

WYSTĘPOWANIE BIOTYPÓW MIOTŁY ZBOŻOWEJ (*APERASPICA-VENTI* L.) ODPORNEJ NA IZOPROTURON

KAZIMIERZ ADAMCZEWSKI¹, KINGA MATYSIAK, ROMAN KIERZEK

Institut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, ul. W. Węgorka 20, 60-318 Poznań

Synopsis. W latach 2004–2016 zebrano ponad 480 prób nasion miotły zbożowej z różnych rejonów kraju w celu sprawdzenia czy występują biotypy odporne na izoproturon. W warunkach szklarniowych z tymi nasionami wykonano dwa rodzaje badań. W pierwszym etapie zastosowano trzy herbicydy o różnym mechanizmie działania, aplikowane w jednej dawce: chlorosulfuron (Glean 75 WG – 25 g·ha⁻¹), izoproturon (Protugan 500 SC – 3,0 l·ha⁻¹) i fenoksaprop-P-ethyl (Puma Universal 069 EW – 1,0 l·ha⁻¹). Jako standard użyto biotyp wrażliwy pochodzący z terenu nie użytkowanego rolniczo. Z wybranymi 5 biotypami, które wcale lub bardzo słabo reagowały na zastosowany izoproturon wykonano dalsze badania z tym herbicydem w celu określenia współczynnika odporności. Preparat izoproturon zastosowano w 9 dawkach (Protugan 500 SC od 0,125 do 24,0 l·ha⁻¹). Po 4 tygodniach od zabiegu określono świeżą masę części nadziemnych. Uzyskanie 50% zniszczenia roślin odpornych na izoproturon miotły zbożowej wymagało użycia od 466 g·ha preparatu dla biotypu R4 do 3930 g·ha⁻¹ dla biotypu R1. Natomiast dla 50% zwalczania biotypu wrażliwego (S) wystarczyło zastosowanie 43 g·ha⁻¹ izoproturonu. Trzy z badanych biotypów (biotyp R1, R2, R5) okazały się bardziej odporne niż pozostałe dwa biotypy (biotyp R3, R4). Współczynnik odporności biotypu R2, R5 i R1 kształtował się od 50,8 do 91,4. Natomiast dla pozostałych dwóch biotypów był znacznie niższy i wynosił dla biotypu R4 – 10,8 a dla biotypu R3 – 15,2.

Słowa kluczowe: *Apera spica-venti*, odporność, herbicyd izoproturon

WSTĘP

Do powszechnie występujących chwastów trawiastych z rodziny wiechlinowatych (Poaceae) w zbożach ozimych, szczególnie w latach wilgotnych, należy miotła zbożowa (*Apera spica-venti* L.). Gatunek ten występuje przede wszystkim w Europie środkowej i północnej. Miotłę zbożową można także spotkać w Kanadzie, dokąd przywędrowała ona z Europy. W rejonie południowo-wschodniej Kanady, na południu prowincji Ontario, gatunek ten znalazł doskonałe warunki do wzrostu i rozwoju [Warwick i in. 1985, 1987] i tam występuje dość powszechnie. W innych rejonach globu nie stwarza ona poważnego problemu.

Do zwalczania miotły zbożowej zarejestrowanych jest w Polsce kilka herbicydów o różnym mechanizmie działania, jak inhibitory aminokwasów syntazy acetylomleczanowej (ALS), inhibitory fotosyntezy fotosystemu II, jak np. izoproturon oraz inhibitory karboksylazy aceto-CoA (ACCazy). Najczęściej stosowaną grupą chemiczną spośród inhibitorów ALS są herbicydy sulfonilomocznikowe. Powszechność stosowania inhibitorów aminokwasów syntazy acetylomleczanowej (ALS) miała ogromny wpływ na pojawienie się biotypów miotły zbożowej odpornej na tą grupę chemiczną herbicydów, które można spotkać na terenie całego kraju [Adamczewski 2014, Adamczewski i Kierzek 2007, Marczevska i Rola 2005]. W Polskiej literaturze rolniczej brak jest informacji na występowanie biotypów miotły zbożowej odpornej na izoproturon.

