

نشریه علمی - پژوهشی حفاظت گیاهان

(علوم و صنایع کشاورزی)



شماره ۳

جلد ۳۱

سال ۱۳۹۶



Vol.31

No.3

2017

Journal of Plant Protection

(Agricultural Science and Technology)

ISSN:2008-4749

شماره پیاپی: ۳۷

عنوان مقالات

- شناسایی گونه‌های تریکودرما با استفاده از توالی‌یابی جزئی ژن‌های nrRNA و *tefa* همراه با معرفی *Trichoderma capillare* برای میکوفلور ایران ۳۱۲
مهدی مهربانی کوشکی - مریم باورساد - رضا فرخی نژاد
- کنش پیوسته برخی از مهمترین پهن برگ‌کش‌های قابل کاربرد در مزارع چغندرقد (Beta vulgaris L.) ایران ۳۷۴
علی اصغر چیت بند - رضا قربانی - محمدحسن راشد محصل - محبوبه نبی زاد
- ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی گیاه مهاجم گل‌گندم (Centaurea balsamita L.) خوسرمایی شده با شرایط پایزه ۳۸۸
عباس عباسیان - قربانعلی اسدی - رضا قربانی
- تأثیر تاریخ کاشت و تراکم بر شاخص‌های رشد گونه‌ها و عملکرد در مزرعه سویا ۳۹۶
حبیبه سلطانی - علی قنبری - مهدی راستگو - قربانعلی اسدی
- کنترل شیمیایی علف‌های هرز در مزارع زعفران (Crocus sativus L.) ۴۰۹
مجید عباس پور
- تغییرات سالیانه جمعیتی لاروهای پروانه جوانه‌خوار بلوط (Tortrix viridana L.) روی دو گونه بلوط دارمازو (*Quercus infectoria* Oliv.) و ویول (*Q. libani* Lindl.) در استان آذربایجان غربی ۴۲۰
محمد رضا زرگران - محمد جمشیدی - سید رستم موسوی میرکلا
- بررسی بعضی از عوامل اکولوژیکی جوانه‌زنی بذر علف‌هرز قیاق (Sorghum halepense (L.) PERS.) ۴۳۳
مهدی مجاب - مجتبی حسینی - مجید کریمیان کلشادرخی
- ارزیابی مقاومت نسبی ۰ ژنوتیپ پاک‌تاه محلب به چهار گونه‌ی فیتوفتورا در گلخانه و باغ ۴۴۵
محمد حاجیان شهری - ابراهیم گنجی مقدم - حمید افضلی
- مقاومت عرضی منفی در توده‌های علف‌هرز دزنه (*Echinochloa colona* (L.) Link) مقاوم به آترازین در مزارع نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) ۴۵۶
الهام الهی فرد - نرگس شمشیرگرزاده - علیرضا ابدالی مثنهدی - محمدرضا مرادی تلاوت
- غریب‌الگری ارقام خیار مقاوم به سفیدک پودری و بررسی مقایسه‌ای فلورسانس کلروفیل در ارقام حساس و مقاوم ۴۶۶
نامدار مرادی - حشمت ا... رحیمیان - علی دهستانی - ولی ا... بابایی زاد - یاسر یعقوبیان
- اثر کودهای آلی در تراکم جمعیت نماتد سیستی چغندرقد 87 *Heterodera schachtii* Schmidt ۴۷۵
ندا هلالات - مهدی نصر اصفهانی - مجید اولیا
- شناسایی مولکولی قارچ‌های تولید کننده ۸-کتو تریکوتسین همراه با بذر روناس و ردیابی ژن‌های سنتز کننده دی‌اکسی نیوالنول در آنها با استفاده از PCR ۴۸۸
سید علیرضا اسمعیل زاده حسینی - محمود دهقانی اشکذری - مصطفی عابدی نیزکی
- بررسی اثر حشره‌کشی عصاره دانه زیتون تلخ و پوست لیموترش روی شته مومی کلم (*Brevicoryne brassicae* L.) ۴۹۶
مریم پهلوان یلی - محسن محمدی انابی
- معرفی حشره‌کش دیفلوبنزورون (دیمیلین® SC8%) برای کنترل کرم سیب ۵۰۵
محمد ولی تقدسی - محمد رحیم معینی - غلامعلی اکبرزاده شوکت - هاشم کمالی - رونوف کلیایی

ادامه فهرست داخل جلد

Contents

- Identification of *Trichoderma* Species Using Partial Sequencing of nrRNA and *tefa* Genes with Report of *Trichoderma capillare* in Iran Mycoflora 67
M. Mehrabi-Koushki - M. Bavarsad- R. Farokhinejad
- Joint Action of Some Usable Important Broadleaf Herbicides in Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) in Iran 69
A.A. Chitband - R. Ghorbani- M.H. Rashed Mohassel- M. Nabizade
- Survey the Effect of Mycorrhiza and Azospirillum of Wheat Cultivars Resistance in Yellow Rust 71
A. Abbasian - Gh. Asadi- R. Gorbani
- Surveying the Effects of Planting Date and Density on Species Growth Indices and Yield in the Field of Soybean 72
H. Soltani - A. Ghanbari- M. Rastgoo- G. A. Asadi
- Chemical Weed Control in Saffron (*Crocus sativus* L.) Fields 73
M. Abbaspour
- Annual Populational Dynamism of Oak Leaf Roller (*Tortrix viridana* L.) Larvae on *Quercus infectoria* Oliv. and *Q. libani* Lindl. in West-Azerbaijan Province 75
M. R. Zargarani - M. Jamshidi- S. R. Mousavi Mirkola
- Study of Some Ecological Factors on Seed Germination of Johnsongrass (*Sorghum halepense* (L.) PERS.) 77
M. Mojab - M. Hosseini- M. Karimian Klisadrokhi
- Evaluation of Relative Resistance in Thirty Dwarf Mahaleb Genotypes to Four Phytophthora Species in the Greenhouse and Garden 79
M. Hajian Shahri - E. Ganji Moghaddam - H. Afzali
- Negative Cross Resistance in Atrazine Resistant Junglerice (*Echinochloa colona* (L.) Link) Populations in Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Fields 81
E. Elahifard - N. Shamshegarzadeh- A. R. Abdali Mashhadi- M. R. Moradi Telavat
- Screening of Cucumber Cultivars Resistant to Powdery Mildew and Comparative Assessment of Chlorophyll Fluorescence in Resistant and Susceptible Cultivars 83
N. Moradi - H. Rahimian- A. Dehestani- V. Babaeizad- Y. Yaghoobian
- Effect of Organic Manure on Sugar Beet Cyst Nematode Population Densities of *Heterodera schachtii* Schmidt 87 85
N. Helalat - M. Nasr Esfahani- M. Olia
- Molecular Identification of 8-ketoTrichothecene Producing Fungi in Madder Seeds and Detection of Their Deoxynivalenol Synthesis Gene Using PCR 86
S. A. Esmailzadeh Hosseini - M. Dehghani Ashkezari- M. Abedi-Tizaki
- Studying the Insecticidal Effects of *Melia azedarach* and *Citrus limonum* Extracts on Greenbug (*Schizaphis graminum* Rondani) and Cabbage Aphid (*Brevicoryne brassicae* L.) 88
M. Pahlavan Yali - M. Mohammadi Anaii
- Introduction of Diflubenzuron (Dimilin SC 8% ®) Against Codling Moth, *Cydia pomonella* L. (Lep.: Tortricidae) 90
M. V. Taghaddosi - M. R. Moeini - H. Kaamli - Q. A. Akbarzadeh Shokat - R. Koliaeii

Continue Content in Cover

نشریه علمی - پژوهشی
حفاظت گیاهان

جلد ۳۱
شماره ۳
سال ۱۳۹۶

2017

No.3
Vol.31

Journal of Plant Protection

نشریه حفاظت گیاهان

(علوم و صنایع کشاورزی)

با شماره پروانه 21/2015 و درجه علمی - پژوهشی شماره 26524 از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
68/4/11 73/10/19

جلد 31 شماره 3 پاییز 1396

صاحب امتیاز:

دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول:

رضا ولی زاده

سرمدیر:

راشد محصل، محمد حسن

اعضای هیات تحریریه:

استاد - بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه تهران - کرج)	اخوت، سید محمود
دانشیار - بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه تربیت مدرس تهران)	پور جم، ابراهیم
استاد - بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)	جعفر پور، بهروز
استاد - حشره شناسی (دانشگاه صنعتی اصفهان)	حاتمی، بیژن
استاد - علوم علف های هرز (دانشگاه فردوسی مشهد)	راشد محصل، محمد حسن
محقق، اکولوژی حشرات، تگزاس	راشد محصل، آرش
حشره شناس، مدیر کلکسیون بالپولکداران، موزه ایالتی تاریخ طبیعی اشتوتگارت (آلمان)	رجائی، حسین
استاد - حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)	صادقی نامقی، حسین
استاد - حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه گیلان)	صحراگرد، احد
استاد - بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)	مرعشی، سید حسن
استاد - بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)	مهدیخانی مقدم، عصمت
استاد - ژنتیک مولکولی گیاهی (موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج)	مظفری، جواد

چاپ: چاپ و تکثیر نفیس

ناشر: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

نشانی: مشهد - کد پستی 91775 صندوق پستی 1163

دانشکده کشاورزی - دبیرخانه نشریات علمی - نشریه حفاظت گیاهان

پست الکترونیکی جهت مکاتبات: Jpp1@um.ac.ir نمابر: 0511-8787430

این نشریه در پایگاههای زیر نمایه شده است:

پایگاه استنادی علوم ایران (ISC) پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID) بانک اطلاعات نشریات کشور (MAGIRAN)

مقالات این شماره در سایت <https://jm.um.ac.ir> به صورت مقاله کامل نمایه شده است .

این نشریه به تعداد 4 شماره در سال چاپ و منتشر می شود.

مندرجات

صفحه	عنوان مقاله
362	شناسائی گونه‌های تریکودرما با استفاده از توالی یابی جزئی ژن‌های nrRNA و <i>tefa</i> همراه با معرفی <i>Trichoderma capillare</i> برای میکوفلور ایران
374	مهدی مهربانی کوشکی - مریم باورساد - رضا فرخی نژاد
388	کنش پیوسته برخی از مهمترین پهن برگ‌کش‌های قابل کاربرد در مزارع چغندر قند (<i>Beta vulgaris</i> L.) ایران
396	علی اصغر چیت بند - رضا قربانی - محمدحسن راشدمحصل - محبوبه نبی زاد
409	ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی گیاه مهاجم گل‌گندم (<i>Centaurea balsamita</i> L.) خوسرمایی شده با شرایط پاییزه
420	عباس عباسیان - قربانعلی اسدی - رضا قربانی
433	تأثیر تاریخ کاشت و تراکم بر شاخص‌های رشد گونه‌ها و عملکرد در مزرعه سویا
445	حبیبه سلطانی - علی قنبری - مهدی راستگو - قربانعلی اسدی
456	کنترل شیمیایی علف‌های هرز در مزارع زعفران (<i>Crocus sativus</i> L.)
466	مجید عباس پور
475	تغییرات سالیانه جمعیتی لاروهای پروانه جوانه‌خوار بلوط (<i>Tortrix viridana</i> L.) روی دو گونه بلوط دارمازو (<i>Quercus infectoria</i> Oliv.) و بوبل (<i>Q. libani</i> Lindl.) در استان آذربایجان غربی
488	محمد رضا زرگران - محمد جمشیدی - سید رستم موسوی میرکلا
505	بررسی بعضی از عوامل اکولوژیکی جوانه‌زنی بدر علف‌هرز قیاق (<i>Sorghum halepense</i> (L.) PERS.)
511	مهدی مجاب - مجتبی حسینی - مجید کریمیان کلشادرخی
518	ارزیابی مقاومت نسبی 0 ژنوتیپ پاکوتاه محلب به چهار گونه‌ی فیتوفتورا در گلخانه و باغ
527	محمد حاجیان شهری - ابراهیم گنجی مقدم - حمید افضلی
536	مقاومت عرضی منفی در توده‌های علف‌هرز ذرنه (<i>Echinochloa colona</i> (L.) Link) مقاوم به آترازین در مزارع نیشکر (<i>L. Saccharum officinarum</i>)
546	الهام الهی فرد - نرگس شمشیرگرزاده - علیرضا ابدالی مشهدی - محمدرضا مرادی تلاوت
555	غربالگری ارقام خیار مقاوم به سفیدک پودری و بررسی مقایسه‌ای فلورسانس کلروفیل در ارقام حساس و مقاوم
564	نامدار مرادی - شمت ... رحیمیان - علی دهستانی - ولی ... بابایی زاد - یاسر یعقوبیان
573	اثر کودهای آلی در تراکم جمعیت نماتد سیستمی چغندر قند 87 <i>Heterodera schachtii</i> Schmidt
582	ندا هلالات - مهدی نصر اصفهانی - مجید اولیا
591	شناسایی مولکولی قارچ‌های تولید کننده 8-کتو تریکوتسین همراه با بذر روناس و ردیابی ژن‌های سنتز کننده دی‌اکسی نیوالنول
600	در آنها با استفاده از PCR
609	سید علیرضا اسمعیل زاده حسینی - محمود دهقانی اشکدری - مصطفی عابدی تیزکی
618	بررسی اثر حشره‌کشی عصاره دانه زیتون تلخ و پوست لیموترش روی شته مومی کلم (<i>Brevicoryne brassicae</i> L.) و شته سبز
627	گندم (<i>Schizaphis graminum</i> Rondani)
636	مریم پهلوان یلی - محسن محمدی اتایی
645	معرفی حشره‌کش دینلوبنزورون (دیمیلین® SC8%) برای کنترل کرم سیب
654	محمد ولی تقدسی - محمد رحیم معینی - غلامعلی اکبرزاده شوکت - هاشم کمالی - رثوف کلیایی
663	ترجیح غذایی کنه شکارگر <i>Amblyseius swirskii</i> روی سفید بالک گلخانه <i>Trialeurodes vaporariorum</i> تیمار شده و تیمار
672	نشده با قارچ <i>Beauveria bassiana</i>
681	مرجان سیدی - مهدی ترک
690	تأثیر تراکم بوته و طول دوره تداخل علف‌های هرز بر عملکرد و اجزای عملکرد سورگوم دانه‌ای (<i>Sorghum bicolor</i> L.)
699	سمیرا سارانی - سید غلامرضا موسوی
708	ارزیابی تراکم جمعیت و پارازیتسم، <i>Helicoverpa armigera</i> (Hubner) و <i>Spodoptera exigua</i> (Hubner)، روی دوازده
717	رقم گوجه‌فرنگی در شرایط مزرعه
726	هدی صالحی پور - حسنعلی واحدی - ناصر معینی نقده - عباسعلی زمانی



شناسائی گونه‌های تریکودرما با استفاده از توالی‌یابی جزئی ژن‌های nrRNA و *tef1α* همراه با معرفی *Trichoderma capillare* برای میکوفلور ایران

مهدی مهرابی کوشکی^{۱*} - مریم باورساد^۲ - رضا فرخی نژاد^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۱۷

چکیده

گونه‌های تریکودرما به فراوانی در خاک‌های کشاورزی یافت می‌شوند و اغلب آن‌ها بعنوان عامل بیوکنترلی علیه بیمارگرهای گیاهی عمل می‌کنند. آن‌ها همچنین بعنوان تولیدکننده‌های صنعتی آنزیم‌ها شناخته می‌شوند. با توجه به اهمیت این قارچ، شناسائی صحیح آن‌ها در سطح گونه ضروری می‌باشد. شناسائی گونه‌ها مبتنی بر خصوصیات ریخت‌شناسی با توجه به همپلاسی زیاد در صفات ظاهری مناسب نمی‌باشد. در این تحقیق، ۴۰ جدایه تریکودرما از استان‌های اصفهان، اراک و همدان با استفاده از توالی‌یابی جزئی ژن‌های nrRNA و *tef1α* شناسائی شد. جدایه‌ها در محیط PDB کشت شد و توده میسلیومی با استفاده از کاغذ صافی جمع‌آوری شد. میسلیوم‌ها در لیوفیلایز خشک-انجمادی و سپس از آن استخراج DNA شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس جهت تکثیر حدود ۵۵۰ و ۹۰۰ جفت باز بترتیب از نواحی ITS و *tef1α* با استفاده از آغازگرهای عمومی و تخصصی انجام شد. قطعات تکثیری توالی‌یابی شد و بعد از ویراستاری و جستجو با استفاده از الگوریتم BLASTn، در بانک ژن ذخیره گردید. بر اساس صفات ریخت‌شناسی و آنالیز توالی‌های نوکلئوتیدی ITS و *tef1α* جدایه‌ها در هفت گروه گونه‌ای شامل *Trichoderma harzianum*، *T. pleuroticola*، *T. capillare*، *T. koningiopsis*، *T. asperellum*، *T. brevicompactum* و *T. virens* توزیع شدند. درخت فیلوژنتیکی این جدایه‌ها با استرین‌های مرجع تپ بر اساس توالی *tef1α* ترسیم شد که در آن خوشه‌بندی فیلوژنتیکی تولید شده اصالت گونه‌ای جدایه‌های مورد بررسی را تأیید کرد. این اولین گزارش گونه *T. capillare* برای میکوفلور ایران است.

واژه‌های کلیدی: DNA-بارکدینگ، خوشه‌بندی فیلوژنتیک، ریخت‌شناسی

مقدمه

مشخصات فیزیولوژیک و ریخت‌شناسی همچون میزان رشد، مشخصات ماکروسکوپی پرگنه‌ها و مشخصات میکروسکوپی آن‌ها شامل شکل، اندازه و سایر ویژگی‌های کنیدیوفورها، فیالیدها، کنیدیوم‌ها، کلامیدوسپورها، ریشه‌های هوایی و ریشه‌های فرو رفته در محیط کشت، استفاده شده است (۸). استفاده از خصوصیات ریخت‌شناسی به این دلیل که در مورد بعضی گونه‌ها نیاز به مرحله جنسی می‌باشد و از طرفی همپلاسی فراوانی در صفات فنوتیپی مشاهده شده است، اغلب منجر به شناسائی اشتباه می‌گردد (۵). بعضی از گونه‌های تریکودرما بصورت مخفی همراه جمعیت‌های گونه‌ای شناخته شده دیگر بصورت کمپلکس بسر می‌برند و تنها روش‌های مولکولی قادر است آن‌ها را متمایز کند. لذا، ابداع روش‌های مولکولی روش شناسائی مبتنی بر ریخت‌شناسی و فیزیولوژی را در شرایط کنونی نامعتبر ساخته است (۷).

یک DNA-بارکدینگ مناسب توالی کوتاهی از یک ژن است که تنوع نوکلئوتیدی زیادی در بین گونه‌ها و تنوع بسیار کمتری در بین

تریکودرما یک جنس قارچی تک‌نیائی با تلئومورف *Hypocrea* است (۱۶). گونه‌های تریکودرما اغلب به فراوانی در خاک‌های کشاورزی وجود دارند و بعنوان عامل بیوکنترلی بر علیه بیمارگرهای گیاهی عمل می‌کنند (۱۱). آن‌ها همچنین بعنوان تولیدکننده‌های صنعتی بعضی از آنزیم‌ها همچون سلولاز شناخته می‌شوند (۱۷ و ۱۸). به دلیل این اهمیت، شناسائی دقیق آن‌ها در سطح گونه جهت انجام سایر تحقیقات ضروری می‌باشد.

به منظور شناسایی جدایه‌های تریکودرما در سطح گونه از

۱، ۲ و ۳- به ترتیب استادیار، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استاد بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

(*)- نویسنده مسئول: (Email: mhdmhbr@scu.ac.ir)

DOI: 10.22067/jpp.v31i3.48738

سوسپانسیون اسپور تهیه شد. خالص‌سازی جدایه‌ها به روش تک‌اسپور روی محیط کشت تا ۱/۴ ضعیف شده سیب‌زمینی-دکستروز- آگار (1/4-strength PDA) انجام شد (۱).

بررسی ریخت‌شناسی

جدایه‌های تریکودرما روی محیط کشت‌های PDA (Merck)، آرد ذرت - آگار (CMA, Sigma Aldrich) و سنتتیک حداقلی (SNA) در دمای ۲۸°C و تناوب نوری ۱۲-ساعته رشد داده شدند. مشخصات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک بسته به نوع جدایه و صفت ۲۵-۳ روز بعد از مایه‌زنی برداشت شد. اندازه‌گیری‌های میکروسکوپی با استفاده از لنزهای شیئی 40X و 100x میکروسکوپ ماتیک (Motic BA210 Basic Biological Light Microscope) مجهز به نرم‌افزار اندازه‌گیری انجام شد. مشخصات کیفی و کمی مشاهده شده برای هر جدایه در محیط نرم‌افزاری کلید آنلاین مخصوص گونه‌های جنس تریکودرما (۲۳) ثبت و گونه‌های مورفوتریک بر اساس آن تفکیک شد.

تولید بیوماس قارچی و استخراج DNA

اسپورهای تریکودرما با نسبت ۱۰^۵ اسپور در میلی‌لیتر به محیط کشت PDB مایه‌زنی و ۴۸ ساعت در شرایط دمایی ۲۸°C و rpm ۱۲۰ نگهداری شدند. با استفاده از قیف و گاز سترون، توده میسیلیومی رشد یافته در محیط کشت‌های مایع PDB جمع‌آوری و با آب مقطر سترون شستشو شد. توده میسیلیومی حاصله بلافاصله بعد از آب‌گیری اولیه، به لوله‌های سانتریفوژ ۵۰ میلی‌لیتری منتقل و به مدت دو ساعت در فریزر ۸۰- نگهداری شدند. سپس درب لوله‌ها با قطعات گاز سترون جایگزین و در دستگاه لیوفیلایزر که قبلاً "در دمای حدود ۵۵°C تنظیم شده بود، قرار داده شد و سپس پمپ خلاء روشن شد. نمونه‌ها در مدت ۱۶ ساعت نگهداری در این شرایط، خشک-انجمادی شد. توده میسیلیومی خشک شده به هاون چینی سترون منتقل و با استفاده از دسته هاون در درون ازت مایع پودر گردید. پودر ایجاد شده در همان لوله سانتریفوژ جمع‌آوری، درب‌گذاری، با پارافیلیم مسدود و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند. جداسازی DNA به روش ریدر و برودا (۲۱) با اندکی تغییر انجام گرفت. DNA با بارگذاری روی ژل آگاروز و میزان جذب در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل eppendorf BioPhotometer plus) کمی‌سنجی و کیفیت‌سنجی شد (شکل ۱).

تکثیر ژن‌های ITS و *tef1α*

از جفت آغازگر عمومی ITS1-F و ITS4-R (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) و

جمعیت‌های یک گونه نشان می‌دهد (۱۲ و ۱۳). اگرچه توالی‌های ITS مربوط به ژن RNA ریبوزومی هسته (nrRNA) با موفقیت برای شناسایی و تمیز گونه‌های *Hypocrea* و *Trichoderma* استفاده شده است (۴) لیکن این ناحیه ژنی مناسب برای بعضی گونه‌ها نمی‌باشد. ژن *tef1α* یک بارکدینگ مناسب برای گونه‌های فوزاریوم (۹) و تریکودرما (۴) شناخته شده است. امروزه توالی‌یابی بعضی از ژن‌های شاخص همچون *rpb2*، *tef1α*، *β-tubulin*، *calmodulin* و *chi18-5* و استفاده از آن‌ها بصورت انفرادی یا چندانکه در بررسی فیلوژنی جمعیت‌های تریکودرما و نهایتاً "تشخیص گونه‌های فیلوژنتیک (GCPSR) دقیق‌ترین روش جهت جداسازی گونه‌ها می‌باشند (۶ و ۷).

در ایران، در مطالعات گذشته گونه‌های *T. pleuroticola*، *T. asperellum*، *T. longibrachiatum*، *T. virens*، *T. koningiopsis*، *T. brevicompactum*، *T. asperellum*، *T. ghanense*، *T. harzianum*، *T. hamatum*، *T. atroviride*، *T. citrinoviride*، *T. inhamatum*، *T. velutinum*، *T. tomentosum*، *T. spirale*، *T. koningii*، *T. ceramicum*، *T. reesei*، *T. crassum* و *H. orientalis* از مناطق مختلف ایران جداسازی و شناسایی شده است (روحانی، اطلاعات منتشر نشده، ۱۴، ۱۹، ۲۰، ۲۶، ۲۸ و ۲۹). با در نظر گرفتن اینکه در یک دهه اخیر با بسط مطالعات مولکولی با استفاده از آنالیز چندین لوکوس ژنی ناپیوسته، تعداد گونه‌های تریکودرما افزایش یافته است و از طرفی هر گونه مطالعه در زمینه اکولوژی و توانایی بیوکنترلی قارچ تریکودرما مستلزم شناسایی دقیق جدایه‌های مورد استفاده در سطح گونه می‌باشد، در این تحقیق، ۴۰ جدایه تریکودرما از کلکسیون قارچی گروه گیاهپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز با استفاده از روش‌های مبتنی بر ریخت‌شناسی و مولکولی مورد شناسایی قرار گرفت.

مواد و روش کار

جدایه‌های تریکودرما و خالص‌سازی

در این مطالعه از کلکسیون قارچی گروه گیاهپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز ۴۰ جدایه تریکودرما انتخاب شد. این جدایه‌ها از خاک‌های زراعی استان‌های اصفهان، همدان و اراک جداسازی شده بود. جدایه‌ها برای کوتاه‌مدت روی محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (PDA) و برای درازمدت بصورت توده‌های اسپور مخلوط با ماسه نگهداری شدند. جدایه‌های تریکودرما به ظروف پتری محتوی PDA مایه‌زنی و جهت اسپوردهی، در شرایط نور و دمای ۲۸°C به مدت یک تا چهار هفته بسته به نوع جدایه، نگهداری شدند. سپس با استفاده از آب مقطر استریل محتوی ۰/۱ درصد توین ۸۰،

اینترن توالی‌های کد کننده پروتئین *tef1α* در محیط نرم‌افزار BioEdit، از توالی‌های مرجع تأیید شده در پایگاه‌های اطلاعات ژنوم استفاده شد. توالی‌ها به پایگاه اطلاعات ژنوم NCBI معرفی و با استفاده از الگوریتم BLASTn برای شناسایی هیتهای بلاست و توالی‌های شناخته شده‌ی مرتبط جستجو شد. هیتهایی که دارای بالاترین درصد شناسایی با کمترین شاخص E^۱ و بالاترین درصد پوشش توالی بودند بعنوان نزدیک‌ترین توالی در تأیید شناسایی‌های قبلی مبتنی بر ریخت‌شناسی، مد نظر قرار گرفتند. جهت تأیید فیلوژنتیکی هفت گونه شناسایی شده، توالی‌های *tef1α* مربوط به جدایه‌های این مطالعه و هفت استرین تیپ از بانک ژن و پایگاه اطلاعات ژنوم کمسیون بین المللی جهت تاکسونومی *Trichoderma* و *Hypocrea* یا ISTH^۲ (<http://www.isth.info>) انتخاب شدند و با استفاده از برنامه ClustalW در نرم‌افزار BioEdit v. 7.0.9.0 با استفاده از درخت فیلوژنتیکی درست‌نمایی بیشینه (maximum likelihood) از طریق مدل Kimura 2-parameter (K2+G) با استفاده از نرم‌افزار MEGA 6 ترسیم شد (۲۵).

نتایج

جهت شناسایی اولیه، مشخصات ریخت‌شناسی و پرگنه که روی محیط PDA، CMD و SNA رشد یافتند، اندازه‌گیری شدند. با ورود این مشخصات در کلید آنلاین شناسایی تریکودرما (۳۳) جدایه‌ها در هفت گروه گونه‌ای قرار گرفتند (جدول ۱). یازده نماینده از این گروه‌ها برای شناسایی دقیق مولکولی استفاده شد. پس از ارزیابی توالی‌های نوکلئوتیدی ITS و *tef1α* مربوط به جدایه‌های مورد بررسی، توالی‌های تأیید شده در پایگاه اطلاعات ژنوم NCBI نمایه شدند و دسترسی به آن‌ها تحت شماره‌های درج شده در جدول ۲ امکان‌پذیر است. با معرفی توالی‌های بدست آمده در بانک ژن و انجام عملیات جستجو با استفاده از الگوریتم BLASTn میزان شباهت آن‌ها با توالی استرین‌های مرجع آشکار شد (جدول ۲). بر اساس صفات ریخت‌شناسی و تجزیه و تحلیل توالی‌های نوکلئوتیدی ITS و *tef1α* جدایه‌ها در هفت گروه گونه‌ای شامل *T. capillare* Samuels & Kubicek، *T. asperellum*، *T. pleuroticola* Yu & Park، *T. virens* (J.H. Mill., Samuels, Lieckf & Nirenberg)، *T. koningiopsis* Oudem., Giddens & A.A. Foster) Arx، *T. brevicompactum* Kraus, Kubicek & Gams و *T. harzianum* Rifai توزیع شدند (جدول ۲). این توالی‌ها همچنین به محیط‌های نرم‌افزاری اختصاصی تریکودرما همچون TrichO Key

(TCCTCCGCTTATTGATATGC) برای تکثیر ناحیه ITS (۲۷) و جفت آغازگر اختصاصی *tef171-F* (CAAAATGGGTAAGGAGGASAAGAC) و *tef1997-R* (CAGTACCGGCRGCRATRATSAG) برای تکثیر ژن *tef1α* (از اگزون ۱ تا اگزون ۵ حاوی اینترون‌های ۱، ۲، ۳ و ۴) استفاده شد (۲۴). مخلوط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در حجم‌های ۵۰ μl با استفاده از ۵ μl بافر 10x Taq buffer، غلظت نهایی ۳mM از *MgCl₂*، ۳ μl آغازگر پیش‌رو (10 μM)، ۳ μl آغازگر معکوس (10 μM)، ۲ μl از dNTP (2.5 μM each)، ۰.۵ μl آنزیم Taq DNA Polymerase (5u/μl)، ۲ μl الگو (حدود ۲۰۰ نانوگرم) و آب مقطر دوبار تقطیر شده میلی کیور تا حجم ۵۰ μl تهیه و تکثیر با رژیم حرارتی ذیل در دستگاه ترموسایکلر انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در یک ترموسایکلر (مدل MJ MiniTM Gradient Thermal Cycler) با رژیم حرارتی تجربی ذیل تنظیم شد:

نوع رژیم	تعداد چرخه	درجه حرارت (°C)	مدت زمان (ثانیه)
ذوب اولیه	۱	۹۴	۱۸۰
		۹۴	۳۰
چرخه‌های اصلی	۳۵	۵۱ برای ITS ۵۷ برای <i>tef1α</i>	۳۰
		۷۲	۹۰
پلی‌مریزاسیون نهایی	۱	۷۲	۳۰۰

خالص سازی قطعات تکثیری و توالی‌یابی

محصولات PCR مربوط به هر جدایه در دو گروه ژن ITS و *tef1α* در لوله‌های سانتریفوژ جمع‌آوری و با استفاده از روش رسوب با اتانول تغلیظ و شستشو شد (۲). برای این منظور، ۱/۱۰ حجم اسات سدیم ۳ مولار با pH 5.4 و ۲-۳ برابر حجم اتانول مطلق اضافه و به مدت یک شب در دمای ۸۰- نگهداری شد. سپس در دمای ۹۴ C و دور ۱۰۰۰۰ xg به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد و رسوب حاصله با استفاده از اتانول ۷۰ درصد شستشو شد. رسوب نهایی در ۲۵ μl آب مقطر میلی کیور حل و جهت توالی‌یابی با استفاده از آغازگرهای پیش‌رو و معکوس به شرکت ماکروژن ارسال شد.

آنالیز توالی‌ها و تأیید فیلوژنتیکی گونه‌ها

توالی‌های بدست آمده از تکثیر ژن‌های ITS و *tef1α* با استفاده از نرم‌افزار BioEdit v. 7.0.9.0 (۱۰) و ویراستاری شد. خوانش‌های پیش‌رو و معکوس هر ژن برای هر جدایه با استفاده از نرم افزار DNA Baser Sequence Assembler v4 (www.DnaBaser.com) مونتاژ و بعنوان توالی تصحیح‌شده‌ای نهایی مدنظر قرار گرفت. جهت تفسیر و تعیین نواحی اکسون و

1- E Value: Expected value

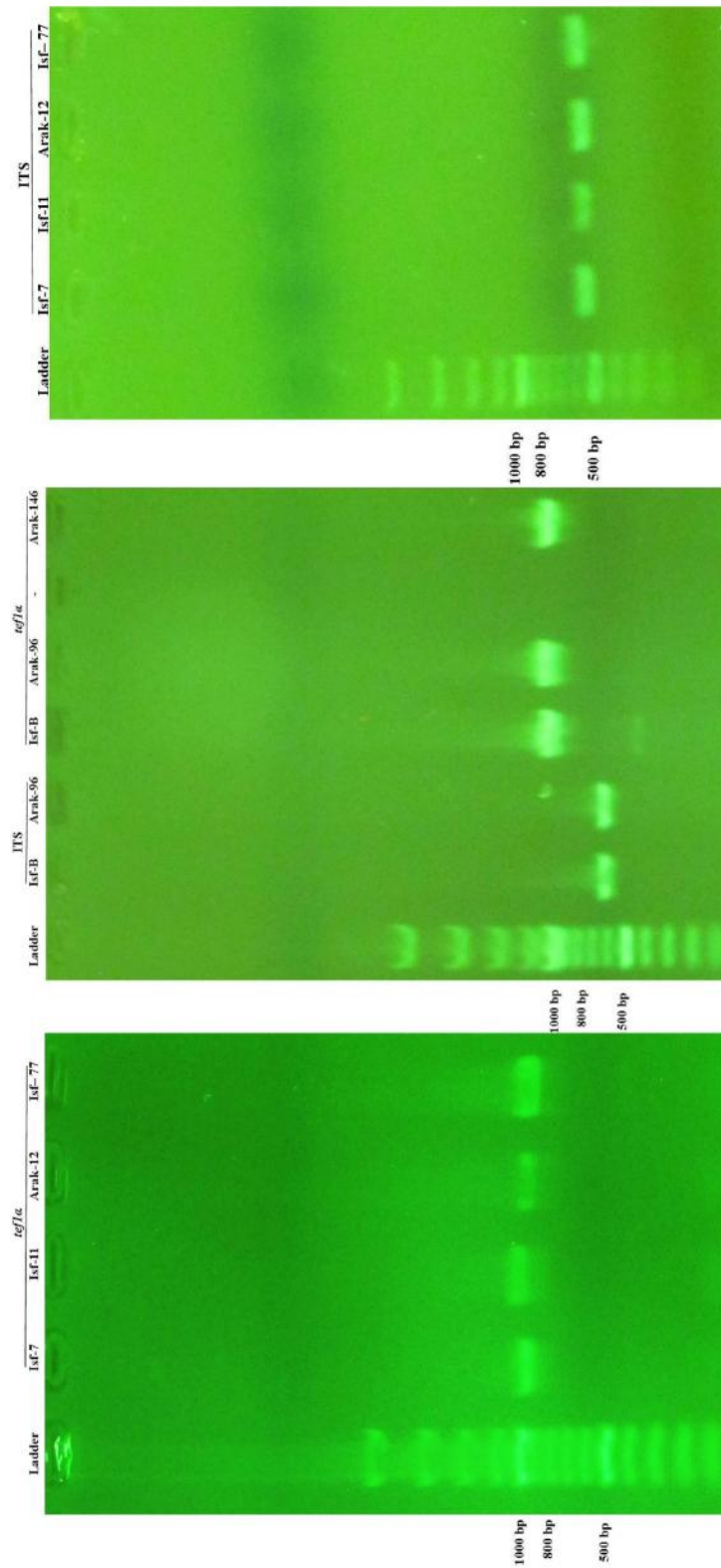
2- International Subcommittee on *Trichoderma* and *Hypocrea* Taxonomy

کلادهای با ارزش ۹۹، ۹۴، ۸۶، ۹۶، ۹۸، ۹۹ و ۹۹ درصد با استرین‌های تیپ همان گونه‌ها ایجاد کردند (شکل ۲) که این خوشه‌بندی فیلوژنتیکی اصالت گونه‌ای آن‌ها را تأیید می‌کند. این مطالعه اولین توالی ITS و طول بیشتری از ژن *tef1α* (از ۱ تا ۵) را برای گونه *T. capillare* در بانک ژن نمایه کرد. در بررسی و تفسیر توالی *tef1α* مربوط به این گونه، جهش‌های متعددی از نوع تغییر در نواحی کدکننده ناشی از اضافه شدن نوکلئوتید (insertion frameshift) مشاهده شد که موضوع جالبی برای مطالعات آینده، می‌تواند باشد (شکل ۳).

علاوه بر استفاده از نواحی ITS و *tef1α* جهت شناسائی مولکولی هفت گونه مطالعه شده، مشخصات مهم ریخت‌شناسی و رشدی جدایه‌های مورد بررسی برای گونه‌هایی که قبلاً از ایران گزارش شده است در جدول ۱ بصورت خلاصه آورده شده است و گونه *T. capillare* Samuels & Kubicek که برای میکوفلور ایران جدید می‌باشد شرح داده می‌شود (شکل ۴).

(۵) و TrichoBLAST (۱۵) معرفی و با گونه‌های موجود در ISTH اعتبارسنجی شدند.

در جستجوی BLASTn، هر کدام از توالی‌های ITS و *tef1α* برای جدایه‌های مربوط به گونه‌های *T. koningiopsis*، *T. virens* و *T. brevicompactum* شناسائی دقیق و بدون ابهامی ارائه کردند در صورتیکه توالی ITS برای جدایه‌های مربوط به گونه‌های *T. capillare*، *T. asperellum*، *T. pleurotica*، *harzianum* شناسائی معتبری ارائه نکرد و برای این گونه‌ها توالی *tef1α* بعنوان DNA-بارکدینگ مناسب جهت تأیید نام گونه مد نظر قرار گرفت (جدول ۲). درصد شناسائی توالی‌ها جدایه‌های مورد بررسی به ترتیب برای توالی‌های *tef1α* ۹۶-۱۰۰ درصد و ITS ۸۸-۹۹ درصد ارائه شد (جدول ۲). جهت تأیید فیلوژنتیکی گونه‌ها، درخت فیلوژنتیکی این جدایه‌ها با استرین‌های مرجع تیپ بر اساس توالی *tef1α* ترسیم شد که در آن جدایه‌های شناسائی شده گونه‌های *T. virens*، *T. koningiopsis*، *T. harzianum*، *T. brevicompactum* و *T. asperellum*، *pleurotica* و *T. capillare* به ترتیب



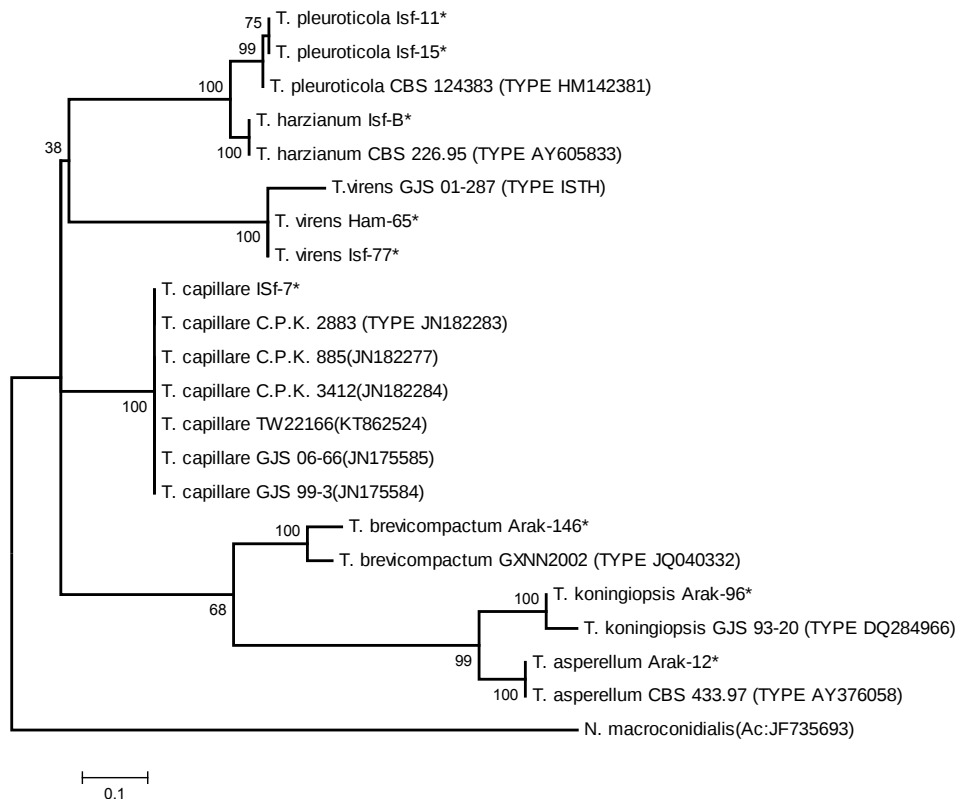
شکل ۱- نقش الکتروفورز ۳ ال از محصولات واکنش PCR روی ژل آگاروز یک درصد مربوط به نواحی ITS و *tef1α*
Figure 1- Electrophoresis map of 3 μl of PCR products on 1% gel agarose belonging to ITS and *tef1α* regions

جدول ۱- بعضی خصوصیات مهم فنوتیپی جدایه‌های مورد بررسی
Table 1- Some of the important phenotypic characteristics of the isolates under survey

گروه مورفولوژیکی Morphometric groups	تعداد جدایه No of isolates	مشخصات روی PDA		مشخصات روی CMD					رشد شعاعی روی SNA، ۳۵ °C در تاریکی Radial growth on SNA, 35 °C, 72h	گونه تأیید شده در آنالیز بلاست و فیلوژنتیک Confirmed species in BLASTn and phylogeny	
		رشد شعاعی، ۷۲ ساعت در تاریکی Radial growth, 72h, darkness		رنگدانه Pigment	جوش Pustule	شکل Shape	تزئینات Ornamentation	طول Length			عرض Width
		25°C	35°C								
<i>T. harzianum</i>	13	49-56	33-41	different	No	globose to ovoidal	smooth	2.7-3.5	2.5-3.0	in most cultures not observed	<i>T. harzianum</i>
<i>Trichoderma sp</i>	1	55	60	pale yellow	hairy	ellipsoidal	roughened	3.0-4.0	3.0-3.5	not observed	<i>T. capillare</i>
<i>T. pleuroticola</i>	3	31-43	<12	no	No	subglobose	smooth	2.5-3.2	2.2-3.0	not forming in all isolates	<i>T. pleuroticola</i>
<i>T. asperellum</i>	3	42-51	28-35	no	cottony	subglobose	Little warted	3.5-4.5	3.0-4.0	abundant	<i>T. asperellum</i>
<i>T. virens</i>	14	39-46	19-26	sometime yellow	no	ellipsoidal to ovoid	smooth	4.5-4.7	3.9-4.0	abundant	<i>T. virens</i>
<i>T. koningiopsis</i>	1	55	no growth	no	cottony	ellipsoidal	smooth	3.5-4.5	2.2-3.0	abundant	<i>T. koningiopsis</i>
<i>T. brevicompactum</i>	5	39-45	<13	no	cottony	globose to ovoidal	smooth	2.7-3.2	2.2-2.6	Rarely seen	<i>T. brevicompactum</i>

جدول ۲- مقایسه هیتهای اصلی ارائه شده توسط بانک ژن برای توالی ناحیه ITS و *tefla* جدایه‌های مورد تحقیق
Table 2- Comparison of GenBank Top-Hits for the ITS and *tefla* regions of the isolates under survey

Isolate	شناسائی بر اساس توالی ITS				شناسائی بر اساس توالی tefla				گونه تایید شده در فیلوژنی Confirmed Species in phylogeny
	شماره دسترسی		گونه شناسائی شده		شماره دسترسی		گونه شناسائی شده		
	Accession number	Top-Hit BLASTn	Species identified	identity	Accession number	Top-Hit BLASTn	Species identified	identity	
Isf-7	KP985637	Aj507135	<i>Trichoderma sp</i>	92%	KP985647	JN175584	<i>T. capillare</i>	96%	<i>T. capillare</i>
Isf-11	KP985638	JX232596	<i>T. harzianum</i>	98%	KP985648	KJ871080	<i>T. pleuroticola</i>	99%	<i>T. pleuroticola</i>
Arak-12	KP985639	JF304317	<i>T. harzianum</i>	88%	KP985655	EF185999	<i>T. asperellum</i>	100%	<i>T. asperellum</i>
Isf-15	KP985641	HM142362	<i>T. pleuroticola</i>	99%	KP985649	KJ871080	<i>T. pleuroticola</i>	99%	<i>T. pleuroticola</i>
Ham-65	KP985642	HM046563	<i>T. virens</i>	92%	KP985650	EU280047	<i>T. virens</i>	98%	<i>T. virens</i>
Isf-77	KP985643	KP009289	<i>T. virens</i>	99%	KP985651	EU280047	<i>T. virens</i>	98%	<i>T. virens</i>
Arak-96	KP985644	KP316424	<i>T. koningiopsis</i>	89%	KP985652	KJ652475	<i>T. koningiopsis</i>	99%	<i>T. koningiopsis</i>
Arak-146	KP985645	KM225889	<i>T. brevicompactum</i>	96%	KP985653	EU338294	<i>T. brevicompactum</i>	100%	<i>T. brevicompactum</i>
Isf-B	KP985646	AY605716	<i>T. harzianum</i>	98%	KP985654	HG931209	<i>T. harzianum</i>	99%	<i>T. harzianum</i>
Arak-6	KP985636	EF442080	<i>T. atroviride</i>	99%	-	-	-	-	<i>T. harzianum</i>
Arak-14	KP985640	JX473721	<i>T. virens</i>	93%	-	-	-	-	<i>T. virens</i>



شکل ۲- درخت فیلوژنتیکی جدایه‌ها که در آنالیز درست‌نمایی بیشینه بر اساس توالی‌های *tef1α* با استفاده از مدل K2+G بدست آمده است. درصد تکرار کلادها در ۱۰۰۰ بار نمونه‌گیری کاذب (بوت‌استرپ) در محل ریشه کلادها درج شده است. درخت با استفاده از گونه نزدیک *N. macroconidialis* ریشه‌دار شده است

Figure 2- The phylogram of isolates constructed through maximum likelihood analysis based on *tef1α* sequence under K2+G model. The percentages of replicate trees in the bootstrap test (1000 replicates) have been shown next to the branches. The tree was rooted to close species of *N. macroconidialis*

شد. تراکم جوش‌ها بیشتر در اطراف پرگنه، مخصوصاً مرز سطح محیط کشت با دیواره پتری، مشاهده شد. اسپورزائی در شرایط تناوب نوری رشد کشت‌های قارچ، بصورت دواپیر متحدالمرکز مشاهده نگردید. تولید کلامیدوسپور مشاهده نشد. کنیدیوفورها بی‌رنگ، دارای دیواره صاف و تولید انشعابات فرعی که هرکدام به تعدادی فیالید در انتها منجر شد اگرچه تعداد کمی از این کنیدیوفورها تولید فیالیدهای منفرد بصورت انتهائی و گهگاهی جانبی کردند. فیالیدها تنگی‌شکل تا تقریباً استوانه‌ای، کاملاً "متورم در نیمه پایینی، بیشتر مستقیم و متقارن ولی گاهی خمیده قلاب‌مانند و نامتقارن، اندازه آن‌ها بر اساس ۸۰ اندازه‌گیری (۱۳) ۱۰ - ۵/۵ (۴/۵) میکرومتر طول و ۲/۵-۳/۵ (۴) میکرومتر پهنا در متورم‌ترین قسمت مشاهده شد. کنیدیوم‌ها تقریباً کروی تا بیضوی، سطح زبر با رنگ سبز روشن، ابعاد آن‌ها بر اساس ۸۰ اندازه‌گیری (۴/۵) ۴-۲/۵ میکرومتر قطر طولی و (۴) ۳-۲/۵ (۲) میکرومتر قطر عرضی مشاهده شد.

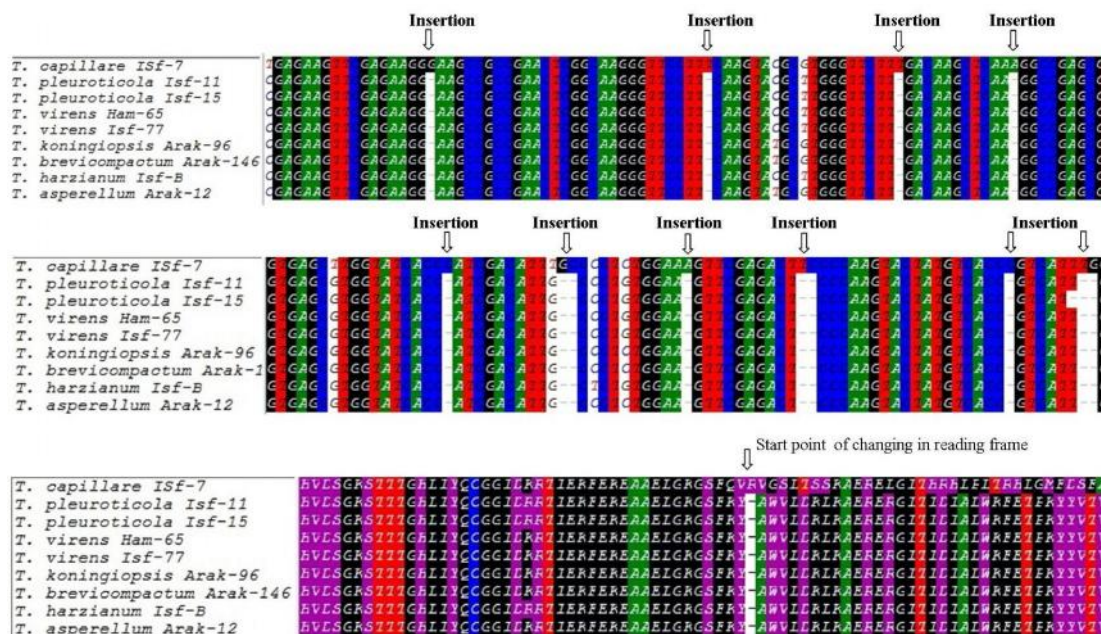
Trichoderma capillare G.J. Samuels & C.P. Kubicek, Fungal Diversity 55: 83 (2012) (شکل ۴)

میزان رشد شعاعی پرگنه بر اساس سه تکرار روی محیط کشت PDA در دمای $25 \pm 1^\circ\text{C}$ و $35 \pm 1^\circ\text{C}$ با اصلاح اثر تنش انتقال دیسک میسلیومی، به ترتیب ۵۵ و ۶۰ میلی‌متر پس از ۷۲ ساعت مشاهده شد. این میزان روی محیط کشت SNA در دمای $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ، ۴۵ میلی‌متر ثبت شد. ریشه‌های قارچ روشن و عموماً فرورفته و سطح پرگنه کاملاً صاف مشاهده شد. سطح روئی و پشتی پرگنه رشد کرده روی محیط PDA در ابتدا روشن و با تولید فراوان رنگدانه زرد به زردی گرایش پیدا کرد. زردی پرگنه با گذشت زمان و نگهداری دو هفته‌ای در دمای آزمایشگاه کاهش پیدا کرد. بر خلاف اکثر گونه‌ها، اسپورزائی روی محیط PDA و در شرایط نگهداری در نور ممتد بسیار با تأخیر و از هفته دوم بصورت ظهور جوش‌های عموماً کروی برجسته پرزدار سبز روشن و متراکم با اندازه‌های متفاوت تا ۵ میلی‌متری انجام

بحث

گونه در سال ۲۰۱۲ با استفاده از بررسی‌های فیلوژنتیک از سایر جمعیت‌های تریکودرما جدا و بعنوان گونه مستقل در بخش *Longibrachiatum* قرار گرفت (۲۲). همچنین، این مطالعه توالی ناحیه ITS و توالی اینترون‌های ۲ و ۳ مربوط به ژن *tef1α* را برای اولین بار به بانک ژن معرفی و آن را ثبت کرد.

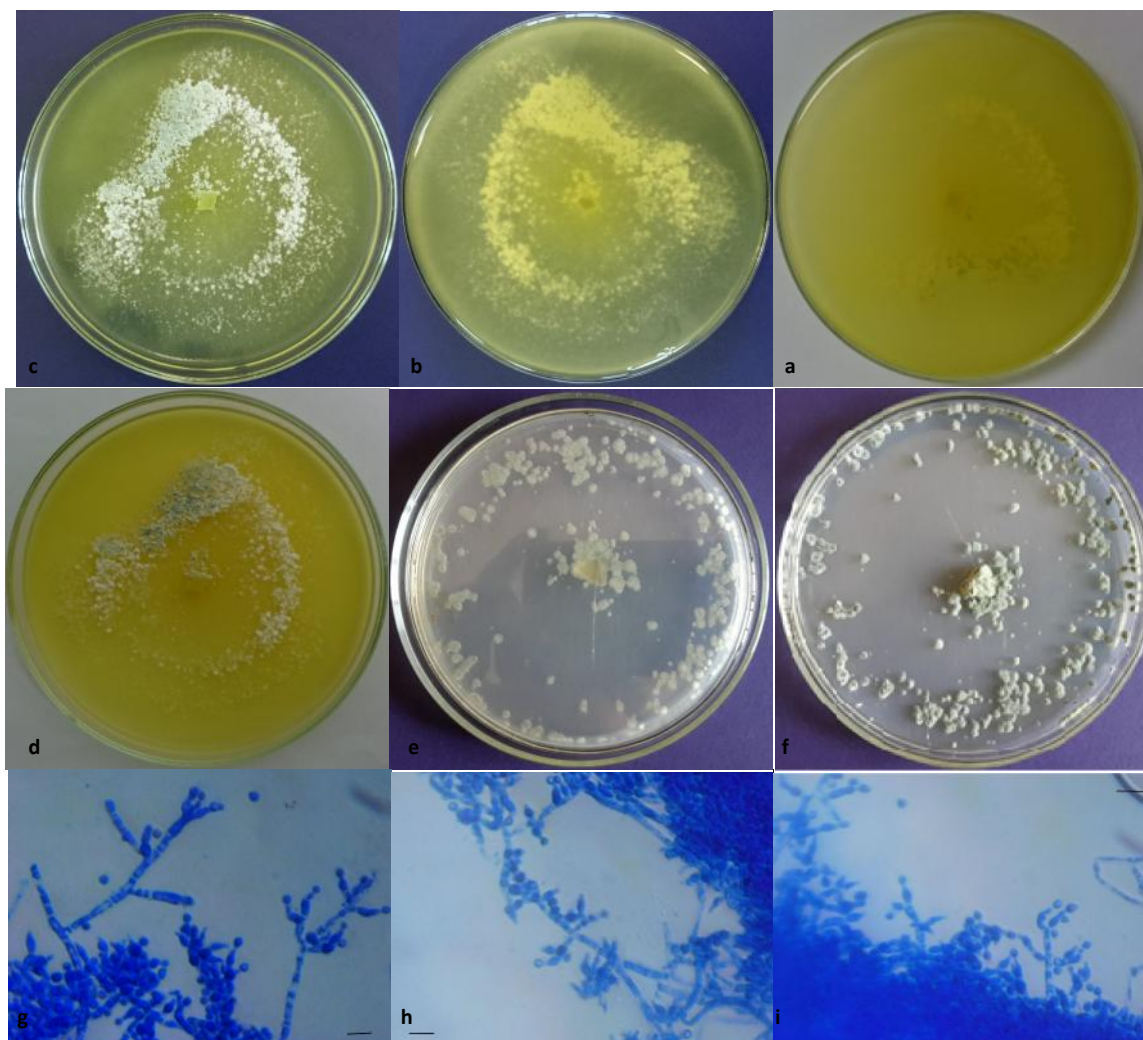
شناسایی‌های متفاوت گونه‌ها بر اساس توالی‌های ITS و *tef1α* ثابت می‌کند که تشخیص گونه‌ها بر اساس توالی یک ژن مخصوصاً "توالی ITS برای گونه‌های تریکودرما دقیق نمی‌باشد و این در مطالعات قبلی نیز به اثبات رسیده است (۴). گونه *T. capillare* برای اولین بار در این مطالعه برای میکوفلور ایران گزارش می‌شود. این



شکل ۳- موتاسیون‌های چندگانه از نوع تغییر در نواحی کدکننده جدایه *T. capillare* Isf-7 در مقایسه با سایر جدایه‌های مورد بررسی
Figure 3- Multiple insertion-type frame shifts in *tef1α* reading frame of *T. capillare* Isf-7 compared to other isolates surveyed

برای میکوفلور قارچی ایران گزارش کردند. گونه‌های *T. harzianum* و *T. virens* تقریباً در تمام تحقیقات راجع به تریکودرما در حوزه‌های مختلف جغرافیائی در ایران گزارش شده است (روحانی، اطلاعات منتشر نشده، ۱۴، ۱۹، ۲۰، ۲۶، ۲۸ و ۲۹) و این غالب بودن این گونه‌ها را در جمعیت تریکودرمای خاک و فراریشه نشان می‌دهد. نتایج این تحقیق، نشان می‌دهد که در مطالعات شناسایی گونه و ارزیابی‌های فیلوژنتیک استفاده از چند ژن ضروری می‌باشد (جدول ۱). تنها جدایه *T. capillare* Isf-7 در این مطالعه با استفاده از جستجوی بلاست توالی ناحیه *tef1α* شناسایی شد. همچنین تأیید گونه‌های *T. pleuroticola* و *T. asperellum* با استفاده از جستجوی بلاست ژن *tef1α* انجام شد. دود و همکاران (۳) نیز اذعان کردند شناسایی گونه‌های جنس تریکودرما با استفاده از توالی ITS کافی برای جداکردن تمام گونه‌ها نمی‌باشد.

در این بررسی، شش گونه *T. pleuroticola*، *T. asperellum*، *T. virens*، *T. koningiopsis*، *T. brevicompactum* و *T. harzianum* نیز شناسایی شدند که قبلاً "برای میکوفلور ایران گزارش شده است (روحانی، اطلاعات منتشر نشده، ۱۴، ۱۹، ۲۰، ۲۶، ۲۸ و ۲۹). نیمگی و همکاران (۱۹) جدایه‌هایی از خاک و فیلوسفر مزارع برنج در نوار شمالی کشور و ساحل جنوبی دریای خزر جمع‌آوری کردند و بعد از شناسایی مولکولی با استفاده از نواحی ITS، جدایه‌ها در شش گروه گونه‌ای *T. asperellum*، *T. atroviride*، *T. virens*، *T. hamatum*، *T. brevicompactum*، *T. harzianum* و *T. koningiopsis* قرار گرفتند. نظمی و همکاران (۲۰) گونه‌های تریکودرما همراه خاک و چوب پوسیده جمع‌آوری شده از استان‌های شمال کشور (گیلان، مازندران و گلستان) را بررسی کردند و در این بررسی، گونه‌های *Hypocrea andinensis* و *H. orientalis* را بعنوان گونه‌هایی جدیدی



شکل ۴- *T. capillare* Isf-7: a و b. پرگنه ۷ روزه رشد یافته روی PDA، c و d. پرگنه ۱۰ روزه رشد یافته روی PDA، e و f. پرگنه ۲۵ روزه رشد یافته روی PDA، g، h و i. کنیدیوفور، کنیدیوم و فیالیدها از کشت‌های ۱۰ روزه. خط مقیاس ۱۰ میکرومتر است

Figure 4- a and b, *T. capillare* Isf-7: 7-days colony on PDA. c and d, 10-days colony on PDA. e and f, 25-days colony on PDA. Conidiophores, conidia and phialids from 10-days cultures, Scale bars: 10 μ m

موجودات مختلف یافت می‌شوند باعث افزایش گونه‌های قارچی از جمله تریکودرما شده است (۷).
 بطور کلی با توجه به شباهت‌های زیاد گونه‌های نزدیک از نظر صفات ظاهری و همپلاسی فراوان در گونه‌های قارچی، استفاده از صفات مولکولی از جمله توالی‌های DNA جهت شناسائی گونه و کشف ارتباطات فیلوژنتیک آن‌ها افق‌های روشنی را در علم سیستماتیک قارچی نوید خواهد داد و سیر شتابان تحول در سیستماتیک قارچ‌ها در سال‌های اخیر نیز محصول همین رویکرد می‌باشد. تحقیق اخیر نیز در همین راستا با شناسائی مولکولی هفت گونه تریکودرما، گونه‌ای جدید *T. capillare* را برای میکوفلور ایران معرفی کرده است.

یک ژن یا یک ناحیه از DNA که توالی نوکلئوتیدی کوتاهی باشد و تنوع آن در افراد داخل یک گونه بسیار کمتر از بین گونه‌ها باشد (تنوع بین گونه‌ای بیشتر از تنوع درون گونه‌ای باشد) می‌تواند بعنوان DNA بارکدینگ جهت تشخیص گونه‌ها استفاده شود (۱۲ و ۱۳) و تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که نواحی ITS برای گونه‌های تریکودرما این ویژگی را ندارد و به تنهایی قادر به جدا کردن گونه‌ها نیست (۵). ناحیه ژنی *tef1 α* DNA بارکدینگ و مارکر مناسبی جهت تمییز گونه‌های قارچی از جمله *Trichoderma* و *Hypocrea* است (۵). از طرفی توسعه مفهوم گونه فیلوژنتیک با استفاده از تعدادی ژن که ارزش طبقه‌بندی دارند و ارتولوگ آن‌ها در

منابع

- 1- Ainsworth G.C. 1971. Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi. 6th ed. Common wealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- 2- Crouse J., and Amorese D. 1987. Ethanol precipitation: ammonium acetate as an alternative to sodium acetate. *Focus*, 9: 3–5.
- 3- Dodd S., Crowhurst R.N., Rodrigo A.G., Samuels G.J., Hill R.A., and Stewart A. 2003. Examination of *Trichoderma* phylogenies derived from ribosomal DNA sequence data. *Mycological Research*, 4: 32-39.
- 4- Druzhinina I., and Kubicek C.P. 2005. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters. *Journal of Zhejiang University Science Botany*, 6: 100-112.
- 5- Druzhinina I.S., Kopchinskiy A.G., Komon M., Bissett J., Szakacs G., and Kubicek C.P. 2005. An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genetics and Biology*, 42: 813-828.
- 6- Druzhinina I.S., Kopchinskiy A.G., and Kubicek C.P. 2006. The first one hundred of *Trichoderma* species is characterized by molecular data. *Mycoscience*, 47: 55-64.
- 7- Druzhinina I.S., Komo -Zelazowska M., Ismaiel A., Jaklitsch W., Mullaw T., Samuels G.J., and Kubicek C.P. 2012. Molecular phylogeny and species delimitation in the section *Longibrachiatum* of *Trichoderma*. *Fungal Genetics and Biology*, 49: 358-368.
- 8- Gams W., and Bissett J. 1998. Morphology and identification of *Trichoderma*. pp. 3-31. In C.P. Kubicek and G.E. Harman (eds.) *Trichoderma and Gliocladium*, Taylor & Francis, London.
- 9- Geiser D.M., Jimenez Gasco M.M., Kang S., Mkalowska I., Veeraraghavan N., Ward T.J., Zhang N., Kuldau G.A., and O'Donnell K. 2004. *Fusarium-IDv.1.0*: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology*, 110: 473-479.
- 10- Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- 11- Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., and Lorito M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Review Microbiology*, 2:43–56.
- 12- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., and deWaard J.R. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London: Series B*, 270: 313–321.
- 13- Hebert P.D.N., Ratnasingham S., and deWaard J.R. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London: Series B*, 270: 96–99.
- 14- Karimi S. 2005. Help to identification of *Trichoderma* species and endomycorrhizae as useful fungi of walnut rhizosphere in Hamadan province. MSc thesis, agriculture faculty, Buali Sina University of Hamadan, Iran. (In Persian with English abstract)
- 15- Kopchinskiy A.G., Komon M., Kubicek C.P., and Druzhinina I.S. 2005. TrichoBLAST: A multilocus database for *Trichoderma* and *Hypocrea* identifications. *Mycological Research*, 109:657–660.
- 16- Kullnig-Gradinger C., Szakacs G., and Kubicek C.P. 2002. Phylogeny and evolution of the genus *Trichoderma*: a multigene approach. *Mycological Research*, 106:757–767.
- 17- Mehrabi-Koushki M., Rouhani H., and Farsi M. 2011. Genetic manipulation of fungal strains for Improvement of heterologous genes expression (a minireview). *African Journal of Biotechnology*, 10: 7939-7948.
- 18- Mehrabi-Koushki M., Rouhani H., and Mahdikhani-Moghaddam E. 2012. Differential display of abundantly expressed genes of *T. harzianum* during colonization of tomato-germinating seeds and roots. *Current Microbiology*, 65:524–533.
- 19- Naeimi S., Khodaparast S.A., Javan-Nikkhah M., Vagvolgyi. C., and Kredics L. 2011. Species patterns and phylogenetic relationships of *Trichoderma* strains in rice fields of southern Caspian sea, Iran. *Cereal Research Communications*, 39: 560–568.
- 20- Nazmi-Roodsari F., Zafari D., Khodaparast A., and Rouhani H. 2007. Introducing some new species of *Trichoderma* for Iran. *Rostaniha*, 8:67-88.
- 21- Raeder U., and Broda P. 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology*, 1: 17–20.
- 22- Samuels G.J., Ismaiel A., Mullaw T.B., Szakacs G., Druzhinina I.S., Kubicek C.P., and Jaklitsch W.M. 2012. The *Longibrachiatum* Clade of *Trichoderma*: a revision with new species. *Fungal Diversity*, 55:77-108.
- 23- Samuels G.J., Chaverri P., Farr D.F., and McCray E.B. 2016. *Trichoderma* Online, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA, available from: <http://nt.ars-grin.gov/taxadescriptions/keys/TrichodermaIndex.cfm>.
- 24- Shoukouhi E., and Bissett J. 2008. Preferred primers for sequencing the 50 end of the translation elongation factor 1-alpha gene (EF1-a1) and subunit 2 of the RNA polymerase B gene (RPB2). *ISTH* available from: <http://www.isth.info/methods>.
- 25- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., and Kumar S. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.

- 26- Vahabi K. 2004. Genetic diversity of *Trichoderma* species related to *Agaricus bisporus* mushroom using morphological and molecular methods. MSc. Thesis, agriculture faculty, Isfahan University of the technology, Iran. (In Persian with English abstract)
- 27- White T.J., Bruns T., Lee S., and Taylor J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. P315–322. In: MA Innis et al. (ed.) PCR Protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, New York, USA.
- 28- Zafari D., Zare R., Ershad D., and Alizadeh A. 2003. A contribution to the identification of *Trichoderma* species in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology, 38: 9-15. (In Persian with English abstract)
- 29- Zafari D., Zare R., Ershad D., and Alizadeh A. 2004. Introduction of three new species of *Trichoderma* for mycoflora of Iran. Rostaniha, 5: 63-65. (In Persian with English abstract)



کنش پیوسته برخی از مهمترین پهن برگ‌کش‌های قابل کاربرد در مزارع چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) ایران

علی اصغر چیت بند^{۱*} - رضا قربانی^۲ - محمدحسن راشدمحصل^۳ - محبوبه نبی زاد^۴

تاریخ دریافت: ۱۳/۰۸/۱۳۹۴

تاریخ پذیرش: ۱۳/۰۵/۱۳۹۵

چکیده

ارزیابی اثرات اختلاط مواد شیمیایی می‌تواند براساس مفاهیم مختلف سمیت شناسی، داروشناسی و کنترل علف‌های هرز انجام گیرد. به منظور پیش بینی اثرات افزایشی، هم‌افزایی و یا هم‌کاهی اختلاط دو به دو مخلوط علف‌کشی دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسست، کلریدازون و کلوپیرالید روی علف‌های هرز تاج‌ریزی سیاه و تاج‌خروس ریشه قرمز، دو آزمایش بصورت دُز- پاسخ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰۵ تیمار در سال ۱۳۹۲ به اجرا درآمدند. تیمارهای آزمایش شامل هفت دُز خالص و مخلوط از علف‌کش‌های فوق با پنج نسبت اختلاط ۱۰۰:۰، ۷۵:۲۵، ۵۰:۵۰، ۲۵:۷۵ و ۰:۱۰۰ بودند و برای هر یک از اختلاط‌ها سه تیمار شاهد در نظر گرفته شد. نتایج آزمایش نشان داد که اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسست با علف‌کش کلوپیرالید روی علف‌هرز تاج‌ریزی سیاه از حالت هم‌افزایی و در مورد علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز بیشتر از حالت هم‌افزایی تبعیت کرد. اختلاط علف‌کش کلریدازون با علف‌کش کلوپیرالید بر روی هر دو علف‌هرز بیشتر از حالت هم‌کاهی تبعیت کرد، بطوری‌که شدت اثرات هم‌کاهی در تاج‌خروس ریشه قرمز بیشتر از تاج‌ریزی سیاه بود. همچنین، اثرات اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسست با کلریدازون روی علف‌هرز تاج‌ریزی سیاه بیشتر از حالت افزایشی و در مورد تاج‌خروس ریشه قرمز بیشتر از حالت هم‌کاهی تبعیت کرد. کاهش کارایی اختلاط‌های علف‌کشی می‌تواند به دلیل محدودیت در جذب و انتقال علف‌کش‌ها باشد.

واژه‌های کلیدی: اختلاط علف‌کش‌ها، اثر افزایشی، مدل دُز افزایشی، هم‌افزایی، هم‌کاهی

مقدمه

خرفه^{۱۱} و پیچک^{۱۲} که در این بین، سلمه‌تره و تاج‌خروس ریشه قرمز مشکل‌سازترین علف‌هرز مزارع چغندر قند هستند (۱۲ و ۲۴). این دو گونه علف‌هرز از مشکل‌سازترین علف‌های هرز در مزارع چغندر قند ایران نیز می‌باشند (۶ و ۸). هندریک و همکاران (۱۷) گزارش کردند که وجود علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز با تراکم ۱۰ بوته در هر متر مربع منجر به کاهش ۴۹ درصدی در عملکرد چغندر قند می‌شود. علف‌کش‌های کاربردی معمولاً روی برخی از گونه‌های علف‌هرز تأثیر زیادی دارند و در کنترل گونه‌های دیگر علف‌هرز، چندان موفق نبوده یا اصلاً آنها را کنترل نمی‌کنند. کشاورزان به خوبی از این موضوع آگاهی داشته و از مخلوط‌های علف‌کشی برای بهینه‌سازی کنترل علف‌های هرز و به حداقل رساندن هزینه‌ها استفاده می‌کنند (۸).

چغندر قند^۵ از گیاهان زراعی کند رشد بوده و بسیاری از علف‌های هرز در این محصول ارتفاع زیادی به خود می‌گیرند. از بین ۲۵۰ گونه مهم علف‌هرز موجود در دنیا حدود ۶۰ گونه از آنها در اراضی تحت کشت چغندر قند یافت می‌شوند. علف‌های هرز مهمترین عوامل محدود کننده کشت چغندر قند بوده و وجود علف‌های هرز پهن‌برگ در مزارع چغندر قند عامل اصلی کاهش عملکرد آن محسوب می‌شوند (۸). مهمترین علف‌های هرز پهن‌برگ مزارع چغندر قند عبارتند از: تاج‌ریزی سیاه^۶، تاج‌خروس ریشه قرمز^۷، سلمه‌تره^۸، هفت‌بند^۹، تاتوره^{۱۰}،

۱- عضو هیأت علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

(*) نویسنده مسئول: (Email: a.a.chitband@gmail.com)

۲، ۳ و ۴- استادان و کارشناس ارشد علوم علف‌های هرز، دانشکده کشاورزی،

دانشگاه فردوسی مشهد

DOI: 10.22067/jpp.v31i3.50875

7- *Amaranthus retroflexus* L.

8- *Chenopodium album* L.

9- *Polygonum aviculare* L.

10- *Datura stramonium* L.

11- *Portulaca oleracea* L.

12- *Convolvulus arvensis* L.

5- *Beta vulgaris* L.

6- *Solanum nigrum* L.

در هکتار، بطور قابل ملاحظه‌ای می‌تواند علف‌های هرزی نظیر سلمه تره، شاه‌تره^۹، انواع تاج خروس و شقایق^{۱۰} را کنترل کند. گونیک و والکو (۱۵) بیان نمودند که کاربرد دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست (چهار لیتر در هکتار) با کلوپیرالید (۰/۴ لیتر در هکتار)، کنترل مؤثری بر علف‌های هرز پهن‌برگی همچون خارلته^{۱۱} داشته است. بروتیگرام (۴) نشان داد که کاربرد فن‌مدیفام + اتوفومیست (بتانال تانیدم) با گلتیکس (میتامیترون) تأثیر بیشتری در کنترل علف‌های هرز داشته و از رقابت اولیه علف‌های هرز با چغندر قند جلوگیری کرده است. گامو و همکاران (۱۳) بیان کردند که اختلاط کلریدازون (پیرامین) و دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست (بتانال پروگرس آف) در مقادیر ۴ + ۶ لیتر در هکتار و در نصف دُز بکار رفته بعد از رویش علف‌های هرز دولپه‌ای، منجر به کنترل ۹۷ درصدی آنها می‌شود. همچنین، پارادوسکی و پراسیک (۲۳) گزارش کردند که کاربرد مخلوط کلریدازون با میتامیترون می‌تواند موجب کنترل طیف وسیعی از علف‌های هرز در مزارع چغندر قند شود.

کاربرد هر یک از علف‌کش‌های دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست، کلریدازون و کلوپیرالید در دُز توصیه شده بیش از مقدار مورد نیاز بوده و مقدار علف‌کش بیشتری را به محیط وارد می‌کند. بر این اساس، کاهش دُز علف‌کش‌های بکار رفته برای کنترل علف‌های هرز در کاربرد خالص و اختلاط با یکدیگر به خصوص در مراحل ابتدایی رشد از اهداف اصلی این پژوهش بوده است. دستیابی به ترکیب مناسبی از مخلوط‌های علف‌کشی مورد نظر برای مهار بهتر علف‌هرز و مطالعه اثرات افزایشی، هم‌افزایی و یا هم‌کاهی ناشی از اختلاط علف‌کش‌ها از دیگر اهداف تحقیق حاضر بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثرات اختلاط علف‌کش‌های دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست، کلریدازون و کلوپیرالید بر کنترل علف‌های هرز تاج‌ریزی سیاه و تاج‌خروس ریشه قرمز در مقادیر کاهش یافته، دو آزمایش دُز-پاسخ، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰۵ تیمار علف‌کشی برای هر علف‌هرز و سه تکرار برای هر تیمار، در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۲ به اجرا درآمد. آزمایش‌های اولیه انجام شده روی بذور علف‌های هرز تاج‌ریزی سیاه و تاج‌خروس ریشه قرمز نشان داد که بذور علف‌هرز تاج‌ریزی سیاه فاقد خواب بوده، درحالی‌که بذور علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز دارای خواب می‌باشند.

و ۲۲). امروزه، استفاده همزمان دو یا چند علف‌کش، بصورت پیش‌اختلاط و یا اختلاط در مخزن قبل از کاربرد آنها، امری رایج در کشاورزی مدرن محسوب می‌شود. اگرچه ممکن است کاربرد خالص یک علف‌کش منجر به کنترل مطلوب علف‌های هرز مشخصی شود، ولی در اغلب موارد موجب عدم رضایت از هزینه و کنترل نامناسب کلیه علف‌های هرز موجود در یک کشت‌بوم می‌شود (۶ و ۲۰). نتایج اثرات متقابل بین علف‌کش‌ها، ممکن است هم‌افزایی^۱ (فعالیت افزایش یافته دو علف‌کش)، افزایشی^۲ (بدون فعالیت برای دو علف‌کش) و یا هم‌کاهی^۳ (فعالیت کاهش یافته دو علف‌کش) باشد. برای تعیین اثرات هم‌افزایی، افزایشی و یا هم‌کاهی اختلاط دو علف‌کش‌ها باید از مدل‌های مرجع مشترک^۴ استفاده نمود. این مدل‌ها شامل مدل دُز افزایشی (ADM)^۵ و مدل مضرب بقا (MSM)^۶ می‌باشند (۱، ۵، ۶، ۲۶، ۲۸ و ۲۹). مدل ADM (مدل افزایش غلظت)^۷ بر فرض افزایشی بودن دُزها استوار است، در این مدل علف‌کش می‌تواند به طور کامل یا تا حدودی به وسیله علف‌کش دیگری با دُز معادل جایگزین شود. در مدل MSM (مدل عمل مستقل)^۸ فرض بر این است که کارایی مورد انتظار علف‌کش‌ها در مخلوط، از طریق ضرب کردن درصد بقای هر یک از علف‌کش‌ها به تنهایی، قابل محاسبه است، به عبارتی هر یک از علف‌کش‌ها نحوه عمل مستقلی داشته و هیچ یک از آنها بر دیگری اثر گذار نیست (۱، ۵، ۶، ۱۶ و ۲۱). در شکل (۱) اثرات هم‌افزایی، افزایشی و هم‌کاهی براساس دو مدل ADM و MSM نشان داده شده است.

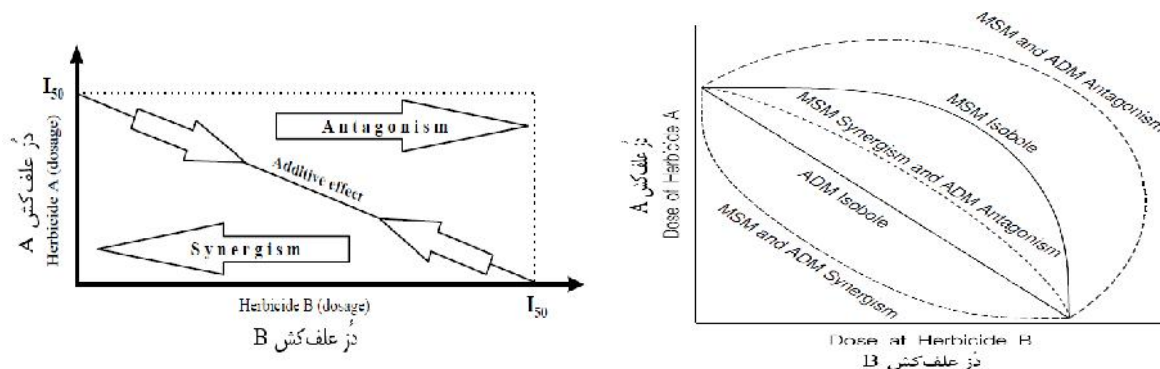
در حال حاضر تعداد کمی علف‌کش برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ چغندر قند در ایران قابل دسترس هستند. علف‌کش‌های کلریدازون، دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست و کلوپیرالید از آن جمله‌اند. این علف‌کش‌ها از گروه بازدارندگان فتوسنتز، بازدارنده سنتز چربی و اکسین‌ها بوده که برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ در مزارع چغندر قند بکار می‌روند (۳۳). به‌منظور دستیابی طیف کنترل وسیعی از علف‌های هرز زراعتی عموماً سایر علف‌کش‌های انتخابی مزارع چغندر قند (بازدارندگان فتوسیستم ۲) را در مقادیر کاهش یافته و بصورت مخلوط با علف‌کش کلوپیرالید بکار می‌برند (۸). وینسیل (۳۱) بیان نمود که کاربرد علف‌کش کلوپیرالید در زراعت چغندر قند به میزان ۲۵۰-۳۵۰ میلی‌لیتر به همراه ۴ لیتر از علف‌کش فن‌مدیفام (بتانال)

- 1- Synergism
- 2- Additive
- 3- Antagonism
- 4- Reference model
- 5- Additive Dose Model (ADM)
- 6- Multiplicative Survival Model (MSM)
- 7- Concentration Addition = CA
- 8- Independent Action = IA

9- *Fumaria officinalis* L.

10- *Papaver* spp.

11- *Cirsium arvense* L.



شکل ۱- تعاملات ممکن در اختلاط دو ماده شیمیایی (ID_{50} = مقادیر علف‌کش‌های بکار رفته بصورت خالص و یا در مخلوط که منجر به کنترل

۵۰ درصد از علف‌های هرز می‌شود) (a); اثرات هم‌افزایی، هم‌کاهی و افزایشی براساس دو مدل MSM و ADM (b)

Figure 1- Schematic presentation of herbicide interactions (ID_{50} = rates of herbicides, applied alone or in mixture, for a 50% weed control) (a); Isoboles for mixtures of herbicides at a given response level, e.g. ED_{50} based on ADM and MSM models (b)

۲۷/۴ درصد، تراگوسا اسپانیا^۳، کلریدازون (پیرامین، WP ۶۵ درصد، بایر آلمان^۴) و کلوپیرالید (لوتنرل، SL ۳۰ درصد، گل‌سم گرگان^۵) در ۵ نسبت اختلاط ۱۰۰:۰، ۷۵:۲۵، ۵۰:۵۰، ۲۵:۷۵ و ۰:۱۰۰ به‌همراه سه تیمار شاهد برای هر یک از مخلوط‌های علف‌کشی در جدول (۱) آورده شده است.

گیاهان در مرحله ۴ تا ۶ برگگی کامل با استفاده از سمپاش متحرک ریلی^۶ مجهز به نازل بادبزی معمولی^۷ با خروجی ۲۰۰ لیتر در هکتار با فشار پاشش ۲۰۰ کیلو پاسکال سمپاشی شدند. شرایط محیطی در هنگام پاشش علف‌کش‌ها یکنواخت بود (دما 25 ± 3 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 45 ± 6 درصد). اندام‌های هوایی گیاهان شاهد و تیمار شده چهار هفته پس از اعمال تیمارها از روی سطح گلدان‌ها برداشت شده و وزن‌تر و خشک آنها اندازه‌گیری شد و از میانگین وزن خشک در هر گلدان برای برازش منحنی‌های آیزوبول استفاده شد. تمامی داده‌ها به طور همزمان با استفاده از نرم افزار R، با مدل لجستیک سه پارامتره (معادله ۱) برازش داده شدند (۷، ۲۱، ۲۸ و ۲۹):

$$U = \frac{d}{1 + \exp [b(\log(z) - \log(ED_{50}))]} \quad (1)$$

بنابراین به‌منظور خواب شکنی، بذور تاج خروس ریشه قرمز به مدت ۲ دقیقه در اسید سولفوریک غلیظ ۹۸ درصد^۱ قرار گرفته و آتشویی شدند. سپس بذور این علف‌هرز به درون پتری دیش‌هایی با قطر ۱۱ سانتی‌متر حاوی یک لایه کاغذ صافی منتقل شدند. پتری دیش‌های حاوی بذور تاج خروس ریشه قرمز به مدت ۷۲ تا ۹۶ ساعت در دستگاه ژرمیناتور^۲ با شرایط دمایی 25 ± 3 درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۸/۶ ساعت روشنایی/ تاریکی با شدت نوری ۱۸۰۰۰ لوکس قرار گرفتند. سپس بذور جوانه زده به داخل گلدان منتقل شدند. بذور تاج‌ریزی سیاه نیز به مدت یک هفته به‌همراه آب مقطر در یخچال در دمای ۳ تا ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و پس از ظهور ساقه‌چه و ریشه‌چه، بذور بطور مستقیم با تراکم ده عدد در گلدان‌های یک لیتری محتوی یک‌سوم خاک، خاکبرگ و ماسه بادی در عمق نیم‌سانتی‌متری کاشته شدند. گلدان‌ها هر دو تا سه روز یکبار از طریق زیر گلدانی آبیاری شده و در مرحله دو برگگی کامل علف‌های هرز، چهار عدد گیاهچه در هر گلدان حفظ شده و مابقی تنک شدند.

پس از حذف بوته‌های اضافی، به میزان ۳۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۳ کود ۲۰:۲۰:۲۰ (N:P:K) به هر یک از گلدان‌ها اضافه شد. دمای گلخانه در طول مدت رشد، بین ۱۸ تا ۳۱ درجه سانتی‌گراد در طول روز و ۱۶ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طول شب متغیر بود. تیمارهای آزمایش شامل هفت دُز خالص و مخلوط از علف‌کش‌های دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست (بتانال پروگرس - اُواف، EC

3- Tragus, Spin

4- Bayer Crop Science, Germany

5- Golsam, Gorgan

6- Matabi 121030 Super Agro 20 l sprayer; Agratech Services-Crop®, Spraying Equipment, Rossendale, UK

7- 8002 flat – fan nozzle

1- Sulfuric Acid (H₂SO₄ 98%) Art 100713 MERCK , Minatajhez.co.LTD

2- Germinator (Grow Chamber, 375 L, Iran)

جدول ۱- تیمارهای علف‌کشی با نسبت‌های مختلف خالص و اختلاط بر علف‌های هرز تاج‌ریزی سیاه و تاج‌خروس ریشه قرمز برحسب گرم ماده مؤثره در هکتار از آزمایش‌های گلخانه‌ای

Table 1- Herbicidal treatments with different pure and mixture ratios on the black nightshade red root pigweed weeds (g a.i. ha⁻¹) in greenhouse experiments

علف‌کش Herbicide	نسبت‌های اختلاط Mixture ratios				
	۱۰۰:۰ 100:0	۷۵:۲۵ 75:25	۵۰:۵۰ 50:50	۲۵:۷۵ 25:75	۰:۱۰۰ 0:100
تاج‌ریزی سیاه <i>Solanum nigrum</i> L.					
دُزهای هر علف‌کش در مخلوط (گرم ماده مؤثره در هکتار) Herbicide doses in mixture (g a.i. ha ⁻¹)					
کلوپیرالید+ دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت †Des+Phen+Etho + Clopyralid	19.79 + 0	14.85 + 2.07	9.9 + 4.14	4.95 + 6.21	0 + 8.28
"	39.58 + 0	29.7 + 4.14	19.79 + 8.28	9.9 + 12.42	0 + 16.55
"	79.15 + 0	59.37 + 8.28	39.58 + 16.56	19.79 + 24.84	0 + 33.1
"	158.3 + 0	118.74 + 16.56	79.16 + 33.12	39.58 + 49.68	0 + 66.2
"	237.45 + 0	178.11 + 24.84	118.74 + 49.68	59.37 + 74.52	0 + 99.3
"	316.6 + 0	237.48 + 33.12	158.32 + 66.24	79.16 + 99.36	0 + 132.4
کلوپیرالید + کلریدازون Chloridazon + Clopyralid	71.82 + 0	53.88 + 2.07	35.92 + 4.14	17.96 + 6.21	0 + 8.28
"	143.65 + 0	107.76 + 4.14	71.84 + 8.28	35.91 + 12.42	0 + 16.55
"	287.29 + 0	215.52 + 8.28	143.68 + 16.56	71.82 + 24.84	0 + 33.1
"	574.58 + 0	431.04 + 16.56	287.36 + 33.12	143.64 + 49.68	0 + 66.2
"	861.87 + 0	646.56 + 24.84	431.04 + 49.68	215.46 + 74.52	0 + 99.3
"	1149.16 + 0	862.08 + 33.12	574.72 + 66.24	287.28 + 99.36	0 + 132.4
کلریدازون + دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت Des+Phen+Etho +Chloridazon	19.79 + 0	14.85 + 17.96	9.9 + 35.99	4.95 + 53.88	0 + 71.82
"	39.58 + 0	29.7 + 35.91	19.79 + 71.84	9.9 + 107.76	0 + 143.65
"	79.15 + 0	59.37 + 71.82	39.58 + 143.68	19.79 + 215.52	0 + 287.29
"	158.3 + 0	118.74 + 143.64	79.16 + 287.36	39.58 + 431.04	0 + 574.58
"	237.45 + 0	178.11 + 215.46	118.74 + 431.04	59.37 + 646.56	0 + 861.87
"	316.6 + 0	237.48 + 287.28	158.32 + 574.72	79.16 + 862.08	0 + 1149.16
تاج‌خروس ریشه قرمز <i>Amaranthus retroflexus</i> L.					
کلوپیرالید+ دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت †Des+Phen+Etho + Clopyralid	21.49 + 0	16.12 + 2.15	10.75 + 4.29	5.37 + 6.44	0 + 8.58
"	42.99 + 0	32.24 + 4.29	21.49 + 8.58	10.75 + 12.87	0 + 17.16
"	85.99 + 0	64.47 + 8.58	42.98 + 17.16	21.49 + 25.74	0 + 34.32
"	171.98 + 0	128.94 + 17.16	85.96 + 34.32	42.98 + 51.48	0 + 68.65
"	257.97 + 0	193.41 + 25.74	128.94 + 51.48	64.47 + 77.22	0 + 102.97
"	343.96 + 0	257.88 + 34.32	171.92 + 68.64	85.96 + 102.96	0 + 137.29
کلوپیرالید + کلریدازون Chloridazon + Clopyralid	75.98 + 0	56.99 + 2.15	37.99 + 4.29	18.99 + 6.44	0 + 8.58
"	151.97 + 0	113.97 + 4.29	75.98 + 8.58	37.99 + 12.87	0 + 17.16
"	303.94 + 0	227.94 + 8.58	151.96 + 17.16	75.98 + 25.74	0 + 34.32
"	607.87 + 0	455.88 + 17.16	303.99 + 34.32	151.96 + 51.48	0 + 68.65
"	911.81 + 0	683.82 + 25.74	455.88 + 51.48	227.94 + 77.22	0 + 102.97
"	1215.74 + 0	911.76 + 34.32	607.84 + 68.64	303.92 + 102.96	0 + 137.29
کلریدازون + دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت Des+Phen+Etho +Chloridazon	21.49 + 0	16.12 + 18.99	10.75 + 37.99	5.37 + 56.99	0 + 75.98
"	42.99 + 0	32.24 + 37.99	21.49 + 75.98	10.75 + 113.97	0 + 151.97
"	85.99 + 0	64.47 + 75.98	42.98 + 151.96	21.49 + 227.94	0 + 303.94
"	171.98 + 0	128.94 + 151.96	85.96 + 303.92	42.98 + 455.88	0 + 607.87
"	257.97 + 0	193.41 + 227.94	128.94 + 455.88	64.47 + 683.82	0 + 911.81
"	343.96 + 0	257.88 + 303.92	171.92 + 607.84	85.96 + 911.76	0 + 1215.74

† Des+Phen+Etho = Desmedipham + phenmedipham + ethofumesate

وصل کردن یک خط راست بین آنها قابل ترسیم است. دُرهای ED₅₀، ED₈₀ و ED₉₀ مشاهده‌ای روی شکل رسم شده و با شکل آیزوبول مدل ADM مقایسه شدند. نقاط بالای خط آیزوبول مدل ADM نشان دادند که مقدار کُنش پیوسته مخلوط کمتر از مقدار پیش‌بینی شده بوسیله مدل ADM است، درحالی‌که نقاط پایین‌تر از خط آیزوبول مدل ADM بیانگر مقادیر کُنش پیوسته بالاتر از مقدار پیش‌بینی شده بوسیله مدل ADM بودند (۶ و ۲۱).

نتایج و بحث

ارزیابی دُر-پاسخ کاربرد مخلوط علف‌کش‌ها

بر اساس نتایج حاصل از برازش منحنی‌های دُر-پاسخ (شکل ۲)، تأثیر اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست با علف‌کش کلوپیرالید در کاهش ۹۰ درصدی وزن خشک علف‌هرز تاج‌ریزی سیاه در هر سه نسبت اختلاط ۷۵:۲۵، ۵۰:۵۰ و ۲۵:۷۵ بهتر از اختلاط علف‌کش کلریدازون با علف‌کش کلوپیرالید و اختلاط علف‌کش دس-مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست با علف‌کش کلریدازون بود، بطوریکه تأثیر اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست با علف‌کش کلوپیرالید در تمامی نسبت‌های اختلاط بر علف‌هرز تاج‌ریزی سیاه بهتر از کاربرد خالص آنها بود. بر این اساس، کاربرد ۶۸/۶۵ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست و ۹/۵۷ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف‌کش کلوپیرالید به ترتیب موجب کاهش ۹۰ درصدی وزن خشک علف‌هرز تاج‌ریزی سیاه در نسبت اختلاط ۷۵:۲۵ شد، درحالی‌که برای کاهش ۹۰ درصدی در وزن خشک این علف‌هرز، به ۱۶۳/۴۶ گرم ماده مؤثره در هکتار از تیمار خالص علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست نیاز و ۵۰/۸۷ گرم ماده مؤثره از تیمار خالص علف‌کش کلوپیرالید نیاز بود. در این نسبت اختلاط کاربرد ۱۰۸/۸۸ گرم ماده مؤثره در هکتار (۴۹/۲۸ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف‌کش دس-مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست و ۵۹/۶۰ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف‌کش کلریدازون) و ۱۷۸/۲۳ گرم ماده مؤثره در هکتار (۱۷۱/۶۳ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف‌کش کلریدازون و ۶/۶۰ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف‌کش کلوپیرالید) موجب کاهش ۹۰ درصدی وزن خشک این علف‌هرز شد، درحالی‌که برای کاهش ۹۰ درصدی وزن خشک این علف‌هرز به ۲۷۳/۰۹ گرم ماده مؤثره در هکتار از تیمار خالص علف‌کش کلریدازون نیاز بود (جدول ۲).

در معادله (۱)؛ U بیانگر وزن خشک در دُر z، d حد بالای وزن خشک در مقادیر صفر از علف‌کش مورد نظر، ED₅₀^۱ مقدار علف‌کش لازم برای کاهش ۵۰ درصدی در وزن خشک علف‌های‌هرز و b متناسب با شیب منحنی در محدوده ED₅₀ می‌باشد. با پارامترگذاری مجدد در معادله (۱)، پارامتر ED₅₀ می‌تواند با هر مقداری از پارامتر ED جایگزین شود، بطوریکه مقادیر ED₉₀ با استفاده از معادله ۲ تعیین شد (۶ و ۱۰):

$$U_{ij} = \frac{D}{1 + \exp[b_i(\log(z_{ij}) + 1.99/b_i - \log(ED_{90(i)}))]} \quad (2)$$

که در آن ED₉₀ بیانگر مقدار علف‌کش در غلظت i ام لازم برای کاهش ۹۰ درصدی وزن خشک علف‌هرز بین حدود بالا و پایین D و C می‌باشد. اختلاط دو علف‌کش در هر نسبت بکار رفته براساس مدل ADM و در هر سطح پاسخ از پیش تعریف شده (ED₅₀، ED₈₀ و ED₉₀) از فرمول زیر محاسبه شد:

$$\partial_1 = r. \partial_2 = d_1 + r.d_2 \quad (3)$$

که در آن، ∂_1 و ∂_2 ED_x علف‌کش‌های خالص، و d₁ و d₂ دُرهای علف‌کش‌ها در مخلوط است، از اینرو، (d₁ + rd₂) مخلوط بدست آمده از ED_x در واحدهای ∂_1 بیان می‌شود. آیزوبول با تعریف حالت افزایشی با مدل ADM می‌تواند در هر سطح پاسخی به صورت زیر توضیح داده شود:

$$\frac{d_1}{\partial_1} + \frac{d_2}{\partial_2} = 1 \quad (4)$$

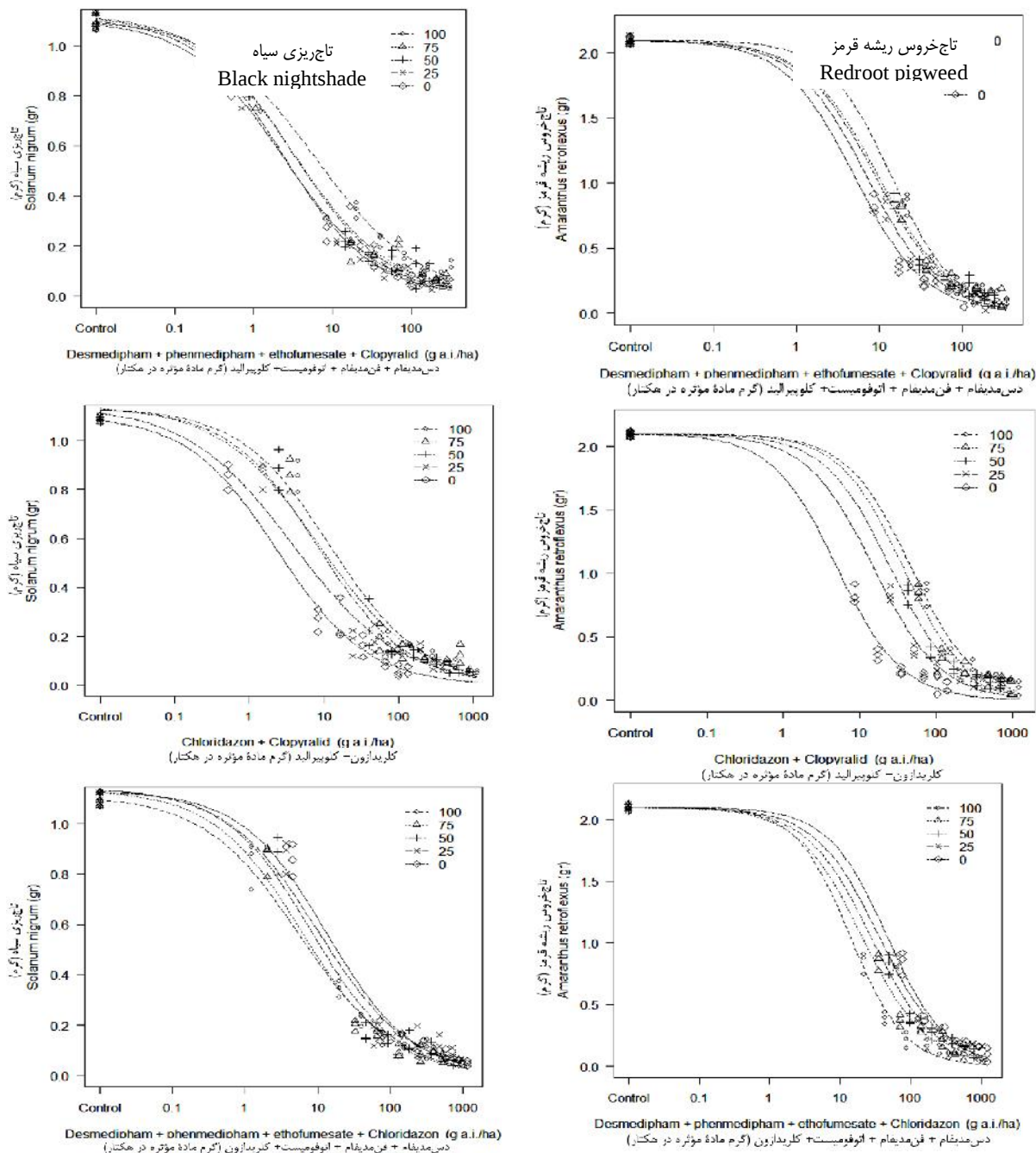
با فرضیات فوق، پتانسیل نسبی (R) بین علف‌کش‌های ∂_1 و ∂_2 از رابطه زیر بدست آمد:

$$R = \partial_1 / \partial_2 \quad (5)$$

R، پتانسیل نسبی بین دو علف‌کش، نرخ بیولوژیکی بین علف‌کش‌ها را زمانی که به تنهایی بکار می‌روند، بیان می‌کند. دُر ED₅₀، ED₈₀ و ED₉₀ پیش‌بینی شده مخلوط‌ها مطابق با ADM (برای مثال ED_{50mix}) می‌تواند به آسانی بر پایه دُر ED₅₀ علف‌کش‌های بکار رفته خالص و نسبت علف‌کش‌ها در مخلوط محاسبه شود:

$$ED_{50mix} = ED_{50A} / (a + (1-a)R) \quad (6)$$

که در آن ED_{50A}، دُر ED₅₀ علف‌کش A، a نسبت علف‌کش A در مخلوط و R پتانسیل نسبی است که در معادله (۵) بیان شد (۶ و ۲۱). شکل‌های آیزوبول مدل ADM با مشخص کردن ED₅₀، ED₈₀ و ED₉₀ دُر هر یک از علف‌کش‌ها در مخلوط روی محور x و y



شکل ۲- منحنی‌های دوز-پاسخ حاصل از برازش مدل سه پارامتری لجستیک علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست در کاربرد خالص و اختلاط با علف‌کش‌های کلریدازون و کلویرالید با نسبت‌های مختلف بر وزن خشک علف‌هرز تاج‌ریزی سیاه (چپ) و تاج‌خروس ریشه قرمز (راست) در مرحله چهار تا شش برگی. نسبت‌های اختلاط بر اساس نسبت علف‌کش‌های دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست، کلریدازون و دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست به ترتیب از بالا به پایین در مخلوط نشان داده شده‌اند

Figure 2- Dose-response curves of three log-logistic model fitting applied alone and mixture of desmedipham plus phenmedipham plus ethofumesate with chloridazon and clopyralid with different mixture ratio on *Solanum nigrum* L. (a-c) and *Amaranthus retroflexus* L. (d-f) dry matter at four- to six-true leaf stage. Mixture ratios have been shown based on desmedipham plus phenmedipham plus ethofumesate, chloridazon and desmedipham plus phenmedipham plus ethofumesate ratio in mixture from above to below, respectively

در نسبت اختلاط ۵۰:۵۰، کاربرد ۳۹/۹۸ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست و ۱۷/۷۷ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید منجر به کاهش ۹۰ درصدی وزن خشک علف هرز تاج ریزی سیاه نسبت به شاهد شد. در حالی که در همین نسبت اختلاط، کاربرد ۳۸/۱۷ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست و ۱۳۸/۴۹ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید و کاربرد ۱۵۷/۰۱ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید و ۱۸/۰۹ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید کنترل ۹۰ درصدی این علف هرز را ایجاد کرد که مقدار کاربرد خالص هر سه علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست، کلپیرالید و کلپیرالید در مقایسه با مصرف مخلوط آنها بطور معنی داری کاهش یافته بود (شکل ۲ و جدول ۲).

همچنین در اختلاط ۲۵:۷۵، کاربرد ۱۸/۵۱ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست و به همراه ۲۳/۲۳ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید و نیز کاربرد ۱۸/۶۵ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست به همراه ۲۰۳/۰۱ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید و کاربرد ۹۰/۶۸ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید و به همراه ۳۱/۳۶ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید منجر به کاهش ۹۰ درصدی در وزن خشک علف هرز تاج ریزی سیاه نسبت به شاهد شد (شکل ۲ و جدول ۲). همچنین در هر سه نسبت اختلاط ۲۵:۷۵، ۵۰:۵۰ و ۲۵:۷۵، کاربرد به ترتیب ۲۱/۶۸، ۱۲/۶۳ و ۵/۸۵ درصدی از علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست نسبت به تیمار خالص منجر به کاهش ۹۰ درصدی در وزن خشک علف هرز تاج ریزی سیاه شد.

در حالی که، در این نسبت های اختلاط کاربرد به ترتیب ۵۴/۲۳، ۴۹/۵۹ و ۲۸/۶۴ درصدی از علف کش کلپیرالید نسبت به تیمار خالص موجب کاهش ۹۰ درصدی در وزن خشک علف هرز مذکور شد. ضمن آنکه در این نسبت های اختلاط مقدار دُز بکار رفته علف کش کلپیرالید در اختلاط با دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست نیز کمتر از مقدار دُز بکار رفته آن در اختلاط با علف کش کلپیرالید بود (جدول ۲). همچنین، اختلاط علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست با علف کش کلپیرالید در هر سه نسبت اختلاط نیز تأثیر در حالی که، در این نسبت های اختلاط کاربرد به ترتیب ۵۴/۲۳، ۴۹/۵۹ و ۲۸/۶۴ درصدی از علف کش کلپیرالید نسبت به تیمار خالص موجب کاهش ۹۰ درصدی در وزن خشک علف هرز مذکور شد. ضمن آنکه در این نسبت های اختلاط مقدار دُز بکار رفته علف کش کلپیرالید در اختلاط با دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست

نیز کمتر از مقدار دُز بکار رفته آن در اختلاط با علف کش کلپیرالید بود (جدول ۲).

همچنین، اختلاط علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست با علف کش کلپیرالید در هر سه نسبت اختلاط نیز تأثیر خوبی در کنترل علف هرز تاج ریزی سیاه نسبت به دُز علف کشی بکار رفته دو علف کش در حالت خالص داشت (جدول ۲)، بطوریکه با افزایش دُز مصرفی علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست در مخلوط مذکور، مقدار دُز مخلوط علف کشی کمتری برای حصول کاهش ۹۰ درصدی در وزن خشک علف هرز تاج ریزی سیاه مورد نیاز بود (جدول ۲).

همچنین، تأثیر اختلاط علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست با علف کش کلپیرالید بر روی علف هرز تاج خروس ریشه قرمز در هر سه نسبت اختلاط ۷۵:۲۵، ۵۰:۵۰ و ۲۵:۷۵ بهتر از اختلاط علف کش کلپیرالید و اختلاط علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست با کلپیرالید و اختلاط علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست با کلپیرالید بود. بر این اساس، کاربرد ۸۹/۷۰ گرم ماده مؤثره در هکتار (۷۹/۱۵ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست و ۱۰/۵۶ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید)) در نسبت اختلاط ۷۵:۲۵، کاربرد ۸۵/۶۲ گرم ماده مؤثره در هکتار (۶۱/۲۰ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست و ۲۴/۴۲ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید) در نسبت اختلاط ۵۰:۵۰ و کاربرد ۶۱/۸۸ گرم ماده مؤثره در هکتار (۲۸/۱۴ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست و ۳۴/۷۹ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید) در نسبت اختلاط ۲۵:۷۵ منجر به کاهش ۹۰ درصدی در وزن خشک علف هرز تاج خروس ریشه قرمز شد. حال آنکه برای کاهش ۹۰ درصدی وزن خشک این علف هرز به ترتیب به ۱۰۷/۰۷ و ۳۹۱/۱۹ گرم ماده مؤثره در هکتار از تیمار خالص علف کش های دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست و کلپیرالید نیاز بود. همچنین، کاربرد ۱۳۱/۳۴ گرم ماده مؤثره در هکتار (۹۸/۰۸ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید و ۳۴/۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید) در نسبت اختلاط ۲۵:۷۵ و کاربرد ۱۹۷/۶۸ گرم ماده مؤثره در هکتار (۹۰/۷۶ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیست و ۱۰۶/۹۲ گرم ماده مؤثره در هکتار از علف کش کلپیرالید) در نسبت اختلاط ۷۵:۲۵ منجر به کاهش ۹۰ درصدی وزن خشک علف هرز تاج خروس ریشه قرمز شد. در نسبت های اختلاط ۲۵:۷۵ و ۵۰:۵۰ علف کش های کلپیرالید با کلپیرالید مقدار دُز حاصل شده برای کاهش ۹۰ درصدی در وزن

خشک علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز کمتر و یا نزدیک مقادیر ED₉₀ آنها بود (جدول ۲).

بدست آمده از اختلاط دو علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست

اتوفومیست با علف‌کش کلریدازون در نسبت‌های ۵۰:۵۰ و ۷۵:۲۵

جدول ۲- مقادیر دُز مؤثر مورد نیاز علف‌کش‌های کلوپیرالید و کلریدازون در اختلاط آنها با دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست در نسبت‌های مختلف برای بدست آوردن کاهش ۵۰، ۸۰ و ۹۰ درصدی در وزن خشک نسبت به تیمار شاهد علف‌های هرز تاج‌ریزی سیاه و تاج‌خروس ریشه قرمز در مرحله چهار تا شش برگی (خطاهای استاندارد در داخل پرانتز گزارش شده‌اند)

Table 2- Doses required of clopyralid and chloridazon in mixture with Desmedipham plus phenmedipham plus ethofumesate in various fixed-ratio binary mixtures for 50%, 80% and 90% reduction in on black nightshade and redroot pigweed aboveground dry matter compared to untreated check at four-to six-true leaf stage. SE values are given in parenthesis

Weed species گونه علف‌هرز	Herbicide علف‌کش	Mixture ratio نسبت اختلاط	Effective dose (g a.i. ha ⁻¹) (گرم ماده مؤثره در هکتار)		
			ED ₅₀	ED ₈₀	ED ₉₀
تاج‌ریزی سیاه <i>Solanum nigrum</i> L.	† Des+Phen+Etho دس+فن+اتو	100 : 0	5.77 (1.01)	47.57 (5.21)	163.46 (19.60)
	Des+Phen+Etho + Clopyralid	75 : 25	2.47+0.34 (0.71+0.11) ‡	20.13+2.81 (3.29 + 1.09)	68.65+9.57 (11.98+2.93)
	کلوپیرالید + دس+فن+اتو	50 : 50	2.51+1.11 (0.43 +0.21)	14.39+6.39 (2.02+1.01)	39.98+17.77 (6.89+3.68)
	"	25 : 75	1.04+1.31 (0.12 +0.27)	6.41 +8.04 (0.67 +0.92)	18.51+23.23 (2.16 +2.48)
	Clopyralid کلوپیرالید	0 : 100	2.38 (0.51)	16.42 (2.21)	50.87 (7.07)
	Chloridazon کلریدازون	100 : 0	12.47 (2.69)	87.43 (12.49)	273.09 (37.82)
	Chloridazon + Clopyralid	75 : 25	12.64+0.49 (1.83+ 0.15)	65.53+2.97 (9.28+0.95)	171.64+6.60 (32.24+2.75)
	کلوپیرالید + کلریدازون	50 : 50	6.10+0.70 (1.83 +0.25)	47.35+5.46 (8.05 +2.37)	157.01+18.09 (26.02+4.01)
	"	25 : 75	3.91+1.35 (0.93 +0.29)	28.42+9.83 (4.05 +2.96)	90.68+31.36 (22.79 +5.16)
	Clopyralid کلوپیرالید	0 : 100	2.38 (0.51)	16.42 (2.21)	50.87 (7.07)
تاج‌خروس ریشه قرمز <i>Amaranthus retroflexus</i> L.	Des+Phen+Etho دس+فن+اتو	100 : 0	5.77 (1.01)	47.57 (5.21)	163.46 (19.60)
	Des+Phen+Etho + Chloridazon	75 : 25	3.59+4.34 (0.88+0.98)	18.72+22.67 (2.49+2.55)	49.28+ 59.60 (7.46+ 9.70)
	کلریدازون + دس+فن+اتو	50 : 50	1.62+ 5.86 (0.20+1.82)	11.88+ 43.11 (2.95+6.94)	38.17+138.49 (6.57+24.96)
	"	25 : 75	1.05+11.38 (0.39+2.35)	6.57+ 70.07 (2.98+ 10.55)	18.65+203.01 (5.06+43.22)
	Chloridazon کلریدازون	100 : 0	12.47 (2.69)	87.43 (12.49)	273.09 (37.82)
	Des+Phen+Etho دس+فن+اتو	100 : 0	12.93 (1.57)	49.07 (3.47)	107.07 (11.24)
	Des+Phen+Etho + Clopyralid	75 : 25	9.05+ 1.21 (1.01 +0.24)	35.56+4.74 (1.85+ 1.02)	79.15 + 10.56 (9.94+2.24)
	کلوپیرالید + دس+فن+اتو	50 : 50	6.48+ 2.59 (0.98+ 0.19)	26.72+ 10.66 (1.84+ 1.15)	61.20+24.42 (7.63 +4.44)
	"	25 : 75	3.22+ 3.98 (0.40 + 0.41)	12.64+15.63 (0.94 + 1.03)	28.14+34.79 (3.52+ 4.16)
	Clopyralid کلوپیرالید	100 : 0	5.05 (0.70)	19.63 (1.63)	43.43 (6.53)
تاج‌خروس ریشه قرمز <i>Amaranthus retroflexus</i> L.	Chloridazon کلریدازون	100 : 0	46.72 (5.19)	178.55 (12.56)	391.19 (48.17)
	Chloridazon + Clopyralid	75 : 25	35.31+ 1.33 (3.82+ 0.75)	132.77+ 5.01 (9.05+ 1.78)	288.14+10.87 (38.56+3.52)
	کلوپیرالید + کلریدازون	50 : 50	21.33+2.41 (2.64 +0.75)	89.88+ 10.15 (5.54+ 2.54)	208.45 +23.54(26.92+4.07)
	"	25 : 75	11.77+ 4.12 (0.91+ 0.82)	44.85+ 15.68 (2.99 +1.38)	98.08+34.30 (12.16+5.66)
	Clopyralid کلوپیرالید	100 : 0	5.05 (0.70)	19.63 (1.63)	43.43 (6.53)
	Des+Phen+Etho دس+فن+اتو	100 : 0	12.93 (1.57)	49.07 (3.47)	107.07 (11.24)
	Des+Phen+Etho +Chloridazon	75 : 25	9.80+11.55 (1.21+ 1.54)	39.92+ 47.03 (3.59+ 3.86)	90.76+106.92 23.52+20.85)
	کلریدازون + دس+فن+اتو	50 : 50	5.49+ 19.40 (0.87 +2.88)	26.62+ 94.06 (4.27+ 5.48)	67.01+236.82 15.81+20.82)
	"	25 : 75	3.23+ 34.22 (0.41+3.85)	13.05+138.48 (3.12+ 8.14)	29.56+313.66 (5.86+41.58)
	Chloridazon کلریدازون	100 : 0	46.72 (5.19)	178.55 (12.56)	391.19 (48.17)

† Des+Phen+Etho = Desmedipham + phenmedipham + ethofumesate

‡ Standard errors are in parentheses

دس+فن+اتو = دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست

خطاهای استاندارد در داخل پرانتز گزارش شده‌اند.

تعیین اثرات اختلاط علف‌کشی براساس مدل کُنش پیوسته

ADM

در اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست با علف‌کش کلوپیرالید روی علف‌هرز تاج‌ریزی سیاه تمامی مشاهدات بجز یکی از مشاهدات در سطح پاسخ ED_{50} (نسبت اختلاط ۵۰:۵۰) در درون خط آیزوبول قرار گرفتند و بر اساس ۹۵ درصد فاصله قابل اطمینان جانبی کمتر از مقدار پیش‌بینی شده مطابق با ADM بودند، بدین معنی که اختلاط‌ها فعال‌تر و مؤثرتر از مقدار پیش‌بینی شده مطابق با ADM صرف‌نظر از سطح پاسخ بودند. این نتایج بدین معنی است که دُزهای ED_{80} و ED_{90} بدست آمده برای علف‌کش‌های اختلاط یافته بسیار کمتر از مقدار دُزهای بکار رفته در کاربرد خالص علف‌کش‌هاست و این امر نشان می‌دهد که اختلاط انجام گرفته بین علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست و علف‌کش کلوپیرالید روی علف‌هرز تاج‌ریزی سیاه کاملاً از حالت هم‌افزایی تبعیت کرده است و با افزایش نسبت علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست در اختلاط با علف‌کش کلوپیرالید این اثر مشهودتر بود (شکل ۳ a).

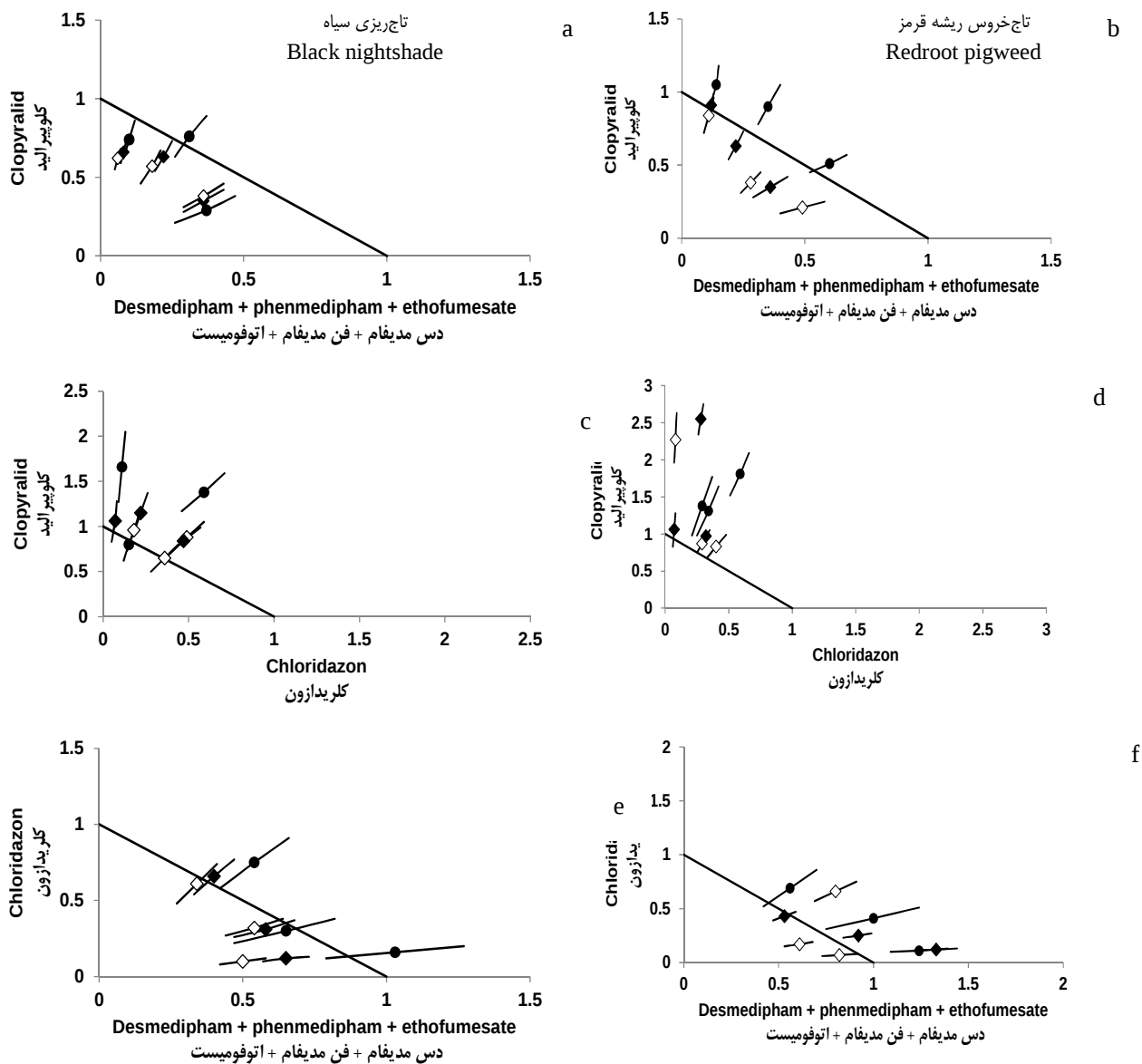
در اختلاط علف‌کش کلریدازون با علف‌کش کلوپیرالید روی علف‌هرز تاج‌ریزی سیاه، مشاهدات ۷ نسبت اختلاط بیرون از خط آیزوبول و ۲ نسبت اختلاط بر روی خط آیزوبول قرار گرفتند. در سطح پاسخ ED_{50} ، مشاهدات بیشتر از مقدار پیش‌بینی شده مطابق با ADM بودند و تنها یکی از آنها (نسبت اختلاط ۵۰:۵۰) روی خط آیزوبول قرار گرفت. در سطوح پاسخ ED_{80} و ED_{90} یکی از مشاهدات آنها روی خط آیزوبول قرار گرفت و اختلاف معنی‌داری با ADM نداشت در سطح پاسخ ED_{80} تنها نسبت اختلاط ۵۰:۵۰ و در سطح پاسخ ED_{90} نیز فقط نسبت اختلاط (۲۵:۷۵) به طور معنی‌داری بیرون از خط آیزوبول قرار گرفت (شکل ۳ c). بنابراین در اختلاط علف‌کش کلریدازون با علف‌کش کلوپیرالید اثرات اختلاط علف‌کشی صرف‌نظر از سطوح پاسخ از حالت هم‌کاهی تبعیت نمود. در اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست با علف‌کش کلریدازون روی علف‌هرز تاج‌ریزی سیاه در سطح پاسخ ED_{50} ، ۲ تا از مشاهدات بیرون و یک مشاهده درون خط آیزوبول قرار گرفته و بطور کلی هر ۳ مشاهده اختلاف معنی‌داری با خط آیزوبول براساس ۹۵ درصد فاصله اطمینان جانبی نداشتند. در سطح پاسخ ED_{80} ، ۲ تا از مشاهدات درون و یک مشاهده بیرون از خط آیزوبول قرار گرفته و در کل از ۳ نسبت اختلاط ۲ نسبت اختلاط آنها اختلاف معنی‌داری با مقدار پیش‌بینی شده بر اساس ۹۵ درصد فاصله اطمینان جانبی نداشته و یکی از مشاهدات (نسبت اختلاط ۷۵:۲۵) درون خط آیزوبول قرار گرفت و دارای اثر هم‌افزایی بود. در سطح پاسخ ED_{90} ، هر ۳ نسبت اختلاط

درون خط آیزوبول قرار گرفته و تنها نسبت اختلاط (۷۵:۲۵) دارای اثر هم‌افزایی و ۲ نسبت دیگر این اختلاط، اختلاف معنی‌داری با خط آیزوبول براساس ۹۵ درصد فاصله اطمینان جانبی نداشتند. بطور کلی اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست با علف‌کش کلریدازون از حالت افزایشی تبعیت کرد (شکل ۳ e).

در اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست با علف‌کش کلوپیرالید روی علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز در سطح پاسخ ED_{50} ، هر ۳ مشاهده بیرون از خط آیزوبول قرار گرفتند، بدین معنی که پاسخ‌های اختلاط بیشتر از مقدار پیش‌بینی شده مطابق با ADM بودند. در سطح پاسخ ED_{80} و ED_{90} نیز مشاهدات ۲ نسبت اختلاط به‌طور معنی‌داری درون خط آیزوبول قرار گرفتند و تنها یکی از مشاهدات در نسبت اختلاط (۲۵:۷۵) در سطوح پاسخ ED_{80} و ED_{90} روی خط آیزوبول قرار گرفت. در کل از ۹ مشاهده صرف‌نظر از سطوح پاسخ، ۳ مشاهده بیرون از خط آیزوبول، ۲ مشاهده روی خط آیزوبول و ۴ مشاهده بطور معنی‌داری پایین‌تر از مقدار پیش‌بینی شده مطابق با خط آیزوبول قرار گرفتند.

این امر نشان می‌دهد که اختلاط انجام گرفته بین دو علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست و علف‌کش کلوپیرالید روی علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز بسته به سطح پاسخ می‌تواند متفاوت باشد. در این مخلوط، نسبت‌های مختلف اختلاط براساس سطوح مختلف پاسخ بخوبی در طول خط آیزوبول پخش شده‌اند و هرچه از نسبت اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست کم شده و به نسبت اختلاط علف‌کش کلوپیرالید افزوده شد، مشاهدات گرایش بیشتری بسمت خط آیزوبول و بخش بیرونی آن نشان دادند (شکل ۳ b).

در اختلاط علف‌کش کلریدازون با علف‌کش کلوپیرالید روی علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز در سطح پاسخ ED_{50} ، تمامی مشاهدات بیرون از خط آیزوبول قرار گرفتند. در سطح پاسخ ED_{80} و ED_{90} تمامی مشاهدات بیرون از خط آیزوبول قرار گرفتند و تنها یکی از مشاهدات در سطح پاسخ ED_{80} اختلاف معنی‌داری بر اساس ۹۵ درصد فاصله اطمینان جانبی با ADM نداشت. بنابراین، اختلاط دو علف‌کش کلریدازون و علف‌کش کلوپیرالید روی علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز نشان داد که اختلاط آنها بیشتر از حالت هم‌کاهی تبعیت می‌نماید (شکل ۳ d). در اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست با علف‌کش کلریدازون روی علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز در سطح پاسخ ED_{50} ، تمامی مشاهدات بطور معنی‌داری بیرون از خط آیزوبول قرار گرفتند، درحالی‌که در سطح پاسخ ED_{80} و ED_{90} ، تمامی مشاهدات بجز یک مشاهده (۷۵:۲۵) در سطح پاسخ ED_{80} مطابق با ADM بوده و از فرضیه افزایشی دُرها تبعیت نمود.



شکل ۳- آیزوبول و اطلاعات مربوط به اختلاط علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیسست با علف کش کلوپیرالید روی علف هرز تاجریزی سیاه (a) و روی علف هرز تاج خروس ریشه قرمز (b)، اختلاط علف کش کلریدازون با علف کش کلوپیرالید روی علف هرز تاجریزی سیاه (c) و روی علف هرز تاج خروس ریشه قرمز (d) و اختلاط علف کش دس مدیفام + فن مدیفام + اتوفومیسست با علف کش کلریدازون روی علف هرز تاجریزی سیاه (e) و روی علف هرز تاج خروس ریشه قرمز (f) در سطوح پاسخ ED_{50} (●)، ED_{80} (◆) و ED_{90} (◇). میله ها (بارها) فاصله اطمینان ۹۵ درصدی برای دزهای ED_{50} ، ED_{80} و ED_{90} تخمینی را نشان می دهند. دزها روی محورهای x و y استاندارد شده اند، بطوریکه دز ED_{50} ، ED_{80} و ED_{90} علف کش های بکار رفته بصورت خالص روی ۱ ثابت شده است

Figure 3- Isoboles and data for fixed-ratio binary mixtures of desmedipham plus phenmedipham plus ethofumesate with clopyralid on black nightshade (a) and on redroot pigweed (b), mixture of chloridazon with clopyralid on black nightshade (c) and on redroot pigweed (d) and mixture of desmedipham plus phenmedipham plus ethofumesate with chloridazon on black nightshade (e) and on redroot pigweed (f) at the ED_{50} (●), ED_{80} (◆) and ED_{90} (◇) response levels. Bars indicate 95% confidence intervals for the estimated ED_{50} , ED_{80} and ED_{90} doses. The doses have been scaled so that the doses of the herbicides applied separately are 1.0

بنابراین، از ۹ مشاهده صرف نظر از سطح پاسخ، تنها ۴ مشاهده بیرون از خط آیزوبول قرار گرفته و سایر مشاهدات بر اساس ۹۵ درصد فاصله اطمینان جانبی مطابق با ADM بوده و از فرضیه افزایش دژها پیروی کردند (شکل ۳ f).

از آنجایی که اختلاط‌های دو به دو علف‌کش‌ها در کل آزمایش‌های انجام گرفته از دو گروه مختلف با نحوه عمل متفاوت بوده که دارای جایگاه هدف متفاوتی نیز می‌باشند، براساس مدل الگوی عمل مستقل علف‌کش‌ها، انتظار می‌رفت که دو علف‌کش مستقل از هم اثر کنند و هیچ اثر متقابل در اختلاط وجود نداشته باشد. حال آنکه آزمایش‌ها نشان داد که مخلوط‌های علف‌کشی روی یکدیگر تأثیر گذاشته و تداخلاتی در مسیر جذب و انتقال هر یک از علف‌کش‌ها ایجاد می‌شود که این امر منجر به حالت کاهشی مخلوط دو ماده شیمیایی نسبت به کاربرد تنه‌ای هر یک از آنها می‌شود.

عوامل مختلف ساختاری و مکانیسمی نظیر گونه علف‌هرز، ترکیب کوتیکول، مواد شیمیایی علف‌کشی، ویژگی‌های فرمولاسیون، محیطی که در آن برگ گسترش یافته و یا وقایع جذب رخ داده شده همگی از ویژگی‌هایی هستند که سطح تماس قطره و در نهایت جذب علف‌کش‌ها را کاهش می‌دهند (۱۶). علف‌کش‌های پس رویشی برای مؤثر واقع شدن باید در فرم و مقدار مناسب جذب شده و به جایگاه هدف انتقال یابند.

جذب علف‌کش‌های شاخ و برگی فرآیندی است که تحت تأثیر ترکیب کوتیکول، ویژگی‌های فرمولاسیون علف‌کش، محیطی که در آن برگ گسترش یافته و یا وقایع جذب رخ داده قرار می‌گیرد (۱۶). حضور دژ مؤثر علف‌کش در جایگاه هدف حائز اهمیت است. به دلیل رقابت علف‌کش‌ها در جذب (وجود سطح برگ کوچکتر و روزه‌های هوایی کمتر در مرحله رشدی اولیه) هیچ یک از علف‌کش‌ها احتمالاً نتوانسته اند در دژ مؤثر به جایگاه هدف انتقال یابند. از این رو، مدت زمان زیادی نیاز بوده است تا علف‌کش‌ها در جایگاه هدف به غلظت مؤثر برسند. دوین و وندلن بورن (۱۱) گزارش نمودند که افزایش جذب و انتقال علف‌کش گلایفوسیت به همراه سولفات آمونیوم منجر به کنترل بهتر علف‌هرز گاوپنبه شده بود، زیرا علف‌کش‌ها بایستی در جایگاه هدف خود در غلظت مؤثر حضور داشته باشند تا به طور مؤثری روی رشد علف‌هرز اثر داشته باشند. از طرف دیگر، زمانی که جذب و انتقال علف‌کش‌ها کاهش می‌یابد، غلظت کمتری از هر دو علف‌کش در درون گیاه انتقال خواهند یافت و علف‌هرز فرصت دارد تا مولکول-

های علف‌کش را متابوله کند. بنابراین، در برخی از نسبت‌های اختلاط که دژ مؤثر مورد نیاز برای کاهش وزن خشک علف‌هرز نسبت به اختلاط قبلی افزایش یافته و یا کاهش نیافته است، احتمالاً علف‌کش در غلظت مؤثر به جایگاه هدف انتقال نیافته و به مقدار بیشتری از غلظت علف‌کش برای رسیدن به سطح کنترلی مورد نیاز بوده است. همچنین، اثرات متقابل علف‌کش‌های بکار رفته در مخلوط به گونه علف‌هرز هدف بستگی دارد (۲۰). سورنسن و همکاران (۲۶) نشان دادند که ترکیب علف‌کش بنتازون با علف‌کش اسیفلورفن موجب افزایش کارایی آنها روی علف‌های هرز سلمه‌تره و گاوپنبه^۱ شده، درحالی‌که کارایی کنترل علف‌هرز تاتوره^۲ و تاج‌خروس ریشه قرمز تحت تأثیر علف‌کش‌های فوق کاهش پیدا نمود. بارنز و آلیور (۳) گزارش کردند که مخلوط کلرومورون با کلتودیم موجب کاهش کنترل سورف و سورگوم و بروز اثرات هم‌افزایی در کنترل علف‌هرز *Brachiaria platyphylla* شد. بعلاوه، ترکیب علف‌کش‌های بازدارنده استولاکنات سینتاز (ایمازاکوئین و کلریمورون) با علف‌کش‌های گروه دی فنیل اترها (اسیفلورفن و فومسافن) باعث افزایش کارایی آنها بر علف‌هرز سیدا^۳ شد، درحالی‌که کارایی آنها در کنترل علف‌هرز توق معمولی^۴ کاهش یافت (۳۲). نوع و اجزاء فرمولاسیون علف‌کش‌ها در مخلوط علف‌کشی هم می‌تواند باعث افزایش یا کاهش کارایی علف‌کش‌ها نسبت به کاربرد تنه‌ای هر یک از علف‌کش‌ها شود. علف‌کش‌های فرموله شده محتوی جزء فعال مخلوط شده با اجزاء اصلی فرمولاسیون هستند که منجر به افزایش چسبندگی قطره سمپاشی شده روی برگ‌های گیاه، افزایش جذب و یا مانعت از تجزیه سریع ترکیب فعال علف‌کشی می‌شوند. در صورت فرموله نشدن، علف‌کش‌ها به لحاظ بیولوژیکی به ترکیبات غیرفعال تبدیل می‌شوند (۲۰ و ۲۶). مقایسه پاسخ مخلوط علف‌کشی دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت با علف‌کش‌های کلوپیرالید بخوبی نشان داد که فرمولاسیون امولسیون شونده غلیظ در فرمولاسیون مایع قابل حل در آب علف‌کش کلوپیرالید می‌تواند روی کُنش پیوسته مخلوط تأثیر مثبتی داشته باشد، بطوریکه مشاهدات حاصل از ترکیب علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت با علف‌کش کلوپیرالید نسبت به

1- *Abutilon theophrasti* L.

