



دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی  
گروه آموزشی زراعت و اصلاح نباتات

رساله برای دریافت درجه‌ی دکترای تخصصی  
در رشته‌ی زراعت گرایش علوم علف‌های هرز

**عنوان:**

**ارزیابی شایستگی نسبی و مبنای مولکولی توده‌های حساس و مقاوم چچم یک‌ساله  
(*Lolium rigidum*) به علف‌کش‌های بازدارنده استیل کو آنزیم آکربوکسیلاز**

اساتید راهنما:

حمیدرضا محمد دوست چمن‌آباد

اسکندر زند

اساتید مشاور:

علی اصغری

خلیل عالمی سعید

پژوهشگر:

حسین ثابت زنگنه

زمستان ۱۳۹۶

نام خانوادگی دانشجو: حسین ثابت زنگنه	نام: حسین
عنوان رساله: ارزیابی شایستگی نسبی و مبنای مولکولی توده‌های حساس و مقاوم چچم یک‌ساله ( <i>Lolium rigidum</i> ) به علف‌کش‌های بازدارنده استیل‌کوآنزیم آکربوکسیلاز	
اساتید راهنما: حمیدرضا محمد دوست چمن‌آباد و اسکندر زند اساتید مشاور: علی اصغری و خلیل عالمی سعید	
مقطع تحصیلی: دکترای تخصصی	رشته: زراعت
گرایش: علوم علف‌های هرز	دانشگاه: محقق اردبیلی
دانشکده: کشاورزی و منابع طبیعی	
تاریخ دفاع: ۱۳۹۶/۱۰/۱۳	تعداد صفحات: ۱۶۹
<p><b>چکیده:</b></p> <p>به‌منظور بررسی مقاومت، مبنای مولکولی مقاومت و شایستگی نسبی توده‌های مختلف چچم جمع‌آوری‌شده از مزارع گندم استان خوزستان به علف‌کش‌های بازدارنده استیل‌کوآنزیم آکربوکسیلاز (بازدارنده‌های ACCase) (کلودینافوپ پروپارژیل و پینوکسادن)، مطالعه‌ای با استفاده از آزمایش‌های زیست‌سنجی گیاه کامل، زیست‌سنجی در پتری دیش و مولکولی طی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۵ در دانشکده کشاورزی دانشگاه رامین و مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان انجام شد. در این مطالعات مقاومت ۳۰ توده چچم در آزمایش گلخانه‌ای و پتری دیشی با اندازه‌گیری صفات مختلف و برخی اطلاعات مهم مدیریتی مزارع جمع‌آوری و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در مرحله بعد به‌منظور تشخیص مکانیزم احتمالی مقاومت بر اساس محل عمل از روش‌های CAPS و dCAPS استفاده شد. بررسی مقاومت عرضی توده‌ها، با بررسی واکنش‌های آن‌ها به علف‌کش‌های مختلف شیمیایی بازدارنده ACCase به روش گلدانی و با اندازه‌گیری تعداد بوته‌های زنده نسبت به شاهد ارزیابی شد. در آزمایشی دیگر کارایی علف‌کش‌های با محل‌های عمل مختلف برای کنترل توده حساس و مقاوم‌ترین توده نسبت به علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل انجام شد. در پایان وجود یا عدم هزینه شایستگی در سه توده (دو توده مقاوم و یک توده حساس) ارزیابی شد. در آزمایش شایستگی، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بذور در شرایط تنش شوری و خشکی، آزمایش شکست خواب بذر، تأثیر عمق کاشت بر سبز شدن در توده‌های حساس و مقاوم و همچنین رشد توده‌ها در شرایط رقابتی و غیررقابتی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که درصد کاهش وزن تر و درصد تعداد بوته زنده مانده نسبت به شاهد بهترین صفات برای ارزیابی توده‌ها از نظر مقاومت و شدت اثر علف‌کش‌ها هستند. در بررسی نتایج مولکولی مشاهده شد که ۸ توده مقاوم دارای جهش ایزولوسین-۲۰۴۱-لوسین و یک توده دارای جهش ایزولوسین-۱۷۸۱-لوسین و یک توده دارای هر دو جهش هستند. در بررسی مقاومت عرضی مشاهده شد که توده‌های مورد بررسی دارای الگوهای مقاومت متفاوتی نسبت به سه خانواده علف‌کش بازدارنده ACCase هستند. بررسی کارایی علف‌کش‌های مختلف نشان داد که علف‌کش‌های ستوکسیدیم، کلتودیم، ایزوپروتون+دیفلوفنیکان، پاراکوات و گلیفوزیت توده‌های حساس و مقاوم چچم را به‌خوبی کنترل نمودند. نتایج بررسی شایستگی نسبی توده‌های چچم در شرایط رقابتی و غیررقابتی نیز نشان داد که در شرایط رقابتی، بین توده‌های حساس و مقاوم از نظر برخی صفات تفاوت‌هایی وجود دارد. توده حساس در شرایط تنش شوری و خشکی و در شرایط رقابت در مراحل رویشی و زایشی رقیب قوی‌تری نسبت به دو توده مقاوم بود. در این استان، در ۷۵ درصد از مزارع استفاده از علف‌کش‌های با محل عمل متفاوت (توالی) رعایت شده ولی در ۸۴ درصد مزارع مورد مطالعه، تناوب زراعی که از مهم‌ترین توصیه‌های مدیریتی جمعیت علف‌های هرز مقاوم به علف‌کش است رعایت نمی‌شود. به‌طورکلی، به نظر می‌رسد علی‌رغم توصیه‌های خوبی که در خصوص مدیریت مقاومت به علف‌کش‌ها در مزارع گندم صورت گرفته، کشاورزان به آن توجه زیادی ندارند.</p>	
<p><b>کلیدواژه‌ها:</b> بازدارنده‌های ACCase، پینوکسادن، تناوب، زیست‌سنجی، شایستگی، کلودینافوپ-پروپارژیل، مقاومت، CAPS، dCAPS.</p>	

فصل اول: بررسی منابع

۲	..... ۱-۱- مقدمه
۴	..... ۱-۱- گندم و اهمیت آن
۴	..... ۲-۱- علف‌های هرز مزارع گندم در ایران
۵	..... ۳-۱- علف‌هرز چچم
۶	..... ۴-۱- مدیریت علف‌های هرز گندم
۶	..... ۵-۱- کنترل شیمیایی
۱۱	..... ۶-۱- مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها
۱۲	..... ۷-۱- واژه‌های کاربردی در مبحث مقاومت به علف‌کش
۱۳	..... ۸-۱- عوامل مؤثر در تکامل و گسترش مقاومت
۱۳	..... ۱-۸-۱- منابع تنوع ژنتیکی برای مقاومت
۱۳	..... ۱-۱-۸-۱- جهش و جریان ژنی
۱۴	..... ۲-۱-۸-۱- پراکندگی گرده یا دانه
۱۵	..... ۲-۸-۱- فشار انتخاب
۱۵	..... ۳-۸-۱- نحوه توارث مقاومت
۱۶	..... ۴-۸-۱- هزینه شایستگی در زمان عدم استفاده از علف‌کش
۱۷	..... ۵-۸-۱- روش گرده‌افشانی و دوره زندگی علف‌هرز
۱۷	..... ۶-۸-۱- بانک بذر خاک
۱۸	..... ۹-۱- مکانیزم های مقاومت به علف‌کش‌ها
۱۹	..... ۱۰-۱- تاریخچه بروز مقاومت به علف‌کش‌ها در جهان
۲۰	..... ۱۱-۱- تاریخچه بروز مقاومت به علف‌کش‌ها و فعالیت‌های مطالعاتی پیرامون آن در ایران
۲۱	..... ۱۲-۱- تاریخچه بروز مقاومت در مزارع گندم
۲۱	..... ۱۳-۱- تحقیقات مربوط به مقاومت علف‌های هرز مزارع گندم ایران به علف‌کش‌ها

شماره و عنوان	صفحه
۱۴-۱- گروه‌های علف‌کش به وجود آورنده بیشترین موارد مقاومت در گندم.....	۲۲
۱۵-۱- تاریخچه بروز مقاومت به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase.....	۲۲
۱۶-۱- مقاومت عرضی به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase در جهان.....	۲۴
۱۷-۱- مقاومت عرضی به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase در ایران.....	۲۵
۱۸-۱- روش‌های مطالعه مقاومت و مکانیزم‌های آن.....	۲۵
۱-۱۸-۱- زیست‌سنجی در گل‌دان (بررسی گیاه کامل).....	۲۵
۲-۱۸-۱- زیست‌سنجی بدون خاک یا در پتری.....	۲۷
۱-۲-۱۸-۱- زیست‌سنجی توسط بذرها.....	۲۷
۲-۲-۱۸-۱- زیست‌سنجی توسط آگار.....	۲۸
۳-۲-۱۸-۱- زیست‌سنجی در محیط اینویترو.....	۲۸
۳-۱۸-۱- روش‌های مولکولی مطالعه مقاومت به بازدارنده‌های ACCase.....	۲۹
۱-۳-۱۸-۱- روش CAPS.....	۳۰
۲-۳-۱۸-۱- روش dCAPS.....	۳۰
۱۹-۱- آزمایش پاسخ به دز.....	۳۲
۲۰-۱- روش‌های مدیریت مقاومت به علف‌کش.....	۳۳
۲۱-۱- شایستگی.....	۳۸
۲-۲۱-۱- خاستگاه هزینه‌های شایستگی.....	۳۸
۲-۲۱-۱- هزینه‌های شایستگی مرتبط با مقاومت به علف‌کش‌های گروه‌های مختلف.....	۳۹

