



عنوان مقالات

- بررسی فعالیت آزمون پروتاز و لیپاز چند گونه قارچ *Trichoderma* spp.) و تأثیر آن بر کنترل بیولوژیک نماتد ریشه‌گرهی گوجه فرنگی (*Meloidogyne javanica*) ۳۳۳
مجتبی کواری - عصمت مهدیخانی مقدم - حمید روحانی
- نقش تغذیه گوگرد و مایه‌زنی با باکتری تیوباسیلوس در مهار بیماری پاخوره گندم ناشی از *Gaeumannomyces tritici* ۳۷۵
مریم قدم خیر - سعید عباسی - روح الله شریفی - اکرم قاضی
- بررسی وضعیت کلکسیون ملی ارقام تجاری، بومی و وارداتی سیب از نظر آلودگی به ویروس لکه سبزد سیب ۳۸۷
طیبه کشاورز - حسن حاج نجاری
- تأثیر برخی از عناصر پرمصرف بر فعالیت نماتد ریشه‌گرهی، *Meloidogyne javanica* در بادمجان (*Solanum melongena* L.) ۳۹۷
سمانه مظفریان - حبیب‌اله چاره‌گانی - محمد عبدالهی - رسول رضائی
- ارزیابی مقاومت برخی ارقام تجاری و لاین‌های پیشرفته گندم به شته‌ی روسی گندم، *Diuraphis noxia* (Mordvilko) ۴۰۹
قدیر نوری قیلائی - جواد ابراهیمی حاجیکلائی - مژگان مردانی طلایی - جبرائیل رزمجو - سید علی اصغر فتحی
- بررسی درصد فراوانی نسبی و تغییرات شاخص‌های تنوع زیستی بال‌ریشکداران (Insecta: Thysanoptera) در چین‌های مختلف یونجه شهرستان ایوان (استان ایلام) ۴۲۳
مجید میراب‌بالو - بهزاد میری
- ارزیابی لاین‌های پنبه ترا ریخته در برابر آفات بالپولکدار مهم پنبه در شرایط مزرعه‌ای ۴۳۱
سیدالیا س مرتضوی - مرتضی عرب‌سلمانی - حامد حسن زاده خانکهدانی
- تأثیر خوشه‌چینی علف هرز جودره (*Hordeum spontaneum* C. Koch) در کشت گندم بر جمعیت این علف‌هرز در کشت نخود در تناوب‌زراعی ۴۴۱
سید کریم موسوی
- مطالعه تراکم و زیست‌توده علف‌های هرز سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) تحت تأثیر تلفیق روش‌های کنترل شیمیایی و مکانیکی ۴۵۳
مسلم تقی پور - علی قنبری - مهدی راستگو
- تأثیر نوع و شماره نازل‌های یک، دو و سه بادبزن بر عملکرد سیکلوسیدیم علیه جودره (*Hordeum spontaneum* Koch.) ۴۶۵
اکبر علی‌وردی - سمیرا کرمی
- اثرات اسانس برخی از گیاهان دارویی به روش تدخینی بر جوانه‌زنی پذر و رشد گیاهچه کاهو به عنوان شاخص ۴۷۵
سمیه میرمصطفائی - مجید غزیزی - پاشه‌پارو فوجی

Contents

- Evaluation of some *Trichoderma* spp. Protease and Lipase Activity and Its Effect on Biocontrol of Tomato Root-knot Nematode (*Meloidogyne javanica*) 374
M. Kavari - E. Mahdikhani-Moghadam - H. Rouhani
- Effect of Sulfur Nutrition and *Thiobacillus* Inoculation on Suppression of Take-all Disease Caused by *Gaeumannomyces tritici* 386
M. Ghadamkheir - S. Abbasi - R. Sharifi - A. Fatemi
- Status of the Apple chlorotic leaf spot virus Infection in Native and Imported Apple Tree Cultivars in the National Collection of Kamalshahr Horticulture Research Station 396
T. Keshavarz - H. Hajnajari
- Effect of some Macronutrients on the Root-knot Nematode, *Meloidogyne javanica* Activities in Eggplant (*Solanum melongena* L.) 408
S. Mozaffarian - H. Charehgan - M. Abdollahi - Rasool Rezaei
- Evaluation of the Resistance of some Commercial Cultivars and Breeding Lines of Wheat, *Triticum aestivum* L., to the Russian Wheat Aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) 421
G. Nouri-Ganbalani - J. Ebrahimi Hajikelaee - M. Mardani-Talaei - J. Razmjou - S.A.A. Fathi
- Survey of Relative Frequency and Biodiversity Indicators Changes of Thrips Species (Insecta: Thysanoptera) in Different Alfalfa Cuttings in Eyvan City (Ilam Province) 430
M. Mirab-balou - B. Miri
- Field Evaluation of Yield and Lepidopteran Pest Resistance in Three Transgenic Cotton Lines 440
S.E. Mortazavi - M. Arabsalmani - H. Hassanzadeh Khankahdani
- The Effect of Cutting off the Wild Barley (*Hordeum spontaneum* C. Koch) Spike in Wheat on Its Population in Chickpea under a Crop Rotation System 451
S.K. Mousavi
- Integrating Mechanical and Chemical Methods for Weed Control in the Potato Fields 464
M. Taghipour - A. Ghanbari - M. Rastgoo
- The Effect of Type and Size of Single, Twin, and Triplet Flat Fan Nozzles on the Activity of Cycloxydim against Wild Barley (*Hordeum spontaneum* Koch.) 474
A. Aliverdi - S. Karami
- Effects of Essential Oil of some Medicinal Plants on Seed Germination and Seedling Growth of Lettuce as an Indicator 492
S. Mirmostafaei - M. Azizi - Y. Fujii

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 4 زمستان 1398

بر اساس مصوبه وزارت عتف از سال 1398، کلیه نشریات دارای درجه "علمی-پژوهشی" به نشریه "علمی" تغییر نام یافتند.

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: رضا ولی زاده استاد - تغذیه نشخوارکنندگان (دانشگاه فردوسی مشهد)

سرمدیر: راشد محصل، محمد حسن استاد - علوم علف های هرز (دانشگاه فردوسی مشهد)

اعضای هیئت تحریریه:

ایزدی دربندی، ابراهیم	دانشیار - علوم علف های هرز (دانشگاه فردوسی مشهد)
پور جم، ابراهیم	دانشیار - بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه تربیت مدرس تهران)
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
راضی، هومن	دانشیار - ژنتیک مولکولی (دانشگاه شیراز)
رجائی، حسین	حشره شناس، مدیر کلکسیون بالپولکداران، موزه ایالتی تاریخ طبیعی اشتوتگارت (آلمان)
صادقی نامقی، حسین	استاد - حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)
صبوری، علیرضا	استاد - حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه تهران)
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)

چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

ناشر: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

نشانی: مشهد - کد پستی 91775 صندوق پستی 1163

دانشکده کشاورزی - دبیرخانه نشریات علمی - نشریه حفاظت گیاهان

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

این نشریه در پایگاههای زیر نمایه شده است:

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

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

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

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

صفحه	عنوان مقاله
363	بررسی فعالیت آنزیمی پروتئاز و لیپاز چند گونه قارچ تریکودرما (<i>Trichoderma spp.</i>) و تأثیر آن بر کنترل بیولوژیک نماتد ریشه گریه گوجه فرنگی (<i>Meloidogyne javanica</i>) مجتبی کواری - عصمت مهدیخانی مقدم - حمید روحانی
375	نقش تغذیه گوگرد و مایه زنی با باکتری تیوباسیلوس در مهار بیماری پاختره گندم ناشی از <i>Gaeumannomyces tritici</i> مریم قدم خیر - سعید عباسی - روح الله شریفی - اکرم فاطمی
387	بررسی وضعیت کلکسیون ملی ارقام تجاری، بومی و وارداتی سیب از نظر آلودگی به ویروس لکه سبزد سیب طپیه کشاورز - حسن حاج نجاری
397	تأثیر برخی از عناصر پر مصرف بر فعالیت نماتد ریشه گریه، <i>Meloidogyne javanica</i> در بادمجان (<i>Solanum melongena</i> L.) سمانه مظفریان - حبیب اله چاره گانی - محمد عبدالهی - رسول رضائی
409	ارزیابی مقاومت برخی ارقام تجاری و لاین های پیشرفته گندم به شتهی روسی گندم، <i>Diuraphis noxia</i> (Mordvilko) قدیر نوری قنبلانی - جواد ابراهیمی حاجیکلانی - مژگان مردانی طلایی - جبرائیل رزمجو - سید علی اصغر فتحی
423	بررسی درصد فراوانی نسبی و تغییرات شاخص های تنوع زیستی بال ریشکداران (<i>Insecta: Thysanoptera</i>) در چین های مختلف یونجه شهرستان ایوان (استان ایلام) مجید میراب بالو - بهزاد میری
431	ارزیابی لاین های پنبه تراریخته در برابر آفات بالپولکدار مهم پنبه در شرایط مزرعه ای سیدالیناس مرتضوی - مرتضی عرب سلمانی - حامد حسن زاده خانکهدانی
441	تأثیر خوشه چینی علف هرز جودره (<i>Hordeum spontaneum</i> C. Koch) در کشت گندم بر جمعیت این علف هرز در کشت نخود در تناوب زراعی سید کریم موسوی
453	مطالعه تراکم و زیست توده علف های هرز سیب زمینی (<i>Solanum tuberosum</i> L.) تحت تأثیر تلفیق روش های کنترل شیمیایی و مکانیکی مسلم تقی پور - علی قنبری - مهدی راستگو
465	تأثیر نوع و شماره نازل های یک، دو و سه بادبزن بر عملکرد سیکلوکسیدیم علیه جودره (<i>Hordeum spontaneum</i> Koch.) اکبر علی وردی - سمیرا کرمی
475	اثرات اسانس برخی از گیاهان دارویی به روش تدخینی بر جوانه زنی بدر و رشد گیاهچه کاهو به عنوان شاخص سمیه میر مصطفائی - مجید عزیزی - یاشیهارو فوجی

بررسی فعالیت آنزیمی پروتئاز و لیپاز چند گونه قارچ تریکودرما (*Trichoderma spp.*) و تأثیر آن بر کنترل بیولوژیک نماتد ریشه گریه گوجه فرنگی (*Meloidogyne javanica*)

مجتبی کواری^۱ - عصمت مهدیخانی مقدم^{۲*} - حمید روحانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۰۷

چکیده

نماتدهای ریشه گریه یکی از مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای گوجه فرنگی می‌باشند. پوسته‌ی تخم نماتد ریشه گریه شامل ۵۰ درصد پروتئین، ۳۰ درصد کیتین و ۲۰ درصد لیپید می‌باشد. گونه‌های قارچ تریکودرما (*Trichoderma spp.*) با تولید مقادیر قابل توجهی آنزیم‌های هیدرولیتیک، به یکی از عوامل مورد استفاده جهت کنترل بیمارگرهای گیاهی تبدیل شده است. در این پژوهش میزان فعالیت آنزیمی پروتئاز و لیپاز ۱۵ جدایه از چهار گونه تریکودرما (*T. harzianum*, *T. virens*, *T. konigii*, *T. saturnisporum*) در ارتباط با توانایی بیوکنتری نماتد ریشه گریه گوجه فرنگی در گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج آزمون‌های گلخانه‌ای، جدایه‌های T6، T65، T.BI و T12 به عنوان مؤثرترین و جدایه‌های T16، T12N و T12N به عنوان کم‌اثرترین جدایه‌ها در بیوکنتری این نماتد معرفی شدند. همچنین مطابق با نتایج به دست آمده از بررسی میزان همبستگی بین فعالیت آنزیمی پروتئاز و لیپاز و فاکتور تولید مثل نماتد، ضریب همبستگی بین فعالیت آنزیم پروتئاز و فاکتور تولید مثل نماتد ($r^2 = 0.83$) و ضریب همبستگی بین آنزیم لیپاز و فاکتور تولید مثل نماتد ($r^2 = 0.42$) تعیین گردید.

واژه‌های کلیدی: تریکودرما، فعالیت آنزیمی، کنترل بیولوژیک، نماتد ریشه گریه

مقدمه

نماتدهای ریشه گریه (*Meloidogyne spp.*) پارازیت‌های داخلی کم‌حرکی هستند که به طیف وسیعی از محصولات کشاورزی حمله کرده و باعث خسارت قابل توجهی در آن‌ها می‌گردند (۱۶). با توجه به مشکلات ناشی از کنترل شیمیایی بیمارگرها مانند اثرات زیان‌بار آن‌ها بر سلامت انسان و محیط زیست، استفاده از روش‌های جایگزین دارای اهمیت بالایی می‌باشد. گونه‌های قارچ تریکودرما (*Trichoderma spp.*) به میزان گسترده‌ای به‌عنوان یک عامل کنترل بیولوژیک در بیمارگرهای گیاهی مورد مطالعه قرار گرفته است (۴). تاکنون تلاش‌های فراوانی در جهت استفاده از گونه‌های مختلف جنس تریکودرما در کنترل بیولوژیک نماتدهای گیاهی صورت گرفته است. گونه‌ی *T. harzianum* به‌عنوان یک عامل مؤثر در مدیریت نماتد مرکبات گزارش شده است (۲۲). گزارش شده که تیمار خاک با جدایه‌های دو گونه‌ی *T. konigii* و *T. harzianum* سبب کاهش تعداد تخم تولید شده توسط نماتد *Meloidogyne arenaria*

می‌گردد (۲۷). مهدیخانی مقدم و همکاران به بررسی امکان کنترل بیولوژیک نماتد سیستی چغندر قند (*Heterodera shachtii*) توسط ۱۰ جدایه از دو گونه‌ی *T. harzianum* و *T. virens* در آزمایشگاه و گلخانه پرداخته و دو جدایه‌ی *T. harzianum* BI و *T. virens* VM1 را به عنوان برترین جدایه‌ها معرفی نموده‌اند (۱۴ و ۱۵). مکانیسم‌های بیوکنتری متعددی برای قارچ تریکودرما در شرایط طبیعی ذکر شده است، که به صورت: اثر مستقیم روی بیمارگر، افزایش مقاومت گیاه به بیمارگر و همچنین اثر بر رابطه‌ی متقابل میزبان و بیمارگر می‌باشد. با این حال در استفاده از قارچ تریکودرما تکیه بیشتری بر تأثیر مستقیم قارچ تریکودرما بر بیمارگر است. در این حالت قارچ تریکودرما با تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده و ترکیبات سمی و آنتی‌بیوتیک‌ها باعث از بین رفتن میکروارگانیسم هدف قبل از نفوذ به بافت گیاهی می‌گردد. تریکودرما می‌تواند با تولید موادی شبه فیتوهورمونی مانند سیتوکینین، زئاتین، جبریلین، ایندول استیک اسید، جاسمونیک اسید و اتیلن سبب افزایش رشد گیاه و بهبود جذب مواد غذایی در گیاه شود. از طرفی با تحریک مقاومت سیستمیک (*Systemic Acquired Resistance* و *Induced Systemic Resistance*) در گیاه سبب کاهش میزان بیماری می‌گردد. تولید آنزیم‌های مختلف و از بین بردن عوامل بیماری‌زا قبل از نفوذ به درون

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری بیماری‌شناسی گیاهی و استادان گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*)- نویسنده مسئول: Email: mahdikhani-e@ um.ac.ir

در بین قارچ‌های پارازیت نماتدها، پروتازهای خارج سلولی از مهمترین ترکیبات در تخریب ساختارهای سلولی موجود هدف می‌باشند (۹). در یک پژوهش مشخص گردید طی نفوذ قارچ *Verticillium suchlasporium* به تخم‌های نماتد سیستی *Heterodera shachtii* مقادیر بالایی از پروتاز تولید می‌شود (۱۳). نوعی پروتاز خارج سلولی از قارچ مایکوپارازیت *Trichoderma harzianum* گزارش شده است که می‌تواند به عنوان یک عامل تأثیرگذار بر قدرت بیوکنترل این قارچ مد نظر قرار بگیرد (۸).

هدف از این تحقیق، بررسی رابطه بین میزان تولید آنزیم‌های پروتاز و لیپاز در جدایه‌های متعلق به چندین گونه از تریکودرما و تأثیر آن‌ها در کنترل بیولوژیک نماتد ریشه گرهی *M. javanica* بوده است.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه‌های قارچ

پانزده جدایه از گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما از کلکسیون بخش بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد (کلکسیون دکتر روحانی) به صورت خالص تهیه و بر روی محیط کشت PDA ($39g.l^{-1}$, Merck®) کشت و نگهداری گردید (جدول ۱).

میزبان جزء مهم‌ترین مکانیسم‌های قارچ تریکودرما می‌باشد. از جمله مهم‌ترین این آنزیم‌ها، کیتینازها، پروتازها، لیپازها و گلوکانازها می‌باشد که سبب از بین بردن سلول‌های میکروارگانیسم هدف می‌شوند. پوسته‌ی تخم نماتد از مهم‌ترین ساختارهایی است که وظیفه‌ی محافظت از لارو نماتد در داخل تخم را بر عهده دارد. در نماتد ریشه گرهی پوسته‌ی تخم شامل ۵۰ درصد پروتئین، ۳۰ درصد کیتین و ۲۰ درصد لیپید است (۲). با توجه به ترکیبات موجود در پوسته‌ی تخم این نماتد، آنزیم‌های تجزیه کننده تولید شده توسط جدایه‌های مختلف تریکودرما مانند کیتیناز، پروتاز و لیپاز سبب تخریب تخم، کاهش تفریح تخم و افزایش مرگ و میر لاروهای نماتد می‌گردد (۱۰، ۲۴ و ۲۵). در یک پژوهش تأثیر پروتاز استخراج شده از *Paecilomyces lilacinus* بر روی تخم‌های نابالغ، میزان تفریح تخم‌های بالغ و میزان تحرک لاروهای تفریح شده به صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا تأثیر پروتاز بر روی تخم‌ها پس از سه روز نشان دهنده‌ی تخریب ۷۰ درصدی تخم‌ها در نمونه‌های تیمار شده با پروتاز در مقایسه با تخریب ۱۰ درصدی تخم‌ها در تیمارهای شاهد بود. پس از ۶ روز تنها تعداد کمی تخم سالم باقی ماند درحالی که در نمونه‌های شاهد ۹۰ درصد از تخم‌ها سالم بودند. همچنین مشخص گردید که سن تخم بر میزان نفوذ قارچ و تأثیر پروتاز تولیدی توسط قارچ بسیار تأثیرگذار است زیرا در تخم‌های جوان هنوز توده ژلاتینی اطراف تخم کاملاً تشکیل نشده است (۳).

جدول ۱- جدایه‌های مربوط به گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما مورد استفاده در آزمایش

Table 1- Isolates of different *Trichoderma* species used in the experiment

گونه‌ی قارچ <i>Trichoderma</i> species	<i>T. konigii</i>	<i>T. virens</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>T. saturnisporum</i>
جدایه قارچی مورد استفاده <i>Trichoderma</i> isolate	T77	T6, T21, T65, T64	T20, T14N, T16, T.BI, T7, T25, T16A, T19	T12, T12N

گلدان تعیین گردید. تیمارهای شاهد فاقد اینوکولوم بودند.

تهیه جمعیت نماتد ریشه گرهی

نماتد ریشه گرهی گوجه فرنگی، گونه‌ی *M. javanica* از بخش بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد (دکتر مهدیخانی) تهیه و برای تکثیر بر روی بوته‌ی گوجه فرنگی رقم موبیل در شرایط گلخانه نگهداری گردید.

آماده‌سازی سوبسترا جهت سنجش فعالیت پروتئاز

جهت القای تولید پروتاز از محیط کشت TLE (۶) به همراه ۵٪/۰ کارژین استفاده گردید. ۳۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت مورد نظر درون بطری‌های شیشه‌ای ۱ لیتری ریخته شد و سپس اتوکلاو گردید. پس از سرد شدن، به هر یک از بطری‌ها $10^7 \times 2$ اسپور از هر ایزوله

تهیه مایه تلقیح قارچ

جهت مایه‌زنی جدایه‌های مختلف قارچ تریکودرما به بوته‌های گوجه فرنگی در گلخانه ابتدا مقدار ۲۰۰ گرم دانه گندم شسته به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر جوشانده شد و سپس ۲ ساعت روی پارچه‌ی تمیزی جهت حذف رطوبت سطحی پخش شدند. پس از آن، گندم‌ها را درون ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته و طی دو روز به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استرون گردید. سپس به هر ارلن ده دیسک پنج میلی‌متری از کشت تازه هر کدام از جدایه‌های قارچی افزوده شد و ارلن‌ها به مدت ۱۲ روز جهت رشد قارچ در دمای 28 ± 1 سانتی‌گراد قرار داده شد. طی این مدت هر دو روز یک بار محتویات هر ارلن به خوبی به هم زده شد و در نهایت با استفاده از سری‌های رقت تهیه شده از هر جدایه، مقدار گندم مورد نیاز جهت افزودن میزان $10^7 \times 1$ زادمایه قارچ به هر گرم خاک در هر

میلی لیتر معرف استات مس ۵٪، ۰/۳ میلی لیتر از امولسیون ۵٪ روغن زیتون و تریتون ۱۰۰ در بافر ۵۰ میلی مولار سدیم فسفات به همراه یک میلی لیتر از عصاره آنزیمی به دست آمده از مرحله قبل می باشد. ترکیب مورد نظر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد و در نهایت واکنش با سانتی فیوژ با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه متوقف گردید. پس از آن میزان جذب برای هر نمونه در طول موج ۷۱۰ نانومتر اندازه گیری شد. در این سنجش، جهت رسم منحنی استاندارد از غلظت های مختلف اولتیک اسید استفاده شد (۱۸).

بررسی تأثیر عصاره محیط کشت القا کننده لیپاز بر میزان

تفریح تخم نماد در آزمایشگاه

جهت بررسی تأثیر عصاره محیط کشت القا کننده لیپاز بر میزان کاهش تفریح تخم نماد در آزمایشگاه، ۱۵ میلی لیتر از سوسپانسیون حاوی ۱۰۰ عدد تخم نماد و ۳۵ میلی لیتر محلول عصاره محیط کشت حاصل از کشت هر کدام از جدایه ها بر روی محیط مایع القا کننده لیپاز درون یک پتری ریخته و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد (دمای بهینه ی فعالیت آنزیم) قرار داده شد. در نمونه های شاهد، از آب مقطر استریل به جای عصاره ی آنزیمی استفاده شد.

بررسی میزان توانایی جدایه های قارچ *Trichoderma spp.*

در کنترل نماد ریشه گری در گلخانه

برای بررسی میزان تأثیر جدایه های قارچ مورد نظر در کنترل این نماد، ابتدا خاک هر گلدان (یک کیلوگرم خاک سترون و به نسبت های: خاک رسی: ۱، خاک برگ: ۱، ماسه: ۲) با میزان گندم محاسبه شده جهت هر جدایه قارچی مایه زنی و به خوبی مخلوط گردید. سپس یک عدد نشاء گوجه فرنگی رقم موبیل در مرحله ی ۴ برگی به هر گلدان منتقل گردید. پس از گذشت ده روز از تاریخ مایه زنی قارچ به بوته ها، در اطراف طوقه ی هر بوته سه سوراخ به عمق ۵ سانتی متر ایجاد و به هر گلدان ۲۰۰۰ عدد تخم نماد اضافه گردید (۲۳). تیمارهای شاهد مثبت شامل گلدان های دارای گیاه به همراه نماد و بدون قارچ و شاهد منفی شامل گلدان های دارای گیاه بدون نماد و قارچ بود. اندازه گیری شاخص های بیماری زایی نماد شامل شاخص گال، تعداد کیسه تخم در هر گرم ریشه، تعداد تخم درون هر کیسه تخم، تعداد لارو سن دوم در ۱۰۰ گرم خاک اطراف ریشه و فاکتور تولید مثل نماد پس از گذشت ۴۵ روز از مایه زنی نماد به بوته های گوجه فرنگی صورت گرفت. در این آزمایش شاخص گال طبق روش تایلور و ساسر تعیین شد که بر طبق این روش شدت گال ریشه (RGS) بر اساس شاخص ۵- (۰: بدون گال، ۱: ۱-۲ گال، ۲:

قارچی مایه زنی گردید و در نهایت بطری های مورد نظر به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور بر دقیقه و در دمای 28 ± 1 قرار داده شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت، محیط کشت مورد نظر به درون لوله های سانتی فیوژ سترون منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتی فیوژ گردید. سپس فاز رویی را برداشته و با استفاده از کاغذ واتمن شماره یک صاف شد و از آن جهت استفاده به عنوان محلول آنزیم در سنجش آنزیمی استفاده گردید. محلول آنزیمی تا زمان استفاده جهت سنجش آنزیمی، در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری می گردد (۶).

سنجش آنزیمی پروتئاز

سنجش آنزیمی پروتئاز بر پایه رنگ سنجی و بر اساس روش آنسون صورت پذیرفت. ترکیب واکنش سنجش آنزیمی شامل پنج میلی لیتر از محلول ۰/۶۵٪ (وزن به حجم) کازئین در بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار به همراه یک میلی لیتر از عصاره آنزیمی می باشد. میزان جذب هر نمونه در طول موج ۶۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. جهت رسم منحنی استاندارد این آنزیم از غلظت های مختلف اسید آمینه تیروزین ۱/۱ میلی مولار استفاده گردید (۱).

بررسی تأثیر عصاره محیط کشت القا کننده پروتئاز بر

میزان تفریح تخم نماد در آزمایشگاه

جهت بررسی تأثیر عصاره محیط کشت القا کننده پروتئاز بر میزان کاهش تفریح تخم نماد در آزمایشگاه، ۱۵ میلی لیتر از سوسپانسیون حاوی ۱۰۰ عدد تخم نماد و ۳۵ میلی لیتر محلول عصاره محیط کشت حاصل از کشت هر کدام از جدایه ها بر روی محیط مایع القا کننده پروتئاز درون یک پتری ریخته و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد (دمای بهینه ی فعالیت آنزیم) قرار داده شد. در نمونه های شاهد، از آب مقطر استریل به جای عصاره ی آنزیمی استفاده شد (۱۱).

آماده سازی سوبسترا جهت سنجش فعالیت لیپاز

به منظور القای تولید آنزیم لیپاز توسط جدایه های قارچ تریکودرما، از محیط کشت اصلاح شده ریس (pH=5) استفاده شد. محیط کشت مورد نظر به درون لوله های سانتی فیوژ استریل منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتی فیوژ گردید. از فاز روئی به عنوان منبع آنزیمی در سنجش آنزیم لیپاز استفاده گردید (۱۹).

سنجش آنزیمی لیپاز

ترکیب واکنش جهت سنجش لیپاز شامل پنج میلی لیتر بنزن، یک

از برازش معادله‌ی خطی درجه‌ی یک و برآورد ضریب تبیین یا همبستگی (r^2) توسط نرم‌افزار SigmaPlot V.12.0 تعیین گردید.

نتایج

سنجش میزان فعالیت آنزیمی

برای این منظور، میزان جذب نوری ترکیب‌های واکنش پس از توقف واکنش در طول موج‌های مربوطه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و با توجه به میزان جذب صورت گرفته در هر تیمار، فعالیت آنزیمی جدایه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد ترسیم شده با استفاده از غلظت‌های مختلف ترکیب استاندارد مربوطه در هر سنجش محاسبه گردید.

نتایج مربوط به سنجش آنزیمی پروتئاز

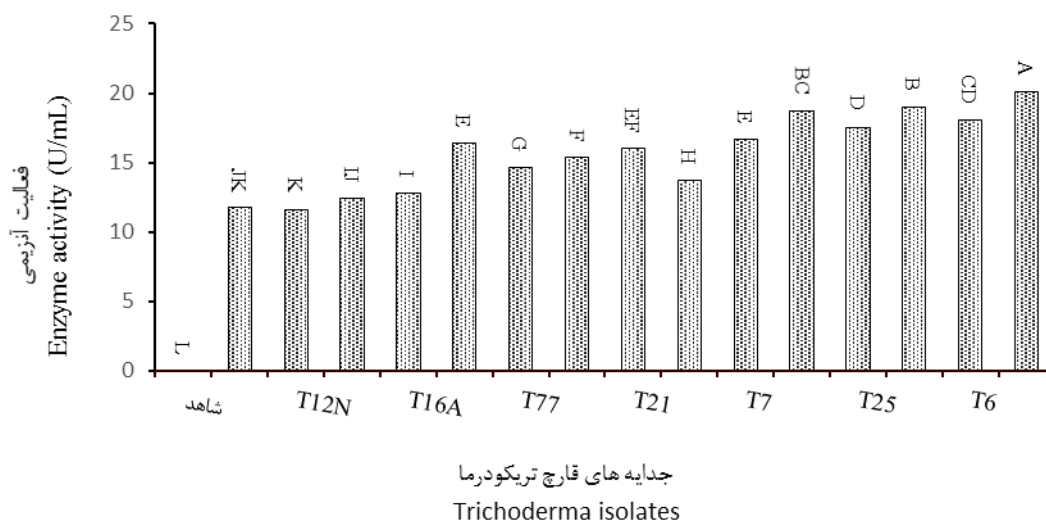
نتایج حاصله از سنجش آنزیمی مربوط به آنزیم پروتئاز نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار میزان تولید این آنزیم در جدایه‌های T.BI و T65 نسبت به سایر جدایه‌ها می‌باشد. همچنین بر اساس این نتایج، کمترین میزان فعالیت آنزیمی در بین جدایه‌های مورد آزمون، مربوط به جدایه‌های T12N و T12 می‌باشد (شکل ۱).

۱۰-۳ گال، ۳: ۳۰-۱۱ گال، ۴: ۱۰۰-۳۱ گال و ۵: بیش از ۱۰۰ گال) ارزیابی گردید (۲۱). همچنین فاکتور تولید مثلی نماتد نیز از نسبت جمعیت نهایی نماتد به جمعیت اولیه نماتد به دست آمد. در طی این مدت، گلدان‌های مذکور در شرایط گلخانه و در دمای 28 ± 2 درجه سانتی‌گراد و حداقل هشت ساعت نور در روز قرار گرفتند.

آنالیزهای آماری

این تحقیق شامل دو آزمایش جداگانه در آزمایشگاه و گلخانه بود. در آزمایشگاه آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی ساده و با سه تکرار انجام گرفت. در گلخانه نیز آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. تجزیه واریانس صفات مختلف با استفاده از دستور "Proc GLM" نرم‌افزار SAS V.9.2 انجام پذیرفت. مقایسه میانگین بین تیمارهای مختلف آزمایشی با استفاده از روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح اطمینان ۹۵٪ صورت گرفت.

پیش از انجام تجزیه واریانس داده‌های آزمایشی، تست نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SigmaPlot V.12.0 انجام شد که در صورت نیاز داده‌ها قبل از انجام تجزیه واریانس نرمال گردیدند. ارتباط بین میزان فعالیت آنزیمی مربوط به آنزیم‌های پروتئاز و لیپاز جدایه‌های مختلف قارچ و مقدار شاخص تولید مثلی نماتد، با استفاده



شکل ۱- میزان فعالیت آنزیمی پروتئاز جدایه‌های قارچ *Trichoderma* spp. در آزمایشگاه

جدایه‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ نداشتند.

Figure 1- Protease activity of different isolates of *Trichoderma* spp.

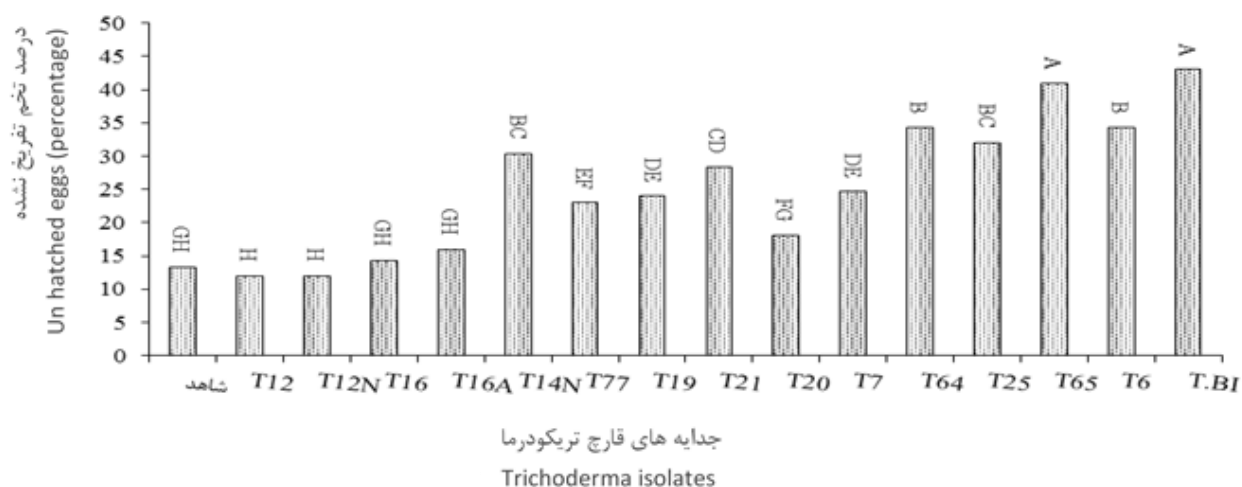
There is no significant difference in isolates with the same letter.

کاهش تفریح تخم نماتد در جدایه‌های T.BI و T65 مشاهده گردید. همچنین کمترین میزان کاهش در تفریح تخم نیز در جدایه‌های T.12 و T.12N به ثبت رسید (شکل ۲).

تأثیر عصاره محیط کشت القاکننده پروتئاز بر میزان

کاهش تفریح تخم نماتد

بر اساس نتایج به دست آمده، بیشترین میزان مرگ و میر و



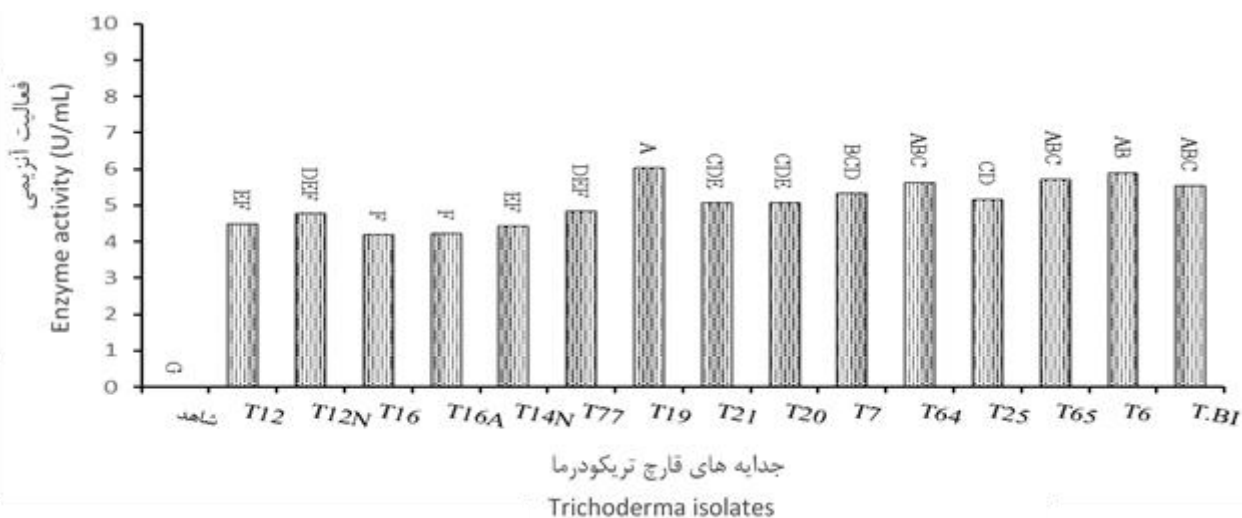
شکل ۲- تأثیر منبع آنزیمی پروتئاز جدایه‌های مختلف بر درصد تفریخ تخم نماتد ریشه گری در آزمایشگاه جدایه‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی دار در سطح ۵٪ نداشتند.

Figure 2- The effect of different isolates protease source on the root-knot nematode egg hatch
There is no significant difference in isolates with the same letter.

این آنزیم وجود دارد با این حال در تمامی جدایه‌ها میزان فعالیت آنزیمی نسبت به تیمار شاهد دارای تفاوت معنی دار می‌باشد (شکل ۳).

نتایج مربوط به سنجش آنزیمی لیپاز

نتایج سنجش جدایه‌ها از نظر میزان تولید لیپاز نشان داد تنها در برخی از جدایه‌های مورد سنجش تفاوت معنی داری از نظر میزان تولید



شکل ۳- میزان فعالیت آنزیمی لیپاز جدایه‌های قارچ *Trichoderma* spp.

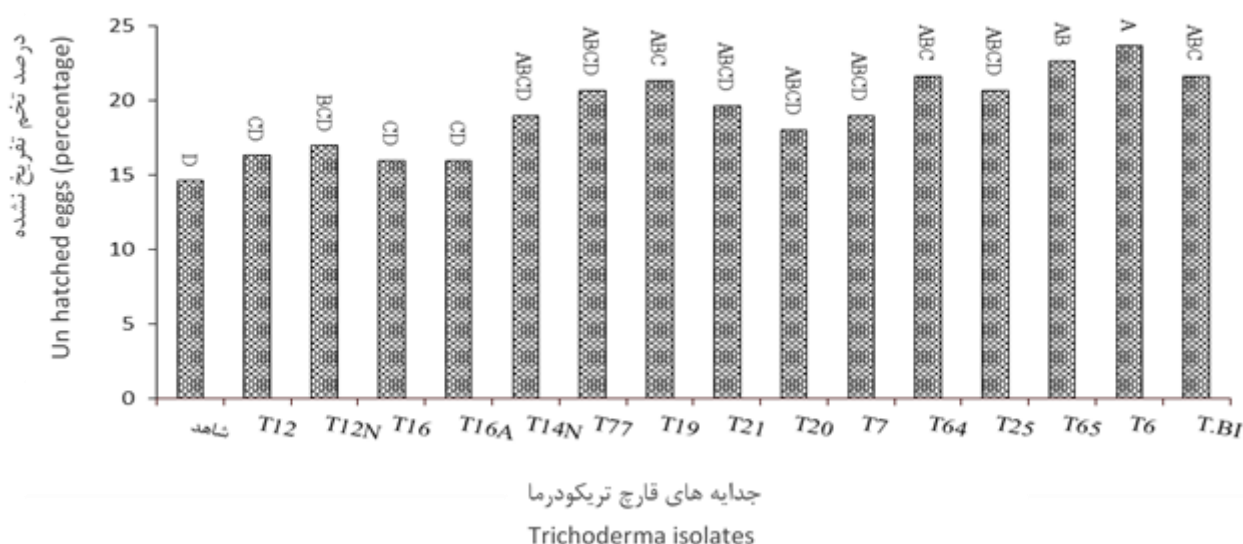
جدایه‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ نداشتند.

Figure 3- Lipase activity of different isolates of *Trichoderma* spp.
There is no significant difference in isolates with the same letter.

تأثیر عصاره محیط کشت القا کننده لیپاز بر میزان کاهش تفریخ تخم نماتد

نتایج سنجش میزان تأثیر منبع آنزیمی لیپاز بر میزان مرگ و میر تخم نماتدها در آزمایشگاه نشان داد، عصاره آنزیمی مذکور تأثیر

چندانی بر میزان کاهش تفریخ تخم نماتد ندارد و میزان تفریخ تخم نماتد در بیشتر جدایه‌ها نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری را دارا نمی‌باشد (شکل ۴).



شکل ۴- تأثیر منبع آنزیمی لیپاز جدایه‌های مختلف بر درصد تفریخ تخم نماتد ریشه گری در آزمایشگاه جدایه‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ نداشتند.

Figure 4- The effect of different isolates lipase source on the root-knot nematode egg hatch
There is no significant difference in isolates with the same letter.

بحث

نماتد ریشه گری گوجه‌فرنگی از مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای گوجه‌فرنگی می‌باشد. کنترل این نماتد به عنوان انگل داخلی گیاه، به دلیل دامنه وسیع میزبانی، دوره کوتاه چرخه زندگی و توان تولید مثل بالا دشوار می‌باشد (۱۲). تاکنون تحقیقات زیادی در خصوص استفاده از گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما به عنوان عامل کنترل بیولوژیک بیمارگرهای گیاهی صورت پذیرفته است. توانایی تولید مقادیر بالای آنزیم‌های کیتیناز، پروتئاز و گلوکاناز، این قارچ را در زمره دشمن طبیعی طیف وسیعی از بیمارگرهای گیاهی قرار داده است (۲۶). در گذشته تحقیقاتی در خصوص تأثیر این قارچ در کنترل بیولوژیک نماتد مولد گره ریشه صورت گرفته است و به خصوص گونه‌ی *T. harzianum* با تولید آنزیم‌های خارج سلولی نظیر کیتیناز و پروتئاز نقش مثبت خود را در بیوکنترل *M. javanica* به اثبات رسانده است (۲۱).

نتایج تحقیقی دیگر بر روی جدایه‌های دستکاری شده ژنتیکی از

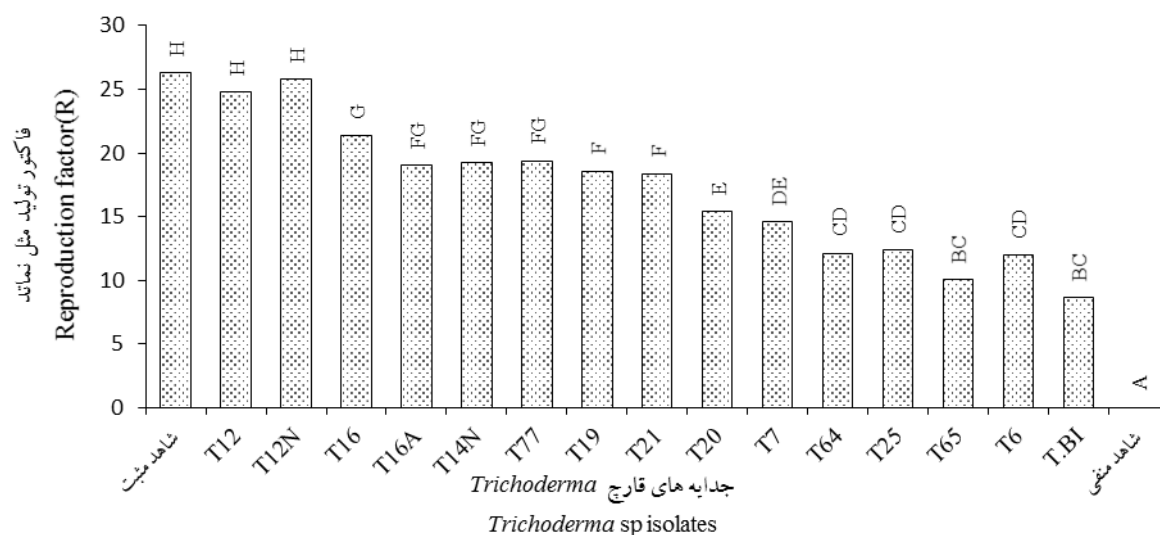
نتایج گلخانه‌ای

بر اساس نتایج آزمون‌های گلخانه‌ای جدایه‌های *T6*، *T.BI* و *T65* با کاهش فاکتور تولید مثلی نماتد به ترتیب به مقادیر ۸/۶، ۱۰/۰۴ و ۱۱/۹ بیشترین موفقیت را در کنترل بیولوژیک نماتد ریشه‌گری در گلخانه به دست آوردند. همچنین جدایه‌های *T12N*، *T12* و *T16* به ترتیب با فاکتور تولید مثلی ۲۵/۸، ۲۴/۷ و ۲۱/۳۵ کمترین توانایی را در کاهش شاخص‌های بیماری از خود نشان دادند (شکل‌های ۵ و ۶).

در ارتباط با بررسی همبستگی بین فعالیت آنزیمی جدایه‌های قارچی و میزان توانایی کنترل کنندگی نماتد ریشه‌گری توسط هر جدایه بیشترین همبستگی و ارتباط مربوط به آنزیم پروتئاز با ضریب همبستگی $r^2=0.83$ به ثبت رسید (شکل ۷). همچنین میزان همبستگی بین فعالیت آنزیمی لیپاز و فاکتور تولید مثلی نماتد $r^2=0.42$ تعیین شد (شکل ۸).

تولیدی دارا می‌باشد (۷) که با توجه به وجود مقادیر بالایی از پروتئین در پوسته تخم و کوتیکول لارو سن دوم نماتد ریشه گری، میزان تولید این آنزیم در صورتی که قارچ با لاروها و تخم‌های این نماتد در ارتباط باشد افزایش پیدا می‌کند.

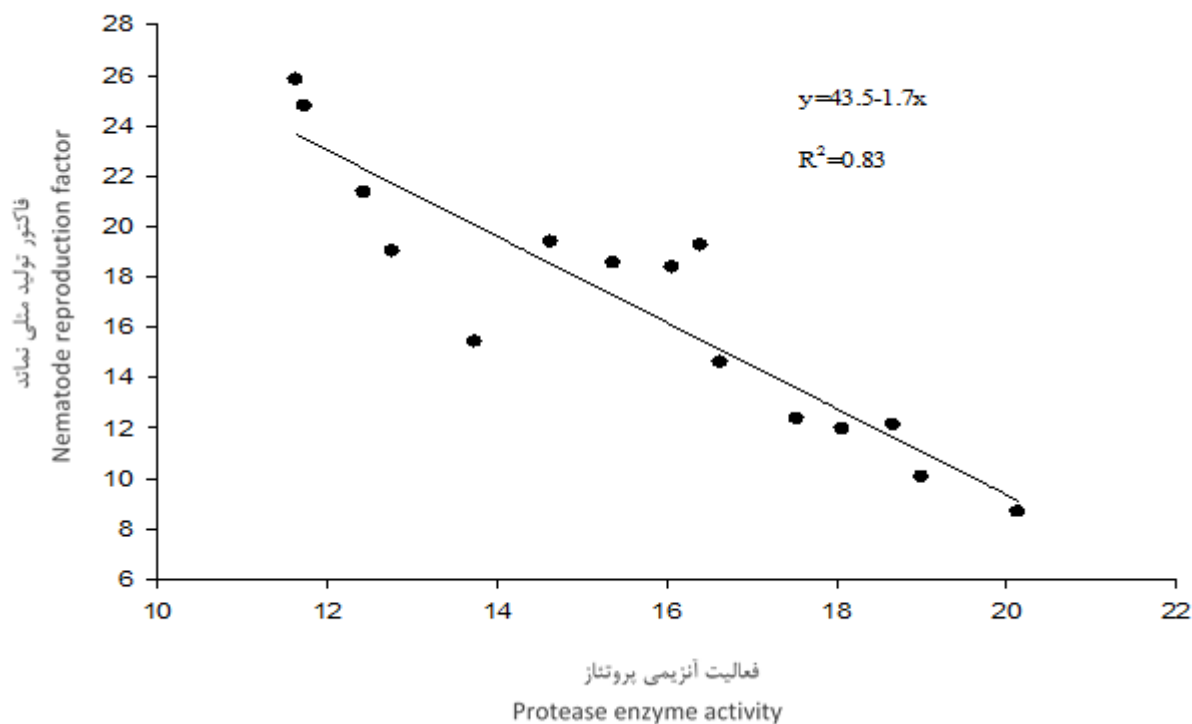
نظر تولید میزان پروتئاز نشان دادند که افزایش تعداد کپی‌های قطعه ژنی مربوط به آنزیم پروتئاز، سبب افزایش میزان کنترل‌کنندگی قارچ *Trichoderma harzianum* علیه قارچ *Rhizoctonia solani* می‌گردد. همچنین نتایج نشان می‌دهد وجود منبع کربنی مناسب جهت القای تولید آنزیم پروتئاز نیز تأثیر زیادی در میزان پروتئاز



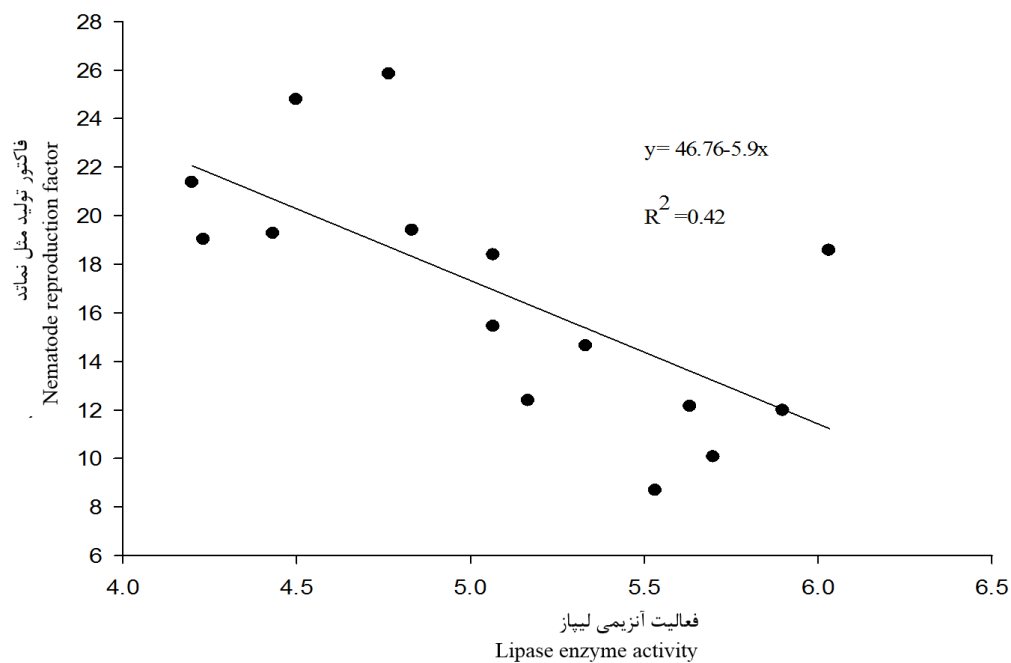
شکل ۵- فاکتور تولید مثلی نماتد تحت تأثیر جدایه‌های مختلف قارچ تریکودرما در گلخانه
Figure 5- Nematode reproduction factor affected by different *Trichoderma* spp. isolates



شکل ۶- شاخص گال نماتد تحت تأثیر جدایه‌های مختلف قارچ تریکودرما در گلخانه
Figure 6- Nematode Gall index affected by different *Trichoderma* isolates



شکل ۷- رگرسیون میزان فعالیت آنزیمی پروتئاز جدایه‌های قارچ *Trichoderma* spp. با فاکتور تولید مثل نماتد
Figure 7- Regression of the protease activity of *Trichoderma* spp. isolates with the nematode reproduction factor



شکل ۸- رگرسیون میزان فعالیت آنزیمی لیپاز جدایه‌های قارچ *Trichoderma* spp. با فاکتور تولید مثل نماتد
Figure 8- Regression of the lipase activity of *Trichoderma* spp. isolates with the nematode reproduction factor

نماتد در آزمایشگاه مشخص شد که آنزیم پروتئاز تولیدی توسط قارچ تریکودرما دارای توانایی بالایی در تخریب تخم نماتد و کاهش تفریح تخم نماتد می باشد که این امر با توجه به وجود درصد بالای پروتئین در پوسته تخم این نماتد دور از انتظار نمی باشد. همچنین در رابطه با بررسی تأثیر آنزیم لیپاز بر تخم نماتد در آزمایشگاه، بی اثر بودن آنزیم لیپاز تولید شده توسط قارچ تریکودرما بر تخریب تخم نماتد ثابت شد که دلیل این امر ممکن است عدم وجود سازگاری بین آنزیم لیپاز تولیدی توسط این قارچ و نوع لیپید موجود در پوسته تخم نماتد باشد. لذا به نظر می رسد که آنزیم لیپاز مورد نظر فاقد توانایی نفوذ به درون ساختار لیپیدی پوسته تخم نماتد و تجزیه آن باشد. با توجه به این موارد، می توان بالا بودن همبستگی بین میزان آنزیم پروتئاز تولیدی توسط قارچ تریکودرما و توانایی بیوکنترلی این جدایه ها در گلخانه و همچنین پایین بودن این همبستگی در رابطه با آنزیم لیپاز را توجیه نمود. از طرفی بارها ثابت شده است که مهم ترین مکانیسم بیوکنترلی جدایه های قارچ تریکودرما علیه بیمارگرهای گیاهی، تحریک مقاومت القایی سیستمیک و افزایش میزان ترکیبات دفاعی در میزبان می باشد. کیتیناز و پروتئاز تولیدی توسط جدایه های قارچ تریکودرما می توانند به عنوان تحریک کننده ی گروهی از پروتئین های مرتبط با بیماری زایی (PR-Protein) در گیاه عمل نمایند و در نتیجه سبب فعال کردن مکانیسم های دفاعی گیاه در برابر بیمارگرها و افزایش سطح مقاومت گیاه به بیمارگرها گردند. تا کنون گزارشات زیادی مبنی بر تأثیر آنزیم پروتئاز بر تحریک مقاومت سیستمیک علیه بیمارگرهای گیاهی به ثبت رسیده است. در حالی که تا کنون گزارشی مبنی بر تأثیر لیپاز تولید شده توسط قارچ تریکودرما بر تحریک سیستم ایمنی گیاهان به ثبت نرسیده است. در مجموع باید گفت نمی توان با اطمینان از موفقیت یا عدم موفقیت یک عامل بیوکنترل در کنترل یک بیمارگر بخصوص صحبت نمود و متغیرهای فراوانی بر میزان موفقیت عوامل بیوکنترل در محیط های طبیعی تأثیر گذارند.

اگرچه یک گزارش از بی تأثیر بودن میزان قدرت تولید آنزیم پروتئاز توسط جدایه های قارچ تریکودرما بر توانایی بیوکنترلی این قارچ در دست می باشد (۱۷)، اما سایر مطالعات نقطه ی مقابل این گزارش را بیان می نمایند. به عنوان مثال جدایه های دارای چندین نسخه از ژن کد کننده ی پروتئاز توانایی بالاتری را از نظر قدرت کنترل کنندگی نماتد *M. javanica* نشان می دهند که این امر نشان دهنده ی تأثیر پروتئاز قارچ تریکودرما بر فعالیت کنترل کنندگی این قارچ علیه نماتدها می باشد (۲۲). کوتیکول لارو سن دوم عمدتاً از پروتئین تشکیل شده است. بنابراین، فرض ما بر این است که بهبود فعالیت پروتئولیتیک یک آنتاگونیست به افزایش توانایی بیوکنترلی آن عامل منجر خواهد شد. در پژوهشی که به منظور بررسی تأثیر فعالیت پروتئولیتیک جدایه های قارچ تریکودرما در کنترل بیولوژیک نماتد ریشه گری صورت گرفت، نشان داده شد که نوعی همبستگی بین میزان فعالیت پروتئولیتیک و میزان کنترل کنندگی قارچ تریکودرما علیه لاروهای سن دوم این نماتد وجود دارد. نتایج به دست آمده در آزمون های گلخانه ای تا حدودی تأیید کننده ی نتایج آزمون های آزمایشگاهی می باشد. در بررسی میزان تأثیر جدایه های قارچ در کنترل بیولوژیک نماتد در گلخانه معیارهایی همچون تعداد توده تخم، تعداد تخم درون هر توده تخم، تعداد گال بر روی ریشه (شاخص گال)، تعداد لارو سن ۲ در ۱۰۰ گرم خاک اطراف ریشه و در نهایت فاکتور تولید مثل نماتد مورد استفاده قرار گرفتند (۲۴). بر اساس نتایج به دست آمده از آزمایشات گلخانه ای، بین بیشتر جدایه های قارچ تریکودرما در میزان توانایی کنترل بیولوژیک نماتد ریشه گری تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۹۵٪ وجود دارد. بر اساس این نتایج، موفق ترین جدایه ها در کنترل بیولوژیک نماتد ریشه گری جدایه های T6، T.BI و T65 بودند. همچنین جدایه های T12، T12N و T16 به عنوان ضعیف ترین جدایه ها در کاهش خسارت نماتد ریشه گری به اثبات رسیدند.

از طرفی در آزمون بررسی تأثیر آنزیم های استخراج شده بر تخم

منابع

- 1- Anson M.L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. The Journal of General Physiology 22(1): 79-89.
- 2- Bird F.A., and McClure M.A. 1976. The Tylenchida (Nematoda) egg shell: structure, composition and permeability. Parasitology 72: 19-28.
- 3- Bonants P.J., Fitters P.F., Thijs H., den Belder E., Waalwijk C., and Henfling J.W.D. 1995. A basic serine protease from *Paecilomyces lilacinus* with biological activity against *Meloidogyne hapla* eggs. Microbiology 141(4): 775-784.
- 4- Cherif M., and Benhamou N. 1990. Cytochemical aspect of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Phytopathology 80: 1406-1414.
- 5- De Marco J.L., and Felix C.R. 2002. Characterization of a protease produced by a *Trichoderma harzianum* isolate which controls cocoa plant witches' broom disease. BMC biochemistry 3(1): 1-7.
- 6- De Marco J.L., Lima L.H.C., de Sousa M.V., and Felix C.R. 2000. A *Trichoderma harzianum* chitinase destroys

- the cell wall of the phytopathogen *Crinipellis perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cocoa. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 16(4): 383-386.
- 7- Flores A., Chet I., and Herrera-Estrella A. 1997. Improved biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* by over-expression of the proteinase-encoding gene *prb1*. *Current genetics* 31(1): 30-37.
 - 8- Geremia R.A., Goldman G.H., Jacobs D., Ardiles W., Vila S.B., van Montagu M., and Herrera-Estrella A. 1993. Molecular characterization of the proteinase-encoding gene, *prb I*, related to mycoparasitism by *Trichoderma barriarum*. *Molecular Microbiology* 8: 603-613.
 - 9- Goettel M.S., St Leger R.J., Rizzo N.W., Staples R.C. and Roberts D.W. 1989. Ultrastructural localization of a cuticle degrading protease produced by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* during penetration of host (*Manduca sexta*) cuticle. *Journal of Genetic Microbiology* 35: 2233-2239.
 - 10- Khan A., Williams K., Molloy M.P., and Nevalainen H. 2003. Purification and characterization of a serine protease and chitinases from *Paecilomyces lilacinus* and detection of chitinase activity on 2D gels. *Protein Expression and Purification* 32: 210-220.
 - 11- Khan A., Williams K.L., and Nevalainen H.K. 2004. Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. *Biological Control* 31(3): 346-352.
 - 12- Lopez-Illorca L.V., Macia-Vicente J.G., and Janssen H.B. 2008. Mode of action and interaction of nematophagous fungi. In: Ciancio A. and Mukerji K.G. (eds.) *Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes*: 51-76.
 - 13- Lopez-Illorca L.V., and Robertson W.M. 1992. Immunocytochemical localization of a 32-kDa protease from the nematophagous fungus *Verticillium suchlasporium* in infected nematode eggs. *Experientia Mycology* 16: 261-267.
 - 14- Mahdikhani Moghadam E., Rouhani H., and Falahati Rastegar M. 2009. Biological control of sugar beet cyst forming nematode with *Trichoderma* under in vitro and green house condition. *Journal of Science and Technology Agriculture and Natural Resources* 48: 301-312.
 - 15- Mahdikhani-Moghadam E., and Rouhani H. 2012. Effect of isolates of *Trichoderma harzianum*, *T. virens* and *Bacillus subtilis* for controlling *Heterodera schachtii* in field conditions. *Journal of Plant Protection* 26(1): 75-81.
 - 16- Mai W.F., and Abawi G.S. 1987. Interactions among root-knot nematodes and Fusarium wilt fungi on host plants. *Annual Review of Phytopathology* 25: 317-338.
 - 17- Mischke S. 1996. Evaluation of chromogenic substrates for measurement of protease production by biocontrol strains of *Trichoderma*. *Microbios* 87: 175-183.
 - 18- Pinsirodom P., and Parkin K.L. 2001. Lipase Assays. *Food Analytical Chemistry* C3.1.1-C3.1.13.
 - 19- Rajesh E., Arthe R., Rajendran R., Balakumar C., Pradeepa N., and Anitha S. 2010. Investigation of lipase production by *Trichoderma reesei* and optimization of production parameters. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry* 9(7): 1177-1189.
 - 20- Sahebani N., and Hadavi N. 2008. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biology and Biochemistry* 40(8): 2016-2020.
 - 21- Sasser J.N., Carter C.C., and Hartman K.M. 1984. Standardization of host suitability studies and reporting of resistance to root-knot nematodes. *Department of Plant Pathology, North Carolina State University*: 1-6.
 - 22- Sharon E., Bar-Eyal M., Chet I., Herrera-Estrella A., Kleinfeld O., and Spiegel Y. 2001. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 91: 687-693.
 - 23- Siddiqui I.A., Amer Zareen M., Javad Zaki M., and Shaukat S.S. 2001. Use of *Trichoderma* species in the control of *Meloidogyne javanica*, Root -knot nematode in the Okra and Mungbean. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4(7): 846-848.
 - 24- Siddiqui I.A., and Shaukat S.S. 2004. *Trichoderma harzianum* enhances the production of nematicidal compounds in vitro and improves biocontrol of *Meloidogyne javanica* by *Pseudomonas fluorescens* in tomato. *Letters in Applied Microbiology* 38(2): 169-175.
 - 25- Suarez B., Rey M., and Castillo P. 2004. Isolation and characterization of PRA1, a trypsin- like protease from the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* CECT 2413 displaying nematicidal activity. *Applied Microbiology and Biotechnology* 65: 46-55.
 - 26- Verma M., Brar S.K., Tyagi R.D., Surampalli R.Y., and Valero J.R. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control. *Biochemical. Enzymology Journal* 37: 1-20.
 - 27- Windham G.L., Windham M.T., and Williams W.P. 1986. Effect of *Trichoderma* spp. On maize growth and *Meloidogyne arenaria* reproduction. *Plant Disease Reporter* 73: 493-494.



Evaluation of some *Trichoderma* spp. Protease and Lipase Activity and Its Effect on Biocontrol of Tomato Root-knot Nematode (*Meloidogyne javanica*)

M. Kavari¹- E. Mahdikhani-Moghadam^{2*}- H. Rouhani³

Received: 10-06-2017

Accepted: 28-12-2019

Introduction: Among crop culture, tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) is an important vegetable crop that grown throughout the world in open as well as protected cultivation. Iran ranks sixth among tomato producing countries. One of the biggest challenges in modern agriculture worldwide, is the management of soil-borne plant pathogens, including plant-parasitic nematodes. Among plant parasite nematodes, root-knot nematode genus *Meloidogyne* spp. (RKN) is one of the most important nematodes in a wide spectrum of crops that causes serious damage in most agricultural crops worldwide. The eggshell of root-knot nematode is containing 50% protein, 30% chitin and 20% lipid and Species of *Trichoderma* due to the production of the high level of many hydrolytic enzymes, are used as \ biocontrol agents of plant pathogens.

Material and Methods: In the current study, extracellular protease and lipase activity of 15 isolates of four species of *Trichoderma* spp. including *T. harzianum*, *T. virens*, *T. konigii* and *T. saturnisporum* were investigated to their biocontrol effects on tomato root-knot nematode in the greenhouse. These *Trichoderma* isolates were cultured on Potato Dextrose Agar (PDA) media for 7 days and were used to prepare inoculation of *Trichoderma*. In order to prepare *Trichoderma* inoculum, we used sterilized wheat as the substrate contains *Trichoderma* fresh culture and after that incubated in 28°C for 12 days. The *Meloidogyne javanica* pure population was prepared and tomato seedlings were inoculated with 2000 of the fresh egg of nematode and 1×10^7 different *Trichoderma* strain conidia and were kept in greenhouse conditions. The enzyme activity was assessed based on the colorimetric method using a special substrate as the only energy source for *Trichoderma* isolates. We used casein as the substrate for protease and extra-pure olive oil as the substrate for lipase activity assessment.

Result and Discussion: According to the enzyme activity results, the highest protease activity was in the isolates *T. harzianum* BI, *T. virens* T65 and *T. virens* T64 and the lowest protease activity was in isolates *T. harzianum* T16A, *T. saturnisporum* T12 and *T. saturnisporum* T12N, respectively. The highest lipase activity was in *T. harzianum* T19, *T. virens* T6 and *T. virens* T65 and the lowest lipase activity were in *T. harzianum* T14N, *T. harzianum* T16A and *T. harzianum* T16. Based on the greenhouse results, T.BI, T65 and T6 isolates were the highest effective isolates and T12N, T12 and T16 reported as the lowest effective isolates in the biocontrol of root-knot nematode on infected tomato plants. Also, according to the results of correlation between protease and lipase activity and nematode reproduction factor, the correlation coefficient between enzyme activity and nematode reproduction factor for protease activity measured $R^2=0.83$ and for lipase activity measured $R^2=0.42$ which given the constituents of the root-knot eggshell and larvae cuticle that contains high amounts of protein, this is understandable. There are many reports about the effects of protease and chitinase on the induction of resistance against plant pathogens in plants. An investigation on the effect of *Trichoderma* isolates extracellular protease level on the biocontrol ability of these isolates against tomato root-knot nematode showed that the higher number of protease-encoding genes copies increases the biocontrol ability of these isolates.

Conclusion: Root-knot nematode is one of the most important damaging agents on tomato plants. It is difficult to control this endo-parasite nematode because of its wide host range, short life cycle, and high reproductive potential. The activation of the plant's own defense system through biotic and abiotic agents, called elicitors, has been considered as a focus of research only in recent years for the control of plant pathogens. The resulting elevated resistance due to an inducing agent upon infection by a pathogen is called induced systemic resistance (ISR) or systemic acquired resistance (SAR). Several abiotic and biotic agents have been reported to induce resistance against plant-parasitic nematodes. So far, many pieces of research have done on the use of different species of *Trichoderma* as biological control agents of plant pathogens. The ability to produce high amounts of chitinase, protease and glucanase enzymes made this isolates as a biocontrol agent of a wide range of plant pathogens. Overall, there is no sure whether or not a biocontrol agent is successful in controlling a

1, 2 and 3- Ph.D. Student of Plant Pathology and Professors, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, respectively.

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

particular pathogen, and many variables influence the success rate of biocontrol agents in natural environments.

Keywords: Enzyme activity, *Trichoderma* spp., Biological control, Root-knot nematode



نقش تغذیه گوگرد و مایه‌زنی با باکتری تیوباسیلوس در مهار بیماری پاخوره گندم ناشی از *Gaeumannomyces tritici*

مریم قدم خیر^۱ - سعید عباسی^{۲*} - روح الله شریفی^۳ - اکرم فاطمی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳

چکیده

بیماری پاخوره با عامل *Gaeumannomyces tritici*، یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های ریشه گندم در سراسر جهان است. از این رو ارائه راهکاری مدیریتی جهت کنترل این بیماری، بسیار ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این پژوهش بررسی نقش تغذیه با گوگرد و اثر باکتری تیوباسیلوس بر وقوع بیماری پاخوره گندم بود. بدین منظور، ابتدا خصوصیات فیزیکی-شیمیایی خاک مورد آزمون ارزیابی شد. گوگرد در غلظت‌های صفر، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم با خاک مخلوط شد و به سه صورت مورد مصرف قرار گرفت. در یک تیمار، خاک غنی‌شده با غلظت‌های مختلف گوگرد بلافاصله با بیمارگر مایه‌زنی و مورد کشت گندم قرار گرفت، در تیمار دوم خاک غنی‌شده با غلظت‌های مختلف گوگرد به مدت دو ماه در گلخانه نگهداری شد و سپس مایه‌زنی و کشت شد. در تیمار سوم نیز خاک غنی‌شده با غلظت‌های مختلف گوگرد با باکتری تیوباسیلوس تیمار شد و بلافاصله مایه‌زنی و کشت انجام شد. تجزیه خاک مورد آزمایش نشان داد این خاک آهکی بوده و pH آن ۷/۲۴ یعنی نسبتاً قلیایی است. میزان دسترسی نیتروژن و عنصر روی آن مناسب بود، ولی غلظت عناصر آهن، مس و تا حدودی فسفر خاک کم بود. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف گوگرد به صورت کشت بلافاصله و نگهداری دو ماهه اثر معنی‌داری در کاهش بیماری پاخوره نداشتند، اما در تیمار همزمان گوگرد و باکتری تیوباسیلوس در غلظت هشت گرم بر کیلوگرم خاک شدت بیماری حدود ۴۵ درصد کاهش یافت. تیمار خاک با گوگرد در غلظت دو گرم بر کیلوگرم خاک با و بدون نگهداری دو ماهه وزن خشک گیاه را به ترتیب ۲۰ و ۲۵ درصد افزایش داد ولی افزایش بیشتر غلظت اثری بر افزایش رشد گیاه نداشت. در تیمار گوگرد و باکتری تیوباسیلوس با افزایش غلظت گوگرد، وزن خشک گیاه ۲۵ درصد افزایش داشت. در مجموع، ترکیب گوگرد و باکتری تیوباسیلوس می‌تواند به عنوان رهیافتی امیدبخش در مهار پاخوره و بهبود رشد گندم مدنظر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: پاخوره غلات، تغذیه خاک، تیوباسیلوس، گوگرد

مقدمه

تخریب نسوج ریشه و طوقه، سبب بروز نشانه‌های کمبود عناصر در قسمت‌های هوایی گیاه، سیاه شدن ناحیه طوقه و ریشه، مرگ زود هنگام، خشکیدگی کل بوته، از بین رفتن دانه در خوشه و سفید شدن سنبله‌ها می‌شود (۲۰ و ۲۴). راهکارهای مختلفی از جمله شخم عمیق، از بین بردن بقایای گیاهی، کنترل علف‌های هرز، استفاده از ارقام متحمل و تناوب زراعی برای مهار بیماری پاخوره وجود دارد که به صورت نسبی سبب کاهش بیماری می‌شوند. با این حال، در میان روش‌های کنترل بیماری، روشی که بتواند بیماری را به صورت کامل مهار نماید، وجود ندارد (۵). لذا برای کاهش خسارت این بیماری، بیشتر بر مدیریت تلفیقی بیماری تأکید می‌شود.

یکی از روش‌های مؤثر در کاهش خسارت بیماری‌های گیاهی مدیریت تغذیه میزبان است. بررسی متآنالیز نشان داده است که تغذیه مناسب می‌تواند به عنوان رهیافتی امیدبخش و عملی در کاهش بیماری‌های قارچی گیاهان مورد استفاده قرار گیرد (۲۱). البته بیمارگرها بسته به بیوتروف یا نکروتروف بودن و نوع گیاه میزبان

بیماری پاخوره با عامل (*Gaeumannomyces tritici* J. Walker)، یکی از مهم‌ترین و مخرب‌ترین بیماری‌های گندم محسوب می‌شود (۲۰). این قارچ در اغلب خاک‌های دنیا به وفور یافت شده و خسارت وارد می‌کند، ولی بیش‌تر در خاک‌های قلیایی و تا حدی خنثی، غیر حاصل‌خیز و فاقد زه‌کشی مناسب شدت دارد و در خاک‌های نواحی معتدل و مرطوب، در مزارعی که کشت گندم چند سال پیاپی و به طور مستمر صورت می‌گیرد، شدیدتر است (۱ و ۵). در شرایط مناسب، قارچ عامل بیماری ضمن

۱ و ۲ - به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه رازی

۴ - استادیار شیمی خاک، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه رازی

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

DOI: 10.22067/jpp.v33i4.67651

پاسخ‌های متفاوتی به مدیریت تغذیه می‌دهند که لازم است مورد توجه قرار گیرند. برخی عناصر غذایی با تقویت رشد و دفاع میزبان باعث مهار بیماری می‌شوند و برخی به‌صورت غیرمستقیم از طریق تغییر pH و اثرگذاری بر تنوع میکروبی خاک اثر خود را بر بیماری اعمال می‌کنند (۲۱، ۲۲ و ۲۶). به طور کلی، مطالعات نشان می‌دهد حفظ pH خاک در محدوده قابل قبول (۵/۵ تا ۶/۵) بهترین روش کاهش حساسیت میزبان به بیماری پاخوره می‌باشد؛ در این دامنه pH، عناصر ریزمغذی مورد نیاز گیاه تأمین شده و توان دفاعی گیاه افزایش می‌یابد (۲۲ و ۲۳). در واقع، شرایط قلیایی خاک سبب کاهش قابلیت جذب عناصر منگنز، آهن، روی، مس و برخی عناصر غذایی دیگر می‌شود و گیاه علی‌رغم وجود مواد غذایی کافی، قادر به جذب و استفاده از آن‌ها نخواهد بود. برخی از این عناصر نقش ویژه‌ای در کاهش بیماری پاخوره غلات دارند. مقدار کافی منیزیم مانند دیگر مواد مغذی در مقاومت گندم به بیماری پاخوره مؤثر است. استفاده از کلرید منیزیم همراه با کودهای آمونیومی موجب افزایش منیزیم قابل جذب برای گیاه، کاهش پاخوره و افزایش عملکرد محصول می‌شود. در مقابل، استفاده از کربنات منیزیم به همراه کربنات کلسیم به منظور افزایش pH فراریشه سبب کاهش میزان منگنز قابل جذب برای گیاه و افزایش بیماری می‌شود (۱۱).

در میان عناصر غذایی، از گوگرد بیشتر به منظور کاهش pH خاک‌های قلیایی استفاده می‌شود. گوگرد به دلیل ظرفیت اکسید شدن و تولید اسید سولفوریک، پتانسیل لازم برای کاهش pH خاک را حداقل در مقیاس کوچک دارا می‌باشد. بنابراین می‌تواند در منطقه فراریشه در انحلال ترکیبات غذایی نامحلول و آزاد شدن عناصر ضروری مؤثر واقع شود. لذا استفاده از گوگرد عنصری به عنوان یک ماده اسیدزا به منظور افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی در خاک‌های آهکی کاربرد دارد (۴). در آزمایشی مزرعه‌ای کاربرد گوگرد (۰، ۸، ۱۶ و ۳۶ تن گوگرد در هکتار) باعث کاهش تقریباً یک واحدی pH خاک مزرعه شده است (۲). در سال‌های اخیر، با کاهش مصرف فرم‌های سولفات کودهای ازت و فسفر و برداشت سالانه گوگرد توسط محصولات زراعی، مقدار این عنصر در خاک‌های کشور کاهش پیدا کرده است (۲ و ۱۶). علاوه بر این، اکسید شدن گوگرد در خاک یک پدیده بیوشیمیایی است و باکتری‌های تیوباسیلوس مهم‌ترین اکسیدکنندگان گوگرد در خاک می‌باشند (۱۶). حضور این نوع باکتری‌ها، موجب افزایش سرعت اکسیداسیون گوگرد در خاک می‌شود. به طور معمول در خاک‌های آهکی به علت کمبود مواد آلی، فعالیت باکتری‌های مؤثر در اکسایش گوگرد کاهش می‌یابد و زمانی مصرف گوگرد در این نوع خاک‌ها مؤثر است که همراه با کودهای آلی و یا همراه با مایه‌زنی تیوباسیلوس مصرف شود (۴ و ۹). مطالعه اثرات متقابل گوگرد و باکتری‌های تیوباسیلوس نشان داده است که در مجموع با افزایش مقادیر گوگرد و تیوباسیلوس، میزان عملکرد و جذب

عناصر غذایی در گندم افزایش یافته است (۳). علاوه بر توانایی این عنصر در کاهش pH خاک، گوگرد از دیرباز به عنوان یک قارچ‌کش نیز مدنظر بوده است و می‌تواند طیف وسیعی از قارچ‌های بیمارگر گیاهی را مهار کند (۲۲). این عنصر همچنین توسط میکروب‌های خاک در ساختار متابولیت‌های ضد میکروبی مثل دی‌متیل دی‌سولفید و دی‌متیل تری‌سولفید قرار می‌گیرند که اثر قارچ‌کشی قوی دارند (۱۰). گوگرد قادر است از طریق افزایش تولید برخی متابولیت‌های گیاهی از جمله سیستئین، گلوتاتیون و گلوکوزینولات‌ها باعث افزایش مقاومت میزبان شود (۱۵). در این پژوهش سعی شده است اثر روش‌های متفاوت افزودن گوگرد و حضور تیوباسیلوس اکسید کننده گوگرد به خاک و غلظت‌های مختلف این عنصر بر کاهش خسارت پاخوره غلات مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

جدایه بیمارگر

برای اجرای این پژوهش، جدایه *G. tritici* G64 از کلکسیون قارچ‌های آزمایشگاه قارچ شناسی، گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی تهیه گردید. جدایه بیمارگر، در لوله‌های آزمایش در پیچ‌دار حاوی محیط کشت سبب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) یا روی بذره‌ای یولاف که با قارچ عامل بیماری کلونیزه شده بودند در دمای ۴ °C نگهداری شد.

نمونه‌برداری خاک و تعیین خصوصیات فیزیکیوشیمیایی آن

نمونه خاک سطحی از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری از مزرعه پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی جمع‌آوری شد و از الک دومیلی‌متری عبور داده شد. سپس برخی ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی خاک از جمله قابلیت pH خاک و هدایت الکتریکی^۱ در عصاره اشباع، بافت خاک به روش هیدرومتری، کربن آلی (OC) به روش اکسیداسیون تر، کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون با اسید کلریدریک، ظرفیت تبادل کاتیونی به روش استات سدیم نرمال pH۸/۲، نیترات به روش کلدال، فسفر به روش اولسن با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Unicode 2150 و پتاسیم قابل جذب به روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم نرمال و خشی و قرائت با فلیم فتومتر، کلسیم و منیزیم تبادلی و محلول با روش تیتراسیون با ورسین و غلظت عناصر کم‌مصرف (منگنز، روی، مس، آهن) به روش عصاره‌گیری با DTPA و قرائت با دستگاه جذب اتمی مدل AA220 Varian ارزیابی شد. لازم به ذکر است برای آزمایش گلخانه‌ای خاک

1- Electric conductivity (EC)

در دمای 121°C به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه اتوکلاو سترون گردید (۱۹).

اثر تیمارهای گوگرد در مهار بیماری در شرایط گلخانه‌ای

در این آزمون از گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۶ و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر استفاده گردید. به منظور بررسی تأثیر عنصر گوگرد بر رشد و شدت بیماری، گوگرد عنصری در چهار سطح (صفر، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک) به سه روش متفاوت مورد استفاده قرار گرفت. در روش اول، بلافاصله بعد از اضافه کردن چهار سطح گوگرد و مخلوط کردن یکنواخت آن با خاک سترون، کشت بذر و تیمار با بیمارگر انجام شد. در روش دوم گلدان‌های حاوی خاک، بعد از اضافه کردن گوگرد عنصری و مخلوط کردن یکنواخت آن با خاک سترون، به مدت ۶۰ روز با تأمین رطوبت مورد نیاز برای فعالیت ریز موجودات خاک در شرایط گلخانه نگهداری شده و پس از طی این مدت به منظور بررسی تأثیر آن بر رشد گیاه و شدت بیماری مایه‌زنی بیمارگر و کشت بذر انجام شد. در روش سوم گوگرد عنصری در چهار سطح صفر، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک به همراه کود بیوسولفور (محصول شرکت فن‌آوری زیستی مهر آسیا، حاوی باکتری تیوباسیلوس)، معادل نصف مقادیر کاربرد گوگرد به خاک سترون اضافه شده و به طور یکنواخت مخلوط گردید، سپس به منظور بررسی تأثیر آن بر رشد گیاه و شدت بیماری مایه‌زنی بیمارگر و کشت بذر انجام شد. لازم به ذکر است که برای فعالیت باکتری‌های تیوباسیلوس ۶۰ گرم بر کیلوگرم ورمی کمپوست سترون شده به هر گلدان خاک اضافه شد.

پس از اعمال تیمارها، به منظور جلوگیری از بروز کمبود عناصر غذایی خاک، مقادیر متعادل کننده اوره (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک نیتروژن خالص)، سوپرفسفات تریپل (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک فسفر خالص)، سولفات آهن (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک آهن خالص)، سولفات مس (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک مس خالص) و سولفات روی (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک روی خالص) محلول‌سازی شده و به صورت مه‌پاشی به کمک افشانه دستی به خاک اضافه شدند. سپس خاک مورد استفاده در هر تیمار در گلدان‌ها توزیع شد. گلدان‌های مذکور تا ارتفاع ۹ سانتی‌متری با خاک سترون پر شده و سپس ۲۰ عدد بذر یولاف کلونیزه شده با قارچ بیمارگر در سطح خاک قرار داده شد. سپس مجدداً تا ارتفاع ۱۲ سانتی‌متری، خاک سترون اضافه شده و ۱۵ عدد بذر گندم ضد عفونی شده رقم بهار در سطح آن قرار داده شد. نهایتاً بذرهای گندم با یک سانتی‌متر خاک سترون پوشانده شدند. پس از جوانه‌زنی، ده گیاه در هر گلدان نگه داشته شد. آبیاری گلدان‌ها با استفاده از استوانه مدرج و به طور یکسان صورت گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار

تکرار اجرا گردید. گلدان‌های مذکور تا زمان ظهور نشانه‌های بیماری در گیاهان شاهد، در گلخانه و در نور متناوب نگهداری شدند. گیاهچه‌ها ۵۰ روز پس از کاشت به آرامی از گلدان‌ها خارج شده و پس از شستشوی ریشه‌ها، درصد آلودگی ریشه تعیین گردید. بعد از شستشوی ریشه‌ها و حذف گل‌ولای اضافی، ریشه‌های سالم و آلوده شمارش گردید و در آخر از نسبت تعداد ریشه‌های آلوده به کل ریشه‌های گیاه، درصد گرفته شد. تعیین وزن خشک پس از ۴۸ ساعت خشک کردن در انکوباتور با دمای 50°C درجه سلسیوس صورت گرفت. نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار SAS 9.1.3 تجزیه و تحلیل گردیده و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح پنج درصد صورت گرفت.

