Journal of Plant Protection

(Agricultural Science and Technology)

Vol.32 No.3

2018

ISSN:2008-4749

نشریه علمی - پژوهشی حفاظت گیاهان

(علوم و صنایع کشاورزی)

جلد ۳۲ شماره ۳

سال ۱۳۹۷

شاپا: ۴۷۴۹-۲۰۰۸

شماره پیاپی: ۴۱

Ferdowsi University of Mashhad

Contents

عنوان مقالات

نشریه علمی - پژوهشی حفاظت گیاهان

جلد ۳۲ شماره ۳ سال ۱۳۹۷

Journal of Plant Protection Vol.32 No.3 2018

نشریه حفاظت گیاهان

(علوم و صنایع کشاورزی)

با شماره پروانه ۲۱/۲۰۱۵ / ۶۸/۴/۱۱ و درجه علمی – پژوهشی شماره ۲۶۵۲۴ / ۷۳/۱۰/۱۹ از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

جلد ۳۲ شماره۳ پاییز ۱۳۹۷

ناشر: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد **چاپ:** چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

نشانی: مشهد- کد پستی ۹۱۷۷۵ صندوق پستی ۱۱۶۳

دانشکده کشاورزی _دبیرخانه نشریات علمی_ نشریه حفاظت گیاهان

پست الکترونیکی جهت مکاتبات: Jpp1@um.ac.ir نمابر: ۸۷۸۷۴۳۰-۰۵۱۱

این نشریه درپایگاههای زیر نمایه شده است:

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

مقالات این شماره در سایتhttps://jm.um.ac.ir به صورت مقاله کامل نمایه شده است .

این نشریه به صورت فصلنامه (۴ شماره در سال) چاپ و منتشر می شود.

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 307-314

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۳۱۴-۳۰۷

مطالعه وضعیت باروری جنسی گونه‌های *Venturia inaequalis* و *Venturia pyrina* در شرایط آزمایشگاهی

لیلا ابراهیمی[۱]- خلیل بردی فتوحی فر[۲*]- محمد جوان نیک‌خواه[۳]- محمدرضا نقوی[٤]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۲۰

چکیده

در این مطالعه، گونه‌های آنامورفی مختلف مرتبط با جنس *Venturia* از مناطق مختلف ایران جمع‌آوری و شناسایی شدند. از بین گونه‌های بدست آمده، گونه *Venturia inaequalis* به عنوان گونه غالب در ایران شناسایی شد. تعداد ۱۰ جدایه از هر یک از گونه‌های *V. inaequalis* و *V. pyrina* در شرایط آزمایشگاهی دو به دو با یکدیگر تلاقی داده شدند. همچنین، جهت بررسی هموتال و هتروتال بودن جدایه‌ها، تعدادی از جدایه‌ها به صورت تک‌جدایه کشت شدند. برخی از جدایه‌های دو گونه نیز به صورت تصادفی با یکدیگر جهت بررسی مفهوم گونه بیولوژیکی تلاقی داده شدند. از این بین، هفت تلاقی بارور بین جدایه‌های گونه *V. inaequalis* و پنج تلاقی بارور بین جدایه‌های گونه *V. pyrina* به دست آمد. در کشت‌های تک‌جدایه نیز هیچ تلاقی صورت نگرفت که تائیدی بر هتروتال بودن جدایه‌های مربوط به هر دو گونه می‌باشد. بین جدایه‌های دو گونه هیچ تلاقی مشاهده نشد که این نتیجه نیز بیانگر دو گونه بیولوژیکی متمایز می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: سیب، گلابی، لکه سیاه، مرحله جنسی، *Venturia*

مقدمه

جنس *Venturia* Sacc. یکی از بزرگترین جنس‌های خانواده *Venturiaceae* E. Müll. & Arx ex M.E. Barr می‌باشد. اغلب گونه‌های این قارچ، بیمارگر گیاهان هستند (۱۸). گونه‌های مهم این جنس، *V. inaequalis* (Cooke) G. Winter و *V. pyrina* Aderh. هستند که عوامل بیماری لکه سیاه، به ترتیب روی سیب و گلابی می‌باشند که این بیماری‌ها، از نظر اقتصادی مهم‌ترین بیماری قارچی این درختان محسوب می‌شوند (۱۶) و سالیانه باعث اپیدمی‌هایی در نقاط مختلف دنیا شده (۲۱) و به خصوص در مناطقی که در طی فصول بهار و اوایل تابستان هوا خنک و مرطوب باشد، خسارت بیماری شدید خواهد بود (۱). اسفندیاری در سال ۱۳۲۵، این دو گونه را برای اولین بار از ایران گزارش کرد (۵). این گروه از قارچ‌ها، همی‌بیوتروف هستند که به صورت سودوتسیوم‌های نابالغ در میوه‌ها و عمدتاً برگ‌های آلوده ریخته شده در پای درخت و نیز در مناطق معتدل در شاخه‌ها و جوانه‌ها به صورت فرم غیرجنسی، زمستانگذرانی می‌کنند (۳).

اعضای خانواده *Venturiaceae* سودوتسیوم‌های کروی شکل و یا آسکوسترومای چندحجره‌ای تولید می‌کنند. معمولاً در اطراف اُستیول خارهای قهوه‌ای رنگ مشخصی تشکیل می‌شوند. آسکوسپورها دو سولی، بی‌رنگ و یا به رنگ‌های سبز زیتونی تا قهوه‌ای هستند و در بسیاری از گونه‌ها دو سلول آسکوسپور هم‌اندازه نیستند. آنامورف این خانواده قارچی از گروه هیفومیست‌ها می‌باشد که کنیدی‌زایی آن‌ها به صورت اَنلیدیک و یا سیمپودیال است (۲۰).

تولیدمثل جنسی با تولید اسپورهای جنسی هوازاد در انتشار بیماری و بخصوص در ابتدای فصل بهار در شروع بیماری نقش مهمی ایفا می‌کند. بنابراین آگاهی در مورد چرخه تولیدمثل جنسی در قارچ‌های بیمارگر گیاهی جهت مدیریت بیماری و پیش‌بینی پتانسیل وقوع ژنوتیپ‌های جدید در جمعیت بیمارگر حائز اهمیت می‌باشد. پتانسیل تغییرپذیری بیمارگر از عوامل مهم موثر بر شکسته شدن مقاومت و بی اثر شدن سموم شیمیایی بر بیمارگر می‌باشد. بیمارگرهایی که از پتانسیل تغییرپذیری بیشتری برخوردار باشند، توانایی بیشتری جهت شکستن مقاومت میزبان و بی اثر شدن سموم شیمیایی دارند. نوع سیستم تولیدمثلی از جمله عوامل تاثیرگذار بر

۱- استادیار گروه حشره‌شناسی و بیماری‌های گیاهی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران و دانش آموخته دکتری دانشکدهٔ علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
۲ و ۳- دانشیار و استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکدهٔ علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
(*- نویسنده مسئول: Email: fotowhi@ut.ac.ir)
۴- استاد گروه بیوتکنولوژی، دانشکدهٔ علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

DOI: 10.22067/jpp.v32i3.62310

ساختار ژنتیک جمعیت بیمارگرها می‌باشد. به عنوان مثال، بیمارگرهای دارای سیستم تولیدمثلی مختلط (جنسی و غیرجنسی) از امتیازات بیشتری در جهت تکامل برخوردار می‌باشند (۶). دو گونه قارچی *V. inaequalis* و *V. pyrina* دارای سیستم آمیزشی هتروتالیک هستند. تولیدمثل جنسی در این گونه‌ها، بقای قارچ را در شرایط نامساعد فصل زمستان تضمین می‌کند. همچنین تولیدمثل جنسی با ایجاد پتانسیل تغییرپذیری زیاد طی تقسیم میوز، امکان بقای قارچ را در برابر ارقام مقاوم و سموم شیمیایی افزایش می‌دهد. از طرفی، تولیدمثل غیرجنسی مکرر در طی فصل‌های بهار و تابستان، باعث افزایش تغییرپذیری و تنوع قارچ می‌گردد. به همین دلیل در مطالعات مربوط به ژنتیک جمعیت و تنوع ژنتیکی در این گونه‌های قارچی، تنوع ژنتیکی زیادی به خصوص در داخل جمعیت‌ها مشاهده می‌شود و این امر کنترل بیماری را اغلب با مشکل مواجه می‌کند.

کیلیان (۱۱) برای اولین بار جزئیات تولیدمثل جنسی را در گونه *V. inaequalis* مورد بررسی قرار داد. در این مطالعه، نحوه رشد و تلاقی آسکوگونیوم و آنتریدیوم و نحوه تشکیل آسکوکارپ روی سطح برگ مورد بررسی قرار داده شد. بر اساس این مطالعه چون روی سطح برگ هیف‌های اولیه تشکیل دهنده آسکوگونیوم و آنتریدیوم کاملاً مجزا از هم رشد می‌کردند و جدا از هم بودند، وی این گونه را به عنوان یک قارچ هتروتال معرفی کرد. کیت (۹) جدایه‌های مختلف گونه *V. inaequalis* را برای اولین بار در شرایط آزمایشگاهی به صورت تک‌جدایه و دو به دو با یکدیگر تلاقی داد و نتایج حاصل نشان دادند که جدایه‌های مختلف در تلاقی با یکدیگر به صورت هتروتالیک قادر به تولید سودوتسیوم‌های بارور هستند. لانگفورد و کیت (۱۲) جدایه‌های گونه *V. pyrina* را به لحاظ هتروتالیسم در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار دادند و مشاهده کردند که جدایه‌های این گونه به صورت هرمافرودیت و دگربارور هستند. بر این اساس، گونه *V. pyrina* را به عنوان یک گونه هتروتال معرفی کردند.

این مطالعات به عنوان مقدمه‌ای برای مطالعات و تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی و همچنین مدیریت بیماری‌های گیاهی محسوب می‌شوند. در این مرحله جدایه‌های دارای دو تیپ آمیزشی متفاوت (در افراد هتروتال) مشخص می‌شوند که به سهولت می‌توانند جهت ردیابی و بررسی مولکولی الل‌های MAT مورد استفاده قرار گیرند. ژن‌های *MAT* همراه با چندین ژن دیگر، سازگاری با شرایط محیطی مورد نیاز جهت تولیدمثل جنسی، آمیزش، تشکیل اندام‌های باردهی و تولید آسکوسپورها را کنترل می‌کنند. در طی این مسیر، الل‌های MAT کنترل آمیزش بین دو جدایه دارای تیپ‌های آمیزشی مجزا را در افراد هتروتال بر عهده دارند. فقدان هر یک از این ژن‌های تنظیمی می‌تواند منجر به عدم تولیدمثل جنسی در قارچ‌ها گردد (۴). شناسایی مولکولی ژن‌های *MAT* اولین بار توسط استل و همکاران در سال ۱۹۸۱ در مخمر *Saccharomyces cerevisiae* انجام شد و بعد از آن در قارچ‌های رشته‌ای مورد مطالعه قرار گرفت (۷). الل‌های MAT گونه‌های مختلف جنس *Venturia* تاکنون به لحاظ مولکولی در دنیا مورد مطالعه قرار نگرفته است. در این مطالعه، با انجام آمیزش تصادفی بین جدایه‌ها، جدایه‌های دارای دو تیپ آمیزشی متفاوت تعیین می‌گردند. در ادامه، با طراحی آغازگرهای اختصاصی، این جدایه‌ها جهت ردیابی الل‌های MAT آن‌ها، مورد استفاده قرار خواهند گرفت.

با وجود اهمیت این بیماری در مناطق مختلف ایران و به خصوص مناطق کشت سیب و گلابی، هیچ پژوهش جامعی در زمینه مطالعه این گروه از قارچ‌ها صورت نگرفته است. هدف این مطالعه بررسی پراکنش بیماری لکه سیاه سیب و گلابی در ایران و همچنین ارزیابی باروری جنسی جدایه‌های دو گونه *V. inaequalis* و *V. pyrina* در شرایط آزمایشگاهی جهت ارزیابی اولیه از تیپ‌های آمیزشی مختلف بوده است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری، جداسازی و شناسایی نمونه‌های قارچی

نمونه‌های آلوده گیاهی شامل برگ، میوه و سرشاخه‌ها که دارای علائم بیماری و حاوی اندام‌های باردهی قارچ بودند، از میزبان‌های مختلف گیاهی شامل درختان، درختچه‌ها و گیاهان یکساله و یا چندساله جمع‌آوری شدند. نمونه‌برداری از مناطق مختلف کشور که دارای آب و هوای خنک و مرطوب و مساعد بیماری بودند، انجام شد. نمونه‌برداری از اواخر فصل زمستان شروع و تا اوایل فصل پاییز سال آینده طی سال‌های ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ انجام گرفت. جمع‌آوری نمونه از باغات به صورت تصادفی بوده و نمونه‌های مربوط به هر گیاه به عنوان یک نمونه مجزا در نظر گرفته شدند. نمونه‌های گیاهی به صورت جداگانه در داخل پاکت‌های کاغذی قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شدند.

جهت جداسازی قارچ عامل بیماری، با استفاده از یک سوزن کشت سترون کنیدی‌های قارچ از سطح لکه‌های موجود روی اندام گیاهی آلوده برداشته شدند و با استفاده از میله خمیده روی محیط کشت آب-آگار دو درصد (water agar 2%) پخش گردیدند و به مدت یک روز در دمای ۱۸ درجه سلسیوس، جهت جوانه‌زنی کنیدی‌ها، نگهداری شدند. سپس به روش تک کنیدی (single spore) و در زیر میکروسکوپ، کنیدی‌های جوانه زده انتخاب و به محیط‌کشت PDA (potato dextrose agar) منتقل شدند. پرگنه‌های قارچی، در دمای ۱۸ درجه سلسیوس، پس از ۱۰ تا ۱۲ روز روی محیط کشت ظاهر شدند.

جهت شناسایی ریخت‌شناختی جدایه‌های قارچی، از محل لکه‌های روی بافت گیاه میزبان، برش‌های نازک عمودی به کمک

دست تهیه شدند. با استفاده از برش‌های حاصل اسلایدهای میکروسکوپی با استفاده از محلول‌های لاکتوفنل و یا لاکتوفنل‌کاتن‌بلو تهیه گردیدند و سپس به لحاظ ویژگی‌های مختلف ریخت‌شناختی، جدایه‌های قارچی مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای شناسایی در سطح گونه از تک‌نگاره نوشته شده توسط شوبرت و همکاران (۱۷) استفاده شد. ویژگی‌های مربوط به هر جدایه شامل آرایش کنیدیوفورها (منفرد، مجتمع و یا روی اسپورودوکیوم)، شکل، اندازه و دیواره عرضی کنیدیوفورها، سلول‌های کنیدی‌زا (انتهایی، زائده‌ای، کنیدیوفورهای تقلیل یافته به سلول‌های کنیدی‌زا؛ دارای رشد محدود و یا رشد متوالی، سیمپودیال؛ عرض جایگاه کنیدی‌زایی)، کنیدی‌ها (منفرد و یا زنجیری؛ شکل، اندازه، دیواره عرضی، دیواره صاف و یا دارای زائده کنیدی) ارزیابی شدند. در هر جدایه، برای ارزیابی هر اندام قارچی (طول و عرض کنیدی و کنیدیوفور، عرض هیلوم کنیدی، عرض جایگاه کنیدی‌زایی، عرض تورم پایه کنیدیوفور) ۵۰ مورد اندازه‌گیری صورت گرفت.

بررسی امکان تولیدمثل جنسی در جدایه‌های قارچی در شرایط آزمایشگاهی

بررسی امکان تولیدمثل جنسی در گونه‌های قارچی به دست آمده در شرایط آزمایشگاهی، مطابق روش راس و هملین (۱۵) انجام شد (جدایه‌های منتخب در جدول ۱ آورده شده‌اند). طبق این روش، برگ-های بالغ و سالم میزبان مورد نظر به منظور زدودن گرد و غبار، زیر جریان آب به مدت ده دقیقه شسته شدند و سپس به قطعاتی با ابعاد ۲×۲ سانتی‌متر بریده شدند. قطعات برگ درون دستگاه اتوکلاو سترون شدند و سپس درون هر تشتک پتری حاوی محیط کشت WA، یک قطعه برگ قرار داده شد. یک قرص میسلیومی از حاشیه پرگنه در حال رشد هر جدایه قارچی برداشته شد و روی قطعه برگ به صورت کشت متقابل قرار داده شد. تشتک‌های پتری در دمای اتاق تحت شرایط ۱۲ ساعت نور / ۱۲ ساعت تاریکی برای مدت ۱۴ روز نگهداری شدند. سپس در شرایط تاریکی مداوم و دمای هشت درجه سلسیوس قرار داده شدند. تلاقی‌ها بعد از حدود شش ماه برای تولید سودوتسیوم مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول ۱- جدایه‌های مورد استفاده جهت بررسی تولیدمثل جنسی در شرایط آزمایشگاهی
Table 1- Isolates that have been used to study on sexual reproduction *in Vitro*.

گونه Species	جدایه Isolate	منبع Source	سال Year	گونه Species	جدایه Isolate	منبع Source	سال Year
V. inaequalis	VI1	Alborz, Moroud	2013	*V. pyrina*	VP48	Alborz, Jey	2013
	VI2	Alborz, Moroud	2013		VP49	Alborz, Jey	2013
	VI17	Alborz, Moroud	2013		VP50	Alborz, Jey	2013
	VI63	East Azarbayjan, Mianeh	2013		VP51	Alborz, Jey	2013
	VI77	East Azarbayjan, Mianeh	2013		VP53	Alborz, Jey	2013
	VI79	East Azarbayjan, Mianeh	2013		VP55	Alborz, Arangeh	2013
	VI111	East Azarbayjan, Maragheh	2013		3A	Alborz, Jey	2014
	VI258	Lorestan, Khorram-Abad	2013		3B	Alborz, Jey	2014
	VI259	Lorestan, Khorram-Abad	2013		VP1-1	Alborz, Jey	2014
	VI263	Lorestan, Khorram-Abad	2013		VP1-3	Alborz, Jey	2014

نتیجه و بحث

در مرحله جمع‌آوری نمونه‌های آلوده گیاهی در طی سال‌های ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳، بر حسب شرایط آب و هوایی، ۱۸ استان از ایران مورد بازدید قرار گرفتند و ۸۲۰ نمونه آلوده گیاهی با علائم مشکوک به این گروه از قارچ‌ها جمع‌آوری گردیدند. تعداد ۶۰۴ نمونه آلوده به قارچ *Venturia/Fusicladium* بودند. نمونه‌ها شامل: ۵۴۰ نمونه برگ و میوه سیب آلوده به قارچ *V. inaequalis* (*F. pomi* (Fr.) Lind.) از ۱۸ استان (آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، اردبیل، البرز، اصفهان، تهران، خراسان رضوی، خراسان شمالی، زنجان، قزوین، گلستان، گیلان، کردستان، کرمانشاه، لرستان، مازندران، مرکزی و همدان) ۴۳ نمونه برگ و میوه گلابی آلوده به قارچ *V. pyrina* (*F. pyrorum* (Lib.) Fuckel) از استان‌های البرز، قزوین، گیلان و مازندران، ده نمونه برگ ازگیل آلوده به گونه *F. eriobotryae* (Cavara) Sacc. از استان‌های گیلان و مازندران، پنج نمونه برگ زبان گنجشک آلوده به گونه *F. fraxini* Aderh. از دو استان گلستان و گیلان، پنج نمونه برگ زیتون آلوده به گونه *F. oleagineum* (Castagne) Ritschel U. & Braun از دو استان گیلان و مازندران، یک نمونه میوه شلیل آلوده به گونه *F. carpophilum* (Thüm.) Oudem. از استان مازندران بودند. بر اساس این نتایج، قارچ *V. inaequalis* به عنوان

گونه غالب در ایران شناسایی شد که در مناطق مورد نمونه‌برداری این بیماری با شدت زیاد و در سطح خسارتزا دیده شد.

از بین نمونه‌های جمع‌آوری شده، ۳۲۵ جدایه از گونه *V. inaequalis* و ۴۰ جدایه از گونه *V. pyrina* و یک جدایه از گونه *F. oleagineum* جداسازی شدند.

زمستانگذرانی دو گونه *V. inaequalis* و *V. pyrina* اغلب به صورت فرم جنسی در طبیعت رخ می‌دهد. همچنین در مناطق معتدل در طی فصل زمستان، قارچ قادر به زمستانگذرانی به صورت فرم غیرجنسی (میسلیوم و کنیدی) در محل زخم‌های روی شاخه‌ها و همچنین جوانه‌ها می‌باشد (۳). در طبیعت، گرمای نسبی هوا در طی اواسط مهر ماه تا اواسط آذر ماه، رشد قارچ را در برگ‌های آلوده ریخته شده در پای درخت تحریک می‌کند. میسلیوم قارچ در بافت برگ رشد کرده و ساختار ابتدایی سودوتسیوم شکل می‌گیرد که زمستانگذرانی قارچ از طریق این اندام‌ها انجام می‌شود. در طی فصل زمستان و اوایل فصل بهار ساختار سودوتسیوم‌های سیاه رنگ و کوزه‌ای شکل کامل می‌شوند. در داخل هر سودوتسیوم، ۵۰ تا ۱۰۰ آسک بوجود می‌آیند که هر آسک حاوی هشت آسکوسپور می‌باشد. دمای هوا و بارش باران در فصل بهار شرایط بلوغ سودوتسیوم‌ها و آسکوسپورها را فراهم می‌کند. بارش باران باعث آزاد شدن آسکوسپورها می‌شود و آسکوسپورها توسط باد و جریان هوا روی میزبان قرار گرفته و بیماری آغاز می‌شود (۲).

در شرایط آب و هوایی ایران نیز زمستانگذرانی این قارچ بخصوص در مناطق سردسیر اغلب به صورت فرم جنسی رخ می‌دهد. در این مطالعه، نمونه‌برداری مرحله جنسی دو گونه *V. inaequalis* و *V. pyrina* از اواسط بهمن ماه تا اواسط اردیبهشت ماه در طی سال‌های ۱۳۹۱ لغایت ۱۳۹۳ در دو استان آذربایجان شرقی و البرز انجام شد و مشاهده شد که بلوغ و آزادسازی آسکوسپورهای این قارچ از اواسط اردیبهشت ماه شروع می‌شود که در واقع زمان شروع بیماری می‌باشد.

محیط کشت (مواد غذایی)، شرایط دمایی و نور، عوامل موثر در تشکیل مرحله تلئومورفی قارچ‌ها می‌باشند. این شرایط برای گروه‌های مختلف قارچی (جنس و یا گونه)، متفاوت می‌باشد. تشکیل سودوتسیوم در گونه‌های *V. inaequalis* و *V. pyrina* در دماهای محیطی پایین در طی فصل پاییز و زمستان روی بقایای گیاهی ریخته شده روی زمین اتفاق می‌افتد. جهت تولیدمثل جنسی قارچ‌ها در شرایط آزمایشگاهی، فراهم کردن شرایط مشابه طبیعت از جمله عوامل مهم و موثر می‌باشد. در روش مورد استفاده در این مطالعه، محیط کشت WA جهت تامین رطوبت و قطعات برگ گیاه میزبان جهت فراهم کردن مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفت. بعد از کشت جدایه‌ها روی این محیط کشت، پرگنه‌ها به مدت ۱۴ روز در دمای اتاق و تناوب نوری جهت توسعه قارچ روی بافت برگ نگهداری شدند. سپس جهت تحریک قارچ برای ورود به فاز تولیدمثل جنسی و توسعه آن، کشت‌ها به دمای هشت درجه سلسیوس منتقل شدند و تا تشکیل سودوتسیوم بارور در این شرایط نگهداری شدند.

در این مطالعه، ده جدایه از هر کدام از دو گونه *V. inaequalis* (جدایه‌های VI1، VI2، VI17، VI63، VI77، VI79، VI111، VI258، VI259 و VI263) و *V. pyrina* (جدایه‌های VP48، VP49، VP50، VP51، VP53، VP55، 3A، 3B، VP1-1 و VP1-3) به دست آمده از مناطق مختلف جهت بررسی امکان تولیدمثل جنسی در شرایط آزمایشگاهی انتخاب گردیدند. همه جدایه‌های مربوط به هر گونه دو به دو با یکدیگر (۴۵ تلاقی برای جدایه‌های هر گونه در دو تکرار) تلاقی داده شدند. جهت بررسی هموتال و یا هتروتال بودن قارچ، تعدادی از تلاقی‌ها به صورت تک‌جدایه کشت شدند. همچنین، جهت بررسی مفهوم گونه بیولوژیکی چند جدایه نیز از دو گونه به صورت تصادفی با یکدیگر تلاقی داده شدند. تلاقی‌ها پس از شش تا هشت ماه جهت تولید سودوتسیوم مورد بررسی قرار گرفتند. هفت تلاقی بارور بین جدایه‌های مربوط به گونه *V. inaequalis* (VI63-VI2، VI2-VI79، VI258-VI77، VI258-VI79، VI111-VI79، VI259-VI111 و VI263-VI111) و پنج تلاقی بارور بین جدایه‌های مربوط به گونه *V. pyrina* (VP50-VP48، VP53-VP50، VP1-1-VP1-3، 3A–3B و 3B-VP1-1) بدست آمد. تلاقی‌ها بین دو جدایه مختلف صورت گرفت و در تلاقی‌های تک‌جدایه‌ها، هیچ اندام جنسی باروری مشاهده نشد، که تائید کننده هتروتال بودن هر دو گونه قارچی بود.

با توجه به عدم آگاهی از فراوانی و پراکنش تیپ‌های آمیزشی، در گونه *V. inaequalis* جدایه‌ها به صورت تصادفی از مناطق جغرافیایی یکسان و مختلف جهت تلاقی انتخاب شدند و تلاقی بارور بین جدایه‌هایی از مناطق مختلف اتفاق افتاد. این در واقع نشان دهنده سازگاری ژنتیکی بین جدایه‌های مناطق مختلف می‌باشد که بر این اساس می‌توان گفت این جدایه‌ها به احتمال زیاد دارای منشاء یکسانی می‌باشند که توسط عوامل مختلف در مناطق مختلف کشور گسترش یافته‌اند. در ادامه می‌توان با مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مناطق مختلف به منشاء بیماری و سطح تنوع آن در مناطق مختلف پی برد و بر این اساس، روش‌های مدیریت و کنترل آن را توسعه داد.

جدایه‌های بارور مربوط به گونه *V. pyrina* به یک منطقه جغرافیایی تعلق داشتند و جداسازی جدایه‌های قارچی از نمونه‌های آنامورفی (کنیدی) و تلئومورفی (آسکوسپور) انجام شده بود که تلاقی بارور بین آن‌ها مشاهده شد. جدایه‌های 3A و 3B جدایه‌های آسکوسپوری حاصل از یک آسک بودند که تلاقی بارور بین آن‌ها بوجود آمد. جهت تعیین تیپ‌های آمیزشی مختلف، استفاده از هشت جدایه آسکوسپوری حاصل از یک آسک که نیمی از آن‌ها دارای یک تیپ آمیزشی و نیمی دیگر دارای تیپ آمیزشی دیگر هستند، مناسب‌تر

و راحت‌تر می‌باشد و نیازی به تلاقی تعداد زیادی از جدایه‌ها به صورت تصادفی نمی‌باشد. در این مطالعه به دلیل در دسترس نبودن جدایه‌های آسکوسپوری در گونه‌های مورد بررسی از جدایه‌های آنامورفی استفاده شد.

جنس *Venturia* دارای گونه‌های با سیستم آمیزشی هموتالیک (*V. inopina*) و هتروتالیک (*V. inaequalis* و *V. pyrina*) می‌باشد. نیوکومب (۱۴) تولیدمثل جنسی گونه *V. inopina* به دست آمده از گیاه *Populus trichocarpa* را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار داد. در این آزمایش، جدایه‌ها دو به دو با یکدیگر روی محیط کشت PDA تلاقی داده شدند. قرص‌های آگار حاوی میسلیوم قارچ با فاصله یک سانتی‌متری از یکدیگر قرار داده شدند و به مدت هفت روز در دمای ۲۰ درجه سلسیوس و سپس تحت شرایط ۱۲ ساعت نور / ۱۲ ساعت تاریکی در دمای شش درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از گذشت چهار ماه سودوتسیوم‌های بارور به صورت هموتالیک تولید شدند. آسکوسپورهای حاصل از کشت، مشابه آسکوسپورهای تشکیل شده در طبیعت بودند و فقط اندازه آن‌ها کمی بزرگتر بودند. زمستانگذرانی این گونه نیز به صورت فرم جنسی در طبیعت رخ می‌دهد.

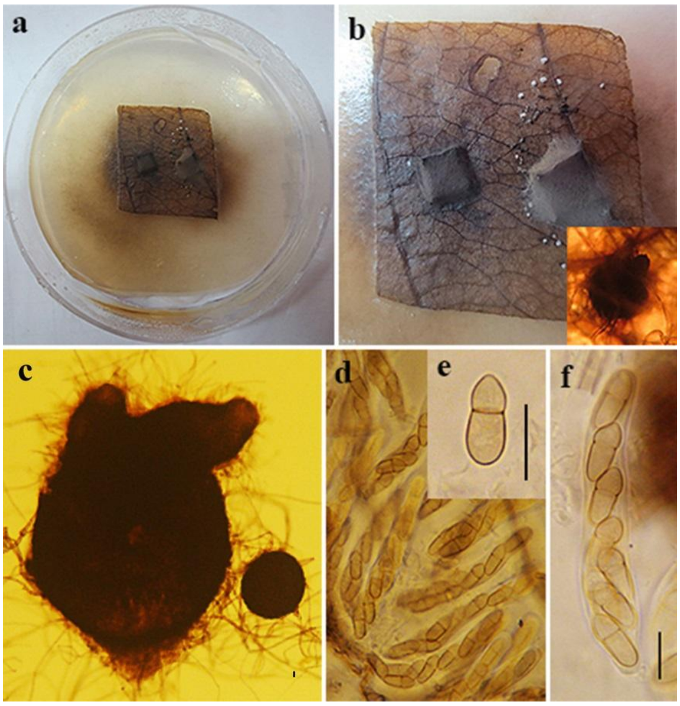
در قارچ‌های هتروتال، آمیزش جنسی در تلاقی دو استرین با تیپ آمیزشی مختلف اتفاق می‌افتد. تیپ آمیزشی در آسکومیست‌های هتروتال بوسیله یک ژنگاه تیپ آمیزشی با دو الل (MAT1 و MAT2) کنترل می‌شود. جهت انجام تولیدمثل جنسی در جمعیت باید هر دو تیپ آمیزشی با فراوانی مناسب وجود داشته باشند (۱۰). جهت بررسی فراوانی الل‌های MAT در سطح جمعیت، به دلیل زمانبر و پرهزینه بودن تلاقی بین همه افراد جمعیت در آزمایشگاه، می‌توان از روش‌های مبتنی بر PCR استفاده کرد. بر این اساس می‌توان نحوه زمستانگذرانی گونه‌های قارچی را در مناطق مختلف مشخص کرد که از عوامل مهم در روش‌های مدیریتی و کنترل بیماری می‌باشد.

اندام‌های تلئومورفی تشکیل شده به لحاظ ویژگی‌های ریخت‌شناختی (شکل و اندازه سودوتسیوم، آسک‌ها و آسکوسپورها) بررسی شدند و با نمونه‌های جمع‌آوری شده از طبیعت (جدایه‌های VI612 و VI613) که حاوی اندام‌های جنسی بودند مورد مقایسه قرار گرفتند. سودوتسیوم‌های حاصل از تلاقی بین جدایه‌های گونه *V. inaequalis* روی برگ‌ها به اشکال گرد تا کوزه‌ای بوده و به صورت منفرد و پراکنده تشکیل شده بودند. این سودوتسیوم‌ها به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه و به ابعاد (۳۳۰)۴۶۰-۲۰۰×(۷۰۰)۱۲۰۰-۲۰۰ میکرومتر بودند. سودوتسیوم‌ها دارای اُستیول واجد پاپیل مشخص و بلند بوده و همچنین خارهایی در دهانه اُستیول وجود داشتند. داخل سودوتسیوم‌ها آسک‌های فراوانی تولید شده بودند. آسک‌ها کشیده تا چماقی شکل بوده و دارای پایه نازک و کوتاه و یا فاقد آن بودند. اندازه آسک‌ها (۱۲)۱۶-۸×(۶۷)۸۴-۶۰ میکرومتر بود. داخل هر آسک هشت آسکوسپور تشکیل شده بودند. آسکوسپورها دارای یک دیواره عرضی و همچنین یک فرورفتگی در محل دیواره عرضی بودند. آسکوسپورها طوری داخل آسک قرار گرفته بودند که سلول بالایی کوچکتر از سلول پایینی بود. آسکوسپورها تقریباً بیضوی شکل و با دو انتهای گرد بوده و به رنگ قهوه‌ای روشن دیده می‌شدند. آسکوسپورها دارای سطحی صاف هستند و ابعاد آن‌ها (۶)۷-۵×(۱۴/۵)۱۶-۱۳ میکرومتر بودند (شکل ۱). اندازه سودوتسیوم‌های تشکیل شده در مقایسه با آسکوکارپ‌های جمع‌آوری شده از طبیعت [(۱۶۲/۵)۲۴۰-۸۵×(۱۵۰)۲۳۰-۷۰ میکرومتر)] تفاوت چشمگیری را نشان دادند. همچنین سودوتسیوم‌های تشکیل شده در شرایط آزمایشگاهی دارای پاپیل‌های بلندتر و مشخص بودند. سایر ویژگی‌ها بین اندام‌های تشکیل شده در شرایط آزمایشگاهی و اندام‌های جمع‌آوری شده از طبیعت مشابه یکدیگر بودند. ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های مورد بررسی با توصیف گونه *V. inaequalis* ارائه شده توسط سیوانسان (۱۷) مطابقت داشت.

در تلاقی بین جدایه‌های گونه *V. pyrina* روی برگ‌ها سودوتسیوم‌های تقریباً گرد تا کوزه‌ای شکل به صورت انفرادی و پراکنده تشکیل شدند. سودوتسیوم‌ها به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه و به ابعاد (۳۰۵)۳۸۰-۲۳۰×(۴۸۵)۵۳۰-۴۴۰ میکرومتر بوده، دارای اُستیول واجد پاپیل مشخص و بلند و خارهایی در دهانه اُستیول بودند. داخل سودوتسیوم‌ها آسک‌های فراوان کشیده تشکیل شدند. این آسک‌ها دارای یک پدیسل نازک و کوتاه و یا فاقد آن بودند و ابعاد آن‌ها (۱۱)۱۲-۱۰×(۹۶/۵)۱۲۰-۷۳ میکرومتر بود. داخل هر آسک هشت آسکوسپور بیضی شکل با دو انتهای گرد طوری قرار گرفته بودند که سلول پایینی کوچکتر از سلول بالایی بود. آسکوسپورها به رنگ قهوه‌ای متوسط با دیواره ضخیم و تیره بوده و یک دیواره عرضی داشتند. آسکوسپورها دارای سطح صاف و به ابعاد (۶)۷-۵×(۱۷)۲۰-۱۴ میکرومتر بودند (شکل ۲). سودوتسیوم‌ها و آسکوسپورهای تشکیل شده در مقایسه با اندام‌های جمع‌آوری شده از طبیعت (جدایه‌های VP276، VP277، VP278 و VP279) [به ترتیب (۱۵۰)۲۲۰-۸۰×(۱۳۲/۵)۱۹۰-۷۵ میکرومتر و (۵/۵)۶-۵×(۱۵)۱۷-۱۳ میکرومتر)] کمی بزرگتر بودند. سایر ویژگی‌ها بین اندام‌های تشکیل شده در شرایط آزمایشگاهی و اندام‌های جمع‌آوری شده از طبیعت مشابه یکدیگر بودند. ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های مورد بررسی با توصیف گونه *V. pyrina* ارائه شده توسط سیوانسان (۱۷) مطابقت داشت.

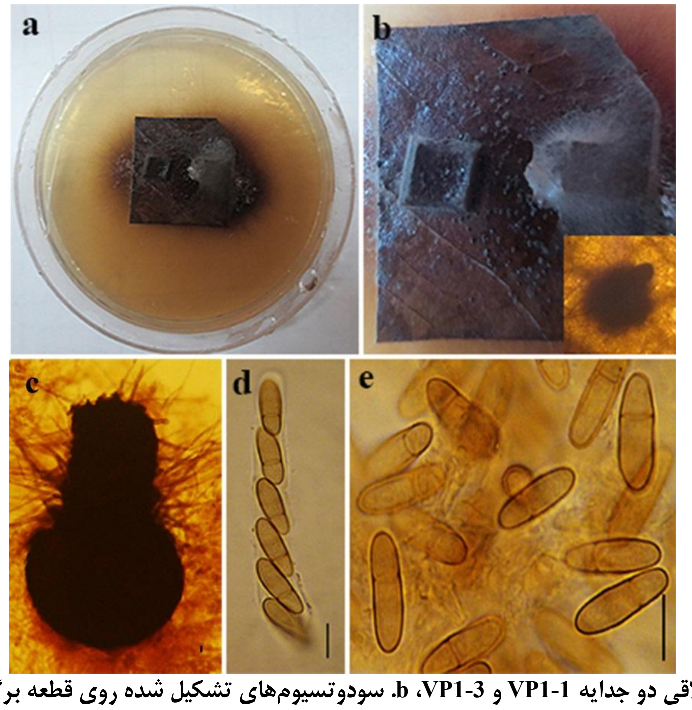
در تلاقی بین جدایه‌های دو گونه *V. inaequalis* و *V. pyrina* در این مطالعه، باروری جنسی مشاهده نشد که نشان دهنده ماهیت دو گونه بیولوژیکی مجزا می‌باشد. له‌کم و همکاران (۱۳) نیز دو گونه *V. inaequalis* و *S. pyracanthae* (به ترتیب به دست آمده از سیب و

پیراکانتا) را به لحاظ روابط ژنتیکی (بر اساس ناحیه ITS)، تولیدمثل جنسی و بیماری‌زایی روی میزبان‌ها (سیب و پیراکانتا) مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از مطالعات مولکولی یک شباهت کلی بین این دو گونه را نشان دادند.



شکل ۱- گونه *V. inaequalis*: a. تلاقی دو جدایه VI2 و VI79، b. سودوتسیوم‌های تشکیل شده روی قطعه برگ، c. سودوتسیوم و f-d. آسک‌ها و آسکوسپورها (مقیاس = ۱۰ میکرومتر)

Fig. 1- *V. inaequalis*: a. cross between VI2 and VI79, b. pseudothecia on leaf segment, c. pseudothecium and d-f. asci and ascospores (Bar = 10 µm)

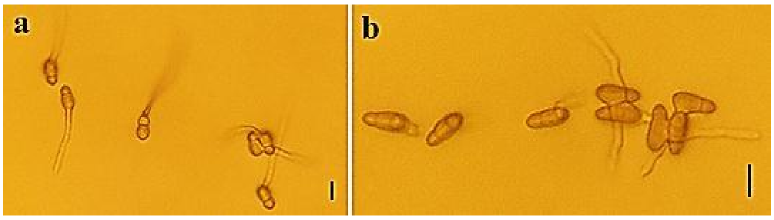


شکل ۲- گونه *V. pyrina*: a. تلاقی دو جدایه VP1-1 و VP1-3، b. سودوتسیوم‌های تشکیل شده روی قطعه برگ، c. سودوتسیوم، d. آسک و e. آسکوسپورها (مقیاس = ۱۰ میکرومتر)

Fig. 2- *V. pyrina*: a. cross between VP1-1 and VP1-3, b. pseudothecia on leaf segment, c. pseudothecium, d. asci and e. ascospores (Bar = 10 µm)

بررسی امکان تولیدمثل جنسی در شرایط آزمایشگاهی نشـان داد که این دو جدایه در آمیزش با یکدیگر قادر به تولید سودوتسیوم‌هـای بارور هستند. به لحاظ بیماری‌زایـی، هـر دو جدایـه یـک اختصاصـیت میزبانی نسبت به میزبان خود نشان دادند و قادر به آلوده کردن میزبان دیگر نبودند. بر اساس اطلاعات حاصل از این مطالعه، این دو گونه در نهایت به عنوان دو فرم اختصاصـی (forma specialis) در گونـه *V. inaequalis* معرفی شدند.

آسکوسپورهای تشکیل شده در تلاقی جدایه‌های مربوط به هر دو گونه جهت بررسی بارور و بالغ بودن روی محیط کشت WA کشت و در دمای ۱۸ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی مداوم نگهداری شـدند. بعد از ۲۴ ساعت، همه آسکوسپورهای حاصل از یک آسک جوانه زدند (شکل ۳). آسکوسپورها به روش تک آسکوسپور به روی محیط کشت PDA منتقـل شـدند و در دمـای ۱۸ درجـه سلسـیوس جهـت رشـد پرگنه‌ها نگهداری شدند.



شکل ۳- جوانه‌زنی آسکوسپورهای یک آسک در نسل اول به دست آمده از تلاقی‌های هر یک از دو گونه: a. در گونه *V. inaequalis* حاصل از تلاقی بین دو جدایه VI2 و VI79 و b. در گونه *V. pyrina* حاصل از تلاقی بین دو جدایه VP1-1 و VP1-3 (مقیاس = ۱۰ میکرومتر)

Fig. 3- Germination of ascospores of an ascus in first generation obtained from crossing in each of the two species: a. in *V. inaequalis* from cross between VI2 and VI79 and b. in *V. pyrina* from cross between VP1-1 and VP1-3 (Bar = 10 µm)

توسعه روش‌های معتبر تولیدمثل جنسی در شرایط آزمایشـگاهی، می‌تواند به عنوان ابزار آزمایشگاهی ارزشمندی در جهت توسعه طیـف وسیعی از مطالعات از جمله تجزیه و تحلیل‌هـای ژنتیکـی کلاسـیک، اصـلاح اسـترین‌هـا و همچنـین بـه عنـوان یـک مکمـل بـرای دستکاری‌های ژنتیکی مدرن (۷) و تجزیه و تحلیل‌های فیلـوژنتیکی و تکـاملی (۸) باشـد. تورگـون (۱۹) ادعـا کـرد کـه ژن‌هـای *MAT* در گونه‌های قارچ *Cochliobolus* دارای تکامـل سـریعتری نسـبت بـه برخی دیگر از توالی‌های DNA می‌باشند و این ناحیه ژنی دارای تنوع کمی درون گونه‌های این جنس قارچی مـی‌باشـد. امـا تنـوع آن بـین گونه‌ها زیاد است. بنابراین این محقق اظهار کرد که ایـن ناحیـه ژنـی می‌تواند مانند سایر نواحی مورد استفاده از جمله ITS، جهت تجزیـه و تحلیل‌های فیلوژنتیکی مورد استفاده قرار گیرد.

بررسی تولیدمثل جنسی دو گونـه قـارچی *V. inaequalis* و *V. pyrina* در شرایط آزمایشگاهی در ایران تـاکنون مـورد بررسـی قـرار نگرفته است و این پژوهش، اولین مطالعه وضعیت باروری جنسـی در این دو گونه قارچی می‌باشد. بر اساس این مطالعه، جدایـه‌هـای دارای تیپ‌های آمیزشی متفاوت در دو گونـه *V. inaequalis* و *V. pyrina* مشخص گردیدند. با شناسایی و آگـاهی از حضـور دو تیـپ آمیزشـی مجزا در این قارچهـا مـی‌تـوان جهـت سـهولت شناسـایی و ردیـابی جدایه‌های قارچی حامل الل‌های تیپ آمیزشـی متفـاوت، در مطالعـات بعدی الل‌های مربوط به هر یک از این تیپ‌های آمیزشی را با طراحی آغازگرهای اختصاصی مورد شناسـایی قـرار داد. چـرا کـه روش‌هـای مبتنی بر PCR می‌توانند جهت بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت قارچهـا، فیلوژنی، اپیدمیولوژی بیماری‌ها و همچنین مطالعات بیولوژی جمعیـت (نحوه زمستانگذرانی گونه‌های قارچی در یک منطقه بر اساس فراوانی تیپ‌های آمیزشی و نسبت آن‌ها) به سهولت مورد استفاده قرار گیرند.

منابع

1- Ashkan S. M. 2012. A textbook of fruit crops diseases in Iran. Aeeizh, 472 pp, Tehran, Iran. (In Persian).
2- Babadoost M. 1997. Apple and crabapple scab. Report on plant disease. Department of Crop Science, University of Illinois. 803 pp.
3- Boehm E. W. A., Freeman S., Shabi E. and Michailides T. J. 2003. Microsatellite primers indicate the presence of asexual populations of *Venturia inaequalis* in coastal Israeli apple orchards, Phytoparasitica, 31: 236-251.
4- Dyer P. S. and Ogorman C. M. 2012. Sexual development and cryptic sexuality in fungi: insights from *Aspergillus* species, FEMS Microbiology Reviews, 36: 165-192.
5- Ershad D. 2009. Fungi of Iran. Iranian Research Institute of Plant Protection, 531 pp, Tehran, Iran. (In Persian).

6- Hemmati R. 2009. Study on genetic structure of Iranian populations of the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Barly, the causal agent of white stem rot of Canola, by using SSR, identification of mycelial compatibility groups & survey on their pathogenicity. Ph.D. thesis, University of Tehran, Karaj, Iran, 136 pp. (In Persian).
7- Houbraken J. and Dyer P. S. 2015. Induction of the sexual cycle in filamentous Ascomycetes. Pp. 23-46. *In*: M.A. van den Berg and K. Maruthachalam (eds.), Genetic Transformation Systems in Fungi. Vol.2, Fungal Biology.
8- Hsiang T., Chen F. and Goodwin P. H. 2003. Detection and phylogenetic analysis of mating type genes of *Ophiosphaerella korrae,* Canadian Journal of Botany, 81: 307-315.
9- Keitt G. W. 1952. Inheritance of pathogenicity in *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. The University of Chicago Press for the American Society of Naturalists, 86 (831): 373-390.
10- Khodaparast S. A. 2010. Fungal Kingdom. University of Guilan Press, 811 pp, Guilan, Iran. (In Persian).
11- Killian K. 1917. Uber die sexualitat von *Venturia inaequalis* (Cooke), Ad. Zeitschr. Bot., 9: 353-398.
12- Langford M. H. and Keitt G. W. 1940. Heterothallism in *Venturia pirina*, Phytopathology, 30: 452.
13- Le Cam B., Parisi L. and Arene L. 2002. Evidence of two formae speciales in *Venturia inaequalis*, responsible for apple and pyracantha scab, Phytopathology, 92: 314-320.
14- Newcombe G. 2003. Native *Venturia inopina* sp. nov., specific to *Populus trichocarpa* and its hybrids, Mycological Research, 107: 108-116.
15- Ross R. G. and Hamlin S. A. 1965. Influence of nutrients on perithecial production of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint., Canadian Journal of Botany, 43: 959-965.
16- Ruszkiewicz-Michalska M. and Połeć E. 2006. The genus *Fusicladium* (Hyphomycetes) in Poland, Acta Mycologica, 41 (2): 285-298.
17- Sivanesan A. 1984. The bitunicate Ascomycetes and their anamorphs. Strauss & Cramer GmbH, Hirschberg, 701 pp, Germany.
18- Schubert K., Ritschel A. and Braun U. 2003. A monograph of *Fusicladium* s. lat. (Hyphomycetes), Schlechtendalia, 9: 1-132.
19- Turgeon B. G., Bohlmann H., Ciuffetti L. M., Christiansen S. K., Yang G., Schafer W. and Yoder O. C. 1993. Cloning and analysis of the mating-type genes from *Cochliobolus heterostrophus*, Molecular and General Genetics, 238: 270-284.
20- Zhang Y., Crous P. W., Schoch C. L., Bahkali A. H., Gao L. and Hyde K. D. 2011. A molecular, morphological and ecological re-appraisal of *Venturiales*—a new order of *Dothideomycetes*, Fungal Diversity, 51: 249-277.
21- Xu X., Roberts T., Barbara D., Harvey N. G., Gao L. and Sargent D. J. 2009. A genetic linkage map of *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab, BMC Research Notes, 2: 163. Doi: 10.1186/1756-0500-2-163.

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 315-322

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۳۲۲-۳۱۵

شناسایی مولکولی استرین C ویروس وای سیب زمینی (*Potato virus Y*) از گوجه‌فرنگی در استان مازندران

زهره مرادی[۱] - محسن مهرور[۲] - احسان نظیفی[۳*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۰۶

چکیده

ویروس وای سیب‌زمینی (*Potato virus Y,* PVY) عضو تیپ جنس *Potyvirus*، یکی از مهم‌ترین عوامل بیمارگر در گیاهان خانواده سولاناسه می‌باشد. در سال زراعی ۱۳۹۲ تعداد ۳۸ نمونه مشکوک به آلودگی ویروسی از مزارع گوجه‌فرنگی استان مازندران جمع‌آوری و پس از بررسی با آغازگرهای دژنره پوتی‌ویروس‌ها، تعداد ۹ نمونه آلوده به پوتی‌ویروس تشخیص داده شدند. پس از همسانه‌سازی و توالی‌یابی نمونه‌های آلوده، چهار جدایه با علائم موزائیک، پیسکی و بدشکلی به عنوان PVY شناخته شدند که به دلیل شباهت بالا، دو جدایه به نام‌های GB و GRA انتخاب گردید. آنالیز فیلوژنتیکی جدایه‌های ایرانی به همراه ۱۱۵ جدایه دیگر موجود در بانک ژن در ناحیه ژنی CI (Cylindrical inclusion) نشان داد که تمام جدایه‌های مقایسه شده در سه گروه اصلی (I، II، III) قرار گرفته و جدایه‌های ایرانی همراه با جدایه‌هایی از کشورهای ایتالیا، استرالیا، هلند، فرانسه، اسپانیا و اروگوئه که همگی از نژاد C می‌باشند در زیر گروه IF قرار می‌گیرند. جدایه‌های ایرانی PVY-GB و GRA- در زیرگروه IF یک sublineage جداگانه را تشکیل دادند و دارای بیشترین شباهت (۹۶/۵-۹۵/۷ درصد) با جدایه اسپانیا (LYE84.2) و کمترین شباهت (۸۱/۳-۸۰/۹ درصد) با جدایه ژاپن (T13) و کانادا (Tu_660) در سطح نوکلئوتیدی بودند. در سطح آمینواسیدی نیز جدایه‌های ایرانی بیشترین شباهت (۹۹/۱ درصد) را با جدایه اسپانیا (LYE84.2)، ایتالیا (Foggia) و اروگوئه (Tannat) و کمترین شباهت (۹۳/۴ درصد) را با جدایه ژاپن (T13) داشتند. همچنین تشابه توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی این دو جدایه با یکدیگر به ترتیب ۹۸/۴ و ۱۰۰ درصد تعیین گردید. این اولین گزارش از وجود نژاد PVY^C از گیاه گوجه‌فرنگی در استان مازندران و ایران می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنالیز فیلوژنتیکی، ایران، پوتی‌ویروس، ژن CI

مقدمه

گیاه گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum*) از خانواده *Solanaceae*، یک محصول اقتصادی مهم است که در بسیاری از نقاط جهان کشت می‌شود و تولید سالانه آن در ایران حدود شش میلیون تن است (۹). PVY گونه تیپ جنس *Potyvirus* (تیره *Potyviridae*)، شایع‌ترین و مخرب‌ترین ویروس آلوده‌کننده مزارع بادنجانیان در سراسر جهان است (۲۸ و ۲۹) که سبب بیماری‌های مهمی در گوجه فرنگی، سیب زمینی، فلفل، توتون و دیگر گیاهان خانواده بادنجانیان می‌شود (۷، ۳۰ و ۳۱). پیکره این ویروس رشته‌ای، انعطاف پذیر، دارای طول ۷۴۰-۷۳۰ نانومتر و عرض ۱۲-۱۱ نانومتر است (۱۶). ژنوم از یک رشته RNA تک‌لای مثبت، به طول تقریبی ۱۰۰۰۰ نوکلئوتید تشکیل شده است (۱۶، ۱۹ و ۲۳) که در انتهای ´5 دارای VPg و انتهای ´3 دارای دنباله poly A می‌باشد (۲). این ژنوم حاوی یک ORF[4] واحد بزرگ است که کدکننده یک پلی پروتئین بزرگ می‌باشد و نیز یک ORF همپوشان کوچک (به نام PIPO[5]) که در بین سیسترون P3 پلی پروتئین جاسازی شده و به صورت پروتئین ترکیبی P3N- PIPO بیان می‌شود. پلی پروتئین بزرگ (حاوی ۳۰۶۳-۳۰۶۱ آمینواسید) توسط سه پروتئیناز ویروسی در محل‌های خاص شکسته شده که نتیجه آن تولید ده پروتئین کوچک دارای نقش به نام‌های P1، HC- Pro، P3، 6K1، CI، 6K2، VPg، NIa-Pro، NIb و CP است (۶، ۱۶ و ۲۶). پروتئین CI بزرگترین محصول ژنی در پوتی ویروس‌هاست و به دلیل منحصر بفرد بودن در اعضای تیره *Potyviridae* دارای ارزش تاکسونومیکی بالایی است. PVY ابتدا در سال ۱۹۳۱ توسط اسمیت گزارش و به عنوان مجموعه‌ای از جدایه‌های ویروسی لحاظ گردید (۲۶ و ۳۲). این ویروس پراکنش جهانی دارد و خسارت اقتصادی سنگینی از طریق کاهش عملکرد و

۱ و ۲- دانش آموخته دکتری و دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران
(*- نویسنده مسئول: Email: E.Nazifi@umz.ac.ir)
DOI: 10.22067/jpp.v32i3.63682

4- Open Reading Frame
5- Pretty Interesting *Potyviridae* ORF

کاهش کیفیت محصول ایجاد می‌نماید، خسارت آن بین ۱۰ تا ۱۰۰ درصد در سیب زمینی و دیگر گیاهان بادنجانیان گزارش شده است (۳۴). جدایه‌های PVY مطابق خصوصیات بیولوژیکی و مولکولی‌شان به چندین استرین N، O، C، Z، E، NTN و N-Wi تقسیم می‌شوند (۳۱). شدت خسارت بیماری ناشی از ویروس بستگی به استرین ویروس، غلظت ویروس، تحمل میزبان، زمان آلودگی و فاکتورهای محیطی دارد (۳۴). این ویروس در طبیعت توسط بیش از ۴۰ گونه شته به صورت ناپایا منتقل شده (۸ و ۱۷) که موثرترین گونه از میان آن‌ها در سراسر جهان، شته سبز هلو (*Myzus persicae*) می‌باشد. ویروس بلافاصله پس از اکتساب توسط شته قابلیت انتقال یافته و فاقد دوره نهفتگی است (۳۴). PVY از مناطق مختلف ایران و از میزبان‌های گوناگون با روش‌های مختلف سرولوژیکی و مولکولی گزارش شده است (۱۰، ۱۱، ۱۴، ۲۰، ۲۱، ۲۴، ۲۷ و ۳۶). براساس دامنه میزبانی، تنوع علایم و خصوصیات سرولوژیکی تاکنون پنج نژاد به نام‌های PVY^{O}، PVY^{N}، PVY^{NTN}، PVY^{C} و PVY^{Z} در کشور شناخته شده‌اند (۱۴). همچنین با استفاده از روش‌های مولکولی، منطقه غیرکد شونده ´3–UTR و مناطق کدشونده P1 و CP (۱۴) و اخیرا نیز ژنوم کامل این ویروس تعیین توالی و آنالیز شده است (۲۵). PVY یکی از مهم‌ترین عوامل خسارت زای گیاهان میزبانش از طریق کاهش شدید عملکرد محصول در نقاط مختلف کشور می‌باشد (۱۴و ۲۴). از اینرو شناسایی جدایه‌ها و نژادهای مختلف و بررسی تنوع ژنتیکی آنها برای شناخت تکامل و توسعه این ویروس مفید خواهد بود، که در نتیجه میتوان راهکارهای مناسبتری جهت طراحی استراتژی‌های مدیریت پایدار در برنامه‌های بلندمدت برای کنترل بیماری ناشی از این بیمارگر ارائه نمود. در این تحقیق جدایه های GB و GRA جدا شده از مزارع گوجه فرنگی استان مازندران با استفاده از آنالیز مولکولی ناحیه CI مورد بررسی قرار گرفته و جایگاه تاکسونومیکی آن‌ها در میان سویه‌های PVY تعیین گردید. بسیاری از محققین منطقه کدشونده CI را مناسب‌ترین گزینه برای اهداف تشخیصی، طبقه‌بندی و نیز برای مقایسه و تمایز گونه‌ها و سویه‌های پوتی‌ویروس‌ها زمانیکه توالی کامل ژنوم در دسترس نیست، می‌دانند (۱، ۱۲ و ۱۸).

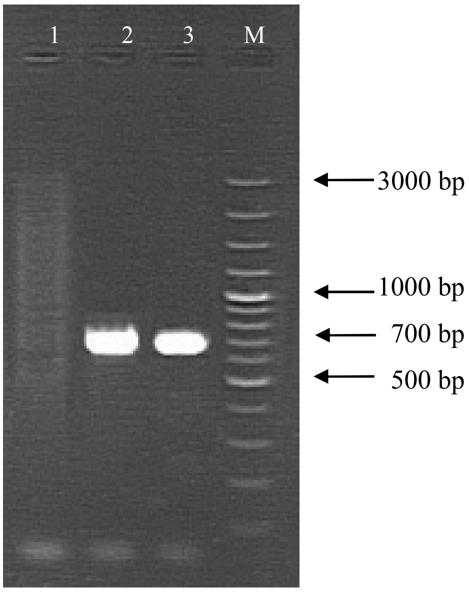
مواد و روش‌ها

در تابستان سال ۱۳۹۲ تعداد ۳۸ نمونه با علائمی از قبیل موزائیک، زردی، پیسک[۱]، بدشکلی و چین‌خوردگی یا موجی شدن[۲] حاشیه برگ، از مزارع گوجه‌فرنگی استان مازندران جمع‌آوری شد. استخراج RNA از بافت گیاهی با استفاده از Total RNA isolation kit (دنازیست) طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. جهت انجام واکنش‌های RT-PCR از یک جفت آغازگر دژنره پوتی ویروس‌ها (۱۲) منطبق بر ژن کد کننده پروتئین CI استفاده شد. با استفاده از RNA کل استخراج شده، آغازگر برگشت و آنزیم MMLV-Reverse Transcriptase (Thermo Scientific, USA)، cDNA سنتز شد. آزمون PCR در حجم ۲۵ میکرولیتری و با استفاده از آغازگرهای رفت و برگشت و آنزیم Taq DNA polymerase (Thermo Scientific, USA)، مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. پروفایل دمایی PCR شامل یک چرخه در دمای ۹۴ °C به مدت ۳ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل دمای ۹۴ °C به مدت ۳۰ ثانیه ، ۵۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ °C به مدت ۹۰ ثانیه و در آخر یک چرخه در دمای ۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه بود. محصولات PCR در ناحیه مورد انتظار، پس از جداسازی از ژل و خالص‌سازی با استفاده از Qiaquick Gel Extraction Kit (کیاژن) به داخل ناقل پلاسمیدی pTZ57R/T الحاق شدند. پلاسمیدهای نوترکیب، درون سلول‌های باکتریایی مستعد *Escherichia coli* سویه DH5α تراریخت شدند. همسانه‌های حاوی ژن مورد نظر از طریق Colony PCR با استفاده از آغازگرهای M13 شناسایی شدند. DNA پلاسمیدهای نوترکیب با استفاده از کیت استخراج پلاسمید شرکت کیاژن استخراج شده و توسط شرکت ماکروژن کره جنوبی توالی‌یابی شدند. ترادف‌های حاصل، در پایگاه اطلاعاتی NCBI با برنامه BLASTn با ترادف‌های موجود در GenBankمقایسه شدند. پس از ادغام ترادف‌های حاصل از دو همسانه از قطعات مختلف، ترادف استنتاجی (Consensus sequence) با استفاده از نرم افزار Vector NTI 11 به دست آمد. مقایسه هم‌ردیف سازی چندگانه[۳] توالی‌های نوکلئوتیدی بین جدایه‌های شناسایی شده در این بررسی و سایر جدایه‌های موجود در بانک ژن، با استفاده از برنامه ClustalW2 موجود در نرم‌افزارهای BioEdit v.7.2.5 و نیز MEGA6 (۳۳) انجام شد. ترسیم درخت فیلوژنتیکی با استفاده از نرم افزار MEGA6 براساس روش Neighbor joining و با درجه اعتبار (bootstrap) ۱۰۰۰ تکرار انجام گردید.

نتایج

از بین ۳۸ نمونه گیاهی جمع‌آوری شده ۹ نمونه در واکنش RT-PCR با استفاده از آغازگر دژنره مربوط به ژن CI جنس پوتی-ویروس، به عنوان گیاهان آلوده به پوتی‌ویروس شناخته شدند. اندازه قطعات تکثیر شده ۶۸۰ جفت باز بود. پس از همسانه‌سازی، قطعات مورد نظر از دو جهت تعیین توالی شدند.

1-Mottling
2-Rugosity
3- Multiple alignment



شکل ۱- الکتروفورز محصول RT-PCR جدایه‌های PVY از گیاه گوجه‌فرنگی در ژل آگارز ۱ درصد در ناحیه ۶۸۰ جفت باز. ۱: کنترل منفی با گیاه سالم گوجه‌فرنگی. ۲: جدایه GB و ۳: جدایه GRA. M- مارکر دی.ان.ای ۱۰۰ جفت بازی (Thermo Scientific, USA)

Figure 1- Electrophoresis patterns of DNA fragments amplified by RT-PCR in 1% agarose gel related to two selected PVY isolates from tomato 1: healthy tomato plant extract as negative control. 2: GB and 3: GRA. M: 100 bp DNA marker (Thermo Scientific, USA)

با مقایسه ترادف‌های حاصل با اطلاعات موجود در بانک ژن در پایگاه اطلاعاتی NCBI و برنامه BLASTn مشخص شد که قطعات همانندسازی شده در واکنش PCR در چهار نمونه مربوط به قسمتی از ژن پروتئین CI ویروس وای سیب‌زمینی است (شکل ۱). به دلیل شباهت جدایه‌ها، ترادف دو جدایه به نام‌های جدایه‌های GB (شهرستان بابلسر) و GRA (شهرستان قائمشهر) انتخاب و در بانک ژن به ترتیب با شماره دسترسی[1] KJ135781 و KJ135783 ثبت گردید. جدایه‌های آلوده دارای علائمی از قبیل موزائیک، پیسک، بدشکلی و چین‌خوردگی برگ‌ها بودند (شکل ۲).

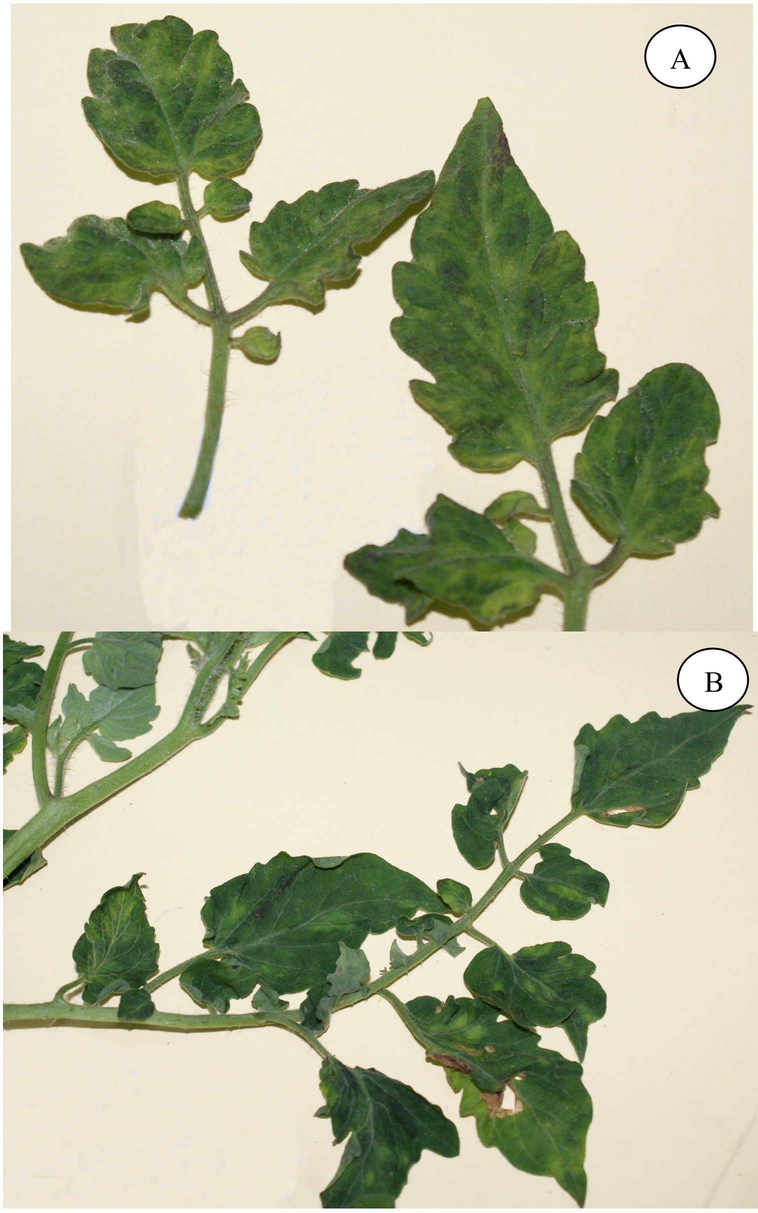
برای تعیین جایگاه تاکسونومیک جدایه‌های ایرانی، این جدایه‌ها با توالی‌های ۲۱۵ جدایه دیگر موجود در بانک ژن همردیف‌سازی و مقایسه شدند (اطلاعات نشان داده نشده است). ترادف‌های موجود از ناحیه ژنومی CI متناظر با ناحیه تعیین ترادف شده به اندازه حدود ۶۸۰ نوکلئوتید انتخاب و همردیف‌سازی شده بودند. از بین جدایه‌های مذکور، ۱۱۵ جدایه به عنوان نماینده انتخاب شده، با دو جدایه مورد بررسی در این تحقیق همردیف‌سازی و در یک درخت فیلوژنتیکی آنالیز شدند. PVA (*Potato virus A*) به عنوان عضو برون گروه (Outgroup) در نظر گرفته شد. دندروگرام حاصل از مطالعات تبارزائی (شکل ۳) نشان داد که ۱۱۷ جدایه مورد بررسی PVY در سه گروه اصلی جدا از هم قرار می‌گیرند (شکل ۳). گروه I با بیشترین تعداد طیف وسیعی از جدایه‌های اروپا، آمریکا، آسیا، استرالیا و آفریقا را در برگرفته است. این گروه خود به شش زیرگروه تقسیم می‌شود و دو جدایه ایرانی GB و GRA همراه با جدایه‌های nnp و Foggia (ایتالیا)، CN1 (استرالیا)، PRI-509 (هلند)، SON41 (فرانسه)، LYE84.2 (اسپانیا) و Tannat (اروگوئه) که همگی از نژاد C هستند در زیر گروه IF قرار گرفتند. گروه II شامل جدایه‌هایی از کشورهای کلمبیا، بلژیک، آمریکا، چین، ژاپن و کانادا است. در گروه III تنها یک جدایه Chile3 از کشور شیلی قرار گرفته است. مقایسه هم‌ردیف‌سازی چندگانه ترادف نوکلئوتیدی و آمینواسیدی هر یک از جدایه‌های مذکور با سایر جدایه‌های موجود در دنیا نشان داد که در سطح نوکلئوتیدی جدایه GB بیشترین شباهت (۹۶/۵ درصد) را با جدایه LYE84.2 (از اسپانیا) و کمترین شباهت (۸۱/۳ درصد) را با جدایه‌های T13 (از ژاپن)، Tu_660 (کانادا)، ME162 (چین) و ID20 (آمریکا) دارد. جدایه GRA نیز بیشترین شباهت (۹۵/۷ درصد) را با جدایه LYE84.2 (از اسپانیا) و کمترین شباهت (۸۰/۹ درصد) را با جدایه‌های T13 (از ژاپن) و Tu_660 (کانادا) در سطح نوکلئوتیدی دارد. در سطح آمینواسیدی نیز جدایه‌های GB و GRA بیشترین شباهت (۹۹/۱ درصد) را با جدایه‌های LYE84.2 (اسپانیا)، Foggia (ایتالیا) و Tannat (اروگوئه) و کمترین شباهت (۹۳/۴

1- Accession number

درصـد) را بـا جدایـه T13 (ژاپـن) داشـتند. همچنـین تشـابه تـوالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی این دو جدایه با یکدیگر به ترتیـب ۹۸/۴ و ۱۰۰ درصد بود. شباهت بالای آمینواسیدی بین جدایه‌هـا بیـانگر ایـن است که جانشینی‌های نوکلئوتیدی در بین جدایه‌های این ویروس به صورت خاموش هستند چرا که باعث تغییرات کمتر آمینواسیدی شـده و فشار انتخـاب منفـی روی ژن CI بـرای حفـظ آمینواسـید و حفـظ ساختار پروتئین زیاد است. بـا توجـه بـه دنـدروگرام رسـم شـده بـین دندروگرام تبارزائی و شباهت نوکلئوتیدی جدایـه‌هـا همـاهنگی وجـود دارد.

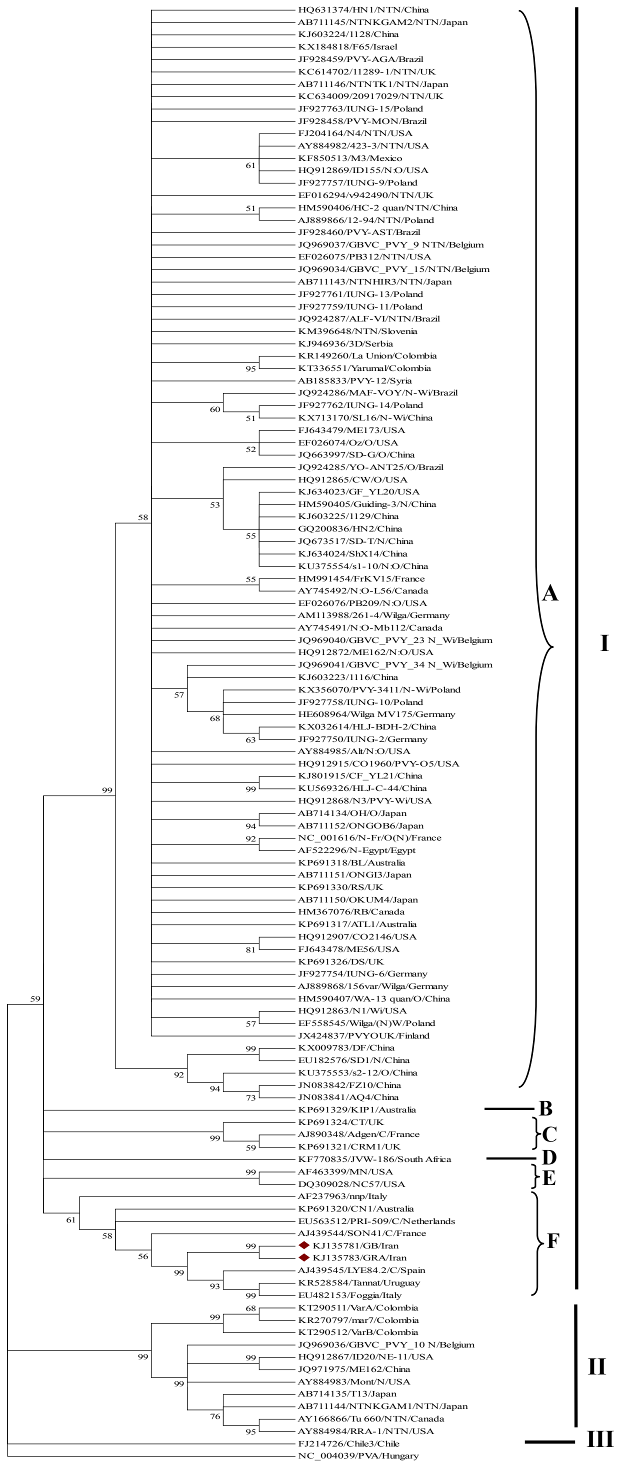
بحث

PVY یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین بیمارگرهای شناسـایی شـده از مزارع بادمجانیان در سراسر دنیا (۲۹) و ایران (۲۴) است. اهمیت آن به دلیل اقتصادی بـودن، گسـتردگی وسـیع و تـاثیر مهمـی کـه ایـن ویروس روی کیفیت و کمیت محصولات دارد، مـی‌باشـد. بـه منظـور ایجاد ارقام مقاوم جهت کنترل خسارت ناشـی از ویـروس‌هـا نیـاز بـه آگاهی از سویه‌های ویروس‌های موجود در منطقه است.



شکل ۲- علائم موزائیک، چین‌خوردگی و بدشکلی در برگ گوجه‌فرنگی آلوده به جدایه PVY-GB (A) و جدایه PVY-GRA (B).

Figure 2- Symptoms of mosaic, rugosity and distortion on tomato leaves infected by PVY isolate GB (A) and isolate GRA (B)



شکل۳- درخت فیلوژنتیکی ترسیم شده حاصل از همردیف‌سازی ۶۸۰ نوکلئوتید از توالی‌های ژن CI در ۱۱۷ جدایه PVY با استفاده از روش Neighbor-joining در نرم افزار Mega 6. اعداد نمایانگر درصد bootstrap (براساس ۱۰۰۰ تکرار) هستند. جدایه‌ها روی درخت براساس شماره دسترسی/ نام جدایه/استرین/کشور منشا مشخص شده‌اند. جدایه‌های مورد بررسی در این مطالعه علامت‌دار شده‌اند. PVA (*Potato virus A*) به عنوان عضو برون گروه در نظر گرفته شده است.

Figure 2- Phylogenetic tree constructed from the alignment of 680 bp nucleotide sequences of CI gene of 117 PVY isolates using neighbor-joining method based on 1000 replicates. The numbers indicate bootstrap percentage. Isolates are indicated in the tree by the GenBank accession number/isolate name/strain relationship/the country of origin. Mazandaran isolates of PVY generated from this study are marked. PVA (*Potato virus A*) included as out-group.

استفاده از آغازگرهای دژنره نه تنها ردیابی سریع پوتی‌ویروس‌های زیادی را تسهیل کرده بلکه توالی‌یابی قسمتی از ژنوم برای اهداف تاکسونومیکی را نیز ممکن ساخته است. در این مطالعه، با استفاده از آغازگرهای دژنره مربوط به ژن کدکننده پروتئین CI که اختصاصی اعضای جنس پوتی‌ویروس است، پوتی-ویروس PVY در تعدادی از گیاهان گوجه‌فرنگی مشکوک به آلودگی، شناسایی شده و مورد توالی‌یابی قرار گرفت. هر دو جدایه تعیین توالی شده جزو نژاد C بودند. نژاد لکه نواری منقوط[1] (PVY^C) باعث ایجاد علایم موزائیک، روگوز و نکروز در برخی ارقام سیب‌زمینی شده (۷) و سبب بروز واکنش مقاومتی فوق حساسیت[2] در ارقام سیب‌زمینی دارای ژن مقاومت *Nc* می‌شود (۱۵). برخلاف دیگر نژادهای PVY، برخی جدایه‌های PVY^C قابل انتقال با شته نیستند (۴). مطابق نتایج این تحقیق جدایه‌های ایرانی به جدایه‌های اروپایی و یک جدایه از استرالیا و اروگوئه (در آمریکای جنوبی) نزدیکتر بودند، که مطابق با نتایج حسینی و همکاران (۱۴) و پوررحیم و همکاران (۲۵) است. منشا سیب‌زمینی به عنوان میزبان اصلی این ویروس از آمریکای جنوبی و مرکزی است و یک توضیح احتمالی برای چنین شباهت‌هایی این است که منشا بیشتر بذور سیب زمینی در ایران، غده‌های بذری وارد شده از اروپا است (نه از خاستگاه اصلی این گیاه یعنی آمریکای جنوبی)، از این‌رو این احتمال می‌رود که استرین‌های ایرانی PVY^C بطور بالقوه از نیاکان استرین‌های اروپایی PVY منشا گرفته باشند و در داخل کشور نیز از طریق شته‌های ناقل از گیاهان آلوده به سالم گسترش یافتند. این ویروس نژادهای مختلفی دارد و نژادهای PVY^O و PVY^N بیشتر از سایر نژادها از سراسر جهان گزارش گردیده‌اند. از سوی دیگر امکان نوترکیبی بین سویه‌ها وجود دارد که این موضوع می‌تواند منجر به ایجاد نژادها یا حتی پاتوتیپ‌های جدید با شدت ویرولانس بالاتر و سازگاری بیشتر شود. در دهه‌های اخیر نیز نژادهای جدیدی از قبیل PVY^{NTN} و PVY^{NW} گزارش شده‌اند که حاصل نوترکیبی بین نژادهای PVY^N و PVY^O بوده و دارای قطعاتی از ژنوم این دو نژاد می‌باشند (۵ و ۲۲). بنابراین راه اندازی و توسعه‌ی سیستم دقیق ردیابی و آگاهی از خصوصیات و تنوع بیمارگر و نژادهای وابسته در یک منطقه و اثر هم‌افزایی آن‌ها با دیگر بیمارگرها در مدیریت کنترل بیماری جهت کاهش خسارت ضروری است. مقاومت به PVY در میزبان‌ها در بسیاری از موارد پایین است (۳۴). از سوی دیگر از آنجا که ویروس در طبیعت توسط شته‌ها به صورت ناپایا منتقل می‌شود، کنترل مستقیم آن با مواد شیمیایی تاثیر چندانی ندارد، بنابراین کشت ارقام مقاوم مؤثرترین راه کنترل این ویروس می‌باشد. از آنجا این ویروس با ویروس‌های آلوده کننده دیگر مثل *Potato virus X*، *Potato virus S*، *Potato virus* M، *Potato virus A* و *Potato leaf roll virus* بیشتر به صورت همزمان با هم به صورت آلودگی مخلوط ظاهر می‌شوند (۳، ۱۳ و ۳۵) پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری در زمینه آلودگی مخلوط و ارزیابی سهم هریک از این ویروس‌ها در ایجاد بیماری صورت گیرد. همچنین بررسی‌های بیشتری روی میزان ویرولانت بودن جدایه‌ها، توزیع جغرافیایی و تنوع ژنتیکی آن‌ها جهت معرفی ارقام مقاوم با پایداری و کارآیی بیشتر با توجه اقلیم گرم و مرطوب شمال کشور صورت گیرد.

منابع

1- Adams M.J., Antoniw J.F., and Fauquet C.M. 2005. Molecular criteria for genus and species discrimination within the family *Potyviridae*. Archives of Virology, 150:459–479.

2- Adams M.J., Zerbini F.M., French R., Rabenstein F., Stenger D.C., and Valkonen J.P.T. 2012. Family *Potyviridae*. p. 1069-1089. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. (eds) Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier, Academic Press, San Diego, CA, USA.

3- Barker H., and Dale M.F.B. 2006. Natural resistance mechanisms of plants to viruses. Springer, Resistance to viruses in potato, p. 341–366.

4- Blanco-Urgoiti B., Tribodet M., Leclere S., Ponz F., Perez dé San Roman C., Legorburu F.J., and Kerlan, C. 1998. Characterization of potato potyvirus y isolates from seed potato batches. Situation of the NTN, Wilga and Z isolates. European Journal of Plant Pathology, 104:811-819.

5- Boonham N., Walsh K., Preston S., North J., Smith P., and Barker I. 2002. The detection of tuber necrotic isolates of *Potato virus Y*, and the accurate discrimination of PVY^O, PVY^N and PVY^C strains using RT-PCR. Journal of Virological Methods, 102:103-112.

6- Cuevas J.M., Delaunay A., Visser J.C., Bellstedt D.U., Jacquot E., et al. 2012. Phylogeography and molecular evolution of *Potato virus Y.* PLoS ONE, 7(5): e37853.

7- De Bokx J.A., and Huttinga H. 1981. *Potato virus Y*: description of plant viruses. Kew, England: Common wealth Mycology Institute. Association of Applied Biology.

1- Stipple streak strain

2- Hypersensitivity

8- Edwardson J.R., and Christie R.G. 1997. Potyviruses. In: Florida Agricultural Experiment Station Monograph Series 18-II-Viruses infecting pepper and other solanaceous crops. Gainesville (FL): University of Florida. p. 424-524.
9- FAO. 2014. FAOSTAT-Agriculture, Production Statistics, Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Databases.
10- Ghasemzadeh A., Sokhandanbashir N., and Khakvar R. 2012. Molecular detection of *Potato virus Y* using universal primers from Ardabil province. Journal of sustainable agriculture and production science, 22:67-80. (In Persian with English abstract)
11- Gholami S., Koohihabibi M., Bushehri A.A., and Naghavi M.R. 2007. Detection of *Potato virus Y* by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). Iranian journal of agricultural sciences, 38:399-405. (In Persian)
12- Ha C., Coombsi S., Revill P.A., Harding R.M., Vu M., and Dale J.L. 2008. Design and application of two novel degenerate primer pairs for the detection and complete genomic characterization of potyviruses. Archives of Virology, 153:25-36.
13- Hameed A., Iqbal Z., Asad S., and Mansoor S. 2014. Detection of multiple potato viruses in the field suggests synergistic interactions among potato viruses in Pakistan. Plant Pathology Journal, 30(4):407–415.
14- Hosseini A., Massumi H., Heydarnejad J., Hossein pour A., and Varsani A. 2011. Characterisation of *Potato virus Y* isolates from Iran. Virus Genes, 42:128-140.
15- Jones R.A.C. 1990. Strain group specific and virus specific hypersensitive reactions to infection with potyviruses in potato cultivars. Annals of Applied Biology, 117:93–105.
16- Kerlan C., and Moury B. 2008. *Potato virus Y*. p. 287-296. In: Mahy BWJ, Van Regenmortel MHV, editors. Encyclopedia of Virology. Third Edition vol. 4. Elsevier; Oxford.
17- Lacroix C., Glais L., Kerlan C., Verrier J.L., and Jacquot E. 2010. Biological characterization of French *Potato virus Y* (PVY) isolates collected from PVY-susceptible or -resistant tobacco plants possessing the recessive resistance gene va. Plant Pathology, 59 (6):1133-1143.
18- Lee K.C., Wong S.M., Mahtani P.H., and Chng C.G. 1997. Sequence and phylogenetic analysis of the cytoplasmic inclusion protein gene of *Zucchini yellow mosaic potyvirus*: its role in classification of the *Potyviridae*. Virus Genes, 14:41–53.
19- Lorenzen, J. H., Meacham, T., Berger, P. H., Shiel, P. J., Crosslin, J. M., Hamm, P. B., and Kopp, H. 2006. Whole genome characterization of *Potato virus Y* isolates collected in the western USA and their comparison to isolates from Europe and Canada. Archives of Virology, 151:1055-1074.
20- Majdabadi Farahani S., Jafarpour B., Falahati Rastegar M., and Sabokkhiz M. 2011. Detection of (PVY^{NTN}) strain in potato fields of Khorasan Razavi province. Journal of plant protection, 24 (4): 385-390. (In Persian with English abstract)
21- Mostafae S., Mosahebi G., Koohihabibi M., and Ansari Dezfouli E. 2008. Study of biological and molecular characterization of pepper-PVY isolates. Iranian Journal of Virology, 1(4): 31-34.
22- Nie X., and Singh R.P. 2003. Specific differentiation of recombinant $PVY^{N:O}$ and PVY^{NTN} isolates by multiplex RT-PCR. Journal of Virological Methods, 113:69-77.
23- Ogawa T., Nakagawa A., Hataya T., and Ohshima K. 2012. The genetic structure of populations of *Potato virus Y* in Japan; Based on the analysis of 2120 full genomic sequences. Journal of Phytopatholy, 160:661-673.
24- Pourrahim R., Farzadfar Sh., Golnaraghi A. R., and Ahoonmanesh A. 2007. Incidence and distribution of important viral pathogens in some Iranian potato fields. Plant Disease, 91:609-615.
25- Pourrahim R., and Farzadfar S. 2016. Population analysis of Iranian *Potato virus Y* isolates using complete genome sequence. The Plant Pathology Journal, 32(1):33-46.
26- Przybys M., Doroszewska T., and Berbec A. 2013. Point mutations in the viral genome-linked protein (VPg) of *Potato virus Y* probably correspond with ability to overcome resistance of tobacco. Journal of Food, Agriculture & Environment, 11(3&4):986-989.
27- Sadeghi M.S., Bejatnia S.A.A., Masumi M., and Izadpanah K. 2008. Characterization of a strain of *Potato virus Y* causing eggplant mosaic in southern Iran. Australasian Plant Pathology, 37(1):79-86.
28- Scholthof K.B., Adkins S., Czosnek H., Palukaitis P., Jacquot E., Hohn T., Hohn B., Saunders K., Candresse T., Ahlquist P., Hemenway C., and Foster G. 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology, 12:938–954.
29- Schubert J., Fomitcheva V., and Sztangret-Wi´sniewska J. 2007. Differentiation of *Potato virus Y* strains using improved sets of diagnostic PCR-primers. Journal of Virological Methods, 140:66 –74.
30- Shukla D.D., Ward C.W., and Brunt A.A. 1994. The *Potyviridae*. CAB International, Walling ford, UK. p. 74-112.
31- Singh R.P., Valkonen J.P.T., Gray S.M., Boonham N., Jones R.A.C., Kerlan C., and Schubert J. 2008. Discussion paper: the naming of *Potato virus Y* strains infecting potato. Archives of Virology, 153:1–13.
32- Smith KM. 1931. Composite nature of certain potato viruses of the mosaic group. Nature, 127:702.
33- 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.
34- Warren M., Cruger K., and Schoeman A.S. 2005. *Potato virus* Y (PYV) and *Potato leaf roll virus* (PLRV). PhD. thesis. Faculty of Natural and Agriculture Sciences, University of Pretoria.
35- Yardımc N., Çulal Kılıç H., and Demir Y. 2015. Detection of PVY, PVX, PVS, PVA, and PLRV on different potato varieties in Turkey using DAS-ELISA. Journal of Agriculture Science and Technology, 17:757-764.
36- Younesi B., Shams Bakhsh M., Safaie N., and Khelghatibana F. 2011. Simultaneous detection of several important viruses in naturally infected potato plants using multiplex RT-PCR in comparing with ELISA. Modern Genetics Journal, 6 (1):17-26. (In Persian with English abstract)

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 323-337

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۳۳۷-۳۲۳

ارزیابی مقاومت ارقام آبی گندم نان به نماتد سیستی غلات *Heterodera filipjevi*

مرضیه معتمدی[1] – مهدی نصراصفهانی[2*] – عیدی بازگیر[3] – مصطفی درویش‌نیا[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۲۰

چکیده

گندم .*Triticum aestivum* L یکی از محصولات زراعی مهم و استراتژیک در جهان می‌باشد. یکی از معضلات فعلی گندم نماتد سیستی، گونه *Heterodera filipjevi* بوده که دارای پراکنش گسترده‌تری نسبت به سایر گونه‌ها در مزارع غلات کشور است. در این تحقیق واکنش ۳۰ رقم گندم آبی در برابر نماتد سیستی *H. filipjevi* در قالب طرح‌های آماری در گلخانه و مزرعه بررسی شد. شناسایی گونه براساس مطالعات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی و هم‌چنین، مشخصات مولکولی انجام گردید. شاخص تعداد سیست و تخم و لارو سن دوم، مبنای تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. هم‌چنین، فاکتور تولیدمثل و درصد کاهش و یا افزایش جمعیت نماتد سیستی غلات، در هر تیمار نسبت به جمعیت اولیه‌ی همان تیمار محاسبه شد. تجزیه و تحلیل آماری و خوشه‌ای داده‌ها، به ترتیب، با مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT)، با استفاده از نرم افزارهای آماری SAS و SPSS انجام پذیرفت. نتایج نشان داد که در شرایط گلخانه، کمترین میزان سیست قهوه‌ای مربوط به رقم بهرنگ با میانگین ۱۵ عدد و بعد از آن رقم بم با میانگین ۱۵/۲۵ عدد در ۲۰۰ سی‌سی خاک بود. در صورتی که کمترین میزان تخم، لارو و فاکتور تولید مثل مربوط به رقم پیشتاز با میانگین ۰/۴۹ عدد در گرم خاک محاسبه شد. در شرایط مزرعه، کمترین میزان سیست مربوط به رقم بم با میانگین ۱۱۳/۳۳ عدد در ۲۰۰ سی‌سی خاک و کمترین میزان تخم، لارو و فاکتور تولید مثل مربوط به رقم پارسی با میانگین ۰/۶۹ عدد در گرم خاک بود. ارقام مربوطه بر اساس واکنش به نماتد سیستی در سه طیف، مقاوم، متحمل و حساس قرار گرفتند.

واژه‌های کلیدی: تخم ولارو، سیست، نماتد سیستی غلات، واکنش ارقام *Heterodera filipjevi*

مقدمه

گندم، .*Triticum aestivum* L، مهم‌ترین گیاه زراعی به شمار می‌آید و غذای اولیه و اصلی اغلب مردم جهان را تشکیل می‌دهد. تقریبا ۶ میلیون هکتار از زمین‌های زراعی کشور زیر کشت گندم است (۵).

نماتدهای انگل گیاهی یکی از عوامل مهم محدود کننده رشد غلات محسوب می‌شوند.

تاکنون نماتدهای انگل زیادی از گندم و جو گزارش شده که نماتدهای سیستی غلات[5] .CCN، *Heterodera* spp.، گونه *H. filipjevi* (Madzidov 1981) Stelter 1984 یکی از مهم‌ترین گونه‌های خسارت‌زا در کشورهای روسیه، سوئد، اوکراین، نروژ، آلمان، انگلستان، لهستان، اسپانیا، بلغارستان، آمریکا، هند، ترکیه، سوریه و ایران هستند (۸ و ۱۲). از گروه نماتدهای سیستی غلات در ایران، گونه *H. filipjevi*، از نظر پراکنش و اقتصادی، اهمیت بیشتری بر روی گندم دارد (۴۳). در استان اصفهان، نماتدهای گروه avenae برای اولین بار توسط طلاچیان و همکارانش در سال ۱۹۷۶ گزارش گردید. در مطالعه دیگری که توسط دامادزاده و انصاری‌پور در سال ۲۰۰۱ صورت پذیرفت، گونه نماتد سیستی *H. filipjevi* از مزارع گندم و جو در مناطق مختلف استان اصفهان تعیین شد. تنها معافی و همکاران، وقوع نماتد سیستی غلات را از مزارع استان‌های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، اصفهان، سیستان و بلوچستان، کردستان، کرمانشاه، کهکیلویه و بویراحمد، خوزستان، همدان، مازندران، گلستان، زنجان، لرستان، یزد و مرکزی گزارش کردند (۴۳ و ۴۴). در بررسی های مقدماتی صورت گرفته، پیرامون شناسایی و پراکنش نماتدهای سیستی غلات مزارع گندم و جو استان اصفهان، آلودگی به گونه *H. filipjevi* در ۵۱/۷ درصد نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده از مزارع مذکور با میانگین جمعیت ۱۶۵۸ تخم و لارو سن دوم در ۲۰۰ گرم خاک بود (۲۴). حداکثر کاهش محصول به میزان ۴۰ درصد با جمعیت اولیه ۲۰ تخم و لارو سن دوم در گرم خاک اندازه گیری گردیده است (۳۸ و ۳۹).

۱، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار و دانشیار دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان
۲- دانشیار بیماری شناسی 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@gamil.com)
DOI: 10.22067/jpp.v32i3.69796
5- Cereal Cyst Nematode

فاتح (۱۲) در سوریه، پراکنش نماتد سیستی غلات (CCN) را مورد ارزیابی قرار داد. این مطالعه نشان داد که ۶۲ درصد از مزارع با سه گونه *Heterodera* به ترتیب *H. latipons* (۷۶ درصد)، *H. avenae* (۳۱ درصد)، و *H. filipjevi* (۹ درصد) آلوده بودند. برای شناسایی دقیق، سریع و حساس از ژن اکتین-۱ برای تشخیص گونه *H. latipons*؛ و زیرواحد سیتوکروم اکسیداز از ژن میتوکندریایی (COI) برای شناسایی گونه‌های *H. avenae* و *H. filipjevi* استفاده شد. در پژوهشی که توسط مکرم حصار و همکاران (۲۸) صورت گرفت، جمعیت‌های مختلف ۹ گونه مربوط به گروه H. avenae در استان خراسان از نظر ریخت سنجی و ژنتیکی مورد بررسی قرار گرفت. از نظر ریخت شناسی دو گونه *H. filipjevi* و *H. mani* شناسایی شدند ولی PCR-RFLP و آنالیز فیلوژنتیکی فقط وجود گونه *H. filipjevi* را تأیید نمود.

جیانگ کوآن و همکاران (۲۲) واکنش تعدادی از لاین‌های گندم را در برابر نماتد سیستی غلات *H. avenae* مورد ارزیابی قرار دادند که ۶۸ درصد لاین‌ها فوق حساس و ۲۰ درصد نمونه‌ها مقاومت نشان دادند. دبابت و همکاران (۸)، ۱۲۶ لاین گندم بهاره پیشرفته سازگار با شرایط نیمه خشک برای شناسایی جایگاه مربوط به ژن مقاومت به نماتدهای *H. avenae*، *Pratylenchus neglectus* و *P. thornei* را با استفاده از نشانگرهای مرتبط با DART مورد ارزیابی قرار دادند. در نتایج ۱۱ نشانگر مرتبط با مقاومت به نماتد سیستی و ۲۵ نشانگر برای مقاومت به *P. neglectus* و ۹ نشانگر برای مقاومت به *P. thornei* معرفی شد.

نماتد سیستی غلات در ۲۲ استان کشور چین و یک ایالت آن وجود داشته و بیشترین خسارت در استان هنان چین بیش از ۱۵-۲۰ درصد گزارش شده است (۳۴). خسارت گندم در عربستان ۷۷ -۱۷ درصد، در استرالیا روی جو ۲۰ درصد و روی گندم ۲۳-۵۰ درصد گزارش شده است (۲۵ و ۲۶). در الجزایر نماتد سیستی غلات پراکنش گسترده‌ای داشته، به‌طوری که تراکم جمعیت آن در برخی نواحی بین ۲۶۷ تا ۲۸۱ عدد سیست در هر کیلوگرم از خاک بود (۱۴).

