Plant Prod., 2022, 45(2), 267-276
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/PPD.2021.33123.1887
Received: 14 April 2020
Accepted: 2 May 2021

Plant Productions
Research Article

Rapid test for Detecting Haloxyfop-R methyl Ester Resistance in Winter Wild Oat (*Avena ludoviciana* durieu)

Saeid Hassanpour-Bourkheili[1], Javid Gherekhloo[2]*, Behnam Kamkar[3], Seyed Sanaz Ramezanpour[4]

1- Ph.D. Graduate of Agronomy, Department of Agronomy, Plant Production Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2- Associate Professor, Department of Agronomy, Plant Production Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3- Professor, Department of Agronomy, Agriculture Faculty, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran,
4- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Plant Production Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Citation: Hassanpour-Bourkheili, S., Gherekhloo, J., Kamkar, B., & Ramezanpour, S. S. (2022). Rapid test for detecting haloxyfop-R methyl ester resistance in winter wild oat (*Avena ludoviciana* durieu). *Plant Productions,* 45(2), 267-276.

Abstract

Introduction

Detection of resistance to an herbicide in a putatively resistant accession requires a series of experiments which are capable of illustrating the response of the accession to various herbicide doses. Whole plant bioassay in pots usually takes approx. 2 months to obtain the results, thus, rapid tests were developed to accelerate the process. Although determination of discriminating concentration as well as conduction of rapid test for some ACCase inhibitors has been performed by various researchers, no reports are available in this regard for haloxyfop-R methyl ester herbicide in winter wild oat. Thus, the following study was conducted with the objective of rapid detection of resistance to the mentioned herbicide in this weed using the rapid test.

Materials and Methods

The experiment was conducted using the seeds of 7 putatively resistant winter wild oat accessions and a susceptible biotype gathered from canola farms of Kalaleh Township located in Golestan province in 2015. Rapid test in petri dishes was conducted as a completely randomized design with three replications, with each petri dish as one replicate. To determine the

* **Corresponding Author:** Javid Gherekhloo
E-mail: gherekhloo@gau.ac.ir

© 2022 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

discriminating concentration, various concentrations of haloxyfop-R methyl ester was applied on the susceptible accession and then, all putative accessions were screened using this concentration. The biotypes of the studied weed were exposed to various doses of the herbicide in the petri dish bioassay to determine the resistance factor. Also, a completely randomized design experiment with three replications was conducted for screening of putative accessions in the greenhouse. Accessions which maintained their survival and dry weight respectively 50 and 80 percent compared to the unsprayed control were selected. A whole plant dose-response bioassay was also done separately for each biotype.

Results and Discussion

Discriminating concentration of haloxyfop-R methyl ester for winter wild oat was obtained 0.106 mg ai. L^{-1}. According to the results, 5 out of 7 accessions were detected as resistant and underwent the concentration- response assay in petri dishes. Resistant factors of the biotypes in the rapid test ranged from 2783.054 to 3421.414. However, no significant difference was observed among the biotypes. According to the results of the greenhouse, 5 accessions were detected as resistant with resistance factors of 14.19 to 18.54, with no significant difference among the biotypes. There was a positive and significant correlation between the results obtained from the rapid test with the greenhouse assay, which indicates the validity of the Petri dish assay.

Conclusion

The results of the rapid test are in accordance with those of the whole plant assay in pots. Therefore, putative winter wild oat accessions collected from the region may be screened using the obtained concentration of haloxyfop-R methyl ester (0.106 mg ai. L^{-1}) and resistant biotypes may be detected more rapidly compared to greenhouse assays. Due to the swift development of herbicide resistance issue, rapid detection of resistance is essential. Thus, using methods such as rapid test may be very feasible.

Keywords: Concentration-response, Herbicide resistance, Petri test, Seedling

تولیدات گیاهی، ۱۴۰۱، ۴۵(۲)، ۲۷۶-۲۶۷
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/PPD.2021.33123.1887
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۲

تولیدات گیاهی
مقاله پژوهشی

آزمون سریع برای تشخیص مقاومت یولاف وحشی زمستانه (*Avena ludoviciana* Durieu) به علف‌کش هالوکسی فوپ-آر متیل استر

سعید حسن‌پور بورخیلی[۱]، جاوید قرخلو[۲]*، بهنام کامکار[۳]، سیده ساناز رمضان‌پور[۴]

۱- دانش‌آموخته دکتری زراعت، گروه زراعت، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲- دانشیار، گروه زراعت، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳- استاد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۴- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

چکیده

جهت انجام آزمون سریع تشخیص مقاومت یولاف وحشی زمستانه (*Avena ludoviciana* Durieu) به هالوکسی فوپ-آر متیل استر جمع‌آوری شده از مزارع کلزای شهرستان کلاله واقع در استان گلستان، آزمایشی درسال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه علوم علف‌های هرز دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد که شامل هفت توده مشکوک به مقاومت و یک توده حساس بود. ابتدا غلظت‌های مختلف علف‌کش در پتری‌دیش روی توده حساس اعمال و طول ساقچه‌ها ۷ روز بعد اندازه‌گیری شدند، و غلظت تفکیک‌کننده معادل ۰/۱۰۶ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر به‌دست‌آمد. سپس توده‌های مشکوک به مقاومت در پتری‌دیش با با غلظت تفکیک‌کننده غربال شدند که بین ۷ توده مشکوک به مقاومت، ۵ بیوتیپ مقاوم شناخته‌شده و به همراه بیوتیپ حساس تحت آزمون غلظت-پاسخ در پتری قرار گرفتند. طبق نتایج به‌دست‌آمده، درجات مقاومت بیوتیپ‌ها بین ۲۷۸۳/۰۵۴ تا ۳۴۲۱/۴۱۴ متغیر بود که البته تفاوت معنی‌داری بین بیوتیپ‌ها مشاهده نشد. غربال توده‌های مشکوک به مقاومت و نیز آزمایش دز-پاسخ با دز توصیه شده مزرعه‌ای در گلخانه نیز انجام شد و درجه مقاومت بیوتیپ‌های مقاوم بین ۱۴/۱۹ تا ۱۸/۵۴ برآورد شد. نتایج به‌دست‌آمده در پتری‌دیش دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار با نتایج آزمون در گلخانه بودند و در نتیجه، آزمون در پتری‌دیش را می‌توان با اطمینان بالا جهت تشخیص سریع مقاومت یولاف وحشی زمستانه به هالوکسی فوپ-آر متیل استر به کار گرفت.