¹ Adres do korespondencji – *Corresponding address*: K.Adamczewski@iorpib.poznan.pl

Pierwsze odporne biotypy miotły zbożowej na izoproturon w Europie zanotowano w Szwajcarii, Niemczech i Szwecji [Bohren i in. 2006, Mayor i Maillard 1995, Niemann 2000].

Celem podjętych badań było sprawdzenie czy i w jakich rejonach Polski występują biotypy miotły zbożowej odporne na inhibitory fotosyntezy fotosystemu II, jak izoproturon.

MATERIAŁ I METODY

W latach 2004–2016 przeprowadzono badania monitoringowe nad występowaniem odporności miotły zbożowej na herbicydy. W tym okresie zebrano z różnych rejonów kraju ponad 480 prób do badań z prawie 500 pól zbóż ozimych, głównie pszenicy ozimej. Wiechy miotły zbożowej zbierano na początku lipca z pól, na których mimo stosowania herbicydów gatunek ten był bardzo słabo zwalczany, a zboża uprawiane były w monokulturze lub w zmianowaniu z przewagą zbóż ozimych. Przy wyborze kierowano się historią pól i informacją, jakie stosowano herbicydy i co mogło być przyczyną słabego zwalczania tego chwastu. Próby zbierano z wielu miejsc tak, aby reprezentowały całe pole lub miejsca, gdzie zanotowano słabe działanie herbicydów. W jednej próbie znajdowało się ponad 50 wiech miotły zbożowej. W czasie zbierania prób zwracano uwagę, aby nie zbierać z roślin występujących na omijkach i uwrociach. Próby zebrane były przez pracowników IOR-PIB, firmy produkujące środki ochrony roślin, jak Syngenta, Dow AgroSciences oraz dystrybutorów środków ochrony roślin, jak ProCam i Agrii.

W laboratorium ziarniaki (nasiona) zostały oddzielone od wiech i oczyszczone. Następnie umieszczono je na okres 1 tygodnia w lodówce w temperaturze około -5°C celem przerwania okresu spoczynku. Tak przygotowane nasiona były przedmiotem badań w warunkach szklarniowych dla określenia odporności na herbicydy. Do doniczek o pojemności 0,5 l i średnicy 9 cm wypełnionych glebą ogrodniczą wymieszaną z piaskiem w stosunku 3:1 wysiewano po około 20–30 sztuk ziarniaków. Po wschodach rośliny przerywano, zostawiając po około 15 sztuk w doniczce. Na tym etapie badań stosowano trzy herbicydy o różnym mechanizmie działania, aplikowane w jednej dawce: chlorosulfuron (Glean 75 WG – $25\text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$), izoproturon (Protugan 500 SC – $3,0\text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$) i fenoksaprop-P-ethyl (Puma Universal 069 EW – $1,0\text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$). Zabieg opryskiwania wykonano w fazie 2–4 liści miotły zbożowej. Ocenę działania w skali procentowej wykonano 2-krotnie: 2 i 4 tygodnie po zabiegu. Na tej podstawie wybrano 5 biotypów, które wcale lub bardzo słabo reagowały na zastosowany herbicyd izoproturon. Biotypy te pochodziły z następujących miejscowości: Mała Sucha koło Kolbudy powiat gdański (R1), Gromki powiat kętrzyński (R2), Tomaszkowo powiat olsztyński (R3), Równina Górna powiat kętrzyński (R4), Węgowo powiat iławski (R5). Jako standard użyto biotyp wrażliwy pochodzący z terenu nie użytkowanego rolniczo z Winnej Góry lub z Strzeszyna. Z tymi biotypami wykonano badania celem określenia współczynnika odporności na izoproturon. Po wschodach rośliny przerywano pozostawiając w doniczce po 12 sztuk. Zabieg opryskiwania herbicydem wykonano opryskiwaczem szklarniowym w fazie 2–4 liści roślin używając rozpylaczy TeeJet TT 11002 i stosując ciśnienie 3 bary, a wydatek cieczy roboczej wynosił $250\text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$. Preparat izoproturon zastosowano w 9 dawkach (Protugan 500 S.C. – 0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 16,0; $24,0\text{ l}\cdot\text{ha}^{-1}$). Temperatura w szklarni wynosiła $20\text{--}25^{\circ}\text{C}$, a długość dnia i nocy 16/8 godzin. Ocenę bonitacyjną działania w skali procentowej wykonano 2-krotnie: 2 i 4 tygodnie po zabiegu. Ponadto po 4 tygodniach od zabiegu określono świeżą masę części nadziemnych.

