



عنوان مقالات

- ۱۴۵..... بررسی کارایی روش‌های مختلف استخراج آران. آ در شناسایی ویروس موزاییک کدو (*Squash mosaic virus*)
محدثه گرامی نوقابی - محسن مهرور - محمد زکی عقل
- ۱۵۳..... ارزیابی کارایی قارچ کش آلیادو در کنترل بیماری شبه قارچی گموز مرکبات
یعقوب محمد علیان - سیده نجمه بنی‌هاشمیان - سید مهدی بنی‌هاشمیان - مرتضی گل محمدی - ایمان جورنپیان
- ۱۶۹..... بررسی فراوانی برخی بیمارگرهای همراه با بیماری سرارغوانی سیب‌زمینی
عزیز باقری - قباد بابایی
- ۱۸۳..... ردیابی ژن‌های *Rdga* و *mlo* در جو برای مقاومت به بیماری‌های لکه قهوه‌ای نواری و سفیدک پودری
محبوبه خلیلی - امین میرشمسی کاخکی - رضا اقنوم - علیرضا سیفی
- سمیت تنفسی حاد اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس و هم‌افزایی آن‌ها روی حشره‌ی کامل سوسک
چهارنقطه‌ای حیوانات *Callosobruchus maculatus* (Col.: Chrysomelidae) در شرایط آزمایشگاه
رضا لطیفی‌زاده - محمد خاتجانی - بابک ظهیری
- محاسبه دمای پایه و بررسی روند تغییرات تعداد نسل کرم سیب (*Cydia pomonella*)، با استفاده از مدل
درجه-روز در شهرستان چناران
مهدی حلمی جدید - محمد موسوی بایگی - حسین صادقی نامقی
- بررسی تجزیه بیولوژیکی و شیمیایی متریبیوزین در خاک و تأثیر کود آلی بر نیمه عمر و تجزیه آن در شرایط
کنترل شده
سیده فاطمه فخرراد - ابراهیم ایزدی دربندی - محمد حسن راشد محصل - محمدحسن زاده خیاط - حوریه نصیرلی
- ارزیابی شیوه‌های تهیه بستر پدر و کاربرد علف‌کش در مدیریت علف‌های هرز لویا (*Phaseolus vulgaris* L.)
مرید علی فتحی - الهام الهی فرد - عبدالرضا سیاهپوش
- اثر برخی علف‌کش‌ها و کولتیواسیون بر کنترل علف‌های هرز و عملکرد کلزا (*Brassica napus* L.)
در استان کرمانشاه
کیانوش مرادی - المیرا محمدوند - جعفر اصغری
- مطالعه ارتباط مکانی رشد و عملکرد گندم زمستانه با علف‌های هرز با استفاده از روش‌های زمین آماری و
سنجش از دور
مژده مرادی کل بلندی - حسن مکاریان - مهدی برادران فیروز آبادی - حمیدرضا اصغری
- تأثیر تراکم و الگوی کاشت بر کنترل علف‌های هرز و عملکرد ارقام لویا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.)
در حضور علف‌کش بنتازون
پروین یادگار - رضا قربانی - علی قنبری - حمید رحیمیان مشهدی

Contents

- Evaluation the Efficiency of Different Methods of RAN Extraction for the Identification of the
Squash Mosaic Virus 152
M. Gerami Nooghabi - M. Mehrvar - M. Zakiaghl
- Evaluation of Aliado Fungicide in Control of Citrus Gummosis Disease 168
Y. Mohammad Alian - S.N. Banihashemian- S.M. Banihashemian- M. Golmohammadi- I. Jourbonian
- Survey of Frequency of some Pathogens Associated with Potato Purple Top Disease 181
A. Bagheri - Gh. Babaei
- Detectin of *Rdga* and *mlo* Genes for Resistance to Leaf stripe and Powdery Mildew Diseases in
Barley 194
M. Khalili - A. Mirshamsi Kakhki - R. Aghnour - A. Seifi
- Fumigant Acute Toxicity of Rosemary and Lavender Essential Oils and a Synergism
between them Against Adults of *Callosobruchus maculatus* (Col.: Chrysomelidae)
under Laboratory Conditions 205
R. Latifizadeh - M. Khanjani- B. Zahiri
- Calculation of the Base Temperature and Investigation of Changes in Number of Codling Moth
(*Cydia pomonella*) Generations, with Degree-Day Model in Chenaran 217
M. Helmi Jaded - M. Musavi Baygi - H. Sadeghi Namaghi
- Investigation of Biological and Chemical Degradation of Metribuzin in Soil and the Effect of
Organic Manure on its Half- Life and its Degradation in Controlled Conditions 227
S.F. Fakhredar - E. Izadi Darbandi- M.H. Rashed Mohassel- M. Hassanzadeh-Khayat- H. Nassirli
- Evaluating Seedbed Preparing Methods and Herbicide Application in Weed Management of
Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) 241
M.A. Fathi - E. Elahifard- A. Siahpoosh
- The Efficacy of some Herbicides and Cultivation on Weed Control and Rapeseed
(*Brassica napus* L.) Yield 258
K. Moradi - E. Mohammadvand- J. Asghari
- Spatial Dependence of Growth and Yield of Winter Wheat and Weeds Using Geostatistical
and Remote Sensing Methods 271
M. Moradi Kalbolandi - H. Makarian- M. Baradaran Firouz Abadi- H.R. Asghari
- Effect of Planting Pattern and Density on Control of Weeds and Yield of Red Bean
(*Phaseolus vulgaris* L.) Varieties in the Presence of Bentazon Herbicide 285
P. Yadegar - R. Ghorbani-A. Ghanbari- H. Rahimian Mashhadi

نشریه حفاظت گیاهان

(علوم و صنایع کشاورزی)

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

تابستان ۱۳۹۹

شماره ۲

جلد ۳۴

بر اساس مصوبه وزارت عتف از سال ۱۳۹۸، 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، آرشد

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)

ناشر: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

نشانی: مشهد- کد پستی ۹۱۷۷۵ صندوق پستی ۱۱۶۳

دانشکده کشاورزی _ دبیرخانه نشریات علمی _ نشریه حفاظت گیاهان

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

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 (۴ شماره در سال) چاپ و منتشر می شود.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

صفحه	عنوان مقاله
۱۴۵	بررسی کارایی روش های مختلف استخراج آران.آ در شناسایی ویروس موزاییک کدو (<i>Squash mosaic virus</i>) محدثه گرامی نوقابی - محسن مهرور - محمد زکی عقل
۱۵۳	ارزیابی کارایی قارچ کش آلیادو در کنترل بیماری شبه قارچی گموز مرکبات یعقوب محمد علیان - سیده نجمه بنی هاشمیان - سید مهدی بنی هاشمیان - مرتضی گل محمدی - ایمان جوربنیان
۱۶۹	بررسی فراوانی برخی بیمارگرهای همراه با بیماری سرادغوانی سیب زمینی عزیز باقری - قباد بابایی
۱۸۳	ردیابی ژن های <i>Rdga</i> و <i>mlo</i> در جو برای مقاومت به بیماری های لکه قهوه ای نواری و سفیدک پودری محبوبه خلیلی - امین میرشمسی کاخکی - رضا اقنوم - علیرضا سیفی
۱۹۵	سمیت تنفسی حاد اسانس های رزماری و اسطوخودوس و هم افزایی آن ها روی حشره ی کامل سوسک چهارنقطه ای حبوبات (<i>Callosobruchus maculatus</i> (Col.: Chrysomelidae) در شرایط آزمایشگاه رضا لطیفی زاده - محمد خانجانی - بابک ظهیری
۲۰۷	محاسبه دمای پایه و بررسی روند تغییرات تعداد نسل کرم سیب (<i>Cydia pomonella</i>)، با استفاده از مدل درجه-روز در شهرستان چناران مهدی حلمی جدید - محمد موسوی بایگی - حسین صادقی نامقی
۲۱۹	بررسی تجزیه بیولوژیکی و شیمیایی متری بیوزین در خاک و تأثیر کود آلی بر نیمه عمر و تجزیه آن در شرایط کنترل شده سیده فاطمه فخرراد - ابراهیم ایزدی دربندی - محمد حسن راشد محصل - محمد حسن زاده خیاط - حوریه نصیرلی
۲۲۹	ارزیابی شیوه های تهیه بستر بذر و کاربرد علف کش در مدیریت علف های هرز لویا (<i>Phaselous vulgaris</i> L.) مرید علی فتحی - الهام الهی فرد - عبدالرضا سیاهپوش
۲۴۳	اثر برخی علف کش ها و کوتلیواسیون بر کنترل علف های هرز و عملکرد کلزا (<i>Brassica napus</i> L.) در استان کرمانشاه کیانوش مرادی - المیرا محمودوند - جعفر اصغری
۲۵۹	مطالعه ارتباط مکانی رشد و عملکرد گندم زمستانه با علف های هرز با استفاده از روش های زمین آماری و سنجش از دور مژده مرادی کل بلندی - حسن مکاریان - مهدی برادران فیروز آبادی - حمیدرضا اصغری
۲۷۳	تأثیر تراکم و الگوی کاشت بر کنترل علف های هرز و عملکرد ارقام لوبیا قرمز (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) در حضور علف کش بتنازون پروین یادگار - رضا قربانی - علی قنبری - حمید رحیمیان مشهدی

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی کارایی روش‌های مختلف استخراج آران.آ در شناسایی ویروس موزایک کدو (Squash mosaic virus)

محدثه گرامی نوقابی^۱ - محسن مهرور^{۲*} - محمد زکی عقل^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۸

چکیده

تخریب اسید نوکلئیک در طی فرآیند استخراج آن از بافت گیاهی و نیز وجود مواد بازدارنده از عمده‌ترین معضلات خالص‌سازی ژنوم ویروس‌های گیاهی است. به منظور ردیابی موثر ویروس موزایک کدو از بافت خربزه از مزارع آلوده، چهار روش مختلف استخراج RNA با یکدیگر مقایسه و روش استخراج اسیدنوکلئیک از این گیاه بهینه شد. کیفیت اسیدنوکلئیک استخراج شده به وسیله آزمون زنجیره‌ای پلی‌مراز با نسخه‌برداری معکوس و به کمک دو جفت آغازگر متفاوت تعیین شد. در بین روش‌های استخراج تفاوت چشمگیری وجود داشت به نحوی که بعضی از روش‌ها قادر به ردیابی ویروس از بافت گیاهی نبودند. در بین روش‌های مورد مقایسه، روش استخراج dsRNA با سلولز به علت خالص‌سازی انحصاری اسیدنوکلئیک ویروسی از بافت گیاه، بیشترین و بهترین اسیدنوکلئیک را در پی داشت و ردیابی ویروس در اغلب نمونه‌ها را ممکن می‌نمود.

واژه‌های کلیدی: استخراج اسید نوکلئیک، مقایسه، ویروس موزایک کدو

مقدمه

روش مولکولی RT-PCR کارآمدترین و موثرترین روش برای شناسایی ویروس‌های RNA دار است (۵، ۸ و ۱۳)، لذا استخراج ژنوم از گیاه به عنوان اولین قدم در آزمون مولکولی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است به طوری که در این ویروس‌ها، استخراج ژنوم با کیفیت مناسب، لازمه موفقیت در کاربرد روش‌های مولکولی مانند RT-PCR است (۷).

اتصال RNA استخراج شده به پلی ساکاریدها و مواد فنلی موجود در رسوب موجب ناپایداری آن و عدم موفقیت در آزمایش‌های پایین دست از جمله RT-PCR می‌شود (۱۹).

RNA ویروسی SqMV اولین بار توسط Hebert و همکاران به وسیله روش پلی‌اتیلن گلیکول استخراج شد (۱۲)، بعد از آن Haudenschild روش مبتنی بر فنول-کلروفرم را برای این ویروس به کار برد (۱۱).

در سال ۱۹۶۷ Kammen در تحقیقات خود متوجه شد که روش استخراج آر. آن. آ ویروس‌های چند وجهی از جمله ویروس SqMV که مبتنی بر فنول و کلروفرم است، منجر به تخریب بخش‌های از ژنوم می‌شود و لذا این روش را برای استخراج این گروه ویروس‌ها مناسب ندانست (۲۳).

هم‌چنین پیشنهاد شده است که برای استخراج ژنوم کوموویروس‌ها روشی استفاده شود که بافر آن دارای pH=6 باشد، چرا که این

حدود ۳۵ ویروس از روی کدوئیان در ایران گزارش شده است که تعداد زیادی از آن‌ها ایجاد بیماری‌های مهمی در کدوئیان می‌نمایند و اکثراً دارای دامنه میزبانی وسیعی هستند (۲ و ۱۸). در میان ویروس‌های خسارت‌زای کدوئیان، در سال‌های اخیر ویروس موزایک کدو (Squash mosaic virus, SqMV) به دلیل گستردگی وسیع، چنین به نظر می‌رسد که روی کمیت و کیفیت محصولات تاثیر مهمی گذاشته و عملاً بازاریپسندی آن‌ها را کاهش داده است (۳ و ۱۴).

آزمون سرولوژی الایزا ELISA یکی از عمومی‌ترین روش‌های در شناسایی ویروس‌های گیاهی است (۱۶) اما عواملی مانند هزینه و زمان بر بودن آزمون، امکان اتصال غیر اختصاصی آنتی‌سرم با آنزیم‌ها و پروتئین‌های نامربوط و عدم انعطاف‌پذیری آنتی‌سرم‌های تولیدی از آزمونی به آزمون دیگر سبب شده است تا کارایی و محبوبیت این روش تا حد زیادی تحت تاثیر قرار گیرد (۲۰) بنابراین روش‌های مبتنی بر ژنوم مورد استفاده گسترده‌تر قرار گرفت. با توجه به این که

۱ و ۲ - به ترتیب دانشجوی دکتری بیماری‌شناسی گیاهی و دانشیاران گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(Email: mehrvar@um.ac.ir)

(*) نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/jpp.v34i2.72088

شرایط از تجمع مواد قهوه‌ای بازدارنده جلوگیری می‌کند و نیز توصیه شده است که کلیه مراحل به سرعت انجام شود تا چسبندگی ویروس به حداقل برسد (۲۴).

ویروس موزائیک کدو (SqMV) یکی از اعضای جنس *Comovirus* و خانواده *Secoviridae* و زیر خانواده *Comovirinae* است که توسط بذر، سوسک و بصورت مکانیکی منتقل شده، باعث ایجاد بیماری‌های مهمی در دامنه وسیعی از گیاهان جنس *Cucurbita* و *Cucumis* می‌شود. این ویروس دارای ژنوم RNA تک رشته‌ای دوقسمتی است که هر کدام درون پروتئین پوششی جداگانه‌ای قرار می‌گیرند (۶ و ۱۰).

با توجه به اهمیت بالای کیفیت اسید نوکلئیک استخراج شده در انجام آزمون‌های مولکولی، در این پژوهش ما اقدام به مقایسه چندین روش متداول استخراج RNA ویروسی برای دستیابی به بهترین و کارآمدترین روش کردیم. بدین منظور چهار روش مختلف دو نوع متفاوت کیت تجاری استخراج RNA، استفاده از تریازول، استخراج dsRNA و روش استخراج با CTAB را از لحاظ کارایی و موفقیت در آزمون RT-PCR مورد مقایسه قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

در طی بهار و تابستان سال ۱۳۹۶ از مزارع کشت خربزه خراسان جنوبی و رضوی تعداد ۲۵ نمونه گیاهی مشکوک با علائم آلودگی به SqMV جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند.

استخراج RNA کل

RNA کل از برگ‌های دارای علائم آلودگی، به چهار روش مختلف خالص‌سازی شد.

۱- استفاده از کیت‌های تجاری استخراج RNA

در این روش ما از دو کیت متفاوت شامل کیت Column RNA Isolation Kit-I ساخت شرکت دنایست آسیا مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده و هم چنین کیت تجاری RNeasy Mini Kit ساخت شرکت Qiagen نیز مطابق با دستورالعمل مربوطه RNA کل استخراج شد.

۲- روش CTAB

برای این منظور مطابق با روش ژانگ و همکاران (۴) RNA برگ‌های مشکوک به آلودگی استخراج شدند.

۳- روش GIT

در این روش محلولی مشابه Trizol در آزمایشگاه تهیه شد. برای این منظور ۳۸٪ فنول اسیدی، ۰٫۸ مول گوانیدین تیوسیانات، ۰٫۴ مولار آمونیوم تیوسیانات، ۰٫۱ مولار استات سدیم و ۵٪ گلیسرول در یک لیتر در آب مخلوط شده و پس از همگن شدن مخلوط در

استخراج اسید نوکلئیک استفاده شد.

مقدار ۰٫۵ گرم از بافت گیاهی با استفاده از ازت مایع پودر شد و ۲ میلی‌لیتر تریازول به آن افزوده و ورتکس گردید. مخلوط حاصل برای ۵ دقیقه در ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و به روشین ۰٫۱ حجم استات آمونیوم و ۰٫۸ حجم ایزوپروپانول اضافه شد و برای ۳۰ دقیقه در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس لوله‌ها برای ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و رسوب حاصل پس از شستشو با الکل ۷۰ درصد در ۳۰ میکرولیتر بافر TE حل شد (۹).

۴- استخراج dsRNA

مطابق روش پیشنهادی Khankhum و همکاران که مبتنی بر استفاده از سلولز می‌باشد، اقدام به بهره‌گیری از این روش برای استخراج ویروس SqMV کردیم. بدین منظور مقدار ۰٫۵ گرم بافت گیاهی را در ازت مایع پودر کرده و سپس در بافری شامل تریس، EDTA و نمک حل کرده و ۵۰۰ میکرولیتر فنول، SDS ۱٪ و بتونیت ۲٪ به محلول افزوده و برای ۳ دقیقه در ۱۱۰۰۰ rpm سانتریفوژ کردیم. پس از این مرحله فاز روشین را به میکروتیوب جدید انتقال داده و در نهایت با افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم سلولز (سلولز C013 شرکت Sigma) RNA های دو رشته‌ای را خالص‌سازی کرده و پس از طی کردن مراحل شست و شو با الکل ۷۰ درصد، در ۳۰ میکرولیتر از بافر TE حل شدند (۱۵).

بهینه‌سازی آر تی-پی سی آر (RT-PCR)

برای سنتز رشته DNA مکمل (cDNA) ۳ میکرولیتر از آر.ان.آ استخراج شده با ۲ میکرولیتر آغازگر اختصاصی (S1-R) و (S2-R) و ۹٫۵ میکرولیتر آب دیونیزه مخلوط و میکروتیوب در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس ۲ میکرولیتر مخلوط dNTPs، ۴ میکرولیتر بافر ۵x واکنش و ۰٫۵ میکرولیتر آنزیم نسخه بردار معکوس (MMuLV-Reverse Transcriptase) به مخلوط اضافه گردیده و میکروتیوب به مدت ۱ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد ترموسایکلر قرار گرفت. برای RNA استخراج شده به روش سلولز، پیش از این مرحله اسید نوکلئیک به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا دو رشته RNA از هم جدا شده و برای واکنش آماده گردد (۱۵).

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس با استفاده از دو جفت آغازگرهای اختصاصی (۲۲) (جدول ۱) برای تکثیر بخش‌هایی از ژن پلی پروتئین RNA اول ژنومی و نیز ژن پوشش پروتئینی در RNA دوم ویروسی انجام شد. حجم نهایی واکنش ۲۰ میکرولیتر شامل ۳ میکرولیتر از cDNA، ۱ میکرولیتر از جفت آغازگرهای نام برده، ۲ میکرولیتر PCR buffer ۱۰x، ۱٫۲ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ میلی‌مولار)، ۰٫۴ میکرولیتر مخلوط dNTPs و ۰٫۲ میکرولیتر Taq DNA Polymerase بود.

کلیه مراحل فوق برای هر دو جفت آغازگر تکرار شد. به منظور بررسی نتایج RT-PCR، ۵ میکرولیتر از محصول PCR در ژل آگارز ۱ درصد حاوی ۲ میکرولیتر (۱۰٪ کل ژل) از Green Viewer الکتروفورز و در نهایت در دستگاه ژل داک عکس‌برداری شد.

پروفایل دمایی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز شامل یک چرخه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه در مرحله واسرشت‌سازی، ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و در نهایت یک سیکل ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه با استفاده از ترموسایکلر انجام گردید.

جدول ۱- آغازگرهای اختصاصی SqMV در واکنش RT-PCR
Table 1- SqMV specific primers for RT-PCR reaction

آغازگر Primer	ژن Gene	محل اتصال Position	طول (جفت باز) Size (Base Pair)	توالی Sequence
S1_F	پلی پروتئین RNA1 Polyprotein RNA1	3341-3362	21	5'-CCACACACTACTTGGGATGTT-3'
S1_R	پلی پروتئین RNA1 Polyprotein RNA1	4658-4678	20	5'-AGGAGATTCATTCTCATGGT-3'
S2-F	پوشش پروتئینی RNA2 RNA2 Cp	1364-1388	24	5'-TGTGTACAAGATTGGTGGAGATGC-3'
S2-R	پوشش پروتئینی RNA2 RNA2 Cp	3359-3380	21	5'-AGGCTTCTAAAGCGAACTGGG-3'



شکل ۱- علائم برگ‌های خربزه آلوده به ویروس موزاییک کدو
Figure 1- Symptoms of melon leaves infected with SqMV

نتایج

علائم برگ‌های آلوده جمع‌آوری شده شامل موزاییک شدید، پیچیدگی و بدشکلی با علائم ذکر شده در منابع مطابقت دارد (۱۷) و (۷).

واکنش نسخه‌برداری معکوس و به دنبال آن آزمون PCR با هر دو جفت آغازگرهای رفت و برگشت (۲۲) در نمونه‌های جمع‌آوری شده، برای بررسی کارایی همه روش‌های مورد بررسی در ردیابی ویروس از بافت خربزه استفاده شد.

