کار با استفاده از پرایمرهای طراحی شده در مطالعات Deley & Michel (۲۰۰۵) و Deley *et al.* (۲۰۱۱) انجام شد. آزمایش های $dCaps$ در سه مرحله استخراج DNA به روش دلاپورتا (Dellaporta *et al.*, 1983)، واکنش های PCR [با برنامه °C ۹۵ (s) ۳۰، ۳۸ چرخه (°C ۹۵ (s) ۱۰)، °C ۶۱ (s) ۱۵]، و °C ۷۲ (s) ۴۵ (و °C ۷۲ (min) ۱۰)] و °C ۹۵ (s) ۵۰] PCR [با برنامه °C ۹۵ (min) ۳، °C ۳۸ چرخه (s) ۵۰]، °C ۷۲ (min) ۲) و °C ۷۲ (min) ۲] در ۲۵ میکرولیتر محلول PCR و در نهایت هضم آنزیمی توسط آنزیم های برشی ($VspI$, $XmnI$ ، $EcoRV$, $SpeI$, $RsaI$, $XcmI$) و بارگذاری روی ژل الکتروفورز انجام شد.

نتایج و بحث

بررسی مقاومت در غربال جمعیت ها

با توجه به جدول ۳ همه جمعیت های مورد بررسی به علف کش های گروه فوپ مقاوم نشان دادند و اغلب آنها در گروه RRR (با مقاومت بالا که اثر علف کش را کاهش می دهند) قرار گرفته اند. با توجه به سابقه مصرف علف کش ها (جدول ۱)، مصرف مکرر این خانواده شیمیایی باعث ایجاد مقاومت عرضی به این علف کش ها شده است. مقاومت به دیکلوفوپ متیل، فنوکساپروپ-پی اتیل و کلودینافوپ پروپارژیل تاکنون بیشترین میزان گزارش را در ایران داشته است (Heap, 2021). بر اساس نظر برخی پژوهشگران، بروز مقاومت به علف کش های بازدارنده $ACCase$ پس از ۵ تا ۷ کاربرد مکرر رخ خواهد داد (Beckie, 2006)

جدول ۱. مکان نمونه‌برداری جمعیت‌های یولاف وحشی زمستانه (*Avena ludoviciana* Durieu.) و سابقه مصرف علف‌کش مزارعی که جمعیت‌های مقاوم از آنها جمع آوری شده‌اند

Table 1. Sampling locations of *Avena ludoviciana* Durieu. populations and herbicide application history of the fields from which resistant populations were collected

کد جمعیت	محل جمع‌آوری	سابقه مصرف علف‌کش در مزارع (از سال ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۴)
Population Code	Sampling location	Herbicide application history of fields (from 2009 to 2014)
M1 ^e	Marvdasht-Zangiabad-Naghsrostan ^d	Clodinafop propargyl (2 years)- Diclofop methyl - Clodinafop propargyl - Mesosulfuron+idosulfuron+ mefenpyr diethyl
M2	Marvdasht-Zangiabad-Naghsrostan ^d	Clodinafop propargyl – Haloxyfop R methyl / Clodinafop propargyl ^b
M3	Marvdasht-Zangiabad-Naghsrostan ^d	Diclofop methyl - Benzoylprop-ethyl - Clodinafop propargyl - Clodinafop propargyl / Mesosulfuron+idosulfuron+ mefenpyr diethyl - Clodinafop propargyl / Diclofop-methyl
M4	Marvdasht-Zangiabad-Naghsrostan ^d	Clodinafop propargyl(5 years) ^b
M5	Marvdasht-Zangiabad-Naghsrostan ^c (near M4-2006 field)	Diclofop methyl - Pinoxaden - Clodinafop propargyl - sulfosulfuron - Mesosulfuron+idosulfuron+ mefenpyr diethyl
S1	Sepidan-Beiza ^e	Clodinafop propargyl (5 years)
S2	Sepidan-Beiza ^e	Fenoxaprop p ethyl+mefenpyr diethyl (2 years)- Clodinafop propargyl (2 years)- Clodinafop propargyl / Mesosulfuron+idosulfuron+ mefenpyr diethyl

در میان علف‌کش‌های فوپ مورد بررسی در این آزمایش، تنها علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل توانسته است برخی جمعیت‌ها مانند S1 و S2 در سپیدان، ES2 و ES4 در استهبان و M3 از مرودشت را کنترل کند. همچنین مقاومت به

علف‌کش‌های گروه دیم مانند ستوکسیدیم و سیکلوکسیدیم در مرودشت (به جز M3) کارایی این دسته از علف‌کش‌ها را در این منطقه بی‌اثر کرده است با وجودی که این علف‌کش‌ها در مزارع مرودشت استفاده نشده‌اند. در مواردی که

S4	Sepidan-Beiza ^c	Clodinafop propargyl ^b
ES2	Estahban-Kheyr ^e	Clodinafop propargyl (3 years)- Mesosulfuron+idosulfuron+ mefenpyr diethyl (2 years)
ES3	Estahban-Kheyr ^e	Clodinafop propargyl (3 years)- Mesosulfuron+idosulfuron+ mefenpyr diethyl / Mesosulfuron+idosulfuron+ mefenpyr diethyl / Clodinafop propargyl
ES4	Estahban-Kheyr ^{d(in ES1-2006 field)}	Clodinafop propargyl - Mesosulfuron+idosulfuron+ mefenpyr diethyl (3 years)- Mesosulfuron+idosulfuron+ mefenpyr diethyl / Benzoylprop-ethyl ^a
S3	Sepidan	No herbicide application

^aThe slashes separate the herbicides used in each year.

^bYears with no mention of herbicide application were in fallow.

^cThe fields surveyed in this study were in the proximity of the fields studied in 2006 (200 m away) (Sasanfar, 2017), in which, due to the fallow or change in crop type, no resistance to oat was reported.

^dThe populations collected from the fields studied in 2006.

^eThe populations were named using a number & the first letter of the city name from which they had been collected; Estahban (ES), Sepidan (S) and Marvdasht (M).

^a خط کج علف کش های مصرفی در یک سال را جدا می کند.

^b سال هایی که علف کشی برایشان ذکر نشده آیش هستند.

^c مزارعی که در این مطالعه بررسی شدند نزدیک (۲۰۰ متر) به مزارع سال ۱۳۸۵ بوده اند زیرا به دلیل آیش یا تغییر گیاه زراعی کاشته شده در آنها گزارشی مبنی بر مقاومت یولاف ثبت نکرده بودند.

^d جمعیت های جمع آوری شده از مزارع مورد بررسی در سال ۱۳۸۵.

^e جمعیت ها با حرف اول نام شهری که از آن جمع آوری شده اند و یک شماره نامگذاری شدند؛ استهبان (ES)، سپیدان (S) و مرویشت (M).