2- *Datura stramonium* L.

3- *Sida spinosa* L.

4- *Xanthium strumarium* L.

مقدار دُز مورد نیاز برای کاهش ۵۰، ۸۰ و ۹۰ درصدی وزن خشک علف‌هرز تاج‌ریزی سیاه نسبت به کاربرد خالص هر یک از علف‌کش‌ها کاهش یافت و اثرات این اختلاط کاملاً از حالت هم‌افزایی پیروی کرد، بطوریکه تمام مشاهدات به‌غیر از یکی از آنها بر اساس ۹۵ درصد فاصله اطمینان جانبی زیر خط آیزوبول قرار گرفتند. اختلاط علف‌کش کلریدازون با علف‌کش کلوپیرالید روی این علف‌هرز از حالت هم‌کاهی ضعیف تبعیت کرد. در صورتیکه در اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت با علف‌کش کلریدازون بیشتر مشاهدات روی خط آیزوبول قرار گرفته و این اختلاط بیشتر از حالت افزایشی تبعیت کرد. در اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت با علف‌کش کلوپیرالید روی علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز اثرات اختلاط بسته به سطح پاسخ متفاوت بود. در اختلاط علف‌کش کلریدازون با علف‌کش کلوپیرالید هم‌کاهی شدیدی در اختلاط دو علف‌کش مشاهده شد. در اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت با علف‌کش کلریدازون نیز سطوح پاسخ ED_{80} و ED_{90} حالت افزایشی را نشان دادند. از این‌رو، در عملیات کنترلی علف‌های هرز بسته به نوع گونه و تراکم آن در منطقه اقدامات مدیریت خاصی انجام داد و در مورد علف‌های هرزی که دارای موانع ساختاری و یا مکانیسمی هستند کاربرد مویان در فرمولاسیون علف‌کشی جهت جذب بهتر علف‌کش‌های اختلاط یافته و نهایتاً کنترل مناسب‌تر علف‌های هرز ضروری بنظر می‌رسد.

ترکیب این علف‌کش با علف‌کش کلریدازون (با فرمولاسیون پودر وتابل مرطوب‌شونده) دارای اثراتی بیشتر از ADM و یا مطابق با ADM بود. درحالی‌که در اختلاط کلریدازون با علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت و یا کلوپیرالید، فرمولاسیون پودر وتابل مرطوب‌شونده موجود در ترکیب آن ممکن است سبب محدود شدن عمل پراکنده‌ها در فرمولاسیون امولسیون شونده و یا مایع قابل حل در آب شود. این امر ممکن است باعث شود تا ماده مؤثره این فرمولاسیون‌ها لخته و ته نشین می‌شوند. کوتینگ و زینک (۱۹) بیان نمودند که اختلاط ۷۵ درصد از علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت (بتانال پروگرس) با دُز توصیه شده فن‌مدیفام + اتوفومیسیت (بتانال تاندم) منجر به کنترل بسیار خوبی از علف‌های هرز مزارع چغندر قند می‌شود. دیل و همکاران (۹) گزارش دادند که کنترل سلمه‌تره و گونه‌های تاج‌خروس با مخلوط دس‌مدیفام + فن‌مدیفام و دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت بدون هیچ‌گونه خسارتی روی چغندر قند، افزایش یافت.

نتیجه‌گیری کلی

اختلاط علف‌کش‌های بازدارنده فتوسنتز با دیگر گروه‌های علف‌کشی ضمن کنترل طیف وسیع‌تر و پیشگیری از بروز مقاومت یا تحمل در این گونه‌های علف‌هرزی می‌تواند باعث مهار بهتر علف‌های هرز مورد مطالعه شود. در اختلاط علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت با علف‌کش کلوپیرالید در هر سه نسبت اختلاط

منابع

- 1- Abbaspoor M., Chitband A.A., Molkara M.R., and Tavakoli H. 2013. Isobolographic analysis for additive, Synergism and antagonism effects in binary mixture of glyphosate and clopyralid on *Acrotylon repense*. Journal of Plant Protection, 27(3): 294-300. (In Persian with English abstract).
- 2- Abdollahi F., and Ghadiri H. 2004. Effect of separate and combined applications of herbicides on weed control and yield of sugar beet. Weed Technology, 18: 968-976.
- 3- Barnes J.W., and Oliver L.R. 2004. Cloransulam antagonizes annual grass control with aryloxyphenoxy propionate graminicides but not cyclohexanediones. Weed Technology, 18: 763-772.
- 4- Brautigram H. 1995. Does nitrogen fertilizer affect weed populations in sugar beet? PSP Pflanzenschutz-Praxis, 1: 24-26.
- 5- Chitband A.A., Ghorbani R., Rashed Mohassel M.H. Zare A., and Abbaspoor M. 2013. Isobolographic analysis for additive, synergism and antagonism in binary mixture of mesosulfuron + iodosulfuron and clodinafop-propargyl and optimizing them with citowett and frigate surfactants on wild oat (*Avena ludoviciana*). Iranian Society of Weed Science, 9: 93-104. (In Persian with English abstract).
- 6- Chitband A.A., Ghorbani R., Rashed Mohassel M.H., Nassiri Mahallati M., and Abbasi R. 2015. Joint action of photosynthesis + lipid and auxin-inhibiting herbicides in sugar beet. p. 817-822. In Proceeding of the 6th Iranian

- Weed Science Congress, 1-3 Sep. 2015. Birjand, Iran. (In Persian with English abstract)
- 7- Chitband, A.A., Abbaspoor, M. and Nabizade, M. 2012. Utilizing drc package in R software for dose-response studies: The concept and data analysis. P. 1-5. In Proceeding of the 12th Iranian Crop Sciences Congress, 4-6 Sep. 2012. Islamic Azad University, Karaj, Iran. (In Persian with English abstract).
- 8- Chitband A.A., Ghorbani R., Rashed Mohassel M.H., Abbaspoor M., and Abbasi, R. 2015. Reduced dose of PSII + fatty acid inhibitors herbicides and clopyralid mixtures and their chlorophyll fluorescence evaluation to control important broadleaf weeds in Sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Ph.D. Dissertation. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian with English abstract).
- 9- Dale T.M., Renner K.A., and Kravchenko A.N. 2006. Effect of herbicides on weed control and sugarbeet (*Beta vulgaris*) yield and quality. Weed Technology, 20: 150–156.
- 10- Devilliers B.L., Kudsk P., Smit J.J., and Mathiassen S.K. 2001. Tralkoxydim: adjuvant, MCPA and other effects. Weed Research, 41: 547-556.
- 11- Devine M.D., and Vanden Born W.H. 1985. Translocation and foliar activity of clopyralid and chlorsulfuron in Canada thistle and perennial sowthistle. Weed Science, 33: 524-530.
- 12- Dexter A.G. 1998. Weed control guide for sugar beet. www.sbreb.org/98/weed/98p3.htm.
- 13- Gamuev V.V., Vilkov V., and Repina G. 1996. Sugar beet protection based on a Betanal system. Sakharnaya Svekla, 3: 21-23.
- 14- Gessner P.K. 1995. Isobolographic analysis of interactions: an update on applications and utility. Toxicology, 105: 161- 179.
- 15- Gonik G.E., and Val'ko A.P. 1996. How to increase the effectiveness of Centurion. Sakharnaya Svekla, 1: 8-9.
- 16- Hatzios K.K., and Penner D. 1985. Interactions of herbicides with other agrochemicals in higher plants. Review. Weed Science, 1: 1-63.
- 17- Hendrick L.W., Meggitt W.F., and Penner D. 1974. Basis for selectivity of phenmedipham and desmedipham on wild mustard, redroot pigweed, and sugar beets. Weed Science, 22: 179–184.
- 18- Kortenkamp A., and Altenburger R. 1998. Synergisms with mixtures of xenoestrogens: A reevaluation using the method of isoboles. The Science of the Total Environment, 221: 59-73.
- 19- Kotting K., and Zink J. 1992. Present requirements for a beet herbicide reflected in betanal progress. Germany Gesunde Pflanzen, 44(2): 60-64.
- 20- Kudsk P. 2008. Optimising herbicide dose: a straightforward approach to reduce the risk of side effects of herbicides. Environmentalist, 28: 49–55.
- 21- Kudsk P., and Mathiassen S.K. 2004. Joint action of amino acid biosynthesis inhibiting herbicides. Weed Research, 44: 313-322.
- 22- Kudsk P., and Streibig J.C. 2003. Herbicides-a two edged sword. Weed Research, 43: 90–102.
- 23- Paradowski A., and Praczyk T. 2004. Evaluation of selected mixtures of active ingredients for weed control in sugar beet. Progress in Plant Protection, 44(2): 1004-1007.
- 24- Petersen J. 2004. A review on weed control in sugar beet. p. 467–515. In Inderjit (ed.) Weed Biology and Management, Dordrecht (The Netherlands). Springer Netherlands.
- 25- Soby K.W., Streibig, J.C., and Cedergreen, N. 2011. Prediction of joint herbicide action by biomass and chlorophyll a fluorescence. Weed Research, 51: 23–32.
- 26- Sørensen V.M., Meggitt W.F., and Penner D. 1987. The interaction of acifluorfen and bentazon in herbicidal combinations. Weed Science, 35: 449–56.
- 27- Streibig J.C. 1988. Herbicide bioassay. Weed Research, 28: 479-484.
- 28- Streibig J.C., Kudsk P., and Jensen J.E. 1998. A general joint action model for herbicide mixture. Pesticide Science, 53: 21- 28.
- 29- Streibig J.C., and Jensen J.E. 2000. Actions of herbicides in mixtures. In: Herbicides and Their Mechanisms of Action. A.H. Cobb and R.C. Kirkwood, Eds., Sheffield Academic Press, Boca Raton, FL: CRC Press, 295 pp. England, UK
- 30- Tamme P.M.L. 1964. Isoboles, a graphic representation of synergism in pesticides. Netherland Journal of Plant Path, 70: 73-80.
- 31- Vencil W.K. 2002. Herbicide handbook. 8th edition. Weed Sci Society of America. Lawrence, KS. USA. p. 493.
- 32- Wesley M.T., and Shaw D.R. 1992. Interactions of diphenyl-ether herbicides with chlorimuron and imazaquin.

- Weed Technology, 6: 345–51.
- 33- Zand E., Baghestani M.A., Nezamabadi N. and Shimi P. 2011. Herbicides and important weeds in Iran. University Press Center. p. 143.
- 34- Zhang J., Hamill A.S., and Weaver S.E. 1995. Antagonism and synergism between herbicides: trends from previous studies. Weed Technology, 9: 86–90.



ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی گیاه مهاجم گل‌گندم (*Centaurea balsamita* L.)

خوسرمایی شده با شرایط پاییزه

عباس عباسیان^۱ - قربانعلی اسدی^{۲*} - رضا قربانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۰۵

چکیده

به منظور ارزیابی تحمل گیاه مهاجم گل‌گندم به تنش یخ‌زدگی مطالعه‌ی به صورت طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار در گلخانه تحقیقاتی علف‌های هرز دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۳ اجرا گردید. گیاه مهاجم گل‌گندم در معرض ۷ دمای یخ‌زدگی (۰، -۳، -۶، -۹، -۱۲، -۱۵ و -۱۸ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. گیاهان در محیط طبیعی نگهداری شده و پس از گذراندن دوره خوسرمایی از اول آبان ۱۳۹۲ تا ۳۰ آذر ۱۳۹۳، با استفاده از فریز ترموگرادیان، تحت تیمارهای یخ‌زدگی قرار گرفتند. میزان پایداری غشاء سیتوپلاسمی گل‌گندم مورد مطالعه با استفاده از آزمون نشت الکترولیت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت، سپس دمای کشنده ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس درصد نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}) تعیین گردید. درصد بقاء نیز با شمارش تعداد بوته زنده در هر گلدان مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس دمای کشنده برای ۵۰ درصد بقاء (LT_{50su}) و دمای کاهنده ۵۰ درصد وزن خشک ($RDMT_{50}$) در پایان دوره بازیافت (سه هفته بعد از اعمال تیمار یخ‌زدگی) تعیین شد. نتایج نشان داد کاهش دما از $12^{\circ}C$ به $15^{\circ}C$ - سبب افزایش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) نشت الکترولیت‌ها در گل‌گندم شد. همچنین کاهش دما از $9^{\circ}C$ به $12^{\circ}C$ - سبب کاهش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) درصد بقاء و زیست توده گل‌گندم شد. در آزمایش حاضر LT_{50el} ، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ گل‌گندم خوسرمایی شده با شرایط پاییزه به ترتیب $13/2^{\circ}C$ ، $12/6^{\circ}C$ و $11/8^{\circ}C$ - بود.

واژه‌های کلیدی: خوسرمایی، درصد بقاء، دمای کاهنده ۵۰ درصد بقاء، دمای کاهنده ۵۰ درصد زیست توده، دمای کاهنده ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها

مقدمه

گستره بالای جوانه‌زنی بذور گیاه مهاجم گل‌گندم (بین ۱ تا $39^{\circ}C$ درجه سانتی‌گراد)، قدرت تحمل به غرقاب، تحمل به تنش شوری و خشکی جهت جوانه‌زنی و رشد زیاد و سریع گیاهچه‌ها را دارد که این گیاه را قادر به تهاجم به بوم نظام‌های تخریب شده می‌کند. در همین ارتباط این گیاه اراضی تخریب شده پردیس دانشگاه فردوسی مشهد را به شدت مورد تهاجم قرار داده است.

گیاهان مهاجم یکی از مسائل مهم در شکل‌گیری آشفته‌گی‌های اکوسیستم و تهدیدی برای تنوع زیستی در قرن بیست و یکم می‌باشد. گونه‌های مهاجم یکی از عوامل مهم تغییرات جهانی محیط زیست هستند و به عنوان دومین تهدید بزرگ برای تنوع زیستی جهان پس از تخریب اکوسیستم به دست انسان شناخته می‌شوند. گیاهان مهاجم گونه‌های گیاهی گونه‌های گیاهی ساختار و کارکرد اکوسیستم را نیز تغییر می‌دهند و بر فراوانی و تنوع پوشش گیاهی بومی تأثیر می‌گذارند (۵). گیاهان مهاجم بطور تصادفی یا عمدی به مناطق دیگر وارد و با تثبیت در محیط جدید باعث صدمه به اکوسیستم محلی و زیستگاه بومی می‌شوند. تأثیر گونه‌های بیگانه بر

گل‌گندم^۴، گیاهی یکساله و ایستاده به ارتفاع ۳۰ تا ۱۲۰ سانتی‌متر با گل‌های زرد رنگ از خانواده آفتابگردان است که اراضی آیش و شیب‌دار را مورد تهاجم قرار می‌دهد. تکثیر این گیاه بوسیله بذر می‌باشد. این گیاه در کشورهای سوریه، ترکیه، ایران، افغانستان، آسیای مرکزی (ترکمنستان تا تیان‌شان) پراکنش دارد (۲۹ و ۳۱). درباره اکولوژی و بیولوژی این گیاه اطلاعات چندانی در دسترس نیست بطوری‌که واگتنیز (۳۱) این گیاه را بهاره معرفی کرده است در حالی که مشاهدات میدانی (نویسندگان مقاله) بر روی فنولوژی این گیاه مشخص کرد این گیاه پاییزه می‌باشد. بر اساس آزمایش‌های عباسیان و همکاران (۱) این گیاه خصوصیتی مانند تولید بذر زیاد، داشتن خار،

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش آموخته دکتری، دانشیار و استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(Email: Asadi@um.ac.ir)

(*) نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/jpp.v31i3.51309

4- *Centaurea balsamita* L.

معرض سرما در مقایسه با نمونه شاهد توانایی بقاء آنها را مورد ارزیابی قرار می‌دهند. تعیین دمایی که سبب ۵۰ درصد تلفات بقای گیاه شود (LT_{50su})^۳ یکی از روش‌هایی است که توسط محققان مختلف به عنوان یک روش مناسب برای اندازه‌گیری مقاومت به سرما توصیه شده است. در این روش گیاهان در شرایط کنترل شده در معرض دماهای یخ‌زدگی قرار می‌گیرند (۱۵) و بعد از اعمال یخ‌زدگی به گلخانه منتقل شده و پس از گذراندن یک دوره بازیافت^۴ که حدود ۳ تا ۴ هفته می‌باشد، منحنی درصد بقاء آن‌ها در برابر دماهای آزمایش ترسیم می‌شود و بر اساس آن دمایی که سبب ۵۰ درصد مرگ و میر در نمونه‌های گیاهی (۶ و ۱۱) و نیز دمایی که ۵۰ درصد بازدارندگی رشد ($RDMT_{50}$)^۵ هر ژنوتیپ شده است تعیین می‌گردد (۲۲ و ۲۵).

از آنجایی که اغلب مطالعات مربوط به ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی و تنش سرما در گیاهان زراعی انجام شده است و اطلاعات اندکی در مورد بسیاری از گیاهان مهاجم موجود است، این بررسی به منظور ارزیابی تحمل گیاه مهاجم گل‌گندم خوسرمایی شده با شرایط پاییزه به تنش یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۳ در پردیس دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. وضعیت درجه حرارت در طول دوره رشد گل‌گندم (از اول آبان ۱۳۹۳ تا ۳۰ آذر ۱۳۹۳) به صورت شکل ۱ بود. مطالعه به صورت طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام شد که عوامل مورد بررسی در آن شامل دما در هفت سطح شامل (۰، -۳، -۶، -۹، -۱۲، -۱۵ و -۱۸ درجه سانتی‌گراد) بود (جهت دستیابی به دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان از دماهای پایین‌تر از دمای پاییز (-۵) استفاده شد، ضمن اینکه در طی فصل زمستان (دی و آبان) گیاه رشد بسیار کندی دارد و در مرحله ۲ تا ۴ برگ می‌باشد). برای تطابق با سرما و گذراندن دوره خوسرمایی و شبیه‌سازی زمان جوانه‌زنی با طبیعت، ابتدا در اواخر آذر گیاهچه‌های سبز شده گل‌گندم که در مرحله ۲ برگ بود از طبیعت از یک سطح مشخص (یک متر مربع) جمع‌آوری و به گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۰ سانتی‌متر منتقل شد. در هر گدان ۱۰ گیاهچه سبز شده کشت شد. سپس به مدت ۱۰ روز گیاهچه‌ها در گلدان در یک شاسی سرد (دمای محیط) نگهداری شدند تا تثبیت شوند. در این شرایط گیاهچه‌ها در مرحله دو برگ با استفاده از فریزر ترموگرادیان، تحت تیمار یخ‌زدگی قرار گرفتند.

محیط زیست محلی شامل رقابت با گونه‌های محلی، تغییر فرآیندهای اکوسیستم، انقراض گونه‌های بومی باعث صدمه به اکولوژی محلی و ایجاد خسارت‌های اقتصادی می‌شود (۳۲).

از آنجایی که گسترش و توانایی رقابت گونه‌های مهاجم تحت تأثیر مستقیم عوامل اقلیمی و تنش‌های مربوطه است، ارزیابی تحمل نسبی گیاهان مهاجم به تنش‌ها، می‌تواند به عنوان شاخصی مهم در این ارتباط باشد. توانایی گیاهان مهاجم در تحمل به دماهای پایین متفاوت است، با این وجود بقاء گیاهان در زمستان به مکانیسم‌های سازگار کننده وابسته است و از مهم‌ترین این مکانیسم‌های شناخته شده، خوسرمایی می‌باشد. این مکانیسم توسط محدوده‌ای از دماهای پایین (زیر ۱۰) ولی بالای صفر القاء می‌شود. و بوسیله سیستم‌های ژنتیکی کنترل می‌شوند (۱۷). ایجاد خوسرمایی در گیاه از طریق تغییر در ترکیب چربی‌های غشاء پلاسمایی، تجمع ترکیبات محافظت کننده نظیر کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه یا سایر اسمولیت‌ها و القاء فعالیت ژن‌های جدید سبب افزایش تحمل گیاه به سرمای زمستانه می‌شود (۱۸). به همین دلیل در اغلب آزمایش‌های انجام شده، خوسرمایی به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر روی تحمل به یخ‌زدگی (دماهای صفر و زیر صفر درجه سانتی‌گراد) گیاهان مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۹).

غشای پلاسمایی اولین بخش از گیاه است که در شرایط تنش یخ‌زدگی دچار خسارت می‌شود (۲۸). در این راستا، تغییر در ساختار غشاء، ترکیب اسیدهای چرب، آمینواسیدها و کربوهیدرات‌ها، فعالیت متابولیکی و آنزیمی و در نهایت نشت الکترولیت‌های سلول از مهم‌ترین صدمات تنش یخ‌زدگی می‌باشند، بنابراین به نظر می‌رسد که تداوم انسجام غشاء پلاسمایی، یکی از عوامل مهم در بقای گیاهان در شرایط تنش یخ‌زدگی است و هر گونه اختلال در ساختار آن منجر به بروز خسارت و حتی مرگ گیاه می‌شود، لذا این صفت به عنوان یکی از ملاک‌های ارزیابی تحمل به یخ‌زدگی در گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است و دمایی که سبب خروج ۵۰ درصد نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی می‌شود به عنوان دمای کشنده ۵۰ درصد گیاهان بر اساس نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el})^۱ در نظر گرفته می‌شود. در این ارتباط گیاهانی که از حساسیت بیشتری به سرما برخوردار هستند خسارت بیشتری خواهند دید و تراوش یونی آن‌ها نیز معمولاً بیشتر خواهد بود (۲۰).

«شاخص بقاء مزرعه»^۲ یکی از روش‌های مطالعه تحمل به سرما در گیاهان می‌باشد که توسط فاوئر و گاستا (۱۱) ابداع گردید. در این روش با کاشت گیاهان مورد آزمایش در مزرعه و قرار دادن آنها در

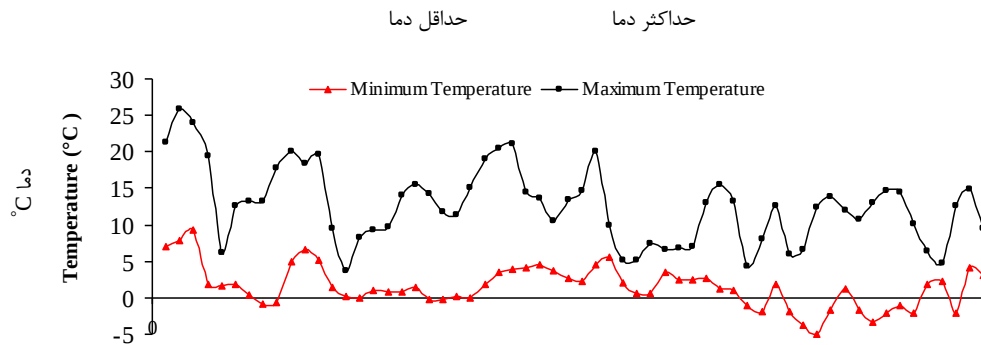
3- Lethal Temperature (LT_{50})

4- Recovery

5- Reduced Dry Matter Temperature 50 ($RDMT_{50}$)

1 - Lethal temperature 50 according to the electrolyte leakage

2 - Field Survival Index (FSI)



شکل ۱- درجه حرارت حداقل و حداکثر روزانه طی دوره رشد گل گندم در سال ۱۳۹۳ در پردیس دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
Figure 1- The Minimum and Maximum daily Temperature during growth stage of (*Centaurea balsamita*)

معادله ۱:

$[(\text{تعداد گیاهان قبل از تیمار یخ زدگی}) / (\text{تعداد گیاهان زنده سه هفته پس از تیمار یخ زدگی})] = \text{درصد بقاء}$
برای تعیین باز یافت و رشد مجدد گیاهان وزن خشک گیاه با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ و واحد میلی گرم اندازه گیری و ثبت شدند. درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها LT_{50su} و LT_{50el} و $RDMT_{50}$ با استفاده از رسم نمودار درصد نشت الکترولیت‌ها، درصد بقاء و وزن خشک نمونه‌ها در مقابل دماهای یخ زدگی تعیین شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای MSTATC صورت گرفت. برای رسم نمودارها و تعیین LT_{50su} از نرم افزارهای EXCEL و Sigmaplot (Version 11) استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان دادند تأثیر دماهای یخ زدگی بر درصد نشت الکترولیت‌های گل گندم معنی‌دار ($P \leq 0/05$) بود (جدول ۱). کمترین (۶/۹ درصد) و بیشترین (۸۲/۷ درصد) نشت الکترولیت‌ها به ترتیب در دماهای ۰ °C و ۱۸ °C - مشاهده شد (شکل ۲). همچنین کاهش دما از ۱۲ °C - به ۱۵ °C - سبب افزایش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) میزان نشت الکترولیت‌ها در گل گندم شد (شکل ۲). از آنجا که غشاء سلولی خارجی‌ترین بخش زنده سلول است که نقش اصلی را در تبادل انتخابی مواد بر عهده دارد و از طرفی اولین مکان خسارت در اثر سرما و یخ زدگی است، لذا تنش سرما ضمن اینکه منجر به تغییر وضعیت غشاء از حالت کریستال مایع به حالت جامد- ژل می‌شود، فعالیت آن را نیز مختل می‌کند. از این رو اختلال در فعالیت و انسجام غشاءهای سلولی در اثر تنش سرما، نشت الکترولیت‌ها از سلول را در پی خواهد داشت (۴). محققان افزایش نشت الکترولیت‌ها از سلول را شاخص

دمای فریزر در شروع آزمایش ۵ °C بود و پس از آن با ۲ °C در ساعت کاهش یافت تا به دمای مورد نظر در تیمارهای آزمایش رسید. پس از رسیدن به دمای مورد نظر نمونه‌ها به مدت یک ساعت در این دما نگهداری و سپس از فریزر خارج شده و به محیطی با دمای ۴ °C منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در آنجا نگهداری شدند. در دمای ۳ °C - محلول حاوی باکتری‌های القاء کننده هستک یخ^۱ به منظور ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها، بر روی گیاهان پاشیده شد به نحوی که سطح گیاهان را قشر نازکی از این محلول پوشاند. برای اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از هر گلدان در هر تیمار دمایی اندام‌های هوایی سه بوته گل گندم به همراه طوقه آنها به فاصله یک سانتی متری زیر طوقه جدا و پس از شستشو و جدا کردن خاک ریشه داخل ویال‌های حاوی ۱۰۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر شده قرار گرفته و به مدت شش ساعت در روی شیکر قرار داده شدند. پس از آن هدایت الکتریکی هر نمونه (میزان نشت الکترولیت‌ها) با استفاده از دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد (EC_1). به منظور تعیین میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، ویال‌ها به اتوکلاو با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر انتقال و به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند و پس از آن به مدت شش ساعت در روی شیکر قرار گرفته و هدایت الکتریکی آنها مجدداً اندازه‌گیری شد (EC_2). سپس درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از فرمول $(EC_1/EC_2) \times 100 = \text{درصد نشت الکترولیت‌ها}$ محاسبه شد.

برای تعیین درصد بقاء، باز یافت و رشد مجدد، پس از انتقال گیاهان تیمار شده به شاسی سرد دارای متوسط درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل و پس از سه هفته درصد بقاء و باز یافت آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تعیین درصد بقاء گیاهان از معادله ۱ (۲۰) استفاده شد.

سبب مرگ کلیه ژنوتیپ‌های مورد بررسی بولاف وحشی شد. اعتقاد بر این است زمانی که گیاهان زمستانه در معرض دماهای زیر 10°C و بالای صفر قرار می‌گیرند، قادر به خوسرمایی هستند (۱۱). همچنین مشخص شده است که غلات زمستانه از طریق برخی مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی قادرند تا در دماهای پائین (15°C تا 20°C) تا حد بسیار زیادی بقاء خود را حفظ کنند. از جمله این مکانیسم‌ها تغییر در متابولیسم چربی و فسفو لیپیدها، افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع و افزایش قندهای می‌باشد که نقش این مواد تنظیم فرایند تحمل به یخ‌زدگی در گیاهان و پایداری و حفاظت غشاهای سلولی است (۳۳).

اثر دماهای یخ‌زدگی بر زیست‌توده گل‌گندم پس از دوره بازیافت (۲۱ روز پس از اعمال تیمار یخ‌زدگی) معنی‌دار ($P \leq 0/05$) شد (جدول ۲ و شکل ۳). بطوری‌که بیشترین وزن خشک مربوط به تیمارهای دماهایی 0°C و 3°C و کمترین آن در دماهای 15°C و 18°C بود (شکل ۳). همچنین کاهش دما از 9°C به 12°C سبب کاهش معنی‌دار ($P \leq 0/05$) زیست‌توده در گل‌گندم شد. کاهش وزن خشک با کاهش دما احتمالاً به دلیل اثر خسارت ناشی از یخ‌زدگی بر توانایی رشد مجدد اندام‌های گیاهی در مرحله بازیافت بوده است. در بررسی عزیزی (۳) اثر دما بر وزن خشک گیاه گندم در پایان دوره بازیافت معنی‌دار بود و با کاهش دما به کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد وزن خشک گیاه کاهش یافت. در آزمایش وی وزن خشک گیاه در تیمار دمایی 8°C ، 50% درصد، در 12°C ، 81% درصد و در 16°C ، 95% درصد نسبت به شاهد کاهش یافت و در دمای 20°C به صفر رسید. چن و همکاران (۸) با اعمال تیمار یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده بر روی گندم مشاهده کردند که کاهش دمای یخ‌زدگی از 5°C به 10°C سبب کاهش 20% درصدی رشد مجدد اندام هوایی گندم نسبت به تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) شد.

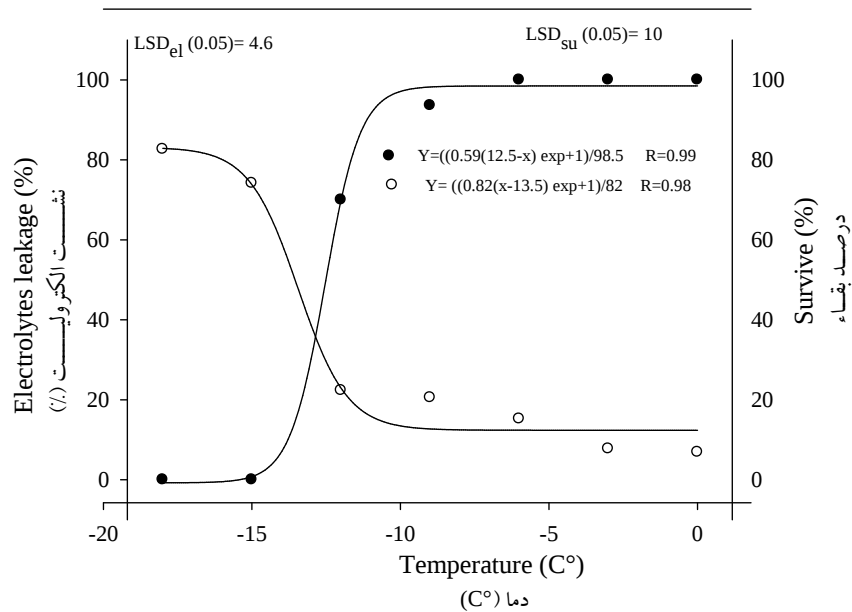
مناسبی در ارزیابی حساسیت گیاهان به تنش سرما و یخ‌زدگی گزارش کرده‌اند (۷). پیراس و سارهان (۲۴) گزارش کردند که میزان مقاومت به یخ‌زدگی در برگ‌ها، طوقه‌ها و ریشه‌های گندم از طریق آزمون نشت الکترولیت‌ها قابل ارزیابی است. پائول (۲۳) اظهار داشت تغییر در ساختار غشاء در اثر سرما سبب افزایش نشت الکترولیت‌های سلولی در اندام‌های حساس به سرما می‌شود. ایوگنیا و همکاران (۱۰) نیز در ارزیابی تحمل گیاه *Trifolium hirtum* به تنش یخ‌زدگی از طریق اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها نشان دادند که با کاهش دما از 6°C به 14°C ، میزان نشت مواد در برگ‌های این گیاه افزایش یافته است. ایزدی و همکاران (۱۴) نیز بیوتیپ‌های مختلف بولاف وحشی را با استفاده از این روش مورد ارزیابی قرار دادند. با توجه به نتایج این آزمایش نیز به نظر می‌رسد با کاهش دما خسارت ناشی از تنش یخ‌زدگی بر غشاهای سلولی زیاد شده و این مهم منجر به اختلال فعالیت غشاء سلولی گل‌گندم و به دنبال آن افزایش میزان نشت مواد درون سلولی شده است.

بر اساس نتایج تأثیر دماهای یخ‌زدگی بر درصد بقاء گل‌گندم معنی‌دار ($P \leq 0/05$) بود (جدول ۱). در همین ارتباط بیشترین درصد بقاء در دماهای 0°C ، 3°C ، 6°C و کمترین در دماهای 5°C و 18°C - مشاهده شد (شکل ۲). همچنین کاهش دما از 9°C به 12°C سبب کاهش معنی‌دار درصد بقاء در گل‌گندم شد. در آزمایش عزیزی و همکاران (۳) نیز اثر تیمارهای دمایی بر درصد بقاء گندم معنی‌دار بود، به طوری‌که با کاهش دما درصد بقاء آن کاهش یافت. بر اساس گزارش وی بیشترین درصد بقاء در تیمار شاهد (صفر درجه سانتی‌گراد) ($99/5\%$ درصد) و کمترین آن در دمای 20°C (صفر درصد) مشاهده شد. در آزمایش دیگری که توسط رایف و زینلی (۲۷) بر روی سه رقم کلزا انجام شد، مشاهده گردید که درصد بقاء گیاه در دماهای 6°C ، 8°C ، 10°C و 12°C به ترتیب 64% ، 27% و 9% درصد بود. در آزمایش ایزدی و همکاران (۱۴) نیز کاهش دما به کمتر از 12°C -

جدول ۱- میانگین مربعات صفات درصد نشت الکترولیت‌ها، زیست‌توده و درصد بقاء پس از اعمال تنش یخ‌زدگی گیاه مهاجم گل‌گندم ۲۱ روز پس از اعمال تیمارهای یخ‌زدگی و رشد مجدد

Table 1- Source of variation, degree of freedom and mean square of measured plant parameters exposed to different freezing temperature and recovery in greenhouse of (*Centaurea balsamita*)

منابع تغییر Source of variations	درجه آزادی df	نشت الکترولیت‌ها Electrolytes leakages	زیست توده Biomass	بقاء Survive
دما Temperture	6	5052**	932756**	10798**
خطا Error	28	12.8	68196	61
کل Total	34			



شکل ۲- اثر دماهای یخ زدگی بر نشت الکترولیت ها (●) و بقاء (○) گیاه مهاجم گل گندم در شرایط کنترل شده

Figure 2- Effect of freezing temperatures on survival percentage (○) and Electrolytes leakage percentage (●) of *Centaurea balsamita*

زیست توده گیاه نیز کاهش یافته است. بین درصد بقاء و زیست توده نیز همبستگی معنی دار ($P \leq 0.01$) ولی مثبت ($r = 0.91$) وجود داشت (جدول ۲).

جدول ۲- ضرایب همبستگی بین درصد نشت الکترولیت ها، درصد بقاء، وزن خشک، گیاه مهاجم گل گندم قرار گرفته در معرض تنش یخ زدگی تحت شرایط کنترل شده

Table 2- Coefficients of correlation between electrolyte leakage percentage, survival percentage, dry weight, in (*Centaurea balsamita*) affected by freezing temperatures under controlled condition

	1	2	3
1- درصد نشت الکترولیت ها electrolyte leakage percentage	1		
2- درصد بقاء survival percentage	-0.97**	1	
3- وزن خشک dry weight	-0.89**	0.91**	1

** معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد
**: significant in %1 probability levels

بر اساس نتایج LT_{50su} ، LT_{50el} و RD_{MT50} گل گندم در آزمایش حاضر به ترتیب $-13/2^{\circ}C$ ، $-12/6^{\circ}C$ و $-11/8^{\circ}C$ (شکل

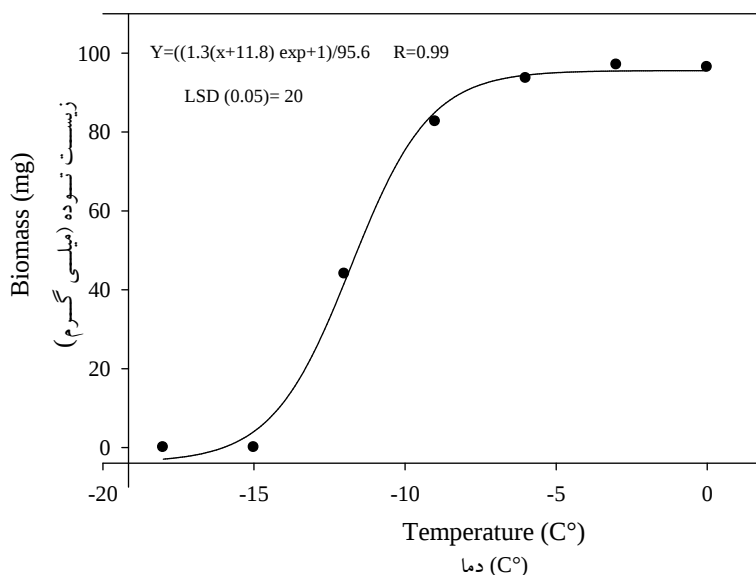
در صورتی که در تیمارهای یخ زدگی $-15^{\circ}C$ و $-20^{\circ}C$ رشد مجدد اندام هوایی گندم نسبت به شاهد به ترتیب ۶۰ و ۸۰ درصد کاهش یافت. گرفت و مک اینتایر (۱۲) اظهار داشتند که بخش هوایی گیاه چاودار در دمای کم ماده خشک کمتری در خود تولید می کند. هکنبای و همکاران (۱۳) در بررسی تحمل به یخ زدگی چند رقم یونجه و شیر یکساله مشاهده نمودند که با کاهش دما از $1^{\circ}C$ تا $13^{\circ}C$ - ماده خشک گیاه کاهش معنی داری نشان داد. ایزدی و همکاران (۱۴) نیز با بررسی اثر دماهای یخ زدگی بر وزن خشک یولاف وحشی مشاهده نمودند که کاهش دما از $3^{\circ}C$ به $21^{\circ}C$ - باعث ۱۰۰ درصد کاهش در وزن خشک یولاف وحشی شده است. نظامی و ناقدی نیا (۲۱) با بررسی اثر دماهای یخ زدگی بر روی ارقام متفاوت گلرنگ که گیاهی هم خانواده گل گندم می باشد گزارش کردند این گیاه در دمای $-16^{\circ}C$ درجه سانتی گراد دارای حداکثر درصد نشت الکترولیت است.

نتایج حاصل از همبستگی بین صفات نشان داد که بین درصد نشت و درصد بقاء همبستگی منفی ($r = -0.97$) و معنی داری ($P \leq 0.01$) وجود داشت به عبارت دیگر با افزایش درصد نشت الکترولیت ها، درصد بقاء گیاهان کاهش یافته است. همچنین درصد نشت الکترولیت ها و زیست توده همبستگی منفی ($r = -0.89$) و معنی داری ($P \leq 0.01$) را نشان دادند به صورتی که با افزایش نشت الکترولیت ها،

سایر ارقام مورد مطالعه همراه بود. در یک مطالعه، LT_{50el} در اکوتیپ‌های پاسپالوم خوسرما شده بین $-5/2^{\circ}C$ تا $-9/5^{\circ}C$ و برای گیاهان خوسرما نشده بین $-2/5^{\circ}C$ تا $-5/2^{\circ}C$ تعیین شد (۷). اندرسون و همکاران (۲) نیز با بررسی LT_{50el} و همچنین رشد مجدد در ارقام مختلف برموداگراس به این نتیجه رسیدند که LT_{50el} ارقام بین دماهای -7 تا -11 درجه سانتی‌گراد متغیر بود.

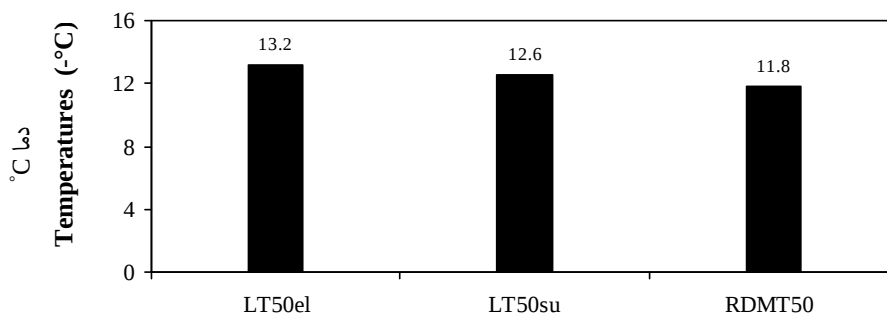
(۴) تعیین شد. محققان بیان کردند که گیاهان متحمل‌تر به سرما دارای LT_{50el} ، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ کمتری هستند. شاشیکومار و ناس (۲۸) با انجام آزمایشی بر روی ۸ رقم پنجه مرغی گزارش کردند که بیوتیپ‌های حساس‌تر به سرما LT_{50el} بیشتر نسبت به بیوتیپ‌های مقاوم داشتند.

در بررسی نظامی و همکاران (۲۰) نیز مشاهده شد که LT_{50el} کمتر در ارقام متحمل به سرمای کلزا با نشت سلولی کمتر نسبت به



شکل ۳- اثر دماهای یخ‌زدگی بر زیست توده گیاه مهاجم گل‌گندم پس از یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده سه هفته پس از یخ‌زدگی

Figure 4- Effect of freezing temperatures on Biomass of (*Centaurea balsamita*)



دمای کاهنده ۵۰ درصد زیست توده دمای کاهنده ۵۰ درصد بقاء دمای کاهنده ۵۰ درصد نشت الکترولیت ها

شکل ۴- دمای ۵۰ درصد کشنده گل‌گندم بر اساس نشت الکترولیت (LT_{50el})، درصد بقاء (LT_{50su}) و زیست توده ($RDMT_{50}$)

Figure 4- Lethal temperature of 50% based on leakage percentage (LT_{50el}), survival percentage (LT_{50su}) and dry weight ($RDMT_{50}$)

نظام‌های کشاورزی، مرتعی و جنگلی در مناطق مختلف سودمند باشد. با توجه به این مطلب که LT_{50el} ، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ گل گندم خوسرمایی شده با شرایط پاییزه در آزمایش حاضر به ترتیب $^{\circ}C$ $-13/2$ ، $-12/6$ و $-11/8$ تعیین شد، می‌توان بیان کرد که این گیاه جزو گیاهان متحمل به سرما می‌باشد و قابل پیش‌بینی است که گسترش و تثبیت این گیاه مهاجم در شرایط مشهد امکان‌پذیر می‌باشد، ولی برای اطمینان بیشتر از تحمل به سرمای این گیاه مهاجم، توصیه می‌شود این گیاه در مناطق با ارتفاع بیشتر و سردتر از مشهد خوسرمایی شده تا ارزیابی دقیق‌تر از جهت تحمل به سرما صورت پذیرد. همچنین خوسرمایی این گیاه در مرحله ساقه‌دهی نیز در جهت ارزیابی دقیق‌تر و جامع‌تر از میزان تحمل به سرما ضروری به نظر می‌رسد. به هر صورت با توجه به LT_{50su} پایین این گیاه در صورت پراکنش بذر آن، امکان مهاجرت این گیاه مهاجم به مزارع گندم، جو و مراتع بسیار محتمل است.

ایزدی و همکاران نیز LT_{50el} ، LT_{50su} و $RDMT_{50}$ بیوتیپ یولاف‌وحشی رشد یافته در شرایط مشهد را به ترتیب $^{\circ}C$ $-13/5$ ، $13/2$ و $11/7$ گزارش کردند. نظامی و ناقدی نیا (LT_{50el} ۲۱) ارقام مختلف گلرنگ که با گل گندم از تیره گیاهی یکسانی می‌باشند (آفتابگردان) را بین $^{\circ}C$ -8 تا $^{\circ}C$ -12 گزارش کردند. در آزمایش عزیزی و همکاران ($RDMT_{50}$ ۳) ارقام گندم بین $^{\circ}C$ $-4/3$ تا $^{\circ}C$ $-14/2$ بود.

نتیجه‌گیری کلی

این بررسی نشان داد در گیاهان مهاجمی از جمله گل گندم، استفاده از آزمون‌های نشت الکترولیت‌ها و بقاء می‌تواند به عنوان روش‌های نسبتاً مناسب در ارزیابی و شناخت گیاهان مهاجم متحمل به سرما مورد استفاده قرار گیرد و شناخت تحمل به سرمای گیاهان مهاجم به پیش‌بینی نحوه پراکنش و تهاجم آن‌ها کمک می‌نماید. از طرفی این پیش‌بینی می‌تواند در جلوگیری از ورود این گیاهان به بوم

منابع

- 1- Abbasian A., Asadi G., and Gorbani R. 1395. The effect of temperature on some germination index of invasive plant of *Centaurea balsamita* and determination of its germination Cardinal Temperatures. Iranian journal of seed science and technology. 5 (2): 215-222.
- 2- Anderson J. A., Taliaferro C. M., and Martin D. L. 1993. Evaluating freeze tolerance of bermudagrass in a controlled environment. Horticultural Science. 28:955.
- 3- Azizi H., Nezami A., Nassiri M., and Khazaie H. R. 2007. Evaluation of cold tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research. 5: 109-121. (In Persian with English summary).
- 4- Baeka K.H., and Skinner D.Z. 2003. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. Plant science. 165: 1221-1227.
- 5- Bethany A., Bradley David S., and Oppenheimer M. 2010. Climate change increases risk of plant invasion in the Eastern United States. Biology Invasions. 12:1855-1872.
- 6- Bridger G.M., Falk D.E., Mckersie B.D., and Smith D.L. 1996. Crown freezing tolerance and field winter survival of winter cereals in eastern Canada. Crop science. 36:150-157.
- 7- Cardona C.A., Duncan R.R., and Lindstorm O. 1997. Low temperature tolerance assessment in paspalm. Crop Science. 37:1283-1291.
- 8- Chen T.H., Gusta L.V., and Fowler D.B. 1983. Freezing injury and root development in winter cereals. Journal of Plant Physiology. 73: 773-777.
- 9- Dai X., Xu Y. Ma Q., Xu W., Wang T., Xue Y., and Chong K. 2007. Overexpression of an R1R2R3 MYB gene, OsMYB3R-2, increases tolerance to freezing, drought, and salt stress in transgenic Arabidopsis. Journal of Plant Physiology 143:1739-1751.
- 10- Eugenia M., Nunes S., and Ray Smith G. 2003. Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in Rose Clover. Crop Science. 43:1349-1357.
- 11- Fowler D.B., Gusta L.V., and Tyler N.J. 1981. Selection for winter hardiness in wheat. III. Screening methods. Crop Science. 21, 896-901.
- 12- Griffith M., and McIntyre C.H. 1993. The interrelationship of growth and frost tolerance in winter rye. Journal of Plant Physiology. 87: 335-344.
- 13- Hekneby M., Antolin M.C., and Sanchez-Diaz M. 2006. Frost resistance and biochemical changes during cold acclimation in different annual legumes. Environmental and Experimental Botany. 55: 305-314.
- 14- Izadi E., Nezami A., Abbasian A., and Haydari M. 2013 Investigation of wild oat fitness to freezing stress using of electrolyte leakage Index. Environmental stress in crop science. 5 (1): 81-94. (In Persian with English summary).

- 15- Levitt J. 1980. Chilling injury and resistance. Vol. 1. PP. 23-64 .In Kozlowsky, T.T. (eds.) Chilling, Freezing and High Temperature Stresses. Responses of Plants to Environmental Stresses. Academic Press, New York.
- 16- Kheirkhah T., Nezami A., Kafi M., and Asadi GH. A. 2015. Evaluation of Cold Tolerance in Field Grown *Mentha piperita* L.) under Laboratory Conditions by Electrolyte Leakage Test. Iranian Journal of Field Crops Research. 13(2): 269-277. (In Persian with English summary).
- 17- Mahfoozi S., Limin A. E., Hayes P. M., Hucl P., and Fowler D. B. 2000. Influence of photoperiod response on the expression of cold hardiness in wheat and barley. Canadian Journal of Plant Science 80: 721-724.
- 18- Moorby J. 1981. Transport systems in plant. Longman Pub. New York.
- 19- Murata N., and Los D.A. 1997. Membrane fluidity and temperature perception. Plant Physiology. 115: 875-879.
- 20- Nezami A., Borzooei A., Jahani M., and Azizi M. 2007. Evaluation of freezing tolerance in canola (*Brassica napus* L.) cultivars under controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Res. 5(1): 167-175. (In Persian with English summary).
- 21- Nezami A. and Naghedinia, N. 2011. Effects of freezing stress on electrolyte leakage of sufflower genotypes. Iranian Journal of Field Crops Research. 8(6): 891-896. (In Persian with English summary).
- 22- Nezami A., Soleimani M. R., Ziaee M., Ghodsi M., and Bannayan M. 2010. Evaluation of Freezing Tolerance of Hexaploid Triticale Genotypes under Controlled Conditions. Notulae Scientia Biologicae. 114-120.
- 23- Paull R.E. 1981. Temperature induced leakage from chilling-sensitive and chilling-resistant plant. Plant Physiology. 68:149-153.
- 24- Perras M., and Sarhan F.1988. Synthesis of freezing tolerance proteins in leaves, crown and roots during cold acclimation of wheat. Plant Physiology. 89:577-585.
- 25- Rashed M.H., Nezami A., Bagheri A., Haj mohammadnia K., and Bannayan M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel (*Foeniculum vulgar* L.) ecotypes under controlled conditions. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 15:131-140.
- 26- Rechinger KH. 1979. Compositae-Cynareae. In: Rechinger KH, editor. Flora Iranica. vol. 139a, Akademische Druckund Verlagsanstalt. 331 – 333.
- 27- Rife C.L., and Zeinali H. 2003. Cold tolerance in oilseed rape over varying acclimation durations. Crop Science. 43:96-100.
- 28- Shashikumar K., and Nus J.L. 1993. Cultivar and winter cover effects on bermudagrass cold acclimation and crown moisture content. Crop Science. 33:813-817.
- 29-Turkoglu N., Alp E., and Cig A. 2009. Effect of temperature on germination biology in *Centaurea* species. African Journal of Agricultural Research Vol. 4 (3), pp. 259-261.
- 30- Uemura M., Tominaga Y., Nakagawara C., Shigematsu S., Minami A., and Kawamura Y. 2006. Responses of plasma membrane to low temperature. Physiologia Plantarum. 126:81-89.
- 31- Wagenitz G. 2006. A Revision of *Centaurea* (Compositae-Cardueae) in the Flora of Iraq. Rostaniha, Vol. 7 (2): 390-391.
- 32- Ya Li H. D., and Gan Yao Q. W. 2011. Impacts of Invasive Plants on Ecosystems in Natural Reserves in Jiangsu of China. Russian Journal of Ecology, Vol. 42, No. 2, pp. 133-137.
- 33- Yoshida M., Abe J., Moriyama M., and Kuwabara T. 1998. Carbohydrate levels among winter wheat cultivars varying in freezing tolerance and snow mold resistance during autumn and winter. Physiology Plant. 103: 8-16.



تأثیر تاریخ کاشت و تراکم بر شاخص‌های رشد گونه‌ها و عملکرد در مزرعه سویا

حبیبه سلطانی^۱ - علی قنبری^{۲*} - مهدی راستگو^۳ - قربانعلی اسدی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۱۱

چکیده

با هدف تأثیرگذاری تاریخ کاشت و تراکم کاشت بر شاخص‌های رشد و ارزیابی توانایی رقابتی سویا رقم ویلیامز با علف‌های هرز، آزمایشی در سال زراعی ۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در قالب اسپلیت-اسپلیت و طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی به اجرا درآمد. تیمارهای این آزمایش شامل تاریخ کاشت به عنوان عامل اصلی (۲۸ فروردین، ۲۲ اردیبهشت، ۱۶ خرداد) و تراکم کاشت به عنوان عامل فرعی (۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ بوته در متر مربع) و مدیریت علف‌های هرز به عنوان عامل فرعی-فرعی (کنترل و عدم کنترل علف‌های هرز) بود. نتایج نشان داد تاریخ کاشت ۲۲ اردیبهشت، نسبت به تاریخ کاشت زودهنگام و تاریخ کاشت تأخیری شاخص سطح برگ، ماده خشک و سرعت رشد بیشتری حاصل کرد. در تراکم‌های بیشتر و تاریخ کشت‌های دیرتر، ماده خشک و شاخص سطح برگ بیشتری تولید شد. در شرایط حضور علف هرز با افزایش تراکم سویا از ۳۰ به ۶۰ بوته در متر مربع، میزان شاخص سطح برگ و ماده خشک افزایش یافت. تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین ماده خشک تجمعی، شاخص سطح برگ، سرعت رشد محصول و آهنگ رشد در شرایط تداخل علف‌های هرز (تمام فصل) نسبت به کنترل علف‌های هرز وجود داشت. نتایج نشان داد که تاریخ کاشت ۲۲ اردیبهشت و تراکم ۴۰ بوته در متر مربع علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد، سبب افزایش توان رقابتی سویا در مقابل علف‌های هرز می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آهنگ رشد، تداخل، سرعت رشد محصول، شاخص سطح برگ، عملکرد دانه

مقدمه

مهم‌ترین علف‌های هرز مزارع سویا هستند (۷). خسارت علف‌های هرز در زراعت سویا عموماً ۱۳ تا ۶۰ و گاهی بیش از ۸۰ درصد گزارش شده است (۹).

با در نظر گرفتن رقابت درون و بین گونه‌ای جوامع گیاهی، تفاوت‌های ایجاد شده در مراحل رشد گیاهان در اثر تغییر در تاریخ کاشت ممکن است اثرات افزایشده و مثبتی بر دیگر روش‌های کنترل همچون کنترل شیمیایی یا مکانیکی داشته باشد (۳۲). تاریخ کاشت مناسب بویژه در مناطقی که دارای محدودیت‌های محیطی مانند سرمای زودرس یا دیر هنگام ابتدا و انتهای فصل و گرمای شدید اواسط فصل می‌باشد، اهمیت زیادی دارد (۵).

در بین عوامل دخیل در رقابت، تراکم گونه زراعی و علف‌های هرز از جمله عواملی هستند که جذب و تخصیص منابع را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بطوری که با افزایش نسبت تراکم هر گونه در رقابت، وزن خشک اندام‌های گونه دیگر کاهش می‌یابد (۱۰). نتایج به دست آمده بر روی سویا، نخود، لوبیا سبز و ذرت نشانگر کاهش قابل ملاحظه بیوماس علف‌هرز در نتیجه افزایش تراکم است (۳۷). افزایش تراکم سبب تولید کانوپی متراکم‌تر، و مانع رسیدن نور به علف‌های هرز در زیر کانوپی شده و بیوماس برخی از علف‌های هرز کاهش، و

سویا مهم‌ترین گیاه روغنی، و در بین سایر گیاهان روغنی بیشترین سطح زیر کشت را در جهان دارد (۳۶). سطح زیر کشت سویا در ایران ۶۶ هزار هکتار با عملکرد ۲۳۳۵ کیلوگرم در هکتار و تولید سالانه ۱۵۱ هزار تن گزارش شده است (۱۳). سویا، نقش بسیار مهمی در سه بازار عمده دانه، روغن و کنجاله ایفا می‌کند (۲۰).

علف‌های هرز با رقابت در برداشت از منابع در دسترس و کاهش توان بهره‌برداری گونه‌های زراعی از این منابع، از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولید گیاهان زراعی هستند. علف‌های هرز تاج خروس وحشی، گاوپنبه، توق، سلمک، قیاق، سوروف و اویارسلام^{۱۲} از

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد علف‌های هرز و دانشیاران دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(Email: ghambari@um.ac.ir)

(*) نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/jpp.v31i3.52862

- 5- *Glycine max* L.
- 6- *Amaranthus retroflexus* L.
- 7- *Abutilon theophrasti* Medic.
- 8- *Xanthium strumarium* L.
- 9- *Chenopodium album* L.
- 10- *Sorghum halepense* L.
- 11- *Echinochloa crus-gali* L.

12- *Cyperus rotundus* L.

هرز به عنوان عامل فرعی فرعی (کنترل و عدم کنترل علف‌های هرز) بودند. آماده‌سازی زمین در فروردین شامل شخم با گاوآهن برگردان دار، دو دیسک عمود برهم، تسطیح به کمک لولر و احداث جوی و پشته با فارورر پشت تراکتوری بود. ابعاد هر کرت ۶ در ۳ متر مربع، با ۶ ردیف با فاصله ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. کرت فرعی به دو بخش در جهت طولی تقسیم و هر بخش دارای ۳ ردیف کاشت (دو ردیف کناری حاشیه و ردیف میانی برای نمونه‌برداری در طول فصل) بود. در یکی از این دو بخش علف‌های هرز کنترل و دیگری کنترلی صورت نگرفت، تا گونه زراعی و علف‌های هرز همزمان حضور داشته باشند. بذر سویا روی ردیف‌ها و به صورت دستی در عمق ۳ سانتی‌متر به صورت کپ‌ای (در هر کپ ۲ بذر) و بسته به تراکم مورد نظر در فواصل متفاوت (۷، ۵، ۴ و ۳ سانتی‌متر برای هر یک از تراکم‌های ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ بوته در متر مربع) روی ردیف کشت شدند. اولین آبیاری روز بعد از هر کاشت صورت گرفت، و پس از آن هر هفته یک بار آبیاری شد. گیاهچه‌های سویا پس از سبز شدن و استقرار برای بدست آوردن تراکم مورد نظر تنک شدند. بوته‌های اضافی از زیر نقطه رشد قطع شدند تا به بوته‌های باقیمانده آسیبی وارد نشود.

اولین نمونه‌برداری ۳۵ روز پس از کاشت شروع و به فاصله هر ۱۴ روز تا آخر دوره رشد انجام گرفت. در هر نمونه‌برداری ۴ بوته سویا به همراه علف‌های هرز از وسط جویچه‌های دو طرف پشته و روی پشته برداشت شد. بسته به تراکم، کوادرات‌هایی به عرض ۲۸، ۲۰، ۱۶ و ۱۲ و طول ۵۰ سانتی‌متر (عرض پشته) به ترتیب برای تراکم‌های ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ بوته در متر مربع در نظر گرفته شد. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، برگ‌ها از ساقه جدا، سطح برگ و وزن خشک اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد، نگهداری و سپس به کمک ترازوی دیجیتالی با ظرفیت ۶۱۰ گرم و دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند. سطح برگ با دستگاه سطح سنج کامپیوتری (Li-3100c) تعیین شد. برای محاسبه عملکرد اقتصادی از سطحی معادل ۴/۵ متر مربع سویا برداشت شد. کل ماده خشک تولیدی^۱، سرعت رشد گیاه^۲، آهنگ رشد گیاه^۳ و شاخص سطح برگ^۴ محاسبه شد. چگونگی تغییرات وزن خشک و شاخص سطح برگ (متغیر وابسته) نسبت به زمان (روزهای پس از کاشت به عنوان متغیر مستقل) با برازش توابع غیرخطی برآورد شد (معادله ۱). برای تعیین این روابط معادلات ریاضی نظیر پلی‌نومینال، سیگموئیدی و لگاریتمی و تابع نمایی بررسی و چون تابع نمایی سازگاری (r^2 بالاتر - Pvalue کمتر - معنی‌داری ضرایب) بیشتری با روند طبیعی متغیرها نشان داد انتخاب شد.

افزایش سهم گیاه زراعی را در استفاده از منابع قابل دسترس بالاتر برده و در نتیجه باعث کاهش تلفات عملکرد ناشی از رقابت علف‌های هرز می‌شود (۱۷). تراکم‌های بسیار بالا بدلیل افزایش رقابت برون گونه‌ای و به ویژه درون گونه‌ای در مراحل مختلف رشد، باعث کاهش قابل توجه عملکرد می‌شود، بنابراین انتخاب تراکم گیاهی مناسب، در حصول یک عملکرد مطلوب اهمیت دارد (۱۹). از ضروریات سنجش رقابت در بین گونه‌ها، مقایسه رشد آنها است. وزن خشک گیاه، ارتفاع گیاه، شاخص سطح برگ، نسبت ریشه به شاخساره، هر یک به نوعی بر چگونگی رقابت گونه‌ها مؤثر هستند تجزیه و تحلیل صفاتی مانند سرعت رشد گیاه، سطح برگ و وزن خشک گونه‌های مختلف که بر قدرت رقابت آنها بسیار تأثیرگذار می‌باشد، مقیاسی از قابلیت تولید و ظرفیت فتوسنتزی آنها را ارائه می‌کند (۴۲).

تحلیل مقایسه‌ای رشد محصول در شرایط حضور علف هرز یا بدون حضور علف هرز معیار کمی مناسبی را برای ارزیابی تداخل علف هرز با گیاه زراعی فراهم می‌کند (۴۰). مقایسه شاخص‌های رشد برای طراحی مدل‌های تداخل علف‌های هرز و گیاه زراعی و برآورد میزان کاهش عملکرد گیاه زراعی در اثر رقابت با علف‌های هرز، امری ضروری است و به محققین جهت ارزیابی رقم قویتر کمک می‌نماید (۳۵).

بواسطه حضور گونه‌های مختلف علف هرز، چگونگی رقابت آن‌ها با گونه‌های زراعی نیز متفاوت خواهد بود. از این‌رو تأثیر یک گونه علف‌هرز در دو محصول زراعی با هم فرق داشته و درجه اهمیت آنها بسته به محصول و یا زمان حضور متفاوت است. هدف این تحقیق بررسی برخی استراتژی‌های مدیریت زراعی (تاریخ و تراکم کاشت سویا) بر روند تغییرات شاخص‌های رشد در حضور یا عدم حضور علف‌های هرز و تعیین تاریخ و تراکم کاشت بهینه با هدف افزایش توانایی رقابت سویا با علف‌های هرز مجاور می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به منظور بررسی برخی استراتژی‌های مدیریت زراعی بر شاخص‌های رشد گونه‌ها و عملکرد در مزرعه سویا (رقم ویلیامز از گروه رسیدگی ۳ و رشد نامحدود) در رقابت با علف‌های هرز، در قالب طرح اسپلیت- اسپلیت بر پایه بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار در سال ۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۲۸ دقیقه شرقی با ارتفاع ۹۸۵ متری از سطح دریا اجرا شد.

تیمارهای این آزمایش شامل تاریخ کاشت به عنوان عامل اصلی (۲۸ فروردین، ۲۲ اردیبهشت، ۱۶ خرداد) و تراکم کاشت به عنوان عامل فرعی (۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ بوته در متر مربع) و مدیریت علف‌های

دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. داده‌های آزمایش توسط نرم افزار SAS 9.1 و Mstatc (بدست آوردن اثرات متقابل) و 5 Sigma plot ver 12. آنالیز و برای رسم گرافیکی اشکال از نرم‌افزار Excel 2010 استفاده شد.

نتایج و بحث

در این آزمایش در مجموع ۱۱ گونه علف هرز متعلق به ۹ خانواده گیاهی، مشاهده و شناسایی شد. که اسامی این گیاهان و برخی خصوصیات مهم آنها در جدول (۱) نشان داده شده است.

$$(1) \text{ TDM or LAI} = \exp(a + bx + cx^2 + dx^3)$$

روند تغییرات سرعت رشد گیاه (CGR) با مشتق‌گیری از تابع TDM بدست آمد (معادله ۲). برای محاسبه آهنگ رشد (RGR) ابتدا به داده‌های لگاریتم طبیعی ماده خشک ($L_n \text{ TDM}$) تابع درجه سوم برازش و از آن مشتق گرفته شد (معادله ۳).

$$(2) \text{ CGR} = (b + 2cx + 3dx^2) e^{a+bx+cx^2+dx^3}$$

$$(3) \text{ RGR} = (b + 2cx + 3dx^2)$$

در معادلات ۱ تا ۳: x، روزهای پس از کاشت و a b c d ضرایب معادله هستند. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات به روش

جدول ۱- اسامی و ویژگی‌های علف‌های هرز مشاهده در سطوح مختلف تاریخ و تراکم کاشت سویا رقم ویلیامز، ۱۳۹۲، مشهد

Table 1- The name and characteristics of weeds observed in different levels sowing date and planting densities on soybean cultivar Williams, 2013, Mashhad

نام فارسی Persian name	نام علمی Scientific name	خانواده Family	فرم رویشی Vegetative form	مسیر فتوسنتزی Photosynthesis pathway	عادت رشدی Habit growth
تاج خروس ریشه قرمز Red root pigweed	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	Amaranthaceae	پهن برگ Broad leaf	C ₄	یک ساله annual
سلمه تره Fat hen	<i>Chenopodium album</i> L.	Chenopodiaceae	پهن برگ Broad leaf	C ₃	یک ساله annual
سوروف Barnyard grass	<i>Echinochola crus-gali</i> L.	Poaceae	باریک برگ Grass weed	C ₄	یک ساله annual
خرقه purslane	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Portulacaceae	پهن برگ Broad leaf	C ₄	یک ساله annual
تاج ریزی سیاه Black night	<i>Solanum nigrum</i> L.	Solanaceae	پهن برگ Broad leaf	C ₃	یک ساله annual
اویارسلام ارغوانی Purple nut sedge	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Cyperaceae	باریک برگ Grass weed	C ₄	چند ساله perennials
علف خرچنگ crabgrass	<i>Digitaria sanguinalis</i> L.	Poaceae	باریک برگ Grass weed	C ₃	یک ساله annual
پیچک Field bind weed	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	Convolvulaceae	پهن برگ Broad leaf	C ₃	چند ساله perennials
تاتوره jimsonweed	<i>Datura stramonium</i> L.	Solanaceae	پهن برگ Broad leaf	C ₃	یک ساله annual
گاوپنبه velvetleaf	<i>Abutilon theophrasti</i> Medic	Malvaceae	پهن برگ Broad leaf	C ₃	یک ساله annual
شیرتیغی Common sow thistle	<i>Sonchus asper</i> L.	Asteraceae	پهن برگ Broad leaf	C ₃	یک ساله یا دو ساله Annual or biennial

به مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی^۲ (اوایل دانه‌بندی) به حداکثر مقدار ۴/۱۲ رسید، و در انتهای دانه‌بندی نیز کاهش نشان داد (شکل ۱). کاهش شاخص سطح برگ در مراحل نهایی رشد به دلیل سایه‌اندازی متقابل برگ‌ها و نیز تخلیه مواد از آن‌ها و انتقال این مواد به دانه‌های در حال رشد که با ریزش برگ‌ها همراه بوده است، می‌باشد. محققین دیگر نیز کاهش شاخص سطح برگ پس از گلدهی را ناشی از پیری برگ‌های پایینی ذکر کردند (۱۲). طول فصل رشد سویا در تاریخ‌های

شاخص سطح برگ (LAI)

نتایج نشان داد که شاخص سطح برگ سویا در تاریخ و تراکم‌های مختلف روند مشابهی در طول فصل رشد داشت (شکل ۱). بطوری‌که در مراحل اولیه رشد، شاخص سطح برگ با کندی و با سرعت کمی افزایش یافت، ولی با ورود به مرحله رشد سریع گیاه (فاز خطی^۱)، شاخص سطح برگ به سرعت افزایش یافت، و کمی پس از ورود گیاه

طول دوره رشد و تعداد بوته کم و در نتیجه رقابت بیشتر علف‌های هرز با گیاه زراعی در این تاریخ کاشت می‌باشد. گیاهان زراعی مانند سویا اگر به شاخص سطح برگ مناسب دست نیابند بیشتر در معرض خطر علف‌های هرز قرار می‌گیرند که کاهش عملکرد را به همراه دارد لذا شاخص سطح برگ برای عملکرد مطلوب سویا در طی نیمه آخر دوره پرشدن دانه حیاتی است (۲۲).

ماده خشک کل (TDM)

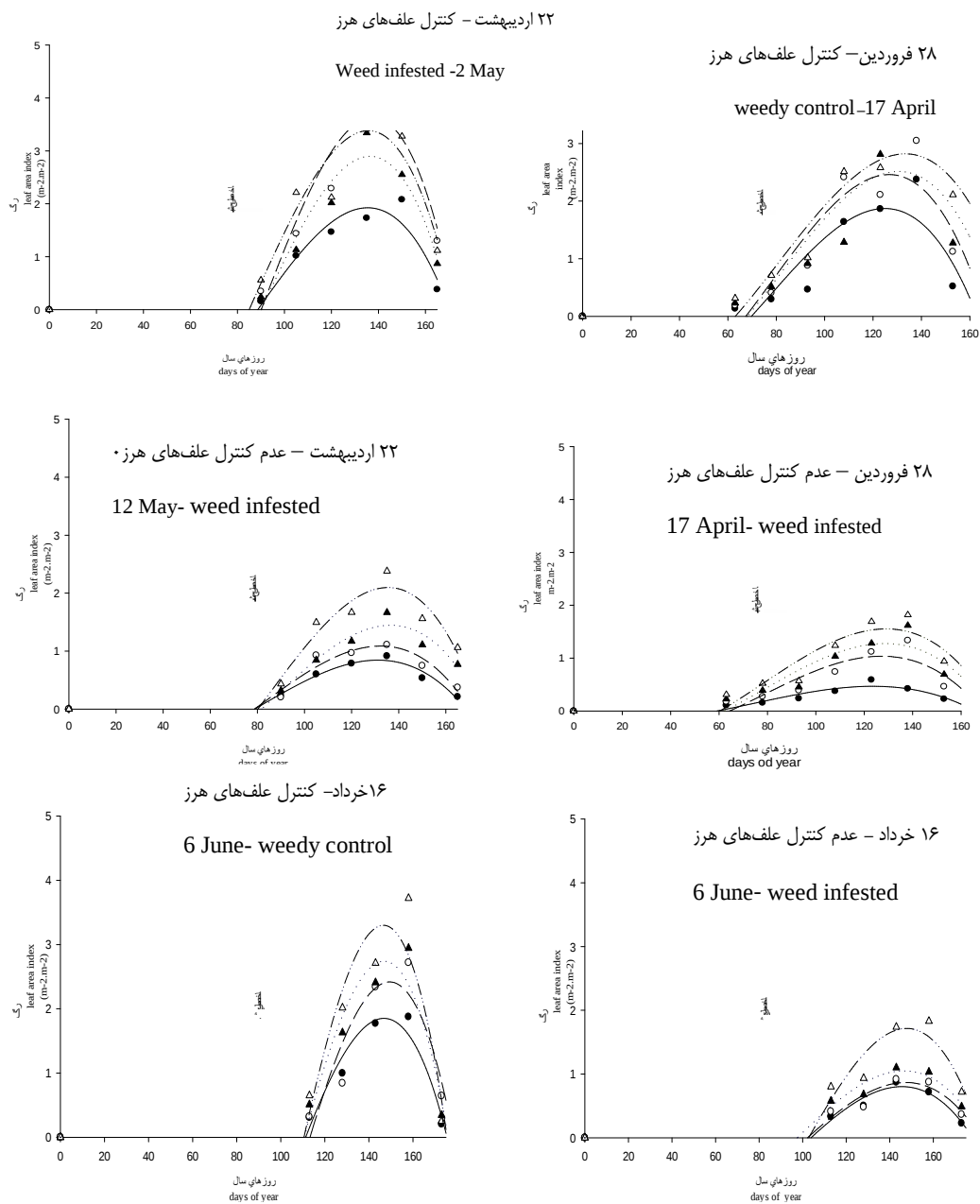
در شکل (۲) روند تغییرات ماده خشک تولیدی سویا در طی فصل رشد نسبت به تاریخ، تراکم کاشت سویا و مدیریت علف‌های هرز ارائه شده است. در ابتدای دوره رشد (تا حدود ۵۰ روز پس از کاشت) تفاوت چندانی میان تاریخ، تراکم کاشت و کنترل و عدم کنترل علف‌های هرز از نظر روند افزایش ماده خشک سویا مشاهده نشد، و تفاوت‌های موجود ناشی از تغییر تراکم است. به عبارت دیگر قبل از شروع رقابت درون و بین گونه‌ای، هر تک بوته می‌تواند با توجه به شرایط محیطی از نظر منابع در دسترس، بدون مانع به رشد خود ادامه داده و ماده خشک به نسبت تراکم افزایش خطی (موازی بودن خطوط در این دامنه) دارد. در این بازه زمانی به دلیل کوچکی گیاهان، رقابت درون و میان گونه‌ای بین گیاه زراعی و علف‌های هرز رخ نداده یا شدت آن بسیار پایین است، از این رو هر بوته از هر گونه می‌تواند بدون کمبود از منابع بهره‌برداری و در حد ظرفیت محیط رشد کند. در حدود ۷۰ روز پس از سبز شدن سویا و همراه با افزایش تداخل علف‌های هرز (تیمار عدم کنترل علف‌های هرز)، بر شدت رقابت درون و میان گونه‌ای افزوده شده و محدودیت در برداشت از منابع مشترک محیطی (نور، آب، مواد غذایی و ...) موجب کاهش رشد افراد درون جمعیت-های همجوار شده و از سرعت تجمع ماده خشک کاسته می‌شود.

عامل اصلی کاهش تجمع ماده خشک در مراحل آخر نمونه برداری برخورد با هوای سرد، در سایه قرار گرفتن برگ‌های تحتانی و عدم توانایی کافی آن‌ها جهت انجام فتوسنتز (پیشی گرفتن تنفس بر فتوسنتز) می‌باشد که سبب پیری و ریزش برگ‌ها و اختصاص مواد فتوسنتزی به اندام‌های زایشی می‌شود. بیشترین تجمع ماده خشک (۶۶۸/۵۵۴ گرم بر متر مربع) در تاریخ کاشت ۲۲ اردیبهشت و تراکم ۴۰ بوته در متر مربع در شرایط کنترل علف‌های هرز بدست آمد. زمانی که رقابت محدود به درون گونه می‌شود افزایش تراکم تا حد خاصی منجر به افزایش توان رقابتی سویا و در نتیجه افزایش ماده خشک آن می‌شود. با اعمال تراکم مطلوب ضمن استفاده از مواد غذایی، رطوبت و نور، می‌توان با علف‌های هرز به آسانی مبارزه کرد (۱۸). کاشت زود هنگام (۲۸ فروردین) و تأخیری (۱۶ خرداد) به ویژه در شرایط عدم کنترل علف‌های هرز باعث افت شدید ماده خشک شد (شکل ۲).

مختلف متفاوت بود. بطوری که در تاریخ کاشت ۲۸ فروردین بدلیل درجه حرارت‌های پایین در اوایل فصل رشد در مدت زمان طولانی تری و تاریخ کاشت ۱۶ خرداد به دلیل برخورد با درجه حرارت‌های بالا در مدت زمان کمتری به وقوع پیوست (شکل ۱).

زمان رسیدن به حداکثر شاخص سطح برگ در طول فصل رشد برای تمامی تیمارها تقریباً همزمان بوده و پس از مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی به وقوع پیوست (شکل ۱). بیشترین شاخص سطح برگ (۴/۱۲۸) در تاریخ کاشت ۲۲ اردیبهشت و تراکم ۴۰ بوته در متر مربع در شرایط کنترل علف‌های هرز حاصل شد (شکل ۱). که احتمال می‌رود بدلیل عملیات زراعی مناسب (تاریخ کاشت و تراکم کاشت) سبب بهره‌وری بیشتر از انرژی خورشیدی، و افزایش شاخص سطح برگ شده است. همچنین در تراکم ۴۰ بوته در متر مربع برگ‌ها به نحو مناسب‌تری سطح مزرعه را می‌پوشانند و کانوپی بسته‌ای را تشکیل می‌دهند و سطح برگ بیشتری تولید می‌شود. تراکم بیش از حد بهینه در ابتدای فصل مانع رشد مناسب و یکنواخت گیاه زراعی شده، و از قدرت رقابتی آن با علف‌های هرز می‌کاهد. همچنین تراکم‌های زیاد در مراحل پایانی به دلیل غیر یکنواختی در آرایش فضایی اندام‌های هوایی و رشد نامتعادل نفوذ نور را به لایه‌های زیرین کانوپی و انتقال مجدد مواد فتوسنتزی، دچار اختلال می‌کند. بنابراین تراکم بایستی براساس گیاه، نیازهای اکولوژیک در طول فصل رشد و شرایط محیطی انتخاب شود. افزایش تراکم بیشتر بر روی تاریخ کاشت تأخیری مؤثر بود، بطوری که هر چه تاریخ به تأخیر انداخته شود تراکم‌های بیشتر شاخص سطح برگ بیشتری تولید می‌شود (شکل ۱)، به نظر می‌رسد تأخیر در کاشت به همراه افزایش تراکم کاهش عملکرد را جبران سازد. با افزایش تراکم سویا از ۳۰ به ۶۰ بوته در متر مربع در شرایط حضور علف‌های هرز، میزان شاخص سطح برگ افزایش نشان داد (شکل ۱). که این امر به دلیل افزایش رقابت بین گونه‌ای گیاه زراعی با علف‌های هرز است. رابطه مستقیم و خطی بین تراکم بوته و شاخص سطح برگ وجود دارد (۸). با افزایش تراکم بوته در ذرت و سورگوم شاخص سطح برگ افزایش یافت (۲). با افزایش تراکم گیاه ذرت از ۴ به ۱۰ بوته در متر مربع میزان تداخل با علف هرز افزایش یافت (۳۸). اگرچه افزایش تراکم گیاه زراعی در حضور علف هرز سبب افزایش عملکرد گیاه زراعی می‌شود اما تعیین دقیق افزایش تراکم بستگی به ماهیت گونه زراعی و تراکم علف هرز دارد (۲۳).

هر چه دوره رقابت علف‌های هرز با گیاه زراعی بیشتر باشد، سبب کاهش شدیدتر شاخص سطح برگ در گیاه زراعی می‌شود. بطوری که این شاخص در تیمار تداخل تمام فصل علف‌های هرز (عدم کنترل) در تاریخ کاشت ۲۸ فروردین و کمترین تراکم سویا (۳۰ بوته در متر مربع) به حداقل مقدار خود (۰/۵۸۹) رسید (شکل ۱). که بدلیل کاهش



شکل ۱- روند تغییرات شاخص سطح برگ سویا در طی فصل رشد. ۳۰ بوته در متر مربع، ۴۰ بوته در متر مربع، ۵۰ بوته در متر مربع، ۶۰ بوته در متر مربع

Figure 1- Changes trend of soybean leaf area index during the growing season

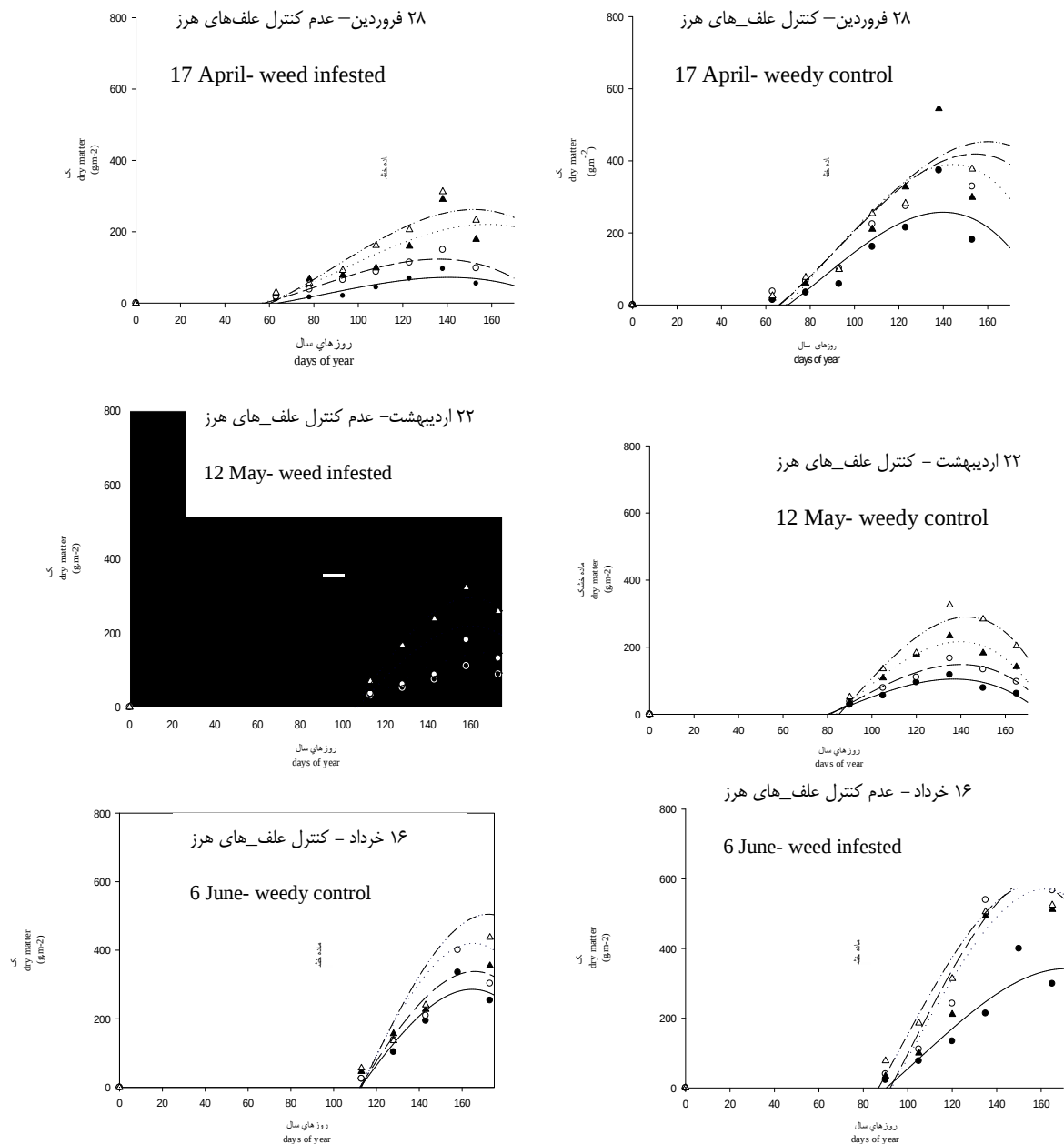
۳۰ plants per square meter. ۴۰ plants per square meter ۵۰ plants per square meter. ۶۰ plants per square meter

زود هنگام و کاهش طول دوره رشد ناشی از درجه حرارت‌های بالا در

می‌توان به درجه حرارت‌های پایین در اوایل دوره رشد درکاشت

قسمت بیشتری از دوره رشد در فصلی که چندان مناسب رشد نبوده است و میزان انرژی خورشیدی رو به کاهش بوده است، نسبت داد.

کشت تأخیری اشاره کرد که سبب کاهش ماده خشک می‌شود که با نتایج برخی از محققین دیگر نیز (۳ و ۲۸) مطابقت دارد. سالاری (۳۱) علت کاهش ماده خشک در کشت تأخیری را ناشی از واقع شدن



شکل ۲- روند تغییرات ماده خشک سویا در طی فصل رشد... ۳۰ بوته در متر مربع، ۴۰ بوته در متر مربع، ۵۰ بوته در متر مربع، ۶۰ بوته در متر مربع

Figure 2- Changes trend of soybean dry matter during the growing season

۳۰ بوته در متر مربع، ۴۰ بوته در متر مربع، ۵۰ بوته در متر مربع، ۶۰ بوته در متر مربع

در زود کاشت تراکم ۴۰ بوته با ۵۰ بوته (در شرایط کنترل علف های هرز) از نظر تولید ماده خشک تفاوتی نشان ندادند اما در تاریخ- های کاشت دیرتر و تراکم های بیشتر، ماده خشک بیشتری تولید شد (شکل ۲)، احتمال می رود اگر تاریخ کاشت دیرتر باشد، بالا بردن تراکم کاشت کاهش عملکرد را جبران سازد. در شرایط عدم کنترل علف های هرز ماده خشک در سه تاریخ کاشت با افزایش تراکم از ۳۰ به ۶۰ بوته افزایش یافت (شکل ۲). در حالتی که تمام گونه ها (گیاه زراعی و علف های هرز) حضور دارند، رقابت درون گونه ای و بین گونه ای برقرار است، افزایش تراکم منجر به افزایش تولید ماده خشک خواهد شد. یکی از دلایل دیگر آن رقابت کمتر علف های هرز در تراکم های بالای گیاه زراعی است.

با توجه به نتایج، بدلیل بهره برداری بهتر سویا از فضا، مواد غذایی و آب در شرایط کنترل علف های هرز، ماده خشک نسبت به عدم کنترل علف های هرز بیشتر است. برخی محققین (۲۹ و ۲۷) گزارش کردند که اثرات منفی تداخل علف های هرز بر شاخص سطح برگ گیاه زراعی سبب کاهش جذب منابع و تجمع ماده خشک گیاه می گردد. کمترین تجمع ماده خشک (۹۵/۶۶۱ گرم بر متر مربع) در تاریخ کاشت ۲۸ فروردین در تراکم ۳۰ بوته در شرایط عدم کنترل علف های هرز، مشاهده شد (شکل ۲). کاهش تولید ماده خشک بدلیل فصل نامناسب، تراکم کم و رقابت درون و میان گونه ای علف های هرز و سویا است.

سرعت رشد محصول (CGR)

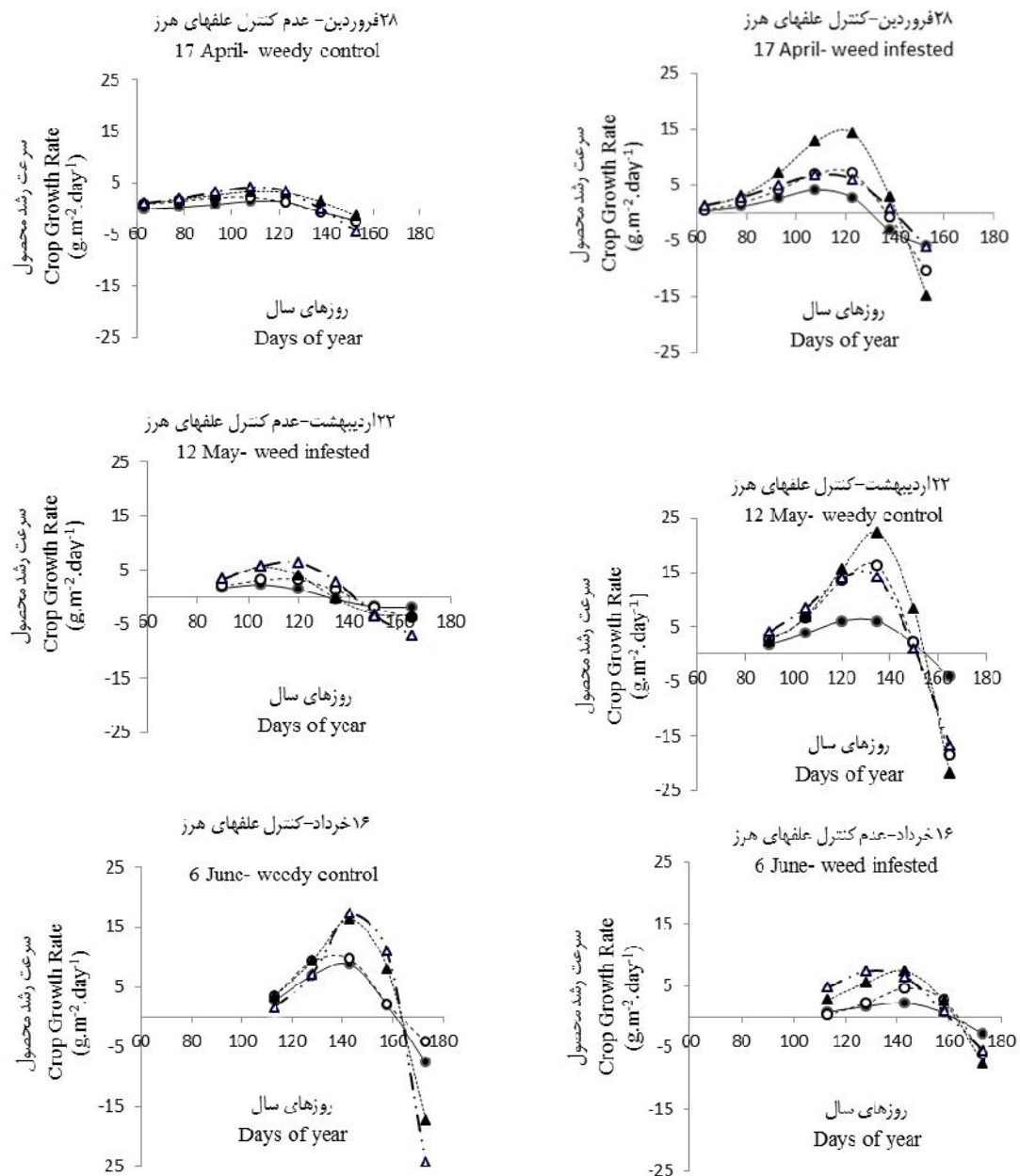
با مشتق گیری از معادلات ماده خشک تجمعی نسبت به زمان سرعت رشد محصول محاسبه و نسبت به زمان ترسیم شد (شکل ۳). در مراحل اولیه به دلیل کامل نبودن پوشش گیاهی^۱ و در نتیجه پایین بودن درصد جذب نور خورشید، سرعت رشد محصول به کندی افزایش می یابد. اما با افزایش میزان سطح برگ گیاه و نیز شاخص سطح برگ و در نتیجه کاهش تلفات انرژی تابشی خورشید، میزان تولید ماده خشک گیاهی در واحد سطح و در نتیجه میزان رشد محصول با سرعت بیشتری افزایش پیدا کرد. با این حال پس از اینکه میزان رشد محصول با سرعت بیشتری افزایش پیدا کرد، و سرعت رشد محصول به حداکثر مقدار خود ۱۶/۰۹ رسید. در پایان فصل رشد به دلیل کاهش میزان رشد رویشی و نیز پیری و ریزش برگ های گیاه، که در نتیجه موجب کاهش میزان شاخص سطح برگ شد، میزان سرعت رشد محصول کاهش یافت (شکل ۳).

روند کاهشی میزان سرعت رشد محصول در مراحل نهایی رشد در تراکم های بالاتر با سرعت بیشتری به وقوع پیوسته است که این

موضوع به دلیل رقابت بیشتر بین گیاهان در تراکم های بالاتر و در نتیجه ریزش سریعتر برگ ها و کاهش شاخص سطح برگ بوده است. ابراهیمی (۱۴) در بررسی شاخص های رشد در تاریخ و تراکم های مختلف کاشت سویا به این نتیجه رسید که سرعت رشد محصول در اواخر دوره رشد (مرحله پرشدن دانه) با کاهش سطح برگ و مسن شدن گیاه، به خصوص در تراکم های بالاتر (۵۰ بوته نسبت به ۲۵ و ۳۳ بوته) روند نزولی پیدا کرد و با نتایج فوق مشابهت دارد. همچنین راعی و همکاران (۲۶) در بررسی اثر تداخل سورگوم بر سویا گزارش کردند که در تراکم های ۴۰ و ۵۰ بوته سریع تر از تراکم های ۲۰ و ۳۰ بوته در متر مربع به حداکثر سرعت رشد محصول رسید و زودتر نیز حالت نزولی پیدا کرد آن ها دلیل این امر را افزایش رقابت درون گونه ای بوته های سویا در تراکم های بالا نسبت داده اند.

بیشترین مقدار سرعت رشد محصول (۲۲/۲۴ گرم بر متر مربع بر روز) در تاریخ کاشت ۲۲ اردیبهشت و تراکم ۵۰ بوته در متر مربع در شرایط کنترل علف های هرز مشاهده شد (شکل ۳). حداکثر سرعت رشد محصول زمانی حاصل می شود که گیاه از تراکم مطلوب و توزیع مناسب که برای حداکثر استفاده از نور و عوامل محیطی مطابقت دارد، برخوردار باشد (۲۴ و ۴)، در واقع برگ ها موقعیت مناسبتری برای جذب تابش و فتوسنتز پیدا کرده و سرعت رشد محصول افزایش می یابد. برخی محققان معتقدند که سرعت رشد محصول ارتباط مستقیمی با سطح فتوسنتز کننده دارد (۱۶). کمترین مقدار سرعت رشد محصول (۱/۴۲ گرم بر متر مربع بر روز) در تاریخ کاشت ۲۸ فروردین و تراکم ۳۰ بوته در متر مربع در شرایط عدم کنترل علف های هرز بود (شکل ۳). که احتمالاً بدلیل کاهش تعداد بوته و کم بودن شاخص سطح برگ و نیز تاریخ کاشت زود هنگام (درجه حرارت پایین در ابتدای فصل رشد) می باشد. در مناطق معتدله معمولاً بسیاری از محصولات ردیفی بهاره (مثل ذرت، لوبیا، سویا، سورگوم)، که درجه حرارت مناسب برای رشد آنها بالاست، کاشت زود هنگام موجب کاهش رشد آنها (نسبت به علف های هرز) می شود (۲۱). تأخیر در تاریخ کاشت نیز منجر به کاهش طول دوره رشد معادل ۱۳ تا ۲۵ روز نسبت به تاریخ کاشت مناسب شد (۲۵).

تفاوت قابل ملاحظه ای بین کنترل و عدم کنترل علف های هرز وجود دارد، که به علت شاخص سطح برگ بیشتر و متعاقب آن بالا بودن وزن خشک تولیدی در تیمار کنترل می باشد. وان اکر و همکاران (۳۹) در بررسی رقابت سویا با مخلوط طبیعی علف های هرز، کاهش ماده خشک و سرعت رشد محصول را گزارش کردند. همچنین صفاهانی و همکاران (۳۰) بیان داشتند که سرعت رشد کلزا در رقابت با خردل وحشی به دلیل کاهش شاخص سطح برگ و ماده خشک تولیدی کاهش یافت.



شکل ۳- روند تغییرات سرعت رشد محصول در طی فصل رشد. —●— ۳۰ بوته در متر مربع، —○— ۴۰ بوته در متر مربع، —▲— ۵۰ بوته در متر مربع، —△— ۶۰ بوته در متر مربع

Figure 3- Changes trend of soybean crop growth rate during the growing season

—●— 30 plants per square meter. —○— 40 plants per square meter —▲— 50 plants per square meter. —△— 60 plants per square meter

بودن گیاه و کم بودن وزن خشک کل آهنگ رشد بیشتر اما به مرور کاهش می‌یابد. آهنگ رشد با تغییرات وضعیت فتوسنتز و تنفس گیاه تغییر می‌یابد، بطوری‌که در اواخر دوره رشد با پیشی گرفتن تنفس بر

آهنگ رشد (RGR)

همانطور که مشاهده می‌شود، در ابتدای فصل رشد بدلیل کوچک

فتوستت (به ویژه در عدم کنترل علف‌های هرز) منفی می‌گردد (شکل ۴). محققین زیادی علت کاهش آهنگ رشد را افزایش سن برگ‌های پایینی، در سایه قرار گرفتن آنها و همچنین افزایش بافت‌های ساختمانی که در فتوستت نقشی ندارند، نسبت دادند (۴۱، ۳۳ و ۱۲). حداکثر آهنگ رشد (۰/۱۲۷ گرم بر گرم بر روز) در تاریخ کاشت ۱۶ خرداد و تراکم ۴۰ بوته در متر مربع در شرایط کنترل علف‌های هرز مشاهده شد (شکل ۴). که دلیل تعداد بوته کم و نفوذ بهتر نور به داخل کانوپی و همچنین عدم سایه‌اندازی علف‌های هرز می‌باشد. محققین دیگر نیز به حداکثر آهنگ رشد در تراکم بوته کمتر اشاره کردند و علت آن توزیع مناسب بوته‌ها، همپوشانی مناسب برگ‌ها و سایه‌اندازی کمتر آنها است که باعث استفاده بهتر از عوامل محیطی گردید (۴). همچنین مطالعه دیگری نشان داد که علت افزایش آهنگ رشد در تیمارهای رقابت علف‌های هرز پهن برگ و باریک برگ ناشی از نفوذ بهتر نور است (۱).

می‌توان گفت در نقطه‌ای که آهنگ رشد به صفر رسیده حداکثر وزن خشک بدست آمده است. اما این برتری با گذشت زمان به دلیل تولید ماده خشک کمتر، از بین می‌رود. در تیمار عدم کنترل علف‌های هرز بدلیل وجود علف هرز و سایه‌اندازی بوته‌های سویا بر هم، میزان آهنگ رشد در این شرایط در مقایسه با تیمار کنترل علف‌های هرز در حداقل مقدار خود (۰/۰۳۳) در تاریخ کاشت ۱۶ خرداد و تراکم ۳۰ بوته در متر مربع قابل مشاهده است (شکل ۴).

عملکرد دانه

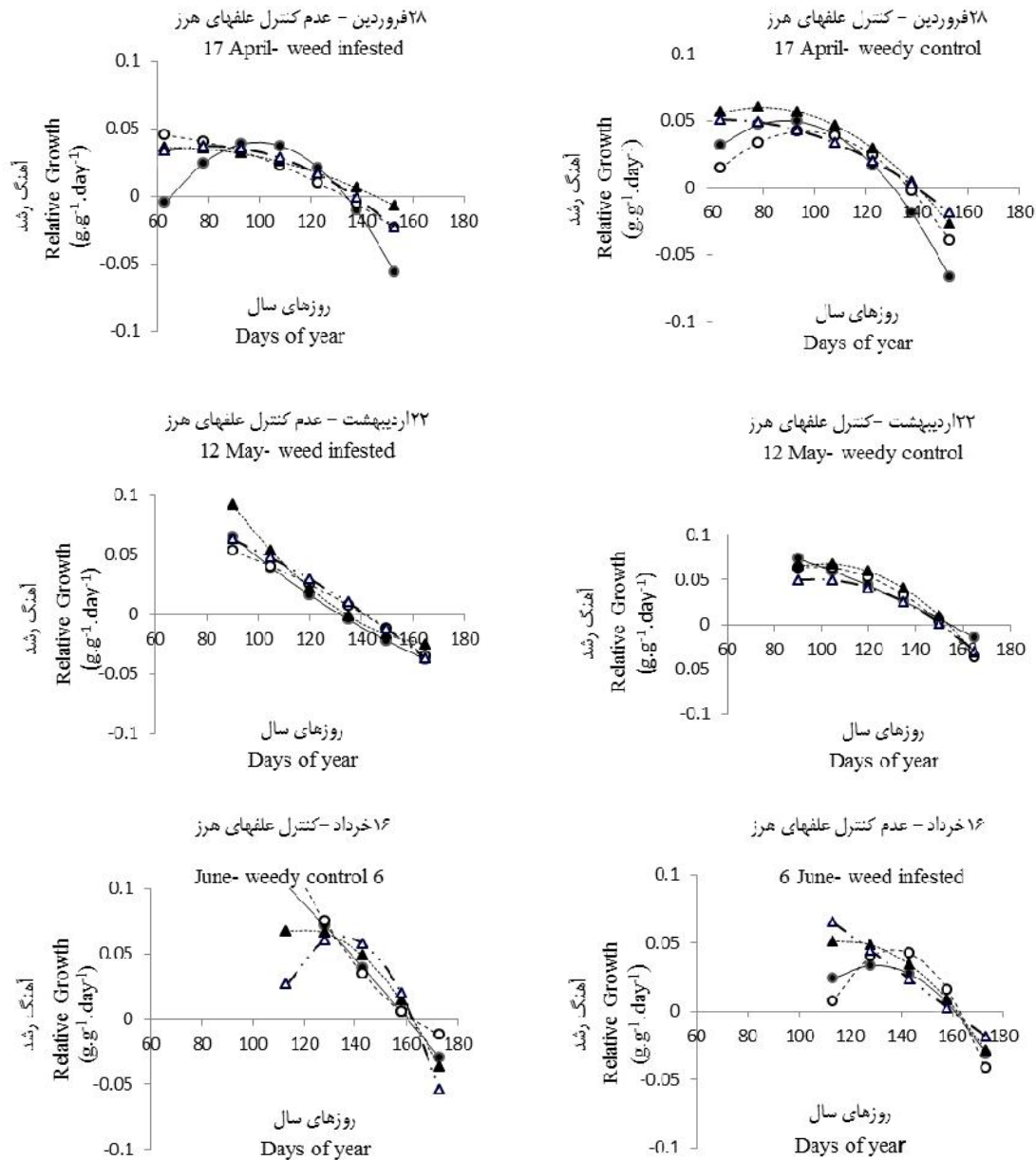
روش‌های زراعی از طریق مدیریت مناسب تاریخ کاشت و با بهره‌گیری از تراکم مطلوب، می‌تواند راهکاری اکولوژیک برای افزایش توان رقابتی گیاهان زراعی و کاهش رشد علف‌های هرز باشند (۱۵). اثر متقابل تاریخ و مدیریت علف‌های هرز نشان داد که بیشترین عملکرد دانه در تاریخ کاشت ۲۲ اردیبهشت در شرایط کنترل علف‌های هرز با میانگین ۱۵۱۶/۲۷۴ کیلوگرم در هکتار بدست آمد (شکل ۱). بورد (۶) با بررسی اثر تاریخ کاشت بر ارقام سویا مشاهده کرد در کاشت اواسط فروردین، ارقامیکه کمتر از ۵۵ تا ۶۰ روز رشد رویشی داشتند عملکرد مناسبی تولید نکردند در مقابل ارقامی که در اواخر اردیبهشت کشت شده و رشد رویشی مناسبی داشتند عملکرد مناسبی نیز داشتند، وی اظهار داشت برای به دست آوردن نتایج رقابتی مناسب محصولات گرمادوستی همچون سویا باید زمانی که خاک به اندازه کافی گرم شده است، کاشت انجام شود، تا جوانه‌زنی تسهیل و تسریع شود.

اثر متقابل تراکم کاشت و مدیریت علف‌های هرز نشان داد که

بیشترین عملکرد دانه در تراکم ۴۰ بوته در متر مربع با میانگین ۱۳۰۵/۸۹۷ کیلوگرم در هکتار در شرایط کنترل علف‌های هرز بدست آمد، که اختلاف معنی‌داری با تراکم ۵۰ بوته نداشت. کمترین عملکرد دانه در تراکم ۳۰ بوته در متر مربع با میانگین ۱۹۱/۷۸۱ کیلوگرم در هکتار در شرایط عدم کنترل علف‌های هرز بدست آمد. و کاهش ۱۴/۶ درصدی نسبت به بیشترین عملکرد داشت (شکل ۲). از تأثیرات مهم افزایش تراکم بوته، کاهش عملکرد بدلیل رقابت شدید جهت جذب منابع محیطی شامل آب، نور و مواد غذایی می‌باشد. افزایش تعداد گیاه در واحد سطح به علت سایه‌اندازی بیشتر موجب کاهش نور قابل استفاده برای هر گیاه خواهد بود و از این رو باعث کاهش عملکرد بوته می‌گردد مگر اینکه افزایش تعداد بوته در واحد سطح تا حد مطلوب کاهش عملکرد تک بوته را جبران و عملکرد در واحد سطح را افزایش می‌دهد (۳۴). اثر متقابل تاریخ و تراکم کاشت نشان داد که بیشترین عملکرد دانه در تاریخ کاشت ۲۲ اردیبهشت و تراکم ۴۰ بوته در متر مربع با میانگین ۱۳۱۰/۹۵۵ کیلوگرم در هکتار بدست آمد (جدول ۳).

نتیجه‌گیری کلی

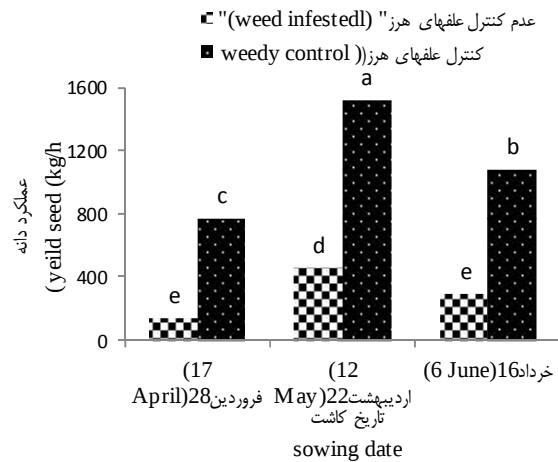
داشتن اطلاعات کافی در مورد رقابت گیاه زراعی، علف هرز برای آب، خاک و دیگر روابط متقابل در ناحیه ریشه، باعث افزایش درک ما از اکولوژی سیستم‌های زراعی شده و کمک شایانی در پیش‌بینی کاهش عملکرد در نتیجه تداخل علف‌های هرز خواهد شد (۱۱). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ماده خشک کل، شاخص سطح برگ، سرعت رشد محصول و آهنگ رشد در شرایط تداخل علف‌های هرز (عدم کنترل) نسبت به کنترل علف‌های هرز کاهش یافت. کاشت زود هنگام و تأخیری باعث کاهش ماده خشک، شاخص سطح برگ و سرعت رشد سویا شد. چنین نتیجه‌گیری می‌شود که درجه حرارت‌های پایین در اوایل دوره رشد در کشت زود هنگام و کاهش طول دوره رشد ناشی از درجه حرارت‌های بالا در کشت تأخیری سبب کاهش ماده خشک، شاخص سطح برگ شد. همچنین تراکم‌های کمینه و بیشینه (تراکم ۳۰ و ۶۰ بوته در متر مربع) بر روی شاخص‌های رشد تأثیرگذار بود. نتیجه‌گیری می‌شود که تاریخ کاشت ۲۲ اردیبهشت و تراکم ۴۰ بوته در متر مربع علاوه بر بهبود شاخص‌های رشد سبب افزایش توان رقابتی سویا در مقابل علف‌های هرز شد. و راهکاری اکولوژیک برای کاهش مصرف سموم شیمیایی و نیز کاهش اثرات ناشی از آلودگی محیط زیست و سلامت انسان‌ها می‌باشد.



شکل ۴- روند تغییرات آهنگ رشد سویا در طی فصل رشد. —●— ۳۰ بوته در متر مربع، —◊— ۴۰ بوته در متر مربع، —▲— ۵۰ بوته در متر مربع، —◆— ۶۰ بوته در متر مربع.

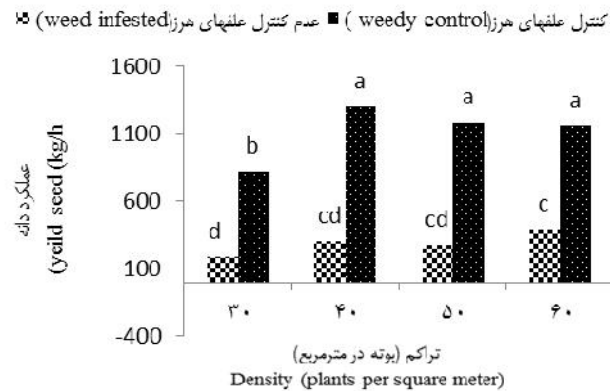
Figure 4- Changes trend of soybean growth rate during the growing season.

—●— 30 plants per square meter, —◊— 40 plants per square meter, —▲— 50 plants per square meter, —◆— 60 plants per square meter



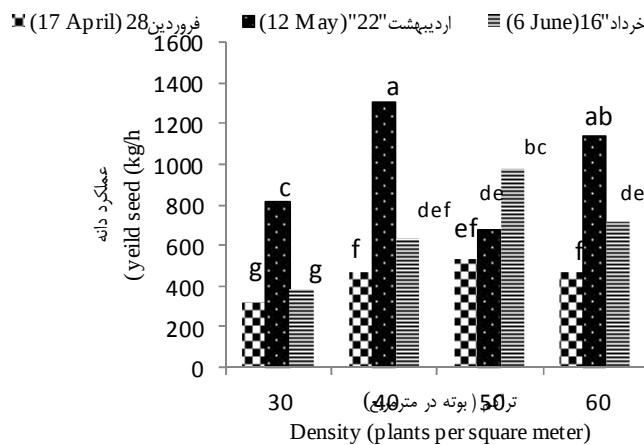
شکل ۱- اثر متقابل تاریخ کاشت و مدیریت علفهای هرز بر عملکرد دانه

Figure 1- interaction of sowing date and weed management on yield seed



شکل ۲- اثر متقابل تراکم کاشت و مدیریت علفهای هرز بر عملکرد دانه

Figure 2- interaction of crop density and weed management on yield seed



شکل ۳- اثر متقابل تاریخ کاشت و تراکم کاشت بر عملکرد دانه

Figure 3- inter action of sowing date and crop density on yield seed

منابع

- 1- Afshari M. 2009. Estimation of multi-species competition and seasonal dynamic of weed population and determination of growth indices, yield and yield component of corn (*Zea mays* L.) under field condition. M.sc thesis, Ferdowsi university of Mashhad. (In Persian with English Summary)
- 2- Amano L.O., and Salazar A.M. 1989. Comparative productivity of corn and sorghum affected by population density and nitrogen fertilization, Philippine University Agriculture, 72:247-254.
- 3- Anderson L.R., and Vasilas B.L. 1985. Effect of planting date on two soybean cultivars: seasonal dry matter accumulation and seed yield. Crop Science, 25:999-1004.
- 4- Azizi F., and Mahrokhi A. 2012. Effects of different planting density in sowing date on growth indices yield and yield components sweet corn varieties KSC403su, Iranian Journal of Field Crops Research, 10:764- 773. (in Persian)
- 5- Behdani M.A., and Jami AL-Ahmadi M. 2008. Evaluation of growth and yield of safflower cultivars in different planting dates, Iranian Journal of Field Crops Research, 6:245-253. (in Persian with English abstract)
- 6- Board J.E. 1985. Yield components associated with soybean yield reduction at nonoptimal planting dates, Journal of Agronomy, 77:135-140.
- 7- Bussan A.J., Burnside O.C., James H., and Puettmann K.J. 1997. Field evaluation of soybean (*Glycine max*) genotypes for weed competitiveness, Weed Science, 45:31-37.
- 8- Chaturvedi V.K. 1992. Quality evaluation of forage sorghum. National Research Center for Sorghum, Ragendranagar, Hyderabad, India.
- 9- Chhokar S.R., and Rajender B.S. 1999. Competition and control of weed in soybean, Weed Science, 47:107-111.
- 10- Cudney D.W., Jordan L.S., Holt J.S., and Peints J.S. 1989. Competitive interactions of wheat (*Triticum aestivum*) and Wild oats (*Avena fatua*) grown at different densities, Weed Science, 37:538-543.
- 11- Dalley C.D., Bernards M.L., and Kells J.J. 2006. Effect of weed removal timing and row spacing on soil moisture in corn (*Zea mays*), Weed Technology, 20:399-409.
- 12- Deihimfard R. 2005. Evaluation of the morphophysiological characteristics effects on yield increase of some *Triticum aestivum* L. cultivars in competition with *Eruca sativa* Mill. M.Sc Thesis, Abooreihan University of Tehran. (In Persian with English Summary)
- 13- Department of Statistics and Information of the Ministry of Agriculture. 2014. agricultural statistics from 2012 to 2013. Publications Department of Planning and Economy, Center for Information and Communication Technology.
- 14- Ebrahimi M. 2010. Effect of sowing date and plant density on yield, yield components soybean and weeds communities. M.sc thesis, University of Zanzan. (In Persian with English Summary)
- 15- Fernandez O.N., Vignolio O.R., and Requesens E.C. 2002. Competition between corn (*Zea mays*) and bermudagrass (*Cynodon dactylon*) in relation to the crop plant arrangement, Journal of Agronomy, 22:293-305.
- 16- Habibzadeh E., Mameghani R., and Kashani A. 2006. Effect of planting density on seed yield and some morphological properties for three mung cultivar (*Vigna radiata* L.) under weather condition of Ahvaz, Iranian Journal of Crop Science, 8:66-78. (in Persian)
- 17- Jozef P., Yenish A., Douglas W., and York A.C. 1996. Cover crop for herbicide replacement in no-tillage (*Zea mays*), Journal of Weed Technology, 10:815 - 821.
- 18- Kaya Y., Evci G., Durak S., Pekcan V., and Gucer T. 2007. Determining the relationships between yield and yield attributes in sunflower, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 31:237-244.
- 19- Khajepoor M.R. 1987. Principles and Fundamental of Agriculture. Publications SID University of Technology, Isfahan.
- 20- Khajepoor M.R. 1998. Industrial plants of Production. Publications SID University of Technology, Isfahan.
- 21- Klingaman T.E., and Oliver L.R. 1994. Influence of cotton (*Gossypium hirsutum*) and soybean (*Glycine max*) planting date and weed interference, Weed Science, 42:61-65.
- 22- Malone S., Holshouser D.L., Herbert D.A., Jones, B.P. 2009. Identifying soybean fields at risk to leaf-feeding insects, Virginia Cooperative Extension. Virginia State University. Publication. 203-444.
- 23- Najafi H. 2007. Non-chemical methods of weeds management. Find knowledge, Mashhad.
- 24- Ozoni Davaji A., Esfahani M., Sami Zadeh H., and Rabiei M. 2008. Effect of planting pattern and plant density on growth indices and radiation use efficiency of apetalous flowers and petalled rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivars, Iranian Journal of Crop Science, 9:382-400. (In Persian)
- 25- Purcell L.C., Rosalind A.B., Reaper D.J., and Vories E.D. 2002. Radiation use efficiency and biomass production in soybean at different plant population densities, Crop Science, 42:172-177.
- 26- Raie Y., Ghasemi Golozani K., Javanshir A., Alyari H., Mohammadi S.A., and Nasrollahzadeh S. 2007. Interference effect of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) on soybean (*Glycine max* L.) growth and grain yield, Iran Journal of Crop Science, 9:125-141. (In Persian).

- 27- Rajcan I., and Swanton C. J. 2001. Understanding maize-weed competition: Resource competition, light quality and whole plant, Field Crop Research, 71:139-150.
- 28- Razmi N. 2010. Effect of Sowing Date and Plant Density on Some Agronomic Characteristics, Grain Yield and Its Components in Soybean Genotypes in Moghan Region, Seed and plant production, 26:403-418. (in Persian)
- 29- Rizzi R., Rudorff F.T., and Shimabukuro Y.E. 2005. Analysis of MODIS leaf area index product over soybean areas in Rio Grande do Sul State, Brazil. Anais XII Simposio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Goiania, Brasil, P. 253-260.
- 30- Safahani Langeroudi A.R., and Kamkar B. 2009. Field screening of canola (*Brassica napus* L.) cultivars against wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) using competition indices and some empirical yield loss models in Golestan Province, Iranian Journal of Crop Protection, 28:577-582. (in Persian)
- 31- Salari M. 2009. Effect of sowing date on competitiveness and dynamics of weed species in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) in field condition. M.sc thesis. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian with English Summary)
- 32- Samaunder S., Malik R.K., Panwar R.S., and Balyan, R.S. 1996. Influence of sowing time on winter wild oat (*Avena ludoviciana*) control in wheat with isoproturon, Weed Science, 43:370-374.
- 33- Sarmadnia G., and koocheki A. 2003. Physiology of Crop plants, Franklin & Brent Pearce. Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad.
- 34- Seiter S., Altemose C.E., and Davis M.H. 2004. Forage soybean yield and quality responses to plant density and row distance, Journal of Agronomy, 96:966-970.
- 35- Singer S.R., and Mc Daniel C.M. 1985. Selection of glyphosate-tolerant calli and the expression of this tolerance in regenerated plants. Plant Physiol . In" Somaclonal Variation and Mutations in Crop Improvement .(Eds. S. M. Jain., D. S. Brar, and B. S. Ahlowalia). Kluwer Academic Press. Pp: 169-202.
- 36- Synonym. 2007. Sunflower, Journal of Iranian publication of vegetable oil extraction industry.
- 37- Teasdal J.R., Frank J.R. 1983. Effect of row spacing on weed competition with snap beans (*Phaseolus vulgaris*), Weed Science, 31:81-87.
- 38- Tollenaar M., Nissanka S.P., Aguilera A., Weise S.F., and Swanton C.J. 1994. Effect of weed interference and soil nitrogen on four maize hybrids, Journal of Agronomy, 89: 596-601.
- 39- Van Acer R.C. 1992. The critical period of weed control in soybean (*Glycine max* (L) Merr) and the influence of weed interference on soybean growth. MSc Thesis, Guelph University.
- 40- Van Acker, R.C., Weise S.F., and Swanton C.J. 1993. Influence of interference From a mixed weed species stand on soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) growth, Plant Science, 73: 1293-1304.
- 41- Warren Wilson J. 1981. Analysis of growth photosyntheses and light interception for single plant and stands, Journal of Annals Botany, 22: 37-54.
- 42- Weiner J., Griepentorg H.W., and Kristensen L. 2001. Suppression of weed by spring wheat (*Triticum aestivum*) increase with crop density and spatial uniformity, Applied Ecology, 38:784-790.



کنترل شیمیایی علف‌های هرز در مزارع زعفران (*Crocus sativus* L.)

مجید عباس پور^{*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۵/۱۷

چکیده

در این آزمایش به منظور بررسی امکان کنترل شیمیایی علف‌های هرز در مزارع زعفران، کارایی علف‌کش‌های متری‌بیوزین (سکور)[®] (۵۶۲/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، مت‌سولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال)[®] (۳۲ گرم ماده مؤثره در هکتار)، سولفوسولفورون (آپروس)[®] (۱۹/۹۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، مزوسولفورون + یدوسولفورون + دی‌فلوفنیکان (اوتلو)[®] (۹۶ گرم ماده مؤثره در هکتار)، تریاسولفورون + دایکامبا (لنتور)[®] (۱۱۵/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بن سولفورون متیل (لونداکس)[®] (۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، اگزادیازون (رونستار)[®] (۲۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، اکسی‌فلوروفن (گل)[®] (۴۸۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، آترازین (گرایم)[®] (۸۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، نیکوسولفورون (کروز)[®] (۶۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بروموکسینیل + ام‌سی‌پی‌آ (برومایسید)[®] (۶۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، تری‌بنورون متیل (گرانستار)[®] (۱۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، توفوردی + ام‌سی‌پی‌آ (یو ۴۶ کمی‌فلوئید)[®] (۱۰۱۲/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، هالوکسی‌فوپ متیل (گالانت سوپر)[®] (۱۰۸ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بنتازون (بازاگران)[®] (۱۴۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، شاهد وجین دستی و شاهد بدون وجین مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی در مشهد در سال زراعی ۱۳۹۳-۹۴ اجرا شد. علف‌های هرز غالب مزرعه خارلته، تلخه و چمن وحشی بودند. نتایج نشان داد تمامی علف‌کش‌های مورد بررسی باعث کاهش معنی‌دار تراکم و وزن خشک علف‌های هرز نسبت به شاهد بدون مبارزه شدند. در این میان، کارایی علف‌کش متری‌بیوزین در کنترل علف‌های هرز بسیار مناسب بود بطوری‌که تراکم و وزن خشک علف‌های هرز در تیمار متری‌بیوزین کاملاً مشابه تیمار شاهد وجین دستی بود. کاربرد علف‌کش متری‌بیوزین در پاییز بلافاصله پس از برداشت گل، و علف‌کش‌های هالوکسی‌فوپ متیل، بنتازون، اکسی‌فلوروفن، اکسادیازون، بن سولفورون متیل، آترازین و تریاسولفورون + دایکامبا در اوایل رویش علف‌های هرز در بهار ضمن کنترل مناسب علف‌های هرز باعث کاهش معنی‌دار تعداد و یا وزن تر گل زعفران نشدند و بنابراین به نظر می‌رسد امکان مصرف آنها در مزارع زعفران وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: انتخاب علف‌کش‌ها، خسارت علف‌کش‌ها، عملکرد گل، کلاله، متری‌بیوزین

مقدمه

خراسان جنوبی ۹۵ درصد تولید زعفران کشور را به خود اختصاص داده‌اند (۴). کروسین، پیکروکروسین و سافرانال سه متابولیتی هستند که به ترتیب مسئول رنگ، طعم و عطر زعفران هستند فرآوری پس از برداشت بر میزان سافرانال تأثیرگذار است و طول جغرافیایی محل کاشت زعفران بر میزان کروسین زعفران تأثیرگذار است (۲۲). در کنار تأمین مواد غذایی مورد نیاز این گیاه، مبارزه با علف‌های هرز نقش مؤثری در افزایش کیفیت و کمیت محصول تولیدی دارد (۳۱). بیشتر تحقیقات انجام شده در خصوص علف‌های هرز زعفران منحصر به داخل کشور است که تعداد این مطالعات نیز اندک است. مطالعات بسیاری در مورد علف‌کش‌ها با نحوه عمل متفاوت برای مبارزه با علف‌های هرز برگ‌پهن و باریک برگ در کشور و در جهان بر روی محصولات زراعی مختلف انجام شده است و کارایی آنها در کنترل علف‌های هرز به اثبات رسیده است (۵، ۶، ۷، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۵) تنها

زعفران (*Crocus sativus* L.) از خانواده زنبق^۲ است که از طریق کورم تکثیر می‌یابد. ایران با تولید ۹۴ درصد زعفران دنیا، بزرگترین تولیدکننده زعفران در جهان محسوب می‌شود. در سال ۱۳۹۳، ۸۸ هزار هکتار از مزارع کشور، زیر کشت زعفران بوده‌اند و سطح زیر کشت این محصول همچنان رو به افزایش است. هم‌اکنون در ۲۱ استان کشور زعفران کشت می‌شود. استان خراسان رضوی و

۱- استادیار بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد

(*)- نویسنده مسئول: Email: majidabbaspor2009@gmail.com

DOI: 10.22067/jpp.v31i3.53430

نکته و مهمترین آن میزان مقاومت زعفران به کاربرد این علف‌کش- هاست که بایستی مورد بررسی قرار گیرد.

بررسی های انجام شده برای تعیین فلور علف‌های هرز زعفران در استان‌های خراسان رضوی و جنوبی نشان داده است که در مجموع ۱۱۳ گونه علف هرز یکساله و ۷۱ گونه علف هرز چند ساله در مزارع زعفران می‌رویند. بیشترین گونه مربوط به خانواده کاسنی و خانواده گراس‌ها بوده است. علف‌های هرز بهاره زعفران شامل: بروموس (*Bromus tectorum* L.)، جو دره (*Hordeum spontaneum* C.Koch)، (*Holosteum umbellatum* (M.B.) Fisch. & C.A.Mey.، ازمک (*Cardaria draba* L.) و علف‌های هرز تابستانه شامل خارشت (*Alhagi camelorum* Boiss. & Bushe) و علف هفت بند (*Polygonum aviculare* L.) بودند (۳، ۲۶ و ۳۱). در بررسی‌های صورت گرفته در مورد مبارزه شیمیایی با علف‌های هرز مزارع زعفران، مشخص شده است که کاربرد علف‌کش‌های پیش رویی تری فلورالین و متری بیوزین برای مبارزه با علف‌های هرز پهن‌برگ مؤثر است (۱، ۳ و ۲۷). حال آنکه در بررسی دیگری بدلیل وارد آمدن خسارت به زعفران در اثر استفاده از تری فلورالین، مصرف این علف‌کش توصیه نشده است و استفاده از علف‌کش‌های پس رویی ترجیح داده شده است (۳). نوروززاده و همکاران (۳) در یک بررسی سه ساله در مناطق زعفران کاری گناباد و مشهد گزارش کردند مصرف متری بیوزین (به میزان ۵۶۲/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار) و هالوکسی فوب متیل (به میزان ۱۰۸ گرم ماده مؤثره در هکتار) بدلیل عدم ایجاد خسارت بر زعفران و نیز کارایی مؤثر در مبارزه با علف‌های هرز از بهترین تیمارها برای کنترل علف‌های هرز زعفران بوده‌اند. در یک بررسی استفاده از گلایفوسیت به تنهایی یا مخلوط با تو فور دی بی نیز در هنگام آماده‌سازی زمین زعفران توصیه شده است (۲۳).

مخلوط ۷۵٪ سولفوسولفورون + ۵٪ مت‌سولفورون متیل این علف‌کش با نام تجاری توتال از خانواده سولفونیل‌اوره‌ها است. جذب این علف‌کش از طریق برگ و ریشه صورت می‌گیرد و از علف‌کش‌های دو منظوره (پهن‌برگ و باریک‌برگ) ثبت شده برای گندم است (۵، ۶ و ۱۸). در یک بررسی در گناباد کارایی نسبی این علف‌کش برای مبارزه با علف‌های هرز در زعفران گزارش شده است (۳). اما در بررسی دیگری در آذربایجان شرقی (با آب و هوای سرد)، کاربرد این علف‌کش باعث خسارت شدید به زعفران شده است (۱۶). سولفوسولفورون با نام تجاری آپیروس، از گروه سولفونیل‌اوره‌ها است و قادر به کنترل بسیاری از علف‌های هرز پهن‌برگ و باریک‌برگ مزارع گندم است (۵، ۶ و ۷). مخلوط مزوسولفورون + یدوسولفورون + دی فلوفنیکان با نام تجاری اوتلو، از علف‌کش‌های دو منظوره گندم است و مشکل کمتری از نظر میزان بقایای علف‌کش در خاک ایجاد می‌کند (۳۴). تریاسولفورون + دایکامبا با نام تجاری لنتور به منظور

کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ در مزارع گندم و جو ثبت شده است (۳۴). اکسی فلوروفن با نام تجاری گل علف‌های هرز برگ پهن و باریک برگ را بصورت انتخابی در پیاز کنترل می‌کند و دارای بقایا در خاک است (۳۱ و ۳۲). این علف‌کش علف‌های هرز دم روباهی کشیده، یولاف وحشی، علف پشمکی، اویار سلام و علف‌های هرز برگ پهن مانند تاج خروس ریشه قرمز، سلمه، پیچک صحرایی، پنیرک، علف هفت‌بند، تاج ریزی سیاه و سیزاب را کنترل می‌کند (۱۰، ۱۹، ۲۰ و ۲۵). در یک بررسی در گناباد کارایی مناسب این علف‌کش در مبارزه با علف‌های هرز بدون ایجاد خسارت در زعفران به اثبات رسیده است (۳). آتازین با نام تجاری گزپریم از گروه تراپازین‌ها است (۳۱ و ۳۲) که به سرعت توسط ریشه جذب و از طریق آپوپلاست انتقال می‌یابد. به صورت انتخابی جهت کنترل بسیاری از کشیده برگ‌ها و پهن‌برگ‌ها (از جمله سلمه، خرفه، تاج خروس ریشه قرمز، پیچک صحرایی، سوروف، قیاق، گاو چاق کن) در مزارع ذرت استفاده می‌شود (۳۳ و ۳۴). نیکوسولفورون با نام تجاری کروز علف‌کش انتخابی و سیستمیک از گروه سولفونیل‌اوره می‌باشد، که به صورت پس رویی جهت کنترل علف‌های هرز باریک‌برگ و پهن‌برگ در مزارع ذرت به کار می‌رود. (۳۳ و ۳۴). بروموکسینیل + ام سی پی آ با نام تجاری برومایسید علف‌کش انتخابی برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ در مزارع گندم است. بازدارنده فتوسنتز دو و اکسین مصنوعی است. (۳۳ و ۳۴). توفوردی + ام سی پی آ با نام تجاری یو ۴۶ کمی فلوئید از گروه علف‌کش‌های هورمونی است که برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ در گندم مصرف می‌شود (۳۱ و ۳۲). در یک بررسی در آذربایجان شرقی استفاده از این علف‌کش باعث کنترل مناسب علف‌های هرز بدون ایجاد خسارت به زعفران شده است (۱۶). اما در بررسی نوروززاده و همکاران (۲۴) بدلیل ایجاد خسارت بر زعفران مصرف آن در زعفران توصیه نشده است. تری بنورون متیل با نام تجاری گرانستار علف‌کش انتخابی از گروه سولفونیل‌اوره‌هاست. برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ در مزارع گندم مصرف می‌شود (۳۳ و ۳۴). در یک بررسی در گناباد کارایی نسبی این علف‌کش برای مبارزه با علف‌های هرز در زعفران گزارش شده است (۳). اما مصرف آن در مناطق آب و هوایی دیگر (بویره سردسیر) نیازمند بررسی بیشتری است. متری بیوزین با نام تجاری سنکور بازدارنده فتوسنتز دو در گیاه است که به منظور کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ و باریک‌برگ در سیب زمینی به ثبت رسیده است. کاربرد آن به صورت پیش رویی و پس از سبز شدن گیاه زراعی بهترین نتیجه را حاصل می‌کند (۱۴، ۳۳ و ۳۴). کارایی مناسب این علف‌کش برای مبارزه با علف‌های هرز در زعفران به مقدار ۵۶۲/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار بلافاصله پس از برداشت گل زعفران در پاییز در مطالعات به اثبات رسیده است (۳، ۲۵ و ۲۸). هالوکسی فوب متیل از گروه باریک‌برگ‌کش‌هاست که همانند سایر علف‌کش‌های

متیل (گرانستار®) به میزان ۱۵ گرم ماده مؤثره در هکتار، توفوردی + ام سی پی آ (یو ۴۶ کمبی فلوئید®) به میزان ۱۰۱۲/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار، هالوکسی فوپ متیل (گالانت سوپر®) به میزان ۱۰۸ گرم ماده مؤثره در هکتار، بنتازون (بازاگران®) به میزان ۱۴۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار، شاهد وجین دستی و شاهد بدون وجین بودند. به منظور انجام آزمایش در پاییز سال ۱۳۹۳ در مزرعه زعفران مستقر با عمر چهار سال که دارای سابقه آلودگی کافی به علف‌های هرز غالب باشد انتخاب شد. ابعاد هر کرت 3×8 متر در نظر گرفته شد. در طول دوره رشد کلیه علف‌های هرز موجود در کرت شاهد و علف‌های هرز باریک‌برگ در تیمارهای فقط پهن‌برگ کش با وجین دستی حذف شدند. سمپاشی علف‌کش متری‌بیوزین در تاریخ ۹۳/۱۰/۱۰ (بالافاصله پس از برداشت گل زعفران و پیش از رویش علف‌های هرز) و بقیه علف‌کش‌ها در تاریخ ۹۴/۰۱/۰۹ (در اوایل رشد علف‌های هرز) انجام شد. سمپاشی با استفاده از سمپاش ماتابی پشتی مجهز به نازل شراهی و با فشار ۲ تا ۲/۵ بار انجام گرفت. سمپاش نیز بر اساس مصرف ۳۳۰ لیتر آب در هکتار کالیبره شد. به منظور بررسی تأثیر تیمارهای کاربردی روی کاهش وزن خشک اندام هوایی و تراکم علف‌های هرز چهار هفته پس از سمپاشی، یک کوادرات 0.5×0.5 متر در هر کرت (جایی که نمایانگر علف‌های هرز آن کرت باشد) پرتاب شد. در این کوادرات‌ها علف‌های هرز باریک و پهن‌برگ بطور جداگانه از سطح خاک قطع شده و پس از شمارش به تفکیک گونه در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد بمدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت خشک و سپس توزین شدند. لازم به توضیح است در تیمارهایی که فقط پهن‌برگ کش‌ها در آنها مصرف شده بود این تیمارها به طور جداگانه آنالیز و برای مقایسه آنها با علف‌کش‌های دو منظوره (باریک‌برگ و پهن‌برگ کش) نیز فقط اطلاعات مربوط به علف‌های هرز پهن‌برگ در این تیمارها در مقایسه منظور شد. در تیمارهایی که فقط باریک‌برگ کش‌ها در آنها مصرف شده بود این تیمارها به طور جداگانه آنالیز و برای مقایسه آنها با علف‌کش‌های دو منظوره نیز فقط اطلاعات مربوط به علف‌های هرز باریک‌برگ در این تیمارها در مقایسه منظور شدند. پس از انجام دو آبیاری در اوایل و اواخر آبان ماه ۹۳، به فاصله دو هفته گل‌های زعفران در اواسط آذرماه ظاهر شدند. برداشت زعفران تا زمان اتمام گلدهی، در اوایل صبح طی چندین چین به فواصل دو روز یک بار پس از حذف حاشیه کرت‌ها از هر کرت انجام شد. تعداد گل و وزن گل زعفران در هر کرت اندازه‌گیری شد. کلاله پنجاه گل از هر کرت جدا شد و در آون در دمای 80°C قرار داده شد و سپس وزن خشک آنها با ترازو با دقت 0.001 گرم اندازه‌گیری شد. در مواقع لزوم (تراکم و وزن خشک علف‌های هرز تلخه و خارلته، وزن تر و تعداد گل زعفران) از تبدیل لگاریتمی داده‌ها استفاده شد. آنالیز واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها با نرم افزار SAS (9.2) با آزمون چند دامنه ای

این گروه (فوپ‌ها) (۲۱) کارایی آن در کنترل علف‌های هرز باریک‌برگ مزارع زعفران، بدون ایجاد خسارت به زعفران، به اثبات رسیده است (۲، ۲۴ و ۲۸). بنتازون با نام تجاری بازاگران، از گروه بنزوتیودیازینون و بازدارنده فتوسنتز در فتوسیستم دو است. و برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ در یونجه ثبت شده است (۳۳ و ۳۴). در یک بررسی تأثیر مناسب بنتازون بر کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ زعفران در آذربایجان شرقی گزارش شده است (۱۶).