کلیدواژه‌ها: آزمون پتری، غلظت-پاسخ، گیاهچه، مقاومت به علف‌کش

* **نویسنده مسئول:** جاوید قرخلو
رایانامه: gherekhloo@gau.ac.ir

© 2022 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقدمه

معرفی علف‌کش‌های انتخابی به بازار در اواخر دهه ۱۹۴۰ و ورود مداوم علف‌کش‌های جدید در سال‌های بعد، باعث شد کشاورزان به ابزار شیمیایی جدید مسلح شده و رشد علف‌های هرز را کاهش و در نتیجه تولید گیاهان زراعی را افزایش دهند، ولی اتکا به علف‌کش‌ها باعث تغییر در فلور علف هرزی و نیز گزینش بیوتیپ‌های مقاوم به علف‌کش شده است (Kudsk and Streibig, 2003). تشخیص اولیه مقاومت به علف‌کش در یک بیوتیپ علف‌هرز مشکوک به مقاومت مستلزم انجام یک سری آزمایش است که بتواند عکس‌العمل بیوتیپ علف‌هرز نسبت به دزهای مختلف علف‌کش را نشان دهد. زیست‌سنجی گیاه کامل در گلدان معمولاً حدود دوماه به طول می‌انجامد، لذا آزمون‌های سریع جهت تسریع کار ابداع شدند. در این آزمون‌ها از کل گیاه، بذرها، یا گیاهچه‌ها در بسترهای مختلف رشد استفاده می‌شود (Burgos et al., 2013).

استفاده از آزمون جوانه‌زنی در پتری‌دیش امکان ارزیابی تعداد زیادی بذر در زمان کم‌تر نسبت به آزمون گیاه کامل را فراهم نموده است. در آزمون‌های پتری‌دیش، جمعیت‌های مشکوک به مقاومت و حساس نیز قبل از اجرای آزمون مقاومت در مقیاس وسیع، ابتدا با دامنه گسترده‌ای از دزها برای تعیین دز تفکیک‌کننده آزمون می‌شوند (Kaundun et al., 2011). Bourgeois et al. (1997) آزمون پتری‌دیش را برای تعیین الگوهای مقاومت عرضی مجموعه بزرگی از نمونه‌های یولاف وحشی به بازدارنده‌های ACCase به کار بردند. طی این کار، بذرهای یولاف وحشی در بستر آگار حاوی غلظت‌های مختلف علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل و کلتودیم رشد یافتند تا غلظت تفکیک‌کننده تعیین شود. سپس سطح مقاومت بر اساس طویل شدن ریشه‌چه و ساقه‌چه بذرهای تیمارشده در مقایسه با بذرهای تیمار نشده ارزیابی شد. غلظت تفکیک‌کننده غلظتی از سم موردنظر می‌باشد که بیشترین اختلاف عمودی را بین منحنی‌های دز-پاسخ مربوط به توده‌های مقاوم و حساس ایجاد می‌کند و حداقل باعث ۸۰ درصد بازدارندگی در رشد توده حساس می‌شود (Beckie et al., 2000). البته باید در نظر داشت که شرایط آزمون پتری‌دیش با شرایط واقعی در مزرعه متفاوت می‌باشد، بنابراین لازم است نتایج به‌دست‌آمده در آزمون سریع با نتایج آزمون درگلخانه که شرایط آن شباهت بیشتری با مزرعه دارد مقایسه گردد تا بتوان درستی آن را تأیید نمود (Perez-Jones et al., 2007).

یولاف وحشی یکی از علف‌های هرز رایج در محصولات زراعی مختلف است که به علت توان رقابتی بالا، قادر است خسارت جدی به گیاه زراعی وارد نماید (Asadnezhad et al., 2017). علف‌کش هالوکسی فوپ-ار متیل استر (EC 10.8%) با نام تجاری گالانت سوپر رایج‌ترین علف‌کش مورد استفاده برای کنترل علف‌های هرز باریک برگ به ویژه یولاف وحشی زمستانه (*Avena ludoviciana* Durieu) در مزارع کلزای استان گلستان در ۱۰ سال اخیر بوده است، و مصرف متوالی این علف‌کش باعث گزارش‌هایی در مورد مقاومت در این علف‌هرز شده است (Gherekhloo et al., 2011; 2016; Hassanpour bourkheili et al., 2017). اگرچه تعیین غلظت تفکیک‌کننده و انجام آزمون سریع در پتری‌دیش برای برخی بازدارنده‌های ACCase توسط محققین متعددی انجام شده است (Benakashani et al., 2007; Burke et al., 2006; Hatami Moghaddam et al., 2016; Gherekhloo, 2008; Rastgoo, 2007; Soofizadeh et al., 2017; Tatari et al., 2018) ولی این امر تاکنون برای علف‌کش هالوکسی‌فوپ-آر متیل استر در یولاف وحشی زمستانه رخ نداده است. بنابراین پژوهش پیش‌رو با هدف تشخیص سریع بروز مقاومت در این گیاه با استفاده از تعیین غلظت تفکیک‌کننده و آزمون سریع انجام شد.