در جمعیتی مقاومت به خانواده ای از علف کش ها تأیید می شود اما سابقه مصرف این علف کش ها در مزرعه وجود نداشته، احتمال می رود نوعی مکانیسم مقاومتی (تغییر در محل هدف یا افزایش متابولیسم) در مزرعه وجود داشته یا این

مقاومت توسط ماشین آلات مشترک در مزارع به این مکان منتقل شده باشد و با کاربرد این علف کش ها در مزارع و فشار انتخاب ناشی از آن مقاومت نهفته در آینده فرصت بروز یابد

جدول ۲. مشخصات علف کش های مورد استفاده در این مطالعه از دو گروه بازدارنده های ACCase و ALS (Zand et al., 2017)

Table 2. Details of the applied herbicides from two groups of ACCase and ALS inhibitors (Zand et al., 2017)

جایگاه عمل علف کش	نام عمومی	نام تجاری	فرمولاسیون (درصد ماده مؤثره بر هکتار)	دوز توصیه شده (لیتر بر هکتار)	نام شرکت تولید کننده
Herbicide site of action	Common name	Trade name	Formulation (Active ingredient percentage per hectare)	Recommended dose (L. ha ⁻¹)	The name of producing company
ACCase inhibitors	Diclofop-methyl	Illoxan	36% EC	2.5	Aryashimi
	Clodinafop propargyl	Topik	8% EC	1	Syngenta
	Fenoxaprop-p-ethyl+mefenpyr-dieethyl	Puma-super	7.5% EW	1	GOLSAM
	Haloxypop-R-methyl	Gallant super	10.8% EC	1	Ariashimi
	Sethoxydim	Nabu-S	12.5% EC	3	Gyah crop
	Clethodim	Select super	12% EC	1	Arysta life science
	Cycloxydim	Focus	10% EC	2	BASF
	Pinoxaden+Cloquintocet-mexyl	Axial	4.5% EC	1.5	Syngenta

(Burgos, 2015). با توجه به اینکه در رتبه بندی R مرتبه R احتمال وجود مقاومت را نیز نشان می دهد استفاده از این سیستم برای بررسی های مقاومتی به نظر دقیق تر است زیرا دریافت نشانه های ظهور مقاومت برای تصمیم گیری های مدیریت سموم بسیار مهم است. این رتبه بندی بر اساس وزن تر گیاه انجام می شود. وقتی کاهش وزن تر بین ۷۲ تا ۸۱ درصد باشد علف های هرز با وجود کنترل تقریباً مناسب، هنوز امکان

رقابت و پنجه زنی و افزایش بانک بذر علف هرز مزرعه را دارند که در این حالت مشکوک به مقاومت خوانده می شوند. در حقیقت، نشان R در این نوع گزارش ها احتمال بروز مقاومت را پررنگ می سازند. بنابراین مصرف علف کش سیکلوکسیدیم برای جمعیت های S1 و S4، ستوکسیدیم برای ES2 و M5، و کلتودیم برای ES2 در سال های آتی فشار انتخاب جمعیت های

جدول ۳. رتبه بندی جمعیت های نولوف وحشی زمستانه مورد مطالعه از نظر مقاومت به علف کش های بازدارنده ACCase و ALS بر اساس سیستم رتبه بندی در آرایش غراب

Table 3. Wild oat populations classification in terms of resistance to ACCase and ALS inhibitor herbicides according to R classification * system (Moss *et al.*, 2007) in screening test

جایگاه عمل علف کش	گروه شیمیایی	جمعیت های <i>Avena ludoviciana</i> Durieu	<i>Avena ludoviciana</i> Durieu, populations													
Herbicide site of action	Chemical group		M1*	M2	M4	M5	S4	S1	ES2	Es4	M3	ES3	S2	S3		
ACCase inhibitor	fops	Diclofop methyl	RRR	RRR	RR	RRR	RRR	RRR	RRR	RRR	RRR	RRR	RRR	RR	S	
		Fenoxaprop-P-ethyl	RRR	RRR	RRR	RRR	RRR	RR	RRR	RR	RRR	RRR	RR	RR	S	
		Clodinafop-propargyl	RRR	RRR	RRR	RRR	RRR	RRR	RRR	RRR	RRR	RRR	RRR	RR	S	
		Haloxyp-R-methyl	RRR	RRR	R?	RRR	RR	S	S	S	S	S	S	S	S	
		Sethoxydim	RRR	RRR	RR	R?	S	S	R?	S	S	S	S	S	S	
		Cycloxydim	RR	RR	RR	S	R?	R?	S	S	S	S	S	S	S	
		Clethodim	S	S	S	S	S	S	R?	S	S	S	S	S	S	
		Pinoxaden	RR	RRR	S	R?	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
		den														

*The populations were named using a number & the first letter of the city name from which they had been collected; Estahban (ES), Sepidan (S) and Marvdasht (M).

**The R classification system has four classes: RRR (high resistant); RR (resistant); R? (likely resistant); S (sensitive).

* جمعیت طبقه بندی R دارای ۴ طبقه است: RRR (شدیدا مقاوم)؛ RR (مقاوم)؛ R? (احتمالاً مقاوم)؛ S (حساس).

** جمعیت ها با حرف اول نام شهری که از آن جمع آوری شده اند و یک شماره نامگذاری شدند؛ استهبان (ES)، سپیدان (S) و مرودشت (M).

مقاوم را می افزاید و پدیده مقاومت عرضی به علف کش های بازدارنده ACCase را به دنبال خواهد داشت. در این میان، علف کش کلتودیم

هنوز قادر به کنترل جمعیت های مقاوم به دیگر علف کش هاست.

در مرودشت، جمعیت های M1 و M2 به علف کش پینوکسادن، که یک علف کش

۱۲/۸ نوشته شد (جدول ۴). شاخص مقاومت برای جمعیت‌های M3، S2 و ES3 کمتر از ۷ بود که در طیف مقاومت‌های نسبتاً کم به این علف کش قرار می‌گیرند ($RI < 7$ یا RR).

در جدول ۴، نتایج مربوط به درصد زنده‌مانی گیاه نیز ارائه شده است. طبق این نتایج، مقاومت چند برابری جمعیت‌های مورد بررسی نسبت به جمعیت حساس تأیید شد. درجه مقاومت برخی از جمعیت‌ها (S1، S4، M1، M2، M4 و M5) از طریق مطالعه درصد زنده‌مانی نیز قابل محاسبه نبود و بیش از بیشترین مقدار محاسبه شده درج شده است؛ با این تفاوت که بیشترین درجه مقاومت (RI) مبتنی بر نتایج محاسبات درصد زنده‌مانی حدود ۱۶/۸ (برای جمعیت M3) بوده است که بیشتر از حداکثر RI محاسبه شده مبتنی بر وزن تر است. این در حالی است که شاخص مقاومت بر مبنای درصد زنده‌مانی برای اغلب جمعیت‌ها نسبت به شاخص مقاومت بر مبنای وزن تر، مقادیر کمتری دارد. احتمال دارد اختلاط ژنتیکی بذور (مقاوم و حساس) در جمعیت‌های مورد بررسی موجب چنین نتایج متناقضی باشد. در این میان، جمعیت S2 با وجود RI نزدیک به ۲ که در مقایسه این جمعیت با جمعیت حساس به دست آمده، در کمتر از دز توصیه شده (۶۴ گرم ماده مؤثره در هکتار) یعنی ۵۱/۱۲۴ گرم ماده مؤثره در هکتار نیمی از بوته‌های زنده تیمار شده با علف کش را کنترل می‌کند اما باید توجه داشت که این جمعیت با توجه به نتایج وزن تر ($ED_{50} = 81/233$) از نرخ رشد و قابلیت پنجه‌زنی مناسبی (طبق مشاهدات) برخوردار است و می‌تواند در مزرعه رقابت

متعلق به خانواده شیمیایی دِن است، مقاومت نشان دادند. به بیان دیگر جمعیت‌های مرودشت به اغلب خانواده‌های علف کشی بازدارنده ACCase مقاومت عرضی نشان دادند بنابراین استفاده از علف کش‌های گروه بازدارنده ACCase برای این مزارع به‌عنوان علف کش جایگزین منطقی به نظر نمی‌رسد.

