

نشریه حفاظت گیاهان

(علوم و صنایع کشاورزی)

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

جلد 33 شماره 1 بهار 1398

صاحب امتیاز:

دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول:

رضا ولی زاده

سر دبیر:

راشد محصل، محمد حسن

اعضای هیئت تحریریه:

اخوت، سید محمود

استاد - بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه تهران - کرج)

ایزدی دربندی، ابراهیم

دانشیار - علوم علف های هرز (دانشگاه فردوسی مشهد)

پور جم، ابراهیم

دانشیار - بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه تربیت مدرس تهران)

جعفر پور، بهروز

استاد - بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)

حاتمی، بیژن

استاد - حشره شناسی (دانشگاه صنعتی اصفهان)

حسینی، مجتبی

دانشیار - حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)

راشد محصل، محمد حسن

استاد - علوم علف های هرز (دانشگاه فردوسی مشهد)

راشد محصل، آرش

محقق، اکولوژی حشرات، تگزاس

رجائی، حسین

حشره شناس، مدیر کلکسیون بالپولکداران، موزه ایالتی تاریخ طبیعی اشتوتگارت (آلمان)

صادقی نامقی، حسین

استاد - حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)

صحراگرد، احد

استاد - حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه گیلان)

مرعشی، سید حسن

استاد - بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)

مهدیخانی مقدم، عصمت

استاد - بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)

مظفری، جواد

استاد - ژنتیک مولکولی گیاهی (موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج)

ناشر: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

نشانی: مشهد - کد پستی 91775 صندوق پستی 1163

دانشکده کشاورزی - دبیرخانه نشریات علمی - نشریه حفاظت گیاهان

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

این نشریه در پایگاههای زیر نمایه شده است:

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

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

این نشریه به صورت فصلنامه (4 شماره در سال) چاپ و منتشر می شود.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

صفحه	عنوان مقاله
1	ردیابی همولوگ ژن توماتیناز در ژنوم قارچ <i>Fusarium oxysporum f.sp. melonis</i>
9	فاطمه زرندی - فرهاد شکوهی فر - بهرام شریف نبی - بدرالدین ابراهیم سیدطباطبایی - ضیاء الدین بنی هاشمی کاربرد روش‌های مولکولی در ردیابی ویروس تریستزای مرکبات در شته جالیز فرشته اسمعیل زاده میان‌لنگه - سید مهدی بنی‌هاشمیان - احمد روحی بخش - سیروس آقاجانزاده
17	مقاله کوتاه پژوهشی ردیابی مولکولی عامل بیماری لکه سبز مرکبات در جنوب کرمان مرتضی گل محمدی
23	مقاله کوتاه پژوهشی ردیابی مولکولی یک جدایه از ویروس موزاییک رگبری افاقیای زینتی (<i>Wisteria vein mosaic virus</i>) در استان خراسان رضوی مهند الجابری - محسن مهرور - محمد زکی عقل
27	بررسی پایداری حشره‌کش‌های اسپینوسد، ایمیداکلوپراید و ایندوکساکارب روی تریکوگراما <i>Trichogramma brassicae</i> و <i>T. evanescens</i> صدیقه اشتری
35	بررسی ترجیح غذایی موربانه <i>Microcerotermes diversus</i> نسبت به سه گونه درختی راش، اکالیپتوس و زربین لادن پورسرتیپ - کوروش سعادت وفا - پژمان رضایتی چرانی
45	بهینه‌سازی کارایی علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال) در کنترل یولاف وحشی (<i>Avena ludoviciana</i> L.) با استفاده از روغن‌های معدنی ساناز فرخنده - لیلا علی مرادی - کیومرث کلارستاقی
57	ارزیابی حساسیت برخی از گیاهان به بقایای علف‌کش تریفلورالین در خاک مجید برزویی - ابراهیم ایزدی دربندی - محمد حسن راشد محصل - مهدی راستگو - محمد حسن زاده خیاط
69	مطالعه شاخص‌های جمعیت علف‌های هرز مزارع برنج شهرستان‌های استان گیلان محمدجواد گل‌محمدی - حمیدرضا محمددوست چمن‌آباد - بیژن یعقوبی - مصطفی اویسی
85	بررسی اثر باقی‌مانده مصرف چند علف‌کش سولفونیل اوره گندم (<i>Triticum aestivum</i> L.) در کشت حفاظتی پنبه (<i>Gossypium hirsutum</i> L.) محمدحسن هادی‌زاده - سید حسین حسینی کیا - سید حسین ترابی - کمال حاج محمدنیا قالیباف
99	بهینه‌سازی کارایی علف‌کش‌های بنتازون + اسیفلورفن و ایمازتاپیر در کنترل سلمه‌تره (<i>Chenopodium album</i> L.) با استفاده از مواد افزودنی سمیرا ابوعلی - سهراب محمودی - حسین حمای
111	بررسی پویایی خواب و جوانه‌زنی بذر علف‌هرز چوچاق در پاسخ به دوره‌های دفن در خاک محمد لطفی اصل گیگلو - مصطفی اویسی - حمید رحیمیان مشهدی - بهناز پورمراد کلیبر - محمدحسین نعیمی

ردیابی همولوگ ژن توماتیناز در ژنوم قارچ *Fusarium oxysporum f.sp. melonis*

فاطمه زرنندی^{۱*} - فرهاد شکوهی^۲ - بهرام شریف نبی^۳ - بدرالدین ابراهیم سیدطباطبایی^۴ - ضیاء الدین بنی هاشمی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۲۲

چکیده

قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی جهت غلبه بر سیستم دفاعی گیاه از ابزار مختلفی بهره می‌گیرند. ترکیبات فیتوآنتیسیپین از جمله مواد دفاعی است که در گیاه جهت جلوگیری از حمله بیمارگرها تولید می‌شود. آنزیم توماتیناز جهت تجزیه فیتوآنتیسیپین و غلبه بر سیستم دفاعی گیاه توسط طیفی از قارچ‌ها از جمله تعدادی از فرم‌های اختصاصی قارچ *F. oxysporum* تولید می‌شود. با هدف ردیابی توالی کد کننده آنزیم توماتیناز در فرم اختصاصی *Fusarium oxysporum f. sp. melonis* (Fom) آغازگرهای اختصاصی بر اساس توالی محافظت شده بالادست و پائین دست توالی کد کننده ژن FoTom1 گزارش شده از فرم اختصاصی *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (Fol). استخراج DNA از نژاد یک، شایع در استان خراسان، انجام شد و واکنش تکثیر با استفاده از آغازگرهای اختصاصی صورت گرفت. الگوی الکتروفورزی محصول واکنش حضور یک تک باند در اندازه مورد انتظار را تأیید نمود. قطعه تکثیر شده بصورت دو جهته توالی‌یابی شد و با توالی گزارش شده از فرم اختصاصی Fol مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج توالی‌یابی با استفاده از برنامه Vector NTi V11 بر هم منطبق شد و با توالی رفرنس همردیفی انجام شد. نتایج نشان داد در سطح نوکلئوتیدی ۱۴ جهش در توالی شناسائی شده وجود دارد که از این بین ۷ جهش در سطح توالی پروتئینی نیز بروز می‌یابند. آنالیز توالی با استفاده از برنامه Pfam وجود یک توالی سیگنال پپتید و یک دومین هیدرولازی را در توالی شناسائی شده تأیید نمود. این نتایج نشان داد که توالی ردیابی شده میتواند همولوگ ژن توماتیناز در ژنوم فرم اختصاصی Fom باشد. این توالی Fom-Tom نامگذاری شد و در بانک ژن با شماره بازایی MF178403 ثبت شد. با هدف پیش‌بینی اثر جهش‌ها شناسائی شده در عملکرد ژن توماتیناز آنالیزهای نرم‌افزاری انجام شد که نشان داد جهش‌های رخ داده در توالی دومین هیدرولازی ساختمان پروتئین را تحت تأثیر قرار می‌دهند و می‌توانند در عملکرد ژن تأثیر گذار باشند.

واژه‌های کلیدی: بیماری زردی و پژمردگی آوندی خربزه، خربزه، ردیابی ژن، ژن توماتیناز

مقدمه

گیاهان مکانیسم‌های دفاعی مختلفی برای محافظت خود در برابر تعداد زیادی از بیمارگرهای مهاجم دارند (۱). فیتوآنتی‌سیپین‌ها، ترکیبات دفاعی هستند که به طور ساختاری در گیاهان سالم وجود دارند و نوعی مانع شیمیایی داخلی نسبت به عوامل بیماری‌زا بشمار می‌روند (۱۴ و ۲۱). توماتین، آلکالوئید گلیکوزیدی متشکل از یک آگلیکون (توماتیدین) و یک تتراساکارید (بتا لیکوتتراوز) است (۲) که به واسطه گروه بتا ۳ هیدروکسیل خود با گروه‌های آزاد بتا

هیدروکسیلی استرول‌های غشایی قارچ کمپلکس تشکیل داده و باعث ایجاد منفذ و نشت سلولی و در نتیجه از بین رفتن غشای قارچی می‌گردد (۱۰، ۱۸، ۲۰، ۸، ۲ و ۱۷). بیمارگرها نیز استراتژی‌های مخصوصی برای عبور از این ترکیبات ضد قارچ در اختیار دارند (۳، ۴ و ۱۴). یکی از روش‌های مورد استفاده در قارچ‌ها استفاده از آنزیم‌های تخریب کننده ترکیبات درگیر در سیستم دفاع گیاهی است (۸، ۱۴ و ۱۵). آنزیم توماتیناز از جمله آنزیم‌های ترشحی است که توسط قارچ ترشح شده و با تخریب توماتین شرایط را جهت توسعه ریشه‌های قارچ در بافت گیاه مهیا می‌کند (۱۴، ۶، ۱۱، ۱۳، ۱۶ و ۱۹). آنزیم توماتیناز یک آنزیم گلیکوزیل هیدرولازی است. این خانواده از آنزیم‌های گلیکوزیل هیدرولاز، دارای ساختار آنومریک نگاهداری و توپولوژی شکافی می‌باشد (۵). آنزیم‌های گلیکوزیل هیدرولاز با برداشت گروه‌های قندی از ساپونین‌ها باعث آزادسازی گروه‌های قندی و کاهش سمیت این ترکیبات می‌شوند (۸، ۱۴، ۱۵، ۱۱، ۱۳ و ۶). در سال ۱۹۹۷ میلادی، توماتیناز موجود در فرم اختصاصی *F. oxysporum f.*

۱ و ۴- دانشجوی کارشناسی ارشد و استاد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

(*)- نویسنده مسئول: (Email: fateme.zarandi77@yahoo.com)

۲- استادیار پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

۳- استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

۵- استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز

بازیابی توالی ژن FoTom1 و طراحی آغازگر: توالی ژن

FoTom1 (با شماره دستیابی AJ012668) و پروتئین توماتیناز مربوط به فرم اختصاصی FOL (با شماره دستیابی CAA10112.1) از پایگاه داده‌های زیستی بازیابی شد. مناطق بالادستی و پائین‌دستی توالی کدکننده، از طریق بلاست توالی پروتئین FoTom1 از بانک اطلاعات ژنومی قارچ فوزاریوم (<http://www.broadinstitute.org>) بدست آمد. مناطق حفاظت شده جهت طراحی آغازگر با استفاده از همردیفی چندگانه توالی‌های نوکلئوتیدی مشابه با استفاده از برنامه MegAline در بسته نرم‌افزاری DNA Star انجام شد. جهت طراحی آغازگرهای اختصاصی از برنامه Primer premier V.5 استفاده گردید. این آغازگرها با نام‌های Psh30-F (5'-AGC CGC ATA) و Psh30-R (3'-TTG GCA ACC TGA) و (3'-ACA GCA-5') توسط شرکت SBS Genetech Co., Beijing's, China (ACC-3' سنتز شدند.

ردیابی و تکثیر توالی ژن در ژنوم Fom: جهت تکثیر

توالی هدف دمای اتصال آغازگرها در سه نقطه ۵۴، ۵۵ و ۵۶ درجه و غلظت DNA الگو در دو سطح ۶۰ و ۱۲۰ نانوگرم مورد مقایسه قرار گرفت و بهینه‌سازی شد. محتویات واکنش تکثیر در حجم ۱۰ میکرولیتری شامل ۶۰ نانوگرم از DNA ژنومی، ۲٫۵ میلی‌مولار $MgCl_2$ ، ۲۰۰ میکرومول dNTPs (GeNetBio, south Korea) و یک میکرولیتر بافر PCR 10X (GeNetBio, south Korea)، پنج پیکومول از آغازگرهای pSH30-F و pSH30-R با یک واحد آنزیم تک پلیمرز (Prime™ Taq DNA polymerase, GeNetBio, south Korea) اضافه شد و با برنامه حرارتی ۴ دقیقه در ۹۳ درجه سانتی‌گراد و ۳۵ چرخه با (۴۵ ثانیه در ۹۲ درجه سانتی‌گراد، یک دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد) و مرحله تکثیر نهایی با پنج دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه ترمال سایکلر (Primus 25 Thermal Cycler, MWG) استفاده شد. محصول واکنش در ژل آگارز یک درصد حاوی ۱۰٪ رنگ Green viewer الکتروفورز گردید و تصویر الگوی بانندی تکثیر شده از نمونه‌ها با استفاده از دستگاه ژل داک تهیه شد.

توالی‌یابی قطعه تکثیر شده و آنالیز توالی و شناسایی

جهش‌ها: قطعات تکثیری به صورت دوجته توسط آغازگرهای اختصاصی Psh30R و Psh30F توسط شرکت Macro gene کره جنوبی توالی‌یابی شدند. برای آنالیز و بررسی پیک‌ها از نرم‌افزارهای Chromas و Seqman، همردیفی با توالی مرجع از Mega5 و نمایش نتایج همردیفی و جهش‌های موجود از CLC Main Workbench 5.5 استفاده گردید.

پیش‌بینی تأثیر جهش در ساختار پروتئین: با استفاده از

برنامه SMART و نرم‌افزار CLC Main Workbench 5.5، ساختار

sp. *radicis-lycopersici* در سطح پروتئین بررسی و ردیابی شد (۱۱). فعالیت توماتینازی در قارچ‌هایی که بیمارگر گوجه فرنگی نیستند از قبیل *gladioli* و *niveum melonis tuberosae* به ترتیب فرم اختصاصی بیماریزا روی گیاهان گل مریم، خربزه، هندوانه و گلایل مشاهده شده است (۹ و ۱۲). بر خلاف این در فرم‌های *ciceri*، *conglutinans* و *lini* به ترتیب عوامل بیماریزا روی گیاهان نخود، ذرت و کتان فعالیت توماتینازی مشاهده نشد (۱۲). در برخی از فرم‌های اختصاصی از جمله *melonis* حضور ژن توماتیناز با استفاده از روش هیبریداسیون مورد بررسی قرار گرفته است و حضور بخشی از توالی آن در یکی از جدایه‌های این فرم اختصاصی یک هیبریداسیون نشان داده شده (۸) ولی تاکنون توالی کامل آن مشخص ردیابی و شناسایی نشده است. لذا با توجه به شباهت عملکرد انتظار می‌رود بر اساس توالی‌های گزارش شده این ژن در دیگر فرم‌های اختصاصی بتوان توالی آن را در فرم اختصاصی *F. oxysporum f.sp. melonis* ردیابی و تکثیر نمود.

شناسایی و همسانه‌سازی ژن توماتیناز در این فرم اختصاصی می‌تواند به بررسی مراحل اولیه بیماری‌زایی قارچ در گیاه کمک کند. از سوی دیگر همسانه‌سازی و بیان این ژن می‌تواند در مطالعات آتی در بررسی برهمکنش این بیمارگر با ارقام و توده‌های بومی خربزه مورد استفاده قرار گیرد تا در صورت امکان بتوان ژن و یا ژن‌های مهارکننده این آنزیم را شناسایی کرد. لذا، مطالعه حاضر با هدف ردیابی و جداسازی ژن توماتیناز از فرم اختصاصی *melonis* بر اساس اطلاعات موجود از توالی این ژن در فرم اختصاصی *Lycopersici* انجام شد. با جداسازی ژن توماتیناز FOM و توالی‌یابی آن تفاوت‌ها و جهش‌های احتمالی آن با توماتیناز FOL بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه قارچ: جدایه مربوط به نژاد یک فرم اختصاصی F.

oxysporum f. sp. melonis شایع در استان خراسان رضوی (اهدایی دکتر ضیاءالدین بنی‌هاشمی، دانشگاه شیراز) تهیه شد.

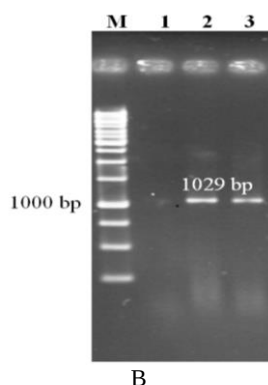
کشت قارچ و استخراج DNA: به منظور تهیه میسلیوم، از

محیط PDB (Potato Dextrose Broth) حاوی ۲۴ گرم در لیتر پودر Difco Potato Dextrose استفاده شد. بعد از ضدعفونی کردن محیط کشت آماده شده، هیف‌های قارچ در شرایط کاملاً استریل کشت و جهت استخراج DNA قارچ، به مدت ده روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با دور rpm ۱۲۵ و در حضور نور نگهداری شدند. بعد از گذشت ده روز از رشد قارچ، استخراج DNA به روش Gonzalez-Mendoza, et al (۷) با اندکی تغییرات انجام شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز یک درصد مورد بررسی قرار گرفت.

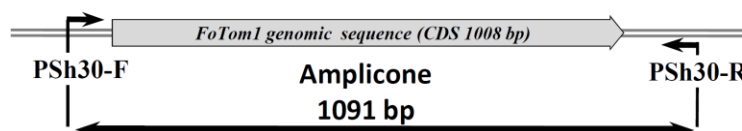
این مناطق یک جفت آغازگر اختصاصی بنام PSh30-F/R طراحی شد. این جفت آغازگر بر اساس اطلاعات موجود قطعه‌ای به طول ۱۰۹۱ جفت باز را از ژنوم FOL تکثیر می‌نماید. همچنین با توجه شباهت فرم‌های اختصاصی انتظار می‌رفت قطعه مشابهی نیز از ژنوم FOM تکثیر شود.

ردیابی همولوگ ژن FoTom1 در ژنوم FOM

بمنظور ردیابی ژن توماتیناز استخراج DNA از بافت میسلیم جدایه (R1) مربوط به نژاد یک از فرم اختصاصی FOM انجام شد و همچنین بعنوان کنترل جدایه، از فرم اختصاصی Fol نیز استفاده شد. پس از بهینه‌سازی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از آغازگرهای PSh30-F/R در الگوی الکتروفورزی مربوط به هر دو جدایه تک باند اختصاصی مشاهده شد (شکل ۱-ب). باند تکثیر شده با اندازه اندکی بالاتر از 1.1kb با قطعه قابل تکثیر مورد انتظار (۱۰۹۱ جفت باز) انطباق داشت. با توجه به انطباق تک باند تکثیر شده از ژنوم هر دو فرم اختصاصی با اندازه بدست آمده در آنالیزهای بیوانفورماتیک، نسبت به توالی‌یابی قطعه تکثیر شده اقدام شد تا صحت توالی نیز مورد بررسی قرار گیرد.



B



A

شکل ۱- نمای شماتیک (الف) و الگوی الکتروفورزی (ب) ژن توماتیناز نشان‌دهنده موقعیت توالی کد کننده (CDS)، محل اتصال آغازگرهای اختصاصی (PSh30-F/R) و طول قطعه قابل تکثیر بر اساس توالی FoTom1 (شماره دستیابی AJ012668)

Figure 1- Schematic view of tomatinase gene (A), and electrophoresis pattern of PCR products (B). Presents positions of coding sequences (CDS), special primers attachment sites (PSh30-F/R) and predicted amplicon size based on FoTom sequence with accession number (AJ012668)

دارند. در این محدوده ۱۰۲۵ نوکلئوتید کاملاً یکسان بود. مقایسه توالی ژن جدید FomTomR1 با توالی ژن FoTom1 نشان داد این دو ژن در ۱۴ نوکلئوتید با یکدیگر تفاوت دارند. ژن تکثیر شده فاقد هرگونه اضافه و کما داشت است. ژن FoTom1 فاقد اینترون می‌باشد لذا چهارچوب‌های خواندنی قابل کد شدن (ORF) در توالی تکثیر یافته نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد یک چهارچوب خواندنی در محدوده توالی‌یابی شده وجود

ثانویه پروتئین بررسی گردید. توالی ژن توماتیناز جداسازی شده از Fom نامگذاری و با استفاده از برنامه sequin در بانک ژن NCBI ثبت گردید.

نتایج و بحث

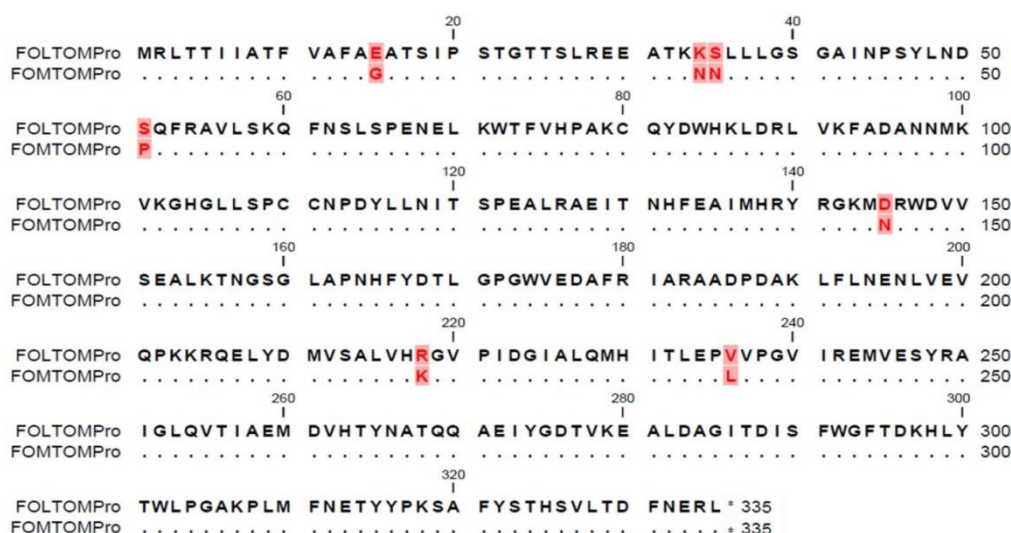
ژن توماتیناز FoTom1 از جمله ژن‌های کدکننده پروتئین‌های ترشحی است که در توسعه بیماری‌زایی قارچ FOL روی گیاه گوجه فرنگی نقش دارد. با توجه به گزارش‌های مربوط به ردیابی بخشی از توالی این ژن در فرم‌های اختصاصی دیگر در مطالعه حاضر تلاش شد بر اساس اطلاعات موجود نسبت به ردیابی توالی همولوگ ژن FoTom1 در ژنوم فرم اختصاصی FOM اقدام شود. در زمان نگارش پروژه، توالی کامل ژن توماتیناز مربوط به FOM در اختیار نبود بنابراین جهت طراحی آغازگر از توالی‌های این ژن در فرم‌های اختصاصی دیگر استفاده شد. به این صورت که با همردیفی ژن توماتیناز در سایر فرم‌های اختصاصی به وسیله نرم‌افزار Mega5، منطقه حفاظت شده ژن شناسایی و برای طراحی آغازگر مورد استفاده قرار گرفت. توالی بالادستی و پائین دستی اختصاصی این ژن جهت طراحی آغازگرهای اختصاصی مناسب بود (شکل ۱-الف). بر اساس

آنالیز توالی تکثیر شده از ژنوم Fom

محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بعد از خالص‌سازی به صورت دوجهته توالی‌یابی شد. پس از انطباق نتایج توالی‌یابی دو جهته قطعه ای به طول ۹۶۳ نوکلئوتید بدست آمد که انتظار می‌رفت توالی کدکننده پروتئین توماتیناز را بطور کامل در برداشته باشد. همردیفی جفتی توالی قطعه تکثیر شده با توالی ژن FoTom1 نشان داد هر دو توالی در محدوده‌ای به طول ۱۰۳۹ نوکلئوتید با یکدیگر همپوشانی

گزارش شده از قارچ FOL نشان داد که از میان هفت جهش بروز یافته در سطح پروتئین‌ها یک جهش در موقعیت اسید آمینه ۱۵ در ناحیه سیگنال پپتید و سه جهش در اسیدآمینه‌های ۱۴۵، ۲۱۸ و ۲۳۶ در ناحیه دومین هیدرولازی قرار دارد (شکل ۳).
براساس آنالیزهای صورت گرفته انتظار می‌رود توالی شناسایی شده مربوط به همولوگ ژن FoTom1 باشد. از آنجا که این ژن در ژنوم فرم اختصاصی Fom شناسایی شده است لذا بصورت FomTomR1 نامگذاری شد. سه حرف ابتدایی نشان‌دهنده نام فرم اختصاصی قارچ (Fom)، سه حرف دوم مربوط به نام ژن توماتیناز (Tom) و شماره ۱ مربوط به شماره همولوگ آن در فرم اختصاصی Fol است. توالی نوکلئوتیدی این ژن با شماره دستیابی (MF178403) در بانک ژن ذخیره شد.

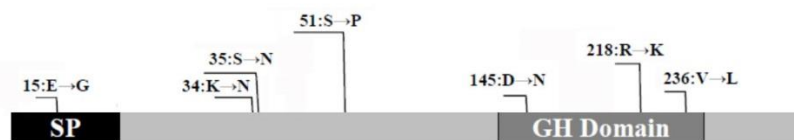
دارد که با توالی ژن FoTom1 انطباق دارد. چهارچوب خواندنی صحیح با ۳۳۵ کدون می‌تواند پروتئین ۳۳۵ اسیدآمینه‌ای را کد نماید. همدردی این پروتئین فرضی با پروتئین FoTom1 نشان داد ۹۸ درصد از اسیدهای آمینه هر دو پروتئین با یکدیگر یکسان هستند، ولی دو پروتئین در ۷ اسید آمینه با یکدیگر متفاوت هستند (شکل ۲). با این حال آنالیز توالی این پروتئین در برنامه SMART نشان داد از نظر نوع، موقعیت و تعداد دومین‌ها پروتئین جدید با پروتئین FoTom1 مشابه است. توالی سیگنال پپتید در ابتدای این پروتئین در محدوده ۱ تا ۲۳ قرار گرفته است. حضور این توالی نشان‌دهنده ترشحی بودن این پروتئین است. در توالی این پروتئین دُمین هیدرولازی در محدوده ۷۰ تا ۳۲۳ قرار گرفته است. بررسی موقعیت جهش‌ها در توالی تکثیر شده در مقایسه با توالی پروتئین توماتیناز



شکل ۲- نتایج همدردی ترجمه توالی نوکلئوتیدی (FOMTOMPro) تکثیر شده از قارچ FOM با توالی پروتئین توماتیناز (FOLTOMPro) مربوط به FOL با استفاده از برنامه MEGA

اسیدآمینه‌های مشابه بصورت نقاط و جهش‌های بروز یافته در سطح اسید آمینه‌ها با پس زمینه نشان داده شده است.

Figure 2- Alignment of translation of amplified sequence (FOMTOMPro) from FOM with the protein sequence of proteinase (FOLTOMPro) from FOL using MEGA5 software
Identical residues are dotted and non-synonym mutations are shaded with red background.

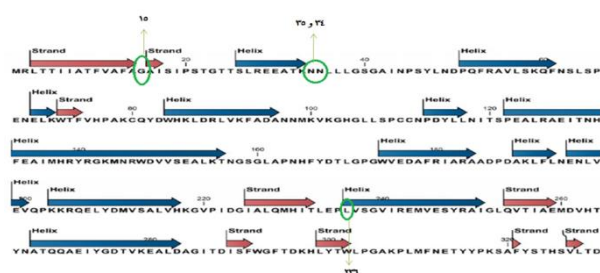


شکل ۳- نمای شماتیک موقعیت جهش‌های شناسایی شده در توالی پروتئینی FomTomR1 در مقایسه با پروتئین توماتیناز مربوط به قارچ FOL (CAA10112). SP: سیگنال پپتید، GH dom: دُمین گلیکوزید هیدرولاز

Figure 3- Schematic view of the mutation positions in predicted tomatinase homologues in FOM race 1 in comparison with sequence of the FOL tomatinase FolTom1 (CAA10112)
SP: signal peptide, GH Dom: Glycoside hydrolase

سه جهش در دمن کارکردی پروتئین رخ داده است که در جایگاه ۱۴۵ یک اسید آمینه اسیدی با بار منفی جای خود را به اسید آمینه قطبی و بدون بار داده است. جایگزینی صورت گرفته در جایگاه های ۲۱۸ و ۲۳۶ از نظر قطبیت و بار یکسان بوده است. در جایگاه ۲۱۸ هر دو اسید آمینه قطبی دارای بار مثبت می باشند. در جایگاه ۲۳۶ نیز هر دو اسید آمینه غیر قطبی هستند.

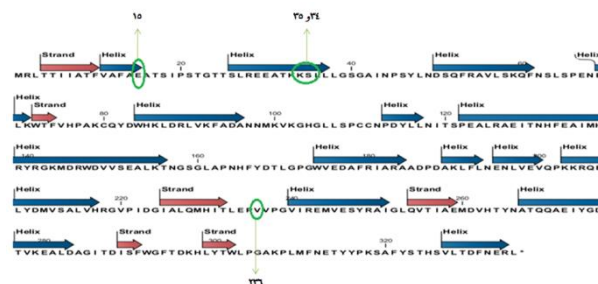
پیش بینی ساختار ثانویه پروتئین TomFOL و TomFOM با استفاده از نرم افزار CLC Main Workbench 5.5 نشان داد که چهار جهش اسید آمینه ای، منجر به تغییر ساختار ثانویه پروتئین شده است. مقایسه شکل های ۴ تفاوت ساختار ثانویه را نشان می دهد. همچنین جهش ناحیه ۲۳۶ که ایجاد ساختار آلفا هلیکس در TomFOM کرده است در ناحیه دمن گلیکوزیل هیدرولازی قرار دارد. بر اساس مقایسه ساختارها در دو پروتئین انتظار می رود در نتیجه جهش های رخ داده در فرم اختصاصی FOM ساختار ثانویه در موقعیت های ۱۵، ۳۴، ۳۵ و ۲۳۶ ساختار آلفا هلیکس را تغییر داده است.



FomTomR1

پیش بینی اثرات جهش ها در توالی همولوگ ژن توماتیناز در قارچ FOM

در تعدادی از اسید آمینه های جایگزین شده قطبیت و بار الکتریکی متفاوت بود. در اسید آمینه جایگاه پانزده اسید آمینه گلايسين که غیر قطبی است بجای گلوتامیک اسید (بار منفی و خاصیت اسیدی) قرار گرفته است. این منطقه مربوط به توالی سیگنال پپتید است و لذا انتظار می رود در عملکرد پروتئین پس از ترشح از قارچ تأثیری نداشته باشد. سه جهش در حد فاصل سیگنال پپتید و دومین هیدرولازی قرار گرفته اند که انتظار می رود بیشتر نقش ساختاری داشته باشند. در جهش اول لیزین به عنوان یک اسید آمینه قطبی با بار مثبت جای خود را به آسپارژین داده است که یک اسید آمینه قطبی ولی بدون بار به شمار می رود. در جایگاه های ۳۵ و ۵۱ اسید آمینه سرین به ترتیب جای خود را به آسپارژین و پرولین داده است. هر چند هر سه اسید آمینه قطبی و بدون بار هستند، ولی با توجه به ساختار متفاوت پرولین انتظار می رود جهش جایگاه ۵۱ در ساختمان پروتئین تأثیر گذار باشد.



FolTom1

شکل ۴- مقایسه ساختارهای آلفا هلیکس و بتا شیت در پروتئین توماتیناز در فرم اختصاصی FOL و FOM

فلش های آبی رنگ ساختار آلفا هلیکس و فلش های قرمز رنگ ساختار B، دواير سبز رنگ موقعیت اسیدهای آمینه جهش یافته را نشان می دهد (رسم شده به وسیله نرم افزار CLC Main Workbench 5.5).

Figure 4- Comparison of alpha helix and beta sheet structures in homologs of tomatinase protein in forma specials FOL (FolTom1) and FOM (FomTomR1)

Blue and red arrows: alpha helix and beta sheet steracture respectively, green sircles: position of mutated residues.

است بنابراین از اطلاعات این ژن استفاده شده و آغازگرهای اختصاصی جهت تکثیر این ژن در ژنوم این قارچ طراحی، قطعه مورد نظر تکثیر و توالی یابی گردید. ناحیه کدکننده توماتیناز مربوط به قارچ FOM، دارای چارچوب خواند باز با طول ۹۹۵ جفت باز می باشد که فاقد اینترون است. ژن توماتیناز یک پروتئین پیش بینی شده با تعداد ۳۳۵ اسید آمینه را کد می کند که وزن مولکولی آن حدود ۳۸ کیلو دالتون می باشد. توالی پروتئینی پیش بینی شده، در مقایسه با FoTom1 شامل دو جایگاه فعال آنزیمی در موقعیت ۱۲۳ و ۱۵۲ دارای اسید آمینه گلوتامیک اسید و یک پپتید سیگنالی ۱۶ اسید آمینه ای در انتهای N می باشد. ژن توماتیناز FOM مشابه ژن FoTom1 یک

نتیجه گیری

امروزه آنزیم های گلیکوزیل هیدرولاز به علت استفاده وسیع در کاربردهای بیوتکنولوژی بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. توماتیناز یک آنزیم گلیکوزیل هیدرولازی است که تأثیر آن در مکانیسم بیماری زایی بعضی از قارچ ها ثابت شده است. با توجه به گزارش حضور ژن توماتیناز در قارچ *F. oxysporum* f. sp. *melonis* با استفاده از تکنیک هیبریداسیون (۸)، اثبات حضور این ژن در ژنوم قارچ FOM با استفاده از روش های مولکولی دیگر و شناسایی توالی کامل این ژن ضروری به نظر می رسد. از طرف دیگر همولوگ ژن توماتیناز در قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopercisi* به طور دقیق تری بررسی شده

دُمین گلیکوزیل هیدرولازی مربوط به خانواده ۱۰ در محدوده ۳۲۳-۷۰ دارد. بررسی *FomTomR1* و مقایسه آن با *FoTom1* وجود ۱۴ موتاسیون در سطح نوکلئوتیدی را تأیید نمود که نیمی از این جهش‌ها معنی‌دار بوده و در سطح پروتئین نیز ایجاد موتاسیون کرده‌اند. چند جهش پروتئینی به تغییر خاصیت شیمیایی اسیدهای آمینه و تغییر ساختار ثانویه نیز منتج شد که یکی از این تغییرات ساختار ثانویه در محدوده دُمین گلیکوزیل هیدرولازی می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی و مدیریت محترم پژوهشکده علوم گیاهی که فضای آزمایشگاهی لازم را جهت اجرای این تحقیق مهیا نمودند صمیمانه تشکر می‌نمایم.

منابع

- 1- Agrios G.N. 2005. Plant Pathology, 5th ed. Academic Press. 922 pp.
- 2- Arneson P., and Durbin RD. 1968. Studies on the Mode of Action of Tomatine as a Fungitoxic Agent. Plant Physiology 43: 683-686.
- 3- Carter J.P., Spink J.P., Cannon M., Daniels J., and Osbourn A.E. 1999. Isolation, characterization and avenacin sensitivity of a diverse collection of cereal-root-colonizing fungi. Appl. Environ. Microbiology 65: 3364-3372.
- 4- Crombie W.M.L., Crombie L., Green J.B., and Lucas J.A. 1986. Pathogenicity of the take-all fungus to oats: its relationship to the concentration and detoxification of the four avenacins. Phytochemistry 25: 2075-2083.
- 5- Davies G., and Hernissat B. 1999. Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases. Curr Biology 3: 853-859.
- 6- Ford J.E., McCance D.J., and Drysdale R.B. 1977. The detoxification of a-tomatine by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Phytochemistry 16: 545-546.
- 7- González-Mendoza D., Argumedo-Delira R., Morales-Trejo A., Pulido-Herrera A., Cervantes-Díaz L., Grimaldo-Juarez O., and Alarcón A. 2010. A rapid method for isolation of total DNA from pathogenic filamentous plant fungi. Genetics and Molecular Research 9(1): 162-166.
- 8- Ito S., Kawaguchi T., and Nagata A. 2004. Distribution of the FoTom1 gene encoding tomatinase in formae speciales of *Fusarium oxysporum* and identification of a novel tomatinase from *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, the causal agent of Fusarium crown and root rot of tomato. Journal Gen Plant Pathology 70: 195-201.
- 9- Ito S., Nagata A., Kai T., Takahara H., and Tanaka S. 2005. Symptomless infection of tomato plants by tomatinase producing *Fusarium oxysporum* formae speciales nonpathogenic on tomato plants. Physiol. Mol. Plant Pathology 66: 183-191.
- 10- Keukens E.A.J., Vrije T., Van den Boom C., Waard H., Plasmma H., Thiel F., Chupin V., Jongen W.M.F., and Kruijff B.de. 1995. Molecular basis of glycoalkaloid induced membrane disruption. Biochim. Biophys. Acta, 1240: 216-228.
- 11- Lairini K., Pérez-Espinosa A., Pineda M., and Ruiz-Rubio M. 1996. Purification and characterization of tomatinase from *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Appl. Environ. Microbiology 62: 1604-1609.
- 12- Lairini K., Perez-Espinosa A., and Ruiz-Rubio M. 1997. Tomatinase induction in formae speciales of *Fusarium oxysporum* non-pathogenic of tomato plants. Physio Mol Plant Pathology 50: 37-52.
- 13- Lairini K., and Ruiz-Rubio M. 1998. Detoxification of a-tomatine by *Fusarium solani*. Mycol. Research 11: 1375-1380.
- 14- Morrissey J.P., and Osbourn A.E. 1999. Fungal Resistance to Plant Antibiotics as a Mechanism of Pathogenesis. Microbiol mol biol R, 63: 708-724.
- 15- Osbourn A.E. 1996. Saponins and plant defence—a soap story. Trends Plant Science 1:4-9.
- 16- Pegg G.F., and Woodward S. 1986. Synthesis and metabolism of- tomatine in tomato isolines in relation to resistance to *Verticillium albo-atrum*. Physiol. Mol. Plant Pathology 28: 333-338.
- 17- Roldán-Arjona T., Perez-Espinosa A., and Ruiz-Rubio M. 1999. Tomatinase from *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* defines a New Class of Saponinases. MPMI 12: 852-861.
- 18- Safe L.M., Safe S.H., Subden R.E., and Morris D.C. 1977. Sterol content and polyene antibiotic resistance in isolates of *Candida krusei*, *Candida parakrusei* and *Candida tropicalis*. Can. J. Microbiology 23: 398-401.
- 19- Sandrock R.W., DellaPenna D., and VanEtten H.D. 1995. Purification and characterization of b2-tomatinase, an enzyme involved in the degradation of a-tomatine and isolation of the gene encoding b 2-tomatinase from *Septoria lycopersici*. Mol. Plant-Microbe Interact 8: 960-970.
- 20- Steel C.C., and Drysdale R.B. 1988. Electrolyte leakage from plant and fungal tissues and disruption of liposome membranes by- tomatine. Phytochemistry 27:1025-1030.
- 21- VanEtten H.D., Mansfield J.W., Bailey J.A., and Farmer EE. 1994. Two Classes of Plant Antibiotics: Phytoalexins versus “Phytoanticipins”. The Plant Cell 6: 1191-1192.



Homology Base Tracking of *Tomatinase* in the Genome of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*

F. Zarandi^{1*} - F. Shokouhifar² - B. Sharif Nabi³ - B.E. Sayed Tabatabaei⁴ - Z. Bani Hashemi⁵

Received: 04-11-2016

Accepted: 13-12-2017

Introduction: Phytopathogenic fungi exposes various proteins to overcome plant defense systems. Production of saponins likes α -Tomatine is one of the tomato preformed defenses barriers which should be detoxicated by the pathogens. It has been revealed before which most of *Fusarium* species and forma specials could produce tomatinase, a glycosyl hydrolases protein, to de-glycosylate α -Tomatine. *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM) wildy attached melon cultivars and at the time of this investigation, there was only one report underlining the existence of the gene sequence of tomatinase in the genome of FOM using southern blotting experiment. This study was carried out to track the whole tomatinase gene sequence in the FOM genomic sequence and investigate the probability genetic variation of the gene in the nucleotide and protein sequences.

Materials and Methods: *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (Fom) race1 have been previously reported in Khorasan, Iran. It was cultured in liquid medium and the mycelia were used for the genomic DNA isolation. Primers were designed based on conserved sequence in upstream and downstream of FoTom1 sequence (AJ012668). PCR was carried out and amplified segments were bi-directional sequenced. The results were then analyzed by Vector NTi software. The sequencing result was aligned with FoTom1 sequence as Refseq and the single nucleotide variations were detected by CLC work bench software. The effects of the mutations on the protein structure were predicted by CLC work bench software.

Results and Discussion: Electrophoresis pattern of PCR products showed a single band of the expected size in the strain FomR1 that was at the same size of the band amplified from FoL genome. The designed primers based on the FoTom1 sequence amplified a specific segment in the Fom genome. Alignment the sequencing results with the Fo-Tom1 from *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopercisi* (Fol) in nucleotide level revealed 14 mutations which seven of them were appeared in the protein sequence. Three mutations occurred in the functional domain of the protein. At the position 145, an acidic amino acid with a negative charge was substituted by a polar amino acid. Replacements at positions 218 and 236 were the same in terms of polarity and at position 218; both amino acids have a positive charge.

There were no introns in the coding sequence of FomTom R1 region as same as FoTom1. Pairwise alignment results showed some an-synonyms mutations between two sequences that made some changes in the secondary structure of the translated protein from FomTomR1. The first an-synonym mutation, SNP15 (E→G), inside the signal peptide, converts the alpha helix to a new beta sheet. SNP34 (K→N) and SNP35 (S→N) mutations shortened the alpha helix. The other mutations happened out of the alpha helixes and beta sheets. To predict the effects of the mutations on the FomTomR1function, in-silico analyses were carried out. The results revealed that three mutations occurred in the functional domains of tomatinase in Fom. The mutations in the hydrolysis domain may affect the structure of FomTomR1and can be effective in the protein. The presence of different active saponins components in Melon may be an evolutionary reason for some variation in sequence and structure of the FomTomR1 protein in Fom. To prove the differences in the tomatinase function, the interaction of proteins with various types of melon saponins components should be investigated at the future studies.

Conclusion: The results showed the tracked sequence could be homolog of the Tomatinse gene in the Fom genome. We named it Fom-TomR1 and the sequenced was submitted in the Genbank with accession number MF178403. For the future study, the gene influences should be investigated in the pathogenesis of FOM on melon cultivars and it could be considered as a general screening index using heterologous expression of the

1 and 4- M.Sc. Student and Professor, Department of Biotechnology, Esfahan University of Technology, Esfahan (*- Corresponding Author Email: fateme.zarandi77@yahoo.com)

2- Assistant Professor Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3- Professor Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Esfahan University of Technology, Esfahan

5- Professor Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz

gene.

Keywords: Fusarium wilts disease, Gene detection, Secondary structure prediction, Single nucleotide polymorphism

کاربرد روش‌های مولکولی در ردیابی ویروس تریستزای مرکبات در شته جالیز

فرشته اسمعیل زاده میان‌لنگه^۱ - سید مهدی بنی‌هاشمیان^{۲*} - احمد روحی بخش^۳ - سیروس آقاجانزاده^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۰۸

چکیده

ویروس تریستزای مرکبات (*Citrus tristeza virus; CTV*)، عامل مهم‌ترین بیماری ویروسی مرکبات است و شته جالیز (*Aphis gossypii*) به عنوان ناقل کارای این ویروس در ایران معرفی شده است. در این تحقیق، روش‌های مختلف ردیابی ویروس تریستزای مرکبات در شته جالیز با استفاده از جدایه SD4 از کلکسیون ویروسی پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری مورد ارزیابی قرار گرفت. کلنی خالص این شته ابتدا به مدت ۴۸ ساعت روی منبع آلوده به ویروس و سپس روی گیاهچه‌های لیموترش مکزیکی (*Citrus aurantifolia*) تحت شرایط کنترل شده قرار داده شد. حضور ویروس در گیاهان گیرنده پس از سه ماه بر اساس علائم و روش سرولوژی ایمونوپرینت (Direct tissue blot immunoassay) تشخیص داده شد. آلودگی این گیاهان با استفاده از RT-PCR؛ Reverse transcription polymerase chain reaction؛ دو مرحله‌ای با جفت آغازگرهای اختصاصی پوشش پروتئینی T36CPF/T36CPR بر اساس اسیدریبونوکلیک استخراج شده به روش SDS-Potassium acetate از بافت گیاهی مورد تأیید قرار گرفت. در تشخیص مستقیم ویروس از شته، RT-PCR یک مرحله‌ای و اسیدریبونوکلیک استخراج شده از شته‌ها به روش تریزول به کار گرفته شد و باندهای خفیفی به اندازه ۶۷۲ جفت باز به دست آمد. با انجام مرحله دوم PCR، براساس فرآورده به دست آمده از مرحله اول و با استفاده از جفت آغازگرهای T36CPF/P25R، قطعات مشخص با اندازه ۳۶۲ جفت باز حاصل گردید. در حالی که RT-PCR آشیانه‌ای (RT-nested-PCR) با ترکیب آغازگرهای PexF/PexR-PinF/PinR، به دلیل ایجاد مثبت کاذب در شرایط مطالعه حاضر قادر به ردیابی ویروس در شته‌های آلوده نبود.

واژه‌های کلیدی: آزمون بیولوژی، تشخیص مستقیم، شته ناقل، ویروس تریستزا

مقدمه

۲۷ کیلو دالتون تشکیل شده است (۲۷). پراکنش تریستزا به مناطق جدید با جابه‌جایی مواد تکثیری آلوده و چند گونه شته انجام می‌شود (۳۰). در بین شته‌های مرکبات، شته قهوه‌ای (*Toxoptera citricida*) به عنوان مهم‌ترین ناقل این ویروس شناخته شده است. با این حال، این شته در مناطقی مانند آمریکای شمالی، حوزه مدیترانه، ایران و برخی کشورهای دیگر وجود ندارد. در این کشورها شته جالیز (*Aphis gossypii*) که دومین ناقل کارای ویروس تریستزا به حساب می‌آید، به عنوان ناقل اصلی ویروس فعالیت دارد (۳۱). این شته از طریق تغذیه مستقیم از شیر گیاهی، تولید عسلک و انتقال حدود ۷۶ ویروس بیماری‌زای گیاهی باعث خسارت جدی به محصولات کشاورزی می‌شود (۱۴). برای مدت‌های متمادی روش‌های مختلف بیولوژی و سرولوژی به منظور ردیابی تریستزا در ناقلین مورد استفاده قرار گرفت (۸ و ۲۳). در سال‌های اخیر تکنیک‌هایی چون RT-PCR (۱۶)، RT-PCR آشیانه‌ای (RT-nested-PCR) (۲۲ و ۲۶)، RT-nested-PCR Squash-capture (۱۵ و ۲۱) و Real-time

ویروس تریستزای مرکبات (*Citrus tristeza virus; CTV*) متعلق به جنس *Closterovirus* و خانواده *Closteroviridae*، عامل مهم‌ترین بیماری ویروسی مرکبات است (۱۹). پیکره ویروس از رشته‌های مارپیچی با اندازه حدود 11×2000 نانومتر و دو پروتئین ۲۵ و

۱ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی و استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه گیلان، رشت

۲- استادیار گروه ژنتیک و به‌نژادی، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر

*- نویسنده مسئول: (Email: m.banihashemian@areeo.ac.ir)

۴- دانشیار گروه فناوری و مدیریت تولید، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر

RT-PCR (۷ و ۲۶) به این منظور به کار رفته‌اند. در ایران، تریتستزا از مناطق مرکبات خیز شمال و جنوب گزارش و شته جالیز به عنوان ناقل بیماری معرفی شده است (۱، ۲۴، ۲۸ و ۳۳). ردیابی ویروس تریتستزا در ناقلین پیشتر براساس روش‌های بیولوژی، سرولوژی و میکروسکوپ الکترونی صورت گرفته است (۲، ۶، ۱۲ و ۱۷). با این حال دستیابی به تکنیک‌های مولکولی سریع و حساس جهت انجام مطالعات اپیدمی‌شناسی خصوصاً با توجه به وقوع گسترده زوال درختان مرکبات روی پایه نارنج در مناطق مختلف کشور (۵) ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

جدایه SD4 از کلکسیون ویروسی پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری جهت آزمون انتقال ویروس انتخاب گردید. این جدایه از باغات با علائم زوال پرتقال روی پایه نارنج در خارج از کانون اصلی آلودگی شهرستان ساری به دست آمد و کارایی روش‌های بیولوژی، سرولوژی و مولکولی در تشخیص آن پیش‌تر اثبات گردید (۴). گیاهچه‌های لیموترش مکزیکی (*Citrus aurantifolia*) آلوده به این جدایه، به عنوان میزبان دهنده ویروس، مورد استفاده قرار گرفت. شته جالیز پس از جمع‌آوری از درختان مرکبات، روی بوته‌های خیار پرورش یافت. قطعات برگ خیار حامل کلنی خالص شته‌ها (اعم از پوره و بالغ) روی برگ‌های جوان گیاهان محک لیموترش مکزیکی آلوده به ویروس قرار داده شد تا شته‌ها به مدت ۴۸ ساعت از آنها تغذیه کنند. پس از گذشت این زمان، شته‌ها با قلم‌مو جمع‌آوری و روی برگ‌های جوان گیاهچه‌های لیموترش بذری قرار داده شدند. تغذیه شته‌ها از این گیاهان نیز ۴۸ ساعت به طول انجامید. نهال‌ها پس از حذف شته‌ها با حشره‌کش به گلخانه خنک (به ترتیب ۲۴ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد در روز و شب) با پوشش توری ضد حشره انتقال

یافتند. برای تلقیح ویروس، ۲۰ گیاهچه و به ازای هر گیاهچه، ۲۰ شته در نظر گرفته شد. صحت انتقال ویروس با شته، پس از سه ماه، با رصد علائم، سرولوژی و RT-PCR مورد تأیید قرار گرفت. در روش سرولوژی، تکنیک ایمونوپرینت (Direct tissue blot immunoassay) مطابق مراحل توصیف شده توسط کمبرا و همکاران (۹) با آنتی سرم تجاری شرکت بیوربا (Bioreba) به کار رفت. جهت انجام RT-PCR، ابتدا اسیدریبونوکلیک کل از بافت گیاهان محک آلوده شده با شته به روش SDS- acetate Potassium (۳) استخراج و سپس آزمون RT-PCR دو مرحله‌ای براساس دستورالعمل و پروفایل دمایی پیشنهادی کیت‌های Revert Aid و PCR Master Mix (Fermentas) با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی ژن پروتئین پوششی 36CPF/T36CPR (جدول ۱) انجام و نتایج در ژل آگارز ۱٪ مورد بررسی قرار گرفت.

به منظور ردیابی مستقیم ویروس در شته، از روش استخراج اسیدریبونوکلیک کل با تریازول (Ambion and Life Technologies) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده گردید. آموده حاصله با واکنش RT-PCR یک مرحله‌ای با کمک آنزیم AMV Reverse Transcriptase (Fermentas) و شرایط و آغازگرهای T36CPF/T36CPR معرفی شده توسط کمپولو و همکاران (۱۱) مورد ارزیابی قرار گرفت. محصول نهایی این واکنش براساس روش ساپوناری و همکاران (۲۶) به عنوان الگو در nested-PCR با استفاده از آغازگرهای T36CPF/P25R وارد شد. آزمون RT-nested-PCR با ترکیب آغازگرهای ژن 3'UTR شامل PinF/PinR و PexF/PexR به ترتیب مربوط به مراحل اول و دوم نیز انجام گردید (۲۲). توالی آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- آغازگرهای مورد استفاده در ردیابی ویروس تریتستزا در شته جالیز

Table 1- Primers used for detection of CTV in *A. gossypii*

منبع	کاربرد	ژن هدف	ترادف	جهت	پرایمر
Reference	Application	Target gene	Sequence (5'-3')	Direction	Primer
Hilf and Garnsey, 2000	RT-PCR	CP	ATGGACGACGAAACAAATTG	Forward	T36CP
Hilf and Garnsey, 2000	RT-nested-PCR	CP	ATGGACGACGAAACAAATTG	Forward	T36CP
Hilf and Garnsey, 2000	RT-PCR	CP	TCAACGTGTGTTGAATTTCCCA	Reverse	T36CP
Saponari et al., 2008*	RT-nested-PCR	CP	TCAGTCCAAGTTTGTGAGA	Reverse	P25
Olmos et al., 1999	RT-PCR	3'UTR	CATCTGATTGAAGTGGAC	Forward	PEX
Olmos et al., 1999	RT-PCR	3'UTR	TAAACAACACACACTCTAAGG	Reverse	PEX
Olmos et al., 1999	RT-nested-PCR	3'UTR	TATCACTAGACAATAACCGGATGGGTA	Forward	PIN
Olmos et al., 1999	RT-nested-PCR	3'UTR	GGTTCACGCATACGTTAAGCCTCACT	Reverse	PIN

* آغازگر توصیه شده برای Real time RT-PCR با تغییراتی در توالی، جهت RT-PCR طراحی گردید.

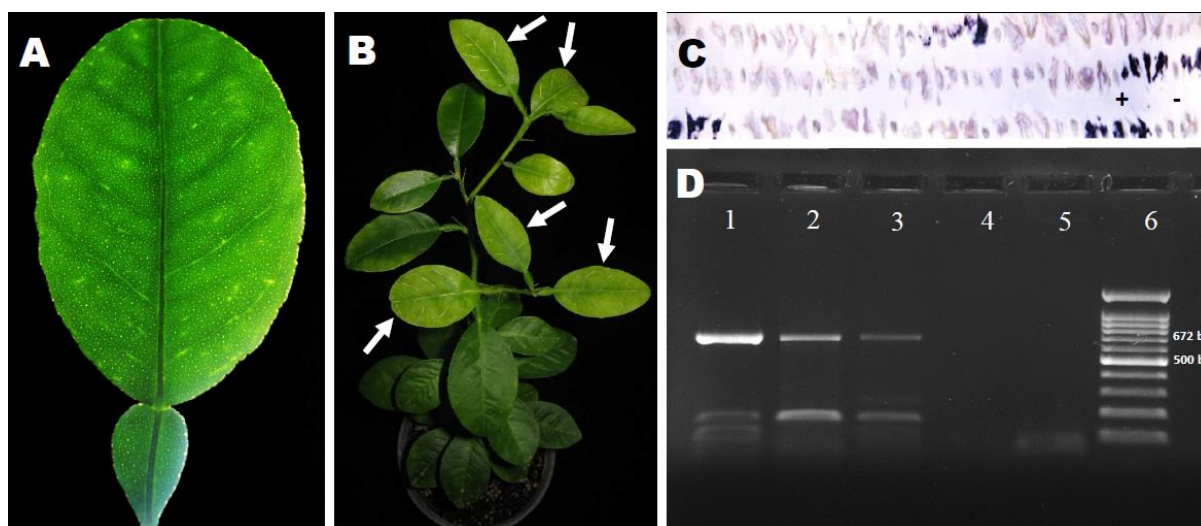
نتایج

از سه ماه پس از آلوده‌سازی گیاهچه‌های لیموترش مکزیکی با

شته جالیز و نگهداری در گلخانه با شرایط کنترل شده دمایی، علائم مشخصه تریتستزا در این گیاه محک یعنی رگبرگ روشنی (Vein

و عصاره استخراج شده از گیاهان محک آلوده شده با شته جالیز به منظور تأیید نتایج آزمون‌های بیولوژی و سرولوژی انجام شد، قطعه مورد انتظار از ژن پروتئین پوششی ویروس تریتستزای مرکبات به طول ۶۷۲ جفت باز علاوه بر لیموترش منبع تغذیه شته، در گیاهان محک آلوده شده با این حشرات نیز تکثیر شد (شکل D-۱).

برگ‌های جوان (شکل A-۱) و رگبرگ کرکی (clearing) برگ‌های مسن (شکل B-۱) در بیست درصد گیاهان لیموترش نمایان شد. آلودگی این گیاهچه‌ها با آزمون ایمونوپرینت نیز مشخص گردید. به این صورت که تغییر رنگ مقطع بافت تنها در نمونه‌های آلوده به ویروس مشاهده شد (شکل C-۱). در RT-PCR که با استفاده از آغازگرهای اختصاصی 36CPF/T36CPR (جدول ۱)



شکل ۱- ردیابی ویروس تریتستزا در شته جالیز به روش غیرمستقیم با آزمون گیاه محک لیموترش مکزیکی با استاندارد به علائم رگبرگ روشنی (A) و رگبرگ کرکی (B)، تأیید آلودگی به روش ایمونوپرینت (C) و RT-PCR (D)

چاهک‌ها: ۱- لیموترش منبع تغذیه شته ۲ و ۳- گیاه محک آلوده شده با شته جالیز ۴- کنترل فاقد الگو ۵- لیموترش سالم ۶- نشانگر با اندازه ۱۰۰ جفت باز

Figure 1- Indirect detection of CTV in *A. gossypii* based on monitoring of vein clearing (A) and vein corking (B) symptoms in Mexican lime infected with the aphid. Infection confirmation by direct tissue blot immunoassay (C) and RT-PCR (D)
Lanes: 1. Infected source plant, 2 and 3. Indicator plant infected with aphids, 4. PCR control, 5. Negative healthy control, 6. 100 bp DNA marker.

کارگیری تکنیک‌های سریع، مؤثر و کارآمد جهت ردیابی ویروس در ناقل حائز اهمیت است. تشخیص پیکره‌های ویروس در شته‌هایی که می‌توانند ویروس را منتقل کنند، علاوه بر مطالعات اپیدمی‌شناسی، به انتخاب راهبرد کنترل بیماری نیز کمک می‌کند. در مناطقی که تریتستزا همه‌گیر است، مدیریت بیماری بر مبنای ترویج استفاده از پایه‌های متحمل در حالی که در نواحی با آلودگی محدود، بر ریشه‌کنی کانون‌ها استوار است (۱۰).

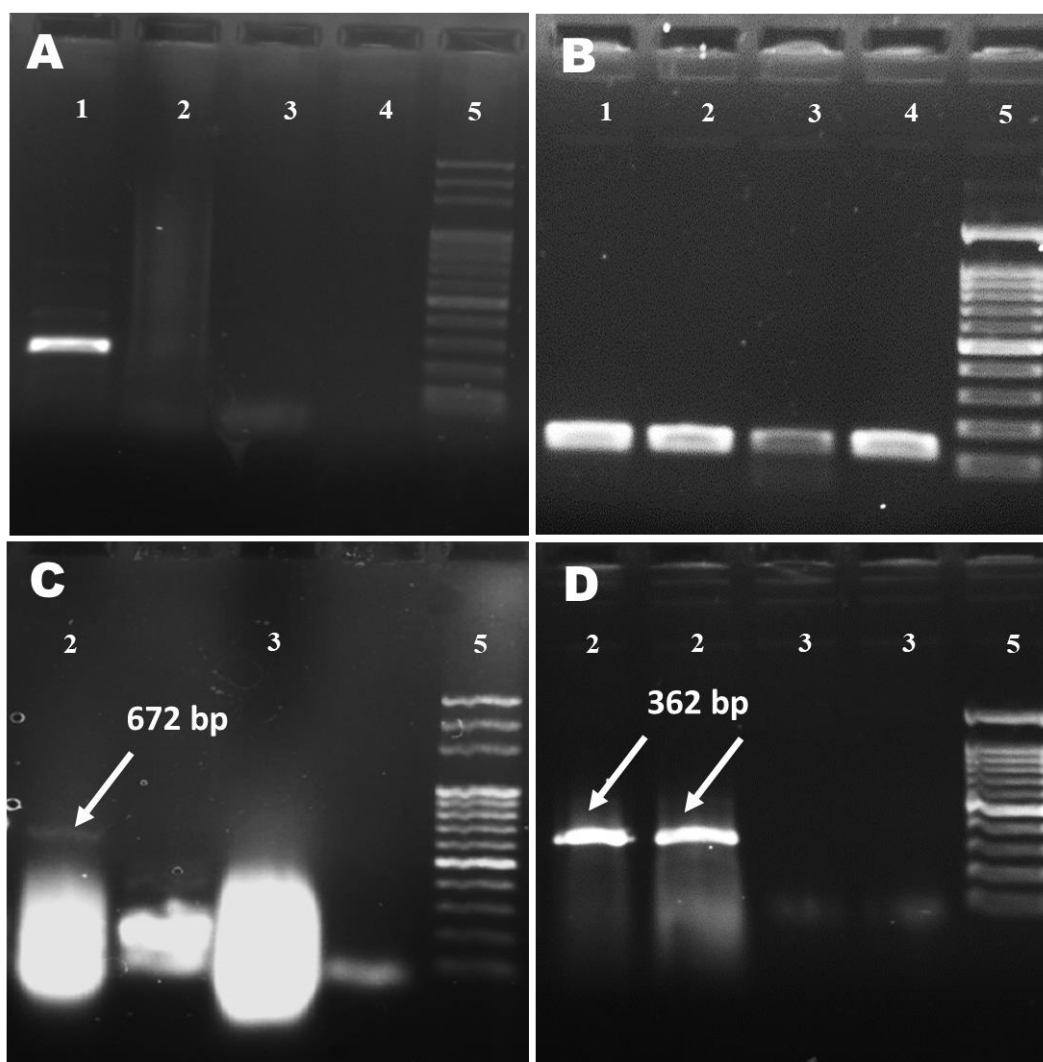
تیترا پایین ویروس‌ها در ناقلین ردیابی آن‌ها را دشوار ساخته است. به کارگیری روش مولکولی RT-PCR تنها در صورتی که کارایی استخراج اسیدریبونوکلیک با استفاده از موادی مانند Gene Releaser و تریازول افزایش یابد، امکان تشخیص ویروس در شته را فراهم می‌آورد (۱۶ و ۲۶). با وجود اینکه این روش جهت ردیابی تعدادی از ویروس‌های گیاهی در ناقلین استفاده شده است (۲۰ و ۲۹)، با این حال، برای تشخیص ویروس‌های منتقل شده به صورت نیمه پایا از جمله ویروس تریتستزا به تکنیک‌های حساس‌تری نیاز است

به منظور ردیابی مستقیم ویروس تریتستزا در شته، آموده حاصله از استخراج اسیدریبونوکلیک به روش تریازول ابتدا در واکنش RT-PCR با جفت آغازگرهای T36CPF/T36CPR مورد ارزیابی قرار گرفت و باندهای خفیفی به اندازه ۶۷۲ جفت باز به دست آمد (شکل C-۲). با انجام مرحله دوم PCR، براساس فرآورده به دست آمده از مرحله اول و با استفاده از جفت آغازگرهای T36CPF/P25R، T36CPF/P25R، قطعات مشخص با اندازه ۳۶۲ جفت باز حاصل گردید. در حالی که در شته‌های تغذیه کرده از گیاهان سالم و نمونه‌های فاقد الگو، این قطعه تکثیر نگردید (شکل D-۲). RT-nested-PCR با آغازگرهای PexF/PexR در مرحله اول (شکل A-۲) و PinF/PinR در فاز دوم با واکنش مثبت کاذب همراه گردید (شکل B-۲).

بحث

با گسترش مناطق آلوده به ویروس تریتستزا در کشور (۱، ۲۸ و ۳۳) و قابلیت انتقال این ویروس توسط شته جالیز (۲۴)، لزوم به

(۱۵، ۲۲ و ۲۶). در تحقیق حاضر نیز امکان تشخیص ویروس در شته ناقل با روش RT-PCR به جهت استفاده از ترایزول میسر گردید.



شکل ۲- ردیابی ویروس تریستزا در شته جالیز به روش مستقیم؛ RT-PCR با جفت آغازگر PexF/PexR (A)، nested-RT-PCR با واکنش مثبت کاذب براساس محصول PCR شکل A و جفت آغازگر PinF/PinR (B)، RT-PCR با جفت آغازگر T36CPF/T36CPR (C)، nested-RT-PCR با جفت آغازگر T36CPF/P25R براساس محصول PCR شکل C (D)

چاهک‌ها: ۱- گیاه منبع تغذیه شته، ۲- شته تغذیه کرده از گیاه آلوده، ۳- شته تغذیه کرده از گیاه سالم، ۴- کنترل فاقد الگو، ۵- نشانگر با اندازه ۱۰۰ جفت باز

Figure 2- Direct detection of CTV in *A. gossypii*; RT-PCR with PexF/PexR primers (A), nested-RT-PCR with false positive by PinF/PinR based on PCR product of fig A (B), RT-PCR with T36CPF/T36CPR primers (C), nested-RT-PCR by T36CPF/P25R based on PCR product of fig C (D)

Lanes: 1- Infected source plant, 2. Positive aphid, 3. Negative aphid, 4. PCR control, 5. 100bp DNA marker

طولانی، نیاز به شرایط گلخانه‌ای خاص و تأثیر شرایط محیطی بر ظهور علائم از معایب آن است (۱۸). محک‌ها حساس‌ترین گیاهان شناخته شده از نظر تکثیر و بروز علائم برای ویروس‌های معین هستند. از این رو تیترو ویروس در ایندکس بیولوژی به شدت افزایش می‌یابد. ایندکس بیولوژی در این بررسی نیز با موفقیت برای ردیابی

ایندکس بیولوژی به عنوان ابزاری برای تشخیص بیماری‌های ویروسی و شبه‌ویروسی مرکبات استفاده می‌شود. اساس این روش مبتنی بر آلوده‌سازی گیاهان محک با پیوند یا ناقل و مشاهده علائم در آنها است (۳۲). سنجش عینی فعالیت‌های بیولوژی از قبیل توان انتقال و تکثیر براساس تولید علائم، از مزایای این آزمون و زمان

شته‌های تغذیه کرده از گیاه آلوده با جفت آغازگرهای T36CPF/T36CPR، باندهای خفیفی به اندازه ۶۷۲ جفت باز به دست آمد (شکل ۲-۲). با انجام مرحله دوم PCR، براساس فرآورده به دست آمده از مرحله اول و با استفاده از جفت آغازگرهای T36CPF/P25R، قطعات مشخص با اندازه ۳۶۲ جفت باز حاصل گردید (شکل ۲-۲). اما RT-PCR آشیانه‌ای با آغازگرهای PexF/PexR و PinF/PinR به دلیل پیدایش مثبت کاذب موفقیت آمیز نبود (شکل ۲-۲ و B). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد RT-nested-PCR بر اساس روش استخراج کارآمد و انتخاب آغازگرهای مناسب، تکنیکی حساس، سریع و قابل اعتماد در ردیابی ویروس تریتستزا در ناقل شته جالیز می‌باشد و به دلیل ردیابی مقادیر جزئی ویروس، در مطالعات اپیدمی‌شناسی و مدیریت بیماری تریتستزا در کشور کارایی دارد.

سپاسگزاری

نویسندگان مراتب سپاس و تشکر خود را از پروفسور پدرو مورو (مؤسسه‌ی تحقیقات کشاورزی والنسیا، اسپانیا) جهت مشاوره علمی و خانم سیده نجمه بنی‌هاشمیان و آقای ایمان جورنریان به علت کمک در آزمون‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای ابراز می‌دارند.

ویروس در شته جالیز به کار رفت و پس از آزمون انتقال ویروس با حشره به گیاه محک بیماری تریتستزا یعنی لیموترش مکزیکی، علائم مشخصه بیماری در این گیاهان ظاهر گردید. ضمن اینکه حضور ویروس با آزمون سرولولژی و مولکولی هم مورد تأیید قرار گرفت. در RT-PCR از بافت گیاه محک، از روش SDS-Potassium acetate (۳) که نسبت به روش استخراج تریازول، ساده‌تر و کم‌هزینه‌تر است استفاده گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که تشخیص ویروس تریتستزا با روش RT-PCR از گیاه محک لیموترش مکزیکی مدتی پس از آزمون انتقال، نوعی ردیابی غیر مستقیم اما قابل اعتماد این ویروس در شته‌های ناقل به حساب می‌آید.

