

Application of Chlorophyll Fluorescence Parameter for Rapid Detection The Effect of Photosystem II Inhibiting Herbicides on Resistant and Susceptible Junglerice (*Echinochloa colona* (L.) Link.) Populations

Elham Elahifard¹, Ali Ghanbari^{2*} , Mohammad Hassan Rashed Mohassel³,
Eskandar Zand⁴, Amin Mirshamsi Kakhki⁵

- 1- Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
- 2- Associate Professor, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- 3- Professor, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- 4- Professor, Department of Weed Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran
- 5- Assistant Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Citation: Elahifard, E., Ghanbari, A., Rashed Mohassel, M. H., Zand, E., & Mirshamsi Kakhki, A. (2022). Application of chlorophyll fluorescence parameter for rapid detection the effect of photosystem II inhibiting herbicides on resistant and susceptible junglerice (*Echinochloa colona* (L.) Link.) populations. *Plant Productions*, 45(1), 133-142.

Abstract

Introduction

Chlorophyll fluorescence induction is a rapid and noninvasive technique for measuring photosynthetic electron transport in plants. Recognition of fluorescence curves such as Kautsky curves is a useful tool for quantifying herbicide effects. In general, since one of the goals of measuring chlorophyll fluorescence is the early detection of the effects of herbicide before its apparent effects on weed. PSII inhibiting herbicides resistance results from a mutation in the chloroplast genome, reducing the rate of electron transport between Q_A and Q_B in PS II.

Materials and Methods

The seeds pre-germinated in Petri dishes at 28±2 °C in 16/8 hr (light/dark) photoperiod for 72 hr. The pre-germinated seeds were sown in pots (with 10 cm diameter) containing loam: sand 2:1 mixture (v/v). Pots were transferred to a greenhouse and grown at 30 °C and 20 °C day and night

* Corresponding Author: Ali Ghanbari
E-mail: ghanbari@um.ac.ir



temperatures, respectively, with artificial light to provide a 16-h photoperiod. Pots were irrigated regularly to avoid any moisture stress. Ten days after planting (DAP), they were thinned to two seedlings per pot. Twenty days after weed emergence, seedlings of the pots were subjected to the post emergence application of ametryn. Different ranges of ametryn rates were used for the resistant (0, 10, 30, 100, 300, 1000, 3000, 10000 and 30000 g ai ha⁻¹) and susceptible (0, 1, 10, 30, 100, 300, 1000 g ai ha⁻¹) populations because of the difference in dose-response among populations. Nonionic surfactant 0.25% (v/v) was applied with the herbicide at the time of spraying. The sprayer was calibrated to deliver 220 L ha⁻¹ at pressure of 2 atm. The aboveground biomass was harvested 28 days after treatment (DAT) and weighed. In order to analyze the data and draw the shapes, Gompertz function and SigmaPlot11 and R soft wares were used. PEA Plus software, also, was used to output the chlorophyll fluorescence data recorded during the experiment.

Results and Discussion


The results showed that F_{vj} was more sensitivity to the application of ametryn in the tested populations. So that four hours after the application of ametryn, F_{vj} , in some populations, especially susceptible population (24.47 g ai ha⁻¹), decreased significantly. Regarding ED_{50} values based on fresh weight of populations, the highest amount of ED_{50} belonged to R4 (10289 g ai ha⁻¹), R1 (6844.6 g ai ha⁻¹), R3 (4770 g ai ha⁻¹) and R2 (3041.0 g ai ha⁻¹), respectively. Estimated ED_{50} values for F_{vj} susceptible and resistant populations were, in some cases, far lower than estimated ED_{50} values for fresh weight of populations at 28 days after treatment with herbicides. In general, the linear relationship between the above parameter and the fresh weight of the populations indicates a strong correlation between these parameters. There were differences among the resistant and susceptible populations in the application of herbicide in terms of the slope of the curve of f_{vj} . So that the curve slope in R1 and R2 biotypes was faster than other populations. In susceptible population response, more correlation was observed between the above parameters. The purpose of this parameter was to show that chlorophyll fluorescence parameters, such as fresh weight assay or weed dry weight, can predict the effect of herbicides. Thus, the researchers are able to evaluate the herbicide's impact on the plants by spending less time and cost.

Conclusion

Since the main effect of photosystem II inhibiting herbicides is in the J stage (F_{vj}). Therefore, it is possible to use the F_{vj} parameter, which most likely shows the changes in electron transfer in the electron transfer chain in photosystem II. The most resistant populations (R1 and R4) based on the measurement of fresh weight, in the analysis based on the F_{vj} parameter, like other resistant populations, showed the significant difference with the susceptible population. Also, the sensitivity of the susceptible population response to herbicide application based on the F_{vj} parameter was much higher than that of fresh weight. So that it enables the researcher to quickly distinguish among the susceptible and resistant populations to the mentioned herbicides.

Keywords: Dose-response, herbicide resistance, the relative changes at the J step

کاربرد پارامتر فلورسنس کلروفیل به منظور تشخیص زود هنگام تأثیر علف‌کش‌های بازدارنده فتوسینتیم ۲ در توده‌های مقاوم و حساس *ذرنه* (*Echinochloa colona* (L.) Link.)