در یک بررسی مقایسه‌ای بین بیماری‌زایی *H. avenae* و *H. filipjevi*، روی شش رقم گندم بهاره نشان داد که رقم اویان (Ouyen) به نماتد H. avenae مقاوم، اما در برابر *H. filipjevi* حساس بود. هم‌چنین، رقم سانمز (Sönmez) برعکس قبلی در برابر *H. filipjevi* مقاوم و در برابر گونه دیگر حساس بود (۴۱). اسمیلی و مارشال (۴۰) تعداد ۳۹ رقم گندم بهاره را از نظر مقاومت و تحمل در برابر *H. avenae*، طی دو سال مورد ارزیابی قرار دادند. گیاهان در ردیف‌های تیمار شده با آلدیکارب در زمان کشت و تیمار نشده مقایسه شدند. تعداد سیست شیری تشکیل شده از ۷۰ – ۵ عدد در ریشه هر گیاه متغییر بود. در نوارهای تیمار شده با آلدیکارب، میانگین تعداد سیست شیری تا ۹۹ درصد روی رقم حساس جلی (Glee) کاهش یافت و میانگین تولید دانه در رقم کاتالدو (Cataldo) با حداقل تحمل تا ۷۷ درصد افزایش داشت. در این تحقیق، برای اولین بار ارقام گندم بهاره با ویژگی مضاعف مقاوم و متحمل به *H. avenae* گزارش شد. حاج حسنی و همکاران (۱۵)، مطالعه‌ای را پیرامون تاثیر و خسارت این گونه روی گندم رقم سرداری در شرایط میکروپلات در ایران طی سال‌های ۱۳۸۸-۱۳۸۷ انجام داده‌اند، مشخص شد که این گونه نماتد از لحاظ اقتصادی در گندم زمستانه مهم می‌باشد و میزان خسارت و کاهش محصول حتی در پایین‌ترین جمعیت به‌کار رفته (۲/۵ تخم و لارو سن دوم در گرم خاک) معنی‌دار است و باعث افت ۴۰ درصدی محصول می گردد.

کاربرد ارقام مقاوم در مدیریت نماتدهای مورد نظر، مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست است (۳۵). از این رو، ۲۱۷ لاین گندم زمستانه در سوریه برای بررسی مقاومت در برابر *H. filipjevi* در اتاقک رشد، مورد ارزیابی قرار گرفتند. لاین‌های مشابه با استفاده از نشانگر AFLP مشخص شدند. نتایج نشان داد که برخی از لاین‌ها به دلیل تعداد کم سیست، امید بخش بوده که این لاین‌ها مقاوم و نسبتاً مقاوم در نظر گرفته شدند (۲ و ۱۲). مقاومت به نماتد سیستی اولین بار در جو گزارش شد (۳۲) و چهار دهه بعد در گندم نان شناسایی گردید (۳۱). تاکنون ۱۱ ژن مقاوم مختلف به نماتد سیستی غلات با عنوان ژن‌های *Cre* معرفی شده است. اکثر ژن‌های مقاوم به این نماتد، از تلاقی گندم با خویشاوندان وحشی آن به گندم نان منتقل شده‌اند (۷ و۳۳). امروزه توسعه ارقام مقاوم به نماتد سیستی با استفاده از نشانگرهای مولکولی سرعت گرفته است. ویلیام (۴۶) با استفاده از نشانگر RFLP مشخص کرد که ژن‌های Cre در لاین‌های nulli-tetrasomic و ditelosomic روی بازوی بزرگ کروموزم شماره ۲ گندم قرار دارد. اِوان و همکاران (۱۱)، مجموعه ژنی در لوکوس Cre3 مورد بررسی قرار دادند که در بازوی بلند کروموزم D_2 گندم نقشه برداری شدند و به‌عنوان مقاومت به نماتد جدا شدند. بنابر این، Cre3، Cre1 و دیگر ژن‌های مقاومت Cre، در حال حاضر در برنامه انتخاب به کمک نشانگر (MAS) برای شناسایی گندم مقاوم در برابر نماتد سیستی استفاده می‌شود.

نتایج تحقیقات اولیه نشان دهنده خسارت‌زا بودن نماتد مذکور در محصول گندم است. انجام مطالعاتی جهت بررسی واکنش ارقام و لاین‌های مختلف گندم به این گونه از نماتد سیستی غلات و معرفی ارقام مقاوم، می‌تواند زمینه ساز به کارگیری ارقام مقاوم در مناطق آلوده و کاهش خسارت ناشی از این نماتد بوده و شرایط را جهت استفاده از این ارقام، در تحقیقات به‌نژادی و یا مهندسی ژنتیک جهت انتقال ژن‌های مقاوم به ارقام حساس و پرمحصول را فراهم آورد. با توجه به گستردگی زیاد گونه *H. filipjevi*، در مزارع گندم مناطق مختلف در اکثر استان‌ها، شامل: خوزستان، لرستان، گلستان، خراسان، کرمانشاه، فارس، اصفهان و... و هم‌چنین اهمیت نماتدهای سیستی

غلات در کشور، در همین راستا، واکنش ۳۰ رقم گندم آبی مورد کشت در کشور نسبت به گونه غالب نماتد سیستی *H. filipjevi* در شرایط مزرعه و گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

بذور ارقام مورد مطالعه از مؤسسه بذر و نهال بخش غلات تهیه و در گلخانه و مزرعه بررسی گردید (جدول ۱).

شناسایی گونه نماتد

جهت شناسایی نماتد سیستی غلات، مزرعه‌ای با سابقه کشت گندم و آلودگی به این نماتد در منطقه کبوترآباد اصفهان انتخاب گردید. پس از جداسازی نماتدهای سیستی از خاک و ریشه گندم، مخروط انتهایی سه سیست از هر نمونه برش داده شد و پس از تهیه اسلاید مناسب، مطالعات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی روی آن‌ها صورت پذیرفت. لاروهای سن دوم مربوط به هر سیست نیز جداگانه تثبیت و پس از انتقال به گلسیرین خالص، از آن‌ها اسلایدهای میکروسکوپی دایمی تهیه گردید و با استفاده از کلیدهای موجود شناسایی شدند (۱۶). برای شناسایی تکمیلی از روش مولکولی نیز استفاده شد (۴۰).

به منظور شناسایی گونه مورد مطالعه، هر سه گونه نماتد *H. latipons*، *H. avenae* و *H. filipjevi* استخراج DNA شد. جهت استخراج DNA، از کیت Iraizol Old Extraction DNA Kits (شرکت رنا زیست فناوران ایران) استفاده شد. سپس با استفاده از جفت پرایمرهای اختصاصی دو گونه *H. avenae* و *H. filipjevi*: HaITS6-F: (5′-ATGCCCCCGTCTGCTGA-3′) HaITS4-R: (5′-CCCGTCTGCTGTTGAGA-3′)، HfITS1-F: (5′-GAGCGTGCTCGTCCAAC-3′) HfITS1-R: (5′-ACCTCAGGCTTTTATTATCAC-3′) واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام گردید (۴۱).

مطالعات گلخانه‌ای

بررسی‌ها، در گلخانه‌های بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان انجام گرفت. در مطالعات گلخانه‌ای، از لیوان‌های سترون با حجم ۲۰۰ سی سی، حاوی خاک سترون با ترکیب خاک و ماسه به میزان ۱:۱ در پنج تکرار روی هر رقم و پنج تکرار به عنوان شاهد در قالب طرح کامل تصادفی استفاده شد. دمای گلخانه ۱۸- ۱۶ درجه سانتیگراد و روشنایی ۱۶ ساعت بود. در هر لیوان تنها یک بوته نگه‌داری شد. به منظور تهیه زادمایه نماتد، مزرعه‌ای با سابقه کشت گندم و آلودگی به نماتد سیستی در منطقه کبوترآباد اصفهان انتخاب گردید. سپس، ۱۰ زیرنمونه با حرکت به صورت زیگزاگ برداشت و نمونه‌ها با هم مخلوط و به عنوان یک نمونه کلی در نظر گرفته شد. مقداری از خاک هر نمونه بطور جداگانه در هوای معمولی خشک و با استفاده از روش فنویک (۱۳) و الک ۶۰ مش (۲۵۰ میکرون) شسته و سیست‌های موجود در آن با استفاده از نوارهای کاغذی مخصوص و الک جدا گردید.

جهت تهیه لارو نماتد، سیست‌ها با استفاده از سیست خردکن خرد گردید و به هر یک از گیاهچه‌های سه هفته‌ای گندم تعداد ۱۰۰۰ عدد لاور سن دوم فعال نماتد در دو نوبت مایه‌زنی شد. دو ماه پس از آخرین مایه زنی، تعداد سیست‌های تشکیل شده روی ریشه مورد شمارش قرار گرفتند. سپس، دو هفته بعد سیست‌های قهوه‌ای داخل خاک لیوان‌ها نیز شمارش شدند. از هر نمونه به صورت جداگانه به میزان ۲۰۰ سی‌سی خاک برداشته و سیست‌های آن به روش فنویک استخراج شد. سیست‌ها توسط سیست خردکن خرد شده و تخم و لارو آن‌ها آزاد گردید. پس از آن، حجم سوسپانسیون را به ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانده و شمارش جمعیت نهایی لارو و تخم نماتد توسط اسلاید شمارش در گرم خاک هر لیوان در پنج تکرار محاسبه شد (۲۰ و ۳۰).

گروه‌بندی ارقام براساس تعداد سیست قهوه‌ای در ریشه هر گیاه انجام شد: بسیار مقاوم($\geq$ ۳)، مقاوم (۵ >)، نسبتاً مقاوم (۱۰-۵)، نسبتاً حساس (۱۵-۱۱)، حساس (۲۰-۱۶)، بسیار حساس (۲۰<) (۸، ۹و۱۲). هم‌چنین، به منظور ارتباط بین تعداد سیست، تخم و لارو با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون (فرمول زیر) میزان همبستگی آن‌ها محاسبه گردید.

$$r = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \bar{y})^2}}$$

در این فرمول r ضریب همبستگی بین متغیرهای x و y است. x_i تعداد سیست نماتد در هر نمونه، $\bar{x}$ میانگین جمعیت سیست نماتد، y_i میزان جمعیت تخم و لارو نماتد و $\bar{y}$ میانگین جمعیت تخم و لارو نماتد می‌باشد.

مطالعات مزرعه ای

در این بخش از بررسی، از همان مزرعه آلوده استفاده گردید. به منظور تعیین جمعیت اولیه‌ی (Pi) نماتد سیستی گندم در خاک، ابتدا در زمین انتخابی و قبل از اعمال تیمارها، نمونه‌هایی از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری جمع آوری و پس از مخلوط کردن آن‌ها، یک نمونه‌ی مرکب دو کیلوگرمی تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. سپس، ۲۰۰ گرم از خاک هر نمونه در هوای معمولی خشک و سیست‌های موجود در آن، با روش فنویک استخراج گردید (۱۳).

جدول ۱- شجره، منشأ، عادت رشدی و واکنش میزبانی ارقام مورد مطالعه به نماتد سیستی *Heterodera filipjevi*

Table 1- Pedigree, origin, growth type and host response of the selected wheat accessions and their response to *Heterodera filipjevi.*

S/N	Name Englis – Persian	Pedigree	Origin	Growth type	Host response
1	Aflak-افلاک	LR/ Son64/4/ Tit/ Son64//Nai60 /3/ 23854 /Tob/ Cno/5/HD160	CIMMYT	Spring	Ms
2	Alvand-الوند	0771FC/5726-72-1	Iran	Facultative	MR
3	Arg-ارگ	Inia/22-66-1	Iran	Spring	HS
4	بک کراس روشن B.C. Roshan-	Hys//Drc*2/7c/3/2*Rsh	Iran	Facultative/Spring	S
5	Bahar-بهار	ICW84-0008-013AP-300L-3AP-300L-OAP	ICARDA	Spring	MR
6	Baharan-بهاران	7-89-WS	CIMMYT	Spring	MS
7	Bam-بم	Vee "s"/Nac //1-66-22	Iran	Facultative	R
8	Berang-بهرنگ	3-NEERG*2/OUZ GNOHZ	CIMMYT	Spring	R
9	Chamran-چمران	YO -M3-YO-MO-Y05-63858MC),alittA	CIMMYT	Spring	MS
10	Chamran -چمران۲ 2	Attila 50y//Attila/Bacanora	Iran	Spring	S
11	Dena-دنا	3 Tarro	CIMMYT	Spring	MS
12	Gonbad-گنبد	ATRAK/WANG-SHUI-BAI	Iran	Spring	S
13	Hiedari-حیدری	C-85-3	Iran	Facultative	S
14	Karkhe-کرخه	Shwa/Mald/Aza	ICARDA	Spring	MS
15	Mehregan-مهرگان	ROTSAP*2/3/NCB*4//ZUAKS/SISAO	CIMMYT	Spring	MS
16	Mihan-میهن	Bkt 90-Zhong87	Iran	Winter	S
17	Narin-نارین	85saI/ nadlA//dnavlA/3/22-66-1	Iran	Spring	MS
18	Neishabor-نیشابور	Tob//Cno/Sx /12300/3/31-63-1	Iran	Spring	MS
19	Ofogh-افق	Attila/GF-gy54	Iran	Spring	MS
20	Orom-اروم	Alvand /NS732/Her	Iran	Facultative	MR
21	Parsi-پارسی	Darab*2/"Dove"s"/Buc"s	Iran	Spring	MR
22	Pishgam-پیشگام	BKT/90-Zhong 87	Iran	Facultative	MS
23	Pishtaz-پیشتاز	Alvand//Aldan/Ias58	Iran	Spring	MR
24	Roshan-روشن	BLOUNDANL/3/Bb/7C*2// Y50E/KAL*3	Iran	Facultative/Spring	MS
25	Shabrang-شبرنگ	81-18-WD	CIMMYT	Spring	S
26	Shosh-شوش	XDICOCCOIDE SSTORK/3-CBRD	ICARDA	Spring	MR
27	Sirvan-سیروان	PASTOR*2/PRL	CIMMYT	Spring	MS
28	Sistan-سیستان	"Bank"s"/Vee"s	CIMMYT	Spring	S
29	Sivand-سیوند	Kauz"S"/Azd	Iran	Spring	MS
30	Zare-زارع	Lira/3/Ymh/Tob//Mcd/4/Mo73/F35,70//130L1,11	CIMMYT	Winter	S

کلیه‌ی سیست‌های پر (حاوی تخم و لارو سن دوم) با بررسی زیر استریومیکروسکوپ جدا و پس از خرد کردن آن‌ها با سیست خردکن، جمعیت اولیه‌ی تخم و لارو سن دوم موجود در هر نمونه ۲۰۰ گرم خاک و در نهایت در یک گرم خاک، به طور میانگین ۵/۵ عدد محاسبه شد. جهت بررسی میزان حساسیت و مقاومت ژنوتیپ‌های مختلف گندم به نماتد سیستی، ژنوتیپ‌های مورد نظر در خاک آلوده مزرعه به صورت خطی در نیمه دوم آبان ماه ۱۳۹۴ در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار و هر تکرار با چهار خط کشت شدند. زمین مورد آزمون به ۱۲۰ خط تقسیم شد که طول هر خط دو و نیم متر و فاصله هر رقم با رقم بعدی نیم متر بود. رقم بک کراس، به‌عنوان شاهد حساس و رقم سیروان شاهد نسبتاً مقاوم، در مقایسه با سایر ارقام در نظر گرفته شد (۲۱). عملیات برداشت در اردیبهشت ماه ۱۳۹۵ صورت پذیرفت. برای تعیین تعداد سیست شیری، از هر تکرار چندین نمونه ریشه گندم برداشت شد و جهت مشاهده ماده‌های بالغ با

استفاده از استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند (۱ و ۳).

برای ارزیابی ریشه‌های گیاه از هر رقم گندم مورد آزمون، از روش ذیل استفاده گردید:

در شاهد حساس اگر متوسط تعداد سیست کمتر از ۴۰ باشد آزمایش حذف می‌شود.

اگر بین ۸۰-۴۰ باشد، کیفیت اجرای آزمایش متوسط و آزمایش ادامه می یابد. گیاهان با تعداد سیست کمتر از ۸-۴ مقاوم.

اگر بیش از ۸۰ تا ۱۰۰ سیست باشد کیفیت اجرای آزمایش خوب وآزمایش ادامه می یابد. گیاهان با تعداد سیست کمتر از ۱۰تا ۱۵ مقاوم.

اگر بیش از ۱۲۰ سیست باشد کیفیت اجرای آزمایش عالی وآزمایش ادامه می یابد. گیاهان با تعداد سیست کمتر از ۲۵ تا ۳۰ مقاوم.

به‌علت ریزش سیست‌های شیری در هنگام جداسازی ریشه از خاک موفق به شمارش آنها نشدیم.

جهت تعیین جمعیت نهایی در اواخر خرداد ماه، مقدار ۲۰۰ گرم از خاک اطراف بوته‌ها برداشته شده و پس از مخلوط کردن به صورت یک نمونه واحد برای هر تکرار به آزمایشگاه منتقل شد. از هر نمونه به صورت جداگانه مقدار ۲۰۰ گرم خاک برداشته و سیست‌های پر آن به روش فنویک استخراج و شمارش شد. سیست‌ها توسط سیست خرد کن خرد شد و تخم و لاروها آن‌ها آزاد گردید. سپس، حجم سوسپانسیون به ۲۰۰ میلی‌لیتر رسید و شمارش تخم و لارو در سه تکرار صورت گرفت. در نهایت جمعیت نهایی لارو و تخم موجود در هر گرم خاک هر نمونه مزرعه محاسبه شد (۱ و ۴).

جهت سهولت و نتیجه قاطع‌تر تغییراتی به شرح ذکر شده در جدول ۲ در آن ایجاد و ارقام ارزیابی گردید. طبق فرمول ارائه شده توسط استنبرینک (۱۹۶۶)؛ یعنی، R= Pf//Pi، محاسبه فاکتور تولیدمثل برای هر یک از تیمارها صورت گرفت. که در آن Pi جمعیت اولیه تخم و لارو سن دوم (Initial population) و Pf جمعیت نهایی (Final population) آن‌ها می‌باشد. درصد کاهش و یا ازدیاد جمعیت نیز، با محاسبه میانگین جمعیت نهایی و اولیه هر تیمار طبق فرمول ذیل محاسبه و بر اساس آن، درصد کاهش و یا افزایش جمعیت نماتد سیستی غلات، در هر تیمار نسبت به جمعیت اولیه‌ی همان تیمار مشخص شد (۶،۱۷ و ۱۹).

$$\text{Corrected (\%)} = 1-\left[\frac{Ta-Cb}{Tb-Ca}\right]\times 100$$

Ta = تعداد تخم و لارو قبل از اجرای آزمایش؛ Tb= تعداد تخم و لارو پس از اجرای آزمایش؛ Ca = تعداد تخم و لارو در شاهد (فاقد تیمار) قبل از اجرای آزمایش؛ Cb = تعداد تخم و لارو در شاهد (فاقد تیمار) پس از اجرای آزمایش.

جدول ۲- ارزیابی مقاومت بر اساس شاخص تعداد تخم و لارو

Table 2 - Assessment of resistance based on the number of eggs and larvae

number of eggs and larvae per gram soil	Degree of resistant
Resistant مقاوم -	0-5
Moderately resistant- نسبتاً مقاوم	5-10
Tolerance- متحمل	10-25
Moderately susceptible- نسبتاً حساس	25-50
Susceptible- حساس	> 50

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از بررسی‌های گلخانه و مزرعه، ابتدا جهت یکنواخت سازی داده‌ها، با رابطه $\text{Asin}\sqrt{x+0/5}$ تبدیل داده صورت گرفت. سپس، تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند. برای دسته بندی ارقام بر اساس تعداد سیست و تخم و لارو به روش تجزیه خوشه‌ای از نرم افزار SPSS استفاده شد (۳۷).

نتایج

سیست‌های جدا شده براساس شاخص‌های ریخت شناسی و مولکولی، فقط سیست‌های *H. filipjevi* بودند. مشخصات گونه *H. filipjevi* پاتوتیپ اصفهان به شرح ذیل اندازه‌گیری و مشخصات ریخت‌سنجی تعیین شد (شکل ۱).

مشخصات سیست:

طول سیست: (۶۸۰-۴۹۰) ۶۶۰ میکرومتر

عرض سیست: (۴۸۰-۳۳۰) ۴۱۰ میکرومتر

مشخصات مخروط انتهایی (Vulval cone region) :

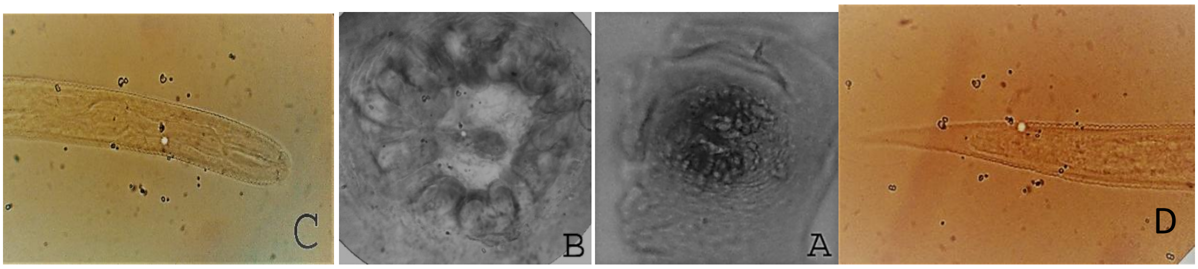
- طول شکاف فرج: (۱۲-۹) ۱۰/۸ میکرومتر
- طول پنجره خروجی لارو: (۵۰-۴۳) ۴۶ میکرومتر
- عرض پنجره خروجی لارو: (۲۶-۲۱) ۲۴ میکرومتر
- ماهیچه‌های نگهدارنده واژن (Under bridge): (۷۸-۷۴)

۷۹/۱ میکرومتر

مشخصات لاروسن دوم (J2):

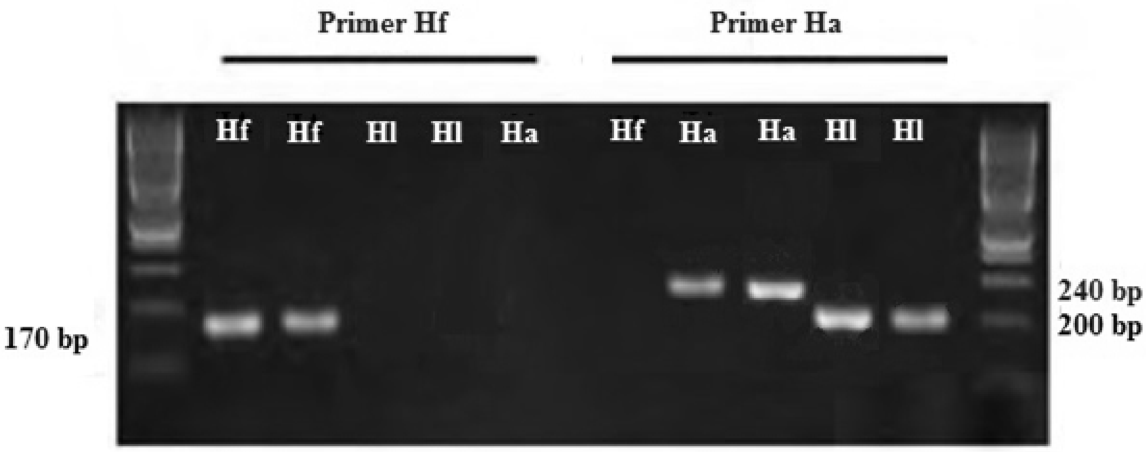
- طول بدن: (۶۰۰-۵۲۰) ۵۶۰ میکرومتر
- طول به عرض(a): (۲۶/۲-۲۳/۵) ۲۴ میکرومتر
- طول بدن به طول مری تا محل اتصال به روده(b): (۵/۸-۳/۲) ۴/۴ میکرومتر
- طول بدن به طول کل مری (Overlap) (b´): (۴/۷-۳/۵) ۳/۶ میکرومتر
- طول اتصالات: (۲۵-۲۳) ۲۳/۹ میکرومتر
- طول دم: (۵۸-۴۹) ۵۱ میکرومتر
- طول بخش شفاف انتهای دم: (۳۶-۳۰) ۳۴/۲ میکرومتر

نتایج حاصل از PCR با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی، قطعه ۱۷۰ جفت بازی برای نماتد *H. filipjevi* و قطعه ۲۴۰ جفت بازی برای نماتد *H. avenae* تولید نمود. گونه *H. latipons* با پرایمر اختصاصی *H. filipjevi* هیچ باندی نداد اما با پرایمر اختصاصی *H. avenae* باندی در حدود ۲۰۰ جفت باز تولید کرد (شکل ۲).



شکل ۱- A . پنجره خروجی لارو B. ماهیچه‌های نگهدارنده واژن مخروط انتهایی *Heterodera filipjevi*، C . سر و ناحیه مری لارو سن دوم D. ناحیه دم لارو سن دوم

Fig 1- A. Vulval cone region, B. underbridge Vulval cone region of *Heterodera filipjevi*, C. Tail in second juveniles, D. head and Esophagus in second juveniles



شکل ۲ - باند حاصل از الکتروفورز واکنش زنجیره‌ای با استفاده از پرایمرهای اختصاصی دو گونه *Heterodera filipjevi* و *H.avenae*

Ha: *H.avenae*, Hf: *H. filipjevi*, Hl: *H. latipons*

Fig 2- specific-specific PCR in *Heterodera filipjevi* & *H.avenae*

واکنش ارقام

نتایج حاصله، نشان داد که در بین ارقام مورد آزمون در دو شرایط مزرعه و گلخانه اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P < 0.01$). تجزیه خوشه‌ای، ارقام مورد آزمون را نسبت به نماتد سیستی غلات، در رابطه با صفت مورد بررسی، به سه دسته متفاوت گروه بندی نمود که با نتایج آزمون دانکن نیز تشابه نزدیکی داشت.

نتایج گلخانه

نتایج گلخانه روی تعداد سیست رقم‌های مختلف، نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها وجود دارد (جدول ۳) ($P < 0.01$). در این

خصوص ارقام ارگ و شبرنگ با بیشترین تعداد سیست قهوه‌ای یعنی ۲۹/۲۵ عدد در ۲۰۰ سی‌سی خاک در راس قرار گرفته‌اند و نسبت به سایر رقم‌ها اثر معنی‌داری نشان دادند (جدول ۵) ($P < 0.01$). سپس، رقم بک کراس روشن با میانگین ۲۸/۵ عدد سیست در ۲۰۰ سی‌سی خاک در گروه آماری دیگر قرار گرفت. هم‌چنین، رقم بهرنگ با میانگین ۱۵ عدد سیست در ۲۰۰ سی‌سی خاک، کمترین تعداد سیست را داشت.

نتایج حاصل از گلخانه نشان داد که بیشترین تعداد تخم، لارو و فاکتور تولیدمثل مربوط به رقم سیوند با ۱۴/۶۸ و ۲/۹۴ در گرم خاک بود. سپس، رقم کرخه با ۷/۹۴ و ۱/۵۹ تخم و لارو در گرم خاک در گروه آماری بعدی قرار گرفت.

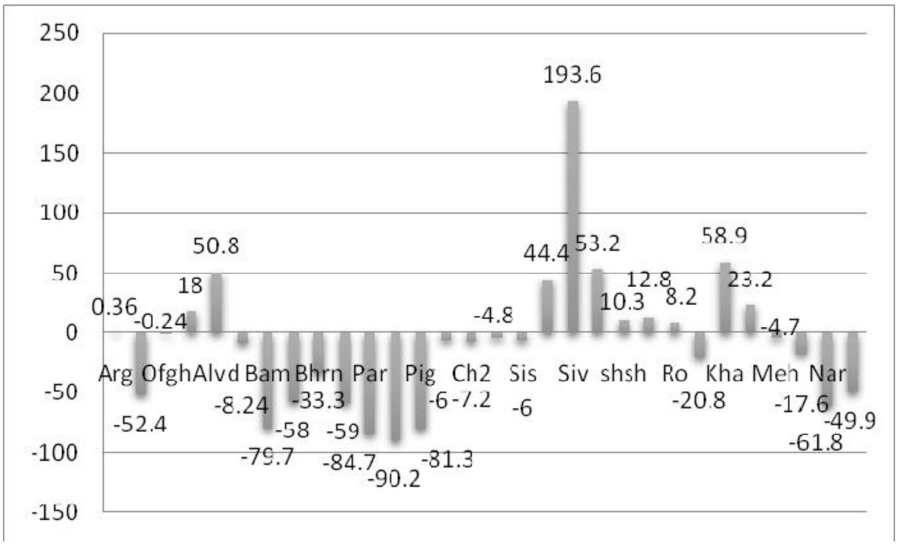
جدول ۳- تجزیه واریانس تعداد سیست، تخم و لارو و فاکتور تولیدمثل نماتد *H. filipjevi* روی ارقام گندم در شرایط گلخانه

Table 3 - Variance analysis of number of cyst, egg and larvae and reproduction factor in *H. filipjevi* nematode on wheat cultivars in greenhouse conditions

Source of cultivars	DF	Cyst	Egg and larvae	Reproduction factor
Repeat	4	1.33	0.06	0.002
Treat	29	3910**	1170.97**	46.84**
Error	116	122.67	3.09	0.12
Total	149	4034	1174.12	46.96
CV		7.04	3.57	3.57

ns و ** : به ترتیب غیر معنی دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

ns and ** ; non – significant and significant at 1% probability level, respectively

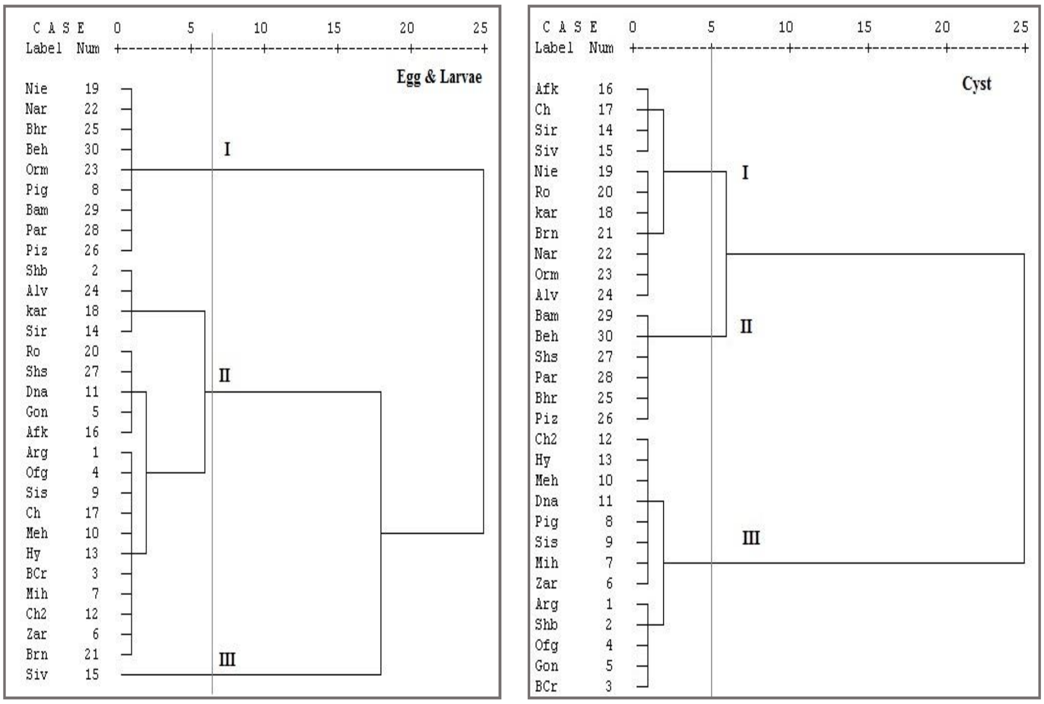


شکل ۳- درصد کاهش یا افزایش جمعیت نماتد روی ارقام در شرایط گلخانه.

(۱. ارگ، ۲. اروم، ۳. افق، ۴. افلاک، ۵. الوند، ۶. بک کراس روشن، ۷. بم، ۸. بهار، ۹. بهاران، ۱۰. بهرنگ، ۱۱. پارسی، ۱۲. پیشتاز، ۱۳. پیشگام، ۱۴. چمران، ۱۵. چمران۲، ۱۶. حیدری، ۱۷. سیستان، ۱۸. سیروان، ۱۹. سیوند، ۲۰. شبرنگ، ۲۱. شوش، ۲۲. دنا، ۲۳. روشن، ۲۴. زارع، ۲۵. کرخه، ۲۶. گنبد، ۲۷. مهرگان، ۲۸. میهن، ۲۹. نارین، ۳۰. نیشابور)

Fig 3- Percentage increase or decrease of nematode population in green house conditions.

(Arg, 2. Orom, 3. Ofogh, 4. Aflak, 5. Alvand, 6. Back Cross Roshan, 7. Bam, 8. Bahar, 9. Baharan, 10. Behrang, 11. Parsi, 12. Pishtaz, 13. Pishgam, 14. Chamran, 15. Chamran II, 16. Hiedari, 17. Sistan, 18. Sirvan, 19. Sivand, 20. Shabrang, 21. Shosh, 22. Dena, 23. Roshan, 24. Zare, 25. Karkhe, 26. Gonbad, 27. Mehregan, 28. Mihan, 29. Narin, 30. Neishabor)



شکل ٤ - خوشه بندی ارقام مقاوم و حساس گندم به نماتد *H.filipjevi* براساس میانگین سیست و تخم ولارو در شرایط گلخانه
(نام ارقام در زیر نویس شکل ۳ ارائه شده است)

Fig 4 - Clustering of resistant and susceptible varieties of wheat to *H.filipjevi* based on average of cyst and eggs and larvae in the greenhouse (Cultivars name are presented in Subtitles fig 3)

جدول ٦- همبستگی صفات مورد بررسی واکنش ژنوتیپ‌های گندم به نماتد سیستی در شرایط گلخانه

Table 6 - Correlation between traits of wheat cultivars to cyst nematode in greenhouse conditions

Traits	Cultivars	Cyst	Egg & larvae	Reproductive factor
Cultivars	1.00			
Cyst	1.00	1.00		
Egg & larvae	1.00	0.37*	1.00	
Reproductive factor	1.00	0.37*	0.99	1.00

ns و *: به ترتیب غیر معنی دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج در صد

ns and *; non – significant and significant at 5% probability level, respectively

همچنین، کمترین میزان تخم، لارو و فاکتور تولید مثل مربوط به رقم پیشتاز با ۰/۴۹ و ۰/۱ در گرم خاک بود. سپس، به ترتیب ارقام پارسی با ۰/۷۶ و ۰/۱۵ و رقم پیشگام با ۰/۹۳ و ۰/۱۹ در گرم خاک در گروه آماری بعد قرار گرفتند (جداول ۳ و ۵) ($P < 0.01$). بیشترین درصد افزایش جمعیت نماتد مربوط به رقم سیوند و بیشترین درصد کاهش نیز مربوط به رقم پیشتاز بود (شکل ۳).

تجزیه‌ی خوشه‌ای نتایج گلخانه، ارقام گندم مربوطه را به سه گروه متمایز بر حسب شدت آلودگی به نماتد سیستی غلات تقسیم نمود (شکل ۴). ضریب همبستگی بین تعداد سیست، تخم و لارو در گلخانه معادل ۰/۳۷ بود که نشان دهنده رابطه مستقیم و ضعیف بین این دو فاکتور می‌باشد (جدول ۶).

نتایج مزرعه

جمعیت اولیه نماتد در مزرعه قبل از اجرای آزمایش با میانگین ۱۰۰ عدد سیست در ۲۰۰ سی‌سی خاک و ۵/۵ عدد تخم و لارو سن دوم در گرم خاک برآورد گردید. داده‌های مزرعه در خصوص میانگین تعداد سیست روی ارقام نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بین ارقام وجود دارد (جدول ۴) ($P < 0.01$). در این خصوص، رقم ارگ با بیشترین تعداد سیست در ۲۰۰ گرم خاک یعنی ۳۷۸ عدد در راس قرار گرفت که در یک گروه مجزا و با اثر معنی‌دار واقع شد. سپس، رقم میهن با ۳۱۶ عدد درگروه بعدی قرار گرفت. همچنین، رقم بم با ۱۱۳/۳۳ کمترین تعداد سیست را داشت و پس از آن رقم بهرنگ با میانگین ۱۲۰/۳۳ عدد بود.

در این ارزیابی از لحاظ تعداد تخم، لارو و فاکتور تولیدمثل، رقم

سیوند با بیشترین مقدار تخم، لارو و فاکتور تولیدمثل؛ یعنی ۱۴/۶۸ و ۲/۸۶ در گرم خاک، در راس قرار گرفت. سپس، رقم سیروان با ۷/۲۲ و ۱/۴۱ تخم، لارو و فاکتور تولیدمثل در ردیف بعدی قرار گرفت. رقم پارسی با ۰/۶۹ و ۰/۱۳ کمترین تعداد تخم، لارو و فاکتور تولیدمثل را در این بررسی‌ها داشت (جداول ۴ و ۵)($P < 0.01$). بیشترین درصد افزایش جمعیت نماتد در مزرعه هم مربوط به رقم سیوند و کمترین درصد مربوط به رقم پارسی بود (شکل ۵). در تجزیه خوشه‌ای، ارقام در سه گروه مقاوم، متحمل و حساس قرار گرفتند (شکل ۶). میزان همبستگی بین تعداد سیست، تخم و لارو در مزرعه معادل ۰/۲۲ بود که حاکی از رابطه ضعیف این دو فاکتور با یکدیگر می‌باشد (جدول ۷).

بحث

نتایج بدست آمده در خصوص شناسایی گونه نماتد سیست مربوطه از طریق روش‌های ریخت‌شناسی و مطالعات مولکولی با نتایج توالی‌یابی سیست دو گونه *H. avenae* و *H. filipjevi* با استفاده از واکنش اختصاصی- اختصاصی PCR، RFLP، توسط اسمیلی و یان (۴۱) مطابقت داشت. براساس نتایج به دست آمده این پژوهش، نماتد سیستی در استان اصفهان *H. filipjevi* تشخیص داده شد. در مطالعات قبلی *H. filipjevi* به عنوان تنها گونه نماتد سیستی غلات در استان گزارش شده است (۱۰، ۲۱، ۲۳ و ۴۳).

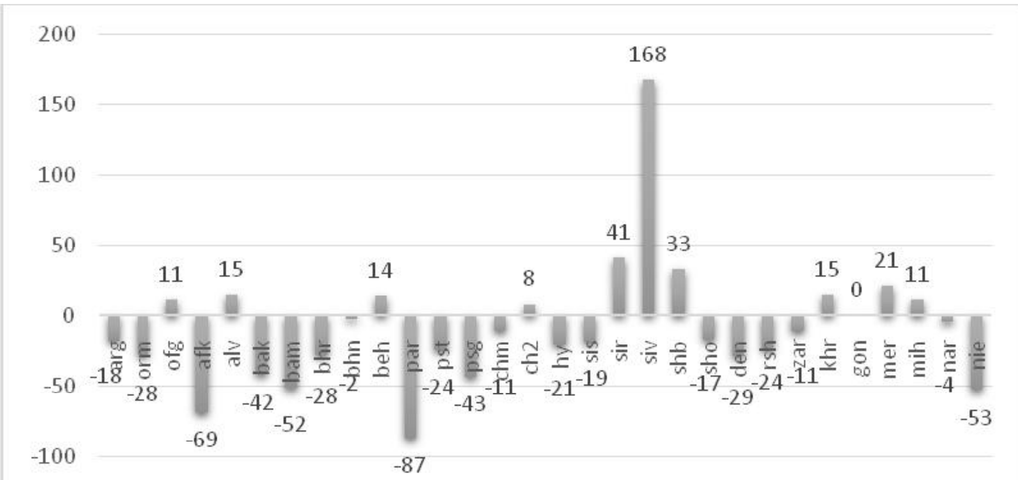
جدول٤- تجزیه واریانس تعداد سیست، تخم و لارو و فاکتور تولیدمثل نماتد *H.filipjevi* روی ارقام گندم در شرایط مزرعه

Table 4 - Variance analysis of number of cyst, egg and larvae and reproduction factor in *H. filipjevi* nematode on wheat cultivars in field

Source of cultivars	DF	Cyst	Egg and larvae	Reproduction factor
Repeat	2	444.68	0.04	0.001
Treat	29	379313.79**	516.9**	17.09**
Error	58	16880.64	3.7	0.12
Total	89	396639.12	520.64	17.21
CV		7.39	4.99	4.99

ns و ** : به ترتیب غیر معنی دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک در صد.

ns and **; non – significant and significant at 1% probability level, respectively



شکل ۵ - درصد کاهش یا افزایش جمعیت نماتد روی ارقام در شرایط مزرعه

(نام ارقام در زیر نویس شکل ۳ ارائه شده است).

Fig 5- Percentage increase or decrease of nematode population in field conditions. (Cultivars name are presented in Subtitles fig 3)

جدول ۵- میانگین تعداد سیست، تخم و لارو و فاکتور تولید مثل نماتد *H. filipjevi* روی ارقام در شرایط مزرعه و گلخانه

Table 5 - Mean number of cysts, eggs and larvae and reproductive factor *H. filipjevi* on wheat cultivar under greenhouse and field conditions

S/N	Cultivars name	Number of brown cyst (in 200 cc soil)		Number of egg and larvae (per gram of soil)		Reproductive factor	
	English – Persian	greenhouse	field	greenhouse	field	greenhouse	field
1	Arg–ارگ	29.25 ±0.38 a	378 ±8.08 a	5.02 ±0.07 h	4.54±0.23 hi	1±0.01 h	0.82± 0 hi
2	Shabrang–شبرنگ	29.25± 0.97 a	289.33± 5.9 e	7.66± 0.07c	7.31± 0.26 c	1.53±0.01 c	1.33± 0.05 c
3	Bak crass roshan–بک کراس روشن	28.5±0.52 b	275± 7.55 ef	4.59 ±0.12 j	3.21± 0.13 k	0.92±0.02 j	0.58± 0.02 k
4	Ofogh–افق	27.75 ± 0.71 c	262± 15.56 fgh	4.99 ± 0.06 hi	6.12±0.02 e	0.1±0.01 j	1.11± 0 e
5	Gonbad–گنبد	27.75± 0.4 c	312.33± 7.22 c	6.16± 0.02 e	5.53± 0.14 f	1.23±0 e	1± 0.02 f
6	Zare–زارع	27 ± 0.37 c	300.67± 6.64 d	3.96± 0.08 k	4.91± 0.05 gh	0.79±0.01 k	0.89± 0.01 gh
7	Mihan–میهن	26.5± 0.51 d	316± 6.11 b	4.12± 0.05 k	6.09± 0.12 e	0.82±0.01 k	1.11± 0.02 e
8	Pishgam–پیشگام	26.25± 0.37d	255.67± 3.76 gh	0.93±0.08 o	3.15±0.07 k	0.19±0.01 o	0.57± 0.01 k
9	Sistan–سیستان	26.25± 0.33d	281± 11.06 ef	4.7±0.05 ij	4.49± 0.06 hi	0.94±0.01 ij	0.81± 0.01 hi
10	Mehregan–مهرگان	26± 0.28 d	266.67± 15.49 fg	4.76± 0.04 hij	6.69± 0.23 d	0.95±0 k	1.21± 0.04 d
11	Dena–دنا	25.75± 0.51e	266.67± 14.44 fg	5.64± 0.07 fg	3.93± 0.09 j	1.13±0.01 fg	0.71± 0.02 j
12	Chamran 2– چمران ۲	25.5± 0.50 e	303.33± 5.54 d	4.12± 0.05 k	6.09± 0.12 e	0.82±0.01 k	1.11± 0.02 e
13	Hiedari–حیدری	25.25± 0.49 e	290.33± 4.91 e	4.76± 0.05 hij	4.33± 0.16 ij	0.95±0.01 hij	0.79± 0.03 ij
14	Sirvan–سیروان	23.75± 0.6 f	210± 2.89 l	7.22± 0.11 d	7.74± 0.06 b	1.44±0.02 d	1.41± 0.01 d
15	Sivand–سیوند	23.5± 0.55 f	242± 7.02 hi	14.68± 0.1 a	14.72± 0.18 a	2.94±0.02 a	2.68± 0.03 a
16	Aflak–افلاک	22.5 ± 0.51 g	220.33± 12.98 kl	5.9 ± 0.05 ef	1.69± 0.12 m	1.18±0 ef	0.31± 0.02 m
17	Chamran–چمران	22.25± 0.24 g	197.33±8.68 m	4.7± 0.04 ij	4.87± 0.14 gh	0.94±0 ij	0.89± 0.02 gh
18	Karkhe–کرخه	21± 0.29 h	234± 15.01 ij	7.94± 0.05 b	6.34± 0.2 de	1.59±0.01 b	1.15± 0.04 de
19	Neishabor–نیشابور	20.75± 0.50 i	227.67± 4.65 jk	1.91± 0.03 n	5.28± 0.19 fg	0.38±0 n	0.96± 0.03 fg
20	Roshan–روشن	20.5 ± 0.4 i	221.67± 2.73 kl	5.41± 0.1 g	4.17± 0.11 ij	1.08±0.02 i	0.76± 0.02 ij
21	Baharan–بهاران	20.25± 0.24 i	199± 7.77 m	3.34± 0.1 l	5.39± 0.18 f	0.67±0.02 l	0.98± 0.03 f
22	Narin–نارین	20± 0.37 i	227.67± 4.65 jk	1.91± 0.03 n	5.28± 0.19 fg	0.38±0 n	0.96± 0.03 fg
23	Orom–اروم	19.75 ±0.31 j	169.33± 14.14 n	2.38 ±0.04 m	3.96± 0.14 j	0.48±0 m	0.72± 0.02 j
24	Alvand–الوند	19.25± 0.27 j	165.33±5.49 no	7.54±0.13 c	6.32±0.12 de	1.51±0.02 c	1.15± 0.02 de
25	Bahar–بهار	17 ± 0.52 k	136.67± 5.96 op	2.1± 0.03 n	3.96± 0.16 j	0.42±0 n	0.72± 0.02 j
26	Pishtaz–پیشتاز	16.75 ± 0.4 l	146.67± 3.44 o	0.49± 0.03 p	4.21± 0.06 ij	0.1±0 p	0.76± 0.01 ij
27	Shosh–شوش	16.5±0.24 l	174± 6 n	5.51± 0.09 g	4.57± 0.14 hi	1.1±0.02 g	0.83± 0.03 hi
28	Parsi–پارسی	16.25± 0.85 l	137.67± 6.23 op	0.76± 0.04 o	0.69± 0.11 n	0.15±0 o	0.13± 0.02 n
29	Bam–بم	15.25± 0.46 m	113.33± 5.24 q	1.01± 0.03 o	2.63± 0.17 l	0.2±0 o	0.48± 0.03 l
30	Berang–بهرنگ	15± 0.44 m	120.33± 10.17 pq	2.05±0.02 n	6.26± 0.07 de	0.41±0 n	1.14± 0.01 de
	Means± SE	22.71± 0.45	231.33± 7.84	4.58±0.23	5.32± 0.13	0.92± 0.04	0.93± 0.02

میانگین‌هایی که دارای یک حرف مشترک هستند تفاوتی با یکدیگر ندارند.

Means fallowed by similar letters are not significantly different at 1% probability.

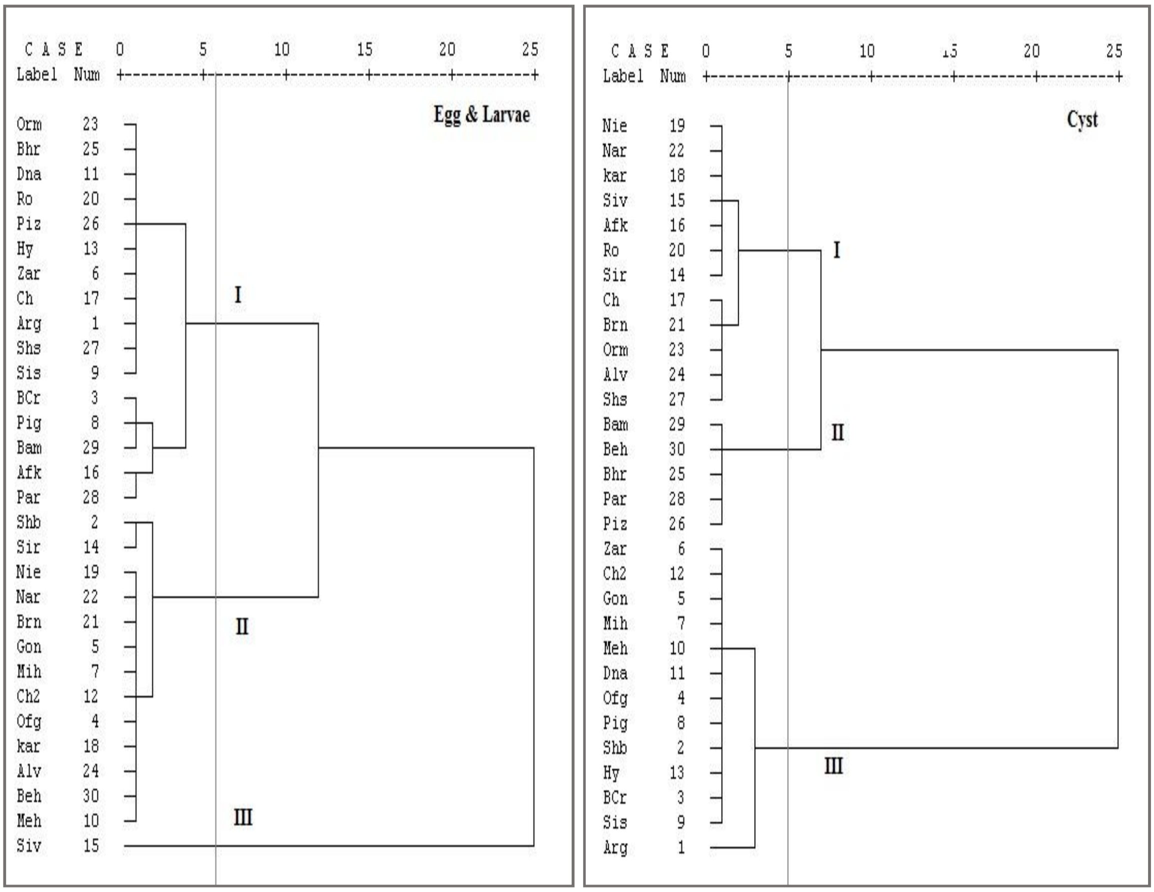
جدول ۷- همبستگی صفات مورد بررسی واکنش ژنوتیپ‌های گندم به نماتد سیستی در مزرعه

Table 7- Correlation between traits of wheat cultivars to nematode in field

Traits	Cultivars	Cyst	Egg & larvae	Reproductive factor
Cultivars	1.00			
Cyst	1.00	1.00		
Egg & larvae	1.00	0.22*	1.00	
Reproductive factor	1.00	0.22*	1.00	1.00

ns و *: به ترتیب غیر معنی دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج در صد

ns and *; non – significant and significant at 5% probability level, respectively



شکل ٦ – خوشه بندی ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس گندم به نماتد *H.filipjevi* براساس میانگین سیست و تخم ولارو در شرایط مزرعه (نام ارقام در زیر نویس شکل ۳ ارائه شده است).

Fig 6- Clustering of resistant and susceptible varieties of wheat to *H.filipjevi* based on average of cyst and eggs and larvae in the field (Cultivars name are presented in Subtitles fig 3)

بررسی‌های انجام شده در خصوص مقاومت ارقام گندم مورد آزمون در این آزمایشات، نشان داد که ارقام مربوطه از واکنش قابل توجه و متفاوتی نسبت به یکدیگر برخوردار بوده‌اند. همانطور که مشاهده گردید این تفاوت‌ها در جداول مربوط به بررسی تعداد سیست، تخم، لارو و فاکتور تولید مثل به وضوح مشهود است. بررسی تعداد سیست در این آزمایش‌ها روی ارقام گندم مورد آزمون نتایج متفاوتی نشان داد و آن‌ها را برحسب تعداد سیست تفکیک و متمایز نمود.

در خصوص تعداد سیست نماتد سیستی غلات (CCN) در مزرعه مشخص گردید که تفاوت بین کمترین و بیشترین تعداد سیست روی ارقام موجود حدود سه برابر بوده که در این‌جا به ترتیب رقم ارگ و بم می‌باشد. سایر ارقام نیز با اختلاف قابل توجه و متمایز از یکدیگر در خصوص تعداد سیست تولیدی، متفاوت بوده‌اند که این واکنش نشان دهنده‌ی تفاوت ژنتیکی ارقام مورد بررسی در این تحقیق نسبت به نماتد سیستی غلات (CCN) است. در این رابطه، دبابت و همکاران (۹) جهت بررسی و دست‌یابی به ارقام مقاوم، بررسی‌هایی روی ۴۲ لاین گندم بهاره انجام داده‌اند که مشخص گردید ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از واکنش‌های متفاوتی برخوردار بوده‌اند. به طوری که در این بین، پنج لاین از آن‌ها، مقاوم به نماتد *H. filipjevi* بوده و تعداد ۹ لاین نیز مقاومت نسبی نشان داده اند.

در بررسی دیگری توسط توکتای و همکاران (۴۵) نیز کماکان به این نتایج دست یافته‌اند. آن‌ها مشخص نمودند که در بین لاین‌ها، بعضاً تعداد محدودی با میانگین ۴۳ عدد سیست، آن ژنوتیپ مقاوم‌ترین لاین به نماتد سیستی غلات (CCN) می‌باشد. در این بررسی‌ها، مبنای تعیین مقاومت ژنوتیپ‌ها به نماتد سیستی غلات *H. filipjevi* در شرایط مزرعه، با استفاده از روش توکتای و همکاران و هم چنین، با اصلاحاتی توسط دبابت استفاده شده است که مبنای ارزیابی تعداد سیست بوده است که در اینجا هم‌خوانی و هماهنگی داشته است.

ولی، آیا، شمارش تعداد سیست می تواند ملاک قطعی در تفکیک ژنوتیپ ها باشد؟ نتایج این تحقیق نشان داد که رابطه‌ی چندان

مستقیمی در این راستا وجود ندارد. چرا که، نتایج تفکیکی گلخانه و مزرعه به طور جداگانه نشان داد که رقم ارگ به ترتیب با ۲۹/۲۵ و ۳۷۸ عدد در این آزمایش بیشترین تعداد سیست را در ۲۰۰ گرم خاک داشته در صورتی که از نظر تعداد تخم و لارو رقم سیوند با میانگین ۱۴/۷ عدد در گرم خاک بیشترین بوده است. هم‌چنین، ضریب همبستگی تعداد سیست و تخم و لارو در مزرعه ۰/۲۲ و در گلخانه ۰/۳۷ بود که رابطه ضعیفی را نشان می‌دهد. لذا، با توجه به اهمیت این موضوع که ممکن است تعداد تخم و لارو بر حسب تراکنش بین ژنوتیپ‌های مورد آزمون گندم و نماتد سیستی غلات (CCN)، تولید نسل را تحت تأثیر قرار دهد، بررسی تعداد تخم و لارو نیز در این تحقیق صورت پذیرفت تا به عنوان یک فاکتور تکمیلی، برای مشخص نمودن وجه تمایز ارقام مد نظر قرار داده شود. در این‌جا، همان گونه که مشخص گردید، تعداد تخم و لارو در گرم خاک در رقم بم (با کمترین میزان سیست) با ۱/۰۱ عدد و پس از آن رقم بهرنگ با ۲/۰۵ عدد و هم‌چنین، رقم پارسی و بهار به ترتیب با ۰/۷۶ و ۲/۱ عدد حدود سه برابر و یا بیشتر تفاوت در تخم و لارو مشاهده می‌گردد. یعنی این‌که بین تعداد سیست با تعداد تخم و لارو هم خوانی و رابطه ی مستقیمی مشاهده نمی‌گردد. در واقع، رقم بم با ۱۱۳/۳۳ سیست، دارای میانگین ۲/۶۳ عدد تخم و لارو در گرم خاک بوده، در صورتی که رقم سیوند با ۲۴۲ عدد سیست دارای ۱۴/۷۲ عدد تخم و لارو در گرم خاک بوده است که بیشترین تخم و لارو را دارا می‌باشد. کمترین میزان تخم و لارو در گرم خاک نیز متعلق به رقم پارسی با تعداد ۰/۶۹ عدد بوده است و یا در رقم بهرنگ تعداد سیست ۱۱۲۰/۳۳ عدد و تعداد تخم و لارو ۶/۲۶ عدد در گرم خاک می‌باشد.

لذا، این‌طور به نظر می‌رسد که در خصوص بررسی مقاومت به نماتد سیستی گندم، شمارش تعداد تخم و لارو سن دوم را نیز باید در نظر داشت. چرا که مکانیزم‌های بیماری‌زایی و توسعه‌ی نماتد و تکثیر آن، نقش اساسی و مهمی در روند رشدی گیاه در بر خواهد داشت. هم‌چنین، به نظر می‌رسد که فاکتور تولیدمثل که در واقع همان تعداد تخم و لارو تولیدی در سیست‌های ایجاد شده روی ارقام بوده‌اند، نیز مهم می‌باشند. بنابراین، به نظر می‌رسد که علاوه بر تعداد سیست تولیدی روی ریشه و محور آن که حائز اهمیت است، بایستی تعداد تخم و لارو را نیز در نظر گرفت. چرا که واکنش‌های گیاه و نماتد می‌تواند در ایجاد سیست و باروری آن نقش اساسی ایفا نماید و اثر به سزایی در کاهش و یا ازدیاد جمعیت نماتد در نسل‌های بعدی داشته باشد. این نتایج با نتایج عباسی و همکاران (۱) در این‌که تعداد سیست و تخم و لارو نماتد را در ارزیابی ارقام مقاوم ملاک قرار دادند مطابقت دارد. آن‌ها براین اساس ژنوتیپ‌های گندم مورد بررسی را در چهار گروه: مقاوم، نسبتاً مقاوم، نسبتاً حساس و حساس گروه‌بندی، جمع‌بندی و نتیجه‌گیری کرده‌اند و ژنوتیپ‌های M-90-7 را با کمترین تعداد سیست و رقم پارسی با کمترین تعداد تخم و لارو معرفی نمودند. در بررسی‌های انجام شده توسط دبابت و همکاران، اسمیلی و همکاران و فاتح، روی ژنوتیپ‌های گندم، ملاک اصلی ارزیابی برای تعیین مقاومت، تعداد سیست شیری در هر گیاه بوده است (۹، ۱۲ و ۳۹).

در بررسی‌هایی که در اصفهان روی سه رقم پارسی، الوند و بک کراس روشن انجام شد، مشخص گردید که به طور میانگین ۲۲ درصد کاهش محصول گندم می‌باشد که در مزارع تحقیقاتی ایستگاه کبوترآباد اصفهان مطالعات آن در سال ۱۳۹۲ انجام گردید (۲۴). هم‌چنین، مشخص گردید که در بین ارقام اختلاف قابل توجهی در واکنش به این نماتد مهلک وجود دارد که یک موضوع امیدوار کننده‌ای برای دست‌یابی به ارقام و یا لاین‌ها و ژنوتیپ‌های مقاوم می‌باشد (۱). ۳۸ درصد از مزارع گندم و جو بررسی شده در استان خوزستان با متوسط جمعیت ۲۸۰ تخم و لارو در ۱۰۰ گرم خاک به نماتد سیستی غلات آلوده می‌باشند. میزان خسارت نماتد سیستی غلات گونه *H. filipjevi* با جمعیت ۹ تخم و لارو در گرم خاک بر روی گندم رقم چمران در رامشیر ۵۲ درصد و گونه *H. avenae* با جمعیت ۶۲ تخم و لارو در گرم خاک بر روی گندم رقم چمران در بهبهان ۱۱ درصد تعیین گردیده است. سیست‌های نماتد موجود در خاک مورد حمله عوامل مختلفی قرار می‌گیرند که در بین آن‌ها قارچ‌ها از جایگاه ویژه‌ای برخوردار هستند (۳ و ۴۲). در یک جمع‌بندی از نتایج این مطالعات مشخص گردید که هم اکنون نماتد سیستی غلات، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است چرا که وضعیت تعداد سیست و تعداد تخم و لارو نشان داد که نماتد مربوطه وجود داشته و از جمعیت بالایی نیز برخوردار می‌باشد (۱، ۳ و ۲۴).

با توجه به اینکه انتقال ژن یا ژن های مقاوم در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف گندم باعث افزایش وسعت ژنتیکی و مقاومت به این نماتد می‌گردد، لذا به نظر می‌رسد ارزیابی اولیه به منظور دستیابی به ژنوتیپ‌های جدید اصلاحی الزامی است که از لحاظ مقاومت به نماتد و صفات زراعی دارای برتری باشند (۱۸ و ۲۷). در حال حاضر استفاده از ارقام مقاوم و متحمل گندم نسبت به نماتد سیستی غلات مهم‌ترین روش مقابله با آن در دنیا می‌باشد که در بسیاری از کشورهای اروپایی؛ مانند انگلستان، دانمارک، فرانسه، سوئد و استرالیا، در سطح وسیع به کار می‌رود (۲۹ و۳۶). بنابراین، شناسایی و تشخیص ژن مقاوم در ارقام مورد مطالعه، راه را برای تولید گیاهان تراریخته فراهم می‌سازد که بتوان آن‌ها را به ارقام تجاری، ولی حساس منتقل نمود و ژنوتیپ‌های مقاوم به نماتد و مناسب شرایط آب و هوایی کشور را فراهم ساخت.

نهایتاً آنچه در این تحقیق می‌توان جمع‌بندی و به آن اشاره کرد دستیابی به ارقامی است که به نماتد سیستی *H. filipjevi* مقاومت نشان دادند. از این ارقام مقاوم می‌توان در برنامه مدیریت نماتد سیستی غلات و ردیابی و انتقال ژن‌های مقاومت به ارقام زراعی

مطلوب استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی اصفهان به خاطر همکاری در این تحقیق تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

1- Abbassi N., Nasr Esfahani M., and Mossavi M. R. 2015. Genetical diversity for resistant in promising wheat lines to *Heteroder filipjevi*. 11th International Nematologists Symposium RSN. Russia, Cheboksary, pp: 6-10.
2- Abidou H., El-Ahmad A., Nicol J. M., Bolat N., Rivoal R., and Yahyaoui A. 2005. Occurrence and distribution of species of the *Heterodera avenae* group in Syria and Turkey. Nematologia Mediterranea, 33: 195-201.
3- Ahmadi A. R., and Tanha Maafi Z. 2014. Incidence of cereal cyst nematodes (*Heterodera avenae* type B and *H. filipjevi*) in southwestern Iran. Journal of Crop Protection 3(1): 75-88.
4- Ahmadi A. R., Tanha Maafi Z., and Abeyat T. 2013. Reaction of some wheat, barley and triticale cultivars to cereal cyst nematode, *Heterodera filipjevi* under field conditions in Khuzestan province. Plant Protection Journal (Islamic Azad University, Shiraz Branch), 6(2): 123-132.
5- Amini M. 2015. The importance of wheat, bread and pasta in nutrition. Iran. 158p.
6- Boopathi T., Karuppuchamy P., Singh S. B., Kalyanasundaram M., Mohankumar S., and Ravi M. 2015. Microbial control of the invasive spiraling whitefly on cassava with entomopathogenic fungi. Brazilian Journal of Microbiology 46 (4): 1077-1085.
7- Cui J. K., Peng D. L., Huang W. K., Peng H., Dababat A. A., Erginbas-Orakci G., He W. T., Kong L. A., Ting L., and Wu Q.S. 2015. Resistance identification of different wheat varieties from CIMMYT to Daxing population of *Heterodera avenae*. . Nematodes of Small Grain Cereals. Current status and research. (AA Dababat, H Muminjanov and RW Smiley), pp: 71-78.
8- Dababat A., Hugo Ferney G. B., Erginbas-Orakci G., Dreisigacker S., Imren M, Toktay H., Elekcioglu H., Mekete T., Nicol J., Ansari O., and Ogbonnaya F. 2016. Association analysis of resistance to cereal cyst nematodes (*Heterodera avenae*) and root lesion nematodes (*Pratylenchus neglectus* and *P. thornei*) in CIMMYT advanced spring wheat lines for semi-arid conditions. Breeding Science. 66(5): 692-702.
9- Dababat A., Imren M., Erginbas-Orakci G., Ashrafi S., Yavuzaslanoglu E., Toktay H., Pariyar S., Elekcioglu H., Morgounov A., and Mekete T. 2014. The importance and management strategies of cereal cyst nematodes, *Heterodera* spp., in Turkey Euphytica, 202: 173–188.
10- Damadzadeh M., and Ansaripour B. 2001. Identification and distribution of *Heterodera filipjevi* in the Esfahan province of Iran. Russian Journal of Nematology 9: 57-58.
11- Evans S. L, Odile M., and Rudi A. 2009. Map-based cloning of a gene sequence encoding a nucleotide-binding domain and a leucine-rich region at the *Cre*3 nematode resistance locus of wheat, Genome, 40: 659-665.
12- Fateh T. 2017. Cereal cyst nematodes: molecular identification and quantification, and screening for resistance in wheat. Biology and Life Sciences. 230 pages.
13- Fenwick D. W. 1940. Methods for recovery and counting of *H. schachtii* from soil. Helminth Journal. 18: 155-177.
14- Haddadi F., and Mokabli A. 2015. Current occurrence of cereal cyst nematodes in some fields of northern Algeria. In 'Nematodes of Small Grain Cereals: current status and research.' (AA Dababat, H Muminjanov and RW Smiley) pp. 59-66.
15- Hajihassani A., Tanha Maafi Z., Nicol J. M., and Rezaee S. 2010. Effect of the cereal cyst nematode, *Heterodera filipjevi*, on wheat in microplot trials. Nematology 12(3): 357-363.
16- Handoo Z. A. 2002. A key and compendium to species of the *Heterodera avenae* group (Nematoda: Heteroderidae). Journal of Nematology. 34: 250-262.
17- Henderson C. F. and Tilton E. W. 1955. Tests with acaricides against the brow wheat mite. J. Econ. Entomol, 48: 157-161.
18- Holgado R., Andersson S., Rowe J. A., and Magnusson C. 2004. First record of *Heterodera filipjevi* in Norway. Nematol Mediterr, 32: 205–211.
19- 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.
20- Jaabari A. M., Abded A. A., Dababat A., and Al-Banna L. 2015. Response of barley, oat and wheat to the mediterranean cereal cyst nematode *Heterodera latipons*. Nematodes of Small Grain Cereals. Current status and

research. (AA Dababat, H Muminjanov and RW Smiley), pp 185-192.

21- Jamali S., Pourjam E., Kheiri A., and Damadzadeh M. 2005. Tylenchs (Nematoda: Tylenchida) from wheat fields in Isfahan province. Journal of Agricultural Science and Natural Resources 12(1): 115-125, (In Persian with English Summary).

22- Jiang-Kuan C., Wen-Kun H., Peng H., Yan L., Kong L. A., Li H., Luo S., Wang Y., and Peng D. L. 2015. Efficacy Evaluation of Seed-Coating Compounds Against Cereal Cyst Nematodes and Root Lesion Nematodes on Wheat.Plant Disease, 101(3): 428-433.

23- Karimipour Fard H., Pourjam E., Tanha Maafi Z., and Safaie N. 2016. Distribution of cereal cyst nematode, *Heterodera filipjevi*, in wheat fields of Isfahan province based on interpolation and relationship of climatic factors with its population densities. Iranian Journal of Plant Pathology, 52(3): 399-413.

24- Karimipour Fard H., Pourjam E., and Tanha Maafi Z. 2015. Assessment of grain yield reduction caused by *Heterodera filipjevi* in wheat cultivars under normal irrigation and drought stress in natural field conditions. In 'Nematodes of Small Grain Cereals: current status and research.' (AA Dababat, H Muminjanov and RW Smiley), pp. 115-120.

25- Khaled A. M., Abdullah A. A., Mohamed I. M., Solaiman A., Ahmed A. M., Ahmed L. M., Suloiman M. R., and Ahmad S. H. 2015. Selection of spring bread wheat genotypes for resistance to cereal cyst nematode (*Heterodera avenae* Woll.) based on field performance and molecular markers.Plant Omics Journal, 8(5): 392-397.

26- Maqbool M. A. 1988. Present status of research on plant parasitic nematodes in Pakistan. In Saxena, M.C., Sikora R.A. & Srivastava, J.P.(eds.). Nematodes parasitic to cereals and legumes in temperate semi-arid regions. Aleppo, Syria, ICARDA, pp: 173-180.

27- Marshall J. M., and Smiley R. W. 2016. Resistance and tolerance of spring barley to Heterodera avenae. Plant Disease, 100: 396–407.

28- Mokrem Hesar A., MahdiKhani Moghadam E., Tanha Maafi Z., and Karimi J. 2012. Comparative morphological and molecular study of Iranian populations of *Heterodera filipjevi* (Madzhidov, 1981) Stelter, 1984 and other members of '*H. avenae* group'. J. Nematode Morphol. Syst, 15 (1): 1-11.

29- Nicol J. M., and Rivoal R. 2010. An update: Current global status of cereal cyst nematode (*Heterodera* spp.) research on wheat- opportunities and future needs. Cereal cyst nematode biology and management workshop, Austria (A day post workshop congress from the 30th international European society of nematologist meeting), pp: 223.

30- Nicol J. M., and Dababat A. A. 2009. Cereal Cyst Nematodes: Status, Research and outlook, pp: 79-81.

31- Nielsen C. H. 1966. Studies on the inheritance of resistance to cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) in wheat. Nematologica, 12: 575-578.

32- Nilsson-Ehle N. H. 1920. Ueber Resistenz gegen *Heterodera schactii* bei gewissen Gerstensorten, ihre Verebungsweise und Bedeutungfur die Praxis. Hereditas, 1: 1-34.

33- Ogbonnaya F. C., Eastwood R. F., and Lagudah E. 2009. Identification and utilisation of genes for cereal cyst nematode resistance (*Heterodera avenae*) resistance in wheat: the Australian experience. Cereal cyst nematodes: status, research and outlook. pp: 166-171.

34- Peng D., Peng H. and Huang W. 2015. Occurrence, Distribution and integreated management of the Cereal cyst nematodes (*Heterodera avenae* & *H. filipjevi*) in China. Nematodes of small grain cereals current status and reseach. pp: 17-24.

35- Rivoal R. and Cook R. 1993. Nematode pests of cereals. In: Evans K, Trudgill DL, Webster JM, editors. Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. Wallington, UK: CAB International, pp. 259–303.

36- Rivoal R., and Nicol J. M. 2009. Past research on the cereal cyst nematode complex and future needs. In Riley, I.T. Nicol, J.M. and Dababat, A.A. (eds.). Cereal Cyst Nematodes: Status, Research and outlook, pp: 3-9.

37- SAS Institute. 2004. The SAS system for Windows. Release 8.2. SAS Inst., Cary, NC.

38- Smiley R. W., and Nicol J. M. 2009. Nematodes which challenge global wheat production. In: Carver BF, ditor. Wheat Science and Trade. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, pp. 171–187.

39- Smiley R. W., Yan G. P., and Handoo Z. A. 2016. First record of the cyst nematode *Heterodera filipjevi* on wheat in Oregon. Plant Disease, 92: 11-36.

40- Smiley R. W., and Marshall J. M. 2016. Detection of dual *Heterodera avenae* resistance plus tolerance traits in spring wheat. Plant Disease, 100: 1-23.

41- Smiley R. W., and Yan, G. P. 2015. Discovery of *Heterodera filipjevi* in Washington and comparative virulence with *H. avenae* on wheat. Plant Disease, 99: 376-386.

42- Subbotin S. A., Rumpenhorst H. J., Sturhan D., and Mones M. 2003. Molecular and morphological characterization of *Heterodera avenae* species complex (Tylenchida: Heteroderidae). Nematology, 5: 515-538.

43- Tanha Maafi Z., Sturhan D., Kheiri A., and Geraert E. 2007. Species of the *Heterodera avanae* group (Nematoda: *Heteroderidae*) from Iran. Russian journal of nematology, 15: 49-58.

44- Tanha Maafi Z., Subbotin S. A., and Moens M. 2003. Molecular identification of cyst forming nematodes (*Heteroderidae*) from Iran and a phylogeny based on ITS-rDNA sequences. Nematology, 5: 99– 111.

45- Toktay H., Yavuzaslanoğlu E., İmren M., Nicol J. M., Elekcioğlu I. H., and Dababat A. A. 2012. Screening for resistance to *Heterodera filipjevi* (Madzhidov) Stelter (Tylenchina: Heteroderidae) and Pratylenchus thornei (Sher & Allen) (Tylenchida: Pratylenchidae) sister lines of spring wheat. Turk J Entomol, 36: 455–461.

46- Williams K. J., Fisher J. M., and Longridge P. 1994. Identification of RFLP markers linked to the cereal cyste nematod resistance gene (Cre) in wheat. Thror Appl Genet, 89: 927-930.

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 339-350

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۳۵۰-۳۳۹

نماتدهای انگل گیاهی مزارع حبوبات و پراکنش آنها در استان کرمانشاه

فریبا محمدی زامله[۱]- اکبر کارگربیده [۲]*- رضا قادری[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۲۱

چکیده

استان کرمانشاه با ۱۳۵۰۶۰ هکتار سطح زیر کشت، دومین تولیدکننده حبوبات در ایران است. به منظور شناسایی و تعیین پراکنش نماتدهای غالب در مزارع حبوبات این استان، طی سال‌های ۹۵-۹۴ تعداد ۱۷۳ نمونه خاک و ریشه جمع‌آوری گردید. پس از استخراج، کشتن، تثبیت و به گلیسرین رساندن نماتدها، اسلایدهای میکروسکوپی دائمی تهیه و شناسایی گونه‌ها انجام گرفت. در این بررسی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی ۱۹ گونه نماتد از فوق بالاخانواده Tylenchomorpha از مزارع حبوبات استان شناسایی گردید. در بین نماتدهای شناسایی شده، گونه‌های *Filenchus vulgaris*، *Ditylenchus medicaginis*، *Pratylenchoides ritteri*، *Helichtylenchus scoticus*، *Merlinius brevidens* و *Tylenchorhynchus parvus* به ترتیب با داشتن ۳۳/۳، ۲۹/۴، ۲۷/۹، ۲۶/۵، ۱۳/۲ و ۱۳/۲ درصد، بیش‌ترین فراوانی را داشتند. از ۱۲ شهرستان استان که در آنها حبوبات کشت می‌شود، کرمانشاه با ۱۶ گونه، روانسر و گیلانغرب هر کدام با نه گونه و اسلام آباد و کرند غرب هر کدام با هفت گونه بیش‌ترین تعداد گونه را به خود اختصاص داده‌اند. گونه *Aphelenchoides obtusus* که قبلاً از ایران شرح داده نشده است به صورت کامل و گونه‌های *A. graminis*، *D. medicaginis* و *P. ritteri* که از نظر ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی دارای تنوع هستند به صورت خلاصه شرح داده شده‌اند.

واژه‌های کلیدی: ریخت‌سنجی، ریخت‌شناسی، فون، Tylenchomorpha

مقدمه

حبوبات یا اعضای خانواده *Fabaceae*، شامل نخود (*Chickpea arietinum* L.)، لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)، عدس (*Lens sculenta* Moench)، ماش (*Vigna radiata* L.) و باقلا (*Vicia faba* L.) بعد از غلات دومین منبع غذایی مهم و مهم‌ترین منبع پروتئین با کیفیت بالا به شمار می‌آیند. استان کرمانشاه در سال زراعی ۹۳-۹۲ با ۱۳۵۰۶۰ هکتار سطح زیر کشت و تولید ۶۸۸۱۵ تن حبوبات، شامل ۶۶۸۲۲ تن حبوبات دیم و ۱۹۹۳ تن حبوبات آبی، بعد از استان‌های لرستان و فارس رتبه سوم تولید حبوبات کشور را به خود اختصاص داده است. همچنین این استان با ۲۴/۷ درصد از کل سطح زیر کشت و ۲۴/۴ درصد تولید بیش‌ترین سطح و تولید نخود را در کشور داشته است. بیش‌ترین میزان سطح و تولید حبوبات دیم نیز متعلق به استان کرمانشاه با ۲۰/۱۴ درصد بوده است (۱).

طبق گزارش‌های موجود، بیش از ۳۵ گونه نماتد در ۲۰ جنس مختلف از نماتدهای انگل گیاهی و یا قارچ‌خوار شامل جنس‌های *Aphelenchoides*، *Basiria*، *Boleodorus*، *Criconemoides*، *Helicotylenchus*، *Hemicriconemoides*، *Heterodera*، *Hoplolaimus*، *Malenchus*، *Meloidogyne*، *Merlinius*، *Paratylenchus*، *Pratylenchoides*، *Pratylenchus*، *Rotylenchulus*، *Trophorus*، *Tylenchorhynchus*، *Tylenchus*، *Xiphinema* و *Zygotylenchus* از مزارع حبوبات جهان گزارش شده است. در این میان نماتدهای ریشه‌گرهی *M. javanica* و *M. incognita*، نماتد سیستی *H. chickpeai*، نماتد مولد زخم ریشه *Pratylenchus thornei* و نماتد ساقه و پیاز (*Ditylenchus dipsaci*) خسارت بیش‌تری را به حبوبات به ویژه مزارع نخود وارد کرده و در اکثر نقاط جهان گزارش شده‌اند (۲۴).

نماتدهای انگل گیاهی به ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی اغلب همراه با سایر بیمارگرها سبب پوسیدگی ریشه و یا پژمردگی در حبوبات می‌شوند. کاهش عملکرد نماتد سیستی *H. chickpeai* حدود ۲۰ تا ۵۰ درصد برآورد شده است. این نماتد به سایر حبوبات، مانند باقلا نیز خسارت وارد می‌کند. نماتد ریشه‌گرهی علاوه بر نخود، به حبوبات دیگری نیز مانند لوبیا قرمز و لوبیای لیما (*Phaseolus lunatus* L.) حمله کرده و سبب کاهش شدید محصول شده است. نماتد ساقه و پیاز و نماتدهای سیستی و ریشه‌گرهی مهم‌ترین نماتدهای اقتصادی باقلا هستند (۱۴ و ۲۲). نماتدهای مولد زخم ریشه *Pratylenchus*

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، استاد و استادیار بخش گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
(*-نویسنده مسئول: Email: karegar@shirazu.ac.ir)
DOI: 10.22067/jpp.v32i3.73071

neglectus و *P. thornei* و گونـه *Paratylenchus hamatus* در مزارع عدس دیـم (*Lens culinaris*) سـبب بـروز علایمـی از قبیـل کاهش رشد، پژمردگی و زردی شده و میـزان محصـول را ۴۰ درصـد کاهش داده است (۲۰).

در ایـران شناسـایی نماتـدهای انگـل گیـاهی حبوبـات بـه طـور اختصاصی در خمین (۱۸)، لرستان (۶) و خراسان شـمالی (۲) صـورت گرفته است. گونـه‌هـای *Aphelenchoides cyrtus*، *Ditylenchus medicaginis*، *D. parvus*، *Merlinius brevidens* و *Paratylenchus coronatus* بیش‌ترین فراوانی را در بین گونه‌های شناسایی شده از مزارع حبوبات استان لرستان داشتند (۶). تـاکنون ۵۴ گونه از ۲۳ جنس مختلف از نماتدهای انگـل گیـاهی و قـارچ‌خـوار از مزارع حبوبات ایران گزارش شده است. بر اساس گزارش‌های موجـود نماتدهای قارچ‌خـوار *A. limberi* و *Aphelenchus avenae*، نماتـد پوسـیدگی سـیب‌زمینـی (*D. destructor*)، نماتـد انگـل سـطحی *Helicotylenchus vulgaris*، نماتـــدهای ریشـــه‌گرهـــی *M. incognita* و *M. javanica*، انگل‌هـای سـطحی *M. brevidens* و *Mesocriconema antipolitanum*، هم‌چنـین انگـل‌هـای داخلـی مهاجر *Pratylenchoides ritteri*، *Pratylenchus neglectus*، *P. thornei* و *Zygotylenchus guevarai* بـیش‌تـرین گـزارش را در ایران دارند. این نماتدها بیش‌تر از مزارع نخود و لوبیا گزارش شده‌اند.

تـــاکنون فقـــط گونـــه‌هـــای *P. thornei*، *P. ritteri* و *Paratylenchus elachistus* از مـزارع نخـود اسـتان کرمانشـاه شناسایی شده است (۸). نتایج بررسی انجام شده در استان کرمانشـاه نشـان داده گونـه *P. thornei* باعـث تشـدید بیمـاری پژمردگـی فوزاریـومی نخـود *Fusarium oxysporum* f. sp. *chickpeai*، کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشدی گیاه و افزایش معنی‌دار پژمردگی، زردی و نکروز ریشه شده است (۳).

علی‌رغم این‌که استان کرمانشاه از نظر سطح زیر کشت و میـزان تولید حبوبات رتبه بالایی را در سطح کشـور بـه خـود اختصـاص داده است، ولی تاکنون پژوهش جامعی در خصـوص شناسـایی نماتـدهای انگل گیاهی مزارع حبوبات این استان صورت نگرفته است. لذا هـدف این تحقیق شناسایی و تعیین گونه نماتـدهای غالـب مـزارع حبوبـات استان و تعیین پراکنش آن‌ها در استان کرمانشاه بوده است.

مواد و روش‌ها

طی سال‌هـای ۹۵-۹۴، تعـداد ۱۷۳ نمونـه خـاک اطـراف ریشـه حبوبات رایج، همراه با ریشه‌ی گیاهان نخـود، عـدس، لوبیـا، مـاش و باقلا از مزارع مناطق مختلف استان کرمانشاه، شامل شهرسـتان‌هـای کرمانشاه، سرپل ذهاب، سـنقر و کلیـایی، اسـلام‌آبـاد غـرب، صـحنه، هرسین، روانسـر، جـوانرود، ثـلاث باباجـانی، کنگـاور، کرنـد غـرب و گیلانغرب جمع‌آوری گردید. نمونه‌بـرداری در دو فصـل بهـار و پـاییز صورت گرفت. نمونه‌برداری با توجه بـه مسـاحت مزرعـه بـه صـورت زیگزاگ و یا قطری انجام گرفت. در هر محل تعداد حدود ۱۰ نمونه از عمق ۵ تا ۳۰ سانتی‌متری اطـراف ریشـه‌ی گیـاه برداشـته و پـس از مخلوط کردن به آزمایشگاه انتقال داده شد. استخراج نماتـدهای درون خاک و ریشه گیاهان آلـوده طبـق روش هـای مرسـوم بـا اسـتفاده از سانتریفیوژ و روش سینی (۲۷) صـورت گرفـت. نماتـدها طبـق روش تکمیل شده دگریسه (۱۱) طی سه مرحله کشته، تثبیت و به گلسیرین خـالص انتقـال داده شـده و بـا روش حلقـه پـارافین و گلیسـرین، اسلایدهای دائمی تهیه گردید. شناسایی گونه‌ها بر اساس شاخص‌های ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی و با استفاده از کلیدهای معتبر انجام شد. سپس فراوانی گونه‌ها در سطح مزارع نمونه‌بـرداری شـده بـا در نظـر گرفتن تعداد نمونه‌های دارای نماتد محاسبه و درصد فراوانی هر گونه در هر کدام از مزارع نخود، عدس و باقلا نیز تعیین گردید.

نتایج و بحث

در این مطالعه ۱۹ گونـه نماتـد از ۱۳ جـنس از فـوق بالاخـانواده Tylenchomorpha De Ley & Blaxter, 2002، طبـق لیسـت دکرامر و هانت (۱۲)، از مزارع حبوبات اسـتان کرمانشـاه جمـع‌آوری و شناسایی گردید (جدول ۱). علاوه بر آن جمعیت‌هـایی از جـنس‌هـای *Boleodorus*، *Coslenchus*، *Psilenchus* و *Paratylenchus* نیز جمـع‌آوری گردیـد. گونـه‌هـای *Aphelenchoides graminis*، *A. obtusus*، *Ditylenchus equalis*، *Nagelus obscurus*، *Scutylenchus tartuensis*، *Trophurus usuriensis* و *Tylenchorhynchus parvus* برای اولین بار از مزارع حبوبات ایران گزارش می‌شوند. این گونه‌هـا همـراه بـا گونـه‌هـای *D. adasi*، *D. parvus*، *Helicotylenchus scoticus*، *Merlinius brevidens*، *S. rugosus* و *N. magnidens* برای اولین بـار از اسـتان کرمانشـاه گزارش می‌شوند.

در این مقاله گونه *A. obtusus*، که تـاکنون از ایـران شـرح داده نشـده اسـت، بـه صـورت کامـل و گونـه‌هـای *A. graminis*، *D. medicaginis* و *Pratylenchoides ritteri* کـه بـه تعـداد زیـاد جمع‌آوری شده و یا از نظر برخی ویژگی‌ها نسبت به جمعیت‌های شرح داده شده دارای دامنه‌ی وسیع‌تری هستند بـه صـورت خلاصـه شـرح داده شده‌اند.

جدول ۱- لیست گونه‌های نماتد فوق بالاخانواده Tylenchomorpha جمع‌آوری شده در مزارع حبوبات استان کرمانشاه و درصد فراوانی آن‌ها در کل مزارع و درصد مزارع آلوده گیاهان مختلف

Table 1- List of nematode species of the infraorder Tylenchomorpha found in the legume fields of Kermanshah province, with their relative abundance and the percentages of infected fields

No.	Nematode species	Relative abundance	Chickpea	Lentil	Faba bean
1	*Filenchus vulgaris* (Brzeski, 1963) Lownsbery & Lownsbery, 1985	33.8	41.5	23.8	16.7
2	*Ditylenchus medicaginis* Wasilewska, 1965	29.4	26.8	33.3	33.3
3	*Pratylenchoides ritteri* Sher, 1970	27.9	36.6	14.3	16.7
4	*Helicotylenchus scoticus* Boag & Jairajpuri, 1985	26.5	29.3	28.6	-
5	*Merlinius brevidens* (Allen, 1955) Siddiqi, 1970	13.2	9.8	14.3	33.3
6	*Tylenchorhynchus parvus* Allen, 1955	13.2	4.9	28.6	16.7
7	*Scutylenchus tartuensis* (Krall, 1959) Siddiqi, 1979	11.8	7.3	19.1	16.7
8	*Aphelenchus avenae* Bastian, 1865	8.8	7.3	4.8	33.3
9	*Ditylenchus myceliophagus* Goodey, 1958	7.4	9.8	4.8	-
10	*Neopsilenchus magnidens* (Thorne, 1949) Thorne & Malek, 1968	7.4	7.3	9.5	-
11	*Aphelenchoides graminis* Baranovskaya & Haque, 1968	5.9	9.8	-	-
12	*Pratylenchus thornei* Sher & Allen, 1953	4.4	-	14.3	-
13	*Scutylenchus rugosus* (Siddiqi, 1963) Siddiqi, 1979	2.9	2.4	4.8	-
14	*Ditylenchus equalis* Heyns, 1964	2.9	2.4	4.8	-
15	*Ditylenchus parvus* Zell, 1988	2.9	2.4	4.8	-
16	*Aphelenchoides obtusus* Thorne & Malek, 1968	2.9	4.9	-	-
17	*Ditylenchus adasi* (Sykes, 1980) Fortuner and Maggenti, 1987	1.5	2.4	-	-
18	*Nagelus obscurus* (Allen, 1955) Powers, Baldwin & Bell, 1983	1.5	-	-	16.7
19	*Trophorus ussuriensis* Eroshenko, 1981	1.5	2.4	-	-

۱- گونــه‌ی *Aphelenchoides obtusus* Thorne & Malek, 1968

(جدول ۲، شکل ۱)

ماده‌ها کرمی شکل، پس از تثبیت مستقیم تا خمیده از سطح پشتی. حلقه‌های عرضی کوتیکول ظریف. سطوح جانبی دارای سه نوار هم‌اندازه و چهار شیار طولی به عرض (۲/۷–۲/۰) ۲/۳ میکرومتر و به اندازه ۲۰/۳–۱۴/۶ درصد عرض بدن. سر گرد، متمایز از بدن، به عرض (۵/۲–۴/۳) ۴/۷ و بلندی (۲/۴–۲/۰) ۲/۲ میکرومتر، فاقد حلقه‌ی عرضی مشخص. شبکه کوتیکولی سر ضعیف. استایلت ضعیف با گره‌های کوچک متمایل به سمت انتهای بدن، بخش مخروطی استایلت به طول (۴/۴–۳/۳) ۳/۹ میکرومتر و کمتر از نصف طول استایلت (m = ۳۷/۹–۴۴/۰)، حباب میانی مری بیضی شکل تا استوانه‌ای به طول (۱۳/۸–۱۰/۵) ۱/۲ ± ۱۲/۴ و عرض (۸/۹–۷/۲) ۰/۷ ± ۷/۹ میکرومتر، دریچه‌ی حباب میانی بزرگ به طول ۲/۵–۳/۵ میکرومتر و عرض ۲ میکرومتر. حباب انتهایی مری دارای همپوشانی پشتی با روده. دریچه کاردیا مشخص. فاقد دایرید. حلقه‌ی عصبی بعد از کاردیا و تقریباً در محدوده‌ی روزنه‌ی دفعی–ترشحی یا کمی قبل از آن و با فاصله‌ی ۵۸/۷–۶۸/۸ میکرومتر از ابتدای بدن. همیزونید به اندازه‌ی یک حلقه تقریباً هم سطح با روزنه‌ی دفعی–ترشحی. کیسه‌ی ذخیره‌ی اسپرم استوانه‌ای، حاوی اسپرم، در امتداد محور لوله تناسلی، شکاف تناسلی هم‌طراز با بدن یا کمی برآمده، واژن به طول (۹/۲–۸/۰) ۸/۶ میکرومتر و ۶۱–۶۵ درصد عرض بدن در ناحیه شکاف تناسلی، کیسه‌ی عقبی رحم به طول (۳۱/۰–۲۶/۳) ۲۸/۱ میکرومتر. مخرج مشخص و برآمده نسبت به دم.

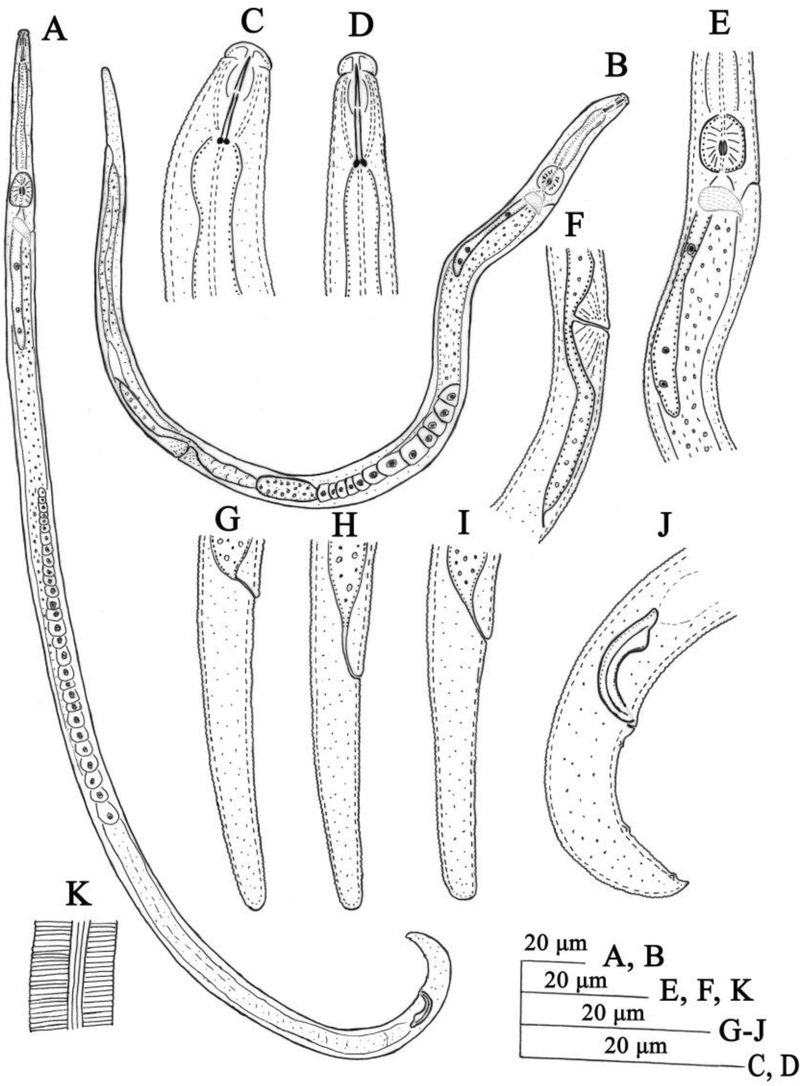
جدول ۲- مشخصات ریخت‌سنجی جمعیت‌های گونه‌های *Aphelenchoides graminis* و *A. obtusus*، جمع‌آوری شده از مزارع حبوبات استان کرمانشاه. اندازه‌ها به میکرومتر است.

Table 2- Morphometric data of the Iranian populations of *Aphelenchoides graminis* and *A. obtusus*, collected from legume fields of Kermanshah province. All measurements are in µm.