RT-PCR آشیانه‌ای یکی از حساس‌ترین روش‌هایی است که به منظور تشخیص مستقیم ویروس در ناقلین معرفی شده است. از آنجا که در این سیستم، محصول واکنش RT-PCR به عنوان الگو برای مرحله دیگری از PCR مورد استفاده قرار می‌گیرد، بروز آلودگی و تکثیر قطعات ناخواسته و ظهور واکنش مثبت کاذب خصوصاً در صورت عدم انتخاب آغازگرهای مناسب اجتناب ناپذیر است (۲۵). کارایی این تکنیک نیز مستقیماً با روش استخراج، ارتباط دارد (۲۶). در تحقیق حاضر، RT-nested-PCR با دو گروه آغازگری از دو ناحیه مختلف ژنوم (جدول ۱) در تشخیص ویروس تریتستزای مرکبات در شته جالیز مورد بررسی قرار گرفت. در واکنش RT-PCR یک مرحله‌ای و اسیدریبونوکلئیک استخراج شده به روش تریازول از

منابع

- Ahmadi S., Afsharifar A., Niazi A., and Izadpanah K. 2008. Distribution and genetic diversity of *Citrus tristeza virus* isolates in Kerman province. Iranian Journal of Plant Pathology 43: 353-371. (In Persian with English abstract)
- Alavi V., and Rezvani A. 2007. Seasonal fluctuations of citrus aphid in the East of Mazandaran and *Citrus tristeza virus* transmissibility by the major species. Plant Pests and Diseases 75: 49-53. (In Persian with English abstract)
- Bahri B., Bani Hashemian S.M., Koolivand D., and Radmand O. 2013. Application of a simple nucleic acid extraction method for detection of *citrus tristeza virus*. In: 8th national biotechnology congress of Iran and 4th congress on biosafety and genetic engineering July 6-8, Tehran. (In Persian with English abstract)
- Bahri B. 2014. Tolerance of Bakraii rootstock to *Citrus tristeza Virus* in greenhouse condition. M. Sc. thesis, Islamic Azad University, Malekan Branch. (In Persian with English abstract)
- Bani Hashemian S.M., Gol Mohammadi M., Mohammad Alian Y., Golein B., and Moreno P. 2013. Decline of citrus trees in Iran. P. 39. In: 19th Conference of the International organization Of Citrus Virologist. 28th July-2nd Aug, South Africa.
- Barzegar A., Rahimian H., and Hashemi H. 2010. Comparison of the minor coat protein gene sequences of aphid-transmissible and non-transmissible isolates of *Citrus tristeza virus*. Journal of General Plant Pathology 76:143-151.
- Bertolini E., Moreno A., Capote N., Olmos A., Eduardo Vidal A., Pérez-Panadés J., and Cambra M. 2008. Quantitative detection of *Citrus tristeza virus* in plant tissues and single aphids by real-time RT-PCR. European Journal of Plant Pathology 120: 177-188.
- Cambra M., Hermoso de Mendoza A., Moreno P., and Navarro L. 1981. Use of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of *Citrus tristeza virus* (CTV) in different aphid species. P. 444-448. In: International Citrus Congress, November 9-12, Japan.
- Cambra M., Gorrís M.T., Román M.P., Terrada E., Garnsey S.M., Camarasa E., and Colomer M. 2000. Routine detection of *Citrus tristeza virus* by direct Immunoprinting-ELISA method using specific monoclonal and recombinant antibodies. P. 34-41. In: Proceedings of the 14th Conference of the International Organization of

- Citrus Virologists, 13-18 September, Brazil.
- 10- Cambra M., Bertolini E., Olmos A., and Capote N. 2006. Molecular methods for detection and quantitation of virus in aphids. *Virus Diseases and Crop Biosecurity* 81-88.
 - 11- Campolo O., Chiera E., Malacrino A., Laudani F., Fontana A., Albanese G.R., and Palmeri V. 2014. Acquisition and transmission of selected CTV isolates by *Aphis gossypii*. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 493-498.
 - 12- Ghorbani S. 1983. Detection of *Citrus tristeza virus* in its aphid vector in northern Iran by Immunosorbent electron microscopy. P. 8. In: Proceedings of the 7th Iranian Plant Protection Congress. (In Persian with English abstract)
 - 13- Hilf M.E., and Garnsey S.M. 2000. Characterization and classification of *Citrus tristeza virus* isolates by amplification of multiple molecular markers. P. 18-27. In: Proceedings of 14th Conference of the International Organization of Citrus Virologists.
 - 14- Kim J.J. 2007. Influence of *Lecanicillium attenuatum* on the development and reproduction of the cotton aphid, *Aphis gossypii*. *Biocontrol* 52: 789-799.
 - 15- Marroquin C., Olmos A., Gorris M.T., Bertolini E., Martinez M.C., Carbonell E.A., Hermoso deMendoza A., and Cambra M. 2004. Estimation of the number of aphids carrying *Citrus tristeza virus* that visit adult citrus trees. *Virus Research* 100: 101-108.
 - 16- Mehta P., Brlansky R.H., Gowda S., and Yokomi R.K. 1997. Reverse-transcription polymerase chain reaction detection of *Citrus tristeza virus* in aphids. *Plant Disease* 8: 1066-1069.
 - 17- Minasian V. 1983. Use of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of *Citrus tristeza virus* (CTV) in aphids from the North of Iran. P. 82-83. In: Proceedings of the 7th Iranian Plant Protection Congress. (In Persian with English abstract)
 - 18- Mohamed M.E., Bani Hashemian S.M., Dafalla G., Bove J.M., and Duran-Vila N. 2009. Occurrence and identification of citrus viroid from Sudan. *Journal of Plant Pathology* 91: 185-190.
 - 19- Moreno P., Ambros S., Albiach-Marti M.R., Guerri J., and Pena L. 2008. *Citrus tristeza virus*: a pathogen that changed the course of the citrus industry. *Molecular Plant Pathology* 9: 251-268.
 - 20- Naidu R.A., Robinson D.J., and Kimmins F.M. 1998. Detection of each of the causal agents of groundnut rosette disease in plants and vector aphids by RT-PCR. *Journal of Virological Methods* 9-18.
 - 21- Olmos A., Dasí M.A., Candresse T., and Cambra M. 1996. Print capture PCR: a simple and highly sensitive method for the detection of *Plum pox virus* (PPV) in plant tissues. *Nucleic Acids Research* 24: 2192-2193.
 - 22- Olmos A., Cambra M., Esteban O., Gorris M.T., and Terrada E. 1999. New device and method for capture, reverse transcription and nested PCR in a single closed tube. *Nucleic Acids Research* 27: 1564-1565.
 - 23- Pirone T.P., and Harris K.F. 1977. Nonpersistent transmission of plant viruses by aphids, *Annual Review of Phytopathology* 15: 55-73.
 - 24- Rahimian H., Alavi V., Shaygan J., and Hadizadeh A. 2000. Spread of *Citrus tristeza virus* by *Aphis gossypii* in the north of Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 36: 103. (In Persian with English abstract)
 - 25- Roberts P.D. 1996. Survival of *Xanthomonas fragariae* on strawberry in summer nurseries in Florida detected by specific primers and nested polymerase chain reaction. *Plant Disease* 80: 1283-1288.
 - 26- Saponari M., Manjunath K., and Yokomi R.K. 2008. Quantitative detection of *Citrus tristeza virus* in citrus and aphids by real-time reverse transcription-PCR. *Journal of Virological* 147: 43-53.
 - 27- Satyanarayana T., Gowda S., Ayllón M.A., and Dawson W.O. 2004. Closterovirus bipolar virion: evidence for initiation of assembly by minor coat protein and its restriction to the genomic RNA 5' region. P. 799-804. In: Proceeding of National Academy of Science, USA.
 - 28- Shafiee V., and Izadpanah K. 1998. Distribution of *Citrus tristeza virus* in southern Iran. P. 256. In: 13th Iranian Plant Protection Congress. (In Persian with English abstract)
 - 29- Singh R.P., Dilworth A.D., Singh M., and McLaren D.L. 2004. Evaluation of a simple membrane-based nucleic acid preparation protocol for RT-PCR detection of potato viruses from aphid and plant tissues, *Journal of Virological Methods* 121: 163-170.
 - 30- Timmer L.W., Garnsey S.M., and Graham J.H. 2000. *Compendium of Citrus Diseases*. St Paul, MN: APS Press.
 - 31- Yokomi R.K., and Garnsey S.M. 1987. Transmission of *Citrus tristeza virus* by *A. gossypii* and *A. citricola* in Florida. *Phytophylactica* 19: 169-172.
 - 32- Yokomi R.K., and DeBorde R.L., 2005. Incidence, transmissibility, and genotype analysis of *Citrus tristeza virus* (CTV) isolates from CTV eradicated and noneradicated districts in central California. *Plant Disease* 89: 859-866.
 - 33- Zafari H., Bani Hashemian S.M., Ruhibakhsh A., and Bahri B. 2014. Detection of *Citrus tristeza virus* in Guilan province. *Iranian Journal of Plant Pathology* 49: 463-464. (In Persian with English abstract)



Application of Molecular Methods for Detection of *Citrus tristeza virus* in *Aphis gossypii*

F. Esmailzadeh Mianlengheh¹- S.M. Bani Hashemian^{2*}- A. Ruhibakhsh³- S. Aghajanzadeh⁴

Received: 13-01-2018

Accepted: 27-02-2019

Introduction: *Citrus tristeza virus* (CTV), the causal agent of the most important viral disease of citrus, is transmitted by infected reproductive materials and several aphid species. Tristeza has been reported from the north and south of Iran and *Aphis gossypii* has been known as the vector of Tristeza. Detection of the virus in the vectors has been before carried out based on biology, serology and electron microscopy. Access to rapid and sensitive molecular techniques for epidemiological studies is the aim of the study. Reverse transcription polymerase chain (RT-PCR) and RT-nested PCR techniques were applied in the present study.

Materials and Methods: The SD4-infected Mexican lime (*Citrus aurantifolia*) seedlings acquired from the virus collection with origin of declining trees of Sari region were used as donor host for virus transmission assays. Pure colony of *A. gossypii* after rearing on cucumber (*Cucumis sativus*) was placed on the infected seedlings. 20 seedlings were considered for biological indexing. 20 aphids were placed carefully on healthy Mexican lime seedlings by brush. The acquisition and transmission feeding time of virus were 48 hours and 20 aphids were considered for each test plant. The seedlings were transferred to the conditioned greenhouse (23/16°C, day/night). Indirect virus detection was carried out by monitoring of symptoms, direct tissue blot immunoassay with Biorba antiserum and two step RT-PCR with RNA extracted from indicator plants using SDS-Potassium acetate method and T36CPF/T36CPR primers. In direct detection virus of aphid, RNA extracted by Trizol method and one step RT-PCR reaction using AMV Reverse Transcriptase enzyme by T36CPF/T36CPR primers were used. The final product of this reaction was introduced in the nested-PCR using T36CPF/P25R primers. RT-nested-PCR assay was applied also with PexF/PexR primers in the first stage and PinF/PinR in the second stage.

Results and Discussion: Indirect virus detection in melon aphid was carried out by survey of vein clearing and vein corking symptoms in the receptor indicator plants. A total of 4 of 20 Mexican lime seedlings showed the symptoms during 3 months after aphid transmission assay. The presence of virus in these seedlings was confirmed by direct tissue blot immunoassay and RT-PCR techniques. Also a product of about 672 bp was amplified using specific primers of coat protein gene. Direct virus detection with one-step RT-PCR and RNA extracted from aphids by Trizol method using T36CPF/T36CPR primers resulted 672 bp weak bands. By performing the second stage of PCR using T36CPF/P25R primers, 362 bp specific bands were obtained. On the other hand, RT-nested PCR with PinF/PinR and PexF/PexR primers was not able to detect the virus in the infected aphids due to false positive reactions. The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of different methods in selecting an appropriate method for detection of virus in melon aphid, the most effective vector of CTV in Iran. The detection of virus-associated targets in vectors that are capable of transmitting viruses is crucial for both the studies of viral replication and the optimization of control strategies. Biological indexing is the earliest test of detection of virus in aphids, which has the advantages and disadvantages, including the objective measurement of biological activities such as ability to transmit and reproduce based on production of symptoms, the long time required, and the specific greenhouse conditions. Although RT-PCR method has been used to detect a number of plant viruses in vectors, the detection of virus by this method is possible if extraction efficiency of RNA is increased by use of materials such as Gene Releaser and Trizol. Nevertheless, more

1 and 3- M.Sc. Student of Plant Pathology and Assistant Professor, Plant Protection Department, Guilan University, Rasht

2- Assistant Professor, Genetic and Breeding Department, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Ramsar

(*- Corresponding Author Email: m.banihashemian@areeo.ac.ir)

4- Associate Professor, Technology and Production Management Department, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Ramsar

sensitive methods are required for detection of semi-persistently and non-persistently transmitted viruses. Detection of CTV by nested RT-PCR was directly related to appropriate primers and efficient extraction procedure.

Conclusion: According to this study, RNA extraction using Trizol method is the most appropriate method for extracting nucleic acid from aphids, so it has been shown that detection of CTV by nested RT-PCR technique was directly related to the used extraction procedure. In this research, detection of *Citrus tristeza virus* in melon aphid for the first time in Iran was performed using RT-PCR and RT-nested-PCR molecular methods. The results showed that RT-nested-PCR based on the efficient extraction method and the selection of appropriate primers is a reliable technical for detection Tristeza virus in its aphid vector, *A. gossypii*.

Keywords: Aphid vector, Biological indexing, Direct detection, Tristeza virus



مقاله کوتاه پژوهشی

ردیابی مولکولی عامل بیماری لکه سبز مرکبات در جنوب کرمان

مرتضی گل محمدی^{۱*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۱۹

چکیده

بیماری لکه سبز مرکبات (گرینینگ) توسط سه گونه باکتری به نام‌های *Candidatus Liberibacter asiaticus*، *Ca. L. africanus* و *Ca. L. americanus* ایجاد می‌شود. دو گونه پسیل مرکبات به نام‌های پسیل آسیایی *Diaphorina citri* و پسیل آفریقایی *Trioza erytreae* باکتری عامل بیماری را منتقل می‌کنند. علاوه بر پسیل، از طریق منابع تکثیری آلوده و استفاده از پیوندک آلوده نیز منتقل می‌شوند. به منظور ردیابی عامل این بیماری، نمونه‌های برگ‌ی و میوه‌های مشکوک به آن از جنوب کرمان جمع‌آوری گردید. در ۱۲ نمونه از ۴۸ نمونه بررسی شده، وجود بیماری تأیید شد. توالی‌یابی محصول پی‌سی‌آر (ناحیه ریپوزومی) به طول ۱۰۷۷ جفت باز و مقایسه آن با استرین کنترل مثبت استاندارد و همچنین تولید دو قطعه ۶۴۰ جفت باز و ۵۲۰ جفت بازی این ناحیه با هضم آنزیمی توسط *XbaI* نشان داد که عامل بیماری لکه سبز مرکبات *Candidatus Liberibacter asiaticus* (تیپ آسیایی) است. جدایه‌های مورد بررسی در این مطالعه با وجود بروز علائم متفاوت، با یکدیگر و با جدایه استاندارد قرابت کامل نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: پی‌سی‌آر، تشخیص، تیپ آسیایی، *Candidatus Liberibacter asiaticus*

مقدمه

بیماری لکه سبز مرکبات (گرینینگ) یک بیماری خسارت‌زا در اغلب ارقام تجاری مرکبات مانند پرتقال، لیمو، گریپ فروت و غیره می‌باشد (۵). بیماری نخستین بار در سال ۱۳۸۸ در نمونه‌های پسیل و مرکبات در هرمزگان و سیستان و بلوچستان توسط فقیهی و همکاران گزارش گردید (۲). سپس علیزاده و همکاران در سال ۱۳۸۹ بیماری را از سیستان و بلوچستان گزارش کردند (۱). صالحی و همکاران در سال ۱۳۹۱ حضور عامل بیماری میوه سبز و ناقل آن را در استان‌های هرمزگان و سیستان و بلوچستان گزارش کردند (۷). استان کرمان مقام سوم تولید مرکبات را در ایران دارد. تحقیق حاضر جهت ردیابی بیماری در استان کرمان و شناسایی آن با استفاده از روش‌های مولکولی پی‌سی‌آر و توالی‌یابی محصول پی‌سی‌آر و تعیین خصوصیات استرین‌های ایرانی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از درختان دارای علائم + (J10, N2, N4, D, D1, C, I, G, F, E) (شکل ۱) از استان کرمان انجام شد. برای کنترل مثبت از دی.ان.ا تیپ آسیایی بیمارگر استفاده شد. استخراج دی.ان.ا جهت بررسی بیماری به روش CTAB طبق روش مورای و تامسون (۶)، با اندکی تغییرات انجام گرفت. برای ردیابی مولکولی عامل بیماری در نمونه‌ها با روش پی‌سی‌آر، از دو جفت آغازگر OI1/OI2c (۴) و A2/J5 (۳) استفاده شد که طول قطعه تکثیری توسط آغازگر OI1/OI2c، ۱۱۶۰ جفت باز در ناحیه 16srDNA و طول قطعه تکثیری توسط A2/J5 برابر ۷۰۳ جفت باز است. توالی‌یابی قطعات حاصل توسط شرکت Bioneer کره جنوبی انجام شد. در هضم آنزیمی محصولات PCR، قطعه تکثیر شده با آغازگر OI1/OI2c، توسط آنزیم *XbaI* هضم آنزیمی شده و قطعات حاصله بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ تفکیک شدند.

نتایج و بحث

نمونه‌ها با استفاده از آغازگر A2/J5 قطعه ۷۰۳ جفت بازی برای شناسایی فرم آسیایی و ۶۶۹ جفت بازی برای شناسایی احتمالی فرم

۱- استادیار مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه

گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران

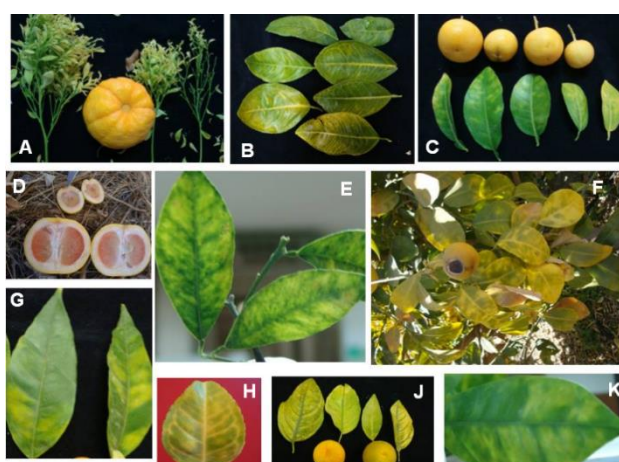
(Email: Mgolm2009@gmail.com)

(*)- نویسنده مسئول:

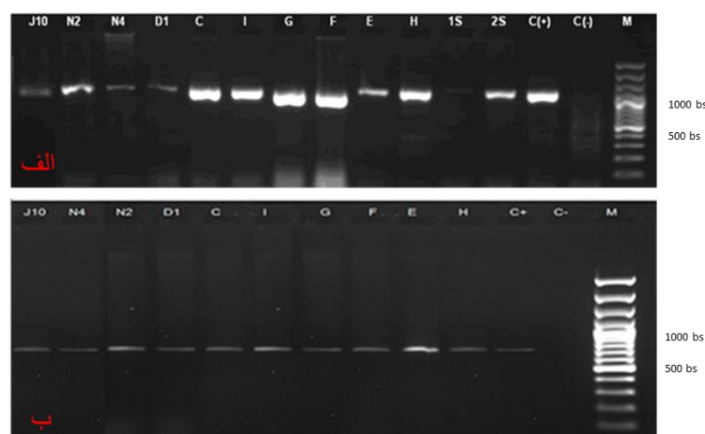
DOI: 10.22067/jpp.v33i1.67543

مؤثر بوده است. نمونه‌های دی‌ان‌ا جمع‌آوری شده از استان کرمان که با آغازگر OI1/OI2c تکثیر و سپس قطعات ۱۱۶۰ جفت‌بازی حاصل از هر دو انتهای ۳' و ۵' توالی‌یابی شد. با بررسی هم‌ردیفی این توالی‌ها شماره رس شمار (GN 049632) با توالی‌های موجود در بانک اطلاعاتی NCBI، توالی‌های موجود در ایران با توالی‌های تیپ آسیایی (چین: DQ431997، تایوان: AB555707، اندونزی: AB480102، فلوریدا: CP001677، برزیل: AY91933) در ناحیه توالی‌یابی شده ۱۰۰٪ تشابه داشته و هیچ تفاوتی مشاهده نشد.

آفریقایی باکتری و از آغازگر OI1/OI2c قطعه ۱۱۶۰ جفت‌بازی برای شناسایی هر دو فرم آسیایی و آفریقایی مربوط به ناحیه 16s rDNA آنها استفاده شد (شکل ۲، الف و ب). با وجود اینکه هر دو آغازگر به صورت اختصاصی برای شناسایی HLB طراحی شده‌اند اما آغازگر A2/J5 قادر به شناسایی آلودگی در نمونه مربوط به شهرستان فاریاب نبوده که با تکرار PCR با آغازگر OI1/OI2c و مشاهده الگوی باندی مشابه سایر استرین‌ها این مسئله بدین صورت توجیه شد که این تفاوت ممکن است ناشی از جهش بی‌اثر نقطه‌ای در ناحیه اتصال آغازگر باشد که تنها در شناسایی بیمارگر با آغازگر A2/J5



شکل ۱- علائم بیماری در درختان بکرای (A)، پرتقال (B,D,G,J,K)، نارنگی (E)، گریپ فروت (C,D,F,H)
Figure 1- Symptoms of disease (A) Bakraee; (B,D,G,J,K) Orange; (E) Madarin; (C,D,F,H) Grapefruit

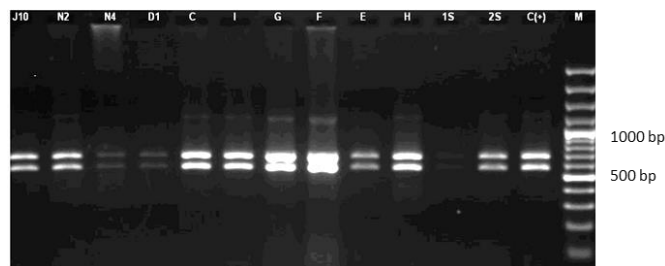


شکل ۲- (الف) واکنش تکثیری پی‌سی‌آر با آغازگرهای اختصاصی OI1 و OI2c در نمونه‌های پرتقال، نارنگی و گریپ فروت به ترتیب (J10، N2، N4، D1، C، I، G، F، E، H، 1S، 2S)، کنترل مثبت و کنترل منفی، (lader100bp) M، (ب) واکنش تکثیری پی‌سی‌آر با آغازگرهای اختصاصی A2 و J5 در نمونه‌های پرتقال، نارنگی و گریپ فروت. نمونه‌ها به ترتیب (J10، N2، N4، D1، C، I، G، F، E، H)، کنترل مثبت و کنترل منفی، (lader100bp) M،

Figure 2-Polymerase chain reaction with OI1 and OI2 primers. (A) Respectively (J10، N2، N4، D1، C، I، G، F، E، H، 1S، 2S)، Positeve control and negative control, lader100bp (B) Polymerase chain reaction with OI1 and OI2 primers. Respectively (J10، N2، N4، D1، C، I، G، F، E، H)، positive control and negative control, lader100bp

۵۰۶ و ۱۳۰ جفت بازی تبدیل می‌کند (۸). نتایج حاصل از هضم آنزیمی محصول پی‌سی‌آر مربوط به ۱۳ منطقه با آغازگر OI1/OI2c توسط آنزیم *XbaI* به دو قطعه ۶۴۰، ۵۶۰ جفت بازی بریده شد.

آنزیم *XbaI* قطعه تکثیری توسط آغازگر OI1/OI2c در فرم آسیایی را در یک نقطه بریده و به دو قطعه ۶۴۰ و ۵۲۰ جفت بازی تبدیل می‌کند و فرم آفریقایی را در دو نقطه برش و به ۳ قطعه ۵۲۰،



شکل ۳- واکنش تکثیر پی‌سی‌آر با آغازگرهای اختصاصی OI1 و OI2c هضم شده با آنزیم *XbaI*، در نمونه‌های پرتقال، نارنگی و گریپ فروت (J10، N2، N4، D1، C، I، G، F، E، H، 1S، 2S)، کنترل مثبت، (ladder 100bp) M

Figure 3- Polymerase chain reaction with OI1 and OI2 primers with *XbaI* (A) Respectively (J10، N2، N4، D1، C، I، G، F، E، H، 1S، 2S)، Positive control، ladder 100bp

آسیایی *Candidatus Liberibacter asiaticus* می‌باشند. محصول پی‌سی‌آر ۱۰۷۷ جفت باز ناحیه ریبوزومی تمامی ۱۲ استرین مشابه و ۱۰۰ درصد همولوژی با یکدیگر و استرین تیپ آسیایی برزیل نشان دادند، اگرچه از نظر علائم ظاهری تفاوت زیادی بین آنها وجود داشت. به این منظور تحقیقی جهت بررسی تنوع ژنتیکی استرین‌های ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی و بیولوژیکی در دست بررسی است.

بر اساس نتایج حاصل از پی‌سی‌آر با آغازگرهای اختصاصی A2 و J5 و آغازگرهای OI1 و OI2c باکتری عامل بیماری در ۱۲ نمونه دارای علائم به اثبات رسید. توالی نوکلئوتیدی ۱۱۶۰ جفت باز از محصول پی‌سی‌آر از ناحیه ریبوزومی و مقایسه آنها با داده‌های بانک ژن و جدایه‌های کنترل مثبت تیپ آسیایی از برزیل، و تولید دو قطعه ۶۴۰ جفت باز و ۵۲۰ جفت باز محصول پی‌سی‌آر با آغازگرهای OI1 و OI2c در اثر هضم آنزیمی با *XbaI* تمامی استرین‌های ایران از نوع

منابع

- 1- Alizadeh Aliabadi A., Foroutan A., and Golmohammadi M. 2010. Occurrence of citrus greening caused by *Candidatus Liberibacter asiaticus* in Sistan-Baluchestan province. Proceedings of the 18th Iranian Plant Protection Congress. Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran, Pp. 525.
- 2- Faghihi M.M., Salehi M., Bagheri A., and Izadpana K. 2008. First report of citrus huanglongbing disease on orange in Iran. New Disease Reports, 18: 42.
- 3- Hocquellet A., Toorawa P., Bove J.M., and Garnier M. 1999. Detection and identification of the two *Candidatus Liberibacter* species associated with citrus huanglongbing by PCR amplification of ribosomal protein genes of the β operon. Molecular and Cellular Probes 13(5): 373-379.
- 4- Jagoueix S., Bove J.M., and Garnier M. 1996. PCR detection of the two «*Candidatus*» liberobacter species associated with greening disease of citrus. Molecular and Cellular Probes 10(1): 43-50.
- 5- Manjunath K.L., Halbert S.E., Ramadugu C., Webb S., and Lee L. 2008. Detection of *Candidatus Liberibacter asiaticus* in *Diaphorina citri* and Its Importance in the management of citrus huanglongbing in Florida. Bacteriology 98: 387-396.
- 6- Murray M.G., and Thomson W.F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research 8: 4321-4325.
- 7- Salehi M., Faghihi M.M., Khavanche Z., Bagheri E., and Izadpanah K. 2012. Distribution of citrus huanglongbing disease and its vector in south Iran. Plant Pathology 48: 208-195.
- 8- Teixeira D.C., Lopes S.A., Yamamoto P.T., Eveillard S., Martins E.C., de Jesus Junior W.C., Bassanezi R.B., Ayres A.J., Danet J.L., Saillard C., and Bove J.M. 2005. PCR Detection of the Two *Liberibacter* Species Associated with Citrus Huanglongbing in São Paulo State, Brazil. Sixteenth IOCV Conference, Short Communications 432- 438



Determining of Molecular Characterization of Citrus Greening Disease in Southern Kerman

M. Golmohammadi^{1*}

Received: 13-01-2018

Accepted: 10-11-2018

Introduction: HLB (Huanglongbing ex greening) caused by three species of bacterium *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Ca. L. africanus* and *Ca. L. americanus*, is the most important citrus disease over the globe. The causal agent is transmitted by two psyllids *Diaphorina citri* and *Trioza erytreae* and infected bud woods. The causal agent of HLB disease was identified as a phloem-restricted, Gram-negative bacterium belonging to a new genus in the α -Proteobacteria subdivision. In Asia, the pathogen of HLB was categorized as the *Candidatus Liberibacter asiaticus* transmitted by the Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*). This was also reported in the south of Iran over 2000. Diagnosis of HLB disease can be difficult under field conditions when relying on visual surveys. This is due to its low concentration in its citrus hosts and the nonspecific nature of HLB symptoms, similarity of its symptoms to micronutrient deficiency such as zinc, magnesium, and iron and virus-like disease symptoms such as stubborn caused by *Spiroplasma citri*. Therefore, distinguishing causal agents of similar symptoms such as nutritional or stress related symptoms from HLB disease needs a robust procedure. Many detection methods have been used to detect *Candidatus Liberibacter* spp. including biological indexing (grafting and vector), electronic microscopy (EM), DNA probe specific to the bacterium, enzyme-linked Immunosorbent assay (ELISA). However, TEM methods are less practical, because ultra-thin sectioning is tedious and requires expensive equipment. Transmission tests are of limited value due to the latency and the long incubation period in insect and plant. Development of conventional polymerase chain reaction (PCR) test has great advantages of analyzing the bacterium at genetic level. The objective of this study was the detection of HLB in symptomatic citrus plants based on conventional polymerase chain reaction assay (PCR) in the south of Iran and the comparison of Iranian strains with other strains on the globe.

Materials and Methods: In order to detect, identify and characterize the diseases, leaf and fruit samples were collected from some suspected sites situated in the southern Kerman. Samples were stored in plastic bags and transferred into the laboratory and conserved at low temperature (6°C) before DNA extraction. Total DNA was extracted from symptomatic samples on the basis of the method/protocol of Murray and Thompson (1980) with minor modifications. Briefly, 5 to 10 symptomatic leaves were washed with sterile water and dried on paper. The leaf midrib tissue derived from field plants was cut out by sterile scalpel and CTAB buffer added with addition of B-mercaptoethanol. The extract was transferred to a new tube and incubated at 65°C for 15min. The other steps were conducted according to the original protocol. Existence of pathogen in samples was confirmed using PCR with primers A2 / J5 and OI1 / OI2c.

Results and Discussion: The PCR products were analyzed by gel electrophoresis using a 1% agarose in TBE buffer (Tris base, boric acid and 0.5M EDTA [pH 8.0]) and stained with ethidium bromide. Gel was visualized and analyzed by the GEL documentation. 12 of 48 samples amplified with primers above and the disease was confirmed. By sequencing of PCR products with length of 1077 bp and comparison with the strains positive control, also production two fragments of 640 bp and 520 bp resulting from the digestion with XbaI PCR products, the agent of disease was found to be *Candidatus Liberibacter asiaticus*. The agent showed 100% homology with standard HLB Asiatic type. BLAST analysis showed that the nucleotide sequences obtained for the ribosomal protein (GenBank Accessions No. GN 049632) had 100% identity with sequences of 'Ca. L. asiaticus' from China (DQ431997), Taiwan (AB555707), Indonesia (AB480102), Florida (CP001677), and Brazil (AY91933). The Asian vector of HLB, *Diaphorina citri* was reported in 2000, therefore, the diseases might be distributed in other areas in the southern Iran. Thus, detection of HLB disease in young citrus plants is important to prevent a widespread outbreak of this disease. The results also showed that Iranian strain belongs to Asian type of *Liberibacter* and nominated *Candidatus Liberibacter asiaticus*. In the southern Iran, *Diaphorina*

1- Associate Professor, Horticultural Science Research Institute, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran
(*- Corresponding Author Email: mgolm2009@gmail.com)

citri with high ability to spread the *Candidatus Liberibacter asiaticus* is found in most of citrus cultivating areas which implies a high risk of rapid dissemination. Therefore, the survey of the disease by an accurate and sensitive method is recommended for the disease detection in new areas and eradication of infected trees.

Keywords: Asiatic type, Detection, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, PCR



مقاله کوتاه پژوهشی

ردیابی مولکولی یک جدایه از ویروس موزاییک رگبری اقا قیای زینتی (*Wisteria vein mosaic virus*) در استان خراسان رضوی

مهند الجابری^۱ - محسن مهرور^{۲*} - محمد زکی عقل^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۲۸

چکیده

ویروس موزاییک رگبری اقا قیای زینتی (*Wisteria vein mosaic virus*, WVMV) یک بیماری ویروسی شایع در گونه ویستریا است. این ویروس عضو جنس *Potyvirus* از خانواده *Potyviridae* می باشد. به منظور ردیابی و شناسایی این ویروس در سال های ۱۳۹۷-۱۳۹۶ تعداد ۳ نمونه مشکوک اقا قیای زینتی از استان خراسان رضوی جمع آوری شده، با استفاده از آزمون RT-PCR و بکارگیری آغازگر اختصاصی مربوط به بخشی از ژن CI، قطعه ای به طول ۶۸۰ جفت نوکلئوتید تکثیر شد. محصول PCR مربوط به یک جدایه پس از همسانه سازی توالی یابی شده، با سایر توالی های موجود در بانک ژن مقایسه گردید. نتایج بدست آمده نشان داد که در سطح نوکلئوتیدی بیشترین تشابه آن با جدایه چینی این ویروس به میزان ۹۰/۶۴ درصد و کمترین میزان تشابه آن با جدایه ای از ویروس موزاییک کاهو (*Lettuce mosaic virus*) به میزان ۵۶/۳۴ درصد می باشد.

واژه های کلیدی: آنالیز فیلوژنتیکی، خراسان رضوی، ژن CI، ویروس موزاییک رگبری اقا قیای زینتی، RT-PCR

مقدمه

پیچ زینتی با نام علمی *Wisteria sinensis* از خانواده گل های پروانه آسا می باشد که بومی نواحی شرقی ایالات متحده، چین، کره و ژاپن بوده و با دارا بودن گل های زیبا از پر کاربردترین گیاهان در فضای سبز به شمار می رود. ویروس موزاییک رگبری اقا قیای زینتی (پیچ) (WVMV) یک بیماری شایع گونه ویستریا است. این بیماری برای اولین بار توسط Brierley & Lorentz در سال ۱۹۵۷ در ایالات متحده آمریکا بر روی گیاه *Wisteria floribunda* گزارش شد. در سال ۱۹۷۰ Bos نام *Wisteria vein mosaic virus* را برای عامل این بیماری برگزید. این ویروس در گونه های جنس *Wisteria* spp. در استرالیا، نیوزلند، چین، ایالات متحده و تعدادی از کشورهای اروپایی مشاهده شده است (۲). علائم این بیماری شامل رگ های یا خطی شدن، زردی رگبرگ ها، ابلقی و موزاییک و ریزش برگ ها است (۲).

این ویروس به صورت مکانیکی و پیوند و همچنین شته های

Myzus persicae و *Aphis craccivora* به صورت ناپایا منتقل می شود (۱). WVMV از لحاظ سرولوژیکی مرتبط به ویروس هایی همچون ویروس موزاییک معمولی لوبیا (*Bean common mosaic virus*, BCMV) و ویروس موزاییک هندوانه (*Watermelon mosaic virus*, WMV) بوده و نسبت به سایر پوتی ویروس ها دارای دامنه میزبانی بسیار کمتری می باشد. گونه های *Wisteria floribunda*، *W. sinensis* و *Atriplex hortensis* به این ویروس حساس بوده و گونه های *Beta vulgaris*، *Capsicum annuum* و *Cucumis sativus* نسبت به این ویروس مقاوم هستند (۳). در سال ۲۰۰۳ درخت فیلوژنتیک با استفاده از توالی نوکلئوتیدی بخشی از ژنوم (شامل پروتئین پوششی و 3 UTR) WVMV و شش گونه از جنس *Potyvirus* شامل ویروس های موزاییک معمولی لوبیا (BCMV)، موزاییک شته زاد لوبیا چشم بلبلی (*Cowpea aphid-borne mosaic virus*, ABMV)، موزاییک دندروبیوم (*Dasheen mosaic virus*, DMV)، کوتولگی بادام زمینی (*Peanut stunt virus*, PSV)، موزاییک سویا (*Soybean mosaic virus*, SMV) و موزاییک هندوانه (WMV) نشان داد که این ویروس دارای بیشترین شباهت با ویروس موزاییک سویا (SMV) و ویروس موزاییک هندوانه (WMV) می باشد. هدف از این تحقیق، شناسایی و بررسی بخشی از

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(Email: mehrvar@um.ac.ir)
(*)- نویسنده مسئول

و با درجه اعتبار (bootstrap) ۱۰۰۰ تکرار ترسیم گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصله بیانگر وجود ویروس موزاییک رگبری افاقیای زینتی در استان خراسان رضوی می‌باشد. در آزمون PCR در هر سه نمونه مورد آزمایش، باندی در ناحیه ۶۸۰ جفت باز مشاهده گردید. علائم مهم بیماری شامل ایجاد موزاییک، زردی و کوچک شدن برگ‌ها بود (شکل ۱). از بین سه نمونه یک نمونه انتخاب و پس از همسانه‌سازی در دو جهت توالی‌یابی شد. با مقایسه ترادف‌های حاصل با اطلاعات موجود در بانک ژن در پایگاه اطلاعاتی NCBI و برنامه BLAST مشخص شد که قطعات همانندسازی شده در واکنش PCR مربوط به ویروس WVMV می‌باشد. آنالیز فیلوژنتیکی جدایه تعیین توالی شده به همراه تعدادی از جدایه‌های مربوط به زیر گروه Bean common mosaic virus جنس Potyvirus موجود در بانک ژن نشان داد که جدایه مورد بررسی ویروس WVMV بوده و در زیر گروه ویروس موزاییک معمولی لوبیا همراه با جدایه چینی این ویروس در کنار ویروس‌های موزاییک هندوانه و سویا قرار می‌گیرد (شکل ۲). بیشترین شباهت آن در سطح نوکلئوتیدی با جدایه چینی این ویروس به میزان ۹۰/۶۴ درصد و پس از آن به ترتیب با جدایه‌های ویروس موزاییک هندوانه (WMV) و ویروس موزاییک سویا (SMV) به میزان ۸۰/۶۷ و ۸۰/۴۶ درصد می‌باشد. کمترین میزان تشابه آن نیز با ویروس موزاییک کاهو (LMV) به میزان ۵۶/۳۴ درصد می‌باشد. میزان تشابه جدایه ایرانی این ویروس در سطح نوکلئوتیدی با ویروس موزاییک معمولی لوبیا (BCMV) و ویروس موزاییک شته زاد لوبیا چشم بلبل (CABMV) به ترتیب به میزان ۷۶/۵۱ درصد و ۷۶/۴۷ درصد می‌باشد. برخلاف جدایه چینی این ویروس که بیشتر شبیه ویروس موزاییک سویا می‌باشد، جدایه ایرانی آن بیشتر شبیه ویروس موزاییک هندوانه می‌باشد. بررسی بیشتر بروی جدایه‌های ایرانی این ویروس نشان می‌دهد که بدلیل نسبت نزدیک‌تر جدایه‌های استرالیایی این ویروس به ویروس موزاییک هندوانه به نظر جدایه‌های ایرانی این ویروس تشابه بیشتری با جدایه‌های استرالیایی نسبت به جدایه‌های چینی دارند با این وجود برای نتیجه‌گیری دقیق‌تر، تعیین توالی بخش‌های دیگری از ژنوم ویروس مورد نیاز است. همچنین مقایسه ۳۵۰ نوکلئوتید مربوط به ژن Nib این ویروس نشان داد که بیشترین تشابه آن در سطح نوکلئوتیدی به میزان ۷۷/۶۵ درصد با جدایه چینی این ویروس و کمترین میزان تشابه آن به میزان ۵۸/۷۴ درصد با جدایه‌ای از ویروس موزاییک نیشکر (*Sugarcane mosaic virus*, SCMV) (AY042184) از چین می‌باشد.

ژنوم این ویروس در استان خراسان رضوی می‌باشد به همین منظور بخشی از ژن CI یک جدایه جمع‌آوری شده از درختان افاقیای زینتی استان خراسان رضوی با استفاده از روش PCR، تکثیر و پس از توالی‌یابی، آنالیز مولکولی ناحیه CI و جایگاه تاکسونومیکی آن در میان سایر جدایه‌های WVMV تعیین گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و نگهداری ویروس

در تابستان سال‌های ۱۳۹۷-۱۳۹۶ تعداد ۳ نمونه افاقیای زینتی دارای علائم زردی رگبرگ‌ها، ابلقی و موزاییک، از محوطه پردیس دانشگاه فردوسی مشهد در استان خراسان رضوی جمع‌آوری شد.

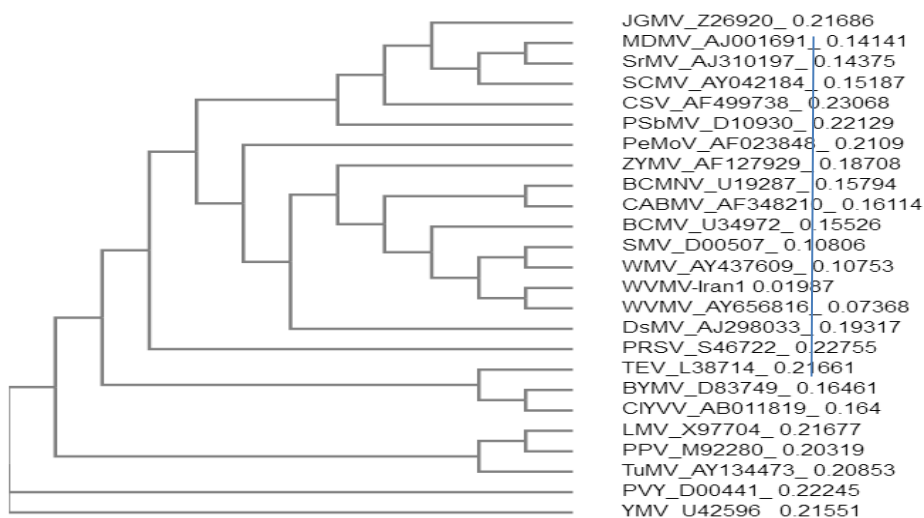
شناسایی مولکولی ویروس با استفاده از واکنش زنجیره

ای پلیمران

استخراج RNA از نمونه‌های جمع‌آوری شده با استفاده از کیت استخراج RNA (کیژن، آلمان) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده، انجام شد. با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی که بر اساس توالی‌های حفاظت شده ژن سی‌ای ویروس طراحی شده‌اند، واکنش زنجیره‌ای پلیمران با نسخه‌برداری معکوس انجام شد. با استفاده از RNA کل استخراج شده، آغازگر برگشت و آنزیم MMLV-Reverse Transcriptase (ترموساینترفیک، امریکا)، cDNA سنتز شد. آزمون PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر و با استفاده از آغازگرهای رفت و برگشت و آنزیم Taq DNA polymerase (ترموساینترفیک، امریکا)، مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. نهایتاً محصولات بدست آمده، به همراه مارکر مولکولی در ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شدند. باندهای تکثیر شده در ناحیه مورد انتظار با استفاده از کیت Gel Recovery kit (دنا زیست، ایران) خالص‌سازی گردید. قطعه‌ژنی تکثیر شده مربوط به یکی از جدایه‌ها، درون پلاسמיד pTG19-T (ویوانتیس، مالزی) وارد و به سویه DH5α باکتری *E. coli* انتقال داده شد و همسانه‌سازی قسمتی از ژن CI انجام پذیرفت. همسانه‌های حاوی ژن مورد نظر از طریق کلونی پی‌سی‌آر (Colony PCR) با استفاده از آغازگر M13 شناسایی شدند. DNA پلاسمیدهای نوترکیب با استفاده از کیت Plasmid DNA isolation (دنازیست، ایران) استخراج شده و توسط شرکت ماکروژن کره جنوبی تعیین توالی شدند. توالی‌های حاصل، در پایگاه اطلاعاتی NCBI با برنامه BLAST با توالی‌های موجود در بانک ژن مقایسه شدند. درخت فیلوژنتیکی حاصل از هم‌ردیف‌سازی چندانکه با استفاده از نرم‌افزار MEGA6 و بر اساس روش Neighbor joining



شکل ۱- علائم موزائیک بر روی برگ‌های گیاه افاقیای زینتی جمع‌آوری شده از استان خراسان رضوی
Figure 1- Mosaic symptoms on *Wisteria sinensis* leaves in Khorasan Razavi Province



شکل ۲- درخت فیلوژنتیک ترسیم شده حاصل از هم‌ردیف‌سازی ۶۸۰ نوکلئوتید از توالی‌های ژن CI ویروس موزاییک رگبرگی زینتی و ۲۵ جدایه مختلف متعلق به زیر گروه *Bean common mosaic virus* از جنس *Potyvirus* با استفاده از روش Neighbor Joining در نرم‌افزار MEGA6
Figure 2- Phylogenetic tree drawn based on alignments of *Wisteria vein mosaic virus* CI gene nucleotide sequence (680 nt) plus 25 different isolates within *Bean common mosaic potyvirus* subgroup using Neighbor-joining method based on 1000 replicates

منابع

- 1- Adams M.J., Antoniw J.F., and Beaudoin F. 2005. Overview and analysis of the polyprotein cleavage sites in the family *Potyviridae*. *Molecular Plant Pathology* 16: 471-487.
- 2- Bos L. 1970. The identification of three new viruses isolated from *Wisteria* and *Pisum* in the Netherlands, and the problem of variation within the potato virus Y group. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 76: 8-46.
- 3- Brierley P., and Lorentz P. 1957. *Wisteria* mosaic and peony leaf curl, two diseases of ornamental plants caused by viruses transmissible by grafting but not by sap inoculation. *Plant Disease Reporter* 41: 691-693.
- 4- Clover G.R.G., Tang Z., Smales T.E., and Pearson M.N. 2003. Taxonomy of *Wisteria vein mosaic virus* and extensions to its host range and geographical distribution. *Plant Pathology* 52: 92-96.
- 5- Van Regenmortel M.H.V., Fauquet C.M., Bishop D.H.L., Carstens E., Estes M., Lemon S., Maniloff J., Mayo M.A., McGeoch D., Pringle C.R., and Wickner R.B. 2000. *Virus Taxonomy— Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego, CA, USA: Academic Press.



Molecular Identification of an Isolate of *Wisteria vein mosaic virus* in Khorasan Razavi Province

M. Al Jaberi¹- M. Mehrvar^{2*}- M. Zakiahgl³

Received: 27-06-2018

Accepted: 19-12-2018

Introduction: *Wisteria vein mosaic virus* (WVMV) is a member of the *Potyvirus* genus (Potyviridae) with flexuous filamentous particles. The disease was first reported by Brierley & Lorentz (1957) in the USA from *W. floribunda*. They cited reports of similar cases dating back to the 1940s and suspected that a virus was responsible for the disease. Afterward the virus has been reported in *Wisteria* spp. in Australia, New Zealand, China, Germany, Czech Republic, Italy and in the Netherland. In comparison to the majority of potyviruses, WVMV has a very narrow host range, naturally infecting only *Wisteria* spp. (*W. sinensis*, *W. floribunda*, and *W. venusta*). This virus can be introduced into the landscapes on new plants that were infected during their production. Other wisteria can become infected by mechanical inoculation if infected sap is moved on cutting tools or by aphids during feeding from sap of these plants. In terms of symptoms induction, the virus can cause systemic, local chlorotic (sometimes necrotic) lesions or mottling and mosaic on the leaves of wisteria spp. plants and other experimental hosts of *Chenopodium* spp., *Nicotiana megalosiphon* and several legumes. The virus is serologically related to Bean common mosaic virus (BCMV), Bean yellow mosaic virus (BYMV), Clover yellow vein virus (CIYVV) and Watermelon mosaic virus (WMV). WVMV is transmitted by aphids, grafting or mechanical means with no significant impact on ornamental host plant except inducing an unfavorable leaf appearance in the landscape.

Materials and Methods: In August 2017, a plant of *Wisteria sinensis* in the campus of Ferdowsi University of Mashhad in Iran was observed to have chlorotic, mottling and mosaics on some leaves, which resembled the symptoms caused by wisteria mosaic disease. RNA was extracted from the symptomatic plant with an RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany) and tested by RT-PCR using potyvirus degenerate primers CIF/R. Amplicons of the expected size, 680 bp were obtained. The PCR product was cloned and then sequenced. The partial sequence of Nib gene was also amplified (350 bp) by degenerate primer for potyvirus Nib gene and the obtained fragment were cloned and then sequenced.

Results and Discussion: A BLASTn search in the GenBank showed 90.64% nucleotide sequence identity with WVMV Chinese isolate (AY656816) followed by *Watermelon mosaic virus* (80.67%) and *Soybean mosaic virus* (80.46%). The least identity was with an isolate of *Lettuce mosaic virus* (56.34%). It seems that the Chinese and Iranian isolates of this virus are closer to each other but due to lack of nucleotide sequence from other part of the world in CI and Nib genes it is hard to conclude that Iranian isolate is just close to Chinese isolate and it should be considered that may other isolates exist which are closer to Iranian WVMV isolate than Chinese isolate.

Conclusion: From this research, it can be concluded that this virus is present in wisteria spp. plant in Khorasan Razavi province of Iran. In terms of sequence similarity based on partial nt sequence of CI gene (680 nt), it is most similar to a Chinese isolate of WVMV (90.64 %) followed by WMV (80.67 %) and SMV (80.46 %) in nt level and within BCMV subgroup of potyviruses. It seems likely that the disease is spread primarily through vegetative propagation rather than by aphid or mechanical transmission. Although the disease does not markedly reduce the vigour of infected plants, the foliage of such plants is chlorotic and mottled, rendering them unsaleable or can cause the ornamental plants as unfavorable host.

Keywords: CI gene, Khorasan Razavi, Phylogenetic analysis, RT-PCR, *Wisteria vein mosaic virus*

1, 2 and 3- Master Student of Plant Pathology, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, Respectively
(* - Corresponding Author Email: mehrvar@um.ac.ir)

بررسی پایداری حشره‌کش‌های اسپینوسد، ایمیداکلوپرید و ایندوکساکارب روی تریکوگراما *T. evanescens* و *Trichogramma brassicae*

صدیقه اشتری^{۱*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۹/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۲۵

چکیده

زنبورهای تریکوگراما از پارازیتوئیدهای مهم تخم بالپولکداران محسوب شده و به طور گسترده‌ای در کنترل بیولوژیکی آفات به کار گرفته می‌شوند. در این تحقیق غلظت‌های توصیه شده مزرعه‌ای سه حشره‌کش اسپینوسد، ایمیداکلوپرید و ایندوکساکارب در شرایط نیمه مزرعه‌ای روی گوجه‌فرنگی به روش محلول‌پاشی تا جاری شدن سم به کار برده شد. بر اساس دستور کار گروه IOBC/WPRS به ترتیب در روزهای سوم، پنجم، شانزدهم و سی و یکم پس از سم‌پاشی از هر تیمار و تیمار شاهد نمونه‌های برگ جدا شد. ارزیابی اثر تیمار بر اساس مرگ و میر افراد بالغ هر دو گونه زنبور پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در معرض باقی‌مانده سم انجام گرفت و دوام این حشره‌کش‌ها علیه مرحله بالغ یا حساس‌ترین مرحله زندگی دو گونه زنبور تریکوگراما تعیین شد. نتایج آشکار کرد که ایمیداکلوپرید با ایجاد ۲۵/۳۴ و ۲۶/۳۱ درصد مرگ و میر در کمتر از ۵ روز در گونه‌های *T. evanescens* و *T. brassicae* برای هر دو گونه بی‌دوام بودند. ایندوکساکارب با ۱۴/۱۳ و ۱۲/۳۵ درصد مرگ و میر در کمتر از ۱۶ روز در گونه‌های *T. evanescens* و *T. brassicae* جزء آفت‌کش‌های کم دوام بود. در حالی که اسپینوسد با ۱۳/۳۱ و ۱۲/۶۵ درصد مرگ و میر در کمتر از ۳۰ روز در گونه‌های *T. evanescens* و *T. brassicae* در گروه ترکیبات با دوام متوسط دسته‌بندی شد.

واژه‌های کلیدی: پارازیتوئید، پایداری، شرایط نیمه مزرعه‌ای

مقدمه

ذرت، باغ‌های میوه‌ای انار و سیب برای کنترل آفات مهم بالپولکدار چون کرم ساقه‌خوار برنج، کرم قوزه پنبه، کرم ساقه‌خوار ذرت، کرم گلوگاه انار، کرم سیب گسترش قابل ملاحظه‌ای در کشور ما داشته است (۱۴). استفاده از آفت‌کش‌های ناسازگار با فعالیت پارازیتوئیدها و شکارگرها، طغیان‌های مجدد آفات هدف و ظهور آفات ثانوی را در بیشتر اکوسیستم‌های زراعی دنیا موجب شده است یک روش مهم اجتناب از این مشکلات، استفاده از آفت‌کش‌هایی است که به طریق اکولوژیکی و یا فیزیولوژیکی برای دشمنان طبیعی انتخابی می‌باشند. تشخیص ترکیبات انتخابی بستگی به شناخت صحیحی از اثرات آفت کش بر روی جمعیت آفات و دشمنان طبیعی دارد (۹). در عمل نیز مصرف مداوم حشره‌کش‌ها منجر به ظهور و گسترش ژنوتیپ‌های مقاوم آفات به گروه‌های مختلف حشره‌کش‌ها در نقاط مختلف جهان شده است (۱۶). آلودگی محیط زیست، وجود باقیمانده بیش از حد مجاز آفت‌کش‌ها روی محصول تولیدی و بالا رفتن هزینه تولید، به دلیل نیاز بیشتر به مصرف آفت‌کش‌ها، از تبعات گسترش مقاومت آفات به آفت‌کش‌ها است که محققین را به استفاده از ترکیبات آفت کش سازگار با محیط زیست در کنار عوامل کنترل بیولوژیک در قالب

زنبورهای تریکوگراما از موفق‌ترین گونه‌های پارازیتوئید در دنیا هستند و در برنامه‌های کنترل زیستی آفات در جهان مورد استفاده قرار می‌گیرند. کاربرد وسیع این زنبورها در کنترل بسیاری از آفات در بیش از ۳۰ کشور جهان انجام گرفته است. سالانه حدود ۳۲ میلیون هکتار از زمین‌های کشاورزی و جنگلی توسط تریکوگراما تحت پوشش کنترل زیستی آفات قرار داشته است (۱۳). هم‌اکنون این پارازیتوئید به صورت انبوه روی تخم‌های بید غلات و بید آرد پرورش داده می‌شود (۱۲). امتیاز این زنبورها این است که میزبان را قبل از هر گونه خسارتی در همان مرحله‌ی تخم از بین می‌برند (۹). در سال‌های اخیر تولید و رهاسازی زنبورهای تریکوگراما در مزارع برنج، پنبه،

۱-عضو هیأت علمی، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اراک، ایران

(*) نویسنده مسئول:

(Email: aroya95@gmail.com)

DOI: 10.22067/jpp.v33i1.68965

برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات ترغیب نموده است (۱۱).

حشره‌کش‌ها دائماً تعادل بین میزبان و دشمنان طبیعی را به هم می‌زنند. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که حشره‌کش‌هایی که برای کنترل آفات به کار می‌روند اثرات جانبی متعددی روی پارازیتوئیدها دارند و می‌توانند تغییراتی در رشد و نمو، درصد ظهور، نسبت جنسی و میزان پارازیتسم ایجاد کنند که در نهایت با ایجاد مسمومیت و تقلیل توانایی کنترل‌کنندگی عامل، منجر به طغیان آفات می‌گردد (۱۶). به همین دلیل لازم است تا اثر ترکیبات مختلف آفت‌کش علاوه بر آفات بر دشمنان طبیعی آن‌ها نیز مطالعه شود تا با شناسایی ترکیبات با اثرات جانبی نامطلوب کاربرد آن‌ها محدودتر گردد. در مواردی استفاده از حشره‌کش‌های بی‌دوام تا کم دوام همراه با عوامل کنترل بیولوژیک جهت کنترل مؤثر آفات به جهت حفظ این عوامل لازم می‌باشد. از این رو در این تحقیق مقایسه و ارزیابی میزان سمیت سه ترکیب حشره‌کش (اسپینوسد، ایمیداکلوپرید و ایندوکساکارب) که جهت کنترل آفات در گلخانه به کار می‌روند، مورد ارزیابی قرار گرفت.

اسپینوسد از یک اکتینومایست خاکزی به نام *Saccharopolyspora spinosa* به دست می‌آید. این حشره‌کش مستقیماً سیستم عصبی مرکزی را هدف قرار می‌دهد و باعث فلج شدن و تشنج حشره می‌شود. جهت کنترل لارو بالپولکداران به کار می‌رود. ایمیداکلوپرید حشره‌کشی تماسی و گوارشی و از خانواده نئونیکوتینوئیدهاست. این حشره‌کش در ایران جهت کنترل آفات گلخانه استفاده می‌شود.

ایندوکساکارب حشره‌کشی تماسی گوارشی و از گروه اگزادایزین‌ها می‌باشد و با بستن کانال سدیم باعث قطع تغذیه، فلج و مرگ در حشرات می‌شود. این حشره‌کش روی آفات بالپولکدار در مزارع پنبه و سبزیجات و نیز درختان میوه به کار می‌رود. هدف از این پژوهش تعیین مناسب‌ترین ترکیب و امکان تلفیق آن‌ها با دو گونه زنبور پارازیتوئید *T. brassicae* و *T. evanescens* جهت کنترل مؤثر آفات و تأمین سلامت مصرف‌کنندگان است.

مواد و روش‌ها

حشره‌کش‌ها

در این آزمایش از ترکیبات اسپینوسد (اسپینتور® SC22.8) به میزان ۵۰۰ پی‌پی‌ام ساخت شرکت داوواگرو ساینس، ایمیداکلوپرید (کونفیدور® SC35) به میزان ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام ساخت شرکت بایر و ایندوکساکارب (آوانت® SC15) به میزان ۶۰۰ پی‌پی‌ام ساخت شرکت آریا شیمی ایران استفاده شد (جدول ۱).

پرورش حشرات

نمونه اولیه گونه‌های زنبور *T. brassicae* و *T. evanescens* از

بخش مبارزه بیولوژیک مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه شد. پرورش زنبورها در اتاقک رشد در شرایط کنترل شده (دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 10 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) صورت گرفت. از تخم‌های بید غلات *Sitotroga cerealella* Oliv به عنوان میزبان جایگزین پروانه مینوز گوجه فرنگی برای تکثیر پارازیتوئیدها استفاده شد. کارهای اجرایی پژوهش در آزمایشگاه و گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی انجام گرفت.

رده‌بندی پایداری حشره‌کش‌ها

رده‌بندی پایداری حشره‌کش‌ها مطابق با دوره فعالیت سمی این ترکیبات تعیین شد. دوره فعالیت سمی فاصله زمانی است که باقیمانده آفت‌کش بتواند تا ۳۰ درصد مرگ و میر ایجاد کند (۳ و ۱۸). بر این اساس ترکیبات مورد آزمایش در سه رده قرار می‌گیرند:

A کمتر از ۵ روز بی‌دوام،

B بین ۵ تا ۱۵ روز کم دوام،

C بین ۱۶ تا ۳۰ روز دارای دوام متوسط

آزمون پایداری

غلظت‌های توصیه شده مزرعه‌ای حشره‌کش‌ها (برای هر حشره کش یک غلظت) روی گیاه گوجه فرنگی که ۳۰ سانتی‌متر ارتفاع داشتند، توسط یک سم‌پاش دستی ۲ لیتری (ساخت شرکت Royal) تا مرحله جاری شدن سم از روی برگ‌ها به کار رفت. تیمار شاهد با آب مقطر صورت گرفت. برای محافظت در برابر باران گیاهان زیر یک پوشش پلاستیکی به ارتفاع ۲۰۰ سانتی‌متر نگهداری شدند. بر اساس دستور کار گروه سازمان جهانی مبارزه بیولوژیک IOBC/WPRS روزهای سوم، پنجم، شانزدهم و سی و یکم پس از سم‌پاشی از هر تیمار و تیمار شاهد نمونه‌های برگ‌گی جدا شد. برای هر تیمار ۶ تکرار در نظر گرفته شد. سپس نمونه‌های برگ‌گی به تعداد یک عدد به ابعاد 1×1 سانتی‌متر در پتری‌دیش با ابعاد 9×1 سانتی‌متر در معرض هر یک از دو گونه زنبور به تعداد ۳۰ عدد زنبور ماده در شرایط دمایی 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد، رطوبت 60 ± 10 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. یک قطره عسل ۱۰ درصد هم برای تغذیه آن‌ها به دیواره شیشه آغشته شد. ارزیابی اثر تیمار بر اساس مرگ و میر افراد پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در معرض سموم انجام گرفت. در همه آزمایش‌ها، زنبورهایی که هیچ حرکتی نمی‌کردند مرده محسوب شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۶ تکرار انجام شدند.

بین تأثیر کشندگی ایمیداکلوپرید نیز در روزهای مختلف پس از تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده شد در حالی که مرگ و میر زنبور در روزهای شانزدهم و سی و یکم پس از تیمار اختلاف معنی‌داری نداشتند. ایمیداکلوپرید به ترتیب در روزهای سوم و سی و یکم پس از تیمار به ترتیب بیشترین $50/64 \pm 74\%$ و کمترین میزان مرگ و میر $8/89 \pm 5\%$ را نشان داد ($P=0.0001$; $df=3,23$; $F=191.24$).

۳- مقایسه تأثیر حشره‌کش‌ها در هر یک از روزهای پس از تیمار روی گونه *Trichogramma brassicae*

در سومین روز پس از تیمار در میزان مرگ و میر پارازیتوئید بین ترکیبات مختلف نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P=0.0001$; $df_{4,29}$; $F=1141.25$). اسپینوسد با $90/59 \pm 10/1\%$ بیشترین میزان مرگ و میر را در بین همه تیمارها ایجاد کرد. ایمیداکلوپرید با $50/23 \pm 0/55\%$ کمترین میزان مرگ و میر را سبب شد. میزان مرگ و میر ایجاد شده با ایندوکساکارب $86/76 \pm 1/20\%$ بود.

در روز پنجم پس از تیمار اسپینوسد با ایجاد $72/22 \pm 0/84\%$ مرگ و میر بیشترین میزان کشندگی را داشت و اختلاف معنی‌داری با بقیه تیمارها نشان داد ($P=0.0001$; $df_{4,29}$; $F=991.22$). ایندوکساکارب با $50/22 \pm 0/84\%$ مرگ و میر پس از اسپینوسد بیشترین میزان کشندگی را داشت. ایمیداکلوپرید با میانگین مرگ و میر $25/34 \pm 0/70\%$ اثرات کشندگی کمتری داشت.

روز شانزدهم پس از تیمار اسپینوسد بیشترین میزان مرگ و میر ($45 \pm 43\%$) را سبب شد و با تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری داشت ($P=0.0001$; $df_{4,29}$; $F=657/02$). ایندوکساکارب مرگ و میر کمتری ($14/13 \pm 0/50\%$) نسبت به اسپینوسد ایجاد کرد. ایمیداکلوپرید با میانگین مرگ و میر $13/31 \pm 0/70\%$ در رتبه سوم قرار گرفت.

روز سی و یکم پس از تیمار اسپینوسد مرگ و میری حدود $13/31 \pm 1/21\%$ ایجاد کرد و هنوز هم با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($P=0.0001$; $df_{4,29}$; $F=52.92$). ایندوکساکارب با میانگین مرگ و میر $9/32 \pm 0/68\%$ بعد از اسپینوسد قرار گرفت. ایمیداکلوپرید با میانگین مرگ و میر $8/10 \pm 0/74\%$ اثرات کشندگی کمتری داشت.

۴- مقایسه تأثیر حشره‌کش‌ها در هر یک از روزهای پس از تیمار روی گونه *Trichogramma evanescens*

در روز سوم پس از تیمار بین تأثیر همه ترکیبات تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P=0.0001$; $df_{4,29}$; $F=2303.61$). اسپینوسد با $93/60 \pm 0/72\%$ بیشترین میزان مرگ و میر را در بین همه تیمارها سبب شد. میانگین مرگ و میر در اثر ایندوکساکارب و ایمیداکلوپرید به ترتیب $82/50 \pm 0/72\%$ و $50/64 \pm 0/74\%$ بود.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه - one way ANOVA و نرم‌افزار Spss انجام شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح معنی‌داری ۵٪ جدا شدند. داده‌های مربوط به درصد مرگ و میر در تیمارهای مختلف بر مبنای تلفات شاهد با استفاده از فرمول آبوت تصحیح شد (۱).

نتایج

۱- بررسی تأثیر کشندگی هر یک از ترکیبات در روزهای مختلف (۳، ۵، ۱۶ و ۳۱ روز پس از تیمار) روی گونه *Trichogramma brassicae*

در بررسی تأثیر کشندگی اسپینوسد در روزهای مختلف پس از تیمار، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد بیشترین میزان مرگ و میر سه روز پس از تیمار $90/59 \pm 10/1\%$ درصد و کمترین میزان مرگ و میر در روز سی و یکم پس از تیمار $8/89 \pm 5\%$ بود ($P=0.0001$; $df=3,23$; $F=817.53$).

در میزان کشندگی ایندوکساکارب در روزهای مختلف پس از تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده شد در حالی که مرگ و میر زنبورها در روزهای شانزدهم و سی و یکم پس از تیمار اختلاف معنی‌داری نداشتند. بیشترین میزان مرگ و میر سه روز پس از تیمار $90/59 \pm 10/1\%$ و کمترین آن سی و یک روز پس از تیمار $8/89 \pm 5\%$ بود ($P=0.0001$; $df=3,23$; $F=1754.66$).

بین تأثیر کشندگی ایمیداکلوپرید در روزهای مختلف پس از تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده شد در حالی که مرگ و میر زنبورها در روزهای شانزدهم و سی و یکم پس از تیمار اختلاف معنی‌داری نداشتند. بیشترین میزان مرگ و میر سه روز پس از تیمار $50/23 \pm 0/55\%$ و کمترین آن سی و یک روز پس از تیمار $8/10 \pm 0/74\%$ بود ($P=0.0001$; $df=3,23$; $F=243.85$).

۲- بررسی تأثیر کشندگی هر یک از ترکیبات در روزهای مختلف (۳، ۵، ۱۶ و ۳۱ روز پس از تیمار) روی گونه *Trichogramma evanescens*

در مرگ و میر زنبورها تحت تأثیر اسپینوسد در هر چهار روز پس از تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده شد بیشترین میزان مرگ و میر سه روز پس از تیمار $93/60 \pm 0/72\%$ و کمترین میزان مرگ و میر در روز سی و یکم پس از تیمار $12/65 \pm 0/72\%$ بود ($P=0.0001$; $df=3,23$; $F=663.03$).

در مرگ و میر زنبورها تحت تأثیر ایندوکساکارب در روزهای در روزهای مختلف پس از تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. در حالی که مرگ و میر زنبورها در روزهای شانزدهم و سی و یکم پس از تیمار اختلاف معنی‌داری نداشتند. بیشترین میزان مرگ و میر سه روز پس از تیمار $82/50 \pm 0/72\%$ و کمترین آن سی و یک روز پس از تیمار $9/56 \pm 0/55\%$ بود ($P=0.0001$; $df=3,23$; $F=2480.14$).

در گروه کم دوام دسته‌بندی شد (class B). اسپینوسد با دوام بین ۳۰-۱۶ روز دوام متوسطی داشت (class C). نتایج آشکار کرد که حشره‌کش‌های مورد آزمایش سمیت زیادی برای افراد بالغ دو گونه زنبور داشتند. کاهش متغیری در توانایی شیمیایی زمانی که افراد بالغ پس از ۵ روز در معرض باقی مانده آفت کش‌ها قرار گرفتند، ثبت شد. حداقل مرگ و میر پس از ۵ روز، در ایمیداکلوپرید مشاهده شد. ایمیداکلوپرید با ایجاد ۲۵/۳۴ و ۲۶/۳۱ درصد مرگ و میر در کمتر از ۵ روز در گونه‌های *T. brassicae* و *T. evanescens* برای هر دو گونه در گروه ترکیبات بی‌دوام قرار گرفت در حالی که اسپینوسد به ترتیب با ایجاد ۱۳/۳۱ و ۱۲/۶۵ درصد مرگ و میر در کمتر از ۳۰ روز در گونه‌های مزبور در گروه ترکیبات با دوام متوسط دسته‌بندی شد. ایندوکساکارب با ایجاد ۱۴/۱۳ و ۱۲/۳۵ درصد مرگ و میر در کمتر از ۱۶ روز در گونه‌های یاد شده در گروه آفت‌کش‌های کم دوام قرار گرفت (جدول ۲ و ۳).

بحث

این تحقیق به روشنی نشان داد که ایمیداکلوپرید به دلیل ماندگاری کمتر از پنج روز با هر دو گونه پارازیتوئید *T. brassicae* و *T. evanescens* سازگار بوده و به عنوان بخشی از برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات محسوب می‌شود. نتایج آشکار کردند که هر دو گونه پارازیتوئید پس از قرار گرفتن در معرض سموم سطح یکسانی از حساسیت را نشان دادند.

در روز پنجم پس از تیمار اسپینوسد با ایجاد $73/75 \pm 1/03\%$ مرگ و میر بیشترین میزان کشندگی را داشت و اختلاف معنی‌داری با بقیه تیمارها نشان داد ($P=0.0001$; $df_{4,29}$; $F=857.76$). ایندوکساکارب با $59/44 \pm 1/04\%$ مرگ و میر پس از اسپینوسد بیشترین میزان کشندگی را داشت. ایمیداکلوپرید با میانگین مرگ و میر $26/31 \pm 0/55\%$ اثرات کشندگی کمتری داشت.

روز شانزدهم پس از تیمار اسپینوسد بیشترین میزان مرگ و میر ($46/98 \pm 0/55\%$) ایجاد کرد و با تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری داشت ($P=0.0001$; $df_{4,29}$; $F=451.13$). ایمیداکلوپرید با ایجاد مرگ و میر حدود $15/74 \pm 1/11\%$ پس از اسپینوسد قرار گرفت. ایندوکساکارب مرگ و میر کمتری ($12/35 \pm 0/53\%$) نسبت به ایمیداکلوپرید داشت و در رتبه سوم قرار گرفت.

روز سی و یکم پس از تیمار اسپینوسد مرگ و میری حدود $12/65 \pm 0/72\%$ ایجاد کرد و با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ($P=0.0001$; $df_{4,29}$; $F=44.24$). ایندوکساکارب با ایجاد میانگین مرگ و میر $9/56 \pm 0/51\%$ بعد از اسپینوسد قرار گرفت. ایمیداکلوپرید نیز با ایجاد میانگین مرگ و میر $8/89 \pm 0/51\%$ اثرات کشندگی کمتری داشت.