با استفاده از کیت تجاری شرکت Qiagen و آغازگرهای مربوط به بخش‌هایی از ژن پلی‌پروتئین RNA1 آلودگی حدود ۱۴ نمونه (۵۶)

درصد) در آزمون الکتروفورز محرز شد در حالی که با استفاده از کیت تجاری شرکت دنازیست تنها ۵ نمونه (۲۰ درصد) آلودگی را نشان دادند. آزمون مولکولی با استفاده از RNA استخراج شده به روش CTAB قادر به شناسایی ویروس SqMV در هیچ یک از نمونه‌ها نبود. آزمون مولکولی با استفاده از RNA استخراج شده به روش GIT نیز تنها در ۲ نمونه (۸ درصد) قادر به ردیابی ویروس مذکور بود.

در استفاده از روش dsRNA در ۱۶ نمونه (۶۴ درصد) از نمونه‌های جمع‌آوری شده قطعه ۱۳۰۰bp بخش‌هایی از پلی‌پروتئین SqMV همانندسازی شد که نشان‌دهنده کارآمدتر بودن این روش نسبت به سایر روش‌های مورد بررسی است.

نتایج برای استفاده از آغازگرهای مربوط به ژن پوشش پروتئینی RNA2 و قطعه ۱۹۰۰bp نیز تقریباً بر این نتایج مطابقت داشت (جدول ۲)، با این تفاوت که نتایج حاصل از الکتروفورز جفت آغازگر S1-F و S1-R دارای باندهای واضح‌تری بودند.

جدول ۲- میزان موفقیت روش‌های مختلف استخراج و نیز دو جفت آغازگر متفاوت در ردیابی ویروس SqMV
Table 2- The success rate of different extraction methods and two pairs of different primers in detecting the SqMV virus

روش استخراج Extraction methods	تعداد نمونه‌های مثبت با آغازگرهای S1 Positive samples with S1	تعداد نمونه‌های مثبت با آغازگرهای S2 Positive samples with S2
کیت استخراج آر. ان. آ. شرکت دنازیست Dena Zist extraction RNA kit	5 (20%)	5 (20%)
کیت استخراج آر. ان. آ. شرکت Qiagen Qiagen extraction RNA kit	14 (56%)	12 (45%)
استخراج dsRNA با سلولز Extraction RNA by cellulose	16 (64%)	15 (60%)
استخراج با CTAB Extraction by CTAB	0	0
روش GIT GIT method	2 (8%)	1 (4%)

بحث

هدف از این تحقیق مقایسه روش‌های استخراج اسیدنوکلئیک و بهینه‌سازی RT-PCR جهت ردیابی ویروس SqMV در بافت‌های گیاه خربزه با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز بود. از آن جا که روش مولکولی RT-PCR کارآمدترین و موثرترین روش برای شناسایی ویروس‌های RNA دار است (۵، ۸، ۱۳ و ۲۱). بسیار واضح است که استخراج ژنوم از گیاه به عنوان اولین قدم در آزمون مولکولی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است به طوری که استخراج RNA با کیفیت مناسب لازمه موفقیت در کاربرد روش‌های مولکولی مانند RT-PCR است (۷ و ۱۵). لذا روش استخراج باید ساده، کارآمد و اقتصادی باشد. از همین رو روش‌های مختلف استخراج از نظر توانایی در حذف ترکیبات بازدارنده واکنش RT-PCR مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج این تحقیق نشان داد که روش استخراج dsRNA دارای بالاترین راندمان در استخراج اسیدنوکلئیک ویروس (۶۴ درصد) می باشد. از آن جا که این روش با کاربرد سلولز شکل دو رشته‌ای اسید نوکلئیک RNA را جذب و در نهایت خالص‌سازی می‌کند، لذا دارای کمترین میزان بازدارنده و اسیدنوکلئیک‌های گیاهی است (۱۵) و راندمان بالای این روش قابل انتظار بود.

روش CTAB برای استخراج ویروس SqMV کارایی لازم را نداشت، این امر نشان می‌دهد که بافر عصاره‌گیری این روش موثر نیست و شاید بتوان نتیجه گرفت که غلظت اسید نوکلئیک استخراج شده پایین بوده است. همچنین روش GIT مبتنی بر ساخت محلولی مشابه Trizol، نیز با هر دو جفت آغازگر S1 و S2 دارای راندمان اندکی در ردیابی ویروس بود که دلیل آن می‌تواند خرد شدن اسیدنوکلئیک به وسیله این محلول باشد که نتیجه آزمون مولکولی را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱).

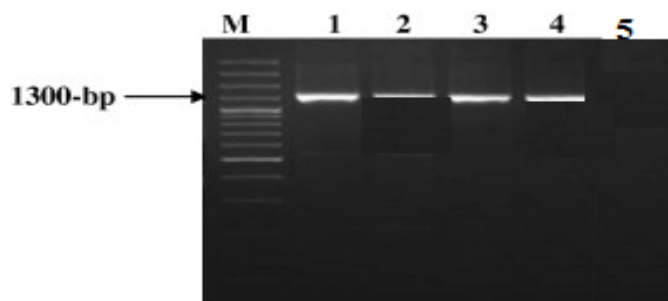
استخراج با روش کیت‌های تجاری شرکت داخلی دنازیست با ۲۰ درصد موفقیت می‌تواند نشان‌دهنده آن باشد که این روش قادر نیست به میزان قابل توجهی از اثر بازدارنده‌ها در خالص‌سازی اسیدنوکلئیک ویروس جلوگیری کند ولی کیت تجاری Qiagen با ۵۶ درصد موفقیت برای ردیابی ویروس SqMV نسبتاً کارا و موثر است.

نتایج آزمون الکتروفورز نشان می‌دهد که آغازگرهای رفت و برگشت S1 که کدکننده بخش‌هایی از ژن پلی‌پروتئین RNA1 ویروس SqMV است، برای ردیابی ویروس موثرتر عمل می‌کنند. این امر می‌تواند به دلیل کوتاه‌تر بودن طول قطعه ژنی ناشی از این جفت آغازگر (۱۳۰۰bp) و یا اتصال بهتر این جفت آغازگر به ژنوم ویروس SqMV باشد.

با توجه به راندمان بالای روش استخراج dsRNA، امکان

همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که جفت آغازگر S1 می‌تواند آغازگری مناسب برای ردیابی ویروس SqMV در شناسایی اولیه این ویروس باشد.

استفاده از بافت خشک گیاهی که نگهداری طولانی مدت نمونه آلوده را امکان‌پذیر می‌کند، سادگی و زمان بر نبودن این روش (۱۵)، همگی دلایلی است که یک روش پیشنهادی موثر برای استخراج RNA از بافت گیاه خربزه برای استخراج ویروس SqMV باشد.



شکل ۲- الکتروفورز محصول PCR با آغازگرهای اختصاصی ویروس SqMV (S1-F & S1-R). شماره ۱: روش dsRNA؛ ۲: روش تریازول؛ ۳: روش کیت تجاری Qiagen؛ ۴: روش کیت تجاری دنازیست و ۵: روش CTAB

Figure 2- Results of RT-PCR using SqMV specific primer pairs (S1-F & S1-R). 1: Extraction dsRNA method; 2: Extraction using Triazol method; 3: Extraction using Qiagen kit method 4: Extraction using Dena Zist kit and 5: Extraction using CTAB method

منابع

- 1- Bahloul M., and Burkard G. 1993. An improved method for the isolation of total RNA from *spruce* tissues. *Plant Molecular Biology Reporter* 11: 212-215.
- 2- Bananej K., and Vahdat A. 2008. Identification, distribution and incidence of viruses in field grown cucurbit crops of Iran. *Phytopathology Mediterranean* 47: 247-257.
- 3- Campbell R.N. 1971. *Squash mosaic virus*. Description of plant viruses. *Applied Biology* 43-47.
- 4- Chang S., Puryear J., and Cairney J. 1993. A simple and efficient method for isolation RNA from Pine trees. *Journal of Plant Molecular Biology* 11: 113-116.
- 5- Fenby N.S., Scott N.W., Slater A., Elliott M.C. 1995. PCR and nonisotopic labeling techniques for plant virus detection. *Cell Molecular Biology* 41: 639-652.
- 6- Freitag J.H. 1956. Beetle transmission, host range, and properties of *Squash mosaic virus*. *Phytopathology* 46: 73-81.
- 7- Gambino G., Perrone I., and Gribaudo I. 2008. A rapid and effective method for RNA extraction from different tissues of grapevine and other woody plants. *Phytochemical Analysis* 19: 520-525.
- 8- Gawande S.J., Shukla A., Chimote V.P., Kaushal N., Kaunda P.I., Garg D., and Chimote, K.P. 2011. Development of PCR-Based Techniques for the Detection of Immobilised *Potato Virus Y* Virions. *Journal of Plant Pathology* 93: 127-132.
- 9- Gholampour Z., and Zaki Aghl M. 2016. Comparison of RNA extraction methods for identification of *Grapevine fan leaf virus*. *Journal of Plant Protection* 30: 127-133.
- 10- Goldbach R.W., and Wellink J. 1996. *Comoviruses: molecular biology and replication*. In *The Plant viruses. Polyhedral Virions and Bipartite RNA Genomes* 4: 35-76.
- 11- Haudenschild J.S., and Palukaitis P. 1998. Diversity among isolates of *squash mosaic virus*. *Journal of Gen Virology* 79: 2331-2341.
- 12- Hebert T.T. 1963. Precipitation of plant viruses by polyethylene glycol. *Phytopathology* 53: 362-365.
- 13- Henson J.M., and French R. 1993. The polymerase chain reaction and plant disease diagnosis. *Annual Review Phytopathology* 31: 81-109.
- 14- Hull, R. 2002. *Mathews Plant Virology*. Academic press. New York.
- 15- Khankhum S., Escalante C., Rodrigues E., Souto R., and Valverde R.A. 2016. Extraction and electrophoretic analysis of large dsRNAs from desiccated plant tissues infected with plant viruses and biotrophic fungi. *European Journal of Plant Pathology* 53: 362-369.
- 16- Lequin R.M. 2005. "Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Clinical Chemistry* 51: 2415-2418.

- 17- Nelson M.R., and Knuhtsen H.K. 1973. *Squash mosaic virus* variability: review and serological comparisons of six biotypes. *Phytopathology* 63: 920-926.
- 18- Prividenti R., Gonsalves D., and Humaydan H.S. 1984. Occurrence of *Zucchini yellow mosaic virus* in cucurbits from Connecticut, New York, Florida, and California. *Plant Disease* 68: 443-446.
- 19- Salzman R.A., Fujita T., Zhu-Salzman K., Hasegawa P.M., and Bressan R.A. 1999. An improved RNA isolation method for plant tissues containing high levels of phenolic compounds or carbohydrates. *Plant Molecular Biology Reporter* 17: 11-17.
- 20- Schmidt S.D., Mazzella M.J., Nixon R.A., and Mathews P.M. 2012. Measurement by enzyme-linked immunosorbent assay. *Methods in Molecular Biology* 849: 507-527.
- 21- Singh R.P. 1998. Reverse-transcription polymerase chain reaction for the detection of viruses from plants and aphids. *Journal of Virological Methods* 74: 125-138.
- 22- Svoboda J., and Leisova-Svobodova L. 2011. First report of *Squash mosaic virus* in ornamental pumpkin in the Czech Republic. *Plant Disease* 95(10): 1321-1321.
- 23- Van Kammen A. 1967. Purification and properties of the components of *cowpea mosaic virus*. *Virology* 31: 633-642.
- 24- Wellink J. 1998. *Comovirus* isolation and RNA extraction. *Methods in Molecular Biology* 81: 205-209.



Evaluation the Efficiency of Different Methods of RAN Extraction for the Identification of the *Squash Mosaic Virus*

M. Gerami Nooghabi¹- M. Mehrvar^{2*}- M. Zakiaghi³

Received: 29-04-2018

Accepted: 09-03-2019

Introduction: *Squash mosaic virus (SqMV)* is a member of the genus *Comovirus* in the family *Comoviridae*. It is a seedborne and beetle-transmitted virus infecting most plants in the genera *Cucurbita* and *Cucumis*. Like other *comoviruses*, *SqMV* has a bipartite positive-strand RNA genome consisting of RNA1 and RNA2, which are separately encapsidated in isometric particles of 28 nm in diameter. The genomes contain a poly (A) tail at the 3-terminus and the genome-linked viral protein (VPg) attached to the 5end. ELISA has been used widely in plant virus diagnosis but it has relatively low sensitivity which is not suitable for detection of trace amounts of the virus in single viruliferous aphid vectors and mix infection. By contrast, PCR is an effective and efficient tool for *in vitro* amplification of DNA templates and has been extensively used for the diagnosis of viral and subviral pathogens with DNA and/or RNA genomes. The polymerase chain reaction (PCR) and reverse transcription-PCR (RT-PCR) are powerful tools for highly sensitive detection of plant viruses with DNA and RNA. The first step in a successful PCR test is to have an extraction method and the major problem in RNA extraction is contamination by polyphenols and polysaccharides. So, in this study, we investigated the effectiveness of various extraction methods in identifying the *Squash mosaic virus*.

Materials and Methods:

Plant material and virus isolates RT-PCR and sequencing

Twenty-five samples of Melon from Khorasan Razavi and Jonubi provinces under the cultivation of Melon have been collected in spring and summer of 2017. The samples had typical virus types, severe mosaic spasms, complexity and deformity, and entered the process of extraction of the genome of the dandruff as a positive example. The leaves samples were used for different RNA extraction methods using Chang et al. method, Dena Zist and Qiagen Kit, Triasol and dsRNA cellulose method and were used directly or stored at minus 70 0C.

Two specific RT-PCR was set up for amplifying an amplicon of 1900 and 1300 bp in order to detect infected samples, as this region is conserved among all *SqMV* isolates, and determine the best method for extraction virus RNA. The *SqMV* partial coat protein gene and partial genome of RNA1 has been sequenced to confirm the results. Here, we employed the Chang et al. procedure which is based on CTAB buffer. We also followed the manufacturer's protocol to extract the genome by Dena Zist and Qiagen kit. Triasol is a mono-phasic solution of phenol and guanidine isothiocyanate. It is a ready-to-use reagent for the isolation of total RNA from cells and tissues. After addition of Triasol and chloroform, phase separation is created by centrifugation. RNA is present in the aqueous phase and can be recovered by precipitation with isopropanol or ethanol. The extraction protocol used for DsRNA is a modification of the non-phenol batch protocol reported by Morris et al. (1983) and was compared with two other dsRNA extraction protocols.

Results and Discussion: The destruction of the nucleic acid during the process of extracting from the plant tissue and the presence of inhibitory substances are the major problems in purifying the genome of the viral viruses. In order to effectively detect Squash mosaic virus from melon tissue at the contaminated fields, four RNA extraction methods were compared and then the nucleic acid extraction method was optimized. The quality of the nucleic acid was extracted by polymerase chain assay with reverse transcription and using two pairs of different primers. Among the methods of extraction, there were significant differences in the way that some of the methods were not able to detect the virus from the plant tissue. Among the investigated methods, the method of extracting dsRNA with cellulose resulted in the highest and most excellent nucleic acid due to the exclusive purification of the viral genomic from the plant tissue, making it possible to detect the virus in most of the samples. We concluded that the modified dsRNA extraction protocol is efficient, fast, economic, versatile, and requires small amounts of tissue. The protocol was successfully used to extract dsRNAs from the plants infected

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

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

with acute and persistent viruses such as SqMV in Melon samples.

Keywords: Comparison, RNA extraction, *Squash mosaic virus*



مقاله علمی-پژوهشی

ارزیابی کارایی قارچ کش آلیادو در کنترل بیماری شبه قارچی گموز مرکبات

یعقوب محمد علیان^۱ - سیده نجمه بنی هاشمیان^۲ - سید مهدی بنی هاشمیان^۳ - مرتضی گل محمدی^۴ - ایمان جوربنیان^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۰۳

چکیده

در این پروژه تأثیر قارچ کش آلیادو با ماده مؤثره مانکوزب ۴۰٪ + کلروتالونیل ۲۰٪ و سیموکسانیل ۵٪ به صورت فرمولاسیون پودر و تابل ۶۵ درصد تولیدی شرکت ماسوی اسپانیا در مقایسه با قارچ کش های رایج اکسی کلرور مس (Cupravit) با فرمولاسیون پودر و تابل ۳۵ درصد و مخلوط بردو (Bordeaux Mixture) با فرمولاسیون ۱۸ W/V درصد Sc به غلظت های ۱۰۰ و ۵۰ گرم در لیتر، در کنترل شبه قارچ های *Phytophthora parasitica* و *P. citrophthora* عوامل بیماری گموز مرکبات، در شرایط آزمایشگاهی، گلخانه ای و باغی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج بررسی آزمایشگاهی نشان داد که رشد این بیمارگرها در محیط کشت حاوی دزهای ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ گرم در لیتر، متوقف می گردد. نتایج آزمون گلخانه ای با گیاهچه های یک ساله رقم پرتقال سیاورز نشان داد که رنگ آمیزی محل زخم با دزهای ۲۵ و ۳۵ گرم در لیتر و ۲۰ و ۳۵ گرم در لیتر به ترتیب برای گونه های *P. parasitica* و *P. citrophthora*، نسبت به سایر تیمارها بهترین تأثیر را در توقف توسعه زخم ساقه داشته است. در شرایط باغ، بهترین نتیجه با رنگ آمیزی ۱۵ گرم در لیتر قارچ کش، به صورت دو بار در سال (بهار و پاییز) به دست آمد.

واژه های کلیدی: آلیادو، فیتوفتورا، گموز، مرکبات

مقدمه

در سال های اخیر خسارت ناشی از بیماری های گموز و پوسیدگی طوقه و ریشه سبب تغییر سیستم تکثیر مرکبات از بذری به پیوندی شده است. به همین دلیل پایه های مقاوم یا متحمل در بسیاری از مناطق دنیا از جمله نواحی مرکبات خیز شمال ایران رواج یافته است (۹). با این وجود در برخی از مناطق مرکبات خیز جنوب کشور همچنان از پایه های حساس به بیماری مانند بکرایبی و لیموترش استفاده می شود. در چنین شرایطی استفاده از ترکیبات شیمیایی به ویژه قارچ کش های مناسب، بر سایر روش های کنترل بیماری تأکید می شود.

عامل بیماری های گموز و پوسیدگی طوقه و ریشه که از مهم ترین بیماری های شبه قارچی مرکبات هستند، گونه های شبه قارچ *Phytophthora* بوده که هر ساله خسارت قابل توجهی به باغداران وارد می کند. این بیماری اولین بار در سال ۱۸۶۳ در جزیره سیسیل

ایتالیا و اطراف دریای مدیترانه جلب توجه کرد و در اثر آن هزاران درخت بارور از بین رفت. در سال های ۱۸۳۴ تا سال ۱۹۱۴، وجود این بیماری در بیشتر مناطق مرکبات کاری دنیا به اثبات رسید (۹). در ایالات متحده امریکا، گونه های *P. parasitica* و *P. citrophthora* عامل پوسیدگی طوقه و ریشه است. هر دو شبه قارچ در باغات و نهالستان های آریزونا و کالیفرنیا به عنوان عامل اصلی بیماری شبه قارچی مرکبات است (۵). معمولاً مطالعات فقط روی دو گونه *P. parasitica* و *P. citrophthora* در ارتباط با مقاومت پایه ها به گموز و پوسیدگی ریشه مورد آزمایش قرار می گیرد. به علاوه مقاومت پایه ها به بیماری گموز جزء اساسی در برنامه ارزیابی پایه است (۶). گونه های متعلق به قارچ فیتوفتورا، عوامل بروز چندین بیماری جدی و خطرناک بر روی کولتیوارهای مختلف جنس *Citrus* در ایران و جهان می باشند (۱۰ و ۱۱). گونه های *P. parasitica* و *P. citrophthora* از مناطق مرکبات خیز ایران در ارتباط با پوسیدگی طوقه و ریشه مرکبات جداسازی و گزارش شده است (۳). یکی از مهم ترین عوامل محدودکننده کشت مرکبات در جنوب کشور پوسیدگی طوقه و ریشه یا گموز مرکبات است و در این خصوص عکس العمل گونه های مختلف مرکبات به عوامل مولد بیماری این بیماری اقدام شده است (۱). در گذشته به دلیل موجود نبودن پایه های مقاوم و متحمل مرکبات و وجود زئوسپور شبه قارچ در خاک،

۱، ۳، ۴ و ۵- استادیاران و دانش آموخته کارشناسی ارشد علف های هرز، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده مرکبات و میوه های نیمه گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران
۲- دانشجوی دکتری بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه گیلان

(*) نویسنده مسئول: (Email: mgolm2009@gmail.com)
DOI: 10.22067/jpp.v34i2.74707

تراکم جمعیتی ۲۰-۱۵ زادمایه (ژئوسپور) در هر گرم خاک خشک موجب کاهش محصول به میزان ۲۰ درصد می‌شوند. تحقیقات تکمیلی انجام شده در آریزونا توسط سندلر و همکاران (۱۲) نشان داد که سطوح جمعیتی به میزان ۲۰-۱۵ زادمایه در هر سانتی‌متر مکعب و همچنین تعداد بالاتر از ۲۰ زادمایه در هر گرم خاک خشک، می‌تواند با کاربرد قارچ‌کش برای کنترل و مهار عامل بیماری از نظر اقتصادی، موجب کاهش خسارت عامل بیماری شده و در نتیجه درآمد باغدار افزایش می‌یابد. برای کنترل و معالجه درختان مرکبات آلوده به گموز، استفاده از قارچ‌کش بردو یا اکسی کلورو مس غلیظ به نسبت ۱۰۰ گرم در لیتر در روی درختان توصیه شده است (۹).