استفاده از علف‌کش‌هایی با نحوه عمل متفاوت ضمن آنکه باعث کنترل بهتر علف‌های هرز می‌شود خطرپذیری ایجاد علف‌های هرز مقاوم را نیز کاهش می‌دهد. از آنجا که بیشتر علف‌کش‌ها ثبت شده در کشور برای محصولات زراعی دیگری توصیه شده‌اند استفاده از آنها در زعفران بایستی مورد مطالعه قرار گیرد.

هدف از انجام این آزمایش بررسی کارایی علف‌کش‌های متری‌بیوزین (سنکور®)، مت‌سولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال®)، سولفوسولفورون (آپروس®)، مزوسولفورون + یدوسولفورون + دی‌فلوفنیکان (اوتلو®)، تریاسولفورون + دایکامبا (لنتور®)، بن سولفورون متیل (لونداکس®)، اگزیازون (رونستار®)، اکسی‌فلوروفن (گل®)، آترازین (گراپریم®)، نیکوسولفورون (کروز®)، بروموکسینیل + ام سی پی آ (برومایسید®)، تری بنورون متیل (گرانستار®)، توفوردی + ام سی پی آ (یو ۴۶ کمبی فلوئید®)، هالوکسی فوپ متیل (گالانت سوپر®)، بنتازون (بازاگران®) در کنترل علف‌های هرز زعفران بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی در مشهد در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۱۷ تیمار و ۳ تکرار در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ به شرح زیر اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل علف‌کش‌های متری‌بیوزین (سنکور®) به میزان ۵۶۲/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار، مت‌سولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال®) به میزان ۳۲ گرم ماده مؤثره در هکتار، سولفوسولفورون (آپروس®) به میزان ۱۹/۹۵ گرم ماده مؤثره در هکتار، مزوسولفورون + یدوسولفورون + دی‌فلوفنیکان (اوتلو®) به میزان ۹۶ گرم ماده مؤثره در هکتار، تریاسولفورون + دایکامبا (لنتور®) به میزان ۱۱۵/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار، بن سولفورون متیل (لونداکس®) به میزان ۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار، اگزیازون (رونستار®) به میزان ۲۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار، اکسی‌فلوروفن (گل®) به میزان ۴۸۰ گرم ماده مؤثره در هکتار، آترازین (گراپریم®) به میزان ۸۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار، نیکوسولفورون (کروز®) به میزان ۶۰ گرم ماده مؤثره در هکتار، بروموکسینیل + ام سی پی آ (برومایسید®) به میزان ۶۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار، تری بنورون

دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

علف های هرز غالب مزرعه خارلته (*Cirsium arvense*)، تلخه (*Acroptilon repens*) و چمن وحشی (معمولی) (*Poa trivialis*) بودند.

اثر علف کش ها بر کاهش تراکم و وزن خشک علف های هرز خارلته، تلخه و چمن وحشی معنی دار بود (جدول ۱). تأثیر علف کش ها بر کاهش تراکم و وزن خشک علف هرز خارلته در شکل ۱ نشان داده شده است. تأثیر علف کش متری بیوزین در کاهش تراکم و وزن خشک خارلته در بین سایر علف کش ها شدیدتر بود به طوری که در این تیمار تراکم و وزن خشک خارلته صفر بود (شکل ۱). علف کش های مورد بررسی باعث کاهش معنی دار تراکم و وزن خشک علف هرز تلخه شدند (شکل ۲). تأثیر علف کش متری بیوزین در کاهش تراکم و وزن خشک تلخه در بین علف کش ها شدیدتر بود به طوری که در این تیمار تراکم و وزن خشک خارلته صفر بود (شکل ۲). تراکم و وزن خشک چمن وحشی بطور معنی داری در اثر مصرف علف کش ها کاهش یافت (شکل ۳). تأثیر علف کش متری بیوزین در کاهش تراکم و وزن خشک چمن وحشی نیز در بین علف کش ها شدیدتر بود به طوری که در این تیمار تراکم و وزن خشک چمن وحشی صفر بود. تأثیر علف کش اگزادیازون بر کاهش تراکم چمن وحشی بطور معنی داری کمتر از تأثیر علف کش های متری بیوزین، اکسی فلورفن، آترازین، بن سولفورون متیل و مزوسولفورون+یدوسولفورون بود. تأثیر اگزادیازون بر کاهش وزن خشک چمن وحشی نیز بطور معنی داری کمتر از تأثیر

علف کش های متری بیوزین، اکسی فلورفن، آترازین، بن سولفورون متیل، مت سولفورون متیل + سولفوسولفورون، مزوسولفورون + یدوسولفورون + دی فلوپنیکان، هالوکسی فوپ متیل، نیکوسولفورون و سولفوسولفورون بود (شکل ۳). نوروزاده و همکاران (۲۴) نیز در تحقیقات خود در مشهد و گناباد گزارش کردند که متری بیوزین و اکسی فلورفن بخوبی توانست تراکم و وزن خشک علف های هرز برگ پهن و باریک برگ از جمله تلخه، درشتوک و جو موشی را کاهش دهد بدون آنکه به زعفران خسارت بزند. آنها همچنین در بررسی دیگری (۲) گزارش کردند که باریک برگ کش های هالوکسی فوپ متیل، ستوکسیدیم و کوپیزالوفوپ تفوریل بخوبی توانستند علف های هرز باریک برگ مزارع زعفران را کنترل کنند. در یک بررسی در مزارع زعفران شهرستان زاوه مشخص شد که علف کش متری بیوزین بیشترین تأثیر را در کنترل علف های هرز داشت ضمن آنکه کمترین خسارت روی وزن بنه زعفران بر جای گذاشت (۲۸).

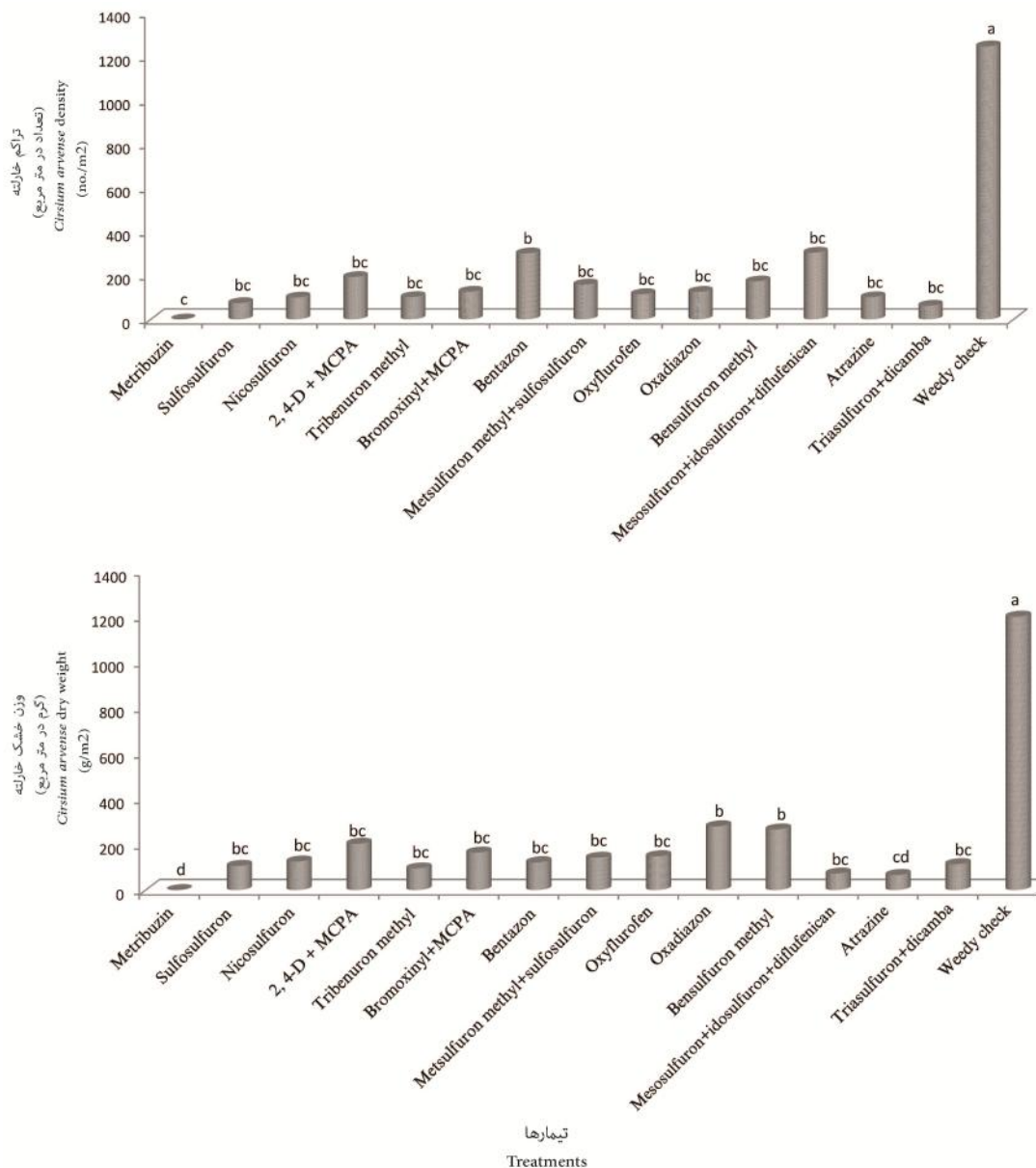
اثر علف کش ها بر وزن تر گل (گرم در متر مربع) و تعداد گل زعفران (تعداد در متر مربع) معنی دار بود (جدول ۲). وزن خشک ۵۰ کلاله زعفران تحت تأثیر تیمار علف کش ها قرار نرفت (جدول ۲). مقایسه میانگین وزن خشک ۵۰ کلاله زعفران (صرف نظر از مساحتی که این ۵۰ کلاله (گل) از آنها جمع آوری شده است) هیچ اختلاف معنی داری را بین تیمارهای مختلف نشان نداد (داده ها نشان داده نشده است) که مشخص شد هیچ یک از علف کش های مورد بررسی باعث بروز تغییر وزن کلاله زعفران و بروز تغییرات بدشکلی و کم وزنی یا بیش وزنی در کلاله زعفران نشدند.

جدول ۱- تجزیه واریانس تراکم و وزن خشک اندام هوایی علف های هرز خارلته، تلخه و چمن وحشی چهار هفته پس از سمپاشی
Table 1- Analysis of variance of density and dry weight of *Cirsium arvense*, *Acroptilon repense* and *Poa trivialis* four weeks after spraying

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)					
		وزن خشک چمن وحشی <i>P. trivialis</i> dry weight	تراکم چمن وحشی <i>P. trivialis</i> density	وزن خشک تلخه <i>A. repense</i> dry weight	تراکم تلخه <i>A. repense</i> density	وزن خشک خارلته <i>C. arvense</i> dry weight	تراکم خارلته <i>C. arvense</i> density
تکرار Replication	2	38430.143 ***	2760.56061 ***	0.01291405 ^{ns}	0.03151882 ^{ns}	0.62541130 **	0.15117103 ^{ns}
تیمار Treatment	14	103447.854 ***	2045.15290 ***	0.02026044 **	0.01886327 *	0.57613061 **	0.1793449 **
خطا Error	28	4977.186	150.279	0.00578007	0.01375524	0.13532927	0.06176583
ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation (%)		23.97	25	3.71	5.72	18.07	10.56

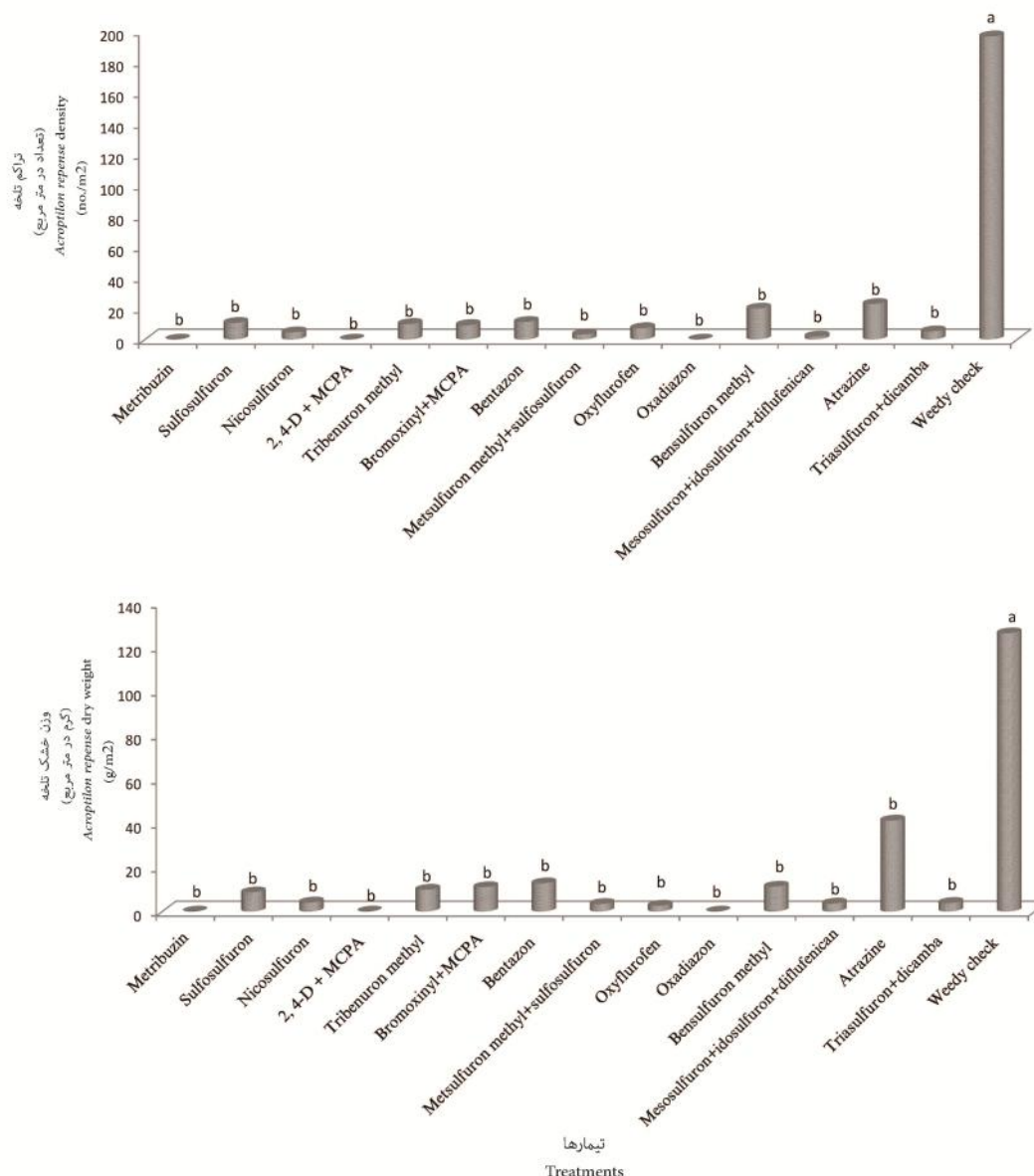
***، **، * و ^{ns} به ترتیب اختلافات معنی دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪، ۰/۱٪ و غیر معنی دار هستند

***, **, * and ^{ns} are standing for significant difference at 5%, 1%, 0.1% levels and no significant differences, respectively



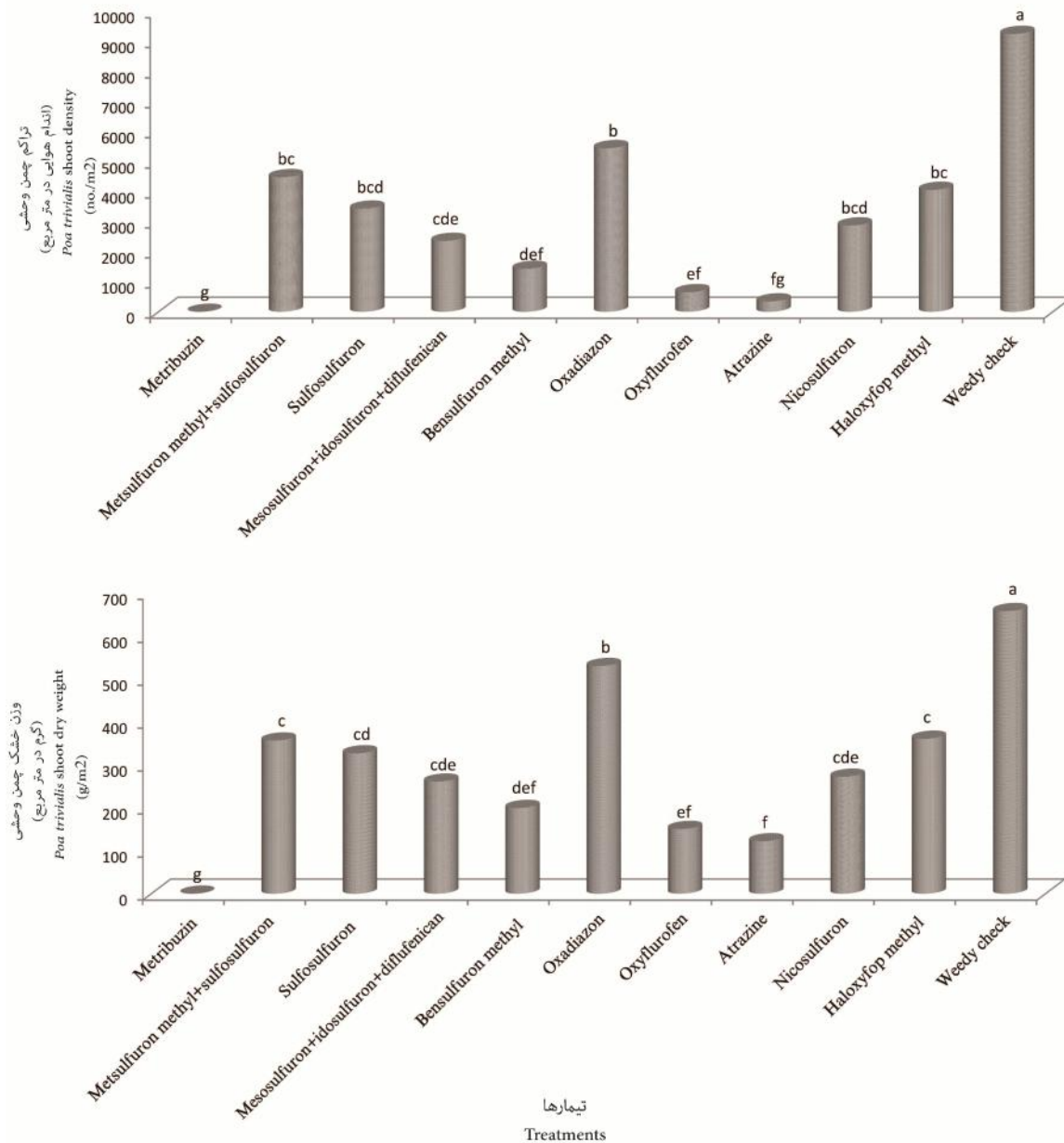
شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف علف کش بر تراکم (شکل بالا) و وزن خشک (شکل پایین) اندام هوایی علف هرز خارلته. متری‌بیوزین (۵۶۲/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، سولفوسولفورون (۱۹/۹۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، نیکوسولفورون (۶۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، توفوردی + ام سی پی آ (۱۰۱۲/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، تری بنورون متیل (۱۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بروموکسینیل + ام سی پی آ (۶۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بنتازون (۱۴۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، مت‌سولفورون متیل + سولفوسولفورون (۳۳ گرم ماده مؤثره در هکتار)، اکسی فلوروفن (۴۸۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، اگزادیازون (۲۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بن سولفورون متیل (۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، مزوسولفورون + یدوسولفورون + دی فلوفیکان (۹۶ گرم ماده مؤثره در هکتار)، آترازین (۸۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، تریاسولفورون + دایکامبا (۱۱۵/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)

Figure 1- Effect of herbicide treatments on density (up) and dry weight (down) of *C. arvense*. Metribuzin (562.5 g active ingredient (a i ha⁻¹), metsulfuron-methyl + sulfosulfuron (32 g a i ha⁻¹), sulfosulfuron (19.95 g a i ha⁻¹), oxadiazon (240 g a i ha⁻¹), oxyfluorfen (480 g a i ha⁻¹), mesosulfuron + idosulfuron + diflufenican (96 g a i ha⁻¹), triasulfuron + dicamba (115.5 g a i ha⁻¹), atrazine (800 g a i ha⁻¹), bensulfuron methyl (30 g a i ha⁻¹), bromoxynil + MCPA (600 g a i ha⁻¹), 2, 4-D + MCPA (1012.5 g a i ha⁻¹), nicosulfuron (60 g a i ha⁻¹), bentazon (1440 g a i ha⁻¹), tribenuron methyl (15 g a i ha⁻¹)



شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف علف کش بر تراکم (شکل بالا) و وزن خشک (شکل پایین) اندام هوایی علف هرز تلخه. متری بیوزین (۵۶۲/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، سولفوسولفورون (۱۹/۹۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، نیکوسولفورون (۶۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، توفوردی + ام سی پی آ (۱۰۱۲/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، تری بنورون متیل (۱۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بروموکسینیل + ام سی پی آ (۶۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بنتازون (۱۴۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، متسولفورون متیل + سولفوسولفورون (۳۳ گرم ماده مؤثره در هکتار)، اکسی فلوروفن (۴۸۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، اگزادیازون (۲۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بن سولفورون متیل (۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، مزوسولفورون + یدوسولفورون + دی فلوفنیکان (۹۶ گرم ماده مؤثره در هکتار)، آترازین (۸۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، تریاسولفورون + دایکامبا (۱۱۵/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)

Figure 2- Effect of herbicide treatments on density (up) and dry weight (down) of *A. repense*. Metribuzin (562.5 g active ingredient (a.i.) ha⁻¹), metsulfuron-methyl + sulfosulfuron (32 g a.i. ha⁻¹), sulfosulfuron (19.95 g a.i. ha⁻¹), oxadiazon (240 g a.i. ha⁻¹), oxyfluorfen (480 g a.i. ha⁻¹), mesosulfuron + idosulfuron + diflufenican (96 g a.i. ha⁻¹), triasulfuron + dicamba (115.5 g a.i. ha⁻¹), atrazine (800 g a.i. ha⁻¹), bensulfuron methyl (30 g a.i. ha⁻¹), bromoxynil + MCPA (600 g a.i. ha⁻¹), 2, 4-D + MCPA (1012.5 g a.i. ha⁻¹), nicosulfuron (60 g a.i. ha⁻¹), bentazon (1440 g a.i. ha⁻¹), tribenuron methyl (15 g a.i. ha⁻¹).



شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف علف کش بر تراکم (شکل بالا) و وزن خشک (شکل پایین) اندام هوایی علف هرز چمن وحشی. متریبوزین (۵/۶۲۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، سولفوسولفورون (۱۹/۹۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، نیکوسولفورون (۶۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، مت‌سولفورون متیل + سولفوسولفورون (۳۲ گرم ماده مؤثره در هکتار)، اکسی فلوروفن (۴۸۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، اگزادایزون (۲۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بن سولفورون متیل (۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، مزوسولفورون + یدوسولفورون + دی‌فلوفنیکان (۹۶ گرم ماده مؤثره در هکتار)، آترازین (۸۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، هالوکسی فوپ متیل (۱۰۸ گرم ماده مؤثره در هکتار)

Figure 3- Effect of herbicide treatments on density (up) and dry weight (down) of *P. trivialis*. Metribuzin (562.5 g active ingredient (a i) ha⁻¹), metsulfuron-methyl + sulfosulfuron (32 g a i ha⁻¹), sulfosulfuron (19.95 g a i ha⁻¹), oxadiazon (240 g a i ha⁻¹), oxyfluorfen (480 g a i ha⁻¹), mesosulfuron + idosulfuron + diflufenican (96 g a i ha⁻¹), atrazine (800 g a i ha⁻¹), bensulfuron methyl (30 g a i ha⁻¹), nicosulfuron (60 g a i ha⁻¹), haloxyfop methyl (108 g a i ha⁻¹)

جدول ۲- تجزیه واریانس وزن تر گل، تعداد گل و وزن خشک ۵۰ کلاله زعفران تحت تأثیر تیمارهای آزمایش

Table 2- Analysis of variance of saffron flower fresh weight, flower number and 50-stigma dry weight in different herbicide treatments

میانگین مربعات (MS)				
منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی Df	وزن خشک ۵۰ کلاله زعفران 50-stigma dry weight	تعداد گل زعفران Flower number	وزن تر گل زعفران Flower fresh weight
تکرار Replication	2	0.00601624 ***	67.4990515 ***	26.55895512 ***
تیمار Treatment	16	0.00080477 ns	8.9367691 ***	3.37527681 ***
خطا Error	32	0.00087546	1.9204853	0.8344613
ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation (%)		11.17	22.85	18.71

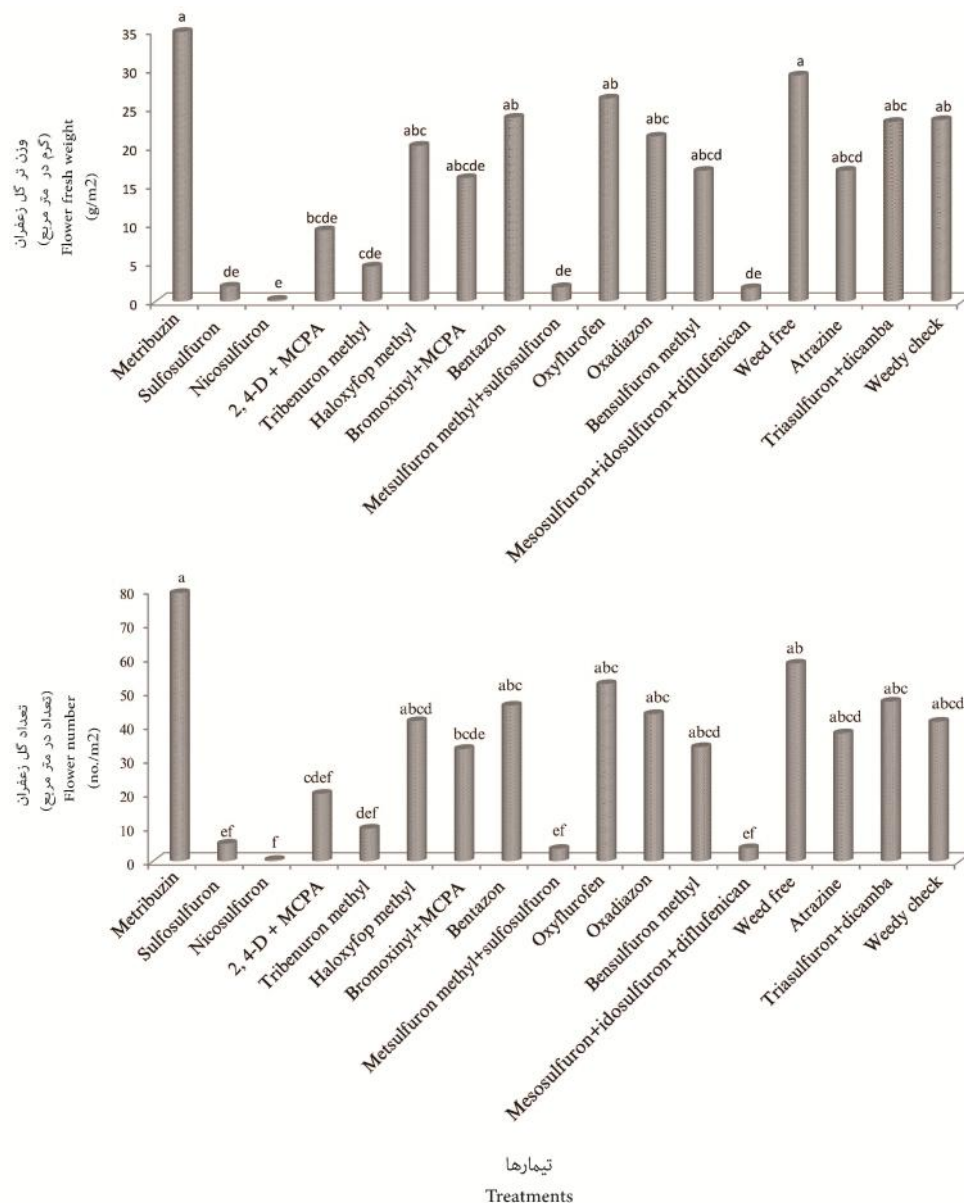
*** و ns به ترتیب اختلافات معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۰/۱٪ و غیر معنی دار هستند

*** and ns are standing for significant differences at 0.1% level and no significant differences, respectively

زعفران نشدند (شکل ۴). در چندین بررسی، کاربرد متری بیوزین، اکسی فلوروفن و ایوکسینیل در پاییز پس از برداشت گل و کاربرد باریک برگ کش های هالوکسی فوپ اتوکسی اتیل، هالوکسی فوپ متیل و کوپیزالوفوپ تفوریل در بهار در اوایل رشد علف های هرز، برای کنترل مؤثر علف های هرز توصیه شده است (۲، ۳، ۲۴ و ۲۸). عباسی (۱) نیز کاربرد پیش ریشی اتال فلورالین و کاربرد پس ریشی دو باریک برگ کش هالوکسی فوپ اتوکسی اتیل و فلوزیفوپ بوتیل را بعنوان بهترین تیمارها برای کنترل علف های هرز در زعفران توصیه کرده است. که نتایج این محققان با نتایج این بررسی در مورد امکان کاربرد متری بیوزین، هالوکسی فوپ متیل و اکسی فلوروفن در کنترل علف های هرز در زعفران مطابقت دارد.

در جمع بندی نتایج نشان داد می توان از علف کش های دو منظوره متری بیوزین در پاییز بلافاصله پس از برداشت گل، و اکسی فلوروفن، اکسادیازون، بن سولفورون متیل و آترازین و پهن برگ کش های بنتازون و تریاسولفورون+دایکمبا و باریک برگ کش هالوکسی فوپ متیل در بهار در اوایل رشد علف های هرز به منظور کنترل علف های هرز در زعفران استفاده کرد زیرا ضمن کنترل مناسب علف های هرز هیچ خسارتی به زعفران وارد نمی شود.

در بررسی نوروززاده و همکاران (۲۴) نیز وزن خشک ۵۰ کلاله زعفران در تیمارهای مختلف علف کش اختلاف معنی داری را با شاهد وجین دستی نشان نداد. علف کش های سولفوسولفورون، نیکوسولفورون، توفوردی + ام سی پی آ، تری بنورون متیل، مت سولفورون متیل + سولفوسولفورون، مزوسولفورون + یدوسولفورون + دی فلوفنیکان باعث کاهش معنی دار وزن تر گل زعفران نسبت به شاهد وجین دستی شدند (شکل ۴). علف کش های سولفوسولفورون، نیکوسولفورون، توفوردی + ام سی پی آ، بروموکسینیل + ام سی پی آ، تری بنورون متیل، مت سولفورون متیل + سولفوسولفورون، مزوسولفورون + یدوسولفورون + دی فلوفنیکان باعث کاهش معنی دار تعداد گل زعفران نسبت به شاهد وجین دستی شدند (شکل ۴). در بررسی گل پرور و همکاران (۱۶) نیز که در مزرعه زعفران در تبریز انجام شد، خسارت معنی دار به زعفران در اثر مصرف مت سولفورون متیل + سولفوسولفورون و تری بنورون متیل گزارش شد. در بررسی نوروززاده و همکاران (۲۴) نیز کاربرد علف کش توفوردی + ام سی پی آ بدلیل ایجاد خسارت بر روی زعفران توصیه نشده است. کاربرد علف کش های متری بیوزین، هالوکسی فوپ متیل، بنتازون، اکسی فلوروفن، اکسادیازون، بن سولفورون متیل، آترازین و تریاسولفورون+دایکمبا باعث کاهش معنی دار وزن تر گل و تعداد گل



شکل ۴- اثر تیمارهای مختلف علف کش بر وزن تر گل (شکل بالا) و تعداد گل (شکل پایین) زعفران. متری‌بیوزین (۵۶۲/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، سولفوسولفورون (۱۹/۹۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، نیکوسولفورون (۶۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، توفوردی + ام سی پی (۱۰۱۲/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، تری بنورون متیل (۱۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بروموکسینیل + ام سی پی (۶۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بنتازون (۱۴۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، مت‌سولفورون متیل + سولفوسولفورون (۳۲ گرم ماده مؤثره در هکتار)، اکسی فلوروفن (۴۸۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، اگزادیازون (۲۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بن سولفورون متیل (۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، مزوسولفورون + یدوسولفورون + دی‌فلوفنیکان (۹۶ گرم ماده مؤثره در هکتار)، آترازین (۸۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، تریاسولفورون + دایکامبا (۱۱۵/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، هالوکسی فوب متیل (۱۰۸ گرم ماده مؤثره در هکتار)

Figure 4- Effect of herbicide treatments on flower fresh weight (up) and flower number (down) of Saffron. Metribuzin (562.5 g active ingredient (a i ha⁻¹), metsulfuron-methyl + sulfosulfuron (32 g a i ha⁻¹), sulfosulfuron (19.95 g a i ha⁻¹), oxadiazon (240 g a i ha⁻¹), oxyfluorfen (480 g a i ha⁻¹), mesosulfuron + idosulfuron + diflufenican (96 g a i ha⁻¹), triasulfuron + dicamba (115.5 g a i ha⁻¹), atrazine (800 g a i ha⁻¹), bensulfuron methyl (30 g a i ha⁻¹), bromoxynil + MCPA (600 g a i ha⁻¹), 2, 4-D + MCPA (1012.5 g a i ha⁻¹), nicosulfuron (60 g a i ha⁻¹), haloxifop methyl (108 g a i ha⁻¹), bentazon (1440 g a i ha⁻¹), tribenuron methyl (15 g a i ha⁻¹)

منابع

- 1- Abbasi M.E. 1996. The effect of different herbicides on saffron (*Crocus sativus* L.) weeds. M.Sc. Thesis in Agronomy, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. 95 pages. (In Persian with English abstract)
- 2- Abbaspoor M., and Norozzadeh S. 2012. Efficacy of quizalofop-tephoryl on grass weeds grown in saffron fields. p. 734-736. Proceedings of the 4th Iranian Weed Science Congress, 6-8 Feb. 2012. Ahvaz, Iran. (In Persian with English abstract)
- 3- Abbaspoor M., Norozzadeh S., and Torabi H. 2011. Efficacy of some new herbicides on weeds grown in saffron fields. p. 2644-2646. Proceedings of the 7th Iranian Horticultural Science Congress, 5-8 Sep. 2011. Isfahan, Iran. (In Persian with English abstract)
- 4- Anonymous. 2016. Iran accounts for 94% of world saffron production. Available at <http://theiranproject.com/blog/2015/05/11/iran-accounts-for-94-of-world-saffron-production/> (visited 30 January 2016).
- 5- Baghestani M.A., Zand E., Soufizadeh S., Eskandari A., Pourazar R., Vaysi M., and Nassirzadeh N. 2007. Efficacy evaluation of some dual purpose herbicides to control weeds in maize (*Zea mays* L.). Crop Protection, 26:936-942.
- 6- Baghestani M.A., Zand E., Soufizadeh S., Jamali M., and Maighani F. 2007. Evaluation of sulfosulfuron for broadleaved and grass weed control in wheat (*Triticum aestivum* L.) in Iran. Crop Protection, 26:1385-1389.
- 7- Baghestani M.A., Zand E., Soufizadeh S., Beheshtian M., Haghighi V., Barjasteh A., Ghanbarani Birgani D., and Deihimfard R. 2008. Study on the efficacy of weed control in wheat (*Triticum aestivum* L.) with tank mixtures of grass herbicides with broadleaved herbicides. Crop Protection, 27:104-111.
- 8- Barros, J.F.C., Basch G., Freixial R., and de Carvalho M. 2009. Effect of reduced doses of mesosulfuron plus iodosulfuron to control weeds in no-till wheat under Mediterranean conditions. Spanish Journal of Agricultural Research, 7:905-912.
- 9- Brink A., and Zollkau A. 2004. Optimisation of grass weed control with ATLANTIS (R) WG in winter cereals. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection, 637-646.
- 10- Cella L. 2002. Autumn weed control leads to a finer spring. Available at [Http://www.interactiveturf.com/tips/2002_04.htm](http://www.interactiveturf.com/tips/2002_04.htm) (visited 25 January 2016).
- 11- Dang J., Mang D., Pei X., and Wang V. 2007. Effects of herbicides on photosynthesis characteristics, yield and quality of winter wheat. Xibei Zhiwu Xuebao, 27:1438-1445.
- 12- Dang J., Zhang D., Pei X., and Wang J. 2008. Effect of herbicides on quality and activity of protect enzymes in flag leaves of high quality wheat. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 14:18-23.
- 13- Desmet E., Bulcke R., and Maeghe L. 2004. Field experiences with recent als-inhibitors on herbicide resistant blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 69:83-89.
- 14- Dhammu H.S., and Nickolson D.F. 2006. Metribuzin tolerance of EGA eagle rock wheat. 15th Australian Weeds Conference, 355-358.
- 15- Gehring, K., Thyssen S., and Festner T. 2006. Control of brome grasses (*Bromus L. spp.*) in winter cereals. Journal of Plant Diseases and Protection, 659-665.
- 16- Golparvar P., Mirshekari B., and Borhani P. 2012. Application of herbicides with limited dose can play a major role in suitable weeds control in saffron fields. World Applied Sciences Journal, 20:1266-1269.
- 17- Hull R., Marshall R., Tatnell L., and Moss S.R. 2008. Herbicide-resistance to mesosulfuron + iodosulfuron in *Alopecurus myosuroides* (black-grass). Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 73:903-912.
- 18- Ismail B.S., and Kalithasan K. 1997. Mobility of metsulfuron-methyl in tropical soils. Australian Journal of Soil Research, 35:1291-1300.
- 19- Jain H.C., and Tiwari J.P. 1992. Influence of herbicides on the growth and yield of soybean (*Glycine max*) under different spacing and seeding rates. Indian Journal of Agronomy, 37:86-89.
- 20- Kaps M.L., and Odneal M.B. 1994. Split and tank-mix preemergence application of herbicide for controlling weeds in grapes. Horticultural Science, 29:619-620.
- 21- Kim, J.S., Oh J.L., Kim T.J., Pyon J.Y., and Cho K.Y. 2005. Physiological basis of differential phytotoxic activity between fenoxaprop-P-ethyl and halofof-butyl-treated barnyardgrass. Weed Biology and Management, 5:39-45.
- 22- Lage M., and Cantrell C.L. 2009. Quantification of saffron (*Crocus sativus* L.) metabolites crocins, picrocrocin and safranal for quality determination of the spice grown under different environmental Moroccan conditions. Scientia Horticulturae, 121: 366-373.
- 23- McGimpsey J.A., Douglas M.H., and Wallace A.R. 1997. Evaluation of saffron (*Crocus sativas* L.) production in New Zealand. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 25:159-168.

- 24- Norouzzadeh S., Abbaspoor M., and Delghandi M. 2007. Chemical weed control in saffan fields of Iran. *Acta Horticulture*, 739:119-122.
- 25- Nepalia V., and Jain G.L. 2000. Effect of weed control and sulphur on yield of Indian mustard (*Brassica juncea*) and their residual effect on summer greengram (*Phaseolus radiatus*). *Indian Journal of Agronomy*, 45:483-488.
- 26- Rashed Mohassel M.H. 1992. Weed flora of saffron fields in South Khorasan. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 6:118-135.
- 27- Rola H., Sumislawska J., and Marczewski K. 2009. The effect of sulfonylurea herbicides on grain yield and technological quality of winter rye cultivars. *Journal of Plant Protection Research*, 49:179-184.
- 28- Sadrabadi-Haghighi R., and Ghanad-Toosi M.B. 2016. Effect of some pre-emergence herbicides on weed community and growth characteristics of flower and corm of saffron (*Crocus sativus*). *Plant protection*, 30 (in Press). Available at <http://jpp.um.ac.ir/index.php/jpp/article/view/40210>. (visited 27 January 2016) (In Persian with English abstract)
- 29- Sosnoskie L.M., Culpepper A.S., York A.C., Beam J.B., and Macrae A.W. 2009. Sequential applications for mesosulfuron and nitrogen needed in wheat. *Weed Technology*, 23:404-407.
- 30- Soufizadeh S., Sheibany K., Zand E., Baghestani M.A., Kashani F.B., and Nezamabadi N. 2007. Integrated Weed Management in Saffron (*Crocus sativus*). *Acta Horticulture*, 739: 133-137.
- 31- Tomilin C.D. 2003. The pesticide manual. BCPC (British crop protection council) .1399 p.
- 32- Vencill W. 2002. *Herbicide Handbook*. Weed Science Society of America. 8th edition. 491p.
- 33- Zand E., Baghestani M.A., Bitarafan M., and Shimi P. 2007. A Guideline for Herbicides in Iran. Jahad Daneshgahi Mashhad Press, Mashhad. (In Persian).
- 34- Zand E., Baghestani M.A., Shimi P., Nezamabadi N., Mousavi M.R. and Mousavi S.K. 2012. Chemical Weed Control Guideline for Major Crops of Iran. Jahad Daneshgahi Mashhad Press, Mashhad. (In Persian).



تغییرات سالیانه جمعیتی لاروهای پروانه جوانه‌خوار بلوط (*Tortrix viridana* L.) روی دو گونه بلوط دارمازو (*Quercus infectoria* Oliv.) و ویول (*Q. libani* Lindl.) در استان آذربایجان غربی

محمد رضا زرگران^{1*} - محمد جمشیدی² - سید رستم موسوی میرکلا³

تاریخ دریافت: 1395/03/17

تاریخ پذیرش: 1396/02/11

چکیده

یکی از عوامل اصلی تخریب جنگل‌های بلوط، جوانه‌خوار بلوط *Tortrix viridana* L. است و خسارت زیادی را به این جنگل‌ها وارد می‌سازد. هدف اصلی از انجام این تحقیق، بررسی تغییرات جمعیتی این آفت طی دو سال مختلف و عوامل تأثیرگذار بر آن به منظور تعیین راهکارهای مناسب کنترل آفت بود. این تحقیق طی سال‌های 93 و 94 در منطقه قبرحسین با مساحتی در حدود 250 هکتار انجام شد و در چهار جهت جغرافیایی اصلی (شمال، شرق، جنوب و غربی)، ترانسکت‌هایی با فواصل 100 متری پیاده شد. در مجموع، در هر جهت تعداد 30 درخت دارمازو *Quercus infectoria* و تعداد 30 درخت ویول *Q. libani* که از لحاظ شکل ظاهری مشابه بودند (جهت کاهش خطای نمونه‌برداری) در هر چهار جهت جغرافیایی اصلی مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. در هر درخت نیز چهار شاخه انتخاب (هر جهت یک شاخه به طول 50 سانتی‌متر) و در هر شاخه از نوک شاخه به سمت داخل، لاروهای آفت شمارش گردید. در هر دو سال، تعداد لاروهای جوانه‌خوار بلوط روی دارمازو بیشتر از ویول بود. تعداد لاروهای جوانه‌خوار بلوط در هر دو گونه بلوط دارمازو و ویول در سال 94 نسبت به سال قبل افزایش چشم‌گیری داشته است که ممکن است با افزایش دما مرتبط باشد. بررسی فراوانی جمعیت لاروهای جوانه‌خوار بلوط در جهت‌های جغرافیایی نشان داد برای هر دو گونه دارمازو و ویول در سال 93 بیشترین و کمترین تعداد لارو به ترتیب در جهت جغرافیایی شرقی و غربی و در سال 94 نیز بیشترین و کمترین میزان فراوانی لاروها به ترتیب در جهت جغرافیایی جنوبی و شمالی بود.

واژه‌های کلیدی: آفت، انبوهی، جنگل، خسارت

مقدمه

آفات مهم بلوط در بعضی از استان‌های حوزه‌ی زاگرس بوده و همچنین از جمله آفات مهم جنگل‌های بلوط در برخی از کشورهای اروپایی، شمال غرب آفریقا و همچنین ایران و عراق می‌باشد. این آفت در ایران، در جنگل‌های بلوط زاگرس خصوصاً در استان‌های کهگیلویه و بویر احمد، لرستان، چهارمحال و بختیاری، فارس و آذربایجان غربی پراکنده است (34). در مطالعه‌ای در جنوب اسلوواکی از سال‌های 2001 تا 2005 در دو منطقه مختلف انواع پولک‌بالان جمع‌آوری و از خانواده Tortricidae تعداد 17 گونه شناسایی شد. گونه *T. viridana* از بین دیگر گونه‌ها با بیشترین تعداد در سایت‌ها شناسایی شده و در همه سال‌ها حضور فعال داشته است (30). جوانه‌خوار بلوط یک حشره چندخوار بوده و از تعداد محدودی گیاه خصوصاً جنس بلوط تغذیه می‌کند. میزبان‌های اصلی این آفت در ایران دارمازو *Q. infectoria* و بلوط ایرانی *Q. brantii* میزبان‌های آن هستند. در آذربایجان غربی این آفت قسمت‌هایی از جنگل‌های پیرانشهر و سردشت را از سال 1377 تا کنون تحت تأثیر قرار داده و با طغیان

آفات و بیماری‌ها، گل‌زنی شدید، قطع بی‌رویه درختان بلوط برای تأمین سوخت، چرای بی‌رویه دام و شرایط اکولوژیکی جنگل‌های زاگرس از جمله مهم‌ترین عوامل تخریب هستند که باعث شده‌اند سیمای کنونی این جنگل‌ها در بیشتر مناطق شاخه‌زاد شود (4). آفات و بیماری‌های گیاهی موجب کاهش رویش، زادآوری و تجدید حیات درختان جنگلی شده و در نتیجه باعث پایین آمدن تولید چوب جنگل‌ها می‌شوند (11). طغیان آفات و بیماری‌های گیاهی در اثر تغییر در تعادل طبیعی اکوسیستم در مناطق جنگلی به وقوع می‌پیوندد (8 و 21). آفات مختلفی درختان بلوط را مورد حمله قرار داده و در اکثر مواقع خسارت جدی به آن وارد می‌کنند. جوانه‌خوار بلوط یکی از

1 و 2 - به ترتیب استادیار، دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه

(*) - نویسنده مسئول : (Email: M.zargaran@urmia.ac.ir)

خارجی نشان داد تاکنون هیچ تحقیق مشابهی در خصوص تغییرات سالیانه جمعیتی پروانه جوانه‌خوار بلوط روی گونه‌های مختلف بلوط (به‌عنوان اهداف اصلی این تحقیق) و تأثیر جهت‌های مختلف جغرافیایی و عوامل اقلیمی بر جمعیت این آفت به‌منظور تعیین روند تغییرات جمعیتی و کاربرد اطلاعات حاصل در تمرکز کنترل آفت در یک جهت جغرافیایی مناسب، انجام نشده است.

مواد و روش‌ها

منطقه‌ی مورد مطالعه

منطقه قبرحسین (شکل 1) با مساحتی حدود 250 هکتار با توجه به اینکه یکی از مهم‌ترین کانون‌های آلودگی به آفت جوانه‌خوار بلوط است (35) به‌عنوان منطقه‌ی اجرای عملیات صحرایی انتخاب شد. محل جمع‌آوری نمونه‌ها، توده‌های جنگلی حاشیه‌ی روستای قبرحسین در پیرانشهر بوده که در $36^{\circ} 29' 07''$ عرض شمالی و در $45^{\circ} 18' 17''$ طول شرقی قرار دارد. حداکثر ارتفاع منطقه 3800 و حداقل آن نیز 1000 متر از سطح دریا است (9). میزان بارندگی سالانه قریب به 1000 میلی‌متر، نوع اقلیم بر حسب ضریب آمبرژه: نیمه مرطوب سرد می‌باشد (18).

هرساله، خسارت‌های زیادی را به شادابی و بقای درختان بلوط وارد می‌سازد (6).

حذف مکرر برگ‌های درختان بلوط به‌خصوص توسط گیاه‌خوارانی نظیر *T. viridana* در فصل بهار مقدار فتوسنتز و ترکیبات ناشی از آن کاهش می‌یابد که این امر منجر به کاهش رشد قطری درخت می‌شود (10). ایواشف و همکاران (17) نشان دادند *T. viridana* یک آفت مهم درخت بلوط است که چرخه زندگی یک‌ساله دارد. دوره پرواز پروانه بالغ در اواخر بهار و اوایل تابستان رخ می‌دهد. تخم‌ها بصورت جفت در پوست شاخه گذاشته شده و لارو سن اول از جوانه‌های درختان بلوط تغذیه می‌کند و لارو سن آخر نیز از شاخ و برگ درختان تغذیه می‌کند. تصور می‌شود برگ‌های جدید بلوط، برای حشرات مغذی‌تر باشند. تومسکو و همکاران (32) نشان داده‌اند که در جنگل‌های بلوط رومانی که سالانه با حشرات برگ‌خوار مختلف آلوده می‌شوند، گونه *T. viridana* به‌همراه چند گونه آفات دیگر، از خطرناک‌ترین گونه‌های گیاه‌خوار بلوط در 50 سال گذشته معرفی شده‌اند. *T. viridana* و دیگر گونه‌های آفت از پراکنش وسیعی برخوردار بوده و گاهی اوقات تا 30 الی 50 درصد توده‌های جنگلی بلوط را آلوده می‌کنند. استمرار در خسارت این آفت روی درختان بلوط باعث خشکیدگی و پیری زودرس درختان بلوط شده و بر اثر شدت ضعف، آماده‌ی پذیرش انواع آفات می‌شوند (5 و 6). بررسی منابع داخلی و



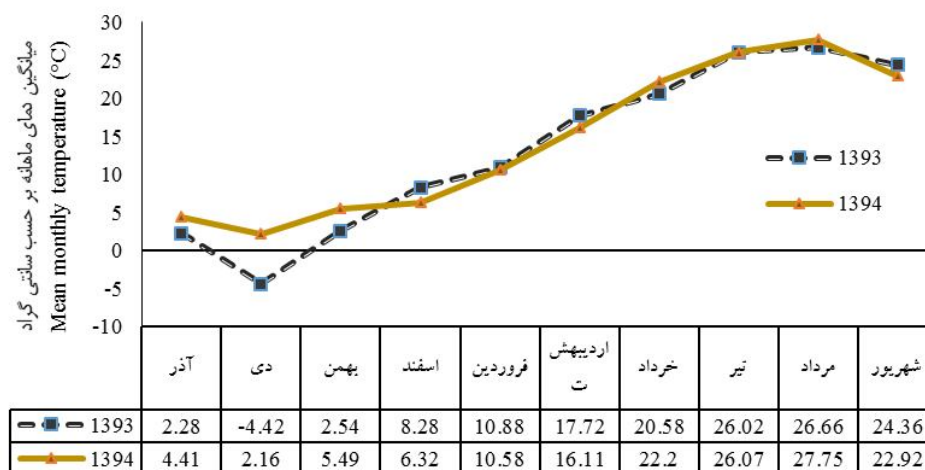
شکل 1- منطقه‌ی مورد مطالعه

Figure 1- Area of the study

بارش ماهانه سال 93 و 94 مقایسه شده است. با توجه به شکل 4 که نشان دهنده مقایسه جهت وزش باد در دو سال 93 و 94 می‌باشد، در سال 93 جهت وزش باد غالب در منطقه مورد مطالعه از جنوب‌غرب جغرافیایی و در سال 94 جهت وزش باد غالب منطقه از شمال‌شرق جغرافیایی است.

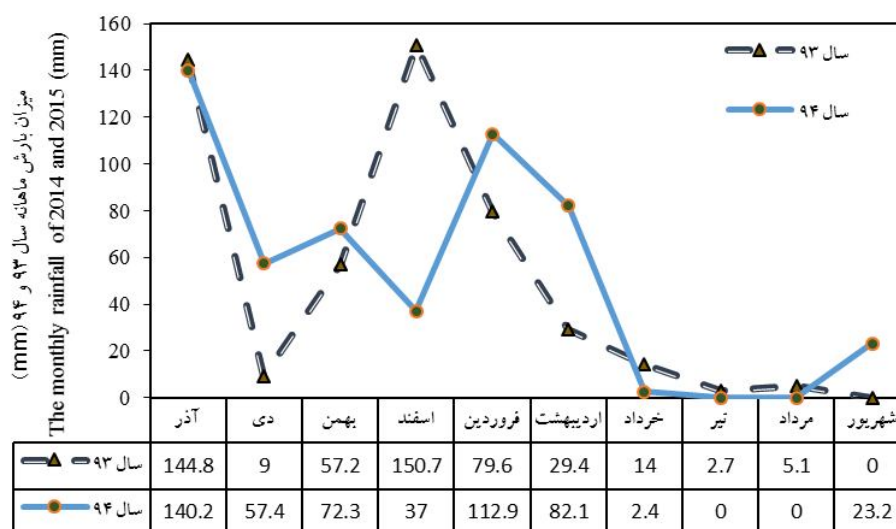
در شکل 2 نیز بر اساس اطلاعات موجود میانگین دمای ماهانه سال 93 و 94 مقایسه شده است که به‌دلیل در نظر گرفتن زمستان گذرانی آفات جوانه‌خوار بلوط این مقایسه از آذرماه سال گذشته همان سال برآورد شده است.

براساس اطلاعات به‌دست آمده از اداره کل هواشناسی آذربایجان غربی و سازمان هواشناسی کشور میانگین بارش منطقه در ده سال گذشته روند افزایشی داشته است. در شکل 3 نیز میانگین



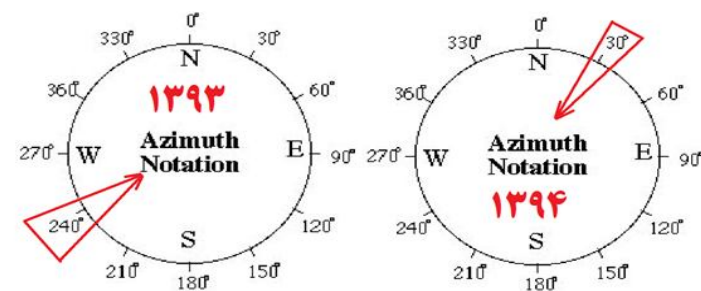
شکل 2- میانگین دمای ماهانه در سال 93 و 94 (درجه سانتی گراد)

Figure 2- The Mean monthly temperature in 2014 and 2015 (°C)



شکل 3- مقایسه میزان بارش سال 93 و 94 (mm)

Figure 3- Compare the amount of rainfall in 2014 and 2015



شکل 4- جهت وزش باد غالب در منطقه مورد مطالعه در سال 93 و 94

Figure 4- The prevailing wind direction in the study area in 2014 and 2015

روش جمع‌آوری اطلاعات

این تحقیق در دو سال متوالی (93 و 94) در منطقه قبرحسین انجام شد. نمونه‌برداری از لاروهای سن آخر جوانه‌خوار بلوط در اواسط اردیبهشت انجام گرفت. با عنایت به این که قطعه نمونه در روش‌های نمونه‌برداری می‌تواند فاقد سطح بوده و بصورت نقطه یا خط (ترانسکت) باشد، که در برخی جنگل‌ها مخصوصاً جنگل‌های خارج از شمال روش ترانسکت موارد استفاده بیشتری داشته است. در این تحقیق در منطقه مورد نظر چهار جهت جغرافیایی انتخاب شد و در هر جهت جغرافیایی ترانسکت‌هایی با فواصل 100 متر پیاده گردید. درختان دارمازو و وی‌ول که به نحوی (تاج یا تنه) در راستای ترانسکت (آزیموت مشخص) بودند و از لحاظ شکل ظاهری نیز مشابه و تقریباً یکدست بودند، جهت کاهش خطای نمونه‌برداری مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. در هر درخت مورد بررسی، در چهار جهت اصلی تاج درخت یک شاخه مناسب انتخاب و در هر شاخه از نوک شاخه به سمت داخل درخت، به طول 50 سانتی‌متر شروع به شمارش لاروهای جوانه‌خوار بلوط شد و در فرم‌های مخصوص که قبلاً طراحی شده، ثبت شدند. باتوجه به بررسی‌های انجام شده درخصوص بیولوژی آفت، زمان شمارش لاروهای آفت اواسط اردیبهشت بود به‌طوری که تمامی لاروهای آفت در مرحله سن آخر (سن پنجم) بودند. در مجموع در هر جهت جغرافیایی 30 درخت دارمازو *Quercus infectoria* و تعداد 30 درخت وی‌ول *Q. libani* و از هر درخت نیز 4 شاخه در چهار جهت تاج درخت مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. برای پیاده کردن خط نمونه‌ها از روش پیمایش با طناب‌های 25 متری، شیب سنج سونتو و قطب نما استفاده شدند. داده‌های بدست آمده در یک فایل Excel وارد شده و محاسبات لازم برای استخراج داده‌ها مورد مقایسه انجام گردید. روش آماری مورد استفاده برای بررسی تأثیر جهت‌های مختلف جغرافیایی و نوع گونه بلوط روی فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط با استفاده از نرم افزار SPSS 18 و از طرح فاکتوریل 2x4 اسپلیت پلات در زمان استفاده شد. جهت مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون توکی HSD استفاده شد.

نتایج و بحث

بررسی بیولوژی و دوره زندگی جوانه‌خوار بلوط

جوانه‌خوار بلوط حشره‌ای یک نسلی و دارای 5 سن لاروی می باشد. زمستان‌گذرانی آن به‌صورت تخم می‌باشد که تمام مدت تابستان، پاییز و زمستان را بصورت تخم سپری می‌کند. تخم‌گذاری در خرداد و روی شاخه‌های جوان و در محل افتادن برگ‌ها یا بغل جوانه ها صورت می‌گیرد. تخم‌ها از مرداد تا اسفند در حالت دیپوز به سر می‌برند. در اوایل فروردین لاروهای سن یک از تخم خارج می‌شوند.

پوشش گیاهی منطقه

بیشترین سطح جنگل‌های منطقه‌ی مورد بررسی را گونه‌های مختلف بلوط دارمازو (*Q. infectoria*)، وی‌ول (*Q. libani*) و بلوط ایرانی (*Q. brantii*) تشکیل می‌دهند. از گونه‌های بلوط ذکر شده، بلوط دارمازو و وی‌ول فراوانی زیادی دارند و در بیشتر توده‌های مورد بررسی، تیپ توده‌ی جنگلی را تشکیل می‌دهند و گونه‌ی بلوط ایرانی در منطقه، به مراتب کمتر دیده می‌شود (28 و 31).

بلوط دارمازو (*Quercus infectoria* Olivier.)

بلوط دارمازو از خانواده Fagaceae است. معمولاً در مناطق نیمه مرطوب، جنگل‌های نیمه خشک و در مناطقی با بارش متوسط سالانه از 400-1100 میلی‌متر و ارتفاع 900 تا 2000 متر یافت می‌شود (19 و 25). برگ‌ها چرمی، صاف و بدون کرک، تخم‌مرغی شکل و کشیده، با قاعده‌ای گرد و یا گوه‌ای شکل، با حاشیه‌ای اغلب دندانه‌دار با 4-8 دندانه و موج‌دار هستند. دارمازو گونه‌ای است نورپسند که در جهت‌های مختلف جغرافیایی مشاهده می‌شود اما با توجه به شرایط رویشی مناسب مانند رطوبت بالا و نور مناسب در دامنه‌های شمالی این گونه پراکنش بالایی را در این جهت داشته است (22).

بلوط وی‌ول (*Quercus libani* Lindl.)

بلوط وی‌ول درختی با ارتفاع 7-8 متر با شاخه‌های متراکم و نازک، ارتفاع آن تا 10 متر با تاج گسترده تخم‌مرغی شکل است. دارای پوست خاکستری و دارای تنه‌ای شیاردار است (17). این گونه نسبت به سایر گونه‌های جنس بلوط از نیازهای اکولوژیک بالاتری برخوردار است (18 و 28).

پروانه‌ی جوانه‌خوار بلوط (*Tortrix viridana* L.)

این آفت دارای یک نسل و 5 سن لاروی است. خسارت آن هم زمان با خروج لاروها از اواخر اسفند ماه شروع شده و لاروهای سن آخر نیز در اواسط اردیبهشت ماه با لوله کردن انتهای برگ‌ها، در همان محل وارد مرحله شفیرگی می‌شوند. لاروهای سن آخر (سن پنجم) به رنگ خاکستری کم‌رنگ متمایل به سبز می‌باشند. در مواقع طغیانی لاروهای سن چهارم و پنجم برای انتقال از شاخه‌ای به شاخه‌ی دیگر و یا از درختی به درخت دیگر با تنیدن تارهای ابریشمی، خود را از درخت آویزان کرده و در نتیجه به محلی که برگ برای تغذیه وجود داشته باشد انتقال می‌یابند. این حشره تمام مدت تابستان، پاییز و زمستان را به‌صورت تخم سپری می‌کند (14).

این لاروها با تغذیه و سوراخ کردن جوانه‌ها وارد آن‌ها شده و از داخل جوانه‌ها تغذیه می‌کنند. لاروهای درشت آفت می‌توانند از جوانه‌های بلوط خارج شده و شروع به تغذیه از جوانه‌های دیگر همان پایه درختی بلوط کنند. لاروها پس از تغذیه از داخل جوانه‌ها، وارد سن دوم لاروی می‌شود. لاروهای سن سوم و چهارم از کل برگ‌ها و جوانه‌های درختان بلوط تغذیه نموده و بعد از تبدیل به لارو سن پنجم و تغذیه، برگ‌ها را لوله نموده و در همان محل تغذیه، وارد مرحله شفیرگی می‌شوند. حشره کامل شب پره‌ای است که عرض آن با بال‌های باز 18-23 میلی‌متر است. بال‌های جلویی سبز روشن و در حاشیه خارجی نوار زرد رنگی مشاهده می‌شود و بال‌های عقبی خاکستری مایل به تیره می‌باشد. مهمترین مرحله خسارت‌زای زندگی این آفت لاروهای سنین آخر (سن چهار و پنج) می‌باشند.

بررسی میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط در سال

1393

بر اساس داده‌های بدست آمده از میزان فراوانی لاروهای جوانه خوار بلوط معلوم شد اختلاف معنی‌داری بین میزان فراوانی لارو جوانه‌خوار بلوط بین دو گونه *Q. libani* و *Q. infectoria* وجود دارد به‌طوری‌که میزان فراوانی لاروها روی گونه *Q. infectoria* (5447 لارو) بیشتر از گونه *Q. libani* (5042 لارو) بود. همچنین با توجه به تجزیه واریانس انجام شده (جدول 1) نتایج نشان داد اختلاف معنی داری بین میانگین میزان فراوانی لارو جوانه‌خوار بلوط در جهات مختلف جغرافیایی وجود دارد ($\alpha = 0/05$). همانطور که در شکل 5 مشاهده می‌شود با استفاده از آزمون توکی HSD گروه‌بندی میانگین فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط روی هردو گونه بلوط مورد بررسی، نشان داد که بیشترین میزان فراوانی لارو جوانه‌خوار بلوط در جهت جغرافیایی شرقی و کم‌ترین میزان فراوانی لارو در جهت جغرافیایی غربی به‌ثبت رسیده است (شکل 5).

جدول 1- تجزیه واریانس مشخصات کمی تاثیرگذار در میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط در سال 93 ($\alpha = 0/05$)

Table 1- Analysis of variance of effective quantitative characteristics on the frequency of oak leaf roller larvae in the study area in year the 2014

سال Year	منبع تغییرات Source of variance	مجموع مربعات Sum of squares	df	میانگین مربعات Mean Squared	F	Sig.
2014	جهت جغرافیایی Aspect	6.049	3	2.016	3.556	0.015*
	گونه Species	4.176	1	4.176	7.363	0.007**
	جهت جغرافیایی * گونه Aspect * Species	1.372	3	0.457	0.806	0.492
	خطا Error	131.568	232	0.567		
	جهت درختی Cardinal Directions	0.172	3	0.057	1.151	0.929
	جهت درختی * جهت جغرافیایی Cardinal Directions * Aspect	5.337	9	0.593	1.560	0.123
	جهت درختی * گونه Cardinal Direction * Species	1.632	3	0.544	1.431	0.232
	جهت درختی * جهت جغرافیایی * گونه Cardinal Directions * Aspect * Species	5.069	9	0.563	1.482	0.150
	خطا Error	264.529	696	0.380		

* Significant: $\alpha = 0.05$

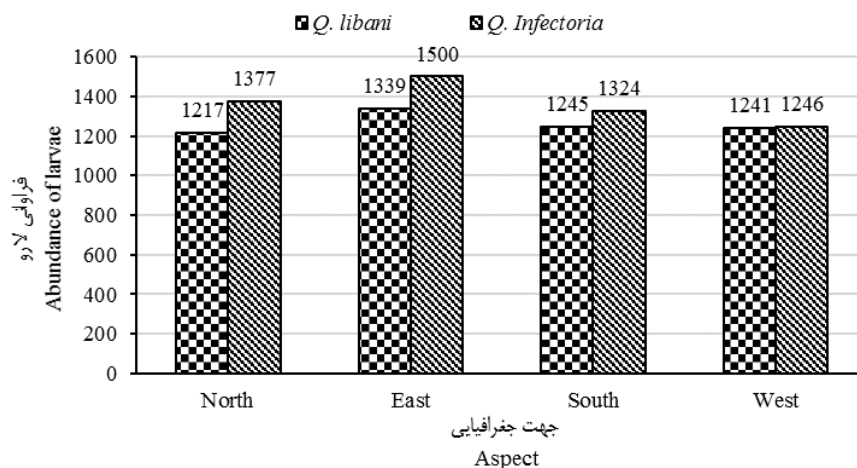
* معنی‌دار در سطح اطمینان 95 درصد

جوانه خوار بلوط در جهت جغرافیایی شرقی و کم‌ترین میزان فراوانی لارو نیز در جهت جغرافیایی غربی به‌ثبت رسید. همچنین برای گونه *Q. libani* نیز بیشترین میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط در جهت جغرافیایی شرقی و کم‌ترین این میزان نیز در جهت جغرافیایی شمالی می‌باشد.

فراوانی لارو در جهات مختلف جغرافیایی

مطابق شکل 5 تأثیر جهات جغرافیایی روی میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط در دو گونه دارمازو و وی‌ول به شرح زیر است:

برای گونه *Q. infectoria* بیشترین میزان فراوانی لاروهای

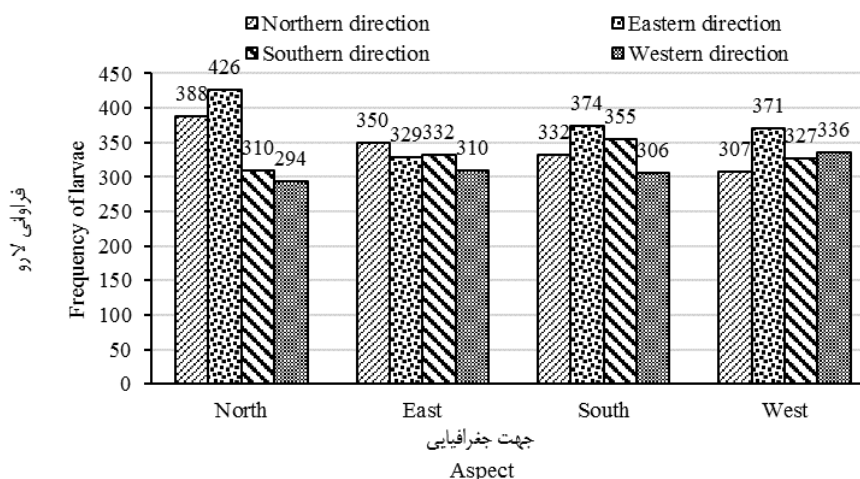


شکل 5- تأثیر جهت جغرافیایی بر میزان فراوانی لاروهای جوانه خوار بلوط به تفکیک گونه در سال 93
Figure 5- The effect of aspect on frequency of oak leaf roller larvae in species in the year 2014

که در شکل مشاهده می شود این پراکنش از الگو و قاعده خاصی پیروی نمی کند ولی بطور میانگین بیشترین تجمع پراکنش لاروی در جهت شرقی تاج درخت و کمترین تجمع پراکنش لاروی بطور میانگین در جهت غربی تاج می باشد.

فراوانی لاروهای جوانه خوار بلوط در جهات مختلف درختان میزبان (گونه دارمازو)

در شکل 6 تأثیر جهات درختی روی میزان فراوانی لاروهای جوانه خوار بلوط بر روی گونه دارمازو نشان داده شده است. همان طور

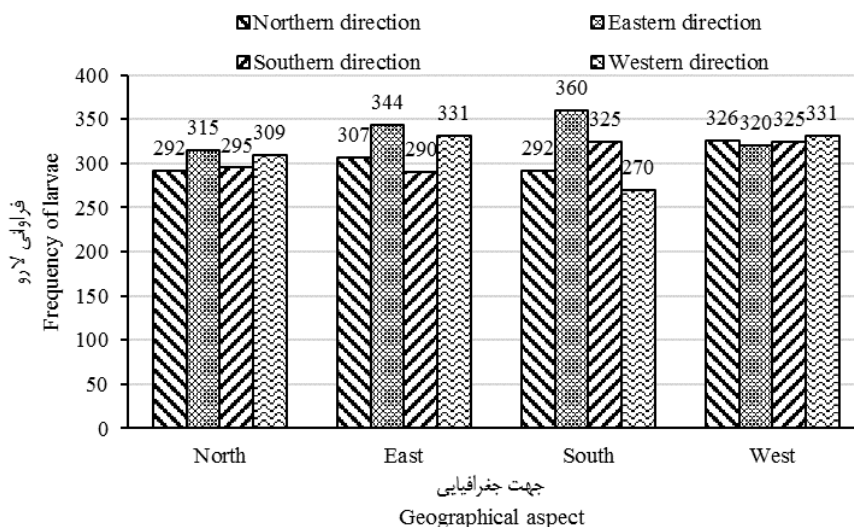


شکل 6- تأثیر جهت درختی بر میزان فراوانی لاروهای جوانه خوار بلوط برای گونه دارمازو در سال 93
Figure 6- The effect of cardinal direction on frequency of oak leaf roller larvae in *Quercus infectoria* in the year 2014

طور که از شکل پیداست این پراکنش از الگو و قاعده خاصی پیروی نمی کند ولی به طور میانگین بیشترین انبوهی لاروی در جهت شرقی تاج و کمترین تجمع پراکنش لاروی بطور میانگین در جهت شمالی تاج درخت می باشد.

فراوانی لاروهای جوانه خوار بلوط در جهات مختلف درختان میزبان (گونه ویول)

در شکل 7 تأثیر جهات درختی بر روی میزان فراوانی لاروهای جوانه خوار بلوط بر روی گونه ویول نشان داده شده است و همان



شکل 7- تأثیر جهت درختی بر میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط برای گونه وی‌ول در سال 93
Figure 7- The effect of cardinal direction on frequency of oak leaf roller larvae in *Quercus libani* in the year 2014

لاروی به ترتیب در جهت جغرافیایی غربی و شمالی به ثبت رسید. همچنین مشخص گردید که در تمام جهات جغرافیایی پراکنش لاروهای جوانه‌خوار بلوط روی گونه دارمازو بیشتر از گونه وی‌ول می باشد (شکل 10).

فراوانی لارو در جهت‌های مختلف درختی برای گونه دارمازو: بیشترین میزان فراوانی لاروهای آفت در جهات جنوبی و غربی تاج درخت و کمترین میزان فراوانی لاروی نیز در جهات شمالی و شرقی تاج درختان مشاهده شد.

فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط در جهات مختلف درختان میزبان (گونه وی‌ول): تأثیر جهت درختی بر روی میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط در گونه وی‌ول نشان داد که بیشترین پراکنش و میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط در جهت جنوبی تاج درختی و کمترین میزان فراوانی لاروی نیز در جهت شمالی تاج درخت می باشد.

بحث

طبق نتایج به دست آمده از تغییرات جمعیتی جوانه‌خوار بلوط در این تحقیق در منطقه مورد مطالعه، در هردو سال متوالی 93 (5447) عدد لارو روی دارمازو < 5042 عدد لارو روی وی‌ول و 94 (7550) عدد لارو روی دارمازو < 6429 عدد لارو روی وی‌ول) تعداد لارو روی درختان دارمازو بیشتر از درختان وی‌ول ثبت گردیده است. به نظر می رسد بلوط دارمازو از ارجحیت غذایی بیشتری برای جوانه‌خوار بلوط نسبت به وی‌ول برخوردار می باشد. بر اساس مطالعه‌ای توسط

بررسی میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط در سال 1394

براساس داده‌های توصیفی به دست آمده روی مشخصات کمی تأثیرگذار بر میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط معلوم گردید که اختلاف معنی‌داری بین میزان فراوانی لارو برای هر دو گونه *Q. libani* و *Q. infectoria* وجود دارد. میزان فراوانی لاروها روی گونه *Q. infectoria* بیشتر از گونه *Q. libani* بود. همچنین با توجه به تجزیه واریانس انجام شده (جدول 2) اثر متقابل جهات جغرافیایی و گونه‌های بلوط موجود، روی میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط معنی دار بود. همان‌طور که در شکل 8 مشاهده می شود با استفاده از آزمون توکی HSD بیشترین میزان فراوانی لارو در جهت جغرافیایی جنوبی و کمترین میزان در جهت شمالی می باشد که برای هر دو گونه دارمازو و وی‌ول یکسان بود. اثر متقابل جهات درختی و جهات جغرافیایی نیز بر روی میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط از اختلاف معنی دار برخوردار بوده و بیشترین میزان فراوانی لارو جوانه خوار بلوط برای تمام جهات تاج درختی در جهت جنوب جغرافیایی و کمترین میزان فراوانی لارو برای تمام جهات تاج درختی نیز در جهت شمال جغرافیایی به ثبت رسید (شکل 9).

فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط در جهات مختلف جغرافیایی

برای هر دو گونه دارمازو و وی‌ول بیشترین میزان فراوانی لارو جوانه‌خوار بلوط در جهت جغرافیایی شرقی و کمترین میزان فراوانی

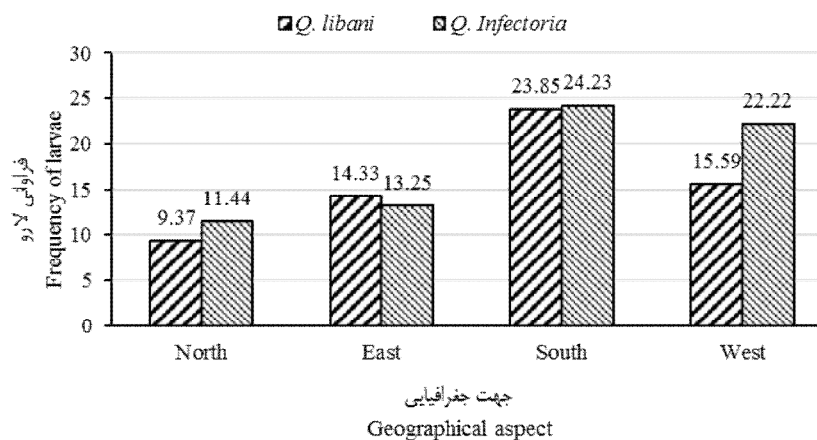
کیادلیری و همکاران (21)، مشخص گردید که نوع میزبان تأثیر قابل توجهی بر جمعیت حشرات تغذیه کننده از آن دارد. از نظر ترجیح میزبانی (میزبان اصلی)، با توجه به شرایط منطقه و مهیا بودن سایر عوامل محیطی مناسب برای آفت، از منطقه‌ای به منطقه‌ای دیگر، گونه‌ی درخت مورد تغذیه متفاوت می‌باشد.

جدول 2- تجزیه واریانس مشخصات کمی تأثیرگذار بر میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط در سال 94 ($\alpha=0/05$)
Table 2- Analysis of variance of effective quantitative characteristics on the frequency of oak leaf roller larvae in the study area in the year 2015

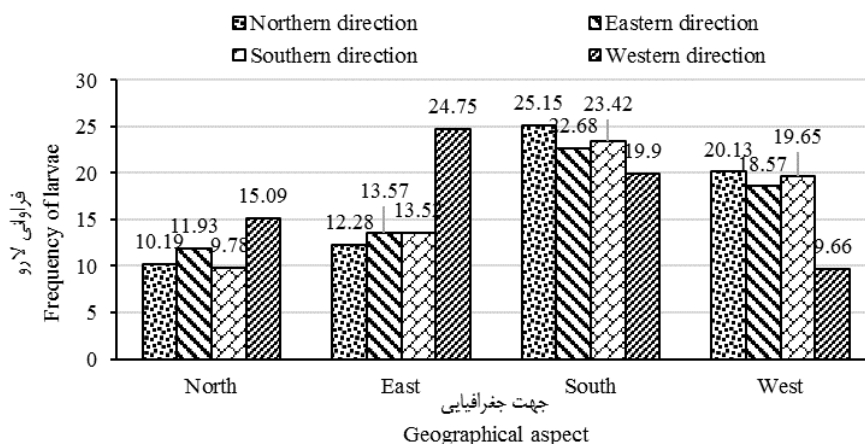
سال Year	منبع تغییرات Source of variance	مجموع مربعات Sum of squares	df	میانگین مربعات Mean Squared	F	Sig.
2015	جهت جغرافیایی Aspect	454.856	3	151.619	114.215	0.000*
	گونه Species	23.804	1	23.804	17.932	0.000*
	جهت جغرافیایی * گونه Aspect * Species	23.404	3	7.801	5.877	0.001*
	خطا Error	307/977	232	1.327		
	جهت درختی Cardinal Directions	1.156	3	0.385	1.169	0.321
	جهت درختی * جهت جغرافیایی Cardinal Directions * Aspect	10.519	9	1.169	3.547	0.000*
	جهت درختی * گونه Cardinal Direction * Species	0.583	3	0.194	0.590	0.622
	جهت درختی * جهت جغرافیایی * گونه Cardinal Directions * Aspect * Species	3.378	9	0.375	1.139	0.332
	خطا Error	229.322	696	0.329		

* Significant: $\alpha = 0.05$

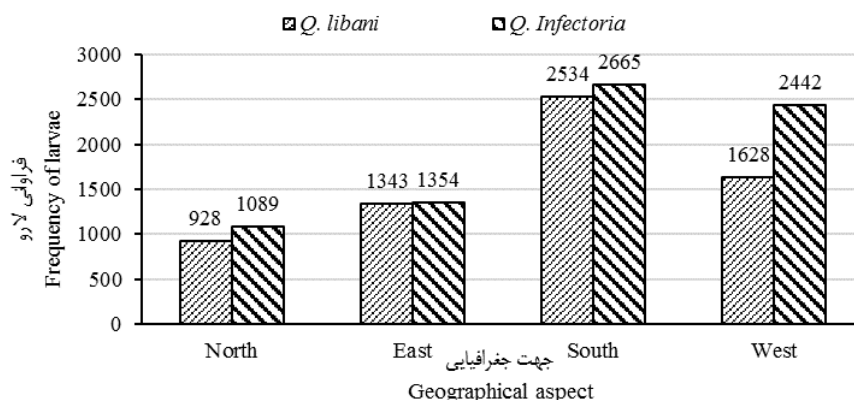
* معنی‌دار در سطح اطمینان 95 درصد



شکل 8- تأثیر متقابل جهت جغرافیایی و گونه‌های بلوط موجود در منطقه بر میزان فراوانی لارو جوانه‌خوار بلوط در سال 94
Figure 8- The interaction of aspect and oak species in the study area on frequency of oak leaf roller larvae in 2015



شکل 9- تأثیر متقابل جهت جغرافیایی منطقه و جهات تاج درختی بر میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط در سال 94
Figure 9- The interaction of aspect and cardinal directions in the study area on frequency of oak leaf roller larvae in 2015



شکل 10- تأثیر جهت جغرافیایی بر میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط برای گونه دارمازو و وی‌ول در سال 94
Figure 10- The effect of aspect on frequency of oak leaf roller larvae in 2015

و کمترین شدت آلودگی را نیز روی بلوط وی‌ول *Q. libani* ثبت گردیده است ($P < 0.01$).

در این تحقیق مشخص گردید تعداد لاروهای جوانه‌خوار بلوط بر روی هر دو گونه دارمازو و وی‌ول در سال 94 نسبت به سال قبل افزایش چشم‌گیری داشته است (13979 عدد لارو در سال 94 < 10489 عدد لارو در سال 93). به نظر می‌رسد افزایش دما می‌تواند از دلایل عمده این افزایش باشد زیرا لاروهای جوانه‌خوار بلوط در سال 94 نسبت به لاروهای جوانه‌خوار بلوط در سال 93 زمستان گرم‌تری را گذرانده‌اند. به نظر می‌رسد این امر از عمده دلایل اصلی افزایش تعداد لاروهاست. بریمانی ورنیدی و قاسمی (7) در بررسی روی شکار جوانه خوار بلوط و همچنین تعیین پراکنش آن در استان مازندران اعلام کرده‌اند پروانه جوانه‌خوار بلوط در تمام مناطق مورد بررسی جذب تله‌های فرمونی گردیده و جمعیت جوانه‌خوار بلوط نسبت به سال‌های قبل در حال افزایش است. افزایش دما می‌تواند باعث توسعه جمعیت

به‌طور معمول در توده‌های خالص شرایط برای فعالیت آفت مناسب‌تر است و میزان خسارت آفاتی نظیر پروانه جوانه‌خوار بلوط در توده‌های آمیخته بیشتر خواهد بود (15 و 16). حسین‌زاده و همچنین زرگران و همکاران در پژوهش‌هایی در مناطق مختلف جنگل‌های استان آذربایجان غربی به نتایج مشابهی رسیده‌اند و اعلام کرده‌اند که بیشترین میزان آلودگی *T. viridana* در تمامی مناطق آلوده روی بلوط دارمازو *Q. infectoria* و کمترین شدت آلودگی را نیز روی بلوط وی‌ول *Q. libani* ثبت نموده‌اند (13، 14 و 35). و با توجه به نتایج بدست آمده از تحقیق مطلبی تپه‌رشت (23) بلوط دارمازو دارای مطلوبیت بیشتری برای جوانه‌خوار بلوط بوده و از ارجحیت بالاتری نیز برخوردار است.

حسین‌زاده (13) در پژوهشی در مناطق مختلف جنگل‌های استان آذربایجان غربی اعلام کرده است که بیشترین میزان آلودگی *T. viridana* در تمامی مناطق آلوده روی بلوط دارمازو *Q. infectoria*

برای تمام جهات درختی در جهت جنوب جغرافیایی و کم‌ترین میزان فراوانی لارو برای تمام جهات درختی نیز در جهت شمال جغرافیایی می‌باشد. با توجه به شکل 4 در سال 94 نیز معلوم گردید که عمده غالب وزش باد منطقه از سمت شمال شرقی می‌باشد که همین امر نیز به نظر می‌رسد عامل اصلی پراکنش بیشتر لاروهای جوانه‌خوار بلوط در جهت جنوب جغرافیایی که دور از وزش باد نسبت به جهت شمال جغرافیایی باشد که درست رو به جهت وزش باد قرار دارد. آل حسینی و همکاران (2) در تحقیقی اذعان داشته‌اند، در صورتی که جمعیت لارو روی یک درخت زیاد بود، جابه‌جایی لاروها اجتناب‌ناپذیر به نظر می‌رسد در چنین مواقعی لاروها با تنیدن تار و آویزان شدن از شاخه‌ها و با جریان باد از شاخه‌ای به شاخه دیگر و از درختی به درخت دیگر انتقال می‌یابند. عاشوری و خردپیر (3) در تحقیقی بیان کرده‌اند که باد جزء اصلی الگوهای اقلیمی است. باد می‌تواند حشرات را کیلومترها به سمت مناطق و زیستگاه‌های جدید منتقل کند و فقط افراد بالغ نیستند که توسط باد پراکنده می‌شوند، برخی اوقات لاروها نیز در مسافت‌های قابل توجه توسط باد جابه‌جا می‌شوند، به‌خصوص اگر بخواهند از رقابت درون گونه‌ای برای مواد غذایی محدود در اثر تراکم زیاد فرار کنند. یک نمونه، انتقال لاروهای پروانه ابریشم‌باف ناجور (*Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantridae) توسط باد است که در حقیقت جمعیت آفت بیشتر در سن اول لاروی توسط باد جابه‌جا می‌شود. لاروهای تازه از تخم خارج شده الیاف ابریشمی خوبی تولید می‌کنند که آنان را قادر می‌سازد تا از باد استفاده کنند و از درختان میزبان برخوردار از تراکم بالا رهایی یابند و تصور می‌شود این حشرات امکان جابه‌جایی چندین کیلومتری را نیز داشته باشند. ندر و اسکوپ (24) نشان داده‌اند، پویایی جمعیت موجودات به شدت توسط پارامترهای زیست محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. فزاتر از اثرات فصلی آب و هوا، تغییرات در حال انجام در شرایط آب و هوایی به طور مستقیم به تغییرات در پراکندگی و افزایش مرگ و میر گونه‌های حشرات منجر می‌شود.

یکی دیگر از پارامترهای اصلی مورد بررسی در این تحقیق بررسی تغییرات جمعیتی جوانه‌خوار بلوط در جهات تاج درختی بود که در هیچ یک از سال‌های مورد بررسی معنی‌دار نبوده است ولی جداول توصیفی برای هر دو سال متوالی 93 و 94 می‌تواند تأثیر مستقیم باد را در جهت‌گیری و پراکنش جمعیت لاروی نمایان سازد. در بررسی تغییرات جمعیتی جوانه‌خوار بلوط در سال 93 روی هر دو گونه دارمازو و وی‌ول بیشترین تجمع لاروی در بین جهات‌های درختی روی جهت شرقی تاج درخت مشاهده شد که تأثیر وزش باد در آن نسبت به سایر جهات درختی حداقل است. در سال 94 نیز بررسی تغییرات جمعیتی جوانه‌خوار بلوط بر روی هر دو گونه دارمازو و وی‌ول نشان داد که بیشترین تجمع لاروی در جهت جنوب تاج درخت و سپس جهت غرب تاج درخت و کم‌ترین تجمع لاروی نیز در جهت شمال تاج

حشرات برگ‌خوار شود. به عنوان مثال پویایی *T. viridana* و *Operophtera brumata* که دو گونه از حشرات برگ‌خوار اصلی درختان بلوط در اروپا هستند می‌توانند از افزایش دمای بهار بهره‌مند شوند (27). بسیاری از گونه‌های حشرات گیاه‌خوار فعال روی درختان بلوط، در طول دوران زندگی خود دارای نوسانات چرخه‌ای هستند. این نوسانات چرخه‌ای اغلب توسط عوامل زنده از جمله تامین مواد غذایی، پارازیتوئیدها، شکارچیان و بیماری‌ها تنظیم می‌شود. جوانه‌خوار بلوط *T. viridana* نیز جزء گونه‌های دارای نوسانات چرخه‌ای است (29). رقابت درون گونه‌ای برای منابع غذایی نیز ممکن است عامل تعیین کننده چرخه جمعیتی *T. viridana* باشد (20). روی‌آلت و همکاران (26) در تحقیقی بیان داشته‌اند که با افزایش درجه حرارت تکثیر و توسعه لاروی سرعت یافته و در نتیجه شانس بقا با کاهش زمان را بیشتر می‌کند و همچنین بیان داشته‌اند که استرس آب و دمای بالا در تابستان، اثرات مستقیم بر روی فیزیولوژی درخت، فنولوژی میزبان و در نهایت در توزیع و فراوانی گونه‌های موجود در درخت دارد. آدامز و ژانگ (1)، بیان کرده‌اند از آنجا که درجه حرارت اغلب دارای اثر مستقیم روی حشرات در بسیاری از مراحل زندگی‌شان دارد به این نتیجه رسیدند که جمعیت حشرات عملکرد بهتری در آب و هوای گرم‌تر از خود نشان می‌دهد. پژوهش‌های گرادیان‌های عرضی نیز نشان داده است که آسیب بیشتر حشرات گیاه‌خوار در عرض‌های کمتر (گرم) وجود دارد. هاگستروم و سوبرامانیام (12) نیز اذعان داشته‌اند که مواد غذایی و شرایط زیست محیطی در توسعه و بقای حشرات نابالغ و همچنین سرعت زمان توسعه آنها موثر است و این شرایط به تولید مثل و رشد سریع جمعیت حشرات منجر می‌شود.

در تحقیق حاضر یکی از اصلی‌ترین پارامترهای مورد بررسی، بررسی تغییرات جمعیتی جوانه‌خوار بلوط در جهات جغرافیایی بود که برای سال 93 معلوم گردید اختلاف معنی‌داری بین میانگین میزان فراوانی لارو جوانه‌خوار بلوط در جهات مختلف جغرافیایی در سطح 5 درصد وجود دارد که بیشترین تعداد لارو در جهت جغرافیایی شرقی و کم‌ترین تعداد لارو در جهت جغرافیایی غربی مشاهده گردید. در سال 93 عمده غالب وزش باد منطقه از سمت جنوب‌غربی بوده است و همین امر به نظر می‌رسد دلیل اصلی پراکنش بیشتر لاروهای جوانه‌خوار بلوط در جهت شرقی منطقه باشد که در جهت غربی نیز کم‌ترین پراکنش لاروی مشاهده گردیده است. سال 94 نیز معلوم گردید که اثر متقابل جهات جغرافیایی و گونه‌های بلوط موجود، روی میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط معنی‌دار بوده و بیشترین میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط در جهت جغرافیایی جنوبی و کم‌ترین میزان نیز در جهت شمالی می‌باشد که برای هر دو گونه دارمازو و وی‌ول یکسان می‌باشد. اثر متقابل جهات تاج درخت و جهات جغرافیایی نیز روی میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط معنی‌دار بوده به‌طوری‌که بیشترین میزان فراوانی لاروهای جوانه‌خوار بلوط

هستند، احتمال بقا و فراوانی افزایش خواهد یافت.

نتیجه گیری کلی

با توجه به نتایج این پژوهش در هر دو سال متوالی 93 و 94 تعداد لارو جوانه‌خوار بلوط روی درختان دارمازو بیشتر از درختان وی ول بوده که به نظر می‌رسد بلوط دارمازو از مقبولیت غذایی بیشتری برای جوانه‌خوار بلوط نسبت به وی ول برخوردار است. تعداد لارو جوانه‌خوار بلوط برای هر دو گونه دارمازو و وی ول در سال 94 نسبت به سال قبل افزایش چشم‌گیری داشته است که ممکن است با افزایش دما در سال 94 مرتبط باشد. بررسی تغییرات جمعیتی جوانه خوار بلوط در جهات جغرافیایی نشان داد که برای هر دو گونه دارمازو و وی ول در سال 93 بیشترین و کمترین تعداد لارو به ترتیب در جهت جغرافیایی شرقی و غربی و بیشترین تجمع لاروی نیز در بین جهت‌های درختی روی جهت شرقی تاج درخت می‌باشد. عمده غالب وزش باد منطقه در این سال از سمت جنوب‌غربی بود که به نظر می‌رسد دلیل اصلی پراکنش و تجمع تعداد لاروهای جوانه‌خوار بلوط در جهت شرقی باشد که خارج از تأثیر مستقیم وزش باد بوده‌اند. در سال 94 نیز معلوم گردید که بیشترین و کمترین میزان فراوانی لاروها به ترتیب در جهت جغرافیایی جنوبی و شمالی و بیشترین تجمع لاروی در جهت جنوب تاج درخت و کمترین تجمع لاروی نیز در جهت شمال تاج درختی می‌باشد که عمده غالب وزش باد منطقه در این سال نیز از سمت شمال‌شرقی می‌باشد که می‌توان تأثیر مستقیم باد در جهت‌گیری و پراکنش جمعیت لاروی جوانه‌خوار بلوط را مشخص کرد. نتایج بدست آمده در سال 93 و 94 نشان داد که جهت‌گیری‌های پراکنش لاروی جوانه‌خوار بلوط می‌تواند تحت تأثیر جهت وزش باد و دمای محیط باشد.

درختی می‌باشد و به نظر می‌رسد هم در سال 93 و هم در سال 94 جهت‌گیری‌های پراکنش لاروی کاملاً تحت تأثیر جهت وزش باد و نور مستقیم خورشید هستند. زمانی و همکاران (33)، در مطالعه‌ای بر پایش جمعیت شب‌پره چوب‌خوار پسته در اصفهان به نتایج مشابهی رسیده‌اند و بیان کرده‌اند که جهت نصب تله در تاج درخت بر شکار آفت تفاوت قابل توجهی نداشت در حالی که تعداد حشرات شکار شده در تله‌های نصب شده در جهت جنوب تاج درخت بیشتر از جهت شمال تاج درخت بود، اما این اختلاف جمعیت حشرات شکار شده معنی‌دار نبوده و عملکرد دو جهت شمال و جنوب تاج درخت در شکار حشره آفت یکسان در نظر گرفته می‌شود. هاگستروم و سوپرامانیام (12) مشاهده کردند که حشرات نابالغ نسبت به حشرات بالغ جوانه-خوار بلوط از موفقیت بیشتری برای پیدا کردن مواد غذایی با کیفیت و شرایط زیست محیطی مطلوب برخوردارند. مواد غذایی و شرایط زیست محیطی در توسعه و بقای حشرات نابالغ و همچنین سرعت زمان توسعه آنها مؤثر است و این شرایط به تولید مثل و رشد سریع جمعیت حشرات منجر می‌شود. ندرر و اسکوپ (24) نشان داده‌اند که به منظور حفظ ثبات آینده و سلامت جنگل‌ها، تغییرات احتمالی در پویایی جمعیت حشرات گیاه‌خوار، باید فرآیندهای مدیریتی و سیاستی جنگل در نظر گرفته شود. پویایی جمعیت موجودات به شدت توسط پارامترهای زیست محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. فراتر از اثرات فصلی آب و هوا، تغییرات در حال انجام در شرایط آب و هوایی به‌طور مستقیم به تغییرات در پراکندگی، تولید مثل و افزایش مرگ و میر گونه‌های حشرات منجر می‌شود. موفقیت در رشد و نمو حشرات گیاه‌خوار به‌طور غیر مستقیم به آب و هوا بستگی دارد. ظهور حشرات و ظهور اولیه لاروها پس از خواب زمستانی ممکن است به ترکیب طول روز و درجه حرارت آستانه بستگی داشته باشد. با توجه به دوره کوتاه تخم و لاروها که در آن، حشرات نسبت به شکار و انگلی شدن حساس

منابع

- 1- Adams J.M., and Zhang Y. 2009. Is there more insect folivory in warmer temperate climates? A latitudinal comparison of insect folivory in eastern North America. *Journal of Ecology*, 97(5): 933-940.
- 2- Alehosseini S.A., Saadati S.H., and Hamzeh-Zarghani H. 2013. Study of population dynamics of oak tortrix moth (*Tortrix viridana*) and its natural enemies in Fars province. *Plant Protection Journal*, 5(1): 1-12 (In Persian with English abstract).
- 3- Ashori A., and Kheradpir N. 2009. *Insect ecology, concept and applications*. University of Tehran Press, Tehran, Iran (In Persian).
- 4- Askari H., Al-Mansor H., Zargarani M.R., Mansor-Ghazi M., Barimani H., Tabrizian M., and Ajam-Hasani M. 2006. Is the shape of pheromone traps effective in hunting of male oak leaf roller *Tortrix viridana* L.? Abstracts of the 17th Iranian Plant Protection Congress, 2 Aug. 2006, Iran (In Persian with English abstract).
- 5- Baltensweiler W., Weber U.M., and Cherubini P. 2008. Tracing the influence of larch-bud-moth insect outbreaks and weather conditions on larch tree-ring growth in Engadine (Switzerland). *Oikos*, 117(2): 161-172.
- 6- Banj-Shafiei A., Es'haghi-Rad J., Alijanpour A., and Pato M. 2011. Effect of oak leaf roller (*Tortrix viridana* L.) pest on *Quercus libani* annual Tree ring width. *Journal of Plant Protection (Agricultural Sciences and Technology)*, 25(2): 178-185 (In Persian with English abstract).
- 7- Barimani-Varandi H., and Ghasemi S. 2006. Introduction of a Parasitic flies (Dip.: Tachinidae) of *Tortrix viridana*

- L. larvae from Golestan province. Abstracts of the 17th Iranian Plant Protection Congress. Iran, 2 Aug. 2006: 70-75 (In Persian with English abstract).
- 8- Behdad E. 1987. Pests and diseases of forest trees and shrubs and decorative plants of Iran. Sepehr Press, Esfahan, Iran (In Persian).
 - 9- Fatahi M. 1994. Study of Zagros oak forests and its degradation factors. Research Institute of Forest and Rangelands, Tehran, Iran (In Persian).
 - 10- Gieger T., and Thomas F.M. 2005. Differential response of two Central-European oak species to single and combined stress factors. *Trees*, 19(5): 607-618.
 - 11- Ghobari H., Goldansaz S.H., Askari H., Ashori A., Kharazi-Pakdel A., and Bihamta M.R. 2007. Investigation of presence, distribution and flight period of oak leaf roller moth, *Tortrix viridana* (Lep.: Tortricidae) using pheromone traps in Kurdistan province. *Entomological Society of Iran*, 27(1): 47-59 (In Persian with English abstract).
 - 12- Hagstrum D.W., and Subramanyam B. 2010. Immature insects: ecological roles of mobility. *American Entomologist*, 56(4): 231.
 - 13- Hosseinzadeh A. 2010. Bioecology of oak leaf roller *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera: Tortricidae) in west Azerbaijan. Abstracts of the 19th Iranian Plant Protection Congress, 2 Jul. 2010, Iran. (In Persian with English abstract).
 - 14- Hosseinzadeh A. 2011. Oak healthy seed production as a food by reducing the use of pesticides using pheromone traps in controlling of the most destructive Oak pest (oak leaf roller *Tortrix viridana* L.) in west Azerbaijan. Abstracts of the 4th Food Security Congress, 22-24 Apr. 2011, Iran (In Persian with English abstract).
 - 15- Hunter M.D. 1990. Differential susceptibility to variable plant phenology and its role in competition between two insect herbivores on oak. *Ecological Entomology*, 15: 401-408.
 - 16- Hunter M.D., Varley G.C., and Gradwell G.R. 1997. Estimating the relative roles of top-down and bottom-up forces on insect herbivore populations: a classic study revisited. *Proceeding of National Academy of Sciences*, 94: 9176-9181.
 - 17- Ivashov A.V., Boyko G.E., and Simchuk A.P. 2002. The role of host plant phenology in the development of the oak leafroller moth, *Tortrix viridana* L. (Lep.: Tortricidae). *Forest Ecology and Management*, 157: 7-14.
 - 18- Jazirei M.H., Ebrahimi-Rastaghi M. 2003. Zagros Silviculture. Tehran Press, Tehran, Iran (In Persian).
 - 19- Johnson P.S., Shifley R.S., and Rogers R. 2009. *The Ecological and Silviculture of Oaks*, CABI Publishing, New York, USA.
 - 20- Kapeller S. 2009. Modelling of population dynamic of the green oak leaf roller (*Tortrix viridana*) within oak populations. Federal Research and Training Centre for Forests, Vienna, Austria.
 - 21- Kiadaliri H., Ostovan H., Abaei M., and Ahangaran Y. 2005. Investigation on the behaviour treat of leaf feeder moth (erannis defoliaria clerck) and natural enemies in forests of the in west of Mazandaran province. *Journal of Agricultural Sciences*, 11(1): 149-159 (In Persian with English abstract).
 - 22- Mehdifar D., and Sagheb-Talebi Kh. 2006. Silvicultural characteristics and site demands of Gall Oak (*Quercus infectoria* Oliv.) in Shineh, Lorestan province Iran. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 14(3): 193-206 (In Persian with English abstract).
 - 23- Motallebi-Taperasht R. 2014. Survey on nutritional indices of Green Oak Leaf Roller (*Tortrix viridana* L.) on *Quercus infectoria* and *Q. libani* in Piranshahr Oak forests. M.Sc. thesis, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran (In Persian with English abstract).
 - 24- Netherer S., and Schopf A. 2010. Potential effects of climate change on insect herbivores in European forests-general aspects and the pine processionary moth as specific example. *Forest Ecology and management*, 259(4): 831-838.
 - 25- Pourhashemi M. 2003. Natural regeneration of oak species in Marivan forests (Case study: Doveyse). Ph.D. thesis, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. (In Persian with English abstract).
 - 26- Rouault G., Candau J.-N., Lieutier F., Nageleisen L.-M., Martin J.-C., and Warzée N. 2006. Effects of drought and heat on forest insect populations in relation to the 2003 drought in Western Europe. *Annals of Forest Science*, 63(6): 613-624.
 - 27- Sallé A., Nageleisen L.-M., and Lieutier F. 2014. Bark and wood boring insects involved in oak declines in Europe: Current knowledge and future prospects in a context of climate change. *Forest Ecology and management*, 328: 79-93.
 - 28- Sagheb-Talebi Kh., Sajedi, T., and Yazdian, F. 2004. Looking at the Iran forests. Research Institute of Forest and Rangelands, Tehran, Iran (In Persian with English abstract).
 - 29- Simchuk A.P., Ivashov A.V., and Companyntsev V.A. 1999. Genetic patterns as possible factors causing population cycles in oak leafroller moth, *Tortrix Viridana* L.. *Forest Ecology and Management*, 113: 35-49.
 - 30- Solter L.F., Pilarska D.K., McManus M.L., Zúbrik M., Patočka J., Huang W.F., and Novotný J. 2010. Host specificity of microsporidia pathogenic to the gypsy moth, *Lymantria dispar* (L.): Field studies in Slovakia. *Journal of invertebrate pathology*, 105(1): 1-10.

- 31- Talebi M., Sagheb-Talebi Kh., and Jahanbazi H. 2006. Site demands and some quantitative and qualitative characteristics of Persian Oak (*Quercus brantii* Lindl.) in Chaharmahal & Bakhtiari Province (western Iran). Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 14(1): 67-79 (In Persian with English abstract).
- 32- Tomescu R., Taut I., Covrig I., and Simonca V. 2014. Study concerning *Tortrix viridana* attack on oak forests from Transylvanian Private Forest Districts. Pro-Environment, 7: 21-25.
- 33- Zamani Z., Khaje-Amiri J., and Sabzalian M.R., 2012. Influence of trap type, trapping location and cardinal direction on the capture of the Pistachio twig borer moth, *Kermania pistaciella* Amsel. (Lepidoptera: Tineidae) in Isfahan. Plant Pests Research, 2(2): 53-62 (In Persian with English abstract).
- 34- Zargaran M.R., Askari H., Ajam-Hosseini M., Tabrizian M., and Bakhshali-Saatlo H. 2006. Determine the activity period and distribution of adult insects of *Tortrix viridana* L. (Lep.: Tortricidae) in west Azerbaijan. Abstracts of the 17th Iranian Plant Protection Congress, 2 Aug. 2006, Iran (In Persian with English abstract).
- 35- Zargaran M.R., Banj-Shafiei A., Seyedi N., and Motamedi J. 2013. Biological study of destructive oak pest leaf roller *Tortrix viridana* L. in laboratory and field conditions and its distribution in oak forests of West Azerbaijan province. Abstracts of the 1st National Conference on Achieving Strategies to Sustainable Development in Agriculture, Natural Resources and Environment parts, 10 Mar. 2013, Iran (In Persian with English abstract).



بررسی بعضی از عوامل اکولوژیکی جوانه‌زنی بذر علف‌هرز قیاق (*Sorghum halepense* (L.) PERS.)

مهدی مجاب¹ - مجتبی حسینی^{2*} - مجید کریمیان کلیشادری³

تاریخ دریافت: 1395/03/17

تاریخ پذیرش: 1396/03/22

چکیده

قیاق یکی از مهمترین علف‌های هرز مسئله‌ساز در دنیا است. پاسخ جوانه‌زنی و سبز شدن آن به فاکتورهای مختلف محیطی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که، خیساندن بذور به مدت 30 دقیقه در اسید سولفوریک غلیظ (95-98 درصد) بهترین تیمار برای شکستن خواب بذر می‌باشد. پاسخ جوانه‌زنی در دو رژیم نوری (روشنایی/تاریکی و تاریکی مداوم) همراه با دامنه دمایی متفاوت (ثابت و متناوب) یکسان بود. این گیاه در دماهای متناوب 25/15، 30/20 و 35/25 در هر دو رژیم نوری بیش از 95 درصد جوانه‌زنی داشته است. در دمای ثابت نیز روند درصد نهایی جوانه‌زنی مشابه دماهای متناوب بود و این صفت در محدوده‌ی دماهای ثابت 25 تا 45 بیش از 90 درصد جوانه‌زنی داشت. نتایج آزمایش شوری و خشکی نشان داد این گونه به شوری و خشکی مقاوم است؛ به‌طوری‌که، پتانسیل اسمزی و ماتریک لازم جهت کاهش حداکثر 50 درصد جوانه‌زنی بر اساس برازش مدل لجستیک سه پارامتری به‌ترتیب 9/62- و 9/13- بار محاسبه گردید. با افزایش عمق کاشت ظهور دانه‌رست به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بر اساس مدل برازش داده شده عمقی که باعث کاهش 50 درصد حداکثر سبز شدن دانه‌رست می‌شود 5/86 سانتی‌متر تعیین گردید.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل اسمزی، پتانسیل ماتریک، درجه حرارت، عمق دفن، نور

مقدمه

آن در یک اکوسیستم کشاورزی دارد و این فرایند به وسیله چندین عامل محیطی مانند دما، نور، شوری، pH و رطوبت خاک تنظیم می‌شود (8 و 24). پی بردن به الگوی جوانه‌زنی و سبز شدن گونه‌های علف‌هرز می‌تواند اطلاعات جامعی برای توسعه استراتژی‌های مدیریت علف‌هرز در آینده فراهم کند (9).

خواب بذر به بقاء و تکثیر گونه‌های گیاهی از طریق تحمل شرایط نامساعد اقلیمی و خاک کمک می‌کند (46). جوانه‌زنی یا خواب بذر توسط خصوصیات بذر و عوامل محیطی تعیین می‌شود. پوسته بذر نقش مهمی را در تنظیم کردن خواب بذر بازی می‌کند. مشخص شده است که در بین تیره‌های گیاهی، تقریباً 15 تیره دارای خواب بذر از نوع پوسته سخت یا خواب فیزیکی هستند (21). بهترین تیمار در شکستن خواب بذر قیاق تیمار خراش دهی شیمیایی با اسید سولفوریک (95 درصد جوانه‌زنی) (19، 40 و 44) یا استفاده از کاغذ سنباده (25) است. همچنین، هانگ و هسیو (19) و پودراگ و همکاران (39) نتیجه گرفتند که، سرمادهی مرطوب در دوره‌های 7 تا 14 روز در دمای 4 درجه سانتی‌گراد سبب 40 تا 60 درصد جوانه‌زنی می‌گردد.

دما و نور مهمترین عامل محیطی تنظیم کننده جوانه‌زنی است (12 و 41). گونه‌های با پراکندگی زیاد در دامنه وسیعی از درجه

قیاق (*Sorghum halepense*) یکی از مهمترین علف‌هرز مسئله‌ساز در دنیا (17)، بومی نواحی جنوبی آسیا (ایران و ترکیه) و اروپا می‌باشد و محققان بر این باورند که گونه حاضر در دنیای جدید از نواحی مدیترانه‌ای معرفی شده‌اند (48). این علف‌هرز در مناطق وسیعی در دنیا از عرض جغرافیایی 55 درجه شمالی تا 45 درجه جنوبی یافت می‌شود و در بیش از 30 گیاه زراعی متفاوت در 53 کشور مختلف خسارت‌زا می‌باشد (17). قیاق علف‌هرزی چندساله است که توسط بذر و ریزوم تکثیر می‌کند (30). کنترل این علف‌هرز به خاطر تولید زیاد بذر و ریزوم مشکل است (29). جوانه‌زنی یک علف‌هرز نقش مهمی در تعیین استقرار موفقیت‌آمیز

1- مربی، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران

2- دانشجوی دکترای علوم علف‌هرز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*) نویسنده مسئول: (Email: M57M60@yahoo.com)

3- دکترای زراعت، دانشگاه پیام نور، اصفهان، ایران
DOI: 10.22067/jpp.v31i3.55442

سبز شدن دانه‌رست‌ها به وقوع می‌پیوندد (5 و 35). همچنین عمق دفن بذر، جوانه‌زنی و سبز شدن دانه‌رست را از طریق رطوبت قابل دسترس، دما و نور تحت تأثیر قرار می‌دهد (10).

از آنجایی‌که قیاق از طریق بذر و ریزوم قادر به جوانه‌زنی است؛ و گیاهان رشد کرده از ریزوم رشد آهسته‌تری در مقایسه با گیاهان رشد کرده از بذر دارند (28). همچنین، اطلاعات مناسبی برای پیش‌بینی جوانه‌زنی این گیاه از طریق ریزوم انجام شده است (43) اما تحقیقات اندکی از واکنش بذر این گیاه (با توجه به اکوتیپ‌های مختلف) به دامنه‌های وسیع دماهای ثابت و متناوب در دو رژیم نوری با توجه به موضوع مهم تغییر اقلیم و پاسخ علف‌های هرز مهم به این تغییر، واکنش به تنش شوری و خشکی، مدل‌سازی واکنش بذر به تنش‌های شوری و خشکی و عمق شخم صورت گرفته است. این تحقیق با اهداف بررسی روش‌های تأثیر شکستن خواب بذر، تأثیر درجه حرارت متناوب و ثابت در دو رژیم نوری روشنایی و تاریکی مداوم، تأثیرات تنش شوری و خشکی و عمق دفن بذر بر جوانه‌زنی و سبز شدن قیاق منطقه زرقان فارس انجام شد.

مواد و روش‌ها

شرایط عمومی جمع‌آوری بذر و جوانه‌زنی

بذور رسیده و سالم قیاق از پانیکول 200 گیاه در ایستگاه تحقیقاتی زرقان فارس واقع در عرض جغرافیایی 29° و 46° و طول جغرافیایی 52° و 42° و ارتفاع 1596 متر از سطح دریا در اواسط خرداد ماه 1392 با وزن هزار دانه 5/1 گرم جمع‌آوری و تا شروع آزمایش (60 روز) در پاکت در دمای اتاق (25±2 درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. تمام آزمایشات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 4 تکرار در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه پیام نور اصفهان انجام شد. هر تکرار در یک قفسه جداگانه در ژرمیناتور قرار داده شد و بعنوان یک بلوک در نظر گرفته شد. تمام آزمایشات 2 بار تکرار شد. به دلیل معنی‌دار نبودن اثر متقابل زمان در تیمار از میانگین داده‌ها استفاده شد. هر واحد آزمایشی شامل یک عدد پتری‌دیش به قطر 9 سانتی‌متر بود که پس از ضدعفونی و استریل نمودن، برای هر سطح تیمار 25 بذر سالم ضدعفونی شده قیاق شمارش و در هر یک از پتری‌دیش‌ها بطور یکنواخت بر روی کاغذ صافی واتمن شماره یک قرار گرفتند و به هر یک از آنها 5 میلی‌لیتر آب مقطر یا تیمار مورد نظر اضافه به گونه‌ای که کاغذ صافی کاملاً آغشته به محلول گردید. درب پتری‌دیش‌ها توسط پارافیلیم بسته و به اطاقک رشد با شرایط نوری 12/12 ساعت (شب/روز) و شرایط دمایی 25/15 درجه سانتی‌گراد (شب/روز) قرار گرفتند. برای اعمال شرایط تاریکی مداوم از دولایه آلومینیوم فویل استفاده شد و پتری‌دیش‌ها در آن پیچیده شدند. شمارش جوانه‌زنی از 24 ساعت بعد شروع شد و تا روز 14 روزانه

حرارت‌های محیط قادر به جوانه‌زنی می‌باشند (26). بذور بعضی از گونه‌ها به طور مساوی در شرایط نور و تاریکی جوانه می‌زنند (48). برای مثال چجارا و همکاران (11) عوامل مؤثر بر جوانه‌زنی *Hyparrhenia hirta* که یک باریک‌برگ 4 کربنه می‌باشد را مطالعه کردند و دریافتند که بذور این گونه علف‌هرز در تمام دماهای متناوب 5 تا 45 درجه سانتی‌گراد قادر به جوانه‌زنی می‌باشند و در دماهای متوسط سرعت جوانه‌زنی خیلی بالا بود، به‌طوری‌که در دمای 30/20 درجه سانتی‌گراد بیشتر از 80 درصد از بذور در 12 ساعت جوانه زدند. همچنین، طول دوره نوری روی جوانه‌زنی بی تأثیر بود. نورس‌ورتی و الیوریا (37) گزارش کردند که بذور گیاه سنا (*Cassia occidentalis*) به طور مساوی در دو شرایط نور (78 درصد) و تاریکی (81 درصد) جوانه زدند، که از نظر آماری فاقد اختلاف معنی‌داری بود. مک‌ورتر و جردن (27) بیان نمودند که، دمای بهینه جهت رشد حداکثر برگ، ریشه، ریزوم و توسعه ساقه ثانویه قیاق در درجه حرارت 32 درجه سانتی‌گراد بود و با افزایش درجه حرارت تا 40 درجه این توسعه محدود می‌شد. با این حال، ساقه اولیه در درجه حرارت 24 در مقایسه با دو درجه حرارت دیگر رشد و نمو معنی‌دار و بیشتری داشت. همچنین با افزایش شدت نور رشد و توسعه بخش‌های مختلف بیشتر شد.

پتانسیل اسمزی رطوبت خاک با توجه به خصوصیت گونه علف-هرز می‌تواند زمان سبز شدن و تعداد گیاهچه‌های سبز شده آن را تحت تأثیر قرار دهد (6). همچنین، پتانسیل ماتریک ممکن است جوانه‌زنی را به تأخیر بیندازد، کاهش دهد و یا بطور کامل از آن جلوگیری کند (39). ایسرالسن و همکاران (20) گزارش کردند بین گونه‌های مختلف گراس تحمل به شوری متفاوت است و افزایش EC باعث کاهش بیوماس به طور معنی‌دار در تمامی گونه‌ها شد. نتیجه مشابهی از افزایش سطح شوری بر کاهش بیوماس و ارتفاع دانه‌رست¹ بروموس (*Bromus inermis* Leyss.) توسط یانگ و همکاران (50) و کاهش جوانه‌زنی در دو گونه علف خرچنگ (*Digitaria ciliaris*) و *D. longiflora* (6) گزارش کردند که سوروف (*Echinocloa crus-galli* L.) در پتانسیل 1- مگاپاسکال حاصل از پلی‌اتیلن گلاسیکول 6000 جوانه‌زنی بسیار کمی داشت. همچنین گونه‌ای جو (*Hordeum L.* jubatum)، دم روباهی سبز (*Setaria viridis L.*) و یولاف وحشی (*Avena fatua L.*) در پتانسیل ذکر شده به ترتیب 5، 9، و یک درصد جوانه‌زنی داشتند.

جوانه‌زنی و سبز شدن تابع عمق بذر در خاک می‌باشند. با افزایش یافتن عمق، سبز شدن دانه‌رست‌ها کاهش می‌یابد و وقتی که بذور زیر عمق مطلوب سبز شدن قرار بگیرند یک کاهش نمایی در

انجام می‌گرفت. معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه از بذر بود.

شکستن خواب بذر

این آزمایش به منظور تعیین بهترین تیمار در شکستن خواب بذر انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل 6 زمان مختلف خراش‌دهی (4، 8، 15، 30، 45 و 60 دقیقه) با اسید سولفوریک 95 تا 98 درصد، خیساندن بذور در آب مقطر به مدت 48، 72 و 96 ساعت و قرار دادن بذور در آب 95 تا 98 درجه به مدت 2 و 5 دقیقه، سرمادهی مرطوب در دمای 3 درجه سانتی‌گراد به مدت 15، 30، 45 و 60 روز، شرایط انبارداری در دمای اتاق به مدت 3 و 12 ماه پس از جمع‌آوری بذر به همراه تیمار شاهد (بدون اعمال هیچ گونه تیماری) بودند. سپس بذور (25 عدد بذر برای هر سطح تیمار) به شرایط جوانه‌زنی بالانتقل شدند.

تأثیر درجه حرارت و نور بر جوانه‌زنی

بذور در درجه حرارت‌های متناوب 5/15، 10/20، 15/25، 20/30

و 25/35 (شب/روز) و همچنین درجه حرارت‌های ثابت 5، 10، 15، 20، 25، 30، 35، 40 و 45 درجه سانتی‌گراد در دو رژیم نوری روشنایی/تاریکی به مدت 12/12 ساعت و تاریکی مداوم (24 ساعت) به اطاقک رشد انتقال داده شدند. دماهای متناوب به منظور شبیه‌سازی دامنه تغییرات دمایی در منطقه جمع‌آوری بذور (زرقان) در دوره زمانی بهار تا تابستان انتخاب شدند (جدول 1).

تأثیر تنش شوری و خشکی بر جوانه‌زنی

جهت بررسی تنش شوری و خشکی و مقایسه دو تنش بر جوانه‌زنی، پتانسیل‌های اسمزی و ماتریک 1-، 3-، 5-، 7-، 9-، 11- بار و شاهد (آب مقطر) به کار برده شدند. برای اعمال تنش شوری از کلراید سدیم به روش وانت‌هوف (45) و برای اعمال تنش خشکی از پلی اتیلن گلیکول 6000 با روش میشل (33) استفاده شد. سپس هر واحد آزمایشی با 25 عدد بذر به مدت 14 روز به شرایط جوانه‌زنی 15/25 (شب/روز) درجه سانتی‌گراد منتقل گردید.

جدول 1- میانگین بیشترین و کمترین دما در طی سال‌های 1389-1393 در منطقه زرگان فارس

Table 1- Average maximum (max) and minimum (min) temperatures ($^{\circ}\text{C}$) in the Zarghan region, Fars Province, Iran, during 2010-2014

Month	1389 2010		1390 2011		1391 2012		1392 2013		1393 2014	
	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min
فروردین Apr	23.5	6.8	22.2	6.2	20.5	5.8	22.7	6.1	14.9	-0.2
اردیبهشت May	28.6	11.3	30	11.2	28.8	11.2	25.4	8.4	28.8	10.9
خرداد Jun	36.5	16	36.3	16.6	34.3	15.4	35.6	14.6	35.3	15.7
تیر Jul	38.6	19.6	38.2	19.6	37.9	18.7	39.5	19	38.5	19.5
مرداد Aug	36.4	18.2	37.8	19.2	37.3	18	38.8	19.6	39.3	18.8
شهریور Sep	35.2	15.6	35.3	15.5	35.4	15.8	35.5	15.9	35.2	14.9
مهر Oct	31.5	10.8	30.7	10.3	30	11	30.4	8.9	30.6	11.6
آبان Nov	23.5	2.9	22.1	4.7	23.1	5.9	21.4	6.1	21.1	2.9
آذر Dec	19	-2.8	14.1	-1.2	13.6	1.7	16.9	1.6	15.7	0.9
دی Jan	13.4	-2.3	14.4	-0.9	11.9	-0.6	6.3	-5	14.9	-0.2
بهمن Feb	11.8	0.5	12.2	-0.7	16.7	1	17	-2.2	16.8	1.9
اسفند Mar	17.6	3	15.9	-0.1	19.7	2.7	19.2	3.3	16.7	1.9

خیساندن بذور در آب مقطر و دوره‌های سرمادهی مرطوب به استثنای 45 روز به طور میانگین سبب 8 درصد جوانه‌زنی شدند و در مقایسه با شاهد با میانگین 14 درصد جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری داشتند (شکل 1). در تیمارهای جوشاندن جوانه‌زنی مشاهده نگردید. نتایج تیمار آب جوش در زمان‌های مختلف مؤید این نکته است که در مدیریت بانک بذر این علف‌هرز آفتاب‌دهی خاک تأثیری بر جوانه‌زنی و کاهش بانک بذر این علف‌هرز ندارد. بذوری که در معرض زمان‌های مختلف اسید سولفوریک غلیظ (95 تا 98 درصد) قرار گرفته بودند نسبت به شاهد درصد جوانه‌زنی بالایی نشان دادند و در زمان‌های 30 و 45 دقیقه بیش از 95 درصد جوانه‌زنی مشاهده شد. جوانه‌زنی بذور در سرمادهی مرطوب به مدت 45 روز بیش از 33 درصد افزایش یافت و از نظر آماری با زمان‌های 4، 8 و 15 دقیقه تفاوتی نداشت. همچنین، دوره انبارداری نیز با شاهد از نظر آماری تفاوتی نداشت. بر اساس نتایج به دست آمده به احتمال زیاد پوسته سخت بذر سبب جلوگیری از جوانه‌زنی می‌گردد و این موضوع سبب پایداری زیاد بذر این علف‌هرز در بانک بذر می‌گردد. گزارش شده است که بذره‌های قیاق که در عمق کمتر از 22 سانتی‌متری قرار گرفته‌اند تا بیش از دو سال ممکن است زنده باشند (25). بهترین تیمار در شکستن خواب بذر قیاق تیمار خراش‌دهی شیمیایی با اسید سولفوریک (95 درصد جوانه‌زنی) در آزمایش (۲۵، ۳۴ و 40 و 44) گزارش شد که با نتایج ما مطابقت دارد.

تأثیر درجه حرارت و نور بر جوانه‌زنی

نتایج نشان داد درصد نهایی جوانه‌زنی تحت تأثیر رژیم نوری و اثرات متقابل رژیم نوری در درجه حرارت (متناوب و ثابت) قرار نگرفت (جدول 3 و 4). اما اثر دماهای مختلف (ثابت و متناوب) بر این صفت معنی‌دار بود (شکل 2A و 3A). در تمام دماهای متناوب در هر دو رژیم روششایی/ تاریکی و تاریکی کامل جوانه‌زنی یکسانی داشته است و با افزایش درجه حرارت درصد نهایی جوانه‌زنی نیز افزایش نشان داد.

تأثیر عمق بذر بر سبزشدن دانه‌رست

در این آزمایش 30 عدد بذر به مدت 30 روز در گلدان‌های پلاستیکی به قطر 15 سانتی‌متر در عمق‌های 0، 0/5، 1، 2، 3، 4، 6 و 8 سانتی‌متر قرار داده شدند. خاک آزمایش شامل ترکیب 2: 1: 0/5 شن، ماسه، کود دامی و پیت بودند که پس از اتوکلاو شدن مورد استفاده قرار گرفتند. شمارش دانه‌رست‌های سبز شده از 24 ساعت پس از شروع آزمایش به مدت 30 روز انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور ارزیابی پتانسیل‌های مختلف شوری و خشکی در کاهش درصد جوانه‌زنی، از مدل لجستیک سه پارامتری استفاده شد (معادله 1):

$$Y = a/[1+(x/x_{50})^b] \quad (1) \text{ معادله}$$

که در آن Y درصد جوانه‌زنی در سطح شوری یا خشکی a ، حداکثر درصد جوانه‌زنی، X_{50} سطح شوری یا خشکی لازم جهت 50 درصد بازدارندگی حداکثر جوانه‌زنی و b نشانگر شیب کاهش جوانه‌زنی در اثر افزایش سطوح تنش می‌باشد (10). همچنین، از مدل کاهش نمایی جهت بررسی واکنش دانه‌رست‌های سبز شده در عمق‌های مختلف استفاده شد (معادله 2):

$$E (\%) = E_{\max}/(\exp(-(x-x_{50})/ E_{\text{rate}})) \quad (2) \text{ معادله}$$

در این مدل E (%) نشان دهنده درصد سبز کردن در عمق x ، E_{max} حداکثر درصد سبز کردن، X_{50} عمق لازم جهت 50 درصد بازدارندگی حداکثر جوانه‌زی و E_{rate} نشانگر شیب مدل می‌باشد (10). جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS و برای برازش رگرسیون از نرم افزار sigma plot استفاده گردید.

نتایج و بحث

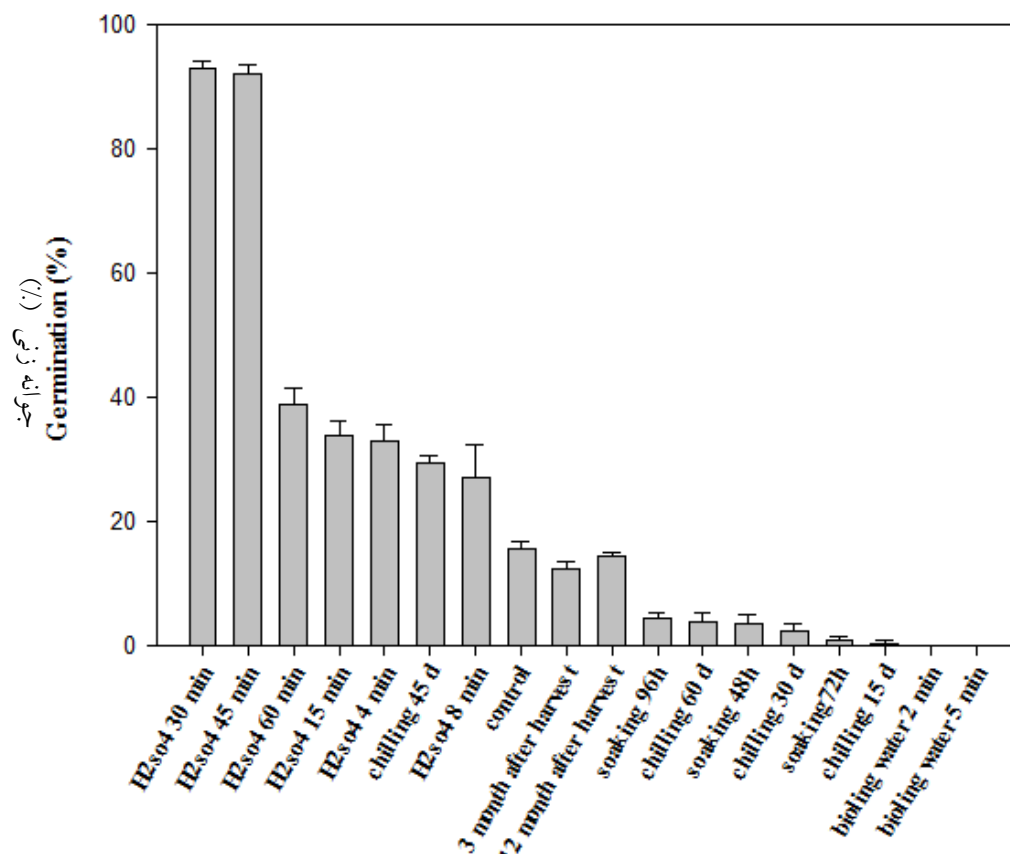
شکستن خواب بذر

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد درصد جوانه‌زنی قیاق تحت تأثیر تیمارهای مختلف بود (جدول 2). مقایسات میانگین نشان داد

جدول 2- مقادیر درجه آزادی و سطح احتمال معنی دار بودن برای شکستن خواب بذر بر درصد جوانه زنی قیاق
Table 2- Anova results for effect of treatments on seed germination percentage of Johnson grass
(F value) مقدار F

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی
SOV	df	Germination percentage
تکرار Replication	3	NS
تیمار Treatment	17	**
خطا Error	51	-

***NS به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال یک درصد و عدم معنی‌داری.
 NS: non significant.** Significant difference at $P < 0.001$.