مواد و روش‌ها

جهت اجرای آزمایش‌ها، ۷ توده بذری یولاف وحشی زمستانه مشکوک به مقاومت در سال ۱۳۹۴ از سطح مزارع کلزای شهرستان کلاله در استان گلستان جمع‌آوری شدند. بذرهای بیوتیپ حساس به علف‌کش نیز از مناطقی از شهرستان جمع‌آوری شدند که تاکنون سابقه مبارزه شیمیایی را با این علف‌های هرز نداشت. آزمون سریع در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد که هر پتری‌دیش به منزله یک تکرار محسوب شد. ابتدا پوسته بذرها با دست جدا گردید. سپس بذرها جهت شکستن خواب به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴ °C در یخچال قرار گرفتند و سپس به انکوباتوری با دمای ۲۰°C منتقل شدند (Tatari et al., 2018). زمانی‌که طول ریشه‌چه به حدود ۰/۵ میلی‌متر رسید بذرها به‌صورت ده‌تایی در پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ صافی قرار داده شدند. برای تعیین غلظت تفکیک‌کننده، غلظت‌های مختلف علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل استر شامل صفر، ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۲ و ۱/۳۲ میلی گرم ماده مؤثره در لیتر روی توده حساس اعمال شدند و سپس، توده‌ها با این غلظت مورد غربال قرار گرفتند. به منظور تعیین درجه مقاومت، بیوتیپ‌های مختلف علف‌هرز، با غلظت‌های مختلف علف کش هالوکسی فوپ- ار متیل استر مورد زیست‌سنجی در پتری‌دیش قرار گرفتند. غلظت‌های مورد استفاده علف‌کش هالوکسی فوپ- ار متیل استر برای بیوتیپ‌های مقاوم صفر، ۱۰/۲۴، ۲۰/۴۸، ۴۰/۹۶، ۸۱/۹۲ و ۱۶۳/۸۴ و برای بیوتیپ حساس مشابه غلظت‌های به کار رفته

جهت تعیین غلظت تفکیک‌کننده بود. طول ساقه‌چه هفت روز بعد از اعمال تیمار علف‌کش تعیین و به‌صورت درصد از شاهد برای هر توده محاسبه شد (Tatari et al., 2018).

هم‌چنین به منظور غربال اولیه توده‌های مقاوم در گلخانه، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در ابتدا خواب بذرها با روش ذکر شده در فوق شکسته شد و سپس به دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند. تعداد ۱۰ عدد بذر جوانه‌دار از هر توده در گلدان‌هایی حاوی خاک و خاک‌برگ به نسبت ۱:۱ با ابعاد ۱۲ در ۱۵ سانتی‌متر کشت شدند. هر گلدان به منزله یک تکرار بوده و آزمایش با سه تکرار برای هر توده انجام شد. برای هر تکرار نیز یک گلدان به‌عنوان شاهد سم‌پاشی نشده در نظر گرفته شد تا داده‌های حاصل برحسب درصد نسبت به شاهد سم‌پاشی نشده مورد ارزیابی قرار گیرند. در مرحله ۳ تا ۴ برگی، سم‌پاشی علف‌کش هالوکسی فوپ- ار متیل استر (با نام تجاری گالانت سوپر EC 10.8%، شرکت آریاشیمی) با دز توصیه‌شده (۸۱ گرم ماده مؤثره در هکتار) و با دستگاه سم‌پاش استاندارد و کالیبره شده مدل Matabi مجهز به نازل بادبزنی ۸۰۰۳ با فشار پاشش ۲۰۰ کیلوپاسکال و حجم کالیبراسیون ۲۵۰ لیتر در هکتار انجام شد. چهار هفته پس از سم‌پاشی تعداد گیاهان زنده در هر گلدان یادداشت شده و به‌صورت درصد از تعداد گیاهان قبل از سم‌پاشی محاسبه شد. وزن خشک بوته‌های باقیمانده، پس از گذاردن بوته‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد توزین شده و بر حسب درصد به وزن خشک بوته‌های شاهد سم‌پاشی نشده محاسبه شد.

توده‌هایی که در برابر دز توصیه شده علف‌کش مقاومت نشان دادند و ۵۰ درصد بقاء و ۸۰ درصد وزن خشک خود را نسبت به شاهد سم‌پاشی نشده حفظ کرده بودند، انتخاب و به منظور بررسی درجه مقاومت این بیوتیپ‌ها آزمایش زیست‌سنجی دز-پاسخ گیاه کامل، برای هر بیوتیپ به‌صورت جداگانه انجام شد (Gherekhloo et al., 2011). به منظور یکنواختی در سبز شدن گیاهچه‌ها و به حداقل رساندن واریانس ناشی از عدم همزمانی در جوانه‌زنی، ابتدا خواب بذرها با روش توضیح داده شده در قبل، شکسته شده و پس از آن تعداد ۱۰ بذر پیش جوانه‌دار شده به گلدان‌هایی با اندازه مناسب منتقل شدند. هر گلدان به منزله یک تکرار بوده و برای هر توده ۳ تکرار در نظر گرفته شد. با توجه به گونه علف هرز، در مرحله رشدی سه تا چهار برگی با دستگاه سم‌پاش استاندارد و با دزهای بالاتر و پایین‌تر از دز توصیه شده سم‌پاشی انجام شد. مقادیر در نظر گرفته شده برای توده‌های حساس صفر، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱، ۲ برابر دز توصیه شده یا به عبارتی صفر، ۸/۱، ۱۶/۲، ۳۲/۴، ۴۸/۶، ۶۴/۸، ۸۱ و ۱۶۲ گرم ماده مؤثره در هکتار بود. این مقادیر برای توده‌های مقاوم صفر، ۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۸ و ۱۶ و ۳۲ برابر دز توصیه شده یا صفر، ۴۰/۵، ۸۱، ۱۶۲، ۳۲۴، ۶۴۸، ۱۲۹۶ و ۲۵۹۲ گرم ماده مؤثره در هکتار در نظر گرفته شد. با توجه به نوع سم استفاده شده پس از طی مدت ۴ هفته تعداد گیاهان زنده باقیمانده یادداشت شده و وزن خشک اندام‌های هوایی بوته به‌صورت درصد نسبت به شاهد بیان شد.