الهام الهی‌فرد^۱، علی قنبری^{۲*} , محمدحسن راشد محصل^۳، اسکندر زند^۴، امین میرشمسی کاخکی^۵

- ۱- استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران
- ۲- دانشیار، گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- ۳- استاد، گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- ۴- استاد، بخش تحقیقات علف‌های هرز، موسسه گیاهپزشکی کشور، تهران، ایران
- ۵- استادیار، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

چکیده

القای فلورسانس کلروفیل یک روش سریع و غیر تخریبی برای اندازه‌گیری انتقال الکترون فتوسنتزی در گیاهان است. به‌منظور تشخیص زود هنگام تأثیر علف‌کش آمترین توسط پارامتر تغییرات نسبی فلورسنس در مرحله J (F_{vj}) بر روی *ذرنه*، آزمایش *دُز-پاسخ* با *دُزهای صفر*، ۱۰، ۳۰، ۱۰۰، ۳۰۰، ۱۰۰۰، ۳۰۰۰، ۱۰۰۰۰ و ۳۰۰۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار برای توده‌های مقاوم و *دُزهای صفر*، ۱، ۱۰، ۳۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۱۰۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار بر روی توده حساس به علف‌کش آمترین بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۱ انجام شد. نتایج نشان داد که F_{vj} در میان توده‌های مورد آزمایش دارای حساسیت متفاوتی نسبت به کاربرد علف‌کش مذکور بود. به‌طوری‌که چهار ساعت پس از اعمال آمترین، F_{vj} (بر اساس ED_{50} محاسبه‌شده) در برخی توده‌ها به‌ویژه توده حساس (معادل ۲۴/۴۷ گرم ماده مؤثر آمترین در هکتار) به شدت کاهش یافت. مقادیر ED_{50} برآورد شده برای F_{vj} توده‌های حساس و مقاوم، به مراتب کمتر از مقادیر ED_{50} برآورد شده برای وزن تر توده‌ها در ۲۸ روز پس از تیمار با علف‌کش بود. به‌طور کلی رابطه خطی میان پارامتر مذکور و وزن تر توده‌ها نشان‌دهنده همبستگی قوی میان این پارامترها می‌باشد. هدف از بررسی پارامتر مذکور به این دلیل بود که نشان داده شود پارامترهای فلورسنس کلروفیل نیز مانند اندازه‌گیری وزن تر و یا وزن خشک علف‌های هرز، قادر به پیش‌بینی تأثیر علف‌کش‌ها می‌باشند. بنابراین محقق را قادر می‌سازند با صرف وقت و هزینه کمتری تأثیر علف‌کش را بر گیاهان مورد نظر ارزیابی نماید.

کلیدواژه‌ها: تغییرات نسبی فلورسنس در مرحله J ، *دُز-پاسخ*، مقاومت به علف‌کش

* نویسنده مسئول: علی قنبری
رایانامه: ghambari@um.ac.i



مقدمه

مصرف مداوم علف‌کش‌ها به منظور کنترل دُرنه *Echinochloa colona* (L.) Link.)، علف‌هرزی کشیده‌برگ C4، منجر به بروز مقاومت به علف‌کش‌های پروپانیل (Fischer et al., 1993; Hoagland et al., 2004;)، (Valverde, 2007)، کوئین کلراک (Valverde, 2007)، آزیم‌سولفورون (Chauhan and Johnson, 2009)، ایمازاپیر (Valverde, 2007)، بازدارنده‌های استیل کوآنزیم A کربوکسیلاز (Valverde, 2007)، گلايسين و بازدارنده‌های فتوسیستم 2 (Elahifard et al., 2013) در سراسر جهان شده است. رایج‌ترین علت بروز مقاومت به علف‌کش‌های بازدارنده فتوسیستم 2، در توده‌های علف‌هرز، جهش نقطه‌ای در ناحیه ۲۶۴ ژن psbA می‌باشد که منجر به تغییر سرین به گلايسين در پروتئین D1 می‌شود (Devine and Shukla, 2000; Foes et al., 1998; Foes et al., 1999; Gadamski, et al., 2000; Park and Mallory-Smith, 2005; Preston, 2009; Tian and Darmency, 2006).

علف‌کش‌های بازدارنده فتوسیستم 2 که در دو گروه انتخابی (آترازین، آمترین و متریبوزین) و غیر انتخابی (بروماسیل و دایوران) قرار می‌گیرند (Senseman, 2007)، از طریق آوند آبکش انتقال ضعیف و در حضور نور خورشید کارایی بهتری دارند (Mousavi, 2011) و بر اساس طبقه‌بندی HRAC در گروه‌های C1، C2، C3 قرار می‌گیرند (Senseman, 2007). علف‌کش‌های بازدارنده فتوسیستم 2 بر روی کمپلکس پذیرنده کوئینون اثر داشته و با پلاستوکوئینون برای جایگاه پیوندی QB رقابت می‌کنند (Monaco et al., 2002). بنابراین جانشین پلاستوکوئینون بر روی محل پیوندی QB می‌شوند و از این طریق جریان الکترون را از QA به QB متوقف کرده و از فتوسنتز جلوگیری می‌کنند (Cobb and Reade, 2010).