### فصل دوم: مواد و روش‌ها

۱-۲- مواد آزمایشی.....	۴۵
۲-۲- جمع‌آوری بذور مشکوک به مقاومت (با پتانسیل مقاومت به علف‌کش‌ها).....	۴۶
۳-۲- آزمایش‌های گلخانه‌ای.....	۴۷

شماره و عنوان	صفحه
۲-۳-۱- آزمایش غربال کردن.....	۴۷
۲-۳-۲- آزمایش پاسخ به دز علف کش کلودینافوپ روی گیاه کامل.....	۴۹
۲-۴-۴- آزمایش زیست‌سنجی در پتری دیش.....	۵۰
۲-۴-۱- تعیین دز تفکیک‌کننده برای توده حساس.....	۵۰
۲-۴-۲- غربال توده‌ها توسط دز تفکیک‌کننده: .....	۵۱
۲-۴-۳- آزمایش پاسخ به دز در توده‌های مشکوک به مقاومت (توده‌های با پتانسیل مقاومت به علف‌کش).....	۵۱
۲-۵-۵- بررسی مولکولی توده‌های حساس و مقاوم به روش‌های CAPS و dCAPS.....	۵۲
۲-۵-۱- استخراج DNA.....	۵۳
۲-۵-۲- تعیین کیفیت و کمیت DNA.....	۵۴
۲-۵-۳- واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR).....	۵۵
۲-۵-۴- برش آنزیمی قطعه تکثیرشده.....	۵۶
۲-۵-۵- روش CAPS.....	۵۶
۲-۵-۱- جهش ایزولوسین-۲۰۴۱-آسپارژین.....	۵۶
۲-۵-۲- جهش سیستین-۲۰۸۸-آرژنین.....	۵۷
۲-۵-۶- روش dCAPS.....	۵۷
۲-۵-۱- جهش ایزولوسین-۱۷۸۱-لوسین.....	۵۷
۲-۵-۲- جهش اسید اسپارتیک-۲۰۷۸-گلاپسین.....	۵۸
۲-۶-۲- جمع‌آوری اطلاعات مدیریتی مزارع و تجزیه و تحلیل آن‌ها.....	۵۸
۲-۷- بررسی کارایی علف‌کش‌های گروه‌های مختلف علف‌کشی بر کنترل توده‌های مقاوم و حساس.....	۵۹
۲-۸- بررسی مقاومت عرضی توده‌های مقاوم به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase.....	۶۱
۲-۹- ارزیابی شایستگی نسبی توده‌های حساس و مقاوم.....	۶۲
۲-۹-۱- ارزیابی پتانسیل‌های اسمزی (تنش شوری) بر جوانه‌زنی توده‌های حساس و مقاوم.....	۶۲

شماره و عنوان	صفحه
۲-۹-۲- ارزیابی تأثیر تنش خشکی بر جوانه‌زنی توده‌های حساس و مقاوم.....	۶۳
۳-۹-۲- آزمایش شکست خواب بذر در توده‌های حساس و مقاوم.....	۶۴
۴-۹-۲- ارزیابی تأثیر عمق کاشت بر سبز شدن توده‌های حساس و مقاوم.....	۶۴
۵-۹-۲- ارزیابی قدرت رقابت، رشد و زادآوری توده‌های حساس و مقاوم در شرایط رقابتی و غیررقابتی.....	۶۵

### فصل سوم: نتایج و بحث

۱-۳- آزمایش گلخانه‌ای.....	۶۸
۱-۱-۳- آزمایش غربال کردن.....	۶۸
۱-۱-۳- روش ادکینز.....	۶۸
۲-۱-۳- روش موس و همکاران.....	۷۲
۱-۲-۱-۳- سیستم رتبه‌بندی ستاره (*).....	۷۲
۱-۲-۱-۳- سیستم رتبه‌بندی R.....	۷۲
۳-۱-۳- سیستم نمره‌دهی استاندارد اروپایی (EWRC).....	۷۵
۲-۱-۳- آزمایش‌های پاسخ به دز.....	۷۵
۱-۲-۳- از نظر درصد تعداد بوته زنده مانده نسبت به شاهد.....	۷۵
۲-۲-۳- از نظر درصد وزن تر نسبت به شاهد.....	۷۸
۳-۲-۳- از نظر درصد وزن خشک نسبت به شاهد.....	۸۰
۲-۳- آزمایش‌های زیست‌سنجی در پتری.....	۸۲
۱-۲-۳- تعیین دز تفکیک‌کننده برای توده حساس.....	۸۲
۲-۲-۳- غربال توده‌ها توسط دز تفکیک‌کننده.....	۸۳
۳-۲-۳- آزمایش پاسخ به دز در توده‌های مشکوک به مقاومت.....	۸۶
۳-۳- بررسی مولکولی توده‌های حساس و مقاوم با استفاده از روش‌های CAPS و dCAPS.....	۹۰
۱-۳-۳- استخراج DNA.....	۹۰

شماره و عنوان	صفحه
۳-۳-۲- روش CAPS.....	۹۰
۳-۳-۱- جهش ایزولوسین-۲۰۴۱-آسپارژین.....	۹۰
۳-۳-۲- جهش سیستین-۲۰۸۸-آرژنین.....	۹۲
۳-۳-۳- روش dCAPS.....	۹۴
۳-۳-۱- جهش ایزولوسین-۱۷۸۱-لوسین.....	۹۴
۳-۳-۲- اسید اسپارتیک-۲۰۷۸-گلايسين.....	۹۵
۳-۴- تجزیه و تحلیل اطلاعات جمع‌آوری شده از مزارع.....	۹۸
۳-۴-۱- درصد آلودگی و وضعیت پراکنش علف‌هرز چچم در مزارع مورد مطالعه.....	۹۸
۳-۴-۲- وضعیت علف‌کش‌های مصرف شده در مزارع مورد مطالعه.....	۱۰۰
۴-۳- بررسی تناوب زراعی در مزارع مورد مطالعه.....	۱۰۱
۳-۵- بررسی کارایی علف‌کش‌های گروه‌های مختلف علف‌کشی بر کنترل توده‌های مقاوم و حساس.....	۱۰۲
۳-۵-۱- کارایی علف‌کش‌های بازدارنده ACCase در کنترل توده‌های چچم حساس و مقاوم.....	۱۰۲
۳-۵-۱-۱- علف‌کش‌های خانواده آریلوکسی فنوکسی پروپیونات (فوپ‌ها).....	۱۰۲
۳-۵-۱-۲- علف‌کش‌های خانواده سیکلووهگزانیديون ها (دیم‌ها).....	۱۰۴
۳-۵-۱-۳- علف‌کش‌های خانواده فنیل پیرازولین‌ها (دن‌ها).....	۱۰۵
۳-۵-۱-۴- علف‌کش‌های خانواده آریلوکسی فنوکسی پروپیونات + خانواده فنیل پیرازولین‌ها.....	۱۰۶
۳-۵-۲- کارایی علف‌کش‌های بازدارنده استولاکتات سینتاز (ALS) در کنترل توده‌های حساس و مقاوم.....	۱۰۷
۳-۵-۳- کارایی علف‌کش‌های بازدارنده‌های فتوسنتز (فتوسیستم II) + سنتز کارتنوئید در کنترل توده‌های حساس و مقاوم.....	۱۱۰
۳-۵-۴- کارایی علف‌کش‌های بازدارنده‌های فتوسنتز (فتوسیستم I) در کنترل توده‌های چچم حساس و مقاوم.....	۱۱۱
۳-۵-۵- کارایی علف‌کش‌های ناشناخته (Z) در کنترل توده‌های چچم حساس و مقاوم.....	۱۱۲
۳-۵-۶- کارایی علف‌کش‌های بازدارنده‌های EPSPS در کنترل توده‌های چچم حساس و مقاوم.....	۱۱۲

شماره و عنوان	صفحه
۳-۶- بررسی مقاومت عرضی توده‌های مقاوم به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase.....	۱۱۶
۳-۷- ارزیابی شایستگی نسبی توده‌های حساس و مقاوم.....	۱۲۱
۳-۷-۱- ارزیابی پتانسیل‌های اسمزی (تنش شوری) بر جوانه‌زنی توده‌های حساس و مقاوم.....	۱۲۱
۳-۷-۲- ارزیابی تأثیر پتانسیل‌های مختلف آب (تنش خشکی) بر جوانه‌زنی توده‌های حساس و مقاوم.....	۱۲۳
۳-۷-۳- آزمایش شکست خواب بذر در توده‌های حساس و مقاوم چچم.....	۱۲۶
۳-۷-۴- ارزیابی تأثیر عمق کاشت بر سبز شدن توده‌های حساس و مقاوم.....	۱۳۰
۳-۷-۵- ارزیابی رشد و زادآوری توده‌های حساس و مقاوم در شرایط رقابتی و غیررقابتی.....	۱۳۳
۳-۷-۵-۱- مرحله رویشی.....	۱۳۳
۳-۷-۵-۱-۱- ارتفاع در توده‌های حساس و مقاوم چچم.....	۱۳۳
۳-۷-۵-۱-۲- وزن خشک نسبی.....	۱۳۵
۳-۷-۵-۲- مرحله زایشی.....	۱۳۸
۳-۷-۵-۲-۱- طول خوشه در توده‌های حساس و مقاوم چچم.....	۱۳۸
۳-۷-۵-۲-۲- تعداد بذر در خوشه در توده‌های حساس و مقاوم چچم.....	۱۴۰
۳-۷-۵-۳- مقایسه عملکرد نسبی گیاه زراعی گندم و توده‌های حساس و مقاوم علف‌هرز چچم.....	۱۴۲
۳-۸- نتیجه‌گیری کلی.....	۱۴۵
۳-۹- پیشنهادات.....	۱۴۹