از آنجایی که تاکنون در کشور آزمایشی در خصوص قارچ‌کش جدید آلیادو به عمل نیامده است بنابراین این تحقیق با اهداف بررسی کارایی قارچ‌کش آلیادو بر علیه بیماری گموز فیتوفتورایی مرکبات، ارزیابی دزهای مختلف قارچ‌کش و بالا بردن کارایی کنترل شیمیایی در مقایسه با سموم رایج انجام شد. آلیادو با ماده مؤثره مانکوزب ۴۰٪ + کلروتالونیل ۲۰٪ و سیموکسانیل ۵٪ به صورت فرمولاسیون پودر و تابل ۶۵ درصد و تولیدی شرکت ماسوی اسپانیا در سطح وسیعی برای کنترل بیماری‌های ناشی از *Phytophthora* در محصولات نظیر گوجه فرنگی و سیب‌زمینی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این سم به سفارش شرکت زرین خوشه جنوب، جهت کنترل گموز و پوسیدگی ریشه مرکبات در اثر *Phytophthora* مورد آزمایش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و آزمون‌های آزمایشگاهی

نمونه‌برداری از باغ‌های آلوده به گموز و جداسازی گونه‌های *P. citrophthora* و *parasitica* از خاک آلوده انجام شد. شبه قارچ‌ها پس از خالص‌سازی و کشت روی محیط کشت ذرت آگار^۱ و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از تهیه کشت خالص از پرگنه‌های فیتوفتورا با روش نوک ریشه در محیط کشت ذرت آگار، تحریک تولید اسپورانژ شبه قارچ‌ها که از اجزای مهم شناسایی و رده بندی در آن‌ها می‌باشد با کمک طعمه‌گذاری بذر شاهدانه انجام شد. برای بررسی تأثیر سم آلیادو در شرایط آزمایشگاه، ابتدا دزهای مختلف سم شامل ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ گرم در لیتر (دزها بر اساس مقدار توصیه شده قارچ‌کش توسط شرکت مربوطه) را به محیط کشت ذرت آگار اضافه کرده و در تشتک‌های پتری مختلف توزیع شد. سپس دیسک‌های ۵ میلی‌متری از حاشیه پرگنه هفت روزه شبه قارچ مورد نظر تهیه و در مرکز تشتک‌های پتری قرار داده و بعد از نگهداری آن‌ها در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار روز،

آلودگی‌های شدیدی در باغ‌های مرکبات شمال رخ داده است و در حال حاضر به دلیل استفاده نکردن یا کمتر استفاده کردن از پایه‌های مقاوم و متحمل مرکبات در باغ‌های جنوب کشور، خسارت چشمگیری به علت شیوع پوسیدگی طوقه و ریشه مرکبات (گموز) به باغات مرکبات وارد شده که با انتخاب و رواج پایه‌های متحمل نظیر نارنج، مشکل این بیماری تا حدودی مرتفع شده است ولی در برخی از مناطق مرکبات‌خیز، با کاربرد پایه‌هایی نظیر لیموشیرین، بکرانی و لیموترش که حساسیت به عوامل شبه قارچی خاکزی مانند *Phytophthora* دارند کماکان خسارت در باغات و نهالستان‌های جنوب کشور مشاهده می‌شود (۹). استفاده از پایه‌های مقاوم یکی از مهم‌ترین روش‌های مبارزه با بیماری فوق می‌باشد. با این حال قبل از انتخاب پایه برای بررسی مقاومت آن نسبت به پوسیدگی ناشی از گونه‌های *Phytophthora*، باید مسایلی از قبیل یکنواختی، اندازه و کیفیت میوه، مقاومت به اسیدیته بالا، شوری، زهکشی، سرمازدگی و سایر عوامل بیولوژیکی و محیطی را نیز مورد توجه قرار داد (۱۶).

کاربرد قارچ‌کش متالاکسیل به مقدار ۵۰ گرم در لیتر قبل از آلودگی برای کنترل زخم تنه درختان مرکبات، بر روی گونه‌های *P. citrophthora* و *parasitica* به ترتیب ۷۹ و ۶۴ درصد مؤثر بوده است در حالی که تأثیر قارچ‌کش آلایت (Fosetyl Aluminium 80%) با ۳۰۰ گرم در لیتر، به ترتیب ۵۸ و ۹۶ درصد گزارش شده است. همچنین رنگ‌آمیزی تنه درختان پس از آلودگی با استفاده از متالاکسیل به مقدار ۶۰ گرم در لیتر، زخم تنه درختان مرکبات ناشی از گونه‌های *P. citrophthora* و *P. parasitica* به ترتیب ۵۲ و ۵۱ درصد کاهش داد در حالی که کاربرد آلایت به مقدار ۳۰۰ گرم در لیتر، منجر به کاهش آلودگی ناشی از دو بیمارگر فوق به ترتیب به مقدار ۳۲ و ۹۱ درصد شد (۴). مقایسه دو قارچ‌کش متالاکسیل و آلایت نشان داد که اثر قارچ‌کش متالاکسیل به صورت سمپاشی روی برگ کمتر از آلایت بود اما اثر هر دو قارچ‌کش در کنترل پوسیدگی طوقه به صورت رنگ آمیزی مؤثر بوده است (۱۴). مقایسه قارچ‌کش‌های متالاکسیل (Ridomil)، آلایت (Fosetyl Aluminium)، دیمتومورف (EPA Reg) و فلوآزینام (Omega 500F) در کنترل گموز ناشی از *Phytophthora* نشان داد که قارچ‌کش آلایت و ریدومیل در مقایسه با سایر موارد، دارای میزان اثربخشی بیشتری است (۸). گزارش دیگری در مقایسه با کاربرد قارچ‌کش آلایت در دو دز مصرفی به مقدار ۱۶۰ و ۲۰۰ گرم در ۱۰۰ لیتر در یک نوبت، اثر حفاظتی کمتر از یک سال را داشته است ولی کاربرد آن در دو نوبت طی سال به خوبی درختان مرکبات را بر علیه گموز حفاظت کرد (۲). کنترل بیماری‌های ناشی از *Phytophthora* در درختان هلو با کاربرد متالاکسیل به روش محلول در خاک و کاربرد متالاکسیل و آلایت به روش رنگ‌آمیزی روی تنه درختان مؤثر گزارش شده است (۱۳) توماس و کوستن تینوس (۱۳)، منچ (۷) و تیمر (۱۵) اعلام کردند که گونه‌های *Phytophthora* با

ضد عفونی گردید و پس از کشت در خاک ضد عفونی شده با بخار آب، در گلخانه با دمای ۲۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد (شکل ۱). پس از رشد گیاهچه‌های به اندازه حدود ۲۰ سانتی متر، ارزیابی تأثیر قارچ کش صورت گرفت. در ادامه کار، جهت آغشته نمودن دوغاب قارچ کش روی تنه نهال‌های بذری سیاورز طبق روش معمول در انجام آزمایش‌های سموم قارچ کش، از نهال‌های یکساله با در نظر گرفتن ۸ تیمار (دز مصرفی قارچ کش آلیادو) و در ۳ تکرار، مجموعاً ۲۴ اصله مورد استفاده قرار گرفت.



رشد شعاعی میسلیم قارچ اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، برای بررسی تأثیر سم آلیادو در شرایط گلخانه، بذر پرتقال محلی سیاورز (رقم حساس) با محلول هیپوکلریت سدیم نیم درصد ضد عفونی گردید و پس از کشت در خاک ضد عفونی شده با بخار آب، در گلخانه با دمای ۲۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد (شکل ۱).

آزمایش‌های گلخانه‌ای

به منظور بررسی تأثیر سم آلیادو در شرایط گلخانه، بذر پرتقال محلی سیاورز (رقم حساس) با محلول هیپوکلریت سدیم نیم درصد



شکل ۱- (الف) بذر سیاورز؛ (ب) گیاهچه بذری سیاورز
Figure 1- (A) Siavaraze seed; (B) Siavaraze seedling

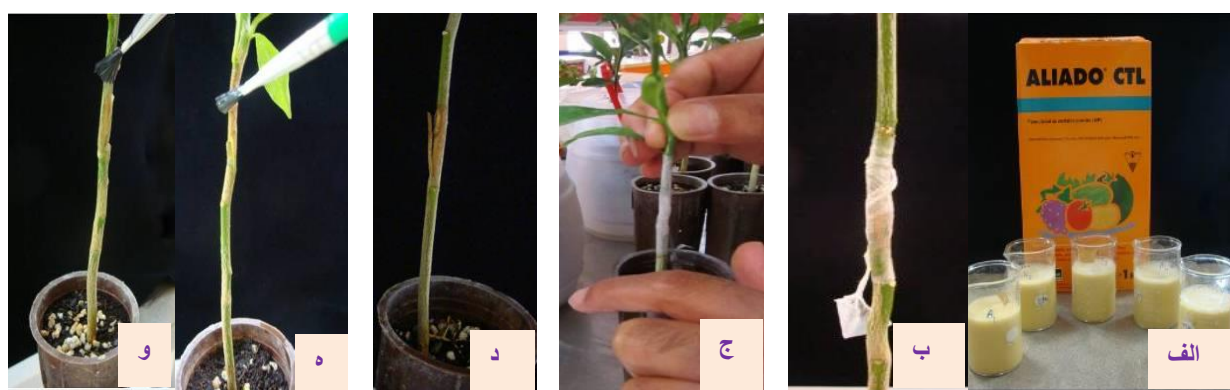
(شکل ۳). نهال‌ها به گلدان‌های بزرگتر منتقل گردید و در گلخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند (شکل ۴). جهت ارزیابی نهال‌های تیمار شده پس از حدود ۴۰ روز از زمان اعمال تیمارهای قارچ کش، اندازه زخم جدید پس از کاربرد قارچ کش روی تنه نهال‌ها محاسبه و برحسب سانتی مترمربع ثبت گردید (۴). پس از اتمام آزمایش، داده‌ها بر اساس برنامه آماری MSTATC تجزیه واریانس و مقایسه میانگین با طرح کاملاً تصادفی و با در نظر گرفتن ۸ تیمار (دز مصرفی قارچ کش آلیادو) و در ۳ تکرار، مجموعاً ۲۴ اصله، براساس آزمون توکی صورت گرفت.

بررسی تأثیر سم آلیادو در شرایط باغ، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دو آزمایش جداگانه در استان‌های کرمان (جیرفت) و فارس (جهرم) با در نظر گرفتن ۲۴ اصله درخت برای هر منطقه با اعمال ۸ تیمار (دز مصرفی قارچ کش آلیادو) در ۳ تکرار و در هر تکرار تک درخت در دو نوبت طی سال سمپاشی (یک نوبت در بهار، از اوایل فروردین ماه تا نیمه اول اردیبهشت ماه و یک نوبت در پاییز، از اواخر شهریور تا نیمه اول مهر ماه) روی درختان اعمال گردید. تیمارهای آزمایش به شرح زیر می‌باشند:

ابتدا در قسمت ۱۵ سانتی متری بالای سطح خاک، قسمتی از پوست تنه را برداشته و به جای آن دیسک‌هایی به همان اندازه از دو گونه قارچ مورد نظر (*P. citrophthora* و *P. parasitica*) قرار داده شد. سپس دیسک‌ها با پارافیلیم در جای خود در سطح تنه محکم نگه داشته شدند. در گیاهان شاهد، از محیط کشت بدون میسلیم شبه قارچ بر روی سطح چوب استفاده شد. این نهال‌ها سپس درون فلاسک پلاستیکی به گنجایش سه لیتر حاوی مقدار کافی آب به منظور پوشش سطح ریشه‌ها قرار داده شدند. قسمت‌هایی از ساقه نهال‌ها که حاوی دیسک‌های آگار بودند در بالای سطح آب ولی درون فلاسک‌ها قرار گرفتند. به منظور تأمین رطوبت نسبی درون فلاسک، دهانه‌ی فلاسک در اطراف ساقه توسط پنبه مسدود شد. گیاهان درون فلاسک‌ها به مدت دو هفته درجه حرارت ۲۱ درجه سانتی گراد در یک ژرمیناتور تحت تناوب نوری در طول یک چرخه ۱۲ ساعته قرار گرفتند (شکل ۲). بعد از این مدت مواد پوششی پارافیلیم حذف و با سوسپانسیون سم آلیادو (با دزهای مختلف شامل ۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ گرم در لیتر) و سموم اکسی کلرور مس (Cupravit) با فرمولاسیون پودر وتابل ۳۵ درصد و مخلوط بردو (Bordeaux Mixture) با فرمولاسیون ۱۸ W/V درصد Sc به غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ گرم در لیتر، با قلم مو رنگ آمیزی شدند



شکل ۲- (الف تا ه) مراحل آلوده سازی نهال های یک ساله رقم سیاورز
Figure 2- (A-E) Inoculation steps of one year old seedlings of Siavaraze variety



شکل ۳- (الف تا و) مراحل انجام تیمار قارچ کش
Figure 3- (A-F) Steps of fungicide treatment



شکل ۴- نگهداری نهال های تیمار شده با قارچ کش در گلخانه
Figure 4- Maintenance of seedlings treated with fungicide in greenhouses

و لیموترش آلوده به گموز تنه در استان های کرمان (جیرفت) و فارس (چهرم) (شکل ۵) با قارچ کش آلیادو با دزهای پیشنهادی تیمار شدند. قبل از اعمال تیمار قارچ کش، درختان هم سن و تا حدودی با زخم های تنه مشابه هم، انتخاب شدند. پوست محدوده زخم ها به آرامی خراشیده و سپس محیط اطراف زخم با نایلون سفید پوشانده و

تیمارهای ۱ تا ۵ شامل قارچ کش آلیادو به ترتیب با دزهای مصرفی ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ گرم در لیتر، تیمار ۶ اکسی کلرور مس با دز مصرفی ۱۰۰ گرم در لیتر، تیمار ۷ مخلوط بردو با دز مصرفی ۵۰ گرم در لیتر و تیمار ۸ شاهد (آب پاشی). در این آزمایش تعداد ۲۴ اصله درخت ۱۲ ساله از پایه های بکرایی

(۴) ثبت گردید. پس از اتمام آزمایش اعداد مربوطه بر اساس برنامه آماری MSTATC تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون توکی انجام شد.

ضمناً کلیه عملیات داشت اعم از وجین، کوددهی و آبیاری و سایر عملیات، مطابق عرف محلی انجام گرفت و در قطعه آزمایش، هیچ‌گونه قارچ کش به جز اعمال تیمارهای مورد نظر بر علیه گموز انجام نگرفت. با توجه به بیولوژی شبه قارچ در منطقه، اعمال تیمارها در بهار و پاییز انجام شد.

با مازیک محدود و معین شدند (شکل ۶). در هر فصل یک بار زمان رنگ آمیزی (سمپاشی) بر اساس شرایط محیطی، بیولوژی قارچ و بروز بیماری در مناطق، در نظر گرفته شد. در درختان شاهد محل زخم با آب شستشو داده شد و در درختان انتخابی با استفاده از قلم مو، محل زخم و حاشیه محل زخم تا حدود ۸-۱۰ سانتی‌متر با محلول قارچ کش رنگ‌آمیزی شدند (شکل ۷). جهت ارزیابی درختان تیمار شده پس از حدود ۶ ماه از زمان اعمال تیمار، اندازه زخم جدید پس از کاربرد قارچ کش روی تنه درختان محاسبه و برحسب سانتی‌متر مربع



شکل ۵- (الف) علائم بیماری گموز به صورت ترشح صمغ در ناحیه طوقه، (ب) نحوه علامت گذاری ناحیه زخم، (ج) ضدعفونی محل تنه درخت آلوده

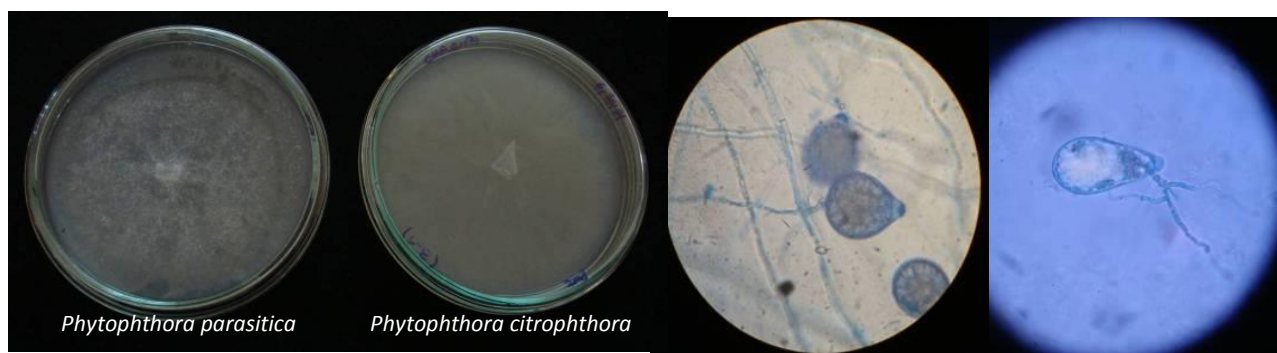
Figure 5- (A) symptoms of gummosis as gum secretion in the crown area, (b) how to mark the wound area, (c) disinfection of the infected site on the tree trunk

خصوصیات مرفولوژیکی (۳) گونه‌های *P. parasitica* و *P. citrophthora* شناسایی و تفکیک شد (شکل ۶).

نتایج و بحث

آزمون‌های آزمایشگاهی

بر اساس اسپورانژیوم تولیدی و ابعاد آسپور و آنترییدیوم و سایر

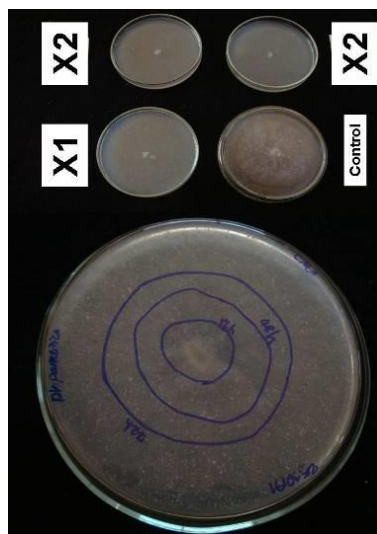


شکل ۶- کلنی *P. citrophthora* و *P. parasitica* و اسپورانژ آن‌ها

Figure 6- Colonies of *Phytophthora parasitica* and *P. citrophthora* and their sporangium

نتایج حاصل از تجزیه واریانس دزهای مختلف قارچ کش آلیادو در مقایسه با قارچ کش‌های رایج در شرایط گلخانه، در جداول ۳ الی ۶ ذکر شده‌اند.

نتایج بررسی تأثیر قارچ کش آلیادو با دزهای ذکر شده روی دو گونه *P. citrophthora* و *P. parasitica* در شرایط آزمایشگاه، کاملاً از رشد شبه قارچ عامل بیماری گموز جلوگیری کرد (شکل ۷). نتایج در جداول ۱ الی ۲ خلاصه شده است.



شکل ۷- تأثیر دزهای مختلف قارچ کش اضافه شده به محیط کشت X2 (تشتک پتری حاوی قارچ کش)، X1 (تشتک پتری فاقد قارچ کش به عنوان شاهد)

Figure 7- The effect of different doses of fungicides added to the culture medium X2 and X1 (Petri dish containing fungicides) and control (Petri dish without fungicide)

جدول ۱- میزان رشد *P.parasitica* و *P.citrophthora* با دزهای پیشنهادی شرکت در شرایط آزمایشگاه

Table 1- Growth rate of *P.parasitica* and *P. citrophthora* in laboratory conditions with recommended doses by the company

میزان رشد شعاعی پرگنه شبه قارچ (میلی متر)								
The radial growth of fung-like colonies (mm)								
تیمار (Treatment)	۲۴ ساعت (24 Hour)	۴۸ ساعت (48 Hour)	۷۲ ساعت (72 Hour)	۹۶ ساعت (96 Hour)	۱۲۰ ساعت (120 Hour)	۱۴۴ ساعت (144 Hour)	۱۶۶ ساعت (166 Hour)	۱۹۶ ساعت (196 Hour)
A1 (15 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
A2 (20 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
A3 (25 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
A4 (30 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
A5 (35 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
O* (100 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
B* (50 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
Control	9.17	18.21	20.75	26.77	34.76	38.11	41.36	42.12

* O, B قارچ کش رایج (بردو، بر مبنای کلمه اول قارچ کش: B و اکسی کلرور مس، بر مبنای کلمه اول قارچ کش: O) کد

*O and B: Copper oxychloride and Bordeaux mixture, respectively

در رابطه با شبه قارچ *P. citrophthora* (جدول ۵) مشخص شد که اختلاف معنی داری بین تیمارها در سطح پنج درصد وجود دارد و نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین سطح زخم مربوط به تیمار شاهد (آب پاشی) به میزان ۱۷/۰۵ و کمترین سطح زخم مربوط به تیمارهای با دز مصرفی ۳۵ گرم در یک لیتر آب (۵/۴۷) و دز مصرفی ۳۰ گرم در یک لیتر آب (۶/۲۲) بود که با کمترین میزان سطح زخم نسبت به قارچ کش های رایج (اکسی کلرور مس و بردو) برتری داشتند (جدول ۶).

بررسی تأثیر قارچ کش در شرایط گلخانه روی نهال سیاورز آلوده به *P. parasitica* (جدول ۳) نشان داد که اختلاف معنی داری بین تیمارها در سطح پنج درصد وجود دارد و در مقایسه میانگین زخم ها مشخص شد که بیشترین سطح زخم مربوط به تیمار شاهد (آب پاشی) به میزان ۱۴/۲۱ و کمترین سطح زخم مربوط به تیمارهای آلیادو با دز مصرفی ۳۵ گرم در یک لیتر آب به میزان ۵/۵۷ و دز مصرفی ۲۵ گرم در یک لیتر آب به میزان ۷/۶۰ بود که با کمترین میزان سطح زخم نسبت به قارچ کش های رایج (اکسی کلرور مس و بردو) برتری داشت (جدول ۴).