نتایج

خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد آزمایش

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک با توجه به میزان اسیدیته گل اشباع نشان داد که خاک مورد آزمایش با داشتن ۷/۲۴ pH خنثی و تا حدودی قلیایی است (جدول ۱). بافت خاک سنگین بوده و به لحاظ بالا بودن میزان بقایای گیاهی سال قبل درصد ماده آلی آن بالا بود. نتایج نشان داد که میزان کربنات کلسیم خاک ۴۳ درصد بوده و جزء خاک‌های با آهک بالا طبقه‌بندی می‌شود. میزان عناصر پتاسیم، منگنز و کلر در خاک بالاتر از حد بحرانی بود، در مقابل میزان عناصر مس و آهن پایین‌تر از حد بحرانی بود.

نتایج آزمایش گلخانه‌ای

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از محاسبه اثر گوگرد عنصری بر بیماری پاختور گندم نشان داد که بر اساس شاخص وزن خشک اندام هوایی، بین تیمارهای گوگرد و شاهد تفاوت معنی‌داری ($P \leq 0.05$) وجود دارد؛ اما بر اساس شاخص درصد آلودگی ریشه بین تیمارهای آزمایش و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف گوگرد عنصری بدون نگهداری دو ماهه بر میزان آلودگی به بیماری پاختور گندم در شرایط گلخانه بر اساس شاخص درصد آلودگی ریشه و وزن خشک اندام‌های هوایی به ترتیب در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که اضافه کردن گوگرد در هیچ‌کدام از غلظت‌های مورد استفاده در این پژوهش اثری روی کاهش شدت بیماری پاختور گندم نداشت. مطابق شکل ۲، با افزودن گوگرد به میزان دو گرم بر کیلوگرم خاک، وزن خشک اندام هوایی به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. این غلظت گوگرد در تیمارهای فاقد بیمارگر و آلوده به قارچ عامل پاختور،

وزن خشک را به ترتیب ۲۰ و ۲۵ درصد افزایش داد. افزودن مقادیر بیشتر گوگرد، افزایش بیشتر وزن خشک را به دنبال نداشت. در تیمار حاوی قارچ بیمارگر، با ادامه افزایش غلظت گوگرد به میزان چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک، وزن خشک در روندی خطی کاهش یافت و در غلظت حداکثری هشت گرم بر کیلوگرم خاک اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نداد.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در آزمون ارزیابی نقش تغذیه گوگرد و باکتری تیوباسیلوس در مهار پاخوره گندم

Table 1- Physico-chemical properties of the soil used in evaluation the effect of sulfur nutrition and *Thiobacillus* inoculation on suppression of wheat take-all

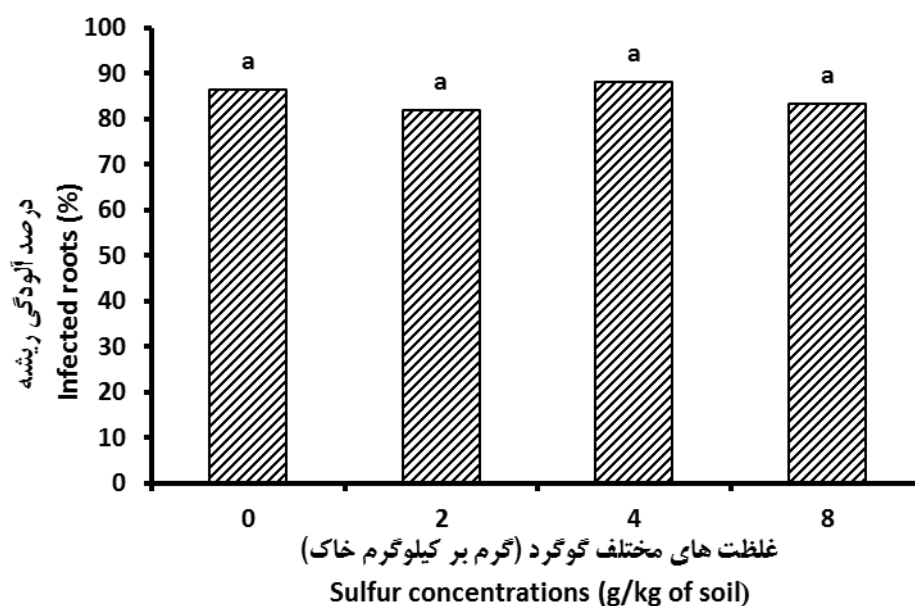
ویژگی Properties	مقدار Quantity	واحد Units
Clay	رس	34 %
Silt	لوم	44 %
Sand	شن	22 %
Equivalent Calcium Carbonate	کربنات کلسیم معادل	43 %
Saturated-Paste pH	pH گل اشباع	7.24
Soil Organic Carbon	کربن آلی خاک	1.4 %
Electrical Conductivity (EC)	هدایت الکتریکی	2.74 dS m ⁻¹
Cation Exchange Capacity (CEC)	ظرفیت تبادل کاتیونی	30.9 meq L ⁻¹
Solution Chlorine	کلر محلول	139.6 meq L ⁻¹
Available Potassium (K _{ava.})	پتاسیم در دسترس	697.8 mg kg ⁻¹
Available Phosphorus (P _{ava.})	فسفر در دسترس	15.6 mg kg ⁻¹
Ammonium (NH ₄ ⁺)	آمونیم	26.88 mg kg ⁻¹
Nitrate (NO ₃ ⁻)	نیتрат	9.94 mg kg ⁻¹
Solution Calcium	کلسیم محلول	3.35 mg kg ⁻¹
Solution Magnesium	منیزیم محلول	0.36 meq L ⁻¹
Exchangeable Calcium	کلسیم تبادل	30.46 meq L ⁻¹
Exchangeable Magnesium	منیزیم تبادل	8.4 meq L ⁻¹
Available Ferrous (Fe)	آهن در دسترس	4.28 mg kg ⁻¹
Available Zinc (Zn)	روی در دسترس	1.68 mg kg ⁻¹
Available Copper (Cu)	مس در دسترس	1.45 mg kg ⁻¹
Available Manganese (Mn)	منگنز در دسترس	35.24 mg kg ⁻¹

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف کاربرد گوگرد عنصری بر کاهش بیماری پاخوره غلات و وزن خشک اندام هوایی

Table 2- Analysis of variance of the effects of soil amendments with different rates of elemental sulfur on suppression of wheat take-all and plant shoot dry weight

Source of variation	منابع تغییرات	درجه آزادی Degree of freedom	درصد ریشه‌های آلوده Percentage of infected roots		وزن خشک اندام هوایی (خاک آلوده) Shoot dry weight (infested soil)		وزن خشک اندام هوایی (خاک غیر آلوده) Shoot dry weight (non-infested soil)	
			Mean of squares	Coefficient of variation (%)	Mean of squares	Coefficient of variation (%)	Mean of squares	Coefficient of variation (%)
			میانگین مربعات	ضریب تغییرات	میانگین مربعات	ضریب تغییرات	میانگین مربعات	ضریب تغییرات
Sulfur without incubation	گوگرد بدون نگه داری اولیه	3	32.06 ^{ns}	13.7	0.01*	10.31	0.01*	13.02
Sulfur with incubation	گوگرد با نگه‌داری اولیه	3	402 ^{ns}	24.86	0.32*	14.54	0.12*	14.61
Sulfur + <i>Thiobacillus</i>	گوگرد+تیوباسیلوس	3	728.91*	8.85	0.04*	8.24	0.17*	12.41

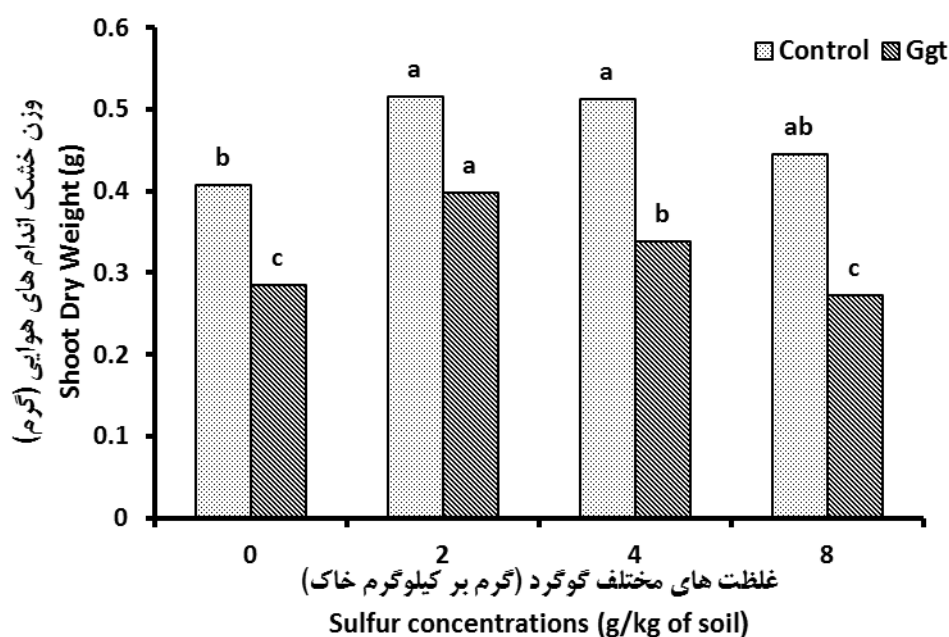
ns, *: Not significant and significant at 5% level of probability, respectively.



شکل ۱- اثر سطوح مختلف کاربرد عنصر گوگرد بدون انکوباسیون بر وقوع بیماری پاخوره گندم

عنصر گوگرد به نسبت صفر (شاهد)، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم به خاک گلدان‌ها اضافه شد و همزمان بذر گندم در گلدان‌های مایه‌زنی شده با بیمارگر کاشته شد. حروف مشابه روی ستون‌ها به منزله عدم اختلاف معنی‌دار بین دو میانگین در سطح پنج درصد در نظر گرفته می‌شود.

Figure 1- The effects of soil amendments with different rates of elemental sulfur on suppression of wheat take-all
The elemental sulfur was added to the soil at zero (Control), two, four and eight g/kg and wheat seeds were sown in amended and pathogen inoculated soil. Means with the same letters are not significantly different at $P \leq 0.05$.



شکل ۲- اثر کاربرد غلظت‌های صفر (شاهد)، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک عنصر گوگرد بدون انکوباسیون بر وزن خشک اندام هوایی گندم در خاک آلوده (Ggt) و غیرآلوده (Control)

حروف مشابه روی ستون‌ها به منزله عدم اختلاف معنی‌دار بین دو میانگین در سطح پنج درصد در نظر گرفته می‌شود.

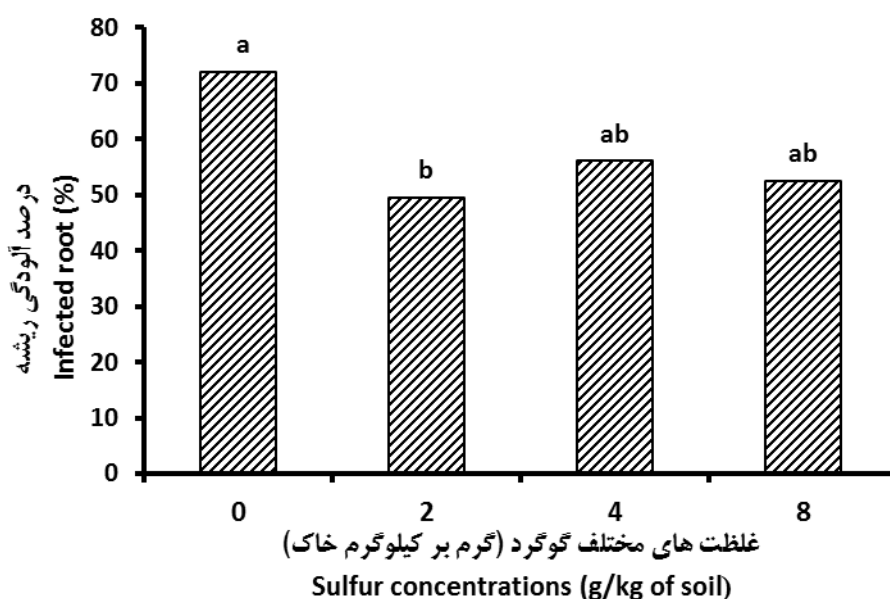
Figure 2- The effects of soil amendments with zero, two, four and eight g/kg of elemental sulfur on plant shoot dry weight in infested (Ggt) and non-infested (Control) soil
Means with the same letters are not significantly different at $P \leq 0.05$.

نشان داد که بر اساس درصد ریشه‌های آلوده و وزن خشک اندام هوایی بین تیمارهای آزمایش و شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح $(P \leq 0.05)$ وجود دارد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف گوگرد عنصری همراه با تیوباسیلوس بر میزان آلودگی به بیماری پاخوره گندم در شرایط گلخانه در شکل ۵ ارائه شده است. نتایج حاصل بر اساس درصد آلودگی ریشه نشان داد که بیماری با افزایش سطوح کاربرد گوگرد عنصری به همراه تیوباسیلوس سیر کاهشی مداوم داشته و در بالاترین سطح گوگرد (سطح چهارم به میزان ۸ گرم بر کیلوگرم خاک) میزان کاهش بیماری به بیش از ۴۵ درصد رسید. در بررسی وزن خشک اندام‌های هوایی مشخص شد که اضافه کردن گوگرد به میزان دو ۲ گرم بر کیلوگرم خاک در حضور باکتری تیوباسیلوس اثر معنی‌داری در افزایش رشد گیاه نداشت (شکل ۶). با افزودن مقادیر بیشتر گوگرد تفاوت رشد گیاه در گلدان‌های دارا و فاقد بیمارگر نسبت به شاهد معنی‌دار شد. بیشترین افزایش رشد در تیمار با هشت ۸ گرم بر کیلوگرم خاک گوگرد و در عدم حضور بیمارگر مشاهده گردید که وزن خشک را نسبت به شاهد به میزان ۲۵ درصد افزایش داد.

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از محاسبه اثر کود گوگرد عنصری پس از طی دوره انکوباسیون دو ماهه بر بیماری پاخوره گندم نشان داد که بر اساس شاخص درصد ریشه‌های آلوده، بین تیمارهای آزمایش و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کود گوگرد عنصری همراه با انکوباسیون دوماهه بر میزان آلودگی به بیماری پاخوره گندم در شرایط گلخانه در شکل‌های ۳ و ۴ ارائه شده است. مطابق شکل ۳، کاربرد کود گوگرد صرفاً در غلظت ۲ گرم در کیلوگرم خاک باعث کاهش معنی‌دار میزان بیماری شد و آن را بیش از ۲۰٪ کاهش داد.

ارزیابی وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای دارای قارچ بیمارگر نشان داد که افزودن گوگرد باعث افزایش معنی‌دار این صفت در مقایسه با شاهد بدون گوگرد می‌شود ولی بین غلظت‌های دو تا هشت گرم گوگرد در کیلوگرم خاک تفاوت معنی‌داری دیده نشد. در تیمارهای فاقد بیمارگر، افزودن دو گرم گوگرد در کیلوگرم خاک باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک گیاه شد ولی افزایش بیشتر مقدار گوگرد باعث افزایش بیشتر وزن خشک نشد (شکل ۴).

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از محاسبه اثر کود گوگرد عنصری به همراه باکتری‌های تیوباسیلوس بر بیماری پاخوره گندم

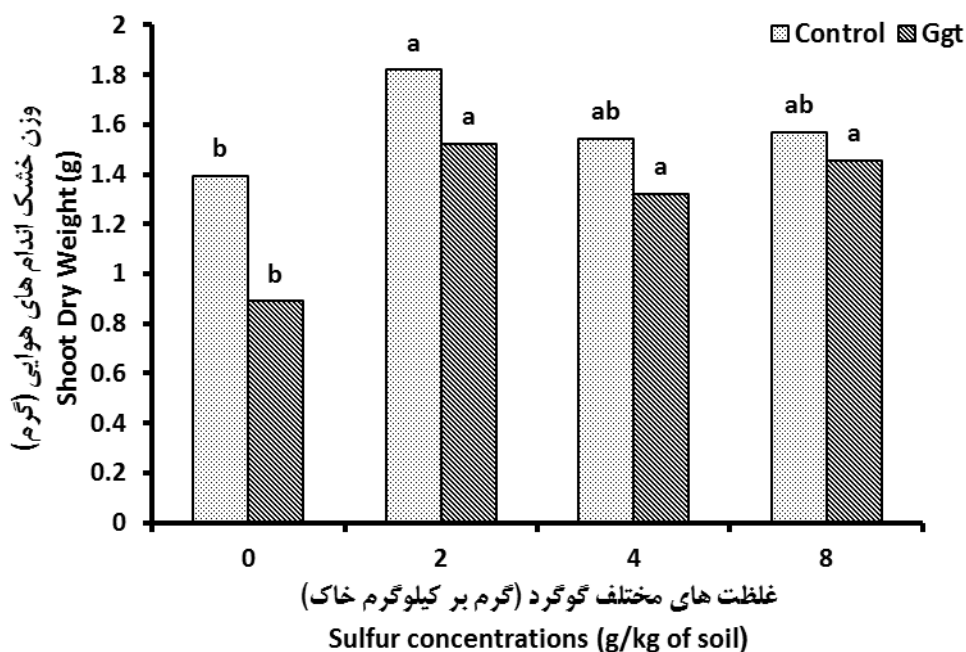


شکل ۳- اثر کاربرد غلظت‌های صفر (شاهد)، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک عنصر گوگرد همراه با دو ماه انکوباسیون بر وقوع بیماری پاخوره گندم در شرایط گلخانه

حروف مشابه روی ستون‌ها به منزله عدم اختلاف معنی‌دار بین دو میانگین در سطح پنج درصد در نظر گرفته می‌شود.

Figure 3- The effects of soil amendments with zero (control), two, four and eight g/kg of elemental sulfur, followed by two months of incubation on suppression of wheat take-all

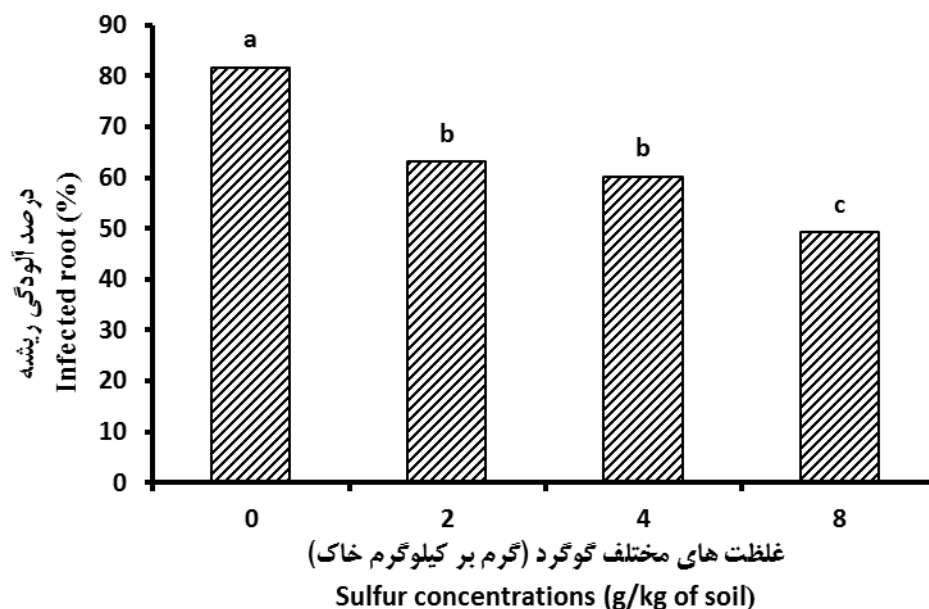
Means with the same letters are not significantly different at $P \leq 0.05$.



شکل ۴- اثر کاربرد غلظت‌های صفر (شاهد)، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک عنصر گوگرد همراه با دو ماه انکوباسیون بر وزن خشک اندام هوایی گندم در خاک آلوده (Ggt) و غیرآلوده (Control)

حروف مشابه روی ستون‌ها به منزله عدم اختلاف معنی‌دار بین دو میانگین در سطح پنج درصد در نظر گرفته می‌شود.

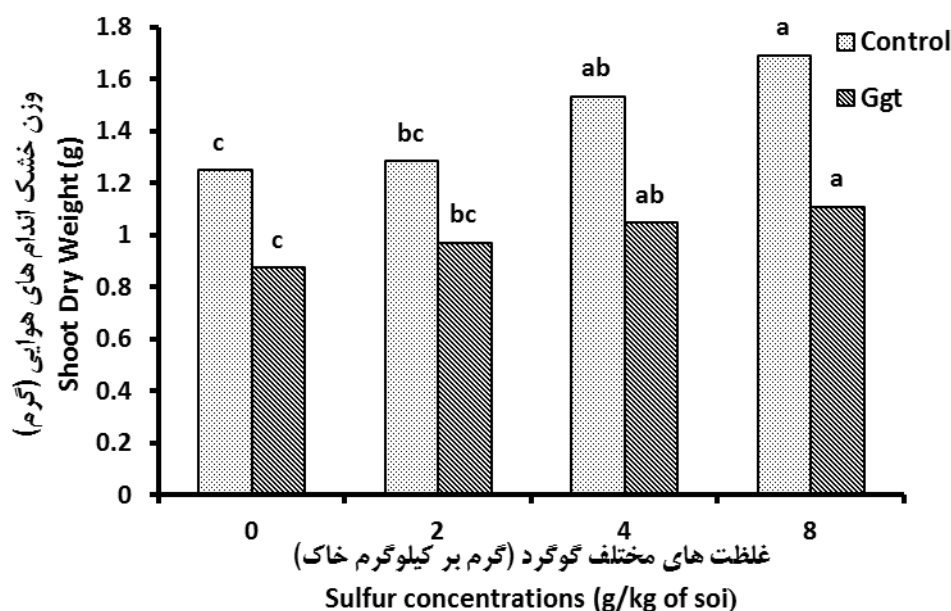
Figure 4- The effects of soil amendments with zero, two, four and eight g/kg of elemental sulfur, followed by two months of incubation on plant shoot dry weight in infested (Ggt) and non-infested (Control) soil
Means with the same letters are not significantly different at $P \leq 0.05$.



شکل ۵- اثر کاربرد غلظت‌های صفر (شاهد)، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک عنصر گوگرد همراه با تیوباسیلوس بر وقوع بیماری پاخوره گندم در شرایط گلخانه

میانگین‌های با حروف مشابه در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار با هم ندارند.

Figure 5- The effects of soil amendments with zero, two, four and eight g/kg of elemental sulfur, + *Thiobacillus* on suppression of wheat take-all
Means with the same letters are not significantly different at $P \leq 0.0$.



شکل ۶- اثر کاربرد غلظت‌های صفر (شاهد)، دو، چهار و هشت گرم بر کیلوگرم خاک عنصر گوگرد همراه با تیوباسیلوس بر وزن خشک اندام هوایی گندم در حضور (Ggt) یا عدم حضور بیمارگر (control) میانگین‌های با حروف مشابه در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار با هم ندارند.

Figure 6- The effects of soil amendments with zero, two, four and eight g/kg of elemental sulfur + *Thiobacillus* on on plant shoot dry weight
Means with the same letters are not significantly different at $P \leq 0.0$.

بحث

در این پژوهش، اثر کاربرد سطوح مختلف کود گوگرد عنصری به سه روش، گوگرد عنصری بدون آنکوباسیون، گوگرد عنصری آنکوبه شده به مدت ۶۰ روز و گوگرد عنصری به همراه باکتری‌های تیوباسیلوس در شرایط گلخانه بر وقوع بیماری پاختوره گندم مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی در خاک‌های آهکی به دلیل وجود pH بالا و غلظت زیاد یون کلسیم، عناصر غذایی که قابلیت جذب آن‌ها وابسته به pH است (آهن، روی، مس) به صورت ترکیب‌های نامحلول و غیر قابل استفاده برای گیاهان در می‌آیند (۱۷). با توجه به مطالب مذکور کاهش pH خاک (حتی به طور موضعی) مؤثرترین راه برای مقابله با این مشکل در خاک‌های قلیایی و آهکی به نظر می‌رسد. با توجه به مطالعات انجام گرفته، در بین مواد اسیدزا، گوگرد بهترین و اقتصادی‌ترین آن‌ها می‌باشد. کاربرد گوگرد در خاک، به دلیل اکسایش آن، ضمن تأمین سولفات مورد نیاز گیاه باعث کاهش موضعی pH خاک در ناحیه فراریشه گیاه، افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی از جمله فسفر، آهن، روی، مس و منگنز و در نهایت بهبود وضعیت تغذیه گیاه می‌شود. سولفات‌ها شدن گوگرد مستلزم حضور جمعیت کافی از باکتری‌های اکسید کننده گوگرد در خاک است، زیرا تنها در اثر اکسایش زیستی گوگرد است که با تولید اسید سولفوریک، سبب کاهش pH خاک شده و ضمن آزاد شدن عناصر غذایی برای

گیاه، بهبود وضعیت تغذیه گیاه محقق می‌شود. باکتری‌های تیوباسیلوس مهم‌ترین اکسیدکنندگان گوگرد در خاک هستند. حضور این نوع باکتری‌ها، موجب افزایش سرعت اکسیداسیون گوگرد در خاک می‌شود. به طور معمول در خاک‌های آهکی به علت کمبود مواد آلی، فعالیت باکتری‌های مؤثر در اکسایش گوگرد کاهش می‌یابد و زمانی مصرف گوگرد در این نوع خاک‌ها مؤثر است که همراه با کودهای آلی و یا همراه با مایه‌زنی تیوباسیلوس مصرف شود (۴ و ۹). گودرزی در سال ۱۳۸۹ با بررسی اثرات گوگرد و کمپوست بر افزایش قابلیت جذب عناصر توسط گندم و همچنین افزایش عملکرد گندم در خاک‌های شدیداً آهکی منطقه گچساران نشان داد که مصرف گوگرد عملکرد دانه گندم را به میزان ۱۹۰ کیلوگرم در هکتار و مصرف توأم گوگرد و کمپوست عملکرد دانه را به میزان ۳۳۰ کیلوگرم در هکتار نسبت به شاهد افزایش دادند. همچنین مصرف گوگرد سبب افزایش غلظت عناصر غذایی شد. این در حالی بود که مصرف توأم گوگرد و کمپوست غلظت عناصر غذایی را به نحو چشمگیری افزایش داد (۸). جمعیت این باکتری‌ها در خاک‌های ایران به دلیل پایین بودن میزان مواد آلی، عدم استفاده قبلی از گوگرد و مایه‌زنی تیوباسیلوس بسیار ناچیز است (۹). به استناد نتایج به‌دست آمده از این پژوهش کود گوگرد عنصری با یا بدون آنکوباسیون اثر معنی‌داری بر وقوع و شدت بیماری پاختوره نسبت به گروه شاهد نداشت. نتایج حاصل از این

و جذب عناصر غذایی شود ولی برای نامناسب شدن شرایط رشد و بیماری‌زایی پاختره (pH 5.5-6.5) مناسب نمی‌باشد. حال چیزی که می‌تواند باعث اثرگذاری گوگرد همراه با تیوباسیلوس شود، این است که این باکتری قادر است با کلنیزه کردن ریشه و ناحیه فراریشه، جمعیت خود را در این منطقه افزایش دهد و قادر است pH این منطقه را کاهش دهد. گزارش اسمیلی و کوک (۱۸) هم نشان می‌دهد که تغییرات pH خاک خارج از ناحیه فراریشه اثر چندانی روی مهار بیماری ندارد و صرفاً تغییرات pH ناحیه فراریشه است که می‌تواند به شدت بر میزان پیشرفت و توسعه بیماری اثر گذار باشد. بر این اساس، کاربرد هم‌زمان گوگرد و باکتری‌های تیوباسیلوس می‌تواند رهیافتی مناسب برای مهار بیماری پاختره گندم باشد.

آزمایش با مطالعات درنودن (۷) و ریس و همکاران (۱۴) مطابقت دارد. اما مشخص شد که گوگرد عنصری به همراه تیوباسیلوس قادر است شدت بیماری پاختره گندم را به صورت معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش دهد. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، کاربرد گوگرد عنصری در سطوح مختلف همراه با تیوباسیلوس توانسته است با کاهش pH فراریشه و بهتر نمودن وضعیت تغذیه گیاه، موجب کاهش درصد آلودگی ریشه و افزایش وزن خشک اندام هوایی شود. خاک مورد مطالعه در این پژوهش دارای میزان بالای رس و آهک به ترتیب ۳۴ و ۴۳ درصد بود و به تبع آن خاصیت بافری بالایی داشت. بافری بودن خاک باعث می‌شود که pH خاک به سختی کاهش یابد. این کاهش جزئی pH می‌تواند به همان نسبت باعث افزایش حلالیت

منابع

- 1- Agrios G.N. 2005. Plant Pathology. Elsevier Academic Press, New York, USA.
- 2- Ardalan M.M., and Savaghebi G.R. 2002. Soil fertility managment for sustainable agriculture. Tehran University Press, Tehran, Iran.
- 3- Aria M.M., Lakzian A., Haghnia G.H., Berenji A.R., Besharati H., and Fotovat A. 2010. Effect of *Thiobacillus*, sulfur, and vermicompost on the water-soluble phosphorus of hard rock phosphate. *Bioresource Technology* 101(2): 551-554.
- 4- Besharati H., Sadat Noori S.A., Nikniaei A.B., Irannejad H., Akbari A., and Falah Nosratabadi A.R. 2010. Effect of sulfur and *Thiobacillus* inoculum on phosphorous uptake and yield of wheat in calcareous soils. *Iranian Journal of Soil and Water Research* 41(1): 121-129.
- 5- Cook R.J. 2003. Take-all of wheat. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 62(2): 73-86.
- 6- Datnoff L.E., Elmer W.H., and Huber D.M. 2007. Mineral nutrition and plant disease. American Phytopathological Society Press, Minesota, USA.
- 7- Dernoeden P. 1987. Management of take-all patch of creeping bentgrass with nitrogen, sulfur, and phenyl mercury acetate. *Plant Disease* 71(3): 226-229.
- 8- Godarzi K. 2000. Enhancing effect of sulphor and compost on nutrient availability and wheat yield. *Soil and Water Sciences* 15(2): 154-166.
- 9- Gohargani J. 2015. Effect of sulfur, organic matter and *Thiobacillus* on availability of micronutrients in canola seeds in a calcareous soil. *Journal of Soil Biology* 3(1): 73-82.
- 10- Huber D.M., and Haneklaus S. 2007. Managing nutrition to control plant disease. *Landbauforschung Volkenrode* 57(4): 313.
- 11- Huber D.M., and Jones J.B. 2013. The role of magnesium in plant disease. *Plant and Soil* 368(1-2): 73-85.
- 12- Karimi F., Bahmanyar M.A., and Shahabi M. 2012. Improving the content of oil, protein and some yield components of canola in two calcareous soil, consequence the sulfur and cattle manure application. *Sustainable Agriculture and Production Science* 22(3): 71-85.
- 13- Manoja F.S., Mushongi A.A., Harvey J., Wainaina J., Wanjuki I., Ngeno R., Darnell R., Gnonlonfin B.G., and Massomo S.M. 2017. Potential of using host plant resistance, nitrogen and phosphorus fertilizers for reduction of *Aspergillus flavus* colonization and aflatoxin accumulation in maize in Tanzania. *Crop Protection* 93: 98-105.
- 14- Reis E.M., Cook R., and McNeal B. 1982. Effect of mineral nutrition on take-all of wheat caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Phytopathology* 72: 224-229.
- 15- Salac I., Haneklaus S., Gassner A., Bloem E., and Schnug E. 2004. Relation between spatial variability of plant physiological parameters in oilseed rape and infection with *Leptosphaeria maculans*. *Phyton* 44(2): 219-233.
- 16- Salarini A., 1995. Soil Fertility. Tehran University Press, Tehran, Iran.
- 17- Sameni A., and Kasraian A. 2004. Effect of agricultural sulfur on characteristics of different calcareous soils from dry regions of Iran. I. Disintegration rate of agricultural sulfur and its effects on chemical properties of the soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 35(9-10): 1219-1234.
- 18- Smiley R., and Cook R. 1973. Relationship between Take-all of wheat and rhizosphere pH. *Phytopathology* 63: 882-890.
- 19- Sparks D.L., Page A.L., Helmke P.A., Loeppert R.H., Soltanpour P.N., Tabatabai M.A., Johnston C.T., and Sumner

- M.E. 1996. Methods of soil analysis. Part 3-Chemical methods. Soil Science Society of America Press, Madison, Wisconsin, USA.
- 20- Thomas S.L. 2004. The development and utilization of assays to characterize populations of *Gaeumannomyces graminis*, Ph.D thesis in Plant Pathology. The Ohio State University: Ohio. p. 219.
- 21- Veresoglou S., Barto E., Meneses G., and Rillig M. 2013. Fertilization affects severity of disease caused by fungal plant pathogens. *Plant Pathology* 62(5): 961-969.
- 22- Walters D., and Bingham I. 2007. Influence of nutrition on disease development caused by fungal pathogens: implications for plant disease control. *Annals of Applied Biology* 151(3): 307-324.
- 23- Waltz C., Martinez A., Pearce M., and Martin B. 2003. Fungus family provides fodder for several diseases. *Turfgrass Trends* 3: 52-56.
- 24- Ward E., and Gray R. 1992. Generation of a ribosomal DNA probe by PCR and its use in identification of fungi within the *Gaeumannomyces-Phialophora* complex. *Plant Pathology* 41(6): 730-736.
- 25- Yousefvand M., Abbasi S., Cheghamirza K., and Sohbat B. 2015. Genetic diversity in population of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* sampled from Kermanshah province. *Agricultural Biotechnology* 6(1): 97-105.
- 26- Zimerman-Lax N., Shenker M., Tamir-Ariel D., Perl-Treves R., and Burdman S. 2016. Effects of nitrogen nutrition on disease development caused by *Acidovorax citrulli* on melon foliage. *European Journal of Plant Pathology* 145(1): 125-137.

Effect of Sulfur Nutrition and *Thiobacillus* Inoculation on Suppression of Take-all Disease Caused by *Gaeumannomyces tritici*

M. Ghadamkheir¹- S. Abbasi^{2*}- R. Sharifi³- A. Fatemi⁴

Received: 23-10-2017

Accepted: 13-01-2020

Introduction: Wheat take-all caused by *Gaeumannomyces tritici* fungus is one of the most destructive diseases in the world. The disease is common in alkaline to natural, non-fertile and low-drainage soils. Thereby, wheat take-all can be suppressed by reducing soil pH. In recent years, sulfate-containing fertilizers had been substituted with new sulfur-free fertilizers which decrease soil content of sulfur and sulfur-oxidizing bacteria, significantly. So, soil amendment with mineral sulfur or *Thiobacillus* spp. could be reconsidered to reduce soil pH. However, soil amendment with mineral sulfur seems to be more effective when the rhizosphere is colonized by sulfur-oxidizing bacteria. This study aimed was to investigate the effect of mineral sulfur and *Thiobacillus* sp. on take-all disease and wheat growth.

Materials and Methods: Physicochemical properties of soil were analyzed based on standard methods. Sulfur was mixed with soil in 0, 2, 4 and 8 g/kg of soil with three methods. In the first method, sulfur amended soil was inoculated with the pathogen and sown immediately. In the second method, amended soil was incubated for two months then inoculated and seeded with wheat. In the third method, sulfur amended soil was inoculated with *Thiobacillus* sp. bacteria and sown immediately. *G. tritici* inoculum was prepared on oat seeds and was placed in a layer under plant seeds. Disease severity was checked once plants seedling in control pots exhibited the disease symptoms. The experiments were carried out in a completely randomized design with four replicates. Analysis of variance was done by SAS 9.1.

Results and Discussion: Analysis of soil showed the examined soil was calcareous and moderately alkaline. It has appropriate nitrogen and zinc content but slightly Fe, Cu and P are deficient. Results exhibited that sulfur amended has no significant role on take-all disease neither with incubation nor without incubation. However, mixed treatment with sulfur and *Thiobacillus* sp. decreased disease severity in concentration depended on manner. The highest disease suppression achieved in 8 g /kg sulfur of soil which decreased disease severity up to 45%. Soil amendment with 2 g/kg sulfur of soil either incubated or not increased plant dry weight 20 and 25%, respectively. However, a further increase in sulfur concentration showed no more increase in plant growth. In a combination with sulfur and *Thiobacillus* sp., wheat aerial parts dry weight was increased paralleled with an increase in sulfur concentration and reach to 25% higher than control in 8 g /kg sulfur of soil. Calcareous soils are highly buffered and it is very difficult to change their pH. In our experiment, the Soil amendment with mineral sulfur was unable to reduce pH as much as necessary for Take-all suppression. However, sulfur had synergistic interaction with *Thiobacillus* sp.. Indeed, these bacteria can colonize the plant rhizosphere efficiently. Thereby, they can reduce the pH of the rhizosphere zone instead of whole balk soil. In this situation, *G. tritici* could not survive in an acidic condition of the rhizosphere. On the other hand, mineral sulfur improved plant growth in all concentrations. It should be considered that sulfur could be uptake by the plant as a nutrient element. However, sulfur-oxidizing bacteria will help the plant to uptake sulfur more efficiently. It should be considered that *Thiobacillus* is compatible with other biocontrol bacteria such as *Bacillus* and *Pseudomonas*. These bacteria are highly effective in Take-all disease but cannot survive well in calcareous soils. Co-inoculation of these bacteria with *Thiobacillus* sp. in the presence of sulfur seems to be a promising approach in biological control of Take-all disease.

Conclusion: Our results showed that a combination of sulfur with sulfur-oxidizing bacteria could be a promising approach in the suppression of Take-all in wheat. In recent years, integrated disease management and integrated crop management receive high attention in susceptible agriculture. In these strategies, agricultural practices such as plant nutrition are considered as multifaceted practice. This means that soil amended with specific fertilizer not only increases plant growth but it can increase or decrease specific plant disease. In the case of sulfur, this element not only decreases Take-all disease but also improves the availability of other nutrients such as Fe, Zn and Cu. Furthermore, it should be considered that soil amendment with a low amount of

1, 2 and 3- Former M.Sc. Student, Associate Professor and Assistant Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Razi University, Kermanshah, respectively.

(*- Corresponding Author Email: abbasikhs@yahoo.com)

4- Assistant Professor of Soil Chemistry, Department of Soil Science, Razi University, Kermanshah

sulfur is not effective to reduce soil pH in buffered calcareous soils and we need to add sulfur-oxidizing bacteria to improve fertilizer efficiency. This combination is effective against Take-all disease.

Keywords: Soil amendment, Sulfur, Take-all, *Thiobacillus*

بررسی وضعیت کلکسیون ملی ارقام تجاری، بومی و وارداتی سیب از نظر آلودگی به ویروس لکه سبزدر سیب

طیبه کشاورز^{۱*} - حسن حاج نجاری^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۰۸

چکیده

کلکسیون ملی ارقام تجاری بومی و وارداتی سیب مستقر در ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال شهر از اهمیت خاصی برای برنامه‌های سالم‌سازی با هدف تأمین هسته‌های اولیه و پیش‌تکثیر جهت تولید نهال سالم برخوردار است. تاکنون مطالعه متمرکزی در زمینه غربالگری درختان سیب موجود در این کلکسیون از نظر آلودگی به بیماری‌های ویروسی صورت نگرفته است. ویروس لکه سبزدر سیب (*Apple chlorotic leaf spot virus, ACLSV*) ویروس مهمی است که باعث ایجاد آلودگی درختان میوه در سراسر جهان می‌شود. جهت ارزیابی وقوع و میزان شیوع این ویروس در کلکسیون سیب کمال شهر از مجموع ۵۰ رقم سیب جدید، امیدبخش، بومی پرمحصول و ارقام وارداتی سازگار بر روی پایه‌های بذری، نمونه‌برداری انجام شد و به روش الایزای مستقیم با آنتی‌بادی اختصاصی *ACLSV* ارزیابی گردید و جهت تأیید نتایج الیزا، تعدادی از این ارقام با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلی مرز به روش نسخه‌برداری معکوس (RT-PCR) و جفت آغازگر تکثیرکننده بخشی از پروتئین پوششی *ACLSV* مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج الیزا نشان داد که تعداد ۳۹ رقم از ۵۰ رقم مورد بررسی، به این ویروس آلوده بوده و در آزمون RT-PCR نیز از ۱۸ رقم مورد بررسی تنها پنج رقم، آلوده به ویروس تشخیص داده شد. تعدادی از ارقام شامل مکینتاش، ردیو، بیوتی، استارکینگ، اردبیل ۱، نایان ارنگه، خورسیجان، رداسپور کوپر، یلو ترنسپارنت ۱، IR6-1 و اردبیل ۲، در هر دو آزمون الیزا و RT-PCR عاری از ویروس تشخیص داده شدند. بنابراین این ارقام پس از بررسی از نظر آلودگی به سه ویروس مهم دیگر شامل ویروس ساقه گودی سیب (*Apple stem pitting virus, ASPV*)، ویروس ساقه شیار سیب (*Apple stem grooving virus, ASGV*) و ویروس لکه حلقوی گوجه فرنگی (*Tomato ring spot virus, ToRSV*) می‌توانند در برنامه تولید مواد تکثیری سالم و گواهی‌شده مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: الیزا، کلکسیون ارقام سیب، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز، ویروس لکه سبزدر سیب

مقدمه

"شربتی" با عادت رشد افراشته به ترتیب با عملکرد ۱۶۸ و ۱۴۰ کیلوگرم در هر درخت در شرایط کلکسیون (۱۱ و ۱۲)، ارقام "نوردن اسپای" حامل ژن تحمل به پوسیدگی طوقه (۱۶) و "گلدن اسموتی" متحمل به زنگار (۹)، رقم کاملاً خودسازگار IRI6 و نیز رقم پایه مربایی‌گزینش شده به عنوان والد پایه بذری حامل ژن‌های مهم صفت خودسازگاری و صفت پاکوتاهی (۱۳) و ده‌ها رقم وارداتی سازگار، نمونه‌های بارزی از اهمیت این کلکسیون در کشور ما می‌باشد (۱۴). بیمارگرهای مختلفی از جمله ویروس‌ها، درختان میوه دانه‌دار و از جمله سیب را تحت تأثیر قرار داده و اثر مخربی در باغات بر جا می‌گذارند. ویروس‌های بیماری‌زای درختان میوه به دلیل انتشارشان از طریق اندام‌های تکثیری حائز اهمیت می‌باشند. ویروس‌ها در درختان میوه دارای علائم متنوعی بوده و در عین حال برخی از آن‌ها که نهفته هستند، بدون این که علائم مشخصی ایجاد کنند منجر به زوال عمومی درخت، کاهش قدرت درخت و میزان باروری می‌شوند. در آن

سیب (*Malus domestica Borkh*) یکی از مهم‌ترین محصولات باغبانی کشور بوده که با سطحی معادل ۲۵۰ هزار هکتار و تولید ۲/۹ میلیون تن (۳) ایران را در رتبه ششم جهانی قرار داده است (۱۰). کلکسیون ملی ارقام تجاری بومی و وارداتی سیب مستقر در ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال شهر در برگیرنده ۸۵ رقم سیب بر روی پایه‌های بذری از تنوع ژنتیکی بسیار بالایی برخوردار است. وجود ارقام جدید زودرس مانند "گل‌بهار" باویژگی مقاوم به سرمای بهار و

۱- استادیار، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

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

۲- دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی

DOI: 10.22067/jpp.v33i3.76550

تولید هسته‌های اولیه با هدف احداث باغ مادری برای تولید انبوه نهال سالم و استاندارد، آلودگی ارقام تجاری سیب کلکسیون ملی ارقام سیب موجود در ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال شهر به ویروس مهمی چون لکه سبزد بررسی شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

در تابستان ۱۳۹۵ و بهار ۱۳۹۶ از ۵۰ رقم سیب و بر اساس شماره درخت در نقشه کاشت کلکسیون ارقام از گروه‌های رقمی مختلف موجود شامل دو رقم جدید گل بهار و شربتی، ارقام بومی پرمحصول و رایج مانند شیخ احمد، نابان ارنگه و سلطانی شبستر، ارقام والد بذری پاکوتاه چون مربایی، زبنتی و آرایش، گروه بزرگی از ارقام وارداتی گزینش شده سازگار با شرایط آب و هوایی کشور مندرج در اطلس ارقام میوه کشور و ژنوتیپ‌های امید بخش نظیر IRI6، نمونه‌برداری صورت گرفت (جداول ۱ و ۲). با توجه به اینکه یک تا سه درخت از هر رقم در کلکسیون موجود می‌باشد نمونه‌های برگ به صورت تصادفی از شاخه‌های مختلف هر یک از سه درخت موجود جمع‌آوری شد. تمامی نمونه‌های جمع‌آوری شده از یک درخت بعنوان یک نمونه تلقی شد.

آزمایشات سرم شناسی

نمونه‌ها با استفاده از آزمون الایزای مستقیم (۸) و با آنتی‌بادی اختصاصی ویروس لکه سبزد سیب (تهیه شده از شرکت Bioreba، سویس) بررسی شد و پس از اندازه‌گیری میزان جذب نور در طول موج ۴۰۵ نانومتر با دستگاه Dynatech MR-700 Plate Reader (Dynatech Laboratories, USA)، با استفاده از فرمول $R = \bar{x} + 3SD$ (که در آن $\bar{x}$ میانگین جذب نمونه منفی SD انحراف معیار چاهک‌ها و R سطح آلودگی می‌باشد) نمونه‌های آلوده تشخیص داده شد. نمونه‌هایی که میزان جذب نوری چاهک مربوطه در ۴۰۵ نانومتر برابر یا بیشتر از R بود، به عنوان نمونه آلوده در نظر گرفته شدند.

در این تحقیق از نمونه‌های آلوده به ویروس‌های مورد بررسی به عنوان کنترل مثبت و نمونه‌های سالم به عنوان کنترل منفی، تهیه شده از شرکت Bioreba، استفاده گردید.

استخراج ریبونوکلیک اسید کل و واکنش زنجیره‌ای

پلی‌مراز به روش نسخه‌برداری معکوس (RT-PCR)

ریبونوکلیک اسید کل به روش توصیف شده توسط چانگ و همکاران (۷) با کمی تغییرات استخراج شد.

دسته از ویروس‌هایی که علائم مشخصی ایجاد می‌کنند، علائم دسته از ویروس‌هایی که علائم مشخصی ایجاد می‌کنند، علائم برگ به صورت بدشکلی، پیچیدگی، لکه‌ای شدن، لوله‌ای شدن، ظهور نقاط بافت مرده و نقوش رنگی غیر معمول بروز نموده و کیفیت و کمیت میوه‌ها کاهش می‌یابد (۴). مطالعات نشان داده است که آلودگی درخت سیب به ویروس‌های نهفته^۱ به طور چشمگیری عملکرد درخت را کاهش می‌دهد (۶). این گروه از ویروس‌ها در اغلب ارقام بدون علائم هستند اما ممکن است در برخی دیگر علائم ایجاد کنند. در بین این گروه از ویروس‌ها، ویروس لکه سبزد سیب (Apple chlorotic leaf spot virus, ACLSV) یکی از ویروس‌های مهم در درختان سیب می‌باشد. این ویروس عضو تیپ جنس Trichovirus (۱۱) بوده، پیکره آن رشته‌ای خمش‌پذیر به ابعاد ۱۲×۷۲۰ نانومتر است و ژنوم آن از نوع ریبونوکلیک اسید (RNA) تک لا به اندازه ۷۵۵۷ باز است (۵). این ویروس اولین بار توسط مینک و شای از آمریکا در گونه‌های جنس Malus گزارش شد (۲۰). اگر چه ویروس لکه سبزد سیب در اغلب ارقام تجاری سیب فاقد علائم مشخصی می‌باشد با این حال بر روی درختان سیب پیوند شده بر روی پایه MarubaKaido موجب بیماری شدیدی می‌شود (۲۸ و ۲۹). این ویروس در برخی ارقام می‌تواند علائم مشخصی چون لکه برگ رنگ پریده، بدشکلی برگ، حلقه‌های رنگ پریده، نقوش خطی، کاهش اندازه برگ و کوتولگی ایجاد نماید (۱۸). این ویروس در برخی گونه‌های درختان میوه هسته‌دار بدون علائم بوده و یا ممکن است باعث شکاف چوب، بدشکلی شدید میوه، کاهش عملکرد و ناسازگاری پیوند و نکرورز جوانه شود (۲۱). برخی جدایه‌های ویروس لکه سبزد سیب باعث بیماری شدیدی در زردآلو و آلو شده و باعث ایجاد فرورفتگی، برجستگی و در نهایت بدشکلی میوه شده که اغلب با بیماری شارکا اشتباه گرفته می‌شود به همین دلیل به آن شارکای دروغین^۲ نیز گفته می‌شود (۴). این ویروس دارای تنوع ژنتیکی بالایی بوده و برخی جدایه‌های آن از نظر بیماری‌زایی متمایز می‌شوند. این ویروس دارای انتقال مکانیکی بوده و از طریق پیوند قابل انتقال است ولی انتقال آن از طریق بذر و یا دانه گرده تاکنون گزارش نشده است (۳۰). خسارت اقتصادی ویروس لکه سبزد سیب از یک طرف به واسطه گسترش وسیع جهانی آن در سیب و از سوی دیگر به دلیل ایجاد ناسازگاری پایه و پیوندک در برخی از اعضاء جنس Prunus، می‌باشد. در ایران این ویروس از باغات سیب استان‌های اصفهان، آذربایجان شرقی و غربی، تهران و فارس گزارش شده است (۲ و ۱۷). با توجه به نبود اطلاعات کاربردی لازم در خصوص میزان آلودگی ارقام تجاری سیب به ویروس مهمی چون لکه سبزد سیب برای

1- Latent viruses
2- Pseudopox

نمونه‌های بررسی شده توسط الیزا طی فصل بهار ۹۶ نیز نشان دهنده آلودگی ۴۴ درخت از مجموع ۶۷ درخت نمونه‌برداری شده بود (جدول ۲). در این بین تعدادی از نمونه‌ها مشکوک به آلودگی به ACLSV بودند. نمونه‌هایی که طی تکرارهای مختلف واکنش متفاوتی نشان داده یا میزان جذب پایینی در آزمون الیزا نشان دادند به عنوان مشکوک قلمداد شدند. پس از استخراج ریبونوکلیک اسید ویروس و انجام آزمون RT-PCR، از تعدادی از نمونه‌ها قطعه‌ای به طول مورد انتظار ۳۵۸ جفت باز مربوط به بخشی از پروتئین پوششی تکثیر شد شکل ۱ نقش الکتروفورزی محصول PCR برخی ارقام را در ژل آگاروز نشان می‌دهد. آنالیز برخی ارقام بررسی شده در آزمون RT-PCR (شامل برخی نمونه‌های دارای واکنش مثبت در آزمون الیزا، نمونه‌های دارای واکنش منفی در آزمون الیزا و برخی نمونه‌های مشکوک) نشان دهنده آلودگی پنج نمونه از مجموع ۱۸ نمونه مورد بررسی بود (جدول ۳). هر چند در تمامی ارقام مورد بررسی نتایج آزمون RT-PCR تأیید کننده نتایج آزمون الیزا بود اما آلودگی رقم کوپر اسپور ۳ به ویروس که در آزمون الیزا در طی هر دو فصل تابستان ۹۵ و بهار ۹۶ تأیید شده بود، در آزمون RT-PCR تأیید نشد. هر چند آزمون RT-PCR دارای حساسیت بالاتری نسبت به آزمون الیزا می‌باشد و در مطالعات صورت گرفته قبلی، در مقایسه با آزمون الیزا، در آزمون PCR تعداد نمونه آلوده بیشتری تشخیص داده شده است (۱۹ و ۱۵)، بنابراین عدم آلودگی رقم کوپر اسپور ۳ در آزمون RT-PCR در این تحقیق می‌تواند ناشی از وجود مواد بازدارنده PCR در RNA استخراج شده باشد.

در خلال بازدید ظاهری درختان، در برخی از ارقام نمونه‌برداری شده ضعف درخت مشاهده می‌شد. اغلب ارقام سیب آلوده به ACLSV فاقد علائم مشخص بودند. نتایج مشابهی توسط سایرین بدست آمده است (۱۵ و ۲۷).

نتایج بدست آمده نشان دهنده درصد بالای آلودگی ارقام سیب موجود در کلکسیون قدیمی سیب مستقر در ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال شهر به ACLSV می‌باشد. در مطالعات پیشین نیز بررسی باغات سیب نشان دهنده درصد بالای آلودگی به این ویروس نسبت به سایر ارقام سیب در جمهوری چک، رومانی، آلبانی و بوسنی و هرزگوین نیز نتایج مشابهی مبنی بر درصد بالای آلودگی به این ویروس گزارش شده است (۲۱، ۲۵ و ۱۵). با توجه به این که مبادلات ژرم پلاسما عامل اصلی انتقال ویروس‌های جدید به کشورهای مختلف می‌باشند لذا یکی از مهمترین استراتژی‌ها جهت کنترل ویروس‌های درختان میوه مانعت از ورود ژرم پلاسما آلوده به ویروس به داخل کشور است.

برای ساختن رشته مکمل DNA (cdNA) مقدار پنج میکرولیتر از ریبونوکلیک اسید استخراج شده از بافت آلوده با ۲۰ پیکومول در میکرولیتر آغازگر معکوس و آنزیم رونوشت‌برداری برگردان (MMuLV 100u/μ) (سیناکلون) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. جهت تکثیر بخشی از پروتئین پوششی ACLSV به طول ۳۵۸ جفت باز، از آغازگرهای ACLSV-F و ACLSV-R (TTCATGGAAAGACAGGGGCAA) و ACLSV-R: (AAGTCTACAGGCTATTTATTATAAGTCTAA) معرفی شده توسط Nemchinov استفاده شد (۲۲).

واکنش PCR، در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با استفاده از ۲/۵ میکرولیتر از محصول cdNA و آنزیم Taq DNA polymerase (5u/μ سیناکلون)، انجام شد. برنامه حرارتی واکنش PCR شامل ۱ مرحله ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، سپس ۳۵ چرخه شامل ۳۰ ثانیه دردمای ۹۵ درجه، ۳۰ ثانیه دردمای ۶۲ درجه و ۴۵ ثانیه دردمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود و در پایان دردمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس محصول PCR در ژل آگاروز ۱٪ و در بافر TBE (۱۰/۸ گرم تریس، ۵/۵ گرم بوریک اسید، ۰/۷۳ گرم EDTA در یک لیتر آب مقطر، اسیدیته ۸/۳) الکتروفورز و قطعات نوکلئیک اسید بوسیله محلول اتیدیم بروماید ۰/۵ درصد رنگ آمیزی و بوسیله دستگاه UV-illuminator مدل Imaco ساخت هلند عکس‌برداری شد.

نتایج و بحث

با توجه به اهمیت کلکسیون ملی ارقام تجاری بومی و وارداتی سیب ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال شهر در تأمین هسته‌های اولیه تکثیری برای احداث باغات مادری سیب و اهمیت آن در برنامه‌های اصلاحی، غربالگری این ارقام بسیار ضروری می‌باشد. هر چند ارقام موجود تحت غربالگری گروه مهمی از بیمارگرها و تنش‌های محیطی قرار گرفته‌اند اما تاکنون در زمینه غربالگری ارقام موجود در کلکسیون از نظر آلودگی به بیماری‌های ویروسی از جمله ویروس لکه سبز سیب سیب مطالعه‌ای صورت نگرفته است. در این تحقیق مجموعاً تعداد ۵۰ رقم و ۱۲۶ درخت در آزمون الیزا مورد بررسی قرار گرفت. در نمونه‌برداری اول (تابستان سال ۱۳۹۵) تعداد ۳۳ رقم و مجموعاً ۹۹ درخت (از هر رقم سه درخت) آزمایش شد. در نمونه‌برداری دوم در فصل بهار ۱۳۹۶ تعداد ۴۱ رقم و مجموعاً ۶۷ درخت (از هر رقم یک تا سه درخت) آزمایش شد که از این بین تعداد ۲۴ تا از ارقام تست شده در هر دو سال مشترک بود. آنالیز نمونه‌های بررسی شده توسط آزمون الیزا طی تابستان ۹۵ نشان دهنده آلودگی ۵۹ درخت از مجموع ۹۹ درخت نمونه‌برداری شده به ACLSV بود (جدول ۱). آنالیز

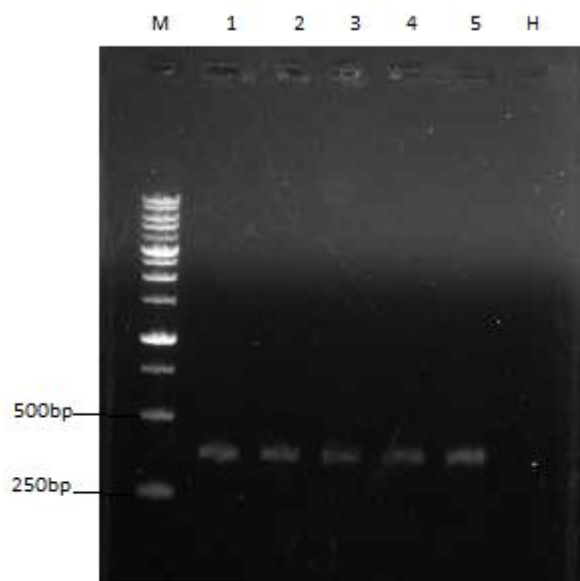
جدول ۱- نتایج آزمون الیزا ارقام سیب کلکسیون کمال شهر با استفاده از آنتی سرم ویروس لکه سبزد سیب (تابستان ۱۳۹۵)
Table 1- ELISA results of apple variety of Kamalshahr collection with ACLSV-specific antiserum (Summer 2016)

رقم Cultivar	شماره درخت Tree No		
	درخت ۱ Tree 1	درخت ۲ Tree 2	درخت ۳ Tree 3
گلپهار (GolBahar)			+
شیخ احمد (Sheikh Ahmad)	+	+	
امپایر آل رد (Empire all Red)		+	+
رد رم بیوتی (Red Rome Beauty)	+		
گلوکناپفل (Glockenapfel)		+	
نوردن اسپای (Northern Spy)	+	+	
رد اسپور کوپر (Red Spur Cooper)	+		+
گرانی اسمیت (Granny Smith)	+	+	
مشهد (Mashad)	+	+	
سلطانی شبستر (Sultani-e Shabestar)	+	+	
اردبیل ۲ (Ardebil2)	+		
گلدن اسموتی (Golden Smoothee)	+	+	
رد اسپور (Red Spur)	+		
قرمز رضاییه (Ghermez-e Rezayeh)	+		+
مربایی (Morabbaei)	+		+
آی آر آی ۶ (IRI6)		+	
خو، سیجان (Khorsijan)	+	+	
زنوز مرند (Zonuz-e Marand)	+	+	
اخلمد مشهد (Akhlemad-e Mashad)	+		+
اورلئان (Orlean)	+		+
شیشه ای تبریز (Shishey-e Tabriz)	+		+
پایزه مشهد (Payezeh Mashad)	+	+	
گراونشتاین (Gravenstein)		+	+
یلوترانسپارنت (Yellow Transparent)			+
اردبیل ۱ (Ardebil-e1)	+	+	
گلدن دلشیز (Golden Delicious)	+		+
کوپر اسپور (Cooper Spur)	+		+
عسلی (Assali)	+	+	
شربتی (Sharbati)		+	+
زینتی (Zinati)	+	+	
شفیعی (Shafii)	+	+	
آزایش (Azayesh)	+	+	
گلشاهی (Golshahi)	+	+	

جدول ۲- نتایج آزمون الیزا ارقام سیب کلکسیون کمالشهر با استفاده از آنتی سرم ویروس لکه سبز سب (بهار ۱۳۹۶)

Table 2- ELISA results of apple variety of Kamalshahr collection with ACLSV-specific antiserum (Spring 2017)

نام رقم	شماره درخت	ACLS	نام رقم	شماره درخت	ACLSV
Cultivar name	Tree No.	V	Cultivar name	Tree No.	
گلاب کهنز (Golab-e Kohanz)	1	+	اورلئان (Orlean)	1	+
شربتی (Sharbati)	3	+	پرایم گلد ۱ (Prim Gold1)	2	+
اسکارلت ویلسون (Scarlett Wilson)	3	+	شیشه ای تبریز (Shishey-e Tabriz1)	3	+
جاناثان (Jonathan)	2	+	نوردن اسپای (Northern Spy)	1	+
گلدن اسپور (Golden Spur)	1	+	گانی بیوتی (Ganny Beauty)	1	+
گانی بیوتی (Ganny Beauty)	3	-	سلطانی شبستر (Sultani-e shabestar)	2	+
کوپر اسپور (Cooper Spur)	1	+	پایزه مشهد (Payezeh Mashad)	3	-
گلشاهی (Golshahi)	2	+	سلطانی شبستر (Sultani-e shabestar)	3	+
گلدن اسپور (Golden Spur)	2	-	اسکارلت ویلسون (Scarlett Wilson)	2	+
اخلمد مشهد (Akhlema-d-e Mashad)	3	+	جاناثان ۲ (Jonathan2)	1	+
کوپر اسپور (Cooper Spur)	3	+	جاناثان ۲ (Jonathan2)	2	+
اخلمد مشهد (Akhlema-d-e Mashad)	2	-	شربتی (Sharbati)	1	+
استارکینگ (Starking)	1	-	گلدن دلشیز (Golden Delicious)	3	+
استارکینگ (Starking)	2	-	شیشه ای تبریز (Shishey-e Tabriz)	1	+
استارکینگ (Starking)	3	- م	اورلئان (Orlean)	3	+
مربابی (Morabbaei)	2	+	اردبیل ۱ (Ardebil-e1)	1	+
مکینتاش (McIntosh)	2	-	گلپهار (GolBahar)	3	+
مکینتاش (McIntosh)	1	-	رد اسپور کوپر (Red Spur Cooper)	3	+
نایان ارنگه (Nayan-e Arangheh)	2	م	فوجی (Fuji)	3	+
گلوکناپفل (Glockenapfel)	2	+	گلدن اسموتی (Golden Smoothee)	2	+
رد اسپور کوپر (Red Spur Cooper)	2	م	سلطانی شبستر (Sultani-e Shabestar)	1	+
خورسیجان (Khorsijan)	1	-	مربابی (Morabbaei)	1	+
گلپهار (GolBahar)	2	+	مشهد نوری (Mashad-e Nouri)	3	+
مشهد نوری (Mashad-e Nouri)	2	+	مشهد نوری (Mashad-e Nouri)	1	+
یلو اسپور (Yellow Spur)	2	-	یلو ترنسپرنت (Yellow Transparent)	2	-
گلوکناپفل (Glockenapfel)	1	-	گانی بیوتی (Ganny Beauty)	3	+
IR6-2	-	-	نوردن اسپای (Northern Spy)	3	-
اردبیل ۱ (Ardebil-e1)	2	-	رد روم بیوتی (Red Rome Beauty)	2	-
واین سب (Winesap)	2	+	گلپهار (GolBahar)	1	-
رد روم بیوتی (Red Rome Beauty)	3	-	شیخ احمد (Sheikh Ahmad)	3	+
شیخ احمد (Sheikh Ahmad)	1	+	یلو اسپور (Yellow Spur)	1	+
نایان ارنگه (Nayan-e Arangheh)	3	+	جاناثان (Jonathan)	3	+
اردبیل ۲ (Ardebil-e2)	1	+	اورلئان (Orlean)	2	+
گلدن اسموتی (Golden Smoothee)	3	+			



شکل ۱- الگوی الکتروفورزی محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

M: نشانگر اندازه (1kp DNA ladder, Fermentas) 1: اسکارلت ویلسون ۲، 2: سلطانی شبستر، 3: اورلئان ۱، 4: مشهد نوری، 5: اردبیل ۱-۱ و H: کنترل منفی.

Figure 1- Agarose gel electrophoresis pattern of RT-PCR products Lanes

M:- molecular marker (1kb DNA ladder, Fermentas), 1: Skarletwilson, 2: Soltanishabestar, 3: Orlean, 4: Mashhad noori, 5: Ardabil and H: Healthy plant.

جدول ۳- نتایج آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به طریق نسخه‌برداری معکوس با استفاده از آر. ان ای استخراج شده از برخی ارقام موجود در

کلکسیون سیب کمال‌شهر و جفت آغازگر اختصاصی ویروس لکه سبزرده سیب

Table 3- RT-PCR results of total RNA extracts of some apple variety of Kamalshahr collection with ACLSV-specific primers

نام رقم Cultivar name	نتیجه واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز RT-PC Rresult
پایزه مشهد ۳ (Payezeh Mashad3)	neg
اردبیل ۱-۲ (Ardebil-e1-2)	neg
نایان ارنگه ۲ (Nayan-e Arangheh2)	neg
خورسیجان ۱ (Khorsijan1)	neg
رداسپور کوپر ۲ (Red Spur Cooper2)	neg
کوپر اسپور ۳ (Cooper Spur3)	neg
یلو ترنسپرنت ۱ (Yellow Transparent1)	neg
استارکینگ ۲ (Starking2)	neg
استارکینگ ۱ (Starking1)	neg
اردبیل ۱-۱ (Ardebil-e1-1)	pos
سلطانی شبستر ۲ (Sultani-e Shabestar2)	pos
اسکارلت ویلسون ۲ (Scarlett Wilson2)	pos
مشهد نوری (Mashad-e Nouri)	pos
اورلئان ۱ (Orlean1)	pos
اردبیل ۲-۲ (Ardebil-e2-2)	neg
IR6-1	neg
ردروم بیوتی ۳ (Red Rome Beauty3)	neg
مکینتاش ۱ (McIntosh1)	neg

Neg= negative عدم آلودگی

Pos=positive آلوده

آلودگی به سه ویروس مهم دیگر شامل ASPV، ASGV و ToRSV می‌توانند در برنامه تولید مواد تکثیری گواهی‌شده جهت احداث باغات جدید مورد توجه قرار گیرند.

سیاسگزاری

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی سازمان تحقیقات کشاورزی آقای دکتر زارع که هزینه‌های این تحقیق در قالب پروژه مصوب مشترک بین دو مؤسسه تحقیقات باغبانی و گیاهپزشکی را فراهم نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

اندام‌های تکثیری روشی آلوده عامل اصلی انتقال و گسترش ویروس‌های درختان میوه می‌باشند (۲۶). با توجه به این که ویروس‌های مهم درختان سیب فاقد ناقل طبیعی شناخته شده‌ای می‌باشند لذا تولید اندام‌های تکثیری عاری از ویروس در احداث باغات جدید اصلی‌ترین روش مؤثر کنترل ویروس‌ها در این گروه از محصولات می‌باشد (۲۴). در این بررسی تعدادی از ارقام شامل مکینتاش ۱، ردروم بیوتی ۳، استارکینگ ۱، ۲ و ۳، اردبیل ۱-۲، نایان ۱، خورسیجان ۱، رداسپورکوپر ۲، یلو ترنسپرنت ۱، IR6-1 و اردبیل ۲-۲ هم در آزمون الیزا و هم در آزمون RT-PCR عاری از ویروس تشخیص داده شدند لذا این ارقام پس از بررسی از نظر

منابع

- 1- Adams M.J., Candresse T., Hammond J., Kreuze J.F., Martelli G.P., Namba S., Pearson M.N., Ryu K.H., Saldarelli P., and Yoshikawa N. 2012. Family Betaflexiviridae. pp. 920-941. In: King AMQ, Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J., (eds). Virus taxonomy: ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. London: Elsevier Academic Press.
- 2- Alemzadeh E., Katsiani A.T., Efthimiou K., and Katis N.I. 2016. Occurrence of Apple chlorotic leaf spot virus in apple and quince in southern if Iran. Journal of Plant Pathology 98(1): 171-185.
- 3- Anonymous. 2015. Office of Statistics and Information Technology, Ministry of Agricultural Jihad. Agricultural Statistics of the Year 1394-. (In Persian)
- 4- Barba M., Ilardi V., and Pasquini G. 2015. Control of pome and stone fruit virus diseases. Advanced in Virus Research 91: 47-61.
- 5- Brunt A.A., Crabtree K., Dalwitz M.I., Gibbs A.J., and Watson L. (eds). 1996. Plant viruses online: Viruses of plant: description and lists from the VIDE database. CAB International. Available at <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide>.
- 6- Campbell A.I. 1990. The effects of viruses on the growth, yield and quality of three apple cultivars on healthy and infected clones of four rootstocks. Acta Horticulture 114: 114-117.
- 7- Chang S., Puryear J., and Chairney J. 1993. Simple and efficient method for isolating RNA from pine trees. Plant Molecular Biology Reporter 11: 113-116.
- 8- Clark M.F., and Adams A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. Journal of General Virology 34: 475-458.
- 9- Eccher T., and Hajnajari H. 2006. Fluctuations of endogenous gibberellin A4 and A7 content in apple fruits with different sensitivity to russet. Acta Horticulturae 727: 537-544.
- 10- Hajnajari H. 2012. New early apple 'Gol Bahar', tolerant to spring cold with high flesh firmness, good storability and high yielding. Center of Agriculture Information & informative technology. Tehran.pp.20. (In Persian)
- 11- Hajnajari H. 2012. New early apple 'Sharbati' with upright growth habit and high yielding. Center of Agriculture Information & informative technology. Tehran.pp.20. (In Persian)
- 12- Hajnajari H., and Moradi M. 2014. The survey self-compatibility rate, pomology and inbreeding pressure in some of selected apples and fully self-compatible genotype IRI6. Iranian Horticulture Science 45(2): 163-174. (In Persian)
- 13- Hajnajari H. 2018. Atlas of Iranian Fruit Tree Cultivars. Nahre Amuzeh Keshavarzi (Agriculture Education publication).pp. 234. (In Persian)
- 14- Hassan M., Myrta A., and Polak J. 2006. Simultaneous detection and identification of four pome fruit viruses by onetube pentaplex RT-PCR. Journal of Virological Methods 133: 124-129.
- 15- Janick J., Cummins J.N., Brown S.K., and Hemmat M. 1996. Apples. pp. 1- 77. In: Fruit Breeding, Volume I: Tree and Tropical Fruits. Wiley, New York.
- 16- Keshavarz T., and Shams-Bakhsh M. 2015. Incidence and distribution of Apple chlorotic leaf spot virus in the main fruit growing areas of Iran. Archives of Phytopathology and Plant Protection 48: 306-312.
- 17- Lister R.M. 1970. Apple chlorotic leaf spot virus. CMI/AAB Description of plant viruses. No. 30.
- 18- Menzel W., Zahn V., and Maiss E. 2003. Multiplex RT-PCR ELISA compared with bioassay for the detection of four apple viruses. Journal of Virological Methods 110: 153-157.

- 19- Mink G.I., and Shay J.R. 1959. Preliminary evaluation of some Russian apple varieties as indicators for apple viruses. *Plant Disease* 254: 13–17.
- 20- Myrta A., Matic S., Malinowski T., Pasquini G., and Candresse T. 2011. Apple chlorotic leafspot virus in stone fruits. p. 85–90. In A. Hadidi, M. Barba, T. Candresse, and W. Jelkmann (eds.), *Virus and virus-like diseases of pome and stone fruits*. APS Press, St Paul, Minnesota, USA.
- 21- Nemchinov L., Hadidi A., Foster J.A., Candresse T., and Verderevskaya T. 1995. Sensitive detection of apple chlorotic leaf spot virus from infected apple or peach tissue using RT-PCR, ICRT-PCR, or multiplex IC-RT-PCR. *Acta Horticulturae* 386: 51-62.
- 22- Nemeth M. 1986. *Virus, Mycoplasma and Rickettsia diseases of fruit trees*. Academic publisher, Dordrecht, The Netherlands.
- 23- Paunovic S., and Jevremovic D. 2004. Apple stem pitting virus detection from dormant pome fruits by RT-PCR. *Acta Horticulturae* 657: 45–49.
- 24- Popescu S., Constantin G., and Mazilu C.R. 2004. Apple viral diseases diagnosed in the germplasm collection at ICDP Maracineni-Romania. *Acta Horticulturae* 657: 51–54.
- 25- Pupola N., Morocko-Bicevska I., Kale A., and Zeltins A. 2011. Occurrence and diversity of pome fruit viruses in apple and pear orchards in Latvia. *Journal of Phytopathology* 159: 597-605.
- 26- Sutic D.D., Ford R.G., and Tosic M.T. 1998. *Handbook of plant virus diseases*. CRC Press. Boca Raton, USA. pp533.
- 27- Yaegashi H., Yoshikawa N., and Candresse T. 2011. Apple chlorotic leaf spot virus in pome fruits. p. 17–22. In A. Hadidi M., Barba T., Candresse and W. Jelkmann (eds.) *Virus and virus-like diseases of pome and stone fruits*. APS Press, St Paul, Minnesota, USA.
- 28- Yanase H. 1974. Studies on apple latent viruses in Japan. *Bulletin of the Fruit Tree Research Station*, series C1:47–109.
- 29- Yoshikawa N. 2001. Apple chlorotic leaf spot virus. *CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses*, 386 No. 30.



Status of the *Apple chlorotic leaf spot virus* Infection in Native and Imported Apple Tree Cultivars in the National Collection of Kamalshahr Horticulture Research Station

T. Keshavarz^{1*}- H. Hajnajari²

Received: 24-12-2018

Accepted: 30-07-2019

Introduction: Pome fruits are affected by many viruses that cause diseases with adverse effects in orchards worldwide. *Apple chlorotic leaf spot virus* (ACLSV) is one of the most widespread and economically important latent viruses that naturally affect many *Prunus* species, apples (*Malus domestica* Borkh.), pears (*Pyrus communis* L.) and the other rosaceous species. ACLSV infection rates of up to 80–100% in many commercial apple cultivars with yield losses of the order of 30–40% have been reported. In most commercial apple cultivars, the infection generally is latent, but insensitive cultivars, such as apple trees grown on Marubakaido (*Malus prunifolia* cv. Ringo) rootstocks, malformation and reduction in leaf size and chlorotic rings or line patterns are common. The severity of symptoms induced by ACLSV depends largely on the plant species and virus strains. Some virus isolates induce a severe disease in apricot and plum characterized by depressions and protuberances that deform the fruit, often confused with the “sharka” disease due to *Plum pox virus* (PPV), and named for this reason as “pseudopox.” ACLSV is a filamentous virus, 680–780 nm long and 12 nm in width as the type species of the genus Trichovirus in the family Betaflexiviridae. ACLSV contains a single-stranded, positive-sense RNA about 7.5–8 kb in size, with a polyadenylated 3' terminus and a cap at its 5'-end, and also contain multiple copies of a single coat protein (CP) of 21–24 kDa. The economic importance of ACLSV is largely due to its worldwide distribution and its capacity to induce severe graft incompatibilities in some *Prunus* combinations, causing major problems in nurseries. In apple trees, ACLSV frequently is detected in coinfection with *Apple stem grooving virus* and *Apple stem pitting virus*. ACLSV is mainly transmitted by grafting. No natural virus vectors are known for this virus and are not known to be seed or pollen transmitted. The older National Apple Collection of Native and Imported apple cultivars in Kamalshahr Horticulture Research Station located in Karaj includes 85 cultivars and promising genotypes on seed stocks benefit a high genetic variability. Though the cultivars were screened for more biotic and abiotic factors, but no screening has been achieved yet for virus diseases, while this valuable germplasm comprises a wide range of newly released cultivars or in releasing procedure, high yield natives and those imported selected as adapt to Iranian climate, so a great need of healthy primary nucleus to establish mother orchards for certified plant material. As this valuable germplasm is very important in providing healthy primary nucleus to establish mother orchards for certified plant material so the aim of this research was an evaluation of native and imported apple tree cultivars of this Collection to ACLSV infection.

Material and Methods: To assess the occurrence and the prevalence of this virus in the collection, a total of fifty accessions were collected. The sample collection was carried out in summer (2016) and spring (2017). The collecting method consisted of sampling leaves homogeneously distributed around the canopy of the plant. All samples were screened for the presence of ACLSV by DAS-ELISA using the ACLSV specific polyclonal antibody using commercial kits purchased from Bioreba Company, Switzerland. To confirm ELISA results some cultivars were subjected to reverse transcription-polymerase chain reaction. Total RNA was isolated from some apple cultivars using CTAB RNA extraction method and was used as a template for RT-PCR. Specific oligonucleotide primers corresponding to a region of the ACLSV genome that encodes part of the CP, were used in RT-PCR. The amplified PCR products were analyzed in 1% agarose gel stained by ethidium-bromide and visualized under UV light after electrophoresis.

1- Research Assistant Professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

(*- Corresponding Author Email: ta_keshavarz@yahoo.com)

2- Research Associate Professor, Temperate Fruit Research Center, Horticulture Science Research Institute, Agriculture Research Education Extension Organization

Result and Discussion: The ELISA results showed that 39 out of 50 cultivars were infected by ACLSV. RT-PCR on total RNA from the ELISA positive samples resulted in the amplification of an expected 358 bp DNA fragment. In RT-PCR out of 18 tested cultivars, five were infected. Some cultivars including Makintash, Red Rome Beauty, Starking, Ardebil1, Nayan Arangeh, Khorsijan, Red spur cooper, Yellow transparent 1, IR6-1 and Ardebil2 recognized ACLSV free in ELISA and RT-PCR, so could be used in the production and employment of virus-free propagating material program after infection testing to the other three important viruses Apple stem pitting virus, Apple stem grooving virus and Tomato ringspot virus. The results showed a high rate of ACLSV infection of native and imported apple cultivars in the older National Apple Collection in Kamalshahr Horticulture Research Station. Previous studies, in apple gardens and nurseries of Iran, have shown a high percentage of ACLSV infection too. Similar results have also been obtained on the percentage of infection with this virus in the Czech Republic, Romania, Albania, and Bosnia and Herzegovina. As germplasm exchanges are the main source of transmission of new viruses to countries, one of the most important strategies to control viruses in fruit trees is to prevent the introduction of virus-infected germplasm into the country.

Keywords: Apple germplasm collection, *Apple chlorotic leaf spot virus*, ELISA, RT-PCR, Virus

تأثیر برخی از عناصر پرمصرف بر فعالیت نماتد ریشه‌گرهی، *Meloidogyne javanica* در

بادمجان (*Solanum melongena* L.)

سمانه مظفریان^۱ - حبیب‌اله چاره‌گانی^{۲*} - محمد عبدالمهی^۳ - رسول رضائی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳

چکیده

استفاده از روش‌هایی ایمن در مهار نماتدهای ریشه‌گرهی امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. در مطالعه حاضر تأثیر سطوح مختلف عناصر پرمصرف نیتروژن و فسفر بر فعالیت نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* روی بادمجان رقم دلمه‌ای در شرایط گلخانه مطالعه گردید. در این مطالعه از سطوح انتخابی صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم نیتروژن و صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم فسفر در کیلوگرم خاک، به ترتیب از منابع نانوکود کلات نیتروژن و نانوکود کلات فسفر استفاده گردید. بذر بادمجان رقم دلمه‌ای در گلدان‌های پلاستیکی حاوی دو کیلوگرم بستر کشت شامل نسبت مساوی از ماسه، خاک مزرعه و کود دامی در شرایط کنترل شده گلخانه کشت گردید. در مرحله چهار برگی مایه‌زنی نماتد با افزودن پنج تخم و لارو سن دوم نماتد در گرم خاک انجام و ۱۰ روز پس از مایه‌زنی سطوح مختلف نیتروژن و فسفر همراه با آب آبیاری (۱۰۰ میلی‌لیتر در گلدان) به گلدان‌ها اضافه گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد. ۶۰ روز پس از مایه‌زنی شاخص‌های رشدی گیاه و جمعیتی نماتد اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد استفاده از ۱۰۰ میلی گرم نیتروژن و ۱۰۰ میلی گرم فسفر در کیلوگرم خاک از منابع نانوکود کلات نیتروژن و نانوکود کلات فسفر به عنوان بهترین تیمار مورد استفاده در این آزمایش بود که علاوه بر افزایش شاخص‌های رویشی گیاه، باعث کاهش شاخص‌های جمعیتی نماتد شامل تعداد تخم، گال، کیسه تخم و فاکتور تولیدمثل به ترتیب به میزان ۵۳، ۵۲، ۶۲ و ۵۵ درصد گردید.