رده‌بندی حشره‌کش‌ها

تست‌های پایداری حشره‌کش‌ها بر اساس گروه کاری IOBC نشان داد که ایمیداکلوپرید مرگ و میری حدود ۳۰٪ در کمتر از ۵ روز ایجاد کرد و در گروه حشره‌کش‌های بی‌دوام قرار گرفت (class A). ایندوکساکارب این میزان مرگ و میر را بین ۱۶-۵ روز ایجاد کرد و

جدول ۱- حشره‌کش‌های تست شده روی افراد بالغ دو گونه تریکوگراما

Table 1- Insecticides tested adult *T. brassicae* and *T. evanescens*

حشره‌کش‌ها Name of insecticides	نام تجاری Trade name	میزان دوز Dose rate (ppm)	شرکت سازنده Manufacturer
Spinosad SC 22.8%	Spintor	500	Dow Agrosience
Imidacloprid SC35%	Confidor	1000	Bayer
Indoxacarb SC 15%	Avant	600	Aria shimi

جدول ۲- درصد مرگ و میر افراد بالغ *T. brassicae*، ۲۴ ساعت پس از قرار گرفتن در معرض باقیمانده حشره‌کش‌ها ۳، ۵، ۱۶ و ۳۱ روز پس از

تیمار تحت شرایط آزمایشگاهی

Table 2- Mortality (%) of *T. brassicae* wasps after 24 hours exposure to residues of insecticides 3, 5, 16 and 31 days post treatment (DPT) at laboratory conditions

حشره کش Insecticide	درصد مرگ و میر % Mortality				رده بندی Classification
	3d	5d	16d	31d	
Spinosad	90.59±1.01a	72.22±0.73a	45.43±0.70a	13.31±1.21a	C, Moderately persistent
Indoxacarb	86.76±1.20a	50.22±0.84b	14.13±0.50b	9.32±0.68b	B, Slightly persistent
Imidaclopride	50.23±0.55b	25.34±0.70c	13.31±0.70b	8.10±0.74b	A, Short lived

Different letters indicate significant differences of means in columns based on analysis of variance and LSD tests of data at $P<0.05$.

جدول ۳- درصد مرگ و میر افراد بالغ *T. evanescens*، ۲۴ ساعت پس از قرار گرفتن در معرض باقیمانده حشره‌کش‌ها ۳، ۵، ۱۶ و ۳۱ روز پس از تیمار تحت شرایط آزمایشگاهی

Table 3- Mortality (%) of *T. evanescens* wasps after 24 hours exposure to residues of insecticides 3, 5, 16 and 31 days post treatment (DPT) at laboratory conditions

حشره‌کش Insecticide	درصد مرگ و میر % Mortality				رده‌بندی Classification
	3d	5d	16d	31d	
Spinosad	93.60±0.73a	73.75±1.03a	46.98±0.55a	12.65±0.72a	C, Moderately persistent
Indoxacarb	82.50±0.72b	59.44±1.04b	12.35±0.53b	9.56±0.51b	B, Slightly persistent
Imidaclopride	50.64±0.74c	26.31±0.55c	15.74±1.11b	8.89±0.51b	A, Short lived

Different letters indicate significant differences of means in columns based on analysis of variance and LSD tests of data at $P < 0.05$.

ایندوکساکارب و اسپینوسد به ترتیب در گروه کم دوام و دوام متوسط قرار گرفتند. به طور مشابه حسن و همکاران (۷) ایندوکساکارب را برای گونه *T. cacoeciae* جزء سموم کم دوام ارزیابی کردند. شنگ و همکاران (۱۵) نیز ایندوکساکارب را در شرایط گلخانه روی گونه *T. chilonis* کم دوام ارزیابی کردند. یافته‌های این تحقیق درباره دوام سمیت اسپینوسد علیه افراد بالغ دو گونه زنبورهای *T. brassicae* و *T. evanescens* مشابه تحقیقات هواکاپوگ و همکاران (۸) است. آنها گزارش کردند که اسپینوسد برای افراد بالغ *T. chilonis* دوام متوسطی دارد. این تشابه به دلیل تفاوت کم در حساسیت گونه‌های مختلف تریکوگراما نسبت به سموم می باشد.

بنا بر اظهارات وان د ویر و همکاران (۲۱) در مورد تأثیر پایداری ایندوکساکارب روی سن *Orius laevigatus*، ایندوکساکارب در رده سموم با پایداری کم قرار گرفت که با نتایج این بررسی با توجه به تفاوت در عوامل کنترل بیولوژیک مطالعه شده در این تحقیق و تحقیق حاضر تشابه دارد.

کاربرد ایندوکساکارب و اسپینوسد به ترتیب با دوام کم و متوسط در زمان رهاسازی زنبورهای تریکوگراما بایستی با دقت انجام شود. از آنجا که درجه سمیت هر آفت‌کش بستگی به مرحله زندگی عوامل کنترل بیولوژیک و روش کاربرد سموم دارد لذا مطالعات تکمیلی جهت ارزیابی اثرات زیر کشنده آفت‌کش‌ها روی پارازیتوئیدها و همچنین مطالعات مزرعه‌ای نیاز است تا درک بهتری راجع به سطح انتخابی بودن آفت‌کش‌ها به دست آید.

یافته‌های ما با نتایج فرناندز و همکاران (۵) که گزارش کردند ایمیداکلوپرید برای کنه‌های بالغ *Amblyseius swirskii* امن است مشابه می‌باشد که احتمالاً به دلیل ناپایدار بودن این ترکیب است. ولی گونه‌های به کار رفته در این تحقیق با تحقیق حاضر مشابه نمی‌باشند. توهنیشی و همکاران (۱۹) سازگاری این حشره‌کش را با بعضی دشمنان طبیعی مثل *Amblyseius cucumeris* و *Phytoseiulus persimilis* گزارش کردند.

طبق نظر لقبور و همکاران (۱۰) و بیزر و همکاران (۲) این حشره کش با همه مراحل زندگی کنه‌های فیتوزئید و همچنین با *Galendromus occidentalis* سازگار است. گارزون و همکاران ایمیداکلوپرید را برای لارو سن آخر *Chrysoperla carnea* و *Adalia bipunctata* غیر سمی گزارش کردند (۶). در مقابل دکر و همکاران (۴) کاهشی در میزان تخم‌ریزی افراد ماده *Iphiseius degenerans* پس از قرار گرفتن در معرض این آفت‌کش اعلام کردند.

بر اساس نتایج اوما و همکاران (۲۰) در مورد تأثیر پایداری ایمیداکلوپرید روی گونه *Trichogramma chilonis* در شرایط مزرعه‌ای، این ترکیب در گروه سموم بی‌دوام قرار گرفت که با نتایج این بررسی به دلیل حساسیت کمی که بین گونه‌های مختلف تریکوگراما وجود دارد مشابه می‌باشد.

استارا و همکاران (۱۷) گزارش کردند که ایمیداکلوپرید اثرات متفاوتی از بی‌ضرر برای *Neoseiulus cucumeris* تا زیان‌آور برای *Aphidius colemani* ایجاد کرد.

منابع

- Abbott W.S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Beers E.H., and Schmidt R.A. 2014. Impacts of orchard pesticides on (*Galendromus occidentalis*), lethal and sub lethal effects. *Crop protection* 56: 16-24.
- Costa M.A., Muscardini V.F., Gontijo P.D.C., Carvalho G.A., Oliveira R.L.D., and Oliveira H.N.D. 2014. Sub lethal and transgenerational effects of insecticides in developing (*Trichogramma galloi*). *Ecotoxicology*, springer.
- Doker I., Pappas M.L., Samaras C., Triantfyllou A., Kazak C., and Broufas G.D. 2015. Compatibility of reduced risk

- insecticides with the nin target predatory mite (*Iphiseius degenerans*) (Acari: Phytoseiidae). Pest Management Science 71(9): 1267-1273.
- 5- Fernandez M.M., Medina P., Wanumen A., Estal P.D., Smagghe G., and Vinuela E. 2017. Compatibility of sulfoxaflor and other modern pesticides with adults of the predatory mite (*Amblyseius swirskii*). Residual contact and persistence studies. Biocontrol 62: 197-208.
- 6- Garzon A., Medina P., Amor F., Vinuela E., and Budia F. 2015. Toxicity and sublethal effects of six insecticides to last instar larvae and adults of the biocontrol agent (*Chrysoperla carnea*) (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) and (*Adalia bipunctata*) (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). Chemosphere 132: 87-93.
- 7- Hassan S.A. 1998. The initiative of The IOBC/WPRS working group on pesticides and beneficial organisms In: Ecotoxicology, Pesticides and beneficial organisms. (Eds: Haskell, P.T. and McEwen, P.) Kluwer Academic Publishing, pp22-56.
- 8- Hewa-Kapuge S., Dougall S.M., and Hoffmann A. 2003. Effects of methoxyfenozide, indoxacarb, and other insecticides on the beneficial egg parasitoid (*Trichogramma brassicae*) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory and field conditions. Journal of Economic Entomology 96(4): 1083-1090.
- 9- Jafari M., Saber M., Gharakhani G., and Bagheri M. 2015. Effects of sub lethal of metoxyfenozide and emamectin benzoate on (*Trichogramma brassicae*). Agricultural Pest Management 2(1): 12-20.
- 10- Lefebvre M., Bostanian N.J., Thistlewood H.M.A., Mauffette Y., and Racette G. 2011. A laboratory assessment of the toxic attributes of six reduced risk insecticides on (*Galendromus occidentalis*) (Acari: Phytoseiidae). Chemosphere 84: 25-30.
- 11- Puza V. 2015. Control of insect pest by entomopathogenic nematodes. pp.175-183. In: Lugtenberg, B. (ed.), principles of plant microbe interaction. Springer International Publishing, BERN.
- 12- Scholler M., and Fields P. 2002. Screening of North American species of (*Trichogramma evanescens*) Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for control of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). Proceedings of the Eighth International Working Conference of Stored-Product Protection, York, U.K
- 13- Scholler M., and Hassan S.A. 2001. Comparative biology and life tables of (*Trichogramma evanescens*) and (*T. cacoeciae*) with (*Ephestia elutella*) as host at four constant temperatures. Entomologia Experimentalis et Applicata 98: 35-40.
- 14- Shamszade M. 2011. Biology of (*Trichogramma brassicae*) on eggs of (*Holcocerus sp.*) In laboratory conditions. Master thesis of agricultural entomology, Maraghe University.
- 15- Sheng Z.J., Li L.M., Jing W., and Shu Q. 2009. Toxicity of emamectin benzoate on different developmental stages of (*Trichogramma evanescens*) Westwood and effects on its population dynamics. Acta Ecologica Sinica 29(9): 4738-4744.
- 16- Siqueira H.A.A., Guedes R.N.C., Fragoso D.B., and Magalhaes L.C. 2001. Abamectin resistance and synergism in Brazilian populations of (*Tuta absoluta*) (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). International Journal of Pest Management 47: 247-251.
- 17- Stara J., Ourednickova J., and Kocourek F. 2011. Laboratory evaluation of the side effects of insecticides on (*Aphidius colemani*) (Hymenoptera: Aphidiidae), (*Aphidoletes aphidimyza*) (Diptera: Cecidomyiidae), and (*Neoseiulus cucumeris*) (Acari: Phytoseiidae). Journal of Pest Science 84: 25-30.
- 18- Sterk G., Hassan S.A., Baillod M., Bakker F., Bigler F., and Blumel S. 1999. Results of the seventh joint pesticide testing program carried out by the IOBC/WPRS-Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms. Biocontrol 44: 99-117.
- 19- Tohnishi M., Nakao H., Furuya T., Seo A., and Kodama H. 2005. Indoxacarb, a novel insecticide highly active against Lepidopterous insect pests. Journal of Pesticide Science 30(4): 354-360.
- 20- Uma S., Jacob S. 2013. Impact of novel insecticides on (*Trichogramma chilonis*), Thesis of Ms. Student, Kerala Agricultural Thrissur India, 159 pp.
- 21- Van de Veire M., Klein M., and Tirry L. 2002. Residual activity of abamectin and spinosad against the predatory Bug (*Orius laevigatus*). Phytoparasitica 30(5): 525-528.



Survey of Persistency of Spinosad, Imidacloprid and Indoxacarb on *Trichogramma brassicae* and *T. evanescens*

S. Ashtari^{1*}

Received: 09-12-2017

Accepted: 15-01-2019

Introduction: *Trichogramma* wasp is one of the most successful parasitic species in the world and the widespread use of these wasps has taken control of many pests in more than 30 countries. Approximately 32 million hectares of agricultural land and forests have been covered by the *Trichogramma* every year. This parasitoid is reared on *Sitotroga cerealella* (Lep.: Gelechiidae) and *Ephestia kuehniella* (Lep.: Pyralidae). The superiority of these bees is their ability to destroy the egg pest before its damage to the host plant. Nonselective insecticides can reduce the potential of biological control agents. In order to determine the most suitable insecticide for effective pest control of *Trichogramma* wasps, the present study evaluated the persistence toxicity of spinosad, indoxacarb and imidacloprid after exposing of *T. brassicae* and *T. evanescens*, the egg parasitoids of tomato leaf miner, according to IOBC procedure.

Materials and Methods: The experiments were carried out in the Laboratory of Plant Protection at Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Markazi Province, Arak, Iran. The egg parasitoids *T. brassicae* and *T. evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) were provided from Biological Control Department of Plant Protection Research Institute (Tehran, Iran). The parasitoids were reared on the Angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) at the laboratory under the controlled conditions of $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, $65\pm 10\%$ RH and photoperiod of 16:8 h (L: D).

Insecticides: The recommended doses (RD) of the insecticides of Spinosad (SC 22.8% Spintor, DowAgroscience Co.), Imidacloprid (SC35% Confidor, Bayer) and Indoxacarb (SC15% Avant, Aria Shimi) were tested.

Persistent tests: The insecticides were applied at RD on tomato plants by a hand sprayer to the point of run off. Plants were maintained under a transparent polyethylene rain cover in the field. Leaves of the treated tomato plant were sampled and transferred to the laboratory at different time intervals of 3, 5, 16 and 31 days after insecticide application. These intervals were proposed by the IOBC/WPRS Working Group. The samples were placed in ventilated plastic Petri dishes for exposure to the adult parasitoids. The experiment was repeated six times on 30 adult individuals of each species. Assessment of mortality was made on the basis of 24 h post exposure time. Persistence rate of wasps against each insecticide was evaluated according to IOBC/WPRS Working Group. The categories under laboratory conditions include: A, short lived (<5days); B, slightly persistent (5-15days); C, moderately persistent (16-30days); D, Persistent (>30 days).

Results and Discussion: Persistence tests for 30% mortality at each period of time revealed that imidacloprid with less than five days persistence classified as short lived insecticides (class A) for *T. brassicae* and *T. evanescens* wasps, indoxacarb with more than five days and less than 16 days effect was slightly persistent (class B) and spinosad which persisted more than 16 days but less than 30 days was moderately persistent for the parasitoid *T. brassicae* and *T. evanescens* (class C) (Table 1, 2). This research clearly showed that imidacloprid which persisted less than five days at field conditions were compatible with both egg parasitoids, *T. brassicae* and *T. evanescens* as a part of integrated management program of pests. This study also revealed that both parasitoids responded at the same level of susceptibility after exposure to the insecticide. There is no evidence for effect of imidacloprid on *Trichogramma* parasitoids, however our finding was the same as the results of Fernández *et al.* (2017) who reported imidacloprid was safe for predatory mite *Amblyseius swirskii* adults. Some researchers also emphasized on computability of this insecticide with a large number of natural enemies, including the predatory mites *Amblyseius cucumeris* and *Phytoseiulus persimilis*. The insecticide was compatible with all stages of phytoseiid mites, reported by Lefebvre *et al.* (2011) and Beers and Schmidt (2014) in *Galendromus occidentalis*. Garzon *et al.*, (2015) also reported this insecticide was nontoxic to last instar larvae and adults of *Chrysoperla carnea* and *Adalia bipunctata* so they emphasized that it is a good candidate to be incorporated into IPM programs. On the contrary, Doker *et al.*, (2015) reported a

1- Faculty Member, Plant Protection Research Department, Markazi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, AREEO, Arak, Iran.

(* - Corresponding Author Email: aroya95@gmail.com)

significant reduction in oviposition of *Iphiseius degenerans* after exposure to imidacloprid.

Conclusion: This research focused on the impact of insecticide exposure on *Trichogramma* species in Markazi Province. Pesticides that control pests without severe side effects on substantial natural enemies are always a necessity for integrated control programs. The application of the short-lived insecticides can allow a rapid recolonization of the parasitoids. We found imidacloprid is non-harmful for both *T. brassicae* and *T. evanescence* wasps. By contrast, spinosad and indoxacarb should be used with care as a part of IPM procedure.

Keywords: Parasitoides, Persistency of insecticide, Semi field conditions

بررسی ترجیح غذایی موریه *Microcerotermes diversus* Silvestri نسبت به سه گونه درختی راش، اکالیپتوس و زربین

لادن پورسرتیپ^{۱*} - کوروش سعادت وفا^۲ - پژمان رضایتی چرانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۰۳

چکیده

یکی از مهمترین گونه‌های موریه در استان‌های جنوب ایران *Microcerotermes diversus* Silvestri است که جزء موریه‌های زیرزمینی محسوب می‌شود و توانایی حمله به چوب آلات ساختمانی و حتی درختان سرپا را نیز دارد. با توجه به این واقعیت که بسترهای لیگنوسلولزی می‌توانند به راحتی توسط موریه مورد تغذیه قرار گیرند، این امر می‌تواند موجب آسیب زیادی به چوب آلات ساختمانی گردد، لذا شناسایی گونه‌های چوبی مقاوم می‌تواند در انتخاب مناسب این مواد در مناطقی که هجوم موریه‌ها بالاست کاربرد داشته باشد. بدین منظور طبق روش استاندارد ASTM D 3345/1980، دو گونه پهن برگ راش و اکالیپتوس و یک سوزنی برگ زربین انتخاب و نمونه‌های برش داده شده، طی آزمون‌های تغذیه‌ای انتخابی و غیرانتخابی در معرض هجوم موریه قرار داده شدند. برای بررسی میزان ارتباط جذابیت تغذیه‌ای چوب‌ها برای موریه با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی چوب، پارامترهایی مانند درصد مواد استخراجی، جرم مخصوص، میزان لیگنین و سلولز هر کدام از گونه‌ها طبق استاندارد محاسبه شد. نتایج بدست آمده از آزمون‌های تغذیه‌ای انتخابی و غیرانتخابی نشان داد که چوب زربین کمترین و چوب راش بیشترین میزان مطلوبیت برای موریه را دارند. با توجه به نتایج آنالیز مواد شیمیایی چوب‌ها، به ترتیب بالاتر بودن درصد لیگنین و مواد استخراجی مانند ایزوفیلوکالادن، بوربونان، سینامالدید هگز و دکانویک اسید در گونه‌های زربین و اکالیپتوس می‌تواند باعث ایجاد عدم مطلوبیت این گونه‌ها برای موریه در مقایسه با راش باشد.

واژه‌های کلیدی: جرم ویژه، لیگنین، سلولز، ماده لیگنوسلولزی، مواد استخراجی

مقدمه

شناسایی شده است که حدود ۱۵۰ گونه به ساختمان‌ها حمله می‌کنند و در این میان موریه‌های زیرزمینی حدود ۸۰ درصد از گونه‌های خسارت‌زا را شامل می‌شوند (۱۲). منبع تغذیه موریه‌ها مواد لیگنوسلولزی است و با توجه به استفاده گسترده از این مواد در زندگی روزمره، خطر هجوم این حشرات همواره وجود دارد (۷). نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که استان‌های جنوبی کشور و خصوصا استان خوزستان زیستگاه گونه‌های مختلف این حشره هستند. گونه *Microcerotermes diversus* Silvestri که جزء موریه‌های زیرزمینی محسوب می‌شود از جمله مهمترین گونه‌های موریه در استان خوزستان است که توانایی حمله به چوب آلات ساختمانی و حتی درختان سرپا را نیز دارد (۴). با توجه به اینکه مواد لیگنوسلولزی به راحتی توسط موریه‌ها مورد حمله قرار می‌گیرند و موجب خسارت های فراوانی می‌شوند، بنابراین در مناطق موریه‌خیز جنوب کشور، شناسایی گونه‌های چوبی مقاوم در برابر موریه‌ها اهمیت زیادی دارد. لیگنین و سلولز اجزای اصلی تشکیل دهنده چوب هستند ولی

چوب ماده‌ای طبیعی و تجدیدپذیر می‌باشد، که علی‌رغم مزایای بسیار زیاد، معایبی از جمله تخریب توسط عوامل خسارت‌زای زیستی را داراست. از زمان گذشته تاکنون استفاده از گونه‌های چوبی بادوام طبیعی بالا، در مکان‌هایی که مستعد تخریب طبیعی است، متداول بوده است. آنچه برخی گونه‌ها را مقاوم‌تر می‌کند مواد عصاره‌ای، صمغ، موم و سایر مواد استخراجی و نیز محتوای لیگنین موجود در چوب است (۸ و ۱۵). تحقیقات نشان می‌دهد که قارچ‌ها و حشرات چوبخوار از عمده‌ترین عوامل تأثیرگذار در کاهش کیفیت چوب و تخریب آن به شمار می‌روند، که در بین حشرات چوبخوار، موریه‌ها مهمترین نقش را دارند (۱۵). در جهان بیش از ۲۶۰۰ گونه موریه

۱ و ۲ - به ترتیب استادیار، فارغ التحصیل کارشناسی ارشد و استادیار، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه خاتم الانبیا بهبهان

(*) - نویسنده مسئول: (Email: lpoursartip@yahoo.com)

غیرانتخابی و شناسایی مقاوم‌ترین چوب نسبت به تخریب موریانه بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری موریانه

برای جمع‌آوری موریانه‌ها در فصل بهار چوب‌هایی از گونه راش با ابعاد $2/5 \times 4 \times 20$ سانتی‌متر به عنوان طعمه به مدت دو ماه داخل خاک در یک نخلستان متروکه در ۲۰ کیلومتری شهرستان بهبهان به مشخصات 30.5659° شمالی و 50.2120° شرقی دفن شدند.

پس از طی این مدت زمان، چوب‌های طعمه از خاک خارج و پس از انتقال به آزمایشگاه، موریانه‌ها با استفاده از قلم مو جدا شده و درون پتری‌دیش‌هایی که با کاغذ صافی مرطوب پوشانده شده بود قرار گرفتند. سپس به منظور رفع تنش از موریانه‌ها، این ظروف در انکوباتور تاریک در دمای 28 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 90 ± 5 درصد نگهداری شدند.

گونه‌های چوبی مورد استفاده و نحوه برش چوب

چوب‌های انتخاب شده به‌ترتیب از درختان راش (*Fagus orientalis*)، اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) و زربین (*Cupressus sempervirens*) انتخاب و بریده شدند. هدف از انتخاب این گونه‌ها مقایسه دوام گونه‌های مختلف پهن برگ و سوزنی برگ نسبت به حمله موریانه در شرایط آزمایشگاهی یکسان می‌باشد. هر کدام از گونه‌های مذکور دارای ویژگی‌هایی هستند که مطالعه میزان مقاومت آنها نسبت به حملات موریانه و مقایسه آنها با هم می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. راش به عنوان یکی از گونه‌های مهم صنعتی و گونه اکالیپتوس که به علت سرعت رشد بالای آن در بین پهن‌برگان دست کاشت مورد توجه است و همچنین گونه زربین که دلیل کیفیت بالای چوب و نیز تحمل شرایط اقلیمی سخت و نامساعد، گونه‌ای نیازمند توجه است، گزینه‌های مناسبی برای مطالعات حفاظتی به شمار می‌روند.

اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی چوب

برای بررسی میزان ارتباط جذابیت تغذیه‌ای چوب‌ها برای موریانه با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی چوب لازم است که پارامترهایی مانند درصد مواد استخراجی، جرم مخصوص، میزان لیگنین و سلولز هر کدام از گونه‌ها محاسبه شود. میزان ترکیبات شیمیایی دیواره سلولی شامل سلولز، لیگنین، مواد استخراجی در هر درخت به صورت جداگانه اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری مقدار سلولز و میزان لیگنین مطابق روش اسید نیتریک (Kurschner Cellulose) و به‌ترتیب

سلولز می‌تواند هضم شود و به عنوان غذا برای موریانه‌ها مورد استفاده قرار گیرد، در حالی که لیگنین تماماً دفع می‌شود. معمولاً الوارهایی که برای موریانه‌ها مطلوبیت چندانی ندارند، لیگنین زیادی دارند. برای الوارهایی که نسبت به حمله موریانه حساس هستند، مقدار لیگنین کمتر از ۲۳٪ ذکر شده است (۱۹).

افزون بر اختلاف موجود در بین گونه‌های مختلف چوبی، بخش‌های مختلف یک نوع چوب نیز مقاومت متفاوتی را در برابر انواع آفات از خود نشان می‌دهد. به عنوان مثال معمولاً برون چوب گونه‌های چوبی در مقایسه با درون چوب، از دوام طبیعی کمتری در مقابل آفات مختلف برخوردار است و این مساله به دلیل حضور مواد استخراجی سمی در ناحیه درون چوب است که از میزان مطلوبیت چوب برای حشرات و آفات می‌کاهد (۶). مواد استخراجی اجزاء غیرساختمانی چوب محسوب می‌شوند (۹).

ایزیمایاتی (۵) در آزمون تغذیه غیرانتخابی موریانه‌های زیرزمینی *Reticulitermes speratus*، به وضوح اثر بازدارنده مواد استخراجی چوب درون درخت ساج (*Tectona grandis*) در تغذیه را نشان داد. آددجی و همکاران (۱)، توانایی حفاظت چوب با عصاره گیاه لائوسون *Lawsonia inermis* از ترکیب ساقه پوست و برگ در برابر موریانه و دو قارچ پوسیدگی سفید و پوسیدگی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که ترکیبات مواد استخراجی بدست آمده از *L. inermis* تأثیر قابل توجهی در برابر هر دو حمله موریانه و پوسیدگی قارچ‌ها دارد و می‌تواند به عنوان عامل حفاظتی برای چوب مورد استفاده قرار بگیرد.

اهمورا و همکاران (۱۳)، خاصیت حشره‌گریزانی برخی از فلاونوئیدها را در برابر موریانه زیرزمینی بررسی و آنها را دافع موریانه معرفی کردند. در پژوهشی گاناپاتی و همکاران (۳)، سه ترکیب مختلف کینونی شامل پلامباگین، ایزودیوسپیرین و میکروفیلون را از عصاره ریشه *Diospyros sylvatica* عصاره‌گیری کرده و در برابر موریانه زیرزمینی ارزیابی نمودند. نتایج نشان داد این ترکیبات قادر به دفع و نابودی موریانه‌ها هستند. علاوه بر موارد ذکر شده یکی دیگر از فاکتورهایی که روی مطلوبیت چوب تأثیر دارد چگالی چوب است. معمولاً چوب‌هایی که دارای چگالی بالاتر هستند مقاومت بیشتری نسبت به حمله موریانه‌ها دارند (۱۴). بنابراین می‌توان گفت که فاکتورهای مختلفی تعیین‌کننده میزان مطلوبیت تغذیه‌ای چوب‌ها برای موریانه هستند.

با توجه به اینکه استفاده از چوب‌های کم دوام که به راحتی مورد هجوم موریانه قرار می‌گیرند در مناطق موریانه خیز هزینه‌های زیادی را به دنبال دارد، لذا شناسایی و استفاده از گونه‌های با دوام طبیعی بالا می‌تواند در طولانی مدت از نظر اقتصادی به صرفه باشد. هدف این تحقیق بررسی میزان تمایل موریانه *Microcerotermes diversus* به مصرف چوب‌های مختلف با انجام آزمون‌های تغذیه‌ای انتخابی و

Wp: وزن نمونه پس از خشک شدن در آون قبل از آزمون
 Wa: وزن نمونه پس از خشک شدن در آون بعد از آزمون

آزمون انتخابی تغذیه موریانه

برای انجام این آزمون از یک ظرف شامل لوله استونه‌ای توخالی به قطر ۹ و ارتفاع ۵ سانتی‌متر در مرکز یک سینی به قطر ۲۰ و ارتفاع لبه ۵ سانتی‌متر استفاده شد و سینی با یک لایه شن و خاک ورمیکولیت به نسبت ۲ به ۱ و به میزان ۱۵۰ گرم به عنوان بستر پوشانده شد. لایه مذکور با ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر مرطوب شده و چوب‌های برش داده شده در ابعاد ۵×۲۵×۲۵ میلی‌متر پس از تعیین وزن خشک در فواصل مساوی و اطراف سوراخ مرکزی روی بستر قرار داده شدند، (شکل ۱). در هر مجموعه سه قطعه درون چوب و سه قطعه برون چوب از هر سه گونه مذکور قرار داده شدند. سپس تعداد ۳۰۰ عدد موریانه کارگر فعال و سالم درون لوله استونه‌ای رها شدند. آزمون در ۳ تکرار انجام شد. پس از اضافه کردن موریانه‌ها، واحدهای آزمایشی در یک انکوباتور تاریک در دمای 28 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 90 ± 5 درصد به مدت ۳ هفته نگهداری شدند و رطوبت ظروف به صورت روزانه مورد بررسی قرار گرفت. در پایان آزمایش، بعد از حذف ذرات خاک با استفاده از قلم مو، وزن خشک هر یک از مواد به همان روش شرح داده شده در آزمون غیرانتخابی توزین گردیده و محاسبه تفاوت وزن در قبل و بعد از آزمون با استفاده از معادله فوق که قبلاً به آن اشاره شد، انجام شد.

آزمون آماری مورد استفاده

پس از انجام آزمایش‌ها، نتایج حاصله به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷، توسط آزمون توکی بررسی شد و همبستگی‌ها توسط آزمون ضریب همبستگی پیرسون مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج

درصد مواد استخراجی نمونه‌های چوبی

شکل ۲ میانگین درصد مواد استخراجی سه گونه راش، زربین و اکالیپتوس را مشخص می‌کند. با توجه به نتایج مشخص است که درصد مواد استخراجی اکالیپتوس از سایر گونه‌ها بیشتر است و هر سه گونه در سطح ۹۵ درصد با هم اختلاف معنادار دارند، ($p < 0/05$).

درصد لیگنین نمونه‌های چوبی

شکل ۳ مقدار درصد لیگنین سه گونه راش، زربین و اکالیپتوس و درصد آنها را در هر گونه مشخص می‌کند. با توجه به شکل مشخص است که بیشترین میزان لیگنین مربوط به گونه زربین و کمترین میزان لیگنین مربوط به گونه راش است. هر سه گونه در سطح ۹۵ درصد با هم اختلاف معنادار دارند، ($p < 0/05$).

طبق استاندارد T 264cm-88 آیین‌نامه ۱ TTAPPI و استاندارد T 222cm-88 آیین‌نامه TAPPI انجام گرفت. اندازه‌گیری مواد استخراجی نیز مطابق با استاندارد شماره T 2040m-88 آیین‌نامه TAPPI انجام گردید.

تعیین جرم مخصوص خشک

برای اندازه‌گیری جرم مخصوص خشک از استاندارد ISO-3131 استفاده شد. برای این منظور نمونه‌هایی در ابعاد $2 \times 2 \times 2$ سانتی‌متر مربع تهیه و سپس جهت رسیدن به رطوبت صفر به مدت ۲۴ ساعت درون آون در دمای ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و وزن نمونه‌ها با ترازوی دیجیتال (۰/۰۱ گرم، مدل GF-200 AND) اندازه‌گیری و ابعاد در سه جهت طولی، شعاعی و مماسی با کولیس دیجیتال (۰/۰۱ میلی‌متر، مدل SR44) تعیین گردید.

آزمون غیرانتخابی تغذیه موریانه

معمولاً در آزمایشگاه برای بررسی مطلوبیت چوب‌ها برای موریانه از دو روش آزمونی استفاده می‌شود: ۱- تغذیه غیرانتخابی؛ وقتی موریانه‌ها فقط یک نوع ماده غذایی برای خوردن دارند، ۲- تغذیه انتخابی؛ وقتی موریانه تعداد زیادی نمونه برای تغذیه دارد و می‌تواند بهترین آنها برای خوردن انتخاب کند.

قبل از انجام آزمون غیرانتخابی تغذیه، وزن خشک نمونه‌ها با قرار دادن آنها داخل آون 103 ± 2 درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد و سپس وزن خشک آنها محاسبه گردید.

سپس یک لایه شن و خاک ورمیکولیت به نسبت ۲ به ۱ به میزان ۹ گرم به عنوان بستر درون پتری‌دیش‌هایی به قطر ۸ سانتی‌متر، ریخته شده و با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر مرطوب شدند. سپس نمونه‌های چوب درون و چوب برون گونه‌های مورد نظر در چهار تکرار در مرکز بستر قرار داده شدند. در مرحله بعد تعداد ۱۰۰ موریانه کارگر فعال و سالم سن آخر به هر واحد آزمایشی اضافه و پس از اضافه کردن موریانه‌ها، واحدهای آزمایشی در یک انکوباتور تاریک در دمای 28 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 90 ± 5 درصد به مدت ۳ هفته نگهداری شدند. در پایان آزمایش، با استفاده از یک قلم مو، ذرات خاک از نمونه‌ها حذف شده و پس از آن به مدت ۲۴ ساعت در دمای 103 ± 2 درجه سانتی‌گراد درون آون برای به دست آوردن وزن خشک قرار داده شدند و وزن آنها بر حسب میلی‌گرم تعیین شد (۲). درصد کاهش وزن نمونه با استفاده از محاسبه تفاوت وزن در قبل و بعد از آزمون، طبق معادله (۱) تعیین شد.

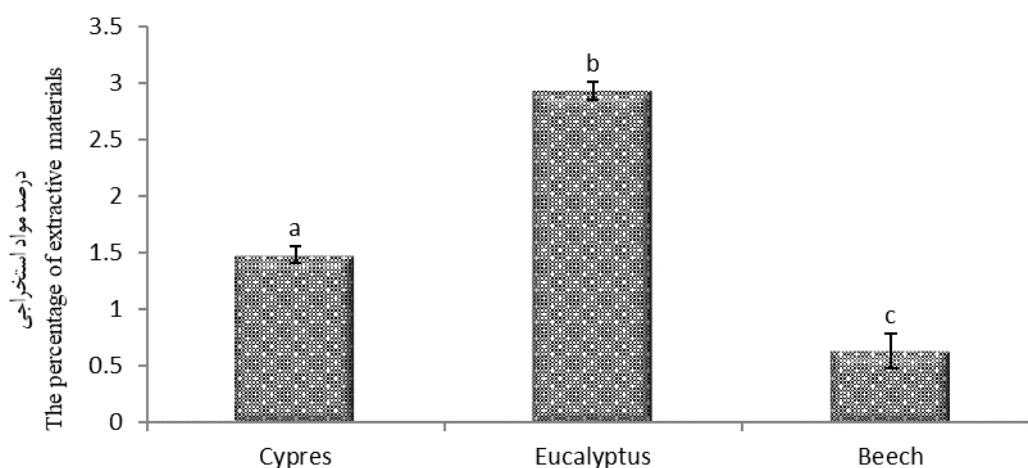
$$WL = (wp-wa)/wp \times 100$$

معادله (۱)

WL: درصد کاهش وزن



شکل ۱- آزمون انتخابی نمونه‌های چوب
Figure 1- Selective test of wood samples



شکل ۲- میانگین درصد مواد استخراجی گونه‌های راش، زربین و اکالیپتوس
Figure 2- The percentage of extractive materials of beech, cypres and eucalyptus species

مقایسه میزان درصد کاهش وزن در نمونه‌های چوبی در

آزمون غیرانتخابی

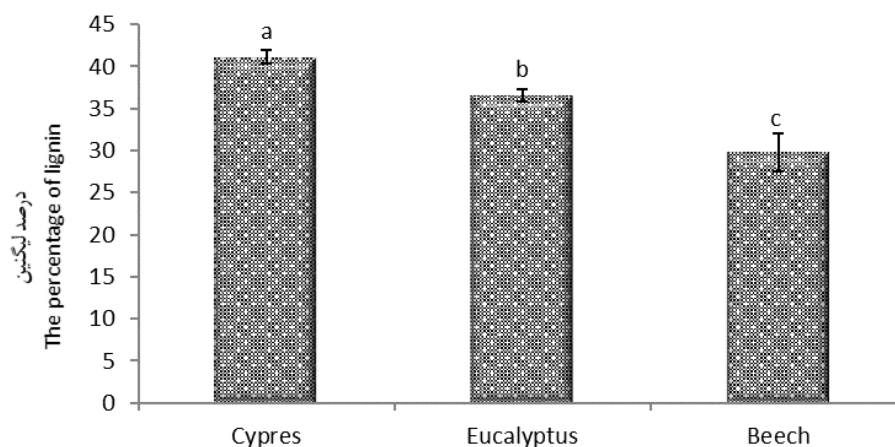
پس از قرار دادن طعمه‌ها در معرض حمله موربانه در هر نمونه درصدی از کاهش وزن مشاهده شد که نتایج حاصل از آن در شکل ۶ نشان داده شده است. نتایج حاصل از آزمون غیرانتخابی نمونه‌های چوبی نشان می‌دهد که نمونه‌های زربین کمترین درصد کاهش وزن و نمونه‌های راش بیشترین میزان کاهش وزن را داشته‌اند. نمونه‌های اکالیپتوس حالت بینابینی داشته و اختلاف معناداری با نمونه‌های زربین و راش از خود نشان نداده‌اند، ($p < 0/05$).

درصد سلولز نمونه‌های چوبی

شکل ۳ میانگین درصد سلولز سه گونه راش، زربین و اکالیپتوس را مشخص می‌کند. نتایج نشان می‌دهد که بین این سه گونه اختلاف معناداری از نظر میزان سلولز مشاهده نمی‌شود، ($p < 0/05$).

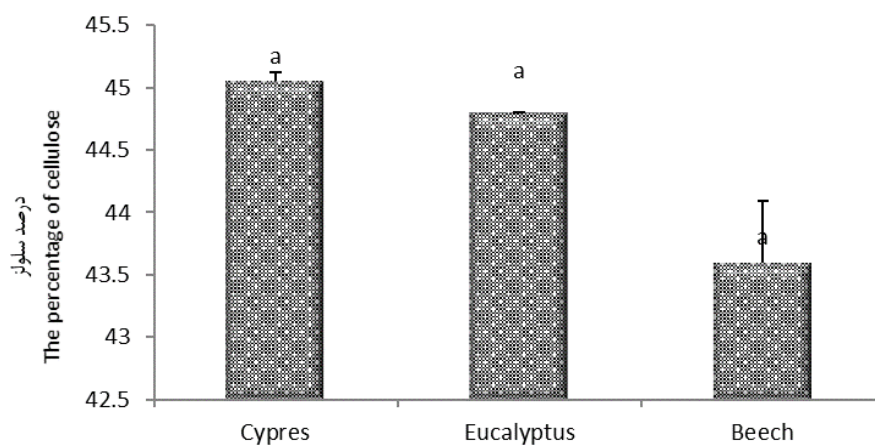
جرم مخصوص نمونه‌های چوبی

بالاترین میزان جرم مخصوص متعلق به راش و کمترین آن متعلق به گونه زربین است. هر سه گونه در سطح ۹۵ درصد با هم اختلاف معنادار دارند (شکل ۵)، ($p < 0/05$).



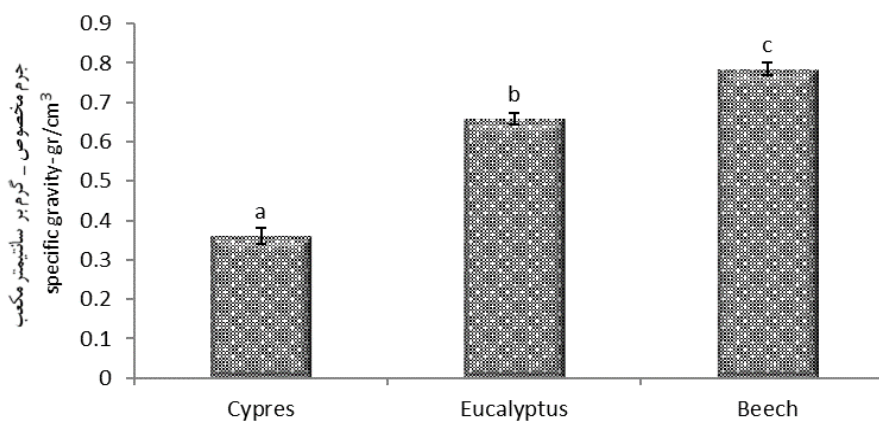
شکل ۳- مقدار درصد لیگنین گونه‌های راش، زربین و اکالیپتوس

Figure 3- The percentage of lignin in the species of beech, cypres and eucalyptus



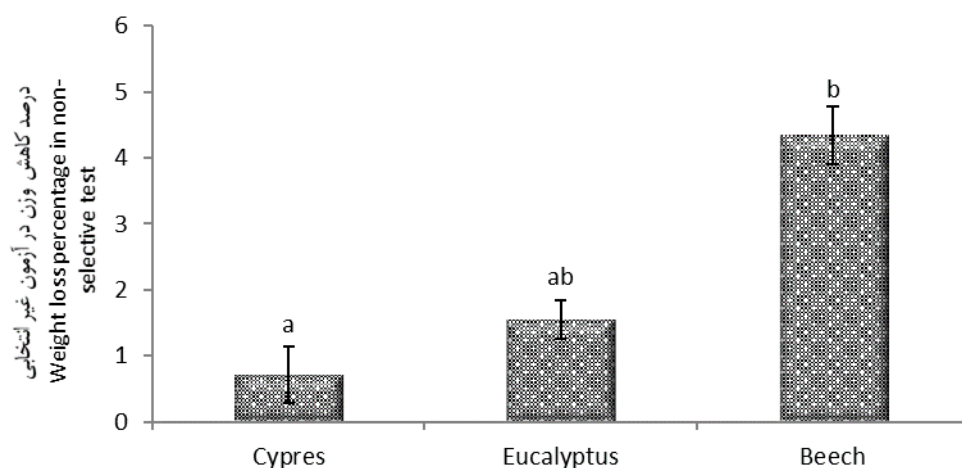
شکل ۴- مقدار درصد سلولز گونه‌های راش، زربین و اکالیپتوس

Figure 4- The percentage of cellulose in the species of beech, cypres and eucalyptus



شکل ۵- میانگین جرم مخصوص گونه‌های راش، زربین و اکالیپتوس

Figure 5- Average dry specific gravity of beech, cypres and eucalyptus species

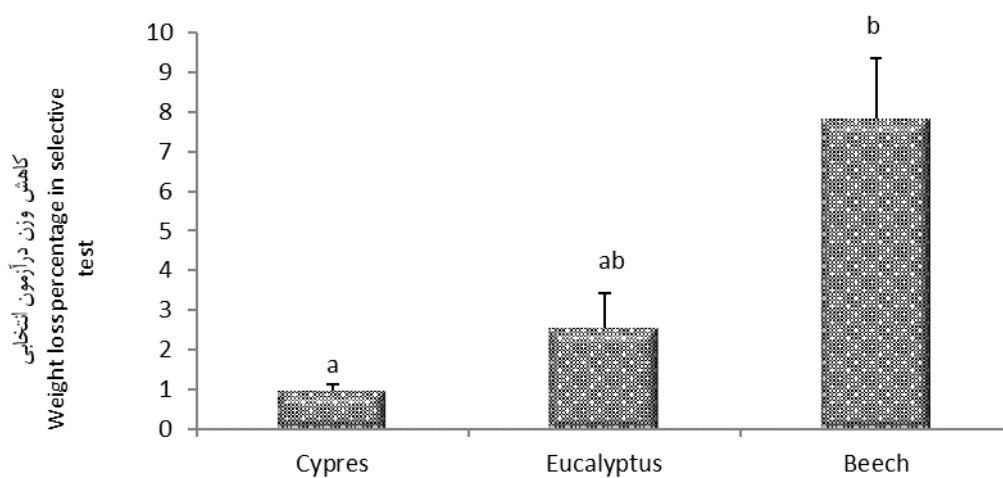


شکل ۶- درصد کاهش وزن نمونه‌های چوبی در آزمون غیرانتخابی
Figure 6- Weight loss percentage of wood samples in non- choice test

درصد کاهش وزن متعلق به گونه زربین و بیشترین کاهش وزن متعلق به راش است. این در حالی است که بین گونه اکالیپتوس با دو گونه راش و زربین اختلاف معناداری وجود ندارد، ($p < 0/05$).

مقایسه میزان درصد کاهش وزن در نمونه‌های چوبی در آزمون انتخابی

شکل ۷ میزان درصد کاهش وزن را در آزمون انتخاب نشان می‌دهد. با توجه به نتایج بدست آمده مشخص است که کمترین میزان



شکل ۷- درصد کاهش وزن نمونه‌های چوبی در آزمون انتخابی
Figure 7- Weight loss percentage of wood samples in choice test

بحث و نتیجه‌گیری

آزمون‌های انتخابی و غیرانتخابی تغذیه نمونه‌های چوبی انجام آزمون‌های انتخابی و غیرانتخابی تغذیه موریانه‌ها از چوب‌ها و بررسی نمودارها و جداول حاصله نشان داد که در هر دو آزمون اختلاف معناداری بین کاهش وزن زربین و راش وجود دارد و نمونه‌های اکالیپتوس اختلاف معناداری با این دو نمونه ندارند.

ارتباط بین درصد کاهش وزن چوب‌ها در آزمون‌های

انتخابی و غیرانتخابی با ویژگی‌های چوب‌ها

برای بررسی تأثیر ویژگی‌های مختلف چوب روی درصد کاهش وزن چوب‌ها از آزمون ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. نتایج در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- همبستگی ویژگی‌های چوب با درصد کاهش وزن چوب‌ها

Table 1- Correlation of wood properties with weight loss percentage of wood

آزمون Treatment	سلولز Cellulose	جرم مخصوص Specific gravity	مواد استخراجی Extractive materials	لیگنین Lignin
انتخابی Selective	0.806	* -0.847	-0.454	** -0.932
غیرانتخابی Non-selective	0.707	-0.651	-0.363	* -0.834

** همبستگی در سطح ۹۹ درصد * همبستگی در سطح ۹۵ درصد
** Correlation in 99% * Correlation in 95%

ها، اسیدهای چرب، الکل‌های چرب، فنل‌ها، ترپن‌ها و بسیاری از ترکیبات آلی کوچکتر می‌باشند (۶ و ۱۸). به نظر می‌رسد که یک نقش و عملکرد موازی بین میزان مواد استخراجی و لیگنین به صورت همزمان می‌تواند از هجوم حملات موریانه تا حد زیادی پیشگیری نماید.

در بررسی اثر جرم مخصوص مشخص است که جرم مخصوص هر سه گونه با هم اختلاف معنادار دارند و بالاترین آن متعلق به راش و کمترین جرم مخصوص متعلق به زربین است. با توجه به نتایج سایر محققین انتظار بر این است که جرم مخصوص بالاتر، از میزان تمایل موریانه‌ها برای مصرف چوب بکاهد (۱۴)، در حالی که این گونه به نظر می‌رسد که در تقابل فاکتورهای جرم مخصوص و درصد لیگنین و مواد استخراجی، اثر لیگنین و مواد استخراجی در بازدارندگی موریانه‌ها معنادارتر است و لذا زربین در مقایسه با راش کاهش وزن کمتری را نشان می‌دهد.

نتیجه کلی نشان داد که چوب زربین کمترین مطلوبیت و چوب راش بیشترین میزان مطلوبیت برای موریانه را دارند. بالاتر بودن درصد لیگنین در گونه زربین و درصد بالای مواد استخراجی در اکالیپتوس می‌تواند باعث ایجاد عدم مطلوبیت این گونه‌ها برای موریانه در مقایسه با راش، علی‌رغم داشتن جرم مخصوص بالاتر، باشد.

از نتایج چنین تحقیقاتی می‌توان برای شناسایی گونه‌های با دوام طبیعی بالا و همچنین پرورش آنها در جنگل‌های دست کاشت برای کاربردهای خاص که دوام بالا نیاز است، استفاده کرد. از سوی دیگر با توجه به اینکه مزیت عمده این ترکیبات شیمیایی موجود در چوب این است که برای محیط زیست ایجاد مشکل نمی‌کنند و دوستدار طبیعت به شمار می‌روند، پیشنهاد می‌شود که با سنتز مصنوعی ترکیباتی مثل لیگنین و تولید ماده حفاظتی مناسب و تزریق آن در چوب، میزان تأثیر آنها در برابر عوامل مخرب بیولوژیک مورد آزمایش قرار گیرد.

در بررسی ارتباط بین درصد کاهش وزن و ویژگی‌های چوب که در جدول ۱ به آن اشاره شده است می‌توان دریافت که درصد کاهش وزن، بیشترین ارتباط را با درصد لیگنین موجود در چوب دارد (۱۹ و ۲۰)، به عبارت بهتر با افزایش درصد لیگنین چوب، میزان مطلوبیت چوب برای موریانه کاهش می‌یابد. در بین گونه‌ها بیشترین میزان لیگنین متعلق به گونه زربین و کمترین آن متعلق به راش است و اختلاف معناداری بین مقدار لیگنین در این دو گونه مشاهده می‌شود. پوپا و همکاران (۱۶)، جنبه‌های مختلف حفاظتی لیگنین صنعتی را مورد مطالعه قرار دادند. آنها به گروه‌های عاملی موجود در لیگنین مانند هیدروکسل فنلی، گروه‌های کربوکسیلی، کربونیلی و متوکسیلی اشاره کرده و قابلیت‌های حفاظتی لیگنین را در ارتباط با گروه‌های عاملی هیدروکسیل فنلی و متوکسیل دانستند. لیگنین ماده‌ای است که به دلیل وجود گروه‌های آروماتیکی در ساختار خود، برای عوامل مخرب خوشایند نیست. پلیمری است متشکل از واحدهای فنیل پروپان و بعد از سلولز، رایج‌ترین ترکیب در ساختار گیاهان چوبی و غیرچوبی به شمار می‌رود. این ماده بدلیل داشتن گروه‌های فنلی، برای عوامل مخرب یک ماده سمی تلقی شده و خواص دفع‌کنندگی دارد. نتایج تحقیقات سایر محققین نیز نشان می‌دهد که حتی این ماده پس از استخراج و تزریق در ساختمان چوب به مقدار زیادی باعث افزایش دوام گونه چوبی در برابر حملات قارچ‌ها و حشرات شده است، (۱۱، ۱۶، ۱۷ و ۲۲). درصد بالای لیگنین در گونه زربین (بیش از ۴۰ درصد) می‌تواند از مطلوبیت این چوب برای موریانه بکاهد. این نتیجه را سلیمان نژادیان و همکاران (۱۹) و نیز محرب (۱۱)، قبلاً در تحقیقات خود ثابت کرده‌اند که الوارهای با درصد بالای لیگنین کمتر مورد هجوم موریانه قرار می‌گیرند.

در این میان با توجه به نتایج بدست آمده در مورد ویژگی گونه اکالیپتوس و عدم وجود اختلاف معنادار آن با گونه زربین، حضور مواد استخراجی در این مقاومت را نیز نباید نادیده گرفت. انواع بسیار متنوعی از مواد استخراجی در گونه‌های چوبی وجود دارد. آنها روی خواص مختلف چوب و مخصوصاً دوام طبیعی اثرگذارند و شامل چربی

منابع

- 1- Adedeji G.A., Ogunsanwo O.Y., and Elufioye T.O. 2017. Quantifications of phytochemicals and Biodeterioration & Biodegradation, 116 biocide actions of *Lawsonia inermis* linn. Extracts against wood termites and fungi. International Biodeterioration and Biodegradation 116: 155-162.
- 2- Ekhtelat M. 2009. Investigation on feeding behavior and estimating foraging population of *Microcerotermes diversus* Silvestri (Isoptera: Termitidae). M. S. Dissertation, College of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran. 131pp. (In Persian with English abstract)
- 3- Ganapaty S., Steve Thomas P., Fotso S., and Laatsch H. 2004. Antitermitic quinones from *Diospyros sylvatica*. Phytochemistry 65: 1265-1271.
- 4- Habibpour B. 1994. Termites (Isoptera) Fauna, Economic Importance and Their Biology in Khuzestan, Iran. M. S. Dissertation, College of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran, 143p. (In Persian with English abstract)
- 5- Ismayati M., Nakagawa-Izumi A., Kamaluddin N.N., and Ohi H. 2016. Toxicity and feeding deterrent effect of 2-Methylanthraquinone from the wood extractives of *Tectona grandis* on the subterranean termites *Coptotermes formosanus* and *Reticulitermes speratus*. Insects 7(4): 63-65.
- 6- Jurbandian A., and Mastari Farahani M.R. 2012. The Role of extractive materials in natural durability and wood preservation. The Journal of Conservation and Exploitation of Natural Resources 1(2): 105-110 (In Persian with English abstract)
- 7- Karimi A.N., Fathollahzadeh A., and Kameli A. 2005. The selection and application of Timbered Woods. Aiizh Publications, Tehran, 154 p. (In Persian).
- 8- Karimi A.N., Talaii A., and TuTunjanian A.R. 2007. Atlas of the world woods. Aiizh Publications, Tehran, 400 p. (In Persian)
- 9- Kartal S.N., Aysal S., Terzi E., Yilgor N., Yoshimur T., and Tsunoda K. 2013. Wood and bamboo-pp composites: fungal and termite resistance, water absorption, and FT-IR Analyses. BioResources 8(1): 1222-1244.
- 10- Mirshokraie S.A. 2006. Wood chemistry: fundamental and application. 2nd edition. Tehran. Aeeizh Press, 194p. (In Persian)
- 11- Mirshokraii A. 2010. Wood chemistry. Aiizh Publications, Tehran, 198 p. (In Persian)
- 12- Mohareb A., Sirmah P., Desharnais L., Dumarcay S., Petrissans M., and Gerardin P. 2010. Effect of extractives on conferred and natural durability of *Cupressus lusitanica* heartwood. Annals of Forest Science 67: 1-7.
- 13- Nobre T., and Nunes L. 2007. Non-traditional approaches to subterranean termites control in building. Wood Material Science and Engineering 3(4): 147-156.
- 14- Ohmura W., Doi S., and Aoyama M. 2000. Antifeedant activity of flavonoids and related compounds against the subterranean termite *coptotermes formosanus* Shiraki. Japan Wood Research Society 46: 149-153.
- 15- Owoyemi J.M., Olaniran S.O., and Aliyu D.I. 2013. Effect of density on the natural resistance of ten selected Nigerian wood species to subterranean termites. Prolignio 9(1): 32-40.
- 16- Parsapajouh D., Faezipour M., and Taghiyari H.R. 2009. Industrial timber preservation, 4th Ed., Tehran University Publications, Tehran, 657 p. (In Persian)
- 17- Popa V.I., Capraru A.M., Grama S., and Malutan T. 2011. Agents for wood bio protection on natural aromatic compounds and their complexes with cooper and zinc, Cellulose Chemistry and Technology 45(3): 227-231.
- 18- Rashmi R., and Sundararaj R. 2013. Physical and chemical properties of some imported woods and their degradation by Termites. Journal of Insect Science 13: 63-70.
- 19- Rowell R.M., Pettersen R., Han J.S., Rowell J.S., and Tshabalala M.A. 2010. Chapter 3, Cell Wall Chemistry: in Handbook of wood chemistry and Wood composites. CRC press. P. 2-3.
- 20- Soleyman nezhadian E. 1991. Termites: The Diagnosis and fight against them. Nashr Daneshgahi publication. Tehran, 260 p. (In Persian)
- 21- The Technical Association of Pulp and Paper Industry (TAPPI) standards. 1916.
- 22- Xie L., Liu N., and Huang Y. 2013. Lignocellulose degradation in termite symbiotic systems. In: Proceeding of biological conversion of biomass for fuels and chemicals. Hungary p. 140-155.



Study on the Feeding Preference of *Microcerotermes diversus* Silvestri Termite to Three Species of Beech, Eucalyptus and Cypress

L. Poursartip^{1*} - K. Saadatvafa² - P. Rezayati Charani³

Received: 12-09-2018

Accepted: 23-01-2019

Introduction: One of the most important species of termites in the southern provinces of Iran is *Microcerotermes diversus* Silvestri, which is considered as subterranean termite and has the ability to attack the trees and the construction of timber. Due to the fact that Lignocellulosic material can be eaten easily by termite, this can cause great damage to buildings, so identifying resistant wooden species can help us to select suitable materials in areas where termite infestation is high. The aim of this study was to evaluate the tendency of *M. diversus* termite for different woods by using selective and non-selective nutritional tests in laboratory conditions.

Materials and Methods: For the collection of termites, beech wood with dimensions of $2.5 \times 4 \times 20$ cm was buried for two months inside the soil in an abandoned palm farm, 20 km from the city of Behbahan. After that, the woods were removed from the soil and transferred to the laboratory. Then, parameters such as percentage of extract material, specific gravity, lignin and cellulose content were calculated for each wooden sample. Determination of cellulose and lignin content of woods was carried out according to the T-264cm-88 and T-222cm-88, TAPPI standard, respectively. The measurement of extractive materials was carried out in accordance with the TAPPI Regulation No: T 204cm-88ISO-3131 standard to measure dry specific gravity.

The data was analyzed by Tukey's test using SPSS software version 17, and the significance test was performed at 95% level using Pearson correlation test.

Results: According to the results, the percentage of eucalyptus extractives is higher than other species and all three species have a significant difference at 95% level. All three species have a significant difference at 95% level in amount of lignin and the highest and the lowest one was related to cypress and the beech species, respectively.

Also, the results showed that there is no significant difference between the three species in terms of cellulose content.

The highest level of dry specific gravity is also found in beech and the least of that belongs to the cypress. All three species have a significant difference at 95% level. The results of non-selective test of wooden samples showed that the cypress samples had the least weight loss and the highest weight loss was observed in the beech samples. Eucalyptus specimens were interstitial and had a significant difference with samples cypress and beech. Comparison of weight loss percentage in wooden samples illustrated that the lowest and the highest percentage of weight loss belonged to cypress species and beech, respectively. However, there is no significant difference between eucalyptus species and two other species.

Conclusion: Selective and non-selective feeding of termites revealed that in both tests, there was a significant difference between the weight loss of cypress and beech, and the eucalyptus samples did not have a significant difference with the other two samples. Increasing the lignin decreased wood utilization for the termite. There is a significant difference between lignin content in these two species, the highest amount of lignin was obtained in cypress and the least one belongs to beech. Lignin which is composed of phenyl propane units, is known as malicious factors for pests due to the presence of aromatic groups in its structure. . The presence of extractives in eucalyptus should not be ignored in resistance to termites too. There are a wide variety of extractive materials in wooden species that affect wood properties such as the natural durability. The amount of extractives along with lignin can prevent the pest infestation. In the present study, the specific gravity among the three species was significant, and the highest and the lowest one belongs to beech and cypress, respectively. According to the results of other researchers, it was expected that the higher specific gravity would reduce the desirability for termites to consume wood, while our study demonstrated the effect of lignin and extractives are more meaningful in terms of termite deterrence.

Keywords: Extractive materials, Lignin, Lignocellulose materials, Specific gravity, Termite feeding

1, 2 and 3- Assistant Professor, M.Sc. Graduated and Assistant Professor Department of cellulose Industries engineering, College of Natural Resources, Khatam Alanbia University of Behbahan, Iran, Respectively
(*-Corresponding Author Email: lpoursartip@yahoo.com)



بهینه‌سازی کارایی علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال) در کنترل یولاف وحشی (*Avena ludoviciana* L.) با استفاده از روغن‌های معدنی

ساناز فرخنده^۱ - لیلا علی مرادی^{۲*} - کیومرث کلارستانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۴/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۹/۱۷

چکیده

به منظور مقایسه اثرات مواد افزودنی سیتوگیت، فریگیت، دی آکتیل، ولک، پروپیل و آدیگور هر یک با دو غلظت ۱ و ۲ درصد در کارایی علف‌کش توتال، یک آزمایش گلخانه‌ای واکنش به مقدار علف‌کش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور که فاکتور اول شامل غلظت‌های صفر، ۵/۶۲۵، ۱۱/۲۵، ۲۲/۵۰، ۳۳/۷۵، ۴۵ گرم ماده مؤثره در هکتار علف‌کش توتال و فاکتور دوم در ۱۳ سطح بدون روغن معدنی و با روغن‌های معدنی آدیگور، پروپیل، ولک، فریگیت، سیتوگیت، دی آکتیل و هر کدام با غلظت‌های ۱ و ۲ درصد حجمی بر یولاف وحشی در چهار تکرار انجام گرفت. ترتیب قدرت مواد افزودنی مورد مطالعه در کاهش کشش سطحی محلول علف‌کش توتال به صورت آدیگور > پروپیل > ولک > فریگیت > دی آکتیل > سیتوگیت بود. به گونه‌ای که سیتوگیت در غلظت ۲ درصد موجب کاهش ۵۹٫۷۱ درصدی در کشش سطحی محلول علف‌کش شد. در حالی که آدیگور در غلظت ۲ درصد موجب کاهش ۳۳٫۶۸ درصدی در کشش سطحی محلول علف‌کش شد. بطور کلی، ترتیب کارایی مواد افزودنی مورد مطالعه در بهبود کارایی علف‌کش توتال در کنترل علف هرز یولاف وحشی را می‌توان به صورت آدیگور < پروپیل < ولک < دی آکتیل < سیتوگیت < فریگیت بیان نمود.

واژه‌های کلیدی: آدیگور، کشش سطحی، مواد افزودنی

مقدمه

بشر از شروع کشاورزی تاکنون همواره برای کاهش خسارت علف‌های هرز در تلاش بوده و برای مبارزه با آنها از روش‌های مختلفی استفاده کرده است. استفاده از علف‌کش‌ها از مؤثرترین و پرکاربردترین روش‌هایی است که تا کنون برای مبارزه با علف‌های هرز به کار گرفته شده است (۱۱). علی‌رغم صرفه اقتصادی و سرعت عمل این مواد شیمیایی در کنترل علف‌های هرز، آلودگی زیست محیطی و اثرات منفی آنها بر سلامت انسان از مهمترین تبعات کاربرد گسترده این گروه از آفت‌کش‌ها هستند. با وجود این توافقاتی عمومی وجود دارد که این مواد یکی از نهاده‌های مهم در کشاورزی مدرن هستند، که عدم کاربرد آنها منجر به کاهش درآمد و هزینه‌های تولید کشاورز خواهد شد. مطالعات در دانمارک نشان داده‌اند که عدم

کاربرد علف‌کش‌ها بسته به نوع محصول زراعی در آمد کشاورز را ۲۰ تا ۹۰ درصد کاهش خواهد داد (۸). از سوی دیگر نگرانی‌های عمومی در مورد اثرات منفی علف‌کش‌ها بر سلامت انسان، منجر به افزایش هزینه‌های ثبت علف‌کش‌های جدید، یا کاهش کاربرد علف‌کش‌های قدیمی از طریق افزایش بهینه‌سازی و افزایش کارایی کاربرد آنها شده است (۱۴).

کارایی علف‌کش‌ها متأثر از عوامل زیستی و فیزیوشیمیایی متعددی است که پیش‌نیاز بهینه‌سازی مقدار مصرف آنها هستند. در این ارتباط ایجاد مناطق بافرکننده‌ی کاربرد علف‌کش‌ها، کنترل دقیق تجهیزات سم پاشی، تعلیم کشاورزان و استفاده از مواد افزودنی برای بهینه‌سازی مصرف از مهمترین راه‌های افزایش کارایی مصرف علف‌کش‌ها است (۷). مواد افزودنی می‌توانند از طریق کاهش کشش سطحی محلول پاشش، موجب افزایش کارایی علف‌کش‌های پس از سبز شدن شوند (۱۷). کاهش کشش سطحی قطره‌های پاشش شده از جهش آنها پس از برخورد با برگ علف هرز جلوگیری می‌کند و منجر به پخش و نفوذ بهتر قطره در سطح برگ می‌شود (۹). مواد افزودنی ممکن است به نحوی کارایی علف‌کش را بهبود بخشند که غلظت یا

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز و استادیاران دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد
(*) نویسنده مسئول: Email: l.alimoradi@gmail.com
DOI: 10.22067/jpp.v0i0.22594

خواب‌شکنی و شرایط کاشت و پرورش گیاه مورد بررسی

به منظور یکنواختی در جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهچه‌های یولاف وحشی، ابتدا بذور از سنبله‌ها جدا و ضدعفونی سطحی بذور توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. بذرها درون پتری‌دیش‌هایی با قطر ۱۱ سانتی‌متر که حاوی یک لایه کاغذ صافی بودند، قرار گرفتند. سپس ده میلی‌لیتر از محلول ۰/۲ گرم در لیتر نیترات پتاسیم به هر یک از پتری‌دیش‌ها، به منظور شکسته شدن خواب بذرها، اضافه شد. پتری‌دیش‌های حاوی بذر به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴ تا ۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی مطلق درون یخچال نگهداری شدند (۱۵). پس از اعمال تیمار سرمادهی، بذور درون سینی‌های کشت حاوی پیت کشت شدند. سپس سینی‌های کشت به درون ژرمیناتور با ۱۶ ساعت تاریکی با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، به ترتیب با رطوبت نسبی ۴۵ و ۶۵ درصد، منتقل و جوانه‌دار شدند (۱۴). با این روش درصد بالایی از گیاهچه‌های یولاف وحشی در درون هر یک از سینی‌های کشت سبز شدند. سپس گیاهچه‌ها در گلدان‌های ۲ لیتری حاوی خاک، خاکبرگ و ماسه بادی با نسبت ۱:۱:۱ کشت شدند. گلدان‌ها بر حسب نیاز آبی گیاهان از زیر هر دو روز یکبار آبیاری شدند. در مرحله یک برگی کامل گیاهچه‌ها تنک شدند به طوری‌که در هر گلدان پنج گیاه باقی ماند. سپس به هریک از گلدان‌ها ۳۰ میلی لیتر محلول ۳ گرم در لیتر کود ۲۰:۲۰:۲۰ (ازت: فسفر: پتاسیم) اضافه شد. دمای گلخانه در مدت رشد، بین ۲۷ تا ۳۲ درجه سانتی‌گراد در طول روز و ۱۸ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد در طول شب متغیر بود. گیاهان در مرحله پنج برگی کامل با استفاده از سمپاش متحرک ریلی مجهز به نازل بادبزی معمولی با خروجی ۲۰۰ لیتر در هکتار و با فشار پاشش ۲ بار تحت تیمار علف‌کش توتال قرار گرفتند.

تیمارهای به کار برده شده در ارزیابی فعالیت شاخ و برگی

تیمارهای آزمایش شامل غلظت‌های صفر، ۵/۶۲۵، ۱۱/۲۵، ۲۲/۵۰، ۳۳/۷۵، ۴۵ گرم ماده مؤثره در هکتار علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال) در سبزه سطح (بدون روغن معدنی، روغن‌های معدنی آدیگور، ولک، پروپیل، فریگیت، دی آکتیل، سیتوگیت و هر کدام با غلظت‌های ۱ و ۲ درصد حجمی) در چهار تکرار بودند.

تجزیه و تحلیل آماری

اندام‌های هوایی گیاهان شاهد و تیمار شده، چهار هفته پس از تیمار از روی سطح گلدان برداشت شدند و وزن تر و خشک آنها مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و از میانگین وزن خشک یا تر در هر گلدان برای برآزش منحنی‌های واکنش به دز استفاده شد. پاسخ وزن خشک

کل مقدار علف‌کش مورد نیاز برای حصول سطح تأثیر معینی کاهش یابد. این مسأله نه تنها موجب کاهش اثرات نامطلوب جانبی علف‌کش‌ها می‌شود بلکه سبب کاهش مقدار و هزینه‌های کاربرد آنها به میزان ۵ تا ۱۰ برابر نیز خواهد شد (۱۹). علاوه بر این مواد افزودنی به منظور غلبه بر موانع تحمیل شده از سوی شرایط نامناسب کاربرد علف‌کش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۳). از جمله شرایط نامناسبی که ممکن است در هنگام محلول‌پاشی کارایی علف‌کش را کاهش دهند عبارت از کریستاله شدن سریع علف‌کش روی سطح برگ، بادرنگی علف‌کش، تجزیه نوری علف‌کش، استفاده از آب سخت برای محلول‌پاشی و وقوع بارندگی با فاصله کمی بعد از محلول‌پاشی می‌باشند (۳).

انتخاب مناسب مواد افزودنی سبب کاهش میزان مصرف علف‌کش‌ها می‌شود، که این امر از طریق افزایش فعالیت علف‌کش‌ها و یا از طریق برطرف کردن تأثیر شرایط نامناسب کاربرد علف‌کش به دست می‌آید (۱۹).

در گزارشات قبلی علی وردی و همکاران (۱) کارایی دو مویان سیتوگیت و فریگیت را در غلظت‌های صفر، ۰/۱ و ۰/۲ درصد حجمی به همراه علف‌کش شوالیه در مقادیر صفر، ۳، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ گرم ماده مؤثره در هکتار به منظور کنترل یولاف وحشی طی آزمایشی گلخانه‌ای مورد ارزیابی قرار دادند و به علاوه اثر غلظت‌های مختلف مویان‌ها بر کنش سطحی آب مقطر و محلول علف‌کش شوالیه اندازه‌گیری شد و نتیجه این شد که سیتوگیت کنش سطحی آب و محلول علف‌کش شوالیه را بیشتر از فریگیت کاهش داد و افزایش فعالیت شاخ و برگی شوالیه در حضور سیتوگیت بیشتر از فریگیت بود. این تحقیق با هدف انجام مطالعات پایه‌ای در مورد امکان بهینه‌سازی کارایی علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال) با استفاده از مواد افزودنی روغن‌های معدنی فریگیت، ولک، سیتوگیت، پروپیل، دی آکتیل و آدیگور در کنترل علف هرز یولاف وحشی انجام شد.

مواد و روش‌ها

زمان و محل اجرای تحقیق

به منظور مقایسه تأثیر دو غلظت ۱ و ۲ درصد حجمی شش روغن معدنی به عنوان مواد افزودنی در بهینه‌سازی کارایی علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون آزمایش دز-پاسخی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار بر روی یولاف وحشی در شرایط گلخانه در دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۱ انجام شد.