Characters/species	*A. graminis*				*A. obtusus*	
n	24 ♀	CV*	19 ♂	CV*	5 ♀	3 ♂
L	541 ± 75.5 (416-684)	13.9	464 ± 67 (362-590)	14.4	474 ± 58 (404-542)	439 ± 47 (386-476)
a	35.3 ± 1.9 (31.5-38.9)	5.5	34.4 ± 2.9 (29.4-40.0)	8.4	34.7 ± 2.8 (31.6-37.7)	37.2 ± 2.1 (34.8-38.5)
b	8.4 ± 0.7 (7.4-10.0)	8.3	7.6 ± 0.6 (6.6-8.9)	8.4	8.1 ± 0.6 (7.2-8.6)	7.7 ± 0.5 (7.3-8.2)
b'	4.9 ± 0.6 (4.1-6.1)	12	4.2 ± 0.4 (3.5-4.9)	9.4	4.5 ± 0.7 (3.7-5.1)	4.9 ± 0.7 (4.3-5.6)
c	15.7 ± 1.0 (13.8-17.8)	6.6	14.6 ± 1.1 (12.7-16.7)	7.2	15.5 ± 0.6 (14.7-16.0)	14.6 ± 1.1 (13.4-15.6)
c'	3.7 ± 0.3 (3.2-4.3)	7.7	3.1 ± 0.2 (2.8-3.4)	6.6	3.7 ± 0.6 (3.1-4.6)	3.1 ± 0.3 (2.9-3.5)
V	69.2 ± 1.5 (66.1-74.1)	2.2	-		69.8 ± 1.8 (67.8-72.6)	-
Stylet	10.3 ± 0.9 (9.1-12.0)	8.3	9.9 ± 0.5 (9.1-10.6)	4.9	9.6 ± 0.5 (8.8-10.0)	8.9 ± 0.3 (8.5-9.1)
Oesophagus	65.2 ± 7.1 (56.4-79.0)	10.9	60.6 ± 5.0 (53.2-69.0)	8.2	58.2 ± 3.9 (53.9-62.9)	57.0 ± 3.9 (52.7-60.3)
Anterior end to center of median bulb	56.1 ± 7.1 (44.9-69.0)	12.6	53.2 ± 4.7 (46.0-61.6)	8.8	50.7 ± 3.5 (47.0-54.5)	50.3 ± 4.3 (45.5-53.7)
End of glands	112 ± 16 (85.8-140)	14.1	112 ± 11 (96.0-134)	10.0	107 ± 18 (83.5-133)	90.4 ± 5.2 (85.1-95.4)
Oesophageal overlapping	47.0 ± 9.9 (24.6-61.0)	21.0	50.9 ± 8.8 (36.2-65.0)	17.4	48.4 ± 15.2 (29.6-71.4)	33.4 ± 5.6 (27.1-37.9)
S. E. pore	73.5 ± 10.7 (52.5-91.3)	14.6	69.4 ± 8.3 (59.0-88.5)	12.0	64.6 ± 8.7 (56.0-74.2)	62.6 ± 5.9 (55.9-66.5)
Head-vulva	374 ± 53 (290-473)	14.1	-		331 ± 44 (274-377)	-
Head-anus	506 ± 71 (387-641)	14.1	432 ± 64 (334-553)	14.7	443 ± 53 (378-505)	409 ± 44 (360-446)
Vulva-anus	133± 19 (97.4-168)	14.3	-		112 ± 12 (100-128)	-
Tail length	34.6 ± 4.6 (27.3-43.0)	13.4	31.7 ± 3.4 (26.5-37.8)	10.8	30.8 ± 4.8 (25.9-36.8)	30.1 ± 4.0 (25.9-33.8)
Body width	15.3 ± 2.1 (12.0-19.0)	13.5	13.5 ± 1.9 (10.6-16.9)	13.7	13.6 ± 0.6 (12.8-14.5)	11.8 ± 0.7 (11.1-12.4)
PUS/VBW	2.2 ± 0.5 (1.3-2.9)	20.5	-	-	1.8-2.3	-
PUS/Vulva-anus (%)	24.2 ± 4.9 (14.7-32.7)	20.3	-	-	25.3 ± 2.8 (20.9-27.9)	-
Anal body width	9.3 ± 1.1 (7.8-11.5)	12.2	10.3 ± 1.2 (8.5-12.4)	11.4	8.4 ± 0.8 (7.2-9.3)	9.5 ± 0.5 (9.0-10.0)
Annulus width	1.0 ± 0.2 (0.7-1.2)	15.5	0.9 ± 0.1 (0.7-1.2)	14.6	0.9 ± 0.1 (0.7-1.0)	0.8 ± 0.1 (0.7-0.9)
Spicules	-	-	15.2 ± 1.0 (14.0-17.8)	6.7	-	14.7 ± 0.3 (14.5-15.0)
Ventral Limb	-	-	10.7 ± 0.9 (9.3-11.9)	7.9	-	10.2 ± 1.1 (9.0-11.0)
Dorsal Limb	-	-	19.2 ± 1.5 (17.2-22.3)	8.0	-	17.5 ± 1.7 (16.0-19.3)

* ضریب تغییرات

* ***coefficient*** of variation



شکل ۱- گونه *Aphelenchoides obtusus* ‏A, D, J: نر، C, E-I, K: ماده. A & B: کل بدن، C & D: سر و استایلت، E: حباب میانی و غدد انتهایی مری، F: روزنه‌ی تناسلی و کیسه‌ی عقبی رحم، G-I & J: دم ، K: سطح جانبی

Fig. 1– *Aphelenchoides obtusus.* A, D, J: Male; C, E-I, K: Female. A & B: General view of body; C & D: Anterior end; E: Oesophageal median bulb and basal glands; F:Vulva and post vulval uterine sac; G-I & J: tail and spicule; K: Lateral field.

دم مخروطی به تدریج باریک شده، در انتها تقریباً استوانه‌ای با انتهای گرد تا کمی پخ، فاقد فاسمید.

نرها همانند ماده‌ها کرمی‌شکل، منتها انتهای بدن آنها خمیده‌تر از ماده‌ها. اسپیکول‌ها خاری شکل، از سطح شکمی خمیده با انتهای شکاف‌دار، روستروم کمی خمیده. فاقد بورسا، گوبرناکولوم و فاسمید. دارای سه جفت پاپیل جنسی روی دم. دم مخروطی و فاقد زائده. در مقایسه با ماده‌ها، نرها از نظر طول بدن، طول مری، فاصله ابتدای بدن تا روزنه دفعی-تناسلی و طول دم دارای اندازه نسبتاً کوچک‌تری هستند.

با استفاده از کلیدهای شناسایی جنس *Aphelenchoides* (۲۱) و مقایسه‌ی مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی، جمعیت مورد مطالعه با مشخصات گونه‌ی *A. obtusus* مطابقت دارد. این گونه با داشتن چهار شیار در سطوح جانبی و نداشتن موکرون در انتهای دم به گونه‌های *A. capsuloplanus*، *A. limberi* Steiner, 1936، *A. obtusicaudatus* (Haque, 1967) Andrássy, 1976، *A. orientalis* Eroshenko, 1968b و Eroshenko, 1967 شباهت دارد. از گونه‌ی *A. limberi* به دلیل تفاوت در اندازه‌ی طول استایلت (۸/۸–۱۰/۰ در مقابل ۱۱/۰ میکرومتر) و طول اسپیکول در نماتد نر (سمت پشتی اسپیکول = ۱۶/۰–۱۹/۳ در مقابل ۳۰/۰–۳۵/۲ میکرومتر) جدا می‌شود. از گونه‌ی *A. capsuloplanus* به علت

تفاوت در شکل سر (گرد در مقابل کپسول مانند) قابل تشخیص است. تفاوت *A. obtusus* با گونه‌های *A. obtusicaudatus* و *A. orientalis* در وجود نماتد نر و پر بودن کیسه‌ی ذخیره اسپرم است.

این گونه اولین بار از یک علف‌زار در سیدنی استرالیا گزارش شده است (۲۵). در ایران نیز اولین بار از مزارع کنجد، آفتابگردان و یونجه از استان البرز (۱۵)، سپس از باغ‌های پسته و بادام در کرمان (۴) و مزارع زرشک در خراسان جنوبی گزارش گردیده است (۵). در این مطالعه یک جمعیت شامل افراد ماده و نر از فرا ریشه‌ی نخود در شهرستان اسلام‌آباد غرب استان کرمانشاه جمع‌آوری گردید. این اولین گزارش از نرگونه‌ی *A. obtusus* از ایران است. هم‌چنین اولین گزارش این گونه از مزارع حبوبات ایران و وجود آن در استان کرمانشاه است.

۲- گونه‌ی *Aphelenchoides graminis* Baranovskaya & Haque, 1968

(جدول ۲، شکل ۲)

گونه *A. graminis* با داشتن چهار شیار طولی در سطوح جانبی، موکرون ساده در انتهای دم و اندازه‌ی استایلت در گروه دو طبقه‌بندی شاهینا (۲۱) قرار گرفته و به گونه‌های *A. absari* Husain & Khan, 1967، *A. angusticaudatus* Eroshenko, 1968، *A. brassicae* Edward & Misra, 1969، *A. cyrtus* Paesler, 1957، *A. daubichaensis* Eroshenko, 1968، *A. echinocaudatus* Haque, 1968، *A. eradicitus* Eroshenko, 1968، *A. macronucleatus* Baranovskaya, 1963، *A. ricahrdsoni* Grewal, Siddiqi & Atkey, 1992 و *A. tuzeti* B'Chir, 1979 شباهت دارد. این گونه با داشتن نماتد نر از گونه‌های *A. angusticaudatus*، *A. daubichaensis*، *A. eradicitus*، *A. macronucleatus*، *A. ricahrdsoni* و *A. tuzeti* متمایز می‌گردد. اختلاف آن با گونه *A. cyrtus* در طول دم (۲۷/۳–۴۳/۰ در مقابل بیش از ۵۰ میکرومتر) و طول اسپیکول (۱۴/۰–۱۷/۸ در مقابل بیش از ۲۵ میکرومتر) است. از گونه‌های *A. absari* و *A. echinocaudatus* نیز با داشتن طول بدن بیش‌تر و شاخص‌های a وb بیش‌تر متمایز می‌گردد. اختلاف آن با گونه‌ی *A. brassicae* بسیار جزئی و در طول اسپیکول (۱۴/۰–۱۷/۸ در مقابل ۱۳/۰–۱۵/۰ میکرومتر) است.

شکل ۲- گونه *Aphelenchoides graminis*: A-F: ماده، G-I: نر. A: سر و استایلت، B: حباب میانی، C & D: شکاف تناسلی و کیسه‌ی عقبی رحم، E & F: دم ماده، G-I: دم نر و اسپیکول (مقیاس = 5 µm).

Fig. 2- *Aphelenchoides graminis*. A-F: Female; G-I: Male. A: Head and stylet; B: Median bulb; C & D: Vulva and post vulval uterine sac; E & F: Female tail; G-I: Male tail and spicule (Scale-bars = 5 µm).

جدول ۳- مشخصات ریخت‌سنجی جمعیت‌های گونه *Ditylenchus medicaginis*، جمع‌آوری شده از مزارع حبوبات استان کرمانشاه، اندازه‌ها به میکرومتر است.

Table 3- Morphometric data of the Iranian populations of *Ditylenchus medicaginis*, collected from legume fields of Kermanshah province. All measurements are in µm.

Characters	Females		Males	
n	98	CV*	42	CV
L	762 ± 98 (523-1049)	12.9	684 ± 83 (500-950)	12.1
a	45.0 ± 5.7 (32.6-61.0)	12.7	46.3 ± 5.6 (31.7-58.7)	12.1
b	6.1 ± 0.7 (4.9-8.9)	11.1	5.6 ± 0.5 (4.6-7.0)	8.4
c	10.9 ± 1.5 (8.3-14.8)	13.3	10.4 ± 1.2 (8.2-13.4)	11.6
c'	6.0 ± 1.1 (3.7-8.9)	18.3	5.5 ± 0.8 (3.8-7.5)	15.3
V	79.3 ± 2.6 (73.0-83.3)	3.3	-	
V'	87.5 ± 2.7 (81.1-91.9)	3.1	-	
Stylet	7.2 ± 0.4 (6.4-8.7)	5.5	7.1 ± 0.3 (6.6-7.7)	4.5
DGO	1.2 ± 0.3 (0.6-2.1)	26.6	1.2 ± 0.2 (0.8-1.7)	19.9
Oesophagus	125 ± 11 (93.0-153)	8.7	122 ± 11 (100-161)	8.8
Anterior end to center of median bulb	49.6 ± 3.4 (41.0-59.0)	6.9	49.6 ± 4.2 (41.0-59.4)	8.5
MB	39.9 ± 3.1 (31.9-48.0)	7.7	40.8 ± 3.0 (33.5-46.2)	7.4
Basal bulb height	27.7 ± 6.2 (17.0-45.0)	22.4	26.2 ± 5.6 (15.5-41.0)	21.3
Basal bulb width	8.9 ± 1.4 (5.6-13.0)	15.7	7.8 ± 1.1 (6.0-10.0)	13.7
S.E. pore	96.1 ± 8.4 (70.1-121)	8.8	92.2 ± 7.8 (73.6-108)	8.4
Deirids	99.3 ± 8.5 (74.6-119)	8.6	96.4 ± 8.4 (76.0-113)	8.7
Head-vulva	605 ± 87 (405-848)	14.3	-	-
Head-anus	692 ± 92 (468-951)	13.3	618 ± 77 (443-846)	12.4
Vulva-anus	85.9 ± 19.9 (48.5-137)	23.2	-	-
PUS	29.3 ± 8.3 (14.0-51.4)	28.2	-	-
PUS/VBW	1.9 ± 0.6 (0.9-3.2)	29.6	-	-
PUS/Vulva-anus (%)	34.6 ± 9.6 (16.3-67.7)	27.8	-	-
Tail length	70.7 ± 11.4 (46.0-98.0)	16.1	66.3 ± 10.5 (50.0-104)	15.8
Tail/Vulva-anus	0.9 ± 0.2 (0.5-1.6)	27.2	-	-
Body width	34.6 ± 9.6 (16.3-67.7)	27.8	14.9 ± 1.9 (10.5-19.4)	13.0
Anal body width	12.0 ± 1.4 (9.2-16.3)	11.9	12.0 ± 1.4 (9.3-16.0)	11.9
Annulus width	1.3 ± 0.2 (0.8-2.1)	16.8	1.1 ± 0.2 (0.7-1.4)	15.7
Bursa/Tail length (%)	-	-	38.0 ± 7.8 (22.0-54.2)	20.5
Spicule	-	-	16.7 ± 1.2 (13.5-20.3)	7.4
Gubernaculum	-	-	5.0 ± 0.9 (3.2-7.6)	17.3

* ضریب تغییرات

* ***coefficient*** of variation

این گونه اولین بار از ریشه، ساقه و برگ چاودار وگندم زمستانه از مسکو (۷) و در ایران از مزارع سیب زمینی در استان لرستان گزارش گردیده است (۱۷). در این مطالعه چهار جمعیت از استان کرمانشاه جمع‌آوری و شناسایی گردید. در مقایسه با شرح اصلی، اختلاف جزیی در طول بدن (۴۱۶-۶۸۴ در مقابل ۳۸۸-۵۶۲ میکرومتر) و شاخص a (۳۱/۵-۳۸/۹ در مقابل ۲۱/۴-۲۹/۰) وجود دارد. اما در مقایسه با دیگر جمعیت گزارش شده از ایران اختلاف کمتری دارد. این اولین گزارش از وجود این گونه در مزارع حبوبات و استان کرمانشاه است و برای دومین بار از ایران گزارش می‌شود.

۳- گونه‌ی *Ditylenchus medicaginis* Wasilewska, 1965 (جدول ۳)

گونه‌ی *D. medicaginis* به گونه‌های *D. myceliophagus* Goodey, 1958 و *D. tenuidens* Gritzenko, 1971 شباهت دارد. اختلاف آن با گونه‌ی اول در نحوه اتصال مری به روده (مماس در مقابل دارای همپوشانی)، شبکه کوتیکولی ضعیف‌تر و شکل انتهای دم (از نوک تیز تا کمی گرد در مقابل کاملا گرد) می‌باشد. اختلاف آن با گونه‌ی دوم بسیار اندک است. گونه‌ی *D. medicaginis* با داشتن بدن نسبتاً بلندتر (۵۲۳-۱۰۴۹ در مقابل ۵۵۰-۸۵۰ میکرومتر)، سر با حلقه‌های عرضی بسیار ظریف (در مقابل صاف) از گونه‌ی *D. tenuidens* متمایز می‌شود (۹).

این گونه که اولین بار از کشور لهستان گزارش گردید (۲۶)، یک گونه‌ی رایج در انواع خاک است و ندرتاً در جمعیت زیاد در بافت یونجه و گیاهچه‌های گندم یافت شده ولی خسارتی از آن گزارش نشده است (۹). در ایران اولین بار توسط خیری (۱۵) گزارش گردید. در این بررسی ۱۹ جمعیت از مزارع نخود، عدس و باقلا در مناطق مختلف استان کرمانشاه جمع‌آوری و شناسایی گردید. هر چند اختلافات جزئی در طول بدن، استایلت، مری، دم و هم‌چنین شاخص V جمعیت‌های مختلف دیده می‌شود، اما اختلافات به اندازه‌ای نیست که آن‌ها را به نوع گیاه در مزرعه بتوان نسبت داد. تغییرات در شاخص‌های V و V'، طول استایلت، اسپیکول و شاخص MB کم‌ترین و در طول کیسه عقبی رحم و نسبت‌های مربوطه، عرض بدن، نسبت طول دم به فاصله بین شکاف تناسلی و مخرج، همچنین طول حباب انتهایی زیاد است.

٤- گونه‌ی *Pratylenchoides ritteri* Sher, 1970 (جدول ۴، شکل ۴)

گونه‌ی *P. ritteri* به گونه‌ی *P. alkani* شباهت بسیاری دارد. تفاوت‌هایی که این دو گونه را از هم متمایز می‌کند تعداد شیارهای سطوح جانبی (چهار در مقابل شش)، نداشتن ردیف‌های نقطه‌چین در مقابل وجود ردیف‌های نقطه چین در بین شیارهای طولی در *P. alkani*، اندازه‌ی کوچک بدن در *P. ritteri* و موقعیت فاسمید (نیمه‌ی اول دم در مقابل نیمه‌ی دوم) است. البته در بین جمعیت‌های مورد بررسی برخی به *P. alkani* شباهت داشتند از ۴ شیار تا ۶ شیار مشاهده شده و فاسمید نیز در هر دو موقعیت (نیمه‌ی اول و دوم دم) قرار داشت. برزسکی (۹) این دو گونه را برای اولین بار مترادف اعلام کرد و در مورد شیارهای *P. alkani* معتقد بود که در واقع چهار شیار دارد، اما گاهی یک یا دو شیار در میانه بدن به شیارها اضافه می‌شود که این موضوع در جمعیت‌های ما نیز مشاهده شد. مجد طاهری و همکاران (۱۶) این دو گونه را بر اساس اختلاف در RFLP و توالی ناحیه‌ی D2-D3 زیر واحد بزرگ ریبوزومی از هم معتبر شناخته ولی قادری و کارگربیده (۱۳) با تکثیر جمعیت جمع‌آوری شده از فراریشه‌ی بادام بر روی چمن مترادف بودن این دو گونه را تایید کردند.

این گونه اولین بار از اطراف نوعی گراس ناشناخته از فرانسه جمع‌آوری و گزارش گردید (۲۳). در ایران نیز اولین بار توسط نیکنام (۱۹) از مزارع یونجه و جو دشت مغان گزارش شد. در این مطالعه نیز ۲۱ جمعیت از مزارع نخود، عدس و باقلا جمع‌آوری و شناسایی گردید. جمعیت‌های مورد مطالعه اختلاف بارزی با هم نداشتند.

پراکنش

در بین گونه‌های شناسایی شده *Filenchus vulgaris*، *Ditylenchus medicaginis*، *Pratylenchoides ritteri*، *Helicotylenchus scoticus*، *Merlinius brevidens*، *Tylenchorhynchus parvus* و *Scutylenchus tartuensis* به ترتیب با داشتن ۳۳/۳، ۲۹/۴، ۲۷/۹، ۲۶/۵، ۱۳/۲، ۱۳/۲ و ۱۱/۸ درصد، بیش‌ترین پراکنش را در مزارع حبوبات استان داشتند. تعداد گونه‌های جداسازی شده از مزارع ۱۲ شهرستان استان که در آنها حبوبات کشت می‌شود به ترتیب کرمانشاه ۱۶ گونه، روانسر و گیلانغرب هرکدام نه گونه، اسلام آباد و کرند غرب هرکدام هفت گونه، جوانرود، سرپل ذهاب و سنقر هرکدام شش گونه، کنگاور چهار گونه، صحنه سه گونه، هرسین و ثلاث باباجانی دو گونه بوده است.

در مزارع نخود گونه‌های *F. vulgaris*، *P. ritteri*، *H. scoticus* و *Ditylenchus medicaginis*، در مزارع عدس گونه‌های *D. medicaginis*، *H. scoticus*، *T. parvus*، *F. vulgaris* و *S. tartuensis* و در مزارع باقلا نیز گونه‌های *D. medicaginis*، *M. brevidens*، *A. avenae* دارای بیش‌ترین درصد پراکندگی می‌باشند.

نماتدهای ریشه‌گرهی در هیچ کدام از نمونه‌های جمع‌آوری شده از مزارع مشاهده نشد. از نماتدهای مولد زخم ریشه فقط گونه *Pratylenchus thornei* در مناطق محدودی جمع‌آوری گردید. نماتدهای زخم ریشه از مهم‌ترین محدودکننده‌ی تولید حبوبات بعد از نماتدهای ریشه‌گرهی در جهان محسوب می‌شوند. این امر به علت دامنه میزبانی وسیع آن‌ها در هر شرایط آب و هوایی است (۱۰). از آن‌جا که حبوبات در تناوب با غلات کشت می‌شوند و غلات نیز از میزبان‌های اصلی نماتدهای زخم ریشه محسوب می‌شوند به نظر می‌رسد که *Pratylenchoides ritteri* نیز بتواند به حبوبات خسارت اقتصادی وارد کند. لذا تحقیق در مورد بیماری‌زایی این گونه‌ها روی حبوبات ضروری به نظر می‌رسد. همچنین با توجه به فراوانی و تراکم بالای جمعیت گونه‌های *Ditylenchus* *medicaginis* و *Helicotylenchus scoticus* در مـزارع حبوبـات استان کرمانشاه، پیشنهاد می‌شود بیماری‌زایی این گونه‌ها در سـطوح مختلف جمعیتی بر روی حبوبات بررسی شود.

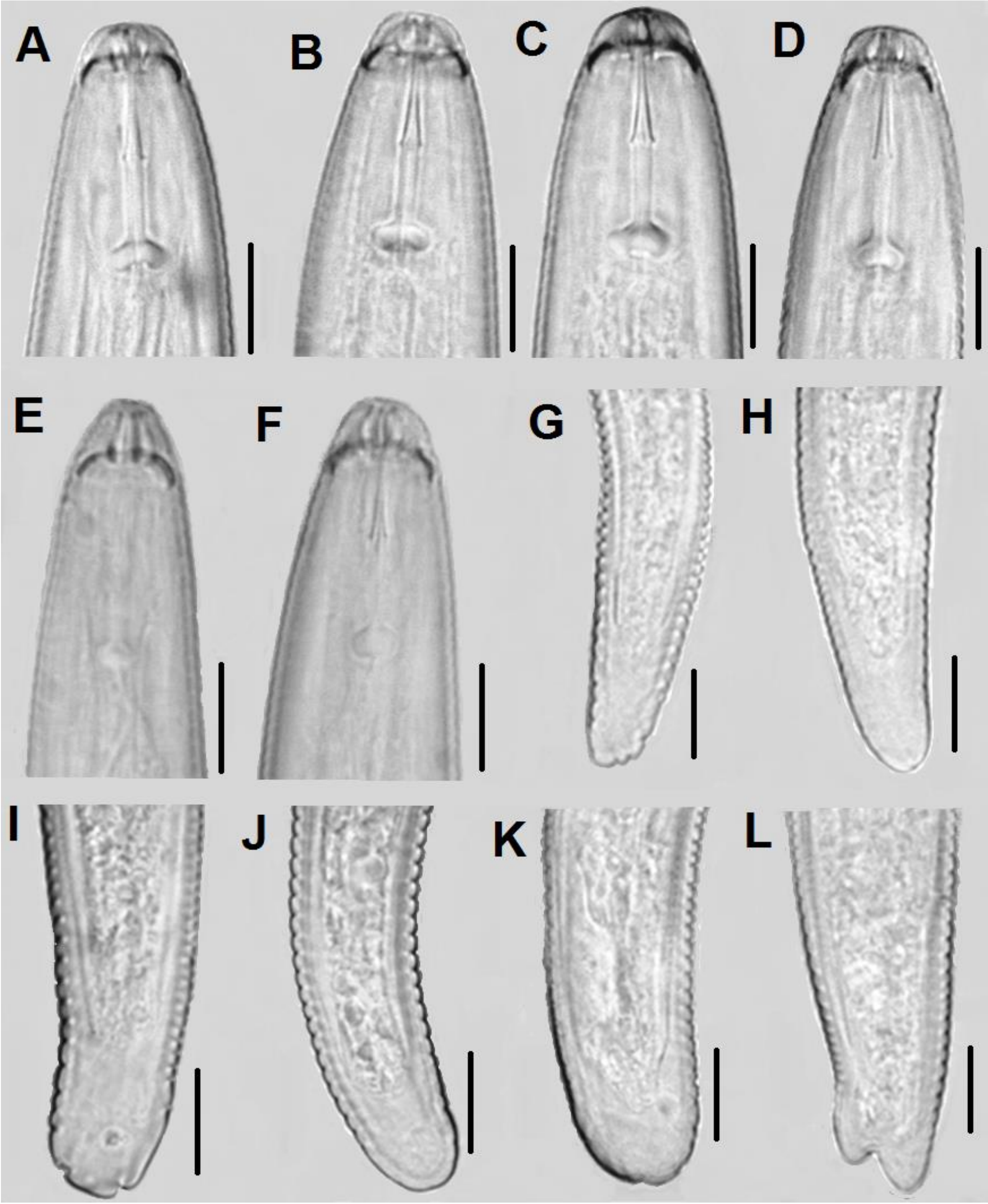
جدول ٤- مشخصات ریخت‌سنجی جمعیت‌های گونه *Pratylenchoides ritteri*، جمع‌آوری شده از مزارع حبوبات استان کرمانشاه، اندازه‌ها به میکرومتر است

Table 4- Morphometric data of the Iranian populations of *Pratylenchoides ritteri*, collected from legume fields of Kermanshah province. All measurements are in µm

Characters	Females		Males	
n	91	CV*	14	CV
L	780 ± 90 (611-1058)	11.5	753 ± 89.7 (615-889)	11.9
a	29.8 ± 2.5 (24.6-36.3)	8.4	32.7 ± 3.9 (25.7-39.2)	11.8
b	5.9 ± 0.6 (4.5-7.6)	10.2	6.3 ± 0.7 (5.3-7.4)	11.5
b'	4.3 ± 0.5 (3.3-5.6)	11.3	5.4 ± 0.5 (4.6-6.0)	9.1
c	15.3 ± 1.6 (11.4-22.2)	10.8	13.7 ± 1.4 (11.7-16.5)	10.0
c'	3.0 ± 0.4 (1.6-3.6)	12.1	3.3 ± 0.4 (2.4-4.0)	13.1
V	56.0 ± 1.6 (51.9-61.2)	2.9	-	-
Stylet	22.1 ± 1.2 (18.5-26.0)	5.6	20.3 ± 1.3 (18.5-22.5)	6.3
DGO	2.4 ± 0.4 (1.5-3.9)	17.8	2.2 ± 0.3 (1.8-2.7)	15.4
Oesophagus	133 ± 13.6 (94.6-166)	10.2	119 ± 11.0 (91.0-139)	9.3
End of glands	184 ± 16.0 (148-225)	8.7	138 ± 12.1 (115-159)	8.7
overlapping	50.6 ± 13.9 (20.3-93.5)	27.4	20.0 ± 5.3 (10.0-26.0)	26.7
Pharyngeal gland lobe/BW	1.9 ± 0.6 (0.7-3.5)	28.7	0.9 ± 0.2 (0.5-1.2)	26.5
S. E. pore	117 ± 10.7 (90.0-143)	9.2	112± 13.5 (77.0-129)	12.1
Head-vulva	436 ± 48.4 (353-599)	11.1	-	-
Tail length	51.4 ± 6.8 (29.0-72.0)	13.1	55.4 ± 8.5 (39.0-74.0)	15.3
Body width	26.3 ± 3.4 (19.2-37.0)	12.8	23.2 ± 2.9 (18.5-29.0)	12.5
Tail annuli	24.6 ± 3.8 (17.0-35.0)	15.3	-	-
Phasmid/tail%	46.8 ± 7.5 (26.6-79.1)	16.1	47.0 ± 5.8 (39.6-56.0)	12.3
Spicules	-	-	25.3 ± 1.7 (23.3-29.0)	6.8
Gubernaculum	-	-	6.4 ± 0.6 (5.0-7.5)	10.0

* ضریب تغییرات

* ***coefficient*** of variation



شکل ۵. تنوع سر، استایلت و دم در گونه *Pratylenchoides ritteri*: A-D و G-L: ماده، E & F: نر، (مقیاس = 10 µm).

Fig. 5- Anterior end and tail variations of *Pratylenchoides ritteri.* A-D & G-L: Female; E & F: Male (Scale-bars: 10 µm).

سپاس‌گزاری

بدین وسیله از حمایت مالی و امکانات بخش گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1- Ahmadi K., Gholizadeh H., Ebadzadeh H., Hosainpour R., Hatami F., Fazli B., Kazemian A., and Rafiei M. 2015. Agricultural Statiscal 1392-93. Volume 1, Crop Products, Mininstry of Jihade of Agriculture, First edition, P. 158.

2- Ahmadi S., Mahdikhani Moghaddam E., and Baghaee Davari S. 2015. Identification of plant parasitic nematode collected from pulse fields in Northern Khorasan province. Iranian Journal of Pulses Research, 5(2): 111-118. (In Persian with English abstract).
3- Akbari K., Minasslan V., Hojat Jalali A. A., and Hosseinnejad S. A. 2000. Studies on interaction of root-lesion nematode, *Pratylenchus thornei*, and wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* on ILC 482 and Bivanej chickpea cultivars. Proceedings of the 14th Iranian Plant Protection Congress, Isfahan, Iran, P. 87.
4- Aliramaji F., Pourjam E., and Karegar A. 2006. Species of *Helicotylenchus* Steiner, 1945 from Jiroft and Kahnoj Region. Iranian Journal of Plant Pathology, 42: 137-140 [473-489]. (In Persian with English abstract).
5- Alvani S., Mahdikhani Moghadam E., Rouhani H., and Mohammadi A. 2016. Species of Superfamily Aphelenchoidea (Nematoda: Rhabditida) Associated with (*Crocus sativus*, *Berberis vulgaris*, *Ziziphus zizyphus*) from South Khorasan Province. Journal of Plant Protection, 30 (2): 261-269. (In Persian with English abstract).
6- Azizi K., and Karegar A. 2014. Plant parasitic nematodes of legume fields and their distribution in Lorestan province, Iran. Iranian Journal of Plant Pathology, 50 (3): 119-121 [219-235]. (In Persian with English abstract).
7- Baranovskaya I. A., and Haque M. M. 1968. [*Aphelenchoides graminis* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae). Zoologichesky Zhurnal, 47 (4): 631-634. (In Russian).
8- Barooti S., Kheiri A., Tanha-Maafi Z., and Norozi R. 2000b. Study on plant parasitic nematode fauna in Kermanshah Province. Proceedings of the 14th Iranian Plant Protection Congress, Volume II: Plant diseases, Isfahan, Iran. P. 189.
9- Brzeski W. M. 1998. Nematodes of Tylenchina in Poland and temprate Europe Warszawa, Poland. Muzeum I Instytum Zoologii Polska Academia Nauk, 397 pp.
10- Castillo P., Navas-corets J. A., Landa B. B., Jimenez-diaz R. M., and Vovlas N. 2008. Plant-parasitic nematodes attacking chickpea and their in planta interactions with rhizobia and phytopathogenic fungi. Plant Disease, 92: 840-853.
11- De Grisse A. 1969. Redescription ou modification de quelques techniques utilisees dans L'etude des nematodes phytoparasitaires. Meded Riijksfaculteit der landbouwetenschappen Gent, 34: 351-369.
12- Decraemer W., and Hunt D. G. 2006. Structure and classification. In R. N.. Perry & M. Moens (Eds.), plant nematology (pp: 4-32). Ghent, Belgium.
13- Ghaderi R., and Karegar A. 2014. Contribution to a revision of the genus *Pratylenchoides* Winslow, 1958 (Nematoda: Merliniidae), with redescription of *P. erzurumensis* Yüksel, 1977 from Iran. Zootaxa 3900: 339-369.
14- Grunwald N. J., Chen W., and Larsen R. C. 2004. Pea diseases and their management. Diseases of Fruits and Vegetables, 2: 301-331.
15- Kheiri A. 1972. Plant parasitic nematodes (Tylenchida) from Iran. Biologisch Jaurboek Dodonaea, 40: 224-239.
16- Majd Taheri Z., Tanha Maafi Z., Subbotin S. A., Pourjam E., and Eskandari A. 2013. Molecular and phylogenetic studies on Pratylenchidae from Iran with additional data on *Pratylenchus delattrei*, *Pratylenchoides alkani* and two unknown species of *Hirschmanniella* and *Pratylenchus*. Nematology, 15, 1-19.
17- Mirzaipoor Z., Bazgir E., Azizi K., and Darvishnia M. 2016. Identification of plant-parasitic nematodes of potato fields in Lorestan province, Iran. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 39(1): 4 [39-58]. (In Persian with English abstract).
18- Mohammad Deimi A., M. Ghalandar M., and Barouti SH. 2008. Study of plant parasitic nematodes on bean in Khomein. Proceedings of the 18th Iranian Plant Protection Congress, ., Hamedan, Iran. 559 (Abstract.).
19- Niknam Gh. 1991. Identification of the plant parasitic nematodes Moghan Cultivation and industry co. farms, Iran. Ms Thesis. Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran, 140 pp. (In Persian with English abstract).
20- Riga, E., Porter L. D., Mojtahedi H., and Erickson D. 2008. *Pratylenchus neglectus*, *Pratylenchus thornei*, and *Paratylenchus hamatus*, nematodes causing yield reduction to dryland peas and Lentils in Idaho. Plant Disease, 92: 979.
21- Shahina F. 1996. A diagnostic compendium of the genus *Aphelenchoides* Fischer, 1894 (Nematoda: Aphelenchina) with some new records of the group from Pakistan. Pakistan Journal of Nematology, 14: 1- 32.
22- Sharma S. B., Sikora R. A., Greco N., Di Vito M., and Caubel G. 1994. Screening techniques and sources of resistance to nematodes in cool season food legumes. In , F. J. Muehlbauer & W. J. Kaiser, (Eds.), Expanding the production and use of cool season food legumes (pp. 346-358). Springer-Science+Business Media, B.V.
23- Sher S. A. 1970 Revision of the genus *Pratylenchoides* Winslow, 1958 (Nematoda: Tylenchoidea). Proceedings of the Helminthological Society of Washington, 37, 154-165.
24- Thompson J. P., Greco N., Eastwood R., Sharma S. B., and Scurrah M. 2000. Integrated control of nematodes of cool season food legumes. In R. Knight (Ed.), (pp. 491-566). Austuralia, Kluwer Academic.
25- Thorne G., and Malek R. B. 1968. Nematodes of the Northern Great Plains Part I. Tylenchida (Nemata: Secerentea). South Dakota Univrsity, Broojings. 111 pp.

26- Wasilewska L. 1965. *Ditylenchus medicaginis* sp. n., a new parasitic nematode from Poland (Nematoda: Tylenchidae). Bulletin of the Polish Academy of Sciences C1. II, 13: 167-170.
27- Whitehead A. G., and Hemming J. R. 1965. A comparision of some quantitative methods of extracting vermiform nematodes from soil. Annual Applied Biology, 55: 25-38.

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۳۶۱-۳۵۱

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 351-361

تعیین ویژگی‌های بیوشیمیایی آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا - بتا گالاکتوزیداز گوارشی در زنبور برگ‌خوار ثانوی رز *Allantus viennensis* Schr. (Hym.: Tenthredinidae)

فرشید جهانجو[۱]- مولود غلام زاده چیتگر[۲*]- محمد قدمیاری[۳]- رضا حسینی[٤]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۰۶

چکیده

لاروهای زنبور برگخوار ثانوی رز *Allantus viennensis* به عنوان یکی از آفات مهم گیاه رز از برگ‌ها تغذیه کرده و در تراکم‌های بالا در مدت کوتاهی گیاه را عاری از برگ می‌کنند. داشتن اطلاعات در مورد ویژگی‌های آنزیم‌های گوارشی اولین گام در جهت استفاده از بازدارنده‌های گیاهی در برنامه‌های کنترل آفات می‌باشد. بنابراین در تحقیق حاضر ویژگی‌های بیوشیمیایی آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا - بتا گالاکتوزیداز در دستگاه گوارش لارو *A. viennensis* بررسی شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم در لاروهای سنین ۵-۲ زنبور نشان داد که با افزایش سن لاروی، میزان فعالیت آنزیم افزایش یافته و در لاروهای سن پنجم بیشترین میزان مشاهده می‌شود. همچنین میزان فعالیت ویژه آنزیم در روده میانی نسبت به روده جلویی و عقبی بیشتر است. حداکثر فعالیت آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا - بتا گالاکتوزیداز در لوله گوارش به ترتیب در pHهای ۸، ۶ و ۶ بود. دمای بهینه فعالیت آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا - بتا گالاکتوزیداز به ترتیب در ۵۰، ۶۰ و ۳۰ درجه سلسیوس بدست آمد. با استفاده از منحنی Lineweaver-Burk مقادیر K_m و V_{max} آنزیم آلفا-آمیلاز به ترتیب برابر با ۱/۴۷۸ میلی‌گرم بر میلی لیتر و ۰/۱۴ میکرومول بر دقیقه محاسبه شد. مقادیر K_m آنزیم‌های آلفا و بتا گالاکتوزیداز در لوله گوارش به ترتیب برابر با ۰/۶۹ و ۰/۴۱ میلی‌مولار و مقادیر V_{max} به ترتیب برابر با ۰/۸۴ و ۱/۷۶ میلی‌مولار بر دقیقه بر میلی‌لیتر بدست آمد. نتایج زایموگرام روی ژل نشان داد که آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و آلفا - بتا گالاکتوزیداز در لوله گوارش لارو *A. viennensis* به ترتیب دارای ۳، ۱ و ۱ ایزوفرم می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، بازدارنده‌ها، رز، زنبور برگخوار ثانوی

مقدمه

آنزیم‌های آلفا-آمیلاز جزو اندو آمیلازها بوده (۱۵) که عمل هیدرولیز پیوندهای آلفا دی ۱ و ۴- گلوکان در ترکیباتی همچون نشاسته، گلیکوژن و دیگر کربوهیدرات‌ها را بر عهده دارند (۲۷). این آنزیم‌ها کربوهیدرات‌ها را به واحدهای دی و مونومر تبدیل می‌کنند و بدین ترتیب این مواد را برای سلول‌های روده حشرات قابل جذب می‌سازند. آلفا آمیلازها در میکروارگانیزم‌ها، گیاهان و جانوران وجود دارند. این آنزیم‌ها در لوله گوارش بسیاری از حشرات یافت شده و مورد بررسی قرار گرفته است. از این جمله می‌توان به راسته بالپولکداران (۴)، راست بالان، دو بالان و سخت بال‌پوشان (۳۱ و ۳۷) و بال‌غشاییان (۱۹) اشاره کرد. آلفا گالاکتوزیداز جزو اگزوگلیکوزیدازها بوده که پیوندهای انتهایی D- گالاکتوز را در طیف وسیعی از الیگوساکاریدهای گالاکتوزیدی نظیر ملی‌بیوز، استاکیوز و رافینوز هیدرولیز می‌کند. بتا گالاکتوزیدازها آنزیم‌هایی هستند که سوبستراهای دارای بخش‌های گالاکتوزیدی مانند لاکتوز، گلیکولیپیدها، پروتئوگلیکان‌ها، الیگوساکاریدها و پلی‌ساکاریدها را می‌شکنند (۲۸). این آنزیم‌ها در تجزیه دی و الیگوساکاریدهای حاصل از همی‌سلولز و سلولز و همچنین در برهم‌کنش‌های بین گیاهان و حشرات نقش دارند (۳۷). آنزیم‌های آلفا – بتا گالاکتوزیداز در لوله‌گوارش راسته‌های مختلف حشرات توسط محققین متعددی استخراج و مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۱۸، ۱۹ و ۲۰).

زنبور برگخوار ثانوی رز *Allantus viennensis* Schr. (Hym.: Tenthredinidae) یکی از آفات مهم گیاه رز در استان گیلان می‌باشد. لاروهای این زنبور به‌طور دسته جمعی از سطح پارانشیم برگ‌های جوان تغذیه می‌کنند و منجر به بی‌برگی بوته‌های گل رز و محمدی می‌شوند (۲۳). با توجه به اینکه گل محمدی در صنعت گلابگیری مورد استفاده دارد و نیز به عنوان گیاه زینتی در پارک‌ها و

۱، ۳ و ۴- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی و دانشیاران دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲- استادیار بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران
(*-نویسنده مسئول: Email: mgholamzadeh@areeo.ac.ir)
DOI: 10.22067/jpp.v32i3.64128

باغچه‌های منازل کشت می‌شود، در مکان‌های نامبرده کاربرد ترکیبات شیمیایی در کنترل آفات این گیاه پیشنهاد نمی‌شود. زیرا این ترکیبات اثر مخربی روی انسان و محیط زیست ایجاد کرده و نیز در صورت کاربرد مواد شیمیایی مشکل مقاومت آفات به آفت‌کش‌ها وجود خواهد داشت. این اثرات منفی ناشی از کاربرد ترکیبات سمی موجب شده است که روش‌های نوینی در راستای کنترل این دسته آفات مورد بررسی قرار گیرد (۱۹، ۲۴ و ۳۴). امروزه استفاده از ارقام مقاوم و گیاهان تراریخته یکی از روش‌های جدید کنترل آفات در برنامه‌های مدیریت تلفیقی به شمار می‌رود. وارد کردن ژن‌های بیان کننده مهار کننده‌های آنزیمی حشرات به گیاه و بیان ژن‌های مذکور در گیاه باعث مقاومت گیاهان به آفات می‌شود. در نتیجه طی تغذیه، مهارکننده‌ها وارد بدن حشره شده و آنزیم‌های گوارشی آن را بلوکه می‌کنند (۳۵). تاکنون مطالعات گسترده‌ای در زمینه بازدارنده‌های آنزیم‌های گوارشی حشرات به ویژه بازدارنده‌های آلفا–آمیلاز انجام شده است. این بازدارنده‌ها به طور گسترده‌ای در گیاهان وجود دارند و به احتمال زیاد نقش مهمی در حفاظت از گیاهان در برابر حشرات عهده‌دار هستند (۱۶). تاکنون ویژگی‌های بیوشیمیایی آنزیم‌های آلفا–آمیلاز و آلفا – بتا گالاکتوزیداز در زنبور برگخوار ثانوی رز مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین در تحقیق حاضر ویژگی‌های بیوشیمیایی آنزیم‌های مذکور در لوله گوارش لاروهای *A. viennensis* جهت دستیابی به روشی جدید در کنترل این آفت تعیین شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه حشرات

لاروهای زنبور برگخوار ثانوی رز از روی بوته‌های گل رز *Rosa hybrid* L. محوطه دانشگاه گیلان در تابستان ۱۳۸۹ جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. پرورش روی برگ‌های گل رز در اتاقک رشد حشرات در دمای ۱°C±۲۵، رطوبت نسبی ۱۰±۶۰ درصد ودوره روشنایی: تاریکی ۱۶:۸ انجام شد. شناسایی مراحل مختلف لاروی بر اساس اندازه گیری عرض کپسول سر طبق داده‌های حسینی و صحراگرد (۲۳) صورت گرفت.

تشریح حشره و تهیه عصاره آنزیمی

ابتدا لاروهای زنبور روی یخ بی‌حس شدند و سپس به کمک پنس، سطح شکمی لاروها را شکافته و لوله گوارش بیرون آورده شد. برای استخراج آنزیم‌ها از لوله گوارش از یک هموژنایزر دستی استفاده شد. نمونه‌های هموژنایز شده در دمای ۴ درجه سلسیوس در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس محلول رونشین به عنوان منبع آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه گیری فعالیت آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا – بتا گالاکتوزیداز

فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز با استفاده از روش برنفلد (۸) اندازه‌گیری شد. در این آزمایش از محلول نشاسته یک درصد به عنوان سوبسترا استفاده گردید. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز از بافر استات سدیم- گلایسین – فسفات ۵۰ میلی مولار استفاده شد. واکنش در دمای ۳۰ درجه سلسیوس با مقدار ۱۰ میکرولیتر آنزیم (محلول رونشین)، ۵۰ میکرولیتر نشاسته به عنوان سوبسترا و ۴۰ میکرولیتر بافر، به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر معرف DNS[1] به مجموعه اضافه شد و برای مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفت. بعد از سرد شدن نمونه‌ها یک میلی لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتری (Stat fax 3200®) قرائت شد. این آزمایش برای سه قسمت از لوله گوارش (روده جلویی، روده میانی و روده عقبی) لاروهای سنین ۵-۲ زنبور برگخوار ثانوی رز انجام شد. میزان فعالیت آنزیم با استفاده از منحنی استاندارد مالتوز و بر حسب میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا گالاکتوزیداز با استفاده از سوبستراهای p- نیتروفنیل-D-α- گالاکتوپیرانوزید[2] و p- نیتروفنیل- β- D- گالاکتوپیرانوزید[3] به ترتیب برای آلفا و بتا گالاکتوزیداز انجام شد. واکنش با ۱۰ میکرولیتر نمونه آنزیم، ۴۵ میکرولیتر سوبسترا و ۱۱۵ میکرولیتر بافر استات سدیم- گلایسین- فسفات ۵۰ میلی‌مولار در دمای ۳۵ درجه سلسیوس صورت گرفت. بعد از ۲۰ دقیقه، با افزودن ۶۰۰ میکرولیتر محلول هیدروکسید سدیم ۰/۲۵ نرمال واکنش متوقف و بعد از ۱۰ دقیقه مقدار هیدرولیز سوبستراهای نامبرده بر اساس تشکیل پارا-نیتروفنل در دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد (۳۶).

اندازه گیری pH و دمای بهینه فعالیت آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا – بتا گالاکتوزیداز

برای بررسی اثر pH روی فعالیت آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا – بتا گالاکتوزیداز، ابتدا pHهای مختلف ۱۲-۳ با استفاده از بافر استات سدیم- گلایسین- فسفات ۵۰ میلی مولار تهیه و سپس روی فعالیت آنزیمی بررسی شدند. برای تعیین اثر دما روی فعالیت آنزیم، دماهای مختلف (۱۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ درجه سلسیوس) مورد آزمایش

1- Dinitrosalycylic acid
2- pNαGa
3- pNβGa

قرار گرفت. در مورد آلفا آمیلاز، نمونه آنزیمی، سوبسترا و بافر در هر یک از دماهای مذکور به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند. سپس بقیه مراحل همانند روش کار توضیح داده شده در بند اندازه‌گیری فعالیت آنزیم انجام شد. در مورد آلفا – بتا گالاکتوزیداز واکنش با نمونه آنزیم، سوبسترا و بافر در هر یک از دماهای ذکر شده به مدت ۲۰ دقیقه انجام گرفت و بقیه مراحل همانند روش کار توضیح داده شده در بند اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اجرا شد.

تعیین پارامترهای K_m و V_{max} آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا – بتا گالاکتوزیداز

برای تعیین پارامترهای سینتیکی فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز، ابتدا غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد از نشاسته ۱ درصد تهیه شدند. سپس ۱۰ میکرولیتر آنزیم به ۴۰ میکرولیتر بافر استات سدیم- گلایسین- فسفات ۵۰ میلی‌مولار افزوده و پس از ۴ دقیقه به هر یک از نمونه‌ها ۵۰ میکرولیتر محلول نشاسته از غلظت‌های تهیه شده اضافه گردید. بقیه مراحل همانند اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز انجام شد. ثابت میکائیلیس (K_m) و حداکثر سرعت واکنش (V_{max}) با استفاده از منحنی Lineweaver-Burk محاسبه شد.

برای تعیین پارامترهای سینتیکی آنزیم‌های آلفا و بتا گالاکتوزیداز، ابتدا غلظت‌های ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار از سوبستراهای اختصاصی هر یک از آنزیم‌ها تهیه شدند. سپس ۱۰ میکرولیتر نمونه آنزیم به ۴۵ میکرولیتر سوبسترا با غلظت‌های تعیین شده و ۱۱۵ میکرولیتر بافر استات سدیم- گلایسین- فسفات اضافه شد. در زمان‌های صفر، ۱۵ و ۳۰ دقیقه بعد از شروع واکنش، با اضافه کردن ۶۰۰ میکرولیتر هیدروکسید سدیم ۰/۲۵ مولار واکنش متوقف و جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد. مقدار V_o آنزیم در غلظت‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار اکسل و مقدار K_m و V_{max} با استفاده از نرم افزار هایپر اندازه گیری شد.

الکتروفورز Native PAGE و زایموگرام آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا – بتا گالاکتوزیداز

برای انجام این کار از روش دیویس (۱۳) استفاده شد. بعد از بارگذاری نمونه‌ها، الکتروفورز در ۱۰۰ ولت و در دمای ۴ درجه سلسیوس انجام شد. در مورد آلفا آمیلاز، پس از اتمام الکتروفورز، محلول ترایتون ۲/۵ درصد روی ژل ریخته و به مدت ۳۰ دقیقه ژل در آن محلول قرار داده شد. پس از شستشو با آب مقطر، ژل داخل بافر تریس قرار داده شد. سپس ژل به داخل محلول نشاسته یک درصد منتقل شد و بعد از آن داخل محلول لوگول قرار گرفت. همچنین زایموگرام این آنزیم در pHهای مختلف انجام شد. در بررسی اثر pH، ژل در محلول نشاسته ۱ درصد حل شده در بافر استات سدیم-فسفات-بورات ۲۵ میلی مولار با pHهای ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰ به مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفت.

در مورد آنزیم‌های گالاکتوزیداز، پس از اتمام الکتروفورز، ژل به درون ظروف حاوی سوبستراهای اختصاصی هر یک از آنزیم‌ها که به طور جداگانه در بافر استات سدیم ۰/۱ مولار حل شده بودند منتقل گردید. از سوبستراهای 4-MUαGa[1] و 4- MUßGa[2] به ترتیب برای آنزیم‌های آلفا و بتا گالاکتوزیداز استفاده شد. با قرار دادن ژل در دستگاه ژل داک باندهای تشکیل شده در زیر اشعه فرابنفش مشاهده شدند.

اندازه گیری پروتئین موجود در نمونه های آنزیمی

اندازه‌گیری پروتئین با استفاده از روش برادفورد (۱۰) انجام و از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵ درصد و با استفاده از نرم افزار SAS انجام گردید.

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا – بتا گالاکتوزیداز

نتایج نشان داد که با افزایش سن لاروی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا – بتا گالاکتوزیداز افزوده می‌شود (شکل‌های ۱ و۲). بیشترین میزان فعالیت ویژه آنزیم در لاروهای سن پنجم بدست آمد. این تفاوت در فعالیت ویژه آنزیم در مراحل مختلف رشدی را می‌توان به عواملی همچون نوع و میزان تغذیه در حشرات نسبت داد (۲۲). گزارشاتی مبنی بر این وجود دارد که نوع و غلظت آنزیم متناسب با مرحله رشدی حشره تغییر می‌کند. هوری (۲۱) با مطالعه فعالیت آنزیم آمیلاز در مراحل مختلف رشدی سن بدبوی کلم *Eurydema rugosa* نشان داد که در پوره‌های سن دوم فعالیت آنزیم بسیار کم اما در پوره‌های سنین سوم، چهارم و پنجم نسبتاً بالا بوده و در سن پنجم به حداکثر مقدار خود می‌رسد. فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز در بافت معده میانی لارو پروانه *Catopsili crocale* به طور معنی‌داری با افزایش سن لاروی افزایش یافت. بین میزان جذب غذا و فعالیت آنزیم نیز ارتباط مستقیم مشاهده شد، به طوری که با افزایش تغذیه و جذب غذا فعالیت آنزیم نیز در بافت معده افزایش یافت (۱۲). در بررسی فعالیت آلفا-آمیلاز روی مراحل مختلف رشدی

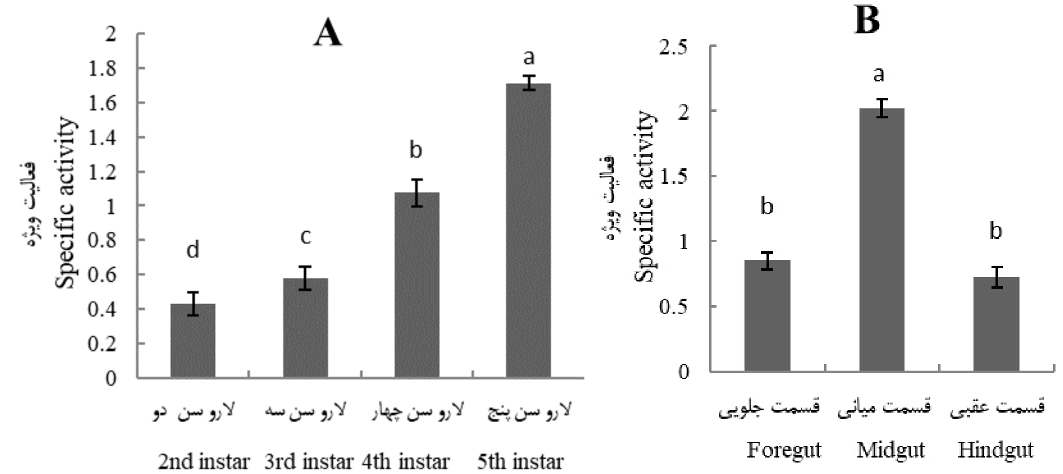
1- 4- methylumbelliferyl-α-D-galactopyranoside
2- 4-methylumbelliferyl-ß-D-galactopyranoside

Spodoptera frugiperda حداکثر فعالیت آنزیمی در سن آخر لاروی اتفاق افتاد (۳). در تحقیق حاضر احتمالاً دلیل افزایش فعالیت ویژه آنزیم در لاروهای سنین بالاتر زنبور برگخوار ثانوی رز تغذیه بیشتر این مراحل لاروی و ذخیره منابع انرژی کافی برای تولید مثل مرحله بالغ باشد. زیرا با افزایش سن لاروی میزان تغذیه توسط لاروها بیشتر شده و حجم غذای بیشتری به داخل لوله گوارش وارد می‌شود. در نتیجه ترشح آنزیم‌های مختلف برای انجام عملیات هضم نیز بیشتر خواهد شد.

با اندازه‌گیری آنزیم در سه قسمت مختلف لوله گوارش لارو سن پنجم زنبور برگخوار ثانوی رز مشخص شد که میزان فعالیت ویژه آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا – بتا گالاکتوزیداز در روده میانی به مراتب بیشتر از دو قسمت دیگر است (شکل ۱ (B) و شکل ۳). مطابق با این نتیجه، بیشترین فعالیت آمیلولیتیک در روده میانی سن *Dysdercus koenigii* اندازه‌گیری شد (۳۲). میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در روده میانی لاروهای سن سوم کفشدوزک خربزه (۱۷)، سن سبز پنبه (۲۹) و سوسک برگخوار نارون (۳۳) از روده جلویی و عقبی بیشتر بود. نتیجه مشابهی برای فعالیت آنزیم‌های گالاکتوزیداز توسط قنبری‌نژاد و همکاران (۱۸) گزارش شد. طبق نتایج این آزمایش مقدار فعالیت ویژه آنزیم بتا- گالاکتوزیداز نسبت به آلفا- گالاکتوزیداز در بافت‌های مورد آزمایش بیشتر بود.

اثر pH روی فعالیت آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا – بتا گالاکتوزیداز

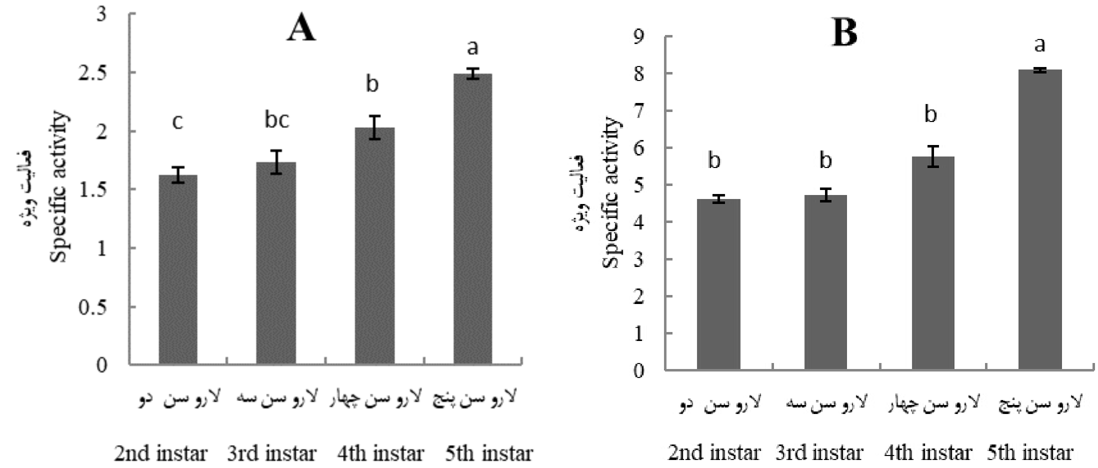
فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در لوله گوارش لارو *A. viennensis* در دامنه‌ای از pH= ۱۰-۵ مشاهده شد و بیشترین فعالیت آنزیم در pH=۸ بدست آمد (شکل ۴). در تشابه، pH بهینه در لوله گوارش لارو زنبور برگخوار رز *Arge rosae* برابر ۸ گزارش شد (۱۹). اسیدیته یکی از خواص داخلی بسیار مهم معده است که روی آنزیم‌های گوارشی تأثیرگذار می‌باشد. آنزیم‌ها دارای دامنه‌ای از pH مطلوب می‌باشند که در آن حداکثر فعالیت را نشان داده و در pH بالاتر و پایین‌تر از آن فعالیت‌شان کاهش می‌یابد (۱۵). اسیدیته می‌تواند روی پایداری آنزیم و بهبود فعالیت بهینه آن تأثیرگذار باشد. اسیدیته بهینه برای فعالیت آنزیم با اسیدیته معده حشره در برخی گونه‌ها هم‌خوانی داشته و تحت تأثیر فاکتورهایی نظیر غذا، pH غذا و جمعیت میکروارگانیسم‌های معده می‌باشد (۱۴).



شکل ۱- میانگین فعالیت ویژه آنزیم آلفا-آمیلاز (میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) در سنین مختلف لاروی (A) و سه قسمت لوله گوارش لارو سن پنجم *Allantus viennensis* (B)

Figure 1- Mean of α-amylase specific activity (µmol/min/mg protein) in the different larval stages (A) and three parts of gut of fifth larval instar (B) of *Allantus viennensis*

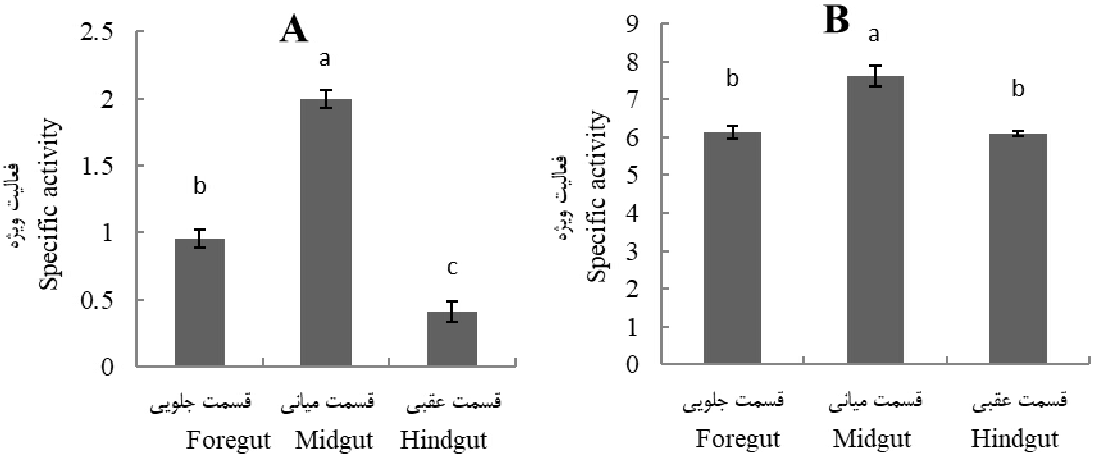
Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test (p<0.05)



شکل ۲- میانگین فعالیت ویژه (میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) آنزیم آلفا- گالاکتوزیداز (A) و بتا- گالاکتوزیداز (B) در سنین مختلف لاروی *Allantus viennensis*

Figure 2- Mean specific activity of α-galactosidase (A) and β-galactosidase (B) (µmol/min/mg protein) in the different larval stages of *Allantus viennensis*

Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test (p<0.05)



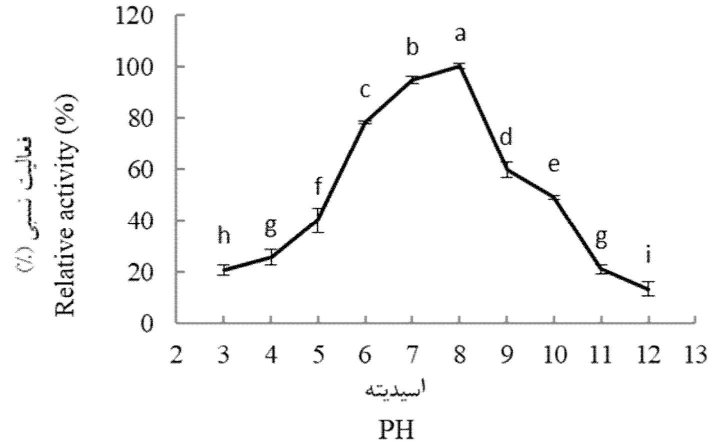
شکل ۳- میانگین فعالیت ویژه (میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) آنزیم آلفا- گالاکتوزیداز (A) و بتا- گالاکتوزیداز (B) در سه قسمت لوله گوارش لارو سن پنجم *Allantus viennensis*

Figure 3- Mean specific activity of α-galactosidase (A) and β-galactosidase (B) (µmol/min/mg protein) in three parts of gut of fifth larval instar of *Allantus viennensis*

Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test (p<0.05)

برن بائوم (۷) از بررسی مقادیر pH گزارش شده برای ۶۰ گونه در ۲۰ خانواده از حشرات از جمله خانواده Tenthredinidae نتیجه گرفت که pH لوله گوارش لاروها به خصوصیات شیمی گیاه میزبان وابسته است. لاروهایی که از برگ‌های درختان که مشخصاً حاوی مقادیر بیشتری از تانن می‌باشند تغذیه می‌کنند، متوسط pH لوله گوارش آن‌ها ۸/۶۷ می‌باشد. مقادیر بالای pH در لوله گوارش لاروهای تغذیه کننده از غذاهای غنی از تانن ممکن است به عنوان یک مکانیزم محافظتی جهت کاهش سمیت تانن تکامل یافته باشد. زیرا تانن‌ها در pHهای پایین به پروتئین‌ها باند شده و میزان تجزیه و هضم غذا در حشرات را کاهش می‌دهند (۱۱). اما در pH بالاتر تشکیل کمپلکس بسیار کند صورت می‌گیرد (۷). همانطور که اشاره شد pH بهینه برای فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در دستگاه گوارش لاروهای زنبور برگخوار ثانوی رز در شرایط قلیایی بدست آمد. ازین رو می‌توان نتیجه گرفت چون گل محمدی غنی از تانن است (۲۵) احتمالاً یکی از دلایل فعالیت حداکثر این آنزیم در محیط قلیایی این باشد که pH بالای دستگاه گوارش باعث شده تا تانن موجود در گل محمدی با پروتئین‌های تغذیه شده توسط زنبور برگخوار ثانوی رز کمتر کمپلکس تشکیل دهد. همچنین قابل ذکر است که عدم وجود

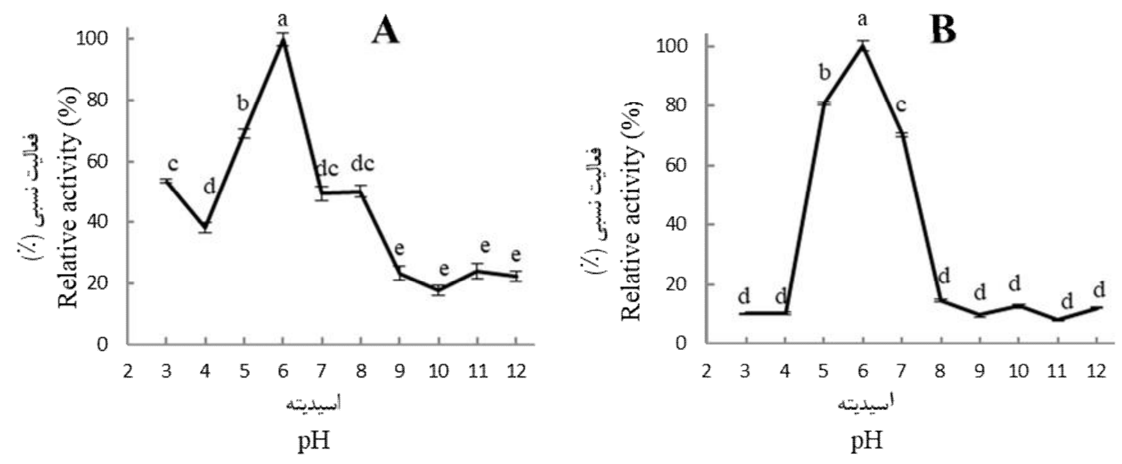
یک نقطه ماکزیمم در منحنی pH بر این نکته دلالت دارد که فعالیت آمیلولیتیک در روده میانی این آفت محدود به یک نوع آلفا-آمیلاز نبوده که البته نتایج زایموگرام تأیید کننده این مطلب می‌باشد.



شکل ٤- اثر pH روی فعالیت آلفا-آمیلاز در لوله گوارش لارو سن پنجم *Allantus viennensis*

Figure 4- Effect of pH on the α-amylase activity in gut of fifth larval instar of *Allantus viennensis*
Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test (*p*<0.05)

pH بهینه فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا گالاکتوزیداز در لوله گوارش ۶ بدست آمد (شکل ۵). فعالیت آلفا گالاکتوزیداز در لوله گوارش در pH= ۵ به میزان ۶۹٪ می‌رسد و سپس به تدریج افزایش یافته تا به بیشترین فعالیت خود یعنی ۱۰۰ درصد در pH=۶ می‌رسد و پس از آن در pH=۸-۱۲ میزان فعالیت بین ۱۷-۲۳٪ است (شکل ۵ A). فعالیت بتا گالاکتوزیداز در لوله گوارش در pH=۵ به میزان ۸۰ درصد است و سپس به تدریج افزایش یافته تا به بیشترین فعالیت خود در pH=۶ می‌رسد و از pH=۸ به بعد میزان فعالیت آنزیم در لوله گوارش به صفر نزدیک می‌شود (شکل ۵ B). نتیجه مشابهی در زنبور برگخوار ثانوی رز در بررسی pH بهینه آنزیم‌های گلوکوزیداز گزارش شد (۲۴). بیشترین فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا گالاکتوزیداز در لوله گوارش لارو زنبور برگخوار رز *A. rosae* در pH=۸ بدست آمد (۱۹).

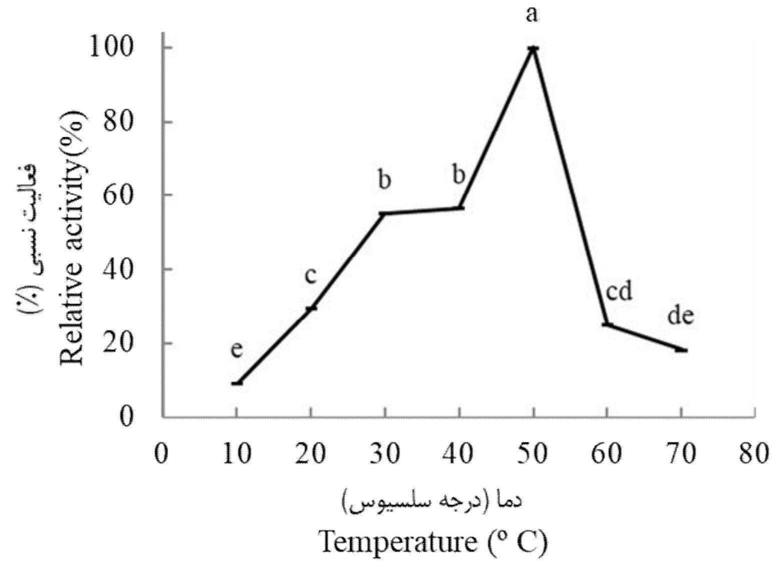


شکل ۵- اثر pH روی میانگین فعالیت آنزیم آلفا- گالاکتوزیداز (A) و بتا- گالاکتوزیداز (B) در لوله گوارش لارو سن پنجم *Allantus viennensis*

Figure 5- Effect of pH on α-galactosidase (A) and β-galactosidase (B) activity in gut of fifth larval instar of *Allantus viennensis*
Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test (*p*<0.05)

اثر دمـا روی فعالیـت آنـزیم‌هـای آلفـا- آمـیلاز و آلفـا – بتـا گالاکتوزیداز

فعالیـت آنـزیم آلفـا-آمـیلاز در لولـه گـوارش لاروهـای *A. viennensis* در محدوده دمایی ۷۰-۱۰ درجه سلسیوس مورد آزمایش قرار گرفت. طبق نتیجه با افزایش دما از ۳۰ تا ۴۰ درجـه سلسـیوس، میزان فعالیت آنزیم افزایش یافته و دمای بهینـه بـرای فعالیـت آلفـا-آمیلاز در لوله گوارش لاروهای این زنبور ۵۰ درجه سلسیوس بدسـت آمد. بعد از ۵۰ درجه سلسیوس با افزایش دما از میزان فعالیـت آنـزیم کاسته شده است (شکل ۶). نتیجه مشـابهی در بررسـی دمـای بهینـه فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز در لوله گـوارش لارو زنبـور برگخـوار رز *A. rosae* گزارش شـد (۱۹). طبق نظرات کئیت و پترمن (۲۶) فعالیت و پایداری آنـزیم‌هـا وابسته به ساختمان مولکـولی اسید آمینه و ترکیب سـه بعـدی آن‌هاست. فعالیت آنزیم‌ها به طور معمول با افزایش دما از صفر تا ۴۰ درجه سلسیوس افزایش می‌یابد، در محـدوده دمـایی ۶۰-۴۰ درجه سلسیوس کاهش سریع در فعالیت آنزیمی رخ می‌دهد. بدین ترتیب که دمای زیاد باعث تغییرات در ترکیـب سـه بعـدی آنـزیم شده و فعالیت آن را کاهش خواهـد داد. همچنین طبق مطالعات بویـد (۹) افـزایش دمـا در محـیط واکـنش‌آنزیمی باعث افزایش انرژی سینتیکی واکنش دهنده‌ها (سوبسترا و آنزیم) می‌گـردد. در نتیجـه باعث جذب انرژی زیاد توسط آنزیم، از هم گسیخته شدن ساختمان سه بعـدی و کاهش فعالیت آنزیم می‌شود. همانطور که ذکر شد بعد از ۵۰ درجه سلسیوس با افـزایش دمـا از میـزان فعالیـت آنـزیم کاسـته می‌شود که نشان دهنده شروع تخریب ساختار آنزیم توسط دماست.



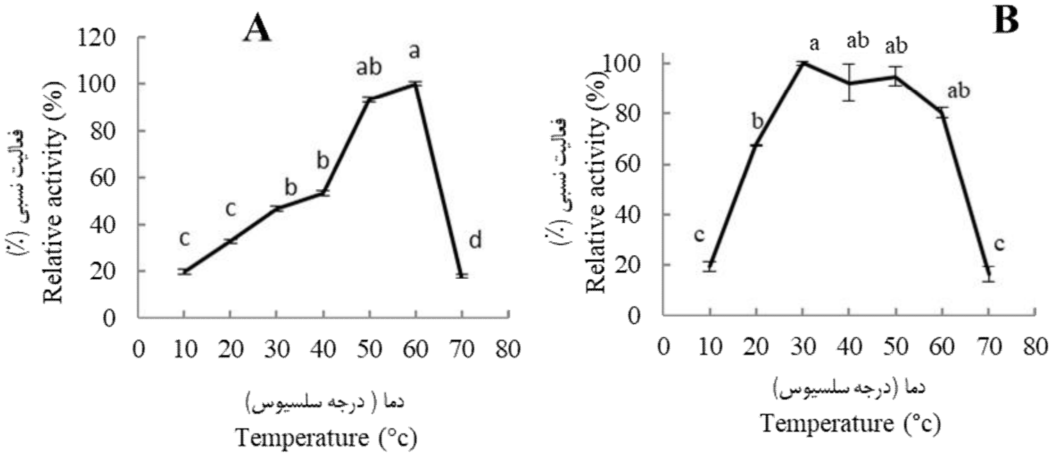
شکل ٦- اثر دما روی فعالیت آلفا-آمیلاز لوله گوارش لارو سن پنجم *Allantus viennensis*

Figure 6. Effect of temperature on the α-amylase activity in gut of fifth larval instar of *Allantus viennensis*
Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test (p<0.05)

فعالیت آلفا گالاکتوزیداز در لوله گوارش در محـدوده دمـایی ۵۰-۴۰ درجه سلسیوس بـه میـزان ۹۰-۵۰ درصـد اسـت و بعـد از آن در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به بیشترین فعالیت خود می‌رسد، سـپس در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به یکبـاره کـاهش مـی‌یابـد (شـکل ۷ A). فعالیت بتا گالاکتوزیداز در لوله گوارش در دمای ۳۰ درجـه سلسـیوس به بیشترین حد خود می‌رسد. فعالیت این آنزیم بعد از دمای ۶۰ درجـه سلسیوس کاهش یافته و در دمای ۷۰ درجه سلسیوس میزان فعالیـت در حدود ۱۵ درصد اسـت (شـکل ۷ B). دمـای بهینـه بـرای فعالیـت آنـزیم‌هـای آلفـا و بتـا گالاکتوزیـداز در سوسـک حنـایی خرمـا *Rhynchophorus ferrugineus* در طیف ۶۰-۴۰ درجه سلسـیوس گـزارش شـده اسـت (۳۰). در لارو سوسـک شـاخه بلنـد رزاسـه *Osphranteria coerulescens* حـداکثر فعالیـت آنـزیم آلفـا گالاکتوزیداز در ۶۰ درجه سلسیوس و بـرای بتـا گالاکتوزیـداز در ۴۰ درجه سلسیوس بدست آمد (۲).

پارامترهای K_m و V_{max} آنـزیم‌هـای آلفـا- آمـیلاز و آلفـا – بتـا گالاکتوزیداز

مقادیر K_m و V_{max} آنزیم آلفا-آمیلاز موجود در لولـه گـوارش *A. viennensis* به ترتیب برابر با ۱/۴۷۸ میلی‌گرم بر میلی لیتـر و ۰/۱۴ میکرومول بر دقیقه بدست آمد. در لوله گوارش لارو زنبور برگخوار رز *A. rosae* مقدار K_m آنزیم آلفا-آمیلاز ۰/۸۲ میلی‌گرم بر میلی لیتـر و مقدار V_{max} ۷/۳۲ میکرومول بر دقیقه محاسبه شد (۱۹).



شکل ۷- اثر دما روی میانگین فعالیت آنزیم آلفا- گالاکتوزیداز (A) و بتا- گالاکتوزیداز (B) در لوله گوارش لارو سن پنجم *Allantus viennensis*

Figure 7- Effect of temperature on α-galactosidase (A) and β-galactosidase (B) activity in gut of fifth larval instar of *Allantus viennensis*

Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test (*p*<0.05)

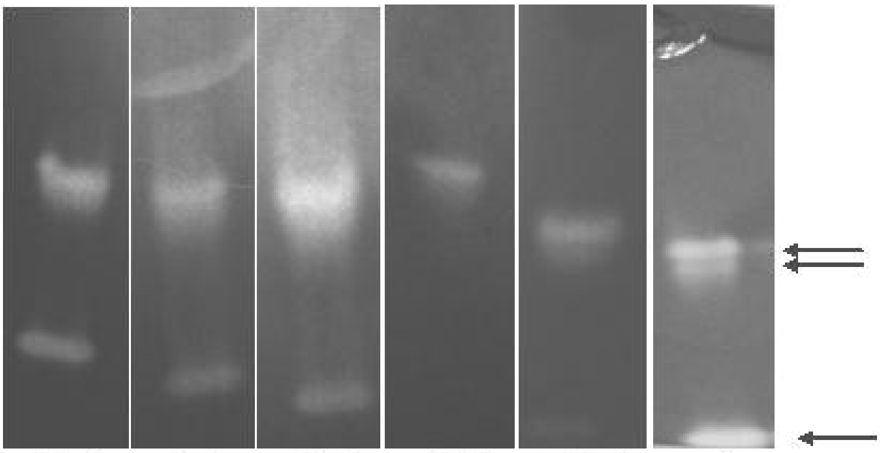
طبق نتایج، میزان K_m آمیلاز زنبور برگخوار ثانوی رز بیشتر از K_m آمیلاز لارو زنبور برگخوار رز می‌باشد. این موضوع نشان دهنده گیرایی پایین‌تر آلفا آمیلاز زنبور برگخوار ثانوی رز به سوبسترای خود (نشاسته) در مقایسه با آلفا-آمیلاز لارو زنبور برگخوار رز می‌باشد. طبق نتایج بدست آمده، مقادیر K_m آنزیم‌های آلفا و بتا گالاکتوزیداز در لوله گوارش به ترتیب برابر با ۰/۶۹ و ۰/۴۱ میلی‌مولار و مقادیر V_{max} به ترتیب برابر با ۰/۸۴ و ۱/۷۶ میلی‌مولار بر دقیقه بر میلی‌لیتر بدست آمد. مقدار بالاتر K_m آنزیم آلفا گالاکتوزیداز نسبت به مقدار K_m بتا گالاکتوزیداز در لوله گوارش نشان دهنده میزان کشش کمتر این آنزیم به سوبسترایش در مقایسه با آنزیم بتاگالاکتوزیداز به سوبسترای خود می‌باشد. مقادیر K_m آنزیم‌های آلفا و بتا گلوکوزیداز در لوله گوارش لارو زنبور برگخوار ثانوی رز (به ترتیب برابر با ۲/۷۲ و ۲/۰۲ میلی‌مولار) (۲۴)، بیشتر از مقادیر K_m آنزیم‌های آلفا و بتا گالاکتوزیداز بدست آمد که می‌توان نتیجه گرفت گالاکتوزیدازها نسبت به گلوکوزیدازها در لوله گوارش لاروهای زنبور مذکور به سوبسترای خود کشش بیشتری نشان می‌دهند.

زایموگرام آنزیم‌های آلفا- آمیلاز و آلفا – بتا گالاکتوزیداز

آنالیز زایموگرام نشان داد که آنزیم آلفا آمیلاز در لوله گوارش زنبور برگخوار ثانوی رز *A. viennensis* دارای ۳ ایزوفرم است (شکل ۸ (A)). نتیجه مشابهی برای آنزیم آلفا آمیلاز در لوله گوارش لارو زنبور برگخوار رز *A. rosae* بدست آمد (۱۹). تعداد ایزوفرم‌های آنزیم آلفا-آمیلاز در حشرات راسته‌های مختلف متفاوت و در گونه‌های مختلف حشرات از ۸-۱ عدد متغییر می‌باشد. تعداد یک ایزوفرم از این آنزیم در لوله گوارش لارو سوسک شاخه بلند رزاسه (۱)، سن سبز پسته (۲۹) و سوسک برگخوار نارون (۳۳) گزارش شده است. بیکر (۵) تعداد ۲ ایزوفرم از آنزیم آلفا-آمیلاز را در لارو پروانه *Anagastia kuehniella* گزارش نمود. تعداد ۳ ایزوفرم از آنزیم آلفا-آمیلاز در معده میانی کرم برگخوار برنج مشاهده شد (۴).

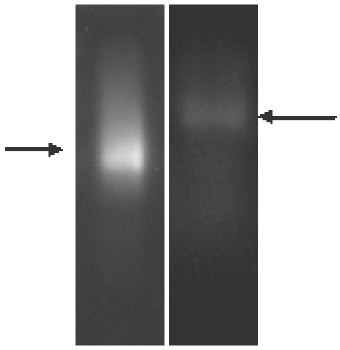
نتایج حاصل از زایموگرام آلفا- آمیلاز در pHهای مختلف نشان دهنده فعالیت این آنزیم در طیف وسیعی از pH می‌باشد. طیف گسترده فعالیت آلفا آمیلاز در pHهای مختلف می‌تواند به علت وجود ایزوزایم‌ها در مجموعه آنزیمی مورد مطالعه باشد (۶). در pHهای ۶، ۷ و ۸ سه ایزوفرم و در pHهای ۹ و ۱۰ دو ایزوفرم از آنزیم مشاهده شده است. همچنین در pH=۸ آنزیم آمیلاز بیشترین فعالیت را نشان می‌دهد. نتایج بدست آمده از زایموگرام تأیید کننده نتایج بدست آمده از اثر pH روی فعالیت آنزیم آمیلاز است.

طبق نتایج، تعداد یک ایزوفرم از آنزیم آلفا و بتا گالاکتوزیداز در لوله گوارش با استفاده از الکتروفورز Native PAGE مشاهده گردید (شکل ۹). تعداد یک ایزوفرم برای آنزیم‌های آلفا و بتا گالاکتوزیداز در سوسک حنایی خرما (۳۰) و لارو کفشدوزک خربزه (۱۸) گزارش شد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد.



شکل ۸- زایموگرام فعالیت آلفا- آمیلاز در لوله گوارش لارو سن پنجم *Allantus viennensis* (A) و در pHهای مختلف (۱۰-۶)

Figure 8– Zymogram of the α-amylase activity of gut extract from *A. viennensis* larvae (A) and in different pH (6-10)



شکل ۹- زایموگرام فعالیت آنزیم آلفا- گالاکتوزیداز (سمت راست) و بتا- گالاکتوزیداز (سمت چپ) در لوله گوارش لارو سن پنجم *Allantus viennensis*

Figure 9– Zymogram of α-galactosidase (right) and β-galactosidase (left) activity in gut of fifth larval instar of *Allantus viennensis*

با توجه به نتایج این تحقیق، وجود آنزیم‌های آلفا آمیلاز و آلفا بتا گالاکتوزیداز در دستگاه گوارش لاروهای زنبور *A. viennensis* ثابت شده است. استفاده از گیاهان تراریخته حاوی ژن مهارکننده آنزیم حشرات و مداخله در هضم و جذب مواد غذایی ضروری، می‌تواند جایگزین مؤثری در راستای کاهش استفاده از ترکیبات شیمیایی زیانبار باشد. امید است با بکارگیری از نتایج ارائه شده در تحقیق حاضر و همچنین مطالعات تکمیلی در آینده گام‌های مهمی در راستای روش‌های نوین کنترل آفت مذکور برداشته شود.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه گیلان جهت حمایت‌های مالی تحقیق حاضر قدردانی می‌شود.

منابع

1- Aghaali N., Ghadamyari M., Ajamhasani M., and Mohammadi Khoramabadi A. 2011. Biochemical characterization of digestive α-amylase from rosaceae branch borer, *Osphranteria coerulescens* Redt. (Col.: Cerambycidae). p. 338. Global Conference on Entomology, 5 – 9 March. 2011. Chiang Mai, Thailand.

2- Aghaali N., Ghadamyari M., and Ajamhasani M. 2012. Biochemical characterization of glucosidases and galactosidases from rosaceae branch borer, *Osphranteria coerulescens* Redt. (Col.: Cerambycidae). Romanian Journal of Biochemistery, 49 (2): 125–137.

3- Alfonso J.F., Ortego F., Sanchez-Monge R., Garcia-Casado G., Pujol M., Castanera P., and Salcedo G. 1997. Wheat and barley inhibitors active towards α-amylase and trypsin- like activities from *Spodoptera frugiperda*. Journal of Chemical Ecology, 23: 1729-1741.

4- Asadi A., Ghadamyari M., Sajedi R.H., Jalali J., and Tabari M. 2010. Biochemical characterization of midgut, salivary glands and haemolymph α-amylases of the rice green caterpillar, *Naranga aenescens* L. (Lep.: Noctuidae).

Bulletin of Insectology, 63(2): 175-181.

5- Baker J.E. 1989. Interaction of partially- purified amylase from larval *Anagastia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) with amylase inhibitors from wheat. Comparative Biochemistry and Physiology, 93 B: 239 - 246.

6- Baker J.E. 1991. Purification and partial characterization of alfa amylase allozymes from the lesser grain borer, *Rhizoperta dominica*. Insect Biochemistry, 21: 303-311.

7- Berenbum M. 1980. Adaptive significant of midgut pH in larval Lepidoptera. American Nautralist, 115: 295-302

8- Bernfeld P. 1955. Amylase, α and β. Methods in Enzymology, 1: 149- 151.

9- Boyd D.W. 2002. Digestive enzymes and stylet morphology of *Deraeocoris nigritulus* (Uhler). (Hemiptera: Miridae) reflect adaptations for predatory habits. Annual of the Entomological Society of America, 96: 667- 671.

10- Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248- 254.

11- Chapman R.F. 1998. The Insects Structure and Function. 4th ed. Cambridge University Press, p. 782.

12- Christopher M.S.M., and Mathavan S. 1985. Regulation of digestive enzyme activity in the larvae of *Catopsilia crocale*. Journal of Insect Physiology, 31: 217-221.

13- Davis B.J. 1964. Disc electrophoresis II. Method and application to human serum proteins. Annals of the New York Academy of Sciences, 12: 404- 427.

14- Dow J.A. 1984. Extremely high pH in biological systems: a model for carbonate transport. American Journal of Physiology, 246: 633-635.

15- Franco O.L., Rigden D.J., Melo F.R., and Grossi- de-sa M.F. 2002. Plant α-amylase inhibitors and their interaction with Insect α- amylases, structure, function and potential for crop protection. European Journal of Biochemistry, 269: 397-412.

16- Garcia-Olemd F., Sanchez-mong G.R., Gomez L., Royo J., and Carbonero P. 1987. Plant proteinaceous inhibitor of proteinases and α-amylas. Plant Molecular Cell Biology, 4: 275-335.

17- Ghanbarinezhad, R., Ghadamyari, M., and Sajedi, R. 2014. Biochemical characterization of α-amylase in *Epilachna chrysomelina* (Col.: Coccinellidae). Iranian Journal of Plant Protection Science, 45 (2): 251-263. (In Persian).

18- Ghanbarinezhad, R., Ghadamyari, M., Sajedi, R., and GholamzadehChitgar, M. 2015. Biochemical characterization of galactosidases in *Epilachna chrysomelina* (Col.: Coccinellidae). Journal of Plant Protection, 38 (3): 13-24. (In Persian).

19- Gholamzadeh Chitgar M., Ahsaei S.M., Ghadamyari M., Sharifi, M., Hosseini Naveh V., and Sheikhnejad H. 2013. Biochemical characterization of digestive carbohydrases in the rose sawfly, *Arge rosae* Linnaeus (Hymenoptera: Argidae). Journal of Crop Protection, 2 (3): 305-318.

20- Gholamzadeh Chitgar, M., Ghadamyari, M., Sharifi, M., and Hassan Sajedi, R. 2014. Partial characterization of digestive carbohydrases in the midgut of fig tree skeletonizer moth, *Choreutis nemorana* Hubner (Lepidoptera: Choreutidae). Trakia Journal of Sciences, 1: 27-37.

21- Hori K. 1968. Some properties and developmental changes in occurrence of the salivary amylase of the cabbage bug, *Eurydema rugosa* Motschulsky (Hemiptera: Pentatomidae). Applied Entomology and Zoology, 3: 198-202.

22- Hori K. 1973. Studies on enzymes, especially amylases, in the digestive system of the bug, *Lygus disponsi* and starch digestion in the system. Research Bulletin Onihiro University, 8: 173-260.

23- Hosseini R., and Sahragard A. 2003. Study on morphological Characters and some features of biology and spatial distribution pattern of rose minor leaf eating sawfly, *Allantus viennensis* (Schr.) (Hym.; Tenthredinidae) in Guilan University. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 10(2): 103-115.

24- Jahanjo F., Ghadamyari M., Hosseini R., and Sajedi R.H. 2013. Biochemical characterization of digestive α-β glucosidases in *Allantus viennensis* (Hym.: Tenthredinidae). Iranian Plant Protection Journal, 44 (1): 141-151. (In Persian).

25- Jaimand K., Rezaee M.B., Tabaei Aghdaei S.R., Nadery Hajibagher Kandy M., and Meshkizadeh S. 2012. Dtermination of tannins in rose water, wastewater and petal residue of *Rosa damascena* Mill. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 27(2): 348-357.

26- Keith J.L., and Peterman B.F. 1979. Temperature effect in enzyme kinetics. Methods in Enzymology, 63: 234-257.

27- MacGregor E., and Sevensson B. 2001. Biochimica Relationship of sequence and structure to specificity in the α-amylase family of enzymes. Biochemical et Biophysical Acta, 1546: 1-20.

28- Meier H., and Reid J.S.G. 1982. Reserve polysaccharides other than starch in higher plants. P. 418-471. In: Loewus F.A., Tanner W. (ed.) Encyclopedia of Plant Physiology. Springer Verlag, New York.

29- Ramzi S., and Hosseininaveh V. 2010. Biochemical characterization of digestive α-amylases, α-glucosidase and β-glucosidases in pistachio green stink bug, *Brachynema germari* Kolenati (Hemiptera: Pentatomidae). Journal of Asia- Pacific Entomology, 13(3): 215-219.

30- Saberi Riseh N., Ghadamyari M., and Motamediniya B. 2012. Biochemical characterization of *α* and *β*-glucosidases and *α*- and *β*-galactosidases from red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Olivieri (Col.: Curculionide). Plant Protection Science, 48: 85.93.

31- Saberi Riseh, N., and Ghadamyari, M. 2012. Biochemical characterization of α-amylases from gut and hemolymph

of *Rhynchophorus ferrugineus* Olivieri (Col.: Curculionidae) and their inhibition by extracts from the legumes *Vigna radiata* L. and *Phaseolus vulgaris* L. Invertebrate Survival Journal, 9: 72-81.
32- Sexena K.N. 1954. Physiology of the alimentary canal of *Leptocorisa varicornis* fabr. (Hemiptera: Coreidae). Journal of the Zoological Society of India, 6: 111-112.
33- Sharifi M., Gadamyari M., Mahadavi M., and Fetemeh S. 2011. Biochemical characterization of digestive carbohydrases from *Xanthogaleruca luteola* and inhibition of its α-amylase by inhibitors extracted from the common bean. Archive Biological Sciences Belgrade, 63 (3): 705-716.
34- Sharifi M., Gholamzadeh Chitgar M., Gadamyari M., Sajedi R.H., and Amini S. 2012. Characterisation of digestive protease in the rose sawfly, *Arge rosae* Linnaeus (Hymenoptera: Argidae). Archives of Phytopathology and Plant Protection, 45(10): 1170-1182.
35- Sharma H.C., and Ortiz R. 2000. Transgenics, pest management, and the environment. Current Science, 79: 421–437.
36- Silva C.P., Terra W.R., Xavier-Filho J., Grossidesa M.F., Lopes A.R., and Pontes E.G. 1999. Digestion in larvae of *Calosobruchus maculates* and *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) with emphasis on alpha amylase and oligosaccharidase. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 29: 355-366.
37- Terra W.R., and Ferreira C. 1994. Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. Comparative Biochemistry and Physiology, 109: 1- 62.

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۳۷۱-۳۶۳

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 363-371

بررسی اثر آفت‌کش‌های گیاهی پالیزین و شیمیایی فن‌والریت روی سرخرطومی برگ یونجه *Hypera postica* (Col.: Curculionidae) و دشمن طبیعی آن *Chrysoperla carnea* (Neu.: Chrysopidae)

مهدی کبیری رئیس آباد[1*] - الهام زارعی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۰۹

چکیده

در این تحقیق اثر دو آفت‌کش گیاهی پالیزین و شیمیایی فن‌والریت روی حشرات کامل سرخرطومی برگ یونجه *Hypera postica* (Gyllenhal) و تخم و لاروهای سن اول بالتوری سبز *Chrysoperla carnea* (Stephens) در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. همچنین آزمایشی در شرایط مزرعه‌ای با سه تیمار شامل پالیزین ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام، فن والریت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، شاهد (آب پاشی) و پنج تکرار در قالب طرح بلوک کامل تصادفی انجام گرفت. تعداد حشرات کامل و لاروهای سرخرطومی برگ یونجه و لاروهای بالتوری سبز در نوبت‌های یک روز قبل و سه، هفت، چهارده و بیست‌ویک روز بعد از تیمار شمارش شدند. در شرایط آزمایشگاهی، میزان LC_{50} ترکیبات ذکر شده روی حشرات کامل *H. postica* با گذشت ۲۴ ساعت از زمان تیمار به‌ترتیب ۶۰۱/۷۲ و ۳۲۱/۸۷ پی‌پی‌ام برآورد شد. حشره‌کش فن‌والریت سمیت بالاتری نسبت به آفت‌کش پالیزین برای بالتوری سبز داشت. میزان LC_{50} حشره‌کش فن‌والریت روی تخم و لارو سن اول *C. carnea* به‌ترتیب ۵۶۳/۰۲ و ۱۷۸/۴۶ پی‌پی‌ام و میزان LC_{50} آفت‌کش پالیزین به‌ترتیب ۱۶۶۴ و ۱۶۳۳ پی‌پی‌ام برآورد شد. در شرایط مزرعه‌ای، آفت‌کش پالیزین دوام اثر طولانی‌تری روی سرخرطومی برگ یونجه داشت. بر اساس معیارهای IOBC، آفت‌کش پالیزین در تمامی زمان‌های نمونه‌برداری در گروه سموم با خطر کم و حشره‌کش فن‌والریت در گروه سموم خطرناک برای بالتوری سبز *C. carnea* دسته‌بندی شدند.