Jako efekt działania izoproturonu na miotłę zbożową przyjęto biomasa roślin. Wyniki biomasy roślin przedstawiono w procentach przyjmując obiekt kontrolny (bez zabiegu) jako 100. Uzyskane dane w procentach oceniono statystycznie, wykonując analizę regresji logistycznej.

Analizę statystyczną wykonano przy pomocy programu komputerowego XL Stat-Pro 2015. Dla każdego biotypu określono nie liniową krzywą regresji, przy poziomie ufności 0,05%. Program ten automatycznie wykreśla krzywą oraz wylicza dawkę efektywną (ED_{50}), powodującą 50% redukcji biomasy roślin. Na tej podstawie określono współczynnik odporności, który jest stosunkiem dawki powodującej 50% redukcji zielonej masy roślin biotypu odpornego i dawki wywołującej podobny efekt u roślin biotypu wrażliwego.

WYNIKI I DYSKUSJA

W latach 2004–2016 zebrano ponad 480 prób nasion miotły zbożowej. Liczba prób zebrana w poszczególnych latach była różna. Wykonane w pierwszym etapie badania wykazały, że niektóre biotypy z zebranych przeszło 480 prób nie były zwalczane przez izoproturon. Wykonane z 5 próbami doświadczenia szklarniowe wykazały różną reakcję na zastosowany izoproturon. Biotyp R1, R2, R3, R4 i R5 miotły zbożowej były bardzo słabo zwalczane przez izoproturon (rys. 1 i 2). Skuteczne zwalczanie tego chwastu uzyskano dopiero po zastosowaniu dawek wysokich, powyżej $8000 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ izoproturonu. Uzyskanie 50% zniszczenia roślin odpornych na izoproturon miotły zbożowej wymagało użycia od $466 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ preparatu dla biotypu R4 do $3930 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ dla biotypu R1 (tab. 1). Natomiast dla 50% zwalczania biotypu wrażliwego (S) wystar-

Tabela 1. Parametry dotyczące wrażliwego (S) i odpornych (R1, R2, R3, R4, R5) biotypów *A. spica-venti* na izoproturon

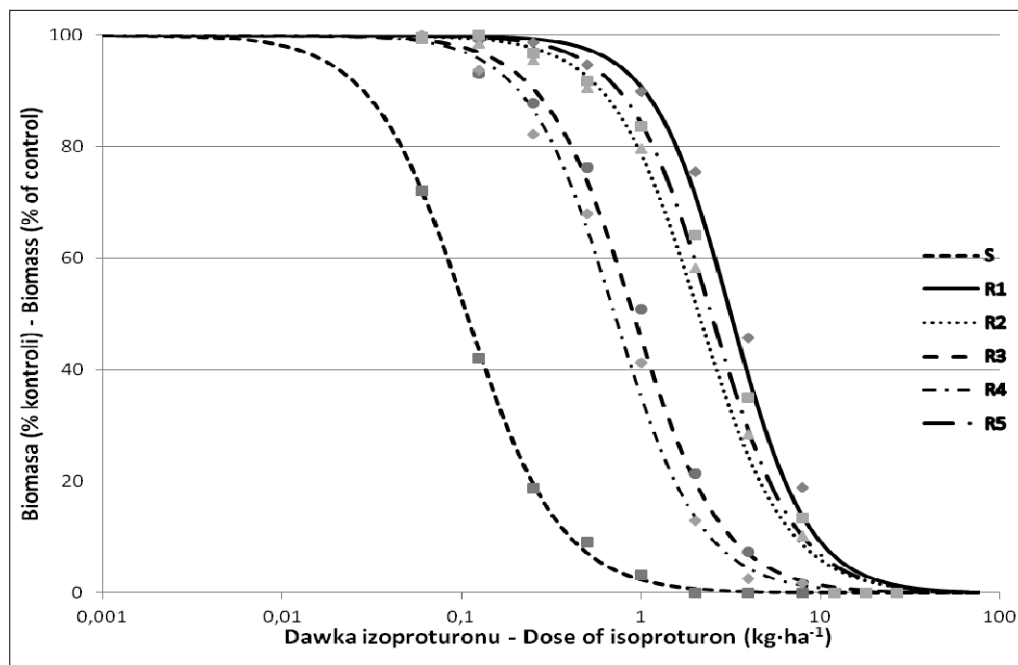
Table 1. Detection parameters of susceptible (S) and resistant (R1, R2, R3, R4, R5) biotypes of *A. spica-venti* to isoproturon