بررسی درجه مقاومت جمعیت‌ها

با توجه به نتایج آزمون غربال همه جمعیت‌های مورد آزمایش به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل مقاوم هستند. مقایسه بین جمعیت‌ها اغلب از طریق تعیین درجه مقاومت انجام می‌شود و منحنی‌های دُز-پاسخ برای تعیین سطح مقاومت و مقدار ماده مؤثره لازم برای رسیدن به پاسخ علف کشی مناسب برای جمعیت مقاوم نسبت به جمعیت حساس (R/S) استفاده می‌شوند (Khalil Tahmasbi *et al.*, 2017). با توجه به (شیب) خطوط برازش داده شده (شکل ۱) برای پاسخ این جمعیت‌ها به دُزهای مختلف این علف کش، روند مقاومت جمعیت‌ها به افزایش دُز علف کش متفاوت است.

در برخی از جمعیت‌ها (S1، S4، M1، M2، M4 و M5) قادر به تخمین ED_{50} نشدیم زیرا به دلیل مقاومت زیاد، کاهش وزن تر جمعیت‌ها در پاسخ به دُزهای افزایشی اعمال شده حتی تا ۳۲ برابر دُز توصیه شده به زیر ۵۰ درصد نرسید. بنابراین داده‌های به دست آمده از این جمعیت‌ها قابل برازش با معادله لگک لجستیک نبودند؛ شاخص مقاومت در این موارد بیش از بیشترین شاخص محاسبه شده برای سایر جمعیت‌ها یعنی

جدول ۴. تخمین ED₅₀ و شاخص مقاومت برای جمعیت های مقاوم و حساس یولاف وحشی زمستانه در آزمایش دز-پاسخ به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل بر مبنای وزن تر و درصد زنده مانگی

Table 4. The ED₅₀ estimation and resistant index for resistant and sensitive wild oat populations in dose-response tests (to Clodinafop propargyl) according to fresh weight and survival percentage.

تخمین ها بر اساس وزن تر			تخمین ها بر اساس درصد زنده مانگی		
Estimation according to fresh weight			Estimation according to survival percentage		
نام جمعیت	ED ₅₀ (گرم ماده مؤثره در هکتار)	شاخص مقاومت	نام جمعیت	ED ₅₀ (گرم ماده مؤثره در هکتار)	شاخص مقاومت
Population name	ED ₅₀ (gram active ingredient per hectare)	Resistance index (RI)	Population name	ED ₅₀ (gram active ingredient per hectare)	Resistance index (RI)
M3***	94.747(24.508) ^{b*}	4.042(1.206)	M3	432.534(65.360) ^a	16.792(3.025)
S2	81.233(13.023) ^b	3.801(0.809)	S2	51.124(5.517) ^d	1.926(0.273)
ES2	226.328(41.775) ^a	10.081(2.389)	ES2	128.096(25.798) ^b	4.759(1.093)
ES3	83.437(21.987) ^b	4.2477(1.216)	ES3	106.460(15.467) ^c	2.933(0.718)
ES4	270.882(39.305) ^a	12.838(2.603)	ES4	70.566(16.948) ^d	3.834(0.733)
S1	>2048**	>12.8	S1	>2048**	>16.8**
S4	>2048**	>12.8	S4	>2048**	>16.8**
M5	>2048**	>12.8	M5	>2048**	>16.8**
M4	>2048**	>12.8	M4	>2048**	>16.8**
M2	>2048**	>12.8	M2	>2048**	>16.8**
M1	>2048**	>12.8	M1	>2048**	>16.8**
S3	22.375(3.341) ^c	--	S3	26.778(2.661) ^e	----

* Standard Error is inserted in the parentheses.

** Measurement of ED₅₀ values was not possible since reduction in the fresh weight of the populations in the range of the applied doses were less than 50%. Therefore, ED₅₀ values were expressed as greater than the applied active ingredient (2048 gram-active ingredient per hectare).

***The populations were named using a number & the first letter of the city name from which they had been collected; Estahban (ES), Sepidan (S) and Marvdasht (M).

خطای استاندارد در پرانتزها نوشته شده است.

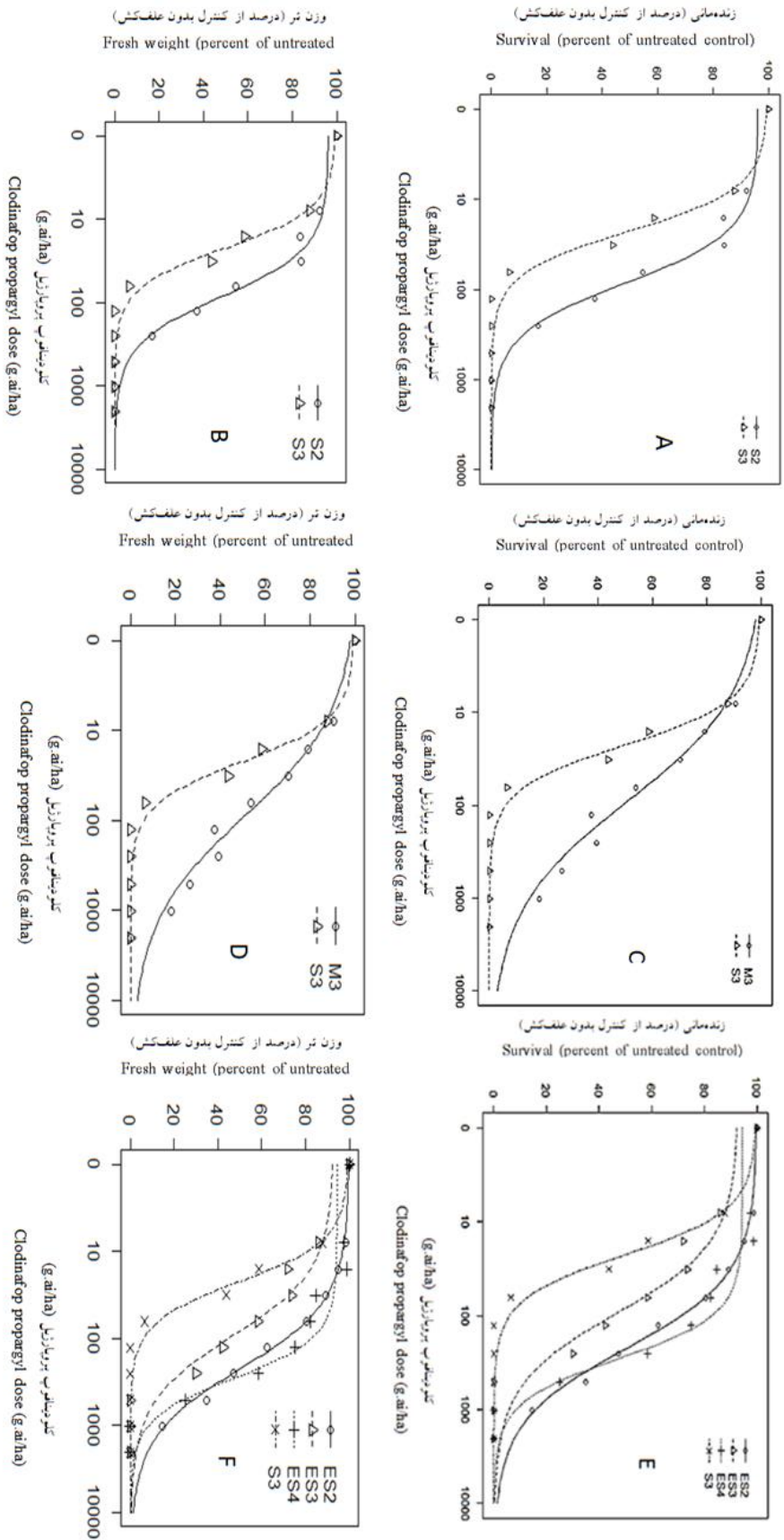
** محاسبه مقادیر ED₅₀ مقدور نبود زیرا کاهش وزن تر جمعیت ها در طیف دزهای اعمال شده کمتر از ۵۰ درصد بود، بنابر این مقادیر ارائه شده به صورت بزرگتر از حداکثر ماده مؤثره مصرف شده در این آزمایش بیان شده است.