مویبگی و براساس معادله زیر استفاده می‌شود.

$$\gamma = \frac{1}{2} \rho \times g \times r \left(h + \frac{r}{3} \right) \quad (3)$$

که در آن γ نشان‌دهنده کشش سطحی بر حسب نیوتن بر متر، P چگالی مایع بر حسب کیلوگرم در متر مکعب، g شتاب گرانش زمین ۱ برابر با ۹٫۸ متر بر مجذور ثانیه، r شعاع مقطع لوله مویب بر حسب متر و h ارتفاع ستون مایع در لوله مویب از سطح محلول بر حسب متر می‌باشد.

به منظور اندازه‌گیری اثر امولسیون کننده علف‌کش و روغن‌های معدنی بر کشش سطحی آب (آب مقطر) آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی ترتیب داده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- آب مقطر ۲- محلول آبی محتوی ۴۵ گرم ماده مؤثره علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون در لیتر آب مقطر ۳- محلول های علف‌کشی به همراه غلظت‌های ۱ و ۲ در صد حجمی روغن‌های معدنی (مجموعاً ۱۴ تیمار) در چهار تکرار بودند. مقدار علف‌کش اضافه شده به یک لیتر آب بر اساس مقدار لازم آن در کالیبره کردن سمپاش به دست آمد. برای آنالیز آماری از نرم‌افزار SAS استفاده و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

تأثیر مواد افزودنی بر کشش سطحی آب مقطر

نتایج تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف مواد افزودنی بر کشش سطحی محلول علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون در (جدول ۱) آورده شده است. تمامی مواد افزودنی مورد آزمایش به طور معنی‌داری ($P < 0.01$) موجب کاهش کشش سطحی محلول علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون شدند (جدول ۱).

یولاف وحشی به مقدار علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون با تکنیک رگرسیون غیرخطی و با استفاده از نرم‌افزار SLIDEWRITE آنالیز شدند. تمامی داده‌ها به طور همزمان با مدل چهار پارامتری لجستیک معادله زیر برازش داده شدند:

(۱)

$$U_{ij} = \frac{D - C}{1 + \exp[b_i (\log(z_{ij}) - \log(ED_{50(i)}))]} + C$$

که در آن U_{ij} بیانگر وزن خشک زام که موجب پاسخ در دز i ام علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون (Z_{ij}) می‌شود، D و C حد بالا و پایین مجانب وزن خشک در مقادیر صفر و بی‌نهایت علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون، $ED_{50(i)}$ مقدار علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون، i لازم برای نصف کردن وزن خشک یولاف وحشی بین حدود بالا و پایین D و C، و b_i شیب منحنی در محدوده $ED_{50(i)}$ می‌باشد (۸).

پارامتر پتانسیل نسبی (R) که نشان‌دهنده فعالیت شاخ و برگی است.

(۲)

$$R = ED_{50A} / ED_{50B}$$

در این معادله، ED_{50A} نشان‌دهنده مقدار علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون، iA لازم برای نصف کردن وزن خشک و تر گونه یولاف وحشی و ED_{50B} نشان‌دهنده مقدار علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون به همراه هر یک از روغن‌های معدنی، iB لازم برای نصف کردن وزن خشک و تر یولاف وحشی می‌باشد.

اندازه‌گیری کشش سطحی

به منظور اندازه‌گیری کشش سطحی محلول‌ها از روش خاصیت

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده کاربرد علف‌کش به تنهایی و مواد افزودنی بر کشش سطحی آب مقطر

Table 1- ANOVA table for main effects of herbicide application alone and with surfactants on water surface tension

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی Degree of freedom	کشش سطحی Surface tension
تیمار Treatment	13	734.76**
خطا Error	42	8.29
ضریب تغییرات (%) Coefficient of variance	-	6.94

(**): Significant different at 1% probability level)

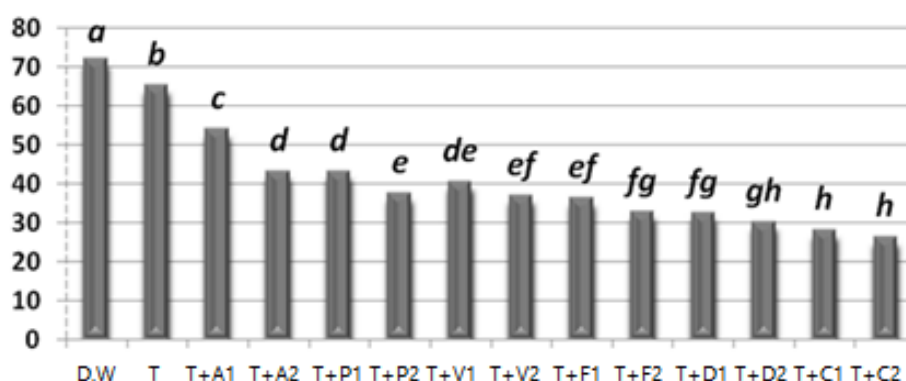
** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

کاهش معنی‌داری در کشش سطحی آب مقطر شد. به طوری‌که افزودن فرمولاسیون این علف‌کش به آب مقطر موجب کاهش ۹/۴۳

همان طور که در (شکل ۱) ملاحظه می‌شود، فرمولاسیون علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون به تنهایی موجب

محلول علف کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون داشتند (شکل ۱). بطور کلی، ترتیب قدرت مواد افزودنی مورد مطالعه در کاهش کشش سطحی محلول علف کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون به صورت زیر بود (شکل ۱): آدیگور > پروپیل > ولک > فریگیت > دی آکتیل > سیتوگیت

درصدی کشش سطحی آن شد. کاهش کشش سطحی محلول علف کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون احتمالاً به دلیل وجود مواد بی اثر (که به صورت تحریک کننده فعالیت زیستی عمل می کنند) در فرمولاسیون می باشد (۱۳). در بین مواد افزودنی مورد مطالعه، سیتوگیت (مویان غیر یونی) و آدیگور (روغن بذر کلزای متیله شده) به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را در کاهش کشش سطحی



شکل ۱- تأثیر کاربرد علف کش (توتال) و غلظت مواد افزودنی بر کشش سطحی (میلی نیوتون بر متر) آب مقطر

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه در سطح احتمال یک درصد با هم دیگر اختلاف معنی داری ندارند.

DW: آب مقطر، T: علف کش توتال به تنهایی، T+A1: علف کش توتال + آدیگور (۱٪)، T+A2: علف کش توتال + آدیگور (۲٪)، T+P1: علف کش توتال + پروپیل (۱٪)، T+P2: علف کش توتال + پروپیل (۲٪)، T+V1: علف کش توتال + ولک (۱٪)، T+V2: علف کش توتال + ولک (۲٪)، T+F1: علف کش توتال + فریگیت (۱٪)، T+F2: علف کش توتال + فریگیت (۲٪)، T+D1: علف کش توتال + دی آکتیل (۱٪)، T+D2: علف کش توتال + دی آکتیل (۲٪)، T+C1: علف کش توتال + سیتوگیت (۱٪)، T+C2: علف کش توتال + سیتوگیت (۲٪)

Figure 1- Effect of mesosulfuron-methyl+sulfosulfuron (Total®) application with different surfactants concentrations on distilled water surface tension

Means with the same letter are not significantly different ($P \leq 0.01$) according to Least Significant Different (LSD) test.

DW: Distilled Water, T: Total®, T+A1: Total®+Adigor (1%), T+A2: Total®+Adigor (2%), T+P1: Total®+ Propel (1%), T+P2: Total®+ Propel (2%), T+V1: Total®+Volk (1%), T+V2: Total®+Volk (2%), T+F1: Total®+Frigate (1%), T+F2: Total®+Frigate (2%), T+D1: Total®+D-actil (1%), T+D2: Total®+D-actil (2%), T+C1: Total®+Citogate (1%), T+C2: Total®+Citogate (2%).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد اندازه گیری در آزمایشات گلخانه ای تأثیر مواد افزودنی بر کارایی غلظت های مختلف علف کش

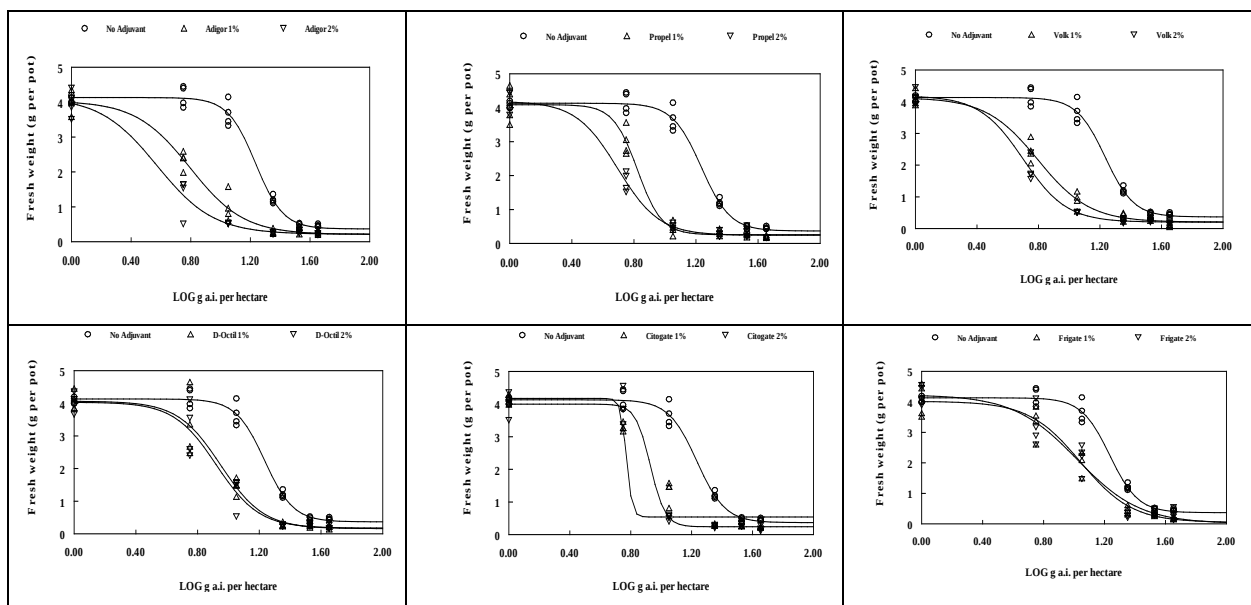
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال) در کنترل علف هرز یولاف وحشی

Table 2- ANOVA table for greenhouse experiments traits of surfactants effects on different concentration herbicide (mesosulfuron-methyl+sulfosulfuron (Total®) application efficacy on *Avena ludoviciana* control

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک	وزن تازه
Source of variance	Degree of freedom	Dry matter	Fresh weight
غلظت علف کش	5	4.25**	134.06**
Herbicide dose			
ماده افزودنی	12	0.04**	2.42**
Surfactant			
اثرات متقابل	60	0.01*	0.80**
Herbicide dose*Surfactant			
خطا	234	-	0.09
Error			
ضریب تغییرات (%)	-	23.16	20.31
Coefficient of variance			

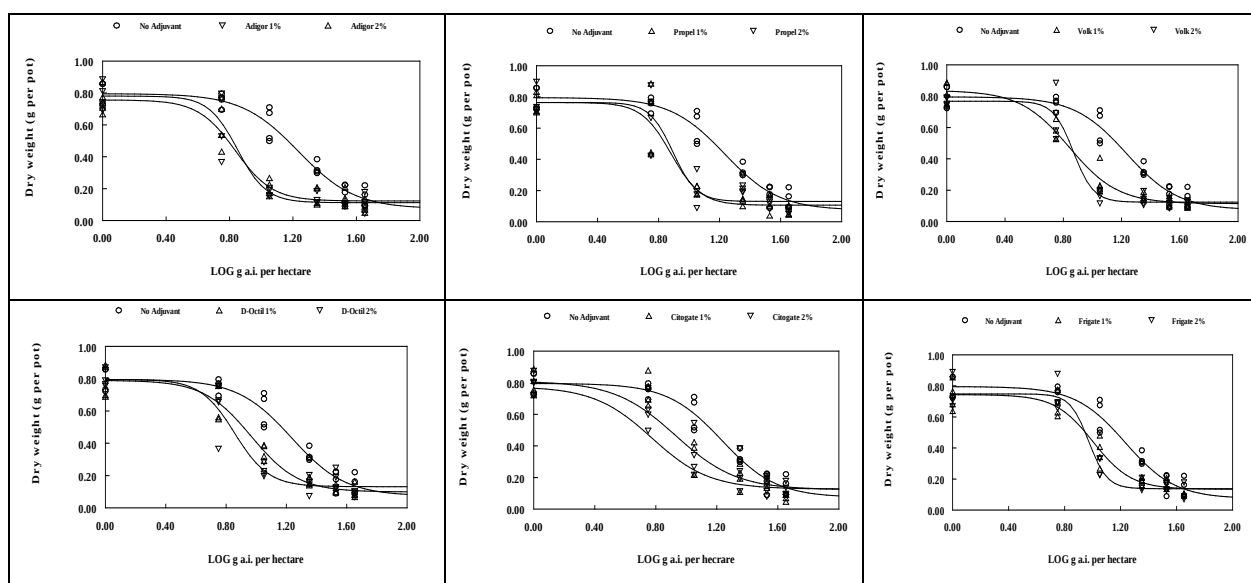
** و * به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد می باشد.

*, **: Significant different at 5% and 1% probability level, respectively.



شکل ۲- منحنی‌های دوز- پاسخ وزن تازه یولاف وحشی به مقادیر مختلف علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال) به تنهایی و به همراه غلظت‌های ۱ و ۲ درصد مواد افزودنی

Figure 2- Logistic dose-Response curves describing *Avena ludoviciana* fresh weight response against the dose of mesosulfuron-methyl+sulfosulfuron (Total)^R alone, and in mixture with surfactants at 1% and 2% concentration



شکل ۳- منحنی‌های دوز- پاسخ وزن خشک یولاف وحشی به مقادیر مختلف علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال) به تنهایی و به همراه غلظت‌های ۱ و ۲ درصد مواد افزودنی

Figure 3- Logistic dose-Response curves describing *Avena ludoviciana* dry matter response against the dose of mesosulfuron-methyl+sulfosulfuron (Total)^R alone, and in mixture with surfactants at 1% and 2% concentration

تأثیر مواد افزودنی بر کارایی علف‌کش

نتایج تجزیه واریانس وزن خشک و وزن تازه (جدول ۲) نشان داد که در سطح احتمال یک درصد غلظت‌های مختلف علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون و نوع ماده افزودنی مورد

اگرچه در تمامی مواد افزودنی مورد مطالعه افزایش غلظت باعث کاهش بیشتر کشش سطحی محلول علف‌کش شد، ولی تنها بین غلظت‌های ۱ و ۲ درصد مواد افزودنی آدیگور و پروپیل اختلاف معنی‌داری ($P < 0.01$) مشاهده شد.

پارامترهای ED₁₀، ED₅₀ و ED₉₀ علف کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون برای صفت وزن تازه یولاف وحشی به ترتیب ۱۳/۰۹، ۱۷/۰۵ و ۲۶/۱۰ گرم ماده مؤثره در هکتار (جدول ۳) و برای صفت وزن خشک یولاف وحشی به ترتیب ۶/۷۵، ۱۵/۸۷ و ۳۱/۳۹ گرم ماده مؤثره در هکتار (جدول ۴) به دست آمد. همانطور که از نتایج آنالیز رگرسیونی پیداست، در حضور مواد افزودنی مقادیر ED₁₀، ED₅₀ و ED₉₀ برای وزن تازه و وزن خشک علف هرز یولاف وحشی به طور قابل توجهی کاهش یافت. این نشان دهنده تأثیر مواد افزودنی در افزایش کارایی این علف کش در کنترل یولاف وحشی می باشد. (جداول ۳ و ۴).

استفاده دارای اثرات معنی داری در بهبود کارایی کنترل علف هرز یولاف وحشی داشته است.

شکل های ۲ و ۳ نیز منحنی های واکنش به مقدار علف کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون را برای وزن های خشک و تازه علف هرز یولاف وحشی را به صورت تفکیک شده برای هر یک از مواد افزودنی با دو غلظت ۱ و ۲ درصد را نشان می دهد.

همانطور که در اشکال ۲ و ۳ ملاحظه می شود که با افزودن ماده افزودنی منحنی به سمت چپ میل پیدا کرده که نشان دهنده افزایش کارایی علف کش است. بهترین تأثیر را آدیگور با غلظت ۲ درصد و کمترین تأثیر را فریگیت با غلظت ۱ درصد داشت.

نتایج این آنالیز رگرسیونی نشان می دهد که در این تحقیق مقادیر

جدول ۳- ضرایب رگرسیون غیرخطی تأثیر مواد افزودنی ها بر کارایی علف کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال) بر وزن تازه علف هرز یولاف وحشی

Table 3- None linear regression coefficients of surfactants effects on mesosulfuron+ sulfosulfuron (Total)® herbicide efficacy on fresh weight of *Avena ludoviciana*

علف کش + ماده افزودنی Herbicide+surfactant (غلظت درصد حجم به حجم ((v/v)%) (Percent concentration v/v %)	ED10	ED50	ED90	b	C	D
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون بدون ماده افزودنی (۰) Mesosulfuron+ Sulfosulfuron (without surfactant)	13.09	17.05	26.10	10.82	0.36	4.13
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + فریگیت (۱٪) Mesosulfuron+ Sulfosulfuron+Ferigate (1%)	6.47	10.65	24.90	5.92	0.05	4.01
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + فریگیت (۲٪) Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Ferigate (2%)	3.48	9.91	24.32	4.80	0.01	4.23
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + سیتوگیت (۱٪) Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Citogate (1%)	5.39	5.95	6.93	53.55	0.54	4.17
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + سیتوگیت (۲٪) Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Citogate (2%)	6.45	8.52	11.06	20.60	0.24	3.99
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + دی آکتیل (۱٪) Mesosulfuron+Sulfosulfuron+D-actil (1%)	4.35	8.81	17.24	7.18	0.15	4.06
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + دی آکتیل (۲٪) Mesosulfuron+Sulfosulfuron+D-actil (2%)	4.15	8.35	16.68	7.24	0.17	4.03
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + ولک (۱٪) Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Volk (1%)	2.78	6.41	16.20	5.93	0.20	4.12
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + ولک (۲٪) Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Volk (2%)	2.50	5.03	10.30	7.07	0.20	4.18
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + پروپیل (۱٪) Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Propel (1%)	4.49	6.67	10.13	12.85	0.25	4.08
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + پروپیل (۲٪) Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Propel (2%)	2.57	5.02	10.37	7.45	0.24	4.18
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + آدیگور (۱٪) Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Adigor (1%)	2.60	6.23	14.98	5.51	0.20	4.03
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + آدیگور (۲٪) Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Adigor (2%)	1.70	3.90	10.03	5.24	0.21	4.14

جدول ۴- ضرایب رگرسیون غیرخطی تأثیر مواد افزودنی‌ها بر کارایی علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال) بر وزن خشک علف هرز یولاف وحشی

Table 4- None linear regression coefficients of surfactants effects on mesosulfuron+ sulfosulfuron (Total)® herbicide efficacy dry matter of *Avena ludoviciana*

علف‌کش + ماده افزودنی Herbicide+surfactant (غلظت درصد حجم به حجم ((v/v)) (Percent concentration v/v %)	ED10	ED50	ED90	b	C	D
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون بدون ماده افزودنی (۰)	6.75	15.87	31.39	5.61	0.07	0.79
Mesosulfuron+ Sulfosulfuron (without surfactant)						
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + فریگیت (۱٪)	5.97	10.54	35.56	7.30	0.13	0.74
Mesosulfuron+ Sulfosulfuron+Ferigate (1%)						
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + فریگیت (۲٪)	5.89	9.53	14.57	15.11	0.13	0.76
Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Ferigate (2%)						
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + سیتوگیت (۱٪)	6.05	9.56	35.07	11.27	0.14	0.79
Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Citogate (1%)						
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + سیتوگیت (۲٪)	3.28	8.58	23.15	5.00	0.12	0.80
Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Citogate (2%)						
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + دی آکتیل (۱٪)	4.26	9.28	20.48	6.37	0.09	0.78
Mesosulfuron+Sulfosulfuron+D-actil (1%)						
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + دی آکتیل (۲٪)	4.14	7.43	16.07	8.80	0.13	0.79
Mesosulfuron+Sulfosulfuron+D-actil (2%)						
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + ولک (۱٪)	5.07	7.41	17.44	5.98	0.11	0.83
Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Volk (1%)						
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + ولک (۲٪)	3.23	7.15	11.56	14.54	0.12	0.76
Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Volk (2%)						
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + پروپیل (۱٪)	4.73	7.80	14.27	10.29	0.10	0.76
Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Propel (1%)						
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + پروپیل (۲٪)	5.42	8.09	16.24	13.06	0.13	0.76
Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Propel (2%)						
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + آدیگور (۱٪)	4.53	7.12	11.42	11.01	0.11	0.78
Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Adigor (1%)						
مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون + آدیگور (۲٪)	3.87	7.08	11.38	8.50	0.12	0.75
Mesosulfuron+Sulfosulfuron+Adigor (2%)						

D بالاترین حد داده‌ها که نشان‌دهنده مقاومت گیاهان می‌باشد و C پایین‌ترین حد داده‌ها که نشان‌دهنده کنترل علف‌های هرز می‌باشد، b شیب در نقطه ED50

می‌باشد. ED10، ED50 و ED90 به ترتیب نشان‌دهنده مقدار علف‌کش مورد نیاز برای کاهش بیومس به میزان ۱۰، ۵۰ و ۹۰ درصد می‌باشد.

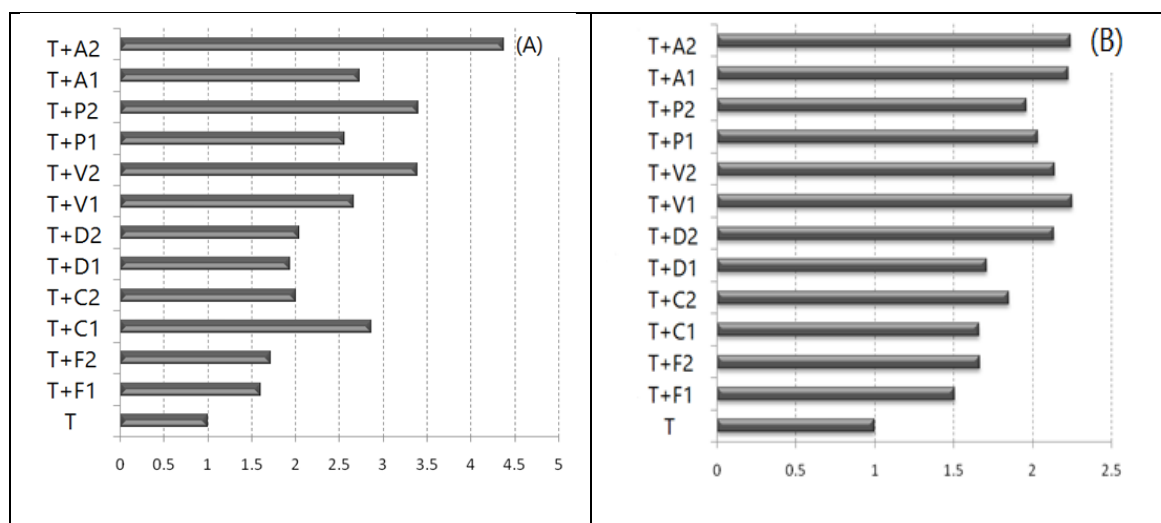
D, is the area of the upper limit and showed the measurement of crop tolerance and C is the area of the lower limit and showed measurement of weed control. b is the gradient on ED50. ED10, ED50 and ED90 are the doses required to affect the response of 10%, 50% and 90% respectively, commonly used to compare general effects of herbicides on plants.

پتانسیل نسبی (R)

مقادیر پتانسیل نسبی یا فعالیت شاخ و برگ علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون در حضور تمامی مواد افزودنی به طور قابل توجهی از یک بیشتر بود که نشان‌دهنده آن است که وقتی مواد افزودنی را به محلول علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون اضافه شد موجب افزایش قابل توجه در کارایی می‌شود. نتایج پتانسیل‌های نسبی نشان داد که ماده افزودنی آدیگور با غلظت ۲ درصد بر اساس داده‌های وزن تازه و خشک به ترتیب کارایی علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون را تقریباً به

اندازه ۴/۳۷ و ۲/۲۴ برابر بهبود داده است (شکل ۴). ولی ماده افزودنی فریگیت با غلظت ۱ درصد بر اساس داده‌های وزن تازه و خشک به ترتیب کارایی علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون را تقریباً به اندازه ۱/۵۹ و ۱/۵۰ برابر بهبود داده است (شکل ۴). بطور کلی، ترتیب کارایی مواد افزودنی مورد مطالعه در بهبود کارایی علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون در کنترل علف هرز یولاف وحشی را می‌توان به صورت زیر عنوان نمود (جداول ۳ و ۴):

آدیگور < پروپیل < ولک < دی آکتیل < سیتوگیت < فریگیت



شکل ۴- پتانسیل نسبی کاربرد غلظت‌های ۱ و ۲ درصد حجم به حجم از مواد افزودنی به همراه علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال) در کنترل وزن تازه (A) و وزن خشک (B) یولاف وحشی

T+A2: علف‌کش توتال + آدیگور (۲٪)، T+A1: علف‌کش توتال + آدیگور (۱٪)، T+P2: علف‌کش توتال + پروپیل (۲٪)، T+P1: علف‌کش توتال + پروپیل (۱٪)، T+V2: علف‌کش توتال + ولک (۲٪)، T+V1: علف‌کش توتال + ولک (۱٪)، T+D2: علف‌کش توتال + دی اکتیل (۲٪)، T+D1: علف‌کش توتال + دی اکتیل (۱٪)، T+C2: علف‌کش توتال + سیتوگیت (۲٪)، T+C1: علف‌کش توتال + سیتوگیت (۱٪)، T+F2: علف‌کش توتال + فریگیت (۲٪)، T+F1: علف‌کش توتال + فریگیت (۱٪)، T: علف‌کش توتال به تنهایی.

Figure 4- Application relative potential of 1% and 2% surfactant concentrations (Vsurf./Vherb.) with mesosulfuron+ sulfosulfuron (Total)® herbicide on control of *Avena ludoviciana* dry matter (B) and fresh weight (A)
T+A2: Total®+Adigor (2%), T+A1: Total®+Adigor (1%), T+P2: Total®+ Propel (2%), T+P1: Total®+ Propel (1%), T+V2: Total®+Volk (2%), T+V1: Total®+Volk (1%), T+D2: Total®+D-actil (2%), T+D1: Total®+D-actil (1%), T+C2: Total®+Citogate (2%), T+C1: Total®+Citogate (1%), T+F2: Total®+Frigate (2%), T+F1: Total®+Frigate (1%), T: Total®.

سیتوگیت در مقایسه با فریگیت موجب افزایش بیشتری در کارایی کنترل مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون شد. احتمالاً دلیل کارایی بیشتر مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون در حضور سیتوگیت نسبت به فریگیت به خاطر کشش سطحی پایین‌تری باشد که سیتوگیت در محلول علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون ایجاد کرده است (شکل ۱). این نتایج با نتایج علی وردی و همکاران (۲) همخوانی دارد. مطالعات قبلی در این زمینه بیانگر صحت نتیجه فوق هستند. به طوری که سیتوگیت موجب افزایش ۶۱ درصدی کارایی مخلوط دو علف‌کش پیرامین و بتانال آ-ام در کنترل علف‌های هرز پهن برگ مزارع چغندر قند و موجب افزایش ۹ درصدی عملکرد ریشه چغندر قند شده است (۵). همچنین سیتوگیت موجب افزایش کارایی توفوردی و گلیفوسیت در کنترل پیچک صحرایی (*Convolvulus arvensis*) شده است (۴). با توجه به نتیجه بالا، می‌توان دریافت که کارایی مواد افزودنی روغنی (آدیگور، پروپیل و ولک) در مقایسه با مواد افزودنی مویانی (دی اکتیل، سیتوگیت و فریگیت) در بهبود کارایی علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون در کنترل علف هرز یولاف وحشی بیشتر می‌باشد. این نتیجه در اغلب گزارشات قبلی به تأیید رسیده است (۴). بالا بودن کارایی مواد افزودنی روغنی در مقایسه با مواد افزودنی مویانی در

بهبود کارایی علف‌کش می‌تواند به چند دلیل عمده و مهم نسبت داد. یکی از این دلایل مهم این است که مواد افزودنی روغنی با داشتن خاصیت چربی دوستی بالا موجب تخریب کوتیکول (۱۳) و یا حل شدن کوتیکول (۱۰) می‌شوند. این عمل موجب می‌شود که مولکول علف‌کش به راحتی از کوتیکول برگ عبور کند و عبور راحت‌تر مولکول علف‌کش موجب افزایش جذب علف‌کش به درون گیاه شده و این عمل موجب می‌شود که محل‌های عمل علف‌کش بیشتری در درون گیاه باز داشته شود و در نتیجه کارایی علف‌کش در کنترل علف هرز بالاتر رود (۶، ۱۳، ۳، ۱۸ و ۱۶). دلیل مهم دیگری که مواد افزودنی روغنی مورد استفاده در این آزمایش همانند مواد افزودنی مویانی موجب افزایش کارایی علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون در کنترل یولاف وحشی شده اند را می‌توان به کاهش کشش سطحی محلول علف‌کش به وسیله این مواد افزودنی روغنی دانست (شکل ۱). با این وجود، با توجه به نتایج کشش سطحی، با وجود اینکه مواد افزودنی مویانی موجب کاهش کشش سطحی بیشتری در مقایسه با مواد افزودنی روغنی شدند (شکل ۱) ولی مواد افزودنی روغنی موجب بهبود بیشتر کارایی علف‌کش مزوسولفورون متیل + سولفوسولفورون شد (شکل ۴).

منابع

- 1- Aliverdi A., Rashed Mohassel M.H., and Nassiri Mahallati M. 2010. Study the effect of citogate and frigate surfactants in efficacy of Mesosulfuron + Iodosulfuron (Shovalieh) for wild oat (*Avena ludoviciana* L.) control. p. 344-347. Proceedings of 3rd Iranian Weed Science Congress. 17&18 Feb. 2010. Iranian Society of Weed Science. (In Persian with English abstract)
- 2- Aliverdi A., Rashed Mohassel M.H., Zand E., and Nassiri Mahallati M. 2010. Optimizing the efficacy of Clodinafop-propargyl and Tribenuron methyl Herbicides and their mixtures with citogate and frigate surfactants on Wild Oat (*Avena ludoviciana* L.) and Wild Mustard (*Sinapis arvensis* L.) control. MS.c Thesis. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian with English abstract)
- 3- Bunting J.A., Sprague C.L., and Riechers D.E. 2004. Proper adjuvant selection for Forum sulfuron activity. Crop Protection 23: 361-366.
- 4- Faraji M.S., Beheshtian Mesgaran M., Abbasi R., Nosrati I., and Alizadeh H.M. 2006. Chemical control of field bindweed (*Convolvulus arvensis* L.) in the fallow year, a study on reduced doses and adjuvants effects. 412-416. Proceedings of 1st Iranian Weed Science Congress. 25&26 Jan. 2006. Plant Pests & Diseases Research Institute. (In Persian with English abstract)
- 5- Ghanbari Birgani D., Hosseinpour M., Abdollahian Noughabi M., and Shimi P. 2006. Investigation on mixture of herbicides and oil adjuvant for increased efficacy in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). 404-407. Proceedings of 1st Iranian Weed Science Congress. 25&26 Jan. 2006. Plant Pests & Diseases Research Institute. (In Persian with English abstract)
- 6- Hazen J.L. 2000. Adjuvants terminology, classification and chemistry. Weed Technology 14: 773-784.
- 7- Jensen L.L. 2003. Enhancement of herbicide by silicone surfactant. Weed Science 21: 130-135.
- 8- Kudsk P., and Mathiassen S.K. 2007. Analysis of adjuvant effects and their interactions with variable application parameters. Crop Protection 26: 328-334.
- 9- Neilsen O.K., Ritz C.H., and Streibig J.C. 2004. Nonlinear mixed model regression to analyze herbicide dose-response relationships. Weed Technology 18: 30-37.
- 10- Ramsey R.J.L., Stephenson G.R., and Hall J.C. 2005. A review of the effects of humidity, humectants, and surfactant composition on the absorption and efficacy of highly water-soluble herbicides. Pesticide Biochemistry and Physiology 82: 162-175.
- 11- Rao V.S. 2000. Principles of weed science. 2ed. Science Publishers, Inc. USA.
- 12- Rashed Mohassel M.H., Rastgoo M., Mousavi S.K., Valiollah pour R., and Haghighi A. 2006. Weed Science Compendium. Ferdowsi University Press. (In Persian)
- 13- Rashed-Mohassel M.H., Aliverdi A., Hamami H., and Zand E. 2010. Optimizing the performance of diclofop-methyl, cycloxydim, and clodinafop-propargyl on littleseedcanarygrass (*Phalaris minor*) and wild oat (*Avenaludoviciana*) control with adjuvants. Weed Biology and Management 10: 57-63.
- 14- Ross M.A., and Lembi C.A. 1999. Applied Weed Science, Prentice Hall. Inc.
- 15- Shariatmadari Tehrani M., Nabavi Kalat M., and Bazoobandi M. 2012. Optimizing the efficacy of Clodinafop-propargyl Herbicide on Littleseed canarygrass (*Phalaris minor* Retz.) M.Sc. Thesis. Islamic Azad University, Mashhad Branch. (In Persian with English abstract)
- 16- Sharma S.D., and Singh M. 2000. Optimizing foliar activity of glyphosate on *Bidens frondosa* and *Panicum maximum* with different adjuvant types. Weed Research 40: 523-533.
- 17- Vijay K., Daniel H., and Reddy N. 2007. Formulation and adjuvant effect on uptake and Translocation of clethodium in bermudagrass (*Cyndon dactylon*). Weed Science 55: 6-11.
- 18- Young B.G., and Hart S.E. 1998. Optimizing foliar activity of isoxaflutole on giant foxtill (*Setaria faberi*) with various adjuvants. Weed Science 46: 397-402.
- 19- Zand E., Mousavi S.K., and Heidari A. 2008. Herbicides & their Application. Ferdowsi University Press. (In Persian)



Optimizing the Efficacy of Mesosulfuron-methyl + Sulfosulfuron (Total)^R Herbicide on Wild Oat (*Avena Ludoviciana* L.) Control Using Mineral Oils

S. Farkhonde¹ - L. Alimoradi^{2*} - K. Kalarestaghi³

Received: 22-06-2013

Accepted: 08-12-2013

Introduction: Nowadays, concerns about side-effects of herbicides on human health and environment leading to increase the cost of new herbicide registration or reduce the old herbicide efficacy. Surfactants could increase the efficacy of post-emergence herbicides, due to reduction of herbicide solution surface tension. Surfactants may improve the herbicide effects and hence, reduce the amount of used herbicide to achieve the same results and this decreases the cost of herbicide application and the environmental effects. Surfactants are used in order to optimize the herbicide leaf uptake. They prevent the herbicide crystallization on leaf surface, herbicide drift and light composition. They improve the water quality for herbicide application, reduce the contact angle of herbicide droplet and also they spread and stick the herbicide droplet on leaf surface and facilitate the herbicide penetration into leaf cuticle. Some of surfactants are herbicide modifier, extender, and sometimes are safer or synergist.

This study was conducted in order to determine whether the efficacy of mesosulfuron-methyl+sulfosulfuron (Total^R) herbicide on *Avena ludoviciana* control, could be improved by adding mineral oil surfactants.

Materials and Methods: In order to study the efficacy of different mineral oil surfactants in mixture with Total^R herbicide on *Avena ludoviciana* control, an experiment was conducted at research greenhouse, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, in 2012. The study was a factorial experiment based on Completely Randomized Block (CRB) design, with four replications. The treatments were different Total^R herbicide concentrations (0, 5.625, 11.25, 22.50, 33.75, 45 gr a.i. /hectare) as factor A and factor B was different surfactants (Adigor, Propel, Volk, Citogate, Frigate and D-actil at 1% and 2% (v/v)) and distilled water as control. The seeds from *Avena ludoviciana* populations were collected from cropping fields of Mashhad Agricultural and Natural Resources Research Center, and were stored at dark incubator 4±1°C, during 72 hours. Then, the seeds were dehulled and placed in petri dishes and incubated for 48 hours at 4-5°C in darkness for dormancy breaking. The seeds were sown in potting tray (3*3*5 cm) filled with moistened peat. The trays were transported to germinator with 16/8 hour day/night and 20/10°C temperature. One week after sowing, when the seedlings were at one leaf stage, ten seedlings were transplanted in each plastic pots, that filled by mixture of soil, humus and silt (1:1:1 v/v/v). The pots were placed in greenhouse, 27±5/18±5°C, day/night. The pots were irrigated 2 days intervals. After 1 week the plants were thinned to 5 seedlings in each pot. The treatments were applied at 5 leaves stage by using an overhead trolled sprayer (Matabi 121030 SuperAgro 20 L sprayer, equipped with an 8002 flat fan nozzle tip delivering 200 L/ha, 2 bar spray pressure). Four weeks after spraying, plant biomass in each pot was harvested and recorded as fresh weight. Then, the samples were oven-dried at 75°C for 48 hours to measure the dry matter. The surface tension was measured by capillarity method. Logistic dose-response curves was used to describe the plant response (Fresh weight and dry matter of *Avena ludoviciana*) against the dose of herbicide alone or in mixture with surfactants at 1 and 2% concentration. Data were analyzed by SAS software, and mean comparison was done by LSD test (P<5%).

Results and Discussion: Results showed that, all surfactants reduced Total^R solution surface tension, significantly. Surface tension was reduced by Citogate, D-actil, Frigate, Volk, Propel, Adigor, respectively. ANOVA results also showed that different herbicide doses and surfactant type had significant effect on *Avena Ludoviciana* dry and fresh weight. When the logistic dose-response curve was fitted for the effect of Total^R herbicide on *Avena ludoviciana* dry matter and fresh weight, both of them showed the same trend. It was observed that addition of mineral oils to herbicide solution improved *Avena ludoviciana* control. ED10, ED50 and ED90 as the regression coefficients are 13.09, 17.05, 26.01 gr i.a./ha for fresh weight and 6.75, 15.87, 31.39 gr i.a./ha for dry matter, respectively. In presence of surfactants, ED10, ED50 and ED90 was reduced for *Avena ludoviciana* fresh weight and dry matter and this represent the surfactant effect on herbicide efficacy. Herbicide relative potential index was more than one, when surfactants were used in mix with herbicide. Addition of all surfactant increased the efficacy of herbicide in reducing avena biomass. The results also showed that, Adigor

1, 2 and 3- Former M.Sc. Student in Weed Science and Assistant Professors, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Respectively

(* - Corresponding Author Email: l.alimoradi@gmail.com)

(2% concentration) improved the herbicide efficacy 4.37 and 2.24 based on fresh weight and dry matter. Generally, it is possible to rank the surfactants in order for their ability to enhance the efficacy of Total^R solution as Adigor, Propel, Volk, D-actil, Citogate and Frigate, respectively.

Conclusion: It is concluded that surface tension reduction ability may not be a correct index for surfactant selection. The efficacy improvement of tested herbicide by using mineral oils, may be due to solubilizing, softening, and disrupting the leaf cuticular wax by petroleum-based oils, despite the surface tension reduction of herbicide solution. This process can improve retention and diffusion of active ingredient of herbicide into cuticular wax. Consequently, more active ingredient arrives to site of action and a subsequent increases the effectiveness of herbicide.

Proper surfactant selection is a key factor for efficacious weed management via reducing herbicide rate, which is a main research priority. This research demonstrated that when surfactants were tank mixed with tested herbicide, the herbicidal efficacy on *Avena ludoviana* species significantly improved.

Keywords: Adigor, Surface tension, Surfactant

ارزیابی حساسیت برخی از گیاهان به بقایای علف کش تریفلورالین در خاک

مجید برزویی^۱ - ابراهیم ایزدی دربندی^{۲*} - محمد حسن راشد محصل^۳ - مهدی راستگو^۴ - محمد حسن زاده خیاط^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۴/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۱۱

چکیده

تریفلورالین از جمله علف کش‌هایی است که ماندگاری بالایی در خاک دارد. بقایای این علف کش در خاک می‌تواند به گیاهان بعدی کشت شده در تناوب، خسارت وارد کند. به منظور ارزیابی حساسیت برخی گیاهان به بقایای شبیه‌سازی شده تریفلورالین در خاک آزمایشی به صورت گلدانی، بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی در این آزمایش شامل هفت گیاه زراعی (سورگوم، ارزن، جو، گندم، یولاف وحشی، یونجه و خیار) و غلظت‌های مختلف تریفلورالین در خاک در هشت سطح شامل (صفر، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۴، ۰/۰۲۱، ۰/۰۴۳، ۰/۰۴۶، ۰/۰۸۶ و ۰/۱۲۹ میلی گرم ماده مؤثره در کیلوگرم خاک) بودند. نتایج نشان داد که بقایای تریفلورالین در خاک تأثیر معنی‌داری بر سبز شدن گیاهان مذکور داشت و با افزایش غلظت تریفلورالین در خاک، وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه تمام گیاهان به طور کاملاً معنی‌داری کاهش پیدا کرد. با توجه به نتایج آزمایش، گیاه یونجه با داشتن بالاترین ED₅₀ (۰/۱۶۴ میلی گرم ماده مؤثره در کیلوگرم خاک) زیست توده اندام‌های هوایی به عنوان مقاوم‌ترین گیاه و سورگوم با کمترین مقدار ED₅₀ (۰/۰۴۸ میلی گرم ماده مؤثره در کیلوگرم خاک) زیست توده اندام‌های هوایی به عنوان حساس‌ترین گیاه به بقایای تریفلورالین شناخته شدند. سایر گیاهان زراعی بر اساس شاخص مذکور از نظر حساسیت به بقایای تریفلورالین در خاک به صورت یونجه > خیار > گندم > یولاف > جو $\geq$ ارزن $\geq$ سورگوم طبقه‌بندی شدند.

واژه‌های کلیدی: ارزن، جو، خیار، زیست‌سنجی، سورگوم، گندم، یونجه، یولاف

مقدمه

گزارش‌های موجود، نیمه عمر تریفلورالین در خاک‌های مختلف بین ۱۹ تا ۱۳۲ روز است (۳). در سایر مطالعات نیمه عمر آن را بین ۱/۵ تا ۶ ماه و در شرایط خشک و سرد، بیش از یک سال گزارش شده است (۱۰). در مطالعه‌ای کاربرد تریفلورالین در پنبه منجر به خسارت معنی داری به ذرت و چغندر قند موجود در تناوب شده است (۱۷). نامبره خسارت ناشی از کاربرد تریفلورالین را در پنبه بر گیاهان مذکور به علت باقیمانده تریفلورالین در خاک دانسته است. در سایر علف‌کش‌ها نیز گزارشات مشابهی در این مورد انجام شده است. برای مثال در علف‌کش‌های سولفونیل اوره که از علف‌کش‌های نسبتاً جدیدی هستند و هر ساله بصورت گسترده برای مدیریت علف‌های هرز پهن برگ در غلات و بعضی محصولات پهن برگ دیگر مورد استفاده قرار می‌گیرد، کلزا و آفتابگردان به دزهای پایین این گروه از علف‌کش‌ها حساس هستند و باقیمانده آن‌ها در خاک منجر به خسارت و آسیب به آن‌ها می‌شود (۱۸). لوکس و ریز (۹) دریافتند که ایمازاکوئین^۶، ایمازاتاپیر^۷ و کلومازون^۸ که برای کنترل علف‌های هرز در سویا

تریفلورالین از مهم‌ترین علف‌کش‌های خانواده دی نیتروآنیلین می‌باشد. این علف‌کش به صورت پیش‌کاشت برای کنترل طیف وسیعی از علف‌های هرز باریک برگ و پهن برگ در محصولات زراعی مختلف از جمله گوجه فرنگی، سیب زمینی، پنبه و ... بکار می‌رود. این علف‌کش از بازدارندگان تقسیم سلولی بوده که با تأثیر بر سلول‌های مریستمی ناحیه هیپوکوتیل مانع از تقسیم سلولی و مرگ گیاه می‌شوند (۱۵). تریفلورالین از علف‌کش‌هایی است که جذب سطحی بالایی در اجزای خاک دارد و این مهم از عوامل مهم در ماندگاری نسبتاً بالای آن در خاک می‌باشد. این مساله هر چند در افزایش طول دوره کنترل علف‌های هرز مؤثر است اما خسارت به محصولات زراعی موجود در تناوب را نیز به دنبال دارد. بر اساس

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب فارغ التحصیل کارشناسی ارشد شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز، دانشیار، استاد و دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(Email: e-izadi@um.ac.ir)
(*)- نویسنده مسئول:

۵- عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

DOI: 10.22067/jpp.v31i4.21616

6- Imazaquin
7- Imazethapyr
8- Clomazone

سطح شامل (گندم، جو، سورگوم، ارزن، یولاف وحشی، یونجه و خیار) بودند. برای این منظور پس از تهیه خاکی به نسبت ۱:۲:۳ شن، ماسه، و رس ابتدا محلول مادر ۱۰۰۰ پی پی ام تریفلورالین با استفاده از فرمولاسیون تجاری (۴۸٪ EC) تهیه و از این محلول برای تهیه سایر محلول ها (۸۴/۰، ۶۸/۱، ۴۴/۰، ۹/۰، ۳۴/۰، ۱۸/۱، ۷/۲ پی پی ام) در غلظت های ذکر شده برای اختلاط با خاک استفاده شد. برای تهیه محلول های فوق از محلول پایه از معادله (۱) استفاده شد.

$$N_1V_1=N_2V_2 \quad (1)$$

که در آن N_2, V_2, N_1, V_1 به ترتیب شامل نرمالیت محلول با غلظت معلوم و حجمی از محلول با غلظت معلوم برای تهیه حجم مشخصی (V_2) از محلول با غلظت مجهول (N_2) می باشد. به منظور اختلاط کامل محلول ها با خاک پس از محاسبه وزن خاک هر گلدان با قطر ۱۵ سانتی متر (۶۲۵ گرم خاک خشک)، به مقدار گلدان های مربوط به هر غلظت، خاک خشک مورد نظر تهیه و برای سهولت در اختلاط و اطمینان از یکنواختی غلظت تریفلورالین در خاک ابتدا یک کیلوگرم از خاک مذکور آماده شد. سپس با استفاده از یک پیپت سرنگی مقدار محاسبه شده هر یک از محلول های تهیه شده روی خاک مذکور ریخته و کاملاً با خاک مخلوط شد. سپس نمونه خاک آماده شده برای هر غلظت علف کش با سایر خاک های مربوط به هر تیمار به طور کامل و یکنواخت مخلوط شدند و برای کاشت گیاهان به گلدان ها منتقل شدند. قبل از کاشت گیاهان برای جوانه دار کردن گیاهان از ژرمیناتور در دماهای اپتیمم جوانه زنی هر یک از گیاهان استفاده شد. برای جوانه دار کردن یولاف وحشی (اکوتیپ سبزوار) نیز پس از پوست کنی به مدت یک هفته در دمای ۳-۴ درجه سانتی گراد قرار گرفته و سپس به دمای ۸ درجه برای جوانه دار شدن به مدت یک روز تنظیم شد. پس از جوانه دار کردن بذور به تعداد ۱۰ عدد، برای گندم، جو، سورگوم، ارزن، یولاف وحشی، یونجه و خیار در عمق مناسب کشت شدند. شرایط دمایی گلخانه ۱۶ درجه سانتی گراد در شب و ۲۵ درجه سانتی گراد در روز با طول روز ۱۴ ساعت بود. آبیاری گلدان ها به طور یکنواخت انجام شد. ۱۰ روز پس از سبز شدن و در مرحله ۲ تا ۳ برگی، درصد سبز شدن گیاهان محاسبه و به پنج بوته در هر گلدان کاهش یافتند. ۳۵ روز بعد، پس از تعیین درصد بقاء، گیاهان مورد نظر در هر گلدان، برداشت و پس از ریشه شویی آنها، به طور جداگانه در پاکت هایی قرار داده شدند و به منظور خشک کردن آنها از آونی با دمای ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد. سپس با ترازوی دیجیتال با دقت یک هزارم توزین شدند. داده های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار MSTATC، تجزیه واریانس شده و مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵٪ انجام شد، تجزیه رگرسیون داده ای حاصل نیز با استفاده از نرم افزار R و از طریق برازش میانگین داده های مربوط به سه تکرار به معادله های لجستیک ۳ و ۴ پارامتری انجام شد (معادله

استفاده می شوند می توانند در خاک باقی بمانند و به محصولات حساسی مانند گندم و ذرت کاشته شده در تناوب خسارت برسانند. در مورد تریفلورالین نیز گزارش هایی موجود است که به دلیل ماندگاری آن در خاک پتانسیل صدمه به محصولاتی از جمله غلات را تأیید می کند (۸). از اینرو شناخت حساسیت گیاهان مختلف به بقایای آن در خاک هم در مدیریت تناوب زراعی و هم در انتخاب گیاه مناسب برای تشخیص بقایای آن ها در خاک با استفاده از آزمون های زیست سنجی مفید می باشد. در این ارتباط آنا و همکاران (۱) با استفاده از اندازه گیری طول ریشه گیاه خردل پس از ۳ روز بقایای علف کش فلکاربازون^۱ را یکسال پس از کاربرد آن تعیین کردند. اسمیگیلسکی و همکاران (۱۴) از ریشه گیاه خردل به عنوان گیاه حساس به بقایای علف کش های سولفونیل اوره، برای تعیین باقیمانده این علف کش ها در خاک استفاده کردند. این محققین روش سنجش طول ریشه خردل را به عنوان روش کارآمد و ساده برای شناسایی بقایای علف کش در خاک برای جلوگیری از خسارت به گیاهان حساس معرفی نمودند. فرانک و همکاران (۶) در آزمایش خود نشان دادند که جوانه زنی و اجزای عملکرد ۱۰ ژنوتیپ یولاف زراعی تحت تأثیر مقادیر کاربرد تریفلورالین قرار گرفت. بطوری که در تیمار ۱۹۲۰ گرم در هکتار یک سال پس از کاربرد تریفلورالین ۴۶ درصد کاهش عملکرد گزارش شد. برخی تحقیقات نیز تحمل بیشتر گندم نسبت به جو و یولاف به بقایای تریفلورالین را مشخص نموده اند (۱۱). با توجه به تفاوت در پاسخ گیاهان مختلف به بقایای علف کش تریفلورالین در خاک، این آزمایش به منظور بررسی تأثیر بقایای علف کش تریفلورالین در خاک بر رشد گیاهان تناوبی و نیز تعیین حساس ترین گیاه به بقایای آن، جهت کاربرد در آزمون زیست سنجی در تشخیص بقایای آن در خاک، انجام گرفت.

مواد و روش ها

این آزمایش به منظور بررسی حساسیت گیاهان مختلف به بقایای شبیه سازی شده علف کش تریفلورالین در خاک و تعیین حساس ترین گیاه به عنوان گیاه محک به منظور تعیین بقایای احتمالی تریفلورالین در خاک، در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد در فروردین ۱۳۹۰ در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی در این آزمایش شامل غلظت های مختلف علف کش تریفلورالین در خاک در هشت سطح (صفر، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۴، ۰/۰۲۱، ۰/۰۴۳، ۰/۰۶۴، ۰/۰۸۶ و ۰/۱۲۹ میلی گرم ماده مؤثره در کیلوگرم خاک) که به ترتیب معادل ۱، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درصد مقدار کاربرد توصیه شده تریفلورالین بودند و گیاهان مورد مطالعه در هفت

نتایج و بحث

تأثیر بقایای علف کش بر سبز شدن گیاهان

نتایج نشان دادند که بقایای شبیه سازی شده علف کش تریفلورالین در خاک بر روی سبز شدن گیاهان مورد مطالعه، تأثیر معنی داری در سطح ۵ درصد داشت. بر اساس نتایج حاصل بقایای تریفلورالین در گیاه سورگوم درصد سبز شدن آن را ۲۰ درصد کاهش داد. حال اینکه بر گیاه خیار تأثیری نداشت (جدول ۱ و شکل ۱). همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود می توان حساسیت گیاهان مورد مطالعه در این آزمایش را از نظر سبز شدن به صورت زیر طبقه بندی کرد. سورگوم $\leq$ یونجه $\leq$ یولاف $\leq$ ارزن $\leq$ جو $\leq$ گندم $\leq$ خیار

(۲) انجام شد و غلظت لازم علف کش برای ۵۰ درصد کاهش زیست توده هر یک از گیاهان مورد بررسی (ED_{50}) محاسبه و در تحلیل نتایج آزمایش به کار گرفته شد (معادله ۲).

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

در این معادله b ، شیب منحنی، c حد پایین منحنی (پاسخ گیاه وقتی که بیشترین باقیمانده علف کش در خاک استفاده شد)، e غلظتی از علف کش که سبب ۵۰ درصد کاهش در مقدار پاسخ گیاه می شود و d حد بالای منحنی (پاسخ وقتی که باقیمانده علف کش در خاک به صفر میل می کند) می باشند. زمانی که در معادله فوق اثر متغیر c از نظر آماری معنی دار نشد با حذف آن، از معادله سه پارامتری برای برازش داده ها استفاده شد.

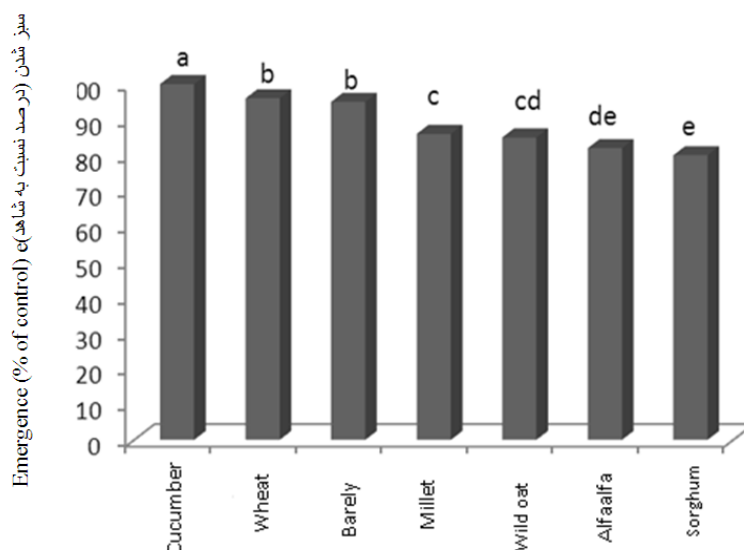
جدول ۱- میانگین مربعات (MS) مربوط به تأثیر بقایای شبیه سازی شده علف کش تریفلورالین در خاک بر صفات گیاهان مورد بررسی (درصد نسبت به شاهد)

Table 1- Mean Square (MS) related to the effect of the simulated trifluralin herbicide residues in soil on plant characteristics (percent of control)

منابع تغییر	درجه آزادی	سبز شدن	زیست توده اندام های هوایی	زیست توده ریشه
Resource of variations	Degree of freedom	Emergence	Shoot biomass	Root biomass
گیاه Plant	6	8229.107*	28480.35*	42034.90*
باقیمانده علف کش در خاک Herbicide residue in soil	7	5725.925*	57019.22*	40504.12*
$P \times R$	42	5553.486*	16267.94*	11872.71*
خطا Error	112	4035.217	10193.66	9550.58
ضریب تغییرات Coefficient of variation		6.71	12	11

* معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد

* Significant at the 5% level



شکل ۱- درصد سبز شدن گیاهان در پاسخ به بقایای شبیه سازی شده علف کش تریفلورالین در خاک

Figure 1- The percentage of emergence of plants in response to simulated trifluralin herbicide residue in soil

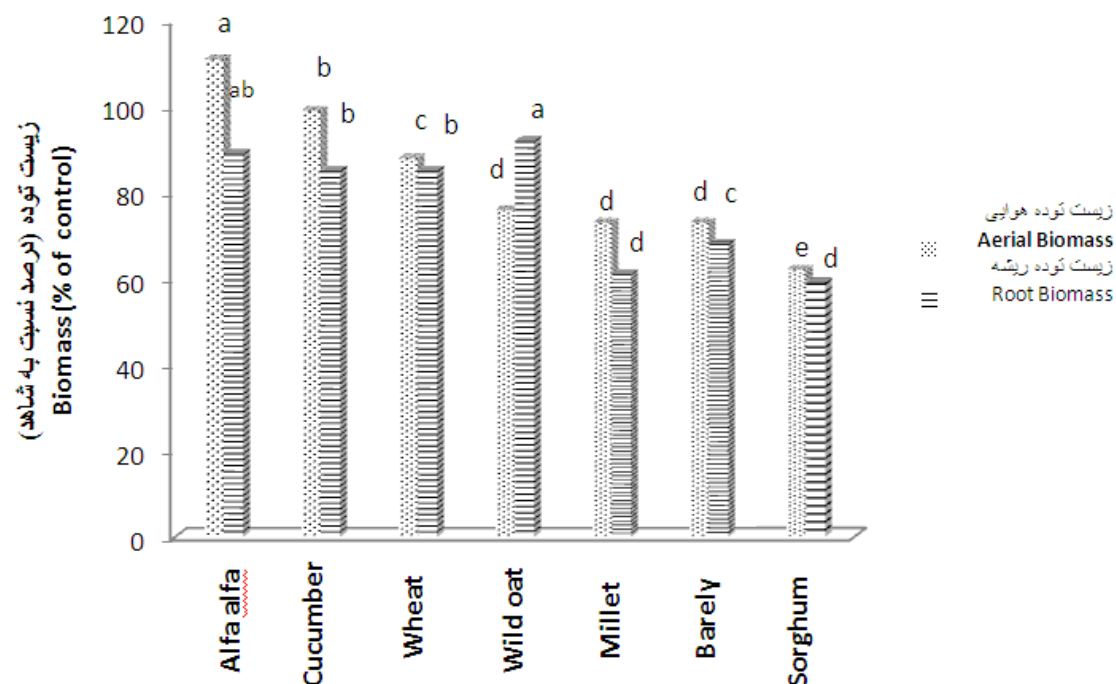
در این ارتباط یولدگا و همکاران (۱۶) در بررسی تحمل ۲۰ رقم ذرت نسبت به بقایای علف کش تریفلورالین در خاک به این نتیجه رسیدند که درصد سبز شدن هیچ یک از ارقام ذرت تحت تأثیر بقایای تریفلورالین در خاک قرار نگرفتند. اما ارتفاع، وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه آن‌ها به طور معنی‌داری تحت تأثیر بقایای تریفلورالین قرار گرفت، نامبردگان نشان دادند که پاسخ گیاه به باقیمانده تریفلورالین بستگی به مقدار کاربرد تریفلورالین در خاک دارد. بر اساس نتایج حاصل، بقایای علف کش تریفلورالین در خاک تأثیر معنی‌داری ($p < 0.01$) بر زیست توده ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان مورد بررسی داشتند (جدول ۱ و شکل ۲) و با افزایش باقیمانده تریفلورالین در خاک، زیست توده اندام هوایی و ریشه در همه گیاهان به طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲). بیشترین کاهش در زیست توده اندام‌های هوایی مربوط به گیاه سورگوم (۷۴ درصد) و جو (۷۵ درصد) بود که اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند و کمترین کاهش در زیست توده اندام‌های هوایی خیار (۱۳ درصد) مشاهده شد. در سایر گیاهان تلفات زیست توده اندام‌های هوایی نسبت به شاهد ۲۸، ۵۰، ۷۴، ۲۴، ۵۴ درصد به ترتیب مربوط به گندم، یولاف، یونجه، ارزن و جو بود. با این وجود، میانگین درصد تلفات وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی در برخی گیاهان مورد بررسی در غلظت‌های پایین بقایای شبیه سازی شده افزایش یافت به طوری که در گیاه خیار و یونجه در غلظت‌های ۰/۰۰۲ تا ۰/۰۴۳ میزان زیست توده اندام هوایی آن‌ها بیش از تیمار شاهد بود که به نظر می‌رسد علت آن مربوط به پدیده هورموزیس می‌باشد (جدول ۲). این پدیده در گیاه یونجه باعث افزایش ۱۱ درصدی وزن زیست توده اندام هوایی شده است (شکل ۳). در این ارتباط سیدرگرین (۴) و دیوک و همکاران (۵) در آزمایشات خود اثرات هورموزیس را برای برخی علف کش‌ها از جمله گلیفوزیت و متسولفورون نشان داده‌اند. این پدیده برای برخی گیاهان به دلیل تنش ناشی از کاربرد علف کش در غلظت‌های پایین، رخ می‌دهد (۴). احتمالاً این پدیده مربوط به متابولیت‌های ثانویه مولکول علف کش‌ها می‌باشد که با تغییرات هورمونی داخل گیاه باعث افزایش زیست توده اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان مذکور شده باشد. در سایر گیاهان نیز کمترین تلفات ریشه در بالاترین غلظت (۱۲۹/۰ میلی گرم کیلوگرم خاک) متعلق به گیاه یونجه با ۳۵ درصد بود. البته این روند برای زیست توده هوایی بیشتر از ریشه بود. بیشترین کاهش تلفات زیست توده ریشه بدون اختلاف معنی‌داری مربوط به گیاه سورگوم با (۷۵ درصد) و ارزن (۷۷ درصد) بود. در سایر گیاهان گندم، یولاف، یونجه، ارزن، جو درصد تلفات زیست توده ریشه به ترتیب ۳۷، ۳۹، ۳۵، ۴۶، ۴۹ درصد مشاهده شد (جدول ۲). همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت علف کش در خاک به طور معنی‌داری زیست توده اندام‌های هوایی، ریشه و سبز گیاهان مورد مطالعه کاهش یافت.

بیشترین کاهش در پاسخ به افزایش غلظت مربوط به زیست توده ریشه گیاهان مذکور می‌باشد که با ۵۲ درصد کاهش نسبت به زیست توده اندام هوایی (۴۳ درصد) بود که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر ریشه گیاهان به بقایای شبیه‌سازی شده علف کش تریفلورالین می‌باشد. از آن جایی که علف کش تریفلورالین با تأثیر در ناحیه هیپوکوتیل ریشه مانع از تقسیم سلولی و در نهایت باعث جلوگیری از توسعه ریشه می‌شود، نتیجه فوق دور از انتظار نیست (۱۵).

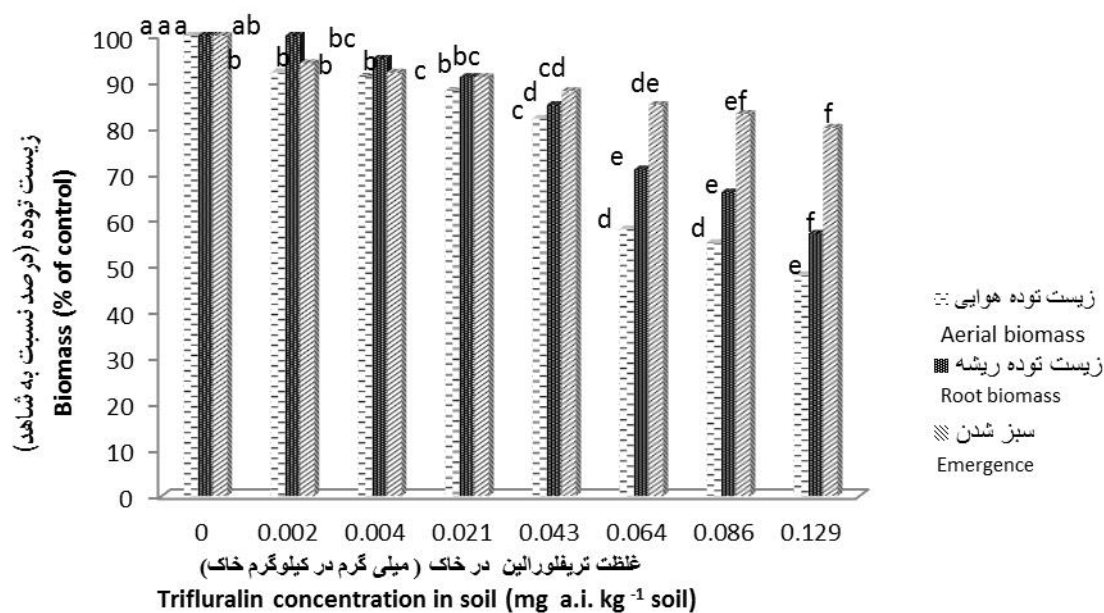
در بررسی اثرات متقابل تأثیر بقایای مختلف تریفلورالین در خاک بر گیاهان مختلف مورد مطالعه مشاهده شد که پاسخ گیاهان مورد مطالعه به بقایای تریفلورالین در خاک متفاوت بود (شکل ۲) و پاسخ تمامی گیاهان به افزایش غلظت تریفلورالین در خاک از رابطه لجستیک پیروی می‌کرد (شکل ۴ و جدول ۳) به جز سورگوم و ارزن واکنش زیست توده سایر گیاهان از معادله چهار پارامتری تبعیت می‌کرد (جدول ۳). با توجه به نتایج بدست آمده در بین گیاهان مورد بررسی زیست توده اندام‌های هوایی و ریشه، یونجه و خیار تحمل بالاتری به بقایای علف کش تریفلورالین از خود نشان دادند و سورگوم و ارزن به ترتیب ۷۰/۵ درصد و ۶۵/۵ درصد بیشترین کاهش در زیست توده خشک اندام‌های هوایی و ریشه را داشتند، به طور کلی از نتایج فوق چنین استنباط می‌شود که حساسیت گیاهان مورد بررسی و واکنش آن‌ها به بقایای شبیه‌سازی شده تریفلورالین دارای روند متفاوت است (جدول ۲ و شکل ۲).

در بسیاری از مطالعات مربوط به آزمایشات زیست‌سنجی بقایای علف کش‌ها در خاک، از شاخص‌های ED_{50} ، ED_{10} و ED_{90} و بخصوص ED_{50} (دزی از علف کش که باعث ۵۰ درصد خسارت به گیاه می‌شود) برای تعیین ضریب حساسیت گیاهان به علف کش‌ها استفاده می‌شود. بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش در بین گیاهان مورد مطالعه شاخص مذکور برای تریفلورالین در سورگوم کمترین مقدار بود و به عبارتی حساس‌ترین گیاه به بقایای شبیه‌سازی شده علف کش تریفلورالین بود. به طوری که کم‌ترین ED_{50} ریشه (۰/۰۴۳) میلی گرم ماده مؤثره تریفلورالین در کیلوگرم خاک) و اندام هوایی (۰/۰۴۸) میلی گرم ماده مؤثره تریفلورالین در کیلوگرم خاک) را به خود اختصاص داد و بعد از آن ارزن و جو قرار گرفته و یونجه و خیار به عنوان متحمل‌ترین گیاهان بودند (جدول ۳). بر این اساس به نظر می‌رسد در بین گیاهان مورد مطالعه یونجه و خیار به عنوان متحمل‌ترین و سورگوم به عنوان حساس‌ترین گیاه به بقایای شبیه سازی شده تریفلورالین بود و بر اساس پارامتر ED_{50} مربوط به ریشه میزان تحمل سایر گیاهان به صورت زیر طبقه‌بندی می‌شوند (جدول ۲، شکل ۴).

سورگوم $\geq$ ارزن $\geq$ جو $>$ یولاف $>$ گندم $>$ خیار $>$ یونجه



شکل ۲- مقایسه میانگین تاثیر بقایای علف کش تریفلورالین در خاک بر زیست توده اندام های هوایی و ریشه گیاهان
Figure 2- Mean comparison the effect of trifluralin herbicide residues in soil on plants shoot and root biomass



شکل ۳- مقایسه میانگین تاثیر غلظت های مختلف علف کش تریفلورالین در خاک بر زیست توده اندام های هوایی، زیست توده ریشه و سبز شدن گیاهان مختلف
Figure 3- Mean comparison the effect of different concentration of trifluralin herbicide in soil on plants shoot and root biomass and their emergence

جدول ۲- مقایسه میانگین مربوط به وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان (درصد نسبت به شاهد) در غلظت‌های مختلف تریفلورالین در خاک

Table 2- Mean comparison related to plants root and shoot dry weight (percent of control) in different concentrations of trifluralin herbicide in soil

گیاهان Plants	غلظت علف کش (میلی گرم در کیلوگرم خاک) Herbicide concentrations (mg a.i. kg ⁻¹ soil)	زیست توده اندام های هوایی (درصد نسبت به شاهد) Shoot biomass (percent of control)	زیست توده ریشه (درصد نسبت به شاهد) Root biomass (percent of control)	گیاهان Plants	زیست توده اندام های هوایی (درصد نسبت به شاهد) Shoot biomass (percent of control)	زیست توده ریشه (درصد نسبت به شاهد) Root biomass (percent of control)
گندم Wheat	0	100 ^{f-c}	100 ^{g-d}	یولاف وحشی Wild oat	100 ^{f-c}	100 ^{g-d}
	0.002	85.4 ^{k-e}	94.2 ^{i-d}		96.4 ^{i-c}	90.8 ^{k-e}
	0.004	94.9 ^{i-d}	91.5 ^{k-e}		98.5 ^{g-v}	86.5 ^{l-e}
	0.021	109 ^{d-b}	94.1 ^{i-d}		۹۸.۱ ^{h-c}	83.1 ^{l-f}
	0.043	93 ^{j-d}	93.3 ^{i-d}		124.5 ^a	79.9 ^{n-h}
	0.064	59 ^{r-o}	84 ^{l-e}		90.2 ^{k-d}	64.2 ^{r-m}
	0.089	72.69 ^{q-k}	79.4 ⁿ⁻ⁱ		61.2 ^{r-n}	55.3 ^{t-q}
سورگوم Sorghum	0.129	63.8 ^{r-l}	72.2 ^{q-l}	یونجه Alfalfa	61.3 ^{r-n}	50.8 ^{u-r}
	0	100 ^{f-c}	100 ^{g-d}		100 ^{f-c}	100 ^{g-d}
	0.002	77.8 ^{o-i}	83.8 ^{n-h}		88.2 ^{k-e}	132 ^a
	0.004	79.5 ^{o-h}	76.9 ⁿ⁻ⁱ		103 ^{e-b}	127 ^b
	0.021	65.2 ^{r-l}	74.4 ^{o-j}		108 ^{b-c}	124 ^{b-c}
	0.043	58.2 ^{s-p}	63.3 ^{r-n}		94 ^{i-d}	111.6 ^{c-d}
	0.064	34.1 ^{v-t}	41.6 ^{v-t}		75.6 ^{p-j}	101 ^{f-d}
ارزن Millet	0.089	33.4 ^{v-t}	34.9 ^{u-v}	خیار Cucumber	75.5 ^{p-j}	94.9 ^{i-d}
	0.129	25.2 ^v	26.4 ^v		65.3 ^{r-l}	76.4 ^{o-i}
	0	100 ^{f-c}	100 ^{g-d}		100 ^{f-c}	100 ^{g-d}
	0.002	90 ^{k-e}	121 ^{b-c}		75.2 ^{p-j}	93.2 ^{i-d}
	0.004	89.6 ^{k-e}	101 ^{f-d}		81.2 ^{m-f}	79.4 ⁿ⁻ⁱ
	0.021	115 ^b	101.9 ^{d-e}		61.5 ^{r-n}	82.1 ^{m-g}
	0.043	93.3 ^{j-d}	98.4 ^{h-d}		71.5 ^{r-k}	73.1 ^{p-k}
جو Barley	0.064	80 ^{n-g}	93.6 ^{i-d}		41.3 ^{v-s}	60.4 ^{s-o}
	0.089	63 ^{r-m}	93.5 ^{i-d}		34.6 ^{v-y}	56.2 ^{t-p}
	0.129	54.5 ^{s-q}	87.1 ^{l-e}		23.7 ^v	46.7 ^{u-r}
	0	100 ^{f-c}	100 ^{g-d}			
	0.002	66.4 ^{r-l}	87.5 ^{l-e}			
	0.004	92.9 ^{j-d}	92.4 ^{g-e}			
	0.021	82 ^{l-f}	82.3 ^{l-g}			
	0.043	75 ^{p-j}	76.7 ^{o-i}			
	0.064	32 ^{u-v}	53.7 ^{t-r}			
	0.089	49.9 ^{t-r}	52.9 ^{t-r}			
	0.129	51.2 ^{u-r}	26.1 ^v			

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک بر مبنای آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشد.