جدول ۲- میزان رشد *P. parasitica* و *P. citrophthora* با دزهای پایین تر از دز پیشنهادی شرکت در شرایط آزمایشگاه
Table 2- The growth rate of *P. parasitica* and *P. citrophthora* in laboratory conditions at doses lower than the recommended doses by the company

میزان رشد شعاعی کلنی شبه قارچ (میلی متر) The radial growth of fungus-like colonies (mm)								
تیمار (Treatment)	۲۴ ساعت (24 Hour)	۴۸ ساعت (48 Hour)	۷۲ ساعت (72 Hour)	۹۶ ساعت (96 Hour)	۱۲۰ ساعت (120 Hour)	۱۴۴ ساعت (144 Hour)	۱۶۶ ساعت (166 Hour)	۱۹۶ ساعت (196 Hour)
A1 (12.5 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
A2 (10 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
A3 (7.5 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
A4 (5 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
A5 (35 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
O* (100 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
B* (50 g/l)	*	*	*	*	*	*	*	*
Control	7.06	14.23	20.75	25.75	31.76	34.21	37.17	39.59

* کد O, B قارچ کش رایج (بردو، بر مبنای کلمه اول قارچ کش: B و اکسی کلرور مس، بر مبنای کلمه اول قارچ کش: O) کد

*O and B: Copper oxychloride and Bordeaux mixture, respectively

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر غلظت های مختلف قارچ کش های مورد مطالعه بر جلوگیری از توسعه زخم روی نهال سیاروز آلوده به گونه *P. parasitica* تحت شرایط گلخانه

Table 3- Analysis of variance of the effect of different concentrations of the studied fungicides on prevention of wound development on Siavaraze seedlings infected by *P. parasitica* under greenhouse conditions

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی DF	میانگین مربعات MS
دزهای قارچ کش (Fungicide doses)	7	19.642
خطای آزمایش (Error)	16	5.125
کل (Total)	23	

(%) ضریب تغییرات

Coefficient of variation, CV = 23.70%

در سطح پنج درصد اختلاف معنی دار است.

There is significant differences at a=5%.

آزمایش های باغی

گرم در یک لیتر آب و آلیادو با دز مصرفی ۲۵ گرم در یک لیتر آب بود که در مقایسه با قارچ کش های رایج در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۸).

با توجه به تجزیه واریانس قارچ کش های مصرفی (جدول ۹) میزان سطح زخم بر حسب سانتی متر مربع در نوبت دوم سم پاشی (فصل پاییز) در شرایط باغ نشان می دهد که اختلاف معنی داری بین تیمارها در سطح یک درصد وجود دارد. نتایج مقایسه میانگین مشخص کرد بیشترین سطح زخم مربوط به تیمار شاهد (آب پاشی) بوده و در بررسی تیمارهای قارچ کش مصرفی در طی آزمایش پاییزه اختلاف معنی داری وجود نداشت و همه قارچ کش ها در گروه b قرار گرفتند ولی تیمار آلیادو با دز مصرفی ۳۰ گرم در یک لیتر آب با

نتایج بررسی در شرایط باغ (جیرفت): نتایج حاصل از تجزیه واریانس دزهای مختلف قارچ کش آلیادو در مقایسه با قارچ کش های رایج طی جداول ۷ و ۹ در دو نوبت سمپاشی با قارچ کش در فصل های بهار و پاییز به شرح زیر می باشد.

با توجه به تجزیه واریانس قارچ کش های مصرفی (جدول ۷) میزان سطح زخم بر حسب سانتی متر مربع در نوبت اول سم پاشی (فصل بهار) در شرایط باغ نشان می دهد که اختلاف معنی داری بین تیمارها در سطح پنج درصد وجود دارد و از مقایسه میانگین نتیجه می شود که بیشترین سطح زخم مربوط به تیمار شاهد (آب پاشی) بوده و کمترین سطح زخم نیز مربوط به تیمارهای آلیادو با دز مصرفی ۳۰

کمترین میزان سطح زخم نسبت به سایر قارچ کش ها برتری داشته
 است (جدول ۱۰).
 نتایج بررسی در شرایط باغ (چهرم): نتایج حاصل از تجزیه
 واریانس دزهای مختلف قارچ کش آلیادو در مقایسه با قارچ کش های
 رایج طی جداول ۱۱ و ۱۳ در دو نوبت سمپاشی با قارچ کش در
 فصل های بهار و پاییز به شرح زیر می باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین سطح زخم در نهال سیاورز آلوده به گونه *P. parasitica* تحت تأثیر غلظت های مختلف قارچ کش های مورد مطالعه تحت شرایط گلخانه

Table 4- Mean comparison of wound area in Siavaraze seedlings infected by *P. parasitica* affected by different concentrations of the studied fungicides under greenhouse conditions

تیمار Treatment	سطح زخم (سانتی متر مربع) Wound surface (centimeter square)
آلیادو با دز مصرفی ۱۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 15g/L)	11.74 ab
آلیادو با دز مصرفی ۲۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 20g/L)	9.74 ab
آلیادو با دز مصرفی ۲۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 25g/L)	7.60 b
آلیادو با دز مصرفی ۳۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 30g/L)	8.88 ab
آلیادو با دز مصرفی ۳۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 35g/L)	5.57 b
اکسی کلرور مس با دز مصرفی ۱۰۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 100g/L)	10.02 ab
بردو با دز مصرفی ۵۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 50g/L)	8.97 ab
شاهد (آب پاشی) (Control)	14.21 a

*تیمارهایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند، در آزمون توکی ($P \leq 0.05$) دارای اختلاف معنی دار با یکدیگر هستند.

*Mean compare with Tuki test at $\alpha=5\%$. a with maximum of wound and b with minimum of wound

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر غلظت های مختلف قارچ کش های مورد مطالعه بر جلوگیری از توسعه زخم روی نهال سیاورز آلوده به گونه *P. citrophthora* تحت شرایط گلخانه

Table 5- Analysis of variance of the effect of different concentrations of the studied fungicides on prevention of wound development on Siavaraze seedlings infected by *P. parasitica* under greenhouse conditions

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی dF	میانگین مربعات MS
دزهای قارچ کش (Fungicide doses)	7	39.670
خطای آزمایش (Error)	16	2.571
کل (Total)	23	

(%) ضریب تغییرات

Coefficient of variation, CV = 16.98 %

* در سطح پنج درصد اختلاف معنی دار است.

*There is significant differences at $\alpha=5\%$.

جدول ۶- مقایسه میانگین میزان سطح زخم در نهال سیاورز آلوده به گونه *P. citrophthora* تحت تاثیر غلظت های مختلف قارچ کش های مورد مطالعه تحت شرایط گلخانه

Table 6- Mean comparison of wound area in Siavaraze seedlings infected by *P. parasitica* affected by different concentrations of the studied fungicides under greenhouse conditions

تیمار Treatment	پیشرفت زخم (سانتی متر مربع) Wound development (centimeter square)
آلیادو با دز مصرفی ۱۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 15g/L)	11.76 b
آلیادو با دز مصرفی ۲۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 20g/L)	9.18 bc
آلیادو با دز مصرفی ۲۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 25g/L)	7.78 bc
آلیادو با دز مصرفی ۳۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 30g/L)	6.22 c
آلیادو با دز مصرفی ۳۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 35g/L)	5.47 c
اکسی کلرور مس با دز مصرفی ۱۰۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 100g/L)	9.19 bc
بردو با دز مصرفی ۵۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 50g/L)	8.87 bc
شاهد (آب پاشی) (Control)	17.05 a

*مقایسه میانگین در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون توکی. a. بایشترین سطح زخم و c با کمترین سطح زخم
*Mean comparison with Tuki test at a=5%. a and c with maximum and minimum wound area, respectively.

جدول ۷- تجزیه واریانس میزان سطح زخم در نوبت اول یک بار رنگ آمیزی (سمپاشی) (فصل بهار، از اوایل فروردین ماه تا نیمه اول اردیبهشت ماه) در شرایط باغ (جیرفت)

Table 7- Analysis of variance of the wound area in the first time painting (spring season) under orchard conditions (Jiroft)

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی dF	میانگین مربعات MS
بلوک Block	2	0.044
دزهای قارچ کش (Fungicide doses)	7	0.299
خطا (Error)	14	0.075
کل (Total)	23	(%) ضریب تغییرات Coefficient of variation, CV =16.98%

* در سطح پنج درصد اختلاف معنی دار است.

*There is significant differences at a=5%.

(آب پاشی) بوده و کمترین سطح زخم مربوط به تیمارهای آلیادو با دز مصرفی ۳۰ گرم در یک لیتر آب و آلیادو با دز مصرفی ۲۵ گرم در یک لیتر آب بود و در مقایسه با قارچ کش های رایج در یک کلاس آماری قرار گرفتند (جدول ۱۲).

با توجه به تجزیه واریانس قارچ کش های مصرفی (جدول ۱۱) میزان سطح زخم بر حسب سانتی متر مربع در نوبت اول سم پاشی (فصل بهار) در شرایط باغ نشان می دهد که اختلاف معنی داری بین تیمارها در سطح پنج درصد وجود دارد و از مقایسه میانگین نتیجه می شود که بیشترین سطح زخم مربوط به تیمار شماره شاهد

جدول ۸- مقایسه میانگین میزان سطح زخم در نوبت اول سمپاشی در شرایط باغ (جیروفت)

Table 8- Mean Comparison of wound area in the first time painting under orchard conditions (Jiroft)

تیمار Treatment	پیشرفت زخم (سانتی متر مربع) Wound development (centimeter square)
آلیادو با دز مصرفی ۱۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 15g/L)	1.32 ab
آلیادو با دز مصرفی ۲۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 20g/L)	1.36 ab
آلیادو با دز مصرفی ۲۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 25g/L)	1.10 b
آلیادو با دز مصرفی ۳۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 30g/L)	0.99 b
آلیادو با دز مصرفی ۳۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 35g/L)	1.24 ab
اکسی کلرور مس با دز مصرفی ۱۰۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 100g/L)	1.16 b
بردو با دز مصرفی ۵۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 50g/L)	1.15 b
شاهد (آبیاشی) (Control)	2.20 a

*مقایسه میانگین در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون توکی. a با بیشترین سطح زخم و b با کمترین سطح زخم

*Mean comparison with Tuki test at a=5%. a and b with maximum and minimum wound area, respectively.

دز مصرفی ۳۰ گرم در ۱ لیتر آب با کمترین میزان سطح زخم نسبت به سایر قارچ کش ها برتری داشته است (جدول ۱۴). علت یکنواخت بودن نتایج از نظر آماری می تواند شرایط آب و هوایی باشد که موجب فعالیت کند قارچ شده و عدم تأثیر قارچ کش ها در آن شرایط زمانی را نشان می دهد.

با توجه به تجزیه واریانس قارچ کش های مصرفی در نوبت دوم سمپاشی در شرایط باغ چهارم (جدول ۱۳) میزان سطح زخم بر حسب سانتی متر مربع نشان می دهد که اختلاف معنی داری بین تیمارها وجود ندارد و از مقایسه میانگین نتیجه گرفته می شود که بیشترین سطح زخم مربوط به تیمار شاهد (آبیاشی) بوده و در بررسی تیمارهای قارچ کش مصرفی در طی آزمایش پاییزه اختلاف معنی داری وجود نداشت و همه تیمارها در (گروه a) قرار گرفتند ولی تیمار آلیادو با

جدول ۹- تجزیه واریانس میزان سطح زخم در نوبت دوم رنگ آمیزی (فصل پاییز، از اواخر شهریور تا نیمه اول مهر ماه) در شرایط باغ (جیروفت)،

Table 9- Analysis of variance of wound area in the second time painting under orchard conditions (Jiroft)

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی dF	میانگین مربعات MS
بلوک (block)	2	0.099
دزهای قارچ کش (Fungicide doses)	7	0.478
خطا (Error)	14	0.082
کل (Total)	23	(%) ضریب تغییرات Coefficient of variation, CV =21.94

CV= 21.94%

**اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ وجود دارد.

**There is significant differences at a=1%

جدول ۱۰- مقایسه میانگین میزان سطح زخم در نوبت دوم رنگ آمیزی در شرایط باغ (جیروفت)

Table 10- Mean Comparison of wound area in the second time painting under orchard conditions (Jiroft)

تیمار Treatment	پیشرفت زخم (سانتی متر مربع) Wound development (centimeter square)
آلیادو با دز مصرفی ۱۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 15g/L)	1.30 b
آلیادو با دز مصرفی ۲۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 20g/L)	0.92 b
آلیادو با دز مصرفی ۲۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 25g/L)	1.10 b
آلیادو با دز مصرفی ۳۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 30g/L)	0.92 b
آلیادو با دز مصرفی ۳۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 35g/L)	1.32 b
اکسی کلرور مس با دز مصرفی ۱۰۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 100g/L)	1.33 b
بردو با دز مصرفی ۵۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 50g/L)	1.33 b
شاهد (آبیاشی) (Control)	2.19 a

*مقایسه میانگین در سطح احتمال ۱٪ با استفاده از آزمون توکی. a. بایشترین سطح زخم و b با کمترین سطح زخم

*Mean comparison with Tuki test at a=1%. a and b with maximum and minimum wound area, respectively.

جدول ۱۱- تجزیه واریانس میزان سطح زخم در نوبت اول رنگ آمیزی (فصل بهار) در شرایط باغ (جهرم)

Table 11- Analysis of variance of wound area in the first time painting (spring season) under orchard conditions (Jahrom)

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی dF	میانگین مربعات MS
بلوک (block)	2	0.478
دزهای قارچ کش (Fungicide doses)	7	0.482
خطا (Error)	14	1.085
کل (Total)	23	(%) ضریب تغییرات Coefficient of variation , CV =31.69%

*اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ وجود دارد.

*There is significant differences at a=5%

نیاز به کاربرد مجدد سم، ضروری می باشد. شرایط اقلیمی مناطق جنوبی کشور به نحوی است که شبه قارچ عامل بیماری در تمام طول سال فعال است، بنابراین در اجرای پروژه، تیمار با قارچ کش در دو نوبت بهار (از اوایل فروردین ماه تا نیمه اول اردیبهشت ماه) و پاییز (از اواخر شهریور تا نیمه اول مهر ماه) پیش بینی شده است. انتخاب زمان ها بر اساس شرایط محیطی، بیولوژی قارچ و بروز بیماری در مناطق بوده است. در این ارتباط، دو نوبت کاربرد قارچ کش در فصول بهار و پاییز توصیه می شود. نتایج آزمایش انجام شده با نتایج تحقیقات دنیا، که کاربرد قارچ کش را موثرترین روش کنترل شبه قارچ *Phytophthora* عامل بیماری گموز درختان مرکبات گزارش نمودند

این تحقیق به صورت میدانی در باغ های دارای سابقه آلودگی به گموز در شهرستان جیرفت در استان کرمان و جهرم در استان فارس روی رقم پرتقال با پایه لیمو ترش و بکرایی انجام شد. نتایج بررسی تأثیر قارچ کش آلیادو جهت کنترل بیماری گموز مرکبات و مشاهدات انجام شده نشان داد تمام تیمارهای قارچ کش به روش ضد عفونی به صورت رنگ آمیزی در کنترل پیشرفت بیماری موثر بوده و این تأثیر به صورت معالجه و خشک شدن صمغ محل زخم، مشاهده شد (شکل ۸- الف و ب). در برخی تیمارها ظهور و ترشح صمغ جدید در محلی جدید با کمی فاصله از زخم های قبلی مشاهده گردید که می تواند به این دلیل باشد که اثر سم پس از گذشت چندماه کاهش یافته است و

مطابقت دارد (۵). مقایسه کاربرد قارچ کش آلیت در دو دز مصرفی به درختان مرکبات بر علیه گموز حفاظت کردند (۲). مقدار ۱۶۰ و ۲۰۰ گرم در ۱۰۰ لیتر در دو نوبت طی سال، به خوبی

جدول ۱۲- مقایسه میانگین میزان سطح زخم بر حسب سانتی متر مربع در نوبت اول سم پاشی در شرایط باغ (جهرم)

Table 12- Mean comparison of wound area in the first time painting under orchard conditions (Jahrom)

تیمار Treatment	پیشرفت زخم (سانتی متر مربع) Wound development (centimeter square)
آلیادو با دز مصرفی ۱۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 15g/L)	3.16 b
آلیادو با دز مصرفی ۲۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 20g/L)	3.34 b
آلیادو با دز مصرفی ۲۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 25g/L)	2.59 b
آلیادو با دز مصرفی ۳۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 30g/L)	2.39 b
آلیادو با دز مصرفی ۳۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 35g/L)	3.16 b
اکسی کلرور مس با دز مصرفی ۱۰۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 100g/L)	2.69 b
بردو با دز مصرفی ۵۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 50g/L)	2.87 b
شاهد (آپاشی) (Control)	6.07 a

*مقایسه میانگین در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون توکی. a با بیشترین سطح زخم و b با کمترین سطح زخم

*Mean comparison with Tuki test at a=5%. a and b with maximum and minimum wound area, respectively.

بهار (از اوایل فروردین ماه تا نیمه اول اردیبهشت ماه) و پاییز (از اواخر شهریور تا نیمه اول مهر ماه) با حداقل دز مصرفی پیشنهادی (۱۵ گرم در لیتر) به منظور پیشگیری از بروز بیماری گموز توصیه می گردد.

بنابراین به طور کلی در مناطق کشت مرکبات کشور خصوصاً استان های جنوبی که شرایط اقلیمی برای فعالیت عامل بیماری گموز مرکبات در طول سال مساعد است، تیمار طوقه درختان مرکبات روی پایه بکرایی و لیمو ترش (مکزیکن لایم) با قارچ کش آلیادو در دو نوبت

جدول ۱۳- تجزیه واریانس میزان سطح زخم در نوبت دوم رنگ آمیزی در شرایط باغ (جهرم)

Table 13- Analysis of variance of wound area in the second time painting under orchard conditions (Jahrom)

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی dF	میانگین مربعات MS
بلوک (block)	2	0.228
دزهای قارچ کش (Fungicide doses)	7	0.426
خطا (Error)	14	0.355
کل (Total)	23	(%) ضریب تغییرات Coefficient of variation, CV = 21.49 %

^{ns} اختلاف معنی داری وجود ندارد.

ns: There is no significant differences.

جدول ۱۴- مقایسه میانگین میزان سطح زخم بر حسب سانتی متر مربع در نوبت دوم رنگ آمیزی در شرایط باغ (جهرم)
Table 14- Mean Comparison of wound area in the second time painting under orchard conditions (Jahrom)

تیمار Treatment	پیشرفت زخم (سانتی متر مربع) Wound development (centimeter square)
آلیادو با دز مصرفی ۱۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 15g/L)	1.31 a
آلیادو با دز مصرفی ۲۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 20g/L)	1.243 a
آلیادو با دز مصرفی ۲۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 25g/L)	1.277 a
آلیادو با دز مصرفی ۳۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 30g/L)	1.210 a
آلیادو با دز مصرفی ۳۵ گرم در یک لیتر آب (Aliado 35g/L)	1.427 a
اکسی کلرور مس با دز مصرفی ۱۰۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 100g/L)	1.360 a
بردو با دز مصرفی ۵۰ گرم در یک لیتر آب (Aliado 50g/L)	1.327 a
شاهد (آبیاشی) (Control)	2.343 a

*مقایسه میانگین در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون توکی.

*Mean comparison with Tuki test at a=5%.



شکل ۸- (الف) اعمال تیمارها بصورت ضد عفونی محل زخم تنه، (ب) ترمیم محل زخم پس از تیمار نمودن با قارچ کش
Figure 8- (A) applying treatments as disinfection of the wound site , (b) wound site healing after treatment with fungicide

منابع

- 1- Akbarpour K., and Banihashemi Z. 1991. Reaction of citrus cultivars to *phytophthora* species the incitant of citrus gummosis. (Abstr.) Iran Journal Plant Pathology 26: 46.
- 2- Erkilic Y., and Canihod Y. 1999. Determination of the effect of Fosetyl-Al against citrus gummosis disease caused by *Phytophthora citrophthora* (Smith and Smith) Leonian. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Balcalı, Adana-TURKEY.
- 3- Ershad J. 1993. *Phytophthora* species in Iran (Isolation, Purification, Identification). Agriculture Research Organization. 215p.
- 4- Farih A., Menge J.A., Tsao P.H., and Ohr H.D. 1981. Metalaxyl and Fosetyl aluminum for control of phytophthora gummosis and root rot on citrus. Plant Disease 65: 654-657.
- 5- Matheron M.E., Porchas M., and Matrjka J.C. 1997. Distribution and seasonal population dynamics of *Phytophthora citrophthora* and *P. nicotianae* in Arizona citrus orchards and effect of Fungicides on tree health. Plant Disease 81: 1384-1390.
- 6- Matheron M.E., Wright G.C., and Prochas M. 1998. Resistance to *Phytophthora citrophthora* and *P. parasitica* and

- Nursery Characteristics of Several Citrus Rootstocks. Disease 81: 1217-1225.
- 7- Menge J.A. 1986. Use of systemic fungicides on citrus. Citrograph 71(12): 245-252.
- 8- Michael E.M. and Porchas M. 1996. Analysis of Rootstocks and New Fungicides for Control of Phytophthora Root Rot and Gummosis in Arizona Citrus Groves. Citrus Report, University of Arizona.
- 9- Mohammad alian Y., Golmohammadi M., Banihashemian S.M., Gholamian E., and Taheri H. 2002. Pests, diseases and weeds of citrus. Publication of agricultural education. 207 pp.
- 10- Mohammad Alian Y., Zamanizadeh H., Ebrahimi Y., and Rezaii S. 2003. Isolation and Identification of brown rot of different of citrus cultivar in north of iran. 15nd Iranian Plant Protection Congress. Kermanshah. Iran. 236.
- 11- Sativa G.S.V. and Nagpal A. 2012. Citrus diseases caused by Phytophthora species. GERF Bulletin of Biosciences 3(1): 18-27.
- 12- Sandler H.A., Timmer L.W., Graham J.H., and Zitko S.E. 1989. Effect of fungicide applications on populations of *Phytophthora parasitica* and on feeder root densities and fruit yields of citrus trees. Plant Disease 73: 902-906
- 13- Thomas T., and Kostantinos T. 2001. Effectiveness of metalaxyl, fosetyl-Al, dimethomorph, and cymoxanil against *Phytophthora cactorum* and *P. citrophthora* of peach tree. Phytopathology Mediterranea 40: 253-259.
- 14- Timmer L.W., and Castle W.S. 1985. Effectiveness of metalaxyl and fosetyl Al against *Phytophthora parasitica* on sweet orange. Plant Disease 69: 741-743.
- 15- Timmer L.W., Graham J.H., Sandier H.A., and Zitko S.E. 1988. Populations of *Phytophthora parasitica* in citrus orchards and tree response to Fungicide applications. Citrus Industry 69 (11): 40-44.
- 16- Wutscher H.K. 1979. Citrus root stocks. In Horticultural Reviews, volum (1). Janick, J. (ed.). AV Publishing Company. Inc. Westport, Connecticut. Pp. 237-268.