شکل 1- اثر تیمارهای مختلف بر شکستن خواب بذر قیاق. خطوط عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشند
Figure 1- Effect of different treatments on breaking dormancy of Johnson grass. Vertical bars represent SE

مثبت نبوده و رژیم نوری تأثیری بر تعداد بذور جوانه زده نداشته است و در واقع درجه حرارت فاکتور مهمتری نسبت به نور در جوانه‌زنی می باشد. پنج آرنولد و همکاران (4) بیان نمودند که، جوانه‌زنی قیاق وابسته به تغییر درجه حرارت است و نور نقش مهمی در جوانه‌زنی بذور ایفا نمی‌کند و بیشترین جوانه‌زنی در دماهای 30 تا 45 درجه سانتی‌گراد بود. نتیجه مشابهی نیز توسط پودراگ و همکاران (40) گرفته شد. گیاهچه‌های قیاق چند هفته پس از سبز شدن تولید ریزوم‌های جدید می‌کنند. همچنین، این علف‌هرز قادر است در هر فصلی تعداد قابل توجهی تولید دانه‌رست‌های جدید کند (18). قیاق گیاهی است C₄ و درجه حرارت بالا تجمع مواد آن بیشتر است (13 و 42). تثبیت دی اکسید کربن به روش گیاهان C₄ این توانایی را به آنها می‌دهد که درجه حرارت بالا را تحمل کنند، راندمان مصرف آب و نیتروژن بالایی داشته باشند و به‌علاوه، نقطه پایین جبران CO₂ دارند (13 و 42). بیشترین و کمترین سرعت جوانه‌زنی به ترتیب در دمای متناوب 35/25 و 15/5 و دمای ثابت 45 و 5 اتفاق افتاد (شکل‌های 2B و B). برای ریزوم قیاق بیشترین سرعت جوانه‌زنی در دمای 36 درجه

این گیاه در دماهای 25/15، 30/20 و 35/25 در هر دو رژیم نوری بیش از 95 درصد جوانه‌زنی داشته است (شکل 2A). همچنین، بیشترین و کمترین درصد و سرعت جوانه‌زنی به‌ترتیب در دماهای 35/25 (99/5) درصد جوانه‌زنی و 0/0081 و 15/5 (35/5) درصد جوانه‌زنی و 0/0038 درجه‌سانتی‌گراد مشاهده گردید (شکل 2A و 2B).

در دماهای ثابت نیز روند درصد نهایی جوانه‌زنی مشابه دماهای متناوب بود و این صفت در محدوده‌ی دماهای ثابت 25 تا 45 درجه سانتی‌گراد بیش از 90 درصد جوانه‌زنی داشت (شکل 3A). در دمای 5 درجه‌سانتی‌گراد جوانه‌زنی صورت نگرفت و بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در دمای 45 درجه‌سانتی‌گراد (99 درصد جوانه‌زنی و 0/012) بود (شکل 3A و 3B).

نتایج این آزمایش نشان داد که این گیاه فتوبلاستیک نبوده و برای مدیریت آن نمی‌توان از نور در کاهش جوانه‌زنی استفاده کرد. همچنین جوانه‌زنی در گسترده دمایی وسیعی اتفاق می‌افتد. در همین رابطه هانگ و هسیو (19) گزارش کردند که، بذور قیاق فتوبلاستیک

به ترتیب تا سال 2100، 4-1/5 و 3/5-0/9 درجه سانتی گراد افزایش می یابد (2، 16 و 31). اگر دمای ایران و جهان در محدوده دمایی ذکر شده تغییر کند؛ با توجه به نتایج این آزمایش جوانه زنی این علف هرز افزایش معنی داری نخواهند داشت. در منطقه زرقان جوانه زنی قیاق همزمان با کاشت ذرت در ماه های خرداد و تیر می باشد. در سال های اخیر، میانگین دما در این ماه ها به ترتیب 35/6 و 38/9 درجه سانتی گراد می باشد (جدول 1). که این موضوع نشان دهنده تطبیق جوانه زنی قیاق با شرایط دمایی در این منطقه است.

سانتی گراد ثبت شد و سرعت جوانه زنی در دمای 40 به آن نزدیک بود. کمترین و بیشترین دمایی که از نمو ریزوم قیاق جلوگیری کردند به ترتیب 18 و 44 درجه بودند (43). با توجه به نتایج این آزمایش و رسالس - رابلس و همکاران (43) به نظر می رسد که دمای لازم برای جوانه زنی هر دو اندام زایشی قیاق نزدیک به هم باشد. تغییر اقلیم مساله مهم در تولید گیاهان زراعی است و کشور ایران با توجه به قرار گیری در ناحیه خشک و نیمه خشک از این قاعده مستثنی نیست. محققان پیش بینی کرده اند که، دمای ایران و جهان

جدول 3- مقادیر درجه آزادی و سطح احتمال معنی دار بودن اثر رژیم نوری و درجه حرارت متناوب بر درصد و سرعت جوانه زنی قیاق
Table 3- Anova results for effect of light conditions, and alternative temperature regimes treatments on seed germination percentage and seed rate of Johnson grass

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	مقدار F (F value)	
		درصد جوانه زنی Seed germination percentage	سرعت جوانه زنی Seed rate
تکرار Replication	3	NS	NS
نور Light	1	NS	NS
دما Alternative temperature	4	**	**
نور* دما Light * Temperature	4	NS	NS
خطا Error	27	-	-

*** و NS به ترتیب معنی دار بودن در سطح احتمال یک درصد و عدم معنی داری
NS: non significant; ** Significant difference at $P < 0.001$

جدول 4- مقادیر درجه آزادی و سطح احتمال معنی دار بودن اثر رژیم نوری و درجه حرارت ثابت بر درصد و سرعت جوانه زنی قیاق
Table 4- Anova results for effect of light conditions, and constant temperature regimes on seed germination percentage and seed rate of Johnson grass

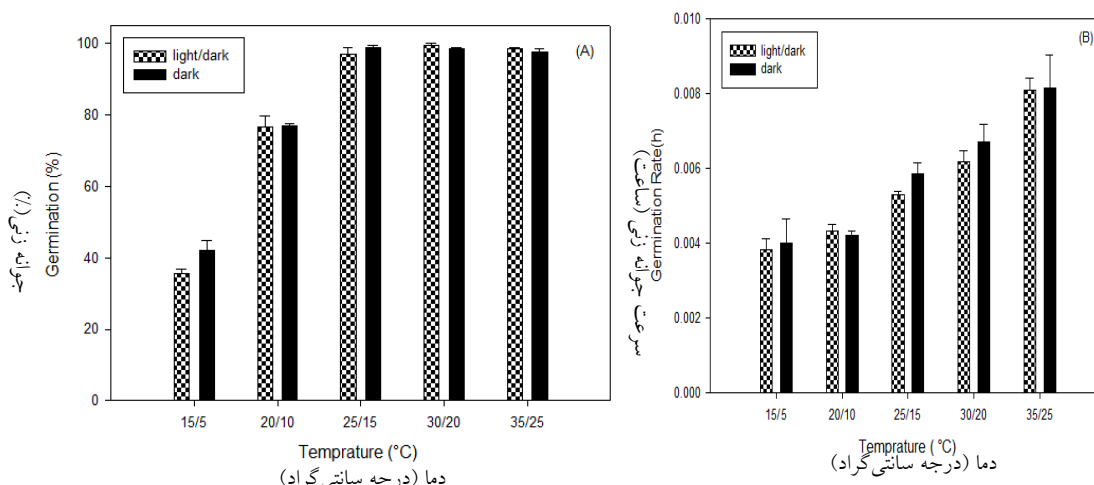
منابع تغییرات SOV	درجه آزادی Df	مقدار F (F value)	
		درصد جوانه زنی Seed germination percentage	سرعت جوانه زنی Seed rate
تکرار Replication	3	NS	NS
نور Light	1	NS	NS
دما Constant temperature	8	**	**
نور* دما Light * Temperature	8	**	**
خطا Error	51	-	-

*** و NS به ترتیب معنی دار بودن در سطح احتمال یک درصد و عدم معنی داری
NS: non significant; ** Significant difference at $P < 0.001$

کاهش درصد جوانه زنی در اثر افزایش شوری 88/88 درصد بود. مدل برازش داده شده نشان داد در شوری 9/62- بار کلور سدیم کاهش 50 درصد حداکثر جوانه زنی اتفاق افتاد (شکل 4a). روند تغییرات سرعت جوانه زنی مشابه درصد جوانه زنی بود (شکل 4b). بیشترین سرعت جوانه زنی در تیمار شاهد با 0/21 و کمترین در تیمار 11- بار با 0/0004 بذر در ساعت مشاهده گردید (شکل 4b).

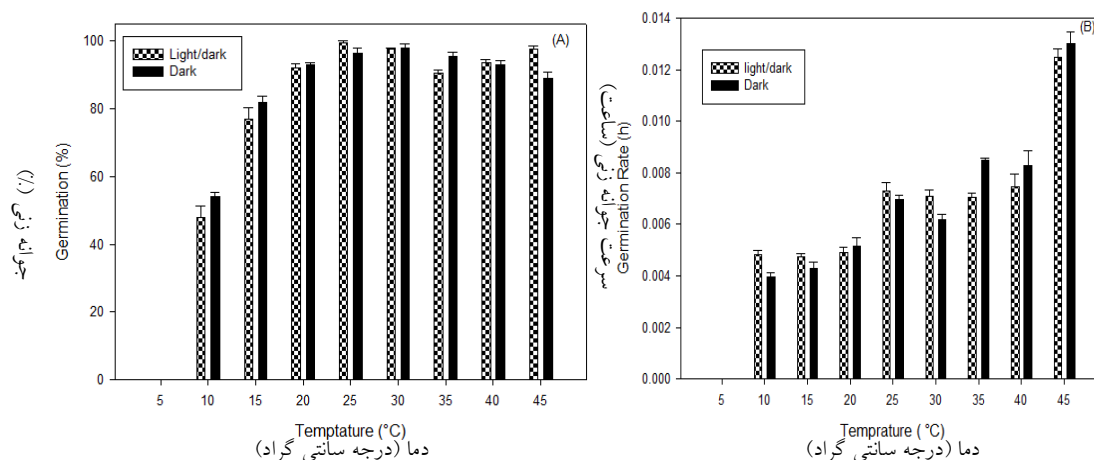
تأثیر تنش شوری

افزایش شوری باعث کاهش درصد نهایی جوانه زنی شد و مدل برازش داده شده معنی دار بود ($P < 0.001, r^2 = 0.98$). علاوه بر آن بقیه پارامترهای دیگر اندازه گیری شده تحت تأثیر افزایش شوری قرار گرفتند (جدول 5). بالاترین و پایین ترین درصد جوانه زنی به ترتیب در تیمار شاهد (99 درصد) و 11- بار (19 درصد) مشاهده شد. میانگین



شکل 2- اثر دماهای متناوب و رژیم نوری بر درصد نهایی جوانه‌زنی (A) و سرعت جوانه‌زنی (B) قیاق. خطوط عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشند

Figure 2- Effect of alternative temperatures) and light regimes on seed germination (A) and germination rate (B) of Johnson grass. Vertical bars represent SE



شکل 3- اثر دماهای ثابت و رژیم نوری بر درصد نهایی جوانه‌زنی (A) و سرعت جوانه‌زنی (B) قیاق. خطوط عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشند

Figure 3- Effect of constant temperatures and light regimes on seed germination (A) and germination rate (B) of Johnson grass. Vertical bars represent SE

برای کاهش 50 درصد حداکثر جوانه‌زنی برای این گیاه حاکی از مقاوم بودن بذر این علف هرز نسبت به تنش شوری دارد. پارامتر X_{50} برای کاهش 50 درصد حداکثر جوانه‌زنی در دو گونه علف‌خرچنگ 112 و 66 میلی‌مولار (10)، *Eleusine indica* 77/5 (9) و برای گراس‌های آزمایش شده بین 271 تا 575 EC_{day} در سال‌های 2008 و 2009 توسط ایسرالسن و همکاران (20) گزارش شد.

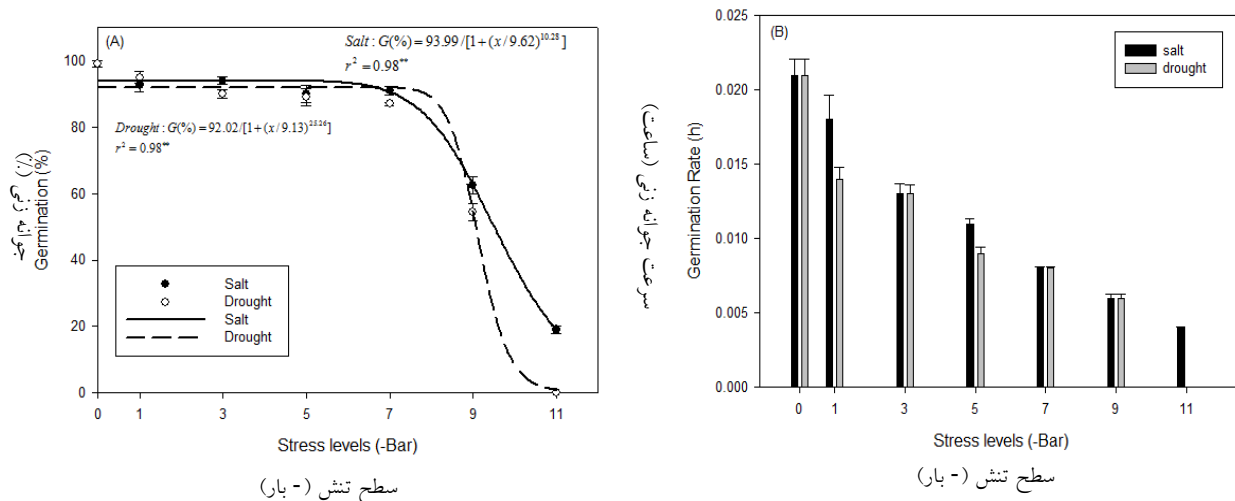
جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست تحت تأثیر عوامل غیر زنده‌ای چون شوری و خشکی کاهش می‌یابد (1، 3 و 22). شوری بعنوان یک فاکتور مهم در مناطق خشک و نیمه خشک بخصوص جاهایی که تبخیر بیشتر از بارندگی است اتفاق می‌افتد (46). در تحت شرایط استرس همچون دماهای خیلی بالا، شوری زیاد و خشکی جوانه‌زنی کاهش یافته یا بطور کلی متوقف می‌شود که وابسته به شدت و مدت زمان تنش و همچنین پس زمینه ژنتیکی بذر دارد (7). پارامتر X_{50}

جدول 5- مقادیر درجه آزادی و سطح احتمال معنی دار بودن برای تأثیر تنش شوری و خشکی بر درصد و سرعت جوانه زنی قیاق

Table 5- Anova results for effect of salt and drought stresses on seed germination percentage and seed rate of Johnson grass

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	مقدار F (F value)			
		تنش شوری Salt stress		تنش خشکی drought stress	
		درصد جوانه زنی Seed germination percentage	سرعت جوانه زنی Seed rate	درصد جوانه زنی Seed germination percentage	سرعت جوانه زنی Seed rate
تکرار Replication	3	NS	NS	NS	NS
تنش Stress	6	**	**	**	**
خطا Error	18	-	-	-	-

NS و ** به ترتیب معنی دار بودن در سطح احتمال یک درصد و عدم معنی داری
NS: non significant; ** Significant difference at P< 0.001.



شکل 4- درصد نهایی (A) و سرعت جوانه زنی (B) قیاق تحت تأثیر سطوح مختلف پتانسیل شوری و خشکی حاصل از کلرید سدیم (NaCl) و پلی-اتیلن گلیکول 6000 (PEG₆₀₀₀). نقاط نمایانگر داده‌های مشاهده شده و خطوط، حاصل برازش داده‌ها با معادله لجستیک می‌باشند. خطوط عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد می‌باشند

Figure 4- Effect of NaCl concentration and osmotic potential (PEG₆₀₀₀) on seed (A) germination percentage and (B) germination rate. Vertical bars represent SE

بیشترین سرعت جوانه زنی در تیمار شاهد (0/021 بذر در ساعت) بود، اما در 11- بار جوانه زنی مشاهده نگردید (شکل 4b). آب منبع حیاتی در طی جوانه زنی بذر است که در سه مرحله آماس، فعال سازی و رشد از طریق بذر جذب می‌شود (14). تنش خشکی یا کاهش پتانسیل آب در خاک باعث کاهش جوانه زنی بذر می‌شود (7). با مقایسه پارامتر X_{50} در شرایط شوری و پتانسیل ماتریک نتایج نشان دهنده حساسیت بیشتر قیاق در پتانسیل ماتریک است. کایا و همکاران (22) کاهش بیشتر درصد جوانه زنی در محلول پلی اتیلن گلیکول نسبت به کلرید سدیم را اثر اسمزی بیشتر به

اثر پتانسیل اسمزی ناشی از خشکی

با افزایش پتانسیل اسمزی تمام پارامترهای اندازه گیری شده کاهش معنی داری داشتند (جدول 5) و مدل به خوبی روند کاهش درصد جوانه زنی را نشان داد ($P < 0.001$, $r^2 = 0.98$) (شکل 4a). بیشترین و کمترین درصد جوانه زنی به ترتیب در تیمارهای شاهد و 11- بار با 99 و 0 درصد مشاهده گردید. مدل کاهش 50 درصد حداکثر جوانه زنی را در 9/13- بار محاسبه کرد (شکل 4a) حاکی از آن است بذر این گیاه در برابر خشکی مقاومت دارد. هر چند که

متری اول خاک است، اما در برخی مناطق کاشت با جابجایی بخش مهمی از بانک بذر قیاق می‌تواند در عمق‌های بیشتر دفن گردد. آنها بیان نمودند که جوانه‌زنی این گونه در عمق‌های بیشتر از 7-8 سانتی‌متری در نتیجه نبود کافی نوسانات درجه‌حرارت نادر است. در این مورد، قرار گرفتن بذر در عمق کمتر از 22 سانتی‌متری ممکن است تا بیش از دو سال در بانک بذر باقی بمانند (25). از طرف دیگر، سبز شدن قیاق با افزایش عمق بیش از 4 سانتی‌متر کاهش معنی‌داری داشت (5 و 15) که با نتایج ما مطابقت دارد. عملیات زراعی که جوانه زنی بذر را کاهش و باعث افزایش مرگ آن می‌شود می‌تواند به مدیریت علف‌هرز کمک کند (6). مدل مورد مطالعه ما نشان داد که، در عمق بیش از 5/86 سانتی‌متر 50 درصد کاهش سبز شدن اتفاق می‌افتد (شکل 5) و بنابراین عمق بیش از 6 سانتی‌متر می‌تواند کاهش معنی‌داری در جوانه‌زنی و سبز شدن این گونه داشته باشد. مک‌ورتر (29) نتیجه گرفت که بیشترین جوانه‌زنی ریزوم در عمق 7/2 سانتی متری مشاهده گردید و با افزایش عمق کاشت این روند کاهش یافت. چنین به نظر می‌رسد که، هر دو اندام تولید مثلی این علف‌هرز دارای واکنش جوانه‌زنی مشابه باشد.

به‌طور کلی، بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان دریافت که پوسته سخت بذر قیاق علت خواب در بذر این گیاه است و این موضوع سبب پایداری زیاد بذر این علف‌هرز در بانک بذر می‌گردد. این پوسته سخت می‌تواند نسبت به دمای بالای محیط و نوسانات آن مقاومت کند؛ و به محض فراهم شدن شرایط مناسب به ویژه درجه حرارت توانایی جوانه‌زنی بالایی (بیش از 90 درصد) دارد. شوری و خشکی عامل محدود کننده‌ای در جوانه‌زنی نمی‌باشد. با افزایش عمق درصد سبز شدن دانه‌رست به طور معنی‌داری کاهش یافت و شاید یکی از بهترین روش‌های مدیریت این علف‌هرز در کاهش سبز شدن و جوانه‌زنی شخم‌های با عمق بیش از 6 سانتی‌متری توصیه می‌گردد.

تجمع یون‌های خاص می‌دانند. کاهش 50 درصدی حداکثر جوانه‌زنی سوروف در پتانسیل‌های اسمزی 7/34 بار و ماتریک 0/5012 بار توسط مجاب و همکاران (36) بیان شده است. مقدار X_{50} برای کاهش جوانه‌زنی دو گونه علف‌خرچنگ 0/39- تا 0/41- (10) و برای *Eleusine indica* 0/4- مگاپاسکال گزارش شده است (9).

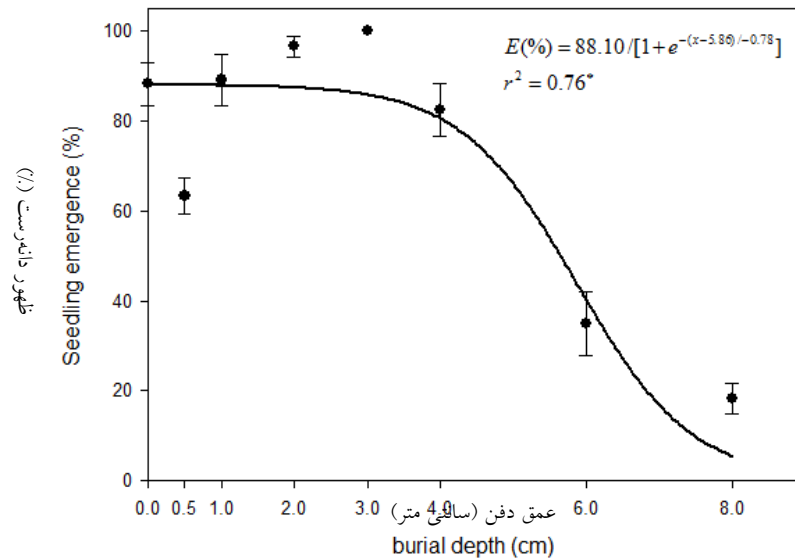
اثر عمق کاشت

نتایج این آزمایش نشان داد که اثر عمق کاشت بر ظهور دانه رست تفاوت معنی‌داری داشت (جدول 6). با افزایش عمق کاشت ظهور دانه‌رست به طور معنی‌داری کاهش یافت و مدل به خوبی این روند را نشان داد ($P < 0.05$, $r^2 = 0.76$). بیشترین و کمترین درصد سبز شدن دانه‌رست در عمق 3 و 8 سانتی‌متری به ترتیب 100 و 18/35 درصد مشاهده گردید (شکل 5). با افزایش عمق کاشت بیش از سه سانتی‌متر 81/56 درصد از سبز شدن این گیاه کاهش یافت. بر اساس مدل برازش داده شده عمقی که باعث کاهش 50 درصد حداکثر سبز شدن دانه‌رست می‌شود 5/86 سانتی‌متر تعیین گردید (شکل 5). نتیجه این آزمایش نشان می‌دهد که شخم بیش از 6 سانتی‌متری تأثیر زیادی در کاهش جوانه‌زنی و مدیریت این گیاه دارد. کاهش درصد سبز شدن با افزایش عمق کاشت ممکن است با انرژی بذر مرتبط باشد (5 و 32). بذرهای دارای خواب شاید قادر به تشخیص علامت‌های محیطی باشند و تحت این شرایط از حالت خواب به غیر خواب تبدیل شوند. از عواملی که می‌تواند علامت‌های محیطی را تغییر دهد کاهش عمق کاشت است (6). تفاوت معنی‌داری در سبز شدن بذر در عمق‌های 1/3 در مقابل 2/3 سانتی‌متری مشاهده نگردید سبز شدن گیاهچه از عمق بیشتر از 10/2 سانتی متری در خاک‌های رسی مشاهده نگردید؛ با این حال 2 درصد بذر از عمق 15/2 سانتی‌متری در خاک‌های شنی لوم ثبت گردید (29). پنج-آرنولد و همکاران (4) بیان نمودند که، بانک بذر قیاق در 5 سانتی-

جدول 6- مقادیر درجه آزادی و سطح احتمال معنی‌دار بودن برای تأثیر عمق دفن بر درصد سبز شدن قیاق

Table 6- Anova results for effect of burial depth on seedling emergence on seed germination percentage of Johnson grass.

منابع تغییرات	درجه آزادی	مقدار F (F value)
		درصد سبز شدن Seedling emergence (%)
SOV	df	
Replication تکرار	3	NS
Burial depth عمق دفن	7	**
Error خطا	21	-
NS و ** به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال یک درصد و عدم معنی‌داری.		
NS: non significant; ** Significant difference at $P < 0.001$.		



شکل 5- اثر عمق دفن بر درصد سبز شدن قیاق. خطوط عمودی نشان دهنده خطای استاندارد می باشند
Figure 5- Effect of seed burial depth on seedling emergence (%) of Johnson grass. Vertical bars represent SE

منابع

- 1- Almansouri M., Kinet J.M., and Lutts S. 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum Durum* Desf.). Plant Soil, 231: 243-254.
- 2- Amiri M.J., and Eslamian S.S. 2010. Investigation of climate change in Iran. Journal of Environmental Science and Technology, 3: 208-216.
- 3- Atak M., Kaya M.D., Kaya G., Cikili Y., and Ciftçi C.Y. 2006. Effects of NaCl on the germination, seedling growth and water uptake of triticale. Turkish of Journal Agriculture and Forestry, 30: 39-47.
- 4- Benech Arnold R.L., Ghera C.M., Sanchez R.A., and Insausti P. 1990. A mathematical model to predict *Sorghum halepense* (L.) Pers. seedling emergence in relation to soil temperature. Weed Research, 30: 91-99.
- 5- Benvenuti S., Macchia M., and Miele S. 2001. Quantitative analysis of emergence of seedlings from buried weed seeds with increasing soil depth. Weed Science, 49: 528-535.
- 6- Boyd N., and Van Acker R. 2004. Seed germination of common weed species as affected by Oxygen concentration, light, and osmotic potential. Weed Science, 52: 589-596.
- 7- Bradford K.J. 1995. Water relations in seed germination. p.351-396. In: J. Kigel et al. (ed.) Seed Development and Germination, New York, Marcel Dekker.
- 8- Chachalis D., and Reddy K.N. 2000. Factors affecting *Campsis radicans* Seed germination and seedling emergence. Weed Science, 48: 212-216.
- 9- Chauhan B.S., and Johnson D.E. 2008a. Germination ecology of Goosegrass (*Eleusine indica*): an important grass weed of rainfed rice source. Weed Science, 56: 699-706.
- 10- Chauhan B.S., and Johnson D.E. 2008b. Germination ecology of southern Crabgrass (*Digitaria ciliaris*) and India Crabgrass (*Digitaria longiflora*): two important weeds of rice in tropics. Weed Science, 56: 722-728.
- 11- Chejara V.K., Kristiansen P., Whalley R.D.B., Sindel B.M., and Nadolny C. 2008. Factors affecting germination of Coolata grass (*Hyparrhenia hirta*). Weed Science, 56: 543-548.
- 12- Crisraudo A., Gresta F., Luciani F., and Resticcia A. 2007. Effects of after harvest period and environmental factors on seed dormancy of Amaranthus species. Weed Research, 47: 327-334.
- 13- Elmore D.C., and Paul R.N. 1983. Composite list of C₄ weeds. Weed Science, 31: 686-692.
- 14- Fenner M., and Thompson K. 2005. The ecology of seeds. Cambridge University Press.
- 15- Ghera M., Benech Arnold R.L., and Martinez-Ghera M.A. 1992. The role of fluctuating temperatures in germination and establishment of *Sorghum halepense*. Regulation of germination at increasing depths. Functional Ecology, 6: 460-468.
- 16- Gohari A.R., Eslamian S., Abedi-Koupaei J., Massahbavani A.R., Wang d., and Madani K. 2013. Climate change impacts on crop production in Iran's Zayandeh-Rud River Basin. Science of the Total Environment, 442: 405-419.
- 17- Holm L.G., Plucknett D.L., Pancho J.V., and Herberger J.P. 1977. The world's worst weeds. distribution and biology. Honolulu, Hawaii University Press.

- 18- Horowitz M. 1972. Seasonal development of established Johnsongras. *Weed Science*, 20: 392-395.
- 19- Huang W.Z., and Hsiao A.I. 1987. Factors affecting seed dormancy and germination of Johnsongrass, *Sorghum halepense*(L.) Pers. *Weed Research*, 27: 1-12.
- 20- Israelsen K.R., Ransom C.V., and Waldron B.L. 2011. Salinity tolerance of Foxtail Barley (*Hordeum jubatum*) and desirable pasture grasses. *Weed Science*, 59: 500-505.
- 21- Karssen C.M., Derkx M.P.M., and Post B.J. 1988. Study of seasonal variation in dormancy of *Spergula arvensis* L. seeds in a condensed annual temperature cycle. *Weed Research*, 28: 449-457.
- 22- Kaya M.D., Okcu G., Atak M., Cikili Y., and Kolsarrici O. 2006. Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination (*Helianthus annuus* L.). *European Journal Agronomy*, 24: 291-295.
- 23- Kelly K., Staden M., Van J., and Bell W.E. 1992. Seed coat structure and dormancy. *Plant Growth Regulation*, 11: 201-209.
- 24- Koger C.H., Reddy K.N., and Poston D.H. 2004. Factors affecting seed germination, seedling emergence, and survival of Texas weed (*Caperonia palustris*). *Weed Science*, 52: 989-995.
- 25- Krenchinski F.H., Albrecht A.J.P., Albrecht L.P., et al. 2008. *Plant physiological ecology*. 2nd ed. Springer Press.
- 26- Larcher L. 2000. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos, RiMa.
- 27- Mcwhorter C.G., and Jordan T.N. 1976. The effect of light and temperature on the Growth and development of Johnsongrass. *Weed Science*, 24: 88-91.
- 28- Mcwhorter C.G. 1961. Morphology and development of Johnsongrass plants from seeds and rhizomes. *Weed Science*, 9: 558-562.
- 29- Mcwhorter C.G. 1972. Factors affecting Johnsongrass rhizome production and germination. *Weed Science*, 20: 41-45.
- 30- Mcwhorter C.G. 1989. History, biology, and control of johnsongrass. *Rev. Weed Science*, 4: 85-121.
- 31- Mearns L.O. 2000. Climatic Change and variability. p. 7-35. In: K.R., Reddy et al. (ed.) *Climate change and global crop productivity*. CABI Publishing, UK.
- 32- Mennan H., and Ngouajio M. 2006. Seasonal cycles in germination and seedling emergence of summer and winter populations of Catchweed bedstraw (*Galium aparine*) and Wild mustard (*Brassica kaber*). *Weed Science*, 54: 114-120.
- 33- Michel B.E. 1983. Evaluation of the water potentials of solutions of poly-Ethylene glycol 8000 both in the absence and presence of other solutes. *Plant Physiology*, 72: 66-70.
- 34- Mohammadi G., Noroozi N., and Nosratti I. 2013. An evaluation of Johnson grass (*Sorghum halepense* L.) seed hardness removing methods. *Journal of Agrobiology*, 30: 83-88.
- 35- Mohler C.L. 2001. Mechanical management of weeds. p.139-209. In: M., Liebman et al. (ed.) *Ecological management of agricultural weeds*. Cambridge University Press, UK.
- 36- Mojab M., Zamani G.R., Eslami S.V., Hosseini M., and Naseri S.A. 2010. Evaluating the effect of salt and drought stress to sodium chloride and polyethylene glycol 6000 on germination characteristic and seedling growth of Barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* Var: *oryzicola*). *Journal of Plant Protection*, 24 (1): 108-114. (In Persian with English abstract).
- 37- Monaghan N. 1979. The biology of Johnson grass (*Sorghum halepense*). *Weed Research*, 19: 261-267.
- 38- Norsworthy J.K., and Oliveira M.J. 2005. Coffee senna (*Cassia occidentalis*) germination and emergence is affected by environmental factors and seeding depth. *Weed Science*, 53: 657-662.
- 39- Oliveria M.J., and Norsworthy J.K. 2006. Pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*) germination and Emergence as affected by environmental factors and Seeding depth. *Weed Science*, 54: 910-916.
- 40- Podrug A., Gadzo D., Muminovic S., Grahic J., Srebrovic E., and Dikic M. 2014. Dormancy and germination of Johnsongrass seed (*Sorghum halepense* (L.) PERS.). *Herbologia*, 14:1-10.
- 41- Ren J., Tao L., Liu X.M. 2002. Effect of sand burial depth on seed germination and seedling emergence of *Galligonum* spp. Species. *Journal of Arid Environment*, 51: 603-611.
- 42- Riar D.S., Norsworthy J.K., Johnson D.B., Scott R.C., and Bagavathiannan M. 2011. Glyphosate resistance in a Johnsongrass (*Sorghum halepense*) biotype from Arkansas. *Weed Science*, 59: 299-304
- 43- Rosales-Robles E., Chandler J.M., Wu H., Senseman S.A., and Jaime S.G. 2003. A model to predict the influence of temperature on rhizome johnsongrass (*Sorghum halepense*) development. *Weed Science*, 51: 356-362.
- 44- Salimi H., and Termeh F. 2002. A study on seed dormancy and germination in ten species of grass weeds. *Proceeding of 12th EWRS Symposium*, Wageningen, Netherlands.
- 45- Soltani A., Galeshi S., Zeinali E., and Latifi N. 2001. Germination, seed reserve utilization and seedling growth of chickpea as affected by salinity and seed size. *Seed Science and Technology*, 30: 51-60.
- 46- Szabolcs I. 1994. Soils and salinisation. In: M., Pessarakali (ed.) *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker, New York.
- 47- Tang D.S., Hamayun M.K., Zhang Y.M., Kang Y.P., and Lee I.J. 2008. Role of red light, Temperature, stratification and nitrogen in breaking seed dormancy of *Chenopodium album* L. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 11: 199-204.

- 48- Teuton T.C., Brecke B.J., Unruh J.B., MacDonald G.E., Miller G.L., and Ducar J.T. 2004. Factors affecting seed germination of tropical Signalgrass (*Urochloa subquadriflora*). Weed Science, 52:376-381.
- 49- Warwick S.I., and Black L.D. 1983. The biology of Canadian weeds. 61. *Sorghum halepense* (L.) PERS. Canadian Journal of Plant Science, 63: 997-1014.
- 50- Yang H., Huang Z., Baskin C.C., Baskin J.M., Cao Z., Zhu X., and Dong M. 2009. Response of caryopsis germination, early seedling growth and ramet clonal growth of *Bromus inermis* to soil salinity. Plant Soil, 316: 265-275.



ارزیابی مقاومت نسبی 30 ژنوتیپ پاکوتاه محلب به چهار گونه‌ی فیتوفتورا در گلخانه و باغ

محمد حاجیان شهری^{*1} - ابراهیم گنجی مقدم² - حمید افصلی³

تاریخ دریافت: 1395/04/28

تاریخ پذیرش: 1396/02/11

چکیده

محب پایه مهمی برای گیلان و آلبالو محسوب می‌شود. این پایه در خاک‌های سبک، آهکی، سنگلاخی از سازگاری خوبی برخوردار است. اما به پوسیدگی ریشه ناشی از فیتوفتورا حساس می‌باشد. لذا این تحقیق با هدف ارزیابی عکس‌العمل 30 ژنوتیپ پاکوتاه گزینش شده محلب به بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه ناشی از چهار گونه قارچ فیتوفتورا (*P. citrophthora*، *P. citricola*، *P. nicotianae*، *Phytophthora cactorum*) توسط آزمون‌های گلخانه‌ای و صحرایی انجام گردید. در این پژوهش، آزمایش گلخانه‌ای برای ارزیابی ژنوتیپ‌ها، در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با 5 تکرار انجام و آزمایش باغی نیز برای ارزیابی ژنوتیپ‌ها بر اساس تلقیح گونه‌های مختلف فیتوفتورا به تفکیک در زیر پوست طوقه نهال‌های کاشته شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 5 تکرار انجام گردید. نتایج ارزیابی صفات مورد بررسی ژنوتیپ‌ها در گلخانه نشان داد که ژنوتیپ‌های 100، 155، 162، 171، 199، 200، 224 و 266 کمترین حساسیت را نسبت به گونه‌های *P. citricola*، *P. nicotianae*، *P. cactorum* و *P. citrophthora* دارند. همچنین نتایج آزمون ارزیابی ژنوتیپ‌ها در باغ، کمترین سطح نکروز بافتی در روی طوقه نهال‌ها به گونه‌های فیتوفتورای مورد بررسی را در بین ژنوتیپ‌های 106، 139، 162، 188، 195، 224، 266 و 270 نشان داد. نتایج کلی این تحقیق نشان داد بیماریزاترین گونه‌های فیتوفتورا روی ژنوتیپ‌های محلب *P. citricola* و *P. cactorum* بودند و سه ژنوتیپ 224، 266 و 188 بیشترین پتانسیل مقاومت به گونه‌های *P. citrophthora*، *P. citricola*، *P. cactorum* و *P. nicotianae* را داشتند.

واژه‌های کلیدی: پایه، پوسیدگی طوقه و ریشه، گیلان

مقدمه

ترتیب در رده‌های دوم و سوم قرار دارند (1). با توجه به نقش پایه در میزان رشد رویشی، زودرسی، میزان عملکرد و مقاومت در برابر بیماری‌ها، انتخاب پایه‌ی مناسب نقش به سزایی در برنامه مدیریت باغ خواهد داشت. در ایران و بسیاری از کشورها محلب بهترین پایه برای گیلان و آلبالو محسوب می‌شود و در خاک‌های سبک، آهکی، سنگلاخی که پایه گیلان سازگار نمی‌باشد از سازگاری خوبی برخوردار است (14).

در ایران، سجادی نژاد و همکاران (17) گونه‌های فیتوفتورای *P. citrophthora*، *P. cactorum* و *P. drechsleri* را به عنوان عامل پوسیدگی طوقه و ریشه درختان گیلان و محلب در استان تهران را شناسایی کردند. علیزاده و آقا رفیعی (2) نیز در استان تهران سه گونه *P. citrophthora*، *P. capsici* و *P. citricola* را به عنوان یکی از عوامل زوال درختان گیلان گزارش کردند. بنی هاشمی و سرتیپی (3) شناسایی گونه‌های فیتوفتورا همراه با پوسیدگی طوقه درختان میوه هسته‌دار در استان فارس و عکس‌العمل برخی پایه‌ها به *P. cactorum* را بررسی کردند. در شرایط گلخانه بر اساس

بر اساس آمار سازمان خواربار و کشاورزی (فائو) ترکیه، آمریکا و ایران سه کشور بزرگ تولیدکننده گیلان در جهان هستند. ایران با تولید سالانه بین حدود 200 تا 260 هزار تن گیلان همواره در ردیف های اول، دوم و گاهی اوقات سوم جهان قرار داشته است. بر اساس آمار، تولید گیلان در سال 1393، از نظر مقدار تولید، در بین استان‌های کشور بالاترین مقدار تولید گیلان اختصاص به استان تهران داشته و پس از آن استان‌های قزوین و خراسان رضوی به

1 و 3- استادیار و مربی پژوهش بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران
(*) - نویسنده مسئول: Email: mhag52570@yahoo.com

2- دانشیار بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

عکس العمل ظاهری گیاهان و میزان کلونیزاسیون ریشه و طوقه‌ی بادام، رقم مامائی حساس‌ترین و هلوی بذر تلخ، زردآلو هلندر و بادام رقم تلخه‌ی بی نام نجف آباد مقاوم‌ترین بودند. شریفی و همکاران (18) در ارزیابی مقاومت نسبی پنج پایه جدید درختان میوه هسته‌دار شامل GF677، Mr.s2/5، Penta، Tetra، Cadaman و *P. cactorum* و *P. dreschleri* در آزمایشگاه و گلخانه نشان دادند، پایه‌های Cadaman و GF677 بیشترین و پایه‌های Tetra و Penta کمترین حساسیت را به این دو گونه فیتوفتورا داشتند. بررسی‌های پاندیدو (15) و هولواس و همکاران (10) نشان دادند، در یونان دو نوع علائم بیماری روی درختان میوه‌ی هسته‌دار وجود دارد که اولین نوع آن در طی دوره گرم تابستان توسط *P. cryptogea*، *P. cactorum*، *P. citrophthora* و *P. dreschleri* ایجاد می‌شود که باعث مرگ ناگهانی درختان می‌شود. دومین نوع آن در اوایل یا اواخر زمستان توسط، *P. syringae* و *P. megasperma* ایجاد می‌شود که باعث باز نشدن شکوفه‌ها در درختان جوان و ایجاد شاخه‌های کوچک‌تر و سرخشکیده در درختان بالغ می‌شود. میرستیچ و ماترون (13) در بررسی خود نشان دادند، سه گونه فیتوفتورا *P. megasperma*، *P. cactorum* و *P. dreschleri* باعث پوسیدگی ریشه و طوقه درختان گیلاس در ایالت کالیفرنیا آمریکا می‌شوند و گونه‌های *P. megasperma* و *P. cambivora* و ویروانس بیشتری روی پایه محلب دارند. ویلکوکس و میرستیچ (23) بیماری‌زایی هفت گونه فیتوفتورا شامل *P. cambivora*، *P. megasperma*، *P. citricola*، *P. cryptogea* و *P. cinnamomi* را روی پایه‌های محلب و مازارد گزارش می‌کنند. بیلین و جونز (4) بیماری‌زایی 5 گونه فیتوفتورا شامل *P. cambivora* و *P. cryptogea* با علائم بیماری‌زایی شدید، *P. megasperma* با علائم پوسیدگی ریشه، *P. cactorum* با علائم پوسیدگی ضعیف ریشه ولی همراه با شانکرهای بزرگ روی ساقه در محل پیوند و *P. syringae* با علائم شانکر را روی پایه محلب، گزارش کردند.

بر اساس بررسی‌هایی که در نقاط مختلف دنیا انجام پذیرفته است به نظر می‌رسد که هلو، زردآلو، بادام، گیلاس و آلبالو به طور کلی به گونه‌های مختلف فیتوفتورا حساس بوده و آلو تا حدودی مقاوم است (10). النا و تسپوری‌دیس (7) ساقه 14 رقم درختان میوه‌ی هسته‌دار دوساله را با *P. citrophthora*، *P. cactorum* و *P. megasperma* تلقیح کردند، بر اساس میزان گسترش قارچ در چوب و طول زخم ایجاد شده یک رقم مقاوم، پنج رقم کمی حساس، دو رقم حساس و شش رقم بسیار حساس بودند. تومیدیس و همکاران (20) بیماری‌زایی گونه‌های *P. cactorum* و *P. syringae* جداسازی شده از بادام و *P. citrophthora* را از مرکبات روی پایه‌های مختلف هلو، آلو و گیلاس نشان دادند، آنها در ارزیابی مقاومت پایه‌های هلو به پوسیدگی ریشه، طوقه و یقه از روش زیست‌سنجی روی شاخه‌های بریده برای

ارزیابی مقاومت به پوسیدگی طوقه و ریشه ناشی از *P. cactorum* و *P. megasperma* و از روش اندازه‌گیری طول نسبی زخم‌ها به عنوان معیار ارزیابی مقاومت استفاده می‌کند. تومیدیس و سوتیروپلاس (22) بیماری‌زایی 11 گونه فیتوفتورا را روی پایه CAB-6P گیلاس ارزیابی کردند. جدایه‌های *P. citricola*، *P. nicotianae*، *P. citrophthora*، *P. cryptogea* و *P. cactorum* در همه روش‌های آزمون بیماری‌زایی روی پایه فوق بیماری‌زا بودند و گونه‌های *P. erythroseptica*، *P. capsici* و *P. cambivora* روی پوست تنه پایه فوق بیماری‌زا نبودند. اگزا‌داتیلو و تومیدیس (8) حساسیت 5 پایه گیزلا و 14 پایه ماکسمای گیلاس را به *P. citricola*، *P. parasitica*، *P. citrophthora* و *P. cactorum* ارزیابی و گزارش کردند، تمامی گونه‌های فیتوفتورا روی همه پایه‌ها بیماری‌زا بودند. تومیدیس و همکاران (21) حساسیت 30 ژنوتیپ گیلاس نسبت به *P. cactorum*، *P. citrophthora*، *P. citricola* و *P. parasitica* را با انجام دو روش آزمایشگاهی (سرشاخه بریده و شاخه بریده) و یک روش گلخانه‌ای (مایه‌زنی ساقه) بررسی کردند و در هر سه آزمایش طول زخم به عنوان معیار حساسیت در نظر گرفته شد.

در خصوص انتخاب پایه‌های گیلاس مقاوم یا متحمل به فیتوفتورا، در کشور مطالعات کاملی انجام نشده است. به منظور معرفی پایه‌های مناسب گیلاس جهت کاشت در مناطق مختلف کشور، نیاز به ارزیابی میزان مقاومت یا تحمل پایه‌های فوق‌الذکر به برخی گونه‌های فیتوفتورا بود. لذا این تحقیق با هدف ارزیابی میزان حساسیت 30 ژنوتیپ پاکوتاه محلب به چهار گونه‌ی *P. nicotianae*، *P. citricola*، *P. cactorum* و *P. citrophthora* براساس سابقه بیماری‌زایی آنها روی درختان میوه هسته‌دار، بر مبنای این فرضیه که مقاومت نسبی به این گونه‌های فیتوفتورا در بین ژنوتیپ‌های پاکوتاه محلب سازگار به شرایط محیطی کشور وجود دارد و می‌توانند به عنوان پایه‌های مقاوم به بیماری پوسیدگی طوقه معرفی شوند، انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق عکس‌العمل 30 ژنوتیپ پاکوتاه محلب (188، 171، 165، 162، 161، 155، 139، 136، 131، 120، 106، 104، 101، 100، 90، 194، 195، 199، 200، 224، 228، 247، 249، 265، 266، 267، 270، 272، 277) به بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه ناشی از چهار گونه فیتوفتورا (*P. citricola*، *P. nicotianae*، *P. citrophthora* و *P. cactorum*) در گلخانه و باغ ارزیابی شدند. آزمایش گلخانه‌ای برای ارزیابی ژنوتیپ‌ها (نهال‌های یکساله) در قالب طرح کاملاً تصادفی با 30 تیمار (ژنوتیپ) و 5 تکرار برای هر گونه فیتوفتورا به تفکیک انجام شد. تهیه مایه تلقیح و آلوده‌سازی گلدان‌ها

و منابع طبیعی طرق (مشهد) با بافت خاک سیلتی لوم، با دور آبیاری 20 روز و سیستم آبیاری جوی و پشته از اسفندماه 1392 اجرا شد. ارزیابی ژنوتیپ‌ها بر اساس روش تومیدیس (19) در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با 5 تکرار و 30 ژنوتیپ برای چهار گونه فیتوفتورا به تفکیک انجام شد. نهال‌های دوساله هر ژنوتیپ در گلخانه تکثیر و در اواخر اسفندماه و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در زمین اصلی به تعداد بیشتری کاشته شدند (به دلیل احتمال خطا در عدم استقرار) و در تیرماه سال بعد (1393) نهال‌هایی با قطر تنه تقریباً یکسان انتخاب و حدود ده سانتی‌متری زیر خاک و زیر پوست آنها یک دیسک 5 میلی‌متری از هیف یک گونه فیتوفتورا مایه‌زنی شد روی زخم‌های بوجود آمده برای جلوگیری از خشک شدن با کمک ژله های صنعتی پوشانده و 60 روز بعد سطح منطقه نکروزه (سطح محل تغییررنگ یافته پوست به صورت یک مربع مستطیل در نظر گرفته شد) اندازه‌گیری شد. چهار نهال برای هر گونه فیتوفتورا در هر بلوک تلقیح و یک نهال نیز به عنوان شاهد مورد ارزیابی قرار گرفت. از روش جفرز و مارتین (11) و محیط انتخابی PARR (پیمارسین 10 میلی گرم، آمپی‌سیلین 250 میلی گرم، ریفامپیسین 10 میلی گرم و پنتاکلرونیترو بنزن 100 میلی گرم در یک لیتر محیط ذرت آگار) برای جداسازی مجدد قارچ استفاده شد و ارزیابی آلودگی بر اساس روش تومیدیس (19) با اندازه گیری وسعت منطقه نکروزه به شکل زیر انجام شد:

نهال‌های بدون زخم	صفر
نهال‌هایی با سطح نکروزه کمتر از 3 سانتی‌متر مربع	یک
نهال‌هایی با سطح نکروزه بین 3-5 سانتی‌متر مربع	دو
نهال‌هایی با سطح نکروزه بین 5-8 سانتی‌متر مربع	سه
نهال‌های مرده	چهار

نتایج

نتایج ارزیابی عکس‌العمل نهال‌های یک ساله ژنوتیپ‌های

محبوب به چهار گونه فیتوفتورا در گلخانه

نتایج به دست آمده از ارزیابی عکس‌العمل نهال‌های یک ساله ژنوتیپ‌های پاکوتاه محلب به چهار گونه فیتوفتورا در گلخانه نشان داد، هر چهار گونه فیتوفتورا مورد استفاده در این تحقیق روی ژنوتیپ های محلب بیماری‌زا بودند. نتایج تجزیه واریانس این ارزیابی نشان داد که بین چهار گونه تفاوت در بیماری‌زایی وجود دارد و دو گونه *P. citricola* و *P. cactorum* از دو گونه *P. citrophthora* و *P. nicotianae* ویرولانسی بیشتری داشتند (جدول 1).

بر اساس روش ریبیرو و بائومر (16) و تغییر یافته آن (9) انجام شد. بر اساس این روش برای تولید اینوکولوم، ده دیسک از کلنی چهار روزه گونه‌های فیتوفتورا رشد یافته روی محیط ذرت آگار به تفکیک از هیف هر گونه به قطر 5 میلی‌متر برداشته و به ظروف پتری حاوی محیط رقیق شده هویج آگار اضافه گردید و در دمای 25 درجه سانتی‌گراد تحت شرایط نور دائم فلوئورسنت برای 24 ساعت نگهداری و بعد از این مدت محیط هویج آگار با آب مقطر استریل برای تحریک به تولید زئوسپور تعویض گردید. در ادامه این ظروف پتری برای مدت 48 ساعت در دمای 25 درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری و 15 دقیقه پیش از آماده‌سازی سوسپانسیون پروپاگول، برای رهاسازی زئوسپور در دمای 12-10 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس محتویات داخل هر ظرف پتری به ارلن‌مایر 500 میلی‌لیتری استریل منتقل و حجم کل با آب مقطر سرد به 300 میلی‌لیتر رسانده شد به نحوی که جمعیت زئوسپور متحرک 1×10^4 در هر میلی‌لیتر بود. محتویات هر ارلن‌مایر به دو بخش 150 میلی‌لیتری سوسپانسیون تقسیم و در هر گلدان پلاستیکی (قطر دهانه 30 سانتی متر حاوی خاک برگ، ماسه و خاک رس استریل به نسبت مساوی) دارای یک گیاه در مرحله 6-8 برگی، (حاوی نهال یک‌ساله هر ژنوتیپ و در گلخانه در روی سکو نگهداری و در فواصل منظم آبیاری و با محلول غذایی یکسان تغذیه می‌شدند) در فاصله زمانی یک ساعت تلقیح شدند، گلدان شاهد نیز با همین حجم آب مقطر استریل تلقیح شد. روز بعد در هر گلدان هشت سوراخ به عمق 10 سانتی‌متر برای تسهیل نفوذ سوسپانسیون اسپور در بستر گلدان‌ها ایجاد و گلدان‌ها به طور منظم به روش غرقابی آبیاری و در دمای 25-28 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. 60 روز بعد از تلقیح گیاهان آلوده و گیاهان شاهد از گلدان‌های پلاستیکی خارج و به دقت زیر شیر آب شستشو داده شدند. برای ارزیابی عکس‌العمل ژنوتیپ‌های پاکوتاه محلب، از پنج مقیاس زیر برای ارزیابی شاخص شدت بیماری برای هر ژنوتیپ بر اساس روش بردبنت و گولونو (5) استفاده شد.

- 1 بدون علائم بیماری و بدون کاهش رشد
- 2 بدون کاهش رشد همراه با علائم بیماری
- 3 کاهش رشد 10-30 درصد
- 4 کاهش رشد 31-50 درصد
- 5 کاهش رشد شدید (بالای 50 درصد)

علاوه بر این، برخی ویژگی‌های کمی اندام‌های هوایی شامل تعداد برگ (قبل و بعد از تلقیح)، زیرزمینی شامل وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه گیاه، و وزن تر اندام هوایی و ریشه نیز اندازه‌گیری شدند.

آزمایش باغی در قطعه زمینی واقع در ایستگاه تحقیقات کشاورزی

جدول 1- تجزیه واریانس اثر چهار گونه فیتوفتورا بر 30 ژنوتیپ محلب بر روی شاخص شدت بیماری، تعداد برگ، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی شاخسار در گلخانه

Table 1- Variance analysis for the effects of four species of *Phytophthora* on 30 genotypes infection rate, number of leaves, root and shoot dry weight in greenhouse

گونه قارچ Fungi species	منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df.	شدت آلودگی Infection rate	تعداد برگ Number of leaves	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight
<i>P.cactorum</i>	ژنوتیپ Genotype	29	**0.99	**7.58	**4.59	**4.18
	خطا Error	90	0.38	1/63	1.02	0.85
<i>P.citrophthora</i>	ژنوتیپ Genotype	29	*0.70	**12.01	**8.47	**6.13
	خطا Error	90	0.43	2.17	1.25	1.12
<i>P.citricola</i>	ژنوتیپ Genotype	29	**0.93	**6.65	**6.16	**4.95
	خطا Error	90	0.27	1.82	0.94	0.90
<i>P.nicotianae</i>	ژنوتیپ Genotype	29	*0.99	**7.66	**9.48	**7.00
	خطا Error	90	0.59	1.73	2.69	1.51

** و *: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال 1 و 5 درصد

*and **: Significant at 5% and 1% level



شکل 1- علائم پوسیدگی ریشه‌ی نهال مایه‌زنی شده ژنوتیپ 100 با *P. citricola* (سمت راست) در مقایسه با شاهد در گلخانه (سمت چپ)
Figure 1- Symptom of inoculated genotype 100 seedling root rot with *P.citricola* (right) and Control (left) in greenhouse

100، 188، 199، 200، 224 و 266 با میانگین یک بود و از این نظر این ژنوتیپ‌ها، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با یکدیگر نداشتند (جدول 2).

در این آزمون بیشترین تعداد برگ در خاتمه آزمایش نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 199 با میانگین 9/5 برگ شمارش شد و از این نظر این ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ 100 نداشت. کمترین تعداد برگ نیز با میانگین 4 عدد برگ متعلق به ژنوتیپ‌های 272 و 277 بود و از این نظر این ژنوتیپ‌ها، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با یکدیگر نداشتند (جدول 2).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین شاخص شدت بیماری، تعداد برگ، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی شاخسار در گلخانه در این آزمایش نیز به شرح ذیل به دست آمد که در ادامه به آنها اشاره می‌شود.

الف: گونه *P. cactorum*

در آزمون ارزیابی عکس‌العمل نهال‌های ژنوتیپ‌های محلب یک ساله در گلخانه بیشترین میزان آلودگی نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 277 با میانگین شاخص شدت بیماری 2/75 ارزیابی شد و کمترین شاخص شدت بیماری نسبت به گونه فوق نیز متعلق به ژنوتیپ‌های

ساله در گلخانه بیشترین میزان بیماری نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 265 با میانگین شاخص شدت بیماری 2/75 ارزیابی شد و از این نظر این ژنوتیپ، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ 277 نداشت. کمترین شاخص شدت بیماری نسبت به گونه فوق نیز متعلق به ژنوتیپ‌های 100، 162، 171، 188، 199، 200 و 224 با میانگین یک بود و از این نظر این ژنوتیپ‌ها، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با یکدیگر نداشتند (جدول 2).

در این آزمون بیشترین تعداد برگ در خاتمه آزمایش نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 100 با میانگین 10 برگ شمارش شد و از این نظر این ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ 199 نداشت. کمترین تعداد برگ نیز با میانگین 1/8 عدد برگ متعلق به ژنوتیپ‌های 272 و 277 بود و از این نظر این ژنوتیپ‌ها، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با یکدیگر نداشتند (جدول 2).

در این آزمون کمترین میزان وزن خشک اندام‌های هوایی نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 272 با میانگین 1/8 گرم اندازه‌گیری شد و از این نظر این ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ 277 نداشت. بیشترین میزان وزن خشک اندام‌های هوایی نیز با میانگین 7/25 گرم متعلق به ژنوتیپ 100 بود (جدول 2).

در این آزمون کمترین میزان وزن خشک ریشه نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 277 با میانگین 1/6 گرم اندازه‌گیری شد و از این نظر این ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ‌های 131، 20، 249، 265، 267، 272 و 277 نداشت. بیشترین میزان وزن خشک ریشه با میانگین 6 گرم نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 100 اندازه‌گیری شد (جدول 2).

د: *P.nicotianae*

در آزمون ارزیابی عکس‌العمل نهال‌های ژنوتیپ‌های محلب یک ساله در گلخانه بیشترین میزان بیماری نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 120 با میانگین شاخص شدت بیماری 2/75 ارزیابی شد و از این نظر این ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ‌های 272 و 277 نداشت. کمترین شاخص شدت بیماری نسبت به گونه فوق نیز متعلق به ژنوتیپ‌های 188 و 199 با میانگین یک بود و از این نظر این ژنوتیپ‌ها، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با یکدیگر نداشتند (جدول 2).

در این آزمون بیشترین تعداد برگ در خاتمه آزمایش نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 100 با میانگین 11/5 برگ شمارش شد. کمترین تعداد برگ نیز با میانگین 5 عدد برگ متعلق به ژنوتیپ‌های 272 و 277 بود و از این نظر این ژنوتیپ‌ها، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با یکدیگر نداشتند (جدول 2).

در این آزمون کمترین میزان وزن خشک اندام‌های هوایی نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 277 با میانگین 1/5 گرم اندازه‌گیری شد و از این نظر این ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ 272 نداشت. بیشترین میزان وزن خشک اندام‌های هوایی نیز با میانگین 5/82 گرم متعلق به ژنوتیپ 100 بود و از این نظر این ژنوتیپ، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ‌های 155، 188، 199 و 266 نداشت (جدول 2).

در این آزمون کمترین میزان وزن خشک ریشه نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 277 با میانگین 1/42 گرم اندازه‌گیری شد و از این نظر این ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ 272 نداشت. بیشترین میزان وزن خشک ریشه با میانگین 4/87 گرم نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 100 اندازه‌گیری شد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ ژنوتیپ‌های 188 و 199 نداشت (جدول 2).

ب: گونه *P. citrophthora*

در آزمون ارزیابی عکس‌العمل نهال‌های ژنوتیپ‌های محلب یک ساله در گلخانه بیشترین میزان بیماری نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 265 با میانگین شاخص شدت بیماری 2/5 ارزیابی شد و از این نظر این ژنوتیپ، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ 90 نداشت. کمترین شاخص شدت بیماری نسبت به گونه فوق نیز متعلق به ژنوتیپ‌های 100، 188، 194 و 199 با میانگین یک بود و از این نظر این ژنوتیپ‌ها، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با یکدیگر نداشتند (جدول 2).

در این آزمون بیشترین تعداد برگ در خاتمه آزمایش نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 188 با میانگین 11/75 برگ شمارش شد و از این نظر این ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ 100 و 199 نداشت. کمترین تعداد برگ نیز با میانگین 5 عدد برگ متعلق به ژنوتیپ 249 بود (جدول 2).

در این آزمون کمترین میزان وزن خشک اندام‌های هوایی نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 249 با میانگین 1/5 گرم اندازه‌گیری شد و از این نظر این ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ 106 نداشت. بیشترین میزان وزن خشک اندام‌های هوایی نیز با میانگین 9/25 گرم متعلق به ژنوتیپ 100 بود (جدول 2).

در این آزمون کمترین میزان وزن خشک ریشه نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 265 با میانگین 1/5 گرم اندازه‌گیری شد و بیشترین میزان وزن خشک ریشه نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 100 با میانگین 7/62 گرم اندازه‌گیری شد (جدول 2).

ج: *P.citricola*

در آزمون ارزیابی عکس‌العمل نهال‌های ژنوتیپ‌های محلب یک

جدول ۲ - مقایسه میانگین اثر چهار گونه فیتوفتورا بر ۳۰ ژنوتیپ پانکاه صلب بر روی شاخص شدت بیماری، تعداد برگ، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی شناختار در گلخانه

ژنوتیپ Genotype	<i>P. nicotianae</i>										<i>P. citricola</i>										<i>P. cactorum</i>														
	وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک		وزن خشک				
	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight	ریشه Root dry weight	اندام Shoot dry weight			
90	2.10gh	3.95cde	1.92ef	2.70fgh	1.50cd	2.20de	2.95de	2.75cde	2.25ab	3.12bcdef	2.25ab	6.25bcd	1.50cd	2.20de	2.95de	2.75cde	2.25ab	3.12bcdef	2.25ab	6.25bcd	1.50cd	2.20de	2.95de	2.75cde	2.25ab	3.12bcdef	2.25ab	6.25bcd	1.50cd	2.20de	2.95de	2.75cde	2.25ab	3.12bcdef	
100	7.87a	11.50a	6.00a	7.25a	1.00d	7.62a	9.25a	4.87a	1.00c	4.87a	1.00c	11.50a	1.00d	7.62a	9.25a	4.87a	1.00c	4.87a	1.00c	11.50a	1.00d	7.62a	9.25a	4.87a	1.00c	4.87a	1.00c	11.50a	1.00d	7.62a	9.25a	4.87a	1.00c	4.87a	
101	2.52efgh	3.02cde	2.90cdef	2.92efgh	1.50cd	1.82de	2.55de	2.75cde	1.50cd	2.75cde	1.50cd	7.25bcd	1.50cd	1.82de	2.55de	2.75cde	1.50cd	2.75cde	1.50cd	7.25bcd	1.50cd	1.82de	2.55de	2.75cde	1.50cd	2.75cde	1.50cd	7.25bcd	1.50cd	1.82de	2.55de	2.75cde	1.50cd	2.75cde	
104	2.70defgh	2.55de	2.82cdef	3.30defgh	1.25cd	0.12cde	3.65de	2.67cde	1.50abc	2.45defg	1.50abc	6.50cdef	1.25cd	0.12cde	3.65de	2.67cde	1.50abc	2.45defg	1.50abc	6.50cdef	1.25cd	0.12cde	3.65de	2.67cde	1.50abc	2.45defg	1.50abc	6.50cdef	1.25cd	0.12cde	3.65de	2.67cde	1.50abc	2.45defg	
106	4.70bcd	4.95bcd	2.65cdef	1.87gh	1.75bcd	2.17de	2.22e	1.92de	2.25ab	2.32efg	2.25ab	5.50cd	1.75bcd	2.17de	2.22e	1.92de	2.25ab	2.32efg	2.25ab	5.50cd	1.75bcd	2.17de	2.22e	1.92de	2.25ab	2.32efg	2.25ab	5.50cd	1.75bcd	2.17de	2.22e	1.92de	2.25ab	2.32efg	
120	3.95bcdefg	4.37bcde	2.05ef	2.37gh	1.75bcd	2.75cde	2.62de	2.62de	1.75abc	2.62defg	1.75abc	6.25bcd	1.75bcd	2.75cde	2.62de	2.62de	1.75abc	2.62defg	1.75abc	6.25bcd	1.75bcd	2.75cde	2.62de	2.62de	1.75abc	2.62defg	1.75abc	6.25bcd	1.75bcd	2.75cde	2.62de	2.62de	1.75abc	2.62defg	
131	2.32efgh	2.65cde	1.72f	2.25gh	1.50cd	1.92de	2.42de	2.10de	1.87fgh	2.10de	1.87fgh	6.50cdef	1.50cd	1.92de	2.42de	2.10de	1.87fgh	2.10de	1.87fgh	6.50cdef	1.50cd	1.92de	2.42de	2.10de	1.87fgh	2.10de	1.87fgh	6.50cdef	1.50cd	1.92de	2.42de	2.10de	1.87fgh	2.10de	1.87fgh
136	2.75defgh	2.85cde	2.90cdef	2.85fgh	1.50cd	2.52cde	2.87de	2.50cde	1.75abc	3.92abcd	1.75abc	5.75cd	1.50cd	2.52cde	2.87de	2.50cde	1.75abc	3.92abcd	1.75abc	5.75cd	1.50cd	2.52cde	2.87de	2.50cde	1.75abc	3.92abcd	1.75abc	5.75cd	1.50cd	2.52cde	2.87de	2.50cde	1.75abc	3.92abcd	
139	2.35fgh	2.80cde	1.95ef	2.47fgh	1.50cd	2.12de	2.55de	2.42de	1.25bc	1.85fgh	1.25bc	7.50cd	1.50cd	2.12de	2.55de	2.42de	1.25bc	1.85fgh	1.25bc	7.50cd	1.50cd	2.12de	2.55de	2.42de	1.25bc	1.85fgh	1.25bc	7.50cd	1.50cd	2.12de	2.55de	2.42de	1.25bc	1.85fgh	
155	4.2bcdef	4.37bcde	1.25bc	4.02bcd	1.25cd	3.50cd	3.67de	3.67de	1.25bc	3.70abcd	1.25bc	8.50b	1.25cd	3.50cd	3.67de	3.67de	1.25bc	3.70abcd	1.25bc	8.50b	1.25cd	3.50cd	3.67de	3.67de	1.25bc	3.70abcd	1.25bc	8.50b	1.25cd	3.50cd	3.67de	3.67de	1.25bc	3.70abcd	
161	4.95bc	5.50bc	2.00abc	2.67cdef	1.75bcd	2.22de	2.65de	2.82cde	1.75abc	2.40efg	1.75abc	7.25bcd	1.75bcd	2.22de	2.65de	2.82cde	1.75abc	2.40efg	1.75abc	7.25bcd	1.75bcd	2.22de	2.65de	2.82cde	1.75abc	2.40efg	1.75abc	7.25bcd	1.75bcd	2.22de	2.65de	2.82cde	1.75abc	2.40efg	
162	4.10bcdefg	4.27bcde	3.87bcd	4.72bcd	1.00d	3.25cde	3.65de	4.15bc	1.25bc	4.25ab	1.25bc	7.25bcd	1.25bc	3.25cde	3.65de	4.15bc	1.25bc	4.25ab	1.25bc	7.25bcd	1.25bc	3.25cde	3.65de	4.15bc	1.25bc	4.25ab	1.25bc	7.25bcd	1.25bc	3.25cde	3.65de	4.15bc	1.25bc	4.25ab	
165	2.50efgh	3.27cde	2.42cdef	3.02efgh	1.50cd	2.12de	2.50de	2.50de	1.75abc	1.87fgh	1.75abc	5.75cd	1.50cd	2.12de	2.50de	2.50de	1.75abc	1.87fgh	1.75abc	5.75cd	1.50cd	2.12de	2.50de	2.50de	1.75abc	1.87fgh	1.75abc	5.75cd	1.50cd	2.12de	2.50de	2.50de	1.75abc	1.87fgh	
171	4.50bcde	4.27bcde	2.25abc	3.42cde	1.00d	3.50cd	4.20cd	2.22de	1.50abc	2.25efg	1.50abc	7.75bcd	1.00d	3.50cd	4.20cd	2.22de	1.50abc	2.25efg	1.50abc	7.75bcd	1.00d	3.50cd	4.20cd	2.22de	1.50abc	2.25efg	1.50abc	7.75bcd	1.00d	3.50cd	4.20cd	2.22de	1.50abc	2.25efg	
188	4.65bcd	5.50bc	3.90bcd	4.47bcde	1.00d	4.22bc	5.55bc	4.97ab	1.00c	4.42ab	1.00c	11.75a	1.00d	4.22bc	5.55bc	4.97ab	1.00c	4.42ab	1.00c	11.75a	1.00d	4.22bc	5.55bc	4.97ab	1.00c	4.42ab	1.00c	11.75a	1.00d	4.22bc	5.55bc	4.97ab	1.00c	4.42ab	
194	2.90cdefgh	3.40cde	2.67cdef	2.82fgh	1.50cd	3.07cde	3.50de	2.82cde	1.00c	2.35efg	1.00c	7.00bcd	1.50cd	3.07cde	3.50de	2.82cde	1.00c	2.35efg	1.00c	7.00bcd	1.50cd	3.07cde	3.50de	2.82cde	1.00c	2.35efg	1.00c	7.00bcd	1.50cd	3.07cde	3.50de	2.82cde	1.00c	2.35efg	
195	2.82defgh	3.37cde	2.57cdef	2.87fgh	1.50cd	1.95de	2.25de	2.47cde	2.00abc	2.07fgh	2.00abc	5.25cd	1.50cd	1.95de	2.25de	2.47cde	2.00abc	2.07fgh	2.00abc	5.25cd	1.50cd	1.95de	2.25de	2.47cde	2.00abc	2.07fgh	2.00abc	5.25cd	1.50cd	1.95de	2.25de	2.47cde	2.00abc	2.07fgh	
199	4.00bcdefg	5.12bcd	5.30ab	5.80b	1.00d	5.55b	6.05b	4.80ab	1.00c	4.40ab	1.00c	10.75a	1.00d	5.55b	6.05b	4.80ab	1.00c	4.40ab	1.00c	10.75a	1.00d	5.55b	6.05b	4.80ab	1.00c	4.40ab	1.00c	10.75a	1.00d	5.55b	6.05b	4.80ab	1.00c	4.40ab	
200	2.97cdefgh	4.42bcde	1.25bc	1.75f	1.25bc	1.95de	2.70de	2.62cde	1.75abc	1.75fgh	1.75abc	6.50bcd	1.25bc	1.95de	2.70de	2.62cde	1.75abc	1.75fgh	1.75abc	6.50bcd	1.25bc	1.95de	2.70de	2.62cde	1.75abc	1.75fgh	1.75abc	6.50bcd	1.25bc	1.95de	2.70de	2.62cde	1.75abc	1.75fgh	
224	2.72defgh	2.87cde	3.00cdef	3.50defg	1.00d	2.25de	2.97de	3.50bcd	1.25bc	3.00bcdefg	1.25bc	7.75bc	1.00d	2.25de	2.97de	3.50bcd	1.25bc	3.00bcdefg	1.25bc	7.75bc	1.00d	2.25de	2.97de	3.50bcd	1.25bc	3.00bcdefg	1.25bc	7.75bc	1.00d	2.25de	2.97de	3.50bcd	1.25bc	3.00bcdefg	
228	2.45efgh	3.02cde	2.97cdef	2.80fgh	1.25cd	2.72cde	2.70de	2.80bcd	1.50abc	2.97bcdefg	1.50abc	6.75bcd	1.25cd	2.72cde	2.70de	2.80bcd	1.50abc	2.97bcdefg	1.50abc	6.75bcd	1.25cd	2.72cde	2.70de	2.80bcd	1.50abc	2.97bcdefg	1.50abc	6.75bcd	1.25cd	2.72cde	2.70de	2.80bcd	1.50abc	2.97bcdefg	
247	1.77h	2.20e	1.85ef	2.12gh	2.00abc	2.02de	2.25de	2.25de	2.00abc	1.85fgh	2.00abc	6.00bcd	2.00abc	2.02de	2.25de	2.25de	2.00abc	1.85fgh	2.00abc	6.00bcd	2.00abc	2.02de	2.25de	2.25de	2.00abc	1.85fgh	2.00abc	6.00bcd	2.00abc	2.02de	2.25de	2.25de	2.00abc	1.85fgh	
249	2.00gh	2.35de	1.75f	2.32gh	1.75bcd	1.75de	2.10e	2.32de	2.00abc	1.75fgh	2.00abc	5.00d	1.75bcd	1.75de	2.10e	2.32de	2.00abc	1.75fgh	2.00abc	5.00d	1.75bcd	1.75de	2.10e	2.32de	2.00abc	1.75fgh	2.00abc	5.00d	1.75bcd	1.75de	2.10e	2.32de	2.00abc	1.75fgh	
265	1.70h	2.22e	1.77f	2.50fgh	2.75a	1.50e	2.37de	2.85cde	2.50a	2.05fgh	2.50a	5.25cd	2.75a	1.50e	2.37de	2.85cde	2.50a	2.05fgh	2.50a	5.25cd	2.75a	1.50e	2.37de	2.85cde	2.50a	2.05fgh	2.50a	5.25cd	2.75a	1.50e	2.37de	2.85cde	2.50a	2.05fgh	
266	5.05b	6.72b	4.25bc	5.02bc	1.00b	3.30cde	3.92cde	4.72ab	1.50abc	4.15abc	1.50abc	6.75bcd	1.00b	3.30cde	3.92cde	4.72ab	1.50abc	4.15abc	1.50abc	6.75bcd	1.00b	3.30cde	3.92cde	4.72ab	1.50abc	4.15abc	1.50abc	6.75bcd	1.00b	3.30cde	3.92cde	4.72ab	1.50abc	4.15abc	
267	2.12fgh	2.70cde	1.67f	2.47fgh	2.50ab	2.25de	2.82de	2.47cde	2.00abc	1.75fgh	2.00abc	6.75bcd	2.50ab	2.25de	2.82de	2.47cde	2.00abc	1.75fgh	2.00abc	6.75bcd	2.50ab	2.25de	2.82de	2.47cde	2.00abc	1.75fgh	2.00abc	6.75bcd	2.50ab	2.25de	2.82de	2.47cde	2.00abc	1.75fgh	
268	2.27fgh	2.77cde	1.87ef	2.67fgh	1.75bcd	2.82cde	2.95de	3.30de	1.50abc	1.57fgh	1.50abc	6.75bcd	1.75bcd	2.82cde	2.95de	3.30de	1.50abc	1.57fgh	1.50abc	6.75bcd	1.75bcd	2.82cde	2.95de	3.30de	1.50abc	1.57fgh	1.50abc	6.75bcd	1.75bcd	2.82cde	2.95de	3.30de	1.50abc	1.57fgh	
270	3.90bcdefg	5.15bcd	2.07ef	2.12gh	2.00abc	2.92cde	2.85de	2.12de	2.00abc	1.60fgh	2.00abc	5.50def	2.00abc	2.92cde	2.85de	2.12de	2.00abc	1.60fgh	2.00abc	5.50def	2.00abc	2.92cde	2.85de	2.12de	2.00abc	1.60fgh	2.00abc	5.50def	2.00abc	2.92cde	2.85de	2.12de	2.00abc	1.60fgh	
272	2.87cdefgh	3.42cde	1.62f	1.75h	2.75a	2.00de	2.32de	1.62e	1.75abc	1.50g	1.75abc	6.00bcd	2.75a	2.00de	2.32de	1.62e	1.75abc	1.50g	1.75abc	6.00bcd	2.75a	2.00de	2.32de	1.62e	1.75abc	1.50g	1.75abc	6.00bcd	2.75a	2.00de	2.32de	1.62e	1.75abc	1.50g	
277	3.60bcdefgh	3.37cde	1.60f	1.80h	2.50ab	2.52cde	3.00de	1.50e	2.00abc	1.42g	2.00abc	5.75cd	2.50ab	2.52cde	3.00de	1.50e	2.00abc	1.42g	2.00abc	5.75cd	2.50ab	2.52cde	3.00de	1.50e	2.00abc	1.42g	2.00abc	5.75cd	2.50ab	2.52cde	3.00de	1.50e	2.00abc	1.42g	

میانگین های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند
on the basis Duncan test. Means with the same letter are not significantly different at P≤0.05 level

در این آزمون کمترین میزان وزن خشک اندام‌های هوایی نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 247 با میانگین 2/2 گرم اندازه‌گیری شد و از این نظر این ژنوتیپ، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ 265 نداشت. بیشترین میزان وزن خشک اندام‌های هوایی نیز با میانگین 9/37 گرم متعلق به ژنوتیپ 100 بود (جدول 2).

در این آزمون کمترین میزان وزن خشک ریشه نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 265 با میانگین 1/70 گرم اندازه‌گیری شد و از این نظر این ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با ژنوتیپ 247 نداشت. بیشترین میزان وزن خشک ریشه با میانگین 7/87 گرم نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 100 اندازه‌گیری شد (جدول 2).

ژنوتیپ‌های پاکوتاه محلب به چهار گونه فیتوفتورا در باغ نشان داد، هر چهار گونه فیتوفتورای مورد استفاده در این تحقیق روی ژنوتیپ‌های محلب درجات متفاوتی از علائم بیماری را نشان دادند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که عکس‌العمل نهال‌های دوساله ژنوتیپ‌های محلب در باغ نسبت به این چهار گونه فیتوفتورا متفاوت بوده و از این نظر این ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 5 درصد با یکدیگر دارند (جدول 3) و همچنین بین گونه‌های فیتوفتورا از نظر توانایی در ایجاد علائم بیماری تفاوت وجود دارد و کمترین سطح نکروز ایجاد شده مربوط به *P. cactorum* می‌باشد و از این نظر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد با سه گونه دیگر دارد (جدول 4).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین سطح نکروز طوقه در باغ در این آزمایش نیز به شرح ذیل به دست آمد که در ادامه به آنها اشاره می‌شود (جدول 5).

نتایج ارزیابی عکس‌العمل نهال‌های دو ساله ژنوتیپ‌های محلب به چهار گونه فیتوفتورا در باغ

نتایج به دست آمده از ارزیابی عکس‌العمل نهال‌های دوساله

جدول 3- تجزیه واریانس اثر چهار گونه فیتوفتورا بر میزان سطح نکروز طوقه 30 ژنوتیپ پاکوتاه محلب در باغ
Table 3- Analysis of variance effect of four Phytophthora on necrotic surface crown 30 dwarf genotype Mahaleb in the garden

گونه قارچ Fungi species	منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df.	سطح نکروز طوقه Necrotic surface crown
<i>P.cactorum</i>	تکرار Repeat	3	ns1.65
	ژنوتیپ Genotype	29	2.81**
	خطا Error	87	1.06
<i>P.citrophthora</i>	تکرار Repeat	3	2.33ns
	ژنوتیپ Genotype	29	6.53**
	خطا Error	87	1.24
<i>P.citricola</i>	تکرار Repeat	3	ns2.23
	ژنوتیپ Genotype	29	6.23**
	خطا Error	87	1.02
<i>P.nicotianae</i>	تکرار Repeat	3	3.6ns
	ژنوتیپ Genotype	29	**5.70
	خطا Error	87	1.16

ns: Significant at 1% level and non significant; **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح 1 درصد و **

جدول 4- نتایج تجزیه واریانس اثر گونه قارچ و ژنوتیپ بر سطح نکروز طوقه 30 ژنوتیپ پا کوتاه محلب در باغ

Table 4- Analysis of variance effect of fungi species and genotype on necrotic surface crown 30 dwarf genotype Mahaleb in the garden

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df.	سطح نکروز طوقه Necrotic surface crown
تکرار Repeat	3	ns 3.37
گونه قارچ (A) Species Fungi	3	70.34**
خطای اصلی Main error	9	2.14
ژنوتیپ (B) Genotype	29	7.18**
B × A	87	4.70**
خطای فرعی Sub error	148	1.12

: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح 1 درصد ** و ns

**and ns: Significant at 1% level and non significant

الف: گونه *P. cactorum*
در آزمون ارزیابی عکس العمل نهال های ژنوتیپ های دو ساله محلب در باغ، بیشترین میزان سطح نکروز طوقه نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 267 با میانگین 3/53 سانتی متر مربع اندازه گیری شد و از این نظر این ژنوتیپ، با ژنوتیپ 195 اختلاف معنی داری در سطح احتمال 5 درصد نداشت (جدول 5).

د: گونه *P. nicotianae*

در آزمون ارزیابی عکس العمل نهال های ژنوتیپ های دو ساله محلب در باغ، بیشترین میزان سطح نکروز طوقه نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 272 با میانگین 4/67 سانتی متر مربع اندازه گیری شد و از این نظر این ژنوتیپ، با ژنوتیپ های 194، 199 و 268 اختلاف معنی داری در سطح احتمال 5 درصد نداشت و کمترین میزان سطح نکروز طوقه نسبت به گونه فوق نیز متعلق به ژنوتیپ 188 با میانگین 0/54 سانتی متر مربع بود و از این نظر این ژنوتیپ، با ژنوتیپ 139 و 106 اختلاف معنی داری در سطح احتمال 5 درصد نداشت (جدول 5).

بحث و نتیجه گیری

محب از نظر خصوصیات باغبانی پایه مهمی برای گیلان و آلبالو به شمار می آید و بهترین پایه برای باغداران ایرانی محسوب می شود. این پایه در خاک های سبک، آهکی و سنگلاخی و آب و هوای خنک و اقیانوسی که پایه گیلان سازگاری خوبی ندارد، از سازگاری خوبی برخوردار است. این پایه همچنین متحمل به کلروز ناشی از کمبود آهن در خاک های آهکی و هم چنین کمبود روی می باشد و ریشه های آن در دماهای پایین دچار سرمازدگی و یخ زدگی نمی شود.

ب: گونه *P. citrophthora*

در آزمون ارزیابی عکس العمل نهال های ژنوتیپ های دو ساله محلب در باغ، بیشترین میزان سطح نکروز طوقه نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 277 با میانگین 6/45 سانتی متر مربع اندازه گیری شد و کمترین میزان سطح نکروز طوقه نسبت به گونه فوق نیز متعلق به ژنوتیپ 188 با میانگین 0/09 سانتی متر مربع بود و از این نظر این ژنوتیپ، با ژنوتیپ های 100، 120، 199، 200، 224، 228، 247 و 266 اختلاف معنی داری در سطح احتمال 5 درصد نداشت (جدول 5).

ج: گونه *P. citricola*

در آزمون ارزیابی عکس العمل نهال های ژنوتیپ های دو ساله محلب در باغ، بیشترین میزان سطح نکروز طوقه نسبت به گونه فوق در ژنوتیپ 270 با میانگین 7/10 سانتی متر مربع اندازه گیری شد و از این نظر این ژنوتیپ، با ژنوتیپ 272 اختلاف معنی داری در سطح احتمال 5 درصد نداشت و کمترین میزان سطح نکروز طوقه نسبت به

جدول 5- مقایسه میانگین اثر گونه قارچ بر سطح نکروز طوقه 30 ژنوتیپ مختلف محلب در باغ (سانتی متر مربع)

Table 5- Comparison means of effect of four Phytophthora on necrotic surface crown 30 dwarf genotype Mahaleb in the garden

ژنوتیپ Genotype	<i>P. nicotianae</i>	<i>P. citricola</i>	<i>P. citrophthora</i>	<i>P. cactorum</i>
90	1.83defg	2.97defghi	1.11de	1.10 efgh
100	1.77defg	3.44defg	0.76e	1.56 bcdefgh
101	3.05abcde	2.68defghi	1.95bcde	2.11 abcd
104	1.82defg	3.05defgh	1.08de	2.34 abcd
106	1.00fg	2.89defghi	1.00de	2.09 abcdefg
120	3.22abcd	3.89cde	0.61e	0.82 fgh
131	2.93abcde	3.17defgh	1.56cde	1.60 bcdefgh
136	1.27efg	2.95defghi	1.43cde	2.99 abc
139	1.02fg	3.90cd	1.02de	2.33 abcdefg
155	2.87abcde	3.88cde	1.68cde	1.60 bcdefgh
161	3.20abcd	2.93defghi	1.38de	2.34 abcdefg
162	4.43a	2.01fghi	1.90bcde	0.09 h
165	3.10abcde	2.14efghi	1.07de	1.05 efgh
171	2.52bcdef	3.33defg	1.41cde	1.11 efgh
188	0.54g	3.42defg	0.09e	2.14 abcdefg
194	4.56a	2.36defghi	1.23de	2.98 abcd
195	1.58defg	1.58hi	3.62b	3.13 ab
199	4.52a	2.01fghi	0.56e	1.34 cdefgh
200	1.99cdefg	1.81ghi	1.02de	1.62 bcdefgh
224	2.52bcdef	2.01fghi	0.56e	0.58 gh
228	1.63defg	2.52defghi	0.08e	2.51 abcdef
247	3.14abcd	3.25defgh	0.79e	1.19 defgh
249	3.31abcd	3.25defgh	2.80bcd	1.56 bcdefgh
265	2.84abcde	3.05defgh	1.37de	1.59 bcdefgh
266	3.77abc	1.28i	0.08e	2.16 abcdefg
267	3.81abc	2.68defghi	1.03de	3.53 a
268	4.63a	3.65cdef	2.84bcd	1.66 bcdefgh
270	3.90ab	7.10a	1.87bcde	0.61 gh
272	4.67a	6.23ab	3.25bc	2.91 abcd
277	1.67defg	5.06bc	6.45a	2.63 abcde

میانگین های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال 5% بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند
on the basis Duncan test. Means with the same letter are not significantly different at $P \leq 0.05$ level

بین گونه‌های فوق بیماری‌زایی گونه‌های *P. citricola*، *P. syringae*، *P. cactorum*، *P. dreschleri*، *cryptogea*، *P. cambivora* و *P. megasperma*، *cinnammomi* محلب توسط محققین مختلف گزارش شده است (4، 12، 13، 17 و 22). در این تحقیق نیز علاوه بر ارزیابی حساسیت ژنوتیپ‌های محلب بیماری‌زایی گونه *P. nicotianae* در گلخانه و باغ اثبات گردید. بر اساس بررسی‌هایی که در نقاط مختلف دنیا انجام پذیرفته است به نظر می‌رسد که هلو، زردآلو، گیلاس، آلبالو و بادام به طور کلی به گونه‌های مختلف فیتوفتورا حساس بوده و تنها آلو تا حدودی مقاوم است (10).

یکی از روش‌های مهم و اقتصادی مدیریت بیماری‌های خاک‌زاد درختان میوه، استفاده از پایه‌های مقاوم به عامل بیماری است اما عکس‌العمل پایه‌های مختلف به گونه‌های فیتوفتورا متفاوت است و به طور مثال پایه‌های محلب به‌طور معنی‌داری حساس‌تر از پایه‌های

از سوی دیگر با استفاده از پایه‌های پاکوتاه محلب تراکم کشت در باغ افزایش می‌یابد و در نتیجه با افزایش عملکرد در واحد سطح هزینه‌های تولید کاهش می‌یابد، اما محلب با خاک‌های سنگین و مرطوب سازگار نبوده و به پوسیدگی ریشه‌ی ناشی از فیتوفتورا حساس است (13). لذا در این تحقیق 30 ژنوتیپ پاکوتاه محلب بدست آمده از توده بذور بومی محلب در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی از نظر مقاومت به بیماری پوسیدگی ریشه‌ی ناشی از فیتوفتورا مورد ارزیابی قرار گرفتند تا با ارزیابی ژنوتیپ‌های تحت آزمایش، ژنوتیپ‌های با سطح تحمل قابل قبول به بیماری گزینش شوند.

تاکنون بیماری‌زایی گونه‌های *P. citrophthora*، *P. megasperma*، *P. cactorum*، *P. dreschleri*، *cryptogea*، *P. cambivora*، *P. citricola*، *P. cinnammomi*، *P. syringae* و *P. parasitica* از روی هسته‌داران گزارش شده اند (12 و 13) و از

مازارد به فیتوفتورا گزارش شده‌اند (23). در این تحقیق نیز عکس‌العمل ژنوتیپ‌های محلب نسبت به گونه‌های فیتوفتورا متفاوت دیده شد و با توجه به اینکه جدایه‌های فیتوفتورای استفاده شده در این تحقیق از میزبان‌های متفاوتی به جز محلب، جداسازی شده بودند نتایج به دست آمده نشان داد که این گونه‌ها، تخصص میزبانی ندارند و از این نظر در هنگام احداث باغ‌های جدید در محل باغ‌های قدیمی این موضوع به لحاظ مدیریت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه ناشی از این قارچ‌ها می‌بایست مد نظر قرار گیرد.

ارزیابی صفات مورد بررسی ژنوتیپ‌ها در گلخانه نشان داد که ژنوتیپ‌های 100، 155، 162، 171، 188، 194، 199، 200، 224 و 266 کمترین حساسیت را نسبت به گونه‌های *P. citricola*، *P. cactorum* و *P. citrophthora* دارند (جدول 4) و در آزمون مایه‌زنی خاک اطراف منطقه ریشه *P. citrophthora* سریعتر از گونه *P. citricola* علائم بیماری را نشان داد که این امر می‌تواند ناشی از توانایی بیشتر بیماری‌زایی این گونه یا حساسیت بیشتر ژنوتیپ‌های محلب باشد. همچنین نتایج نشان داد که بین این چهار گونه تفاوت، در میزان بیماری‌زایی وجود دارد و گونه‌های *P. citricola* و *P. cactorum* از دو گونه *P. citrophthora* و *P. nicotianae* ویرولانسی بیشتری دارند که این نتیجه با نظر النوا و توسیویریدیس (7) مطابقت دارد، علائم ایجاد شده در گلخانه، روی نهال‌های آلوده به فیتوفتورا با علائمی که توسط میرستیچ و ماترون (13) برای درختان گیلان روی پایه محلب گزارش کردند مطابقت داشت. در نهال‌هایی که مایه‌زنی خاک اطراف ریشه با گونه *P. citrophthora* انجام شده بود علائم ضعف و پژمردگی پس از 10 الی 15 روز ظاهر شدند که با نتایج تحقیق سجادی نژاد و همکاران (17) هماهنگی داشت. نتایج آزمون ارزیابی ژنوتیپ‌ها در باغ نیز نشان داد که کمترین سطح نکرورز بافتی در روی طوقه ژنوتیپ‌ها یا حساسیت به گونه‌های فیتوفتورای مورد بررسی در بین ژنوتیپ‌های 162، 270، 224، 195، 266، 188، 106 و 139 دیده شدند.

اطلاعات کمی در مورد مکانیسم‌های کنترل بیماری‌زایی و تهاجم جدایه‌های مختلف فیتوفتورا روی یک گیاه وجود دارد بنابراین لازم است هنگام استفاده از ارقام متحمل به میزان آلودگی‌های پنهان خاک

نیز توجه نمود، زیرا مطالعات انجام شده نشان داده است که میزان تولید اسپور در بافت‌های ارقام مقاوم با ارقام حساس برابر می‌باشد و با استفاده از ارقام متحمل می‌توان بدون مصرف قارچ‌کش‌ها، از کاهش عملکرد در حد قابل قبول ممانعت کرد (6)، از طرف دیگر به دلیل بروز نژادهای جدید قارچ استفاده از ارقام مقاوم، مناسب‌ترین روش پایدار برای کنترل بیماری در درازمدت محسوب می‌شود البته انتخاب و کاربرد پایه‌های مقاوم به تنهائی، راهکار اجرائی مناسب جهت پیشگیری از بیماری پوسیدگی طوقه در باغات گیلان نیست. علاوه بر انتخاب پایه مقاوم و توجه به شدت تهاجم عامل بیماری، میزان زادمایه اولیه قارچ، محل آلودگی و سن گیاه نیز باید مورد توجه قرار گیرد. همچنین تهیه نهال سالم، استفاده از روش آبیاری قطره‌ای، توجه به عملیات زراعی از جمله غنی‌سازی خاک از مواد آلی جهت تسریع فعالیت آنتاگونیست‌ها، مدیریت این بیماری را آسان می‌کند و از انتشار و فعالیت عوامل پوسیدگی طوقه و ریشه جلوگیری خواهد کرد (21). اما با توجه به این که کنترل شیمیایی این بیماری چندان مؤثر نیست و اثرات زیست محیطی نامناسبی دارد و نیز مصرف کنندگان تمایلی به تغذیه از میوه‌های تیمار شده با مواد شیمیایی ندارند به همین دلایل بهترین روش مبارزه با بیماری پوسیدگی فیتوفتورایی ریشه استفاده از ارقام مقاوم است.

در نهایت نتایج به دست آمده از این تحقیق تا مرحله پیشگزینی، ژنوتیپ‌هایی با درجه حساسیت کمتر نسبت به 4 گونه فیتوفتورا را به دست می‌دهد لذا پیشنهاد می‌شود تحقیقات تکمیلی روی این ژنوتیپ‌ها که صفت باغبانی مناسب‌تری دارند و بیشترین سطح تحمل نسبت به این شبه‌قارچ را نشان دادند، انجام شود.

سپاسگزاری

از آقای دکتر ضیاءالدین بنی‌هاشمی استاد بخش بیماری‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه شیراز به خاطر در اختیار دادن جدایه‌های فیتوفتورا و از آقای مهندس حسن حمیدی محقق مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی برای انجام محاسبات آماری تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- Ahmadi K., Gholizadeh H., Ebadzadeh H., Hoseinpour R., and Hatami F. 2015. Agricultural statistics. Horticultural Products. 3rdEd, Ministry of Agricultural Jihad 147pp.
- Alizadeh A., and Agha-rafiei S.H. 1998. Investigate the causes of mortality stone fruit trees in Tehran. In: Proceeding of 13th Iranian Plant Protection Congress, August 1998.
- Banihashemi Z., and Sartipi A. 2004. Identification of Phytophthora Species Associated with stone fruits crown rot in Fars province and reaction of certain rootstock to *P. cactorum*. Science and Technology of Agricultural and natural Resources 8:241-249.
- Bielenin A., and Jones A.I. 1984. Prevalence and pathogenicity of Phytophthora spp. from Sour Cherry trees in Michigan. Plant Disease 72:433- 476.

- 5- Broadbent P., and Gollnow B.I. 1992. Selecting disease-tolerant citrus rootstocks for Australia. Proc.Int Soc. Citricult. 2:758-764.
- 6- Chitzanidis A., and Stylianidis D.C. 1987. Seasonal fluctuation in extent of colonization of rootstock GF677 by three *Phytophthora* species. In: Programme de recherche Agrimed (Eds), 7e Colloque du Grempa Groupe de recherche et d etude mediterraneen pour le pistachier et l, amandier, Espagne. pp. 87-90. CCE.
- 7- Elena K., and Tsipouridis K. 2000. Evaluation of Resistance of Stone Fruit Rootstocks to *Phytophthora* Crown Rot. *Phytopathology* 148:365-369.
- 8- Exadaktylou E., and Thomidis T. 2005. Susceptibility of Gisela 5 and Maxma 14 cherry rootstocks to four *Phytophthora* species. *Scientia Horticulturae* 106:125-128.
- 9- Feichtenberger E., Zentmeyer G.A., and Menge J.A. 1984. Identity of *Phytophthora* isolated from milkweed vine. *Phytopathology* 17:50-55.
- 10- Holevas C.D., Gavalas N.A., Chitzanidis A., Kouyea H., Tjamos E.C., Pappas A.C., Elena K., Theohari I., Kornarou E., Panagopoulos C.G., Psallidas P.G., Alivizatos A.S., Hudson T., Hartman E.K., and Davies T.F. 1990. Plant propagation principles and practices. 5th ed., Prentice Hall International Inc., New jersey, USA.
- 11- Jeffers S.N., and Martin S.B. 1986. Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. *Plant Disease* 70:1038-1043.
- 12- Matheron M.E., and Mircetich, J.C. 1985. Seasonal variation in susceptibility of *Juglans hindsii* and paradox rootstocks of English walnut trees to *P. citricola*. *Phytopathology* 75:970-972.
- 13- Mircetich M.S., and Matheron M.E. 1976. *Phytophthora* root and crown rot of cherry trees. *Phytopathology* 66:549-558.
- 14- Mozafarian V. 2005. Trees and shrubs of Iran. Published by Farhang Moaser. 1003pp.
- 15- Pandidou M.E. 1973. Fungus-host Index for Greece, 382 pp. Benaki Phytopathological Institute, Athens.
- 16- Ribeiro O.K., and Baumer J.S. 1977. Techniques for sporangia production of *Phytophthora megasperma* isolates *Phytophthora* News letter 5:42-43.
- 17- Sajadinejad M., Ershad J., Mirabolfathi M., and Zamanizadeh H. 2011. Identification of *Phytophthora* species the causing root and crown rot of cherry trees in Tehran province. *Iranian Journal of Plant Pathology* 46:81-88.
- 18- Sharifi H., Bouzari N., and Keshavarz M. 2015. Evaluation of Relative Resistance in Five Stone Fruit Rootstocks to *Phytophthora cactorum* and *P. drechsleri*. *Seed and Plant Improvement Journal* 31:307-323.
- 19- Thomidis T. 2001. Testing variability in pathogenicity of *Phytophthora cactorum*, *P. citrophthora* and *P. syringae* to apple, pear, peach, cherry and plum rootstocks. *Phytoparasitica* 29:47-49.
- 20- Thomidis T., Cullum J., Elena K., and Jeffers S.N. 2001. Relative resistance of four peach rootstocks to *Phytophthora cactorum* and *P. megasperma*. *Phytopathology* 149:599-604
- 21- Thomidis T., Karayiannis I., and Tsipouridis C. 2008. Suceptibility of thirty cherry genotypes on *Phytophthora cactorum*, *P. citrophthora*, *P. citricola* and *P. parasitica*. *Phytopathology* 156:446-451
- 22- Thomidis T., and Sotiropoulos T. 2003. Pathogenicity of 11 *Phytophthora* species on CAB-6P Cherry root stock. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 31:355-360
- 23- Wilcox W.F., and Mircetich S.M. 1985. Pathogenicity and relative virulence of seven *Phytophthora* spp. On Mahlaleb and Mazzard Cherry. *Phytopathology* 75:221- 226.



مقاومت عرضی منفی در توده‌های علف‌هرز دُرَنه (*Echinochloa colona* (L.) Link) مقاوم به آترازین در مزارع نیشکر (*Saccharum officinarum* L.)

الهام الهی فرد^{1*} - نرگس شمشیرگرزاده² - علیرضا ابدالی مشهدی³ - محمدرضا مرادی تلاوت⁴

تاریخ دریافت: 1395/07/10

تاریخ پذیرش: 1396/03/22

چکیده

مقاومت عرضی منفی بر اثر بروز مقاومت به تریازین‌ها در چندین مورد از بایوتایپ‌های مقاوم گزارش شده است؛ به طوری که این پدیده منجر به بروز حساسیت زیاد در این بایوتایپ‌ها نسبت به علف‌کش‌های فنیل اوره و سایر بازدارنده‌های فتوسنتز در فتوسیستم 2 می‌شود. بدین منظور، مقاومت عرضی منفی در توده‌های مقاوم به علف‌کش‌های خانواده تریازین علف‌هرز دُرَنه در مزارع نیشکر کشت و صنعت کارون شوشتر پژوهشی در طی سال‌های 94-1393 با استفاده از آزمایش‌های گلدانی در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش غربال اولیه براساس شاخص‌های اندازه‌گیری شده نشان داد سه توده به علف‌کش آترازین مقاوم بودند. همچنین، نتایج بدست آمده از آزمایش دز - پاسخ بر مبنای شاخص مقاومت توده‌ها نشان داد که توده‌های R1، R2 و R3 به ترتیب با درجاتی بین 12/26، 6/59 و 3/75 بر مبنای وزن تر و 4/22، 5/37 و 4/71 و تعداد گیاهان زنده مانده به علف‌کش آترازین مقاوم بودند. نتایج حاصل از این پژوهش مقاومت عرضی منفی توده‌های دُرَنه مقاوم به علف‌کش آترازین را نسبت به علف‌کش‌های تیوتیورون، لینورون، دایورون و هگزازینون را در محدوده بین 0/56 تا 1/62 بر مبنای وزن تر و بین 0/52 تا 3/26 بر مبنای تعداد گیاهان زنده مانده نشان داد. همچنین، توده‌های مقاوم بیشترین مقاومت عرضی منفی (حساسیت) را نسبت به علف‌کش دایورون + هگزازینون نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: دز - پاسخ، علف‌کش‌های فنیل اوره، علف‌کش‌های مخلوط

مقدمه

به طور کلی دو گونه از جنس *Echinochloa*، یکی به نام سوروف (*E. crus-galli* (L.) P. Beauv.) و دیگری دُرَنه (*E. colona*) وجود دارد که جز علف‌های هرز مشکل‌ساز هستند (11). دُرَنه گیاهی یکساله، چهار کرینه و گرما زیست از خانواده گندمیان (Poaceae) است که امروزه در سراسر مناطق حاره‌ای به یکی از مشکل‌سازترین علف‌های هرز کشیده برگ تبدیل شده و علف‌هرز مهم بسیاری از محصولات زراعی از جمله برنج (*Oryza sativa* L.)، ذرت (*Zea mays* L.) و نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) است (2). از آغاز کشت نیشکر در ایران (سال 1344 در هفت تپه و سال 1356 در کشت و صنعت کارون شوشتر) تاکنون به طور متوسط در هر سال 5 مرحله (دور) عملیات کنترل شیمیایی علف‌های هرز در هر مزرعه متداول است؛ وجود علف‌کش‌های کاملاً انتخابی برای نیشکر مانند آترازین، آمترین، ای‌پی‌تی‌سی، تیوتیورون، تری‌فلوکسی سولفورون + آمترین، دایورون، دایورون + هگزازینون، متری‌بوزین و تو، فور - دی (22)، موجب شده تا مجریان بخش مدیریت علف‌های هرز

نیشکر، یکی از رایج‌ترین محصولات موجود در جنوب غربی ایران و به ویژه استان خوزستان است (21). علف‌های هرز مهمترین عوامل محدود کننده کشت نیشکر بوده و قادر به کاهش عملکرد این محصول از طریق رقابت برای آب، مواد غذایی و نور در طول فصل رشد هستند (23). از مهمترین علف‌های هرز نیشکر می‌توان به دُرَنه (*Echinochloa colona* (L.) Link.)، حلفه (*Imperata cylindrica* P. Beauv.)، قیاق (*Sorghum halepense* (L.) Pers.)، پنیرک (*Malva* spp.) و اویارسلام (*Cyperus* spp.) اشاره کرد (14).

1، 2، 3 و 4 - به ترتیب استادیار، دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

(Email: e.elahifard@ramin.ac.ir)

(*) - نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/jpp.v0i0.58329

تک بوته‌های مقاوم به یک یا همه علف‌کش‌های یک خانواده، حساسیت زیادی به سایر علف‌کش‌ها نشان می‌دهند (7). بایوتایپ‌های مقاوم به تریازین تاج خروس ریشه قرمز (*Amaranthus retroflexus* L.)، تاج خروس صورتی (*A. cruentus* L.) و تاج خروس نازک (*A. hybridus* L.) در نتیجه بروز مقاومت عرضی منفی حساسیت بیشتری به بنتازون و پیریدیت داشتند (4 و 7).

علاقه‌مندی ما از تمرکز بر مقاومت عرضی منفی در گیاهان مقاوم به تریازین‌ها بعنوان یک مدل استراتژیک مدیریت علف‌های هرز و ابزار مدیریت مقاومت می‌باشد. از این رو، هدف از این پژوهش بررسی مقاومت عرضی منفی به علف‌کش‌های گروه C2 در توده‌های مشکوک به مقاومت به علف‌کش‌های خانواده تریازین علف‌هرز ذرنه در مزارع نیشکر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در بردارنده مطالعات مزرعه‌ای و گلخانه‌ای بود که در طی سال‌های 94-1393 در گلخانه تحقیقاتی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان انجام شد.

مواد گیاهی

در این پژوهش، هفت توده بذر ذرنه مشکوک به مقاومت به بازدارنده‌های خانواده تریازین و یک توده حساس از قطعات مختلف مزارع پلانت نیشکر شرکت کشت و صنعت کارون شوشتر جمع‌آوری شد و تا شروع آزمایش (حدود 6 ماه بعد) در شرایط آزمایشگاه نگهداری شد. بذره‌های مشکوک به مقاومت از گیاهان زنده باقی مانده در مزارعی جمع‌آوری شدند که حداقل 5-10 سال سابقه مصرف علف‌کش‌های تریازین (آترازین، آمترین و متریبوزین) را داشتند و محققان منطقه‌ای به وجود توده‌های علف‌هرز ذرنه مقاوم به علف‌کش‌های ذکر شده مشکوک بودند. همچنین، توده حساس از محوطه دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان که سابقه سمپاشی نداشت جمع‌آوری شد. سپس، توده‌های جمع‌آوری شده براساس نام مزرعه محل جمع‌آوری و حساسیت یا مقاومت پیش‌بینی شده به منظور انجام آزمایش غربالگری نامگذاری شدند.

علف‌کش‌های مورد آزمایش

در این آزمایش از علف‌کش‌های بازدارنده PSII که شامل: آترازین (گزاریم، 80 درصد دیلیوپی)، لینورون (آفان، 45 درصد اس ال)، تبوتیورون (با نام تجاری تبوسان، 50 درصد اس سی)، دایورون (دایورون دی اف، 90 درصد دی اف) و دایورون+هگزازینون (باراک دی اف، 60 درصد دی اف) استفاده شد.

به دفعات و بدون دغدغه از این علف‌کش‌ها در مبارزه شیمیایی با علف‌های هرز استفاده کنند (21). به دلیل مصرف مداوم و بی رویه از چند علف‌کش خاص (عمدتاً تریازین‌ها) از اوایل سال زراعی 80-81 نشانه‌های بروز مقاومت در برخی علف‌های هرز از جمله ذرنه در مزارع کشت و صنعت کارون مشاهده شد و دیری نپایید که تقریباً در تمامی واحدهای این شرکت بروز مقاومت محرز شد (21). البته لازم به ذکر است که در سال‌های اخیر مصرف دو علف‌کش آترازین و آمترین به دلیل بروز مقاومت و آلودگی‌های زیست محیطی به میزان زیادی کاهش یافته است.

بازدارنده‌های فتوسنتز در فتوسیستم 2 (PSII)، از جمله قدیمی‌ترین علف‌کش‌ها هستند که در دهه 1950 رواج یافتند (3). مهمترین بازدارنده‌های PSII، گروه‌های شیمیایی اوره‌ها، آمیدها، تریازین و تریازینون‌ها، پیریدازینون‌ها، کاربامات‌ها و نیتروفنول‌ها می‌باشند که ویژگی مشترک تمام این ترکیبات آن است که کارکرد فتوسیستم 2 در رابطه با واکنش هیل را مختل می‌کنند (16). این بازدارنده‌ها از انتقال الکترون از دهنده الکترون، Q_A ، به حامل الکترون Q_B جلوگیری می‌کنند. آن‌ها از طریق اتصال به جایگاه پیوند پلاستوکیون (PQ) بر روی پروتئین D1 در کمپلکس PSII از انتقال الکترون جلوگیری می‌کنند (4). علف‌کش‌های گروه تریازین‌ها، جز اولین علف‌کش‌هایی بودند که مقاومت به آن‌ها گزارش شده است (3). زلف پیر (*Senecio vulgaris* L.) به عنوان اولین بایوتایپ مقاوم به علف‌کش‌های تریازین در سال 1968 از ایالات متحده آمریکا گزارش شد (19). در طی 40 سال گذشته، 73 گونه مختلف علف‌هرز مقاوم به تریازین‌ها تکامل یافته‌اند (10) که ممکن است سطحی معادل شش میلیون هکتار را پوشش دهند. بایوتایپ‌های مقاوم به تریازین‌ها اولین بار در سیستم‌های تک کشتی همراه با استفاده مداوم از آترازین در مدت 6 الی 10 سال تکامل یافتند (9).

متریبوزین، آترازین و آمترین از پر مصرف‌ترین علف‌کش‌های این گروه در مزارع نیشکر به شمار می‌روند؛ بنابراین، احتمال بروز مقاومت نسبت به این گروه در نیشکر بیشتر از سایر محصولات است (15). در بحث مقاومت پدیده‌ای به نام مقاومت عرضی منفی وجود دارد که در بسیاری از گونه‌های علف‌هرز مقاوم به تریازین‌ها مشاهده شده است (17)؛ بطوری‌که این پدیده منجر به بروز حساسیت زیاد در این بایوتایپ‌ها نسبت به علف‌کش‌های فنیل اوره (دایورون)، سایر بازدارنده‌های فتوسنتز در فتوسیستم 2 (گروه‌های C2 (لینورون و تبوتیورون) و C3) و سایر کلاس‌های علف‌کشی می‌شود (4 و 12). بروز این پدیده به این شکل شرح داده شده است که برخی علف‌کش‌های بازدارنده فتوسنتز در فتوسیستم 2، بطور مؤثرتری به ناحیه جهش یافته در ژن علف‌هرز مقاوم، نسبت به گونه وحشی، پیوند برقرار می‌کنند. این میل ترکیبی افزایش یافته منجر به بروز پدیده‌ای بنام مقاومت عرضی منفی (حساسیت ناخواسته) می‌شود. بطوری‌که

جدول 1- توده‌های علف هرز ذرنه حساس و مشکوک به مقاومت جمع‌آوری شده از مزارع نیشکر
Table 1-Resistant and susceptible junglerice populations that were sampled from sugar cane fields

توده	محل جمع‌آوری (مزرعه/قطعه)	وضعیت توده
Population	Location (field/plot)	Population situation
207.3	207/3	suspected to resistance
238.5	238/5	suspected to resistance
326.2	326/2	suspected to resistance
512.4	512/ 4	suspected to resistance
521.1	521/1	suspected to resistance
521.3	521/3	suspected to resistance
521.4	521/4	suspected to resistance
S	Residential area	susceptible

آن‌ها اندازه‌گیری شد. میانگین وزن تر اندام هوایی برای هر تک بوته محاسبه و درصد وزن تر تک بوته هر توده تیمار شده با علف‌کش نسبت به شاهد خودش (تیمار نشده با علف‌کش از همان توده) محاسبه شد (1). پس از اعمال غلظت تفکیک کننده به منظور انجام آزمایش غربالگری اولیه بر روی تمامی توده‌ها، از آنجا که وزن تر می‌تواند به عنوان یک شاخص مناسب برای غربال اولیه توده‌های مشکوک به مقاومت مورد استفاده قرار گیرد (13)، بنابراین، توده‌ها بر این اساس مورد قضاوت قرار گرفتند. بر این اساس توده‌هایی که درصد کاهش وزن تر آن‌ها نسبت به شاهد بین صفر تا 36، 36-72، 72-81 و 81-100 درصد باشد به ترتیب در گروه‌های RRR (قطعا مقاوم)، RR (احتمالا مقاوم)، R? (مشکوک به مقاومت) و S (حساس) قرار گرفتند (13).

آزمون دز - پاسخ

در این آزمایش، واکنش توده‌هایی که در آزمایش غربالگری مقاومت نشان دادند و همچنین توده حساس، در مقابل دزهای مختلف علف‌کش‌های مورد آزمایش (جدول 2) به صورت زیست‌سنجی در گلدان با چهار تکرار ارزیابی شدند. سپس همه تیمارها با شاهد بدون علف‌کش مقایسه شدند. عملیات کشت، کلیه شرایط رشد و شیوه اعمال تیمارهای علف‌کش مشابه آزمایش غربالگری بود. پس از چهار هفته بوته‌های زنده مانده از سطح خاک قطع و وزن تر آن‌ها ثبت شد.

تجزیه آماری

برای تجزیه آماری منحنی واکنش به دز علف‌کش (درصد نسبت به شاهد) از آنالیز رگرسیون و معادله ارائه شده توسط ریتز و استریبیگ (18) استفاده شد (معادله 1).

$$f(x, (b, d, e)) = c + \frac{d-c}{1+\exp\{b(\log(x)-\log(e))\}} \quad (1)$$

آماده‌سازی و جوانه‌دار کردن بذور

به منظور شکستن خواب بذور ذرنه ابتدا بذور به مدت 10 دقیقه در اسید سولفوریک غوطه‌ور شده، سپس با آب مقطر شسته شده و به مدت 72 ساعت در دستگاه ژرمیناتور با شرایط دمایی 28 ± 2 درجه سانتی‌گراد و شرایط فتوپریود 8/16 ساعت روشنایی/ تاریکی با شدت نور 18000 لوکس قرار داده شد (6). در این تحقیق از روش زیست‌سنجی گیاه کامل در گلدان، شامل دو آزمون غربالگری اولیه و دز-پاسخ، استفاده شد.

آزمایش غربال اولیه

به منظور غربال توده‌های مشکوک به مقاومت بر اساس دز توصیه شده آترازین، آزمایش گلدانی به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. برای کشت از گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه 12 سانتی‌متر و ظرفیت 500 میلی‌لیتر استفاده شد و خاک گلدان‌ها شامل مخلوطی از خاک رس و شن به نسبت دو به یک بود. سپس از هر توده تعداد 20 عدد بذر به صورت سطحی در هر گلدان کشت شد. برای هر تکرار یک گلدان شاهد (بدون تیمار علف‌کش) نیز در نظر گرفته شد و آبیاری گلدان‌ها ابتدا به صورت پر کردن زیر گلدانی‌ها و پس از رشد گیاهان به صورت آبیاری گلدان‌ها براساس نیاز روزانه انجام شد. همچنین در طول دوره رشد جهت جبران کمبود مواد غذایی از کود 20-20-20 هر دو هفته یکبار به میزان 10 سی‌سی برای هر گلدان استفاده گردید. دز توصیه شده آترازین (3200 گرم ماده مؤثره در هکتار) به وسیله سمپاش کتابی پستی تلمبه‌ای با نازل شرمای که به منظور پاشش 350 لیتر محلول سمپاشی کالیبره شده بود به صورت پیش‌رویشی اعمال شد. پس از سبز شدن گیاهچه‌ها به منظور جلوگیری از رقابت میان بوته‌ها، تعداد آن‌ها به چهار بوته در هر گلدان کاهش داده شد. پس از گذشت چهار هفته تعداد گیاهان زنده مانده، ثبت و بوته‌های هر گلدان از سطح خاک قطع، جمع‌آوری و وزن تر آن‌ها توزین شد. سپس بوته‌ها به مدت 48 ساعت در داخل آون 75 درجه سانتی‌گراد خشک شده و وزن خشک

جدول 2- علف‌کش‌ها و مقادیر مورد استفاده در آزمون‌های دز - پاسخ توده‌های مقاوم و حساس علف‌هرز ذرنه

Table 2- Herbicides and rates used in dose-response studies with resistant (R) and susceptible (S) junglerice biotypes

علف‌کش Herbicide	مقدار علف‌کش Rates herbicide
آترازین Atrazin	0, 10, 30, 100, 320, 1000, 3200, 10000
تیبوتیورن Tebuthiuron	0, 10, 20, 100, 200, 1000, 2000, 10000
لینورن Linuron	0, 10, 100, 160, 1000, 1600, 10000
دیورن Diuron	0, 10, 30, 100, 360, 1000, 3600, 10000
دیورن + هگزازینون Diuron + hexazinone	0, 10, 24, 100, 240, 1000, 2400, 10000

(R2) و 326/2 (R3) نشان دهنده توده‌های مقاوم به آترازین و حرف S نشان‌دهنده توده حساس می‌باشد.

آزمایش دز - پاسخ

مقایسه وزن تر توده‌ها نسبت به شاهد

همانگونه که در جدول 3 و منحنی وزن تر توده‌ها (شکل 1) مشاهده می‌شود، مقایسه درجه مقاومت توده‌ها با توده حساس اختلاف معنی‌داری از نظر سطوح آماری بین سه توده مقاوم با حساس نشان داد. بطوری‌که درجه مقاومت در این توده‌ها (R1، R2 و R3) نسبت به توده حساس به ترتیب به میزان 6/59، 12/26 و 3/75 بود؛ در حالی‌که میزان 45/43 گرم ماده مؤثره در هکتار باعث 50 درصد کاهش وزن تر توده حساس شد. این مقدار کاهش برای توده‌های R1، R2 و R3 به ترتیب 556/89، 170/31 و 299/85 گرم ماده مؤثره در هکتار برآورد شد. الهی فرد و همکاران (5) با بررسی شش توده ذرنه براساس زیست‌سنجی گیاه کامل شاخص‌های مقاومت برای علف‌کش‌های بازدارنده فتوسنتز در فتوسیستم 2، مانند آمترین و متری‌بوزین را به ترتیب بین 4/62 تا 88/64 و 2/57 تا 88/54 برآورد کردند.

بررسی روند واکنش وزن تر توده‌های مقاوم به آترازین درنه به دزهای مختلف علف‌کش تیبوتیورن، لینورن، دیورن و دیورون+ هگزازینون با استفاده از برازش معادله لجستیک نشان داد که توده‌های R1، R2 و R3 نسبت به این علف‌کش دارای حساسیت هستند. بطوری‌که این توده‌ها در دز توصیه شده کنترل شدند و وزن تر آن‌ها نسبت به شاهد‌های خود به شدت کاهش یافت (شکل 2). هر سه توده مقاومت عرضی منفی را به چهار علف‌کش مذکور با درجه مقاومت 1/62-0/56 نشان دادند. حساسیت این توده‌ها نشان از کارایی مؤثر این علف‌کش‌ها در کنترل علف‌های هرز مقاوم به تریازین‌ها می‌باشد.

که پارامترهای ارائه شده در این مدل عبارتست از: b، شیب منحنی در نقطه e؛ d، حد بالای منحنی دز - پاسخ؛ c، حد پایین منحنی دز - پاسخ و e، بیان‌کننده ED₅₀ یا غلظتی از علف‌کش که باعث کاهش 50 درصدی واکنش می‌شود.

در مواردی که c برابر با صفر باشد، این پارامتر از معادله 1 حذف و در حالت جدید، تابع سه پارامتره (معادله 2) به داده‌های مربوط برازش داده شد تا برآورد دقیق‌تری از سایر پارامترها بدست آید (18).

$$f(x, (b, d, e)) = \frac{d-c}{1+\exp\{b(\log(x)-\log(e))\}} \quad (2)$$

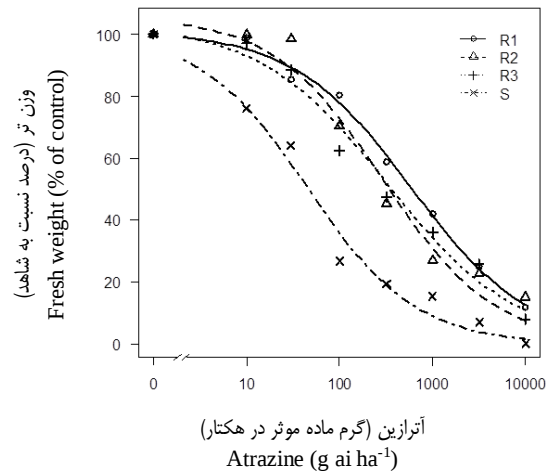
معادله فوق با استفاده از محیط نرم‌افزاری R و بسته نرم‌افزاری drc که به همین منظور طراحی شده است (18)، به‌طور جداگانه به داده‌های حاصل از وزن تر توده‌های مشکوک و حساس برازش داد شد. درجه و یا فاکتور مقاومت (RF) یعنی نسبت ED₅₀ توده مشکوک به مقاومت به ED₅₀ توده حساس، شاخصی است که برای بررسی و مقایسه میزان مقاومت توده‌ها مورد استفاده قرار گرفت (18).

نتایج و بحث

آزمایش غربال اولیه

نتایج آزمایش غربالگری توده‌ها چهار هفته پس از سمپاشی با علف‌کش آترازین نشان داد که توده‌های 207/3، 238/5 و 326/2 نسبت به علف‌کش آترازین مقاومت نشان داده و همچنین نسبت به اعمال دز توصیه شده کمترین میزان کاهش درصد وزن تر و تعداد بوته را نسبت به سایر توده‌ها داشتند (داده‌ها نشان داده نشد)؛ بنابراین به منظور تعیین درجه مقاومت به علف‌کش‌های مورد آزمایش وارد آزمایش دز - پاسخ شده و سایر توده‌ها به دلیل داشتن بیشترین میزان کاهش درصد وزن تر و تعداد بوته زنده مانده به عنوان توده حساس شناخته شده و از آزمایش حذف گردیدند.

پس از انجام این آزمایش‌ها اسامی توده‌ها به منظور سهولت گزارش نتایج بدین ترتیب تغییر داده شد: 207/3 (R1)، 238/5،



شکل 1- پاسخ توده‌های مقاوم و حساس ذرنه بر مبنای وزن تر (درصد نسبت به شاهد) به دزهای مختلف علف‌کش آترازین
Figure 1- Response of resistant (R) and susceptible (S) junglerice populations based on (% of control) to atrazine at the different doses

جدول 3- پارامترهای برآورد شده از معادله لوگ-لجستیک برازش داده شده به داده‌های وزن تر توده‌های مقاوم و حساس ذرنه، چهار هفته پس از سمپاشی با علف‌کش آترازین

Table 3- Estimated parameters from fitted log-logistic equation to wet weight of susceptible and resistant populations 4 weeks after spraying with atrazin

توده	حد پایین	حد بالا	شیب	ED ₅₀	آزمون عدم برازش (5 درصد)	درجه مقاومت
Population	Lower limit	Upper limit	Slope		Lack of fit test (5%)	Rf ₅₀
R1	-	100.45±3.33	0.72±0.08	556.89±99.69	0.71	12.26**
R2	18.03±3.64	102.33±3.23	1.25±0.23	170.31±30.14	0.54	3.75**
R3	-	103.54±3.40	0.63±0.06	299.85±57.17	0.05	6.59**
S	10.14±3.56	100.71±4.97	0.74±0.11	45.43±10.08	0.25	-

±: Standard error in parenthesis, *: significant at 0.05, **: significant at 0.01, ns: non significant

عرضی منفی نشان دهند (8 و 9). به عنوان مثال بایوتایپ‌های سوروف مقاوم به تریازین‌ها نسبت به فلوآزیف-بوتیل و ستوکسیدیم، بازدارنده‌های ACCase، در مقایسه با جمعیت حساس، حساسیت نشان دادند (7). همچنین بایوتایپ‌های علف‌هرز جارو (*Kochia* (*scoparia* (L.)) مقاوم به تریازین‌ها نسبت به توفوردی که از اکسین‌های مصنوعی می‌باشد حساسیت نشان دادند (20). تعداد اندکی گزارش نیز در مورد بروز مقاومت عرضی منفی در بایوتایپ‌های تاج خروس نازک مقاوم به ایمیدازولینون‌ها نشان داد که ده برابر بیشتر نسبت به کلرآنسولام که از بازدارنده‌های ALS هستند در مقایسه با جمعیت حساس، حساسیت داشتند (17).

مقایسه درصد تعداد بوته‌های زنده مانده نسبت به شاهد

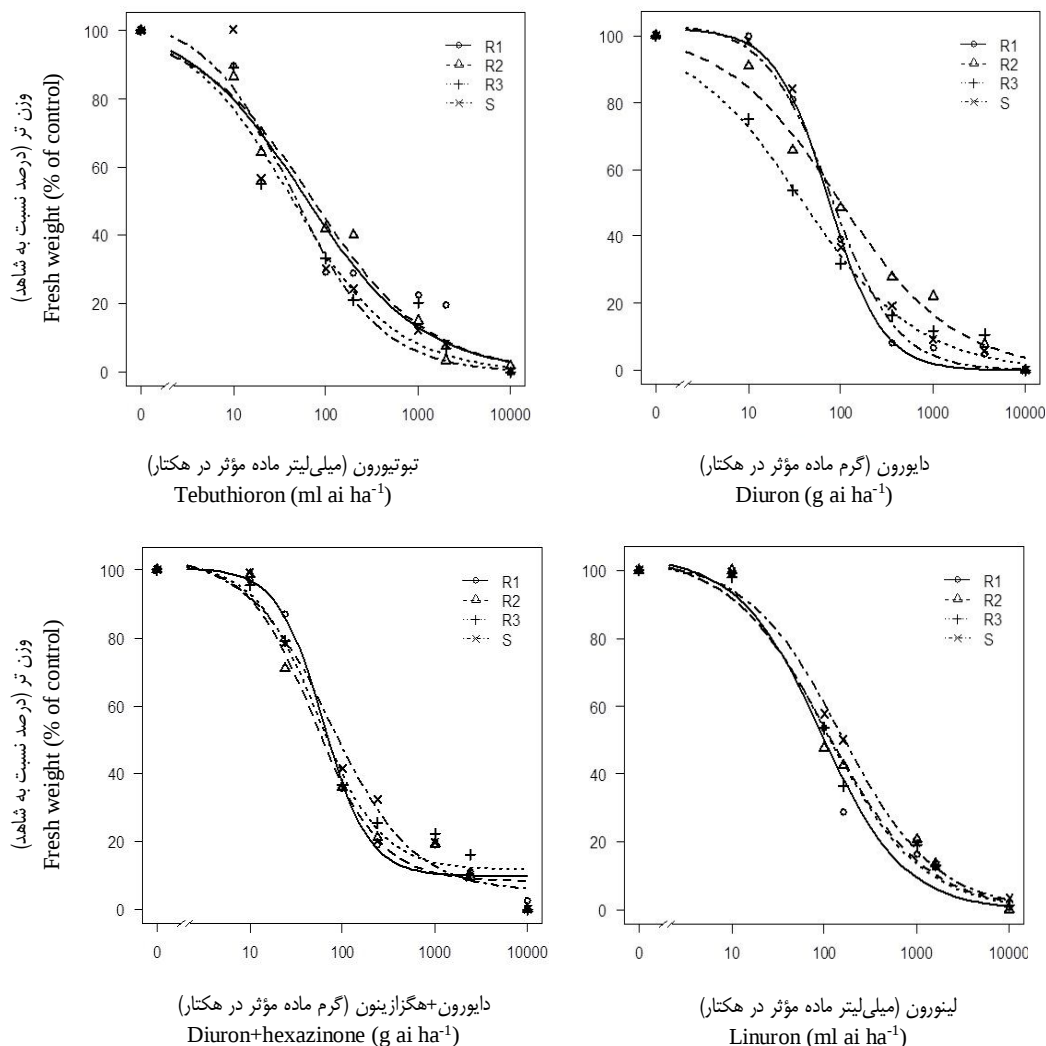
بر مبنای تعداد بوته‌های زنده نسبت به شاهد هر سه توده R1، R2 و R3 به ترتیب با شاخص‌های 4/22، 5/37 و 4/71 برابر نسبت

بیشترین حساسیت نسبت به کاربرد علف‌کش‌های مورد آزمایش در توده R2 و نسبت به دایورون + هگزاژینون با درجه مقاومت 0/56 مشاهده شد؛ بطوری که برای کنترل 50 درصدی این توده مقاوم 49/48 گرم ماده مؤثر در هکتار لازم است (جدول 4). گادامسکی و همکاران (7) در آزمایشی بیشترین و مؤثرترین مقاومت عرضی منفی برای کنترل علف‌هرز سوروف مقاوم به تریازین‌ها را با درجه مقاومت 0/03 توسط علف‌کش فلوآزیف-بوتیل بدست آورد. مقاومت عرضی منفی بر اثر بروز مقاومت به تریازین‌ها در چندین مورد از بایوتایپ‌های مقاوم گزارش شده است (7 و 17)؛ بطوری که این پدیده منجر به بروز حساسیت زیاد در این بایوتایپ‌ها نسبت به علف‌کش‌های فنیل اوره و سایر بازدارنده‌های PSII می‌باشد؛ به عنوان مثال، بایوتایپ‌های مقاوم به تریازین تاج خروس ریشه قرمز، تاج خروس صورتی و نازک، در نتیجه بروز مقاومت عرضی منفی، حساسیت بیشتری به بنتازون و پیریدیت داشتند (4 و 7). همچنین علف‌های هرز مقاوم به تریازین‌ها نسبت به علف‌کش‌هایی که بر PSII اثری ندارد نیز می‌توانند مقاومت

دایورون، دایورون + هگزازینون و لینورون در مقایسه با توده حساس در محدوده بین 3/26 - 0/68 از خود حساسیت نشان دادند (جدول 6 و شکل 4). همچنین بر مبنای تعداد بوته زنده مانده، توده R3 نسبت به علف‌کش دایورون + هگزازینون بیشترین و مؤثرین مقاومت عرضی منفی برای کنترل علف‌هرز مقاوم به آترازین را با درجه مقاومت 0/52 نشان داد (جدول 6)؛ بطوری‌که برای کنترل 50 درصدی این توده مقاوم 1927/88 گرم ماده مؤثره در هکتار لازم است (جدول 6).

به توده حساس، به علف‌کش آترازین از خود مقاومت نشان دادند. در حالی‌که میزان 1472/62 گرم ماده مؤثره در هکتار از علف‌کش آترازین باعث کاهش تعداد بوته‌های زنده توده حساس به میزان 50 درصد نسبت به شاهد شد، این مقدار کاهش برای توده‌های مقاوم R1، R2 و R3 به ترتیب در دزهای 7927/50، 6212/41 و 6954/29 گرم ماده مؤثره در هکتار اتفاق افتاد (جدول 5).

همانند نتایج وزن تر، بر مبنای تعداد بوته زنده مانده نیز توده‌های ذرنه مقاوم به تریازین‌ها نسبت به هر چهار علف‌کش تبوتیورون،



شکل 2- پاسخ توده‌های مقاوم و حساس ذرنه بر مبنای وزن تر (درصد نسبت به شاهد) به دزهای مختلف علف‌کش‌های تبوتیورون، لینورون، دایورون و دایورون + هگزازینون

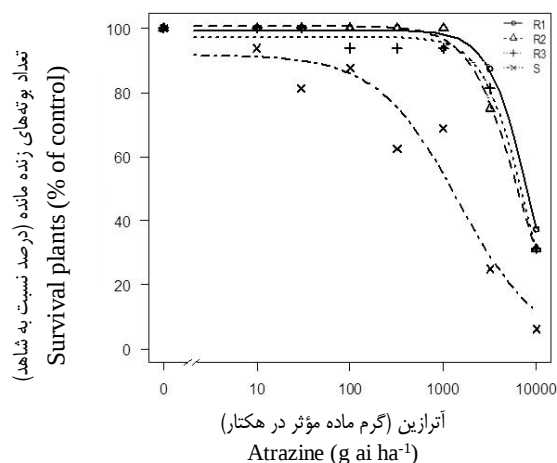
Figure 2- Response of resistant (R) and susceptible (S) junglerice populations based on wet weight (% of control) to tebuthiuron, linuron, diuron and Diuron + hexazinone herbicides at the different doses

جدول 4- پارامترهای برآورد شده از معادله برازش داده شده به داده‌های وزن تر توده‌های مقاوم و حساس ذرنه، چهار هفته پس از سمپاشی با علف‌کش‌های تبوتیورون، لینورون، دیورون و دیورون + هگزازینون

Table 4- Estimated parameters from fitted log-logistic equation to wet weight of susceptible and resistant populations 4 weeks after spraying with tebuthiuron, linuron, diuron and diuron + hexazinone

علف‌کش	توده	حد پایین	حد بالا	شیب	ED ₅₀	آزمون فقدان برازش 5) درصد	درجه مقاومت
Herbicide	Population	Lower limit	Upper limit	Slope		Lack of fit test (5%)	Rf ₅₀
تبوتیورون Tebuthiuron	R1	13.02±4.56	101.75±5.89	1.15±0.31	36.85±10.24	0.05	0.83 ^{ns}
	R2	-	100.41±4.16	0.69±0.07	73.01±14.94	0.07	1.62 ^{ns}
	R3	-	102.48±6.06	0.77±0.12	41.71±11.05	0.07	0.94 ^{ns}
	S	-	104.36±9.71	0.91±0.24	44.42±16.71	0.38	-
لینورون Linuron	R1	-	104.09±7.46	0.97±0.29	92.76±26.95	0.51	0.61 ^{ns}
	R2	-	104.67±5.26	0.81±0.13	107.73±24.67	0.27	0.71 ^{ns}
	R3	-	103.53±3.38	0.84±0.08	106.84±15.61	0.05	0.69 ^{ns}
	S	-	103.29±5.92	0.85±0.14	152.51±39.43	0.89	-
دیورون Diuron	R1	-	102.03±2.77	1.50±0.17	74.21±6.49	0.46	0.94 ^{ns}
	R2	-	101.90±4.05	0.70±0.07	95.25±19.47	0.28	1.21 ^{ns}
	R3	-	101.42±2.13	0.81±0.03	69.80±6.58	0.05	0.87 ^{ns}
	S	-	103.53±3.71	1.23±0.16	79.03±10.17	0.11	-
دیورون + هگزازینون Diuron + hexazinone	R1	9.89±2.65	100.48±3.64	1.75±0.34	62.11±8.91	0.18	0.69 ^{ns}
	R2	8.40±3.58	103.25±4.68	1.20±0.22	49.48±9.83	0.06	0.56 ^{ns}
	R3	11.63±5.64	102.08±7.36	1.28±0.43	54.30±16.61	0.45	0.60 ^{ns}
	S	-	104.68±4.38	0.84±0.09	88.72±16.47	0.07	-

±: Standard error, *: significant at 0.05, **: significant at 0.01, ns: non significant



شکل 3- پاسخ توده‌های مقاوم و حساس ذرنه بر مبنای تعداد بوته زنده مانده به دزهای مختلف علف‌کش آترازین

Figure 3- Response of resistant (R) and susceptible (S) junglerice populations based on number of survival plants (% of control) to atrazine at the different doses

مانند ایندازیفلم و کشت گیاهان پوششی نظیر یونجه و شبدر نباشد احتمال بروز مقاومت به این علف‌کش نیز در آینده وجود خواهد داشت.