Means followed by the same letters in each column are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$).

مذکور به باقیمانده تریفلورالین در خاک نسبت به اندام‌های هوایی است. از آنجایی که علف کش تریفلورالین بازدارنده تقسیم سلولی است و ریشه نیز در تماس مستقیم با بقایای علف کش می‌باشد این نتیجه دور از انتظار نیست.

با توجه به نتایج حاصل از معادلات سه و چهار پارامتری لجستیک برازش داده شده روند مشابهی نیز برای زیست توده ریشه مشاهده شد (جدول ۳). میزان ED₅₀ مربوط به ریشه همه گیاهان مورد مطالعه به غیر از یولاف کمتر از ED₅₀ مربوط به زیست توده اندام‌های هوایی آن‌ها بود و این مساله نشان‌دهنده حساسیت بیشتر ریشه گیاهان

جدول ۳- پارامترهای برآورد شده حاصل از برازش داده‌های مربوط به زیست توده اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان به معادلات سه و چهار پارامتری به بقایای تریفلورالین در خاک

Table 3- Parameters estimated fitting 3 and 4 parameter logistic model to root and shoot dry weight of plants to trifluralin residue in soil

گیاهان Plants		C	b	d	ED ₅₀	ED ₉₀	P value
گندم Wheat	زیست توده ریشه Root biomass	60.60(3.92)	8.71(4.41)	96.76(1.96)	0.15(0.015)	0.569(0.194)	0.05
	زیست‌توده اندام‌های هوایی Shoot biomass	70.59(7.16)	4.29(3.21)	94.8(1.9)	0.201(0.051)	0.94(0.064)	0.051
جو Barley	زیست توده ریشه Root biomass	16.64(1)	1.99(0.85)	92.43(246)	0.082(0.007)	0.324(0.092)	0.021
	زیست‌توده اندام‌های هوایی Shoot biomass	37.85(10.88)	2.21(1.9)	92.58(2.5)	0.104(0.022)	0.87(0.99)	0.022
ارزن Millet	زیست توده ریشه Root biomass	—	0.053(0.01)	88.08(5.15)	0.066(0.011)	0.493(0.33)	0.0005
	زیست‌توده اندام‌های هوایی Shoot biomass	—	0.755(0.16)	96.32(3.15)	0.079(0.004)	2.416(1.89)	0.004
سورگوم Sorghum	زیست توده ریشه Root biomass	—	0.043(0.09)	94.11(6.08)	0.043(0.014)	0.658(0.5)	0.00015
	زیست‌توده اندام‌های هوایی Shoot biomass	—	1.45(0.20)	87.55(1.98)	0.048(0.011)	0.743(0.453)	0.004
یولاف وحشی Wild oat	زیست توده ریشه Root biomass	59.05(3.8)	10.15(10.85)	90.61(1.72)	0.136(0.012)	0.358(0.084)	0.0138
	زیست‌توده اندام‌های هوایی Shoot biomass	—	1.08(0.21)	93.65(2.2)	0.132(0.014)	0.361(0.13)	0.0015
یونجه Alfalfa	زیست توده ریشه Root biomass	66.66(3.92)	5.91(2.24)	101.112(1.9)	0.162(0.022)	0.603(0.213)	0.009
	زیست‌توده اندام‌های هوایی Shoot biomass	61.5(0.6)	2.55(0.95)	121.5(2.03)	0.164(0.025)	0.625(0.264)	0.025
خیار Cucumber	زیست توده ریشه Root biomass	52.61(4.56)	5.84(2.1)	98.56(1.86)	0.126(0.01)	0.346(0.072)	0.0063
	زیست‌توده اندام‌های هوایی Shoot biomass	78.34(25.17)	1.24(0.83)	107.15(2.4)	0.141(0.17)	0.453(0.152)	0.017

*خطای استاندارد

*Standard error

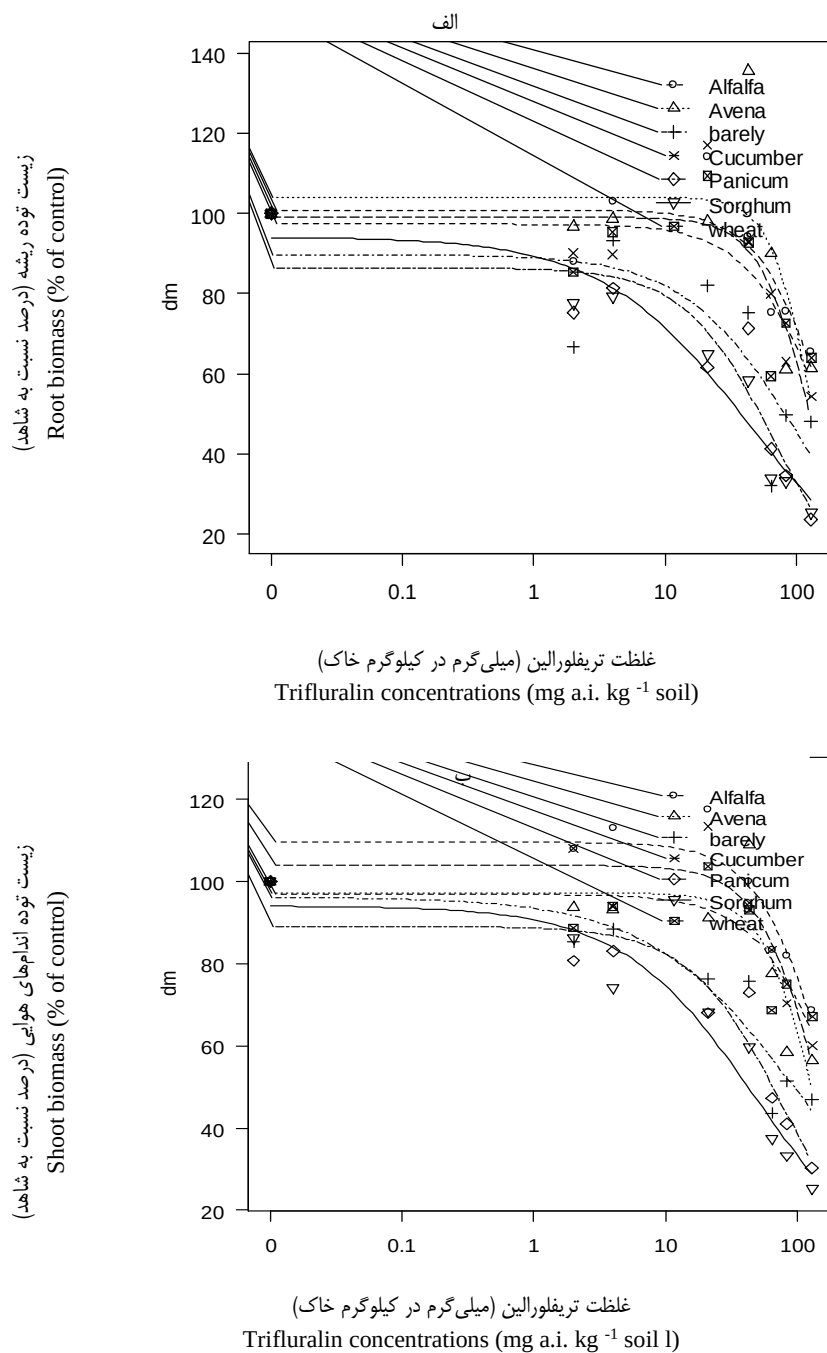
اسمیگیلسکی و همکاران (۲۰۱۰) از ریشه گیاه خردل به عنوان گیاه حساس به بقایای علف‌کش‌های سولفونیل اوره، برای تعیین باقیمانده این علف‌کش‌ها در خاک استفاده کردند. این محققین روش سنجش طول ریشه خردل را به عنوان روش کارآمد و ساده برای شناسایی بقایای علف‌کش در خاک برای جلوگیری از خسارت به گیاهان حساس معرفی نمودند. در دیگر مطالعات فرانک و همکاران (۶) در آزمایش خود نشان دادند که جوانه‌زنی و اجزای عملکرد ۱۰ ژنوتیپ یولاف زراعی تحت تأثیر مقادیر کاربرد تریفلورالین قرار گرفت. بطوری که در تیمار ۱۹۲۰ گرم در هکتار یک سال پس از کاربرد تریفلورالین ۴۶ درصد کاهش عملکرد گزارش شد. برخی تحقیقات نیز

این مساله نشان‌دهنده حساسیت بیشتر ریشه نسبت به اندام هوایی است با توجه به این مهم در مطالعات مربوط به زیست‌سنجی باقیمانده علف‌کش‌ها، رشد ریشه گیاهان محک از شاخص‌های مهم در ارزیابی حساسیت گونه‌ها به بقایای علف‌کش و تعیین بقایای احتمالی آن‌ها به شمار می‌رود و محققان آن را با توجه به شرایط آزمایشگاهی و نوع علف‌کش به عنوان وسیله‌ای برای تشخیص بقایای علف‌کش استفاده می‌کنند. در این ارتباط آنا و همکاران (۱) با استفاده از اندازه‌گیری طول ریشه گیاه خردل پس از ۳ روز، بقایای علف‌کش فلکاربازون^۱ را یکسال پس از کاربرد آن تعیین کردند.

1- Flucarbazone

به عنوان گیاهان حساس به بقایای علف‌کش تریفلورالین در خاک معرفی کرده‌اند که مربوط به نوع روش آزمایش زیست‌سنجی گیاهان می‌باشد.

تحمل بیشتر گندم نسبت به جو و یولاف به بقایای تریفلورالین را مشخص نموده‌اند (۱۱). برخی دیگر از محققین کتان (۱۲) دم روباهی (۲) ارزن (۱۳) کلزا، سیب زمینی، یولاف زراعی، یونجه، گندم (۷) را



شکل ۴- پاسخ زیست توده ریشه (الف) و اندام‌های هوایی (ب) یولاف (o) جو (Δ) ارزن (+) سورگوم (*) گندم (□). به غلظت‌های مختلف علف‌کش تریفلورالین در خاک

Figure 4- The response of root biomass (a) shoots biomass (b) of oat (o) barley (Δ) millet (+) sorghum (*) wheat (□). To different concentrations of trifluralin herbicide in soil

سوی دیگر بر اساس نتایج این آزمایش به نظر می‌رسد بتوان از گیاهان ارزن، جو و بخصوص سورگوم در آزمایشات زیست‌سنجی مربوط به تشخیص بقایای تریفلورالین در خاک در کنار آنالیز دستگاهی بهره گرفت، هر چند تعیین بقایای احتمالی علف‌کش با استفاده از روش زیست‌سنجی دقیق نیست ولی به کشاورزان برای جلوگیری از خسارت احتمالی علف‌کش تریفلورالین کمک می‌نماید. با این حال انجام آزمایشات تکمیلی در این ارتباط توصیه می‌شود.

به طور کلی با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش بقایای علف کش تریفلورالین در خاک می‌تواند به برخی گیاهان زراعی در تناوب با محصولاتی که این علف‌کش در آن‌ها به کار می‌رود از جمله سورگوم و ارزن، خسارت بزند، از این رو رعایت فاصله زمانی برای کاشت آن‌ها بعد از کاربرد علف‌کش تریفلورالین در خاک ضروری به نظر می‌رسد و در این راستا انجام آزمایش‌های مزرعه‌ای و تکمیلی در مناطق با شرایط اقلیمی متفاوت و بافت‌های مختلف خاک توصیه می‌شود. از

منابع

- 1- Anna M., Jeef J., and Irvine S. 2008. Evaluating a mustard root-length bioassay for predicting crop injury from soil residual flucarbazone. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 39: 31-41.
- 2- Beckie H., Friesen J.V., and Nawolske K.E. 1990. A rapid bioassay to detect trifluralin-resistant green foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Technology* 4: 505-508.
- 3- Caren A.J., Neal J.C., and Leidy R.B. 2003. Trifluralin (Preen) Dissipation from the Surface Layer of a Soilless Plant Growth Substrate. *Environmental Horticulture* 21: 216-222.
- 4- Cedergreen D. 2008. Herbicides can stimulate plant growth. *European Weed Research Society Weed Research* 48: 429-438.
- 5- Duke S.O., Cedergreen N., Veline E.D., and Belz R.G. 2006. Hormesis: is it an important factor in herbicide use and allelopathy? *Outlooks on Pest Management* 17: 29-33.
- 6- Frank A., Manthey Richard K., Zollinger Michael S., McMullen and Orval R. 1998. Trifluralin reduces oat establishment and yield but not quality. Department of Cereal Science and Department of Plant Sciences. North Dakota State University.
- 7- Farenhorst A. 2007. Influence of crop residues on trifluralin mineralization in a silty clay loam soil. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* 42: 265-269.
- 8- Gerwing P.D., and McKercher R.B. 1992. The relative persistence of trifluralin (545 EC and 5 G) and ethafluralin in prairie soils. *Canadian Journal of Soil Science* 72: 255-266.
- 9- Loux M.M., and Reese K.D. 1993. Effect of soil type and pH on persistence and carryover of imidazolinone herbicides. *Weed Technol.* 7: 452-458.
- 10- Malterre F., Grebil G., Pierre J-G., and Schiavon M. 1997. Trifluralin behavior in soil: a microlysimeter study. *Chemosphere* 34: 447-454.
- 11- Morrison I.N., Nawolsky K.M., Marshall G.M., and Smith A.E. 1989. Recovery of spring wheat (*Triticum aestivum*) injured by trifluralin. *Weed Science* 37: 784-789.
- 12- Nawolsky K.M., Morrison I.N., Marshall G.M., and Smith A.E. 1992. Growth and yield of flax (*Linum usitatissimum*) injured by trifluralin. *Weed Science* 40: 460-464.
- 13- Rahman A. 2006. Persistence of terbacil and trifluralin under different soil and climatic conditions. *Weed Research* 17: 145-152.
- 14- Szmigielski A.M., Schoenau J.J., Lervine A., and Schilling B. 2010. Evaluation a mustard root bioassay for predicting crop injury from soil residual flucarbazone. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 39: 413-420.
- 15- Thais C.F., Mazzeo M.A., and Marin M. 2007. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to tri Xuralin herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 88: 252-259.
- 16- Uludag A., Uremis I., Ulger A.C., Cakir B., and Aksoy E. 2006. The use of maize as replacement crop in trifluralin treated cotton fields in Turkey. *Crop Protection* 25: 275-280.
- 17- Vencill W.K. 2002. *Herbicide Handbook*, 8th ed. Lawrence, KS: Weed Science Society of America, 493 pp.
- 18- Wall D.A. 1997. Effect of crop growth stage on tolerance to low doses of thifen sulfurontribenuron. *Weed Science* 45: 538-545.



Evaluation of Sensitivity of Some Plants to Simulated Trifluralin Residues in Soil

M. Barzoei¹- E. Izadi Darbandi^{2*}- M.H. Rashed Mohassel³- M. Rastgoo⁴- M.H. Hassanzadeh Khaiat⁵

Received: 22-06-2015

Accepted: 31-05-2016

Introduction: Trifluralin is one of the important soil applied selective, pre-sowing or pre-emergence herbicide used to control many annual grasses and broadleaf weeds in a large variety of arable and horticultural crops. It is generally regarded as a moderately persistence herbicide with a half-life of 1.5 to 6.5 months. Several factors determine the length of time herbicides persist and their carryover. These factors fall into three categories: soil factors, climatic conditions, and herbicide properties. Soil related factors including soil temperature, soil texture, and soil moisture and soil organic matter are the most important factors in herbicide persistence. However physicochemical of herbicide such as absorption properties are also important factor. So different herbicides may have different persistence in soil and have different effects on agroecosystems and also on subsequent rotational crops. Normally residual herbicides extend the period of weed control, and increase the efficiency of weed management efforts. However, they may persist longer than desired and injure or kill subsequent rotational crops. Most herbicide labels include crop rotation guidelines, but rotational restrictions are often not listed for many crops. Several experiments have demonstrated that trifluralin herbicide can persist in the soil and carryover to affect succeeding crops. Some crops tolerate a particular herbicide residue and can be replanted soon after that herbicide is applied, while other crops remain sensitive to the herbicide for a longer time after application. This experiment was conducted to investigation of some plants sensitivity to soil residue of trifluralin in greenhouse conditions.

Materials and Methods: To evaluate the sensitivity of some plants to simulated trifluralin soil residues, an experiment was conducted based on completely randomized design as factorial layout and four replications in Research Greenhouse of Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. Treatments included seven plants (sorghum, millet, barley, wheat, oat, alfalfa and cucumber) and eight levels of concentrations of simulated trifluralin residue in soil (0, 0.002, 0.004, 0.021, 0.043, 0.046, 0.086 and 0.129 mg a.i. kg⁻¹ soil). Trifluralin aquatic solution incorporated to soil and transported to the plastic pots with a 15-cm diameter. Plants emergence percentage was recorded and their shoot and root biomass were measured 35 days after emergence. The data were statistically analyzed using analysis of variance, and differences among mean values of treatments were compared by Duncan's test using SAS software. For determination the required dose of herbicides to reduce 50% of plants response (ED₅₀), the dose response curves were fitted simultaneously using the following three-parameter logistic dose-response model with the lower limit equal to zero.

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

Where f is the response (above ground dry weight and root dry weight), d is the upper limit, b is the curve slope, e denotes the dose required to give a response halfway between the upper and lower limits (ED₅₀); and x is the herbicide concentration in soil. The validity of the above model and the comparisons between the parameters were made using F-test for lack-of-fit with a 5% level of significance.

Results and Discussion: Results showed that trifluralin residue decreased plants emergence and shoot and root biomass. By increasing the trifluralin soil residue, reduced all above mentioned parameters significantly ($p \leq 0.01$) in all plants. Plants showed different response ($p \leq 0.01$) to trifluralin soil residue. The highest and the lowest percent shoot and root dry weight to control treatment were observed in alfalfa and sorghum, respectively. Based on ED₅₀ parameter, alfalfa (0.164 mg a.i. trifluralin kg⁻¹ soil) and sorghum (0.048 mg a.i. trifluralin kg⁻¹ soil) appeared the most tolerant and the most sensitive plants to trifluralin soil residue, respectively. The other crops sensitivity to trifluralin in soil residue followed the following order: sorghum > millet > barley > wild oat > wheat > cucumber > alfalfa.

Conclusion: According to the results, trifluralin residue in soil can affect the growth of rotational crops specially sorghum and millet. Therefore, regarding to the distance planting of sensitive crops after trifluralin application is necessary. Based on the results, plant response to trifluralin residues in soil were different

1, 2, 3 and 4- M.Sc. Graduated in Weed Science, Associate Professor, Professor and Associate Professor, Department of Agrotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Respectively

(*- Corresponding Author Email: e-izadi@um.ac.ir)

5- Faculty Member, Medicinal University of Mashhad

significantly. However some sensitive plants such as sorghum and millet may be used for soil residue of trifluraline in bioassay experiments.

Keywords: Alfalfa, Barley, Bioassays, Cucumber, Millet, Sorghum, Wheat, Wild oat

مطالعه شاخص‌های جمعیت علف‌های هرز مزارع برنج شهرستان‌های استان گیلان

محمدجواد گل‌محمدی^۱ - حمیدرضا محمد دوست چمن‌آباد^{۲*} - بیژن یعقوبی^۳ - مصطفی اویسی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۶

چکیده

شناسایی علف‌های هرز مزارع برنج به عنوان اساسی‌ترین اقدام در مدیریت علف‌های هرز محسوب می‌شود. با آگاهی از فلور علف‌های هرز خاص در یک منطقه می‌توان در مورد روش‌های مدیریت آن‌ها برنامه‌ریزی کرد و تصمیم گرفت که می‌تواند باعث جلوگیری از تکرار اشتباهات برای کنترل علف‌های هرز در اثر عدم وجود اطلاعات کافی از علف‌های هرز هر منطقه باشد. به منظور شناسایی تکمیلی، پراکنش و تعیین غالبیت گونه‌های مختلف علف‌های هرز مزارع برنج در طول دوره رشد برنج، مطالعه‌ای سه‌ساله (۱۳۹۳ تا ۱۳۹۵) در ۴۸۱ مزرعه از ۱۶ شهرستان استان گیلان انجام شد. نمونه‌برداری بصورت تصادفی با روش سیستماتیک و مطابق الگوی W با استفاده از کوادرات ۵/۵ در ۵/۵ متر انجام شد. علف‌های هرز در هر مزرعه شناسایی و تراکم، درصد فراوانی، یکنواختی و شاخص وفور آن‌ها به تفکیک جنس و گونه تعیین شد. بر اساس شاخص غالبیت علف‌هرز، سوروف (*Echinochloa crusgalli*) در شهرستان‌های آستانه‌اشرفیه، املش، انزلی، رشت، رودسر، سیاهکل، فومن، لاهیجان و لنگرود بالاترین شاخص را در بین ۶۶ گونه شناسایی شده داشت. قاشق‌واش (*Alisma plantago-aquatica*) در شهرستان‌های آستارا و رضوانشهر بیشترین شاخص غالبیت و فراوانی را دارد. بندواش آبری (*Paspalum distichum*) از گونه‌های غالب در شهرستان‌های شفت، تالش و ماسال بود که بیشترین شاخص غالبیت را به خود اختصاص داد. اویارسلام زرد (*Cyperus esculentus*) در شهرستان صومعه‌سرا بیشترین شاخص غالبیت را دارد. شاخص شانون-وینر و سیمپسون در شهرستان تالش به ترتیب با ۲/۸۵ و ۰/۹۱۶ دارای بالاترین مقدار و در شهرستان رودبار به ترتیب با ۱/۹۷ و ۰/۷۴۹ دارای کمترین مقدار بود. در کل مزارع استان گیلان و در بین باریک‌برگان بالاترین یکنواختی و غالبیت برای سوروف به ترتیب با ۳۴/۷ درصد و ۱۳۲/۱، در جگن‌ها، اویارسلام زرد دارای بالاترین یکنواختی و غالبیت به ترتیب با ۲۲/۸ درصد و ۸۸/۸ و در پهن‌برگان، گل‌آردی به ترتیب ۱۴/۵ درصد و ۶۶/۲۵ فراوانی و غالبیت را نشان داد. نتایج نشان داد که در منطقه‌ای با غنای گونه‌ای پایین ولی تراکم بالا به دلیل استفاده از برخی روش‌های مدیریتی خاص، برخی علف‌های هرز غالب می‌شوند. بدین منظور کشاورزان برنجکار می‌بایستی در روش‌های مدیریتی علف‌های هرز تغییراتی را ایجاد کنند. در مجموع، نتایج این تحقیق نشان داد که مدیریت علف‌های هرز برنج استان در وضعیت مطلوبی قرار ندارند.

واژه‌های کلیدی: تنوع گونه‌ای، شانون-وینر، علف‌هرز، غالبیت

مقدمه

تولید اقتصادی برنج ضروری است (۲۳). کاهش عملکرد در اثر تداخل علف‌های هرز متغیر است و به سیستم کاشت برنج، فراوانی علف‌هرز، نوع علف‌هرز، عملیات مدیریتی و شرایط آب و هوایی بستگی دارد (۱۲). باریک‌برگان، پهن‌برگان، جگن‌ها، سرخس‌ها و جلبک‌ها از علف‌های هرز مزارع برنج گیلان می‌باشند (۳۴). آلودگی علف‌های هرز در یک مزرعه را می‌توان با سه عامل تعداد گونه‌های علف‌هرز موجود، تراکم هر گونه و نحوه توزیع گونه‌ها در مزرعه توصیف کرد. گونه‌های موجود در یک مزرعه تقریباً از سالی به سال دیگر ثابت است، ولی دو عامل دیگر تا حدود زیادی در پاسخ به محیط، برنامه‌های زراعی و روش‌های مدیریتی علف‌هرز تغییر می‌کنند (۱۰). دانش و آگاهی از تغییرات در جوامع علف‌های هرز کمک خواهد کرد که روش‌های مناسب برای مدیریت و کنترل آن‌ها انتخاب شود (۱۶).

برنج، غذای اساسی و عمده بیش از ۶۰ درصد جمعیت جهان را تشکیل می‌دهد و نقش مهمی در ثبات اقتصادی و اجتماعی دارد (۳). ۱۲ و ۲۰). علف‌های هرز یکی از مهمترین عوامل کاهش محصولات زراعی از جمله برنج می‌باشند. کنترل موفقیت‌آمیز علف‌های هرز برای

۱ و ۲- فارغ‌التحصیل دکتری علوم علف‌هرز و دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
(*) نویسنده مسئول: Email: hr_chamanabad@yahoo.com

۳- استادیار پژوهش، بخش گیاه‌پزشکی، مؤسسه برنج کشور، رشت

۴- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

نمونه برداری با استفاده از روش زیگزایگ مطابق الگوی W (۱۸، ۲۹) و با استقرار قاب ۰/۲۵ متر مربعی (۵/۵×۰/۵ متر) انجام گرفت. علف های هرز در هر کادر و به تفکیک جنس و گونه شناسایی و شمارش شد. فراوانی، یکنواختی، تراکم علف هرز در هر مزرعه، میانگین تراکم علف های هرز در مزارع مورد بازدید و شاخص غالبیت گونه های مختلف در هر شهرستان به ترتیب با استفاده از روابط زیر محاسبه شد (۲۹):

فراوانی^۱ (F): بیانگر نسبت مزارع دارای گونه علف هرز خاص بر کل مزارع بررسی شده است که بصورت درصد بیان می شود. فراوانی در رابطه با حضور یا عدم حضور یک گونه در یک قاب، مزرعه یا منطقه بحث کرده و به تعداد یا مقدار آن گونه اشاره ای ندارد (رابطه ۱).

$$F_k = \frac{\sum Y_i}{n} \quad (1)$$

F_k = فراوانی گونه ها، Y_i = حضور یا عدم حضور گونه، n = تعداد مزارع مورد بازدید

یکنواختی^۲ (U): بیانگر درصد آلودگی مزرعه به گونه مورد نظر بوده که سطح اشغال شده توسط علف هرز را بیان می کند (رابطه ۲)

$$U_k = \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m x_{ij}}{\sum_{i=1}^m m_i} \quad (2)$$

U_k = یکنواختی مزرعه برای گونه k، x_{ij} = حضور یا عدم حضور گونه k در قاب j و در مزرعه i و m تعداد قاب ها در مزرعه تراکم^۳ (D): تراکم شمارش افراد یک گونه خاص را در هر متر مربع از مزرعه مورد نظر ما نشان می دهد که با توجه به قاب ۰/۲۵ متر مربعی برای برنج، تراکم بدست آمده در عدد ۴ ضرب، تا تراکم در یک متر مربع بدست آید (رابطه ۳).

$$D_{ki} = \frac{\sum_{j=1}^m z_j}{m} \times 4 \quad (3)$$

D_{ki}: تراکم گونه k در مزرعه i (تعداد در هر متر مربع)، z_j: تعداد گیاهان در قاب j

میانگین تراکم^۴ (MFD_{ki}): بیانگر میانگین تعداد گیاه برای هر گونه در متر مربع در مزارع مورد بررسی می باشد (رابطه ۴).

$$MFD_{ki} = \frac{\sum_{j=1}^n D_{kij}}{n} \quad (4)$$

D_{ki}: تراکم در هر مزرعه، n: تعداد کل مزرعه مورد بررسی برای رتبه بندی علف های هرز از شاخص غالبیت (AI) که مجموع فراوانی، یکنواختی و میانگین تراکم گونه ها را شامل می شود استفاده گردید (رابطه ۵):

اطلاعات در مورد حضور یا عدم حضور علف هرز، ترکیب، فراوانی، اهمیت و رتبه گونه های علف هرز بستگی به راهبردهای مدیریتی علف های هرز با میانگین عملکرد تولید در برنج دارد (۵). مدیریت کلان علف های هرز از اهمیت ویژه ای برخوردار است به طوری که تعیین فلور و پراکنش جغرافیایی علف های هرز از اطلاعات پایه در این جهت به شمار می روند. با اطلاع از وجود علف های هرز خاص در یک منطقه می توان در مورد روش های کنترل آن ها تصمیم گرفت و برنامه ریزی لازم را انجام داد. از سوی دیگر توزیع و مصرف سموم علف کش در هر منطقه باید بر مبنای اطلاعات دقیق فلور علف های هرز صورت پذیرد و کارایی علف کش ها روی گونه های علف های هرز مورد نظر قرار گیرد. مدیریت علف های هرز می تواند گامی مؤثر در افزایش تولید و در نتیجه حفظ پتانسیل واقعی عملکرد محصولات زراعی و در نهایت افزایش تولید باشد. با توجه به اهمیت برنج در کشور و نقش علف های هرز در کاهش تولید آن، این تحقیق به منظور ارزیابی ساختار جوامع، تنوع گونه ای علف های هرز در شهرستان های استان گیلان به منظور ارزیابی مدیریت بهینه و مناسب علف های هرز مزارع برنج گیلان انجام شد.

مواد و روش ها

این تحقیق در مزارع برنج استان گیلان به منظور بررسی شناسایی تکمیلی، پراکنش و تعیین غالبیت گونه های مختلف علف های هرز شالیزارهای استان گیلان از سال ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۵ به مدت سه سال در طول دوره رشد برنج (۱۰ روز بعد نشاء کاری تا زمان برداشت) اجرا شد. استان گیلان یکی از استان های شمالی کشور با مساحت ۱۴۰۴۴ کیلومتر مربع می باشد. این استان در ۳۶ درجه و ۳۴ دقیقه تا ۳۸ درجه و ۲۷ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه تا ۵۰ درجه و ۳۴ دقیقه طول شرقی از نصف النهار قرار گرفته است. سطح زیر کشت برنج در استان گیلان حدود ۲۳۸ هزار هکتار است که مقدار تولید کل سالانه آن ۱،۰۷۲۶۶۶ تن برابر با ۴/۵ تن در هکتار می باشد (۱). جهت شناسایی و تعیین غالبیت گونه های مختلف علف های هرز مزارع برنج استان گیلان، نمونه برداری از جمعیت علف های هرز ۴۸۱ مزرعه از ۱۶ شهرستان (رشت، صومعه سرا، آستانه اشرفیه، فومن، لاهیجان، لنگرود، تالش، رودسر، انزلی، املش، رودبار، ماسال، رضوانشهر، آستارا، سیاهاکل و شفت) صورت گرفت. تعداد مزارع نمونه برداری شده در هر شهرستان با توجه به سطح زیر کشت برنج در شهرستان و به طور تصادفی تعیین شد؛ چنانکه هر چه سطح زیر کشت گیاه زراعی مذکور در منطقه ای بیشتر بود (در مزارع با مساحت ۲-۵/۵ هکتار تعداد ۵ قاب، مزارع ۵-۲ هکتار، تعداد ۹ قاب و بیش از ۵ هکتار ۱۳ قاب)، تعداد نمونه برداری ها نیز افزایش یافت. تعداد نقاط نمونه برداری در هر مزرعه با توجه به مساحت مزرعه تعیین شد.

1- Frequency

2- Uniformity

3- Density

4- Mean density

(۲) از کل ۵۸ گونه‌های شناسایی شده در مزارع برنج (در کشت مستقیم و مناطق مرطوب) که متعلق به ۲۶ خانواده گیاهی بود، ۲۷ گونه پهن‌برگ، ۱۴ گونه باریک‌برگ، ۱۲ گونه جگن و ۵ گونه گیاهان آبی‌زی بودند. با توجه به سیستم تک‌کشتی در برنج باریک‌برگان، جگن‌ها و پهن‌برگان از علف‌های هرز شایع در برنج می‌باشند (۴).

پراکنش علف‌های هرز در مناطق مختلف گیلان

رشت از نظر سطح زیر کشت برنج، اولین شهرستان گیلان می‌باشد (۱). نتایج جدول ۳ نشان داد ۴۵ گونه علف‌هرز از ۲۲ خانواده گیاهی در مزارع برنج این شهرستان وجود داشت. مهم‌ترین علف‌های هرز باریک‌برگ مزارع برنج شهرستان رشت براساس شاخص غالبیت سوروف، بندواش آبی و سوروف‌برنج (*Echinochloa oryzoides*) (۸ و ۳۳) می‌باشد. پهن‌برگان غالب مزارع برنج این شهرستان شامل تیرکمان‌آبی (*Sagittaria trifolia*)، گل‌آردی (*Eclipta prostrata*)، گوشاب و قاشق‌واش می‌باشد. از مهمترین جگن‌های شهرستان رشت می‌توان به اوپارسلام زرد (*Cyperus esculentus*)، اوپارسلام خشن (*Cyperus serotinus*)، اوپارسلام بذری، اوپارسلام گونه (*Cyperus fuscus*) و هزارنی (*Butomus umbellatus*) را نام برد. آزولا (*Azolla filiculoides*) و جلبک سبزآبی (*Algae blue-green*) پوشش نسبی گیاهی ۲ و ۱/۴ را داشتند (جدول ۴). شاخص شانون-وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان رشت ۲/۴۲، ۰/۸۵۸ و ۰/۶۳۳ می‌باشد.

آستانه اشرفیه از نظر سطح زیرکشت برنج بعد از رشت، چهارمین شهرستان گیلان می‌باشد. نتایج نشان داد ۴۲ گونه علف‌هرز از ۲۰ خانواده گیاهی در مزارع برنج این شهرستان وجود داشت. مهم‌ترین علف‌های هرز باریک‌برگ مزارع برنج شهرستان آستانه اشرفیه به ترتیب غالبیت عبارت از سوروف، بندواش آبی و سوروف‌برنج را بودند. گل‌آردی، آمانیا (*Ammannia multiflora*) و تیرکمان‌آبی از مهم‌ترین پهن‌برگان و اوپارسلام زرد و اوپارسلام خشن مهم‌ترین جگن‌های مزارع برنج آستانه اشرفیه را تشکیل دادند (جدول ۳). جلبک سبزآبی و آزولا به ترتیب با ۰/۸۶ و ۰/۶۳ درصد بالاترین پوشش نسبی گیاهی را در بین گونه‌های شناور و غوطه‌ور داشتند (جدول ۴). شاخص شانون-وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان آستانه‌اشرفیه ۲/۵۸، ۰/۸۷۴ و ۰/۶۹ می‌باشد.

نتایج نشان داد که ۲۷ گونه علف هرز از ۱۶ خانواده گیاهی در شهرستان آستارا وجود دارد. مهم‌ترین علف‌های هرز، باریک‌برگ مزارع برنج شهرستان آستارا به ترتیب شاخص غالبیت دو گونه سوروف، بندواش آبی و سوروف‌برنج تشکیل می‌دهند. گل‌آردی و قاشق‌واش از مهم‌ترین پهن‌برگان و اوپارسلام زرد، اوپارسلام خشن و

$$AI_k = F_k + U_k + MFD_k \quad (5)$$

AI_k = شاخص غالبیت گونه k ، F_k = فراوانی گونه k ، U_k = یکنواختی مزرعه برای گونه k ، MFD_k = میانگین تراکم گونه‌ها یکی از روش‌های متداول جهت بررسی تنوع جوامع گیاهی در اکولوژی علف‌های هرز و یکنواختی و غنای گونه‌ای در اکوسیستم‌های کشاورزی استفاده از شاخص‌های سیمپسون و شانون-وینر می‌باشد. شاخص سیمپسون (D) اهمیت بیشتری به گونه‌های رایج می‌دهد، ولی شاخص شانون-وینر (H) برای گونه‌های نادر ارزش بیشتری قائل است که از روابط زیر محاسبه می‌شوند (۲۲، ۲۴ و ۲۷).

$$H = - \sum_{i=1}^s [P_i \ln(P_i)] \quad (6)$$

$$D = 1 - \sum_{i=1}^s (P_i)^2 \quad (7)$$

$$E = H / \ln S \quad (8)$$

P_i برابر است با فراوانی نسبی گونه‌ای مشخص (i ام)، که بصورت $P_i = n_i/N$ محاسبه شده و $\ln$ به معنای لگاریتم طبیعی است. در مقادیر بدست آمده از شاخص شانون-وینر، اعداد بزرگتر نشان دهنده تنوع بیشتر جامعه گیاهی می‌باشند. بعد از محاسبه شاخص شانون-وینر برای هر شهرستان، می‌توان با استفاده از شاخص یکنواختی (E)، به یکنواختی جامعه نیز پی برد. S ، بیانگر تعداد گونه مشاهده شده در هر جامعه (شهرستان)، که در این رابطه از $\ln$ آن استفاده می‌شود (رابطه ۸) (۶).

پوشش نسبی گیاهی با استفاده از فرمول زیر بدست می‌آید (۱۹):

$$RC = \frac{W}{W + C} \quad (9)$$

W = درصد پوشش علف‌هرز، C = درصد پوشش گیاه زراعی

برای مقایسه سهی نسبی هر خانواده گیاهی در ترکیب گونه‌های علف‌هرز مزارع برنج از شاخص تنوع نسبی (رابطه ۱۰) استفاده شد (۱۱):

$$(10) \quad 100 \times (\text{تعداد کل گونه در تمام خانواده‌ها} / \text{تعداد گونه در آن خانواده}) = \text{تنوع نسبی یک خانواده گیاهی}$$

نتایج و بحث

طبقه‌بندی گونه‌های علف‌هرز

بر اساس نتایج این تحقیق، ۶۶ گونه علف‌هرز در مزارع برنج استان گیلان شناسایی شد که متعلق به ۲۹ خانواده بود. در بین گونه‌های شناسایی شده ۳۴ گونه یکساله و ۲۲ گونه چندساله بودند. بطور کلی خانواده‌های جگن (*Cyperaceae*) و گندمیان (*Poaceae*) به ترتیب با ۱۵ و ۷ گونه علف‌هرز متنوع‌ترین خانواده‌های علف‌هرز باریک‌برگ و خانواده حنا (*Lythraceae*) با ۶ گونه متنوع‌ترین خانواده علف‌های هرز پهن‌برگ در مزارع برنج بود. در تحقیقات آرمی و بکی

با ۱/۵ و ۰/۴۶ می باشد (جدول ۴). شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان تالش ۲/۸۵، ۰/۹۱۶ و ۰/۷۹۵ می باشد.

در شهرستان رضوانشهر ۳۰ گونه علف هرز از ۱۵ خانواده گیاهی شناسایی شد. نتایج جدول ۳ نشان داد مهم ترین علف های هرز، باریک برگ مزارع برنج شهرستان رضوانشهر به ترتیب شاخص غالبیت بندواش آبزی، سوروف تشکیل می دهند. پهن برگ غالب مزارع برنج قاشق، دونیش با شاخص غالبیت ۳/۵ و ۱/۷۶ است. از بین جگن ها اویارسلام زرد، اویارسلام خشن با شاخص غالبیت بالای ۲ مهم ترین می باشند. بر اساس جدول ۴ بالاترین پوشش نسبی گیاهی برای علف های هرز شناور و غوطه ور این شهرستان آزولا و جلبک سبزآبی با ۱ و ۰/۲۲ می باشد. شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان رضوانشهر ۲/۷۴، ۰/۹۰۹ و ۰/۸۰۶ می باشد.

طبق بررسی های انجام شده در شهرستان رودبار ۳۲ گونه علف هرز متعلق به ۱۶ خانواده گیاهی شناسایی شد. در مزارع برنج شهرستان رودبار مهم ترین باریک برگ به ترتیب شاخص سوروف، بندواش آبزی و سوروف برنج است و گوشاب پهن برگ غالب این شهرستان می باشد. پیژر مهم ترین رستنی مزاحم در مزارع برنج شهرستان رودبار با شاخص غالبیت ۹/۹ را تشکیل داد. در بین علف های هرز شناور و غوطه ور شهرستان رودبار، تیزک (*Najas marina*) و عدسک آبی بالاترین پوشش نسبی گیاهی به ترتیب ۱/۲ و ۰/۷۵ را داشتند (جدول ۴). از نظر چرخه زندگی ۱۹ گونه یکساله و ۱۳ گونه چندساله در مزارع برنج شناسایی شد. مدیریت علف های هرز پهن برگ (۱۴ گونه) در این شهرستان به مراتب ضعیف تر از مدیریت گونه های جگن ها (۸ گونه) و باریک برگ (۷ گونه) بوده است. شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان رودبار ۱/۹۷، ۰/۷۴۹ و ۰/۵۶۸ می باشد. کاشت و برداشت برنج در شهرستان رودبار (رستم آباد و لوشان و...) از سایر شهرستان ها دیرتر انجام می گیرد و از اوایل خرداد تا شهریور می باشد. در مزارع برنج شهرستان رودسر ۴۷ گونه علف هرز از ۲۴ خانواده گیاهی شناسایی شدند. نتایج جدول ۳ نشان داد مهم ترین علف های هرز باریک برگ مزارع برنج شهرستان رودسر براساس شاخص غالبیت سوروف، بندواش آبزی و سوروف برنج می باشد. پهن برگان غالب شامل گل آردی، سل واش (*Monochoria vaginalis*) و تیرکمان آبی می باشند. مهمترین جگن شهرستان رودسر اویارسلام زرد است. بالاترین پوشش نسبی گیاهی برای علف های هرز شناور و غوطه ور این شهرستان آزولا و عدسک آبی با ۴/۵ و ۱/۷ می باشد (جدول ۴). شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان رودسر ۲/۶۴، ۰/۸۹۲ و ۰/۶۸۶ می باشد.

با توجه به بررسی های انجام شده در شهرستان سیاهکل ۳۴ گونه

اویارسلام بذری از مهم ترین جگن های مزاحم در مزارع برنج این شهرستان می باشند (جدول ۳). در بین علف های هرز شناور و غوطه ور آزولا و عدسک آبی (*Lemna minor*) به ترتیب با ۲/۳ و ۰/۰۲ درصد بالاترین پوشش نسبی گیاهی را داشتند (جدول ۴). شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان آستانه اشرفیه ۲/۲۳، ۰/۸۶۳ و ۰/۶۷۷ می باشد.

در شهرستان املش، ۳۷ گونه علف هرز از ۱۵ خانواده گیاهی شناسایی شد. مهم ترین گونه های باریک برگ براساس شاخص غالبیت به ترتیب سوروف، بندواش آبزی و سوروف برنج می باشند. گونه هرز سل واش که در ابتدا نیز در بین شهرستان های گیلان از املش گزارش شده بود دارای بالاترین فراوانی و شاخص غالبیت در بین پهن برگان می باشد. گونه های هفت بند هلوئی (*Polygonum persicaria*) و خرفه آبی (*Ludwigia epilobioides*) و در رتبه های بعدی پهن برگان قرار دارند. اویارسلام زرد، اویارسلام بذری و اویارسلام خشن در بین جگن ها بالاترین فراوانی و شاخص غالبیت را به خود اختصاص داده بودند (جدول ۳). طبق جدول ۴ در بین علف های هرز شناور و غوطه ور آزولا و عدسک آبی بالاترین پوشش نسبی گیاهی به ترتیب ۳/۱ و ۰/۳۴ را داشتند. شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان املش ۲/۳۶، ۰/۸۶۵ و ۰/۶۵ می باشد.

در شهرستان انزلی، ۲۵ گونه علف هرز از ۱۰ خانواده گیاهی شناسایی شد. نتایج جدول ۳ نشان داد مهم ترین علف های هرز، باریک برگ مزارع برنج شهرستان انزلی به ترتیب شاخص غالبیت سوروف، بندواش آبزی، سوروف برنج تشکیل می دهند. گل آردی، تیرکمان آبی و دونیش (*Bidens tripartita*) از مهم ترین پهن برگان و اویارسلام زرد و اویارسلام بذری از مهم ترین گونه های جگن ها در این شهرستان می باشند. در بین علف های هرز شناور و غوطه ور شهرستان انزلی، عدسک آبی و آزولا بالاترین پوشش نسبی گیاهی به ترتیب ۰/۱۱ و ۰/۰۱ را داشتند (جدول ۴). شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان انزلی ۱/۹۹، ۰/۷۸۷ و ۰/۶۲ می باشد.

در شهرستان تالش ۳۶ گونه علف هرز از ۱۹ خانواده گیاهی شناسایی شد. نتایج نشان داد مهم ترین علف های هرز باریک برگ مزارع برنج شهرستان تالش به ترتیب شاخص غالبیت بندواش آبزی، سوروف و سوروف برنج می باشد. پهن برگان غالب مزارع برنج این شهرستان شامل تیرکمان آبی، قاشق واش و گل آردی هستند. از مهم ترین جگن های مزارع برنج این شهرستان می توان اویارسلام زرد، اویارسلام خشن، اویارسلام بذری، سوف توپر (*Schoenoplectus juncoideus*) و پیژر (*Bolbosoenus maritimus*) را نام برد (جدول ۳). بالاترین پوشش نسبی گیاهی برای علف های هرز شناور و غوطه ور این شهرستان آزولا و گونه دیگر آزولا (*Azolla pinnates*)

را در شهرستان دارد. اویارسلام زرد مهم‌ترین رستنی مزاحم از جگن‌ها در مزارع برنج شهرستان فومن با شاخص غالبیت ۴/۱ را تشکیل داد (جدول ۳). بالاترین پوشش نسبی گیاهی برای علف‌های هرز شناور و غوطه‌ور این شهرستان آزولا و جلبک سبزی با ۱/۸ و ۰/۲ می‌باشد. شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان فومن ۲/۵۹، ۰/۸۹۶ و ۰/۷۳۴ می‌باشد.

طبق بررسی‌های انجام شده ۴۶ گونه علف‌هرز از ۲۱ خانواده گیاهی از مزارع برنج شهرستان لاهیجان شناسایی شد. نتایج جدول ۳ نشان داد مهم‌ترین علف‌های هرز، باریک‌برگ مزارع برنج شهرستان لاهیجان براساس شاخص غالبیت سوروف و بندواش آبی تشکیل می‌دهند. پهن‌برگ غالب مزارع برنج تیرکمان آبی با شاخص غالبیت ۸/۵ است. از بین جگن‌ها اویارسلام زرد و اویارسلام خشن با شاخص غالبیت ۱۰ و ۵/۳ مهم‌ترین می‌باشند. بالاترین پوشش نسبی گیاهی برای علف‌های هرز شناور و غوطه‌ور این شهرستان آزولا و تیزک با ۲/۲ و ۰/۸۸ می‌باشد (جدول ۴). هزارنی از رستنی‌های مزاحم در اکثر مناطق شمال غربی شهرستان لاهیجان می‌باشد که مشکلات زیادی را برای کشاورزان ایجاد می‌کند. شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان لاهیجان ۲/۴۲، ۰/۸۴۳ و ۰/۶۳۲ می‌باشد.

در مزارع برنج شهرستان لنگرود ۴۶ گونه از ۲۲ خانواده گیاهی شناسایی شد. نتایج جدول ۳ نشان داد مهم‌ترین علف‌هرز باریک‌برگ مزارع برنج شهرستان لنگرود طبق شاخص غالبیت سوروف می‌باشد. پهن‌برگان غالب مزارع برنج این شهرستان شامل گل آردی و سل واش می‌باشد. از مهم‌ترین جگن‌های شهرستان لنگرود می‌توان به اویارسلام زرد و اویارسلام خشن را نام برد. طبق جدول ۴ بالاترین پوشش نسبی گیاهی برای علف‌های هرز شناور و غوطه‌ور این شهرستان آزولا و عدسک آبی با ۲/۶ و ۰/۷۲ می‌باشد. خرفه آبی از گونه‌های هرز است که در بعضی از نقاط شهرستان لنگرود به عنوان مزاحم قبل از برداشت برنج می‌باشد. شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان لنگرود ۲/۴۵، ۰/۸۷۷ و ۰/۶۴ می‌باشد.

در مزارع برنج شهرستان ماسال ۲۸ گونه علف‌هرز از ۱۶ خانواده گیاهی شناسایی شد. نتایج جدول ۳ نشان داد مهم‌ترین علف‌هرز باریک‌برگ مزارع برنج شهرستان ماسال با بالاترین شاخص غالبیت، بندواش آبی می‌باشد. پهن‌برگ غالب مزارع برنج قاشق واش با شاخص غالبیت ۱/۵ است. از بین جگن‌ها اویارسلام خشن با شاخص غالبیت ۲ مهم‌ترین می‌باشد. در بین علف‌های هرز شناور و غوطه‌ور جلبک سبزی و آزولا بالاترین پوشش نسبی گیاهی به ترتیب ۱/۲ و ۰/۵۴ را داشتند. شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان ماسال ۲/۱۸، ۰/۹۰۴ و ۰/۷۹۴ می‌باشد. مدیریت علف‌های هرز پهن‌برگ در شهرستان‌های گیلان از

از ۱۶ خانواده گیاهی شناسایی شده بود. نتایج جدول ۳ نشان داد مهم‌ترین علف‌های هرز، باریک‌برگ مزارع برنج شهرستان سیاهکل براساس شاخص غالبیت سوروف و بندواش آبی تشکیل می‌دهند. پهن‌برگ غالب مزارع برنج گل آردی با شاخص غالبیت ۴/۵ است. از بین جگن‌ها، اویارسلام زرد و اویارسلام بذری دارای بالاترین شاخص غالبیت می‌باشند. بالاترین پوشش نسبی گیاهی برای علف‌های هرز شناور و غوطه‌ور این شهرستان آزولا و تیزک با ۰/۹۴ و ۰/۴۷ می‌باشد (جدول ۴). شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان سیاهکل ۲/۵۳، ۰/۸۸۵ و ۰/۷۱۷ می‌باشد.

۲۵ گونه علف‌هرز از ۱۳ خانواده گیاهی از مزارع برنج شهرستان شفت شناسایی شد. نتایج جدول ۳ نشان داد مهم‌ترین علف‌هرز باریک‌برگ مزارع برنج شهرستان شفت با بالاترین شاخص غالبیت، بندواش آبی می‌باشد. پهن‌برگ غالب مزارع برنج گل آردی با شاخص غالبیت ۱/۵ است. از بین جگن‌ها اویارسلام زرد و اویارسلام بذری به ترتیب با شاخص غالبیت ۱/۸۵ و ۱/۶۵ مهم‌ترین می‌باشند. در بین علف‌های هرز شناور و غوطه‌ور آزولا و عدسک آبی بالاترین پوشش نسبی گیاهی به ترتیب ۰/۵۹ و ۰/۰۷ را داشتند (جدول ۴). در بین اطلاعات مذکور نشان داد که از نظر چرخه زندگی ۱۵ گونه یکساله و ۱۰ گونه چندساله در مزارع برنج شناسایی شد. مدیریت علف‌های هرز پهن‌برگ (۱۵ گونه) در این شهرستان به مراتب ضعیف‌تر از مدیریت گونه‌های جگن‌ها (۵ گونه) و باریک‌برگ (۴ گونه) بوده است. شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان شفت ۲/۰۵، ۰/۸۱۵ و ۰/۶۳۷ می‌باشد.

در مزارع برنج شهرستان صومعه‌سرا ۳۰ گونه علف‌هرز از ۱۳ خانواده گیاهی شناسایی شد. نتایج نشان داد مهم‌ترین علف‌های هرز باریک‌برگ مزارع برنج شهرستان صومعه‌سرا براساس شاخص غالبیت سوروف، بندواش آبی و سوروف برنج می‌باشد. پهن‌برگان غالب مزارع برنج این شهرستان شامل گل آردی و آمانیا می‌باشد. از مهم‌ترین جگن‌های شهرستان صومعه‌سرا به ترتیب شاخص غالبیت می‌توان به اویارسلام زرد، اویارسلام خشن و اویارسلام بذری را نام برد. طبق جدول ۴ در بین علف‌های هرز شناور و غوطه‌ور شهرستان صومعه‌سرا، عدسک آبی و آزولا بالاترین پوشش نسبی گیاهی به ترتیب ۰/۵۲ و ۰/۳۴ را داشتند. شاخص شانون- وینر، شاخص سیمپسون و شاخص یکنواختی به ترتیب برای شهرستان صومعه‌سرا ۲/۳۴، ۰/۸۳۴ و ۰/۶۸۸ می‌باشد.

طبق بررسی‌های انجام شده ۳۴ گونه علف‌هرز از ۱۷ خانواده گیاهی از مزارع برنج شهرستان فومن شناسایی شد. مهم‌ترین باریک‌برگ براساس غالبیت سوروف و بندواش آبی با ۵/۹ و ۵/۴ است. گل آردی پهن‌برگ غالب این با ۳/۶ بیشترین شاخص غالبیت

جگن‌ها و باریک‌برگان ضعیف‌تر بود. بالاترین شاخص شانون-وینر و سیمپسون در شهرستان تالش به ترتیب با ۲/۸۵ و ۰/۹۱۶ بود. پایین‌ترین شاخص شانون-وینر و سیمپسون در شهرستان رودبار به ترتیب با ۱/۹۷ و ۰/۷۴۹ بود.

تحقیقات نشان داده است که علف‌های هرزی که بالاترین فراوانی، یکنواختی مزرعه و میانگین تراکم مزرعه داشتند گونه‌های سخت‌کنترل‌تری نسبت به گونه‌های که فراوانی کمتر از ۵۰ درصد، یکنواختی زیر ۳۵ درصد و میانگین تراکم بوته در مزرعه زیر ۲ را داشتند، بودند. در نتیجه دارای رقابت کمتری با برنج بودند و یا بوسیله عملیات مدیریتی راحت‌تر کنترل می‌شدند (۹). غالب‌ترین علف‌های هرز در منطقه مودا به ترتیب شامل سوروف، لپتوکلا (*Leptochloa chinensis*)، علف ارزنی، پیژر و سل‌واش بود (۲) کریمر و همکاران (۱۵) بیان داشتند که اویارسلام ارغوانی (*Cyperus rotundus*)، اویارسلام برنجی (*Cyperus iria*) و اویارسلام بذری فراوان‌ترین جنس‌های اویارسلام (*Cyperus*) در مزارع برنج بودند که در تمامی مزارع مناطق مختلف دنیا رشد می‌کنند. اویارسلام برنجی و اویارسلام بذری از علف‌های هرز یکساله برنج هستند و بطور معمول در تمامی سیستم‌های کشت برنج وجود دارند. از جگن‌های مهم دیگر در مزارع برنج می‌توان به اویارسلام زرد و اویارسلام خشن نام برد اویارسلام زرد یک علف هرز عمومی در بسیاری از زراعت‌ها محسوب می‌شود این گونه در سیستم‌های کشت مختلف برنج نیز وجود دارد. اویارسلام خشن محدود به زراعت برنج است. این گونه در مزارع نشاکاری شده رشد می‌کند و در بسیاری از کشورها مانند کره، ژاپن و ویتنام گزارش شده است. بیگوم و همکاران (۷) گزارش داد که علف ارزنی، پیژر دارای بالاترین فراوانی در بین جگن‌ها بوده و بی‌توجهی در تغییر عملیات زراعی از نشاکاری به کشت مستقیم در پنیسولار مالزی باعث آن شده است. یودین و همکاران (۳۰) نشان داد که جگن‌ها مانند گونه (*Cyperus aromaticus*) و (*Fimbristylis dichotoma*)، دو گونه باریک‌برگ (*Eleusin indica* و *Chrysopogon aciculatus*) و دو پهن‌برگ (*Desmodium triflorum* و *Borreria repens*) دارای بالاترین فراوانی (فراوانی بیش از ۵۰ درصد و فراوانی نسبی بیش از ۱۲) در بین ۲۸ گونه بودند. از کل ۷۶ گونه شناسایی شده مزارع برنج که متعلق به ۲۱ خانواده گیاهی بود، جگن‌ها، گرامینه و خانواده میمونی به ترتیب با داشتن ۱۹، ۱۴ و ۸ گونه بالاترین سهم را داشتند (۱۳). زینگ و همکاران (۳۲) مشاهده کرد که دو گونه اویارسلام ارغوانی و پنجه‌کلاغ‌هرز (*Digitaria sanguinalis*) دارای غالبیت بالایی بوده و جز ۱۰ گونه غالب مزارع بودند. سوروف و علف ارزنی به ترتیب با ۳۶ و ۲۶ فراوانی نسبی بالاترین میزان را داشتند. در بین باریک‌برگان سوروف، سوروف گونه کلونا، لپتوکلا، در جگن‌ها اویارسلام برنجی، پیژر و اویارسلام بذری در بین پهن‌برگان گونه ورث آبی (*Sphenoclea zeylanica*)

تیرکمان آبی و سل‌واش دارای بالاترین فراوانی نسبی بودند (۹). ویکس و همکاران (۳۱) گزارش داد که میانگین تراکم علف‌هرز در برنج کمتر از ۹ بوته در متر مربع بود اما بعضی از گونه‌ها دارای تراکم بالاتری از حد میانگین بودند. در منطقه پنیسولار مالزی، در بین باریک‌برگان بالاترین فراوانی متعلق به سوروف با ۸۵ درصد بود. علف‌های هرز سوروف گونه کلونا، لپتوکلا، بندواش آبی با فراوانی بیش از ۵۰ درصد بودند (۹). در تحقیقی که توسط دورجی و همکاران (۷) در بوتان انجام شد ۱۹ گونه علف‌هرز در مزارع برنج شناسایی شده بودند. فراوانترین گونه‌های هرز یکساله و چندساله در مزارع برنج شامل بلیکسا (*Blyxa aubertii*)، سوف توپر (*Schoenoplectus juncooides*) سوروف، اویارسلام بذری، سل‌واش، بندواش آبی و برگ‌بیدی (*Commelina benghalensis*) بودند. کریمر و همکاران (۱۵) در بسیاری از کشورها ممکن است کشاورزان برای علف‌های هرز سخت‌کنترل علف‌کش‌های گرانیقیمت را با اثر مناسب روی علف‌های هرز استفاده کنند. همانند اویارسلام ارغوانی. برخی از گونه‌های سوروف حالت تقلیدکنندگی برنج را دارند و جز علف‌های هرز سخت‌کنترل می‌باشند. گونه‌های تیرکمان آبی به خوبی خود را با شرایط مرطوب و آبی‌سازی سازش کرده بودند. در اروپا گونه‌های تیرکمان آبی و سل‌واش در برنج مشکل‌ساز نبودند. گونه‌های پیژر و گونه‌های الوکاریس (*Eleocharis*) نقش جهانی در علف‌های هرز برنج دارند. علف ارزنی یک علف‌هرز با فراوانی بالا در آسیا، آفریقا و کشورهای جنوب آمریکا می‌باشد (۲۶). در گزارشی که کریمر و همکاران (۱۵) داشتند علف‌های هرز قاشق‌واش، سل‌واش و تیرکمان آبی در بین پهن‌برگان بیشترین تعداد را در مزارع برنج داشتند. کاندیان و همکاران (۱۴) بیان داشتند که از ۱۷ گونه علف‌هرز معرفی شده در فلور برنج گونه‌های سوروف، اویارسلام ارغوانی، اویارسلام برنجی، اویارسلام بذری، ارزن جویباری (*Panicum repens*) و براچاریا (*Brachiaria mutica*) دارای بالاترین غالبیت بودند.

شاخص پراکنش شانون وینر و سیمپسون در شهرستان تالش بالاترین مقدار را داشت. بیشترین شاخص شانون وینر در شهرستان تالش به میزان ۲/۸۵ و کمترین شاخص در شهرستان رودبار به میزان ۱/۹۷ بود. در این شاخص هرچه فراوانی نسبی گونه‌ای کوچکتر باشد، گونه نادرتر است. گونه‌های دم‌اسب، بی‌تی‌راخ، علف‌جویباری (*Samolus valerandi*) و جلبک (*Chara vulgaris*) از نادرترین گونه‌های هرز بودند. براساس شاخص سیمپسون شهرستان تالش دارای بالاترین میزان (۰/۹۱۶) و کمترین شاخص مربوط به شهرستان رودبار (۰/۷۴۹) بود (جدول ۵). در کشمیر بیشترین شاخص شانون وینر (۳/۷۵۵) مربوط به باندیپورا و کمترین میزان شاخص (۳/۲۷۱) در منطقه آنانتانگ بود (۳). از نظر شاخص سیمپسون، هر گونه‌ای که غالب‌تر است فراوانی نسبی بزرگتری دارد. این شاخص اهمیت بیشتری به گونه‌های رایج می‌دهد. در این تحقیق گونه‌های اویارسلام

گیلان و کم‌بودن شاخص، می‌توان یکی از علل را مدیریت نامناسب علف‌های هرز و کشت متوالی برنج و در نتیجه غالب‌شدن چند گونه را بیان کرد. از نظر شاخص یکنواختی شهرستان رضوانشهر دارای بالاترین مقدار (۰/۸۰۶) و شهرستان رودبار دارای کمترین میزان (۰/۵۶۸) بود (جدول ۵).