واژه‌های کلیدی: تخم، حشرات کامل، سمیت، IOBC

مقدمه

یونجه *Medicago sativa* L. یکی از مهمترین گیاهان علوفه‌ای است و در مناطق وسیعی از جهان کشت می‌شود. این گیاه بوسیله طیف وسیعی از آفات مورد حمله قرار می‌گیرد. سرخرطومی برگ یونجه *Hypera postica* (Gyllenhal) (Col: Curculionidae) یکی از مخرب‌ترین حشرات آفت یونجه در اکثر مناطق جهان است (۴). این آفت عمدتاً یک حشره الیگوفاژ است که منحصراً از گیاهان لگومینوز جنس *Medicago* تغذیه می‌کند. گرچه ممکن است گاهی از برخی از گونه‌های وابسته به جنسهای شبدر و شنبلیله نیز تغذیه کند. این آفت باعث کاهش بازدهی و کیفیت در چین اول و دوم می‌شود (۱۱). بیشترین خسارت مربوط به لاروهای آفت است که در آلودگیهای شدید باعث برگ‌ریزی و کاهش شدید محصول در چین اول می‌شوند. مزارع شدیداً آلوده شده ممکن است سفید یا نقره‌ای با تعداد زیادی از برگهای مشبک یا کاملاً خورده شده به نظر برسند (۴). اگر تعداد زیادی از لاروها یا بالغین تا زمان برداشت باقی بمانند باعث خسارت به ساقه‌ها و نوک جوانه‌ها شده و منجر به تأخیر افتادن در رشد مجدد می‌شوند (۱۱). سرخرطومی برگ یونجه دارای دشمنان طبیعی متعددی از جمله زنبور پارازیتوئید *Bathyplectes* sp.، سن شکارگر *Geocoris megacephalus* (Rossi)، کفشدوزک شکارگر *Coccinella septempunctata* (L.) و بالتوری سبز *Chrysoperla carnea* (Stephens) است (۳۲). بالتوری سبز *C. carnea* شکارگر پلی‌فاژی است که به دلیل پراکنش جغرافیایی گسترده، سازگاری بسیار بالا به سیستم‌های مختلف، قابلیت جستجوی بالا و پرورش آسان یکی از اجزاء مهم در برنامه‌های کنترل بیولوژیکی است (۳۹). در یک بررسی آزمایشگاهی مشخص شد میزان تغذیه روزانه هر لارو سن دوم این بالتوری ۱/۲ عدد و هر لارو سن سوم آن ۳/۲ عدد لارو سرخرطومی برگ یونجه می‌باشد (۳۲). کنترل *H. postica* اغلب با استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی سنتتیک انجام می‌گیرد (۳۶). حشره‌کش‌های شیمیایی اغلب روی موجودات غیر هدف نیز تاثیر سوء دارند. به عنوان مثال اکثر حشره‌کش‌های

۱ و ۲- دانشجویان دکتری حشره‌شناسی، دانشگاه محقق اردبیلی
(*- نویسنده مسئول: (Email: kabiri_mahdi88@yahoo.com
DOI: 10.22067/jpp.v32i3.65830

شیمیایی به کار برده شده برای مدیریت این آفت زیانهای قابل توجهی برای زنبور عسل (۲۷) و دیگر حشرات مفید از جمله زنبورهای *Bathyplectes curculionis* (Thomson) و *Oomyzus incertus* Ratcburg داشته‌اند (۲۰).

برای این منظور، حشره‌کش‌های طبیعی می‌توانند به عنوان یک جایگزین مناسب برای حشره‌کش‌های سنتتیک باشند. زیرا این حشره‌کش‌ها خطرات کمتری برای پستانداران داشته و علاوه بر این، اثرات سوءکمتری روی موجودات غیر هدف دارند (۲۱). در سالهای اخیر تعداد زیادی از حشره‌کش‌های طبیعی برای کنترل انواع مختلفی از آفات از جمله شته‌ها (۳۴) تریپس‌ها (۳۵) و سخت بالپوشان آفت (۳۷) مورد استفاده قرار گرفته‌اند. بنابراین درک این مطلب که چگونه دشمنان طبیعی و آفات تحت تاثیر آفت‌کش‌ها قرار می‌گیرند بسیار مهم است (۸). هیچ مطالعه‌ای تاکنون اثرات آفت‌کش گیاهی پالیزین (صابون روغن نارگیل) را روی این آفت بررسی نکرده است. بنابراین در این تحقیق اثرات کشندگی این آفت‌کش روی حشرات کامل *H. postica* و همچنین دشمن طبیعی آن *C. carnea* در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای در مقایسه با فن‌والریت مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ترکیبات مورد استفاده در تحقیق

در این تحقیق از آفت‌کش گیاهی پالیزین و حشره‌کش شیمیایی فن‌والریت استفاده شد که خصوصیات این دو ترکیب در جدول ۱ ذکر شده است.

جدول ۱- آفت‌کش‌های مورد استفاده در تحقیق
Table 1- Pesticides used in research

نام عمومی Common name	نام تجارتی Trade name	گروه شیمیایی Chemical group	فرمولاسیون Formulation	غلظت پیشنهاد شده مزرعه‌ای RFC* (ppm)	دز کشنده ۵۰ درصد LD_{50} (mg/kg)	شرکت Company
Insecticidal gel (IG)	Palizin	Biorational insecticide	SL 65%	2500	>5000	Kimia Sabzavar
Fenvalerate	Sumicidin	Synthetic Pyrethroides	EC 20%	1000	451	Agro Xir

*غلظت پیشنهاد شده مزرعه‌ای
* Recommended Field Concentration

پرورش H. postica

لاروهای *H. postica* از مزارع یونجه آلوده به این آفت واقع در شهرستان میاندوآب (37º1′49″ N, 46º4′65″E) که هیچگونه عملیات سمپاشی در آنها انجام نشده بود جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. لاروها به ظروف پلاستیکی به ابعاد ۲۰×۱۰×۵ سانتیمتری که درب آنها به منظور تهویه سوراخ و با توری مسدود شده بودند، منتقل شدند. برای تغذیه لاروها از جوانه‌های یونجه استفاده شد. به منظور حفظ طراوت، جوانه‌ها درون لوله‌های شیشه‌ای حاوی آب قرار گرفته و اطراف ساقه‌ها با پنبه مسدود شد. ظروف به ژرمیناتور با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد منتقل شده تا لاروها رشد خود را کامل کرده و به حشره کامل تبدیل شوند.

پرورش C. carnea

حشرات کامل بالتوری سبز از مزارع یونجه شهرستان میاندوآب که در آنها هیچگونه عملیات سمپاشی انجام نشده بود با استفاده از تور حشره‌گیری جمع آوری و به منظور شناسایی با استفاده از کلیدهای شناسایی (۹، ۱۴، ۲۶) و پرورش به آزمایشگاه منتقل شدند. به منظور پرورش این حشرات از لوله‌های پلی اتیلن استوانه‌ای به ارتفاع ۲۵ و قطر دهانه ۱۵ سانتیمتری که دو سمت آن با توری ارگاندی مسدود شده بودند، استفاده شد. درون لوله‌ها ابتدا توسط کاغذهای رنگی پوشیده شد تا تخم‌های گذاشته شده به راحتی قابل برداشت باشند. سپس تعداد ۱۰ جفت حشره کامل نر و ماده درون لوله‌ها رهاسازی شدند. برای تغذیه حشرات کامل از مخلوط ۵۰٪ مخمر+۲۵٪ عسل+۲۵٪ آب استفاده شد (۲۳). کاغذهایی به ابعاد ۱×۴ سانتیمتر تهیه شده و پس از آغشته شدن به مواد غذایی، درون ظروف پرورش قرار گرفتند. کاغذها به صورت روزانه تعویض شدند. برای تأمین آب مورد نیاز حشرات کامل، یک اسفنج اشباع از آب روی ظروف قرار گرفت. تخم‌های گذاشته شده به ظروف پلاستیکی به ابعاد ۱۵×۵×۲۰ سانتیمتری که درب آنها بمنظور تهویه با توری مسدود شده بود، منتقل شدند. ظروف به صورت روزانه بازدید شده و لاروهای سن یک جداسازی و برای زیست سنجی‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

آزمایش‌های زیست‌سنجی در شرایط آزمایشگاهی

زیست‌سنجی روی حشرات کامل *H. postica*

ابتدا یکسری آزمایشات مقدماتی به منظور بدست آوردن غلظت‌های حداقل و حداکثر ترکیبات ذکر شده روی حشرات کامل *H. postica* انجام گرفت. سپس براساس نتایج این آزمایش‌ها، پنج غلظت که به صورت لگاریتمی انتخاب شدند (۲۹) بین این دو غلظت منظور و آزمایش‌های نهایی با هفت غلظت برای هر کدام از سموم و با در نظر گرفتن تیمار شاهد انجام شدند. غلظت‌های مورد استفاده از آفت‌کش پالیزین ۴۰۰، ۵۴۳، ۷۳۷، ۱۰۰۰، ۱۳۵۷، ۱۸۴۲ و ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام و برای حشره‌کش فن‌والریت ۲۰۰، ۲۶۵، ۳۵۳، ۴۶۸، ۶۲۲، ۸۲۷ و ۱۲۰۰ پی‌پی‌ام بودند. حشرات کامل به مدت دو دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفته تا کم تحرک شوند. سپس تعداد ۱۵ عدد حشره کامل درون ظروف پتری‌دیش به قطر دهانه ۹ و ارتفاع ۱/۵ سانتیمتری که درب آنها به منظور تهویه سوراخ و توسط توری ارگاندی پوشانده شده بود، منتقل شده و سپس با استفاده از دستگاه برج پاشش (حجم ۵۰۰ میکرولیتر با فشار پاشش ۱بار/اینچ) تیمار شدند. ظروف شاهد با آب مقطر تیمار شدند. در ادامه برگهای جوان یونجه به عنوان منبع غذایی حشرات به ظروف تیمار شده اضافه و سپس ظروف به ژرمیناتور با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد منتقل شدند. با گذشت ۲۴ ساعت از زمان تیمار، تعداد حشرات زنده و مرده در هر تیمار شمارش و ثبت شد. حشراتی که با وجود تحریک با سوزن داغ پس از گذشت ۵ ثانیه قادر به راه رفتن نبودند مرده تلقی می‌شدند. این آزمایش ۵ مرتبه تکرار شد.

زیست‌سنجی روی تخم *C. carnea*

برای زیست‌سنجی تخم‌ها از روش غوطه‌ورسازی استفاده شد (۳۱). غلظت‌های ۱۰۰۰، ۱۲۳۳، ۱۵۱۹، ۱۸۷۱، ۲۳۰۵، ۲۸۴۰ و ۳۵۰۰ پی‌پی‌ام از آفت‌کش پالیزین و ۳۰۰، ۳۸۷، ۴۷۸، ۶۴۸، ۸۱۸، ۱۰۸۲ و ۱۴۰۰ پی‌پی‌ام از حشره‌کش فن‌والریت برای زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفتند. پس از تهیه محلول حشره‌کش‌ها، تعداد ۲۰ عدد تخم ۲۴ ساعته که توسط حشرات ماده روی نوارهای کاغذی گذاشته شده بودند به مدت ۱۰ ثانیه در هرکدام از غلظت‌های سموم فرو برده شدند. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. در ادامه تخم‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای محیط قرار داده شده تا خشک شوند و سپس درون ظروف پتری قرار گرفتند. ظروف به ژرمیناتور با دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد منتقل شدند. با گذشت ۹۶ ساعت از زمان تیمار، میزان تفریخ تخم‌ها شمارش و ثبت شد. در صورت عدم تفریخ، تخم‌های تفریخ نشده مرده محسوب شدند. این آزمایش ۵ مرتبه تکرار شد.

زیست‌سنجی روی لارو سن اول *C. carnea*

به منظور بررسی اثرات کشندگی ترکیبات ذکر شده روی لارو سن اول *C. carnea* پس از انجام آزمایشات مقدماتی، غلظت‌های ۱۴۰۰، ۱۶۰۷، ۱۸۴۴، ۲۱۱۶، ۲۴۲۹، ۲۷۸۸ و ۳۲۰۰ پی‌پی‌ام از آفت‌کش پالیزین و ۱۰۰، ۱۴۱، ۱۹۹، ۲۸۲، ۳۹۹، ۵۶۵ و ۸۰۰ پی‌پی‌ام از آفت‌کش فن‌والریت در نظر گرفته شدند. در ادامه تعداد ۱۵ عدد لارو سن اول که کمتر از ۲۴ ساعت عمر داشتند برای آزمایش انتخاب شدند. به دلیل خاصیت همخواری لاروها، درون هر پتری یک عدد لارو قرار گرفت. سپس ظروف پتری با استفاده از برج پاشش و به میزان ۵۰۰ میکرولیتر از هر کدام از غلظت‌ها تیمار شدند. برای تغذیه لاروها از تخم بید غلات استفاده شد. پس از اعمال تیمارها، ظروف به ژرمیناتور با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد منتقل شده و با گذشت ۲۴ ساعت از زمان تیمار، تعداد لاروهای مرده و زنده شمارش و ثبت شدند. این آزمایش ۵ مرتبه تکرار شد.

آزمایش‌های مزرعه‌ای

این تحقیق در شهرستان میاندوآب انجام گرفت. سال اول به کشت و اسقرار یونجه اختصاص داشت. به همین منظور یک قطعه مزرعه در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تیمار و پنج تکرار کشت گردید. اندازه هر کرت آزمایشی ۱۵ مترمربع به صورت ۶ ردیف به طول ۵ متر و فاصله ردیف‌های ۵۰ سانتیمتری بود. فاصله بین کرتها ۲۰ مترمربع درنظر گرفته شد. در بهار سال دوم پس از اینکه ارتفاع بوته‌های یونجه به ۳۰ سانتیمتری رسید و بوته‌ها به سرخرطومی برگ یونجه آلوده شدند عملیات سم‌پاشی در مزرعه انجام شد. سم‌پاشی با استفاده از سم‌پاش پشتی موتوری لانس‌دار مجهز به نازل مخروطی انجام گرفت. تیمارهای مورد آزمایش شامل: ۱- پالیزین ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام ۲- فن والریت۱۰۰۰ پی‌پی‌ام ۳- شاهد (آب-پاشی) بودند. نمونه‌برداری از جمعیت آفت و دشمن طبیعی آن در نوبت های یک روز قبل و سه، هفت، چهارده و بیست‌ویک روز پس از سم‌پاشی انجام گرفت. برای این منظور تعداد ۵ بوته از هر کرت آزمایشی با حذف بوته‌های کناری به صورت تصادفی جمع‌آوری و پس از قرار دادن درون کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه تعداد حشرات کامل و لارو *H. postica* و هچنین لاروهای *C. carnea* شمارش شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در صورت وجود مرگ‌ومیر در شاهد، مرگ‌ومیر سایر تیمارها توسط فرمول ابوت (۱) اصلاح و سپس باروش تجزیه پروبیت و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶، LC_{50} و LC_{90} ترکیبات

محاسبه گردید. در آزمایش مزرعه‌ای درصد تاثیر هر یک از سموم با استفاده از فرمول هندرسون-تیلیتون تعیین گردید (۱۵).

$$\text{درصد تلفات} = 100 \times \{1- [(Cb \times Ta) \div (Ca \times Tb)]\}$$

در این فرمول Tb=میانگین تعداد آفت در قطعه تیمار قبل از آزمایش،Ta= میانگین تعداد آفت در قطعه تیمار بعد از آزمایش،Cb= میانگین تعداد آفت در قطعه شاهد قبل ازآزمایش و Ca= میانگین تعداد آفت در قطعه شاهد بعد از آزمایش می‌باشد. به منظور نرمال شدن داده‌ها با استفاده از رابطه $Arcsin\sqrt{x}$ و به کمک نرم افزار Excel تبدیل داده‌ها صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت. برای تقسیم‌بندی اثر سموم روی دشمن طبیعی از تقسیم‌بندی انجام شده توسط سازمان بین المللی کنترل بیولوژیک IOBC استفاده شد. این تقسیم بندی به این صورت است. I: بی‌خطر (۲۵> درصد مرگ‌ومیر)، II: با خطر کم (۵۰-۲۵ درصد مرگ‌ومیر)، III: با خطر متوسط (۷۵-۵۱ درصد مرگ‌ومیر) و IV: خطرناک (۷۵< درصد مرگ‌ومیر) (۱۳).

نتایج

زیست‌سنجی آزمایشگاهی

نتایج زیست سنجی آزمایشگاهی روی حشرات کامل سرخرطومی برگ یونجه در جدول ۲ ارایه شده است. با مبنا قرار دادن هر دو غلظت کشنده ۵۰ و ۹۰ درصدی و محدوده اطمینان ۹۵ درصدی مشخص شد سمیت حشره‌کش فن‌والریت برای حشرات کامل سرخرطومی برگ یونجه به طور معنی‌داری بالاتر از آفت‌کش پالیزین بود. شیب خط پروبیت مرگ‌ومیر حشرات کامل *H. postica* در نمونه‌های تیمار شده با آفت‌کش پالیزین پایین‌تر از نمونه‌های تیمار شده با حشره‌کش فن‌والریت بود. به بیان دیگر در مورد حشره‌کش فن‌والریت به ازای هر واحد افزایش در غلظت حشره‌کش، افزایش درصد تلفات بیشتر از حشره‌کش پالیزین بود (جدول ۲).

جدول ۲- نتایج تجزیه پروبیت داده‌های زیست‌سنجی روی *H. postica* ۲٤ ساعت پس از تیمار

Table 2- Probit analysis of bioassay data on *H. postica* 24 h post treatment

آفت‌کش Pesticides	تعداد کل Total	LC_{50} (ppm) (CL*)	LC_{90} (ppm) (CL)	Slope (±SE)	χ^2	p-value
Palizin	600	601.72 (508.4- 686.8)	2234 (1836.3-2965.3)	2.24 (±0.4)	0.63	0.98
Fenvalerate	600	321.87 (279- 362.1)	1106 (913.4-1455.8)	2.93 (±0.4)	1.13	0.95

CL*: نشان دهنده محدوده اطمینان

*CL: denotes confidence limit

جدول ۳- نتایج تجزیه پروبیت داده‌های زیست‌سنجی روی تخم و لارو سن اول *C. Carnea* ۲٤ ساعت پس از تیمار

Table 3- Probit analysis of bioassay data on egg and 1st instar larvae *C. Carnea* 24 h post treatment

آفت‌کش Pesticides	مرحله Stage	تعداد کل Total	LC_{50} (ppm) (CL*)	LC_{90} (ppm) (CL)	Slope (±SE)	χ^2	p-value
Palizin	egg	800	1664 (1555.9- 1722.3)	3693 (3292.5-4302.9)	3.7 (±0.3)	0.98	0.96
	larvae	600	1633 (1479.9- 1755.2)	3290 (2944.5-3904.5)	4.21 (±0.52)	0.78	0.97
Fenvalerate	egg	800	563.02 (519.12- 607.87)	1489 (1292.8- 1797.5)	3.03 (±0.24)	3.27	0.65
	larvae	600	178.46 (152.07- 203.88)	712.76 (576.9-960.9)	2.3 (±0.21)	3.44	0.63

CL*: نشان دهنده محدوده اطمینان

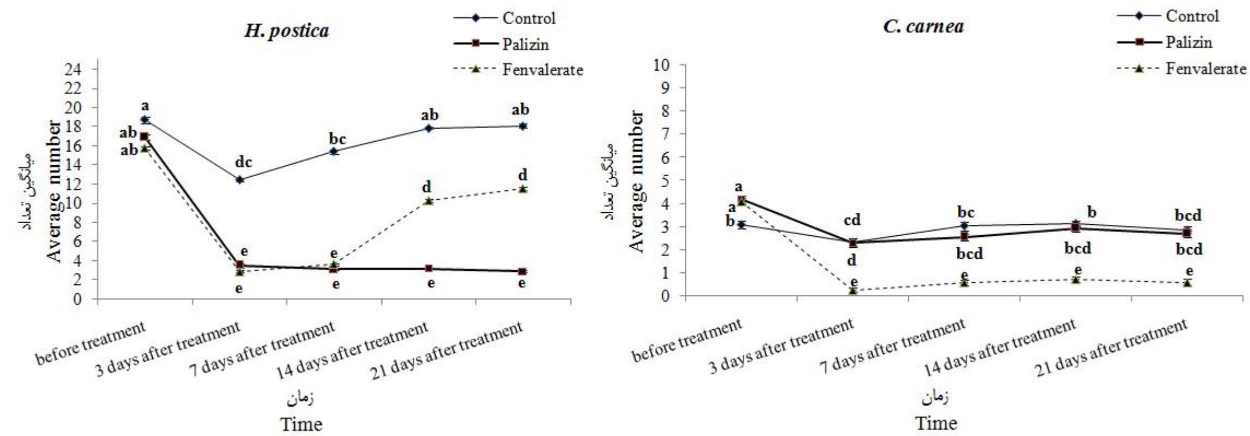
*CL: denotes confidence limit

نتایج تجزیه پروبیت داده‌های زیست سنجی روی تخم و لارو سن اول *C. carnea* در جدول ۳ ذکر شده است. بر اساس نتایج و با مد نظر قرار دادن غلظت کشنده ۵۰ درصدی، سمیت حشره‌کش شیمیایی فن‌والریت روی هر دو مرحله تخم و لارو سن اول *C.*

carnea به طور معنی‌داری بیشتر از آفت‌کش گیاهی پالیزین بود. مقایسه حساسیت مراحل رشدی ذکر شده با مد نظر قرار دادن غلظت کشنده ۵۰ درصدی نشان داد لاروهای سن اول بالتوری سبز نسبت به تخم حساسیت بالاتری به هر دو ترکیب مورد استفاده داشتند. همچنین حشرات کامل سرخرطومی برگ یونجه حساسیت بالاتری نسبت به تخم و لاروهای سن اول بالتوری سبز در برابر حشره‌کش‌های پالیزین و فن‌والریت داشتند.

زیست سنجی مزرعه‌ای

نتایج نشان داد میانگین تعداد لارو و حشره‌کامل *H. postica* در تمامی تیمارها در نمونه‌برداریهای قبل از عملیات سم‌پاشی تقریباً در یک سطح بوده و از لحاظ آماری، اختلافی بین آنها مشاهده نشد (شکل ۱). در نمونه‌برداریهای سه روز پس از تیمار، میانگین تعداد آفت در قطعات تیمار شده با دو آفت‌کش پالیزین و فن‌والریت به طور معنی‌داری کاهش یافت. با گذشت ۷ روز از زمان تیمار نیز میانگین تعداد لارو و بالغ *H. postica* در قطعات تیمار شده با حشره‌کش‌ها در یک سطح بوده و اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد اما این فراوانی به طور معنی‌داری کمتر از تعداد مشاهده شده در قطعات شاهد بود. در نمونه‌برداریهای ۲۱ روز پس از تیمار و در قطعات تیمار شده با حشره‌کش فن‌والریت جمعیت *H. postica* افزایش یافت به طوریکه فروانی لارو و بالغ این آفت به طور معنی‌داری بیشتر از قطعات تیمار شده با آفت‌کش پالیزین بود (df=2,8; F= 104.84; P=0.001). در مورد بالتوری سبز نیز میانگین لاروهای این حشره در نمونه‌برداریهای قبل از سم‌پاشی در قطعات تیمار شده با حشره‌کش فن‌والریت و آفت‌کش پالیزین در یک سطح بود (به ترتیب ۰/۱۴±۴/۱ و ۰/۱۷±۴/۲) و اختلاف معنی‌دار آماری بین این دو تیمار نشد (df=2,8; F= 10.92; P=0.001). اما نمونه‌برداری سه روز پس از تیمار نشان داد جمعیت *C. carnea* در قطعات تیمار شده با حشره‌کش شیمیایی فن‌والریت (۰/۰۹±۰/۲۶) به طور معنی‌داری کاهش یافت (df=2,8; F= 17.52; P=0.001). گرچه در تمامی زمان‌های نمونه‌برداری، جمعیت این دشمن طبیعی در قطعات تیمار شده با آفت‌کش گیاهی پالیزین پایین‌تر از قطعات شاهد بود اما از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار بین این دو تیمار مشاهده نشد.



شکل ۱- میانگین تعداد *H. postica* و *C. carnea* (به ازای هر گیاه) در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری
(حروف غیر مشابه اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهند)

Figure 1- Average number of *H. postica* and *C. carnea* (per plant) at different time of sampling
(Different letters showed significant differences (P≤0.05).)

میانگین درصد مرگ‌ومیر ایجاد شده توسط دو آفت‌کش پالیزین و فن‌والریت در لاروها و حشرات کامل *H. postica* طی زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در جدول ۴ ذکر شده است. میزان مرگ‌ومیر ایجاد شده توسط دو ترکیب ذکر شده در نمونه‌برداریهای سه روز پس از تیمار به‌ترتیب ۶۸/۱ و ۷۲/۰۷ درصد بود. میزان دوام اثر حشره‌کش شیمیایی چندان بالا نبود چنانچه میزان مرگ‌ومیر ایجاد شده در نمونه‌برداریهای ۱۴ و ۲۱ روز پس از تیمار به‌ترتیب ۳۱/۹۴ و ۲۴/۲۴ درصد بود که به طور معنی‌داری کمتر از مرگ‌ومیر ایجاد شده در قطعات تیمار شده با آفت‌کش گیاهی پالیزین بود. در مورد آفت‌کش گیاهی گرچه در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری از لحاظ عددی اختلاف معنی‌داری در درصد مرگ‌ومیر ایجاد شده در جمعیت لارو و حشره بالغ *H. postica* مشاهده شد اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (df= 9,14; F= 9.39; P= 0.001).

جدول ٤- میانگین درصد مرگ‌ومیر (±خطای استاندارد) *H. postica* تیمار شده با پالیزین و فن‌والریت در آزمایش مزرعه‌ای

Table 4- Average mortality% (±SE) of *H. postica* treated with palizin and Fenvalerate in the field trial*

آفت‌کش Pesticides	زمان پس از تیمار (روز) Time after treatment (day)			
	3	7	14	21
Palizin	68.1±3.07 $^{a(A)}$	76.98±1.74 $^{a(A)}$	79.66±2.63 $^{a(A)}$	81.36±4.41$^{a(A)}$
Fenvalerate	72.07±9.95 $^{a(A)}$	71.43±4.7 $^{a(A)}$	31.94±6.07 $^{b(B)}$	24.24±10.5 $^{b(B)}$

*حروف کوچک و بزرگ غیر مشابه به ترتیب اختلاف معنی‌دار در هر ردیف و ستون را نشان می‌دهند (P<0.05)

*Different lowercase and uppercase letters showed significant differences in each row and column respectively (P<0.05).

میزان تلفات ایجاد شده در لاروهای *C. carnea* در قطعات تیمار شده با آفت‌کش پالیزین در تمامی زمان‌های نمونه‌برداری کمتر از ۴۰ درصد بود (جدول ۵). در حالیکه در قطعات تیمار شده بـا حشـره‌کـش شیمیایی فن‌والریت میزان تلفات بالای ۸۰ درصد بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد در تمامی زمان‌های نمونه‌برداری میـزان مـرگ‌ومیـر ایجاد شده در قطعات تیمار شده با حشـره‌کـش فـن‌والریـت بـه طـور معنی‌داری بالاتر از مرگ‌میر ایجـاد شـده در قطعـات تیمـار شـده بـا آفت‌کش پالیزین بود ($df=9,14: F= 26.46; P= 0.001$). بر اساس معیارهای IOBC در تقسیم‌بندی اثـر سـموم روی دشـمنان طبیعـی، آفت‌کش گیاهی پالیزین در تمامی زمان‌های نمونـه‌بـرداری در گـروه سموم با خطر کم و حشره‌کش شیمیایی فـن‌والریـت در گـروه سـموم خطرناک برای *C. carnea* دسته بندی شدند.

جدول ۵- میانگین درصد مرگ‌ومیر (±خطای استاندارد) *C. carnea* تیمار شده با پالیزین و فن‌والریت در آزمایش مزرعه‌ای

Table 5- Average mortality% (±SE) of *C. carnea* treated with palizin and Fenvalerate in the field trial*

آفت‌کش Pesticides	زمان پس از تیمار (روز) Time after treatment (day)	میانگین درصد مرگ‌ومیر Average mortality% (±SE)	گروه IOBC IOBC group
Palizin	3	26.67±13.6 ^{b}	II
	7	36.59±6.74 ^{b}	II
	14	30.14±5.65 ^{b}	II
	21	29.66±8.44 ^{b}	II
Fenvalerate	3	90.16±5.44 ^{a}	IV
	7	84.71±2.47 ^{a}	IV
	14	81.95±2.69 ^{a}	IV
	21	83.90±2.42 ^{a}	IV

* حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند (P≤0.05)

*Different letters showed significant differences (P≤0.05).

بحث

نتایج زیست‌سنجی‌های آزمایشگاهی نشان داد هر دو ترکیـب بـه کار برده شده باعث ایجاد مرگ‌ومیـر در حشـرات کامـل *H. postica* می‌شوند. هرچند سـمیت آفـت‌کـش شـیمیایی فـن‌والریـت بـالاتر از آفت‌کش گیاهی پالیزین بود اما بایستی توجه نمود کـه انتخـاب یـک حشره‌کش مناسب در برنامه مدیریت تلفیقی تنها بـه مـوثر بـودن آن ترکیب روی آفت هدف بستگی ندارد بلکـه سـمیت آن ترکیـب روی دشمنان طبیعی نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با توجه به اینکه استفاده از آفت‌کش‌ها ممکن است باعث اثرات نامطلوب روی دشمنان طبیعی و در نتیجه طغیان آفات ثانویـه شـود لـذا مـی‌تـوان از طریـق زمانبندی دقیق کاربرد آفت‌کش‌ها و یا استفاده از ترکیبات انتخـابی از بروز چنین خطراتی پیشـگیری نمـود (۳۰). آفـت‌کـش گیـاهی مـورد استفاده در این تحقیق نشان داد سمیت پایینتری نسبت به حشره‌کش شیمیایی فن‌والریت بـرای تخـم و لارو سـن اول بـالتوری سـبز دارد. سمیت بالاتر ترکیبات شیمیایی نسبت به ترکیبات طبیعی بر روی لارو سن اول بالتوری سبز در تحقیقات دیگری نیز به اثبات رسـیده اسـت. اسدی عیدوند و همکاران (۳) نشـان دادنـد حشـره‌کـش آزادیـراختین سمیت کمتری نسبت به حشـره‌کـش‌هـای فلونیکامیـد، تیاکلوپرایـد و تیوسـیکلام بـرای لارو سـن اول بـالتوری سـبز دارد. میـزان LC_{50} ترکیبات ذکر شده بـه‌ترتیـب ۵۹۶، ۳۴/۸، ۱۲۴/۳ و ۲۷۱/۳ پـی‌پـی‌ام

برآورد شد. در تحقیق حاضر نیز میزان LC_{50} حشره‌کش شیمیایی فن‌والریت روی لارو سن اول این عامل بیوکنترل ۱۷۸/۴۶ پی‌پی‌ام و میزان LC_{50} آفت‌کش پالیزین ۱۶۳۳ پی‌پی‌ام برآورد شد.

دانش اثرات آفت‌کش‌ها روی بندپایان مفید برای تلفیق کنترل بیولوژیکی با سموم شیمیایی در اکوسیستم‌های کشاورزی ضروری است (۶). مطالعه اثرات کاربرد آفت‌کش‌ها روی دشمنان طبیعی اغلب به صورت تماس دشمن طبیعی با آفت‌کش، تغذیه از غذای آلوده به آفت‌کش، قرارگرفتن در معرض باقیمانده سم و یا مطالعات مزرعه‌ای برای تشخیص تغییرات در جمعیت دشمنان طبیعی در پاسخ به کاربرد آفت‌کش‌ها است (۱۰، ۲۲). در تحقیق حاضر اثرات تماسی دو حشره‌کش فن‌والریت و پالیزین روی تخم و لارو سن اول بالتوری سبز مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی مرحله تخم نسبت به لارو سن اول به حشره‌کش‌های مورد آزمایش حساسیت کمتری نشان داد که با نتایج سایر محققین در این زمینه مطابقت دارد (۳ و ۲۵). عموماً مرحله تخم تحمل بالایی به عمل آفت‌کش‌ها دارد (۱۲) واین مقاومت در تخم‌های *C. carnea* بوسیله مدینا و همکاران (۲۳) و بئنو و فریتاس (۵) اثبات شده است. پایین‌تر بودن حساسیت تخم نسبت به لارو ممکن است به دلیل غشاء کوریونی محکم تخم باشد که مانع از نفوذ ترکیبات سمی به تخم می‌شود. در تحقیقی اثرات کشندگی چند ترکیب از جمله آفت‌کش طبیعی آزادیراختین روی تخم بالتوری سبز بررسی شد. میزان LC_{50} ترکیب ذکر شده ۱۸۱۰ پی‌پی‌ام براورد شد. با مد نظر قرار دادن غلظت کشنده ۵۰ درصدی مشخص شد آفت‌کش پالیزین سمیت پایین‌تری (LC_{50}=۱۶۶۴) نسبت به حشره‌کش آزادیراختین برای تخم بالتوری سبز دارد (۳).

آفت‌کش پالیزین سمیت کمتری نسبت به حشره‌کش فن‌والریت برای لارو سن یک بالتوری داشت که با نتایج آگاروال و برار (۲) مطابقت دارد این محققین نشان دادند آفت‌کش‌های طبیعی Neem Azal، Nimbecidine و Achook Godrej در غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم برلیتر به‌ترتیب مرگ‌ومیر ۴۵/۳۳، ۴۷ و ۴۱/۶۶ درصدی را در لارو سن یک بالتوری ایجاد می‌کنند در حالیکه میزان تلفات ایجاد شده توسط حشره‌کش شیمیایی تری‌آزوفوس ۸۵ درصد بود. نتایج مشابه در مطالعات اسکاستر و استنلی (۳۳) با ترکیب بیفندرین (از ترکیبات گروه پایروتروئیدهای مصنوعی) مشاهده شد. این محققین نشان دادند حشره‌کش شیمیایی به کار برده شده سمیت تماسی و باقیمانده سمی بالایی برای لارو بالتوری سبز دارد. کنترل شیمیایی و بیولوژیکی هر دو برای مدیریت حشرات آفت مهم هستند. در سالهای اخیر حشره‌کش‌های با نحوه اثر جدید نشان دادند سمیت زیادی برای آفات هدف داشته در حالیکه سمیت نسبتاً کمتری برای دشمنان طبیعی داشته‌اند. به عنوان مثال یاردیم و همکاران (۳۸) نشان دادند حشره‌کش طبیعی neem مرگ‌ومیر بالایی را در لاروهای گونه‌ای از سرخرطومی یونجه *Hypera variabilis* Hbst. ایجاد کرده اما اثرات معنی‌داری روی مجموع تعداد شکارگرها در مزرعه یونجه نداشت. آفت‌کش گیاهی پالیزین ضمن کنترل موثر پسیل پسته *Agonoscena pistaciae* Burckhardt & Lauteree اثرات منفی کمتری نسبت به دو حشره‌کش شیمیایی موسپیلان و کنسالت روی دشمنان طبیعی (شکارگرها و پرداتورها) این آفت داشت (۱۶). همچنین این حشره‌کش باعث مرگ‌ومیر بالایی در حشرات کامل شته پنبه *Aphis gossypii* Glover شد در حالیکه اثرات سو کمتری برای دشمن طبیعی آن، زنبور پارازیتوئید *Aphidius colemani* Viereck داشت (۱۷).

نتایج آزمایش مزرعه‌ای نشان داد حشره‌کش شیمیایی فن‌والریت سمیت بالایی برای بالتوری سبز داشته و در گروه سموم خطرناک روی این دشمن طبیعی دسته‌بندی شد. سمیت بالای حشره‌کش فن-والریت برای دشمنان طبیعی دیگری نیز به اثبات رسیده است به عنوان مثال پورهمتی و همکاران (۲۸) نشان دادند حشره‌کش فن‌والریت سمیت بسیار بالایی برای زنبور پارازیتوئید *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) داشته و در گروه سموم خطرناک برای این دشمن طبیعی دسته‌بندی شد. آفت‌کش گیاهی مورد استفاده در تحقیق نشان داد علاوه بر اینکه موجب تلفات بالایی در جمعیت *H. postica* می‌شود از لحاظ ماندگاری نیز اثر مناسبی داشت چنانچه در نمونه‌برداریهای ۲۱ روز پس از تیمار نیز مرگ‌ومیر بالایی (۸۱/۳۶ درصد) ایجاد نمود. دوام اثر طولانی مدت این آفت‌کش در تحقیقات دیگری نیز به اثبات رسیده است (۷، ۱۶). در مقابل حشره‌کش شیمیایی فن‌والریت دوام چندانی نداشت و با گذشت دو هفته از زمان تیمار مرگ‌ومیری که ایجاد نمود به طور معنی‌داری کمتر از مرگ‌ومیر ایجاد شده توسط آفت‌کش گیاهی پالیزین بود این امر می‌تواند به دلیل نحوه اثر پایروتروئیدها باشد چراکه این ترکیبات اثرات سریع و ضربه‌ای داشته و دوام چندانی ندارند. از طرفی با توجه به اینکه حشره‌کش فن‌والریت مرگ‌ومیر بیشتری نسبت به پالیزین در جمعیت بالتوری سبز ایجاد نمود، این کاهش جمعیت دشمن طبیعی می‌تواند دلیلی برای افزایش جمعیت *H. postica* در قطعات تیمار شده با این آفت‌کش نسبت به قطعات تیمار شده با آفت‌کش پالیزین باشد.

چندین روش کنترلی برای مدیریت جمعیت *H. postica* روی یونجه در ایران پیشنهاد شده است (۱۸، ۱۹ و ۲۴). اما به نظر می‌رسد بهترین و موثرترین روش، استفاده از ترکیباتی باشد که ضمن کنترل موثر آفت، برای دشمنان طبیعی نیز سمیت بالایی نداشته باشند. آفت‌کش گیاهی مورد استفاده در تحقیق نشان داد مرگ‌ومیر بالایی را در جمعیت *H. postica* یکی از مهمترین آفات یونجه ایجاد می‌کند و از طرفی اثرات سوء کمتری نسبت به حشره‌کش شیمیایی فن‌والریت برای یکی از مهمترین دشمنان طبیعی این آفت دارد لذا این ترکیب می‌تواند به عنوان یکی از گزینه‌های کنترل در برنامه مدیریت تلفیقی این آفت در مزارع یونجه مطرح باشد.

منابع

1- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18: 265-267.

2- Aggarwal N., and Brar D.S. 2005. Effects of different neem preparations in comparison to synthetic insecticides on the whitefly parasitoid *Encarsia sophia* (Hymenoptera: Aphelinidae) and the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) on cotton under laboratory conditions. Journal of Pest Sciences, 79: 201- 207.

3- Asadi Eeidvand M.R., Gol Mohamadi Gh., and Ghajariyeh H. 2015. Lethal and sublethal effects of four insecticides on egg and first larvae green lacewing *Chrysoperla carnea* in laboratory conditions. Iranian Journal of Plant Protection, 46(2): 331-338. (in Persian with English abstract).

4- Blodgett S.L., and Lenssen A.W. 2004. Distribution of alfalfa weevil (Coeloptera: Curculionidae) larvae among post cutting locations. Journal of Economic Entomology, 97: 1319-1322.

5- Bueno A.F., and Freitas S. 2004. Effect of the insecticides abamectin and lufenuron on eggs and larvae of *Chrysoperla externa* under laboratory conditions. BioControl, 49: 277-283.

6- Croft B.A. 1990. Arthropod biological control agents and pesticides. New York, Wiley, 723 p.

7- Danay-Tous A.H., Farazmand H., Oliaei-Torshiz A., and Sirjani M. 2014. Effect of red pepper and garlic extract on pistachio psylla nymph, *Agonoscena pistaciae*, in field conditions. Biocontrol in Plant Protection, 1(2): 91-99. (in Persian with English abstract).

8- Desneux N., Decourtye A., and Delpuech J.M. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annual Review of Entomology, 52: 81-106.

9-Diaz-Arandaz L.M., and Monserrat, V.J. 1995. Aphidophagous predator diagnosis: key to genera of European chrysopid larvae (Neuro.: Chrysopidae). Entomophaga, 40(2):169-181.

10- El-Wakeil N., Gaafar N., Sallam A., and Volkmar C.H. 2013. Side effects of insecticides on natural enemies and possibility of their integration in plant protection strategies. Insecticides - Development of Safer and More Effective Technologies. Chapter 1. 54 pp.

11- Fick G.W. 1976. Alfalfa weevil effects on regrowth of alfalfa. Agronomy Journal, 68: 809–812.

12- Grafton-Cardwell E.E., and Hoy M.A. 1985. Intraspecific variability in response to pesticides in the common green lacewing, *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae). Hilgardia, 53: 1–31.

13- Hassan S.A., Bigler F., Bogenschutz H., Boller E., Brun J., Calis J.N.M., Coremans-Pelseneer J., Duso C., Grove A., Heimbach U., Helyer N., Hokkanen H., Lewis G.B., Mansour F., Moreth L., Polgar L., Samsøe- Petersen L., Sauphanor B., Stäubli A., Sterk G., Vainio A., Vander Veire M., Viggiani G., and Vogt H. 1994. Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS-working group Pesticides and Beneficial Organisms. Entomophaga, 39: 107–119.

14- Heidari H.1996. The Key of Chrysopa and Suarius (Neuroptera:Chrysopidae) species collected from Iran. Journal of Entomological Society of Iran, 9(1,2): 47-54.

15- Henderson C.F., and Tilton E.W. 1955. Tests with acaricides against the brown wheat mite. Journal of Economic Entomology, 48: 157–161.

16- Kabiri Raeis Abad M., and Amiri-Beheshli B. 2012. Toxicty of Palizin, Mospilan and Consult on *Agonoscena pisticae* Burckarat and Lanuter (Hemiptera: Psyllidae), *Oenopia conglobate* L. (Coleopteran: Coccinellidae) and *Psyllaephaus pistaciae* Frriiere (Hym.: Encyrtidae). Academic Journal of Entomology, 5: 99-107.

17- Ketabi L., Jalalaizand A., and Bagheri M.R. 2014. A study about toxicity of some herbal insecticides on cotton aphid (*Aphis Gossypii*) and its natural enemy (*Aphidius colemani*) in laboratory and greenhouse. Advances in Environmental Biology, 8(6): 2855-2858.

18- Khanjani M. 2012. Field Crop Pests in Iran (Insects and Mites). 6th ed. Hamedan, Iran: Bu-Ali Sina University Publication. (in Persian).

19- Khanjani M., and Pourmirza A.A. 2004. A comparison of various control methods of alfalfa weevil, *Hyperapostica* (Col:Curculionidae) in Hamadan. Journal of Entomological Society of Iran. 1:67-81. (in Persian with English abstract).

20- Kingsley P.C., Bryan M.D., Day W.H., Burger T.L., Dysart R.J., and Schwalbe C.P. 1993. Alfalfa weevil (Coleoptera: Curculionidae) biological control: spreading the benefits. Environmental Entomology, 22: 1234–1250.

21- Lopez O., Fernandez-Bolanos J.G., and Gil M.V. 2005. New trends in pest control: the search for greener insecticides. Green Chemistry Journal, 7: 431-442.

22- Medina P., Budia F., Smagghe G., and Viňuela E. 2001. Activity of spinosad, diflubenzuron and azadirachtin on eggs and pupae of *Chrysoperla carnea* (Stephens) under laboratory conditions. Biocontrol Science and Technology, 11:597–610.

23- Medina M.P., Budia F., Tirry L., Smagghe G., and Viñuela E. 2003. Effects of three modern insecticides, pyriproxyfen, spinosad and tebufenozide, on survival and reproduction of *Chrysoperla carnea* adults. Annals of Applied Biology, 142:55-61.

24- Moradi Vajargah M., Rafiee-Dastjerdi H., Golizadeh A., Hassanpour M., and Naseri B. 2013. Laboratory toxicity and field efficacy of lufenuron, dinotefuran and thiamethoxam against *Hypera postica* (Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae). Munis Entomology and Zoology, 8 (1): 448-457.
25- Nasreen A., Ashfaq M., Mustafa G.H., and Rasool Khan R. 2007. Mortality rate of five commercial insecticides on *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Chrysopidae: Neuroptera). Pakistan Journal of Agricultural Science, 44 (2): 266-271.
26- New T.R., 1992. The lacewings (Insecta, Neuroptera) of Tasmania. Papers and Proceedings of the Royal Society of Tasmania. 126: 29-45.
27- Pitts-Singer T.L. 2008. Bees in Agricultural Ecosystems, Oxford University Press, New York, NY. p. 105–123.
28- Purhematy A., Ahmadi K., and Moshrefi M. 2010. Toxicity of thiacloprid and fenvalerate on the black bean aphid, *Aphis fabae*, and biosafety against its parasitoid*, Lysiphlebus fabarum*. Journal of Biopesticides, 6 (2): 207-2010.
29- Robertson J.L., Russell R.M., Preisler H.K., and Savin N.E. 2007. Bioassays with arthropods. Boca Raton, CRC Press. P. 199.
30- Sabahi Q., Rasekh A., and Michaud J.P. 2010. Toxicity of three insecticides to *Lysiphlebus fabarum*, a parasitoid of the black bean aphid, *Aphis fabae*. Journal of Insect Science, 11: 1-8.
31- Saber M., Hejazi M.J., Kamali K., and Moharramipour S. 2005. Lethal and sublethal effects of fenitrothion and deltamethrin residues on the egg parasitoid *Trissolcus grandis* (Hymenoptera: Scelionidae). Journal of Economic Entomology, 98: 35-40.
32- Saeedi K. 2007. Preliminary studies on natural enemies of the alfalfa weevil in Yasouj. Journal of Research in Agricultural Science, 3(1): 1-13. (in Persian with English abstract).
33- Schuster D.J., and Stansly P.A. 2000. Response of two lacewing species to biorational and broad-spectrum insecticides. Phytoparasitica, 28:1–8.
34- Shrestha G., Enkegaard A., and Steenberg T. 2015. Laboratory and semi-field evaluation of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) against the lettuce aphid *Nasonovia ribisnigri* (Hemiptera: Aphididae). Biological Control, 85: 37–45.
35- Ugine T.A., Wraight S.P., and Sanderson J.P. 2007. A tritrophic effect of host plant on susceptibility of western flower thrips to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Journal of Invertebrate Pathology, 96 (2): 162–172.
36- Windbiel R., Karey D., Elham, K.G., and Godfrey L. 2005. Current status of biological control of alfalfa weevils in California. In: Proceedings, California alfalfa Visalia, CA, UC Cooperative Extension, Agronomy Research and Extension Center, Plant Science Department, University of California, Davis.p. 12-32.
37- Wu S., Reddy G.V.P., and Jaronski S.T. 2014. Advances in microbial insect control in horticultural ecosystems, in: D. Nandawani (Ed.), Sustainable Horticultural Systems, Sustainable Development and Biodiversity 2, Springer International Publishing, Switzerland, p. 223–252.
38- Yardim E.N., Ozgen I., and Kulaz H**.** 2001. Effects of neem-based and chemical insecticides on some arthropods in alfalfa. Meded Rijksuniv Gent. Fak.Landbouwkd Toegep. Biol. Wet, 66: 519–524.
39- Zeb Khan S., Ullah F., Khan S., Khan M.A., and Khan M.A. 2015. Residual effect of insecticides against different stages of green lacewing, *Chrysoperla Carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). Journal of Entomology and Zoology Studies, 3 (4): 114-119.

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 373-384

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۳۸۴-۳۷۳

ارزیابی اثر زمان کاربرد علف‌کش توتال (متسولفورون‌متیل ۲۵ درصد+ سولفوسولفورون ۷۵ درصد) بر برخی صفات اکوتیپ‌های جودره (*Hordeum spontaneum* K. Koch) ایران

سعید محمدی[۱]- مهدی راستگو[۲*]- محمد علی باغستانی[۳]- موسی الرضا وفایی تبار[٤]- ابراهیم ایزدی دربندی[٥]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۱۵

چکیده

به منظور بررسی اثرات ناشی از کاربرد علف‌کش توتال (متسولفورون متیل۲۵درصد + سولفوسولفورون۷۵درصد) در دو مرحله رشد جودره (دوبرگی و گره دوم ساقه) بر خصوصیات مرفولوژی و تولیدمثلی اکوتیپ‌های مختلف جودره کشور این آزمایش اجرا شد. آزمایش در سال زراعی۹۳-۹۲ در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران(ورامین) بصورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتور اول در دو سطح شامل کاربرد علف‌کش توتال در مرحله دوبرگی(GS=۱۲) و گره‌دوم ساقه (GS=۳۲) جودره و شاهد بدون علف‌کش و فاکتور دوم ۲۰ اکوتیپ جمع‌آوری شده از سطح کشور بود. نتایج نشان داد که کاربرد علف‌کش توتال در هر دو مرحله باعث ایجاد اختلاف آماری در سطح ۵ درصد با شاهد شد و باعث کاهش توان رشدی و تولیدمثلی جودره گردید. اکوتیپ‌های مورد آزمایش در واکنش به تیمار علف‌کش پاسخ‌های مرفولوژیک و تولیدمثلی مختلفی نشان دادند. بطوری‌که خصوصیاتی همچون وزن تک‌سنبله و وزن هزار دانه جودره با کاربرد علف‌کش توتال در مرحله گره‌دوم ساقه کاهش معنی‌داری در سطح ۵درصد نشان داد. مقایسه میانگین اثر بر هم کنش اکوتیپ و علف‌کش از نظر خصوصیات مرفولوژی و تولیدمثلی نشان داد که اکوتیپ‌های ورامین، اصفهان، شهرضا و گلپایگان نسبت به اکوتیپ‌های شوش، رامهرمز و فسا کمتر تحت تاثیر علف‌کش قرار گرفتند.

واژه‌های کلیدی : صفات تولیدمثلی ، صفات مورفولوژیکی، مدیریت شیمیایی، مرحله رشد

مقدمه

علف‌هرز جودره[۶] بعنوان یک علف‌هرز مهم و سمج در اغلب مناطق کشت گندم کشور مطرح شده است. بطوری که در برخی از مناطق، این علف‌هرز به عنوان اصلی ترین عامل در کاهش عملکرد محصول در واحد سطح می‌باشد (۶). علف‌هرز جودره بدلیل نیازهای اکولوژیک محدود، دامنه وسیعی از اراضی زیر کشت گندم را اشغال نموده است(۴ و ۶). در گزارش باغستانی و همکاران (۵) آمده است که این علف‌هرز در قطب‌های مهم تولید گندم نظیر خوزستان، فارس، کرمانشاه، خراسان رضوی و غیره بصورت یک باریک برگ غالب در آمده است. حضور این علف‌هرز در مزارع گندم اولین بار در سال ۱۳۶۵ از منطقه آباده در استان فارس گزارش شد (۵).

در ایران مهم ترین شیوه کنترل علف‌های هرز در مزارع گندم مبارزه شیمیایی می‌باشد. بطوری که حدود نیمی از مجموع آفت‌کش-هایی که در کشور مصرف می‌گردد اختصاص به سموم علف‌کش دارد و نیمی از آن نیز در مزارع گندم کشور مصرف می‌گردد (۱۰). در سال‌های اخیر علف‌کشی از گروه سولفونیل اوره با نام تجاری توتال به بازار عرضه گردیده است (۷).

توتال مخلوط دو علف کش سولفوسولفورون + متسولفورون متیل است، که جهت کنترل طیف وسیعی از علف های هرز پهن برگ و کشیده برگ در مزارع گندم به صورت انتخابی و پس رویشی به ثبت رسیده است. این علف‌کش به صورت سیستمیک و تماسی وارد برگ و ریشه علف هرز می‌شود (۸). در تحقیقی استفاده از علف‌کش توتال باعث خسارت زیادی به جو زراعی شد و برای این محصول مناسب نبود اما از لحاظ تأثیر بر روی کنترل جودره در شرایط و مناطق مختلف نتایج متفاوتی داشت (۹). در آزمایش دیگری از میان چندین علف‌کش آزمایش شده در گندم در مناطق مختلف کشور، هیچ یک موجب کنترل مطلوب جودره نشدند و تنها علف‌کش توتال توانست زیست توده جودره را در مقایسه با شاهد ۶۷ درصد کاهش دهد.

۱- دانش آموخته دکتری علوم علف های هرز پردیس بین الملل، دانشگاه فردوسی مشهد
۲ و ۵- دانشیاران گروه اگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: m.rastgoo@um.ac.ir)
۳- استاد موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور
۴- دانشیار بخش تحقیقات پنبه و گیاهان لیفی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ورامین، ایران

DOI: 10.22067/jpp.v31i4.54436

6- *Hordeum spontaneum*

همچنین بالاترین عملکرد گندم در مناطق مختلف در تیمارهای دارای علف‌کش توتال به دست آمد (۱۱).

در گزارش دیگری این علف‌کش برای کنترل علف‌های‌هرز باریک‌برگ و پهن‌برگ در مزارع گندم استفاده شد و کارایی بسیار بالایی در کنترل علف‌هرز جودره داشته و به عنوان علف‌کش مؤثر برای کنترل علف‌هرز جودره معرفی شده است (۶). همچنین در تحقیق دیگری بر روی کنترل انواع جووحشی در مزارع گندم کشور علف‌کش توتال در مقایسه با سایر علف‌کش‌ها تأثیر بهتری بر روی جودره داشت (۲).

نتایج بدست آمده از پژوهشی نشان داد که تیمار۴۰ گرم در هکتار علف‌کش توتال در مقایسه با شاهد بدون سمپاشی موجب کاهش معنی‌دار پارامترهای رشدی جودره شد و همچنین کاربرد این علف‌کش در مرحله دو تا چهاربرگی نسبت به مراحل دیگر از نظر کاهش پارامترهای مورد بررسی رشد جودره کارایی بیشتری داشت (۷، ۴ و ۱).

در حال حاضر این علف‌کش یکی از گزینه‌های امیدبخش برای کنترل جودره در گندم به شمار می‌رود اما نبایستی فراموش کرد که توتال حاوی سولفوسولفورن است و به نظر می‌رسد تأثیرآن بر جو زراعی و نیز جودره بیشتر به دلیل وجود سولفوسولفورن در این ترکیب باشد (۳).

هدف پژوهش حاضر، بررسی تاثیر علف‌کش توتال (متسولفورون‌متیل+ سولفوسولفورون) بر روی خصوصیات مرفولوژیکی و تولیدمثلی اکوتیپ‌های مختلف جودره کشور و تعیین بهترین زمان کاربرد این علف‌کش در مراحل رشدی جودره است.

مواد روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران واقع در ورامین اجرا شد. منطقه ورامین در ′۳۷°۵۷ طول شرقی ′۲۰°۳۵ عرض شمالی قرار دارد. ارتفاع از سطح دریا ۱۰۵۰ متر است.

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و بصورت آزمایش فاکتوریل دو عاملی اجرا شد. عامل اول مصرف علف‌کش توتال (۲۵درصد متسولفورون‌متیل+ ۷۵درصد سولفوسولفورون) در دو سطح (کاربرد دز ۴۵ گرم در هکتار از فرم تجارتی به همراه ماده افزودنی همراه به میزان ۴ در هزار) در مراحل دوبرگی و گره دوم ساقه جودره و شاهد بدون سمپاشی بود. عامل دوم ۲۰ اکوتیپ جودره از مناطق مختلف کشور بود (جدول ۱).

بذور مورد نیاز از جمعیت‌های مورد نظر در سطح کشور تهیه شد. بدین منظور در مرحله رسیدگی سنبله‌های جودره در مزارع گندم آلوده به این علف‌هرز در استان‌های فارس، خوزستان، کرمانشاه، تهران، اصفهان و آذربایجان غربی جمع‌آوری گردید.

جدول ۱ – مشخصات جغرافیایی مناطق جمع‌آوری بذور جودره

Table 1- Geographical coordinates of sampling sites of spontaneous barley seed lot

ردیف Row	استان محل نمونه برداری Province	منطقه محل نمونه برداری City	عرض جغرافیایی (N) Latitude	طول جغرافیایی (E) Longitude	ارتفاع از سطح دریا above mean sea level
1	Khuzestan	Ramhurmoz	315342	385215	32
2	Khuzestan	Shush	320829	481715	90
3	Fars	Fasa	2856	5339	1370
4	Fars	Darab	2845	5432	1130
5	Fars	Marvdasht	2952	5248	1593
6	Fars	Zarghan	2946	5243	1600
7	Fars	Shiraz	2937	5232	1530
8	West Azarbayjan	Uromiyeh	373042	450240	1330
9	West Azarbayjan	Miandoab	365500	455441	1313
10	West Azarbayjan	Mahabad	365147	454755	1334
11	West Azarbayjan	Salmas	380803	445548	1337
12	Kermanshah	Mahidasht	341738	465715	1545
13	Kermanshah	Islamabad	341345	464057	1552
14	Kermanshah	Kerend	341235	461644	1462
15	Kermanshah	Biseton	342521	472826	1317
16	Tehran	Shahryar	354020	511143	1168
17	Tehran	Varamin	352355	513513	946
18	Isfehan	Isfehan	323014	521417	1531
19	Isfehan	Shahreza	315128	515619	1948
20	Isfehan	Golpayegan	332915	500235	1797

به منظور انجام آزمایش در پاییز سال ۱۳۹۲ قطعه زمینی انتخاب شد. سپس از قطعه مورد نظر آزمون خاک گرفته شد (جدول ۲) و نوع بافت خاک نیز لومی تشخیص داده شد پس از انجام عملیات تهیه زمین و بستر بذر، مبادرت به کشت گردید. ابعاد هر کرت آزمایشی۲×۳ متر در نظر گرفته شد. هر یک از کرت‌های آزمایشی شامل پنج خط بود و یک خط از طرفین هر یک از بلوک‌ها به منظور اثر حاشیه در نظر گرفته شد و ۳ سطح کاربرد علف‌کش و شاهد بدون علف‌کش مورد مقایسه قرار گرفت.

جدول ۲ - نتایج آزمون خاک قبل از کاشت از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری خاک

Table 2- Soil test results before sowing from 0-30 Cm soil depth

O.C	N	T.N.V	EC	pH	P	K	Fe	Zn	Cu	Mn	B
%	%	%	dS		ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
0.53	0.05	20.35	2.2	7.64	15	284	2.8	0.86	1.12	9.8	0.53

به منظور انجام آزمایش در ابتدا تست جوانه زنی بذور صورت گرفت که نتایج حاکی از این بود که بذور فاقد خواب بودند. کاشت بذور جودره با دست و بصورت خشکه‌کاری و بر روی پشته‌ها انجام شد. عمق کاشت حدود۳-۲ سانتی متر در نظر گرفته شد. اولین آبیاری در تاریخ ۱۸ آبان ۱۳۹۲ پس از کاشت انجام گردید و آبیاری‌های بعدی به طور منظم و بصورت شیاری داده شد. در طول دوره سایر علف‌های هرز کرت‌ها وجین شدند. کود شیمیایی مورد نیاز بر اساس محتوای عناصر شیمیایی خاک به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره به صورت سرک در اواخر پنجه زنی و شروع ساقه رفتن داده شد.

سمپاشی در مرحله دوبرگی و گره‌دوم ساقه جودره با استفاده از سمپاش ماتابی پشتی مجهز به نازل شره‌ای و با فشار دو تا ۲/۵ بار انجام شد. سمپاش نیز بر اساس میزان ۳۰۰ لیتر آب در هکتار کالیبره شد.

۳۰ روز پس از اعمال تیمارهای آزمایش در مرحله گره دوم ساقه (۹۳/۲/۱۲) که معادل با شروع مرحله سنبله‌دهی جودره بود یک کادر (۰/۵×۰/۵) بر روی هر خط پرتاب گردید و جودره‌های موجود جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه شمارش گردیدند و در خرداد (۹۳/۳/۲۰) برداشت نهایی انجام گرفت و خصوصیات مورفولوژی و تولیدمثلی نظیر ارتفاع نهایی، تعداد ساقه در بوته، تراکم بوته، وزن تر، وزن ماده خشک، شاخص سطح برگ، تعداد دانه در سنبله، طول سنبله ، وزن تک سنبله و وزن هزار دانه جودره اندازه‌گیری و ثبت شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزارSAS v.9 انجام شد نمودارها با نرم افزار Excel رسم گردید.

نتایج و بحث

تعداد بوته

بیشترین تاثیر کاربرد علف‌کش توتال در زمان گره‌دوم بود اما در زمان دوبرگی نیز تاثیر معنی‌دار روی کاهش میزان تعداد بوته‌های جودره داشت (جدول ۳). با وجود تراکم یکسان در زمان کاشت بین تیمارهای آزمایشی بعد از کاربرد علف‌کش توتال تعداد بوته‌های جودره نسبت به شاهد کاهش نشان داد. کاهش رشد یا توقف رشد بوته‌های جوان جودره در مراحل اولیه رشد باعث این اختلاف نسبت به شاهد شده است. بین ۲۰ اکوتیپ مورد آزمایش اکوتیپ‌های مربوط به مناطق اصفهان (۳۶۶/۷ بوته درمترمربع) و اسلام آباد (۳۵۶/۳ بوته در متر مربع) نسبت به سایر اکوتیپ‌ها از میزان تعداد بوته بیشتری برخوردار بودند.

اکوتیپ‌های مناطق شوش، مرودشت، ارومیه، شهرضا، اسلام آباد، اصفهان، گلپایگان و ورامین بعد از کاربرد علف‌کش در هر دو مرحله رشدی جودره با کاهش تعداد بوته معنی‌داری نسبت به شاهد رسیدند. اکوتیپ‌های زرقان، کرند، مهاباد، سلماس، ماهیدشت و بیستون تنها تاثیر علف‌کش در مرحله گره‌دوم ساقه باعث کاهش معنی‌دار تعداد بوته نسبت به شاهد شد. اکوتیپ مربوط به مناطق شهریار، رامهرمز، داراب و فسا نسبت به شاهد تاثیری در تعداد بوته با کاربرد علف‌کش نشان ندادند (شکل ۱). علف‌کش توتال هر چند نتوانست بطور کامل موجب توقف رشد و از بین رفتن بوته‌های جودره در تیمارها شود اما سمپاشی در زمان ۲ برگی با تاثیر روی سطح برگ جودره موجب توقف رشد گیاه شد اما گیاه بعد از مدتی مجدداً به شرایط رویشی برگشت. مصرف توتال در تیمار گره دوم ساقه موجب کاهش رشد و سوزش برگ‌ها و ساقه‌های جوان جودره شد که در نهایت تاثیر بیشتری در کاهش تعداد بوته نهایی در آخر فصل داشت.

تاثیر علف‌کش روی اکوتیپ های آزمایش بسیار متفاوت بود و هر چند که تاثیر مثبتی روی کاهش تعداد بوته دیده می شود اما پاسخ اکوتیپ‌ها بسیار متفاوت بوده است که بدلیل اختلاف ژنتیکی و اثرات محیط روی ژنوتیپ است (۱). در پژوهش دیگری نیز کاربرد علف‌کش توتال (متسولفورون‌متیل+سولفوسولفورون) در مقایسه با شاهد موجب کاهش معنی‌دار پارامترهای رشدی جودره شد و کاربرد این علف‌کش در مرحله گره دوم ساقه از نظر کاهش پارامترهای مورد بررسی رشد (تعداد بوته، تعداد ساقه، ارتفاع، وزن تر و خشک) کارایی بیشتری داشت (۲).

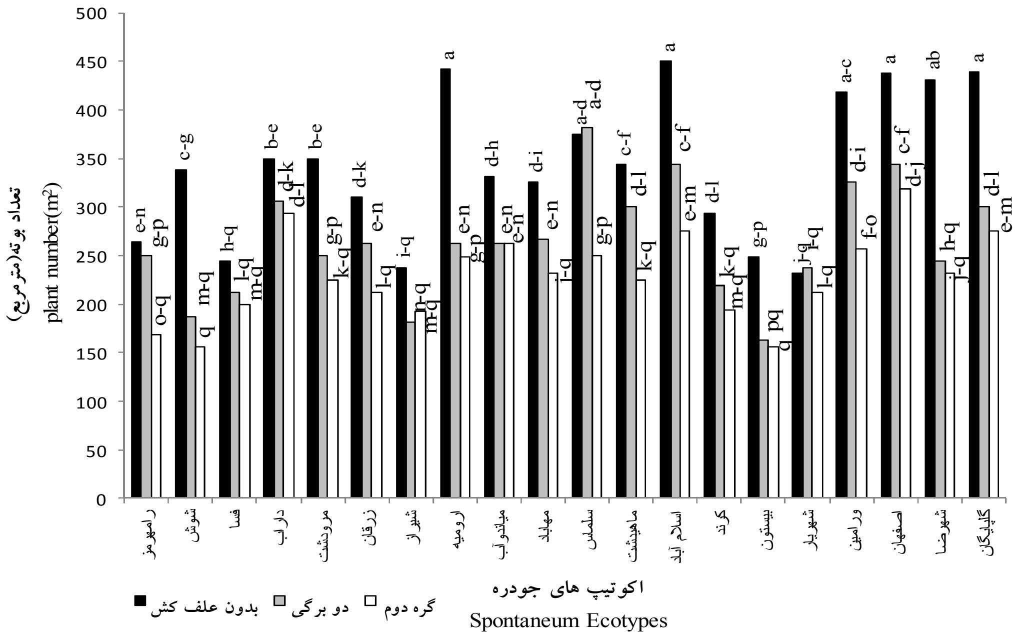
جدول ۳- مقایسه میانگین خصوصیات فیزیولوژیکی جودره پس از کاربرد علف‌کش توتال

Table 3- Mean comparison of morphological traits of spontaneous barley after Metsulfuron Metyl+Sulfusulfuron herbicide application

شاخص Index	شاهد بدون علف‌کش No herbicide	گره دوم Second Node	دوبرگی Two Leaf
تعداد ساقه(در مترمربع) (Stem Number)(m^2)	684.50 ±12.70 a	556.7 ±14.7 b	563.5 ±14.1* b
شاخص سطح برگ (Leaf Area Index)	1.35 ±0.04 a	1.06 ±0.04 b	1.08 ±0.04 b
ارتفاع (سانتیمتر) (Height)(cm)	75.53 ±0.70 a	68.05 ±0.7 c	70.64 ±0.8 b
وزن تر بوته(گرم در مترمربع) (Fresh Weight)(g/m^2)	770.40 ±16.80 a	573.4 ±17.7 c	622.8 ±16.5 b
تعداد بوته (مترمربع) (Density)(m^2)	343.00 ±9.10 a	229.2 ±6.3 c	264.9 ±7.4 b
وزن خشک (گرم درمترمربع) (Dry Weight)(g/m^2)	590.50 ±16.60 a	436.4 ±13.1 c	473.2 ±13.4 b

*بیانگر خطای استاندارد می باشد اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P\leq0.05$) نمی‌باشند

*standard error , Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($P\leq0.05$)



شکل ۱- مقایسه میانگین تعداد بوته اکوتیپ‌های جودره پس از کاربرد علف‌کش متسولفورون‌متیل+سولفوسولفورون

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P\leq0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($P\leq0.05$)

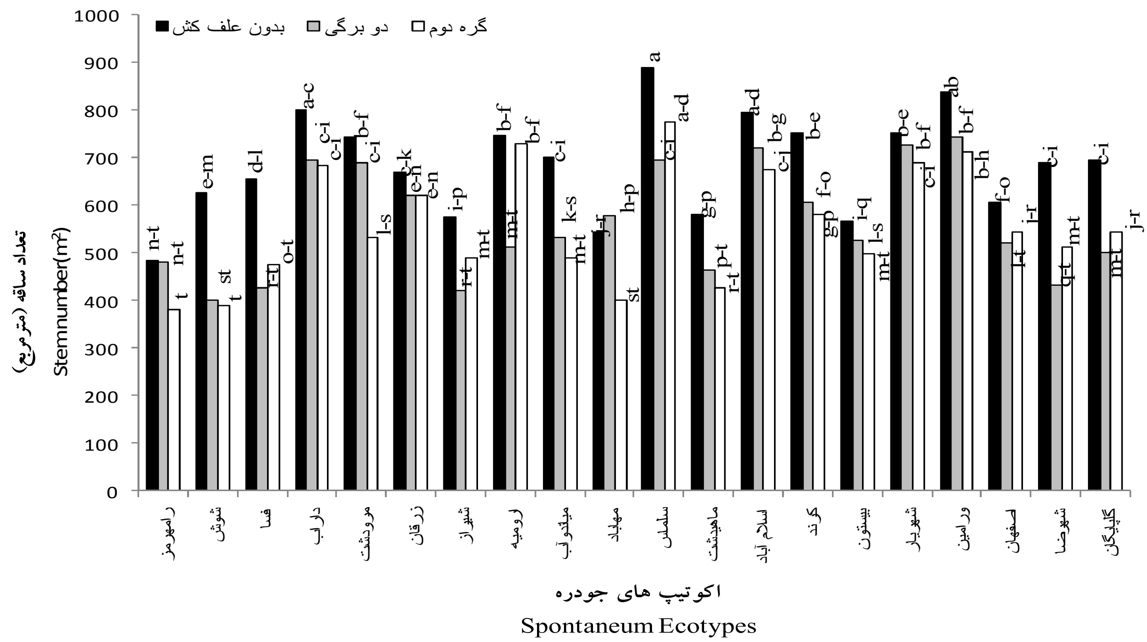
Figure 1- Mean comparison of plant number of spontaneous barley ecotypes after Metsulfuron Metyl+Sulfosulfuron herbicide application

تعداد ساقه

در بلوک های تیمار علف‌کش توتال با جودره در هر دو زمان دوبرگی و گره‌دوم ساقه، تعداد ساقه در بوته‌ها با اختلاف آماری در سطح ۵ درصد با شاهد دیده شد(جدول۳). بین اکوتیپ‌های ۲۰ منطقه مورد آزمایش نیز اکوتیپ سلماس (۷۸۵/۴) و ورامین (۷۶۴/۶) نسبت به سایر اکوتیپ‌ها تعداد ساقه بیشتری داشتند. اکوتیپ اصفهان با وجود بیشترین تعداد بوته (شکل ۱) بدلیل تولید بوته‌های علفی و ساقه های کوچک از نظر این صفت با دو اکوتیپ ذکر شده تفاوت معنی

داری نشان داد.

اثر علف‌کش توتال در هر دو مرحله دوبرگی و گره‌دوم ساقه در اکوتیپ‌های فسا، شوش، میاندوآب، کرند، شهرضا و گلپایگان نسبت به شاهد تعداد ساقه کاهش داشت. در اکوتیپ‌های شیراز، ارومیه و سلماس به مصرف علف‌کش توتال در دوبرگی حساسیت بیشتری نشان دادند. اکوتیپ‌های مناطق مرودشت، مهاباد و ماهیدشت مصرف علف‌کش در مرحله گره‌دوم ساقه تاثیر بیشتری نسبت به شاهد دیده شد. کمترین تاثیر علف‌کش توتال روی اکوتیپ‌های مناطق اصفهان، ورامین و شهریار در هر دو زمان کاربرد بود(شکل۲). اختلاف تعداد ساقه بین تیمارها نشان می‌دهد که اثر علف‌کش روی رشد ساقه‌ها مثبت بوده و در مجموع با کاهش تعداد ساقه در بوته‌ها موجب کاهش تعداد ساقه بارده شد این خود موجب کاهش توان تولیدمثلی در بوته‌های جودره می‌شود همچنین این کاهش موجب کم شدن وزن بوته‌ها و ماده خشک بوته‌ها شد که می‌تواند در شرایط وجود رقابت با گیاه زراعی در مزرعه موجب برتری گیاه زراعی گردد. در تحقیق دیگری بر روی کنترل انواع جووحشی در مزارع گندم علف‌کش توتال در مقایسه با سایر علف‌کش‌ها تأثیر بهتری بر روی جودره داشت (۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین تعداد ساقه اکوتیپ‌های جودره پس از کاربرد علف‌کش متسولفورون‌متیل+ سولفوسولفورون

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P\leq0.05$) نمی‌باشند

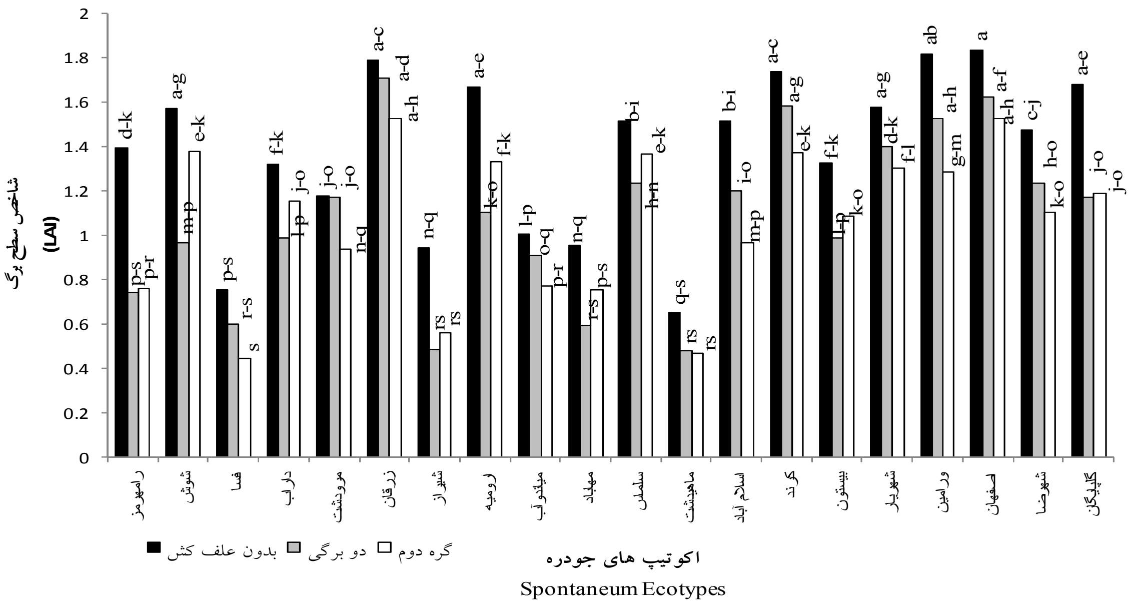
Figure 2- Mean comparison of stem number of spontaneous barley ecotypes after Metsulfuron Metyl+Sulfosulfuron herbicide application

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($P\leq0.05$)

شاخص سطح برگ

از نظر شاخص سطح برگ در تیمارهای کاربرد علف‌کش توتال با شاهد اختلاف آماری دیده شد (جدول ۳). بین اکوتیپ‌های آزمایش از نظر میزان تولید شاخص سطح برگ اختلاف وجود داشت و اکوتیپ زرقان (۱/۶۷۳) و اصفهان (۱/۶۶۱) نسبت به سایر اکوتیپ‌ها شاخص سطح برگ بیشتری داشتند. در تیمار مصرف علف‌کش توتال روی اکوتیپ رامهرمز در هر دو زمان دوبرگی و گره‌دوم سطح برگ نسبت به شاهد بدون علف‌کش کاهش نشان داد. این تاثیر روی اکوتیپ شیراز، ارومیه و گلپایگان نیز دیده می‌شود. تیمار علف‌کش توتال در مرحله گره‌دوم ساقه نسبت به دوبرگی باعث کاهش میزان شاخص سطح برگ در جودره در اکوتیپ‌های مناطق اسلام‌آباد، کرند، ورامین و شهرضا شد. در اکوتیپ‌های مناطق شوش، داراب، مهاباد، بیستون تاثیر علف‌کش توتال در مرحله دوبرگی روی شاخص سطح‌برگ بیشتر بود. در اکوتیپ‌های فسا، مرودشت، زرقان ، میاندوآب، سلماس، ماهیدشت و شهریار میزان شاخص سطح برگ با کاربرد علف‌کش در مراحل دوبرگی و گره‌دوم ساقه نسبت به شاهد اختلافی دیده نشد (شکل ۳). بطورکلی اثر علف‌کش توتال روی شاخص سطح برگ جودره نسبت به شاهد مثبت و معنی دار بود هر چند باعث از بین رفتن کامل بوته ها در هر دو زمان مصرف نشد اما بدلیل کاهش شاخص سطح برگ موجب کوچکی بوته‌های جودره و کاهش ماده

خشک بوته‌ها شد. در این آزمایش علف‌کش توتال با کاهش رشد سطح برگ و همینطور عدم رشد ساقه‌های جوان موجب ضعیف شدن توان رویشی بوته‌ها شد. این نتیجه با نتایج آزمایش دیگری که محلول‌پاشی در مرحله دو برگی و گره دوم ساقه موجب کاهش وزن تر و ماده خشک بوته های جودره شده بود همخوانی نشان داد (۲).



شکل ۳- مقایسه میانگین شاخص سطح‌برگ اکوتیپ‌های جودره پس از کاربرد علف‌کش متسولفورن‌متیل+ سولفوسولفورون

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P\leq0.05$) نمی‌باشند

Figure 3- Mean comparison of leaf area index of spontaneous barley ecotypes after Metsulfuron Metyl+Sulfosulfuron herbicide application

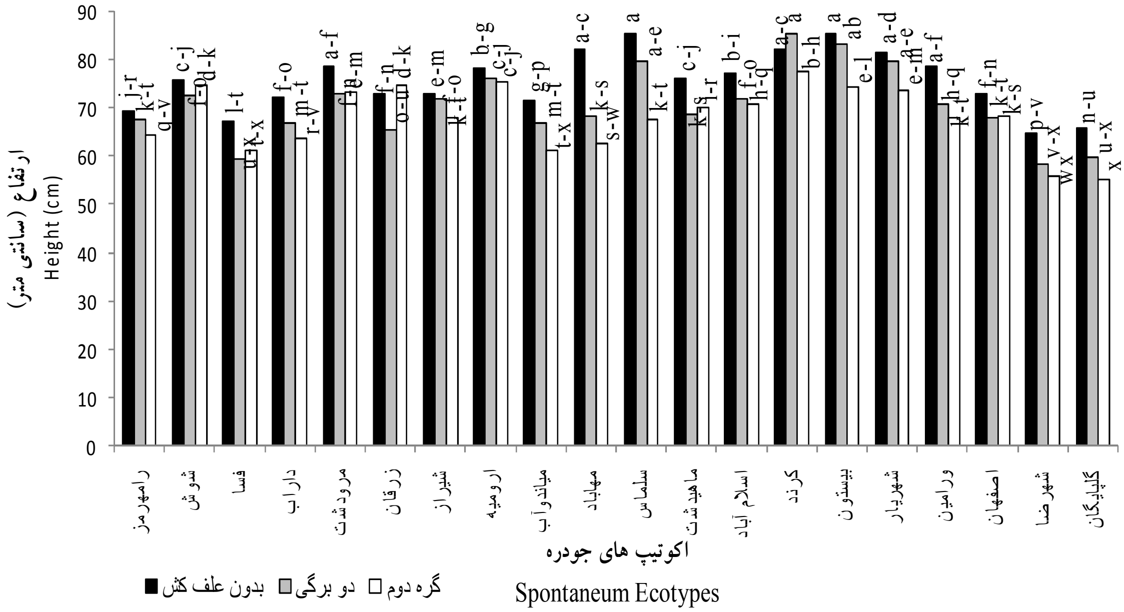
Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($P\leq0.05$)

ارتفاع نهایی

بین تاثیر کاربرد این علف‌کش در مرحله دوبرگی و گره‌دوم ساقه با شاهد اختلاف آماری دیده شد (جدول ۳). بیشترین ارتفاع بوته‌های جودره بین اکوتیپ‌های مورد آزمایش مربوط به مناطق کرند (۸۱/۵۸- سانتی‌متر) و بیستون (۸۰/۹۲ سانتی‌متر) بود. اکوتیپ مهاباد نسبت به سایر اکوتیپ‌ها بیشترین کاهش ارتفاع را بعد از کاربرد علف‌کش در دوبرگی و گره‌دوم ساقه نشان داد (شکل ۴). علف‌کش توتال روی ارتفاع نهایی اکوتیپ‌های مناطق اسلام‌آباد، شوش و رامهرمز تاثیر معنی‌داری نشان نداد. در اکوتیپ‌های مناطق ماهیدشت، فسا و زرقان کاربرد علف‌کش در دوبرگی ارتفاع بوته‌ها را بیشتر از زمان گره دوم کاهش داد. اکوتیپ ورامین با کاربرد علف‌کش در هر دو مرحله رشدی با شاهد اختلاف آماری نشان داد. اکوتیپ‌های سلماس، میاندوآب، داراب، بیستون، شهریار، گلپایگان و شهرضا با کاربرد علف‌کش در مرحله گره‌دوم ساقه نسبت به شاهد اختلاف آماری داشتند. یکی از شاخص‌های مهم و تاثیرگذار در شرایط رقابت علف‌هرز با گیاه زراعی میزان ارتفاع نهایی است که با برتری نوری موجب افزایش کانوپی، سطح‌برگ و ماده خشک شده و شرایط رقابت را بهترمی‌کند. کاربرد علف‌کش در زمان دوبرگی و گره‌دوم ساقه موجب کنترل ارتفاع نهایی جودره نسبت به شاهد شد. بیشترین درصد کاهش ارتفاع جودره در تیمار کاربرد علف کش در مرحله گره دوم بدست آمد به نظر می رسد که کاربرد علف کش در این زمان سبب جذب بیشتر علف کش بدلیل سرعت رشد بالای علف هرز در این مرحله باشد. زیرا اعمال تیمار در مرحله دوبرگی معمولا مصادف با فرا رسیدن فصل سرما در مزرعه است و همین امر سبب کندی فرآیندهای متابولیسمی شده و سبب کاهش کارایی علف کش می‌گردد (۲).

وزن‌تر بوته

با مقایسه میانگین داده‌ها کاربرد علف‌کش در گره‌دوم ساقه بیشتراز مرحله دوبرگی و شاهد بدون علف‌کش روی کاهش وزن‌تر بوته‌ها اثر داشته است و اختلاف آماری نشان می‌دهد (جدول ۳). کاربرد تیمار علف‌کش در دوبرگی نیز با شاهد اختلاف آماری دیده می‌شود. اکوتیپ‌های مناطق رامهرمز (۴۵۲/۱گرم) و فسا (۴۱۷/۹گرم) کمترین میزان وزن‌تر بوته را داشته‌اند. بیشترین میزان وزن‌تر بوته در اکوتیپ‌های مناطق اصفهان (۸۶۱ گرم) و ورامین (۸۳۴/۸ گرم) بود (جدول ۳).



شکل ٤- مقایسه میانگین ارتفاع بوته اکوتیپ‌های جودره پس از کاربرد علف‌کش متسولفورون‌متیل+ سولفوسولفورون

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P\leq0.05$) نمی‌باشند

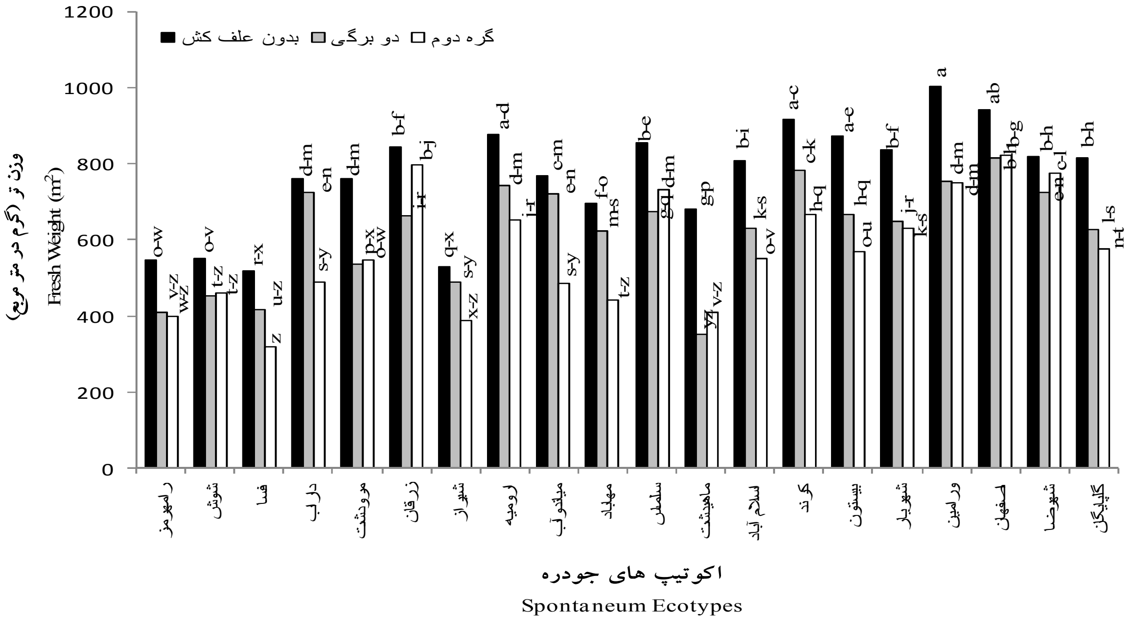
Figure 4- Mean comparison of plant height of spontaneous barley ecotypes after Metsulfuron Metyl+Sulfosulfuron herbicide application

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($P\leq0.05$)

اثر علف‌کش روی اکوتیپ ماهیدشت در دوبرگی و گره‌دوم ساقه باعث کاهش چشمگیر وزن‌تر بوته‌ها نسبت به شاهد بوده است (شکل ۵). تاثیر علف‌کش توتال روی اکوتیپ‌های میاندوآب، ارومیه، فسا، داراب، مهاباد و کرند در گره‌دوم ساقه موثرتر از دوبرگی بود و در اکوتیپ‌های سلماس و زرقان اثر علف‌کش روی اکوتیپ‌ها در مرحله دوبرگی بیشتر دیده می‌شود. اکوتیپ‌های مرودشت، اسلام آباد، بیستون، شهریار، ورامین و گلپایگان کاربرد علف‌کش در هر دو مرحله موجب کاهش وزن‌تر بوته نسبت به شاهد شدند. میزان وزن‌تر بوته و وزن ماده خشک بین اکوتیپ‌های مورد آزمایش نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد (شکل ۵). این اختلاف بعد از کاربرد علف-کش بدلیل کاهش شاخص‌های مورفولوژیکی از جمله ارتفاع نهایی بوته‌ها، کاهش تعداد ساقه، کاهش تعداد بوته درمترمربع و کاهش شاخص سطح‌برگ بود (جدول ۳). با کاهش وزن‌تر بوته‌ها از توانایی بوته‌های جودره در تولیدمثلی کاسته شده و همچنین از فضای کانوپی تولیدی آنها نیز کم می‌شود که هر دو نقش مهمی در کنترل جودره دارند. نتایج یک بررسی نشان داد که استفاده از علف‌کش‌های سولفوسولفورن و متسولفورون‌متیل+ سولفوسولفورن در مرحله دو تا چهاربرگی کارایی بهتری بر روی کنترل اکثر توده‌های علف‌هرز داشت (۷).

ماده خشک بوته

کاربرد این علف‌کش در مرحله گره‌دوم ساقه تاثیر بیشتری در کاهش وزن ماده خشک نسبت به شاهد و مرحله دوبرگی داشت اما در مرحله دوبرگی نیز باعث کاهش معنی‌دار وزن ماده خشک شد (جدول ۳). کمترین تاثیر علف‌کش روی وزن ماده خشک در اکوتیپ مناطق ورامین (۶۷۹/۲ گرم درمترمربع) و اصفهان (۶۷۸/۵ گرم درمترمربع) بود و بیشترین تاثیر نیز در اکوتیپ‌های مناطق شیراز (۳۱۷/۵ گرم درمترمربع) و ماهیدشت(۳۲۰ گرم درمترمربع) بود (جدول ۳). اکوتیپ‌های مناطق کرند، مهاباد، میاندوآب و اصفهان تحت تاثیر کاربرد علف‌کش در مرحله گره‌دوم ساقه نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار آماری نشان دادند و اکوتیپ منطقه سلماس کاربرد علف‌کش در دوبرگی باعث ایجاد اختلاف آماری معنی‌دار نسبت به شاهد شد. اکوتیپ‌های داراب، ارومیه، اسلام‌آباد، بیستون، شهریار، ورامین و گلپایگان در هر دو مرحله کاربرد علف‌کش توتال با کاهش میزان وزن زیست‌توده بوته نسبت به شاهد مواجه شدند (شکل ۶). با تاثیر علف‌کش بر خصوصیات مورفولوژیکی بوته‌ها از میزان قدرت رویشی و توان رشدی آنها کاسته شده و در مجموع موجب کاهش میزان ماده خشک بوته‌ها گردید. در تحقیق دیگری نیز از میان چندین علف‌کش آزمایش شده در گندم هیچ یک موجب کنترل مطلوب جودره نشدند و تنها علف‌کش توتال توانست زیست توده جودره را در مقایسه با شاهد ۶۷ درصد کاهش دهد (۱۱).

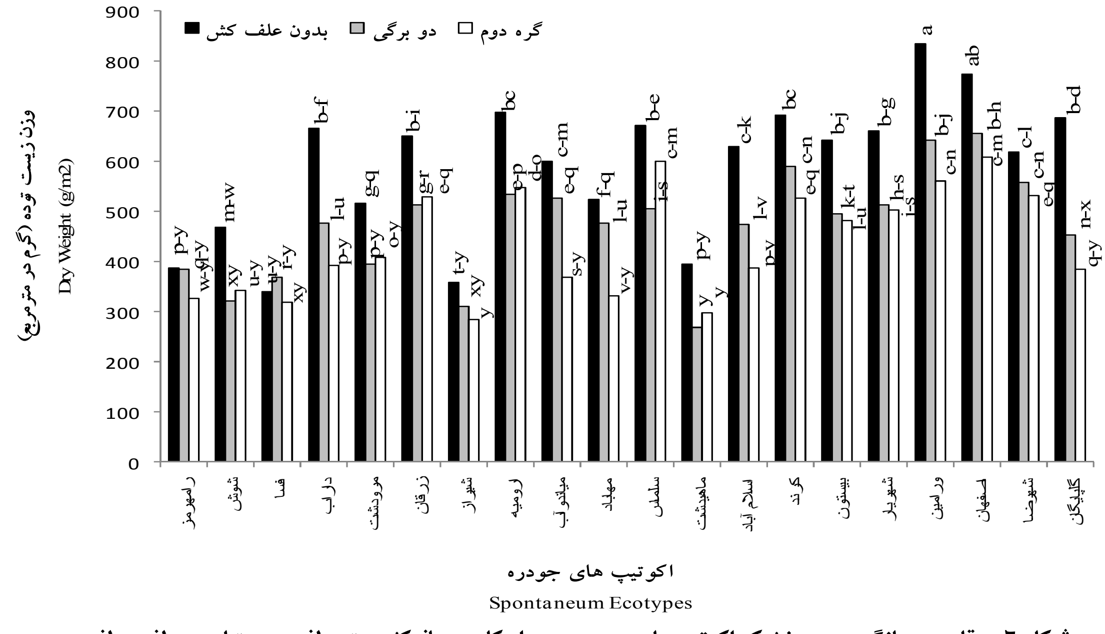


شکل ۵- مقایسه میانگین وزن‌تر بوته اکوتیپ‌های جودره پس از کاربرد علف‌کش متسولفورون‌متیل+سولفوسولفورون

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P≤0.05) نمی‌باشند

Figure 5- Mean comparison of plant fresh weight of spontaneous barley ecotypes after Metsulfuron Metyl+Sulfosulfuron herbicide application

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P≤0.05)



شکل ٦- مقایسه میانگین وزن خشک اکوتیپ‌های جودره پس از کاربرد علف‌کش متسولفورون متیل+ سولفوسولفورون

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P≤0.05) نمی‌باشند

Figure 6- Mean comparison of Dry weight of spontaneous barley ecotypes after Metsulfuron Metyl+Sulfosulfuron herbicide application

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P≤0.05)

خصوصیات تولیدمثلی جودره

تعداد دانه در سنبله

اثرعلف‌کش توتال روی تعداد دانه‌درسنبله در مراحل دوبرگی و گره دوم ساقه جودره اختلاف آماری با هم نشان نداد (جدول ۳). کمترین تاثیر علف‌کش روی تعداد دانه‌درسنبله مربوط به جودره‌های اکوتیپ مناطق ورامین (۱۷/۰۸دانه‌درسنبله)، اصفهان (۱۷/۰۸ دانه‌درسنبله) و شهرضا (۱۷/۱۷ دانه‌درسنبله) و گلپایگان (۳۳/ ۱۶دانه‌درسنبله) بوده است و بیشترین خسارت به تعداد دانه‌درسنبله نیز به اکوتیپ‌های مناطق شوش (۱۴/۰۸ دانه‌درسنبله)، مرودشت (۱۴/۱۷ دانه‌درسنبله) و زرقان (۱۴/۱۷ دانه‌درسنبله) بود (جدول ۳).

جدول ٤- مقایسه میانگین صفات تولیدمثلی جودره پس از کاربرد علف‌کش متسولفورون متیل+سولفوسولفورون

Table 4- Mean comparison of reproductive traits of spontaneous barley ecotypes after Metsulfuron Metyl+Sulfusulfuron herbicide application

شاخص Index	شاهد No herbicide	مرحله گره دوم Second Node	مرحله دوبرگی Two Leaf
وزن تک سنبله(گرم) Spike Weight(g)	0.74 ±0.02 a	0.55 ±0.02 c	0.63 ±0.02* b
تعداد دانه در سنبله Grain per Spike	16.33 ±0.10 a	14.55 ±0.10 b	14.65 ±0.10 b
طول سنبله(سانتیمتر) Spike Length(cm)	10.36 ±0.10 a	8.54 ±0.10 b	8.54 ±0.10 b
وزن هزار دانه (گرم) 1000seed weight(g)	49.92 ±1.40 a	37.73 ±1.10 c	42.78 ±1.40 b

*بیانگر خطای استاندارد می باشد. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P\leq0.05$) نمی‌باشند

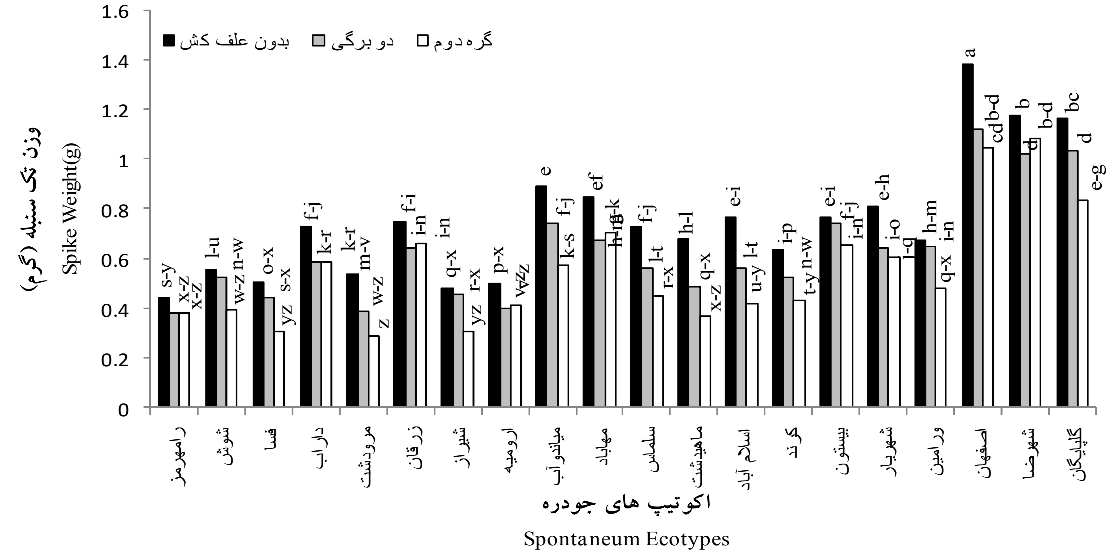
*standard error . Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($P\leq0.05$)

وزن تک سنبله

کاربرد علف‌کش توتال باعث کاهش وزن سنبله جودره نسبت به شاهد شد و کاربرد در مرحله گره‌دوم ساقه تاثیر بیشتری روی وزن سنبله‌ها داشت (جدول ۴). بین اکوتیپ‌های آزمایش اکوتیپ مناطق اصفهان (۱/۱۸۱گرم)و شهرضا (۱/۰۹۳گرم) نسبت به دیگر اکوتیپ‌ها وزن تک‌سنبله کمتر تحت تاثیر علف‌کش قرار گرفت اما اکوتیپ‌های رامهرمز (۰/۴۰۰۴گرم) و مرودشت (۰/۴۰۲۷گرم) وزن تک‌سنبله کمتری داشتند (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای کاربرد علف‌کش روی اکوتیپ‌ها نشان داد که اکوتیپ‌های مناطق شوش، فسا، شیراز، کرند و ورامین تحت تاثیر کاربرد علف‌کش در زمان مرحله گره دوم ساقه نسبت به شاهد وزن تک سنبله کمتری داشته‌اند (شکل ۷). اکوتیپ‌های مناطق اصفهان، ماهیدشت، گلپایگان، اسلام آباد، داراب، مرودشت، میاندوآب، مهاباد، سلماس و شهریار در هر دو مرحله دوبرگی و گره‌دوم ساقه نسبت به شاهد اختلاف آماری نشان دادند. اکوتیپ شهرضا تاثیر علف‌کش توتال در مرحله دوبرگی بیشتر از مرحله گره‌دوم ساقه روی وزن سنبله تاثیر داشته و اختلاف آماری نشان داده است (شکل ۷). بعد از کاربرد علف‌کش بدلیل شرایط نامطلوب رویشی و استرس وارد شده بوته‌ها با حداقل اندوخته به مرحله زایشی رفتند و به این ترتیب بوته‌های ضعیف‌تر نسبت به شاهد با کاهش تعداد ساقه‌های بارده و سطح برگ کمتر، تعداد سنبله، وزن دانه در سنبله و اندازه سنبله‌ها نیز کاهش نشان داد و به این ترتیب از میزان باروری بوته‌ها کاسته شد (۲).