Biotypy Biotypes (Locality)	Parametry odporności – Detection parameters				
	Błąd standardowy Standard error	ED50	Granica błędu Limit of error		R/S*
			Dolna Lower	Górna Upper	
R1 (Mała Sucha)	0,111	3,930	3,628	4,266	91,4
R2 (Gromki)	0,095	2,184	2,002	2,380	50,8
R3 (Tomaszkowo)	0,096	0,654	0,594	0,717	15,2
R4 (Równina Górna)	0,101	0,466	0,421	0,511	10,8
R5 (Węgowo)	0,101	2,748	2,527	2,989	63,9
S (Standard)	0,128	0,043	0,035	0,051	1,0

*R/S – współczynnik odporności / resistance index

Dolna i górna granica przy 95% prawdopodobieństwa / Lower and upper bound at 95% of probability in parentheses

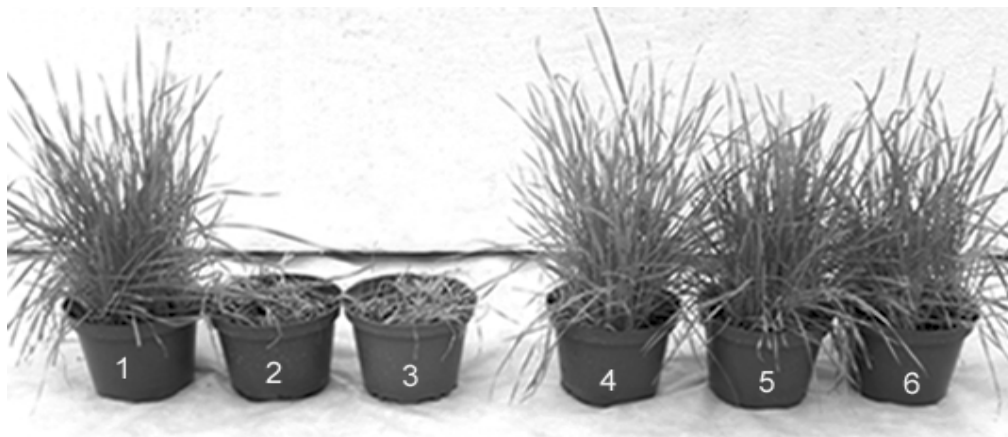
czyło zastosowanie $43 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ tego herbicydu. Trzy z badanych biotypów (biotyp R1, R2, R5) okazały się bardziej odporne niż pozostałe dwa biotypy (biotyp R3, R4) (rys. 1). Na rysunku 2 przedstawiono działanie izoproturonu na biotyp wrażliwy (S) i na odporny biotyp R1. Współczynnik odporności biotypu R2, R5 i R1 kształtował się od 50,8 do 91,4 (tab. 1). Natomiast



Rys. 1. Wpływ izoproturonu na ubytek świeżej masy roślin biotypów odpornych (R1, R2, R3, R4, R5) i biotypu wrażliwego (S) *Apera spica-venti*

Fig. 1. The effect of isoproturon on fresh-weight reduction of resistant (R1, R2, R3, R4, R5) and susceptible (S) biotypes of *Apera spica-venti*