منابع. مآخذ

منابع. مآخذ.....	۱۵۰
------------------	-----



شماره و عنوان	صفحه
جدول ۱-۱: علف‌کش‌های توصیه‌شده برای زراعت‌های گندم و جو.....	۹
جدول ۱-۲: برخی مشخصات توده‌های مورد آزمایش.....	۴۶
جدول ۲-۲: معیارهای ارزیابی میزان واکنش علف‌های هرز نسبت به علف‌کش (EWRC).....	۴۸
جدول ۳-۲: ترکیبات بافر استخراج CTAB.....	۵۳
جدول ۴-۲: مواد و غلظت‌های به‌کاررفته در واکنش PCR.....	۵۵
جدول ۵-۲: حجم مواد موردنیاز برای یک واکنش آنزیمی با حجم کلی ۳۰ میکرولیتر.....	۵۶
جدول ۶-۲: نام و توالی پرایمرهای بکار برده شده در روش CAPS.....	۵۷
جدول ۷-۲: آنزیم‌های برشی استفاده‌شده در آزمایش CAPS.....	۵۷
جدول ۸-۲: نام و توالی پرایمرهای بکار برده شده در روش dCAPS.....	۵۸
جدول ۹-۲: آنزیم‌های برشی استفاده‌شده در آزمایش dCAPS.....	۵۸
جدول ۱۰-۲: مشخصات عمومی علف‌کش‌های مورد استفاده در آزمایش.....	۶۰
جدول ۱-۳: تجزیه واریانس داده‌های صفات اندازه‌گیری شده توده‌های چچم استان خوزستان تیمار شده	
با علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل و پینوکسادن.....	۶۸
جدول ۲-۳: مقایسه توده‌های مشکوک به مقاومت به علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل و پینوکسادن	
با استفاده از روش ادکینز در استان خوزستان.....	۷۱
جدول ۳-۳: مقایسه توده‌های مشکوک به مقاومت به علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل و پینوکسادن	
با استفاده از روش موس در استان خوزستان در سال ۹۲.....	۷۴
جدول ۴-۳: پارامترهای برآورد شده از توابع لجستیک داده‌های درصد وزن خشک توده‌های علف‌هرز	
چچم نسبت به شاهد در زیست‌سنجی گلدانی با علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل.....	۷۷
جدول ۵-۳: پارامترهای برآورد شده از توابع لجستیک داده‌های درصد وزن‌تر توده‌های علف‌هرز چچم	
نسبت به شاهد در زیست‌سنجی گلدانی با علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل.....	۷۹
جدول ۶-۳: پارامترهای برآورد شده از توابع لجستیک داده‌های درصد تعداد بوته زنده مانده توده‌های	
علف‌هرز چچم نسبت به شاهد در زیست‌سنجی گلدانی با علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل.....	۸۱

شماره و عنوان	صفحه
جدول ۳-۷: مقایسه نتایج مربوط به معرفی توده‌های مقاوم با استفاده از شاخص‌های درصد وزن خشک چچم و وزن تر چچم باقیمانده نسبت به شاهد و تعداد بوته زنده مانده بعد از سم‌پاشی نسبت به قبل از سم‌پاشی، در آزمایش پاسخ به دز.....	۸۲
جدول ۳-۸: مقایسه میانگین درصد طول ساقه‌چه توده‌های مورد آزمایش نسبت به شاهد خود (آب مقطر)، هفت روز بعد از کاربرد علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل و پینوکسادن.....	۸۵
جدول ۳-۹: پارامترهای برآورد شده از برازش توابع لجستیک سه پارامتره به داده‌های طول ساقه‌چه در زیست‌سنجی پتری دیش با علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل.....	۸۸
جدول ۳-۱۰: باندهای مشاهده‌شده از آنالیز CAPS با استفاده از PCR.....	۹۳
جدول ۳-۱۱: باندهای مشاهده‌شده از آنالیز dCAPS با استفاده از PCR.....	۹۶
جدول ۳-۱۲: معرفی توده‌های علف‌هرز چچم مشکوک به مقاومت و حساس به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase جمع‌آوری شده از استان خوزستان.....	۹۸
جدول ۳-۱۳: وضعیت علف‌کش‌های به‌کاررفته در مزارع مورد بررسی در استان.....	۱۰۰
جدول ۳-۱۴: مقایسه میانگین علف‌کش‌های مختلف در کنترل توده‌های حساس و مقاوم چچم از نظر درصد خسارت بر اساس EWRC در ۱۴ و ۳۰ روز پس از سم‌پاشی، درصد تعداد چچم باقی‌مانده، درصد وزن تر و درصد وزن خشک تک بوته چچم نسبت به شاهد.....	۱۱۲
جدول ۳-۱۵: تأثیر علف‌کش‌های گروه‌های مختلف بر درصد کاهش وزن تر توده‌های حساس و مقاوم.....	۱۱۳
جدول ۳-۱۶: میزان کارایی تیمارهای مختلف علف‌کش بر کنترل توده‌های حساس و مقاوم چچم از نظر میزان کنترل.....	۱۱۴
جدول ۳-۱۷: توده‌های علف‌هرز چچم جمع‌آوری شده در استان (۱۳۹۲-۱۳۹۵)، تعداد و (درصد) در هر بخش مقاومت (حساس، کمتر از ۲۰ درصد بوته زنده یا $20 \leq$ درصد بوته زنده) برای هر علف‌کش.....	۱۱۸
جدول ۳-۱۸: وضعیت مقاومت عرضی توده‌های چچم سخت به گروه‌های مختلف علف‌کش‌های بازدارنده ACCase.....	۱۱۸

شماره و عنوان	صفحه
جدول ۳-۱۹: درصد (%) از توده‌های چچم یک‌ساله دارای مقاومت بالا، با مقاومت کم یا کاملاً حساس	
۱۱۹ ..... برای کل علف‌کش‌های آزمون شده در آزمایش.....	
جدول ۳-۲۰: پارامترهای به‌دست‌آمده از معدل برازش داده‌شده به داده‌های درصد جوانه‌زنی توده‌های	
۱۲۰ ..... چچم در غلظت‌های مختلف شوری.....	
جدول ۳-۲۱: پارامترهای به‌دست‌آمده از معدل برازش داده‌شده به داده‌های سرعت جوانه‌زنی توده‌های	
۱۲۲ ..... چچم در غلظت‌های مختلف شوری.....	
جدول ۳-۲۲: پارامترهای به‌دست‌آمده از معدل برازش داده‌شده به داده‌های درصد جوانه‌زنی توده‌های	
۱۲۳ ..... چچم در غلظت‌های مختلف خشکی.....	
جدول ۳-۲۳: پارامترهای به‌دست‌آمده از معدل برازش داده‌شده به داده‌های سرعت جوانه‌زنی توده‌های	
۱۲۴ ..... چچم در غلظت‌های مختلف خشکی.....	
جدول ۳-۲۴: تجزیه واریانس صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمارهای مختلف شکست خواب بذر....	
جدول ۳-۲۵: اثر تیمارهای مختلف شکست خواب بذر بر درصد و سرعت جوانه‌زنی نهایی بذر توده‌های حساس	
۱۲۷ ..... و مقاوم چچم.....	
جدول ۳-۲۶: ارزیابی پارامتر انجام‌شده از مدل سیگموئیدی که اثر عمق‌های مختلف کاشت بر درصد	
۱۲۹ ..... ظهور گیاهچه در زمان برای جمعیت‌های مقاوم R2، مقاوم R1 و حساس (S) توضیح می‌دهد.....	
جدول ۳-۲۷: پارامترهای به‌دست‌آمده از معادله برازش داده‌شده به داده‌های سرعت سبز شدن توده‌های	
۱۳۱ ..... چچم در تیمار عمق‌های مختلف کاشت.....	
جدول ۳-۲۸: مقایسه ارتفاع گندم و توده‌های حساس و مقاوم چچم حساس.....	
۱۳۵ ..... جدول ۳-۲۹: مقایسه وزن خشک نسبی گندم و توده‌های حساس و مقاوم چچم حساس.....	
۱۳۷ ..... جدول ۳-۳۰: مقایسه طول خوشه گیاه زراعی گندم و توده‌های حساس و مقاوم چچم حساس.....	
۱۳۹ ..... جدول ۳-۳۱: تعداد بذر (تولید بذر نسبی) توده‌های حساس و مقاوم چچم حساس و گندم.....	
جدول ۳-۳۲: مقایسه عملکرد نسبی و ضریب ازدحام نسبی بر اساس وزن خشک گندم و توده‌های مقاوم	
۱۴۲ ..... و حساس در نسبت‌های مختلف کشت چچم: گندم.....	