*** جمعیت ها با حرف اول نام شهری که از آن جمع آوری شده اند و یک شماره نامگذاری شدند؛ استهبان (ES)، سپیدان (S) و مرودشت (M).

مؤثری با گیاه زراعی داشته باشد و با بذردهی مناسب، بانک بذر علف هرز مقاوم مزرعه را غنی کند. این بانک بذر مقاوم در مواجهه با فشار علف کش گسترش یافته و صدمات جبران ناپذیری را به مزرعه وارد می کند.

بررسی جهش های ژنی القا کننده مقاومت

پس از مطالعه مولکولی جمعیت های مقاوم و حساس مورد بررسی در آزمایش، وجود سه



شکل ۱. اثر دزدهای علف کش کلور دینا فوپ پروپارگیل بر وزن تر و درصد زنده ماندنی جمعیت های مقاوم و حساس بیلاف وحشی زنده مانده؛ در شهرستان های استهبان (A و B) و Sepidan (C & D) and Marvdasht (E & F), مرودشت (F) و سیستان (D) و *Avena ludoviciana* Durieu populations; in Estahban (A & B) in 2014.

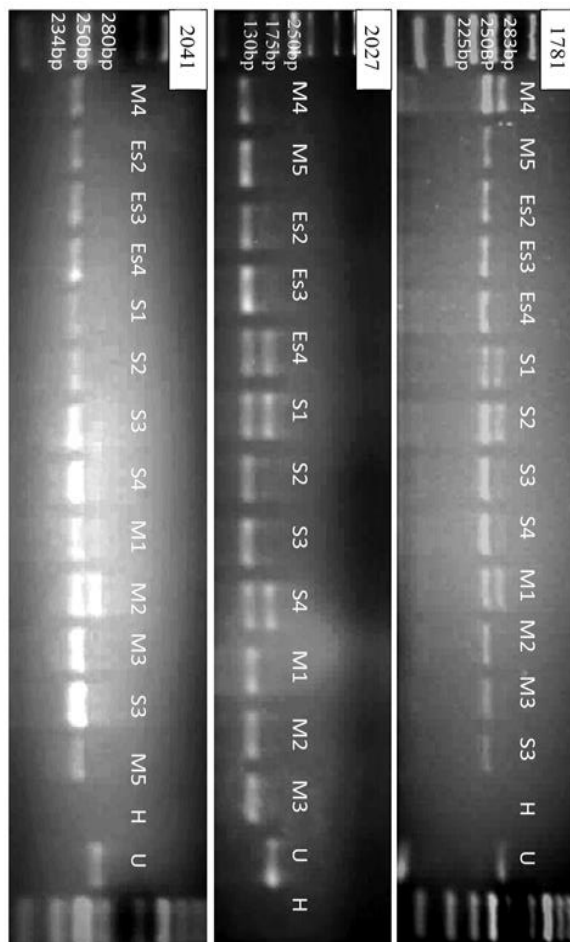
در سال ۱۳۹۴

کلودینافوپ پروپارژیل نشان داد اما این الگوی مقاومت برای جمعیت S4 یکسان نبود. در این جمعیت مقاومتی به علف‌کش‌های دیم و دن دیده نشد. شاید این تنوع الگوهای مقاومتی در جمعیت‌های مختلف را بتوان به حضور و بیان بیشتر کپی‌های ژنی حساس در ژنوم هگزاپلوئید گونه S4 نسبت داد (Yu et al., 2013). البته احتمال وجود و همراهی مقاومت غیرمحل هدف در جمعیت M1 و تقویت مکانیسم‌های مقاومتی نیز وجود دارد.

در نتایج بررسی‌های مولکولی جمعیت‌های مقاوم سال ۸۵ نیز بیشترین تکرار مربوط به وقوع جهش در نقطه ۱۷۸۱ است که در جمعیت‌های ES1 و همه جمعیت‌های جمع‌آوری‌شده از سپیدان (S1، S2، S3 و S4) ثبت شده است. جهش در نقطه ۲۰۴۱ مانند بررسی‌های سال ۹۴ فقط در جمعیت ۲M ثبت شد (Sasanfar, 2017). در بررسی سایر جهش‌های ژنی مؤثر در مقاومت این توده‌ها (در مطالعه حاضر) جهش ژنی 2027 در جمعیت S1 نیز ثبت شده است. جمعیت S1 در هر دو سال ۸۵ و ۹۴ دو جهش در نقاط ۱۷۸۱ و ۲۰۲۷ داشت اما با وجود مقاومت بالا به علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل، فقط به علف‌کش‌های فوپ مانند کلودینافوپ پروپارژیل، فنوکساپروپ اتیل و دیکلوفوپ متیل مقاومت داشت. تجمع چند جهش مقاومتی در یک گیاه زمانی ممکن است که یا دگرآمیزی میان گیاهانی با جهش‌های متفاوت اتفاق افتد یا کپی‌های ژنی هومولوگ قادر به حمل جهش‌های مستقل از یکدیگر باشند. در

جهش در نقاط ۱۷۸۱، ۲۰۴۱ و ۲۰۲۷ روی ژن ACC ثابت شد. نتایج حاصل از مطالعه جهش در نقطه Ile-1781 در دامنه کربوکسیل ترانسفراز (CT) آنزیم ACCase نشان داد که این جهش در ۴ جمعیت M1، M4، S1 و S2 اتفاق افتاده است (شکل ۲). با توجه به الگوی برشی آنزیم *Vspsl* در نتایج هضم آنزیمی، جمعیت‌های مقاوم دارای دو باند ۲۸۳ جفت‌بازی و باند برش‌یافته ۲۲۵ جفت‌بازی هستند، بنابراین این جمعیت‌ها نسبت به این جهش، هتروزیگوت‌اند. مقاومت محل هدف در نقطه Ile-2041 نیز فقط در جمعیت M2 توسط آنزیم *Vspsl* به صورت هتروزیگوت و با مشاهده دو باند ۲۸۰ و ۲۳۴ جفت‌بازی روی ژل الکتروفورز ثابت شد. وقوع جهش در نقطه Trp-2027 (توسط آنزیم XmnI) در جمعیت‌های سال ۹۴ برای اولین بار در ایران در ES4، S1 و S4 ثبت شد.