dla pozostałych dwóch biotypów był znacznie niższy i wynosił dla biotypu R4 – 10,8 a dla biotypu R3 – 15,2. Dane te wskazują na inny mechanizm odporności na izoproturon 5 badanych biotypów. Należy przypuszczać, że odporność na izoproturon biotypów R1, R2 i R5 ma charakter mutacyjny (target site). Znacznie niższe współczynniki odporności dla biotypów R3 i R4 sugerują na odporność typu metabolicznego (non target site). Jednak potwierdzeniem takiej tezy byłyby badania molekularne z tymi biotypami. W dostępnej literaturze nie znaleziono informacji jaki mechanizmu odporności na izoproturon wykazuje miotła zbożowa. Wynika to prawdopodobnie z faktu, że odporność miotły zbożowej na izoproturon nie jest tak powszechna jak herbicydów sylfonylomocznikowych (inhibitorów aminokwasów syntazy acetylomleczanowej). Dlatego zainteresowanie wyjaśnieniem mechanizmu odporności miotły zbożowej na tą substancję aktywną nie jest duże. Jak wskazują dane literaturowe [Adamczewski i Matysiak 2012, Hamouzova i in. 2011, Krysiak i in. 2011a, Massa i in. 2011] stopień odporności miotły zbożowej na inhibitory syntazy acetylomleczanowej (ALS) zależy od mechanizmu odporności. Biotypy bardziej odporne charakteryzują się odpornością w miejsce działania (target site). Natomiast biotypy o mniejszym stopniu odporności charakteryzuje odporność nie związana z miejscem działania (non target site). Podobna zależność występuje także w przypadku odporności wyczyńca polnego na herbicydy sulfonylomocznikowe [Adamczewski i in. 2016, Krysiak i in. 2011b]. Być może taka zależność ma miejsce także w przypadku odporności miotły zbożowej na izoproturon.



1-3 – biotyp wrażliwy/susceptible biotype (S); 4-6 – biotyp odporny/resistant biotype (R1), 1 i 4 – kontrola (bez zabiegu)/1 and 4 – untreated (control)

2 i 5 – dawka zalecana izoproturonu/recommended dose of isoproturon, 1250 g·ha⁻¹

3 i 6 – dawka 4-krotna izoproturonu, dose 4-times higher of isoproturon, 5000 g·ha⁻¹

Rys. 2. Wpływ izoproturonu na biotyp wrażliwy (S) i odporny (R1) *Apera spica-venti*
Fig. 2. Influence of isoproturon on susceptible (S) and resistant (R1) biotypes of *Apera spica-venti*

PODSUMOWANIE

Są to pierwsze wyniki badań dotyczące występowania odporności miotły zbożowej na izoproturon w Polsce. Stwierdzono występowanie biotypów miotły zbożowej odpornej na izoproturon w północnej części Polski. Czyli w rejonach gdzie występują duże gospodarstwa i przez wiele lat do zwalczania miotły zbożowej stosowane były herbicydy zawierając izoproturon. Trzy z pięciu biotypów, biotyp R1, R2 i R5, charakteryzowały się bardzo dużym współczynnikiem odporności na izoproturon. Natomiast współczynnik odporności dla biotypów R3 i R4 był znacznie mniejszy. Co wskazuje na zróżnicowany mechanizm odporności miotły zbożowej na izoproturon. Uzyskane wyniki wskazują na wzrost występowania odpornych biotypów miotły zbożowej na herbicydy nie tylko z grupy sulfonilomocznikowej.

PIŚMIENNICTWO

- Adamczewski K. 2014. Odporność chwastów na herbicydy. PWN, ss. 276.
- Adamczewski K., Kierzek R. 2007. Występowanie biotypów miotły zbożowej (*Apera spica-venti* L.) odpornej na herbicydy sulfonilomocznikowe. Prog. Plant Prot. 47(3): 333–340.
- Adamczewski K., Kierzek R., Matysiak K. 2016. Multiple resistance to acetolactate synthase (ALS)- and acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCCase)- inhibiting herbicides in black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) populations from Poland. J. Plant Prot. Res. 56(4): 402–410.