واژه‌های کلیدی: مدیریت، نانوکود کلات نیتروژن، نانوکود کلات فسفر، نماتد ریشه‌گرهی

(۲۲)

مقدمه

افزایش محصولات کشاورزی به میزان زیادی وابسته به نوع کودهای شیمیایی برای تأمین مواد غذایی مورد نیاز گیاهان می‌باشد. کشت مستمر گیاهان باعث کم شدن عناصر ضروری در خاک شده و استفاده از کودهای شیمیایی باعث بازگشت این عناصر به خاک می‌شوند. استفاده از کودهای شیمیایی نه تنها باعث بهبود شرایط کیفی خاک شده، بلکه باعث حفظ و بقا میکروارگانیسم‌های مفید موجود در خاک نیز می‌شوند (۱۷). نیتروژن یکی از اصلی‌ترین عناصر غذایی مهم محدودکننده رشد گیاه است و برای ساخت کلروفیل مورد نیاز می‌باشد و گیاهان را قادر به گرفتن انرژی برای جذب مواد غذایی می‌کند. برگ گیاهانی که با کمبود نیتروژن رو به رو هستند به صورت سبز مایل به زرد دیده می‌شوند. برگ‌های مسن بیشتر از برگ‌های جوان آسیب دیده و کاملاً زرد شده و می‌ریزند. برگ‌ها عموماً از رشد بازمانده، کوچک شده و فاصله میان گره‌ها و قطر ساقه‌ها کاهش می‌یابد (۳۰). کمبود نیتروژن رشد برگ‌ها را کاهش می‌دهد و باعث کم رنگ‌تر شدن برگ‌ها می‌شود زیرا میزان کلروفیل در برگ‌ها کاهش می‌یابد، پیری برگ تسریع می‌گردد (۱۶). کمبود این عنصر

بادمجان با نام علمی *Solanum melongena* L. گیاهی علفی از خانواده سیب‌زمینی Solanaceae می‌باشد. بادمجان یک محصول گلخانه‌ای محبوب با پتانسیل عملکرد بالا، رشد سریع و کیفیت خوب می‌باشد. میزان خسارت ناشی از نماتدهای جنس *Meloidogyne* حدود ۵٪ از محصولات کشاورزی گزارش شده است (۲۶). هر چند مدیریت نماتدها با توجه به خاک‌زاد بودن این بیمارگر، نرخ بالای تکثیر، دامنه میزبانی گسترده، هزینه‌های مصرفی و نوع محصول باعث محدودیت‌هایی می‌گردد، با این وجود روش‌های مدیریتی عبارتند از اعمال تناوب زراعی، استفاده از ارقام مقاوم، مهار زیستی، کنترل حرارتی و کنترل شیمیایی و در عمل تلفیقی از چندین روش مبارزه برای کنترل نماتدهای بیماری‌زای گیاهان استفاده می‌شود

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی سابق، استادیار، استاد و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

(*)- نویسنده مسئول: Email: h.charehgani@yu.ac.ir

DOI: 10.22067/jpp.v33i4.80082

اغلب در شرایطی که مدیریت تغذیه گیاه صحیح نبوده و به مقدار کافی در اختیار گیاه نمی‌باشد، مشاهده می‌شود. در برخی موارد نیز کود نیتروژن بیش از حد مورد نیاز در اختیار گیاه قرار می‌گیرد که به طور معمول منجر به آبدار شدن پروتوپلاسم، تردی و شکنندگی گیاه شده که در نتیجه گیاه در برابر بیماری‌ها و آفات آسیب‌پذیرتر می‌شود (۷).

گیاهان به کودهای فسفره در تمام طول دوره رشدشان مخصوصاً در مراحل اولیه رشد برای تقسیم سلولی و در مرحله رسیدگی برای تشکیل و افزایش وزن دانه نیازمند هستند (۸). فسفر در انتقال انرژی در درختان میوه نقش دارد، بنابراین در فعالیت متابولیکی گیاه مؤثر بوده و از این طریق به طور غیر مستقیم بر عملکرد محصولات تأثیر می‌گذارد. فسفر به صورت ترکیبات آلی فیتات در گیاه ذخیره می‌شود، همراه با سایر عناصر در ساختمان گرده شرکت دارد و مهم‌ترین عنصر در تولید محصول می‌باشد و همچنین در تشکیل گل و دانه‌بندی اهمیت زیادی دارد. در هنگام کمبود فسفر، رنگ برگ‌ها تیره، کدر مایل به آبی با ته رنگ برنزی یا بنفش و رنگ میوه‌ها سبز، گوشت میوه نرم و شیره میوه ترش و خاصیت انباری آن نیز کم می‌شود. از دیگر نشانه‌های کمبود فسفر، کوتولگی گیاهان است، به این صورت که گیاهان دچار کمبود فسفر، اغلب با گیاهان جوان اشتباه گرفته می‌شوند. فسفر انتقال انرژی، فتوسنتز، تقسیم و توسعه سلولی، جذب آب و املاح و رشد بسیاری از گیاهان را افزایش می‌دهد (۳).

مطالعات مختلف نشان داده که استفاده از کودهای آلی و شیمیایی نقش بازدارنده روی نماتدهای ریشه‌گرهی و سایر نماتدهای انگلی گیاهی دارند (۱، ۱۴، ۲۰، ۲۴ و ۲۸). در تحقیقی مشخص شد که کودهای شیمیایی NPK موجب کاهش جمعیت نماتد *M. incognita* در گلخانه روی گوجه‌فرنگی شده است (۱۴). عناصر نیتروژن و فسفر در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منابع اوره و سوپرفسفات تریپل باعث کاهش خسارت نماتد *M. incognita* در گیاه خیار و همچنین کاهش شاخص‌های جمعیتی نماتد شد (۵). استفاده از نانوکودها منجر به افزایش کارایی مصرف عناصر غذایی، کاهش سمیت خاک، به حداقل رساندن اثرات منفی ناشی از مصرف بیش از حد کودها و کاهش تعداد دفعات کاربرد کود می‌شود، به علاوه ممکن است استفاده از این مواد به دلیل بهبود تهویه و شکنندگی خاک و همچنین جلوگیری از فرسایش خاک، باعث ارتقای شرایط خاک برای کشت محصولات زراعی نیز گردد. اعتقاد بر این است که استفاده از نانوکودها مؤثرترین و در عین حال ساده‌ترین شیوه به منظور کاهش تلفات عناصر غذایی و افزایش کارایی مصرف کودها است. نانوکودها عمدتاً به واسطه آزادسازی آرام و تدریجی عناصر غذایی، دوره‌ی تأثیر کود را افزایش می‌دهند. مسلماً با به کارگیری فناوری نانو در بهینه‌سازی فرمولاسیون کودهای شیمیایی، می‌توان به دست‌آورد های شگرفی از جمله کاهش مصرف انرژی، صرفه‌جویی در

هزینه‌های تولید و جلوگیری از معضلات زیست‌محیطی ناآل آمد (۱۸). با استفاده از مواد نانوساختار یا نانومقیاس به‌عنوان حامل کودی یا ناقل کنترل‌کننده‌ی رهاسازی به‌منظور ایجاد کودهای هوشمند، فناوری نانو منشأ امیدواری‌های زیادی در جهت عبور از محدودیت‌های تکنیکی موجود بر سر رهاسازی آرام و کنترل شده‌ی عناصر کودها شده است (۶). نانوکودها راندمان مصرف بالایی دارند و می‌توانند به‌صورت مطلوب در نقطه مناسبی از ناحیه رشد ریشه، عناصر غذایی خود را آزاد کنند (۱۵). نانوکودهای کلات نیتروژن و فسفر خضراء ساخت شرکت دانش بنیان صدور احراز شرق به ترتیب حاوی ۱۷ درصد نیتروژن و ۱۷ درصد فسفر در فرم کلات شده می‌باشند. این کودها بر اساس تکنولوژی کلات‌های پیشرفته طراحی و سنتز شده است. این فناوری تحت عنوان Chelate Compound در اداره ثبت اختراعات آمریکا به شماره US8288587B2 به ثبت رسیده است. هدف از انجام این تحقیق بررسی سطوح مختلف نانوکودهای کلات نیتروژن و فسفر خضراء روی رقم دلمه‌ای بادمجان در برابر نماتد *M. javanica* در شرایط گلخانه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه جمعیت نماتد ریشه‌گرهی

به منظور تهیه نماتد ریشه‌گرهی گونه *M. javanica* گیاهان دارای علائم زردی، پژمردگی و گال بر روی ریشه، از گلخانه‌ها و مزارع آلوده در استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری و نماتدها با استفاده از روش تک گال کردن طی دو مرحله روی گوجه‌فرنگی رقم ارلی-اوربانا^۱ خالص‌سازی گردید. سپس با بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتدهای ماده و با استفاده از کلیدهای شناسایی، جمعیت‌های جمع‌آوری شده تعیین گونه شده و گونه *M. javanica* روی گوجه‌فرنگی تکثیر گردید (۱۱).

تهیه کودهای شیمیایی

به منظور مشخص نمودن تأثیر دو عنصر نیتروژن (N) و فسفر (P) بر شاخص‌های رشدی گیاه بادمجان آلوده به نماتد *M. javanica* و همچنین شاخص‌های جمعیتی نماتد، عنصر نیتروژن در سطوح صفر (N0)، ۵۰ (N1)، ۱۰۰ (N2) و ۲۰۰ (N3) میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع نانوکود کلات نیتروژن و عنصر فسفر (P) در سطوح صفر (P0)، ۲۵ (P1)، ۵۰ (P2) و ۱۰۰ (P3) میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع نانوکودکلات فسفر تهیه شدند. نانو کودهای کلات نیتروژن و فسفر ساخت شرکت دانش بنیان صدور احراز شرق با درصد خلوص ۱۷ درصد و اندازه ذرات بین ۱ تا ۲۰ نانومتر استفاده شد.

مطالعات گلخانه‌ای

بذر گیاه بادمجان رقم دل‌م‌ای^۱ حساس به نماتد ریشه‌گرهی، درون گلدان‌های پلاستیکی حاوی دو کیلوگرم بستر کشت شامل نسبت مساوی از ماسه، خاک مزرعه و کود دامی کاشته شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه با دمای 27 ± 4 درجه سلسیوس و تناوب نوری ۱۸ ساعت روشنایی و شش ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از رسیدن گیاهان به مرحله چهار برگی، ۶۴ گلدانی که برای مایه‌زنی توسط نماتد ریشه‌گرهی گونه *M. javanica* مشخص شده بود، به وسیله پنج تخم و لارو سن دوم در هر گرم خاک (۱۰۰۰۰ تخم و لارو سن دوم در هر گلدان) مایه‌زنی گردید (۵). ده روز پس از مایه‌زنی، سطوح مختلف نیتروژن و فسفر همراه با آب آبیاری (۱۰۰ میلی‌لیتر به ازاء هر گلدان) به خاک گلدان‌ها اضافه گردید. ۶۰ روز پس از مایه‌زنی نماتد، شاخص‌های رشدی گیاه شامل طول، وزن خشک و تر شاخساره و وزن تر ریشه و شاخص‌های جمعیتی نماتد شامل، تعداد تخم، کیسه تخم و گال در ریشه و در نهایت فاکتور تولیدمثل بررسی گردید (۱۳). به منظور تعیین تعداد گال و توده‌ی تخم، ریشه‌ی هر تیمار به قطعات ۱ - ۲ سانتی‌متر تبدیل و کاملاً مخلوط شدند، یک گرم از ریشه به صورت تصادفی انتخاب گردید و پس از رنگ‌آمیزی با محلول اسیدفوشین ۱٪/۱، گال و کیسه تخم با استفاده از استرئومیکروسکوپ شمارش گردیدند. با ضرب نمودن تعداد گال و توده‌ی تخم در وزن تر ریشه، تعداد کل در سیستم ریشه محاسبه گردید (۴). به منظور تعیین تعداد تخم در سیستم ریشه، یک گرم از ریشه‌ی قطعه‌قطعه شده به صورت تصادفی انتخاب و در دستگاه مخلوط‌کن همراه با محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪/۵ به مدت ۴۰ ثانیه مخلوط شد. بلافاصله محتویات مخلوط‌کن به الک ۱۵۰ میکرون (۱۰۰ مش) که بر روی الک ۲۵ میکرون (۵۰۰ مش) قرار داشت منتقل شد. بقایای ریز گیاهی روی الک ۱۰۰ مش و تخم‌های رها شده از کیسه‌ی تخم روی الک ۵۰۰ مش قرار گرفتند. محتویات روی الک ۵۰۰ مش با استفاده از جریان آب تا حذف کامل بقایای محلول هیپوکلریت سدیم شسته شدند. تخم‌های نماتد توسط آب‌فشان جمع و در بشر با حجم مشخص ریخته شد. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون تخم در زیر استرئومیکروسکوپ شمارش و تعداد تخم در سوسپانسیون حاصل از یک گرم ریشه آلوده به کل ریشه تعمیم داده شد (۱۲). به منظور محاسبه‌ی فاکتور تولیدمثل، جمعیت نهایی نماتد (مجموع تعداد نماتد *M. javanica* در گلدان) به جمعیت اولیه‌ی (۱۰۰۰۰ تخم و لارو سن دوم) آن تقسیم گردید.

محاسبات آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل سه عاملی ($2 \times 4 \times 4$) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل چهار سطح مختلف نانوکود کلات نیتروژن (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، چهار سطح مختلف نانوکود کلات فسفر (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و دو سطح جمعیت نماتد (صفر و ۱۰۰۰۰ تخم و لارو سن دوم در گلدان) بود. تجزیه‌ی آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام پذیرفت.

نتایج

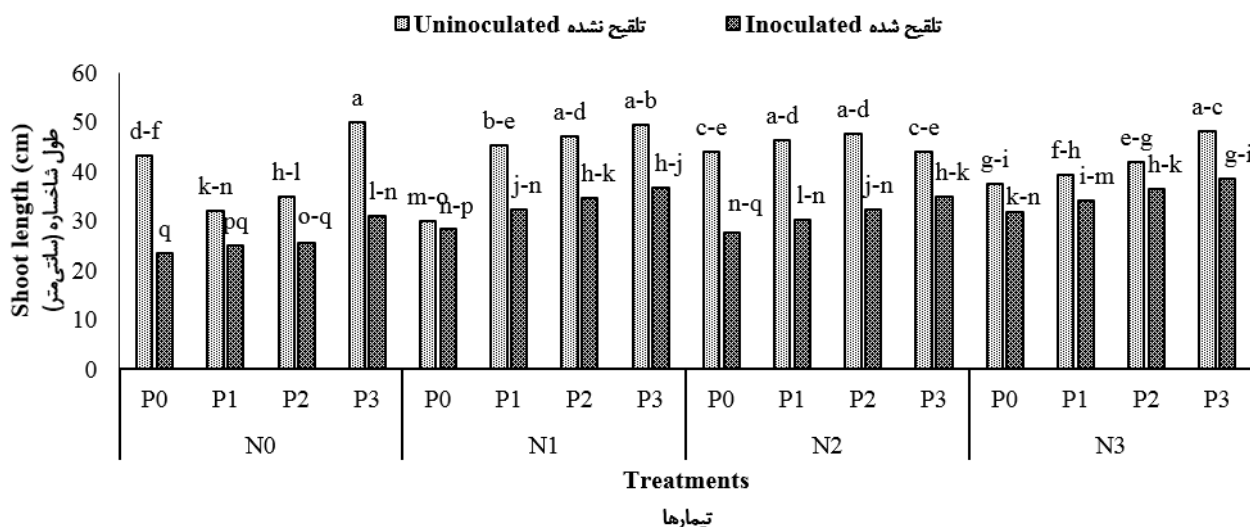
بررسی تأثیر سطوح عناصر نیتروژن و فسفر بر شاخص‌های رشدی گیاه

نتایج نشان داد که در گیاهان آلوده به نماتد تیمار شده با فسفر در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بدون نیتروژن (N0P3)، طول، وزن تر و خشک شاخساره در مقایسه با گیاهان آلوده به نماتد و تیمار نشده با کود (N0P0) به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). در گیاهان آلوده به نماتد تیمار شده با نیتروژن و فسفر به ترتیب در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (N1P3) طول، وزن تر و خشک شاخساره در مقایسه با گیاهان آلوده به نماتد و تیمار شده با نیتروژن و فسفر به ترتیب در غلظت‌های ۵۰ و صفر میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (N1P0) به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P \leq 0.05$). نتایج مشابه در مقایسه طول، وزن تر و خشک شاخساره گیاهان آلوده به نماتد در تیمار (N2P3) در مقایسه با تیمار (N2P0) و همچنین (N3P3) با (N3P0) مشاهده شد ($P \leq 0.05$) (شکل‌های ۱ تا ۳).

بیشترین میزان وزن تر ریشه در گیاهان آلوده به نماتد تیمار شده با نیتروژن و فسفر به ترتیب در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (N1P3) مشاهده شد که تنها با گیاهان آلوده به نماتد و تیمار شده با فسفر در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک همراه با نیتروژن در غلظت صفر و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (N0P3) و N2P3 اختلاف معنی‌دار نداشتند ($P \leq 0.05$) (شکل ۴).

بررسی تأثیر سطوح عناصر نیتروژن و فسفر بر شاخص‌های جمعیتی نماتد

نتایج نشان داد که در هر کدام از سطوح نیتروژن با افزایش مقدار فسفر تعداد تخم نماتد در سیستم ریشه کاهش یافت. تعداد تخم در تیمار N3P0 به طور معنی‌داری بیشتر و در تیمار N2p3 به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود (شکل ۵).

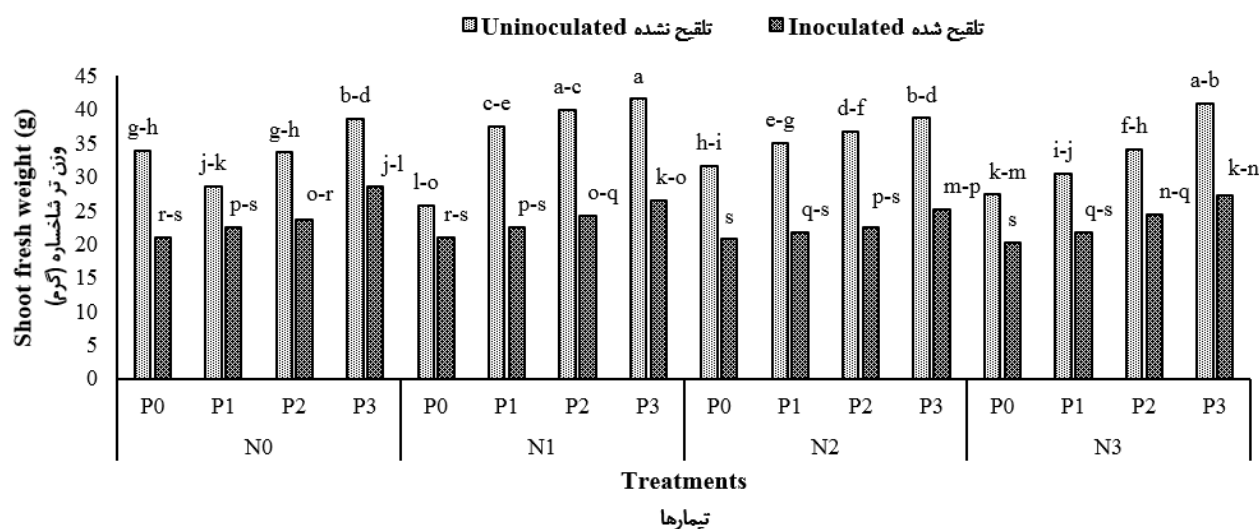


شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف عناصر نیتروژن و فسفر بر طول شاخساره بادمجان سالم و آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

Figure 1- Effect of different levels of nitrogen and phosphorus on shoot length of healthy and infected eggplants, with *Meloidogyne javanica*

- N0, N1, N2 and N3 are 0, 50, 100 and 200 mg nitrogen/ Kg of soil.

- P0, P1, P2 and P3 are 0, 25, 50 and 100 mg phosphorus/ Kg of soil.



شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف عناصر نیتروژن و فسفر بر وزن تر شاخساره بادمجان سالم و آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

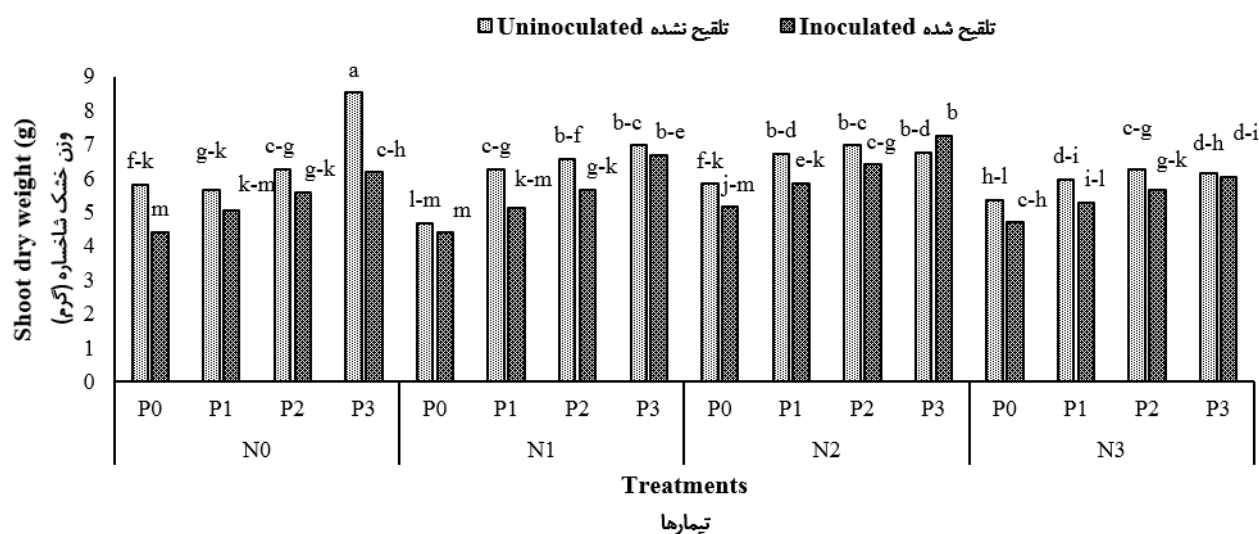
Figure 2- Effect of different levels of nitrogen and phosphorus on shoot fresh weight of healthy and infected eggplants, with *Meloidogyne javanica*

- N0, N1, N2 and N3 are 0, 50, 100 and 200 mg nitrogen/ Kg of soil.

- P0, P1, P2 and P3 are 0, 25, 50 and 100 mg phosphorus/ Kg of soil.

- N0, N1, N2 and N3 are 0, 50, 100 and 200 mg nitrogen/ Kg of soil.

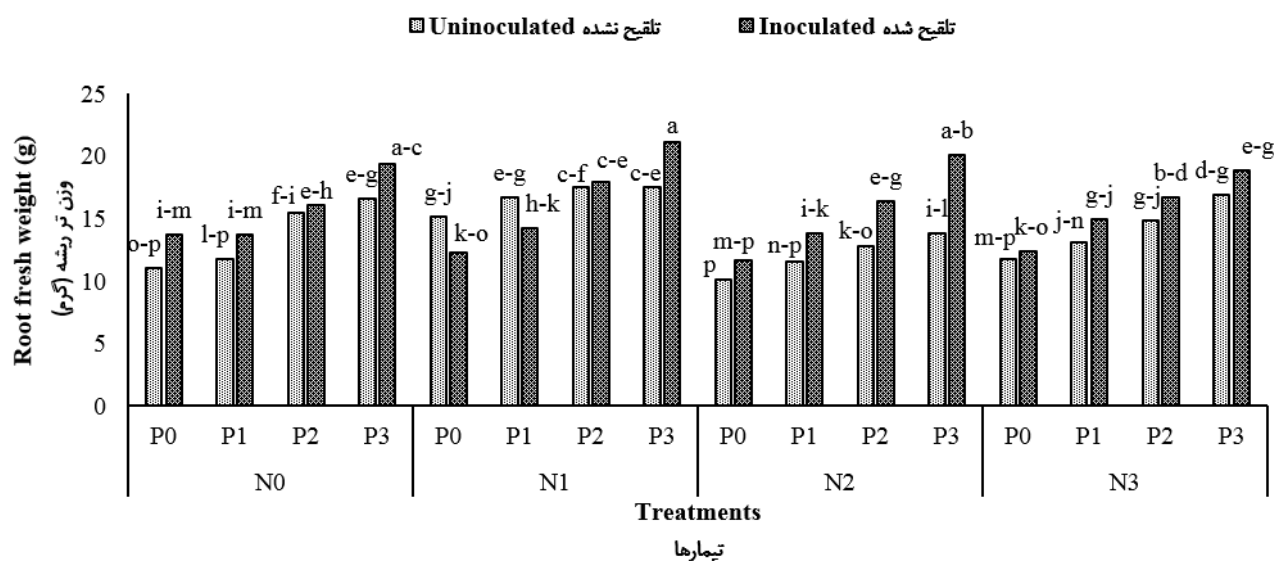
- P0, P1, P2 and P3 are 0, 25, 50 and 100 mg phosphorus/ Kg of soil.



شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف عناصر نیتروژن و فسفر بر وزن خشک شاخساره بادمجان سالم و آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

Figure 3- Effect of different levels of nitrogen and phosphorus on shoot dry weight of healthy and infected eggplants, with *Meloidogyne javanica*

- N0, N1, N2 and N3 are 0, 50, 100 and 200 mg nitrogen/ Kg of soil.
 - P0, P1, P2 and P3 are 0, 25, 50 and 100 mg phosphorus/ Kg of soil.



شکل ۴- تأثیر سطوح مختلف عناصر نیتروژن و فسفر بر وزن تر ریشه بادمجان سالم و آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

Figure 4- Effect of different levels of nitrogen and phosphorus on root fresh weight of healthy and infected eggplants, with *Meloidogyne javanica*

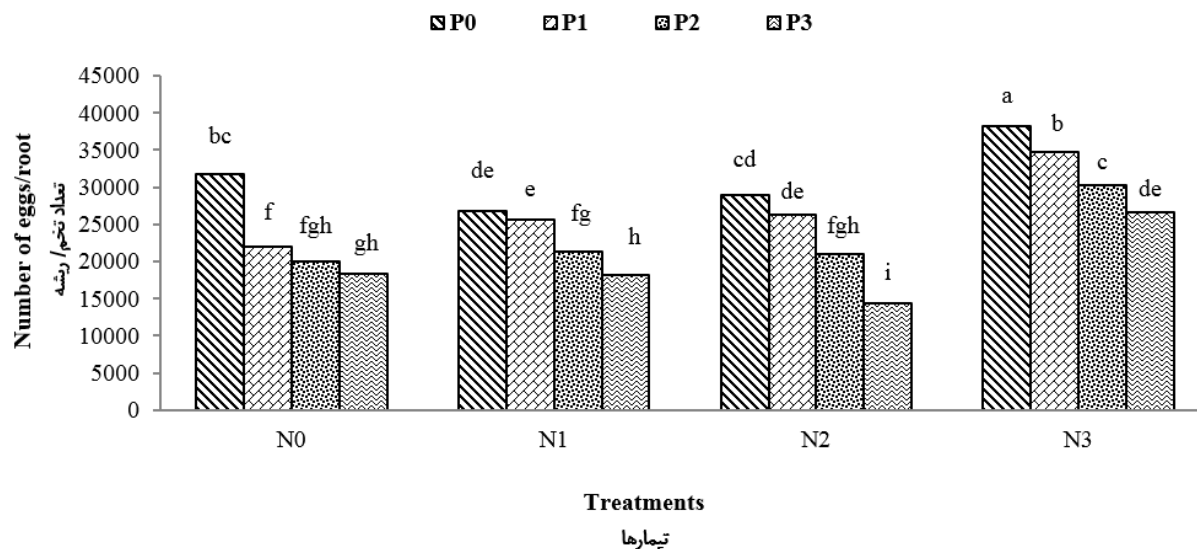
- N0, N1, N2 and N3 are 0, 50, 100 and 200 mg nitrogen/ Kg of soil.
 - P0, P1, P2 and P3 are 0, 25, 50 and 100 mg phosphorus/ Kg of soil.

در هر کدام از سطوح نیتروژن، تعداد گال و کیسه تخم در سیستم ریشه در گیاهان تیمار شده با ۱۰۰ میلی گرم فسفر در کیلوگرم خاک

(N0P3, N1P3, N2P3 و N3P3) در مقایسه با گیاهان تیمار نشده با فسفر (N0P0, N1P0, N2P0 و N3P0) به طور معنی‌داری

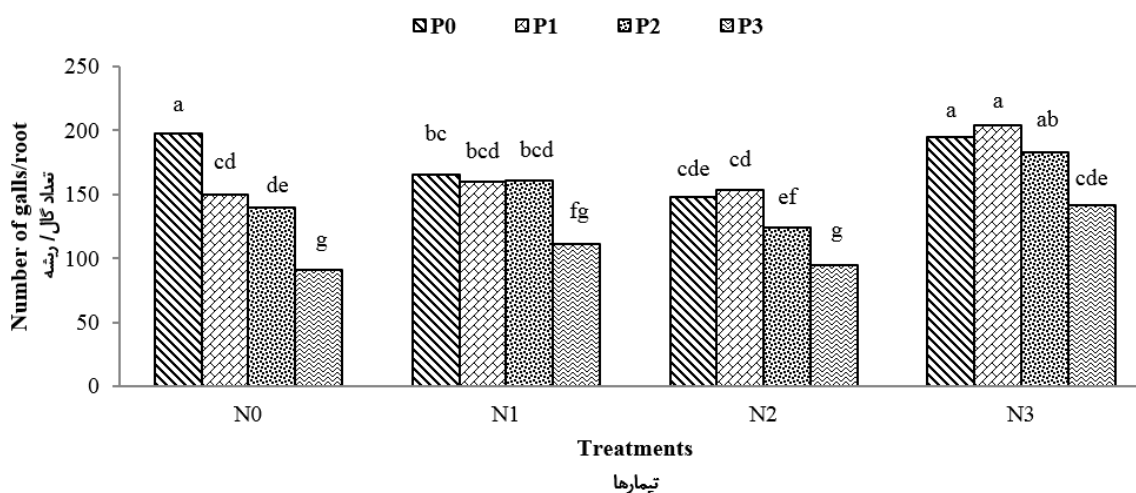
کمترین میزان در تیمار N2P3 مشاهده شد که با تمام تیمارها اختلاف معنی دار وجود داشت (شکل ۸).

کاهش یافت (شکل های ۶ و ۷). تعداد کیسه تخم نماتد در ریشه در تیمارهای N0P3 و N2P3 به طور معنی داری کمتر از سایر تیمارها بود (شکل ۷). بیشترین میزان فاکتور تولیدمثل در تیمار N3P0



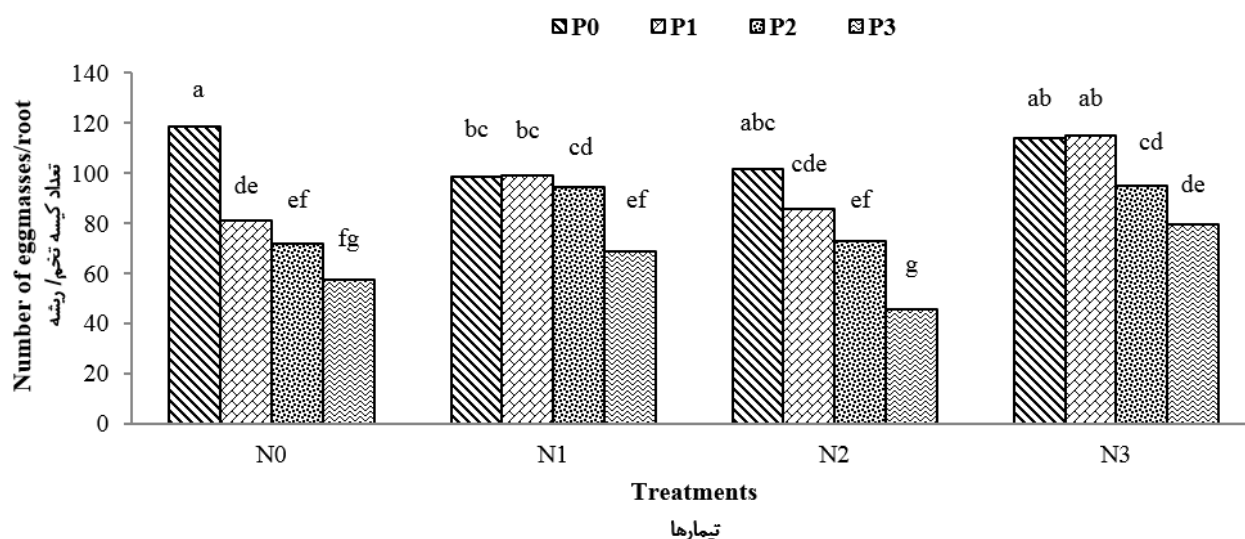
شکل ۵- تأثیر سطوح مختلف عناصر نیتروژن و فسفر بر تعداد تخم نماتد ریشه گری *Meloidogyne javanica* روی ریشه بادمجان
Figure 5- Effect of different levels of nitrogen and phosphorus on number of eggs/ root system of *Meloidogyne javanica* on eggplant

- N0, N1, N2 and N3 are 0, 50, 100 and 200 mg nitrogen/ Kg of soil.
- P0, P1, P2 and P3 are 0, 25, 50 and 100 mg phosphorus/ Kg of soil.



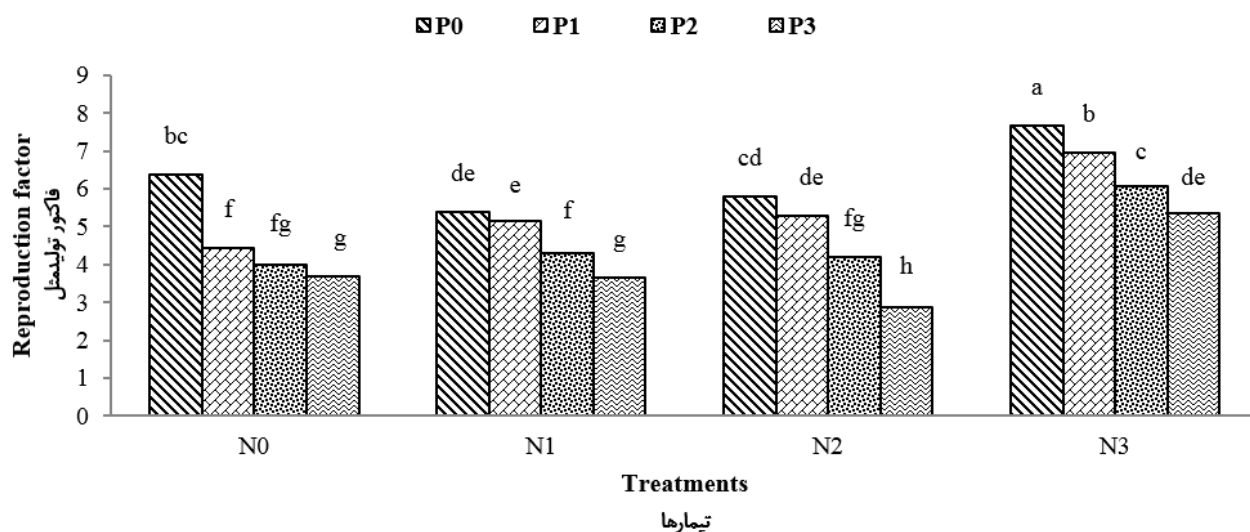
شکل ۶- تأثیر سطوح مختلف عناصر نیتروژن و فسفر بر تعداد گال نماتد ریشه گری *Meloidogyne javanica* روی ریشه بادمجان
Figure 6- Effect of different levels of nitrogen and phosphorus on number of galls/ root system of *Meloidogyne javanica* on eggplant

- N0, N1, N2 and N3 are 0, 50, 100 and 200 mg nitrogen/ Kg of soil.
- P0, P1, P2 and P3 are 0, 25, 50 and 100 mg phosphorus/ Kg of soil.



شکل ۷- تأثیر سطوح مختلف عناصر نیتروژن و فسفر بر تعداد کیسه تخم نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* روی ریشه بادمجان
Figure 7- Effect of different levels of nitrogen and phosphorus on number of egg masses/ root system of *Meloidogyne javanica* on eggplant

- N0, N1, N2 and N3 are 0, 50, 100 and 200 mg nitrogen/ Kg of soil.
- P0, P1, P2 and P3 are 0, 25, 50 and 100 mg phosphorus/ Kg of soil.



شکل ۸- تأثیر سطوح مختلف عناصر نیتروژن و فسفر بر فاکتور تولیدمثل نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* روی ریشه بادمجان
Figure 8- Effect of different levels of nitrogen and phosphorus on reproduction factor of *Meloidogyne javanica* on eggplant

- N0, N1, N2 and N3 are 0, 50, 100 and 200 mg nitrogen/ Kg of soil.
- P0, P1, P2 and P3 are 0, 25, 50 and 100 mg phosphorus/ Kg of soil.

بحث

به عنصر نیتروژن نیاز دارند. نیتروژن در قسمتی از تمام ترکیبات پروتئینی، تمام آنزیم‌ها، ترکیباتی که در ساخت مواد و انتقال انرژی و حتی ساختمان DNA موجود است. نیتروژن باعث افزایش رشد و نمو

گیاهان مانند بسیاری دیگر از موجودات زنده برای رشد و نمو خود

گیاه شده و میزان شاخ و برگ گیاه افزایش می‌یابد. کودهای حاوی نیتروژن همچنین باعث نازک شدن اپیدرم و لطیف شدن برگ‌ها شده و در نتیجه حساسیت آن‌ها به هجوم بسیاری از عامل بیماری‌زای گیاهی را افزایش می‌دهد. از طرف دیگر هرچقدر شیره سلولی از نظر مواد ازتی و آب غنی‌تر باشد، شرایط برای فعالیت بیمارگرهای گیاهی مساعدتر خواهد شد. همچنین افزایش کودهای حاوی نیتروژن باعث افزایش ترکیبات اسیدآمین در سلول و کم شدن مقدار ترکیبات فنلی می‌شود و در نتیجه میزان حساسیت گیاه به بیمارگرهای گیاهی افزایش می‌یابد. البته عکس این موضوع نیز در مواردی گزارش شده که افزایش میزان نیتروژن باعث افزایش مقاومت گیاه به بیمارگرهای گیاهی می‌شود. بنابراین کودهای حاوی نیتروژن موجب افزایش رشد و نمو و میزان محصول و همچنین در مواردی افزایش حساسیت به بیمارگرها و آفات گیاهی شده بنابراین نتیجه مصرف کودهای ازتی عملکرد مجموع این دو می‌باشد (۲۳). فسفر در گیاه نقش مهمی در انتقال انرژی ایفا می‌کند. ترکیبات فسفر در بسیاری از پیوندهای شیمیایی می‌تواند در نتیجه هیدرولیز شکسته شده و تولید انرژی زیادی بکنند (۲). کمبود فسفر باعث کند یا توقف رشد اندام‌های هوایی و ریشه گیاه می‌شود. برگ‌ها کوتاه، باریک و نازک شده و تعداد ساقه‌های جانبی کاهش می‌یابد تعداد برگ و شاخه محدود و خواب رفتگی یا مرگ جوانه‌های جانبی رخ می‌دهد. ظهور شکوفه کاهش یافته و در نتیجه میزان محصول کاهش می‌یابد. فسفر مانند نیتروژن نقش اساسی و دائمی در متابولیسم گیاهی دارد و کمبود آن باعث عدم تعادل متابولیسمی می‌شود که موجب افزایش حساسیت گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شود (۲۳). در دو مطالعه مجزا در شرایط گلخانه و مزرعه تأثیر نانو کود کلات نیتروژن (nano-nitrogen chelate=NNC) نانو کود کلات نیتروژن پوشیده با گوگرد (sulfur-coated nano-nitrogen chelate=SNNC)، اوره پوشیده با گوگرد (sulfur-coated urea=SCU) و اوره بر میزان آب شویی نیترات و میزان محصول سیب زمینی بررسی شد. نتایج در شرایط گلخانه نشان داد که میزان آب شویی نیترات در خاک در کاربرد کودهای NNC، SNNC و SCU در مقایسه با کود اوره، به ترتیب ۳۳، ۴۱ و ۶ درصد کاهش و میزان محصول به ترتیب ۳۸، ۴۵ و ۴۳ درصد افزایش و در شرایط مزرعه میزان آب شویی نیترات در خاک به ترتیب ۳۵/۷۲، ۴۱/۵۶ و ۹/۹۴ درصد کاهش و میزان محصول به ترتیب ۵۶/۱۰، ۵۹/۶۱ و ۴۹/۷۶ درصد افزایش یافت (۲۹). در مطالعه ای دیگر تأثیر غلظت‌های مختلف نانو کود کلات کلسیم و نانو کود کلات پتاسیم بر کمیت و کیفیت گیاه ریحان بررسی شد. نتایج نشان داد که کارایی ریحان در غلظت ۰/۲ درصد از نانو کود کلات کلسیم و تمام سطوح مورد استفاده از نانو کود کلات پتاسیم افزایش

معنی‌داری پیدا کرد. همچنین وزن هزار دانه در غلظت ۰/۲ درصد از نانو کود کلات کلسیم و ۰/۶ درصد از نانو کود کلات پتاسیم بیشترین میزان بود (۹). در تحقیقی سطوح مختلف نانو کود کلات آهن بر شاخص‌های رویشی ارقام مختلف گندم بررسی شد. نتایج نشان داد که محلول پاشی برگی ۲/۵ کیلوگرم/۱۰۰۰ لیتر آب باعث افزایش معنی دار وزن هزار دانه و میزان محصول رقم زاگرس در مقایسه با سایر ارقام مورد بررسی شد (۲۱).

در مطالعه حاضر مشخص شد که استفاده از نانو کودهای کلات نیتروژن و فسفر در سطوح مناسب به طور معنی‌داری باعث بهبود شاخص‌های رشدی بادمجان رقم دلمه‌ای آلوده به نماتد ریشه‌گرهی گونه *M. javanica* در شرایط گلخانه می‌گردند. در صورت استفاده از ۱۰۰ میلی گرم نیتروژن در قالب نانو کود کلات نیتروژن در کیلوگرم خاک و ۱۰۰ میلی گرم فسفر در قالب نانو کود کلات فسفر در کیلوگرم خاک، شاخص‌های رویشی گیاه به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. تیمارهای دارای کود نیتروژن و فسفر در گیاهان آلوده با مهار جمعیت نماتد ریشه‌گرهی در خاک، شاخص‌های آلودگی ریشه شامل تعداد گال و کیسه تخم در ریشه را کاهش دادند که منجر به بهبود شاخص‌های رشدی گیاه شدند. در پژوهشی تأثیر عناصر پرمصرف نیتروژن و فسفر بر روی گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در شرایط مزرعه نشان داد که این عناصر باعث کاهش بیش از ۹۰٪ تخم نماتد گردیدند (۳۱). نتایج مطالعات در کره شمالی نشان داده است که کودهای دامی و کمپوست و نیز تلفیق با کود شیمیایی اوره باعث کاهش جمعیت نماتدهای ریشه‌گرهی در مزرعه فلفل قرمز شدند (۱۰).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان اظهار نمود که تلفیق نانو کود کلات نیتروژن و نانو کود کلات فسفر به ترتیب در غلظت ۱۰۰ میلی گرم نیتروژن و ۱۰۰ میلی گرم فسفر تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر افزایش شاخص‌های رشدی گیاه بادمجان و کاهش شاخص‌های جمعیتی نماتد *M. javanica* در شرایط گلخانه داشته است.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر نتیجه پایان‌نامه نگارنده اول به راهنمایی نگارندگان دوم و سوم و مشاوره نفر چهارم بوده و نگارندگان از حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه یاسوج در انجام این تحقیق سپاسگزاری می‌نمایند.

- 1- Ahmadi Mansourabad M., Kargar Bideh A., and Abdollahi M. 2016. Effects of some micronutrients and macronutrients on the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* cv. Negin). Journal of Crop Protection 5(4): 507-517.
- 2- Arnon D.J. 1953. The physiology and biochemistry of phosphorus in green plants. Agronomy 4: 1-42.
- 3- Bakhsh A., Khan R., Gumani A.R., Khan M., Nawaz M.S., Haq F., and Farid A. 2008. Residual/direct effect of phosphorus application on wheat and rice yield under rice-wheat system. Gomul University of Research 24: 29-35.
- 4- Byrd D.W., Kirkpatrick T., and Barker K.R. 1983. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. Journal of Nematology 15(1): 142-143.
- 5- Charehgani H., Karegar Bideh A., and Hamzehzarghani H. 2010. Effect of chemical fertilizers on root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in greenhouse cucumber cultivation. Iranian Journal of Plant Pathology 46: 263-274. (In Persian with English abstract)
- 6- Cui H.C., Sun Q., Liu J., and Jiang G.U. 2006. Applications of Nanotechnology in Agrochemical Formulation, Perspectives, Challenges and Strategies. Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing.
- 7- Entesari M., Haydari N., Khayrabi J., Alaei M., Farshi A.A. and Vaziri Zh. 2007. Water Use Efficiency in Greenhouse Cultivation. Iranian National Committee on Irrigation and Drainage Publications, Tehran. (In Persian)
- 8- Esmail A., Sediq Yasin O.H., and Jalal Mahmoud B. 2014. Effect of levels phosphorus and iron on growth, yield and quality of flax. Journal of Agriculture and Veterinary Science 7: 7-11.
- 9- Ghahremani A., Akbari K., Yousefpour M., and Ardalan H. 2014. Effects of nano-potassium and nano-calcium chelated fertilizers on qualitative and quantitative characteristics of *Ocimum basilicum*. International Journal for Pharmaceutical Research Scholars 3(2): 235-241.
- 10- Giannakou I.O., Karpouzas D.G., and Prophetou-Athanasiadou D. 2009. A novel non-chemical nematicide for the control of root-knot nematodes. Applied Soil Ecology 26: 69-79.
- 11- Hartman K.M., and Sasser J.N. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology. p. 69-76. In K.R. Barker, C.C. Carter, and J.N. Sasser (Eds.). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*, vol. 2. Methodology. North Carolina State University Graphics, Raleigh.
- 12- Hussey R.S., and Barker K.R. 1973. Comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter 57: 1025-1028.
- 13- Hussey R.S., and Janssen G.S. 2002. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. p. 43-70. In J.L. Starr, R. Cook, and J. Brige (Eds.). Plant Resistance to Parasitic Nematodes. CAB international, Wallingford, UK.
- 14- Kaplan M., and Noe J.P. 1993. Effects of chicken-excrement amendments on *Meloidogyne arenaria*. Journal of Nematology 25: 71-77.
- 15- Lai R. 2007. Soil Science in the Era of Hydrogen Economy and 10 Billion People. The Ohio State University, USA.
- 16- Malnoua C.S., Jaggard K.W., and Sparkes D.L. 2008. Nitrogen fertilizer and the efficiency of the sugar beet crop in late summer. European Journal of Agronomy 28: 47-56.
- 17- Munnoli M.P., Teixeira da Selva J.A., and Saroj B. 2010. Dynamics of soil-earthworm-plant relationship: A review. Dynamic Soil, Dynamic Plant, 4 (Special Issue): 1-21.
- 18- Naderi M.R., and Danesh Shahraki A.R. 2011. Application of nanotechnology to optimize the formulation of chemical fertilizers. Nano Technology 65(4): 20-22. (In Persian with English abstract)
- 19- Nicol J.M., Turner S.J., Coyne D.L., den Nijs L., Hockland S., and Tahna Maafi Z. 2011. Current nematode threats to world agriculture. p. 21-43. In Jones, J., Gheysen, G., and Fenoll, C (Eds.). Genomics and Molecular Genetics of Plant Nematode Interactions. Springer, Netherlands.
- 20- Oka Y., and Pivonia S. 2002. Use of ammonia-releasing compounds for control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. Journal of Nematology 4: 65-71.
- 21- Rezaei M., Daneshvar M., and Shirani A.H. 2014. Effect of iron nano chelated fertilizers foliar application on three wheat cultivars in Khorramabad climatic conditions. Scientific Journal of Crop Science 3(2): 9-16.
- 22- Riegel C., Fernandez F.A., and Noe J.P. 1996. *Meloidogyne incognita* infested soil amended with chicken litter. Journal of Nematology 28: 369-378.
- 23- Salardini A.A. 2005. Soil fertility. University of Tehran Press, Tehran. (In Persian)
- 24- Sarathchandra S.U., Ghani A., Yeates G.W., Burch G., and Cox N.R. 2001. Effect of nitrogen and phosphate fertilizers on microbial and nematode diversity in pasture soils. Soil Biology and Biochemistry 33: 953-964.
- 25- Santana-Gomez S.M., Dias-Arieira C.R., Roldi M., Dadazio T.S., Marini P.M., and Barizao D.A.O. 2010. Mineral nutrition in the control of nematodes. African Journal of Agricultural Research 8: 2413-2420.
- 26- Sasser J.N., and Carter C.C. 1985. An overview of the International *Meloidogyne* Project 1975-1984. p. 19-24. In J.N. Sasser and C.C. Carter (Eds.). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Vol. 1: Biology and Control. Raleigh. North Carolina State University Graphics, Raleigh.
- 27- Siddiqui M.R. 2000. Tylenchida, Parasites of Plants and Insects. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK.
- 28- Silva R.V., Oliveira R.D.L., Nascimento K.J.T. and Rodrigues F.A. 2010. Biochemical responses of coffee

- resistance against *Meloidogyne exigua* mediated by silicon. Plant Pathology 59: 586-593.
- 29- Zareabyaneh H., and Bayatvarkeshi M. 2015. Effects of slow-release fertilizers on nitrate leaching, its distribution in soil profile, N-use efficiency, and yield in potato crop. Environmental Earth Sciences 74(4): 3385-3393.
- 30- Zarrinkafsh M. 1989. Fertility and Production. University of Tehran Press, Tehran. (In Persian)
- 31- Zheng Y., Duan Y., Chen S., Sun J., and Chen L. 2010. Responses of soybean cyst nematode *Heterodera glycines* to macroelement and microelement compounds. Bulgarian Journal of Agricultural Science 16: 172-18.



Effect of some Macronutrients on the Root-knot Nematode, *Meloidogyne javanica* Activities in Eggplant (*Solanum melongena* L.)

S. Mozaffarian¹- H. Charehgani^{2*}- M. Abdollahi³- Rasool Rezaei⁴

Received: 24-04-2019

Accepted: 13-01-2020

Introduction: Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are among the most dangerous herbal parasites which destroy 8.8 to 14.6 percent of agricultural products annually. In vegetables, 50 to 80 percent damage caused by nematodes is normal. It is unavoidable to use safe methods for controlling root-knot nematodes. Plant parasitic nematodes can be inhibited using chemical fertilizers, which reduce the losses induced by plant parasites and increase total products. The aim of this study was to evaluate the effect of different levels of two macronutrients including nitrogen and phosphorous on the infection of *M. javanica* on eggplant (cv. Black Beauty) under greenhouse conditions.

Materials and Methods: In the current study, the levels of zero (N0), 50 (N1), 100 (N2), 200 (N3) mg nitrogen and zero (P0), 50 (P1), 100 (P2), 200 (P3) mg phosphorus per kg of soil were selected from nano-chelated nitrogen fertilizer and nano-chelated phosphorus fertilizer, respectively. The seeds of eggplant were planted in plastic pots containing 2 kg of culture media including equal amount of sand, farm soil and animal manure under greenhouse condition. The pots were irrigated daily and maintained at 27±4 °C with 16:8 h light: dark photoperiod. Four leaf stage seedlings were inoculated with five eggs and second stage juveniles of *M. javanica* per gram of soil, and 10 days after inoculation, different levels of fertilizers were added (100 ml per pot) to the pots through irrigation. Sixty days after inoculation, plant growth indices including shoot height, shoot fresh and dry weights and root fresh weight of the cultivated plants were recorded. Nematode population indices including number of galls and egg masses per root system, number of eggs in egg masses were also measured and finally the reproduction factor was calculated. The roots were gently washed with tap water and number of eggs in one gram of root were counted according to the procedure developed by Hussey and Barker (1973). One gram of root was stained with acid fuchsin according to the procedure developed by Byrd *et al.* (1983). The total number of eggs, galls and egg masses per plant root system was determined by multiplying with the root weight per plant. The final nematode population per pot was computed and finally, the reproductive factor (RF) of nematode was calculated by dividing the final nematode population by the initial nematode population (10000 eggs and second stage juveniles of *M. javanica*). Data on plant growth and nematode indices of the experiments were subjected to a factorial analysis of variance (Two-way ANOVA). Means were compared with least significant differences (LSDs) to identify significant difference at probability levels of $P \leq 0.05$ using SAS 9.1 software (Statistical Analysis System Institute Inc., USA) in a CRD (completely randomized design) with four replicates.

Results and Discussion: In nematode inoculated plants, the difference between shoot height and shoot fresh and dry weight of treated plants by phosphorus at the rate of 100 mg/kg soil and non-treated by nitrogen (N0P3) with control plants (N0P0) was significant. Similar results were observed in nematode inoculated plants treated by nitrogen and phosphorus at the rate of 50 and 100 mg/kg soil, respectively (N1P3), with nematode inoculated plants treated by nitrogen at the rate of 50 mg/kg soil and non-treated by phosphorus (N1P0), nematode inoculated plants treated by nitrogen and phosphorus at the rate of 100 and 100 mg/kg soil, respectively (N2P3), with nematode inoculated plants treated by nitrogen at the rate of 100 mg/kg soil and non-treated by phosphorus (N2P0) and also nematode inoculated plants treated by nitrogen and phosphorus at the rate of 200 and 100 mg/kg soil, respectively (N3P3), with nematode inoculated plants treated by nitrogen at the rate of 200 mg/kg soil and non-treated by phosphorus (N3P0) ($P \leq 0.05$). The results showed that using 100 mg nitrogen and 100 mg phosphorus per kg of soil from nano-chelated nitrogen fertilizer and nano-chelated phosphorus fertilizer, as the best treatment used in this experiment, decreased number of eggs, galls and egg masses per root system and reproduction factor of nematode by 53, 52, 62 and 55%, respectively. Therefore, nano-chelated nitrogen and phosphorus fertilizers, as two chelated fertilizers produced using nanotechnology, can decrease the population of *M. javanica* in eggplant cultivated in the greenhouse. Soil drenching of these water-soluble nano-fertilizers 10

1, 2, 3 and 4- M.Sc. Graduate, Assistant Professor, Professor and Assistant Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: h.charehgani@yu.ac.ir)

days after infection of the eggplants by *M. javanica* can also reduce the population of nematode.

Keywords: Management, Nano-chelated nitrogen fertilizer, Nano-chelated phosphorus fertilizer, Root-knot nematode

ارزیابی مقاومت برخی ارقام تجاری و لاین‌های پیشرفته گندم به شته‌ی روسی گندم، *Diuraphis noxia* (Mordvilko)

قدیر نوری قنبلانی^{۱*} - جواد ابراهیمی حاجیکلانی^۲ - مژگان مردانی طلایی^۳ - جبرائیل رزمجو^۴ - سید علی اصغر فتحی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۱۴

چکیده

شته روسی گندم، *Diuraphis noxia* (Mordvilko)، یکی از آفات مهم غلات دانه‌ریز، به‌ویژه گندم و جو می‌باشد. در این تحقیق، مقاومت نسبی ۳۰ ژنوتیپ گندم و یک رقم تریتیکاله در اتاقک رشدی با دمای 23 ± 3 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 50 ± 10 درصد و دوره نوری ۱۴:۱۰ (تاریکی: روشنایی) در قالب یک طرح کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. شمارش تعداد شته‌های بالغ جلب شده روی ژنوتیپ‌ها پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از شروع رهاسازی نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه فاقد مقاومت آنتی‌زنوزی بودند و تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد شته‌های جلب شده بر روی ژنوتیپ‌های مختلف وجود نداشت. در ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوزی، بیش‌ترین و کم‌ترین نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m) به ترتیب روی ارقام الوند (۰/۲۷۳ بر روز) و بزوستایا (۰/۲۱۴ بر روز) به‌دست آمد. در ارزیابی تحمل اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش از نظر درصد کاهش نسبی ارتفاع و وزن خشک مشاهده شد. در تریتیکاله (رقم جونیلو) و گندم رقم کاسکوژن تحمل نسبی به شته *D. noxia* داشتند. بر اساس نتایج این پژوهش، کاشت ارقام کاسکوژن و جونیلو به دلیل داشتن مقاومت آنتی‌بیوزی متوسط و بیش‌ترین میزان تحمل نسبت به شته روسی گندم می‌توانند در مدیریت تلفیقی این آفت مفید واقع شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌بیوز، آنتی‌زنوز، تحمل، شته روسی گندم، گندم

مقدمه

گندم، *Triticum spp.* گیاهی تک‌لپه‌ای، علفی و یک‌ساله، یکی از چهار گیاه زراعی مهم جهان محسوب می‌شود که حدود ۲۰ درصد کالری غذایی انسان را تأمین می‌کند (۳۱). عوامل متعددی از جمله بیمارگرها و آفات سبب کاهش عملکرد گندم می‌شوند که در این میان، شته روسی گندم، *Diuraphis noxia* (Mordvilko) از جمله آفات مهم گندم در شمال آفریقا، غرب و مرکز آسیا می‌باشد (۹). ایران یکی از خاستگاه‌های شته روسی گندم بوده و حضور این شته در بسیاری از مناطق غله‌خیز کشور گزارش شده است (۱۱ و ۳). تغذیه این شته از برگ‌های گیاه سبب اختلال در رشد و نمو گیاه می‌شود که میزان این اختلال در ارقام با ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم متفاوت است. زردی و پیچیدگی برگ‌ها، کوتولگی، کاهش فتوسنتز، کاهش وزن خشک و کاهش عملکرد از جمله اختلالات ناشی از تغذیه *D. noxia* روی گیاه میزبان است (۲۱ و ۲۸). برگ‌های پیچیده محیط مناسبی برای تولیدمثل شته‌ها ایجاد کرده و سبب در امان ماندن کلنی

آفت در برابر شرایط نامساعد آب و هوایی، عوامل کنترل بیولوژیک و حشره‌کش‌های شیمیایی تماسی می‌شوند و در نتیجه، کارایی این روش‌ها کاهش می‌یابد (۱۱). استفاده از ارقام مقاوم به آفات یکی از ارکان اساسی مدیریت مزرعه جهت بهبود و افزایش عملکرد گندم می‌باشد (۷). بر اساس تعریف پیتر (۲۴ و ۲۵) مقاومت گیاهان به حشرات به سه شکل عدم رجحان (آنتی‌زنوز) (۱۸)، آنتی‌بیوز و تحمل ایجاد می‌شود. آنتی‌بیوز و آنتی‌زنوز به ترتیب سبب بروز تاثیر منفی بر زیست‌شناسی و رفتار حشره می‌شوند و مکانیسم تحمل، خسارت ناشی از تغذیه آفت از گیاه را جبران می‌کند. کارایی شکل‌های مختلف مقاومت در مدیریت تلفیقی آفات بسته به ویژگی‌های رفتاری و زیستی حشره متفاوت است و در نظر گرفتن این امر پایداری و موفقیت استفاده از یک رقم مقاوم را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۳۴). با توجه به اهمیت ارقام مقاوم در کاهش خسارت آفات، تحقیقات زیادی در کشورهای تولیدکننده گندم که شته روسی گندم به عنوان یک آفت مهم در آن‌جا مطرح است انجام و منجر به کاهش هزینه‌ها شده است. به‌طور مثال، دستیابی به ارقام مقاوم و استفاده از آن‌ها در مزارع گندم در ایالات متحده‌ی آمریکا حدود ۴۲ میلیون دلار ارزش اقتصادی سالانه داشته و از این مقدار، ۱۳ میلیون دلار مربوط به استفاده از ارقام مقاوم به شته روسی گندم می‌باشد (۳۴). در این راستا مطالعات متعددی توسط محققان مختلفی از جمله رید و همکاران

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵- به ترتیب استاد، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشجوی سابق دکتری حشره‌شناسی کشاورزی و استادان گروه حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی

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

چهار ماه از شروع پرورش، افزایش جمعیت و خالص سازی کلنی شته، از آن‌ها در آزمایش‌های مربوطه استفاده شد. از مشخصه‌های ماده‌های بی‌بال سبز-زرد یا سبز-خاکستری رنگ با داشتن شاخک کوتاه (۶ بندی و کوتاه‌تر از نصف بدن)، کورنی‌کول کوتاه و مهم‌تر از همه وجود زائده بالای دمی در سطح پشتی و بند هشتم شکمی این شته است که کار تشخیص را تسهیل می‌نماید (۳۶).

ارزیابی آنتی‌زنوز

ارزیابی آنتی‌زنوز به صورت آزمون انتخاب آزاد و بر اساس روش اناهی و همکاران (۱۱) با تغییرات جزئی انجام شد. از هر ژنوتیپ مورد مطالعه ۲ عدد بذر پیش‌جوانه‌دار شده به طور تصادفی در سینی‌هایی با قطر دهانه‌ی ۴۵ و ارتفاع ۶ سانتی‌متر در مخلوطی از خاک، ماسه و کود حیوانی با نسبت‌های ۱:۱:۲ کاشته شدند. پس از سبز شدن گیاهچه‌ها و در مرحله رشدی ۱۱ (یک برگ) تعداد بوته‌ها به یک عدد به ازای هر ژنوتیپ کاهش داده شد (۴۱). در مرحله رشدی ۱۲ (دو برگ) جهت یکسان کردن ارتفاع و حذف تاثیر ارتفاع در جلب شته‌ها، سر بوته‌ها از یک ارتفاع معین قطع شد. سپس، تعداد ۱۸۰ شته بالغ بی‌بال به طور همزمان در مرکز هر سینی و روی یک کاغذ دایره‌ای شکل (به قطر ۲۰ سانتی‌متر) رهاسازی شدند. هر سینی با یک قفس پلاستیکی شفاف به ارتفاع ۲۰ و قطر ۳۷ سانتی‌متر محبوس شد. پس از سپری شدن ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، تعداد شته‌های جلب شده روی هر ژنوتیپ شمارش و داده‌های آن ثبت گردید. این آزمایش در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد.

ارزیابی آنتی‌بیوز

برای ارزیابی آنتی‌بیوز دو آزمایش طراحی شد. در آزمایش اول از روش هسلر و ثارپ (۱۵) و اناهی و همکاران (۱۱) با تغییرات جزئی استفاده شد. در این آزمایش، ۴ عدد بذر پیش‌جوانه‌دار شده از هر ژنوتیپ، به طور جداگانه در ۵ تکرار در داخل گلدان‌های پلاستیکی به قطر دهانه ۷ و ارتفاع ۸ سانتی‌متر کاشته و به اتاقک رشدی با شرایط ذکر شده در بالا منتقل شدند. هشت روز پس از کاشت، هنگامی که گیاهچه‌ها در مرحله رشدی ۱۲ قرار داشتند، تعداد آن‌ها در هر گلدان به یک عدد کاهش داده شد و سپس هر گیاهچه با سه عدد شته ماده بالغ بی‌بال که به طور تصادفی از کلنی انتخاب شدند آلوده شده و با قفس‌های پلاستیکی شفاف (به ارتفاع ۳۰ و قطر ۶ سانتی‌متر) محصور شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت شته‌های ماده حذف شده و پوره‌های موجود روی بوته‌ها شمارش شدند (شمارش اول). سپس همه پوره‌ها جز سه پوره به ازای هر گیاه حذف شدند و گیاهان به همراه پوره‌ها در اتاقک رشد نگهداری شدند. به منظور کاهش خطای احتمالی، یک روز پس از شروع آزمایش تمامی گیاهچه‌ها بازمینی شده و در صورت مشاهده شته‌های اضافه به حذف آن‌ها مبادرت گردید. چهارده روز

(۳۲)؛ برور و همکاران (۴)؛ کاسترو و همکاران (۶)؛ پورتر و همکاران (۲۶)؛ اناهی و همکاران (۱۱)؛ ساتلو و همکاران (۳۵)؛ ال بوهسینی و همکاران (۹) و (۱۰)؛ در مورد مقاومت غلات به شته روسی گندم انجام شده است.

بنابراین، با توجه به اهمیت غذایی گندم در کشور و نیاز به واردات ۲ میلیون تن گندم در سال (۱) و نیز بروز خسارت توسط شته روسی گندم در برخی از مناطق کشور از جمله مناطق سردسیر استان اردبیل، این پژوهش با هدف ارزیابی مقاومت نسبی ۳۰ ژنوتیپ گندم نان و یک رقم تریتی‌کاله به شته روسی گندم از طریق بررسی مکانیسم‌های مقاومت و نهایتاً شناسایی ژنوتیپ(های) مقاوم احتمالی در شرایط آزمایشگاهی انجام شده است. استفاده از ارقام مقاوم معرفی شده می‌تواند به حفظ سلامتی مصرف‌کنندگان، صرفه‌جویی در هزینه‌های تولید، کاهش آلودگی‌های محیط زیست و حفظ دشمنان طبیعی شته روسی گندم و دیگر آفات کلیدی گندم کمک نماید (۱۳، ۳۴، ۳۰، ۱۱، ۲۱ و ۲۸).

مواد و روش‌ها

زمان و مکان تحقیق

ژنوتیپ‌های مورد بررسی

بذور ژنوتیپ‌های مورد نیاز این تحقیق شامل ۲۷ رقم و ۳ لاین گندم نان به نام‌های آذر ۲، آزادی، اروم، الموت، الوند، امید، اوحدی، بزوستایا، بک‌کراس روشن زمستانه، پیشگام، تک‌آب، توس، رصد، ریثو، زارع، زرین، سای‌سونز، سیلان، سرداری، شهریار، کراس سیلان، گاسپارد، کاسکوژن، میهن، نوید، هما، MV17، C-89-9، C-89-12، C-89-15 و یک رقم تریتی‌کاله به نام جوانیلو از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کشور (شهرستان کرج، استان البرز)، مرکز تحقیقات کشاورزی دیم کشور (شهرستان مراغه، استان آذربایجان شرقی)، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی (شهرستان تبریز)، ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان اردبیل (استان اردبیل)، جهاد کشاورزی شهرستان مریوان (استان کردستان)، جهاد کشاورزی شهرستان ایلام (استان ایلام) و گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده‌ی علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی تهیه شدند.

تشکیل کلنی شته روسی گندم، *D. noxia*

جهت تشکیل کلنی شته روسی گندم، شته‌ها از مزارع گندم آلوده در اطراف شهرستان نمین (استان اردبیل) جمع‌آوری شدند. شته‌های جمع‌آوری شده از مزرعه روی بوته‌های گندم رقم سیلان در اتاقک رشد با دمای 23 ± 3 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 50 ± 10 درصد و دوره نوری ۱۴:۱۰ (تاریکی: روشنایی) پرورش داده شد. پس از گذشت

تکرار با آلودگی مصنوعی در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی انجام شد. پس از اندازه‌گیری ارتفاع اولیه گیاهان، گیاهچه‌های مورد نظر با ۱۴ شته بالغ بی‌بال که به‌طور تصادفی از کلنی انتخاب شدند آلوده شده و با قفس‌های پلاستیکی شفاف محصور شدند. بر اساس تعریف تحمل و نیز جهت حذف اثرات آنتی‌بیوزی و جداسازی آن از تحمل (۳۳ و ۳۴)، در تکرارهای دارای آلودگی هر ژنوتیپ، بوته‌ها به‌طور منظم هر ۲۴ ساعت یک‌بار مورد بازدید قرار گرفته و با حذف پوره‌های تولید شده، تعداد شته‌های موجود روی گیاهچه‌ها در ۱۴ عدد شته بالغ تنظیم شد. چهارده روز پس از شروع آلودگی و مشاهده‌ی علایم زردی متوسط و ضعف در گیاهچه‌ی ژنوتیپ‌های حساس (۱۱) آزمون متوقف شد. پس از اندازه‌گیری ارتفاع نهایی، گیاهچه‌های آلوده و شاهد از سطح خاک کف‌بر شده و پس از شماره‌گذاری، جهت خشک‌شدن به مدت ۷۲ ساعت در آون تنظیم شده در دمای ۶۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. وزن خشک گیاهچه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شد. میزان تحمل در هر ژنوتیپ با محاسبه درصد کاهش نسبی وزن خشک گیاه (DWT) (۳۳) و درصد کاهش نسبی ارتفاع بوته (HT) بر اساس فرمول‌های (۲) و (۳) ارزیابی شد:

$$DWT = [(Wc - Wt) / (Wc)] \times 100 \quad \text{فرمول (۲)}$$

$$HT = [(Hc - Ht) / (Hc)] \times 100 \quad \text{فرمول (۳)}$$

در فرمول ۲ Wc و Wt به‌ترتیب وزن خشک گیاه شاهد و آلوده هستند و در فرمول ۳ Hc و Ht به‌ترتیب برابر با میزان تغییر ارتفاع گیاه شاهد و آلوده می‌باشند.

تجزیه‌های آماری

آزمون نرمال‌کردن داده‌ها به روش کولموگروف-اسمیرنوف و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ انجام شد. داده‌های غیر نرمال در آزمون‌های آنتی‌زنوز و آنتی‌بیوز به روش تبدیل جذری نرمال شدند. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه‌های آماری به روش تجزیه واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون‌های HSD و SNK (در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد) با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ انجام شد.

نتایج و بحث

آنتی‌زنوز

براساس نتایج تجزیه واریانس بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر میانگین تعداد شته‌های جلب شده در مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از رهاسازی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱).

پس از شروع آلودگی تعداد شته‌های تولید شده روی هر گیاهچه شمارش و داده‌ها ثبت شد (شمارش دوم). در این آزمون از رقم سرداری به‌عنوان رقم شاهد حساس (۱۶) و رقم آزادی به‌عنوان رقم شاهد مقاوم (۲۳) استفاده شد. میزان تغییر و افزایش جمعیت طی ۱۴ روز به عنوان شاخص مقاومت آنتی‌بیوزی در نظر گرفته شد؛ به طوری که ژنوتیپ‌های دارای بیش‌ترین تعداد شته حساس و ژنوتیپ‌های دارای کم‌ترین تعداد شته مقاوم در نظر گرفته شدند (۱۱). این آزمایش در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با ۵ تکرار انجام شد.

در آزمایش دوم چند پارامتر زیستی و دموگرافیک شامل طول دوره نشوونمای مراحل نابالغی، طول دوره باروری، میزان باروری روزانه، میزان باروری کل و نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m) شته روسی گندم روی پنج ژنوتیپ منتخب که بر اساس نتایج آزمایش اول (شمارش دوم) انتخاب شده بودند اندازه‌گیری شدند. ژنوتیپ‌های جوانیلو (تریتیکاله)، بزوستایا و C-89-15 به‌عنوان ژنوتیپ‌های دارای کم‌ترین تعداد شته و ژنوتیپ‌های الوند و اروم به‌عنوان ژنوتیپ‌های دارای بیش‌ترین تعداد شته برای ارزیابی این پارامترها انتخاب شدند. بدین منظور، ۴ عدد بذر پیش‌جوانه‌دار شده از هر یک از پنج ژنوتیپ منتخب به اتاقک رشد منتقل شدند. هشت روز پس از کاشت، هنگامی که گیاهچه‌ها در مرحله رشدی ۱۲ قرار داشتند تعداد آن‌ها در هر گلدان به یک عدد کاهش داده شد و سپس در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. هر گیاهچه با سه عدد شته بالغ بی‌بال آلوده شده و پس از گذشت ۲۴ ساعت، شته‌ی ماده و تمامی پوره‌ها به جز یک پوره به ازای هر ماده از روی گیاهان حذف شد و زنده‌مانی پوره به طور روزانه ثبت شد. پس از ظهور شته‌ی بالغ، تولیدمثل و مرگ و میر هر شته‌ی کامل بکرزا به طور روزانه ثبت شد و این کار تا زمان مرگ آخرین شته‌ی بالغ ادامه یافت. با استفاده از داده‌های به‌دست آمده، نرخ ذاتی افزایش جمعیت طبق فرمول زیر محاسبه شد (۲). همچنین تکراردار کردن داده‌های نرخ ذاتی افزایش جمعیت با استفاده از روش جک‌نایف در ۱۴ تکرار انجام شد (۲۲).

$$\sum_{\alpha} e^{-r_m} l_{\alpha} m_{\alpha} = 1 \quad \text{فرمول (۱)}$$

ارزیابی تحمل

جهت ارزیابی تحمل، از هر ژنوتیپ منتخب، ۴ عدد بذر پیش‌جوانه‌دار شده در داخل گلدان‌های پلاستیکی کشت و به اتاقک رشد منتقل شدند. هشت روز پس از کاشت، هنگامی که گیاهچه‌ها در مرحله رشدی ۱۲ قرار داشتند تعداد آن‌ها در هر گلدان به یک عدد کاهش داده شد و سپس در آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. برای تمامی تکرارهای هر ژنوتیپ سعی شد تا گیاهچه‌های دارای شرایط رشدی تقریباً یکسان انتخاب شوند.

این آزمون در ۶ تکرار شامل ۳ تکرار بدون آلودگی (شاهد) و ۳

جدول ۱- میانگین ($\pm$ خطای معیار) تعداد شته‌های بالغ جلب شده به هر ژنوتیپ در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از رهاسازی
 Table 1- Mean ($\pm$ SE) number of adult aphids attracted to each genotype at 24, 48 and 72 hours after release

ژنوتیپ Genotype	میانگین شته‌های بالغ جلب شده Mean number of aphids attracting		
	24 h	48 h	72 h
Tak Ab	5 $\pm$ 1.5 a*	5 $\pm$ 1.5 a	5.0 $\pm$ 1.5 a
Ryzhav	4.3 $\pm$ 2.1 a	4.3 $\pm$ 2.1 a	4.3 $\pm$ 2.3 a
Oohadi	4.3 $\pm$ 2.0 a	4.0 $\pm$ 1.6 a	3.3 $\pm$ 1.4 a
Gaspard	9.5 $\pm$ 0.6 a	9.5 $\pm$ 0.6 a	9.8 $\pm$ 0.6 a
Say Sunz	10 $\pm$ 2.3 a	8.5 $\pm$ 2.6 a	8.3 $\pm$ 2.8 a
Alvand	4.8 $\pm$ 0.5 a	4.8 $\pm$ 0.5 a	4.8 $\pm$ 0.6 a
Phishgam	6.0 $\pm$ 1.9 a	6.0 $\pm$ 1.9 a	5.3 $\pm$ 1.8 a
Azadi	7.8 $\pm$ 1.7 a	8.3 $\pm$ 1.8 a	7.0 $\pm$ 1.6 a
Kras Sabalan	3.0 $\pm$ 1.5 a	3.0 $\pm$ 1.5 a	3.0 $\pm$ 1.5 a
Omid	5.5 $\pm$ 2.1 a	5.5 $\pm$ 2.1 a	5.5 $\pm$ 2.1 a
Navid	6.3 $\pm$ 1.5 a	6.3 $\pm$ 1.2 a	5.8 $\pm$ 1.4 a
Sabalan	5.3 $\pm$ 1.8 a	5.3 $\pm$ 1.8 a	5.0 $\pm$ 1.8 a
Mihan	3.8 $\pm$ 1.4 a	4.0 $\pm$ 1.3 a	3.5 $\pm$ 1.2 a
Orum	1.5 $\pm$ 0.3 a	1.8 $\pm$ 0.5 a	2.0 $\pm$ 0.7 a
Zare	4.8 $\pm$ 1.5 a	4.3 $\pm$ 1.7 a	4.3 $\pm$ 1.7 a
Sardari	3.0 $\pm$ 2.0 a	3.0 $\pm$ 2.0 a	3.0 $\pm$ 2.0 a
Homa	5.3 $\pm$ 0.9 a	5.3 $\pm$ 0.9 a	5.3 $\pm$ 0.9 a
Rasad	2.8 $\pm$ 1.5 a	2.8 $\pm$ 1.5 a	2.8 $\pm$ 1.5 a
Cascogen	7.5 $\pm$ 2.3 a	6.5 $\pm$ 1.8 a	6.0 $\pm$ 1.5 a
Tos	3.0 $\pm$ 1.7 a	3.3 $\pm$ 1.6 a	3.3 $\pm$ 1.6 a
Shahriar	4.5 $\pm$ 1.9 a	5.0 $\pm$ 2.0 a	5.8 $\pm$ 2.3 a
Bezostiya	3.8 $\pm$ 2.4 a	3.8 $\pm$ 2.4 a	3.5 $\pm$ 2.2 a
Azar 2	3.5 $\pm$ 2.0 a	3.3 $\pm$ 1.9 a	3.3 $\pm$ 1.9 a
Bak Kras Roshan	2.3 $\pm$ 0.9 a	2.3 $\pm$ 0.9 a	2.3 $\pm$ 0.9 a
MV17	4.3 $\pm$ 1.1 a	4.3 $\pm$ 0.9 a	4.0 $\pm$ 1.0 a
C-89-7	7.5 $\pm$ 2.5 a	7.0 $\pm$ 2.5 a	7.0 $\pm$ 2.5 a
C-89-12	7.0 $\pm$ 2.9 a	7.5 $\pm$ 3.2 a	7.3 $\pm$ 3.4 a
C-89-15	5.0 $\pm$ 0.7 a	5.0 $\pm$ 0.7 a	5.0 $\pm$ 0.7 a
Zarin	7.0 $\pm$ 2.7 a	6.8 $\pm$ 2.5 a	6.5 $\pm$ 2.3 a
Almot	4.3 $\pm$ 1.2 a	4.3 $\pm$ 1.2 a	4.3 $\pm$ 1.2 a
Triticale	5.5 $\pm$ 1.7 a	3.8 $\pm$ 1.6 a	1.5 $\pm$ 0.2 a

* میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارد (HSD).

* Means in each column with similar characters have not significant differences at level of 5% probability (HSD).

مقابل، کم‌ترین تعداد شته در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از رهاسازی روی رقم اروم (به ترتیب ۱/۵ و ۱/۸ عدد) و در ۷۲ ساعت پس از رهاسازی روی تریتیکاله (رقم جوانیلو) (۱/۵ عدد) مشاهده شد (جدول ۱). میانگین تعداد شته‌های جلب شده به هر ژنوتیپ در هر سه بازه زمانی با تغییرات اندکی همراه بود. ولی بیش‌ترین تغییر در تریتیکاله (رقم جوانیلو) مشاهده شد. به طوری که میانگین شته‌های جلب شده از ۵/۵ عدد شته در ۲۴ ساعت پس از رهاسازی به ۱/۵ عدد شته در ۷۲ ساعت پس از رهاسازی کاهش یافت. بر اساس مشاهدات صورت

(۲۴ ساعت پس از رهاسازی: $P \leq 0.0001$; $df_{30, 93} = 1/21$; $df_{30, 93} = 1/21$)
 ساعت پس از رهاسازی: $P \leq 0.0001$; $df_{30, 93} = 1/0.7$; $df_{30, 93} = 1/0.7$)
 پس از رهاسازی: $P \leq 0.0001$; $df_{30, 93} = 1/0.5$; $df_{30, 93} = 1/0.5$). به عبارت دیگر، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از قدرت آنتی‌زنوزی تقریباً مشابهی نسبت به شته روسی گندم برخوردار بودند. با این وجود، بیش‌ترین تعداد شته جلب شده در ۲۴ ساعت پس از رهاسازی روی رقم سای‌سونز (۱۰ عدد) و بیش‌ترین تعداد شته‌ی جلب شده ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از رهاسازی روی رقم گاسپارد (به ترتیب ۹/۵ و ۹/۸ عدد) ثبت شد. در

آنتی‌بیوز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس شمارش اول در آزمایش اول آنتی‌بیوز نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر تعداد پوره‌های تولید شده توسط شته‌های بالغ بی‌بال در مدت ۲۴ ساعت پس از قرار گرفتن روی بوته‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P \leq 0.0001$; $df_{30, 124} = 8/35$). بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین تعداد پوره تولید شده طی این بازه زمانی به‌ترتیب روی رقم سرداری (۱۶/۲ عدد) و تریتی‌کاله (رقم جوانیلو، ۴/۸ عدد) شمارش شد (جدول ۲).

در شمارش دوم نیز بین ژنوتیپ‌ها از نظر میانگین تعداد شته‌های موجود روی هر ژنوتیپ (اعم از پوره و شته بالغ) پس از گذشت ۱۴ روز اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P \leq 0.0001$; $df_{30, 124} = 72/63$). این مطلب بیان‌گر آن است که طی این بازه زمانی ویژگی‌های ژنوتیپ‌ها بقاء، تولیدمثل و روند افزایش جمعیت شته‌ها را تحت تاثیر قرار داده و سبب بروز اختلاف در تعداد آن‌ها روی ژنوتیپ‌های آزمایشی شده است.

گرفته در حین اجرای آزمایش (مشاهده اجساد شته‌های تلف شده روی برگ گیاهچه‌های رقم جوانیلو)، تغییر و کاهش تعداد شته‌های مستقر شده روی این رقم طی این ۳ بازه زمانی از مرگ و میر شته‌های مستقر شده روی آن نشأت گرفته است که این امر به احتمال زیاد همان‌طوری که در آزمایش ارزیابی آنتی‌بیوز مشاهده شد به دلیل خاصیت آنتی‌بیوزی قوی این رقم می‌باشد.

وجود مقاومت آنتی‌زنوزی به شته روسی گندم در ژنوتیپ‌های گندم توسط برخی از محققان گزارش شده است (۳۷، ۶ و ۱۹). با وجود این، برخی از پژوهشگران همسو با نتایج پژوهش ما نشان داده اند که ژنوتیپ‌های مورد آزمون در این مرحله رشدی و بازه زمانی فاقد مقاومت آنتی‌زنوزی به شته روسی گندم هستند (۱۴، ۲۹، ۱۱ و ۱۷). عدم وجود اختلاف معنی‌دار در تعداد شته‌های جلب شده در شرایط انتخاب آزاد نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر مکانیسم‌های آنتی‌زنوزی و خصوصیات جلب‌کنندگی حشره برای تغذیه و پوره‌زایی تفاوت چندانی نداشته و فاقد برتری نسبت به دیگری هستند.