زرد، سوروف، بندواش آبزی، آزولا و اویارسلام بذری دارای فراوانی و غالبیت بیشتری نسبت به سایر گونه‌ها بودند. در یک بررسی پراکنش فلور در برزیل نشان داد که در منطقه دوم (ex situ) مقدار شاخص شانون وینر برابر ۲/۶۶ و در منطقه اول (in situ) این مقدار ۲/۵۳ بود. تعداد زیاد گونه‌های علف‌هرز در منطقه دوم از دلایل مهم بالا بودن این شاخص است (۱۷). با توجه به غالب‌بودن چند گونه در مزارع برنج

جدول ۱- محدوده طول و عرض جغرافیایی شهرستان‌های استان گیلان
Table 1- Longitude and Latitude Range of Cities in Guilan Province

	عرض جغرافیایی				طول جغرافیایی			
	Latitude		Longitude		Latitude		Longitude	
	حداکثر Max	حداقل Min	حداکثر Max	حداقل Min	حداکثر Max	حداقل Min	حداکثر Max	حداقل Min
	درجه (hdd)	دقیقه (mm)	درجه (hdd)	دقیقه (mm)	درجه (hdd)	دقیقه (mm)	درجه (hdd)	دقیقه (mm)
گیلان Guilan	38	27	36	33	50	36	48	32
آستارا Astara	38	27	38	15	48	53	48	34
آستانه اشرفیه Astane ashrafyeh	37	28	37	11	50	11	49	46
املش Amlash	37	8	36	48	50	17	50	0
انزلی Anzali	37	34	37	23	49	41	49	11
تالش Talesh	38	16	37	33	49	3	48	32
رشت Rasht	37	27	37	1	49	55	49	27
رضوانشهر Rezvanshahr	37	40	37	25	49	13	48	40
رودبار Roudbar	37	7	36	33	50	5	49	11
رودسر Roudsar	37	12	36	38	50	37	50	6
سیاهکل Siahkal	37	11	36	41	50	9	49	43
شفت Shaft	37	18	36	57	49	32	49	10
صومعه سرا Somesara	37	30	37	15	49	31	49	3
فومن Fouman	37	17	37	1	49	27	48	52
لاهیجان Lahijan	37	23	37	5	50	13	49	45
لنگرود Langaroud	37	19	36	56	50	16	49	55
ماسال Masal	37	29	37	15	49	11	48	43

منبع: سازمان جهاد کشاورزی گیلان

جدول ۲- فراوانی، یکنواختی مزرعه و درصد پوشش برخی گونه‌های علف‌هرز شناور و غوطه‌ور در مزارع برنج استان گیلان
Table 2- Frequency, field uniformity and coverage of some weed species of floating and submerged rice fields of Guilan province

ردیف Row	نوع گونه Specie type	خانواده Family	فراوانی Frequency	یکنواختی Uniformity	درصد پوشش در متر مربع Coverage (m ²)
1	<i>Azolla filiculoides</i>	Salviniaceae	34.51	18.69	24.316
2	<i>Lemna minor</i>	Lemnaceae	28.27	12.50	6.030
3	<i>Algae blue-green</i>	Cyanophyceae	17.26	7.51	6.936
4	<i>Najas marina</i>	Hydrocharitaceae	12.06	5.59	4.798
5	<i>Ranunculus aquatilis</i>	Ranunculaceae	3.12	0.89	0.373
6	<i>Najas minor</i>	Hydrocharitaceae	2.70	1.18	0.645
7	<i>Riccia glauca</i>	Ricciaceae	2.49	0.93	0.147
8	<i>Azolla pinnatae</i>	Salviniaceae	1.66	1.10	1.876
9	<i>Salvinia natans</i>	Salviniaceae	0.83	0.36	0.016
10	<i>Chara vulgaris</i>	Characeae	0.42	0.21	0.023

جدول ۳- فراوانی، یکنواختی، تراکم و شاخص غالبیت ۱۰ گونه مهم علف‌هرز مزارع برنج در ۱۶ شهرستان گیلان
Table 3- Frequency, uniformity, density and dominance index of 10 important species of weed in rice fields in 16 regions of Guilan province

ردیف Row	شهرستان Cities	گونه علف‌هرز Weed specie	فراوانی Frequency	یکنواختی Uniformity	تراکم (متر مربع) Density (m ²)	شاخص غالبیت dominance index
1	آستارا Astara	<i>Echinochloa crusgalli</i>	3.326	1.318	0.138	4.782
		<i>Paspalum distichum</i>	3.326	1.104	0.285	4.715
		<i>Eclipta prostrata</i>	2.287	0.748	0.157	3.191
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	2.079	0.499	0.020	2.598
		<i>Cyperus esculentus</i>	2.079	0.356	0.093	2.528
		<i>Cyperus serotinus</i>	1.871	0.427	0.046	2.344
		<i>Cyperus difformis</i>	1.247	0.427	0.218	1.893
		<i>Alisma plantago-aquatica</i>	2.079	0.499	0.020	2.598
		<i>Nasturtium officinale</i>	2.079	0.356	0.093	2.528
		<i>Bolbosoenus maritimus</i>	1.871	0.427	0.046	2.344
2	آستانه اشرفیه Astane ashrafyeh	<i>Echinochloa crusgalli</i>	7.277	3.383	1.003	11.663
		<i>Paspalum distichum</i>	6.861	2.671	0.745	10.277
		<i>Cyperus esculentus</i>	5.198	2.244	0.613	8.054
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	3.950	0.855	0.048	4.853
		<i>Eclipta prostrata</i>	2.703	0.534	0.051	3.288
		<i>Ammannia multiflora</i>	2.079	0.712	0.123	2.914
		<i>Cyperus serotinus</i>	2.079	0.605	0.084	2.768
		<i>Sagittaria trifolia</i>	2.079	0.641	0.036	2.756
		<i>Butomus umbellatus</i>	1.871	0.677	0.094	2.642
		<i>Xanthium strumarium</i>	1.871	0.677	0.090	2.637
3	املش Amlash	<i>Echinochloa crusgalli</i>	6.445	2.315	0.306	9.066
		<i>Paspalum distichum</i>	5.198	1.887	0.507	7.592
		<i>Eclipta prostrata</i>	4.574	1.318	0.167	6.058
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	4.366	0.997	0.054	5.417
		<i>Cyperus esculentus</i>	3.950	1.745	0.936	6.631
		<i>Monochoria vaginalis</i>	3.534	2.244	0.712	6.490
		<i>Polygonum persicaria</i>	2.911	1.068	0.070	4.049
		<i>Cyperus difformis</i>	1.871	0.926	0.360	3.157
		<i>Ludwigia epilobioides</i>	1.871	0.534	0.048	2.454
		<i>Cyperus serotinus</i>	1.455	0.570	0.067	2.092
4	انزلی Anzali	<i>Echinochloa crusgalli</i>	2.287	1.104	0.332	3.723
		<i>Paspalum distichum</i>	1.871	0.926	0.470	3.267
		<i>Cyperus esculentus</i>	1.871	0.712	0.125	2.709
		<i>Eclipta prostrata</i>	1.247	0.641	0.182	2.071
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	1.455	0.249	0.011	1.716
		<i>Cyperus difformis</i>	1.040	0.178	0.021	1.239
		<i>Sagittaria trifolia</i>	0.832	0.321	0.021	1.173
		<i>Cyperus fuscus</i>	0.624	0.142	0.051	0.817
		<i>Cyperus serotinus</i>	0.624	0.142	0.010	0.776

5	تالش Talesh	<i>Bidens tripartita</i>	0.624	0.107	0.007	0.738
		<i>Paspalum distichum</i>	4.990	1.852	0.480	7.322
		<i>Echinochloa crussgalli</i>	3.742	0.926	0.134	3.742
		<i>Alisma plantago-aquatica</i>	3.326	1.246	0.154	3.326
		<i>Cyperus esculentus</i>	2.703	0.819	0.141	2.703
		<i>Cyperus serotinus</i>	2.703	0.712	0.071	2.703
		<i>Sagittaria trifolia</i>	2.703	0.534	0.023	2.703
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	2.287	0.641	0.081	2.287
		<i>Eclipta prostrata</i>	2.495	0.463	0.026	2.495
		<i>Bidens tripartita</i>	1.871	0.463	0.020	1.871
6	رشت Rasht	<i>Polygonum persicaria</i>	1.663	0.356	0.017	1.663
		<i>Echinochloa crussgalli</i>	10.395	4.594	1.090	16.079
		<i>Paspalum distichum</i>	10.395	4.167	1.399	15.961
		<i>Cyperus esculentus</i>	7.484	3.063	1.423	11.970
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	7.900	1.887	0.132	9.920
		<i>Cyperus serotinus</i>	4.990	1.246	0.140	6.376
		<i>Cyperus difformis</i>	3.950	1.140	0.379	5.469
		<i>Sagittaria trifolia</i>	3.950	1.140	0.056	5.145
		<i>Potamogeton nodosus</i>	3.534	1.389	0.212	5.135
		<i>Eclipta prostrata</i>	3.534	1.211	0.228	4.973
7	رضوانشهر Rezvanshahr	<i>Alisma plantago-aquatica</i>	2.703	0.783	0.043	3.529
		<i>Alisma plantago-aquatica</i>	2.495	0.926	0.085	3.506
		<i>Paspalum distichum</i>	2.287	0.890	0.207	3.384
		<i>Echinochloa crussgalli</i>	2.287	0.926	0.085	3.298
		<i>Cyperus esculentus</i>	1.663	0.534	0.107	2.304
		<i>Cyperus serotinus</i>	1.663	0.392	0.047	2.102
		<i>Bidens tripartita</i>	1.455	0.285	0.017	1.757
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	1.455	0.285	0.014	1.754
		<i>Xanthium strumarium</i>	1.247	0.285	0.020	1.552
		<i>Eclipta prostrata</i>	1.040	0.356	0.071	1.467
8	رودبار Roudbar	<i>Schoenoplectus juncooides</i>	1.040	0.249	0.021	1.310
		<i>Bolbosoenus maritimus</i>	5.198	3.348	1.332	9.877
		<i>Echinochloa crussgalli</i>	4.990	1.425	0.281	6.695
		<i>Paspalum distichum</i>	3.742	1.460	0.265	5.467
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	1.663	0.285	0.016	1.964
		<i>Eclipta prostrata</i>	1.455	0.321	0.031	1.807
		<i>Cyperus difformis</i>	1.455	0.321	0.028	1.804
		<i>Ammannia multiflora</i>	0.832	0.321	0.030	1.182
		<i>Cyperus fuscus</i>	0.832	0.214	0.013	1.058
		<i>Alisma plantago-aquatica</i>	0.832	0.178	0.009	1.018
9	رودسر Roudsar	<i>Schoenoplectus juncooides</i>	0.624	0.249	0.115	0.988
		<i>Echinochloa crussgalli</i>	12.308	4.672	0.6177	17.598
		<i>Paspalum distichum</i>	9.813	3.704	1.1009	14.617
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	9.647	2.336	0.1481	12.131
		<i>Cyperus esculentus</i>	6.653	2.764	1.2353	10.652
		<i>Cyperus difformis</i>	6.320	2.536	1.2274	10.083
		<i>Monochoria vaginalis</i>	5.655	2.621	0.7430	9.019
		<i>Eclipta prostrate</i>	6.819	1.795	0.2256	8.840
		<i>Sagittaria trifolia</i>	4.491	1.311	0.0729	5.874
		<i>Alisma plantago-aquatica</i>	3.326	0.798	0.0456	4.170
10	سیاهکل Siahkal	<i>Potamogeton nodosus</i>	3.160	0.741	0.1607	4.062
		<i>Echinochloa crussgalli</i>	5.613	2.564	0.641	8.818
		<i>Paspalum distichum</i>	4.366	1.923	0.496	6.785
		<i>Cyperus esculentus</i>	3.742	1.781	0.645	6.168
		<i>Eclipta prostrata</i>	3.326	0.997	0.145	4.469
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	3.534	0.783	0.036	4.353
		<i>Cyperus difformis</i>	2.495	1.175	0.595	4.265
		<i>Sagittaria trifolia</i>	2.911	0.855	0.050	2.911
		<i>Cyperus serotinus</i>	2.703	0.855	0.134	2.703
		<i>Alisma plantago-aquatica</i>	2.079	0.463	0.019	2.079
		<i>Marsilea quadrifolia</i>	1.247	0.392	0.085	1.725
		<i>Paspalum distichum</i>	1.87	0.78	0.218	2.873

11	شفت Shaft	<i>Cyperus esculentus</i>	1.25	0.43	0.179	1.854
		<i>Echinochloa crusgalli</i>	1.25	0.36	0.067	1.670
		<i>Cyperus difformis</i>	1.25	0.36	0.046	1.649
		<i>Eclipta prostrata</i>	1.25	0.28	0.017	1.549
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	0.83	0.14	0.009	0.983
		<i>Cyperus serotinus</i>	0.62	0.21	0.034	0.872
		<i>Polygonum persicaria</i>	0.62	0.18	0.007	0.809
		<i>Nasturtium officinale</i>	0.62	0.11	0.009	0.739
12	صومعه سرا Somesara	<i>Sagittaria trifolia</i>	0.62	0.11	0.007	0.738
		<i>Cyperus esculentus</i>	3.12	1.32	0.745	5.181
		<i>Echinochloa crusgalli</i>	3.12	1.28	0.164	4.564
		<i>Paspalum distichum</i>	2.70	1.14	0.379	4.221
		<i>Eclipta prostrata</i>	2.70	0.82	0.137	3.659
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	2.29	0.50	0.020	2.805
		<i>Cyperus serotinus</i>	1.66	0.46	0.093	2.219
		<i>Ammannia multiflora</i>	1.04	0.71	0.137	1.889
13	فومن Fouman	<i>Ammannia baccifera</i>	1.04	0.46	0.060	1.562
		<i>Sagittaria trifolia</i>	1.04	0.32	0.017	1.377
		<i>Alisma plantago-aquatica</i>	0.83	0.25	0.013	1.094
		<i>Echinochloa crusgalli</i>	4.37	1.42	0.100	5.890
		<i>Paspalum distichum</i>	3.95	1.21	0.276	5.437
		<i>Cyperus esculentus</i>	2.70	1.03	0.322	4.057
		<i>Eclipta prostrata</i>	2.70	0.82	0.111	3.633
		<i>Cyperus difformis</i>	2.29	1.07	0.258	3.613
14	لاهیجان Lahijan	<i>Echinochloa oryzoides</i>	2.29	0.53	0.034	2.855
		<i>Cyperus serotinus</i>	2.08	0.61	0.097	2.781
		<i>Ludwigia epilobioides</i>	1.25	0.78	0.195	2.226
		<i>Sagittaria trifolia</i>	1.66	0.39	0.024	2.079
		<i>Cyperus fuscus</i>	1.25	0.32	0.030	1.598
		<i>Echinochloa crusgalli</i>	9.771	4.095	1.654	15.521
		<i>Paspalum distichum</i>	7.484	2.635	0.711	10.831
		<i>Cyperus esculentus</i>	6.029	2.635	1.360	10.025
15	لنگرود Langeroud	<i>Echinochloa oryzoides</i>	7.692	1.709	0.094	9.496
		<i>Sagittaria trifolia</i>	6.237	2.101	0.138	8.476
		<i>Eclipta prostrata</i>	5.613	1.781	0.293	7.687
		<i>Cyperus serotinus</i>	4.158	0.997	0.114	5.269
		<i>Alisma plantago-aquatica</i>	3.742	0.890	0.054	4.687
		<i>Potamogeton nodosus</i>	2.911	0.962	0.175	4.047
		<i>Ammannia multiflora</i>	3.119	0.641	0.054	3.814
		<i>Echinochloa crusgalli</i>	7.90	2.81	0.660	11.373
16	ماسال Masal	<i>Paspalum distichum</i>	6.03	2.35	0.577	8.956
		<i>Cyperus esculentus</i>	4.37	2.10	1.244	7.711
		<i>Eclipta prostrata</i>	5.20	1.42	0.278	6.900
		<i>Echinochloa oryzoides</i>	5.20	1.21	0.066	6.474
		<i>Monochoria vaginalis</i>	3.53	1.78	0.917	6.232
		<i>Cyperus serotinus</i>	3.12	0.85	0.073	4.046
		<i>Cyperus difformis</i>	2.08	1.00	0.930	4.006
		<i>Ludwigia epilobioides</i>	2.49	0.78	0.080	3.358
16		<i>Alisma plantago-aquatica</i>	2.29	0.61	0.041	2.934
		<i>Paspalum distichum</i>	2.08	0.61	0.1652	2.850
		<i>Cyperus esculentus</i>	1.46	0.57	0.1610	2.186
		<i>Cyperus serotinus</i>	1.66	0.43	0.0527	2.143
		<i>Echinochloa crusgalli</i>	1.66	0.43	0.0256	2.116
		<i>Alisma plantago-aquatica</i>	1.04	0.39	0.0214	1.453
		<i>Eclipta prostrata</i>	1.04	0.36	0.0427	1.438
		<i>Cyperus difformis</i>	1.04	0.28	0.0513	1.376
16		<i>Echinochloa oryzoides</i>	1.04	0.25	0.0142	1.303
		<i>Sagittaria trifolia</i>	0.62	0.14	0.0057	0.772
		<i>Polygonum persicaria</i>	0.62	0.11	0.0057	0.736

جدول ۴- فراوانی، یکنواختی و درصد پوشش ۳ گونه مهم علف‌هرز شناور و غوطه‌ور مزارع برنج در ۱۶ شهرستان استان گیلان
 Table 4- Frequency, uniformity and coverage % of three important species of floating and submerged weeds in rice fields in 16 regions of Guilan province

ردیف Row	نوع گونه Specie type	خانواده Family	فراوانی Frequency	یکنواختی Uniformity	درصد پوشش در متر مربع Coverage (m ²)
1	آستارا Astara	<i>Azolla filiculoides</i>	2.495	1.531	2.27
		<i>Lemna minor</i>	1.040	0.285	0.02
		<i>Riccia glauca</i>	0.208	0.107	0.05
2	آستانه اشرفیه Astane ashrafyeh	<i>Algae blue green</i>	2.287	0.855	0.627
		<i>Azolla filiculoides</i>	1.663	0.748	0.863
		<i>Lemna minor</i>	1.663	0.641	0.114
3	املش Amlash	<i>Azolla filiculoides</i>	2.911	2.066	3.07
		<i>Lemna minor</i>	1.247	0.570	0.34
		<i>Algae blue green</i>	0.624	0.321	0.29
4	انزلی Anzali	<i>Azolla filiculoides</i>	2.911	2.066	0.01
		<i>Lemna minor</i>	0.832	0.356	0.11
		<i>Azolla pinnates</i>	0.208	0.107	0.01
5	تالش Talesh	<i>Azolla filiculoides</i>	2.911	1.531	1.516
		<i>Lemna minor</i>	1.455	0.534	0.095
		<i>Najas marina</i>	0.832	0.214	0.135
6	رشت Rasht	<i>Azolla filiculoides</i>	3.119	1.460	2.001
		<i>Algae blue green</i>	3.119	1.318	1.375
		<i>Lemna minor</i>	2.703	0.926	0.563
7	رضوانشهر Rezvanshahr	<i>Azolla filiculoides</i>	1.455	0.712	1.03
		<i>Algae blue green</i>	1.040	0.321	0.22
		<i>Najas marina</i>	0.832	0.249	0.21
8	رودبار Roudbar	<i>Najas marina</i>	2.079	1.460	1.191
		<i>Lemna minor</i>	1.247	0.748	0.752
		<i>Algae blue green</i>	1.040	0.534	0.425
9	رودسر Roudsar	<i>Azolla filiculoides</i>	6.861	3.846	4.534
		<i>Lemna minor</i>	6.653	3.490	1.658
		<i>Algae blue green</i>	2.703	1.211	0.836
10	سیاهکل Siahkal	<i>Azolla filiculoides</i>	2.495	1.389	0.94
		<i>Lemna minor</i>	1.663	0.855	0.16
		<i>Algae blue green</i>	1.040	0.534	0.31
11	شفت Shaft	<i>Azolla filiculoides</i>	1.247	0.463	0.588
		<i>Lemna minor</i>	0.208	0.036	0.007
		<i>Najas marina</i>	0.208	0.036	0.003
12	صومعه سرا Somesara	<i>Lemna minor</i>	1.040	0.534	0.523
		<i>Azolla filiculoides</i>	0.832	0.392	0.343
		<i>Algae blue green</i>	0.416	0.178	0.195
13	فومن Fouman	<i>Azolla filiculoides</i>	1.871	1.068	1.81
		<i>Lemna minor</i>	1.247	0.605	0.07
		<i>Algae blue green</i>	0.832	0.356	0.20
14	لاهیجان Lahijan	<i>Lemna minor</i>	3.119	1.246	0.474
		<i>Azolla filiculoides</i>	2.287	1.318	2.208
		<i>Algae blue green</i>	1.871	0.677	0.652
15	لنگرود Langeroud	<i>Azolla filiculoides</i>	3.119	1.567	2.596
		<i>Lemna minor</i>	2.703	1.033	0.719
		<i>Algae blue green</i>	0.832	0.356	0.306
16	ماسال Masal	<i>Algae blue green</i>	1.040	0.677	1.246
		<i>Azolla filiculoides</i>	0.832	0.427	0.541
		<i>Lemna minor</i>	0.832	0.321	0.242

جدول ۵- شاخص‌های کمی پراکنش علف‌های هرز مناطق مختلف استان گیلان

Table 5- Quantitative indices of weed distribution in various regions of Gilan Province

ردیف Row	شهرستان Cities	شاخص شانون وینر Shanon index	شاخص سیمپسون Simpson index	شاخص یکنواختی Uniformity index
1	Talesh	2.850	0.916	0.795
2	Rezvanshahr	2.740	0.909	0.806
3	Fouman	2.590	0.896	0.734
4	Roudsar	2.640	0.892	0.686
5	Siahkal	2.530	0.885	0.717
6	Langeroud	2.450	0.877	0.640
7	Astanehrafteh	2.580	0.874	0.690
8	Amlash	2.360	0.865	0.654
9	Astara	2.230	0.863	0.677
10	Rasht	2.420	0.858	0.632
11	Lahijan	2.420	0.843	0.632
12	Somesara	2.340	0.834	0.688
13	Masal	2.180	0.904	0.654
14	Shaft	2.050	0.815	0.637
15	Anzali	1.990	0.787	0.618
16	Roudbar	1.970	0.749	0.568

علف‌هرز متعلق به ۲۹ خانواده گیاهی شناسایی شد. در شهرستان‌های رودسر و لنگرود ۴۷ گونه، رشت و لاهیجان ۴۶ گونه، آستانه‌اشرفیه ۴۲ گونه، املش ۳۷ گونه، تالش ۳۶ گونه، سیاهکل و فومن ۳۴ گونه، رودبار ۳۲ گونه، رضوانشهر و صومعه‌سرا ۳۰ گونه، ماسال ۲۸ گونه، آستارا ۲۷ گونه و انزلی و شفت ۲۵ گونه علف‌هرز در مزارع برنج شناسایی شد. سوروف بیشترین غالبیت را در مزارع برنج گیلان داشت. آزولا در بین گیاهان شناور و غوطه‌ور بیشترین فراوانی و درصد پوشش را به خود اختصاص داده بود. به طور کلی ۱۰ گونه مشکل‌ساز از جهت فراوانی، غالبیت و سخت‌کنترل بودن نسبت به سایر گونه‌ها، سوروف، بندواش آبری، اویارسلام زرد، اویارسلام بذری، سوروف‌برنج، گل‌آردی، اویارسلام خشن، تیرکمان‌آبی، قاشق‌واش و آزولا بودند. برخی از گونه‌های هرز در یک منطقه از نظر فراوانی و تراکم در بالاترین میزان بودند در صورتی که همان گونه‌ها در منطقه دیگر از مزارع برنج گیلان کم‌اهمیت بودند. با توجه به اینکه در مناطق مختلف گیلان شرایط آب و هوایی و مدیریتی متفاوتی وجود دارد و انجام دستورالعمل یکسانی برای مدیریت و کنترل علف‌های هرز مناسب نیست؛ اطلاع از تغییرات در اجتماع علف‌های هرز به ما برای انتخاب روش‌های مناسب کنترل علف‌هرز کمک می‌کند. هر ساله بدلیل عدم آگاهی کافی در زمینه شناسایی و عوامل مؤثر بر کنترل علف‌های هرز مزارع بر جمعیت آن‌ها افزوده می‌شود و به‌همین دلیل بررسی نقش مدیریت در تغییر ساختار جوامع و تنوع گونه‌ای علف‌هرز می‌تواند در توسعه راهبردها و مدیریت علف‌های هرز مفید باشد.

در رابطه با یکنواختی جامعه علف‌هرز در هر شهرستان، هرچه عدد بدست آمده به صفر میل کند نشان از شدت غیریکنواختی یا غالب بودن یک گونه علف‌هرز در جامعه دارد، ولی هرچه عدد بدست آمده به یک میل کند نشان از یکنواختی بالای جامعه (حداکثر تنوع گونه‌ای و عدم غالبیت یک گونه خاص علف‌هرز) دارد (۲۴ و ۲۷). نتیتیا و رامروتی (۲۱) بیان داشتند که شاخص سیمپسون مقایسه بهتر را نسبت به شاخص شانون وینر بین نقاط مختلف را فراهم می‌کند. شاخص سیمپسون در کلیانور^۱ به میزان ۸/۶۶ دارای بالاترین ارزش، در تایلاپورام^۲ به میزان ۷/۲۸، در تنسیرووالار^۳ به میزان ۶/۸۲، در آدهاناپاتو^۴ به میزان ۶/۵۶ و در کونتامور^۵ به میزان ۶/۱۲ بود. از ۵۶ گونه شناسایی شده که متعلق به ۲۳ خانواده گیاهی بودند در کلیانور (۳۷ گونه)، تنسیرووالار (۴۵ گونه)، تایلاپورام (۳۰ گونه)، کونتامور (۳۸ گونه) و آدهاناپاتو (۳۲ گونه) بودند. مهم‌ترین و عمده‌ترین علف‌های هرز غالب مزارع، سوروف و اویارسلام بودند. سهم نسبی تراکم و ارتفاع علف‌های هرز سوروف و اویارسلام نسبت به دیگر علف‌های هرز خیلی بیشتر بود و آشیان اکولوژیکی بیشتری را نیز اشغال کردند.

نتیجه‌گیری

شناسایی علف‌های هرز اساسی‌ترین اقدام در مدیریت تلفیقی علف‌های هرز محسوب می‌شود. در مزارع برنج استان گیلان ۶۶ گونه

- 1- Kiliyanur
- 2- Thailapuram
- 3- Thensiruvallur
- 4- Aadhanapattu
- 5- Konthamur

منابع

- 1- Agricultural Jihad Organization of Guilan. 2017. Publishing of Agricultural Jihad Organization of Guilan Province.
- 2- Azmi M., and Baki B.B. 2007. Weed flora landscape of the Muda rice granary in the new millennium: A descriptive analysis. *Journal of Tropical Agriculture and Food Science* 35(2): 319-331.
- 3- Bahaar S.W.S., and Baht G.A. 2012. Taxocenosis and distribution of weed flora in the rice field monoculture of Kashmir Valley India. *International Journal of Botany* 8(2): 73-78.
- 4- Bambaradeniya C.N.B., Edirisinghe J.P., De Silva D.N., Guntatilleke C.V.S., Ranawana K.B., and Wijekoon S. 2004. Biodiversity associated with an irrigated rice agro- ecosystem in Sri Lanka. *Virginia Tech Invent the Future* 12: 1715-1753.
- 5- Begum M., Juraimi A.S., Azmi M., Rajan A., and Syed-Omar S.R. 2005. Weed diversity of rice fields in four districts of muda rice granary area, northwest Peninsular Malaysia. *Malaysian Applied Biology* 34: 31-41.
- 6- Booth B.D., Murphy S.D., and Swanton C.J. 2003. *Weed ecology in natural and agricultural systems*. CABI Publishing, 303 p.
- 7- Dorji S., Lhamo K., Chophyll K., and Tobgye K. 2013. Weeds of transplanted rice in Western Bhutan. *Bhu. J. RNR* 9: 43-50.
- 8- Golmohammadi M.J., Alizade H., Yaghoubi B., and Nahvi M. 2010. Effect of competition *Echinochloa oryzoides* in paddy of Guilan Province. *Journal of Agroecology* 2(1): 95-102. (In Persian)
- 9- Hakim M.A., Juraimi A.S., Ismail M.R., Hanafi M.M., and Selamat A. 2013. A survey on weed diversity in Coastal rice fields of Sebarang Perak in Peninsular Malaysia. *The Journal of Animal and Plant Sciences* 23(2): 534-542.
- 10- Hartzler R.G., Battles B.A., and Nordby D. 2004. Effect of waterhemp (*Amaranthus rudis*) emergence data on growth and fecundity in soybean. *Weed Science* 52: 242-245.
- 11- Hasanejad S., Alizade H., Mozafarian V.A., Chaechi M.R., and Minbashi M. 2009. Study of weeds density and dominance in Barely fields in Azarbayjan. *Journal Weed Science in Iran*. 5: 69-90.
- 12- Jabran K., and Chauhan B.S. 2015. Weed management in aerobic rice systems. *Crop Protection* 78: 151-163.
- 13- Kamoshita A., Araki Y., and Nguyen Y.T.B. 2014. Weed biodiversity and rice production during the irrigation rehabilitation process in Cambodia. *Agriculture Ecosystems and Environment* 194: 1-6.
- 14- Kandibane M., Ragurman S., and Mahadevan N.R. 2007. Diversity and community structure of aquatic arthropods in an irrigated rice ecosystem of Tamil Nadu, India. *Asian Journal of Plant Sciences* 6(5): 741-748.
- 15- Kraehmer H., Jabran K., Mennan H., and Chauhan B.S. 2016. Global distribution of rice weeds. *Crop Protection* 80: 73-86.
- 16- Lugowska M., Pawlonka Z., and Skrzczynska J. 2016. The effects of soil conditions and crop types on diversity of weed communities. *Acta Agrobotanica* 69: 1687.
- 17- Mesquita M.L.R., Andrade L.A.D., and Pereira W.E. 2013. Floristic diversity of the soil weed seed bank in a rice growing area of Brazil: in situ and ex situ evaluation. *Acta Botanica Brasilica* 27(3): 465-471.
- 18- Minbash Moeini M., Baghestan M.A., Rahimiyan Mashhadi H., and Alifar M. 2009. The distribution of weeds of irrigated wheat of Tehran province using geographic information system (GIS). *Weed Journal* 4: 97-118. (In Persian with English abstract)
- 19- Mohammaddoust Chamanabad H.R. 2011. Introduction to scientific and partial principle of weed control. Ardabil University Jihad Publications, Pages: 238. (In Persian)
- 20- Mubeen K., Nadeem M.A., Tanveer A., and Jhala A.J. 2014. Effects of seeding time and weed control methods in direct seeded rice. *The Journal of Animal and Plant Sciences* 24: 534-542.
- 21- Nithya J., and Ramamoorthy D. 2015. Floristic composition and weed diversity in rice fields. *Indian Journal Weed Science* 47: 417-421.
- 22- Nkoa R., Owen M.D.K., and Swanton C.J. 2015. Weed Abundance, Distribution, Diversity, and Community Analyses. *Weed Science* 63(sp1): 64-90.
- 23- Odero D.C., and Rainbolt C. 2014. Weed management in rice. UF/IFAS Extension. University of Florida.
- 24- Poggio S.L., Sattorre E.H., and Fuente E.B. 2004. Structure of weed communities occurring in Pea and Wheat crops in the rolling pampa (Argentina). *Agriculture, Ecosystems and Environment* 103. 225-235.
- 25- Reed R.A., Peet R.K., Palmer M.W., and White P.S. 1993. Scale dependence of vegetation- environment Correlation: a case study of North Carolina piedmont woodland. *Journal of Vegetation Science* 4: 329-340.
- 26- Schaedler C.E., Burgos N.R., Noldin J.A., Alcober E.A., Salas R.A., and Agrostineto D. 2015. Competitive ability of ALS- inhibitor herbicide resistant *Fimbristylis miliacea*. *Weed Research* 55: 482-492.
- 27- Shannon C.E., and Wiener W. 1949. *The mathematical theory of communication* Urbana University of Illinois Press, Chicago, USA, Pages: 117.

- 28- Tang L., Cheng, C., Wan K., Li R., Wang D., Tao Y., Pan J., Xie J., and Chen F. 2014. Impact of fertilizing pattern on the biodiversity of a weed community and Wheat growth. PLOS one 9(1): e84370.
- 29- Thomas A.G. 1985. Weed survey system used in Saskatchewan for cereal and oilseed crops. Weed Science 33: 34-43.
- 30- Uddin M.K., Juraimi A.S.M., Begum M.R., Ismail A.A., Rahman D., and Othman R. 2009. Floristic composition of weed community in truff grass area of west peninsular Malaysia. International Journal Agriculture Biology 11: 13-20.
- 31- Wicks G.A., Popken D.H., Mahnken G.W., Hanson G.E., and Lyon D.J. 2003. Survey of winter wheat (*Triticum aestivum*) stubble fields sprayed with herbicides in 1998, Weed Control. Weed Technol, 17: 457-484.
- 32- Xing A.C., Qiang W., Ping Z.A., Fen D., and Ming L.X. 2000. Survey of weeds turf in Hangzhou. Acta Agric. Zheji, 12: 360-362.
- 33- Yaghoubi B., Alizadeh H., Rahimian H., Baghestani M.A., Sharifi M.M., and Davatgar N. 2010. Key paper. A review on researches conducted on paddy field weeds and herbicides in Iran. 3th Iranian Weed Science Congress Babolsar, Mazandaran. Iran, 2-11. (In Persian with English abstract)
- 34- Yaghoubi B., Zand E., and Joharali A. 2006. New species of Echinochloa a serious problem for Iran paddy. The 17th Iranian Plant Pathology Congress, Karaj, Iran. (In Persian)



Study of Indices of Weed Communities in Rice Fields of Guilan Province

M.J. Golmohammadi¹– H.R. Mohammaddoust Chamanabad^{2*}– B. Yaghoubi³– M. Oveisi⁴

Received: 23-10-2017

Accepted: 17-11-2018

Introduction: The culture of man and rice have historical and profound relationships. Rice (*Oryza sativa* L.) has an inescapable role in providing food, economy, religion and civilization in many countries of the world. Weeds are among the most important factors affecting crops such as rice. Successful weed control is essential for rice production. Grasses, broad-leaved, sedges, ferns and algae are the weeds of Guilan rice fields. Infestation of weeds in a field can be described by three characteristics of the number of available weed species, the density of each species and the distribution of species in the field. The species in a field are almost constant from year to year, but the other two factors vary greatly in response to the environment, agronomic plans and weed management practices. However, detailed information on the presence, composition, abundance, importance and ranking of weed species depends on weed management strategies with average yield of rice. The objective of this study was to investigate rice weed community richness and composition in the Guilan province, Iran during 2014 and 2016 and their relationships with management.

Materials and Methods: The study was conducted in Guilan province (between 36° 34' to 38° 27' latitudes and 48° 53' to 50° 34' longitudes), northern Iran, with 14044 kilometer square of area. 481 fields were selected from 10 days after transplantation to the end of panicle formation. Taking the area of each field into consideration, 0.25 m² quadrats were done for sampling using a W-shaped sampling pattern. The weeds at each quadrat were counted and their genera and species were identified. The Frequency, field uniformity over all fields, density of the weeds in each field, the mean weed density of the visited fields, and dominance of the various species in each region were determined. The Simpson index (D) gives more importance to the common species, but the Shannon-Wiener index (H) puts greater importance on rare species. After collecting the data and making the calculations required for determining the population indices, this information created the main layer in the project, and was then designed in the format of a databank.

Results and Discussion: 66 weed species were identified in rice fields of Guilan province, which belonged to 29 families. According to the dominance index of weed, *Echinochloa crusgalli* was the highest among 66 identified species in Astaneasharafyeh, Amlash, Anzali, Rasht, Roudsar, Siahkal, Fouman, Lahijan and Langroud. *Alisma plantago-aquatica* had the highest prevalence index in Rezvanshahr. *Paspalum distichum* was one of the dominant species in shaft, Talesh and Masal regions, having the highest dominance index. *Cyperus difformis* had the highest dominance index in Somesara. *Bolbosoenus maritimus* was one of the most important weeds in rice fields located in Roudbar with dominance index equal to 9.9. *Azolla filiculoides* in 11 regions of Guilan had the highest frequency among floating and submerged weeds in 16 regions. The green algae were the dominant weeds at Astaneasharafyeh and Masal. In the both of regions of Somesara and Lahijan, Lemna minor was the most abundant aquatic weeds. *Najas marina* is the herbaceous plant having the highest abundance among floating and submerged species in Roudbar. The Shannon-Weiner and Simpson indices were the highest in Talesh (2.85 and 11.93, respectively) and the lowest in Roudbar (1.97 and 3.99, respectively). Uniformity index in Rezvanshahr had the largest quantity equal to 0.806.

Conclusion: Identification of weeds is the most important action for weed management. Weed flora composition in rice fields of 16 areas at Guilan Province consisted of 66 species belonging to 29 families. Roudsar and Langaroud regions were the most dominant sites with a total of 47 weed species followed by Rasht and Lahijan (46 sp.), Astaneasharafyeh (42 sp.), Amlash (37 sp.), Talesh (36 sp.), Fouman and Siahkal (34 sp.), Roudbar (32 sp.), Rezvanshahr and Somesara (30 sp.), Masal (28 sp.), Astara (27 sp.) and Shaft and Anzali (25 sp.). Ten species, three grass (narrowleaf) species (*E. crusgalli*, *P. distichum*, and *E. oryzoides*), three sedge

1 and 2- Ph.D. Graduated in Weed Science and Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resource University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

(*- Corresponding Authors Email: hr_chamanabad@yahoo.com)

3- Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

4- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture University of Tehran, Karaj, Iran

species (*C. esculentus*, *C. serotinus*, and *C. difformis*), four broad-leaved species (*E. prostrata*, *S. trifolia* and *A. plantago-aquatica*), and one fern species (*A. filiculoides*) were the most widespread and of the highest abundance. Frequency, density and dominance of weeds according to the rice ecosystem in different regions can be changed. Due to lack of knowledge on identification and effective weed control factors, the weeds population is growing. Therefore, assessing the management role in changing the weed communities structure of species diversity can be useful to improve weed control.

Keywords: Dominance, Shannon-Weiner, Species diversity, Weed

بررسی اثر باقی مانده مصرف چند علف کش سولفونیل اوره گندم (*Triticum aestivum* L.) در کشت حفاظتی پنبه (*Gossypium hirsutum* L.)

محمدحسن هادی زاده^{۱*} - سید حسین حسینی کیا^۲ - سید حسین ترابی^۳ - کمال حاج محمدنیا قالیباف^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۰۸

چکیده

به منظور بررسی تأثیر باقی مانده‌ی چند علف کش سولفونیل اوره مورد استفاده در کشت گندم (*Triticum aestivum* L.) بر پنبه (*Gossypium hirsutum* L.)، آزمایشی در دو بخش مزرعه و گلخانه در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با شش تیمار و چهار تکرار در شهرستان سرخس طی سال زراعی ۱۳۹۲-۹۳ اجرا شد. تیمارها شامل پنج علف کش سولفوسولفورون (۲۶/۶ گرم در هکتار آپروس ۷۵٪)، مزوسولفورون + یدوسولفورون + مفن پایر (۱/۵ لیتر در هکتار آتلانتیس ۲/۱٪)، تریاسولفورون + دایکما (۱۶۵ گرم در هکتار لیتور ۷۰٪)، تریاسولفورون + تربوترین (۲۵۰ گرم در هکتار لوگران اکسترا ۶۴٪) و متسولفورون + سولفوسولفورون (۴۰ گرم در هکتار توتال ۸۰٪) بودند که در مرحله رشد پنج‌برگی گندم به میزان توصیه شده مصرف شدند. یک تیمار شاهد بدون علف کش (وجین دستی علف‌های هرز) نیز در نظر گرفته شد. آزمون زیست‌سنجی باقی مانده علف کش در گلخانه با تهیه نمونه خاک از تیمارهای مذکور بلافاصله پس از برداشت گندم و کشت گلدانی گیاهان پنبه، ذرت، جو و کلزا اجرا شد. نتایج آزمایش مزرعه‌ای نشان داد که بقایای علف کش‌های توتال، آپروس و آتلانتیس به علت وجود علف کش‌های پایدار متسولفورون متیل، سولفوسولفورون و مزوسولفورون در ترکیب خود، باعث مسمومیت پنبه در ابتدای رویش به صورت توقف در رشد بوته‌ها و کاهش وزن خشک اندام هوایی شدند. ریشه پنبه در مزرعه فقط تحت تأثیر باقی مانده علف کش توتال قرار گرفت. علائم ظاهری خسارت از جانب هیچ تیماری در پنبه پایدار نبود، به طوری که توقف در رشد پنبه به مرور جبران شد و در نهایت تعداد غوزه و عملکرد محصول تحت تأثیر معنی دار باقی مانده علف کش‌ها قرار نگرفت. بر اساس نتایج آزمایش گلخانه‌ای، باقی مانده علف کش‌های توتال، آتلانتیس و آپروس وزن خشک اندام هوایی پنبه و علف کش‌های توتال و آپروس موجب کاهش معنی دار وزن خشک ریشه نسبت به شاهد شدند. میزان مسمومیت گیاهان در آزمایش گلخانه برای کلزا بیشترین و برای ذرت کمترین مقدار بود. میزان اثر باقی مانده علف کش‌ها بر اساس میانگین صفات گیاهان آزمون برای علف کش لیتور کمترین و برای علف کش توتال بیشترین بود.

واژه‌های کلیدی: جو، زیست‌سنجی، ذرت، علائم خسارت چشمی، کشت دوم، کلزا

مقدمه

مانند گرگان است (۲۳). در مناطق کم آب، کشت دوم پنبه بلافاصله پس از برداشت گندم به ویژه در شرایط شخم حفاظتی امکان پذیر است، ولی ممکن است به باقی مانده علف کش‌های اختصاصی گندم حساسیت نشان دهد. مسئله باقی مانده علف کش‌ها نه تنها از نظر کشاورزی بلکه از لحاظ سلامت محیط زیست و جریان آب‌های زیرزمینی و سطحی نیز حایز اهمیت است، ولی متأسفانه تحقیقات کافی در خصوص اثر باقی مانده علف کش‌های گندم بر پنبه در کشور صورت نگرفته است. تعداد هفت ترکیب حاوی علف کش‌های سولفونیل اوره برای گندم در ایران به ثبت رسیده است که شامل تربینورون متیل (گرانستار)، تربوترین + تریاسولفورون (لوگران اکسترا)، سولفوسولفورون (آپروس)، سولفوسولفورون + متسولفورون - متیل (توتال)، یدوسولفورون متیل + مزوسولفورون متیل + مفن پایر (شوالیه و

پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) گیاه مناسبی در تناوب با گندم (*Triticum aestivum* L.) در مناطق کم آب و گرم مانند سرخس، مناطق جنوب خراسان و بعضی از مناطق پرباران شمالی

۱ و ۳- استادیار پژوهش و محقق بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

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

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد مدیریت علف‌های هرز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گلپهر

۴- استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

DOI: 10.22067/jpp.v33i1.70176

و ۳۶، ۱۰ و ۱۷ درصد کاهش محصول ذرت بیشترین اثر منفی را بر این گیاهان داشتند (۲۵). مصرف فلوکاربازون + کلروسولفورون (۹۰+۴۷ گرم در هکتار) در گندم باعث خسارت جزئی به پنبه در کشت سال بعد شد (۲۴). در مطالعه‌ای در هند، نتایج نشان داد که اثر نامطلوب باقی مانده علف‌کش‌های یدوسولفورون+مزوسولفورون و سولفوسولفورون بر ذرت و سورگوم، ولی نه بر پنبه، مشاهده شد (۲۶). در عین حال در یک تحقیق دیگر زیست توده پنبه ۴/۵ ماه پس از مصرف ۳ علف‌کش سولفونیل اوره شامل متسولفورون (۴ گرم)، تریاسولفورون (۲۶ گرم) و کلروسولفورون (۱۵ گرم در هکتار) در خاک با اسیدیته ۷/۸ تا ۸/۶ بسته به منطقه آزمایش از ۲۳ تا ۶۷ درصد کاهش نشان داد (۶).

با توجه به مطالب مذکور، هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر باقی مانده علف‌کش‌های خانواده سولفونیل اوره مصرف شده در گندم بر پنبه‌ی کاشت شده بعد از گندم در همان سال در نظام خاک‌ورزی حفاظتی بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی دو سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در منطقه سرخس در طول جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۶ دقیقه شمالی و عرض جغرافیایی ۶۰ درجه و ۴۳ دقیقه شرقی از استان خراسان رضوی، به اجرا درآمد. میانگین بارندگی سالانه‌ی منطقه ۱۹۱/۹ میلی‌متر و میانگین تبخیر و تعرق بر اساس روش تورنت وایت ۱۰۶۷/۹ میلی‌متر گزارش شده است. میانگین درجه حرارت سالانه ۱۷/۹ درجه، حداقل مطلق ۱۸/۶- درجه و حداکثر مطلق ۴۶/۶ درجه‌ی سانتی‌گراد گزارش شده است. بر این اساس، میانگین حداکثر دمای منطقه‌ی اجرای تحقیق در ماه‌های خرداد، تیر و مرداد ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. به‌طور میانگین ۳۵ روز یخبندان سالانه در منطقه گزارش شده است که بیشترین آن‌ها مربوط به بهمن ماه است. اقلیم منطقه براساس طبقه‌بندی بلر خشک و بر اساس اقلیم نمای آمبرژه خشک و از نظر دمایی معتدل محسوب می‌شود (۱۴). مشخصات خاک محل اجرای تحقیق بر اساس آزمون خاک، نسبتاً سنگین با بافتی سیلیتی رسی و نسبتاً شور و قلیایی ($\text{pH}=8.2$, $\text{EC}=5.62 \text{ dS.m}^{-1}$) بود که نماینده خاک اکثر اراضی کشاورزی منطقه‌ی سرخس است که به‌طور معمول تحت کشت پنبه قرار می‌گیرند.

آزمایش در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. پنج علف‌کش سولفونیل اوره شامل موارد جدول ۱ در مرحله رشدی سه تا پنج برگی گندم مصرف شدند.

آتلانتیس، یدوسولفورون متیل+مزوسولفورون متیل+دیفلوفیکان+مفن پایر (اتلو) و تریاسولفورون+دایکما (لتور) می‌باشند (۲۲). مهم‌ترین ویژگی‌های ترکیبات این خانواده شامل مقدار مصرف بسیار کم در واحد سطح، فعالیت زیستی زیاد، طیف علف‌کشی گسترده، کم‌خطر برای پستانداران و حشرات، حساس بودن ذاتی به تجزیه، جذب وابسته به pH ذرات خاک و آبشویی متوسط تا زیاد آن‌ها است (۴ و ۱۰). نحوه عمل علف‌کش‌های این خانواده جلوگیری از عمل آنزیم استولاکتات سینتاز (ALS) یعنی آنزیم کلیدی مسیر سنتز اسیدهای آمینه لوسین، ایزولوسین و والین است (۳). پایداری علف‌کش‌ها در مزرعه برای حفظ اثربخشی آن‌ها لازم است، ولی نباید آنقدر طولانی باشد که باعث جلوگیری از رشد گیاهان زراعی حساس در تناوب شود (۲۸). با اینکه نیمه عمر کوتاه ترحاکی از پایداری کمتر علف‌کش است، اما لزوماً دلیلی بر سمی نبودن بقایای هرچند اندک برای محصولات حساس بعدی نیست (۱۱). مطالعات متعدد حاکی از آن است که در شرایط خاک‌های قلیایی، سرد، خشک و با ماده آلی کم، تجزیه علف‌کش‌های سولفونیل اوره به مراتب کندتر است و بقایای آن در غلظت‌های سمی تا بیش از یک فصل دوام می‌آورد (۲). زمان مصرف علف‌کش‌های سولفونیل اوره در گندم معمولاً پس رویشی و در بهار است و فاصله کم بین زمان کاربرد علف‌کش با کشت محصول بعدی یا با کشت دوباره، در مواردی منجر به خسارت ناشی از باقی مانده آن‌ها به محصول بعدی شده است (۱۹). اثرات سمی سولفوسولفورون در مطالعات مزرعه‌ای بر روی نخود (*Cicer arietinum* L.) و جو (*Hordeum vulgare* L.) یک سال پس از کاربرد در گندم مشاهده شد (۲۷). بقایای سمی سولفوسولفورون در شرایط سرد و pH بالا با گذشت یک سال از زمان کاربرد، باعث خسارت به محصولات حساس مانند جو، عدس (*medic* *Lens culinaris*)، سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) و آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) شد (۱۶ و ۲۰). مطالعه اثر بقایای پنج علف‌کش سولفونیل اوره بکار رفته در گندم بر روی محصولات تناوبی پس از آن نشان داد که علف‌کش تریاسولفورون در مقدار ۲۲ گرم در هکتار پس از گذشت یکسال از مصرف، اثر سوء روی یونجه (*Medicago sativa* L.)، کلزا (*Brassica napus* L.)، ذرت (*Zea mays* L.)، عدس، نخود فرنگی (*Pisum sativum* L.)، سیب زمینی (*Solanum tuberosum* L.) و چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) داشت (۲۱). هنگامی که گیاهان زراعی ماش (*Vigna radiata* L.) و ذرت در تناوب با گندم قرار گرفتند، بقایای علف‌کش‌های کلروسولفورون (۲۰ گرم در هکتار از ماده تجارتي مگاتن) و سولفوسولفورون (۵۶ و ۶۸ گرم در هکتار از ماده تجارتي آپروس ۷۵٪) در گندم به ترتیب با ۳۷، ۲۴ و ۲۱ درصد کاهش محصول ماش

جدول ۱- مشخصات علف کش های تیمار شده در آزمایش

Table 1- Characteristics of herbicide treatments in the experiment

نام عمومی Common name	نام تجاری Trade name	مقدار مصرف در هکتار Application rate (in hectare)
سولفوسلفورون Sulfosulfuron	آپروس ۷۵٪ Apyros® 75%WG	۲۶/۶ گرم 26.6 g
مزوسولفورون + یدوسولفورون + مفن پایر Mesosulfuron + iodosulfuron + mefenpyre	آتلانتیس ۱/۲٪ Atlantis® 1.2% OD	۱/۵ لیتر 1.5 l
تریاسولفورون + دایکمبا Triasulfuron + dicamba	لنتور ۷۰٪ Lenture® 70% WG	۱۶۵ گرم 165 g
تریاسولفورون + تربوترین Triasulfuron + terbutryn	لوگران اکسترا ۶۴٪ Logran Extra® 64% WG	۲۵۰ گرم 250 g
متسولفورون + سولفوسلفورون Metsulfuron + sulfosulfuron	توتال ۸۰٪ Total® 75% WG	۴۰ گرم 40 g

آزمون شامل پنبه، کلزا، ذرت و جو طراحی و اجرا شد. هر آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و چهار تکرار اجرا شد. تعداد نه عدد بذر از گیاه آزمون مورد نظر آزمایش در هر گلدان کاشته شد و آبیاری با فواصل مشخص و بر حسب نیاز انجام شد. سه هفته بعد گیاهچه ها از گلدان ها خارج شدند و میانگین وزن خشک بخش هوایی و ریشه بوته ها برای هر گلدان اندازه گیری شد و نسبت به شاهد بدون علف کش مورد مقایسه قرار گرفت. داده ها پس از ثبت و مرتب شدن در نرم افزار میکروسافت اکسل در محیط SAS 9.1 تحلیل شدند. مقایسه میانگین با آزمون LSD در سطح ۰/۰۵ انجام شد.

جدول ۲- تقویم عملیات زراعی آزمایش

Table 2- Implementation date of the important field operations during the experiment

عملیات زراعی Field operation	تاریخ Date
کشت گندم Wheat sowing	۱۳۹۲/۰۸/۰۱ 23-10-2013
مصرف علف کش Herbicide application	۱۳۹۲/۰۹/۰۲ 23-11-2013
برداشت گندم Wheat harvest	۱۳۹۳/۰۳/۱۰ 31-05-2014
کشت مستقیم پنبه Cotton direct seeding	۱۳۹۳/۰۳/۱۲ 02-06-2014
برداشت پنبه Cotton harvest	۱۳۹۳/۰۹/۰۵ 26-11-2014

نتایج و بحث

الف) آزمایش مزرعه ای

اثر باقی مانده علف کش ها بر رشد بوته پنبه

نتایج تجزیه واریانس اثر باقی مانده علف کش های مصرف شده در گندم بر صفات مربوط به رشد بوته های پنبه در آزمایش مزرعه ای

ابعاد هر کرت گندم سه متر (شش ردیف ۵۰ سانتی متری) در طول ۱۰ متر در نظر گرفته شد که روی هر ردیف سه خط بذر گندم رقم پیشگام کشت گردید. بین هر دو بلوک دو متر پیاده رو منظور شد. برداشت گندم در تاریخ ۱۳۹۳/۰۳/۱۰ انجام شد و پنبه رقم ورامین (*G. hirsutum* L. Var. Varamin) بلافاصله (مطابق نظام حفاظتی توصیه شده در منطقه که برای صرفه جویی در آبیاری صورت می گیرد) در ۱۲ خرداد ماه ۱۳۹۳ کشت شد (جدول ۲). برای کشت پنبه از دستگاه مخصوصی استفاده شد و بذور پنبه در بقایا درست در محل گندم سال گذشته در هر کرت کشت شدند. پس از سبز شدن گیاهان به فاصله ۷، ۱۴، ۳۶ و ۶۴ روز، علایم ظاهری خسارت برابر روش EWRC^۱ ثبت شد (۳۲). همچنین در سه نوبت به فاصله ۱۵ روز از یک ماه پس از سبز شدن، ارتفاع بوته ها اندازه گیری شد. وزن خشک گیاهچه به تفکیک اندام های هوایی و ریشه ها در یک نوبت پس از کشت (۳۰ روز بعد در مرحله دو برگ حقیقی) با کادر اندازی و نمونه گیری تخریبی از هر کرت محاسبه گردید. برای اندازه گیری وزن خشک ساقه و ریشه، گیاهچه های پنبه از خاک مرطوب خارج گردید و پس از شستشوی ریشه از قسمت طوقه قیچی شد و درون پاکت های جداگانه به آون منتقل گردیدند. برای اندازه گیری در هیچ یک از کرت ها برای مهار علف های هرز پنبه علف کشی مصرف نشد و وجین علف های هرز به طور دستی انجام شد. مصرف کود طبق توصیه آزمون خاک و سایر عملیات داشت طبق توصیه زراعی انجام شد. از وسط هر کرت پنج بوته پنبه انتخاب و تعداد غوزه های باز شده و کل غوزه ها شمارش شدند. عملکرد و ش پس از برداشت پنبه از ردیف های وسط به طول هشت متر اندازه گیری شد. همزمان با برداشت گندم از هر تیمار، نمونه خاک کافی جهت انجام آزمایش زیست سنجی تهیه شد. در آزمایش زیست سنجی در گلخانه بخش تحقیقات گیاه پزشکی خراسان رضوی، چهار آزمایش جداگانه به طور همزمان برای چهار گیاه

1- European weed research council

حاکی از اختلاف معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بین اثر علف‌کش‌ها و شاهد بدون علف‌کش بر ارتفاع بوته‌ی پنبه فقط در نوبت نمونه‌گیری ابتدای رویش (۳۰ روز پس از سبز شدن) بود (جدول ۳). همچنین اثر باقی‌مانده‌ی علف‌کش‌ها بر وزن خشک بخش هوایی و ریشه بوته‌های پنبه‌ای که در ابتدای رشد (یک ماه پس از سبز شدن) برداشت شدند، به ترتیب در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ معنی‌دار شد (جدول ۳).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر باقی‌مانده‌ی علف‌کش‌های مصرفی در گندم بر رشد پنبه در آزمایش مزرعه‌ای (۱۳۹۳)

Table 3- Analysis of variance results for herbicide residue effects in cotton growth (2014)

میانگین مربعات برای صفات پنبه						
M.S of cotton traits						
منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی Df	ارتفاع بوته Plant height (cm)			وزن خشک	وزن خشک
					اندام هوایی	ریشه
		۰۵/۰۱	۰۵/۱۵	۰۵/۳۰	Shoot dry	Root dry
		23Jul	06Aug	21Aug	weight	weight
بلوک Block	3	15.134 ^{ns}	45.081 ^{ns}	697.700 ^{ns}	1.582 ^{ns}	0.0551 ^{ns}
تیمار Treatment	5	51.546*	41.403 ^{ns}	35.870 ^{ns}	16.492**	0.358*
خطا Error	15	16.626	28.550	123.540	3.007	0.087
ضریب تغییرات C.V.(%)		18.05	12.28	14.15	15.23	24.41

ns و *، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۰۱، ۰/۰۵ و غیر معنی‌دار هستند
**، * and ^{ns} are significant at 1%, 5% and non-significant, respectively.

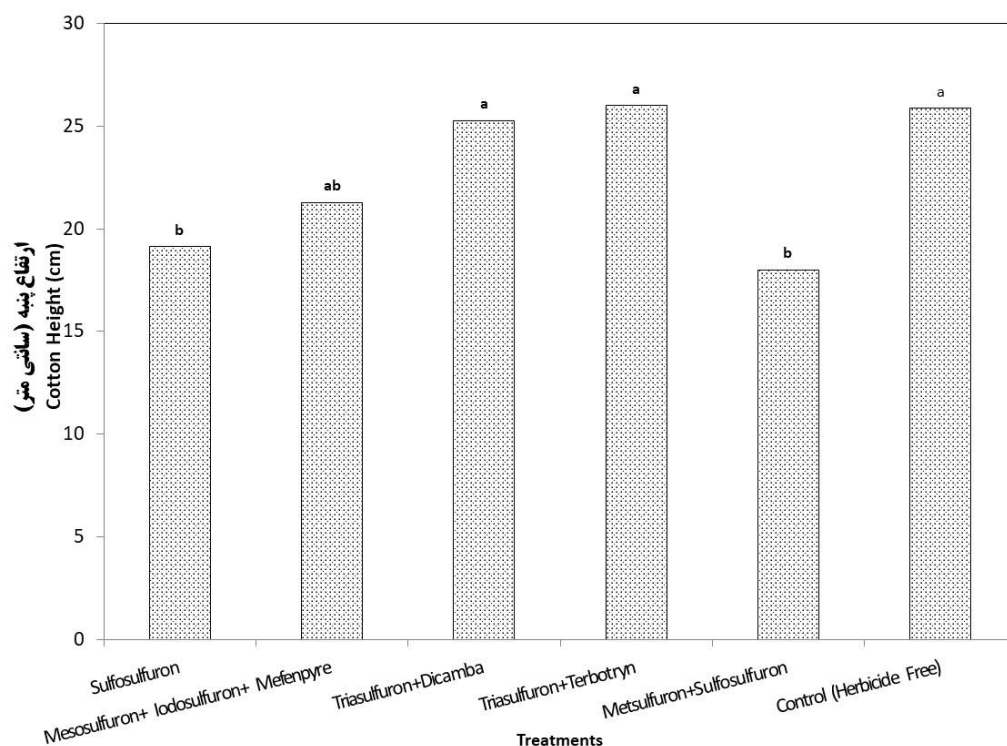
ترکیبی نسبتاً پایدار در خاک محسوب می‌شود و می‌تواند بالقوه دارای باقی‌مانده خطر ساز برای محصولات زراعی بعد از گندم باشد. همان‌طور که در این آزمایش ملاحظه شد این علف‌کش علاوه بر کمک در حفظ اثر بازدارندگی باقی‌مانده متسولفورون+سولفوسولفورون بر پنبه، موجب آسیب سولفوسولفورون هم به پنبه شد (شکل ۱). در آزمایش منصوری و همکاران (۱۸) باقی‌مانده سولفوسولفورون بر پنبه تأثیری نداشت. این اختلاف بین این آزمایش و تحقیق منصوری می‌تواند ناشی از دو عامل باشد؛ نخست این که ثابت شده است که آزمایش گلخانه‌ای در آزمون بقایای علف‌کش‌ها (کاری که ایشان انجام دادند) بر پنبه ممکن است دقت لازم را ارائه ندهند (۳۱) و به همین دلیل آزمون مزرعه‌ای به این منظور توصیه شده است. دوم این که ثابت شده است که در خاک‌های قلیایی، سرد و خشک با pH بالا (نمونه خاک این آزمایش) سولفوسولفورون پایداری بیشتری از خود نشان داده است (۱۳)، به‌طوری که نیمه عمری معادل ۵۳ روز تحت این شرایط برای این علف‌کش به‌ثبت رسیده است (۲۸). بر اساس نتایج این تحقیق، علف‌کش آتالانتیس که پیش مخلوط مزوسولفورون+یدوسولفورون+مفن پایر است نیز دارای حدی از باقی‌مانده بود که توانست رشد بوته‌ی پنبه را تحت تأثیر قرار دهد (شکل‌های ۱ و ۲). مزوسولفورون و یدوسولفورون هر دو جزء این ترکیب عمدتاً به وسیله فعالیت میکروبی خاک تجزیه می‌شوند. میانگین نیمه عمر مزوسولفورون در خاک‌های مختلف ۳۸ روز گزارش

در ابتدای رشد پنبه در مزرعه، بیشترین تأخیر در رشد بوته ناشی از باقی‌مانده علف‌کش‌های متسولفورون-متیل+سولفوسولفورون^۱ و سولفوسولفورون بود که ارتفاع بوته را نسبت به شاهد بدون علف‌کش کاهش دادند (شکل ۲). با وجود اختلاف معنی‌دار اثر علف‌کش‌ها بر ارتفاع بوته پنبه در نوبت اول نمونه‌گیری، در نوبت‌های بعدی پنبه پس از دریافت کود، تأخیر در رشد را جبران کرد و در نتیجه این اختلاف معنی‌دار نشد. به‌نظر می‌رسد متسولفورون عامل اصلی آسیب بیشتر علف‌کش توتال (متسولفورون+سولفوسولفورون) به پنبه بود. این علف‌کش در خاک از پایداری نسبی بالایی برخوردار است. در تحقیقاتی که در خاک‌های مختلف انجام شده است نیمه عمر این علف‌کش به طور میانگین ۵۲ روز بدست آمده است که بیشتر از سایر علف‌کش‌های استفاده شده در این آزمایش بوده است (۲۸). براساس گزارشات منتشر شده، بقایای متسولفورون متیل استفاده شده در گندم بیشترین عامل خسارت ناشی از باقی‌مانده علف‌کش‌ها بر پنبه در آمریکا بوده است (۳۱). میانگین نیمه عمر سولفوسولفورون (جزء دیگر علف‌کش توتال) در خاک‌های مختلف ۴۲ روز بوده است. این علف‌کش در خاک‌های مختلف بسته به pH و بافت، نیمه عمری بین ۳۲ و ۵۳ روز داشته است (۲۸). بر این اساس، این علف‌کش هم

۱- جهت اطلاع از اسامی تجاری علف‌کش‌های آزمایش، به قسمت مواد و روش مراجعه شود.

ملاحظه می شود این نتایج دلیل محکمی بر منطقی بودن نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر هستند. نیمه عمر تریاسولفورون که در علف کش های لوگران اکسترا (تریاسولفورون+تربوترین) و لینتور (تریاسولفورون+دایکمبا) وجود دارد ۱۹ روز گزارش شده است (۲۸). همان طور که در شکل های ۱ و ۲ نشان داده شد، باقی مانده این دو علف کش تأثیری بر رشد بوته پنبه نداشتند.

شده است (۲۸). در مورد یودوسولفورون نتایج آزمایشات مختلف نشان داده اند که نیمه عمر این علف کش کوتاه تر از مزوسولفورون و در حد ۸/۵ روز بوده است (۲۸). بنابراین اگر بخواهیم اتفاقات این آزمایش را بر اساس نیمه عمر علف کش های مورد مقایسه توجیه کنیم، می توان نتیجه گرفت که بازدارندگی مزوسولفورون+یدوسولفورون+مفن پایر بر صفت ارتفاع اندام بوته پنبه ناشی از مزوسولفورون بوده است که نیمه عمری به مراتب طولانی تر از یدوسولفورون دارد. همان طور که



شکل ۱- میانگین ارتفاع بوته پنبه ۳۰ روز پس از سبز شدن در تیمارهای آزمایش

اختلاف ستون های دارای حروف غیر مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۰/۰۵ معنی دار است.

Figure 1- Average of cotton height (30 days after emergence, 23-07-2014) in experimental plots

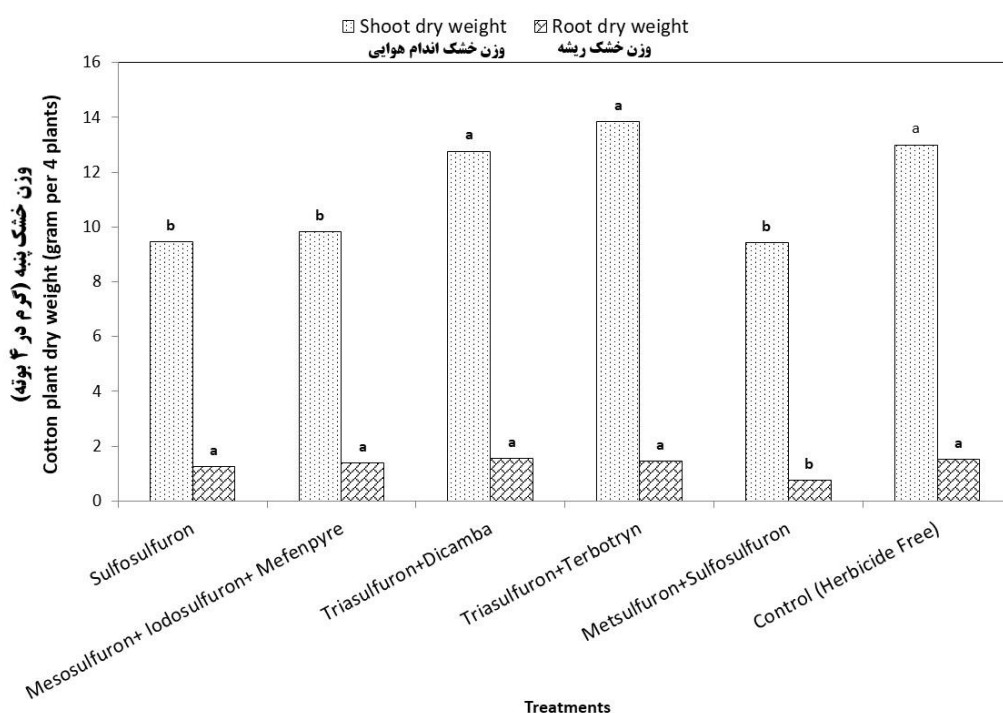
Means within a column followed by the same letter are not significantly different according to the LSD tests at the 0.05 probability level

مزوسولفورون+یدوسولفورون+مفن پایر فقط باعث کاهش وزن خشک اندام های هوایی پنبه شدند. اثر باقی مانده علف کش های استفاده شده در گندم، هر دو ماده خشک تولیدی در بخش هوایی و ریشه را در ابتدای رویش پنبه کاهش دادند (شکل ۲)، ولی پس از ۵۰ روز به تدریج رشد بوته جبران گردید و در نهایت عملکرد تحت تأثیر قرار نگرفت. علف کش های متسولفورون+سولفوسولفورون، سولفوسولفورون و مزوسولفورون+یدوسولفورون+مفن پایر علاوه بر کاهش ارتفاع بوته های پنبه (شکل ۱) وزن خشک اندام های آن ها را نیز نسبت به شاهد بدون علف کش کاهش دادند (شکل ۲). در ارتفاع بوته با وجود تأثیر منفی باقی مانده مزوسولفورون+یدوسولفورون+مفن پایر، اختلاف

باقی مانده علف کش مزوسولفورون+یدوسولفورون+مفن پایر هم موجب بازدارندگی در رشد بوته پنبه شد، اما اختلاف آن با شاهد معنی دار نشد. همچنین تیمارهای تریاسولفورون+تربوترین و تریاسولفورون+دایکمبا با شاهد اختلاف معنی داری نداشتند (شکل ۱). اثر باقی مانده علف کش ها بر وزن خشک بخش هوایی و ریشه بوته های پنبه ای که در ابتدای رشد (یک ماه پس از سبز شدن) برداشت شدند، به ترتیب در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ معنی دار شد (جدول ۳). همان طور که شکل ۲ نشان می دهد، علف کش متسولفورون+سولفوسولفورون باعث کاهش معنی دار ماده خشک بخش هوایی و ریشه، و علف کش های سولفوسولفورون و

ندادند. مطالعات قبلی گزارش کردند توقف رشد پنبه معلول بقایای سولفونیل‌اوره‌ها در خاک بوده است که مانع رشد و توسعه ریشه شده‌اند (۱۸ و ۳۱). منصوری و همکاران (۱۸) نتیجه گرفتند در بین علف‌کش‌های سولفوسولفورون، کلروسولفورون، مزوسولفورون+یدوسولفورون+مفن پایر و متسولفورون+سولفوسولفورون فقط باقی مانده متسولفورون+سولفوسولفورون توانست فقط یک صفت و آن هم رشد ریشه را در پنبه تحت تأثیر قرار دهد.

این تیمار با شاهد معنی‌دار نشد، در حالی که وزن خشک اندام هوایی این تیمار با شاهد در دو گروه متفاوت آماری قرار گرفتند. این امر نشان می‌دهد که مزوسولفورون+یدوسولفورون+مفن پایر در هر حال آسیب خود را به پنبه در ابتدای رشد وارد کرده است. دلایل این رخدادها در بخش قبلی بحث شد. اما در خصوص وزن خشک ریشه نتایج متفاوتی بدست آمد. در این صفت تنها اثر باقی مانده متسولفورون+سولفوسولفورون نسبت به شاهد معنی‌دار شد (شکل ۲) و سایر علف‌کش‌ها وزن خشک ریشه پنبه را نسبت به شاهد کاهش



شکل ۲- میانگین وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه پنبه ۳۰ روز پس از سبز شدن در تیمارهای آزمایش

اختلاف ستون‌های دارای حروف غیر مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است.

Figure 2- Average of cotton shoot and root dry weight (30 days after emergence, 23-07-2014) in experimental plots
Means within a column followed by the same letter are not significantly different according to the LSD tests at the 0.05 probability level

به متسولفورون+ سولفوسولفورون تعلق گرفت. عملکرد غوزه در شاهد اندکی کمتر از متسولفورون+سولفوسولفورون و ۲ تن در هکتار بدست آمد. کمترین عملکرد وش به مزوسولفورون+یدوسولفورون+مفن پایر و بیشترین به تریاسولفورون+دایکما تعلق گرفت. از آنجا که اثر بازدارندگی باقی‌مانده هیچ کدام از علف‌کش‌های استفاده شده در گندم بر رشد و نمو بوته پنبه پایدار نبود، اختلاف بین تعداد غوزه و صفات عملکرد در هیچ کدام از علف‌کش‌ها با شاهد بدون علف‌کش معنی‌دار نشد.

اثر باقی‌مانده علف‌کش‌ها بر عملکرد پنبه در مزرعه

در مزرعه اختلاف بین تعداد غوزه و عملکرد وش پنبه هیچ یک از علف‌کش‌ها با شاهد بدون علف‌کش معنی‌دار نشد (جدول ۴). همچنین هیچگونه علایم گیاه سوزی معنی‌داری در بوته‌های پنبه مشاهده نشد (جدول نشان داده نشده است). عملکرد غوزه بین ۱/۷۲ و ۲/۹۰ تن و عملکرد وش بین ۱/۲ و ۱/۴ تن در هکتار در شش تیمار آزمایش در تغییر بود (با توجه به معنی‌دار نشدن داده‌های میانگین، نشان داده نشدند). کمترین عملکرد غوزه به مزوسولفورون+ یدوسولفورون+مفن پایر و بیشترین

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس اثر باقی مانده‌ی علف کش‌های مصرفی در گندم بر عملکرد پنبه در آزمایش مزرعه‌ای

Table 4- Analysis of variance results for herbicide residue effects in cotton yield				
میانگین مربعات برای عملکرد پنبه				
M.S of cotton yield				
منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی Df	تعداد غوزه † Boll number	عملکرد غوزه ‡ Boll yield	عملکرد وش Fiber yield
بلوک Block	3	16.111 ^{ns}	0.356 ^{ns}	0.170 ^{ns}
تیمار Treatment	5	1.500 ^{ns}	0.079 ^{ns}	0.019 ^{ns}
خطا Error	15	9.478	0.319	0.171
ضریب تغییرات C.V.(%)		15.39	29.33	22.19

^{ns} غیر معنی دار است. † تعداد غوزه در ۵ بوته هر کرت، ‡ عملکرد غوزه بر حسب تن در هکتار

^{ns} is non-significant. † Boll number in five plants at plot, ‡ Boll yield in ton per hectare

استفاده شد. با وجود این، حتی باقی مانده این علف کش هم روی پنبه تأثیر منفی نداشت. در آزمایش حاضر هم این وقفه بیش از ۱۱۰ روز بود، بنابراین نتایج حاصل از آن منطقی به نظر می‌رسد. فیربنکس و همکاران (۷) هم برای پاسخ به این سؤال در یک تحقیق ثابت کردند که هیچ کدام از مقادیر ۱۳، ۲۶، ۵۳ و یا حتی ۱۰۵ گرم در هکتار هارمونی اکسترا (مخلوط تیفن سولفورون+تری بنورون)، تحت شرایط عاری از علف‌های هرز، تا حداقل وقفه‌ی ۱۵ روز قبل از کاشت، به پنبه آسیب نرساندند. مقادیر ۲۶، ۵۳ و ۱۰۵ گرم در هکتار هارمونی اکسترا فقط وقتی در روز کاشت پنبه مصرف شدند، به پنبه آسیب رساندند.

اثر باقی مانده علف کش‌ها در آزمون زیست‌سنجی

پنبه: باقی مانده علف کش‌های آزمایش دارای اثر معنی دار بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه پنبه بود (جدول ۵). همان طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود، باقی مانده علف کش‌های سولفوسولفورون، مزوسولفورون + یدوسولفورون+مفن پیر و متسولفورون+سولفوسولفورون، وزن خشک بخش هوایی را نسبت به شاهد کاهش دادند. سولفوسولفورون و متسولفورون+سولفوسولفورون همچنین وزن خشک ریشه پنبه را در آزمایش گلدانی نسبت به شاهد کاهش دادند.

جو: علایم مسمومیت بعضی از علف کش‌های آزمایش در جو با کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه همراه بود، به طوری که باقی مانده متسولفورون+سولفوسولفورون و سولفوسولفورون وزن خشک ریشه و اندام هوایی جو را نسبت به شاهد کاهش دادند (جدول ۵).

ذرت: اثر مسمومیت باقی مانده علف کش‌های گندم بر گیاه آزمون

تحقیقات نشان داده‌اند علایم خسارت علف کش‌ها در پنبه به چهار شکل توقف رشد، زردی (کلروز)، خشکیدگی (نکروز) و بد شکلی (۳۱) بروز می‌کند، اما در تحقیق حاضر علایم خسارت باقی مانده سولفونیل اوره‌ها در خاک بیشتر به صورت توقف در رشد پنبه بود. به طور کلی به علت خاک نامناسب مزرعه، عملکرد پنبه در این آزمایش کمتر از حد انتظار بود. گزارشات کمی در خصوص تأثیر باقی مانده سولفونیل اوره‌ها بر عملکرد پنبه تحت شرایط مزرعه منتشر شده است. در کشور ما محدود گزارشاتی که در این زمینه وجود دارند حاصل یک بررسی گلخانه‌ای با استفاده از گیاهان آزمون هستند که یکی از این گیاهان آزمون پنبه بوده است (۱۸). در این تحقیقات هر چند عملکردها بررسی نشده است، ولی بر مبنای تأثیر جزئی باقی مانده علف کش‌های سولفونیل اوره بر پنبه که فقط بر ارتفاع بوته و طول ریشه گیاهچه‌ها جوان معنی دار شده است، می‌توان انتظار داشت که تأثیر آن‌ها بر عملکرد پنبه نمی‌تواند معنی دار باشد. این در حالی است که تأثیر باقی مانده سولفونیل اوره‌ها بر بیشتر صفات رشدی آفتاب گردان شامل سطح برگ، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه و وزن خشک کل بوته شدید گزارش شده است (۱۸). این نتیجه بیانگر حساسیت کمتر پنبه تا آفتاب گردان به بقایای علف کش‌های سولفونیل اوره گندم است. گری و همکاران (۹) ضمن اثبات این موضوع نشان دادند هیچ تهدید معنی داری از جانب باقی مانده علف کش‌های بازدارنده استولاکتات سینتاز استفاده شده در گندم شامل پیروکسولام، مزوسولفورون، پروپوکسی کاربازون، کلرولفورون و کلرولفورون+متسولفورون (پس از حداقل وقفه ۱۱۰ روزه پس از مصرف علف کش)، حتی در مقادیر بیشتر از مصرف توصیه شده روی رشد بوته و عملکرد پنبه مشاهده نشد. در این تحقیق از سولفوسولفورون با پایداری نسبتاً زیاد هم به عنوان شاخص

ذرت فقط در وزن خشک اندام هوایی گیاه بروز کرد. علف‌کش‌های مزوسولفورون+یدوسولفورون+مفن پایر، متسولفورون+سولفوسولفورون و سولفوسولفورون به ترتیب بیشترین کاهش وزن خشک اندام هوایی را موجب شدند، در حالی که اختلاف دو علف‌کش دیگر با شاهد معنی‌دار نشد (جدول ۵).
کلزا: تمام علف‌کش‌ها در کلزا مسمومیت ایجاد کردند و وزن

خشک بخش هوایی و ریشه را نسبت به شاهد کاهش دادند (جدول ۵). وزن خشک بوته‌ی کلزا شدیدترین آسیب را از سوی بقایای متسولفورون+سولفوسولفورون، سولفوسولفورون و علف‌کش مزوسولفورون+یدوسولفورون+مفن پایر متحمل گردید، اما شدیدترین اثر منفی بر وزن خشک ریشه مربوط به بقایای علف‌کش‌های متسولفورون+سولفوسولفورون و سولفوسولفورون بود (جدول ۵).