بر اساس گزارش‌های مختلف بروز هر یک از این جهش‌ها در علف‌های هرز الگوهای مقاومت عرضی ویژه‌ای را به علف‌کش‌های مختلف ایجاد می‌کند (Jang et al., 2013). جهش Ile-1781 در گونه‌های دیپلوئید (به ویژه *Lolium rigidum* و *Alopecurus myosuroides*) مقاومت به دیکلوفوپ و ستوکسیدیم ایجاد می‌کند (Yu et al., 2007) اما در *Avena spp* با ژنوم هگزاپلوئید همیشه اینطور نیست. برای مثال با توجه به نتایج آزمایش‌های زیست‌سنجی در گلخانه، جمعیت M1 به همه علف‌کش‌های فوپ، برخی از دیم‌ها مثل ستوکسیدیم و سیکلوکسیدیم و پینوکسادن مقاوم بود و در آزمایش دز-پاسخ مقاومت زیادی به علف‌کش



شکل ۲. نتایج بررسی مولکولی آل‌های جهش‌یافته آنزیم ACCCase در *Avena ludoviciana* (جمعیت‌های سال ۱۳۹۴). گیاهان در جهش در جایگاه‌های ۱۷۸۱ (S4, S1, M4, M1), ۲۰۲۷ (ES4, S1, S4), و ۲۰۴۱ (M2) هتروزیگوت هستند. بالدر U: محصول نهایی PCR بدون آنزیم، و H: آب بدون DNA

Figure 2. Molecular assay results of mutant acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCCase) alleles in *Avena ludoviciana* plants (2014 populations). Plants are heterozygous mutants at codon 1781 (M1, M4, S1, S4), 2027 (ES4, S1, S4), and 2041 (M2). DNA ladder (Fermentase; 50 bp); U, undigested amplicon; H, H2O PCR control (no DNA).

یولاف وحشی هگزاپلوئید میزان دگرآمیزی کمتر از ۱۲ درصد است (Murray et al., 2002)؛ در اینجا اهمیت چگونگی بیان کپی‌های ژنتیکی سه‌گانه یولاف وحشی (*Avena* spp) مشخص می‌شود، زیرا هنوز مشخص نیست که آیا همه کپی‌های ژنی بیان می‌شوند و نحوه برهمکنش یا توارث آنها چگونه است (Yu et al., 2013). بنابراین این با قرارگیری این جهش‌های هتروزیگوت روی ژنوم هگزاپلوئید (۳ کپی ژنی) یولاف وحشی و نبود اطلاعات کافی در مورد بیان این کپی‌های ژنتیکی (Yu et al., 2013) تنها یافتن

جهش‌ها توجیه مناسبی برای مقاومت یولاف نیست؛ و مطالعات بیشتری در این زمینه می‌طلبند.

مقایسه نتایج دو پژوهش

در مطالعه جمعیت‌های سال ۸۵ مشخص شد که همه جمعیت‌های مورد بررسی به دیکلوفوپ متیل، کلودینافوپ پروپارژیل، و فنوکساپروپ پی اتیل مقاوم بوده اند (Sasanfar, 2017). اطلاعات موجود در جدول ۵ مربوط به بخشی از نتایج آزمایش مشابه با جمعیت‌های سال ۸۵ است که از نظر مقاومت متفاوت با جمعیت‌های سال ۹۴ بوده‌اند و از بازنویسی

مقاومت جمعیت های سال ۸۵ مربوط به جمعیت S1-85 برابر با ۷/۲۴ است (جدول ۵) در حالی که بیشترین مقدار محاسبه شده در سال ۹۴ برابر با ۱۲/۸ می باشد (جدول ۴) که نشان از افزایش درجات مقاومت دارد و این مقدار مربوط به ES4-94 است که از مزرعه ES1-85 جمع آوری شده است. جمعیت های این مزرعه در سال ۸۵ کمترین سطح مقاومت را نشان داده بودند (RI برابر با ۱/۶۶).

مقایسه مولکولی مقاومت در این توده ها ثابت کرد که مبنای مولکولی مقاومت نیز طی این سال ها اگر چه در دو جمعیت M۲ (جهش ۲۰۴۱) و S۱ (جهش های ۱۷۸۱ و ۲۰۲۷) ثابت بود اما در سایر توده ها با تغییراتی مواجه شده است و جهش ۲۰۲۷ و جهش ۱۷۸۱ برای اولین بار به ترتیب در استهبان و مرودشت طی فشار انتخاب اعمال شده توسط علف کش ها بروز یافته اند. در برخی جمعیت های مقاوم هیچ جهش مولکولی مؤثر ایجاد کننده مقاومت شناسایی نشد که احتمال مقاومت متابولسمی و یا حضور جهشی ناشناخته را ایجاد می کند. البته وجود مقاومت غیر محل هدف و روش های شناخت آن بسیار پیچیده ترند (Yuan et al., 2007) که امکان پی جویی آنها را دشوارتر می سازد. مقاومت متابولسمی ممکن است مقاومت یا مقاومت عرضی به علف کش های کنونی یا جدید را القا کند، بنابر این کنترل آن نیز بسیار دشوارتر خواهد بود (Yu & Powles, 2014). برای پیشگیری از این نوع مقاومت، علف کش ها باید با دوز کامل و بسیار محتاطانه مصرف شوند. امروزه بسیاری از تحقیقات علم علف هرز

اطلاعات کاملاً مشابه با جدول ۴ صرف نظر شده است. فقط در جمعیت مربوط به استهبان مقاومتی به علف کش کلودینافوپ پروپارژیل مشاهده نشده است. بنابراین، این منطقه که نتایج مطالعات مقاومتی از اطلاعات ۱۰ سال گذشته خود دریافت نکرده بود، طبق جدول ۱ به کاربرد علف کش های خانواده فوپ ادامه دادند.

بررسی نتایج جمعیت های مرودشت در سال ۸۵ نشان می دهد که فقط جمعی M2-۸۵ مقاومت زیادی به علف کش هالوکسی فوپ آرمیتیل نشان می دهند در حالی که در مطالعه سال ۹۴ در چهار جمعیت از مرودشت مقاومت به این علف کش ثبت شده است که با توجه به نزدیکی مکانی این زمین ها احتمال پراکنش ژن مقاومت انتخاب شده به زمین های مجاور را بالا می برد. این نتایج در حالی به دست آمده که با توجه به جدول تاریخچه مصرف علف کش ها در دو سال مطالعه (۸۵ و ۹۴) سابقه مصرف مکرر برای این علف کش ثبت نشده است (حتی مقاومت به این علف کش در سپیدان نیز در بررسی های سال ۹۴ ثبت شده است). جمعیت M4-۹۴ علاوه بر مقاومت به اغلب فوپ ها به علف کش ستوکسیدیم نیز مقاوم است اما مقاومت به سیکلوکسیدیم و پینوکسادن نوعی مقاومت عرضی است که وجه تمایز جمعیت های ۹۴- M1 و M2-۹۴ از داده های مشابه در سال ۸۵ است، بنابراین کارایی علف کش های گروه A در این منطقه با گذشته زمان بسیار محدود شده است.