جدول ۲- میانگین ($\pm$ خطای معیار) تعداد پوره‌های تولید شده روی هر ژنوتیپ در ۲۴ ساعت و ۱۴ روز پس از رهاسازی ۳ شته بالغTable 2- Mean ($\pm$ SE) number of nymphs produced per genotype 24 hours and 14 days after release of 3 adult aphids

ژنوتیپ Genotype	میانگین تعداد پوره‌ها Mean number of nymphs		ژنوتیپ Genotype	میانگین تعداد پوره‌ها Mean number of nymphs	
	۲۴ ساعت 24 h	۱۴ روز 14 d		۲۴ ساعت 24 h	۱۴ روز 14 d
Tak Ab	8.0 $\pm$ 1.0 bcdef**	57.0 $\pm$ 1.7 cdef	Homa	12.2 $\pm$ 1.4 abc	46.2 $\pm$ 1.3 ghi
Ryzhav	9.0 $\pm$ 1.0 bcde	55.2 $\pm$ 1.5 defg	Rasad	6.4 $\pm$ 0.6 ef	46.0 $\pm$ 0.7 ghi
Oohadi	11.6 $\pm$ 1.4 abcde	56.8 $\pm$ 1.6 cdef	Cascogen	7.0 $\pm$ 0.3 def	46.6 $\pm$ 0.5 ghi
Gaspard	8.4 $\pm$ 1.0 bcdef	57.6 $\pm$ 2.6 cdef	Tos	7.6 $\pm$ 0.5 cdef	46.0 $\pm$ 0.9 ghi
Say Sunz	11.0 $\pm$ 0.4 abcde	49.4 $\pm$ 1.1 fgh	Shahriar	10.6 $\pm$ 0.7 abcde	57.8 $\pm$ 1.1 cdef
Alvand	10.0 $\pm$ 0.7 bcde	69.2 $\pm$ 2.4 ab	Bezostiya	11.0 $\pm$ 0.7 abcde	35.8 $\pm$ 2.3 j
Phishgam	9.8 $\pm$ 0.1 bcde	57.0 $\pm$ 0.9 cdef	Azar 2	11.8 $\pm$ 0.6 abcd	38.6 $\pm$ 0.9 ij
Azadi	9.0 $\pm$ 0.6 bcde	35.2 $\pm$ 0.9 j	Bak Kras Roshan	10.0 $\pm$ 0.4 bcde	43.4 $\pm$ 0.7 hij
Kras Sabalan	8.8 $\pm$ 0.9 bcde	48.0 $\pm$ 1.2 fghi	MV17	13.0 $\pm$ 0.5 ab	56.8 $\pm$ 0.7 cdef
Omid	11.6 $\pm$ 0.7 abcd	48.2 $\pm$ 0.8 fghi	C-89-7	11.6 $\pm$ 0.4 abcd	42.2 $\pm$ 1.7 hij
Navid	12.4 $\pm$ 1.5 abc	64.6 $\pm$ 1.2 bcd	C-89-12	11.4 $\pm$ 0.2 abcd	63.0 $\pm$ 1.9 bcde
Sabalan	10.6 $\pm$ 0.7 abcde	64.4 $\pm$ 2.7 bcd	C-89-15	11.4 $\pm$ 0.5 abcde	41.2 $\pm$ 1.2 hij
Mihan	8.0 $\pm$ 0.7 bcdef	63 $\pm$ 2.9 bcde	Zarin	6.8 $\pm$ 0.6 ef	45.8 $\pm$ 0.6 ghi
Orum	8.0 $\pm$ 1.0 bcdef	66.2 $\pm$ 1.5 bc	Almot	8.0 $\pm$ 0.5 bcdef	59.8 $\pm$ 1.6 bcde
Zare	9.0 $\pm$ 0.4 bcde	54.4 $\pm$ 1.9 efg	Triticale	4.8 $\pm$ 0.9 f	1.0 $\pm$ 0.4 k
Sardari	16.2 $\pm$ 0.7 a	77.4 $\pm$ 3.2 a			

** میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با هم دارند (آزمون HSD، سطح احتمال ۱٪).

** Means followed by different letters in each column are significantly different (HSD, $P < 0.01$).

میانگین تعداد شته در تریتی‌کاله (رقم جوانیلو) (۱ عدد) مشاهده شد که نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها حتی شاهد مقاوم یعنی رقم آزادی (۳۵/۲ عدد) (عدد) به‌طور معنی‌داری کم‌تر بود. ژنوتیپ‌های بزوستایا (۳۵/۸ عدد)،

بیش‌ترین تعداد شته به‌طور میانگین در رقم شاهد حساس یعنی رقم سرداری (۷۷/۴ عدد) به‌دست آمد که به‌طور معنی‌داری از سایر ژنوتیپ‌ها به جز رقم الوند (۶۹/۲ عدد) بیشتر بود. در مقابل، پایین‌ترین

بررسی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (طول دوره نابالغی: $P \leq 0.0001$; $df_{3, 61} = 10.9$; طول دوره باروری: $P \leq 0.0001$; $df_{3, 61} = 9.4$; نرخ ذاتی افزایش جمعیت: $P \leq 0.0001$; $df_{3, 61} = 28.07$; کل: $P \leq 0.0001$; $df_{3, 52} = 5.1$).

آذر ۲ (۳۸/۶ عدد)، C-89-15 (۴۱/۲ عدد)، C-89-7 (۴۲/۲ عدد) و یک کراس روشن زمستانه (۴۳/۴ عدد) با شاهد مقاوم (رقم آزادی) تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۲).

در آزمایش دوم نیز بین میانگین طول دوره نشوونمای مراحل نابالغ، طول دوره باروری، میزان باروری روزانه، میزان باروری کل و نرخ ذاتی افزایش جمعیت شته روسی گندم روی چهار ژنوتیپ مورد

جدول ۳- میانگین ($\pm$ خطای معیار) طول دوره نابالغی، طول دوره باروری، باروری روزانه، باروری کل و نرخ ذاتی افزایش جمعیت *D. noxia* روی چهار ژنوتیپ

Table 3- Mean ($\pm$ SE) of pre-adult period, fertility period, daily fertility, total fertility and intrinsic rate of increase (r_m) of *D. noxia* on four genotypes

ژنوتیپ Genotype	دوره نابالغی (روز) Pre-adult period (day)	دوره باروری (روز) Fertility period (day)	باروری روزانه (پوره/ماده/روز) Daily fertility (Nymph/female/day)	باروری کل (پوره/ماده/نسل) Total fertility (Nymph/female /generation)	نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m) (بر روز) Intrinsic rate of increase (r_m) (d^{-1})
Alvand	7.9 $\pm$ 0.1 b*	26.2 $\pm$ 0.8 a*	2.5 $\pm$ 0.1 a*	42.7 $\pm$ 2.2 a*	0.273 $\pm$ 0.007 a**
Orum	8.2 $\pm$ 0.1 b	23.5 $\pm$ 0.6 b	2.4 $\pm$ 0.1 a	40.4 $\pm$ 2.0 a	0.264 $\pm$ 0.006 a
Bezostiya	8.9 $\pm$ 0.2 a	19.5 $\pm$ 1.4 c	1.5 $\pm$ 0.1 b	20.4 $\pm$ 2.2 b	0.214 $\pm$ 0.02 b
C-89-15	8.9 $\pm$ 0.2 a	20.7 $\pm$ 1.0 bc	1.4 $\pm$ 0.1 b	24.2 $\pm$ 2.0 b	0.219 $\pm$ 0.006 b

* و ** میانگین‌ها دارای حروف غیر مشترک در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با هم دارند (آزمون SNK، و به ترتیب، سطح احتمال ۵ و ۱ درصد).

* and ** Means followed by different letters in each column are significantly different (SNK, $P < 0.05$ and $P < 0.01$).

خود را به‌طور جداگانه روی هر یک از ژنوتیپ‌های آزمایشی نگذرانده بودند تا خاصیت آنتی‌بیوزی گیاه میزبان زیست‌شناسی و میزان باروری آن‌ها را تحت تأثیر قرار دهد (۳۴)؛ ولی انطباق نتیجه به‌دست آمده مبنی بر بالا و پایین بودن مقاومت آنتی‌بیوزی گندم رقم سرداری و تربیتکاله رقم جوانیلو با نتایج حاصل از شمارش دوم این آزمایش به ترتیب بیان‌گر حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوزی نسبتاً زیاد این دو رقم است که حتی طی یک بازه زمانی ۲۴ ساعته نیز خود را نشان داد و میزان باروری (پوره‌زایی) شته روسی گندم تغذیه کرده از این دو رقم را تحت تأثیر قرار داد. از سوی دیگر، بین تعداد پوره‌های تولید شده روی رقم بزوستایا (۱۱ پوره) و رقم سرداری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. این درحالی‌است که بنابر نتایج به‌دست آمده از شمارش دوم رقم بزوستایا از نظر میانگین تعداد شته موجود روی گیاه از ارقام مقاوم و فاقد تفاوت معنی‌دار با رقم شاهد مقاوم بود.

با مقایسه نتایج حاصل از دو شمارش در آزمایش اول می‌توان نتیجه گرفت که نتایج شمارش دوم (شمارش تعداد کل شته‌ها روی هر ژنوتیپ پس از ۱۴ روز) برای ارزیابی مقاومت آنتی‌بیوزی ژنوتیپ‌ها قابل اعتمادتر می‌باشد. زیرا در این صورت، دوره‌های نابالغی، بلوغ و باروری شته به‌طور جداگانه روی هر یک از ژنوتیپ‌ها سپری می‌شود و بدین ترتیب، خاصیت آنتی‌بیوزی این ژنوتیپ‌ها می‌تواند برای مدت طولانی‌تری پارامترهای زیستی شته را تحت تأثیر قرار دهند. تأثیر میزبان‌های متفاوت با درجات مختلف مقاومت آنتی‌بیوزی بر

لازم به ذکر است که به دلیل مرگ پوره‌های مستقر شده روی تربیتکاله (رقم جوانیلو) پارامترهای مربوطه روی این رقم محاسبه نشد. در این رقم از ۱۷ عدد پوره در ابتدای آزمایش تنها یک عدد از آن‌ها به حشره کامل شد که آن هم پس از یک روز پوره‌زایی (۲ عدد پوره) تلف شد. در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، طولانی‌ترین دوره نشوونمای مراحل نابالغ شته روسی گندم روی ژنوتیپ‌های بزوستایا و C-89-15 (۸/۹ روز) بود که به‌طور معنی‌داری از مقدار به‌دست آمده روی رقم الوند (۷/۹ روز) بیش‌تر بود. همچنین، میانگین طول دوره باروری از ۱۹/۵ روز در رقم بزوستایا تا ۲۶/۲ روز در رقم الوند متغیر بود (جدول ۳). از نظر میانگین باروری روزانه، کم‌ترین مقدار این پارامتر روی ژنوتیپ C-89-15 (۱/۴ عدد پوره) و از نظر باروری کل، کم‌ترین باروری روی رقم بزوستایا (۲۰/۴ عدد پوره) مشاهده شد. همچنین نرخ ذاتی افزایش جمعیت محاسبه شده روی ژنوتیپ‌های بزوستایا (۰/۲۱۴ بر روز) و C-89-15 (۰/۲۱۹ بر روز) به‌طور معنی‌داری نسبت به دو ژنوتیپ دیگر کمتر بود (جدول ۳). به‌طور کلی، وجود مقاومت آنتی‌بیوزی در گیاه سبب تأثیر منفی بر زیست‌شناسی حشره می‌شود که می‌تواند شامل کاهش باروری، کاهش اندازه، طولانی شدن غیر عادی مرحله رشدی و افزایش مرگ و میر باشد (۳۴).

در آزمایش اول (شمارش اول) با وجود آن‌که شته‌های بالغ مورد استفاده (که به‌صورت تصادفی از کلنی انتخاب شدند) دوران پوره‌گی

و کم‌ترین مقادیر این دو پارامتر (به‌ترتیب ۸/۵ روز و ۲۴ شته) روی رقم امید به‌دست آمد. این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر مبنی بر طولانی‌تر بودن دوره نابالغی و کاهش میزان باروری شته روسی گندم روی ارقام دارای مقاومت آنتی‌بیوزی مشابه می‌باشد.

تحميل

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین میانگین درصد کاهش نسبی ارتفاع و کاهش نسبی وزن خشک ژنوتیپ‌های گندم و تربیتی‌کاله (رقم جوانیلو) وجود دارد (ارتفاع بوته: $P \leq 0.001$; $F_{30, 62} = 6.42$ و وزن خشک $P \leq 0.001$; $F_{30, 62} = 2.80$).

میانگین ارتفاع بوته در رقم کاسکوژن (۱۶/۹ سانتی‌متر) به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از رقم کراس‌سیلان (۹۳/۸ سانتی‌متر) بود. بیشترین درصد کاهش وزن خشک در رقم اوحدی (۶۲/۳ درصد) و کم‌ترین میزان آن در ارقام تربیتی‌کاله (رقم جوانیلو، ۷/۹ درصد) و گندم رقم کاسکوژن (۷/۹ درصد) مشاهده شد (جدول ۴).

گیاهان متحمل توانایی باز رشد و جبران خسارت ناشی از تغذیه آفت را دارند (۳۴). مهم‌ترین مزایای استفاده از گیاهان متحمل نداشتن فشار انتخاب طبیعی بر جمعیت آفت (و در پی آن کاهش احتمال بروز بیوتیپ‌های مقاومت شکن) و قابلیت تلفیق آن با سایر روش‌های کنترل آفات می‌باشند (۳۳ و ۳۴). خسارت شته روسی گندم بسته به میزان مقاومت گیاه میزبان، به شکل‌های مختلفی ظهور پیدا می‌کند. ارتفاع بوته و وزن خشک از جمله ویژگی‌های هستند که تحت تاثیر تغذیه و خسارت شته روسی گندم کاهش می‌یابند (۱۱، ۱۷ و ۲۸)، بر همین اساس از این دو صفت برای ارزیابی تحمل ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در این پژوهش استفاده شد.

بنابر نتایج پژوهش حاضر، تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اثر تغذیه شته روسی گندم طی یک دوره ۱۴ روزه خسارت دیدند. یافته‌های این پژوهش با نتایج اناهللی و همکاران (۱۱) و انگر و کوئیزنبری (۳۷) هم‌سو بود و بیان‌گر تحمل متفاوت ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به شته روسی گندم می‌باشد. دامنه‌ی تغییرات میزان کاهش وزن خشک گیاه توسط این پژوهشگران به‌ترتیب بین ۰/۰۱ تا ۷۶/۴ درصد (۱۱) و ۱/۱ تا ۴۷/۳ درصد (۳۷) در ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس گزارش شد. همچنین در پژوهشی که توسط خان و همکاران (۱۷) انجام شد میزان کاهش نسبی وزن خشک ارقام گندم آلوده به بیوتیپ‌های مختلف شته روسی گندم از ۱۱/۲ تا ۳۷/۱ درصد متغیر بود. کاهش ارتفاع گیاهان آلوده به شته روسی گندم نسبت به گیاهان غیرآلوده توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است.

ویژگی‌های زیستی شته روسی گندم توسط سایر محققین نیز بررسی شده است. مقاومت آنتی‌بیوزی نسبتاً بالا در برخی از ژنوتیپ‌های تربیتی‌کاله توسط محققین دیگر (۳۹ و ۳۲) نیز نشان داده شده است که همسو با نتیجه ما می‌باشد. وبستر (۳۹) طی پژوهشی نشان داد که دو ژنوتیپ تربیتی‌کاله به نام‌های PI 386156 و PI 386148 به‌طور نسبی از مقاومت آنتی‌بیوزی بالایی به شته روسی گندم برخوردارند. همچنین در یک تحقیق دیگر (۳۲) مشخص شد که حدود ۹۵ و ۱۰۰ درصد پوره‌های شته روسی گندم پرورش یافته روی ژنوتیپ PI 386148 پس از سپری‌شدن به‌ترتیب ۵ و ۷ روز از آغاز آلودگی گیاهان (با پوره‌های سن یک این شته) تلف شدند. مقاومت آنتی‌بیوزی مشاهده شده در تحقیق حاضر در رقم بزوستایا به شته روسی گندم با نتایج کاسترو و همکاران (۶) مبنی بر مقاومت نسبی این رقم منطبق است. بنابر یافته‌های این محققان در بین ارقام مورد مطالعه، کم‌ترین طول دوره نشوونمای مراحل نابالغی (۸ روز) و نیز کم‌ترین میزان نرخ ذاتی افزایش جمعیت شته روسی گندم (۰/۲۸۷ بر روز) روی رقم بزوستایا مشاهده شد. کاظمی و همکاران (۱۶) طی پژوهشی نشان دادند که میزان بقا، طول دوره نابالغی، باروری کل و نرخ ذاتی افزایش جمعیت شته روسی گندم روی چند رقم گندم در مرحله رشدی پنجه‌زنی متفاوت بود. کم‌ترین میزان نرخ ذاتی افزایش جمعیت این شته، روی رقم زرین (۰/۲۸۹ بر روز) و بیش‌ترین مقدار آن روی رقم سرداری (۰/۳۴ بر روز) مشاهده گردید. تفاوت در مرحله رشدی گیاه (۱۲ و ۲۰)، ژنوتیپ جمعیت شته به‌کار گرفته شده (۸، ۵ و ۲۷) و ارقام مورد مطالعه را می‌توان از دلایل عمده تفاوت مشاهده شده در مقادیر به دست آمده توسط محققین فوق و نتایج پژوهش حاضر ذکر کرد. مقاومت آنتی‌بیوزی پایین رقم سرداری به شته روسی گندم در پژوهش ما نیز مشاهده شد به طوری که بیش‌ترین میانگین تعداد شته پس از ۱۴ روز روی این رقم، ثبت شد.

نتایج پژوهش اناهللی و همکاران (۱۱) نشان داد که میانگین تعداد شته تولید شده روی ژنوتیپ‌های مختلف جو (پس از ۱۴ روز) تفاوت معنی‌داری با همدیگر داشتند. روند افزایش جمعیت شته‌های تولید شده روی ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این پژوهش از ۱۶ تا ۴۰۱/۴ عدد شته متغیر بود. از دلایل احتمالی تفاوت موجود بین یافته‌های ما و نتایج محققان فوق می‌توان به تفاوت در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و تعداد و سن پورگی شته‌های استفاده شده برای ایجاد آلودگی اولیه اشاره کرد. بدین معنی که در تحقیق حاضر برای ایجاد آلودگی اولیه از ۳ عدد پوره سن ۱ استفاده شد. در حالی که محققین فوق برای ایجاد آلودگی اولیه از ۵ عدد پوره سنین آخر شته روسی گندم استفاده کرده اند. در تحقیق دیگری (۳۸) طول دوره نشوونمای مراحل نابالغ و میزان باروری کل شته روسی گندم روی ۶ رقم تجاری گندم محاسبه

جدول ۴- میانگین ($\pm$ خطای معیار) HT، DWT گیاهان آلوده شده با ۱۴ شته طی ۱۴ روز و تعداد شته‌های موجود روی هر ژنوتیپ پس از گذشت ۱۴ روز

Table 4- Mean ($\pm$ SE) of DWT, HT of infected plants with 14 aphids for 14 days and the number of aphids per genotype after 14 days

ژنوتیپ Genotype	Statistics (Mean $\pm$ SE) in 14 days	
	درصد کاهش نسبی تغییرات وزن خشک گیاه Relative or proportional weight change (DWT)	درصد کاهش نسبی ارتفاع بوته Percent relative loss of plant height (HT)
Tak Ab	35.6 $\pm$ 3.20 ab**	40.1 $\pm$ 6.00 bcdefg
Ryzhav	39.4 $\pm$ 7.50 ab	79.5 $\pm$ 7.20 abc
Oohadi	62.3 $\pm$ 14.6 a	70.7 $\pm$ 5.40 abcdef
Gaspard	16.0 $\pm$ 2.02 ab	69.1 $\pm$ 5.40 abcdef
Say Sunz	57.5 $\pm$ 1.30 ab	46.3 $\pm$ 11.8 bcdefg
Alvand	15.2 $\pm$ 10.7 ab	62.7 $\pm$ 12.5 abcdefg
Phishgam	32.5 $\pm$ 7.60 ab	44.7 $\pm$ 1.50 Bcdefg
Azadi	44.2 $\pm$ 9.10 ab	84.6 $\pm$ 0.70 ab
Kras Sabalan	25.8 $\pm$ 4.80 ab	93.8 $\pm$ 1.70 a
Omid	40.3 $\pm$ 8.40 ab	32.7 $\pm$ 7.60 cdefg
Navid	22.0 $\pm$ 5.80 ab	58.5 $\pm$ 10.3 abcdefg
Sabalan	21.4 $\pm$ 10.7 ab	60.0 $\pm$ 8.10 abcdefg
Mihan	20.9 $\pm$ 10.5 ab	40.1 $\pm$ 10.3 bcdefg
Orum	22.8 $\pm$ 1.80 ab	30.4 $\pm$ 7.80 efg
Zare	33.4 $\pm$ 11.5 ab	58.4 $\pm$ 9.30 abcdefg
Sardari	17.0 $\pm$ 6.00 ab	35.5 $\pm$ 7.10 cdefg
Homa	17.4 $\pm$ 8.70 ab	65.7 $\pm$ 9.20 abcdef
Rasad	12.7 $\pm$ 5.10 ab	30.8 $\pm$ 9.20 defg
Cascogen	7.90 $\pm$ 7.90 b	16.9 $\pm$ 10.2 g
Tos	22.6 $\pm$ 9.30 ab	52.1 $\pm$ 8.60 abcdefg
Shahriar	29.3 $\pm$ 9.20 ab	74.1 $\pm$ 3.90 abcde
Bezostiya	15.5 $\pm$ 7.05 ab	25.4 $\pm$ 6.30 fg
Azar 2	39.5 $\pm$ 4.40 ab	78.2 $\pm$ 5.80 abcd
Bak Kras Roshan	19.5 $\pm$ 2.30 ab	41.2 $\pm$ 5.30 bcdefg
MV17	22.6 $\pm$ 4.80 ab	32.4 $\pm$ 1.90 cdefg
C-89-7	24.0 $\pm$ 2.20 ab	48 $\pm$ 8.10 abcdefg
C-89-12	17.3 $\pm$ 5.80 ab	66.1 $\pm$ 6.50 abcdef
C-89-15	37.1 $\pm$ 14.5 ab	35.2 $\pm$ 5.07 cdefg
Zarin	34.7 $\pm$ 3.80 ab	52.9 $\pm$ 6.06 abcdefg
Almot	35.4 $\pm$ 11.4 ab	54.0 $\pm$ 6.80 abcdefg
Triticale	7.90 $\pm$ 4.80 b	41.4 $\pm$ 6.90 bcdefg

** میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با هم دارند (آزمون HSD، سطح احتمال ۱٪)

** Means followed by different letters in each column are significantly different (HSD, P<0.01)

ارقام کاسکوژن و کراس سیلان بود. از دلایل احتمالی تفاوت موجود در این مقادیر می‌توان به تفاوت ژنوتیپ‌های گیاه مورد آزمایش، تفاوت در جمعیت شته به کار گرفته شده (۵، ۲۷ و ۸) و مهم‌تر از آن شیوه انجام آزمایش اشاره کرد. در مطالعه حاضر تعداد شته‌ها روی تمامی ژنوتیپ‌ها در مدت ۱۴ روز یکسان نگه داشته شد (۱۴ عدد شته در تمام طول آزمایش) که در تعداد شته و تعداد روزهای آلودگی با

پوترکا و همکاران (۲۸) نشان دادند که تغذیه شته روسی گندم سبب کاهش ۵۰-۲۵ و ۶۵-۷۵ درصدی ارتفاع بوته به ترتیب در ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس گندم می‌شود. در تحقیق دیگری (۲۹) میزان کاهش نسبی ارتفاع در ۴ رقم گندم مقاوم به شته روسی گندم بین ۰/۷ تا ۲۷/۱ درصد به دست آمد. در پژوهش حاضر، میزان تغییرات میانگین ارتفاع بوته از ۱۶/۹ تا ۹۳/۸ سانتی‌متر به ترتیب در

روش محققان نامبرده تفاوت دارد.

از نتایج قابل توجه پژوهش حاضر پایین بودن تحمل رقم آزادی بود که بر اساس نتایج آزمون آنتی‌بیوزی از ارقام مقاوم به شمار می‌رفت. بر خلاف این رقم که مقاومت آنتی‌بیوزی آن به‌ظاهر تأثیری بر تحمل آن نداشته است، تحمل بالایی مشاهده شده در گندم رقم بزوستابا و تربیتی‌کاله رقم جوانیلو به احتمال زیاد از مقاومت آنتی‌بیوزی آن‌ها تأثیر پذیرفته است. زیرا بارها در حین اجرای آزمایش تحمل مشاهده شد که تعداد شته‌های مستقر شده در تکرارهای آلوده این ارقام در بیش‌تر اوقات کم‌تر از مقدار اولیه یعنی ۱۴ عدد شته است که به‌هنگام بازبینی‌ها در هر ۲۴ ساعت به ۱۴ عدد شته افزایش داده می‌شد. از سوی دیگر، تحمل مشاهده شده در برخی از ژنوتیپ‌های دارای حساسیت آنتی‌بیوزی هم‌چون سرداری بیش‌تر از ارقام دارای مقاومت آنتی‌بیوزی است. نتیجه مشابهی با این مورد توسط اناهللی و همکاران

(۱۱) به‌دست آمد. بنابر نتایج این محققین کم‌ترین میزان کاهش تغییرات نسبی وزن خشک پس از رقم شاهد مقاوم (۰/۰۱ درصد) در ژنوتیپ دارای بالاترین میزان حساسیت آنتی‌بیوزی در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی (۷/۲ درصد) مشاهده شد.

بر اساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، گندم رقم کاسکوژن با داشتن آنتی‌بیوز متوسط (به‌طور میانگین ۴۶/۶ عدد شته) و بالاترین میزان تحمل (۱۶/۹ درصد کاهش نسبی ارتفاع و ۷/۹ درصد کاهش نسبی وزن خشک) به شته روسی گندم به‌عنوان رقم برتر شناسایی شد. استفاده از ارقام مقاوم (خصوصاً ارقام متحمل) در برنامه‌های مدیریت تلفیقی این آفت می‌تواند نقش موثری در کاهش هزینه‌های تولید، افزایش کارایی دشمنان طبیعی، کاهش خطرات ظهور بیوتیپ‌های مقاومت‌شکن و در نهایت افزایش عملکرد محصول گندم ایفا کند.

منابع

- 1- Anonymous. 2013. Food Outlook Biannual Report on Global Food Markets. Available on: <http://www.fao.org/giews/>.
- 2- Birch L.C. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *Journal of Animal Ecology* 17: 15-26.
- 3- Blackman R.L., and Eastop V.F. 2007. Taxonomic Issues. pp. 1-29. In: van Emden H.F., and Harrington R., (Ed.) *Aphids as Crop Pests*. CAB International, Oxford, United Kingdom.
- 4- Brewer M.J., Mornhinweg D.W., and Huzurbazar S. 1999. Compatibility of insect management strategies: *Diuraphis noxia* abundance on susceptible and resistant barley in the presence of parasitoids. *BioControl* 43: 479-491.
- 5- Burd J.D., Porter D.R., Puterka G.J., Haley S.D., and Peairs F.B. 2006. Biotypic variation among North American Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) populations. *Journal of Economic Entomology* 99: 1862-1866.
- 6- Castro A.M., Vasicek A., Ramos S., Worland A., Suarez E., Munoz M., Gimenez D., and Clua A.A. 1999. Different types of resistance against greenbug, *Schizaphis graminum* Rond., and the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* Mordvilko, in wheat. *Plant Breeding* 118: 131-137.
- 7- Curtis B.C., Rajaram S., and Gomez Macpherson M. 2002. Bread Wheat Improvement and Production. Rome: FAO plant production and protection series, No. 30. 592 pp.
- 8- Dolatti L., Ghareyazie B., Moharramipour S., and Noori-Dalooi M.R. 2005. Evidence for regional diversity and host adaptation in Iranian populations of the Russian wheat aphid. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 114: 171-180.
- 9- El Bouhssini M., Ogonnaya F.C., Chen M., Lhaloui S., Rihawi F., and Dabbous A. 2013. Sources of resistance in primary synthetic hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) to insect pests: Hessian fly, Russian wheat aphid and Sunn pest in the Fertile Crescent. *Genetic Resource and Crop Evolution* 60: 621-627.
- 10- El Bouhssini M., Street K., Amri A., Mackay M., Ogonnaya F.C., Omran A., Abdalla O., Baum M., Dabbous A., and Rihawi F. 2011. Sources of resistance in bread wheat to Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) in Syria identified using the Focused Identification of Germplasm Strategy (FIGS). *Plant Breeding* 130: 96-97.
- 11- Ennahli S., El Bouhssini M., Grando S., Anathakrishnan R., Niide T., Starkus L., Starkey S., and Smith C.M. 2009. Comparison of categories of resistance in wheat and barley genotypes against biotype 2 of the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Kurdjumov). *Arthropod-Plant Interactions* 3: 45-53.
- 12- Girma M., Wilde G., and Reese J.C. 1990. Influence of temperature and plant growth stage on development, reproduction, life span, and intrinsic rate of increase of the Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae). *Environmental Entomology* 19: 1438-1442.
- 13- Gonzalez D., Summers C.G., and Qualset C.O. 1992. Russian wheat aphid: natural enemies, resistant wheat offer potential control. *California Agriculture* 46: 32-34.
- 14- Hawley C.J., Peairs F.B., and Randolph T.L. 2003. Categories of resistance at different growth stages in Halt, a winter wheat resistant to the Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology* 96: 214-219.
- 15- Hesler L.S., and Tharp C.I. 2005. Antibiosis and antixenosis to *Rhopalosiphum padi* among triticale accessions.

- Euphytica 143: 153-160.
- 16- Kazemi M.H., Talebi Chaichi P., Shakiba M.R., and Jafarloo M.M. 2001. Biological responses of Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Hemiptera: Aphididae) to different wheat varieties. Journal of Agricultural Science and Technology 3: 249-255.
- 17- Khan S.A., Murugan M., Starkey S., Manley A., and Smith C.M. 2009. Inheritance and categories of resistance in wheat to Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotype 1 and biotype 2. Journal of Economic Entomology 102: 1654-1662.
- 18- Kogan M., and Ortman E.E. 1978. Antixenosis- a new term proposed to replace Painters Non- performance modality of resistance. Bulletin of Entomological Society of America 24: 175-176.
- 19- Lage J.L., Skovmand B., and Andersen S.B. 2004. Resistance categories of synthetic hexaploid wheats resistant to the Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*). Euphytica 136: 291-296.
- 20- Ma Z., and Bechinski E.J. 2009. Life tables and demographic statistics of Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) reared at different temperatures and on different host plant growth stages. European Journal of Entomology 106: 205-210.
- 21- Macedo T.B., Peterson R.K.D., Weaver D.K., and Ni X. 2009. Impact of *Diuraphis noxia* and *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae) on primary physiology of four near-isogenic wheat lines. Journal of Economic Entomology 102: 412-421.
- 22- Meyer J.S., Igersoll C.G., MacDonald L.L., and Boyce M.S. 1986. Estimating uncertainty in population growth rates: jackknife vs. bootstrap techniques. Ecology 67: 1156-1166.
- 23- Najafi Mirak T., Zali A., Hosseinzadeh A., Saidi A., Rasoulia G., and Zeinali H. 2004. Inheritance and allelism of resistance to Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko) in Iranian wheat cultivars. International Journal of Agriculture and Biology 6: 525-528.
- 24- Painter R. 1958. Resistance of plants to insects. Annual Review of Entomology 3: 267-290.
- 25- Painter W.H. 1951. Insect Resistance in Crop Plants. Macmillan Co., New York, N.Y. 520 pp.
- 26- Porter D.R., Baker C.A., and El-Bouhssini M. 2005. Resistance in wheat to a new North American-Russian wheat aphid biotype. Plant Breeding 124: 603-604.
- 27- Puterka G.J., Nicholson S.J., Brown M.J., Cooper W.R., Peairs F.B., and Randolph T.L. 2014. Characterization of eight Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotypes using two-category resistant-susceptible plant responses. Journal of Economic Entomology 107: 1274-1283.
- 28- Puterka G.J., Nicholson S.J., Brown M.J., and Hammon R.W. 2013. Response of Russian wheat aphid resistance in wheat and barley to four *Diuraphis* (Hemiptera: Aphididae) species. Journal of Economic Entomology 106: 1029-1035.
- 29- Randolph T.L., Peairs F.B., Koch M., Walker C.B., Stubbs J.R., Quick J.S., and Haley S.D. 2005. Yield response and categories of resistance to Russian wheat aphid in four *Dn4* hard red winter wheat cultivars. Journal of Economic Entomology 98: 588-594.
- 30- Randolph T.L., Peairs F.B., Merrill S., Koch M., and Waiker C.B. 2007. Yield response to Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) in mixtures of resistant and susceptible winter wheats. Southwestern Entomologist 32: 7-15.
- 31- Ray D.K., Mueller N.D., West P.C., and Foley J.A. 2013. Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050. Plos One 8: 428-466.
- 32- Reed D.K., Webster J.A., Jones B.G., and Burd A.D. 1991. Tritrophic relationships of Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae), a hymenopterous parasitoid (*Diaeretiella rapae* McIntosh), and resistant and susceptible small grains. Biological Control 1: 35-41.
- 33- Reese J.C., Schwenke J.R., Lamont P.S., and Zehr D.D. 1994. Importance and quantification of plant tolerance in crop pest management programs for aphids: green bug resistance in Sorghum. Journal of Agricultural Entomology 11: 255-270.
- 34- Smith C.M. 2005. Plant Resistance to Arthropods: Molecular and Conventional Approaches. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 423 pp.
- 35- Sotelo P., Starkey S., Voothuluru P., Wilde G.E., and Smith C.M. 2009. Resistance to Russian wheat aphid biotype 2 in CIMMYT synthetic hexaploid wheat lines. Journal of Economic Entomology 102: 1255-1261.
- 36- Stoetzel M.B. 1987. Information on and identification of *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae) and other aphid species colonizing leaves of wheat and barley in the United States. Journal of Economic Entomology 80: 696-704.
- 37- Unger L.M., and Quisenberry S. 1997. Categorization of six wheat plant introduction lines for resistance to the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). Journal of Economic Entomology 90: 1408-1413.
- 38- Veisi R., Safavi S.A., and Karimpour Y. 2012. Duration of life stages and fecundity of *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae) on six wheat cultivars. Journal of Crop Protection 1: 181-187.
- 39- Webster J.A., Starks K.J., and Burton R.L. 1987. Plant resistance studies with *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae), a new United States wheat pest. Journal of Economic Entomology 80: 944-949.
- 40- Wyatt I.J., and White P.F. 1977. Simple estimation of intrinsic increase rates for aphids and tetranychid mites.

Journal of Applied Ecology 14: 757-766.

- 41- Zadoks J.C., Chang T.T., and Konzak C.F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. Weed Research 14: 415-421.



Evaluation of the Resistance of some Commercial Cultivars and Breeding Lines of Wheat, *Triticum aestivum* L., to the Russian Wheat Aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko)

G. Nouri-Ganbalani^{1*} - J. Ebrahimi Hajikelaee² - M. Mardani-Talaei³ - J. Razmjou⁴ - S.A.A. Fathi⁵

Received: 25-02-2018

Accepted: 05-11-2019

Introduction: The Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko), is an important pest of cereal, particularly wheat (*Triticum aestivum* L.) and barley (*Hordeum vulgare* L.) in many countries. It can also be damaging as a vector of plant pathogenic viruses including Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV), Barley Mosaic Virus (BMV), and Sugarcane Mosaic Virus (SMV). Also, a yield loss of as much as 60% has been reported in wheat in years of heavy infestation. Utilization of synthetic pesticides is a common method for control of *D. noxia*, but the continuous application of such chemicals caused several side-effects such as environmental hazards, insect pest resistance and the outbreak of secondary pests. Therefore, other control methods need to be investigated for effective control of the pest. The use of resistant cultivar is an environmentally safe method of insect control and is also less expensive for growers resistance of host plants against herbivore insects may be due to antibiosis. The antibiosis properties of the host plant can reduce the amount of feeding, fecundity and size of the insect. They also can lengthen the development period, and increase the mortality rate. Therefore, the use of plant tolerance for managing *D. noxia* has received greater emphasis than in other systems. Wheat and triticale lines [*×Triti-cosecale* Wittmack, a hybrid between wheat and rye (*Secale cereale* L.)] with tolerant traits or tolerance combined with antibiotic, antixenotic and tolerance traits have been identified.

Materials and Methods: In the present study, the possibility of existence of resistance in thirty bread wheat genotypes (Tak-Ab, Ryzhav, Oohadi, Gaspard, Say-Sunz, Alvand, Phishgam, Azadi, Kras Sabalan, Omid, Navid, Sabalan, Mihan, Orum, Zare, SardariHoma, Rasad, Cascogen, Tos, Shahriar, Bezostiya, Azar 2, Bak-Kras Roshan, MV17, C-89-7, C-89-12, C-89-15, Zarin and Almot, respectively) and one triticale cultivar that was evaluated at 12th growth stages of the plants. The experiments were carried out in the greenhouse (23±3°C, 50±10% RH and a photoperiod of 14L: 10D h) and using a completely randomized design. The aphids used in the experiments were provided from the stock colony reared in Department of Plant Protection, University of Mohaghegh Ardebili, (originated from Namin city infested fields). Antixenosis was determined by counting the number of adult aphids attracted to each genotype potted plants at 24, 48 and 72 hours after release. Life tables were constructed based on the method described by Birch (1948) and Meyer et al. (1986). Differences in intrinsic rate of increase (r_m) and other life table parameters were estimated by the jackknife method. Before analysis, all data were tested for normality by Kolmogorov-Smirnov method. Statistical differences among means were compared using the Tukey *post hoc* Honestly Significant Difference (HSD) and Student-Newman-Keuls (SNK) tests at $\alpha = 0.05$ using the statistical software of SPSS ver. 19.0.

Results and Discussion: In summary, the analysis of variance of number attracted adult aphids to each genotype indicated that there were no significant differences among genotypes with respect to the number of aphids attracted to them. Antibiosis evaluated in two experiments. In the first experiment, the mean number of aphids among 31 genotypes was significantly lowest on triticale (Juanilo cultivar) (1 aphid) than resistance control (35.2 aphids). In the second experiment, *D. noxia* intrinsic rate of natural increase (r_m) evaluated on four selected genotypes in the first experiment. The highest and lowest r_m values were found on Alvand cultivar (0.273 day⁻¹) and Bezostaya cultivar (0.214 day⁻¹), respectively. Intolerance experiment, height and dry weight of seedling between control (no infested plants) and 14 aphids-day infested plants were measured. Proportional dry weight and height changes were significantly different among the genotypes. According to the results obtained in this research, to avoid hazardous chemicals against insect pests of such crops, certain protective or curative procedures could be implied using different non-chemical methods to reduce the pest population and resultant damage. Consequently, our results indicate Kaskogen and Juanilo cultivars had relatively tolerance and antibiotic resistance to Russian wheat aphid, respectively and so it can be used in the IPM of the aphid.

1, 2, 3, 4 and 5- Professor, Former M.Sc. Student, Former Ph.D. Student and Professors of Entomology, Department of Entomology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardebili, Ardebil, Iran, respectively.

(* - Corresponding Author Email: gadirnouri@yahoo.com)

Conclusion: Further experiments under the field conditions will be needed to validate these findings. The study on chemical components of these cultivars which is unsuitable in our lab may further reveal the chemical base of the unsuitability of cultivars Kaskogen and Juanilo.

Keywords: Antixenosis, Antibiosis, Russian wheat aphid, Tolerance, Wheat

بررسی درصد فراوانی نسبی و تغییرات شاخص‌های تنوع زیستی بال‌ریشکداران (Insecta: Thysanoptera) در چین‌های مختلف یونجه شهرستان ایوان (استان ایلام)

مجید میراب بالو^{۱*} - بهزاد میری^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳

چکیده

به منظور مطالعه تنوع زیستی بال‌ریشکداران در چین‌های مختلف یونجه، نمونه‌برداری‌ها به‌طور هفتگی از ابتدای فروردین ماه تا اواخر شهریور سال ۱۳۹۶ از مزارع یونجه یکساله، سه‌ساله و چهارساله شهرستان ایوان (استان ایلام) به‌عمل آمد. نمونه‌ها با استفاده از روش تکاندن گیاه یونجه درون سینی سفید جمع‌آوری و سپس به داخل شیشه‌های محتوی الکل ۷۵ درصد منتقل شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه، از آن‌ها اسلایدهای میکروسکوپی تهیه و در سطح گونه شناسایی شدند. در این تحقیق، ۱۰ گونه متعلق به ۶ جنس و چهار خانواده‌ی مختلف از مزارع یونجه جمع‌آوری و شناسایی گردید. در بین گونه‌های جمع‌آوری شده، بیش‌ترین درصد فراوانی مربوط به *Thrips tabaci* با فراوانی ۵۹/۱۲ درصد و کم‌ترین فراوانی مربوط به *Tenothrips frici* با فراوانی ۰/۲۴ درصد به‌دست آمد. تنوع زیستی بال‌ریشکداران در چین‌های مختلف رشدی یونجه، با استفاده از شاخص‌های تنوع شانون-وینر، سیمپسون، غنای مارگالف و یکنواختی شانون محاسبه شدند. با توجه به محاسبات انجام شده، میزان شاخص‌های تنوع شانون-وینر، سیمپسون، غنای مارگالف و یکنواختی شانون در مزرعه یونجه یک‌ساله به‌ترتیب ۲/۷۱±۰/۰۴، ۰/۹۲±۰/۰۲، ۳/۴۹±۰/۰۱ و ۰/۸۹±۰/۰۱، در مزرعه یونجه سه‌ساله به‌ترتیب ۲/۲۶±۰/۰۹، ۰/۸۸±۰/۰۰۹، ۲/۵۸±۰/۰۱۸ و ۰/۹۱±۰/۰۰۶ و در مزرعه یونجه چهارساله به‌ترتیب ۲/۰۹±۰/۱۴، ۰/۸۵±۰/۰۱ و ۲/۳۱±۰/۰۲۹ و ۰/۹۲±۰/۰۱ به‌دست آمد. نتایج نشان داد که تنوع شانون-وینر، سیمپسون و غنای مارگالف بال‌ریشکداران در مزرعه یک‌ساله به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از مزارع سه و چهارساله بود، اما شاخص یکنواختی شانون مزرعه یونجه چهارساله بیش‌تر از مزارع یک‌ساله و سه‌ساله بود ولی این تفاوت معنی‌دار نبود. به‌طور کلی نتایج نشان داد که تنوع زیستی بال‌ریشکداران در مزارع یونجه یک‌ساله بیش‌تر بوده و با افزایش سن گیاه میزان تنوع زیستی کاهش می‌یابد، از طرف دیگر در مزارع یکساله به دلیل متراکم بودن گیاه یونجه نسبت به مزارع سه و چهار ساله، محیط مناسبی برای حشرات به وجود می‌آورد. در واقع زیستگاه مناسب عاملی برای افزایش تنوع زیستی حشرات محسوب می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ایلام، بال‌ریشکداران، تریپس پیاز، شاخص‌های زیستی، یونجه

مقدمه

زیرکشت، در رتبه دوم استان قرار دارد (۱). تاکنون حشرات مختلفی در نقش‌های مفید و مضر از مزارع یونجه ایران جمع‌آوری و شناسایی شده‌اند که برخی از آن‌ها مانند سرخرطومی برگ یونجه، از مهم‌ترین آفات یونجه می‌باشد که در برخی مواقع قادر به نابودی بیش از ۹۰ درصد محصول چین اول یونجه می‌باشد (۱۱). از دیگر حشرات مکنده‌ای که از این محصول تغذیه می‌کنند می‌توان به بال‌ریشکداران اشاره کرد که دارای پراکنش وسیعی در ایران می‌باشند (۱۵). تریپس‌ها گروهی از حشرات مکنده متعلق به راسته بال‌ریشکداران بوده و بسیاری از آن‌ها به عنوان آفت محصولات زراعی، باغی، گلخانه‌ای و زینتی می‌باشند؛ برخی دارای نقش شکارگری بوده، برخی قارچ‌خوار و پوسیده‌خوار، و تعداد کمی نیز دارای نقش گرده‌افشانی می‌باشند (۱۲). تریپس‌ها علاوه بر تغذیه از گیاهان و خسارت مستقیم به آن‌ها، ناقل برخی از بیماری‌های ویروسی نیز

یونجه با نام علمی *Medicago sativa* L. به عنوان مهم‌ترین گیاه علوفه‌ای، سازگاری مناسبی با شرایط مختلف اقلیمی یافته و امروزه در بیش‌تر مناطق جهان کشت می‌شود. بر پایه تحقیقات انجام شده، مبدأ اصلی یونجه جنوب غربی آسیا و به‌ویژه منطقه ایران است. در حال حاضر سطح زیر کشت یونجه در استان ایلام حدود ۱۶۲۵ هکتار است که شهرستان ایوان دارای ۴۱۲ هکتار سطح

۱- دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایران

(*)- نویسنده مسئول: (Email: m.mirabbalou@ilam.ac.ir)

۲- دانشجوی دکتری حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

مورد مطالعه سه مزرعه یونجه یکساله، سهساله و چهارساله جهت مقایسه‌ی تنوع زیستی در نظر گرفته شد. فاصله مزارع از یکدیگر حدود ۲۰۰۰ متر بوده و در طول انجام این مطالعه از سمپاشی مزارع خودداری شد. نمونه‌برداری از مزارع در بین ساعات ۱۰ تا ۱۶ انجام گرفت. بدین منظور با استفاده از تکاندن بوته‌های یونجه روی سینی سفید لعابی به ابعاد 32×22 سانتی‌متر، نمونه‌های کامل تریپس جمع‌آوری شد. تریپس‌های داخل سینی با استفاده از یک قلم‌موی ظریف آغشته به الکل، سریعاً از سطح سینی جمع‌آوری و به داخل میکروتیوب‌های کوچک پلاستیکی محتوی الکل ۷۵ درصد منتقل شدند. روی هر میکروتیوب برچسب حاوی تاریخ نمونه‌برداری، محل جمع‌آوری، مرحله‌ی رشدی یونجه و شماره‌ی مزرعه چسبانده شد.

واحد نمونه‌برداری یک بوته گیاه یونجه انتخاب شد و نمونه‌برداری به صورت هفتگی و طی مراحل رشدی یونجه انجام گرفت. در هر نوبت نمونه‌برداری، ضمن حرکت در مزرعه به صورت W شکل، از قسمت‌های مختلف مزرعه به طور تصادفی نمونه‌برداری شد (۲۴). جهت شمارش دقیق، از تمامی نمونه‌ها اسلاید میکروسکوپی تهیه و در نهایت تعداد نمونه‌ها ثبت گردید.

به منظور تعیین تعداد نمونه مناسب، ابتدا نمونه‌برداری اولیه با تعداد ۳۰ نمونه انجام شد. سپس با استفاده از داده‌های بدست آمده، فاکتور خطای نسبی (RV) تعیین گردید که این فاکتور دقت نمونه‌برداری اولیه را نشان می‌دهد. سپس تعداد نمونه مناسب را از معادله‌ی (۱) تعیین و در پایان تعداد ۲۰ نمونه برای انجام این تحقیق در نظر گرفته شد (۳۰).

$$N = \left(\frac{t}{D}\right)^2 * \left(\frac{S}{m}\right)^2 \quad (\text{معادله‌ی ۱})$$

N : تعداد نمونه مناسب، D : حداکثر میزان خطای قابل قبول، t : مقدار جدول استیودنت، m : میانگین داده‌های نمونه‌برداری اولیه، S : انحراف معیار داده‌های نمونه‌برداری اولیه.

در پایان نمونه‌برداری‌ها، با بررسی میانگین درصد فراوانی جمعیت هر یک از گونه‌ها، گونه‌ی غالب تریپس تعیین شد. برای محاسبه‌ی درصد فراوانی گونه‌ها از معادله‌ی $F = \frac{n}{N} \times 100$ استفاده شد که در این معادله: F درصد فراوانی نسبی، n تعداد افراد گونه‌ی مورد نظر در منطقه، و N تعداد کل افراد گونه‌های جمع‌آوری شده است (۶).

هم‌چنین با در نظر گرفتن تعداد گونه‌ها و فراوانی نسبی آن‌ها، شاخص‌های تنوع زیستی و شاخص غنای گونه‌ای با استفاده از نرم افزار PAST (۹) به شرح زیر محاسبه شدند:

الف) شاخص تنوع گونه‌ای شانون-وینر: این شاخص از معادله‌ی (۲) محاسبه شد که در آن: H' : تابع شانون-وینر، S : تعداد گونه‌ها و P_i : نسبت یا وفور گونه‌ی i ام که برحسب نسبتی از کل افراد می‌باشد (۲۷).

می‌باشند (۲۱). تریپس‌ها از لحاظ رژیم غذایی گوناگون در تمامی عرصه‌ها مورد توجه هستند و از این حیث، مطالعاتی در ایران و کشورهای مختلف در رابطه با فون آن‌ها و حتی در برخی از مواقع در رابطه با زیست‌شناسی و کنترل آن‌ها صورت گرفته است. تاکنون گونه‌های مختلفی از تریپس‌ها از مزارع یونجه غرب ایران گزارش شده است که می‌توان به *Odontothrips confusus* Priesner و *Frankliniella intonsa* (۱۶)؛ *Thrips tabaci* Lindeman (Trybom)، *F. pallida* (Uzel) و *Haplothrips reuteri* (Karny) (۱۷)؛ *Odontothrips iranensis* Mirab-balou et (۲۰)؛ *Neohydatothrips gracilicornis* (Williams) و (۱۸) اشاره نمود. تنوع زیستی از مؤلفه‌های اساسی یک جامعه زیستی بوده و بسیاری از محققین در تلاشند تا با حفظ تنوع گونه‌های جانوری و گیاهی در اکوسیستم کشاورزی، به سمت کشاورزی پایدار پیش رفته و باعث سلامت محیط زیست شوند. مزارع یونجه به دلیل ساختار گیاهی و کشت متراکم آن‌ها، زیستگاه‌های مناسبی برای گونه‌های متنوع بندپایان به‌خصوص تریپس‌ها می‌باشند. مطالعه تنوع زیستی در مزارع یونجه می‌تواند شاخص مناسبی جهت اندازه‌گیری سلامت محیط و میزان سازگاری آن نسبت به شرایط نامساعد باشد. مطالعات نشان داده است که اندازه‌گیری تنوع زیستی نقش مهمی در ارزیابی محیط دارد. با اندازه‌گیری تنوع زیستی می‌توان توزیع گونه‌ها را در محیط بررسی کرد و با تأکید بر پویایی بوم‌سازگان توصیه‌های مدیریتی مناسب را ارائه نمود (۳۱). بنتون و همکاران (۵) بیان داشتند که کاهش تنوع زیستی محیط‌های کشاورزی، رابطه مستقیمی با نوع سیستم‌های کشاورزی دارد. یکنواختی، بیانگر توزیع فراوانی افراد در بین گونه‌ها یا میزان تعادل در فراوانی گونه‌ها می‌باشد (۶).

برای درک بهتر تأثیر حفظ تنوع زیستی بر پایداری اکوسیستم‌های کشاورزی ضروری است که اطلاعاتی از ترکیب گونه‌های جانوری منطقه کسب شود. در مزارع یونجه شهرستان ایوان، تریپس‌ها در چین‌های مختلف به فراوانی دیده می‌شوند، لذا تعیین وضعیت تنوع زیستی این حشرات به منظور مدیریت آفات ضروری به نظر می‌رسد. در ایران تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با تغییرات جمعیت بال‌ریشکداران مزارع یونجه صورت نگرفته است و در این بررسی تنوع زیستی گونه‌های مختلف تریپس مزارع یونجه شهرستان ایوان برای اولین بار مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه فون بال‌ریشکداران مزارع یونجه و بررسی تغییرات آنها، نمونه‌برداری از فروردین تا شهریور ماه ۱۳۹۶ از مزارع یونجه شهرستان ایوان (استان ایلام) انجام گردید. در این شهرستان به طور غالب در مزارع یونجه، رقم همدانی کشت می‌شود. در منطقه

واریانس یک طرفه انجام و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده شد (SPSS, 18). همچنین رسم نمودارها، با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گردید.

نتایج و بحث

در این بررسی، ۴۲۲۹ نمونه تریپس از چهار خانواده از راسته بال‌ریشکداران جمع‌آوری شد که مشتمل بر ۶ جنس و ۱۰ گونه بود. در بین گونه‌های جمع‌آوری شده، به غیر از دو گونه‌ی *Aeolothrips intermedius* و *Haplothrips flavitibia* که شکارگر هستند بقیه دارای فعالیت گیاهخواری می‌باشند و در روی گل‌ها و قسمت‌های سبز یونجه فعالیت دارند. بیش‌ترین درصد فراوانی مربوط به *Thrips tabaci* با فراوانی ۵۹/۱۲ درصد و کم‌ترین فراوانی مربوط به تریپس *Tenothrips frici* با فراوانی ۰/۲۴ درصد بود (جدول ۱).

$$H' = - \sum_{i=1}^S P_i \ln P_i \quad (\text{معادله‌ی } ۲)$$

ب) شاخص تنوع گونه‌ای سیمپسون: این شاخص از معادله‌ی (۳) محاسبه شد (۲۸) که در آن 1-D: شاخص تنوع سیمپسون P_i : نسبت افراد گونه‌ی i ام در جامعه است.

$$1 - D = 1 / \sum_{i=1}^S (P_i)^2 \quad (\text{معادله‌ی } ۳)$$

ج) شاخص غنای مارگالف: این شاخص بیان‌کننده حضور انواع گونه‌ها است که در آن S تعداد گونه‌ها و N فراوانی تمام گونه‌ها می‌باشد. شاخص غنای مارگالف از معادله‌ی (۴) محاسبه شد (۱۴).

$$R1 = S - 1 / \ln N \quad (\text{معادله‌ی } ۴)$$

د) شاخص یکنواختی شانون-وینر: در این تحقیق برای بررسی شاخص یکنواختی از توابع یکنواختی شانون-وینر (معادله‌ی ۵) استفاده شد (۱۳) که در آن S تعداد گونه و H شاخص تنوع شانون - وینر می‌باشد.

$$E_H = \frac{H}{H_{Max}} = \frac{H}{\log_2 S} \quad (\text{معادله‌ی } ۵)$$

برای مقایسه شاخص‌های محاسبه شده بین مزارع یونجه تجزیه

جدول ۱- تعداد و فراوانی نسبی تریپس‌های مزارع یونجه شهرستان ایوان (استان ایلام)، سال ۱۳۹۶

Table 1- Number and frequency of thrips in alfalfa fields of Eyvan county (Ilam province), year 2017

خانواده Family	اسم علمی Scientific name	تعداد Number	نر / ماده Female/Male	فراوانی نسبی Relative abundance (%)	مزارع یونجه Alfalfa fields		
					یونجه یکساله 1-year-old	یونجه سه ساله 3-years-old	یونجه چهار ساله 4-years-old
Aeolothripidae	<i>Aeolothrips intermedius</i>	600	453 ♀ - 147 ♂	14.19	*		
Melanthripidae	<i>Melanthrips fuscus</i>	300	210 ♀ - 90 ♂	7.09		*	*
Thripidae	<i>Frankliniella intonsa</i>	210	196 ♀ - 14 ♂	4.97	*		*
	<i>Frankliniella occidentalis</i>	120	90 ♀ - 30 ♂	2.84		*	*
	<i>Tenothrips frici</i>	10	10 ♀	0.24	*		*
	<i>Thrips meridionalis</i>	300	237 ♀ - 63 ♂	7.09		*	*
Phlaeothripidae	<i>Thrips tabaci</i>	2500	2500 ♀	59.12	*	*	*
	<i>Haplothrips flavitibia</i>	34	25 ♀ - 9 ♂	0.80	*	*	
	<i>Haplothrips ganglbaueri</i>	100	64 ♀ - 36 ♂	2.36	*	*	*
	<i>Haplothrips reuteri</i>	55	44 ♀ - 11 ♂	1.30	*		*

جدول ۲- تجزیه واریانس شاخص‌های تنوع زیستی در مزارع یونجه شهرستان ایوان (استان ایلام)، سال ۱۳۹۶

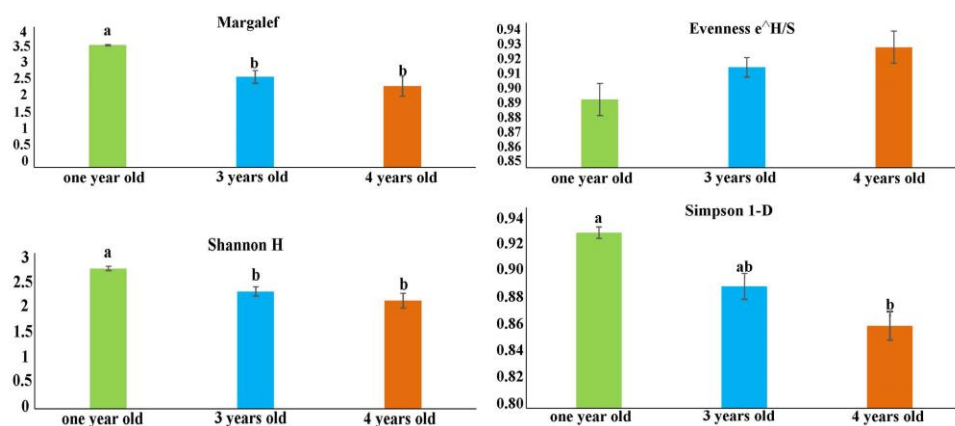
Table 2- Analysis of variance of biodiversity indices in alfalfa fields, Eyvan county (Ilam province), year 2017

شاخص / مزارع یونجه Alfalfa fields/ index	شانون Shannon H	یکنواختی Evenness e ^{H/S}	سیمپسون Simpson	مارگالف Margalef
یکساله 1-year-old	2.71	0.89	0.92	3.49
سه ساله 3-years-old	2.26	0.91	0.88	2.58
چهار ساله 4-years-old	2.09	0.92	0.85	2.31
P	0.006**	0.224 ^{ns}	0.018**	0.006**

مزرعه یک ساله و کمترین مقدار آن با مقدار ۱/۸۵ مربوط به چین چهارم مزرعه چهارساله به دست آمد (شکل ۲). مقادیر به دست آمده از شاخص یکنواختی شانون نشان داد که بیشترین و کمترین مقدار این شاخص به ترتیب با مقادیر عددی ۰/۹۵ و ۰/۸۵ مربوط به چین اول مزرعه یک ساله و چین دوم مزرعه چهارساله می باشد (شکل ۲). مقادیر شاخص تنوع گونه ای سیمپسون نشان داد که در مزرعه یونجه یک ساله در تمام چین ها مقدار این شاخص بیش تر از مزارع سه و چهارساله بود؛ به طوری که بیشترین مقدار این شاخص با مقدار عددی ۰/۹۳ در چین دوم مزرعه یک ساله و کمترین مقدار آن با مقدار عددی ۰/۸۲ در چین اول مزرعه چهارساله مشاهده شد (شکل ۲). مقادیر شاخص غنای گونه ای مارگالف نیز نشان داد که بیشترین (۳/۵۶) و کمترین (۱/۸۲) مقدار این شاخص به ترتیب به چین سوم مزرعه یک ساله و چین چهارم مزرعه چهارساله تعلق داشتند (شکل ۲).

در این مطالعه، مقادیر شاخص شانون - وینر بین حداقل ۲/۰۹ در مزرعه یونجه چهارساله و حداکثر ۲/۷۱ در مزرعه یونجه یک ساله متغیر بود. محدوده تغییرات شاخص شانون - وینر از صفر تا پنج و به طور معمول بین ۱/۵ تا ۳/۵ قرار دارد. مقادیر کمتر از این محدوده بیانگر وجود تنش در محیط و عدم پایداری و مقادیر بیشتر از آن بیانگر فزونی تنوع زیستی در منطقه است (۲). این مقادیر در مقایسه با دامنه تغییرات شاخص شانون - وینر که در منابع مقدار آن را معمولاً بین ۱/۵ تا ۳ ذکر کرده اند از مقدار خوبی برخوردار است.

بیشترین غنای گونه ای در مزرعه یک ساله با مقدار ۳/۴۵ و کمترین مقدار آن در مزرعه سه ساله با مقدار ۲/۳۱ مشاهده شد. تجزیه واریانس مقادیر شاخص غنای مارگالف نشان داد که اثر هر یک از مزارع بر توزیع گونه ها معنی دار بود ($P < 0.05$) (جدول ۲ و شکل ۱). همچنین مقادیر شاخص یکنواختی شانون مزارع یونجه نشان داد که مقدار این شاخص بین مزارع مختلف با یکدیگر تفاوت داشته ولی این اختلاف معنی دار نبود ($P > 0.05$) (شکل ۱). بیشترین مقدار شاخص یکنواختی شانون با مقدار عددی ۰/۹۲ در مزرعه چهارساله یونجه و کمترین مقدار آن در مزرعه یک ساله یونجه با مقدار عددی ۰/۸۹ بدست آمد. مقدار شاخص تنوع زیستی شانون - وینر در این مطالعه نشان داد که بیشترین مقدار این شاخص با مقدار عددی ۲/۷۱ مربوط به مزرعه یونجه یک ساله و کمترین مقدار آن مربوط به مزرعه چهارساله یونجه با مقدار ۲/۰۹ می باشد. همچنین تجزیه واریانس مقادیر شاخص تنوع زیستی شانون - وینر نشان داد که اثر هر یک از مزارع بر این شاخص معنی دار بود ($P < 0.05$) (شکل ۱). مقدار شاخص تنوع گونه ای سیمپسون در این تحقیق نشان داد که بیشترین و کمترین مقدار این شاخص به ترتیب با مقادیر ۰/۹۲ و ۰/۸۵ مربوط به مزرعه یک ساله و چهارساله یونجه می باشد. تجزیه واریانس مقادیر شاخص تنوع گونه ای سیمپسون نشان داد که اثر هر یک از مزارع بر این شاخص معنی دار بود ($P < 0.05$) (شکل ۱). مقادیر شاخص های تنوع زیستی بر اساس چین های یونجه محاسبه و نتایج آن در شکل (۲) نشان داده شده است. بر طبق این نتایج، بیشترین مقدار شاخص تنوع زیستی شانون - وینر در بین چین های مختلف یونجه با مقدار عددی ۲/۸ مربوط به چین سوم

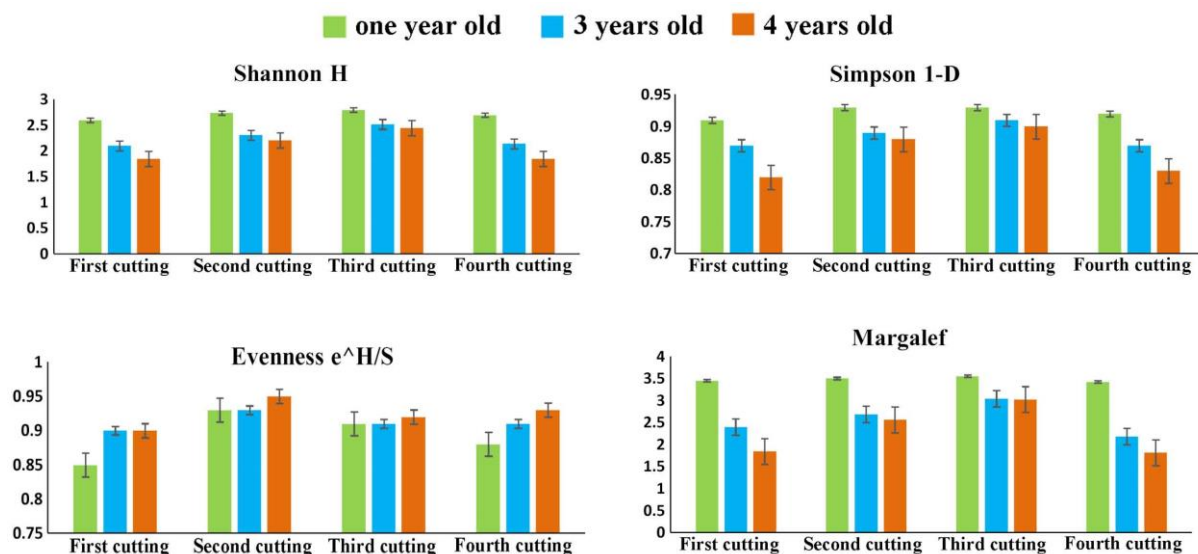


شکل ۱- مقدار عددی شاخص های مختلف تنوع زیستی در مزارع یونجه (یک ساله، سه ساله و چهارساله)، شهرستان ایوان، سال ۱۳۹۶

حروف غیر مشابه بیانگر تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

Figure 1- The numerical value of diversity indices in alfalfa fields (one year old, three and four years old), Eyvan county, year 2017

(Non-similar alphabets represent a significant difference at the 5% level).



شکل ۲- مقدار عددی شاخص‌های تنوع زیستی به تفکیک چین‌های مختلف در مزارع یونجه شهرستان ایوان، سال ۱۳۹۶

Figure 2- The numerical value of diversity indices in different cutting of alfalfa, Eyvan city, year 2017

بیش‌تر پوشش گیاهی در یاسوج عنوان کردند. میزان شاخص تنوع در مزرعه یونجه یک‌ساله نسبت به مزرعه سه و چهارساله بیش‌تر بوده که می‌تواند به دلیل پوشش گیاهی بیش‌تر در اطراف مزرعه یونجه یک‌ساله باشد، چرا که در اطراف مزرعه یونجه یک‌ساله هم درختان میوه و هم مزارع گندم وجود داشت در حالی که در اطراف مزارع سه و چهارساله هیچ مزرعه یا درخت میوه‌ای وجود نداشت. نتایج میراب بالو و همکاران (۱۹) در بررسی تنوع زیستی بال‌ریشکداران درختان میوه و علف‌های هرز در استان قزوین نشان دادند که *Thrips tabaci* روی همه گونه‌های درختان میوه و علف‌های هرز حضور داشت. هم‌چنین بین سه منطقه مورد مطالعه از لحاظ تنوع گونه‌ای ($p=0/41$) و یکنواختی ($p=0/45$) اختلاف معنی‌دار وجود ندارد و گونه چندخوار تریپس پیاز غالب‌ترین گونه در هر سه منطقه بود. رضانی و همکاران (۲۵) در بررسی تنوع زیستی و فراوانی بال‌ریشکداران در مزارع گندم آبی و دیم استان خوزستان نشان دادند که در مزارع آبی مقدار شاخص‌های تنوع شانون - وینر و سیمپسون برابر با $1/793$ و $4/094$ و در مزارع دیم مقدار این شاخص‌ها برابر با $1/361$ و $2/845$ به‌دست آمد که نشان دهنده تنوع بالاتر بال‌ریشکداران در مزارع آبی نسبت به مزارع دیم بود. اسماتاس و همکاران (۲۹) در مزارع گندم زمستانه لیتوانی تنوع زیستی و نسبت جنسی بال‌ریشکداران را مورد بررسی قرار دادند. موند (۲۲) تنوع زیستی بال‌ریشکداران را در نواحی نوتروپیک بررسی کرد. پوبوزنیاک و آنا (۲۳) تنوع زیستی گونه‌های تریپس (Thysanoptera) روی گیاهان گلدار در کراکوف، لهستان انجام دادند. آزرمی و همکاران (۴) در تحقیق خود تنوع زیستی بال‌ریشکداران استان فارس را مورد بررسی قرار دادند. تریپس پیاز *Thrips tabaci* یکی از گونه‌های مهم و خسارت‌زا می‌باشد که هر

با افزایش سن گیاه از میزان مواد غذایی آن کاسته می‌شود در نتیجه حشرات تمایل کمتری به سمت گیاه پیدا می‌کنند و از تنوع آن‌ها کاسته می‌شود، هم‌چنین تراکم گیاه یونجه در مزارع یک‌ساله به مراتب بیش‌تر از مزارع سه و چهارساله بود. مقدار شاخص یکنواختی شانون بین $0/89$ در مزرعه یک‌ساله تا $0/92$ در مزرعه چهارساله متغیر بود. شاخص یکنواختی می‌تواند عددی بین صفر تا یک باشد و حداکثر شاخص یکنواختی زمانی بدست می‌آید که توزیع گونه‌ها یکنواخت‌تر باشد. هم‌چنین مقادیر شاخص تنوع گونه‌ای سیمپسون با مقدار $0/92$ در مزرعه یک‌ساله تا مقدار $0/85$ در مزرعه چهارساله در نوسان بود. این شاخص به گونه‌های غالب در نمونه تأکید دارد و با توجه به اینکه تریپس پیاز گونه‌ای غالب در مزارع یک‌ساله بود در نتیجه مقدار این شاخص در این مزرعه بیش‌تر از دو مزرعه دیگر بوده است. مقدار غنای مارگالف در این تحقیق بین مقادیر $3/45$ در مزرعه یک‌ساله تا $2/31$ در مزرعه سه‌ساله متغیر بود. شاخص غنای گونه‌ای مارگالف نشان دهنده تعداد گونه‌های موجود در یک جامعه بوده و ساده‌ترین مفهوم زیستی را بیان می‌کند. این شاخص مناسب بودن زیستگاه را برای گونه‌های مختلف بیان می‌کند. مقدار عددی این شاخص در شرایط نامساعد زیستی و یا استرس‌های محیطی کاهش می‌یابد و با افزایش تعداد گونه و تراکم هرگونه افزایش می‌یابد (۷). در مزرعه یونجه یک‌ساله با توجه به تراکم زیاد یونجه و هم‌چنین پوشش گیاهی مناسب و شاداب بودن یونجه، گونه‌های زیادی وجود داشت.

جهانگیری سی‌سخت و همکاران (۱۰) در بررسی تنوع زیستی بال‌ریشکداران در باغ‌های یاسوج و سی‌سخت اظهار داشتند که شاخص تنوع در یاسوج بیش‌تر از سی‌سخت بوده که دلیل آن را تنوع

کشتی محصولات کشاورزی مرتبط است. لذا برای حفظ و افزایش تنوع زیستی بال ریشکداران در مزارع یونجه منطقه پیشنهاد می‌شود که از کشت یونجه به صورت مخلوط در باغات یا کشت مزارع یونجه در کنار مزارع دیگر نظیر گندم یا محصولات دیگر استفاده شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ایلام به خاطر فراهم نمودن امکانات لازم برای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد. این مقاله بخشی از طرح پژوهشی شماره ۳۲/۵۲۵ دانشگاه ایلام می‌باشد.

ساله خسارت بالایی را به کشاورزان وارد می‌آورد. این آفت با داشتن بیش از ۳۰۰ گیاه میزبان از آفات مهم گیاهان زراعی و گلخانه‌ای در سراسر دنیا است (۸) و همچنین ناقل برخی از ویروس‌های گیاهی نیز می‌باشد (۲۶). با توجه به اینکه در مطالعه‌ی حاضر *Thrips tabaci* گونه‌ی غالب در مزارع یونجه می‌باشد ولی با دارا بودن جمعیت بالا، خسارتی در روی این محصول ایجاد نمی‌کند، لذا باید با مدیریت صحیح زراعی از کشت دیگر محصولاتی مانند پیاز یا توتون (که تریپس پیاز در روی آنها خسارت جدی وارد می‌کند) در اطراف مزارع یونجه خودداری شود. از طرف دیگر باید برای حفظ و حمایت از گونه‌ای شکارگر و مفید روش‌های مدیریتی مناسبی اعمال نمود. آلتیری (۳) معتقد است که افزایش جمعیت آفات با گسترش تک

منابع

- Ahmadi K., Gholizadeh H.A., Ebadzadeh H.R., Hoseinpour R., Hatami F., Fazli B., Kazemian A., and Rafiei M. 2015. Agricultural Statistics, Volume I: crops. Ministry of Jihad-Agriculture. 169 pp.
- Ajmal Khan S. 2004. Methodology for Assessing Biodiversity, Annamalai University. Centre of Advanced Study in Marine Biology. 12 p.
- Altieri M.A. 1990. Increasing biodiversity to improve insect pest management in agro-ecosystems. Biodiversity of microorganisms and invertebrates: its role in sustainable agriculture. Proceedings of the First Workshop on the Ecological Foundations of Sustainable Agriculture (WEFSA 1), 26- 27 July. London, UK. pp. 165-182.
- Azarmi E., Saghaei N., Alemansoor H., and Fallahzadeh M. 2010. Biodiversity of Thysanoptera in the Fars province of Iran. 19th Iranian Plant Protection Congress. 125 p. (In Persian)
- Benton T.G., Vickery J.A., and Wilson J.D. 2003. Farmland Biodiversity: is habitat heterogeneity the key. Trends in Ecology and Evolution 18(4): 182-188.
- Ejtehad H., Sepehry A., and Akkafi H.R. 2009. Method of Measuring Biodiversity. Ferdowsi University of Mashhad Publication. 228 pp. (In Persian)
- Gamito S. 2010. Caution is needed when applying Margalef diversity index. Ecological Indicators 10: 550-551.
- Gill H.K., Garg H., Gill A.K., Gillett-Kaufman J.L., and Nault B.A. 2015. Onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) biology, ecology, and management in onion production systems. Journal of Integrated Pest Management 6(1): 1-9.
- Hammer Ø., Harper D.A.T., and Ryan P.D. 2001. PAST-Palaeontological Statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica 4(1): 9.
- Jahangiri Sisakht N., Ramezani L., and Habibpour B. 2015. Biodiversity survey of Thrips (Insecta: Thysanoptera) in Yasouj and Sisakht orchards. Plant Pests Research 4(4): 61-69. (In Persian with English abstract)
- Khanjani M. 2005. Field crop pests (insects and mites) in Iran. Bu-Ali Sina University Press, Hamadan, Iran 719 pages. (In Persian)
- Lewis T. 1997. Thrips as Crop Pests. CAB International, Wallingford, U.K.
- Magurran A.E. 1988. Ecological diversity and its measurement. Princeton University Press.. New Jersey. 179 pp.
- Margalef M. 1958. Information theory in ecology. General Systematics 3: 36-71.
- Mirab-balou M. 2011. A systematic study of Thysanoptera in Iran (Hexapoda: Insecta). Ph.D. thesis. Zhejiang University.
- Mirab-balou M., and Chen X.X. 2011a. The *Megalurothrips* genus-group in Iran (Thysanoptera: Thripidae) for Iran. Munis Entomology and Zoology 6(2): 944-952.
- Mirab-balou M., and Chen X.X. 2011b. Iranian Thripinae with ctenidia laterally on the abdominal tergites (Thysanoptera: Thripidae). Natura Montenegrina 10(4): 435-466.
- Mirab-balou M., and Chen X.X. 2013. Two new records of Sericothripinae (Thysanoptera: Thripidae) for Iran. Far Eastern Entomologist 260: 12-16.
- Mirab-balou M., Mahmoudi M., and Tong X.L. 2017. Diversity of thrips species (Thysanoptera) in fruit orchards in Qazvin Province, northwestern Iran. Journal of Crop Protection 6(3): 363-375.
- Mirab-balou M., Tong X.L., Wang J., and Chen X.X. 2013. A new *Odontothrips* species (Thysanoptera: Thripidae) from Iran. Zootaxa 3736(5): 598-600.
- Mound L.A., and Marullo R. 1996. The Thrips of central and south America: An introduction (Insecta: Thysanoptera). Memoirs on Entomology, International. Vol. 6: 487 pages.

- 22- Mound L.A. 2002. Thysanoptera biodiversity in the Neotropics. *International Journal of Tropical Biology and Conservation* 50(2) 477–484.
- 23- Pobożniak, M., and Anna, S. (2011). Biodiversity of thrips species (Thysanoptera) on flowering herbs in cracow, Poland. *Journal of Plant Protection Research* 51(4): 393–398.
- 24- Ramezani L., and Zandi Sohani N. 2013. Population dynamics and spatial distribution of important Thysanoptera species on Wheat. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 44(2): 283–290. (In Persian with English abstract)
- 25- Ramezani L., Mossadegh M.S., Soleymannejadian E., Bagheri S., and Minaei K. 2012. Frequency and biodiversity of Thysanoptera in irrigated and rain-fed wheat fields of Khuzestan province. 20th Iranian Plant Protection Congress. 132 p. (In Persian)
- 26- Sanchez J.A., Alcazar A., Lacasa A., Llamas A., and Bielzap P. 2000. Integrated pest management in sweet pepper plastichouses in the southeast of Spain. *IOBC/WPRS Bulletin* 23: 21–30.
- 27- Shannon C.E., and Weaver A. 1949. *The Mathematical theory of communication*. University of Illinois Press. 350 pp.
- 28- Simpson E. H. 1949. Measurement of diversity. *Nature*. 12: 1–20.
- 29- Smatas R., Tamosiunas K., and Danyte V. 2013. Diversity and sex ratio of thrips (Thysanoptera) species in winter wheat in Lithuania. *Zemdirbyste-Agriculture* 100(3): 289–292.
- 30- Southwood T.R.E., and Henderson P.A. 2000. *Ecological methods*. Blackwell Science, USA.
- 31- Van der Maarel E. 1988. Species diversity in plant communities in relation to structure and dynamics. In: *Diversity and pattern in plant Communities* (eds. During, H. J., Werger, M. J. A. and Williams, H. J.), SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands. pp.1–14.



Survey of Relative Frequency and Biodiversity Indicators Changes of Thrips Species (Insecta: Thysanoptera) in Different Alfalfa Cuttings in Eyvan City (Ilam Province)

M. Mirab-balou^{1*}- B. Miri²

Received: 30-05-2018

Accepted: 13-01-2020

Introduction: Alfalfa (*Medicago sativa* L.), also called lucerne, is the most important forage which cultivated in the most parts of the world. The main source of alfalfa is Southwest Asia, especially Iran. Alfalfa is a perennial forage legume which normally lives four to eight years, but can live more than 20 years, depending on type of its variety and climate. In the most regions, alfalfa is generally harvested three to four times and can be done up to 12 times per year. Many types of insects are found in alfalfa fields including beneficial, and harmful insects, which feed on the leaves, flowers, root and seeds. Amongst them, thrips are a group of insects belonging to the order Thysanoptera. Thrips have been considered in most areas. Different species of thrips have been recorded on alfalfa fields in western Iran i.e. *Odontothrips confusus* Priesner, *Odontothrips iranensis* Mirab-balou et Chen, *Thrips tabaci*, *Frankliniella intonsa* (Trybom), *F. pallida* (Uzel), *Haplothrips reuteri* (Karny) and *Neohydatothrips gracilicornis* (Williams). Therefore, it is critical to determine the biodiversity status of the thrips in order to manage its population.

Materials and Methods: To study the biodiversity of thrips species in different alfalfa cuttings, the sampling was weekly carried out during April to the middle of September 2016 in alfalfa fields (1-year-old, 3-years-old and 4-year-old) of Eyvan city (Ilam province), the west of Iran. The specimens were collected using shaking alfalfa plants in a white tray and transferred them to vials containing 75% ethanol. After transferring to the laboratory, all thrips specimens were mounted onto slides, and identified at the species level. The dominant thrips species were determined and biodiversity of thrips species in different alfalfa cuttings was calculated by biodiversity indices i.e. Shannon-Wiener, Simpson, Margalef and Evenness Shannon.

Results and Discussion: In the present study, 10 thrips species belonging to six genera and four different families were collected and identified from alfalfa fields. Among the collected species, the highest and the lowest frequency was obtained for *Thrips tabaci* (59.12%) and *Tenothrips frici* (0.24%), respectively. According to the calculations, the Shannon-Wiener, Simpson, Margalef and Evenness Shannon indices in 1-year-old alfalfa field were 2.71 ± 0.04 , 0.92 ± 0.04 , 3.49 ± 0.02 and 0.89 ± 0.01 , in 3-year-old alfalfa field were 2.26 ± 0.09 , 0.88 ± 0.009 , 2.58 ± 0.18 and 0.91 ± 0.006 , and in 4-year-old alfalfa field were 2.09 ± 0.14 , 0.85 ± 0.01 , 2.31 ± 0.29 and 0.92 ± 0.01 , respectively. The results showed that the Shannon-Weiner, Simpson and Margalef indices of thrips species in 1-year-old alfalfa field were significantly higher than the 3 and 4-year-old alfalfa, however, the Evenness Shannon in 4-years-old alfalfa field was more than 1-year-old and 3-years-old alfalfa fields, this difference was not significant.

Conclusion: In this study, Shannon-Wiener index values varied between at least 2.09 in a 4-year-old alfalfa and a maximum of 2.71 in a 1-year-old alfalfa fields. The range of Shannon-Weiner index variables from 0 –5 and typically from 1.5 - 3.5. Lower values of this range indicates the presence of tension in the environment and instability, and more than it showed an increasing biodiversity of the area. These values are good in comparison to the range of Shannon-Weiner index variables, which are generally between 1.5 and 3 in their sources. As the age of the plant raises, the amount of food decreases, so, insects less likely tend to establish on the host plants, and their variety will be reduced. *Thrips tabaci* is one of the most important pests with more than 300 host plants in the world. Considering that in the present study *T. tabaci* is a dominant species in the alfalfa fields, its infestation level should be managed correctly with respect to control method.