رایج‌ترین روش برخورد با تفاوت رشد در بین جمعیت‌ها برای محاسبه پاسخ‌ها، ارزیابی آن‌ها به‌صورت درصد از شاهد تیمار نشده است، اگر چه در روش دیگر همیشه شاهد را ۱۰۰ در نظر گرفته و بقیه تیمارها را نسبت به آن محاسبه می‌کنند. از این روش جهت برآورد دزی از علف‌کش که موجب کاهش رشد گیاه تا ۵۰ درصد (GR_{50}) (Growth rate) در مقایسه با شاهد می‌گردد، استفاده می‌شود. مقادیر GR_{50} در هر دو بیوتیپ مقاوم (R) و حساس (S) برای محاسبه درجه مقاومت (RF) (Resistance factor) با رابطه $GR_{50}R/GR_{50}S$ مورد استفاده قرار می‌گیرند. این شاخص از طریق برازش مدل رگرسیونی غیرخطی لگ لجستیک چهار پارامتره (رابطه ۱) به داده‌های وزن خشک یا وزن تر هر بیوتیپ برآورد می‌شود (Ritz, 2010).

رابطه (۱)

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

که در این تابع: y وزن خشک یا وزن تر بخش هوایی به‌صورت درصد از تیمارشاهد، c و d ضرایب مربوط به حد پایین و بالا، x میزان دز علف‌کش، e میزان دز مؤثر برای حصول ۵۰ درصد پاسخ مشاهده شده بین حد پایین و بالا و b شیب خط در نقطه e می‌باشد.

در مواردی که حد پایین به سمت صفر میل می‌کند، از رابطه لگ‌لجستیک سه پارامتره (رابطه ۲) استفاده گردید.

رابطه (۲)

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

برازش تابع لگ لجستیک به داده‌ها با استفاده از نرم افزار R v. 3.6.1 و بسته drc انجام شد. رسم نمودار مربوط به مقایسه پاسخ جوانه‌زنی بیوتیپ‌ها در گلخانه و پتری‌دیش نیز با کمک نرم‌افزار Excel صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

روند تغییرات طول ساقه‌چه بیوتیپ حساس نسبت به شاهد در پاسخ به غلظت‌های مختلف علف‌کش هالوکسی فوپ-آر متیل استر در شکل ۱ آورده شده است. با توجه به جدول ۱ مقدار حد بالا، GR_{50} و شیب در نقطه GR_{50} بیوتیپ

حساس یولاف وحشی زمستانه در پاسخ به علف‌کش هالوکسی فوپ-آر متیل استر به‌ترتیب ۹۶/۸۴، ۰/۰۱۲ میلی گرم ماده مؤثره در لیتر و ۰/۶۴۹ بود. برای محاسبه غلظت تفکیک‌کننده از پارامتر GR_{80} استفاده شده که از طریق درون‌یابی منحنی برازش‌یافته به‌دست‌آمد و مقدار آن برابر با ۰/۱۰۶ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر بود.

Benakashani et al. (2007) بر مبنای ۵۰ درصد بازدارندگی در رشد بیوتیپ حساس یولاف زمستانه، غلظت تفکیک‌کننده برای علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، فنوکساپروپ-پی اتیل و دیکلوفوپ متیل را به‌ترتیب معادل ۰/۰۱، ۰/۱ و ۴ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر گزارش کردند. Rastgoo (2007) نیز در آزمایش زیست‌سنجی خود، غلظت تفکیک‌کننده برای علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، فنوکساپروپ -پی اتیل و دیکلوفوپ متیل را برای علف‌هرز یولاف وحشی بر مبنای ۸۰ درصد بازدارندگی در رشد گیاهچه بیوتیپ حساس به‌ترتیب معادل۰/۲، ۰/۰۲ و۴/۲ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر گزارش نمود. غلظت تفکیک‌کننده بر مبنای GR_{50} در تحقیق Najjari Kalantari (2013) روی علف‌هرز یولاف وحشی زمستانه برای کلودینافوپ پروپارژیل، فنوکساپروپ- پی اتیل و دیکلوفوپ متیل به‌ترتیب ۰/۲۱، ۰/۸۷ و ۱۴/۸۷ عنوان شد.

Gherekhloo (2008) بر مبنای ۵۰ درصد بازدارندگی در رشد توده حساس، غلظت تفکیک‌کننده برای علف‌هرز فالاریس را برای علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، فنوکساپروپ-پی اتیل و دیکلوفوپ متیل به‌ترتیب معادل ۰/۰۲، ۰/۲۹ و ۲/۴۴ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر گزارش کردند. Elahifard et al. (2005) نیز در آزمایش زیست‌سنجی خود با این علف‌هرز، غلظت تفکیک‌کننده را برای علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل، فنوکساپروپ- پی اتیل و دیکلوفوپ متیل بر مبنای ۵۰ درصد بازدارندگی در رشد گیاهچه بیوتیپ حساس به‌ترتیب معادل ۰/۰۱، ۰/۰۸ و ۰/۴ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر گزارش کردند. در بیوتیپ‌های حساس فالاریس جمع‌آوری شده از شهرستان علی‌آباد، غلظت تفکیک‌کننده برای علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپاژیل، فنوکساپروپ- پی اتیل، دیکلوفوپ متیل به‌ترتیب ۰/۰۱، ۰/۳۵ و ۰/۸ گزارش‌شد (Razghandi, 2016). هم‌چنین Soofizadeh et al. (2017) از شهرستان کلاله مقدار GR_{50} را برای علف‌کش‌های یاد شده به‌ترتیب ۰/۹۲، ۰/۳۵، ۰/۵۸ و Najjari Kalantari (2013) برای شهرستان کردکوی این مقدار را ۰/۰۶، ۰/۰۴و ۱/۶۷ میلی گرم ماده مؤثره در لیتر برآوردکرد. Kalami (2014) مقدارغلظت تفکیک‌کننده سه علف‌کش کلودینافوپ‌پروپاژیل، دیکلوفوپ‌متیل و فنوکساپروپ پی‌اتیل را براساس GR_{80}، ۰/۰۶۹، ۰/۷۸، ۱/۲۱ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیترگزارش کرد. این روش برای آزمون مقاومت به بازدارنده‌های ACCase در دم روباهی (*Setaria virids* L.) (Delye et al., 2002) و قیاق (*Sorghum halepense* L.) (Burke et al., 2006) نیز استفاده شده است.