طول سنبله

مقایسه میانگین میزان طول‌سنبله بین تیمارها نشان داد که بین کاربرد علف‌کش در مرحله دوبرگی و گره‌دوم ساقه اختلافی وجود نداشت اما با شاهد اختلاف آماری وجود دارد (جدول ۴). بین۲۰ اکوتیپ مورد آزمایش از نظر صفت طول‌سنبله اکوتیپ‌های مربوط به مناطق شهرضا (۱۱/۱۷ سانتی‌متر)، اصفهان و ورامین (۱۱/۰۸- سانتی‌متر) کمترین تاثیر را نسبت به بقیه در شاخص طول سنبله بعد از کاربرد علف‌کش‌ها داشته‌اند و بیشترین تاثیر روی این صفت مربوط به اکوتیپ‌های مناطق شوش (۸/۰۸۳ سانتی‌متر)، زرقان (۸/۱۶۷ سانتی‌متر) و شیراز (۸/۱۶۷ سانتی‌متر) بوده است (جدول ۴). طول سنبله‌های تولید شده نیز تحت تاثیر علف‌کش کوتاه‌تر شد. اثرات کاربرد علف‌کش روی طول سنبله بعد از کاربرد در هر دو زمان مشاهده می‌شود. در ساقه های بوته های جودره در تیمار با علف کش در صورت بوجود آمدن سنبله نیز سنبله هایی ضعیف و پوک بودند که در بررسی صفاتی چون تعداد دانه در سنبله و وزن سنبله نیز همانند طول سنبله اختلاف آماری مشهودی بین تیمار کاربرد علف کش در مرحله دو برگی و گره دوم مشاهده شد (جدول ۳).

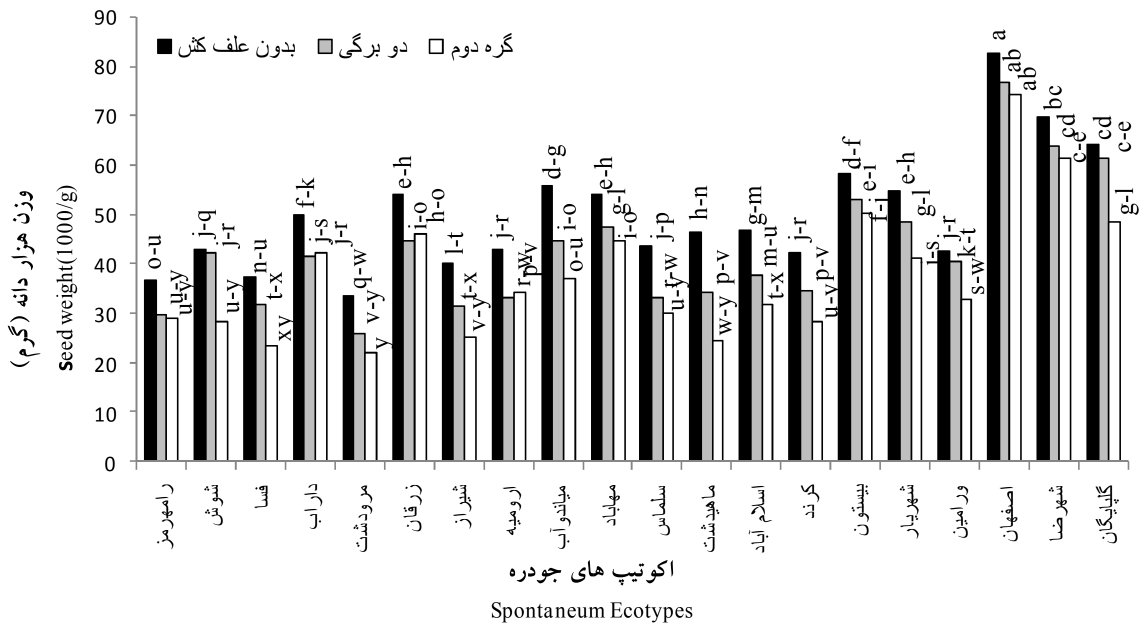


شکل ۷- مقایسه میانگین وزن سنبله اکوتیپ‌های جودره پس از کاربرد علف‌کش متسولفورون‌متیل+سولفوسولفورون

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P≤0.05) نمی‌باشند

Figure 7- Mean comparison of spike weight of spontaneous barley ecotypes after Metsulfuron Metyl+Sulfosulfuron herbicide application

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P≤0.05)



شکل ۸- مقایسه میانگین وزن هزار دانه اکوتیپ‌های جودره پس از کاربرد علف‌کش متسولفورون‌متیل+سولفوسولفورون

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P≤0.05) نمی‌باشند

Figure 8- Mean comparison of 1000 Seeds weight of spontaneous barley ecotypes after Metsulfuron Metyl+Sulfosulfuron herbicide application

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P≤0.05)

وزن هزار دانه

نتایج نشان داد که بین کاربرد علف‌کش توتال در هـر دو مرحلـه رشدی جودره و همچنین بین ۲۰ اکوتیپ آزمایـش شـده از نظـر وزن هزاردانه جودره اختلاف آماری وجود دارد (جدول ۴). مقایسه میـانگین

وزن هزاردانه بین اکوتیپ‌های مختلف جودره مورد آزمایش نشـان داد که اکوتیپ مناطق اصـفهان (۷۷/۹۱ گـرم) و شهرضـا (۶۴/۹۹ گـرم) نسبت به سایر اکوتیپ‌ها کمتر تحت تاثیر علف‌کش قرار گرفته و وزن هزاردانه بیشتری داشتند و اکوتیپ‌های منـاطق فسـا (۳۰/۷۶ گـرم) و رامهرمز (۳۱/۷۶ گرم) کمترین میزان را داشـتند (جـدول ۴). مقایسـه میانگین اثرات متقابل بین میزان وزن هزاردانه اکوتیپ‌ها بعد از کاربرد تیمارهای آزمایش نسبت به شاهد نشان داد که بیشـتر اکوتیـپ‌هـا بـا کاربرد علف‌کش در زمان گره‌دوم ساقه بیشتر با کاهش وزن هزاردانـه مواجه شدند (شکل ۸) بطوری‌که اکوتیپ‌های شوش، فسا، مرودشـت، شیراز، مهاباد، اسلام‌آباد، کرند، شهریار، ورامین و گلپایگان نسـبت بـه شاهد اختلاف آماری نشـان دادنـد و اکوتیـپ ماهیدشـت، سـلماس و میاندوآب در هر دو مرحله دوبرگی و گره‌دوم ساقه بـا شـاهد اخـتلاف نشان دادند. اکوتیـپ زرقـان در مرحلـه دوبرگـی بیشـتر تحـت تـاثیر علف‌کش قرار گرفت و وزن هزاردانه کمتر نسـبت بـه شـاهد داشـت. وجود تعداد کمتر دانه‌درسنبله و وزن کم‌دانه‌ها در توان رویشی جـودره در سال‌های آتی تاثیر می‌گذارد و همچنـین بـا کـاهش انـدازه و وزن دانه‌ها از میزان قدرت جوانه‌زنی آنها کاسته خواهد شد. همـانطور کـه کاربرد علف‌کش توتال باعث کاهش وزن دانه در سنبله شـد بموجـب آن وزن هزاردانـه جـودره نیـز بطـور معنـی‌داری کـاهش نشـان داد. همچنین در پژوهشی دیگر نیز گزارش شد که کاربرد علف‌کش توتال در مرحله چهاربرگی جودره کارایی بالاتری نسبت بـه سولفوسـولفورن در کنترل این علف‌هرز داشت (۴).

جدول ۵ - مقایسه میانگین خصوصیات مورفولوژی و تولیدمثلی اکوتیپ‌های جودره بعد از کاربرد علف‌کش توتال

Table 5- Mean comparison of morphological and reproductive traits of spontaneous barley ecotypes after Metsulfuron Metyl+Sulfusulfuron herbicide application

محل جمع آوری Site	تعداد بوته Plant No	ارتفاع نهایی Final height (Cm)	تعداد ساقه Stem No	شاخص سطح برگ LAI	وزن‌تر بوته Fresh weight (g)	وزن خشک Dry weight (g)	تعداد دانه در سنبله Seed No/spike	وزن تک سنبله Spike weight (g)	وزن هزار دانه 1000seed weight (g)	طول سنبله Spike length (Cm)
Ramhurmoz	f-h 227.5	j 67.17	j 447.5	g-i 0.97	h 453.1	f 366.0	d-f 14.58	j 0.4004	f-h 31.76	c-f 8.58
Shush	gh 227.5	d-g 74.33	ij 470.8	c-f 1.31	h 487.3	ef 377.5	f 14.08	hi 0.4908	e 37.78	f 8.08
Fasa	gh 218.8	k 62.58	g-j 518.1	jk 0.60	h 417.9	f 342.2	c-f 14.75	j 0.4170	gh 30.76	c-f 8.75
Darab	b-d 316.7	ij 67.58	ab 725.8	d-g 1.15	e-g 658.1	cd 511.9	d-f 14.33	ef 0.6326	d 44.58	d-f 8.42
Marvdasht	d-f 275.0	c-f 74.92	cd 654.2	f-h 1.09	fg 615.2	de 440.0	ef 14.17	j 0.4027	h 27.14	ef 8.33
Zarghan	e-g 261.7	g-i 71.00	d-f 635.4	a 1.67	b-d 768.8	bc 564.6	ef 14.17	de 0.6836	d 48.20	f 8.17
Shiraz	h 203.5	g-i 71.00	h-j 493.1	jk 0.66	h 468.3	f 317.5	ef 14.17	j 0.4123	fg 32.20	f 8.17
Uromiyeh	b-d 317.4	c-e 76.67	b-d 662.5	b-d 1.37	b-d 757.3	b 593.0	d-f 14.33	ij 0.4354	ef 36.69	ef 8.33
Minadoab	de 285.4	j 66.50	fg 572.9	hi 0.89	e-g 658.3	cd 498.3	b-d 15.42	d 0.7346	d 45.83	b-d 9.50
Mahabad	d-f 274.3	g-i 70.92	g-j 506.9	ij 0.77	g 586.9	de 444.0	c-f 14.67	d 0.7406	d 48.68	c-f 8.67
Salmas	a-c 335.4	b-d 77.58	a 785.4	b-d 1.37	cd 753.8	b 592.5	bc 15.57	fg 0.5798	e-g 35.56	bc 9.67
Mahidasht	c-e 289.6	f-h 71.67	h-j 489.6	k 0.53	h 481.0	f 320.0	b-d 15.33	h 0.5095	e-g 35.04	b-e 9.33
Islamabad	ab 356.3	e-h 73.25	ab 729.2	c-f 1.23	e-g 664.8	cd 496.7	c-f 14.92	fg 0.5815	e 38.77	c-f 8.83
Kerend	f-h 23.5.4	a 81.58	de 645.8	ab 1.56	a-c 789.2	b 603.1	c-e 15.25	gh 0.5293	e-g 35.08	bc 9.58
Biseton	h 188.9	ab 80.92	g-i 539.8	e-g 1.13	de 702.8	bc 539.9	c-f 15.00	d 0.7190	c 53.76	c-f 9.00
Shahryar	f-h 227.1	a-c 78.33	a-c 720.8	bc 1.42	de 706.7	bc 558.5	c-f 14.92	de 0.6845	d 48.16	c-f 8.92
Varamin	a-c 333.3	f-h 72.50	a 764.6	ab 1.54	ab 834.8	a 679.2	a 17.08	fg 0.6010	e 38.58	a 11.08
Isfehan	a 366.7	h-j 69.67	gh 556.3	a 1.66	a 861.0	a 678.5	a 17.08	a 1.1810	a 77.91	a 11.08
Shahreza	c-e 302.1	k 59.67	g-i 543.8	c-f 1.27	b-d 772.9	bc 568.8	a 17.17	b 1.0930	b 64.99	a 11.17
Golpayegan	a-c 337.9	k 60.25	e-g 579.2	b-e 1.35	ef 67.35	cd 507.9	ab 16.33	c 1.0130	c 58.08	ab 10.17

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P\leq0.05$) نمی‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($P\leq0.05$)

نتیجه‌گیری

نتایج آزمایش نشان داد که در صورت استفاده از علف‌کش توتـال در مراحل دوبرگی و گره‌دوم ساقه جودره ایـن علـف‌هـرز بـا کـاهش خصوصیات مرفولوژیکی و تولیدمثلی مواجه شـد بیشـترین تـاثیر روی خصوصیات مورفولوژیکی در اکوتیپ بیسـتون (تعـداد بوتـه)، اکوتیـپ شیراز (تعداد بوته، سطح‌برگ، وزن‌تر بوتـه، وزن مـاده خشـک، طـول سنبله)، اکوتیپ رامهرمز (تعداد ساقه، وزن‌تر بوته، وزن ماده خشـک)، اکوتیپ ماهیدشت (شاخص‌سطح‌برگ)، اکوتیپ فسا (ارتفـاع، شـاخص سطح‌برگ، وزن‌تر بوته، وزن ماده خشـک، وزن هـزاردانـه، وزن تـک سنبله)، اکوتیپ گلپایگـان (ارتفـاع نهـایی)، اکوتیـپ شهرضـا (ارتفـاع نهایی)، اکوتیپ شوش (تعـداد سـاقه، تعـداد دانـه‌در سـنبله)، اکوتیـپ مرودشت (وزن هزاردانه، وزن تک‌سنبله)، اکوتیپ زرقان (طول‌سـنبله) بود (جدول ۵). عکس‌العمل اکوتیپ‌های مناطق مختلف کشور نسـبت

به این علف‌کش نشان می‌دهد که احتمالاً وجود اختلافات ژنتیکی موجود در میان اکوتیپ‌ها باعث ایجاد شرایط متفاوت کاهشی یا افزایشی در صفات مورد بررسی شده است. با آگاهی از این اختلافات می‌توان راهکارهای مناسبتری نسبت به کنترل این علف‌هرز در مراحل مختلف رشدی گیاه به اجرا در آورد.

منابع

1. Babaei, S. 2014. Genetic variation and different ecotypes response of *Hordeum Spontaneum* K. Koch to sulfosulfuron, Ph.D. Thesis, Weed Science, Tehran University, 164 page.
2. 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.
3. Baghestani, M.A., Zand, E., Minbashi Moeini, 2012. Investigating possibility of augmentation efficacy of Total and Apyrus herbicides using time of application and wheat density. Final report. Iranian Plant Protection Research Institute. 45 Page (in persian)
4. Baghestani, M.A., Zand, E., Minbashi Moeini, M., Atri, A.R. 2007. A review of studies on Control of wild barley in Iran wheat fields. Key Articles in 2th Symposium of Weed Science. Mashhad, Iran, Pages 76-58.(in persian with english abstract)
5. Jamali, M., Jokar, L., Salimi, H., Shakeri M. and Paidar, S. 2008. Study of crop rotation effect on control wild barley (*Hordeum Spontaneum* K. Koch) in Fars wheat fields. Proceedings of the 18th Iranian Plant Protection Congress. Page 67.(in persian)
6. Jamali, m.r. 2013. Exploring the possibility of increasing the efficiency of herbicide metsulfuron methyl + Sulfosulfuron (total) and Sulfosulfuron (Epirus) with the use of additives in control of wild barley and Bromus in wheat fields. Final report. Agriculture and Natural Resources Research Center of Fars province. 27 Page (in persian)
7. Poorali, M.H., Alizadeh H., Oveisi, M., Mousavi s. 2013. Study the model growth of wild barley populations under field conditions. The 5th Conference of weed science. 805-802
8. Poorazar R. 2008. Control of *Hordeum Spontaneum* and wild barley (*Hordeum vulgare* L.) with chemical methods in wheat fields in Khuzestan province. Proceedings of the 18th Iranian Plant Protection Congress. 87 p
9. Singh, S. and Punia, S.S. 2007. Sensivity of barley (*Hordeum vulgare*) to herbicides of different modes of action. Indian Journal of Weed Science. 39: 205-210
10. Zand E., Baghestani M.A., Soufizadeh, S., Eskandari, A., PourAzar, R., Veisi, M., Mousavi, K. and Barjasteh, A. 2007. Evaluation of some newly registered herbicides for weed control in wheat (*Triticum aestivum* L.) in Iran. Crop Protection. 26: 1349-1358.
11. Zand, E., Baghestani, M.A., Bitarafan, M. and Shimi, P. 2007. Manual of registered herbicides in Iran with management approach on weed resistance to herbicides. Press Mashhad University Jihad. 66 pages

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 385-398

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۳۹۸-۳۸۵

دوره پس‌رسی بذر و الگوی رویش علف‌های هرز گندم وحشی (*Triticum boeoticum* Boiss) و جودره (*Hordeum spontaneum* C. Koch) در شرایط دیم لرستان

سیدکریم موسوی[1*]- علی قنبری[2]- رضا قربانی[3]- محمدعلی باغستانی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۰

چکیده

وضعیت خفتگی بذر و دوره پس‌رسی و الگوی رویش علف‌های هرز کشیده‌برگ گندم وحشی و جودره در شرایط دیم لرستان مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که پوشینه بذر (لما و پالئا) به صورت مانع جدی برای جوانه‌زنی عمل می‌کند. در مورد گندم وحشی، تا ۱۳۰ روز پس از برداشت، برای بذور پوشینه‌دار صرف نظر از تیمار شرایط نگهداری اصلاً جوانه‌زنی اتفاق نیفتاد. در مورد بذور جودره نیز وجود پوشینه بذر تا ۱۴۰ روز پس از برداشت به صورت مانع جدی جوانه‌زنی عمل کرد. در مورد بذور پوشینه‌دار جودره تا دو ماه پس از برداشت اصلاً جوانه‌زنی اتفاق نیفتاد، بعد از گذشت حدود سه ماه جوانه‌زنی کمتر از ۱۰ درصد بود، در حالی که بعد از ۱۴۰ روز میزان جوانه‌زنی برای بذور پوشینه‌دار نگهداری شده در معرض تابش آفتاب و نگهداری شده در اتاق به ترتیب به ۸۷ و ۳۷ درصد رسید. نتایج این پژوهش گویای وجود خفتگی فیزیولوژیکی علاوه بر خفتگی ناشی از اثرات پوسته بذر و ضرورت طی دوره پس‌رسی طی فصل تابستان برای بذور گندم وحشی و جودره در شرایط دیم است. در مورد هر دو علف هرز کشیده‌برگ گندم وحشی و جودره، سرعت رویش در کشت پاییزه به طور چشمگیری بیشتر از سرعت رویش در کشت‌های زمستانه و بهاره بود. در صورت فراهمی رطوبت کافی در خاک، فرصت زمانی مورد نیاز برای نیل به ۵۰ درصد رویش قابل تحقق بذور علف‌های هرز کشیده‌برگ گندم وحشی و جودره در هر یک از فصول پاییز، زمستان و بهار به ترتیب ۹، ۱۸ و ۳ روز به ترتیب معادل ۱۳۸، ۷۷ و ۹۲ درجه روز تجمعی برآورد شد.

واژه‌های کلیدی: پوسته بذر، جوانه‌زنی، خفتگی بذر، علف‌های هرز کشیده‌برگ

مقدمه

چندین عامل زیستی و زراعی در گسترش تهاجمی علف‌های‌هرز کشیده برگ در سطح مزارع گندم دیم منطقه زاگرس مؤثر هستند، که از جمله آنها می‌توان به شباهت نیازهای رشدی علف‌های هرز خانواده گندمیان و غلات و از سوی دیگر گرایش به نظام تک‌کشتی به دلیل مسائل اقتصادی و محدودیت تنوع کشت در تناوب زراعی اشاره کرد. علف‌های‌هرز کشیده برگ دارای چرخه‌های زندگی شبیه گندم زمستانه هستند که این امر کنترل شیمیایی انتخابی آن‌ها را بسیار دشوار می‌سازد (۳۶). گرایش به تک‌کشتی غلات و بهره‌گیری از روش‌های کشاورزی حفاظتی از قبیل کشت مستقیم از جمله عوامل غالبیت علف هرز کشیده‌برگ علف‌پشمکی (*Bromus diandrus*) در کشت غلات در اسپانیا برشمرده شده است (۱۷).

نگرانی‌های مربوط به کاربرد علف‌کش‌ها و لزوم حرکت به سوی روش‌های پایدار تولید محصولات کشاورزی سبب توجه روزافزون به راهبردهای مدیریت تلفیقی مبتنی بر راهکارهای بیولوژیکی، فیزیکی و زراعی شده است (۸). پر واضح است که نیل به نظام مؤثر مدیریت تلفیقی علف‌های‌هرز نیازمند درک جامع زیست‌شناسی و بوم‌شناسی علف‌های‌هرز است (۳۱). از این رو، توانایی پیش‌بینی الگوهای رویش علف‌های‌هرز برای مدیریت صحیح و به‌هنگام علف‌های هرز اهمیت پیدا کرده است.

سی‌سی و وان‌آکر (۱۱) دریافتند که اکثر گونه‌های علف‌هرز یک‌ساله زمستانه در کشور کانادا به صورت یک‌ساله زمستانه اختیاری رفتار می‌کنند؛ که بیانگر نقش زمستان‌های سخت در گزینش گونه‌ها یا ژنوتیپ‌های قادر به جوانه‌زنی طی پاییز و بهار است. علف‌های هرز یک‌ساله زمستانه مطلق طی اواخر پاییز متعاقب رویش اکثر دانه‌رست‌ها قابل مدیریت هستند. در مورد علف‌های هرز یک‌ساله زمستانه اختیاری راهبردهای مدیریتی می‌بایست طی اوایل بهار اتخاذ شوند (۳۴).

استقرار دانه‌رست متعاقب جوانه‌زنی بذر فرآیند کاملاً مخاطره‌آمیزی در چرخه زندگی گیاهان است. در واقع مرحله دانه‌رستی حساس‌ترین مرحله چرخه زندگی علف‌های‌هرز است که در برنامه‌های مدیریتی می‌تواند مورد هدف اقدامات کنترلی واقع شود

۱- استادیار بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، خرم‌آباد ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: skmousavi@gmail.com)
۲ و ۳- دانشیار و استاد دانشگاه فردوسی مشهد
۴- استاد موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور

DOI: 10.22067/jpp.v32i2.61452

(۳). از این رو پیش‌بینی زمان رویش علف‌های هرز از بانک بذر در برنامه‌ریزی برای زمان‌بندی عملیات مدیریت علف‌های هرز از اهمیت بسزایی برخوردار است. بر این اساس عنوان شده است که حداکثر کارایی کنترلی ادوات دندانه‌ای چرخان زمانی محقق می‌شود که علف‌های هرز جوانه زده ولی ریشه‌ها هنوز مستقر نشده باشند (۱۳).

بذور غلات همانند بسیاری دیگر از گونه‌های گیاهی طی دوره زمانی پس از برداشت با سطوحی از خفتگی بذر مواجه هستند (۷)، البته خفتگی بذر در غلات بندرت مطلق و در اغلب موارد پدیده‌ای نسبی است، هرچند در چنین شرایطی جوانه‌زنی بذور خفته در دامنه محدودی از شرایط محیطی اتفاق می‌افتد (۲۹). در مورد غلات مناطق معتدله، خفتگی بذر بر اثر دماهای نسبتاً بالا، معمولاً بالای ۲۰–۱۵ درجه سانتی‌گراد، حادث می‌شود (۵).

پس‌رسی[1]، از جمله راهبردهای مهم بقای جودره تحت الگوی بارندگی محدود پیش‌بینی‌ناپذیر در نواحی خشک فلسطین اشغالی قلمداد شده است (۱۵ و ۱۸). این خفتگی اولیه مانع جوانه‌زنی گندمه‌های بالغ متعاقب بارش دیرهنگام در آغاز تابستان خشک طولانی می‌شود (۱۹). خفتگی اولیه بذور جودره در شرایطی که دانه در درون پوشینه‌ها واقع است اتفاق می‌افتد. ساختار پوششی گندمه‌ها مشتمل بر پوسته بذر و پریکارپ ممکن است سبب محدودیت عرضه اکسیژن برای جنین دانه شود (۲۹) و بدین ترتیب مانع جوانه‌زنی شود. گندمه‌ها طی فصل بارانی متعاقب خفتگی تابستانه آماده جوانه‌زنی هستند (۱۰).

بذور یک‌ساله‌های زمستانه در بهار در حالت خفته هستند، طی فصل تابستان خفتگی خود را از دست می‌دهند و در فصل زمستان مجدداً خفتگی خود را باز می‌یابند. وجود سطح بالای خفتگی ذاتی اولیه پس از ریزش بذر متضمن عدم جوانه‌زنی بذور در هر دمایی است. با تداوم زمانی پس از ریزش بذر و رهایی جمعیت از خفتگی اولیه، دامنه دمایی میسر برای جوانه‌زنی گسترش می‌یابد. در مورد یک‌ساله‌های تابستانه این گسترش دامنه دمایی از طریق کاهش تدریجی حداقل دما برای جوانه‌زنی و در مورد یک‌ساله‌های زمستانه از طریق افزایش تدریجی حداکثر دما برای جوانه‌زنی تحقق می‌یابد. القای مجدد خفتگی با افزایش حداقل دمای جوانه‌زنی برای یک‌ساله‌های تابستانه و کاهش حداکثر دمای جوانه‌زنی برای یک‌ساله‌های زمستانه سبب محدود شدن دامنه مجاز دمایی برای جوانه‌زنی می‌شود (۶).

گندم‌وحشی‌یونانی (*Triticum boeoticum* Boiss) در برخی نواحی استان لرستان از جمله مناطق گریت و چغلوندی شهرستان خرم‌آباد و شهرستان‌های سلسله و دلفان به عنوان گونه‌ای مهاجم در مزارع گندم شناسایی شده است (مشاهدات مزرعه‌ای نویسنده).

1- After-ripening

جمعیت‌هایی از این گیاه در خاورمیانه به خصوص در فلات آناتولی، شمال غرب ایران، عراق و تا یونان و صربستان و لبنان پراکنده است (۲۷). با توجه به قرابت این علف هرز و گندم، کنترل انتخابی شیمیایی این علف هرز در مزارع گندم با استفاده از علف‌کش‌های موجود دور از ذهن به نظر می‌رسد.

جودره (*Hordeum spontaneum* C. Koch) از کشیده‌برگ‌های مشکل‌ساز شایع مزارع گندم به شمار می‌رود (۲۳). این علف‌هرز ارتباط ژنتیکی بسیار نزدیکی با جو زراعی (*Hordeum vulgare*) دارد و جد جو زراعی شناخته می‌شود و منشا آن مناطق مدیترانه و ایران تورانی است (۳۷). مناطق انتشار این گونه یونان، مصر، جنوب غربی آسیا به طرف شرق، ایران، افغانستان، غرب پاکستان و جنوب تاجیکستان گزارش شده است (۲۲). تاکنون سه علفکش بنزوییل‌پروپاتیل، سولفوسولفورون و مخلوط متسولفورون‌متیل+سولفوسولفورون به عنوان سموم امیدبخش برای کنترل علف هرز جودره مطرح شده‌اند که البته هیچ‌کدام قادر به کنترل کامل این علف‌هرز نیستند (۲).

آگاهی از نیازهای جوانه‌زنی و الگوی رویش علف‌های‌هرز در موفقیت اقدامات کنترلی از اهمیت بسزایی برخوردار است. ضرورت دوره پس‌رسی بذر و تعیین الگوی رویش علف‌های‌هرز گندم‌وحشی و جودره طی فصول مختلف سال در شرایط دیم لرستان از جمله اهداف این پژوهش بوده است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری بذر: سنبله‌های علف‌های هرز کشیده‌برگ گندم وحشی و جودره در مرحله رسیدگی کامل به فاصله کوتاهی پیش از ریزش طبیعی طی اواخر خرداد و اوایل تیرماه از سطح گندم‌زارهای دیم آلوده به این علف‌های هرز در منطقه گریت واقع در جنوب شرقی شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری شدند. بذر علف‌هرز جودره با میانگین وزن هزار دانه ۲۷/۹۴ گرم در دهه آخر خرداد ۱۳۹۲ از سطح مزارع گندم دیم منطقه گریت شهرستان خرم‌آباد با مختصات جغرافیایی "۵۹٫۶ '۲۱ °۳۳ شمالی، "۵۷٫۵ '۴۰ °۴۸ شرقی با ارتفاع ۱۸۸۰ متر از سطح دریا و بذر علف‌هرز گندم وحشی با میانگین وزن هزار دانه ۱۲٫۷۶ گرم نیز در دهه آخر تیر ۱۳۹۲ از سطح مزارع گندم دیم همان منطقه با مختصات جغرافیایی"۴۸٫۷ '۲۰ °۳۳ شمالی، "۳۸٫۶ '۴۱ °۴۸ شرقی با ارتفاع ۱۸۶۰ متر از سطح دریا جمع‌آوری و تا شروع آزمایش در پاکت‌های کاغذی در شرایط اتاق نگهداری شدند. حذف پوشینه بذور شامل جداسازی دانه از پوشینه‌ها و پوشینک‌ها به‌صورت دستی انجام شد. بذر گندم دیم رقم کریم با وزن هزار دانه ۵۲/۸۵ گرم در آزمایش مورد استفاده قرار گرفت.

پروتکل جوانه‌زنی: پس از ضدعفونی سطحی ۲۵ بذر روی

یک لایه کاغذ صافی درون پتری‌دیش‌های با قطر ۹ سانتی‌متر قرار داده می‌شد. برای ضدعفونی سطحی، بذور به مدت ۵ دقیقه در محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم قرار داده می‌شدند و پس از آن در سه مرحله با آب مقطر شسته می‌شدند. برای تامین رطوبت مورد نیاز برای جوانه‌زنی به هر پتری‌دیش ۵ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده می‌شد. پتری‌دیش‌ها در انکوباتور با دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار داده می‌شد. شمارش بذور جوانه‌زده به صورت روزانه صورت می‌گرفت. خروج ریشه‌چه و رسیدن طول آن به حد یک میلی‌متر معیار جوانه‌زنی محسوب می‌شد. خاتمه هر آزمایش توقف جوانه‌زنی به مدت سه روز پیاپی بود. همه آزمایش‌ها با سه تکرار اجرا شد.

بررسی دوره پس‌رسی بذر: وضعیت خفتگی بذر و ضرورت طی دوره پس‌رسی برای بذور گندم وحشی و جودره به طور جداگانه به صورت اسپلیت-فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. مدت زمان پس از برداشت (در پنج سطح) به کرت اصلی و فاکتوریل دو عامل شرایط نگهداری (در سه سطح) و وضعیت پوسته بذر (پوشینه‌دار و فاقد پوشینه) به کرت فرعی اختصاص داده شد. به فواصل زمانی ۱، ۷، ۱۸، ۳۳ و ۱۳۰ روز پس از برداشت بذور گندم وحشی و در مورد جودره در فواصل زمانی ۴، ۱۴، ۲۵، ۴۰ و ۱۴۰ روز پس از برداشت بذور با رسیدگی کامل، قابلیت جوانه‌زنی بذور نگهداری شده در سه شرایط (۱) محیط باز در معرض تابش آفتاب، (۲) درون پاکت‌های کاغذی در دمای اتاق و (۳) شرایط یخبندان (بذور قرار داده شده لای دستمال کاغذی مرطوب در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد زیر صفر) مورد مطالعه قرار گرفت. در هر مرحله جوانه‌زنی گندمه‌های پوشینه‌دار و فاقد پوشینه مورد مقایسه قرار گرفت. حذف پوشینه بذور بسته به تیمار آزمایش، به صورت دستی پیش از آزمایش جوانه‌زنی انجام می‌شد.

الگوی رویش طی فصول مختلف: الگوی رویش علف‌های هرز گندم وحشی و جودره در سه مرحله طی فصول پاییز، زمستان و بهار به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار مورد مطالعه قرار گرفت. فصل کاشت در سه سطح پاییز، زمستان و بهار به کرت‌های اصلی و نوع بذر در پنج سطح بذور پوشینه‌دار و فاقد پوشینه گندم وحشی، جودره و گندم زراعی به کرت‌های فرعی اختصاص داده شد. کاشت بذور برای کشت‌های پاییزه، زمستانه و بهاره به ترتیب در تاریخ‌های چهارم آبان، سوم دی ۱۳۹۲ و سوم فروردین ۱۳۹۳ صورت گرفت. در هر فصل، تعداد ۱۰۰ بذر در عمق ۵ سانتی‌متر در سطح کرت‌های کوچک با فاصله بذور ۵ سانتی‌متر با آرایش مربعی کاشته شد. با سرکشی‌های مرتب، دانه‌رست‌های رویش یافته شمارش می‌شد. در پایان فصل زراعی تعداد سنبله در هر کرت آزمایش نیز شمارش شد. از برازش معادلات سه پارامتره گمپرتز (معادله ۱) برای تبیین روند جوانه‌زنی و رویش علف‌های هرز بهره گرفته شد.

$$Y = a \times \exp^{-\exp^{-\left(\frac{x-x_0}{b}\right)}}$$ معادله (۱)

که در آن پارامترهای a، b و x_0 به ترتیب بیانگر حداکثر جوانه‌زنی یا رویش، شیب خط و زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی یا رویش است.

سرعت جوانه‌زنی و رویش بذر نیز با مشتق‌گیری از معادله برازش داده شده به روند جوانه‌زنی یا رویش محاسبه شد (معادله ۲). برای مقایسه سرعت جوانه‌زنی و رویش، نقطه پیک منحنی مشتق (حداکثر سرعت) مبنای عمل قرار گرفت.

$$f'(x) = a \times exp^{-exp^{\frac{x-x_0}{b}} - \frac{x-x_0}{b}}$$ معادله (۲)

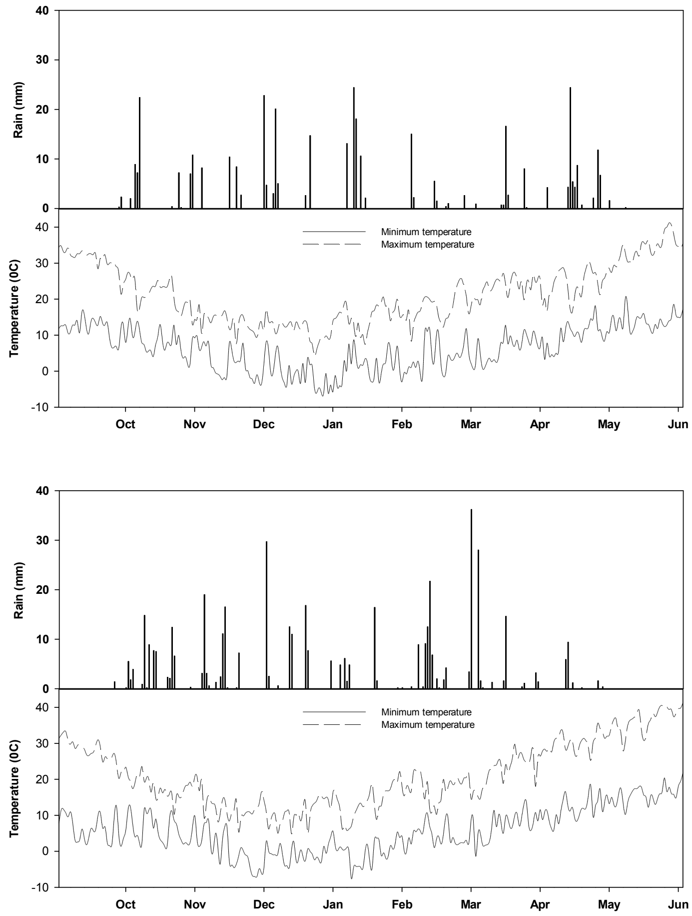
آزمایش رویش گلدانی: روند رویش بذور علف‌های هرز گندم وحشی و جودره طی ۱۲ مرحله با فواصل حدوداً دو هفتگی از اواخر آبان تا اواسط اردیبهشت سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی باغ ملی خرم‌آباد مورد بررسی قرار گرفت. تاریخ کاشت برای دوازده مرحله یاد شده به ترتیب ۲۴ آبان، ۱۷ آذر، ۴ و ۱۵ دی، ۳ و ۲۱ بهمن، ۱ و ۲۲ اسفند، ۳ و ۱۷ فروردین، ۴ و ۱۹ اردیبهشت سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ بود. آزمایش بررسی وضعیت رویش در هر مرحله در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار اجرا شد. در هر مرحله بذور پوشینه‌دار علف‌های هرز گندم وحشی و جودره و همچنین گندم زراعی دیم رقم کریم به تعداد ۱۵ بذر برای هر یک از گونه‌ها در گلدان‌های کوچک کاشته می‌شد. گلدان‌ها در فضای باز قرار داده شده و آبیاری به منظور تامین رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی صورت می‌گرفت. با سرکشی روزانه دانه‌رست‌های رویش یافته شمارش می‌شد. ظهور کلئوپتیل نشانه رویش قلمداد می‌شد. از برازش معادلات سه پارامتری گامپرتز (معادله ۱) برای تبیین روند رویش علف‌های هرز بهره گرفته شد. بیشینه سرعت جوانه‌زنی و رویش نیز با مشتق‌گیری از معادلات مربوطه برآورد شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Mstatc و Sigmaplot صورت گرفت.

حداقل دما، حداکثر دما و میزان بارش روزانه ایستگاه هواشناسی سینوپتیک خرم‌آباد طی سال‌های زراعی ۹۲-۱۳۹۱ و ۹۳-۱۳۹۲ در شکل ۱ نشان داده شده است. مجموع بارش طی سال زراعی یاد شده برابر ۴۴۲/۹ میلی‌متر بود.

نتایج و بحث

دوره پس‌رسی بذر: قابلیت جوانه‌زنی بذور گندم وحشی و جودره به طور کاملاً معنی‌داری تحت تاثیر اثرمتقابل سه گانه طول دوره زمانی پس از برداشت، شرایط نگهداری و وضعیت پوسته بذر

قرار گرفت (جدول ۱). پوشینه بذر به صورت مانع جدی برای جوانه‌زنی عمل کرد. در مورد گندم وحشی، تا ۱۳۰ روز پس از برداشت، برای بذور پوشینه‌دار صرف نظر از تیمار شرایط نگهداری اصلاً جوانه‌زنی اتفاق نیفتاد. بعد از گذشت ۱۳۰ روز از برداشت، برای بذور قرار گرفته در معرض تابش خورشید جوانه‌زنی محدودی (۱۰ درصد) روی داد (شکل ۲). عمل بازدارندگی پوسته بذر ممکن است به مقاومت مکانیکی یا ترکیبات شیمیایی بازدارنده جوانه‌زنی موجود در پوسته بذر مربوط باشد. حذف پوشینه بذر تأثیر کاملاً معنی‌داری بر جوانه‌زنی داشت (شکل ۲). در مورد بذور قرار گرفته در معرض نور خورشید و بذور نگهداری شده در شرایط اتاق با گذشت زمان و در شرایط حذف پوشینه بذر، قابلیت جوانه‌زنی به تدریج افزایش یافت. بعد از گذشت حدود چهار ماه، قابلیت جوانه‌زنی بذور گندم وحشی قرار گرفته در معرض نور خورشید و نگهداری شده در شرایط اتاق به ترتیب به میزان ۱۲۴/۶ درصد و ۴۶/۶ درصد در مقایسه با زمان برداشت افزایش یافت. از سوی دیگر نگهداری بذور در شرایط انجماد به تدریج سبب کاهش قابلیت جوانه‌زنی بذور گندم وحشی شد، به طوری که بعد از گذشت حدود چهار ماه قابلیت جوانه‌زنی بذور به میزان ۵۸/۹ درصد کاهش یافت. بعد از گذشت چهار ماه از برداشت بذور گندم وحشی، قابلیت جوانه‌زنی بذور نگهداری شده در معرض نور خورشید و در شرایط اتاق به طور متوسط ۴/۸ برابر توانایی بذور نگهداری شده در شرایط انجماد بود (شکل ۲). مقایسه متناظر گویای کاهش ۹۰/۹ درصد سرعت جوانه‌زنی بذور بود (جدول ۲). این موضوع گویای ضرورت دوره پس‌رسی برای رفع اثرات خفتگی بذر است.



شکل ۱- حداقل و حداکثر دما و میزان بارش روزانه ایستگاه سینوپتیک خرم‌آباد در سال‌های زراعی ۹۲-۱۳۹۱ (بالا) و ۹۳-۱۳۹۲ (پایین) از دهم مهرماه

Figure 1- The daily minimum and maximum temperatures and rainfall of Khorramabad station in the the growing seasons of 2012-2012, and 2013-2014

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس داده‌های تاثیر طول دوره زمانی پس از برداشت، شرایط نگهداری و وضعیت پوسته بذر بر جوانه‌زنی گندم وحشی و جودره

Table 1- Analysis of variance of the effects of post-harvest period, storage conditions and the status of seed coat on wild wheat and wild barley germination

Source منابع تغییرات	df درجه آزادی	MS میانگین مربعات Wild wheat[1] گندم وحشی	 Wild barley[1] جودره
Replication تکرار	2	0.001 ^{ns}	0.002 ^{ns}
طول دوره زمانی پس از برداشت Duration	4	0.508 **	2.383 **
Error خطا	8	0.014	0.056
Storage condition شرایط نگهداری	2	0.832 **	3.602 **
اثرمتقابل طول دوره زمانی پس از برداشت × شرایط نگهداری Duration×Storage condition	8	0.528 **	1.859 **
Seed coat وضعیت پوسته بذر	1	130.3 **	105.3 **
Duration×Seed coat اثرمتقابل طول دوره زمانی پس از برداشت × وضعیت پوسته بذر	4	0.236 **	4.202 **
Storage condition×Seed coat اثرمتقابل شرایط نگهداری×وضعیت پوسته بذر	2	0.837 **	0.043 ^{ns}
Duration×Storage condition×Seed coat اثرمتقابل سه گانه	8	0.246 **	0.157 **
Error خطا	50	0.016 **	0.048
CV٪ ضریب تغییرات (درصد)		9.55	15.1

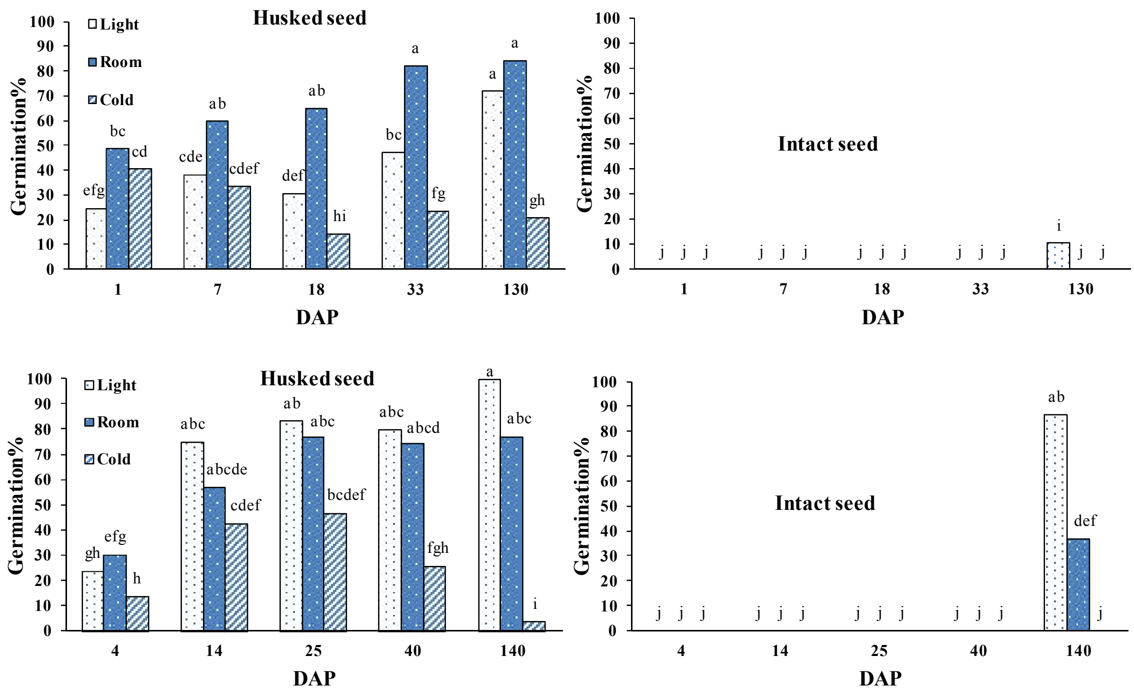
[1] The inverse hyperbolic sin (ASINH) of data were analyzed

^{ns}, and ** indicate non significant and significant differences at 1% respectively

همچنین پوشینه بذر جودره تا ۱۴۰ روز پس از برداشت به صورت مانع جدی جوانه‌زنی عمل کرد. در مورد بذور پوشینه‌دار جودره تا دو ماه پس از برداشت اصلاً جوانه‌زنی اتفاق نیفتاد، بعد از گذشت حدود سه ماه جوانه‌زنی کمتر از ۱۰ درصد بود، در حالی که بعد از ۱۴۰ روز میزان جوانه‌زنی برای بذور پوشینه‌دار نگهداری شده در معرض تابش آفتاب و نگهداری شده در اتاق به ترتیب به ۸۷ و ۳۷ درصد رسید (شکل ۲).

تداوم حضور بذور در معرض نور خورشید و در شرایط اتاق سبب افزایش تدریجی قابلیت جوانه‌زنی بذور جودره در شرایط حذف پوشینه بذر پیش از آزمایش جوانه‌زنی شد. قابلیت جوانه‌زنی بذور جودره قرار گرفته در معرض نور خورشید و در شرایط اتاق طی دوره پس‌رسی ۴/۵ ماهه در مقایسه با وضعیت ابتدای دوره نگهداری به ترتیب ۳/۴ و ۱/۳ برابر شد. این در حالی بود که قابلیت جوانه‌زنی بذور علف هرز جودره قرار گرفته در شرایط انجماد ابتدا افزایش و در نهایت بعد از گذشت حدود ۴/۵ ماه به شدت کاهش و به صفر رسید (شکل ۲). سرعت جوانه‌زنی بذور جودره قرار گرفته در معرض نور خورشید و نگهداری شده در شرایط اتاق با گذشت زمان طی دوره پس‌رسی به شدت افزایش یافت، به طوری که بعد از گذشت حدود ۴/۵ ماه از برداشت بذور، سرعت جوانه‌زنی برای بذور قرار داده شده در معرض تابش آفتاب و نگهداری شده در شرایط اتاق به ترتیب ۵۶ و ۶۱ برابر شد (جدول ۳).

نتایج این پژوهش گویای وجود خفتگی فیزیولوژیکی علاوه بر خفتگی ناشی از اثرات پوسته بذر و ضرورت طی دوره پس‌رسی طی فصل تابستان برای بذور گندم وحشی و جودره در شرایط دیم است. گوترمن و نیو (۲۰) نیز خفتگی بذور جودره در زمان برداشت را گزارش دادند، که شدت خفتگی بذر به شرایط نمو بذر وابسته بوده و به تدریج طی فصل تابستان تقلیل می‌یابد، به طوری که اکثر بذور به هنگام بارش‌های زمستانی مستعد جوانه‌زنی می‌شوند. گوترمن و همکاران (۱۹) گزارش دادند که بذور تازه برداشت شده جودره *H. spontaneum* حتی پس از دوره طولانی آماس در دمای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی و روشنایی قادر به جوانه‌زنی نبودند. این خفتگی بذر به اثرات بازدارنده ساختارهای پوششی بذر مربوط دانسته شده زیرا در بررسی این محققان جنین ایزوله شده قادر به جوانه‌زنی بود. شکست خفتگی یا به عبارتی پس‌رسی بذور جودره طی دوره نگهداری در شرایط خشک در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد یا در شرایط محیط طبیعی طی تابستان و از سوی دیگر حفظ شرایط خفتگی بر اثر نگهداری بذور در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد زیر صفر گزارش شده است (۱۹). گوترمن و همکاران (۱۹) عدم جوانه‌زنی بذور تازه برداشت شده جودره را به پوشینه بذر و همچنین پوسته، پریکارپ و آندوسپرم بذر مربوط دانستند، زیرا با حذف آنها جوانه‌زنی میسر می‌شود.



شکل ۲- اثرمتقابل سه گانه طول دوره زمانی پس از برداشت، شرایط نگهداری و وضعیت پوسته بذر بر جوانه‌زنی بذور گندم وحشی (بالا) و جودره (پایین). وجود حداقل یک حرف مشابه گویای عدم اختلاف معنی‌دار براساس آزمون مقایسه میانگین LSD در سطح ۵ درصد است (آنالیز داده‌ها برای دو علف هرز به طور جداگانه صورت گرفته است)

Figure 2- Triple interaction of post harvest period, storage conditions and the status of the seed coat on seed germination of wild wheat (top) and wild barley (down). Similar letters indicate not significant differences base on the LSD at 5% (data analysis was done for two weeds separately)

جدول ۲- پارامترهای معادلات برازش داده شده به روند جوانه‌زنی بذور گندم وحشی نگهداری شده طی دوره پس از برداشت در شرایط مختلف

Table 2- Parameters of gompertz models fitted to the germination response of wild wheat at different times after ripening

Situation شرایط نگهداری	Duration (day) مدت (روز)	a	b	X_0	r^2	P value سطح احتمال	Germination rate سرعت جوانه‌زنی
Light	1	31.48 (2.79)	7.20 (0.86)	15.46 (0.78)	0.99	<0.0001	1.61
در معرض خورشید	7	38.93 (10.95)	8.15 (2.19)	24.30 (2.54)	0.96	<0.0001	1.76
	18	45.68 (8.21)	8.57 (1.87)	9.62 (1.81)	0.97	<0.0001	1.96
	33	45.37 (0.72)	6.92 (0.39)	6.92 (0.25)	0.99	<0.0001	2.41
	53	57.70 (2.03)	7.23 (0.77)	5.24 (0.44)	0.96	<0.0001	2.93
	88	68.14 (1.85)	1.44 (0.23)	1.93 (0.16)	0.96	<0.0001	17.36
	130	70.71 (0.72)	0.46 (0.04)	0.61 (0.03)	0.99	<0.0001	56.14
Room	1	57.43 (20.01)	15.69 (5.91)	12.66 (6.04)	0.90	<0.0001	1.35
اتاق	7	51.87 (1.28)	1.88 (0.42)	1.58 (0.33)	0.83	<0.0001	10.15
	18	63.06 (0.54)	0.78 (0.07)	0.78 (0.06)	0.98	<0.0001	29.84
	33	73.78 (1.07)	0.93 (0.19)	0.79 (0.15)	0.86	<0.0001	29.31
	53	79.86 (0.38)	0.53 (0.04)	0.70 (0.03)	0.99	<0.0001	55.32
	88	86.14 (0.68)	0.22 (0.02)	1.93 (0.16)	0.99	<0.0001	142.74
	130	84.18 (0.89)	0.46 (0.04)	0.65 (0.03)	0.99	<0.0001	67.23
Cold	1	43.71 (3.52)	9.00 (1.45)	6.62 (0.93)	0.96	<0.0001	1.79
انجماد	7	31.70 (1.98)	7.87 (1.44)	5.80 (0.80)	0.91	<0.0001	1.48
	18	21.52 (5.05)	9.82 (2.47)	10.59 (2.61)	0.96	<0.0001	0.81
	33	29.42 (1.38)	11.51 (0.84)	16.05 (0.69)	0.99	<0.0001	0.94
	130	17.98 (1.27)	1.18 (0.34)	1.19 (0.21)	0.91	<0.0001	5.62

The numbers in parentheses are standard errors of the means

جدول ۳- پارامترهای معادلات برازش داده شده به روند جوانه‌زنی بذور جودره نگهداری شده طی دوره پس از برداشت در شرایط مختلف
Table 3- Parameters of gompertz models fitted to the germination response of wild barley at different times after ripening

Situation شرایط نگهداری	Duration (day) مدت (روز)	a	b	X_0	r^2	P value سطح احتمال	Germination rate سرعت جوانه‌زنی
Light در معرض خورشید	4	22.53 (0.65)	3.06 (0.32)	6.25 (0.22)	0.98	<0.0001	2.71
	14	71.81 (1.35)	2.57 (0.24)	3.44 (0.17)	0.98	<0.0001	10.27
	25	78.50 (1.20)	1.92 (0.18)	3.19 (0.14)	0.99	<0.0001	15.04
	40	77.98 (0.35)	1.19 (0.06)	2.44 (0.05)	0.99	<0.0001	24.12
	61	93.59 (0.70)	0.81 (0.05)	1.82 (0.04)	0.99	<0.0001	42.54
	96	75.70 (0.73)	0.58 (0.04)	1.55 (0.04)	0.99	<0.0001	48.28
	140	98.32 (0.80)	0.24 (0.02)	0.75 (0.01)	0.99	<0.0001	151.34
Room اتاق	4	32.21 (0.91)	4.61 (0.32)	7.49 (0.22)	0.90	<0.0001	2.57
	14	53.18 (1.07)	1.56 (0.23)	2.50 (0.18)	0.97	<0.0001	12.57
	25	76.10 (0.36)	0.94 (0.05)	2.07 (0.04)	0.99	<0.0001	29.91
	40	72.81 (0.26)	0.61 (0.03)	1.45 (0.02)	0.99	<0.0001	44.06
	61	85.23 (0.66)	0.22 (0.03)	0.96 (0.02)	0.98	<0.0001	143.3
	96	87.48 (1.12)	0.47 (0.06)	0.89 (0.04)	0.98	<0.0001	68.36
	140	74.28 (1.46)	0.17 (0.03)	0.93 (0.02)	0.99	<0.0001	156.69
Cold انجماد	4	10.99 (0.64)	3.26 (0.68)	6.04 (0.45)	0.93	<0.0001	1.24
	14	45.47 (9.22)	7.27 (2.34)	7.32 (1.85)	0.91	<0.0001	2.30
	25	43.41 (1.70)	3.30 (0.48)	4.80 (0.32)	0.97	<0.0001	4.84
	40	31.33 (3.75)	13.30 (2.07)	17.61 (1.94)	0.97	<0.0001	0.86
	140	-	-	-	-	-	-

The numbers in parentheses are standard errors of the means

در بررسی حمیدی و همکاران (۲۱) بذور پوشینه‌دار جودره تا ۸ هفته پس از برداشت قادر به جوانه‌زنی نبودند و البته با گذشت زمان به تدریج سطح جوانه‌زنی بذور پوشینه‌دار رو به افزایش نهاد به طوری که بعد از ۳ ماه سطح جوانه‌زنی بذور پوشینه‌دار به ۶۵ درصد رسید. این در حالی بود که بذور فاقد پوشینه از همان ابتدای زمان برداشت به طور کلی فاقد هر گونه حالت خفتگی بودند. بر این اساس این محققان خفتگی بذور جودره را عمدتاً ناشی از نقش بازدارندگی پوشینه‌ها دانستند که با گذشت زمان مرتفع می‌شود. لازم به ذکر است که بذور جودره در آزمایش یاد شده از سطح مزارع گندم آبی جمع‌آوری شده بود. گوترمن و همکاران (۱۹) گزارش دادند که در برخی جمعیت‌های جودره در مورد بذور تازه برداشت شده به رغم حذف پوشینه بذر جوانه‌زنی اتفاق نیفتاد.

چین و همکاران (۱۰) سطح بالاتری از تنوع پس‌رسی را در اکوتیپ‌های جودره متعلق به ناحیه خشک در مقایسه با ناحیه معتدله گزارش دادند، که این امر با تنوع ژنتیکی همبسته با ناهمگنی اکولوژیکی و گستردگی جایگاه اکولوژیکی در ارتباط است (۲۸ و ۳۲). در بررسی چین و همکاران (۱۰) بیشترین و کمترین سطح خفتگی بذر جودره به ترتیب به بذور جمع‌آوری شده از ناحیه خشک و مرطوب مربوط بود. جوانه‌زنی بذور تازه برداشت شده فاقد پوشینه گویای نقش بازدارنده پوشینه بذر برای جوانه‌زنی جودره است (۲۰)، که این بازدارندگی ممکن است فیزیکی یا شیمیایی باشد.

علاوه بر نقش در پوشینه و پوسته بذر، ترکیبات فنلی تجمع یافته در درون جنین در بیان خفتگی مربوط به جنین نیز نقش دارند؛ همبستگی معکوس بین محتوای اسیدهای فنلی آزاد در جنین‌های در حال نمو و شدت جوانه‌زنی برای بذور تریتیکاله گزارش شده است (۲۹ و ۳۳). در بررسی ویو و همکاران (۳۵) کمترین سطح جوانه‌زنی علف هرز کشیده‌برگ پلی‌پوگون به میزان ۱۵ درصد در روز اول پس از برداشت روی داد و با گذشت زمان پس از برداشت بذر، جوانه‌زنی افزایش یافت. کشیده‌برگ یک‌ساله *Schismus arabicus* نیز دارای گندمه‌هایی است که فقط پس از قرارگیری در معرض دماهای بالای تابستانه قادر به جوانه‌زنی هستند (۱۹). پس‌رسی معمولاً در دماهای معمولی اتفاق می‌افتد، البته تقلیل سطح خفتگی ممکن است بر اثر افزایش دما طی دوره نگهداری تسریع شود (۳۰). از سوی دیگر نگهداری بذور در شرایط سرد و خشک سبب حفظ خفتگی و کاهش سرعت پس‌رسی می‌شود (۲۹).

الگوی رویش طی فصل

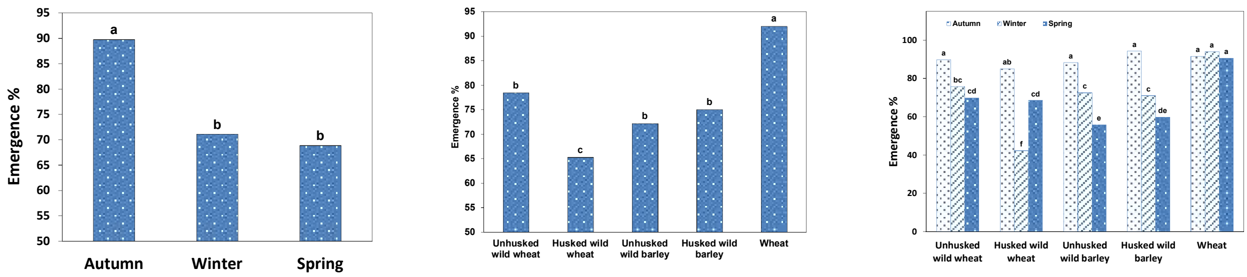
آزمایش مزرعه‌ای: رویش بذر گندمیان به طور کاملاً معنی‌داری تحت تاثیر فصل کاشت قرار گرفت (جدول ۴). میانگین رویش برای کاشت پاییزه به طور معنی‌داری بیشتر از کشت‌های زمستانه و بهاره بود. از این نظر بین کشت‌های زمستانه و بهاره تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. میانگین رویش برای کشت پاییزه ۲۸/۳ درصد بیشتر از میانگین رویش در کشت‌های زمستانه و بهاره بود (شکل ۳).

جدول ٤- نتایج تجزیه واریانس داده‌های رویش طی فصل و تعداد سنبله علف‌های هرز گندم وحشی و جودره و گندم زراعی

Table 4- Analysis of variance of the emergence over the seasons and the number of spikes of wild wheat and wild barley

Source منابع تغییرات	df درجه آزادی	MS میانگین مربعات Emergence درصد رویش	 Spike density تراکم سنبله
Replication تکرار	3	54.1 ^{ns}	632.0 ^{ns}
Season فصل	2	2632.3 *	798527.9 *
Error خطا	6	25.7	1470.4
Seed نوع بذر	4	1174.4 *	70930.7 *
Season×Seed اثرمتقابل	8	489.0 *	26134.4 *
Error خطا	36	58.6	1577.2
CV٪ ضریب تغییرات		10.0	18.7

^{ns}, and * indicate non significant and significant differences at 5% respectively



شکل ۳- اثر فصل کاشت (چپ)، نوع بذر (وسط) و اثرمتقابل آنها (راست) بر رویش گندمیان جودره، گندم وحشی و گندم زراعی در شرایط دیم

Figure 3- Effect of the planting season (left), type of seed (center) and their interaction (right) on emergence of wild barley, wild wheat and wheat crop in rainfed conditions

نتایج آنالیز واریانس گویای تفاوت کـاملاً معنـی‌دار رویـش انـواع تیمار بذر گندمیان بود (جدول ۴). میانگین رویـش بـذور پوشـینه‌دار و بدون پوشـینه هـر دو علـف هـرز گنـدم وحشـی و جـودره بـه طـور معنی‌داری کمتر از میانگین رویش گندم زراعی بود. حذف پوشـینه در مورد علف هرز گندم وحشی سبب کاهش معنی‌دار رویـش بـه میـزان ۱۶/۸ درصد شد. در مورد جودره حذف پوشینک بـذر هـر چنـد سـبب افزایش ۳/۹ درصد میانگین رویش شد، اما این تفاوت از نظـر آمـاری معنی‌دار نبود. میانگین رویش بذور پوشینه‌دار گندم وحشی و جودره به ترتیب ۱۴/۸ و ۲۱/۶ درصد کمتر از گندم زراعی بود (شکل ۳). احتمال می‌رود که در مـورد گنـدم‌وحشـی وجـود پوسـته بـذر میکروکلیمـای مناسب‌تری در خاک برای تامین رطوبت مورد نیاز برای جوانـه‌زنـی و رویش فراهم آورده باشد. از سوی دیگر ممکن است وجود پوشش بذر سبب تعدیل اثرات بازدارنده‌ای مثل شـرایط نامناسـب خـاک از قبیـل سله‌بندی شده و علاوه بر آن بـه صـورت پوشـش حفـاظتی در برابـر عوامل آسیب‌رسان به بذر از قبیل عوامل بیماری‌زا یا حتی بـذرخواران عمل نموده باشد.

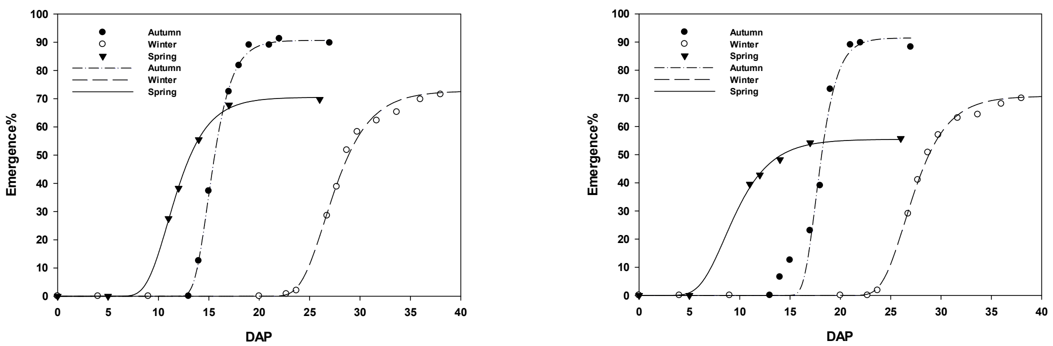
بر اساس نتایج آنالیز واریانس، اثرمتقابل فصل کاشت و نوع بذر بر میزان رویش گندمیان معنی‌دار بود (جدول ۴). در مورد گنـدم زراعـی بین فصول کاشت از نظر درصد رویش اخـتلاف معنـی‌داری مشـاهده نشد، در حالی که در مورد علف‌های هرز گندم وحشی و جودره صـرف نظر از تیمار بذر درصد رویش برای کشت‌های زمستانه و بهاره به طور معنی‌داری کمتر از کشت پاییزه بود. در کشت پاییزه رویش علف‌هـای هرز گندم وحشی و جودره تفاوت معنی‌داری با گندم زراعی نداشت در حالی که در کشت‌های زمستانه و بهاره رویش بذور علف‌های هرز بـه طور معنی‌داری کمتر از گندم زراعی بـود. بـه اسـتثنای تیمـار کاشـت زمستانه بذور بدون پوشینه گندم وحشی در مورد سایر تیمارهـای بـذر علف‌های هرز گندم وحشی و جودره درصد رویش بیش از ۵۰ درصـد بود (شکل ۳). این موضـوع گویـای امکـان رویـش علـف‌هـای هـرز کشیده‌برگ گندم وحشی و جودره در کشت‌هـای پـاییزه و زمسـتانه و حتی بهاره است.

با وقوع اولین بارندگی مؤثر پاییزی به مقدار ۱۱/۴ میلی‌متـر طـی روزهای ششم تا نهم پس از کاشت پاییزه، میزان رویش بـذور بـدون پوشینه گندم وحشی در اولین موج رویش ۳/۴ برابـر بـذور پوشـینه‌دار بود. با وقوع موج دوم بارش‌های پاییزی به میزان ۲۴/۸ میلی‌متر طـی

روزهای سیزده تا شانزدهم پس از کاشت، میزان رویش برای بذور پوشینه‌دار و فاقد پوشینه گندم وحشی به سطح یکسان برابر ۷۳ درصد رسید. در مورد علف هرز جودره با این که در موج اول میزان رویش بذور پوشینک‌دار حدود دو برابر بذور فاقد پوشینک بود ولی در ادامه سطح رویش به هم نزدیک شد. در نهایت طی دوره زمانی ۲۱ روز از آغاز بارش پاییزی مؤثر با وقوع ۷۶٫۲ میلی متر بارش طی مدت یاد شده، میزان رویش برای بذور گندم وحشی و جودره به ترتیب برابر ۸۸ و ۹۲ درصد محقق شد، که این امر گویای سطح بالای رویش بذور این دو علف هرز کشیده‌برگ در پی بارش‌های پاییزی است.

حداکثر رویش بذور پوشینه‌دار علف هرز گندم وحشی در کشت پاییزه به ترتیب ۲۴٫۶ و ۲۸٫۷ درصد بیشتر از کشت‌های زمستانه و بهاره بود. بیشینه سرعت رویش بذور پوشینه‌دار علف هرز گندم وحشی در کشت پاییزه به ترتیب ۲٫۱ و ۲٫۳ برابر بیشینه سرعت رویش در کشت‌های بهاره و زمستانه بود. بر این اساس زمان رسیدن به میانه رویش برای کشت‌های پاییزه و بهاره به ترتیب ۴۳٫۸ و ۵۸٫۹ درصد کوتاه‌تر از کشت زمستانه بود (شکل‌های ۴ و ۵).

حداکثر رویش بذور پوشینک‌دار علف هرز جودره در کشت پاییزه به ترتیب ۲۹٫۲ و ۶۴٫۹ درصد بیشتر از کشت‌های زمستانه و بهاره بود. در مورد بذور پوشینک‌دار علف هرز جودره نیز بیشینه سرعت رویش بذور پوشینک‌دار در کشت پاییزه به ترتیب ۳٫۵ و ۲٫۵ برابر بیشینه سرعت رویش در کشت‌های بهاره و زمستانه و زمان رسیدن به میانه رویش برای کشت‌های پاییزه و بهاره به ترتیب ۳۳٫۷ و ۶۷٫۸ درصد کوتاه‌تر از کشت زمستانه بود (شکل‌های ۴ و ۵).



شکل ٤- مقایسه روند رویش بذور پوشینه‌دار علف‌های هرز گندم وحشی (سمت چپ) و جودره (سمت راست) در کشت‌های پاییزه (●)، زمستانه (○) و بهاره (▼).

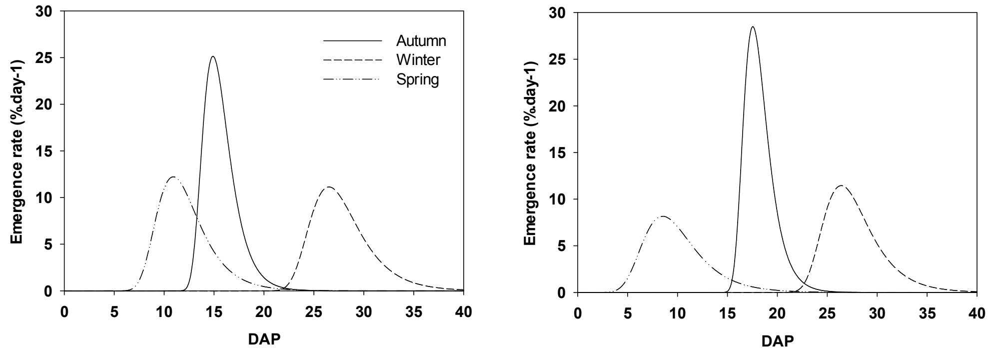
Figure 4- Comparison of the emergence of wild wheat (left) and wild barley (right) in the autumn (●), Winter (○) and spring (▼) cultivations

بارش موثر در کشت‌های پاییزه، زمستانه و بهاره به ترتیب ۷، ۸ و ۷ روز پس از کاشت اتفاق افتاد. با توجه به تاریخ وقوع بارش موثر پس از کاشت، میانگین فرصت زمانی مورد نیاز برای نیل به ۵۰ درصد رویش قابل تحقق بذور علف‌های هرز کشیده‌برگ گندم وحشی و جودره در هر یک از فصول پاییز، زمستان و بهار به ترتیب ۹، ۱۸ و ۳ روز به ترتیب معادل ۱۳۸، ۷۷ و ۹۲ درجه روز تجمعی برآورد شد (به ترتیب ۸، ۱۹ و ۴ روز برای گندم‌وحشی و ۱۱، ۱۸ و ۲ روز برای علف‌هرز جودره) (شکل ۴). به عبارتی در صورت وقوع بارش موثر و فراهمی سطح آب مورد نیاز برای جوانه‌زنی و رویش بذور، پس از سپری شدن حداقل دو برابر مدت یاد شده از زمان شروع عملیات خاک‌ورزی اولیه، می‌توان با انجام خاک‌ورزی مجدد یا به کارگیری سایر عملیات کنترلی موجبات مدیریت این علف‌های هرز را فراهم نمود.

در مورد هر دو علف هرز کشیده‌برگ گندم وحشی و جودره، سرعت رویش در کشت پاییزه به طور چشمگیری بیشتر از سرعت رویش در کشت‌های زمستانه و بهاره بود (شکل ۵).

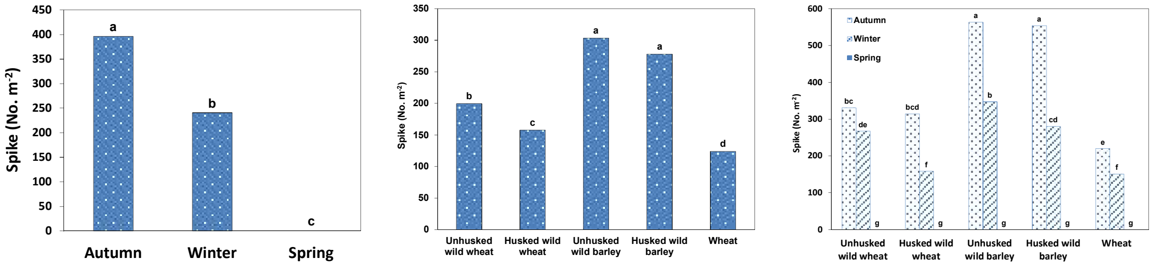
تعداد سنبله: تعداد سنبله گندمیان به طور معنی‌داری تحت تاثیر فصل کاشت قرار گرفت (جدول ۴). در کشت بهاره علف‌های هرز گندم وحشی و جودره همانند گندم زراعی اصلاً به بذر ننشستند. تعداد سنبله در واحد سطح برای کشت پاییزه به طور معنی‌داری به میزان ۶۴٫۶ درصد بیشتر از کشت زمستانه بود (شکل ۶).

بین انواع بذر گندمیان از نظر تعداد سنبله در واحد سطح تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۴). تعداد سنبله در واحد سطح برای علف هرز جودره به طور معنی‌داری بیشتر از گندم وحشی و گندم زراعی بود. حذف پوشینه در مورد علف هرز جودره تاثیر معنی‌داری بر تعداد سنبله در واحد سطح نداشت، در حالی که در مورد گندم وحشی حذف پوشینه به طور معنی‌داری سبب کاهش تعداد سنبله در واحد سطح شد، که این موضوع به تراکم کمتر ناشی از رویش کمتر بذور فاقد پوشینه گندم وحشی مربوط بود. تعداد سنبله در واحد سطح برای بذور پوشینه‌دار جودره و گندم وحشی به ترتیب ۱۴۵٫۲ و ۶۱٫۲ درصد بیشتر از گندم زراعی بود (شکل ۶).



شکل ۵- روند تغییرات سرعت رویش گندم وحشی (چپ) و جودره (راست) در کشت‌های پاییزه، زمستانه و بهاره

Figure 5- The trend of emergence rate of wild wheat (left) and wild barley (right) in autumn, winter and spring cultivations



شکل ٦- اثر فصل کاشت (چپ)، نوع بذر (وسط) و اثرمتقابل آنها (راست) بر تعداد سنبله علف‌های هرز گندم وحشی و جودره و گندم زراعی

Figure 6- The effect of planting season (left), type of seed (center) and their interaction (right) on the spike number of wild wheat and wild barley weeds and wheat crop

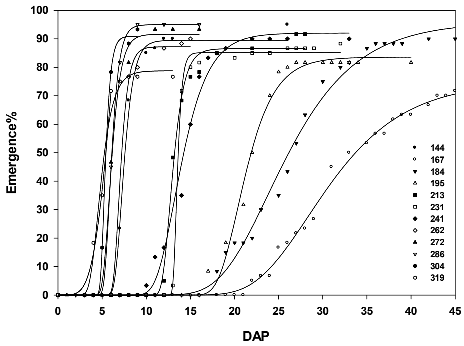
معنی‌داری اثرمتقابل فصل کاشت و نوع بذر گندمیان از نظر تعداد سنبله در واحد سطح گویای پاسخ متفاوت انواع بذر گندمیان مورد آزمایش به فصل کاشت است. هیچ یک از گندمیان مورد آزمایش در کشت بهاره وارد مرحله باروری و تولید سنبله نشدند. بالاترین سطح تولید سنبله در واحد سطح به کشت پاییزه جودره اختصاص داشت. در کشت پاییزه حذف پوشینه تاثیر معنی‌داری بر تعداد سنبله تولیدی جودره و گندم وحشی نداشت. تعداد سنبله تولیدی برای کشت پاییزه بذور پوشینه‌دار جودره و گندم وحشی به ترتیب ۶۲/۴ و ۲۳/۷ درصد بیشتر از کشت زمستانه بود (شکل ۶).

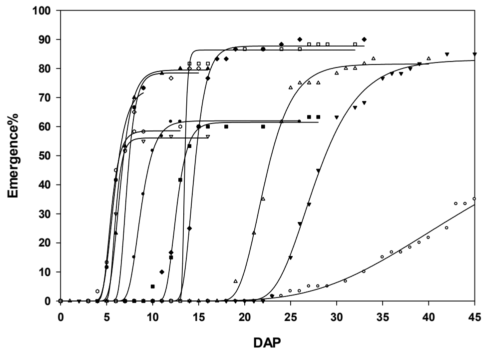
بر این اساس با اعمال شخم آیش در ابتدای فصل بهار در مزارع آلوده به علف‌های هرز جودره و گندم وحشی در شرایط اقلیمی مشابه جنوب خرم‌آباد می‌توان ضمن کنترل بوته‌های رویش یافته طی فصول پاییز و زمستان از به بذرنشینی دانه‌رست‌های رویش یافته متعاقب شخم بهاره ممانعت به عمل آورد.

شرایط اقلیمی شامل میزان و تداوم بارش‌ها و دمای هوا طی فصل بهار ۱۳۹۳ (شکل ۱) شرایط را برای به بذرنشینی بوته‌های رویش یافته در کشت بهاره دشوار کرد. کل بارش طی فصل بهار ۱۳۹۳ برابر ۱۱۱/۷ میلی‌متر بود که اولین و دومین بارش موثر در مجموع به میزان ۶۷/۶ میلی‌متر به فاصله ۷ تا ۱۱ روز پس از کاشت بهاره و در مجموع ۷۸ درصد بارش بهاری ظرف ۲۳ روز اول پس از کاشت اتفاق افتاد. آخرین بارش موثر به مقدار ۱۵/۳ میلی‌متر در تاریخ ۲۱ و ۲۲ اردیبهشت به وقوع پیوست و از سوی دیگر میانگین حداکثر دما روند افزایشی طی کرد. بدین ترتیب شرایط گرم و خشک مانع نمو کامل و به بذرنشینی گندمیان مورد آزمایش در کشت بهاره شد.

موج‌های اولیه رویش علف‌های هرز قادر به تولید زیست‌توده و به تبع آن تولید بذر و رقابت شدیدتر با گیاهان زراعی مربوطه هستند و بدین ترتیب نقش بیشتری در شکل‌گیری نسل آتی ایفا می‌کنند (۹).

رویش گلدانی: براساس معادلات برازش داده شده به روند رویش بذور پوشینه‌دار علف‌های هرز گندم وحشی و جودره کاشته شده طی ۱۲ مرحله از اواخر آبان ماه تا اواسط اردیبهشت سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ حداقل میزان رویش برای این دو علف هرز کشیده‌برگ به ترتیب برابر ۷۵ درصد و ۵۶ درصد برآورد شد. میانگین رویش پیش از آغاز سرمای زمستانی، طی فصل زمستان و در شرایط بهاری بعد از رفع سرمای زمستانی برای گندم وحشی به ترتیب برابر ۹۰، ۸۶ و ۸۹ درصد (جدول ۵ و شکل ۷) و برای جودره برابر ۶۲، ۷۷ و ۶۹ درصد برآورد شد (جدول ۶ و شکل ۷).





شکل ۷- روند رویش بذور علف هرز گندم وحشی (چپ) و جودره (راست) در فواصل زمانی مختلف پس از برداشت بذر در آزمایش رویش گلدانی طی ماه‌های مختلف سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲

Figure 7- The trend of emergence of wild wheat (left) and wild barley (right) at different intervals after seed harvest in the pot experiment during different months of the growing season of 2013-2014

روند تغییرات سرعت رویش بذور با رسیدگی کامل علف‌های هرز گندم وحشی و جودره طی ماه‌های مختلف سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ با برازش معادله چندجمله‌ای درجه سه در شکل ۸ نشان داده شده است. با شروع فصل سرد در اواخر پاییز از سرعت رویش این علف‌های هرز گندمی کاسته شد و متعاقب آن با رفع سرما در اواخر زمستان مجدداً سرعت رویش فزونی یافت، تا این که با برخورد به دمای بالا در اواخر بهار رو به کاهش نهاد. توجه به روند تغییرات دمایی طی سال زراعی گویای همبسته بودن سرعت رویش با نوسان دماست.

سرعت رویش علف هرز گندم وحشی در شرایط پاییزی و بهاری به ترتیب ۲/۸ و ۳/۵ برابر سرعت رویش زمستانه بود. در مورد علف هرز جودره نیز سرعت رویش در شرایط پاییزی و بهاری به ترتیب ۱/۳ و ۲/۱ برابر سرعت رویش زمستانه بود (شکل ۸).

رویش به دلیل نقش‌آفرینی در بقاء، مهم‌ترین رخداد در طول حیات گونه‌های گیاهی یک‌ساله قلمداد می‌شود (۱۴ و ۱۶). توانایی پیش‌بینی رویش علف‌های هرز از طریق بهینه‌سازی زمان‌بندی عملیات کنترل سبب تسهیل بهره‌گیری از راهبردهای مدیریتی موثرتر می‌شود (۲۴ و ۲۶)، که این امر برای کشاورزان با توجه به فشارهای رو به تزاید برای کاهش مصرف علف‌کش‌ها و تمایل به روش‌های غیرشیمیایی از اهمیت بالایی برخوردار است (۱۷).

جدول ۵- پارامترهای معادلات برازش داده شده به روند رویش گندم وحشی طی ماه‌های مختلف سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲در آزمایش رویش گلدانی

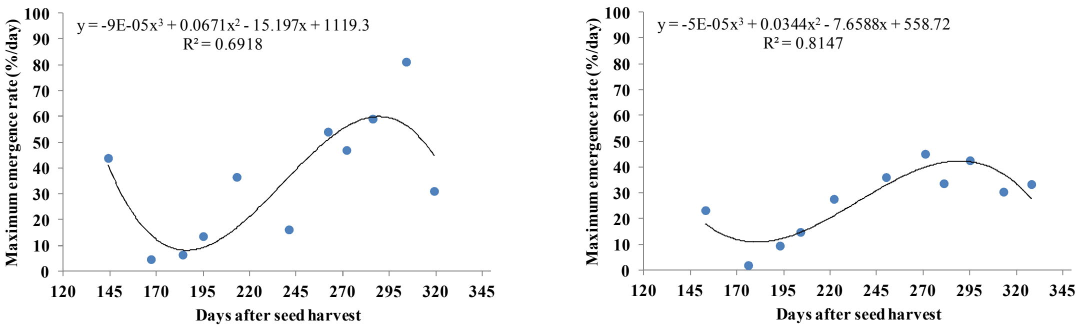
Table 5- Equations parameters fitted to the data of wild wheat seeds emergence during different months of the growing season of 2013-2014 in the pot experiment

Sowing date تاریخ کاشت	a	b	x_0	r^2	P value
24-08-92	89.49 (1.87)	0.75 (0.11)	7.18 (0.08)	0.99	<0.0001
17-09-92	75.06 (0.74)	5.95 (0.22)	28.4 (0.15)	0.99	<0.0001
04-10-92	95.91 (2.22)	5.49 (0.38)	23.8 (0.25)	0.99	<0.0001
15-10-92	83.57 (1.15)	2.27 (0.19)	20.4 (0.14)	0.99	<0.0001
03-11-92	86.58 (1.54)	0.87 (0.1)	12.7 (0.08)	0.99	<0.0001
21-11-92	85.15 (0.67)	0.35 (0.03)	13.4 (0.05)	0.99	<0.0001
01-12-92	92.03 (2.41)	2.09 (0.24)	13.2 (0.2)	0.99	<0.0001
22-12-93	87.2 (1.63)	0.59 (0.12)	6.87 (0.22)	0.99	<0.0001
03-01-93	91.6 (2.1)	0.72 (0.1)	5.79 (0.08)	0.99	<0.0001
17-01-93	94.97 (0.57)	0.59 (0.03)	5.84 (0.02)	0.99	<0.0001
04-02-93	90.92 (1.43)	0.41 (0.04)	5.22 (0.03)	0.99	<0.0001
19-02-93	78.77 (3.16)	0.93 (0.19)	4.52 (0.14)	0.98	<0.0001

جدول ٦- پارامترهای معادلات برازش داده شده به روند رویش بذور جودره طی ماه‌های مختلف سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲در آزمایش رویش گلدانی

Table 6- Equations parameters fitted to the data of wild barley seeds emergence during different months of the growing season of 2013-2014 in the pot experiment

Sowing date تاریخ کاشت	a	b	x_0	r^2	P
24-08-92	62.01 (0.55)	0.98 (0.04)	8.36 (0.03)	0.99	<0.0001
17-09-92	63.47 (3.21)	11.85 (0.85)	39.88 (0.74)	0.99	<0.0001
04-10-92	83.03 (0.85)	3.20 (0.15)	26.58 (0.09)	0.99	<0.0001
15-10-92	81.55 (0.74)	2.03 (0.11)	21.45 (0.08)	0.99	<0.0001
03-11-92	61.49 (0.74)	0.82 (0.07)	12.27 (0.05)	0.99	<0.0001
21-11-92	86.35 (0.71)	0.21 (0.09)	13.39 (0.26)	0.99	<0.0001
01-12-92	87.74 (2.39)	0.89 (0.19)	14.18 (0.14)	0.98	<0.0001
22-12-93	78.48 (0.98)	0.64 (0.09)	6.97 (0.16)	0.99	<0.0001
03-01-93	79.50 (0.52)	0.87 (0.03)	6.19 (0.02)	0.99	<0.0001
17-01-93	56.11 (0.39)	0.49 (0.04)	5.78 (0.03)	0.99	<0.0001
04-02-93	73.03 (1.69)	0.88 (0.09)	5.52 (0.05)	0.99	<0.0001
19-02-93	58.58 (1.27)	0.65 (0.08)	5.23 (0.06)	0.99	<0.0001



شکل ۸- سرعت رویش بذور علف هرز گندم وحشی (چپ) و جودره (راست) در فواصل زمانی مختلف پس از برداشت بذر در آزمایش رویش گلدانی طی ماه‌های مختلف سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲

Figure 8- The emergence rate of wild wheat (left) and wild barley (right) at different intervals after seed harvest in the growing season of 2013-2014 in the pot experiment

آگاهی از وضعیت رویش علف‌های هرز در موفقیت اقدامات کنترلی از اهمیت بسزایی برخوردار است. کاربرد علف‌کش‌ها در زمان نامناسب، خیلی زود یا خیلی دیرهنگام، از جمله مهم‌ترین عوامل ضعف کارایی کنترلی علف‌کش‌های پس‌رویشی برشمرده شده است (۴). در صورتی که کاربرد علف‌کش پس‌رویشی خیلی زود صورت گیرد، موج‌های رویش پس از کاربرد علف‌کش تحت تاثیر عملیات کنترلی واقع نمی‌شوند و در صورتی که کاربرد علف‌کش خیلی به تعویق بیفتد، بوته‌های علف هرز به دلیل اندازه بزرگ، کمتر تحت تاثیر علف‌کش قرار می‌گیرند و از سوی دیگر تا آن زمان نیز خسارت به بار می‌آورند (۲۵).

آگاهی از دوره زمانی اوج رویش علف‌های هرز به شناسایی زمان‌بندی مناسب برای مدیریت علف‌های هرز کمک می‌نماید (۱). به تعویق انداختن تاریخ کاشت از جمله روش‌های کاملاً عملی است که به طور موثری قادر به کنترل علف‌های هرز رویش یافته است (۱۲)، البته موفقیت این روش به شرایط اقلیمی طی فصل پاییز و به خصوص رژیم بارش و دمای خاک و به تبع آن رویش دانه‌رست‌ها از بانک بذر وابسته است (۱۷).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش گویای وجود خفتگی فیزیولوژیکی علاوه بر خفتگی ناشی از اثرات پوسته بذر و ضرورت تکمیل یا اتمام دوره پس‌رسی طی فصل تابستان برای بذور گندم وحشی و جودره در شرایط دیم است. رویش علف‌های هرز کشیده‌برگ گندم وحشی و جودره در فصول مختلف سال، از پاییز تا بهار، بیانگر راهبرد بقای یک‌ساله زمستانه اختیاری در این علف‌های هرز است، از این رو با اعمال شخم آیش در ابتدای فصل بهار در مزارع آلوده به این علف‌های هرز می‌توان ضمن کنترل بوته‌های رویش یافته طی فصول پاییز و زمستان از به بذرنشینی دانه‌رست‌های رویش یافته متعاقب شخم بهاره ممانعت به عمل آورد. از سوی دیگر با رعایت تناوب‌زراعی و قرار دادن آیش یا کشت‌های زمستانه و بهاره در تناوب با گندم

می‌توان زمینه تخلیه قابل توجه بانک بذر این علف‌های‌هرز کشیده‌برگ را فراهم نمود. بدیهی است دانه‌رست‌های رویش یافته طی فصل پاییز بر اثر عملیات خاک‌ورزی طی فصل آیش یا عملیات تهیه بستر برای کشت زمستانه یا بهاره از بین می‌روند.

منابع

1. Bagavathiannan, M.V., Norsworthy, J.K. Smith, K.L., and Burgos, N. 2011. Seedbank size and emergence pattern of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Arkansas. *Weed Science*, 59: 359-365.
2. Baghestani, M.A., 2007. Investigating effciency of sulfosulfuron (Apyros 75 WDG) on different species of wild barley (*Hordeum* spp.) control in wheat field. Final report of project, Iranian Research Institute of Plant Protec. 76pp. (In Persian).
3. Batlla, D., and Benech-Arnold, R.L. 2014. Weed seed germination and the light environment: implications for weed management. *Weed Biology and Management*, 14: 77-87.
4. Battla, D., and Benech-Arnold, R.L. 2007. Predicting changes in dormancy level in weed seed soil banks: implications for weedmanagement. *Crop Protection*, 26:189-197.
5. Benech-Arnold, R.L., Gualano, N., Leymarie, J., Coˆme, D., and Corbineau, F. 2006. Hypoxia interferes with ABA metabolism and increases ABA sensitivity in embryo of dormant barley grains. *Journal of Experimental Botany*, 57: 1423-1430.
6. Benech-Arnold, R.L., Sánchez, R.A., Forcella, F., Kruk, B.C., and Ghersa, C.M. 2000. Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research*, 67: 105-122.
7. Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, 9: 1055-1066.
8. Burki, H.M., Schroeder, D., Lawrie, J., Cagán, L., Vráblová, M., E.L, Aydam, M., Szentkirályi, F., Ghorbani, R., Juttersonke, B. and Ammon, H.U. 1997. Biological control of pigweeds (*Amaranthus retroflexus*, LA Powellii, S. Watson and *A. bouchonii* Thell.) with phytophagous insects, fungal pathogens and crop management. *Integrated Pest Management Reviews*, 2: 51-59.
9. Cao, R., Francisco-Fernandez, M. Anand, A. Bastida, F., and Gonzalez-Andujar, J.L.. 2011. Computing statistical indices for hydrothermal times using weed emergence data. *The Journal of Agricultural Science*, 149: 701-712.
10. Chen, G., Tamar, K., Fahima, T., Zhang, F., Korol, A.B., and Nevo, E. 2004. Differential patterns of germination and desiccation tolerance of mesic and xeric wild barley (*Hordeum spontaneum*) in Israel. *Journal of arid environments*, 56: 95-105.
11. Cici, S.Z.H., and Van Acker, R.C. 2009. A review of the recruitment biology of winter annual weeds in Canada. *Canadian Journal of Plant Science*, 89: 575-589.
12. Cirujeda, A., Recasens, J., Torra, J., and Taberner, A. 2008. A germination study of herbicide-resistant field poppies in Spain. *Agronomy for Sustainable Development*, 28: 207-220.
13. Davis, A.S., Clay, S., Cardina, J., Dille, A., Forcella, F., Lindquist, J., and Sprague, C. 2013. Seed burial physical environment explains departures from regional hydrothermal model of giant ragweed (*Ambrosia trifida*) seedling emergence in US Midwest. *Weed science*, 61: 415-421.
14. Del Monte, J.P., and Dorado, J. 2011. Effects of light conditions and afterripening time on seed dormancy loss of Bromus diandrus Roth. *Weed Research*, 51:581-590.
15. Evenari, M., Shanan, L., Tadmor, N. 1982. The Negev. *The Challenge of a Desert*, 2nd Edition. Harvard University Press, Cambridge, MA, 437pp.
16. Forcella, F., Benech-Arnold R.L., Sanchez R.E., Ghersa C.M. 2000. Modeling seedling emergence. *Field Crop Research*, 67:123-139.
17. García, A.L., Recasens, J., Forcella, F., Torra, J., and Royo-Esnal, A. 2013. Hydrothermal emergence model for ripgut brome (*Bromus diandrus*). *Weed Science*, 61: 146-153.
18. Gutterman, Y. 1998. Ecological strategies of desert annual plants. In: *Modern Trends in Ecology and Environment*. Ambasht R.S. (eds.). pp. 203-231. Backhuys, Leiden.
19. Gutterman, Y., Corbineau, F., and Côme, D. 1996. Dormancy of *Hordeum spontaneum* caryopses from a population on the Negev Desert Highlands. *Journal of Arid Environments*, 33: 337-345.
20. Gutterman, Y., Nevo, E. 1994. Temperatures and ecological-genetic differentiation affecting the germination of *Hordeum spontaneum* caryopses harvested from three populations: The Negev Desert and opposing slopes on Mediterranean Mount Carmel. *Israel Journal of Plant Sciences*, 42: 183-195.
21. Hamidi, R., Mazaheri, D., and Rahimian, H. 2009. Wild barley (*Hordeum spontaneum* Koch) seed germination as affected by dry storage periods, temperature regimes, and glumellae characteristics. *Iranian Journal of Weed Science, 5*: 1-12.
22. Harlan J. R., and Zohary D. 1966. Distribution of wild wheats and barley.Science, 153: 1074-1080.
23. Jamali, M., and Baghestani, M.A.. 2011. Rate and time of application of herbicides on Hordeum spontaneum in Fars wheat fields. Iranian J. Weed Sci. 7: 79-89.
24. Leblanc, M.L., Cloutier, D.C., Stewart, K.A., and Hamel, C. 2004. Calibration and validation of a common

lambsquarters (*Chenopodium album*) seedling emergence model. *Weed Science*, 52:61-66.
25. Masin, R., Loddo, D., Benvenuti, S., Otto, S., and Zanin, G. 2012. Modeling weed emergence in Italian maize fields. *Weed Science*, 60: 254-259.
26. Myers, M.W., Curran, W.S., VanGessel, M.J., Calvin, D.D. Mortensen, D.A. Majek, B.A. Karsten, H.D., and Roth, G.W. 2004. Predicting weed emergence for eight annual species in the northeastern United States. *Weed Science*, 52:913-919.
27. Nevo, E. 2002. Evolution of wild emmer and wheat improvement: population genetics, genetic resources, and genome organization of wheat's progenitor, Triticum dicoccoides. Springer. 363 p.
28. Nevo, E., Beiles, A., and Zohary, D. 1986. Genetic resources of wild barley in the Near East: Structure evolution and application in breeding. *Biological Journal of Linnean Society*, 27: 355-380.
29. Rodríguez, M.V., Barrero, J.M., Corbineau, F., Gubler, F., and Benech-Arnold, R.L. 2015. Dormancy in cereals (not too much, not so little): about the mechanisms behind this trait. *Seed Science Research*, 25: 99-119.
30. Simpson, G.M. 1990. *Seed Dormancy in Grasses*. Cambridge, Cambridge University Press.
31. Siriwardana, G.D., and Zimdahl, R.L. 1984. Competition between barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) and redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*). *Weed Science*, 32: 218-222.
32. Turpeinen, T., Tnhola, T., Manninen, O., Nevo, E., Nissila, E. 2001. Microstellite diversity associated with ecological factors in *Hordeum spontaneum* populations in Israel. *Molecular Ecology*, 10: 1577-1591.
33. Weidner, S., Krupa, U., Amarowicz, R., Karamac, M. and Abe, S. 2002. Phenolic compounds in embryos of triticale caryopses at different stages of development and maturation in normal environment and after dehydration treatment. *Euphytica*, 126: 115-122.
34. Werle, R., Bernards, M.L., Arkebauer, T.J., and Lindquist, J.L. 2014. Environmental triggers of winter annual weed emergence in the midwestern United States. *Weed Science*, 62: 83-96.
35. Wu, X., Li, J., Xu, H., and Dong, L. 2015. Factors affecting seed germination and seedling emergence of asia minor bluegrass (*Polypogon fugax*). *Weed Science*, 63: 440-447.
36. Young, F.L., Gealy, D.R. and Morrow, L.A. 1984. Effect of herbicides on germination and growth of four grass weeds. *Weed Science*, 32:489-493.
37. Zohary D., Hopf M., and Weiss E. 2012. Domestication of Plants in the Old World: The origin and spread of domesticated plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin. Fourth Edition. Oxford University Press.