در غشاء تیلاکوئیدی کلروپلاست‌های بافت مزوفیل برگ گیاهان عالی، انرژی نوری به وسیله دو واحد عمل‌کننده مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد که فتوسیستم نامیده می‌شوند. در فتوسیستم‌ها کلروفیل‌ها توسط پروتئین‌های خاصی احاطه می‌شوند. نحوه قرار گرفتن این پروتئین‌ها و بر حسب پیوند خاصی که پروتئین با کلروفیل دارد، باعث می‌شود که این کلروفیل‌ها بتوانند در طول موج خاصی واکنش انجام دهند. بنابراین،

در فتوسیستم 1 طول موج ۷۰۰ نانومتر و در فتوسیستم 2 طول موج‌های ۶۸۰ نانومتر سبب تحریک کلروفیل می‌شوند (Miles, 2003). پس از آن، چند حالت برای الکترون برانگیخته اتفاق می‌افتد: (1) انرژی را به صورت گرما از دست داده و به سطح اولیه برمی‌گردد؛ (2) انرژی را به صورت فلورسنس پس می‌دهد؛ (3) انرژی را به صورت رزونانس منتقل می‌کند؛ (4) الکترون انتقال می‌یابد و وارد مراحل فتوسنتزی می‌شود (Taiz and Zeiger, 2010).

گسیل فلورسنس (۵-۳ درصد در شرایط آزمایشگاهی) به‌عنوان مکمل مسیرهای جایگزین فرونشانی مانند مسیر فتوشیمیایی و اتلاف گرما می‌باشد (Abbaspoor and Streibig, 2005). به‌طور کلی، عملکرد فلورسنس زمانی که عملکرد فتوشیمیایی و اتلاف گرما در کمترین مقدار خود می‌باشد، بیشترین است (Abbaspoor and Streibig, 2005). فلورسنس کلروفیل دارای سه فاز مجزا بر اساس خصوصیات مراحل I، J، O و P می‌باشد که در ارتباط با اتفاقات فتوشیمیایی فتوسیستم 2 می‌باشند (Abbaspoor and Streibig, 2007). با توجه به محل تاثیر علف‌کش‌های تریازین که متوقف کردن انتقال الکترون از QA به QB می‌باشد؛ بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که مرحله J-I به ویژه پارامتر FvJ (تغییرات نسبی فلورسنس در مرحله J) می‌تواند به‌عنوان شاخص نحوه عمل علف‌کش‌های این خانواده باشد (Abbaspoor and Streibig, 2005; Abbaspoor and Streibig, 2007; Abbaspoor et al., 2006; Baker and Rosenqvist, 2004; Cheristensen et al., 2003).

شناخت منحنی‌های القای فلورسنس و پارامترهای آن ابزارهای سودمندی به منظور کمی کردن اثرات علف‌کش می‌باشند (Klem et al., 2002). کارایی این رهیافت به دلیل سازگاری و امکان استفاده از یک وسیله قابل حمل با قابلیت جمع‌آوری سریع داده و نرم‌افزار پیشرفته قادر به آنالیز آماری آن‌ها می‌باشد (Klem et al., 2002).

بنابراین، هدف از اجرای پژوهش پیش‌رو تشخیص زود هنگام تأثیر علف‌کش‌های بازدارنده فتوسیستم 2 (به‌طور ویژه آمترین) توسط پارامتر FvJ بر روی دُرنه بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در پاییز سال ۱۳۹۱ در محل گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد.

مواد گیاهی

به منظور انجام آزمایش بذور پنج توده مقاوم دُرنه شامل R1, R2, R3, R4، و یک توده حساس (S) به ترتیب از مزارع نیشکر (با کدهای ۲۰۷/۲، ۲۳۸/۵، ۳۲۶/۲ و ۵۲۹/۲) و کمپ مسکونی شرکت کشت و صنعت کارون شوشتر جمع‌آوری شد.

مطالعات گلخانه‌ای

بذور توده‌های مقاوم و حساس به مدت ۷۲ ساعت در دستگاه ژرمناتور (Grow Chamber, 375 L, Iran) با شرایط دمایی 28 ± 2 درجه سانتی‌گراد و شرایط فتوپریود ۸/۱۶ ساعت روشنایی/تاریکی با شدت نور ۱۸۰۰۰ لوکس قرار گرفتند. پس از ظهور ریشه‌چه و ساقه‌چه بذور، گیاهچه‌ها در گلدان‌هایی به قطر ۱۰ سانتی‌متر و ظرفیت ۵۰۰ میلی‌لیتر محتوی خاک مخلوطی شامل لوم رس: ماسه به نسبت ۲ و ۱ در گلخانه‌ای با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰٪ کشت شدند (Elahifard et al., 2013). در هر گلدان تعداد دو گیاه در نظر گرفته شد. حدود ۲۰ روز پس از کشت و در مرحله ۳ تا ۴ برگی، توده‌های مقاوم با غلظت‌های صفر، ۱۰، ۳۰، ۱۰۰، ۳۰۰، ۱۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار و توده حساس با غلظت‌های صفر، ۱، ۱۰، ۳۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۱۰۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار از علف‌کش آترین (WP 80%) مقدار توصیه‌شده ۴ کیلوگرم در هکتار، شرکت مشکفام) به همراه یک سورفکتانت غیر یونی ۰/۲۵ درصد (حجمی/حجمی) توسط دستگاه سمپاش پشتی شارژی (مدل ماتابی الگانس پلاس (MATABI elegance plus (Forouge Dasht Co.)) با نازل بادبزی یکنواخت (Even flat – fan nozzle) زرد رنگ (8002) و فشار ۲۰۰ کیلو پاسکال (Kilopascal (KPa)) که برای پاشش ۲۲۰ لیتر محلول در هکتار کالیبره شده بود سمپاشی شدند. سپس میزان بازدارندگی فتوسنتز توسط علف‌کش مذکور در توده‌های مقاوم و حساس، ۴ ساعت پس از اعمال دُرهای مختلف علف‌کش مذکور با اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل برگ بوسیله دستگاه فلورومتر (Handy PEA; Hansatech Instruments,) (Fluorometer (King 's Lynn, Norfolk, UK) که برای تابانیدن نوری با طول موج ۶۵۰ نانومتر و شدت ۳۰۰۰