پس از تعیین غلظت تفکیک‌کننده، بیوتیپ‌های حساس و مشکوک به مقاومت در معرض این غلظت تفکیک‌کننده قرار گرفتند. بیوتیپ‌های RK-5، RK-8، RK-12، RK-14 و RK-20 همگی موفق شدند صد درصد طول ساقه‌چه خود نسبت به تیمار شاهد (آب‌مقطر) را حفظ نمایند و برای آزمون غلظت-پاسخ انتخاب شدند، درحالی‌که در بیوتیپ‌های RK-2 و RK-10 و بیوتیپ حساس، کاهش قابل توجه در طول ساقه‌چه مشاهده شد (جدول ۲). اعمال غلظت‌های مختلف علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل استر باعث شد طول ساقه‌چه بیوتیپ حساس به سرعت نسبت به شاهد کاهش یابد، درحالی‌که بیوتیپ‌های مقاوم موفق شدند طول ساقه‌چه خود را تا غلظت‌های نسبتاً بالا حفظ کنند (شکل ۲). مقدار علف‌کش لازم برای کاهش ۵۰ درصد طول ساقه‌چه نسبت به شاهد برابر با ۰/۰۱۲ میلی گرم ماده مؤثره در لیتر بود. این مقدار برای بیوتیپ‌های مقاوم RK-5، RK-8، RK-12، RK-14 و RK-20 به‌ترتیب برابر با ۴۰/۹۸۷، ۴۱/۷۴۳، ۴۳/۱۲۵، ۳۷/۴۱۴ و ۳۵/۰۷۷ میلی گرم ماده مؤثره در لیتر ثبت شد. درجه مقاومت این بیوتیپ‌ها نیز به‌ترتیب برابر با ۳۲۵۱/۳۲۳، ۳۳۳۱/۲۷۵، ۳۴۲۱/۴۱۴، ۲۹۶۸/۷۶۲ و ۲۷۸۳/۰۵۴ بود (جدول ۳). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، درجه مقاومت بیوتیپ‌های مورد مطالعه نسبتاً بالا و از نظر آماری یکسان بودند.

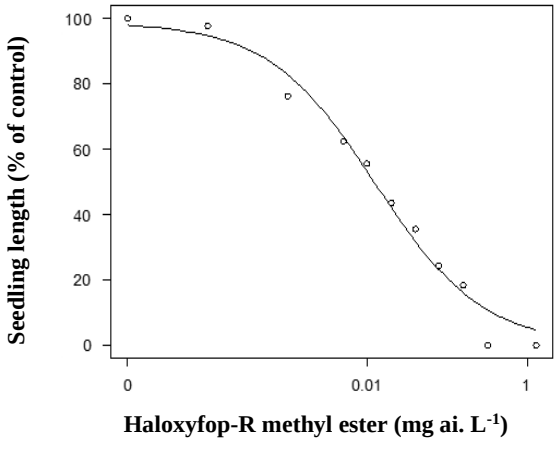

Figure 1. Changes in seedling length response of susceptible winter wild oat biotype to various haloxyfop-R methyl ester concentrations

در شهرستان گنبد بالاترین درجه مقاومت به‌دست‌آمده برای بیوتیپ‌های مقاوم یولاف وحشی زمستانه ۳۱/۴۲ با GR_{50} برابر ۰/۸۶ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر بود (Tatari et al., 2018). این مقادیر در سایر شهرستان‌های استان گلستان متفاوت گزارش شده است؛ Kalami (2014) بالاترین مقدار GR_{50} برای بیوتیپ‌های مقاوم یولاف وحشی زمستانه جمع‌آوری شده از شهرستان کردکوی را ۵۶/۵۲ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر با درجه مقاومت ۱۲/۶۲ گزارش کرد. هم‌چنین در شهرستان‌های آق‌قلا (Najjari Kalantari, 2013)، علی‌آباد (Razghandi, 2016) و کلاله (Soofizadeh et al., 2017) بالاترین مقدار GR_{50} محاسبه شده برای یولاف وحشی زمستانه به‌ترتیب ۹۱/۶۲، ۲۰/۳۰و ۴۸/۳۹ میلی گرم ماده مؤثره در لیتر می‌باشد. پس از سم‌پاشی یا مقدار توصیه‌شده (۸۱ گرم ماده مؤثره در هکتار)، از بین ۷ توده جمع‌آوری شده یولاف وحشی زمستانه، ۵ توده شامل RK-5، RK-8، RK-12، RK-14 و RK-20 موفق شدند وزن خشک و درصد بقای خود را در معرض علف‌کش هالوکسی فوپ-آر متیل استر به‌ترتیب بالای ۸۰ و ۵۰ درصد نسبت به شاهد حفظ کنند و در نتیجه به‌عنوان بیوتیپ‌های مقاوم برای آزمون دز-پاسخ انتخاب شدند. همه بیوتیپ‌های مقاوم دارای ۸۰ الی ۱۰۰ درصد بقاء بودند و وزن خشک آن‌ها نیز کمتر از ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد نبود. هم‌چنین بیوتیپ حساس نیز همان‌طور که انتظار می‌رفت نتوانست در برابر دز توصیه شده علف‌کش دوام بیاورد (جدول ۴).

Table 1. Parameter estimates related to coleoptile length response of susceptible winter wild oat biotype to haloxyfop-R methyl ester. Values in parentheses denote standard errors

GR_{80} (mg ai. L^{-1})	Slope at GR_{50}	GR_{50} (mg ai. L^{-1})	Upper limit
0.106 (0.02)	0.64 (0.07)	0.012 (0.003)	98.84 (4.34)

Table 2. Coleoptile length of winter wild oat biotypes relative to control as affected by application of haloxyfop-R methyl ester discriminating concentration.