شکل ۱-۱:	سیستم رتبه‌بندی ستاره و R برای تشخیص تفاوت درجه مقاومت، بر اساس واکنش به تک	
۲۷	..... دز علف‌کش‌ها در آزمایش غربال مقاومت.....	
شکل ۱-۳:	تأثیر دزهای مختلف علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل بر درصد وزن خشک توده‌ها نسبت به	
۷۷	..... شاهد. خطوط نشان‌دهنده خط برازش شده و علامت‌ها نشان‌دهنده داده‌های واقعی می‌باشند.....	
شکل ۲-۳:	تأثیر دزهای مختلف علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل بر درصد وزن تر توده‌ها نسبت به شاهد.	
۷۹	..... خطوط نشان‌دهنده خط برازش شده و علامت‌ها نشان‌دهنده داده‌های واقعی می‌باشند.....	
شکل ۳-۳:	تأثیر دزهای مختلف علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل بر درصد تعداد بوته زنده مانده	
۸۱	..... توده‌های علف‌هرز چچم نسبت به شاهد. خطوط نشان‌دهنده خط برازش شده و علامت‌ها نشان‌دهنده	
.....	..... داده‌های واقعی می‌باشند.....	
شکل ۴-۳:	ارزیابی کیفی DNA استخراج‌شده توده‌های مختلف چچم بر روی ژل آگارز.....	۸۳
شکل ۵-۳:	نتیجه آزمایش PCR در توده‌های علف‌هرز چچم و تشکیل باند ۴۹۲bp در تمامی توده‌ها..	۸۳
شکل ۶-۳:	نتیجه هضم آنزیمی محصول PCR توده‌های چچم توسط آنزیم برشی EcoR1.....	۸۹
شکل ۷-۳:	نتیجه آزمایش PCR در توده‌های علف‌هرز چچم و تشکیل باند.....	۹۰
شکل ۸-۳:	نتیجه هضم آنزیمی محصول PCR توده‌های چچم با استفاده از آنزیم برشی Eco47III.....	۹۱
شکل ۹-۳:	نتیجه هضم آنزیمی محصول PCR توده‌های چچم با استفاده از آنزیم برشی Nsil.....	۹۲
شکل ۱۰-۳:	نتیجه آزمایش PCR در توده‌های چچم و تشکیل باند ۳۵۳bp در تمامی توده‌ها.....	۹۲
شکل ۱۱-۳:	نتیجه هضم آنزیمی محصول PCR توده‌های چچم با استفاده از آنزیم برشی EcoRV.....	۹۳
شکل ۱۲-۳:	نتیجه هضم آنزیمی محصول PCR توده‌های چچم با استفاده از آنزیم برشی Nsil.....	۹۴
شکل ۱۳-۳:	نتیجه آزمایش PCR در توده‌های چچم و تشکیل باند ۳۵۳bp در تمامی توده‌ها.....	۹۵
شکل ۱۴-۳:	نتیجه هضم آنزیمی محصول PCR توده‌های چچم با استفاده از آنزیم برشی EcoRV.....	۹۵
شکل ۱۵-۳:	درصد جوانه‌زنی توده‌های مختلف علف‌هرز چچم در تیمارهای مختلف شوری.....	۱۲۱
شکل ۱۶-۳:	سرعت جوانه‌زنی توده‌های مختلف علف‌هرز چچم در تیمارهای مختلف شوری.....	۱۲۲
شکل ۱۷-۳:	درصد جوانه‌زنی توده‌های مختلف علف‌هرز چچم در تیمارهای مختلف خشکی.....	۱۲۴

شماره و عنوان	صفحه
شکل ۳-۱۸: سرعت جوانه‌زنی توده‌های مختلف علف‌هرز چچم در تیمارهای مختلف خشکی.....	۱۲۵
شکل ۳-۱۹: تأثیر تیمارهای مختلف شکست خواب بذر بر درصد جوانه‌زنی توده‌های مختلف چچم.....	۱۲۸
شکل ۳-۲۰: تأثیر تیمارهای مختلف شکست خواب بذر بر سرعت جوانه‌زنی توده‌های مختلف چچم.....	۱۲۸
شکل ۳-۲۱: اثرات عمق کاشت بر درصد ظهور گیاهچه توده‌های مقاوم R2 (مربع)، مقاوم R1 (مثلث) و حساس (دایره). (A) سطح خاک (۰ سانتی‌متر)، (B) عمق (۲ سانتی‌متر)، (C) عمق (۴ سانتی‌متر)، (D) عمق (۶ سانتی‌متر) و (E) عمق (۸ سانتی‌متر).....	۱۳۰
شکل ۳-۲۲: تأثیر تیمار عمق‌های مختلف بر سرعت سبز شدن توده‌های حساس و مقاوم چچم.....	۱۳۲
شکل ۳-۲۳: مقایسه صفت ارتفاع در توده‌های حساس و مقاوم چچم.....	۱۳۴
شکل ۳-۲۴: مقایسه صفت ارتفاع در توده‌های R1، R2 و S.....	۱۳۴
شکل ۴-۲۵: مقایسه وزن خشک نسبی گیاه زراعی گندم و توده‌های حساس و مقاوم چچم.....	۱۳۶
شکل ۳-۲۶: مقایسه طول خوشه گیاه زراعی گندم و توده‌های حساس و مقاوم چچم.....	۱۳۸
شکل ۳-۲۷: مقایسه تولید بذر نسبی توده‌های حساس و مقاوم چچم و گیاه زراعی گندم.....	۱۴۰

# فصل اول

## بررسی منابع

## مقدمه

گیاه زراعی گندم با نام علمی (*Triticum aestivum* L.) با سطح زیر کشت حدود ۲۲۵ میلیون هکتار و متوسط عملکرد ۳ تن در هکتار یکی از مهم‌ترین غلات در دنیا (فائو، ۲۰۰۹) و در ایران نیز از نظر تولید و سطح زیر کشت مهم‌ترین محصول کشاورزی محسوب می‌شود. از مجموع حدود ۱۱/۸۴ میلیون هکتار اراضی تحت کشت محصولات زراعی کشور در حال حاضر ۷۲/۲۱ درصد به غلات اختصاص دارد. سطح زیر کشت گندم در سال ۹۲-۹۳ حدود ۶/۰۶ میلیون هکتار بوده است (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۹۵).

در میان عوامل کاهش‌دهنده تولید گندم کشور، علف‌های هرز از اهمیت خاصی برخوردار بوده و می‌توانند با رقابت برای نور، آب، دی‌اکسید کربن، مواد غذایی و فضا بر رشد، نمو و تولید گیاهان زراعی تأثیر منفی گذاشته و همچنین از طریق ایجاد اختلال در امر برداشت عملکرد را کاهش دهند. از طرفی دیگر اختلاط بذر آن‌ها با بذور گیاهان زراعی کاهش کیفی محصول را به دنبال دارد (زند و همکاران، ۱۳۸۷). خسارت ناشی از حضور علف‌های هرز و رقابت آن‌ها در مزارع گندم کشور حدود ۲۳ درصد گزارش شده است (قرخلو و همکاران، ۲۰۱۶). به همین دلیل، امروزه مدیریت علف‌های هرز جزء جدایی‌ناپذیر کشاورزی نوین محسوب می‌شود. در میان تمام روش‌های کنترل علف‌های هرز، علف‌کش‌ها وسیله‌ای مطمئن با کارایی بالا و اقتصادی بوده که به‌آسانی نیز قابل کاربرد بوده و تقریباً مورد استقبال تمام کشاورزان در کشورهای توسعه‌یافته قرار گرفته است. به‌طوری‌که علف‌کش‌ها بیش از ۵۰ درصد سموم کشاورزی را به خود اختصاص داده‌اند (زند و همکاران، ۱۳۸۱؛ ویلایوب و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۰۸).

در سال‌های اخیر مسئله بقایای علف‌کش، سلامت مواد غذایی و تأثیر علف‌کش‌ها بر محیط‌زیست و به‌خصوص بروز پدیده جهانی مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها که این امر مشکلات فراوانی در

<sup>1</sup> Vila-Aiub et al

مدیریت علف‌های هرز به همراه داشته است. مقاومت به علف‌کش در واقع عدم کارایی علف‌کش در مقابله با علف‌های هرزی که قبلاً توسط همین علف‌کش کنترل می‌شدند، می‌باشد که این پدیده اکتسابی و در نتیجه استفاده مداوم از علف‌کش‌هایی با نحوه عمل یکسان به وجود می‌آید (Powles et al, 1997; Barth et al, 2002; Chaudhry 2008). مقاومت در علف‌های هرز قابل توارث بوده و از نسلی به نسل بعد منتقل می‌شود. توده‌های مقاوم مشکلی بسیار جدی برای کشاورزان محسوب می‌شوند، زیرا سرعت گسترش توده‌های مقاوم بسیار سریع می‌باشد (Chaudhry 2008).