Evaluation of Aliado Fungicide in Control of Citrus Gummosis Disease

Y. Mohammad Alian¹- S.N. Banihashemian²- S.M. Banihashemian³- M. Golmohammadi^{4*}- I. Jourbonian⁵

Received: 12-09-2018

Accepted: 23-06-2020

Introduction: Effect of Aliado fungicide (Masio, Spain) with active ingredient of Mancoezbe 40%, chlorothalonil 20% and simoxanil 5% as a 65% WP formulation for control of citrus gummosis disease in laboratory, greenhouse and orchard conditions was compared with common fungicides (copper oxychloride and Bordeaux mixture in ratios of 100 and 50 g/l respectively). The growth of *Phytophthora parasitica* and *P. citrophthora* was controlled in the culture media containing the recommended doses of 15, 20, 25, 30 and 35 g/l. Results of greenhouse experiment with one-year-old sweet orange seedlings of Siavaraze (a local variety) indicated that Aliado is effective on prevention of the wound development at the doses of 25 and 35 g/l for *P. parasitica* and 20 and 35 g/l for *P. citrophthora*. The best result was obtained with painting of 15 grams per liter of the fungicide twice a year (spring and autumn) in the field assessment.

Materials and Methods: In this study, *P. parasitica* and *P. citrophthora* were isolated from the infected soil. The fungi were stored after purification and cultivation in the test tube for the next steps. To evaluate the effect of Aliado in laboratory conditions, different doses of the fungicide containing 0, 15, 20, 25, 30 and 35 grams per liter were added to the CMA medium and distributed in petri dishes. Then, 5 mm discs were prepared from the 7-day-old pragmatic margin of the fungus-like and placed in the center of Petri dishes. After maintaining them at 24 °C for 4 days, the radial growth of mycelium was measured. In order to investigate the effect of the fungicide in greenhouse condition, seeds of Siavaraze local sweet orange as a sensitive variety was prepared and treated with 0.5 percent sodium hypochlorite solution and cultivated in a soil composition disinfected with water vapor in a controlled greenhouse of Citrus and subtropical Fruit Research center. Evaluation of the effect of fungicides was carried out after seedlings reached about 20 centimeters. For staining treatments, 24 one year old seedlings of Siavaraze were used. First, at 15 cm above the surface of the soil, a part of the bark was removed from the trunk and discs of the same size from the fungi-like colonies were placed instead. In the control plants, the culture medium without mycelium was placed on the surface of the wood. To evaluate the treated seedlings, about 40 days after application of the fungicides, the size of the new wound was calculated. To study the effect of Aliado in orchard condition, 24 trees of 12 years old with Bakraee and Lime rootstocks infected with trunk gummosis in Kerman (Jiroft) and Fars (Jahrom) provinces were used in a randomized complete block design with 8 treatments in 3 replications. The wound of the trunk marked and bark of the infected area was gently scratched and painted by a brush with the same treatments and doses of the laboratory test. Six months after application, the size of the new wound was recorded. The analysis of variance and the mean comparison were performed based on MSTATC statistical program and the Tukey's test.

Results and Discussion: Laboratory studies showed that Aliado fungicide completely prevented the growth of fungi-like in the recommended doses of the company. Under greenhouse conditions, painting of Aliado with 25 and 35 grams per liter for *P. parasitica* and 20 and 35 grams per liter for *P. citrophthora* have been effective in stopping the development of stem wounds. This research was also conducted in field conditions in the orchards with gummosis symptoms in Kerman and Fars provinces. In the orchard condition, two times application of all treatments containing Aliado fungicide (even a dose of at least 15 g/l) was effective. The results of the experiment are in agreement with those of the world's researchers, which have reported the use of fungicide as an effective method for controlling phytophthora fungus-like of gummosis. Therefore, in citrus cultivation areas of the country, especially the southern provinces, where the climatic conditions are favorable for the activity of the fungi-like, treatment of the crowns of citrus trees with Aliado in the spring and the autumn with the minimum proposed dose of the fungicide is recommended. Observations showed that all treatments of Aliado are effective by drying the gum in controlling disease progression through disinfection. In some treatments, the emergence of gum in the new places was observed with a little distance from the previous wounds. It can be

1, 3, 4 and 5- Assistant Professors and Graduated M.Sc, Horticultural Science Research Institute, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar, Iran

2- Ph.D. Student of Plant Pathology, University of Guilan

(*- Corresponding Author Email: mgolm2009@gmail.com)

because the effect of fungicide has decreased after a few months. In climatic conditions of the southern regions of the country the fungi-like are active throughout the year. So the use of fungicide in spring and autumn is recommended. The use of Aliet fungicide in two doses of 160 and 200 g in 100 liters of water had a protective effect less than one year.

Keywords: Aliado ctl, Citrus, Gummosis, *phytophthora*



مقاله علمی-پژوهشی

بررسی فراوانی برخی بیماری‌گرهای همراه با بیماری سرارغوانی سیب‌زمینی

عزیز باقری^{۱*} - قباد بابایی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۲

چکیده

در برخی مزارع سیب‌زمینی نشانه‌های پژمردگی همراه با سرارغوانی، ریزبرگی، زردی و لوله‌ای شدن برگ، تورم جوانه‌های جانبی و غده‌های هوایی مشاهده می‌شود. بررسی ۴۶۰ نمونه جمع‌آوری شده از مزارع سیب‌زمینی استان‌های چهارمحال و بختیاری، همدان و فارس طی سال‌های ۱۳۹۰-۱۳۸۵ با آزمون الیزا با آنتی‌سرم اختصاصی *Potato leaf roll virus* (PLRV)، کشت نمونه‌های ریشه دارای علائم پوسیدگی و شانکر، روی محیط PDA و بررسی نمونه‌ها با PCR با استفاده از پرایمرهای P1/P7 و R16F2n/ R16R2، وجود سه عامل فیتوپلازما، قارچ رایزوکتونیا و ویروس برگ قاشقی سیب‌زمینی را به ترتیب با فراوانی ۱۳۲، ۲۴۵ و ۶۱ نمونه در بین نمونه‌های بررسی شده را نشان داد. نتایج این بررسی نشان داد ۲۸/۷، ۵۳/۲۵ و ۱۳/۲ درصد از علائم سرارغوانی و تشکیل غده هوایی به ترتیب توسط عوامل فیتوپلاسمایی، قارچی و ویروس برگ قاشقی سیب زمینی ایجاد می‌شود. علائم تشکیل غده هوایی و ارغوانی شدن برگ‌های انتهایی بوته سیب‌زمینی در ارقام مختلف به نسبت‌های متفاوت دیده‌شد. برش آنزیمی محصول PCR تکثیر شده توسط پرایمرهای R16F2n/ R16R2 مربوط به نمونه‌های سیب‌زمینی و یونجه دارای علائم جاروک، گوجه‌فرنگی دارای علائم فیلودی و پیچیدگی برگ و علف‌های هرز همراه با علائم فیلودی، زردی و ریزبرگی حاشیه مزارع، با آنزیم‌های محدود کننده *HhaI* *MseI* *HaeIII* *AluI* *HpaII* و *KpnI* در آزمون RFLP نشان دهنده وجود دو گروه فیتوپلاسمایی در نمونه‌های سیب‌زمینی شامل 16SrI-B (Aster yellows) و 16SrXII-A (Stolbur) است. نمونه‌های فیتوپلاسمایی یونجه و گوجه‌فرنگی همگی متعلق به گروه 16SrXII-A و نمونه‌های سنگ (*Tragopogon graminifolius*) و گوش فیل (*Conringia orientalis*) به ترتیب متعلق به گروه‌های 16SrI-C (Aster yellows group-) و 16SrVI-A (Clover phyllody) (Clover proliferation group-Clover proliferation) بودند.

واژه‌های کلیدی: آف‌ال‌پی، پی‌ال‌آروی، پی‌سی‌آر، سرارغوانی، فیتوپلازما

مقدمه

سرارغوانی همراه با تشکیل غده‌های هوایی، ریزبرگی، زردی و لوله‌ای شدن برگ‌ها در مزارع سیب‌زمینی قابل مشاهده است که عوامل بیماری‌زای متعددی به عنوان عامل این بیماری گزارش شده است. ویروس برگ قاشقی سیب‌زمینی، فیتوپلاسمای پژمردگی سرارغوانی و قارچ *Rhizoctonia solani* از مهمترین این عوامل هستند (۲). نشانه مشخصه آلودگی فیتوپلاسمایی شامل پژمردگی و سرارغوانی شدن بوته و تورم جوانه‌های واقع در قاعده دمبرگ‌ها، رشد زیگزاگ ساقه و جوانه‌های میانی و ظهور غده‌های هوایی است. گیاهان در پاسخ به حمله پاتوژن طیف گسترده‌ای از نشانه‌های بیماری را نشان می‌دهند. معمولاً نشانه‌های بنفش یا ارغوانی شدن برگ‌های گیاهان آلوده، نشان دهنده آلودگی میزبان به عوامل فیتوپلاسمایی است. تجمع و بیوسنتز آنتوسیانین در بافت‌های آلوده، رنگ ارغوانی را ایجاد می‌کند که با کاهش مرگ سلول‌های برگ ناشی از آلودگی فیتوپلازما همراه است. علاوه بر این، آلودگی فیتوپلاسمایی منجر به فعال شدن مسیر بیوسنتزی آنتوسیانین و تجمع چشمگیر ساکارز در حدود ۱۰۰۰ برابر

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) یکی از محصولات مهم غذایی دنیا است که در بیشتر از ۱۴۰ کشور جهان تولید می‌شود. سیب‌زمینی ارزش غذایی بالایی داشته و علاوه بر مصارف غذایی مستقیم در تهیه نشاسته و سایر مواد صنعتی و حتی علوفه استفاده می‌شود. عوامل بیماری‌زای متعددی از جمله عوامل قارچی، ویروسی و پروکاریوتی قادر به ایجاد بیماری در سیب‌زمینی هستند. عارضه

۱- مربی پژوهشی بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران

(*)- نویسنده مسئول: (Email: bagherisa78@gmail.com)

۲- استادیار پژوهشی بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چهارمحال و بختیاری، ایران

می‌شود که می‌تواند مسیر بیوسنتزی آنتوسیانین را فعال کند. این اولین مطالعه برای نشان دادن نقش و مکانیسم نشانه‌های ارغوانی بنفش در تعامل گیاه - فیتوپلازما است (۹).

شانکر ریزوکتونیایی هم روی ساقه زیرزمینی توسط قارچ ریزوکتونیا ایجاد می‌شود و می‌تواند زردی و ارغوانی شدن برگ‌ها و غده‌هایی ایجاد کند اما نشانه مشخصه آن ظهور زخم‌های قهوه‌ای رنگ روی ساقه زیرزمینی است. PLRV هم می‌تواند منجر به زردی و ارغوانی شدن برگ‌های انتهایی شود که نشانه نکرور شبکه‌ای غده ایجاد می‌کند ولی این نشانه‌ها توسط قارچ *Verticillium* استرس‌های محیطی مثل گرما هم می‌تواند ایجاد شود. برخی عوامل مثل توکسین‌های حاصل از تغذیه حشرات نظیر پسیل سیب‌زمینی هم نشانه‌های سرارغوانی در سیب‌زمینی ایجاد می‌کند (۱۵). پژمردگی سرارغوانی سیب‌زمینی تاکنون از کشورهای متعددی از جمله روسیه، هند، مکزیک و کوبا، استرالیا، اسرائیل، ترکیه، فرانسه، ایتالیا، آمریکا، ژاپن و کره گزارش شده‌است و در برخی کشورها از جمله مکزیک خسارت بالایی ایجاد می‌کند (۵). به طور کلی فیتوپلازماهای سیب‌زمینی به دو گروه عمده *aster yellows* و *witches broom* طبقه‌بندی می‌شوند (۳). تشخیص عوامل فیتوپلازمایی با روش‌های مختلف از جمله سرولوژی، هیبریداسون DNA، PCR و Nested PCR و real-time PCR انجام می‌شود. برش آنزیمی محصول PCR قطعات تکثیر شده از 16SrDNA با آنزیم‌های محدود کننده می‌تواند گروه‌های فیتوپلازماها را از هم تفکیک کند. برخی از گروه‌های توصیف شده بر این اساس عبارتند از *Potato witches broom* و *phytoplasma* که نشانه جاروک در بوته ایجاد می‌کنند که با غده و زنجرک *Scleroracis spp.* منتقل می‌شود. برخلاف فیتوپلازماهای گروه زردی مینا، این گروه فیتوپلازما اغلب با غده منتقل می‌شوند. گروه ۲ و ۳ *Potato marginal flavescence* و *Potato purple top roll phytoplasma* می‌باشند، این دو فیتوپلازما از هند گزارش شده‌اند. *Purple top roll* در هند عامل ایجاد سرارغوانی گزارش شده است که توسط زنجرک *Orosius albicinctus* منتقل می‌شود و زنجرک ناقل بیشتر روی علف‌های هرز *Trifolium sp.*، *Lolium* و *Crotalaria* تکثیر می‌شود و *T. repens* به عنوان منبع پایداری این فیتوپلازما گزارش شده است که در این میزبان هم قرمز و ارغوانی شدن برگ‌ها و کوتولگی دیده می‌شود (۱۲). بررسی دامنه میزبانی فیتوپلازمای عامل زردی، جاروک و سرارغوانی در هند نشان داد این فیتوپلازما قادر به آلوده کردن ۸۸ گونه متعلق به ۲۰ جنس و ۸ خانواده است که شدت بیماریزایی فیتوپلازمای عامل سرارغوانی سیب‌زمینی بیشتر از تیپ جاروک و زردی است (۱۷). گروه *Potato phyllody phytoplasma*، از برخی جنبه‌ها شبیه دو فیتوپلازمای گزارش شده از هند است ولی با داشتن تفاوت‌هایی از آنها متمایز است. گروه *Potato stolbur phytoplasma*، که از کشورهای

اروپایی گزارش شده‌است، در فلفل و بادنجان باعث ریزبرگی می‌شوند. میزان شیوع این بیماری در ترکیه تا ۸۶٪ گزارش شده‌است. گروه دیگر فیتوپلازماها *Potato purple top wilt phytoplasma* از آمریکای شمالی به عنوان عامل پژمردگی انتهایی در سیب‌زمینی گزارش شده‌اند. فیتوپلازمای پژمردگی سرارغوانی سیب‌زمینی (*potato purple top wilt phytoplasma*) متعلق به گروه *Aster yellows phytoplasma* می‌باشد. این بیماری با نام‌های برگ قاشقی انتهایی، پژمردگی انتهایی، کوتولگی سرارغوانی، زردی انتهایی و کپه‌ای شدن انتهایی هم نام برده شده است. عموماً این فیتوپلازماها با غده قابلیت انتقال ندارند و عمده‌ترین زنجرک‌های ناقل آنها نیز *Macrosetes sp.* و *Hyalesthes spp.* می‌باشد. ناقل پس از اخذ عامل بیماری در همه عمر خود قادر به انتقال بیماری است. بنابراین بروز اپیدمی فیتوپلازما در مزارع سیب‌زمینی به وجود منبع آلودگی در نزدیکی مزارع سیب‌زمینی و فعالیت و جمعیت زنجرک ناقل دارد. کاربرد یک حشره کش در زمان مناسب مهاجرت جمعیت زنجرک می‌تواند به سهولت منجر به کنترل بیماری شود (۱۲). جدایه‌ای از فیتوپلازما در آمریکا مشاهده شده که تحت عنوان *Beet leaf hopper transmitted virescence agent (BLTVA)* شناخته می‌شود و نشانه‌های سرارغوانی، لوله برگی و کوتولگی و تشکیل غده‌هایی در سیب‌زمینی ایجاد می‌کند. بررسی بوته‌های آلوده به این فیتوپلازما نشان داده‌است ۶۸٪ بوته‌های آلوده تولید غده‌های آلوده می‌کنند. آلودگی به گونه‌ای است که در برخی بوته‌ها غده‌های سالم و آلوده به صورت توأم تولید می‌شوند. ۳۵٪ غده‌های آلوده ایجاد بوته‌های آلوده کرده است. بدین معنا که در این فیتوپلازما انتقال با غده وجود دارد (۱۶). اغلب جدایه‌های فیتوپلازمایی در مناطق مختلف نشان داد که متعلق به گروه *16SrVI-A* و *16SrVI* (group subgroup A Clover proliferation) هستند که این زیر گروه مشتمل بر گروه‌های *Clover proliferation*، *potato witches broom* و *vinca virescence* است (۱۲). بلالی و همکاران بیماری سرارغوانی را از استان چهارمحال و بختیاری و اصفهان گزارش، و خسارت بیماری را تا ۱۵ درصد برآورد کردند و قابلیت انتقال آن با پیوند را نشان دادند (۱). تاکنون از ایران گروه‌های فیتوپلازمایی *Phytoplasma solani*، *Phytoplasma asteries* و *Phytoplasma trifolii* بعنوان عامل بیماری سرارغوانی سیب‌زمینی گزارش شده است (۱۰).

از دیگر عوامل ایجادکننده زردی و ریزبرگی در سیب‌زمینی ویروس برگ قاشقی سیب‌زمینی (PLRV) است که خسارت آن تا ۹۰٪ کل محصول می‌تواند باشد. شدت نشانه‌های ایجاد شده توسط PLRV بسته به رقم و شرایط محیطی دارد. در شرایط مزرعه لوله‌ای شدن برگ و ارغوانی شدن توسط عوامل متعدد دیگری هم به غیر از این ویروس ایجاد می‌شود چرا که این نشانه‌ها نتیجه اختلال در انتقال

ضدعفونی سطحی شدند و پس از دوبار شستشو در آب مقطر، قطعاتی به اندازه ۲-۱ میلی-متر از حد فاصل بافت‌های سالم و آلوده شانکرهای موجود روی ساقه‌های زیرزمینی و پوسیدگی‌های ریشه روی محیط کشت سیبزمینی، دکسترز و آگار کشت، و پس از چهار روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، قارچ‌های رشد کرده به روش نوک ریشه خالص سازی و به محیط کشت جدید منتقل شدند. جدایه‌های مختلف قارچی بر اساس شکل و رنگ کلونی دسته‌بندی و سپس مورد شناسایی قرار گرفتند.

اثبات بیماری زایی جدایه‌های مختلف قارچی: برای اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف قارچی جدا شده از نمونه‌های ریشه سیبزمینی با نشانه‌های سرارغوانی که دارای نشانه‌های شانکر ساقه زیرزمینی و پوسیدگی ریشه هم بودند، از بذر گندم استفاده شد. برای این منظور ۲۰۰-۱۰۰ گرم بذر گندم در ارلن اتوکلاو شده و ۴-۳ قطعه به قطر ۵ میلی‌متر از هر جدایه روی بذر درون هر ارلن قرار داده شد. مایه‌زنی روی ارقام سیبزمینی مارفونا و آگریا در شرایط گلخانه انجام شد. کنار هر بوته سیبزمینی رشد کرده در گلخانه ۴-۵ بذر گندم آلوده شده به قارچ قرار داده شد. بوته‌های مایه‌زنی شده در شرایط معمولی نگهداری و ۴-۳ هفته پس از مایه‌زنی، ظهور نشانه‌ها بررسی شدند. از هر جدایه قارچ، سه گلدان هر یک حاوی ۳-۲ ساقه سیبزمینی مایه‌زنی شدند. نمونه‌هایی از گیاهان دارای نشانه بیماری در گلخانه دوباره کشت داده شد و وجود قارچ مایه‌زنی شده مورد بررسی قرار گرفت.

ردیابی ویروس برگ قاشقی سیبزمینی (PLRV) در گیاهان دارای نشانه‌های سرارغوانی: همه نمونه‌های جمع‌آوری شده دارای نشانه‌های سرارغوانی همراه با نشانه‌های دیگر از جمله برگ قاشقی، ریز برگی و زردی با آزمون الیزا و با استفاده از آنتی‌سرم چند همسانه‌ای اختصاصی PLRV خریداری شده از منابع خارجی (شرکت DMSZ آلمان) مورد بررسی قرار گرفتند. از هر نمونه یک گرم بافت انتخاب و با استفاده از بافر معمولی (PBST+PVP) عصاره‌گیری شدند. الیزا به روش مستقیم (DAS-ELISA) با تغییراتی انجام شد (۲ و ۴).