Keywords: Alfalfa, Diversity indices, Ilam, Onion thrips, Thysanoptera

1- Associate Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

(*- Corresponding Author Email: m.mirabbalou@ilam.ac.ir)

2- Ph.D. Student, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran

ارزیابی لاین‌های پنبه تراریخته در برابر آفات بالپولکدار مهم پنبه در شرایط مزرعه‌ای

سیدالیاس مرتضوی^{۱*} - مرتضی عرب‌سلمانی^۲ - حامد حسن زاده خانکهدانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۰۷

چکیده

به منظور ارزیابی میزان مقاومت سه لاین تراریخته پنبه در برابر آفات بالپولکدار در شرایط مزرعه‌ای و نیز بررسی امکان استفاده از این ارقام در برنامه‌های آزادسازی رقم، پژوهشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در هشت تکرار در استان هرمزگان، میناب اجرا شد. مواد گیاهی شامل دو لاین تراریخته حاوی رویداد تراریزشی MON531 موسوم به لاین‌های A و B، یک رقم تراریخته تجاری حاوی تراژن cryIac به نام CRI به همراه رقم غیرتراریخته ورامین به عنوان شاهد منفی بودند. در این آزمایش مجموعه‌ای از صفات شامل عملکرد، تعداد غوزه، درصد آلودگی غوزه، درصد آلودگی برچه و درصد آسیب به غوزه اندازه‌گیری شده و در نهایت شاخص خسارت نیز مورد محاسبه قرار گرفت. نتایج آنالیزهای ارزیابی‌های وضعیت مقاومت نشان داد که لاین‌های تراریخته مورد آزمایش از نظر صفات مورد بررسی تفاوت معنی‌دار دارند. هم‌چنین، دو لاین تراریخته A و B ضمن داشتن بالاترین عملکرد، دارای کمترین آلودگی و کمترین خسارت از آفات بالپولکدار بوده و رقم غیرتراریخته ورامین، بیشترین خسارت و آلودگی را نشان داد. هم‌چنین، رقم تراریخته CRI از نظر تمامی خصوصیات بین دو گروه تراریخته و غیرتراریخته قرار گرفت. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که در بین لاین‌های تراریخته مورد مطالعه، دو لاین تراریخته A و B دارای مکانیسم مقاومت بالاتری در برابر آفات بالپولکدار هستند و از این رو، امکان استفاده از آنها در برنامه‌های آزادسازی رقم وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: پنبه، شاخص خسارت آفت، لاین تراریخته، مقاومت، *Gossypium hirsutum*

مقدمه

پس از گذراندن انواع آزمایش‌های مزرعه‌ای که تعداد آنها برای هر رویداد تراریزشی به صدها مورد می‌رسید، موفق به اخذ مجوزهای مربوطه شده و در سال ۱۹۹۶ تجاری‌سازی شد (۹).

رهاسازی و تجاری‌سازی یک لاین از محصول تراریخته‌ای مثل پنبه مستلزم گذراندن مراحل آزمایشی مختلفی است. این فرایند، ابتدا مستلزم اثبات کارایی تراژن در ایجاد صفت مورد انتظار و در مرحله دوم، مستلزم آن است که آن لاین تراریخته از نظر سایر صفات زراعی به ویژه عملکرد و نیز خصوصیات کمی و کیفی دیگر وضعیت مناسب و قابل قبولی داشته باشد (۱۰). ارزیابی اولیه کارایی تراژن به صورت معمول در آزمایشگاه و گلخانه انجام می‌گیرد و شامل آنالیزهای مولکولی مختلف و زیست‌سنجی است. سپس این لاین‌های تراریخته وارد آزمایش‌های مزرعه‌ای می‌شوند که از آزمایش‌های مقیاس کوچک تا آزمایش‌های بزرگی در حد هزار هکتاری را در بر می‌گیرد (۶ و ۷). به همین ترتیب، پنبه تراریخته مقاوم به آفات بالپولکدار نیز پیش از رهاسازی و تجاری‌سازی در ایران باید در مزرعه مورد ارزیابی‌های دقیق قرار داده شود.

آفات بالپولکدار متعددی هستند که به گیاه پنبه حمله کرده و خسارت زیادی به آن وارد می‌کنند. کرم غوزه پنبه (*Helicoverpa*

خسارت وسیع آفات پنبه به ویژه آفات بالپولکدار و هزینه بسیار بالای مدیریت این آفات با روش‌های شیمیایی و اثرات جانبی زیست‌محیطی آن، و نیز مشکلات مربوط به استفاده از آفت‌کش‌های زیستی در کنترل آفات، دانشمندان و متخصصین را در اوایل دهه ۹۰ قرن گذشته به این نتیجه رساند که قابلیت‌های مهندسی ژنتیک به عنوان یک فناوری نوظهور می‌تواند در مدیریت آفات پنبه نیز مورد بهره‌برداری قرار گیرد (۹ و ۱۴). از این رو، گیاه پنبه از اولین گیاهان تراریخته‌ای بوده است که با دریافت ژن‌های پروتئین کریستالی موسوم به ژن‌های cry، وارد آزمون‌ها و ارزیابی‌های مزرعه‌ای شده و

۱- استادیار بخش مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
(Email: mortazavi@abrii.ac.ir)
(*) نویسنده مسئول:

۲- استادیار بخش تحقیقات پنبه، مرکز تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ورامین، ایران

۳- محقق بخش تحقیقات زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، ایران

کرم‌های خاردار (*Earias vittella*)، کرم‌های *(armigera Hübner)*، کرم سرخ پنبه *(Earias insulana Boisduval و Fabricius)*، کرم برگ‌خوار پنبه *(Pectinophora gossypiella Saunders)*، و کرم نیم‌وجبی پنبه (*Anomis flava*) *(Spodoptera litura F.)* از جمله مهمترین آفات (۱). در ایران برخی از این آفات از جمله کرم سرخ و کرم نیم‌وجبی فعلاً جزو آفات قرنطینه‌ای هستند و اگرچه گزارش‌هایی مبنی بر مشاهده آنها وجود دارد، ولی با اعمال مقررات قرنطینه‌ای خسارت قابل مشاهده‌ای در نواحی پنبه‌کاری ندارند. با این وجود، خسارت سایر آفات بالپولکدار قابل توجه است (۲).

ترکیب جمعیت آفات مختلف بالپولکدار در مناطق مختلف متفاوت است و علاوه بر این، این آفات دارای بیوتیپ‌های مختلفی نیز هستند. معنای عبارت فوق آن است که در جمعیت طبیعی آفات تنوع ژنتیکی وجود دارد که امکان تغذیه محدود بر روی لاین‌های تراریخته حاوی پروتئین کریستالی را به آنها می‌دهد. از این رو، ارزیابی لاین‌های تراریخته در مناطق مختلفی انجام می‌شود تا میزان مقاومت واقعی آنها در مزرعه در برابر این آفات متنوع، بیشتر و بهتر ارزیابی شود. در ایران، تحقیقات بسیاری در خصوص تولید ارقام تراریخته صورت گرفته است و لاین‌های مختلفی از پنبه حاوی تراژن پروتئین کریستالی تولید شده است. پس از ارزیابی اولیه تعدادی لاین تراریخته پنبه در منطقه ورامین در استان تهران (مرتضوی و همکاران، داده‌های در حال انتشار)، چند لاین تراریخته که بیشترین مقاومت را در برابر آفات بالپولکدار نشان دادند، مورد انتخاب قرار گرفتند. ارزیابی دقیق‌تر این لاین‌ها از نظر این مقاومت و نیز بررسی پتانسیل عملکرد این لاین‌ها، هدف مطالعه حاضر بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش، دو لاین تراریخته پنبه با ژن *cryIAC* حاوی رویداد MON531 که به روش تلاقی برگشتی تولید شده موسوم به لاین‌های A و B، یک لاین تراریخته تجاری حاوی تراژن *cryIAC* با منشأ کشور چین با کد CRI و رقم غیرتراریخته ورامین به عنوان شاهد بود. لاین‌های تراریخته A و B پیش از این در یک آزمون مقدماتی برای ارزیابی مقاومت به آفات بالپولکدار، مقاومت نسبی از خود نشان داده بود. آزمایش در فصل زمستان ۱۳۹۴ و بهار ۱۳۹۵ در مزارع ایستگاه تحقیقات گیاهان گرمسیری میناب واقع در استان هرمزگان انجام شد. با توجه به سابقه کشت پنبه در سنوات دور در منطقه آزمایش، از این رقم غیرتراریخته ورامین به عنوان شاهد منفی استفاده شد.

آزمایش در قالب یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۸ تکرار اجرا شد. هر کرت دارای ۸ ردیف ۸ متری بود که فاصله ردیف‌ها از

هم، ۸۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف‌ها، ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شده بود. زمان کاشت با توجه به سابقه کشت در منطقه و اجتناب از دمای صفر فیزیولوژیک پنبه در آن منطقه، ۱۲ دی‌ماه در نظر گرفته شد. بلافاصله پس از کاشت که به صورت دستی انجام شد، آبیاری به صورت تحت فشار و با استفاده از قرار دادن نوار در فاروها صورت پذیرفت و در تمام طول فصل رشد به همین ترتیب ادامه یافت.

مراقبت‌های زراعی دیگر شامل کوددهی و وجین مطابق روش معمول در پنبه بر روی مزرعه آزمایشی اعمال می‌شد. این اقدامات شامل کوددهی با استفاد از کود دامی یک بار و فسفات آمونیوم دو بار در طول فصل و مجموعاً به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار انجام شد. کوددهی اولیه در هنگام ۵ تا ۶ برگ شدن بوته‌ها و بار دوم یک ماه بعد هنگامی که ارتفاع بوته‌ها به حدود ۴۰ سانتی‌متر رسیده بود صورت گرفت.

با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه و استعداد رشد علف‌های هرز، وجین در تمام طول فصل به صورت مستمر و هفتگی انجام شد تا بوته‌های پنبه به استقرار کامل برسند و با پوشاندن زمین و سایه‌اندازی، مانع رشد علف‌های هرز شوند. از آن پس، وجین به صورت ماهانه انجام می‌شد.

از آنجا که بیشتر آفات بالپولکدار پنبه نظیر کرم غوزه و کرم خاردار، پلی‌فاژ بوده و به طور معمول بر روی سایر گیاهان زراعی منطقه زندگی می‌کنند، برای ارزیابی وضعیت مقاومت لاین‌ها و ارقام مورد آزمایش در برابر آفات بالپولکدار، از آلودگی طبیعی منطقه به این آفات شامل کرم غوزه (*Helicoverpa armigera Hübner*)، کرم‌های خاردار (*Earias vittella Fabricius*) و *(Earias insulana Boisduval)* و کرم برگ‌خوار (*Spodoptera litura F.*) در ابتدای بهار استفاده شد. همچنین، جهت حفظ افزایش جمعیت آفات، هیچ گونه سمپاشی یا روش مبارزه مکانیکی دیگری بر علیه آفات انجام نشد.

نمونه‌برداری‌ها شامل شمارش تعداد غوزه در بوته، تعداد غوزه آلوده در بوته، تعداد برچه آلوده در بوته، تعداد آسیب به غوزه در بوته، و محاسبه شاخص خسارت بر اساس فرمول کوک و همکاران (۲۰۰۶) بر اساس شمارش در ۶ بوته در دو زمان برداشت یکی در نیمه دوم اردیبهشت ماه و بار دوم در نیمه دوم خردادماه انجام شد. شاخص آلودگی بر اساس رابطه زیر مورد محاسبه قرار گرفت:

$$D_i = \sum [(x_i \cdot f_i) / \sum f_i] \cdot (100/n) = [(x_{1.0}) + (x_{2.1}) + \dots + (x_{6.5})] / \sum f_i$$

در این فرمول، D_i شاخص آلودگی، x_i تعداد برچه آلوده در یک غوزه که می‌تواند از صفر تا ۵ برچه را به خود بگیرد، f_i تعداد غوزه‌های دارای x_i برچه آلوده، n غوزه نام شمارش شده و n تعداد

شکل ۲ خلاصه شده است. این شکل نشان می‌دهد که لاین‌های تراریخته A و B در هر دو برداشت بیشترین تعداد غوزه در بوته را داشته‌اند. میانگین تعداد غوزه لاین A در بوته در برداشت اول و دوم به ترتیب برابر ۳۰ و ۵۷ غوزه و برای لاین B به ترتیب ۳۱ و ۵۸ غوزه بود. لاین تراریخته CRI با ۲۶ غوزه در بوته در برداشت اول اختلاف معنی‌داری با این دو لاین نداشت ولی اختلاف آن با رقم ورامین که با ۲۴ غوزه کمترین تعداد غوزه در بوته را به خود اختصاص داد، نیز معنی‌دار اعلام نشد. با این وجود، این لاین با ۴۱ غوزه در بوته در برداشت دوم اختلاف معنی‌داری با لاین‌های A و B از خود نشان داد و با رقم غیرتراریخته ورامین با ۳۸ غوزه در بوته در یک گروه قرار گرفت.

اهمیت صفت تعداد غوزه در بوته در این آزمایش فقط به خاطر اینکه یکی از اجزای اصلی عملکرد است، نیست؛ بلکه اهمیت آن بیشتر از جهت اثر آن بر ارزیابی مقاومت لاین‌ها در برابر آفات بالپولکدار است. به صورت نظری، هر چه تعداد غوزه بیشتری بر روی یک بوته وجود داشته باشد، امکان در معرض آفت قرار گرفتن آن غوزه‌ها بیشتر است؛ به عبارت دیگر در شرایط توزیع یکنواخت آفت در مزرعه آزمایشی با احتمال بیشتری مورد هجوم آفات قرار خواهد گرفت. در چنین شرایطی اگر صرفاً تعداد غوزه‌های آلوده مد نظر قرار داده شود، این امکان وجود دارد که لاین دارای غوزه بیشتر به اشتباه به عنوان لاین حساس به آفات در نظر گرفته شود؛ زیرا تعداد غوزه‌های آلوده بیشتری خواهد داشت (۵ و ۱۴). برای حل این مشکل، تعداد غوزه‌های آلوده بر روی یک بوته را به عنوان نسبتی از غوزه‌های موجود بر روی آن بوته در نظر می‌گیرند و در آنالیزها مورد استفاده قرار می‌دهند. علاوه بر این، از آنجا که تولید و بقای غنچه پیش‌نیاز تولید غوزه در مراحل رشدی بعدی است، و نیز با توجه به بسیار حساس بودن این اندام در برابر تغذیه آفات بالپولکدار، برتری لاین‌های تراریخته از نظر صفت تعداد غوزه در بوته به معنای اثربخشی این مقاومت در بقای غنچه و گل و در نهایت تشکیل غوزه و باردهی نیز هست.

مقایسه‌های میانگین درصد آلودگی غوزه در لاین‌های در دست مطالعه که به صورت جداگانه در دو برداشت مجزا انجام شده بودند، در شکل ۳ خلاصه‌سازی شده و نشان داده شده‌اند. این شکل نشان می‌دهد که طبق انتظار، رقم غیرتراریخته ورامین در دو برداشت اول و دوم به ترتیب با ۱۳ و ۳۲ درصد آلودگی غوزه در شرایط انجام آزمایش بیشترین مقدار آلودگی را دارا بود. رقم تراریخته CIR از این نظر در رتبه دوم قرار گرفت و در دو برداشت مجزا به ترتیب ۶ و ۱۶ درصد آلودگی نشان داد. در همین شرایط لاین‌های تراریخته A و B به ترتیب با ۱/۳ و ۱/۵ درصد آلودگی در برداشت اول و ۱/۶ و ۱/۹ درصد آلودگی در برداشت دوم، کمترین میزان آلودگی را دارا بوده و در رتبه آخر قرار گرفتند. همگام با این نتایج، آزمایش‌های اجرا شده در

برچه در هر غوزه هستند که معمولاً ۵ برچه در یک غوزه وجود دارد. در نهایت، عملکرد هر کرت نیز با جمع‌آوری و ش از مساحت چهار متر مربع در هر کرت مورد محاسبه قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از مدل آماری مربوطه و نرم‌افزار SAS (۱۲) مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش تکمیلی بررسی مقاومت لاین‌های تراریخته برتر نسبت به آفات بالپولکدار در جدول ۱ ارائه شده است. این جدول نشان می‌دهد که لاین‌های مورد مطالعه از نظر کلیه صفات مورد بررسی به جز درصد آسیب به غوزه اختلاف بسیار معنی‌دار از خود نشان می‌دهند.

مقایسه میانگین برای عملکرد لاین‌ها در برداشت (چین) اول، برداشت دوم و عملکرد کل در شکل ۱ آورده شده است. این شکل نشان می‌دهد که عملکرد لاین تراریخته A در هر سه برداشت از سایر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بیشتر است، به طوری که لاین A در برداشت اول، برداشت دوم و عملکرد کل به ترتیب برابر ۱۵۶۰، ۳۴۸۱ و ۵۰۴۱ کیلوگرم بر هکتار عملکرد و ش از خود نشان داد. این ارقام برای لاین تراریخته B به ترتیب برابر ۱۰۵۶، ۳۴۱۰ و ۴۴۶۶ کیلوگرم بر هکتار بود. نکته بارز در این میان آن است که این دو لاین در برداشت اول دارای تفاوت معنی‌دار بودند ولی تفاوت آنها در عملکرد کل غیرمعنی‌دار شناخته شد. این نتیجه می‌تواند به معنای اندکی دیررس‌تر بودن لاین B اشاره داشته باشد. با این وجود، در این مطالعه امکان بررسی دقیق زمان رسیدگی لاین‌های مورد مطالعه وجود نداشت.

شکل ۱ هم‌چنین نشان می‌دهد که عملکرد و ش لاین CRI در رتبه سوم قرار گرفت و در برداشت اول، دوم و عملکرد کل به ترتیب به نتایج ۶۷۰، ۲۷۱۲ و ۳۳۸۲ کیلوگرم بر هکتار دست یافت. عملکرد این لاین که به عنوان یک رقم تراریخته تجاری در کشور چین مورد استفاده است، از عملکرد رقم غیرتراریخته ورامین (در برداشت اول، دوم و عملکرد کل به ترتیب مقادیر ۶۰۳، ۲۴۶۹ و ۳۰۷۱ کیلوگرم بر هکتار) بیشتر بود. واضح است که رقم ورامین به عنوان یک رقم غیرتراریخته شناخته‌شده، کمترین عملکرد را از خود نشان داد. بر مبنای این نتایج مقایسه عملکرد می‌توان نتیجه گرفت که پتانسیل عملکرد لاین‌های تراریخته A و B مناسب است. به عبارت دیگر این پتانسیل نه تنها از عملکرد رقم رایج ورامین بیشتر است، بلکه از توانایی عملکردی رقم تراریخته شاهد مثبت CRI نیز بالاتر است. با این وجود، مقاومت این لاین‌ها در برابر آفات بالپولکدار به ترتیبی که در پی خواهد آمد نیز در این افزایش عملکرد نقش داشته است.

یکی از اجزای مهم عملکرد، صفت تعداد غوزه در بوته است. مقایسه میانگین لاین‌ها برای این صفت در هر دو زمان برداشت در

استرالیا، چین و هند نشان داد که پنبه تراریخته قادر است جمعیت آفات بالپولکدار شامل کرم غوزه، کرم خاردار و کرم صورتی را به طور موثری کنترل کند (۸، ۱۰ و ۱۳).

همانگونه که پیش از این عنوان شد، صفت درصد آلودگی غوزه مهمترین شاخص ارزیابی مقاومت لاین‌ها نسبت به آفات بالپولکدار است. با این وجود، گاهی مقاومت برخی از لاین‌های تراریخته به گونه‌ای است که میزان پروتئین کریستالی تولید شده و تجمع یافته در اندام‌ها به حدی نیست که از آلوده شده غوزه به آفت به طور کامل

جلوگیری کند. در این شرایط لارو آفت موفق به ورود به غوزه می‌شود ولی همان مقدار پروتئین کریستالی موجود در غوزه‌ها باعث جلوگیری از نشو و نمای سریع لارو می‌شود. در برخی از شرایط نیز، لارو آفت به تازگی وارد غوزه شده و هنوز مراحل رشدی خود را طی نکرده است. نتیجه این وضعیت‌ها در زمان ثبت صفات، مشاهده آلودگی فقط قسمت کوچکی از غوزه و سالم ماندن سایر قسمت‌های آن غوزه خواهد بود. برای ارزیابی و کمی‌سازی این وضعیت از صفت درصد آلودگی برچه استفاده می‌شود.

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس برای عملکرد و داده‌های تبدیل شده صفات مرتبط با مقاومت به آفات بالپولکدار پنبه در آزمایش تکمیلی بررسی مقاومت لاین‌های تراریخته پنبه نسبت به آفات

Table 1- Analysis of variance for yield and transformed data of traits related to resistance against Lepidoptera pests

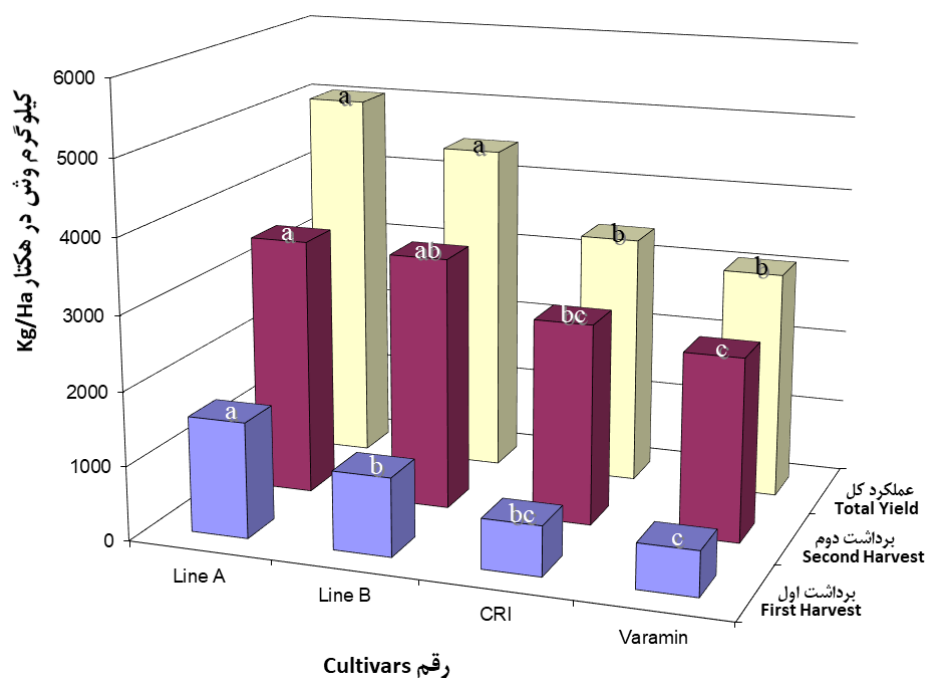
منابع تغییر	Mean squares مربعات			CV (%)	R ² (%)
Source of variation	Replication تکرار	Cultivar رقم	Error خطا		
عملکرد برداشت اول Yield 1 (1 st harvest)	92567 ^{ns}	1546408 ^{**}	96251	32	72
عملکرد برداشت دوم Yield 2 (2 nd Harvest)	1390573 ^{**}	1645389 ^{**}	268440	17	74
عملکرد کل Total Yield	162350 [*]	6784331 ^{**}	490809	18	75
تعداد غوزه در بوته (۱) Number of boll per plant (1)	2.47 ^{ns}	6.13 ^{**}	1.37	23	13
درصد آلودگی غوزه (۱) Boll contamination % (1)	0.0096 ^{ns}	0.65 ^{**}	0.0161	12	41
درصد آلودگی برچه (۱) Locule contamination % (1)	0.0042 ^{ns}	0.0974 ^{**}	0.0053	16	25
درصد آسیب به غوزه (۱) Boll injuries % (1)	0.0128 ^{**}	0.0033 ^{ns}	0.0038	6	13
شاخص خسارت (۱) Damage index % (1)	0.22 ^{ns}	14.50 ^{**}	0.34	50	42
تعداد غوزه در بوته (۲) Number of boll per plant (2)	3.91 ^{ns}	12.11 ^{**}	2.24	17	29
درصد آلودگی غوزه (۲) Boll contamination % (2)	0.012 ^{ns}	0.96 ^{**}	0.0319	11	57
درصد آلودگی برچه (۲) Locule contamination % (2)	0.0071 ^{ns}	0.1308 ^{**}	0.0107	13	34
درصد آسیب به غوزه (۲) Boll injuries % (2)	0.0143 ^{**}	0.0058 ^{ns}	0.0047	9	42
شاخص خسارت (۲) Damage index % (2)	0.26 ^{ns}	15.23 ^{ns}	0.41	45	51

درجه آزادی اثرهای تکرار، رقم و خطا به ترتیب برابر ۳، ۷ و ۲۱ بوده است.

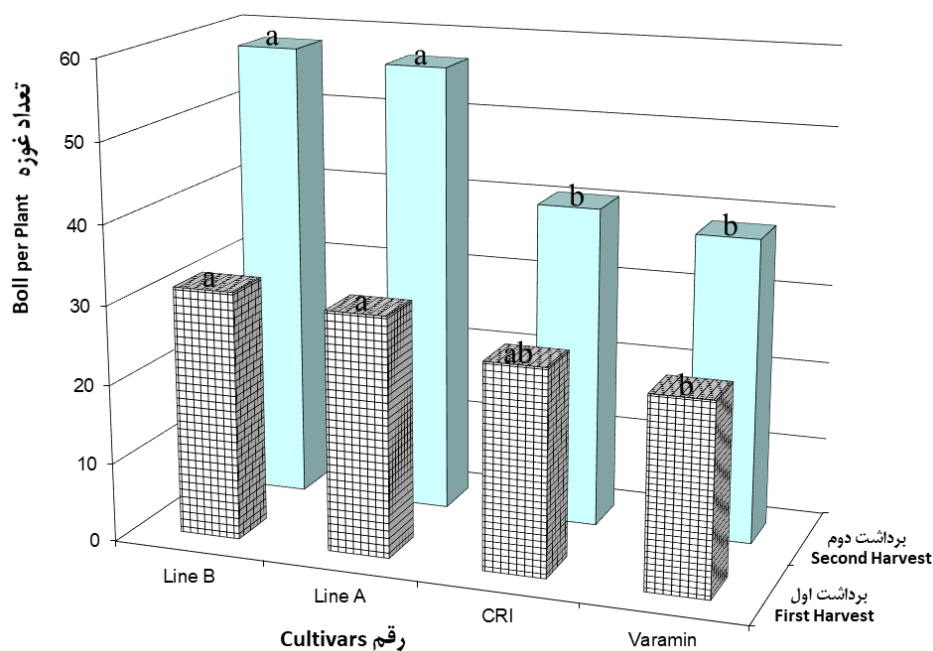
Degree of freedom for replication, cultivar and error effects are 7, 3 and 21, respectively.

ns, * و ** به ترتیب به معنای غیرمعنی‌دار، معنی‌دار ($\alpha=0.05$) و بسیار معنی‌دار ($\alpha=0.01$) هستند.

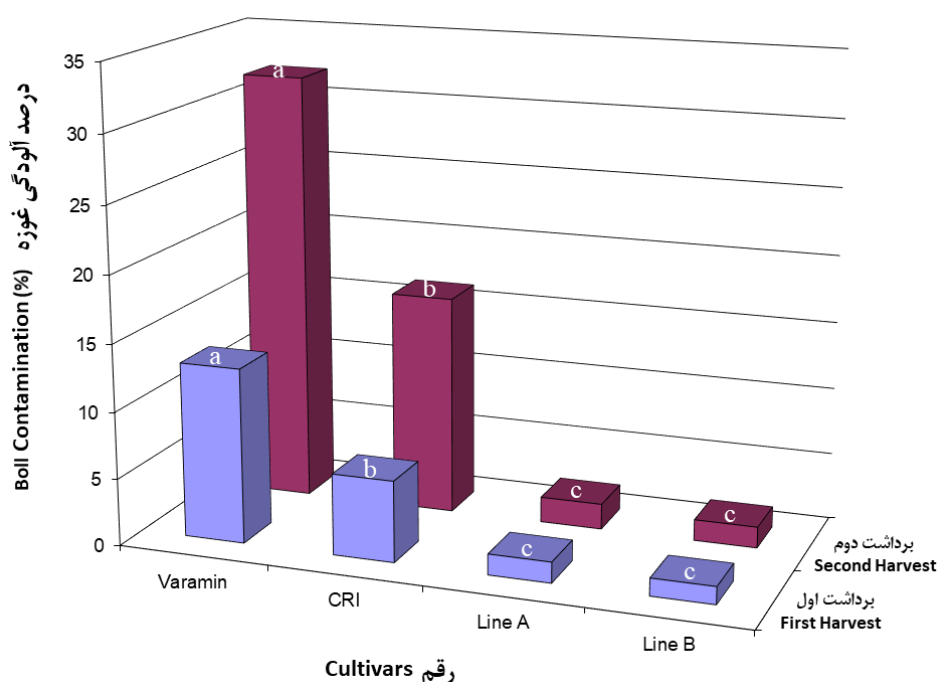
ns, * and ** mean non-significant, significant ($\alpha=0.05$) and very significant ($\alpha=0.01$), respectively.



شکل ۱- مقایسه‌های میانگین لاین‌های مورد مطالعه برای عملکرد و ش در برداشت اول، دوم و عملکرد کل جداگانه انجام شده و در اینجا خلاصه‌سازی شده‌اند. این شکل نشان می‌دهد که عملکرد لاین تراریخته A در هر سه وضعیت از سایر ارقام مورد مطالعه بیشتر است.
Figure 1- Illustration of mean comparison for cotton yield of lines in the first harvest, second harvest and total yield
 The figure shows that transgenic A line exhibited the best scores in all three traits.



شکل ۲- مقایسه‌های میانگین لاین‌های مورد مطالعه برای صفت تعداد غوزه در بوته در دو برداشت که به صورت جداگانه مورد محاسبه قرار گرفته‌اند. این شکل نشان می‌دهد که لاین‌های تراریخته A و B بیشترین تعداد غوزه در بوته را دارا بوده‌اند.
Figure 2- Illustration of mean comparison for number of boll per plant in two individual scores
 The figure demonstrates that the transgenic A and B lines have kept the most boll per plant.



شکل ۳- مقایسه‌های میانگین درصد آلودگی غوزه در لاین‌های مورد مطالعه در دو برداشت

که به صورت جداگانه مورد محاسبه قرار گرفته‌اند. این شکل نشان می‌دهد که لاین‌های تراریخته A و B کمترین میزان آلودگی غوزه به آفات بالپولکدار را نشان می‌دهند.

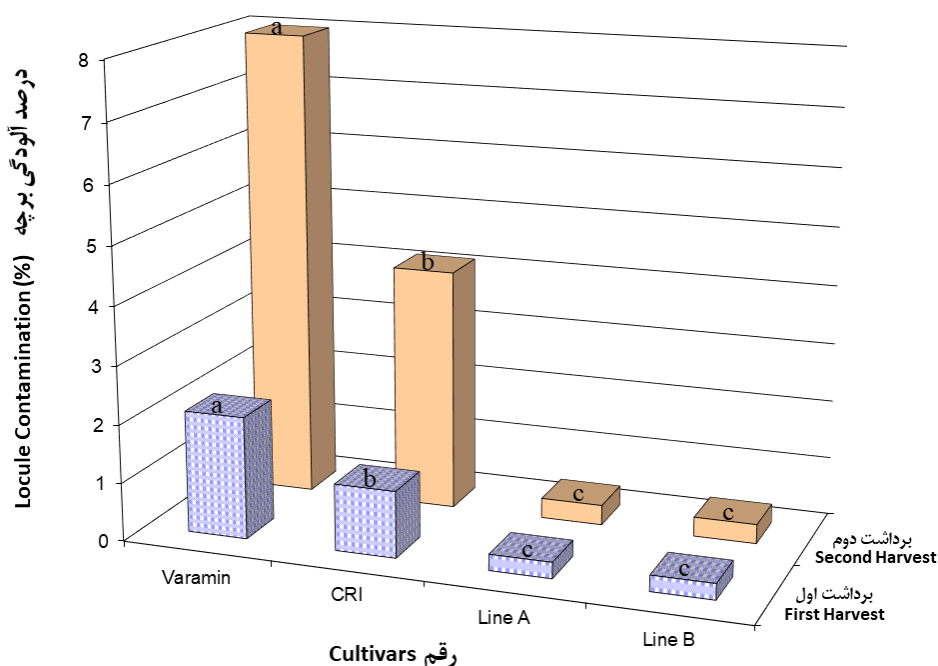
Figure 3- Illustration of mean comparison for percentage of contaminated bolls in two individual scores
The figure shows that the least percentage of contaminated bolls was occurred on the transgenic A and B lines.

مورد مطالعه در این آزمایش در شکل ۵ آورده شده است. همانگونه که در شکل برمی‌آید، بیشترین خسارت به تولید پنبه در لاین‌های مورد مطالعه در هر دو برداشت اول و دوم به ترتیب با مقادیر ۳/۴ و ۱۲/۱ درصد مربوط به رقم ورامین است. رقم تراریخته CRI نیز در هر دو برداشت اول و دوم با مقادیر ۲ و ۵/۶ درصد از نظر این شاخص در گروه دوم قرار گرفت که با هر دو گروه دیگر اختلاف معنی‌دار نشان داد. ولی کمترین خسارت در لاین‌های تراریخته A و B مشاهده شد. خسارت به لاین A در برداشت اول و دوم به ترتیب برابر ۰/۷۵ و ۰/۵۶ درصد و خسارت به لاین B در برداشت اول و دوم به ترتیب ۰/۴۶ و ۰/۶۹ درصد مورد محاسبه قرار گرفت (شکل ۵). علاوه بر این، این شکل نشان می‌دهد که میزان خسارت دو رقم CRI و ورامین در برداشت دوم افزایش یافته است. این نتیجه با در نظر گرفتن وجود طغیان آفت در اواخر ماه خرداد و پس از برداشت اول قابل توجیه است. با این وجود، میزان خسارت لاین‌های تراریخته A و B در برداشت دوم کاهش نشان می‌دهد. این نتیجه بدان معناست که آفات بالپولکدار در حدفاصل برداشت اول و دوم (حدود سه ماه) نتوانسته‌اند بر روی لاین‌های تراریخته به تغذیه خود ادامه دهند.

مقایسه‌های میانگین‌های درصد آلودگی برچه در دو برداشت مجزا در شکل ۴ خلاصه شده است. این شکل نشان می‌دهد که رقم ورامین بالاترین درصد آلودگی برچه را در هر دو برداشت اول و دوم داشته است و رقم CRI از این نظر در رتبه بعدی قرار گرفته است. میزان آلودگی رقم ورامین در برداشت اول و دوم به ترتیب برابر ۲ و ۸ درصد بود و مقادیر مربوط به رقم CRI به ترتیب برابر ۱/۱ و ۴/۱ درصد به دست آمد. شکل ۴ نشان می‌دهد که لاین‌های تراریخته B و A از نظر این صفات نیز نسبت به دو رقم دیگر وضعیت بهتری داشته‌اند. درصد آلودگی برچه برای برداشت اول و دوم لاین تراریخته B به ترتیب ۰/۲۷ و ۰/۳۳ درصد و برای لاین تراریخته A به ترتیب ۰/۲۸ و ۰/۳۴ درصد به دست آمد.

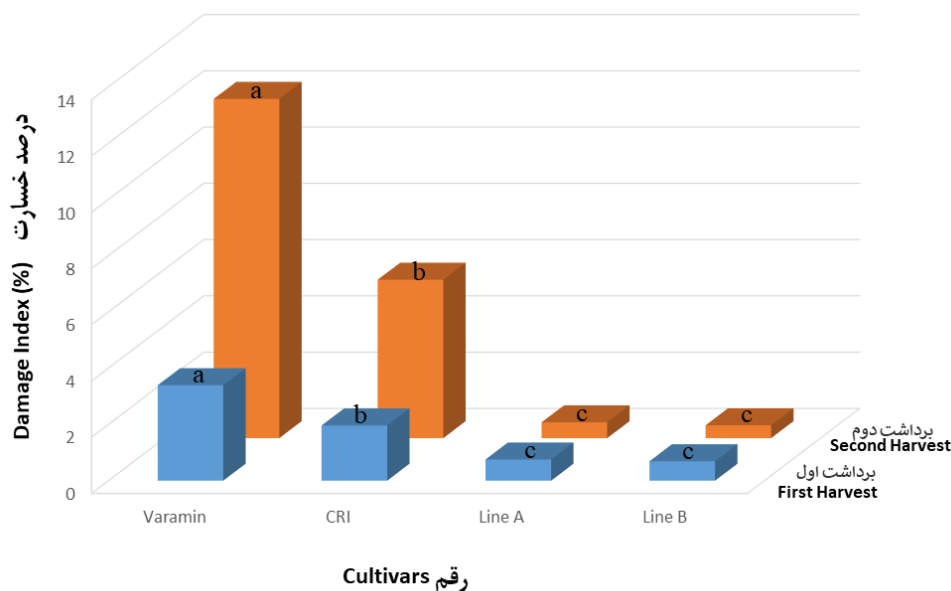
صفت درصد آسیب به غوزه‌ها در تجزیه واریانس (جدول ۱) معنی‌دار اعلام نشد. این بدان معناست که لاین‌های مورد آزمایش به صورت یکنواخت در معرض آفات قرار گرفته‌اند. هرچند که اختلاف بین تکرارها برای این صفت، معنی‌دار اعلام شد. این نتیجه به این معناست که هجوم آفات از یک سمت به مزرعه انجام شده است. این وضعیت به شرایط جغرافیایی منطقه آزمایش و وجود مزارع دیگری مثل گوجه‌فرنگی و بادمجان در منطقه که میزبانان دیگر کرم غوزه پنبه هستند، مربوط می‌شود.

مقایسه میانگین شاخص خسارت آفات بالپولکدار در لاین‌های



شکل ۴- مقایسه‌های میانگین‌های درصد آلودگی برچه در لاین‌های مورد مطالعه در دو برداشت جداگانه
این شکل نشان می‌دهد که لاین‌های تراریخته A و B کمترین میزان آلودگی برچه را بروز داده‌اند.

Figure 4- Illustration of mean comparison for percentage of contaminated locules in two separated scores
Based on the results, the transgenic A and B lines exhibited the least contamination among the studied lines.



شکل ۵- مقایسه میانگین شاخص خسارت به تولید پنبه در لاین‌های مورد مطالعه در آزمایش تکمیلی بررسی اثر آفات بالپولکدار بر روی لاین‌ها
این شکل نشان می‌دهد که لاین‌های تراریخته A و B کمترین خسارت را از آفات بالپولکدار به خود دیده‌اند.

Figure 5- Illustration of mean comparison for damage index of the lines in response to the feeding of Lepidoptera pests
The figure illustrated that the damage index of the transgenic A and B lines are much less than other studied lines.

این میزان برای لاین‌های تراریخته A و B در حدود یک درصد و برای لاین تراریخته CRI حدود ۸ درصد است. لاین تراریخته CRI در کشور چین به صورت رقم تجاری مورد استفاده قرار دارد. در مجموع، ارزیابی میزان مقاومت ژنوتیپ‌های مورد بررسی در برابر آفات بالپولکدار نشان داد که لاین‌های تراریخته A و B با داشتن پتانسیل عملکرد مناسب و نیز وجود مقاومت خوب در برابر این آفات این قابلیت را دارد که پس از گذراندن آزمون‌های مربوط به سازگاری و آزمون‌های ثبت رقم و نیز دریافت مجوزهای لازم از مراجع قانونی ذی‌صلاح به عنوان رقم جدید معرفی شود.

آزمایش حاضر با هدف ارزیابی دقیق میزان مقاومت ژنوتیپ‌های مورد بررسی در برابر آفات بالپولکدار و نیز بررسی پتانسیل عملکرد این لاین‌ها و در نهایت، امکان معرفی این لاین‌های تراریخته به عنوان ارقام جدید اجرا شد. نتایج نشان دادند که از نظر عملکرد، لاین‌های تراریخته A و B در مقایسه با رقم شناخته‌شده‌ای مانند ورامین، پتانسیل عملکرد بالاتری دارند (شکل ۱). به طور قطع بخشی از این توانایی به قابلیت این لاین‌ها برای جلوگیری از گسترش آفات بالپولکدار (شکل‌های ۲، ۳، ۴ و ۵) بر می‌گردد. مقایسه شاخص خسارت نشان می‌دهد که رقم غیرتراریخته ورامین در مجموع دو برداشت بیش از ۱۵ درصد خسارت را متحمل شده است. در حالی که

منابع

- 1- Behere G.T., Tay W.T., Russell D.A., Kranthi K.R., and Batterham P. 2013. Population Genetic Structure of the Cotton Bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in India as Inferred from EPIC-PCR DNA Markers. PLoS ONE 8(1): e53448. doi:10.1371/journal.pone.0053448.
- 2- Cooke B.M., Gareth Jones D., and Kaye B. 2006. The Epidemiology of Plant Diseases. Springer, pp. 61.
- 3- Darvish Mojeni T., 2015. The Cotton Pests and Controls, Norouzi Press, 74 p.
- 4- Fleming D., Musser F., Reisig D., Greene J., Taylor S., Parajulee M., Lorenz G., Catchot A., Gore J., Kerns D., Stewart S., Boykin D., Caprio M., and Little N. 2018. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* cotton on insecticide use, heliothine counts, plant damage, and cotton yield: A meta-analysis, 1996-2015. PLoS ONE 13(7): e0200131.
- 5- Freese W., and Schubert D. 2004. Safety testing and regulation of genetically engineered foods. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews 21: 1-24.
- 6- Govindan K., Gunasekaran K., and Kuttalam S. 2012. Evaluation of Indian transgenic Bt cotton and non Bt cotton against *Spodoptera litura* Fab. (Nuctuidae: Lepidoptera) fourth and fifth instar larvae. Journal biopest 5(2): 171-177.
- 7- Heravi P. 2016. Advances in Cotton IPM. Handbook of Cotton Research Institute of Iran. 60 p.
- 8- Kannan M., and Uthamasamy S. 2006. Abundance of arthropods on transgenic Bt and non-Bt cotton. Journal of Applied Zoological Researches 17: 145-149.
- 9- James C. 1996. Global Review of the Field Testing and Commercialization of Transgenic Plants: 1986 to 1995. The International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications.
- 10- Jeyakumar P., Tanwar R.K., Jat M.C., Dhandapani A., Bambawale O.M., and Monga D. 2007. *Spodoptera litura*: An emerging pest on bt cotton (cry 1Ac) under north Indian conditions. Pesticide Research Journal 19: 197-200.
- 11- Kohli A., Miro B., and Twyman R.M. 2010. Transgene Integration, Expression and Stability in Plants: Strategies for Improvements. In: Transgenic Crop Plants, Vol 1: Principles and Development, Edited by: Cole C., Michler C.H., Abbott A.G., Hall T.C. Springer, pp 201-238.
- 12- SAS Institute. 1993. SAS/STAT User's Guide, Version 6. Fourth Edition. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA.
- 13- Wan P., Wu K., Huang M., Yu D., and Wu J. 2008. Population dynamics of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) on Bt cotton in the Yangtze River valley of China. Environmental Entomology 37: 1043-1048.
- 14- Williams M.R. 2016. Cotton insect losses. Mississippi State University; 1986-2015. [Available from: <http://www.entomology.msstate.edu/resources/cottoncrop.asp>].



Field Evaluation of Yield and Lepidopteran Pest Resistance in Three Transgenic Cotton Lines

S.E. Mortazavi^{1*} - M. Arabsalmani² - H. Hassanzadeh Khankahdani³

Received: 12-09-2018

Accepted: 28-12-2019

Introduction: The most threatening factor in cotton production worldwide is Lepidoptera pests. The pest management using chemicals imposes huge costs and environmental side effects. Introduction of genetic engineering as a modern technology has opened a new insight for investigators to control the pests through transgenic pest resistant varieties. Cotton was the first transgenic crop which received *cry* genes, and introduced to farmers after numerous field trials. The field trials on evaluation of transgenic lines are a complex process in three levels comprising mini, mid and large scale trials, but the first step in this process is evaluation of transgene in the field condition along with considering other important crop properties. There are several Lepidoptera pests causing damage to cotton in nearly all cotton producing areas worldwide. However, bollworm (*Helicoverpa armigera* Hübner) and spiny cotton bollworms (*Earias vittella* Fabricius and *Earias insulana* Boisduval) are the most the most important pests in Iran. Also, there are many biotypes among different geographical populations. This fact implies that the transgenic lines should be tested in different locations within a country. A number of research works has been conducted to produce transgenic cotton via both modern biotechnology and traditional backcrosses in Iran. As a result, some different transgenic lines harbouring *cry* genes were produced. Primary evaluation of these transgenic lines was resulted to a few lines exhibited the most resistance characters against the pests. More precise evaluation of the lines for pest resistance traits and yield was done in this study.

Materials and Methods: Three transgenic lines harbouring *cryIAC* gene comprising A, B and CRI lines along with a non-transgenic variety as negative control (Varamin) were used in the experiment. The experiment was conducted in a Lepidoptera pest affected farm at Minab, Hormozgan from June to July of 2015. A complete randomized block design with eight replications was adopted as the statistical model. Each plot consisted of eight lines with 8 meters length in which the distance between lines were 80 cm. All agricultural operations including irrigation, fertilizer and weeding were carried out according to local recommendations. During growing season, some properties related to the pest resistance including number of bolls per plant, percentage of contaminated bolls, percentage of contaminated locule, and percentage of boll injuries were recorded, and damage index was then calculated. The varieties yield was recorded as well. All traits were recorded on two separate dates i.e. June and July, 2015. The data were analyzed using SAS software according to the adopted statistical model.

Results and Discussion: Analysis of variance showed that all recorded traits in the experiment were significant for cultivars effect, except for boll injuries percentage. Primarily, the current results demonstrate that all cultivars were exposed to the pest equally. Other traits including number of bolls per plant, percentage of contaminated bolls, percentage of contaminated locule, damage index and yield differed significantly between the cultivars. The mean comparison for number of boll per plant showed that transgenic A and B (transgenic) lines produced and kept the most boll number, and CRI transgenic line and Varamin cultivar ranked as the second. This trait is very important, because it not only acts as a yield component, but also involves in resisting against pests. The mean comparison for contaminated boll and contaminated locule traits showed that non-transgenic Varamin cultivar had the largest contamination amounts. In contrast, transgenic A and B lines exhibited the least contamination for both traits.

The most important trait expressing resistance is damage index. The lowest damage index was calculated for B line (0.69 and 0.46% in June and July, respectively) and A line (0.75 and 0.56% in June and July,

1- Assistant Professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research, Extension and Education (AREEO), Karaj, Iran

(*- Corresponding Author Email: mortazavi@abrii.ac.ir)

2- Assistant Professor, Tehran Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Extension and Education (AREEO), Qoddousi Boulevard, Varamin, Tehran, Iran

3- Researcher of Horticulture Crop Research Department of Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Hormozgan, Bandar abbas, Iran

respectively), and CRI line ranked as the second (2 and 5%). Meanwhile, the damage index of Varamin cultivar in this experiment was 3.8 and 11.5% in June and July, respectively. The damage index for A and B transgenic lines in the first and second recording show a downward pattern in contrast to CRI line and Varamin cultivar. Hence, Lepidoptera pests does not succeed in feeding on the A and B lines. Moreover, A and B lines exhibited the best yield (5041 and 4466 kg/ha, respectively), and the CRI line ranked as the second (3382 kg/ha). The Varamin cultivar yield was 3071 kg/ha which was the least record.

Conclusion: In general, two out of three transgenic lines comprising A and B lines had the best yield, the minimum contaminations and injuries by Lepidoptera pests. Varamin cultivar, as non-transgenic control line showed the least tolerance and yield and the CRI cultivar were ranked between the superior transgenic and non-transgenic lines. Both A and B transgenic lines have proper agronomic traits and the best resistance characters against Lepidoptera pests. It can be concluded that these lines, as the first Iranian transgenic varieties, can be used for registration and commercialization.

Keywords: Cotton, *Gossypium hirsutum* L., Pest damage index, Resistance, Transgenic lines

تأثیر خوشه‌چینی علف هرز جودره (*Hordeum spontaneum* C. Koch) در کشت گندم بر جمعیت این علف‌هرز در کشت نخود در تناوب زراعی

سیدکریم موسوی^{*۱}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۱۴

چکیده

تأثیر خوشه‌چینی علف هرز جودره در کشت گندم و تاریخ کاشت و راهکارهای مدیریتی در کشت نخود بر جمعیت این علف هرز در کشت نخود در سال بعد در شهرستان خرم‌آباد طی سال‌های زراعی ۸۹-۱۳۸۸ و ۹۰-۱۳۸۹ مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل اسپلیت در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. خوشه‌چینی علف هرز جودره در کشت گندم به طور متوسط سبب کاهش ۷۱ درصد تراکم و زیست‌توده این علف‌هرز در کشت نخود در سال بعد شد. این موضوع گویای اهمیت ریزش بذر سال جاری علف‌هرز جودره در تکمیل بانک‌بذر خاک و رویش دانه‌رست در سال بعد است. با کاشت زود هنگام نخود در مقایسه با کاشت دیر هنگام، جمعیت علف هرز جودره به میزان ۷۵/۱ درصد کاهش یافت. این موضوع عمدتاً به عدم کارایی عملیات کاشت با شش‌خیش در کنترل کامل بوته‌های جودره سبز شده در تیمار کاشت دیر هنگام مربوط بود. تیمار کاشت زود هنگام نخود همراه با خوشه‌چینی جودره در کشت گندم سال قبل، به طور کامل فاقد علف‌هرز جودره بود. بر این اساس ممانعت از ریزش بذر و تکمیل بانک‌بذر خاک در سال پیشین و صرف عملیات کاشت به موقع نخود سبب کنترل کامل علف‌هرز جودره شد. بدین ترتیب به نظر می‌رسد که عمده جمعیت رویش‌یافته این علف‌هرز به ریزش بذر در سال قبل وابسته است، به عبارتی سطح خفگی بذر جودره اندک بوده و پویایی جمعیت آن عمدتاً به بانک‌بذر بذر گذرا و نه بانک‌بذر پایا متکی است. این موضوع نویدبخش امکان مدیریت این علف‌هرز مشکل‌ساز و کاهش جمعیت آن به زیر حد آستانه خسارت اقتصادی از طریق مدیریت بانک‌بذر است.

واژه‌های کلیدی: تناوب زراعی، جودره، گندم، مدیریت علف‌های هرز، نخود

مقدمه

ماندگاری کم را عمدتاً متأثر از موفقیت یا ناکامی عملیات مدیریت در فصل دانسته‌اند تا این که اثرات تجمعی مدیریت طی دوره زمانی طولانی‌تری را مؤثر بدانند. نتایج پژوهش دیویس و ویلیامز (۹) حاکی از ارتباط بین باروری علف‌هرز ارزن (*Panicum miliaceum*) در کشت ذرت شیرین، تراکم این علف‌هرز در کشت لوبیای بعدی و کاهش عملکرد لوبیا در فصل بعد بود، که این امر به تأثیر منفی استقرار گیاهچه علف‌هرز ارزن بر گیاه زراعی لوبیا مربوط دانسته شده است. نتایج این پژوهش گویای اهمیت بسط برنامه‌های مدیریت تلفیقی علف‌های هرز به نحوی است که در بردارنده مدیریت جمعیت‌های علف هرز یک‌ساله هم در انتهای چرخه زندگی آنها، از طریق کاهش باروری و زنده‌مانی بذر و هم در آغازین مراحل چرخه زندگی آنها، از طریق کاهش بازرویی دانه‌رستی و استقرار آنهاست (۹).

تناوب زراعی ابزار مهمی برای کاهش وفور آفات، بهبود توازن و باروری خاک و افزایش عملکرد گیاهان زراعی محسوب می‌شود (۳) و (۳۴). در کشت‌های فاقد گزینه‌های علف‌کشی مناسب، تناوب زراعی

مدل‌های شبیه‌سازی پویایی جمعیت علف‌های هرز گویای تأثیر قابل توجه بارش بذر بر تراکم جمعیت علف‌های هرز در سال آتی است (۵، ۱۱، ۲۴ و ۳۲). مدل‌های اقتصاد زیستی مبتنی بر آستانه‌ها بیانگر این است که اگر تأثیر نهاده‌های جاری بانک بذر بر کاهش عملکرد و هزینه‌های مدیریتی در فصل‌های رشد آتی مد نظر باشد، آستانه تحمل برای تولید بذر علف هرز نزدیک به صفر خواهد بود (۳۰). با این که در مورد گونه‌های دارای بانک‌بذر پایا، بانک‌بذر حافظه درازمدت عملیات مدیریت طی سالیان گذشته به شمار می‌رود (۲۷)، اما اسمیت و گروس (۳۳) بانک‌بذر خاک گونه‌های دارای بذر با

۱- استادیار بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، خرم‌آباد، ایران

(*) نویسنده مسئول:

(Email: k.mousavi@areeo.ac.ir

DOI: 10.22067/jpp.v33i4.73370

کاشت و کنترل علف‌های هرز در کشت نخود سال بعد در تناوب زراعی بر جمعیت علف‌هرز جو دره در کشت نخود از جمله اهداف این پژوهش است.

مواد و روش‌ها

آزمایش در روستای سراب جلدان منطقه گریت از توابع شهرستان خرم‌آباد به فاصله ۵۰ کیلومتری از مرکز استان لرستان اجرا شد. محل آزمایش دارای طول جغرافیایی ۴۸ درجه ۴۲ دقیقه و ۵/۷ ثانیه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۳ درجه ۲۱ دقیقه و ۵/۲ ثانیه شمالی و ارتفاع ۱۸۴۴ متر از سطح دریاست. منطقه گریت دارای آب‌وهوای معتدل سرد است. تناوب زراعی رایج در این منطقه گندم - نخود است. منطقه گریت از جمله قطب‌های مهم کشت نخود دیم استان لرستان به شمار می‌رود.

مقدار بارندگی، دمای حداقل و دمای حداکثر روزانه سال‌های زراعی ۸۹-۱۳۸۸ و ۹۰-۱۳۸۹ ایستگاه هواشناسی سینوپتیک خرم‌آباد در شکل ۱ نشان داده شده است.

آزمایش به صورت فاکتوریل-اسپلیت در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. فاکتوریل وضعیت خوشه‌چینی علف‌هرز جو دره در کشت گندم (در دو سطح ۱- بدون خوشه‌چینی و ۲- خوشه‌چینی) و تاریخ کاشت نخود در فصل بعد (در دو سطح ۱- کاشت زود هنگام و ۲- کاشت دیر هنگام) کرت اصلی و سطوح فاکتور مدیریت علف‌هرز در کشت نخود (در پنج سطح ۱- کاربرد پیش‌رویشی متری بیوزین (۰/۷ کیلوگرم در هکتار از ماده تجاری ۷۵ درصد)، ۲- کاربرد پیش‌رویشی ایمازتاپیر (۰/۷ لیتر در هکتار از ماده تجاری ۱۰ درصد)، ۳- کاربرد پیش‌رویشی کلنتودیم (۱ لیتر در هکتار از ماده تجاری ۱۲ درصد) در اواسط رشد رویشی نخود، ۴- شاهد عاری از علف‌هرز و ۵- شاهد بدون کنترل علف‌هرز) کرت فرعی آزمایش بودند.

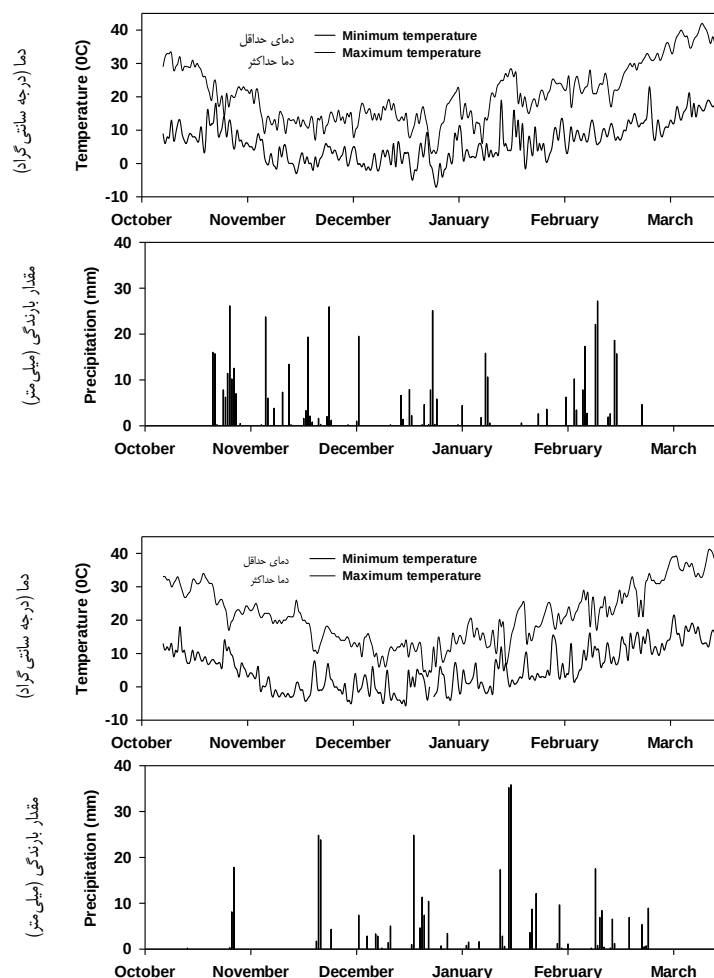
در بهار ۱۳۸۸ مزرعه گندم رقم آذر ۲ با آلودگی تقریباً یکنواخت به علف‌هرز جو دره انتخاب شد. برای شناخت نقش بذر تولیدی سال جاری در توسعه آلودگی علف‌هرز جو دره دو تیمار خوشه‌چینی و عدم خوشه‌چینی در کشت گندم اعمال شد. به این منظور زمین یاد شده به ۱۲ قسمت با مساحت تقریبی ۲۰۰ متر مربعی برای هر قطعه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی تقسیم شد. در ۶ قطعه از ۱۲ قطعه یاد شده طی فصل بهار با ظهور سنبله علف‌هرز جو دره طی چندین مرحله تا پایان فصل خوشه‌چینی علف‌هرز جو دره به صورت دستی صورت گرفت تا بدین ترتیب بذر سال جاری در این قطعات ریخته نشود. قطعات برای خوشه‌چینی به طور تصادفی انتخاب شدند. جمعیت علف‌های هرز پهن‌برگ در مزرعه گندم بسیار کم بوده به نحوی که نیازی به کاربرد علف‌کش نبود.

جزء بسیار مهمی از برنامه مدیریت تلفیقی علف‌های هرز به‌شمار می‌رود. در این نظام‌ها، راهبردهای تناوبی کاهش تراکم علف‌های هرز شامل مواردی از قبیل وارد نمودن گیاهان زراعی با توانایی رقابت‌کنندگی بالا و کارآمد از نظر پاک‌سازی علف‌های هرز، قرار دادن گیاهان زراعی با زمان‌های کاشت و طول دوره رشد متفاوت و وارد کردن گیاهان زراعی پوششی طی دوره آیش به منظور کاهش جمعیت علف‌های هرز قابل استفاده است (۲۹). تناوب‌های مشتمل بر تاریخ کاشت‌ها و طول دوره‌های رشدی متفاوت در مدیریت برخی گونه‌های علف‌هرز از ارزش خاصی برخوردار است. برای مثال، تورستون (۳۶) آلودگی‌های یولاف‌وحشی با جوانه‌زنی بهار را در کشت بهار جو از طریق وارد نمودن غله‌ای با کاشت پاییزه در تناوب زراعی کاهش داد. به‌طور مشابه، توصیه‌ها برای کنترل علف‌هرز دانه‌تسبیخی (*Aegilops cylindrica*) در کشت گندم زمستانه شامل کاشت گندم بهار در تناوب زراعی برای کاهش بانک بذر بوده است. البته کارایی این عمل ممکن است بر اثر افزایش فراوانی اکوتیپ‌های بهار این علف‌هرز نقصان یابد (۳۷). در نظام‌های تولید سبزیجات، وارد نمودن لوبیا (گیاه زراعی با کاشت نسبتاً دیر هنگام) آلودگی‌های مربوط به علف‌های هرز با رویش زود هنگام را در کشت بعدی چغندر قند، که در بهار زودتر کاشته می‌شد، کاهش داد (۲ و ۱۳).

توسعه نظام‌های زراعی فرونشاندن علف‌هرز، از جمله تناوب‌های زراعی تسهیل‌گر به حداقل‌رسانی نهاده‌های علف‌کش، نیازمند مطالعه اثرات گیاهان زراعی و نظام‌های مدیریتی بر جنبه‌های مختلف جمعیت‌شناسی علف‌های هرز است (۱ و ۲۶).

جو دره با نام علمی *Hordeum spontaneum* C. Koch یک‌ساله و تک پایه با گل آذین سنبله است. در زمان رسیدگی بذر، هر سنبلچه با سه گلچه که تنها گلچه میانی دارای بذر است، همراه با بخشی از محور گل آذین ریزش نموده و وارد خاک می‌شود. این گیاه دارای تنوع ژنتیکی است و یکی از علف‌های هرز سمج و مهاجم مزارع گندم، خصوصاً در استان‌های فارس، اصفهان، کرمانشاه و لرستان به شمار می‌رود. جو دره از جمله علف‌های هرز مشکل‌ساز غالب اکثر مزارع گندم استان فارس (۱۶) و سایر مناطق ایران است و جمعیت‌های طبیعی آن در بسیاری از مناطق دیگر جهان از جمله یونان، مصر، جنوب غربی آسیا به طرف شرق، ایران، افغانستان، غرب پاکستان و جنوب تاجیکستان گزارش شده است (۱۵ و ۲۸). این علف‌هرز ارتباط ژنتیکی بسیار نزدیکی با جو زراعی (*Hordeum vulgare*) دارد و جد جو زراعی شناخته می‌شود و منشأ آن مناطق مدیترانه و ایران تورانی است (۳۹).

اکثر باریک‌برگ‌های رایج توصیه‌شده برای مزارع گندم قادر به کنترل کامل علف‌هرز جو دره نیستند. از این رو بهره‌گیری از راهکارهای زراعی مناسب برای مدیریت این علف‌هرز حیاتی است. ارزیابی تأثیر خوشه‌چینی علف‌هرز جو دره در کشت گندم و تاریخ



شکل ۱- مقدار بارندگی و دماهای حداقل و حداکثر مطلق روزانه ایستگاه هواشناسی سینوپتیک خرم‌آباد از ابتدای مهرماه طی سال‌های زراعی ۸۹-۱۳۸۸ (بالا) و ۹۰-۱۳۸۹ (پایین)

Figure 1- The amount of daily precipitation and absolute maximum and minimum daily temperatures of Khorramabad, during the growing season, from October in 2009-10 (above) and 2010-11 (bottom)

اولیه و صرفاً با استفاده از گاواهن شش‌خیش صورت گرفت. کاربرد علف‌کش‌های متری بیوزین به مقدار ۰/۷ کیلوگرم در هکتار از نشان تجاری سنکور ۷۵ درصد و ایمازتاپیر به مقدار ۰/۷ لیتر در هکتار از نشان تجاری پرسویت ۱۰ درصد، به صورت پیش‌رویشی به فاصله ۲ روز پس از کاشت نخود صورت گرفت. علف‌کش کلتودیم به مقدار ۱ لیتر در هکتار از نشان تجاری سلکت ۱۲ درصد نیز به صورت پس‌رویشی در اواسط رشد رویشی نخود به کار رفت. سم‌پاشی با استفاده از سم‌پاش پستی ماتابی با نازل شره‌ای کالیبره شده بر اساس پاشش ۳۰۰ لیتر آب در هکتار انجام شد. در انتهای فصل رشد،

در فصل بعد آزمایش تأثیر زمان کاشت و کنترل شیمیایی بر جمعیت علف‌هرز جودره در کشت نخود در دو شرایط خوشه‌چینی و عدم خوشه‌چینی در کشت گندم سال قبل اجرا شد. کشت زود هنگام نخود در اولین فرصت پس از رفع یخبندان زمستانه (۲۴ اسفندماه ۱۳۸۸) و کشت دیر هنگام در تاریخ ۸ اردیبهشت ۱۳۸۹ صورت گرفت. کاشت نخود با استفاده از گاواهن شش‌خیش پس از پخش دستی بذر بر اساس کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار از بذر توده محلی انجام شد. عرض هر کرت فرعی ۵ متر و طول کرت ۸ متر در نظر گرفته شد. کاشت نخود همانند رویش رایج در منطقه بدون عملیات خاک‌ورزی

تراکم و زیست‌توده علف‌هرز جودره با برداشت نمونه های تصادفی ۰/۵×۰/۵ متر در سطح کرت‌های آزمایش اندازه‌گیری شد. وزن خشک جودره پس از قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آن با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها به کمک آزمون LSD در سطح ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

تراکم علف‌هرز جودره

براساس نتایج آنالیز واریانس تراکم علف‌هرز جودره در کشت نخود به طور معنی‌داری تحت تأثیر خوشه‌چینی در کشت گندم سال

قبل قرار گرفت (جدول ۱) و در مقایسه با شاهد بدون خوشه‌چینی به میزان ۷۱/۳ درصد کاهش یافت (شکل ۲). این موضوع گویای اهمیت ریزش بذر سال جاری علف‌هرز جودره در تکمیل بانک‌بذر خاک و رویش دانه‌رست در سال بعد است. بدین ترتیب به نظر می‌رسد که عمده جمعیت رویش‌یافته این علف‌هرز به ریزش بذر در سال قبل وابسته است، به عبارتی پویایی جمعیت علف‌هرز جودره عمدتاً به بانک‌بذر بذر گذرا و نه بانک‌بذر پایا متکی است. این موضوع نویدبخش امکان مدیریت این علف‌هرز مشکل‌ساز و کاهش جمعیت آن به زیر حد آستانه خسارت اقتصادی از طریق مدیریت بانک‌بذر است.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس داده‌های تراکم و زیست‌توده علف‌هرز جودره در کشت نخود در سال دوم آزمایش

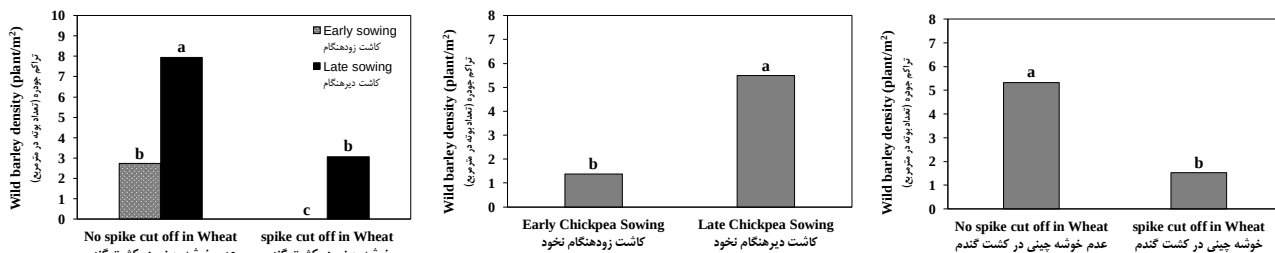
Table 1- Analysis of variance of wild barley density and biomass in chickpea, in second year

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS	
		تراکم جودره ^۱ Wild barley density	زیست‌توده جودره ^۱ Wild barley biomass
بلوک Block	2	0.04 ^{ns}	0.29 ^{ns}
خوشه‌چینی جودره در کشت گندم سال اول Wild barley spike cut off in wheat crop 2009	1	18.84 ^{**}	50.07 ^{**}
تاریخ کاشت نخود Chickpea sowing time in 2010	1	25.61 ^{**}	67.06 ^{**}
اثر متقابل خوشه‌چینی×تاریخ کاشت نخود Wild barley spike cut off ×Chickpea sowing time	1	0.67 [*]	17.59 [*]
خطای کرت اصلی Main plot error	6	0.07	0.36
مدیریت علف‌های‌هرز نخود Chickpea weed management in 2010	4	8.48 ^{**}	29.25 ^{**}
اثر متقابل خوشه‌چینی×مدیریت علف‌های‌هرز نخود Wild barley spike cut off × Chickpea weed management	4	1.82 ^{**}	3.98 ^{**}
اثر متقابل تاریخ کاشت نخود × مدیریت علف‌های‌هرز نخود Chickpea sowing time × Chickpea weed management	4	1.93 ^{**}	4.95 ^{**}
اثر متقابل سه‌گانه Triple interaction	4	0.23 ^{ns}	2.19 ^{ns}
خطای کرت فرعی Subplot error	32	0.19	0.45
ضریب تغییرات (درصد) C.V.%		32.6	26.6

*, **, و ns به ترتیب گویای معنی‌داری در سطح ۱، معنی‌داری در سطح ۵ درصد و عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد.
*, **, and ^{ns}, significant difference at 5%, 1% and non-significant difference, respectively.

^۱ داده‌ها تبدیل جذری شدند

¹ Square root transformation of data



شکل ۲- تأثیر خوشه‌چینی علف هرز جو دره در کشت گندم (راست)، تأثیر زمان کاشت نخود (وسط) و اثر متقابل خوشه‌چینی در کشت گندم و زمان

کاشت نخود (چپ) بر تراکم علف هرز جو دره در کشت نخود در سال دوم

میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد تفاوت معنی‌دار هستند.

Figure 2- Effect of Wild barley spike cut off in wheat crop (Right), Chickpea sowing date (Center), and their interaction (Left) on the Wild barley weed density in Chickpea crop in the second year

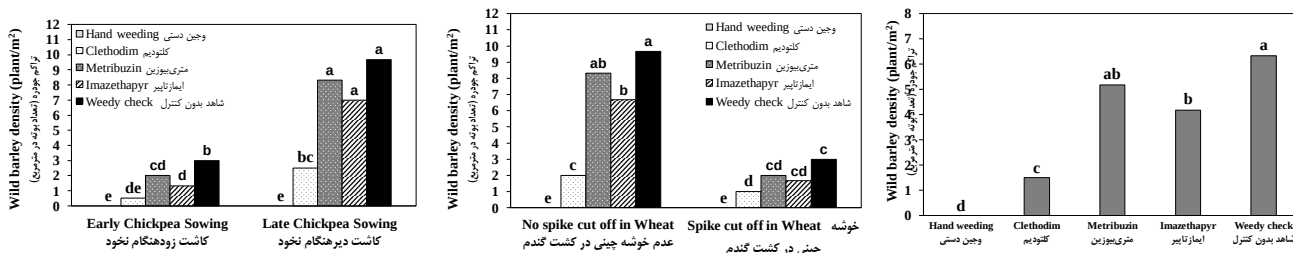
Means with at least one common letters are not significantly different based on LSD test at 5% level.

که به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. در شرایط عدم خوشه‌چینی علف هرز جو دره در کشت گندم، کاشت زودهنگام نخود سبب کاهش ۶۵/۶ درصد جمعیت علف هرز جو دره شد. تیمار کاشت زودهنگام نخود در شرایط خوشه‌چینی علف هرز جو دره در کشت گندم سال قبل به طور کامل فاقد علف هرز جو دره بود (شکل ۲). بر این اساس ممانعت از ریزش بذر و تکمیل بانک‌بذر خاک در سال پیشین و صرف عملیات کاشت به موقع نخود سبب کنترل کامل علف‌هرز جو دره شد.

تراکم علف هرز جو دره در کشت نخود به طور کاملاً معنی‌داری تحت تأثیر مدیریت علف‌های هرز در این کشت قرار گرفت (جدول ۱). کاربرد علف‌کش‌های کلتودیم و ایمازتاپیر به طور معنی‌داری سبب کاهش به ترتیب ۷۶/۳ درصد و ۳۴/۲ درصد جمعیت علف هرز جو دره در مقایسه با شاهد بدون کنترل علف‌های هرز شدند. تیمار علف‌کش متری‌بیوزین از این نظر با شاهد بدون کنترل علف‌های هرز و البته تیمار علف‌کش ایمازتاپیر تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۳).

تراکم علف هرز جو دره در کشت نخود به طور کاملاً معنی‌داری تحت تأثیر زمان کاشت نخود قرار گرفت (جدول ۱). با کاشت زودهنگام نخود در مقایسه با کاشت دیرهنگام، جمعیت علف هرز جو دره به میزان ۷۵/۱ درصد کاهش یافت (شکل ۲). این موضوع عمدتاً به عدم کارایی عملیات کاشت با شش‌خیش در کنترل کامل بوته‌های جو دره سبز شده در تیمار کاشت دیرهنگام مربوط بود. در واقع بوته‌های جو دره به حدی رشد کرده بودند که گاوآهن شش‌خیش قادر به زیر خاک کردن و نابودی کامل آنها نبود، در حالی‌که در شرایط کاشت زودهنگام به دلیل کوچک بودن بوته‌های جو دره، گاوآهن شش‌خیش به خوبی قادر به کنترل آنها بود.

اثر متقابل خوشه‌چینی علف هرز جو دره در کشت گندم و زمان کاشت نخود بر تراکم علف هرز جو دره در کشت نخود از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). این امر گویای پاسخ متفاوت تراکم جو دره به زمان کاشت در شرایط خوشه‌چینی و عدم خوشه‌چینی است. بیشترین تراکم علف هرز جو دره در کشت نخود به تیمار کاشت دیرهنگام نخود در شرایط عدم خوشه‌چینی علف هرز جو دره در کشت گندم مربوط بود



شکل ۳- اثر مدیریت علف‌های هرز در کشت نخود (راست)، اثر متقابل خوشه‌چینی علف هرز جو دره در کشت گندم و مدیریت علف‌های هرز در

کشت نخود (وسط) و اثر متقابل زمان کاشت نخود و مدیریت علف‌های هرز در کشت نخود (چپ) بر تراکم علف هرز جو دره در کشت نخود

میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد تفاوت معنی‌دار هستند.

Figure 3- Effect of Chickpea weed management treatments (Right), interaction effect of wild barley spike cut off in Wheat and Chickpea sowing date and Chickpea weed management (Left) on the Wild barley weed density in Chickpea crop in the second year

Means with at least one common letters are not significantly different based on LSD test at 5% level.

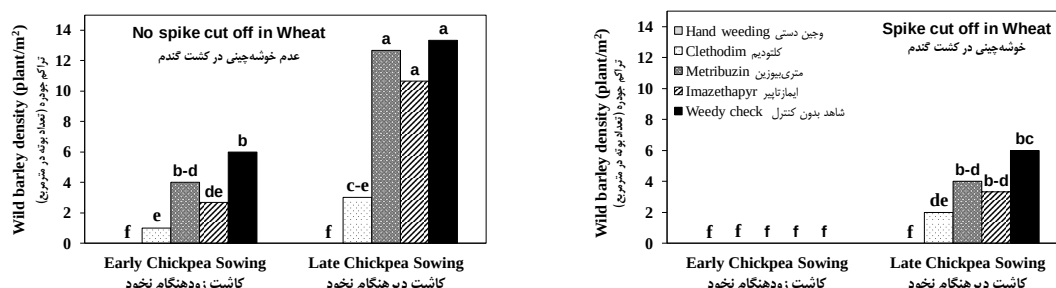
کارایی کنترلی این علف‌کش کاسته شد.

اثر متقابل سه گانه فاکتورهای آزمایش برای تراکم علف هرز جو در کشت نخود از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۱). به استثنای تیمارهای کاربرد علف‌کش‌های متری‌بیوزین و ایمازتاپیر در کاشت دیر هنگام نخود در شرایط عدم خوشه‌چینی علف هرز جو در کشت گندم، برای سایر تیمارها تراکم علف هرز جو در کشت نخود به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بدون کنترل علف‌های هرز در کاشت دیر هنگام نخود در شرایط عدم خوشه‌چینی جو در کشت گندم بود. صرف نظر از تیمار مدیریت علف‌های هرز، کاشت زودهنگام نخود در شرایط خوشه‌چینی جو در کشت گندم موفق‌ترین تیمار از نظر کنترل کامل علف هرز جو بود (شکل ۴).

در بخش خوشه‌چینی نشده تراکم بالا و رشد زیاد علف هرز جو در پیش از کاشت دیر هنگام نخود مانع کارکرد بهینه ادوات (گاواهن شش‌خیش) و زیر خاک کردن بوته‌های جو در شد، به طوری که تعداد زیادی از بوته‌های جو در از عملیات خاک‌ورزی طی کاشت جان سالم به در بردند. از سوی دیگر، وقوع بارندگی به فاصله کمی پس از کاشت دیر هنگام (شکل ۱) نیز در زنده‌مانی بوته‌های علف هرز جو در متعاقب عملیات کاشت مؤثر بود. این در حالی بود که در بخش خوشه‌چینی شده، جمعیت علف هرز جو کم بود و به خصوص در کاشت زودهنگام نخود، معدود بوته‌های علف هرز جو در رویش یافته به دلیل اندازه کوچک به خوبی بر اثر عملیات کاشت از بین رفتند.

تراکم علف هرز جو در کشت نخود به طور کاملاً معنی‌داری تحت تأثیر اثر متقابل خوشه‌چینی علف هرز جو در کشت گندم و مدیریت علف‌های هرز در کشت نخود قرار گرفت (جدول ۱). همه تیمارهای کنترل به استثنای کاربرد علف‌کش متری‌بیوزین در شرایط عدم خوشه‌چینی علف هرز جو در کشت گندم سبب کاهش معنی‌دار تراکم علف هرز جو در کشت نخود شدند. در شرایط عدم خوشه‌چینی علف هرز جو در کشت گندم، تیمار کاربرد علف‌کش کلتودیم در کشت نخود کاهش معنی‌دار ۷۹/۳ درصد تراکم جو در پی داشت؛ این مقدار کاهش برای علف‌کش‌های ایمازتاپیر و متری‌بیوزین به ترتیب ۳۱/۰ و ۱۳/۸ درصد بود (شکل ۳).

اثر متقابل زمان کاشت نخود و مدیریت علف‌های هرز بر تراکم علف هرز جو در کشت نخود از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). بالاترین سطح تراکم علف هرز جو در کشت نخود به تیمار شاهد بدون کنترل علف‌های هرز در کاشت دیر هنگام نخود مربوط بود، که به استثنای تیمارهای کاربرد علف‌کش‌های متری‌بیوزین و ایمازتاپیر در کاشت دیر هنگام سایر تیمارها از نظر تراکم علف هرز جو در به طور معنی‌داری کمتر از آن بودند. تیمار کاربرد علف‌کش کلتودیم در کاشت زودهنگام از کارایی بالایی در کنترل علف هرز جو برخوردار بود (شکل ۳). کاربرد علف‌کش کلتودیم در کشت‌های زودهنگام و دیر هنگام به ترتیب سبب کاهش ۸۳ و ۷۴ درصد تراکم جو در کاشت دیر هنگام به دلیل بزرگ بودن بوته‌های جو در تا حدودی از



شکل ۴- اثر متقابل سه گانه خوشه‌چینی جو در کشت گندم، زمان کاشت نخود و مدیریت علف‌های هرز نخود بر تراکم علف هرز جو در کشت نخود

تیمارهای دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

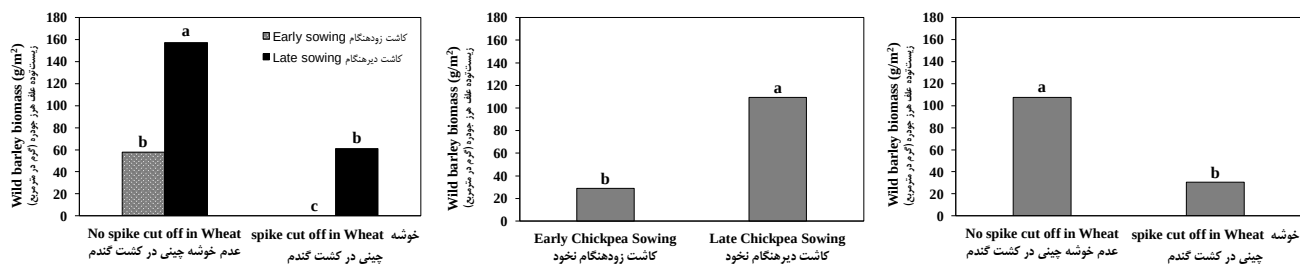
Figure 4- Interaction effect of Wild barley spike cut off in Wheat, Chickpea sowing date and Chickpea weed management on Wild barley weed density in Chickpea crop

Means with at least one common letters are not significantly different based on LSD test at 5% level.

جو در کشت گندم سال قبل قرار گرفت (جدول ۱). خوشه‌چینی علف هرز جو در کشت گندم سبب کاهش ۷۱/۶ درصد زیست‌توده این علف هرز در کشت نخود در سال بعد شد (شکل ۵).

زیست‌توده علف هرز جو در

براساس نتایج آنالیز واریانس زیست‌توده علف هرز جو در کشت نخود به طور کاملاً معنی‌داری تحت تأثیر خوشه‌چینی علف هرز



شکل ۵- تأثیر خوشه‌چینی علف هرز جو دره در کشت گندم (راست)، تأثیر زمان کاشت نخود (وسط) و اثر متقابل خوشه‌چینی در کشت گندم و

زمان کاشت نخود (چپ) بر زیست‌توده علف هرز جو دره در کشت نخود در سال دوم

میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد تفاوت معنی‌دار هستند.

Figure 5- Effect of Wild barley spike cut off in wheat crop (Right), Chickpea sowing date (Center), and their interaction (Left) on the Wild barley weed biomass in Chickpea crop in the second year

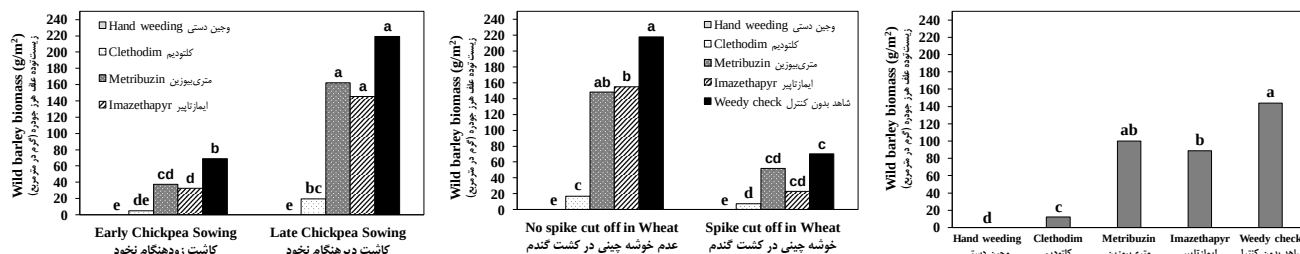
Means with at least one common letters are not significantly different based on LSD test at 5% level.