در کل مقایسه توده‌های آزمایش در علف‌کش‌های مختلف از نظر درجه مقاومت تعیین شده بر مبنای وزن تر و تعداد بوته‌های زنده

به نظر می‌رسد که ترکیب دو علف‌کش مؤثرتر از هر کدام از این علف‌کش‌ها به تنهایی و قابل توصیه برای توده‌های مقاوم به علف‌کش‌های بازدارنده PSII می‌باشد. البته باید توجه داشت در صورتی که استفاده از این علف‌کش همراه با اعمال مدیریتی مناسب شامل تناوب کاربرد علف‌کش‌های نسبتاً قدیمی با علف‌کش‌های جدیدی

آن‌ها با یکدیگر امری ضروری می‌باشد. بنابراین از پدیده مقاومت عرضی منفی در علف‌های هرز مقاوم به تریازین‌ها می‌توان به عنوان یک نقطه ضعف در اتخاذ استراتژی‌های مدیریتی به منظور مهار این‌گونه علف‌های هرز استفاده نمود.

در این پژوهش، بیشترین حساسیت نسبت به کاربرد علف‌کش‌های مورد آزمایش در توده R2 و نسبت به دایورون+ هگزازینون با درجه مقاومت 0/56 مشاهده شد؛ به طوری که برای کنترل 50 درصدی این توده مقاوم 49/48 گرم ماده مؤثر در هکتار دایورون+ هگزازینون لازم بود. همچنین توده R3 با درجه مقاومت 0/52 بر اساس تعداد بوته زنده مانده نسبت به کاربرد دایورون+ هگزازینون از سایر توده‌ها حساس‌تر بود. البته سایر توده‌های تیمار شده توسط این علف‌کش نیز از درجه مقاومت پایینی نسبت به سایر علف‌کش‌ها برخوردار بودند.

مانده نسبت به شاهد نشان می‌دهد که درجات مقاومت بدست آمده براساس تعداد بوته‌های زنده در مقایسه با وزن تر، در بیشتر علف‌کش‌ها به مراتب بالاتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش، مقاومت به آترازین را تأیید می‌کند که به دلیل استفاده متوالی و بیش از 10 سال از آترازین مقاومت به این علف‌کش در علف‌های هرز درنه موجود در مزارع نیشکر کشت و صنعت کارون محرز شده است.

علف‌کش‌ها اولین و شاید متداول‌ترین ابزار جهت مدیریت جوامع علف‌هرز مقاوم به حساب می‌آیند. از این رو، استفاده مؤثر علف‌کش‌ها در سیستم‌های مدیریتی مبارزه با علف‌های هرز مقاوم بکارگیری ترکیبات جدید علف‌کش‌ها، شناخت نحوه عمل علف‌کش‌ها و تناوب

جدول 5- پارامترهای برآورد شده از معادله لوگ-لجستیک برازش داده شده به داده‌های درصد تعداد بوته‌های زنده مانده توده‌های مقاوم و حساس ذرنه، چهار هفته پس از سمپاشی با علف‌کش آترازین

Table 5- Estimated parameters from fitted log-logistic equation to number of survival plants of susceptible and resistant populations 4 weeks after spraying with atrazin

توده	حد بالا	شیب	ED ₅₀	آزمون فقدان برازش (5 درصد)	درجه مقاومت
Population	Upper limit	Slope		Lack of fit test (5%)	Rf ₅₀
R1	99.32±1.69	2.10±0.37	7927.50±604.39	0.94	5.37*
R2	100.60±2.23	1.74±0.28	6212.41±688.48	1.00	4.22*
R3	97.30±2.44	2.02±0.45	6985.29±814.90	0.93	4.71*
S	91.70±8.71	1.00±0.48	1472.62±724.53	0.58	-

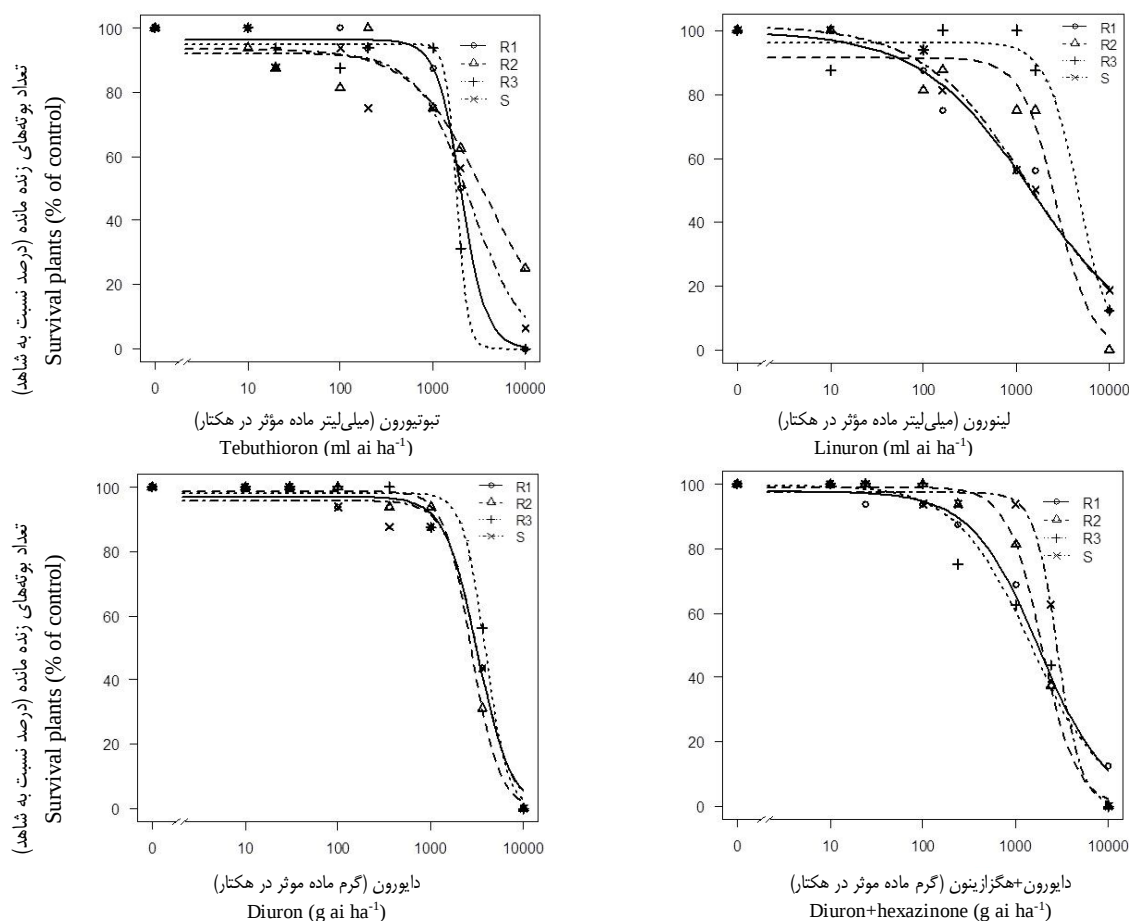
±: Standard error in parenthesis, *: significant at 0.05, **: significant at 0.01, ns: non significant

جدول 6- پارامترهای برآورد شده از معادله برازش داده شده به داده‌های وزن تر توده‌های مقاوم و حساس ذرنه، چهار هفته پس از سمپاشی با علف‌کش‌های تبوتیورون، لینورون، دایورون و هگزازینون

Table 6- Estimated parameters from fitted log-logistic equation to number of survival plants of susceptible and resistant populations 4 weeks after spraying with tebuthiuron, linuron, diuron and diuron + hexazinone

علف‌کش	توده	حد بالا	شیب	ED ₅₀	آزمون فقدان برازش	درجه مقاومت
Herbicide	Population	Upper limit	Slope		Lack of fit test (5%)	Rf ₅₀
تبوتیورون Tebuthiuron	R1	96.26±3.22	3.21±1.40	2047.97±199.46	0.82	0.80 ^{ns}
	R2	93.42±6.58	1.09±0.48	3888±1699.12	0.91	1.53 ^{ns}
	R3	95.01±2.67	7.11±5.61	1809.12±183.90	0.73	0.72 ^{ns}
	S	92.10±5.12	1.54±0.70	2520.00±656.31	0.62	-
لینورون Linuron	R1	99.44±7.92	0.72±0.23	1444.36±624.44	0.74	1.00 ^{ns}
	R2	91.32±3.63	2.30±0.77	2690.00±559.80	0.10	1.89 ^{ns}
	R3	96.16±3.08	2.50±0.67	4643.62±1137.89	0.48	3.26 ^{ns}
	S	101.37±8.69	0.76±0.25	1426.33±663.30	0.98	-
دایورون Diuron	R1	96.90±2.64	2.47±0.86	3207.69±400.14	0.70	0.97 ^{ns}
	R2	98.73±2.23	2.95±0.94	2761.68±314.20	0.94	0.85 ^{ns}
	R3	98.11±1.55	3.60±1.46	3876.63±172.14	0.09	1.18 ^{ns}
	S	95.75±2.35	2.53±0.88	3255.46±365.78	0.23	-
دایورون+هگزازینون Diuron + hexazinone	R1	97.69±4.36	1.19±0.35	1794.61±388.53	0.97	0.62 ^{ns}
	R2	98.95±2.75	2.30±0.55	1927.88±193.24	0.97	0.68 ^{ns}
	R3	99.59±7.55	1.07±0.40	1475.41±585.49	0.81	0.52 ^{ns}
	S	97.33±1.90	3.41±1.48	2839.80±253.94	0.80	-

(): Standard error in parenthesis, *: significant at 0.05, **: significant at 0.01, ns: non significant



شکل 4- پاسخ توده‌های مقاوم و حساس ذرنه بر مبنای تعداد گیاهان زنده مانده (درصد نسبت به شاهد) به دزهای مختلف علف‌کش‌های تیبوتیورون، لینورون، دایورون و دایورون + هگزازینون

Figure 4- Response of resistant (R) and susceptible (S) junglerice populations based on number of survival plants (% of control) to tebuthiuron, linuron, diuron and diuron + hexazinone herbicides at the different doses

به تریازین‌ها در مزارع کشت نیشکر توصیه می‌شود. از آنجا که یکی از دلایل وجود مقاومت عرضی منفی در بایوتیپ‌های مقاوم به آترارین، شایستگی به مراتب کمتر این بایوتیپ‌ها نسبت بایوتیپ‌های حساس می‌باشد؛ بنابراین ممکن است آنها به تنش‌های ثانوی از قبیل تیمار با سایر علف‌کش‌ها حساستر باشند. بنابراین، ارزش مقاومت عرضی منفی در ارتباط با فقدان شایستگی در تقریباً تمامی علف‌های هرز مقاوم به تریازین‌ها شاید بیش از آنچه ما ارزیابی کرده‌ایم باشد. همچنین رقابت اعمال شده توسط گیاه در مزرعه ممکن است منجر به تشدید فقدان شایستگی و کاهش بیشتر درجه مقاومت توده‌ها شود.

پس نتایج نشان می‌دهد که مخلوطی از دایورون و هگزازینون درجه مقاومت کمتری از مقاومت عرضی منفی (حساسیت بیشتر) را نسبت به زمانی که هر کدام از این علف‌کش‌ها به تنهایی اعمال می‌شوند ارائه می‌دهد. بنابراین این مخلوط می‌تواند به تنهایی طیف گسترده‌ای از علف‌های هرز را کنترل کند و نسبت به علف‌کش‌هایی که به تنهایی بکار برده می‌شوند قابل اعتمادتر باشد. اختلاط علف‌کش‌ها از نظر اقتصادی و هم از نظر زیست محیطی، هزینه کمتری نسبت به زمانی که هر کدام به صورت جداگانه اعمال شوند خواهند داشت. بنابراین این ترکیب برای کنترل علف‌های هرز مقاوم

منابع

- 1- Beckie H.J., Heap I.M., Smeda R.J., and Hall L.M. 2000. Screening for herbicide resistance in weeds. Weed

- Technology, 14:428-445.
- 2- Chauhan B.S., and Johnson D.E. 2009. Seed germination ecology of junglerice (*Echinochloa colona*): a major weed of rice. *Weed Science*, 57:235-240.
- 3- De Prado R. A., and Franco A. R. 2004. Cross-resistance and herbicide metabolism in grass weeds in Europe: biochemical and physiological aspects. *Weed Science*, 52:441-447.
- 4- Devine M.D., and Shukla A. 2000. Altered target sites as a mechanism of herbicide resistance. *Crop Protection*, 19:881-889.
- 5- Elahifard E., Ghanbari A., Rashed Mohassel M.H., Zand E., Mirshmasi Kakhki A., and Mohkami A. 2013a. Characterization of triazine resistant biotypes of junglerice [*Echinochloa colona* (L.) Link.] found in Iran. *Australian Journal of Crop Science*, 7:1302-1308.
- 6- Elahifard E., Mijani S., Kheyr Andish S., Kazerooni Monfared E., and Tokasi S. 2013b. Study on dormancy and effect of some environmental factors on germination of junglerice (*Echinochloa colona*) seeds. *Journal of Plant Protection*, 27:342-350. (in Persian with English abstract)
- 7- Gadamski G., Gressel J., and Gawronski S.W. 2000. Negative cross-resistance in triazine-resistant biotypes of *Echinochloa crus-galli* and *Conyza canadensis*. *Weed Science*, 48:176-180.
- 8- Gressel J. 2002. *Molecular biology of weed control* (Vol. 1). CRC Press.
- 9- Gressel J., and Segel L.A. 1990. Negative cross resistance; a possible key to atrazine resistance management: a call for whole plant data. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 45:470-473.
- 10- Heap I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. 2016. Chronological Increase in Resistant Weeds Globally. Available at <http://weedsociety.org/graphs/soagraph.aspx>. (visited 10 Jan. 2016)
- 11- Hoagland R.E., Norsworthy J.K., Carey F., and Talbert R.E. 2004. Metabolically based resistance to the herbicide propanil in *Echinochloa* species. *Weed Science*, 52:475-486.
- 12- Jordan N., Kelrick M., Brooks J., and Kinerk W. 1999. Biorational management tactics to select against triazine resistant *Amaranthus hybridus*: a field trial. *Journal of Applied Ecology*. 36:123-132.
- 13- Moss S.R., Perryman S.A.M., and Tatnell L.V. 2007. Managing herbicide resistant black grass (*Alopecurus myosuroides*): Theory and practice. *Weed Technology*, 21:300-309.
- 14- Mousavi M.R. 2001. *Integrated weed management: principles and methods*. Miaad Press. (in Persian)
- 15- Mousavi M. 2011. *Weed control: principles and methods*. Marze Danesh Press. (in Persian)
- 16- Pfister K., and Arntzen C.J. 1979. The mode of action of photosystem II-specific inhibitors in herbicide-resistant weed biotypes. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 34:996-1009.
- 17- Poston D.H., Wilson H.P., and Hines T.E. 2000. Imidazolinone resistance in several *Amaranthus hybridus* populations. *Weed Science*, 48:508-513.
- 18- Ritz C., and Streibig J.C. 2005. Bioassay analysis using R. *Journal of Statistical Software*, 12:1-22.
- 19- Ryan G.F. 1970. Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. *Weed Science*, 18:614-616.
- 20- Salhoff C.R., and Martin A.R. 1986. *Kochia scoparia* growth response to triazine herbicides. *Weed Science*, 34:40-42.
- 21- Sayyad Mansour A. 2007. Investigating weed resistance to conventional herbicides in sugarcane fields. p. 78-87. *Proceedings of the 2th Conference Sugar Cane Technologists*, 17-18 Jan. 2007. Imam Khomeini Plant and Industry company, Ahvaz, Iran.
- 22- Senseman S.A. 2007. *Herbicide Handbook*. Weed Science Society of America. Lawrence, USA.
- 23- Yirefu F., Tana T., Tafesse A., and Zekarias Y. 2013. Weed interference in the sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantations of Ethiopia. *Agriculture, Forestry and Fisheries*. 2:239-247.



غربالگری ارقام خیار مقاوم به سفیدک پودری و بررسی مقایسه‌ای فلورسانس کلروفیل در ارقام حساس و مقاوم

نامدار مرادی¹ - حشمت ا... رحیمیان² - علی دهستانی^{3*} - ولی ا... بابایی زاد⁴ - یاسر یعقوبیان⁵

تاریخ دریافت: 1395/07/10

تاریخ پذیرش: 1396/04/17

چکیده

خیار یکی از اقتصادی‌ترین صیفی‌جات تولیدی در ایران است که به شدت توسط سفیدک پودری مورد هجوم قرار می‌گیرد. یکی از مؤثرترین راه‌های کنترل اپیدمی این بیماری شناسایی و کاربرد ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری است. در مطالعه حاضر تعداد 23 رقم خیار گلخانه‌ای و مزرعه‌ای از نظر مقاومت به سفیدک پودری غربالگری شده و ارقام مقاوم بر اساس برآورد درصد شاخص بیماری (PDI) شناسایی شدند. در ادامه فلورسانس کلروفیل برگ در 5 رقم از گروه‌های مقاوم، نیمه مقاوم و حساس برآورد و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بر اساس نتایج برآورد شاخص بیماری، اختلاف قابل ملاحظه‌ای از نظر مقاومت به این بیماری در بین ارقام مشاهده شد به طوری که در چهار گروه مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس دسته‌بندی شدند. دو رقم گلخانه‌ای CLE و Green Magic به ترتیب با شاخص بیماری 7/78 و 8/33 مقاوم‌ترین و دو رقم مزرعه‌ای Beit Alpha و SuperN3 به ترتیب با شاخص بیماری 31/11 و 31/67 حساس‌ترین ارقام شناخته شدند. در تجزیه واریانس شاخص‌های فلورسانس کلروفیل، اثر بیماری بر 3 شاخص فلورسانس حداقل (Fo)، فلورسانس متغیر (Fv) و شاخص سرزندگی گیاه (Fv/Fm) و اثر رقم بر شاخص Fo معنی‌دار بود ($P \leq 0.01$). همچنین مقایسه میانگین شاخص‌های فوق کاهش معنی‌دار کارایی فتوسنتز در ارقام حساس تحت تأثیر آلودگی را نشان داد در حالی که کارایی فتوسنتز در ارقام مقاوم کاملاً پایدار بود. نتایج این پژوهش برای کنترل سفیدک پودری خیار بدون استفاده از روش‌های شیمیایی کاربرد داشته و همچنین درک بهتری از تأثیر بیماری بر فتوسنتز در گیاه خیار ارائه خواهد داد.

واژه‌های کلیدی: شاخص سرزندگی، درصد شاخص بیماری، فتوسنتز، فتوسیستم II

مقدمه

جمله تنش‌های زیستی که تولید این محصول را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد بیمارگرهای قارچی هستند. به طوری که با فراهم شدن شرایط این بیماری‌ها به شدت توسعه پیدا کرده و خسارات شدیدی را به بار خواهند آورد (24).

سفیدک پودری یکی از شایع‌ترین بیماری‌های قارچی گیاهان خانواده کدوئیان از جمله خیار است که به وسیله قارچ‌های *Podosphaera xantii* (*Sphaerotheca fuliginea*) و *Golovinomyces cichoracearum* (*Erysiphe cichoracearum*) ایجاد می‌شود. این بیماری تقریباً در تمام مناطق کشت خیار مشاهده می‌شود. از مهم‌ترین دلایل شیوع گسترده این بیماری گسترش کشت‌های گلخانه‌ای و مساعد بودن شرایط گلخانه برای رشد قارچ و همچنین تداوم کشت گیاه در طول سال است که در نتیجه شرایط بهینه‌ای را برای شیوع بیشتر این بیماری فراهم کرده است (17). این بیماری برای اولین بار توسط اسفندیاری در سال 1326 (8) در ایران گزارش شده است. علائم این بیماری با ظهور نقاط سفید بر روی برگ و در شدت بالاتر بر روی ساقه‌ها ظاهر می

خیار زراعی با نام علمی *Cucumis sativus* گیاهی دو لپه، دیپلوتید با 14 عدد کروموزوم ($2N=2X=14$) و از خانواده کدوئیان است. این گیاه یکی از مهم‌ترین و اقتصادی‌ترین صیفی‌جات مصرفی در ایران است که سطح زیر کشت آن در کشور 92000 هکتار با تولید سالانه 1,78 میلیون تن گزارش شده است (14). تولید خیار تابع تنش‌های مختلف زیستی و غیر زیستی و کنترل به موقع آن‌ها می‌باشد. از

1 و 3- دکتری بیوتکنولوژی و استادیار، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(*)- نویسنده مسئول: Email: a.dehestani@gmail.com

2 و 4- استاد و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

5- دکتری زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

DOI: 10.22067/jpp.v31i3.55079

در ایران علی‌رغم اهمیت بالای سفیدک پودری کدویان، مطالعات انجام گرفته بر روی آن بسیار محدود بوده و این مطالعات بیشتر روی اثر ترکیبات سمی و غیر سمی بر روی کنترل بیمارگر انجام گرفته (2 و 15) و مطالعات ژنتیکی برای شناسایی عوامل مقاومت و یا غربالگری ژنوتیپ‌های موجود صورت نگرفته است در نتیجه انجام مطالعات گوناگون چه از نظر بررسی‌های ظاهری و همچنین بررسی‌های فیزیولوژیک مانند شاخص‌های فلورسانس کلروفیل، شاخص‌های بیوشیمیایی و ژنتیکی برای شناسایی ارقام مقاوم و در نهایت شناسایی عوامل ژنتیکی مقاومت در آنها برای استفاده در اصلاح مقاومت به این بیماری مفید خواهد بود.

در مطالعه‌ی حاضر تعداد 23 ژنوتیپ خیار غالباً تجاری و متداول در ایران شامل ارقام گلخانه‌ای و فضای باز به منظور مطالعه مقاومت به سفیدک پودری و غربالگری این ژنوتیپ‌ها و در نهایت شناسایی بهترین ژنوتیپ‌ها از نظر مقاومت به این بیمارگر مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین شاخص‌های فلورسانس کلروفیل در تعدادی از ارقام از سه گروه مقاوم، نیمه مقاوم و حساس مورد ارزیابی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

تعداد 23 رقم خیار شامل 9 رقم گلخانه‌ای، 11 رقم فضای باز، دو رقم بومی اصفهان و یک رقم خیار چنبر در داخل گلخانه به صورت تک‌بوته در داخل گلدان‌های با قطر 15 سانتی‌متر با سه تکرار برای هر رقم کشت شدند. شرایط نوری 14 ساعت روشنایی 10 ساعت تاریکی، دمای شبانه 20-14 درجه و روزانه 28-20 درجه و رطوبت نسبی 30 تا 50 درصد در نظر گرفته شد. ترکیب خاک مورد استفاده شامل نسبت 1:1:1 خاک باغچه، پرلیت و پیت موس بود. آبیاری هر 3 تا 5 روز و بر حسب میزان نیاز گیاهان با ریختن آب تا حد اشباع در داخل گلدان‌ها ضمن تغذیه گیاهان با استفاده از محلول کود مایع کامل NPK (20:20:20) به نسبت 1 سی‌سی در لیتر صورت گرفت.

تهیه انیکولوم اولیه و مایه‌زنی گیاهان

24 روز پس از کشت، زمانی که گیاهان به مرحله 4 برگ‌ری رسیده بودند مایه‌زنی بیمارگر به روش اسپری برگ‌ری با استفاده از یک روش تعریف شده (33) با برخی تغییرات انجام شد. مایه تلقیح بیماری که قبلاً از داخل گلخانه‌های آلوده تهیه شده و روی رقم حساس نگهداری شده بود مورد استفاده قرار گرفت. برای استفاده از اسپورهای جوان و فعال و ایجاد آلودگی یکنواخت، با دمیدن روی برگ‌های آلوده اسپورهای موجود حذف شدند. پس از گذشت حدود 36 ساعت چند

شود که در نهایت پودر سفیدی از هاگ و ریشه قارچ این اندام‌ها را می‌پوشاند. در بیشتر موارد اندام‌های آلوده به شدت آسیب دیده و در نهایت سفید و خشک می‌شوند. این بیماری تأثیر نامطلوبی بر روی محصول نیز به جا می‌گذارد به طوری که میوه‌ها قبل از موعد رسیده و بافت میوه نرم می‌شود (1) و از این طریق با کاهش دوره برداشت و همچنین کاهش کیفیت و کمیت محصول خسارات فراوانی به بار می‌آورد (22).

از روش‌های مختلفی برای کنترل بیماری سفیدک پودری استفاده می‌شود. از جمله این روش‌ها می‌توان به روش‌های شیمیایی مانند استفاده از قارچ‌کش‌ها، روش‌های زراعی، روش‌های بیولوژیک و شناسایی و توسعه ارقام مقاوم به بیماری اشاره کرد. با وجود استفاده گسترده از قارچ‌کش‌ها در کنترل بیماری، به دلیل ایجاد مقاومت در بیمارگر و همچنین مشکلات زیست محیطی و بهداشتی فراوانی که ایجاد می‌کنند، توجه تولیدکنندگان به راه‌های دیگر کنترل بیماری از جمله شناسایی و توسعه ارقام و ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری معطوف شده است.

وجود مقاومت به سفیدک پودری در منابع گوناگون گزارش شده است. در اواخر دهه 40 میلادی اولین مورد رقم مقاوم به سفیدک پودری به نام "Puerto Rico 37" در ایالات متحده آمریکا مشاهده شد (21) و از آن به بعد تعداد زیادی از ژنوتیپ‌های گوناگون مقاوم در نقاط مختلف دنیا گزارش شده و از آن‌ها در اصلاح نژاد برای مقاومت استفاده شده است (۳۰، ۳۱، ۳۲) متعاقب مطالعات صورت گرفته در زمینه شنایی ژنوتیپ‌های دارای مقاومت به این بیمارگر، برای شناسایی و بهره‌برداری از عوامل ژنتیکی مقاومت مطالعات متعددی در زمینه شناسایی QTLها و جایگاه‌های ژنی مقاومت به این بیماری بر روی ژنوتیپ‌های گوناگون از جمله اکوتیپ‌های بانک ذخایر ژنتیکی¹، واریته‌ها و ارقام محلی انجام شده است (۳۱، ۳۲، ۳۳ و 23).

تنش‌های وارده به گیاهان به ویژه تنش‌های زیستی مانند آفات و بیماری‌های گیاهی سبب القای تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در گیاهان مانند تغییرات کارکرد دستگاه فتوسنتز می‌شوند که شناسایی و رصد این تغییرات می‌تواند اطلاعات مفیدی در اختیار ما قرار دهد. فلورسانس کلروفیل به عنوان بازتاب واکنش‌های اولیه فتوسنتز (28) یک شاخص فیزیولوژیک معتبر برای مشخص نمودن تغییرات القایی در دستگاه فتوسنتزی می‌باشد که عملیات ارزیابی آن، بدون تخریب بافت گیاهی و در کمترین زمان صورت می‌گیرد (20)، تغییر در مقدار فلورسانس کلروفیل روشی برای شناخت و ارزیابی تحمل تنش برای درجه‌بندی گیاهان نیز می‌باشد (10). به طوری که از این تکنیک برای مقایسه ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان زراعی چون ذرت، سویا و یولاف در مقاومت به تنش‌های محیطی استفاده شده است (11).

آلوده با استفاده از دستگاه فلورومتر (PAM-2500, Walz, Germany) و با روشی استاندارد (9) اندازه‌گیری گردید. برای این منظور، برگ‌ها با اتصال گیره مخصوص به مدت 30 دقیقه در تاریکی قرار گرفته و سپس فلورسانس حداقل (Fo) و فلورسانس حداکثر (Fm) اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد برگ‌ها در شرایط روشنایی قرار گرفته و میزان فلورسانس پایدار (Ft)، فلورسانس حداکثر (Fm') و فلورسانس حداقل (Fo') در برگ‌های سازگار به روشنایی تعیین شد. در نهایت با استفاده از پارامترهای تعیین شده در برگ‌های سازگار به تاریکی و روشنایی، میزان فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm)، کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)]، کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستم II [Y(NPQ)]، کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] و خاموشی غیرفتوشیمیایی (NPQ) براساس معادلات 1 تا 6 محاسبه گردید (9 و 16).

$$\begin{aligned} Fv/Fm &= (Fm - Fo) / Fm \quad (2) & Fv &= Fm - Fo \quad (1) \\ Y(NPQ) &= (Ft / Fm') - (Ft / Fm) \quad (3) & Y(II) &= (Fm' - Ft) / Fm \quad (4) \\ Y(NO) &= Ft / Fm \quad (5) & NPQ &= Fm - Fm' / Fm' \quad (6) \end{aligned}$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای محاسبه درصد شاخص بیماری (PDI) از نرم افزار اکسل استفاده شد. داده‌های حاصل از فلورسانس کلروفیل نیز با استفاده از نرم افزار SAS نسخه 19/1 تجزیه گردید و میانگین‌ها با آزمون دو دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

ارزیابی مقاومت به بیماری و دسته بندی ارقام

بین 1 هفته تا 10 روز پس از مایه‌زنی گیاهان، آثار بیماری به صورت لکه‌های سفید رنگ ابتدا در ارقام حساس و به تدریج در ارقام دیگر مشاهده شد. مقاومت ارقام بر اساس شاخص PDI برای هر رقم در 3 تکرار محاسبه شد. همچنان که در جدول 1 مشاهده می‌شود ارقام در چهار گروه مقاوم شامل 2 رقم، نیمه مقاوم شامل 6 رقم، نیمه حساس شامل 11 رقم و حساس شامل 4 رقم دسته بندی شدند. با در نظر گرفتن اختلاف ارقام و برای تجزیه و تحلیل بهتر، ارقام مورد مطالعه به دو دسته گلخانه‌ای شامل 9 رقم و فضای باز (مزرعه‌ای) و سایر ارقام شامل 14 رقم تقسیم‌بندی شدند. نتایج مقایسه بین ارقام نشان داد که دسته ارقام گلخانه‌ای هم از نظر میانگین شاخص بیماری (PDI) و در نتیجه گروه‌بندی مقاومت به بیماری بالاتر از سایر ارقام قرار گرفتند. میانگین کل شاخص بیماری در ارقام

تکه برگ دارای اسپور زیاد داخل آب مقطر حاوی توین 20 (1) در هزار) غوطه‌ور گردید و با استفاده از لام هموسایتومتر تعداد اسپورها روی 10⁵ عدد در میلی‌لیتر تنظیم شد و سپس به طور یکنواخت روی برگ‌ها اسپری گردید به طوری که قطرات ریز آب روی برگ‌ها را بپوشاند اما جاری نگردد. پس از حدود 30 دقیقه آب سطح برگ‌ها خشک شد. از این مرحله به بعد به مدت 24 ساعت گیاهان در تاریکی با رطوبت نسبی 70 تا 80 درصد و دمای 15 تا 20 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس شرایط گلخانه به صورت به ترتیب دما و رطوبت نسبی شبانه 15 تا 20 درجه و 60 تا 80 درصد و روزانه 20 تا 26 درجه و 50 تا 70 درصد تنظیم شد.

ارزیابی آلودگی روی ژنوتیپ‌ها و برآورد درصد شاخص بیماری

پس از گذشت 10 روز از آلودگی و با ظهور کامل پرگنه‌های قارچ، ارزیابی گیاهان به مدت 20 روز هر 7 روز تکرار گردید (3 نوبت). ارزیابی بر اساس یک روش پیشنهادی (29) با اندکی تغییرات انجام شد. به این ترتیب که میزان آلودگی سطح برگ برحسب درصد کل سطح برگ محاسبه شد. برای هر رقم سه گیاه (تکرار) و در هر گیاه 4 برگ اولیه آلوده شده ارزیابی شدند. در نهایت برای درجه‌بندی آلودگی از مقیاس عددی صفر تا پنج استفاده شد (29) که در آن صفر= عاری از آلودگی، یک= 1-10 درصد، دو= 11-25 درصد، سه= 26-50 درصد، چهار= 51-75 درصد و پنج= 75 درصد > سطح برگ پوشیده از اسپور بیماری بود. درصد شاخص بیماری¹ (PDI) برای هر کدام از ارقام در 3 تکرار بر اساس فرمول زیر برآورد گردید. سپس میانگین کل برآوردها برای هر رقم مبنای درجه‌بندی ارقام از نظر آلودگی در نظر گرفته شد (29).

$$100 \times (\text{بیشترین درجه ارزیابی} \times \text{تعداد برگ های ارزیابی شده}) /$$

مجموع ارزش‌های عددی برآورد شده PDI=

بر اساس میانگین شاخص بیماری بر آورد شده ارقام در چهار گروه یک: مقاوم PDI = 0-10، دو: نیمه مقاوم PDI= 11-20، سه: نیمه حساس PDI= 20-30 و چهار: حساس PDI=>30 دسته‌بندی شدند (29).

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل

با گذشت 20 روز از آلودگی، پارامترهای فلورسانس کلروفیل در پنج ژنوتیپ SuperN3 و Prince, Green magic, CLE, Beit Alpha و در سه تکرار برای آخرین برگ گسترش یافته که عاری از آلودگی بود به عنوان شاهد و چهارمین برگ آلوده از پایین به عنوان برگ

1- Percent Disease Index= sum of numerical values / (number of leaves rated · Maximum rating) · 100

شاخص بیماری 23/69 است که در محدوده گروه سوم یعنی ارقام نیمه حساس قرار می‌گیرد. همچنین 2 رقم از حساس‌ترین ارقام شامل Sirana و Beit Alpha و Super N3 و 3 رقم نیمه مقاوم شامل ارقام Sirana F1، Prince و رقم بومی اصفهان 2 در این دسته قرار گرفتند و هیچ کدام از ارقام این دسته در گروه ارقام مقاوم قرار نگرفتند. همچنین رقم خیار چنبر ارزیابی شده با شاخص بیماری 30/3 در محدوده ارقام حساس قرار گرفت (جدول 1).

گلخانه‌ای 16/85 بود که در محدوده دسته دوم یعنی ارقام نیمه مقاوم قرار می‌گیرند. به طوری که دو رقم مقاوم شناسایی شده یعنی CLE و Green Magic در این دسته جای گرفتند و غیر از رقم Artoosh از این دسته که جزو ارقام حساس قرار گرفت بقیه در گروه‌های 2 و 3 یعنی نیمه حساس (3 رقم) و نیمه مقاوم (3 رقم) قرار گرفتند. در دسته ارقام فضای باز و سایر ارقام، هم از نظر میانگین و هم از نظر تعداد ارقام گروه‌های مختلف، مقاومت به سفیدک پودری به طور قابل ملاحظه‌ای پایین‌تر از ارقام گلخانه‌ای بود. در این دسته میانگین

جدول 1- درصد شاخص بیماری برآورد شده برای ارقام خیار مورد مطالعه

Table 1- Estimated percent disease index (PDI) for studying cucumber cultivars

ارقام فضای باز Outdoor cultivars			ارقام گلخانه‌ای Greenhouse cultivars		
رقم Cultivar	PDI	رتبه مقاومت Resistance rank	رقم Cultivar	PDI	رتبه مقاومت Resistance rank
Sirana F1 سیرانا	15.56	2	CLE سی ال ای	7.78	1
Prince پرنس	18.89	2	Green magic گرین مجیک	8.33	1
Victor MVR وکتور	20	3	Sina RS 189 سینا	10.56	2
Davos II 2 داووس	21.11	3	Evergreen اورگرین	12.78	2
Ramezz رامز	29.44	3	Espadana R2 اسپادانا	13.89	2
Super Dominus سوپر دومینوس	22.78	3	Sultan سلطان	21.11	3
Emperator امپراتور	23.33	3	Ps64 64 پی اس	21.67	3
Calypso F1 کالیپسو	24.44	3	GSI جی اس ای	25	3
Davos داووس	27.78	3	Artoosh آرتووش	30.56	4
Beit Alpha بیت آلفا	31.11	4			
SuperN3 3 سوپر ان	31.67	4			
Isfahan 1 1 اصفهان	21.11	3			
Isfahan 2 2 اصفهان	17.78	2			
Snake Melon خیار چنبر	30.3	4			
میانگین mean	23.69			16.85	
انحراف معیار S.D	5.17			8.03	
میانگین کل total mean				21.74	
انحراف معیار کل total S.D				6.77	

حساس: d 3: نیمه حساس 2: نیمه مقاوم 1: مقاوم
4: sensitive 3: semi-sensitive 2: semi-resistant 1: resistant

مطالعه حاضر هدف ارزیابی ارقام در شرایط گلخانه بود و بر این اساس شرایط برای رشد بهینه بیمارگر فراهم شد و همچنین با در نظر گرفتن تفاوت بالای موجود در زمینه ژنتیکی ارقام، عوامل محیطی دما و رطوبت در دامنه نسبتاً مناسب برای رشد بیماری (دمای 14-28 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 50-80 درصد) تنظیم شدند. در نتیجه به

در مطالعات گوناگون منابع مختلفی از ژنوتیپ‌های مقاوم به سفیدک پودری در کدویان گزارش و استفاده از آنها برای کنترل این بیماری در کنار استفاده از روش‌های دیگر به ویژه روش‌های دوست دار محیط زیست مانند روش‌های بیولوژیک و مدیریت عوامل محیطی به عنوان مؤثرترین روش مبارزه معرفی شده اند (۱۷، ۱۲ و 26). در

برگ‌ها، ساقه‌ها و میوه‌ها آسیب قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد. همچنین در بیشتر ارقام گلخانه‌ای دیگر با وجود نکروزه شدن و از بین رفتن برگ‌های اولیه (به ویژه در ارقام نیمه حساس) رشد خود را کامل کرده و تولید محصول کردند.

در نتیجه انتظار بر این است که با کشت ارقام مقاوم CLE و Green Magic و در درجات بعدی ارقام نیمه مقاوم معرفی شده در این مطالعه در شرایط عادی گلخانه و یا با در نظر گرفتن حداقل تدابیر در قالب مبارزه تلفیقی با بیماری در شرایط گلخانه و یا مزرعه، بیماری در حد آستانه اقتصادی حفظ شده و نیازی به روش‌های نامطلوب از قبیل مبارزه شیمیایی به ویژه در ارقام مقاوم شناسایی شده نباشد.

ارزیابی فلورسانس کلروفیل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر بیماری سفیدک پودری بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در برگ‌های آلوده در مقایسه با برگ‌های سالم ارقام مختلف خیار (جدول 2) نشان داد که اثر بیماری بر سه شاخص فلورسانس حداقل (Fo)، فلورسانس متغیر (Fv) و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و همچنین اثر رقم بر شاخص فلورسانس حداقل (Fo) در سطح احتمال 0/01 معنی‌دار بود اما اثر متقابل رقم و بیماری بر هیچ کدام از پارامترهای مورد بررسی معنی‌دار نبود. به علاوه شاخص‌های دیگر شامل کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II [Y(II)]، کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستم II [Y(NPQ)]، کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] و همچنین خاموشی غیرفتوشیمیایی (NPQ) تحت تأثیر هیچ کدام از اثرات بیماری، رقم و اثر متقابل آنها قرار نگرفتند.

نظر می‌رسد که دو رقم گلخانه‌ای CLE و Green Magic از گروه ارقام مقاوم با دارا بودن حداکثر مقاومت برای استفاده در کشت‌های گلخانه‌ای مناسبترین ارقام در بین ارقام ارزیابی شده از نظر کنترل بیماری سفیدک پودری کدوپیان ناشی از گونه *Sphaerotheca fuliginea* باشند. اما یادآوری این نکته ضروری است که عوامل ایجادکننده سفیدک پودری کدوپیان شامل دوگونه اصلی (*Erysiphe cichoracearum* و *Sphaerotheca fuliginea*) و نژادهای مختلف این گونه‌ها می‌باشد. در نتیجه توصیه می‌شود برای مشخص کردن دامنه مقاومت یک ژنوتیپ گیاهی به همه عوامل ایجادکننده این بیماری، در مقابل نژادهای مهم و رایج بیماری از هر دو گونه فوق مورد آزمون قرار گیرد (12). از سوی دیگر پاسخ ژنوتیپ‌های مختلف به بیماری در شرایط محیطی متفاوت مانند شرایط مزرعه یا گلخانه و همچنین تغییرات دما و رطوبت (21) و حتی در مراحل رشدی مختلف مانند مرحله گیاهچه‌ای و گیاه بالغ ممکن است متفاوت باشد و باید این موارد در مطالعات کامل‌تر برای انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم در نظر گرفته شود. در مطالعه حاضر هدف ارزیابی پاسخ ژنوتیپ‌ها در شرایط گلخانه بود اما ارزیابی ارقام در شرایط بهینه رشد و توسعه بیماری سفیدک پودری انجام شد.

برای ارزیابی بیشتر تأثیر بیماری بر ارقام مختلف در ادامه رشد، گیاهان تا محصول دهی کامل نگهداری شدند. در ارزیابی این مرحله تنها رشد دو رقم حساس Super N3 و Beit Alpha کاملاً متوقف شد و بیشتر از مرحله 8-10 برگی نتوانستند به رشد خود ادامه دهند و برگ‌ها و حتی ساقه‌های آنها علاوه بر آلودگی شدید به سفیدک پودری به شدت زرد شده و به مرور زمان ابتدا کلروزه و در نهایت نکروزه شده و از بین رفتند. اما ارقام مقاوم CLE و Green Magic علی‌رغم آسیب‌های جزئی وارده به برگ‌های تیمار شده رشد خود را به صورت طبیعی ادامه داده و در سطح قسمت‌های بالایی شامل

جدول 2- نتایج تجزیه واریانس اثر بیماری سفیدک پودری بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در ژنوتیپ‌های خیار مورد مطالعه
Table 2- The ANOVA results of powdery mildew disease effects on chlorophyll florescence parameters in the studying cucumber cultivars

منابع تغییر Source of variation	df	میانگین مربعات Mean of squares						
		Fo	Fv	Fv/Fm	Y(II)	Y(NPQ)	Y(NO)	NPQ
بیماری Disease	1	0.101**	0.066**	0.002**	0.0001 ^{ns}	0.0005 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	0.0945 ^{ns}
رقم Cultivar	4	0.151**	0.02 ^{ns}	0.0004 ^{ns}	0.0008 ^{ns}	0.0005 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.0547 ^{ns}
رقم در بیماری Cultivar×disease	4	0.027 ^{ns}	0.019 ^{ns}	0.00013 ^{ns}	0.0005 ^{ns}	0.0004 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.0511 ^{ns}
خطای آزمایشی Error	20	0.006	0.007	0.00016	0.0008	0.0003	0.0002	0.0222
درصد CV	-	6.8	2.13	2.27	4	12.9	10.5	14.4

**معنی‌دار در $P \leq 0.01$

**significant at $P \leq 0.01$

مطالعات صورت گرفته بر فتوسنتز نشان داده است که هنگامی که نور در سطح متوسط باشد، بخش غالب آن در فعالیت‌های فتوشیمیایی به مصرف فتوسنتز می‌رسد و بخش کمی از انرژی نورانی به صورت فلورسانس ساطع می‌گردد که به عنوان فلورسانس حداقل (Fo) شناخته می‌شود (27). در مطالعه حاضر میزان Fo در تمام ارقام مورد بررسی، در برگ‌های آلوده به بیماری سفیدک پودری نسبت به برگ‌های سالم افزایش نشان داد اما این افزایش فقط در ارقام حساس معنی‌دار بود (جدول 3 و شکل 1). افزایش شاخص Fo نشان دهنده آسیب به فتوسیستم II مانند تخریب مراکز واکنش و یا کاهش منبع پلاستوکوئینون می‌باشد (5).

مقایسه میانگین‌ها برای شاخص‌های فلورسانس کلروفیل که تحت تأثیر بیماری و رقم قرار گرفته‌اند (جدول 3) نشان داد که شاخص Fo در برگ‌های آلوده در مقایسه با برگ سالم در همه ارقام افزایش پیدا کرد اما بیشترین افزایش Fo در ارقام Beit Alpha و SuperN3 مشاهده شد که به ترتیب درصد 11/3 (1/8) در مقابل 11/4 (1/76) در مقابل 1/58 بوده و از نظر آماری نیز معنی‌دار بود (جدول 3 و شکل 1). همچنین میزان Fo در برگ‌های سالم رقم CLE به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بیشتر از برگ‌های سالم سایر ارقام بود که نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ارقام از نظر فلورسانس کلروفیل است (جدول 2 و 3).

جدول 3- مقایسه میانگین شاخص‌های فلورسانس کلروفیل در برگ‌های آلوده به سفیدک پودری در مقایسه با برگ‌های سالم در ارقام خیار مورد مطالعه

Table 3- Comparing of the means of chlorophyll fluorescence parameters in powdery mildew infected compared to healthy leaves in studying cultivars

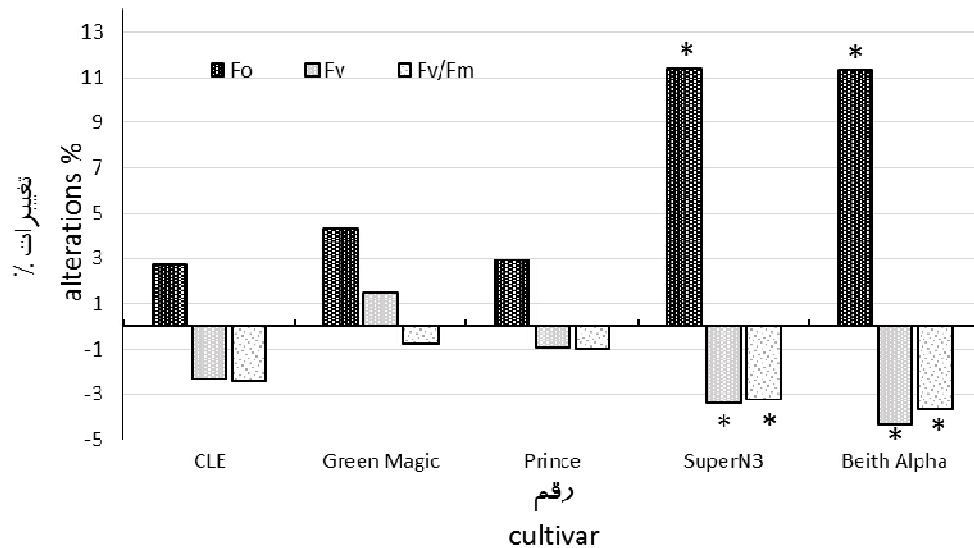
شاخص Parameter	تیمار Treatment	CLE	Green Magic	Prince	Super N3	Beit Alpha
Fo	برگ سالم Healthy leaf	1.83cd*	1.62ab	1.69abc	1.58a	1.61a
	برگ آلوده infected leaf	1.88d	1.69abc	1.74cd	1.76bcd	1.80cd
Fv	برگ سالم Healthy leaf	5.07ab	5.14abc	5.22bc	5.3d	5.33d
	برگ آلوده infected leaf	5.02a	5.22cd	5.17abc	5.15bc	5.10abc
Fv/Fm	برگ سالم Healthy leaf	0.746abc	0.761abc	0.756bcd	0.771d	0.767cd
	برگ آلوده infected leaf	0.728a	0.755bcd	0.784abcd	0.746abc	0.739ab

* براساس آزمون دانکن میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشترک در هر ستون در سطح احتمال پنج درصد، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند

*Based on Duncan test the means sharing lowercase (s) in each column have no significant difference at $P \leq 0.05$

حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II می‌باشد (3). رضایی و همکاران (25) در بررسی اثر بیماری ریزومانی، اختلاف کارایی کوانتومی بین ژنوتیپ‌های چغندر قند را گزارش نمودند. همچنین در پژوهشی که کلاور و همکاران (7) در ارقام چغندر قند انجام دادند، بیان داشتند که در بوته‌های آلوده به بیماری ویروس زردی چغندر قند، عملکرد کوانتومی آنها نسبت به بوته‌های سالم بطور معنی‌داری کاهش یافت. عملکرد کوانتومی ارتباط مستقیمی با فتوسنتز خالص گیاه دارد و کاهش آن در نهایت سبب کاهش تولید ماده خشک، کاهش رشد و در نهایت کاهش عملکرد اقتصادی گیاه می‌شود (25). همچنین اثر منفی آلودگی بیماری‌های قارچی بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در پژوهش‌های دیگری نیز گزارش شده است (4 و 6).

شاخص‌های Fv و Fv/Fm در دو رقم حساس به طور معنی‌داری کاهش پیدا کردند به طوری که Fv و Fv/Fm در رقم Beit Alpha به ترتیب 4/3 و 3/6 درصد و در رقم SuperN3 به ترتیب 3/4 و 3/2 درصد کاهش پیدا کردند (جدول 3 و شکل 1). فلورسانس متغیر (Fv) حاصل از اختلاف Fm با Fo بوده وضعیت جریان الکترون از بخش فتوسیستم به Q_A را نشان می‌دهد (3). Fv/Fm نیز بیانگر حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II برای تبدیل نور جذبی به انرژی شیمیایی می‌باشد. Fv/Fm به عنوان شاخص سرزندگی شناخته می‌شود و به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان شاخص معتبر برای نشان دادن اختلال ناشی از تنش در مراکز فتوشیمیایی و بازدارندگی نوری استفاده شده است (3 و 19). کاهش این پارامتر نشان از کاهش



شکل 1- درصد تغییرات شاخص‌های فلورسانس کلروفیل اندازه‌گیری شده در برگ‌های آلوده به بیماری سفیدک پودری در مقایسه با برگ‌های سالم در 5 رقم خیار. اندازه‌گیری براساس داده‌های مربوط به مقایسه میانگین در جدول 3 انجام شده است. * تغییرات در مقایسه با شاهد معنی دار است ($P \leq 0.05$)

Figure 1- Percent changes of chlorophyll florescence parameters measured in powdery mildew infected compared to healthy leaves of 5 cucumber cultivars. The measurements was done based on the comparing of the means data shown in table 3. *The changes are significant compared to control

سالم به قدری پایین باشد که در مراحل اولیه توسعه بیماری قابل مشاهده نباشد. اما زمانی که این مقایسه با گیاه شاهد غیر آلوده انجام گیرد با توجه به حساسیت روش ممکن است که بتوان بیماری را قبل از توسعه آن و ظهور آثار بیماری با استفاده از اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل و تجزیه و تحلیل آن پیش‌بینی کرد. پیشنهاد دوم نیز در ارتباط با مقایسه ژنوتیپ‌های مختلف و دسته‌بندی آنها با مقایسه آنها با گیاه شاهد سالم از نظر فلورسانس کلروفیل برگ می‌باشد. در اینجا نیز لازم است که ارزیابی در طول زمان توسعه بیماری با رصد کردن زمان بروز تغییرات و همچنین شدت تغییرات در زمان‌های مختلف انجام گیرد.

در انتها با توجه به نتایج برآورد شاخص بیماری و همچنین شاخص‌های فلورسانس کلروفیل پیشنهاد می‌شود برای کشت‌های گلخانه‌ای به ویژه در شرایط جغرافیایی و همچنین محیطی مناسب برای بروز بیماری، دو رقم مقاوم CLE و Green Magic در درجه اول و ارقام نیمه مقاوم دیگر در درجات بعدی مورد استفاده قرار گیرند. برای کشت‌های مزرعه‌ای به ویژه در مناطق مساعد برای بروز بیماری پیشنهاد می‌شود ارقام با مقاومت بالاتر از جمله Sirana F1 و Prince در اولویت قرار گیرند. در نهایت با در نظر گرفتن نتایج مطالعه حاضر، حتی اگر دلایل خاصی مانند عملکرد، مزه، بازاریابی و یا مقاومت به تنش‌های دیگر برای کشت ارقام حساس Beit Alpha و

در مجموع با توجه به نتایج پارامترهای فلورسانس کلروفیل، از بین پنج ژنوتیپ مورد بررسی، ژنوتیپ‌های SuperN3 و Beit Alpha به ترتیب حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها نسبت به بیماری سفیدک پودری شناخته شدند. ولی در سه ژنوتیپ دیگر شامل Prince (نیمه مقاوم) و Green Magic و CLE (مقاوم) آلودگی به عامل بیماری سفیدک پودری اثر معنی‌داری بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل نداشته و فتوسیسستم II و در نتیجه سیستم فتوسنتزی این ارقام آسیب چندانی نشان نداد. این نتایج با داده‌های حاصل از بررسی مقاومت بر اساس شاخص بیماری هماهنگ است. زیرا دو رقم Beit Alpha و SuperN3 با شاخص PDI به ترتیب 31/67 و 31/11 جزو حساس‌ترین، رقم Prince با شاخص PDI برابر با 18/89 نیمه مقاوم و CLE و Green Magic به ترتیب با شاخص بیماری 7/78 و 8/33 مقاوم‌ترین ارقام بودند (جدول 1). در اینجا می‌توان دو پیشنهاد را در ارتباط با استفاده از فلورسانس کلروفیل در تشش سفیدک پودری در قالب آزمایش‌های گسترده و کامل‌تر مطرح کرد. پیشنهاد اول در ارتباط با پیش‌بینی وقوع بیماری در مراحل اولیه توسعه آن به ویژه در ارقام حساس است. از آنجایی که در اینجا برگ‌های آلوده در مقایسه با برگ‌های سالم بررسی شدند، این احتمال دور از انتظار نیست که به دلیل تأثیر آلودگی بر کل گیاه اختلاف بین برگ‌های آلوده (عمدتاً ناشی از آسیب‌های وارده در اثر جراحات ناشی از توسعه بیمارگر) و

SuperN3 وجود داشته باشد به دلیل اهمیت بالای سفیدک پودری، در نظر گرفتن تدابیر لازم برای کنترل بیماری در قالب یک برنامه استفاده از آن‌ها تنها برای کشت‌های مزرعه‌ای در مناطق خشک و با تلفیقی قابل توصیه می‌باشد.

منابع

- 1- Ashkan M. 2005. Preliminary Phycology. Aeej publication. Tehran, (Book in Persian).
- 2- Azimi H. 2012. Effect of kresoxim methyl and tetraconazole fungicides in combination with potassium bicarbonate for controlling powdery mildew disease of cucurbits under greenhouse conditions. Iranian Journal of Practical Researches in Plant Protection, 1(1):58-65 (in Persian with English abstract).
- 3- Baker N.R., and 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.
- 4- Bauriegel E., and Herppich W.B. 2014. Hyperspectral and chlorophyll fluorescence imaging for early detection of plant diseases, with special reference to fusarium spec. infections on wheat. Agriculture, 4:32-57.
- 5- Bolhar-Nordenkamp H.R., Long S.P., Baker N.R, Oquist G., Schreiber U., and Lechner E.G. 1989. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. Functional Ecology, 3:497-514.
- 6- Bowden R.L., Rouse D.I., and Sharkey T.D. 1990. Mechanism of photosynthesis decrease by *Verticillium dahliae* in potato. Plant Physiology, 94:1048-1055.
- 7- Clover G.R.G., Azam-Ali S.N., Jaggard K.W., and Smith H.G. 1999. The effects of beet yellows virus on the growth and physiology of sugar beet (*Beta vulgaris*). Plant Pathology, 48:129-138.
- 8- Esfandiyari A. 1947. Third list of collected fungi in Iran. Iranian Journal of Plant Pathogens and Pests. 1-15 (in Persian with English abstract).
- 9- Genty B., Briantais J.M., and Baker N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta, 990:87-92.
- 10- Hakam P., Khanizade S., Deell J.R., and Richr C. 2000. Assessing chilling tolerance in roses using chlorophyll fluorescence. Horticultural Sciences, 35:184-186.
- 11- Hasani Z., Pirdashti H., Yaghoubian Y., and Noori M.Z. 2014. Application of Chlorophyll Fluorescence Technique to Evaluate the Tolerance of Rice (*Oryza sativa* L.) Genotypes to Cold Temperature and Water Stresses. Iranian Journal of Cell and Tissue (JCT), 5(2):195-206 (in Persian with English abstract).
- 12- Hector G., Palenius N., Hopkins D., and Daniel J.C. 2006. Powdery mildew of cucurbits in Florida. University of Florida. <http://www.edis.ifas.ufl.edu/pdf/HS/HS32100.pdf>.
- 13- Hi X., Li Y., Pandey S., Yandell B.S., Pathak M., and Weng Y. 2013. QTL mapping of powdery mildew resistance in WI 2757 cucumber (*Cucumis sativus* L.). Theoretical and Applied Genetics, 126(8):2149-2161.
- 14- Jahade Keshavarzi organization. 2014. Crop products statistics. Communication and information technology center. 2012-2013 annual report.106-107. <http://amar.maj.ir> (in Persian).
- 15- Jamalizavareh A.H., Sharifi Tehrani A., Hejarood G.H.A., Zad S.J., Mohammadi M., and Talebi Jahromi K.H. 2004. An investigation of the effectiveness of acibenzolar- S -methyl for the control of cucumber powdery mildew. Iranian Journal of Agriculture Sciences, 35(2):285-292 (in Persian with English abstract).
- 16- Klughammer C., and Schreiber U. 2008. Complementary PSII quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the saturation pulse method. PAM Application Notes, 1:27-35.
- 17- Kooistra E. 1968. Powdery mildew resistance in cucumber. Euphytica, 17:236-244.
- 18- Lebeda A. 1984. Screening of wild cucumis species for resistance to cucumber powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum* and *Sphaerotheca fuliginea*). Scientia Horticulturae. 24:241-249
- 19- Li G.M., Liu B.B., Wu Y., and Zou Z.R. 2008. Interactive effects of drought stresses and elevated CO₂ concentration on photochemistry efficiency of cucumber seedlings. Journal of Integrative Plant Biology, 50(10):1307-1317.
- 20- Mehata P., Jajoo A., Mathur S., and Bharti S. 2010. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. Plant Physiology and Biochemistry, 48:16-20.
- 21- Morishita M., Sugiyama K., Saito T., and Sakata Y. 2003. Powdery mildew resistance in cucumber. Japan Agricultural Research Quarterly, 37(1):7-14.
- 22- Mossler M.A., and Nesheim O.N. 2005. Florida crop/pest management profile: Squash. Electronic Data Information Source of UF/IFAS Extension (EDIS).CIR 1265. <http://www.edis.ifas.ufl.edu/>.
- 23- Qi X, Xu Q., Shen L., Alfandi M., Luo J., and Chen X. 2010. Identification of differentially expressed genes between powdery mildew resistant near-isogenic line and susceptible line of cucumber by suppression subtractive hybridization. Scientia Horticulturae, 126:27-32.

- 24- Ranjbar A., Shahriari D., and Rafezi R. 2008. An evaluation on the resistance of the germplasm of cucumber against Downy Mildew of cucurbitaceae (*Pseudoperonospora cubensis*). Iranian Journal of plant protection, 22(2):71-83 (in Persian with English abstract).
- 25- Rezaei J., Banayan Awal M., Mehrvar M., and Mahmoodi B. 2014. Beet physiological Behaviors in response to viral Rhizomania disease. Journal of Plant Protection, 28(1):138-146 (in Persian with English abstract).
- 26- Roberts P., and Pernezny K.L. 2005. Varieties of vegetables with resistance to disease. Electronic data information source of UF/IFAS extension (EDIS). PPP-63. February, 3, 2005. <http://edis.ifas.ufl.edu/>.
- 27- Rohacek K., Soukupova J., and Bartak M. 2008. Chlorophyll fluorescence: A wonderful tool to study plant physiology and plant stress. In Schoefs B, (ed). Plant Cell Compartments - Selected Topics. Research Signpost, Kerala, India, 41-104.
- 28- Sayed O.H. 2003. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. Photosynthetica, 41(3):321-330.
- 29- Shashikumar K.T., Pitchaimuthu M., Kumar D.P., and Rawal R.D. 2011. Heterosis and combining ability for resistance to powdery mildew in adult melon Plants. Plant Breeding, 130:383-387.
- 30- Wilson J.D., John C.A., Wohler H.E., and Hoover M.M. 1956. Two foreign cucumbers resistant to bacterial wilt and powdery mildew. Plant Disease Report, 40:437-438
- 31- Xia A., Li Y., and Zou D. 2004. Effects of salinity stress on PSII in *Ulva lactuca* as probed by chlorophyll fluorescence measurements. Aquatic Botany, 8:129-137.
- 32- Zijlstra S., and Groot P.C.G. 1992. Search for novel genes for resistance to powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in cucumber (*Cucumis sativus*). Euphytica, 64:31-37.
- 33- Beaver L.W., and Cienfuegos R. 1990. Powdery mildew inoculation techniques for a *Cucurbita moschata* breeding program. HortScience, 25(9):1075-1083.



اثر کودهای آلی در تراکم جمعیت نماتد سیستی چغندر قند *Heterodera schachtii* Schmidt 1871

ندا هلال¹ - مهدی نصر اصفهانی^{2*} - مجید اولیا³

تاریخ دریافت: 1395/07/10

تاریخ پذیرش: 1396/06/06

چکیده

جهت بررسی کنترل غیر شیمیایی نماتد سیستی چغندر قند، آزمایشی با استفاده از کودهای آلی در دو سطح مزرعه و گلخانه صورت پذیرفت. در این آزمایش، از کودهای نیپوسیده دامی، در مقادیر 20، 40 و 60 تن در هکتار، مرغی 10، 20 و 40 تن در هکتار؛ کود سبز (ضایعات برگ کلم)؛ دو نوع کمپوست 08 (0/8 میلی متر) و 015 (0/15 میلی متر)، و ورمی کمپوست، هر کدام به میزان 20، 40 و 60 تن در هکتار انجام گردید. جمعیت نهایی، تعداد تخم و لارو سن دوم موجود، در هر گرم خاک، مبنای تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. همچنین، فاکتور تولیدمثل و درصد کاهش و یا افزایش جمعیت نماتد سیستی چغندر قند محاسبه گردید. نتایج حاصله نشان داد، تیمار کود مرغی با 93/32 در صد، بیشترین اثر را در کاهش جمعیت نماتد سیستی چغندر قند و کمترین مقدار، در کود حیوانی 20 تن در هکتار با 44/77 درصد کاهش داشته است. کمترین میزان فاکتور تولیدمثل، در تیمار کود مرغی بود. تیمارهای کود کمپوست 015، ورمی کمپوست، برگ کلم و کود گاوی در رده‌های بعد قرار گرفتند. نتایج، در خصوص میزان محصول، عیار قند و سایر شاخص‌ها در تیمارهای مختلف چغندر قند مورد بررسی، نشان داد که تفاوت قابل توجه در بین تیمارها وجود دارد. به طوری که کود مرغی 20 و 40 تن در هکتار، به ترتیب با 27/55 و 26/93 تن محصول در هکتار، بیشترین مقدار و کمترین آن، در تیمارهای شاهد و برگ کلم 20 تن در هکتار، به ترتیب با 13/77 و 14/20 تن در هکتار بود.

واژه‌های کلیدی: برگ کلم، کمپوست، کود دامی، کود سبز، کود مرغی، ورمی کمپوست

مقدمه

چغندر قند یکی از محصولات اساسی و ماده اولیه صنایع قند و شکر کشور می‌باشد. این گیاه، یکی از دو محصول مهم تأمین کننده قند، در جهان است که حدود یک چهارم شکر جهان در مناطق معتدل، یعنی مناطقی که نیشکر در آن‌ها کشت نمی‌شود، به وسیله آن تولید می‌شود (14).

در بین عوامل بیماری‌زا، نماتدهای انگل گیاهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. در ایران، علاوه بر گزارشات پراکنده، مطالعاتی در مورد

شناسایی نماتدهای انگل گیاهی مزارع چغندر قند در برخی از مناطق صورت گرفته است. گونه‌های *M. incognita*، *H. schachtii*، *M. arenari* و هم‌چنین، جنس‌های *Aphelenchus*، *Pratylenchus*، *Tylenchorhynchus*، به عنوان نماتدهای انگل گیاهی مهم ایران از سال 1342 تا 1346 توسط کارشناسان از مزارع چغندر قند جمع‌آوری و شناسایی گردیده است (30). اخپانی و همکاران (1372)، 26 گونه نماتد از مزارع چغندر قند استان اصفهان جمع‌آوری و شناسایی کردند و در بین همه‌ی نماتدها، گونه‌های *H. M. javanica*، *M. incognita schachtii* را به علت پراکندگی وسیع و درصد خسارت وارده، از جمله مهم‌ترین نماتدهای زراعت چغندر قند در استان اصفهان معرفی کرده‌اند (30). کاهش عملکرد چغندر قند در اثر حمله نماتدها حدود 10 درصد برآورد شده که در این میان نماتد مولد سیست چغندر قند (*Heterodera schachtii*) مسئول کاهش بیش از 90 درصد این مقدار است و بر همین اساس، به عنوان مهم‌ترین بیماری چغندر قند در جهان شناخته شده است (8، 24 و 33).

1 و 3- کارشناس ارشد و دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه شهرکرد
2- دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران

(*)- نویسنده مسئول:
(Email: mne2011@gmail.com
DOI: 10.22067/jpp.v31i3.57891

نماتد سیستی چغندر قند: نماتد سیستی چغندر قند، *Heterodera schachtii* Schmidt 1871 سال توسط هرمان شاخت (Herman Schacht) در آلمان به عنوان آفت چغندر قند مشاهده و در سال 1871 به وسیله آدولف اشمیت (Adolf Schmidt) نامگذاری گردید. نماتد سیستی چغندر قند، مهم ترین نماتد چغندر قند است که به طور وسیعی در اکثر مناطق چغندر کاری جهان گسترش دارد و باعث ضعف، زردی، کاهش عملکرد و کیفیت محصول در چغندر قند می شود (30). مبارزه با این نماتد، در اواخر قرن 19 در اروپا، سبب ورشکستگی 24 کارخانه قند شد (34). از آن روز تاکنون، مبارزه با این نماتد، مبتنی بر ممنوعیت کشت در اراضی شدیداً آلوده، کشت زود هنگام (فرار)، تغذیه کامل، تناوب زراعی، ترکیبات شیمیایی، گیاهان تله بوده که هر یک دارای محدودیت های خاص خود می باشد. با توجه به مشکلات و محدودیت های سایر روش های کنترل نماتد چغندر قند، نظیر طولانی بودن دوره تناوب، مسائل بازده اقتصادی زراعت های جانشین، اقتصادی نبودن مصرف سموم نماتدکش، مسمومیت شدید آن ها برای انسان و دام و آلودگی محیط زیست و کاستی ارقام مقاوم، نسبت به نماتد چغندر قند، سعی بر آن شده که روش های کنترلی دیگر، از جمله استفاده از مواد آلی نیز به مرحله ای اجرا گذاشته شود. عملیات زراعی، مثل اصلاح خاک با بقایای آلی حیوانی یا گیاهی، در کاهش بیماری های گیاهی مختلف، کاربرد دارد و اثرات آن ها بر پاتوژن های خاک به خوبی مشخص شده است (23، 24، 28 و 41). در بسیاری از نظام های کشاورزی پایدار، به خصوص در کشاورزی زیستی، از کمپوست ها و کودهای آلی و عصاره های آن ها در جهت بهبود شرایط و حاصلخیزی خاک و نیز پیشگیری و کنترل امراض و آفات گیاهی استفاده می شود (1، 8 و 20).

جهت بررسی امکان کنترل نماتد سیستی چغندر قند در مزارع آلوده، آزمایش هایی با استفاده از روش آفتابدهی و استفاده از کود حیوانی نیوسیده در مزارع آلوده اطراف کارخانه قند اصفهان در منطقه جی و قهاب صورت پذیرفته است (26). چهار تیمار این آزمایش شامل، استفاده از روش آفتابدهی خاک با به کارگیری ورقه های پلاستیکی شفاف، استفاده از کود حیوانی تازه، تلفیق پوشش ورقه های پلاستیکی و کود حیوانی بوده که طی دو سال انجام گردید. تیمارهای کود حیوانی و آفتابدهی به تنهایی از لحاظ آماری تفاوتی با یکدیگر نداشتند. ولی، تیمار تلفیق کود حیوانی و آفتابدهی، کمترین فاکتور تولیدمثل را داشته و با 99/85 درصد، بیشترین درصد کاهش جمعیت را نشان داده است (26). رنکو و همکاران (2011) نشان دادند که تیمار کود مرغی توانسته است، تولید مثل نماتد سیست چغندر قند را به طور قابل توجهی کاهش دهد و مؤثرترین تیمار باشد که البته، کاهش فاکتور تولیدمثل بستگی به میزان مواد آلی استفاده

شده در خاک دارد (33). کودهای مرغی و کمپوست سبز روی محصول سیب زمینی، باعث کاهش جمعیت تخم و لارو نماتد سیست سیب زمینی در حدود 50-85 درصد شده، ضمن این که کود مرغی مؤثرتر گزارش شده است (36).

نتایج مطالعات در کره شمالی با کودهای دامی و کمپوست و نیز در تلفیق با کود شیمیایی اوره، در مزرعه فلفل قرمز، نشان داده است که همگی به طور نسبی در کاهش جمعیت نماتدهای ریشه گری مؤثر بوده است (9 و 25). هم چنین، در آزمایشی که توسط رنکو و همکاران (2007) صورت گرفت، تأثیر مثبت کود مرغی بر فاکتور تولیدمثل به اثبات رسیده است. در گزارشی، توسط نصر و همکاران (1384) اثر کودهای آلی، شامل کودهای نیوسیده دامی، مرغی، کود سبز (ضایعات برگ کلم)، کمپوست (کودهای تولیدی شهرداری از جمع آوری زباله های شهری)، کودهای شیمیایی (NPK) به طور جداگانه و در تلفیق با کودهای آلی در کنترل نماتدهای ریشه گری گونه ای غالب *Meloidogyne javanica* نشان داده است که تلفیق کود مرغی و شیمیایی (NPK) از مؤثرترین تیمارها در کاهش تعداد تخم و نوزاد نماتد در خاک و ریشه بوده است (24 و 27).

بررسی نتایج جمعیت نماتدهای آزادزی درون خاک، قبل از اعمال کود مرغی نشان از وجود نماتدهای انگلی از جنس های *Heterodera*, *Tylenchus*, *Paratylenchus* و نماتدهای آزادزی از جنس های *Rhabditis*, *Cephalobulus* بوده که حاکی از افزایش جمعیت نماتدهای آزادزی بوده است (4، 7، 39 و 40). هدف اصلی در این تحقیق، بررسی اثر کودهای آلی، شامل کودهای حیوانی و مرغی، کمپوست (زباله شهرداری)، ورمی کمپوست و ضایعات برگ کلم، در مقادیر مختلف، روی جمعیت نماتد سیستی چغندر قند، در دو سطح مزرعه و گلخانه بوده است.

مواد و روش ها

آزمایش مزرعه

1- انتخاب زمین آلوده: جهت اجرای این تحقیق، در شروع آزمایش، ابتدا مزرعه ای با سابقه کشت چغندر قند و آلودگی به نماتد سیستی چغندر قند، در منطقه جی و قهاب، در اطراف کارخانه قند اصفهان انتخاب شد. جهت تأیید آلودگی این مزرعه، تعداد 10 نمونه، به صورت تصادفی از نقاط مختلف مزرعه مذکور، انتخاب و طبق روش مندرج در بند 2، سیست ها از خاک استخراج و میزان جمعیت تخم و لارو سن دوم نماتد مذکور، در هر گرم خاک مزرعه محاسبه گردید (5، 10 و 13).

2- تعیین جمعیت اولیه (Pi) نماتد سیستی چغندر قند

در خاک: برای تعیین جمعیت اولیه ی نماتد سیستی چغندر قند در خاک، ابتدا زمین انتخابی، قبل از اعمال تیمارها، بر حسب تیمار و

دریافتی از بخش چغندر قند، در مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان، یک ماه پس از اعمال تیمارها به روش سنتی انجام شد. در طول دوره رشد چغندر قند، عملیات داشت از جمله آبیاری صحیح، کوددهی، مبارزه با علفهای هرز و آفات و بیماریها و سایر عملیات لازم صورت گرفت.

4- تعیین جمعیت نهایی (PF): جهت تعیین جمعیت نهایی، طبق روش اشاره شده در بند یک و دو، سیستمهای پر (سیستمهای حاوی تخم و لارو) موجود در خاک، در اواخر فصل، استخراج شد. سیستمهای هر نمونه، پس از خرد کردن با سیستم خردکن، جمعیت تخم و لارو سن دوم موجود در 200 گرم خاک و در نهایت در یک گرم خاک محاسبه گردید (11، 24 و 32).

5- محاسبه فاکتور تولیدمثل و درصد کاهش جمعیت نسبت به جمعیت اولیه: فاکتور تولیدمثل، بر اساس میانگین جمعیت نهایی و اولیه هر تیمار، برای هر آزمایش محاسبه شد. بر آن اساس، درصد کاهش و یا افزایش جمعیت نماتد سیستی چغندر قند، در هر تیمار نسبت به جمعیت اولیه همان تیمار در آزمایش مذکور محاسبه گردید (29).

محاسبات آماری: ابتدا با استفاده از نرم افزار SAS، آزمون نرمال بودن توزیع دادهها بررسی شد. یک نواختی واریانسهای درون تیمار نیز با استفاده از آزمون بارتلت تعیین شد. با توجه به یک نواخت نبودن واریانسهای درون تیمار، تبدیل زاویه ای ($\text{Arc Sin } x$) انجام شد و دادههای تبدیل شده، نرمال بودن با استفاده از نرم افزار SAS مجدداً مورد آزمون قرار گرفت. نهایت، تجزیه واریانس دادهها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین، با روش دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد (38).

آزمایش گلخانه ای

آزمایش در گلخانههای بخش تحقیقات گیاهپزشکی اصفهان انجام یافت. در گلخانه نیز پس از اعمال تیمارها به همان میزان، به گلدانهایی با گنجایش 5 کیلوگرمی خاک، از نوع سفالی، حاوی خاک همان مزرعه و کاشت چغندر قند و تعیین جمعیت قبل و در پایان رشد، مانند روش مزرعه ای انجام و فاکتور تولیدمثل به همان روال با خاک آلوده محاسبه گردید. در نهایت، میانگین فاکتور تولیدمثل و درصد کاهش و یا افزایش جمعیت مجموع دو آزمایش محاسبه شد. بررسیها، در قالب طرح بلوکهای کاملاً تصادفی با چهار تکرار برای گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت.

6- عملکرد میزان درصد قند محصول چغندر و درصد

عناصر مهم چغندر قند: در زمان برداشت، در هر کرت (تکرار) با نمونه برداری از محصول تولیدی و با ارسال نمونههای محصول چغندر به کارخانه قند، وضعیت میزان درصد قند محصول چغندر و درصد

تکرارها، به کرتهاایی به مساحت 8 متر مربع، تقسیم و از 5 نقطه هر کرت نمونههایی از عمق صفر تا 30 سانتی متر جمع آوری و پس از مخلوط کردن آنها، به صورت یک نمونه ی مرکب دو کیلوگرمی به آزمایشگاه منتقل گردید (15، 18، 21 و 23).

سپس، 200 گرم از خاک هر نمونه، در هوای معمولی خشک و سیستمهای موجود در آن با روش فنویک استخراج شد. کلیه ی سیستمهای حاوی تخم و لارو سن دوم، با بررسی در زیر بینوکولار جدا و سیستمهای هر نمونه، پس از خرد کردن آنها با سیستم خردکن، جمعیت اولیه ی تخم و لارو سن دوم موجود در 200 گرم خاک و در نهایت در یک گرم خاک محاسبه گردید (6 و 18).

3- اعمال تیمارها: کلیه مواد آلی مربوطه، شامل کود مرغی و ورمی کمپوست و کودهای گاوی، برگ کلم و کمپوست شهرداری، در مقایسه با شاهد، یعنی فاقد هر گونه تیمار، قبل از کاشت چغندر قند، به شرح ذیل به خاک اضافه، شخم و آبیاری گردید (24 و 31).

تیمارها

- 1- کود مرغی نهپوسیده (CYM) در سه مقدار مختلف شامل 10، 20 و 40 تن در هکتار، در سه تیمار جداگانه
- 2- کود گاوی نهپوسیده (FYM) در سه مقدار مختلف شامل 20، 40 و 60 تن در هکتار (یعنی کود حیوانی تازه ای که در دامداری تولید و جمع آوری شده بود)، در سه تیمار جداگانه.
- 3- کود سبز (ضایعات برگ کلم) (G) در سه میزان مختلف شامل 20، 40 و 60 تن در هکتار (منظور آن برگهایی است که پس از برداشت محصول کلم به صورت بقایای گیاهی در مزرعه باقی می ماند)، در سه تیمار جداگانه.
- 4- کود کمپوست 015(CO) (0/15 میلی متری)، در سه مقدار مختلف شامل 20، 40 و 60 تن در هکتار (کودهای تولیدی شهرداری از جمع آوری زباله های شهری)، در سه تیمار جداگانه.
- 5- کود کمپوست 08 (0/8 میلی متری)، در سه مقدار مختلف شامل 20، 40 و 60 تن در هکتار در سه تیمار جداگانه.
- کود ورمی کمپوست در سه میزان مختلف شامل 20، 40 و 60 تن در هکتار در سه تیمار جداگانه.
- شاهد (فاقد هر گونه تیمار).
- تیمارها، هر کدام در 3 تکرار، در قالب طرح بلوکهای کاملاً تصادفی، در مزرعه به اجرا درآمد. در واقع، کلیه مواد (تیمارها) در نیمه دوم بهمن ماه، به خاک اضافه و هر تکرار به طور جداگانه شخم و پس از حدود یک ماه، یعنی در نیمه دوم اسفند ماه، اقدام به کشت چغندر شد. لازم به ذکر است که وضعیت جمعیت نماتد، قبل و پس از انجام تیمارها، به صورت فوق، برای هر تکرار مشخص گردید (11 و 23).

کاشت چغندر قند: عملیات کاشت چغندر قند رقم 005، رقم

عناصر مهم در اثر هر یک از تیمارها تعیین گردید.

7- محاسبات آماری: داده‌های گلخانه و اجزای عملکرد نیز، مشابه شرایط در مزرعه انجام و تجزیه واریانس آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین، با روش دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد (38).

8- محاسبات اقتصادی: هم‌اکنون، قیمت کودهای مورد استفاده، مشخص و معین می‌باشد. یعنی این که به ازای هر کیلوگرم کود مرغی 150-200 تومان، گاوی 50 تومان، کمپوست شهرداری 50 تومان، ورمی کمپوست 700 تومان، ضایعات برگ کلم (فعلاً قیمت خاصی ندارد) می‌باشد. لذا، پس انجام آزمایش‌ها و اخذ نتایج نهایی، بر اساس قیمت‌های فوق، بررسی‌هایی در این خصوص انجام و اقتصادی بودن هر یک از تیمارهای مؤثر، تعیین و جمع‌بندی گردید.

نتایج

جمعیت اولیه (P_i): بررسی‌های حاصل از تجزیه واریانس نمونه‌های اولیه در مزرعه، نشان داد که در بین جمعیت اولیه تیمارهای مورد آزمایش در هر بلوک، تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. همچنین، میانگین جمعیت اولیه در هر گرم خاک 4/85 عدد تخم و لارو محاسبه شد. جمعیت اولیه در آزمایش مزرعه و گلخانه به دلیل استفاده از خاک مشابه، یکسان بود (جدول 1) ($P=0/01$).

بررسی‌ها در سطح مزرعه

درصد کاهش جمعیت نماتد: مقایسه‌ی نتایج حاصل از تجزیه واریانس در این خصوص، نشان داد که از نظر کاهش جمعیت نماتد سیستم چغندرقتند، بین تیمارهای مورد آزمایش، تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد وجود داشت (جدول 1) ($P=0/01$). نتایج داده‌ها نشان داد که کاهش قابل توجهی نسبت به جمعیت اولیه، در هر تیمار و نیز در مقایسه با شاهد رخ داده است. نتایج حاصله نشان داد، تیمار کود مرغی به میزان 40 تن در هکتار با درصد کنترل 92/4، بیشترین

اثر را در کاهش جمعیت نهایی نماتد سیستمی چغندرقتند، نسبت به سایر تیمارها و شاهد داشته است. تیمارهای کود مرغی 20 تن در هکتار با 88/4 درصد و کمپوست 015، به میزان 60 تن در هکتار با 87/51 درصد کنترل بودند و از لحاظ آماری تفاوتی با یکدیگر نداشتند و هر دو در یک گروه آماری نسبت به سایر تیمارها و نیز شاهد قرار گرفتند (جدول 1) ($P=0/01$). همچنین، تیمار کود مرغی 10 تن در هکتار 85/97 درصد و کمپوست 08، 60 تن در هکتار با درصد کنترل 85/92 از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار با یکدیگر نداشتند. تیمارهای ورمی کمپوست به میزان 20 تن در هکتار با درصد کنترل 62/9، تیمار برگ کلم 20 تن در هکتار با درصد کنترل 60/79 و تیمار کود گاوی 40 و 20 تن در هکتار به ترتیب با 49/79 و 37/8 درصد، کمترین کاهش جمعیت را نشان دادند و در گروه‌های آماری جداگانه قرار گرفتند (جدول 2). در تمامی فاکتورهای جمعیت نهایی، تولیدمثل، درصد تکثیر جمعیت نماتد و درصد کاهش جمعیت، تیمار کود مرغی، کمپوست 015، کمپوست 08، ورمی کمپوست، ضایعات برگ کلم و کود گاوی به ترتیب دارای بهترین نتایج بودند.

درصد تکثیر جمعیت نماتد: بررسی‌های حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، نشان داد که از نظر درصد تکثیر جمعیت نماتد سیستم چغندرقتند، بین تیمارهای مورد آزمایش، تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد وجود داشته است (جدول 1) ($P=0/01$). بررسی‌ها، در اثر تیمارهای اعمال شده نشان داد که تیمار کود مرغی 40 تن در هکتار، با 7/59 درصد، دارای کمترین تکثیر جمعیت نماتد بود و تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارها و شاهد داشته و در یک گروه آماری جداگانه قرار گرفت. تیمارهای کود مرغی 20 تن در هکتار، کمپوست 015 به میزان 60 تن در هکتار، کود مرغی 10 و کمپوست 08 به میزان 60 تن در هکتار، به ترتیب با 11/56، 12/48، 14/02 و 14/07، در رده‌های بعدی قرار گرفتند (جدول 2) ($P=0/01$).

جدول 1- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر فاکتورهای جمعیت نماتد، طول ریشه و وزن خشک ریشه در مزرعه و گلخانه

Table 1- Variance analysis of the various treatments on nematode population factors, root length and dry weight in the field and glass house

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی D.F.	میانگین مربعات Mean Squire		ضریب تغییرات C.V.	
		مزرعه Field	گلخانه Glass-house	مزرعه Field	گلخانه Glass-house
Initial population جمعیت اولیه	18	0.062 ^{ns}	0.062 ^{ns}	4.81	4.81
Popul. reduction کاهش جمعیت	18	1449.16 ^{**}	1345.22 ^{**}	1.65	1.80
Reproduction تولید مثل	18	0.5 ^{**}	0.49 ^{**}	5.33	5.29
Final population جمعیت نهایی	18	12.06 ^{**}	11.92 ^{**}	13.08	12.01
Root Length طول ریشه	18	11.12 ^{**}	3.31 ^{**}	2.53	2.56
Dry weight وزن خشک	18	1499.17 ^{**}	57.26 ^{**}	4.2	2.99

ns، ** و * به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح یک درصد و پنج درصد

ns, ** and * non-significant, significant one percent and five percent respectively

نشان داد که از نظر فاکتور تولیدمثل، بین تیمارهای مورد آزمایش، تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد وجود دارد (جدول 3) ($P=0.01$). همچنین، نتایج حاصل، نشان داد که تیمار کود مرغی 40 تن در هکتار با 0/1 عدد تخم و لارو در هر گرم خاک، دارای کمترین میزان فاکتور تولیدمثل بوده و از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارها و شاهد داشته است. تیمار کود مرغی 20 تن در هکتار، کمپوست 015، 60 تن در هکتار، کود مرغی 10 تن در هکتار و کمپوست 08، 60 تن در هکتار با 0/19، 0/18، 0/2 و 0/2 عدد تخم و لارو در هر گرم خاک در رده‌های بعدی گروه‌های آماری قرار داشته و از لحاظ آماری، تفاوت معنی‌دار با یکدیگر نداشتند (جدول 2) ($p=0.01$).

تعیین میزان محصول، قند و سایر فاکتورهای تجزیه‌ی ریشه‌های چغندر قند

نتایج حاصل از داده‌ها، در خصوص میزان محصول، عیار قند و سایر شاخص‌ها در تیمارهای مختلف چغندر قند مورد بررسی، نشان داد که تفاوت قابل توجه در بین تیمارها وجود دارد (جدول 3) ($P=0.01$). به طوری که کود مرغی 40 و 20 تن در هکتار، به ترتیب با 27/55 و 26/93 تن در هکتار، در یک گروه آماری، بیشترین مقدار محصول را به اختصاص داده و کمترین آن، در تیمارهای شاهد و برگ کلم 20 تن در هکتار، به ترتیب با 13/77 و 14/20 تن در هکتار بود که در یک گروه آماری با اثر معنی‌دار با سایر تیمارها قرار گرفتند. در خصوص عیار قند، تیمارهای کود کمپوست 015 به میزان 60 تن در هکتار با 18/06 درصد و کود کمپوست 08 به میزان 60 تن در هکتار با 17/97 درصد، بیشترین میزان عیار قند را دارا بودند. همچنین، کمترین میزان عیار قند، مربوط به تیمارهای برگ کلم 20 تن در هکتار و شاهد به ترتیب با 14 و 13/35 درصد بود. سایر تیمارها، در خصوص عیار قند، در حد واسطه این دو گروه با اثر معنی‌دار واقع شدند (جدول 4) ($P=0.01$). از نظر میزان عناصر مورد بررسی، شامل عناصر پتاسیم، سدیم و نیترات مشخص گردید، بیشترین میزان عنصر پتاسیم، مربوط به تیمارهای کود گاوی 60 تن در هکتار با 7/13 میلی گرم، کمپوست 015 به میزان 40 تن در هکتار با 7 میلی گرم و ورمی کمپوست 40 تن در هکتار با 6/97 میلی گرم بود. همچنین، بیشترین میزان عنصر سدیم، مربوط به تیمارهای کمپوست 08 و 015 به میزان 60 تن در هکتار به ترتیب با 4/71 و 4/55 میلی گرم تعیین شد. کمترین میزان عنصر سدیم مربوط به تیمارهای شاهد و کلم 20 تن در هکتار به ترتیب با 2/28 و 2/48 میلی گرم و در مورد عنصر نیترات، بیشترین میزان مربوط به تیمارهای کود مرغی 10 تن در هکتار با 3/41 و کود گاوی 20 تن در هکتار با 3/35 و کمترین میزان، مربوط به شاهد با 1/98 میلی گرم تعیین شد.

فاکتور تولید مثل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس، نشان داد که از نظر فاکتور تولیدمثل، بین تیمارها، تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد وجود دارد (جدول 1) ($P=0.01$). نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، تیمار کود مرغی به میزان 40 تن در هکتار با 0/14 عدد تخم و لارو در هر گرم خاک، دارای کمترین میزان فاکتور تولیدمثل بوده و از لحاظ آماری، تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارها و شاهد داشته است (جدول 2) ($P=0.01$). تیمار کود مرغی 20 تن در هکتار، 015 کمپوست 60 تن در هکتار، کود مرغی 10 تن در هکتار و 08 کمپوست 60 تن در هکتار، در رده‌های بعدی گروه آماری قرار داشته و از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار با یکدیگر نداشتند (جدول 2). نتایج تحقیق حاضر در خصوص کاهش جمعیت نماتد و نیز ازدیاد رشد در اثر کودهای مورد استفاده، نشان داد که اثر قابل توجه و با اثر معنی‌دار در این امر مهم از خود نشان داده‌اند (جداول 1 و 2).

ارزیابی آزمایش در گلخانه: ارزیابی آزمایش در گلخانه، براساس محاسبه جمعیت نهایی نماتد و فاکتورهای رشدی گیاه صورت گرفت که نحوه ارزیابی به صورت ذیل ارائه شده است.

محاسبه درصد کاهش جمعیت نماتد: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که از نظر کاهش جمعیت نماتد سیست چغندر قند، بین تیمارها تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد وجود دارد (جدول 1) ($P=0.01$). همچنین، نتایج نشان داد، تیمار کود مرغی 40 تن در هکتار با 94/24 درصد کاهش، دارای بیشترین میزان کاهش جمعیت بود و از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارها و شاهد داشت. تیمار کود مرغی 20 تن در هکتار و کمپوست 015 در 60 تن در هکتار، کود مرغی 10 تن در هکتار، کمپوست 08 و دامی در 60 تن در هکتار به ترتیب با 90/46، 89/90، 89/32، 89/12 و 74/60 درصد، در رده‌های بعدی قرار داشته و از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار با یکدیگر نداشتند (جدول 2) ($P=0.01$).

درصد تکثیر جمعیت نماتد: بررسی‌های حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها در این خصوص، نشان داد که از نظر درصد تکثیر جمعیت نماتد، بین تیمارهای مورد آزمایش تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد وجود داشته است (جدول 3) ($P=0.01$). بررسی‌ها در اثر تیمارهای اعمال شده نشان داد، تیمار کود مرغی 40 تن در هکتار با 5/76 درصد، دارای کمترین تکثیر جمعیت نماتد بود و تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارها و شاهد داشته و در یک گروه آماری جدا قرار گرفت. تیمارهای کود مرغی 20 تن در هکتار، کمپوست 015 به میزان 60 تن در هکتار، کود مرغی 10 تن در هکتار و کمپوست 08 به میزان 60 تن در هکتار به ترتیب با 10/1، 9/53، 10/68 و 10/88 درصد، در رده‌های بعدی قرار گرفتند (جدول 2).

فاکتور تولیدمثل: مقایسه نتایج حاصل از تجزیه واریانس،

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر فاکتورهای درصد کاهش جمعیت نماتد، تولید مثل، جمعیت نهایی در مزرعه و گلخانه

Table 2- Mean comparison of various treatments on nematode population reduction, reproduction and final population in the field and glass house

تیمار Treatments	درصد کاهش جمعیت نماتد Population reduction (%)		تولید مثل ** Reproduction		جمعیت نهایی ** Final population	
	مزرعه Field	گلخانه Glass-house	مزرعه Field	گلخانه Glass-house	مزرعه Field	گلخانه Glass-house
کود مرغ 40t/ha	92.40a	94.24a	0.14j	0.1j	0.7i	0.53h
کود مرغی 20t/ha	88.44b	90.46b	0.21i	0.18i	1.11i	0.91h
کود کمپوست 60 t/ha o15	87.51bc	89.90b	230.i	0.19j	1.09i	0.88h
کود مرغی 10 t/ha	85.97c	89.32b	0.26i	0.2i	1.27 hi	0.96gh
کود کمپوست 60 t/ha o8	85.92c	89.12b	0.26i	0.2i	1.26hi	0.97gh
Vermicompost 60t/ha	80.20de	84.29c	0.37h	0.29h	1.76 gh	1.38fg
کود کمپوست 40 t/ha o15	80.62d	83.58cd	0.36h	0.3gh	1.82 gh	1.54f
کود کمپوست 20 t/ha o15	79.32de	83.29cd	0.38gh	0.3gh	1.88 g	1.52 f
کود کمپوست 40 t/ha o8	79.54de	82.93cd	0.38gh	0.32gh	1.85 g	1.54 f
Vermicompost 40t/ha	78.62ef	82.16cd	0.4fgh	0.33g	1.87 g	1.56 f
برگ کلم 60t/h	76.98fg	82.06d	0.42fg	0.33g	2.05 fg	1.6 f
کود کمپوست 20 t/ha o8	76.40g	81.72d	0.44f	0.34g	2.13fg	1.65f
برگ کلم 40t/h	70.31h	75.45e	0.55e	0.45f	2.62ef	2.16e
کود گاوی 60t/ha	67.95i	74.90e	0.59e	0.46f	2.85e	2.23e
Vermicompost 20t/ha	62.92j	72.60f	0.69d	0.5e	3.11de	2.27e
برگ کلم 20t/h	60.79k	69.21g	0.72d	0.57d	3.46d	2.72d
کود گاوی 40t/ha	49.79l	59.17h	0.93c	0.76c	4.53c	3.68c
کود گاوی 20t/ha	37.80m	51.74i	1.15b	0.89b	5.57b	4.31b
شاهد (no any treatment)	0n	j	1.85a	1.9a	9.20a	9.43a

** تخم و لارو در هر گرم خاک/gram of soil

- The numbers with the same letters in the column are not significant at 1% level. نماتد ها فاقد اثر معنی دار در سطح یک درصد می باشند.

داشت که در جدول مربوطه درج گردیده است (جدول 4) ($P=0.01$). از نظر میزان اقتصادی بودن نتایج فوق، مشخص گردید که کود مرغی، کمپوست (زباله شهرداری)، ورمی کمپوست، کود حیوانی و

همچنین، سایر شاخص ها، شامل میزان ضریب قلیایی، از نظر میزان درصد شکر قابل استحصال، بیشترین راندمان و در مورد قند ملاس، تفاوت های قابل ملاحظه و معنی دار در بین تیمارها وجود

گرهی گونه‌ی *M. incognita* و افزایش رشد و تولید محصول بیشتری گردیده و با افزایش کود مرغی، کنترل بیشتری مشاهده شده است. کودهای مرغی و کمپوست سبز روی محصول سیب زمینی، باعث کاهش جمعیت تخم و لارو نماتد سیست سیب زمینی در حدود 50-85 درصد شده، ضمن این که کود مرغی مؤثرتر گزارش شده است (36). با توجه به این که بیشترین درصد کنترل توسط تیمار کود مرغی بوده است، برسکی و دان (1969) نشان دادند که کاهش قابل توجه در این خصوص، می‌تواند در نتیجه تولید مواد سمی، شامل گازهای فرار آمونیاک، نیترات، گازهای سولفور و اسیدهای آلی باشد که به طور مستقیم برای نماتدها کشنده بوده و نیز به طور غیرمستقیم در تفریق تخم‌ها و تحریک نوزادها اثر می‌گذارند (26).

نتایج مطالعات در کره شمالی با کودهای دامی و کمپوست و نیز در تلفیق با کود شیمیایی اوره، در مزرعه فلفل قرمز، نشان داده است که همگی به طور نسبی در کاهش جمعیت نماتدهای ریشه گرهی مؤثر بوده است (28). کارمانی و همکاران (2011) نشان دادند که تیمار کود مرغی توانسته است، تولید مثل نماتد سیست چغندرقد را به طور قابل توجهی کاهش دهد و مؤثرترین تیمار باشد که البته، کاهش فاکتور تولید مثل بستگی به میزان مواد آلی استفاده شده در خاک دارد (33). همچنین، در آزمایشی که توسط رنکو و همکاران (2007) صورت گرفت، تأثیر مثبت کود مرغی بر فاکتور تولید مثل به اثبات رسیده است. در گزارشی، توسط نصر و همکاران (1384) اثر کودهای آلی، شامل کودهای نیوسیده دامی، مرغی، کود سبز (ضایعات برگ کلم)، کمپوست (کودهای تولیدی شهرداری از جمع‌آوری زباله‌های شهری)، کودهای شیمیایی (NPK) به‌طور جداگانه و در تلفیق با کودهای آلی در کنترل نماتدهای ریشه گرهی گونه‌ی غالب *Meloidogyne javanica* روی خیار رقم P.S نشان داد که تلفیق کود مرغی و شیمیایی (NPK) از مؤثرترین تیمارها در کاهش تعداد تخم و نوزاد نماتد در خاک و ریشه بوده است. کود دامی، تلفیق ضایعات برگ کلم و کودهای شیمیایی و کود کمپوست نیز در رده‌های بعد قرار گرفتند (23).

در این تحقیق، استفاده از کودهای آلی، شامل کمپوست (زباله شهرداری)، ورمی کمپوست، کودهای حیوانی و ضایعات برگ کلم، در مقادیر مختلف، در مقایسه با شاهدها، روی جمعیت نماتد سیستی چغندرقد، در دو سطح مزرعه و گلخانه و در مجموع نشان داد که پس از کود مرغی، توانستند با کمی اختلاف و در حد بسیار قابل قبولی نماتد سیستی چغندرقد را کنترل نمایند (21 و 36). این نتایج، با اکثر گزارشات در این خصوص، همخوانی و مطابقت داشته است. در این راستا، در آزمایشی دیگر که توسط کارمانی و همکاران (2011) روی نماتد ریشه‌گرهی انجام شد، استفاده از کودهای آلی شامل، کود گاوی توانست به ترتیب، جمعیت نماتد ریشه‌گرهی را 52/58، 49/02 و 46/6 درصد کاهش دهد.

ضایعات برگ کلم، در مقادیر مختلف با کمی اختلاف، نماتد سیستی چغندرقد را به خوبی کنترل نمایند. همچنین، بیشترین محصول را تولید کنند (جدول 3 و 4) ($P=0.01$). البته، در خصوص کود مرغی در مقادیر 10، 20 و 40 تن در هکتار، این که چندان تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده نگردید. لذا، جهت استفاده بهینه و از نظر اقتصادی، مقدار 20 تن در هکتار، مقدار مناسب و قابل قبولی است که از نظر اقتصادی مبلغ 3 میلیون تومان محاسبه می‌گردد. ولی، در خصوص سایر کودها، مثل کمپوست 015 و 08، ورمی کمپوست، برگ کلم و کود گاوی به میزان 40 الی 60 تن در هکتار بین 2 الی 3 میلیون تومان نیز از نظر کنترل و نیز اقتصادی بودن، قابل استفاده می‌باشند. هر چند که، با توجه به قیمت کود ورمی کمپوست با هر کیلوگرم 700 تومان و معادل هفت میلیون تومان در هکتار، اقتصادی به نظر نمی‌رسد. ولی، در مورد کمپوست شهرداری 015 و 08 و کود حیوانی نیوسیده 40 تن در هکتار، به میزان هر کیلو 50 تومان، با 2 میلیون تومان در هکتار خواهد بود.

بحث

میانگین جمعیت اولیه، قبل از آزمایشات، 4/85 عدد تخم و لارو در هر گرم خاک بود که میزان خسارت در مزرعه مورد آزمایش حدود 20 درصد برآورد شد. این میزان، از حد آستانه خسارت تعیین شده نماتد سیست چغندرقد بیشتر بوده است. در شرایط ایران، حد آستانه خسارت نماتد سیستی چغندرقد، متوسط یک عدد تخم و یا لارو در هر گرم خاک می‌باشد (7 و 30). نتایج این آزمایش، حدود پنج برابر مقدار گزارش شده است که این میزان، می‌تواند حدود 20 درصد خسارت محصول چغندرقد را در بر داشته باشد (2 و 12).

مجموع نتایج، به طور میانگین در مزرعه و گلخانه، بدین گونه بود که تیمار کود مرغی به میزان 40 و 20 تن در هکتار، با اختلاف بسیار جزیی، بیشترین اثر را بر فاکتورهای جمعیت نهایی، تولیدمثل، درصد تکثیر نماتد و درصد کاهش جمعیت نماتد سیستی چغندرقد، نسبت به سایر تیمارها و شاهد داشته است. همچنین، در همین راستا، کود مرغی سبب کاهش جمعیت نماتدهای *M. incognita*، *Hoplotailus columbus* و *Pratylenchus penetrans* شده است (24). تحقیقات روی نماتد *M. incognita* کاکائو نشان داد که جمعیت نماتد در ریشه، با استفاده از کود مرغی، کاهش چشم‌گیری داشته است (33). همچنین، استفاده از کودهای آلی شامل کودهای مرغی در کشور گابون در کنترل نماتدهای ریشه گرهی روی گیاه گوجه‌فرنگی، بسیار مؤثر واقع گشته و حتی موجب ازدیاد رشد و محصول نیز گردیده است (13، 37 و 40).

در کشور استرالیا نیز استفاده از کود مرغی در مقادیر 24، 36 و 48 تن در هکتار و در تلفیق با کود شیمیایی اوره، به میزان 1800 کیلوگرم در هکتار، موجب کاهش قابل توجهی از نماتدهای ریشه

آلوده به نماتد سیستمی چغندر قند مربوط به کارخانه قند اصفهان، با استفاده از روش آفتاب‌دهی، کود حیوانی و تلفیق آن‌ها در چهار عمق مختلف صورت پذیرفته، نشان دهنده تأثیر بسیار خوب تیمار تلفیق آفتاب‌دهی و کود حیوانی، به خصوص در عمق صفر تا 15 سانتی-متری بوده و باعث کاهش 99/85 درصدی جمعیت نماتد سیستمی چغندر قند در خاک‌های برگشتی آلوده گردیده است (23). در این گزارش، تیمار کود حیوانی به تنهایی نیز کنترل قابل توجهی را در پی داشته که با نتایج این آزمایش‌ها همخوانی و مطابقت دارد. همچنین، بررسی در سطح مزرعه، نشان داده است که کود کمپوست، فعالیت نماتدهای ریشه‌گرهی و نماتدهای زخم ریشه را کاهش می‌دهد. در این آزمایش، کیمپینسکی و همکاران (2003) در مزرعه‌ای که مورد کشت سیب زمینی بود، اثبات نمودند که کود کمپوست، می‌تواند جمعیت نماتدهای *M. hapla* را به شدت کاهش دهد.

با توجه به نحوه عملکرد کودهای آلی در برابر نماتدهای خاک، لازاروی و همکاران (2001) گزارش کردند که مواد آلی، مانند کودهای مرغی که حاوی نیتروژن بالایی هستند، دارای تأثیر کاهش فوری بر نماتدهای خاک بوده که در نتیجه انتشار آمونیاک، بلافاصله پس از شروع تجزیه میکروبی می‌باشند. همچنین، بیان داشتند که کاهش نسبت C/N، از جمله اقدامات موفقیت‌آمیز در خاصیت نماتدکشی است که در ارتباط مستقیم با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مانند pH می‌باشد. به طوری که در خاک‌های اسیدی، کودهای حیوانی نسبت به خاک‌های خنثی یا قلیایی مؤثرتر بودند. از سوی دیگر، آمونیاک سمی در pH بالا، به آسانی تبدیل به آمونیاک غیرسمی می‌شود. مواد آلی به هنگام تجزیه، ترکیبات نماتدکشی مثل اسیدهای اورگانیک، ترکیبات نیتروژنی و متابولیت‌های ثانویه آزاد می‌کنند. به خصوص، زمانی که آمونیاک، نقش غالب را بازی می‌کند (9 و 25). این گزارشات، کماکان نتایج حاصل از این تحقیق را در مورد کاهش جمعیت نماتد سیستمی چغندر قند با استفاده از مواد آلی مورد آزمون تأیید می‌نماید.

بررسی نتایج جمعیت نماتدهای آزادزی درون خاک، قبل از اعمال تیمارها توسط فریس و همکاران، 2004 و زیبا و همکاران، 2010 نشان از وجود نماتدهای انگلی از جنس‌های *Heterodera*، *Tylenchus*، *Paratylenchus* و نماتدهای آزادزی از جنس‌های *Cephalobulus*، *Rhabditis* بوده که پس از اعمال تیمارها و اتمام آزمایش، نتایج ارزیابی حاکی از کاهش جمعیت نماتدهای انگل به خصوص، در تیمار کود مرغی و افزایش جمعیت نماتدهای آزادزی در تیمارهای مربوطه بوده است. به طور کلی، افزودن هر گونه ماده آلی قابل تجزیه در خاک، یکی از روش‌هایی است که موجب تغییراتی در شرایط فیزیکی و شیمیایی و زیستی خاک و فراهم شدن شرایط مساعد، برای آنتاگونیست‌های موجود و تکثیر و ازدیاد آن‌ها، در جهت برقراری کنترل بیولوژیک عوامل بیماری‌زای خاکزاد می‌گردد (39 و 40).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر فاکتورهای عملکرد، میزان شکر قابل استحصال، عیار قند، پتاسیم، سدیم، ضریب قلیایی، نیتروژن، راندمان، ملاس

Table 3- Analysis of variance effect of different treatments on the yield, the amount of recoverable sugar, sugar content, potassium, sodium, alkalinity factor, nitrogen, efficiency and molasses

منابع تغییر S.V.O.	درجه آزادی DF	میانگین مربعات MS					راندمان Efficiency	ملاس Molasses
		عملکرد Yield	شکر قابل استحصال Recoverable sugar	عیار قند Sugar content	پتاسیم Potassium	سدیم Sodium	ضریب قلیایی Alkalinity	
تکرار Replicate	2	0.026**	9.33**	15.93**	0.14**	1.27**	1.42**	0.2**
تیمار Treatments	18	1.60**	8.43**	6.54**	0.87**	0.05**	0.04**	0.06**
خطا Error	36	0.0005	0.61	1.06	0.00005	0.00008	0.00009	0.00001
		1.03	7.08	6.64	0.11	0.02	0.026	0.07

ns، ** و * به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح یک درصد و پنج درصد
ns** and * respectively non-significant, significant one percent and five percent

در تحقیقی که به منظور بررسی ضدعفونی خاک‌های برگشتی

جدول ۴- میانگین عملکرد قند، عناصر، ضریب قلیایی، میزان شکر قابل استحصال، راندمان و قند ملاس در ریشه چغندر قند
Table 4- The mean of yield, amount of recoverable sugar, sugar content, potassium, sodium, alkalinity factor, nitrogen, efficiency and molasses

تیمارها	عملکرد	عیار چغندر قند	پتاسیم	سدیم	نیتروژن	ضریب قلیایی	شکر قابل استحصال	راندمان	قند ملاس
Treatments	Yield*	Sugar content	Potassium	Sodium	Nitrogen	Alkalinity	Recoverable sugar	Efficiency	Molasses
			(mq/100 gr beet)			(درصد)			
Cabbage lesves 40t/ha برگ کلم	15.12d	15cdef	6/65f	2/48o	2/75k	3/68h	10/98bdef	73/18j	4/02j
Compost 40 t/ha o8 کود کمپوست	19,00d	15.91abcde	6.56g	3.92g	2.42n	4.33b	11.8bc	74.15i	4.11h
Farm manure 20t/ha. گاوی کود	19.11d	15.33cdef	6.57g	4.5c	3.35c	3.3i	11.07bdef	71.55n	4.4c
Farm manure 60t/ha. گاوی کود	25.15ab	15.93abcde	7.13a	3.23m	2.63l	4.09e	11.11bdef	72.44l	4.22e
Chichen manure 40t/ha مرغ کود	27.55a	16.18abcd	5.97l	3.57j	2.89j	2.27o	12.22bc	75.54q	3.96k
Vermicompost 20t/ha کود ورمی کمپوست	19,00d	15.28cdef	6.14c	3.66l	2.99f	3.28j	11.35bdef	74.26k	3.93g
Cabbage lesves 60t/ha برگ کلم	20.09d	15.66abcde	6.41i	3.06n	3.12g	3.13l	11.73bcd	74.88g	3.93m
Compost 20 t/ha o15 کود کمپوست	16.66d	16.47abcd	5.85m	3.41k	3.17f	2.92m	12.71ab	77.15d	3.76o
Compost 60 t/ha o15 کود کمپوست	25.39ab	18.06a	5.69n	4.55b	3.31d	2.74n	14.37a	79.99a	3.71p
Compost 60 t/ha o8 کود کمپوست	25.37ab	17.97ab	5.28p	4.71a	3.2e	2.74n	14.35a	79.46b	3.6q
Compost 40 t/ha o15 کود کمپوست	22.64cb	17abcd	7.00b	3.7h	3.3d	3.69g	7.94h	78.2c	3.9n
Vermicompost 40t/ha کود ورمی کمپوست	23.68b	15.14cdef	6.97j	3.35i	3.17h	3.26ij	11.01bcde	72.94i	4.13m
Compost 40 t/ha o8 کود کمپوست	23.01cb	17.5abc	6.94d	3.9g	2.45m	3.74h	9.26fgh	76.6e	4.28d
Farm manure 40t/ha. گاوی کود	25.15ab	15.47bdef	6.52h	3.23m	2.63l	4.09e	11.11bdef	72.44l	4.22e
Chichen manure 10t/ha مرغ کود	23.68b	14.55def	6.06k	3.96f	3.41b	3.13l	10.5cdefg	71.74m	4.04i
Vermicompost 60t/ha کود ورمی کمپوست	23.84b	15.92cdef	6.15j	4.36d	2.63l	4.00f	8.78bc	67.94p	4.14f
Cabbage lesves 20t/ha برگ کلم	14.20e	14.38ef	5.6o	3.4k	2.77j	5.10a	9.44efgh	70.58o	3.94l
Chichen manure 20t/ha مرغ کود	26.93a	15.79def	6.74e	3.90g	3.12g	3.21k	11.77gh	74.54h	4.02j
Control (no any treatment) شاهد	13.77e	13.35f	5.44o	2.28p	1.98o	4.27c	8.64gh	65.2r	4.61a

* تنی در هکتار Tons/ hectore

-The numbers with the same letters in the columns are not significant at 1% level. یا شند. در سطح یک درصد می باشند.

غیرمستقیم در برقراری کنترل بیولوژیکی و کاهش نماتدهای انگل کمک می‌نمایند (13 و 20).

کود سبز باعث کاهش شدید نماتدهای *Bitylenchus*، *Paratylenchus*، *Heterodera*، *Helicotylenchus*، *Rotylenchus* روی محصول جو شده است که با نتایج این تحقیق، در خصوص نماتد سیستی، همخوانی و مطابقت دارد (12 و 25). گزارشات روی محصول توت فرنگی و انگور، توسط ورمی کمپوست، حاکی از کاهش جمعیت نماتدهای پارازیت به میزان 50 درصد است. در آمریکا نیز نشان داده شده است که با افزایش مقدار کود مرغی به خاک، کاهش بیشتری از نماتد مشاهده گردیده است در آمریکا نیز نشان داده شده است که با افزایش مقدار کود مرغی به خاک، کاهش بیشتری از نماتد مشاهده گردیده است هم‌چنین، کودهای دامی، باعث کاهش جمعیت نماتدهای پارازیت به میزان 30-50 درصد شده است (39). در کشور نیجریه نیز افزودن کود مرغی به خاک، در گوجه‌فرنگی موجب کاهش نماتد ریشه گرهی *M. incognita* و حتی ازدیاد رشد محصول این گیاه نیز گردیده است. هم‌چنین، نشان داده شده که این کاهش در اثر مواد سمی تولید شده از کود مرغی می‌باشد که وارد خاک می‌گردد. در یک آزمایش گلخانه ای با استفاده از کمپوست ناشی از بقایای گاوی، باعث از بین رفتن 80 درصد جمعیت *M. javanica* در گلدان‌های آلوده شده است (9). گزارش نمود که مواد آلی از جمله کودهای حیوانی، در کاهش جمعیت نماتد ریشه گرهی در خاک و ریشه مؤثر بوده و افزودن مواد آلی به خاک تأثیر به سزایی بر تنوع و جمعیت نماتدها داشته است. این گزارشات با نتایج تحقیق حاضر در خصوص کاهش جمعیت نماتد و نیز ازدیاد رشد در اثر کودهای مورد استفاده، موافقت و همخوانی نشان می‌دهد (18 و 22).

یائو و همکاران (2006) گزارش کردند که با افزودن کودهای سبز به خاک، جمعیت نماتدهای آزادزی بیشتر شده است. جمعیت نماتدهای آزادزی در سیستم‌های اورگانیک که در آن از کودهای مرغی و گاوی استفاده شده، افزایش می‌یابد (35 و 41).

در خصوص میزان محصول، عیار قند و سایر شاخص‌ها، در تیمارهای مختلف چغندر قند تفاوت قابل توجه در بین تیمارها وجود داشت. کود مرغی 20 و 40 تن در هکتار، بیشترین مقدار محصول و تیمارهای شاهد و برگ کلم 20 تن در هکتار، کمترین بودند. در خصوص عیار قند، تیمارهای کود کمپوست 015 و کود کمپوست 08 به میزان 60 تن در هکتار، بیشترین میزان عیار قند و کمترین میزان عیار قند، به ترتیب مربوط به تیمارهای برگ کلم 20 تن در هکتار و شاهد بود. از نظر میزان عناصر، شامل عناصر پتاسیم، سدیم و نیترات مشخص گردید، بیشترین میزان عنصر پتاسیم، مربوط به تیمارهای کود گاوی 60 تن در هکتار، کمپوست 015 به میزان 40 تن در هکتار

هم‌چنین، افزودن هر نوع مواد آلی به خاک، در نهایت با یک افزایش مشخص در جمعیت نماتدهای باکتری‌خوار و قارچ‌خوار همراه است. در این راستا، فراهم شدن بستر غنی تغذیه، توسط مواد آلی، افزایش جمعیت در نماتدهای *Rhabditidae*، *Diplogastridae* و نماتدهای باکتری‌خوار توسط پژوهشگران مختلف گزارش شده است (10، 33 و 36).

مواد آلی با نسبت C/N پایین (کودهای حیوانی و کودهای سبز)، منابع غذایی خوبی برای باکتری‌ها و در پی آن، برای جمعیت نماتدهای باکتری‌خوار هستند (14 و 22). افزایش جمعیت نماتدهای آزادزی، به چند دلیل می‌تواند سودمند باشد. نماتدهای تغذیه کننده باکتری‌ها، به طور فعال عناصری مانند N و P را دفع می‌کنند که باعث افزایش نسبت C/N و C/P می‌شود. بر این اساس، مطالعات متعدد، ارتباط مثبتی بین جمعیت نماتدهای باکتری‌خوار و مقدار N موجود در خاک نشان داده است (13 و 23). این نماتدها، علاوه بر دفع نیتروژن، این عناصر را به طور مستقیم در دسترس گیاه قرار می‌دهند. از طرفی، افزایش نسبت C/N همان‌گونه که قبلاً اشاره شد، در جهت کنترل نماتدهای پارازیت اقدام مفیدی به شمار می‌رود. علاوه بر این، تعداد زیاد نماتدهای باکتری‌خوار، احتمالاً با تغییر جوامع میکروبی و تولید هورمون‌های گیاهی، می‌تواند روی رشد ریشه و مورفولوژی گیاه تأثیر مثبت داشته باشد. نتایج مطالعات در کره شمالی، با کودهای دامی و کمپوست در مزرعه فلفل قرمز، نشان داده است که همگی به‌طور نسبی در کاهش جمعیت نماتدهای ریشه گرهی مؤثر بوده، ولی جمعیت نماتدهای آزادزی فقط در مورد کود کمپوست افزایش داشته است (6، 13 و 25).

مطالعه جمعیت نماتدهای آزادزی از گروه *Diplogasterid*، *Rabditid* و *Cephalobid* در تیمار تلفیقی کود مرغی و شیمیایی در آزمایش نصر و همکاران (1384)، افزایش 289 درصدی جمعیت آن‌ها را نسبت به شاهد نشان داده است. هم‌چنین، گزارش شده که تیمار تلفیقی ضایعات برگ کلم و کودهای شیمیایی، نسبت به سایر تیمارها در کاهش جمعیت نماتدهای انگل مؤثرتر بوده است (3). بلوک و همکاران (2002) گزارش کردند که جمعیت نماتدهای *Rhabditidae* و *Cephalobidae* با افزودن کودهای حیوانی و کودهای سبز به خاک افزایش چشم‌گیری داشته است. این گزارشات با نتایج تحقیقات کیمبینسکی و همکاران (2003) مبنی بر افزایش جمعیت نماتدهای آزادزی با افزودن مواد آلی مطابقت دارد. آرانگون و همکاران (2003) طی آزمایشاتی بر روی ورمی کمپوست و کودهای غیر اورگانیک، به این نتیجه رسیدند که افزایش شاخصی در جمعیت نماتدهای آزادزی، در تیمار ورمی کمپوست، نسبت به تیمار کودهای غیر اورگانیک وجود دارد. این تغییرات نشان می‌دهد که کودهای آلی بالاخص مرغی و دامی موجب افزایش جمعیت نماتدهای آزادزی می‌گردند و به‌طور

ولی، در خصوص سایر کودها، مثل کمپوست 015 و 08، ورمی کمپوست، برگ کلم و کود گاوی به میزان 40 الی 60 تن در هکتار نیز از نظر مقدار کنترل و نیز اقتصادی قابل اجرا می باشند. هر چند که، با توجه به قیمت کود ورمی کمپوست با هر کیلوگرم 700 تومان، این کود هم اکنون برای محصول چغندرقد، اقتصادی به نظر نمی رسد. ولی، در مورد کمپوست 015 و 08 و کود حیوانی نپوسیده به میزان هر کیلو 50 تومان، با مقدار 40 تن در هکتار، معادل قیمت کود مرغی 20 تن در هکتار محاسبه می گردد.

دریک جمع بندی از نتایج فوق، در این تحقیق، این که استفاده از کودهای آلی، شامل کود مرغی، کمپوست های شهرداری، ورمی کمپوست، کود حیوانی و ضایعات برگ کلم، در مقادیر مختلف، در مقایسه با شاهد ها، روی جمعیت نماتد سیستی چغندرقد، در دو سطح مزرعه و گلخانه، در مجموع نشان داد که پس از کود مرغی، سایر مواد آلی توانسته اند، با کمی اختلاف و در حد قابل قبولی، نماتد سیستی چغندرقد را بخوبی کنترل نمایند. البته، در خصوص کود مرغی در مقادیر 10، 20 و 40 تن در هکتار، این که چندان تفاوت قابل ملاحظه ای مشاهده نگردید. لذا، جهت استفاده بهینه و از نظر اقتصادی، مقدار 20 تن در هکتار، مقدار مناسب و قابل ملاحظه ای است. ولی، در خصوص سایر کودها، مثل کمپوست 015 و 08، ورمی کمپوست، برگ کلم و کود گاوی به میزان 40 الی 60 تن در هکتار نیز از نظر مقدار کنترل و نیز اقتصادی بودن، قابل اجرا می باشند.

و ورمی کمپوست 40 تن در هکتار، بیشترین میزان عنصر سدیم، مربوط به تیمارهای کمپوست 08 و 015 به میزان 60 تن در هکتار و کمترین میزان عنصر سدیم مربوط به تیمارهای شاهد و کلم 20 تن در هکتار و در مورد عنصر نیترات، بیشترین میزان مربوط به تیمارهای کود مرغی 10 تن در هکتار و کود گاوی 20 تن در هکتار و کمترین میزان، مربوط به شاهد تعیین شد. همچنین، سایر شاخص ها، شامل میزان ضریب قلیایی، از نظر میزان درصد شکر قابل استحصال، بیشترین راندمان و در مورد قند ملاس، تفاوت های قابل ملاحظه در بین تیمارها وجود داشت. گزارشات اکثر پژوهشگران با نتایج تحقیق حاضر در خصوص ازدیاد رشد در اثر کودهای مورد استفاده، موافقت و همخوانی نشان می دهد (15، 20، 22 و 36).

از نظر میزان اقتصادی بودن نتایج فوق، در این تحقیق، مشخص گردید که استفاده از کودهای آلی، شامل کود مرغی، کمپوست (زباله شهرداری)، ورمی کمپوست، کود حیوانی و ضایعات برگ کلم، در مقادیر مختلف، روی جمعیت نماتد سیستی چغندرقد، نشان داد که پس از کود مرغی، سایر مواد آلی توانسته اند، با کمی اختلاف و در حد بسیار قابل قبولی، نماتد سیستی چغندرقد را بخوبی کنترل نمایند و نیز بیشترین محصول را تولید نمایند. البته، در خصوص کود مرغی در مقادیر 10، 20 و 40 تن در هکتار، این که چندان تفاوت قابل ملاحظه ای مشاهده نگردید. لذا، جهت استفاده بهینه و از نظر اقتصادی، مقدار 20 تن در هکتار، مقدار مناسب و قابل ملاحظه ای است که از نظر اقتصادی مبلغ 3 میلیون محاسبه می گردد.

منابع

- 1- Abbasi P.A., Al-Dahmani J., Sahin F., Hoitink H.A.J., and Miller S.A. 2002. Effect of compost amendments on disease severity and yield of tomato in conventional and organic production systems. *Plant Dis.* 86: 156-161.
- 2- Akhyani A., Damadzadeh M., and Ahmadi A.R. 1992. Evaluation of distribution and intensity of beet cyst nematode infection in sugar beet fields in Isfahan province. Abstracts, Iranian Plant Protection Congress, College of Agriculture, Karaj, page 123.
- 3- Barbosa P., Lima A.S., Vieira P., Dias L.S., Tinoco M.T., Barroso J.G., Pedro L.G., Figueiredo A.C., and Mota M. 2010. Nematicidal activity of essential oils and volatiles derived from Portuguese aromatic flora against the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Journal of Nematology.* 42:8-16.
- 4- Bulluck L.R., Barker K.R., and Ristaino J.B. 2002. Influences of organic and synthetic soilfertility amendments on nematode trophic groups and community dynamics under tomatoes. *Applied Soil Ecology*, 21 (3): 233-250.
- 5- Casper W., Quist C.W., Maarten Schrama M., Janjo J. de Haan J.J., Smant G., Bakker J., van der Putten W.H., and Helder J. 2016. Organic farming practices result in compositional shifts in nematode communities that exceed crop-related changes. *Applied Soil Ecology.* 98, 254-260.
- 6- D'Addabbo T., Papajová I., Sasanelli N., Radicci V., and Renčo M. 2011. Suppression of root-knot nematodes in potting mixes amended with different composted biowastes. *Helminthologia.* 48:278-287.
- 7- Douda O., Zouhar M., Mazáková J., Nováková E., and Pavela R. 2010. Using plant essences as alternative mean for root-knot nematode (*Meloidogyne hapla*) management. *Journal of Pest Science.* 83:217-221.
- 8- El-Zawahry A.M. 2000. Effect of organic manure on infection of faba bean by root knot nematode. *Assiut J. Agri. Sci.*, 31 (4): 79-88.
- 9- Fenwick D.W. 1940. Methods for recovery and counting of *H. schachtii* from soil. *J. Helminth.* 18: 155-177.
- 10- Fourie H., Ahuja P., Lammers J., and Daneel M. 2016. Brassicacea-based management strategies as an alternative to combat nematode pests: A synopsis Review Article. *Crop Protection*, 80, 21-41.
- 11- Fourie H., McDonald A.H., De., and Waele D. 2010. Relationships between initial population densities

- of *Meloidogyne incognita* race 2 and nematode population development in terms of variable soybean resistance. *Journal of Nematology*. 42:55–61.
- 12- Giles J. 2004. Is organic food better for us? *Nat. (Lond.)*. 428: 796-797.
- 13- Giné A., Carrasquilla M., Martínez-Alonso M., Gaju N., and Sorribas F.J. 2016. Characterization of Soil Suppressiveness to Root-Knot Nematodes in Organic Horticulture in Plastic Greenhouse. *Front. Plant Science*. 7:164
- 14- Hauer M., Koch H.J., and Arender B.M. 2015. Water use efficiency of sugar beet cultivars (*Beta vulgaris* L.) susceptible, tolerant or resistant to *Heterodera schachtii* (Schmidt) in environments with contrasting infestation levels. *Field Crops Research*. 183, 356-364.
- 15- Hauer M., Koch M.H.J., Krüssel S., Mittler S., and Märlander B. 2016. Integrated control of *Heterodera schachtii* Schmidt in Central Europe by trap crop cultivation, sugar beet variety choice and nematicide application. *Applied Soil Ecology*. 99, 62–69.
- 16- Heijbroek W. 1977. Partial resistance of sugar beet to beet cyst eelworm. *Euphytica* 26: 257-262.
- 17- Hu C., and Qi Y.C. 2010. Abundance and diversity of soil nematodes as influenced by different types of organic manure. *Helminthologia*. 47:58–66.
- 18- Hyun Gwan G., Dongro C., Hangsun K., YongHwan L., and Kwangnam H. 1995. Survey on the micro-animals in crop fields organically. *Crop Protection*. 37:29, 371-375.
- 19- Jenkins W.R. 1964. A rapid centrifugal floatation technique for separating nematodes from soil. *Plant Dis.Rept.* 48: 6999.
- 20- Kimpinski J., Gallant C.F., Henry R., Macleod J.A., Sanderson J.B., and Sturz A.V. 2003. Effect of compost and manure soil amendments on nematodes and on yields of potato and barley: a 7- year study. *J. Nematol*, 35, 289-293.
- 21- Lazarovits G., Tenuta M., and Conn K.L. 2001. Organic amendments as a disease control strategy for soil borne disease of high-value agricultural crops. *Australasian Plant Pathology*, 30: 111.
- 22- Leroy BL De Sutter N., Ferris H., Moens M., and Reheul D. 2009. Short-term nematode population dynamics as influenced by the quality of exogenous organic matter. *Nematology* 11, 23-38.
- 23- Litterick A.L., Harrier L., Wallace P., Watson C.A., and Wood M. 2004. The role of uncomposted materials, composts, manures, and compost extracts in reducing pest and disease incidence and severity in sustainable temperate agricultural and horticultural crop production a review. *Crit. Rev. Plant Sci*. 23: 453-479.
- 24- Mahran A., Conn K.L., Tenuta M., Lazarovits G., and Daayf F. 2008. Effectiveness of liquid hog manure and acidification to kill *Pratylenchus* spp. in soil. *Journal of Nematology*. 40:266–275.
- 25- Nahar M.S., Grewal P.S., Miller S.A., Stinner D., Stinner B.R., Kleinhenz M.D., Wszelaki A., and Doohan D. 2006. Differential effects of raw and composted manure on nematode community and its indicative value for soil microbial, physical and chemical properties. *Applied Soil Ecology*. 34: 140-151.
- 26- Nasr Esfahani M., and Ahmadi A., and Karimi Pour Fard H. 2009. Disinfection of contaminated sugar beet cyst nematode depot soils from sugar factory by solarization and manure sugar beet *Journal*, 26 (2) 126-117.
- 27- Nasr Esfahani M., and Ahmadi A. 2004. The effect of organic and chemical fertilizers on root nematodes. *Journal of Plant Pathology* 41 (1) 1 - 18.
- 28- Orisajo S.B., Afolami S.O., Fademi O., and Atungwu J.J. 2009. Effects of poultry litter and carbofuran soil amendments on *Meloidogyne incognita* attacks on 162 cacaos. *Journal of Applied Biosciences* 1: 214-22 1.
- 29- Oscar Grillo O., Maria Fe Andros M.F., and Moreno-Vezquez S. 2016. Quantitative evaluation of *Heterodera avenae* females in soil and root extracts by digital image analysis. *Crop Protection*, 81: 85-91.
- 30- Pakniyat M. 1999. Evaluation of sugar beet cyst nematode and its control methods in Iran. The final report of the research project. Fars Agriculture Research Center.
- 31- Pez-Robles J.L., Olalla C., Rad C., Pez-Rojo M.A.D., Lopez-Prez J.A., Bello A., and Rodriguez-Kabana A. 2013. The use of liquid swine manure for the control of potato cyst nematode through soil disinfestation in laboratory conditions. *Crop Protection*. 49: 1-7
- 32- Renčo M., Sasanelli N., and Šalamún P. 2009. The effect of two compost soil amendments based on municipal green and penicillin production wastes, on plant parasitic nematodes. *Helminthologia*. 46:190–197.
- 33- Renčo M., Sasanelli N., D'Addabbo T., and Papajová I. 2011. Soil nematode community changes associated with compost amendments. *Nematology*. 12: 681–692.
- 34- Renčo M., Sasanelli N., and Kováčik P. 2010. The effect of soil compost treatments on potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *Helminthologia*. 3:184–194.
- 35- Renčo M., Sasanelli N., Papajová I., and Maistrello L. 2012. Nematicidal effect of chestnut tannin solutions on the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* (Woll.). *Helminthologia*. 49: 108–114.
- 36- Renco M., Daddabbo T., Sasanelli N., and Papajova I. 2007. The effect of five composts of different origin on the survival and reproduction of *Globodera rostochiensis*. *Nematology* 9: 537-543.
- 37- Riga E. 2011. The effect of Brassica green manures on plant parasitic and free living nematodes used in combination with reduced rates of synthetic nematicides. *Journal of Nematology*. 43: 118–120.

- 38- SAS Institute. 2004. SAS/STAT User's Guide. Version 9.1.3. Cary: SAS Institute Inc.
- 39- Westphal A., Kücke M., and Heuer H. 2016. Soil amendment with digestate from bio-energy fermenters for mitigating damage to *Beta vulgaris* subsp. by *Heterodera schachtii*. *Applied Soil Ecology*. 99: 129–136.
- 40- Xiao H., Griffiths B., Chen X., Liu M., Jiao, Hu F., and Li H. 2010. Influence of bacterial-feeding nematodes on nitrification and the ammonia-oxidizing bacteria (AOB) community composition. *Applied Soil Ecology* 45: 131-137.
- 41- Yao S., Merwin I.A., Abawi G.S., and Thesis J.E. 2006. Soil fumigation and compost amendment alter soil microbial community composition but do not improve tree growth or yield in an apple replant site. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 587-599.