ردیابی عوامل فیتوپلاسمایی در گیاهان سیبزمینی و علف‌های هرز

انتقال با پیوند: نمونه‌هایی از گیاهان با نشانه‌های سرارغوانی زردی و لوله برگی شدن انتهایی بوته و تشکیل غده هوایی به طور تصادفی از بین نمونه‌های جمع‌آوری شده انتخاب و در شرایط گلخانه روی گوجه‌فرنگی حاصل از بذر پیوند زده شدند. دو نمونه از گوجه فرنگی‌های دارای نشانه‌های تورم جوانه و فیلودی، پیچیدگی برگ و کوتولگی بوته نیز به گوجه‌فرنگی سالم در شرایط گلخانه پیوند زده

مواد در آوندهای آبکش است. ریزبرگی، زردی حاشیه برگ و بین رگبرگ‌ها، نکروز شبکه‌ای غده و لوله‌ای شدن برگ از نشانه‌های PLRV است (۱۲).

یکی دیگر از عوامل ایجاد زردی و تشکیل غده‌های هوایی در سیبزمینی قارچ *Rhizoctonia solani* می‌باشد که سبب بیماری شانکر ریزوکتونیایی در سیبزمینی می‌شود. این قارچ اسکروت‌هایی روی سطح غده و شانکرهای قهوه‌ای رنگی روی ساقه زیرزمینی سیبزمینی ایجاد می‌کند که می‌تواند منجر به مرگ بوته شود. دمای خنک و رطوبت خاک در زمان کاشت موجب خسارت بیشتر این قارچ می‌شود (۱۸). غده‌های هوایی ایجاد شده توسط ریزوکتونیا اغلب در قاعده ساقه سیبزمینی تشکیل می‌شوند که وجه تمایز آن با سایر عوامل ایجاد کننده غده‌های هوایی است. علاوه بر این روی ساقه زیرزمینی آلوده به ریزوکتونیا شانکرهای قهوه‌ای رنگ تشکیل می‌شود. شانکرها روی ساقه سیبزمینی ابتدا قرمز مایل به قهوه‌ای هستند که به تدریج بزرگ شده به رنگ قهوه‌ای درمی‌آیند و در صورت به هم پیوستن، جریان آب و کربوهیدرات در گیاه را قطع می‌کنند. ممانعت از انتقال نشاسته در صورت رشد شانکرها و به هم پیوستن آنها در اواخر فصل رشد روی می‌دهد که موجب پدید آوردن غده‌های سبز و کوچک در محل انشعاب دمبرگ‌ها، که اصطلاحاً غده هوایی گفته می‌شوند که معمولاً نزدیک سطح خاک تشکیل می‌شوند (۱۸). در این تحقیق پراکنش بیمارگرهای همراه با سرارغوانی سیب زمینی در استان‌های چهارمحال و بختیاری، فارس و همدان بررسی و نقش عوامل مختلف بیماری‌زا در مناطق مختلف و درجه اهمیت بسته به رقم سیبزمینی و منطقه بررسی شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: بوته‌های سیبزمینی با نشانه‌های سرارغوانی، زردی و ریزبرگی و لوله‌ای شدن برگ‌های بالایی بوته، پژمردگی و غده‌های هوایی از استان‌های همدان، چهارمحال و بختیاری و فارس (۱۳۸۵-۱۳۸۹) جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌هایی از علف‌های هرز حاشیه مزارع دارای نشانه‌های فیلودی، زردی و کپه‌ای و گیاهان یونجه دارای نشانه‌های جاروک نیز جمع‌آوری گردید. بوته‌های مختلف سیبزمینی در آزمایشگاه بر حسب منطقه نمونه‌برداری، رقم، نوع نشانه‌ها، وجود شانکر روی ساقه زیرزمینی و وجود پوسیدگی در ریشه تفکیک، و نمونه‌های ریشه برای بررسی عامل شانکر یا پوسیدگی و نمونه‌های برگ برای بررسی وجود نشانه‌های فیتوپلاسمایی و PLRV جداگانه نگهداری شدند.

بررسی نشانه‌های ریشه و جداسازی قارچ‌های عامل شانکر و پوسیدگی: نمونه‌های ریشه پس از شستشو با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم تجاری (وایتکس) ۵٪ به مدت پنج دقیقه

شد. شاخه‌های کوتاه جانبی برای پیوند مورد استفاده قرار گرفت و محل پیوندک با پارافیلیم بسته شده و گیاه پیوند شده به مدت یک هفته زیر پوشش پلاستیک قرار گرفت. گیاهان پیوند زده شده به مدت ۱ تا ۲ ماه نگهداری شده و پس از آن ظهور نشانه‌ها در آنها مورد بررسی قرار گرفتند.

انتقال با سس: بذرهای سس روی کاغذ صافی مرطوب درون تشتک قرار داده شدند و پس از جوانه‌زنی، روی بادنجان آلوده قرار گرفتند. پس از استقرار سس روی گیاهان آلوده بادنجان، شاخه‌هایی از سس روی گیاه سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی عاری از آلودگی پیوند شدند. پس از یک ماه، ارتباط بین گیاه سالم و آلوده قطع شده و گلدان‌های سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه به منظور بررسی ظهور نشانه‌ها نگهداری شدند.

بررسی وجود عامل فیتوپلاسمایی به روش PCR: همه نمونه‌های جمع‌آوری شده از مزارع مختلف در آزمون PCR به منظور بررسی وجود عامل فیتوپلاسمایی در آنها مورد بررسی قرار گرفتند. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، ۰/۳ گرم از بافت برگ و ریشه گیاهان دارای نشانه بیماری انتخاب و پس از شستشوی سطحی با مایع ظرفشویی رقیق شده و دوباره آبکشی با آب مقطر و خشک کردن نمونه‌ها انجام شد. بافت با استفاده از ازل مایع پودر شده و برای استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفت. استخراج DNA به روش Hot CTAB با تئیراتی انجام شد (۶). پودر حاصل از خرد کردن بافت در ازل مایع به لوله‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل و ۷۰۰ میکرولیتر بافر CTAB شامل (20 mM EDTA, 0.2 % 1% PVP, 100 mM Tris, pH 8 و 1.4mM NaCl و 2ME) به آن اضافه شد و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در دستگاه Dry (Hot) Block قرار داده و در حین نگهداری چند بار به هم زده شدند. به نمونه‌ها ۶۰۰ میکرولیتر مخلوط کلروفرم-ایزواکلیل الکل با نسبت ۲۴:۱ اضافه و به مدت ۲۰-۳۰ دقیقه روی یخ نگهداری و در این فاصله چند بار به هم زده شدند. نمونه‌ها در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند و روشن‌ترین به دقت، جدا شده و به لوله‌های جدیدی منتقل و به اندازه هم حجم محلول کشیده شده به آنها ایزوپروپانول کاملاً سرد (نگهداری شده در ۲۰- درجه سانتی‌گراد) اضافه شد. پس از نگهداری به مدت ۳۰ دقیقه روی یخ، به مدت ۱۲ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. فاز رویی دور ریخته شده و رسوب با اتانول ۸۰٪ شسته شده و پس از خشک شدن الکل در معرض هوا، به رسوب حاصل ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل اضافه شده و رسوب یک شب در یخچال نگهداری شد تا DNA حل شود. آماده نهایی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و برای استفاده در مراحل بعد نگهداری شد. آماده حاصل به عنوان Template در PCR مورد استفاده قرار گرفت. PCR به روش Nested-PCR با استفاده از آغازگرهای P1/P7 و سپس

R16F2n/ R16R2 انجام شد (۴، ۵، ۶ و ۹). واکنش PCR حجم کلی ۲۰ میکرولیتر (0.6 μl , 0.5 μl 10mM dNTP mix , 1μl Taq polymerase , 2μl 10 X buffer 50mM MgCl₂ , 25 pmol each primer , 1μl template DNA سترون تا رسیدن به حجم ۲۰ میکرولیتر) انجام شد. واکنش در دستگاه PCR مدل AutoQ Life Cyclor در ۳۵ سیکل (۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد (۵ دقیقه در اولین سیکل) ۶۰ ثانیه در ۵۸ درجه (۵۵ درجه سانتی‌گراد در دور دوم PCR) و ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد (۱۰ دقیقه در آخرین سیکل) انجام شد. محصول دور اول PCR به نسبت ۲:۸۰ رقیق شده و ۲/۵ میکرولیتر آن به عنوان Template در دور دوم استفاده شد. یک نمونه از گوجه‌فرنگی سالم رشد کرده در شرایط گلخانه به عنوان نمونه منفی و نمونه پروانش آلوده شده در گلخانه (تهیه شده از دکتر صالحی- مرکز تحقیقات کشاورزی فارس) به عنوان نمونه مثبت استفاده شد. محصول PCR در ژل آگاروز ۱٪ (الکتروفورز (در بافر TBE و ولتاژ ۸۰) شد و با محلول اتیدیوم بروماید (غلظت ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر درون آب مقطر) رنگ‌آمیزی شد و در دستگاه ژل داگومنتیشن ظهور باند مورد بررسی قرار گرفت (۶).

مقایسه جدایه‌های فیتوپلازما سیب‌زمینی و علف‌های هرز

حاشیه مزارع با روش RFLP

آزمون RFLP با برش محصول PCR دور دوم تکثیر شده با پرایمرهای R16F2n/R16R2 با ۷ آنزیم محدود کننده انجام شد. در این مرحله ۱۵ نمونه سیب‌زمینی (سه نمونه از استان همدان و ۱۲ نمونه از استان چهارمحال و بختیاری) متعلق به ارقام مختلف مناطق مختلف و دارای نشانه‌های مختلف انتخاب و مورد مقایسه قرار گرفتند. چهار نمونه یونجه دارای نشانه‌های جاروک، یک نمونه سنگ دارای نشانه‌های فیلودی، یک نمونه گوجه‌فرنگی دارای نشانه‌های فیلودی و تورم جوانه، یک نمونه گوجه‌فرنگی دارای پیچیدگی شدید برگ و کوتوله یک نمونه تاجریزی دارای نشانه‌های زردی و ریزبرگی مورد مقایسه قرار گرفتند. برش آنزیمی با استفاده از ۷ آنزیم محدود کننده شامل *KpnI* و *AluI* *MseI* *HhaI* *HaeIII* *HpaII* *RsaI* انجام شد. برای انجام برش آنزیمی، ۱۰ میکرولیتر محصول PCR، ۱-۲ میکرولیتر آنزیم (۱۰ یونیت)، ۲ میکرولیتر بافر ۱۰X و ۱۸ میکرولیتر آب مقطر سترون مخلوط و پس از به هم زدن نمونه به مدت ۲۴ ساعت (۳۸ ساعت برای *AluI*) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در دستگاه Dry Block نگهداری شد. محصول برش یافته در ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد درون بافر TBE و در ولتاژ ۸۰-۹۰ الکتروفورز شد و الگوی برش یافته جدایه‌های مختلف سیب‌زمینی و علف‌های هرز با یکدیگر و با الگوهای توصیف شده (۶ و ۱۰) مقایسه

پوسیدگی قارچی در قسمت ریشه همراه بودند که قارچ ریزوکتونیا بیشترین فراوانی را داشت. بوته‌های دارای پوسیدگی در قسمت ریشه و ساقه زیر زمینی به طور کلی دارای نشانه‌های غده‌های در قسمت قاعده و ساقه‌های بودند. در بررسی نمونه‌های دارای نشانه‌های ریشه از جمله شانکر ساقه زیرزمینی و پوسیدگی ریشه قارچ‌های *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani*، *Colletotrichum* sp. و *oxysporum* جدا شدند. مایه‌زنی قارچ‌های فوق در شرایط گلخانه به سیب‌زمینی منجر به مرگ و خشکیدگی بوته شده و بروز نشانه‌های سرارغوانی با تشکیل غده‌های دیده نشد. مایه‌زنی بوته‌هایی که دو ماه از سبز شدن آنها در شرایط گلخانه گذشته بود نیز منجر به مرگ بوته شد و نشانه‌های سرارغوانی یا سایر نشانه‌ها مشاهده شده در شرایط مزرعه ایجاد نشد. به نظر می‌رسد بروز چنان نشانه‌هایی تنها در شرایط مزرعه امکان‌پذیر باشد (شکل‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵).

وقوع آلودگی PLRV نیز در برخی بوته‌های دارای نشانه‌های سرارغوانی و ریزبرگی و لوله‌بری شدن انتهای دیده می‌شد که نشانه‌های آلودگی به این ویروس در ارقام مختلف تنوع نشان می‌دهد. در برخی بوته‌ها آلودگی همراه با زردی و زوال بوده و در برخی لوله‌بری شدن و سرارغوانی مشاهده شد. در هیچ موردی نشانه‌های تشکیل غده‌های در بوته‌های دارای آلودگی به این ویروس مشاهده نشد. نمونه‌های همراه با شانکر ساقه و پوسیدگی ریشه در انتقال با سس و پیوند در شرایط گلخانه به گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی هیچ‌گونه نشانه‌هایی در گیاهان سالم ایجاد نکرد. ولی نمونه‌های دارای آلودگی به PLRV قابلیت انتقال به سیب‌زمینی را داشت و نشانه‌های زردی و لوله‌بری خفیف در گلخانه در گیاهان پیوند شده ایجاد کرد. واکنش گیاهان پیوند شده در آزمون الیزا هم مثبت بود. آن دسته از نمونه‌های دارای نشانه‌های سرارغوانی و غده‌های در گیاه که فاقد هر گونه نشانه‌های شانکر ساقه زیرزمینی و پوسیدگی ریشه بودند و در آزمون الیزا هم با PLRV واکنش مثبت نداشتند، با سس و پیوند در شرایط گلخانه به گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی منتقل شدند. این گیاهان در سیب‌زمینی پیوند شده نشانه‌های مشخص زردی، ریزبرگی و لوله‌بری و سرارغوانی در شرایط گلخانه ایجاد کردند ولی تشکیل غده‌های در شرایط گلخانه مشاهده نشد. بررسی غده‌های حاصل از بوته‌های دارای نشانه‌های سرارغوانی، پس از سپری شدن دوره خواب نشان داد تنها تعداد محدودی از این غده‌ها نشانه‌های مویی شدن جوانه را نشان می‌دهد. این وضعیت می‌تواند به دلیل بروز این نشانه‌ها تنها در برخی از غده‌های حاصل از یک بوته آلوده باشد ولی انتخاب بوته‌ها بر حسب نشانه‌ها و عدم اطمینان از آلودگی به فیتوپلازما هم می‌تواند دلیل آن باشد.

بررسی نمونه‌های دارای نشانه‌های سرارغوانی با آزمون PCR به منظور ردیابی وجود عوامل فیتوپلازمایی با دو جفت پرایمر P1/P7 و

و گروه فیتوپلازما شناسایی گردید. از محصول برش یافته ۵ میکرولیتر با ۳ میکرولیتر Loading buffer و ۴ میکرولیتر آب مقطر مخلوط و درون هر چاهک ریخته شد. DNA ladder، ۱۰۰ bp به-عنوان مارکر استفاده شد. پس از الکتروفورز ژل در محلول ۰/۵ میکروگرم بر میلی لیتر اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و با دستگاه ژل داکومنیتیشن عکسبرداری شد. باند فیتوپلازمایی پس از تکثیر نمونه‌های دارای نشانه‌های سرارغوانی مربوط به استان فارس با پرایمرهای R16F2n/R16R2 خالص سازی شد و برای تعیین ترادف به شرکت سرویس دهنده (ماکروژن) ارسال شد. توالی مربوطه در پایگاه اطلاعاتی NCBI با سایر نمونه‌ها مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نمونه‌های سیب‌زمینی با نشانه‌های پژمردگی همراه با ریزبرگی، زرد یا ارغوانی برگچه‌های انتهایی، لوله‌ای شدن برگ‌ها و ظهور غده‌های هوایی در قسمت قاعده بوته نزدیک سطح خاک یا در جوانه‌های جانبی قاعده دمبرگ‌ها از مناطق مختلف استان‌های چهارمحال و بختیاری همدان و فارس جمع‌آوری و بررسی شدند. نشانه‌ها در رقم مارفونا بیشتر شامل ظهور غده‌های هوایی و زردی بوده و در اغلب بوته‌ها شانکر ساقه زیرزمینی هم دیده می‌شد اما کمتر نشانه‌های سرارغوانی قابل مشاهده بود. نشانه‌های بیماری در ارقامی نظیر اگریا، دیامونت، مارادونا، سانه، راجا، ناویتا و کوزیما سرارغوانی همراه با ظهور غده‌های هوایی کوچک در برخی بوته‌ها، ریزبرگی و رزت برگ‌های انتهایی و زوال و پژمردگی بوته بود. برخی ارقام نشانه‌های جاروک بوته، کپه‌ای، انبوه و مویی شدن ریشه داشتند. نشانه‌های متنوعی از جمله جاروک، فیلودی و ریزبرگی و کپه‌ای در علف‌های هرز حاشیه مزارع سیب‌زمینی از جمله قاصدک، شنگ، تاجریزی، ترب وحشی و گوش فیل جاروک و ریزبرگی در یونجه دیده‌شد. میزان شیوع نشانه‌های بیماری در مناطق مختلف متفاوت بود. نشانه‌های زردی و تشکیل غده‌های هوایی در رقم ناویتا در اواخر فصل رشد زیاد دیده شد. وجود آلودگی به قارچ ریزوکتونیا، سایر قارچ‌های عامل پوسیدگی ریشه (در نمونه‌های دارای نشانه‌های پوسیدگی ریشه)، PLRV و عوامل فیتوپلازمایی در نمونه‌های مختلف به طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان‌دهنده وقوع هر سه عامل در نمونه‌های دارای نشانه‌های سرارغوانی بود. برخی نمونه‌ها دارای نشانه‌های آلودگی توام به عوامل بیمارگر بودند. تعداد ۳۵ نمونه آلودگی توام به فیتوپلازما و قارچ، ۶ نمونه آلودگی توام به فیتوپلازما و ویروس و ۱۵ نمونه دارای آلودگی توام به ویروس PLRV و قارچ‌های مختلف بودند. پنج درصد نمونه‌ها با وجود نشانه‌های سرارغوانی و غده‌های فاقد آلودگی به هر سه عامل بیمارزا بودند. بیشترین تعداد نمونه‌های دارای نشانه‌های سرارغوانی و تشکیل غده‌های با

برگ‌ها و تشکیل غده‌های هوایی از لحاظ عامل در سه گروه آلوده به ویروس برگ قاشقی سیب‌زمینی، پوسیدگی ریشه (در بیشتر موارد قارچ رایزوکتونیا) و فیتوپلاسما قرار می‌گرفتند که در برخی نمونه‌ها آلودگی توام به عوامل فوق هم دیده می‌شد. آلودگی به عوامل فیتوپلاسمایی قبلاً نیز از استان‌های چهارمحال و بختیاری، اصفهان و همدان گزارش شده و میزان آلودگی تا ۱۵٪ بر اساس انتقال با پیوند برآورد شده است (۱).

R16F2n/R16R2 به روش nested-PCR صورت گرفت. در برخی نمونه‌ها یک باند ۱/۸ kb در دور اول PCR با پرایمرهای P1/P7 تکثیر شد ولی در برخی نمونه‌ها تنها در دور دوم (nested) یک باند به اندازه ۱/۲ kb تکثیر شده بود (شکل ۶). آلودگی PLRV در برخی بوته‌های جمع‌آوری شده دارای نشانه‌های لوله برگ‌گی و سرارغوانی شدن با آزمون الیزا ردیابی شد که در بیشتر این بوته‌ها نشانه‌های پژمردگی و غده هوایی دیده‌نمی‌شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده دارای نشانه‌های سرارغوانی با وجود داشتن نشانه‌های سرارغوانی شدن



شکل ۱- نشانه‌های همراه با نمونه‌های جمع‌آوری شده از مزرعه A: سرارغوانی، ریزبرگی و پژمردگی بوته B: پژمردگی بوته در اثر قارچ‌های مولد پوسیدگی ریشه C: زردی و ریز برگ‌گی همراه با ظهور غده‌های هوایی D: غده‌های هوایی E: رشد زیکزاک ساقه و تورم جوانه‌ها در قاعده دم‌برگ‌ها F: ریزبرگی، ارغوانی شدن برگ‌ها و زوال بوته

Figure 1- Symptoms with samples collected from the field, A: Purple, stunted and wilting of the plant, B: Plant wilting due to root rot fungi, C: Yellowing and stunting with the appearance of aerial tubers, D: Aerial tubers, E: Stem curly top growth and bud swelling at the base of the petioles, F: Stunted, purple leaves and plant decay



شکل ۲- A: شانکر روی ساقه زیرزمینی B: نشانه‌های پوسیدگی ریشه همراه با ظهور غده‌های هوایی در قاعده بوته C: پژمردگی، زردی و خشکیدگی برگ‌ها که عمدتاً در اثر عوامل قارچی مولد پوسیدگی ایجاد می‌شود

Figure 2- A: Canker on the underground stem, B: Symptoms of root rot associated with the appearance of aerial glands at the base of the plant, C: Wilting, yellowing and necrotic of leaves, which is mainly caused by fungal agents that cause rot



شکل ۳- نشانه‌های ایجاد شده توسط عوامل فیتوپلاسمایی. A: ریز برگ، پیچیدگی بوته، ارغوانی شدن برگ‌ها و ظهور غده‌های هوایی در قسمت‌های بالایی گیاه، B: غده‌های هوایی، C: رشد جوانه‌های قاعده دم‌برگ و ارغوانی شدن آنها، D: رشد غده‌های هوایی توام با پوسیدگی ریشه، E: چین‌دار شدن برگ و ارغوانی شدن آن، F: ریز برگ، تورم جوانه و فیلودی

Figure 3- Symptoms caused by phytoplasma agents, A: Stubby, plant curly top, purple leaves and the appearance of aerial tubers in the upper parts of the plant, B: Aerial tubers, C: The buds at the base of the petiole grow and turn purple, D: Aerial tubers growth associated with root rot, E: Wrinkles and purple leaves, F: Stubby, bud swelling and phyllody



شکل ۴- A: مویی شدن و انبوهی ریشه در بوته سیب‌زمینی رقم راجا آلوده به فیتوپلاسم، B: کوتولگی بوته (سمت راست) در مقایسه با گیاه سالم (سمت چپ)