با توجه به درجه مقاومت محاسبه شده در دو بررسی سال های ۸۵ و ۹۴، بیشترین درجه

فارس (Sasanfar, 2009) و به بازدارندگان ALS نظیر مزوسولفورون+یدوسولفورون درخوزستان (Aghajani et al., 2009) و مزوسولفورون متیل+یدوسولفورون متیل+دیفلوفینیکان+مفن پایر دی اتیل در استان البرز و احتمال مقاومت به این علف کش در جمعیت های یولاف وحشی جمع آوری شده از تهران (Jumi et al., 2019) و موارد متعدد دیگر از سایر استان های تولید کننده گندم تأیید و منتشر شده است. به نظر می رسد وقت آن رسیده مواد شیمیایی ثبت شده برای حفاظت کشت گندم در کشور مورد بازبینی قرار گیرند. این گروه های علف کشی بر اساس داده های جهانی از توسعه مقاومت، جزو علف کش های با نحوه عمل بسیار پرخطر (که بیش از ۱۰ درصد موارد مقاومت گزارش شده در دنیا را شامل شده اند) دسته بندی شده اند (Heap, 2020). خطر ذاتی یک علف کش مربوط به ماهیت ماده فعال علف کش، موارد شناخته شده مقاومت و مکانیسم های مقاومت و مقاومت عرضی است. این مورد یکی از سه فاکتور زیربنایی تکامل مقاومت، شامل ریسک مقاومت ذاتی علف کش، ریسک مقاومت ذاتی علف هرز و روش های مدیریت زراعی مبتنی بر کنترل شیمیایی همراه با روش های غیر شیمیایی است (Moss, 2017). یولاف وحشی (*Avena spp.*) نیز به دلیل خصوصیات بیولوژیکی و انعطاف پذیری ژنتیکی اش (مانند یکساله بودن یا زمان تولید نسل کوتاه تر، تولید بذر زیاد یا به تعبیری ترکیبات ژنتیکی بیشتر) و براساس احتمال مقاومت و شدت آن مبنی بر اطلاعات بین المللی از علف های هرز مقاوم در گروه علف های هرز با

برپیش بینی احتمال تکامل مقاومت و سرعت آن متمرکز است. پیش بینی تکامل مقاومت به طور کامل امکان پذیر نیست اما عدم استفاده از استراتژی های مدیریتی همزمان با کاهش فشار انتخاب علف های هرز مقاوم به علف کش تبعات منفی بسیاری از جمله کاهش تولید، افزایش هزینه ها و اثرات منفی محیطی در پی دارد (Khalil Tahmasbi et al., 2017). بنابراین پایش مداوم مزارع و ثبت اطلاعات دقیق تر برای تهیه مدل های پیش بینی کننده راهکار به مراتب بیشتر و بهتری را از بررسی روند تکامل مقاومت و مواجهه با روند افزایشی پیش رو قرار خواهند داد.

از طرفی، اغلب علف کش های ثبت شده برای کنترل علف های هرز باریک برگ و پهن برگ در مزارع گندم کشور، در گروه بازدارنده های ACCase و ALS هستند که سالهاست به این منظور مورد استفاده قرار می گیرند (Gherekhlou et al., 2016) و از علف کش های پرخطر طبقه بندی شده اند. تاکنون گزارش های متعددی از مقاومت علف های هرز مزارع گندم کشور نظیر مقاومت های عرضی در فالاریس (*Phalaris minor* Retz) از استان های گلستان (Elahifard, 2005) و فارس (Gherekhlou, 2008)، یولاف وحشی از خوزستان (Rastgoo et al., 2006; Benakashani et al., 2006)، فارس (Zand et al., 2006) و گلستان (Kalami et al., 2013; Najari Kalantari et al., 2014)؛ و چچم در فارس (*L. rigidum*) به علف کش های خانواده فوپ هائیت شده است. گزارش های مقاومتی برای یولاف وحشی به دیم ها و پینوکسادن در

جدول ۵: نتایج بررسی مقاومت جمعیت های *Avena ludoviciana* در سال ۱۳۷۵
 A. جمع آوری شده در سال ۱۳۷۵
 جدول ۵: نتایج بررسی مقاومت جمعیت های *Avena ludoviciana* در این جدول گنجانده شده که با اطلاعات سال ۹۴ مقارن ارزیابی شده اند.
 (Sasanfar, 2017) (فقط اطلاعاتی در این جدول گنجانده شده که با اطلاعات سال ۹۴ مقارن ارزیابی شده اند.)

Table 5. Results of resistance evaluation for *A. ludoviciana* populations collected in 2006 (Sasanfar, 2017)

جایگاه عمل علف کش	گروه شیمیایی	جمعیت های <i>Avena ludoviciana</i> Durieu.	<i>Avena ludoviciana</i> Durieu. populations							
Herbicide site of action	Chemical group	Herbicide name	ES1 ^a	M1	M2	M3	M4	S1	S2	S4
ACCCase inhibitor	fops	Clodinafop propargyl	S							
		Haloxypop-R-methyl	S ^a				R?			S
den	dimms	sethoxydim	S	S	S					
		cycloxydim	S	S	S		S	S		S
		pinoxaden	S	S	S		S			
R/S	Clodinafop-propargyl	1.66	5.88	>7.24	>7.24	3.04	7.24	3.10	>7.24 ^b	

خطر ذاتی متوسط (EPPO, 2015) قرار گرفته است. این مطالعات مقاومتی در مورد اغلب علف کش ها و علف های هرز مهم مزارع گندم بررسی می شوند و در ماتریس ارزیابی خطر مقاومت (که رویکردی کمی برای ارزیابی خطر مقاومت ناشی از علف کش هاست) در سه سطح متکی به علف کش، تاحدی تعدیل شده (ترکیب

علف کش هایی با نحوه عمل متفاوت، تناوب یا جایگزینی آنها که خطر را یک سوم کاهش می دهند)، و مدیریت تلفیقی (ترکیب علف کش با روش های غیر شیمیایی است و خطر مقاومت را دو سوم کاهش می دهد) قرار می گیرد (Moss et al., 2019). از این ماتریس ها در عین سادگی، ارزیابی واقع بینانه ای به دست می آید که

^aThe herbicides used to study the resistance level of populations in 2006 and 2014 were the same with almost similar results. Hence, just the differential results were presented in this table. For example, the S4 was sensitive to haloxyfop-R-methyl in 2006 populations survey but RR in 2014 ones.

^bMeasurement of ED₅₀ values was not possible since reduction in the fresh weight of the populations in the range of the applied doses were less than 50%.

^cThe populations were named using a number & the first letter of the city name from which they had been collected; Estahban (ES), Sepidan (S) and Marvdasht (M).

^a علف کش های استفاده شده برای مطالعه مقاومت جمعیت های سال ۱۳۸۵ و ۲۰۱۴ یکسان بوده است و اغلب نتایج نیز یکسان بود. بنابراین در این جدول نتایج متمایز آورده شده است. برای مثال S4-85 به هالوکسی فوپ آر متیل حساس (S) بود اما S4-94 مقاوم (RR) تشخیص داده شد.

^bمحاسبه مقادیر ED₅₀ مقدور نبود زیرا کاهش وزن تر جمعیت ها در طیف دزهای اعمال شده کمتر از ۵۰ درصد بود.

^cجمعیت ها با حرف اول نام شهری که از آن جمع آوری شده اند و یک شماره ناگذاری شناسه است؛ استهبان (ES)، سپیدان (S) و مرودشت (M).

برنامه های آینده قرار گیرد.