جدول ۵- اثر باقی‌مانده علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره بر صفات گیاهان آزمون در آزمایش گلخانه (میلی گرم در گلدان)

Table 5- Residue effects of sulfonyleurea herbicides of wheat on plant traits in pot experiment (g/pot)

گیاه آزمون Test plant	تیمار Treatments	وزن خشک ریشه Root dry weight (mg)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (mg)
پنبه Cotton	سولفوسولفورون Sulfosulfuron	9.745 ^{bc*}	7.470 ^b
	متسولفورون+یدوسولفورون+مفن پایر Mesosulfuron+Iodosulfuron+Mefenpyre	10.668 ^{ab}	8.093 ^b
	تریاسولفورون+دایکامبا Triasulfuron+Dicamba	10.688 ^{ab}	10.070 ^a
	تریاسولفورون+تربوترین Triasulfuron+Terbوترین	10.855 ^a	9.275 ^a
	متسولفورون+سولفوسولفورون Metsulfuron+Sulfosulfuron	9.422 ^c	7.425 ^b
	شاهد وجین دستی (بدون علف‌کش) Control (Herbicide Free)	11.030 ^a	9.683 ^a
جو Barley	Sulfosulfuron	1.447 ^b	5.247 ^b
	Mesosulfuron+Iodosulfuron+Mefenpyre	3.250 ^a	7.087 ^a
	Triasulfuron+Dicamba	3.125 ^a	7.297 ^a
	Triasulfuron+Terbوترین	3.185 ^a	7.267 ^a
	Metsulfuron+Sulfosulfuron	0.745 ^c	4.692 ^b
	Control (Herbicide Free)	3.277 ^a	7.302 ^a
ذرت Corn	Sulfosulfuron	8.945 ^a	6.590 ^b
	Mesosulfuron+Iodosulfuron+Mefenpyre	8.812 ^a	4.902 ^c
	Triasulfuron+Dicamba	10.045 ^a	9.025 ^a
	Triasulfuron+Terbوترین	9.756 ^a	9.300 ^a
	Metsulfuron+Sulfosulfuron	9.818 ^a	6.345 ^b
کلزا Canola	Control (Herbicide Free)	10.011 ^a	9.082 ^a
	Sulfosulfuron	7.512 ^c	6.487 ^c
	Mesosulfuron+Iodosulfuron+Mefenpyre	8.985 ^b	6.105 ^c
	Triasulfuron+Dicamba	10.347 ^a	8.275 ^b
	Triasulfuron+Terbوترین	8.432 ^b	7.600 ^b
	Metsulfuron+Sulfosulfuron	7.160 ^c	6.090 ^c
	Control (Herbicide Free)	10.692 ^a	14.497 ^a

حروف غیر مشترک در هر ستون و هر گیاه بیانگر اختلاف معنی دار بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ است.

هر چند در این تحقیق تفاوت‌هایی بین نتایج آزمایش مزرعه و آزمایش گلخانه مشاهده شد، اما با نگاه دقیق به این نتایج در می‌یابیم که نتایج گلخانه در واقع مؤید نتایج آزمایش مزرعه بودند. در آزمایش گلخانه هم اثبات شد که باقی‌مانده ترکیبات حاوی علف‌کش‌های پایدار متسولفورون متیل، سولفوسولفورون و مزوسولفورون در خاک

می‌توانند موجب مسمومیت پنبه به عنوان کشت دوم بعد از گندم شوند (جدول ۳). البته به نظر می‌رسد نتایج آزمایش مزرعه در مورد پنبه دقیق‌تر بود، چرا که این علف‌کش‌ها یک صفت دیگر (ارتفاع بوته پنبه) را هم تحت تأثیر قرار دادند (شکل ۱). احتمالاً در مزرعه به علت عدم جابجایی خاک، تجزیه باقی‌مانده علف‌کش‌ها کمتر بوده است،

ضمن این که واکنش گیاه در شرایط طبیعی با گلخانه متفاوت است. تحقیقات نشان داده اند واکنش های پنبه به عوامل محیطی در مزرعه بسیار پیچیده است، به نحوی که این گیاه علاوه بر واکنش به باقی مانده علف کش های اختصاصی گندم، به باقی مانده کاه و کلس گندم (۱۲) و یا حتی باقی مانده گونه های علف هرز موجود (۱) به ویژه در کشت دوم حساسیت نشان داده است. از این رو تحقیقات نشان داده اند بهترین روش زیست سنجی باقی مانده سولفونیل اوره ها کاشت بذر پنبه به طور مستقیم در مزرعه است، چون روش گلدانی در مورد این علف کش ها از حساسیت کافی برخوردار نبوده است (۳۱).

تحقیق گری و همکاران (۹) نشان داد هیچ تهدید معنی داری از جانب باقی مانده علف کش های باز دارنده استولاکتات سینتاز (ALS) استفاده شده در گندم شامل مزوسولفورون، کلرسولفورون و کلرسولفورون + متسولفورون (پس از حداقل وقفه ۱۱۰ روزه پس از کاربرد علف کش)، حتی در مقادیر بیشتر از مصرف توصیه شده روی رشد بوته و عملکرد پنبه مشاهده نشد. در این تحقیق از سولفوسولفورون با پایداری نسبتاً زیاد هم به عنوان شاخص استفاده شد. با وجود این، حتی باقی مانده این علف کش هم روی پنبه تأثیر منفی نداشت. والیا و همکاران (۳۰) علف کش سولفوسولفورون را در دو مقدار ۲۵ و ۵۰ گرم در هکتار در گندم مورد استفاده قرار دادند، ولی هیچ کدام از مقادیر فوق صفات رشد و عملکرد پنبه، سویا (*Glycine max* (L.) Merr. و گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) را کاهش ندادند. مسمومیت ایجاد شده بر روی جو در آزمایش حاضر ناشی از سولفوسولفورون بود، چرا که سولفوسولفورون انتخابی جو نیست و به عنوان علف کشی که برای مهار جودره (*Hordeum spontaneum* K. Koch. کارایی دارد به ثبت رسیده و در مزارع جو منع مصرف دارد (۲۲ و ۳۲). تحقیقات نشان داده اند یولاف و جو به این علف کش حساسیت نشان داده اند (۲۸). ذرت اما حساسیت کمتری نسبت به سایر گیاهان آزمون در برابر باقی مانده علف کش های سولفونیل اوره گندم نشان داد. این مقدار کم حساسیت فقط در وزن خشک اندام هوایی مشاهده شد (جدول ۳). تحقیقات متعددی اثبات کرده اند که ذرت گیاهی نسبتاً متحمل به باقی مانده علف کش های سولفونیل اوره گندم بوده است. در یک تحقیق حساسیت هفت گیاه نخود، عدس، لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)، گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* L.)، ذرت، کلزا و چغندر قند به بقایای مختلف علف کش متسولفورون + سولفوسولفورون (۰، ۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۰۲، ۰/۰۰۰۴، ۰/۰۰۰۶ میلی گرم در کیلوگرم خاک) مورد بررسی قرار گرفت و ذرت و کلزا به ترتیب متحمل ترین و حساس ترین گیاهان به بقایای این علف کش در خاک شناخته شدند (۱۵). در تحقیق دیگر نیز حساسیت ذرت به باقی مانده علف کش های کلروسولفورون، تری بنورون متیل، تریاسولفورون و متسولفورون متیل نسبت به چغندر قند، عدس و آفتاب گردان کمتر

بود (۱۷). احتمالاً ذرت و پنبه همانند سایر گیاهان مقاوم به سولفونیل اوره ها در مواجهه با مواد مؤثره این علف کش ها، اسیدهای آمینه تولیدی خود را تغییر می دهند (۸). هادی زاده (۱۰) در یک آزمون زیست سنجی به منظور بررسی اثر باقی مانده سولفوسولفورون در خاک بر گیاهان آزمون سویا، لوبیا، آفتابگردان، چغندر قند و کلزا ثابت کرد که بیشترین خسارت و تعداد گیاهچه های از دست رفته گلدان ها به کلزا تعلق گرفت. تحمل گیاهان مختلف در مواجهه با بقایای مزوسولفورون + یدوسولفورون + مفن پایر به صورت گوجه فرنگی > چغندر قند > عدس > کلزا > نخود > لوبیا، بود (۵). براون (۴) گزارش کرد که یونجه، کلزا، ذرت، عدس، نخود فرنگی، سیب زمینی و چغندر قند در خاک هایی که در آن ها سال قبل متسولفورون و یا تریاسولفورون مصرف شده بود، صدمه دیدند.

نتیجه گیری

در آزمایش مزرعه ای پنبه بقایای علف کش های توتال (متسولفورون + سولفوسولفورون)، آپروس (سولفوسولفورون) و آتلانتیس (مزوسولفورون + یدوسولفورون + مفن پایر) به علت این که ترکیبات پایداری را در ترکیب خود دارند در ابتدای رویش در پنبه مسمومیت ایجاد کردند که به صورت توقف در رشد بوته ها و کاهش وزن خشک اندام هوایی آن ها بروز کرد. ریشه پنبه در مزرعه فقط تحت تأثیر باقی مانده علف کش توتال قرار گرفت. هیچگونه علایم ظاهری خسارت پایدار از جانب هیچ تیماری در پنبه مشاهده نشد. توقف در رشد به مرور جبران شد و در نهایت تعداد غوزه و عملکرد محصول تحت تأثیر باقی مانده علف کش ها قرار نرفت. با این حال به علت نامناسب بودن خاک، رشد و عملکرد پنبه به طور کلی کم بود. در آزمایش زیست سنجی بقایای علف کش ها در گلخانه نیز ارتفاع بوته پنبه تحت تأثیر باقی مانده علف کش ها قرار نرفت و باقی مانده سه علف کش فوق فقط وزن خشک اندام هوایی پنبه را کاهش داد. دو علف کش توتال و آپروس همچنین وزن خشک ریشه این گیاه را نسبت به شاهد کاهش دادند. این دو علف کش در جو مسمومیت شدیدتر ایجاد کردند، به طوری که وزن خشک اندام هوایی و ریشه جو در این تیمارها نسبت به شاهد کاهش یافت. در ذرت فقط وزن خشک اندام هوایی بر اثر مسمومیت ناشی از آتلانتیس و آپروس کاهش یافت. بیشترین علایم ناشی از مسمومیت در کلزا بروز کرد به نحوی که تمام صفات این گیاه در تمام علف کش ها نسبت به شاهد بدون علف کش کاهش یافت. دو علف کش لوگران اکسترا (تریاسولفورون + تربوترین) و لیتتور (تریاسولفورون + دایکما) از نظر باقی مانده خطرناک برای پنبه ایمن بودند. به طور کلی میزان خطر باقی مانده علف کش ها به صورت تریاسولفورون + دایکما > تریاسولفورون + تربوترین > مزوسولفورون + یدوسولفورون + مفن پایر >

رساند و با آبیاری به موقع و کود پنبه آسیب‌های ناشی از مسمومیت را جبران کرد. در واقع اطلاعات جامع و دقیقی از مقدار باقی‌مانده مؤثر سولفونیل‌اوره‌ها در خاک موجود نیست، زیرا عوامل زیادی در تجزیه علف‌کش‌ها در خاک دخالت دارند (۹) و بررسی‌ها در این خصوص تحت شرایط مختلف ادامه داشته و باید ادامه یابد چرا که ما در توسعه نظام‌های حفاظتی به این پاسخ‌ها نیاز داریم. پیشنهاد می‌شود واکنش گیاهان در تناوب و بعضی از گیاهان دیگر که در کشت دوم رایج هستند نسبت به بقایای علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره مورد آزمون واقع شده و نیمه عمر تجزیه علف‌کش‌ها به کمک روش‌های دستگاهی دقیق در شرایط زراعی مختلف مورد بررسی قرار گیرد.

سولفوسولفورون > متسولفورون + سولفوسولفورون و میزان تحمل گیاهان آزمون به باقی‌مانده علف‌کش‌ها در این آزمایش به صورت کلزا > جو > پنبه > ذرت بود. بعضی تحقیقات برای اجتناب از اثر بقایای علف‌کش‌ها، توصیه‌های بیش از حد محافظه کارانه ارائه کرده اند که برای مثال، رعایت فاصله زمانی بین آخرین زمان مصرف علف‌کش و کاشت پنبه دست کم ۱۴ ماه برای کلرسولفورون و ۳۴ ماه برای متسولفورون است که در عمل کشت پنبه را به‌عنوان کشت دوم غیر ممکن می‌سازد (۳۱). در تحقیق حاضر نیز آشکار شد که خطر باقی‌مانده سولفونیل‌اوره‌های گندم (به‌طور مشخص متسولفورون متیل که پایدارترین است) برای پنبه آنقدر هم خطرناک نخواهد بود، چرا که علایم مسمومیت در اول فصل به پنبه آسیب

منابع

- 1- Alazmani M. 2012. Remainder effect of several species *Amaranthus* on germination of cotton. The First International Conference of Science, Industry and Trade of Cotton. October 2-4, Gorgan, IRAN. (In Persian with English abstract)
- 2- Alonso-Prados J.L., Hernandez-Sevillano E., Llanos S., Villarroja M., and Garcia-Baudin J.M. 2002. Effects of sulfosulfuron soil residues on barley (*Hordeum vulgare*), sunflower (*Helianthus annuus*) and common vetch (*Vicia sativa*). Crop Protection 21(10): 1061-1066.
- 3- Blair A.M., and Martin T.D. 1988. A review of the activity, fate and mode of action of sulfonylurea herbicides. Pesticide Science 22(3): 195-219.
- 4- Brown H.M. 1990. Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylurea herbicides. Pesticide Science 29(3): 263-281.
- 5- Dehghan M.A., Izadi E., Rashed M.H., and Mahmoodi G. 2011. Evaluation of iodosulfuron+mesosulfuron soil residue damage on crops. Iranian Journal of Weed Science 6: 53-64. The 5th Regional Congress on Advances in Agricultural Research (West of Iran), 18-19 May, Sanandaj, University of Kurdistan, Iran. (In Persian)
- 6- Dunmall T.A., Walker S.R., Barnes J.E., and Churchett J.C. 1996. Cropping options following winter applied residual herbicides in southern Queensland. Paper presented at the Eleventh Australian Weeds Conference Proceedings.
- 7- Fairbanks D.E., Reynolds D.B., Griffin J.L., Jordan D.L., Corkern C.B., Vidrine P.R., and Crawford S.H. 2001. Cotton tolerance and weed control with preplant applications of thifensulfuron plus tribenuron. Journal of Cotton Science 5: 259-267.
- 8- Faircloth W.H., Patterson M.G. and Monks C.D. 2001. Evaluation of CGA 362622 for weed control in Alabama cotton. Beltwide Cotton Conf., Anaheim, CA. Jan. 9-13.
- 9- Grey T.L., Braxton L.B., and Richburg J.S. 2012. Effect of wheat herbicide carryover on double-crop cotton and soybean. Weed Technology 26(2): 207-212.
- 10- Hadizadeh M.H. 2009. Investigation of the Effects of Organic Matter Amendments and Sulfosulfuron Application Rates on the Herbicide Persistence and Biological Traits of Soil in Wheat. Ph.D. Thesis in weed science. Ferdowsi University of Mashhad. 137 pp. (In Persian with English abstract)
- 11- Hanson B.D., Rauch T.A., and Thill D.C. 2004. Plant back restrictions for herbicides used in the dry land wheat production areas of the Pacific Northwest. 2006, 1-8.
- 12- Hicks S.K., Wendt C.W., Gannaway J.R., and Baker R.B. 1989. Allelopathic effects of wheat straw on cotton germination, emergence, and yield. Journal of Crop Science Society of America 29(4): 1057-1061.
- 13- Hurler K., and Walker A. 1980. Persistence and its prediction, pp. 83-122. In: Hance, R. J. (ed.), Interactions between Herbicides and the Soil, New York: Academic Press.
- 14- I.R. of Iran Meteorological Organization, 2013. Online accessibility of climatically and historically data. Available at: <http://www.irimo.ir/far/wd/2703.html>.
- 15- Izadi E., Rashed M.H., Mahmoodi G., and Dehghan M. 2011. Assessing of crop susceptibility to herbicide residues mesosulfuron+idosulfuron in the soil. Journal of Plant Protection 25(2): 194-201.
- 16- Kelly J.P., and Peeper T.F. 2003. MON 37500 application timing affects cheat (*Bromus secalinus*) control and winter wheat. Weed Science 51: 231-236.
- 17- Kotoula-Syka E., Eleftherohorinos I.G. Gagianas A.A., and Sficas A.G. 1993. Phytotoxicity and persistence of

- chlorsulfuron, metsulfuron-methyl, triasulfuron and tribenuron-methyl in three soils. *Weed Research* 33(5): 355–367.
- 18- Mansoori H., Zand E., Tavakoli M., and Baghestani M.A. 2012. A study of the effect of residue of some sulfonylurea herbicides on sunflower (*Helianthus annuus*) and cotton (*Gossypium hirsutum*). *Environmental Sciences* 9(3): 59-70. (In Persian with English abstract)
- 19- Menne H.J., and Berger B.M. 2001. Influence of straw management, nitrogen fertilization and dosage rates on the dissipation of five sulfonylureas in soil. *Weed Research* 41: 229-453.
- 20- Miller P.A., Westra P., and Nissen S.J. 1999. The influence of surfactant and nitrogen on foliar absorption of MON 37500. *Weed Science* 47: 270-274.
- 21- Moyer J.R. 1995. Sulfonylurea Herbicide Effects on following Crops. *Weed Technology* 9(2): 373-379.
- 22- Nourbakhsh S., and Sahraian H. 2015. List of important pests, diseases and weeds of major agricultural products, chemicals and recommended ways for their control. Plant Protection organization, Ministry of Jihad-e Agriculture, 208 pp. (In Persian)
- 23- Oaladi M., Izadi H., Baniani A., Bahodori F., Hassanpour F, Hakimi M., Hamidi I., Salimi H., Rezayan R., Arabsalmani M., Alaee M., Ghalebi S., Kavian M.A., Golmohamadi G., Naraghi L., Noorgholipour F., and Vafae F. 2014. Criteria and indicators of cotton production. Cotton, Oilseed and Industrial Crops Management Office, Deputy of Plant Production, Ministry of Jihad-e Agriculture, 109 pp. (In Persian)
- 24- Peterson D.E., and Regehr D.L. 2005. Rotational crop response to flucarbazone, flucarbazone plus chlor-sulfuron, sulfosulfuron, propoxycarbazone, and propoxycarbazone plus mesosulfuron. Paper presented at the North Central Weed Science Proceedings. 60. P. 7.
- 25- Poorazar R., Zand E., Baghestani M.A., Mansoori H., and Deihimfard R. 2009. Response of some crops grown in rotation with wheat to the residues of sulfonylurea herbicides in Khuzestan province. *Journal of Agroecology* 1(2): 29-35. (In Persian with English summery)
- 26- Saini M.K., Walia U.S., and Randhawa S.K. 2010. Residues of sulfosulfuron, mesosulfuron +iodosulfuron and pinoxaden in soil, wheat and successive crops. *Indian Journal of Weed Science* 42(1 & 2): 1-8.
- 27- Shinn S.L., Thill D.C., Price W.J., and Ball D.A. 1998. Response of downy brome (*Bromus tectorum*) and rotational crops to MON 37500. *Weed Technology* 12(4): 690-698.
- 28- Tomlin C.D.S. (ed.) 2009. The Pesticide Manual (Fifteenth Edition). BCPC (British Crop Protection Council), Hampshire, UK. 1457pp.
- 29- Villaverde J., Kah M., and Brown C.D. 2008. Adsorption and degradation of four acidic herbicides in soils from southern Spain. *Pest Management Science* 64: 703-710.
- 30- Walia U.S., Singh M., and Singh B. 2007. Residual effect of sulfosulfuron on Kharif crops. *J. Res. Punjab Agric. Univ.* 44(1): 12-14.
- 31- Wiese A.F., Bovey R.W., and Eastin E.F. 1992. Effect of herbicides on growth of cotton and associated crops. pp. 515-544. In: McWhorter, C. G. and Abernathy, J. R. (eds.), *Weeds of Cotton: Characterization and Control*. The Cotton Foundation of America, Tennessee, USA.
- 32- Zand E., Mousavi S.K., and Heidari A. 2008. Herbicides and methods of their application with approach of optimization and usage decrease. Publication of Jehade Daneshgahi Mashhad Press, Mashad Iran. 572 p. (In Persian)
- 33- Zand E., Rahimian H., Koocheki A.R., Khalaghani J., Mousavi S.K., and Ramezani K. 2004. Weed ecology: management vegetation for implications. Publication of Jehade Daneshgahi Mashhad Press, Mashad Iran. 558 p. (In Persian)



Residual Effects of Some Sulfonylurea Herbicides of Wheat (*Triticum aestivum* L.) on Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) in Conservational Tillage System

M.H. Hadizadeh^{1*} - S.H. Hosseiniykia² - S.H. Torabi³ - K. Hajmohammadnia Ghalibaf⁴

Received: 03-03-2018

Accepted: 29-12-2018

Introduction: Cotton as a second crop is planted at some relatively warm and dry conditions in rotation after wheat, in Iran. In this situation, herbicide residue persistence is a determining factor for cotton production. Seven sulfonylurea herbicides were registered for weed control of wheat in Iran and some of them may have adverse residue effects on growth and yield of cotton. Sulfonylurea herbicides at very low doses, inhibit synthesis of essential amino acid such as leucine, iso-leucine, and valin in the sensitive plants. Many studies demonstrated that there is dangerous residue of sulfonylurea herbicide in a soil with high pH, low moisture and organic matter level, and with the short time between herbicide application and the emergence of the following crop. For example, 135 days after application of metsulfuron, triasulfuron, and chlorosulfuron, cotton biomass was reduced by 23% to 67% in a soil with pH ranged 7.8 to 8.6 (6). In the other studies, sulfosulfuron residue caused damage to barley, lens, sorghum, and sunflower as sensitive crop after one year (16, 20). Residue of triasulfuron (at 22 gr.ha⁻¹) one year after application made injuries to alfalfa, canola, corn, potato and sugar beet (21).

Materials and Methods: This study was conducted during 2013-2014 to evaluate residue effects of some sulfonylurea herbicides of wheat on cotton at Sarakhs region of Iran. The soil textural class was silty clay with EC= 5.62 dS.m⁻¹ and pH= 8.2. The field trial was a randomized complete block design with seven treatments in four replications. The treatments consisted of five sulfonylurea herbicide treatments as follows: 1- sulfosulfuron (26.6 g.ha⁻¹ of Apyros[®] 75%WG), 2- mesosulfuron + iodosulfuron + mefenpyre (1.5 L.ha⁻¹ of Atlantis[®] 1.2% OD), 3- triasulfuron + dicamba (165 g.ha⁻¹ of Lenture[®] 70% WG), 4- triasulfuron + terbutryn (250 g.ha⁻¹ of Logran Extra[®] 64% WG) and 5- metsulfuron + sulfosulfuron (40 g.ha⁻¹ of Total[®] 75% WG). All herbicides applied in 3-5 leaf stage of wheat on 23th November, 2013. Furthermore, one herbicide free treatment (all season hand weeding) was considered as the control. Immediately after wheat harvest, cotton (*Gossypium hirsutum* L. var. Varamin) was planted (June 2, 2014) as the second crop in wheat spaces by a direct seeding machine. Residue effects on cotton plants were measured by plant height, stem length and dry matter (DM). Rankings of visual injury based on EWRC (European Weed Research Council) were recorded at four times starting seven days after cotton emergence. Cotton was harvested on September 26, 2014 and bull number, boll yield, and fiber yield were then determined. At the same time, residual bioassay tests were done in completely randomized design with four replications in the greenhouse using cotton, corn, barley, and canola. Their shoot and root dry matters were measured three weeks after emergence. Analysis of variance and mean comparisons (LSD 5%) was accomplished by SAS[®] (ver. 9.2) software.

Results and Discussion: The results showed herbicide residue from and sulfosulfuron and metsulfuron+ sulfosulfuron significantly reduced cotton plant height and dry matter in the field at the first time of sampling (30 days after emergence). However, the differences in plant heights were not significant at the second and third sampling time owing to growth compensation after crop fertilization. It seems that metsulfuron is more important than sulfosulfuron in cotton injury as responsible ingredient. According to the previous studies, half-life of metsulfuron was 52 days and for sulfosulfuron was 42 days in average (28). Both of them are more persistent in the soils with high pH and low organic matter like the soils in our experiment. Mesosulfuron + iodosulfuron + mefenpyre residue had somewhat adverse effects on early growth of cotton and reduced shoot dry weight, but after 50 days plants were recovered. According to Tomlin (28), half-life of mesosulfuron and iodosulfuron was reported 38 days and 8.5 days, respectively. No adverse effect was recognized in cotton plants from triasulfuron+ terbutryn and triasulfuron+ dicamba. Half-life is 19 days for triasulfuron and negligible for

1 and 3- Assistant Professor and Lecturer of Plant Protection Research Department, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Khorasan-e-Razavi, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

(* - Corresponding Author Email: mh.hadizadeh@gmail.com)

2- M.Sc. Educated Student of Weed Management of Islamic Azad University at Golbahar

4- Assistant Professor of Agricultural Faculty, Ferdowsi University of Mashhad

two other ingredients. The herbicides injures were not as much stable as cotton yields were significantly affected. In greenhouse bioassay experiment, cotton shoot DM was significantly reduced by residues of metsulfuron+ sulfosulfuron, sulfosulfuron and mesosulfuron+ iodosulfuron+ mefenpyre. In addition, residual effects of metsulfuron+ sulfosulfuron and sulfosulfuron were observed on cotton root DM. Adverse effects from metsulfuron+ sulfosulfuron and sulfosulfuron caused a significant reduction in barley. Both of these herbicides were registered for controlling of wild barley (*Hordeum spontaneum* K. Koch.) in wheat fields. The most residual injuries were observed in canola in which all traits were reduced by residues of herbicides used for wheat.

Conclusion: According to the field experiment, we found that the residues of two herbicides Total® 75% and Apyros® 75% lessened cotton height, dry matter of shoot and root at early growth stages. Nevertheless, the plant was recovered with season progress especially after overtop fertilization and consequently cotton yield (boll number, boll yield and fiber yield) was not significantly decreased. The results of pot experiment confirmed the field results and showed that these two herbicides significantly decreased cotton growth. Besides, growth of barley, canola and corn was affected by Total® 75%, Apyros® 75% and Atlantis® 1.2%. Therefore, metsulfuron and sulfosulfuron have the most effective residue among all components investigated. Moreover, canola and corn were, respectively, the most and least sensitive crops in the bioassay experiment.

Keywords: Barley, Bioassay, Canola, Corn, Second crop, Visual injury

بهینه‌سازی کارایی علف‌کش‌های بنتازون + اسیفلورفن و ایمازتاپیر در کنترل سلمه‌تره (*Chenopodium album* L.) با استفاده از مواد افزودنی

سمیرا ابوعلی^۱ - سهراب محمودی^۲ - حسین حمامی^{۳*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۱۰

چکیده

بهینه‌سازی مصرف علف‌کش‌ها به‌وسیله کاربرد مواد افزودنی یکی از رهیافت‌های نوین برای کاهش عوارض زیست‌محیطی ناشی از کاربرد علف‌کش‌ها است. به‌منظور ارزیابی تأثیر مواد افزودنی در بهینه‌سازی کارایی علف‌کش‌های بنتازون+اسیفلورفن و ایمازتاپیر در کنترل سلمه‌تره، دو آزمایش گلخانه‌ای در پاسخ مجزا در سال ۱۳۹۵ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی بیرجند، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارها در هر آزمایش شامل غلظت‌های علف‌کش در هفت سطح (۰، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد توصیه شده) و نوع ماده افزودنی در سه سطح (روغن منداب، سیتوگیت و بدون روغن) بود. نتایج آزمایش نشان داد که کاربرد مواد افزودنی بخصوص روغن گیاهی منداب موجب افزایش کارایی علف‌کش‌های بنتازون+اسیفلورفن و ایمازتاپیر در کنترل سلمه‌تره شد. روغن منداب و سیتوگیت باعث افزایش کارایی علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن در کاهش زیست‌توده تولیدی اندام‌های هوایی سلمه‌تره به‌ترتیب به میزان ۱/۲۹، ۱/۲۸ برابر و علف‌کش ایمازتاپیر ۲/۱۳ و ۱/۳۰ برابر شد. درحالی‌که این مقادیر برای کاهش زیست‌توده ریشه سلمه‌تره به‌ترتیب ۲/۷۹، ۱/۹۸، ۲/۳۵ و ۱/۶۶ برابر بود. با توجه به واکنش شدیدتر ریشه به تیمارهای اعمال شده، نتایج نشان داد که ریشه سلمه‌تره حساسیت بیشتری به کاربرد مواد افزودنی و علف‌کش‌های بنتازون+اسیفلورفن و ایمازتاپیر در مقایسه با اندام‌های هوایی داشت. بطور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد روغن منداب و سیتوگیت باعث افزایش کارایی کنترل سلمه‌تره به‌وسیله بنتازون+اسیفلورفن و ایمازتاپیر می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پهن‌برگ، توانایی نسی، دز مؤثر، گلخانه، مویان

مقدمه

کنندگان مواد شیمیایی ناگزیر به تولید و مصرف مواد شیمیایی با تبعات زیست‌محیطی کمتر هستند (۳۲). با توجه به ممنوع شدن کاربرد بسیاری از مواد شیمیایی و همچنین ثابت شدن اثرات منفی ناشی از کاربرد بسیاری از کودها و سموم شیمیایی امروزه تلاش بسیاری در جهت افزایش کارایی مواد شیمیایی می‌شود.

مقدار بسیار زیادی از آفت‌کش‌های شیمیایی مصرفی در کشاورزی نه‌تنها به محل هدف نرسیده بلکه به محیط‌ها و موجودات غیرهدف می‌رسند و باعث آسیب مستقیم و غیرمستقیم به موجودات غیر هدف مانند انسان‌ها، پرنده‌ها، جانوران و گیاهان آبی، زنبور عسل، شکارگرهای طبیعی آفات و غیره می‌شوند (۷، ۱۸ و ۲۰). علف‌کش‌ها بخش عمده‌ای از مواد شیمیایی مصرفی در کشاورزی را در دنیا به خود اختصاص داده‌اند و با توجه به اینکه مدیریت علف‌های هرز بیشتر معطوف به کاربرد علف‌کش‌ها است اخیراً تحقیقات زیادی در مورد علف‌کش‌ها انجام می‌شود (۲۴). یکی از مهم‌ترین راهبردها

یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید در بخش کشاورزی علف‌های هرز هستند که به دلیل رقابت برای فضا، آب، مواد غذایی و نور با گیاهان زراعی و باغی، منجر به کاهش تولید محصولات کشاورزی می‌شوند و جزء عوامل اصلی محدودکننده تولید محصولات زراعی می‌باشند (۳۰). رشد سریع جمعیت جهان نیاز به تولید مواد غذایی و در نهایت کشاورزی فشرده، تولیدکنندگان را وادار به استفاده از مواد شیمیایی کرده است. از طرفی دیگر با توجه به اثرات منفی زیست‌محیطی ناشی از کاربرد مواد شیمیایی، تولیدکنندگان و مصرف

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز، دانشیار و استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

(*)- نویسنده مسئول: (Email: Hhamami@birjand.ac.ir)

در جهت کاهش مصرف علف‌کش‌ها، بهینه‌سازی مصرف آن‌ها است که در این زمینه، مؤثرترین و زودبازده‌ترین روش‌ها برای بهینه‌سازی و کاهش مصرف علف‌کش‌ها، افزایش سطح دانش و آگاهی بهره‌برداران درباره علف‌کش‌ها و روش صحیح کاربرد آن‌هاست (۳۶). امروزه کاهش مصرف آفت‌کش‌ها و بویژه علف‌کش‌ها در برخی از کشورها مانند سوئد، هلند و دانمارک توسط دولت به‌صورت اجباری اجرا می‌شود. بهبود کارایی علف‌کش‌ها با هدف کاهش اثرات زیست‌محیطی آن‌ها یا کاهش هزینه‌ها انجام می‌شود (۲).

اولین گام در تصمیم‌گیری برای مصرف بهینه علف‌کش‌ها، توجه به اقدامات پیشگیرانه از قبیل تناوب زراعی و کاشت ارقام دارای قدرت رقابتی بالا به‌منظور کاهش تلفات بالقوه ناشی از تداخل علف‌های هرز است. مرحله دوم ارزیابی ضرورت سم‌پاشی و تعیین مقدار علف‌کش مورد نیاز برای کنترل مطلوب علف‌های هرز است (۱۶). مقدار توصیه شده علف‌کش‌ها توسط کارخانه سازنده مقداری است که بتواند در طیف گسترده‌ای از شرایط محیطی، مرحله رشدی و طیف علف‌های هرز مختلف کارایی مناسب داشته باشد در نتیجه معمولاً شرکت سازنده به دلایل ذکر شده و همچنین سود بیشتر، گرایش به توصیه مصرف بیشترین مقادیر ممکن دارند. ولی کاربرد علف‌کش‌ها در مقدار توصیه شده، افزایش هزینه‌های تولید محصولات زراعی و آسیب به محیط‌زیست را در پی خواهد داشت. کاربرد علف‌کش‌ها در غلظت‌های مناسب، احتمال رسیدن آن‌ها به محل خارج از هدف را کاهش می‌دهد. عمدتاً کارایی هر علف‌کش به غلظت استفاده شده وابسته است و در بسیاری از موارد همین امر دلیل انتخابی بودن آن‌ها است. غلظت‌های ثبت شده برای کاربرد علف‌کش‌ها، اصولاً برای کنترل آن‌ها در شرایط متغیر محیطی و رشدی و تراکم‌های مختلف توصیه می‌شود و این مقدار ممکن است در شرایط محیطی ثابت (محیط دارای تنش کمتر)، شادابی علف‌های هرز و تراکم‌های پایین بیش از مقدار مورد نیاز لازم برای کنترل علف‌های هرز باشد (۳).

عوامل بسیاری بر کارایی علف‌کش‌ها تأثیر می‌گذارند که تحت کنترل کاربر نمی‌باشند و بخش عمده این عوامل مربوط به شرایط محیطی است که از این عوامل می‌توان گرما، سرما، نور شدید، باد و غیره را نام برد. از این رو انتخاب ماده افزودنی و فرمولاسیون مناسب در این شرایط اهمیت ویژه‌ای دارد (۱۷). مواد افزودنی جهت بهبود نفوذ سموم با تغییر خصوصیات محلول علف‌کش و یا تغییر نفوذپذیری کوتیکول باعث افزایش کارایی علف‌کش‌ها می‌شوند (۳۶). با توجه به اثرات مخرب زیست‌محیطی و انسانی علف‌کش‌ها کاربرد مواد افزودنی از مهم‌ترین راهکارهای افزایش کارایی و کاهش مقدار کاربرد علف‌کش‌هاست.

علف‌کش مخلوط بنتازون+اسیفلورفن (استورم^۱) برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ معرفی شده است (۳۴). کارایی علف‌کش‌های پس‌رویشی به‌وسیله کاربرد مواد افزودنی افزایش می‌یابد بنابراین، امکان کاهش خطر عوارض جانبی و هزینه کاربرد علف‌کش‌ها فراهم می‌شود (۱). اثر علف‌کش‌های پس‌رویشی اغلب با کاربرد مواد افزودنی افزایش می‌یابد که سبب افزایش نگهداری و جذب علف‌کش‌ها روی سطح برگ می‌شود و این احتمالاً می‌تواند در بهینه‌کردن کنترل علف‌هرز تأثیر داشته باشد (۹). علف‌کش ایمازتاپیر^۲ از علف‌کش‌های بازدارنده استولاکنات سینتاز بوده و خاصیت انتخابی دارد که برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ و باریک‌برگ بکار می‌رود (۱۹ و ۳۴). گیاهان زراعی از طریق متابولیسم کردن ایمازتاپیر باعث ایجاد خاصیت انتخابی می‌شوند (۲۸).

سلمه‌تره علف‌هرزی متعلق به خانواده اسفناجیان^۳ و یکی از سمج‌ترین و مشکل‌سازترین علف‌های هرز جهان است (۱۱) و جوانه‌زنی آن نسبت به دیگر علف‌های هرز در دماهای پایین انجام می‌گیرد، از این رو به خاطر سبز شدن زود هنگام قبل از محصول زراعی دارای برتری رقابتی در شروع فصل است (۳۳). سلمه‌تره موجب کاهش عملکرد در بیش از ۴۰ محصول زراعی می‌گردد (۶). از این رو این آزمایش با هدف ارزیابی بهینه‌سازی کارایی علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن و ایمازتاپیر در نتیجه بهره‌گیری از مواد افزودنی در کنترل علف‌هرز سلمه‌تره در شرایط گلخانه‌ای، به‌منظور کاهش خطرات زیست‌محیطی و کاهش مصرف علف‌کش‌های بنتازون+اسیفلورفن و ایمازتاپیر انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر کاربرد مواد افزودنی بر کارایی علف‌کش‌های بنتازون+اسیفلورفن و ایمازتاپیر در کنترل سلمه‌تره دو آزمایش دز پاسخ مجزا بصورت فاکتوریل بر اساس طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در پاییز سال ۱۳۹۵ اجرا شد. تیمار بکار رفته برای هر آزمایش شامل غلظت علف‌کش در هفت سطح (۰، ۲۵/۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد توصیه شده) و ماده افزودنی در سه سطح (روغن منداب، سیتوگیت و بدون روغن) بودند. به‌منظور توزیع مناسب روغن منداب در محلول پاشش علف‌کش و عدم تشکیل میسل، از امولسیون کننده سیتوگیت به مقدار ۵٪ حجمی استفاده شد. مواد افزودنی مورد استفاده به مقدار ۱۰ سی‌سی در لیتر (۱٪ حجم به حجم) به محلول علف‌کش‌ها قبل از پاشش افزوده شدند. به منظور استخراج روغن منداب از بذر

1- Storm

2- Imazethapyr

3- Chenopodiaceae

مذکور استفاده شد

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

به منظور مقایسه اثر اختلاف جابجاشدگی افقی (جابجا شدگی افقی، بیانگر نسبت بین مقادیر علف‌کشی است که منتهی به پاسخ یکسانی می‌شوند) منحنی‌های پاسخ به دز از توانایی نسبی که از رابطه زیر محاسبه می‌شود استفاده شد.

$$R = \frac{ED_{50a}}{ED_{50b}} \quad (3)$$

ED_{50a} نشان‌دهنده دز مؤثر ۵۰ درصد برای تیمار علف‌کش بدون ماده افزودنی و ED_{50b} نشان‌دهنده دز مؤثر ۵۰ درصد برای تیمار علف‌کش علاوه ماده افزودنی است. اگر R برابر ۱ باشد، علف‌کش با و بدون ماده افزودنی دارای توانایی نسبی یکسانی خواهند بود. اگر R بزرگ‌تر از ۱ باشد، استفاده از مواد افزودنی توصیه می‌شود چون کارایی افزایش می‌یابد و اگر کمتر از یک باشد کارایی علف‌کش در حضور ماده افزودنی کاهش می‌یابد (۱۲، ۲۶، ۲۷ و ۲۸).

نتایج و بحث

اثر مواد افزودنی بر کارایی بنتازون+اسیفلورفن در کنترل سلمه‌تره

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون آزمایش، وزن خشک اندام‌های هوایی سلمه‌تره به معادله سیگموئیدی چهار پارامتره مشاهده شد که در حضور روغن گیاهی منداب و میان معدنی سیتوگیت مقادیر پارامترهای ED₅₀ به ترتیب ۵۳/۴۷۸ و ۵۳/۰۶۱ و ED₉₀ به ترتیب ۶۰/۴۴۹ و ۱۰۷/۳۶۹ گرم ماده مؤثر در هکتار و در کاربرد علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن به تنهایی، ED₅₀ و ED₉₀ به ترتیب برابر ۶۸/۹۱۴ و ۱۶۱/۷۶۰ بود. با توجه به داده‌های جدول ۱ مشاهده می‌شود که مقادیر بنتازون+اسیفلورفن مورد نیاز برای ایجاد اثر مشابه در شرایطی که مواد افزودنی بکار می‌رود کمتر از مقادیر علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن مورد نیاز به تنهایی است. بنابراین این نتایج نشان‌دهنده افزایش کارایی علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن در کنترل سلمه‌تره در حضور مواد افزودنی است. مقادیر کمی این افزایش کارایی را می‌توان در مقادیر بیان شده برای توانایی نسبی مشاهده کرد. از آنجایی که افزایش توانایی نسبی به بیش از یک نشان‌دهنده افزایش فعالیت علف‌کشی است بنابراین نتایج این آزمایش افزایش کارایی بنتازون+اسیفلورفن را در کنترل سلمه‌تره در حضور روغن منداب و سیتوگیت نشان می‌دهد. نتایج توانایی نسبی نشان داد که روغن منداب و سیتوگیت بر حسب وزن خشک اندام‌های هوایی کارایی علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن را به ترتیب به اندازه ۱/۲۹ و ۱/۲۸ برابر بهبود داده است، به عبارتی دیگر یک کیلوگرم در هکتار علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن به همراه روغن منداب و سیتوگیت به ترتیب

گیاه منداب به روش روغن‌گیری تحت فشار استفاده شد. ۴ هفته پس از اعمال تیمار، گیاهان از سطح خاک بریده شده و سپس به مدت ۷۲ ساعت در داخل آون با دمای ۷۵ درجه خشک شده و توزین شدند. ریشه‌ها نیز به وسیله شستشوی خاک گلدان‌ها به دقت جمع‌آوری شده و پس از ۷۲ ساعت قرار دادن در آون دارای دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد توزین شدند.

بذور سلمه‌تره به منظور کاهش آلودگی به صورت سطحی با هیپوکلریت سدیم ۵٪ تیمار شدند. به منظور خواب‌شکنی از تیمار اسیدسولفوریک (به مدت ۱ دقیقه) استفاده شد. سپس بذور به مدت ۱۰ دقیقه با آب شیر شسته شدند. پس از تیمار بذرها با اسید سولفوریک غلیظ، به منظور دستیابی به درصد سبز شدن بالا و یکنواختی رشد گیاهچه‌های علف هرز، بذرها ابتدا در سینی‌های کشتی حاوی پیت کشت شدند و به صورت روزانه آبیاری شدند. ۱۰ روز پس از سبز شدن سینی‌های کشت، گیاهچه‌های سبز شده به گلدان‌های ۲ لیتری حاوی خاک و خاک‌برگ منتقل شدند. ۱ هفته پس از انتقال گیاهچه‌ها گیاهان هر گلدان تا رسیدن به ۴ بوته در گلدان تنک شدند (۳۰ و ۳۲). گیاهان در مرحله ۳ تا ۴ برگی کامل با استفاده از سمپاش کتابی مدل ماتابی پلاس با نازل تی جت شماره ۸۰۰۲، تحت تیمار قرار گرفتند. سمپاش با حجم ۲۵۰ لیتر آب در هکتار و فشار ۲ بار کالیبره شد. دمای گلخانه به صورت دمای روزانه ۲۵±۳ و دمای شبانه ۱۵±۳ و رطوبت نسبی نیز ۴۵±۵ تنظیم شده بود.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

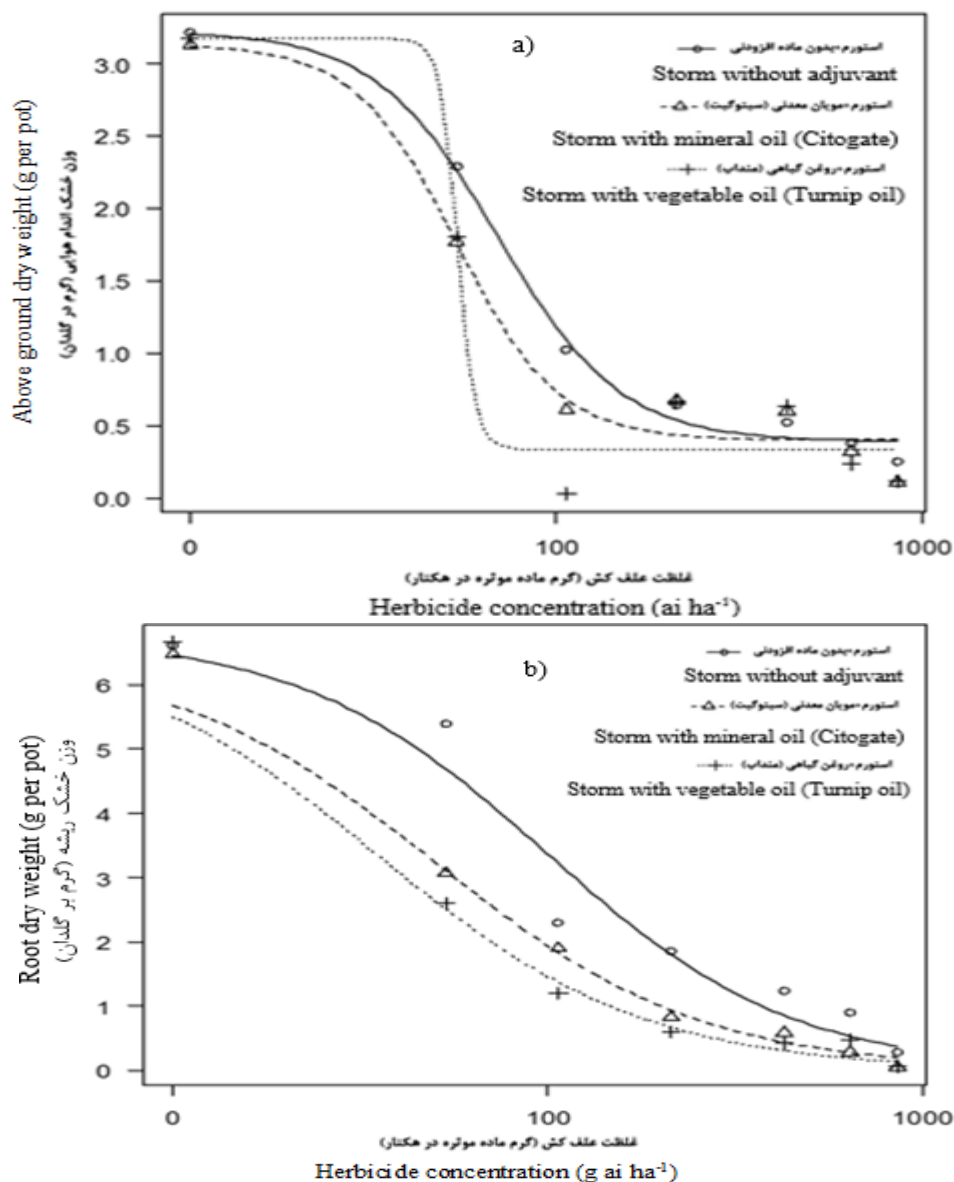
از تکنیک وایازی غیرخطی با استفاده از بسته نرم‌افزاری drc در نرم‌افزار R (ver 2.13) برای تجزیه و تحلیل استفاده شده و از برازش معادله سیگموئیدی چهار پارامتری (معادله ۱) به زیست توده اندام‌های هوایی و ریشه استفاده شد و غلظت‌های علف‌کش برای ۵۰ و ۹۰ درصد بازدارندگی زیست توده (ED₅₀ و ED₉₀) محاسبه و در تحلیل نتایج آزمایش بکار گرفته شد (۲۵، ۲۶، ۲۷ و ۲۸).

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

در این معادله b، شیب منحنی در نقطه e، c حد پایین منحنی تلفات ماده خشک (تلفات زیست توده وقتی که مقدار کاربرد علف‌کش حداکثر است)، e غلظتی از علف‌کش که باعث ۵۰ درصد بازدارندگی رشد می‌شود و d، حد بالای منحنی (زیست توده زمانی که مقدار کاربرد علف‌کش صفر است)، هستند. در مواردی که در معادله چهار پارامتری اثر پارامتر c نظر آماری معنی‌دار نشد آنرا حذف و از معادله سه پارامتری لجستیک (معادله ۲) برای ارزیابی پاسخ زیست توده گیاه

کنترل علف قناری توسط علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل به مقدار ۱/۴۱، ۱/۴۰ برابر، سیکلوکسیدیم به مقدار ۱/۵۳، ۱/۳۸ برابر و دیکلوفوپ متیل به مقدار ۱/۴۴، ۱/۳۲ شد. نتایج این آزمایش همچنین نشان‌دهنده افزایش بیشتر کارایی علف‌کش‌های فوق در صورت کاربرد روغن‌های گیاهی زیتون و کرچک در مقایسه با مویان معدنی فریگیت بود (۲۶).

دارای کارایی برابر ۱/۲۹ و ۱/۲۸ کیلوگرم در هکتار از همین علف‌کش به‌تنهایی برای کنترل سلمه‌تره است. افزایش کارایی بنتازون+اسیفلورفن در کنترل سلمه‌تره در شکل ۱ (a) نیز با توجه به جابجایی افقی منحنی‌ها مشاهده می‌شود. نرم شدن، افزایش نفوذپذیری و همچنین حل شدن کوتیکول در نتیجه کاربرد روغن‌های گیاهی و مویان‌های معدنی منجر به افزایش نفوذ علف‌کش به داخل گیاه شده و در نتیجه باعث افزایش کارایی علف‌کش‌ها می‌شود (۱۰). کاربرد روغن‌های گیاهی زیتون و کرچک منجر به افزایش کارایی



شکل ۱- پاسخ وزن خشک اندام‌های هوایی (a) و ریشه (b) سلمه‌تره به کاربرد علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن با و بدون مواد افزودنی

Figure 1- Above ground and Root dry weight response of *C. album* to applied Bentazon+Acifluorfen herbicide with and without adjuvants

جدول ۱- پارامترهای حاصل از برازش مدل‌های سه و چهار پارامتری سیگموئیدی بر داده‌های وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه سلیمه‌تره و توانایی نسبی علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن
Table 1- Parameters derived from fitting data by three and four parameters sigmoid models on above ground and root dry weight *C. albus* and relative potency of herbicide Bentazon+Acifluorfen

تیمارها Treatment	b	c	d	ED ₅₀ Effect Dose ₅₀	ED ₉₀ Effect Dose ₉₀	توانایی نسبی Relative potency
وزن خشک اندام‌های هوایی سلیمه‌تره Above ground dry weight of <i>C. albus</i>						
بنتازون+اسیفلورفن بدون ماده افزودنی Bentazon+Acifluorfen without adjuvant	2.575 (1.050)*	0.389 (0.158)	3.219 (0.253)	68.914 (10.571)	161.760 (62.335)	1
بنتازون+اسیفلورفن + روغن منداب Bentazon+Acifluorfen with turnip oil	17.928 (13.614)	0.336 (0.114)	3.168 (0.255)	53.478 (2.783)	60.449 (33.201)	1.29
بنتازون+اسیفلورفن + سیتوگیت Bentazon+Acifluorfen with Citogate	3.117 (2.307)	0.399 (0.151)	3.130 (0.254)	53.061 (7.288)	107.369 (54.271)	1.28
وزن خشک ریشه سلیمه‌تره Root dry weight of <i>C. albus</i>						
بنتازون+اسیفلورفن بدون ماده افزودنی Bentazon+Acifluorfen without adjuvant	1.323 (0.212)		6.761 (0.379)	98.568 (13.946)	518.739 (139.321)	1
بنتازون+اسیفلورفن + روغن منداب Bentazon+Acifluorfen with turnip oil	1.228 (0.380)		6.666 (0.393)	35.248 (10.628)	210.780 (3.602)	2.79
بنتازون+اسیفلورفن + سیتوگیت Bentazon+Acifluorfen with Citogate	1.227 (0.273)		6.472 (0.394)	49.655 (10.569)	297.227 (90.927)	1.98

* اعداد داخل پرانتز نشان می‌دهد.

Data in parenthesis show standard error at 5% significance level.

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون آزمایش، وزن خشک ریشه سلمه‌تره به معادله سیگموئیدی سه پارامتره مشاهده شد که در حضور روغن گیاهی منداب و مویان معدنی سیتوگیت مقادیر پارامترهای ED_{50} به ترتیب $۳۵/۲۴۸$ و $۴۹/۶۵۵$ و ED_{90} به ترتیب $۲۱۰/۷۸۰$ و $۲۹۷/۲۲۷$ گرم ماده مؤثر در هکتار بود. در حالی که در کاربرد علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن به تنهایی مقادیر ED_{50} و ED_{90} به ترتیب برابر $۹۸/۵۶۸$ و $۵۱۸/۷۳۹$ بود (جدول ۱) که نشان از افزایش کارایی علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن در کنترل زیست توده تولیدی توسط ریشه سلمه‌تره است. نتایج توانایی نسبی نشان داد که روغن گیاهی منداب بر حسب وزن خشک ریشه کارایی علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن را تقریباً به اندازه $۲/۷۹$ برابر بهبود داده است، به عبارتی دیگر یک کیلوگرم در هکتار علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن به همراه روغن گیاهی منداب دارای کارایی برابر $۲/۷۹$ کیلوگرم در هکتار از همین علف‌کش به تنهایی برای کاهش وزن سلمه‌تره است. جابه‌جایی افقی منحنی‌های پاسخ به غلظت در تیمارهای حاوی مواد افزودنی به سمت چپ نشان داده شده است (شکل ۱ (b)). سیتوگیت نیز منجر به افزایش $۱/۹۸$ برابری کاهش وزن خشک تولیدی بوسیله ریشه سلمه‌تره در مقایسه با کاربرد بنتازون+اسیفلورفن به تنهایی شد. این نتایج می‌تواند بر حساسیت بیشتر ریشه سلمه‌تره در مقایسه با اندام‌های هوایی نسبت به کاربرد علف‌کش‌ها باشد.

از آنجا که علف‌کش بنتازون+اسیفلورفن تماسی و برگ مصرف است، انتقال آن از اندام‌های هوایی به ریشه بسیار کم بوده است. بنابراین مقادیر مورد نیاز برای کاهش زیست توده تولیدی توسط اندام‌های هوایی در سلمه‌تره در مقایسه با ریشه کمتر است. با این وجود مقادیر توانایی نسبی نشان از حساسیت زیاد ریشه به کاربرد مواد افزودنی با بنتازون+اسیفلورفن دارد به طوری که کاربرد مواد افزودنی باعث افزایش کارایی بیشتر در کاهش زیست توده تولیدی بوسیله ریشه در مقایسه با اندام‌های هوایی شده است. حساسیت بیشتر ریشه گیاهان به علف‌کش‌های مختلف گزارش شده است.

اثر مواد افزودنی بر کارایی ایمازتاپیر در کنترل سلمه‌تره

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون آزمایش، وزن خشک اندام‌های هوایی سلمه‌تره به معادله سیگموئیدی ۳ پارامتره مشاهده شد که در حضور روغن گیاهی منداب و مویان معدنی سیتوگیت مقادیر پارامترهای به ترتیب ED_{50} به ترتیب $۸/۳۲۳$ و $۱۳/۶۱۵$ و ED_{90} به ترتیب $۷/۴۵۸$ و $۶۰/۶۵۷$ گرم ماده مؤثر در هکتار بود در حالی که در کاربرد علف‌کش ایمازتاپیر به تنهایی مقادیر ED_{50} و ED_{90} به ترتیب برابر $۱۷/۷۹۸$ و $۷۲/۵۴۶$ بود. غلظت‌های ذکر شده در شرایط کاربرد مواد افزودنی به‌طور قابل‌توجهی کمتر از کاربرد

علف‌کش ایمازتاپیر به تنهایی بود (جدول ۲) که نشان از افزایش کارایی علف‌کش ایمازتاپیر در شرایط کاربرد به همراه مواد افزودنی در کنترل علف‌هرز سلمه‌تره است. از سوی دیگر، توانایی نسبی حاصل از کاربرد علف‌کش ایمازتاپیر در حضور مویان‌های مذکور افزایش قابل ملاحظه‌ای یافت و با توجه به اینکه مقادیر توانایی نسبی در این آزمایش بیشتر از یک شده است نشان می‌دهد که این مواد افزودنی در افزایش کارایی علف‌کش ایمازتاپیر اثر مثبت دارد. یعنی نتایج توانایی نسبی نشان داد که روغن گیاهی منداب بر حسب وزن خشک اندام‌های هوایی کارایی علف‌کش ایمازتاپیر را به اندازه $۲/۱۳$ برابر بهبود داده است، به عبارتی دیگر یک کیلوگرم در هکتار علف‌کش ایمازتاپیر به همراه روغن گیاهی منداب دارای کارایی برابر $۲/۱۳$ کیلوگرم در هکتار از همین علف‌کش به تنهایی برای کاهش وزن خشک اندام‌های هوایی علف‌هرز سلمه‌تره است. شکل ۲ (a) منحنی‌های دز پاسخ را در حضور و عدم حضور مواد افزودنی نشان می‌دهد. جابه‌جاشدگی منحنی‌های تیمارهایی که در آن‌ها مواد افزودنی به کار برده شده نسبت به تیمارهای عدم کاربرد مواد افزودنی به سمت چپ به‌وسیله مواد افزودنی نشان‌دهنده افزایش کارایی ایمازتاپیر در کاهش زیست توده تولیدی توسط اندام‌های هوایی سلمه‌تره است. مشابه این نتایج توسط ایزدی دربندی و همکاران (۱۲) در مورد اثر کاربرد روغن‌های گیاهی بر افزایش کارایی علف‌کش‌های ایمازتامینزمتیل^۱ و سولفوسولفورون^۲ در کنترل یولاف وحشی گزارش شده است.

نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون وزن خشک ریشه سلمه‌تره به معادله سیگموئیدی ۳ پارامتره نشان داد شد که در حضور روغن گیاهی منداب و مویان معدنی سیتوگیت مقادیر پارامترهای ED_{50} به ترتیب $۴/۲۱۴$ و $۵/۹۵۴$ و ED_{90} به ترتیب $۲۸/۷۱۲$ و $۲۹/۷۹۶$ گرم ماده مؤثر در هکتار در مقایسه با کاربرد علف‌کش ایمازتاپیر مقادیر ED_{50} و ED_{90} به ترتیب برابر $۹/۹۲۸$ و $۳۳/۷۴۲$ گرم ماده مؤثره در هکتار برای وزن خشک ریشه سلمه‌تره به‌طور قابل‌توجهی کمتر از کاربرد علف‌کش ایمازتاپیر به تنهایی بود (جدول ۲) که نشان از افزایش کارایی علف‌کش ایمازتاپیر در کنترل علف‌هرز سلمه‌تره است. از سوی دیگر، توانایی نسبی حاصل از کاربرد علف‌کش ایمازتاپیر در حضور مویان‌های مذکور افزایش قابل ملاحظه‌ای یافته است که نشان‌دهنده افزایش فعالیت ایمازتاپیر در کنترل سلمه‌تره است. نتایج توانایی نسبی نشان داد که روغن گیاهی منداب بر حسب وزن خشک ریشه کارایی علف‌کش ایمازتاپیر را تقریباً به اندازه $۲/۳۵$ برابر بهبود داده است. جابه‌جاشدگی منحنی‌های تیمارهایی که در آن‌ها مواد

1- Imazamethabenz Methyl

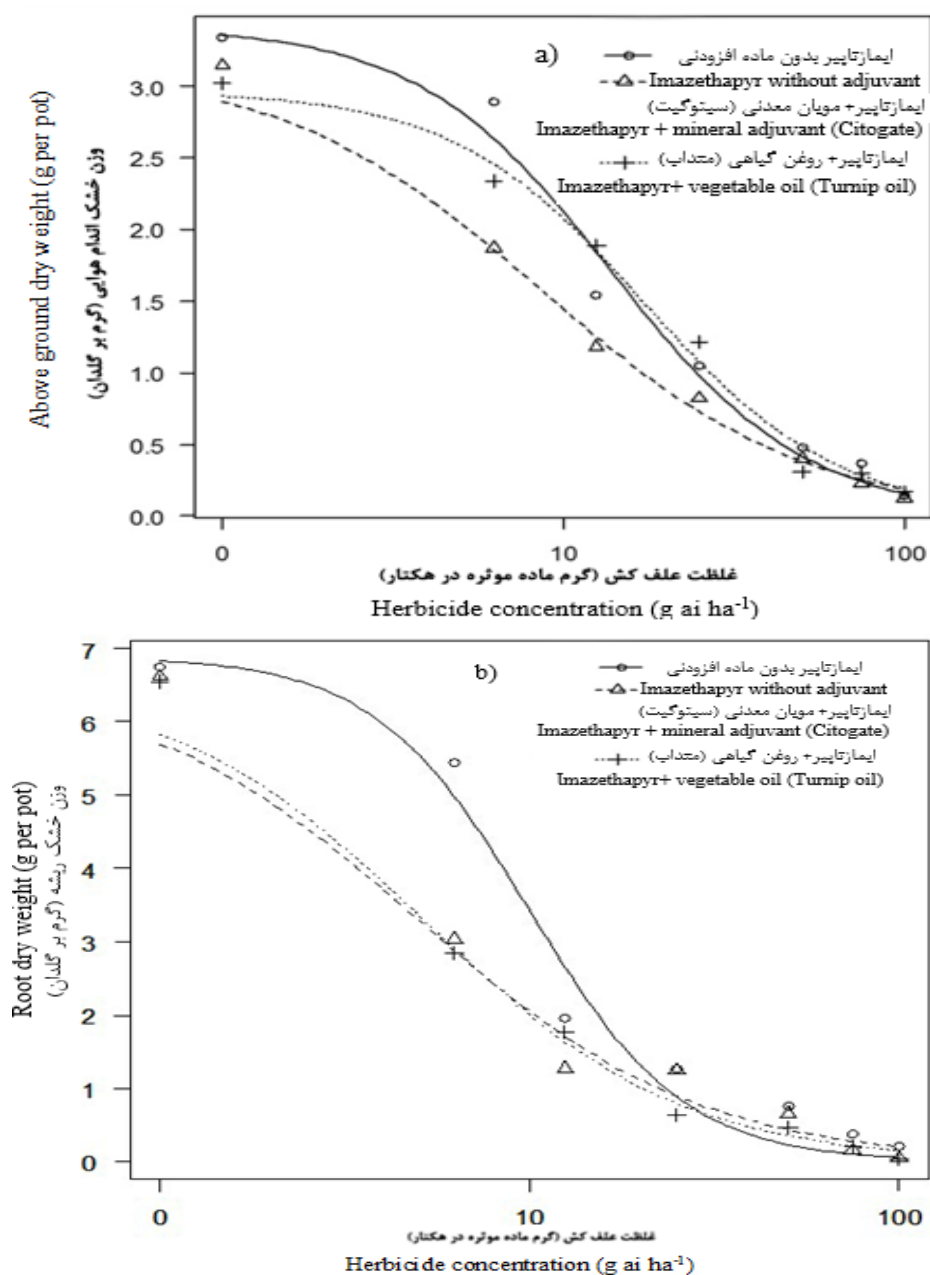
2- Sulfosulfuron

جدول ۲- پارامترهای حاصل از برازش داده‌ها مدل سه پارامتری لگاریتمی sigmoid وزن خشک اندام‌های هوایی سلمه‌تره و توانایی نسبی در تیمارهای مختلف علف‌کش ایمازتاپیر

تیمارها	b	d	ED ₅₀ Effect Dose ₅₀	ED ₉₀ Effect Dose ₉₀	توانایی نسبی Relative potency
وزن خشک اندام‌های هوایی سلمه‌تره Above ground dry weight of <i>C. album</i>					
ایمازتاپیر بدون ماده افزودنی Imazethapyr without adjuvant	1.528 (0.172)*	3.413 (0.142)	17.798 (1.344)	72.546 (12.285)	1
ایمازتاپیر + روغن منداب Imazethapyr with turnip oil	1.534 (0.204)*	2.965 (0.149)	8.323 (2.149)	7.458 (3.602)	2.13
ایمازتاپیر + سیتوگیت Imazethapyr with Citogate	1.125 (0.154)*	3.145 (0.149)	13.615 (1.284)	60.657 (13.936)	1.30
وزن خشک ریشه سلمه‌تره Root dry weight of <i>C. album</i>					
ایمازتاپیر بدون ماده افزودنی Imazethapyr without adjuvant	2.067 (0.463)	6.893 (0.361)	9.928 (0.953)	33.742 (7.260)	1
ایمازتاپیر + روغن منداب Imazethapyr with turnip oil	1.262 (0.289)	6.550 (0.377)	4.214 (1.126)	28.712 (8.659)	2.35
ایمازتاپیر + سیتوگیت Imazethapyr with Citogate	1.144 (0.264)	6.617 (0.376)	5.954 (1.174)	29.796 (10.755)	1.66

* اعداد داخل پرانتز خطای استاندارد را نشان می‌دهد.
Data in parenthesis show standard error at 5% significance level.

افزودنی به کار برده شده نسبت به تیمارهای عدم کاربرد مواد افزودنی به سمت چپ به‌وسیله مواد افزودنی نیز نشان می‌دهد که افزودن مواد افزودنی سبب افزایش کارایی علف‌کش شده است (شکل (b)). بر اساس مطالعات انجام شده بر روی روغن‌ها معلوم شده که در اثر حل کردن کوتیکول و نفوذپذیرتر کردن کوتیکول می‌توانند در جذب علف‌کش نقش مهمی داشته باشند، روغن گیاهی منداب نیز احتمالاً از این طریق توانسته در افزایش کارایی علف‌کش مورد مطالعه تأثیرگذار باشند. در مطالعات قبلی نیز عنوان شده است که مواد افزودنی (روغن‌های گیاهی) موجب کاهش کشش سطحی می‌شوند (۱۳). کاهش کشش سطحی قطره‌های پاشش موجب تولید قطره‌های کوچک‌تری می‌شود و به دلیل اینکه انرژی قطره‌های کوچک‌تر کمتر است، موجب نشست بیشتر پاشش و در نتیجه نشست بیشتر قطره‌های برخورد کرده با سطح برگ و کاهش زاویه تماس قطره با سطح هدف موجب افزایش کارایی فرمولاسیون می‌شود (۲۱). راشد محصل و همکاران (۲۷) در مورد اثر روغن‌های گیاهی بیان کردند که تخریب کوتیکول و یا حل شدن کوتیکول علف‌قناری به‌وسیله روغن‌های گیاهی در مقایسه با عمل کاهش دهنده کشش سطحی آن‌ها در بهبود کارایی علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل^۱ مؤثرتر می‌باشد. در بسیاری از مطالعات روغن‌های گیاهی را در گروه عوامل نفوذدهنده طبقه‌بندی کرده و دلیل اصلی افزایش کارایی علف‌کش‌ها در حضور روغن‌های گیاهی را مربوط به افزایش نفوذ از طریق افزایش ایجاد حالت نرمی، قابلیت ارتجاع و یا حل شدن موم کوتیکولی دانسته‌اند (۲۳ و ۳۰). پژوهش‌های انجام شده توسط راستگو و همکاران (۲۲) بر روی علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل برای کنترل خونی واش و همچنین شریتمداری تهرانی و همکاران (۲۸) بر روی علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل برای کنترل خونی واش نیز مشابه این نتایج را گزارش کردند و نشان دادند که کارایی علف‌کش‌های فوق توسط تمام روغن‌های بکار رفته در مقایسه با تیمار علف‌کش بدون روغن افزایش می‌یابد. کودسک (۱۵) نیز بیان کرد که به‌طور کلی کارایی علف‌کش‌ها با کاربرد روغن‌های گیاهی افزایش می‌یابد. باتینگ و همکاران (۵) و گرین و بستم (۸) بیان داشتند که روغن‌های گیاهی موجب کاهش تبخیر قطره می‌شوند و این امکان را برای قطره علف‌کش فراهم می‌کنند که در فاصله بین نازل و هدف، تبخیر کمتر رخ دهد. این عمل احتمالاً باعث کاهش فرار علف‌کش نیز می‌شود و قطره‌های بیشتری بر روی شاخساره گیاه نشست پیدا خواهند کرد. بنابراین دلایل مختلفی برای افزایش کارایی علف‌کش‌های مختلف در نتیجه کاربرد روغن‌های گیاهی بیان شده است که هر کدام می‌توانند دلیلی بر افزایش کارایی علف‌کش‌ها در کنترل علف‌های هرز در شرایط کاربرد آنها به همراه روغن‌های گیاهی باشد.