- Adamczewski K., Matysiak K. 2012. The mechanism of resistance to ALS-inhibiting herbicides in biotypes of wind bent grass (*Apera spica-venti* L.) with cross and multiple resistance. Pol. J. Agron. 10: 3–8.
- Adamczewski K., Wagner J., Kierzek R. 2010. The quantification of the target-site resistance to mesosulfuron/jodosulfuron in a black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) biotype with a Pro197-to-His mutation from a winter wheat field in Poland using pot test and Petri dish assay. Proceed. 15th European Weed Research Society Symposium. Kaposvar, Hungary, 12–15 July 2010, p. 24.
- Bohren Ch., Mermillod G., Delabays N. 2006. First case of resistance to sulfonylurea herbicides reported in Switzerland: A biotype of loopy silk-bent (*Apera spica-venti* L.). Agrarforschung Schweiz 13(3): 120–125.
- Hamouzova K., Salava J., Soukup J., Chodova D., Kosnarova P. 2011. Weed resistance to herbicides in the Czech Republic: history, occurrence, detection and management. In: Herbicides – mechanisms and mode of action. Hasaneen M.N. (eds.). In Tech, 83–102.
- Krysiak M., Gawroński S., Adamczewski K., Kierzek R. 2011a. ALS gene mutations in *Apera spica-venti* confer broad-range resistance to herbicides. J. Plant Prot. Res. 51(3): 261–267.
- Krysiak M., Gawroński S., Kierzek R., Adamczewski K. 2011b. Molecular basis of blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) resistance to sulfonylurea herbicides. J. Plant Prot. Res. 51(2): 130–133.
- Marczewska K., Rola H. 2005. Biotypes of *Apera spica-venti* and *Centaurea cyanus* resistant to chlorsulfuron in Poland. 13th EWRS Symposium, Bari 19–23 June 2005, p. 197.
- Massa D., Krenz B., Gerhads R. 2011. Target-site resistance to ALS-inhibiting herbicides in *Apera spica-venti* populations in conferred by documented and previously unknown mutations. Weed Res. 51: 294–303.
- Mayor J., Maillard A. 1995. A new phenylurea resistant weed in Switzerland: *Apera spica-venti*. Proceed. Int. Symposium, Weed and Crop Resistance to Herbicides. De Prado R., Jorin J., Garcia-Torres L., Marshall G. (eds.). Cordoba, Spain, 26–29.
- Niemann P. 2000. Resistance of silky bentgrass (*Apera spica-venti*) against Isoproturon. Mitt. Biol. Bund. Land- und Forstwirtschaft 376: 147–148.
- Warwick S.I., Black L.D., Zilkey B.F. 1985. Biology of Canadian weeds. 72. *Apera spica-venti*. Can J. Plant Sci. 65: 711–721.
- Warwick S.I., Thompson B.K., Black L.D. 1987. Genetic variation in Canadian and European populations of the colonizing weed species *Apera spica-venti*. New Phytol. 106: 301–317.

K. ADAMCZEWSKI, K. MATYSIAK, R. KIERZEK

APPEARANCE *APERERA SPICA-VENTI* BIOTYPE RESISTANCE TO ISOPROTURON HERBICIDE

Summary

In the years 2004–2016 more than 500 seed samples of *Apera spica-venti* were collected from different regions of the country. The aim of this study was to assess whether these biotypes are resistant to isoproturon. Two types of experiments with harvested seeds were carried out in greenhouse conditions. At first screening test 3 herbicides with different mode of action were used at recommended dose: chlorsulfuron (Glean 75 WG – 25 g·ha⁻¹), isoproturon (Protugan 500 SC – 3.0 l·ha⁻¹) and fenoxaprop-P-ethyl (Universal Puma 069 EW – 1.0 l·ha⁻¹). As a standard sensitive biotype was used. In the experiment 5 biotypes were not controlled by isoproturon and they were used in next experiment. In the second stage of the experiment determine the coefficient of resistance to isoproturon was performed. Isoproturon at 9 doses were used (Protugan 500 SC from 0.125 to 24.0 l·ha⁻¹). After 4 weeks from the treatment fresh weight of plants was estimated. Received of 50% of control *A. spica-venti* plants resistant to isoproturon requires the use of 466 g for the biotype R4 to 3930 g·ha⁻¹ for biotype R1 of this herbicide. In contrast, to obtain of 50% of control sensitive biotype was enough to use 43 g·ha⁻¹ of isoproturon. Three of the tested biotypes

(R1, R2, R5) have proved to be more resistant than the other two biotypes (R3, R4). Biotype coefficient of resistance R2, R5, and R 1 ranged from 50.8 to 91.4. While for the other two biotypes was much lower and amounted to biotype R4 – 10.8 and for biotype R3 – 15.2.

Key words: *Apera spica-venti*, resistance, isoproturon herbicide

Zaakceptowano do druku – *Accepted for print*: 27.04.2017

Do cytowania – *For citation*

Adamczewski K., Matysiak K., Kierzek R. 2017. Występowanie biotypów miotły zbożowej (*Apera spica-venti* L.) odpornej na izoproturon. *Fragm. Agron.* 34(3): 7–13.