نتیجه گیری

در این مطالعه همه جمعیت های جمع آوری شده از این سه شهرستان مانند جمعیت های سال ۸۵ به دیکلوفوپ متیل، فنوکساپروپ-پی-اتیل و کلودینافوپ پروپارژیل مقاوم بودند. گسترش مقاومت به هالوکسی فوپ آر-متیل که فقط در جمعیت M2-85 گزارش شده بود اکنون در جمعیت های مرودشت و حتی سپیدان (S4) ثابت شد. مقاومت به پینوکسادن که در گندم، و سیکلوکسیدیم که در گیاهان زراعی پهن برگ در تناوب با گندم برای کنترل علف های هرز مقاوم توصیه می شوند (Zand & Sasanfar, 2020) در برخی توده های مرودشت، پدیده ای است که وجود علف کش های جایگزین مناسب و مؤثر تا کنون مصرف شده را نفی می کنند. به دلیل فشار انتخاب علف کش و حذف گونه های حساس در این مناطق به زودی بازده عملکرد تاحدی کاهش خواهد یافت که کشت گیاه زراعی مقرون به صرفه نخواهد بود. دریافت چنین نتایجی از روند رو به افزایش مقاومت و درجه مقاومت جمعیت های مقاوم نشان می دهد که مدیران این مزارع اغلب توجهی به مقاومت نداشته اند چنانکه در برخی مناطق حتی از روش های مدیریتی بسیار پرریسکی همچون استفاده از سموم جایگزین مانند بازدارنده های ALS استفاده کرده اند بنابراین نه تنها راهکاری برای کاهش بروز مقاومت استفاده نکرده اند بلکه زمینه بروز مقاومت چندگانه در مزرعه را ایجاد

برای ثبت علف کش ها و حتی علف کش های ترکیبی با نحوه عمل متفاوت در کشور مؤثر است. همچنین، علاوه بر بررسی گزارش های مقاومت استانی باید مطالعات مکانیسم های مقاومتی و روش های مدیریت علف های هرز و فرهنگ کشاورزی مناطق مختلف برای کاهش توسعه خطر مقاومت و افزایش مدت کاربرد مواد حفاظت کننده کشت گیاهان زراعی در

کرده‌اند. توصیه مناسب برای این مناطق می‌تواند استفاده از روش‌های زراعی همراه با استفاده از علف‌کش‌های تماسی یا شخم عمیق در آیش باشد تا در زمان مناسب و در بلندمدت بانک بذر مقاوم مزارع تخلیه شود. با توجه به نزدیکی برخی مزارع مقاوم در مطالعه جمعیت‌های سال ۹۴ با مزارع نمونه‌برداری‌شده از سال ۸۵، گسترش مقاومت با درجه مقاومت بیشتر زنگ خطر برای مدیران کشاورزی منطقه روشن شده است تا با تکیه به این پژوهش‌ها تصمیم‌گیری بهتری برای نظام مصرف سموم اتخاذ کنند و از گسترش ژن مقاومت به مزارع مجاور و مناطق دیگر جلوگیری کنند.

References:

- Aghajani, Z. 2010. Investigation of multiple-resistance of Wild Oat (*Avena ludoviciana* Durieu.) populations collected from Khuzestan Province to ACCase and ALS Inhibitor Herbicides. MSc. Dissertation, Faculty of agriculture, Science and Research University of Tehran, Iran (In Persian with English Summary).
- Baghestani, M.A., Zand, E., Soufizadeh, S., Mirvakili M., and Jaafarzadeh, N. 2009. Antagonistic effect of 2, 4-D plus MCPA and clodinafop propargyl on wheat (*Triticum aestivum*) field weeds in Iran. *Applied Entomology and Phytopathology*, Pesticide Special Issue: 1-18.
- Beckie, H. J., Heap, I., Smeda, R., and Hall, L. 2000. Screening for herbicide resistance in weeds. *Weed Technology*, 14(2): 428-445. doi: <http://www.jstor.org/stable/3988852>
- Beckie, H. J. 2006. Herbicide resistant weeds: management tactics and practices. *Weed Technology*, 20:793-418.
- Benakashani, F.B., Rahimian Mashhadi, H., Zand, E., Alizadeh, H., and Naghavi, M.R. 2010. Investigation of the cross resistance to ACCase inhibitor herbicides in Wild oat (*Avena ludoviciana* Durieu.) populations from Khuzestan province and chemical control of resistant Populations. *Journal of Weed Science*, 6(1): 95-112 (In Persian with English Summary).
- Benakashani, F., Zand, E., and Alizade, M.H. 2006. Resistance of wild oat (*Avena ludoviciana*) biotypes to clodinafop-propargil herbicide. *Applied Entomology and Phytopathology*, 74(2): 127-149 (In Persian with English Summary).
- Burgos, N. R. 2015. Whole-plant and seed bioassays for resistance confirmation. *Weed Science*, 63(sp.1):152-165. doi: <https://doi.org/10.1614/WS-D-14-00019.1>
- Busi, R., Goggin, D.E., Heap, I.M., Horak, M.J., Jugulam, M., Masters, R.A., Napier, R.M., Riar, D.S., Satchivi, N.M., and Torra, J. 2018. Weed resistance to synthetic auxin herbicides. *Pest Management Science*, 74: 2265-2276. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.4823>

- Collavo, A., Panozzo, S., Lucchesi, G., Scarabel, L., and Sattin, M. 2011. Characterisation and management of *Phalaris paradoxa* resistant to ACCase-inhibitors. *Crop Protection*, 30: 293-299. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.11.011>
- Dellaporta, S.L., Wood, J., and Hicks, J. B. 1983. A plant DNA minipreparation: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1(4): 19-21. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02712670>
- De'lye, C., Pernin, F., and Michel, S. 2011. 'Universal' PCR assays detecting mutations in acetyl-coenzyme A carboxylase or acetolactate synthase that endow herbicide resistance in grass weeds. *Weed Research*, 51(4):353-362. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2011.00852.x>
- Délye, C. 2005. Weed resistance to acetyl coenzyme A carboxylase inhibitor: an update. *Weed Science*, 53: 728-746. doi:10.1614/WS-04-203R.1
- Délye, C., Jasieniuk, M., and Valerie, C.L. 2013. Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds. *Trends in Genetics*, 29: 649-658.<https://doi.org/10.1016/j.tig.2013.06.001>
- Délye, C., and Michel, S. 2005. 'Universal' primers for PCR-sequencing of grass chloroplastic acetyl-CoA carboxylase domains involved in resistance to herbicides. *Weed Research*, 45(5): 323-330. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2005.00467.x>.
- Devine, M.D. 2002. Acetyl-CoA carboxylase inhibitors. In K. Hirai, K. Wakabayashi and P. Boger (Eds.). *Herbicide classes in development: mode of action, targets, genetic engineering and chemistry*. Springer. Berlin, Germany. p. 103- 113.
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). 2015. Efficacy evaluation of plant protection products PP 1/213 (4) Resistance risk analysis. *OEPP/EPPO Bull.* 45 (3): 371-387. Available at Web site <https://pp1.eppo.int/standards/PP1-213-4> (accessed 20 February 2021).
- Elahifard, E. 2005. The investigation of the resistance against aryloxyphenoxy propionate herbicides in littleseed canarygrass (*Phalaris minor*). MSc Dissertation, Faculty of agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

(In Persian with English Summary).