لذا اهداف این تحقیق عبارت‌اند از:

- ۱- ارزیابی توده‌های چچم یک‌ساله مشکوک به مقاومت به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase جمع‌آوری شده از استان خوزستان و پی‌جویی توده‌های مقاوم.
- ۲- بررسی مکانیزم‌های مقاومت در توده‌های مقاوم چچم با بهره‌گیری از روش‌های مولکولی.
- ۳- ارزیابی میزان تأثیر علف‌کش‌های خانواده‌های مختلف به عنوان علف‌کش‌های جایگزین برای کنترل توده‌های مقاوم.
- ۴- بررسی احتمال بروز مقاومت عرضی در توده‌های مقاوم به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase
- ۵- مقایسه شایستگی توده‌های حساس و مقاوم از نظر زادآوری.



## ۱-۱- گندم و اهمیت آن

گندم<sup>۲</sup> از لحاظ سطح زیر کشت و میزان تولید مهم‌ترین غله در جهان محسوب می‌شود (فائو، ۲۰۱۶). از مجموع حدود ۱۱/۸۴ میلیون هکتار اراضی تحت کشت محصولات زراعی ایران در حال حاضر ۷۲/۲۱ درصد به غلات اختصاص دارد که از این سطح ۵۰ درصد آن گندم کشت می‌شود. سطح زیر کشت گندم در سال ۹۳-۹۴ حدود ۶/۰۶ میلیون هکتار بوده است که حدود ۴۴/۵۲ درصد آن آبی و ۵۵/۴۸ درصد آن به صورت دیم است. استان خوزستان با ۱۰ درصد کل اراضی گندم کشور، بیشترین سطح را به خود اختصاص داده است (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۹۵).

از آنجایی که گندم در جیره‌ی غذایی مردم نقش اساسی دارد و زراعت آن توسط کشاورزان ایرانی از اهمیت حیاتی برخوردار است، بخش قابل توجهی از زمین‌های آبی و دیم کشور به زراعت گندم اختصاص دارد (بایرام نژاد و محتشمی، ۲۰۱۰)؛ بنابراین، اهمیت محصول گندم بر هیچ‌کس پوشیده نیست و تمامی صاحب‌نظران در این مسئله توافق دارند که مهم‌ترین محصول کشاورزی، گندم می‌باشد. از این گذشته، گندم در کشور ایران از اهمیت به مراتب بالاتری برخوردار است، چرا که ایرانیان تنها یک درصد از جمعیت جهان را تشکیل می‌دهند اما ۲/۵ درصد از کل گندم جهان را مصرف می‌کنند (Anonymous, 2003).

## ۱-۲- علف‌های هرز مزارع گندم در ایران

بر اساس بررسی‌های انجام‌گرفته توسط محققین موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی، شمار علف‌های هرز مزارع گندم ایران را بیش از ۲۰۰ گونه برآورد کرده‌اند، ولی در هر منطقه تنها تعدادی از آنها از نظر رقابت با گیاه زراعی دارای اهمیت هستند (شیمی و ترمه، ۱۳۸۲؛ منتظری و همکاران، ۱۳۸۴). عوامل متعدد محیطی، بافت و میزان مواد آلی خاک، ارتفاع از سطح دریا، سیستم‌های تناوبی، شیوه‌های زراعی و غیره بر

---

<sup>2</sup> *Triticum aestivum*

روی تنوع و تراکم علف‌های هرز تأثیر دارند. از این رو، فراوانی هر یک از آن‌ها در نقاط مختلف تا حدودی با یکدیگر متفاوت است (میر کمالی، ۱۳۸۶).

برخی از علف‌های هرز همچون کنگر صحرائی<sup>۳</sup>، خردل وحشی<sup>۴</sup>، یولاف وحشی<sup>۵</sup>، پیچک صحرائی<sup>۶</sup>، چچم، دم‌روباهی کشیده<sup>۷</sup>، فالاریس<sup>۸</sup> که با شرایط گوناگون زیستی و اکولوژیکی سازش یافته‌اند، در بیشتر استان‌های ایران به صورت علف‌هرز یافت می‌شوند (منتظری و همکاران، ۱۳۸۴). برخی از علف‌های هرز اگرچه در همه مزارع گندم دیده نمی‌شوند ولی در مناطق آلوده‌ای که شرایط برای رویش آن‌ها فراهم بوده و به‌سادگی قابل کنترل نیستند از گسترش و تراکم بیشتری برخوردار شده‌اند. علف‌های هرز تلخه<sup>۹</sup> در قزوین، جودره<sup>۱۰</sup> در فارس، پنیرک<sup>۱۱</sup> در مناطق گرمسیری و شیرین‌بیان<sup>۱۲</sup> در غرب از نمونه‌های بارز چنین علف‌های هرزی هستند (مین‌باشی و همکاران، ۱۳۹۴؛ موسوی، ۱۳۹۴).

### ۱-۳- علف‌هرز چچم

جنس چچم دارای چهار گونه مهم شامل چچم پرگل<sup>۱۳</sup> (چچم ایتالیایی)، چچم ایرانی<sup>۱۴</sup>، چچم شکننده (چچم یک‌ساله یا سخت) و چچم مسکر<sup>۱۵</sup> (چچم سمی) است که سه گونه اول جزء مهم‌ترین علف‌های هرز کشیده برگ مزارع گندم ایران محسوب می‌شوند. استان‌های خوزستان، فارس، سمنان و سیستان و بلوچستان از نظر آلودگی به این علف‌هرز از اهمیت بیشتری برخوردارند (میر کمالی، ۱۳۸۶؛ زند و همکاران، ب ۱۳۸۹).

<sup>3</sup> *Cirsium arvense* L.

<sup>4</sup> *Sinapis arvensis* L.

<sup>5</sup> *Avena ludoviciana* Durieu.

<sup>6</sup> *convolvulus arvensis* L.

<sup>7</sup> *Alopecurus myosuroides* Huds.

<sup>8</sup> *Phalaris minor* Retz.

<sup>9</sup> *Acroptilon repens* L.

<sup>10</sup> *Hordeum spontaneum* K.

<sup>11</sup> *Malva* spp.

<sup>12</sup> *Glycyrrhiza glabra* L.

<sup>13</sup> *Lolium multiflorum* Lam.

<sup>14</sup> *Lolium persicum* Boiss. & Hohen.

<sup>15</sup> *Lolium temulentum* L.

چچم گیاهی از تیره گندمیان است و یکی از علفهای هرز مهم مناطق گندم خیز به شمار می‌رود (Styles, 1986; Monaghan; 1980). چچم در رقابت با گندم قادر به کاهش ۹۲ درصدی عملکرد دانه‌ای آن است (Appleby et al, 1976; Hashem et al, 1998). حضور و رقابت چچم در مزارع گندم باعث کاهش پنجه‌زنی گندم (Appleby et al, 1976) و همچنین باعث کاهش منابع نیتروژن و فسفر خاک در مزارع گندم می‌شود (Perez-Fernandez & Coble, 1998). این علف‌هرز از طریق رقابت و آلوپاتی، عملکرد دانه و حتی درصد پروتئین دانه غلات را کاهش داده و اختلاط بذور این علف‌هرز با بذور غلات در زمان برداشت، سبب افت ارزش تجاری و کیفیت غله تولیدشده می‌شود؛ بنابراین کنترل این علف‌هرز در مزارع گندم موجب می‌شود که هم افت عملکرد و هم هزینه ناشی از مصرف علف‌کش‌ها به حداقل برسد (Cousense & Mokhtari, 1998).

#### ۱-۴- مدیریت علف‌های هرز گندم

روش‌های مختلفی برای مدیریت علف‌های هرز مزارع گندم انجام می‌شود که می‌توان پیشگیری (استفاده از بذور بوجاری شده، کنترل ماشین‌آلات)، کنترل زراعی (مثل تناوب زراعی، استفاده از ارقام با توانایی رقابت بالا، مدیریت کاربرد کودهای شیمیایی، تاریخ و تراکم مناسب کاشت)، مکانیکی و کنترل شیمیایی را نام برد (محمد دوست چمن‌آباد، ۱۳۹۰؛ Loux et al, 2016). متأسفانه، با توجه به سهولت کاربرد علف‌کش‌ها، کنترل شیمیایی مهم‌ترین روش برای کنترل علف‌های هرز در کشور محسوب می‌شود.