شکل ۲- پاسخ وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه سلمه‌تره به کاربرد علف‌کش ایمازتاپیر با و بدون مواد افزودنی
Figure 2- Above ground and Root dry weight response of *C. album* to apply Imazethapyr herbicide with and without adjuvants

زیست‌محیطی ناشی از کاربرد علف‌کش‌ها منجر به ضرورت بهینه‌سازی کاربرد می‌شود. نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد مواد افزودنی سیتوگیت و روغن منداب می‌تواند باعث افزایش کارایی کنترلی علف‌کش‌های بنتازون + اسیفلورفن و ایمازتاپیر در کنترل سلمه‌تره شود. این نتایج همچنین نشان داد که میزان واکنش و حساسیت زیست توده تولیدی ریشه در مقایسه با اندام‌های هوایی در انتهای دوره آزمایش بیشتر است. روغن منداب کارایی بیشتری را در کاهش زیست توده سلمه‌تره نسبت به کاربرد سیتوگیت داشت. به‌طور کلی می‌توان بیان داشت که کاربرد مواد افزودنی سیتوگیت و روغن منداب می‌تواند باعث کنترل مطلوب سلمه‌تره با استفاده کمتر از علف‌کش‌های بنتازون + اسیفلورفن و ایمازتاپیر گردد. البته با توجه به اینکه کارایی علف‌کش‌های بنتازون + اسیفلورفن و ایمازتاپیر در نتیجه حضور روغن منداب بیشتر از سیتوگیت بود و از طرفی دیگر روغن منداب از منابع تجدیدشونده و بدون عوارض زیست‌محیطی است توصیه به کاربرد این نوع روغن به‌عنوان ماده افزودنی می‌شود.

نتایج کارگر و همکاران (۱۴) نشان داد که کاربرد روغن‌های گیاهی منداب و کرچک با غلظت ۲٪ می‌تواند کارایی کنترلی علف‌قناری را به ۱/۵۵ و ۱/۶۸ برابر افزایش دهد. در آزمایشی دیگر کارایی علف‌کش کلودینافوپ پروپارژیل در کنترل علف هرز یولاف و خردل وحشی توسط کاربرد روغن‌های معدنی^۱ افزایش یافت (۱). نتایج برخی پژوهش‌های انجام شده نشان داده است که میزان تأثیر روغن‌های گیاهی به مرحله رشدی علف‌های هرز وابسته است. کاربرد بنتازون به همراه روغن‌های گیاهی در مرحله ۲ تا ۴ برگ منجر به بهبود کارایی در مقایسه با کاربرد در مرحله ۴ تا ۶ برگ می‌شود (۴). افزایش جذب و انتقال علف‌کش‌ها در نتیجه کاربرد موایان‌ها گزارش شده است. موایان‌های غیریونی، روغن بذری اصلاح شده و روغن گیاهی غلیظ می‌تواند باعث افزایش کارایی علف‌کش ایزوکسافلوتول از طریق افزایش جذب با حل کردن موم کوتیکولی و افزایش نفوذپذیری و انتقال با افزایش میزان علف‌کش منتقل شده به مسیرهای انتقال در گیاه شود (۳۵).

نتیجه‌گیری

افزایش نیاز به تولید مواد غذایی از یک‌سو و عوارض

منابع

- 1- Aliverdi A., Rashed Mohassel M.H., Zand E., and Nassiri Mahallati M. 2009. Increased foliar activity of clodinafop propargyl and/or tribenuron-methyl by surfactants and their synergistic action on wild oat (*Avena ludoviciana*) and wild mustard (*Sinapis arvensis*). *Weed Biology and Management* 9: 292–299.
- 2- Barros J.F.C., Basch G., and Carvalho M. 2007. Effect of reduced doses of a post-emergence herbicide to control grass and broad-leaved weeds in no-till wheat under Mediterranean conditions. *Crop Protection* 26: 1538-1545.
- 3- Barroso J., Ruiz D.C., Escribano L., and Fernandez-Quintanilla C. 2009. Comparison of three chemical control strategies for *Avena sterilis* ssp. *ludoviciana*. *Crop Protection* 28: 393-400.
- 4- Bellinder R.R., Arsenovic M., Shah D.A., and Rauch B.J. 2003. Effect of weed growth stage and adjuvant on the efficacy of fomesafen and bentazon. *Weed Science* 51: 1016-1021.
- 5- Bunting J.A., Sprague C.L., and D.E. Riechers. 2004. Proper adjuvant selection for foramsulfuron activity. *Crop Protection* 23: 361-366.
- 6- Crook T.M., and Renner K.A. 1990. Common lambsquarter (*Chenopodium album*) competition and time of removal in soybean. *Weed Science* 38: 358-364.
- 7- Frotan Y. 1993. Safety and hygiene in the production and consumption of agricultural pesticides. Motarjem Press.
- 8- Green J.M., and Beestman G.B. 2007. Recently patented and commercialized formulation and adjuvant technology. *Crop Protection* 26: 320-327.
- 9- Hatzois K.K., and Penner D. 1985. Interaction of herbicides with other agrochemical in higher plants. *Review of Weed Science* 1: 1-63.
- 10- Hazen J.L. 2000. Adjuvants terminology, classification, and chemistry. *Weed Technology* 14: 773-784.
- 11- Holm L.G., Pluknett D.L., Pancho J.V., and Herberger J.P. 1977. *The World's Worst Weeds*. Honolulu, HI: The University Press of Hawaii, 609pp.
- 12- Izadi-Darbandi E., Aliverdi A., and Hammami H. 2013. Behavior of vegetable oils in relation to their influence on herbicides' effectiveness. *Industrial Crops and Products* 44: 712-717.
- 13- Jinxia S. 1996. Characterization of organosilicone surfactants and their on sulfonylurea herbicide activity. Approved: Foy CLC, Grayson RL, Hatzios KK, Hess JL and Orectt DM. Blacksburg. Virginia.

- 14- Kargar M., Rashed-Mohassel M.H., Nezami A., and Izedi Darbandi E. 2011. Optimizing efficacy of Clodinafoppropargyl and Mesosulfuron-Iodosulfuron by adjuvants on littleseed canary grass (*Phalaris minor* Retz.). MSc. Thesis. Ferdowsi University of Mashhad. (In Persian with English abstract)
- 15- Kudsk P. 1992. The effect of adjuvants on the rainfastness of thifensulfuron and tribenuron. In: Adjuvants for Agrichemicals (ed. CL Foy), 441±8. CRC Press, Boca Raton, FL, USA
- 16- Kudsk P. 2008. Optimising herbicide dose: a straightforward approach to reduce the risk of side effects of herbicides. *Environmentalist* 28: 49–55.
- 17- Kudsk P., and Mathiassen S.K. 2007. Analysis of adjuvant effects and their interactions with variable application parameters. *Crop Protecion* 26: 328-334.
- 18- Kudsk P., and Streibig J.C. 2003. Herbicides – a two-edged sword. *European Weed Research Society Weed Research* 43: 90–102.
- 19- Morteza Pour H., Ovissi M., Wazan S., and Zand A. 2009. Modeling on interactions of imazetapyr herbicide and planting density on soybean yield. *Iranian Journal of Weed Knowledge* 6(2): 1-11.
- 20- Monaco T.J., Weller S.C., and Ashton F.M. 2002. *Weed Science: Principles and Practices*. 4th ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- 21- Penner D. 2000. Activator adjuvant. *Weed Technology* 14: 785-791.
- 22- Rastgoo M., Kargar M., and Asadollahi H. 2015. Investigating the possibility of decreasing the use of haloxyfop-R-methyl ester herbicides using vegetable oils in Canary grass control (*Phalaris minor* Retz). *Agriculture Journal* 106: 161-153.
- 23- Ramsey R.J.L., Stephenson G.R., and Hall J.C. 2005. A review of the effects of humidity, humectants, and surfactant composition on the absorption and efficacy of highly water-soluble herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 82: 162–175.
- 24- Rashed Mohassel M.H., and Husseini S.A. 2008. Expanding the context of weed management. Ferdowsi University of Mashhad Press.
- 25- Rashed- Mohassel M.H., Rastgo M., Mousavi S.K., Valiollahpour R., and Haghighi A. 2006. Principles of weed science (translation). Ferdowsi University of Mashhad Press. (In Persian)
- 26- Rashed-Mohassel M.H., Aliverdi A., Hamami H., and Zand E. 2010. Optimizing the performance of diclofopmethyl, cycloxydim, and clodinafop-propargyl on littleseed canarygrass (*Phalaris minor*) and wild oat (*Avenaludoviciana*) control with adjuvants. *Weed Biology and Management* 10: 57–63.
- 27- Rashed-Mohassel M.H., Aliverdi A. and Rahimi S. 2011. Optimizing dosage of sethoxydim and fenoxaprop-pethyl with adjuvants to control wild oat. *Industrial Crops and Products* 34: 1583-1587.
- 28- Saremi H., and Zand E. 2003. Fungi and biological control pests, pathogens, herbs. Zanzan University Publication, 142.
- 29- Shariatmadari Tehrani M., Nabavi Kalat S.M., Bazobindi M.F., Hammami H., and Ali Verdi A. 1393. Optimization of clodinafop efficiency in control of canary grass (*Phalaris minor* Retz) by vegetable oils. *Journal of Plant Protection (Science and Technology of Agriculture)* 28: 183-171.
- 30- Sharma S.D., and Singh M. 2000. Optimizing foliar activity of glyphosate on *Bidens frondosa* and *Panicum maximum* with different adjuvant types. *Weed Research* 40: 523-533.
- 31- Steinbauer G.P., and Grigsby B. 1959. Methods of obtaining field and laboratory germination of seeds of bindweeds, lady's thumb, and velvetleaf. *Weeds Science* 7: 41-46.
- 32- Stenersen J. 2004. Chemical pesticides: mode of action and toxicology. CRC Press. www.crcpress.com.
- 33- Weaver S.E., Tan C.S., and Brain P. 1988. Effect of temperature and soil moisture on time of emergence oftomatoes and four weed species. *Canadian Journal of Plant Science* 68: 877–886.
- 34- WSSA Herbicide Handbook, 7th ed. 1994. Champaign, IL: Weed Science Society of America. 313p.
- 35- Young B.G., and Hart S.E. 1998. Optimizing foliar activity of isoxaflutole on giant foxtill (*Setaria faberi*) with various adjuvants. *Weed Science* 46: 397-402.
- 36- Zand E., Mousavi S.K., and Heidari A. 2008. Herbicides and their application methods with optimization approach and reduce consumption. Jihad, Mashhad University Press. (In Persian)



Optimizing the Performance of Bentazon+Acifluorfen and Imazethapyr on *Chenopodium album* L. (Common Lambsquarter) Control by Adjuvants

S. Abu-ali¹- S. Mahmoodi²- H. Hammami^{3*}

Received: 29-04-2018

Accepted: 30-01-2019

Introduction: Weed management is one of the most important aspects of successful crop production for supplying food for the rising population. *Chenopodium album* L. (common lambsquarter) is among the most noxious weeds in the world due to its superior biology and tremendous ecological adaptations. It causes substantial yield losses in different field crops including potato, tomato, soybean, alfalfa, watermelon, sugar beet, and so on. Therefore, management of *C. album* L. is crucial for optimum crop production. Chemical management is a very relevant method for controlling *C. album*. For decreasing costs of production, adverse and edge effects of the herbicide, optimizing herbicides performance is very essential. It seems that the use of adjuvants is the best solution method to achieve optimizing herbicides performance. Using a proper adjuvant may be affected the performance and fate of herbicide in the environment and finally may be restrict introduced to the food chain. Therefore, using proper adjuvants known as a key point in adjuvants applying technology. This study was conducted for evaluating adjuvants effects on *C. album* control by Bentazon+Acifluorfen and Imazethapyr herbicides.

Materials and Methods: In order to study the effects of adjuvants on the performance of Bentazon+Acifluorfen and Imazethapyr on *C. album* control two separated experiments as factorial based on completely randomized design were conducted in the research greenhouse of Faculty of Agriculture, University of Birjand in 2016. Treatments included herbicide concentration at seven levels (0, 6.25, 12.5, 25, 50, 75 and 100 % of recommended dose) and adjuvant at three levels (turnip oil, citogate and without adjuvants) with four replications. For increasing seed germination and breaking seed dormancy of *C. album*, the seeds treated by sulfuric acid for 1 min, and then seeds washed with tap water for 10 min. Then the seeds were sown in potting trays (3 cm × 3 cm × 5 cm) filled with moistened peat. One week after sowing, at the one-leaf seedlings stages, they were transplanted to 2-L plastic pots filled with a mixture of sand, clay loam soil, and peat (1:1:1; v/v/v). The pots were sub-irrigated every two days. The seedlings were thinned to four per pot at the two-leaf stage. The spray was done at the four-leaf stage (Four weeks after sowing) by using a chargeable sprayer equipped with an 8002 flat fan nozzle tip delivering 250 L ha⁻¹ at 2 bar spray pressure. Four weeks after spraying, the above ground tissue and roots of plant were harvested, oven dried and weighted.

Results and Discussion: The results of these experiments showed that the use of additives, especially turnip oil, increased the efficacy of Bentazon+Acifluorfen and Imazethapyr herbicides in control of *C. album*. Turnip oil and citogate increased the efficiency of Bentazon+Acifluorfen and Imazethapyr in reducing the production of by *C. album* above ground tissue 1.29, 1.28, 2.13, and 1.30 times, respectively. However, these values were equal to 2.79, 1.98, 2.35, and 1.66 times for reducing the root biomass of *C. album*. The results of this study also showed that the root was more susceptible to herbicides in the presence of adjuvants. Increasing Bentazon+Acifluorfen and Imazethapyr herbicides concentrations led to decreased dry biomass produced by *C. album*. Turnip oil compared to citogate showed high efficiency for improving Bentazon+Acifluorfen and Imazethapyr performance. The results of this study showed a similar trend with other scientific reports including Rashed mohassel et al (26) that reported the high efficiency of herbicides for controlling canary grass (*Phalaris minor* Retz.) in the presence of vegetable oils compared with mineral oils.

Conclusion: The result of this study showed different response of Bentazon+Acifluorfen and Imazethapyr to turnip oil and Citogate adjuvants. Therefore, applied proper herbicide adjuvant is a key factor in chemical weed management because this factor reduces herbicide rates for similar weed response. Using proper adjuvants may

1, 2 and 3- Former M.Sc. Student, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran, Respectively

(*- Corresponding Author Email: Hhammami@birjand.ac.ir)

be increased herbicide performance more than other adjuvants. Moreover, results of these experiments revealed that root response was more than above ground tissue response to Bentazon+Acifluorfen and Imazethapyr herbicides in the presence of adjuvants.

Keywords: Adjuvants, Broadleaf, Effective dose, Greenhouse, Relative potency

بررسی پویایی خواب و جوانه‌زنی بذر علف‌هرز چوچاق در پاسخ به دوره‌های دفن در خاک

محمد لطفی اصل گیگلو^۱ - مصطفی اویسی^{۲*} - حمید رحیمیان مشهدی^۳ - بهناز پورمراد کلیر^۴ - محمدحسین نعیمی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۵

چکیده

به منظور بررسی اثر دما و نور بر سرعت و درصد نهایی جوانه‌زنی بذر علف‌هرز چوچاق (*Eryngium caeruleum* L.) آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل هفت سطح دمایی آزمون جوانه‌زنی (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد)، شرایط نوری در زمان آزمون جوانه‌زنی (نور و عدم وجود نور) و دوره‌های دفن در در عمق ۵ سانتی‌متری خاک (۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ روز) بودند. نتایج نشان داد سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر دما و شرایط نوری قرار گرفت. سرعت جوانه‌زنی با افزایش دما تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد، افزایش و در دماهای بالاتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت. در طول زمان دفن پارامترهای دمایی پایه (T_b)، دمای بهینه (T_o) و دمای سقف (T_c) تحت تأثیر زمان دفن و شرایط نوری در زمان آزمون جوانه‌زنی قرار داشتند. به‌طور کلی با افزایش طول دوره دفن، دمای پایه و دمای بهینه جوانه‌زنی کاهش و دمای سقف افزایش یافت. با افزایش مدت زمان دفن بذر، پارامترهای حداکثر سرعت جوانه‌زنی (G_{max}) و سطح بیداری بذر (a_i)، صرف نظر از وجود و یا عدم وجود نور در زمان آزمون جوانه‌زنی، به‌صورت خطی افزایش یافتند. نتایج بدست آمده از این تحقیق به تکمیل اطلاعات موجود در مورد زیست‌شناسی و عوامل مؤثر بر جوانه‌زنی بذر گیاه چوچاق و در نتیجه پیش‌بینی دامنه سازگاری و پراکندگی این گیاه در زیستگاه‌ها کمک می‌کند. از این اطلاعات می‌توان به عنوان ابزار تصمیم‌گیری مدیریتی این علف‌هرز استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: پارامترهای دمایی جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص سطح بیداری، شرایط نوری

مقدمه

محسوب می‌شود، که ضمن رقابت با محصولات زراعی با توجه به ساقه‌های چوبی و گل‌های تیغ‌دار مشکلاتی را در برداشت ایجاد می‌کند و خسارت زیادی به محصولات زمستانه و مزارع صیفی‌جات وارد می‌نماید. با این وجود اطلاعات زیادی در ارتباط با واکنش جوانه‌زنی آن به دما و شرایط نوری و تاریکی وجود ندارد. جوانه‌زنی بذر جزو مهم‌ترین فرایندها برای موفقیت یک علف‌هرز است زیرا اولین مرحله شروع رقابت در یک آشیان اکولوژیک می‌باشد (۶). علی‌رغم خسارت این علف‌هرز در مزارع صیفی و سبزیجات و توان بالای پراکنش آن، اطلاعات مدون علمی راجع به اکولوژی و بیولوژی آن در دسترس نیست. شناخت اکولوژی جوانه‌زنی و سبز شدن علف‌هرز چوچاق نقش بسزایی در مدیریت و کنترل درازمدت آن خواهد داشت. عوامل محیطی متفاوتی از جمله دما و نور بر خواب و جوانه‌زنی بذر تأثیر می‌گذارند (۷). دماهای بهینه برای جوانه‌زنی شامل دماهای پایه، حداکثر و مطلوب هستند که در دمای مطلوب سریع‌ترین جوانه‌زنی رخ می‌دهد اما در دماهای پایین‌تر از دمای پایه و بالاتر از دمای حداکثر جوانه‌زنی رخ نمی‌دهد. میزان حساسیت به نور به شرایطی که بذر پیش از جوانه‌زنی آن را تجربه کرده است مرتبط است. همچنین طول موج،

جنس *Eryngium* از خانواده پتریان (Apiaceae) تقریباً دارای ۲۵۰ گونه است که در آسیا، اروپا، شمال آفریقا، شمال و جنوب آمریکا و استرالیا گسترش یافته‌اند (۱۷). گونه‌های مختلفی از این جنس در طیف وسیعی از شرایط محیطی ایران، از نواحی نیمه خشک تا معتدل حضور دارند. چوچاق با نام علمی *Eryngium caeruleum* L. جمله گیاهان علفی چندساله است (۱۲) که بومی شمال ایران است. ریشه، ساقه، برگ و گل‌آذین این گیاه خاصیت دارویی دارند و برگ‌های آن به علت خوش طعم و معطر بودن در طبخ غذاهای محلی کاربرد دارد (۵). با این حال این گیاه در مراحل پیشرفت رشد به عنوان علف‌هرز مطرح بوده و علف‌هرز مزارع، حاشیه مزارع و کنار جاده‌ها

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار، استاد، دانشجوی دکتری و دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

(Email: moveisi@ut.ac.ir)

DOI: 10.22067/jpp. v33i1.71492

(*)- نویسنده مسئول:

شدت نور و دوره قرارگیری در معرض نور، اثر تعیین کننده‌ای بر خواب بذر دارند (۹). بذر بسیاری از علف‌های هرز مانند خرگوشک، ترشک و آلاله در نور و بذر عده ای دیگر مانند تاتوره و پیاز وحشی در تاریکی جوانه می‌زنند و بسیاری دیگر مانند خرفه، قیاق و تاج‌خروس برای جوانه‌زنی مستقل عمل کرده و نیاز به نور یا تاریکی ندارند (۱۷). در تحقیقی بر روی ۴۵ گونه علفی مشخص شد که نور، جوانه‌زنی ۱۶ گونه را تقویت و ۱۳ گونه را متوقف کرد. ۱۳ گونه نیز واکنشی به نور و تاریکی نشان ندادند (۱). در آزمایشی میلیبرگ و همکاران (۱۱) با ارزیابی ۴۴ گونه گیاهی که اکثر آن‌ها علف‌هرز مزارع بودند، دریافتند جوانه‌زنی ۲۴ گونه با قرارگرفتن در معرض نور به مدت پنج ثانیه، بهبود یافت. برخورداری از نیاز نوری به‌عنوان شاخصی در جهت نشان دادن سطح خواب بذر مطرح می‌باشد (۲). بنابراین دست‌ورزی نور محیط در شرایط مزرعه‌ای، ابزاری بالقوه در مدیریت جوانه‌زنی و کنترل بذرهای فتوبلاستیک به‌شمار می‌رود.

شناخت اکولوژی جوانه‌زنی و سبز شدن علف‌های هرز نقش بسزایی در مدیریت و کنترل دراز مدت آن‌ها خواهد داشت. با توجه به اهمیت خواب بذر در گسترش زمانی و مکانی و مدیریت علف‌های هرز، این تحقیق با هدف درک ارتباط نور و دما به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی مؤثر در تحریک جوانه‌زنی علف‌هرز چوچاق طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در سال ۱۳۹۵ انجام شد.

جدول ۱- موقعیت جغرافیایی و شرایط آب و هوایی محل‌های نمونه‌برداری بذر
Table 1- Geographical and weather parameters of seed sampling locations

محل نمونه‌برداری Sampling site	موقعیت جغرافیایی Coordinate	ارتفاع از سطح دریا (متر) Height (m)	میانگین بارندگی سالانه (میلی‌متر) Average rainfall (mm)	میانگین دمای سالانه (درجه سانتی‌گراد) Average temperature (°C)
تنکابن Tonekabon	36°45'N; 51°12'E	20	1100-1500	16
قائم‌شهر Qaemshar	36°28'N; 52°53'E	15/7	725	16/7

فاکتورهای آزمایشی شامل هفت سطح دمای آزمون جوانه‌زنی (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد)، شرایط نوری در زمان آزمون جوانه‌زنی (نور و عدم وجود نور) و دوره‌های دفن در عمق ۵ سانتی‌متری خاک (۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ روز) بودند. بذرهای گیاه چوچاق در آذرماه ۱۳۹۴ از شهرهای تنکابن و قائم‌شهر (موقعیت جغرافیایی و شرایط آب و هوایی محل‌های نمونه‌برداری در جدول ۱ آورده شده است) از گیاهانی که بطور طبیعی به بلوغ رسیده و در مرحله رسیدگی کامل بودند جمع‌آوری گردیدند و تا زمان اجرای آزمایش در داخل نایلون پلاستیکی در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس بذرها به مدت شش ماه (از تیرماه تا آذرماه ۱۳۹۵) در خاک در شرایط محیطی در عمق پنج سانتی‌متری در درون کیسه‌های توری دارای منافذ ریز، دفن شدند و به فواصل یک ماهه از خاک خارج و در دو حالت نور ($Osram, L 18 W/77, 20 \mu mol m^{-2} s^{-1}$) و تاریکی در هفت سطح دمایی قرار داده شدند. برای این منظور بذرها به مدت ۱۴ روز به‌صورت پیوسته در داخل ژرمیناتور قرار گرفتند و پتری‌دیش‌هایی که تحت تیمار تاریکی قرار داشتند برای جلوگیری از دریافت نور در ژرمیناتور، با فویل آلومینیومی احاطه شدند. خصوصیات کیسه‌های پارچه‌ای به‌گونه‌ای بود که بذر را به‌خوبی در معرض رژیم‌های دمایی و رطوبتی و همچنین محیط شیمیایی خاک قرار می‌داد، ضمن اینکه بذر از آن‌ها خارج نمی‌شد. محتویات هر کیسه از تکرار مربوط به آن، در پتری دیش قرار داده شد. با توجه به تعداد بذرهای لازم برای هر پتری دیش، احتمال از دست رفتن بذر در مراحل مختلف دفن، استخراج و سایر دست‌ورزی‌ها، تعداد ۱۰۵۰ عدد بذر درون هر کیسه قرار داده شد. ضمن اینکه به منظور سهولت استخراج بذرها به هر کیسه یک نخ دوخته شده و بر روی سطح خاک قرار داده شدند.

جوانه‌زده در هر ماه ۱۴ روز به طول انجامید. در هر بار بذرهای جوانه زده پس از مشاهده و شمارش حذف می‌شدند. معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به اندازه‌ی دو میلی‌متر یا بیشتر بود (۱۵).

صفات مورد بررسی در این آزمایش، درصد و سرعت جوانه‌زنی بودند. به منظور انجام آزمون جوانه‌زنی در هر پتری‌دیش ۲۵ عدد بذر کشت گردید و هر ماه بذور جوانه زده شمارش شدند که شمارش بذور

بررسی میزان خطا و دقت برازش مدل استفاده شدند.

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n e_i^2}$$

فرمول (۳)

نتایج و بحث

پاسخ سرعت و پارامترهای دمایی جوانه‌زنی در شرایط نوری و تاریکی به مدت زمان دفن در خاک در دماهای مختلف

بر اساس نتایج تجزیه واریانس تمامی اثرات ساده و متقابل تیمارها بر روی سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. سرعت جوانه‌زنی در مقابل دما با استفاده از مدل دوتکه‌ای بررسی و پارامترهای دمایی جوانه‌زنی: T_c , T_o , T_b ، شاخص حداکثر سرعت جوانه‌زنی (G_{max}) و شاخص بیداری (ai^y)، در تیمارهای مختلف شرایط نوری و تاریکی محاسبه شدند (جدول ۲).

سرعت جوانه‌زنی در شرایط تاریکی و ۳۰ روز دفن در خاک با افزایش دما تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد از حدود صفر بذر/روز به حدود ۰/۸ بذر/روز رسید اما با اعمال دماهای بالاتر کاهش یافت و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد این مقدار به حدود صفر بذر/روز رسید. با افزایش دما تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد این روند تغییری نکرد و در همان مقدار صفر ثابت باقی ماند. چنین روندی در شرایط دفن بذرها به مدت ۶۰ روز هم مشاهده شد به گونه‌ای که سرعت جوانه‌زنی در این شرایط با افزایش دما تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد از حدود صفر بذر/روز به حدود ۱/۴ بذر/روز رسید اما با اعمال دماهای بالاتر کاهش یافت، بطوری‌که در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به حدود صفر بذر/روز رسید و با افزایش دما تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد نیز تغییری نکرد و در همین مقدار صفر باقی ماند. در مدت زمان‌های دفن بیشتر از ۶۰ روز سرعت جوانه‌زنی با افزایش دما تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد از حدود ۰/۳ بذر/روز به حدود ۰/۴ بذر/روز رسید اما با اعمال دماهای بالاتر کاهش یافت و به حدود ۰/۴ بذر/روز رسید (شکل ۱).

سرعت جوانه‌زنی (Vg) برحسب تعداد بذر در روز، از فرمول زیر (فرمول ۱) به‌دست آمد (Maguire, 1962):

$$Vg = \sum \frac{Ni}{Di} \quad \text{فرمول (۱)}$$

که در این فرمول Ni تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز، و Di شماره ی آن روز می‌باشند.

قبل از انجام آنالیزهای آماری، نرمالیتی داده‌های درصد و سرعت جوانه‌زنی، با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16 بررسی گردید و با توجه به نرمال بودن داده‌ها بر روی آن‌ها تبدیل داده انجام نگرفت. آنالیز واریانس داده‌ها به منظور بررسی اثر تیمارهای مختلف بر درصد نهایی جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی، با استفاده از نرم افزار R انجام شد. با توجه به معنی‌دار شدن اثرات متقابل، برای آنالیز این اثرات از تجزیه رگرسیونی استفاده شد. به منظور بررسی سرعت جوانه‌زنی در مقابل دما از مدل دوتکه‌ای در تیمارهای نور و دماهای متناوب استفاده شد که این کار از طریق نرم‌افزار سیگماپلات انجام گرفت و نمودارهای مربوطه در این نرم افزار رسم شد. مدل دوتکه‌ای (۱۵) عبارت است از:

$$f(T) = \frac{(T - T_b)}{(T_o - T_b)} \quad \text{if } T_b < T \leq T_o \quad \text{فرمول (۲)}$$

$$f(T) = \left[\frac{1 - (T - T_o)}{(T_c - T_o)} \right] \quad \text{if } T_o < T < T_c$$

$$f(T) = 0 \quad \text{if } T \leq T_b \text{ or } T \geq T_c$$

پارامترهای دمایی جوانه‌زنی برای تیمارهای مختلف نور و دماهای متناوب محاسبه شد. این پارامترها عبارتند از: G_{max}^1 (حداکثر سرعت جوانه‌زنی)، T_b^2 (دمای پایه برای جوانه‌زنی)، T_o^3 (دمای بهینه‌ی جوانه‌زنی) و T_c^4 (دمای سقف جوانه‌زنی). مقادیر پارامترهای مربوط به دمای پایه شامل بالاترین دمای پایه ثبت شده در کمترین مدت زمان دفن (a)، شیب خط (b)، مدت زمان دفن لازم برای کاهش دمای پایه به میزان ۵۰ درصد مقدار پارامتر a (X_0) و همچنین مقادیر پارامترهای مربوط به دمای سقف شامل بالاترین دمای سقف ثبت شده در کمترین مدت زمان دفن (a)، شیب خط (b)، مدت زمان دفن لازم برای کاهش دمای سقف به میزان ۵۰ درصد پارامتر a (X_0) و حداقل مقدار دمای سقف (y_0) نیز در شرایط تاریکی و نور محاسبه شدند. همچنین فاصله‌ی بین دمای پایه تا دمای سقف ($T_c - T_b$) برای تیمارهای مختلف محاسبه شد که نشان دهنده‌ی بازه‌ی دمایی برای جوانه‌زنی می‌باشد. پارامتر $G_{max} \times (T_c - T_b)$ نیز به‌عنوان سطح زیر منحنی سرعت جوانه‌زنی، که نشان دهنده‌ی سطح بیداری بذور می باشد محاسبه شد. همچنین شاخص‌های $RMSE^5$ و R^2^6 برای

- 1- Maximum germination rate
- 2- Base temperature
- 3- Optimum temperature
- 4- Ceiling temperature
- 5- Root mean square error

6- Coefficient of determination
7- Awakens index

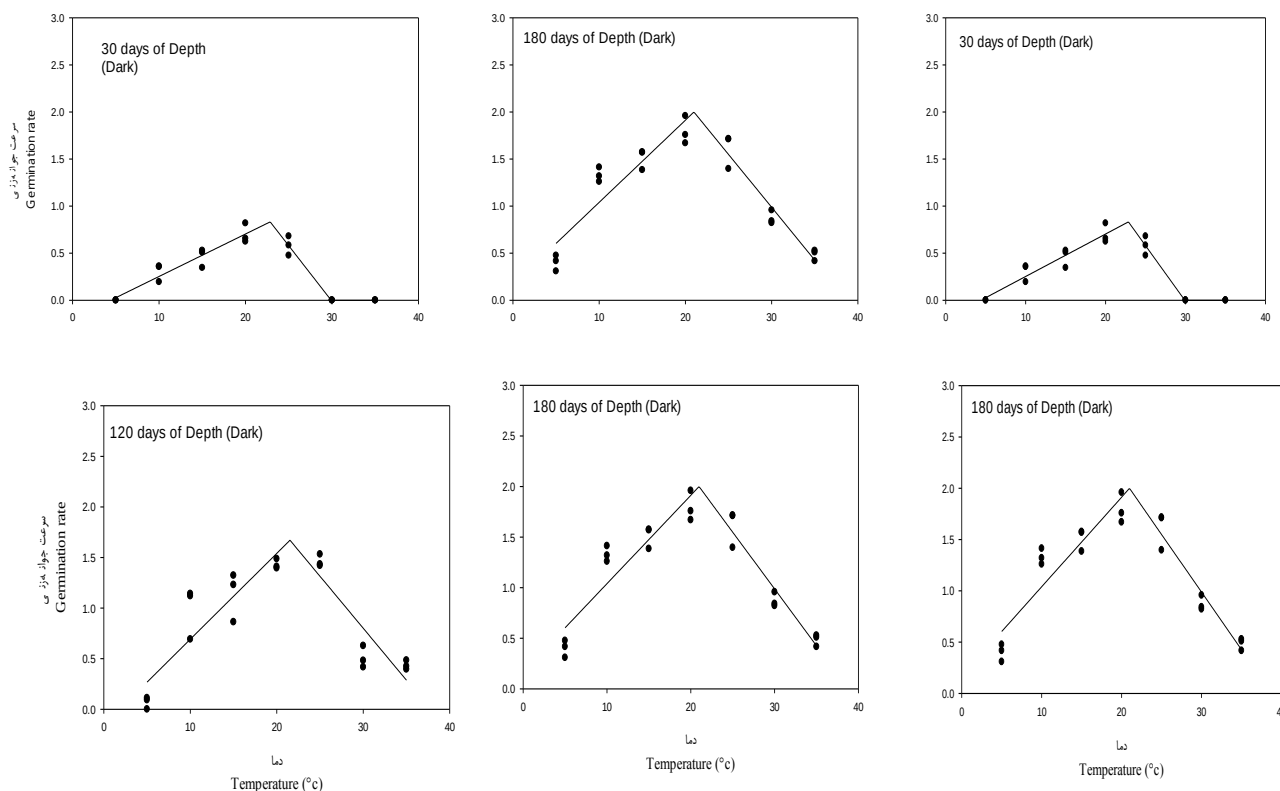
جدول ۲- پارامترهای دمایی جوانه‌زنی و شاخص‌های حداکثر سرعت جوانه‌زنی (G_{max}) و بیداری (ai) بذور دفن شده چوچاق در خاک در شرایط وجود و عدم وجود نور

Table 2- Thermal parameters of germination, maximum germination rate and awakens index of burial seeds of *Eryngium caeruleum* in soil based on light and dark conditions

شرایط نوری Light condition	مدت دفن (روز) Burial duration (day)	دمای پایه (°C) Base temperature (T_b)	دمای بهینه (°C) Optimum temperature (T_o)	دمای سقف (°C) Ceiling temperature (T_c)	حداکثر سرعت جوانه‌زنی Maximum germination rate (G_{max})	شاخص بیداری Awakeness index (ai)	RMSE
D	30	4.39	22.86	30	0.83	21.25	0.07
D	60	4.81	23.65	29.59	1.33	32.95	0.09
D	90	3.76	20.56	36.66	1.27	41.78	0.13
D	120	1.84	21.53	37.79	1.67	60.03	0.25
D	150	1.51	18.74	38.01	1.81	66.06	0.21
D	180	0	20.99	38.79	2	77.58	0.19
L	30	4.29	23.41	28.31	1.21	29.06	0.06
L	60	2.95	23.11	29.08	1.56	40.76	0.12
L	90	2.29	20.61	36.93	1.64	56.80	0.21
L	120	0.57	20.86	38.26	1.98	74.62	0.25
L	150	0	16.99	41.14	2.34	96.26	0.23
L	180	0	21.22	42.87	2.43	104.17	0.28

D: شرایط تاریکی، L: شرایط نوری ($20 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)

D: Dark, L: Light ($20 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)

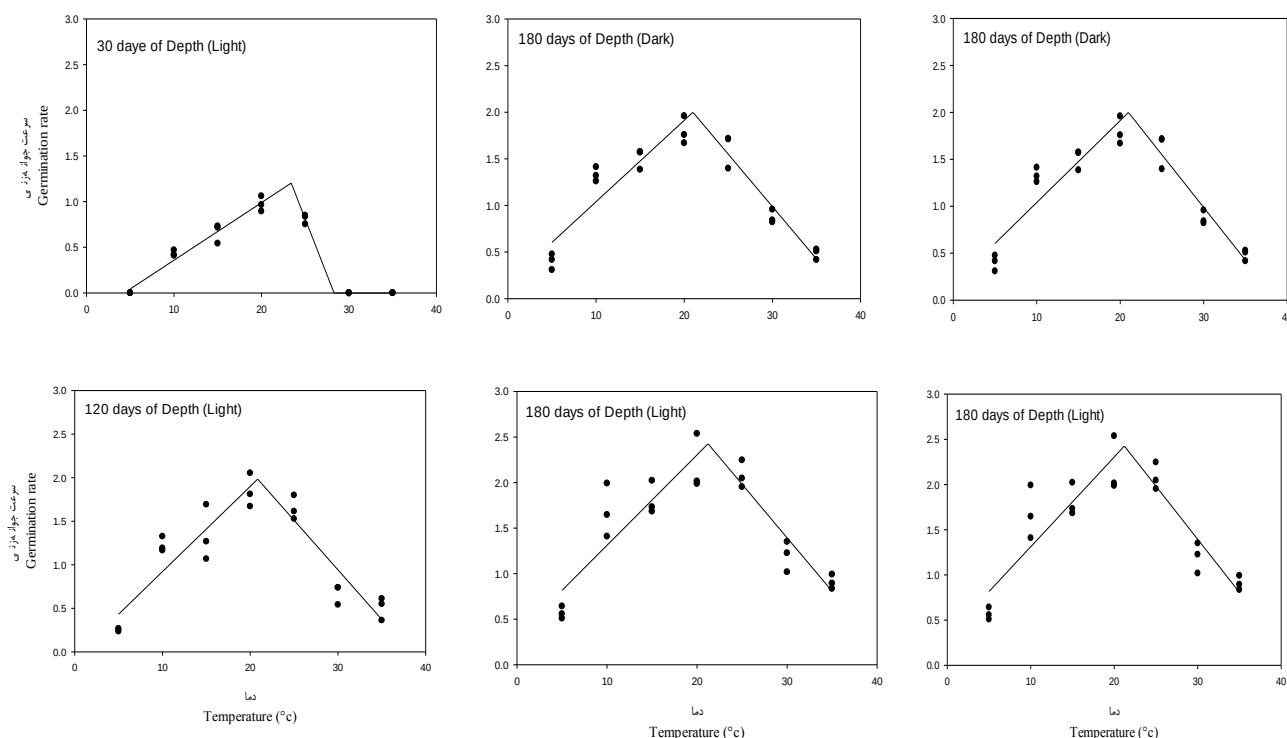


شکل ۱- برازش مدل دوتکه‌ای سرعت جوانه‌زنی (بذر/روز) بذور چوچاق در مقابل دما با افزایش مدت زمان دفن در شرایط تاریکی

Figure 1- Segmented model of seeds germination rate of *Eryngium caeruleum* to temperature with increasing burial duration in dark conditions

درجه سانتی‌گراد سرعت جوانه‌زنی کاهش چشمگیری را نشان داد و به حدود یک بذر/روز کاهش یافت (شکل ۲). این موضوع نشان دهنده این است که در دماهای بالاتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد نور به عنوان محرک جوانه‌زنی عمل نکرده و در واقع بذور جمعیت‌های بررسی شده این گیاه در آزمایش حاضر، به علت رشد در نواحی ای با میانگین دمای ۱۶ درجه سانتی‌گراد سازگاری بیشتری با دماهای کمتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد دارند.

سرعت جوانه‌زنی در شرایط وجود نور و ۳۰ روز دفن در خاک با افزایش دما تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد به حدود ۱/۱ بذر/روز افزایش پیدا کرد ولی با افزایش بیشتر دما تقریباً روند مشابهی با شرایط تاریکی نشان داد و به حدود صفر بذر/روز کاهش یافت. در دماهای بالاتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش مدت زمان دفن از ۶۰ روز به ۱۸۰ روز با افزایش دما تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد سرعت جوانه‌زنی از حدود ۱/۴ بذر/روز به حدود ۲/۵ بذر/روز رسید که نسبت به شرایط تاریکی در حدود ۰/۵ بذر/روز افزایش نشان داد. با اعمال دماهای بالاتر از ۲۰

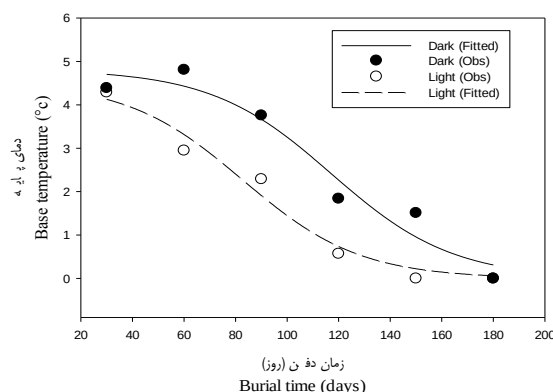


شکل ۲- برازش مدل دوتکه‌ای سرعت جوانه‌زنی (بذر/روز) بذور چوچاق در مقابل دما با افزایش مدت زمان دفن در شرایط نوری

Figure 2- Segmented model of seeds germination rate of *Eryngium caeruleum* to temperature with increasing burial duration in light conditions

دمای پایه در کمترین مدت زمان دفن، در شرایط عدم وجود نور ۱۱۷ روز و در شرایط وجود نور ۸۲ روز بود (جدول ۳). دمای بهینه در هر دو شرایط تاریکی و نوری باگذشت زمان کاهش یافت اما سرعت کاهش در حالت تاریکی بیشتر از حالت نوری بود. باگذشت زمان دمای ایتیمم در شرایط نوری از ۲۳/۵ درجه سانتی‌گراد به ۲۱/۲ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی از حدود ۲۳ درجه سانتی‌گراد به حدود ۲۱ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت (شکل ۴).

با توجه به نتایج به‌دست آمده، به‌طور کلی در شرایط وجود نور دمای پایه جوانه‌زنی (T_b) پایین و در شرایط تاریکی بالاتر بود. این امر نشان دهنده تأثیر مثبت نور بر جوانه‌زنی و شروع جوانه‌زنی در دماهای پایین بود. همچنین بررسی سرعت جوانه‌زنی در زمان نشان داد با گذشت زمان دمای پایه (T_b) در هر دو شرایط تاریکی و نوری کاهش یافته است، با این تفاوت که سرعت کاهش در شرایط نوری به مراتب بیشتر از حالت تاریکی بود (شکل ۳). با توجه به نتایج به‌دست آمده مدت زمان دفن لازم برای کاهش ۵۰ درصدی حداکثر



شکل ۳- روند تغییرات دمای پایه (T_b) جوانه‌زنی بذور چوچاق با افزایش مدت زمان دفن در شرایط تاریکی و نوری
Figure 3- Germination base temperature (T_b) of *Eryngium caeruleum* variation with increasing burial duration in dark and light conditions

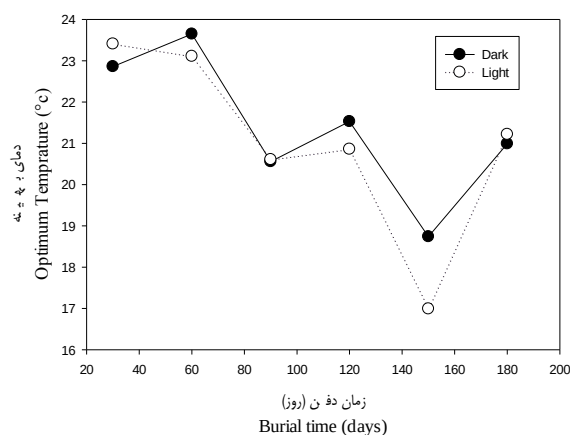
جدول ۳- مقادیر پارامترهای مربوط به دمای پایه (T_b) جوانه‌زنی بذور چوچاق در شرایط مختلف نوری

Table 3- The parameters values of Germination base temperature (T_b) of *Eryngium caeruleum* in different light conditions

شرایط نوری	پارامترهای دمای پایه
Light condition	T _b Parameters
روشنایی Light (20 μmolm ⁻² s ⁻¹)	تاریکی Dark
4.53 (0.75)	4.82 (0.59)
-22.67 (7.64)	-23.46 (8.79)
82.83 (11.66)	117.25 (10.96)
0.96	0.92

a: بالاترین دمای پایه ثبت شده در کمترین مدت زمان دفن، b: شیب خط، X0: مدت زمان دفن لازم برای کاهش دمای پایه به میزان ۵۰٪ مقدار پارامتر a
a: The highest T_b in the lowest burial time, b: line slope, x0: time needed for decrease the T_b to 50% of 'a' parameter
*اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده خطای استاندارد پارامترها می‌باشند.

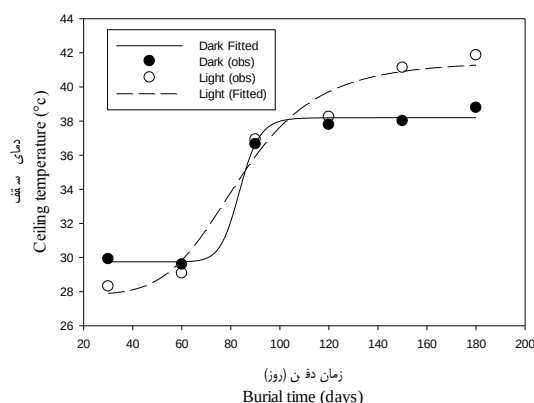
*The numbers in the parentheses show the standard error of the parameters.



شکل ۴- تغییرات دمای اپتیمم (T_o) جوانه‌زنی بذور چوچاق با افزایش مدت زمان دفن در شرایط تاریکی و نوری
Figure 4- Variation of germination optimum temperature (T_o) of *Eryngium caeruleum* with increasing burial duration in dark and light conditions

روز دفن در خاک در حدود ۳۰ درجه سانتی‌گراد بود سپس با افزایش طول دوره دفن تا ۱۲۰ روز این دما به حدود ۳۸ درجه سانتی‌گراد رسید که با افزایش مدت زمان دفن تا ۱۸۰ روز این روند تغییری نکرد و در همان دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد ثابت باقی ماند (شکل ۵، جدول ۴).

بطور کلی دمای سقف جوانه‌زنی (T_c) در شرایط وجود نور، بالا و در شرایط تاریکی پایین بود که این امر نشانگر تأثیر مثبت نور بر جوانه‌زنی بذور چوچاق در دماهای بالا است. دمای سقف جوانه‌زنی در شرایط نوری با افزایش زمان دفن، از ۲۸ درجه سانتی‌گراد به حدود ۴۲ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت اما در شرایط عدم وجود نور روند متفاوتی داشت. دمای سقف جوانه‌زنی در شرایط عدم وجود نور تا ۶۰



شکل ۵- تغییرات دمای سقف جوانه‌زنی (T_c) بذور چوچاق با افزایش مدت زمان دفن در شرایط تاریکی و نوری

Figure 5- Variation of germination ceiling temperature (T_c) of *Eryngium caeruleum* seeds with increasing burial duration in dark and light conditions

جدول ۴- مقادیر پارامترهای مربوط به دمای سقف (T_c) جوانه‌زنی بذر چوچاق در شرایط مختلف نوری

Table 4- The parameters values of germination ceiling temperature (T_c) of *Eryngium caeruleum* seeds in different light conditions

پارامترهای دمای سقف T_c Parameters	شرایط نوری Light condition	
	تاریکی Dark	روشنایی Light ($20 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)
a	8.45 (0.67)	13.69 (2.39)
b	-20.69 (-20)	-5.27 (2.61)
X_0	87.31 (59.15)	83.87 (8.55)
Y_0	29.74 (0.52)	27.84 (1.53)
R^2_{adj}	0.98	0.94

a: بالاترین دمای سقف ثبت شده در کمترین مدت زمان دفن، b: شیب خط، X_0 : مدت زمان دفن لازم برای کاهش دمای سقف به میزان ۵۰ درصد مقدار پارامتر a، Y_0 : حداقل مقدار دمای سقف

a: The highest T_c in the lowest burial time, b: line slope, x_0 : time needed for decrease the T_c to 50% of 'a' parameter, y_0 : minimum T_c
*اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده خطای استاندارد پارامترها می‌باشند.

*The numbers in the parentheses show the standard error of the parameters.

تاریکی از ۰/۸ بذور/روز به حدود ۱/۹ بذور/روز افزایش یافت (شکل ۶، جدول ۵). این امر نشان‌دهنده تأثیر مثبت نور در بالا بردن سرعت جوانه‌زنی هنگام افزایش طول دوره دفن است.

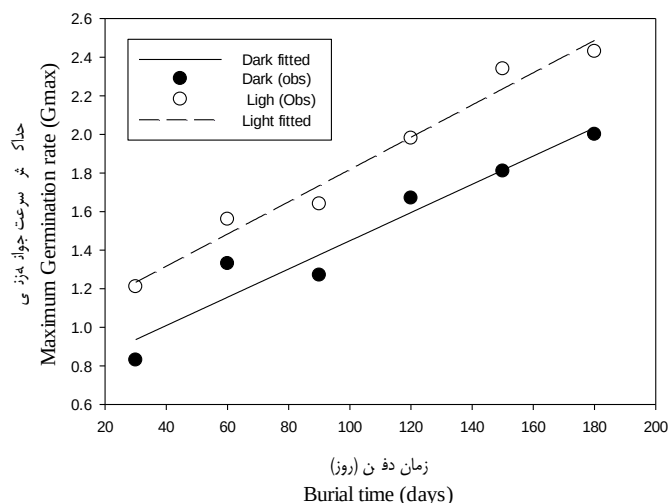
شاخص بیداری (ai) با گذشت زمان در هر دو شرایط تاریکی و نوری به صورت خطی افزایش یافت با این توضیح که سرعت افزایش در حالت نوری به مراتب بیشتر از حالت تاریکی بود (شکل ۷، جدول

پاسخ شاخص‌های G_{max} و ai در شرایط نوری و تاریکی به

مدت زمان دفن در خاک در دماهای مختلف جوانه‌زنی

با توجه به شکل ۶، شاخص G_{max} با گذشت زمان در هر دو شرایط تاریکی و نوری به صورت خطی افزایش پیدا کرد. بررسی سرعت جوانه‌زنی در زمان نشان داد که با افزایش زمان دفن شاخص G_{max} در حالت نوری از ۱/۲ بذور/روز به حدود ۲/۵ بذور/روز و در حالت

۶. شاخص بیداری با گذشت زمان در حالت نوری از حدود ۳۰ به حدود ۱۱۰ و در حالت تاریکی از حدود ۲۱ به حدود ۷۰ افزایش پیدا کرد. این موضوع نشان می‌دهد که نور موجب افزایش سطح بیداری بذر نسبت به حالت تاریکی شده است.



شکل ۶- پاسخ شاخص حداکثر سرعت جوانه‌زنی (G_{max}) بذر چوچاق به شرایط مختلف تاریکی و نوری با افزایش مدت زمان دفن
Figure 6- The response of maximum germination rate (G_{max}) of *Eryngium caeruleum* seeds to dark and light conditions with increasing burial time

جدول ۵- مقادیر پارامترهای مربوط به شاخص حداکثر سرعت جوانه‌زنی بذر چوچاق (G_{max}) در شرایط مختلف تاریکی و نوری
Table 5- The parameters value of maximum germination rate (G_{max}) of *Eryngium caeruleum* seeds in different light conditions

پارامترهای حداکثر سرعت جوانه‌زنی G_{max} Parameters	شرایط نوری Light condition	
	تاریکی Dark	روشنایی Light (20 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)
b_1	0.008 (0.0007)	0.007 (0.001)
b_0	0.982 (0.0797)	0.716 (0.113)
R^2_{adj}	0.97	0.92

*اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده خطای استاندارد پارامترها می‌باشند.

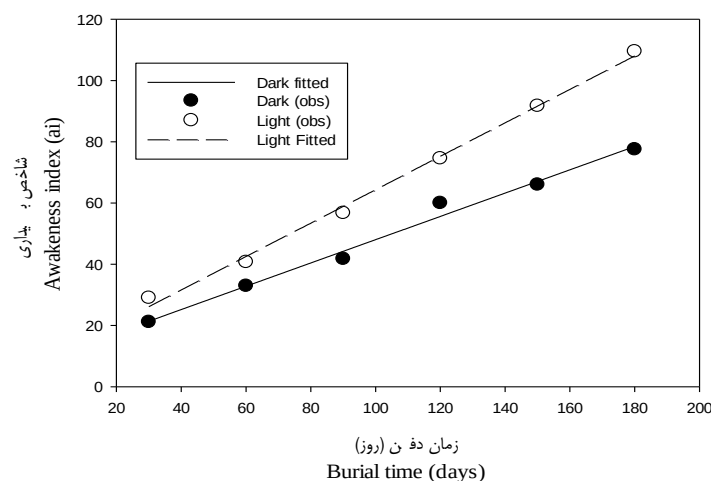
*The numbers in the parentheses show the standard error of the parameters.

جدول ۶- مقادیر پارامترهای مربوط به شاخص سطح بیداری (ai) بذر چوچاق در شرایط مختلف نوری
Table 6- The parameters value of awakesness index (ai) of *Eryngium caeruleum* seeds in different light conditions

پارامترهای شاخص بیداری 'ai' Parameters	شرایط نوری Light condition	
	تاریکی Dark	روشنایی Light (20 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)
b_1	0.38 (0.02)	0.54 (0.02)
b_0	9.98 (2.42)	9.77 (2.02)
R^2_{adj}	0.98	0.99

*اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده خطای استاندارد پارامترها می‌باشند.

*The numbers in the parentheses show the standard error of the parameters.



شکل ۷- پاسخ شاخص سطح بیداری (ai) بذر چوچاق به شرایط مختلف تاریکی و نوری در طول مدت زمان دفن

Figure 7- The response of awakens index (ai) of *Eryngium caeruleum* seeds to different conditions of light during burial time

گیاهان درصد جوانه‌زنی بالاتری داشتند (۱۰).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که پارامترهای دمایی جوانه‌زنی شامل دمای پایه (T_b)، دمای بهینه (T_o) و دمای سقف (T_c) بذر گیاه چوچاق، در طول زمان دفن تغییر کردند. با افزایش طول دوره دفن، دمای پایه و دمای بهینه کاهش و در مقابل دمای سقف افزایش یافت. این مسأله نشان دهنده این حقیقت است که بر اثر شکست خواب و کاهش سطح خواب در زمان دفن، سخت‌گیری بذر در رابطه با دما برای جوانه‌زنی به طرز محسوسی کاهش یافته است. افزایش تدریجی تفاوت میان دمای حداقل و سقف که بیانگر محدوده دمایی است که بذر می‌تواند در آن جوانه بزند، بیانگر این موضوع است. نکته قابل توجه این است که بروز چنین تغییراتی در رابطه با پارامترهای دمایی وابسته به شرایط نوری در زمان آزمون جوانه‌زنی بود. زمانی که آزمون جوانه‌زنی در نور انجام شد، افزایش دمای سقف تا انتهای دوره ادامه داشت اما در صورت عدم وجود نور این پارامتر تا زمان مشخصی افزایش نشان داد و پس از آن ثابت باقی ماند. صرف نظر از وجود نور در زمان جوانه زنی، با افزایش مدت زمان دفن بذر، پارامترهای G_{max} و ai نیز، به صورت خطی افزایش یافتند. اگرچه این افزایش در مورد شاخص بیداری بیشتر محسوس بود. در مجموع می‌توان این گونه نتیجه گرفت که احتمال حضور علف‌هرز چوچاق در نواحی معتدل ایران بیشتر است و این گونه دارای خواب مورفوفیزیولوژیک بوده و شکست خواب و افزایش محدوده دمای مطلوب برای جوانه‌زنی که در واقع

نتایج آزمایش رضوانی و زعفریان (۱۷) نیز نشان داد در تمامی جمعیت‌های بررسی شده گیاه چوچاق، جوانه‌زنی بذر این گیاه در شرایط تاریکی در مقایسه با شرایط مختلف نوری، ۳۵ تا ۶۴ درصد کاهش یافت. نتایج مشابهی نیز در علف‌های هرز خارلته و دودندان گزارش شده است (۱۴ و ۱۶). به گونه‌ای که پارامترهای دمایی جوانه زنی این علف‌های هرز در شرایط نوری نسبت به حالت تاریکی بیشتر بود. نتایج آزمایش انجام گرفته بر روی *Polygonum aviculare* L. نیز نشان داد نور بر تغییر دماهای کاردینال جوانه‌زنی و شروع جوانه‌زنی این علف‌هرز مؤثر بود (۹). دما و نور مهم‌ترین عوامل محیطی تنظیم کننده جوانه‌زنی می‌باشند (۴) که پاسخ گونه‌های مختلف به این فاکتورها متفاوت است. چجارا و همکاران (۳) با بررسی عوامل مؤثر بر جوانه‌زنی *Hyparrhenia hirta* دریافتند که بذر این گونه علف‌هرز در محدوده دمایی ۵ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد جوانه زدند و بیشترین سرعت جوانه‌زنی در دماهای متوسط مشاهده شد. بذر برخی گیاهان از جمله *Zygophyllum* و *Haloxylon recurvum* و *simplex* در حضور نور (۸) و *Lasiurus scindicus* و *Panicum turgidum* در تاریکی مطلق (۵) بهتر جوانه می‌زنند. نیازهای متفاوت نوری بذر مختلف، تعیین کننده این موضوع است که این بذرها قادر خواهند بود زمانی که در خاک مدفون هستند یا زمانی که در سطح خاک قرار می‌گیرند، جوانه زده و از این طریق شانس زنده ماندن گیاهچه جوان را افزایش دهند (۱۳). در آزمایشی بر روی ۲۷ گونه علف هرز، در بین تیمارهای مختلف دفن، در مدت زمان دو ماه دفن، گیاه دم موشی، یولاف وحشی، آژیلیس، سنگ و ترشک و در مدت زمان دفن سه ماه، گیاهان آژیلیس، یولاف وحشی و دم موشی از سایر

شاخصی از سطح بیداری است، بیشتر از طریق افزایش در دمای سقف صورت می‌گیرد. آگاهی از عوامل مؤثر بر خواب و جوانه‌زنی بذر چوپاق، در شناخت بهتر بیولوژی جوانه‌زنی و پیش‌بینی الگوی رویش

این علف‌هرز در مزرعه کمک کرده و در تعیین زمان مناسب کنترل بانک بذر آن مفید است.

منابع

- 1- Baskin C.C., and Baskin J.M. 1998. Ecology of seed dormancy and germination in grasses. In: G. P. Cheplick (Eds.), Population Biology of Grasses, (Pages 30-83). Cambridge, U.K.: Cambridge University Press.
- 2- Benvenuti S., Macchia M., and Miele S. 2001. Quantitative analysis of emergence of seedlings from buried weed seeds with increasing soil depth. Weed Science 49: 528-535.
- 3- Chejara V.K., Kristiansen P., Whalley R.D.B., Sindel B.M., and Nadolny C. 2008. Factors affecting germination of Coolat grass (*Hyparrhenia hirta*). Weed Science 56: 543-548.
- 4- Crisraudo A., Gresta F., Luciani F., and Resticcia A. 2007. Effects of after harvest period and environmental factors on seed dormancy of *Amaranthus* species. Weed Research 47: 327-334.
- 5- Daneshfar E., Noghondar M.A., Zarifian M., and Azizi M. 2014. Study on dormancy breaking *Eryngium caeruleum* M. B. (*Apiaceae*) seeds by different levels of KNO₃ and salicylic acid. Mashahd, 3rd National Congress on Medicinal Plants.
- 6- El-Keblawy A., Al-Ansari F., and Al-Shams N. 2011. Effects of temperature and light on salinity tolerance during germination in two desert glycophytic grasses, *Lasiurus scindicus* and *Panicum turgidum*. Grass and Forage Science 66: 173-182.
- 7- Forcella F., Benech-Arnold R.L., Sanchez R., and Ghersa C.M. 2000. Modeling seedling emergence. Field Crops Research 67: 123-139.
- 8- Kamaha C., and Maguire J.D. 1992. Effect of temperature on germination of six winter wheat cultivars. Seed Science Technology 20: 181-185.
- 9- Khan M.A., and Ungar I.A. 1997. Effect of light, salinity and thermoperiod on the seed germination of halophytes. Canadian Journal of Botany 75: 835-841.
- 10- Leon R.G., and Owen M.D.K. 2003. Regulation of weed seed dormancy through light and temperature interactions. Weed Science 51: 752-758.
- 11- Maguire J.D. 1962 Speed of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science 2: 176-177.
- 12- Mazhari M., Tadayon M.R., and Tadayon A. 2015. Effect of cold, temperature and light on germination of some weed species. Journal of Weed Ecology 3: 23-29. (In Persian)
- 13- Milberg P., Andersson L., and Noronha A. 1996. Seed germination after short-duration light exposure: implications for the photo-control of weeds. Journal of Applied Ecology 33: 1469-1478.
- 14- Mozumder S.N., and Hossain M.M. 2013. Effect of seed treatment and soaking duration on germination of *Eryngium foetidum* L. seeds. International Journal of Horticulture 3: 1046-1051.
- 15- Rasheed A., Hameed A., Khan M.A., and Gul B. 2015. Effects of salinity, temperature, light and dormancy regulating chemicals on seed germination of *Salsola drummondii* Ulbr. Pakistan Journal of Botany 47: 11-19.
- 16- Reddy K.N., and Singh M. 1992. Germination and emergence of hairy beggarticks (*Bidens pilosa*). Weed Science 40: 195-199.
- 17- Rezvani M., and Zaefarian F. 2016. Effect of some environmental factors on seed germination of *Eryngium caeruleum* M. Bieb. Populations. Acta Botanica Brasilica 31: 220-228.
- 18- Soltani A., Robertson M.J., Torabi B., Yousef-Daz M., and Sarparas R. 2006. Modeling seedling emergence in chickpea as affected by temperature and sowing depth. Agricultural and Forest Meteorology 138: 156-167.
- 19- Wilson R.G. 1979. Germination and seedling development of Canada thistle (*Cirsium arvense*). Weed Science 27: 146-151.
- 20- Zimdahl R.C. 1999. Fundamental of Weed Science. 655 Pp.



Study of Dormancy and Germination Dynamics of *Eryngium caeruleum* L. in Response to Burial Durations in Soil

M. Lotfi Asle Giglo¹- M. Oveisi^{2*}- H. Rahimian Mashhadi³- B. Pourmorad Kaleibar⁴- M.H. Naeimi⁵

Received: 29-04-2018

Accepted: 06-03-2019

Introduction: *Eryngium caeruleum* L. is a perennial weed from Apiaceae family that grows in the farm and roadside. There is limited information on the reaction of this plant germination to temperature and light conditions. Germination is one of the most important processes for weed success, because it is the first step in competition beginning in an ecological niche. Recognition of *E. caeruleum* germination and emergence ecology has an important role in weed management and control. Different environmental factors, such as temperature and light, affect dormancy and germination of the seeds. Light requirement is an indicator showing the level of seed dormancy. Given the significance of seed dormancy in weed dispersal and management, this study aimed at determining the relation between light and temperature as the most effective environmental factors in germination stimulation of *E. caeruleum*.

Materials and Methods: An experiment was conducted to estimate the effect of temperature and light on germination of *Eryngium caeruleum* seeds at agriculture and Natural Resources College, university of Tehran in 2016. A factorial experiment was undertaken based on completely randomized block design with three replications. Factors were germination temperatures (5, 10, 15, 20, 25, 30 and 35 °C), burial periods in 5 cm depth (30, 60, 90, 120, 150, and 180 days), and light conditions during germination test (Presence and absence of light). The seeds were buried in the soil under environmental conditions at depth of 5 cm and then removed from the soil at one month intervals and were placed at dark and light (Osram, L 18 W/77, 20 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$) conditions under seven temperature treatments for 14 days. 25 seeds were placed in each petri dish and the germinated seeds were counted for 14 days in each month. Segmented model was used for studying the germination rate to temperature in light and temperature treatments. Thermal parameters of germination were calculated for light and temperature treatments. These parameters were G_{max} for the maximum germination rate, T_b or base temperature for germination, T_o or optimum temperature for germination, and T_c or ceiling temperature for germination. The base and ceiling temperature parameters were also calculated. The findings of this study shed light on seed germination requirements of *E. caeruleum* and enhance our understanding of this species distribution. These results will be useful in selecting the best time and method for *E. caeruleum* control.

Results and Discussion: Results showed that temperature and light conditions during germination test influenced germination rate. According to the analysis of variation, all simple effects and interactions were significant on germination rate. Germination rate increased with increasing temperature up to 20 °C. Germination rate, however, decreased when temperature increased up to 35 °C. Temperature parameters of base temperature, optimum temperature and ceiling temperature were affected by burial periods and light conditions during germination test. In general, base and optimum temperatures decreased and ceiling temperature increased with increasing of burial time. The burial time needed for 50 percent decrease of maximum base temperature in the lowest burial time was 117 days in light condition and 82 days in dark condition. The optimum temperature decreased from 23.5°C to 21.2°C in light condition and from 23°C to 21°C in dark condition. The ceiling temperature increased from 28°C to 42°C in light condition, but it had different process in dark condition. The T_c parameter was 30°C in 60 days of burial and was 28°C up to 120 days of burial and had no changes up to 180 days of burial. Parameters of G_{max} and a_i , which indicate the maximum germination rate and seed non-dormant index, respectively, rose linearly by increasing time of seed burial, irrespective of light condition during germination test. The same results were found in *Cirsium arvense* and *Bidens pilosa*, that their germination

1, 2, 3, 4 and 5- M.Sc. Graduated, Associate Professor, Professor, Ph.D Student and M.Sc. Graduated, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Respectively

(*- Corresponding Author Email: moveisi@ut.ac.ir)

thermal parameters were higher in light condition than in dark. This can be attributed to the heat made by the light. The results of the experiment on *Polygonum aviculare* also showed the effects of light on cardinal temperatures of germination and the start of germination of this plant.

Conclusion: The results showed that the thermal parameters of *Eryngium caeruleum* germination including base temperature (T_b), optimum temperature (T_o), and ceiling temperature (T_c) changed during the burial periods. The G_{max} and awakens index parameters increased linearly regardless of the presence or absence of light. It can be also concluded that *Eryngium caeruleum* L. has morphophysiological dormancy and dormancy breaking. Moreover, the optimum temperature range for germination mostly rises by increasing ceiling temperature.

Keywords: Awakens index, Germination rate, Light conditions, Thermal parameters of germination

Contents

Homology Base Tracking of Tomatinase in the Genome of <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>	8
F. Zarandi- F. Shokouhifar- B. Sharif Nabi- B.E. Sayed Tabatabaei- Z. Bani Hashemi	
Application of Molecular Methods for Detection of <i>Citrus tristeza virus</i> in <i>Aphis gossypii</i>	16
F. Esmailzadeh Mianlengheh - S.M. Bani Hashemian - A. Ruhibakhsh - S. Aghajanzadeh	
Short Communication	
Determining of Molecular Characterization of Citrus Greening Disease in Southern Kerman	21
M. Golmohammadi	
Short Communication	
Molecular Identification of an Isolate of <i>Wisteria vein mosaic virus</i> in Khorasan Razavi Province	26
M. Al Jaberi - M. Mehrvar- M. Zakiahgl	
Survey of Persistency of Spinosad, Imidacloprid and Indoxacarb on <i>Trichogramma brassicae</i> and <i>T. evanescens</i>	34
S. Ashtari	
Study on the Feeding Preference of <i>Microcerotermes diversus</i> Silvestri Termite to Three Species of Beech, <i>Eucalyptus</i> and Cypress	43
L. Poursartip - K. Saadatvafa- P. Rezayati Charani	
Optimizing the Efficacy of Mesosulfuron-methyl + Sulfosulfuron (Total)^R Herbicide on Wild Oat (<i>Avena Ludoviciana</i> L.) Control Using Mineral Oils	55
S. Farkhonde - L. Alimoradi- K. Kalarestaghi	
Evaluation of Sensitivity of Some Plants to Simulated Trifluralin Residues in Soil	67
M. Barzoei - E. Izadi Darbandi- M.H. Rashed Mohassel- M. Rastgoo- M.H. Hassanzadeh Khaiat	
Study of Indices of Weed Communities in Rice Fields of Guilan Province	84
M.J. Golmohammadi – H.R. Mohammaddoust Chamanabad– B. Yaghoubi– M. Oveisi	
Residual Effects of Some Sulfonylurea Herbicides of Wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) on Cotton (<i>Gossypium hirsutum</i> L.) in Conservational Tillage System	97
M.H. Hadizadeh - S.H. Hosseiniykia- S.H. Torabi- K. Hajmohammadnia Ghalibaf	
Optimizing the Performance of Bentazon+Acifluorfen and Imazethapyr on <i>Chenopodium album</i> L. (Common Lambsquarter) Control by Adjuvants	110
S. Abu-ali - S. Mahmoodi- H. Hammami	
Study of Dormancy and Germination Dynamics of <i>Eryngium caeruleum</i> L. in Response to Burial Durations in Soil	122
M. Lotfi Asle Giglo - M. Oveisi - H. Rahimian Mashhadi - B. Pourmorad Kaleibar - M.H. Naeimi	

Plant Protection

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol . 33

No. 1 2019

Published by: College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
Editor in charge: Valizadeh, R. (Ruminant Nutrition) Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
General Chief Editor: Rashed- Mohassel, M.H. (Weed Science) Prof. Ferdowsi University of Mashhad.

Editorial Board:

Izadi Darbandi, E.	Weed Science	Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Okhovvat, M.	Plant Pathology	Prof. Tehran University.
Pourjam, E.	Plant Pathology	Asso. Prof. Tarbiat Modarres University.
Jafarpour, B.	Plant Pathology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Hatami, B.	Entomology	Prof. Isfahan University of Technology.
Hosseini, M.	Agricultural Entomology	Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Rashed- Mohassel, M.H.	Weed Science	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Rashed- Mohassel, A.	Insect ecology	Post-Doctoral Research Associate ,Texas A&M AgriLife Extension Service
Rajaei, H.	Entomologist	Assis, Department Entomology State Museum of Natural History Stuttgart Rosenstein 1, 70191 Stuttgart, Germany
Sadeghi Namaghi, H.	Agricultural Entomology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Sahragard, A.	Agricultural Entomology	Prof. Guilan University.
Mahdikhani Moghadam, E	Plant Pathology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Marashi, S.H.	Biotechnology & Plant Breeding	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Mozafari, J.	Plant Molecular Genetics	Prof. Seeds& Plant Improvement Institute.

Publisher: Ferdowsi University of Mashhad.
Printed by: Ferdowsi University of Mashhad, press.
Address: College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
P.O.BOX: 91775- 1163
Fax: +98 -0511- 8787430
E-Mail: Jpp1@um.ac.ir
Web Site: <http://jm.um.ac.ir>