Figure 4- A: Hair growth and root mass in potato plant of Raja cultivar infected with phytoplasma, B: dwarf (right) compared to healthy plant (left)

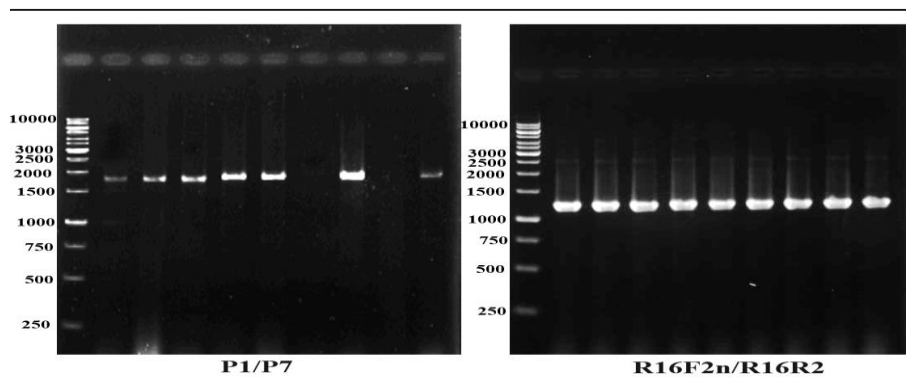


شکل ۵- نشانه‌های آلودگی به فیتوپلاسم در برخی علف‌های هرز حاشیه مزارع سیب‌زمینی A: فیلودی و ریزبرگی در شنگ (*Tragopogon graminifolius*) B: فیلودی و بد شکلی برگ‌ها و کوتولگی در علف هرز گوش فیل (*Conringia orientalis*)

Figure 5 - Symptoms of phytoplasma infection in some weeds on the margins of potato fields, A: Stubby and phyllody in Sheng (*Tragopogon graminifolius*), B: phyllody and deformed leaves and dwarfism in elephant ear weeds (*Conringia orientalis*)

فیلودی و یک نمونه گوش فیل با نشانه‌های فیلودی وریزبرگی انجام شد. مقایسه الگوهای برشی نشان داد حداقل دو گروه فیتوپلاسمایی در نمونه‌های سیب‌زمینی وجود داشت (شکل ۷). مقایسه این الگوها با الگوهای توصیف شده لی و همکاران (۱۹۹۸) نشان می‌دهد نمونه‌های سیب‌زمینی متعلق به گروه‌های (Aster yellows 16SrI-B (group و 16SrXII-A (Stolbur group) می‌باشند (۱۲) و (۱۳). نمونه‌های یونجه همگی دارای الگوی مشابه و متعلق به گروه 16SrXII-A (Stolbur group)، نمونه شنگ متعلق به گروه 16SrI-C (Aster yellows group-clover phyllody) و گوش فیل متعلق به گروه 16SrVI-A (Clover proliferation group) بودند (شکل ۸). نتایج این مقایسه و تشابه گروه آلوده‌کننده سیب‌زمینی با نمونه‌های فیتوپلاسمای یونجه نشان می‌دهد حداقل این گیاه می‌تواند منبع پایداری برای این بیماری محسوب شود. تعیین ترادف جدایه‌های فارس نیز همه جدایه‌های فیتوپلاسمای را در گروه 16SrII-A قرار داد. نمونه‌های استان همدان نیز همگی در گروه 16SrXII-A قرار گرفتند.

نتایج مطالعه اخیر نشان می‌دهد نشانه‌های توصیف شده مربوط به حداقل دو گروه فیتوپلاسمایی، PLRV و قارچ‌های خاکزاد به‌ویژه رایزوکتونیا می‌باشد که قارچ رایزوکتونیا و فیتوپلاسمای اهمیت بیشتری دارند. بیشترین میزان آلودگی به قارچ رایزوکتونیا در رقم مارفونا دیده می‌شد به نظر می‌رسد این رقم بیشترین حساسیت بین ارقام تجاری موجود به این قارچ را داشته‌باشد و عامل اصلی بروز علائم تشکیل غده‌های در این رقم آلودگی به *Rhizoctonia* است ولی در سایر ارقام عوامل فیتوپلاسمایی و قارچی به نسبت تقریباً مساوی در بروز پژمردگی سرارغوانی نقش دارند. آلودگی به PLRV کمترین میزان فراوانی در بروز نشانه‌های سرارغوانی را دارد. هیچ موردی از همراهی این ویروس با نشانه‌های تشکیل غده‌های دیده‌نشده. مقایسه الگوهای برشی محصول PCR تکثیر شده با پرایمرهای R16F2n/R16R2 با ۷ آنزیم محدود کننده برای ۱۵ نمونه انتخابی سیب‌زمینی با نشانه‌های مختلف سرارغوانی، زردی، تشکیل غده‌های و کپه‌ای، چهار نمونه یونجه با نشانه‌های جاروک از چهار منطقه استان چهارمحال و بختیاری، یک نمونه شنگ با نشانه‌های



شکل ۶- قطعه تکثیر شده به اندازه ۱/۸kb در برخی نمونه‌های سیب‌زمینی با استفاده از آغازگرهای P1/P7 (چپ) و قطعه تکثیر شده ۱/۲ kb در مرحله nested با آغازگرهای R16F2n/R16R2 با استفاده از PCR. لاین ۱، kb DNA Ladder، لاین ۲-۱۰، نمونه‌های سیب‌زمینی دارای نشانه‌های سرارغوانی

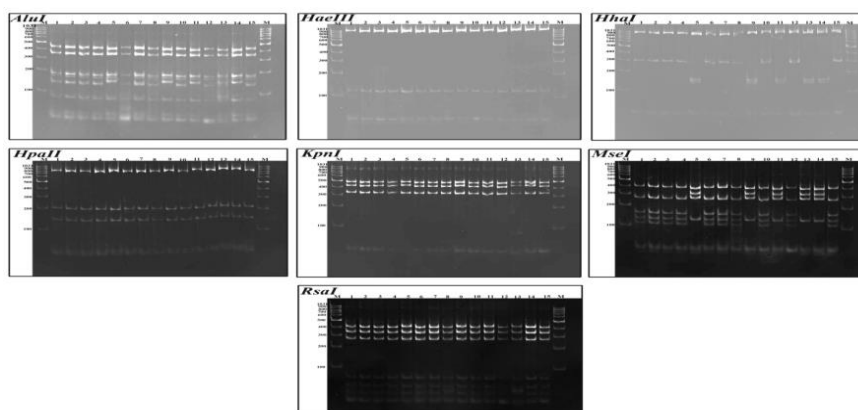
Figure 6- Duplicated piece to size 1.8 kb In some samples of potato using primers P1/P7(left) and duplicated piece 1.2 kb In the nested stage with primers R16F2n/R16R2 usage PCR line1, kb DNA Ladder, line 2-10, Potato samples with purple top symptoms

فیتوپلاسمای نشان می‌دهد علاوه بر فیتوپلاسمای PLRV و رایزوکتونیا، قارچ‌های دیگر نیز می‌توانند در بوته‌های آلوده نشانه‌های سرارغوانی و غده‌های هوایی ایجاد کنند. تشکیل غده‌های هوایی در قسمت‌های بالا و قاعده دمبرگ‌ها به همراه تورم جوانه و سرارغوانی، بیشتر مربوط به نشانه‌های فیتوپلاسمای و تشکیل غده‌های در قاعده بوته نزدیک خاک به همراه نشانه‌های پژمردگی بیشتر مربوط به عوامل پوسیدگی ریشه از جمله قارچ *Rhizoctonia* است. آلودگی PLRV همراه با لوله‌ای شدن برگ‌ها و ریز برگ‌های انتهایی و سرارغوانی شدن بدون تشکیل غده‌های هوایی است. چنین نتایجی در

نتایج این بررسی نشان داد که عوامل فیتوپلاسمایی، PLRV و قارچ رایزوکتونیا می‌توانند سبب پژمردگی همراه با سرارغوانی شدن بوته، زردی، ریزبرگی، کپه‌ای، انبوه شدن ریشه‌ها و ظهور غده‌های هوایی در محل انشعاب دمبرگ‌ها یا در قاعده بوته در ارقام مختلف سیب‌زمینی شوند. اگرچه نتایج مایه‌زنی قارچ‌های جدا شده از ساقه زیرزمینی و ریشه بوته‌های سیب‌زمینی دارای نشانه‌های ذکر شده منجر به پدید آمدن نشانه‌های مزرعه‌ای نشد و تنها باعث خشک شدن بوته‌ها گردید ولی همراهی این قارچ‌ها با بوته‌های دارای نشانه‌های بیماری و عدم آلودگی این بوته‌ها به سایر عوامل از جمله

هیچگونه آلودگی به عوامل فیتوپلاسمایی، قارچ ریزوکتونیا و سایر قارچ‌های عامل پوسیدگی و PLRV نشان ندادند که نشان می‌دهد عوامل دیگری از جمله عوامل محیطی یا برخی آفات می‌توانند با اختلال در روند انتقال مواد غذایی به ریشه چنین نشانه‌هایی ایجاد کنند. فراوانی بالای آلودگی توام به فیتوپلاسم و ویروس با عوامل قارچی در نمونه‌های بررسی شده نیز می‌تواند به دلیل ایجاد حساسیت و ضعف در سیستم ریشه پس از آلودگی به عوامل فیتوپلاسمایی و PLRV و افزایش میزان پوسیدگی ریشه در اثر عوامل قارچی باشد.

سایر نقاط دنیا نیز به دست آمده‌است (۱۲ و ۱۷). حساسیت ارقام مختلف به این عوامل متفاوت است اما به نظر می‌رسد دلیل عمده زردی و تشکیل غده‌های هوایی در برخی ارقام نظیر مارفونا قارچ ریزوکتونیا باشد. آلودگی به فیتوپلاسم در برخی ارقام نظیر ناویتا منجر به ظهور نشانه‌های غنچه درشت (big bud) و کوتلگی بوته و در برخی ارقام نظیر راجا و سانتانا، کپه‌ایی و انبوه شدن ریشه‌هاست. برخی ارقام نظیر ناویتا حساسیت بالایی به فیتوپلاسم‌ها نشان می‌دهند و شدت آلودگی در این رقم در منطقه بروجن زیاد بود. برخی بوته‌ها دارای نشانه‌های شاخص سرارغوانی و غده هوایی مورد بررسی



شکل ۷- الگوی RFLP قطعه ۱/۲ kb تکثیر شده با پرایمرهای R16F2n/R16R2 پس از برش با آنزیم‌های محدودکننده *RsaI*، *HpaII*، *HaeIII*، *HhaI*، *MseI*، *AluI* و *KpnI* نمونه‌های انتخابی سیب‌زمینی. نمونه‌های ۱-۳ متعلق به استان همدان دارای علائم سرارغوانی و غده‌های هوایی (Stolbur group-Celery yellows, 16SrXII-A)، نمونه‌های ۵، ۹ و ۱۳ دارای نشانه‌های زردی، ریز برگ و غده هوایی بدون سرارغوانی و نمونه‌های ۱۱ و ۱۴ سیب‌زمینی دارای نشانه‌های کوتلگی و ریز برگ همراه با مویی شدن و انبوهی ریشه متعلق به استان چهارمحال و بختیاری (Aster yellows group, 16SrI-B) و نمونه‌های ۷، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۵ دارای نشانه‌های پژمردگی سرارغوانی همراه با ریز برگ و غده‌های هوایی کوچک در قاعده دم‌برگ‌ها (Stolbur group-Celery yellows, 16SrXII-A). M=100bp DNA ladder, Fermentas.

Figure 7- RFLP pattern of kb 1/2 amplified with R16F2n / R16R2 primers after cutting with restriction enzymes *RsaI*, *HpaII*, *HaeIII*, *HhaI*, *MseI*, *AluI* and *KpnI* Sample Selected Potatoes. Sample 1-3 belonging to Hamedan province with symptoms of purple top and airial tuber (Stolbur group-Celery yellows, 16SrXII-A). Examples 5, 9, and 13 have symptoms stulborn and airial tuber without purple top symptoms and Samples 11 and 14 of Potato have dwarf symptoms and stulborn along with hairy and rooted belong to Chaharmahal and Bakhtiari province (Aster yellows group, 16SrI-B) and samples 4, 6, 7, 8, 10, 12 and 15 with wilting symptoms of purple top and stulborn at the base of the petioles) Stolbur group-Celery yellows, 16SrXII-

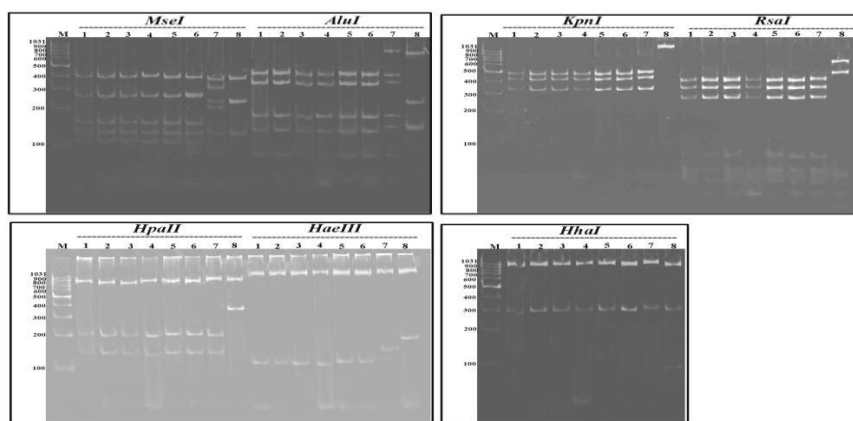
A. (M=100bp DNA ladder, Fermentas

گرفتند. وجود تشابه گروه فیتوپلاسمایی نمونه‌های یونجه و سیب‌زمینی نشان می‌دهد گیاه یونجه می‌تواند منبع پایداری فیتوپلاسم‌های سیب‌زمینی محسوب شود. وجود نشانه‌های متنوعی از جمله ریز برگ و زردی در گیاهان علف هرز دائمی احتمال وجود عوامل فیتوپلاسمایی مرتبط با فیتوپلاسم‌های سیب‌زمینی در این گیاهان را نشان می‌دهد. این گیاهان می‌توانند منبع پایداری برای فیتوپلاسم‌های سیب‌زمینی محسوب شوند که تحقیقات بیشتری می‌تواند در این زمینه انجام گیرد. اگر چه فیتوپلاسم‌های سیب‌زمینی

عوامل فیتوپلاسمایی متعددی از سیب‌زمینی با نشانه‌های سرارغوانی، تشکیل غده هوایی، پژمردگی و لوله برگ شدن، متعلق به گروه‌های 16SrI، 16SrII، 16SrVI، 16SrXII از مناطق مختلف دنیا گزارش شده است (۴، ۱۱، ۱۲ و ۱۳). نتایج این تحقیق هم وجود فیتوپلاسمی متعلق به گروه‌های 16SrI-B، 16SrII-A و 16SrXII-A را در سیب‌زمینی دارای نشانه‌های سرارغوانی نشان می‌دهد که نمونه‌های استان‌های فارس در گروه 16SrII-A و نمونه های استان‌های چهارمحال و بختیاری و همدان در دو گروه دیگر قرار

که در شرایط خشکسالی اپیدمی‌های این بیماری در ارقام حساس - سیب‌زمینی مشاهده شود. وقوع آلودگی بالای رقم ناپیتا در منطقه بروجن در استان چهارمحال و بختیاری در سال ۱۳۸۶ نیز می‌تواند به همین دلیل بوده باشد. با توجه به یکسان بودن گروه فیتوپلاسمایی سیب‌زمینی و یونجه به نظر می‌رسد این گیاه می‌تواند منبع پایداری عمده‌ای برای سیب‌زمینی محسوب شود، به همین دلیل بهتر است مزارع سیب‌زمینی به فاصله مناسب از مزارع یونجه کاشته شوند هر چند قدرت مهاجرت و حرکت زنجبرک بالا بوده و تا چند کیلومتر می‌تواند حرکت کنند. علی‌رغم تشابه نشانه‌های سرارغوانی و تشکیل غده‌های هوایی در مزارع سیب‌زمینی، این بیماری توسط عوامل فیتوپلاسمایی، PLRV و قارچ رایزوکتونیا ایجاد می‌شود که در مدیریت آن بایستی عامل بیماری شناسایی گردد.

در اغلب موارد نمی‌توانند توسط غده منتقل شوند ولی در برخی گروه‌های فیتوپلاسمایی چنین انتقالی دیده شده است (۵). وجود انتقال برخی گروه‌های فیتوپلاسمایی با غده لزوم توجه بیشتر به این بیماری در توده‌های بذری سیب‌زمینی را نشان می‌دهد. همچنین وجود عوامل فیتوپلاسمایی متعلق به گروه‌های دیگر در دنیا (با توجه به واردات بذر سیب‌زمینی) لزوم توجه به قرنطینه در این زمینه را ضروری می‌سازد. عوامل فیتوپلاسمایی عمدتاً توسط زنجبرک و در پاره‌ای موارد پسپیل‌ها انتقال می‌یابند (۱۶). انجام تحقیقات بیشتر در زمینه ناقل یا ناقلین عوامل فیتوپلاسمایی و شناسایی منابع پایداری و تکثیر این عوامل در مدیریت بیماری ضروری به نظر می‌رسد. طغیان زنجبرک در شرایط خشکی و مهاجرت آنها به سیب‌زمینی باعث بروز اپیدمی‌های این بیماری در برخی نقاط دنیا شده است (۱۶). با توجه به خشک بودن مناطق تولید سیب‌زمینی در ایران این احتمال وجود دارد



شکل ۸- الگوی RFLP قطعه ۱/۲ kb تکثیر شده با پرایمرهای R16F2n/R16R2 پس از برش با آنزیم‌های محدودکننده *RsaI*، *HpaII*، *HaeIII*، *HhaI*، *MseI*، *AluI* و *KpnI* علف‌های هرز و یونجه حاشیه مزارع سیب‌زمینی. نمونه ۱-۴، یونجه دارای نشانه‌های جاروک و ریز برگی (Stolbur group-Celery yellows, 16SrXII-A)، نمونه ۵ گوجه‌فرنگی دارای نشانه‌های فیلودی و نمونه ۶ گوجه‌فرنگی دارای نشانه‌های پیچیدگی و بد شکلی برگ (Stolbur group-Celery yellows, 16SrXII-A)، نمونه ۷ شنگ دارای نشانه‌های جاروک و فیلودی (Aster yellows group- Clover phyllody, 16SrI-C) و نمونه ۸ علف هرز گوش‌فیل دارای نشانه‌های فیلودی و ریزبرگی (Clover proliferation group-Clover proliferation, 16SrVI-A) M=100 bp DNA ladder, Fermentas.

Figure 8- RFLP pattern of kb 1/2 amplified with R16F2n / R16R2 primers after cutting with restriction enzymes *RsaI*, *HpaII*, *HaeIII*, *HhaI*, *MseI*, *AluI* and *KpnI* Sample Selected Weeds and alfalfa on the margins of potato fields. Example 1-4, alfalfa with symptoms of witches broom and stulborn (Stolbur group-Celery yellows, 16SrXII-A) sample 5 tomatoes with phyllody symptoms and sample 6 tomatoes with leaf roll (Stolbur group-Celery yellows, 16SrXII-A), Sample 7 Sheng with witches broom and phyllody (Aster yellows group- Clover phyllody, 16SrI-C) and sample 8 Earphone weeds have phyllody and stulborn (Clover proliferation group-Clover proliferation, 16SrVI-A) M=100 bp DNA ladder, Fermentas.

منابع

- Balali Gh., Danesh D., and Phylsuf F. 1986. Wilt of potato purple top in Iran. Summary of Articles of the 8th Iranian Plant Protection Congress. Esfahan, Iran. (In Persian)
- Bienkowski D., Stewart A., Falloon R.E., Braithwaite M., Loguercio L.L., and Hicks E. 2010. A disease assay for *Rhizoctonia solani* on potato (*Solanum tuberosum*). New Zealand Plant Protection 63: 133-137.
- Borges M., and Lourdes V. 1972. Mycoplasma and potato disease. Potato Research 15: 187-199.
- Clark M.F., and Adams A.N. 1977. Characterization of microplate method of enzyme linked immunosorbent assay

- for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34:475-483.
5. Crosslin J. M., Hamlin L. L., Buchman J.L., and Munyaneza J.E. 2011. Transmission of potato purple top phytoplasma to potato tubers and daughter plants. *American Journal of Potato Research* 88: 339-345.
6. Ember I., Munyaneza J.E., and Crosslin J.M. 2011. Survey and molecular detection of phytoplasmas associated with potato in Romania and southern Russia. *European Journal of Plant Pathology* 130(3): 367-377.
7. Girsova N.V., Bottner K.D., Kastalyeva T.B., Mozhaeva K.A., Owens R.A., and Lee I.M. 2008. Identification of phytoplasma species associated with potato diseases in Russia. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* 73(2): 331-333.
8. Girsova N.V., Bottner-Parker K.D., Meshkov Y.I., Mozhaeva K.A., Kastalyeva T.B., and Lee I.M. 2016. Diverse phytoplasmas associated with potato stolbur and other related potato diseases in Russia. *European Journal of Plant Pathology* 145: 139-153.
9. Himeno M., Kitazawa Y., Yoshida T., Maejima K., Yamaji Y., Oshima K., and Namba S. 2014. Purple top symptoms are associated with reduction of leaf cell death in phytoplasma-infected plants. *Scientific Reports* 4: 4111.
10. Hosseini P., Bahar M., Madani G., and Zirak L. 2011. Molecular characterization of phytoplasmas associated with potato purple top disease in Iran. *Journal of Phytopathology* 159: 241-246.
11. Jung H.Y., Hahm Y.I., Lee. J.K, Hibi T., and Namba S. 2003. Characterization of phytoplasma associated with witch's broom disease of potato in Korea. *Journal of General plant Pathology* 69:87-89.
12. Kumari S., Nagendran K., Rai A. B., Singh B., Rao G.P., and Bertaccini B. 2019. Global Status of Phytoplasma Diseases in Vegetable Crops. *Front. Microbiology*. Available at <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01349>.
13. Lee I.M., Bottner K.D., Secor G., and Rivera-Varas V. 2006. Candidatus *Phytoplasma americanum*, a phytoplasma associated with a potato purple top wilt disease complex. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56: 1593-1597.
14. Lee I.M., Bottner K.D., and Sun M. 2009. An emerging potato purple top disease caused by a new 16SrIII group phytoplasma in Montana. *Plant Disease* 93: 574-583.
15. Menzies J.D., and Gidding N.J. 1953. Identity of potato curly top and green dwarf. *Phytopathology* 43: 684-686.
16. Munyaneza J.E., and Henne D.C. 2013. Leafhopper and Psyllid Pests of Potato. *Insect Pests of Potato*.
17. Singh A., Prasad S.S., and Nagaich B.B. 1985. Host range of yellows pathogens of potato. *Indian Phytopathology* 38: 497-501.
18. Woodhalla J.W., Leesb A.K., Edwardsa S.G., and Jenkinsona P. 2007. Characterization of *Rhizoctonia solani* from potato in Great Britain. *Plant Pathology* 56: 286-295.