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 399-407

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۴۰۷-۳۹۹

بررسی اثر سطوح مختلف کود نیتروژن و علف‌کش پندی‌متالین بر تراکم و وزن خشک علف‌های هرز و عملکرد دانه کنجد (*Sesamum indicum* L.)

ابراهیم ممنوعی[1*] - هادی مهدیخانی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۴/۱۱

چکیده

به منظور بررسی اثر کاربرد سطوح مختلف کود نیتروژن و روش کنترل بر تراکم و وزن خشک علف‌های هرز و عملکرد دانه کنجد، پژوهشی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار طی دو سال در مرکز تحقیقات کشاورزی جیرفت اجرا گردید. فاکتور اول روش کنترل علف‌های هرز شامل کاربرد علف‌کش پندی‌متالین به میزان ۰، ۲، ۳ و ۴ لیتر در هکتار به صورت پیش رویشی و کنترل کامل علف‌های هرز توسط وجین دستی در طول دوره رشد و فاکتور دوم کاربرد کود نیتروژن به مقدار ۵۶، ۸۰ و ۱۰۴ کیلوگرم در هکتار بود. تراکم علف های هرز ۳۰ روز پس از سمپاشی و وزن خشک و عملکرد دانه کنجد در انتهای فصل رشد اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که روش کنترل علف‌های هرز تراکم و وزن خشک علف های هرز تاج خروس بدل، تاج خروس خوابیده، اویارسلام، علف پنجه مرغی، سوروف و مجموع علف های هرز را به طور معنی دار کاهش داد. در حالی‌که اثر کاربرد کود نیتروژن بر تراکم و وزن خشک علف‌های هرز متفاوت بود به طوری که در شرایط کنترل علف هرز سبب کاهش تراکم و وزن خشک علف‌های هرز گردید. اما در شرایط بدون کنترل، کود نیتروژن باعث افزایش تراکم و وزن خشک علف‌های هرز گردید. همچنین، نتایج نشان داد که مقدار کاربرد نیتروژن تاثیری بر عملکرد دانه ندارد. بیشترین عملکرد دانه بعد از تیمار وجین دستی، از کاربرد ۴ لیتر علف‌کش پندی‌متالین در هکتار حاصل شد.

واژه‌های کلیدی: زیست توده، کنترل شیمیایی، کود شیمیایی، وجین دستی

مقدمه

کنجد (*Sesamum indicum* L.) گیاهی یک‌ساله، گرما دوست، مقاوم به خشکی و روز کوتاه که نیاز به هوای گرم و نور فراوان دارد. کنجد از مهمترین گیاهان دانه‌ی روغنی دنیا محسوب می‌شود که با داشتن بیش از ۵۰ درصد روغن با کیفیت عالی اهمیت زیادی در تامین روغن مورد نیاز کشور دارد (۱۰). وجود اقلیم خاص در جنوب کرمان شرایط مساعدی برای کشت این گیاه زراعی فراهم شده است. به طوری که، سطح زیر کشت کنجد در جنوب کرمان بیش از ۷ هزار هکتار با میانگین عملکرد ۱۰۰۰ کیلوگرم در هکتار می‌باشد (۱). از سوی دیگر، قرار گرفتن کنجد در تناوب زراعی با غلات، سیب زمینی، پیاز و جالیز در کشت های تابستانه ارزش این گیاه در منطقه را دو چندان کرده است (۱۲). از مهمترین عوامل محدود کننده تولید این محصول در دنیا و ایران علف‌های هرز می‌باشد. مقدار خسارت علف‌های هرز در کنجد ۶۵ درصد گزارش شده است (۶ و ۷). بنابراین کنترل علف‌های‌هرز در زراعت این محصول اهمیت زیادی دارد. استفاده از روش‌های تلفیقی در مدیریت علف‌های‌هرز، امروزه کاربرد فراوانی دارد. کاربرد علف‌کش‌ها به عنوان یکی از مهمترین روش‌های کنترل علف‌های هرز می‌باشد. از علف‌کش‌هایی که در مزارع کنجد ایران استفاده می‌شود می‌توان آلاکلر، پندی‌متالین، ستوکسیدیم، هالوکسی فوپ آرمتیل استر و تریفلورالین را نام برد (۲۳). در این ارتباط، ممنوعی و همکاران (۱۲) گزارش کردند که کاربرد علف‌کش‌های تریفلورالین، آلاکلر و پندی‌متالین نتیجه مطلوبی در کنترل علف‌های هرز کنجد داشتند. همچنین شیمی و موسوی (۱۹) اظهار کردند که علف‌کش تری‌فلورالین کارایی مطلوبی در کنترل علف‌های هرز کنجد دارد. گرینچر و همکاران (۶) گزارش کردند که کاربرد علف‌کش لینورون سبب کاهش عملکرد کنجد می‌گردد.

استفاده از مدیریت عناصر غذایی به عنوان یک راهکار سودمند جهت بهبود مدیریت علف‌های هرز همواره مورد توجه بوده است. مدیریت کاربرد عناصر غذایی می‌تواند فرایند جمعیت علف هرز، روابط رقابتی گیاه زراعی و علف‌های هرز و شدت آلودگی علف‌های هرز را تحت تاثیر قرار دهد و نقش مهمی در کاهش تداخل علف‌های هرز با

۱- استادیار بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، جیرفت، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: emamnoie @areeo.ac.ir)
۲- فارغ التحصیل دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

DOI: 10.22067/jpp.v32i3.61279

گیاهان زراعی و کاهش کاربرد علف‌کش‌ها ایفا کند (۲۱). عناصر غذایی اگر چه، سبب افزایش و بهبود رشد گیاه زراعی می‌گردد اما، اغلب علف‌های هرز به دلیل داشتن نیاز لوکس، عناصر غذایی را بیش از نیاز خود جذب می‌کنند به طوری که در بیشتر موارد کود دهی به نفع علف هرز تمام می‌شود (۹). بنابراین، مدیریت عناصر غذایی بایستی به گونه‌ای باشد که حداکثر عناصر غذایی توسط گیاه زراعی جذب گردد (۱۶). از این رو، با مدیریت کودی صحیح و آگاهی از عوامل موثر بر رقابت گیاه زراعی و علف‌های هرز بر سر عناصر غذایی می‌توان از کود به عنوان یکی از ابزارهای کنترل علف‌های هرز در نظام‌های زراعی بهره برد (۹). در این ارتباط، سینگ و جون (۲۰) گزارش کردند کاربرد نیتروژن در تلفیق با کاربرد علف‌کش فلوکلورالین[1] در کنجد سبب بهبود کارایی کنترل علف های هرز و افزایش عملکرد دانه، پروتئین و روغن دانه گردید. در آزمایش دیگری اظهار شد که کاربرد کودهای نیتروژن در تلفیق علف‌کش دیورون سبب بهبود کنترل علف‌های و افزایش عملکرد دانه کنجد تا ۴۵ درصد گردید (۱۵). استفاده از منابع کودهای نیتروژن در تلفیق با کاربرد علف‌کش‌ها جهت بهبود کارایی کنترل علف‌های هرز در مزارع گندم (۱۸) و ذرت (۸، ۱۵ و ۲۴) گزارش شده است.

کنجد از نظر خصوصیات زراعی، گیاه روغنی کم توقع است که در اقتصاد کشاورزان مناطق خشک و نیمه خشک اهمیت زیادی دارد (۱۰). علی‌رغم قدمت این گیاه در کشور در مقایسه با سایر گیاهان زراعی، سازگاری بالا به شرایط اقلیمی کشور، تحمل مناسب به تنش خشکی و بالا بودن کمیت و کیفیت روغن استحصالی آن، در ارتباط با اثرات رقابتی علف‌های هرز بر کنجد و مدیریت آن‌ها تحقیقات کمی انجام شده است. از طرفی یکی از روش‌های سودمندی که امروزه در مدیریت علف‌های هرز استفاده می‌شود بهره‌گیری از تلفیق مقادیر کاهش یافته علف‌کش با کاربرد کود می‌باشد. لذا این آزمایش با هدف بررسی اثر سطوح مختلف کود نیتروژن و روش کنترل با تاکید بر کاربرد علف‌کش پندی‌متالین بر توان رقابتی کنجد و علف‌های هرز انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر کاربرد سطوح مختلف کود نیتروژن و روش کنترل بر تراکم و وزن خشک علف‌های هرز و عملکرد دانه کنجد، پژوهشی در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار و در دو سال زراعی (۱۳۹۰ و ۱۳۹۱) به مرحله اجرا در آمد. مختصات جغرافیایی محل آزمایش با عرض '۴۰ °۲۸ شمالی و طول '۴۴ °۵۷ شرقی است. ارتفاع از سطح دریا ۶۲۸ متر بود. خاک محل آزمایش لوم شنی با اسیدیته (PH= ۷/۴) بود. فاکتور اول شامل کنترل علف‌های‌هرز از طریق وجین دستی در طول دوره رشد و کاربرد علف‌کش استامپ (پندی‌متالین ۳۳ درصد EC) به مقدار صفر، ۲، ۳ و ۴ لیتر در هکتار که معادل صفر، ۶۶۰، ۹۹۰ و ۱۳۲۰ گرم ماده مؤثره در هکتار است (مقدار توصیه شده چهار لیتر بود). کاربرد تیمار علف‌کش بعد از کشت و قبل از آبیاری اول انجام شد. فاکتور دوم کاربرد کود نیتروژن به مقدار ۷۰، ۱۰۰ و ۱۳۰ درصد نیاز بهینه کنجد معادل ۵۶، ۸۰ و ۱۰۴ کیلوگرم در هکتار از منبع کود اوره (۴۶ درصد) بود. ۸۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص به عنوان نیاز بهینه نیتروژن برای کنجد در نظر گرفته شد.

کشت در نیمه دوم تیرماه با استفاده از توده محلی جیرفت در زمینی با سابقه آلودگی به علف هرز به صورت خطی با دست انجام شد. هر کرت آزمایشی دارای ۵ خط به طول ۵ متر با فاصله بین بوته ۱۰ سانتی‌متر و فاصله بین خطوط ۵۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. فاصله کرت‌های آزمایشی از یکدیگر ۱ متر و فاصله بین بلوک‌ها ۳ متر بود. اولین آبیاری بعد از کاشت شروع و تا مرحله زرد شدن کپسول‌ها هر ۷ روز یک‌بار با استفاده از سیستم آبیاری قطره‌ای انجام شد. اعمال تیمار کودی در سه تقسیط صورت گرفت در مرحله اول همزمان با کشت در نزدیک بذر، مرحله دوم و سوم قبل از گل‌دهی و کپسول‌دهی در کنار بوته انجام شد. سمپاشی در زمان مقرر با استفاده از سمپاش پشتی لانس‌دار ماتابی فشار ثابت مجهز به نازل شره‌ای با فشار ۲ بار و حجم پاشش ۳۵۰ لیتر در هکتار انجام شد.

صفات اندازه‌گیری شده شامل تعیین فراوانی نسبی علف‌های هرز، تراکم، وزن خشک علف‌های‌هرز، عملکرد دانه و درصد تغییرات دانه بود. شمارش تراکم بوته ۳۰ روز پس از سمپاشی و تعیین وزن خشک علف‌های‌هرز نیز در انتهای فصل به تفکیک گونه انجام شد. اندازه‌گیری نمونه‌ها در یک کادر ثابت به ابعاد نیم متر مربع در هر کرت آزمایشی انجام شد. همچنین جهت تعیین مقدار خسارت حاصل از گیاه‌سوزی علف‌کش بر کنجد با روش استاندارد EWRC ارزیابی گردید. لذا، چون اثر گیاه‌سوزی روی کنجد مشاهده نگردید از ذکر نتایج خودداری شد. برای تعیین عملکرد دانه کنجد از سطحی معادل ۴ متر مربع بعد از حذف اثرات حاشیه‌ای برداشت شد و پس از بوجاری و خشک کردن، با دقت گرم توزین شد. عملکرد دانه کنجد به صورت کیلوگرم در هکتار و درصد تغییر نسبت به تیمار شاهد (تیمار بدون کنترل علف هرز) در نظر گرفته شد. تعیین درصد افزایش وزن دانه در زمان برداشت از معادله $Y_i\%=(Y_f/Y_w)\times100$ محاسبه گردید. در این معادله $Y_i\%$ درصد تغییرات عملکرد دانه کنجد، Y_f عملکرد در کرت‌هایی که کنترل علف هرز انجام شده و Y_w تیمار شاهد بدون کنترل علف هرز بود. تجزیه واریانس مرکب داده‌ها و مقایسه

1- *Fluchloralin*

میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 انجام شد.

نتایج و بحث

اثر سطوح مختلف کود نیتروژن و روش کنترل بر تراکم و وزن خشک علف‌های هرز

بر اساس نتایج آزمایش، علف‌های‌هرز تاج‌خروس بدل، علف پنجه‌ای مصری، سوروف، اویارسلام و تاج خروس خوابیده گونه‌های غالب بودند. تراکم نسبی گونه‌های اویارسلام، سوروف، تاج خروس بدل، علف پنجه‌ای مصری و تاج خروس به ترتیب ۳۷، ۱۹، ۱۸، ۱۰ و ۹ درصد بود (جدول ۱).

جدول ۱- فهرست علف‌های هرز مشاهده شده در مزرعه کنجد

Table 1- List of weed species in the sesame field

Scientific Name نام علمی	Persian Name نام فارسی	Family تیره گیاهی	Relative density تراکم نسبی
Amaranthus blitoides S. Watson.	تاج‌خروس خوابیده	Amaranthaceae	9.15
Cyperus esculentus L.	اویارسلام زرد	Cyperaceae	37.4
Dactyloctenium aegypticum (L.) P.Beauv	علف پنجه‌ای مصری	Poaceae	10.34
Echinochloa colonum. (L.) Link	سوروف	Poaceae	19.16
Digera muricata (L.) Mart	تاج خروس بدل	Amaranthaceae	18.30
Weed species	سایر	-	5.67

نتایج تجزیه واریانس تراکم و وزن خشک علف‌های‌هرز تاج خروس بدل، علف پنجه مصری، تاج خروس، سوروف، اویارسلام بیانگر آن است که تاثیر تیمار روش‌های کنترل علف‌های‌هرز تاثیر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) بر تراکم و وزن خشک علف‌های هرز مذکور داشت. همچنین اثر سطوح کود نیتروژن بر صفات اندازه‌گیری شده در کلیه علف‌های هرز آزمایش (بجز اویارسلام) تاثیر معنی‌دار (P≤۰/۰۱) داشتند. از سوی دیگر، کنش متقابل بین کاربرد سطوح مختلف کود نیتروژن و روش کنترل بر تراکم و وزن خشک علف‌های‌هرز مذکور نیز معنی‌دار (P≤۰/۰۱) بود (جدول ۲). بنابراین اثرات متقابل این صفات در علف‌های‌هرز مورد مطالعه به تفکیک مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، با توجه به اینکه اثر سال در تیمارهای سطوح کاربرد کود نیتروژن و روش‌های کنترل علف‌های‌هرز مذکور معنی‌دار نبود از میانگین دوساله آزمایش استفاده شد (جدول ۲).

با کاربرد و افزایش مقدار مصرف علف‌کش پندی‌متالین (از ۲ تا ۴ لیتر در هکتار) تراکم و وزن خشک علف‌های هرز تاج‌خروس بدل، علف پنجه‌ای مصری، تاج خروس، سوروف و اویارسلام نسبت به شاهد (بدون کنترل علف هرز) به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین در شرایط عدم کنترل علف های هرز (شاهد)، افزایش سطوح کاربرد کود نیتروژن قادر است تراکم و وزن خشک علف‌های هرز مذکور را افزایش دهد. به طوری که بیشتر تراکم و وزن خشک علف‌های هرز مورد آزمایش در غیاب علف‌کش پندی‌متالین (صفر)، کاربرد ۱۰۸ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بود. همچنین، پاسخ تراکم و وزن خشک علف‌های هرز مزبور به کاربرد سطوح کود نیتروژن در تلفیق با مقادیر کاهش یافته علف‌کش پندی‌متالین نیز متفاوت بود. به طوری که، با افزایش سطوح مصرف کود نیتروژن در تیمار کاربرد ۲ لیتر پندی‌متالین در هکتار مقدار تراکم و وزن خشک علف‌های هرز مزبور به طور معنی‌داری افزایش یافت. با توجه به اینکه، مصرف ۲ لیتر در هکتار علف‌کش پندی‌متالین، کارایی ضعیفی در کاهش تراکم و وزن خشک این علف های هرز داشت به نظر می رسد، افزایش سطوح کاربرد مقدار نیتروژن به نفع علف‌های هرز خواهد بود و سبب افزایش تراکم و وزن خشک آنها می‌گردد. این نتیجه در مورد تراکم و وزن خشک کل علف های هرز نیز مشهود بود (جدول ۳).

با افزایش مقادیر مصرف علف‌کش پندی‌متالین (۳ و ۴ لیتر در هکتار)، کاربرد نیتروژن پاسخ مثبتی در کنترل علف‌های هرز مورد آزمایش داشت. به طوری که، در تیمارهای کاربرد علف‌کش پندی‌متالین با مقدار مصرف ۳ و ۴ لیتر در هکتار، افزایش سطوح کاربرد مقدار نیتروژن توانست تراکم و وزن خشک علف‌های هرز تاج خروس بدل، علف‌پنجه‌ای مصری، تاج خروس، سوروف، اویارسلام و کل علف‌های هرز به طور معنی دار کاهش دهد. از این نظر، مطلوب‌ترین تیمار بعد از وجین دستی، کاربرد ۴ لیتر پندی‌متالین در هکتار به همراه مصرف ۱۰۴ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بود. این تیمار توانست تراکم علف هرز تاج خروس بدل، علف‌پنجه‌ای مصری، تاج خروس، سوروف، اویارسلام و کل علف های هرز را به ترتیب به ۵، ۵/۵، ۲/۲۵، ۶/۲۵، ۲۷/۳۸ و ۴۷/۷۷ بوته در متر مربع و وزن خشک آن‌ها را به ترتیب ۱۷/۷۵، ۱۳/۹۸، ۳/۶۸، ۱۰/۲۴، ۴۸/۱۳ و ۹۶/۵۸ گرم در متر مربع کاهش داد (جدول ۳).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تاثیر سطوح مختلف نیتروژن و روش کنترل علف‌های هرز بر تراکم و زیست توده علف‌های هرز

Table 2- ANOVA results of density and weed dry weight affected by different levels of nitrogen application and weed control method

S. O. V. منابع تغییر	D.F. درجه آزادی	D. muricata تاج خروس بدل		D. aegyptica علف پنجه‌ای مصری		A. blitoides تاج خروس وحشی		E. colonum سوروف		C. esculentus اویارسلام		Weed species سایر علف‌های هرز	
		Density تراکم	Dry Weight وزن خشک	Density تراکم	Dry Weight وزن خشک	Density تراکم	Dry Weight وزن خشک	Density تراکم	Dry Weight وزن خشک	Density تراکم	Dry Weight وزن خشک	Density تراکم	Dry Weight وزن خشک
Year سال	1	795.67^{ns}	58.80^{ns}	61.63^{ns}	9.63^{ns}	874.80^{ns}	598.53^{ns}	64932^{ns}	6660^{ns}	39049^{ns}	12505^{ns}	0.03^{ns}	357^{ns}
Block بلوک	6	3.99^{ns}	2.55^{*}	9.24^{ns}	1.25^{ns}	21.57^{ns}	26.75^{**}	51.87^{ns}	68.00^{ns}	16.60^{ns}	6.27^{ns}	9.51^{ns}	23^{*}
Control Method (CM) روش کنترل	4	2784.7^{**}	553^{**}	5620.72^{**}	578.09^{**}	11567^{**}	2140^{**}	181138^{**}	48959^{**}	14046^{**}	5830^{**}	4278^{**}	2190^{**}
Y× CM سال × روش کنترل	4	124.28^{**}	8.13^{**}	46.72^{ns}	2.73^{ns}	58.02^{ns}	105.51^{**}	2480^{**}	395^{**}	1779^{**}	667^{**}	27.65^{ns}	84^{**}
Nitrogen (N) نیتروژن	2	44.55^{**}	2.32^{ns}	74.73^{ns}	22.63^{**}	154^{**}	5.85^{ns}	1923^{ns}	220.36^{*}	82.42^{ns}	10.67^{ns}	56.28^{*}	13.26^{ns}
N× CM نیتروژن × روش کنترل	8	45.14^{**}	6.90^{**}	167.79^{**}	17.22^{**}	327.13^{**}	44.12^{**}	3638^{**}	789.22^{**}	113.79^{**}	58.77^{*}	125.72^{**}	48.39^{**}
Y× N سال × نیتروژن	2	16.01^{*}	4.52^{*}	11.12^{ns}	1.23^{ns}	48.82^{ns}	1.40^{ns}	409^{ns}	39.90^{ns}	46.18^{ns}	2.15^{ns}	0.09^{ns}	0.23^{ns}
Y× N× CM سال ×نیتروژن× روش کنترل	8	11.42^{*}	1.67^{ns}	3.30^{ns}	0.68^{ns}	43.92^{ns}	0.95^{ns}	241^{ns}	13.46^{ns}	13.43^{ns}	7.03^{ns}	4.75^{ns}	2.63^{ns}
Error خطا	84	5.38	1.10	29.11	1.45	36.60	8.20	123.91	50.87	42.17	22.88	14.33	10.3
CV ضریب تغییرات		18	17	22	15	18	22	7.54	9.53	135	14	19.24	23.97

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

ns, * and **: not significant, significant at 0.05 and 0.01, respectively

جدول ۳- اثر روش کنترل علف‌های هرز و سطوح مختلف کود نیتروژن بر تراکم و وزن خشک علف‌های هرز مختلف

Table 3- Interaction effects of weed control method and nitrogen levels on weed density and dry weight

Control Method روش کنترل	Nitrogen نیتروژن (kg/ha)	D. muricata تاج خروس بدل		D. aegyptica علف پنجه‌ای مصری		A. blitoides تاج خروس وحشی		E. colonum سوروف		C. esculentus اویارسلام		Weed species سایر علف‌های هرز	
		Density تراکم (p m2)	Dry Weight وزن خشک (g m2)	Density تراکم (p m2)	Dry Weight وزن خشک (g m2)	Density تراکم (p m2)	Dry Weight وزن خشک (g m2)	Density تراکم (p m2)	Dry Weight وزن خشک (g m2)	Density تراکم (p m2)	Dry Weight وزن خشک (g m2)	Density تراکم (p m2)	Dry Weight وزن خشک (g m2)
پندی‌متالین (۰) Pen 0 l/ha	56	20.75bc	49.63c	11.00 c	35.75 c	10.25c	23.90 bc	21.00c	30.78c	44.63bc	69.04bc	110.86cd	213.09d
	80	23.38b	59.38b	13.38b	42.00 b	12.13b	25.84b	25.38ab	36.4b	49.25ab	79.04a	127.21b	249.93b
	104	27.13a	69.63a	15.88a	48.00 a	13.25a	30.25a	28.25a	41.64a	51.75a	81.58a	140.34a	279.22a
پندی‌متالین (۲) Pen 2 l/ha	56	17.63d	41.13d	9.13d	30.00 d	8.75d	18.27d	17.63de	24.05de	39.63de	63.74cd	95.54e	182.49e
	80	19.38cd	48.13c	11.50 c	37.25bc	9.88c	21.69c	19.88cd	27.82cd	45.13bc	69.98bc	108.93d	211.37d
	104	22.13bc	56.00 b	13.63 b	41.88b	10.25c	22.05c	23.00bc	34.65b	44.25dc	71.65b	116.65c	234.92c
پندی‌متالین (۳) Pen 3 l/ha	56	14.13e	36.5de	8.38de	26.62de	6.38e	10.23e	14.88ef	21.5ef	37.25ef	59.1de	83.43f	158.56f
	80	11.88ef	33.75e	8.13de	22.45ef	5.25f	9.12e	13.38fg	17.75gh	35.38eg	57.82df	76.22g	145.11g
	104	10.13fg	31.25ef	7.88e	19.32fg	4.63f	8.39e	11.63gh	16.50 g	33.38fg	56.64ef	69.66g	136.05g
پندی‌متالین (۴) Pen 4 l/ha	56	8.63gh	26.75g	6.50 f	18.09fg	2.63g	5.33f	9.38hi	14.49gh	31.75gh	51.93fg	60.65h	120.08h
	80	6.38ih	22.5gh	6.50 f	18.52fg	2.5g	4.57f	7.38i	11.99hi	28.5h	49.93g	52.79i	110.72h
	104	5.00 i	17.75h	5.50 f	13.98g	2.25g	3.68f	6.25i	10.24i	27.38h	48.13g	47.77i	96.58i
وجین دستی weeding	56	0.38j	4.13i	1.00g	3.44h	0.38h	1.19g	1.13j	2.80 j	8.25i	14.83h	11.46j	27.17j
	80	0.63j	3.13i	0.75g	4.25h	0.5h	1.07g	1.13j	2.53j	8.25i	14.25h	11.59j	25.97j
	104	0.50 j	3.13i	0.63g	3.52h	0.25h	1.00g	0.63j	1.99j	8.38i	13.13h	10.69j	23.44j
LSD		2.85	6.02	1.207	5.37	1.05	2.31	3.2	3.77	4.76	6.45	7.1	11.07

در هر ستون میانگین‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح پنج درصد فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

In each column, means followed by the same letter in each treatment are not significantly different ($p>0.05$) according to the LSD test.

این نتیجه بیانگر آن است که در سطوح بالاتر مصرف علف‌کش کاربرد مصرف نیتروژن تاثیر مطلوبی در کنترل علف های هرز دارد. اعتقاد براین است که در بسیاری از مواقع بویژه در در تراکم‌های بالای علف هرز، افزایش مقادیر مصرف کود نیتروژن به نفع علف هرز خواهد بود. در همین راستا زارع و همکاران (۲۴) گزارش کردند که علف‌های هرز مزارع ذرت نسبت به افزایش کاربرد کود نیتروژن واکنش مثبتی دارند به طوری که بیشترین وزن خشک علف‌های هرز در بالاترین مقدار مصرف نیتروژن به دست آمد. در بررسی اثرات نیتروژن بر توانایی سیب زمینی در رقابت با علف‌های هرز نیز مشاهده شد که در سطوح بالای نیتروژن خاک، توانایی رقابت سیب زمینی افزایش یافت (۲۲). سینک و جون (۱۸) با مطالعه اثر سطوح نیتروژن و علف‌کش بر کنترل علف‌های هرز کنجد اظهار کردند که با افزایش سطوح نیتروژن تا ۶۰ کیلوگرم در هکتار تاثیر معنی‌داری بر وزن خشک علف‌های هرز مشاهده نشد. بنت و همکاران (۲) نشان دادند که مقادیر نیتروژن تاثیری بر زیست توده علف‌های هرز کنجد ندارد. همچنین، هیما و الفتروهورینوس (۵) گزارش کردند که کاربرد نیتروژن تاثیری بر توان رقابت غلات زمستانه با یولاف وحشی نداشت. در حالیکه، کارلسون و هیل (۴) دریافتند که مصرف ۱۴۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن قادر است توان رقابت یولاف وحشی در گندم را افزایش دهد. اما آزمایش هادی زاده و همکاران (۸) گزارش کرد که مقدار نیتروژن تاثیری بر وزن خشک علف‌های هرز کلزا ندارد ولی تعداد علف‌های هرز در واحد سطح افزایش یافتند.

جدول ٤- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) عملکرد دانه کنجد تحت تاثیر سطوح مختلف نیتروژن و روش کنترل علف‌های هرز

Table 4- ANOVA (Mean of Squares) results of sesame grain yield affected by different levels of nitrogen application and weed control method

S. O. V. منابع تغییر	D.F. درجه آزادی	grain yield عملکرد دانه	Variation of grain yield (%) درصد تغییرات عملکرد دانه
Year سال	1	1621.21^{ns}	549^{ns}
Block بلوک	6	6208^{ns}	660^{ns}
Control Method (CM) روش کنترل	4	1269795**	28496**
Y× CM سال × روش کنترل	4	2602^{ns}	59.5^{ns}
Nitrogen (N) نیتروژن	2	12685^{ns}	424^{ns}
N× CM نیتروژن × روش کنترل	8	11974^{ns}	232.26^{ns}
Y× N سال × نیتروژن	2	212.85^{ns}	3.57^{ns}
Y× N× CM سال ×نیتروژن× روش کنترل	8	270^{ns}	2.06^{ns}
Error خطا	84	7392.77	172.35
CV ضریب تغییرات	-	10	10

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

ns, * and **: not significant, significant at 0.05 and 0.01, respectively

اثر سطوح مختلف کود نیتروژن و روش کنترل بر عملکرد دانه کنجد

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که روش کنترل اثر معنی‌داری (P≤۰/۰۱) بر عملکرد دانه و درصد تغییرات آن دارد (جدول ۴). درحالی که، اثر کاربرد کود نیتروژن و کنش متقابل کود نیتروژن و روش کنترل بر عملکرد دانه و درصد تغییرات آن معنی‌دار نبود (جدول ۴). همچنین، کنش متقابل سال در روش‌های کنترل و سال در نیتروژن در این آزمایش معنی دار نبود، لذا از میانگین دو ساله آزمایش استفاده شد (جدول ۴). نتایج نشان داد با افزایش مقادیر کاربرد علف‌کش پندی‌متالین عملکرد دانه به طور معنی‌داری افزایش یافت به‌طوری که مطلوب ترین تیمار بعد از وجین دستی، کاربرد پندی‌متالین به مقدار ۴ لیتر در هکتار بود. این تیمار توانست عملکرد

دانه را با ۱۰۰۴ کیلوگرم در هکتار افزایش دهد و نسبت به شاهد (بدون روش کنترل) ۶۹ درصد افزایش داشت. پس از آن به ترتیب کاربرد پندی‌متالین به مقدار ۳ و ۲ لیتر در هکتار به ترتیب با ۴۸ و ۱۹ درصد افزایش عملکرد نسبت به شاهد بودند (جدول ۵). از سوی دیگر، سطوح کاربرد کود نیتروژن بر عملکرد دانه کنجد تاثیر معنی‌داری نداشتند، با این وجود بیشترین مقدار عملکرد دانه از مصرف ۸۰ کیلوگرم نیتروژن با ۴۶ درصد افزایش عملکرد حاصل شد (جدول ۵).

جدول ۵- نتایج مقایسه میانگین تاثیر سطوح مختلف نیتروژن و روش کنترل علف‌های هرز بر عملکرد دانه کنجد

Table 5- Mean comparison results of different levels of nitrogen application and weed control method on sesame grain yield

Treatment تیمار	Levels سطوح	عملکرد دانه grain yield	Variation of grain yield (%) درصد تغییرات عملکرد دانه
Control Method روش کنترل	پندی‌متالین (۰) Pen 0 lit ha^{-1}	536.79e	100e
	پندی‌متالین (۲) Pen 2 lit ha^{-1}	737.95d	119.54d
	پندی‌متالین (۳) Pen 3 lit ha^{-1}	932.05c	149.62c
	پندی‌متالین (۴) Pen 4 lit ha-1	1004.25b	170.5b
	وجین دستی weeding	1117.75a	182.5a
LSD (0.05)		49.00	8.00
Nitrogen	56	845.78a	140.67a
(Kg ha^{-1})	80	879.97a	146.45a
نیتروژن (کیلوگرم در هکتار)	104	871.52a	146.18a
LSD (0.05)		38.00	6.00

در هر ستون میانگین‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح پنج درصد فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

In each column, means followed by the same letter are not significantly different (p>0.05) according to the LSD test.

گزارش‌های متعدد نشان داده است که اثر کودهای نیتروژن و کاربرد علف‌کش‌ها بر عملکرد گیاهان زارعی موثر است. در همین ارتباط، نصیری و همکاران (۱۴) گزارش کردند که سطوح مختلف کود نیتروژن و علف‌کش نیکوسولفوران+ ریم‌سولفوران تاثیر معنی‌دار بر عملکرد ذرت داشتند. مرادی تلاوت و همکاران (۱۳) نیز اذعان داشتند که سطوح مختلف کود نیتروژن و علف‌کش تاثیر معنی‌داری بر عملکرد گندم دارند. در آزمایش هادی زاده و همکاران (۸) نیز اظهار شده که اثر مقدار و تقسیط کود نیتروژن در مدیریت زراعی علف‌های هرز تاثیر معنی‌دار بر عملکرد دانه کلزا نداشتند هر چند سبب افزایش عملکرد دانه در تیمار وجین گردید. سهریا و بویار (۱۷) نیز نشان دادند که کاربرد وجین دستی در مقایسه با تیمار شاهد بدون کنترل علف هرز سبب افزایش عملکرد و سود اقتصادی کنجد می‌شود. همچنین گزارش کردند که کاربرد کود نیتروژن عملکرد دانه افزایش می دهند. در ارزیابی افت عملکرد کنجد ناشی از حاصلخیزی خاک توسط زودی (۲۵) گزارش شد که بین سطوح ۳۰، ۶۰ و ۹۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن تاثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه کنجد ندارد. سینک و جون (۲۰) در آزمایشی تاثیر سطوح نیتروژن و اثر علف‌کش بر علف‌های هرز و عملکرد کنجد را بررسی و گزارش کردند که با افزایش سطوح نیتروژن تا ۶۰ کیلوگرم در هکتار عملکرد دانه کنجد افزایش یافت. همچنین در پژوهش دیگری بنت و همکاران (۲) گزارش کردند که زیست توده کنجد با افزایش میزان کود نیتروژن افزایش یافت اما مقادیر نیتروژن تاثیری بر زیست توده علف‌های هرز نداشت. علف‌های هرز به علت شباهت مورفولوژیکی و قرابتی که با گیاه زراعی دارد، کودپذیری بالایی داشته و سریعاً شاخ و برگ زیادی تولید کرده، و در صورت عدم کنترل آنها باعث افزایش خسارت خواهند شد (۳).

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی نتایج نشان داد که مطلوب ترین تیمار از نظر کارایی کنترل علف‌های هرز بعد از وجین دستی کاربرد پندی‌متالین به مقدار ۴ لیتر در هکتار به همراه کاربرد ۱۰۴ و ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار بود. این تیمارها توانستند تراکم و وزن خشک علف‌های هرز تاج خروس بدل، علف پنجه‌ای مصری، تاج خروس، سوروف، اویارسلام و مجموع علف‌های هرز را به طور معنی‌داری کاهش دهند. بر اساس نتایج آزمایش، کاربرد کود نیتروژن در شرایط بدون کنترل علف هرز (بدون وجین یا کاربرد پندی‌متالین) سبب افزایش تراکم و ماده خشک

علف‌های هرز گردید اما در شرایط کنترل علف هرز (وجین و کاربرد پندی‌متالین به مقدار ۴ لیتر در هکتار) باعث کاهش تراکم و ماده خشک علف‌های هرز شد. به نظر می رسد، در شرایط کنترل علف هرز، کاربرد نیتروژن قادر است توان رقابتی گیاهان زراعی نسبت به علف هرز بهبود دهد. بنابراین، استفاده از منبع کود نیتروژن به عنوان یک رهیافت سودمند می تواند در مدیریت تلفیقی کنترل علف‌های هرز در کنجد مطرح شود. همچنین نتایج نشان داد بیشترین عملکرد دانه پس از وجین دستی، از کاربرد علفکش پندی متالین به مقدار ۴ لیتر در هکتار بدست آمد. مقدار کاربرد کود نیتروژن تاثیر معنی داری در افزایش عملکرد ندارد. با این وجود، کاربرد ۸۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار تاثیر مطلوب تری بر عملکرد داشت.

منابع

1- Anonymous. 2015. Crop production. Agriculture of Statistic Database. Agriculture Products. Ministry of Jihad-e-Agric. Vol. 1. 137 p. (In Persia) Available online at http//www.agri-jahad.ir.

2- Bennet M., Estrange D.L., and Routley G. 1998. Sesame research report 1996-97 wet season Katherine. Technical Bulletin Northern Territory, Department of Primary Industry and Fisheries, No. 274.

3- Blackshaw R.E., Brandt R.N., and Grant C.A. 2003. Differential response of weed species to added nitrogen. Weed Science, 51:532- 539.

4-Carlson H.L., and Hill J.E. 1985. Wild oats (*Avena fatua* L.) competition with spring wheat: plant density effects. Weed Science, 33:176–181.

5- Dhima K.V. and Eleftherohorinos I.G. 2001. Influence of nitrogen on competition between winter cereals and strile oat. Weed Science, 49:77-82.

6- Grichar W.J., Dotray P.A, and Langham D.R. 2012. Sesame (*Sesamum indicum* L.) Growth and Yield as Influenced by Preemergence Herbicides. Hindawi Publishing Corporation International Journal of Agronomy. Article ID 809587, 7 pages doi:10.1155/2012/809587.

7- Grichar W.J., Sestak D.C., Brewer K.D., Besler B.A., Stichler C.R., and Smith D.T. 2001. Sesame (*Sesamum indicum* L.) tolerance with various postemergence herbicides. Crop Protection, 20, 8: 685–689.

8- Hadizadeh M.H. 2007. The role of rates and splitting of nitrogen fertilizer in cultural weed management of oilseed rape (*Brassica napus*). p. 234–238. Proceedings of the 2nd Iranian Weed Science Congress, 2007. Mashhad, Iran. (In Persian with English abstract).

9- Husseini S.A., Rashed Mohassel M.H., and Nassiri Mahallati M. 2007. The influence of nitrogen and weed interference periods on corn (*Zea mays* L.) yield and yield components. p. 29–34. Proceedings of the 2nd Iranian Weed Science Congress, 2007. Mashhad, Iran. (In Persian with English abstract).

10- Khajepoor M.R. 1994. Industrial Crop Production. Isfahan University of Technology Publisher, Iran. (In Persian).

11- Kim D.S., Marshall E.J.P., Caseley J.C., and Brain P. 2006. Modelling interactions between herbicide and nitrogen in terms of weed response. Weed Research, 46:490-501.

12- Mamnoie E., Shimi P., and Baghestani M.A. 2012. Evaluation of Various Herbicide Efficiency in Weed Control of Sesame (*Sesamum indica*) in Jiroft and Kohnuj. Iranian Journal of Weed Science, 8: 1-12. (In Persian with English abstract).

13- Moradi-Telavat M.R., Siadat S.A., Fathi G., Zand E., and Alamisaeid K. 2011. Effect of nitrogen and herbicide application on competition between wheat and wild oat. Iranian Journal of Crop Sciences, 12 (4): 364-376. (In Persian with English abstract).

14- Nasiri A., Hosseini Cici S.Z., Ghadiri H., and Kazemeini S.A. 2015. Interaction effects of nitrogen fertilizer and nicosulfuron + rimsulfuron herbicide on weed control in grain corn. Iranian Journal of Weed Science, 11:51-60. (In Persian with English abstract).

15- Prusty J.C., and Dayanand P.M. 1987. Influence of nitrogen on yield and yield attributes of maize under different methods of weed control and cropping systems. Indian Journal of Agronomy, 32(4):370-373.

16- Rashed Mohassel M.H., and Mousavi S.K. 2006. Weed Management Principles (translate). Ferdowsi University of Mashhad Press, Mashhad. (In Persian).

17- Saharia P., and Bayan H.C. 1996. The production potential of Sesamum (*Sesamum indicum* L.) as influenced by weed management and nitrogen level. Journal of the Agricultural Science Society of North East India, 9, 2:199-201.

18- Sheibani S., and Ghadiri H. 2007. Effect of split nitrogen application and herbicide on wild barley control in wheat. p. 515–520. Proceedings of the 2nd Iranian Weed Science Congress. 515-520. 2007. Mashhad, Iran. (In Persian with English abstract).

19- Shimi, P. and Mousavi, R. 1993. Weed Contorl chemical of Seasam. Abstract of the 11nd Iranian Plant Protection Congress, Rasht. Iran. 120 pp (In Persian with English summary).

20- Singh B. and Jun P. 2003. Dry-matter accumulation in weeds and qualitative characters of sesame (*Sesamum indicum*) as influenced by nitrogen levels and weed-control measures. Indian Journal of Agronomy, 48(2):120-123.

21- Upadhyaya M.K., and Blackshaw R.E. 2007. Nonchemical weed management principles, concepts and technology. Agriculture and Agri-Food Canada, Lethbridge, Alberta, Canada.
22- Van Delden A.L., Lotz Bastiauans A., Franke A.C., Smid H.G., Groeneveld M.W., and Kropff M.J. 2002. The influence of nitrogen supply on the ability of wheat and potato to supperss Stellaria media growth and reproduction. Weed Research, 42:429-445.
23- Zand, E., Baghestani, M.A., Nezamabadi, N. Shimi, P and Mousavi S.K. 2017. A guide for herbicides in Iran. University Press Center, 143pp. (In Persian)
24- Zare A., Alizadeh H., Beheshtian Mesgaran M., and Rahimian Mashhadi H. 2008. The responses of corn weeds to nitrogen fertilizer rates and herbicide dosages. Iranian Journal of Weed Science, 4:21-32.
25- Zewdie K. 1996. Importance of yield limiting factors on sesame under irrigation at Werer. IAR Newsletter of Agricultural Research, 11:2-6

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۴۱۷-۴۰۹

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 409-417

کنترل شیمیایی علف‌های هرز پیاز خوراکی (*Allium cepa* L.) در شرایط محیطی رامهرمز

عادل مدحج[۱*]- هادی زارع زاده[۲]- روزبه فرهودی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۱۹

چکیده

پیاز به دلیل داشتن برگ‌های نازک، عدم قدرت سایه اندازی و ایجاد پوشش روی سطح زمین، شاخص سطح برگ کم، تراکم پایین و رشد آهسته در مراحل اولیه رشد، قدرت رقابت پایینی با علف‌های هرز دارد. به منظور ارزیابی زمان مصرف برخی علف‌کش‌ها در کنترل علف‌های هرز پیاز خوراکی این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۹۳-۱۳۹۲ در شهرستان رامهرمز انجام شد. فاکتور اول شامل علف‌کش‌های پس‌رویشی، کلتودیم (سلکت سوپر)، اگزادیازون (رونستار)، اکسی‌فلورفن (گل) و اختلاط اگزادیازون+کلتودیم و فاکتور دوم شامل دو زمان مصرف علف‌کش در مراحل ۲-۱ و ۴-۳ برگی پیاز بود. علف‌های هرز غالب در مراحل ابتدایی رشد پیاز خوراکی شامل پیچک صحرایی (*Convolvulus arvensis*)، سوروف (*Echinocholea crus galli*)، پنیرک (*Malva* spp) و در مرحله تشکیل سوخ شامل یونجه گل زرد (*Melilotus indica*)، پنیرک و دم عقربی (*Scorpiurus muricatus* L.) بودند. نتایج نشان داد که اثر زمان مصرف علف‌کش‌ها بر عملکرد پیاز معنی‌دار نبود، اما اثر نوع علف‌کش بر تراکم و زیست توده علف‌های‌هرز غالب و عملکرد پیاز معنی‌دار شد. بیشترین کارایی کنترل علف‌های هرز به علف‌کش اکسی‌فلورفن (۹۱/۶ درصد) اختصاص داشت و بیشترین میانگین وزن تر سوخ (۱۱/۸۵ کیلوگرم در هکتار)، تعداد سوخ (۲۱۵/۵ در مترمربع)، قطر سوخ (۵/۵۳ سانتی‌متر) و وزن خشک سوخ پیاز (۷/۷ کیلوگرم در مترمربع) در این تیمار به دست آمد. تفاوت این صفات در تیمار اکسی‌فلورفن و اختلاط اگزادیازون+کلتودیم معنی‌دار نبود. بطور کلی، مصرف علف‌کش اکسی‌فلورفن در مرحله ۴-۳ برگی برای کنترل کارآمد علف‌های هرز پیاز و تولید عملکرد اقتصادی بالا قابل توصیه بود.

واژه‌های کلیدی: اکسی‌فلورفن، اگزدیازون، عملکرد سوخ

مقدمه

پیاز با نام علمی *Allium cepa* گیاهی تک لپه و دوساله متعلق به جنس آلیوم از خانواده *Alliaceae* است. مهمترین گونه‌های موجود در این جنس شامل پیاز، سیر(*Allium sativum*)، موسیر (*Allium stipitatum*)، پیاز کوهی (*Allium schoenoprasum*) و تره‌فرنگی (*Allium ampeloprasum*) است، که از نظر اقتصادی و مصرف غذایی، پیاز در درجه اول اهمیت قرار دارد (۶). پیاز یکی از سبزی های مهم می‌باشد که تولید آن در دنیا به ۷۴/۲۵ میلیون تن در هکتار می‌رسد. ایران با تولید ۱/۹۲ میلیون تن مقام پنجم جایگاه تولید پیاز را در جهان به خود اختصاص داده است (۱۷). سطح زیر کشت پیاز در استان خوزستان ۴۵۰۲ هکتار با متوسط عملکرد ۲۷/۶۴ تن در هکتار می‌باشد (۱۷). در مزارع پیاز علف‌های‌هرز زیادی می‌روید، که با پیاز رقابت کرده و در صورت عدم کنترل ممکن است در حدود ۸۰ تا ۱۰۰ درصد خسارت ایجاد کنند (۲۴). در برخی تحقیقات، کاهش عملکرد پیاز در رقابت با علف‌های هرز ۸۰-۴۰ درصد گزارش شده است (۲، ۵ و ۲۵).

زمانی که مزارع برای کشت پیاز آماده می‌شوند شرایط مناسب جهت جوانه‌زنی و استقرار علف‌های‌هرز پهن برگ مهیا شده و علف‌های‌هرز علاوه بر امکان رشد و رقابت، با سایه‌اندازی در مزرعه، محیط مناسبی برای گسترش انواع حشرات و بیماری‌ها ایجاد می‌کنند (۱۵). پیاز به دلیل داشتن برگ‌های نازک، عدم قدرت سایه اندازی و ایجاد پوشش روی سطح زمین، شاخص سطح برگ کم، تراکم پایین و رشد آهسته در مراحل اولیه رشد، قدرت رقابت پایینی با علف‌های هرز دارد (۷، ۸، ۱۰ و ۱۲). با توجه به افزایش و توسعه سطح کشت پیاز در سال های اخیر، کنترل مؤثر علف‌های هرز در تمامی دوره رشد و نمو پیاز به منظور افزایش عملکرد ضروری است (۹). در تمامی تحقیقات اجرا شده، وجین دستی علف‌های هرز باعث دستیابی به بالاترین عملکرد پیاز گردیده ولی به دلیل افزایش هزینه‌های تولید، ممکن است در مزارع وسیع اقتصادی نباشد (۶).

استفاده از علف‌کش‌ها می‌تواند به عنوان راهکاری جایگزین جهت کاهش هزینه‌ها، عدم نیاز به نیروی کارگر و افزایش سودمندی پیاز مطرح باشد (۱). علف‌کش‌هایی نظیر اکسی‌فلوروفن (گل)،

۱ و ۳- دانشیاران گروه شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران
(*- نویسنده مسئول Email: adelmodhej2006@yahoo.com)
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

DOI: 10.22067/jpp.v32i3.68514

اگزادیازون (رونستار)، لینورون (فمورون) و پندیمتالین (استامپ) برای کنترل علف‌های هرز پیاز مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۱و۱۶). با بررسی اثر علفکش‌های اکسی‌فلورفن (گل) و اگزادیازون (رونستار) روی علف‌های هرز پیاز در مراحل ابتدایی رشد گزارش شده است که اکسی‌فلورفن بعد از وجین‌دستی بهترین کنترل علف‌هرز و عملکرد پیاز را به خود اختصاص داد (۷). در یک تحقیق بیشترین کارایی کنترل علف هرز و عملکرد پیاز را در تیمار اختلاط دو علف‌کش اکسی‌فلوروفن و پروپاکوئیزافوپ (آرژیل) مشاهده شد (۱۸). در پژوهشی دیگر، گزارش شده است که اختلاط دو علف‌کش پندی متالین و کوئیزالوفوپ اتیل زیست توده علف‌های هرز را به طور معنی‌دار کاهش داده و افزایش عملکرد پیاز و ویژگی‌های مرفولوژیکی آن را به دنبال داشت (۱۸).

بطور کلی، بررسی منابع نشان می‌دهد که تحقیقات بسیار محدودی در خصوص کنترل شیمیایی علف‌های هرز پیاز در ایران و جهان انجام شده است. افزایش سطح زیر کشت این گیاه تجارتی، کنترل دستی علف‌های هرز آن را دشوار نموده و از سوی دیگر ممکن است برخی علف‌کش‌ها از کارایی مطلوب در کنترل علف‌هرز پیاز برخوردار نباشند. از سوی دیگر، با توجه به دوره بحرانی نسبتاً طولانی پیاز در رقابت با علف‌های هرز، زمان مصرف علف‌کش نیز از اهمیت بسزایی در کنترل بهینه علف‌های هرز این گیاه برخوردار است. بنابراین، شناسایی علف‌های هرز غالب در مزرعه، نوع علف‌کش با دز صحیح و مصرف آن در زمان مناسب، کاهش خسارت علف‌هرز و افزایش عملکرد پیاز را به دنبال خواهد داشت. این تحقیق به منظور بررسی اثر سه علف‌کش پس رویشی مختلف در دو زمان مصرف بر کنترل علف‌های هرز و عملکرد پیاز در منطقه رامهرمز به مرحله اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲در مزرعه‌ای واقع در شهرستان رامهرمز با عرض و طول جغرافیایی ۳۱ و ۴۹ درجه شمالی-شرقی، با ارتفاع ۱۵۱ متر از سطح دریا اجرا شد. شهرستان رامهرمز دارای آب و هوای گرم و خشک با زمستان‌های معتدل و تابستان‌های گرم و خشک است. میزان فسفر و پتاسیم خاک به ترتیب ۱۶ و ۱۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و کربن آلی حدود ۱/۸ درصد بود. اسیدیته خاک ۷/۷ و هدایت الکتریکی در حدود ۴/۲ دسی‌زیمنس بر متر ارزیابی شد (جدول ۱).

جدول ۱- ویژگی‌های خاک محل آزمایش

Table 1- Soil characteristic of experimental location

عمق نمونه برداری (سانتی‌متر) Depth (cm)	هدایت الکتریکی EC ($Ds.m^{-1}$)	اسیدیته pH	کربن آلی (درصد) OC (%)	فسفر P (ppm)	پتاسیم K (ppm)	آهن Fe (ppm)	روی Zn (ppm)
0-30	4.21	7.71	1.88	16	130	8	1.1

آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تیمار علف‌کش به علاوه یک تیمار شاهد کنترل کامل و شاهد بدون کنترل در سه تکرار انجام گردید. فاکتور اول، علف‌کش‌های پس‌رویشی، شامل کلتودیم (سلکت سوپر) به میزان ۱/۵ لیتر در هکتار، علف‌کش دو منظوره اگزادیازون (رونستار) به میزان دو لیتر در هکتار، علف‌کش دو منظوره اکسی فلورفن (گل) به میزان ۱/۵ لیتر در هکتار و اختلاط اگزادیازون- کلتودیم (۲-۱/۵ لیتر در هکتار) بود (جدول ۲). دو زمان مصرف علف‌کش، شامل عملیات سمپاشی در طول مرحله ۲-۱ و ۴-۳ برگی پیاز به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شد. کلتودیم یکی از جدیدترین علف‌کش‌های پس‌رویشی ثبت شده در ایران برای کنترل علف‌های هرز باریک برگ یک ساله و چند ساله در محصولات زراعی نظیر پیاز می‌باشد که توسط شرکت Arista Life Science فرانسه به ایران معرفی شده است. عملیات تهیه زمین شامل شخم، دو دیسک عمود بر هم، تسطیح، ایجاد جوی و پشته و کرت‌بندی بود.

جدول ۲- ویژگی‌های علف‌کش‌های مورد مطالعه

Table 2- Herbicides treatments

نام تجارتی Commercial name	نام عمومی Common name	خانواده Family	میزان مصرف Rate of use
Oxyfluorfen	Goal	Diphenyl-ether	1.5 $L.ha^{-1}$
Oxadiazon	Ronstar	oxadiazol	2 $L.ha^{-1}$
Clethodim	Selectsuper	Cyclohexanedione	1.5 $L.ha^{-1}$

پیاز رقم محلی بصورت دستی با تراکم ۲۵ بوته در متر مربع در اواسط مهرماه کاشته شد. برای عملیات سم‌پاشی از سم پاش پشتی کتابی (مدل یونی تک) ساخت کشور کره جنوبی با حجم آب ۱۵ لیتر و با فشار ۶-۵ اتمسفر و نازل دو سر تی جت استفاده شد.

نیاز کودی بر اساس آزمایش خاک تعیین شد. کود نیتروژن از منبع اوره (۴۶ درصد) به میزان ۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار و کود فسفر از منبع سوپرفسفات تریپل به میزان ۱۰۰ کیلوگرم P_2O_5 در هکتار در کتار بر اساس آزمون خاک مصرف شد. تعداد علف‌های هرز در کوادرات‌های ۰/۵×۰/۵ متر قبل و دو هفته پس از سمپاشی شمارش شدند. برای افزایش دقت اثر علف‌کش‌ها بر علف‌های هرز موجود، در این مدت علف‌های هرز جدید به صورت دستی کنترل و شمارش پس از مصرف علف‌کش در همان کوادرات انجام شد. به منظور اندازه‌گیری زیست توده علف‌های هرز، نمونه‌برداری در مرحله تشکیل سوخ با استفاده از کوادرات ۰/۵×۰/۵ متر انجام و نمونه‌ها در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و توزین شدند. کارایی علف‌کش‌ها از طریق رابطه زیر محاسبه شد (۲۳):

$$WCE=[(A-B)/A]\times100$$

در این رابطه، WCE[1]، A و B به ترتیب کارایی کنترل علف هرز، تعداد علف‌های هرز قبل و بعد از اعمال تیمار علف‌کش هستند. در انتهای فصل رشد نیز با انتخاب دو خط کاشت میانی از هر کرت آزمایشی، اجزای عملکرد پیاز نظیر وزن تر سوخ، تعداد سوخ، قطر سوخ و وزن خشک سوخ اندازه‌گیری و تعیین شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها از طریق روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

اثر تیمارها بر تراکم علف‌های‌هرز

میانگین فراوانی علف‌های هرز غالب در مزرعه آزمایشی، پیش و پس از مصرف علف‌کش در جداول ۳ و ۴ ارائه شده است. سوروف (*Echinochloa crus-galli*)، پنیرک (*Malva rotundifolia*) و پیچک صحرایی (*Convolvulus arvensis*) از جمله علف‌های هرز غالب در مزرعه بودند. سایر علف‌های هرز مشاهده شده در مزرعه با غالبیت کمتر شامل اویارسلام ارغوانی (*Cyperus rotundus* L.)، خردل وحشی (*Sinapis arvensis*)، سلمه تره (*Chenopodium album*) و آناغالیس (*Anagallis arvensis*) بودند. نتایج نشان داد که کمترین فراوانی سوروف پس از مصرف علف‌کش کلتودیم بدست آمد، بالاترین کارایی کنترل علف‌هرز سوروف در این علف‌کش مشاهده شد (جدول ۳). سوروف واکنشی به مصرف علف‌کش اگزادیازون به تنهایی نشان نداد، این علف‌کش همچنین کارایی مطلوبی در کنترل دو علف هرز پهن برگ پنیرک و پیچک صحرایی نسبت به اکسی‌فلوروفن نداشت. اکسی‌فلوروفن به عنوان یک علف‌کش دو منظوره، پس از کلتودیم در جایگاه دوم کنترل سوروف قرار گرفت اما دو علف‌هرز پهن برگ دیگر را ۱۰۰ درصد کنترل کرد. نتایج یک تحقیق نشان داد جمعیت سوروف دارای بالاترین تراکم (۲۵/۷۴ درصد) در مزارع پیاز در مقایسه با سایر علف‌های هرز بوده و بعد از دو علف‌کش دوال گلد و استامپ علف‌کش اکسی‌فلورفن در مرتبه بعدی کنترل سوروف قرار داشت (۱۲). اگرچه بیشترین کارایی کنترل فراوانی مجموع علف‌های هرز به تیمار کلتودیم در مرحله ۴-۳ برگی اختصاص داشت اما دلیل این واکنش کنترل سوروف به عنوان فراوان‌ترین و غالب‌ترین علف‌هرز مزرعه توسط این علف‌کش بود (جدول ۴). بنابراین، در صورت غالبیت این علف‌هرز باریک برگ در مزرعه، علف‌کش کلتودیم از کارایی بالا در کاهش تراکم علف‌هرز و افزایش تولید برخوردار است (۱۳). اما در صورت حضور علف‌های هرز باریک و پهن برگ، استفاده از اختلاط کلتودیم و اگزادیازون توصیه می‌شود.

پس از تیمار کلتودیم و اختلاط کلتودیم و اگزادیازون در هر دو مرحله ۲-۱ و ۴-۳ برگی، اکسی‌فلوروفن کارایی مطلوبی در کنترل علف‌های هرز پهن برگ و سایر علف‌های هرز باریک و پهن برگ موجود در مزرعه داشت. با توجه به نتایج به نظر می‌رسد اختلاط علف‌کش‌های کلتودیم و اگزادیازون دارای اثر هم افزایی در کنترل علف‌های هرز نازک و پهن برگ داشت. اکسی‌فلورفن در کنترل بسیاری از علف‌های‌هرز از جمله پنیرک کارامد بوده و باعث افزایش عملکرد پیاز شده است (۱۴). در یک تحقیق پنیرک در مقایسه با سایر پهن برگ‌ها مانند سلمه‌تره و تاج‌خروس دیرتر ظاهر شده و کاملاً به وسیله اکسی‌فلورفن کنترل شد (۳). چاناپاگودار و بیرادار (۵) نیز نتیجه گرفتند که اکسی فلوروفن از کارایی بالا در کنترل علف‌های هرز ۳۰ روز پس از سبز شدن پیاز برخوردار بود. کلتودیم به دلیل ماهیت باریک برگ‌کشی پنیرک و پیچک صحرایی را در هر دو مرحله مصرف کنترل نکرد (جدول ۴). موسوی و همکاران (۱۳) گزارش دادند که کلتودیم یک علف‌کش سیستمیک برای کنترل باریک برگهای یک ساله و چندساله نظیر سوروف، ارزن، قیاق و پنجه مرغی در مزارع سویا است. این علف کش از نظر نحوه عمل بازدارنده استیل کوآنزیم آکربوکسیلاز محسوب می شود.

پیچک صحرایی در مرحله ۲-۱ برگی به خوبی توسط اگزادیازون و اکسی‌فلوروفن کنترل شد، اما در مرحله ۴-۳ اگزادیازون کارایی کنترل کمتری در کنترل پیچک صحرایی با بوته‌های بزرگ‌تر نسبت به مرحله ۲-۱ برگی داشت. اویگور و همکاران (۲۲) نشان دادند دو

1- Weed control efficiency

علف‌کش اکسی فلورفن و اگزادیازون توانستند به بهترین نحو در مقایسه با پندیمتالین و تپرالوکسیدیم، درصد پوشش و تعداد بوته‌ی علف‌هرز پیچک صحرایی را در واحد سطح کاهش دهند.

جدول ۳- اثر نوع و زمان مصرف علف‌کش بر تعداد علف‌های هرز پیاز پیش و پس از مصرف و کارایی کنترل علف‌های هرز

Table 3- Effect of herbicide type and time of application on weed abundance and weed control efficiency

تیمارها Treatments	*Echinocholea crus galli*			*Malva* spp			*Convolvulus arvensis*		
علف‌کش‌ها Herbicides	قبل از مصرف Before	پس از مصرف After	WCE	قبل از مصرف Before	پس از مصرف After	WCE	قبل از مصرف Before	پس از مصرف After	WCE
Clethodim	205	8	96.0	11	11	0.0	6	6	0
Oxadiazon	216	211	2.3	9	5	44.4	11	5	54.5
Oxyfluorfen	182	67	63.1	3	0	100.0	24	2	91.6
Clethodim+Oxadiazon	209	10	95.2	5	1	80.0	24	13	45.8
زمان مصرف Application timing									
مرحله ۲-۱ برگی 1-2 leaves	463	182	60.7	10	6	40.0	37	15	59.4
مرحله ۴-۳ برگی 3-4 leaves	349	121	65.3	18	11	38.8	28	11	60.7

علف‌کش اکسی فلورفن در مرحله ۲-۱ برگی و ۴-۳ برگی پیاز، با بیشترین کارایی قسمت اعظم جمعیت پیچک صحرایی را کنترل کرد و تفاوت معنی‌داری با اگزادیازون داشت که تنها نیمی از جمعیت پیچک را کنترل کرد. بطور کلی، کارایی بالای کنترل علف‌هرز در تیمار کلتودیم و اختلاط آن با اگزادیازون به دلیل فراوانی بالای سوروف بود. در حالی که در صورت فراوانی علف‌های هرز پهن برگ رقیب همچون پیچک صحرایی و پنیرک، استفاده از اکسی‌فلوروفن اثر بیشتری در کنترل علف‌های هرز داشت (۱۴ و ۲۲).

زیست توده علف‌های هرز در مرحله تشکیل سوخ

یونجه گل زرد، پنیرک و دم عقربی از علف‌های هرز غالب در مزرعه در مرحله تشکیل سوخ بودند. نتایج نشان داد اثر زمان مصرف علف‌کش و بر هم‌کنش زمان مصرف و نوع علف‌کش بر زیست توده‌ی خشک پنیرک و دم عقربی معنی‌دار نبود، اما اثر تیمار زمان مصرف علف‌کش بر صفت وزن خشک یونجه گل زرد و اثر تیمارهای نوع علف‌کش بر زیست توده خشک دم‌عقربی (*Scorpiurus muricatus* L.)، یونجه گل‌زرد (*Melilotus officinalis*) و پنیرک معنی‌دار شد (جدول ۵). نتایج نشان داد که کمترین زیست توده علف‌های هرز پهن برگ غالب در مزرعه در مرحله تشکیل سوخ به اکسی‌فلوروفن اختصاص داشت (جدول ۶). گزارش شده است که تیمار اکسی‌فلورفن در مرحله ۴-۳ برگی پیاز به طور مؤثری یونجه‌گل زرد، تاج خروس (*Amaranthus retroflexus*) و خاکشیر تلخ (*Sisymbrium irio*) را کنترل می‌کند ولی ممکن است اندکی باعث گیاهسوزی شود، استعمال پیش از این مرحله نیز باعث گیاهسوزی شدید پیاز می‌شود (۲۰). گزارش شده است که یونجه‌وحشی به وسیله اکسی‌فلورفن کنترل می‌شود ولی به دلیل رشد مجدد گیاه آسیب دیده، اثر کنترلی علف‌کش تا ۵۰ روز بعد از تیمار چندان مؤثر نیست، اما در نهایت کنترل این علف‌هرز به وسیله اکسی‌فلورفن، رضایت‌بخش بوده است (۲۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بالاترین زیست توده خشک پنیرک و دم‌عقربی به تیمار کلتودیم تعلق داشت که تفاوت آن با اگزادیازون معنی‌دار بود (جدول ۶).

اثر تیمارها بر عملکرد و اجزای عملکرد پیاز

نتایج نشان داد اثر زمان مصرف علف‌کش‌ها بر وزن تر، تعداد سوخ، قطر سوخ و وزن خشک سوخ پیاز معنی‌دار نبود، اما اثر تیمارهای علف‌کش و بر هم‌کنش زمان مصرف و نوع علف‌کش بر این صفات معنی دار بود (جدول ۷). مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین وزن تر، تعداد، قطر سوخ و وزن خشک سوخ به دلیل کنترل معنی‌دار علف‌های هرز به علف‌کش اکسی‌فلورفن اختصاص داشت (جدول ۸).

جدول ٤- اثر بر هم‌کنش نوع و زمان مصرف علف‌کش‌ها بر کنترل علف‌های هرز غالب

Table 4- Interaction of the type and time of herbicides application on dominant weed control

تیمارها Treatments	*Echinocholea crus galli*			*Malva* spp			*Convolvulus arvensis*			*Sinapis arvensis, Chenopodium album, Cyperus rotundus*			Total weeds		
1-2 leaves مرحله ۲-۱ برگی	قبل از مصرف Before	پس از مصرف After	کارایی WCE	قبل از مصرف Before	پس از مصرف After	کارایی WCE	قبل از مصرف Before	پس از مصرف After	کارایی WCE	قبل از مصرف Before	پس از مصرف After	کارایی WCE	قبل از مصرف Before	پس از مصرف After	کارایی WCE
Clethodim	103	6	94	5	5	0	3	3	0	2	2	0	113	16	85.8
Oxadiazon	139	134	3	2	0	100	6	3	50	0	0	0	147	137	6.8
Oxyfluorfen	127	38	70	1	0	100	13	1	92	0	0	0	141	39	72.3
Clethodim+Oxadiazon	94	4	95	2	1	50	15	8	46	1	1	0	112	14	87.5
3-4 leaves مرحله ۴-۳ برگی															
Clethodim	102	2	98	6	6	0	3	2	0	1	1	0	112	12	89.2
Oxadiazon	77	77	٠	7	5	28	5	3	60	3	1	66	92	85	7.6
Oxyfluorfen	55	29	44	2	0	100	11	1	91	30	0	100	98	30	69.3
Clethodim+Oxadiazon	115	13	89	3	0	100	9	5	44	20	0	100	133	18	86.4

جدول ۵ -تجزیه واریانس زیست توده علف‌های هرز غالب در مرحله تشکیل سوخ

Table 5- Analysis of variance of the dominant weeds dry weight at bulb formation stage

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df.	میانگین مربعات Mean of squares		
		یونجه گل زرد *Melilotus officinalis*	پنیرک *Malva* spp	دم عقربی *Scorpiurus muricatus* L.
تکرار Block	2	6.39	6.80	9.92
زمان مصرف Application timing (T)	1	81.55*	16.54ns	12.49ns
علف‌کش Herbicide (H)	3	148.29**	604.51**	140.36**
T*H	3	0.84*	0.01ns	0.093ns
اشتباهError	14	31.66	12.36	3.45
ضریب تغییرات (%) CV		22.00	4.33	7.14

n.s و * و**: به ترتیب عدم تفاوت معنی دار، تفاوت معنی دار در سطح آماری پنج و یک درصد هستند.

ns, * and**: indicate an insignificant and significant differences at the *P=0.05 and 0.01* level respectively.

جدول ٦- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایشی بر زیست توده علف‌های هرز غالب در مزرعه در مرحله تشکیل سوخ

Table 6-Mean comparison of the effect of herbicides treatments on dominant weeds dry weight at bulb formation stage

تیمارها Treatments	یونجه گل زرد *Melilotus officinalis* ($g.m^{-2}$)	پنیرک *Malva* spp ($g.m^{-2}$)	دم عقربی *Scorpiurus muricatus* L. ($g.m^{-2}$)
علفکش Herbicide			
Clethodim	19.2a	37.1a	21.7a
Oxadiazon	14.2ab	17.8c	17.9b
Oxyfluorfen	7.8c	15.7c	10.5d
Clethodim+Oxadiazon	12.3b	29.2b	13.9c
زمان مصرف Application timing			
مرحله ۲-۱ برگی 1-2 leaves	14.1a	25.8a	16.7a
مرحله ۴-۳ برگی 3-4 leaves	11.0b	24.1a	15.3a

در هر ستون، میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون چند دامنه ای در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

The same letters in each column indicate an insignificant difference at the *P=0.05* level.

جدول ۷- تجزیه واریانس عملکرد اقتصادی و اجزای عملکرد پیاز

Table 7- Analysis of variance of the economic yield and yield components of onion

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df.	میانگین مربعات Mean of square			
		وزن تازه سوخ Bulb fresh Weight	تعداد سوخ Bulb No	قطر سوخ Bulb diameter	وزن خشک سوخ Bulb dry weight
تکرار Block	2	5.5	231	0.22	3.0
زمان مصرف Application timing (T)	1	9.2ns	4056ns	0.22ns	4.9ns
علفکش Herbicide (H)	3	80.3**	16450**	4.19**	37.5**
T*H	3	5.5*	1478*	0.15*	2.52*
اشتباهError	14	5.8	1118	0.20	2.54
ضریب تغییرات (%) CV		3.0	38	0.6	1.90

n.s و * و**: به ترتیب عدم تفاوت معنی دار، تفاوت معنی دار در سطح آماری پنج و یک درصد هستند.

ns, * and**: indicate an insignificant and significant differences at the *P=0.05 and 0.01* level respectively.

جدول ۸- مقایسه میانگین عملکرد اقتصادی و اجزای عملکرد پیاز
Table 8-Mean comparison of onion economic yield and yield components

تیمارها Treatments	وزن تازه سوخ Bulb fresh Weight ($kg.m^{-2}$)	تعداد سوخ Bulb $No.m^{-2}$	قطر سوخ Bulb diameter (cm)	وزن خشک سوخ Bulb dry weight ($kg.m^{-2}$)
علفکش Herbicide				
Clethodim	3.11c	87.8c	3.54c	1.77c
Oxadiazon	6.83bc	152.67b	4.67b	4.00bc
Oxyfluorfen	11.85a	215.5a	5.53a	7.70a
Clethodim+Oxadiazon	8.78ab	162.0ab	4.96ab	5.43ab
زمان مصرف Application timing				
مرحله ۲-۱ برگی 1-2 leaves	7.02a	141.5a	4.58a	4.25a
مرحله ۴-۳ برگی 3-4 leaves	8.26a	167.5a	4.77a	5.17a

در هر ستون، میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون چند دامنه ای در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.
The same letters in each column indicate an insignificant difference at the $P=0.05$ level.

اکسی فلورفن با کنترل علف‌هـای هـرز غالـب، تعـادل رقـابتی و شرایط استفاده از منابع مختلف مواد غذایی، نور، رطوبت و غیره را بـه نفع گیاه زراعی تغییر داده و نهایتاً باعـث افـزایش عملکـرد و اجـزای عملکرد در واحد سطح شد. عملکرد بالای پیاز تازه در ایـن تیمـار بـه دلیل تعداد و قطر بیشتر سـوخ بـود. تفـاوت عملکـرد سـوخ و صـفات وابسته به آن بین دو تیمار علف‌کش اکسی‌فلوروفن و اختلاط کلتودیم و اگزادیازون معنی‌دار نبود. کمترین عملکـرد سـوخ بـه تیمـار کـاربرد علف‌کش کلتودیم اختصاص یافت.

اگرچه تفاوت وزن تر سوخ در تیمارهای زمان مصرف علف‌کـش معنی‌دار نبود اما مصرف علف‌کش در مرحله ۴-۳ برگی، وزن تر سوخ را نسبت بـه مرحلـه ۲-۱ برگـی ۱۵ درصـد افـزایش داد (جـدول ۸). افزایش وزن تر سوخ در این تیمار بـه دلیـل افـزایش ۶/۸۲ درصـدی کارایی کنترل علف‌های‌هرز در مرحله ۴-۳ برگی نسبت به مرحله ۲-۱ برگی بود (جدول ۴). گزارش شده است که کاربرد اکسی فلورفن به صورت پس‌رویشی باعث دستیابی به بیشترین تعداد سوخ پیاز در واحد سـطح گردیـده و بعـد از آن بـه ترتیـب اگزادیـازون و فلوازیفـوپ در جایگاه‌های بعدی قرار گرفتنـد (۱۴). بیشـترین تعـداد سـوخ در تیمـار اکسی‌فلورفن در مرحله ۴-۳ برگی مشاهده شد و کمترین تعداد سـوخ مربوط به تیمار کلتودیم در مرحله ۴-۳ برگی بود (جدول ۹). بیشترین قطر سوخ در تیمار اکسی‌فلورفن در هر دو مرحله ۲-۱ و ۴-۳ برگی و اخـتلاط کلتـودیم+اگزادیـازون در مرحلـه ۴-۳ برگـی مشـاهده شـد. کمترین قطر سوخ در تیمار مصرف کلتودیم در مرحله ۴-۳ برگی بـود (جدول ۹).

در یک تحقیق بالاترین عملکرد پیاز در درجـه اول از ترکیـب دو علف‌کش اکسی‌فلورفن در مرحله دو برگی و در درجـه دوم از تقسـیط علف‌کش اکسی‌فلورفن در مراحل سه و چهار برگـی حاصـل شـد (۴). اومدا و لوند (۲۰) نیز نشان دادند اکسی‌فلورفن بدون آسیب رساندن به پیاز، بالاترین عملکرد را تولید نمود ولی باکتریـل ضـمن ایجـاد ۱۰٪ گیاهسوزی بر روی پیاز، عملکرد پایین‌تری را موجـب گردیـد. اگرچـه تفاوت وزن خشک سوخ در تیمار زمان مصرف علـف‌کـش معنـی دار نبود اما مصرف علف‌کش در مرحله ۴-۳ برگی، وزن خشـک سـوخ را نسـبت بـه مرحلـه ۲-۱ برگـی حـدود ۲۱٪ افـزایش داد (جـدول ۸). بیشترین وزن خشک سوخ در تیمار مصرف اکسـی‌فلـورفن در مرحلـه ۴-۳ برگی و کمترین وزن خشک در تیمـار کلتـودیم در مرحلـه ۴-۳ برگی مشاهده شد.

نتیجه‌گیری کلی

علف‌کش اکسی‌فلورفن با کارایی بالاتر نسبت به سایر تیمارهـای علف‌کش پنیرک و پیچک وحشی را کنترل نمـود. همچنـین کمتـرین زیست توده خشک پنیـرک، یونجـه وحشـی و دم عقربـی در مرحلـه تشکیل سوخ به اکسی فلوروفن اختصاص یافت. کاربرد این علف‌کش در مرحله ۴-۳ برگی، عملکرد و اجـزای عملکـرد پیـاز ماننـد وزن تـر سوخ، تعداد سوخ و وزن خشک سوخ پیاز را افزایش داد. اثـر معنـی‌دار مصرف علفکش اکسی‌فلوروفن در مرحله ۴-۳ برگی بر زیسـت تـوده یونجه وحشی و برآیند آن بـا کـاهش نسـبی زیسـت تـوده پنیـرک و دم‌عقربی در مرحله تشکیل سوخ باعث شد که بیشترین عملکـرد پیـاز از این تیمار بدست آید.

جدول ۹- اثر بر هم‌کنش نوع و زمان مصرف علف‌کش‌ها بر عملکرد اقتصادی و اجزای عملکرد پیاز

Table 9-Interaction effect of herbicide type and timing of application on onion economic yield and yield components

تیمارها Treatments	وزن تازه سوخ Bulb fresh Weight ($kg.m^{-2}$)	تعداد سوخ Bulb $No.m^{-2}$	قطر سوخ Bulb diameter (cm)	وزن خشک سوخ Bulb dry weight ($kg.m^{-2}$)
1-2 leaves مرحله ۲-۱ برگی				
Clethodim	3.9bc	97.6cd	3.7bc	2.3bc
Oxadiazon	5.8bc	137.0bcd	4.5abc	3.2bc
Oxyfluorfen	10.4ab	194.3ab	5.3a	6.7ab
Clethodim+Oxadiazon	7.9abc	137.0bcd	4.8ab	4.7abc
3-4 leaves مرحله ۴-۳ برگی				
Clethodim	2.3c	78.0d	3.4c	1.2c
Oxadiazon	7.8abc	168.3abc	4.8ab	4.7abc
Oxyfluorfen	13.2a	236.7a	5.8a	8.6a
Clethodim+Oxadiazon	9.6ab	187abc	5.1a	6.1ab

در هر ستون، میانگین هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون چند دامنه ای در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

The same letters in each column indicate an insignificant difference at the *P=0.05* level.

علف‌کش کلتودیم از کارایی بالایی در کنترل علف هرز سوروف برخوردار بود، اما با توجه به رویش و همزمانی رشد علف‌های هرز پهن برگ نظیر پنیرک، دم عقربی و یونجه گل زرد با رشد پیاز، کلتودیم اثری بر این علف‌های هرز نداشته و کمترین عملکرد پیاز را به خود اختصاص داد. بنابراین در این آزمایش، به نظر می‌رسد با توجه به دوره بحرانی نسبتا طولانی پیاز و تداخل گونه‌های مختلف با آن در مراحل مختلف رشد، مصرف علفکش اکسی‌فلورفن در مرحله ۴-۳ برگی برای کنترل کارآمد علف‌های هرز پیاز و تولید عملکرد اقتصادی بالا قابل توصیه باشد (۲). به هر حال، با توجه به تنوع اقلیمی و فلور علف‌های هرز پیاز در مناطق مختلف، پیشنهاد می‌گردد این آزمایش در مناطق دیگر هم اجرا شود.

منابع

1. Ahmed H. 1991. Effect of weed on growth of garlic. Weed Science Abstract. 39 (6): 230.
2. Angiras N. N., Kumar S. and Rana S. S. 2008. Efficacy of new herbicides alone and in integration with hand weeding to manage weeds in onion (*Allium cepa*). Himachal Journal of Agricultural Research. 34 (2):109-112.
3. Boydston R. 2009. Weed and onion response to multiple applications of goal tender beginning at the 1-Leaf Stage of onion. African Journal of Biotechnology. 9 (42): 7037-7042.
4. Carlson H. L. and Kirby D. 2005. Effect of herbicide rate and application timing on weed control in Dehydrator onions. Research Program. No: 115.
5. Channappagoudar B. B. and Biradar N. R. 2007. Physiological studies on weed control efficiency in direct sown onion. Journal of Agricultural Science. 2: 375-376.
6. Daneshvar M. 2006. Vegetable production. (5th Ed.) Shahid Chamran University. Pp: 461. (In Farsi)
7. Ghosheh H. Z. 2004. Single herbicide treatments for control of broadleaved weeds in onion (*Allium cepa*). Crop Protection. 23: 539–542.
8. Ibrahim U., Oluwatosin O. J., Ayinde B. T. and Mahmoud B. A. 2011. Evaluation of herbicides on weed control, performance and profitability of onion (*Allium cepa*) in the forest zone of Nigeria. Middle-East Journal of Scientific Research. 9 (5): 611-615.
9. Jilani M. S., Ramzan M. and Waseem K. 2007. Impact of weed management practices on growth and yield of some local genotypes of onion. Pakistan Journal of Weed Science Research. 13(3-4): 191-198.
10. Karimi M. I., Hassan G., Ishfaq Khan M., Ahmad Khan I. and Bibi S. 2012. The impact of chemical and non-chemical weed control methods on weeds dynamics and on the yield of onion (*Allium cepa* L.). Pakistan Journal of

Weed Science Research. 18(2): 255-263.

11. Mburu D.N., Drennan D.S.H. and Michieka R.W. 1997. Weed control in onion using pre-emergence herbicides applied at low doses plus supplementary hand-weeding, p. 187-194. *In*: Proceedings of the Weed Science Society for East Africa.
12. Monica N. Carciu G.H., Lazureanu A., Ileana C. and Antoanela C. 2011. Herbicides effectiveness on the weed control in *Allium cepa* culture. Journal of Horticulture, Forest and Biotechnology. 15 (4): 17- 20.
13. Mousavi S., Sabet P. and Bagherani N. 2012. Evaluation of clethodim herbicide efficiency in comparison to other graminicides for weedy grasses control in soybean (*Glycin max* L.). Iranian Journal of Field Crops Research. 11(2): 307-315.
14. Qasem J. R. 2006. Chemical weed control in seedbed sown onion (*Allium cepa* L.). Crop Protection. 25: 618–622.
15. Rashed Mohasel M. H., Rahimian H. and Banayan M. 1992. Weeds and weed control. Jahad Daneshgahi Mashdad, pp: 575. (In Persian with English abstract).
16. Sankar V., Thangasamy A. and Lawande K. E. 2015. Weed management studies in onion (*Allium cepa* L.) Cv N2-4-1 during Rabi season. International Journal of Tropical Agriculture. 33 (2): 627-631.
17. Sakhavat R., Ghaforzadeh D., Salimpour S., GhanbariBirgani D., Eslamizadeh V. and Khramian M. 2009. Onion production in Khouzestan. (Annual Report) Khouzestan Agricultural Extension Organization bulletin. No. 239. (In Persian with English abstract)
18. Tripathy P., Sahoo B. B., Patel D. and Dash D. K. 2013. Weed management studies in onion (*Allium cepa* L.). Journal of Crop and Weed, 9 (2): 210-212.
19. Vishnu V., Asodaria K. B. and Suthar A. 2015. Weed management in Rabi onion (*Allium cepa* L.). Agricultural Science Digest. 35 (2): 130-133
20. Umeda K. and Lund L. 2001. Evaluation of new pre emergence and post emergence herbicides for onion weed control. University of Arizona College of Agriculture. Report, index at: http://ag.arizona.edu/pubs/crops/az1252/.
21. Umeda K. and MacNeil D. 1999. Early post-emergence herbicide weed control in onions. University of Arizona College of Agriculture. Report, index at http://ag.arizona.edu/pubs/crops/az1143/.
22. Uygur S., Gürbüz R. and Nezihi Uygur F. 2010. Weeds of onion fields and effects of some herbicides on weeds in Cukurova region, Turkey. African Journal of Biotechnology. 9 (42): 7037-7042.
23. Wall D. 1994. Weed Research Report. Morden, Manitoba: Agriculture and Agri-Food Canada.p.20.
24. Zand E., Rahimian H., Kochki A., Khalghani J., Mousavi S. K. and Ramezani K. 2004. Weed ecology, implication for management. Jahad Daneshgahi Mashhad Press. (In Persian)
25. Zubair M., Rahman H., Salim Jilani M., Kiran M., Kashef Waseem M., Khattak A. M., Rahim A., Ahmad Khan A., Qayyum A. and Wahab, A. 2009. Comparison of different weed management practices in onion (*Allium cepa* L.) under agro-climatic conditions of Dera Ismail Khan, Pakistan. Pakistan Journal of Weed Science Research, 15(1): 45-51.

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 419-428

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۴۲۸-۴۱۹

شناسایی و سنجش برخی از متابولیت‌های ثانویه اندام‌های ساقه و برگ فرفیون ناجوربرگ (*Euphorbia heterophylla*) و اثر دگرآسیبی آنها بر علف‌هرز یولاف‌وحشی (*Avena ludoviciana*)

تینا پرتانی[1*]- سید محسن موسوی نیک[2]- محمد گلوی[3]- احمد قنبری[4]- معصومه یونس آبادی[5]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۲۷

چکیده

به منظور بررسی تأثیر دگرآسیبی عصاره آبی و الکلی علف‌هرز فرفیون ناجوربرگ، آزمایشی در سال ۱۳۹۴و ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات کشاورزی استان گلستان با طرح کاملاً تصادفی به صورت گلخانه‌ای روی علف‌هرز یولاف‌وحشی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل نوع اندام (ساقه و برگ)، نوع حلال (آبی و الکلی) و غلظت عصاره فرفیون ناجوربرگ در پنج سطح (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) در نظر گرفته شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل، ارتفاع، وزن تر برگ، وزن خشک برگ، وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه و سطح برگ بود. نتایج این بررسی نشان داد ارتفاع علف‌هرز یولاف، ۸۵ درصد در غلظت ۱۰۰درصد عصاره الکلی برگ نسبت به تیمار شاهد کاهش یافته و بعبارتی بیشترین بازدارندگی را داشته است، وزن تر برگ تحت تأثیر عصاره آبی ساقه در غلظت ۱۰۰ درصد بیشترین و عصاره آبی برگ در تیمار شاهد کمترین اثر را داشته است. صفات وزن خشک برگ، وزن تر ساقه و وزن خشک ساقه تحت تأثیر عصاره الکلی برگ در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ درصد بیشترین بازدارندگی و در عصاره آبی ساقه در غلظت ۲۵ درصد و شاهد کمترین تأثیر را داشته و سطح برگ تحت تأثیر اثرات نوع اندام در غلظت عصاره در سطح ۱۰۰درصد عصاره برگ بیشترین و در سطح ۲۵ درصد عصاره ساقه کمترین بازدارندگی را داشته است. همچنین در این آزمایش متابولیت‌های ثانویه از قبیل ، ساپونین، استروئید و ترپنوئید در عصاره آبی و الکلی علف هرز فرفیون تشخیص داده شد و اندازه‌گیری کمی میزان فنل و فلاونوئید نشان داد که میزان این متابولیت‌ها در عصاره آبی و الکلی ساقه بیشتر از برگ بوده است. بطور کلی بر اساس نتایج به دست آمده از این بررسی می‌توان از عصاره الکلی برگ علف‌هرز فرفیون ناجوربرگ در کاهش رشد علف‌هرز یولاف‌وحشی بهره جست.

واژه‌های کلیدی: آللوپاتی، حلال، فیتوشیمیایی، کنترل بیولوژیکی

مقدمه

امروزه به دلیل نگرانی‌های زیست‌محیطی که در بوم نظام‌های زراعی با مصرف گسترده علف‌کش‌ها بوجود آمده است توجه به مواد دگرآسیب با علف‌کش‌های طبیعی بیشتر شده است (۲۴). وجود آللوپاتی در بقایا و عصاره بسیاری از گونه‌های علف‌هرز محرز گردیده که می‌تواند از جوانه‌زنی و رشد سایر گونه‌ها جلوگیری نموده و یا در فرایندهای رشد و نمو گیاه زراعی مداخله نمایند (۲۱). این ترکیبات می‌توانند به طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق تغییر جمعیت میکروبی در خاک، شرایط رشدی را به نفع گیاهان تغییر دهند (۲۵). بنابراین اخیراً در تولید علفکش‌های بوم سازگار مورد توجه قرار گرفته‌اند. میزان تولید متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند مواد آللوپاتیک را می‌توان با روش‌هایی همچون مهندسی ژنتیک یا روش‌های مدیریتی افزایش داد (۱۷).

شیما و خلیق (۵) و پراسانتا و همکاران (۲۵) گزارش کردند برخی از این مواد در تولید علف‌کش‌های طبیعی از جمله سورگاب مورد استفاده قرار گرفته‌اند، که از عصاره سورگوم رسیده بدست می‌آید و علوفه خرد شده آن نیز به میزان ۲۰۰ تا ۶۰۰ گرم درمترمربع باعث کنترل علف‌های‌هرز تا ۴۹ درصد و افزایش عملکرد گندم تا ۲۱ درصد شده است. همچنین علف‌هرز *E. heterophylla* فرفیون ناجوربرگ که از تیره افوربیاسه[6] جنس افوربیا[7] می‌باشد، این جنس در ایران در حدود ۷۰ گونه دارد که همگی دارای شیرابه هستند که فقط سیزده

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکترای زراعت، دانشیار و استادان گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Tinapartani@yahoo.com)
۵- استادیار بخش تحقیقات گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات وآموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران

DOI: 10.22067/jpp.v32i3.72910

6- Euphorbiaceae
7- Euphorbia

گونه آن به صورت علف‌هرز دیده شده است (۲۷). برخی منابع اثرات دگرآسیبی علف‌های هرز جنس فرفیون ناجوربرگ را بر روی گیاهان مجاور نشان داده‌اند (۳۲). پس می‌توان از خاصیت آللوپاتیک این علف‌هرز به عنوان ابزاری مفید در طراحی برنامه‌های مدیریتی برای کنترل علف‌هرز یولاف‌وحشی از استفاده نمود (۶). گوداک و همکاران (۱۱) در مورد اثرات آللوپاتیکی سه گونه فرفیون بر جوانه زنی و رشد گندم نیز، مشخص کردند که عصاره آبی این گیاهان در غلظت‌های مختلف، اثرات بازدارندگی بر جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه گاوپنبه داشته است و بر روی وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه تأثیر معنی داری نداشته است (۱۱). طی بررسی‌های یونس آبادی و همکاران درسال‌های ۸۸-۱۳۸۶ (۳۳) از مزارع کلزای استان گلستان، مشخص گردید که این مزارع به وسیله ی دو گونه مهاجم فرفیون به نام های *E.maculata* و *E.heterophylla* مورد هجوم قرار گرفته است. به دلیل سازگاری این گونه ها با شرایط اقلیمی منطقه، توانایی تولید بذر فراوان و عدم علفکش مناسب جهت کنترل آنها، بررسی اثرات دگرآسیبی آن بر روی کلزا و علف‌های هرز رایج آن امری ضروری به نظر می رسد. بنابراین این تحقیق با هدف بررسی اثرات آللوپاتیک اندام‌های مختلف علف‌هرز فرفیون ناجور برگ بر رشد و جوانه‌زنی علف هرز یولاف‌وحشی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۹۴-۹۵ در گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در ۳ تکرار اجرا شد. تیمارها شامل نوع اندام در ۲ سطح (برگ و ساقه)، نوع حلال در ۲ سطح (آبی و الکلی) و نوع غلظت عصاره فرفیون ناجوربرگ در ۵ سطح (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰درصد) می‌باشد.

روش تهیه عصاره:

اندام‌های برگ و ساقه علف‌هرز *E. heterophylla* در مرحله گلدهی، در شهریور ماه سال ۱۳۹۳ از منطقه گرگان جمع آوری، وبه مدت سه روز سایه خشک، و سپس در داخل آون (درجه حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد) خشک، و آسیاب شدند. سپس از آنها عصاره آبی و الکلی تهیه گردید. به این منظور برای تهیه عصاره آبی۱۰۰ گرم از پودر تهیه شده را در یک بطری شیشه‌ای ریخته و یک لیتر آب مقطر به آن اضافه کرده و به مدت سه روز در تاریکی و در دمای ۲۰درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (۴). محتویات بطری با کمک چندین لایه تنزیب فیلتر گردیده و عصاره بدست آمده به عنوان غلظت ۱۰۰ درصد (استوک) در نظر گرفته شد و برای تهیه عصاره الکلی فقط به‌جای آب از محلول متانول استفاده شد. در ادامه کار غلظت‌های مختلفی از این عصاره تهیه و برای مراحل بعدی آزمایش در یخچال نگهداری شدند.

زیست سنجی

به منظور انجام این آزمایش ابتدا بذر علف‌هرز یولاف‌وحشی (*Avena ludoviciana*) از آزمایشگاه علف‌هرز مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان تهیه گردید. سپس ۴۰ عدد از بذر علف‌هرز یولاف‌وحشی در گلدان‌های پلاستیکی با ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر و قطر دهانه ۳۰ سانتی‌مترکه از خاک مزرعه کاملاً یکنواخت پرشده بودند، کشت گردید. در این آزمایش هر گلدان به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. پس از اینکه گیاهچه-ها به مرحله سه تا چهار برگی رسیدند، ابتدا گیاهچه‌های هرگلدان به ۲۰ عدد تنک گردید، سپس محلول پاشی عصاره آبی و الکلی بر روی گیاهچه‌های مربوطه بصورت پس‌رویشی (post emergence) انجام شد. سرانجام در اواسط مرحله پنجه‌دهی (۲۱ فروردین ۱۳۹۵) ۵ نمونه از هر گلدان انتخاب و ارتفاع گیاهچه‌های سبز شده اندازه‌گیری شد و سپس گیاهچه‌ها در آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک و وزن خشک آنها با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شدند (۱۹). صفات ارتفاع، وزن تر برگ، وزن خشک برگ، وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه و سطح برگ علف‌هرز یولاف اندازه‌گیری شد.

فیتوشیمیایی:

در این بخش از آزمایش تشخیص ماهیت ترکیبات آلی نمونه‌های آبی و الکلی برگ و ساقه علف‌هرز فرفیون انجام شد و برای تشخیص ترکیبات آلی در نمونه خشک شده از روش خیساندن در آب استفاده شد و مواد آلی موجود در نمونه گیاهی با روش‌های استاندارد موجود مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایشات شامل مراحل زیر بودند:

۱- تشخیص و تعیین فنل تام نمونه: مقدار فنول تام در نمونه عصاره آبی و الکلی با روش فولین-سیکالچو (Ciocalteu's Folin) تعیین شده است. به این منظور، ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میکرولیتر از معرف فولین، ۱/۵ میلی‌لیترکربنات سدیم و ۱/۵ میلی‌لیتر آب مقطر در یک لوله آزمایش مخلوط کرده، و بعد از ۲ ساعت نگهداری در دمای آزمایشگاه جذب نوری آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. مقدار فنل تام در نمونه‌های عصاره با استفاده از منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره بیان گردید (۱۸).

۲- تشخیص فلاونوئیدها: برای تائید وجود فلاونوئیدها به طور کیفی، ابتدا ۱ گرم از پودر خشک را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و سپس ۴ میلی‌لیتر متانول ۵۰ درصد به آن اضافه نموده و سپس ۱۰۰ میکروگرم فلز منیزیم به آن اضافه می‌شود و در درون بن‌ماری ۴۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱۵ دقیقه قرار می‌گیرد. پس از آن نمونه فیلتر شده و از این مایع فیلتر شده ۴ میلی‌لیتر برداشته و ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ به آن اضافه می‌گردد. پس از زمان اندکی

مشاهده رنگ قرمز نشان دهنده فلاونوئید و رنگ نارنجی نشان دهنده وجود فلاوون در نمونه خواهد بود (۲۳).

۳-اندازه گیری محتوی فلاونوئید عصاره‌ها: محتوی تام فلاونوئیدی با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. به نیم میلی‌لیتر از هر عصاره (۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد در اتانول، ۰/۱ میلی‌لیتر از استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. جذب مخلوط نیم ساعت بعد از نگهداری در دمای اتاق، در طول موج ۴۱۵ نانومتر در مقابل بلانک قرائت شد. کوئرستین (ساخت مرک) به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. میزان فلاونوئید بر اساس میزان معادل "میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره" گزارش گردید آزمایشات ۳ بار تکرار و میانگین آنها گزارش شد (۳).