میکرومول فوتون در متر مربع در ثانیه به مدت ۱۰ ثانیه کالیبره شده بود، برآورد شد (Abbaspoor and Streibig, 2007; Cheristensen et al., 2003). لازم به ذکر است که قبل از اندازه‌گیری با دستگاه مذکور، با بستن کلیپس‌هایی بر روی یک سوم انتهایی آخرین برگ تکامل‌یافته یک بوته در هر گلدان، شرایط سازگاری به تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه برای برگ‌ها ایجاد شد. از جمله پارامترهای مشتق شده از منحنی کاتسکی که در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت پارامتر F_{vj} (رابطه ۱) بود.

$$F_{vj} = (F_m - F_j) / F_m \quad (1)$$

که F_{vj} : تغییرات نسبی فلورسنس در مرحله J ؛ F_m : فلورسنس حداکثر و F_j : فلورسنس در مرحله J می‌باشند. هم‌چنین، وزن تر بوته‌های زنده مانده چهار هفته پس از سمپاشی از سطح گلدان‌ها قطع و توزین شد.

به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به آزمایش‌های زیست‌سنجی از تجزیه رگرسیون در محیط نرم‌افزار آماری R استفاده شد. این کار به‌وسیله برازش داده‌ها به رابطه‌های چهار پارامتری (رابطه ۲) و سه پارامتری گامپرتز (Gompertz) انجام شد (Knezevic et al., 2007).

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

در این رابطه Y ، میزان پاسخ توده در دُر x ؛ c ، حد پایین منحنی؛ d ، حد بالای منحنی؛ e ، میزان ED_{50} و b شیب نسبی حول نقطه e می‌باشد. در مدل سه پارامتری گامپرتز با حد پایین مساوی صفر، پارامتر c حذف شد. به‌منظور ترسیم سایر شکل‌ها از نرم افزارهای آماری R و SigmaPlot11 استفاده شد. هم‌چنین، از نرم‌افزار PEA Plus برای خروجی گرفتن از داده‌های فلورسنس کلروفیل ثبت شده در زمان آزمایش استفاده شد.

نتایج و بحث

از آن‌جا که پارامترهای متعددی در حین اندازه‌گیری فلورسنس و بررسی تأثیر علف‌کش بر منحنی کاتسکی ثبت می‌شود؛ در این قسمت پارامتری که به بهترین شکل ممکن قادر به توضیح منحنی‌های دُر-پاسخ می‌باشد انتخاب شد. از آن‌جا که عمده تأثیر علف‌کش‌های بازدارنده فتوسنتز در فتوسیستم ۲ در مرحله J (F_{vj}) می‌باشد. بنابراین می‌توان از پارامتر F_{vj} که به احتمال زیاد، تغییرات در انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون در فتوسیستم

هکتار)، R1 (۶۸۴۴/۶۰ گرم ماده مؤثر در هکتار)، R3 (۴۷۷۰/۰ گرم ماده مؤثر در هکتار) و R2 (۳۰۴۱/۰ گرم ماده مؤثر در هکتار) بود. با توجه به میزان حدود اطمینان برآورد شده می‌توان گفت بین سه توده R1، R2 و R3 با یکدیگر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (۰/۰۵ $p \leq$). در حالی که میان توده R4 با سایر توده‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. همچنین توده حساس با همه توده‌ها اختلاف معنی‌دار داشت (۰/۰۵ $p \leq$). به‌طور مشابه، حدود اطمینان ED₅₀ محاسبه شده بر اساس پارامتر F_{vj} نشان داد که توده‌های R1، R2 و R3 با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند. در حالی که بین توده‌های R1 و R4 و میان تمامی توده‌ها و توده حساس اختلاف معنی‌داری بر اساس حدود اطمینان محاسبه شده پارامتر ED₅₀ مشاهده شد (۰/۰۵ $p \leq$) و میزان ED₅₀ محاسبه شده برای توده حساس (۲۴/۴۷) گرم ماده مؤثر در هکتار) حاکی از حساسیت بسیار زیاد توده حساس به آمترین بر اساس پارامتر F_{vj} بود.

در آزمایشی (Cheristensen et al., 2003) بر روی علف هرز خردل سفید (*Sinapis alba* L.) با دو علف‌کش بنتازون و فلوروکلریدون گزارش کردند که ED₅₀ برآورد شده برای وزن خشک گیاهان تیمار شده با بنتازون در آزمایش اول کمتر از ED₅₀ برآورد شده برای پارامتر F_{vj}/F_m بود. در مورد فلوروکلریدون ED₅₀ برآورد شده برای وزن خشک (۳/۲) گرم ماده مؤثر در هکتار) بسیار کمتر از ED₅₀ برآورد شده در آزمایش اول و دوم (۲۱۱ و ۱۹۱ گرم ماده مؤثر در هکتار) برای پارامتر F_{vj}/F_m اندازه‌گیری شده در چهار ساعت پس از تیمار با علف‌کش بود.

۲ را نشان می‌دهد استفاده کرد (Abbaspoor and Streibig, 2007; Christensen et al., 2003).