Biotype	Seedling length (% of control)	Biotype	Seedling length (% of control)
RK-2	45.00	RK-12*	100.00
RK-5*	100.00	RK-14*	100.00
RK-8*	100.00	RK-20*	100.00
RK-10	30.00	S	19.33

*Resistant

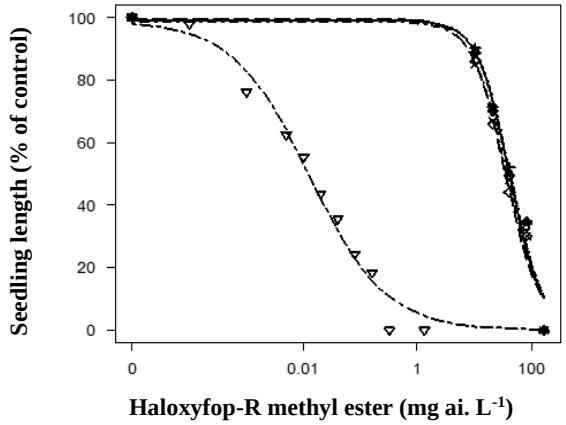

Figure 2. Changes in Coleoptile length response of winter wild oat biotypes to various haloxyfop-R methyl ester concentrations

Table 3. Parameter estimates related to Coleoptile length response of winter wild oat biotypes to haloxyfop-R methyl ester. Values in parentheses denote standard errors.

Biotype	Upper limit	GR_{50} (mg ai. L^{-1})	Slope at GR_{50}	Resistance factor
RK-5	99.04 (6.51)	40.98 (6.93)	1.52 (0.22)	3251.32 (321.71)
RK-8	99.13 (6.61)	41.74 (7.19)	1.55 (0.31)	3331.27 (402.52)
RK-12	98.99 (6.53)	43.12 (7.35)	1.46 (0.28)	3421.41 (375.53)
RK-14	98.67 (6.80)	37.41 (6.62)	1.45 (0.22)	2968.76 (330.43)
RK-20	99.61 (6.75)	35.07 (6.10)	1.55 (0.30)	2783.05 (308.77)
S	98.84 (4.00)	0.012 (0.003)	0.65 (0.09)	-

Table 4. Survival and dry weight percentage of winter wild oat accessions relative to control as affected by application of haloxyfop-R methyl ester recommended field rate

Accession	Dry weight (% of control)	Survival (% of control)	Accession	Dry weight (% of control)	Survival (% of control)
RK-2	42.20	35.00	RK-12*	100.00	100.00
RK-5*	100.00	100.00	RK-14*	100.00	85.00
RK-8*	100.00	100.00	RK-20*	100.00	80.00
RK-10	38.90	30.00	S	0.00	0.00

غربالگری توده‌های مشکوک به مقاومت فالاریس (*Phalaris minor* Retz.) در استان‌های گلستان و فارس نشان داد که از بین ۳۴ توده، ۱۴ توده به فنوکساپروپ-پی اتیل (۴۱ درصد)، ۴ توده به کلودینافوپ پروپارژیل (۱۰ درصد) و ۱۷ توده به دیکلوفوپ متیل (۵۰ درصد) مقاوم بودند (Gherekhloo et al., 2011). بررسی مقاومت شلمی (*Rapistrum rugosum* L.) به علف‌کش تری‌بنورون متیل از خانواده بازدارنده‌های ALS در استان گلستان نشان داد که ۳۳ درصد توده‌ها مقاوم بودند (Hatami et al., 2016). در مطالعه‌ای دیگر، جمعیت‌های یولاف وحشی جمع‌آوری شده از استرالیا مورد غربال قرار گرفتند و مشخص شد که ۴۷، ۱۷، ۲، ۲۳ و ۲ درصد جمعیت به‌ترتیب به دیکلوفوپ متیل، فنوکساپروپ-پی اتیل، کلودینافوپ پروپارژیل، ستوکسیدیم و پینوکسادن مقاومت داشتند (Owen and Powles, 2009).

روند پاسخ بیوتیپ‌های مقاوم و حساس یولاف وحشی زمستانه به دزهای مختلف علف‌کش هالوکسی فوپ-آر متیل استر در شکل ۳ آورده شده است. بیشترین مقدار GR_{50} معادل ۲۶۸/۴۱ گرم ماده مؤثره در هکتار برای بیوتیپ RK-12 به‌دست‌آمد و بیوتیپ‌های RK-8، RK-5، RK-14، RK-20 و S با GR_{50} برابر با ۲۶۰/۶۰، ۲۵۳/۴۴، ۲۲۲/۳۳، ۲۰۵/۵۳ و ۱۴/۴۷ گرم ماده مؤثره در هکتار در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. بیوتیپ حساس بیشترین مقدار شیب در نقطه GR_{50} را معادل ۱/۵۹ به ثبت رساند که نشان دهنده کاهش بیشتر رشد به ازای هر گرم ماده مؤثره علف‌کش هالوکسی فوپ-آر متیل استر در مقایسه با سایر بیوتیپ‌های می‌باشد. به عبارت دیگر، سرعت نزول منحنی در بیوتیپ حساس بیش از سایر بیوتیپ‌ها بود. همه بیوتیپ‌های مقاوم دارای درجات مقاومت نسبتاً بالایی بودند که از ۱۴/۱۹ تا ۱۸/۵۴ متغیر بود، هر چند تفاوت معنی‌داری بین بیوتیپ‌ها از نظر درجه مقاومت مشاهده نشد (جدول ۵).

نتایج مربوط به درجه مقاومت بیوتیپ‌های مقاوم یولاف وحشی زمستانه به علف‌کش هالوکسی فوپ-آر متیل استر در پتری‌دیش در برابر نتایج به‌دست‌آمده در گلخانه قرار داده شد. تجزیه رگرسیون و همبستگی نیز برای این صفات انجام شد و بر اساس نتایج، ضریب تبیین بسیار بالا و برابر با ۰/۹۹ به‌دست‌آمد که نشان می‌دهد ۹۹ درصد تغییرات در نتایج آزمون پتری‌دیش را می‌توان با نتایج به‌دست‌آمده در گلخانه توجیه کرد. همچنین ضریب همبستگی معادل ۰/۹۹ و مثبت و معنی‌دار بود که نشان از ارتباط بسیار بالای نتایج گلخانه و پتری‌دیش دارد (شکل ۴).