شناسایی مولکولی قارچ‌های تولید کننده 8-کتو تریکوتسین همراه با بذور روناس و ردیابی ژن‌های سنتزکننده دی‌اکسی نیوالنول در آنها با استفاده از PCR

سید علیرضا اسمعیل زاده حسینی^{1*} - محمود دهقانی اشکذری² - مصطفی عابدی تیزکی³

تاریخ دریافت: 1395/07/10

تاریخ پذیرش: 1396/06/08

چکیده

روناس (*Rubia tinctorum*) یکی از محصولات مهم زراعی با مصارف دارویی و صنعتی در استان یزد می‌باشد. به منظور شناسایی قارچ‌های همراه با بذور روناس و تولید کننده توکسین، طی سال‌های زراعی 91 لغایت 93 از بذور روناس در مناطق مهم کاشت آن در استان یزد شامل اردکان و بافق نمونه‌برداری به عمل آمد. پس از کشت و خالص‌سازی جدایه‌های قارچی در محیط‌های کشت‌های سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) و برگ میخک آگار (CLA)، شناسایی تکمیلی با آغازگرهای اختصاصی هر گونه با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز صورت گرفت. ردیابی قارچ‌های دارای پتانسیل تولید مایکوتوکسین 8-کتوتریکوتسین از جمله دی‌اکسی نیوالنول (DON) از طریق آغازگرهای اختصاصی ژن *Tri13* انجام شد. جهت تأیید پتانسیل تولید مایکوتوکسین DON در جدایه‌های فوزاریوم از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد. در مجموع 249 جدایه قارچی از بذور روناس جداسازی شد که متعلق به شش جنس قارچی شامل فوزاریوم، اسپریژیلوس، پنسیلیوم، آلترناریا، رایزوکتونیا و رایزوپوس بودند که بیشترین فراوانی قارچ‌های جداسازی شده مربوط به فوزاریوم با 71 درصد کل جدایه‌ها بود. در بین قارچ‌های فوزاریوم، گونه‌های *F. solani* (55 جدایه) و *F. oxysporum* (41 جدایه) بیشترین فراوانی را داشتند. گونه‌های *F. poae*، *F. semitectum* و *F. equiseti* توانایی تولید دی‌اکسی نیوالنول را دارا بودند. ژن *Tri13* مؤثر در تولید دی‌اکسی نیوالنول نیز در این سه گونه ردیابی گردید و در آزمایش HPLC همه قارچ‌های فوزاریوم مورد بررسی پتانسیل تولید مایکوتوکسین مورد نظر را داشتند.

واژه‌های کلیدی: *Rubia tinctorum*، مایکوتوکسین، یزد

مقدمه

روناس بوده که در حین کاشت، گیاهچه‌ی روناس را آلوده می‌کنند و برخی به اندام‌های هوایی از جمله برگ و ساقه حمله کرده و آنها را آلوده می‌کند. برخی از این قارچ‌ها از جمله فوزاریوم، اسپریژیلوس و پنسیلیوم همراه با بذور بوده که علاوه بر آلوده کردن گیاه تولید توکسین‌های خطرناکی می‌کنند که برای سلامتی انسان و دام مضر می‌باشند (29).

تاکنون از قسمت‌های هوایی این گیاه از جمله برگ و ساقه قارچ‌های متعددی گزارش شده است (28). قارچ‌های *Septoria rubiae* و *Sporonema punctiforme* به عنوان عوامل لکه برگی روناس گزارش شده‌اند (27 و 28). همچنین گونه‌های قارچی *Pleospora* *schlamyospora* و *Sporonea punctiforme* از روی گونه *Rubia* sp. جداسازی شده است (28). در رابطه با قارچ‌های همراه با بذور روناس اطلاعات کمی وجود دارد. قارچ فوزاریوم یکی از فراوان‌ترین قارچ‌هایی است که در طی رشد و تکامل گیاهان اثرات مخرب و

روناس با نام علمی *Rubia tinctorum* گیاهی از تیره *Rubiaceae* می‌باشد که ریشه آن در صنایع رنگرزی کاربرد زیادی دارد. کشت این گیاه در اروپا و آسیا بیشتر معمول بوده و در زمان قدیم در ایران در مناطق تبریز، ارومیه، اراک، فارس و یزد کشت می‌شده ولی در حال حاضر کشت و کار آن عمدتاً در شهرستان‌های بافق و اردکان در استان یزد رایج است (20). عوامل متعددی از جمله بیماری‌های قارچی در حین کاشت، داشت و برداشت این محصول را آلوده می‌کنند که علاوه بر کاهش عملکرد محصول از کیفیت رنگ تولیدی نیز می‌کاهند (28 و 29). بسیاری از این قارچ‌ها همراه با بذور

1 و 2 و 3- اعضای هیأت علمی مرکز تحقیقات زیست فناوری پزشکی، واحد اشکذر، دانشگاه آزاد اسلامی، اشکذر، یزد، ایران
(*) نویسنده مسئول: Email: saesmailzadeh@iripp.ir
DOI: 10.22067/jpp.v31i3.58227

های فوزاریوم و اسپریلوس توسط تک اسپور کردن خالص گردیده و تک اسپورها در محیط کشت‌های PDA، آب آگار (WA)، CLA و CY20S (Czapek Yeast Extract Agar with 20 sucrose) در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت ده روز انکوبه شدند. جدایه‌های فوزاریوم و اسپریلوس به ترتیب از طریق خصوصیات مرفولوژی کینیدی‌ها و شکل پرگنه‌ها توسط کلیدهای معتبر نلسون و همکاران (22) و کلیچ و پیت (14) شناسایی گردیدند.

استخراج DNA ژنومی

به منظور تولید میسلیم‌های انبوه قارچ‌ها برای استخراج DNA از محیط کشت مایع PDB استفاده شد. به این منظور جدایه‌ها به مدت یک هفته بر روی محیط کشت مایع PDB کشت داده شدند و سپس با استفاده از لوپ استریل میسلیم‌ها جمع‌آوری شده و استخراج DNA با استفاده از روش CTAB انجام گرفت (23). کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز و کمیت آن با استفاده از دستگاه بیوفتومتر مشخص گردید.

تشخیص مولکولی جدایه‌های فوزاریوم با آغازگرهای اختصاصی گونه

برای شناسایی تکمیلی جدایه‌های *F. equiseti*، *F. semitectum* و *F. poae* از جفت آغازگرهای اختصاصی گونه استفاده شد (جدول 1). واکنش PCR در حجم 25 میکرولیتر و با استفاده از ترموسایکلر (Ependrof, Germany) انجام شد. هر آزمایش شامل یک کنترل مثبت (یک واکنش PCR با DNA ژنومی گونه قارچی مورد تأیید و یک کنترل منفی (یک واکنش PCR با همه مواد واکنش بدون DNA ژنومی) بود. واکنش PCR با استفاده از جفت آغازگر SEM-1/2 با یک برنامه حرارتی شامل یک مرحله 5 دقیقه‌ای در 94 °C و سپس 30 چرخه متوالی شامل برنامه زمانی: 94 °C برای 30 ثانیه، 57 °C برای 30 ثانیه و 72 °C برای 60 ثانیه و یک مرحله گسترش نهایی در دمای 72 °C برای 5 دقیقه انجام گرفت. برنامه حرارتی واکنش PCR با استفاده از جفت آغازگر FeqF/R شامل یک مرحله 5 دقیقه‌ای در 94 °C و سپس 25 چرخه متوالی شامل برنامه زمانی: 94 °C برای 1/5 دقیقه، 64 °C برای 1/5 دقیقه و 72 °C برای 2 دقیقه و یک مرحله گسترش نهایی در دمای 72 °C برای 5 دقیقه انجام گرفت. برنامه دمایی واکنش PCR برای جفت آغازگر SEM-1/2 و FpoF/R شامل یک مرحله 5 دقیقه‌ای در 94 °C و سپس 40 چرخه متوالی شامل برنامه زمانی: 94 °C برای 1 دقیقه، 58 °C برای 1 دقیقه و 72 °C برای 2 دقیقه و یک مرحله گسترش نهایی در دمای 72 °C برای 5 دقیقه انجام گرفت. سپس محصولات PCR به طور جداگانه بر روی ژل 1/2 درصد آگارز الکتروفورز شدند. جدایه‌های استاندارد (کنترل مثبت) گونه‌های *F.*

جبران‌ناپذیری را به آنها وارد می‌سازد. این قارچ تولید متابولیت‌های ثانوی مهلکی بنام مایکوتوکسین می‌کند که برای سلامتی انسان و دام مضر هستند. به دلیل مصرف توکسین‌های تریکوتسین، مایکوتوکسیکوزهای شدید در انسان و حیوانات رخ می‌دهد و از علایم آنها می‌توان به بی‌اشتهایی، تهوع و گرفتگی ماهیچه‌ها اشاره کرد (30). همچنین در صورت مصرف زیاد این توکسین‌ها، سرطان‌های گوارشی مختلفی ایجاد می‌شود (16 و 26). تریکوتسین‌ها به دو کلاس A و B تقسیم می‌شوند که در کلاس B توکسین‌های قارچی مهم و خطرناکی نسبت به کلاس A قرار دارند. تریکوتسین‌های کلاس B دارای گروه کتو در موقعیت کربن 8 حلقه تریکوتسین می‌باشد و به این دلیل بنام گروه 8-کتو تریکوتسین‌ها¹ نیز معروفند (7 و 12). از تریکوتسین‌های نوع B می‌توان به نیوالنول (NIV)، دی اکسی نیوالنول (DON) و مشتقات استیلی آنها مانند 4-استیل نیوالنول (4-AcNIV)، 3-استیل دی اکسی نیوالنول (3-AcDON) و 15-استیل دی اکسی نیوالنول (15-AcDON) اشاره کرد (15). روناس ممکن است توسط بسیاری از قارچ‌های بیمارگر آلوده شود که منجر به خسارت کمی و کیفی به این محصول شوند. خسارت کمی از طریق کاهش وزن خشک ریشه و خسارت کیفی نیز به دلیل تولید توکسین‌های مختلف توسط قارچ‌های آلوده کننده می‌باشد که به دلیل تجمع مایکوتوکسین در ریشه‌ها می‌تواند برای مصرف کننده خطرناک باشد. تا کنون مطالعات زیادی در زمینه‌ی مایکوفلور بذور گیاه روناس صورت نگرفته است و احتمال داده می‌شود قارچ‌های همراه با بذور روناس در کاهش قوه‌ی نامیه، آلودگی گیاهچه و در نهایت خسارت کمی و کیفی به محصول مؤثر باشند. لذا این تحقیق به منظور بررسی و شناسایی قارچ‌های همراه بذور روناس و همچنین شناسایی قارچ‌های تولید کننده‌ی توکسین از جمله فوزاریوم انجام شد.

موارد و روش‌ها

نمونه‌برداری و کشت جدایه‌های قارچی

در طی سال‌های زراعی 91 تا 93 از بذور روناس در مناطق مهم کاشت روناس در استان یزد از جمله اردکان و بافق نمونه‌برداری به عمل آمد. برای این کار در هر منطقه 5 مزرعه به طور تصادفی انتخاب و از هر مزرعه 1 کیلوگرم بذور جمع‌آوری و داخل پاکت‌های استریل به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه بذور با هیپوکلریت سدیم 0/5% به مدت یک دقیقه ضد عفونی سطحی شدند. بعد از قرار دادن در هیپوکلریت سدیم، بذور دو مرتبه داخل آب مقطر شستشو شده و سپس با کاغذ صافی خشک گردیدند. سپس داخل محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) قرار داده شدند و برای مدت یک هفته در دمای 25 درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گردیدند. جدایه

تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد تهیه گردید. *F. poae* و *F. semitectum*، *equiesti* برای انجام واکنش PCR به ترتیب با کدهای FQ021، FSM440 و FPO110 از مرکز

جدول 1- آغازگرهای اختصاصی گونه و ژن موثر در تولید DON

Table 1- Species-specific primers and gene involved in DON production

منبع مورد استفاده (Reference)	توالی (Sequence)	اندازه قطعه (bp)	آغازگر (Primer)
12	F- GGCCTGCCGATGCGTC R- CGATACTGAAACCGACCTC	990	Feq-F Feq-R
12	F- CGCACGTATAGATGGACAAG R- CAGCGCACCCCTCAGAGC	400	Fps-F Fpo-R
12	F- TCTCTTCTCTCATCTCAGGCTTTCA R- TC CGGTGCTACCCCTAAACTTTT	270	SEM-1 SEM2
30	F- TACGTGAAACATTGTTGGC R- GGTGTCCCAGGATCTGCG	240	Tri13F Tri13R

F: آغازگر رفت، R: آغازگر برگشت

تعیین تیپ شیمیایی دی اکسی نیوالنول (DON) با استفاده از ردیابی ژن *Tri13*

جهت تعیین تیپ شیمیایی دی اکسی نیوالنول (DON) در گونه های *F. Poae* و *F. semitectum*، *equiesti* از جفت آغازگر *Tri13F/Tri13R* استفاده شد. این جفت آغازگر در جدایه های تولیدکننده DON تولید قطعات 240 جفت بازی می کند (جدول 1). برنامه حرارتی آغازگر *Tri13F/R* برای انجام واکنش PCR شامل: یک مرحله 5 دقیقه ای در دمای 94 °C برای آغاز واکنش PCR و سپس 30 چرخه که هر چرخه شامل سه مرحله واسرشت سازی در دمای 94 °C برای 30 ثانیه، مرحله اتصال در دمای 57 °C برای 30 ثانیه و مرحله بسط در دمای 72 °C برای 60 ثانیه انجام گرفت. در پایان یک مرحله گسترش نهایی در دمای 72 °C برای 5 دقیقه در نظر گرفته شد. پس از انجام PCR، محصولات PCR به طور جداگانه بر روی ژل 1/2 درصد آگارز الکتروفورز شدند. رنگ آمیزی محصولات PCR با اتیدیوم بروماید صورت گرفت و سپس عکس برداری تحت نور UV در دستگاه ژل داک (Bio-RAD, USA) انجام شد.

بررسی پتانسیل تولید دی اکسی نیوالنول (DON) در گونه های فوزاریوم

برای تعیین نوع 8-کتوتریکوتسین تولیدی در گونه های فوزاریوم مورد نظر و ارتباط آنها با ژن تکثیر شده *Tri13* به روش PCR، از 12 جدایه به عنوان نماینده گونه های *F. equiesti*، *F. semitectum* و *F. Poae* برای ردیابی و استخراج مایکوتوکسین به وسیله دستگاه HPLC استفاده شد.

آماده سازی، استخراج و تصفیه نمونه ها جهت آنالیز توکسین تریکوتسین

برای آنالیز توکسین در جدایه های مورد بررسی، ابتدا 50 گرم شلتوک برنج به مدت دو ساعت خیسانده شد و سپس 30 میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه و به فاصله 24 ساعت دو بار و هر بار به مدت 20 دقیقه اتوکلاو گردید. سپس به هر ارلن چند قرص 5 میلی متری از کشت شش روزه جدایه قارچ منتقل شد و ارلن ها به مدت شش هفته در انکوباتور 25 درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پس از این مدت شلتوک های آلوده در دمای 70 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت خشک شدند و سپس برنج های آلوده آسیاب شده و پودر حاصله به منظور استخراج توکسین مورد استفاده قرار گرفت (10).

برای استخراج عصاره، ابتدا از هر نمونه 10 گرم پودر آسیاب شده توزین شد. سپس 100 میلی لیتر حلال استخراج (استونیتریل 84%) به نمونه ها اضافه شد. برای اختلاط حلال استخراج با نمونه ها به مدت 3 دقیقه از دستگاه بلندر با سرعت بالا استفاده گردید. پس از این اختلاط، برای صاف کردن عصاره از کاغذ صافی معمولی استفاده شد و مقدار 8 میلی لیتر از این عصاره صاف شده برای تخلیص با ستون SPE 1 برداشته شد.

ابتدا آماده سازی ستون FSPEDON با ایجاد فشار مثبت برای فشرده شدن بهتر ستون انجام گرفت. سپس 5 میلی لیتر از عصاره صاف شده از ستون SPE (2-1 قطره در ثانیه یا 2-3 میلی لیتر در دقیقه) عبور داده شد. به محض ورود آخرین قسمت عصاره، ستون SPE با 2 میلی لیتر از استونیتریل 84 درصد شستشو داده شد و سپس

به گونه *A. flavus* (جدایه 28) بود و گونه‌های *A. flavus* (10 جدایه) و *A. fumigatus* (7 جدایه) کمترین فراوانی را داشتند. بقیه گونه‌های جداسازی شده شامل *Penicillium spp.*, *Alternaria spp.*, *Rhizoctonia solani* و *Rhizopus spp.* بودند که کمترین فراوانی را در بین قارچ‌های جداسازی شده داشتند که در واقع این قارچ‌ها 10 درصد از کل قارچ‌ها را تشکیل می‌دادند.

تشخیص مولکولی جدایه‌های فوزاریوم تولیدکننده

مایکوتوکسین دی اکسی نیوالنول

سه گونه فوزاریوم تولید کننده 8-کتوتریکوتسین از جمله *F. poae*، *F. semitectum* و *F. equiseti* جهت تشخیص تکمیلی و تأیید نتایج حاصل از شناسایی مورفولوژیکی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی هر گونه انتخاب گردیدند. نتایج حاصل از واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR) و تولید محصول و باندهای مورد انتظار برای هر گونه، شناسایی مورفولوژیکی جدایه‌های فوزاریوم را تأیید کرد و ثابت گردید که جدایه‌های شناسایی شده از طریق خصوصیات مورفولوژیکی گونه‌های *F. poae*، *F. semitectum* و *F. Equiseti* می‌باشند (شکل 1: a-c). گونه *F. equiseti* در واکنش زنجیره‌ای پلی مرز با آغازگرهای اختصاصی قطعاتی به طول 990 جفت باز (شکل 1-a)، گونه *F. poae* قطعاتی به طول 400 جفت باز (شکل 1-b)، و گونه *F. semitectum* قطعاتی به طول 270 جفت باز (شکل 1-c) را تولید کردند.

ردیابی تیپ شیمیایی DON در جدایه‌های فوزاریوم

در این بررسی جفت آغازگر Tri13F/Tri13R برای ردیابی ژن *Tri13* و تیپ شیمیایی DON در بین جمعیت جدایه‌های *F. poae*، *F. semitectum* و *F. equiseti* استفاده شد. نتایج واکنش PCR با این آغازگر نشان داد که تیپ شیمیایی DON در جدایه‌های مورد بررسی وجود دارد. محصول PCR در جدایه‌های تولیدکننده تیپ‌های شیمیایی DON، باندهای 240 جفت بازی بود (شکل 2). از 33 جدایه بررسی شده *F. poae* (13 جدایه)، *F. semitectum* (10 جدایه) و *F. equiseti* (10 جدایه) با این جفت آغازگر، همگی به عنوان جدایه های تولیدکننده DON شناخته شدند. این نتایج نشان می‌دهد که این ژن در این گونه‌ها وجود دارد و احتمال تولید مایکوتوکسین DON در بین جمعیت جدایه‌های *F. poae*، *F. semitectum* و *F. equiseti* وجود دارد. برای اثبات پتانسیل تولید مایکوتوکسین DON، پس از کشت گونه‌های گونه‌های فوزاریوم مذکور بر روی بستر شل‌توک برنج، میزان تولید این نوع مایکوتوکسین با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مورد بررسی قرار گرفت.

عصاره تخلیص شده در داخل تیوب جمع‌آوری گردید. ویال‌ها در دمای 40°C (خشک/مرطوب) خشک شدند. پس از خشک کردن تیوب‌ها، 500 میلی‌لیتر حلال فاز متحرک ($H_2O:MeOH=90.5:9.5$) به تیوب‌ها اضافه گردید و سپس با دستگاه ورتکس به خوبی مخلوط شدند (19). بعد از این مرحله در صورت لزوم عصاره‌ها با کاغذ صافی 0/45 میکرومتر صاف گردیدند و در نهایت 25 میکرولیتر از این عصاره تخلیص شده به دستگاه HPLC (Water, USA) تزریق گردید.

آنالیز عصاره‌ها با دستگاه HPLC

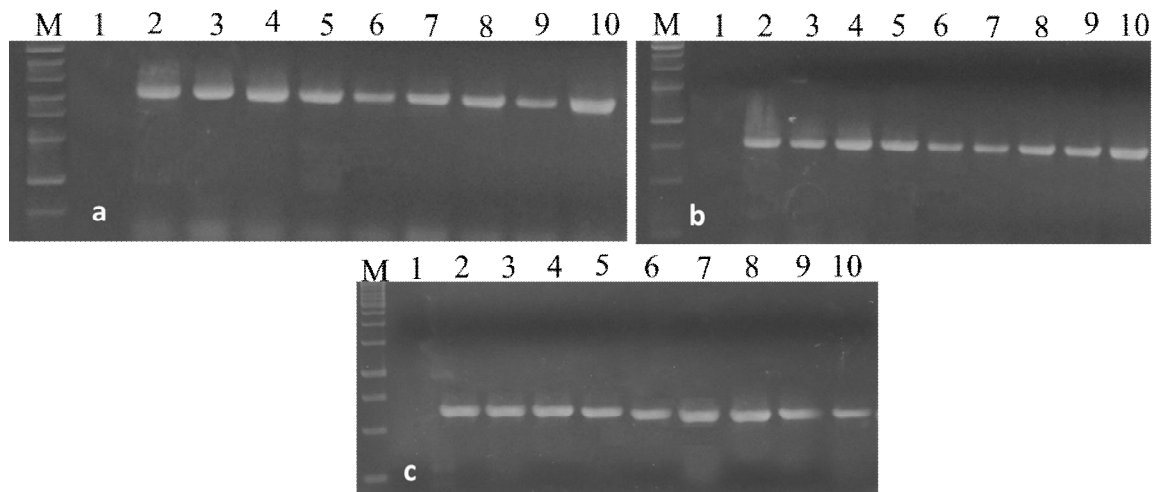
برای تعیین حضور تریکوتسین در عصاره‌ها از دستگاه HPLC (Water, USA) با ستون C18 (طول 15 سانتی‌متر، قطر ذرات 4/5 میکرومتر) و فاز متحرک متانول - آب (5 به 95)، سرعت جریان 0/5 ml/min و در دمای اتاق استفاده شد. در این خصوص ردیاب U.V با طول موج 220 نانومتر مورد استفاده قرار گرفت. از عصاره استخراج شده هر نمونه توسط لوپ تزریق با سرنگ مخصوص HPLC، 25 میکرولیتر تزریق گردید و نتایج به دست آمده و اطلاعات مربوط به سطح زیر منحنی‌های نمونه و زمان ماندگاری هر یک ثبت شد. نوع تریکوتسین‌های DON با توجه به منحنی‌های استاندارد هر یک (با غلظت 25 ppm) و زمان ماندگاری هر استاندارد مشخص گردید.

نتایج

شناسایی قارچ‌های همراه بذور رونا

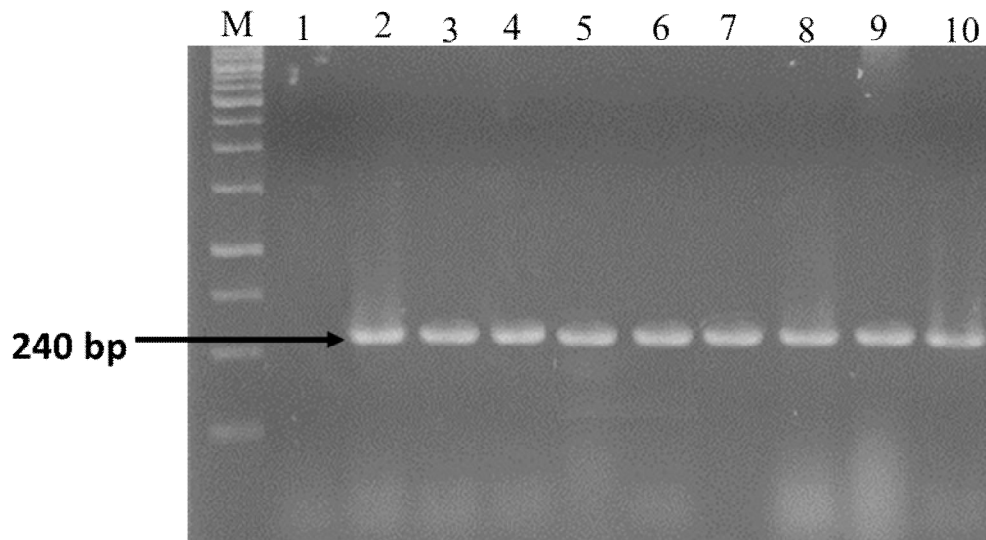
در مجموع 249 جدایه قارچی که از بذور رونا جداسازی شد متعلق به قارچ‌های *Aspergillus spp.*، *Fusarium spp.*، *Rhizoctonia solani*، *Alternaria spp.*، *Penicillium spp.* و *Rhizopus spp.* بودند. بیشترین فراوانی جدایه‌های قارچی مربوط به گونه‌های فوزاریوم (177 جدایه) بود که 71 درصد جدایه‌های قارچی را تشکیل می‌دادند. با استفاده از کلیدهای شناسایی گونه‌های فوزاریوم (22)، *F. poae*، *F. semitectum*، *F. oxysporum*، *F. solani* و *F. equiseti* به عنوان گونه‌های مهم فوزاریوم جداسازی شدند که در این بین *F. solani* (55 جدایه) و *F. oxysporum* (41 جدایه) بیشترین فراوانی را دارا بودند و گونه‌های *F. equiseti* (37 جدایه)، *F. semitectum* (24 جدایه) و *F. poae* (20 جدایه) کمترین فراوانی را داشتند.

با استفاده از کلیدهای شناسایی گونه‌های آسپرژیلوس (11)، *Aspergillus flavus*، *A. niger* و *A. fumigatus* از گونه‌های مهم آسپرژیلوس شناسایی شده بودند که 18 درصد کل گونه‌های قارچی جداسازی از بذور رونا را تشکیل می‌دادند. بیشترین فراوانی مربوط



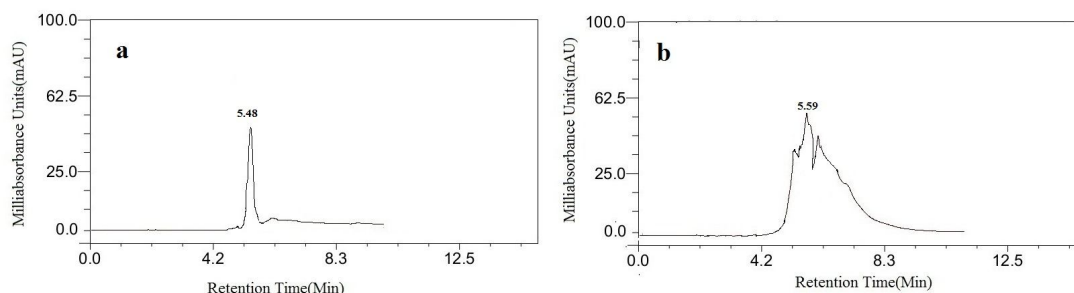
شکل 1- واکنش PCR اختصاصی گونه: (a) *F. equiseti* با آغازگر Feq-F/R (چاهک 1-10)، جدایه استاندارد (چاهک 10) و کنترل منفی (چاهک 1)، (b) *F. poae* با آغازگر FpoF/R (چاهک 1-10) و جدایه استاندارد (چاهک 10) و کنترل منفی (چاهک 1)، (c) *F. semitectum* با آغازگر FEF1/2 (چاهک 1-10) و جدایه استاندارد (چاهک 10) و کنترل منفی (چاهک 1)، M: نشانگر 100bp

Figure 1- Species-specific PCR, a: *F. equiseti* with Feq-F/R primer (lanes 1-10), standard isolate (lane 10) and negative control (lane 1), b: *F. poae* with FpoF (lanes 1-10), standard isolate (lane 10) and negative control (lane 1), c: *F. semitectum* with FEF1/2 (lanes 1-10), standard isolate (lane 10) and negative control (lane 1), M: Size marker (100 bp)



شکل 2- باند 240 جفت بازی حاصل از PCR با استفاده از جفت آغازگر Tri13F/Tri13R در جدایه‌های *F. poae*، *F. semitectum* و *F. equiseti*. جدایه‌های دارای باند 240 جفت بازی بعنوان جدایه‌های تولیدکننده تیپ شیمیایی DON می‌باشند، کنترل منفی (چاهک 1) M: نشانگر 100 bp

Figure 2- Amplify of 240 base pairs obtained from Tri13F/Tri13R primer in *F. poae*, *F. semitectum* and *F. equiseti* isolates. Isolates contain 240 base pair are as DON producers. Negative control (Lane 1) M: Size marker (100 bp)



شکل 3- کروماتوگرام بدست آمده از مایکوتوکسین DON. (a) کروماتوگرام نمونه استاندارد DON (در زمان ماندگاری 5/48 دقیقه)، (b) کروماتوگرام بدست آمده از DON ردیابی شده (در زمان ماندگاری 5/59 دقیقه) در سه گونه فوزاریوم

Figure 3- Chromatogram of DON mycotoxin. a) Chromatogram of standard sample of DON (retention time 5.48 min), b) chromatogram of DON detected (retention time 5.59 min) in tree *Fusarium* species

ژنتیکی کد کردن آنزیم calonecetrin-4-oxygenase در تمام جدایه‌ها می‌باشد (6). این آنزیم، اکسیژن را به کربن 4 در ساختار کالونکترین (CAL) اضافه می‌کند و این فرآیند برای سمی‌تر شدن محصولات در مراحل بعدی بیوسنتز صورت می‌گیرد (4). ژن *Tri13* از کلاستر بیوسنتز تریکوتسین مسئول تبدیل DON به NIV می‌باشد و نقش تعیین کننده‌ای در آغاز شدن تولید DON-NIV دارد (3) و (17).

نتایج بررسی پتانسیل تولید مایکوتوکسین با استفاده از HPLC نشان داد که گونه‌های فوزاریوم جداسازی شده همگی پتانسیل تولید مایکوتوکسین DON را دارند. مایکوتوکسین DON در سلول‌های یوکاریوتی به DNA ی ریپوزمی متصل می‌شود و از سنتز پروتئین جلوگیری می‌کند که سبب سرکوب سیستم ایمنی می‌گردد (13). وجود سه گونه *F. equiseti*، *F. semitectum*، *F. poae* بر بذور رونا و تولید بالقوه مایکوتوکسین DON می‌تواند اثرات مخربی بر سلامتی انسان و دام داشته باشد. حسینی نژاد و همکاران (9) قارچ‌های *F. poae* و *F. equiseti* را از بذور رونا جداسازی کردند و پی بردند که این گونه‌های فوزاریوم توانایی تولید مایکوتوکسین نیوانول (NIV) را دارند. شاکری (29) گونه‌های قارچی مختلفی از جمله *Aspergillus niger* و *Alternaria alternata*، *Septoria rubiae* از ریشه گیاه رونا در مناطق مختلف استان یزد جداسازی و شناسایی کرد. همچنین طی تحقیقات گذشته قارچ‌های *Leveillula tauricae* عامل سفیدک پودری و *Septoria sp.* عامل لکه برگ از قسمت‌های هوایی و قارچ‌های *Alternaria alternata*، *Rhizopus* و *Fusarium sp. stolonifer* از ریشه‌ی رونا جدا گردیده است (28 و 29).

خانواده رونا (روبیاسه) دارای چندین جنس و گونه متنوع می‌شود که قارچ‌های متعددی از آنها گزارش شده است. گونه *F. equiseti* از خاک و ریشه گیاه صلیک (*Crucianella maritima*) جداسازی گردیده شده است (11). پاراشورما و شیوانا

ارزیابی پتانسیل تولید تریکوتسین DON از جدایه‌های

فوزاریوم مورد نظر با استفاده از روش HPLC

برای تأیید توانایی جدایه‌ها در تولید DON و بررسی ارتباط بین حضور ژن *Tri13* و تولید DON از روش HPLC استفاده شد. 12 نماینده از سه گونه فوزاریوم مذکور (*F. semitectum*، *F. poae* و *F. equiseti*) به منظور ارزیابی پتانسیل تولید تریکوتسین انتخاب شدند.

نتایج بدست آمده از HPLC نشان داد که تیپ شیمیایی DON در عصاره‌های بررسی شده وجود دارد. زمان ماندگاری برای مشاهده نقطه اوج منحنی استاندارد DON، 5/48 دقیقه ثبت شد (شکل 3 a). در جدایه‌های فوزاریوم مورد بررسی، توکسین دی اکسی نیوانول با زمان ماندگاری 5/59 دقیقه ردیابی شد (شکل 3 b). نتایج بدست آمده از عصاره‌های استخراج شده توانایی تولید DON را در هر سه گونه قارچی فوزاریوم تأیید کرد و در واقع این نتایج با ردیابی تیپ‌های شیمیایی تریکوتسین با استفاده از ردیابی ژن *Tri13*، مطابقت داشت. بنابراین این نتایج ثابت می‌کند که ژن‌های مذکور در جدایه‌های مورد بررسی بیان شده و نقش مهمی در تولید تیپ‌های شیمیایی DON دارند.

بحث و نتیجه‌گیری

در این بررسی سه گونه فوزاریوم *F. poae*، *F. semitectum* و *F. equiseti* از بذور رونا جداسازی و شناسایی گردید که نتایج شناسایی مولکولی گونه‌ها با استفاده از آغازگرهای اختصاصی با نتایج شناسایی مرفولوژی با استفاده از کلیدهای شناسایی مطابقت داشت. نتایج تکثیر ژن *Tri13* در گونه‌های *F. poae*، *F. semitectum* و *F. equiseti* وجود این ژن‌ها را در این گونه به اثبات رساند و تولید باندهای حاصل از ژن *Tri13* با نتایج محققین دیگر مطابقت داشت (17). تکثیر این قطعه ژنی نشان‌دهنده حضور ژن *Tri13* و توانایی

(24)، گونه *Cladosporium cladosporioides* را به عنوان بیماری بلایت برگی از روناس هندی (*Rubia cordifolia*) جداسازی و شناسایی کردند.

مطالعات نشان داده است که گونه‌های *F. poae*، *F. semitectum* و *F. equiseti* در میزبان‌های مختلفی از جمله گندم و جو بیماری‌های پوسیدگی طوقه و ریشه و بلایت خوشه را ایجاد می‌کنند (18). این گونه‌های فوزاریوم علاوه بر تولید مایکوتوکسین DON، قادر به تولید زرالنون، نیوالنول، بیوورسین (beauvericin) و دی استوکسی اسکرپینول (diacetoxyscirpenol) می‌باشند که همگی برای سلامت انسان و دام مضر می‌باشند (18). آلودگی محصولات زراعی جهان توسط مایکوتوکسین‌های مختلف قارچی تا حدود 25 درصد سالانه گزارش شده است (6). تاکنون مایکوتوکسین‌های 8-کتوتریکوتسین‌ها مکرراً در غلات مخصوصاً گندم در مناطق مختلف ایران گزارش شده‌اند. گزارش‌ها حاکی از آن است که تیپ-های شیمیایی مختلفی از جمله NIV، DON و مشتقات استیلی دی اکسی نیوالنول از جمله 3-AcDON و 15-AcDON در گندم‌های شمال کشور وجود دارند (1 و 2). 8-کتوتریکوتسین‌ها در بیماری‌زایی قارچ‌های فوزاریوم در گیاهان مؤثرند و همچنین کاهش قدرت جوانه زنی بذر، کاهش پروتئین دانه، تخریب گرانول‌های نشاسته و تأثیر در کیفیت دانه به دلیل مایکوتوکسین‌های تولید شده توسط قارچ‌های فوزاریوم گزارش شده است (23 و 25). قابل توجه است که این توکسین‌ها در دانه‌های انبار شده سال‌ها به صورت پایدار باقی می‌مانند.

مانند (21)، در این بررسی علاوه بر گونه‌های فوزاریوم، گونه‌های قارچی آسپرژیلوس نیز جداسازی گردید که بررسی مایکوتوکسین‌های گونه‌های دیگر قارچی از جمله آسپرژیلوس ضروری به نظر می‌رسد. این اولین گزارش جامع از قارچ‌های همراه بذور روناس از جمله قارچ‌های تولید کننده مایکوتوکسین می‌باشد که نتایج نشان دهنده این است که بیشترین آلودگی بذور به قارچ‌های تولید کننده توکسین مانند فوزاریوم می‌باشد. وجود این قارچ‌ها در بذور روناس که توانایی تولید مایکوتوکسین‌های مختلف را دارند می‌تواند بطور مستقیم و غیر مستقیم بر روی سلامتی و بهداشت مواد غذایی اثر بگذارد. لذا شناسایی این عوامل قارچی تولید کننده مایکوتوکسین با استفاده روش‌های مولکولی و بیو شیمیایی می‌تواند کمک شایانی در ردیابی، کنترل و کاهش مایکوتوکسین‌ها در این گیاه صنعتی و فراوده‌های آن کند.

سپاسگزاری

این مقاله قسمتی از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی اشکذر می‌باشد که با همکاری بخش تحقیقات گیاهپزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد وابسته به سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج وزارت جهاد کشاورزی انجام گردیده است.

منابع

- 1- Abedi-Tizaki M., and Sabbagh S. K. 2013. Detection of 3-Acetyldeoxynivalenol, 15-Acetyldeoxynivalenol and Nivalenol-Chemotypes of *Fusarium graminearum* from Iran using specific PCR assays. *Plant Knowledge Journal*, 2(1): 38-42.
- 2- Abedi-Tizaki M., Sabbagh S. K., Mazaheri-Naeini M., and Sepehriki S. 2013. Chemotyping of *Fusarium graminearum* using *Tri13* trichothecene biosynthetic gene. *Journal of Crop Protection*, 2 (4): 487-500.
- 3- Brown D. W., McCormick S. P., Alexander N. J., Proctor R.H., and Desjardins A. E. 2002. Inactivation of a cytochrome p-450 is a determinant of trichothecene diversity in *Fusarium* species. *Fungal Genetics and Biology*, 36: 224-233.
- 4- Brown D.W., McCormick S.P., Alexander N. J., Proctor R. H., and Desjardins A. E. 2013. Genetic and biochemical approach to study trichothecene diversity in *Fusarium sporotrichioides* and *Fusarium graminearum*. *Fungal Genetics and Biology*, 2: 121-133.
- 5- Chandler E.A., Simpson D.R., Thomsett M. A., and Nicholson P. 2003. Development of PCR assays to *Tri7* and *Tri13* trichothecene biosynthetic genes and characterization of chemotypes of *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* and *Fusarium cerealis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 62: 355-367.
- 6- Charmley L.L., Trenholm H.L., Prelusky D.A., and Rosenberg A. 1995. Economic losses and decontamination. *Natural Toxicology*, 3:199-203.
- 7- Desjardins A.E., Manadhar H.K., Plattner R.D., Maragos C.M., Shrestha K., and McCormick S.P. 2000. Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in Nepalese maize and wheat and the effect of traditional processing methods on mycotoxin levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48:1377-1383.
- 8- Eudes F., Comeau A., Rioux S., and Collin J. 2000. Phytotoxicité de huitmyco toxins associées à la fusariose de l'épi chez le blé. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 22: 286-292.
- 9- Hosseinijad S.M., Abedi-Tizaki M., Esmailzadeh Hosseini S.A., Kargar F., and Sadeghi Khomartaji K. 2017. Detection of nivalenol synthesis gene in madder seeds infected by *Fusarium* species by Polymerase Chain

- Reaction (PCR). J. Shahid Sadoughi Univ Med Sci 24(12):952-962.
- 10- Jennings P., Coates M.E., Walsh K., Turner J.A., and Nicholson P. 2004. Determination of deoxynivalenol and nivalenol-producing chemotypes of *Fusarium graminearum* isolated from wheat crops in England and Wales. *Plant Pathology*, 53: 643-652.
- 11- Jose G., Maciá-Vicente Hans-Börje Jansson Samir K., Abdullah Enric Descals Jesus Salinas Luis V., and Lopez-Llorca. 2008. Fungal root endophytes from natural vegetation in Mediterranean environments with special reference to *Fusarium* spp. *FEMS Microbiology and Ecology* 64 (1): 90-105.
- 12- Jurado M., Vazquez C., Patino B., and Gonzalez-Jaen M.T. 2005. PCR detection assays for the trichothecene-producing species *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Fusarium equiseti* and *Fusarium sporotrichioides*. *Systematic and Applied Microbiology*, 28:562-568.
- 13- Kalaiselvi P., Rajashree K., Bharathi Priya L., and Padma V.V. 2013. Cytoprotective effect of epigallocatechin-3-gallate against deoxynivalenol-induced toxicity through anti-oxidative and anti-inflammatory mechanisms in HT-29 cells. *Food Chemistry and Toxicology* 56, 110-118.
- 14- Klich M.A., and Pitt J.I. 1998. A laboratory guide to the common *Aspergillus* species and their teleomorphs. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Processing.
- 15- Kimura M., Tokai T., and Takahashi-Ando N. 2007. Molecular genetic studies of *Fusarium trichothecene* biosynthesis; pathways, genes and evolution. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 71:2102-2123.
- 16- Langseth W., Bernhoft A., Rundberget T.B., Kosiak T., and Gareis M. 1999. Mycotoxin production and cytotoxicity of *Fusarium* strains from Norwegian cereals. *Mycopathologia*, 144: 103-113.
- 17- Lee T., Han Y.K., Kim K.H., Yun S.H., and Lee Y.W. 2002. Tri13 and Tri7 determine deoxynivalenol-andnivalenol-producing chemotypes of Gibberellazeae. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 2148-2154.
- 18- Leslie J.F., and Summerell BA. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Ames, IA, USA. Blackwell Professional.
- 19- MacDonald J., Chan, D., Brereton P., Damant A., and Wood R. 2005. Determination of Deoxynivalenolin Cereals and Cereal Products by Immunoaffinity Column Chromatography with Liquid Chromatography. *Journal of AOAC International*, 88(4):1197-1204.
- 20- Mirabzadeh Ardakani M. 1991. Mader. Agricultural Extension press. 18p.
- 21- Mirocha C.J., Abbas H.K., Windels C.E., and Xie W. 1989. Variation in deoxynivalenol, 15-acetyldeoxynivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol and zearalenone production by *Fusarium graminearum* isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 55: 1315-1316.
- 22- Nelson P.E., Toussoun T.A., and Marasa W.F. 1983. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. University Park, P.A., Pennsylvania State University Press.
- 23- Nicholson P., Rezanoor H.N., Simpson D.R., and Joyce D. 1997. Differentiation and quantification of the cereal eyespot fungi *Tapesia yallundae* and *Tapesia acuformis* using a PCR assay. *Plant Pathology*, 46: 842-856.
- 24- Parashurama T.R., and Shivanna MB. 2013. Occurrence of Cladosporium leaf blight on *Rubia cordifolia* in Bhadra Wildlife Sanctuary, South India. *Indian Phytopathology* 66 (3): 287-293.
- 25- Parry D.W., Jenkinson P., and MacLeod L. 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals, a review. *Plant Pathology*, 44: 207-238.
- 26- Ryu J., Ohtsubo K., Izumiyama N., Nakamura K., TanakaT., Yamamura H., and Ueno Y. 1988. The acute and chronic toxicities of nivalenol in mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 11: 38-47.
- 27- Safavi-Someeh S.A., and Shakeri M. 2001. A new report of *Septoria rubiae-tinctorum* in Iran. *Rostaniha* 2:20-21.
- 28- Shakeri M. 2000. Madder leaf spot in Yazd province. *Proceeding of 14th Iranian Plant Protection Congress*, Vol. 2. p. 354.
- 29- Shakeri M. 2003. Isolation and identification of parasitic fungi and nematodes On Madder (*Rubia tinctorum*) in Yazd Province. Research project report no. 83.176. AREEO, Iran.
- 30- Waalwijk C., Kastelein P., Vries I., and et al. 2003. Major changes in *Fusarium* spp. in wheat in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 743-754.



بررسی اثر حشره کشی عصاره دانه زیتون تلخ و پوست لیموترش روی شته مومی کلم (*Brevicoryne brassicae* L.) و شته سبز گندم (*Schizaphis graminum* Rondani)

مریم پهلوان یلی^{1*} - محسن محمدی انایی²

تاریخ دریافت: 1395/07/10

تاریخ پذیرش: 1396/06/29

چکیده

شته مومی کلم (*Brevicoryne brassicae*) و شته سبز گندم (*Schizaphis graminum*) به ترتیب از آفات مهم کلزا و گندم می باشند که بصورت قابل توجهی زراعت این محصولات را از طریق تغذیه بصورت مستقیم و انتقال عوامل بیماریزای ویروسی بصورت غیر مستقیم کاهش می دهند. پیدایش مقاومت به سموم شیمیایی و اثرات حاد و مزمن ناشی از کاربرد آن ها باعث استفاده از ترکیبات ثانویه گیاهی بصورت عصاره و اسانس به منظور کنترل آفات شده است. از جمله این ترکیب ها می توان به عصاره میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش اشاره کرد. در این تحقیق اثر دو عصاره اتانولی مذکور در سه غلظت متفاوت (10، 50 و 80 میکروگرم بر میلی لیتر) روی درصد تلفات شته مومی کلم و شته سبز گندم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد کاربرد عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ در غلظت 80 میکروگرم بر میلی لیتر پس از 36 ساعت باعث 100 درصد مرگ و میر روی شته ها می شود که در مقایسه با عصاره پوست لیموترش به طور معنی داری بیشتر بود. همچنین در این مطالعه، مقدار فنل کل در عصاره میوه زیتون تلخ (2/74 میلی گرم بر گرم وزن تر) نسبت به عصاره پوست لیموترش (1/79 میلی گرم بر گرم وزن تر) بیشتر بوده است که می تواند با اثر کشندگی بالاتر زیتون تلخ روی این شته ها در ارتباط باشد. نتایج این تحقیق می تواند در کنترل شته های مذکور برای تولید محصولات سالم و ارگانیک مفید باشد.

واژه های کلیدی: ترکیبات ثانویه گیاهی، غلظت، فنل

مقدمه

(Hemiptera: Aphididae)، یکی از آفات مهم گندمیان در جهان می باشد (8 و 9). این شته به گندم، سورگوم، جو، یولاف و چاودار خسارت می زند و روی بیش از 70 گونه گیاهی خانواده Poaceae گزارش شده است (35). در ضمن، این آفت ناقل ویروس کوتولگی زرد جو (36) و موزائیک کوتولگی ذرت (38) به گیاه می باشد.

علاوه بر وجود بذر مناسب، خاک حاصلخیز و آبیاری مطلوب، روش مناسب حفاظت از گیاه هم برای تولید حداکثر محصول، لازم است. علی رغم توسعه حشره کش های مدرن امروزی باز هم خسارات سنگینی به محصولات زراعی و انباری وارد می شود (26). یکی از اصول بسیار مهم در کشاورزی که تأثیر قابل توجهی روی افزایش تولید در واحد سطح دارد، آن است که محصول در مراحل مختلف تولید، از گزند عوامل نامساعد و زیان آور حفظ شود (25). همواره بخشی از تولیدات کشاورزی در اثر حمله این نوع عوامل از لحاظ کمی و کیفی آسیب می بیند و در برخی موارد کل محصول از بین می رود (26).

به منظور دست یافتن به یک نتیجه مطلوب در کنترل آفات

شته مومی کلم، (*Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae)، یکی از آفات جدی کلزا در جهان است که اثرات مخربی روی کلزا و سایر گیاهان تیره Brassicaceae طی 70 سال اخیر داشته و در این مزارع آفت کلیدی محسوب می شود (6، 19، 20 و 46). شته مذکور با ایجاد کلنی های بزرگ روی برگ ها، ساقه ها و جوانه های کلزا باعث پیچش برگ ها و خسارت سنگین به محصول می شود. در گیاهان مبتلا رشد گیاه کاهش یافته؛ عملکرد محصول بین 9 تا 77 درصد و میزان روغن محصول در حدود 11 درصد کاهش می یابد (29).

شته سبز گندم، *Schizaphis graminum* Rondani

1 و 2- استادیار و کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

(*) - نویسنده مسئول: (Email: mrmpahlavan@gmail.com)

DOI: 10.22067/jpp.v31i3.58927

کشورهای چین و هندوستان پرورش یافته و در ایران ارقام مختلفی در شمال و جنوب کشور کاشته می‌شود (54). عصاره‌های پوست و بذر گونه‌های مرکبات حاوی متابولیت‌های ثانویه هستند که قابلیت حشره کشی آن روی گونه‌های متعدد حشرات گزارش شده است. لیمونوئیدهای موجود در اسانس مرکبات بهتر از برخی ترکیبات شیمیایی به عنوان ضد تغذیه و ممانعت کننده از تعویض جلد در بسیاری از گونه‌های بال پولکداران عمل می‌کنند (31 و 44). به‌طور کلی، ترکیبات فنلی به خاطر نقش بالقوه‌شان در حفاظت مقابل اشعه ماورای بنفش، فعالیت‌شان به‌عنوان جلب کننده و عوامل دفاعی در برابر پاتوژن‌ها و شکارگرها بیشتر در بافت‌های پوستی اندام‌های گیاهی تجمع می‌یابند (2).

نظر به اینکه ترکیبات ثانویه موجود در گیاهان آزمایشی (میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش) بعنوان عوامل مقاومت آنتی‌بیوتیک تأثیرات مختلفی از جمله مرگ و میر را بدنبال دارد، لذا هدف از این تحقیق بررسی و ارزیابی میزان سمیت عصاره این ترکیبات در دوزها و زمان‌های مختلف روی شته مومی کلم، *B. brassicae*، و شته سبز گندم، *S. graminum*، و همچنین سنجش میزان فنل کل این عصاره‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات

الف- شته مومی کلم (*B. brassicae*)

شته مومی کلم از آزمایشگاه گروه گیاهپزشکی دانشگاه تحصیلات تکمیلی کرمان (هایتک) تهیه و در شرایط اتاق رشد (دمای $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ، رطوبت نسبی $5 \pm 65\%$ درصد و دوره نوری 8:16 روشنایی و تاریکی) روی بوته‌های کلزا (*Brassica napus* L.) رقم Hyola401 در قفسی به ابعاد (6×30 سانتی متر) قرار داده و پرورش داده شد.

ب- شته سبز گندم (*S. graminum*)

شته سبز گندم از مزارع گندم دانشگاه شهید باهنر کرمان تهیه و پس از شناسایی گونه توسط متخصص، روی بوته‌های گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم پیشناز در قفسی به ابعاد (6×30 سانتی متر) پرورش داده شد.

برای هم‌سن کردن پوره‌های هر دو شته، تعدادی از حشرات بالغ بی بال روی گیاهان فاقد آلودگی به شته انتقال و به آن‌ها اجازه داده شد به مدت 24 ساعت پوره‌زایی داشته باشند. پس از مدت زمان مذکور حشرات بالغ حذف و پوره‌ها رشد و نمو خود را سپری کرده تا به پوره‌های سه تا چهار روزه تبدیل شدند.

محصولات اقتصادی مانند گندم و کلزا می‌توان با استفاده از ترکیبات جایگزین مناسب، کاربرد بی‌رویه سموم شیمیایی که دارای اثرات مخرب حاد و مزمن روی انسان و محیط زیست است را کاهش داد (17، 47 و 55). استفاده از ترکیبات گیاهی جهت کنترل آفات از زمان‌های قدیم متداول بوده است (15، 32، 39 و 44). در قسمت‌های مختلف کشور ما گونه‌های متفاوتی از گیاهان با خواص حشره‌کشی مختلف وجود دارد که با بررسی اثر آن‌ها روی آفات و شناسایی ترکیبات ثانوی موجود در آن‌ها می‌توان از این ترکیبات جهت کنترل آفات استفاده نمود. گیاه زیتون تلخ، *Melia azedarach* Linnaeus (Meliaceae: Sapindales)، بومی هیمالیا بوده و در ایران در جنگل‌های ساحلی دریای خزر و نواحی مرکزی انتشار دارد (24). مطالعات انجام شده بر روی مواد فعال این گیاه نشان داد که مواد شیمیایی متعددی از گروه لیمونوئیدها (تترانوتری‌تریپینوئیدها) در این گیاه وجود دارد که دارای خواص حشره‌کشی، ضد تغذیه‌ای، کاهش باروری، به تعویق انداختن رشد و اختلال در پوست‌اندازی هستند (10، 13، 21، 23 و 28 و 48). تاکنون نتایج خوبی از نحوه کنترل آفات با ترکیبات گیاهی حاصل شده است (12). اثر دورکنندگی عصاره‌های آبی و متانولی زیتون تلخ روی سفید بالک پنبه، *Bemisia tabaci* Gennadius، توسط ابو فخر حمد و همکاران (1) گزارش شد. اختر و ایسمان (4) که از پیشگامان کاربرد نوین ترکیبات گیاهی در کنترل آفات گیاهی هستند مطالعاتی راجع به مهارکنندگی رشد و اثر ضدتغذیه‌ای و دو عصاره گیاهی *Melia volkensii* Guerke و *Origanum vulgare* Linnaeus و تعدادی آلوکمیکال روی چند آفت گیاه‌خوار مهم، از جمله بید کلم ارایه دادند. همچنین تحقیقات نشان داد عصاره *M. azedarach* روی لارو، شفیره و حشره کامل (*Plutella xylostella* (L.) باعث بدشکلی، مرگ و میر و کاهش تخم‌ریزی شد (16). تحقیقات گسترده‌ای در مورد فعالیت ضد تغذیه‌ای، دور کنندگی و تنظیم‌کنندگی رشد گیاهان خانواده Meliaceae در کشورهایی نظیر آمریکا، استرالیا و هندوستان به اثبات رسیده است (11، 48 و 49). زمانی و همکاران (53) اثر حشره‌کشی روغن دانه زیتون تلخ را روی سه گونه شته سبز هلو، شته سیاه باقلا و شته جالیز و همچنین شپشه آرد مورد تحقیق و پژوهش قرار دادند که نتایج حاکی از تأثیر معنی‌دار و قابل توجه عصاره مذکور روی شته‌ها در مقایسه با آفت انباری بوده است. همچنین نتایج تحقیق اثر حشره کشی پنج عصاره اتانولی زیتون تلخ، اسفند، ارغوان، همیشه بهار و آنغوزه با غلظت 30 میلی گرم بر میلی لیتر بر روی تریپس پیاز نشان از کاربرد مؤثرتر عصاره زیتون تلخ در مقایسه با سایرین جهت کنترل تریپس پیاز و حفظ جمعیت دشمن طبیعی آن، *Orius horvathi* (Reuter)، داشت (37).

لیموترش با نام علمی (*Rutaceae: Sapindales*) *Risso* *Citrus limonum* دارای روغن فرار می‌باشد. این گیاه اولین بار در

جمع‌آوری گیاهان و استخراج عصاره

میوه گیاه زیتون تلخ از منطقه ماهان استان کرمان و پوست لیموترش از شمال کشور (تنکابن) تهیه و در سایه خشک شدند. سپس توسط آسیاب برقی به مدت 5 دقیقه پودر شدند. عصاره‌گیری به روش تقطیر ساده انجام شد. 150 گرم از پودر حاصله از هر گیاه در یک ارلن شیشه‌ای با 500 میلی‌لیتر اتانول 90 درصد مخلوط شد. در ارلن شیشه‌ای را با پارافیلیم بسته و بعد از 5 دقیقه هم زدن، محتویات موجود در ارلن به مدت 24 ساعت در یخچال داخل یک فویل آلومینیومی نگهداری شد تا از تابش نور به آن‌ها جلوگیری شود. بعد از گذشت زمان مورد نظر عصاره گیاهی توسط کاغذ صافی از باقی مانده گیاهی جدا و پس از سپری شدن چندین ساعت زیر هود آزمایشگاه، عمل تبخیر شدن حلال صورت گرفت و عصاره خشک و خالص گیاهی فراهم شد. عصاره جامد برای مدت زمان کوتاهی در دمای 4 درجه سلسیوس در یخچال نگهداری و برای انجام هر آزمایش، عصاره حاصل با آب مقطر رقیق و غلظت‌های 10، 50 و 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد (43).

اندازه‌گیری میزان فنل کل عصاره زیتون تلخ

مقدار فنل کل در نمونه‌های عصاره گیاهی توسط روش فولین سیکالتو با اندکی تغییر مطابق روش رحمانی و همکاران اندازه‌گیری شد (41). ابتدا 0/2 گرم از عصاره اتانولی با 2/5 میلی‌لیتر معرف فولین سیکالتو (10 برابر با آب رقیق شده)، مخلوط گردید. سپس 2 میلی‌لیتر کربنات سدیم 7/5 درصد به آن اضافه و ورتکس گردید. محلول حاصل به مدت 1/5 ساعت در تاریکی و در دمای اتاق (20 درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد.

اندازه‌گیری میزان فنل کل عصاره پوست لیموترش

فنل کل با روش فولین سیکالتو با اندکی تغییر اندازه‌گیری شد (34) و 0/2 گرم از عصاره با 3 میلی‌لیتر اتانول 90 درصد، روی شیکر به مدت 10 دقیقه هم‌زده شد. سپس 2 میلی‌لیتر از محلول رویی را برداشته و 0/5 میلی‌لیتر معرف فولین سیکالتو 10 درصد به آن اضافه شد. پس از گذشت 5 دقیقه 1 میلی‌لیتر کربنات سدیم 7 درصد افزوده و محلول حاصل به مدت 1/5 ساعت در تاریکی نگهداری شد. بعد از این مدت جهت تهیه منحنی استاندارد، هر دو عصاره در غلظت‌های 0/5، 1، 2، 4، 6، 8 و 10 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید، سپس میزان جذب محلول با طول موج 760 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل SPUV-26 ساخت آلمان خوانده شد و برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر معادل اسیدگالیک بیان شد.

آزمایش زیست‌سنجی

سمیت تماسی

به منظور بررسی سمیت تماسی عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش بر روی پوره‌های سه تا چهار روزه شته سبز گندم و شته مومی کلم، قطعاتی هم‌اندازه از برگ‌های گیاهان کلزا و گندم با استفاده از سمپلر به غلظت‌های مختلف عصاره (10، 50 و 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر) آغشته و پس از خشک شدن، در سطح ژل آگار 0/7 درصد داخل پتری‌دیش‌هایی به قطر 5 سانتی‌متر در شرایط آزمایشگاهی قرار گرفت. سپس 20 عدد پوره‌های هم‌سن به پتری‌دیش‌ها انتقال یافتند. در تیمار شاهد از آب استفاده شد. تعداد پوره‌های شته مرده پس از 12، 24 و 36 ساعت شمارش و ثبت گردید. ملاک تشخیص حشرات تلف شده این بود که اگر پاها و شاخک‌ها به وسیله قلم مو تحریک می‌شد، هیچ عکس‌العملی دیده نشود. کلیه آزمایشات در ژرمیناتور با شرایط دمایی 25 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 65 درصد و 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی انجام شد.

تجزیه تحلیل آماری

آزمایش‌های زیست‌سنجی در قالب طرح کاملاً تصادفی و در 4 تکرار همراه با شاهد انجام شد. داده‌های مربوط به درصد کشندگی دو عصاره گیاهی با استفاده از نرم افزار SPSS v22 بر مبنای آزمون T مقایسه شدند. همچنین برای مقایسه اثر غلظت‌های مختلف، تجزیه واریانس یک‌طرفه با استفاده از نرم افزار SPSS v22 انجام شد و در صورت معنی‌دار بودن، داده‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح پنج درصد مقایسه میانگین شدند.

تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به اندازه‌گیری فنل کل در قالب طرح کاملاً تصادفی در 10 تکرار بوسیله نرم افزار SPSS v22 صورت گرفت. همچنین مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح پنج درصد و رسم نمودار با استفاده از نرم افزار Excel 2010 انجام شد.

نتایج

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین درصد حشره‌کشی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ و پوست لیمو ترش روی پوره‌های شته مومی کلم و شته سبز گندم در جداول 1 تا 3 نشان داده شده است.

درصد کشندگی عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش در غلظت 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر روی پوره‌های شته مومی کلم، اختلاف معنی‌داری در هیچ‌کدام از دوره‌های زمانی مورد مطالعه، نشان ندادند. اما عصاره میوه زیتون تلخ در غلظت 50 و 80 میکروگرم بر

ساعت به ترتیب در غلظت‌های 80 و 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد (جدول 3). بر اساس نتایج حاصل، عصاره پوست لیموترش در غلظت 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با غلظت 10 و 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌طور معنی‌دار درصد تلفات بیشتری روی پوره‌های شته مومی کلم پس از 12 و 24 ساعت نشان داد. بیشترین و کمترین درصد کشندگی این عصاره گیاهی روی شته مومی کلم پس از 36 ساعت به ترتیب در غلظت‌های 80 و 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد (جدول 3).

میلی‌لیتر درصد تلفات بیشتری در مقایسه با پوست لیموترش در این غلظت‌ها پس از 12 و 24 ساعت نشان داد. این اختلاف بین دو عصاره پس از 36 ساعت، در غلظت 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز مشهود بود (جدول 3). درضمن، عصاره میوه زیتون تلخ در غلظت 80 و 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با غلظت 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌طور معنی‌داری درصد تلفات بیشتری روی پوره‌های شته مومی کلم پس از 12 ساعت نشان داد. همچنین بیشترین و کمترین درصد کشندگی عصاره میوه زیتون تلخ روی این شته پس از 24 و 36

جدول 1- تجزیه واریانس درصد مرگ و میر شته مومی کلم در اثر کاربرد دو تیمار گیاهی

Table 1- Analysis of variances of the cabbage aphid mortality rate by using herbal treatments

دوز عصاره گیاهی Herbal extract dosage (µg/ml)	12h			24h			36h		
	P	df	F	P	df	F	P	df	F
10	0.148	4	2.68	0.279	4	2.67	0.118	4	2.48
50	0.148	4	7.60	0.034	4	4.30	0.074	4	2.73
80	0.609	4	6.05	0.311	4	4.24	0.016	4	7.13

جدول 2- تجزیه واریانس درصد کشندگی تیمارهای مختلف، روی شته مومی کلم بین سه غلظت مختلف (10، 50 و 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر)

Table 2- Analysis of variances of different treatments on mortality percentage of *Brevicoryn brassicae* among 3 different concentrations (10, 50 and 80 µg/ml)

عصاره گیاهی Plant extract	12h			24h			36h		
	P	df	F	P	df	F	P	df	F
<i>Melia azadirach</i>	0.002	2,6	21.00	0.022	2,6	7.75	0.001	2,6	31.95
<i>Citrus limonum</i>	0.009	2,6	11.40	0.003	2,6	18.41	0.006	2,6	13.98

جدول 3- میانگین درصد مرگ و میر شته مومی کلم در اثر کاربرد دو تیمار گیاهی

Table 3- Mean mortality Percentage of *Brevicoryne brassicae* by application of two herbal treatments

عصاره گیاهی Plant extract		10µg/ml	50µg/ml	80µg/ml
<i>Melia azadirach</i> <i>Citrus limonum</i>	12h	3.33± 16.5 Ab	3.33± 36.67 Aa	3.33± 46.67 Aa
		1.67± 6.67 Ab	1.67± 8.33 Bb	2.89± 20.00 Ba
<i>Melia azadirach</i> <i>Citrus limonum</i>	24h	3.61± 20.00 Ab	7.00± 43.00 Aab	5.77± 50.00 Aa
		2.00± 9.00 Ab	1.33± 12.23 Bb	2.08± 24.00 Ba
<i>Melia azadirach</i> <i>Citrus limonum</i>	36h	4.70± 19.67 Ac	11.46± 51.67 Ab	0.00± 100.00 Aa
		2.00± 7.00 Ab	3.46± 19.00 Aab	2.67± 28.66 Ba

به‌طور معنی‌داری درصد تلفات بیشتری روی پوره‌های شته سبز گندم پس از 12 و 36 ساعت نشان داد. بیشترین و کمترین درصد کشندگی عصاره دانه زیتون تلخ روی دو گونه شته پس از 24 ساعت به ترتیب در غلظت 80 و 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد (جدول 6). همچنین، عصاره پوست لیموترش در غلظت 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با غلظت‌های 10 و 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر، درصد تلفات بیشتری را روی پوره‌های شته سبز گندم پس از 12 و 36 ساعت نشان داد. کمترین و بیشترین درصد تلفات شته سبز گندم با کاربرد این عصاره پس از 24 ساعت نیز به ترتیب در غلظت‌های 10 و 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (جدول 6).

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین درصد حشره کشی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی دانه زیتون تلخ و پوست لیموترش روی پوره های شته سبز گندم در جدول‌های 4 تا 6 ارایه شده است. عصاره دانه زیتون تلخ در غلظت 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر درصد تلفات بیشتری روی شته سبز گندم در مقایسه با پوست لیموترش در این غلظت پس از 12، 24 و 36 ساعت نشان داد. درصد کشندگی عصاره‌های مورد آزمایش در غلظت 10 و 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر روی پوره‌های شته سبز گندم، اختلاف معنی‌داری پس از 12 و 24 ساعت نشان ندادند؛ درحالی‌که پس از 36 ساعت، کاربرد عصاره دانه زیتون تلخ در مقایسه با پوست لیموترش به‌صورت معنی‌دار موجب تلفات بیشتر این آفت شد (جدول 6). درضمن، عصاره دانه زیتون تلخ در غلظت 80 و 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با غلظت 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر

جدول 4- تجزیه واریانس درصد مرگ و میر شته سبز گندم در اثر کاربرد دو تیمار گیاهی

Table 4- Analysis of variance of the wheat aphid mortality rate by using herbal treatments

دوز عصاره گیاهی Herbal extract dosage ($\mu\text{g/ml}$)	12h			24h			36h		
	P	df	F	P	df	F	P	df	F
10	0.231	4	2.48	0.934	4	1.66	0.343	4	7.98
50	0.023	4	5.17	0.415	4	2.94	0.214	4	6.69
80	0.441	4	0.896	0.609	4	0.961	0.116	4	8.50

جدول 5- تجزیه واریانس درصد کشندگی تیمارهای مختلف روی شته سبز گندم بین سه غلظت مختلف (10، 50 و 80 میکروگرم بر میلی لیتر)

Table 5- Analysis of variances of different treatments on mortality percentage of *Schizaphis graminum* among 3 different concentrations (10, 50 and 80 $\mu\text{g/ml}$)

عصاره گیاهی Plant extract	12h			24h			36h		
	P	df	F	P	df	F	P	df	F
<i>Melia azadirach</i>	0.002	2,6	21.00	0.022	2,6	7.75	0.001	2,6	31.20
<i>Citrus limonum</i>	0.002	2,6	22.97	0.038	2,6	5.94	0.001	2,6	25.63

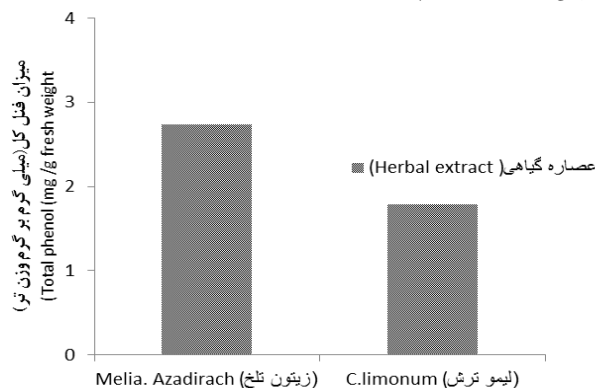
جدول 6- میانگین درصد مرگ و میر شته سبز گندم در اثر کاربرد دو تیمار گیاهی

Table 6- Mean mortality Percentage of *Schizaphis graminum* by application of two herbal treatments

عصاره گیاهی Plant extract		10 $\mu\text{g/ml}$			50 $\mu\text{g/ml}$			80 $\mu\text{g/ml}$		
<i>Melia azadirach</i>	12h	3.38±	20.00	Ab	3.33±	36.67	Aa	3.33±	49.00	Aa
<i>Citrus limonum</i>		1.97±	7.07	Ab	0.33±	19.33	Bb	5.81±	40.67	Aa
<i>Melia azadirach</i>	24h	3.06±	22.00	Ab	7.00±	41.66	Aab	5.77±	51.67	Aa
<i>Citrus limonum</i>		3.76±	11.33	Ab	5.04±	17.66	Bab	8.66±	40.66	Aa
<i>Melia azadirach</i>	36h	3.05±	36.00	Ab	9.81±	83.00	Aa	00.00±	100.00	Aa
<i>Citrus limonum</i>		1.93±	8.13	Bb	2.19±	19.00	Bb	6.35±	40.66	Ba

در این تحقیق، اختلاف معنی داری در مقدار فنل کل بین عصاره های میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش مشاهده شد ($P < 0/05$)، میزان فنل کل در میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش به ترتیب $2/74 \pm 0/86$ میلی گرم بر گرم وزن تر و $1/79 \pm 0/62$ میلی گرم بر گرم وزن تر (شکل 1).

در این تحقیق، اختلاف معنی داری در مقدار فنل کل بین عصاره های میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش مشاهده شد ($P < 0/05$)، میزان فنل کل در میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش به ترتیب $2/74 \pm 0/86$ میلی گرم بر گرم وزن تر و $1/79 \pm 0/62$ میلی گرم بر گرم وزن تر (شکل 1).



شکل 1- میزان فنل کل عصاره اتانولی زیتون تلخ و لیموترش

Figure 1- The total phenol of ethanolic extract of *Melia azadirach* and *Citrus lemonum*

بحث و پیشنهادها

مقایسه اثر حشره کشی در غلظت‌های مختلف عصاره‌ها روی این دو گونه حشره افزایش مرگ و میر با تغییر غلظت را نشان داد ولی درصد مرگ و میر روی شته سبز گندم در مقایسه با شته مومی بالاتر بوده است که احتمالاً بدلیل وجود موم در سطح خارجی بدن *B. brassicae* می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که درصد کشندگی عصاره زیتون تلخ بسیار بیشتر از پوست لیموترش می‌باشد که این می‌تواند به دلیل تفاوت در مقدار ترکیبات ثانویه آن‌ها از جمله ترکیبات فنلی باشد. به طور کلی در طبیعت بسیاری از گیاهان دارای ترکیباتی هستند که دارای نقش دفاعی (اثر ضد تغذیه‌ای، بازدارنده تخم‌گذاری، حشره کشی، تخم کشی و تنظیم کنندگی رشد (IGR)) روی آفات زیادی هستند (27). در این تحقیق نیز مقدار فنل کل در عصاره میوه زیتون تلخ در مقایسه با عصاره پوست لیموترش به طور قابل ملاحظه ای بیشتر بود. زیتون تلخ به دلیل داشتن لیمونوئیدهای فراوان از جمله ترکیبات فنلی قدرت کنترل آفات زیادی را داشته و خواص حشره کشی آن به اثبات رسیده است (14).

تحقیقات مختلف در این زمینه روی آفات دیگر صورت گرفته است. به طور مثال، تأثیر غلظت 10 درصد عصاره اتانولی گیاه زیتون تلخ بر روی آفت سفیده کلم نشان داد که این عصاره می‌تواند 11/9 درصد تلفات پس از 24 ساعت روی این آفت ایجاد کند (5). زمانی و همکاران (53) درصد کشندگی عصاره اتانولی زیتون تلخ را در غلظت های 10، 50 و 80 میکرولیتر بر میلی لیتر در زمان 24 ساعت روی شته سبز هلو به ترتیب 35، 95 و 90 درصد و روی شته جالیز 53، 95 و 95 درصد برآورد کردند. در مقایسه با نتایج ما در زمان مشابه و غلظت متفاوت (میکروگرم) روی شته مومی (به ترتیب 20/00، 43/00 و 50/00 درصد) و شته سبز گندم (به ترتیب 22/00، 41/66 و 51/67 درصد) بیشتر بود. همچنین خیبر و همکاران (30) تأثیر عصاره اتانولی گل زیتون تلخ را روی حشرات بالغ شته سیاه باقلا (*Aphis fabae* Scopoli) بررسی کردند. نتایج نشان داد که غلظت 10 میکروگرم بر میلی لیتر پس از 48 ساعت 91/00 درصد مرگ و میر به همراه داشت. در حالی که در پژوهش حاضر غلظت 10 میکروگرم بر میلی لیتر عصاره میوه زیتون تلخ پس از گذشت زمان 36 ساعت روی شته سبز گندم و شته مومی کلم به ترتیب 36/00 و 19/67 درصد گزارش شد. این تفاوت‌ها می‌تواند بدلیل تفاوت جنس شته‌ها (آفت زراعی یا صیفی)، مرحله رشدی آن‌ها، تفاوت روش کار، تفاوت شرایط آزمایشگاهی و محیطی باشد. بیره‌انو و همکاران (7) به بررسی اثر عصاره متانولی دانه زیتون تلخ، روی شته مومی کلم در سه غلظت (0/25، 0/5 و 1 درصد) پرداختند. نتایج نشان داد بعد از 24 ساعت در غلظت 0/25 درصد، 1/33 درصد مرگ و میر رخ داده است. شته مومی در تحقیق

انجام شده 20 درصد مرگ و میر، در غلظت 10 میکروگرم بر میلی لیتر (کمترین غلظت) با عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ، در زمان 24 ساعت را نشان داد (7).

بر اساس مطالعات اقبال و همکاران (26) میزان مرگ و میر شته گندم پس از 48 ساعت با استفاده از عصاره پوست پرتقال (غلظت 25 میلی لیتر بر لیتر) 44/28 درصد بدست آمد. در مطالعه ما نیز میانگین مرگ و میر شته مذکور با استفاده از پوست لیمو ترش در غلظت 80 میکروگرم بر میلی لیتر پس از هریک از زمان‌های مورد آزمایش، 40/6 درصد بود. تحقیقات متعددی نشان داد که تأثیر کشندگی ارقام مرکبات روی شته می‌تواند بدلیل وجود سولفور و پلی فنل‌ها باشد (22 و 45). این ترکیبات ثانویه با بستن روزه‌های تنفسی باعث مرگ شته‌ها می‌شوند (26). ظاهور و همکاران (52) گزارش کردند که عصاره پوست پرتقال بعد از 96 ساعت بالغ بر 69/05 درصد مرگ و میر روی شته گندم ایجاد می‌کند، همچنین پدرو (40) نیز نتایج مشابهی در ارتباط با تأثیر عصاره گیاه مذکور روی شته گندم به دست آورد.

رامفول و همکاران (42) میزان فنل کل در ارقام مختلف مرکبات را بین 1/9 تا 7/7 میلی گرم بر گرم وزن تر معادل اسید گالیک به دست آوردند که نتیجه مطالعات ما نیز در این دامنه عددی قرار داشت و تأیید کننده می‌باشد. همچنین آهنکوب‌رو و همکاران (3) میزان فنل کل بیوتیپ‌های مختلف مرکبات را 0/06 تا 0/96 میلی گرم بر گرم وزن تر گزارش کردند، در مقایسه، میزان فنل کل پوست لیموترش در تحقیق ما عددی بالاتر (1/79 میلی گرم بر گرم وزن تر) را نشان داد که می‌تواند بدلیل تفاوت بیوتیپ‌ها و شرایط آزمایشگاهی باشد. همچنین عوامل زیادی چون نوع رقم، فصل رشد و محل رویش گیاه (دما، رطوبت و بارندگی) در میزان ترکیبات فنلی ارقام مختلف گیاهی مؤثرند (18).

حال با توجه به پتانسیل بالای آفات در کاهش محصولات کشاورزی و نیاز روزافزون بشر به مواد غذایی انجام اقدامات کنترلی جهت کاهش جمعیت آفات امری اجتناب ناپذیر است. لازمه تولید چنین محصولاتی استفاده منطقی از آفت‌کش‌های مصنوعی و جایگزینی آنها با آفت‌کش‌های بیولوژیکی می‌باشد. از آنجا که آفت کش‌های گیاهی که توسط بشر برای مبارزه با آفات بکار برده می‌شود پتانسیل لازم برای کاهش جمعیت آفات در آنها وجود دارد. لذا انجام پژوهش‌های کاربردی و شناسایی، استخراج و فرموله نمودن این ترکیبات ثانویه گیاهی بمنظور درک مکانیسم عمل عصاره‌های دانه‌ها و سبزیجات روی آفات مختلف مخصوصاً شته‌ها، امکان تولید تجاری آفت‌کش‌های گیاهی را فراهم می‌آورد و این امر می‌تواند در گسترش تولید محصولات سالم و ارگانیک که کمترین ضرر برای انسان و محیط زیست داشته باشد نقش قابل توجهی داشته باشد.

منابع

- 1- Abou-Fakhr Hammad E.M., Zournajian H., and Talhouk S. 2001. Efficacy of extracts of *Melia azedarach* Linnaeus, leaves and fruits against adults of the sweet potato whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Homoptera: Aleyrodidae). Journal of applied Entomology, 125: 483-488.
- 2- Abrosca B., Pacifico S., Cefarelli G., Mastellone C., and Fiorentino A. 2007. Limoncella apple, an Italian apple cultivar: phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. Journal of Food Chemistry, 104: 1333-1337.
- 3- Ahankoub Ro M., Foutohi Ghazvini R., and Fattahi Moghadam J. 2014. Investigation biochemical diversity of peel and pulp from some natural citrus biotypes. Journal of Plant Production Research, 21 (4): 81-98. (In Persian)
- 4- Akhtar Y., and Isman M.B. 2004. Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. Journal of application Entomology, 128: 32-38.
- 5- Anurag Sh., and Rakesh G. 2009. Biological activity of some plant extracts against *Pieris brassicae* (Linn.). Journal of Biopesticides, 2(1): 26-31.
- 6- Aslam M., Razaq M., and Shahzad A. 2005. Comparison of different canola (*Brassica napus* L.) varieties for resistance against cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.). International Journal of Agriculture and Biology, 7:781-782.
- 7- Birhanu M., Awoke Y., Tahgas A., and Raja N. 2011. Efficacy of *Melia azedarach* and *Mentha pip rita* Extracts Againsts Cabbobhidage Aphid, *Brevicorynebrassicae* L.. World Applied Science Journal, 12(11): 2150-2154.
- 8- Blackman R.L., and Eastop V.F. 2000. Aphids on the World's crop. An identification and information guide, John Wiley Ltd, London, 466 p.
- 9- Blackman R.L., and Eastop V.F. 2007. Taxonomic issue. In: H.F. van Emden & R. Harrington, (Ed.) Aphids as crop pests. (pp. 1-29). Cromwell Press, London, UK.
- 10- Carpinella M.C., Giorda L.M., and Ferrayoli C.G. 2003. Palacios SM. Antifungal affects of different organic extracts from *Melia azedarach* L. on phytopathogenic fungi and their isolated activecomponents. Journal of Agricultural Food Chemistry, 51(9): 2506-11.
- 11- Carvalho S.M., and Ferreira D.T. 1990. Santa-Bárbara contra vaquinha. Ciência Hoje, 11: 65- 67.
- 12- Chaubey M.K. 2007. Toxicity of essential oils from *cuminum cyminum* Linnaeus (Umbelliferae), *Piper nigrum* Linnaeus (Piperaceae) and *Foeniculum vulgare* Miller (Umbelliferae) against stored-product Beetle *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae). Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry, 6: 1719-1727.
- 13- Chong X.T., Tian G.Z., Cheng Z.I., and Yao Q.Q. 2009. Study on chemical constituents of the seeds of *Melia azedarach* L. Food Drug, 11: 1-30.
- 14- Chung Huang R., Tadera K., Yagi F., Minami Y., Okumara H., Iwagawa T., and Nakatani M. 1996. Limonoides from *Melia azedarach*. Phytochemistry, 43 (3): 581-583.
- 15- Civelek H.S., and Çolak A.M. 2008. Effects of Some Plant Extracts and Bensultap on *Trichoferus griseus* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Cerambycidae). World Journal of Agricultural Sciences, 4(6): 721-725.
- 16- Dilawari V.K., Singh K., and Dhaliwal G.S. 1994. Sensitivity of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) to *Melia azedarach* L. Pesticide Research Journal, 6: 71-74.
- 17- Donahay E., Zalach D., and Rindner M. 1992. Comparison of the sensitivity of the development stages of three strains of the red four beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) to modified atmospheres. Journal of Economic Entomology, 85: 1450-1452.
- 18- Dragovi-Uzelac V., Savi Z., Brala A., Levaj B., Bursakovaevi D., and Bisko A. 2010. Evaluation of phenolic content and antioxidant capacity of blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.) grown in the Northwest Croatia. Food Technology and Biotechnology, 48(2): 214-221.
- 19- Ellis P.R., and Singh R. 1993. A review of the host plants of the cabbage aphid, *Brevicorynebrassicae* L. (Homoptera, Aphididae). IOBC /WPRS bulltin, 16(5):192-201.
- 20- Ellis P.R., and Farrell J.A. 1995. Resistance to cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.) in six *Brassica* accessions in New Zeland. Journal of Crop and Horticultural Science, 23:25-29.
- 21- Escarpa A., and Gonzalez M.C. 2001. An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 31(2):57-139. <http://dx.doi.org/10.1080/20014091076695>.
- 22- Gaby S. 1996. Natural Pest and Disease Control published by Magraf Verlag, PO Box 105 97985 Weikersheim, Germany.
- 23- Gupta M.P. 2005. Efficacy of Neem leaf extract in combination with h cow urine against mustard aphid and its effect on Coccinellid predators. JNKVV Journal of Natural Product Radiance, 4 (2): 102-106.
- 24- Hadjiakhoondi A., Vatandoost H., Khanavi K., Sadeghipour-Roodsaric H.R., Vosoughi M., and Kazemi M. 2006. Fatty Acid *Melia azedarach* L. Fruits against Malaria Vector Composition and Toxicity of *Anopheles stephensi*. Iranian Journal of Pharmaceutical Science, 2(2): 97-102. (In Persian)

- 25- Iqbal M.F., Maqbool U., Asi M.R., and Aslam S. 2007. Determination of Pesticide residues in brinjal fruit at supervised trial. *Journal of Animal Plant Science*, 17(1- 2): 21-23.
- 26- Iqbal M.F., Kahloon M.H., Nawaz M.R., and Javaid M.I. 2011. Effectiveness of some botanical extracts on wheat aphid. Short Communication, *Journal of Animal and Plant Sciences*, 21(1): 114-115.
- 27- Isman M.B., Guning P.J. and Spollen K.M. 1997. Tropical timber species as sources of botanical insecticides "In phytochemicals for pest control. (Eds. P.A. Hedin et al.) American chemical society symposium series, 658: 27-37.
- 28- Isman M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66.
- 29- Kelm M., and Gadomski H. 1995. Occurrence and harmfulness of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.) on winter rape. *Materially Sesji Institutes Ochrony roslin*, 5: 101: 103.
- 30- Khabir M., Ahmadi K., and shafiei F. 2015. The introduction of the bitter olive Flowers *Melia azedarach* Linnaeus (Sapindales: Meliaceae) as a aphid insecticides and different concentrations of ethanol extract of the *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) mortality under laboratory conditions. *Proceedings of First National Conference on medicinal plants, traditional medicine and organic farming*. Hamadan, 20 November: 345 pp.
- 31- Klocke J.A., and Kubo I. 1982. Citrus limonoid by-products as insect control agents. *Entomology Experimental Applied*, 32: 299 -301.
- 32- Matsumura F. 1985. *Toxicology of insecticides*. Plenum Press, New York.
- 33- McDonald S., Prenzler P.D., Autolovich M., and Robards K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73:73-84.
- 34- Meyers K.J., Watkins C.B., Pritts M.P., and Liu R.H. 2003. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51: 6887-6892.
- 35- Michels G., and Jr J. 1986. Gramineous north American host plants of the greenbug with notes on biotypes. *Southwestern Entomologist*, 11(2): 55-66.
- 36- Murphy H.C. 1959. The epidemic of barley yellow dwarf on oats in introduction. *Plant Disease Report Supply*, 262- 316.
- 37- Najmizadeh H., Ahmadi K., and Salari A. 2013. Insecticidal activities of five plant derived chemicals on *Thrips tabaci* (Lindeman, 1758). *Pharmacognosy communications*, 3: 12-16. (In Persian)
- 38- Nault L.R., and Bradley R.H.E. 1969. Acquisition of maize dwarf mosaic virus by the greenbug, *Schizaphis graminum*. *Annual Entomology Society of America*, 62(2): 403- 406.
- 39- Pascuala Vilalobos M.J., and Robeldo A. 1998. Screening for anti- insect activity in Mediteranean plants. *Journal of Industrial Crop and Product*, 8: 183- 194.
- 40- Pedro D.K.N. 1996. Fumigant toxicity as the major route of insecticidal activity of citrus peel essential oil. *Pest Science*, 46(1):71-78.
- 41- Rahmani F., Haddad Khodaparast M.H., Elhami Raad A.H., and Khanzadeh F. 2013. Characterization of phenolic compounds present in Neem leaf extracts using HPLC and determination of their antioxidant activity. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 24(1): 103-117. (In Persian)
- 42- Ramful D., Bourdon T., Bourdon E., Tarnus E., and Aruoma O.I. 2010. Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian Citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278: 75-87.
- 43- Salari E., Ahmadi K., and Zamani deh Yaghubi R. 2012. Comparison effect of ethanolic seed extract of *Melia azadirach* L. against two aphid species. *Journal of herbal drugs*, 2(4): 223-228. (In Persian)
- 44- Salvatore A., Borkosky S., Willink E., and Bardon A. 2004. Toxic effects of lemon peel constituents on *Ceratitis capitata*. *Journal of Chemistry and Ecology*, 30: 323-333.
- 45- Singh H., and Singh Z. 1995. New records of insect-pests of rapeseed- mustard. *Indian Journal of Agricultural Science*, 53(9): 970.
- 46- Singh R., and Ellis P.R. 1993. Sources, mechanisms and bases of resistance in cruciferae to the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*. *IOBC/WPRS Bulletin*. 16: 21-35.
- 47- Srivastava A., and Guleria S. 2003. Evaluation of botanicals for mustard aphid, *Lipaphis erysimi* (Kalt.) control in Brassica Himachal. *Journal of Agricultural Research*, 29 (1and2): 116-118.
- 48- Valladares G.R., Ferreyra D., Defacoll T., Carpinella M., and Palacios S. 1997. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* extracts against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 90 (3): 747-750.
- 49- Ventura M.U., and Ito M. 2000. Antifeedant activity of *Melia azedarach* (L.) extracts to *Diabrotica speciosa* (Genn.) (Coleoptera: Chrysomelidae) beetles. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 43: 215-219.
- 50- Wandscheer C.B., Duque J.E., Da Silva M., Fukuyama Y., Wohlke J.L., Adelmann J., and Fontana J.D. 2004. Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*. *Toxicon*, 44: 829-835.
- 51- Wink M. 1993. Production and application of phytochemicals from an agricultural perspective. In: van Beek,

- T.A., Breteler, H. (Eds.), Journal of Phytochemistry and Agriculture, 34: 171-213.
- 52- Zahoor A., Hussain M.M., Akba R.M., Iqbal M.F., Ali J., and Ahmad M. 2015. Efficacy of extracts for controlling aphid at milking stage of wheat. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences, 2(8): 120-123.
- 53- Zamani R., Ahmadi K., and Salari E. 2010. Insecticidal activity of seed oil of *Melia azedarach* L. (Meliaceae) on three aphid species and one stored product pest. 19th Iranian Plant Protection Congress, 31 July- 3 August, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, P 250. (In Persian)
- 54- Zargari A. 1989. Iranian medicinal plants. Tehran University Publications, 6th ed., 4: 422-428.
- 55- Zettler J.L., and Cuperus G.W. 1990. Pesticide resistance in *Tribolium castaneum* (coleoptera: Tenebrionidae) and *Rhizopertha Dominica* (coleoptera: Bostrichidae) in Wheat. Journal of Economic Entomology, 83: 1677-1681.



معرفی حشره کش دیفلوبنزورون (دیمیلین® SC48%) برای کنترل کرم سیب

محمد ولی تقدسی^{1*} - محمد رحیم معینی² - غلامعلی اکبرزاده شوکت³ - هاشم کمالی⁴ - رئوف کلیایی⁵

تاریخ دریافت: 1395/08/15

تاریخ پذیرش: 1396/04/17

چکیده

کرم سیب *Cydia pomonella* L. آفت کلیدی سیب در ایران است. به علت ناکارآمدی سایر روش‌های کنترلی، استفاده از حشره‌کش‌ها، اولین گزینه، عمومی‌ترین و موفق‌ترین روش کنترل این آفت است. در تحقیق حاضر تأثیر حشره‌کش دیفلوبنزورون (دیمیلین® SC48%) به همراه حشره‌کش‌های فوزالون (زولون® SE 35%) و تیاکلوپرید (کالیپسو® SC 48%) و شاهد در 4 تکرار و در سه منطقه ارومیه، زنجان و بجنورد به مدت یک سال، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که تیمار دیمیلین با میانگین درصد آلودگی 0.23 ± 0.02 درصد، 7.26 ± 1.4 و 2.06 ± 0.42 درصد به ترتیب در ارومیه، زنجان و بجنورد دارای کمترین و تیمار شاهد با میانگین 57.37 ± 4.94 درصد، 45.21 ± 3.03 و 57.12 ± 3.08 درصد دارای بالاترین میانگین درصد آلودگی بود. تیمار کالیپسو با میانگین درصد آلودگی 1.02 ± 0.43 و 0.44 ± 0.00 به ترتیب در ارومیه و زنجان و تیمار زولون با میانگین درصد آلودگی 3.65 ± 0.29 در ارومیه در رده مشابه آماری با دیمیلین قرار گرفتند. جمع‌بندی نتایج نشان می‌دهد که ترکیب دیمیلین را می‌توان، در صورت ضرورت جانشین ترکیبات رایج نمود.

واژه‌های کلیدی: تیاکلوپرید، فوزالون، کنترل شیمیایی

مقدمه

مقاومت، حشره‌کش‌های فسفره آلی معرفی و از اواسط 1950 به صورت گسترده مورد استفاده قرار گرفته و کنترل مؤثر کرم سیب با این ترکیبات حاصل شده است؛ آزینافوس متیل (گوزاتیون®) ترکیب ویژه‌ای از سموم فسفره آلی است که از زمان معرفی آن در اوایل 1960 میلادی به صورت فزاینده در باغات سیب و گلابی برای کنترل آفات مورد مصرف بوده است (6).

مطالعات در ایران از سال 1344 توسط دواچی و اسماعیلی با آزمایش سموم بر علیه این آفت شروع شد که با بررسی پنج فرمول سمی برای مبارزه با کرم‌سیب، اثر دیازینون (بازودین®) در کنترل آفت و همین‌طور توقف طغیان کنه‌ها مؤثر گزارش گردید (14). در ادامه، روند تغییرات جمعیت افراد کامل این حشره با استفاده از تله‌های مختلف بررسی (23) و سپس بیواکولوژی این حشره با تأکید روی تعداد نسل، تاریخ به دیپوز رفتن لاروها، ارتباط مجموع حرارتی آفت با مراحل رویشی درختان سیب، زمان مبارزه و میزان خسارت آن در مناطق مختلف کشور مطالعه گردید (24). تحقیق روی حشره‌کش‌ها با تأیید کارایی حشره‌کش‌های آزینافوس متیل (گوزاتیون®) و فوزمت (ایمیدان®) (20)، سپس فوزالون (زولون®) (13)؛ فن‌پروپاترین (دانیتول®) (19)، تیاکلوپرید (کالیپسو®) و کلرپیریفوس متیل (رلدان®) ادامه یافته است (21).

کرم سیب *Cydia pomonella* L.، گسترده‌ترین آفت میوه‌های دانه‌دار و گردو در دنیا به غیر از ژاپن و کره و نواحی غربی استرالیا است که موجب خسارت به میوه می‌گردد (5). به منظور جلوگیری از ایجاد ضایعه و خسارت این آفت، روش‌های مختلفی در دنیا جهت مدیریت آن مورد استفاده قرار گرفته (11) که کنترل شیمیایی عمومی‌ترین این روش‌ها محسوب می‌شود. طبق سوابق تاریخی مبارزه با کرم سیب عمدتاً با استفاده از سموم وسیع‌الطیف، میسر گردیده است ولی به علت ظهور مقاومت به سم کلره د.د.ت (12) و به دلیل افزایش

1 و 2- استادیار و محقق بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی زنجان

(* - نویسنده مسئول): (Email: mtaghaddosi@yahoo.com)

3- استادیار کارشناس بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی

4- دانشیار بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی

5- استادیار بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور

DOI: 10.22067/jpp.v31i3.59962

در حال حاضر حشره‌کش‌های فسفره آلی پر مصرف‌ترین حشره‌کش‌ها در باغ‌های میوه دانه‌دار در سراسر جهان و از جمله آمریکا هستند (7). در عین حال گزارش مقاومت کرم‌سیب و برخی پروانه‌های برگ‌خوار به ترکیبات فسفره آلی و همچنین بروز مقاومت در آفات درجه دومی از قبیل شته‌ها، زنجرف‌ها و مینوزها در باغ‌های سیب غرب آمریکا به این ترکیبات، از جمله ضرورت‌های توجه به سایر حشره‌کش‌های جدید است (34). استفاده گسترده و عمومی از حشره‌کش‌های فسفره در باغات تجاری سیب جهت کنترل آفات مهمی نظیر کرم سیب، منجر به مختل شدن عملیات کنترل بیولوژیکی سایر آفات این باغ‌ها گردیده است. لذا استفاده از ترکیباتی با دامنه تأثیر محدودتر (ترکیبات انتخابی) مناسب‌تر است (33). بر همین اساس بررسی جهت یافتن ترکیبات جایگزین، از مدت‌ها پیش شروع و امروزه منجر به معرفی برخی ترکیبات جدید شده است. در همین راستا استامپراید (Assil®) ترکیب جدیدی از گروه کلرونیکوئینیل‌ها و متوکسی‌فنزاید (Interpid®) از تنظیم‌کنندگان رشد و اسپینوساد (Success®) که محصولی از تخمیر میکروبی است، به عنوان سه ماده شیمیایی جدید از سوی EPA (Environmental Protection Agency) به عنوان جایگزین‌های کم خطر حشره‌کش‌های فسفره جهت مصرف در باغ‌های واشنگتن به ثبت رسیده‌اند (17).

دیفلوبنزورون اولین ترکیب بازدارنده‌ی سنتز کیتین است که به عنوان حشره‌کش جدید (دیمیلین®) به بازار عرضه شد (9). دیفلوبنزورون در سنتز و یا تثبیت کیتین اختلال ایجاد می‌کند. اثر آن روی حشره به صورت بدشکلی و شکسته شدن کوتیکول و مرگ در اثر گرسنگی ظاهر می‌شود. در لاروهای تیمار شده، تشکیل پوست جدید به صورت عادی انجام می‌پذیرد ولی پوست اندازی مختل می‌شود. حشره تیمار شده یا درون کوتیکول خود می‌میرد و یا به طور ناقص از کوتیکول قدیمی خود خارج می‌شود؛ فرمولاسیون "مایع غلیظ روان‌ریز" (Suspension Concentrate/ Flowable) (Concentrate) فرمولاسیونی غلیظ و کرم‌مانند است که برای تولید آن ماده مؤثر را در یک مایع به صورت معلق در آورده و در موقع مصرف با آب مخلوط می‌کنند. کار کردن با این نوع فرمولاسیون آسان بوده و در نازل‌ها گرفتگی ایجاد نمی‌کند (32). در ایران، دیمیلین با فرمول شیمیایی C₁₄H₉ClF₂N₂O₂ متعلق به گروه Benzoylurea با فرمولاسیون WP25 درصد و ODC48 درصد با نحوه‌ی تأثیر غیرسیستمیک گوارشی و تماسی و تنظیم‌کننده‌ی رشد حشرات (IGR)، جهت کنترل پروانه‌ی دم طلایی و ابریشم باف ناجور اشجار جنگلی و جوانه‌خوار کاج و برگ‌خوار نارون و بلوط، پروانه‌ی دم‌چنگالی صنوبر و مینوز لکه‌گرد سیب با غلظت 0/5 در هزار در سال 1385 ثبت دائم و همچنین با فرمولاسیون ODC به

روش ULV به نسبت 20 میلی‌لیتر در هکتار برای مبارزه با ملخ مراکشی در حالت غیرطغیانی، با فرمولاسیون پودر وتابل بر علیه پروانه‌ی مینوز مرکبات در خزانه‌ی درختان جوان با غلظت 0/3 در هزار در دو نوبت سم‌پاشی به فاصله‌ی 10 روز از سوی سازمان حفظ نباتات در سال 1380 ثبت شده است. در لیست سموم مجاز کشور قید شده است که دیمیلین با جلوگیری از سنتز کیتین در تشکیل کوتیکول حشره اثر دارد و در تمام مراحل که کوتیکول جدید در بدن حشره ظاهر می‌شود، اثر خود را آشکار می‌سازد. این حشره‌کش فاقد خاصیت سیستمیک و نفوذی در بافت گیاه است لذا روی حشرات با قطعات دهانی مکنده بی‌تأثیر می‌باشد (22). این ترکیب در سایر کشورها علیه لاروهای برگ‌خوار در درختان، درختچه‌های فضای سبز، خزانه‌ها، نهالستان‌ها، گیاهان زینتی، درختان میوه و زراعت کاربرد دارد (28). دیفلوبنزورون (دیمیلین® wp 25) یک تنظیم‌کننده رشد است که روی تعداد زیادی از حشرات آفت، به ویژه خانواده‌هایی از بالپولک داران و دوبالان، مؤثر است. به خاطر مکانیسم عمل آن، که سبب اختلال در فرایند پوست‌اندازی لارو حشرات می‌شود، تأثیر آن کند بوده و چند روز طول می‌کشد تا تأثیر کامل آن مشاهده شود. به جهت اختصاصی بودن آن، دیمیلین تأثیر کم و یا اصولاً تأثیری روی زنبور عسل و سایر حشرات مفید نداشته و یک محصول مطلوب برای استفاده در برنامه‌های کنترل تلفیقی آفات محسوب می‌شود (3). کارایی دیفلوبنزورون (دیمیلین®) در کنترل کرم سیب توسط محققان مختلفی تأیید گردیده است (36، 18، 15 و 29). علاوه بر این، کنترل مؤثر آن روی آفاتی نظیر پسیل گلابی *Cacopsylla pyricola* Forster (8)، سرخرطومی پنبه، *Anthonomus grandis* Boheman (31) پروانه ابریشم‌باف ناجور، *Lymantria dispa* (27) گزارش گردیده است. نکته مهم دیگر اثر انتخابی دیفلوبنزورون و عدم تأثیر سوء آن روی جانوران غیر هدف وحشرات مفید می‌باشد (25، 2 و 16).

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال 1389 و در سه منطقه شامل استان‌های آذربایجان غربی (روستای حصار ترکمان ارومیه)، زنجان (روستای یامچی) و خراسان شمالی (باغ مدیریت کشاورزی شهرستان بجنورد) در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با 4 تیمار و 4 تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل: دیفلوبنزورون (دیمیلین® 48% SC) به میزان 0/5 در هزار ساخت شرکت کمتورا (Chemtura) ایتالیا، تیاکلوپراید (کالیپسو® 48% SC)، به میزان 0/3 در هزار ساخت شرکت بایر (Bayer) آلمان، فوزالن (زولون® 35 SE) به میزان 1/5 در هزار از فرمولاسیون داخلی ساخت شرکت گیاه و تیمار شاهد بدون مصرف حشره‌کش بودند. هر واحد آزمایشی مشتمل بر سه اصله درخت از رقم زرد لبنانی (گلدن دلشس) بود. درختان مذکور هم‌سن و

با بار مناسب (از نظر سال آوری) انتخاب شدند. زمان مناسب اجرای عملیات صحرایی (آزمایش سموم) بر اساس تله‌های فرمونی نصب شده (شکل شماره 1) در فاصله حداقل 200 متری از قطعات آزمایشی تعیین می‌شد. البته در زنجان و ارومیه از اطلاعات سایر تله‌های نصب شده در مجاورت محل آزمایشی منطقه نیز استفاده گردید؛ سمپاشی علیه نسل اول در ارومیه، زنجان و بجنورد به ترتیب در تاریخ‌های 89/3/9، 89/3/16، 89/2/28 و علیه نسل دوم در تاریخ‌های 89/4/15، 89/4/30 و 89/3/25 اجرا گردید. در ارومیه سمپاشی سومی در تاریخ 89/5/12 (علیه تداخل نسل دوم و سوم)، در زنجان در تاریخ 89/6/8 (جهت جلوگیری از سمپاشی خودسرانه باغدار) و در بجنورد در تاریخ 89/4/24 علیه نسل سوم آفت اعمال گردید. با توجه به نحوه تأثیر دیمیلین، این ترکیب حدود 3 روز زودتر از دو ترکیب دیگر سمپاشی گردید (21). قبل و یا همزمان با سمپاشی، زیر درختان انتخاب شده از وجود میوه‌های ریزش کرده پاکسازی شده و به منظور جلوگیری از گم شدن میوه‌ها که در این مرحله کوچک می‌باشند، پوشش سبز زیر درختان انتخابی به صورت مکانیکی یا شیمیائی حذف گردید. همچنین تاریخ‌های شمارش میوه‌ها به گونه‌ای انتخاب شد که قبل از آبیاری باغ باشد تا از جابه جایی میوه‌های زیر درختان ممانعت گردد. اولین آماربرداری از میوه‌های ریزش کرده و ثبت آنها به تفکیک سالم و آلوده، 10 روز پس از اجرای سمپاشی علیه نسل اول آفت شروع و به فاصله زمانی 2 تا 3 هفته (با توجه به فصل و قبل از بروز پوسیدگی و از بین رفتن علائم آلودگی) تکرار می‌گردید. بسته به منطقه 10 تا 15 روز پس از آخرین سمپاشی ضمن آخرین شمارش و ثبت میوه‌های ریزش کرده، کل میوه‌های روی درخت نیز شمارش و میزان آلودگی آنها نیز مشخص شد. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SAS و گروه‌بندی میانگین درصد کنترل تیمارهای مربوط با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت.

نتایج و بحث

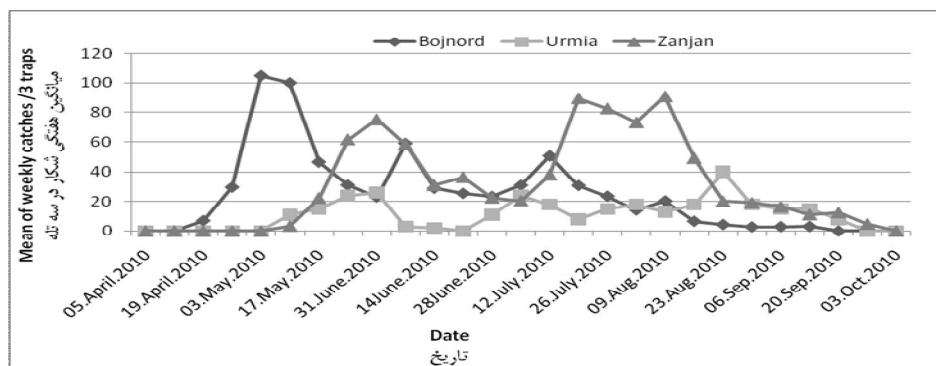
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در هر سه منطقه زنجان (F_{df} treat=3, df Error=3=24.26; $P=0.0001$; CV=17.86 درصد)، ارومیه (F_{df} treat=3, df Error=3=122.42; $P<0.0001$; CV=29.84 درصد) و بجنورد (F_{df} treat=3, df Error=3=213.46; $P<0.0001$; CV=16.94 درصد)، اثر تیمارهای مختلف روی درصد آلودگی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشته‌است. براساس نتایج بدست آمده، حشره‌کش دیمیلین با میانگین درصد آلودگی $2/06 \pm 0/42$ و $7/26 \pm 1/40$ به ترتیب در بجنورد و زنجان و حشره‌کش کالیپسو با میانگین درصد آلودگی $3/00 \pm 0/44$ و $1/02 \pm 0/43$ به ترتیب در ارومیه و زنجان به طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها واجد کمترین آلودگی بودند. در مقابل تیمار شاهد با میانگین درصد آلودگی $57/13 \pm 3/08$

نتایج بررسی کارایی دیفلوبنزورون در کنترل کرم سیب و تأثیر آن روی آفات غیر هدف در باغ‌های گلایی ایالت اورگون امریکا نشان داد که بیشترین تأثیر دیمیلین زمانی است که اولین سمپاشی، همزمان با اوج پرواز صورت گیرد. در این تحقیق، اجرای اولین سمپاشی دیمیلین در سال‌های 1976 و 1977 (به ترتیب در تاریخ‌های 23 اردیبهشت و 14 اردیبهشت) همزمان با کاربرد سموم فسفره آلی (آزینفوس متیل) سبب بروز آلودگی بین 0/6 تا 6 درصد در مقایسه با 0/2 تا 1 درصد در تیمار آزینفوس متیل گردید ولی تعجیل در اجرای سمپاشی اول دیمیلین (تاریخ 22 فروردین در مقایسه با اولین سمپاشی آزینفوس-متیل در تاریخ 22 اردیبهشت) سبب بروز آلودگی در زمان برداشت به میزان 0/6 تا 1/05 درصد گردید. تراکم پسیل گلایی در باغ‌های سمپاشی شده با آزینفوس متیل 3 تا 4 برابر نسبت به باغ‌هایی که دیمیلین در آنها استفاده شده بود، که به کاهش جمعیت دشمنان طبیعی در باغ‌های سمپاشی شده با سموم فسفره نسبت داده شد. در آزمایشاتی که برای تعیین حساسیت مراحل رشدی کرم سب در برابر دیفلوبنزورون اجرا گردید، حساسیت به دیفلوبنزورون فقط در مرحله تخم مشاهده شد (36). تخم‌های با 250 روز -درجه حرارت مؤثر (براساس آستانه 10 درجه سانتی‌گراد)، حساس‌ترین تخم‌ها بودند ولی این حساسیت با افزایش عمر کاهش پیدا نمود. حساسیت لاروها وقتی مشاهده شد که تخم‌ها در نیمه اول دوره انکوباسیون به سم آلوده شده بودند. در صورت تماس سم در این مرحله تلفاتی به میزان 91 درصد تخم و لارو حاصل گردید در صورتی که، تماس مستقیم لاروها با دیمیلین، زنده‌مانی و رشد آنها تا مرحله حشره کامل را تحت تأثیر قرار نداد؛ تماس مستقیم سم با حشرات کامل نیز، نه تلفاتی ایجاد نمود و نه رفتار طبیعی تخم‌ریزی و نه زنده‌مانی لاروها را تحت تأثیر قرار دارد (18). در تأیید این نکته گزارش شده که تخم‌های کرم سیب بلافاصله بعد از تخم‌ریزی در برابر دیمیلین بسیار حساس هستند. به-طوری که LC50 برای تخم‌های تازه تا 2/5 روزه و 3 روزه به ترتیب 1/1 و 17/2 ppm تعیین شد (15). تأثیر دیفلوبنزورون روی حشرات

با کاهش درصد تفریح آن‌ها از 40/5 به 17 درصد گزارش شده بود (15). صرف نظر از اثر لارو کشی دیفلوبنزورون روی لاروهای کم سبب، که به علت ورود سریع لاروها به داخل میوه با محدودیت زمانی رو به روست، جذب دیمیلین توسط لاروهای دو سن آخر آفت جوانه خوار کاج، *Choristoneura fumiferana* مانع از رشد کوتیکول و ورود به مرحله شفیرگی گردید. مطالعات تکمیلی آزمایشگاهی و گلخانه‌ای نشان داد که دیمیلین برای کنترل این آفت مناسب است. نکته مهم در خاصیت حشره کشی دیفلوبنزورون، اثر انتخابی و سلامت نسبی آن برای حشرات غیر هدف و دشمنان طبیعی است؛ به گزارش (36) کاربرد دیمیلین علیه کرم سبب در باغ گلابی، اثر سوئی روی دشمنان طبیعی پسپل گلابی نسبت به تیمار شاهد ایجاد نکرد ولی تراکم پسپل گلابی در باغ‌های سمپاشی شده با آزیفوس متیل 3 تا 4 برابر نسبت به باغ‌هایی که در آن‌ها از سم دیمیلین استفاده شده بود، بالاتر بود که به کاهش جمعیت دشمنان طبیعی در باغ‌های سمپاشی شده با سموم فسفره نسبت داده می‌شود، علاوه بر این در مقایسه با تیمار شاهد افزایشی در تراکم کنه دو نقطه‌ای نیز مشاهده نگردید. در گزارش دیگری، که به مقایسه حشره کشی فن‌والریت (سومیسیدین®) و دیفلوبنزورون (دیمیلین®) پرداخته شده، بر این نکته نیز تأکید گردیده است که کاربرد دیمیلین باعث افزایش جمعیت کنه‌های گیاهی نمی‌شود (18). کاربرد دیمیلین در مزارع سویا نیز با بقای حشره مفید *Copidosoma floridanum* که زنبور پارازیتوئید داخلی آفت *Pseudoplusia includens* سویا می‌باشد، سازگاری دارد (37). بررسی تأثیر دیمیلین مصرفی برای کنترل پروانه ابریشم باف ناجور *Lymantria dispar* در جنگل‌های شرق آمریکا، روی حشرات غیر هدف نشان داد که تأثیر منفی این حشره کش، روی پروانه‌ها در بالاترین حد قرار داشته ولی اثر سوئی روی حشرات راسه‌های سخت‌بالپوشان، دو بالان و بال‌غشائیان مشاهده نگردید (27).

براساس نتایج تحقیق حاضر دیفلوبنزورون (دیمیلین) با اعمال درصد مرگ و میر مطلوب روی کرم سبب، به ویژه در بجنورد، از ویژگی لازم برای توصیه جهت کنترل کرم سبب برخوردارست. مقایسه زمان کاربرد این ترکیب در تحقیق حاضر، سه روز قبل از اعمال سموم فسفره، با گزارش‌های منتشر شده که دیمیلین را دست کم 7 روز زودتر به مصرف آن توصیه کرده‌اند (3 و 36) و این نکته را تأکید می‌نماید که موفقیت در مدیریت کرم سبب بر مبنای دیمیلین، در گرو دست‌یابی دقیق به زمان اوج تخم‌ریزی آفت است که علاوه بر نتایج تله‌های پایشی، داده‌های هواشناسی، وضعیت فیزیولوژیک آفت و فنولوژی میزبان هم در تعیین آن مؤثر هستند (24).

بالغ زمانی که این حشره کش بلافاصله پس از ظهور شفیره‌ها به کار برده‌شود، با مرگ حشرات کامل (43/3 درصد) در حین پوست‌اندازی، به علت تأخیر در سنتز کیتین و کاهش ضخامت آن، نمود یافت؛ علاوه بر این، در افراد ماده‌ای که زنده ماندند، تعداد تخم در تخمدان (113±7) به طور معنی‌داری نسبت به افراد شاهد (156±9) کاهش یافت (30). در آزمایش‌های صورت گرفته برای تعیین مکانیسم عمل دیمیلین روی لاروهای: ابریشم باف ناجور، *Porthetria dispar* و شب‌پره توت‌فرنگی، *Boarmia bistortata* که با غذای حاوی به دوز کشنده دیمیلین آلوده شده بودند، مشخص گردید که میزان تجمع (تشکیل) کیتین در آندو کوتیکول تا 33 درصد کاهش می‌یابد. کوتیکول تازه تشکیل شده از استحکام کمتری برخوردار بوده و تحمل فشارهای داخل بدن در زمان پوست‌اندازی را از دست داده و یا قدرت ماهیچه‌های مرتبط با پوست اندازی کاهش یافته و منجر به ناتوانی در پاره نمودن جلد کهنه و سرانجام مرگ لارو می‌گردد (26). عدم تأثیر دیفلوبنزورون روی لاروهای کرم سبب در گذشته توسط محققانی گزارش شده است (18 و 10) ولی تحقیقات بعدی نشان داده که آغشته شدن دیفلوبنزورون به غذای مصنوعی، دارای اثر لارو کشی بوده و میزان LC50 آن برای لاروهای سن اول و دوم به ترتیب 48/2 و 8/1 ppm می‌باشد؛ مرگ و میر لاروها حین پوست‌اندازی و در اثر ناتوانی لاروهای آلوده به شکافتن جلد لاروی و یا شکندگی لایه کوتیکول تشکیل شده می‌باشد که به آسانی پاره می‌شود. بنابراین اثر لارو کشی دیفلوبنزورون روی کرم سبب، به مدت زمان تماس لارو با آفت کش و میزان ورود آن به بدن لارو بستگی دارد (15). کارایی ناکافی دیفلوبنزورون در لارو کشی، بعد از مدتی انگیزه محققانی گردید که سعی نمودند با استفاده از ترکیبات سینرژیست به تأثیر بالاتر این ترکیب در لارو کشی دست یابند؛ به وجه مثال، آفت طوقه‌بر، *Spodoptera exigua* در برابر حشره کش مانع شونده از سنتز کیتین، دیمیلین، نسبتاً غیرحساس است. به همین منظور ترکیب آن با 4 نوع سینرژیست بررسی و مشخص شد دیفلوبنزورون، که به تنهایی سمیت ناچیزی روی لاروهای آفت داشت، ولی ترکیب آن با همه‌ی سینرژیست‌ها، سبب افزایش سمیت آن گردید که بالاترین میزان آن در ترکیب با پروفنوفوس حاصل گردید؛ به این ترتیب که در آزمایش‌های اولیه با دیفلوبنزورون، میزان LC50 برای لاروهای سن چهار و پنج به ترتیب 295 و 16 میلی گرم در لیتر تعیین شد ولی با افزودن پروفنوفوس، میزان تأثیر تا 9 برابر افزایش ولی میزان LC50 تا 5 برابر کاهش یافت (35). قبل از این تاریخ نیز، با افزودن Tween 20، که یک سینرژیست پخش کننده (Surfactant) است، افزایش میزان تخم کشی دیفلوبنزورون روی تخم‌های جوان و به ویژه مسن تر



شکل 1- روند پرواز حشرات کامل کرم سیب در تله های فرمونی نقاط آزمایش در سال 1389
Figure 1- Flight fluctuation of codling moth male adults at the experimental sites in 2010

جدول 1- مقایسه میانگین درصد آلودگی به تفکیک مناطق آزمایش
Table 1- Mean percent of infection at the experimental points

Treatments تیمارها	Regions مناطق		
	Zanjan زنجان	Ormia ارومیه	Bojnord بجنورد
Diflubenzoron(Dimilin® SC 48%)	7.26±1.4 bc	4.02±0.23 b	2.06±0.42 c
Fozalon(Zolon® SE 35%)	9.58±2.83 b	3.65±0.29 b	12.27±1.64 b
Thiaclopride(kalipso® SC 48%)	3.00± 0.44 c	1.02±0.43 c	9.32±0.88 b
Control	45.21±3.03 a	57.37 ±4.94 a	57.12±3.08 a

منابع

- Alston D. G., and Lindstorm T. 2003. Codling moth control in apple. Proceeding of the 77th Annual western orchard Pest & Diseases Management Conference, Portland, Washington. 15-17, Portland Washinton. U. S. A. p. 60. http://entomology.tfrec.wsu.edu/wopdmc/2003PDFs/Rep03%20Chemical_Alston-2.pdf (18 March 2015).
- Anderson D. W., and Elliott R. H. 1982. Efficacy of Diflubenzuron against codling moth, *Laspyresia pomonelle* (Lep: Oleothreutidae), and impact on orchrd mites. The Canadian Entomologist, 114: 733-73
- Anonymus. 2015. Dimilin 25W: Insect Growth Regulator, Downloaded from www. Chemtura.com .
- Ascher K. R. S., Nemny N.E., and Ishaaya I. 1980. The toxic effect of diflubenzuron on *Spodoptera littoralis* eggs and on their respiration. Pestic. Sci. 11: 90-94.
- Barens B. N. O. 1991. Banded fruit weevil in deciduous fruit orchards of the South Western Cape; Historical review and background. Stellenbosch: Navorsings institute vir vrugte en vrugtetgnologie, Fruit and fruit technology research institute, 3pp
- Barnes M.M., and Moffitt H.R. 1963. Resistance to D.D.T in the adult codling moth and reference curves for guthion and carbaryl. Journal of Economic Entomology. 56: 722-725.
- Beers E. H., and Brunner J.F. 1991. Washington state apple and pear pesticide use survey, 1989-1990. Report to USDA- NAPIAP, 79 pp.
- Booth, S. R, and Riedl H. 1996. Diflubenzuron-Based Management of the Pear Pest Complex in Commercial Orchards of the Hood River Valley in Oregon, Journal of Economic Entomology, 89(3): 621-630.
- Bowers W.C., Ochta T., Cleere G. S., and Marsella P. A. 1976. Discovery of insect anti-juvenil hormone in plants, Sciences, 193(4253): 542-547.
- Cranham J. E. 1978, Control of of the codling moth with diflubnenzur on In: The use of integrated control and the sterile insect technique for control of codling moth. FAO/IAEA Res. Coord. Mtg. Mitt. Biol. Bundesanst. Land. Forstwirtschaft (Berlin-Dahlem) 180:108-110
- Croft B. A., and Riedl H. W. 1991. Chemical control and resistance to pesticides of the codling moth. In: Van L. P. S. der Geest and der Geest and Evenhuis, J. J. (Editors): Tortricid pests: Their biology, Natural enemies and control, Elsevier, amsterdam pp, 371-387.
- Cutwright C.R. 1954. A codling moth population resistant to D.D.T Journal of Economic Entomology.47: 189-190.

- 13- Dastghaib Beheshti N. 1980. Suitable timing of chemical control against codling moth in Isfahan with sex pheromone traps, *Applied Entomology and Phytopathology*, 48 (1): 97-101. (In Persian with English summary).
- 14- Davatchi A., and Esmaeili M. 1965. Experiment of five insecticide formulations for codling moth control. *Applied Entomology and Phytopathology*, (23): 14-32. (In Persian with English summary).
- 15- Elliot R.H., and D.W. Anderson. 1982. Factors influencing the activity of diflubenzuron against the codling moth, *Laspyresia pomonella* L., (Lep.: Olethreutidae), *The Canadian Entomologist*, 114: 259-268.
- 16- Granett J., and Weseloh R. M. 1975. Dimilin Toxicity to the Gypsy Moth Larval Parasitoid, *Apanteles melanoscelus*, *Journal of Economic Entomology*, 68(5): 577-580.
- 17- Granger K. R., Brunner J. F., and Doerr M. D. 2003. Managing codling moth with new insecticides: Assail, Interpid and Success., *Proceeding of the 77th Annual Western orchard pest& Diseases Management Conference*, January 15-17, Portland, Washington., U.S.A., p. 61.
- 18- Hoying S. A., and Riedl H. 1980, Susceptibility of the Codling Moth to Diflubenzuron, :1980 , *Journal of Economic Entomology*, 73(4):556-560.
- 19- Javadzadeh M., and Pour Hajy A. 2000. An investigation on efficacy of some new insecticides in control of codling moth, *Cydia pomonella* (L). Final Report of Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, No. 18351, 15p. (In Persian with English summary).
- 20- Kazemi M.H. 1981. Efficiency determination of Imidan against codling moth, *Applied Entomology and Phytopathology* .48(2): 155-165. (In Persian with English summary).
- 21- Koliaeii R, Akbarzadeh Shoukat Q., and Koroush Nezhad E. 2005. A study on the efficacy of some new pesticides against codling moth. Final Report of Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, No. 84/979, 22 p. (In Persian with English summary).
- 22- Meschi M. 2007. Index of registered pesticides in Iran. Iranian Organization of Plant Protection, 272 pp. (In Persian).
- 23- Olomi Sadeghi H., and Esmaeili M. 1980, An investigation on flight trend of codling moth, *Laspyresia pomonella* (L.) for optimum timing of control, *Iranian Journal of Agricultural Science*, Vol. 3, pp: 83-112. (In Persian).
- 24- Rajabi Gh. 1986. Insects attacking of rosaceous fruit trees in Iran, (Second volum: moth), Iranian Research Institute of plant protection Tehran, 209 p. (In Persian).
- 25- Ridel H., and. Hoying S. A. 1980. Impact of fenvalerate and diflubenzuron on target and nontarget arthropod species on Barlett pears in northern California. *Journal of Economic Entomology*, 73:117-122.
- 26- Salma H. S., Motagally Z. A., and Skatulla U. 1976. On the mode of action of Dimilin as a moulting inhibitor in some Lepidopterous insects. *Z. ang.Ent.* 80:396- 407.
- 27- Sample B. E., Butler L., and Whitmore R. C. 1993. Effects of an operational application of Dimilin on non- target insects. *The Canadian Entomologist*, 125(2):
- 28- Sheikhi Garajan A., Najafi H., Abbasi S., Saberfar F., and Rashid M. 2012. Textbook of pesticides used in Iran, 2012, Tehran, Paitakht publication, 384 pp. (In Persian).
- 29- Smagghe G., Bylemans D., Medina P., Budia F., Avilia J., and Vinuela. 2004. Tebufenozide distorted codling moth larval growth and reproduction, and controlled field populations . *Ann. appl.Biol.* 145: 291- 298.
- 30- Soltani N., and Mazouni N. 1992. Diflubenzuron and oogenesis in the codling moth, *Cydia pomonella* (L), *Pestic. Sci.* 34: 257-261.
- 31- Taft H. M., and. Hopkins A. R. 1975. Boll weevils. field population controlled by sterilizing emerging overwintered females with a TH-6040 sprayable bait. *Journal of Economic Entomology*, 68: 551-554.
- 32- Talebi Jahromi Kh. 2006. Toxicology of Pesticides, Tehran University Press, 429 p. (In Persian).
- 33- Thwaite G. G. W., and Nicol H. 1999. Field evaluation of the effects of insect growth regulator tebufenizide on entomophagous arthropods and pests of apples. *Austaralian Journal of Entomology*, 38 (2): 135-140.
- 34- Valera L. G., Welter S. C., Jones V. P., Brunner J. F., and Riedl H. 1993. Monitoring and characterization of insecticide resistance in codling moth (Lep :Tortricidae) in four western states. *Journal of Economic Entomology*, 86(1): 1-10.
- 35- Van Laecke K., and Degheele D. 1991 Synergism of Diflubenzuron and Teflubenzuron in Larvae of Beet Armyworm (Lep: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 84, (3): 785-789.
- 36- Westgard P. H. 1979. Codling Moth: Control on Pears with Diflubenzuron and Effects on Nontarget Pest and Beneficial Species, *Journal of Economic Entomology*, 72: 552-554.
- 37- Willrich M. M., and Boethel D. J. 2001. Effects of Diflubenzuron on *Pseudoplusia includens* and its parasitoid *Copidosoma floridanum*, *Biological Control* , Augst: 794-797.



ترجیح غذایی کنه شکارگر *Amblyseius swirskii* روی سفید بالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum* تیمار شده و تیمار نشده با قارچ *Beauveria bassiana*

مرجان سیدی^{1*} - مهدی ترک²

تاریخ دریافت: 1395/08/15

تاریخ پذیرش: 1396/06/08

چکیده

کنه شکارگر *Amblyseius swirskii* و قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* از دشمنان طبیعی مهم سفید بالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum* هستند. در بررسی کارایی و انتخاب دشمنان طبیعی، تعیین ترجیح غذایی آنها، هنگامی که دشمن طبیعی در برابر میزبان آلوده یا غیر آلوده به عوامل بیمارگر قرار می‌گیرد، از اهمیت خاصی برخوردار است. در این تحقیق ترجیح غذایی کنه شکارگر دو روز پس از بالغ شدن در برخورد با پوره سن سوم سفید بالک گلخانه غیر آلوده و تیمار شده با قارچ *B. bassiana* در دو تیمار زمانی 24 و 48 ساعت بعد از آلودگی شکار با استفاده از شاخص بتای منلی تعیین شد. شکارگرهایی که 24 ساعت گرسنگی داده شده بودند بر روی دیسک‌های برگ‌های خیار رهاسازی شدند و پس از 24 ساعت تعداد سفیدبالک‌های مصرف شده شمارش شدند. آزمایش درون ظروف پتری تهویه‌دار و به مدت 24 ساعت انجام شد. براساس نتایج مقدار شاخص بازه زمانی 24 و بازه زمانی 48 ساعت پس از تیمار شدن میزبان به قارچ، به ترتیب $4/15 \pm 0/19$ و $2/23 \pm 0/12$ برآورد شد. نتایج نشان داد، *A. swirskii* در تغذیه از سفید بالک‌های غیر آلوده در مقابل سفید بالک‌های تیمار شده با قارچ در بازه زمانی 24 ساعت ($P < 0/0034$) و 48 ساعت ($P < 0/0001$) به سمت سفید بالک‌های غیر آلوده ترجیح نشان می‌دهد. با توجه به نتایج می‌توان گفت که این کنه شکارگر با رفتار عدم ترجیح در آزمون دو انتخابی نسبت به میزبان آلوده می‌تواند در کنترل بیولوژیک همراه با این قارچ به کار رود.

واژه‌های کلیدی: دشمنان طبیعی، شاخص بتای منلی، قارچ بیمارگر حشرات، کنترل بیولوژیک

مقدمه

زیست را به دنبال دارد (1 و 10). در واکنش به مسائل ایجاد شده، متخصصین استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک را پیشنهاد می‌دهند (34). در بین دشمنان طبیعی سفید بالک گلخانه *T. vaporariorum*، کنه *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) از اهمیت برخوردار است و همچنین کاربرد آفت‌کش‌های بیولوژیک مانند استفاده از بیمارگرهای قارچی از جمله آنها *Beauveria bassiana* برای کنترل سفید بالک گلخانه که به این آفت‌کش بیولوژیک حساس می‌باشد، نیز می‌توان اشاره کرد (19 و 24).

کنترل بیولوژیک می‌تواند بسیار مؤثر و بی‌خطر باشد، به شرط آن که برهم‌کنش موجود بین تمام عوامل درگیر به خوبی مطالعه شود (16). به دلیل زنده بودن عوامل کنترل بیولوژیک، وجود برهم‌کنش‌های مثبت و منفی در بین آنها کاملاً طبیعی است که با بررسی و شناسایی این برهم‌کنش‌های مثبت و منفی بین عوامل کنترل بیولوژیک می‌توان به کنترل مطلوب برای هر آفتی دست یافت (25). بررسی‌های زیادی وقوع برهم‌کنش‌هایی بین 1- شکارگرها و پارازیتوئیدها (8 و 13)؛ 2- گونه‌های مختلف پارازیتوئید که به آفات

سفید بالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) پراکندگی جهانی دارد (33) و از آفات مهم تعداد زیادی از گیاهان شامل 500 گونه و 74 خانواده در سراسر دنیا است (4، 5، 6 و 15). امروزه برای مهار جمعیت این آفت از انواع آفت‌کش‌ها در سطح گسترده استفاده می‌شود، اما سرعت نمو و تولید مثل زیاد باعث افزایش دوباره جمعیت آفت و کاربرد چندین باره آفت‌کش می‌شود که افزون بر هزینه‌های زیاد مهار شیمیایی مسائلی چون بروز مقاومت در آفات، از بین رفتن دشمنان طبیعی، ایجاد گیاه‌سوزی، طغیان آفات ثانویه و آلودگی محیط

1- استادیار دانشکده زیست‌شناسی و مرکز قطب تبارزایی موجودات زنده، پردیس علوم، دانشگاه تهران

(*) - نویسنده مسئول: (Email: mseyyedi@ut.ac.ir)

2- کارشناس ارشد گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

بیماری‌ها در طبیعت کاربردی‌تر شود. در این مطالعه، ترجیح کنه شکارگر در حضور قارچ در 2 بازه زمانی که از آلودگی سفید بالک به قارچ گذشته است، مورد بررسی قرار گرفت تا سازگاری و امکان کاربرد این دو عامل کنترل بیولوژیک برای کنترل سفید بالک مشخص شود.

مواد و روش‌ها

پرورش و نگهداری عوامل زنده

برای کاشت گیاه از بذره‌های خیار رقم هلندی (L. VAR Ps *Cucumeris sativus*) استفاده شد.

سفید بالک گلخانه مورد نیاز برای انجام تحقیق، در نمونه‌برداری‌هایی که از منطقه هشتگرد شهرستان کرج، استان البرز انجام شد، جمع‌آوری گردید. برای ایجاد جمعیت سفیدبالک گلخانه، گلدان‌های خیار که دارای 5 تا 6 برگ بودند انتخاب و به قفس‌هایی به ابعاد 70×70×70 سانتی‌متر انتقال داده شدند و سپس با جمعیت مناسبی از سفیدبالک آلوده شدند. برای رعایت مسأله یکنواختی سنی مراحل مختلف و به دست آوردن سفیدبالک‌های هم سن، چند جفت سفیدبالک روی گلدان‌های حاوی بوته‌های خیار هم‌سن رهاسازی شده و پس از 15 ساعت قفس‌کاری از سفیدبالک شده و به این ترتیب 2، 5، 9، 11 و 14 روز پس از خارج کردن سفیدبالک‌ها، به ترتیب برگ‌های حامل تخم‌های دو روزه، تخم‌های پنج روزه، لاروهای یک روزه، پوره‌های سن دوم و پوره‌های سن سوم در دسترس قرار می‌گرفتند. در نهایت برگ‌های شامل پوره‌های سن سوم از گیاه جدا شده و به صورت صفحاتی به سرعت به تشک‌های پتری حاوی محیط کشت پایه آگار دو درصد منتقل گردید.

در این پژوهش از جدایه DEBI008 قارچ *Beauveria bassiana* متعلق به آزمایشگاه کنترل بیولوژیک گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران تهیه شده بود. جدایه DEBI008 از *Chorthippus brunneus* (Orthoptera: Acrididae)، جداسازی شده بود. برای تولید مقدار زیادی هاگ، جدایه قارچی مورد نظر در محیط کشت Sabouraud Dextrose Agar (SDA) همراه با یک درصد عصاره مخمر (Y) کشت شد. برای تهیه زادمایه از کشت‌هایی که در آن‌ها هاگ‌زایی به طور کامل صورت گرفته بود (14 تا 21 روز پس از کشت)، استفاده شد. از محلول پایه غلظت‌های مورد نیاز برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی تهیه شد.

کنه‌ی شکارگر *A. swirskii* از شرکت کوپرت⁴ خریداری شده و در آزمایشگاه اکولوژی و رفتارشناسی دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه تهران روی کنه‌ی انباری *T. putrescentiae* پرورش داده شد.

بندپای مشابه حمله می‌کنند (2)؛ 3- گونه‌های مختلف شکارگر (32)؛ 4- بیمارگرهای حشرات و دشمنان طبیعی بندپا (14، 30 و 31) نشان داده‌اند. روابط بین بیمارگرهای حشرات و دشمنان طبیعی بر این اساس است که بیمارگرهای حشرات قادرند به طور مستقیم حشرات غیر هدف و دشمنان طبیعی حشرات را درون رسته¹ آلوده کنند (18) و (25) و شکارگران نیز می‌توانند با مصرف شکارهای آلوده به قارچ باعث کاهش انبوهی قارچ در محیط شوند (25).