کشت گندم در سال پیش از آن سبب کنترل کامل علف هرز جو دره شد. در شرایط عدم خوشه‌چینی علف هرز جو دره، کاشت زود هنگام نخود سبب کاهش ۶۳/۲ درصد زیست‌توده علف هرز جو دره شد (شکل ۵).

زیست‌توده علف هرز جو دره به طور کاملاً معنی‌داری تحت تأثیر مدیریت علف‌های هرز در کشت نخود قرار گرفت (جدول ۱). تیمارهای وجین دستی و کاربرد علف‌کش‌های کلتودیم و ایمازتاپیر در مقایسه با شاهد بدون کنترل علف‌های هرز سبب کاهش معنی‌دار زیست‌توده علف هرز جو دره در کشت نخود شدند (شکل ۶).

زیست‌توده علف هرز جو دره در کشت نخود به طور کاملاً معنی‌داری تحت تأثیر زمان کاشت نخود قرار گرفت (جدول ۱). تأخیر در کاشت نخود افزایش ۳/۸ برابر زیست‌توده علف هرز جو دره در کشت نخود را در پی داشت (شکل ۵).

اثر متقابل خوشه‌چینی جو دره در کشت گندم سال قبل و زمان کاشت نخود بر زیست‌توده این علف هرز در کشت نخود از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). تأخیر در کاشت در هر دو شرایط خوشه‌چینی و عدم خوشه‌چینی علف هرز جو دره سبب افزایش معنی‌دار زیست‌توده جو دره شد. کاشت زود هنگام نخود در شرایط خوشه‌چینی جو دره در



شکل ۶- اثر مدیریت علف‌های هرز در کشت نخود (راست)، اثر متقابل خوشه‌چینی علف هرز جو دره در کشت گندم و مدیریت علف‌های هرز در

کشت نخود (وسط) و اثر متقابل زمان کاشت نخود و مدیریت علف‌های هرز در کشت نخود (چپ) بر زیست‌توده علف هرز جو دره در کشت نخود

میانگین‌های دارای حروف مشترک براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد تفاوت معنی‌دار هستند.

Figure 6- Effect of Chickpea weed management treatments (Right), interaction effect of wild barley spike cut off in Wheat and Chickpea weed management (Center), and Interaction effect of chickpea sowing date and Chickpea weed management (Left) on the Wild barley weed biomass in Chickpea crop in the second year

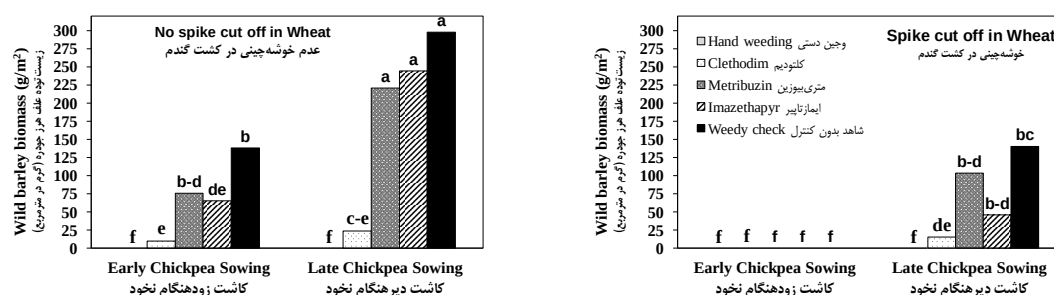
Means with at least one common letters are not significantly different based on LSD test at 5% level.

ایمازتاپیر در شرایط خوشه‌چینی نیز تفاوت معنی‌داری با آن نداشت. تیمارهای کاربرد علف‌کش ایمازتاپیر و علف‌کش متری‌بیوزین در شرایط خوشه‌چینی از نظر زیست‌توده علف هرز جو دره با تیمار شاهد بدون کنترل در همین شرایط تفاوت معنی‌داری نداشتند (شکل ۶). اثر متقابل زمان کاشت و مدیریت علف‌های هرز در کشت نخود بر زیست‌توده علف هرز جو دره در کشت نخود از نظر آماری کاملاً

اثر متقابل خوشه‌چینی جو دره در کشت گندم و مدیریت علف‌های هرز در کشت نخود بر زیست‌توده علف هرز جو دره در کشت نخود از نظر آماری کاملاً معنی‌دار بود (جدول ۱). در بین تیمارهای مدیریت علف هرز غیر از وجین دستی، کمترین میانگین زیست‌توده علف هرز جو دره به کاربرد علف‌کش کلتودیم در شرایط خوشه‌چینی جو دره در کشت گندم سال قبل اختصاص داشت که البته کاربرد علف‌کش

علف هرز در زمان‌های کاشت مختلف نخود در شرایط خوشه‌چینی و عدم خوشه‌چینی علف هرز جوهره در کشت گندم سال قبل است. علاوه بر تیمارهای وجین دستی در شرایط مختلف، تمامی تیمارهای مختلف مدیریت علف هرز، حتی شاهد بدون کنترل، نیز در کاشت زود هنگام نخود در شرایط خوشه‌چینی علف هرز جوهره در کشت گندم سال قبل، فاقد علف هرز جوهره بودند (شکل ۷). این موضوع نشان‌دهنده کارایی بالای خوشه‌چینی در سال قبل و جلوگیری از ریزش بذر و همچنین کاشت به موقع نخود در مدیریت این علف‌هرز است.

معنی‌دار بود (جدول ۱). در کاشت دیر هنگام نخود تیمارهای کاربرد علف کش متری بیوزین و ایمازتاپیر از نظر زیست‌توده علف هرز جوهره با تیمار شاهد بدون کنترل در کاشت دیر هنگام حائز بیشترین سطح زیست‌توده جوهره تفاوت معنی‌داری نداشتند. در بین تیمارهای کنترل غیر از وجین دستی، پایین‌ترین سطح زیست‌توده جوهره به تیمارهای کاربرد علف کش کلتودیم در کاشت‌های زود هنگام و دیر هنگام و کاربرد علف کش ایمازتاپیر در کاشت زود هنگام اختصاص داشت (شکل ۶). اثر متقابل سه گانه فاکتورهای آزمایش بر زیست‌توده علف هرز جوهره در کشت نخود از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). این امر گویای تفاوت پاسخ زیست‌توده علف هرز جوهره به تیمارهای مدیریت



شکل ۷- اثر متقابل سه گانه خوشه‌چینی جوهره در کشت گندم، زمان کاشت نخود و مدیریت علف‌های هرز نخود بر زیست‌توده علف هرز جوهره در کشت نخود

تیمارهای دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 7- Interaction effect of Wild barley spike cut off in Wheat, Chickpea sowing date and Chickpea weed management on Wild barley biomass in Chickpea crop

Means with at least one common letters are not significantly different based on LSD test at 5% level.

سال متعاقب کاهش یا حذف کامل ریزش بذر جدید از بین می‌روند (۶). لوتمن و همکاران (۲۱) کاهش ۹۹-۲۰ درصد بذر ۱۵ گونه علف‌هرز یک‌ساله در اروپا ظرف یک سال را گزارش دادند. بوهرلر (۴) نیز گزارش داده است که تراکم بذر علف‌هرز دم‌روباهی کبیر (*Setaria faberi*) در خاک متعاقب جلوگیری از ریزش بذر به سرعت کاهش یافت. تیس‌دال و همکاران (۳۵) نیز کاهش شدید بانک‌بذر علف‌های هرز را متعاقب ۱-۲ سال کنترل مؤثر در نظام زراعی ارگانیک گزارش دادند. در مورد یولاف وحشی گزارش شده است که متعاقب مدفون‌سازی فقط ۱ درصد بذر بعد از ۳/۷ سال زنده باقی ماندند (۷) و همچنین پیتزرز (۳۱) نشان داده است که در شرایط خاک‌ورزی، بانک‌بذر یولاف وحشی بعد از ۳ سال به طور کامل تخلیه می‌شود (۲۳).

ماندگاری بانک‌بذر از جمله عوامل مهم تأثیرگذار بر پویایی جمعیت علف‌های هرز است (۸) و کاهش زنده‌مانی بذر در خاک می‌تواند تأثیر زیادی بر اندازه جمعیت علف‌هرز داشته باشد (۱۷). ممانعت از ریزش بذر از طریق اقدامات مدیریتی کارآمد می‌تواند سبب کاهش جمعیت علف‌های هرز شود (۱۸ و ۱۹). به نظر می‌رسد موفقیت

بالاترین مقدار میانگین زیست‌توده جوهره در کشت نخود به تیمار شاهد بدون کنترل علف‌های هرز در کاشت دیر هنگام نخود در شرایط عدم خوشه‌چینی جوهره در کشت گندم اختصاص داشت. در بین تیمارهای علف‌کش، بالاترین سطح زیست‌توده هرز جوهره به تیمارهای کاربرد علف‌کش‌های ایمازتاپیر و متری بیوزین در کاشت دیر هنگام نخود در شرایط عدم خوشه‌چینی علف هرز جوهره در کشت گندم در سال قبل مربوط بود (شکل ۷).

در بررسی محققان دیگر (۱۴ و ۲۲) نیز عنوان شده است که یک یا چند فصل تعلل در کنترل مناسب علف‌های هرز می‌تواند افزایش بارش بذر و تقویت بانک‌بذر خاک را در پی داشته باشد. افزایش بانک‌بذر خاک عامل افزایش تراکم دانه‌رستی علف‌های هرز در فصول آتی به شمار می‌رود (۳۵ و ۳۸). کاهش تراکم بانک‌بذر خاک در موفقیت برنامه‌های کنترل علف‌های هرز امر حیاتی محسوب می‌شود و از سوی دیگر حتی یک فصل ناکامی در کنترل علف‌های هرز می‌تواند از طریق تکمیل بانک‌بذر خاک در سال‌های آتی مشکل‌آفرین باشد (۱۲ و ۳۵). مطالعات زیادی نشان داده است که در شرایط مزرعه بخش زیادی از بذر زنده علف‌های هرز موجود در بانک‌بذر ظرف ۴-۱

خوشه‌چینی را جبران می‌نماید. موضوع مهم دیگری که نتایج این پژوهش بیانگر اهمیت بالای آن در مدیریت علف‌هرز مشکل‌ساز جودره است، انتخاب تاریخ کاشت مناسب نخود، یا سایر گیاهان زراعی بهاره در تناوب زراعی است. بر این اساس به نظر می‌رسد که کشاورزان با کاشت به موقع نخود قادر خواهند بود تا حدود زیادی این علف‌هرز را مدیریت نمایند. تاریخ کاشت می‌بایست به نحوی انتخاب شود که ضمن رویش اکثر دانه‌رست‌ها و تخلیه بانک‌بذر، از بین رفتن بوته‌های علف‌هرز رویش‌یافته بر اثر عملیات کاشت میسر باشد، به عبارتی بوته‌های علف‌هرز آنقدر بزرگ نشده باشند که حین عملیات کاشت از بین نروند.

نظام‌های مدیریت تلفیقی علف‌های هرز در گرو بهره‌گیری از ابزارهایی است که در سراسر چرخه‌زندگی علف‌هرز فرصت‌های مدیریتی فراهم می‌آورند (۱۰، ۲۰ و ۲۵). استفاده از راهبردهای مدیریتی در آغازین مراحل رشد و در انتهای فصل رشد برای مدیریت کارآمد علف‌های هرز ضروری به نظر می‌رسد (۹).

نتایج این پژوهش گویای تأثیر شگرف مدیریت بانک‌بذر بر پویایی جمعیت علف‌هرز جودره است. بهره‌گیری از راهکارهای مناسب برای جلوگیری از به‌بذرنشینی علف‌هرز جودره پیامدهای نویدبخشی از نظر کاهش شدید جمعیت این علف‌هرز در سال‌های آتی دارد. بر این اساس توصیه می‌شود کشاورزان با پایش منظم کشت گندم نسبت به عملیات خوشه‌چینی علف‌هرز جودره اقدام نمایند. بی‌شک کم شدن جمعیت این علف‌هرز در کشت‌های بعدی، هزینه مربوط به

منابع

- 1- Bastiaans L., Kropff M.J., Goudriaan J., and Van Laar H.H. 2000. Design of weed management systems with reduced reliance on herbicides poses new challenges and prerequisites for modeling crop-weed interactions. *Field Crops Research* 67: 161-179.
- 2- Brainard D.C., Bellinder R.R., Hahn R.R., and Shah D.A. 2008. Crop rotation, cover crop, and weed management effects on weed seedbanks and yields in snap bean, sweet corn, and cabbage. *Weed Science* 56: 434-441.
- 3- Brust G.E., and Stinner B.R. 1991. Crop rotation for insect, plant pathogen, and weed control. Page 217-236 in D. Pimentel, ed. *CRC Handbook of Pest Management in Agriculture I*. Second edition. Boca Raton, FL: CRC.
- 4- Buhler D.D. 1999. Weed population responses to weed control practices. I. Seed bank, weed populations, and crop yields. *Weed Science* 47: 416-422.
- 5- Bussan A.J., and Boerboom C.M. 2001. Modeling the integrated management of velvetleaf in a corn-soybean rotation. *Weed Science* 49: 31-41.
- 6- Cavers P.B., and Benoit D.L. 1989. Seed banks in arable land. Pages 309-328 in M.A. Leck, V.T. Parker, and R.L. Simpson, eds. *Ecology of Soil Seed Banks*. San Diego, CA: Academic.
- 7- Conn J.S., and Deck R.E. 1995. Seed viability and dormancy of 17 weed species after 9.7 years of burial in Alaska. *Weed Sci.* 43: 583-585.
- 8- Cousens R., and Mortimer M. 1995. *Dynamics of Weed Populations*. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 332 p.
- 9- Davis A.S., and Williams M.M. 2007. Variation in wild proso millet (*Panicum miliaceum*) fecundity in sweet corn has residual effects in snap bean. *Weed Science* 55: 502-507.
- 10- Davis A.S., and Ngouajio M. 2005. Introduction to the symposium beyond thresholds: applying multiple tactics within integrated weed management systems. *Weed Science* 53: 368.
- 11- Davis A.S., Dixon P.M., and Liebman M. 2004. Using matrix models to determine cropping system effects on annual weed demography. *Ecological Applications* 14: 655-668.
- 12- Derksen D.A., Anderson R.L., Blackshaw R.E., and Maxwell B. 2002. Weed dynamics and management strategies for cropping systems in the northern Great Plains. *Agronomy Journal* 94: 174-185.
- 13- Dotzenko A.D., Ozkan M., and Storer K.R. 1969. Influence of crop sequence, nitrogen fertilizer and herbicides on weed seed populations in sugar beet fields. *Agronomy Journal* 61: 34-37.
- 14- Hanson J., Dismukes R., Chambers W., Greene C., and Kremen A. 2004. Risk and risk management in organic agriculture: views of organic farmers. *Renew. Agric. Food Syst.* 19: 218-227.
- 15- Harlan J.R., and Zohary D. 1966. Distribution of wild wheats and barley. *Science* 153: 1074-1080.
- 16- Jamali M., and Termeh F. 1998. Identification of Graminae weeds in fields, gardens and pastures of Fars province. In: *Proceedings 1998 the 13th Iranian Plant Protection Congress*, Karaj, Iran, 23-27.
- 17- Jordan N., Morkensen D.A., Prenzlöw D.M., and Cox K.C. 1995. Simulation analysis of crop rotation effects on weed seedbanks. *American Journal of Botany* 82: 390-398.
- 18- Kleemann S.G.L., Preston C., and Gill G.S. 2016. Influence of management on longterm seedbank dynamics of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) in cropping systems of southern Australia. *Weed Science* 64: 303-311.
- 19- Kleemann S.G., and Gill G. 2018. Seed Germination and Seedling Recruitment Behavior of Winged Sea Lavender (*Limonium lobatum*) in Southern Australia. *Weed Science* 1-9.

- 20- Liebman M., and Gallandt E.R. 1997. Many little hammers: ecological approaches for management of crop-weed interactions. Pages 291-343 in L. E. Jackson, ed. Ecology in Agriculture. San Diego: Academic Press.
- 21- Lutman P.J.W., Cussans G.W., Wright K.J., Wilson B.J., Wright G.M., and Lawson H.M. 2002. The persistence of seeds of 16 weed species over six years in two arable fields. Weed Res. 42: 231-241.
- 22- Martini E.A., Buyer J.S., Bryant D.C., Hartz T.K., and Denison R.F. 2004. Yield increases during the organic transition: improving soil quality or increasing experience? Field Crops Res. 86: 255-266.
- 23- Maxwell B.D., Smith R.G., and Brelsford M. 2007. Wild oat (*Avena fatua*) seed bank dynamics in transition to organic wheat production systems. Weed Science 55(3): 212-217.
- 24- Mertens S.K., Yearsley J.M., van den Bosch F., and Gilligan C.A. 2006. Transient population dynamics in periodic matrix models: methodology and effects of cyclic permutations. Ecology 87: 2338-2348.
- 25- Mohler C.L. 1996. Ecological bases for the cultural control of weeds. Journal of Production Agriculture 9: 468-474.
- 26- Mortensen D.A., Bastiaans L., and Sattin M. 2000. The role of ecology in the development of weed management systems: an outlook. Weed Research 40: 49-62.
- 27- Murphy S.D., Clements D.R., Belaoussoff S., Kevan P.G., and Swanton C.J. 2006. Promotion of weed species diversity and reduction of weed seedbanks with conservation tillage and crop rotation. Weed Science 54: 69-77.
- 28- Nevo E., Kaplan D., Storch N., and Zohary D. 1986. Genetic diversity and environmental associations of wild barley, *Hordeum spontaneum* (Poaceae), in Iran. Plant Systematics and Evolution 153: 141-164.
- 29- Nordell E. 1992. Crop rotations today. Small Farm Journal 16: 2-31.
- 30- Norris R.F. 1999. Ecological implications of using thresholds for weed management. Pages 31-58 in D.D. Buhler, ed. Expanding the Context of Weed Management. New York: Haworth.
- 31- Peters N.C.B. 1991. Seed dormancy and seedling emergence studies in *Avena fatua* L. Weed Research, 31: 107-116.
- 32- Rasmussen I.A., and Holst N. 2003. Computer model for simulating the longterm dynamics of annual weeds: from seedlings to seeds. Aspects of Applied Biology 69: 277-284.
- 33- Smith R.G., and Gross K.L. 2006. Rapid change in the germinable fraction of the weed seed bank in crop rotations. Weed Science 54: 1094-1100.
- 34- Sumner D.R. 1982. Crop rotation and plant productivity. Page 273-313 in M. Rechcigl, ed. CRC Handbook of Agricultural Productivity. Boca Raton, FL: CRC.
- 35- Teasdale J.R., Mangum R.W., Radhakrishnan J., and Cavigelli M.A. 2004. Weed seedbank dynamics in three organic farming crop rotations. Agronomy Journal 96: 1429-1435.
- 36- Thurston J.M. 1962. The effect of competition from cereal crops on the germination and growth of *Avena fatua* in a naturally infested field. Weed Research 6: 67-80.
- 37- Walenta D.L., Yenish J.P., Young F.L., and Ball D.A. 2002. Vernalization response of plants grown from spikelets of spring and fall cohorts of jointed goatgrass. Weed Science 50: 461-465.
- 38- Webster T.M., Cardina J., and White A.D. 2003. Weed seed rain, soil seedbanks, and seedling recruitment in no-tillage crop rotations. Weed Science 51: 569-575.
- 39- Zohary D., Hopf M., and Weiss E. 2012. Domestication of Plants in the Old World: The origin and spread of domesticated plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin. Fourth Edition. Oxford University.



The Effect of Cutting off the Wild Barley (*Hordeum spontaneum* C. Koch) Spike in Wheat on Its Population in Chickpea under a Crop Rotation System

S.K. Mousavi^{1*}

Received: 04-07-2018

Accepted: 05-11-2019

Introduction: Transient and persistence of weed seed banks impact on weed population dynamics. Therefore, any management tools with having a reducing role can affect weed population size. Reduction of weed seed rain using effective control tools can reduce weed density. The seed bank density is the main factor corresponding to seedling density. Decline of seed bank is critical to success in crop production, so that, poor performance in weed control only for a season cause to rain weed seeds and to improve soil seed bank. Most of the commonly used herbicides recommended for controlling weeds in wheat fields are not efficiently able to control the wild barley (*Hordeum spontaneum* C. Koch). Hence, utilizing appropriate agronomic strategies to control this weed is critical. Evaluation the effect of wild barley spike cut-off in the previous wheat field, and the effects of chickpea planting date and chemical weed control in chickpea cultivation in rotation on wild barley weed population in chickpea cultivation are among the aims of this study.

Materials and Methods: The effect of wild barley spike cut-off in the previous wheat field, and sowing date and management strategies in chickpea on its population in chickpea for the following years was evaluated in Khorramabad, Lorestan, Iran during 2009-10 and 2010-11 growing seasons. The experiment was arranged in a factorial split plot in a completely randomized block design with three replications. The wild barley spike cut-off in wheat (at two levels: No cut-off and with cut-off) and chickpea planting date in the next season (at two levels: early planting and late planting) were assigned into the main plots. Chickpea weed management treatments (at five levels: pre emergence application of metribuzin at 0.7 kg per hectare, pre emergence application of imazethapyr 0.7 liter per hectare, post emergence application of Clethodim 1 liter per hectare, weed free treatment, and weedy infest) was assigned into the sub plots.

Results and Discussion: Wild barley spike cut-off in previous wheat reduced 71% of the density and biomass of this weed in chickpea cultivation in the following years. This suggests the importance of recent year's wild barley seeding rain in the completion of the soil seed bank for the next season. Early planting of chickpea compared to late planting decreased the wild barley density by 75%. It was mainly related to the ineffectiveness of planting operations in full control of the large wild barley plants in the late planting treatment. Early planting of chickpea under wild barley weed spike cut-off in previous wheat crop condition, was completely free of wild barley. Accordingly, the prevention of wild barley seed rain and the completion of the soil seed bank in the previous year, along with the timely planting of chickpea led to full control of this weed. Triple interaction effects of experiment factors on wild barley biomass in chickpea was statistically significant. This suggests the difference of wild barley biomass response to weed management treatments in different planting date of chickpea in spike cut-off and without spike cut-off of wild barley in the previous wheat crop. In addition to manual weeding treatments in different conditions, all weed management practices, even uncontrolled weedy check, in early chickpea planting under spike cut-off of wild barley conditions in wheat cultivation in the previous year, did not emerged any wild barley seedling. This indicates the high efficiency of spike cut-off of wild barley in the previous year and the prevention of seeding and the timely planting of chickpeas in the management of this weed.

Conclusion: Thus, it seems that the major part of the growing population of this weed is dependent on previous year seed rain. In the other words, the wild barley population dynamics is largely dependent on the temporary transient seed bank instead of a persistent seed bank. This suggests the possibility of managing problematic wild barley and reducing its population below the economic damage threshold through prevention of seed rain and soil seed bank management.

Keywords: Chickpea, Weed management, Wheat, Wild barley

1- Associate Professor, Plant Protection Research Department, Lorestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Khorramabad, Iran

(*- Corresponding Author Email: k.mousavi@areeo.ac.ir)

مطالعه تراکم و زیست توده علف‌های هرز سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) تحت تأثیر تلفیق روش‌های کنترل شیمیایی و مکانیکی

مسلم تقی پور^۱ - علی قنبری^۲ - مهدی راستگو^{۳*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۰۴

چکیده

به منظور بررسی تأثیر کاربرد تلفیقی کولتیواتور و نحوه مصرف علف‌کش، بر تراکم و زیست هرز، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۴ بر روی محصول سیب‌زمینی رقم آگرا انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل و بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار و با دو عامل شامل، استفاده از کولتیواتور در دو سطح عدم کاربرد و یکبار کولتیواتور و عامل علف‌کش در شش سطح شامل ۱. علف‌کش پیش‌رویشی (پندیمتالین) + کاربرد سراسری علف‌کش پس‌رویشی (متری بیوزین)، ۲. علف‌کش پیش‌رویشی + کاربرد نواری علف‌کش پس‌رویشی، ۳. کاربرد علف‌کش پیش‌رویشی به تنهایی، ۴ و ۵. کاربرد علف‌کش پس‌رویشی به صورت سراسری و نواری هریک به تنهایی و ۶. عدم کاربرد علف‌کش بود. نتایج آزمایش نشان داد که استفاده از تیمارهای علف‌کش پیش‌رویشی پندیمتالین + علف‌کش پس‌رویشی متری بیوزین به صورت سراسری و نواری، باعث کمترین زیست توده کل علف‌های هرز (به ترتیب ۲۵۰/۲ و ۲۱۲/۶ گرم در متر مربع) و بیشترین عملکرد غده سیب‌زمینی (به ترتیب ۴۱/۱۵ و ۳۶/۱۶ تن در هکتار) شد. همچنین تیمارهای بدون کاربرد علف‌کش و کاربرد علف‌کش پندیمتالین به تنهایی نیز، بیشترین زیست توده کل علف‌هرز (به ترتیب ۹۰۰/۱ و ۹۳۳/۹ گرم در متر مربع) و کمترین عملکرد غده سیب‌زمینی (به ترتیب ۱۶/۴۸ و ۱۸/۷۵ تن در هکتار) را باعث شدند. کاربرد یکبار کولتیواتور نیز تنها سبب تأثیر بر تراکم کل علف‌های هرز شد و بر زیست توده کل علف‌های هرز و عملکرد سیب‌زمینی اثر معنی‌داری ایجاد نکرد. به طور کلی بر اساس نتایج این پژوهش کاربرد یکبار کولتیواتور نمی‌تواند در کنترل علف‌های هرز سیب‌زمینی مؤثر باشد و نیاز به تکرار و یا تلفیق با سایر روش‌های کنترل علف‌های هرز (از جمله علف‌کش‌ها) می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: استومپ، زیست توده، سنکور، کاربرد نواری، متری بیوزین

مقدمه

که عملکرد آن می‌تواند از طریق کاهش در اندازه و تعداد غده‌ها، به شدت کاهش پیدا کند. کاهش عملکرد سیب‌زمینی در تراکم ۱۰۰ بوته علف‌هرز در متر مربع ۱۴ درصد گزارش شده است (۹). زند و همکاران (۱۷) گزارش کرده‌اند که به ازای هر ۱۰ درصد افزایش در تراکم علف‌هرز، ۱۲ درصد از عملکرد غده‌های سیب‌زمینی کم می‌شود.

مهم‌ترین علف‌های هرز سیب‌زمینی در ایران شامل انواع تاج خروس‌ها (*Amaranthus* spp.)، سلمه‌تره (*Chenopodium album* L.)، گونه‌های تاج‌ریزی (*Solanum* spp.)، خرفه (*Portulaca oleracea* L.)، پیچک (*Convolvulus arvensis*)، گونه‌های ارزن (*Setaria* spp.) و سوروف (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.) می‌باشند. همچنین وجود گل جالیز (*Orobancha aegyptiaca* Pers.) نیز در برخی مزارع در دسر ساز شده است (۱۴).

سیب‌زمینی به عنوان مهم‌ترین محصول زراعی در بین گیاهان دولپه‌ای، پس از گندم، برنج و ذرت، رتبه چهارم را در جهان از لحاظ سطح زیرکشت، دارا می‌باشد و به عنوان یک منبع غذایی ارزان از لحاظ انرژی، ویتامین C، مواد معدنی مانند پتاسیم و پروتئین مطرح است (۶). کشت سیب‌زمینی همانند سایر محصولات با مخاطرات و مشکلات عدیده‌ای همراه است که یکی از این مشکلات، وجود علف‌های هرز در سطح مزرعه می‌باشد (۱۱). رقابت علف‌های هرز با محصول سیب‌زمینی، به طور مشخص برای آب و مواد غذایی است،

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری، اگروتکنولوژی و دانشیاران گروه اگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*)- نویسنده مسئول
(Email: m.rastgoo@um.ac.ir)

برای مبارزه با علف‌های هرز، روش‌های مختلفی وجود دارد، اما استفاده از هر کدام از این روش‌ها به تنهایی، دارای معایبی است. یکی از این روش‌ها، استفاده از علف‌کش‌هاست. استفاده از علف‌کش‌ها، اگرچه ساده و کارآمدتر از دیگر روش‌های کنترل است، اما کاربرد مداوم و بی‌برنامه علف‌کش‌ها می‌تواند منجر به مقاومت علف‌های هرز به سموم و حساسیت گیاهان زراعی به علف‌کش‌ها شده و باقیمانده علف‌کش در خاک و محیط مخاطرات زیست‌محیطی را در پی دارد (۹ و ۱۰).

متری بیوزین با نام تجاری سنکور از خانواده تریازینون‌ها و بازدارنده انتقال الکترون در محل فتوسنتز II است که در سال ۱۳۵۵ برای محصولات سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی (*Solanum esculentum* L.) و سویا (*Glycine max* L.) در ایران به ثبت رسید. زمان مصرف آن قبل از رویش تا ۲ الی ۴ برگ علف‌های هرز به میزان ۱-۰/۷۵ کیلوگرم از ماده تجاری می‌باشد (۱۷). یکی دیگر از علف‌کش‌های مورد استفاده در سیب‌زمینی، پندیمتالین با نام تجاری استومپ از خانواده دی‌نیتروآیلین‌ها و بازدارنده تقسیم سلولی از طریق اثر بر میکروتوبول‌ها است. از این علف‌کش برای کنترل بذر علف‌های هرز باریک‌برگ و پهن‌برگ دارای بذر کوچک استفاده می‌شود. پندیمتالین را می‌توان بعد از کاشت سیب‌زمینی و تا چند روز قبل از پیدایش آثار رویش محصول روی سطح خاک پاشید و با خاک اختلاط داد. ممکن است بعد از رویش محصول و تا رسیدن بوته به ارتفاع ۱۵ سانتی‌متری نیز از آن برای کنترل بذر علف‌هرز استفاده کرد (۱۲). از روش‌های مکانیکی کنترل علف‌های هرز، استفاده از کولتیواتور است، اما این روش نیز به تنهایی کنترل قابل قبولی از علف‌های هرز فراهم نمی‌کند. استفاده از کولتیواتور در غیاب کنترل شیمیایی، به تنهایی کفایت نمی‌کند، و عدم کارایی آن در خاک‌های مرطوب، ایجاد کلوخه در خاک‌های خشک، آسیب به ریشه‌ها و برگ‌های محصول و فشردگی خاک از دیگر محدودیت‌های آن است (۷). در بهترین حالت، کولتیواتور می‌تواند ۶۰ تا ۸۰ درصد از علف‌های هرز را کنترل و زمانی مؤثر است که فشار علف‌های هرز و بانک بذر کم باشد (۴).

با توجه به اهمیت زراعت سیب‌زمینی در ایران و نیز لزوم کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی خصوصاً علف‌کش‌ها در بوم نظام‌های کشاورزی، استفاده از برنامه‌های تلفیقی باهدف کاهش مصرف علف‌کش‌ها در صدر برنامه‌های مدیریت علف‌های هرز کشور محسوب می‌شود، لذا این پژوهش باهدف ارزیابی اثر کاربرد تلفیقی تیمارهای مکانیکی و شیمیایی بر خصوصیات فلور علف‌های هرز و عملکرد سیب‌زمینی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور ارزیابی اثر نحوه کاربرد برخی علف‌کش‌ها و کولتیواسیون بر خصوصیات فلور علف‌های هرز و عملکرد سیب‌زمینی، آزمایشی در سال ۱۳۹۴ در محل مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد واقع در ۱۰ کیلومتری جنوب شرقی مشهد با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۲۸ دقیقه شرقی و ارتفاع ۹۸۵ متر از سطح دریا و در زمینی به مساحت ۱۰۷۸ متر مربع به اجرا در آمد. مشخصات خاک مزرعه مورد آزمایش نیز در جدول ۱ ارائه شده است. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار استفاده شد. عامل‌ها عبارت بودند: ۱- مدیریت شیمیایی در شش سطح شامل: کاربرد علف‌کش پیش‌رویشی پندیمتالین + علف‌کش پس‌رویشی متری بیوزین به‌صورت سراسری، کاربرد علف‌کش پیش‌رویشی پندیمتالین + علف‌کش پس‌رویشی متری بیوزین به‌صورت نوری (عرض پاشش ۷۵ سانتی‌متر)، کاربرد علف‌کش پیش‌رویشی پندیمتالین سراسری به‌تنهایی، کاربرد علف‌کش پس‌رویشی متری بیوزین به‌صورت سراسری به‌تنهایی، کاربرد علف‌کش پس‌رویشی متری بیوزین به‌صورت نوری به‌تنهایی و عدم کاربرد علف‌کش ۲- کنترل مکانیکی (کولتیواتور بین‌ردیفی) در دو سطح شامل بدون کاربرد کولتیواتور و استفاده از یک‌بار کولتیواتور، بود.

جدول ۱- خصوصیات مختلف خاک محل انجام آزمایش

Table 1- Different characteristics of soil in experimental field

Soil texture	pH	O.M. (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	EC (μs/m)
بافت خاک	اسیدیته	ماده آلی (درصد)	نیترژن (درصد)	فسفر (پی‌پی‌ام)	پتاسیم (پی‌پی‌ام)	هدایت الکتریکی (میکرو زیمنس بر متر)
Silty- loam	7.64	0.53	0.06	35	212	856

پندیمتالین^۱ (استومپ) با فرمولاسیون EC ۳۳٪ به میزان ۳/۵ لیتر در

ابعاد کرت‌های آزمایشی با چهار ردیف کاشت به فواصل ۷۵ سانتی‌متر، ۳ × ۴ متر بود. همچنین بین کرت‌ها نیز یک ردیف نکاشت (۷۵ سانتی‌متر) در نظر گرفته شد. در این آزمایش از علف‌کش

1- Pendimethalin

گونه و پس از قرارگیری به مدت ۷۲ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد، زیست توده آن‌ها نیز با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم، توزین شد. در انتهای فصل، یک هفته قبل از برداشت، نیز یک نمونه‌برداری دیگری از علف‌های هرز به عمل آمد. برای تعیین میزان عملکرد غده‌های سیب‌زمینی، با حذف اثر حاشیه‌ای از سطحی معادل دو متر مربع، کار برداشت سیب‌زمینی انجام شد. در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش به کمک نرم‌افزارهای آماری مختلف از جمله SAS 9.1 و Minitab 16 و Excel 2007 انجام و جداول و نمودارهای مربوطه، رسم گردیدند. مقایسات میانگین داده‌ها نیز بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

فلور علف‌های هرز

در این آزمایش علف‌های هرز متعددی از گونه‌های مختلف گیاهی، مشاهده شدند که شامل ۱۷ گونه از ۱۱ خانواده گیاهی بودند از بین این گونه‌های علف‌هرز، اویارسلام زرد، پیچک و شیرتیغی، چندساله و سایر گونه‌ها نیز یک‌ساله بودند. بیشتر گونه‌های یک‌ساله، پهن‌برگ بهار بودند و فقط چند گونه شامل: اویارسلام زرد، سوروف، دم‌روباهی سبز و علف‌انگشتی از نوع باریک‌برگ بودند (جدول ۲).

علف‌های هرز غالب سیب‌زمینی در ابتدای فصل رشد شامل پیچک، اویارسلام زرد، سوروف، تاج‌خروس ریشه قرمز، تاتوره، توق، خرفه و قوزک بودند (جدول ۳). در اواسط فصل نیز گونه‌های تاج‌ریزی به علف‌های هرز اوایل فصل اضافه گردید. اما در انتهای فصل علف‌هرز خرفه در اثر تیمارهای کنترلی و عدم رقابت با سایر گونه‌ها حذف، و قوزک نیز از تراکم خیلی پایینی برخوردار بود. علف‌انگشتی و دم‌روباهی سبز در برخی از کرت‌ها، علف‌هرز غالب بودند، ولی در سایر کرت‌ها مشاهده نشدند. گونه‌های سلمه‌تره، علف هفت‌بند، دم‌روباهی زرد و شیرتیغی به طور پراکنده و محدود در بعضی از کرت‌ها وجود داشتند، و گونه خارخسک نیز فقط در حاشیه چند کرت مشاهده شد.

تراکم کل علف‌های هرز

بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش، اثر کاربرد کولتیواتور در تمام مراحل نمونه‌برداری در سطح یک درصد کاملاً معنی‌دار شد، اما اثر استفاده از تیمارهای مختلف علف‌کش فقط در ۱۵ روز پس از اعمال آخرین تیمار، معنی‌دار شد و در سایر مراحل نمونه‌برداری، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. اثر متقابل کاربرد کولتیواتور و تیمارهای مختلف علف‌کش نیز در هیچ مرحله‌ای از نمونه‌برداری معنی‌دار نشد (جدول ۴).

هکتار، به عنوان علف‌کش پیش‌رویشی و از علف‌کش متری‌بیوزین^۱ (سنگور) WP ۷۰٪ به میزان ۰/۷۵ کیلوگرم از ماده تجاری در هکتار، به عنوان علف‌کش پس‌رویشی استفاده شد.

قبل از کاشت و بعد از مشخص شدن آزمایش خاک، مقداری کود اوره (۴۵٪) بر اساس ۵۰ کیلوگرم کود نیتروژن در هکتار، و مقداری نیز کود سوپر فسفات (۴۵٪ فسفر و ۱۸٪ نیتروژن) بر اساس ۵۰ کیلوگرم کود فسفاته در هکتار، به صورت دست‌پاش در زمین محل اجرای طرح به عنوان کود پایه، توزیع شد. مابقی کود نیتروژن مورد نیاز نیز به صورت سرک در اختیار گیاه قرار گرفت. کاشت غده‌های سیب‌زمینی در اوایل خردادماه به صورت دستی انجام شد. رقم مورد استفاده در این پژوهش از نوع آگریا، رقمی میان‌رس با عملکرد متوسط به بالا بود. غده‌های بذری پس از ضدعفونی با قارچ‌کش تبوکونازول^۲ (راکسیل) با غلظت ۱/۵ در هزار، در عمق ۱۵ سانتی‌متری خاک و به فاصله ۲۵ سانتی‌متر از هم در روی پشته، کشت شدند. آبیاری بعد از کاشت و بعد از اعمال تیمارهای پیش‌رویشی، با استفاده از لوله‌های پلاستیکی مستقر در ابتدای هر ردیف و به صورت نشتی و با فاصله هر ۱۰ روز انجام گردید.

در این طرح از سمپاش پشته لانس‌دار شارژی با امکان تنظیم فشار (۲۵۰ کیلوپاسکال)، مجهز به نازل بادبزی با شماره ۸۰۰۲ با عرض پاشش ۷۵ سانتی‌متر و با حجم پاشش ۲۰۰ لیتر در هکتار بعد از کالیبراسیون در زمان توصیه شده استفاده شد. سمپاشی علف‌کش یک‌بار در اول فصل، بعد از کاشت غده‌ها و قبل از آبیاری اول به صورت پیش‌رویشی و با استفاده از علف‌کش پندیمتالین انجام شد و بار دیگر بعد از این که بوته‌های سیب‌زمینی به مرحله سه تا چهار برگی رسیده بودند، توسط همان سمپاش و با استفاده از علف‌کش متری‌بیوزین و به صورت پس‌رویشی سراسری و نواری (روی ردیف)، صورت گرفت. عملیات کولتیواتور زدن در بین ردیف‌ها نیز، پس از گذشت حدود ۲۰ روز از رویش غده‌ها و زمانی که علف‌های هرز و بوته‌های سیب‌زمینی در مراحل اولیه رشد رویشی بودند با استفاده از کولتیواتور مجهز به تیغه‌های پنجه‌غازی و با عمق کار ۶-۵ سانتی‌متری، انجام شد. در کرت‌های شاهد عاری از علف‌هرز نیز کنترل علف‌های هرز به صورت وجین دستی در طی فصل رویش انجام شد.

نمونه‌برداری‌های طی فصل در سه مرحله به ترتیب ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز پس از اعمال آخرین تیمارها و از دو پشته وسطی کرت‌ها به صورت تصادفی و با کادری به ابعاد ۰/۳۵ در ۰/۷۵ متر انجام گرفت. این نمونه‌برداری‌ها به صورت تخریبی بوده و همه گونه‌های علف‌های هرز در سطح موردنظر، کف‌بر شده و پس از ثبت تراکم به تفکیک

1- Metribuzin
2- Tebuchonazol

جدول ۲- فهرست و برخی خصوصیات علف‌های هرز زمین محل انجام آزمایش

Table 2- List and some characteristics of weeds in experimental field

نام فارسی	نام انگلیسی	نام علمی	خانواده	چرخه زندگی
Farsi name	English name	Scientific name	Family	Life cycle
اویارسلام زرد	Yellow nutsedge	<i>Cyperus esculentus</i> L.	Cyperaceae	perennial
تاج‌خروس سبز	Green pigweed	<i>Amaranthus viridis</i> L.	Amaranthaceae	annual
تاج‌خروس ریشه فرمز	Redroot pigweed	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	Amaranthaceae	annual
تانوره	Jimson weed	<i>Datura stramonium</i> L.	Solanaceae	annual
تاج‌ریزی سیاه	Black nightshade	<i>Solanum nigrum</i> L.	Solanaceae	annual
توق	Common cock	<i>Xanthium strumarium</i> L.	Astraceae	annual
علف انگشتی	Crab grass	<i>Digitaria sanguinalis</i> L.	Poaceae	annual
پیچک	Field binweed	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	Convolvulaceae	perennial
سلمه‌تره	Common lambsquarter	<i>Chenopodium album</i> L.	Chenopodiaceae	annual
سوروف	Barnyard grass	<i>Echinochloa crus-galli</i> L.	Poaceae	annual
شیرتیغی	Perennial sowthistle	<i>Sonchus arvensis</i> L.	Astraceae	perennial
خارخسک	Puncturevine	<i>Tribulus terrestris</i> L.	Zygophyllaceae	annual
خرفه	Common purslane	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Portulacaceae	annual
دم‌روباهی زرد	Yellow foxtail	<i>Setaria glauca</i> L.	Poaceae	annual
دم‌روباهی سبز	Green foxtail	<i>Setaria viridis</i> L.	Poaceae	annual
کنف وحشی (قوزک)	Venice mallow	<i>Hibiscus trionum</i> L.	Malvaceae	annual
علف هفت‌بند	Knot weed	<i>Polygonum aviculare</i> L.	Polygonaceae	annual

جدول ۳- تراکم (بوته در متر مربع) گونه‌های مختلف علف‌های هرز غالب مزرعه سیب‌زمینی در محل انجام آزمایش در تیمار عدم کنترل در مراحل مختلف نمونه‌برداری

Table 3- Density (Plant.m⁻²) of dominance weed species of potato in experimental field at weedy check treatment at different sampling stages

Species گونه	Time of sampling (days after treatment) زمان نمونه‌برداری (روز پس از تیمار)			
	15	30	45	90
<i>Cyperus esculentus</i>	160	100	60	25.8
<i>Echinochloa crus-galli</i>	60	4	6	3.5
<i>Amaranthus retroflexus</i>	80	80	85	30.5
<i>Solanum nigrum</i>	0	1	2	2.0
<i>Datura stramonium</i>	12	4	60	7.0
<i>Xanthium strumarium</i>	0	9	4	3.0
<i>Convolvulus arvensis</i>	15	4	4	2.0
<i>Portulaca oleracea</i>	40	20	12	0.0

تمام مراحل نمونه‌برداری کاهش داشته است. در هر دو شرایط عدم کاربرد کولتیواتور و یک‌بار کاربرد کولتیواتور نیز از ابتدای فصل رویش تا ۳۰ روز پس از اعمال آخرین تیمار تراکم کل علف‌های هرز حالت افزایشی داشته است، به‌طوری‌که بیشترین تراکم کل (۱۵۸/۵) بوته در متر مربع) در ۳۰ روز پس از اعمال آخرین تیمار و بدون استفاده از کولتیواتور مشاهده شد، ولی از این مرحله به بعد روند نزولی را طی نموده و در انتهای فصل نیز کمترین تراکم کل علف‌های هرز (۳۷/۱) بوته در متر مربع) در کاربرد یک‌بار کولتیواتور دیده شد.

مقایسات میانگین اثر کاربرد کولتیواتور بر تراکم کل علف‌های هرز نشان داد که کاربرد یک‌بار کولتیواتور نسبت به حالت عدم کاربرد آن، اثر معنی‌داری بر تراکم کل علف‌های هرز در مراحل مختلف نمونه‌برداری داشت (جدول ۴). به این صورت که یک‌بار استفاده از کولتیواتور توانست تراکم کل علف‌های هرز را در طول فصل رویش، نسبت به حالت عدم کاربرد آن، در حدود ۵۰ درصد کاهش دهد (جدول ۵).

همان‌طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود، تراکم کل علف‌های هرز در کاربرد یک‌بار کولتیواتور نسبت به حالت عدم کاربرد آن در

جدول ۴- نتایج آنالیز واریانس (میانگین مربعات) اثر کاربرد کولتیواتور و علف‌کش بر تراکم و زیست توده کل علف‌های هرز و عملکرد غده و زیست توده سیب زمینی

Table 4- Analysis of variance (Mean squares) of the effect of cultivator and herbicide on total weed density, total weed biomass, tuber yield and biomass yield of potato

Biomass, tuber yield and biomass yield of potato											
زمان نمونه‌برداری (روز پس از تیمار)											
منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	Time of sampling (Days after treatment)								عملکرد غده Tuber yield	زیست توده Biomass yield
		15		30		45		90			
		تراکم کل	زیست توده کل	تراکم کل	زیست توده کل	تراکم کل	زیست توده کل	تراکم کل	زیست توده کل		
		Total density	Total biomass	Total density	Total biomass	Total density	Total biomass	Total density	Total biomass		
بلوک Block	3	0.088ns	44215.9 **	0.133 ns	9605.6 ns	0.100 ns	22945.0**	0.418**	67800.8*	1439548.1**	2418.42*
کولتیواتور Cultivator	1	2.121**	5778.7 ns	1.748**	1985.4 ns	1.190**	19411.7 ns	1.150**	44669.6 ns	139405.89 ns	1641.30 ns
علف کش Herbicide	5	0.264**	202758.8**	0.038**	612993.8**	0.038 ns	1005486.0**	0.129 ns	758183.2**	8310113.62**	17741.00**
کولتیواتور × علف کش Cultivator × Herbicide	5	0.063 ns	10729.8 ns	0.065 ns	18912.9 ns	0.047 ns	58767.3**	0.048 ns	18051.9 ns	393604.87 ns	1078.70 ns
خطا Error	33	0.070	5831.1	0.055	7743.3	0.058	5123.5	0.059	17916.1	177427.72	556.60
ضریب تغییرات (درصد) C.V.(%)		13.44	35.4	11.69	24.5	12.29	14.28	14.02	23.7	16.16	11.82

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد.

ns, * and ** represents not significant, significant at 5 and 1 % probability, respectively.

پیشی بگیرند. نتیجه تحقیقات و بررسی‌ها نیز نشان می‌دهد که در بهترین شرایط، کولتیواتور می‌تواند ۸۰-۶۰ درصد علف‌های هرز را کنترل کنند و کولتیواتور زمانی می‌تواند مؤثر باشد که فشار علف‌های هرز و بانک بذر کم باشد (۵). همچنین انجام کولتیواتور به‌تنهایی و در پنج نوبت، سبب کاهش ۹۰ درصدی کنترل علف‌های هرز شده است (۳).

به نظر می‌رسد در ابتدای فصل رویش به دلیل فراهم بودن منابع، رقابت برای اشغال فضا کم‌تر بوده و هر گونه‌ی گیاهی، سعی در افزایش جمعیت خود و افزایش تراکم دارد اما از مرحله‌ای به بعد و با محدود شدن منابع، رقابت شدیدتر شده؛ گونه‌های مختلف گیاهی سعی می‌کنند حجم بخش‌های رویش یافته هوایی و زیرزمینی خود را گسترش دهند تا بتوانند در گرفتن آب، منابع غذایی و نور از سایر رقبا

جدول ۵- مقایسات میانگین اثر کاربرد کولتیواتور بر تراکم کل علف‌های هرز (بوته در متر مربع) سیب‌زمینی در مراحل مختلف نمونه‌برداری
Table 5- Mean comparison of the cultivator effect on total weed density (plant. m⁻²) of potato at different sampling stages

Cultivator کولتیواتور	Time of sampling (Days after treatment) زمان نمونه‌برداری (روز پس از تیمار)			
	15	30	45	90
No cultivator بدون کولتیواتور	151.3 ^a	158.5 ^a	128.8 ^a	75.8 ^a
One cultivator یک‌بار کولتیواتور	57.5 ^b	66.0 ^b	61.6 ^b	37.1 ^b

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

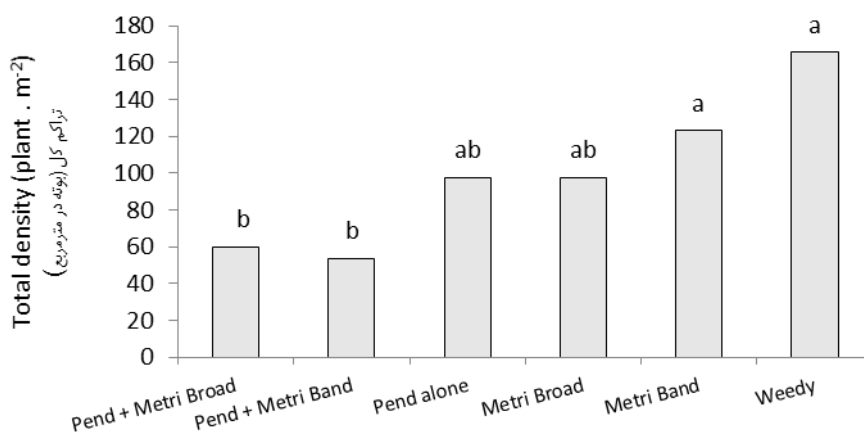
Means followed by the same letters in each column are not significantly different according to LSD ($p \leq 0.05$).

کمتری نسبت به علف‌کش‌ها دارند، بیشتر تحت تأثیر کاربرد علف‌کش قرار گرفته و تراکم‌شان کاهش پیدا کرد، اما با گذشت زمان و رویش گیاهچه‌های جدید علف‌های هرز حاصل از فرار از کاربرد کولتیواتور و علف‌کش، تراکم علف‌های هرز افزایش یافت. همچنین در ابتدای

نتایج حاصل از آزمایش همچنین نشان داد که اثر تیمارهای علف‌کش بر تراکم کل علف‌های هرز، فقط در ۱۵ روز پس از اعمال آخرین تیمار معنی‌دار شده و در سایر مراحل نمونه‌برداری معنی‌دار نبود (جدول ۴). در ابتدای فصل رشد به دلیل این که علف‌های هرز تحمل

بود که با تیمار شاهد (بدون علف‌کش) اختلاف معنی‌داری را از لحاظ آماری نشان نداد و کمترین تراکم نیز (۵۳/۷ بوته در متر مربع) به تیمار کاربرد علف‌کش پندیمتالین + متری‌بیوزین نواری تعلق داشت که توانست ۶۸ درصد تراکم کل علف‌های هرز را در مقایسه با شاهد بدون علف‌کش کاهش دهد (شکل ۱).

فصل رویش (۱۵ روز پس از اعمال آخرین تیمار) استفاده از علف‌کش روی گونه‌های علف‌هرز به دلیل غالب بودن پهن‌برگ‌های یک‌ساله همانند تاج‌خروس و خرفه که به علف‌کش پس‌رویشی متری‌بیوزین حساس هستند، باعث کاهش تراکم کل علف‌های هرز گردید. در ۱۵ روز پس از اعمال آخرین تیمار، بیشترین تراکم کل علف‌های هرز مربوط به تیمار کاربرد متری‌بیوزین نواری با ۱۲۳ بوته در متر مربع



شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف علف‌کش بر تراکم کل علف‌های هرز سیب‌زمینی در ۱۵ روز پس از اعمال آخرین تیمار

ستون‌های با حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

Figure 1- Effect of different herbicide treatments on total weed density at 15 days after last treatment

Means followed by the same letters in each column are not significantly different according to LSD, ($p \leq 0.05$). Pend = Pendimethalin, Metri = Metribuzin, Broad = Broadcast and Band = Band application

علف‌های هرز در مراحل مختلف نمونه‌برداری، معنی‌دار نشد ولی اثر استفاده از تیمارهای علف‌کش بر زیست‌توده کل علف‌های هرز، در سطح یک درصد در تمام مراحل مختلف فصل رشد، معنی‌دار گردید و اثر متقابل تیمارها نیز فقط در یک مرحله (۴۵ روز پس از اعمال آخرین تیمار) معنی‌دار شد (جدول ۴). چون بیشترین تراکم علف‌های هرز به گونه اویاراسلام زرد تعلق داشته است و این علف‌هرز از لحاظ رویش بخش‌های هوایی نسبت به سایر علف‌های هرز در موقعیت ضعیف‌تری قرار دارد، بنابراین تراکم بالای این علف‌هرز تأثیر زیادی بر زیست‌توده کل نداشته است و در نتیجه کاربرد یک‌بار کولتیواتور نیز بر زیست‌توده کل مؤثر نبوده است. اما تیمارهای مختلف علف‌کش بر زیست‌توده کل علف‌های هرز تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد داشت. مقایسات میانگین زیست‌توده کل علف‌های هرز نیز نشان داد که در تمام مراحل نمونه‌برداری، کمترین زیست‌توده کل علف‌های هرز به تیمارهای کاربرد پندیمتالین + متری‌بیوزین سراسری و نواری تعلق داشت و بیشترین زیست‌توده نیز در تیمار کاربرد پندیمتالین به‌تنهایی و بدون علف‌کش (شاهد) مشاهده شد (جدول ۶). تغییرات زیست‌توده کل علف‌های هرز با استفاده از تیمارهای مختلف علف‌کش در مراحل مختلف نمونه‌برداری، کاملاً معنی‌دار بود.

استفاده از تیمارهای پیش‌رویشی پندیمتالین و پس‌رویشی متری‌بیوزین نتایج متفاوتی به همراه داشت، اما به‌طور کلی کاربرد تیمارهای علف‌کش سبب کاهش تراکم برخی گونه‌ها (گونه‌های پهن‌برگ یک‌ساله) و افزایش تراکم گونه‌های دیگر (گونه‌های چندساله) گردید. در تحقیقی که توسط موسوی (۱۴) در محصول نخود (*Cicer arietinum* L.) انجام گرفت، نشان داده شد که تراکم علف‌های هرز یک‌ساله در تیمار پیش‌رویشی پندیمتالین به میزان ۲/۵ لیتر در هکتار از ماده تجاری، ۸۱ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. آئین و ممنوعی (۱) نیز عنوان کردند که تراکم علف‌های هرز در کاربرد پندیمتالین به میزان ۴/۵ لیتر در هکتار از ماده تجاری در محصول پیاز (*Allium cepa* L.)، نسبت به سایر تیمارها، شامل کمترین تراکم علف‌های هرز بود. همچنین مرادی و همکاران (۱۳) اظهار داشته‌اند که کاربرد پندیمتالین به‌صورت پیش‌کاشت و به میزان ۳ لیتر در هکتار از ماده تجاری، بیشترین راندمان را در کاهش تراکم علف‌های هرز سیب‌زمینی داشته است.

زیست‌توده کل علف‌های هرز

بر اساس نتایج حاصله، اثر کاربرد کولتیواتور بر زیست‌توده کل

به‌طوری که کمترین زیست‌توده کل علف‌های هرز (۵۳ گرم بر متر مربع) ۱۵ روز پس از اعمال آخرین تیمار و در کاربرد پندیمتالین + متری بیوزین نواری مشاهده گردید و بیشترین زیست‌توده کل نیز

جدول ۶- مقایسات میانگین اثر استفاده از تیمارهای مختلف علف‌کش بر زیست‌توده کل علف‌های هرز (گرم در متر مربع) سیب‌زمینی در مراحل مختلف نمونه‌برداری

Table 6- Means comparison of the different herbicide treatments effect on total weed biomass (g. m⁻²) of potato at different sampling stages

تیمار Treatment	زمان نمونه‌برداری (روز پس از تیمار) Time of sampling (Days after treatment)			
	15	30	45	90
Pend + metri broad*	86.0 ^c	112.5 ^d	155.0 ^e	250.2 ^c
Pend + metri band*	53.0 ^c	103.5 ^d	146.5 ^e	212.6 ^c
Pend alone	254.0 ^b	512.8 ^b	1043.4 ^a	933.9 ^a
Metri broad	192.5 ^b	325.0 ^c	387.3 ^d	519.4 ^b
Metri band	206.2 ^b	264.7 ^c	497.6 ^c	571.7 ^b
Weedy check	500.9 ^a	831.6 ^a	776.5 ^b	900.1 ^a

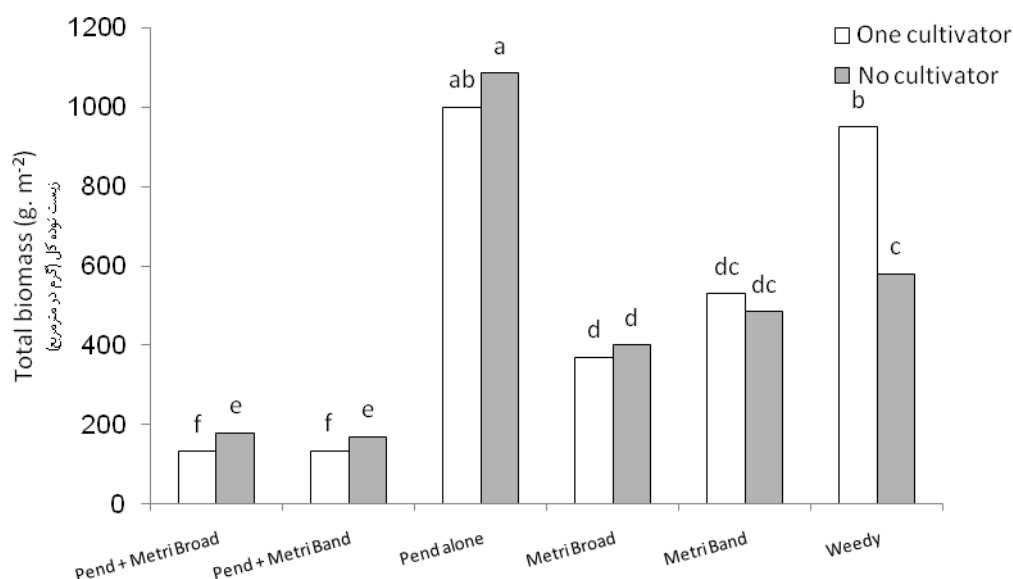
در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

Means followed by the same letters in each column are not significantly different according to LSD ($p \leq 0.05$) *Pend = Pendimethalin, metri broad = Metribuzin broadcast, metri band = Metribuzin banded.

مربع) بود و تیمار کاربرد پندیمتالین تنها و بدون کولتیواتور نیز، بیشترین زیست‌توده کل علف‌های هرز (۱۰۸۶/۷۷ گرم بر متر مربع) را داشت (شکل ۲). از آنجایی که علف‌کش‌های گروه دی‌نیتروآنیلین‌ها کمتر روی علف‌های هرز پهن‌برگ مانند تاج‌ریزی و توق تأثیرگذار هستند و علف‌های هرز باریک‌برگ مانند سوروف را بیشتر تحت تأثیر قرار می‌دهند، بنابراین بیشترین زیست‌توده کل علف‌های هرز متعلق به علف‌های هرز پهن‌برگ می‌باشد که کاربرد پندیمتالین به‌تنهایی تأثیری بر کنترل آن‌ها نداشته است. بررسی‌ها و تحقیقات دیگر محققین نیز نشان می‌دهد که کاربرد تلفیقی علف‌کش و کولتیواتور اثرات مختلفی را بر کنترل علف‌های هرز داشته است. کاهش زیست‌توده علف‌های هرز در کاربرد پیش‌رویشی پندیمتالین و یک‌بار کولتیواتور روی زیست‌توده علف‌های هرز در سیب‌زمینی که با افزایش دفعات کولتیواتور، کاهش زیست‌توده علف‌های هرز نیز بیشتر شده است (۱۵). بختیاری و آژنگ (۲) گزارش کردند که کاربرد نواری علف‌کش متری بیوزین و کولتیواتور، کمترین زیست‌توده علف‌های هرز (۳۵٪) و بیشترین کنترل علف‌هرز را در پی داشته است. در مطالعه‌ای دیگر عنوان شد که کاربرد علف‌کش و کولتیواتور، از آلودگی مزارع سیب‌زمینی به علف‌های هرز به میزان ۴۰ تا ۹۹ درصد، کاست (۱۸). کنترل علف‌های هرز با کولتیواتور و علف‌کش، توانست سله‌م‌تره را تا ۱۰۰ درصد و تاج‌خروس را از ۹۶ تا ۱۰۰ درصد کنترل کند (۸). کاربرد کولتیواتور و علف‌کش به‌صورت نواری باعث کنترل ۹۰ درصدی یا بیشتر علف‌های هرز گردید (۳).

با توجه به مقایسات میانگین تیمارهای علف‌کش می‌توان گفت که استفاده ترکیبی از علف‌کش‌های پیش‌رویشی پندیمتالین و پس‌رویشی متری بیوزین، کنترل بیشتری از علف‌های هرز را موجب گردیده است. اما در استفاده از تیمارهای پیش‌رویشی تنها و همچنین پس‌رویشی به‌تنهایی، کنترل مؤثری از علف‌های هرز حاصل نشد، هرچند که کاربرد پس‌رویشی متری بیوزین به‌تنهایی نسبت به کاربرد پندیمتالین به‌تنهایی در کاهش زیست‌توده کل علف‌های هرز، مؤثرتر بوده است. در بین کاربرد تیمارهای پس‌رویشی متری بیوزین نیز استفاده از تیمار سراسری نتیجه بهتری را به همراه داشته است که احتمالاً به دلیل پوشش سطح بیشتری از کرت و در نتیجه پوشش بیشتری از علف‌های هرز بوده است (جدول ۶). راشد محصل و همکاران (۱۶) در تحقیقی نشان دادند که کاربرد ۱۲۰۰ گرم از ماده تجاری علف‌کش متری بیوزین در هکتار، کمترین زیست‌توده کل علف‌های هرز را به خود اختصاص داده است. در تحقیق مذکور، زیست توده علف‌های هرز بعد از شاهد آلوده تمام فصل در تیمار کولتیواسیون تنها بیش از سایر تیمارها بود. تیمار علف‌کش نواری در رتبه بعدی، و تیمارهای مدیریت تلفیقی و علف‌کش سراسری بدون اختلاف معنی‌دار کمترین زیست توده علف‌های هرز را ایجاد کردند.

اثر متقابل کاربرد کولتیواتور و تیمارهای علف‌کش بر زیست‌توده کل علف‌های هرز در ۴۵ روز پس از اعمال آخرین تیمار در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۴) به‌طوری که در تیمار کاربرد پندیمتالین + متری بیوزین سراسری و نواری همراه با یک‌بار کولتیواتور، کمترین زیست‌توده کل علف‌های هرز به ترتیب (۱۳۴ و ۱۳۵ گرم بر متر



شکل ۲- اثر متقابل کاربرد کولتیواتور و تیمارهای مختلف علف کش بر زیست توده کل علف های هرز در ۴۵ روز پس از اعمال آخرین تیمار
ستون های با حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد اختلاف معنی دار می باشند.

Figure 2- Interaction effect of cultivator and different herbicide treatments on total weed biomass at 45 days after last treatment

Means followed by the same letters in each column are not significantly different according to LSD, ($p \leq 0.05$)

سیب زمینی معنی دار شد و اثر کاربرد کولتیواتور و اثر متقابل کاربرد یک بار کولتیواتور و تیمارهای مختلف علف کش، بر عملکرد سیب زمینی معنی دار نشد (جدول ۴).

عملکرد سیب زمینی

نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان داد که فقط اثر استفاده از تیمارهای مختلف علف کش در سطح یک درصد بر عملکرد

جدول ۷- مقایسات میانگین اثر کاربرد تیمارهای مختلف علف کش بر عملکرد سیب زمینی

Table 7- Mean Comparison of the different herbicide treatments effect on potato yield

تیمار Treatments	عملکرد سیب زمینی Potato Yield	
	غده (تن در هکتار) Tuber (ton.ha ⁻¹)	زیست توده (گرم در متر مربع) Biomass (g.m ⁻²)
Pend + metri broad* کاربرد سراسری متری بیوزین + پندیمتالین	41.15 ^a	262.70 ^a
Pend + metri band* کاربرد نواری متری بیوزین + پندیمتالین	36.16 ^b	249.90 ^a
Pend alone کاربرد پندیمتالین به تنهایی	18.75 ^d	161.30 ^c
Metri broad کاربرد متری بیوزین به تنهایی به صورت سراسری	24.08 ^c	199.80 ^b
Metri band کاربرد متری بیوزین به تنهایی به صورت نواری	19.71 ^d	172.50 ^c
Weedy check شاهد آلوده به علف هرز	16.48 ^d	150.90 ^c
Weed free شاهد عاری از علف هرز	45.56 ^a	263.81 ^a

در هر ستون میانگین های با حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد فاقد اختلاف معنی دار می باشند.

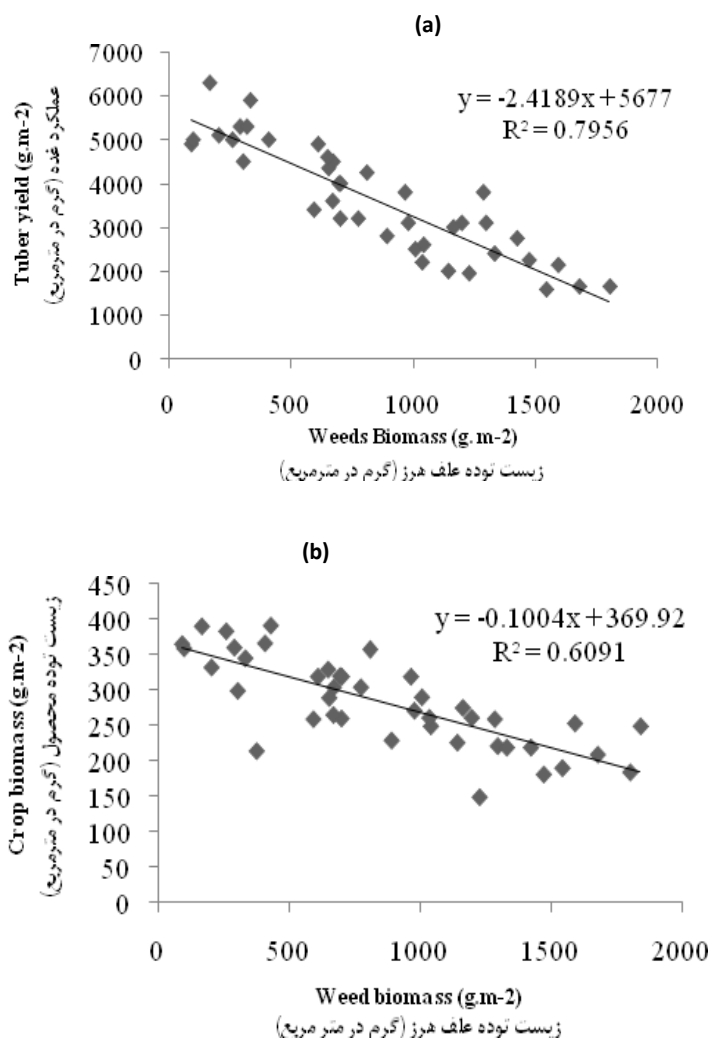
Means followed by the same letters in each column are not significantly different according to LSD ($p \leq 0.05$).

متری بیوزین سراسری به دست آمده است که نسبت به شاهد (وجین کامل) اختلاف معنی داری نداشت، و کمترین عملکرد غده ها نیز در تیمار بدون کاربرد علف کش (۱۶/۴۸ تن در هکتار) حاصل شد که در

مقایسات میانگین اثر استفاده از تیمارهای مختلف علف کش بر عملکرد سیب زمینی نشان داد که بیشترین عملکرد غده های سیب زمینی (۴۱/۱۵ تن در هکتار) در تیمار کاربرد پندیمتالین +

علف‌کش نیز کاربرد پس‌رویشی متری بیوزین عملکرد بهتری نسبت به کاربرد پندیمتالین داشته است. در بین تیمارهای پس‌رویشی متری بیوزین، کاربرد تیمار پس‌رویشی متری بیوزین به صورت سراسری، عملکرد بیشتری نسبت به تیمار نواری داشته است. (جدول ۷).

مقایسه با شاهد، حدود ۶۴ درصد کاهش عملکرد را نشان داد، که با تیمارهای کاربرد متری بیوزین نواری و علف‌کش پیش‌رویشی پندیمتالین تنها، اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری نداشتند. کاربرد پندیمتالین به صورت پیش‌رویشی بعلاوه متری بیوزین در کاربرد پس‌رویشی به صورت ترکیبی، کارایی مؤثرتری بر عملکرد سیب‌زمینی، نسبت به کاربرد تنهای علف‌کش‌ها داشته است. در بین این دو



شکل ۳- رابطه بین زیست‌توده علف‌های هرز و عملکرد غده سیب‌زمینی (a) رابطه بین زیست‌توده علف‌های هرز و زیست‌توده سیب‌زمینی (b)
Figure 3- Relationship between weed biomass and tuber yield (a) relationship between weeds biomass and crop biomass (b)

علف‌های هرز رابطه خطی معکوس معنی‌داری وجود داشت، به این صورت که با افزایش زیست‌توده کل علف‌های هرز، از عملکرد سیب‌زمینی کاسته شد. همان‌طوری که شکل ۳ نشان می‌دهد، بر این اساس بیشترین عملکرد سیب‌زمینی در شرایطی که زیست‌توده کل علف‌های هرز به سمت صفر میل کند (شرایط عاری از علف هرز) ۵۶۷۷ گرم در متر مربع و بیشترین عملکرد زیست‌توده بخش هوایی سیب‌زمینی نیز ۳۶۹ گرم در متر مربع برآورد شد (شکل ۳ a, b).

نتایج مطالعات محققین دیگر نیز نشان می‌دهد که استفاده از علف‌کش نسبت به حالتی که از هیچ نوع علف‌کشی استفاده نمی‌شود، باعث افزایش عملکرد شده است. همچنین کاربرد ترکیبی علف‌کش‌ها و یا استفاده از چند نوع علف‌کش برای کنترل علف‌های هرز و افزایش عملکرد غده‌های سیب‌زمینی، مؤثرتر از کاربرد تنهای هر کدام از علف‌کش‌هاست (۵).

بر اساس نتایج آزمایش بین عملکرد سیب‌زمینی و زیست‌توده کل

جدید علف‌های هرز و نیز افزایش زیست‌توده علف‌های هرز باقی‌مانده شده و در نتیجه اثرگذاری بر زیست‌توده کل علف‌های هرز که مهم‌ترین شاخص فشار رقابتی علف‌های هرز است، به حداقل برسد. همچنین استفاده تنها از یک نوع علف‌کش نیز تأثیر خیلی زیادی بر کنترل علف‌های هرز و افزایش عملکرد نداشته و کاربرد دو و یا چند نوع علف‌کش با محل اثرهای مختلف، می‌تواند در کاهش علف‌های هرز و افزایش عملکرد سیب‌زمینی خیلی مؤثر باشد. در کاربرد تنها از یک نوع علف‌کش نیز، متری بیوزین به‌تنهایی نسبت به پندیمتالین به‌تنهایی، عملکرد بهتری داشته است. سرانجام اینکه کاربرد نواری سموم موردبررسی در تلفیق با کولیتواتور، ضمن صرفه‌جویی اقتصادی در میزان مصرف سم، از بعد سلامت بوم نظام زراعی نیز بسیار حائز اهمیت خواهد بود که به همین دلیل اهمیت این نوع مدیریت تلفیقی را دوچندان خواهد کرد.

همچنین بر این اساس هر کیلوگرم زیست‌توده کل علف‌های هرز در متر مربع منجر به کاهش ۲۴۱۸ گرم عملکرد غده در متر مربع شده و زیست‌توده بخش هوایی سیب‌زمینی را نیز به میزان ۱۰۰ گرم در متر مربع کاهش خواهد داد.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی بر اساس نتایج این پژوهش در شرایط مشهد کاربرد یک‌بار کولیتواتور نمی‌تواند در کنترل علف‌های هرز سیب‌زمینی رقم آگria مؤثر باشد و نیاز به تکرار و یا تلفیق با سایر روش‌های کنترل علف‌های هرز دارد. در این شرایط فقط تراکم کل علف‌های هرز به‌صورت موقت کاهش خواهد یافت و این کاهش تراکم در شرایط عدم کاربرد علف‌کش و یا عدم استفاده مجدد از کولیتواتور به‌عنوان اقدام مدیریتی تکمیلی، می‌تواند در ادامه منجر به رویش موج‌های

منابع

- 1- Aien A., and Mamnoei A. 2014. Chemical control weeds in onion field's seedling in South Kerman, Iran. Journal of Weed Ecology 2: 358-367. (In Persian with English abstract)
- 2- Bakhtiari M., and Jahedy A. 2013. Evolution possible integrated chemical and mechanical approaches to control weeds potato, 8th National Congress Agriculture Machinery and Mechanization, Mashhad, Iran. (In Persian with English abstract)
- 3- Bellinder R.R., Kirkland J.J., Wallace R.W., and Colquhoun J.B. 2000. Weed control and potato yield with banded herbicide and cultivation. Weed Technology 14: 30-35.
- 4- Boydston R.A. 2007. Potato and response to post emergence-applied halosulfuron, rimsulfuron and EPTC. Weed Technology 21: 465-469.
- 5- Boydston R.A. 2010. Management weeds in potato rotation without herbicides. Potato Association of America 84: 420-427.
- 6- Carlos. 2012. Differentiation of potato cultivars experimentally cultivated based on their chemical composition and applying discriminate analysis. Elsevier. Food Chemistry, 133 Pp.
- 7- Dallyn S.L. 1970. Weed control methods in potatoes. News and reviews. American Potato Journal, 623 Pp.
- 8- Felix J., George J., Kigode O., and Duohan D. 2009. Timing potato cultivation using the weed cost model. Weed Science 55: 87-93.
- 9- Harris P. 1992. The Potato Crop, 373-393.
- 10- Hussain Z., Fazal M., Khan Bahador M., Kawsar A., Riaz A., and Shahida B. 2013. Studies on efficacy of different herbicide against weeds in potato in Peshavar Pakistan. Journal Botanical 45: 487-491.
- 11- Jahedi A. 2005. Integrated weeds management in potato. Sepehreh Danesh Publisher, Iran.
- 12- Khajepour M.R. 2005. Industrial Plants. Jehade Daneshgahi Isfahan University. 530 Pp.
- 13- Moradi A., Rashed Mohhasel M.H., and Parsa M. 2009. Evaluation efficiency of Imazetethapyr, Oxyflorofen, Trifluralin, Pendimethalin and hand weeding on crop yield of Chickpea verity ILC 482 in Mashhad. The 3th Iranian Weed Science Congress, February 2010, 459-460. (In Persian with English abstract)
- 14- Mousavi S.K. 2009. Evaluation of some herbicides for weeds control in Chickpea and their residual effects on wheat in the following season. Journal Agronomy Researches 1: 229-238. (In Persian with English abstract)
- 15- Nelson D., and Giles J. 1989. Weed Management in two Potato (*Solanum tuberosum*) cultivars using tillage and pendimethalin. Weed Science 37: 228-232.
- 16- Rashed Mohassel M.H., Haj Mohammadnia Ghalibaf K., and Hossaini S.A. 2011. Evaluation effect some methods chemical and mechanical management weeds for reduce application herbicides in potato. Journal Plant Protection 3: 227-236. (In Persian with English abstract)
- 17- Zand E., Baghestani M.A., Shimi P., Nezamabadi N., Mousavi S.M., and Mousavi S.K. 2013. Chemical weed control guideline for major crops of Iran. Jehade Daneshgahi Mashhad Press. 4: 176 Pp.
- 18- Zarzecka K., Gugala M., and Baranowska A. 2014. Elements by weeds in potato to cultivation under different conditions of soil tillage and weed control methods. Journal of Ecological Engineering 15: 131-136.



Integrating Mechanical and Chemical Methods for Weed Control in the Potato Fields

M. Taghipour¹- A. Ghanbari²- M. Rastgoo^{3*}

Received: 17-09-2018

Accepted: 24-04-2019

Introduction: The presence of weeds seriously reduces potato yield by particularly where crop competition is reduced because of poor growing conditions or disease or in cultivars where development rate is slow. Weeds can also have a serious effect on harvesting the crop, entangling equipment and slowing operations. They can also encourage some pests and diseases such as slugs, free living nematodes, wireworm and *Rhizoctonia*. The potato crop, once the haulm meets in the rows, is usually effective in reducing late weed emergence through shading. However, weeds emerging before row closure can grow above the crop canopy. Noxious weeds such as field bindweed and knotgrass can grow through the crop, and tall weeds, such as fat-hen, sow thistles, and grasses, can grow above the crop, shading and competing strongly for resources. Weed control needs to start whilst the weeds are accessible to treatment, that is, pre-emergence of the crop to before the crop shades emerged weeds. The treatment needs to be able to maintain weed control for up to 6-8 weeks after crop emergence to allow the crop canopy to close and shade further weed emergence. In less vigorous and less competitive varieties, canopy closure may take longer, or remain incomplete. In conventional farming systems, treatments are based on herbicide treatment. This may be before weeds and crop emergence with a residual soil-acting herbicide which gives a number of weeks of control, depending on dose, soil type and weather conditions. Some residual herbicides have some foliar as well as root activity and can be used as the weeds and crop emerge. Mixtures with a contact herbicide are often used at this timing. This timing, slightly later than purely pre-emergence of the crop, allows the residual effect of soil-acting herbicides to persist for longer into the season. This is particularly useful for slow growing varieties or in slow growing conditions. The objective of this study was to evaluate the effect of integrated weed management, using chemical and mechanical methods, on weed density and biomass of potato C.V. Agria.

Material and Methods: To evaluate the effect of cultivator and herbicide application on yield and weed community of potato, an experiment was conducted using factorial arrangement based on randomized complete block design with four replications at the Research Field of Ferdowsi University of Mashhad in 2015. Factors included cultivator at two levels (no and once cultivator) and herbicide application at six levels (pre-planting application of pendimethalin+broadcast application of metribuzine as post-emergence, pre-planting application of pendimethalin+band application of metribuzine as post-emergence, pre-planting application of pendimethalin alone, broadcast application of metribuzine as post-emergence alone, band application of metribuzine post-emergence alone, and no herbicide treatment). In addition to these treatments, a weed free treatment as a control considered in each block. Weed flora, total weed density and total weed biomass recorded at 15, 30, 45 and 90 days after treatment using a $0.35 \times 0.75 \text{ m}^2$ quadrates. At the harvest time, tuber yield and potato biomass recorded in 2 m^2 area. Data analysis; including ANOVA and mean differences at the 5 %significant level was done using SAS 9.1 and figures created using Excel 2007.

Results and Discussion: The results showed that cultivator just had significant effect on total weed density and had no significant effect on total weed biomass and potato yield. Application of pendimethalin+metribuzine using broadcast or band application method reduced total weeds density and total weed biomass and increased tuber yield, and biomass of potato. The lowest weed biomass (250.2 and 212.2 g.m^{-2}) and highest tuber yield observed in application pendimethalin+metribuzine broadcast and band application method, 41.158 and $36.168 \text{ ton.ha}^{-1}$, respectively and highest weed biomass (900.1 and 933.9 g.m^{-2}) and lowest tuber's yield observed in no herbicides and pendimethalin alone, 16.482 and $18.752 \text{ ton.ha}^{-1}$, respectively.

Conclusion: It was concluded that one cultivator alone not only could not help to weed control program, but

1, 2 and 3- Ph.D. Student and Associate Professors, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, respectively.

(*- Corresponding Author Email: m.rastgoo@um.ac.ir)

also excite weed emergence. Then repeating the cultivator operation or application of pre-planting or post-emergence herbicide is necessary to achieve a good weed control in potato. In addition, integration band application of post emergence metribuzine and cultivation between rows reduced significantly herbicide application in potato.

Keywords: Band application, Biomass, Pre-emergence, Pre-planting

تأثیر نوع و شماره نازل‌های یک، دو و سه بادبزنه بر عملکرد سیکلوکسیدیم علیه جودره (*Hordeum spontaneum* Koch.)