## ۱-۵- کنترل شیمیایی

توسعه تجاری علف‌کش‌هایی با مواد تشکیل‌دهنده فعال جدید تا حد زیادی در دهه گذشته کاهش یافته است. در دهه‌های ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰ چندین علف‌کش با مواد تشکیل‌دهنده فعال جدید سالیانه معرفی می‌شد (داک، ۲۰۱۲). در حال حاضر، کشف و تولید علف‌کش‌های با مواد تشکیل‌دهنده فعال ۲۴۰ تا ۳۰۰ میلیون دلار هزینه دارد (Rüegg et al, 2007; Duke, 2012; Lamberth et al, 2013; Kraehmer et al, 2014; Castello et al, 2015). هزینه‌های زیاد توسعه به احتمال زیاد تعداد علف‌کش‌های با عناصر فعال جدید در خط تولید را محدود خواهد کرد، به‌ویژه برای محصولات خاص که سطح هکتار آن نسبت به محصولات زراعی محدود می‌باشد. در طول دوره ۱۹۷۰-۱۹۹۱، ۱۵ علف‌کش با محل‌های عمل جدید در اروپا معرفی شد، اما بعد از سال ۱۹۹۱ دیگر این اتفاق تکرار نشد (Rüegg et al, 2007). در طول دوره ۱۹۸۰ تا ۲۰۰۹، ۱۳۷ علف‌کش جدید در سراسر جهان معرفی شد (Duke, 2012; Kraehmer et al, 2014) با این حال، در دوره ۲۰۱۰ تا ۲۰۱۴ فقط ۴ علف‌کش جدید معرفی شد (جشکی، ۲۰۱۶). شاید افزایش مشکلات در مدیریت علف‌های هرز مقاوم به علف‌کش گلیفوزیت و دیگر علف‌کش‌ها باعث تلاش برخی شرکت‌های تولیدکننده مواد شیمیایی کشاورزی را برای تقویت و توسعه زیرساخت‌های خود جهت تولید علف‌کش‌های جدید شود (Shaner et al, 2000, Duke, 2012; Fennimore et al, 2016).

در ایران در هر سال ۲۷ هزار تن سموم کشاورزی در گیاهان زراعی و گیاهان باغی مورد استفاده قرار می‌گیرد و در استان خوزستان با ۱۹۰۰ تن، معادل ۷ درصد کل سموم کشاورزی را در کشور به خود اختصاص می‌دهد. در هر سال از کل سموم مصرف شده در استان خوزستان ۱۹ درصد حشره‌کش، ۱۱ درصد قارچ‌کش و ۷۰ درصد علف‌کش می‌باشد. چنانچه کل وسعت اراضی کشاورزی ایران حدود ۱۴ میلیون هکتار باشد، در این سال به ازای هر هکتار زمین ۷۸۰ گرم ماده مؤثره مصرف می‌شود که این مقدار در استان خوزستان معادل ۷۵۰ گرم می‌باشد (بی‌نام، ۱۳۹۵).

برای کنترل شیمیایی علف‌های هرز گندم از علف‌کش‌های با محل عمل مختلف استفاده می‌شود (Gherekhlou et al, 2016; Loux et al, 2016). کاربرد ترکیبات شیمیایی در مزارع، جدای از هزینه مالی، موجب آلودگی زیست‌محیطی نیز می‌شود. ولی باین حال، متأسفانه اکنون به‌کارگیری علف‌کش‌ها، نه تنها در گندم بلکه در سایر زراعت‌ها نیز متداول‌ترین راه کنترل علف‌های هرز می‌باشد (منتظری و همکاران، ۱۳۸۴؛ میر کمالی، ۱۳۸۶). از دیدگاه مدیریت علف‌های هرز، هرچه علف‌کش‌های ثبت‌شده برای یک گیاه زراعی از نظر مکانیسم اثر متنوع‌تر باشند، بهتر بوده و کشاورز می‌تواند برای جلوگیری از مقاومت، علف‌کش‌هایی با مکانیسم‌های متفاوت را به‌تناوب مصرف نماید.

تاکنون ۲۸ علف‌کش انتخابی برای مزارع گندم در کشور به ثبت رسیده است که ۱۱ مورد آن‌ها باریک برگ‌کش، ۱۰ مورد پهن‌برگ‌کش و ۷ علف‌کش هم‌دوم‌منظوره هستند (Gherekhlou et al, 2016). طیف پهن‌برگ‌کش‌های انتخابی در مزارع گندم متنوع است و به نظر می‌رسد که می‌توان آن‌ها را در تناوب مصرف کرد. متأسفانه باریک برگ‌کش‌های انتخابی گندم از نظر مکانیسم اثر از تنوع چندانی برخوردار نیستند. از مجموع باریک برگ‌کش‌ها، سه علف‌کش بنزوئیل پروپ اتیل (سافیکس)، تریالات (آوادکس BW) و تری کلرواستات سدیم (اریبتاکس تی ۹۵ جی) عملاً از گردونه کنترل شیمیایی علف‌های هرز گندم در کشور حذف‌شده و دو علف‌کش دیفنزوکوات (آونج) و فلم پروپ-ام- ایزوپروپیل (سافیکس BW) نیز از کارایی مناسبی برخوردار نیستند (زند و همکاران، ۱۳۸۶؛ قرخلو و زند، ۱۳۸۹). علف‌کش‌های باقیمانده همگی متعلق به گروه بازدارنده‌های استیل کو آنزیم آ کربوکسیلاز (ACCase) هستند (جدول ۱-۱). با توجه به اینکه این خانواده جزء گروه‌های پرخطر از نظر مقاومت هستند، در صورت مکرر آن‌ها در یک مزرعه احتمال وقوع این پدیده در مدت‌زمان نسبتاً کمی وجود دارد (Beckie, 2007).

علف‌کش‌های بازدارنده استیل کو آنزیم آ کربوکسیلاز گروهی از علف‌کش‌های مهم تجاری هستند که قادر به مدیریت مؤثر گونه‌های باریک برگ علف‌هرز بوده و در دهه ۱۹۷۰ معرفی شدند. این علف‌کش‌ها

متعلق به گروه A (۱) می‌باشند (Mallory-Smith & Retzinger, 2003). آن‌ها دارای سه خانواده مهم از علف‌کش‌ها با نام‌های آریلوکسی فنوکسی پروپیونات (APP)، سیکلوهگزان دیون‌ها (CHD) و خانواده فنیل پیرازولین‌ها (PPZ) هستند (Hofer et al, 2006; Vencill et al, 2012).

علف‌کش پینوکسادن برای کنترل علف‌هرز چچم و چمن یک‌ساله<sup>۱۶</sup> (*Poa annua*) در بریتانیا ثبت گردید. این علف‌کش متعلق به خانواده فنیل پیرازولین‌ها که مانع از فعالیت آنزیم ACCase در گیاهان حساس می‌شود (Elmore et al, 2016). این علف‌کش در سال ۲۰۰۶ برای کنترل بعضی جمعیت‌های چچم مقاوم به علف‌کش‌های بازدارنده ALS در گندم (*Triticum spp.*) و جو (*Hordeum spp.*) معرفی شد (Muehlebach et al, 2011). فرمولاسیون ثبت‌شده از پینوکسادن (آکسیال و رسکیو) همراه با ماده ایمن‌کننده کلوکوپنتوست مکسیل در نسبت ۴:۱ علف‌کش: ایمن‌کننده (Anonymous, 2008, 2010). پینوکسادن یک علف‌کش جدید از علف‌کش‌های بازدارنده‌های ACCase بوده و محل اتصال آن به آنزیم با علف‌کش‌های خانواده‌های شیمیایی دیم و فوپ متفاوت است؛ بنابراین، بیوتیپ‌های چچم مقاوم به علف‌کش‌های دیم و فوپ الزاماً به پینوکسادن مقاوم نخواهند بود (Porter et al, 2005). با این حال، اسماعیل‌زاده و همکاران (۱۳۹۰) مقاومت ۴ بیوتیپ از ۱۲ بیوتیپ علف‌هرز چچم یک‌ساله جمع‌آوری‌شده از استان فارس را به علف‌کش پینوکسادن گزارش کردند.

جدول شماره ۱-۱: فهرست علف‌کش‌های بازدارنده ACCase ثبت‌شده در ایران (زند و همکاران، آ ۱۳۸۸)

گروه	نحوه عمل	خانواده شیمیایی	نام عمومی	نام تجاری
(A) ۱	بازدارنده‌های استیل کو آنزیم آ	آریل اکسی فنوکسی پروپیونات (فوپ‌ها (AOPPs))	دیکلوفوب-متیل	ایلوکسان
	کربوکسیلاز (ACCase)		هالوکسی فوپ اتوکسی-اتیل فلوازیفوب-پی-بوتیل فنوکساپروپ-پی-اتیل + مفن پایر دی اتیل	گالانت فوزیلید پوما سوپر

<sup>16</sup> *Poa annua*

تاپیک	کلودینافوپ پروپارژیل	
گالانت سوپر	هالوکسی فوپ- آر- متیل استر	
اژیل	پروپا کوپیزآفوپ	
تارگا	کوپیزالوفوپ-اتیل	
تارگا سوپر	کوپیزالوفوپ-پی-اتیل	
پنتر	کوپیزالوپ-پی-تفوریل	
ویپ سوپر	فنوکساپروپ پی اتیل	
نابواس	ستوکسیدیم	
فوکوس	سیکلوکسیدیم	سیکلوهگزانییدیون دیمها (CHDs)
گراسپ	ترالکوکسیدیم	
سلکت	کلتودیم	
آکسیال	پینوکسدان	فنیل پیرازولین (دنها (PPZ))
تراکسوس	کلودینافوپ-پروپارژیل + پینوکسدان	AOPPs+ PPZ

در بین علف‌کش‌های گندم، کلودینافوپ پروپارژیل (تاپیک) به عنوان مهم‌ترین باریک برگ‌کش مزارع گندم کشور مطرح می‌باشد. دلیل این امر بالا بودن کارایی این علف‌کش در کنترل باریک‌برگ‌های مهم مزارع گندم می‌باشد (باغستانی و همکاران، ۱۳۸۶). کلودینافوپ باریک برگ‌کشی است که با نام‌های مختلف تجارتي نظر کلودینافوپ (در ایران و اروپا)، دیس کاور (در ایالات متحده آمریکا)، کارنت (در استرالیا)، بهپیک، هوریزون (در کانادا) و غیره به ثبت رسیده است (منتظری و همکاران، ۱۳۸۴). این علف‌کش از گروه آریلوکسی فنوکسی پروپیونیک اسید بوده و برای استفاده در گندم، همراه با ایمن‌ساز کلوکوینتوست فرموله می‌شود (باغستانی و همکاران، ۲۰۰۷). این علف‌کش قادر به کنترل بسیاری از علف‌های هرز گندمیان نظیر یولاف وحشی، خونی‌واش و چچم در گندم می‌باشد (منتظری و همکاران، ۱۳۸۴).