- Gherekhloo, J. 2008. *Tracing resistant Phalaris minor populations and studying their resistance mechanisms to aryloxyphenoxy propionate herbicides in Fars and Golestan wheat fields*. PhD Dissertation, Faculty of agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran (In Persian with English Summary).
- Gaines, T.A., Dule, S.O., Morran, S., Rigon, C.A.G., Tranel, P.J., Kopper, A., and Dayan, F.E. 2020. Mechanisms of evolved herbicide resistance. *Journal of Biological Chemistry: JBC*. 295(30): 10307-10330. doi: 10.1074/jbc.REV120.013572
- Gherekhloo, J., Oveisi, M., Zand, E., and De Prado, R. 2016. A review of herbicide resistance in Iran. *Weed Science*, 64(4): 551–561. doi:10.1614/WS-D-15-00139.1
- Heap, I., and Knight, R. 1982. A population of ryegrass tolerant to the herbicide diclofop-methyl. *Australian Journal of Agricultural Research*, 48: 156-157.
- Heap, I.M. 2021. International survey of herbicide resistant weeds. Available at: <http://www.weedscience.org> (Accessed February 2021).
- Jang, S. Marjanovic, J., and Gornicki, P. 2013. Resistance to herbicides caused by single amino acid mutation in acetyl-CoA carboxylase in resistance populations of grassy weeds. *New Phytologist*, 197:1110-1116. doi:https://doi.org/10.1111/nph.12117
- Kalami, K., Gherekhloo, J., Kamkar, B., Esfandiari, E., and De Prado, R. 2014. Identifying and mapping of wild oat (*Avena ludoviciana* Dur.) and *Phalaris minor* Retz. populations resistant to clodinafop-propargyl in wheat fields of Kordkuy. In 248th American Chemical Society National Meeting and Exposition. Washington, DC, American Chemical Society, 10–14 August 2014.
- Khalil Tahmasbi, B., Taghi Alebrahim, M., Fakhari, R., Zand, E., and De Prado, R. 2017. A look at the phenomenon of weed resistance to herbicides; from theory to exploitation. *Weed Research Journal*, 9(1):83-101. (In Persian with English summary).
- Liu, W., Harrison, D.K., Chalupska, D., Gornicki, P., O'Donnell, C.C., Adkins,

- S.W., Haselkorn, R., and Williams, R.R. 2007. Single-site mutations in the carboxyltransferase domain of plastid acetyl-CoAcarboxylase confer resistance to grass-specific herbicides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104: 3627-3632.
- Moss, S.R., Perryman, S.A.M., and Tatnell, L.V. 2007. Managing Herbicide-resistant Blackgrass (*Alopecurus myosuroides*): Theory and Practice. *Weed Technology*, 21(2): 300-309. doi: <https://doi.org/10.1614/WT-06-087.1>
- Moss, S.R., Ulber, L., and den Hoed, I. 2019. A herbicide resistance risk matrix. *Crop Protection*, 115: 13-19. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.09.005>
- Moss, S.R. 2017. Herbicide-resistance in weeds. In: P.E. Hatcher and R.J. Froud-Williams (Eds.), *Weed Research: Expanding Horizons*. John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- Murray B.G., Morrison I.N., and Frieses, L.F. 2002. Pollen-mediated gene flow in wild oat. *Weed Science*, 50: 321-325.
doi: [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2002\)050\[0321:PMGFIW\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2002)050[0321:PMGFIW]2.0.CO;2)
- Naylor, R.E. 2008. *Weed Management Handbook*. Blackwell, Oxford, UK.
- Najari, Kalantari, N., Gherekhloo, J., and Kamkar, B. 2013. Tracing and map of canary grass (*Phalaris minor*) and hood grass (*P. paradoxa*) biotypes resistant to clodinafoppropargyl herbicide in wheat fields of Aq-qala. *Weed Research Journal*, 5(1): 85- 97. [In Persian]
- Powles, S.B., and Yu, Q. 2010. Evolution in action: Plants resistant to herbicides. *Annual Review of Plant Biology*, 61: 317-347. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042809-112119
- Rastgoo, M., Rashed, M.H., Zand, E., and Nassiri, M. 2006. Resistance of winter wild oat (*Avena ludoviciana* Durieu.) to aryloxyphenoxy propionate herbicides in wheat fields of Khuzestan province: First screening test. *Iranian Journal of Weed Science*, 2(2): 96-104.
- Ritz, C., and Streibig J. C. 2005. Bioassay analysis using R. *Journal of Statistical Software*, 12(5): 1-22. doi: 10.18637/jss.v012.i05
- Sasanfar, H. R., Zand, E., Baghestani, M.A., and Mirhadi, M.J. 2009. Resistance

- of winter wild oat (*Avena ludoviciana*) populations to pinoxaden in fars province. *Iranian Journal of Weed Science*, 5: 1-13. (In Persian with English Summary).
- Sasanfar, H.R. 2017. *Evaluating the mechanisms of cross-resistance to ACCase inhibitor herbicides in wild oat (Avena ludoviciana) populations*. PhD Dissertation, Faculty of agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran (In Persian with English Summary).
- Sharma, M.P., and Vanden Born, W.V. 1987. The biology of Canadian weeds: *Avena fatua*. *Canadian Journal of Plant Science*, 58: 141-157. doi: <https://doi.org/10.4141/cjps2012-005>
- Takano, H.K., Ovejaro, R.F.L., Belchior, G.G., Maymone, G.P. L., and Dayan. F.E. 2019. ACCase-inhibiting herbicides: mechanism of action, resistance evolution and stewardship. *Science Agricola*, 78(1):1-11. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2019-0102>
- Xia, X., Tang, W., He, S., Kang, J., Ma, H., and Li, J. 2016. Mechanism of metamifop inhibition of the carboxyltransferase domain of acetyl-coenzyme A carboxylase in *Echinochloa crus-galli*. *Scientific Reports*, 6: 340-366. doi: <https://doi.org/10.1038/srep34066>
- Yuan, J.S. Tranel, P. J., and Stewart, C. N. 2007. Non-target-site herbicide resistance: a family business. *Trends In Plant Science*, 12: 6-13. doi: 10.1016/j.tplants.2006.11.001
- Yu, Q., Ahmad-Hamdani, M.S., Han, H., Christoffers, M.J., and Powles, S.B. 2013. Herbicide resistance-endowing ACCase gene mutations in hexaploid wild oat (*Avena fatua*): insights into resistance evolution in a hexaploid species. *Heredity*, 110: 220-231. doi:10.1038/hdy.2012.69.
- Yu, Q., Collavo, A., Zheng, M.Q., Owen, M., Sattin, M., and Powles, S.B. 2007. Diversity of acetyl coenzyme A carboxylase mutations in resistant *Lolium* populations: evaluation using clethodim. *Plant Physiology*, 145: 547-555. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.107.105262>
- Yu, Q., and Powles, B.P. 2014. Metabolism-based herbicide resistance and cross-resistance in crop weeds: A threat to herbicide sustainability and global crop

production. *Plant physiology*, 166(3): 1106-1118. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.114.24275>

Zand, E., and Baghestani, M.A. 2008. A review on five years research on herbicide resistance in Iran. In Proceeding of 2nd Iranian Weed Science Congress. Mashhad. p. 98-112.

Zand, E., Bena Kashani, F., Alizadeh, H.M., Soufizadeh, S., Ramezani, K., Maknali A., and Fereidounpoor, M. 2006. Resistance to aryloxyphenoxypropionate herbicides in wild oat (*Avena ludoviciana*). *Iranian Journal of Weed Science*, 2: 17-32.

Zand, E., and Sasanfar, H. R. 2020. *Herbicide resistant weed management in wheat fields*. Nashr-e Amoozesh-e keshavarzi. Karaj. (In Persian).

Zand, E., Nezamabadi, M. A. N., Shimi, P., and Musavi, S. K. 2017. Handbook of chemical weed control of Iran with an approach overview toof Changing PlantFlora Change. Jihade-e-Daneshgahi Press, Mashhad. (In Persian).