اکبر علی‌وردی^{۱*} - سمیرا کریمی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۰۶

چکیده

در آزمایشی که به صورت دُر-پاسخ اجرا شد، شش مقدار از سیکلوکسیدیم (۰، ۲۵/۵، ۵۰، ۷۵/۵، ۱۰۰ و ۱۲۵/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار) با استفاده از ۳ نوع نازل (استاندارد، ضدبادبردگی و القاءکننده هوا) در ۳ تعداد بادبزن (یک، دو و سه بادبزنه) در ۳ شماره نازل (۱۱۰۰۲، ۱۱۰۰۳ و ۱۱۰۰۴ که به ترتیب حجم پاشش‌های ۱۶۰، ۲۴۰ و ۳۲۰ لیتر آب در هکتار را فراهم کردند) بر روی جودره در مرحله چهار برگی در سرعت وزش باد کمتر از ۰/۴ متر بر ثانیه پاشیده شدند. مقدار سیکلوکسیدیم لازم برای کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک جودره (ED₅₀) به طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع، تعداد بادبزن و شماره نازل قرار گرفت. افزایش تعداد بادبزن سبب کاهش ED₅₀ شد. در بین نازل‌ها با شماره ۱۱۰۰۲ در هر تعداد از بادبزن، عملکرد انواع نازل‌ها به صورت استاندارد < ضدبادبردگی < القاءکننده هوا بود. با این حال، در بین نازل‌ها با شماره‌های ۱۱۰۰۳ یا ۱۱۰۰۴ در هر تعداد از بادبزن، عملکرد انواع نازل‌ها به صورت استاندارد = ضدبادبردگی < القاءکننده هوا بود. در بین تمام انواع نازل‌ها در هر تعداد از بادبزن، افزایش حجم پاشش از ۱۶۰ به ۳۲۰ لیتر آب در هکتار سبب کاهش ED₅₀ شد. با این وجود، تنها در نازل القاءکننده هوا در هر تعداد از بادبزن، افزایش حجم پاشش از ۲۴۰ به ۳۲۰ لیتر آب در هکتار سبب کاهش مجدد ED₅₀ شد. بنابراین، می‌توان چنین توصیه کرد که مناسب‌ترین نازل برای کاربرد سیکلوکسیدیم علیه جودره با هدف بهینه‌سازی همزمان مصرف علف‌کش و آب "نازل استاندارد سه بادبزنه ۱۱۰۰۳" می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: علف‌کش، علف‌هرز، کلزا، نازل

مقدمه

جودره علف‌هرزی یکساله زمستانه متعلق به تیره گندم است که به عنوان تهدیدی بسیار جدی در خودکفایی تولید گندم کشور مطرح است (۹). به طوری که شدت آلودگی برخی مزارع گندم کشور به جودره به قدری است که امکان زراعت آن را غیرممکن ساخته است (۲۴). محققان نشان داده‌اند که تراکم ۱۶۰ بوته جودره در متر مربع سبب افت عملکرد بیش از ۷۵ درصدی در عملکرد دانه گندم می‌شود (۲۰). علاوه بر این، محققان ثابت کرده‌اند که بقایای گیاهی جودره در خاک مزرعه سبب کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گندم نیز می‌شود (۲۱). دلایل اصلی شیوع جودره در کشور را می‌توان (۱) عدم رعایت تناوب زراعی با کشت پی‌درپی گندم (۲۳)، (۲) کاربرد گسترده باریک برگ‌کشی‌هایی مانند کلودینافوپ پروپارژیل که به طور مؤثری سایر

باریک‌برگانی مانند یولاف وحشی و خونی‌واش را در گندم کنترل می‌کنند ولی بر جودره تأثیری ندارند (۲۳) و (۳) عدم دسترسی به علف‌کشی کم خطر از نظر بروز مقاومت به علف‌کش در علف‌های هرز جهت کنترل جودره در مزارع گندم دانست. در رابطه با مورد آخر، محققان علف‌کش‌های سولفوسولفون و متسولفون‌متیل را جهت کنترل جودره در مزارع گندم مؤثر تشخیص داده‌اند (۸ و ۲۲) ولی به دلیل اینکه آنها دارای خطر بسیار بالایی در بروز مقاومت به علف‌کش در علف‌های هرز هستند نباید آنها را در برنامه مدیریت شیمیایی علف‌های هرز مزارع گندم مد نظر قرار داد. از این‌رو، تناوب زراعی منطقی‌ترین روش در کاهش آلودگی مزارع گندم به جودره به نظر می‌رسد. تناوب زراعی "گندم-کلزا" فرصتی عالی جهت کنترل جودره با باریک‌برگ‌کشی‌های توصیه شده برای کاربرد در مزارع کلزا مانند سیکلوکسیدیم و ستوکسیدیم را فراهم می‌سازد. تحقیقات ثابت کرده است که تراکم بذر جودره در بانک بذر خاک با اجرای چنین تناوب زراعی به همراه کاربرد باریک‌برگ‌کشی‌های مذکور در مزارع کلزا به طور قابل ملاحظه‌ای رو به کاهش می‌گذارد (۲۴).

اجتناب‌ناپذیر بودن کاربرد علف‌کش‌ها سبب اتکای روز افزون کشاورزان به کاربرد بی‌رویه آنها و بروز مسائل متعدد زیست محیطی

۱ و ۲- به ترتیب استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

(* - نویسنده مسئول)

(Email: a.aliverdi@basu.ac.ir)

DOI: 10.22067/jpp.v33i4.81208

سبب بهبود کارایی علف‌کش؛ در ۳۲ درصد پژوهش‌ها، افزایش حجم پاشش سبب تقلیل کارایی علف‌کش و در ۳۲ درصد پژوهش‌ها، کارایی علف‌کش تحت تأثیر حجم پاشش قرار نگرفته است. این بررسی منابع نشان می‌دهد که گاهی علی‌رغم اینکه با افزایش شماره هر نوع نازلی (به منظور افزایش حجم پاشش) اندازه قطرات تولیدی آن بزرگتر می‌شود ولی در عمل نتیجه مطابق با قاعده کلی ذکر شده در بالا نیست. به همین دلیل، همیشه بررسی تأثیر حجم پاشش برای علف‌کش‌های مختلف ضروری به نظر رسیده است.

تاکنون، تأثیر حجم پاشش بر کارایی سیکلوکسیدیم علیه هیچ گونه علف‌هرزی مورد بررسی قرار نگرفته بود. همچنین، به دلیل اینکه انواع نازل‌های سه بادبزنه اخیراً توسعه پیدا کرده‌اند، هیچ پژوهشی پیرامون کارآمدی آنها در مقایسه با انواع نازل‌های یک و دو بادبزنه بر کارایی هیچ علف‌کشی انجام نگرفته است. این پژوهش قصد داشت تا این فضاهای خالی در علم را پر کند.

مواد و روش‌ها

سنبله‌های علف‌هرز جودره از محوطه دانشگاه بوعلی سینا همدان در اواخر بهار ۱۳۹۸ جمع‌آوری و تا زمان اجرای آزمایش در درون یخچال نگهداری شدند. در اواخر زمستان ۱۳۹۸، پوسته در بردارنده بذرها (لما و پالئا) از آنها جدا شد. این پوسته مانع جوانه‌زنی بذر جودره شناخته شده است (۱۹). پس از ضدعفونی سطحی بذرها با محلول هیپوکلرید سدیم ۵ درصد به مدت ۵ دقیقه، حدوداً ۵۰ بذر از بخش شیاردارشان بر روی یک لایه کاغذ صافی در درون هر پتری‌دیش با قطر ۱۱ سانتی‌متری قرار داده شد. سپس، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۲ گرم نیترات پتاسیم در لیتر به هر یک از پتری‌دیش‌ها اضافه شد. پتری‌دیش‌ها به مدت ۹۶ ساعت در دمای ۴ تا ۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی در درون یخچال نگهداری شدند (۳). سپس، تعداد ۸ گیاهچه با طول کولئوپتیل ۰/۵ سانتی‌متری در درون گلدان‌های ۳ لیتری پلاستیکی قهوه‌ای رنگ با مقطع مربعی در عمق ۱ سانتی‌متری خاک کاشته شدند. خاک مورد استفاده در تهیه‌ی بستر به ترتیب دارای نسبت ۱:۱:۴ از خاک:ماسه بادی:کود دامی بود. گلدان‌ها به درون گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان منتقل شدند و هر ۵ روز یکبار به طور یکنواخت آبیاری شدند.

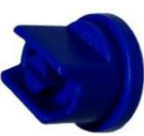
تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از ۶ مقدار از سیکلوکسیدیم (۰، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار) که با استفاده از ۳ نوع نازل (استاندارد، ضد بادبردگی و القاءکننده هوا) در ۳ تعداد بادبزن (تک، دو و سه بادبزنه) در ۳ شماره نازل (۰۲ زرد رنگ، ۰۳ آبی رنگ و ۰۴ قرمز رنگ) در ۴ تکرار بر روی گیاهچه‌های چهار برگی جودره پاشیده شدند. زاویه پاشش تمامی نازل‌ها ۱۱۰ درجه بود. نام، تصویر و کیفیت قطرک‌سازی نازل‌ها در فشار ۳۰۰ کیلو پاسکال در جدول ۱ نمایش داده شده است.

ناشی از کاربرد آنها شده است. لذا، در سال‌های اخیر محققان رویکرد کاربرد بهینه علف‌کش‌ها از طریق روش‌های گوناگون را دنبال می‌کنند. در چنین رویکردی، به حداقل‌رسانی فرار قطرات پاشش به بیرون از منطقه سمپاشی^۱ و یا اتلاف آنها در درون منطقه سمپاشی^۲ ضروری است. میزان فرار قطرات پاشش به بیرون از منطقه سمپاشی و اتلاف آنها در درون منطقه سمپاشی ارتباط مستقیمی با اندازه قطرات پاشش دارد. به طوری که با کاهش اندازه قطرات پاشش احتمال فرار آنها به بیرون از منطقه سمپاشی افزایش و احتمال اتلاف آنها در درون منطقه سمپاشی کاهش می‌یابد (۳۴). این موضوع پیچیده، محرکی برای توسعه انواع نازل‌ها در شماره (رنگ)‌های مختلف بوده است که در فشار پاشش مختلف اندازه قطرات پاشش متفاوتی ایجاد می‌کنند. چنین پیشرفتی در طراحی و تولید نازل‌ها سبب دشواری و سردرگمی در انتخاب نازل مناسب شده است. از این گذشته، عواملی مانند سرعت وزش باد، نوع آفت‌کش، نحوه عمل علف‌کش، فرمولاسیون علف‌کش، حجم پاشش، توپوگرافی زمین و گونه گیاهی نیز به دشواری در انتخاب نازل مناسب دامن زده است (۴). بر اساس یک قاعده کلی، نوع نازلی مناسب‌ترین است که سبب نشست بیشتر قطرات پاشش بر روی سطح هدف (علف‌هرز) شود (۳۱). برای مثال، در مقایسه بین انواع مختلف نازل‌های یک و دو بادبزنه، کارایی کلودینافوپ پروپارژیل پاشیده شده با انواع نازل‌های دو بادبزنه در کنترل یولاف وحشی زمستانه بیشتر از وقتی بود که با انواع نازل‌های یک بادبزنه پاشیده شده بود. همچنین، در بین انواع نازل‌های دو بادبزنه، نازل‌های دو بادبزنه استاندارد و دو بادبزنه توربو به ترتیب در سرعت وزش باد ۰/۵ و ۷/۵ متر بر ثانیه مناسب‌ترین نازل تشخیص داده شدند (۲).

متأسفانه، بخش کشاورزی کشور با بحران آب روبرو است. با توجه به اینکه آب به عنوان مهمترین حامل پاشش برای کاربرد علف‌کش‌ها مطرح است، بحث انتخاب حجم پاشش مناسب نیز امری ضروری به نظر می‌رسد. تحقیقات نشان داده است که کارایی علف‌کش‌های مختلف در کنترل علف‌های هرز به تغییر حجم پاشش واکنش‌های مختلفی می‌دهد. برای مثال، کارایی گلایفوسیت (۳۰)، سیتوکسیدیم (۲۹) و کلودینافوپ پروپارژیل (۱۸) با افزایش حجم پاشش کاهش می‌یابد. برعکس، کارایی توفوردی (۱۲) و دیکلوفوپ متیل (۲۶) با افزایش حجم پاشش افزایش می‌یابد. این در حالی است که کارایی فلوآزیفوپ‌پی‌اتیل (۱۲) و فنوکسپروپ‌پی‌اتیل (۲۹) تحت تأثیر حجم پاشش قرار نمی‌گیرد. با مرور ۱۹۶ پژوهش پیرامون تأثیر حجم پاشش بر کارایی علف‌کش‌های مختلف به وسیله نوچی (۲۶)، وی گزارش کرد که در ۳۷ درصد پژوهش‌ها، افزایش حجم پاشش

جدول ۱- نازل های مورد استفاده در پژوهش و کیفیت قطر سازی آنها در فشار ۳۰۰ کیلو پاسکال

Table 1- The nozzles used in the study and their atomization quality at 300 kPa

سه بادبزنه Triple flat fan			دو بادبزنه Twin flat fan			یک بادبزنه Single Flat Fan		
القاء کننده هوا Air induction	ضد بادبردگی Anti-drift	استاندارد Standard	القاء کننده هوا Air induction	ضد بادبردگی Anti-drift	استاندارد Standard	القاء کننده هوا Air induction	ضد بادبردگی Anti-drift	استاندارد Standard
								
M	F	VF	VC	M	VF	XC	M	F
								
C	F	VF	XC	M	VF	XC	M	F
								
C	M	VF	XC	M	F	UC	M	F

VF: very fine (61-105 μm), F: fine (106-235 μm), M: medium (236-340 μm), C: coarse (341-403 μm), VC: very coarse (404-502 μm), XC: extremely coarse (503-665 μm), and UC: ultra-coarse (> 665 μm) (V).

VF: very fine (61-105 μ m), F: fine (106-235 μ m), M: medium (236-340 μ m), VC: very coarse (404-502 μ m), XC: extremely coarse (503-665 μ m), and UC: ultra-coarse (> 665 μ m) (V).

به مقدار علف‌کش بیشتر از سایر آماره‌ها (مانند ED₁₀ و ED₉₀) تشخیص داده شده است (۳۲)، از اینرو؛ فقط نتایج مربوط به آماره ED₅₀ ارائه شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که مقدار آماره ED₅₀ برای سیکلوکسیدیم علیه جودره به طور معنی‌داری تحت تأثیر تعداد بادبزن نازل (تعداد روزنه خروجی نازل) قرار گرفت (جدول ۲). در همه انواع نازل‌ها (استاندارد، ضد بادبردگی و القاء‌کننده هوا) و در هر شماره‌ای از آنها (۱۱۰۰۲، ۱۱۰۰۳ و ۱۱۰۰۴)، افزایش تعداد بادبزن به طور معنی‌داری سبب کاهش مقدار آماره ED₅₀ برای سیکلوکسیدیم علیه جودره شد که نشان‌دهنده آن است که افزایش تعداد بادبزن نازل سبب افزایش کارایی علف‌کش شده است. به عبارتی دیگر، نازل‌های سه بادبزنه با عملکرد بهتری در مقایسه با نازل‌های دو بادبزنه همسان خود و نازل‌های دو بادبزنه نیز با عملکرد بهتری در مقایسه با نازل‌های یک بادبزنه همسان خود بر کارایی علف‌کش علیه جودره ظاهر شدند. برای مثال، وقتی از نازل‌های بادبزنی استاندارد یک، دو و سه بادبزنه با شماره ۱۱۰۰۲ برای پاشش سیکلوکسیدیم استفاده شد، به ترتیب به مقادیر ۳۱/۷۱، ۲۰/۷۲ و ۱۹/۳۵ گرم ماده مؤثره سیکلوکسیدیم در هکتار برای کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک جودره احتیاج بود. در تمام انواع نازل‌ها در هر شماره‌ای چنین نتیجه‌ای مشاهده شد. در تحقیقات گذشته، عملکرد بهتر نازل‌های دو بادبزنه در مقایسه با نازل‌های یک بادبزنه در بهبود کارایی علف‌کش‌های کلودینافوپ پروپارژیل (۲)، سیتوکسیدیم (۱)، هالوکسی‌فوپ (۱۲) و حتی در بهبود کارایی علف‌کش‌های زیستی (۱۳ و ۳۵) نیز به اثبات رسیده است. با این وجود، هر چند به وسیله تولید‌کننده نازل‌های سه بادبزنه ادعا شده است (۴) ولی تاکنون پژوهشی در رابطه با عملکرد بهتر انواع نازل‌های سه بادبزنه در مقایسه با انواع یک و دو بادبزنه همسان خود به انجام نرسیده بود که احتمالاً به دلیل آن است که این نوع نازل‌ها به تازگی طراحی و توسعه یافته‌اند. افزایش عملکرد نازل‌ها با افزایش تعداد بادبزن در بهبود کارایی سیکلوکسیدیم علیه جودره را می‌توان به دو دلیل دانست. اول اینکه در فشار ثابت (۳۰۰ کیلو پاسکال در این آزمایش)، با افزایش تعداد بادبزن در هر نوع نازلی اندازه قطرات به وجود آمده آن نازل کاهش می‌یابد (جدول ۱). برای مثال، در بین نازل‌ها با شماره ۱۱۰۰۲، نازل یک بادبزنه القاء‌کننده هوا دارای کیفیت قطرک‌سازی به شدت درشت (با قطر قطرات بین ۵۰۳ تا ۶۶۵ میکرومتر)، نازل دو بادبزنه القاء‌کننده هوا دارای کیفیت قطرک‌سازی بسیار درشت (با قطر قطرات بین ۴۰۴ تا ۵۰۲ میکرومتر) ولی نازل سه بادبزنه القاء‌کننده هوا دارای کیفیت قطرک‌سازی درشت (با قطر

کیفیت قطرک‌سازی به صورت بسیار ریز (با قطر قطرات بین ۶۱ تا ۱۰۵ میکرومتر)، ریز (با قطر قطرات بین ۱۰۶ تا ۲۳۵ میکرومتر)، متوسط (با قطر قطرات بین ۲۳۶ تا ۳۴۰ میکرومتر)، درشت (با قطر قطرات بین ۳۴۱ تا ۴۰۳ میکرومتر)، بسیار درشت (با قطر قطرات بین ۴۰۴ تا ۵۰۲ میکرومتر)، به شدت درشت (با قطر قطرات بین ۵۰۳ تا ۶۶۵ میکرومتر) و فوق العاده درشت (با قطر قطرات بیش از ۶۶۵ میکرومتر) دسته‌بندی شده است (۷). جنس روزنه خروجی نازل‌های یک بادبزنه استاندارد و دو بادبزنه استاندارد پلاستیکی بوده و به ترتیب به وسیله شرکت‌های Agrotop آلمان (۵) و ASJ ایتالیا (۶) تولید می‌شوند ولی جنس روزنه خروجی سایر نازل‌ها سرامیکی بوده و به وسیله شرکت Magnojet برزیل (۴) تولید می‌شوند.

تیمارها در فضای آزاد بیرون گلخانه تحت شرایط دما هوایی ۱۶±۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۳۵±۵ درصد و سرعت وزش باد کمتر از ۰/۴ متر بر ثانیه اعمال شدند. تیمارها به وسیله سمپاش پستی کمپرسوری در فشار ۳۰۰ کیلو پاسکال بکار برده شدند. میزان حجم پاشش ایجاد شده به وسیله نازل‌ها با شماره ۱۱۰۰۲، ۱۱۰۰۳ و ۱۱۰۰۴ به ترتیب برابر ۱۶۰، ۲۴۰ و ۳۲۰ لیتر آب در هکتار بود. ارتفاع نازل تا سطح خاک گلدان حدوداً ۰/۵ متر بود. در روز سمپاشی، گیاهان موجود در درون ۴ گلدان از فاصله ۰/۵ سانتی‌متری سطح خاک برداشت شدند و پس از توزین وزن خشک آنها، به عنوان وزن اولیه گیاهان در زمان اعمال تیمارها در نظر گرفته شدند. پس از سمپاشی، گلدان‌ها مجدداً در درون گلخانه قرار داده شدند.

پس از گذشت ۳ هفته از روز سمپاشی، گیاهان درون گلدان‌ها از فاصله ۰/۵ سانتی‌متری سطح خاک برداشت شدند و وزن خشک آنها پس از ۲ روز خشکاندن در درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد توزین شد. در زمان برداشت، تنها در کاربرد مقادیر ۶/۲۵ و ۱۲/۵ گرم سیکلوکسیدیم در هکتار گیاهان زنده بودند. داده‌های بدست آمده در ابتدا تقسیم بر ۸ (تعداد بوته در هر گلدان) و سپس منهای ۰/۰۶ گرم (وزن اولیه هر بوته در روز سمپاشی) شدند. سپس، پاسخ وزن خشک جودره به تیمارها با روش تجزیه و تحلیل رگرسیون غیرخطی با کمک مدل ۴ آماره‌ای لجستیک (معادله ۱) و با استفاده از نرم‌افزار R نسخه ۲،۶،۲ تخمین زده شد (۳۲):

$$Y = \frac{C + (D - C)}{1 + \exp[B(\log X - \log ED)]} \quad \text{معادله ۱}$$

در این معادله: Y بیانگر وزن خشک تک بوته جودره، D و C حد مجانب بالا و پایین وزن خشک جودره در مقادیر صفر و بی‌نهایت سیکلوکسیدیم، آماره ED₅₀ بیانگر مقدار سیکلوکسیدیم لازم (X) برای کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک جودره بین حدود بالا و پایین (D و C) است، و B متناسب با شیب منحنی در محدوده‌ی آماره ED₅₀ می‌باشد. از آنجایی که اهمیت آماره ED₅₀ در مطالعات واکنش

پاشش به وسیله نازل دو بادبزنه در مقایسه با نازل یک بادبزنه بر روی سطح برگان علف‌هرز یولاف وحشی به وسیله فرگوسون و همکاران (۱۷) ثابت شده است. در نازل‌های سه بادبزنه محلول پاشش از سه روزنه خارج می‌شود و اصطلاحاً آنها سه بادبزن ایجاد می‌کنند. در نازل‌های سه بادبزنه، زاویه بادبزن اول به میزان ۲۰ درجه در جهت مسیر حرکت نازل، زاویه بادبزن دوم به میزان ۰ درجه (عمود بر زمین) و زاویه بادبزن سوم به میزان ۲۰ درجه برخلاف جهت حرکت نازل است. به عبارتی دیگر، نازل‌های سه بادبزنه ترکیبی از نازل‌های یک و دو بادبزنه هستند (۴). بر اساس نتایج این تحقیق که با افزایش تعداد بادبزن نازل کارایی سیکلوکسیدیم علیه جودره افزایش یافت می‌توان چنین استنباط کرد که احتمالاً نشست قطرات پاشش به وسیله نازل سه بادبزنه بیشتر از نازل دو بادبزنه بوده است. با این وجود، نیاز است تا این موضوع در تحقیقات بعدی بررسی شود.

نتایج نشان داد که مقدار آماره ED₅₀ برای سیکلوکسیدیم علیه جودره به طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع نازل نیز قرار گرفته است (جدول ۲). در بین نازل‌های سه بادبزنه با شماره ۱۱۰۰۲، عملکرد انواع نازل‌ها بر کارایی سیکلوکسیدیم علیه جودره به صورت نازل استاندارد < نازل ضد بادبردگی < نازل القاء‌کننده هوا بود. چنین نتایجی در مورد انواع نازل‌های یک و دو بادبزنه با شماره ۱۱۰۰۲ نیز مشاهده شد. با این وجود، در بین نازل‌های سه بادبزنه با شماره‌های ۱۱۰۰۳ یا ۱۱۰۰۴، عملکرد انواع نازل‌ها بر کارایی سیکلوکسیدیم علیه جودره به صورت نازل استاندارد = نازل ضد بادبردگی < نازل القاء‌کننده هوا بود. چنین نتایجی در مورد انواع نازل‌های یک و دو بادبزنه با شماره‌های ۱۱۰۰۳ و ۱۱۰۰۴ نیز مشاهده شد. علت این موضوع با کیفیت قطرک‌سازی این سه نوع نازل در ارتباط است. به طوری که در هر تعداد بادبزن و در هر شمارهای از نازل، اندازه قطرات پاشش تولیدی به وسیله نازل‌ها به صورت نازل استاندارد > نازل ضد بادبردگی > نازل القاء‌کننده هوا می‌باشد (جدول ۱). برای مثال، در نازل‌های یک بادبزنه با شماره ۱۱۰۰۲، نازل استاندارد دارای کیفیت قطرک‌سازی ریز (با قطر قطرات بین ۶۱ تا ۱۰۵ میکرومتر)، نازل ضد بادبردگی دارای کیفیت قطرک‌سازی متوسط (با قطر قطرات بین ۲۳۶ تا ۳۴۰ میکرومتر) و نازل القاء‌کننده هوا دارای کیفیت قطرک‌سازی به شدت درشت (با قطر قطرات بین ۵۰۳ تا ۶۶۵ میکرومتر) است. فنآوری افزایش اندازه قطرات پاشش به وسیله نازل ضد بادبردگی از طریق تقلیل فشار در پشت روزنه خروجی نازل می‌باشد. در حالی که، فنآوری افزایش بیشتر اندازه قطرات پاشش به وسیله نازل القاء‌کننده هوا در مقایسه با نازل ضد بادبردگی از طریق تقلیل فشار در پشت روزنه خروجی نازل و نیز وارد شدن هوا به محلول پاشش از مسیر روزنه هوایی موجود در بدنه نازل (جدول ۱) می‌باشد. در این حالت، قطرات پاشش در اندازه بزرگ‌تر که حاوی حبابچه‌های هوا هستند تولید می‌شود (۴). همان گونه که در بالا اشاره شد، بین میزان نشست

قطرات بین ۳۴۱ تا ۴۰۳ میکرومتر) است. محققان قبلی به خوبی ثابت کرده‌اند که در شرایط سرعت وزش باد پایین، بین میزان نشست قطرات پاشش بر روی سطح هدف (علف‌هرز) رابطه‌ای منفی با اندازه قطرات پاشش وجود دارد؛ به طوری که با کاهش اندازه قطرات پاشش میزان نشست آنها بر روی سطح هدف افزایش می‌یابد (۱۱). به دلیل افزایش میزان نشست قطرات پاشش بر روی سطح هدف، کارایی علف‌کش‌های شاخ و برگ مصرف نیز افزایش یافته است (۱۰، ۱۳، ۱۶ و ۲۸). در این میان، قطرات درشت به احتمال زیاد پس از برخورد با سطح هدف در طی فرآیند پُرش^۱ از روی سطح هدف بر روی سطح خاک ائتلاف خواهند شد. به همین دلیل، کارایی علف‌کش‌های شاخ و برگ مصرفی که با قطرات درشت پاشیده شده باشند کمتر از زمانی است که با قطرات ریز پاشیده شده باشند (۳۴). دومین دلیل اینکه چرا با افزایش تعداد بادبزن نازل بهبودی در کارایی سیکلوکسیدیم علیه جودره مشاهده شد را می‌توان به نفوذ بهتر قطرات پاشش به درون کانوپی جودره ارتباط داد. در تمامی انواع نازل‌های یک بادبزنه جهت حرکت قطرات پاشش عمود بر سطح زمین است. از آنجایی که برگان علف‌های هرز تک لپه‌ای مثل جودره به صورت افقی نسبت به زمین قرار نمی‌گیرد؛ بنابراین، قطرات پاشش به صورت عمود بر سطح هدف برخورد نمی‌کنند و در نتیجه احتمال پُرش از روی سطح هدف بر روی سطح خاک افزایش می‌یابد. به همین دلیل، چون قطرات پاشش به وسیله انواع نازل‌های یک بادبزنه به طور عمود بر زمین پاشیده می‌شود، خیس‌پذیری برگان علف‌های هرز تک لپه‌ای پایین خواهد بود. به عبارتی دیگر، علت اصلی خیس‌پذیری اندک برگ علف‌های هرز تک لپه‌ای نیز تقریباً قائم بودن برگ آنهاست (۳). در نازل‌های دو بادبزنه محلول پاشش از دو روزنه خارج می‌شود و اصطلاحاً آنها دو بادبزن ایجاد می‌کنند. در نازل استاندارد دو بادبزنه، زاویه یکی از بادبزن‌ها به میزان ۳۰ درجه در جهت مسیر حرکت نازل و زاویه بادبزن دیگر به میزان ۳۰ درجه برخلاف جهت حرکت نازل است. به عبارتی دیگر، زاویه بین دو بادبزن در نازل استاندارد دو بادبزنه ۶۰ درجه است. در سایر نازل‌های دو بادبزنه، زاویه یکی از بادبزن‌ها به میزان ۲۰ درجه در جهت مسیر حرکت نازل و زاویه بادبزن دیگر به میزان ۲۰ درجه برخلاف جهت حرکت نازل است. به عبارتی دیگر، زاویه بین دو بادبزن در نازل‌های ضد بادبردگی دو بادبزنه و القاء‌کننده هوا دو بادبزنه ۴۰ درجه است (۴). نازل‌های دو بادبزنه امکان برخورد عمودی قطرات به سطح برگان علف‌های هرز تک لپه‌ای را فراهم می‌سازند که در نتیجه امکان پُرش قطرات از سطح آنها را به حداقل می‌رسانند. به همین دلیل، نشست قطرات پاشش بیشتری به وسیله نازل دو بادبزنه در مقایسه با نازل یک بادبزنه بر روی سطح برگان علف‌های هرز تک لپه‌ای رخ می‌دهد. قبلاً، نشست بیشتر قطرات

قطرات پاشش بر روی سطح هدف رابطه‌ای منفی با اندازه قطرات پاشش وجود دارد؛ به طوری که با کاهش اندازه قطرات پاشش نشست آنها بر روی سطح هدف افزایش می‌یابد (۱۱). به همین دلیل، در تحقیقات قبلی متعددی گزارش شده است که با افزایش میزان نشست قطرات پاشش بر روی سطح هدف، کارایی علف‌کش‌های شاخ و برگ مصرف نیز افزایش می‌یابد (۱۰، ۱۵ و ۲۸).

جدول ۱- مقادیر آماره ED₅₀ برای سیکلوکسیدیم پاشیده شده با ۹ نوع نازل در ۳ شماره نازل در کنترل جودرهTable 1- ED₅₀ parameter values for cycloxydim sprayed with 9 nozzle types at 3 nozzle sizes on the control of wild barley

نوع نازل Nozzle type	تعداد بادبزن No. of flat fan	شماره نازل (حجم پاشش) Nozzle size (spray volume)		
		11002 (160 L.ha ⁻¹)	11003 (240 L.ha ⁻¹)	11004 (320 L.ha ⁻¹)
استاندارد Standard	یک Single	31.71 (2.28)	26.20 (2.28)	22.23 (2.56)
	دو Twin	20.72 (0.62)	17.61 (0.81)	18.02 (0.59)
	سه Triplet	19.35 (0.41)	15.67 (0.96)	15.41 (0.63)
ضد بادبردگی Anti-drift	یک Single	34.90 (1.74)	26.08 (1.79)	24.40 (2.07)
	دو Twin	30.54 (1.43)	18.40 (1.43)	19.91 (2.01)
	سه Triplet	23.49 (0.15)	14.30 (1.05)	15.29 (1.45)
القاء‌کننده هوا Air induction	یک Single	54.91 (2.74)	39.27 (3.07)	30.72 (1.25)
	دو Twin	35.06 (1.78)	32.80 (2.41)	26.60 (2.02)
	سه Triplet	26.32 (1.49)	23.13 (1.54)	20.09 (1.02)

Standard errors are in parentheses.

اعداد داخل پرانتز خطای استاندارد هستند.

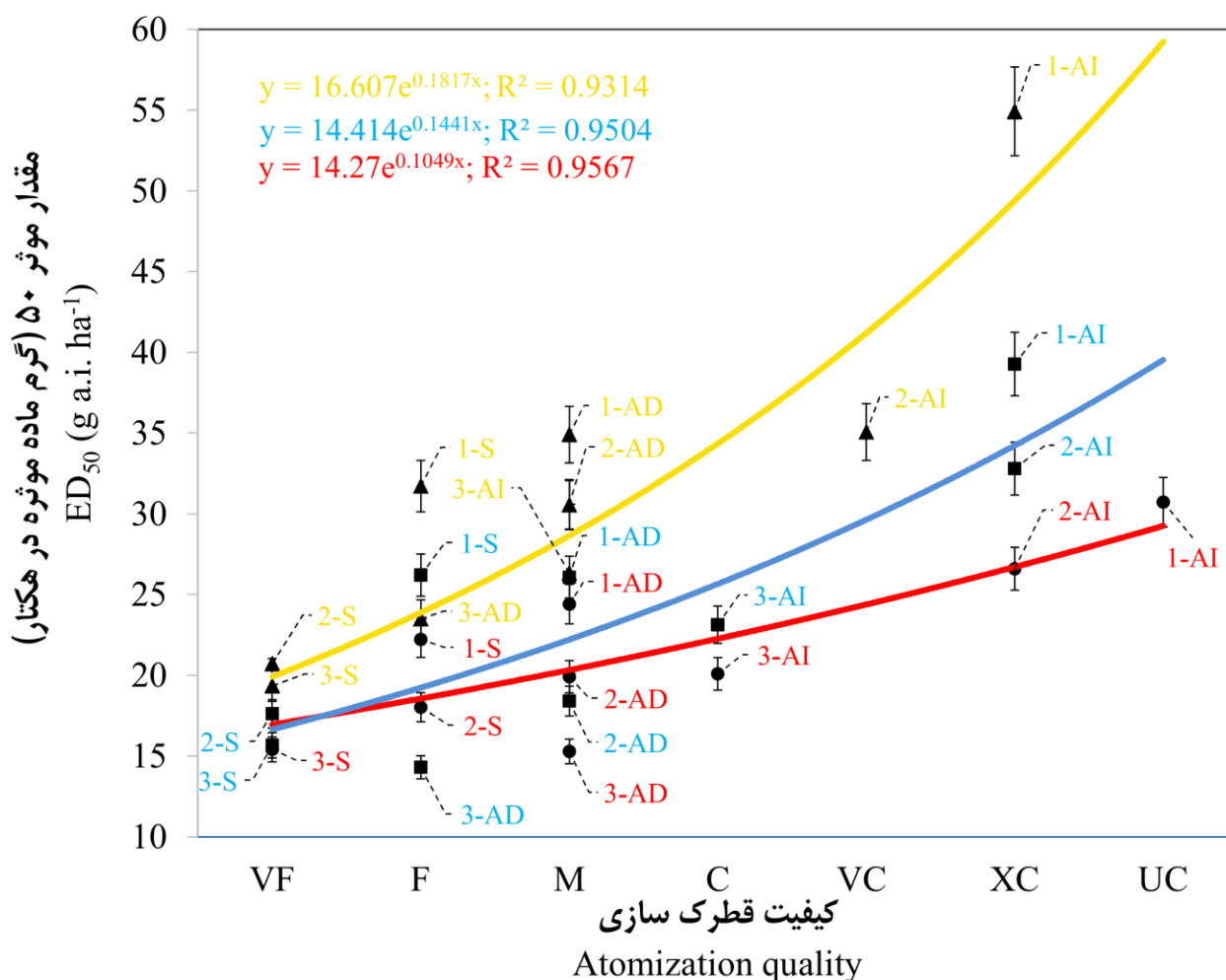
حجم پاشش ۱۸۷ لیتر در هکتار به طور معنی‌داری بیشتر از حجم پاشش ۹۴ لیتر در هکتار است (۳۰). با این وجود، نتایج نشان داد که تنها در نازل القاء‌کننده هوا در هر تعداد از بادبزن (ولی نه در نازل‌های استاندارد و ضد بادبردگی)، افزایش حجم پاشش از ۲۴۰ به ۳۲۰ لیتر آب در هکتار به طور معنی‌داری سبب کاهش مجدد در مقدار آماره ED₅₀ برای سیکلوکسیدیم علیه جودره شد. از این نتایج می‌توان چنین استنباط کرد که در صورت استفاده از نازل‌های القاء‌کننده هوا در شرایطی که سرعت وزش باد کمتر از ۰/۴ متر بر ثانیه باشد باید از شماره نازل‌های بالاتر (یا حجم پاشش بیشتر) جهت بهره‌مندی از کارایی مناسب سیکلوکسیدیم علیه جودره استفاده کرد. البته این موضوع با وضعیت آب کشور مطابقت ندارد، ولی باید در نظر گرفت که عملکرد این نوع نازل‌ها تحت سرعت وزش باد بالا (بیشتر از ۱/۵ متر بر ثانیه) دچار نقصان نمی‌شود. به عبارتی دیگر، نازل‌های القاء‌کننده هوا برای پاشش علف‌کش‌های شاخ و برگ مصرف در شرایط وزش باد بالاتر از ۱/۵ متر بر ثانیه، که در چنین شرایط بادی امکان استفاده از نازل‌های استاندارد میسر نیست، طراحی و تولید شده‌اند.

در شکل ۱، ارتباط بین کیفیت قطرک‌سازی نازل‌ها در شماره

همچنین، نتایج نشان داد که مقدار آماره ED₅₀ برای سیکلوکسیدیم علیه جودره به طور معنی‌داری تحت تأثیر حجم پاشش (یا شماره نازل) نیز قرار گرفته است (جدول ۲). در تمام انواع نازل‌ها در هر تعداد از بادبزن، افزایش حجم پاشش از ۱۶۰ به ۲۴۰ لیتر آب در هکتار سبب کاهش معنی‌دار در مقدار آماره ED₅₀ برای سیکلوکسیدیم علیه جودره شد که نشان‌دهنده آن است که افزایش شماره نازل (یا حجم پاشش) موجب افزایش کارایی علف‌کش شده است. محققان به خوبی ثابت کرده‌اند که با یک نوع نازل برابر، میزان نشست قطرات با افزایش شماره نازل (حجم پاشش) بر روی هر دو تیپ از علف‌های هرز (تک و دو لپه‌ای) افزایش می‌یابد؛ علی‌رغم اینکه افزایش شماره نازل افزایش اندازه قطرات پاشش را در پی دارد (۱۴). همچنین، نتایج این تحقیق تایید کننده نتایج لیگلیتر و جانسون (۲۷) است که بیان داشتند میزان پوشش محلول گلایفوسیت پاشیده به وسیله یک نوع نازل بر روی کارت‌های حساس به رطوبت در حجم پاشش ۱۴۰ لیتر در هکتار تقریباً دو برابر حجم پاشش ۹۴ لیتر در هکتار بود. در تحقیقی دیگر نیز که حجم پاشش از طریق تغییر شماره نازل کنترل شده بود مشخص شد که میزان خیس شدن کاغذهای حساس به رطوبت با محلول دایکمبا در

مصرف این علف‌کش در نظر گرفته شود. با این وجود، همانطور که در بخش مقدمه اشاره شد، تحقیقات ثابت کرده است که کارایی علف‌کش‌های مختلف در کنترل علف‌های هرز به تغییر حجم پاشش واکنش‌های مختلفی می‌دهد. برای مثال، کارایی گلایفوسیت با افزایش حجم پاشش کاهش می‌یابد (۳۰). به همین دلیل بوده است که همیشه بررسی تأثیر حجم پاشش بر کارایی علف‌کش‌ها ضروری به نظر رسیده و پیگیری شده است.

های متفاوت و مقدار آماره ED₅₀ برای سیکلوکسیدیم علیه جودره ترسیم شده است. از این شکل می‌توان چنین استنباط کرد که افزایش اندازه قطرات پاشش در هر حجمی از پاشش تأثیر منفی بر کارایی سیکلوکسیدیم علیه جودره داشته است. ولی بر اساس شیب منحنی‌ها می‌توان چنین استنباط کرد که وقتی که از حجم‌های پاشش پایین‌تر برای کاربرد سیکلوکسیدیم علیه جودره استفاده شود، اثرات منفی اندازه قطرات پاشش بزرگتر بیشتر است. به همین دلیل، حجم پاشش بالاتر می‌تواند به عنوان روشی برای بهینه‌سازی



شکل ۱- همبستگی بین کیفیت قطرک‌سازی نازل‌ها با شماره‌های ۱۱۰۰۲ (منحنی زرد)، ۱۱۰۰۳ (منحنی آبی) و ۱۱۰۰۴ (منحنی قرمز) در فشار ۳۰۰ کیلو پاسکال و مقدار سیکلوکسیدیم لازم برای کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک جودره (ED₅₀)

اعداد ۱، ۲ و ۳ نشان دهنده تعداد بادبزنی هر نازل هستند. انواع نازل‌های استاندارد، ضد بادبردگی و القاء کننده هوا به ترتیب با حروف S، AD و AI نمایش داده شده‌اند.
Figure 1- A correlation between the atomization quality of nozzles with the sizes of 11002 (yellow curve), 11003 (blue curve), and 11004 (red curve) at 300 kPa and the dose required to give a reduction 50% of wild barely day weight
 The number of 1, 2, and 3 show the number of orifice of each nozzle. The types of Standard, Anti-Drift, and Air Induction nozzles are showed with the letters of S, AD, AI, respectively.

نتیجه‌گیری

بادبزنی نازل سبب بهبود کارایی سیکلوکسیدیم علیه علف‌هرز جودره شد. با این نتیجه به راحتی می‌توان به نقش و تأثیر نازل در جهت

نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که افزایش تعداد

استاندارد سه بادیزنه ۱۱۰۰۳" (با حجم پاشش ۲۴۰ لیتر آب در هکتار) می‌باشد.

سپاسگزاری

از آقایان Francesco Barbotto، Joachim Herfort و William Rojo به ترتیب مدیران فروش شرکت‌های Agrotop آلمان، ASJ ایتالیا و Magnojet برزیل که علاوه بر نازل‌های مورد آزمایش، نمونه‌ای رایگان از تمامی انواع نازل‌های تولیدی خود را جهت آشنایی دانشجویان و پژوهش در اختیارمان قرار دادند تشکر و قدردانی می‌کنیم. همچنین، نویسندگان قدردان کمک‌های بانوان صفورا سادات دولتخواه و فرنگیس نرگسی به ترتیب در زمان کاشت و برداشت گیاهان هستند.

دادن به حرکت قطرات پاشش پی برد. به طوری که حرکت عمود بر زمین قطرات پاشش به وسیله نازل یک بادیزنه سبب اتلاف بیشتر آنها در درون منطقه سمپاشی و کاهش کارایی علف‌کش می‌شود. در سرعت وزش باد کمتر از ۰/۴ متر بر ثانیه، عملکرد انواع نازل‌ها بر کارایی سیکلوکسیدیم علیه جودره به صورت استاندارد < ضدابدردی < القاءکننده هوا بود. افزایش شماره نازل از ۱۱۰۰۲ به ۱۱۰۰۳ (یا به عبارتی دیگر، افزایش حجم پاشش از ۱۶۰ به ۲۴۰ لیتر آب در هکتار) موجب افزایش کارایی سیکلوکسیدیم علیه جودره شد. افزایش شماره نازل از ۱۱۰۰۳ به ۱۱۰۰۴ (یا به عبارتی دیگر، افزایش حجم پاشش از ۲۴۰ به ۳۲۰ لیتر آب در هکتار) تنها سبب بهبود کارایی علف‌کش پاشیده شده به وسیله نازل القاءکننده هوا شد. بنابراین، می‌توان چنین توصیه کرد که مناسب‌ترین نازل برای کاربرد سیکلوکسیدیم علیه جودره در مرحله چهار برگی در سرعت وزش باد کمتر از ۰/۴ متر بر ثانیه با هدف بهینه‌سازی همزمان مصرف علف‌کش و آب "نازل

منابع

- Aliverdi A. 2018. The selection of proper nozzle for spraying sethoxydim at two wind speeds to control winter wild oat (*Avena sterilis* ssp. *ludoviciana*). Journal of Plant Protection 32(2): 299-306. (In Persian with English abstract)
- Aliverdi A., and Ahmadvand G. 2018. The effect of nozzle type on clodinafop-propargyl potency against winter wild oat. Crop Protection 114: 113-119.
- Aliverdi A., Rashed-Mohassel M.H., Zand E., and Mahallati M.N. 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(4): 292-299.
- Anonymous. 2019. Magnojet, Catalogue. http://www.magnojet.com.br/area_restrita
- Anonymous. 2019. Agrotop, Catalogue. https://www.agrotop.com/Katalog_109E/mobile/index.html
- Anonymous. 2019. ASJ, Catalogue. <http://www.asjnozzle.it/index.php/en/downloads/category/catalogues>.
- ASAE. 2009. Spray nozzle classification by droplet spectra. The American Society of Agricultural Engineers, S572.1, 4 p.
- Baghestani M.A., Zand E., Soufizadeh S., Jamali M., and Maighany F. 2007. Evaluation of sulfosulfuron for broadleaved and grass weed control in wheat (*Triticum aestivum* L.) in Iran. Crop Protection, 26(9): 1385-1389.
- Baghestani Maybodi M.A., Sayedipour H., Zand E., Minbashi-moeini M., Maighani F., and Lashkari A. 2009. Integrated management of wild barley (*Hordeum spontaneum* Koch) in wheat field under stale seedbed condition. Journal of Agroecology 1(1): 81-89. (In Persian with English abstract)
- Brown L., Soltani N., Shropshire C., Spieser H., and Sikkema P.H. 2007. Efficacy of four corn (*Zea mays* L.) herbicides when applied with flat fan and air induction nozzles. Weed Biology and Management 7(2): 55-61.
- Castro M.J.L., Ojeda C., and Cirelli A.F. 2014. Advances in surfactants for agrochemicals. Environmental Chemistry Letters 12(1): 85-95.
- Creech C.F., Henry R.S., Fritz B.K., and Kruger G.R. 2014. Influence of herbicide active ingredient, nozzle type, orifice size, spray pressure, and Carrier volume rate on spray droplet size characteristics. Weed Technology 29(2): 298-310.
- Doll D.A., Sojka P.E., and Hallett S.G. 2005. Effect of nozzle type and pressure on the efficacy of spray applications of the bioherbicidal fungus *Microsphaeropsis amaranthi*. Weed Technology 19(4): 918-923.
- Etheridge R.E., Hart W.E., Hayes R.M., and Mueller T.C. 2001. Effect of venturi-type nozzles and application volume on post emergence herbicide efficacy. Weed Technology 15(1): 75-80.
- Feng P.C.C., Chiu T., Sammons R.D., and Ryerse J.S. 2003. Droplet size affects glyphosate retention, absorption, and translocation in corn. Weed Science 51(3): 443-448.
- Ferguson J.C., Chechettob R.G., Adkins S.W., Hewitt A.J., Chauhand B.S., Krugere G.R., and O'Donnell C.C. 2018. Effect of spray droplet size on herbicide efficacy on four winter annual grasses. Crop Protection 112: 118-124.
- Ferguson J.C., Hewitt A.J., and O'Donnell C.C. 2016. Pressure, droplet size classification, and nozzle arrangement

- effects on coverage and droplet number density using air-inclusion dual fan nozzles for pesticide applications. Crop Protection 89: 231-238.
- 18- Gauvrit C., and Lamrani T. 2008. Influence of application volume on the efficacy of clodinafop-propargyl and fenoxaprop-P-ethyl on oats. Weed Research 48(1): 78-84.
- 19- Guoxiong C., Tamar K., Fahima T., Zhang F., and Koral A.B. 2004. Differential patterns of germination and desiccation tolerance of mesic and xeric wild barley (*Hordeum spontaneum*) in Israel. Journal of Arid Environments 56(1): 95-105.
- 20- Hamidi R., and Mazaheri D. 2012. Winter wheat growth and yield influenced by wild barley (*Hordeum spontaneum* Koch) competition. Journal of Agricultural Science 4(8): 190-198.
- 21- Hamidi R., Mazaheri D., Rahimian H., Alizadeh H.M., Ghadiri H., and Zeinaly H. 2006. Inhibitory effects of wild barley (*Hordeum spontaneum* Koch.) residues on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) and its own plant. Biaban Journal 11(1): 35-43.
- 22- Hosseini S.A., Rashed Mohassel M.H., Spliid N.H., Mathiassen S.K., and Kudsk P. 2011. Response of wild barley (*Hordeum spontaneum*) and winter wheat (*Triticum aestivum*) to sulfosulfuron: The role of degradation. Weed Biology and Management 11(2): 64-71.
- 23- Izadi-Darbandi E., and Aliverdi A. 2015. Optimizing sulfosulfuron and sulfosulfuron plus metsulfuron-methyl activity when tank-mixed with vegetable oil to control wild barley (*Hordeum spontaneum* Koch.). Journal of Agricultural Science and Technology 17(7): 1769-1780.
- 24- Jamali M., and Jokar L. 2010. The effect of crop rotation on wild barely control in wheat fields of Fars province. Journal of Plant Protection 24(1): 99-107. (In Persian with English abstract)
- 25- Jensen P.K. 2012. Increasing efficacy of graminicides with a forward angled spray. Crop Protection 32: 17-23.
- 26- Knoche M. 1994. Effect of droplet size and carrier volume on performance of foliage-applied herbicides. Crop Protection 13: 163-178.
- 27- Legleiter T.R., and Johnson W.G. 2016. Herbicide coverage in narrow row soybean as influenced by spray nozzle design and carrier volume. Crop Protection 83: 1-8.
- 28- Lesnik M., Kramberger B., and Vajs S. 2012. The effects of drift-reducing nozzles on herbicide efficacy and maize (*Zea mays* L.) yield. Zemdirbyste-Agriculture 99(4): 371-378.
- 29- McMullan P.M. 1995. Effect of spray volume, spray pressure and adjuvant volume on efficacy of sethoxydim and fenoxaprop-p-ethyl. Crop Protection 14: 549-554.
- 30- Meyer C.J., Norsworthy J.K., Kruger G.R., and Barber T.L. 2016. Effect of nozzle selection and spray volume on droplet size and efficacy of Engenia tank-mix combinations. Weed Technology 30(2): 377-390.
- 31- Peng G., Wolf T.M., Byer K.N., and Caldwell B. 2005. Spray retention on green foxtail (*Setaria viridis*) and its effect on weed control efficacy by *Pyricularia setariae*. Weed Technology 19(1): 86-93.
- 32- Ritz C., Baty F., Streibig J.C., and Gerhard D. 2015. Dose-response analysis using R. PLoS One, 10(12):e0146021.
- 33- Veisi M., Rahimian Mashhadi H., Alizade H., Minbashi M., and Oveisi M. 2015. Effect of crop protection and herbicides management on weed species distribution in wheat fields. Iranian Journal of Field Crop Sciences 45(4): 521-530. (In Persian with English abstract)
- 34- Wilson M.F. 2003. Optimising Pesticide Use. John Wiley & Sons Inc., UK.
- 35- Wolf T.M., Harrison S.K., Hall F.R., and Cooper J. 2000. Optimizing postemergence herbicide deposition and efficacy through application variables in no-till systems. Weed Science 48(6): 761-768.
- 36- Zand E., Baghestani M.A., Soufizadeh S., Eskandari A., Pourazar R., Veysi M., Mousavi K., and Barjasteh A.R. 2007. Evaluation of some newly registered herbicides for weed control in wheat (*Triticum aestivum* L.) in Iran. Crop Protection 26: 1349-1358.



The Effect of Type and Size of Single, Twin, and Triplet Flat Fan Nozzles on the Activity of Cycloxydim against Wild Barley (*Hordeum spontaneum* Koch.)

A. Aliverdi^{1*} - S. Karami²

Received: 26-06-2019

Accepted: 27-11-2019

Introduction: The herbicide application has caused some environmental problems. Therefore, optimal application of herbicides was followed in recent years. For this purpose, it is essential to minimize the exo-drift and/or endo-drift of spray droplets. The amount of exo-drift and/or endo-drift is directly related to the size of spray droplets. By decreasing the size of spray droplets, the exo-drift increases and the endo-drift decreases (34). This intricate issue is a stimulus to develop the types of nozzles in different sizes (color) producing different sizes of spray droplets at different spraying pressures. Such a development in the production of nozzles has caused difficulty and confusion in selecting a suitable type of nozzle (2). On the other hand, the agriculture sector is faced with water crisis in recent years. Considering that water is the most important carrier of herbicides, selecting a suitable spray volume is thus necessary. According to previous studies (26), the efficacy of different herbicides can influence spray volume negatively (30), neutrally (29), or positively (12). So far, the effect of spray volume on the efficacy of cycloxydim against any weed has not been investigated. Also, since the types of triplet flat fan nozzles have been recently developed, no investigation has been done on their performance compared to the types of single and twin flat fan nozzles. The current study aimed to fill this knowledge gap.

Materials and Methods: The seeds of wild barely (*Hordeum spontaneum* Koch.) were treated to germinate. Then, 8 seedlings were planted within each 3-L pot and grown in the Research Greenhouse of Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. At the four-leaf stage, they were treated with 0, 6.25, 12.5, 25, 50, and 100 g cycloxydim ha⁻¹ using 3 nozzle types (i.e. Standard, Anti-Drift, and Air Induction), at 3 orifice numbers (i.e. single, twin, and Triplet) and 3 nozzle sizes (i.e. 11002, 11003, and 11004). The treatments were sprayed at a pressure of 300 kPa when the wind speed was less than 0.4 m s⁻¹. The volume of spray created by 11002, 11003, and 11004 nozzle sizes was 160, 240 and 320 L ha⁻¹, respectively. Three weeks after spraying, the dry weight of plants was determined. The data were fitted using a four-parameter log-logistic model to estimate the dose required to achieve 50% wild barley control (ED₅₀).

Results and Discussion: The ED₅₀ was significantly affected by the type, size, and orifice number of nozzle. In all types of nozzles (Standard, anti-Drift and Air Induction) and sizes (11002, 11003 and 11004), an increase in orifice number significantly reduced the values of ED₅₀ for cycloxydim against wild barely, indicating increased efficiency of herbicide. This can be explained by two reasons. Firstly, with an increase in orifice number in each type of nozzles, the size of spray droplets decreases. Previous studies have proven that there is a negative relationship between the amount of spray droplets deposited on the target surface and the size of spray droplets. Therefore, by decreasing the size of spray droplets, they can be deposited more on the target surface, resulting in an improvement in the foliage-herbicides efficiency. Secondly, increasing the orifice number of nozzle can lead to the penetration of spray droplets into the canopy. Among the nozzles of 11002 in any orifice number, the performance of nozzles was ranked as Standard > Anti-Drift > Air Induction. However, among the nozzles of 11003 or 11004 in any orifice number, the performance of nozzles was as Standard = Anti-Drift > Air Induction. Among all types of nozzles in any orifice number, increasing spray volume from 160 to 240 L ha⁻¹ reduced the ED₅₀. However, only in the types of nozzles of Air Induction in any orifice number, increasing spray volume from 240 to 320 L ha⁻¹ reduced the ED₅₀.

Conclusion: It can be recommended that the most suitable nozzle for the application of cycloxydim against wild barely at a wind speed of less than 0.4 m s⁻¹ with the aim of optimizing simultaneously both the dose of herbicide and the consumption of water is "Triplet Standard Flat Fan Nozzle 11003 " (spray volume= 240 L ha⁻¹).

Keywords: Canola, Herbicide, Nozzle, Weed

1 and 2- Assistant Professor and M.Sc. Student of Weed Science, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, respectively.

(* - Corresponding Author Email: a.aliverdi@basu.ac.ir)

اثرات اسانس برخی از گیاهان دارویی به روش تدخینی بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه کاهو به عنوان شاخص

سمیه میرمصطفائی^۱ - مجید عزیزی^{۲*} - یاشیهارو فوجی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۰۹

چکیده

امروزه تلاش جهانی در کشاورزی نوین به سمت کاهش هرچه بیشتر استفاده از سموم مضر و معرفی روش‌های جدید برای کنترل علف‌های هرز می‌باشد که یکی از این روش‌ها استفاده از خاصیت آلوپاتی است. این مقاله به منظور شناسایی گونه‌های جدید آلوپات و ترکیبات بازدارنده موجود در آنها بصورت تدخینی انجام شده است. این پژوهش در قالب دو آزمایش مجزا اجرا شد و از گیاه کاهو بعنوان مدل استفاده شد. اثر ۱۱۲ اسانس گیاهی در دو غلظت ۱ و ۳ میکرولیتر در ویال بصورت تدخینی بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کاهو بررسی شد. صفات مرتبط با جوانه‌زنی (درصد و متوسط زمان جوانه‌زنی، درصد ایجاد رکود در بذر و درصد مرگ جنین) و رشد گیاهچه (رشد هیپوکوتیل، ریشه‌چه، و شاخص قدرت گیاهچه) بررسی شدند. نتایج بیانگر اثرات معنی‌دار بازدارنده اسانس‌ها حتی در غلظت ۱ میکرولیتر بر صفات مورد بررسی بود. بطوری‌که اسانس شمع‌دانی معطر، انیسون و آویشن‌دنايي بیشترین اثر بازدارندگی بر جوانه‌زنی (۱۰۰٪)؛ اسانس هل‌سیاه، درمنه‌دشتی، بادرشبی و آویشن خزری بیشترین تأثیر ایجاد تأخیر در جوانه‌زنی (بیش از ۲۲۴٪)؛ اسانس کاکوتی، زنیان و شمع‌دانی معطر بیشترین اثر در ایجاد رکود بذر (بیش از ۲۲٪)؛ و اسانس انیسون و آویشن‌دنايي بیشترین درصد مرگ جنین (۱۰۰٪) را داشتند. اسانس انیسون، پونه‌کوهی، برازمل و آویشن‌دنايي بیشترین بازدارندگی رشد گیاهچه (بیش از ۹۴٪) را موجب شدند. نتایج حاصل از این پژوهش می‌تواند موجب شناسایی ترکیبات جدید آلوپات شود که می‌توانند کاربردهای مختلف داشته باشند، از جمله در تولید علف‌کش‌های طبیعی استفاده شوند.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فرار، دگرآسیبی، سوآب پنبه‌ای، گیاهان دارویی، فیتوتوکسیسیته

مقدمه

۱۰). هر ساله لیست جدیدی از علف‌های هرز مقاوم به سموم منتشر می‌شود، بطوری‌که طبق گزارش سایت بررسی بین‌المللی کمیته کاری مقاومت به علف‌کش‌ها در سال ۲۰۱۷ لیستی از ۳۶ مورد جدید از مقاومت علف‌های هرز به انواع علف‌کش‌ها منتشر شد (۲۱). امروزه تلاش جهانی بشر در کشاورزی نوین به سمت کاهش هر چه بیشتر استفاده از سموم مضر و معرفی روش‌های جدید بیولوژیکی و اکولوژیکی اختصاص یافته است. یکی از این روش‌ها استفاده از عکس‌العمل‌های شیمیایی بین گیاهان است (۲۷). بطور کلی برهم‌کنش‌های بین گیاهان در یک اکوسیستم مشترک اثرات جانبی است که هر گیاه بر روی گیاهان دیگر مجاور خود اعمال می‌نماید، و این اثرات شامل رقابت و آلوپاتی می‌باشد. رقابت شامل جذب فعال منابع محدود توسط یک موجود است که منجر به کاهش عرضه و در نتیجه کاهش رشد سایر موجودات می‌گردد، اما هنگامی که رشد یک گونه توسط مواد شیمیایی آزاد شده توسط گونه‌های دیگر مهار می‌شود، مکانیسم دخالت به عنوان آلوپاتی شناسایی می‌شود (۵۸ و ۵۰). با این حال، برخی محققین در تعریف آلوپاتی اثرات تحریکی رشد را

تداخلات رشدی علف‌های هرز و محصولات کشاورزی منجر به صرف هزینه‌های زیاد در سیستم‌های کشاورزی می‌شود (۹). علف‌کش‌ها همواره نقش اساسی را در سیستم‌های مدیریت علف هرز ایفا می‌کنند و در دسترس بودن انواع ارزان قیمت آنها موجب مصرف رو به افزایش آنها در تمامی کشورها اعم از توسعه یافته و در حال توسعه شده است. این مساله یکی از عوامل اصلی آسیب به محیط زیست و سلامت عمومی است و منجر به آلودگی‌های زیست محیطی، غیر ایمن شدن محصول و مخاطرات سلامتی انسان‌ها می‌گردد (۳۴) و

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی دکتری و استاد گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(*)- نویسنده مسئول: (Email: azizi@um.ac.ir)

۳- استاد گروه علوم محیط زیستی و کشاورزی بین‌المللی، دانشگاه کشاورزی و تکنولوژی توکیو، ژاپن

استفاده از اسانس‌ها و ترکیبات فرار بصورت تدخینی باقیمانده‌ای بر روی محصول نخواهد داشت این دسته از ترکیبات آللوپات می‌توانند بمنظور جلوگیری از رشد علف‌های هرز قبل و پس از کشت محصول بسیار کارآمد باشند. چنانچه مطالعات صورت گرفته نشان داده‌است که برخی اسانس‌ها و یا اجزاء آنها به نحو موثری موجب کاهش رشد گیاهان می‌شوند (۳۸). انجام پژوهش‌های جدید در این خصوص می‌تواند زمینه جدیدی برای درک بهتر اثرات آللوپاتیک و دستیابی به علف‌کش‌های طبیعی و مؤثر را فراهم سازد. علی‌رغم پژوهش‌های صورت گرفته در خصوص شناسایی گونه‌های آللوپات، تحقیقات بیشتری لازم است تا گونه‌های جدید مؤثر و ترکیبات بازدارنده موجود در آنها شناسایی و مکانیسم اثر آللوپاتی آنها بررسی شود. در این مقاله به اثرات بازدارندگی اسانس گیاهان مختلف دارویی و معطر مهم ایران بصورت تدخینی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کاهو پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گونه‌ها: نمونه‌های گیاهی شامل ۱۱۲ نمونه از اندام‌های مختلف گیاهی شامل ریشه، ریزوم، کورم، ساقه، برگ، گل، میوه، پوست میوه، کل اندام هوایی، و یا ترشحاتی مانند اولئوگام^۸ متعلق به ۹۷ گونه معطر از ۱۶ خانواده مختلف گیاهی که از نقاط مختلف ایران (باغ‌های گیاه‌شناسی، مراکز تحقیقاتی و زیستگاه‌های طبیعی) جمع‌آوری شد. به منظور حفظ ترکیبات فرار گیاهان با توجه به نوع بافت حاوی اسانس به روش مناسب خشک شدند (در آون با دمای ۶۰-۳۰°C به مدت ۱ تا ۳ روز). عمل اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب با استفاده از کلونجر صورت گرفت و اسانس‌ها پس از جمع‌آوری در ظروف شیشه‌ای با سولفات سدیم بدون آب آبیگری شدند و در طول مدت آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

این پژوهش در قالب دو آزمایش مجزا اجرا شد و برای این منظور از گیاه کاهو (*Lactuca sativa*) رقم Great Lakes 366 استفاده شد زیرا این گیاه دوره جوانه‌زنی کوتاه و حساسیت بالایی نسبت به فیتوکمیکال‌ها دارد و علاوه بر این کاهو به عنوان یک گیاه مدل برای آزمایشات آللوپاتی در نظر گرفته می‌شود.

آزمایش اول (ارزیابی شدت پتانسیل بازدارندگی جوانه‌زنی)

به منظور بررسی میزان سمیت^۹ ترکیبات فرار بصورت تدخینی، پتانسیل آللوپاتیک ۱۱۲ اسانس در دو مقدار مختلف ۱ و ۳ میکرولیتر در ویال در مقایسه با تیمار شاهد مورد ارزیابی قرار گرفت و هر واحد

نیز لحاظ می‌کنند (۳۰). همچنین در دیدگاه وسیع‌تر آللوپاتی به عنوان تعاملات شیمیایی بین تمامی موجودات زنده از طریق انتشار ترکیبات شیمیایی به محیط تعریف می‌شود (۲۵). استفاده از خاصیت آللوپاتی موجود در برخی گونه‌های گیاهی برای کنترل جوانه‌زنی بذر علف‌های هرز بسیار مؤثر بوده و مورد توجه می‌باشد. تاکنون پژوهش‌های فراوانی در خصوص آللوپاتی انجام شده و نشان داده این پدیده می‌تواند نقش مهمی در کنترل علف‌های هرز داشته‌باشد (۳، ۶، ۴ و ۸). آللوپاتی از طریق کنترل مؤثر علف‌های هرز در سیستم‌های کشت، می‌تواند نقش مهمی در ایمنی جامعه ایفا کند. تعداد زیادی از ترکیبات آللوکیمیکال از گیاهان مختلف گزارش شده‌است که مهم‌ترین گروه‌های آنها شامل ترکیبات فنلی، بنزوکسازینوئیدها^۱، سوروگولون^۲، گلوکوزینولات‌ها^۳، ترپن‌ها، آلکالوئیدها و مامی‌لاکتون‌ها^۴ می‌باشند (۲۷). تاکنون تعدادی از ترکیبات طبیعی مانند سینئول، لپتوسپرمون‌ها^۵، بنزوکسازینون‌ها^۶ و کوئینولینیک اسید^۷ به عنوان علف‌کش‌های طبیعی معرفی و وارد بازار شده‌اند. استفاده این دسته از علف‌کش‌های طبیعی در کشاورزی مورد استقبال بوده و نتایج بسیار امیدوارکننده‌ای داشته است. هرچند در علم علف‌های هرز، اغلب توجه به تحقیقات مرتبط با علف‌کش‌های صنعتی صورت می‌گیرد. تحقیق بیشتر برای درک جنبه‌های فیزیولوژیکی و مولکولی روش عمل آللوکیمیکال‌ها ضروری است و تحقیقات بیشتری لازم است تا گونه‌های مؤثر و ترکیبات بازدارنده موجود در آنها شناسایی شود و مکانیسم اثر آللوپاتی را نشان دهد (۱۸). ترکیبات آللوکیمیکال گیاهان عالی ممکن است به روش‌های مختلف مانند فراریت (پدیده غالب در شرایط خشک و نیمه خشک)، آبشویی از برگ یا ساقه (از طریق آب باران، شبنم، یا آبیاری اندام هوایی)، ترشحات ریشه (از طریق مکانیسم‌های مختلف نظیر انتشار، انتقال وزیکولی، یا کانال‌های یونی)، و تجزیه توسط میکروارگانیسم‌ها به محیط رهاسازی شوند و سپس از طریق جریان آب یا باد جابجا و منتقل گردند (۲۴). در بین گونه‌های آللوپات، گیاهان دارویی و معطر این قابلیت را دارند که ترکیبات آللوکیمیکال موجود در اسانس خود را از طریق انتشار به هوا منتقل کنند و از این طریق موجودات اطراف خود را تحت تأثیر قرار دهند. پژوهش‌های بسیار نشان داده است اسانس‌ها نقش مهمی در کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها دارند و بطور مؤثری می‌توانند مانع رشد و جوانه‌زنی اسپور باکتری‌ها و قارچ‌ها شوند (۷ و ۴۴). از آنجا که

- 1- Benzoxazinoids
- 2- Sorgoleone
- 3- Glucosinolates
- 4- Momilactones
- 5- Leptospermones
- 6- Benzoxazinones
- 7- Quinolinic Acid

- 8- Oleogum
- 9- Phytotoxicity

پایان آزمایش

درصد مرگ جنین (L%) و درصد ایجاد رکود در بذر (D%): برای این منظور در هر تکرار، بذرهایی که بعد از ۵ روز در شرایط آزمایش جوانه نزده بودند از شرایط آزمایش خارج شده و به مدت سه روز دیگر در شرایط جوانه‌زنی مشابه شاهد (در ویال حاوی آگار اما بدون اسانس) قرار گرفتند. بذرها بعد از سه روز بررسی شده و آنهایی که همچنان جوانه نزده بودند پس از حذف پوسته در محلول تترازولیوم ۱ درصد (pH=7) قرار داده شد و به مدت ۶ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد خوابانده شدند. سپس وضعیت اندوسپرم و جنین با استفاده از میکروسکوپ بررسی و درصد مرگ جنین تعیین شد. مطابق دستورالعمل ایستات^۴، تنها بذوری که بطور کامل و یکنواخت رنگ گرفته بودند بعنوان بذور زنده در نظر گرفته شد (شکل ۲) (۳۶)، و بدین ترتیب درصد مرگ جنین (L%) مطابق معادله ۳ تعیین شد. با توجه به تعداد بذره‌های جوانه زده و درصد مرگ جنین، همچنان در تعدادی بذور نه علائمی از جوانه‌زنی مشاهده شد و نه علائمی از مرگ جنین نشان دادند که آنها بعنوان بذور دچار رکود تلقی شدند و بدین ترتیب مطابق معادله ۴ درصد القای رکود (D%) تعیین شد.

$$L\% = \frac{n}{S} \times 100 \quad \text{معادله (۳)}$$

L%: درصد مرگ جنین؛ n: بذره‌های رنگ نگرفته؛ S: کل بذور کشت شده

$$D\% = \frac{S - (N + A + L)}{S} \times 100 \quad \text{معادله (۴)}$$

D%: درصد ایجاد رکود در بذر؛ S: کل بذور کشت شده؛ N: کل بذره‌های جوانه زده تا پایان آزمایش؛ A: بذره‌های جوانه زده بعد از حذف اسانس؛ L: بذره‌های دچار مرگ جنین
تمام صفات بصورت نسبی در مقایسه با شاهد گزارش شدند:

$$V\% = \frac{V_T}{V_C} \times 100 \quad \text{معادله (۵)}$$

V%: مقدار نسبی صفت؛ V_T: میانگین صفت در تیمار؛ V_C: میانگین صفت در شاهد

آزمایش دوم (بررسی اثرات بازدارندگی رشد گیاهچه)

این آزمایش نیز بصورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی، در مورد تاثیر ۱۱۲ اسانس با دو غلظت (مشابه مرحله اول) در ۴ تکرار انجام شد. فقط با این تفاوت که در این آزمایش به منظور بررسی تاثیر اسانس‌ها بر رشد گیاهچه، از بذور کاهو که از ۲۴ ساعت قبل در شرایط جوانه‌زنی قرار گرفته و جوانه زده بودند استفاده شد (بذور با ۲ میلی‌متر ریشه‌چه به عنوان جوانه‌زده قلمداد شده و در آزمایش استفاده

آزمایش شامل یک ویال بود. این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، در ۴ تکرار انجام شد. اثرات آللوپاتیک ترکیبات فرار به روش سوآب پنبه‌ای (۴۰)، مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۱). در این آزمایش ویال‌های شیشه‌ای مناسب با حجم ۲۰ میلی‌لیتر پس از شستشو به روش استریل خشک در آون ضدعفونی شدند. سپس محلول آگار ۰/۷۵ درصد (w/v) با استفاده از پودر آگار خریداری شده از شرکت Merck و آب دو بار تقطیر ساخته شد و بوسیله اتوکلاو استریل گردید. به دلیل حساسیت بالای دقت حجم آگار در ویال، مرحله پرکردن ویال‌ها با آگار پس از استریل‌سازی و زمانی که دمای آگار به حدود ۴۰ درجه رسید، در زیر هود و در شرایط استریل صورت گرفت. بدین صورت که با استفاده از پیپت مدرج در هر ویال ۱۰ میلی‌لیتر آگار (معادل نصف حجم ویال) ریخته شد. پس از سرد و جامد شدن آگار در زیر هود، تعداد ۷ عدد بذر کاهو روی آگار قرار گرفت بطوری که از قسمت نوک به اندازه یک سوم در آگار فرو رفتند. سپس سوآب پنبه‌ای دو طرفه که از وسط برش خورده بود در مرکز ویال حاوی آگار قرار داده شد بطوری که نوک پنبه‌ای آن در وسط فضای خالی ویال قرار گرفت. بلافاصله پس از کشت، اسانس مورد نظر در مقدار مشخص (۱ یا ۳ میکرولیتر) با استفاده از سرنگ موئین همیلتون^۱ بر روی قسمت پنبه‌ای سوآب تزریق شد. سپس بلافاصله درپوش لاستیکی و سیل آلومینیومی روی درب ویال قرار گرفت و به کمک کریمپر^۲ درب ویال پلمپ گردید (شکل ۱). ویال‌های آماده شده به منظور جوانه‌زنی بذور در ژرمیناتور در دمای ۲۱±۲ سانتی‌گراد و شرایط تاریکی قرار گرفتند.

هر واحد آزمایش شامل یک ویال حاوی ۷ بذر بود که وضعیت جوانه‌زنی بطور روزانه به مدت ۵ روز در آنها بررسی شد و صفات مرتبط با جوانه‌زنی اندازه‌گیری شدند. صفات مورد بررسی در این آزمایش عبارت بودند از:

درصد جوانه‌زنی (G%) (۱۶ و ۲۸):

$$G\% = \left(\frac{N}{S}\right) \times 100 \quad \text{معادله (۱)}$$

G%: درصد جوانه‌زنی؛ N: کل بذره‌های جوانه زده تا پایان آزمایش؛ S: کل بذور کشت شده

متوسط زمان جوانه‌زنی (MGT)^۳ (۱۶):

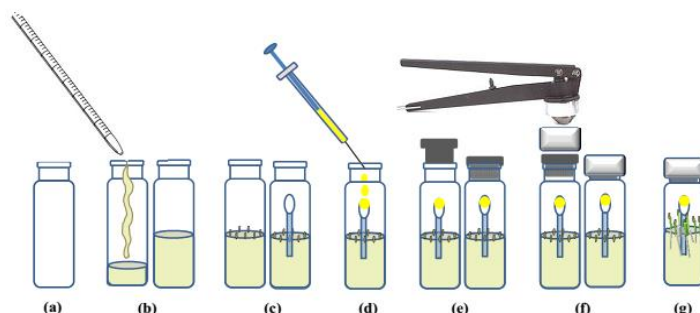
$$MGT = \frac{\sum T_i N_i}{N} \quad \text{معادله (۲)}$$

MGT: متوسط زمان جوانه‌زنی؛ N_i: تعداد بذره‌های جوانه زده در هر روز؛ T_i: شماره روز از آغاز آزمایش؛ N: کل بذره‌های جوانه زده تا

- 1- Hamilton
- 2- Crimper
- 3- Mean Germination Time

جوانه زده بود که بلافاصله پس از کشت تیمار اسانس مشابه آزمایش اول بر آن اعمال شد و درپوش ویال پلمپ گردید.

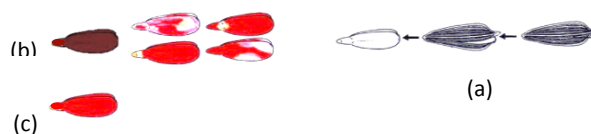
شدند)، شرایط اتاق رشد نیز با دمای ۲۱ درجه سانتیگراد و در شرایط تاریکی تنظیم شد. هر واحد آزمایش شامل یک ویال حاوی ۵ بذر



شکل ۱- طرح شماتیک اجرای آزمایش بررسی اثر آلوپاتی اسانس‌ها به روش سوآب پنبه‌ای

(a): ویال با حجم ۲۰ میلی‌لیتر، (b): افزودن ۱۰ میلی‌لیتر آگار به کمک پیپت مدرج، (c): قرار دادن بذرهای کاهو و سوآب پنبه‌ای پس از سرد و سفت شدن آگار، (d): افزودن اسانس به قسمت پنبه‌ای سوآب به کمک سرنگ همیلتون، (e): قرار دادن درپوش لاستیکی، (f): قرار دادن سیل آلومینیومی و پلمپ کردن درب ویال به کمک کریمپر، (g): جوانه‌زنی و رشد بذرهای پس از انکوباسیون.

Figure 1- Schematic design of cotton swab method to investigate the allelopathic effect of essential oils
(a): 20 ml vial, (b): Add 10 ml agar, (c): Insert lettuce seeds and cotton swabs after agar cooling and solidification, (d): Add EOs to cotton swabs using Hamilton syringe, (e): Rubber cap insertion, (f): Aluminum sealing and crimping, (g): Germination and seed growth after incubation



شکل ۲- روش بررسی مرگ جنین بر اساس ایستا

(a): روش آماده‌سازی بذر و حذف پوسته، (b): انواع لکه‌پذیری غیر قابل قبول که بعنوان بذرهای غیر زنده محسوب می‌شوند، (c): لکه‌پذیری یکنواخت بذر زنده

Figure 2- Embryo death assessment based on ISTA

(a): Seed preparation and coat removal method, (b): Unacceptable staining types that are considered abnormal seeds, (c): Uniform staining of live seed

(VI) محاسبه شد:

$$VI\% = G\% \times S$$

معادله (۸)

VI: شاخص قدرت گیاهچه؛ G%: درصد جوانه‌زنی؛ S: طول گیاهچه (مجموع طول ریشه‌چه و هیپوکوتیل). این صفت نیز بصورت نسبی در مقایسه با شاهد گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری

بررسی معنی‌داری اثر تیمارها بر اساس جداول تجزیه واریانس تعیین شد. مقایسه و طبقه‌بندی میزان تأثیر تیمارها در صفات مختلف بر اساس مقدار میانگین و انحراف استاندارد هر صفت صورت گرفت (۳ و ۳۹). با توجه به اینکه تأثیر بازدارندگی تیمار بر جوانه‌زنی و رشد به معنی افزایش برخی صفات (L%, D%, MGT) و کاهش برخی دیگر (G%, R, S, VI) می‌باشد، شدت تأثیر بازدارندگی به ترتیب

ویال‌ها در دمای ۲۱ درجه سانتیگراد در شرایط تاریکی به مدت ۳ روز خوابانده شدند. پس از سه روز، طول ریشه‌چه و هیپوکوتیل به روش عکس‌برداری و با استفاده از نرم‌افزار Image J اندازه‌گیری و رشد گیاهچه در تیمارها در مقایسه با شاهد محاسبه شد:

$$H\% = \frac{H_T}{H_C} \times 100$$

معادله (۶)

H%: درصد طول هیپوکوتیل؛ H_C: طول هیپوکوتیل شاهد؛ H_T:

طول هیپوکوتیل تحت تیمار

$$R\% = \frac{R_T}{R_C} \times 100$$

معادله (۷)

R%: درصد طول ریشه‌چه؛ R_C: طول ریشه‌چه شاهد؛ R_T: طول

ریشه‌چه تحت تیمار

سپس با توجه به درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه در هرتیمار شاخص قدرت گیاهچه

بر اساس میزان افزایش و کاهش این صفات نسبت به میانگین در نظر گرفته شد. میزان شدت تأثیر بازدارندگی در ۵ سطح تعریف شد که به ترتیب از بیشترین به کمترین تأثیر شامل سطح پنج (*****) $\text{Mean} \pm 2\text{sd}$ ، سطح چهار (****) $\text{Mean} \pm 1.5\text{sd}$ ، سطح سه $\text{Mean} \pm 1\text{sd}$ (***)، سطح دو $\text{Mean} \pm 0.5\text{sd}$ (**)، و سطح یک $\text{Mean} \pm 0.25\text{sd}$ (*) بودند. ضمناً اثرات تحریک‌کننده نیز بصورت (+) نشان داده شد. لازم به ذکر است MGT در برخی تیمارها به علت بازدارندگی ۱۰۰ درصد تعریف نشد و به همین دلیل درخصوص این صفت مقایسه تنها بین اسانس‌هایی که حداقل در ۳ تکرار بازدارندگی کمتر از ۱۰۰ درصد داشتند صورت گرفت. از نرم افزارهای آماری SPSS، Graphpad Prism و Excel برای آنالیزهای آماری استفاده شد.

کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی فضای بالای ویال (GC-MS Headspace)

اجزای تشکیل‌دهنده قوی‌ترین اسانس‌ها بر اساس نتایج مرحله غربالگری (آزمایش اول و دوم)، به روش کروماتوگرافی گازی و طیف سنجی جرمی مورد بررسی قرار گرفت، بدین منظور مقدار ۱ میکرولیتر (معادل ۱ میلی گرم) از اسانس بر روی نوک یک سوآب پنبه‌ای ریخته شد و سوآب در یک ویال با حجم ۲۰ میلی لیتر گذاشته و پلمپ شد و سپس در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت خوابانده شد، سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر از فضای هر ویال با یک سرنگ ۵ میلی‌لیتری مدل SGE 5MDR-HSV برداشته شد و به دستگاه کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی مدل GC-MS QP5050^۱ مجهز به Shimadzu GC 17A تزریق شد (اندازه ستون موئین: $30 \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$ و با استفاده از گاز حامل هلیوم). شرایط عملیاتی GC-MS به شرح زیر بود و برنامه دمایی دستگاه بصورت زیر اجرا شد: درجه حرارت آون GC از ۵۰ تا ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه در دقیقه افزایش یافت، پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد، افزایش دما تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۰ درجه در دقیقه صورت گرفت. ترکیبات با استفاده از طیف جرمی NIST / NBS شناسایی شدند. طیف جرمی در ۷۰ eV با محدوده ۴۰-۵۰۰ m/z ثبت و با کتابخانه NIST و Wiley مقایسه و در نهایت مطابق با استانداردهای معتبر تایید شد.