علف‌کش‌های AOPP که به گراس‌کش‌ها معروف هستند به‌صورت پس‌رویشی برای کنترل انتخابی علف‌های هرز باریک برگ در غلات و گیاهان دولپه‌ای بکار می‌روند. انتخابی عمل کردن این علف‌کش‌ها و تحمل گیاهان زراعی پهن‌برگ به آن‌ها باعث کارآمد بودن آن‌ها در بسیاری از محصولات زراعی گردیده است (Walker & Ridly, 1989). این علف‌کش‌ها توسط برگ و ریشه جذب‌شده به‌صورت سیستمیک عمل می‌کنند. قدرت جابجایی این علف‌کش‌ها در گیاه زیاد نبوده و سیستمیک‌های ضعیفی محسوب می‌شوند.

جذب این علف‌کش‌ها از طریق ریشه قابل توجه نیست و تنها دایکلوپوپ متیل تا حدودی از طریق ریشه مؤثر است. این علف‌کش‌ها بر روی گیاهان شاداب، جوان و بدون استرس اثر بهتری دارند. دوام این علف‌کش‌ها در خاک از چند روز تجاوز نمی‌کند. در گیاه پس از جذب به نقاط مریستمی رسیده و در ظرف ۱ تا ۳ هفته گیاه حساس را خشک می‌کنند (باغستانی و همکاران، ۱۳۸۶).

#### ۱-۶- مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها<sup>۱۷</sup>

برای پدیده مقاومت تاکنون تعاریف مختلفی ارائه شده است. عده‌ای مقاومت را انتخاب و تکامل یک مکانیزم در یک جمعیت علف‌هرز در پاسخ به کاربرد مکرر یک علف‌کش که سبب پایداری توده علف‌هرز در برابر علف‌کش موردنظر می‌شود تعریف می‌کنند (Holt & LeBaron, 1990). همچنین مقاومت زنده ماندن و رشد طبیعی یک علف‌هرز، پس از کاربرد مقدار مؤثر و معمول یک علف‌کش تعریف شده است (Holt & LeBaron, 1990). کمیته کاری مقاومت به علف‌کش (HRAC) مقاومت را توانایی قابل توارث یک گیاه برای زنده ماندن و تولیدمثل، پس از مصرف غلظتی از علف‌کش که عموماً برای نوع وحشی آن گیاه کشنده باشد تعریف کرده است (Poston et al, 2000).

قبل از آنکه هر علف‌هرز به علف‌کش مقاوم شود سه شرط زیر باید وجود داشته باشد:

- ۱- باید به‌طور معمول علف‌کش قادر به کنترل آن علف‌هرز بوده باشد.
- ۲- باید در حال حاضر در غلظتی از علف‌کش که قبلاً باعث مرگ آن می‌شده است، از بین نرود.
- ۳- تغییرات ایجادشده باید توارثی باشد، به عبارت دیگر دانه رسته‌های گیاهان مقاوم نیز باید مقاوم باشند.

---

<sup>17</sup> Herbicide resistance



با توجه به مطالب ارائه شده؛ مقاومت به علفکش عبارت است از توانایی ذاتی یک گیاه برای بقاء و تولیدمثل پس از قرارگیری در معرض دزی از علفکش که در شرایط عادی برای گونه حساس کشنده است. مقاومت به علفکش به توانایی قابل توارث یک علفهرز اطلاق می‌شود که بتواند به مقداری از یک نوع علفکش که در حالت معمول اغلب گیاهان آن‌گونه را از بین می‌برد، مقاومت نشان دهد. مقاومت در یک گیاه ممکن است به‌طور طبیعی ایجاد شده باشد یا توسط برخی روش‌ها نظیر مهندسی ژنتیک یا انتخاب در بین توده‌های حاصل از کشت بافت یا جهش‌زایی باشد (Vencill et al, 2012; Kaundun, 2014).

#### ۱-۷-واژه‌های کاربردی در مبحث مقاومت به علفکش

**تحمل به علفکش**<sup>۱۸</sup>: تحمل به علفکش توانایی ذاتی گیاه برای باقی ماندن و تولیدمثل با تیمار علفکش در دز نرمال می‌باشد (Vargas & Wright, 2004). به عبارت دیگر توانایی متابولیسم سریع علفکش توسط گیاه را تحمل گویند. به‌عنوان مثال گیاهان زراعی باریک برگ مثل گندم سریعاً برخی علفکش‌ها را غیر سمی نموده و آن‌ها را غیرفعال می‌کنند و از خسارت احتمالی جلوگیری به عمل می‌آورند (Grownwald, 1994).

**حساسیت به علفکش**<sup>۱۹</sup>: فقدان ظرفیت تحمل علفکش توسط گیاه زراعی یا علفهرز به نحوی که منجر به خسارت شود (زند و همکاران، ۱۳۸۶؛ Holt & LeBaron, 1990).

**محل عمل علفکش**<sup>۲۰</sup>: به محل شیمیایی در گیاه اطلاق می‌شود که به‌طور مستقیم علفکش بر آن تأثیر می‌گذارد. محل عمل برخی از علفکش‌ها کاملاً شناخته شده است، در صورتی که محل عمل برخی دیگر از آن‌ها همچنان ناشناخته باقی مانده است. بسیاری از محل‌های عمل، آنزیم‌ها یا پروتئین‌هایی هستند که برای

<sup>18</sup> Herbicide tolerance

<sup>19</sup> Herbicide susceptibility

<sup>20</sup> Site of action

رشد و نمو گیاه ضروری می‌باشند. همچنین برخی علف‌کش‌ها هم چندین محل عمل دارند (زند و باغستانی، ۱۳۸۶).

**مقاومت عرضی به علف‌کش<sup>۲۱</sup>:** زمانی که یک بیوتیپ علف‌هرز با یک مکانیزم به بیش از یک علف‌کش مقاومت نشان دهد، به این‌گونه مقاومت، مقاومت عرضی به علف‌کش گفته می‌شود (Murray et al, 1995). عمدتاً این مقاومت نسبت به علف‌کش‌های درون یک گروه ایجاد می‌شود (زند و باغستانی، ۱۳۸۶).

**مقاومت چندگانه به علف‌کش<sup>۲۲</sup>:** وقتی که در یک بیوتیپ علف‌هرز یا گیاه زراعی، مقاومت نسبت به چند علف‌کش (عمدتاً از گروه‌های مختلف و با محل‌های عمل مختلف) به وجود آمده باشد و این مکانیزم‌ها از طریق فرایندهای انتخابی جداگانه‌ای ایجاد شده باشند، در آن صورت مقاومت از نوع چندگانه است. علف‌های هرزی که مقاومت چندگانه به علف‌کش‌ها دارند، به‌سختی کنترل می‌شوند (زند و باغستانی، ۱۳۸۶).

مقاومت را می‌توان از طریق مقایسه بیوتیپ‌های مقاوم و حساس کمی نمود. در این روش بیوتیپ‌ها از نظر میزان علف‌کشی که ۵۰٪ جمعیت علف‌هرز را کنترل می‌کند ( $LD_{50}$ )، یا ۵۰٪ بیوماس گیاهی را کاهش می‌دهد یا ۵۰٪ فعالیت آنزیم را کم می‌کند ( $I_{50}$ ) مورد مقایسه قرار می‌گیرند.

## ۱-۸- عوامل مؤثر در تکامل مقاومت به علف‌کش

### ۱-۸-۱- منابع تنوع ژنتیکی برای مقاومت

برای افزایش مقاومت در یک جمعیت علف‌هرز، تنوع ژنتیکی برای مقاومت به یک علف‌کش در آن جمعیت باید وجود داشته باشد. حداقل چند گیاه و بیان یک ژن یا ژن‌هایی که باعث القا مقاومت توسط برخی مکانیسم‌ها به علف‌کش می‌شود باید وجود داشته باشد. منابع اصلی ژن‌های مقاومت در جمعیت

<sup>21</sup> Herbicide cross resistance

<sup>22</sup> Herbicide multiple resistance

علف‌هرز (۱) جهش در ژن و (۲) پراکندگی ژن از طریق گرده و یا دانه می‌باشد (Christoffers, 1999; Hanson et al, 2014).