در طول زمان جمعیت‌های شکارگر در معرض مقادیر شدیدی از عوامل کنترل دیگر قرار دارند که منجر به بروز دفع و دور شدن ذاتی و ژنتیکی می‌شود و ممکن است رفتارهایی را توسعه دهند که مواجه شدن با ترکیبات سمی را کاهش دهند یا این که به شکارگر اجازه می‌دهد که در یک محیط کشنده و سمی زنده باقی بماند (مقاومت رفتاری) (17). شکارگرها و قارچ‌های بیمارگر تحت فشارهای انتخاب هستند. مزیتی که این انتخاب برای شکارگرها دارد این است که این انتخاب منجر به تشخیص و دوری شکارگرها از قارچ‌های بیمارگر می‌شود. رفتار شکارگرها با ایجاد تغییرات در فعالیت شکارگر می‌تواند روی تماس آن با عامل بیمارگر تأثیرگذار باشد و احتمال آلودگی را افزایش یا کاهش دهد (9). اگر شکارگر توانایی تشخیص خطر حمله و هجوم از جانب قارچ‌های بیمارگر را داشته باشد و از طریق رفتار پرهیز یا با واکنش‌های پس از تماس² نظیر تیمار کردن و تمیز کردن³ پاسخ نشان دهد، ممکن است مزیت و برتری حاصل از انتخاب را کسب کند (7).

پس مطالعه برهم‌کنش‌های موجود بین عوامل بیولوژیک مورد استفاده در یک سامانه، برای کاهش برهم‌کنش‌های احتمالی منفی و کمک به افزایش برهم‌کنش‌های مثبت متقابل موجود بین آن عوامل برای کارآتر کردن سامانه، امری ضروری است. بنابراین، پس از این که جدایه یا جدایه‌هایی از قارچ‌های بیمارگر، اثرات خوبی در کنترل آفت نشان دادند، آزمایش بی‌خطر بودن این جدایه‌ها روی حشرات غیرهدف یا دشمنان طبیعی ضروری به نظر می‌رسد (12).

بررسی اثرات این دو بر یکدیگر، درک ارتباطات و برهم‌کنش‌های دو دشمن طبیعی را افزایش می‌دهد و امکان تعیین کاربرد توأم آن‌ها را در برنامه‌های کنترل بیولوژیک فراهم می‌کند. به نظر می‌رسد تعیین ترجیح میزبانی کنه شکارگر در طبیعت هنگامی که در برابر شکار آلوده یا غیر آلوده به عوامل بیماری‌زا مختلف قرار می‌گیرد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد. زیرا با تعیین ترجیح کنه شکارگر می‌توان واکنش کنه شکارگر به شکار ترجیحی را در محیط طبیعی مشخص کرد تا جنبه‌های استفاده توأم از کنه شکارگر و عامل

1- Guild

2- Post contact

3- Grooming

4- Koppert

افتاد از شاخص بتای منلی¹ (β) استفاده شد که با فرمول زیر محاسبه شد (20).

$$\beta = \frac{\text{Log} \bar{P}_i}{\sum_{j=1}^m \text{Log} \bar{P}_j} \quad (1)$$

(I) (β) شاخص بتای منلی برای ترجیح شکار
($\bar{P}_i$) میانگین نسبت باقی مانده از شکار (I) (سفید بالک گلخانه
غیر آلوده) در پایان آزمایش
($\bar{P}_j$) میانگین نسبت باقی مانده از مجموع تمام شکارها در پایان
آزمایش
(m) تعداد نوع شکارها در این آزمایش شکار آلوده و غیر آلوده به
قارچ

شاخص بتا (β) برای هر شکار بین 0 تا 1 بوده و مجموع شاخص
بتا برای تمام شکارها همیشه برابر 1 است.
در آزمون دو انتخابی، که سفید بالک گلخانه غیر آلوده (شکار I) و
سفید بالک گلخانه تیمار شده (شکار I') هم زمان در اختیار کنه
شکارگر قرار گرفتند، مقدار شاخص بتا (β) برابر با 0/5 نشان دهنده
عدم ترجیح برای شکارهای (I و I') توسط کنه شکارگر بوده و مقادیر
شاخص بتا (β) بیشتر از 0/5 و کمتر از 0/5 به ترتیب نشان دهنده
ترجیح نسبت به شکار (I) و ترجیح نسبت به شکار (I') است.
تجزیه داده‌ها در آزمون دو انتخابی به کمک نرم افزار آماری
SPSS ورژن 21 انجام شد. مقایسه پارامتر ترجیح شکارگر در برخورد
با سفید بالک گلخانه آلوده و غیر آلوده با آزمون Paired t-test انجام
گرفت.

نتایج

ترجیح میزبانی کنه ماده شکارگر روی سفید بالک گلخانه آلوده و غیر آلوده با قارچ

نتایج میانگین تغذیه کنه شکارگر زمانی که در آزمون دو انتخابی
به طور هم زمان، سفید بالک گلخانه غیر آلوده (شاهد) و سفید بالک
گلخانه آلوده با قارچ بیمارگر (24 و 48 ساعت از پس آلودگی این
سفید بالک گلخانه) در اختیارش قرار داده شد، در جدول 1 نشان داده
شده است.

شاخص بتای منلی برای سفید بالک‌های گلخانه که با Tween
80 (شاهد) تیمار شده بود و سفید بالک‌های گلخانه تیمار شده با قارچ
پس از 24 ساعت به ترتیب برابر با $0/76 \pm 0/01$ و $0/23 \pm 0/01$ بود،
که این مقدار شاخص بتای منلی (β) برای سفید بالک‌های گلخانه که
با Tween 80 تیمار شده بود نشان دهنده ترجیح کنه شکارگر به

ظروف پرورش و هم‌ساز، درون ژرمیناتور در دمای 25 ± 1
درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 70 ± 5 درصد و دوره نوری 8 : 16
(تاریکی: روشنایی) قرار گرفتند. از تخم‌گذاری تا بالغ شدن کنه‌های
شکارگر حدود یک هفته به طول انجامید.

مطالعه ترجیح کنه ماده شکارگر به سفید بالک گلخانه سالم و تیمار شده با قارچ

آزمایش در تشتک‌های پتری 9 سانتی‌متری با دره‌ایی با سوراخ
دو سانتی‌متری و تور 150 مش، انجام شد. یک دیسک برگ‌ی خیار
درون پتری گذاشته شد.

آزمایش در یک غلظت قارچ (1×10^5 کنیدی در میلی‌لیتر) (این
غلظت توسط سیدی و همکاران (28) بر اساس آزمایش‌های اولیه که
55 و 16/25 درصد مرگ را در سفید بالک‌های گلخانه و شکارگر به
ترتیب ایجاد می‌کرد انتخاب شد) انجام شد. مقایسه رفتار ترجیح کنه
شکارگر در سه تیمار، 1- سفید بالک‌های گلخانه تیمار شده با
Tween 80 (کنترل) در مقابل سفید بالک‌های گلخانه تیمار شده با
قارچ 24 ساعت پس از آلودگی؛ 2- سفید بالک‌های گلخانه تیمار شده
با Tween 80 0/02 درصد (کنترل) در مقابل سفید بالک‌های گلخانه
تیمار شده با قارچ 48 ساعت پس از آلودگی؛ 3- سفید بالک‌های
گلخانه تیمار شده با قارچ 24 ساعت پس از آلودگی در مقابل سفید
بالک‌های گلخانه تیمار شده با قارچ 48 ساعت پس از آلودگی انجام
گرفت. آلوده‌سازی کنه‌ها با قارچ به این صورت انجام شد که دو روز
پیش از روز آزمایش، تشتک‌های پتری شامل پوره سن 3 سفید بالک
گلخانه با مقدار یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون قارچی مورد پاشش قرار
گرفتند و در روز آزمایش، واحدهای آزمایشی شامل 10 عدد از سفید
بالک گلخانه تیمار شده با قارچ و 10 عدد سفید بالک گلخانه غیر
آلوده تهیه شدند (در مجموع 20 سفید بالک). تعداد 10 عدد سفید بالک
بر اساس آزمایش‌های اولیه شکارگری کنه به صورت جداگانه روی
سفید بالک در طی 24 ساعت با هدف دستیابی به تراکم استاندارد
مورد نیاز بین شکار و شکارگر محاسبه شد. سپس یک کنه ماده (2)
روز پس از بالغ شدن) که 24 ساعت گرسنگی داده شده بود به هر
یک از تشتک‌های پتری وارد شد.

تعداد سفید بالک گلخانه (مصرف نشده) از هر یک از حالت‌های
شکار (آلوده و غیر آلوده) بعد از 24 ساعت زیر استریومیکروسکوپ
شمارش شد. هر یک از این آزمون‌ها در 13 تکرار انجام پذیرفت.

تجزیه آماری

برای تعیین ترجیح میزبانی در آزمون دو انتخابی، به دلیل آن که
سفید بالک‌های گلخانه مصرف شده توسط کنه شکارگر جایگزین
نشوند و در زمان انجام آزمایش کاهش تراکم کنه شکار ماده اتفاق

($n=13$ و $t=14/90$).

نتایج آزمون دو انتخابی زمانی که سفید بالک گلخانه تیمار شده با قارچ (24 ساعت از پس آلودگی این سفید بالک) و سفید بالک گلخانه تیمار شده با قارچ (48 ساعت از پس آلودگی این سفید بالک) به طور هم زمان در اختیار کشته شکارگر بالغ ماده قرار داده شدند، در جدول شماره 1 نشان داده شده است.

بتای منلی (β) برای سفید بالکهای گلخانه تیمار شده با قارچ 24 ساعت از پس آلودگی و سفید بالکهای گلخانه تیمار شده با قارچ پس از 48 ساعت به ترتیب برابر با $0/89 \pm 0/004$ و $0/10 \pm 0/004$ بود، که این مقدار شاخص بتای منلی (β) برای سفید بالکهای گلخانه تیمار شده با قارچ 24 ساعت از پس آلودگی نسبت به سفید بالکهای گلخانه تیمار شده با قارچ 48 ساعت پس از آلودگی است. نتایج حاصل از انجام آزمایش دو انتخابی در ارتباط با ترجیح میزبانی کشته شکارگر نشان داد اختلاف معنی داری برای انتخاب میزبان توسط کشته شکارگر وجود داشته است ($P < 0/0001$ و $t=12/74$ و $n=13$).

سفید بالکهای گلخانه تیمار شده با Tween 80 نسبت به سفید بالکهای گلخانه تیمار شده با قارچ است. نتایج حاصل از انجام آزمایش دو انتخابی در ارتباط با ترجیح میزبانی کشته شکارگر نشان داد اختلاف معنی داری برای انتخاب میزبان توسط کشته شکارگر وجود داشته است ($n=13$ ، $t=3/25$ ، $P = 0/0034$).

زمانی که سفید بالک گلخانه توسط Tween 80 تیمار شده بود (شاهد) و سفید بالک گلخانه تیمار شده با قارچ (48 ساعت از پس آلودگی این سفید بالک گلخانه) به طور هم زمان در اختیار کشته شکارگر بالغ ماده قرار داده شدند، بتای منلی (β) برای سفید بالکهای گلخانه که با Tween 80 تیمار شده بود و سفید بالکهای گلخانه تیمار شده با قارچ پس از 48 ساعت به ترتیب برابر با $0/88 \pm 0/007$ و $0/11 \pm 0/007$ بود، که این مقدار شاخص بتای منلی (β) برای سفید بالکهای گلخانه که با Tween 80 تیمار شده بود نشان دهنده ترجیح کشته شکارگر به سفید بالکهای گلخانه تیمار شده با Tween 80 نسبت به سفید بالکهای گلخانه تیمار شده با قارچ پس از 48 ساعت است. نتایج حاصل از انجام آزمایش دو انتخابی در ارتباط با ترجیح میزبانی کشته شکارگر نشان داد اختلاف معنی داری برای انتخاب میزبان توسط کشته شکارگر وجود داشته است ($P < 0/0001$).

جدول 1- تعداد میانگین ($\pm$ خطای استاندارد) و درصد مصرف سفید بالک گلخانه غیر آلوده و آلوده با قارچ *Beauveria bassiana* توسط کته شکارگر *A. swirskii* در مدت 24 ساعت

Table 1- Mean number ($\pm$ SE) and percentage of untreated <i>T. vaporariorum</i> (control) and <i>Beauveria bassiana</i> -treated <i>T. vaporariorum</i> consumed by female <i>A. swirskii</i> over a 24 h period											
کنترل در مقابل سفید بالک گلخانه تیمار شده با قارچ بیمارگر پس از 48 ساعت				کنترل در مقابل سفید بالک گلخانه تیمار شده با قارچ بیمارگر پس از 24 ساعت				سفید بالک گلخانه تیمار شده با قارچ بیمارگر پس از 24 ساعت در مقابل سفید بالک گلخانه تیمار شده با قارچ بیمارگر پس از 48 ساعت			
Control vs. <i>T. vaporariorum</i> treated by <i>Beauveria bassiana</i> in time interval 24				Control vs. <i>T. vaporariorum</i> treated by <i>Beauveria bassiana</i> in time interval 48				<i>T. vaporariorum</i> treated by <i>Beauveria bassiana</i> in time interval 24 vs. <i>T. vaporariorum</i> treated by <i>Beauveria bassiana</i> in time interval 48			
کنترل		سفید بالک گلخانه تیمار شده با قارچ بیمارگر پس از 24 ساعت		کنترل		سفید بالک گلخانه تیمار شده با قارچ بیمارگر پس از 48 ساعت		سفید بالک - گلخانه تیمار شده با قارچ بیمارگر پس از 24 ساعت		سفید بالک گلخانه تیمار شده با قارچ بیمارگر پس از 48 ساعت	
<i>A. swirskii</i> control		<i>T. vaporariorum</i> treated by <i>Beauveria bassiana</i> in time interval 24		control		<i>T. vaporariorum</i> treated by <i>Beauveria bassiana</i> in time interval 48		<i>T. vaporariorum</i> treated by <i>Beauveria bassiana</i> in time interval 24		vs. <i>T. vaporariorum</i> treated by <i>Beauveria bassiana</i> in time interval 48	
درصد میانگین $\pm$ خطای استاندارد		درصد میانگین $\pm$ خطای استاندارد		درصد میانگین $\pm$ خطای استاندارد		درصد میانگین $\pm$ خطای استاندارد		درصد میانگین $\pm$ خطای استاندارد		درصد میانگین $\pm$ خطای استاندارد	
Mean $\pm$ SE	(%)	Mean $\pm$ SE	(%)	Mean $\pm$ SE	(%)	Mean $\pm$ SE	(%)	Mean $\pm$ SE	(%)	Mean $\pm$ SE	(%)
5.07 $\pm$ 0.21a	50.76	4.15 $\pm$ 0.19b	41.53	5.15 $\pm$ 0.15a	51.53	2.23 $\pm$ 0.12b	22.30	4.07 $\pm$ 0.13a	40.76	2.07 $\pm$ 0.07b	20.76

حروف مشابه در هر آزمایش اختلاف معنی دار را در سطح 5 درصد بر اساس آزمون تی استیودنت نشان نمی دهند

Means followed by same letter (s) in each experiment are not significantly different based on the Student's t-test at $\alpha=0.05$.

بالکهای گلخانه آلوده با قارچ در بازه‌های زمانی 24 و 48 ساعت را دارد و قابلیت تشخیص سفید بالکهای آلوده را حتی 24 ساعت پس از آلودگی دارا می‌باشد. بنابراین، احتمال این وجود ندارد که کشته شکارگر، بر پتانسیل کنترل بیولوژیک *B. bassiana* اثر منفی داشته

بحث

نتایج حاصل از آزمون ترجیح میزبانی نشان داد که کشته بالغ شکارگر ترجیح به سفید بالکهای گلخانه غیر آلوده نسبت به سفید

شکارگر و عامل بیماری‌زا در طبیعت کاربردی‌تر شود و با توجه به نتایج این آزمایش می‌توان گفت که این کنه شکارگر با رفتار عدم ترجیح در آزمون دو انتخابی نسبت به سفید بالک‌های گلخانه تیمار شده با قارچ می‌تواند در کنترل بیولوژیک همراه با این قارچ به کار رود، زیرا نخست این که از اجساد آلوده تغذیه نمی‌کند، پس از تراکم قارچ در محیط کاسته نمی‌شود و دوم این که چون در این آزمایش‌ها از جدایه‌ای از این قارچ استفاده شد که برای شکارگر کمتر بیماری‌زا بود (29)، کنه شکارگر می‌تواند به عنوان عامل مهمی در پراکندگی قارچ به کار رود که این حالت‌ها باعث ایجاد نوعی برهم‌کنش مثبت و افزایش بین شکارگر و قارچ در کنترل جمعیت آفت می‌شوند. این مسأله بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته توسط افراد دیگر نیز ثابت شده است که در برهم‌کنش بین شکارگرها و قارچ‌های بیمارگر، شکارگرها می‌توانند حتی با انتشار و پخش کنیدی‌ها، میزان آلودگی جمعیت آفت را افزایش دهند و نوعی برهم‌کنش مثبت و افزایش بین شکارگر و قارچ فراهم شود از جمله شکارگرهای شته‌ها در انتشار قارچ *Pandora neoaphidis* برای آلوده‌سازی جمعیت آفت (26 و 27)، کفشدوزک *H. convergens* در انتقال و انتشار آلودگی قارچ *Paecilomyces fumosoroseus* روی شته روسی گندم (23)، سوسک *Carpophilus freemani* در انتقال و انتشار قارچ *B. bassiana* روی *Ostrinia nubilalis* (3) و شکارگر *Anthocoris nemorum* در انتقال کنیدی قارچ *B. bassiana* از اجساد شته آلوده به جمعیت غیر آلوده و پخش این کنیدی‌ها در قسمت‌های مختلف گیاه (21)؛ انتشار و پخش قارچ بیمارگر *Lecanicillium longisporum* یا *L. muscarium* توسط سن شکارگر *Orius laevigatus* روی دیسک‌های برگی فلفل شیرین (11) اشاره کرد. با توجه به این که شکار انتخاب شده در آزمون ترجیح میزبانی کنه شکارگر یعنی سفید بالک‌های گلخانه غیر آلوده و یا آلوده، یکی بودند، به نظر می‌رسد رفتار ترجیحی کنه شکارگر نسبت به سفید بالک‌های گلخانه غیر آلوده، یک رفتار ترجیحی واقعی باشد. برای اثبات فرضیه‌هایی نظیر میزان شایستگی شکار برای شکارگر در رابطه با علل ترجیح میزبانی کنه بالغ شکارگر نسبت به شکارگرهای غیر آلوده و آلوده به پژوهش‌های گسترده و جامع در آینده نیاز است.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست‌شناسی انجام شد که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

باشند. آزمایش‌های مختلفی در ارتباط با این ترجیحات توسط متخصصین صورت گرفته است. پل و همکاران (22) و همچنین روی و همکاران (26) در آزمایش‌های بدون انتخاب نشان دادند که بالغ‌ها و لاروهای سن چهارم کفشدوزک *Coccinella septempunctata* و سوسک زمینی *Pterostichus madidus* شته‌ها را در اواخر مرحله آلودگی به قارچ *Erynia neoaphidis* مصرف می‌کنند، بنابراین تأثیر منفی بر *E. neoaphidis* دارند. بنابراین کفشدوزک هفت نقطه‌ای پتانسیل لازم برای کاهش دادن تراکم جمعیت *E. neoaphidis* را دارد ولی شته‌های غیر آلوده با احتمال بیشتری نسبت به شته‌های آلوده مصرف می‌شوند. افزون بر این، مشاهدات مزرعه‌ای نشان داده که شته‌های آلوده، توسط هم کفشدوزک‌های بالغ و هم لاروهای این شکارگر مصرف شده‌اند. اجساد که اندکی مصرف شده بودند، به طور معنی‌داری کنیدی کمتری تولید کردند (26). شته‌های آلوده توسط سوسک‌های کارابید به طور کامل با سرعت بیشتری نسبت به شته‌های غیر آلوده مصرف شدند. اما، سایر شکارگرهای متداول شته‌ها (مراحل لاروی مگس سیرفید *Episyrphus balteatus* و بالتوری سبز *Chrysoperla carnea*) هرگز شته‌های آلوده را مصرف نکردند. بنابراین مگس سیرفید و بالتوری سبز و سنین اولیه لاروی کفشدوزک، بر پتانسیل *E. neoaphidis* در کنترل بیولوژیک شته اثر منفی ندارند.

پل و وندنبرگ (23) نشان دادند که کفشدوزک *Hippodamia convergens* از تغذیه از شته روسی گندم (*Diuraphis noxia*) آلوده به *Paecilomyces fumosoroseus* پرهیز می‌کنند و ترجیح کفشدوزک به تغذیه از شته‌های غیر آلوده است و به نوعی از تراکم قارچ در محیط کاسته نمی‌شود. سیدی (28) نشان داد که در آزمون دو انتخابی زمانی که کنه‌های تارتن دو لکه‌ای که توسط Tween 80 تیمار شده بود (شاهد) و کنه تارتن دو لکه‌ای تیمار شده با قارچ (72 ساعت پس از آلودگی این کنه با قارچ) به طور هم زمان در اختیار کنه شکارگر بالغ ماده (Acari: *Phytoseiulus persimilis*) قرار داده شدند، کنه شکارگر از کنه‌های تارتن دو لکه‌ای که با Tween 80 تیمار شده بود به صورت معنی‌داری بیشتر از کنه تارتن دو لکه‌ای تیمار شده با قارچ تغذیه کرد.

به نظر می‌رسد تعیین ترجیح میزبانی کنه شکارگر در طبیعت هنگامی که در برابر شکار غیر آلوده یا آلوده به عوامل بیماری‌زا مختلف قرار می‌گیرد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشد. زیرا با تعیین ترجیح کنه شکارگر می‌توان واکنش کنه شکارگر به شکار ترجیحی را در محیط طبیعی مشخص کرد تا جنبه‌های استفاده توأم از کنه

منابع

- 1- Aroiee H., Mosapoor S., and Karimzadeh H. 2005. Control of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) by thyme and peppermint kmitl. KMITL Science Journal, 5:511-514.

- 2- Briggs C.J. 1993. Competition among parasitoid species on a stage-structured host and its effect on host suppression. *American Naturalist*, 141: 372-397.
- 3- Bruck D.J., and Lewis L.C. 2002. *Carpophilus freemani* (Coleoptera: Nitidulidae) as a vector of *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 80: 188-190.
- 4- Byrne D.N., and Bellows T.S. 1991. Whitefly Biology. *Annual Review of Entomology*, 36: 431-457.
- 5- Carey J.R. 1993. *Applied Demography for Biologists with Special Emphasis on insect*. Oxford University Press, New York. 206 pp.
- 6- Choi W.I., Lee E.H., Choi B.R., Park H.M., and Ahn Y.J. 2003. Toxicity of plant essential oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*, 96: 1479-1484.
- 7- Chouvenec T., Su N.Y., and Elliott M.L. 2008. Interaction between the subterranean termite *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae) and the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in foraging arenas. *Journal of Economic Entomology*, 101: 885-893.
- 8- Colfer R.G., and Rosenheim J.A. 1995. Intra-guild predation by coccinellid beetles on an aphid parasitoid, *Lysiphlebus testaceipes*. *Proceeding of the Beltwide Cotton Conference*. pp.1033-1036.
- 9- Cory J.S., and Hoover K. 2006. Plant-mediated effects in insect-pathogen interactions. *Trends in Ecology & Evolution*, 21:278-286.
- 10- Cranshaw W.S. 2007. Greenhouse Whitefly. Colorado State University Extension. <http://www.ext.colostate.edu/pubs/insect/05587.html>.
- 11- Down R.E., Guthbertson A.G.S., Mathers J.J., and Walters K.F.A. 2009. Dissemination of the entomopathogenic fungi, *Lecanicillium longisporum* and *L. muscarium*, by the predatory bug, *Orius laevigatus*, to provide concurrent control of *Myzus persicae*, *Frankliniella occidentalis* and *Bemisia tabaci*. *Biological Control*, 50: 172-178.
- 12- Dunkel F.V., and Jaronski S.T. 2003. Development of a bioassay system for the predator *Xylocoris flavipes* (Reuter) and its use in subchronic toxicity/pathogenicity studies of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Strain GHA. *Journal of Economic Entomology*, 96: 1045-1053.
- 13- Evans E.W., and England S. 1996. Indirect interaction in biological control of insects: pests and natural enemies in alfalfa. *Ecological Applications*, 6: 920-930.
- 14- Goettel M. S., Poprawski T.J., Vandenberg J.D., Li Z., and Roberts D.W. 1990. Safety to nontarget invertebrates of fungal biocontrol agents. In: Laird, M., Lacey, L. A., and Davidson, F. W. (Eds.), *Safety of Microbial Insecticides*. CRC Press, Florida, pp. 209-231.
- 15- Hamdi F., Fargues J., Ridray G., Jeannequin B., and Bonato O. 2011. Compatibility among entomopathogenic hyphomycetes and two beneficial insects used to control *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Mediterranean greenhouses. *Journal of Invertebrate Pathology*, 108:22-29.
- 16- James R.R., and Lighthart B. 1994. Susceptibility of the convergent ladybeetle (Coleoptera: Coccinellidae) to four entomogenous fungi. *Environmental Entomology*, 23: 190-192.
- 17- Kepler R. M., and Bruck D. J. 2006. Examination of the interaction between the Black Vine Weevil (Coleoptera: Curculionidae) and an entomopathogenic fungus reveals a new tritrophic interaction. *Environmental Entomology*, 35: 1021-1029.
- 18- Magalhaes B.P., Lord J.C., Wraight S.P., Daoust R.A., and Roberts D.W. 1988. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Zoopthor aradicans* to the coccinellid predators *Coleomegilla maculata* and *Eriopsis connexa*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 52: 471-473.
- 19- Malekan N., Hatami B., Ebadi R., Akhavan A., and Radjabi R. 2015. Evaluation of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium muscarium* on different nymphal stages of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* in greenhouse conditions. *Biharean Biologist*, 9 (2): 108-112.
- 20- Manly B.F.J. 1974. A model for certain types of selection experiments. *Biometrics*, 30: 281-294.
- 21- Meyling N.V., Pell J.K., and Eilenberg J. 2006. Dispersal of *Beauveria bassiana* by the activity of nettle insects. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93:121-126.
- 22- Pell J.K., Pluck R., Clark S.J., Kenward M.G., and Alderson P.G. 1997. Interactions between two natural enemies, the entomopathogenic fungus *Erynia neoaphids* Remaudiere and Hennebert (Zygomycetes: Entomophthorales) and the predatory beetle *Coccinella septempunctata* L. (Col., Coccinellidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 69: 261-268.
- 23- Pell J.K., and Vandenberg J.D. 2002. Interaction among aphid *Diuraphis noxia*, the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* and the coccinellid *Hippodamia convergens*. *Biocontrol Science & Technology*, 12: 217-224.
- 24- Poprawski T.J., Greenberg S.M., and Ciomperlik M.A. 2000. Effect of host plant on *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* induced mortality of *Trialeurodes vaporariorum* (Hom., Aleyrodidae). *Biological control*, 29: 1048-1053.

- 25- Roy H.E., and Pell J.K. 2000. Interactions between entomopathogenic fungi and other natural enemies: implications for biological control. *Biocontrol Science & Technology*, 10: 737-752.
- 26- Roy H., Pell J.K., Clark S.J., and Alderson P.G. 1998. Implication of predator foraging on aphid pathogen dynamics. *Journal of Invertebrate Pathology*, 71: 236-247.
- 27- Roy H.E., Pell J.K., Clark S.J., and Alderson P.G. 2001. Targeted dispersal of the aphid pathogenic fungus *Erynia neoaphidis* by aphid predator *Coccinella septempunctata*. *Biocontrol Science & Technology*, 11: 99-110.
- 28- Seiedy M. 2014. Feeding preference of *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) towards untreated and *Beauveria bassiana* treated *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on cucumber leaves. *Persian Journal of Acarology*, 3: 91-97.
- 29- Seiedy M., Tork M., and Deyhim F. 2015. Effect of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the predatory mite *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot) (Acari: Phytoseiidae) as a non-target organism. *Systematic and Applied Acarology*, 20: 241-250.
- 30- Seiedy M., Saboori A., Allahyari H., Talaei-Hassanloui R., and Tork M. 2012. Functional response of *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) on untreated and *Beauveria bassiana*-treated adults of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Insect Behavior*, 25: 543-553.
- 31- Seiedy M., Saboori A., and Zahedi-Golpayegani A. 2013. Olfactory response of *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) to untreated and *Beauveria bassiana*-treated adults of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) on cucumber plants. *Experimental and Applied Acarology*, 60: 219-227.
- 32- Sengonca C., and Frings B. 1985. Interference and competitive behavior of the aphid predators, *Chrysoperla carnea* and *Coccinella septempunctata* in the laboratory. *Entomophaga*, 30: 245-251.
- 33- Van Lenteren J.C., and Noldus L.P.J.J. 1990. Whitefly-plant relationships: behavioral and ecological aspects. In: Gerling, D. (Ed.), *Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management*. Intercept, Andover, UK, pp. 187-210.
- 34- Van Lenteren J.C., and Woets J. 1988. Biological and integrated pest control in greenhouses. *Annual Review of Entomology*, 33: 239-269.

تأثیر تراکم بوته و طول دوره تداخل علف‌های هرز بر عملکرد و اجزای عملکرد سورگوم دانه‌ای (*Sorghum bicolor* L.)

سمیرا سارانی¹ - سید غلامرضا موسوی^{2*}

تاریخ دریافت: 1395/09/29

تاریخ پذیرش: 1396/04/17

چکیده

به منظور بررسی تأثیر تراکم بوته و تداخل علف هرز بر عملکرد و اجزای عملکرد سورگوم دانه‌ای رقم سراوان آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی بیرجند در سال 1392 با سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح تراکم بوته (10، 20 و 30 بوته در متر مربع) و چهار سطح تداخل علف‌هرز (تیمار شاهد عاری از علف هرز، تداخل تا مرحله 6-8 برگ، تداخل تا مرحله ظهور پانیکول و تداخل تمام فصل) در نظر گرفته شد. با افزایش تراکم از 10 به 30 بوته در متر مربع، طول پانیکول، تعداد پانیکول در بوته، تعداد دانه در پانیکول، وزن هزار دانه، تعداد علف‌هرز و وزن خشک علف هرز در متر مربع به طور معنی‌دار و به ترتیب 7/1، 45/5، 12/5، 16/2، 12/3، 27/6 و 16/8 درصد کاهش یافت اما تعداد پانیکول در متر مربع و عملکرد بیولوژیک 54/3 و 56/7 درصد افزایش یافت. تیمار عاری از علف‌هرز نسبت به تیمار تداخل تا انتهای دوره رشد از برتری معنی‌دار 14/3، 20/3، 30/4، 270/7، 122 و 149/3 درصدی به ترتیب در طول پانیکول، تعداد پانیکول در متر مربع، تعداد دانه در پانیکول، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک برخوردار بود. به طور کلی بر اساس نتایج این تحقیق با توجه به این موضوع که رقم سراوان یک رقم دو منظوره (دانه‌ای - علوفه‌ای) است، پیشنهاد می‌گردد تیمار تراکم 30 بوته در متر مربع و عاری نگهداشتن مزرعه از علف‌های هرز برای زراعت این گیاه مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: بیوماس علف‌هرز، پانیکول، تعداد بوته، رقابت، وزن هزار دانه

مقدمه

افزایش مشکلات زیست محیطی و بروز مقاومت به علف‌کش‌ها، استفاده از تکنیک افزایش تراکم بوته گیاه زراعی به عنوان یکی از روش‌های زراعی برای افزایش قدرت رقابتی گیاهان با علف‌های هرز مورد توجه قرار گرفته است (3). با این وجود تراکم بیش از حد نیز می‌تواند از طریق افزایش رقابت بین بوته‌ای در گیاهان زراعی خصوصاً گیاهان دانه‌ای منجر به کاهش عملکرد اقتصادی گردد. از اینرو پیدا کردن مناسبترین تراکم بوته برای گیاهان زراعی و وارپته های مختلف به گونه‌ای که هم کنترل مطلوب علف‌هرز را به دنبال داشته باشد و هم عملکرد اقتصادی حداکثر را باعث گردد، بسیار حائز اهمیت می‌باشد. تراکم بوته سورگوم در مراحل اولیه رشد گیاه از اهمیت خاصی برخوردار است زیرا سطح برگ قابل دسترس برای جذب انرژی خورشید تابعی از تراکم بوته است. همچنین، تشکیل سریع‌تر سایه‌انداز سورگوم با توجه به ارتفاع زیاد رقم سراوان می‌تواند از طریق کاهش دسترسی علف‌های هرز به نور، قدرت رقابتی علف های هرز را کاهش دهد. از طرفی باید توجه داشت که طول دوره تداخل علف‌های هرز نیز از مسائلی است که میزان تأثیرگذاری آن‌ها

سورگوم از گیاهان مهم خانواده گرامینه است که تحمل بالایی به شرایط کم‌آبی داشته و از توان فتوسنتزی بالایی برخوردار است و برای کشت در مناطق خشک و نیمه‌خشک گیاه مناسبی می‌باشد و رقم سراوان از ارقام سورگوم است که با توجه به تولید دانه و بیوماس بالاتر نسبت به ارقام سورگوم دانه‌ای کیمیا، پیام و سپیده می‌تواند به عنوان یک گیاه دو منظوره در بیرجند و مناطق مشابه کشت گردد (6). علف‌های هرز به علت داشتن خاصیت دگرآسیبی و قدرت رقابتی با گیاهان زراعی به عنوان یکی از عوامل محدودکننده رسیدن به پتانسیل ژنتیکی عملکرد در گیاهان زراعی می‌باشند و عدم کنترل آنها درصد قابل ملاحظه‌ای کاهش تولید را به دنبال دارد. امروزه به علت

1 و 2- دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار گروه زراعت، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران

(Email: s_reza1350@yahoo.com)

(*) نویسنده مسئول :

DOI: 10.22067/jpp.v31i3.60537

مربع و افزایش دوره تداخل تا پایان فصل رشد طول بلال، عملکرد دانه و بیولوژیک به طور معنی‌داری کاهش یافت. با توجه به مطالب فوق و اینکه مطالعات محدودی در زمینه تأثیر رقابت علف‌های هرز و تراکم بوته در ارقام سورگوم انجام شده است، این تحقیق با هدف بررسی تأثیر تغییرات تراکم بوته رقم سراوان سورگوم و طول دوره تداخل علف‌های هرز بر صفات عملکردی آن در بیرجند انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال 1392 در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی بیرجند واقع در 14 کیلومتری جاده بیرجند- زاهدان با عرض جغرافیایی 32 درجه و 52 دقیقه شمالی و طول جغرافیایی 59 درجه و 13 دقیقه شرقی و با ارتفاع 1480 متر از سطح دریا به اجرا درآمد.

این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 12 تیمار و 3 تکرار به اجرا در آمد. در این تحقیق فاکتورهای تراکم بوته در سه سطح شامل تراکم‌های 10، 20 و 30 بوته در متر مربع و فاکتور دوره تداخل علف‌های هرز در چهار سطح شامل تداخل در کل دوره رشد، تداخل تا مرحله 6-8 برگ، تداخل تا مرحله ظهور پانیکول و عدم تداخل (وجین تا انتهای فصل رشد) مورد مطالعه قرار گرفت. هر کرت آزمایشی دارای 5 متر طول و 4 ردیف کاشت با فاصله 60 سانتی‌متر بین ردیف‌های کاشت بود و فاصله بین کرت‌های فرعی 60 و کرت‌های اصلی 180 سانتی‌متر و فاصله بین تکرارها 1/5 متر در نظر گرفته شد.

قبل از انجام آزمایش نمونه‌برداری از خاک مزرعه انجام شد که نتایج تجزیه فیزیکی‌شیمیایی در جدول شماره 1 آمده است. مزرعه سال قبل آیش بود. در تاریخ 12 اردیبهشت ماه 1392 پس از عملیات آماده‌سازی بستر کاشت بذور ضدعفونی شده با قارچ‌کش بنومیل با نسبت دو در هزار با تراکم زیاد داخل شیارهایی با عمق 3 تا 4 سانتی متر ریخته و روی آن با خاک پوشانده شد. آبیاری سورگوم مطابق عرف منطقه و با استفاده از سیفون با دور آبیاری 10 روز انجام شد. پس از سبز شدن سورگوم، در مرحله 3 برگی تراکم‌های مورد نظر با تنک کردن ایجاد گردید. وجین علف‌های هرز بر اساس نوع تیمار تداخل علف‌هرز در مزرعه به صورت دستی انجام شد. همچنین، به میزان 200 کیلوگرم نیتروژن در هکتار به صورت سرک و طی دو مرحله از منبع کود اوره به مزرعه داده شد. قبل از ظهور گلدهی جهت مبارزه با شته با آفت‌کش دیمیتوات به نسبت 2 در هزار سم پاشی مزرعه صورت گرفت. علف‌های هرز غالب مزرعه دم‌روباهی، خرفه، پیچک و سلمه تره بودند.

برداشت سورگوم در مهر ماه 1392 همزمان با رسیدگی فیزیولوژیکی دانه‌ها و ظهور لایه سیاه رنگ در قسمت پایین بذرها و

را بر عملکرد گیاهان زراعی تحت تأثیر قرار می‌دهد.

لطفی ماوی و همکاران (13) گزارش نمودند که طول پانیکول و عملکرد دانه در سورگوم جارویی در شرایط وجین علف‌های هرز نسبت به عدم وجین به ترتیب 15/3 و 19/4 درصد و به طور معنی‌داری افزایش یافت. امیری و همکاران (1) در بررسی دوره‌های تداخل علف‌هرز در ذرت گزارش کردند که با افزایش طول دوره تداخل تا 120 روز پس از سبز شدن، صفات طول بلال، تعداد دانه در بلال، وزن هزار دانه و عملکرد دانه نسبت به تیمار عاری از علف‌هرز به ترتیب 27/7، 39/5، 20/6 و 57/5 درصد کاهش یافت. کاهش معنی‌دار شاخص سطح برگ، تعداد میوه در بوته، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک با افزایش دوره‌های تداخل علف‌هرز توسط رضوانی‌مقدم و سیدی (19) در سیاهدانه نیز گزارش شده است. در بررسی دیگری، کاهش عملکرد دانه لوبیا قرمز با افزایش طول دوره رقابت علف‌های هرز گزارش شد. با این وجود، در این تحقیق وزن صد دانه تحت تأثیر طول دوره رقابت قرار نگرفت (11). جمالی و همکاران (10) در بررسی تأثیر حضور علف‌های هرز در ذرت نشان دادند که با افزایش طول دوره تداخل و کنترل علف‌های هرز، عملکرد به ترتیب کاهش و افزایش یافت، به طوری که عملکرد نهایی ذرت در تیمارهای تداخل و کنترل کامل علف‌های هرز به ترتیب 7320 و 12000 کیلوگرم در هکتار بود. همچنین محققین بیان داشتند که در تیمار رقابت علف‌های هرز با سویا در سراسر فصل رشد، عملکرد دانه، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن صد دانه به میزان قابل توجهی کاهش یافت (15). برخی بررسی‌ها نشان داد که با افزایش طول دوره تداخل، وزن خشک کل علف‌های هرز در واحد سطح افزایش یافت (4 و 7). در بررسی دیگری کاهش تعداد علف‌های هرز و افزایش وزن خشک آنها در واحد سطح، با افزایش طول دوره تداخل در ذرت گزارش شده است (12).

عربی و صفاری (2) در بررسی تأثیر تراکم‌های بوته در ارقام سورگوم نتیجه‌گیری کردند که افزایش تراکم از 20 به 30 بوته در متر مربع کاهش معنی‌دار وزن خشک علف‌های هرز و افزایش عملکرد سورگوم را به دنبال دارد. زند و همکاران (23) نیز نشان دادند که با افزایش تراکم از 8 به 20 بوته در متر مربع، عملکرد دانه سورگوم به میزان 39/9 درصد افزایش یافت. نتایج بررسی‌های انجام شده توسط نیرومند توماج و همکاران (17) در خلر بیانگر افزایش عملکرد دانه در واحد سطح در اثر افزایش تراکم از 30 به 50 بوته در متر مربع است. سعیدی‌نژاد و صفاری (20) گزارش کردند که افزایش تراکم بوته ذرت و مدت زمان تداخل علف‌های هرز کاهش معنی‌دار تعداد دانه در بلال را به دنبال دارد. این محققین اظهار داشتند که افزایش تراکم هر چند کاهش عملکرد و اجزای عملکرد را در بوته باعث گردید اما افزایش عملکرد دانه را در واحد سطح به همراه داشت. دهقانپان و نصر... زاده (8) گزارش کردند که با افزایش تراکم ذرت از 5 به 16 بوته در متر

با در نظر گرفتن اثر حاشیه‌ای صورت گرفت. با انتخاب ده پانیکول از قسمت میانی و با استفاده از خط‌کش میانگین طول پانیکول در هر کرت آزمایشی در اواخر مرحله پر شدن دانه اندازه‌گیری شد. برای تعیین صفات عملکردی از 2 متر مربع میانی هر کرت

جدول 1- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش
Table 1- Soil physical and chemical properties of experiment site

فسفر قابل جذب Absorbable P (ppm)	درصد ازت کل N total (%)	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC (ds m ⁻¹)	بافت خاک Soil texture	عمق نمونه‌برداری Sampling depth
3.17	0.021	7.8	2.97	رسی clay	0-30 cm
پتاسیم قابل جذب Absorbable K (mg kg ⁻¹)	آهن قابل جذب Absorbable Fe (mg kg ⁻¹)	مس قابل جذب Absorbable Cu (mg kg ⁻¹)	روی قابل جذب Absorbable Zn (mg kg ⁻¹)	منگنز قابل جذب Absorbable Mn (mg kg ⁻¹)	
185.5	2.11	0.48	0.96	4.82	

تداخل علف‌هرز بر طول پانیکول اثر معنی‌داری داشت، اما اثر متقابل تراکم بوته و تداخل علف‌هرز بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول 2). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که طول پانیکول سورگوم با افزایش تراکم از 10 به 30 بوته در متر مربع به طور معنی‌دار و به میزان 7/1 درصد کاهش یافت (جدول 3). به نظر می‌رسد افزایش تراکم باعث شده است تا به علت تشدید رقابت بین بوته‌های مجاور، سهم مواد فتوسنتزی اختصاص یافته به پانیکول و در نتیجه طول پانیکول کاهش یابد. عارفی (3) در سورگوم دانه‌ای و سعیدی‌نژاد و صفاری (20) در ذرت نیز به نتایج مشابهی رسیدند.

افزایش دوره تداخل علف‌هرز تا انتهای فصل رشد، طول پانیکول را به طور معنی‌داری کاهش داد، به طوری که طول پانیکول در تیمار تداخل تمام فصل نسبت به تیمار عاری از علف‌هرز، 12/5 درصد کاهش یافت (جدول 4). علت این موضوع را می‌توان به کاهش پتانسیل فتوسنتزی سورگوم در شرایط حضور مداوم علف‌های هرز در طی دوره رشد و یک نوع عکس‌العمل گیاه برای برقراری بین مبدا و مخزن (تولید دانه کمتر در پانیکول) مربوط دانست. امیری و همکاران (1) کاهش 27/7 درصدی طول بلال ذرت را در شرایط تداخل علف‌های هرز تا 120 روز پس از سبز شدن و لطفی‌ماوی و همکاران (13) نیز کاهش 15/3 درصدی طول پانیکول سورگوم را در شرایط تداخل تمام فصل علف‌های هرز گزارش کردند.

اجزای عملکرد

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده تراکم بوته و تداخل علف‌هرز بر تعداد پانیکول در متر مربع، تعداد دانه در پانیکول و وزن هزار دانه معنی‌داری شد و تعداد پانیکول در بوته نیز تنها تحت تأثیر تراکم بوته قرار گرفت، اما اثر متقابل تراکم بوته و تداخل علف‌هرز بر اجزای عملکرد معنی‌دار نشد (جدول 2).

آزمایشی بوته‌ها کف بر شده و پس از جداسازی پانیکول‌ها از بوته ها و شمارش آنها، تعداد پانیکول در متر مربع محاسبه شد. یک نمونه 250 گرمی از ساقه و برگ تر هر کرت جهت تعیین وزن خشک به آزمایشگاه منتقل گردید و برای مدت 48 ساعت در آون با دمای 75 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس با توجه به وزن شاخ و برگ تر و وزن خشک نمونه 250 گرمی با استفاده از تناسب، وزن خشک ساقه و برگ در واحد سطح به دست آمد.

عملکرد بیولوژیک در واحد سطح نیز از حاصل جمع وزن خشک ساقه و برگ، وزن خشک کاه و کلش پانیکول و عملکرد دانه در واحد سطح به دست آمد و وزن هزار دانه نیز با استفاده از یک نمونه 1000 تایی بذر که به طور تصادفی از توده بوجاری شده بذور هر کرت آزمایشی با استفاده از دستگاه بذرشمار جدا شده بود، توسط ترازوی دیجیتال با دقت 0/01 گرم اندازه‌گیری گردید. تعداد دانه در پانیکول نیز با استفاده از بوجاری بذور 5 پانیکول از هر کرت محاسبه شد. همچنین قبل از پایان فصل زراعی و خشک شدن علف‌های هرز، تعداد و وزن خشک علف‌های هرز با برداشت و شمارش تعداد علف‌های هرز 2 متر مربع میانی هر کرت آزمایشی و خشک کردن آنها برای مدت 48 ساعت در آون با دمای 75 درجه سانتی‌گراد بدست آمد.

در پایان تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C انجام گرفت و پس از آن میانگین صفات مورد مطالعه با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح 5 درصد مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

طول پانیکول

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده تراکم بوته و

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی سورگوم سرافون تحت تاثیر تراکم بوته و تناخل علف‌های هرز
 Table 2- Results of variance analysis of investigated traits of sorghum (Var. Saravan) as affected by plant density and weeds interference

SOV	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین									
			Mean square									
		Df	طول پانیکول (سانتیمتر)		تعداد پانیکول در بوته		تعداد پانیکول در متر مربع		تعداد دانه در پانیکول		وزن هزار دانه (گرم)	
			Panicle length (cm)	No. panicle plant	No. panicle per m ²	No. seed per panicle	1000-seed weight (g)	Seed yield (g m ⁻²)	Biological yield (g m ⁻²)	Weeds density	Dry weight of weeds (g m ⁻²)	وزن خشک علف‌های هرز (گرم در متر مربع)
Replication	تکرار	2	0.18 ^{ns}	0.19 ^{ns}	31.19 ^{ns}	57856.39 ^{ns}	30.88 ^{ns}	3586.39 ^{ns}	143653.06 ^{ns}	19.61 ^{ns}	30.71 ^{ns}	
plant density	تراکم بوته	2	2.55*	3.21**	381.77**	32830.01*	141.46*	1092.46 ^{ns}	451686.71*	40.18*	65.92*	
Interference	تناخل	3	5.12**	0.19 ^{ns}	58.99**	53426.66**	1542.86**	4890.7*	1347837.98**	63.13**	93.24**	
plant density × Interference	تراکم × تناخل	6	0.36 ^{ns}	0.1 ^{ns}	26.40 ^{ns}	14830.01 ^{ns}	50.07 ^{ns}	573.3 ^{ns}	28834.02 ^{ns}	24.88 ^{ns}	45.48 ^{ns}	
Error	خطای آزمایش	22	0.46	0.086	16.53	8125.8	35.58	1147.46	128980.05	12.32	18.30	
CV	ضریب تغییرات	(%)	5.46	20.35	16.24	28.89	24.84	24.32	19.80	27.54	12.76	

Ns: not significant; *and ** significant at 5% and 1% probability levels, respectively. * و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های اثر ساده دوره تناخل علفهای هرز بر صفات مورد بررسی سورگوم سراوان

Table 4- Means comparison of simple effect of weeds interference period on investigated traits of sorghum (Var. Saravan)									
تناخل	طول پانیکول (سانتیمتر)	تعداد پانیکول در بوته	تعداد پانیکول در متر مربع	تعداد دانه در پانیکول	وزن هزار دانه (گرم)	Seed yield (g m ⁻²)	Biological yield (g m ⁻²)	Weeds density	Dry weight of weeds (g m ⁻²)
1	13.05a	1.49a	27.66a	411.74a	31.78a	350.04a	2695.43a	0.0c	0.0 c
2	12.40a	1.47a	25.71ab	391.95a	27.93b	283.85b	2256.23a	186.9a	230.1b
3	12.99b	1.49a	25.88ab	346.04ab	22.07c	183.37c	1714.89b	159.0ab	537.8a
4	11.42b	1.31a	22.99b	315.74b	14.27d	94.61d	1081.39c	131.4b	645.4a

Means with similar letters in each column are not significantly different. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.
 ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب عاری از علف‌هرز تا پایان دوره رشد تناخل تا مرحله ۶-۸ برگ، تناخل تا ظهور پانیکول و تناخل تا پایان فصل رشد
 interference until 6-8 leaf stage, interference until stage of panicle emergence, until end of growth season, 1, 2, 3 and 4 are weed free
 interference until end of growth season

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های اثر ساده تراکم بوته بر صفات مورد بررسی سورگوم سراوان

Table 3- Means comparison of simple effect of plant density on investigated traits of sorghum (Var. Saravan)									
تراکم (بوته در متر مربع)	طول پانیکول (سانتیمتر)	تعداد پانیکول در بوته	تعداد پانیکول در متر مربع	تعداد دانه در پانیکول	وزن هزار دانه (گرم)	Seed yield (g m ⁻²)	Biological yield (g m ⁻²)	Weeds density	Dry weight of weeds (g m ⁻²)
10	12.87a	2.02a	20.25b	389.03a	26.69a	221.98a	1560.55b	148.3a	399.5a
20	12.56 a	1.26b	25.20b	384.21a	21.93b	215.30a	1804.54b	102.4b	328.0b
30	11.96 b	1.04b	31.25a	325.87b	23.41b	246.62a	2445.87a	107.3b	332.3b

Means with similar letters in each column are not significantly different. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌دار ندارند.
 ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب عاری از علف‌هرز تا پایان دوره رشد تناخل تا مرحله ۶-۸ برگ، تناخل تا ظهور پانیکول و تناخل تا پایان فصل رشد
 interference until 6-8 leaf stage, interference until stage of panicle emergence, until end of growth season, 1, 2, 3 and 4 are weed free
 interference until end of growth season

افزایش تراکم از 10 به 30 بوته در متر مربع، تعداد پانیکول در بوته را به میزان 45/5 کاهش داد (جدول 3). بدیهی است که در تراکم پایین

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین تعداد پانیکول در بوته با میانگین 2/02 عدد مربوط به تراکم 10 بوته در متر مربع بود و

برگی شدن و تداخل تا ظهور پانیکول در صفات تعداد پانیکول در متر مربع و تعداد دانه در پانیکول در یک گروه آماری قرار گرفتند. با این وجود تیمار عاری از علف‌هرز نسبت به تیمار تداخل تا انتهای دوره رشد از برتری معنی‌دار به ترتیب $20/3$ و $30/4$ درصدی در این صفات برخوردار بود (جدول 3). به نظر می‌رسد تداخل تمام فصل علف‌های هرز عمدتاً به علت کاهش میانگین تعداد پانیکول در بوته (جدول 4)، کاهش معنی‌دار تعداد پانیکول در متر مربع را به دنبال داشته است. همچنین کاهش تعداد دانه در پانیکول را می‌توان به رقابت طولانی مدت علف‌های هرز با سورگوم و محدودیت منبع (توان فتوسنتزی کمتر سورگوم) و نیز کاهش طول پانیکول در تیمار تداخل تمام فصل مربوط دانست. امیری و همکاران (1) نیز نشان دادند که افزایش طول دوره تداخل علف‌های هرز تا 120 روز پس از سبز شدن، کاهش $39/5$ درصدی تعداد دانه در بلال را به دنبال دارد.

بیشترین وزن هزار دانه ($31/78$ گرم) از تیمار عاری از علف‌هرز بدست آمد که از برتری معنی‌دار $13/8$ ، 44 و $122/7$ درصدی به ترتیب نسبت به تیمارهای تداخل تا مرحله 6-8 برگگی شدن، تداخل تا ظهور پانیکول و تداخل تمام فصل برخوردار بود (جدول 4). به نظر می‌رسد با افزایش دوره تداخل علف هرز به دلیل رقابت شدیدتر و کاهش تولید مواد فتوسنتزی (ضعیف شدن منبع)، مواد فتوسنتزی کمتری به پانیکول و دانه‌ها منتقل شده و در نتیجه وزن هزار دانه سورگوم کاهش یافته است. نتایج بدست آمده با یافته‌های محمدی و امیری (15) در سویا مبنی بر این که رقابت موجب افزایش تنش برای جذب آب و عناصر غذایی در مرحله پر شدن دانه‌های ذرت شده و لذا وزن هزار دانه به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد، مطابقت دارد.

عملکرد دانه و بیولوژیک

نتایج این تحقیق نشان داد که هر چند اثر ساده تراکم بوته بر عملکرد دانه در واحد سطح معنی‌دار نشد اما تداخل علف‌هرز بر این صفت در سطح 5 درصد معنی‌دار شد. همچنین اثر تراکم بوته و تداخل علف‌هرز بر عملکرد بیولوژیک در واحد سطح معنی‌دار شد ولی اثر متقابل تراکم بوته و تداخل علف‌هرز بر این صفات معنی‌دار نبود (جدول 2).

مقایسه عملکرد دانه سورگوم در سطوح مختلف تراکم بوته نشان داد که هر چند با افزایش تراکم از 10 به 30 بوته در متر مربع، عملکرد دانه سورگوم به لحاظ عددی افزایش یافت اما به لحاظ آماری سه سطح تراکم مورد مطالعه در گروه آماری مشابه قرار گرفتند (جدول 3). از آنجایی که عملکرد دانه حاصل‌ضرب اجزای عملکرد (تعداد پانیکول در متر مربع، تعداد دانه در پانیکول و وزن هزار دانه) می‌باشد، به نظر می‌رسد با وجود بیشتر بودن تعداد دانه در پانیکول و وزن هزار دانه در تراکم‌های کمتر، افزایش تعداد پانیکول در متر مربع

به علت وجود فضای کافی برای هر بوته پتانسیل پنجه‌زنی سورگوم افزایش یافته و تولید پنجه‌های بارور نیز به علت وجود منابع غذایی و محیطی لازم بیشتر بوده و در نهایت تعداد پانیکول در بوته افزایش می‌یابد. با این وجود نتایج بیانگر آن است که با افزایش تراکم از 10 به 30 بوته در متر مربع، تعداد پانیکول در متر مربع، $54/3$ درصد افزایش یافت (جدول 3). به عبارتی هر چند افزایش تراکم بوته به علت افزایش رقابت بین بوته‌ای باعث کاهش معنی‌دار تعداد پانیکول در بوته شده است اما سه برابر شدن تعداد بوته در نهایت نه تنها جبران کاهش تشکیل پانیکول در بوته را کرده است بلکه افزایش معنی‌دار تعداد پانیکول در متر مربع را نیز به دنبال داشته است. فرهمند (9) در شاهدانه کاهش تعداد خوشه در بوته و افزایش تعداد خوشه در متر مربع را با افزایش تراکم از $7/4$ به $22/2$ بوته در متر مربع گزارش کرد. کاهش معنی‌دار تعداد نیام در بوته و افزایش تعداد نیام در متر مربع، با افزایش تراکم از 25 به 45 بوته در متر مربع در نخود توسط سیدشرفی و همکاران (21) نیز گزارش شده است که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

کاهش معنی‌دار و $16/2$ درصدی تعداد دانه در پانیکول با افزایش تراکم از 10 به 30 بوته در متر مربع را نیز می‌توان به کاهش توان فتوسنتزی بوته‌ها به علت افزایش رقابت بین بوته‌ای و همچنین کاهش طول پانیکول مربوط دانست (جدول 2). کاهش معنی‌دار تعداد دانه در نیام نخود (21) و کاهش تعداد دانه در بلال ذرت (20) با افزایش تراکم بوته در واحد سطح، از نتایج همسو با یافته‌های این تحقیق می‌باشد.

بیشترین وزن هزار دانه با میانگین $26/69$ گرم مربوط به تراکم 10 بوته در متر مربع بود که از برتری معنی‌دار $21/7$ و 14 درصدی به ترتیب نسبت به تراکم‌های 20 و 30 بوته در متر مربع برخوردار بود. لازم به ذکر است که تراکم‌های 20 و 30 بوته در متر مربع از نظر وزن هزار دانه در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول 3). به نظر می‌رسد با وجود بیشتر بودن تعداد دانه در پانیکول در تراکم 10 بوته در متر مربع، کمتر بودن تعداد پانیکول در متر مربع در نهایت منجر به کاهش تعداد مخازن فیزیولوژیکی (دانه) در واحد سطح گردید و این موضوع به همراه فتوسنتز مؤثرتر بوته‌ها به علت نورگیری بیشتر و تنفس نگهداری کمتر باعث افزایش معنی‌دار وزن هزار دانه در تراکم حداقل شد. زند و همکاران (23) اظهار داشتند که با افزایش تراکم از 8 به 20 بوته در متر مربع، وزن هزار دانه سورگوم از 42 به 34 گرم یعنی به میزان 19 درصد و به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد که نتایج این تحقیق را تأیید می‌کند. نتایج مشابه دیگری در شاهدانه (9) و نخود (21) نیز گزارش شده است.

مقایسه میانگین‌ها بیانگر آن است که هر چند با افزایش طول دوره تداخل از تعداد پانیکول در متر مربع و تعداد دانه در پانیکول کاسته شد، اما تیمارهای عاری از علف‌هرز، تداخل تا مرحله 6-8

در تراکم بیشتر باعث شده است تا عملکرد دانه در سطوح مختلف تراکم بوته تفاوت چندانی نداشته و در نتیجه عملکرد دانه در تراکم-های مختلف در یک گروه آماری قرار گیرد.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که هر چند عملکرد بیولوژیک در تراکم‌های 10 و 20 بوته در متر مربع در یک گروه آماری قرار گرفت، اما تغییر تراکم بوته از 10 به 30 بوته در متر مربع افزایش 56/7 درصدی و معنی‌دار این صفت را به دنبال داشت و تراکم 30 بوته در متر مربع با میانگین تولید 2695/43 گرم ماده خشک در متر مربع، بیشترین عملکرد بیولوژیک را به خود اختصاص داد (جدول 3). به نظر می‌رسد کاهش تراکم از 30 به 20 و 10 بوته در متر مربع باعث شده تا شاخص سطح برگ برای جذب تابش خورشیدی و فتوسنتز در واحد سطح کاهش یافته و در نتیجه تولید ماده خشک (عملکرد بیولوژیک) کاهش یابد. افزایش معنی‌دار عملکرد بیولوژیک سورگوم از 1560 به 4183/3 گرم در متر مربع با افزایش تراکم از 8 به 20 بوته در متر مربع توسط زند و همکاران (23) نیز گزارش شده است. نیرومند توماج و همکاران (17) در خلر نیز افزایش عملکرد بیولوژیک را با افزایش تراکم بوته در واحد سطح گزارش کرد.

همانطور که در جدول 4 مشاهده می‌گردد با افزایش طول دوره تداخل علف‌هرز عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک به طور معنی‌داری کاهش یافت و بیشترین عملکردهای دانه و بیولوژیک با میانگین‌های به ترتیب 350/04 و 2695/43 گرم در متر مربع از تیمار عاری از علف هرز بدست آمد و با تداخل علف‌های هرز تا مرحله 6-8 برگی شدن، تداخل تا ظهور پانیکول و تداخل تمام فصل به ترتیب 18/9، 47/6 و 73 درصد از پتانسیل تولید دانه در واحد سطح و 16/3، 36/4 و 59/9 درصد از عملکرد بیولوژیک کاسته شد. بدیهی است تداخل علف‌های هرز و طولانی شدن دوره تداخل به علت ایجاد رقابت و تشدید آن، محدودیت‌هایی را برای گیاه سورگوم جهت گسترش سطح برگ و استفاده از منابع (آب، مواد غذایی و نور) و بنا بر این انجام فتوسنتز مطلوب ایجاد کرده و به همین علت با افزایش طول دوره تداخل، بیوماس علف‌های هرز افزایش و عملکرد بیولوژیک سورگوم به طور معنی‌دای کاهش یافت. لطفی ماوی و همکاران (13) در سورگوم جارویی، سیلوا و همکاران (22) در سورگوم شیرین، امیری و همکاران (1) در ذرت و قمری و احمدوند (11) در لوبیا قرمز نیز کاهش عملکرد بیولوژیک را با افزایش طول دوره تداخل گزارش کردند.

تراکم علف‌هرز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تراکم بوته و تداخل علف‌هرز به طور معنی‌داری صفت تعداد علف‌هرز در واحد سطح را تحت تأثیر قرار داد، اما اثر متقابل تراکم بوته و تداخل علف‌های هرز بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول 2).

بر اساس مقایسه میانگین‌ها بیشترین تعداد کل علف‌هرز در متر مربع مربوط به تیمار تراکم 10 بوته در متر مربع با میانگین 148/3 عدد بود که از برتری معنی‌دار 44/8 و 38/2 درصدی به ترتیب نسبت به تراکم‌های 20 و 30 بوته سورگوم در متر مربع برخوردار بود (جدول 3). به نظر می‌رسد که با افزایش تراکم گیاه زراعی، فضا و امکان کمتری برای جذب نور، آب و مواد غذایی توسط علف هرز فراهم شده و رقابت درون و برون گونه‌ای بیشتری وجود داشته و در نتیجه تعداد کل علف هرز در واحد سطح کاهش می‌یابد (18). با این وجود تغییر در تراکم از 20 به 30 بوته سورگوم در متر مربع، تأثیر معنی‌داری بر تراکم علف‌های هرز در واحد سطح نداشت (جدول 3).

براساس جدول 4 می‌توان نتیجه‌گیری نمود که افزایش طول دوره تداخل علف‌هرز، کاهش تعداد علف‌هرز در واحد سطح را به دنبال داشت به طوری که با افزایش طول دوره تداخل از مرحله 6-8 برگی شدن به تداخل تمام فصل، تعداد علف‌هرز در متر مربع به طور معنی‌دار و به میزان 29/7 درصد کاهش یافت. به نظر می‌رسد که با طولانی شدن دوره تداخل علف‌های هرز با سورگوم به دلیل پدیده خودتنکی (7) تعداد علف‌های هرز به طور معنی‌داری کاهش یافت به طوری که بیشترین تعداد علف‌هرز در واحد سطح در اوایل فصل و کمترین آنها در انتهای فصل مشاهده شد. نتایج اصغری و همکاران (4) در آفتابگردان و اصغری و آرمین (5) در نخود نیز بیانگر کاهش تعداد علف‌هرز در واحد سطح با افزایش طول دوره تداخل علف‌هرز بود.

وزن خشک علف‌هرز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تراکم بوته و تداخل علف‌هرز به طور معنی‌داری وزن خشک علف‌هرز در واحد سطح را تحت تأثیر قرار داد، اما اثر متقابل تراکم بوته و تداخل علف‌های هرز بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول 2).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین وزن خشک علف هرز با میانگین 399/5 گرم در متر مربع از تراکم 10 بوته در متر مربع بدست آمد و با افزایش تراکم از 10 به 20 و 30 بوته در متر مربع، وزن خشک علف‌های هرز به ترتیب 17/9 و 16/8 درصد و به طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول 3). بدیهی است که در تراکم‌های بالا تشدید رقابت بین بوته‌های سورگوم و سایه‌اندازی بوته‌های سورگوم روی علف‌های هرز، کاهش وزن خشک علف‌های هرز در واحد سطح را باعث شد. به عبارتی با کاهش تراکم بوته سورگوم در واحد سطح به علت دسترسی بیشتر علف‌های هرز به منابع (نور، آب، مواد غذایی) و بالا رفتن قدرت رقابتی علف‌های هرز با گیاه زراعی، بر تعداد علف‌های هرز در متر مربع افزوده شد که در نهایت منجر به افزایش وزن خشک کل علف‌های هرز در متر مربع در تراکم پایین سورگوم شد. ماکاریان و همکاران (14) نیز نتیجه گرفتند که با افزایش تراکم ذرت

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش افزایش تراکم بوته سورگوم نتوانست افزایش معنی‌دار عملکرد دانه این گیاه زراعی را به دنبال داشته باشد اما عملکرد بیولوژیک گیاه را به طور معنی‌داری افزایش داد. همچنین تداخل علف‌های هرز در شرایط این تحقیق حتی تا مرحله 6-8 برگه شدن سورگوم، از طریق تنش رقابت و ایجاد محدودیت منابع برای رشد مطلوب بوته‌های سورگوم، کاهش معنی‌داری اجزای عملکرد و در نهایت عملکرد دانه و بیولوژیک این گیاه زراعی را به دنبال داشت. از اینرو پیشنهاد می‌شود با توجه به این موضوع که رقم سراوان یک رقم دو منظوره (دانه‌ای-علوفه‌ای) است، تیمار تراکم 30 بوته در متر مربع و عاری نگهداشتن مزرعه از علف‌های هرز برای زراعت این گیاه در بیرجند مورد توجه قرار گیرد. همچنین در مطالعات بعدی تأثیر تداخل تا قبل از مرحله 6 برگه شدن سورگوم سراوان و عاری نگهداشتن مزرعه از علف‌های هرز تا مرحله 6-8 برگه شدن و تراکم‌های بیشتر این گیاه مورد بررسی قرار گیرد.

از 7/1 به 9/5 بوته در متر مربع، بیوماس علف‌های هرز کاهش یافت. همانطور که در جدول 4 مشاهده می‌گردد بیشترین وزن خشک کل علف‌های هرز با میانگین 645/4 گرم در متر مربع مربوط به تیمار تداخل تا پایان فصل رشد بود که نسبت به تیمار تداخل تا مرحله 6-8 برگه از برتری 2/8 برابری برخوردار بود اما با تیمار تداخل تا مرحله ظهور پانیکول تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. به نظر می‌رسد افزایش طول دوره تداخل علف‌های هرز از طریق افزایش سطح برگ علف‌های هرز (19) و فرصت ماده‌سازی بیشتر منجر به افزایش بیوماس علف‌های هرز در واحد سطح شده است. نتایج اصغری و همکاران (4) در آفتابگردان نیز نشان داد که علف‌های هرز در ابتدای رشد خود، بدون تداخل با یکدیگر به سهولت از منابع غذایی و نور استفاده کرده و رشد می‌کنند ولی با گذشت زمان به دلیل افزایش رقابت درون گونه‌ای و نیز رقابت بین گونه‌ای، افزایش وزن خشک روند کندتری به خود می‌گیرد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. به عبارتی علف‌های هرز در اوایل فصل رشد به خاطر رقابت کمتر در جذب نور، آب و مواد غذایی، وزن خشک خود را با سرعت بیشتری افزایش داده‌اند.

منابع

- 1- Amiri Z., Tavakkoli A., and Rastgoo M. 2014. Responses of corn to plant density and weed interference period. Middle-East Journal of Scientific Research, 21(10):1746-1750.
- 2- Arabi A., and Saffari M. 2015. The effect of weeding and plant density on yield and yield components of forage sorghum cultivars. Iranian Journal of Agronomy Sciences, 5(10):39-52. (in Persian with English abstract)
- 3- Arefi R. 2010. Effect of N fertilization and plant density on yield and yield components of grain sorghum under climatic conditions of Sistan. M.Sc. Thesis of Agronomy, Islamic Azad University of Birjand Branch, Birjand, Iran. (in Persian with English abstract)
- 4- Asghari J., Vahedi A., and Khoshghaul H.R. 2011. Critical period of weed control in sunflower (*Helianthus annuus*, L.) in west of Guilan province. Journal of Plant Protection, 25(2):116-126. (in Persian with English abstract)
- 5- Asghari M., and Armin M. 2014. Effect of weed interference in different agronomic managements on grain yield and yield components of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Journal of Crop Ecophysiology, 8(4):407-422. (in Persian with English abstract)
- 6- Baradaran R., Javadi H., and Moosavi Gh.R. 2006. Effect of plant density on yield and yield components of grain sorghum cultivars in Birjand climate. Journal of Agricultural Sciences, 12(1):31-39. (in Persian with English abstract)
- 7- Chaab A., Fathi G., Siadat A., Zand E., Gharineh M., Ebrahimpoor F., and Anfajeh Z. 2006. Effect of time interference natural population weeds and plant density on some growth indices, yield and yield component of corn. Electronic Journal of Crop Production, 2(1):41-56. (in Persian with English abstract)
- 8- Dehghanian H., and Nasrollahzadeh S. 2014. Effect of plant density and weed interference on morphological characteristics and yield of corn (*Zea mays* L.). International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research, 2(7):2225-2229.
- 9- Farahmand N. 2015. Effect of planting date and plant density on morphological traits, yield and yield components of Cannabis. M.Sc. Thesis of Agronomy, Islamic Azad University of Birjand Branch, Birjand, Iran. (in Persian with English abstract)
- 10- Ghamali A., Ahmadvand Q., Sepehri A., and Jahedi A. 2010. The critical period of weeds control in corn. Journal of Plant Protection, 24(4):457-464.

- 11- Ghamari H., Ahmadvand G., and Aboutalebian M.A. 2013. Determination of critical period of weed control in dry bean under climatic conditions of Hamadan. *Journal of Crop Production and Processing*, 3(8):53-60. (in Persian with English abstract)
- 12- Khazaie M., Hadizadeh M.H., and Zeidali E. 2014. Determining the critical period of weed control in corn at Nahavand. *Agricultural Crop Management (Journal of Agricultural)*, 16(4):911-919. (in Persian with English abstract)
- 13- LotfiMavi F., Daneshian J., Baghestani M., Framarzi A., and Shayesteh R. 2012. Effect of integrated weed management on yield and yield components of broomcorn (*Sorghum vulgar* L.). *Iranian Journal of Crop Sciences*, 13(4):596-610. (in Persian with English abstract)
- 14- Makarian H., Banaian M., Rahimian H., and Isadi Darbandi E. 2003. Planting date and population density influence on competitiveness of corn (*Zea mays* L.) with redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.). *Iranian Journal of Crop Research*, 2:271-279. (in Persian with English abstract)
- 15- Mohammadi G.R., and Amiri F. 2011. Critical period or weed control in soybean (*Glycine max*) as influenced by starter fertilizer. *Australian Journal of Crop Science*, 5(11):1350-1355.
- 16- Nasrollahzadeh S., Hajebrahimi A., Shafagh-Kolvanagh J., and Shaker Kouhi S. 2015. Effect of nitrogen rates and weed interference on yield and yield components of corn (*Zea mays* L.). *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*, 7(1):1-6.
- 17- Niroomand Tomaj I., Jami Al-Ahmadi M., Zamani Gh., and Riasi A. 2012. Effects of sowing date and plant density on yield and yield components of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) in Birjand region. *Journal of Crop production and processing*, 2(3):57-66. (in Persian with English abstract)
- 18- Radosevich S.R. 1987. Methodes to study interactions among crops and weeds. *Weed Technology*, 1:190-198.
- 19- Rezvani Moghaddam P., and Seyyedi S.M. 2015. The study of critical period of weed control and yield of black seed (*Nigella sativa* L.) affected by weed free and infested periods. *Journal of Plant Protection*, 29(2):175-186. (in Persian with English abstract)
- 20- Saeidinezhad M. and Saffari M. 2013. The effects of plant density, number and stages of weed control in corn (*Zea mays* L.) varieties on seed yield and weeds dry matter in Kerman. *Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 107:74-81. (in Persian with English abstract)
- 21- Seyed Sharifi R., Mohammadi Khanghah P., and Raey Y. 2014. Effect of plant density on yield, yield components and some physiological indices of chickpea cultivars three. *Crop Physiology Journal*, 5(20):25-38. (in Persian with English abstract)
- 22- Silva C., Silva A.F., Vale W.G., Galon L., Petter F.A., May A., and Karam D. 2014. Weed interference in the sweet sorghum crop. *Bragantia, Campinas*, 73(4):438-445.
- 23- Zand N., Shakiba M. R., Moghaddam-Vahed M., and Dabbagh-Mohammadai-nasab A. 2014. Response of sorghum to nitrogen fertilizer at different plant densities. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 3(1):71-74.



ارزیابی تراکم جمعیت و پارازیتسم، *Spodoptera exigua* (Hubner) و *Helicoverpa armigera* (Hubner) روی دوازده رقم گوجه‌فرنگی در شرایط مزرعه

هدی صالحی پور¹ - حسنعلی واحدی^{2*} - ناصر معینی نقده³ - عباسعلی زمانی⁴

تاریخ دریافت: 1396/02/11

تاریخ پذیرش: 1396/03/22

چکیده

کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی *Helicoverpa armigera* و کرم برگ‌خوار چغندرقد *Spodoptera exigua* از آفات مهم گوجه‌فرنگی هستند. تراکم جمعیت این آفات و میزان پارازیتسم آن‌ها توسط زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* رهاسازی شده، روی ارقام گوجه‌فرنگی، در شرایط مزرعه، طی سال زراعی 93-1392 بررسی شد. شروع نمونه‌برداری از هفته‌ی پنجم پس از کشت نشا آغاز و تراکم جمعیت آفات مورد بررسی و میزان پارازیتسم لارو آن‌ها محاسبه شد. ارقام مورد آزمایش شامل، اطمینان، ارس، AB₂، Rio fojiu، Mariana، Gempride، King ston، Super queen، 9704، 9553 و PS 6515 بودند. نتایج این مطالعه نشان داد، با وجود اختلاف معنی‌دار تراکم جمعیت این دو آفت، در تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری، میانگین تراکم آفات در ارقام مختلف، معنی‌دار نبود. بیش‌ترین تراکم لارو کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی در اواخر تیرماه، مصادف با هفته‌ی نهم و دهم کشت گوجه‌فرنگی و بیش‌ترین میزان پارازیتسم لارو آن در اواخر تیر و اوایل مرداد ماه در مزرعه مشاهده شد. بالاترین تراکم جمعیت کرم برگ‌خوار چغندرقد در دهه‌ی اول تیرماه هم‌زمان با هفته‌ی ششم و هفتم رشد گوجه‌فرنگی و بیش‌ترین میزان پارازیتسم لاروهای آن در اواخر تیرماه در هفته‌ی سوم پس از رهاسازی اتفاق افتاد. نتایج کلی این مطالعه نشان داد، استفاده از زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* به منظور کنترل لارو آفات مورد بررسی در برنامه مدیریت تلفیقی حایز اهمیت می‌باشد. ارقام AB₂ و Kingstone به ترتیب بیش‌ترین میانگین تراکم لارو کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی و کرم برگ‌خوار چغندرقد را داشته و کم‌ترین میانگین تراکم لارو آفات به ترتیب روی رقم Kingstone و 6515 مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: پارازیتوئید *Habrobracon hebetor*، کرم برگ‌خوار چغندرقد، کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی، کرمانشاه

مقدمه

برآورد شده که معادل 7/81 درصد از میزان تولید محصولات زراعی می‌باشد. در این میان سهم استان کرمانشاه 6201 هکتار سطح زیرکشت و میزان تولید و عملکرد به ترتیب 321303 تن و 51817/2 کیلوگرم می‌باشد (3).

دامنه‌ی وسیعی از آفات و بیماری‌ها، موجب خسارت به محصول گوجه‌فرنگی می‌شوند. مهم‌ترین آن‌ها، آفات می‌باشند که به‌طور مستقیم به میوه خسارت می‌زنند. کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1809) و کرم برگ‌خوار چغندرقد *Spodoptera exigua* (Hubner, 1808) دو آفت مهم از راسته‌ی بال‌پولکداران می‌باشند که در زمهره‌ی آفات خسارت‌زا به محصول گوجه‌فرنگی می‌باشند (20).

کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی یکی از خطرناک‌ترین آفات پلی‌فاژ از خانواده‌ی Noctuidae بوده که به بیش از 100 گونه‌ی گیاهی حمله می‌کند و موجب کاهش 55-5 درصد محصول می‌شود (28 و 33).

گوجه‌فرنگی *Lycopersicon esculentum* Miller چندساله و از مهم‌ترین سبزی‌های میوه‌ای دنیا، متعلق به خانواده بادنجانیان می‌باشد، که از نظر مصرف تازه‌خوری و تولید فرآورده‌های صنعتی، جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات کشاورزی دارد (14). بر اساس گزارش وزارت جهاد کشاورزی سطح برداشت گوجه‌فرنگی کشور حدود 151/95 هزار هکتار برآورد شده است، میزان تولید گوجه‌فرنگی در کشور در سال 94-1393 حدود 6/01 میلیون تن

1. 2 و 3 - به ترتیب دانشجوی دکتری حشره‌شناسی، دانشیار، استادیار و دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی
(*) - نویسنده‌ی مسئول: Email: Vnassah@yahoo.com

حشرات کامل تخم‌های خود را روی برگ‌های گوجه‌فرنگی قرار داده و لاروهای سن اول از برگ تغذیه می‌کنند. این در حالی است که لاروهای سنین بالاتر تغذیه از اجزای زایشی گیاه (گل و میوه) را ترجیح داده، به نحوی که میوه‌های کوچک در اثر تغذیه آن‌ها ریزش پیدا می‌کنند و در نتیجه تغذیه از میوه‌های بزرگ‌تر سوراخ‌هایی در آن‌ها ایجاد می‌کنند که فعالیت میکروارگانیسم‌های ثانویه مانند قارچ‌ها و باکتری‌ها را تسهیل می‌بخشد (6، 20، 32 و 33).

کرم برگ‌خوار چغندرقد یکی دیگر از آفات مهم گوجه‌فرنگی بوده که بومی جنوب آسیای شرقی می‌باشد و به عنوان آفتی جدی با دامنه میزبانی وسیع و انتشار جهانی شناخته شده است (4 و 8). خسارت این آفت از برگ و میوه است؛ بدین صورت که لاروهای جوان به صورت دسته جمعی از برگ تغذیه کرده و با افزایش سن لارو سوراخ‌های بزرگی در برگ ایجاد می‌کنند و پس از تشکیل میوه، تغذیه از میوه را آغاز می‌کنند (6، 8 و 20).

کنترل بیولوژیک با استفاده از دشمنان طبیعی از اجزای مهم مدیریت تلفیقی آفات می‌باشد. در میان دشمنان طبیعی، پارازیتوئیدها دارای اهمیت ویژه بوده و قابلیت استفاده در کنترل بیولوژیک آفات گیاهی را دارند (7). خانواده‌های Ichneumonidae، Braconidae، Scelionidae، Trichogrammatidae، Chalcidae و Pteromalidae از جمله مهم‌ترین خانواده‌های بال غشاییان پارازیتوئید کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی می‌باشند که مطالعات گسترده‌ای در زمینه‌ی شناسایی، رهاسازی و بررسی کارایی آن‌ها صورت گرفته است (9، 12، 13، 16 و 34). کرم برگ‌خوار چغندرقد دارای دامنه گسترده‌ای از دشمنان طبیعی است که متداول‌ترین پارازیتوئیدهای آن از خانواده Braconidae می‌باشند (8).

زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* Say (Hym., Braconidae)، پارازیتوئید گروهی خارجی با انتشار جهانی است که به مرحله‌ی لاروی چندین گونه از بال‌پولکداران حمله می‌کند. زنبور ماده ابتدا میزبان خود را با نیش زدن فلج نموده و سپس تخم‌های خود را روی میزبان فلج شده قرار می‌دهد و لارو آن از بدن میزبان تغذیه می‌کند (10 و 11).

در مطالعه‌ی مزرعه‌ای زنبور *Cotesia marginiventris* در امریکا مشخص شد که این گونه می‌تواند به عنوان پارازیتوئید تخم-لارو اختیاری برای کرم برگ‌خوار مورد استفاده قرار گیرد (21). در بررسی صورت گرفته در مزارع ذرت ترکیه به منظور شناسایی و معرفی پارازیتوئیدهای تخم و لارو کرم برگ‌خوار به عنوان مهم‌ترین آفت مزارع ذرت، هشت گونه زنبور پارازیتوئید شناسایی و گزارش گردید (25). مطالعه‌ی صورت گرفته توسط والکر¹ و همکاران

(34) روی کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی و پارازیتوئیدهای عمومی و اختصاصی آن *Meteorus pulchicornis*، *Cotesia kazak* و *Microplitis croceipes* نشان داد که مرگ و میر حاصل از پارازیتسم لارو 75 درصد می‌باشد و گونه‌ی *M. pulchicornis* به عنوان پارازیتوئید غالب گزارش شد. بررسی منظم پارازیتوئیدهای کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی در مزارع نخود هندوستان نشان داد که لاروهای سنین چهارم و پنجم آفت توسط زنبور *B. hebetor* پارازیت می‌شوند و دامنه‌ی پارازیتسم آفت از 0/24 تا 1/59 درصد در شرایط مزرعه ثبت شد (23). عظیمی و همکاران (5) در مطالعه‌ی ارزیابی تلفیقی استفاده از باکتری *Bacillus thuringiensis* و زنبور پارازیتوئید *B. hebetor* علیه کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی در مزارع گوجه‌فرنگی کشت زمستانه-بهاره استان خوزستان، تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار مشاهده نمودند؛ به طوری که تیمار کنترل بیولوژیک در مهار خسارت آفت موفق‌تر بود. در بررسی پارازیتسم فصلی *H. hebetor* روی کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی در محصول نخود درصد پارازیتسم آفت 12/3 درصد بیان شد. در این مطالعه هم‌چنین تناسب سنین مختلف لاروی برای زنبور پارازیتوئید در شرایط آزمایشگاه نشان داد که پارازیتوئید به لاروهای سنین سه تا شش حمله می‌کند و در سن چهارم و پنجم لاروی بیشترین درصد پارازیتسم مشاهده شد (24). در مطالعه‌ای که توسط سینگ²، در هندوستان انجام شد فراوانی فصلی کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت و در نتیجه‌ی بررسی، جمعیت اولیه آفت به تدریج افزایش یافت، در زمان رشد رویشی محدود و مجدداً در مرحله‌ی میوه‌دهی به سرعت افزایش یافت و پیک جمعیت آن در هفته دوم ماه آوریل مشاهده گردید (26). در پژوهش صورت گرفته به منظور بررسی تراکم و پراکنش فضایی جمعیت تخم و لارو کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی در مزارع گوجه‌فرنگی شهرستان گرگان، لاروهای آفت از اواسط اردیبهشت‌ماه تا دهه‌ی اول مرداد ماه روی بوته‌ها حضور داشتند؛ هم‌چنین پراکنش فضایی تخم و لارو آفت از نوع تصادفی بیان شد (1).

در مطالعه‌ای به منظور ارزیابی میزان پارازیتسم جمعیت تخم و لارو کرم میوه در مزارع گوجه‌فرنگی استان گلستان، دو گونه زنبور از خانواده Braconidae و دو گونه از خانواده Ichneumonidae گزارش و میانگین پارازیتسم آن‌ها محاسبه شد. در نتیجه‌ی این بررسی ثابت شد که درصد پارازیتسم طبیعی در تخم‌ها صفر و درصد پارازیتسم لاروها پایین بود؛ که این امر نیاز به رهاسازی دشمن طبیعی برای آفت را توجیه می‌کند (2). در مطالعه‌ی ارزیابی کارایی رهاسازی اشباعی *H. hebetor* به منظور کنترل بیولوژیک کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی در خوزستان درصد پارازیتسم در مزرعه 34/85 درصد به

متفاوت، احتمال اختلاف بین بافت خاک در قسمت‌های ابتدا و انتهای مزرعه وجود داشته است. به همین دلیل بلوک‌بندی به صورت عمود بر جهت آبیاری انجام شد. هر بلوک شامل 12 کرت آزمایشی بود که ارقام ذکر شده با استفاده از نرم افزار R، با هدف پراکنش تصادفی، در آن‌ها کشت شدند. در مجموع 780 بوته‌ی گوجه‌فرنگی در هر بلوک کشت گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از این بررسی با استفاده از نرم‌افزارهای Excel 2013 و SPSS (Ver, 18) انجام گرفت (27). در این آزمایش به دلیل عدم نرمال بودن توزیع داده‌ها و نابرابری واریانس گروه‌ها، از آزمون غیر پارامتریک کروسکال والیس استفاده شد.

به‌منظور بررسی تراکم جمعیت کرم برگ‌خوار چغندرقد و کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی در این آزمایش، نمونه‌برداری به صورت تصادفی در هفته‌ی پنجم پس از کشت نشاها، هر سه روز یک‌بار، در شش بلوک وسط (بدون در نظر گرفتن بلوک‌های حاشیه‌ای) بدین ترتیب که، از دو ردیف کشت میانی هر کرت، چهار بوته به‌صورت تصادفی انتخاب و از نظر وجود لارو آفات و لاروهای پارازیت شده مورد بازبینی قرار گرفت. تعداد نمونه‌ی مورد استفاده پس از نمونه‌برداری اولیه با استفاده از معادله 1 محاسبه شد:

$$N = \left[\frac{t \times SD}{D \times \bar{x}} \right]^2 \quad (1)$$

که N بیانگر تعداد نمونه‌ی مورد نیاز، t مقدار جدول t-student بر حسب درجه‌ی آزادی تعداد نمونه، SD انحراف معیار داده‌های حاصل از نمونه‌برداری اولیه، D میزان خطای قابل قبول (0/25) و $\bar{x}$ میانگین نمونه است. تعداد تخم و سنین مختلف لاروی برای کرم برگ‌خوار چغندرقد و کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی شمارش و یادداشت شدند. به‌منظور بررسی تراکم تریکوم‌های ارقام مختلف گوجه‌فرنگی مورد بررسی از استریو میکروسکوپ با بزرگنمایی 70 استفاده گردید و تراکم آن‌ها در برگ بعد از جوانه‌انتهایی هر بوته، در واحد میلی‌متر مربع در سه نقطه اطراف رگبرگ میانی شمارش و یادداشت گردید (22). به منظور بررسی پارازیتیسیم زنبور روی لاروهای آفات، پس از آزمایش‌های انجام شده و پرورش نمونه‌های جمع‌آوری شده در خارج از قسمت طرح، و پرورش لاروهای پارازیت شده به‌طور واضح مشخص شد که فقط این گونه‌های پارازیتوئید در منطقه وجود داشت. با توجه به اینکه در مزارع هم جوار نیز تنها پارازیتوئیدی که جمع‌آوری شد همین گونه بود، با اطمینان بالا می‌توان نرخ پارازیتیسیم را به این عامل نسبت داد. زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* از انسکتاریوم خریداری و با توجه به وجود لارو آفات در مزرعه رهاسازی در هفته‌های ششم و دهم پس از کشت (1393/4/3 و 1393/5/1) به ترتیب 400 و 570 عدد در کل مزرعه و در دو مرحله انجام شد. نمونه‌برداری به منظور تعیین پارازیتیسیم لارو آفات، همزمان با نمونه برداری‌های تعیین تراکم، پس از رهاسازی، انجام گرفت. تعداد لارو

دست آمد که 73 درصد مرگومیر کل لاروی بود. علاوه بر این مشخص شد که بیش‌ترین پارازیتیسیم در چهارمین روز پس از رهاسازی اتفاق افتاد (19).

با توجه به این که تعیین تراکم جمعیت آفات از عوامل مهم در تهیه‌ی یک برنامه مدیریت تلفیقی بوده و یکی از اجزای اساسی در تعیین ارقام مقاوم به آفات می‌باشد، مطالعه‌ی تراکم جمعیت حایز اهمیت می‌باشد؛ هم‌چنین عوامل زنده و غیرزنده مختلفی بر تراکم مؤثر می‌باشند که دشمنان طبیعی از جمله این عوامل هستند (15). در مطالعه‌ی حاضر تراکم دو گونه آفت مهم در اکوسیستم گوجه‌فرنگی و تأثیر پارازیتوئید *H. hebetor* روی آن‌ها بررسی گردید. با توجه به اهمیت کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی، بررسی‌ها روی این آفت بیش‌تر بوده و اطلاعات کمتری در مورد کرم برگ‌خوار چغندرقد و پارازیتیسیم آن توسط زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* روی گوجه‌فرنگی در ایران موجود می‌باشد. از این رو هدف این مطالعه بررسی تراکم جمعیت این آفات و زمان حضور و فعالیت آن‌ها در مزرعه، و هم‌چنین بررسی تأثیر زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* به عنوان عامل کنترل رهاسازی شده در مزرعه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی زمین

این مطالعه در مزرعه‌ی تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی در سال زراعی 93-1392 انجام شد. برای این منظور قطعه زمینی به ابعاد 62×50 متر مربع انتخاب و عملیات آماده‌سازی زمین با شرایط مناسب کشت، همراه با سیستم آبیاری قطره‌ای انجام گرفت. پس از انجام عملیات تراز کردن، زمین به 120 کرت آزمایشی 5×5 متر مربع تقسیم‌بندی شد؛ که هر کرت شامل چهار ردیف کشت پنج متری بود که تعداد 65 نشا در آن کشت گردید.

ارقام گوجه‌فرنگی

بذرهای دوازده رقم گوجه‌فرنگی شامل اطمینان، ارس، AB₂، Superqueen، Kingston، Gempride، Mariana، Riofujii، 9704، 9706، 9553 و 6515 PS به‌صورت کشت در سینی نشا آماده و در مرحله‌ی 4-6 برگی، به مزرعه منتقل و کاشته شد.

نمونه‌برداری و تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی به منظور کاهش خطای ناشی از غیر یکنواخت بودن شرایط مزرعه انجام گرفت. قطعه زمین انتخابی کاملاً مسطح بود و از نظر شیب، اختلافی بین نقاط مختلف آن وجود نداشت ولی از آن‌جا که در سال‌های گذشته آبیاری زمینه‌ی صورت غرقابی انجام می‌شده است و با توجه به آبشویی

پارازیت شده شمارش و ثبت گردید و به منظور محاسبه درصد پارازیتیسیم، با توجه به این که چهار بوته در هر کرت مورد بررسی قرار می گرفت و در مجموع برای هر سه بلوک در تاریخ مشخص و هر رقم محاسبه و مورد ارزیابی قرار گرفت از میانگین درصد پارازیتیسیم استفاده گردید. رابطه 2 برای محاسبه پارازیتیسیم استفاده شد.

$$(2) \quad \text{درصد پارازیتیسیم} = \frac{\text{تعداد لاروی پارازیت شده}}{\text{تعداد کل لارو}} \times 100$$

تعیین تعداد و تفکیک نسل آفات در مطالعه انجام شده با استفاده از منحنی تغییرات جمعیت آفت و بر اساس نقاط اوج جمعیت با توجه به زیست شناسی آفت در شرایط مزرعه انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی تراکم جمعیت تخم و لارو کرم میوهی گوجه فرنگی روی دوازده رقم گوجه فرنگی در شرایط مزرعه در یک نسل اختلاف معنی داری نشان نداد. این در حالی بود که تراکم جمعیت لارو کرم میوهی گوجه فرنگی در تاریخ های مختلف نمونه برداری معنی دار بود. نتایج حاصل از بررسی تراکم تخم و لارو کرم برگ خوار چغندر قند روی دوازده رقم گوجه فرنگی در شرایط مزرعه نیز معنی دار نبوده؛ اما تراکم جمعیت تخم و لارو کرم برگ خوار چغندر قند در تاریخ های نمونه برداری مختلف اختلاف معنی داری نشان دادند (جدول های 1 و 2).

بر اساس نتایج به دست آمده میانگین تراکم جمعیت تخم کرم میوهی گوجه فرنگی روی تمامی ارقام گوجه فرنگی صفر بود. در حالی که بیشترین و کمترین تراکم تخم برای کرم برگ خوار چغندر قند روی رقم King stone و رقم Mariana به ترتیب با میانگین $0/66 \pm 0/31$ و $0/07 \pm 0/07$ به دست آمد. بیشترین تراکم لارو کرم میوهی گوجه فرنگی و کرم برگ خوار چغندر قند با میانگین

$0/42 \pm 0/13$ و $0/28 \pm 0/14$ به ترتیب روی ارقام AB2 و Kingstone مشاهده شد. کمترین تراکم لارو کرم میوه گوجه فرنگی و کرم برگ خوار چغندر قند، به ترتیب روی رقم King stone و رقم 6515 با میانگین $0/22 \pm 0/06$ و $0/07 \pm 0/02$ مشاهده شد.

مطالعهی تراکم تریکوم های برگ گوجه فرنگی در ارقامی که بالاترین و کمترین جمعیت لارو کرم میوهی گوجه فرنگی، در آنها دیده شد نشان داد که بیشترین تراکم تریکوم برگ در رقم king stone با میانگین تعداد $2/71 \pm 0/2$ وجود داشت؛ وجود این تریکوم ها می تواند یکی از دلایل فعالیت کم لارو های کرم میوهی گوجه فرنگی روی این رقم باشد (15). بیشترین تعداد تخم و لارو کرم برگ خوار چغندر قند نیز روی رقم king stone مشاهده شد که می تواند نشان دهنده تفاوت زیست شناسی و رفتاری این آفت روی این رقم باشد. علاوه بر این ترکیبات شیمیایی حاصل از گیاه (دورکننده ها و جلب کننده ها) که بر انتخاب میزبان جهت تخم ریزی اثر می گذارند نیز جمعیت آفت را تحت تأثیر قرار می دهند (18 و 31).

در مطالعات شلومی¹ و همکاران (29) تأثیر سطح برگ روی رفتار لارو سن اول کرم میوهی گوجه فرنگی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که لاروهایی که از گیاهانی مانند گوجه فرنگی با تریکوم فراوان تغذیه می کنند، مجبور به حذف این موانع می باشند؛ که این امر موجب صرف زمان زیاد برای تغذیه و نیز شکار شدن به وسیله دشمنان طبیعی می شود و زندهمانی آنها را تحت تأثیر قرار می دهد. تریکوم های موجود در برگ برخی از ارقام گوجه فرنگی و هیبریدهای آنها موجب ایجاد مقاومت به آفات مهم گوجه فرنگی می شود (30). متابولیت های ثانویه ایجاد شده توسط گیاه نیز از جمله عوامل مؤثر در دفاع گیاه نسبت به عوامل مهاجم می باشد و تراکم جمعیت آفات را تحت تأثیر قرار می دهد (17).

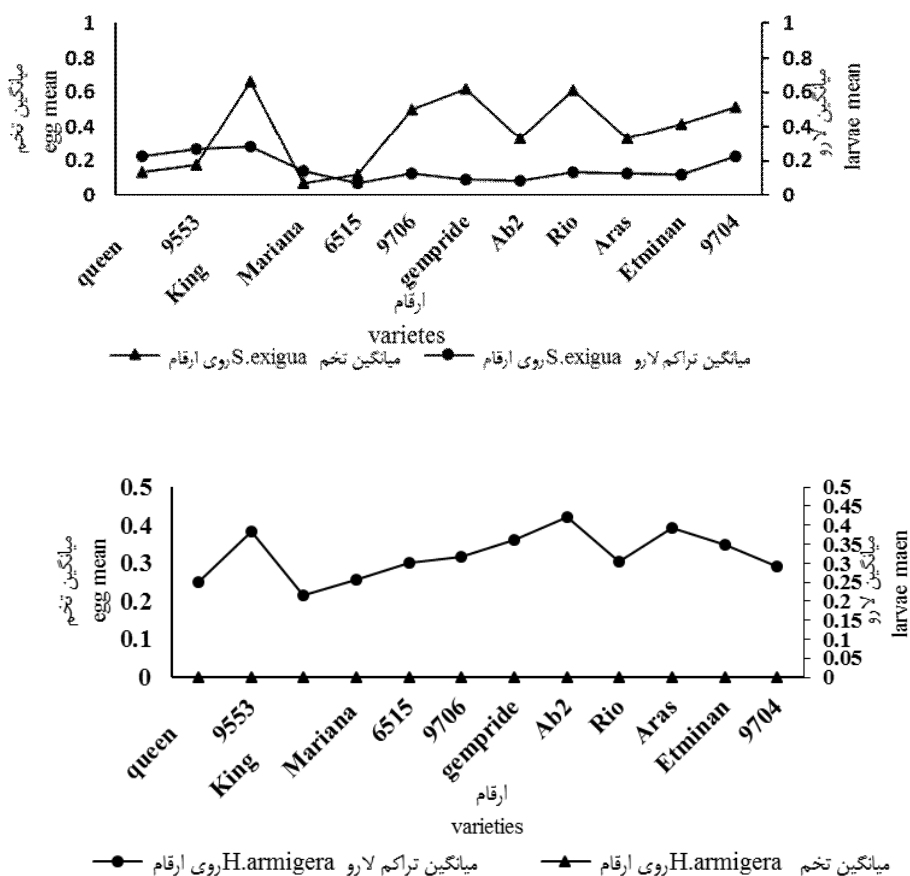
جدول 1- ارتباط تراکم تخم و لارو کرم میوهی گوجه فرنگی و کرم برگ خوار چغندر قند و ارقام مختلف گوجه فرنگی

Table 1- Relation between egg and larval density of tomato fruit worm and beet armyworm and different varieties of Tomatoes

آفت Pest	مرحله ی زیستی Biological stage	Chi- square	Df	Asimp sig by variety
<i>H. armigera</i>	تخم Egg	11.029	11	0.441
	لارو Larva	19.774	11	0.115
<i>S. exigua</i>	تخم Egg	10.120	11	0.520
	لارو Larva	9.472	11	0.578

جدول 2- ارتباط تراکم تخم و لارو کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی و کرم برگ‌خوار چغندرقد و تاریخ‌های نمونه‌برداری
Table 2- Relation between egg and larval density of tomato fruit worm and beet armyworm and sampling dates

آفت Pest	مرحله‌ی زیستی Biological stage	Chi- square	df	Asimp sig by date
<i>H. armigera</i>	تخم Egg	18.852	19	0.464
	لارو Larva	511.098	19	0.000
<i>S. exigua</i>	تخم Egg	153.832	19	0.000
	لارو Larva	301.909	19	0.000



شکل 1- میانگین تراکم تخم و لارو کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی (a) و کرم برگ‌خوار چغندرقد (b) روی ارقام مختلف گوجه‌فرنگی
Figure 1- Mean density of egg and larvae of tomato fruit worm (a), and beet armyworm (b) on tomatoes varieties

نمونه‌برداری معنی‌دار بوده اما در ارقام مختلف معنی‌داری آن مشاهده نشد (جدول‌های 3 و 4). محاسبه‌ی درصد پارازیتسم در هر تاریخ و رقم و در هر بلوک نمونه‌برداری به طور جداگانه محاسبه شد.

نتایج حاصل از بررسی درصد پارازیتسم کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی و کرم برگ‌خوار چغندرقد روی ارقام مختلف گوجه‌فرنگی، در تاریخ‌های نمونه‌برداری نشان داد که درصد پارازیتسم در تاریخ‌های

جدول 3- ارتباط درصد پارازیتیسیم کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی با ارقام مختلف گوجه‌فرنگی و تاریخ‌های نمونه‌برداری

Table 3- Relation between Tomato fruit worm parasitism percentage with tomato varieties and sampling date

درصد پارازیتیسیم <i>H. armigera</i> Parasitism percentage <i>H. armigera</i>	Chi-square	df	Asimp-sig
ارقام مختلف گوجه‌فرنگی	6.441	11	0.842
تاریخ‌های نمونه‌برداری	299.538	19	0.000

جدول 4- ارتباط درصد پارازیتیسیم کرم برگ‌خوار چغندرقد با ارقام مختلف گوجه‌فرنگی و تاریخ‌های نمونه‌برداری

Table 4- Relation between beet armyworm parasitism percentage with tomato varieties and sampling date

درصد پارازیتیسیم <i>S. exigua</i> Parasitism percentage <i>S. exigua</i>	Chi-square	df	Asimp-sig
ارقام مختلف گوجه‌فرنگی	12.094	11	0.357
تاریخ‌های نمونه‌برداری	44.546	19	0.001

جدول 5- میانگین و تاریخ بیش‌ترین تراکم لارو کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی و درصد پارازیتیسیم آن روی ارقام مختلف گوجه‌فرنگی

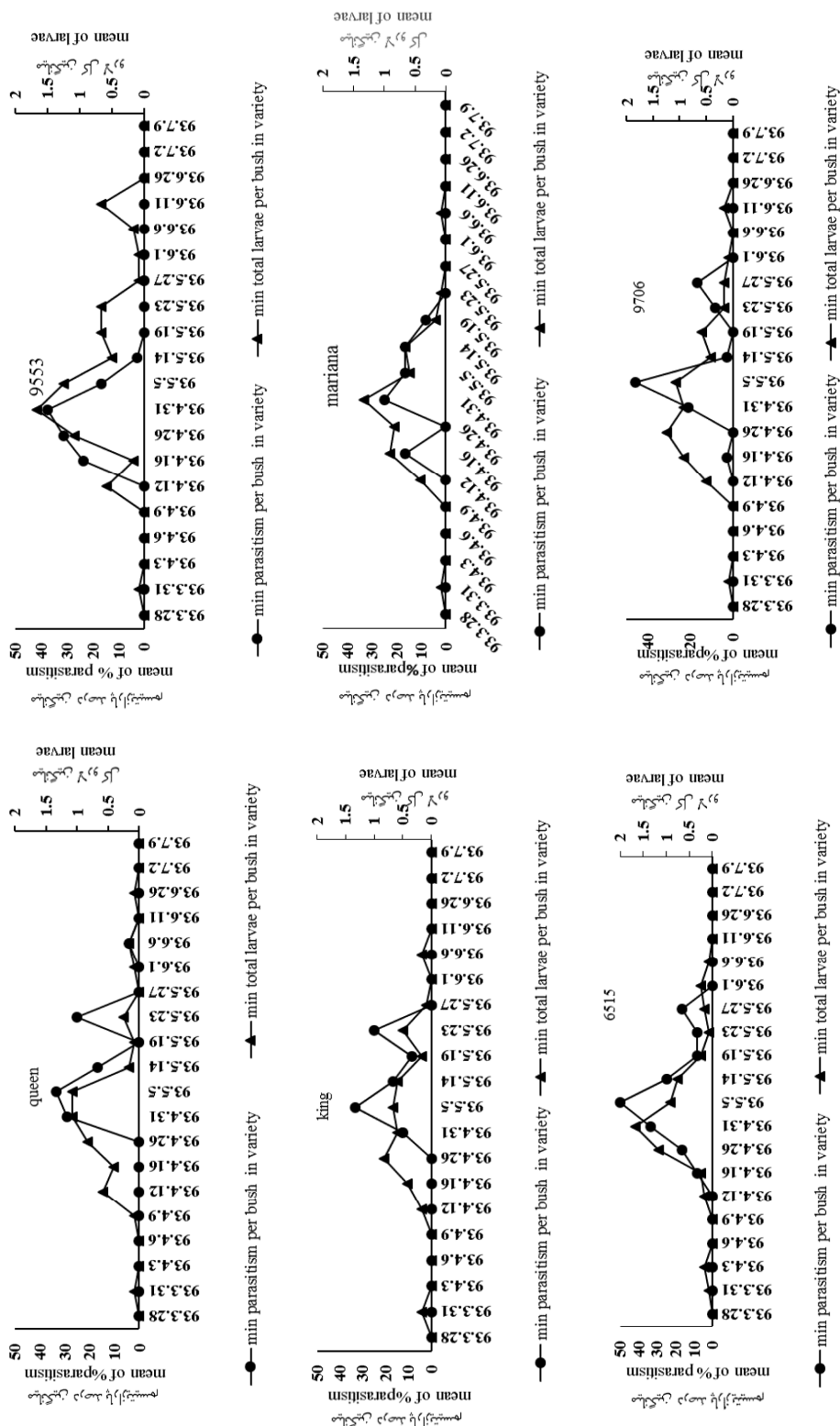
Table 5- Mean and date of peak of larval density and parasitism of tomato fruit worm on different varieties of tomatoes

رقم‌ها Varieties	میانگین بالاترین تراکم لارو ± خطای معیار Mean of highest density ± SE	تاریخ بالاترین تراکم <i>H. armigera</i> Date of highest density of <i>H. armigera</i>	میانگین بیش‌ترین درصد پارازیتیسیم ± خطای معیار Mean of highest parasitism ± SE	تاریخ بیش‌ترین پارازیتیسیم Date of highest parasitism
Super queen	1.08 ± 0.08	26 June, 22 July	33.33 ± 2.46	27 July
9553	1.25 ± 0.11	27 July	37.5 ± 2.61	22 July
King stone	0.83 ± 0.06	17 July, 18 August	33.33 ± 2.16	27 July
Mariana	1.33 ± 0.08	22 July	25.00 ± 1.76	22 July
6515	1.66 ± 0.10	22 July	50.00 ± 3.08	27 July
9706	1.25 ± 0.10	17 July	45.83 ± 2.53	27 July
Gempride	1.91 ± 0.13	17 July	37.5 ± 2.51	5 August
AB2	2.25 ± 0.13	22 July	49.9 ± 3.28	22 July
Rio	1.33 ± 0.10	17, 22 July	25.00 ± 1.92	22 July
Aras	1.58 ± 0.11	17 July	23.61 ± 1.75	22 July
Etminan	1.5 ± 0.11	17 July	25.00 ± 1.59	14 August
9704	1.41 ± 0.10	22 July	33.33 ± 2.37	27 July

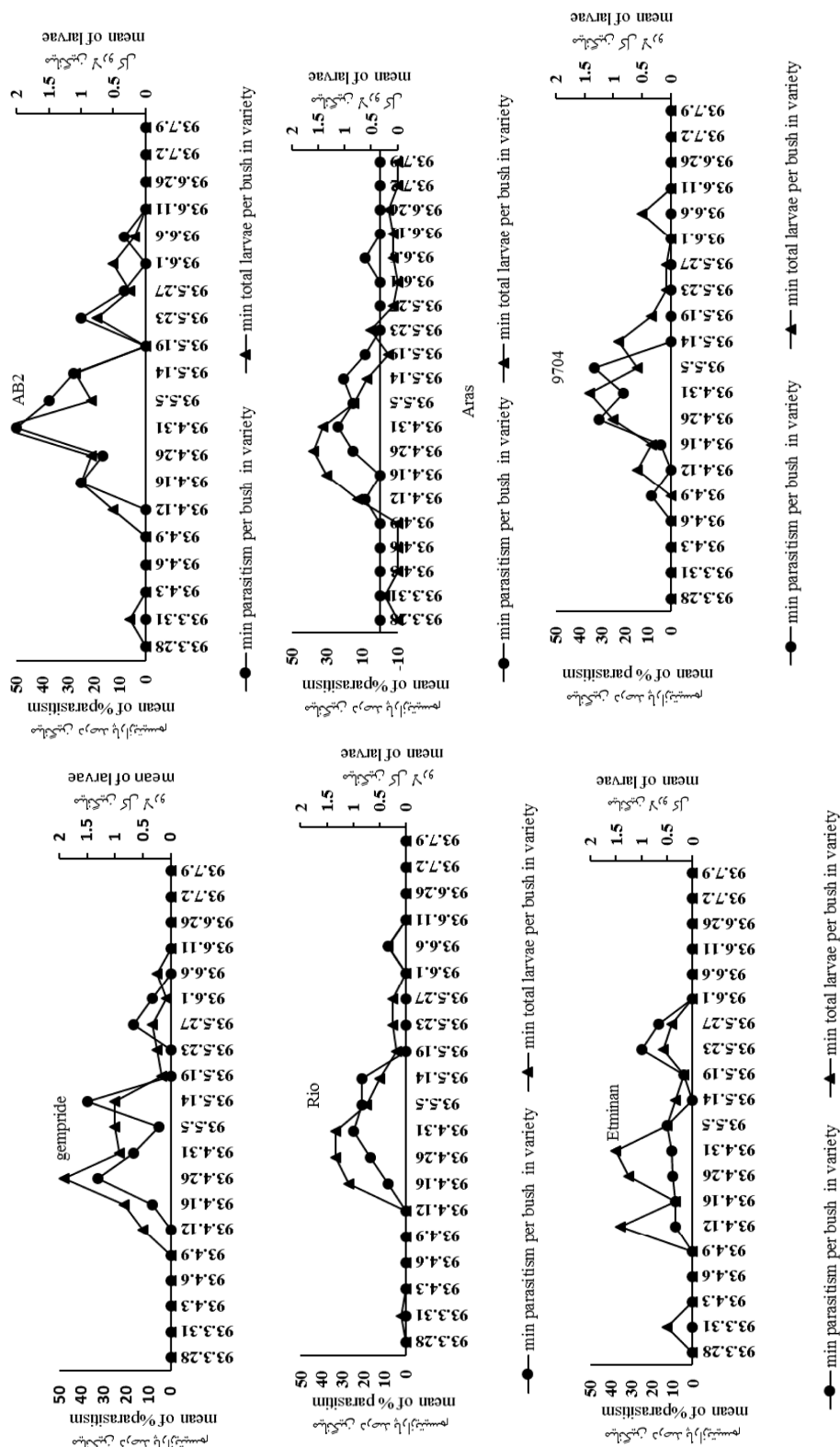
جدول 6- میانگین و تاریخ بیش‌ترین تراکم لارو کرم برگ‌خوار چغندرقد و درصد پارازیتیسیم آن روی ارقام مختلف گوجه‌فرنگی

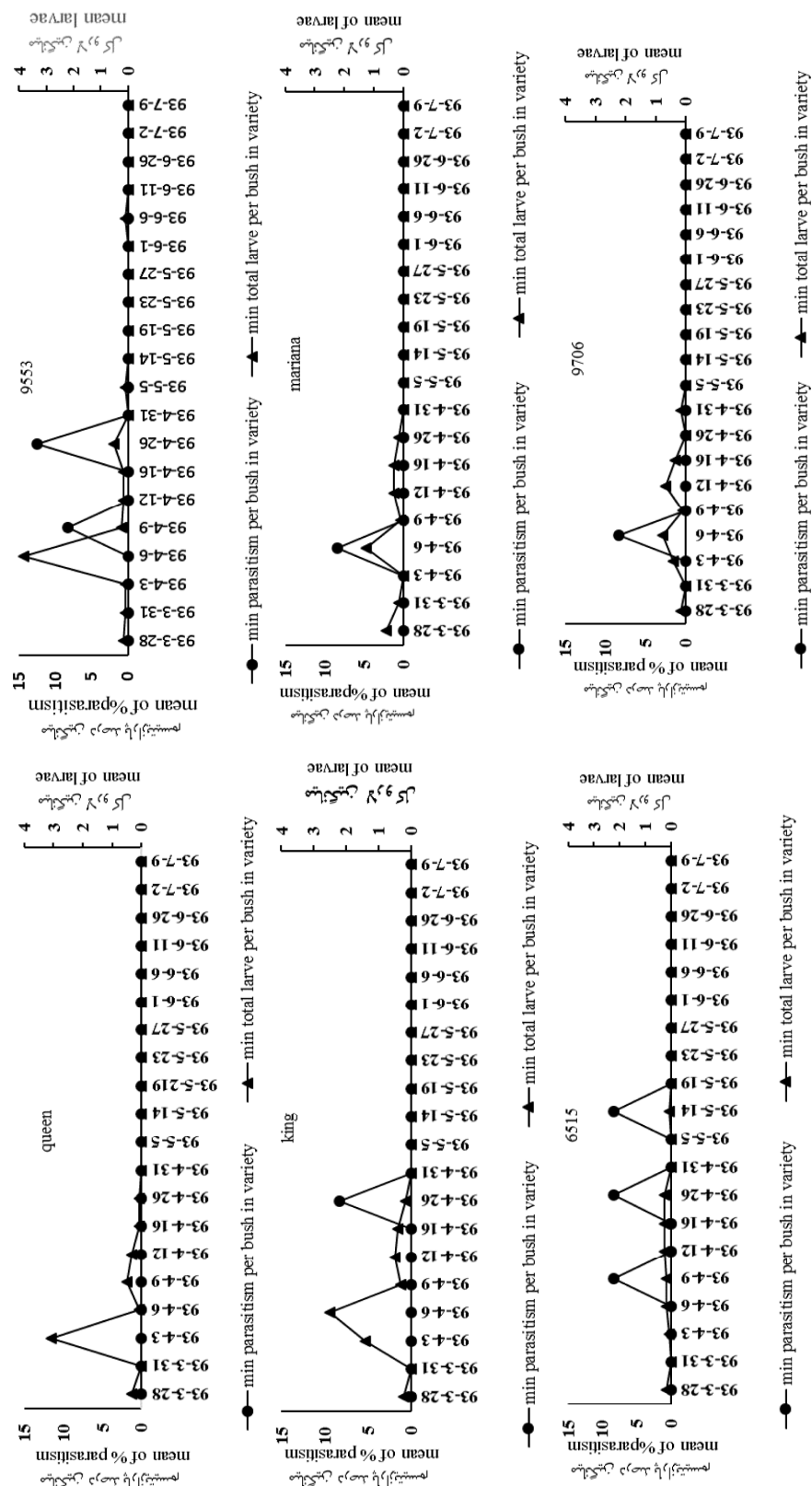
Table 6- Mean and date of peak of larval density and parasitism of beet armyworm on different varieties of tomatoes

رقم‌ها Varieties	میانگین بالاترین تراکم لارو ± خطای معیار Mean of highest density ± SE	تاریخ بالاترین تراکم <i>S. exigua</i> Date of highest density of <i>S. exigua</i>	میانگین بیش‌ترین درصد پارازیتیسیم ± خطای معیار Mean of highest parasitism ± SE	تاریخ بیش‌ترین پارازیتیسیم Date of highest parasitism
Super queen	3.08 ± 0.15	24 June	0.00 ± 0.00	-
9553	3.83 ± 0.19	27 June	12.5 ± 0.73	17 July
King stone	2.50 ± 0.14	3 July	8.33 ± 0.42	17 July
Mariana	1.25 ± 0.07	27 June	8.33 ± 0.42	27 June
6515	0.25 ± 0.02	3, 7, 17 July	8.33 ± 0.42	30 June, 17 July and 5 August
9706	0.75 ± 0.05	27 June	8.33 ± 0.42	27 June
Gempride	0.33 ± 0.03	27, 30 June and 7 July	0.00 ± 0.00	-
AB2	0.25 ± 0.04	17 July	8.33 ± 0.42	14 August
Rio	1.75 ± 0.09	24 June	0.00 ± 0.00	-
Aras	0.83 ± 0.05	24 June	8.33 ± 0.56	7, 17 July
Etminan	0.83 ± 0.05	3 July	8.33 ± 0.40	4 July
9704	3.41 ± 0.16	27 June	0.00 ± 0.00	-



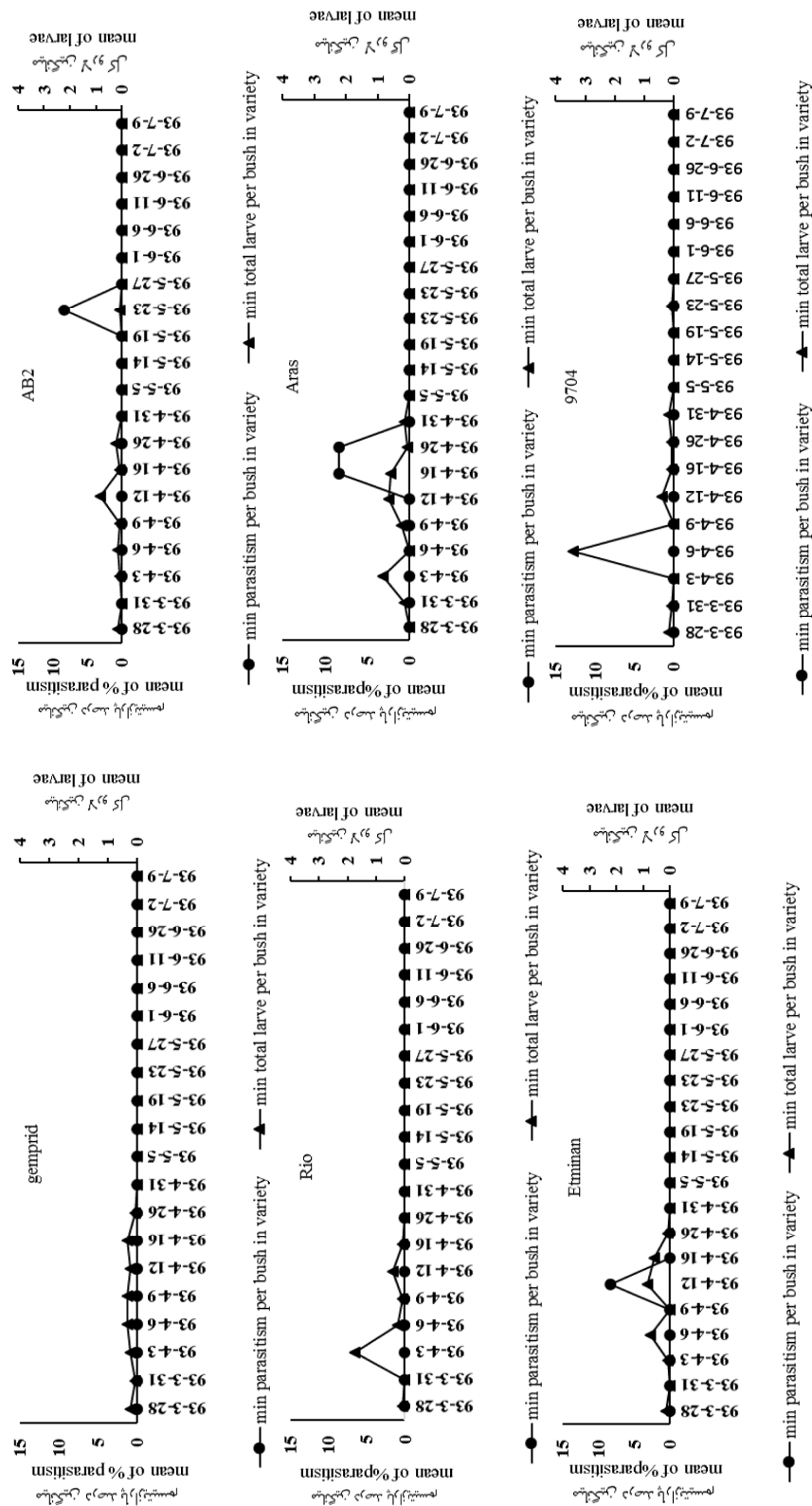
شکل ۵- میانگین درصد پارازیتسم و میانگین تراکم لارو *H. armigera* روی ارقام مختلف گوجهفرنگی در تاریخهای نمونه‌برداری
Figure 5- Mean of density and parasitism percentage of *H. armigera* on tomato varieties in sampling date





شکل ۶- میانگین درصد پارازیتیسیم و میانگین تراکم لارو *S. exigua* روی ارقام مختلف کوجه فرنگی در تاریخ‌های نمونه‌برداری

Figure 6- Mean of density and parasitism percentage of *S. exigua* on tomato varieties in sampling date



شکل ۲- ادامه
Figure2- continue

گوجه‌فرنگی بود، مشاهده شد. بیش‌ترین پارازیتیسیم لاروهای آفت روی ارقام مختلف در اواخر تیرماه و در هفته‌ی سوم پس از رهاسازی مشاهده گردید؛ که این امر نشانه‌ی پایداری زنبور پارازیتوئید در شرایط مزرعه می‌باشد. بررسی زیست‌شناسی کرم برگ‌خوار چغندرقد توسط کاپینرا¹ (8) نشان داد که افزایش تراکم در ابتدای فعالیت آفت ناشی از تخم‌گذاری دسته‌ای و تراکم بالای لاروهای سن اول آفت می‌باشد.

شکل 2 و 3 نمودار تراکم جمعیت لارو و درصد پارازیتیسیم زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* برای لارو آفات مورد بررسی را روی ارقام مختلف در زمان‌های نمونه‌برداری نشان می‌دهد، که براساس آن تاریخ اوج جمعیت لارو روی ارقام و درصد پارازیتیسیم آفات تعیین و در جداول 5 و 6 نشان داده شده است.

نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، رهاسازی زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* در کنترل لاروهای کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی و کرم برگ‌خوار چغندرقد نقش مؤثری داشته و استفاده از آن در برنامه‌ی مدیریت تلفیقی این آفات مورد تأیید می‌باشد. با توجه به نقش تریکومها در مقاومت ارقام به آفات و نیز سازگاری ارقام مقاوم با سایر روش‌های کنترل، مطالعه بیش‌تر در این زمینه پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از دانشگاه رازی و مدیریت محترم شرکت کشت و صنعت روژین تاک کرمانشاه که تأمین هزینه‌ی مالی این طرح را بر عهده داشتند و شادروان جناب آقای مهندس فرهادی به دلیل کمک و راهنمایی‌های بی دریغشان در امور اجرایی این طرح، قدردانی می‌گردد.

مقایسه میانگین درصد پارازیتیسیم و میانگین جمعیت لارو روی ارقام مختلف در زمان‌های متفاوت بررسی شد و بالاترین درصد پارازیتیسیم روی هر رقم و تاریخ وقوع آن ثبت شد (جدول‌های 5 و 6) بیش‌ترین تراکم لارو کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی روی ارقام مختلف در اواخر تیر ماه مشاهده شد که مصادف با هفته‌ی نهم و دهم پس از کشت گوجه‌فرنگی در مزرعه بود. در بررسی افشاری و همکاران (1)، فعالیت لاروهای آفت از اواسط اردیبهشت ماه تا دهه‌ی اول مردادماه در استان گلستان گزارش شد و اوج جمعیت آن‌ها در 21 اردیبهشت ماه ثبت گردید. علاوه بر این در مطالعه سینگ (26)، اوج جمعیت کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی در مزارع گوجه‌فرنگی دومین هفته‌ی ماه آوریل، برابر با اواخر فروردین ماه گزارش گردید. اختلاف میان اوج جمعیت‌ها در نواحی مختلف را می‌توان در اقلیم و دمای مناطق مورد بررسی جستجو نمود.

بیش‌ترین درصد پارازیتیسیم لارو کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی در اوایل تیر و اوایل مرداد ماه مشاهده گردید که برابر با هفته‌ی دهم و یازدهم پس از کشت نشا و به ترتیب 27 و 4 روز پس از اولین و دومین رهاسازی زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* بود. یافته‌های این مطالعه با تحقیقات نظر پور و همکاران (19) که اوج پارازیتیسیم *H. hebetor* در شرایط مزرعه را در چهارمین روز پس از رهاسازی زنبور نشان دادند مطابقت داشت. در مطالعه‌ی افشاری (2)، درصد پارازیتیسیم طبیعی *H. hebetor* روی لارو کرم میوه‌ی گوجه‌فرنگی در مزارع گوجه‌فرنگی استان گلستان، 1/2 گزارش گردید. آن‌ها همچنین بیان کردند که با وجود سطح پایین پارازیتیسیم، رهاسازی زنبور پارازیتوئید برای کاهش جمعیت آفت ضروری می‌باشد. علاوه بر این نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نیز رهاسازی زنبور پارازیتوئید را برای کاهش جمعیت آفت ضروری می‌باشد. بررسی میانگین تراکم و پارازیتیسیم کرم برگ‌خوار چغندرقد روی ارقام مختلف گوجه‌فرنگی در تاریخ‌های نمونه‌برداری نشان داد که بالاترین تراکم‌های آفت در دو هفته‌ی اول تیر ماه که مقارن با هفته‌های ششم و هفتم رشد

منابع

- 1- Afshari A., Yazdani M., Shabanipour M., and Ghadiri-Rad S. 2014 (a). Density and spatial distribution of egg and larvae population of tomato fruitworm (*Helicoverpa armigera* Hübner) in tomato fields of Gorgan county. 3rd Integrated Pest Management Conference (IPMC), 108-114. Kerman, Iran. (in Persian with English abstract).
- 2- Afshari A., Yazdani M., Shabanipour M., and Ghadiri-Rad S. 2014 (b). Natural parasitism of tomato fruitworm (*Helicoverpa armigera* Hübner) in tomato fields of Golestan province, northern Iran. 3rd Integrated Pest Management Conference (IPMC), P 503. (in Persian with English abstract).
- 3- Ahmadi K., Gholi Zadeh H. A., Ebad Zadeh H. R., Hatami F., Fazli Estabragh M., Hoseinpour R., Kazemian A., and Rafiee M. 2016. Agricultural Statistics, agricultural crops. Ministry of Agriculture, Department of Economic Planning, Information and Communication Technology Center. 163pp. (in Persian).

- 4- Azidah A. A., and Sofian- Azirum M. 2006. Life history of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) on various host plants. Bulletin of Entomological Research, 96, 613-618.
- 5- Azimi A., Avalin Charsoqi K., Mohamadkhan Mozafari M., Latifian M., and Hassani M. 2010. Assesment combined using of bacteria *Bacillus thuringiensis* and wasp *Bracon hebetor* aginst tomato worm, *Helicoverpa armigera* in the tomato fields of winter-spring in Khouzestan province. Proceeding of the 19th Iranian Plant Protection Congress, P. 59. Tehran, Iran. . (in Persian with English abstract).
- 6- Behdad E. 1983. Important pests of Iran, Neshat Press. 825pp.
- 7- Bonet A. 2009. Parasitoid wasp, natural enemy of insects. Tropical Biology and Conservation Management, vol 7, Phytopathology and Entomology , 185.pp.
- 8- Capinera J. L. 1999. Beet Armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Insecta:Lepidoptera: Noctuidae). EENY-105, one of a series of Featured Creatures from the Entomology and Nematology Department. Available at URL <http://creatures.ifas.ufl.edu>.
- 9- Cherry A., Cock M., Van den Berg H., and Kfir R. 2003. Biological control of *Helicoverpa armigera* in Africa. Biological Control in IPM systems in Africa. Wallingford, UK: CAB International, 329-346.
- 10- Ghimire M. 2008. Reproductive performance of the parasitoid *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) on various host species of Lepidoptera. Ph.D. Dissertation, Faculty of the Graduate College of the Oklahoma State University: 117pp.
- 11- Ghimire M. N., and Phillips T. W. 2010. Suitability of different lepidopteran host species for development of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). Journal of Enviromental Entomology , 39 (2): 449-458.
- 12- Hoang L. K., and Takasu K. 2005. *Helicoverpa armigera* as an alternative host of the larval parasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). Applied entomology and zoology, 40(4), 679-686.
- 13- Johns C.V., and Whitehouse M.E. 2004. Mass rearing of two larval parasitoids of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae): *Netelia producta* (Brullé) and *Heteropelma scaposum* (Morley) (Hymenoptera: Ichneumonidae) for field release. Australian Journal of Entomology, 43(1), 83-87.
- 14- Jones J. S. 1999. Tomato plant culture in field greenhouse and home garden. CRC Press. 199 pp.
- 15- Kennedy G. G. 2003. Tomato, pest, parasitoids, and predators: tritrophic intractions involving the genus *lycopersicon*. Annual Review of Entomology, 48: 51–72.
- 16- Kim J. 2013. Oviposition- mediated intractions of tomato friutworm moth *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: noctuidae) with its host plant tomato *Solanum lycopersicum* and egg parasitoid *Trichogramma pretiosom* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ph.D. Dissertation in Entomology of Pennsylvania State University. 164pp.
- 17- Mazid M., Khan T. A., and Mohmmad F. 2011. Role of secondary metabolites in deffense mechanisms of plants. Biology and Medicine, 3(2): 232-249.
- 18- Munakata K. 1977. Insect antifeedants of *Spodoptera litura* in plants. Host Plant Resistance to Pest, 185-196.
- 19- Nazarpour L., Yarahmadi F., and Rajabpour A. 2015. Efficacy of augmentative release of *Habrobracon hebetor* Say (Hym. Braconidae) for biological control of *Helicoverpa armygera* (Lepidoptera: Noctuidae). Tropentage Berlin . International reaserch on food security, Natural Resource Management and Rural Development.
- 20- Rude P. A. 1998. Integrated pest management for tomatoes forth edition .The Regents of the University of California, Division of Agriculture and National Resources . 118pp.
- 21- Ruberson J. R., and Whitfield J. B. 1996. Facultative egg-larval parasitism of the beet armyworm *Spodoptera exigua* (Hubner) by *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae). Florida Entomologist , 79 (3), 296-302.
- 22- Saeidi Z. 2006. Nature of resistance to two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in *Lycopersicon* species. Ph.D. thesis, Department of Agriculture Entomology, University of Agriculture Sciences, Bangalore, 159 pp.
- 23- Saxena H., and Ponnusamy D. 2009. Record of *Bracon hebetor* say (Hymenoptera: Braconidae) on *Helicoverpa armigera* (Hübner) in chickpea. Journal of Biological control, 23 (2): 191-192.
- 24- Saxena H., Ponnusamya D., and Iquebal M. A. 2012. Seasonal parasitism and biological characteristics of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) a potential larval ectoparasitoid of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in a chickpea ecosystem. Biocontrol Science and Technology, 22 (3): 305-318.
- 25- Sertkaya E., Bayram A., and Kornosor S. 2004. Egg and larval parasitoids of the beet armyworm *Spodoptera exigua* on maize in Turkey. Phytoparasitica, 32(3):305-312.
- 26- Singh K. 2013. Seasonal abundance of friut borer *Helicoverpa armigera* (Hubner) and its impact on marketable friut production in tomato *Lycopersicon esculentum* (Mill). Agriculture Science Digest, 33(4):247-252.
- 27- SPSS. 2010. Introduction to SPSS (version 18) for Windows. Retrieved from University of Bristol
- 28- Selvanarayanan V., and Narayanasamy P. 2004. Antixenosis resistance in tomato to the fruit borer *Helicoverpa armigera* (Hubner). International journal of Tropical Insect Science. 24 (3): 201-206.
- 29- Shelomi M.,E. Perkins L, Cribb B. W., and Zaluki M. P. 2010. Effects of leaf surfaces on first-instar *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) behaviour. Australian Journal of Entomology, 49, 289–295.
- 30- Simmons A. T., and Gurr G. M. 2005. Trichomes of *Lycopersicon* species and their hybrids: effects on pests and natural enemies. Agricultural and Forest Entomology , 7, 265–276.

- 31- Srinivasan R., Uthamasamy S., and Talekar N. S. 2005. Characterization of oviposition attractants of *Helicoverpa armigera* in two solanaceous plants, *Solanum viarum* and *Lycopersicon esculentum*. Current Science , 90 (6): 864-850.
- 32- Sullivan M., and Molet T. 2007. *Helicoverpa armigera* - APHIS - USDA. Retrieved from https://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/owb/downloads/owb-factsheet.pdf.
- 33- Talekar N. S., Opena R. T., and Hanson P. 2006. *Helicoverpa armigera* management: A review of AVRDCs research on host plant resistance in tomato . Crop Protection, 25, 461-467.
- 34- Walker G. P., Herman T. J. B., Qureshi M. S., Winkler S., and Wallace A. R. 2005. Parasitism of tomato fruit worm larvae in process tomatoes at Pukekohe. New Zealand Plant Protection, 58: 224-228.