نتایج و بحث

آنالیز واریانس نشان داد اثر اسانس، غلظت و اثر متقابل آنها بر تمام صفات مورد بررسی در هر دو آزمایش از نظر آماری معنی‌دار بود. $(p \leq 0.01)$ گروه‌بندی آماری اسانس‌ها از نظر قدرت بازدارندگی

صفات در هر غلظت به شرح زیر است (جدول ۱):
نتایج آزمایش اول: درصد جوانه‌زنی (G%) تحت تأثیر تیمار اسانس‌ها قرار گرفت به نحوی که عمده تیمارها موجب کاهش این شاخص شدند و برخی بر آن بی تأثیر بودند. مقدار این صفت در هر دو غلظت ۱ و ۳ میکرولیتر ۱۰۰- درصد بود، و تیمار شاهد مقدار ۱۰۰ درصد داشت. در غلظت ۱ میکرولیتر ۳۶ اسانس بر این صفت بی اثر بود و ۷۶ اسانس موجب کاهش شاخص در مقایسه با تیمار شاهد شدند. در این غلظت بیشترین درجه کاهش (کمتر از ۲۲ درصد در مقایسه با شاهد) مربوط به ۱۲ اسانس از خانواده‌های Lamiaceae (۶ اسانس: بادرنجبویه، نعنا ابلق، برگ پونه کوهی، آویشن دناهی، آویشن خزری، کاکوتی)، Geraniaceae (۲ اسانس: برگ شمعدانی معطر و سرشاخه گلدار شمعدانی معطر)، Apiaceae (۲ اسانس: انیسون و زنیان)، Liliaceae (یک اسانس: موسیر) و Rutaceae (یک اسانس: سداب) بود. در غلظت ۳ میکرولیتر ۸۸ اسانس موجب کاهش این صفت و ۲۳ اسانس بر این شاخص در مقایسه با تیمار شاهد بی تأثیر بودند. در این غلظت بیشترین درجه کاهش (کمتر از ۵ درصد در مقایسه با شاهد) مربوط به ۲۱ اسانس از خانواده‌های Lamiaceae (۸ اسانس: بادرشی، بادرنجبویه، نعنا ابلق، برگ پونه کوهی، آویشن دناهی، آویشن خزری، آویشن شیرازی، کاکوتی)، Apiaceae (۵ اسانس: زیره سیاه ایرانی، زیره سبز، صمغ انغوزه، انیسون و زنیان)، Geraniaceae (۲ اسانس: برگ شمعدانی معطر و سرشاخه گلدار شمعدانی معطر)، Asteraceae (۲ اسانس: درمنه دشتی و شاه‌اسپریم)، Rutaceae (۲ اسانس: برگ لیمو شیرین و سداب)، Liliaceae (یک اسانس: موسیر) و Zingiberaceae (یک اسانس: هل سیاه) بود. متوسط زمان جوانه‌زنی (MGT) نیز تحت تأثیر تیمار قرار گرفت. تنها تیمارهایی که جوانه‌زنی در ۳ یا ۴ تکرار رخ داده بود از این نظر مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. مقدار این صفت در غلظت ۱ میکرولیتر ۵-۱/۷ روز، و در غلظت ۳ میکرولیتر ۵-۲ روز بود، و تیمار شاهد مقدار ۲/۱ روز را داشت. در غلظت ۱ میکرولیتر ۹۵ اسانس موجب افزایش و ۴ اسانس موجب کاهش شاخص در مقایسه با تیمار شاهد شدند. در این غلظت بیشترین درجه افزایش (بیش از ۲۲۴ درصد نسبت به شاهد) مربوط به ۴ اسانس از خانواده‌های Lamiaceae (۲ اسانس: بادرشی و آویشن خزری)، Asteraceae (یک اسانس: درمنه دشتی)، و Zingiberaceae (یک اسانس: هل سیاه) بود. در غلظت ۳ میکرولیتر ۷۰ اسانس موجب افزایش و ۴۰ اسانس موجب کاهش شاخص در مقایسه با تیمار شاهد شدند. در این غلظت بیشترین درجه افزایش (بیش از ۲۰۴ درصد نسبت به شاهد) مربوط به ۹ اسانس از خانواده‌های Lamiaceae (۳ اسانس: برازمل، گل و برگ رزماری)، Asteraceae (۳ اسانس: بومادران معمولی، درمنه کوهی، درمنه ایرانی)، Cupressaceae (۲ اسانس: سرو لاوسون، توپا آمریکایی)، Apiaceae (یک اسانس: کرفس) بود.

1- Spectrophotometer

جدول ۱- نتایج ارزیابی شدت پتانسیل بازدارندگی اسانس گیاهان دارویی بر صفات مرتبط با جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه کاهو

Table 1- The results of evaluation of inhibitory potential of medicinal plants essential oil on traits related to seed germination and seedling growth of lettuce.																										
شماره No.	Scientific name	نام علمی	نام فارسی	تیره گیاهی Family	قسمت مورد استفاده Part of use	G%			MG(day)			D%			L%			H%			R%			Vt%		
						1µl	3µl	1µl	1µl	3µl	1µl	1µl	3µl	1µl	1µl	3µl	1µl	1µl	3µl	1µl	1µl	3µl	1µl	1µl	3µl	1µl
1	<i>Abies alba</i>	نراد قرمقی اروپا	نراد قرمقی اروپا	Pinaceae	L	100	100	2.5	3.3	0	0	0	0	0	0	43.2	27.8	63.9	42.7	56	36.9	4.7**	19.4**	4.7**		
2	<i>Achillea filipendulina</i>	یومادران خیزی	یومادران خیزی	Asteraceae	Ap	96.5	60.7	2.5	4.3***	0	0	0	0	0	0	25.8**	10.8**	16.6***	5.7**	18.2**	4.8**	18.0**	4.6**			
3	<i>Achillea wilhelmsii</i>	یومادران معمولی	یومادران معمولی	Asteraceae	Ap	93	60.7	3.7**	4.8***	0	0	0	0	0	0	21.2**	12.1**	18.2**	4.8**	18.0**	4.8**	18.0**	4.6**			
4	<i>Allium hirtifolium</i>	موسیر	موسیر	Liliaceae	C	3.5***	0.0***	5	0	0	0	0	0	0	0	100***	96.4***	10.4***	5.2**	1.2**	0.3***	0.0**				
5	<i>Annonum subulatum</i>	هل سیاه	هل سیاه	Zingiberaceae	Fr	28.5***	0.0***	4.8***	0	0	0	0	0	0	0	96.4***	12.2**	10.8***	1.0**	3.2***	0.0**	0.4**				
6	<i>Anethum graveolens</i>	شوید	شوید	Apiaceae	Fr	92.8	21.4***	3.8**	4.7***	0	0	0	0	0	0	14.6***	4.4***	18.0**	0.5**	15.5**	0.4**	0.4**				
7	<i>Apium graveolens</i>	کرفس	کرفس	Apiaceae	Fr	89.3	100	2.3	2.2	0	0	0	0	0	0	3.6	0	61.2	59.9	43.7	45.4	37.3				
8	<i>Artemisia absinthium</i>	السنطین	السنطین	Asteraceae	L	100	96.4	2.5	3.2	0	0	0	0	0	0	0	42.2	28.7	49.9	44.9	46.9	37.3				
9	<i>Artemisia aucheri</i>	درمه کوهی	درمه کوهی	Asteraceae	Ap	100	82.1	3.8**	4.7***	0	0	0	0	0	0	0	23.0**	6.9**	13.8***	0.0***	17.3**	2.2**				
10	<i>Artemisia deserti</i>	درمه بیابانی	درمه بیابانی	Asteraceae	Ap	100	89.3	3.3*	3.9**	0	0	0	0	0	0	0	21.0**	7.1**	16.7**	0.0***	18.4**	2.4*				
11	<i>Artemisia dracunculoides</i>	ترخون	ترخون	Asteraceae	L	100	100	2.1	2.5	0	0	0	0	0	0	0	39.9	20.8	43.6	17.5*	42.2	18.8				
12	<i>Artemisia ludoviciana</i>	برنجکلف تقرقی	برنجکلف تقرقی	Asteraceae	L	96.5	10.7***	3.9***	4.8***	0	0	0	0	0	0	0	14.1***	4.7***	3.7***	1.3**	7.4***	0.3**				
13	<i>Artemisia scoparia</i>	درمه ایرانی	درمه ایرانی	Asteraceae	L	82.3	25.0**	4.5***	4.8***	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	19.9**	10.8	16.9**	2.3**	14.9**	1.4**	1.4**				
14	<i>Artemisia turanica</i>	درمه قزوین	درمه قزوین	Asteraceae	Ap	100	82.1	3.6**	4.3***	0	0	0	0	0	0	0	35.8	19.1*	48.6	20.2	43.7	16.2				
15	<i>Artemisia vulgaris</i>	برنجکلف	برنجکلف	Asteraceae	L	100	85.7	2.6	3.4	0	0	0	0	0	0	0	45.1	24.7	33.8*	14.8*	38.1	15.9				
16	<i>Artemisia vulgaris</i>	برنجکلف	برنجکلف	Asteraceae	F	100	89.5	3.9***	4.5***	0	0	0	0	0	0	0	18.4**	12.2**	7.3***	5.4**	11.6***	7.2*				
17	<i>Artemisia sieberi</i>	درمه دشتی	درمه دشتی	Asteraceae	L,S	50.0***	0.0***	4.7***	0	0	0	0	0	0	0	0	17.9	11.3**	7.6***	0.6**	6.3***	0.0**				
18	<i>Ballota nigra</i>	فراسون آسای سیاه	فراسون آسای سیاه	Lamiaceae	L,F	92.8	100	3	2.8	0	0	0	0	0	0	0	93.5	83.2	90.1	78.9	84.9	80.6				
19	<i>Bunium persicum</i>	زیره سیاه ایرانی	زیره سیاه ایرانی	Apiaceae	Fr	25.3***	0.0***	4.5***	0	0	0	0	0	0	0	0	30.6*	11.2**	33.1*	4.3**	8.0***	0.0*				
20	<i>Cedrus atlantica</i>	سدر	سدر	Pinaceae	L	96.5	96.4	2.7	3.1	0	0	0	0	0	0	0	44.3	40.8	67.6	63.9	56.5	53.1				
21	<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	سرو لاونسون	سرو لاونسون	Cupressaceae	L	93	57.1	3.7**	4.8***	0	0	0	0	0	0	0	42.8	20.9	37.5	27.4	36.7	14.2*				
22	<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	لاوسون تلانی	لاوسون تلانی	Cupressaceae	L	100	96.4	2	2	0	0	0	0	0	0	0	33.8	23.5	51.2	30.7	44.5	27				
23	<i>Chamaecyparis sp.</i>	کاسپاریس	کاسپاریس	Cupressaceae	L	96.5	96.4	2.8	3	0	0	0	0	0	0	0	34	18.6*	24.3**	9.3**	27.0*	12.4*				
24	<i>Chenopodium botrys</i>	درمه ترکی	درمه ترکی	Chenopodiaceae	L	93	100	3.1	3.1	0	0	0	0	0	0	0	50	46	66.7	66.1	56	58.4				
25	<i>Chrysanthemum morifolium</i>	داودی	داودی	Asteraceae	L	96.5	92.9	3.3*	3.8**	0	0	0	0	0	0	0	35.3	18.4*	33.3*	4.2**	32.8	9.0**				
26	<i>Citrus × limon</i>	لیمون ترش ایرانی	لیمون ترش ایرانی	Rutaceae	Fp	96.5	92.9	2.4	3.7*	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	67.6	40.2	90.5	59.7	78.8	48.4				
27	<i>Citrus × paradisi</i>	گریب فروت	گریب فروت	Rutaceae	Fp	100	92.9	2.3	2.4	0	0	0	0	0	0	0	46.1	26.7	57.8	24.5	53.3	23.5				
28	<i>Citrus × sinensis</i>	پرتقال	پرتقال	Rutaceae	Fp	96.5	100	2.3	2.7	0	0	0	0	0	0	0	71.1	29.4	85.9	37.4	77.3	34.3				
29	<i>Citrus aurantifolia</i>	لیمو شیرین	لیمو شیرین	Rutaceae	Fp	100	100	2.2	2.5	0	0	0	0	0	0	0	64.3	28.8	53.4	15.6*	57.6	20.7				
30	<i>Citrus aurantifolia</i>	لیمو شیرین	لیمو شیرین	Rutaceae	L	29.0***	0.0***	4.5***	0	0	0	0	0	0	0	0	39.3**	30.6*	23.1	45.2	13.3*	11.3***				
31	<i>Citrus aurantium</i>	نارنگ	نارنگ	Rutaceae	Fp	100	100	2	2.2	0	0	0	0	0	0	0	70.9	54.6	74.3	72.6	73	65.7				
32	<i>Citrus japonica</i>	کادکوات	کادکوات	Rutaceae	Fp	96.5	92.9	2.3	2.2	0	0	0	0	0	0	0	56.2	32.8	87	54.1	72.5	42.6				
33	<i>Citrus medica</i>	پالنگ	پالنگ	Rutaceae	Fp	96.5	92.9	2.6	3	0	0	0	0	0	0	0	58.5	45.2	76.8	77.5	67.2	60.4				
34	<i>Citrus reticulata</i>	نارنگی	نارنگی	Rutaceae	Fp	93	100	2.3	2.4	7.2*	7.2*	7.2*	7.2*	7.2*	7.2*	7.2*	60.6	35.3	61.2	35.5	56.6	35.4				
35	<i>Citrus × tangelo</i>	تانیلو	تانیلو	Rutaceae	Fp	100	100	2.1	2.1	0	0	0	0	0	0	0	71.4	48.6	85	57.5	79.7	54.1				
36	<i>Citrus × latifolia</i>	لیمو ترش شیرازی	لیمو ترش شیرازی	Rutaceae	Fp	100	89.3	2.8	3.3	0	0	0	0	0	0	0	28.2*	15.6*	34.1*	14.3*	31.8	13.2*				
37	<i>Coffea arabica</i>	قهوه	قهوه	Rubiaceae	Fr	100	89.3	2.1	2.5	0	0	0	0	0	0	0	94.9	85.4	94.2	94.2	81.1	1.7**				
38	<i>Coriandrum sativum</i>	گشنیز	گشنیز	Apiaceae	Fr	93	50.0*	3.1	4.2**	0	0	0	0	0	0	0	18.8**	6.0**	24.9**	1.9**	20.9**	1.7**				
39	<i>Cuminum cyminum</i>	زیره سبز	زیره سبز	Apiaceae	Fr	86	3.6***	3.8**	5	0	0	0	0	0	0	0	23.2**	11.6**	21.2**	6.0**	18.9**	0.3**				
40	<i>Cupressus arizonica</i>	سرو تقرقی	سرو تقرقی	Cupressaceae	L	96.5	89.3	3.7**	4.3***	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	39.6	21.8	47.5	19.7*	42.8	18.3				
41	<i>Cupressus arizonica</i>	سرو تقرقی	سرو تقرقی	Cupressaceae	Fr	100	67.9	3.1	3.4	0	0	0	0	0	0	0	47	37.5	86.1	74.7	71.1	41				
42	<i>Cupressus sempervirens</i>	سرو زیتون	سرو زیتون	Cupressaceae	L	89.3	100	2.7	3.6*	0	0	0	0	0	0	0	51.1	38.2	91.8	73.2	68	59.7				
43	<i>Curcuma longa</i>	زردچوبه	زردچوبه	Zingiberaceae	Rh	86	60.7	3.8**	3.8**	0	0	0	0	0	0	0	49.2	47.1	99.5	91.8	68.7	45.3				
44	<i>Datura stramonium</i>	دانوره	دانوره	Solanaceae	L	96.5	100	3.3*	3	0	0	0	0	0	0	0	72.7	73.1	76.6	65.4	72.4	68.3				
45	<i>Daucus carota</i>	هویج	هویج	Apiaceae	Fr	96.5	92.9	2.6	2.9	0	0	0	0	0	0	0	27.1*	19.6	28.7**	12.8**	27.1*	14.3*				
46	<i>Dracocephalum moldavica</i>	بادرنشینی	بادرنشینی	Lamiaceae	Ap	39.5***	0.0***	4.7***	0	0	0	0	0	0	0	0	24.2**	4.8**	23.8**	0.7**	9.4***	0.0**				
47	<i>Elettaria cardamomum</i>	کندل کما (دنا)	کندل کما (دنا)	Apiaceae	O	100	92.9	2.4	2.4	0	0	0	0	0	0	0	49.6	37	71.8	41.5	63.3	36.9				
48	<i>Eleutheria cardamomum</i>	هل سبز	هل سبز	Zingiberaceae	Fr	96.5	100	2.4	3.3	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	27.1*	12.9**	38.2	11.0**	32.7	11.8*				

49	<i>Eucalyptus globulus</i>	Myrtaceae	L	89.3	100	2.6	3.4	0	0	0	7.2	0	32.2	20.6	46.1	24.2	36.4	22.8
50	<i>Ferula alliacea</i>	Apiaceae	Ap	100	96.4	2.6	3.1	0	0	0	0	3.6	43	24	51.9	23.6	48.5	22.9
51	<i>Ferula foetida</i>	Apiaceae	O	93	0.0****	3.2		3.6	0	0	0	100****	38.5	9.3**	48.1	4.7**	41.3	0.0**
52	<i>Ferula gumosa</i>	Apiaceae	O	100	100	2.6	2.6	0	0	0	0	0	76	42.2	88.3	54.8	83.6	50
53	<i>Ferula luensis</i>	Apiaceae	L	100	89.3	2.3	2.9	0	0	0	0	3.6	32	17.8*	30.7*	10.9**	31.2	12.1*
54	<i>Foeniculum vulgare</i>	Apiaceae	Fr	100	100	2.5	3.2	0	0	0	0	0	29.8*	9.0**	32.2*	1.8*	31.3	4.6**
55	<i>Foeniculum vulgare</i>	Apiaceae	L	100	78.6	3.1	3.9**	0	0	0	0	3.6	42.2	25.6	48.4	29.1	46.1	21.8
56	<i>Grindelia robusta</i>	Asteraceae	L,F	93	92.9	2.4	2.8	0	3.6	0	0	0	51.7	26.6	72.4	31	59.8	27.2
57	<i>Helianthus annuus</i>	Asteraceae	L	100	100	2.4	2.8	0	0	0	0	0	47.5	26.9	63.1	17.4*	57.1	21.1
58	<i>Helichrysum italicum</i>	Asteraceae	Ap	96.5	53.6*	3.6**	4.1**	0	0	0	0	3.6	31.1*	19.4	42.4	27.4	36.7	13.0*
59	<i>Heracleum persicum</i>	Apiaceae	Fr	100	25.0**	2.4	3.3	0	14.3**	0	0	3.6	29.6*	7.5**	30.1*	3.5	29.9*	1.3*
60	<i>Isula pauciflorum</i>	Asteraceae	R	93	100	1.7	2	0	0	0	0	0	70.7	71.4	74	75.1	67.5	73.7
61	<i>Juniperus chinensis</i>	Cupressaceae	L	96.5	92.9	2.9	3.3	3.6	0	0	0	0	27.7*	19.4	39.2	23.4	33.5	20.3
62	<i>Juniperus excelsa</i>	Cupressaceae	L	100	92.9	2.2	2	0	7.2	0	0	0	61.5	42.9	91.9	73.8	80.2	57.5
63	<i>Juniperus horizontalis</i>	Cupressaceae	Fr	100	96.5	2.6	2.4	0	0	0	0	0	56.5	45.9	69.5	59.7	64.5	52.5
64	<i>Juniperus horizontalis</i>	Cupressaceae	L	92.8	96.4	2	2.1	3.6	3.6	0	0	0	31.2*	15.6*	53.3	22.7	41.6	19.2
65	<i>Juniperus sp.</i>	Cupressaceae	L,F	96.5	100	2.4	2.8	3.6	0	0	0	0	38.3	33.3	36.2*	37	35.7	35.6
66	<i>Lantana camara</i>	Verbenaceae	L	93	92.9	2.4	2.9	0	3.6	0	0	0	39.1	32.4	47.5	53.7	41.1	42.2
67	<i>Lavandula angustifolia</i>	Lamiaceae	L	93	71.4	3.5**	3.9**	0	0	0	3.6	3.6	27.5*	15.4*	45.6	9.3**	35.9	8.3**
68	<i>Lavandula angustifolia</i>	Lamiaceae	F	96.5	21.4**	3.8**	4.1**	0	0	0	0.0	3.6	13.1**	2.0**	4.1**	0.2**	7.3**	0.2**
69	<i>Lippia citriodora</i>	Verbenaceae	L	96.5	60.7	3.3*	4.4**	0	0	0	10.7	3.6	33	7.3**	24.3**	5.8*	26.6*	3.9**
70	<i>Magnolia virginiana</i>	Magnoliaceae	L	85.8	96.4	3.1	2.7	0	3.6	10.7	0	0	62.1	63.6	70.7	70.2	57.8	65.2
71	<i>Melissa officinalis</i>	Lamiaceae	L	3.5****	0.0****	4		0	0	21.5**	100****	21.1**	15.0*	18.8**	6.3*	0.7**	0.0**	0.0**
72	<i>Mentha longifolia</i>	Lamiaceae	L	96.5	53.6*	3.6**	4.3**	0	0	0	0	0	19.0**	11.8**	14.3**	5.2*	15.5**	4.1**
73	<i>Mentha longifolia</i>	Lamiaceae	L,F	60.5	32.2**	4.2**	4.4**	3.6	17.9***	3.6	0	0	26.8**	9.4*	35.6*	4.7*	19.6**	2.1**
74	<i>Mentha piperita</i>	Lamiaceae	L,F	96.5	53.6*	3.7	4.4**	0	7.2	0	0	0	21.3**	7.3**	20.2**	3.3*	19.9**	2.6**
75	<i>Mentha pulegium</i>	Lamiaceae	L	10.8****	0.0****	4.5	4.5**	14.3***	0	3.6	3.6	92.9****	15.8**	12.2*	7.6**	6.5**	1.2**	0.0*
76	<i>Mentha suaveolens</i>	Asteraceae	L	100	89.3	2.3	2.7	0	0	0	0	3.6	46.4	39.5	75.4	43.5	64.2	37.5
77	<i>Myristica fragrans</i>	Myrtaceae	Fr	100	96.4	2.5	3.1	0	0	0	0	0	41.8	25.3	54.5	38.2	49.6	32
78	<i>Nepeta binaludensis</i>	Lamiaceae	Ap	78.5	10.7***	4.6***	5	3.6	3.6	0	0	3.6	57.4	26.9	66.6	38.2	49.5	3.6**
79	<i>Nepeta cataria</i>	Lamiaceae	L,F	68.0*	14.3***	4.4***	4.3	3.6	42.9***	0	0	14.3	55.4	24.8	54.7	10.9**	37.3	2.3**
80	<i>Origanum vulgare subsp. viridi</i>	Lamiaceae	F	89.5	46.4*	3.3*	4.5**	0	0	0	3.6	7.2	5.0****	5.6**	2.3***	0.1***	3.0***	1.0**
81	<i>Origanum vulgare subsp. vulgare</i>	Lamiaceae	L	7.0****	0.0****	5		0	0	85.7****	100****	10.5**	4.6**	8.4**	0.2**	0.7**	0.0**	
82	<i>Origanum vulgare subsp. vulgare</i>	Lamiaceae	F	100	100	2.1	2.2	0	0	0	0	0	45.3	44.1	62.1	61	55.7	54.5
83	<i>Pelargonium graveolens</i>	Geraniaceae	L	7.0****	3.6****	3.5	5	57.1****	25.0***	0	0	71.4****	19.0**	14.3**	27.8**	26.6	1.7***	0.8**
84	<i>Pelargonium graveolens</i>	Geraniaceae	L,F	0.0****	0.0****			32.2****	14.3**	32.2***	82.1****	13.7***	16.4*	25.6**	18.4*	0.0**	0.0**	0.0**
85	<i>Perovskia abrotanoides</i>	Lamiaceae	F	89.3	53.6*	3.8**	4.8***	0	3.6	0	0	0	6.7***	7.8**	4.3***	1.0*	4.7***	1.9**
86	<i>Perovskia abrotanoides</i>	Lamiaceae	L	100	89.3	3.3	4.3**	0	0	0	0	3.6	35.9	31.8	43.4	24.9	40.5	24.6
87	<i>Petroselinum sativum</i>	Apiaceae	Fr	96.5	96.4	2.4	2.5	0	0	0	3.6	3.6	31.2	19.4	85	36.5	62	28.8
88	<i>Pimpinella anisum</i>	Apiaceae	Fr	0.0****	0.0****			0	0	100****	100****	5.8****	1.9**	4.2**	0.5**	0.0**	0.0**	0.0**
89	<i>Pinus eldarica</i>	Pinaceae	O	100	100	2.3	2	0	0	0	0	0	58.7	23.1	65.7	13.6*	63	17.2
90	<i>Pinus eldarica</i>	Pinaceae	L	89.3	100	3	3	7.2*	0	0	0	0	71.8	66.7	79.7	81.4	68.5	75.8
91	<i>Pinus eldarica</i>	Pinaceae	L	96.5	96.4	3	3.4	0	0	0	0	0	32.2	44.6	25.6**	53.6	27.1*	48.4
92	<i>Pistacia vera</i>	Anacardiaceae	Fr	100	100	2.4	3	0	0	0	0	0	51	47.3	69.2	60.2	62.2	55.2
93	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Lamiaceae	L	89.3	35.7**	4.5****	5.0****	10.7*	0	10.7*	0	0	28.1*	8.8**	12.8***	0.8*	16.7**	1.4**
94	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Lamiaceae	F	89.5	17.9***	4.1***	5.0****	0	10.7**	0	0	0	39.2	19.4	45.6	11.2**	38.5	2.6**
95	<i>Ruta graveolens</i>	Rutaceae	L	14.5****	3.6****	2.5	4	10.7**	42.9****	10.7	39.3**	18.7**	14.0**	23.0**	11.7***	0.3***	14.4**	3.3**
96	<i>Salvia nemorosa</i>	Lamiaceae	Ap	100	67.9	3.2	4.1**	0	0	0	0	7.2	18.7**	11.7**	11.7***	0.3***	14.4**	3.3**
97	<i>Salvia officinalis</i>	Lamiaceae	Ap	100	96.4	3.4*	4.2**	0	0	0	0	0	14.3**	5.6**	6.7***	0.5**	9.6**	2.4*
98	<i>Salvia syriaca</i>	Lamiaceae	Ap	78.5	67.9	3	4.5**	0	3.6	3.6	3.6	3.6	40.2	26	65.9	44.6	44	25.4
99	<i>Santolina chamaecyparissus</i>	Asteraceae	L,F	100	92.9	2.4	3	0	0	0	0	3.6	31.2*	24.8	38.8	27	35.8	24.3
100	<i>Syzygium aromaticum</i>	Myrtaceae	F	93	46.4*	2.4	2.1	3.6	0	0	0	21.5	20.9**	10.6**	29.5**	16.0*	24.3*	6.5**
101	<i>Tanacetum balsamita</i>	Asteraceae	L,F	100	3.6****	3.3	5	0	0	0	0	25.0*	11.0**	3.7**	10.2***	0.0**	10.5***	0.1**
102	<i>Thuja occidentalis</i>	Cupressaceae	L	92.8	71.4	4.0***	4.7***	0	0	3.6	3.6	3.6	24.7**	14.3**	26.2**	3.1**	23.8**	5.3*

اوكالیپتوس
کاهای نیشابور
انغوزه
باربچه
کاهای لوتی
رازانه
گرنیلا
افغانکاجان
گل خاویز ایتالیایی
گابیر
چونیز مش
اراس
اراس خرنده
اراس ستاری
شاهیند درجی
اسطوخودوس
اسطوخودوس
به لبو
ماگولیا
بادرنجویه
پونه
نمنا قللی
پونه
نمنا ابلی
بابونه پاکستانی
جوز بونا
پونه‌سای پیلاردی
پونه‌سای گریادی
پونه‌کوهی
پونه‌کوهی
شمدانی معطر
شمدانی معطر
پرازمیل
پرازمیل
جغری
انیسون
کاج تهران
کاج تهران
کاج تویی
پسته
زرداری
زرداری
سداب
مریم‌گلی مزه‌دروی
مریم‌گلی دارویی
مریم‌گلی سوی
پوماران زنتی
میجک هندی
شاهسود
توبا امریکایی

103	<i>Thuja orientalis</i>	سر و بادبزی یا نوش	Cupressaceae	L	89.3	96.4	3.2	3.1	0	3.6	3.6	0	32.3	21.1	30.5°	16.4°	27.9°	17.6
104	<i>Thymus daenensis</i>	آویشن دناپی	Lamiaceae	L	0.0****	0.0****	5.0****		0	0	100****	100****	5.8****	0.8****	0.5****	0.0****	0.0**	0.0**
105	<i>Thymus transcaspicus</i>	آویشن خیزی	Lamiaceae	L	10.5****	0.0****	3.7**		3.6	0	57.1****	96.4****	22.5**	13.5**	26.7**	15.4°	2.7***	0.0**
106	<i>Trachyspermum ammi</i>	زبان	Apiaceae	Fr	10.5****	3.6****		4	39.3****	67.8****	28.6**	14.3	35.8	13.5**	49.6	13.6°	4.7***	0.5**
107	<i>Vitex agnus castus</i>	پنج انگشت	Verbenaceae	Fr	89.5	96.4	2.4	2.6	0	0	0	3.6	45.3	29.7	49.9	50.5	42.9	40.9
108	<i>Xanthium strumarium</i>	زردبینه	Asteraceae	L	96.5	64.3	3.3*	4.0**	0	0	0	0	44.4	24.1	43.5	13.3**	42.3	11.2*
109	<i>Zataria multiflora</i>	آویشن شیرازی	Lamiaceae	L,F	39.5***	0.0****	4.0**		0	0	53.6****	100.0****	11.1***	6.7**	8.2***	3.9**	3.7***	0.0**
110	<i>Zingiber officinale</i>	زنجبیل	Zingiberaceae	Rh	100	64.3	2.8	3.5	0	7.2	0	3.6	25.7**	19.4	30.6°	17.2°	28.7°	11.6°
111	<i>Ziziphora clinopodioides</i>	کاکوتی کوهی	Lamiaceae	L	93	7.2***	3.8**	4.5	3.6	28.6****	0	10.7	28.7*	11.0**	40.5	8.2**	33.4	0.7**
112	<i>Ziziphora tenuior</i>	کاکوتی	Lamiaceae	L	10.8****	0.0****	3.5		67.8****	71.4****	7.2	28.6*	19.8**	9.8**	21.9**	14.5°	2.3***	0.0**

a: Part of use for extraction of essential oils: Ap (Aerial part), C (Corm), F (Fruit), Fr (Fruit peel), L (Leaf), S (Stem), O (Oleogum), Rh (Rhizome), R (Root)
 *: The severity of the inhibitory effect on traits was defined by deviation value at 5 levels: (*****) Mean - / + 2sd, (****) Mean - / + 1.5sd, (****) Mean - / + 1sd, (**) Mean - / + 0.5sd, and (*) Mean - / + 0.25sd.

درصد ایجاد رکود در بذر (D%)، نیز تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت. مقدار این صفت در غلظت ۱ میکرولیتر ۶۷/۸ - ۰ درصد و در غلظت ۳ میکرولیتر ۷۱/۴ - ۰ درصد بود. در غلظت ۱ میکرولیتر تنها ۲۵ اسانس اثرات رکود ایجاد کردند. بیشترین درجه ایجاد رکود (بیش از ۲۲ درصد) در این غلظت مربوط به ۴ اسانس از خانواده‌های Lamiaceae (یک اسانس: کاکوتی)، Apiaceae (یک اسانس: زنیان) و Geraniaceae (۲ اسانس: برگ و گل و برگ شمعدانی معطر) بود. در غلظت ۳ میکرولیتر ۳۵ اسانس اثرات ایجاد رکود نشان دادند، و بیشترین درجه ایجاد رکود (بیش از ۳۰ درصد) در این غلظت مربوط به ۵ اسانس از خانواده‌های Apiaceae (۲ اسانس: شوید و زنیان)، Lamiaceae (۲ اسانس: پونه‌سای گربه‌ای و کاکوتی) و Rutaceae (یک اسانس: سداب) بود. درصد مرگ جنین (L%)، نیز تحت تاثیر تیمار قرار گرفت. مقدار این صفت در هر دو غلظت ۱ و ۳ میکرولیتر ۱۰۰ - درصد بود. در غلظت ۱ میکرولیتر ۳۲ اسانس اثرات کشندگی نشان دادند، و بیشترین درجه کشندگی (بیش از ۴۵ درصد) مربوط به ۶ اسانس از خانواده‌های Lamiaceae (۴ اسانس: برگ پونه‌کوهی، آویشن دنايي، آویشن شیرازی و آویشن خزری)، Apiaceae (یک اسانس: انیسون) و Liliaceae (یک اسانس: موسیر) بود، که در این بین اسانس انیسون و آویشن دنايي موجب کشندگی ۱۰۰ درصد شدند. در غلظت ۳ میکرولیتر ۵۱ اسانس اثرات کشندگی نشان دادند، و بیشترین درجه کشندگی (بیش از ۷۸ درصد) مربوط به ۱۳ اسانس از خانواده‌های Geraniaceae (یک اسانس: گل و برگ شمعدانی معطر)، Apiaceae (۳ اسانس: زیره سیاه ایرانی، صمغ انغوزه، انیسون)، Lamiaceae (۷ اسانس: بادرشبی، بادرنجبویه، نعنا ابلق، برگ پونه‌کوهی، آویشن دنايي، آویشن خزری، آویشن شیرازی)، Liliaceae (یک اسانس: موسیر) و Zingiberaceae (یک اسانس: هل سیاه) بود، که در این میان اسانس انغوزه، انیسون، بادرنجبویه، برگ پونه‌کوهی، آویشن دنايي، آویشن شیرازی و موسیر موجب کشندگی ۱۰۰ درصد شدند.

نتایج آزمایش دوم: صفات مرتبط با رشد گیاهچه نیز بطور معنی‌دار تحت تاثیر تیمارها قرار گرفتند. طول هیپوکوتیل (H%)، تحت تاثیر تیمار قرار گرفت و تمام تیمارها موجب کاهش طول هیپوکوتیل شدند. طول هیپوکوتیل در شاهد ۱۶/۶ میلی‌متر، در غلظت ۱ میکرولیتر ۱۵/۷ - ۰/۸ میلی‌متر (۹۴/۹ - ۵ درصد در مقایسه با شاهد)، و در غلظت ۳ میکرولیتر ۱۴/۱ - ۰/۱۲ میلی‌متر (۸۵/۴ - ۰/۸ درصد نسبت به شاهد) بود. در غلظت ۱ میکرولیتر بیشترین درجه کاهش (کمتر از ۸ درصد نسبت به شاهد) مربوط به ۴ اسانس از خانواده‌های Lamiaceae (۳ اسانس: گل پونه‌کوهی، گل برازمل، آویشن دنايي)، و Apiaceae (یک اسانس: انیسون) بود. در غلظت ۳ میکرولیتر بیشترین درجه کاهش (کمتر از ۶ درصد نسبت به شاهد)

مربوط به ۱۱ اسانس از خانواده‌های Apiaceae (۲ اسانس: شوید، انیسون)، Lamiaceae (۶ اسانس: بادرشبی، گل اسطوخودوس، برگ پونه‌کوهی، گل پونه‌کوهی، مریم‌گلی دارویی، آویشن دنايي)، Zingiberaceae (یک اسانس: هل سیاه) و Asteraceae (۲ اسانس: برنجاسف نقره‌ای و شاه‌اسپریم) بود. طول ریشه‌چه (R%)، نیز تحت تاثیر تیمار قرار گرفت. مقدار طول ریشه‌چه در شاهد ۲۶/۴۵ میلی‌متر بود و در غلظت ۱ میکرولیتر اسانس‌ها ۲۸/۲۹ - ۰/۱۳ میلی‌متر (۱۰۶/۹ - ۰/۵ درصد نسبت به شاهد)، و در غلظت ۳ میکرولیتر ۲۴/۹ - ۰ میلی‌متر (۱۰۰ - ۵/۷۹ درصد نسبت به شاهد) بود. در غلظت ۱ میکرولیتر بیشترین درجه کاهش رشد (کمتر از ۳/۴ درصد نسبت به شاهد) مربوط به ۲ اسانس از خانواده Lamiaceae (گل پونه‌کوهی، آویشن دنايي) بود، و در درجه بعدی (رشد بین ۳/۴ تا ۱۶/۷ درصد نسبت به شاهد) ۱۳ اسانس از خانواده‌های Lamiaceae (۹ اسانس: گل اسطوخودوس، نعنا ابلق، پودنه، برگ پونه‌کوهی، گل برازمل، برگ رزماری، مریم‌گلی مزرعه‌روی، مریم‌گلی دارویی، آویشن شیرازی)، Asteraceae (۶ اسانس: بومادران خزری، درمنه کوهی، برنجاسف نقره‌ای، سرشاخه گلدار برنجاسف، درمنه دشتی)، خانواده Apiaceae (یک اسانس: انیسون)، خانواده Zingiberaceae (یک اسانس: هل سیاه) و خانواده Liliaceae (یک اسانس: موسیر) قرار داشتند. تنها اسانسی که در این غلظت اثر افزایش بر رشد ریشه‌چه داشت اسانس قهوه بود که موجب افزایش ۶/۹ درصدی در مقایسه با شاهد شد. در غلظت ۳ میکرولیتر بیشترین درجه کاهش رشد (کمتر از ۰/۵ درصد نسبت به شاهد) مربوط به ۸ اسانس از خانواده‌های Lamiaceae (۵ اسانس: گل اسطوخودوس، برگ پونه‌کوهی، گل پونه‌کوهی، مریم‌گلی مزرعه‌روی، آویشن دنايي)، و Asteraceae (۳ اسانس: درمنه کوهی، درمنه بیابانی، شاه‌اسپریم) بود. در این غلظت ۴ اسانس درمنه کوهی، درمنه بیابانی، شاه‌اسپریم و آویشن دنايي موجب بازدارندگی ۱۰۰ درصد رشد ریشه‌چه شدند.

شاخص قدرت (VI)، نیز تحت تاثیر تیمار قرار گرفت. مقدار این صفت در شاهد ۴۲۹۹/۹۵، در غلظت ۱ میکرولیتر اسانس‌ها ۴۳۹۸/۸۵ - ۰ (۱۰۲/۳ - ۰ درصد نسبت به شاهد)، و در غلظت ۳ میکرولیتر ۳۴۸۶/۹۹ - ۰ (۸۱/۱ - ۰ درصد نسبت به شاهد) بود. در غلظت ۱ میکرولیتر بیشترین درجه کاهش (کمتر از ۱۲ درصد نسبت به شاهد) مربوط به ۲۵ اسانس از خانواده‌های Lamiaceae (۱۲ اسانس: بادرشبی، گل اسطوخودوس، بادرنجبویه، نعنا ابلق، برگ پونه‌کوهی، گل پونه‌کوهی، گل برازمل، مریم‌گلی دارویی، آویشن دنايي، آویشن خزری، آویشن شیرازی، کاکوتی)، Asteraceae (۴ اسانس: برنجاسف نقره‌ای، سرشاخه گلدار برنجاسف، درمنه دشتی، شاه‌اسپریم)، Apiaceae (۳ اسانس: زیره سیاه ایرانی، انیسون، زنیان)، Geraniaceae (۲ اسانس: برگ شمعدانی معطر، سرشاخه گلدار

برنجاسف نقره‌ای، برازمل، برنجاسف، شاه‌اسپریم و آویشن خزری مشاهده شدند. برخی اسانس‌ها مانند شوید، انیسون و آویشن دناهی تنها یک ترکیب فرار غالب داشتند (به ترتیب ۲۱- دی‌ایزو پروپنیل سیکلوبوتان ۷/۷۴٪، ترانس آنتول ۳/۹۳٪، و کارواکرول ۹/۹۰٪). اثرات آللوپاتیک اکثر این ترکیبات فرار در سایر پژوهش‌ها اثبات شده و بازدارندگی آللوپاتیک اسانس‌ها در این مطالعه را نیز می‌توان در نتیجه وجود هر یک از این ترکیبات و برآیندی از مجموعه ترکیبات غالب فرار در هر اسانس دانست. از آنجا که جایگاه هدف یکسانی برای تمام ترکیبات آللوکمیkal در مسیرهای فیزیولوژیکی مشخص نشده، نمی‌توان نحوه عمل واحدی مشابه آنچه در علف‌کش‌های مصنوعی وجود دارد برای آنها متصور شد. مکانیسم آللوپاتی می‌تواند مجموعه‌ای از فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیکی ناشی از این ترکیبات باشد (۱۳).

اسانس‌های انیسون، شمعدانی معطر، آویشن دناهی، پونه کوهی، آویشن شیرازی، برازمل، برنجاسف از جمله قوی‌ترین اسانس‌های بازدارنده در این آزمایش بودند. در سایر مطالعات صورت گرفته اثرات حشره‌کشی انیسون و شمعدانی معطر به ویژه در مورد لارو کشی و تخم‌کشی مشاهده شده‌است (۴۷، ۴۵ و ۱۱). اثرات میکروب‌کشی قوی آویشن دناهی و اثر ضد میکروبی، بازدارندگی یا محرک فعالیت آنزیمی و نیز اثرات سمیت برخی ترکیبات موجود در اسانس انیسون مانند استراگول در تحقیقات پیشین گزارش شده‌است (۳۲، ۳ و ۴۱). همچنین اثرات آفت‌کشی بصورت تدخینی اسانس انیسون نیز گزارش شده‌است (۵۴). در مطالعات آللوپاتی سایر پژوهشگران نیز گزارش‌هایی مبنی بر اثرات سمی اسانس آویشن دناهی وجود دارد. نتایج مطالعه صورت گرفته در خصوص اثرات اسانس آویشن دناهی بر جوانه‌زنی تعدادی گونه علف‌هرز نشان دهنده اثرات قوی بازدارندگی این اسانس بود بطوریکه بازدارندگی کامل جوانه‌زنی در غلظت 10^{-1} μL ۶۰۰ در مورد یولاف وحشی^۱، و در غلظت 10^{-1} μL ۸۰۰ در مورد تاج خروس وحشی^۲ و تاتوره^۳ اتفاق افتاد (۳۱). کاربرد این اسانس به دو صورت خالص و فرموله شده (نانومولسیون محلول در آب) اثرات آنتی‌باکتریال بر باکتری *E. coli* داشت، به طوریکه ظرف مدت ۵ دقیقه موجب مرگ کامل باکتری شد (۴۱). در پژوهش انجام شده توسط آزی‌راک و کارامان (۵)، از بین ترکیبات موجود در اسانس آویشن دناهی تیمول، کارواکرول و کاروون بالاترین اثرات بازدارندگی را در جوانه‌زنی بذر نشان دادند.

شمعدانی معطر، Liliaceae (یک اسانس: موسیر)، Zingiberaceae (یک اسانس: هل سیاه)، Rutaceae (۲ اسانس: برگ لیمو شیرین، سداب) بود، که از بین آنها سه اسانس موجب کاهش این شاخص درحد صفر شدند (سرشاخه گلدار شمعدانی معطر، انیسون، آویشن دناهی). در غلظت ۳ میکرولیتر بیشترین درجه کاهش (کمتر از ۹/۶۵ درصد نسبت به شاهد) مربوط به ۵۰ اسانس از خانواده‌های Apiaceae (۹ اسانس: شوید، زیره سیاه ایرانی، گشنیز، زیره سبز، صمغ انگوزه، میوه رازیانه، گلپر، انیسون، زنیان)، Lamiaceae (۲۲ اسانس: بادرشی، برگ اسطوخودوس، گل اسطوخودوس، بادرنبویه، نعنا ابلق، پودنه، نعنا فلفلی، پونه‌سای بینالودی، پونه‌سای گربه‌ای، برگ پونه‌کوهی، گل پونه‌کوهی، گل برازمل، برگ رزماری، گل رزماری، مریم‌گلی مزرعه‌روی، مریم‌گلی دارویی، آویشن دناهی، آویشن خزری، آویشن شیرازی، کاکوتی کوهی، کاکوتی، پونه)، Cupressaceae (یک اسانس: توپا آمریکایی) و Asteraceae (۹ اسانس: بومادران خزری، بومادران معمولی، درمنه کوهی، درمنه بیابانی، برنجاسف نقره‌ای، سرشاخه گلدار برنجاسف، درمنه ایرانی، درمنه دشتی، داودی، شاه‌سپریم)، Zingiberaceae (یک اسانس: هل سیاه)، Geraniaceae (۲ اسانس: برگ شمعدانی معطر، سرشاخه گلدار شمعدانی معطر)، Liliaceae (یک اسانس: موسیر)، Myrtaceae (یک اسانس: میخک)، Verbenaceae (یک اسانس: به‌لیمو)، Rutaceae (۲ اسانس: برگ لیمو شیرین، سداب) بود، و از آن بین ۱۶ اسانس موجب به صفر رسیدن شاخص شدند (سرشاخه گلدار شمعدانی معطر، موسیر، هل سیاه، برگ لیمو شیرین، زیره سیاه ایرانی، صمغ انگوزه، انیسون، درمنه دشتی، بادرشی، بادرنبویه، نعنا ابلق، برگ پونه‌کوهی، آویشن دناهی، آویشن خزری، آویشن شیرازی، کاکوتی).

کروماتوگرافی گازی و طیف‌سنجی جرمی فضای بالای ویال اسانس

آنالیز هد اسپیس ترکیبات فرار درخصوص ۱۶ اسانس قوی بازدارنده جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه انجام شد (جدول ۲). نتایج کروماتوگرافی گازی نشان داد ترکیباتی نظیر آلفا و بتا پاین و لیمون جزء متداول‌ترین ترکیبات غالب فرار در اسانس‌های مورد بررسی بودند. این ترکیبات در اسانس‌های هل سیاه (آلفا و بتا پاین)، برنجاسف (لیمون و بتا پاین)، لیمو شیرین (بتا پاین و لیمون)، بادرشی (لیمون و آلفا پاین)، نعنا ابلق (لیمون، آلفا و بتا پاین)، سداب (آلفا و بتا پاین)، شاه‌اسپریم (لیمون)، آویشن خزری (آلفا پاین)، آویشن شیرازی (آلفا پاین) و کاکوتی (لیمون، آلفا و بتا پاین) در بین ترکیبات غالب فرار مشاهده شدند. پس از آنها اوکالیپتول، توجون، کمفور و بورنتول ترکیبات فراری بودند که در اسانس‌های

1- *Avena fatua*

2- *Amaranthus retroflexus*

3- *Datura stramonium*

جدول ۱- ترکیبات غالب موجود در اسانس‌های مورد مطالعه بر اساس نتایج آنالیز GC-MS

Table 2- The main components of essential oils based on GC-MS analysis

نام علمی Scientific name	قسمت مورد استفاده ^a Part of use	ترکیبات غالب اسانس بر اساس آنالیز GC-MS The main components of essential oils based on GC-MS analysis			
<i>Amomum subulatum</i>	Fr	Dihydrocarveol (32.1%)	β -Pinene (23.1%)	α -Pinene (18.4%)	
<i>Anethum graveolens</i>	Fr	1,2-Diisopropenylcyclobutane (74.7%)			
<i>Artemisia ludoviciana</i>	L	Borneol (44.2%)	Camphor (33.3%)	Eucalyptol (22.4%)	
<i>Artemisia vulgaris</i>	F	D-Limonene (33.7%)	Thujone (22.5%)	β -Pinene (14.9%)	
<i>Citrus aurantifolia</i>	L	β -Pinene (20.8%)	Linalyl anthranilate (20.8%)	Linalol (16.2%)	Limonene (11.2%)
<i>Dracocephalum moldavica</i>	Ap	Orthodene (32.6%)	Limonene (20.3%)	α -Pinene (17.4%)	4-Carene (11.3%)
<i>Mentha suaveolens</i>	L	Limonene (47.9%)	α -Pinene (16.7%)	β -Pinene (14.0%)	
<i>Origanum vulgare</i>	L	Carvacrol (44.4%)	Thymol (23.0%)	o-Cymene (18.8%)	
<i>Perovskia abrotanoides</i>	F	Borneol (30.1%)	Eucalyptol (21.9%)	Camphor (11.1%)	
<i>Pimpinella anisum</i>	Fr	Trans- anethole (93.3%)			
<i>Ruta graveolens</i>	L	β -Terpinyl acetate (40.8%)	β -Pinene (16.5%)	α -Pinene (10.7%)	
<i>Tanacetum balsamita</i>	L, F	Limonene (40.2%)	Thujone (21.0%)		
<i>Thymus daenensis</i>	L	Carvacrol (90.9%)			
<i>Thymus transcaspicus</i>	L	Camphene (23.0%)	α -Pinene (11.0%)		
<i>Zataria multiflora</i>	L,F	o-Cymene (22.7%)	α -Pinene (22.1%)	Thymol (20.4%)	
<i>Ziziphora tenuior</i>	L	β -Pinene (24.2%)	α -Pinene (21.4%)	Limonene (20.6%)	

a : قسمت مورد استفاده گیاه به منظور استخراج اسانس: Ap (کل اندام هوایی)، C (کرم)، F (گل)، Fr (میوه)، Fp (پوست میوه)، L (برگ)، S (ساقه)، O (اولئوگام)، Rh (ریزوم)، R (ریشه)

اثرات آللوپاتیک برگ آویشن شیرازی در روش ساندویچ نیز گزارش شده‌است (۴). در مطالعات آللوپاتی سایر پژوهشگران نیز گزارش‌هایی مبنی بر اثرات آللوپاتیک و سمیت گیاه برازمبل وجود دارد. بطوریکه در پژوهش امینی و همکاران (۴)، گل برازمبل در بین گیاهان آللوپات مورد مطالعه یکی از مؤثرترین گیاهان بازدارنده رشد گیاهچه کاهو به روش ساندویچ بود. همچنین آنها دریافته بودند گل برازمبل در روش دیش پک نیز اثر بازدارندگی بیش از ۸۰ درصد بر رشد ریشه‌چه کاهو دارد که بر اساس روش آزمایش، این تاثیر ناشی از ترکیبات فرار موجود در آن می‌باشد (۳). بر اساس نتایج بدست آمده در سایر پژوهش‌ها بسیاری از گونه‌های علفی جنس آرتمیزیا حاوی ترکیبات فعالی هستند که اثرات آللوپاتیک و ضدقارچی دارند. ترکیبات آللوکیمیکال موجود در این جنس عمدتاً از نوع ترکیبات فرار اتری و آلکالوئیدها می‌باشد. اثرات آللوپاتیک جنس آرتمیزیا به گونه‌ای است که در غلظت‌های پایین موجب کمی تحریک و افزایش رشد می‌شود و در غلظت‌های بالاتر موجب توقف و کاهش رشد می‌گردد (۲). اثرات

بر اساس سایر پژوهش‌ها انیسون اثر بازدارندگی قابل توجهی بر جلوگیری از جوانه‌زنی و رشد گیاهچه سوروف^۲ داشت (۴۸) و در مطالعه دیگر تنها در غلظت بالا در جلوگیری از جوانه‌زنی مؤثر بود اما در غلظت‌های کم اثر بازدارندگی بر جوانه‌زنی بذور علف هرز مورد مطالعه نداشت (۵). در خصوص اثرات آللوپاتیک و سمی پونه‌کوهی، سایر پژوهش‌ها نشان داده‌اند اسانس این گیاه اثرات قوی ضدقارچی بر طیف گسترده‌ای از قارچ‌ها داشت (۵۶). نوعی مرزنگوش وحشی نیز به طور کامل موجب توقف رشد ۱۷ گونه قارچ شد (۳۵). بر اساس سایر پژوهش‌ها آویشن شیرازی موجب کاهش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه، وزن ریشه و ساقه شد. در پژوهش دیگری اثرات ضدقارچی اسانس آویشن شیرازی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان دهنده توقف کامل رشد قارچ در اثر این اسانس بود و اثرات قوی‌تری در مقایسه با نعنا فلفلی و آویشن باغی داشت (۱).

1- Headspace

2- *Echinochloa crus-galli*

آلوپاتی برنجاسف نقره‌ای نیز در پژوهشی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد حدود ۳۰ درصد اثر بازدارندگی بر رشد گیاه گل گندم داشت (۵۵). همچنین اسانس این گیاه اثرات ضدباکتریایی دارد و در غلظت $10 \mu\text{g ml}^{-1}$ موجب توقف رشد برخی گونه‌های میکروارگانیسم شد (۱).

بر اساس مطالعه دودای و همکاران (۱۴) مونوترپن‌ها در غلظت بسیار کم می‌توانند بر بذور اثر بگذارند. پائین‌ها مونوترپن‌های دوحلقه ای اکسیژن‌دار هستند که در آب نامحلول بوده و بسیار فرار می‌باشند و اثرات آلوپاتیک آنها در محیط و اثرات دورکنندگی حشرات گزارش شده است (۳۳ و ۱۲). لیمونن نیز از مونوترپن‌های آلیفاتیک و دارای حلقه است که اثرات آفت‌کشی، ضد میکروبی و سمیت آن گزارش شده است (۲۳). اوکالیپتول نیز یکی دیگر از مونوترپن‌های حلقه‌ای اتري است که اثرات حشره‌کشی و دورکننده حشرات دارد و دوز کشندگی آن برای رت ۲۴۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (۵۱ و ۳۳). بر اساس مطالعات صورت گرفته اوکالیپتول اثرات قوی بازدارندگی رشد بر روی گیاهان دارد که با تاثیر بر فعالیت آنزیم آسپاراژین سینتاز موجب این عمل می‌شود و بدین ترتیب جزء ترکیبات مهم آلوکیمیکال به حساب می‌آید (۵۷). ترانس آنتول ترکیبی از گروه فیل پروپانئیدها است که بر روی برخی حشرات اثرات سمی اثبات شده دارد (۳۷). همچنین این ترکیب فعالیت ضدقارچی قوی نیز در خصوص طیف وسیعی از قارچ‌ها نشان داده‌است اما در غلظت‌های مورد مطالعه بر بازدارندگی جوانه‌زنی بذور برخی گونه‌ها از جمله چچم^۱ و نخود^۲ هیچ اثر معنی‌داری نداشته‌است و اثرات سمی برای آن گزارش نشده‌است (۲۲ و ۵۲). اثرات قوی ضدقارچی پونه کوهی را به وجود ترکیباتی مانند تیمول و کارواکرول نسبت داده‌اند (۵۶). اثرات ضدقارچی تیمول و کارواکرول موجود در اسانس مرزنگوش وحشی بیشتر از بنومیل بود، ولی پارا سایمن اثرات ضدقارچی کمتری داشت. همچنین کارواکرول و تیمول اثرات بازدارندگی جوانه‌زنی بر روی چند گونه گیاهی داشتند، در صورتیکه پاراسایمن هیچ گونه اثر سمی نشان نداد (۳۵). ترکیبات غالب اسانس پونه کوهی تأثیر معنی‌داری بر کاهش رشد اختصاصی سلول‌های سرطانی داشتند، همین‌طور این اسانس اثرات آنتی‌باکتریال قوی و سمیت متوسط نشان داد (۵۵). بورنئول از دسته ترکیبات مونوترپن با ماهیت الکلی است. گزارشاتی مبنی بر تأثیرات بازدارندگی این ترکیب بر جوانه‌زنی (۸٪) و رشد ریشه‌چه (۴۷٪) علف ساقه آبی کوچک^۳ وجود دارد در حالی که بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه لپتوکلوآ^۴ تأثیری نداشت (۱۷).

- 1- *Lolium multiflorum*
- 2- *Cicer arietinum*
- 3- *Schizachyrium scoparium*
- 4- *Leptochloa dubia*

بنابر آنچه ذکر شد بطور کلی نتایج این آزمایش در بسیاری از موارد در تایید نتایج سایر پژوهشگران می‌باشد ولی در برخی موارد سایر پژوهش‌ها نتایج متفاوتی درخصوص اثرات بازدارنده اسانس‌ها و یا ترکیبات آنها ارائه داده‌اند. تفاوت‌های موجود در نتایج برخی از سایر پژوهش‌ها با نتایج به‌دست آمده در این آزمایش، دلایل مختلفی ممکن است داشته باشد. در اغلب موارد گیاهان مورد آزمون در مطالعات متفاوت بودند و غالباً از بذور گونه‌های مختلف علف هرز استفاده شده در حالیکه در این آزمایش از گیاه کاهو برای آزمون زیست‌سنجی استفاده شد که بعنوان گیاهی با حساسیت بسیار بالا در برابر ترکیبات آلوپات نسبت به سایر گیاهان نشان‌گر و معیار دقیق‌تر و بهتری برای تعیین اثرات بازدارندگی به شمار می‌رود. مورد دیگر روش آزمایش است که در مطالعه سایر پژوهشگران عمدتاً از روش‌های رقت‌سازی و خیساندن بذور در محلول استفاده شده و روش این آزمایش کاربرد اسانس بصورت تدخینی بود، که شاید این مساله علت تفاوت در نتایج باشد. در نهایت علت دیگری که می‌تواند باعث اختلاف در نتایج اثرات سمی اسانس یک گیاه باشد عواملی مانند اندام گیاهی مورد استفاده برای اسانس‌گیری، فصل برداشت گیاه و همچنین تنوع تیپ‌های شیمیایی^۵ موجود در یک گیاه است که موجب تفاوت ترکیبات غالب موجود در اسانس آن می‌شود.

در نتایج بدست آمده در خصوص بازدارندگی رشد گیاهچه و قسمت‌های مختلف آن نکته‌ای قابل توجه است و آن اینکه به غیر از اسانس گل پونه کوهی و گل برازمل که موجب بازدارندگی رشد هر دو قسمت ریشه‌چه و هیپوکوتیل شدند، سایر اسانس‌ها اثرات بازدارندگی یکسان بر دو قسمت گیاهچه نداشتند. بطوری‌که اسانس‌های موسیر، اسطوخودوس و شمعدانی معطر اثر بیشتری بر کاهش رشد هیپوکوتیل داشتند و اسانس‌های برنجاسف نقره‌ای، مریم‌گلی دارویی و انیسون بر ایجاد اختلال در رشد ریشه‌چه مؤثرتر بودند. مطالعات سایر پژوهشگران نشان داده است که اثرات مونوترپن‌ها بر رشد یا مهار رشد بافت‌های گیاهی بستگی به میزان تمرکز آنها در بافت‌ها دارد. این تفاوت در محل اثر دلایل مختلفی ممکن است داشته باشد از جمله اثرات بیوشیمیایی متفاوت بر سنتز پروتئین‌ها و تغییرات آنزیمی (۲۰ و ۲۹)، و اثرات متفاوت در بازدارندگی میتوز در ریشه و ساقه (۱۵). مکانیسم‌های مختلفی نیز برای انواع ترکیبات فرار گزارش شده است از جمله اینکه آنها مانند ترکیبات سمی اثر می‌گذارند و باعث مهار فتوسنتز تنفس و تنفس می‌شوند (۴۶)، کاهش نفوذپذیری غشاء سلولی (۴۲)، القای لیپید پراکسیداسیون (۵۹)، یا دخالت در عملکرد فیتوهورمون‌ها را موجب شوند (۱۹، ۲۶ و ۴۹). ایجاد اختلال در هورمون‌های گیاهی هر اسانس با توجه به ترکیباتی که دارد ممکن است متفاوت باشد که

نتایج این پژوهش نشان داد اسانس گونه‌های دارویی و معطر نسبت به جوانه‌زنی و رشد گیاهیچه کاهو دارای سمیت بالایی بودند. علاوه بر بازدارندگی جوانه‌زنی و رشد گیاهیچه، اثراتی مانند ایجاد رکود در بذر، مرگ جنین و یا ایجاد تأخیر در جوانه‌زنی نیز در تیمار با اسانس مشاهده شد. در مطالعات غربالگری آللوپاتی به دلیل تعداد زیاد گیاهان یا ترکیبات آللوپات مورد بررسی معمولاً چنین صفاتی کمتر مورد توجه قرار می‌گیرند، در حالیکه می‌توانند نقش بسیار مهمی در کنترل رشد داشته باشند و صفات ارزشمندی در خصوص مبارزه با علف‌های هرز و استقرار آن به حساب می‌آیند. تحقیقات بیشتری در آینده لازم است صورت گیرد تا ترکیبات مسئول فعالیت آللوپاتی در این گیاهان شناسایی شوند و نقش‌های بیولوژیکی این ترکیبات در اکوسیستم‌های طبیعی بهتر مشخص شود. چنین اطلاعاتی می‌تواند دیدگاه وسیع‌تری برای محققان در مورد تولید مواد شیمیایی جدید زیست فعال از محصولات طبیعی فراهم کند. شناسایی گیاهان و ترکیبات آللوپات و آگاهی از عملکردهای بیولوژیکی آنها برای کنترل بیولوژیکی انواع علف‌های هرز در کشاورزی و نیز گونه‌هایی که می‌توانند بر روی پروژه‌های جنگلداری تأثیر منفی بگذارد بسیار حائز اهمیت است.

منجر به تفاوت در نتیجه می‌شود. نکته دیگر قابل توجه در این آزمایش اثر گاه متفاوت اسانس قسمت‌های مختلف یک گیاه بود. در این آزمایش در خصوص ۱۱ گیاه (برنجاسف، لیمو شیرین، سرو نقره‌ای، رازیانه، ارس خزنده، اسطوخودوس، پونه کوهی، شمعدانی معطر، برازمیل، کاج تهران و رزماری) اسانس از دو قسمت مختلف تهیه شد که در برخی موارد اثرات متفاوتی داشتند. در خصوص تفاوت بین اسانس گل و برگ، با توجه به نتایج، تأثیر بازدارندگی بر صفات جوانه‌زنی و رشد گیاهیچه در برازمیل، برنجاسف و اسطوخودوس در اسانس گل بیشتر از اسانس برگ بود و در شمعدانی معطر و رزماری تفاوتی نداشت و در پونه کوهی اثر اسانس برگ بیشتر از گل بود. در خصوص تفاوت بین اسانس برگ و میوه بر بازدارندگی جوانه‌زنی، اثر اسانس برگ در لیمو شیرین، رازیانه و سرو نقره‌ای بیشتر از اثر اسانس میوه بود و در ارس خزنده تفاوتی نداشت؛ و در مورد تفاوت آنها بر بازدارندگی رشد، در ارس خزنده و سرو نقره‌ای اثر اسانس برگ بیشتر از میوه بود، در رازیانه اثر اسانس میوه بیشتر از برگ بود و در لیمو شیرین تفاوتی وجود نداشت. در خصوص تفاوت بین اثر اسانس اولئوگام و برگ در کاج تهران، اسانس برگ در جوانه‌زنی و اسانس اولئوگام در رشد اثرات بازدارندگی بیشتری نشان دادند.

منابع

- 1- Abad M.J., Bedoya L.M., Apaza L., and Bermejo P. 2012. The *Artemisia* L. genus: A review of bioactive essential oils. *Molecules* 17(3): 2542–2566.
- 2- Alonso-Amelot M.E. 2016. Multitargeted Bioactive Materials of Plants in the *Curcuma* Genus and Related Compounds: Recent Advances. In *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier B.V., pp 111–200.
- 3- Amini S., Azizi M., Joharchi M.R., Shafei M.N., Moradinezhad F., and Fujii Y. 2014. Determination of allelopathic potential in some medicinal and wild plant species of Iran by dish pack method. *Theoretical and Experimental Plant Physiology* 26 (3–4): 189–199.
- 4- Amini S., Azizi M., Joharchi M.R., and Moradinezhad F. 2016. Evaluation of allelopathic activity of 68 medicinal and wild plant species of Iran by Sandwich method. *International Journal of Horticultural Science and Technology* 3(2): 243–253.
- 5- Azirak S., and Karaman S. 2008. Allelopathic effect of some essential oils and components on germination of weed species. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science* 58(1): 88–92.
- 6- Azizi M., and Fujii Y. 2006. Allelopathic effect of some medicinal plant substances on seed germination of *Amaranthus retroflexus* and *Portulaca oleraceae*. *Acta Horticulturae* 699: 61–67.
- 7- Azizi M., Farzad S., Jafarpour B., Rastegar M.F., and Jahanbakhsh V. 2008. Inhibitory effect of some medicinal plants' essential oils on postharvest fungal disease of *Citrus* fruits. *Acta Horticulturae* 768: 279–286.
- 8- Azizi M., Amini S., Joharchi M.R., Oroojalian F., and Baghestani Z. 2009. Genetic resources for allelopathic and medicinal plants from traditional Persian experience. MARCO symposium, Tsukuba, Japan, (January): 5–7.
- 9- Batish D.R., Arora K., Singh H.P., and Kohli R.K. 2007. Potential utilization of dried powder of *Tagetes minuta* as a natural herbicide for managing rice weeds. *Crop Protection* 26(4): 566–571.
- 10- Batish D.R., Kaur M., Singh H.P., and Kohli R.K. 2007. Phytotoxicity of a medicinal plant, *Anisomeles indica*, against *Phalaris minor* and its potential use as natural herbicide in wheat fields. *Crop Protection* 26(7): 948–952.
- 11- Benelli G., Pavela R., Canale A., Cianfaglione K., Ciaschetti G., Conti F., Nicoletti M., Senthil-Nathan S., Mehlhorn H., and Maggi F. 2017. Acute larvicidal toxicity of five essential oils (*Pinus nigra*, *Hyssopus officinalis*, *Satureja montana*, *Aloysia citrodora* and *Pelargonium graveolens*) against the filariasis vector *Culex quinquefasciatus*: Synergistic and antagonistic effects. *Parasitology International* 66(2): 166–171.
- 12- Chowhan N., Singh H.P., Batish D.R., and Kohli R.K. 2011. Phytotoxic effects of β -pinene on early growth and

- associated biochemical changes in rice. *Acta Physiologiae Plantarum* 33(6): 2369–2376.
- 13- Cristian B. 2009. Allelopathic aspects in the perennial, University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Banat Timisoara. PhD Thesis.
- 14- Dudai N., Larkov O., Putievsky E., Lerner H.R., Ravid U., Lewinsohn E., and Mayer A.M. 2000. Biotransformation of constituents of essential oils by germinating wheat seed. *Phytochemistry* 55(5): 375–382.
- 15- Einhellig F.A. 1994. Mechanism of Action of Allelochemicals in Allelopathy., pp 96–116.
- 16- Fetouh M.I., and Hassan F.A. 2014. Seed germination criteria and seedling characteristics of *Magnolia grandiflora* L. trees after cold stratification treatments. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3(3): 235–241.
- 17- Fischer N.H., Williamson G.B., Tanrisever N., de la Pena A., Weidenhamer J.D., Jordan E.D., and Richardson D.R. 1989. Allelopathic actions in the Florida scrub community. *Biologia Plantarum* 31(6): 471–478.
- 18- Foy C.L. 2001. Understanding the Role of Allelopathy in Weed Interference and Declining Plant Diversity 1. *Weed Technology* 15(4): 873–878.
- 19- Graña E., Sotelo T., Díaz-Tielas C., Araniti F., Krasuska U., Bogatek R., Reigosa M.J., and Sánchez-Moreiras A.M. 2013. Citral Induces Auxin and Ethylene-Mediated Malformations and Arrests Cell Division in *Arabidopsis thaliana* Roots. *Journal of Chemical Ecology* 39(2): 271–282.
- 20- Grodzinsky A.M. 1989. General and specific mechanisms of biochemical interactions between plants. *Biologia Plantarum* 31(6): 448–457.
- 21- Heap I., Peterson M., and Horak M. International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Available at: <http://www.weedscience.org> (accessed 16 September 2019).
- 22- Ibáñez M., and Blázquez M. 2018. Phytotoxicity of essential oils on selected weeds: potential hazard on food crops. *Plants* 7(4): 79.
- 23- Ibrahim M.A., Kainulainen P., Aflatuni A., Tiilikkala K., and Holopainen J.K. 2001. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: With special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. *Agricultural and Food Science in Finland* 10(3): 243–259.
- 24- Inderijt. 2005. Soil microorganisms: An important determinant of allelopathic activity. *Plant and Soil* 274: 227–236.
- 25- Inderjit and Keating K.I. 1999. Allelopathy: Principles, Procedures, Processes, and Promises for Biological Control. *Advances in Agronomy* 67(C): 141–231.
- 26- Ishii-Iwamoto E.L., Pergo Coelho E.M., Reis B., Moscheta I.S., and Moacir Bonato C. 2012. Effects of Monoterpenes on Physiological Processes During Seed Germination and Seedling Growth. *Current Bioactive Compounds* 8(1): 50–64.
- 27- Jabran K. 2017. Allelopathy: Introduction and Concepts., Springer, Cham, pp 1–12.
- 28- Jalaei Z., Fattahi M., and Aramideh S. 2015. Allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Dracocephalum kotschy* Boiss. from Iran: A new chemotype with highest limonene-10-al and limonene. *Industrial Crops and Products* 73: 109–117.
- 29- Jerônimo C., and Borghetti F. Allelopathic effect of *Solanum lycocarpum* leaf extract on protein synthesis in sesame seedlings. *Proceedings of the 4th World Congress on Allelopathy*, eds. JDI Harper, M. An, H. Wu and JH Kent, Charles Sturt University, Wagga Wagga, NSW, Australia. 2005., Australia.
- 30- Journet A.R.P., and Etherington J.R. 2006. *Plant Physiological Ecology*. The Bryologist 82(3): 508.
- 31- Kashkooli A.B., and Saharkhiz M.J. 2014. Essential Oil Compositions and Natural Herbicide Activity of Four *Denaëi* Thyme (*Thymus daenensis* Celak.) Ecotypes. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 17(5): 859–874.
- 32- Khalil N., Ashour M., Fikry S., Singab A.N., and Salama O. 2018. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of selected Apiaceous fruits. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* 4(1): 88–92.
- 33- Klocke J.A., Darlington M.V., and Balandrin M.F. 1987. 1,8-Cineole (Eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). *Journal of Chemical Ecology* 13(12): 2131–2141.
- 34- Kordali S., Cakir A., Akcin T. A., Mete E., Akcin A., Aydin T., and Kilic H. 2009. Antifungal and herbicidal properties of essential oils and n-hexane extracts of *Achillea gypsicola* Hub-Mor. and *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *Industrial Crops and Products* 29 (2–3): 562–570.
- 35- Kordali S., Cakir A., Ozer H., Cakmakci R., Kesdek M., and Mete E. 2008. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology* 99 (18): 8788–8795.
- 36- Leist N., Krämer S., and Jonitz A. 2003. ISTA working sheets on tetrazolium testing. *International Seed Testing Association*.
- 37- Mander L., and Liu H. 2010. *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology Development Modification of Bioactivity*. Vol. 1. Elsevier.
- 38- Mardani H., Maninang J., Appiah K.S., Oikawa Y., Azizi M., and Fujii Y. 2019. Evaluation of biological response of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and weeds to safranal allelochemical of saffron (*Crocus sativus*) by using static

- exposure method. *Molecules* 24(9): 1–14.
- 39- Mardani H., Kazantseva E., Onipchenko V., and Fujii Y. 2016. Evaluation of allelopathic activity of 178 Caucasian plant species. *International Journal of Basic and Applied Sciences* 5(1): 75.
- 40- Mishyna M., Laman N., Prokhorov V., Maninang J.S., and Fujii Y. 2015. Identification of Octanal as Plant Growth Inhibitory Volatile Compound Released from *Heracleum sosnowskyi* Fruit. *NPC Natural Product Communications* 10(5): 771–774.
- 41- Moghimi R., Ghaderi L., Rafati H., Aliahmadi A., and McClements D.J. 2016. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*. *Food Chemistry* 194: 410–415.
- 42- Muller W.H., Lorber P., Haley B., and Johnson K. 1969. Volatile Growth Inhibitors Produced by *Salvia leucophylla*: Effect on Oxygen Uptake by Mitochondrial Suspensions. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 96(1): 89.
- 43- Nerio L.S., Olivero-Verbel J., and Stashenko E. 2010. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology* 101(1): 372–378.
- 44- Oroojalian F., Kasra-Kermanshahi R., Azizi M., and Bassami M.R. 2010. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food Chemistry* 120(3): 765–770.
- 45- Park I.K., Choi K.S., Kim D.H., Choi I.H., Kim L.S., Bak W.C., Choi J.W., and Shin S.C. 2006. Fumigant activity of plant essential oils and components from horseradish (*Armoracia rusticana*), anise (*Pimpinella anisum*) and garlic (*Allium sativum*) oils against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). *Pest Management Science* 62(8): 723–728.
- 46- Pauly G., Douce R., and Carde J.P. 1981. Effects of β -Pinene on Spinach Chloroplast Photosynthesis. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 104(3): 199–206.
- 47- Prajapati V., Tripathi A.K., Aggarwal K.K., and Khanuja S.P.S. 2005. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technology* 96(16): 1749–1757.
- 48- Ravlic M., Balicevic R., Nikolic M., and Sarajlic A. 2016. Assessment of allelopathic potential of fennel, rue and sage on weed species hoary cress (*Lepidium draba*). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 44(1): 48–52.
- 49- Rentzsch S., Podzimska D., Voegelé A., Imbeck M., Müller K., Linkies A., and Leubner-Metzger G. 2012. Dose- and tissue-specific interaction of monoterpenes with the gibberellin-mediated release of potato tuber bud dormancy, sprout growth and induction of α -amylases and β -amylases. *Planta* 235(1): 137–151.
- 50- Rice E.L. 1984. Allelopathy. Elsevier Science.
- 51- Sfara V., Zerba E.N., and Alzogaray R.A. 2009. Fumigant Insecticidal Activity and Repellent Effect of Five Essential Oils and Seven Monoterpenes on First-Instar Nymphs of *Rhodnius prolixus*. *Journal of Medical Entomology* 46(3): 511–515.
- 52- Sharma P.K., Raina A.P., and Dureja P. 2009. Evaluation of the antifungal and phytotoxic effects of various essential oils against *Sclerotium rolfsii* (Sacc) and *Rhizoctonia bataticola* (Taub). *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 42(1): 65–72.
- 53- Sihoglu Tepe A., and Tepe B. 2015. Traditional use, biological activity potential and toxicity of *Pimpinella* species. *Industrial Crops and Products* 69: 153–166.
- 54- Tu X.F., Hu F., Thakur K., Li X.L., Zhang Y.S., and Wei Z.J. 2018. Comparison of antibacterial effects and fumigant toxicity of essential oils extracted from different plants. *Industrial Crops and Products* 124: 192–200.
- 55- Vivano J.M., Paschke M.W., and Callaway R. 2010. Allelochemical Control of Non-Indigenous Invasive Plant Species Affecting Military Testing and Training Activities. *Colorado State Univ Fort Collins*.
- 56- Wogiatzi E., Gougoulas N., Papachatzis A., Vagelas I., and Chouliaras N. 2009. Greek oregano essential oils production, phytotoxicity and antifungal activity. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 23(1): 1150–1152.
- 57- Yoneyama K., and Natsume M. 2010. Allelochemicals for Plant–Plant and Plant–Microbe Interactions. *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology*, 4 (August): 539–561.
- 58- Zimdahl R.L. 2018. *Fundamentals of Weed Science*. 5th ed. Academic Press.: San Diego.
- 59- Zunino M.P., and Zygadlo J.A. 2004. Effect of monoterpenes on lipid oxidation in maize. *Planta* 219(2): 303–309.



Effects of Essential Oil of some Medicinal Plants on Seed Germination and Seedling Growth of Lettuce as an Indicator

S. Mirmostafaei¹- M. Azizi^{*2}- Y. Fujii³

Received: 25-09-2019

Accepted: 30-12-2019

Introduction: Nowadays, the global effort in modern agriculture is to reduce the use of harmful herbicides and introduce new methods of weed control, one of which is the use of allelopathic properties. Among allelopathic species, aromatic plants have the ability to transmit allelochemical constituents as essential oils through diffusion and thus affect their surrounding organisms. Since the use of essential oils and volatile compounds will not have residues on the crop, these allelopathic compounds can be very effective in preventing weed growth before and after crop cultivation. Studies have shown that some essential oils or their components effectively reduce plant growth. This study was aimed to identify novel allelopathic species and their inhibitory compounds.

Materials and Methods: Plant samples consisting of 112 different plant organs including root, rhizome, corm, stem, leaf, flower, fruit, fruit peel, aerial part, and plant exudate such as oleogum belonging to 97 aromatic species from 16 different plant families were collected from different areas of Iran. The essential oils were extracted by water distillation using Clevenger. The oils were then dehydrated in glass containers with anhydrous sodium sulfate and stored at 4 °C during the experiment. The study was conducted in two separate experiments on germination and seedling growth, and lettuce was used as the test plant. The effect of 112 essential oils at two concentrations of 1 and 3 µL was investigated. The factorial experiments were conducted in completely randomized design with four replicates. Allelopathic effects of volatile compounds were evaluated by cotton swab method. The traits related to germination including Germination percentage (G%), Mean Germination Time (MGT), percentage of seed Dormancy induction (D%), percentage of embryo death as Lethal effect (L%), and seedling growth traits consist of Hypocotyl (H), Radicle (R), and Vigor Index (VI) were studied. The components of the strongest allelopathic essential oils were analyzed by headspace gas chromatography and mass spectrometry.

Result and Discussion: The results showed significant inhibitory effects of essential oils even on 1 µL concentration on the studied traits. The essential oils of *Pelargonium graveolens*, *Pimpinella anisum* and *Thymus daenensis* had the greatest inhibitory effect on G% (100% inhibitory); and the essential oils of *Amomum subulatum*, *Atremsia sieberi*, *Dracocephalum moldavica* and *Thymus transcaspicus* had the highest effect on MGT (more than 224%). The essential oils of *Ziziphora tenuior*, *Pimpinella anisum*, and *Pelargonium graveolens* caused the highest seed dormancy (more than 22%). The essential oil of *Pimpinella anisum* and *Thymus daenensis* caused the highest percentage of embryo death (100% lethality). According to seedling growth, the essential oils of *Pimpinella anisum*, *Origanum vulgare*, *Perovskia abrotanoides* and *Thymus daenensis* resulted in the highest inhibition of hypocotyl (more than 92%). *Thymus daenensis* and *Origanum vulgare* essential oil exhibited the greatest effect on decreasing radicle growth (more than 97%). Overall, the essential oils of Anise, Oregano, Russian Sage and “Denae” Thyme were the most inhibitors of seedling growth. Finally, with respect to germination and seedling growth percentages, 25 essential oils mainly from the Lamiaceae family (12 essential oils), and some other families e.g. Asteraceae (4 essential oils), Apiaceae (3 essential oils), Rutaceae and Geraniaceae (2 essential oil), Liliaceae and Zingiberaceae (1 essential oil) had the greatest inhibitory effect on the Vigor index. According to the results of the headspace gas chromatography, compounds such as borneol, eucalyptol, limonene, alpha and beta-pinene, carvacrol, and camphene were the dominant compounds in essential oils with severe inhibitory effects. Other studies have also reported phytotoxic, antibacterial, antifungal, and pesticidal effects of some of these compounds, scant literature is, however, available on the allelopathic effects of some other ones.

Conclusion: Our results showed that the essential oils of medicinal and aromatic species were highly toxic to lettuce. In addition to inhibition of germination percentage and seedling growth, traits such as seed dormancy induction, embryo death and delayed germination were also affected by essential oils. In allelopathic researches,

1 and 2- Ph.D. Student of Medicinal Plants and Professor, Department of Horticulture and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, respectively.

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

3- Professor, Department of International Environmental and Agricultural Sciences, Tokyo University of Agriculture and Technology, Fuchu, Tokyo, Japan

such traits are often overlooked, while they can play an important role in growth inhibition and are valuable traits for weed control. Further research is needed to identify the compounds responsible for allelopathic activity in these plants essential oils and to understand the biological roles of these compounds in natural ecosystems. Such information could provide a broader perspective for researchers on the production of new bioactive chemicals from natural products. Identification of allelopathic plants and compounds, and their biological functions are important for the biological control of weeds in organic agriculture as well as species that can adversely affect forestry projects.

Keywords: Allelochemical, Cotton swab, Heaedspace, Medicinal plants, Phytotoxicity, Volatile compound

Contents

Evaluation of some <i>Trichoderma</i> spp. Protease and Lipase Activity and Its Effect on Biocontrol of Tomato Root-knot Nematode (<i>Meloidogyne javanica</i>)	374
M. Kavari - E. Mahdikhani-Moghadam- H. Rouhani	
Effect of Sulfur Nutrition and <i>Thiobacillus</i> Inoculation on Suppression of Take-all Disease Caused by <i>Gaeumannomyces tritici</i>	386
M. Ghadamkheir - S. Abbasi- R. Sharifi- A. Fatemi	
Status of the Apple chlorotic leaf spot virus Infection in Native and Imported Apple Tree Cultivars in the National Collection of Kamalshahr Horticulture Research Station	396
T. Keshavarz - H. Hajnajari	
Effect of some Macronutrients on the Root-knot Nematode, <i>Meloidogyne javanica</i> Activities in Eggplant (<i>Solanum melongena</i> L.)	408
S. Mozaffarian - H. Charehgani- M. Abdollahi- Rasool Rezaei	
Evaluation of the Resistance of some Commercial Cultivars and Breeding Lines of Wheat, <i>Triticum aestivum</i> L., to the Russian Wheat Aphid, <i>Diuraphis noxia</i> (Mordvilko)	421
G. Nouri-Ganbalani - J. Ebrahimi Hajikelaee- M. Mardani-Talaei- J. Razmjou- S.A.A. Fathi	
Survey of Relative Frequency and Biodiversity Indicators Changes of Thrips Species (Insecta: Thysanoptera) in Different Alfalfa Cuttings in Eyvan City (Ilam Province)	430
M. Mirab-balou - B. Miri	
Field Evaluation of Yield and Lepidopteran Pest Resistance in Three Transgenic Cotton Lines	440
S.E. Mortazavi - M. Arabsalmani- H. Hassanzadeh Khankahdani	
The Effect of Cutting off the Wild Barley (<i>Hordeum spontaneum</i> C. Koch) Spike in Wheat on Its Population in Chickpea under a Crop Rotation System	451
S.K. Mousavi	
Integrating Mechanical and Chemical Methods for Weed Control in the Potato Fields	464
M. Taghipour - A. Ghanbari- M. Rastgoo	
The Effect of Type and Size of Single, Twin, and Triplet Flat Fan Nozzles on the Activity of Cycloxydim against Wild Barley (<i>Hordeum spontaneum</i> Koch.)	474
A. Aliverdi - S. Karami	
Effects of Essential Oil of some Medicinal Plants on Seed Germination and Seedling Growth of Lettuce as an Indicator	492
S. Mirmostafaei - M. Azizi - Y. Fujii	

Plant Protection

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol . 33

No. 4

2020

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.
Pourjam, E.	Plant Pathology	Asso. Prof. Tarbiat Modarres University.
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
Razi, H.	Crop Production & Plant Breeding	Asso. Prof. Shiraz University
Rajaei, H.	Entomologist	Assis, Department Entomology State Museum of Natural History Stuttgart Rosenstein 1, 70191 Stuttgart, Germany
Saboori, A.	Agricultural Entomology	Prof. Tehran University
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.

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>