### ۱-۸-۱- جهش و جریان ژنی

جهش در ژن فرایندی است که حاصل رخداد یک تغییر در توالی DNA یک ژن در بافت‌های تولیدمثلی (گرده یا تخمک) است. جهش‌های ژنی خودبه‌خود، به‌صورت تصادفی و به‌طور مستمر در سراسر ژنوم تمام موجودات زنده، از جمله گیاهان رخ می‌دهد. گهگاه، جهش در جایگاه ژن خاص ممکن است موجب یک ویژگی جدید یا صفت (به‌عنوان مثال، مقاومت در برابر علف‌کش خاص) در نسل بعدی شود. در ابتدا، به‌احتمال زیاد تنها در تعداد کمی از گیاهان یک جمعیت جهش در ژن مقاومت به علف‌کش به وجود می‌آید. با این حال، چند گیاه مقاوم در برابر تیمار علف‌کش زنده مانده و بذر تولید می‌کنند، در حالی که گیاهان حساس تیمار شده از بین رفته و بذری هم تولید نمی‌کنند؛ بنابراین، ژن‌های مقاومت به نتاج منتقل خواهد شد و نسبت گیاهان مقاوم به علف‌کش در جمعیت در سال‌های آتی افزایش خواهند یافت (Jasieniuk et al, 1996; Christoffers, 1999; Hanson et al, 2014).

### ۱-۸-۲- پراکندگی گرده یا دانه

پراکندگی گرده و یا دانه که حامل ژن‌های مقاومت از گیاهان مقاوم در یک جمعیت جداگانه هستند ممکن است یک منبع از ژن‌های مقاومت در یک جمعیت حساس را فراهم کند. ژن‌های مقاومت ممکن است توسط گرده از طریق باد، حشرات و یا دیگر راه‌های گرده‌افشانی به‌طور طبیعی پراکنده شوند. ژن‌های مقاومت نیز ممکن است از طریق دانه پراکنده شوند. پراکندگی دانه در جمعیت علف‌هرز می‌تواند با مسیرهای طبیعی مانند باد، آب، حشرات گیاه‌خوار، پستانداران و غیره و همچنین به‌وسیله انسان اتفاق افتد. به‌عنوان مثال،

کشاورزان معمولاً بذر مقاوم از یک مزرعه را به مزرعه دیگر توسط بذر، کشت و زرع و یا تجهیزات برداشت محصول و یا با کاشت بذر آلوده به بذر مقاوم گسترش دهند. جای تعجب نیست، گسترش ژن مقاومت توسط گرده برای گونه‌های علف‌هرز که به شدت دگر گرده افشان هستند، مانند علف‌هرز یک‌ساله و خود ناسازگار چچم که به طور معمول تولید گرده بسیاری می‌کند شایع‌تر است در مقابل، برای بسیاری از گونه‌های علف‌هرز خودگشن، مانند علف اسب<sup>۲۳</sup> و علف اسب سمی<sup>۲۴</sup>. ژن‌های مقاومت در درجه اول توسط بذر گسترش می‌یابند. درک سهم نسبی جهش در ژن در مقابل جریان ژن و یا پراکندگی دانه در گسترش مقاومت مهم است، زیرا تعیین‌کننده موفقیت شیوه‌های مدیریت‌های مختلف (به‌عنوان مثال، کاهش شدت انتخاب علف‌کش) در مقابل محدود کردن جابجایی بذر مقاوم می‌باشد (در جلوگیری از گسترش مقاومت به سایت‌های مجاور در سراسر منطقه) (Jasieniuk et al, 1996; Hanson et al, 2014).

جریان ژن به‌وسیله گرده یا بذر از یک مزرعه حاوی گیاهان مقاوم به علف‌کش به مزارع مجاور که حاوی گیاهان حساس هستند می‌تواند منبعی از ژن‌های مقاوم باشد که منجر به بروز مقاومت به علف‌کش می‌شود. جریان ژن سبب گسترش مقاومت در جمعیت در بین جمعیت‌ها در گونه‌هایی می‌شود که خودگشنی بالایی دارند. انتظار می‌رود که میزان مؤثر بودن جریان ژن در بین جمعیت‌ها به قدری کم باشد که با میزان جهش برابری نماید (Jasieniuk et al, 1996).

## ۱-۸-۲- فشار انتخاب توسط علف‌کش

علف‌کش‌ها فشارهای انتخابی قوی بر روی علف‌های هرز تحمیل می‌کنند. بسیاری از آن‌ها در شرایط مطلوب ۹۰ تا ۹۹ درصد از جمعیت گیاهان حساس از یک‌گونه را از بین می‌برند. اگر ژن‌های مقاومت در یک جمعیت علف‌هرز به دلیل جهش یا جریان ژن وجود داشته باشند، حتی در فراوانی بسیار پایین، تکرار تیمار

---

<sup>23</sup> *Conyza canadensis*

<sup>24</sup> *Conyza bonariensis*

Family name: <b>Sabet Zangeneh</b>	Name: <b>Hossein</b>
Title of Thesis: <b>Investigation of the relative fitness and molecular base of resistant and susceptible rigid ryegrass (<i>Lolium rigidum</i>) biotypes to Acetyl Co-A- carboxylase herbicides.</b>	
Supervisor(s): <b>Dr. Hamid R. Mohammaddust Chamanabad and Dr. Eskandar Zand</b> Advisor(s): <b>Dr. Ali Asghari and Dr. Khalil Alamisaeid</b>	
Graduate Degree <b>Ph. D</b> Major: <b>Agronomy</b> Specialty: <b>Weed science</b> University of <b>Mohaghegh Ardabili</b> Faculty of <b>Agriculture and Natural Resources</b> Graduation date: <b>03/01/2018</b> Number of pages: <b>169</b>	
<p><b>Abstract:</b></p> <p>To evaluate herbicide resistance, the molecular basis of resistance and fitness of rigid ryegrass (<i>Lolium rigidum</i>) biotypes collected from wheat fields across Khuzestan province ACCase-inhibiting herbicides, a study using the whole plant and petri dish bioassay and molecular during the years 2013 to 2016 in Ramin University and Research Centre, Agriculture and natural resources education Khuzestan province. In particular, 120 wheat fields were visited and 30 rigid ryegrass seed samples were collected for testing. Screening of these biotypes conducted with clodinafop-propargyl and pinoxaden under controlled greenhouse and petri dish conditions, resulted in 15 biotypes with a survival higher than 20% to this herbicide, which were further studied for the evaluation of cross-resistance, In the following some important information managerial fields is collected, and were analyzed. The next step is to determine the potential mechanism of resistance based on the location of CAPS and dCAPS methods were used. Cross-resistance of the masses, by examining their reactions to different chemical herbicides inhibiting ACCase pot method was evaluated by measuring the number of the living plants. In another experiment the effectiveness of herbicides with different mode of action for control of susceptible and resistant biotype to the herbicide clodinafop-propargyl was conducted. In the end, whether or not the fitness cost in three biotypes (two-resistant and susceptible biotypes) were evaluated. In experiment fitness an evaluation of germination and seedling emergence characteristics of three rigid ryegrass biotypes (one susceptible and two resistant biotypes) and of competition between this weed and wheat using replacement series experiments was conducted. The results showed that fresh weight percentage and the percentage of plant survival compared to control populations is the best traits for evaluating biotypes in terms of resistance and intensity of the effect herbicides. Of 13 rigid ryegrass biotypes that demonstrated cross-resistance to ACCase inhibitors, in 10 biotypes this was due to molecular mutation. In particular, it was revealed that resistance for one, eight and one of the molecular mutations could be attributed to a mutation in location 1781, 2041 and 1781 + 2041, respectively. On the contrary, there were no mutations in either location 2078 and 2088. Cross-resistance was observed in that the studied biotypes are different resistance models to ACCase- inhibiting herbicides three families. Evaluate the efficiency of different herbicides showed that the herbicides sethoxydim, clethodim, isoproturon+ diflufenican, paraquat and glyphosate were well controlled rigid ryegrass susceptible and resistant biotypes. The results relative merits conditions competitive and non-competitive ryegrass populations also showed that competitive conditions between resistant and susceptible populations differ in some traits seen that in some traits differences no significant but it seems susceptible biotype in conditions salinity and drought stress and in terms of competition in vegetative and reproductive stages as well as a stronger competitor than two resistant biotypes. In the province, 75% of fields used herbicides with different mode of action (rotation) were observed, but in 84% of studied fields, crop rotation that is the most important recommendation for the management of herbicide resistant weed population is not observed. Overall, it seems that despite the good recommendations regarding management of herbicide resistance in wheat fields, the farmers did not paid much attention to it. According to the results, the first cross-resistance to herbicides inhibiting ACCase Ryegrass was registered in Iran.</p>	
<p><b>Keywords:</b> ACCase inhibitor, bioassay, CAPS and dCAPS markers, clodinafop-propargyl, cross- resistant fitness, pinoxaden, rotation.</p>	



**University of Mohagheh Ardabili**  
**Faculty of Agricultural and Natural Resources**  
**Department of Agronomy and Plant Breeding**

**Thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the  
degree of Ph. D in the field of agronomy the tendency of weed science**

Title:

**Investigation of the relative fitness and molecular base of resistant and  
susceptible rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) biotypes to Acetyl Co-A-  
carboxylase herbicides**

Supervisors:

**Hamid R. Mohammaddust Chamanabad (Ph.D)**  
**Eskandar Zand (Ph.D)**

Advisors:

**Ali Asghari (Ph.D)**  
**Khalil Alamisaeid (Ph.D)**

By:

**Hossein Sabet Zangeneh**  
**January – 2018**