جدول ۱ خلاصه‌ای از تجزیه رگرسیون اثر علف‌کش آمترین و شکل ۱ منحنی‌های دُز-پاسخ آن‌ها را نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود مقادیر ED₅₀ برآورد شده برای توده‌های حساس و مقاوم، به مراتب کمتر از مقادیر ED₅₀ برآورد شده برای وزن تر توده‌ها ۲۸ روز پس از تیمار با علف‌کش بود. به‌عنوان مثال مقادیر ED₅₀ محاسبه شده برای F_{vj} و وزن تر برای توده حساس به ترتیب ۲۴/۴۷ و ۱۱۳/۲۰ گرم ماده مؤثر در هکتار برآورد شد که نشان‌دهنده حساسیت بسیار زیاد پارامتر F_{vj} در مقایسه با وزن تر نسبت به کاربرد آمترین می‌باشد. در مورد توده‌های مقاوم نیز این روند مشاهده شد. به‌طوری‌که میزان ED₅₀ محاسبه شده برای F_{vj} در دامنه ۱۹۰۹/۸۰-۶۶۸/۳۰ گرم ماده مؤثر آمترین در هکتار بود در حالی که میزان ED₅₀ محاسبه شده بر اساس مقدار علف‌کش مورد نیاز برای ایجاد ۵۰ درصد کاهش در وزن تر دُرنه‌های مقاوم ۱۰۲۸۹-۳۰۴۱ گرم ماده مؤثر آمترین در هکتار برآورد شد (جدول ۱). در مورد توده‌های مقاوم تفاوتی که در پاسخ‌ها مشاهده می‌شود عمدتاً به دلیل ویژگی‌های خاص هر توده از جمله وجود احتمالی مکانیسم‌های مقاومت می‌باشد. از طرفی برخی توده‌ها ممکن است بلافاصله تحت تأثیر تنش ناشی از سمپاشی قرار گرفته ولی پس از گذشت مدت زمانی توانایی بازیابی داشته باشند. با توجه به مقادیر ED₅₀ گزارش شده در جدول ۱ بیشترین مقدار ED₅₀ به ترتیب متعلق به R4 (۱۰۲۸۹) گرم ماده مؤثر در

Table 1. Estimated parameters¹ of gompertz equation (three and four parameter) for fresh weight and f_{vj} parameter of resistant and susceptible *Echinochloa colona* biotypes subjected to ametryn

Population	Parameter	Upper limit	Lower limit	Slope	ED ₅₀ (g ai ha ⁻¹)	Lack of fit test
R1	Fresh weight	1.45±0.052 ²	- ³	0.27±0.036	6844.60±2021.90	0.99 (NS ⁴)
	F _{vj}	0.39±0.015	0.10±0.021	0.77±0.21	1659.70±479.50	0.17 (NS)
R2	Fresh weight	1.83±0.056	-	0.29±0.028	3041.0±732.30	0.054 (NS)
	F _{vj}	0.39±0.009	0.21±0.016	1.97±0.79	1909.80±380.60	0.050 (NS)
R3	Fresh weight	1.62±0.060	-	0.29±0.038	4770.0±1392.20	0.91 (NS)
	F _{vj}	0.44±0.021	-	0.24±0.035	1681.90±711.80	0.31 (NS)
R4	Fresh weight	1.46±0.051	-	0.27±0.037	10289±3011.10	0.93 (NS)
	F _{vj}	0.43±0.022	0.14±0.048	0.42±0.132	668.30±553.30	0.27 (NS)
S	Fresh weight	1.46±0.052	-	0.64±0.074	113.20±16.940	0.10 (NS)
	F _{vj}	0.43±0.013	0.021±0.006	1.87±0.325	24.47±1.471	0.28 (NS)

¹The description of the fitted model is given in the materials and methods section.

²The numbers after the positive and negative sign are standard error.

³Not estimated.

⁴Non Significant (p≤0.05).