۴-تشخیص ساپونین‌ها: ۵ گرم از پودر خشک در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و پس از گرمادهی در بن‌ماری به مدت ۱۵ دقیقه فیلتراسیون صورت می‌گیرد. سپس ۲ میلی‌لیتر از نمونه فیلتر شده با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و با گرم کردن و تکان دادن کف ایجاد شده روی سطح نشان دهنده وجود ساپونین می‌باشد. برای تائید این نکته ۱ میلی‌لیتر روغن خوراکی به نمونه اضافه نموده و خاصیت امولسیون کنندگی ساپونین‌ها بدین صورت اثبات می‌شود (۲۰).

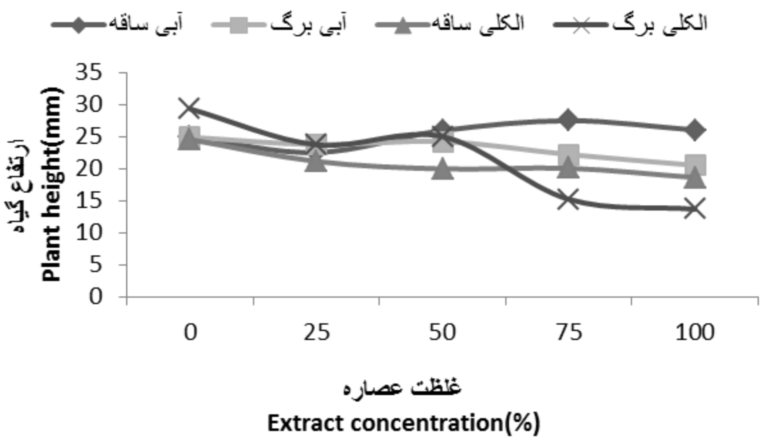
۵- تشخیص ترپنوئیدها واستروئیدها: ۱گرم از پودر خشک شده با ۰/۵ میلی‌لیتر انیدریک اسید و ۰/۵ میلی‌لیتر کلروفرم مخلوط شده، سپس قطره قطره اسیدسولفوریک به آن اضافه می‌شود. ایجاد رنگ بنفش متمایل به قرمز نشان از وجود ترپن و رنگ سبزآبی نشان دهنده استروئید در نمونه خواهد بود (۲۰).

در این آزمایش به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های آماری از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱، مقایسه میانگین در سطح ۱ و ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD و برای رسم نمودارها از Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

ارتفاع یولاف

بر اساس نتایج بدست آمده (جدول ۱) ارتفاع علف‌هرز یولاف‌وحشی تحت تأثیر اثرات متقابل نوع حلال، نوع اندام و نوع غلظت عصاره فرفیون ناجوربرگ در سطح ۱ درصد (۰/۰۱>) واقع شد. همانطور که در (شکل ۱) مشاهده می‌شود عصاره الکلی برگ (۱۳/۶۳ گرم) با غلظت ۱۰۰ درصد نسبت به تیمار الکلی برگ شاهد (۲۹/۳۳ گرم) بیشترین تأثیر را بر ارتفاع داشته است. بعبارتی می‌توان گفت با افزایش غلظت عصاره الکلی برگ فرفیون رشد علف‌هرز یولاف‌وحشی کاهش یافت. البته در غلظت‌های مختلف عصاره کاهش معنی داری در ارتفاع بوته یولاف نسبت به شاهد مشاهده شد، که این می‌تواند به دلیل وجود مواد دگرآسیب متابولیت‌های ثانویه علف‌هرز فرفیون ناجوربرگ باشد. این مواد بر روی گیاه زراعی در اکوسیستم اثر منفی دارند و باعث کاهش و تأخیر جوانه‌زنی، مرگ و میر گیاهچه، کاهش رشد و عملکرد می‌شود و گیاهان دگرآسیب ممکن است جامعه گیاهی را مورد القاء تغییر ژنتیک قرار دهند و پوشش جامعه را تغییر دهند (۱۶ و ۹).



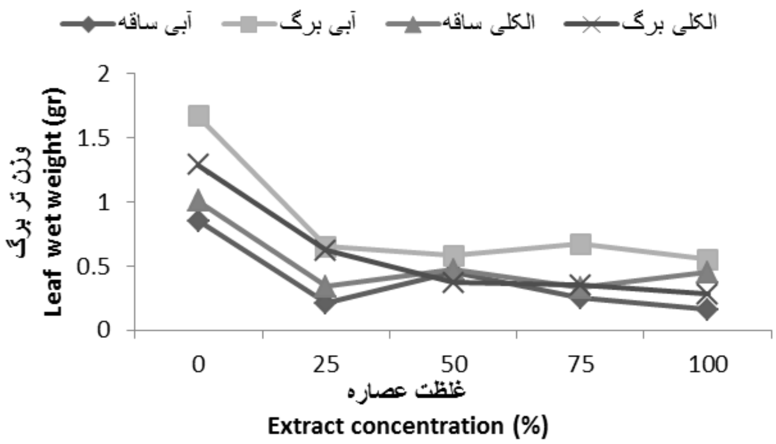
شکل ۱- اثر متقابل سه فاکتوره نوع حلال در نوع اندام و غلظت عصاره علف‌هرز فرفیون ناجوربرگ بر ارتفاع یولاف‌وحشی

Figure 1- Interaction effect of solvent type, Organ type and extract Concentration of *Euphorbia heterophylla* on Wild Oat height

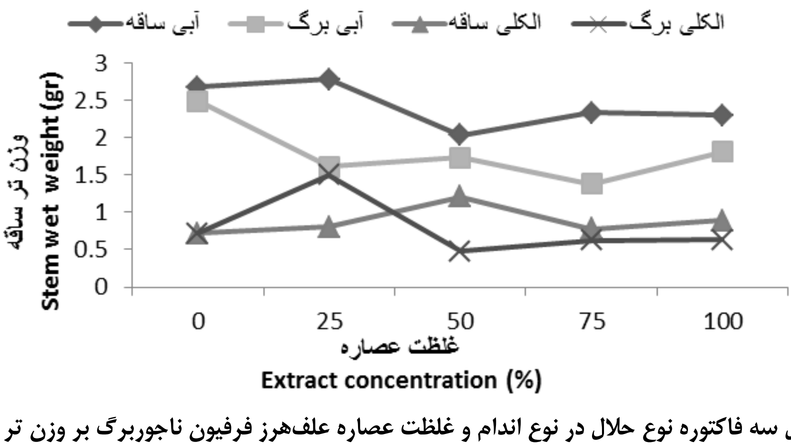
اثرات مواد آللوکمیکال بر متابولیسم گیاهان به صورت اثر بر تقسیم میتوز، طویل شدن و فراساختار سلولی، اثر بر هورمون‌های القاء کننده رشد، اثر بر نفوذپذیری غشاء سلول و اثر برجذب مواد معدنی می‌باشند (۲۹). همچنین آللوکمیکال‌ها باعث ضخامت، کوتاهی و کاهش وزن ریشه‌ها می‌شوند. کاهش رشد ریشه و اندام هوایی ممکن است به دلیل کاهش تقسیم سلولی باشد. این ترکیبات با ممانعت از جذب عناصر غذایی و یا دخالت مستقیم در تنفس و یا فسفریله شدن اکسیداتیو باعث کاهش رشد می‌شوند (۱۰).

وزن تر برگ و ساقه

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) مشاهده شد که اثر متقابل نوع حلال در نوع اندام بر غلظت عصاره فرفیون ناجوربرگ در سطح احتمال ۱ درصد (۰/۰۱>) اثر معنی داری بر وزن تر برگ یولاف‌وحشی داشته است. همچنین عصاره آبی ساقه (۰/۱۶ سانتی‌متر) در غلظت ۱۰۰ درصد عصاره بیشترین تأثیر و عصاره آبی برگ (۱/۶۷ سانتی‌متر) در تیمار شاهد (غلظت صفر) کمترین تأثیر را بر روی وزن تر برگ داشته است (شکل ۲ و جدول ۲). در وزن تر ساقه (شکل ۳) عصاره الکلی برگ (۰/۴۸ سانتی‌متر) در غلظت ۵۰ درصد عصاره بیشترین تأثیر و عصاره آبی ساقه (۲/۷۸ سانتی‌متر) کمترین تأثیر را دارا می‌باشد. بر اساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۲) می‌توان بیان کرد که با افزایش میزان غلظت عصاره از غلظت صفر (تیمار شاهد) تا غلظت ۱۰۰ درصد در بین تیمارهای آبی برگ و الکلی ساقه اختلاف معنی داری وجود دارد. می‌توان علت کاهش برگ یولاف را، ترکیبات دگرآسیب موجود در عصاره فرفیون ناجوربرگ دانست زیرا آنها سبب کاهش تقسیم سلولی، رشد سلول‌ها و توسعه‌ی بخش‌های مختلف از جمله برگ‌ها را محدود می‌کنند (۷).



شکل ۲- اثر متقابل سه فاکتوره نوع حلال در نوع اندام و غلظت عصاره علف‌هرز فرفیون ناجوربرگ بر وزن تر برگ یولاف‌وحشی
Figure 2- Interaction effect of solvent type, Organ type and extract Concentration of *Euphorbia heterophylla* on Wild Oat leaf wet weight



شکل ۳- اثر متقابل سه فاکتوره نوع حلال در نوع اندام و غلظت عصاره علف‌هرز فرفیون ناجوربرگ بر وزن تر ساقه یولاف‌وحشی
Figure 3- Interaction effect of solvent type, Organ type and extract Concentration of *Euphorbia heterophylla* on Wild Oat stem wet weight

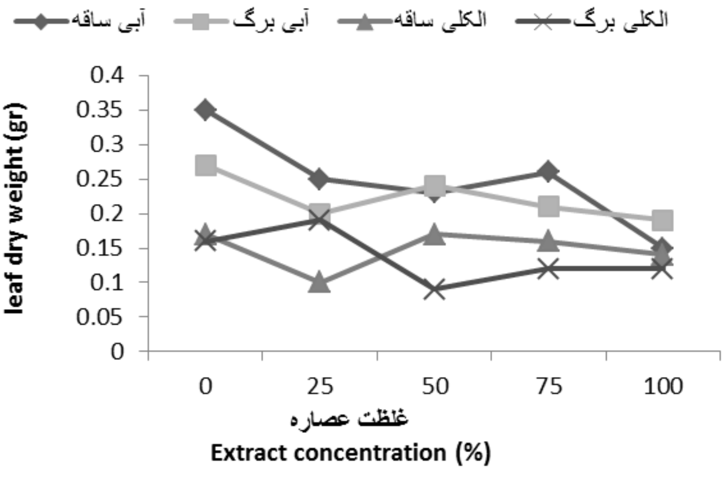
وزن خشک برگ و ساقه

بر اساس جدول تجزیه واریانس وزن خشک برگ و ساقه علف‌هرز یولاف‌وحشی تحت تأثیر اثرات متقابل نوع حلال در نوع اندام در غلظت عصاره فرفیون در سطح احتمال ۱ درصد (۰/۰۱>) معنی دار شده است. نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴ و ۵) نشان داد بیشترین تأثیرغلظت عصاره بر روی وزن خشک برگ و ساقه مربوط به عصاره الکلی برگ به ترتیب (۰/۰۹گرم) و (۰/۴۸گرم) با غلظت ۵۰ درصد و کمترین آن مربوط به عصاره آبی ساقه (۰/۳۵ گرم) و (۰/۷۲ گرم) در تیمار شاهد بوده است. در بررسی که آبورومان و همکاران (۱) اثر آللوپاتیک گونه‌ای فرفیون *E. hierosolymitana* را بر جوانه‌زنی، رشد گیاهچه، مقدار کل کلروفیل و پروتئین گندم انجام دادند مشاهده کردند که درغلظت‌های بالاتر، شیرابه آبی *E. hierosolymitana* سرعت جوانه‌زنی را کاهش داده، و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه بذور جوانه‌زده گندم به طور قابل توجهی توسط این شیرابه مهار شد. علاوه بر این آللوپاتی باعث کاهش قابل توجهی در وزن خشک و کاهش میزان کل کلروفیل و پروتئین در گیاه شد. پس می‌توان بر اساس این تحقیق یکی از علت‌های کاهش وزن خشک را کاهش کلرفیل ساقه و برگ دانست.

جابین و همکاران (۱۴) اثرات آللوپاتی احتمالی سه علف‌هرز (Cavase) *Asphodelus tenuifolius*، *E.hirta* و (Haussk) *Fumaria indica* را بر شاخص جوانه‌زنی و رشد ارقام ذرت (*Zea mays*) مورد بررسی قرار دادند. سمیت پودرها و اثر مهاری آنها بر روی جوانه‌زنی و رشد محصول ذرت نشان داده که گونه‌های مختلف علف‌هرز اثرات متفاوت بر روی ذرت دارند، که اثر پودر *E hirta* باعث حداقل کاهش ۵۳/۱۱ درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه زنی، وزن تر و خشک اندام هوائی و ریشه ذرت شده است. برخی منابع این موضوع را به احتمال وجود ترکیبات بازدارنده‌ای در خاک که باعث کاهش یا توقف رشد گیاه می‌شوند نسبت دادند.

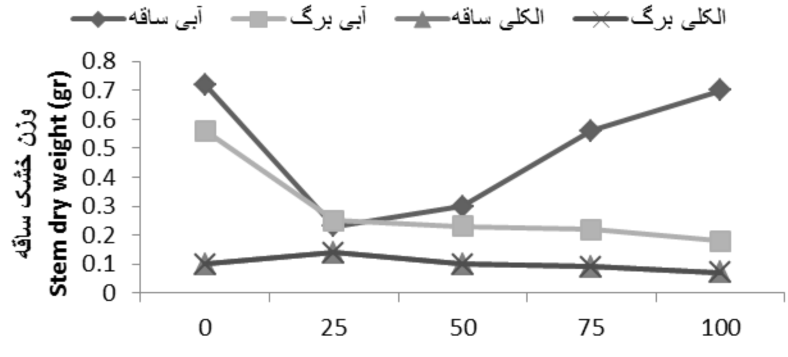
سطح برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل نوع اندام در غلظت عصاره فرفیون ناجوربرگ بر سطح برگ یولاف‌وحشی در سطح احتمال ۵ درصد (۰/۰۵>) معنی دار بوده است. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۲) نشان داد بیشترین تأثیر بر روی سطح برگ مربوط به عصاره برگ (۴۳/۷۰ سانتی‌متر مربع) با غلظت ۱۰۰ درصد و کمترین آن مربوط به عصاره ساقه (۵۹/۱۵ سانتی‌متر مربع) در تیمار ۷۵ درصد بوده است (شکل ۶). بر اساس تحقیقات راشد محصل و همکاران (۲۶) اثر عصاره برگ و بنه زعفران بر رشد گیاهچه علف‌های هرز تاج خروس و سلمه تره نشان داد که عصاره برگ و بنه زعفران، ارتفاع، سطح برگ، وزن برگ، وزن ساقه و وزن تک بوته هر دو گونه علف-هرز را کاهش داد و در مقایسه دو گونه علف‌هرز مشخص شد که در مورد علف هرز تاج خروس، تاثیر بازدارندگی عصاره برگ و در مورد سلمه تره، تاثیر بازدارندگی عصاره بنه بیشتر بوده است.



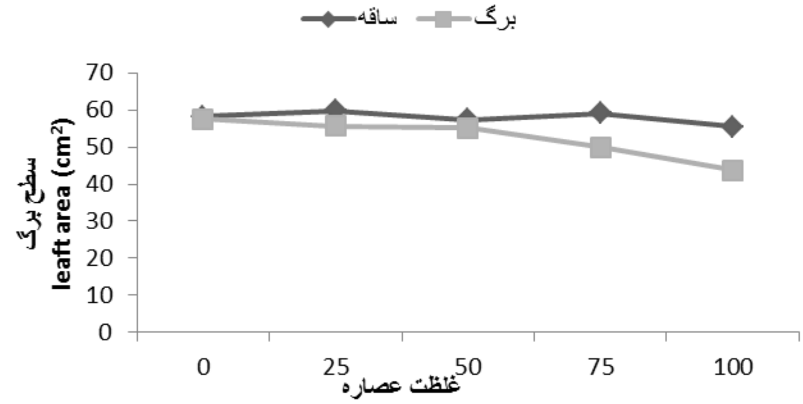
شکل ٤- اثر متقابل سه فاکتوره نوع حلال در نوع اندام و غلظت عصاره علف‌هرز فرفیون ناجوربرگ بر وزن خشک برگ یولاف‌وحشی

Figure 4- Interaction effect of solvent type, Organ type and extract Concentration of *Euphorbia heterophylla* on Wild Oat leaf dry weight



شکل ۵- اثر متقابل سه فاکتوره نوع حلال در نوع اندام و غلظت عصاره علف‌هرز فرفیون ناجوربرگ بر وزن خشک ساقه یولاف‌وحشی

Figure 5- Interaction effect of solvent type, Organ type and extract Concentration of *Euphorbia heterophylla* on Wild Oat stem dry weight



شکل ٦- اثر متقابل نوع اندام در غلظت عصاره علف‌هرز فرفیون ناجوربرگ بر سطح برگ یولاف‌وحشی

Figure 6- Interaction effect of solvent type, Organ type and extract Concentration of *Euphorbia heterophylla* on Wild Oat leaf area

جدول۳- نتایج فیتوشیمیایی عصاره‌های آبی و الکلی علف‌هرز فرفیون ناجور برگ

Table 2. Result of Phytochemical methanol and aqueous extracts of *Euphorbia heterophylla*

عصاره گیاهی Extract plant	استروئید Steroids	ترپنوئید Terpenoids	ساپونین Saponins	فلاونوئید Flavonoids	فنل Phenol
آبی ساقه Stem aqueous extract	–	+	+	–	+
آبی برگ Leaf aqueous extract	–	+	+	–	+
الکلی ساقه Stem methanolic extract	–	–	–	–	–
الکلی برگ Leaf methanolic extract	+	–	+	–	–

– عدم حضور / + حضور

+: present / -: absent

جدول ۳- میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره‌های آبی و الکلی علف‌هرز فرفیون ناجور برگ

Table 3- Amount of phenolic and flavonoid compositions of methanol and aqueous extracts of *Euphorbia heterophylla*

عصاره گیاهی Plant extract	میانگین ترکیبات فلاونوئیدی (mg. GAE*/g dry sample)	 ترکیبات فنلی (mg. GAE/g dry sample)
آبی ساقه Stem aqueous extract	0.123±0. 015	250.46±3. 81
آبی برگ Leaf aqueous extract	0.012±0. 002	40.65±0. 78
الکلی ساقه Stem methanolic extract	0.118±0. 013	195.07±2. 40
الکلی برگ Leaf methanolic extract	0.006±0. 001	48.34±1. 27

*میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم وزن خشک نمونه

mg. GAE*/g dry sample

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده گیاه یولاف‌وحشی در شرایط گلخانه

Tables 1- Results of ANOVA Testing measured traits of wild oat plant in greenhouse conditions

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	ارتفاع گیاه Plant height	وزن تر برگ Leaf wet weight	وزن خشک برگ leaf dry weight	وزن تر ساقه Stem wet weight	وزن خشک ساقه Stem dry weight	سطح برگ Leaf area
نوع حلال Solution type	1	146.76**	5.08**	0.12**	24.46**	1.35**	573.25**
نوع اندام Organs type	1	11.21ns	0.81**	0.005**	1.86**	0.20**	471.07**
غلظت عصاره Extract concentration	4	67.95**	0.25**	0.01*	0.39**	0.06**	140.12**
نوع حلال× نوع اندام Organs type× Solution type	1	29.00**	0.96**	0.0007ns	1.07**	0.14**	80.64ns
نوع حلال× غلظت عصاره Solution type× Extract concentration	4	48.95**	0.15**	0.004**	0.34*	0.08**	16.35ns
نوع اندام× غلظت عصاره Organs type× Extract concentration	4	46.04**	0.05*	0.003**	0.11ns	0.03**	67.66*
نوع حلال× نوع اندام× غلظت عصاره Solution type× Organs type× Extract concentration	4	6.04**	0.18**	0.006**	0.55**	0.03**	29.03ns
خطا Error	40	9.06	0.01	0.0006	0.07	0.001	25.28
ضریب تغییرات CV		13.25	13.40	13.25	18.28	15.15	9.10

ns، *، ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

اعداد جدول فوق از میانگین ۵ بوته به دست آمده‌اند

It is non-significant, meaningful at the probability level of 5 and 1 percent

The figers in this table, are the mean of five plants

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل گیاه یولاف‌وحشی در شرایط گلخانه

Table 2– Comparison of interactions of wild oat plant in greenhouse conditions

تیمار treatment				ارتفاع Plant height (mm)	وزن تر برگ Leaf wet weight (gr)	وزن خشک برگ leaf dry weight(gr)	وزن تر ساقه Stem wet weight(gr)	وزن خشک ساقه Stem dry weight(gr)	سطح برگ Leaf area (cm^2)
نوع حلال×نوع اندام×غلظت عصاره Solution type× Organs type× Extract concentration	0	ساقه Stem	آبی Aqueous	24.94^{abcd}	0.85^{a}	0.35^{a}	2.68^{a}	0.72^{a}	79.68^{ab}
	25 gr/ha			22.53^{bcdef}	0.21^{b}	0.25^{bc}	2.78^{a}	0.23^{de}	83.23^{a}
	50 gr/ha			25.95^{abcd}	0.45^{b}	0.23^{bcde}	2.03^{bc}	0.30^{c}	74.18^{a}
	70 gr/ha			27.50^{ab}	0.25^{bc}	0.26^{bc}	2.33^{ab}	0.56^{b}	63.66^{a}
	100 gr/ha			26.04^{abc}	0.16^{cd}	0.15^{ghi}	2.30^{ab}	0.70^{a}	60.86^{ab}
	0	برگ Leave		24.92^{abcde}	۱/۶۷^{cd}	0.21^{b}	2.49^{ab}	0.56^{b}	89.55^{a}
	25 gr/ha			23.77^{abcdef}	0.65^{ef}	0.20^{defg}	1.61^{cde}	0.25^{cd}	86.93^{ab}
	50 gr/ha			24.25^{abcdef}	0.58^{bc}	0.24^{bcd}	1.73^{cd}	0.23^{de}	66.93^{ab}
	70 gr/ha			22.22^{cdef}	0.67^{fgh}	0.21^{cdef}	1.38^{de}	0.22^{de}	76.40^{ab}
	100 gr/ha			20.53^{cdefg}	0.5^{ghij}	0.19^{efg}	1.81^{cd}	0.18^{ef}	73.16^{bc}
	0	ساقه Stem	الکلی Alcohol	24.56^{abcde}	1.01^{ghij}	0.17^{fgh}	0.72^{fg}	0.10^{gh}	78.06^{ab}
	25 gr/ha			21.14^{cdef}	0.34^{ij}	0.10^{jk}	0.80^{fg}	0.14^{fg}	51.81^{ab}
	50 gr/ha			19.97^{efg}	0.47^{fgh}	0.17^{fgh}	1.21^{ef}	0.10^{gh}	61.93^{abc}
	70 gr/ha			20.07^{defg}	0.33^{fghi}	0.16^{ghi}	0.78^{fg}	0.09^{gh}	70.14^{ab}
	100 gr/ha			18.63^{fgh}	0.45^{ghhij}	0.14^{hij}	0.89^{fg}	0.07^{h}	67.33^{abc}
	0	برگ Leave		29.33^{a}	1.29^{efg}	0.16^{ghi}	0.72^{fg}	0.08^{gh}	82.73^{abc}
	25 gr/ha			23.75^{abcdef}	0.62^{de}	019^{fgh}	1.50^{de}	0.12^{fgh}	69.24^{abc}
	50 gr/ha			25.02^{abcde}	0.30^{j}	0.09^{k}	0.48^{g}	0.06^{h}	73.29^{abc}
	70 gr/ha			15.23^{gh}	0.35^{hij}	0.12^{ijk}	0.62^{g}	0.09^{gh}	74.38^{cd}
	100 gr/ha			13.68^{h}	0.28^{ij}	0.12^{ijk}	0.63^{g}	0.06^{h}	72.68^{d}

حروف مشترک در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بر اساس آزمونLSD در سطح ۵ درصد می‌باشد

* Values followed by the same letter within the same columns do not differ significantly at p =5% according to LSD

شناسایی مواد آلی موجود در نمونه: در این تحقیق آزمایشات فیتوشیمی وجود (+) فنل، ترپنوئید و ساپونین را در عصاره آبی ساقه، (+) فنل، ساپونین و ترپنوئید را در عصاره آبی برگ، و (+) ساپونین، استروئید را در عصاره الکلی برگ (جدول ۳) تأیید نمود. و نتایج آزمایش‌های سنجش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی وجود مقادیر بالای این ترکیبات را در عصاره‌های مختلف (جدول ۴) تأئید نمود.

گیاهان با دارا بودن ترکیبات فنلی و بسیاری ترکیبات دیگر دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی می‌باشند. از زمانی که میزان فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات و عصاره‌های طبیعی توسط طیف وسیعی از روش‌ها شناسایی شده اند، این مسأله که کدام یک از این آنتی اکسیدان‌های طبیعی دارای بازده بیشتری هستند، مطرح شده است. در تمامی گیاهان، فعالیت آنتی اکسیدانی با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد. عصاره نعناع ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی بالایی دارد و فعالیت آنتی

اکسیدانی خوبی را نشان می‌دهد (۳۱). جمشیدی و همکاران (۱۵) عصاره‌ی متانولی چند گیاه بومی مازندران را از نظر میزان فلاونوئید و فنلی مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه آنها نشان دادند که ارتباط مناسبی بین فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات پلی فنلی گیاه وجود دارد. ستاکوویک و همکاران (۳۰) عصاره آبی و متانولی قسمت‌های مختلف گیاه سیزاب کوهستان را از نظر محتوی فنلی و فلاونوئیدی بررسی قرار دادند و در این پژوهش به این نتیجه رسیدند که محتوی فنلی و فلاونوئیدی عصاره آبی بیشتر ازعصاره متانولی است. لازم به ذکر است که ترکیبات فنلی به صورت موثری به عنوان دهنده هیدروژن عمل نموده که به عنوان یک آنتی اکسیدان موثر عمل می‌کنند (۱۲و ۸). آگوستین و همکاران (۲) و اکینی و همکاران (۲۱) بر اساس تحقیقاتی که روی عصاره آبی برگ علف‌هرز فرفیون ناجوربرگ انجام دادند، وجود ساپونین، استروئید، ترپنوئید، تانن، فلاونوئید و آلکالوئید را گزارش کردند. وجود آلکالوئیدها[1] و ترپنوئیدها[2] به عنوان ترکیبات شیمیایی عمل می‌کنند، که از رشد گیاهان دیگر و میکروارگانیسم‌ها در اکوسیستم‌های طبیعی یا زراعی جلوگیری می‌کنند (۱۳).

نتیجه‌گیری کلی

بطور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره آبی ساقه و آبی برگ علف‌هرز فرفیون ناجور برگ روی صفات اندازه‌گیری شده در سطح صفر (شاهد) اثرات بازدارندگی نداشته است، ولی عصاره آبی ساقه در غلظت ۱۰۰ درصد موجب کاهش وزن تر برگ شده است و رشد و جوانه‌زنی علف هرز یولاف‌وحشی توسط عصاره الکلی برگ در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ درصد بیشترین بازدارندگی را داشته است و موجب کاهش ارتفاع، وزن خشک ساقه، وزن تر برگ و وزن خشک برگ یولاف‌وحشی شده است. بیشترین تأثیر بر روی سطح برگ مربوط به عصاره برگ با غلظت ۱۰۰ درصد و کمترین آن مربوط به عصاره ساقه در غلظت ۷۵ درصد بوده است. نتایج آزمایش‌های فیتوشیمیایی عصاره آبی و الکلی برگ نشان می‌دهد که عصاره آبی برگ بیشتر از بقیه عصاره‌ها دارای ترکیبات فنلی بوده و نیز خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی دارد. با توجه به نتایج این پژوهش پیشنهاد می‌گردد تحقیقات بیشتری پیرامون شناسایی و چگونگی عمل ترکیبات آللوپاتیک علف‌هرز فرفیون علیه رشد گیاهچه یولاف‌وحشی انجام شود تا بتوان از آن بعنوان یک منبع گیاهی دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی در صنعت تولید کود و علفکش اورگانیک استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از عوامل مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی و دانشگاه علوم پزشکی واحد غذا و دارو استان گلستان تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1- Abu-Romman S., Shatnawi M., and Shibli R. 2010. Allelopathic Effects of Spurge (*Euphorbia hierosolymitana*) on Wheat (*Triticum durum*). American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 7(3): 298-302.

2- Augustine A., Uduenevwo Francis E., and Uche Ivy A. 2013. Biochemical assessment of the effect of aqueous leaf extract of euphorbia heterophylla linn on hepatocytes of rats. IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology, 3(5):37-41.

3- Chang C.C, Yang M.H, Wen H.M., and Chern J.C. 2002. Estmation of total flavonoid content in proplis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10:178-182.

4- Cheema Z.A., Khaliq A., and Iqbal N. 2005. Use of allelopathy in field crops in Pakistan. *Forth world Congress on Allelopathy*. 21-26 August 2005. Charles Sturt University., Wagga Wagga, New South walws, Australia.

5- Cheema Z.A., and Khaliq A. 2000. Use of sorghum allelopathic properties to control weed in irrigated wheat in a semiarid region of Punjab. Agriculture. Ecosystems and Environment, 79:105-112.

6- Douglass C.H., Weston L.A., and Wolfe D. 2011. Phytotoxicity and potential allelopathy in Pale (*Cynanchum rossicum*) and Black swallowwort (*C. nigrum*). Invasive Plant Science and Management, 4:133–141.

7- El-Khatib A.A., Hegazy A.K., and Gala H.K. 2004. Does allelopathy have a role in the ecology of chenopodium murale. Annual Botany Fennici, 41:37-45.

8- Elmasta M., Drirtas I., Isildak O., and Aboul-Enein H.Y. 2006. Antioxidant activity of S-Carone isolated from Spearmint (*Mentha Spicata* L.). Liquid Chromatography Related Technologies, 29(10):1465-1475.

9- Ghafar A., Saleem B., and Qureshi M.J. 2000. Allelopathic effects of sunflower (*Helianthus annuus*) on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). Pakistan Journal of Biological Sciences, 3:1301-1302.

1- Alkaloids

2- Terpenoid

10- Ghorbanli M., Bakhshi Khaniki A., and Shojaei A. 2008. Examination of the effects of Allelopathy of *Artemisia sieberi* Besser subsp.sieberi on seed germination and *Avena lodoviciana* and *Amaranthus retroflexus* seedlings growth. Pajouhesh & Sazandegi, 79:129-134. (In Persian with English abstract)
11- Ghodake S. D., Jagtapm, M. D., and Kanade M. B. 2012. Allelopathic effect of three Euphorbia species on seed germination and seedling growth of Wheat. Annal of Agri Bio Research, 3 (10):4801-4803.
12- Golluce M., Sahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A., and Ozken H. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. longifolia. Food Chemistry, 103: 1449-1456.
13- Hoseinzadeh S., Razavi S., and latifi S. 2014. Investigating the effects of material Carloon allelopathy on some of the biochemical aspects of *Lactuca sativa*. The thired national congress on organic and conventional agriculture. 20-21August. (In Persian)
14- Jabeen N., and Ahmed M. 2009. Possible allelopathic effects of three different weeds on germination and growth of maize (*zea mays*) cultivars. Pakistan Journal of Botany, 41(4):1677-1683.
15- Jamshidi M, Ahmadi H.R., Rezazadeh Sh., Fathi F., and Mazanderani M. 2010. Study on phenolicd and anioxidant activity of some selected plant of Mazandaran province. Medical Plant, 9(34):177-183. (In Persian)
16- Kruse M., Strandberg M., and Strandberg B. 2000. Ecological effects of allelopathic plants- a review. National Environmental Research Institute Technical Report, 315.
17- Kochaki A., zarif ketabi H., and nakhforosh A.R. 2001. Weed Mangement in Agroecosystems Ecological Approaches. Publications University of Mashhad. IRAN.
18- Mirzaei A., Mohammadi J., Mirzaei N., and Mirzaei M. 2011. The antioxidant capacities and total phenolic contents of some medicinal plants in Iran. Journal of Fasa University Medical Science, 1(3):160-167. (In Persian with English abstract)
19- Mosavi S.J., and Mosavinik S.J. 2013. Allelopathic effects of the aqueous extract of the weed Organs (*Cardaria draba*) on germination and seedling triticale growth (*X Triticosecale*). Journal of Plant Protection, 26(4):477-485. (In Persian with English abstract).
20- Nurdiani R., Firdaus M., and Prihanto A.A. 2012. Phytochemical screening and Antibacterial activity of methanol extract of mangrove plant (*Rhyzophora mucronata*) from Porong River Estuary. Journal Basic Science Technology, 1(2):27-29.
21- Okeniyi S.O., Adedoyin B.J., and Garba S. 2015. Phytochemical Screening, cytotoxicity, antioxidant and antimicrobial activities of stem and leave extracts of *Euphorbia heterophylla.* Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences (Bulletin of Inviromental Contamination and Toxicology, 1(8):87-91.
22- Oroji K., Khazaee H.R., Rashed Mohassel M.H., Qorbani R., and Azizi M. 2008. Investigating allelopathic effect of sunflower (*Helianthus annuus*) on red root pigweed (*Amaranthus retroflexus*) and common white goosefoot (*Chenopodium album*) seed germination and growth. Plant Conservation Journal, 22:119-128.
23- Padmaja M., Sravanthi M., and Hemalatha K.P.J. 2011. Evaluation of Antioxidant Activity of Two Indian Medicinal Plants. Jurnal Phytology, 3(3):86-91.
24- Panwar J., Saini V.K. 2004. Changes in labile P status under different cropping systems in an arid environment. *Journal of Arid Environments*. 61: 137-145.
25- Prasanta C. Bhowmik, Inderjit. 2003. Challenges and opportunities in implementing allelopathy for natural weed management. Crop Production, 22: 661-671.
26- Rashed M.H., Gherekhloo J., and Rastgoo M. 2009. Allelopathic effects of saffron (*Crocus sativus*) leaves and corms on seedling growth of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) and lambsquarter (*Chenopodium album*). Journal of Crop Science, 7(1):53-61. (In Persian with English abstract).
27- Sanei Shariat Panahi. M. 2005. The most important weeds of broad leaved and narrow leaved in Iran. Publication of Agricultural Education Publications, 94-97.
28- Smith R.J.jr. 1981. Weeds of major economic importance in rice and yield losses due toweed compedition-collegelaguana (Philippines). Food and Agriculture Organization of the United Nations, 31.
29- Soltanipor M., Hajebi A., Dastjerdi A., and Ebrahimi S. 2007. Allelopathic effects of aqueous extract of *Zhumeria majdae* on seed germination of seven species of vegetables. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 23(1):51-58. (In Persian with English abstract)
30- Stankovic M.S., Niciforovic N., Topuzovic M., and Solujic S. 2011. Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium montanum* L. Biotechnol Equipment, 25(1): 2222-2227.
31- Swetie R., Raesh Ch., and Arun S. 2007. Antioxidant potential of mint (*Mentha Spicata* L.) in radiation processed lamb meat. Food Chemistry, 100(2):451-458.
32- Younesabadi M., Habibian, L., and Savarinejad AR. 2014. Using of plant extracts in control of Abutilontheophrasti Medicus. International Journal of Farming and Allied Sciences, 3(5):483-488.

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۴۴۴-۴۲۹

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 429-444

بررسی اثر عملیات مدیریتی بر زمان رویش خربزه وحشی (*Cucumis melo* L. var. *agrestis* Naud.) در سویا (*Glycine max*)

رحمان خاکزاد[1]- محمد تقی آل ابراهیم[2*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۲۶

چکیده

خربزه وحشی علف هرزی یکساله و مهاجم از خانواده کدوئیان می‌باشد. این علف هرز با رشد رونده و سریع خود باعث کاهش رشد و عملکرد گیاهان زراعی همچون سویا می‌شود. لذا برای ارزیابی عملیات مختلف مدیریتی به منظور پیش‌بینی الگوی رویش خربزه وحشی، آزمایشی به صورت کرت‌های دو بار خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار در شرکت دشت ناز ساری در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی، دو سیستم خاک‌ورزی رایج و بدون خاک‌ورزی، سه مقدار بذرپاشی سویا (۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ هزار بذر در هکتار سویا) و پنج دز مختلف علف‌کش ایمازاتاپیر (صفر، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ گرم ماده موثره در هکتار) بودند. ملاحظات آماری عملکرد مدل نشان دادند که مدل زمان دمایی خاک (STT) پیش‌بینی کننده خوبی از رویش خربزه وحشی با دامنه‌ای از مقادیر R^2adj بین ۰/۹۲ تا ۰/۹۹ و RMSE بین ۲/۵۹ تا ۱۲/۶۹ بود. زمان رویش خربزه وحشی به وسیله عملیات مدیریتی همچون سیستم‌های خاک‌ورزی، مقادیر بذرپاشی سویا و دزهای ایمازاتاپیر تحت تاثیر قرار گرفت. سیستم خاک‌ورزی رایج در ترکیب با تراکم ۴۰۰ هزار بذر در هکتار و دز ایمازاتاپیر ۱۲۵ گرم ماده موثره در هکتار منجر به پایین‌ترین نرخ رویش خربزه وحشی و بالاترین T_{50} شدند، لذا فاز تاخیری طولانی‌تری از رویش خربزه وحشی در بخش اولیه فصل رشد ایجاد شد. این امر زمان بیشتری برای سویا فراهم کرد تا بهتر استقرار یابد و توانایی رقابتی خود را بهبود دهد و همین امر موجب بالاترین عملکرد سویا در واحد سطح در پایان فصل رشد در تیمارهای مزبور گردید. مطالعه حاضر اطلاعات ارزشمندی بر روی پیش‌بینی زمان رویش خربزه وحشی به منظور تکامل راهبردهای مدیریتی موثر برای این گونه فراهم می‌کند.

واژه‌های کلیدی: بدون خاک‌ورزی، خاک‌ورزی رایج، دز علف‌کش، زمان رویش، مقدار بذرپاشی

مقدمه

خربزه وحشی علف هرزی یک ساله، تک پایه با عادت رشدی انتهایی و بالارونده، متعلق به تیره Cucurbitaceae است (۱۶). این گیاه بومی آفریقا است (۲۸)، اما به شدت زمین‌های زراعی در شمال ایران را مورد هجوم قرار می‌دهد (۴۶). تولید مثل خربزه وحشی تنها با بذر انجام می‌شود. این گیاه میوه‌های بیضوی زردرنگ طلایی تولید می‌کند که بوی مشخصی دارند (۱۶). بیش از ۱۰ میوه در هر بوته خربزه وحشی وجود دارد و این علف هرز بعد از رسیدن میوه به راحتی از طریق بذر پراکنده می‌شود (۲۶). این علف هرز، پیچکی دارد که برای حلقه زدن خودش به دور گیاهان دیگر مورد استفاده قرار داده و در نهایت فتوسنتز و عملکرد گیاه زراعی را کاهش می‌دهد (۵۱). برای مثال عملکرد دانه ذرت در اثر تداخل با خربزه وحشی ۲۰ تا ۵۰ درصد کاهش یافت (۵۶). همچنین عادت رشد مارپیچی خربزه وحشی می‌تواند موجب مشکلات برداشت شود (۵۱). این گونه یک مزاحم رایج در مناطق باز طبیعی، شیب‌ها، چمن‌زارها و مزارع می‌باشد. همچنین با توجه به رشد سریع خود و محدودیت اقدامات کنترل تبدیل به یک علف هرز غالب در محصولاتی مانند سویا، بادام زمینی و ذرت شده است (۲۳). از آنجایی که خربزه وحشی و گیاهان ردیفی همچون سویا آشیان‌های اکولوژیکی مشابهی دارند، اطلاعات مربوط به جوانه‌زنی و رویش خربزه وحشی برای مدیریت بهتر آن مفید خواهد بود.

مدیریت تلفیقی علف‌های هرز[3] (IWM) ترکیبی از دانش زیست شناسی و فیزیولوژی علف هرز و گیاه زراعی در درون یک روش پویا برای کاهش جوانه‌زنی و رویش علف هرز است در حالی که افت عملکرد گیاه زراعی به حداقل می‌رسد (۹). سانیال و همکاران (۴۵)

۱ و ۲- دانشجوی دکتری علوم علف هرز و دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی
(*- نویسنده مسئول: Email: M_ebrahim@uma.ac.ir)
DOI: 10.22067/jpp.v32i3.73208

3- Integrated Weed Management (IWM)

توضیح دادند IWM برای موثر بودن باید دو جزء را در برگیرد: تغییر تعادل رقابتی به نفع گیاه زراعی و مدیریت بانک بذر برای کاهش استقرار گیاهچه علف هرز در آینده. به همین دلیل پیش‌بینی اثرات عملیات مدیریتی بر رویش تجمعی علف‌های هرز می‌تواند در تکامل یک راهبرد موثر IWM مفید باشد. چنین پیش بینی‌هایی نیاز به درک پاسخ الگوی رویش علف‌های هرز به شیوه‌های مدیریتی مانند خاک‌ورزی، تراکم گیاه زراعی و کنترل شیمیایی دارد.

رژیم‌های خاک‌ورزی در مقایسه با دیگر شیوه‌ها یکی از قوی‌ترین اثرات را بر جوامع علف‌های هرز و در نتیجه مدیریت آنها دارد. با انتخاب روش و زمان‌بندی مناسب خاک‌ورزی، بسیاری از گیاهچه‌های علف‌های هرز می‌توانند در اوایل چرخه زندگی خود نابود شوند و رقابت با گیاه زراعی برای مواد غذایی، نور و آب کاهش یابد (۹). نوع گونه و تراکم گیاهچه علف‌های هرز به شدت تحت تاثیر رژیم خاک‌ورزی اجرا شده قرار می‌گیرند. نورس ورتی و اولیویرا (۳۶) دریافتند که خاک‌ورزی بهاره رویش توق را افزایش داد در حالی که تاثیر کمی بر رویش تاج خروس داشت.

افزایش میزان بذرپاشی سویا ممکن است راهبرد دیگری برای مدیریت بهینه علف‌های هرز باشد. مزایای افزایش تراکم بوته شامل بهبود توانایی رقابتی گیاه زراعی در برابر علف‌های هرز (۲۲)، کاهش میزان نور رسیده به گیاهان زیر کانوپی، کاهش زمان تا رسیدن به بسته شدن کامل تاج پوشش (۱۱)، افزایش کارایی علف‌کش (۳۲) به ویژه علف‌کش‌هایی با بقایای فعال در خاک و ممانعت از علف‌های هرز دیر رویش (۵۵) می‌باشد. نایس و همکاران (۳۵) نشان دادند که افزایش جمعیت سویا از ۲۴۵ به ۶۷۶ هزار بوته در هکتار تراکم و رویش *Senna obtusifolia* را کاهش داد.

هدف اصلی استفاده از مواد شیمیایی در مزارع به منظور جلوگیری از رقابت با علف‌های هرزی است که همزمان با گیاه زراعی رویش می‌یابند. آگاهی از رویش متناوب علف‌های هرز به کشاورزان اجازه خواهد داد تا به طور سیستماتیک بهترین زمان را برای استفاده از علف‌کش‌های پیش‌رویشی در گیاهان زراعی تعیین کنند. علاوه بر این تولیدکنندگان می‌توانند با دقت بیشتری زمان‌بندی کاربرد علف‌کش‌های پس‌رویشی را برای تقویت کارایی کنترل علف‌های هرز پیش‌بینی کنند. بنابراین الگوهای رویش می‌توانند زمان‌بندی عملیات پاشش بر روی جمعیت علف‌های هرز را به منظور اطمینان از اثربخشی مطلوب بهبود دهند.

توانایی پیش‌بینی زمان رویش گیاهچه یک گام مهم در جهت افزایش کارایی و زمان مناسب اقدامات کنترل شیمیایی و زراعی علف‌های هرز است (۱۸). به علت اینکه شدت رقابت گیاه زراعی–علف هرز توسط زمان رویش علف‌های هرز نسبت به تکامل فنولوژیکی گیاه زراعی تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۷، ۳۷ و ۱۵)، زمان کنترل علف‌های هرز یک جزء کلیدی برای به حداکثر رسانی عملکرد بالقوه گیاه زراعی است. کنترل گیاهچه‌های علف‌های هرز تازه رویش یافته ممکن است به کاهش رقابت در طی مرحله حساس استقرار گیاهچه گیاه زراعی کمک کند (۶)، اما گیاهچه‌های دیر رویش یافته ممکن است از عملیات کنترل فرار کرده و در افزایش بذر به بانک بذر خاک نقش داشته باشند. بنابراین درک عواملی که زمان رویش علف‌های هرز را تنظیم می‌کنند هم برای اهداف کوتاه مدت و هم برای اهداف بلند مدت تولید گیاه زراعی بحرانی است.

زمان جوانه‌زنی و رویش علف‌های هرز در مزرعه توسط عوامل محیطی مانند نور، دمای خاک، رطوبت خاک و اتمسفر خاک تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۱۹). با این حال پاسخ به این عوامل محیطی با سن (۴۳)، خواب (۴) و تنوع ژنتیکی بذر (۳۴) تعدیل می‌شود. دمای خاک معمولا به عنوان اولین عامل محیطی تنظیم کننده رویش در نظر گرفته می‌شود. دما بر کاهش و القای خواب بذر (۴۹) تاثیر گذاشته و افزایش دما سرعت جوانه‌زنی (۴۰) و افزایش طول گیاهچه (۳۸) را تسریع می‌کند. اثر تجمعی دما به عنوان زمان دمایی بیان شده و با فرآیندهای پس رسی (۲) و افزایش طول گیاهچه (۳۸) مرتبط است. علاوه بر این دامنه نوسانات دمایی روزانه، جوانه‌زنی و رویش را در برخی گونه‌ها با فراهم کردن نشانه‌ای از شرایطی که به نفع استقرار گیاهچه است، تحریک می‌کند (۳ و ۵۰). بنابراین درک بهتر از اثرات عوامل محیطی همچون دما بر جوانه‌زنی و رویش خربزه وحشی می‌تواند به پیش بینی مناطقی که ممکن است به طور بالقوه توسط این گونه مورد هجوم قرار گیرد، کمک کرده و اطلاعاتی را بر روی اقدامات موثر کنترل آن فراهم کند.

علی رغم اهمیت خربزه وحشی به عنوان یک علف هرز مهم در گیاهان ردیفی مانند سویا، اطلاعات محدودی در مورد اثر روش‌های مدیریتی بر زمان رویش خربزه حشی وجود دارد. لذا شناخت بیشتر از عواملی که رویش گیاهچه خربزه وحشی را تحت تاثیر قرار می‌دهند می تواند به مداخلات برای کنترل این علف هرز کمک کند. بنابراین هدف این تحقیق تعیین اثرات عملیات مدیریتی مختلف بر رویش گیاهچه خربزه وحشی و توسعه یک مدل تجربی مبتنی بر زمان دمای خاک برای پیش‌بینی رویش این گونه در سویا بود.

مواد و روش‌ها

آزمایشات مزرعه‌ای

آزمایش در طی فصول رشد ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ در مزرعه زراعی شرکت دشت ناز ساری واقع در ۱۵ کیلومتری شمال شرق ساری با مختصات جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۹ دقیقه عرض شمالی و ۵۳ درجه و ۱۱ دقیقه طول شرقی و ارتفاع یک متر از سطح دریا اجرا شد. نوع خاک محل اجرای طرح لومی رسی با اسیدیته ۷/۸ بود. محتوای ماده آلی خاک نیز در سال های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ به ترتیب ۲/۵ و ۱/۹ درصد

بود. آزمایش به صورت طرح کرت دو بار خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی، دو سیستم خاک‌ورزی رایج و بدون خاک‌ورزی، سه مقدار بذرپاشی سویا (۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ هزار بذر در هکتار سویا) و پنج دز مختلف علفکش ایمازاتاپیر (صفر، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ گرم ماده موثره در هکتار) بودند. سیستم‌های خاک ورزی به عنوان عامل اصلی، تراکم‌های مختلف سویا به عنوان عامل فرعی و دزهای مختلف علفکش ایمازاتاپیر به عنوان عامل فرعی فرعی در نظر گرفته شدند. رقم سویای مورد مطالعه در این آزمایش تلار (BP) بود.

قبل از اجرای آزمایش مزرعه‌ای با سابقه کشت سویا و آلودگی بالا به گونه‌های علف هرز یک ساله به خصوص خربزه وحشی انتخاب شد. سپس طرح آزمایشی در طی فصول رشد ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ در این محل به اجرا در آمد. برای پیاده کردن طرح آزمایشی، مزرعه محل اجرای آزمایش در طی هر سال به دو منطقه یکنواخت برای سازگار کردن تیمارهای خاک‌ورزی رایج و بدون خاک‌ورزی تقسیم شد. این مزرعه در پاییز سال اول زیر کشت کلزا و در پاییز سال دوم زیر کشت گندم بود. به همین خاطر قبل از کاشت در کرت‌های بدون خاک‌ورزی، به ترتیب در هر سال ساقه‌های باقیمانده کلزا و گندم با استفاده از ساقه خردکن قطعه قطعه گردید، ولی تنها در سال اول از سم پاراکوات به نسبت ۳ لیتر در هکتار برای جلوگیری از رویش مجدد ساقه‌های باقیمانده کلزای خودرو استفاده شد. در کرت‌های خاک‌ورزی رایج قبل از کاشت ابتدا دو دیسک عمود بر هم زده شد و سپس از سیکلوتیلر به منظور عملیات تسطیح و نرم کردن خاک استفاده شد. کوددهی مزرعه در ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار با استفاده از کود گرانوله جامد دی آمونیوم فسفات (۰-۴۶-۱۸) در هر دو سیستم خاک‌ورزی طی هر سال از آزمایش انجام شد. پس از آماده سازی بستر بذر، کاشت در سال اول و دوم به ترتیب در ۱۷ و ۲۵ خرداد انجام شد. فاصله ردیف های کاشت ۱۹ سانتیمتر و ابعاد هر کرت آزمایشی نیز ۶ در ۶ متر بود. در هر دو سال بعد از کاشت تا زمان گلدهی هر هفته یک دور آبیاری صورت گرفت. ۲۰ روز پس از کاشت در هر سال برای از بین بردن لارو پروانه هلیوتیس از حشره کش آوانت (ایندوکساکارب) به نسبت ۲۵۰ سی سی در هکتار استفاده شد. سمپاشی بر اساس تیمارهای ارایه شده (صفر، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ گرم ماده موثره در هکتار ایمازاتاپیر) با استفاده از سمپاش پشتی ۲۰ لیتری شارژی نوع Marina، مجهز به نازل شره‌ای و با فشار ۲/۵ بار (کالیبره شده بر اساس مصرف ۲۰۰ تا ۳۰۰ لیتر آب در هکتار) به صورت پیش رویشی (PRI)[1] انجام شد.

برای پیش‌بینی الگوی رویش خربزه وحشی در هر کرت، یک کوادرات ثابت به اندازه ۵۰ در ۵۰ سانتیمتر در مرکز هر کرت قرار گرفت و از ابتدای فصل بعد از اولین آبیاری شمارش گیاهچه‌های تازه روئیده براساس نوع گونه آغاز شد. شمارش هر هفته تکرار و سپس گیاهچه‌های شمرده شده در هر مرحله حذف شدند. وزن هزار دانه خربزه وحشی در سال های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ به ترتیب ۴/۰۰ و ۴/۰۷ گرم بود.

محاسبات آماری

مدل‌های زمان دمایی به منظور رویش گیاهچه‌های مشاهده شده خربزه وحشی توسعه یافتند و ارزیابی شدند، لذا برای محاسبه رویش تجمعی گیاهچه‌ها در طول فصل، تعداد گیاهچه‌های هر گونه بر مبنای تعداد گیاهچه در متر مربع محاسبه شد. با توجه به اینکه در هر دو سال از این آزمایش بعد از کاشت تا زمان گلدهی هر هفته یک دور آبیاری صورت گرفت، آب خاک یک عامل محدود کننده برای رویش گونه‌های علف هرز نبود و از زمان دمای خاک (STT) به عنوان تنها متغیر مستقل برای پیش‌بینی رویش تجمعی استفاده شد. لذا STT با دمای خاک از معادله زیر به دست آمد:

$$STT = \sum_{i=1}^{n}(ST_{mean} - T_{base}) \qquad (۱)$$

که در آن ST_{mean} متوسط دمای روزانه خاک، T_{base} دمای پایه جوانه‌زنی گونه علف هرز یا پایین‌ترین دمایی که بذر علف هرز جوانه می‌زند و n تعداد روزهای پس از کاشت است. دمای پایه‌ای که در محاسبات STT برای خربزه وحشی به کار رفته بود شامل ۲۰ درجه سانتیگراد (۴۶) بود. از نرم افزار مدل دمایی خاک (STM^2) (۴۷) برای پیش‌بینی دمای روزانه خاک (درجه سانتیگراد) در عمق ۳ سانتیمتری (شکل ۱) استفاده شد. بارش روزانه (شکل ۱)، حداقل و حداکثر دمای هوا از نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی واقع در ۵۰۰ متری محل آزمایش به دست آمد. ویژگیهای بافت خاک و ماده آلی (درصد) همراه با عرض جغرافیایی، طول جغرافیایی و ارتفاع (یک متر) محل تحقیق، در نرم افزار برای پیش‌بینی دمای روزانه خاک (درجه سانتیگراد) نیز مورد استفاده قرار گرفت.

به منظور توصیف الگوی رویش گیاهچه خربزه وحشی، رویش تجمعی این گونه در برابر زمان دمای خاک (STT) با استفاده از مدل لجیستیک سه پارامتره (۱۲ و ۱۷) محاسبه شد:

$$Y = \frac{a}{1+\left(\frac{STT}{T_{50}}\right)^{b}} \qquad (۲)$$

که در آن Y رویش تجمعی علف هرز در طول فصل، a مجانب بالای منحنی یا همان حداکثر درصد رویش تجمعی علف هرز، T_{50} نشانگر STT یا زمان دمایی خاک هنگامی که Y، ۵۰ درصد حداکثر رویش تجمعی (متوسط) است و b شیب منحنی یا نرخ رویش به ازای

1- Pre emergence (PRI)

هر STT محسوب می‌شود. لازم به ذکر است برآوردهای پارامتری با استفاده از تست‌های t دو طرفه مقایسه شدند ($P<0.05$).

ارزیابی برازش مدل با ریشه میانگین مربعات خطا (RMSE) و ضریب دقت اندازه‌گیری (R^2_{adj}) (۲۷) انجام شد. RMSE با معادله زیر محاسبه شد:

$$RMSE = \left[\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(P_i - O_i)^2\right]^{\frac{1}{2}} \quad (۳)$$

که در آن O_i و P_i به ترتیب مقادیر مشاهده شده و پیش‌بینی شده رویش و n تعداد مشاهدات است. همچنین ضریب دقت اندازه-گیری (R^2_{adj}) با استفاده از برازش توابع توسط مدل لجیستیک سه پارامتره در نرم افزار Sigma Plot 12.5 محاسبه شد. مقادیر RMSE کوچکتر و R^2_{adj} نزدیکتر به یک نشانگر برازش بهتر مدل می‌باشد. برازش توابع با استفاده از نرم افزار Sigma Plot 12.5 انجام شد. در پایان فصل رشد دو ردیف کناری هر کرت و نیم متر از دو انتهای ردیف‌های میانی به عنوان اثر حاشیه‌ای حذف شد و سطح باقیمانده در هر کرت (۲ متر مربع) جهت تعیین عملکرد دانه برداشت شد. جهت نرمال کردن داده‌های عملکرد سویا از تبدیل جذری استفاده و سپس داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS تجزیه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

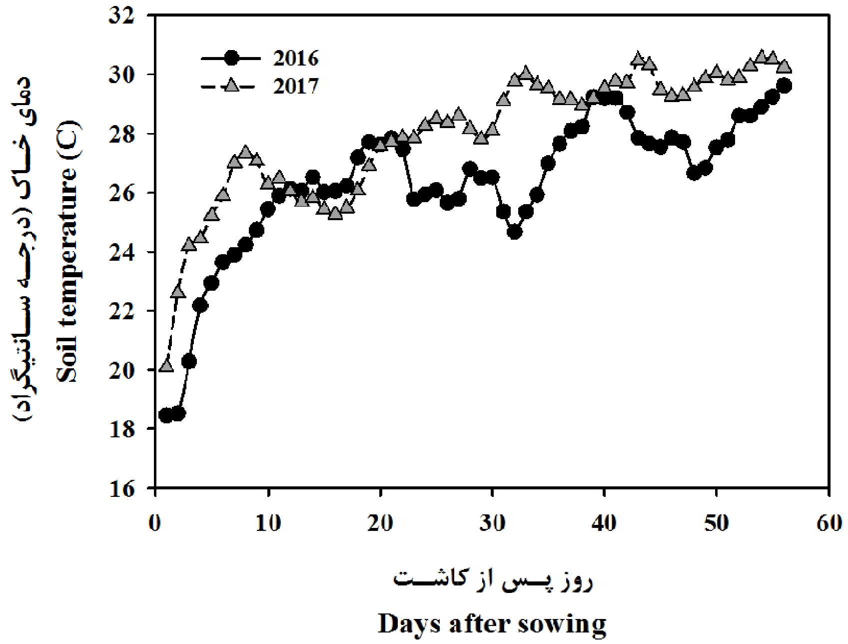
برآوردهای پارامتری به منظور تعیین اثرات تیمارها آنالیز واریانس مقدماتی شدند. براساس این آنالیز واریانس اثرات متقابل تیمارها برای رویش تجمعی خربزه وحشی در هر دو سال معنی‌دار نبود (جدول ۱)، بنابراین تنها اثرات اصلی ارزیابی شدند. ضرایب آماری عملکرد مدل تایید کردند که مدل زمان دمایی یک پیش‌بینی کننده خوب رویش خربزه وحشی با دامنه مقادیر R^2_{adj} بین ۰/۹۲ و ۰/۹۹ و دامنه مقادیر RMSE بین ۲/۵۹ تا ۱۲/۶۹ در دو سیستم خاک‌ورزی، سه مقدار بذرپاشی سویا و پنج دز ایمازاتاپیر بود (جداول ۲ و ۳ و ۴). بسته به ماهیت اندازه گیری، ایزکوئیردو و همکاران (۲۷) مقادیر R^2_{adj} را از دامنه ۰/۸۲ تا ۰/۹۲ و مقادیر RMSE را از دامنه ۴/۴ تا ۱۲/۱ به دست آوردند. با توجه به اینکه تغییرپذیری عواملی مانند دمای خاک و بارندگی بین دو سال متفاوت بود (شکل ۱) بر این اساس طبیعتا دو سیستم خاک‌ورزی، سه مقدار بذرپاشی سویا و پنج دز ایمازاتاپیر از نظر مقدار RMSE در سال اول و دوم اختلاف معنی‌دار نشان دادند (جداول ۲، ۳ و ۴).

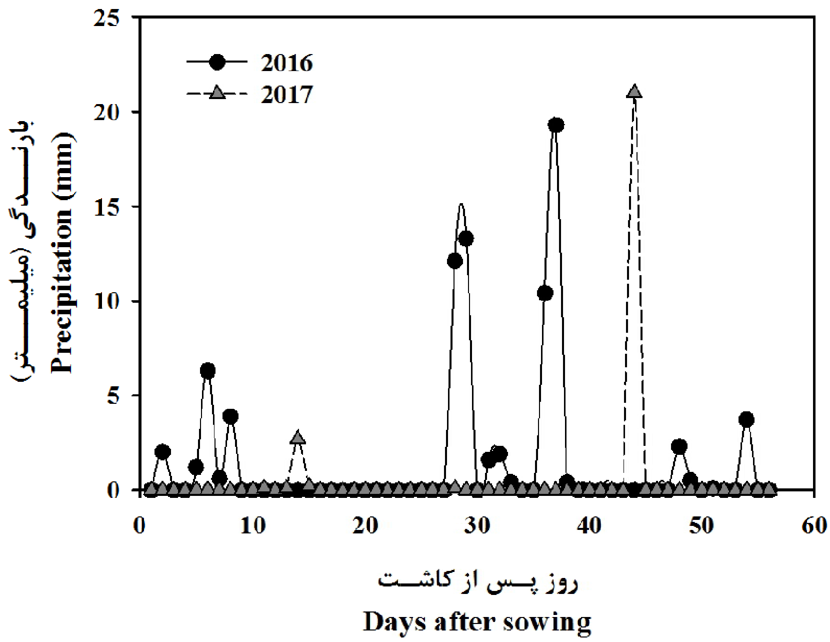
سیستم‌های خاک‌ورزی

رویش تجمعی خربزه وحشی در هر دو سال به طور معنی‌داری تحت تاثیر سیستم‌های خاک‌ورزی قرار گرفت ($P<0.0001$)، به طوری که سیستم بدون‌خاک ورزی رویش تجمعی بیشتری نسبت به خاک‌ورزی رایج داشت (جدول ۲، شکل ۲). حداکثر رویش تجمعی خربزه وحشی (a) در سال ۱۳۹۵ به ترتیب ۳۵۶ و ۷۸۵ گیاهچه در متر مربع تحت سیستم‌های خاک‌ورزی رایج و بدون خاک‌ورزی بود، در حالی که در سال ۱۳۹۶، حداکثر رویش تجمعی خربزه وحشی (a) به ترتیب ۷۱۱ و ۱۳۵۱ گیاهچه در متر مربع تحت سیستم‌های خاک-ورزی رایج و بدون خاک‌ورزی بود (جدول ۲، شکل ۲). بنابراین، یک تفاوت اساسی بین دو سیستم خاک‌ورزی از لحاظ رویش خربزه وحشی وجود داشت. این تفاوت ممکن است به دلیل تمایز تکاملی بین جمعیت‌های خربزه وحشی باشد (۳۰)، یا ممکن است به دلیل اثرات فصلی بر روی محتوای درونی خود بذور باشد (۱۴). شیب منحنی یا نرخ رویش در هر STT (b) نیز در هر دو سال بین سیستم‌های خاک‌ورزی متفاوت بود ($P<0.001$). خربزه وحشی تحت سیستم بدون خاک‌ورزی نرخ رویش بالاتری در هر STT در مقایسه با سیستم خاک‌ورزی رایج داشت (جدول ۲). علاوه بر این T_{50} بین دو سیستم خاک‌ورزی در هر دو سال متفاوت بود ($P<0.0001$) (جدول ۲). خربزه وحشی تحت سیستم بدون خاک‌ورزی T_{50} پایین‌تری نسبت به سیستم خاک‌ورزی رایج داشت (جدول ۲).

خربزه وحشی در کرت‌های بدون خاک‌ورزی نسبت به کرت‌های خاک‌ورزی رایج سریع‌تر به ۵۰ درصد رویش تجمعی دست یافت. عوامل متعددی ممکن است در رویش زودتر خربزه وحشی در سیستم بدون خاک‌ورزی در مقایسه با سیستم خاک‌ورزی رایج نقش داشته باشند. اولا در سیستم‌های بدون خاک‌ورزی بیشتر بذور بر روی سطح خاک یا نزدیک سطح خاک قرار گرفته‌اند (۲۶)، جایی که شرایط محیطی مخصوصا نور و دما برای جوانه‌زنی و رویش تجمعی مطلوب وجود دارند (۳۳)، بنابراین قابل انتظار است گیاهچه‌های بیشتری در سیستم بدون خاک‌ورزی رویش یابند (۲۶). ثانیا شخم بذور سطحی را در عمق خاک دفن می‌کند (۵)، لذا رویش خربزه وحشی کاهش می-یابد. بذور بیش از حد عمیق دفن شده ممکن است به واسطه محیط نامطلوب وادار به خواب شوند (۵). نهایتا رویش تجمعی سریع‌تر تحت سیستم بدون خاک‌ورزی می‌تواند به اندازه کوچک بذرهای خربزه وحشی مربوط باشد. گیاهچه¬هایی که به تازگی از بذرهای کوچکی که به طور عمیق در خاک دفن شده¬اند، جوانه می¬زنند، ممکن است قبل از اینکه آنها بتوانند از سطح خاک رویش یابند ذخایر انرژیشان تخلیه شود (۱۰). بنابراین گزینه مدیریتی محتمل برای خربزه وحشی ممکن است شخم عمیق با گاوآهن برگردان دار باشد که بذرها را زیر عمق حداکثری آنها دفن می¬کند تا مانع رویش این علف هرز شود (۲۶). این نتیجه بیانگر اهمیت اثر عمق دفن بر رویش خربزه وحشی است. در این ارتباط مطالعات زیادی نشان دادند که رویش خربزه وحشی با افزایش عمق دفن بذر به شدت کاهش

می‌یابد (۴۶ و ۵۱). در یکی از این مطالعات هانگل و همکاران (۲۶) نشان دادند که بذور قرار گرفته بر روی سطح خاک یا در عمق یک سانتیمتری، مقادیر رویش بیش از ۹۰ درصد را نشان دادند، حال آنکه تنها ۷/۱۴ درصد از گیاهچه‌های قرار گرفته در عمق ۸ سانتیمتری رویش یافتند.





شکل ۱- دمای روزانه خاک (درجه سانیگراد) در عمق ۳ سانتیمتری که با استفاده از نرم افزار STM[2] (نرم افزار مدل دمایی خاک) برآورد شد و بارندگی (میلیمتر) در طی دوره رویش خربزه وحشی در مزرعه آزمایشی که در دشت ناز ساری در سال های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ انجام شد. اطلاعات هواشناسی از نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی واقع در ۵۰۰ متری محل آزمایش به دست آمد.

Figure 1. Daily soil temperature (C) at a 3-cm depth, estimated using STM[2] (soil temperature model software; Spokas and Forcella 2009) and precipitation (mm) during the Wild melon emergence period in a field experiment conducted in Dashte-Naz Sari, in 2016; and 2017. Meteorological information was obtained from the nearest meteorological station located 500 meters from the experiment site.

جدول ۱- تجزیه واریانس برای آزمایش مزرعه‌ای که شامل اثرات اصلی و اثرات متقابل بلوک، خاک‌ورزی، تراکم و دز علف‌کش بود. رویش خربزه وحشی به صورت رویش تجمعی بیان شده است

Table 1- Analysis of variance for the field experiment consisting of the main effects and interactions of block, tillage, density, and herbicide dose. Wild melon emergence is expressed as cumulative emergence

Source of variation منبع تغییرات	df	2016 Cumulative emergence رویش تجمعی	2017 Cumulative emergence رویش تجمعی
Block بلوک	2	<0.0001	<0.0001
Tillage خاک‌ورزی	1	<0.0001	<0.0001
Error a	2	0.0003	NS
Density تراکم	2	<0.0001	<0.0001
Herbicide Dose دز علف‌کش	4	<0.0001	<0.0001
Density × Herbicide Dose	8	NS	NS
Tillage × Density	2	NS	NS
Tillage × Herbicide Dose	4	NS	NS
Tillage × Density × Herbicide Dose	8	0.03	NS
Error b	16	NS	NS
Error Total	40		
Total	89		

Abbreviations: NS, not significant

اختصارات: NS، عدم معنی داری

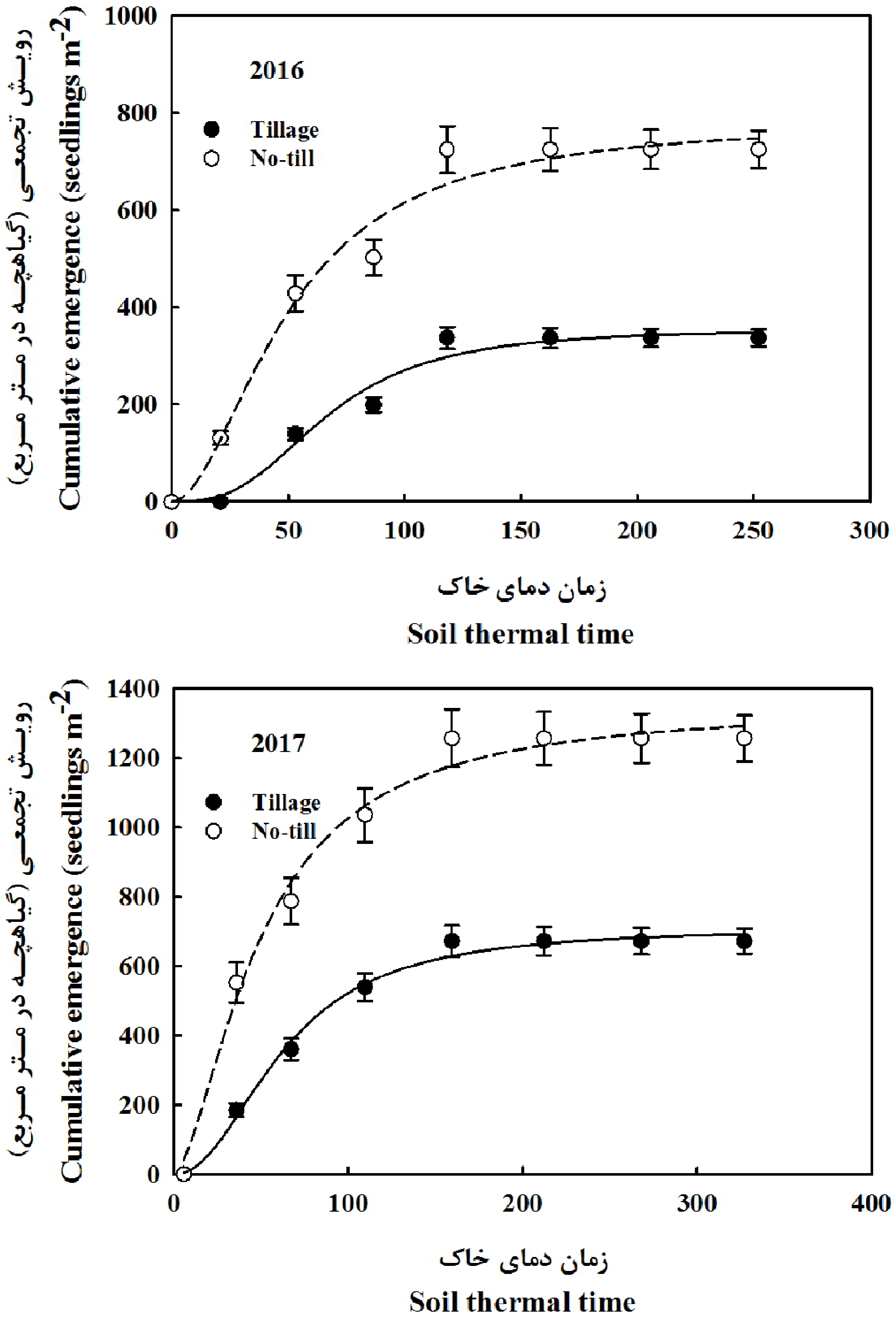
جدول ۲- پاسخ الگوی رویش تجمعی خربزه وحشی در سیستم‌های خاک‌ورزی رایج و بدون خاک‌ورزی

Table 2- Cumulative emergence pattern response of wild melon in conventional tillage and no-till systems

سال Year	سیستم‌های خاک‌ورزی Tillage system	پارامترهای برآورد شده ± خطای استاندارد Parameter estimates ± SE *a*	*b*	T_{50}	R^2adj	RMSE
2016	خاک‌ورزی رایج Conventional tillage	356.12 ± 27.18	-1.87 ± 0.44	67.04 ± 7.23	0.96	9.74
	بدون خاک‌ورزی No-till	785.01 ± 59.63	-2.87 ± 0.88	50.18 ± 7.07	0.97	7.07
	P value	<0.0001	<0.001	<0.0001		
2017	خاک‌ورزی رایج Conventional tillage	711.60 ± 25.92	-1.62± 0.30	62.59 ± 4.11	0.98	4.48
	بدون خاک‌ورزی No-till	1351.47 ± 70.76	-2.16 ± 0.32	49.23 ± 5.02	0.97	5.62
	P value	<0.0001	<0.001	<0.0001		

Abbreviations: R^2_{adj}, adjusted coefficient of determination; RMSE, root-mean-square error.

اختصارات: R^2_{adj} ، ضریب دقت اندازه گیری؛ RMSE ، ریشه میانگین مربعات خطا



شکل ۲- اثر سیستم های خاک ورزی بر الگوی رویش تجمعی خربزه وحشی در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ در دشت ناز ساری. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند

Figure 1. Effect of tillage systems on cumulative emergence pattern of wild melon in 2016 and 2017 on the Dasht Naz Sari. Vertical bars represent standard error

مقادیر بذرپاشی سویا

اثر مقادیر مختلف بذرپاشی سویا بر رویش تجمعی گیاهچه‌های خربزه وحشی در هر دو سال معنی‌دار بود (P<0.0001). خربزه وحشی در مقدار بذرپاشی ۲۰۰ هزار بذر در هکتار سویا رویش تجمعی بالاتری نسبت به دو تراکم دیگر در هر دو سال داشت. رویش تجمعی خربزه وحشی در تراکم ۴۰۰ هزار بذر در هکتار پایین‌تر بود (جدول ۳، شکل ۳). شیب منحنی یا نرخ رویش در هر STT (*b*) نیز بین مقادیر بذرپاشی سویا در هر دو سال متفاوت بود (P<0.001) (جدول ۳). نرخ رویش خربزه وحشی در هر STT در تراکم‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ هزار بذر در هکتار به ترتیب بالاتر و پایین‌تر بود (جدول ۳). از طرف دیگر T_{50} خربزه وحشی در مقدار بذرپاشی ۴۰۰ هزار بذر در هکتار بیشتر و در مقدار بذرپاشی ۲۰۰ هزار بذر در هکتار کمتر بود (P<0.0001) (جدول ۳). لذا خربزه وحشی در مقدار بذرپاشی پایین‌تر سویا، رویش بالاتر و T_{50} پایین‌تری نسبت به مقدار بذرپاشی بالاتر سویا نشان داد (جدول ۳). در مقدار بذرپاشی پایین، گیاهان زراعی نیاز به زمان بیشتری برای بستن کانوپی خود دارند، لذا رویش علف‌های هرز تحریک می‌شود (۱). ریچ و رنر (۴۴) دریافتند که پایین آوردن مقدار بذرپاشی سویا زیر سطح مطلوب رقابت‌پذیری سویا با علف‌های هرز را کاهش داد. این رقابت‌پذیری کاهش یافته منجر به تراکم بالاتر علف های هرز و کاهش سطح برگ و وزن خشک سویا شد (۲۹). نتایج ما همچنین نشان داد که مقدار بذرپاشی ۴۰۰ هزار بذر در هکتار سویا منجر به فاز تاخیری طولانی‌تری از رویش خربزه وحشی در هر دو سال به واسطه نرخ رویش پایین‌تر و T_{50} بالاتر شد (جدول ۳). این امر زمان بیشتری برای گیاه زراعی به منظور استقرار بهتر فراهم می‌کند و توانایی رقابتی سویا را بهبود می‌دهد. بنابراین گیاهان زراعی در تراکم‌های بالا یک مزیت رقابتی بر روی علف‌های هرز به واسطه تکامل سریع کانوپی خود دارند. هاردر و همکاران (۲۴) دریافتند که در تراکم ۴۴۵ هزار بوته در هکتار سویا، بسته شدن کانوپی ۱۱ هفته پس از کاشت حاصل شد، در حالی که در تراکم پایین‌تر یعنی ۳۰۰ هزار بوته در هکتار، یک هفته بیشتر طول کشید تا کانوپی بسته شود که منتج به این نتیجه شد که تکامل سریع کانوپی در مقدار بذرپاشی بالاتر منجر به تراکم پایین‌تر علف‌های هرز گردید.

جدول ۳- پاسخ الگوی رویش تجمعی خربزه وحشی در سه مقدار بذر سویا

Table 3- Cumulative emergence pattern response of wild melon in three seed rates of soybean

سال Year	مقدار بذرپاشی (بذر در هکتار) Seeding rate (seed ha^{-1})	پارامترهای برآورد شده ± خطای استاندارد Parameter estimates ± SE *a*	*b*	T_{50}	R^2adj	RMSE
2016	200,000	486.23 ± 36.44	-2.98 ± 0.53	46.32 ± 6.87	0.95	9.12
	300,000	355.94± 31.50	-2.89 ± 0.53	50.08 ± 8.21	0.95	9.68
	400,000	267.26± 26.76	-1.79 ± 0.42	53.05 ± 9.54	0.95	9.93
	P value	<0.0001	<0.001	<0.0001		
2017	200,000	977.56 ± 39.11	-2.66 ± 0.23	54.55 ± 4.10	0.98	4.44
	300,000	670.58 ± 36.50	-2.52 ± 0.22	58.93 ± 6.02	0.98	4.92
	400,000	464.38 ± 28.98	-1.42 ± 0.12	62.55 ± 7.46	0.98	5.13
	P value	<0.0001	<0.001	<0.0001		

Abbreviations: R^2_{adj}, adjusted coefficient of determination; RMSE, root-mean-square error.

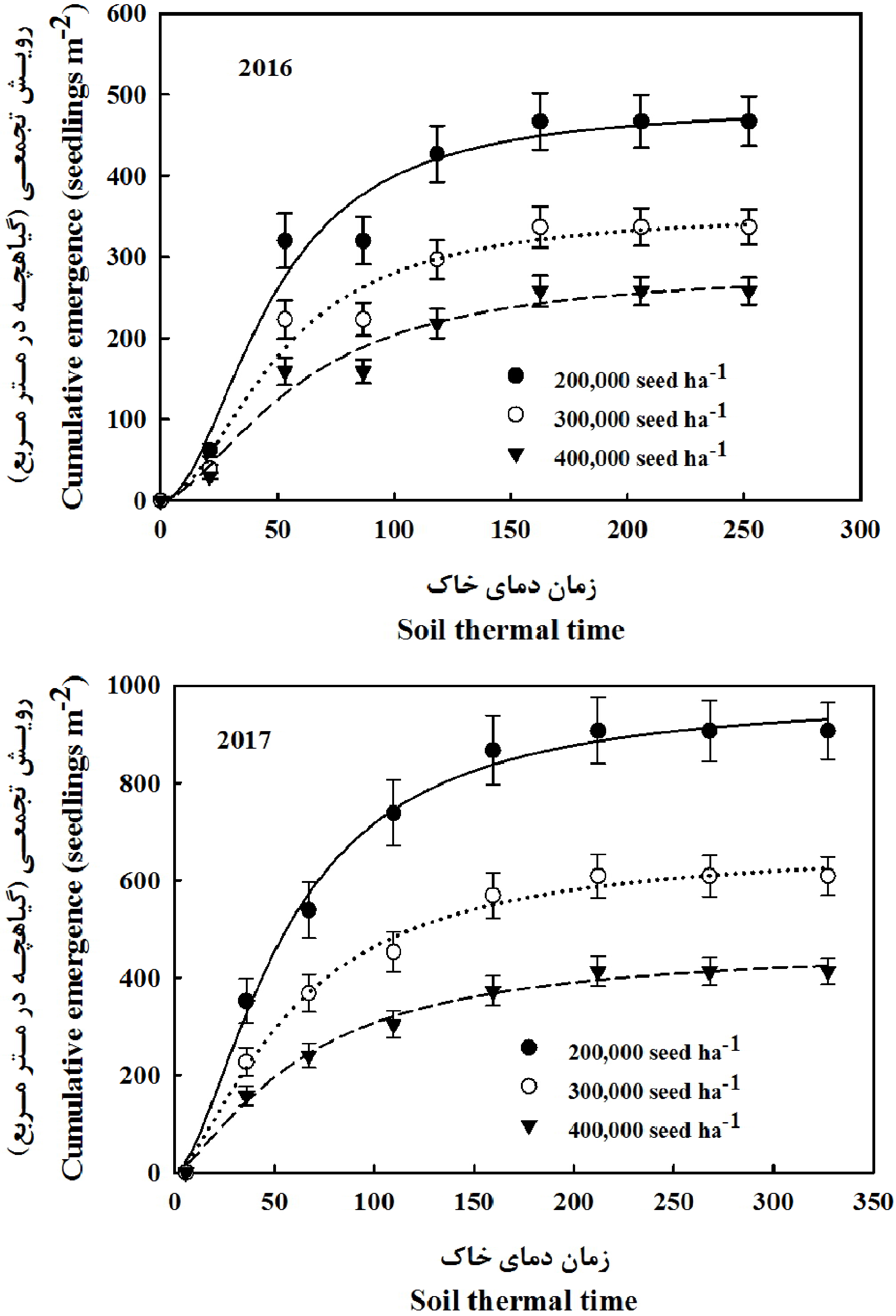
اختصارات: R^2_{adj} ، ضریب دقت اندازه گیری؛ RMSE ، ریشه میانگین مربعات خطا

دزهای ایمازاتاپیر

دزهای مختلف ایمازاتاپیر تاثیر معنی‌داری بر رویش تجمعی خربزه وحشی در هر دو سال داشتند (P<0.0001) (جدول ۴، شکل ۴). در بالاترین دز ایمازاتاپیر (۱۲۵ گرم ماده موثره در هکتار) رویش تجمعی خربزه وحشی پایین بود و رویش تجمعی خربزه وحشی هنگامی که هیچ علف‌کشی به کار نرفته بود بالاتر بود (جدول ۴، شکل ۴). مشاهده مشابه‌ای برای شیب منحنی یا نرخ رویش در هر STT (*b*) یافت شده بود جایی که این پارامتر در بالاترین مقدار ایمازاتاپیر کمتر بود و در غیاب علف‌کش بیشتر بود (جدول ۴). از طرف دیگر T_{50} روند متفاوتی را نشان داد جایی که T_{50} در بالاترین دز ایمازاتاپیر بیشتر و در غیاب علف‌کش کمتر بود (جدول ۴). روند در هر دو سال مشابه بود.

خربزه وحشی در بالاترین دز ایمازاتاپیر (۱۲۵ گرم ماده موثره در هکتار) نرخ رویش کمتر و T_{50} بالاتری را در هر دو سال نشان داد (جدول ۴)، که منجر به دوره زمانی طولانی‌تری برای خربزه وحشی تا رسیدن به ۵۰ درصد رویش تجمعی در بخش اولیه فصل رشد شد. این امر فرصت بیشتری برای گیاه زراعی به منظور بهره‌برداری از منابع موجود و استقرار بهتر فراهم کرد و توانایی آن را برای سرکوب گیاهچه‌های خربزه وحشی افزایش داد. ایمازاتاپیر کنترل موثری از خربزه وحشی را در طی فصل رشد به واسطه بقایای فعال طولانی

مدت خود در خاک فراهم کرد (۷ ، ۱۳ و ۳۱). در این رابطه والش و همکاران (۵۴) دریافتند که ایمازاتاپیر در بالاترین دز (۱۰۰ گرم ماده موثره در هکتار) تراکم و وزن خشک سلمه تره، آمبروسیا، دم روباهی سبز و گاوپنبه را بیش از ۸۰ درصد کاهش داد.



شکل ۳- اثر مقدار بذر سویا بر الگوی رویش تجمعی خربزه وحشی در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ در دشت ناز ساری. میله‌های عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد هستند

Figure 2. Effect of seed rates of soybean on cumulative emergence pattern of wild melon as influenced in 2016 and 2017 on the Dasht Naz Sari. Vertical bars represent standard error

جدول ٤- پاسخ الگوی رویش تجمعی خربزه وحشی در پنج دز ایمازاتاپیر

Table 4- Cumulative emergence pattern response of wild melon in five doses of Imazethapyr

سال Year	دزهای ایمازاتاپیر (گرم ماده موثره در هکتار) Imazethapyear doses (g ai ha^{-1})	پارامترهای برآورد شده ± خطای استاندارد Parameter estimates ± SE *a*	*b*	T_{50}	R^2_{adj}	RMSE
2016	0	402.78 ± 29.65	-3.00 ± 0.53	45.89 ± 6.75	0.95	9.23
	50	262.66 ± 23.00	-2.84 ± 0.52	47.23 ± 8.01	0.95	9.74
	75	206.35 ± 28.23	-2.58 ± 0.51	56.73 ± 13.99	0.94	10.64
	100	190.70 ± 25.79	-2.53 ± 0.57	62.27 ± 19.27	0.92	12.57
	125	121.95 ± 29.93	-1.43 ± 0.58	77.55 ± 33.24	0.92	12.69
	P value	<0.0001	<0.001	<0.0001		
2017	0	846.82 ± 11.68	-3.33 ± 0.18	44.63 ± 1.33	0.99	2.59
	50	506.22 ± 20.38	-2.86 ± 0.31	48.84 ± 3.86	0.98	4.97
	75	345.42 ± 15.17	-2.86 ± 0.31	53.99 ± 4.47	0.98	5.02
	100	209.83 ± 11.54	-2.79 ± 0.32	59.69 ± 5.97	0.98	5.42
	125	117.90 ± 6.34	-1.72 ± 0.23	76.44 ± 7.00	0.99	4.19
	P value	<0.0001	<0.001	<0.0001		

Abbreviations: R^2_{adj}, adjusted coefficient of determination; RMSE, root-mean-square error.

اختصارات: R^2_{adj} ، ضریب دقت اندازه گیری؛ RMSE ، ریشه میانگین مربعات خطا

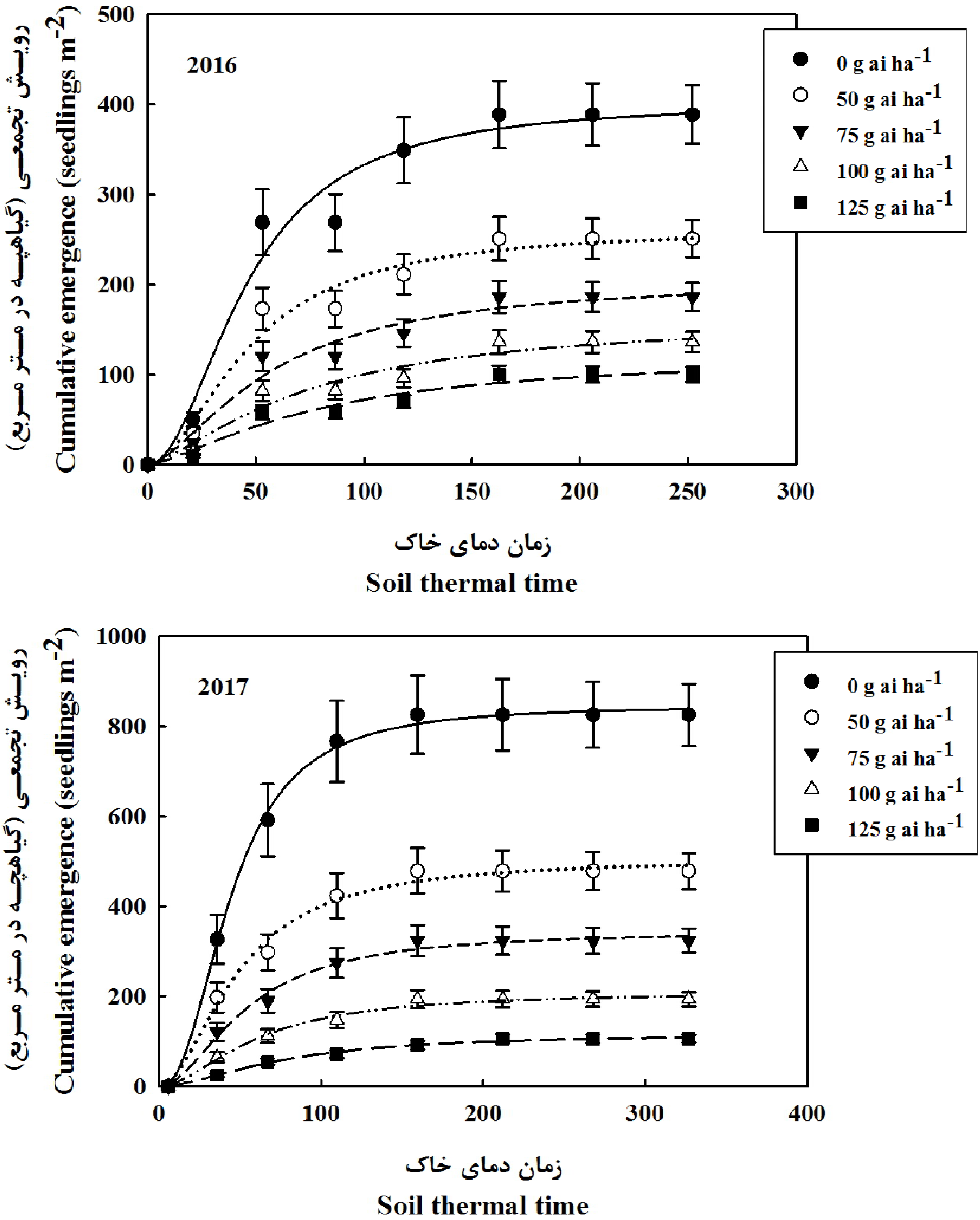
جدول ٥- تجزیه واریانس عملکرد سویا در سال های ١٣٩٥ و ١٣٩٦

Table 5- Analysis of variance of soybean yield in 2016 and 2017

Source of variation منبع تغییرات	df	Soybean yield عملکرد سویا 2016	2017
Block بلوک	2	<0.01	<0.01
Tillage خاک‌ورزی	1	<0.01	<0.01
Error a	2	NS	NS
Density تراکم	2	<0.01	<0.01
Herbicide Dose دز علف‌کش	4	<0.01	<0.01
Density × Herbicide Dose	8	NS	NS
Tillage × Density	2	NS	NS
Tillage × Herbicide Dose	4	NS	NS
Tillage × Density × Herbicide Dose	8	<0.01	<0.001
Error b	16	NS	NS
CV (%) ضریب تغییرات (درصد)		8.73	7.30

Abbreviations: NS, not significant.

اختصارات: NS، عدم معنی‌داری



شکل ٤- اثر دزهای ایمازاتاپیر بر الگوی رویش تجمعی خربزه وحشی در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹٦ در دشت ناز ساری. میله‌های عمودی نشان دهنده خطای استاندارد هستند

Figure 3- Effect of imazethapyr doses on cumulative emergence pattern of wild melon in 2016 and 2017 on the Dasht Naz Sari. Vertical bars represent standard error

عملکرد سویا

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که سیستم خاک‌ورزی، تراکم سویا و دز علف‌کش تاثیر معنی‌داری بر عملکرد سویا در هر دو سال داشتند ($P<0.01$) (جدول ۵).

مقایسه میانگین عملکرد سویا در سیستم‌های مختلف خاک‌ورزی نشان داد که عملکرد دانه سویا در سیستم خاک‌ورزی رایج در مقایسه با سیستم بدون خاک‌ورزی در هر دو سال آزمایش بالاتر بود (جدول ۶). خاک‌ورزی علاوه بر برگردان خاک، آماده‌سازی بستر بذر، افزایش مواد غذایی و نفوذپذیری خاک، علف‌های هرز را نیز به خوبی کنترل می‌کند، به گونه‌ای که مهم‌ترین هدف شخم در روش‌های مدرن زراعت، کنترل علف‌های هرز است (۴۲)، در این راستا شخم سبب افزایش سرعت زوال بذر علف‌های هرز، کاهش جمعیت علف‌های هرز چندساله و دوساله از طریق قطع اندام‌های زایا و رویشی و توزیع یکنواخت بذور علف هرز در نیمرخ خاک می‌گردد (۴۱)، در مقابل نظام‌های خاک‌ورزی حداقل، جمعیت علف‌های هرز پهن برگ و باریک برگ یک ساله با جوانه‌زنی سطحی و زود هنگام را افزایش می‌دهند. زیرا در این روش ۶۰ تا ۹۰ درصد بذور علف‌های هرز در سطح خاک قرار دارند (۴۸)، همچنین در این روش وجود بقایای گیاهی در سطح خاک باعث سایه‌اندازی بر روی خاک شده و در این شرایط خاک ۳ تا ۴ درجه سانتیگراد سردتر و مرطوب‌تر از خاک شخم خورده می‌باشد و شرایط مطلوبی را برای جوانه‌زنی علف‌های هرز با بذرهای کوچک مانند خربزه وحشی فراهم می‌کنند (۲۱). به طور کلی افزایش تراکم علف‌های هرز در سیستم‌های خاک‌ورزی حداقل سبب کاهش عملکرد محصول می‌گردد (۸). به علاوه سیستم‌های بدون شخم سبب رشد علف‌های هرز قبل از کاشت محصول می‌شوند و لذا علف‌های هرزی که در زمان کاشت محصول در حال رشد هستند، خسارت بیشتری به گیاه زراعی وارد می‌نمایند تا علف‌های هرزی که همزمان با گیاه زراعی سبز می‌شوند (۴۱). در این ارتباط واسیلاس و همکاران (۵۳) در یک مطالعه در ایلینویز نشان دادند که سویای کاشته شده در سیستم بدون خاک‌ورزی عملکرد کمتری نسبت به سویای کاشته شده در سیستم خاک‌ورزی رایج داشت.

جدول ٦- مقایسه میانگین اثر سیستم های خاک ورزی بر عملکرد سویا در سال های ۱۳۹۵ و ۱۳۹٦

Table 6- Mean comparison of the effect of tillage systems on soybean yield in 2016 and 2017

Source of variation منبع تغییرات	Tillage systems سیستم های خاک ورزی	Year سال 2016	2017
Soybean yield (kg ha^{-1}) عملکرد سویا (کیلوگرم در هکتار)	Conventional tillage خاک‌ورزی رایج	3422.22^{a}	2822.22^{a}
	No-till بدون خاک‌ورزی	3115.56^{b}	2515.55^{b}

میانگین‌هایی که در هر ستون و هر صفت دارای حروف متفاوتند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.

In each column, means with different superscript letters differ significantly ($P < 0.05$) according to Duncan.

همچنین مقایسه میانگین عملکرد سویا در تراکم‌های مختلف کاشت نشان داد که بیشترین عملکرد سویا در هر دو سال آزمایش در تراکم ۴۰۰ هزار بوته در هکتار به دست آمد (جدول ۷). در این ارتباط در مطالعه‌ای در بررسی اثر تراکم بر ارقام لوبیا مشخص شد که با افزایش تراکم، تعداد غلاف در بوته و وزن صد دانه کاهش یافت، هرچند به دلیل افزایش تعداد غلاف در واحد سطح عملکرد دانه افزایش یافت (۳۹). بنابراین به نظر می‌رسد دلیل اصلی افزایش عملکرد دانه در تراکم ۴۰۰ هزار بوته در هکتار، افزایش تعداد غلاف در واحد سطح باشد. در مطالعه دیگری بر روی تاثیر تراکم بر روی عملکرد دو رقم لوبیا مشاهده شد که با افزایش تراکم یا کاهش فاصله ردیف از ۶۰ به ۳۰ سانتیمتر بر میزان سرعت رشد محصول افزوده شد و بالاترین عملکرد دانه به دست آمد (۵۲). همچنین در تحقیقی مشخص گردید که با افزایش تراکم گیاهی، عملکرد دانه ژنوتیپ‌های مختلف مورد مطالعه سویا افزایش یافت (۲۰).