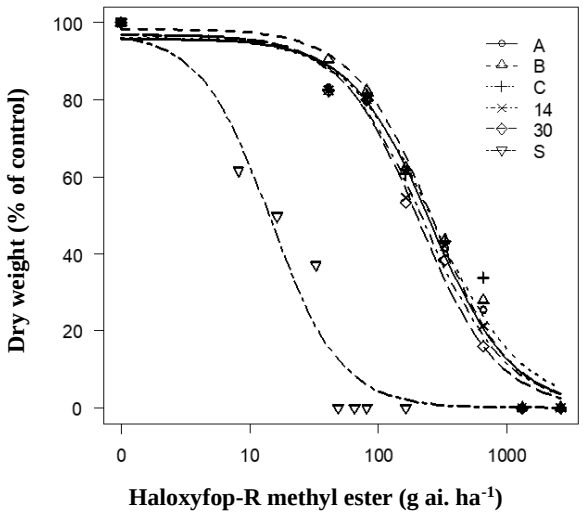

Figure 3. Changes in dry weight response of susceptible and resistant winter wild oat biotypes to various haloxyfop-R methyl ester doses

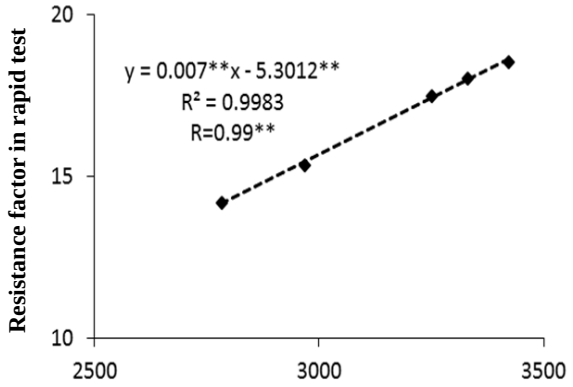

Figure 4. Comparison of haloxyfop-R methyl ester-resistant winter wild oat resistance factors under greenhouse conditions and rapid test
****: significant at p<0.05**

Table 5. Parameter estimates related to dry weight response of winter wild oat biotypes to haloxyfop-R methyl ester. Values in parentheses denote standard errors

Biotype	Upper limit	GR_{50} (mg ai. L^{-1})	Slope at GR_{50}	Resistance Factor
RK-5	95.79 (6.72)	253.44 (51.28)	1.39 (0.28)	17.50 (4.84)
RK-8	98.32 (6.36)	260.60 (48.67)	1.41 (0.26)	18.04 (2.76)
RK-12	96.13 (6.81)	268.41 (57.94)	1.27 (0.25)	18.54 (4.33)
RK-14	96.85 (6.84)	222.33 (45.05)	1.33 (0.26)	15.36 (4.28)
RK-20	96.89 (6.80)	205.53 (39.94)	1.47 (0.28)	14.19 (3.85)
S	97.40 (7.63)	14.47 (2.76)	1.59 (0.28)	-

زیست‌سنجی گیاهچه در گلخانه حدوداً به دو ماه زمان احتیاج دارد، به همین خاطر آزمون‌های سریع جهت تسریع کار ابداع شدند (Burgos, 2015). باید توجه داشت که معمولاً مطالعات مربوط به بروز مقاومت، بر اساس آزمون در گلخانه استوار می‌باشد، زیرا گیاهان رشد یافته در گلخانه از نظر اندازه و حالت رشدی تا حدود زیادی مشابه گیاهان مزرعه می‌باشند. هر چند، آزمون سریع با استفاده از بذرهای جوانه‌دار شده در پتری‌دیش نیز می‌تواند روشی سریع و مطمئن جهت تشخیص علف‌های هرز مقاوم می‌باشد. البته برآورد درجه مقاومت در آزمون پتری بیش از مقدار به‌دست‌آمده در گلخانه می‌باشد. این نتیجه توسط محققین دیگر نیز گزارش شده‌است (Ghanizadeh et al., 2015; Preston et al., 2009).

نتیجه‌گیری

طبق نتایج به‌دست‌آمده، غلظت تفکیک‌کننده هالوکسی فوپ آر متیل استر برای بیوتیپ‌های یولاف وحشی زمستانه جمع‌آوری شده از مزارع کلزای شهرستان کلاله معادل با ۰/۱۰۶ میلی‌گرم ماده مؤثره در لیتر به‌دست‌آمد. با استفاده از این غلظت می‌توان توده‌های مشکوک به مقاومت جمع‌آوری شده از آن منطقه را غربال نمود و درنهایت بیوتیپ‌های مقاوم با سرعت بسیار بیشتری نسبت به آزمایش در گلخانه مشخص خواهند شد. هم‌چنین با انجام آزمون دز-پاسخ در گلخانه، مشخص شد که نتایج به‌دست‌آمده در آزمون سریع، با نتایج آزمون گیاه کامل در گلدان مطابقت دارد. با توجه به گسترش معضل مقاومت و دریافت گزارش‌های روزافزون از بروز موارد جدید مقاومت به علف‌کش‌ها، تشخیص سریع مقاومت بسیار حائز اهمیت می‌باشد، بنابراین استفاده از روش‌هایی نظیر آزمون سریع می‌تواند بسیار کارساز باشد.

سپاس‌گزاری

پژوهش حاضر بخشی از رساله دکتری نگارنده اول بوده و توسط دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تأمین مالی شده است. هم‌چنین نگارندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از آقایان محمد طاهری و محمدعلی محبوبی‌فر بابت همراهی و مساعدت ایشان در انجام این پژوهش اعلام می‌دارند.

References

Asadnezhad, M., Farzaneh, M., & Meskarbashee, M. (2017). Planting date effect on yield and yield component of three wheat cultivars in competitive with wild oat. *Plant Productions*, 40(1), 55-68.

Banakashani, F., Zand, E., & Alizadeh, H. M. (2007). Resistance of wild oat (*Avena ludoviciana*) biotypes to clodinafop-propargil herbicide. *Applied Entomology and Phytopathology*, 74(2), 127-149. [In Farsi]

Beckie, H. J., Heap, I. M., Smeda, R. J., & Hall, L. M. (2000). Screening for herbicide resistance in weeds. *Weed Technology*, 14(2),428-445.