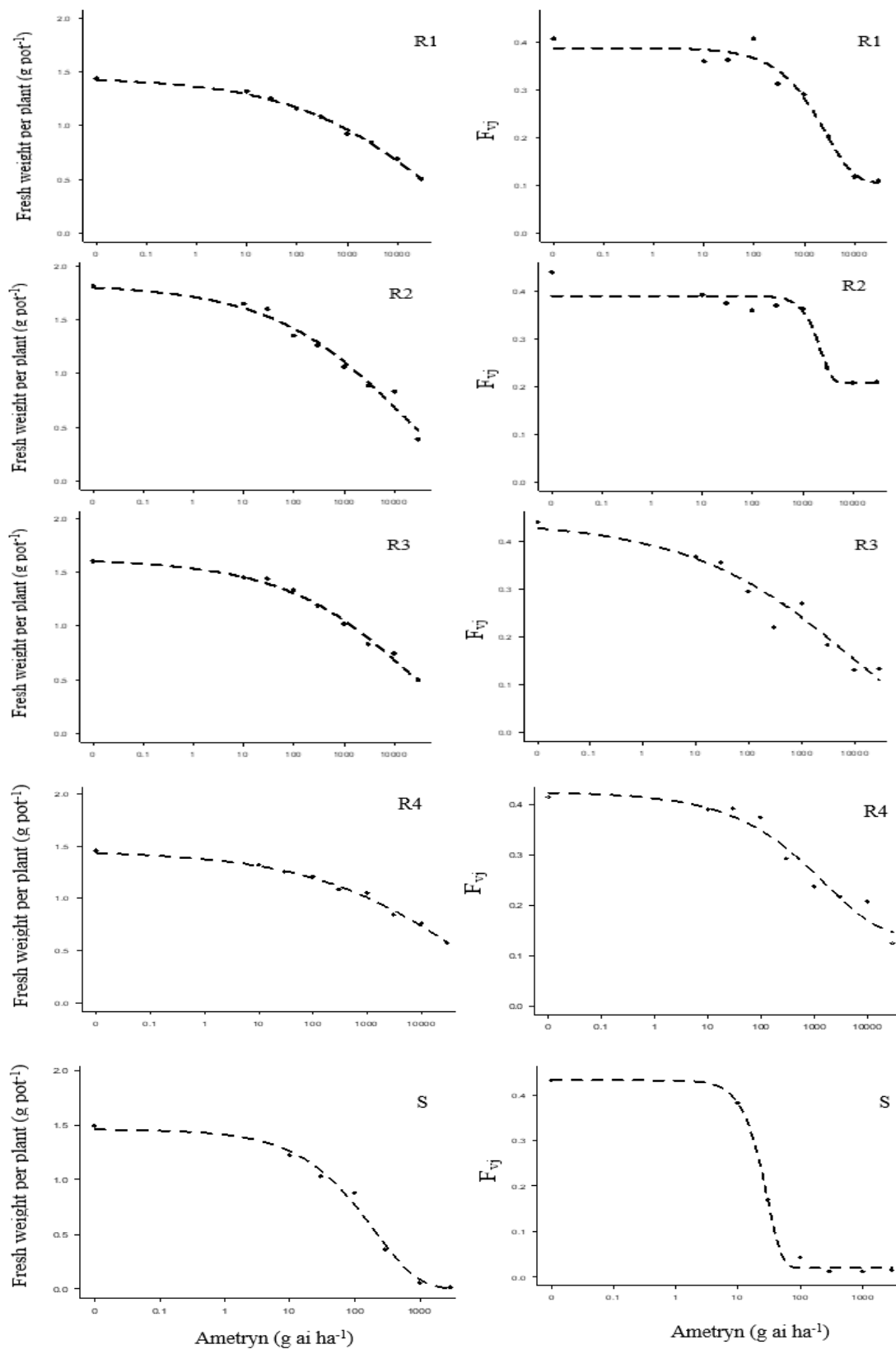


Figure 1. Dose-response curves of fresh weight per plant and F_{vj} parameter of resistant (R4) and susceptible (S) *Echinochloa colona* populations, 28 days and 4 hours after ametryn spraying, respectively

حساس در رابطه با پاسخ توده‌ها به کاربرد علف‌کش از نظر شیب منحنی تفاوت‌هایی مشاهده شد؛ به طوری که شیب منحنی در توده S تندتر بود. در پاسخ توده حساس همبستگی بیشتری میان پارامترهای مذکور مشاهده شد که می‌تواند به دلیل یکنواختی بیشتر در افراد جمعیت توده مذکور باشد. محققین دیگر نیز در تحقیقاتشان همبستگی خوبی میان پارامترهای F_{vj} و وزن خشک گیاهان مورد آزمایش یافتند (Abbaspoor and Streibig, 2007; Christensen et al., 2003).

شکل ۲ همبستگی میان F_{vj} توده‌های حساس و مقاوم، چهار ساعت پس از پاشش آمترین و وزن تر اندازه‌گیری شده ۲۸ روز پس از پاشش را نشان می‌دهد. به طور کلی، رابطه خطی میان پارامتر مذکور و وزن تر توده‌ها نشان‌دهنده همبستگی قوی میان این پارامترها می‌باشد ($p \leq 0.01$). بنابراین، مقادیر پارامتر مورد نظر در چهار ساعت پس از تیمار با علف‌کش توانسته رابطه معنی‌داری را با وزن تر توده‌های مقاوم و حساس در پایان آزمایش نشان دهد. در میان توده‌های مقاوم و