مقایسه میانگین عملکرد سویا در دزهای مختلف علف‌کش نشان داد که دز ۱۲۵ گرم ماده موثره در هکتار ایمازاتاپیر بالاترین عملکرد دانه را در هر دو سال داشت (جدول ۸). با توجه به این نتیجه و همچنین پاسخ الگوی رویش تجمعی خربزه وحشی به دزهای ایمازاتاپیر که در بالا ذکر شد می توان دریافت که ایمازاتاپیر با توجه به کنترل موثری که در طول فصل در مهار خربزه وحشی و سایر علف های هرز داشت، فرصت بیشتری برای گیاه زراعی به منظور دسترسی از منابع موجود در طی فصل رشد فراهم شد و لذا عملکرد آن در انتهای فصل رشد افزایش یافت. در این ارتباط حسن زاده و همکاران (۲۵) در بررسی اثر ایمازاتاپیر بر روی لوبیا قرمز به این نتیجه رسیدند که عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا قرمز در دز توصیه شده (۱۰۰ گرم ماده موثره در هکتار) به طور معنی‌داری بهبود پیدا کرد.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر مقادیر بذر سویا بر عملکرد سویا در سال های ۱۳۹۵ و ۱۳۹٦
Table 7- Mean comparison of the effect of seed rates of soybean on soybean yield in 2016 and 2017

Source of variation منبع تغییرات	Seed rates of soybean (seed ha^{-1}) مقدار بذر سویا (بذر در هکتار)	Year سال 2016	Year سال 2017
Soybean yield ($kg\ ha^{-1}$) عملکرد سویا (کیلوگرم در هکتار)	200.000	3250.00 [b]	2650.00 [b]
	300,000	2895.00 [c]	2295.00 [c]
	400,000	3661.67 [a]	3061.66 [a]

میانگین‌هایی که در هر ستون و هر صفت دارای حروف متفاوتند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.
In each column, means with different superscript letters differ significantly ($P < 0.05$) according to Duncan.

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر دزهای ایمازاتاپیر بر عملکرد سویا در سال های ۱۳۹۵ و ۱۳۹٦
Table 8- Mean comparison of the effect of imazethapyr doses on soybean yield in 2016 and 2017

Source of variation منبع تغییرات	Imazethapyear doses (g ai ha^{-1}) دزهای ایمازاتاپیر (گرم ماده موثره در هکتار)	Year سال 2016	Year سال 2017
Soybean yield ($kg\ ha^{-1}$) عملکرد سویا (کیلوگرم در هکتار)	0	2296.67 [e]	1696.66 [d]
	50	2793.33 [d]	2193.33 [c]
	75	3103.33 [c]	2503.33 [b]
	100	3306.67 [b]	2706.66 [b]
	125	3796.67 [a]	3196.66 [a]

میانگین‌هایی که در هر ستون و هر صفت دارای حروف متفاوتند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار دارند.
In each column, means with different superscript letters differ significantly ($P < 0.05$) according to Duncan.

نتیجه‌گیری کلی

یکی از مهم‌ترین عوامل در طراحی راهبرد موثر IWM ، آگاهی از زمان رویش علف‌های هرز است. بنابراین توانایی پیش‌بینی زمان رویش خربزه وحشی به کشاورزان کمک خواهد کرد تا عملیات موثر کنترل مکانیکی و شیمیایی را شکل دهند. مطالعه حاضر نشان داد که رویش خربزه وحشی به وسیله عملیات مدیریتی همچون سیستم‌های خاک‌ورزی، مقادیر بذرپاشی سویا و دزهای ایمازاتاپیر تحت تاثیر قرار گرفت. سیستم خاک‌ورزی رایج در ترکیب با تراکم ۴۰۰ هزار بذر در هکتار و دز ایمازاتاپیر ۱۲۵ گرم ماده موثره در هکتار منجر به پایین‌ترین نرخ رویش خربزه وحشی و بالاترین T_{50} شدند، لذا فاز تاخیری طولانی‌تری از رویش خربزه وحشی در بخش اولیه فصل رشد ایجاد شد. این امر زمان بیشتری برای سویا فراهم کرد تا بهتر استقرار یابد و توانایی رقابتی خود را بهبود دهد و همین امر موجب بالاترین عملکرد سویا در واحد سطح در پایان فصل رشد در تیمارهای مزبور گردید. مدل رویش ارائه شده دقیقا الگوی رویش گیاهچه‌های خربزه وحشی را به عنوان تابعی از STT پیش بینی کرد. مدل‌های STT که براساس مشاهدات مزرعه‌ای تکامل می‌یابند، پیش‌بینی‌های نسبتا قوی ارائه می‌دهند (۱۹). با ادامه تکامل چنین مدل‌هایی، IWM عملی‌تر خواهد شد و ما قادر خواهیم بود تا پیش‌بینی کنیم چگونه تغییرات مدیریتی مزرعه بر جمعیت علف‌های هرز، نتایج بیولوژیکی گزینه‌های مختلف مدیریتی و اثر اقتصادی و محیطی رقابت گیاه زراعی – علف هرز تاثیر می‌گذارد. مطالعه ما تصمیمات مدیریتی علف‌های هرز و گیاه زراعی را با ارائه پیش‌بینی‌هایی از رویش خربزه وحشی بهبود خواهد بخشید. این امر در برنامه‌ریزی گزینه‌های مدیریتی مناسب، تکامل مدل‌ها و تصمیم‌گیری زمان‌بندی بهینه برای کنترل خربزه وحشی در مزارع سویا کمک خواهد کرد.

منابع

1- Arce G.D., Pedersen, P. and Hartzler R.G. 2009. Soybean seeding rate effects on weed management. Weed Technology, 23:17–22.

2- Baskin C.C. and Baskin J.M. 2001. Seed: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. San Diego: Academic Press. 666 p.

3- Benech-Arnold R.L., Ghersa C.M., Sanchez, R.A. and Garcia- Fernandez A.E. 1988. The role of fluctuating temperatures in the germination and establishment of *Sorghum halepense* (L.) Pers. regulation of germination under leaf canopies. Functional Ecology, 2:311–318.

4-Benech-Arnold R.L., Sanchez R.A., Forcella F., Kruk, B.C. and Ghersa C.M. 2000. Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. Field Crops Research, 67:105–122.

5- Benvenuti S., Macchia, M. and Miele S. 2001. Quantitative analysis of emergence of seedlings from buried weed seed with increasing soil depth. Weed Science, 49:528–535.

6- Black I.D. and Dyson C.B. 1997. A model of the cost of delay in spraying weeds in cereals. Weed Research, 37:139–146.

7- Blackshaw R.E. 1993. Downy brome (*Bromus tectorum*) density and relative time of emergence affects interference in winter wheat (*Triticum aestivum*). Weed Science, 41:551–556.

8- Blackshaw R.E., Larney F.J., Lindwall C.W., Watson, P.R. and Derksen D.A. 2001. Tillage intensity and crop rotation affect weed community dynamics in a winter wheat cropping system. Canadian Journal of Plant Science, 81:805-813.

9- Blackshaw R.E., Harker K.N., O'Donovan J.T., Beckie, H.J. and Smith E.G. 2008. Ongoing development of integrated weed management systems on Canadian prairies. Weed Science, 56:146-150.

10- Bolfrey-Arku G.E.K., Chauhan, B.S. and Johnson D.E. 2011. Seed germination ecology of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*). Weed Science, 59:182–187.

11- Bradley J.P., Knittle, K.H. and Troyer A.F. 1988. Statistical methods in seed corn product selection. Journal of Production Agriculture, 1:34-38.

12- Brown R.F. and Mayer D.G. 1988. Representing cumulative germination. The use of the Weibull function and other empirically derived curves. Annals of Botany, 61:127–138.

13- Buhler D.D. and Proost R.T. 1992. Influence of application time on bioactivity of imazethapyr in no-tillage soybean (*Glycine max*). Weed Science, 40:122-126.

14- Chauhan B.S. and Johnson D.E. 2009. Influence of tillage systems on weed seedling emergence pattern in rainfed rice. Soil and Tillage Research, 106:15–21.

15- Conley S.P., Binning L.K., Boerboom, C.M. and Stoltenberg D.E. 2003. Parameters for predicting giant foxtail cohort effect on soybean yield loss. Agronomy Journal, 95:1226–1232.

16- Correll D.S. and Johnston M.C. 1979. Manual of the Vascular Plants of Texas. Richardson, TX: The University of Texas at Dallas. 1881 p.

17- Eizenberg H., Colquhoun, J.B. and Mallory-Smith C.A. 2005. A predictive degree-d model for small broomrape (*Orobanche minor*) parasitism in red clover in Oregon. Weed Science, 53:37–40

18- Forcella F., Eradat-Oskoui, K. and Wagner S.W. 1993. Application of weed seedbank ecology to low-input crop management. Ecological Applications, 3:74–83.

19- Forcella F., Benech-Arnold R.L., Sanchez, R.E. and Ghersa C.M. 2000. Modeling seedling emergence. Field Crops Research, 67:123–139.

20- Gan Y., Stulen I., Van Keulen, H. and Kuiper P.J.C. 2002. Physiological response of soybean genotypes to plant density. Field Crops Research, 74: 231-241.

21- Gebhardt M.R., Daniel T.C., Schweizer, E.E. and Allmaras R.R. 1985. Conservation tillage. Weed Science, 23:25-630.

22- Gibson K.D., Fischer A.J., Foin, T.C. and Hill J.E. 2002. Implications of delayed *Echinochloa* spp. germination and duration of competition for integrated weed management in water-seeded rice. Weed Research, 42:351–358.

23- Grichar W.J. 2007. Horse Purslane (*Trianthema portulacastrum*), Smellmelon (*Cucumis melo*), and Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) control in peanut with post-emergence herbicides. Weed Technology, 21:688-691.

24- Harder D.B., Sprague, C.L. and Renner K.A. 2007. Effect of soybean row width and population on weed, crop yield, and economic return. Weed Technology, 21:744–752.

25- Hasanzadeh S., Rezvani, M. and Abbasi R. 2015. The Effect of imazethapyr reduced dose on red bean (*Phaseolus calcaratus* L.) grain yield and yield components at competition with velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medik.). Special Issue of Agricultural Science and Sustainable Production, 1:14-24. (in Persian with English abstract)
26- Hongle X., Wangcang S., Di Z., Lanlan S., Hengliang W., Fei X., Shunguo Z., Zeguo, Z. and Renhai W. 2017. Influence of environmental factors on *Cucumis melo* L. var. *agrestis* Naud. Seed germination and seedling emergence. Plos One, 12:1-16.
27- Izquierdo J., Gonzalez-Andujar J.L., Bastida F., Lezaun, J.A. and Del Arco M.J.S. 2009. A thermal time model to predict corn poppy (*Papaver rhoeas*) emergence in cereal field. Weed Science, 57:660–664.
28- Kerje T. and Grum M. 2000. The origin of melon, *Cucumis melo*: a review of the literature. Acta Horticulturae, 510:37-44.
29- Legere A. and Schreiber M.M. 1989. Competition and canopy architecture as affected by soybean (*Glycine max*) row width and density of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*). Weed Science, 37:84–92.
30- Leon R.G., Izquierdo, J. and Gonzalez-Andujar J.L. 2015. Characterization and modeling of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) biphasic seedling emergence patterns in the tropics. Weed Science, 63:623-630.
31- McGlamery M.D., Pike D.R., Knake E.L., Curran, W.S. and Anderson C.D. 1990. Weed control for corn, soybeans, and sorghum. Pages 139-145 in Univ. Illinois Coll. Agric. Circ. no. 1277-90. Urbana, IL.
32- Mickelson J.A. and Renner K.A. 1997. Weed control using reduced rates of postemergence herbicides in narrow and wide row soybean. Journal of Production Agriculture, 10:431–437.
33- Mohler C.L. and Callaway M.B. 1992. Effects of tillage and mulch on the emergence and survival of weed in sweet corn. Journal of Applied Ecology, 29:21-34.
34- Naylor J.M. and Jana S. 1976. Genetic adaptation for dormancy in *Avena fatua*. Canadian Journal of Botany, 54:306–312.
35- Nice G.R.W., Buehring, N.W. and Shaw D.R. 2001. Sicklepod (*Senna obtusifolia*) response to shading, soybean (*Glycine max*) row spacing, and population in three management systems. Weed Technology, 15:155–162.
36- Norsworthy J.K. and Oliveira M.J. 2007. Tillage and soybean canopy effects on common cocklebur (*Xanthium strumarium*) emergence. Weed Science, 55:474-480.
37- O'Donovan J.T., Remy E.A. de St., O'Sullivan P.A., Dew, D.A. and Sharma A.K. 1985. Influence of the relative time of emergence of wild oat (*Avena fatua*) on yield loss of barley (*Hordeum vulgare*) and wheat (*Triticum aestivum*). Weed Science, 33:498–503.
38- Oryokot J.O.E., Murphy S.D., Thomas, A.G. and Swanton C.J. 1997. Temperature and moisture dependent models of seed germination and shoot elongation in green and redroot pig weed (*Amaranthus powellii*, *A. retroflexus*). Weed Science, 45:488-496.
39- Parvizi S., Amirnia R., Bernosy I., Paseban Islam B., Hasanzadeh Ghorttapeh, A. and Raeii Y. 2011. Evaluation of different plant densities effects on rate and process of grain filling, yield and yield components in varieties of dry bean. Journal of Plant Production, 18: 69-87. (in Persian with English abstract)
40- Probert R.J. 2000. The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. Pages 261–292 in M. Fenner, ed. Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities, 2nd ed. Wallingford, UK: CABI Publishing.
41- Rashedmohassel M.H., Rahimian, H. and Banaeian M. 1999. Applied W. Sci. Publicized University Jahad Mashhad. 576 P.
42- Reicosky D.C. and Allmaras R.R. 2003. Advances in tillage research in North American cropping systems. Journal of Crop Production, 8:75-125.
43- Rice K.J. and Dyer A.R. 2001. Seed ageing, delayed germination and reduced competitive ability in *Bromus tectorum*. Plant Ecology, 155:237– 243.
44- Rich A.M. and Renner K.A. 2007. Row spacing and seeding rate effects on eastern black nightshade (*Solanum ptychanthum*) and soybean. Weed Technology, 21:124–130.
45- Sanyal D., Bhowmik P.C., Anderson, R.L. and Shrestha A. 2008. Revisiting the perspective and progress of integrated weed management. Weed Science, 56:161-167.

46- Sohrabi S., Ghanbari A., Mohassel M.H.R., Gherekhloo, J. and Vidal R.A. 2016. Effects of environmental factors on *Cucumis melo* L. subsp. *agrestis* var. *agrestis* (Naudin) Pangalo seed germination and seedling emergence. South African Journal of Botany, 105:1-8.
47- Spokas K. and Forcella F. 2006. Estimating hourly incoming solar radiation from limited meteorological data. Weed Science, 54:182–189.
48- Swanton C.J., Shrestha A., Clements D.R., Booth, B.D. and Chandler K. 2002. Evaluation of alternative weed management systems in a modified no-tillage corn-soybean-winter wheat rotation: Weed densities, crop yields, and economics. Weed Science, 50:505-511.
49- Symons S.J., Simpson, G.M. and Adkins S.W. 1987. Secondary dormancy in *Avena fatua*: effect of temperature and after-ripening. Physiologia Plantarum, 70:419–426.
50- Thompson K., Grime, J.P. and Mason G. 1977. Seed germination in response to diurnal fluctuations of temperature. Nature, 67:147–149.
51- Tingle C.H. and Chandler J.M. 2003. Influence of environmental factors on smellmelon (*Cucumis melo* var. dudaim Naud.) germination, emergence, and vegetative growth. Weed Science, 51:56–59.
52- Torabi Jafroudi A., Hasanzadeh, A.A. and Fayaz moghadam A. 2007. Effect of plant population on some morph physiological characteristics of two common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. Pajouhesh and Sazandegi, 20: 63-71. (in Persian with English abstract)
53- Vasilas B.L., Esgar R.W., Walke W.M., Beck, R.H. and Mainz M.J. 1988. Soybean response to potassium fertility under four tillage systems. Agronomy Journal, 80:5-8.
54- Walsh K.D., Soltani N., Shropshire, C. and Sikkema P.H. 2015. Weed control in soybean with imazethapyr applied alone or in tank mix with saflufenacil/dimethenamid-P no access. Weed Science, 63:329-335.
55- Yelverton F.H. and Coble H.D. 1991. Narrow row spacing and canopy formation reduces weed resurgence in soybeans (*Glycine max*). Weed Technology, 5:169-174.
56- Zhang Z., Huo J.Q., Zhang Z.Q., Wang, Y.H. and Zhang J.L. 2016. A report of a Cucurbitaceae weed *Cucumis bisexualis* causing damage to corn. Plant Protection Science, 42:254-256.

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 445-448

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۴۴۸-۴۴۵

مقاله کوتاه پژوهشی

گزارش بالشتک پسته *Anapulvinaria pistaciae* به عنوان میزبان زنبور پارازیتویید *Coccophagus piceae*

غلامرضا توکلی کرقند[1*]- حسین لطفعلی‌زاده[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۰۶۱۵

چکیده

بالشتک پسته *Anapulvinaria pistaciae* (Bodenheimer, 1926) یکی از آفات پسته در برخی مناطق کشور به شمار می‌آید. در نمونه‌برداری از باغ پسته ایستگاه تحقیقات کشاورزی بیرجند و پرورش زنبورهای پارازیتویید خارج شده از بدن حشرات بالغ بالشتک پسته، زنبور *Coccophagus piceae* Erdös, 1956 از خانواده‌ی Aphelinidae شناسایی شد. این گونه، برای نخستین بار در دنیا از روی بالشتک پسته، به عنوان میزبان این زنبور پرورش داده شد.

کلیدواژه‌ها: بالشتک پسته، بیرجند، زنبور پارازیتویید، میزبان جدید

مقدمه

بالشتک پسته *Anapulvinaria pistaciae* (Bodenheimer, 1926)(شکل 1A) یکی از آفات پسته در برخی مناطق کشور به شمار می‌آید. این حشره متعلق به خانواده Coccidae، بالاخانواده Coccoidea و راسته Hemiptera می‌باشد. بیش از ۸۰۰۰ گونه متعلق به ۴۸ خانواده از این بالاخانواده در دنیا شناسایی شده‌اند که همگی روی گیاهان فعالیت می‌کنند (۵). در ایران ۱۳ خانواده از این بالاخانواده از حشرات شناسایی شده است (۸). شپشک‌های نرم‌تن خانواده Coccidae یکی از مهم‌ترین گروه های آفات کشاورزی هستند که برگ‌ها، شاخه‌ها و میوه‌های بسیاری از درختان میوه و گیاهان زینتی را آلوده می‌کنند. کنترل بیولوژیک بعضی از گونه های این خانواده موفقیت‌آمیز بوده و با هزینه های نسبتا پایین و کمترین اثرات سوء در محیط زیست انجام می‌شود (۱۲).

طبق آخرین اطلاعات موجود، تعداد گونه‌های خانواده Coccidae در دنیا ۱۱۸۳ گونه (۵) و در ایران ۳۰ گونه (۹) می‌باشد. بالشتک پسته تنها گونه جنس *Anapulvinaria* در دنیا است (۹) که در ایران، اولین بار در سال ۱۹۳۷ گزارش شده است (۲).

این گونه از استان‌های هرمزگان، کرمان، سیستان و بلوچستان، خراسان جنوبی، یزد و از روی میزبان‌هایی از خانواده Anacardiaceae (گونه‌های *Pistacia khinjuk* و *Rhus coriaria*)، خانواده Juglandaceae (گونه *Juglans regia*) و خانواده‌ی Tamaricaceae (گونه *Tamarix* sp.) گزارش شده است (۸). در سایر نقاط دنیا، تاکنون از کشورهای گرجستان، سوریه، تاجیکستان، ترکیه، اوکراین، ازبکستان، قرقیزستان، آذربایجان، ترکمنستان، عراق، یونان، قبرس، ارمنستان، افغانستان و سرزمین‌های اشغالی گزارش شده‌است (۵).

زنبورهای خانواده Aphelinidae و Encyrtidae از مهم‌ترین دشمنان طبیعی شپشک‌ها هستند که در دنیا پراکنش وسیع دارند (۷ ، ۱۰). بر اساس منابع موجود، از خانواده Aphelinidae تاکنون بیش از ۱۳۰۰ گونه در دنیا و ۶۰ گونه در ایران گزارش شده است (۷ ، ۱۰). خانواده Aphelinidae یک گروه مهم با اهمیت اقتصادی قابل توجه هستند(۱۳، ۱). زیرخانواده Coccophaginae یکی از مهم‌ترین گروه‌های این این خانواده، دارای روابط ویژه‌ای با میزبان هستند که برای نرها و ماده‌ها متفاوت است و به عنوان هیپرپارازیتوییدهای هترونوموس شناخته شده است (۱۱). به نحوی که زنبورهای جنس نر روی لاروهای زنبورهای همان گونه یا گونه‌های پارازیتویید دیگر، نقش هیپرپارازیتوتید را ایفا می‌کنند (۱۱). زنبورهای پارازیتویید جنس *Coccophagus* Westwood دارای پراکنش وسیع در دنیا هستند و

۱-عضو هیات علمی بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان جنوبی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بیرجند
(* -نویسنده مسئول: Emai: R_tavakkoli@yahoo.com)
۲-عضو هیات علمی بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز

DOI: 10.22067/jpp.v32i3.72358

عمدتا پارازیتویید شپشک‌های نرم‌تن خانواده Coccidae و به ندرت شپشک‌های آردآلود خانواده Pseudococcidae هستند (۱۳). تعدادی از آنها در برنامه‌های کنترل بیولوژیکی استفاده شده اند (۱۲).

مواد و روش‌ها

در نمونه‌برداری از باغ پسته ایستگاه تحقیقات کشاورزی بیرجند (به طول و عرض جغرافیایی 32° 53'N 59° 13'E و ارتفاع ۱۴۹۱ متر از سطح دریا)، تعدادی نمونه بالشتک پسته در اردیبهشت ماه ۱۳۹۵جمع‌آوری و جهت پرورش پارازیتوییدهای احتمالی به آزمایشگاه منتقل شد. برای پرورش و جمع‌آوری پارازیتوییدها از یک ظرف پلاستیکی دست‌ساز مطابق شکل 1B استفاده شد. زنبورهای پارازیتویید خارج شده از بدن حشرات بالغ بالشتک پسته پس از خروج به الکل ۷۵٪ منتقل شد.

شناسایی توسط نگارنده‌ی دوم با استفاده از کلید شناسایی قابل دسترس (۱۳ و ۱۴) و با استفاده از مشخصات ریخت‌شناسی موجود در نواحی مختلف بدن به ویژه سر، سینه و بال‌ها انجام گرفت. نمونه‌های مورد مطالعه در این تحقیق در کلکسیون حشره‌شناسی، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان‌شرقی نگهداری می‌شوند.

نتایج و بحث

زنبورهای خارج شده از بدن بالشتک به نام *Coccophagus piceae* Erdös, 1956 از خانواده‌ی Aphelinidae شناسایی شد و در این تحقیق این زنبور برای نخستین بار در دنیا از روی بالشتک پسته، به عنوان میزبان زنبور گزارش می‌شود.

***Coccophagus piceae* Erdös, 1956**، نمونه‌های بررسی شده: خراسان جنوبی، ایستگاه تحقیقات کشاورزی بیرجند، پسته، اردیبهشت ۱۳۹۵، جمع‌آوری کننده: غ. ر. توکلی کرقند، ۳۵ ماده و ۱۰ نر.

ویژگی‌های مهم ریخت‌شناسی زنبور عبارتند از: طول بدن زنبور ماده ۱ تا ۱/۳ میلی‌متر، رنگ عمومی بدن تیره (شکل 2A)، سینه تیره، شکم قهوه‌ای تیره، برخی از قسمت‌ها زرد رنگ مانند شاخک (شکل 2B) و پاها، پیش ران پاهای میانی و عقبی، قسمت میانی ران پای عقب و بند آخر پنجه ها تیره رنگ؛ سپرچه دارای ۲ تا ۳ جفت موی بلند ولی فاقد موی دیگر در روی آن.

شکل ۱ – A- حشرات ماده *Anapulvinaria pistaciae*، B- ظرف پلاستیکی پرورش پارازیتوییدهای بالشتک پسته (اصلی)

Fig. 1- A-Female adults of *Anapulvinaria pistaciae*, B-Rearing plastic bag of parasitoids (Original)

شکل ۲- *Coccophagus piceae*: A- زنبور ماده از دید پهلویی، B- شاخک حشره ماده (اصلی)

Fig. 2- *Coccophagus piceae*: A- female in lateral view, B- Antenna of female. (Original)

بررسی منابع نشان می‌دهد، این زنبور پارازیتویید پیش از این از استان آذربایجان‌شرقی به عنوان پارازیتویید شپشک‌های *Eulecanium coryli* (L.)، *E. tiliae* (L) و *Didesmococcus unifasciatus* (Archangelskaya) گزارش شده است (۴). ولی در منابع به عنوان پارازیتویید بالشتک‌های جنس *Pulvinaria* Targioni-Tozzetti شناخته می‌شود (۹). این گونه از شرق منطقه پالئارکتیک (جمهوری چک، مجارستان، اسلواکی، سوئد، لهستان و شمال روسیه) و خاورمیانه (آسیا، ترکیه، قفقاز، روسیه، گرجستان، ارمنستان، آذربایجان، لبنان، سوریه، سرزمینهای اشغالی، اردن، شبه جزیره سینا (مصر)، عربستان، ایران و عراق گزارش شده است (۶، ۹). بالشتک پسته در استان‌های تهران، اصفهان، مرکزی، گیلان و مازندران توسط زنبور پارازیتویید دیگری به نام *Blastothrix sericea* (Dalman, 1820) از خانواده Encyrtidae مورد حمله قرار می‌گیرد (۳).

منابع

1- Abd-Rabou S., Ghahari, H., Myartseva, S.N. and Ruíz-Cancino, E. 2013. Iranian Aphelinidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). Journal of Entomology and Zoological Studies 1(4): 116-140.

2- Archangelskaya A.D. 1937. The Coccidae of Middle Asia. Izdatelstvo Komiteta Nauk UZSSR, Tashkent, 158 pp.

3- Davoodi A., Talebi A., Rajabi Gh.R., Fathipour Y., Rezaei V. and Rakhshani E. 2004. An identification of parasitoids and hyperparasitoids of the most common Soft Scales (Hom.: Coccidae) in Tehran and Guilan provinces. Iranian, Journal of Agricultural Science. 35(4): 887-899.

4- Ebrahimi E. 2014. Parasitoid and hyperparasitoid wasps of scale insects in Hayk Mirzayans Insect Museum, Iran. Journal of Entomological Society of Iran 3(1): 73-83.

5- García Morales M., Denno B.D., Miller D.R., Miller G.L., Ben-Dov Y. and Hardy N.B. 2016. ScaleNet: A literature-based model of scale insect biology and systematics. Database. Available at: http://scalenet.info. (Accessed May 2, 2016).

6- Japoshvili G., Hansen L.O. and Sorlibraten O. 2015. New records of Aphelinidae (Hym., Chalcidoidea) from Norway with additional information on host associations and description of a new species. Norwegian Journal of Entomology, 62: 110-116.

7- Heraty J.M., Burks R.A., Cruaud A., Gibson G.A.P., Liljeblad J., Munro J., Rasplus J.-Y., Delvare G., Janšta P., Gumovsky A., Huber J., Woolley J.B., Krogmann L., Heydon S., Polaszek A., Schmidt S. Darling D.C., Gates M.W., Mottern J., Murray E., Dal Molin A., Triapitsyn S., Baur H., Pinto J.D., van Noort S., George J., Yoder M. 2013. A phylogenetic analysis of the megadiverse Chalcidoidea (Hymenoptera). Cladistics. 29 (5): 466–542.

8- Lotfalizadeh H., Zargaran M.-R. and Taghizadeh M. 2014. Species diversity of Coccoidea parasitoids wasps (Hym.: Chalcidoidea) in the northern parts of East-Azarbaijan province, Iran. North-western Journal of Zoology, 10(1): 60-66.

9- Moghaddam M. 2013. An annotated checklist of the scale insects of Iran (Hemiptera, Sternorrhyncha, Coccoidea) with new records and distribution data. Zookeys 334: 1-92.

10- Noyes J.S. 2017. Universal Chalcidoidea Database. World Wide Web electronic publication. Available from:

www.nhm.ac.uk/entomology/chalcidoids/index.html (accessed 8 June 2017).

11- Walter G.H. 1983. Divergent male ontogenies in Aphelinidae (Hymenoptera, Chalcidoidea) – a simplified classification and a suggested evolutionary sequence. Biological Journal of the Linnean Society 19: 63–82.

12- Wilk B.M. and Kitayama C.Y. 1981. Host stage preference for deposition of male eggs by Coccophagus Cowperi [Hym: Aphelinaidae]. Entomophaga, 26(3): 313-318.

13- Yasnosh V.A., 1983. Review of the world genera of Aphelinidae (Hymenoptera). 1. key to the genera. Entomological Review, 62: 145-159.

14- Zhou Q.S., Polaszek A., Qin Y.G., Yu F., Wang X.B., Wu S.A., Zhu C.D., Zhang Y.Z.and Pedata P.A. 2018. Parasitoid–host associations of the genus *Coccophagus* (Hymenoptera: Aphelinidae) in China, Zoological Journal of the Linnean Society, 182(1): 1-12.

medially and last tarsomers of all tarsi are dark; scutellum with only 2 to 3 pairs of long hairs.

This parasitoid has previously been reported from East-Azarbaijan province as parasitoid of *Eulecaniumcoryli* (L.), *Eulecaniumtiliae* (L.) and *Didesmococcusunifasciatus* (Archangelskaya) **(Hem.:Coccidae)** (4). Generally, it is known as the parasitoid of different species of *Pulvinaria*(9). This wasp has been reported from the Eastern European countries (Czech Republic, Hungary, Slovakia, Sweden, Poland and North Russia) and the Middle East (Asia, Turkey, Caucasus, Russia, Georgia, Armenia, Azerbaijan, Lebanon, Syria, Jordan, Egypt, Saudi Arabia, Iran and Iraq (9, 5). The pistachio mealybugis attacked by another wasp parasitoid, *Blastothrixsericea* (Dalman, 1820) (Hym.:Chalcidoidea, Encyrtidae) in Tehran, Isfahan, Markazi, Gilan and Mazandaran provinces (3).

Keywords: Birjand, *Coccophaguspiceae*, Parasitoid Pistachio Mealybug

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 83

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۸۳

Pistachio Mealybug, Anapulvinaria pistaciae (Bodenheimer) (Hem.:Coccidae) New Host Record for Coccophagus piceaeErdös (Hem.: Chalcidoidea, Aphelinidae)

Gh.R. Tavakkoli Korghond[1]*- H. Lotfalizadeh[2]

Received: 14-03-2016
Accepted: 05-11-2016

Introduction: Pistachio is one of the most important horticultural products in Iran, especially in Kerman province.. Other areas that pistachios are grown include Yazd, Khorasan, Fars, Semnan, SistanandBaluchestan, Qazvin, Isfahan and Qom. Pistachio is being attacked by several pests. One of these pests is pistachio mealybug, ***Anapulvinariapistaciae* (Bodenheimer) (Hem.:Coccidae) which** however, is not a major,, in unmanaged gardensof some parts of Iran, becomes to a damaging agent.

Scale insects are highly specialized herbivores. This group widely distributed from the Siberian tundra to the tropical are as are serious crop pests. The superfamily Coccoideacontains nearly 8000 species in 48 families in the World (5). In Iran, 13 families of the super family have been identified (8). Mealybugs of family Coccidae are important agricultural pests which infect leaves, branches and shoots of many fruit trees and ornamental plants. Biological control of some species of this family is successful and is carried out at relatively low cost and least harmful effects on the environment (12). The subfamily Coccophaginae has a host relationships that are different for males and females, and are defined as heteronomous. In this groups some males are hyperparasitoid of female larvae (11).

Pistachio mealybug,*A. pistaciae*) is the only species of *Anapulvinaria* genus in the world (9)and for the first time, was reported from Iran in 1937 (2).

Pistachio have been recorded from the provinces of Hormozgan, Kerman, Sistan and Baluchestan, South Khorasan and Yazd, on the host plants from the families Anacardiaceae (*Pistaciakhinjuk* and *Rhuscoriaria*), Juglandaceae (*Juglans regia*) and Tamaricaceae (*Tamarix* sp.) (8). So far it has been reported from Georgia, Syria, Tajikistan, Turkey, Ukraine, Uzbekistan, Kyrgyzstan, Azerbaijan, Turkmenistan, Iraq, Greece, Cyprus, Armenia, Afghanistan (5).

The superfamily Chalcidoidea -as main biocontrol agant of these pests- contains 22,500 known species, and an estimated total diversity of more than 500,000 species (7). Parasitoids of the families Aphelinidae and Encyrtidae (Hym.:Chalcidoidea) are the most important natural enemies of the mealybugswidely distributed in the World (1, 13). Aphelinidae are a moderate-sized family of tiny parasitic wasps. Most species are parasitoids of mealybugs, scale insects, whiteflies and aphids. Some other are hyperparasitic (10). More than 1300 species of the Aphelinidae family have been reported in the world (7, 10) and about 60 species of different species of this family did from Iran (7, 10).

Materials and Methods: During sampling from Pistachio Garden of Birjand Agricultural Research Station (32° 53'N 59° 13'E and elevation 1491m) in May 2016, some pistachio mealybugs were collected and transferred to the laboratory for rearing possible parasitoids. A handmade rearing plastic bag was used for rearing and collecting parasitoids (Fig. 1B).The collectedparasitic wasps on this pest were transferred to alcohol 75% and identified by second author, using available keys (13 and 14) and morphological characteristics in different parts of the body, especially the head, thorax and wings. The samples were deposited in the insect collection, department of Plant Protection Research, East-Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center, Tabriz.

Results and Discussion: Reared wasps were identified as *Coccophaguspiceae*Erdös, 1956 (Hym.:Chalcidoidea, Aphelinidae). This is first report of *C. piceae* on the pistachio mealybug. Important morphological features of *C. piceae*are as follow: body length 1 - 1.3 mm, body generally dark (Fig. 1A), thorax dark, abdomen dark brown, antennae (Fig. 1B) and legs yellow, trochanter of mid and hind legs, hind femur

1- Department of Plant Protection, South-Khorasan Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, Birjand, Iran
(*-Corresponding Author Email: R_tavakkoli@yahoo.com)
2- Department of Plant Protection, East-Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, Tabriz, Iran

$$STT = \sum_{i=1}^{n} (ST_{mean} - T_{base})$$

where ST_{mean} is the mean daily soil temperature, T_{base} is the minimum temperature at which purslane seed germinates, and n is the number of days after sowing. Base temperature used in the calculations of STT for wild melon was 10 °C (Baker and Reddy 2001). Temperature Model software (STM^2) (Spokas and Forcella 2009) was used to predict daily soil temperature at the 3cm depth. Daily precipitation, minimum and maximum air temperature were taken from the nearest meteorological station located near Sari, Mazandaran province. Soil texture properties and organic matter (%), along with the latitude, longitude, and elevation (1 m) of the research site were also used to predict daily soil temperature.

To describe the pattern of seedling emergence, cumulative emergence data were fitted using a three-parameters logistic model (Equation 2) (Brown and Mayer 1988; Eizenberg et al. 2005):

$$Y = \frac{a}{1 + \left(\frac{STT}{T_{50}}\right)^{b}}$$

where a represents the upper asymptote (final CE), T_{50} represents the STT when the CE is 50% of the final CE (median), and b represents the slope of the curve at approximately T_{50}. The parameter estimates were compared by using a two-tailed t-test ($p < 0.05$).

The goodness of model fit was evaluated with root mean square error (RMSE) and adjusted coefficient of determination (R^2_{adj}) (Izquierdo et al. 2009). RMSE was calculated as follows:

$$RMSE = \left[\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(P_i - O_i)^2\right]^{\frac{1}{2}}$$

where P_i and O_i are the predicted and observed emergence values, respectively, and n is the number of observations. Preliminary analysis of variance was conducted using PROC GLM in SAS to determine treatment effects and their interactions. Nonlinear regression analyses were applied using Sigma Plot ver. 12.5.

Results: The statistical measures of the model's performance showed that STT model is a good predictor for wild melon emergence, with adjusted coefficient of determination (R^2adj) values ranging from 0.92 to 0.99 and root-mean-square error (RMSE) values ranging from 2.59 to 12.69. The time of wild melon emergence was significantly affected by management practices such as tillage systems, soybean seeding rates, and imazethapyr doses. In the CT system, a seeding density of 400,000 seeds ha^{-1} and a 125 g ai ha^{-1}imazethapyr dose showed a reduced wild melon emergence rate and had the highest T_{50}, thus resulting in a long lag phase of wild melon emergence at the beginning of season. This provides more time for crops to establish and improves soybean competitive ability. The current study provides valuable information on prediction of the time of wild melon emergence to develop effective management strategies for this species. The proposed emergence models precisely predict the emergence pattern of wild melon seedlings as a function of STT, and STT models developed on the basis of field observations offer relatively strong predictions. With the continued development of such models, IWM will be more practical, enabling us to predict how farm management changes affect weed populations, the biological outcomes of the various management options, and the economic and environmental impact of crop-weed competition.

Keywords: Conventional tillage, Emergence time, Herbicide dose, No-till, Seeding rate

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 81

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۸۱

Investigating the Effect of Management Operations on the Time of Wild melon (*Cucumismelo* L. var. *AgrestisNaud*.) Emergence in Soybean (*Glycine max*)

R. Khakzad[1]- M. T. Alebrahim[2*]

Received: 04-07-2018
Accepted: 17-09-2018

Introduction: Wild melon (*Cucumismelo*) is a monoecious, annual, trailing-vine plant of the Cucurbitaceae family. The reproduction of wild melon is only by seeds. Wild melon is native to Africa but is aggressively invading crop lands in the northern Iran. Because of rapid growth and limited control measures of wild melon, it is fast becoming a dominant weed in soybean fields. As wild melon and soybean share similar ecological niches, information pertaining to wild melon germination, and emergence would be beneficial.

The ability to predict the time of seedling emergence is an important step towards increasing the timeliness and efficiency of chemical and cultural weed control measures. Controlling weed seedlings that emerge early may help to reduce competition during the critical phase of crop seedling establishment, but later emerging cohorts may escape control and contribute to the soil seed bank. Therefore, understanding the factors that regulate the time of weed emergence is crucial for both short- and long-term crop production goals.

The time of weed germination and emergence in the field is influenced by environmental factors such as light, and soil moisture and temperature. Soil temperature is often considered as the primary environmental factor regulating emergence. The cumulative effect of temperature, expressed as thermal time, is correlated with the processes of after-ripening and seedling elongation.

The aim of this study was to determine the effects of different management operations on the seedlings emergence of wild melon and to develop a soil thermal time (STT) model to predict the emergence of this species in soybeans.

Material and Methods: Experiment was arranged as split-split plot in a completely randomized block design with three replications. Conventional tillage (CT) and no-till (NT) systems were main plots, three seed rates of soybean (200,000; 300,000 and 400,000 seed ha^{-1}) were sub-plots and sub-sub plots comprised five different doses of imazethapyear (0, 50, 75 100 and 125 g ai ha^{-1}). The soybean cultivar used in the experiment was Telar (BP).

Before performing the experiment, field had also been in a continuous soybean production and contained natural infestations of annual weed, especially wild melon. The experimental design was then carried out during the growing seasons in 2016 and 2017. The experimental farm was divided into two uniform areas each year to adopt the CT and NT treatments. After seedbed preparation, planting in the first year was carried out on 17/6/2016 and in the second year on 25/6/2017 in both tillage systems. The spacing of the planting rows was 19 cm and the dimensions of each plot were 6×6 m. Each year after planting until flowering, irrigation was held once by week starting at 20 days after planting in each year, the indoxacarb (Avaunt) was used to control of heliotis. To evaluate the effect of different doses of imazethapyear (Pursuit) on the emergence pattern of wild melon during each year, spraying was carried out as PRI based on the mentioned treatments by using Marina-type 20 liter sprayer equipped with a flood jet nozzle and 2.5 bar pressure (calibrated based on applying 200 to 300 lit ha^{-1} water).

To predict the wild melon emergence pattern in each plot, a fixed 50×50 cm quadrate was placed at the center of each plot, and from the beginning of the season after the first irrigation, the newly emerged seedling was counted. The counts were repeated every week, and then the seedlings counted at each stage were removed until new emerged seedling was not observed.

Statistical Analysis: Thermal time models were developed and evaluated, to describe observed wild melon seedling emergence pattern. Therefore, to estimate the cumulative seedlings emergence during the growing season, number of purslane seedlings was calculated based on the number of seedlings m^{-2}.STT was obtained with the soil temperature by the following:

1 and 2- Ph.D. Student of Weed Science and Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Iran
(*- Corresponding Author Email: M_ebrahim@uma.ac.ir)

(aqueous extract of stem, aqueous extract of leaf, alcoholic extract of stem and alcoholic extract of leaf) showed thatthe alcoholic extracts of leaves significantly affected the growth traits of *Avenaludoviciana*more than the rest of extracts.It seems that attempting to accurately identify the chemical nature of the allelopathic compounds present in different organs of *Euphorbiaheterophylla*and the factors that affecting these compounds can lead to the other studies based on biological weed management.

Keywords: Allelopathy, Biological control, Phytochemical, Solvent

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 79

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۷۹

Identification and Measurement of Some Secondary Metabolites of Stems and Leaves of *Euphorbia Heterophylla*and Their Allelopathy Effects on *Avena Ludoviciana*L.

T. Partani[1]*- M. Mosavinik[2]- M. Galavi[3]- A. Ghanbari[4]- M. Younesabadi[5]

Received: 30-05-2018
Accepted: 18-09-2018

Introduction: The use of allelopathic materials has been a favorite natural herbicide for plant scientists. The effect of these natural compounds is more than artificial compounds due to its water-soluble and halogen-free characteristics. Regarding the increasing resistance of weeds to herbicides, application of allelopathic method can reduce the use of artificial herbicides and prevent environmental degradation. The purpose of this study was investigation of using *Euphorbia heterophylla* metabolites in growth and germination control of weed *Avena Ludoviciana* in farms

Materials and Methods: In order to investigate the allelopathy effects of aqueous and alcohol extracts of (*heterophylla Euphorbia*), an experiment was conducted at Agricultural Research Center of Golestan (Gorgan city) Province during 2014 and 2015 with a completely randomized design under greenhouse condition on *Avena ludoviciana* with three replications. The treatments in this experiments were the plant species organs at 2 levels (dry powdered of leaf and stem), solvent type for preparing extracts at 2 levels (water and alcohol(methanol)) and the extract concentrations at 5 levels (0, 25, 50, 75 and 100 percentage).The measured traits included height, leaf wet weight, leaf dry weight, stem wet weight, stem dry weight and leaf area. The aqueous and alcoholic extract of *Euphorbiaheterophylla* were obtained by dipping of dried material in the special solvents in dark place at room temprature for three days and finally, filtration with muslin cloths. The prepared extracts was stored in 4 degree centigrad refrigerator. This extrat was considered as stock solution and the rest concentrations were preapared from this solution.The extracts sprayed on the target plant (*Avenaludoviciana*) as post-emergence at 3-4 leaved stages.Total phenolic content was measured using the Folin-Ciocalteu reagent method and the total flavonoid content of the extracts was surveyed by a colorometric method based on aluminum chloride.Finally, the relative recognition of the nature of plant compounds was done by chemical methods and colorimetry.The data were analyzed with SAS, 9.9 software and the means were compared to eache other using LSD (least significant difference) at ($p < 0.05$) and the graphes was drawn with Excel software.

Results and Discussion: Based on the results of the analysis of variance, except for leaf area of *Avena ludoviciana* which was affected by the treatments at 95% confidence level ($p < 0.05$), all the measured traits were significantly affected by the treatments at 99% confidence level ($p < 0.01$). In general, the results of this study showed that the aqueous extracts of *Euphorbia heterophylla* stem and leaves had no inhibitory effects on the measured traits at zero levels (control treatment), but the growth and germination of *Avena ludoviciana* was inhibited by the leaf alcoholic extract and stem aqueous extract at 50 and 100% concentration. These extracts significantly decreased plant height, stem fresh weight, leaf fresh weight and leaf dry weight of *Avena ludoviciana*. The highest effect was observed on *Avena ludoviciana* leaf area at 100% concentration of leaf extract and the lowest effect was observed at 75% concentration of stem extract. The results of phytochemical experiments of the aqueous and alcoholic extract of the leaves indicated that the aqueous extract of leaves and stems followed by alcoholic extract of leaves had the highest phenolic compounds and also highest antioxidant properties, respectively. According to the results of this study, it is suggested that, further research must be carried out on the identification and mechanism of action of *Euphorbia heterophylla* allelopathic compound and their effects on *Avena ludoviciana* seedlings growth. Thus, it can be used as an alternative source of antioxidant compounds in the organic fertilizer industry.

Conclusions Based on the phytochemical experiments conducted in this study, the existence of secondary metabolites in the *Euphorbiaheterophylla* extracts was proved. The obtained results from the different extracts

1, 2, 3 and 4- Phd. Student, Associate Professor and Professors, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
(*-Corresponding Author Email: tinapartani@yahoo.com)
5- Assistant Professor Plant Protection Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Gorgan, Iran

*Malva*spp and *Melilotusofficinalis*) and resulted in the highest bulb fresh yield, the bulb number, the bulb diameter and the bulb dry weight. It has been reported that the use of Oxyflourfen during post-harvest resulted in the highest number of onion bulbs per unit area, and then Oxadiazone and Fluozifop were arranged in subsequent positions (13). Although the difference of dry weight of bulb was not significant between different application timing, post-emergence application of oxyfluorfen at 3–4 leaf stage resulted in onion.Thus, itwas recommended for effective onion weed control and high economic yield.

Keywords: Bulb yield, Oxadiazon, Oxyflourfen

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P.77

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۷۷

Chemical Weed Control in Onion (*Allium cepa* L.) under Ramhormoz Conditions

A. Modhej[1]*- H. Zarezadeh[2]- R. Faroudi[3]

Received: 09-12-2017
Accepted: 09-06-2018

Introduction: Weeds control has been recognized as an essential action in crop production systems. Weeds,in addition to crop quantity, are effective on crop quality, harvest costs and pest abundance diversity. Onion (*Allium cepa* L.) cannot tolerate prolonged competition withweeds because of its initial slow growth rate after planting, shallow fibrous roots, and small above-ground canopy for effective soil shading (7, 8). Weed infestation in garlic is one of the major factors for loss in yield and bulb loss to the tune of 40-80% (2, 5, 25). Regarding the increase and development of onion cultivation in recent years, effective control of weeds in all stages of growth stages is necessary in order to increase bulb yield. In all researches, hand weeding has the highest onion yield, but due to increased production costs, it may not be economies. The use of herbicides can be an alternative to lowering costs, lack of labor and increasing onion gain. Herbicides such as Oxyflourfen, Oxadiazone, Linerone and Pendimethalin are used to control onion weeds (11, 15). With evaluation the effect of Oxyflourfen and Oxadiazonon onion weed in the early growth stage, it was demonstrated that the Oxyflourfen after hand weeding had the best weed control and onion bulb yield (7). In general, very limited research on chemical control of onion weeds in Iran and in the world has been carried out. Therefore, this research was carried out to evaluate the effect of three post-emergence herbicides in two application timing on weed control and onion bulb yield in Ramhormoz region.

Materials and Methods: In order to evaluate the effect of application time of some post-emergence herbicides on onion (*Allium cepa* L.) weeds control, a factorial experiment was conducted in complete randomized blocks design with 3 replications in Ramhormoz region. Experimental factors included post emergence herbicides (Clethodim 1.5 Lit.ha^{-1}, Oxadiazon 2 Lit.ha^{-1}, Oxyflourfen 1.5 Lit.ha^{-1} and Clethodim+Oxadiazon 1.5 and 2 Lit.ha^{-1}, respectively) and two different times of herbicide application (1-2 and 3-4 true-leaves stage of onion). Onion seeds were planted directly on Oct.4th and the onion planting density was 25 plants per m^{-2}.Fields received 100 kg P ha^{-1} and 150 kg N ha^{-1}. The P was supplied in the form of single superphosphate. Nitrogen treatments were applied as urea (46% N). Dominant weeds in time of herbicides application were *Echinocloacrusgalli*, *Malva*spp, *Convolvulus arvensis*and in time of bulb formation were *Malva*spp, *Melilotusofficinalis* and *Scorpiurusmuricatus*L..Living weed plants were calculated before and after herbicide application using 0.5×0.5m quadrate, and weed biomass obtained by harvesting and drying tissues at 75 ˚C to constant mass using 0.5×0.5m quadrate at bulb formation stage. In order to evaluatethe efficiency of weed control, below equation was used:

$WCE=[(A-B)/A]\times100$

In this equation, *WCE* is the weed control efficiency (reduction of weed number in percent), A is weed density before and B is the number of weeds after herbicides application. The evaluated onion traits included: bulb fresh weight, bulb number, bulb diameter, bulb dry weight. Statistical analysis was made using the SAS statistical program. Differences between traits means were assessed using Duncan's Multiple Range Test.

Results and Discussion: The major weeds flora in the field experiment were *Echinochloa crus-galli*.,*Malvarotundifolia* L. and *Convolvulus arvensis* L. Results showed that the effect of time of herbicides application on evaluated traits was not significant but the effect of herbicides treatments on the decrease of weed density and biomass was significant. The lowest *Echinocloacrusgalli* abundance and the highest control of this narrow weed was obtained from Clethodimherbicide treatment. Clethodimdid not control broadleaf weeds. Regarding the growth and coincidence of broadleaf weed growth such as *Scorpiurusmuricatus* L, *Malva*spp and *Melilotusofficinalis* with onion growth, Clethodimhad no effect on these weeds and had the lowest onion yield. Oxyflourfen was the most effective herbicide onthe decrease of weed density and dry biomass (including

1 and 3- Associated Professor, Department Of Weed Science, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran
(*-Corresponding Author Email: adelmodhej2006@yahoo.com)
2- Department of Weed Science, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

the density and biomass of weeds. Furthermore, the application of pendimethalin at 4 lit ha^{-1} resulted in the greatest seed yield.

Conclusions: Using agronomic methods to improve crop competitiveness against weeds can be effective in reducing the contribution of herbicides into weed management programs. Moreover, these approaches would be considered as effective step towards sustainable weed management. It seems that combining nitrogen application with weed control improves the efficacy of weed control through improving competitive ability of crops. Therefore, it is necessary to consider the application of nitrogen fertilizer as an effective component in the integrated weeds control management in sesame production system.

Keywords: Biomass, Chemical Control, Chemical fertilizer, Weeding

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 75

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۷۵

Effect of Nitrogen Levels and Pendimethalin Herbicide on Density and Dry Weight of Weeds and Grain Yield of Sesame (*Sesamum indicum* L.)

E. Mamnoie[1]* -H. Mahdikhani[2]

Received: 29-12-2016
Accepted: 02-07-2018

Introduction: Sesame (*Sesamum indicum* L.) is an annual and thermophilic plant, drought resistant, and short day crop. Sesame has great importance for providing the needed oil in Iran. In the agro-ecosystems, weeds are considered as unwanted plants needing to be controlled. The competition between weeds and sesame for moisture, light and nutrients over the growing season reduces the quality and quantity of crop grain yield. Although the sesame is a tall and powerful crop, it is a sensitive crop to weed competition. Since the weeds are well adapted to environmental conditions, they are successful in competition with crops. Chemical control seems not to be the unique and best way to manage the weeds and it reduces the sustainability of agro-ecosystems. The main approach for sustainable weed management in an integrated weed management program is to decrease herbicides usage through increasing crop competitiveness with weeds. In this regard, fertilizer management is one of the most important crop management strategies. Among the nutrients necessary for plants, nitrogen is the most crucial nutrient required for plant growth and competition. Therefore, its application management plays a key role in declining weed interference with crops thereby reducing the herbicide utilization. Hence, the objective of this study was to determine the effects of nitrogen levels and control methods on competition between weeds and sesame.

Materials and Methods: In order to evaluate the effect of different levels of nitrogen fertilizer and control methods on density and dry weight of weeds and grain yield of sesame (*Sesamum indicum L.*), a two-year field study was conducted as a factorial experiment in randomized complete block design with four replications during 2012 and 2013 growing seasons in Agriculture Research Center of Jiroft. The treatments included control methods at five levels (pendimethalin herbicide application at 0, 2, 3, and 4 lit ha^{-1} and weeding) as the first factor and nitrogen fertilizer rates at three levels (56, 80 and 104 kg ha^{-1}), as the second factor. The nitrogen fertilizer rates (urea N, 46%) corresponded to 70, 100 and 130% of the optimum nitrogen requirement. 80 kg ha^{-1} net nitrogen was considered as the optimum rate needed for sesame production. Fertilizer was placed beside the plants and banded beneath the surface in three stages (pre-planting, pre-flowering and pre- capsule forming). The herbicide was applied using a back pack sprayer equipped with a flood jet nozzle with 2 bar pressure and 350 lit ha^{-1} output volume of the sprayer. Weed species each were oven-dried at 75°C for 48 h and weighed for measuring dry weight. Also, the grain yield of sesame was measured at the end of the growing season. The data were statistically analyzed using combined variance of analysis and the differences among mean values of the treatments were compared by LSD test ($p \leq 0.05$) using SAS 9.4 software.

Results and Discussion: Evaluation of weed flora indicated that 5 weed species including Egyptian crowfoot grass (*Dactyloctenium aegyptium*L.), prostrate pigweed (*Amaranthus blitoides* S.Wats), digera (*Digera muricata* (L.) Mart.), purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.), and barnyard grass (*Echinochloa colonum* L.) were dominant species, with high evenness in the experimental plots. The results showed that the weed control method and nitrogen levels had a significant effect ($p \leq 0.01$) on density and dry weight of all weeds. Further, the weed control method had a significant effect ($p \leq 0.01$) on grain yield of sesame in the first and second year.The influences of nitrogen levels and interaction effects were, however, not statistically significant on grain yield, whereas the effect of nitrogen levels on density and dry weight of weeds was different. Under non-weed control conditions, nitrogen fertilizer increased the density and dry matter of weeds, and under weed control conditions, nitrogen fertilizer decreased the density and dry matter of weeds. After hand weeding, the application of pendimethalin at 4 lit ha^{-1} in addition tousing104 and 80 kg ha^{-1} of nitrogen was the best treatment for reducing

1- Assistant Professor of Plant Protection Research Department, South Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Jiroft, Iran
(*- Corresponding Author Email: emamnoie@areeo.ac.ir)
2- Ph.D Graduated from Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

the freezing condition. Germination rate of wild barley weed seeds exposed to sunlight and stored at room conditions during after-ripening period rose sharply. The germination rate for seeds placed in the sun and stored at room conditions, were 56 and 61 times more than seeds stored in freezing condition, respectively, after about five months of harvesting seeds.

Conclusions: The results of this study suggest that physiological dormancy, physical dormancy (seed coat), and after-ripening during the summer season play an important role as an obstacle in germination of both wild wheat and wild barley in rain-fed conditions. In case of soil moisture availability, the required time window to achieve 50% of achievable germination of wild wheat and wild barley in autumn, winter and spring seasons were estimated 9, 18 and 3 days, respectively.

Keywords: Germination, Grass weeds, Seed coat, Seed dormancy

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 73

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۷۳

After-ripening and Emergence Pattern of Wild Wheat (*Triticum boeoticum* Boiss) and Wild Barley (*Hordeum spontaneum* C. Koch) under Dryland Condition of Lorestan Province

S. K. Mousavi[1]- A. Ghanbari[2]- R. Ghorbani[3]- M.A. Baghestani[4]
Received: 03-02-2017
Accepted: 10-01-2018

Introduction: Emergence is one of the most important events in the life cycle of annual species, because of its role in survival of the plant. Weed emergence timing has an important effect on the competition outcome of weeds with crops. Knowledge of weed emergence in the field could help reduce the loss from weeds. Many studies aim to develop prediction models that can provide information to farmers about methods and timing for weed management. Prediction of weed emergence could enhance crop management, facilitating implementation of effective strategies by optimizing the timing of weed control; this is becoming relevant for farmers because of current pressure to reduce herbicides and adopting nonchemical weed control methods.

Materials and Methods: Seed dormancy state, after-ripening, and emergence pattern of wild wheat (*Triticum boeoticum* Boiss) and wild barley (*Hordeum spontaneum* C. Koch), the most important grass weeds were studied under Lorestan dry conditions. Wild wheat and wild barley weed emergence pattern in three stages during the fall, winter and spring were studied by split plot arrangement in a randomized complete block design with four replications. Furthermore, wild wheat and wild barley seed emergence trends was investigated in 12 stages with intervals of about two weeks from late November to mid-May.

Results and Discussion: Results showed that the presence of seed coat (Lemma and palea) acted as a serious obstacle for germination in both weeds. Regardless of treatment conditions, seed germination of wild wheat did not happen in intact seeds, up to 130 days after harvest. For wild barley, seed coat was also a serious obstacle for germination up to 130 days after harvest. Intact seeds of wild barley, generally did not germinate until two months after harvest, on the other hand, after about three months germination was less than 10%, while the germination of the seeds after 140 days under both conditions, including exposure to sun and stored at room were promoted to 87 and 37%, respectively. Both wild wheat and wild barley weeds, emergence rate during autumn dramatically exceeds the emergence rate during winter and spring. Spike number of grasses were significantly affected by planting season. Underthe spring sowing, wild wheat and wild barley as well as wheat crop, generally did not produce grain. The number of spike per area for autumn sowing was significantly more than the winter sowing up to 64.6 percent. Based on the equations fitted to the emergence of wild wheat and wild barley intact seeds planted over 12 stages from late November to mid-May of the growing season of 2013-2014, the minimum emergence in both grass weeds were estimated 75% and 56 %, respectively. Average emergence of before winter, during winter and in the spring for the wild wheat was estimated to 90, 86 and 89 percent and for wild barley 62, 77 and 69 percent, respectively. With the onset of the cold season in the late of autumn, the emergence rate of this grass weeds were reduced, but subsequently, with elimination of cold condition in late of winter emergence rate became more prominent, until deal with high temperatures in late spring that emergence declined. Considering the temperature changes during the growing season indicates that the correlation of emergence rate with the fluctuations in temperature. Emergence rate of wild wheat grass weed in autumn and spring seasons were 2.8 and 3.5 times more than the emergence rate in spring season, respectively. In the case of wild barley, grass weed emergence rate in autumn and spring seasons were 1.3 and 2.1 times more than that of winter. After four months of harvesting wild wheat seeds, the germination of seeds exposed to sunlight and stored under room temperature, on average, was 8.4 times more than the germination ability of seeds stored in

1- Associated Professor, Plant Protection Research Department, Lorestan Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, Khorramabad, Iran
(*- Corresponding Author Email: skmousavi@gmail.com)
2- Assistant Professor, Department of Agronomy, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3- Professor, Department of Agronomy, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
4-Professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran)

weight, the reproductive ability reduced and also the canopy was decreased, which both have an important role on control of spontaneous barley. Moreover, according to another study among several tested herbicides in wheat, spontaneous barley did not lead to optimal control and only TOTAL decreased the dry weight by 67 percent. Using herbicides at second node stage resulted to reduction of spike weight in Shush, Fasa, Shiraz, Kerend and Varamin ecotypes than control. After herbicide application, due to unfavorable growing conditions and stress, the plant with minimal resources went to reproductive stage. Consequentlythe plants were weaker as compared to the control. Finally,the fertility rate reduced and spike length was shorter under the influence of herbicides. Using of herbicides at second node, most of the ecotypes showed seed weight reduction.

Conclusion: The results showed that the use of TOTAL herbicide at the two-leaf stage and the second node decreased morphological and reproductive characteristics of this weed. The biggest influence on morphological characteristics of the Bistoon ecotype (density), Shiraz ecotype (plant density, leaf area, fresh weight, Dry weight, spike length), Rāmhormoz ecotype (number of stems, plant fresh weight, Dry weight), Mahidasht ecotype (LAI), Fasa ecotype (height, leaf area index, fresh weight, dry weight, grain weight, spike weight), Golpayegan ecotype (final height), Branch ecotype (final height), Shush ecotype (number of stems, number of grains per spike), Marvdasht ecotypes (seed weight, weight spike), Zarghan ecotype (spike length). Ecotypes reactions to the herbicide suggested that potential genetic differences among ecotypes creates different conditions of increasing or decreasing of the studied traits. Knowing these differences guide us to control this weed at different stages of plant growth by suitable approaches.

Keywords: Chemical control, Growth stage, Morphological traits, Reproductive traits

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 71

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۷۱

Evaluation of Using Time Effect of Total (Metsulfuron Metyl25%+Sulfusulfuron75%) Herbicide on Some Traits of Spontaneous barley (*Hordeumspontaneum* K. Koch) Ecotypes

S. Mohammadi[1]- M. Rastgoo[2*]- M.A. Baghestani[3]- M. Vafaie-Tabar[4]- E. Izadi Darbandi[5]

Received: 14-03-2016
Accepted: 05-11-2016

Introduction: Spontaneous barley is a category of cereal, annual plant, winter, self-pollinated, and diploid (2n=14). It has very close genetic relationship with barley. Very long awn, resistant to drought and salinity, seed dormancy and allelopathic potential are the features of this plant. The average 1000-seed weight without awn is 45grams and with awn is 47grams.Apart of the five provinces (Semnan, Golestan, Mazandaran, Guilan, Sistan and Baluchestan), the existence of this species was reported in Iran. The highest prevalence belongs to Fars province with an average density of 34 plants per square meter.Due to genetic and morphological similarities of spontaneous barley with wheat and barley, none of selective herbicide for wheat are able to control spontaneous barley.This study aimed to investigate the effects of the herbicide metsulfuron methyl + Sulfosulfuron (TOTAL) on morphological and reproductive characteristics of different ecotypes spontaneous barley and determine the best of use time these herbicides in the various growth stages of spontaneous barley.

Materials and Methods: This experiment performed in Varamin region during 2013 and 2014 in form of Factorial randomized complete block design with four replications. The first factor included two levels of MetsulfuronMetyl+ Sulfosulfuron herbicide application at two leaf (GS =12) and second node (GS = 32) stages of growth spontaneous barley, and control without herbicide. The second factor was 20 ecotypes, which collected from across the country. At thirty days after the treatment which was equivalent to the heading stage of spontaneous barley, a box (0.5 × 0.5) was dropped on each line and then the morphology and reproductive traits of spontaneous barley were recorded.

Results and Discussion: The greatest effect of TOTAL herbicide was at the time of the second node, but in two leaf also had a significant effect on reducing the density of spontaneous barley. Ecotypes Shush, Marvdasht, Urima, Shahreza, Islamabad, Isfahan, Golpayegan and Varamin after herbicide application at two stages were significantly more than control in term of plant density reduction. The use of herbicide reduced the number of stems per plant. Differences between treatments indicate that the effect of herbicides on stem growth has been positive. Totally, stems per plant reduction caused to reduction of the fruiting stems. This causes to reduce reproductive efficiency in spontaneous barley. In Ecotypes of Shush, Darab, Mahabad, and Biseton areas, effective of herbicides on leaf area index was higher at the two-leaf stage. Reduction of leaf area reduced the size and plant dry weight. TOTAL herbicide caused to weaken plants and plant density reduction by reducing the leaf area growth, and the growth of young stems. In Mahidasht, Fasa and Zarghan ecotypes, herbicide application at two leaves stage reduced the plant height more than second node stage. Using herbicides at second node stage, significantly changed the height of Salmas, Miandoab, Darab, Biseton, Shahryar, Golpayegan and shahreza ecotypes compared to control. Final height is one of the most important and effective indicator, in terms of weed-crop competition, which by light advantage, resulted to increasing the canopy, leaf area, dry weight and better competitive conditions. The use of herbicides at the two-leaf and the second node stages resulted in controlling the final height of spontaneous barley compared to control. The plant fresh weight and dry weight of ecotypes showed a significant decrease as compared to the control. By reduction of spontaneous barley fresh

---

1 -PhD in weed science Department of Agrotechnology , Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
2 and 5- Associate Professors, Department of Agrotechnology , Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad
(*- Corresponding Author Email: m.rastgoo@um.ac.ir)
3- Professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organizion (AREEO), Tehran, Iran
4- Associate Professor at Cotton Research Department, Tehran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Varamin, Iran

laboratory condition, the LC_{50} values of Palizin and Fenvalerate on *H. postica* were 601.72 and 321.87 ppm 24 h after treatment, respectively. Toxicity of Fenvalerate for egg and 1st instars larvae of *C. carnea* was higher than Palizin. The LC_{50} values of this insecticide were 563.02 and 178.46 ppm and the LC_{50} values of Palizin were 1664 and 1663 ppm. The results of field trial showed that Palizinhas a longer persistency effect. According to IOBC standards, Palizin and Fenvalerate were categorized as slightly toxic and very toxic to *C. carnea*, respectively.

Conclusions: The plant pesticide used in this research caused the high mortality on the adults of *H. postica* with proper persistency. In addition, its toxicity is less than Fenvalerate to *C. Carnea* and can be applied as an effective alternative to chemical insecticides in alfalfa fields.

Keywords: *Chrysoperlacarnea*, *Hyperapostica*, Fenvalerate, Palizin

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 69

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۶۹

The Survey Effect of Palizin and Fenvalerate on the Alfalfa Weevil *Hyperapostica* (Col.: Curculionidae) and Its Natural Enemies *Chrysoperlacarnea* (Neu.:Chrysopidae)

M. Kabiri Raeis Abad[1*]- E. Zarei[2]

Received: 13-08-2017
Accepted: 28-02-2018

Introduction: Alfalfa (*Medicagosativa* L.) is a high-quality forage crop widely grown throughout the world. This plant is attacked by a wide range of pests. Alfalfa weevil, *Hyperapostica*(Gyllenhal) (Coleoptera:Curculionidae), is a pest of concern in alfalfa on the globe. This introduced pest is most problematic in the early season, causing defoliation and reduced yield and quality. Both adults and larvae feed on alfalfa, but the larvae cause the majority of the damage to terminals, foliage, and new crown shoots. This pest has many natural enemies. Among the beneficial insects, the green lacewing, *Chrysoperlacarnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae), has received special attention since its larvae are important natural enemies of alfalfa weevil. The control of *H. postica* was done by chemical pesticides .There is now overwhelming evidence that some of these chemicals do pose a potential risk to humans and other life forms and unwanted side effects to the environment. Palizin (Coconut soap) is a natural compound based coconut extract. In the current research work, the effect of this compound on the adult of *H. postica* and egg and 1st instars larvae of *C. carnea* was investigated under laboratory and field conditions.

Rearing of insects

H. postica: *H. postica* larvae were collected from alfalfa fields in Miandoab using sweep nets in July 2016 and taken to the laboratory. Larvae were placed in plastic dishes (5 × 10 × 20 cm), fed by alfalfa foliage, and held at 25 ± 2 °C, 75±5% RH to complete their growth and convert to adults. The adults were used for all tests.

C. carnea: *C. carnea* adults were collected from alfalfa field at the Miandoab region, taken to the laboratory for identification of species and reared in the laboratory. Clear plastic cylinder containers (with 15 cm diameter × 25 cm height), which were covered with a mesh cloth were used for rearing. A thin layer of food source (mixture of yeast 50%, water 25% and honey 25%) was smeared to a plastic tape which was inserted into the plastic container. Water was provided for the adults through a wet sponge placed on the mesh cloth. To harvest the eggs, the adults were transferred to fresh containers every day. The eggs were laid on a colored paper which was attached to the interior wall of the cage. The eggs hatched after 3 days and the first larvae were used for bioassay.

Bioassay: First, primary experiments were performed to determine the minimum and maximum concentrations. Afterward, seven concentrations and also control were considered. Concentrations used for Palizin were 400, 543, 737, 1000, 1357, 1842 and 2500 ppm and for Fenvalerate were 200, 265, 353, 468, 622, 827 and 1200 ppm. Adult were kept at 4 °C to be inactive. Then, 15 adults were release on the petri plate (with 9cm diameter and 1.5 cm height). Using spray potter tower, 500 microliter of each concentration was sprayed on the petri and the dishes were placed in a growth incubator at 25±2˚C, 65±5% RH. To evaluate the recommended concentrations (2500 ppm Palizin and 1000 ppm Fenvalerate), an experiment was conducted in a randomized complete block with three treatments and five replications under field conditions. The number of *H. postica* (adults and larvae) and *C. carnea* (larvae) was counted day before and 3, 7, 14 and 21 days after treatment.

Statistical analyses: The mortality results were analyzed using SPSS data processing software. Significant differences among the groups were determined using the unpaired Duncan-test in 5 % level of significance.The percentage of population reduction in the treatments was corrected in relation to the control (water) by Henderson and Tilton’s formula under field condition.

Results and Discussion: Insecticides may be a good option if other options have not sufficiently controlled alfalfa weevil. Several commercially available products are labeled for control of alfalfa weevil. Although effective, their repeated usage has disrupted natural biological control systems and led to resurgence of this pest, resulted in the development of resistance and had undesirable effects on no target organisms. In order to prevent resistance, effective chemical control of the pest requires new insecticides with novel modes of action. In

1 and 2- PhD. Students of Agricultural Entomology, Mohaghegh Ardabili University
(*-Corresponding Author Email: kabiri_mahdi88@yahoo.com)

galactosidases, respectively.

Conclusions: According to the results, α-amylase, α and β galactosidasesexistedin gut of larvae of *A. viennensis*. These findings showed potential of digestive enzymes inhibitors for management of *A. viennensis* population and more research is needed.

Keywords: Enzyme activity, Inhibitors, Pest of Rose

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 67

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۶۷

Biochemical Characterization of the α- amylase and α- β galactosidases in the Small Black and Yellow Wasp, Allantus viennensis Schr. (Hym.:Tenthredinidae)

F. Jahanjo[1] - M. Gholamzadeh-Chitgar[2]*- M. Ghadamyari[3]- R. Hosseini[4]

Received: 01-05-2017
Accepted: 28-07-2018

Introduction: Small black and yellow wasp, *AllantusviennensisSchr*. (Hym.:Tenthredinidae) is a serious pest of rose plants. Larvae feed on the leaves of rose bushes initially, the parenchyma of leaves and eventually the entire leaf except main rib. Carbohydrases such as amylases and galactosidases have main role in digestion and metabolism of carbohydrates in insects. The nutrients were used for growth, development, survival and reproduction of insects. Therefore, any interruption in enzymatic carbohydrate digestion and blocking of carbohydrases by inhibitors can deprive herbivore from utilizing the sources of carbohydrate energy efficiently. Transgenic plants expressing carbohydrase inhibitors have been considered as safe alternatives to chemical pesticides against herbivorous pests. Knowledge on digestive enzymes of insects is the first step to use plant origin inhibitors in pest control programs. In the present study, identification and characterization of α- amylase and α- β galactosidases in gut extract of *A. viennensis* were studied.

Materials and Methods: The α-amylase activity was measured in the different larval stages (2-5 L) and three parts of gut including foregut, midgutand hindgut of fifth larval in star of *A. viennensis*.10 µl of the enzyme was added to a tube containing 40 µl of universal buffer (50 mM sodium acetate-phosphate-glycine) and 50 µl of 1% (w/v) starch as substrate. The reaction was incubated at 30°C for 30 min and then was stopped by adding100 µl of dinitrosalycylic acid. Absorbance of product was measured at 540 nm with a Microplate Reader Model Stat Fax® 3200. One unit α-amylase was defined as the amount of the enzyme that liberated one micro mole of maltose from starch (as substrate) per minute. The activities of α and β-galactosidase were measured with pNαGa (p-nitrophenyl-α-D-galactopyranoside) and pNβGa (p-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside) as substrates, respectively. 10 µl of the enzyme, 45 µL of substrate and 115 µL of universal buffer were incubated for 20 min at 35 °C. After incubation time, 600 µL of NaOH (0.25 M) was added to stop the reaction. P-nitrophenol absorbance was measured at 405 nm using a microplate reader. One unit enzyme is defined as the amount of the enzyme that liberates one micro mole of p-nitrophenol per minute. To obtain the optimal pH and temperature for the enzyme activity, various pHfrom 3.0 to 12.0 and different temperatures ranging from 10 to 70ºC were examined. To determine the kinetic valuesfor α-amylase, different concentrations of starch (0.05, 0.1, 0.25, 0.5 and 0.75) and for galactosidases different concentrations (2.5, 5, 10, 20, 40 and 80mM) of pNαGa and pNβGa were prepared. The Michaelis-Menten constant (*Km*) and maximal velocity (*Vmax*) of the enzymes were estimated from the Line weaver-Burk plots. Electrophoresis was performed and appeared bands in the native gel were observed.

Results and Discussion: The highest enzymes activity was obtained in 5[th]instarandas food absorption increased the enzyme activity enhanced. Also, the specific activity of enzyme in midgut was higher than that of foregut and hindgut. Midgut is the most important source of digestive enzymes as one of the main sites for the absorption of digested material. The greatest activity of α-amylase in gut of *A. viennensis* was at alkaline pH (8).The high gut pH in *A. viennensis*is largely due to adaptation for feeding on rose containing tannins. Because tannin can bind with proteins in insect's midgut at acidic pH values and then decrease the efficiency of food digestion. The highest activities of α / β galactosidases in gut of *A. viennensis* were at pH 6. Optimal temperature for α-amylase, α and β galactosidases activity was obtained 50, 60 and 30°C, respectively. As calculated from Line weaver-Burk plots, the $K_m$and V_{max}values for α-amylase were 1.478 mg/ml and 0.14 µmol min^{-1} mg^{-1} protein. The K_m and V_{max}values for α and β galactosidase were 0.69 Mm, 0.41 Mm, 0.84 and 1.76 Mm min^{-1} ml^{-1}, respectively. Zymogram pattern in the native gel revealed three, one and one bands for α-amylase, α and β

1, 3 and 4- Former M.Sc. student of Agricultural Entomology and Associate Professors, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran
2- Assistant Professor of Plant Protection Research Department, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran
(*Corresponding Author: Email: b_gh.chitgar60@yahoo.com; mgholamzadeh@areeo.ac.ir)

illustrations (line drawings or photomicrographs) are provided. Also discussions were made on the diagnosis and relationships of these four species either with other populations or closely related species. Among the 19 identified species, it seems that *Pratylenchoides ritteri* (with potential damaging effects on legumes), and *Ditylenchus medicaginis* and *Helicotylenchus scoticus* (with high frequency and distribution in the studied regions) should be considered as important species for conducting further supplemental surveys in Kermanshah province. A very damaging species of nematodes to legumes, *Pratylenchus thornei*, was found only in 4.4 % of the studied fields, and the other important group of nematodes, root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) were not recovered from the legume fields of Kermanshah province.

Keywords: Fauna, Morphology, Morphometric, Tylenchomorpha

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 65

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۶۵

Plant-Parasitic Nematodes of Legume Fields and Their Distribution in Kermanshah Province, Iran

F. Mohammadi[1]- A. Karegar[2]*- R. Ghaderi[3]

Received: 30-05-2018
Accepted: 12-09-2018

Introduction Legumes may be considered as the second most important source of high-quality protein after cereals. According to available reports, more than 35 species of nematodes belonging to 20 different genera of plant parasitic or fungal nematodes including *Aphelenchoides*, *Basiria*, *Boleodorus*, *Criconemoides*, *Helicotylenchus*, *Hemicriconemoides*, *Heterodera*, *Hoplolaimus*, *Malenchus*, *Meloidogyne*, *Merlinius*, *Paratylenchus*, *Pratylenchoides*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus*, *Trophorus*, *Tylenchorhynchus*, *Tylenchus*, *Xiphinema* and *Zygotylenchus* are reported from the legume fields worldwide. Kermanshah province with a cultivated area of 135060 hectares is the second legume producer in Iran. Plant parasitic nematodes associated with legumes have been identified in some provinces of Iran including Markazi (Khomein county), Lorestan and North Khorasan. Despite the fact that the province has been cultivated in such large area and the amount of legume production has been high in the country, so far no comprehensive study has been done on the identification of plant parasitic nematodes in Kermanshah province. In a few surveys, only three species of plant parasitic nematodes namely *Pratylenchus thornei*, *Pratylenchoides ritteri* and *Paratylenchus elachistus* have been recovered from chickpea fields in this province. Therefore, the aim of this research was to identify and determine the dominant species of important plant parasitic nematodes in the legume fields and determine their distribution in Kermanshah province.

Materials and Methods In order to identify and determine distribution of the most common plant parasitic nematodes, 173 root and soil samples were collected from legume fields (chickpea, lentil and faba bean) in several localities of Kermanshah province, during years 2016-2017. After extraction, fixation and transferring to anhydrous glycerol, the nematodes were mounted on microscopic slides and studied by using a light microscope, equipped with digital camera. Finally, they were identified using available identification keys.

Results and Discussion Based on morphometric and morphological characteristics, in this study, 19 species of the infraorder Tylenchomorpha viz. *Aphelenchoides graminis*, *A. obtusus*, *Aphelenchus avenae*, *Ditylenchus adasi*, *D. equalis*, *D. medicaginis*, *D. myceliophagus*, *D. parvus*, *Filenchus vulgaris*, *Helicotylenchus scoticus*, *Merlinius brevidens*, *Nagelus obscurus*, *Neopsilenchus magnidens*, *Pratylenchus thornei*, *Pratylenchoides ritteri*, *Scutylenchus rugosus*, *S. tartuensis*, *Trophorus ussuriensis* and *Tylenchorhynchus parvus* were identified. The species *F. vulgaris*, *D. medicaginis*, *P. ritteri*, *H. scoticus*, *M. brevidens* and *T. parvus* were the most common species in the legume fields of Kermanshah province with 33.8, 29.4, 27.9, 26.5, 13.2 and 13.2 percent frequency rates, respectively. Among 12 cities under legumes cultivation in the province, Kermanshah with 16 species, Ravansar and Gilan gharb each with nine species, Eslam Abad and Kerend Gharb each with seven species, had highest number of the nematode species. In chickpea fields, *F. vulgaris*, *P. ritteri*, *H. scoticus* and *D. medicaginis* were the most prevalent species, in lentil fields *D. medicaginis*, *H. scoticus*, *T. parvus*, *F. vulgaris* and *S. tartuensis* had higher frequency rates, and in faba bean fields *D. medicaginis*, *M. brevidens* and *A. avenae* were highly distributed species. The species *Aphelenchoides obtusus*, which has not been previously described in Iran, is described in full, and the males of *A. obtusus* is reported for the first time from Iran. Also *A. graminis*, *D. medicaginis* and *P. ritteri* which are more common or have morphological or morphometric diversity were described briefly. Seven species namely *Aphelenchoides graminis*, *A. obtusus*, *Ditylenchus equalis*, *Nagelus obscurus*, *Scutylenchus tartuensis*, *Trophurus usuriensis* and *Tylenchorhynchus parvus* are reported for the first time from legume fields in Iran. These seven species with together six other species namely *D. adasi*, *D. parvus*, *Helicotylenchus scoticus*, *Merlinius brevidens*, *S. rugosus* and *Neopsilenchus magnidens* are reported for the first time from Kermanshah province.

Conclusions In the present paper, description of four species with together their morphometric data and

1, 2 and 3- M.Sc. in Plant Pathology, Professor and Assistant Professor of the Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
(*- Corresponding Author Email: karegar@shirazu.ac.ir)

especially in areas, where a mixture of *Heterodera* species occurs. Therefore, wheat origin countries including Iran, Iraq, Syrian and Turkey obtained wild wheat relatives, which is to be screened to the main *Heterodera* species. Taking advantage of these sources of resistance is necessary to know the reaction of genotypes against CCN species for new resistant gene/s in Iran.

Keywords: Cereal Cyst Nematode, Cultivars reaction, Cyst, Egg and Larvae, *Heterodera filipjevi*

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 63

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۶۳

Screening for Resistant in Bread Wheat Irrigated Cultivars to Cereal Cyst Nematode *Heterodera filipjevi*

M. Motamedi[1]- M. Nasr Esfahani[2*]- E. Bazgir[3]- M. Darvishnia[4]

Received: 13-01-2018
Accepted: 11-07-2018

Introduction: Wheat *Triticum aestivum* L., is one of the most important and strategic crops in the world. Bread wheat (2n = 6x = 42), belonging to the family Poaceae, which is considered the most diverse and important family of the plant kingdom, produces large edible grains and provides about one-half of humans' food calories(Wang et al., 2017). A number of pests and diseases attack wheat, out of which nematodes have been considered universally as one of the important microscopic organisms (ref). The Cereal Cyst Nematodes (CCN: Heterodera spp.) have a global distribution and cause significant economic yield losses in many countries of the world (Pariyar et al., 2016).

It is known as the first and most important cereal crop in the world and widely consumed by 75 % of world populations (Drikvand et al., 2013).Cereal cyst nematode *Heterodera filipjevi* has wider distribution, than other species in cereal fields in Iran.

Materials and Methods: In this study, the reaction of 30 wheat cultivars against cyst nematode were evaluated in statistical design in greenhouse and the field. These cultivars planted in growing seasons (2015/2016) in a *H. filipjevi*-infested field in Agricultural Research Station, Central Kabotrabad area of Isfahan (30°42′ and 34°30′ N latitude and 49°36′ and 55°32′ E longitude), in a completely randomized block design, with three replications, each of which in a four rows of three meter length and 20cm distance. The cereal cyst species were identified based on morphological, morphometric features and molecular characters. The number of cysts, second stage juveniles and eggs were analyzed. Also, reproductive factor and percentage reduction and or increase in cereal cyst nematode population in each treatment were calculated into its initial population. Statistical and clustered analysis data were carried out on by Duncan's multiple range test (DMRT), SAS and SPSS statistical softwares, respectively.

Results and Discussion: The results showed that, in the greenhouse, the lowest brown cyst was in Behrang cultivar with an average of 15 cysts and then Bam cultivar with an average of 15.25 in 200 cc of soil.The lowest number of CCN eggs and second stage juveniles and reproductive factor were of Pyshtaz cultivar with the average of 0.49 per gram of soil. The, cultivars were classified into three ranges of resistant, tolerant and susceptible. In field conditions, the lowest brown cyst was of Bam cultivar with 113.33 per 200 cc of soil. Whereas the lowest numbers of CCN eggs and second stage juveniles and reproductive factors were in Parsi cultivar with 0.69 per gram of soil, followed by Aflak cultivar with 1.69 in two different statistically groups. Also, cluster analysis classified the cultivars into three different categories, which also showed remarkable similarities to Duncan's test results. Currently, the resistant and tolerant wheat cultivars to cyst nematode is widely used in many European countries such as the UK, Denmark, France, Sweden and Australia. Row. Therefore, identifying and recognizing resistant genes in the cultivars under study provides a way for the production of resistant transgenic commercial wheat varieties. From our results, we confirmed that wheat accessions Behrang and Bam possess resistance and can subsequently be crossed with high yielding cultivars improving their genetic resistance to CCNs.

Conclusions: There is a deal of potential for this study to develop new resistant varieties to *H. filipjevi* which will have a great value to the agriculture sector in Iran. These resistant cultivars can be used in crop nematode management program and tracking and transferring resistance genes to desirable crop cultivars. Also, in addition to number of cysts, the number of larvae took into screening programs for better susceptibility assessment justifications. It is suggested that Marker-assisted selection will further improve the development of resistant cultivars. Isolation of candidate genes associated with specific markers will greatly facilitate this process. Finding new sources of resistance would be very much demanded to control the different populations

1, 3 and 4- Ph.D. student, Assistant Professor of Plant Pathology, Associate Professor of Plant Pathology, respectively, Plant Pathology Department, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Lorestan, Iran
2- Professor & head of Plant Pathology Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Esfahan, Iran
(*- Corresponding Author Email: mne2011@gamil.com)

Iranian isolates had the highest (99.1%) aa sequence identity with isolates LYE84.2, Foggia and Tannat and the lowest (93.4%) with T13. The identities between isolates GB and GRA were 98.4% and 100% at nt and aa levels, respectively.

Conclusions: PVY is one of the most destructive and widespread plant pathogen. In this study, for the first time we reported the occurrence of PVY in tomato fields in Mazandaran province and determining its phylogenetic relationship with other isolates of the virus available in the GenBank. Also, to our knowledge this is the first report of PVY strain C in tomato in Iran. Because the use of CI is more accurate in defining orders in potyvirus taxonomy and in evolutionary relationships, detection of the virus was performed by RT-PCR using potyvirus degenerate primers based on CI coding region. Phylogenetic analyses based on CI gene indicates that the Iranian PVY^C isolates are much close to European isolates plus one Australian (CN1) and one Uruguayan (Tannat) isolates. One possible explanation for such sequence similarities is that most of seed potatoes in Iran originated from seed tubers imported from Europe, and not directly from its original habitat, South America. So, it is possible that the Iranian C strain originated potentially from an ancestral European PVY strains and then spread in the country via aphid vectors from infected to healthy plants. Resistance to PVY infection by hosts is low in many cases. On the other hand, PVV is transmitted by aphids in a non-persistent manner, which makes the control of the virus vectors inefficient. Therefore, cultivation of resistant varieties is the most suitable approach for control of the virus. The data obtained in this study will be beneficial to improve control strategies for this virus in Iran. Further studies on PVY isolates from different geographic regions and hosts of Iran and genetic diversity evaluation of the virus will be useful for breeders to make more efficient and durable resistant cultivars.

Keywords: CI gene, Iran, Phylogenetic analysis, *Potyvirus*

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 61

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۶۱

Molecular Identification of *Potato virus* Y (PVY) Strain C isolated from Tomato in Mazandaran Province

Z. Moradi[1]- M. Mehrvar[2]- E. Nazifi[3*]

Received: 01-05-2017
Accepted: 28-07-2018

Introduction: *Potato virus Y* (PVY) is the type member of the genus *Potyvirus*, which is responsible for serious diseases in a wide range of plant species, mostly from the family *Solanaceae*such as potato, tomato, tobacco and pepper worldwide. The virus is transmitted by at least 40 aphid species (family *Aphididae*) in a no persistent manner. The level of damage to crop is determined by the strain of PVY infecting the plants, the viral load, the time at which infection occurs as well as the tolerance the host possesses toward the virus. Infection of a potato field with PVY may ultimately result in 10-100% loss in yield. Several distinct strains of PVY have been identified according to their biological and serological properties and their genome sequences. These include the ordinary strain (PVY^{O}), the tobacco veinal necrosis strain (PVY^{N}), the stipple streak strain (PVY^{C}). In addition, two most prominent recombinant strains, PVY^{NTN} and $PVY^{N\text{-}Wi}$ ($PVY^{N:O}$) have been generated by recombination between PVY^{O} and PVY^{N}. Like other potyviruses, PVY has non-enveloped flexuous filamentous virions of 730-740 nm long and 11–12 nm wide, which encapsidate a single-stranded, positive-sense RNA molecule of approximately 10,000 nt long. PVY causes severe crop losses and consequently economic damage in the world as well as in Iran. Hence, identification of the virus in different regions of the country is a concern. The aim of this research was to study the existence of PVY in tomato fields of Mazandaran province and determining the type of the strain and finally finding their phylogenetic relationship. Polymerase chain reaction (PCR) with degenerate primers for conserved sequences of the viral genomes has facilitated the rapid detection of many potyviruses and enabled partial genomic sequencing. According to previous studies comparisons using the CI-coding region most accurately reflected those for the complete genome, and this region was deemed to be the most suitable for diagnostic and taxonomy purposes if the complete sequence could not be obtained.

Materials and Methods: From July to September 2013, a total of 38 leaf samples of tomato showing virus symptoms were collected from different tomato fields in Mazandaran province. Total RNA was extracted from all samples. RT-PCR assay was performed using potyvirus degenerate primers corresponding to the virus CI gene. Expected PCR products were purified from 1% agarose gels, cloned into the pTZ57R/T vector and then sequenced. Sequences were compared to data available in GenBank. Multiple alignments of the nucleotide (nt) and amino acid (aa) sequences were performed with Clustal W implemented in MEGA6 or in BioEdit v.7.2.5. Phylogenetic tree for grouping was constructed by MEGA6 using neighbor-joining method.

Results and Discussion: An amplicon of the expected size (680 bp) was generated from 9 out of 38 plant samples. Specific amplification using the potyvirus degenerate primers in infected samples, but not from healthy sample, confirmed the presence of a potyvirus. All PCR-positive samples were cloned, sequenced and submitted to BLASTn to identify the best matching sequences recorded in GenBank. BLASTn analysis showed that the PCR-amplified fragments of four samples belonged to *Potato virus Y* strainC. The most typical symptoms in PVY-positive leaf samples were mosaic, mottling, distortion and rugosity. Among them two isolates namely GB and GRA were selected for further analyses. Phylogenetic tree based on multiple sequence alignment of 680 nt of CI gene divided 117 PVY isolates into three main groups: I, II and III. Group I included a wide range of isolates from Europe, Asia, Australia, America and Africa. Members of group I were divided into six subgroups. Iranian isolates (GB and GRA) were classified in the group IF with isolates nnp (Italy), Foggia (Italy), CN1 (Australia), PRI-509 (Netherland), LYE84.2 (Spain) and Tannat (Uruguay), which all were belonging to strain C. Isolate of GB showed the highest (96.5%) nt sequence identity with isolate LYE84.2 and the lowest (81.3%) with isolates T13 (Japan), Tu_660 (Canada), ME162 (China) and ID20 (USA). Also, GRA displayed the highest (95.7%) nt sequence identity with LYE84.2 and the lowest (80.9%) withT13 and Tu_660 isolates. The two

1 and 2- PhD and Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran
(*- Corresponding Author Email: E.Nazifi@umz.ac.ir)

disease epidemiology and population biology (fungal species overwintering in a region based on mating types frequencies and their proportion). Development of reliable methods of sexual reproduction *in vitro*seems to be a valuable toolfor studies e.g. classic genetic analysis, strains modification and a supplement for modern genetic manipulations and evolutionary analysis.

Conclusions: Our results verified heterothallism in both of *V. inaequalis* and *V. pyrina*species. There was nofertile cross between isolates from two species that is the evidence of two distinct biological species. In this study, some tester isolates for mating typewere obtained which appear to be useful for the next PCR-based molecular studies on MAT alleles.

Keywords: Apple, Pear, Scab, Teleomorph, *Venturia*

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 3, Fall 2018, P. 59

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۷، ص. ۵۹

Study on Sexual Fertility of *Venturia inaequalis* and *Venturia pyrina* under *In vitro* Conditions

L. Ebrahimi[1]- Kh. Berdi Fotouhifar[2]*- M. Javan-Nikkhah[3]- M.R. Naghavi[4]

Received: 28-01-2017
Accepted: 11-07-2018

Introduction: *Venturia* species include many important plant pathogenic species such as *Venturiainaequalis* and *V. pyrina* causing scab or black spot on apple and pear. The *Venturia* teleomorph is the overwintering structure developing in leaf and fruit litters. The immersed teleomorphicpseudothecia are produced in the host tissues. This Ascomycetous genus is characterized by small, solitary, scattered or gregarious, globose, sub-globose, papillateascomata with setae around the ostiole. Asci are bitunicate, oblong to obclavate with a short pedicel or not. Ascospores ellipsoidal with broadly rounded ends, pale brown, one septate with two unequal size cells. *Venturia* has some species like *V. inopina* as homothallic and some like *V. populina* as heterothallic species. Sexual reproduction with producing sexual air-born spores plays an important role in distribution of disease in early spring. Therefore, awareness of sexual cycle in plant pathogenic fungi is very important due to management and forecasting probability of incidence of new genotypes (races).

Materials and Methods: *Venturia* and related anamorphic species were collected from different places of Iran (18 provinces including Alborz, Ardabil, Eastern Azarbaijan, Golestan, Guilan, Hamadan, Isfahan, Kermanshah, Kurdistan, Lorestan, Markazi, Mazandaran, North Khorasan, Qazvin, Razavi Khorasan, Tehran, Western Azarbaijan, and Zanjan) during years 2013 and 2014. The collected specimens (800 specimens) were identified based onmorphological features. Isolation of the fungi from the infected samples was conducted using single spore method by streaking out spores on 2% water agar (WA) and culturing of single germinated conidium on potato dextrose agar (PDA). *V. inaequalis* was determined as a dominant species in Iran. Ten isolates from each of *V. inaequalis* and *V. pyrina* were crossed together under *in vitro* condition. Some isolates were cultured as single isolate in the petri dishes for investigation of homothallism and heterothallism. Several isolates from two species were crossed together to survey the biological species definition. Mature leaves of Golab apple cultivar (*Malusdomestica*) (for *V. inaequalis* isolates) and pear (for *V. pyrina* isolates) were washed under running tap water to remove dust and debris, and cut into 2×2 cm squares avoiding the midrib of the leaf. The leaf pieces were autoclaved and placed in petri dishes with 2% water agar. A plug of mycelium of each isolate was scraped from the edge of three weeks old colonies on PDA and mixed onto the leaf pieces with a scalpel. The plates were sealed with parafilm and placed in a sealed plastic bag. The cultures were incubated at room temperature under 12 hours light / 12 hours dark condition for 2 weeks, after which they were maintained, inverted in the dark at 8°C. The cultures were checked for the production of pseudothecia for the first time after six months.

Results and Discussion: Among crossed isolates, seven and five fertile crosses were obtained from *V. inaequalis* and *V. pyrina* isolates, respectively, after six to eight months. In single isolate cultures, no sexual fertility was observed which confirm the heterothallic nature of both species. Moreover, between isolates from two species, no fertile crosswasobtained, which is the evidence of two distinct biological species. This is the first study on sexual reproduction of thesetwo species under *in vitro* condition in Iran. Morphological features of obtained sexual organs *in vitro* were the same as pseudothecia, asci and ascospores features *in vivo*. All ascospores in an ascus were fertile and they germinated on water agar after 24 hours. Based on this study, isolates with two different mating types are available as tester isolates. These isolates will be useful to design the primers to detect MAT alleles. PCR based methods can be used to study population genetic diversity, phylogeny,

1- Assistant Professor, Department of Entomology and Plant Pathology, College of Aburaihan, University of Tehran, and Ph. D. graduate, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj
2 and 3- Associate Professor and Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran
(*- Corresponding Author Email: fotowhi@ut.ac.ir)
4- Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Contents

Plant Protection

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol . 32 No. 3 2018

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.

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