Bourgeois, L., Kenkel, N. C., & Morrison, I. N. (1997). Characterization of cross-resistance patterns in acetyl-CoA carboxylase inhibitor resistant wild oat (*Avena fatua*). *Weed Science*, 45(6), 750-755.

Burgos, N. R. (2015). Whole-plant and seed bioassays for resistance confirmation. *Weed Science*, 63(SP1),152-165.

Burgos, N. R., Tranel, P. J., Streibig, J. C., Davis, V. M., Shaner, D., Norsworthy, J. K., & Ritz, C. (2013). Review: Confirmation of resistance to herbicides and evaluation of resistance levels. *Weed Science*, 61(1), 4-20.

Burke, I. C., Thomas, W. E., Burton, J. D. Spears, J. F., & Wilcut, J. W. (2006). A seedling assay to screen aryloxyphenoxypropionic acid and cyclohexanedione resistance in johnsongrass (*Sorghum halepense*). *Weed Technology*, 20(4), 950-955.

Delye, C., Wang, T., & Darmency, H. (2002). An isoleucine substitution in chloroplastic acetyl-CoA carboxylase from green foxtail (*Setaria viridis* L. Beauv.) is responsible for resistance to the cyclohexanedione herbicide, sethoxydim. *Planta*, 214(3), 421-227.

Elahifard, E. (2005). *The investigation of the resistance against aryloxyphenoxypropionate herbicides in littleseed canarygrass* (*Phalaris minor*). PhD Thesis in Weed Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. [In Farsi].

Ghanizadeh, H., Harrington, K. C., James, T. K., & Woolley, D. J. (2015). A quick test using seeds for detecting dicamba resistance in fathen (*Chenopodium album*). *Australian Journal of Crop Science*, 9(4), 337-343.

Gherekhloo, J. (2008). *Tracing resistant Phalaris minor populations and studying their resistance mechanisms to*

aryloxyphenoxy propionate herbicides in Fars and Golestan wheat fields. Ph.D. Thesis in Weed Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. [In Farsi]

Gherekhloo, J., Oveisi, M., Zand, E., & De Prado, R. (2016). A review of herbicide resistance in Iran. *Weed Science*, 64(4), 551-561.

Gherekhloo, J., Rashed Mohassel, M. H., Mahalati, M. N., Zand, E., Ghanbari, A., Osuna, M. D., & De Prado, R. (2011). Confirmed resistance to aryloxyphenoxypropionate herbicides in *Phalaris minor* populations in Iran. *Weed Biology and Management*, 11(1), 29-37.

Hassanpour Bourkheili, S. Gherekhloo, J., Kamkar, B., & Ramezanpour, S. S. (2017). A comparison of cardinal temperatures between haloxyfop R methyl ester- resistant and susceptible winter wild oat (*Avena ludoviciana Durieu.*) biotypes. *Weed Research Journal*, 9(2), 63-81. [In Farsi]

Hatami Moghaddam, Z., Gherekhloo, J., De Prado, R., & Sadeghipour, H. R. (2016). Tracing resistance to tribenuron-methyl in populations of wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) and turnipweed (*Rapistrum rugosum* L.) collected from wheat fields of golestan province and introduction a new method in order to detect their resistant population. *Journal of Plant Protection*, 30(2), 347-358. [In Farsi]

Hatami, Z. M., Gherekhloo, J., Rojano-Delgado, A. M., Osuna, M. D., Alcantara, R., Fernandez, P., Sadeghipour, H. R., & De Prado, R. (2016). Multiple mechanisms increase levels of resistance in *Rapistrum rugosum* to ALS herbicides. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1-13.

Kalami, R. (2014). *Identification of resistant weeds to ACCase and ALS inhibitors in wheat fields of Kordkuy.* M.Sc. Thesis in Agronomy, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. [In Farsi]

Kaundun, S. S., Hutchings H. J., Dale R. P., Bailly G. C., & Glanfield, P. (2011). Syngenta "RISQ" test: a novel in-season method for detecting resistance to post-emergence ACCase and ALS inhibitor herbicides in grass weeds. *Weed Research*, 51(3), 284-293.

Kudsk, P., & Streibig, J. C. (2003). Herbicides – a two-edged sword. *Weed Research*, 43(2), 90-102.

Najjari Kalantari, N. (2013). *Identification of resistant weeds to ACCase and ALS inhibitors in wheat fields of Aq Qala and preparing their distribution map.* M.Sc. Thesis in Agronomy, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. [In Farsi]

Owen, M. J., & Powles, S. B. (2009). Distribution and frequency of herbicide-resistant wild oat (Avena spp.) across the Western Australian grain belt. *Crop and Pasture Science*, 60(1), 25-31.

Perez-Jones, A., Park, K. W., Polge, N., Colquhoun, J., & Mallory-Smith, C. A. (2007). Investigating the mechanisms of glyphosate resistance in *Lolium multiflorum*. *Planta*, 226(2), 395-404.

Preston, C., Belles, D. S., Westra, P. H., Nissen, S. J., & Ward, S. M. (2009). Inheritance of resistance to the auxinic herbicide dicamba in kochia (*Kochia scoparia*). *Weed Science*, 57 (1), 43-47.

Rastgoo, M. (2007). *Detecting of Avena ludoviciana resistant to aryloxyphenoxypropionate herbicides in wheat fields of Khuzestan province.* Ph.D. Thesis in Weed Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. [In Farsi]

Razghandi, A. (2016). *Identification of resistant biotypes to aryloxy phenoxy propionate and asetolactate synthase inhibitors in wheat fields of Aliabad-e katool and preparing their distribution map.* M.Sc. Thesis in Weed Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. [In Farsi]

Ritz, C. (2010). Toward a unified approach to dose–response modeling in ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(1), 220-229.

Soofizadeh, T., Gherekhloo, J., Sohrabi, S., Bagherani, N., Siahmarguee, A., & Poornamazi, A. (2017). *Mapping the distribution of littleseed canarygrass (Phalaris minor) biotypes resistant to clodinafop-propargyl in wheat fields of Kalaleh.* 7th Iranian Weed Science Congress, 5-7 August, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. [In Farsi]

Tatari, S., Gherekhloo, J., Siahmarguee, A., & 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. [In Farsi]