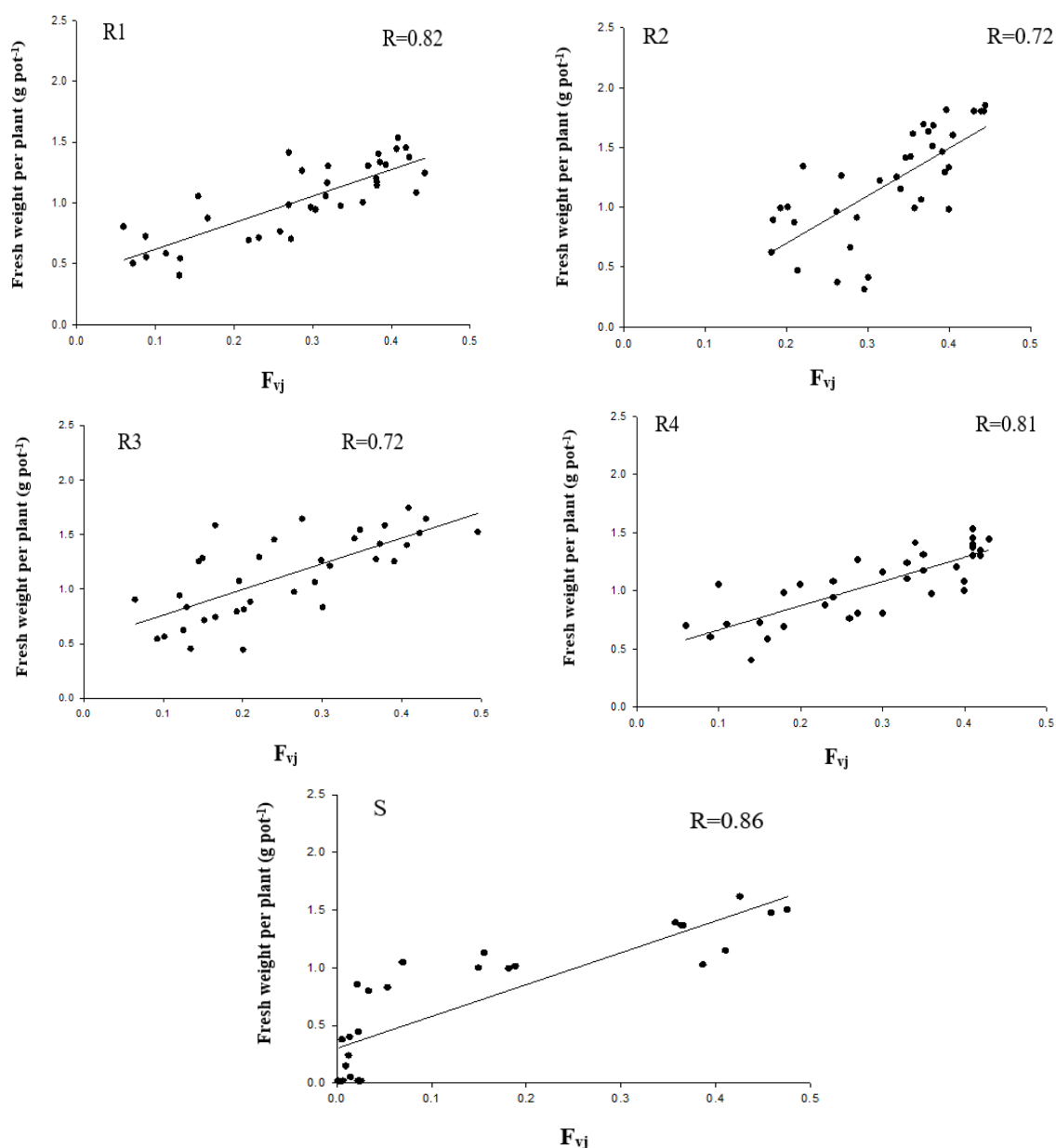


Figure 2. Correlation of fresh weight per plant of resistant and susceptible *Echinochloa colona* populations with F_{vj} parameter after spraying ametryn ($p \leq 0.01$)

به طوری که، نتایج ED_{50} محاسبه شده پارامتر F_{vj} برای توده‌های مقاوم و حساس، به عنوان گزینه جایگزین، مشابه اندازه‌گیری وزن تر بود. به طوری که مقاومترین توده‌ها ($R1$) و ($R4$) بر مبنای اندازه‌گیری وزن تر، در بررسی بر اساس پارامتر F_{vj} نیز مانند سایر توده‌های مقاوم اختلاف معنی‌داری با توده حساس داشتند. هم‌چنین، حساسیت پاسخ توده حساس به کاربرد علف‌کش بر اساس پارامتر F_{vj} بسیار بیشتر از وزن تر بود. رابطه خطی بین پارامتر F_{vj} به عنوان پارامتر حساس فلورسنس کلروفیل نسبت به کاربرد آمتترین و وزن تر توده‌ها نشان‌دهنده همبستگی قوی میان این پارامترها بود. به طوری که پژوهش‌گر را قادر به تشخیص سریع میان توده‌های حساس و مقاوم به علف‌کش‌های مذکور می‌سازد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه فردوسی مشهد در خصوص تأمین گرنت رساله دکتری، تقدیر و تشکر می‌شود.

هم‌چنین (Avarseji and Mohammadvand, 2008) نتیجه گرفتند که پارامتر F_{vj} پارامتر مناسبی به منظور تشخیص حساسیت علف‌های هرز به علف‌کش، قبل از ظهور علائم ظاهری علف‌کش می‌باشد. به طور مشابه، چهار ساعت پس از اعمال دسمدیفام+فنمدیفام + اتوفومیست بر روی دو گونه سلمه‌تره و خرفه، تغییرات نسبی فلورسنس در مرحله $J (F_{vj})$ و مساحت بین منحنی کاتسکی و F_m (Area) به شدت کاهش یافتند (Chitband et al., 2016).

نتیجه‌گیری

به طور کلی، از آن‌جا که یکی از اهداف اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل تشخیص زود هنگام اثرات علف‌کش، قبل از بروز عوارض ظاهری آن در علف هرز می‌باشد؛ بنابراین بایستی میان پارامترهای مذکور و وزن تر یا خشک علف هرز که در روش کلاسیک محاسبه می‌شود همبستگی وجود داشته باشد. نتایج پژوهش، به روشنی، تفاوت میان توده‌های مقاوم و حساس را بر اساس پارامتر ED_{50} محاسبه شده وزن تر و پارامتر F_{vj} نشان داد.