بررسی تنوع ژنتیکی و پراکنش ویروس لکه سیاه برگ چغندر قند (*Beet black scorch virus*) در برخی استان‌های ایران

اصغر سمیعی^{1*} - محسن مهرور² - محمد زکی عقل³

تاریخ دریافت: 1396/02/11

تاریخ پذیرش: 1396/04/20

چکیده

ویروس لکه سیاه برگ چغندر قند (BBSV) یکی از ویروس‌های خاکزاد جدید گزارش شده از مزارع چغندر قند در دنیا است که به لحاظ داشتن علائم مشابه (ریشه ریشی) با ویروس رایزومانی *Beet necrotic yellow veinvirus* و احتمالاً برخی برهمکنش‌های متقابل با این ویروس اهمیت اقتصادی بالایی دارد. به منظور بررسی پراکنش BBSV در مزارع چغندر قند ایران در سال‌های زراعی 1390-1393 در مجموع 309 مورد نمونه ریشه چغندر قند جمع‌آوری گردید. بررسی نمونه‌ها با استفاده از آزمون RT-PCR نشان داد که 147 مورد از 309 کل نمونه‌ها (48 درصد) به این ویروس آلوده بودند. همچنین این ویروس دارای یک قطعه ماهوارهای است که در 30 مورد (10 درصد) از نمونه‌ها ردیابی گردید. بر این اساس وجود ویروس BBSV در مزارع چغندر قند استان‌های خراسان رضوی، شمالی، جنوبی، لرستان، اردبیل، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، قزوین، همدان، کرمان، کرمانشاه و زنجان تأیید گردید. براساس اهمیت پراکنش جغرافیائی مناطق چغندرکاری و علائم ایجاد شده در گلخانه، 5 جدایه شامل آذربایجان غربی، همدان، خراسان رضوی (مشهد)، خراسان شمالی (شیروان) و کرمانشاه برای بررسی تنوع ژنتیکی انتخاب گردیدند. دو ناحیه مهم شامل پروتئین پوششی و 3'UTR این پنج جدایه با یک جدایه چینی و یک جدایه آمریکائی مورد مقایسه قرار گرفت. در مجموع تحلیل توالی این دو ناحیه نشان داد که جدایه چینی و آمریکائی به یکدیگر شباهت بیشتری دارند تا با جدایه‌های ایرانی. شباهت جدایه‌های ایرانی با جدایه‌های چینی و آمریکائی در هر دو ناحیه حدود 88 درصد بود. در بین جدایه‌های ایرانی میزان شباهت بالا و بین 98 تا 99 درصد بود و تنها جدایه خراسان شمالی (شیروان) با شباهت کمتر در دسته‌ای جدا قرار گرفت. به نظر می‌رسد تفاوت‌ها در ناحیه 3'UTR خیلی مؤثر نبوده و در تمام جدایه‌ها ژنوم ویروس به خوبی بیان و تکثیر می‌گردد. اما در ناحیه پروتئین پوششی تغییرات آمینو اسیدها بخصوص در ناحیه N-terminal در ایجاد علائم و برهمکنش با سایر ویروس‌های خاکزاد تأثیر بسزائی داشته است.

واژه‌های کلیدی: ایران، BBSV، PCR، *Beta vulgaris*

مقدمه

5. اخیراً نیز در کشورهای دیگر از جمله آمریکا (13 و 14) اروپا (6) و ایران (8) گزارش شده است.

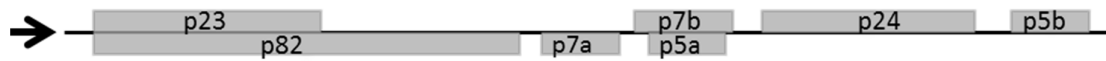
BBSV یک ویروس گرد با قطر 28 نانومتر و پروتئین پوششی به وزن 24kDa می‌باشد. ژنوم ویروس RNA مثبت تک لا فاقد cap در انتهای 5' و Poly A در انتهای 3' است. با اینکه ژنوم ویروس BBSV فاقد cap و دنباله PolyA می‌باشد ولی به دلیل داشتن BYDV-cap independent translation elements (CITE) در انتهای 3'UTR ژن‌ها بطور مؤثری در این ویروس ترجمه می‌شوند (12).

ژنوم کامل این ویروس دارای 3644 نوکلئوتید می‌باشد که در 7 چارچوب خوانش باز⁴ در جدایه‌های چین و تا 8 چارچوب خوانش باز در جدایه آمریکا جای گرفته است (17).

چغندر قند از گیاهان مهم صنعتی و یکی از منابع مهم تولید قند برای بشر است. این گیاه به شدت تحت تأثیر بیماری‌های مختلف بخصوص بیماری‌های ویروسی قرار می‌گیرد. ویروس لکه سیاه برگ چغندر قند (*Beet black scorch virus*) (BBSV) از جنس *Betanecrovirus* و خانواده *Tombusviridae* می‌باشد که اولین بار در اواخر دهه 1980 میلادی با ایجاد علائمی چون سوختگی‌های سیاه در برگ‌ها و نقاط نکروتیک بر روی غده‌ها در چین گزارش شد (1) و

1 و 2 - به ترتیب دانشجوی دکتری بیماری شناسی گیاهی، دانشیار و استادیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(Email:samiei1243@gmail.com)
(*) - نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/jpp.v31i3.63126



شکل 1- قالب‌های خواندنی ژنوم ویروس Beet black scorch virus

Figure 1- ORFs Of Beet black scorch virus

مختلف از این ناحیه از جدایه‌های ایرانی گزارش شد. اگر چه این موتاسیون‌ها بر روی ساختمان کلی BYDV- CITE که برای ترجمه و تکثیر مؤثر ژنوم مورد نیاز می‌باشد تأثیری ندارد (10).

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی پراکنش BBSV در برخی از مناطق مهم کشت چغندر قند ایران از مزارع چغندر قند استان‌های خراسان رضوی، شمالی، جنوبی، اردبیل، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، قزوین، همدان، کرمان، کرمانشاه، زنجان و لرستان در مجموع 309 نمونه دارای علائم ریشه ریشی چغندر قند جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها پس از شستشوی کامل و خشک نمودن به آزمایشگاه جهت بررسی منتقل گردیدند.

RNA کل با استفاده از کیت TRI Reagent شرکت سیگما و طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید. جهت شناسایی ویروس و قطعه ماهواره‌ای آن به ترتیب از آغازگرهای اختصاصی BBSV1F&R و BBSVsat1F&R به روش نسخه‌برداری معکوس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز RT-PCR استفاده شد. این واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به ترتیب قطعه‌ای به طول 303 نوکلئوتید از انتهای 3'UTR ژنوم اصلی (نوکلئوتید شماره 3341 تا 3644) ویروس و قطعه‌ای به طول 617 نوکلئوتید بر روی قطعه ماهواره‌ای ویروس را تکثیر کرد. به منظور سنتز cDNA از آنزیم MMLV-reverse transcriptase شرکت فرمنتاز مطابق با دستور شرکت سازنده استفاده گردید. در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز 5 میکرولیتر از رشته الگو، یک میکرولیتر از هر آغازگر (با غلظت 10 پیکومول)، 5 میکرولیتر بافر واکنش با غلظت 5 برابر، 0/2 میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase (5 واحد در میکرولیتر) مخلوط شد. پروفایل دمائی واکنش شامل 94 درجه سانتی‌گراد به مدت 3 دقیقه به منظور واسرشتی ابتدائی و به دنبال آن 35 چرخه شامل 94 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه، 50 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه و 72 درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و در انتها به مدت 5 دقیقه در دمائی 72 درجه سانتی‌گراد برای تکمیل ساخت رشته مکمل استفاده گردید. محصول واکنش در ژل آگارز 1 درصد حاوی DNA Green (Parstous) 0/5 µg/ml Viewer الکترفورز شده، نتایج زیر نور UV و با استفاده از دستگاه (Syngene, UK) Gel documentation مورد بررسی قرار گرفت.

چارچوب خوانش باز شماره 1 پروتئین 23KDa را کد می‌کند که با چارچوب خوانش باز شماره 2 حالت پیوسته خوانی دارد. p23 احتمالاً در اتصال سیستم تکثیری ویروس به غشاء سلولی در سیتوپلاسم نقش داشته باشد (14). ترجمه پیوسته این دو قالب خواندنی پروتئین p82 را کد می‌کند که پروتئین تکثیری ویروس می‌باشد زیرا دارای توالی حفاظت شده GDD-motif است که توالی RNA dependent RNA polymerase (RDRP) در ویروس‌های با ژنوم RNA می‌باشد. این پروتئین بصورت مستقیم از RNA ژنومی ویروس ترجمه می‌گردد (14 و 15).

سه چارچوب خوانش باز همپوشان (ORF3, ORF4, ORF5) در منطقه مرکزی ژنوم قرار دارند که به ترتیب سه پروتئین p7a، p5a و p7b را کد می‌نمایند و توسط RNA زیر ژنومی شماره یک¹ بیان می‌گردند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که هر کدام از این سه ژن در حرکت موضعی، تجمع RNA ویروس و ایجاد لکه‌های موضعی بر روی برگ‌های *Ch. Amaranticolor* نقش دارند (16).

چارچوب خوانش باز شماره 6 در انتهای 3' قرار گرفته و یک پروتئین به وزن 24KDa را کد می‌کند که همان پروتئین پوششی ویروس می‌باشد. این پروتئین توسط RNA زیر ژنومی شماره 2 کد می‌شود. پوشش پروتئینی ویروس علاوه بر نقش حفاظتی از ژنوم در ایجاد واکنش فوق حساسیت، خاموشی ژن و همچنین اختلال در خاموشی ژن میزبان می‌تواند دخالت داشته باشد (16 و 18).

BBSV با ژنوسپورهای قارچ *Olpidium brassicae* بصورت ناپایا منتقل می‌شود (7). با اینکه این ویروس در طبیعت فقط بر روی چغندر قند شناسایی شده است اما در شرایط گلخانه بر روی 13 گونه گیاهی از جمله: *Beta vulgaris*, *Ch. quinoa*, *Spinacia oleracea*، *macrocarpa* علائم لکه موضعی و در *Lactuca sativa*, *Physalis florissana* و شش گونه توتون ایجاد آلودگی سیستمیکی نماید (3 و 10).

مقایسه توالی انتهائی 3'UTR سیزده جدایه اروپائی این ویروس با جدایه‌های چینی و آمریکائی حاکی از شباهت بسیار زیاد این ناحیه در ایزوله‌های چینی، آمریکائی و اروپائی بود (8). اما در مورد جدایه‌های ایرانی این مقایسه نشان داد که جدایه‌های ایرانی نسبت به جدایه‌های چینی و آمریکائی تنوع ژنتیکی بالاتری دارند. بطوری که در 3'UTR تعداد 56 موتاسیون نوکلئوتیدی دیده شد و حدود 26 توالی

جهت تکثیر ژن پروتئین پوششی و انتهای 3'UTR ویروس BBSV از آغازگرهای اختصاصی BBSV14F و BBSV1R استفاده گردید. آنزیم مورد استفاده در تکثیر این بخش از ژنوم ویروس ترکیب Go Taq PCR Master Mix شرکت Promega بود که در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز 2/5 میکرولیتر از رشته الگو، 12/5 میکرولیتر از Master mix، یک میکرولیتر از هر آغازگر (با غلظت 10 پیکومول) و 8 میکرولیتر آب مقطر دیونیزه استفاده شد. پروفایل دمائی واکنش شامل 94 درجه سانتی‌گراد به مدت 3 دقیقه به منظور واسرشتی ابتدائی و به دنبال آن 35 چرخه شامل 94 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه، 50 درجه سانتی‌گراد به مدت 45 ثانیه و 72 درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و در انتها به مدت 5 دقیقه در دمای 72 درجه سانتی‌گراد برای تکمیل ساخت رشته مکمل استفاده گردید. قطعه تکثیر شده به کمک کیت Silica Bead DNA Gel Extraction (Thermoscientific) از ژل استخراج و پس از خالص‌سازی DNA در پلاسمید pDrive همسانه‌سازی گردید. به منظور الحاق محصول PCR حاصله در پلاسمید، 3 میکرولیتر DNA، 1 میکرولیتر پلاسمید، 1 میکرولیتر آنزیم لیگاز در کل محلول 15 میکرولیتر به مدت 12 ساعت در دمای اتاق قرار گرفت سپس پلاسمیدهای نو ترکیب درون سلول‌های باکتریایی مستعد *E.coli* سویه DH5 α تراریخت شدند. باکتری‌های تراریخت شده در محیط کشت حاوی LB+IPTG+X-Gal+Amp. به مدت 12 ساعت در 37 درجه سانتی‌گراد کشت گردیدند. همسانه‌های حاوی ژن مورد نظر با استفاده از آزمون PCR با کمک پرایمرهای BBSV1F و M13R شناسایی شدند. پلاسمیدهای نو ترکیب پس از خالص‌سازی به روش دستی با فل و کلروفرم خالص‌سازی و جهت توالی‌یابی به کمپانی سیگما کشور آلمان ارسال شد. ترادف‌های حاصل با برنامه BLASTn در پایگاه اطلاعاتی NCBI با ترادف‌های موجود در بانک ژن مقایسه و آنالیز فیلوژنی توالی‌های نوکلئوتیدی جدایه‌ها با استفاده از نرم افزار Mega6 و به روش Neighbor joining و بر اساس 1000 تکرار ترسیم گردید.

نتایج و بحث

از مجموع 309 نمونه جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کشور، ویروس BBSV در 147 مورد و قطعه ماهواره‌ای آن در 30 نمونه چغندرقد ردیابی گردید. از نظر علائم برخلاف جدایه‌های چین که ایجاد لکه‌های نکروتیک بر روی برگ‌های آلوده می‌کردند در بازدید از مزارع ایران هیچ گونه لکه‌های سوخته در برگ‌های چغندرقد مشاهده نگردید ولی علائم ریشه ریشی که از نشانه‌های بارز بیماری رایزومانیا نیز می‌باشد در غده‌های آلوده مشاهده گردید (تصویر 2). در جدایه های آمریکایی و اروپایی نیز علائم ریشه ریشی در بوته‌های آلوده به

ویروس گزارش شده بود با این تفاوت که در غده‌های چغندرقد آلوده به این ویروس در آمریکا ویروس *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) عامل بیماری رایزومانیا قابل ردیابی نبود. در غده های آلوده چغندرقد بررسی شده در این مطالعه آلودگی‌های دوگانه با BNYVV و یا چند گانه با سایر ویروس‌های خاکزاد چغندر قند *Beet virus Q* (BVQ) و *soil born virus* (BSBV) ردیابی گردید علائم ریشه ریشی در غده‌هایی که تنها به BBSV آلوده بودند نشان می‌دهد که این علائم مختص BNYVV نبوده، می‌تواند با آلودگی به BBSV به تنهایی نیز ایجاد گردد. این مطلب می‌تواند در تشخیص بیماری بر اساس علائم، تولید ارقام مقاوم چغندر قند و نیز جلوگیری از خطا در ارزیابی مقاومت ارقام بسیار حائز اهمیت باشد.

توالی نوکلئوتیدی پروتئین پوششی و 3'UTR پنج جدایه ایرانی شامل BBSV-AzGh1، BBSV-Ha1، BBSV-Sh1، BBSV-Msh1 و BBSV-Ksh1 به ترتیب مربوط به استان‌های آذربایجان غربی، همدان، خراسان شمالی (شیروان)، خراسان رضوی (مشهد) و کرمانشاه با توجه به پراکنش جغرافیائی و میزان سطح زیر کشت جهت تعیین روابط خویشاوندی و رسم درخت فیلوژنتیکی به همراه یک جدایه چینی BBSV-N و یک جدایه آمریکایی BBSV-CO با نرم افزار Mega6 مورد آنالیز و تحلیل قرار گرفتند. همچنین توالی آمینو اسیدهای پروتئین پوششی این 7 جدایه نیز با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفته و فاصله ژنتیکی آنها نسبت به یکدیگر تعیین گردید.

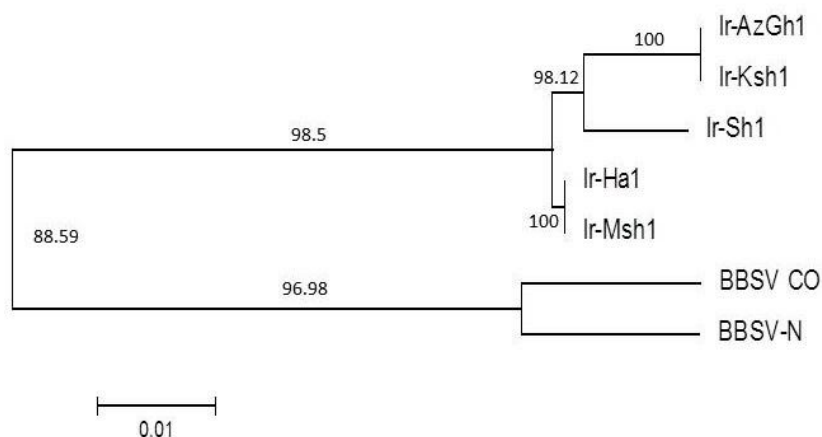
انتهای 3'UTR این ویروس به دلیل نقشی که در بیان و تکثیر کل ژنوم دارد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا این ویروس بر خلاف بسیاری از ویروس‌های گیاهی در غیاب PolyA در انتهای 3' خود تنها با وجود ساختارهای ثانویه ویژه در این ناحیه قادر به ترجمه و تکثیر می‌باشد. ساختار BYDV-CITE با ساختمان و شکل خاصی که به انتهای 3' ژنوم می‌دهد باعث تسريع و تسهیل بیان و تکثیر ژنوم ویروس می‌گردد (12).

بررسی رابطه فیلوژنتیکی جدایه‌های مختلف BBSV در قسمت 3'UTR (تصویر 3) نشان داد که با وجود اینکه جدایه چینی بعلت قرارگیری در موقعیت جغرافیایی نزدیک به ایران بر خلاف تصور که انتظار می‌رفت شباهت بیشتری به جدایه‌های ایرانی این ویروس داشته باشد اما بیشتر به جدایه آمریکایی شباهت داشت و شباهت نوکلئوتیدی بین جدایه‌های ایرانی بیشتر از جدایه چینی و آمریکایی بود. در بین جدایه‌های ایرانی جدایه آذربایجان غربی و کرمانشاه و همچنین جدایه‌های همدان و مشهد کاملاً شبیه یکدیگر بودند و در این بین جدایه شیروان با حدود 98 درصد شباهت در گروه جدایه‌های آذربایجان غربی و کرمانشاه قرار دارد. ولی در کل تفاوت بین جدایه های ایرانی از 1/5 درصد بیشتر نبود.



شکل 2- علائم ریشه های چغندر قند آلوده به BBSV در مزارع شهرستان شیروان

Figure 2- Symptoms of BBSV on sugar beet roots in shirvan farms



شکل 3- درخت فیلوژنتیکی بر اساس مقایسه توالی نوکلئوتیدهای 3'UTR به روش Neighbor joining

Figure 3- Phylogenetic tree of BBSV 3'UTR based on Neighbor joining method

آمریکایی در قسمت 3'UTR نسبتاً زیاد است (11/5 درصد تفاوت) ولی به نظر این امر در بیان و یا تکثیر ژنوم ویروس چندان تأثیری نداشته است بنابراین احتمالاً این نوکلئوتیدهای تغییر یافته، نقش مشابهی در تشکیل ساختار BYDV-CITE داشته باشند.

در کل 273 نوکلئوتید ناحیه 3'UTR جدایه‌های بررسی شده تنها 34 تغییر نوکلئوتیدی مشاهده گردید و این عدد در بین جدایه‌های ایرانی تنها 6 مورد بود. مقایسه تعداد تغییرات در این ناحیه حاکی از آن است که بیشترین تغییرات در $\frac{1}{3}$ ابتدای 3'UTR اتفاق افتاده است (جدول - 1).

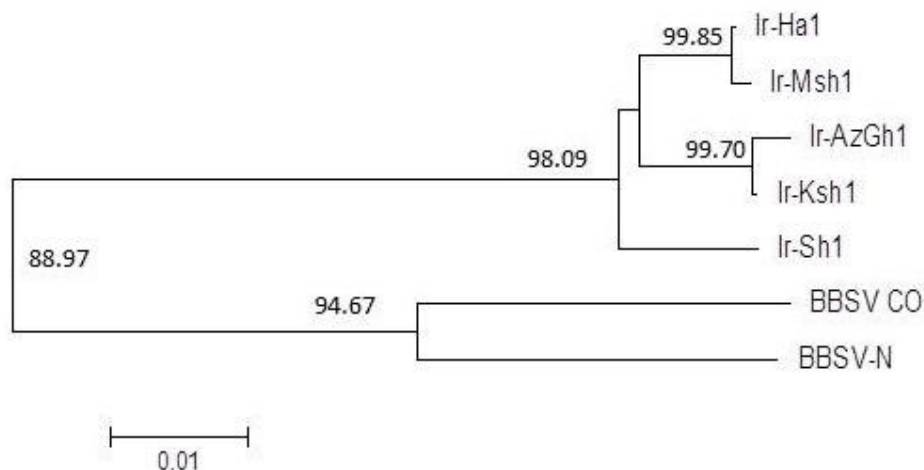
با اینکه فاصله ژنتیکی بین جدایه‌های ایرانی با جدایه چینی یا

جدول 1- اختلاف نوکلئوتیدیهای 3'UTR جدایه‌های ایرانی، آمریکایی و چینی
Table 1- 3'UTR nucleotide differences in Iranian, US and Chinese isolates

	2	2	3	3	3	4	5	5	6	6	7	7	8	9	9	3	4	4	5	5	6	6	6	7	8	8	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	5
	1	5	2	7	8	1	5	8	7	9	3	9	8	0	8	5	8	9	1	7	2	8	9	0	1	2	0	0	5	7	9	0	7	9					
-Ha1	A	A	A	A	T	A	G	A	T	T	C	G	C	A	G	A	C	T	G	T	G	A	A	G	T	C	C	C	G	A	C	C	T	C					
-Msh1																																							
-Sh1																																							
-AzGh1																																							
-Ksh1																																							
BBSV CO																																							
BBSV-N																																							

داد که جدایه Ha1 و Msh1- با تشابه 99/85 درصد در گروه یک و جدایه‌های AzGh1- و Ksh1- با تشابه 99/70 درصد در گروه دوم قرار دارند و جدایه Sh1- با شباهت 98/09 درصد بصورت جداگانه از دو گروه فوق قرار گرفت. دو جدایه آمریکایی و چینی 94/67 درصد شبیه یکدیگر بودند و با جدایه‌های ایرانی تنها 88/59 درصد شباهت داشتند (شکل 3).

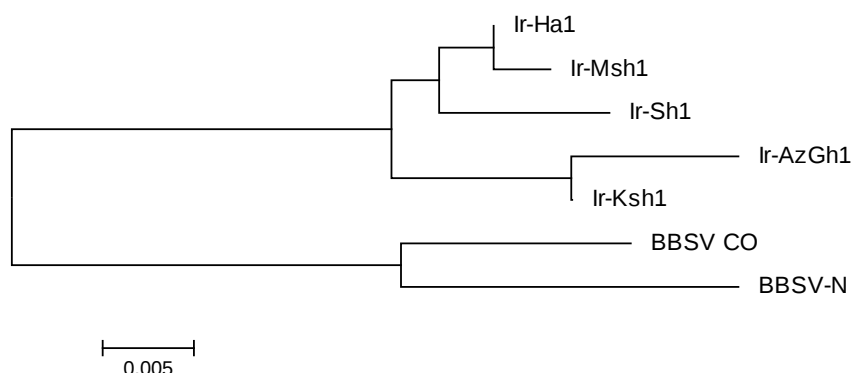
پروتئین پوششی در BBSV علاوه بر نقش حفاظتی از ژنوم می‌تواند در بیماریزایی، افزایش شدت علائم، واکنش فوق حساسیت و اختلال در خاموشی ژن میزبان نیز نقش داشته باشد (16 و 17). لذا توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی چارچوب خوانش باز شماره 6 ژنوم (پروتئین پوششی) نیز مورد بررسی و تحلیل قرار گرفت. مقایسه جدایه‌ها در سطح نوکلئوتیدیهای پروتئین پوششی نشان



شکل 4- درخت فیلوژنتیکی بر اساس مقایسه توالی نوکلئوتیدیهای پروتئین پوششی به روش Neighbor joining
Figure 4- Phylogenetic tree of BBSV coat protein nucleotides based on Neighbor joining method

جدایه‌های فوق نشان داد که جدایه Ha1 و Msh1- با تشابه 99/69 درصد در گروه یک و جدایه‌های AzGh1- و Ksh1- با تشابه 99/07 درصد در گروه دوم قرار دارند و جدایه Sh1- با گروه یک شباهت 98/61 درصد و با گروه دو 97/36 درصد شباهت دارد و در بین دو گروه قرار گرفت. دو جدایه آمریکایی و چینی 96/89 درصد شبیه یکدیگر بودند و با جدایه‌های ایرانی تنها 93/13 درصد شباهت داشتند.

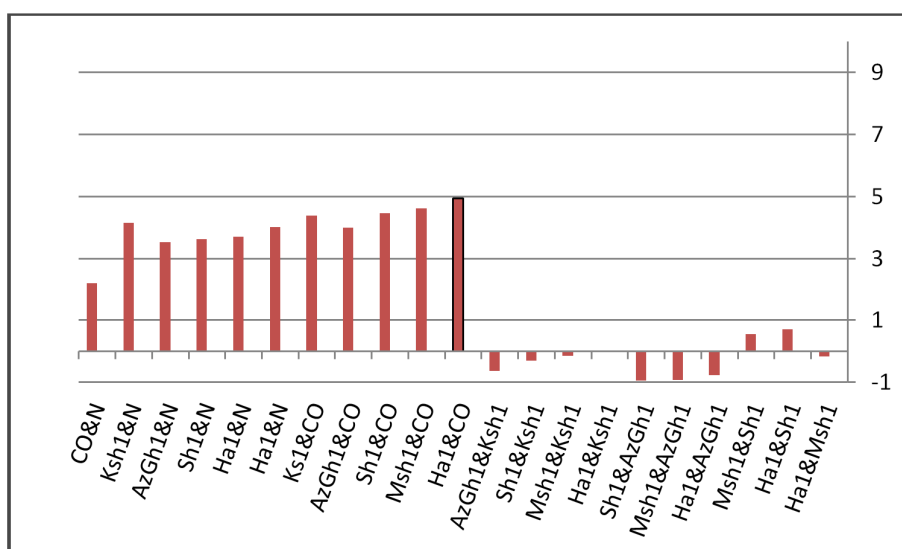
در این مقایسه نوکلئوتیدی جدایه Sh1- بر خلاف مقایسه ناحیه 3'UTR که با جدایه‌های AzGh1- و Ksh1- در یک طبقه قرار گرفته بود به تنهایی جدا از هر چهار جدایه ایرانی قرار گرفت ولی در مجموع شباهت جدایه‌های ایرانی در هر دو ناحیه تفاوت چندانی نداشت. در جدایه‌های چینی و آمریکایی اما 2/31 درصد شباهت پروتئین پوششی در مقایسه با ناحیه 3'UTR کاهش داشت. مقایسه همردیف‌سازی چندگانه ترادف آمینواسیدهای هر یک از



شکل 5- درخت فیلوژنتیکی بر اساس مقایسه توالی آمینو اسیدهای پروتئین پوششی به روش Neighbor joining
Figure 5- Phylogenetic tree of BBSV coat protein amino acids based on Neighbor joining method

نوکلوتیدی نشان از افزایش درصد شباهت داشت. این افزایش شباهت نشان می‌دهد که بیشتر موتاسیون‌ها در این ناحیه حالت خاموش (Silent) دارند.

مقایسه این درخت فیلوژنتیکی با درخت فیلوژنتیکی نوکلوتیدیهای این ناحیه حاکی از رفتار متفاوت جدایه Sh1- بود به گونه‌ای که در مقایسه آمینواسیدهای این جدایه با جدایه‌های Ha1- و Msh1- نزدیکی بیشتری وجود داشت. مقایسه درصد شباهت جدایه‌ها در سطح آمینواسیدی با سطح



شکل 6- افزایش درصد شباهت بین دو جدایه در سطح آمینو اسیدها با نوکلوتیدها در پوشش پروتئینی
Figure 6- Increasing the percentage of similarity between the two isolates at the level of nucleotides and amino acids in coat protein

(شکل 6). این بدان معنی است که علی‌رغم تفاوت نوکلوتیدی جدایه‌های ایرانی و چینی یا ایرانی و آمریکایی ولی آمینواسیدهای پروتئین پوششی آنها به یکدیگر شباهت بیشتری دارند تا هر یک از جدایه‌های ایرانی نسبت به یکدیگر.

مقایسه میزان افزایش شباهت در سطح آمینواسیدها با نوکلوتیدهای ناحیه پروتئین پوششی بین جدایه‌های مختلف نشان داد که بیشترین افزایش شباهت بین جدایه‌های ایرانی و هر یک از جدایه‌های چینی و آمریکایی و بطور میانگین حدود 4/16 درصد بود

با توجه به اهمیت پروتئین پوششی در برهمکنش بین میزبان و ویروس، تغییرات آمینواسیدها در این پروتئین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و هر تغییر جزئی در پوشش پروتئینی می‌تواند عامل ایجاد علائم متفاوت در چغندر قند باشد (4 و 16).

مطالعات زیادی نشان داده است که تغییرات پروتئین پوششی در جدایه‌های مختلف یک ویروس باعث ایجاد علائم گوناگون بر روی میزبان می‌گردد و در ویروس BBSV ناحیه N-terminal پروتئین پوششی به لحاظ اینکه در شکل سه بعدی پروتئین پوششی، در قسمت خارجی آن قرار می‌گیرد بطور مستقیم در برهمکنش بین ویروس و میزبان دخالت دارد (2، 11 و 17).

مهمترین تفاوت از نظر علائم و همچنین همراهی با ویروس

BNYVV در جدایه‌های چینی، ایرانی و آمریکائی در جدول 2 مقایسه شده است. با توجه به اهمیت آمینواسیدهای پروتئین پوششی در ایجاد علائم، برهمکنش ویروس - میزبان و ویروس با سایر ویروس‌ها شاید بتوان این تفاوت‌های رفتاری ویروس BBSV را در تفاوت آمینواسیدهای این ناحیه جستجو کرد.

در جدایه چینی مقایسه تغییر آمینواسیدهای پروتئین پوششی نشان داد که تفاوت منحصر به فرد جدایه چینی با جدایه‌های دیگر آمینواسید شماره 12 و 207 است که به ترتیب آمینواسیدهای سرین (S) و ترئونین (T) است که با توجه به اهمیت قسمت N-terminal پروتئین پوششی آمینواسید S12 احتمالاً در ایجاد لکه‌های نکروتیک روی برگ‌های چغندر قند در مزرعه نقش اساسی داشته باشد.

جدول 2- مقایسه جدایه‌های ایرانی، آمریکائی و چینی از لحاظ علائم و آلودگی دوگانه

Table 2- Compare of Iran, US and Chinese isolates based on symptoms and dual infection

ردیف Row	جدایه (Isolate)	لکه سیاه در مزرعه Black in field	دیوانگی ریشه (Root proliferation)	همراهی BNYVV (Accompanied by BNYVV)
1	چینی (China)	+	-	-
2	آمریکائی (USA)	-	+	-
3	ایرانی (Iran)	-	+	+

تغییرات منحصر به فرد در جدایه آمریکائی که در جدایه‌های دیگر دیده نمی‌شود آمینواسیدهای شماره 9، 56 و 99 می‌باشد شاید وجود این آمینواسیدها در جدایه آمریکائی باعث ایجاد ریشه ریشی در

این جدایه در غیاب BNYVV در غده‌های چغندر قند می‌گردد. بویژه آمینو اسید S9 به دلیل قرار گرفتن در ناحیه N-terminal احتمالاً نقش مهم‌تری داشته باشد (جدول 3).

جدول 3- مقایسه آمینواسیدهای در پروتئین پوششی جدایه‌های ایرانی، آمریکائی و چینی

Table 3- Compare of Amino acids in coat protein of Iran, US and Chinese isolates

	9	10	12	28	48	56	93	99	145	154	158	176	207
Ir-Ha1	G	R	T	I	S	V	S	I	D	D	T	R	S
Ir-Msh1	G	R	T	I	S	V	S	I	Y	D	T	R	S
Ir-Sh1	G	R	T	I	S	V	S	I	D	D	I	R	S
Ir-AzGh1	G	R	I	V	S	V	S	F	D	D	T	G	S
Ir-Ksh1	G	R	I	I	S	V	S	I	D	D	T	R	S
BBSV-CO	S	K	T	I	T	I	A	V	D	E	T	R	S
BBSV-N	G	K	S	I	T	V	A	I	D	E	T	R	T

در بین جدایه‌های ایرانی نیز تغییرات متنوعی دیده می‌شود که احتمالاً مهم‌ترین این تغییرات آمینواسید ایزولوسین I12 در جدایه‌های BBSV-AzGh1 و BBSV-Ksh1 باشد که به دلیل قرار گرفتن در ناحیه N-terminal از اهمیت بسزائی برخوردار است. آمینواسیدهایی که در تمام جدایه‌های ایرانی مشترک بوده و در جدایه‌های چینی و ایرانی تغییر کرده است R10، S48، S93 و D154 می‌باشد.

Beet black scorch virus ویروس مهمی در مزارع چغندر قند ایران است و احتمالاً خسارت بالائی در کاهش کمیت و کیفیت (عیار

قند) غده‌های چغندر قند دارد. علائم ریشه ریشی (رایزومانی) ممکن است به تنهایی توسط BBSV یا در آلودگی دو گانه دو ویروس BBSV+BNYVV نیز ایجاد شود بنابراین این ویروس را باید در تشخیص‌های مزرعه‌ای با علائم ریشه ریشی در نظر گرفت. از آنجا که ارقام مقاوم مهم‌ترین راه کاهش خسارت ویروس‌های خاکزاد چغندر قند می‌باشند ویروس BBSV در تولید ارقام مقاوم و همچنین در آزمایشات ارزیابی مقاومت ارقام از اهمیت بسزائی برخوردار است.

منابع

- 1- Cai Z.N., Chen D.H., Wu M.S., Cui X.M., Yu J.L., and Liu Y. 1993. Identification of pathogenic virus of beet black scorch disease and detection by synthesized cDNA probes. *Journal of Beijing Agriculture University*, 19:112.
- 2- Callaway A., Giesman-Cookmeyer D., Gillock E.T., Sit T.L., and Lommel S.A. 2001. The multifunctional capsid proteins of plant RNA viruses. *Annual Review of Phytopathology*, 39:419-60.
- 3- Cao Y.H., Cai Z.N., Ding Q., Li D.W., Han C.G., Yu J.L., and Liu Y. 2002. The complete nucleotide sequence of Beet black scorch virus (BBSV), a new member of the genus Necrovirus. *Archive of Virology*, 147:2431-2435.
- 4- Cao Y., Yuan X., Wang X., Guo L., Cai Z., Han C., Li D., and Yu J. 2006. Effect of *beet black scorch virus* coat protein on viral pathogenicity. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 33:127-134.
- 5- Cui X.M., Gong Z.X., and Yu N.J. 1988. Studies on two virus isolates from sugar beet in Xinjiang. *Journal of Shihezi Agriculture College*, 10:78.
- 6- Gonzàles-Vázquez M., Ayala J., Garcia-Arenal F., and Fraile A. 2009. Occurrence of Beet black scorch virus infecting sugar beet in Europe. *Plant Disease*, 93:21-24.
- 7- Jiang J.X., Zhang J.F., Che S.C., Yang D.J., Yu J.L., Cai Z.N., and Liu Y. 1999. Transmission of beet black scorch virus by *Olipidium brassicae*. *Journal of Jiangxi Agriculture University*, 21:525-528.
- 8- Koenig R., and Valizadeh J. 2008. Molecular and serological characterization of an Iranian isolate of Beet black scorch virus. *Archive of Virology*, 153:1397-400.
- 9- Mehrvar M., and Bragard C.G. 2008. Distribution and characterization of Iranian beet black scorch virus. *Proceedings of the seventh symposium of the international working group on plant viruses with fungal vectors*, 1:1-5.
- 10- Mehrvar M., and Bragard C.G. 2009. *Beet black scorch virus* satellite is linked with a single adenine within the virus 3'untranslated region and contains a partial argonaute sequence. *Journal of General Virology*.
- 11- Qu F., Ren T., and Morris T.J. 2003. The coat protein of turnip crinkle virus suppresses posttranscriptional gene silencing at an early initiation step. *Journal of Virology*, 77:511-22.
- 12- Shen R., and Miller W.A. 2007. Structures required for poly (A) tail-independent translation overlap with, but are distinct from, cap-independent translation and RNA replication signals at the 3' end of Tobacco necrosis virus RNA. *Virology*, 35:844-858.
- 13- Weiland J.J., Larson R.L., Freeman T.P., and Edwards M.C. 2006. First report of beet black scorch virus in the United States. *Plant Disease*, 90:828.
- 14- Weiland J.J., Van Winkle D., Edwards M.C., Larson R.L., Shelver W.L., Freeman, T.P., and Liu H.Y. 2007. Characterization of a U.S. Isolate of Beet black scorch virus. *Phytopathology*, 97:1245-54.
- 15- Yuan X., Cao Y., Xi D., Guo L., Han C., Li D., Zhai Y., and Yu J. 2006. Analysis of the subgenomic RNAs and the small open reading frames of Beet black scorch virus. *Journal of General Virology*, 87:3077-86.
- 16- Zhang Y.J., Zhang X.F., Niu S.F., Han C.G., Yu J.L., and Li D.W. 2011. Nuclear localization of Beet black scorch virus capsid protein and its interaction with importin. *Virus Research*, 155:307-15.
- 17- Zhang X.F., Zhao X.F., Zhang Y.J., Niu S.F., Qu F., Zhang Y.L., Han C.G., Yu J.L., and Li D.W. 2013. N-terminal basic amino acid residues of beet black scorch virus capsid protein play a critical role in virion assembly and systemic movement. *Virology*, 10:200.
- 18- Zhao X.F., Wang X.L., Dong K., Zhang Y.L., Hu Y., Zhang X., Chen Y., Wang X.B., Han C.G., Yu J.L. and Li D. 2015. Phosphorylation of Beet black scorch virus coat protein by PKA is required for assembly and stability of virus particles. *Nature.com/Scientific reports*, 5:11585.



Identification of *Trichoderma* Species Using Partial Sequencing of nrRNA and *tefla* Genes with Report of *Trichoderma capillare* in Iran Mycoflora

M. Mehrabi-Koushki^{1*} - M. Bavarsad² - R. Farokhinejad³

Received: 21-09-2015

Accepted: 08-07-2017

Introduction: *Trichoderma* is monophyletic (16) with teleomorphs in the genus *Hypocrea*. Some cryptic *Trichoderma* species are hidden within morphological species complexes and can only be elucidated by in-depth molecular studies. The genealogical concordance phylogenetic species recognition (GCPSR) using several non-linked genes are needed to give accurate identification of *Trichoderma* spp. (6). Although the ITS region has been successfully used for species delimitation of *Trichoderma* and *Hypocrea* (5), it is not sufficient for accurate identification of some species. Translation elongation factor 1 α gene (*tefla*) is a reliable barcode for *Fusarium* (9), *Trichoderma* and *Hypocrea* (5). Here, ITS and *tefla* genes were selected as candidate DNA barcodes to identify *Trichoderma* isolates.

Materials and Methods: 40 *Trichoderma* isolates used in this study were from a fungal collection archived in the plant pathology laboratory in the Department of Plant Protection at the Shahid Chamran University of Ahvaz. Spore suspension (10⁵/ml) prepared from single spore cultures of each *Trichoderma* isolates was added into flasks containing PDB medium. The flasks were shaken at 180 rpm for 10-15 days at 28°C and the biomass was harvested by passing through sterilized filter papers. The mycelia were freeze-dried (Freeze-Dryer, Alpha 1-2LD Plus, Christ) and powdered in the mortar containing liquid nitrogen by pestle. The genomic DNA was isolated according to modified method established by Raeder and Broda (21). The universal primers (ITS1-F; 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' and ITS4-R; 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') were employed for amplifying around 700bp from 18S, ITS1, 5.8S, ITS2 and 28S rDNA regions (27). The specific primers (*tefla*71-f; 5'-CAAAATGGGTAAGGAGGASAAGAC-3' and *tefla*1997-R; 5'-CAGTACCGGCRGCRATRATSAG-3') were employed for amplifying around 950bp from *tefla* gene (24). PCR products were purified through ethanol-precipitation method and then sequenced using forward and reverse primers by Macrogen Company. The Sequences were edited and assembled using BioEdit v. 7.0.9.0 (10) and DNA Baser Sequence Assembler v4 programs (2013, Heracle BioSoft, www.DnaBaser.com), respectively. These sequences were submit-queried against the NCBI non-redundant database and related to known DNA sequences by BLASTn algorithm to assign putative identity. They also were subjected to the TrichO Key (5) and TrichoBLAST (15) for more characterization. The phylogenetic tree was constructed through maximum likelihood analysis based on *tefla* sequence under K2+G model. The tree was rooted to close species of *N. macroconidialis*.

Results and Discussion: Approximately 550 and 850 bases of the ITS and *tefla* regions were sequenced from the isolates studied and then deposited in the GenBank (Table 2). The annotation of indexed sequences showed which multiple insertion-type frame shifts have interestingly occurred into the reading frame of *tefla* gene belonging to isolate of *T. capillare* Isf-7 (Fig. 3). To identify isolates of *Trichoderma*, ITS and *tefla* sequences were subjected to the TrichO Key (5), TrichoBLAST (15) and BLASTn Search. The analysis of ITS and *tefla* sequences (Table 2, Fig. 2), in combination with morphology (Table 1), showed the isolates place in seven species as follows: *T. harzianum* Rifai, *T. virens* (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Arx, *T. pleuroticola* Yu & Park, *T. asperellum* Samuels, Lieckf & Nirenberg, *T. koningiopsis* Oudem., *T. brevicompactum* Kraus, Kubicek & Gams and *T. capillare* Samuels & Kubicek. In BLASTn search, ITS and *tefla* regions separately provided unambiguous identification for isolates of *T. virens*, *T. koningiopsis* and *T. brevicompactum* while ITS region provided ambiguous identification for isolates of *Trichoderma harzianum*, *T. capillare*, *T. pleuroticola* and *T. asperellum*. Here, *tefla* region could provide more accurate identification as good DNA barcoding (Table 2). The isolates showed the sequence identity ranging from 96 to 100% for *tefla* locus and 88 to 99% for ITS locus. Different identities related to ITS and *tefla* genes indicated that the single gene identification is not accurate, particularly for *Trichoderma* species, if the identification is based on ITS regions (4). In phylogenetic tree (Fig. 2), the isolates surveyed generated strongly supported clades for each species, distinct from other

1, 2 and 3- Assistant Professor, Former M.Sc. Student and Professor of Plant Pathology, Plant Protection Department, Agriculture Faculty, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Respectively

(* - Corresponding Author Email: mhdmrhb@scu.ac.ir)

species. Among the species identified, *T. capillare* is the first report for Iran mycoflora. This species was firstly described by Samuels *et al.* (22) and phylogenetically delimited from other species of *Longibrachiatum* section.

Conclusions: Here, of seven species of *Trichoderma* identified, the species of *T. capillare* is newly reported in Iran. Our studies demonstrate that despite ITS region, *tefla* gene is quite reliable in identification and phylogeny of *Trichoderma* species.

Keywords: DNA-barcoding, Morphology, Phylogenetic clustering



Joint Action of Some Usable Important Broadleaf Herbicides in Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) in Iran

A.A. Chitband^{1*}- R. Ghorbani²- M.H. Rashed Mohassel³- M. Nabizade⁴

Received: 04-11-2015

Accepted: 24-07-2016

Introduction: Evaluating the effect of mixtures could be based on various concepts e.g. toxicology, pharmacology and weed control. Combinations of certain herbicides can give better weed control than use of the individual herbicide alone and/or loss of weed control when use of certain other herbicides in combination. Herbicides in a mixture can, however, interact physically or chemically outside the plant or biologically inside the weed or crop and assessing the joint action of herbicide mixtures is a pre-requisite for designing optimum herbicide mixtures. With herbicide mixtures three scenarios can occur. Either the herbicides do not influence the performance of each other (additivity) or the performance of one herbicide is either impaired (antagonism) or promoted (synergism) by the presence of other herbicides in the spray solution. Predicting the joint action of mixtures is extremely difficult, unless the compounds are known to interact at the same site of action. The most common methods to analyze the joint action of herbicide mixtures are the Additive Dose Model (ADM) or the Multiplicative Survival Model (MSM). The ADM assumes the two compounds have similar modes of action (without interaction) in the receiver plant, i.e. effective doses of each component will not change by mixing. ADM has been widely accepted as a valid method to estimate joint action of mixtures sharing the same or similar action mechanisms in the receiver plant. Hence, a fundamental difference between MSM and ADM is that MSM considers effects while ADM considers dose rates. MSM has been widely applied in weed science in the form of Colby's equation, a simplified version that does not require the estimation of dose-response curves. MSM has been reported to yield more accurate results for mixture toxicity with respect to ADM when the components exhibited different or dissimilar modes of action in the receiver plant. Here, ADM was used to test for deviation of additivity of doses using the ADM isoboles as reference model. Any deviation from the ADM was characterized by antagonism when the efficacy of a mixture was lower than that predicted by the reference model and synergistic when the efficacy was higher than the predicted value.

Materials and Methods: In order to determine joint action of some usable important broadleaf herbicides in sugar beet, two dose-response experiments were conducted at the research glasshouse in Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. The plants were sprayed with seven doses of commercial formulation of desmedipham + phenmedipham + ethofumesate (Betanal Progress- OF[®], 427 g a.i. L⁻¹, Tragus, Spain), chloridazon (Pyramin[®], 1361 g a.i. L⁻¹, BASF, Germany), clopyralid (Lontrel[®], 149 g a.i. L⁻¹, Golsam, Gorgan, Iran) either alone or in binary fixed-ratio mixtures of the three herbicides. The ratio of the herbicides in binary mixtures were 100:0, 75:25, 50:50, 25:75, and 0:100. Spraying was performed by overhead trolley sprayer (Matabi 121030 Super Agro 20 litre sprayer), 8002 flat-fan nozzle at 300 kPa and a spray volume of 200 L ha⁻¹. Plants were treated at 21 days (at the four- to six-true leaf stage) after planting. Dose-response curves were estimated by fitting a three log-logistic dose-response model versus doses including ED₅₀, ED₈₀ and ED₉₀ response levels. ADM was used as a reference model of joint action with their equations. As the results with the herbicide mixtures was obtained from up to twelve separate experiments, it was necessary to standardize the x- and y-axes, so that the ED₅₀, ED₈₀ and ED₉₀ doses of the herbicides applied separately were always fixed to 1.

Results and Discussion: The results showed that mixture of chloridazon with clopyralid was less effective than that predicted by ADM particularly on *Amaranthus retroflexus* at ED₅₀ and ED₈₀ response levels. These two herbicides binary mixtures either followed ADM or was less than that predicted by ADM on *Solanum nigrum*. On the contrary, mixture of desmedipham + phenmedipham + ethofumesate with clopyralid was synergistic on both species. Further, desmedipham + phenmedipham + ethofumesate and chloridazon binary mixtures was antagonistic on *Amaranthus retroflexus* and followed according to ADM on *Solanum nigrum*.

1- Assistant Professor of Weed Science, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Korramabad, Iran

(*- Corresponding Author Email: a.a.chitband@gmail.com)

2, 3 and 4- Professors and Master of Weed Science, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, Respectively

Conclusion: The results revealed that mixtures of photosystem II with lipid biosynthesis or auxin inhibitor herbicides either followed ADM or performed better than that predicted by ADM. Therefore, applying mixtures of these herbicides will not result in an excessive use of herbicide compared to applying the herbicides separately. On the contrary, mixtures of chloridazon and clopyralid tended to be antagonistic, these two herbicides should not be thus mixed.

Keywords: Additive dose model, Additive effect, Antagonism, Binary mixture, Synergism



Survey the Effect of Mycorrhiza and Azospirillum of Wheat Cultivars Resistance in Yellow Rust

A. Abbasian¹- Gh. Asadi^{2*}- R. Gorbani³

Received: 16-12-2015

Accepted: 25-12-2016

Introduction: Invasive species are major cause of global environmental change and the second major threat to biodiversity in the world after the destruction of ecosystems. Invasive plants change the plant species, structure and function of the ecosystem and influence the abundance and diversity of native vegetation. *Centaurea balsamita* is a one-year-old plant of sunflower family that invades the fallow and slope lands. This plant is reproduced by seed and distributed in Syria, Turkey, Iran, Afghanistan and Central Asia (Turkmenistan to Tian Shan). Considering that the precise identification of problematic invasive species and gaining awareness of their cold tolerance may provide access to basic information for management of such invasive plants. This study was performed to evaluate the tolerance of coldacclimated invasive plant of *Centaurea balsamita* in fall conditions toward freezing stress.

Materials and Methods: The experiments were conducted at Research Laboratory of Ferdowsi University of Mashhad, Faculty of Agriculture, in 2014 in a completely randomized design with 5 replications. After cold acclimation in the fall, seedlings of *Centaurea balsamita* were exposed to seven freezing temperatures (0, -3, -6, -9, -12, -15 and -18 °C) using thermogradient freezer. Freezer temperature was 5 °C at the beginning of the experiment and after placing the samples inside, the temperature decreased with the speed of 3 °C per hour. INBA (Ice Nucleation Active Bacteria) was sprayed on the samples at 3 °C. Plants were kept at each treatment temperature for two hours and then harvested, and then, pots were transferred to the cold chamber at 4 ± 2 °C and kept for 12 to 24 hours there. The cytoplasm membrane stability of *Centaurea balsamita* was evaluated using electrolyte leakage; then the lethal temperature of 50% of pots was determined based on leakage percentage (LT_{50el}). Survival percentage was measured by counting the number of live plants in each pot. Then, at the end of the recovery period, the lethal temperature for 50% of survival percentage (LT_{50su}) and reduction temperature for 50% of dry weight (RDMT₅₀) was determined (three weeks after the application of freezing treatment). Data statistical analysis was performed using the MSTATC software. For diagramming and determining the LT_{50su}, the Excel and Sigmaplot software were used.

Results and Discussion: The lowest (6.9 percent) and the highest (82.7 percent) electrolyte leakage, were observed at 0 °C and -18 °C, respectively. Temperature reduction from -12 °C to -15 °C caused a significant increase ($P \leq 0.05$) in electrolyte leakage in *Centaurea balsamita*. In cold acclimated *Centaurea balsamita*, with fall conditions, the highest survival percentage was observed at 0 °C, -3 °C and -6 °C, and the lowest at -15 °C and -18 °C. Also, temperature reduction from -9 °C to -12 °C caused significant decrease ($P \leq 0.05$) in survival percentage in *Centaurea balsamita*. The highest biomass dry weight of *Centaurea balsamita* after the recovery period (21 days after application of freezing treatment) was observed at 0 °C and -3 °C, and the lowest at -15 °C and -18 °C. Temperature reduction from -9 °C to -12 °C caused a significant decrease ($P \leq 0.05$) in biomass of *Centaurea balsamita*. The results showed that LT_{50el}, LT_{50su} and RDMT₅₀ of cold-acclimated *Centaurea balsamita* in fall conditions were -13.2 °C, -126 °C and -11.8 °C, respectively.

Conclusions: This study showed that in invasive plants such as *Centaurea balsamita*, using electrolyte leakage and survival tests can be relatively good methods in assessing and identifying invasive plants tolerant to cold, and help to identify invasive plant cold tolerance, predict their distribution and invasion. Due to the fact that LT_{50el}, LT_{50su}, and RDMT₅₀ of cold-acclimated *Centaurea balsamita* with winter conditions in the present are determined -13.2 °C, -12.6 °C and -11.8 °C, respectively, it can be stated that this plant is of the cold tolerant plants and it is predictable that the spread and stabilization of this invasive plant is possible in cold regions. But to ensure more about the cold tolerance of this invasive plant, it is recommended to cold acclimate this plant in areas with higher elevation and colder than Mashhad to achieve more accurate assessment of cold tolerance. Due to low LT_{50su} of this plant when its seeds distributed, migration this invasive plant to wheat, barley and rangelands is highly possible.

1, 2 and 3- Ph.D of Weed Science, Associate Professor and Professor Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Respectively

(*- Corresponding Author Email: Asadi@um.ac.ir)

Keywords: Cold acclimation, Electrolyte leakage, LT50, RDMT₅₀, Survival percentage



Surveying the Effects of Planting Date and Density on Species Growth Indices and Yield in the Field of Soybean

H. Soltani¹- A. Ghanbari^{2*}- M. Rastgoo³- G. A. Asadi⁴

Received: 20-01-2016

Accepted: 01-05-2017

Introduction: Soybean (*Glycine max* L.) plays an important role in three major markets of grains, oil, and meal. The weed damage to soybean has been reported to range from 13 to 60% (sometimes 80% <). Appropriate farm management strategies can develop ecological competitiveness of crops and inhibit weed growth. Comparing the growth indices with design interference models of weed and crop and estimating crop yield loss in competition with weed are essential and allow plant breeding researchers to select more competitive varieties of crop in competition with weed.

Materials and Methods: An experiment was conducted in 2013 to assess the influence of sowing date and plant density on the growth indices and the competitive ability of soybean cultivar Williams with weeds. The experiment were designed in split-split plot based on a randomized complete block design with three replications. Main plot included three sowing dates levels (17 April, 12 May and 6 June) and sub-plots included four crop density (30, 40, 50 and 60 plant. m⁻²) and sub-sub plots included weed management of two level (weed infested and weed control). First sampling was started at 35 days after planting and repeated once in 14 days until the end of growth period. Leaf area index, dry matter, and the crop growth rate were calculated. The changes in dry weight and leaf area index (dependent variable) were estimated by fitting nonlinear functions versus time (days after planting as an independent variable). To determine these relationships, mathematical equations such as polynomial, sigmoid, logarithmic and exponential functions were applied. The exponential (r² higher – P value less, meaningful coefficients) performed better relative to the natural trend of variables.

Results and Discussion: The results showed that 11 observed weed species belonged to 9 families. In the early stages of growth, leaf area index and dry matter increased slowly, but in the seven to eight leaf stage of plant growth (Lag phase), leaf area index and dry matter increased rapidly, peaked at early seedling and again began to decline at the end of seedling. The sowing date of 12 May produced greater leaf area index, dry matter and growth rate compared with the early sowing date (17 April) and delayed planting date (6 June). Low temperature over the early stage of growth for early planting and the reduced growing season length as a consequence of the high temperature for delayed planting resulted in reduced leaf area index and dry matter. The higher density with delayed sowing date resulted in a drier matter and leaf area index. The greater density might compensate yield loss. The presence of weeds in soybean density from 30 to 60 plants per m², the leaf area index and dry matter increased. The maximum crop growth rate (22.24) was observed in sowing date of 12 May with 50 plants per m² density and without weeds. The minimum growth rate (0.127) was observed in sowing date of 6 June and 40 plants per m² density under weed control treatment. Difference between the dry matter, leaf area index, crop growth rate and the growth rate under weed interference condition (all season) were significant. The results indicated that the maximum economic yield was found for sowing date of 12 May and 40 plants per m². In addition, improved growth indices and increased competitive ability against weed were observed.

Conclusions: The results showed that dry matter, leaf area meter, crop growth rate and the growth rate in the presence of weed were declined. Early and delayed planting date reduced dry matter, leaf area index and the rate of growth of soybeans. It was concluded that low temperature in early growth period in early planting and decreased length of growing season in delayed planting due to the high temperature reduced dry matter, leaf area index. The low density (density 30 and 60 plants per m²) impacted growth indicators. Therefore, the density should be selected based on plant and ecological needs during the growing season. In conclusion, the sowing date of 12 May and density of 40 plants per m² were the best treatments which improved growth indices and increased the competitiveness of soybean against the weed. This is also can be considered as an ecological solution to reduce pesticide application and improve men's health.

Keywords: Crop growth rate, Growth rate, Interference, Leaf area meter, Yield seed

1, 2, 3 and 4- Graduated M.Sc. in Weed Science and Associate Professors, Faculty of Agriculture, Ferdowsi university of Mashhad, Respectively

(*- Corresponding Author Email: ghanbari@um.ac.ir)



Chemical Weed Control in Saffron (*Crocus sativus* L.) Fields

M. Abbaspoor^{1*}

Received: 14-03-2016

Accepted: 08-08-2017

Introduction: Saffron is the stigmas of *Crocus sativus* L., a perennial species belongs to the Iridaceae family. It is the world's most expensive spice widely used in many countries. It is also increasingly used for medicinal purposes. The most common method of weed control in this small and low growing medicinal plant is hand weeding that needs a lot of labor costs. Chemical approach is one of the most effective methods for weed control in saffron. Currently, some herbicide options are available to apply in saffron. For example, acceptable broadleaved weed control would be achieved by post-emergence application of metribuzin and ioxynil when the saffron flowers are harvested. In New Zealand, glyphosate and/or 2, 4-D / 2, 4-DB are used to clean up the beds at early flowering's season and prior to emergence of saffron. Except some cases in Iran, selective control of weeds by herbicides in saffron has not been widely reported. The choice of herbicide(s) depends on what are species of weeds present. In some literatures, metribuzin showed acceptable results for weed control in saffron fields. It is selectively used to control annual grasses and numerous broadleaved weeds. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of 15 herbicides with different modes of action on weeds grown in saffron fields. Herbicides were selected based on previous studies, as well dominant weed flora in the saffron fields where the experiment was conducted.

Materials and Methods: A field study was conducted in Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Khorasan Razavi Province, Mashhad at 2014-2015 growing season. The experiment was performed in a completely randomized block design with three replications. Treatments included metsulfuron-methyl + sulfosulfuron (Total®) at 32 g a.i. ha⁻¹, sulfosulfuron (Apirus®) at 19.95 g a.i. ha⁻¹, oxadiazon (Ronestar®) at 240 g a.i. ha⁻¹, oxyfluorfen (Goal®) at 480 g a.i. ha⁻¹, mesosulfuron + idosulfuron + diflufenican (Othello®) at 96 g a.i. ha⁻¹, metribuzin (Sencore®) at 562.5 g a.i. ha⁻¹ (applied after saffron harvest in autumn as pre emergence of weeds), triasulfuron + dicamba (Lintur®) at 115.5 g a.i. ha⁻¹, atrazine (Gesaprim®) at 800 g a.i. ha⁻¹, Bensulfuron methyl (Londax®) at 30 g a.i. ha⁻¹, bromoxynil + MCPA (Bromicide®) at 600 g a.i. ha⁻¹, 2,4-D + MCPA (U-46 combi fluid®) at 1012.5 g a.i. ha⁻¹, nicosulfuron (Cruz®) at 60 g a.i. ha⁻¹, haloxyfop methyl (Gallant super®) at 108 g a.i. ha⁻¹, bentazon (Basagran®) at 1440 g a.i. ha⁻¹, tribenuron methyl (Granstar®) at 15 g a.i. ha⁻¹, and weed free and weed infest controls. Herbicides were sprayed at 2-3 leaves stage of weeds (except for metribuzin which was sprayed after flower harvest in autumn and prior to emergence of weeds) by a Matabi® rechargeable sprayer calibrated to deliver 330 lit ha⁻¹. Four weeks after spraying, density and dry weight of dominant weed species were measured. Flower number, flower fresh weight and dry weight of 50 stigmas were measured. Data were analyzed by SAS 9.2 software and means were grouped by Duncan multiple range test (alpha=0.05).

Results and Discussion: The dominant weed species in the plots were *Cirsium arvense* (L.) Scop., *Acroptilon repense* (L.) DC. and *Poa trivialis* L.. Density and dry weight of these species were significantly decreased in herbicide treatments when measured four weeks after spraying. Significant decrease in flower number and flower fresh weight of saffron were observed when sprayed with sulfosulfuron, nicosulfuron, 2,4-D + MCPA, metsulfuron-methyl + sulfosulfuron, tribenuron methyl, mesosulfuron + idosulfuron + diflufenican and bromoxynil + MCPA. Therefore, these herbicides cannot be used for weed control in saffron fields. Saffron flower number and flower fresh weight did not significantly decreased when sprayed with metribuzin (79 plants m⁻² and 34.84 g m⁻², respectively), oxadiazon (43 plants m⁻² and 21.29 g m⁻², respectively), bentazon (46 plants m⁻² and 23.74 g m⁻², respectively), haloxyfop methyl (41 plants m⁻² and 20.11 g m⁻², respectively), oxyfluorfen (52 plants m⁻² and 26.22 g m⁻², respectively), bensulfuron methyl (34 plants m⁻² and 16.9 g m⁻², respectively), triasulfuron + dicamba (47 plants m⁻² and 23.18 g m⁻², respectively) and atrazine (38 plants m⁻² and 16.91 g m⁻², respectively). Dry weight of 50-stigmas was not significantly different among herbicide treatments.

Conclusions: Results showed application of metribuzin, oxadiazon, bentazon, haloxyfop methyl, oxyfluorfen, bensulfuron methyl, triasulfuron + dicamba and atrazine sound to be safe enough for saffron and

1- Assistant Professor in Plant Protection Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad

(* - Corresponding Author Email: Majidabbaspoor2009@gmail.com)

can be recommended for weed control in saffron fields. Nonetheless, more studies need to be done in order to evaluate undesirable long-term impacts of these herbicides on saffron corms.

Keywords: Medicinal plant, Metribuzin, stigma, Weed species



Annual Populational Dynamism of Oak Leaf Roller (*Tortrix viridana* L.) Larvae on *Quercus infectoria* Oliv. and *Q. libani* Lindl. in West-Azerbaijan Province

M. R. Zargaran^{1*} - M. Jamshidi² - S. R. Mousavi Mirkola³

Received: 06-06-2016

Accepted: 01-05-2017

Introduction: Various pests attack oak trees and in most cases heavily damage them. The European oak leaf roller is one of the important oak herbivore in some regions of Iran including Zagros oak forests, especially in Kohkiluyeh and Boyer Ahmad, Lorestan, Chaharmahal and Bakhtiari, Fars, and West Azarbaijan Provinces, and also, critical pest of oak forests in some European and North African countries, as well as in Iraq. Repeated removal of oak leaves, particularly by herbivores such as *Tortrix viridana* in spring, reduces stored photosynthates in oak trees leading to their decreased diametrical growth.

Materials and Methods: The Ghabre-Hossein region (Piranshahr) was selected as the field operations region because it is one of the most important infestation centers of the European oak leaf roller in the oak forests of West Azerbaijan. The research was carried out in two consecutive years. Samples of larval instars were taken in early May. Since the sample plot in sampling methods can be pointed or lined (transects), the four cardinal directions were selected in this study and transects at 100 m intervals were located in each direction. To reduce sampling error, Aleppo (*Quercus infectoria*) and Lebanon (*Q. libani*) oak trees were selected for measurements that were similar in appearance and almost uniform with crowns or trunks aligned along the transects. In each studied tree, four suitable branches were selected (one in each cardinal direction), and the number of larvae from the tip of each branch to a length of 50 cm inwards was counted and recorded in forms prepared beforehand. The larvae were counted in mid-May when all larvae were in their last (fifth) instar. In all, 30 Aleppo and 30 Lebanon oak trees were selected in each cardinal direction, and four branches in each direction of these trees were measured. The survey method was used by employing a 25 m rope, a slope gauge, and a compass to locate the sampling transects. 2×4 factorial split - plot in time design were used as the statistical method for assessing the effects of various cardinal directions and of oak species on abundance of the European oak leaf roller. If significant differences between the means was detected, Tukey's HSD test was employed (IBM SPSS, 18).

Results and Discussion: This pest has a single annual generation and five larval instars. It overwinters, and spends the entire summer, autumn, and winter, as egg. Eggs hatch in late March. Larvae pierce buds to enter into and feed inside them, and large larvae can leave buds and start feeding on other buds. The results showed that in both years the number of leaf-roller moth larvae were more on *Q. infectoria* in comparison to Lebanon oaks and it seems that oak species (*Q. infectoria*) is more preferable for the pest (*Tortrix viridana*) to feed upon than Lebanon oaks. The study of population changes of the oak leaf-roller moth in the geographical directions in 2014 proved that in both of the tree species the maximum and the minimum number of larvae were in the east and the west directions, respectively. In 2015, it also became clear that the highest and the lowest frequency of the larvae were in the south and the north, respectively. The results confirmed the influence of wind direction on distribution orientation of leaf-roller moth larvae. The number of oak leaf-roller moth larvae significantly increased in 2015 in comparison to the previous year which can be due to the temperature increase in this year.

Conclusions: The number of larvae of the European oak leaf roller on Aleppo oak trees was higher compared to Lebanon oak trees in both 2014 and 2015, which shows this pest prefers Aleppo oak trees over Lebanon oak trees. The number of larvae on both oak species in 2015 was considerably higher compared to the previous year, which may have been caused by increased temperatures in 2015. Study of population changes of the pest in the cardinal directions indicated that the maximum and minimum number of larvae on both oak species in 2014 were observed in the eastern and western cardinal directions, respectively, and the maximum larva abundance occurred in the eastern direction of tree crowns. The dominant wind in the region blew from the southwest, and seemed to be the main reason why larvae's abundance and distribution occurred in the eastern direction (that was not influenced by wind currents). In 2015, the maximum and minimum abundance of larvae were also observed in the southern and northern cardinal directions, respectively. Moreover, the maximum larva abundance occurred in the northern direction of tree crowns, with the dominant wind in the region blowing in the

1, 2 and 3- Assistant Professor, M.Sc. of Forestry and Assistant Professor, Forestry Department, Natural Resources Faculty, Urmia University, Respectively

(*- Corresponding Author Email: m.zargaran@urmia.ac.ir)

northeast direction, which demonstrated the direct influence of wind on the orientation and distribution of the European oak leaf roller population. Results obtained in 2014 and 2015 showed that orientation and distribution of the European oak leaf roller can be influenced by wind direction and temperature.

Keywords: Damage, Density, Forest, Pest



Study of Some Ecological Factors on Seed Germination of Johnsongrass (*Sorghum halepense* (L.) PERS.)

M. Mojab¹- M. Hosseini^{2*}- M. Karimian Klishadrokh³

Received: 06-06-2016

Accepted: 12-06-2017

Introduction: Johnsongrass (*Sorghum halepense* (L.) PERS) is one of the most controversial and problematic weed. It damages more than 30 different crops over 53 different countries. *S. halepense* (L.) is a perennial weed reproducing by seed and rhizome. Since it produces many seeds and rhizomes, it is difficult to control. A weed germination plays an important role in attaining a proper establishment in a typical agro-ecosystem and its trend is adjusted by some environmental factors such as light, temperature, salinity, pH and soil moisture. Considering the pattern of germination and emergence of weed species, it will be expected to provide the comprehensive information to develop weed management strategies in the future. Thus, the main purpose of current research was to evaluate the breaking methods of the seed dormancy. In addition, the effects of several environmental factors comprising constant and alternative temperature, light, salinity, drought stress, and burial depth on germination and seedling emergence of Johnsongrass were assessed.

Materials and Methods: Seeds of Johnsongrass (*S. halepense* L.) were collected in June 2013 from plants located at the farmlands of the agriculture research in Zarghan, Fars province. The breaking dormancy consisted five different experimental treatments: (1) six levels of scarification with 95-98% sulfuric acid (4, 8, 15, 30, 45, and 60 minutes), (2) soaked seeds in the water for 48, 72, and 96 hours, (3) heated up seeds in a 95- 98 boiling water for two and five minutes, (4) chilled seeds in 3 °C for 15, 30, 45, and 60 days, and (5) stored seeds in 3 and 12 months after harvesting, compared with control treatment. 25 seeds were transferred into the incubators to identify a suitable temperature and light regime for subsequent experiments of germination which was determined under two modes of alternative day/night temperatures (15/5, 20/10, 25/15, 30/20, and 35/25 °C) and constant temperature over day/night (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, and 45 °C). The salt and osmotic potentials were applied in 0 (control), -1, -3, -5, -7, -9 and -11 levels for the experiment seeds to survey the stress of salt and drought on seed germination and compare both stresses on it. NaCl was applied based on the Vant Hoff method to establish the salt stress and PEG 6000 was exploited according to the Michel method to affect osmotic potentials and create drought stress. In the burial depth experiment, a number of 30 seeds, for 30 days, were laid in the depth of 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, and 8 cm in the plastic vases with 15 cm diameters. All experiments were conducted twice in the form of randomized complete-block design with four replications. Each replication was arranged on a different shelf of growth chamber and considered as a single block in the laboratory experiments. The data of the replicated experiments were pooled for analysis, since the time interaction and treatment was statistically insignificant. A functional three-parameter logistic model was fitted to the germination values (%) obtained at different concentrations of NaCl or osmotic potential. A sigmoidal decay curve was also fitted to show the seedling emergence (%) values at different burial depths.

Results and Discussion: Various treatments of breaking dormancy was influenced seed germination differently. This is worth to mention that sulfuric acid treatments of 30, 45, 60, 15 and 4 minutes carried out in the five most dominant percentages on the seeds germination which in 30 and 45 minutes sulfuric acid scarification, germination was recorded more than 95%, sulfuric acid treatments had therefore significant effect on germination rather than other treatment. Compared with control in the issue of germination percentage, all sulfuric acid treatments and chilling for 45 days were higher than control. Moreover, boiling could not induce breaking of dormancy. According to the results, germination was prevented or declined owing to the hard seed coat and weed thus remained stable in seed bank. No statistically significant difference was observed when germination percentages were compared with temperature-light regime interaction (both in constant and alternative) or light regime alone (light/dark and dark), but the influence of both temperature modes (constant and alternative) on the rate of germination was significant. In other words, the germination percentages were identical in light/dark and dark regimes while by increasing the temperature (in both temperature modes), the final germination percentage raised in both light regimes. In both light regimes, at 25/15, 30/20, and 35/25 °C (day/night), germination was recorded more than 95%. Moreover, the maximum and minimum germination

1- Lecture, Department of Agriculture Science, Payame Noor University, IR, Iran

2- Ph.D Student of Weed Science, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad (*- Corresponding Author Email: M57M60@yahoo.com)

3- Esfahan Payam Nour University, Unit of Pirbakran, Esfahan, Iran

percentages in light/ dark regime were recorded in alternative temperature obtained for 30/25 °C (99.5%) and 15/5 °C (35.5 %), respectively. Over the range of 25-45 °C, the germination rate was also more than 90%. In addition, the maximum and minimum germination percentage in light/ dark regime were found in 25 °C (99%) and 5 °C (0%), respectively. Johnsongrass seeds were not influenced by light. Therefore, these seeds were not photoblastic species and the germination percentage cannot be handled through light and temperature has greater importance relative to light. The statistical analysis revealed that by increasing the salinity, the germination percentage was significantly decreased. The germination percentage was 99% for control (maximum), 19% for -11 osmotic potential (minimum), and X_{50} for -9.62 osmotic potential. The pace of germination followed aforementioned trend, 0.21 *seed/h* for control and 0.0004 for -11 osmotic potential. These findings imply that Johnsongrass seeds are resistant to the salinity stress which is crucial for drylands and semi-arid climates.

The results of drought stress were almost identical to that of salinity. The germination percentage was 99% for control (maximum), 0% for -11 osmotic potential (minimum), and X_{50} for -9.13 osmotic potential. The deeper the seedling planted, the fewer emergence occurred. The emergence at the surface of the soil (zero depth) was 83.33% and in depth of 3 cm was 100%. The minimum emergence (18.35%) was observed in depth of 8 cm. With an increase in 3 cm burial-depth, the seedling emergence decreased to 81.65%. According to the fitted sigmoid model, the depth causing a decrease for the maximum 50% seedling emergence was 5.86 cm implying that tillage more than 6 cm can reduce germination and emergence of this species and is beneficial for its management. The decrease in seedling emergence by increasing buried depths may be linked to the seed energy.

Conclusions: The results indicated that Johnsongrass hard seed can tolerate several environmental factors e.g. boiling, soaking, prolonged harvesting and partly chilling. Further, light intervention solely cannot break the dormancy. The species can withstand inappropriate high and low temperature conditions and germinates more than 90% once the condition particularly in terms of temperature becomes suitable. In addition, the deeper the depth, the lesser the seedling emergence was. Consequently, one of the best methods of controlling this weed is to till the field over 6 cm.

Keywords: Burial depth, Light, Osmotic potential, Salinity, Scarification



Evaluation of Relative Resistance in Thirty Dwarf Mahaleb Genotypes to Four Phytophthora Species in the Greenhouse and Garden

M. Hajian Shahri^{1*} - E. Ganji Moghaddam² - H. Afzali³

Received: 18-07-2016

Accepted: 01-05-2017

Introduction: The best cherry rootstock for Iranian nurseries and orchards is *Prunus mahaleb* (L.) Mill. Mahaleb is tolerant to lime-induced iron chlorosis and zinc deficiency. It is a good rootstock on light, calcareous soils and arid climates in Iran but sensitive to Phytophthora. Iran represents a significant source of germplasm of different fruit species, especially for those from the genus *Prunus*. Collection and research on *P. mahaleb* were initiated at the Horticultural Department of Khorasan Razavi Agriculture and Natural Resources Research and Education Center in 1997 for mahaleb cherry rootstock. Some researchers have reported pathogenicity of Phytophthora species (Banihashemi and Sartipi, 2004; Wilcox and Mircetich, 1985; Exadaktylou and Thomidis, 2005; Tomidis *et al.*, 2008). This study was conducted to evaluate the susceptibility of 30 selected dwarf Mahaleb genotypes to *P. nicotianae*, *P. citricola*, *P. cactorum* and *P. citrophthora* under greenhouse and orchard conditions.

Material and Methods: In this study, the response of 30 selected dwarf Mahaleb genotypes (188, 171, 165, 162, 161, 155, 139, 136, 131, 120, 106, 104, 101, 100, 90, 194, 195, 199, 200, 224, 228, 247, 249, 265, 266, 267, 268, 270, 272, 277) to disease caused by four species of the fungus Phytophthora root and crown rot were investigated under greenhouse and orchard conditions. Greenhouse experiments were performed based on Ribeiro and Baumer, 1977 and modified it by Feichtenberger *et al.*, 1984. For evaluation, the index disease was performed based on the method of Broadbent and Gollnow 1992. Orchard trials were laid out in the Toragh research station in Mashhad. Evaluation of genotypes and contamination based on Tomidis, 2001 was performed by measuring the area of necrosis.

Results and Discussion: In evaluating the reaction of young seedling dwarf mahaleb genotypes to four Phytophthora species under greenhouse conditions, results showed that four species of Phytophthora pathogens on all mahaleb genotypes but *P. citricola*, *P. cactorum* showed disease severity than *P. citricola*, *P. nicotianae*. In response assessment test seedlings in the greenhouse genotypes, Mahaleb highest rate of infection to *P. cactorum* in genotype 277 and the lowest index of disease severity showed in genotypes 100, 188, 199, 200, 224 and 266, respectively. The highest and lowest number of leaves was counted on 199, 272 and 277 respectively. The least and highest shoot dry weight were related to 277 and 100 genotypes respectively. The maximum and minimum disease severity to *P. citrophthora* revealed in 265 and 265, 100, 188, 194, 199 genotypes, respectively. The highest and lowest number of leaves was counted on 188 and 249 respectively. The least and highest shoot dry weight were related to 249 and 100 genotypes respectively. The least and highest root dry weight was measured on 265 and 100 genotypes, respectively. In response assessment test seedlings in the greenhouse genotypes, Mahaleb highest rate of infection to *P. citricola* in genotype 265 and the lowest index of disease severity showed in genotypes 100, 162, 171, 188, 199, 200, 224, respectively. The highest and lowest number of leaves were counted on 100 and 277, 272 respectively. The least and highest shoot dry weight were related to 272 and 100 genotypes respectively. The least and highest root dry weight were related to 277 and 100 genotypes respectively. The highest rate of infection to *P. nicotianae* in 120 genotype and the lowest index of disease severity were related to the genotype of 188 and 199. The highest number of leaves in genotype No.100 and the lowest number of leaves were belonging to genotypes 272 and 277, respectively. The least and highest shoot dry weight were related to 247 and 100 genotypes respectively. The least and highest root dry weight were related to 265 and 100 genotypes respectively. The results of the assessment of the two-years-old seedlings mahaleb genotypes under orchard conditions showed that four Phytophthora species had different degrees of disease symptoms. Phytophthora species in their ability to create the symptoms are different. The lowest level of

1 and 3- Assistant Professor and Research Assistant, Plant Protection Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran

(*- Corresponding Author Email: Mhag52570@yahoo.com)

2- Associate Professor, Crop and Horticultural Science Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran

necrosis is created by *P. cactorum*. The highest and lowest levels of necrosis of *P. cactorum* were measured in 267 and 162 genotypes, respectively. In *P. citrophthora*, the highest and lowest levels of necrosis were measured in 277 and 188 genotypes, respectively. The highest and lowest levels of necrosis of *P. nicotianae* were measured in 272 and 188 genotypes, respectively.

Conclusion: The results of the assessment Mahaleb genotypes to four species of Phytophthora in the orchard showed that the lowest level of tissue necrosis in genotypes of 106, 139, 162, 188, 195, 224, 266 and 270, respectively. Finally, our results revealed that *P. citricola*, *P. cactorum* were pathogenic Phytophthora species and three mahaleb genotypes (266, 224 and 188) had highest potential resistance to *P. nicotianae*, *P. citricola*, *P. cactorum* and *P. citrophthora* respectively.

Keywords: Cherry, Root and Crown rot, Rootstock



Negative Cross Resistance in Atrazine Resistant Junglerice (*Echinochloa colona* (L.) Link) Populations in Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Fields

E. Elahifard^{1*}- N. Shamshirgarzadeh²- A. R. Abdali Mashhadi³-M. R. Moradi Telavat⁴

Received: 01-10-2016

Accepted: 12-06-2017

Introduction: In negative cross-resistance, herbicide-resistant plants being more sensitive to herbicides than susceptible plants. Negative cross-resistance to other herbicides have been found in triazine-resistant biotypes of weeds. These biotypes are more sensitive to phenylurea group of herbicides, as well other herbicides of triazine group. Also, negative cross-resistance has been reported to bentazone for *Brassica napus* L., and *Amaranthus retroflexus* L., and to pyridate for *B. napus*, and *Epilobium ciliatum* Raf.. Furthermore, positive cross-resistance to bentazone has been found in *Chenopodium album* L., and *Solanum nigrum* L.. The goal of this study was to search for herbicides that exert negative cross-resistance at the whole-plant level in order to control atrazine-resistant populations of junglerice in sugarcane fields.

Materials and Methods: Suspected resistant and susceptible seeds of junglerice to atrazine were collected from sugarcane fields and adjacent areas to Karun Agro-Industry Inc., Shushtar, southwestern of Iran at 2014 - 2015 growing season. These populations were named according to their status and abbreviated as follows: R1, R2, R3 and S (susceptible population). All collected seeds (R- and S-populations) were stored at room condition (25 °C). Herbicides used in this study were tebuthiuron (0, 10, 20, 100, 200, 1000, 2000, 10000 ml ai ha⁻¹), linuron (0, 10, 100, 160, 1000, 1600, 10000 ml ai ha⁻¹), diuron (0, 10, 30, 100, 360, 1000, 3600, 10000 g ai ha⁻¹) and diuron + hexazinone (0, 10, 24, 100, 240, 1000, 2400, 10000 g ai ha⁻¹). For the pre-emergence application treatment, 10 seeds were sown in 500-ml plastic pots containing clay:sand mix. Then, herbicides were applied using a back pack sprayer with flood nozzle calibrated to deliver 350 lit ha⁻¹ to the suspected resistant and susceptible junglerice populations on one day after sowing. Plants were thinned to four plants per pot. The aboveground biomass was harvested on 28 days after treatment, dried at 75 °C for 48 h, and weighed. Data were expressed as a percentage of the untreated control. The experiment was a completely randomized block design with four replications and was repeated. The data were analyzed using nonlinear regression model in R software (drc package). Three or four parameters log-logistic equation was fitted to the observed data to describe the response of populations to herbicides; susceptible population was considered as an index in order to compare the resistance levels of the populations.

Results and Discussion: The result of screening test showed that three populations were resistant to atrazine. The results of dose-response analyse for atrazine revealed that resistance factor (RF) for R1, R2 and R3 populations were 12.26, 6.59 and 3.75 based on fresh weight (% of control) and 5.37, 4.22 and 4.71 based on number of survival plants (% of control), respectively. ED₅₀ values of R1, R2 and R3 populations were 36.85, 73.01 and 41.71 ml ai ha⁻¹ of tebuthiuron compared with 44.42 ml ai ha⁻¹ in S-population. RF values in the R1, R2 and R3 populations were 0.80, 1.53 and 0.72 of tebuthiuron, respectively. ED₅₀ values of the R1, R2 and R3 populations were 92.76, 107.73 and 106.84 ml ai ha⁻¹ of linuron compared with 152.51 ml ai ha⁻¹ in S-population. RF values of the R1, R2 and R3 populations were 1, 1.89 and 3.26 of tebuthiuron, respectively. ED₅₀ values of the R1, R2 and R3 populations were 74.21, 95.25 and 69.80 g ai ha⁻¹ of diuron compared with 79.03 g ai ha⁻¹ in S-population. The RF of the R1, R2 and R3 populations were 0.97, 0.85 and 1.18 of diuron, respectively. The ED₅₀ values of the R1, R2 and R3 populations were 62.11, 49.48 and 54.30 g ai ha⁻¹ of diuron+hexazinone compared with 88.72 g ai ha⁻¹ in S-population. RF values of the R1, R2 and R3 populations were 0.62, 0.68 and 0.52 for diuron+hexazinone, respectively. The results showed negative cross resistance to tebuthiuron, linuron, diuron and diuron + hexazinone in the resistant populations.

Conclusions: In present study, the R2 population was the most sensitive to diuron+hexazinone in comparison to other populations (RF = 0.56). The resistance of other populations treated with this herbicide was lower than other herbicides. Therefore, this mixture can alone control a wide range of weeds and is more reliable than herbicides that are used alone. Mixing herbicides both economically and environmentally, will reduce cost less than each time they are applied individually. Therefore, this mixture is recommended for controlling atrazine

1, 2, 3 and 4- Assistant Professor, M.Sc. Graduate, Associate Professor and Assistant Professor of Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agriculture, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khouzestan, Respectively

(*- Corresponding Author Email: e.elahifard@ramin.ac.ir)

resistant weeds in sugarcane fields. Negative cross resistance may be the major reason that resistance to atrazine do not evolve where herbicide mixtures were used, when the mixed herbicide (usually a non-PS II inhibiting acetanilide) also controlled triazine-sensitive weeds.

Keywords: Dose-response analyse, Mixed herbicides, Phenyl urea herbicides



Screening of Cucumber Cultivars Resistant to Powdery Mildew and Comparative Assessment of Chlorophyll Fluorescence in Resistant and Susceptible Cultivars

N. Moradi¹- H. Rahimian²- A. Dehestani^{3*}- V. Babaeizad⁴- Y. Yaghoubian⁵

Received: 01-10-2016

Accepted: 08-07-2017

Introduction: Cucumber is one of the most important vegetables in Iran which is extensively affected by fungal pathogens. Powdery mildew caused by *Sphaerotheca fuliginea* is distributed in both field and greenhouse cucumber cultures in almost all environmental conditions worldwide. In addition to several methods used to control the disease e.g. chemical, biological, agronomic and integrative methods, identification and application of disease resistant germplasm is an effective and environmentally safe method for controlling the pathogen. Screening of the resistant and susceptible germplasm can be performed by disease index estimation by visual evaluation of disease symptoms as well as by monitoring the agronomic, metabolic, biochemical and physiological parameters such as leaf chlorophyll fluorescence emission alterations. In the present study, 23 cucumber cultivars were evaluated for resistance to cucurbits powdery mildew caused by *S. fuliginea* using visual assessment of disease symptoms and five cultivars assigned as resistant, tolerant and susceptible genotypes were further assessed in terms of leaf chlorophyll fluorescence emission and related photosynthesis parameters.

Materials and Methods: Cucumber cultivars were grown in plastic pots in three replicates in controlled environmental condition. The foliar spray method was employed for plant inoculation using *S. fuliginea* inoculum suspension prepared from freshly sporulating leaves. Disease evaluation and measurements were started 10 days after inoculation and continued for 20 days, and the means of the three measurements were used for each replication for percent disease index (PDI) calculation for each cultivar. The cultivars were then compared, classified and screened for resistance to the pathogen based on the PDI results. For assessing the effect of infection on photosynthesis apparatus, five cultivars were chosen as resistant, semi-resistant and susceptible groups and were further studied by measuring leaf chlorophyll fluorescence and the related parameters including minimal fluorescence (F_o), maximal fluorescence (F_m), variable fluorescence (F_v), maximum photochemical quantum yield of PS II (F_v/F_m), Quantum yield of photochemical energy conversion in PS II [$Y(II)$], Quantum yield of regulated non-photochemical energy loss in PS II [$Y(NPQ)$], Quantum yield of non-regulated non-photochemical energy loss in PS II [$Y(NO)$] and non-photochemical Chlorophyll fluorescence quenching (NPQ). The data were analyzed using MS-Excel 2013 and SAS 19.1 software.

Results and Discussion: Based on the results of PDI measurements, the cultivars were grouped into resistant, semi-resistant or tolerant, semi-susceptible and susceptible. Two highly resistant cultivars i.e. CLE and Green Magic were identified with PDIs of 7.78 and 8.33, respectively both belonging to greenhouse cultivars. This is while most of the field cultivars were among susceptible and semi-susceptible groups and none was resistant.

The two highly susceptible cultivars Super N3 and Beit Alpha with PDIs of 31.67 and 31.11, respectively, were also belonged to field cultivars. The two highly resistant cultivars CLE and Green Magic comparatively showed less damage at later growth stages and no considerable damages were observed at the upper parts including leaves, stems, and fruits. The results of the chlorophyll fluorescence emission of five cultivars indicated that the infection significantly affected three chlorophyll fluorescence parameters including; minimal fluorescence (F_o), variable fluorescence (F_v) and vitality index i.e. maximum quantum yield of photosystem II

1 and 3- Ph.D. of Plant Biotechnology and Assistant Professor, Genetic and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran, Respectively
(*- Corresponding Author Email: a.dehestani@gmail.com)

2 and 4- Professor and Associate Professor, Department of Plant Pathology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran, Respectively

5- Ph.D. of Agronomy, Genetic and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

(Fv/Fm) ($P < 0.01$) while the other parameters were not significantly affected by the infection.

The F_o parameter was increased while Fv and Fv/Fm were declined significantly in infected compared to healthy leaves of susceptible but not those of resistant cultivars showing a significant damage to photosynthesis apparatus of susceptible cultivars. Fv/Fm is known as vitality index and is extensively used as a reliable index indicating the damages to photochemical centers. Alteration of chlorophyll fluorescence parameters, particularly vitality index (Fv/Fm), has been reported in many plants infected with fungal pathogens so that these parameters have been identified as reliable tools for early detection of plant-microbial pathogen infections. Overall, cultivars CLE and Green Magic were highly resistant to the infection compared to other cultivars when assessed using either PDI measurement or chlorophyll fluorescence parameters. Conclusively, since the experiment was performed in a pathogen desired condition, growing identified resistant cultivars is expected to control the disease with less or even without using chemical methods but using integrative methods if needed.

Conclusions: Considerable variation between cucumber cultivars was observed in terms of resistance to powdery mildew caused by *S. fuliginea* and two highly resistant cultivars were identified. Greenhouse cultivars were comparatively more resistant to the infection and the two most resistant cultivars i.e. Green Magic and CLE belonged to greenhouse cultivars. The analysis of leaf chlorophyll fluorescence emission revealed photosynthesis apparatus damage in the infected compared to the healthy leaves of the susceptible cultivars but it was not significantly affected in the resistant cultivars. Finally, Analysis of chlorophyll fluorescence emission can be suggested as a tool for early detection of powdery mildew disease and for screening and classification of plant germplasms in response to the pathogen.

Keywords: Percent disease index, Photosynthesis, Photosystem II, Vitality index



Effect of Organic Manure on Sugar Beet Cyst Nematode Population Densities of *Heterodera schachtii* Schmidt 1871

N. Helalat¹- M. Nasr Esfahani^{2*}- M. Olia³

Received: 01-10-2016

Accepted: 28-08-2017

Introduction: Sugar beet cyst nematode (SBCN), *Heterodera schachtii* Schmidt. 1871, marked as one of the most damaging disease of sugar beet worldwide. This is also an important disease of sugar beet in Isfahan Province with a plenty of irreversible damages to the value of this product. Thus, the nematode infested fields for cultivation in the province and the country are threatened. This nematode has a wide host range, over 218 plant species from 95 genera, belonging to 23 families including field crops, ornamentals and weeds. The SBCN management strategies are a long-term crop rotation considering use of catch crops, early planting and using nematicides. In general, the best method reported to control SBCN is a 3 to 7-year rotation with non-host plants. In addition, farm manuring had a positive effect on controlling potato golden cyst nematode. Assessing the effects of vermicomposting and non-organic fertilizers revealed that free-living nematodes in the population index were highest in the vermicompost treatments.

Materials and Methods: Firstly, the initial population of SBCN in the infested soil was determined. Then, 200 g of soil taken from several samples collected from every plots, which was air dried and the cysts were extracted. The employed organic matters were poultry manure at 10, 20 and 40 t/ha compost fertilizer by municipality of Isfahan wastes, vermicompost, waste cabbage leaves and farm manure (cow manure). Reproductive factors and the percent of decrease or increase in SBCN populations in each treatment were calculated relative to the initial population of the same treatment. The comparison of means was done by Duncan tests. For the Greenhouse experiments, the same treated soils for the field experiments were poured into the clay pots with a capacity of 5 kg of soil. At harvesting time, the produced beets in the plots were weighted, and the beet samples for determining of sugar percentage and the important elements were sent to sugar factory for further analyses. The analysis of variance was performed using SAS software and comparison method.

Results and Discussions: The initial population of SBCN was 4.85 eggs and larvae per gram of soil, before the implication of the field treatments. There were 92.40 and 88.44% reductions in SBCN final population for the poultry manure at the rate of 40 and 20 tons per hectare, respectively. Variance analysis of reproduction factor showed that there was a significant difference between the treatments. Poultry manure 40 t/h with 0.14 eggs and larvae per gram of soil was the lowest one in reproduction factor, with a high significant effect in other treatments and control groups. Followed by poultry manure 20 t/h, compost 015, 60 ha, poultry manure 10 t/h and compost 08, 60 t/h, were in the next category with a significant effect. The results indicated that sugar content and other indices showed significant differences between the various treatments. Poultry manure 20 and 40 t/h, with the yield of 27.55 and 26.93 t/h, in a statistical group had the maximum production amount and were the most effective treatments for the assessed factors including final population, reproduction, multiplication rate and reduction percentage in SBCN, *H. schachtii* compared to other treatments and the checks. It can be concluded that chicken manure reduced the population of *M. incognita*, *Hoplolaimus columbus* and *Pratylenchus penetrans* in brinjal. Application of chicken manure was also very effective to control the root-knot nematodes and even caused IGR in tomato production.

Conclusion: It was found that the use of organic matters, chicken manure, municipal compost, vermicompost, waste cabbage leaves and farm manure in different amounts can control the SBCN population. Application of chicken manure at 20t/ha seems to be an optimal amount to economically control SBCN. Furthermore, composts 015 and 08, vermicompost, farm manure and waste cabbage leaf at 40 to 60t/h, appears to be economically applicable. All suggested materials can be used in intervals for SBCN control and or in integration with other methods such as crop rotation, disease scape, resistant and or tolerant sources and etc.

Keywords: Cabbage leaves, Compost, Farm and poultry manure, Vermicompost

1 and 3- Master's and Associate Professor of Department of Plant Protection, Shahrekord University

2- Associate Professor, Plant Protection Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center (AREEO), Isfahan, Iran

(*- Corresponding Author Email: mne2011@gmail.com)



Molecular Identification of 8-ketoTrichothecene Producing Fungi in Madder Seeds and Detection of Their Deoxynivalenol Synthesis Gene Using PCR

S. A. Esmailzadeh Hosseini^{1*}- M. Dehghani Ashkezari²- M. Abedi-Tizaki³

Received: 01-10-2016

Accepted: 30-08-2017

Introduction: Madder plant with the scientific name of *Rubia tinctorum* (a member of Family *Rubiaceae*) is one of the most important crops used for medical and industrial applications, is widely cultivated in Yazd province, Iran. Madder root is widely applied in the dyeing industry. Cultivation of these plants is rather common in Europe and Asia. In Iran madder was cultivated in ancient times in Tabriz, Urmia, Arak, Yazd, and Fars but nowadays it is cultivated mainly in different cities in Yazd province especially in Bafq and Ardakan. The madder plant's roots contain different polyphenolic compounds, such as 1,3-Dihydroxyanthraquinone (purpuroxanthin), 1,4-Dihydroxyanthraquinone (quinizarin), 1,2,4-Trihydroxyanthraquinone (purpurin) and 1,2-dihydroxyanthraquinone (alizarin).

The madder can grow up to 1.5 m in height. Their leaves produced in whorls of 4–7 star like around the central stem with approximately 5–10 cm long and 2–3 cm wide. Its flowers are small with five pale yellow petals in dense racemes followed by red to blackberries. The roots can be over a meter long, up to 12 mm thick and the source of red dyes known as rose madder. Several factors such as fungal diseases during planting and harvesting period infect madder plants. These factors, in addition to causing damage to madder plants reduce the quality and quantity of color obtained from roots. Many of these fungi are associated with madder seeds and infect plant after cultivation. Some fungi infect leaves and stems of madder. Some of these fungi such as *Fusarium*, *Aspergillus*, and *Penicillium* are associated with madder seeds and in addition to a role as phytopathogenic fungi produce dangerous mycotoxin effective on color quality of madder. So far from the aerial parts of the madder plants such as leaves and stems, several fungi were reported. *Septoriarubiae* and *Sporonema punctiforme* were reported as leaf spot agents. Furthermore, *Pleospora chlamydospora* and *Sporonea punctiforme* were isolated from *Rubia* spp. *Fusarium* species is one of the most abundant fungi that are able to produce hazardous mycotoxin especially trichothecenes in the different growth stage of Madder. *Fusarium* mycotoxins are among the main fungal mycotoxin contaminations in food and feed, and some human diseases, such as Kashi neck diseases and esophageal cancer, have been epidemiologically associated with consumption of trichothecenes. The most predominant trichothecenes found in crops are 8-keto trichothecenes (type B trichothecenes). Based on the production and chemical structures of different 8-keto trichothecenes, several trichothecene mycotoxins were identified that includes nivalenol (NIV), 4-acetyl nivalenol (4-AcNIV), deoxynivalenol (DON), 3-acetyldeoxynivalenol (3-AcDON) and 15-acetyldeoxynivalenol (15-AcDON). There is a little knowledge about seed madder microflora and given that the fungi with madder seeds can reduce the power of viability, seedling and ultimately damage the quality and quantity of products, the present study was aimed to the identification of fungi associated with seed madder and also fungi toxin-producing especially *Fusarium* species.

Materials and Methods: During 2012, sampling was carried out from seeds of madder in important planting areas in Yazd province, including Bafq and Ardakan. After culturing, fungal isolate was purified in potato dextrose agar (PDA), carnation leaf agar (CLA), and CY20S (Czapek Yeast Extract Agar with 20 sucrose) media. *Fusarium*, and *Aspergillus* species were identified by valid keys identification. The *Fusarium* isolates were grown in liquid potato dextrose broth medium and total genomic DNA was extracted using the CTAB method. Molecular identification of *F. equiseti*, *F. semitectum* and *F. poae* was performed using specific-species primers FEF1/2, SEM-1/2, and FpoF/R. Detection of fungi mycotoxins producing potential such as Deoxynivalenol (DON) using Tri13 primers was done. High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to confirm the produce NIV mycotoxins potential in *Fusarium* species.

Results and Discussion: 249 fungal strains were isolated from madder seed belonging to 6 genera of fungi including *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Rhizoctonia solani* and *Rhizopus*

1, 2 and 3- Members of Medical Biotechnology Research Center, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Ashkezar, Yazd, Iran, Respectively

(*- Corresponding Author Email: saesmailzadeh@iripp.ir)

spp., which *Fusarium* isolates with 71 percent was the most frequency among fungi isolated. Among *Fusarium* fungi isolated, *F.solani* (55 isolates) and *F.oxysporum* (41 isolates) were the most frequency. *F. poae*, *F. semitectum*, and *F. equiseti* ability to produce mycotoxins such as Deoxynivalenol (DON) that are harmful to human health and animals as well as the effect on the yield of madder. *Tri13* gene involved in production DON was detected in three *Fusarium* species (*F. poae*, *F. semitectum* and *F. equiseti*). The results of HPLC showed that all studied *Fusarium* fungi, have the potential to produce DON mycotoxins. The results of this study showed that fungi associated with seeds madder are able to produce 8-keto trichothecene mycotoxins that they can be dangerous for consumers.

Conclusions: Given that, this is the first report of fungi mycotoxins producing on seeds madder in Yazd province, thus should be measured to control and reduce fungal agents in these products.

Keywords: Mycotoxin, *Rubia tinctorum*, Yazd



Studying the Insecticidal Effects of *Melia azedarach* and *Citrus limonum* Extracts on Greenbug (*Schizaphis graminum* Rondani) and Cabbage Aphid (*Brevicoryne brassicae* L.)

M. Pahlavan Yali^{1*} - M. Mohammadi Anaii²

Received: 01-10-2016

Accepted: 20-09-2017

Introduction: Canola (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) are the most principal crops that play a major role in the development of edible oil and world's population food, respectively. The greenbug, *Schizaphis graminum* and cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*, are the main aphid pests of wheat and canola, respectively. They can restrict considerably the production of these crops through direct feeding or via transmission of plant pathogenic viruses. Although chemical control is the most effective and easiest way to control aphids; but this method makes problems such as pesticide residues in food and the environment and increase insecticide - resistance in aphid populations to. The utilization of plant extracts is an environmentally safe method that is used in the control of these aphids. Among these, the products of *Melia* fruit (*Melia azedarach* Linnaeus) and lemon peel (*Citrus limonum* Risso) can be noted. The negative relevance between phenolic compounds present in plant species and aphid invasion has been recorded in some aphid species. Our goal in this study was to assess the toxicity effects of *Melia* fruit and lemon peel extracts on wheat and cabbage aphids and the determination of the amount of total phenol in these plant extracts.

Materials and Methods: This research was conducted in a growth chamber (temperature $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $65 \pm 5\%$ RH and a photoperiod of 16L: 8D). *Schizaphis graminum* and *B. brassicae* were reared on wheat (Pishtaz cultivar) and canola (Hyola401 cultivar), respectively. The extraction of *Melia* fruit and lemon peel was prepared. Then the contact toxicity bioassay was done to evaluate the insecticidal effects of these extracts on wheat and cabbage aphids based on completely randomized design. The leaves of wheat and canola plants was treated by one microliter sampler using topical method. In this study, three different concentrations of each extract (10, 50 and 80 $\mu\text{g/ml}$) was applied. Thereafter the leaves individually were placed on agar gel 0.7% in Petri-dishes with 6 centimeter diameter. After that, the same instars of *S. graminum* and *B. brassicae* were released in Petri-dishes (20 aphids in each Petri-dish) separately. The number of dead nymphs was recorded after 12, 24 and 36 hours after releasing. This experiment was performed for each treatment in three replications. Furthermore, the amount of phenolic compounds in two extract samples (*Melia* fruit and lemon peel) was determined by Folin Ciocalteu method, and the absorbance was measured at 725 nm by Spectrophotometer. So that the amount of 150 g of each plant powder was mixed in an Erlen which contained 500 ml of ethanol 90%. The lid of Erlen was sealed with parafilm and after 5 minutes mixing, the contents of the Erlen were kept in the refrigerator inside an aluminum foil for 24 hours to avoid them from exposure to light. After the time, the plant extract was separated by filter paper and after several hours, evaporation of the solvent was performed under laboratory hood to provide pure extract. The solid extract was stored in a refrigerator for a short time at 4°C . For each test, the extract was diluted with distilled water and the concentrations were prepared. The lethal effects of two tested extracts for each of aphid species (in each tested concentration and time period) were analyzed using T-test using SPSS v22 software. Variables of the mortality percent in three different concentrations and amount of total phenolic compound were evaluated by one-way analysis of variance. The comparison of differences between treatments means was performed using Tukey's test ($P < 0.05$).

Results and Discussions: The results indicated that the extract of *Melia* fruit in 50 and 80 $\mu\text{g/ml}$ concentrations had significantly higher mortality rate on both the species of aphid compared with that in the lemon peel, after 12 and 24 h. Also, ethanolic *Meliae* extract in 80 $\mu\text{g/ml}$ concentration after 36 h, caused 100% mortality on two aphid species, which was significantly higher than that in the lemon peel extract. This could be due to differences in the amount of secondary compounds such as total phenol content. In the present study, the amount of total phenolic compounds was higher in *Melia* extract ($2.74 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$) in comparison with lemon peel ($1.79 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$), indicating more sustainable of the aphids to the lethal effects of *Melia* extract. Based on the results, the different concentrations of the extracts had significant effects on mortality percentage of the

1 and 2- Assistant Professor and M.Sc of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman
(*- Corresponding Author Email: mrmpahlavan@gmail.com)

wheat and the cabbage aphids. Comparison of the effect of the different concentrations of the insecticides showed that mortality of the aphids were dose - related. In addition, the mortality percentage of the wheat aphids was higher than the cabbage aphids, probably due to the presence of wax on the surface of *B. brassicae* body. This research could provide valuable information for the production of healthy and organic crops using non-chemical control of *S. graminum* in wheat fields and *B. brassicae* in canola fields.

Keywords: Concentration, Phenol, Plant secondary Metabolite



Introduction of Diflubenzuron (Dimilin SC 48 % ®) Against Codling Moth, *Cydia pomonella* L. (Lep.: Tortricidae)

M. V. Taghaddosi^{*1}- M. R. Moeini²- H. Kaamli³- Q. A. Akbarzadeh Shokat⁴- R. Koliaei⁵

Received: 05-11-2016

Accepted: 08-07-2017

Introduction: Codling moth, *Cydia pomonella* L. is the most distributed insect pest of pome fruits as well as walnut over the world including Japan, Korea and West Australia. Based on the recorded data codling moth management has been possible using broad-spectrum insecticides but due to emergence of resistance to insecticide of D.D.T. and other chlorinated insecticides, application of phosphorous insecticide have been developed extensively since the mid-1950s worldwide. The studies of codling moth management in Iran dates back to 1966 when Esmaeili and Davatchi registered the efficiency of Diazinon (Bazodin®) in the control of the pest. The population trend of the moth with emphasis on the number of generations per year, diapause date of the overwintering larvae as well as impact of the temperature on the pest along with host plant loss assessment and sprays timing were investigated. Meanwhile, chemical control using insecticides of azinphous methyl (Gozathion M®), Fozmet (Imidan®), Fozalon (Zolon®), Fenprothrin (Danithol®), Thiaclopride (kalipso®) and Chlopyrifos methyl (Reldan®) have been documented. Regarding the reports of codling moth and leaf rollers resistance to organic phosphorous insecticides as well as appearance of resistance in secondary pests such as aphids, leafhoppers, and miners in western orchards of America, it is of great importance to look for new insecticides (34). Diflubenzuron (Dimilin® SC48%) being the first chitin synthesis inhibitor which was introduced to market as new insecticide with trade name of Dimilin. It belongs to insect growth regulators (IGR) insecticides and its mode of action on the target insects is different from the others; its main component, Diflubenzuron, interferes the process of the molting hormone synthesis. The efficiency of Dimilin® (SC48%) on the codling moth has been confirmed in different studies. It is a selective insecticide which has no side effect on the non-target insects and natural enemies.

Material and Methods: This trial was conducted in three regions of Iran including West-Azərbayjan (Urmia), Zanjan (Zanjan) and Northern Khorasan (Bojnord). We used a layout of RCBD with four treatment in four replications; the treatments were as follows: Diflubenzuron ((Dimilin® SC48) at dose of 0.5/1000 (Chemtura, Italy), Thiaclopride (kalipso 480 SC ®) at 0.3/1000 (Bayer, Germany), Fozalon (Zolon SE®) at 1.5/1000 (Giah, Iran) and control with no insecticide. Any plot consisted of three apple trees (yellow golden delicious) with the same age and bearing cycle. Insecticide timing was determined using the sex pheromone traps located about 200 meter out of the orchard. First spraying was performed on 18 May, 30 May, and 6 June and the 2nd spraying was applied on 15 June, 6 July, and 21 July 2010 at Bojnord, Urmia, and Zanjan, respectively. Due to different mode of action, in the Dimilin was applied three days earlier than two other compounds. Ten days after 1st spray the number of dropped fruits were counted as infected and healthy and this counting was repeated at 10-15 days intervals till the harvest time. Before harvest number of remained fruits on the tree as healthy and infected were also counted. The collected data were analyzed using statistical software of SAS (9.0) and means of the treatments grouped based on the Duncan test

Results and Discussion: The results showed that in Zanjan ($F_{df\ treat=3, df\ Error=3}=24.26$; $P=0.0001$

1 and 2- Assistant Professor and Researcher of Department of Plant Protection, Zanjan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Zanjan, Iran

(*- Corresponding Author Email: mtaghaddosi@yahoo.com)

3- Assistant Professor of Department of Plant Protection, West Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center Urmia, Iran

4- Associate Professor of Department of Plant Protection, Khorasane Razavi, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center Mashhad, Iran

5- Assistant Professor of Department of Agricultural Entomology, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran

;CV=17.86%), Urmia ($F_{df\ treat=3, df\ Error=3}=122.42$; $P<0.0001$; CV=29.84%) and Bojnord ($F_{df\ treat=3, df\ Error=3}=213.46$; $P<0.0001$; CV=16.94%) there were significant differences among the treatments; Dimilin recorded the mean infection of $2.06\pm0.42\%$, 4.02 ± 0.23 , and $7.26\pm1.40\%$ at Bojnord, Urmia, and Zanjan, respectively, denoting the least percent of infection in the first two localities; mean percent of infection in the Kalipso treatments were: 1.02 ± 0.43 , 3.00 ± 0.43 , and 9.32 ± 0.88 at Urmia, Zanjan, and Bojnord respectively whereas the same values for Zolon treatments in the same points were: 3.65 ± 0.29 , 9.58 ± 2.83 , and $12.27\pm1.64\%$. Mean infection in the control treatment at Zanjan, Urmia, and Bojnord were: 45.21 ± 3.03 , 57.37 ± 4.94 and 57.12 ± 3.08 , respectively. Based on the results, Dimilin with satisfied mortality could be recommended for codling moth management. Comparing the timing of the Dimilin in the present study (3 days earlier than phosphorous insecticides) with the published reports sprayed it at least 7 days before, implies this note that control of codling moth using the Dimilin is highly dependent on the exact timing of sprays. So, it is necessary to use monitoring traps of adult moth, detailed meteorological data and physiological status of the pest as well as phenology of the host plant to determine correct time of spraying by Dimilin.

Keywords: Chemical control, Phozalone, Thiaclopride



Prey Preference of Predatory Mite *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae) on *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) Treated and Untreated with *Beauveria bassiana*

M. Seiedy¹- M. Tork²

Received: 05-11-2016

Accepted: 30-08-2017

Introduction: *Trialeurodes vaporariorum* is an economically important pest of various crops in greenhouses. Negative impacts of insecticides such as development of resistance, undesirable effects on non-target organisms and fostered environmental and human health concerns, have encouraged the development of alternative methods of pest control by biological control agents. Use of several natural enemy species has been promoted, as a strategy to enhance management of pests in greenhouses. Based on this strategy, combinations of two or more species of natural enemies of greenhouse pests (such as aphid, two-spotted spider mite, thrips and whitefly) including predators, parasitoids, and pathogens are added to a pest-crop system. Recently, the phytoseiid *Amblyseius swirskii* has received interest as a biological control agent of whiteflies and thrips and has been commercially available since 2005. The application of entomopathogens to control certain pests may be a future alternative for solving problems of chemical resistance and environmental contamination in agroecosystems. *Amblyseius swirskii* and entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* were used as biocontrol agents of *Trialeurodes vaporariorum*. Determination of the host preference of predators in the fields when receiving signals related to either *Beauveria bassiana*-treated or -untreated pest is important. In the present study, the host preference of *A. swirskii* was investigated when the *B. bassiana*-infected and uninfected whitefly were offered to predatory mite on the leaf. The aim of the study was to understand if the predatory mite would be able to detect the presence of an entomopathogenic fungus and avoid feeding on fungus infected prey.

Materials and Methods: *Trialeurodes vaporariorum* was collected from the cucumber plants (*Cucumis sativus*) in a greenhouse in Karaj City, Alborz Province, Iran. The colony was maintained on cucumber plants in cages in greenhouse for one year. The natural enemy, *A. swirskii* was purchased from Koppert Biological systems Inc., the Netherlands. *Tyrophagus putrescentiae* (Schränk) (Acari: Acaridae) and soybean pollen were supplied twice per week as food for *A. swirskii*. *Beauveria bassiana* isolate DEBI008 was originally obtained from a *Chorthippus brunneus* Thunberg (Orthoptera: Acrididae), that had been stored in the "Pathogen Bank" at the Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. It was cultured on Sabouraud dextrose agar plus 1% yeast extract (SDAY) at 25 ± 1°C, 60–70% RH and in darkness for 10–14 days to obtain conidia. The conidia were harvested from the culture medium by adding 10 ml sterile distilled water containing 0.02 % Tween 80 by scrubbing the surface with a glass bar. The conidia suspension was filtered through moist filter paper (Whatmann® No.1). The conidial suspension was vortexed for 15 min to produce a homogenous suspension. Spore concentration was calculated using a Neubauer haemocytometer and suspension of 1×10⁵ conidia/ml was achieved through dilution in the surfactant Tween 80 (0.02 %). Conidial suspension used for experiment was less than 4 h old and was stored in refrigerator. The viability of the conidia was determined by inoculating conidial suspension on plates of SDAY which were then incubated for 18 h at 25 °C. In this research, the prey preference of adult female (2 days old) of *A. swirskii* was determined on untreated and *B. bassiana*-treated of *T. vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) in various treatments base on Manly Index. These different treatments consisted of two time intervals; 24 and 48 h post-inoculation of greenhouse whiteflies with 1×10⁵ conidia /ml of *B. bassiana* with 13 replicates. 24-h starved predators were individually added to the leaf discs and then the number of consumed uninfected and *B. bassiana*-infected *T. vaporariorum* in each Petri dish was assessed after 24 h.

Results and Discussion: The results revealed that the mean number of consumed *B. bassiana*-infected *T. vaporariorum* in following two time intervals; 24 and 48 h after inoculation were 4.15±0.19 and 2.23±0.12, respectively. This investigation showed a significant preference of the predatory mite toward uninfected whitefly at 24 (P< 0.0034) and 48 h. (P<0.0001) after inoculation. Our data analysis indicated that when the uninfected

1- Assistant Professor, School of Biology and Center of Excellence in Phylogeny of Living Organisms, College of Science, University of Tehran

(*- Corresponding Author Email: mseyedy@ut.ac.ir)

2- Staff Member of Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tehran

and the *B. bassiana*-infected whitefly were offered simultaneously, *A. swirskii* consumed more uninfected than *B. bassiana*-infected *T. vaporariorum* with interval 24 and 72 hours; because fungal control agents have the potential to negatively affect natural enemies through changing the quality of prey.

Conclusions: We concluded that the predatory mite is capable to recognize fungus-infected prey and prefers to the uninfected preys. This suggests that the predatory mite and the fungus may be compatible agents of biological control.

Keywords: Biological control, Entomopathogen, Manly's preference index (β), Natural enemies



Effect of Plant Density and Weed Interference on Yield and Yield Components of Grain Sorghum (*Sorghum bicolor* L.)

S. Sarani¹– S. Gh. Moosavi^{2*}

Received: 19-12-2016

Accepted: 08-07-2017

Introduction: Weed control is a necessary element in all crop production systems. Weeds reduce yield by competing with crops for water, nutrients, and sunlight. They also directly reduce production profit by hindering harvest operations, decreasing crop quality, and producing chemicals which are harmful to crop plants. Crop density is an efficient management tool to enhance yield by increasing competition ability of crops against weeds in getting solar radiation, which can affect development of crop-weed association. Response of yield and yield components to weed competition varies depending on crop and weeds species as well weed interference duration. The objective of this study was to evaluate the effect of different weed interference periods and plant density on the yield and yield components of sorghum.

Materials and Methods: In order to study the effects of plant density and weed interference on weed traits, yield and yield components of sorghum (*Sorghum bicolor* L. var. Saravan), an experiment was conducted as factorial based on randomized complete block design with three replications at the research field of Islamic Azad University, Birjand Branch in South Khorasan province during year of 2013. Factors consisted of plant density at three levels (10, 20 and 30 plants m⁻²) and weed interference at four levels (crop kept weed free until the end of growing season, interference until the 6-8 leaves stage, interference until the panicle emergence stage, interference until the end of growing season). Measuring traits included the panicle length, number of panicle per plant, number of panicle per m², number of seed per panicle, 1000-seed weight, grain yield, biological yield, density and dry weight of weeds per m². Weed sampling in each plot was performed manually from a square meter and different weed species counted and oven dried at 72 °C for 48 hours. MSTAT-C statistical software used for data analysis and means compared with Duncan multiple range test at 5% probability level.

Results and Discussion: Results showed that all measured traits except grain yield were significantly affected by plant density. Although the increase in plant density from 10 to 30 plants m⁻² significantly decreased panicle number per plant, number of seed per panicle and 1000-seed weight by 45.5, 16.2 and 12.3%, respectively, but significantly increased number of panicle per m² by 54.3%. This subject caused grain yield did not show significant changes as plant density was changed. Also, means comparison showed that increase in density from 10 to 30 plants m⁻² had positive significant effect on biological yield so that it increased by 56.7%. Interference treatment had significant effect on all measured traits except number of panicle per plant. 1000-seed weight, grain yield and biological yield decreased considerably by extending of weeds interference period. The highest grain yield achieved in treatment of weed free until the end of growing season which were 18.9, 47.6 and 73 % more than interference until the 6-8 leaves stage, interference until the panicle emergence stage, and interference until the end of growing season, respectively. Also, weed interference until the end of growing season of sorghum reduced biological yield by 59.9 % compared to weed free until the end of growing season. The highest weed density with 182 plants per m² was observed in interference until the 6-8 leaves stage.

Conclusions: This research showed that increase in plant density no increased significantly grain yield but change of density from 10 to 30 plants m⁻² had positive significant effect on biological yield. Moreover, the presence of weeds in farm of sorghum is inhibitor factor for maximum production. Weed interference decreased grain and biological yields of sorghum by decline in yield components and tillering. Saravan variety is a dual purpose plant; both grain and forage. It is suggested that density of 10 plants m⁻² and weed free until the end of growing season treatment for sorghum cultivation in Birjand region.

Keywords: Competition, Panicle, Weed dry weight, 1000-seed weight

1 and 2- M.Sc. Graduated and Associate Professor of Department of Agronomy, Birjand Branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran

(*- Corresponding Author Email: s_reza1350@yahoo.com)



Population Density and Parasitism of *Helicoverpa armigera* (Hubner) and *Spodoptera exigua* (Hubner) on Twelve Varieties of Tomato

H. Salehipour¹- H. A. Vahedi^{2*}- N. Moeini- Naghadeh³- A. A. Zamani⁴

Accepted: 01-05-2017

Received: 12-06-2017

Introduction: Tomato, *Lycopersicon esculentum* Miller has a special place among agricultural products. It is important as a fresh market and industrial product in agriculture. A wide range of pests and diseases causes a damage to tomato. Tomato fruit worm, *Helicoverpa armigera* (Hubner 1809) and beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner 1808) are two important pests of the Lepidoptera order, which aggress tomato. Chemical pesticide is a conventional method to control their larvae. Overusing these pesticides causes adverse side effects on the environment and human health. Biological control by predators and other natural enemies is an important component of a comprehensive pest management program (IPM). Among the natural enemies, parasitoids have special significance and can be used in biological control of pest plants. *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) is a cosmopolitan, gregarious, ectoparasitoid that attacks the larval stage of several species of Lepidoptera and is considered one of the best potential biological control agent. Study of pest density on different cultivars has an important role in choosing an appropriate method and time control, and is the basis of plant resistance. Therefore, in this study pest density and efficiency of *h. hebetor* were assessed.

Materials and Methods: Population density and larval parasitism by *H. hebetor* were examined on twelve tomato varieties including, Aras, Etminan, Rio fujio, AB2, Mariana, Gem pride, King stone, Super queen, 9704, 9706, 9553 and PS 6515 under field conditions during 2014. All experiments were conducted in a randomized complete block design. Five weeks after transplanting, sampling was performed randomly. At three-days intervals, egg, larvae and parasitized larvae of each moth were counted on different cultivars of tomato. The whole of each tomato plant was checked for the presence of pests and the number of eggs. 400 and 570 wasps were released in two steps in June 24th and July 23th during 2014, respectively. The number of healthy and parasitized larvae of each pest was counted and recorded to calculate the parasitism percentage. The trichomes density of different varieties of tomatoes was assessed by a stereo microscope with a magnification of 70. Furthermore, the density of trichomes in the leaves after the terminal bud per plant (per square millimeter) was counted and recorded at three points around the midrib. Statistical analysis of data was carried out using Exel 2013 and SPSS 18.0 software.

Results and Discussion: The results of the study showed that the pest density had no significant difference among different cultivars of tomatoes, while there were significant differences in different dates of sampling. The highest density of tomato fruit worm and beet armyworm larvae was observed on AB2 and King stone, respectively, while the lowest density of these larvae was obtained on the King stone and 6515, respectively. Moreover, the highest density of *h. armigera* was in 17 and 22 July 2014 that coincided with the ninth and tenth weeks after transplanting in the field. Parasitism percentage of tomato fruit worm and beet armyworm was significant among different dates of sampling but no significant difference was observed among different cultivars. The highest parasitism percentage of tomato fruit worm larvae was obtained in 22 and 27 July 2014. The highest density of pest occurred in 24 and 27 June and 3 July 2014 which coincides with the sixth and seventh tomato growth. The highest larval parasitism of beet armyworm was observed in 17 July 2014, three weeks after parasitoid release. Investigation of tomato leaf trichomes density in different varieties with highest and lowest population of tomato fruit worm larvae indicated that the highest density was observed in King stone variety. Biological and behavioral differences in tomato fruit worm and beet armyworm were effective on host preference by these pests. In addition, chemical compounds produced by different varieties of tomato (repellents and attractants) were effective on host selection for oviposition and influence pest population.

Conclusions: The release of parasitoid wasp, *H. hebetor* to control the larvae of the tomato fruit worm and beet armyworm seems to play an effective role as a biological agent and can be used in a management program

1, 2, 3 and 4- Ph.D. Student of Entomology, Associate Professor, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Plant Protection, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran, Respectively

(*.- Corresponding Author Email: Vnassah@yahoo.com)

of these pests. Due to the compatibility of resistant cultivars with other control methods and environment, more studies are needed to be conducted on the role of trichomes in plant resistance to introduce resistant cultivars of tomato to the mentioned pests.

Keywords: Beet armyworm, *Habrobracon hebetor*, Kermanshah, Parasitoid, Tomato fruit worm



Evaluation of Genetic Diversity and Distribution of Beet Black Scorch Virus (BBSV) in Some Provinces of Iran

A. Samiei^{1*} - M. Mehrvar² - M. Zaki Aghi³

Received: 01-05-2017

Accepted: 11-07-2017

Introduction: Beet black scorch virus (BBSV) is a new soil-borne virus reported from sugar beet fields around the world that in terms of having similar symptoms (root beard) with Beet necrotic yellow vein virus and Probably some mutual interaction with that has high economic importance. BBSV is a sugar beet virus which was first reported in the late 1980s in China followed by identification in USA, Iran, and Europe. In China, the virus causes severe disease symptoms described as black scorched and inwardly-curved leaves of sugar beet (*Beta vulgaris* L.), and necrotic roots caused by sugar content reduction. The BBSV isolates reported from other parts of the world did not show any black scorching symptoms, but they showed proliferation of rootlets. Symptomless infections have been observed on sugar beet too. BBSV is belonging to the genus *Betanecrovirus* (Family *Tombusviridae*). The virus is transmitted efficiently in the soil by zoospores of *Olpidium brassicae*. The virus comprises an icosahedral particle of 28 nm that encapsidates a positive-sense, single-stranded (ss) genomic (g) RNA of 3644 nt lacking a 5'-cap structure and 3'-poly(A) tail that encodes six functional protein. Because of lacking 3'-poly(A) tail in BBSV 3'UTR region act as a Barley yellow dwarf virus (BYDV) capindependent translation element probably acting as the promoter for the initiation of the negative strand synthesis. BBSV complete genome shares the highest sequence identity (61%) with *Tobacco necrosis virus D* (TNV-D). The 5' proximal p23 and p82 ORFs encode for produce replicas complex, as the P82 protein contains a GDD motif that is conserved in RNA-dependent RNA polymerases. The small P5', P7a and P7b central proteins that translated from sgRNA1 are required for the viral cell to cell movement. The 3'-proximal ORF encodes the 24 kDa viral coat protein (CP). BBSV CP is a multifunctional protein that is important in disassembly of parental virus and assembly of progeny virus. It also has a role in during infection cycle and virus-host interaction.

Materials and Methods: For investigation of BBSV distribution in Iran's sugar beet farms a total of 309 samples were collected. These samples were transmitted to the lab and dried very well after washing carefully. Evaluation of test samples was done by RT-PCR using primers in 3'UTR and virus satellite genome. Five isolates for assessment of genetic diversity were selected based on geographical distribution and symptoms in greenhouse including West Azarbayjan, Hamedan, Khorasan Razavi (Mashhad), North Khorasan (Shirvan) and Kermanshah. These genome parts were propagated by Long PCR Master Mix of Promega. Gel band if isolates were extracted, purified and cloned to *E.coli* DH5 α . Proper clones were propagated and sequenced in Sigma, Germany. Results were analyzed by BLASTn in Gene Bank and Mega6 software.

Results and Discussion: BBSV were detected in 147 samples in total (48%). Also, BBSV has a satellite that in 30 cases (10%) of the samples was detected. According to this BBSV were detected in sugar beet farms of Khorasan Razavi, North Khorasan, South Khorasan, Lorestan, Ardabil, East Azarbayjan, West Azarbayjan, Ghazvin, Hamedan, Kerman, Kermanshah and Zanjan Provinces. Two important parts including Coat protein and 3'UTR of these isolates were compared with Chinese -N and US -Co isolates. Sequence analysis indicated that US and Chinese isolates are more resemble together than to Iranians. The resemblance of Iranian isolates to Chinese and US isolates were about 88% in both parts. Iranian isolates resembling is 98-99%. Only North Khorasan (Shirvan) isolate with less identical batch was separated. It seems that differences in 3'UTR are not effective and in all isolates virus genome well-expressed and translated. But amino acid changes in CP especially N-terminal area are effective in symptoms inducing and interaction with other soil-borne Viruses.

Conclusion: BBSV is one of the new and so virulence sugar beet soil born viruses that distributed in almost all sugar beet important farms of Iran. Its symptoms so resemble to BNYVV the causal virus of Rhizomania disease. In this paper, we indicate that bearded root of sugar beet did not induce only by BNYVV but also by BBSV. This vast infection area maybe is due to sugar beet cultivation for a long time in these areas that allow virus vector to be established in the soil and transmit it efficiently. In addition, traditional agricultural practices

1, 2 and 3- Ph.D Student of Plant Disease, Associate Professor and Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Respectively

(*- Corresponding Author Email: samiei1243@gmail.com)

and cultivation of susceptible sugar beet varieties induced opportunity to BBSV population potentially increased and spread in these areas. Comparing of nucleotide sequences in 3'UTR and Coat proteins of BBSV Iranian isolates with US and Chinese isolates indicate that Chinese and the US isolates are more resemble together than Iranian isolates. Results of this study demonstrated that Iranian BBSV isolates are more diverse than other isolates available in GenBank. Almost BBSV isolates phylogenetic analysis are compatible with the geographical distribution of this viruses. Amino acid sequences in CP of different isolates show some important differences especially at N-terminal area of CP. May be next researches on these differences can explain the differences in symptoms and virus-host interactions among these seven isolates.

Keywords: Chemical treatments, Rotational temperature and light, Seeds, Weed

Contents

Identification of <i>Trichoderma</i> Species Using Partial Sequencing of nrRNA and <i>tefa</i> Genes with Report of <i>Trichoderma capillare</i> in Iran Mycoflora	67
M. Mehrabi-Koushki - M. Bavarsad- R. Farokhinejad	
Joint Action of Some Usable Important Broadleaf Herbicides in Sugar Beet (<i>Beta vulgaris</i> L.) in Iran	69
A.A. Chitband - R. Ghorbani- M.H. Rashed Mohassel- M. Nabizade	
Survey the Effect of Mycorrhiza and Azospirillum of Wheat Cultivars Resistance in Yellow Rust	71
A. Abbasian - Gh. Asadi- R. Gorbani	
Surveying the Effects of Planting Date and Density on Species Growth Indices and Yield in the Field of Soybean	72
H. Soltani - A. Ghanbari- M. Rastgoo- G. A. Asadi	
Chemical Weed Control in Saffron (<i>Crocus sativus</i> L.) Fields	73
M. Abbaspoor	
Annual Populational Dynamism of Oak Leaf Roller (<i>Tortrix viridana</i> L.) Larvae on <i>Quercus infectoria</i> Oliv. and <i>Q. libani</i> Lindl. in West-Azerbaijan Province	75
M. R. Zargarani - M. Jamshidi- S. R. Mousavi Mirkola	
Study of Some Ecological Factors on Seed Germination of Johnsongrass (<i>Sorghum halepense</i> (L.) PERS.)	77
M. Mojab - M. Hosseini- M. Karimian Klishadrokh	
Evaluation of Relative Resistance in Thirty Dwarf Mahaleb Genotypes to Four Phytophthora Species in the Greenhouse and Garden	79
M. Hajian Shahri - E. Ganji Moghaddam - H. Afzali	
Negative Cross Resistance in Atrazine Resistant Junglerice (<i>Echinochloa colona</i> (L.) Link) Populations in Sugarcane (<i>Saccharum officinarum</i> L.) Fields	81
E. Elahifard - N. Shamshirgarzadeh- A. R. Abdali Mashhadi- M. R. Moradi Telavat	
Screening of Cucumber Cultivars Resistant to Powdery Mildew and Comparative Assessment of Chlorophyll Fluorescence in Resistant and Susceptible Cultivars	83
N. Moradi - H. Rahimian- A. Dehestani- V. Babaeizad- Y. Yaghoubian	
Effect of Organic Manure on Sugar Beet Cyst Nematode Population Densities of <i>Heterodera schachtii</i> Schmidt	85
N. Helalat- M. Nasr Esfahani- M. Olia	
Molecular Identification of 8-ketoTrichothecene Producing Fungi in Madder Seeds and Detection of Their Deoxynivalenol Synthesis Gene Using PCR	86
S. A. Esmailzadeh Hosseini- M. Dehghani Ashkezari- M. Abedi-Tizaki	
Studying the Insecticidal Effects of <i>Melia azedarach</i> and <i>Citrus limonum</i> Extracts on Greenbug (<i>Schizaphis graminum</i> Rondani) and Cabbage Aphid (<i>Brevicoryne brassicae</i> L.)	88
M. Pahlavan Yali- M. Mohammadi Anaii	
Introduction of Diflubenzuron (Dimilin SC 8% ®) Against Codling Moth, <i>Cydia pomonella</i> L. (Lep.: Tortricidae)	90
M. V. Taghaddosi- M. R. Moeini- H. Kaamli- Q. A. Akbarzadeh Shokat- R. Koliaei	
Prey Preference of Predatory Mite <i>Amblyseius swirskii</i> (Acari: Phytoseiidae) on <i>Trialetrodes vaporariorum</i> (Hemiptera: Aleyrodidae) Treated and Untreated with <i>Beauveria bassiana</i>	92
M. Seiedy - M. Tork	
Effect of Plant Density and Weed Interference on Yield and Yield Components of Grain Sorghum (<i>Sorghum bicolor</i> L.)	94
S. Sarani- S. Gh. Moosavi	
Population Density and Parasitism of <i>Helicoverpa armigera</i> (Hubner) and <i>Spodoptera exigua</i> (Hubner) on Twelve Varieties of Tomato	95
H. Salehipour- H. A. Vahedi- N. Moeini- Naghadeh- A. A. Zamani	
Evaluation of Genetic Diversity and Distribution of Beet Black Scorch Virus (BBSV) in Some Provinces of Iran	97
A. Samiei- M. Mehrvar- M. Zaki Aghl	

Plant Protection

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol . 31

No. 3

Fall 2017

Published by: College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
Editor in charge: Valizadeh, R. (Ruminant Nutrition) Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
General Chief Editor: Rashed- Mohassel, M.H. (Weed Science) Prof. Ferdowsi University of Mashhad.

Editorial Board:

Okhovvat, M.	Plant Pathology	Prof. Tehran University.
Pourjam, E.	Plant Pathology	Asso. Prof. Tarbiat Modarres University.
Jafarpour, B.	Plant Pathology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Hatami, B.	Entomology	Prof. Isfahan University of Technology.
Rashed- Mohassel, M.H.	Weed Science	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Rashed- Mohassel, A.	Insect ecology	Post-Doctoral Research Associate ,Texas A&M AgriLife Extension Service
Rajaei, H.	Entomologist	Assis,Department Entomology State Museum of Natural History Stuttgart Rosenstein 1, 70191 Stuttgart, Germany
Sadeghi Namaghi, H.	Agricultural Entomology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Sahragard, A.	Agricultural Entomology	Prof. Guilan University.
Mahdikhani Moghadam, E	Plant Pathology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Marashi, S.H.	Biotechnology & Plant Breeding	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Mozafari, J.	Plant Molecular Genetics	Prof. Seeds& Plant Improvement Institute.

Publisher: Ferdowsi University of Mashhad.
Printed by: Ferdowsi University of Mashhad, press.
Address: College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
P.O.BOX: 91775- 1163
Fax: +98 -0511- 8787430
E-Mail: Jpp1@um.ac.ir
Web Site: <http://jm.um.ac.ir>