References

- Abbaspoor, M., & Streibig, J. C. (2005). Clodinafop changes the chlorophyll fluorescence induction curve. *Weed Science*, 53(1), 1-9.
- Abbaspoor, M., & Streibig, J. C. (2007). Monitoring the efficacy and metabolism of phenylcarbamates in sugar beet and black nightshade by chlorophyll fluorescence parameters. *Pest Management Science*, 63(6), 576-585.
- Abbaspoor, M., Teicher, H. B., & Streibig, J. C. (2006). The effect of root-obsorbed PSII inhibitors on Kautsky curves parameters in sugar beet. *Weed Research*, 46(3), 226-235.
- Avarseji, Z., & Mohammadvand, E. (2018). Studying the effect of mesosulfuron methyl+iodosulfuron methyl on chlorophyll fluorescence parameters of *Phalaris minor*. *Plant Productions*, 41(3), 63-72. [In Farsi]
- Baker, N. R., & Rosenqvist, E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55(403), 1607-1621.
- Chauhan, B. S., & Johnson, D. E. (2009). Seed germination ecology of junglerice (*Echinochloa colona*): a major weed of rice. *Weed Science*, 57(3), 235-240.
- Christensen, M. G., Teicher, H. B., & Streibig, J. C. (2003). Linking fluorescence induction curve and biomass in herbicide screening. *Pest Management Science*, 59(12), 1303-1310.
- Chitband, A. A., Ghorbani, R., Rashed Mohassel, M. H., & Abbasi, R. (2016). The Effect of PSII Inhibitors on Kautsky Curve and Chlorophyll Fluorescence in Common Lambsquarters (*Chenopodium album* L.) and Common Purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Plant Protections*, 29(4), 540-550. [In Farsi]
- Cobb, A. H., & Reade, J. P. H. (2010). *Herbicides and Plant Physiology*. 2nd ed. Wiley-Blackwell, New York.

- Devine, M. D., & Shukla, A. (2000). Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. *Crop Protection*, 19(8-10), 881-889.
- Elahifard, E., Ghanbari A., Rashed Mohassel M. H., Zand E., Mirshamsi Khakhki A., & Mohkami A. (2013). Characterization of triazine resistant populations of junglerice (*Echinochloa colona* (L.) Link.) found in Iran. *Australian Journal of Crop Science*, 7(9), 1302-1308.
- Elahifard, E., Mijani, S., Kheyrandish, S., Kazerooni Monfared, E., & Tokasi, S. (2013). Investigation of dormancy and the effect of some environmental factors on germination of junglerice (*Echinochloa colona* (L.) Link.) seeds. *Plant Productions*, 27(3), 342-350. [In Farsi]
- Fischer, A. J., Granados, E., & Trujillo, D. (1993). Propanil resistance in populations of junglerice (*Echinochloa colona*) in Colombian rice fields. *Weed Science*, 41(2), 201-206.
- Foes, M. J., Liu, L., Tranel, P. J., Wax, L. M., & Stoller, E. W. (1998). A biotype of common waterhemp (*Amaranthus rudis*) resistant to triazine and ALS herbicides. *Weed Science*, 46(5), 514-520.
- Foes, M. J., Liu, L., Vigue, G., Stoller, E. W., Wax, L. M., & Tranel, P. J. (1999). A Kochia (*Kochia scoparia*) biotype resistant to triazine and ALS-inhibiting herbicides. *Weed Science*, 47(1), 20-27.
- Gadamski, G., Ciarka, D., Gressel, J., & Gawronski, S. W. (2000). Negative cross-resistance in triazine-resistant biotypes of *Echinochloa crus-galli* and *Conyza canadensis*. *Weed Science*, 48(2), 176-180.
- Hoagland, R. E., Norsworthy, J. K., Carey, F., & Talbert, R. E. (2004). Metabolically based resistance to the herbicide propanil in *Echinochloa* species. *Weed Science*, 52(3), 475-486.
- Klem, K., Spundova, M., Hrabalova, H., Naus, J., Vanova, M., Masojidek, J., & Tomek P. (2002). Comparison of chlorophyll fluorescence and whole-plant bioassays of isoproturon. *Weed Research*, 42(5), 335-341.
- Knezevich, I., Streibig, J. C., & Ritz, C. (2007). Utilizing R software Package for dose-response studies: the concept and data analysis. *Weed Technology*, 21(4), 840-848.
- Miles, B. (2003). *Photosystem I and II*. <http://www.tamu.edu/faculty/bmiles/lectures/photosystems.pdf>. (Accessed October 2012)
- Monaco, T. J., Weller, S. C., & Ashton, F. M. (2002). *Weed Science: principles and practices*. 4th ed. John Wiley & Sons, New York.
- Mousavi, M. (2011). *Weed control: Principles and methods*. Tehran: Marze Danesh Press. [In Farsi]
- Park, K. W. & Mallory-Smith, C. A. (2005). Multiple herbicide resistance in downy brome (*Bromus tectorum*) and its impact on fitness. *Weed Science*, 53(6), 780-786.
- Preston, C. (2009). Herbicide resistance: target site mutations. In Stewart, Jr. C.N. (Ed), *Weedy and invasive plant genomics* (pp: 127-148). New York: Wiley- Blackwell.
- Senseman, S. A. (2007). *Herbicide handbook*. Lawrence, USA: Weed Science Society of America.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant physiology*. Sunderland, Massachusetts U.S.A.: Sinauer Associates Inc.
- Tian, X., & Darmency, H. (2006). Rapid bidirectional allele-specific PCR identification for triazine resistance in higher plants. *Pest Management Science*, 62(6), 531-536.
- Valverde, B. E. (2007). Status and management of grass-weed herbicide resistance in Latin America. *Weed Technology*, 21(2), 310-323.