Survey of Frequency of some Pathogens Associated with Potato Purple Top Disease

A. Bagheri^{1*}- Gh. Babaei²

Received: 13-02-2020

Accepted: 12-07-2020

Introduction: Several pathogens, including fungal, viral, and prokaryotic agents, can cause disease in potatoes. Purple top disease associates with the formation of air glands, stubborn, leaf rolling, in potato fields is visible and several pathogens has reported reported to be the cause of this disease. Potato leaf roll virus, purple top wilt Phytoplasma and *Rhizoctonia solani* fungi are the most important agents. Plants in response to pathogen infection, show a wide range of symptoms. Symptoms of purple or purple leaves usually indicate contamination of the host plant with phytoplasmic agents.

Materials and Methods: Symptoms of purple top wilt, stubborn, yellowing and leaf rolling, witches broom, big bud and formation of aerial tubers were observed in potato fields of Chaharmahal Va Bakhtiari, Hamedan and Fars provinces during 2006-2011. Some samples also showed symptoms of root rot and stem canker, Wilting accompanied by stubborn, color change of the yellow leaves or purple, leaf rolling and formation of aerial tubers at the base of the plant near the surface of the soil or in the lateral buds of the base of the petioles and of course, it was different in different cultivars. Symptoms of disease in the Marfona variety, mostly include the formation of aerial tubers and yellow leaves, and in the most of plants stolon canker was also seen. In Agria, Diamont, Maradona, Sante, Raja, Navita, and Kozima varieties, symptoms of purple top accompanied formation of aerial tubers in some plants were stubborn the witches broom and wilt. In some other cultivars, symptoms of witches broom, rosette and hairy of the roots were observed. Symptoms of disease also weeds in the margins of potato fields. Symptoms of witches broom, phyllody, stubborn and rosette in Dandelion (*Taraxacum officinalis*), Salsify (*Tragopogon graminifolius*), Black night shade (*Solanum nigrum*), Wild raddish (*Raphanus raphanistrum*), hare's ear mustard (*Conringia orientalis*) and witches broom and stubborn in alfalfa were observed. Scales of symptoms varied in different regions depending on the region and sampling time. Symptoms of purple top and formation of aerial tubers at the end of the season. Yellowing symptoms and the formation of aerial tubers in the Navita cultivar in the late growing season has reached to 40% in some areas.

Results and Discussion: 460 samples tested by ELISA against PLRV, PCR (using P1/P7 followed R16F2n/R16R2 universal primers) for presence of phytoplasma and cultured on PDA for isolation of fungi caused root rot and canker. Investigation showed presence of phytoplasmas, fungi and PLRV with abundance of 136, 245 and 61 (28.7, 53.25 and 13.2 %) respectively. Most of the symptoms caused by phytoplasmas and *Rhizoctonia* have a symptom of purple top and aerial tubers. Association of PLRV in some cases produced symptoms of leaf roll and purpling. Aerial tuber formation and purple top symptoms in different potato cultivars were seen in various ratio, while fungal and phytoplasmas agent were main casual agents in Marfona and Navita cultivars, respectively. From the samples of potato with roots and stems of rot and canker symptoms, fungi *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *F.oxysporom* and *Colletotrichum* sp. isolated that 32.9% of the infection was related to *Rhizoctonia* and 20.3% was related to other fungi. Inoculation of these fungi in greenhouse conditions caused potato plants to cause plant death and drying out, and no symptoms of purple top or aerial tuber formation were observed. It seems that occurrence of such symptoms is possible only in farm conditions. Plants that showed purple top, stubborn, and rolling of the end leaves were infected with PLRV, the symptoms of the virus are varied in many varieties. In some plants, disease is accompanied by yellowing and degeneration and in some leaf roll and purple top were observed. In no case, the symptoms of the aerial tuber formation in plants that were infected with the virus were not observed. In transfer with dodder and grafting to tomatoes and potatoes, samples with stem canker and root rot did not cause any symptoms in healthy plants. But those examples were no symptoms of purple top and aerial tuber in the plant that did not show any symptoms of stolon and rooting of root canker and in the ELISA test, they did not respond positively to PLRV, tomatoes and potatoes were transplanted in greenhouse conditions with dodder and grafting. Potato plants have shown graft symptoms of yellow, stubborn, leaf roll and purple top in greenhouse conditions, but the formation of the aerial

1- Assistant, Plant Protection Research Department, Hamedan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Hamedan, Iran

(*- Corresponding Author Email: bagherisa78@gmail.com)

2- Assistant of Professor, Plant Protection Research Department, Chahar Mahal Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Chahar Mahal Bakhtiari, Iran

tuber was not observed in greenhouse conditions. After dormancy the tubers from plants with symptoms of purple top showed only a small number of these tuber showing symptoms of hairy sprouting. This condition can only be infected in some tubers from an infected plant due to the occurrence of these symptoms but the selection of plants in terms of symptoms and the uncertainty of infection with phytoplasma can be a reason. These two pathogen group caused purple top and aerial tuber formation in other potato cultivars in different region with various ratio. The PCR products of R16F2n/R16R2 from phytoplasma detected in potato, alfalfa and weeds samples were used in restriction fragment length polymorphism, RFLP, by digestion with *AluI*, *HaeIII*, *HhaI*, *RsaI*, *KpnI*, *MseI* and *Hae III* restriction enzymes. Results indicated presences of two distinct phytoplasma group in potato samples (16SrI-B and 16SrXII-A) and 16SrXII-A phytoplasma from Alfalfa samples, 16SrI-C from salsify (*Tragopogon graminifolius*) and 16SrVI-A from here's ear cabbage (*Conringia orientalis*). Contamination of different agents were seen also in some samples. This is the first report of presence of phytoplasma group 16SrI-B and 16SrXII-A in potato in Iran.

Conclusions: Despite the similarities between the symptoms of purple top and the formation of air glands in potato fields, the disease is caused by phytoplasmic agents, PLRV, and rhizoctonia fungi, in its management, the cause of the disease should be identified.

Keywords: PCR, Phytoplasma, PLRV, Purple top, RFLP

مقاله علمی-پژوهشی

ردیابی ژنهای *Rdg1a* و *mlo* در جو برای مقاومت به بیماری‌های لکه قهوه‌ای نواری و سفیدک پودری

محبوبه خلیلی^۱ - امین میرشمسی کاخکی^{۲*} - رضا اقنوم^۳ - علیرضا سیفی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۹

چکیده

بیماری‌های سفیدک پودری (*Blumeria graminis* f.sp. *hordei*) و لکه قهوه‌ای نواری (*Pyrenophora graminea*) از جمله بیماری‌های مهم قارچی جو در ایران می‌باشند و شناسایی ارقام مقاوم یکی از اقتصادی‌ترین و کارآمدترین روش‌ها برای کنترل این بیماری‌ها می‌باشد. این تحقیق، با هدف ردیابی ال‌های مقاومت *Rdg1a* و *mlo-11* در جمعیت F₂ حاصل از تلاقی والد مقاوم RIL-27 با رقم حساس یوسف انجام شد. ابتدا ارزیابی ژنوتیپی با استفاده از نشانگر HVCSG برای ال‌های مقاومت *Rdg1a* انجام گردید و به ترتیب در نمونه‌های مقاوم و حساس قطعاتی به اندازه‌ی ۷۰۵ و ۴۸۰ جفت باز تکثیر شدند همچنین جهت بررسی ال‌های مقاومت *mlo* از نشانگرهای *mlo-6* و *mlo-10* استفاده شد این نشانگرها قطعاتی به اندازه‌ی ۴۴۰ جفت باز از ژن *mlo* (ال‌های مقاومت) و ۳۸۰ جفت باز از ژن *MLO* (ال‌های حساسیت) را تکثیر کردند. نتیجه‌ی واکنش والدین و جمعیت F₂ در برابر آلودگی به بیمارگر لکه قهوه‌ای نواری نشان داد که شدت بیماری در نمونه‌های مقاوم دارای ال‌های مقاومت *Rdg1a* خیلی پایین است. در بررسی واکنش این نمونه‌ها به بیمارگر سفیدک پودری جو، لاین L94 به دلیل حضور ال‌های مقاومت *mlo-11* فاقد علائم بیماری بود که احتمالاً ناشی از تأثیر این ال در ایجاد مقاومت است. به طور کلی نتایج حاصل از ارزیابی ژنوتیپی به پتانسیل نشانگرهای *mlo-6* و *mlo-10* برای شناسایی ال‌های مقاومت *mlo-11* در لاین‌های انتخابی اشاره می‌کند. نشانگر HVCSG از کارایی پایینی برخوردار بود که لازم است با طراحی نشانگر مولکولی مناسب ژنوتیپ‌های مقاوم را شناسایی کرد.

واژه‌های کلیدی: سفیدک پودری، گزینش به کمک نشانگر، لکه قهوه‌ای نواری

مقدمه

بیماری سفیدک پودری یا سفیدک حقیقی جو نیز توسط انگل اجباری *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* در نواحی مرطوب و نیمه خشک جهان ایجاد می‌شود (۱۳). قارچ عامل بیماری سفیدک پودری قادر است با ایجاد پرگنه‌هایی به رنگ سفید تا خاکستری بر روی اندام‌های هوایی گیاه باعث کاهش سطح فتوسنتز، افزایش میزان تنفس و تعرق و در نهایت باعث کاهش عملکرد دانه، وزن دانه و پروتئین دانه شود (۱).

استفاده از منابع مقاومت ژنتیکی در مقابل بیماری‌های گیاهی یک روش اقتصادی و سازگار با محیط زیست برای کنترل این بیماری‌ها است (۲۷). در برابر بیماری لکه قهوه‌ای نواری تاکنون دو نوع مقاومت کامل یا نژاد اختصاصی^۵ و مقاومت نسبی^۶ گزارش شده است. مقاومت اختصاصی ایجاد شده توسط ژن *Rdg* (*Rdg2a*) و *Rdg1a* سطح بالایی از مقاومت را در برابر عامل بیماری لکه

بیماری‌های سفیدک پودری و لکه قهوه‌ای نواری از جمله بیماری‌های مهم قارچی جو در ایران هستند که همه ساله خسارت کمی و کیفی به این محصول وارد می‌کنند. بیماری لکه قهوه‌ای نواری جو، یک بیماری بذر زاد و تک چرخه‌ای است که توسط انگل نیمه اجباری *Pyrenophora graminea* Ito & Kurib در بسیاری از مناطق کشت جو ایجاد شده و سبب عقیمی سنبله‌ها، نکروزه شدن برگ‌ها و کاهش شدید عملکرد می‌شود (۵).

۱، ۲ و ۴- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیاران، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*) نویسنده مسئول: Email: mirshamsi@um.ac.ir

۳- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

5- Race specific resistance
6- Partial resistance

قهوه‌ای نواری نشان داده است (۶).

منشأ این مقاومت ال *Rdg1a* از گیاه *Hordeum laevigatum* (گونه *H. spontaneum*) به تعدادی از ارقام جو اروپائی منتقل شده است که مقاومت پایداری را در برابر دو جدایه بیمارگر لکه قهوه‌ای نواری (Dg2-Dg5) در شرایط آلودگی مصنوعی و در مزرعه نشان داده است (۵). این ال توسط تامسون و همکاران (۳۱) حد فاصل نشانگرهای Msu21 و Xris45b بر روی بازوی بلند کروموزوم 2H شناسایی شد.

از سال ۱۹۰۷ که بیفن مطالعات مربوط به ژنتیک مقاومت به بیماری سفیدک پودری جو را آغاز کرده است تا کنون بیش از یکصد ژن مقاومت^۱ که مقاومت آنها از نوع نژاد- اختصاصی^۲ بوده و بر اساس فرضیه ژن- برای- ژن^۳ عمل می‌کنند، شناخته شده و در برنامه‌های به نژادی جو بطور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است. اصلاح برای مقاومت به بیماری بر اساس استفاده از منابع ژنی، ساده‌تر و سریعتر از سایر روش هاست. در عین حال استفاده از این نوع مقاومت فقط برای یک دوره زمانی کوتاه، معمولاً ۳ تا ۵ ساله، پس از معرفی رقم مقاوم در سطح وسیع، کارایی دارد (۱۲). اغلب ارقام مقاوم به سفیدک پودری جو معمولاً در طول چند سال پس از کشت در سطح وسیع به علت ظهور نژادهای فیزیولوژیک جدید در جمعیت قارچ عامل بیماری بی اثر شده‌اند (۸). ژن مقاومت به سفیدک پودری *mlo* اولین بار در سال ۱۹۴۲ در جهش‌یافته‌های جو که در معرض اشعه ایکس قرار گرفته بودند، کشف شد. از آن زمان تاکنون حدود ۳۲ ال مختلف این ژن (*mlo1-mlo32*) در جو به روش استفاده از مواد القا کننده جهش، شناسایی شده است. علاوه بر آن در اوایل دهه ۱۹۷۰ یک جهش‌یافته طبیعی این ژن در یک توده بومی جو جمع‌آوری شده از ایتوپیی شناسایی گردید (۱۷). مقاومت ژنی ایجاد شده بوسیله این ژن که علیه همه نژادهای فیزیولوژیک شناخته شده سفیدک پودری مقاوم است با وجود استفاده در تعداد زیادی از ارقام تجاری تاکنون پایدار مانده است. در حال حاضر مقاومت *mlo* که از طریق موتاسیون در ارقام جو ایجاد شده است، یکی از مهم‌ترین منابع مقاومت در برابر سفیدک پودری در ارقام جو می‌باشد (۷). هرمی کردن ژن‌های مقاومت می‌تواند یک راهبرد مناسب برای اصلاح و ایجاد ارقام مقاوم به بیماری سفیدک پودری و لکه قهوه‌ای باشد. بطور کلی این فرایند طولانی و پرهزینه است، ولی با این حال هرمی کردن ژن‌ها، براساس MAS^۴ می‌تواند تجمع ژن‌های مؤثر را در داخل یک لاین تسهیل کند (۱۷). تاکنون مطالعات بسیاری در جو انجام شده است که برای

گزینش هر کدام از منابع مقاومت نشانگرهای مولکولی را توسعه دادند و سپس از این ژن‌ها جهت ایجاد مقاومت پایدار^۵ هرمی در ارقام جو استفاده کردند (۹، ۲۳، ۲۸، ۳۲ و ۳۰). بنابراین با توجه به ضرورت ایجاد ارقام مقاوم و پایدار، این تحقیق با هدف بررسی نشانگرهای مولکولی کارآمد پیوسته با ال‌های مقاومت *Rdg1a* و *mlo-11* به ترتیب برای دو بیماری سفیدک پودری و لکه قهوه‌ای نواری جهت استفاده در MAS اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

این تحقیق، بر روی جمعیت F₂ که حاصل از تلاقی لاین RIL-27 (*Rdg1amlo*) به عنوان والد مقاوم (دارای ال‌های مقاومت *mlo-11*, *Rdg1a*) با رقم داخلی یوسف (*rdg1aMLO*) بعنوان والد حساس (دارای ال‌های حساسیت *MLO*, *rdg1a*) است، انجام شد. لاین RIL27، یکی از ۱۰۳ لاین نوترکیبی^۶ است که از تلاقی رقم جو پیشرفته اروپائی Vada و لاین L94 بومی ایتوپیی در دانشگاه واخنینگن هلند توسعه یافته است (۲۱). رقم Vada دارای ال مقاومت *Rdg1a* بر روی بازوی بلند کروموزوم 2H است (۱۵). همچنین در لاین L94 ال مقاومت *mlo-11* بر روی بازوی بلند کروموزوم 4H قرار گرفته است (۲۶). رقم افضل که حساس به بیماری سفیدک پودری است برای تولید اینوکولوم قارچ سفیدک پودری مورد استفاده قرار گرفت. جهت ارزیابی واکنش مقاومتی ارقام و لاین‌های مورد استفاده در برابر دو بیماری لکه قهوه‌ای نواری و سفیدک پودری به ترتیب از مایه دو جدایه قارچی بیماری‌زای Pyg-Mashhad-96 و PM-Mashhad-95 که از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی تهیه شده بود، استفاده شد.

استخراج DNA و ارزیابی ژنوتیپی جمعیت F₂

DNA ژنومی گیاهان مورد بررسی از برگ‌های سالم و غیرآلوده در مرحله دو برگ براساس روش CTAB استخراج شد (۱۰). سپس کمیته و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از نانودراپ (Thermoscientific (USA)) و بارگذاری روی ژل آگارز ۱٪ مورد بررسی قرار گرفت. از نشانگر، HVCSG که در سال ۲۰۱۰ توسط بایسلی و همکارانش (۵) براساس توالی EST برنج برای شناسایی ال مقاومت *Rdg1a* در جمعیت RIL حاصل از تلاقی Vada×L94 توسعه یافته بود، استفاده شد (جدول ۱). همچنین نشانگرهای *mlo-6* و *mlo-10* برای شناسایی ال مقاومت *mlo-11* مورد استفاده قرار

1- Resistance gene

2- Race-specific

3- Flor gene -for -gene hypothesis

4- Marker Assisted Selection

5- Durable resistance

6- Recombinant Inbred Line

گرفتند (جدول ۱). این نشانگرها در سال ۲۰۱۰، توسط رین استادلر و همکارانش (۲۴) برای بررسی عملکرد ال‌های موتانت *mlo* استفاده شدند.

جدول ۱- توالی آغازگرهای رفت و برگشت تکثیر کننده ژن‌های مقاومت *Rdg1a* و *mlo-11*

Table 1- Sequence of forward and reverse amplification primers of *Rdg1a* and *mlo-11* resistance genes

نشانهگر (Marker)	آغازگر رفت 5' → 3' (Forward primer)	آغازگر برگشت 5' → 3' (Reverse primer)	طول قطعه (Length) bp
HVCSG	CCTTCTCGACCGTTTATCTTCGT CATG	CTGCAGGGCTGCTTCAATGAGC	705
<i>mlo-6</i>	CATCTACTACTAGCATGTACC	-	380
<i>mlo-10</i>	-	GTCCTGCCACCTAAGTAGCAG	440

محیط کشت PDA منتقل گردید. پس از هیجده روز که میسیلیوم‌های قارچ کل پتری را فراگرفتند بذور استریل والدین و جمعیت برروی محیط کشت حاوی قارچ قرار گرفت و در نهایت با اسکالپل لایه‌ی دیگری از قارچ برروی بذور قرار داده شد و به مدت بیست روز در شرایط تاریکی در دمای ۶ درجه سانتیگراد برای جوانه‌زنی بذور نگهداری شد (۲۱).

ارزیابی فنوتیپی در برابر قارچ *B. graminis*

جهت ارزیابی علایم بیماری سفیدک پودری، ۳۰ نمونه بذر F_2 و ۴ والد Vada، L94، RIL-27 و یوسف در آزمایشگاه بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی کشت شدند و در مرحله‌ی گیاهچه‌ای مطابق با روش اقنوم و نیکس (۴) آلوده شدند.

نتایج و بحث

بررسی و تایید ال مقاومت *Rdg1a*

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز انجام شده در والدین با استفاده از نشانگر HVCSG، قطعاتی با اندازه‌های ۷۰۵ و ۴۸۰ جفت بازی را تکثیر نمود. شکل ۱ تایید حضور ال مقاومت *Rdg1a* را در دو والد Vada و RIL-27 و عدم حضور ال مقاومت را در دو والد L94 و یوسف نشان می‌دهد. این نشانگر تنها یک قطعه‌ی ۷۰۵ جفت بازی (۴۵۰ تا ۵۲۰) از توالی کدکننده‌ی ژن Shalcone synthase را تکثیر می‌کند (۵). نتیجه حاصله در تایید حضور ال مقاومت و اندازه‌ی قطعات تکثیر شده، با آنچه بایسلی و همکارانش در سال ۲۰۱۰ نشان دادند، مطابقت دارد.

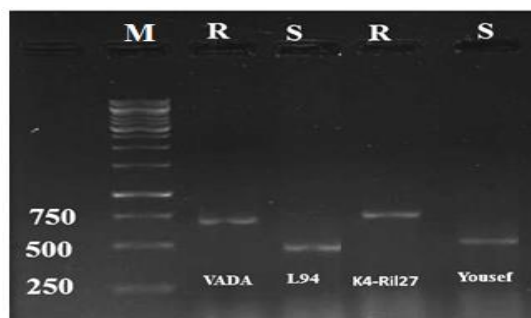
جهت تکثیر قطعات ۷۰۵، ۴۴۰ و ۳۸۰ جفت بازی توسط نشانگرهای HVCSG، *mlo-6* و *mlo-10* واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۵ میکرولیتر برای هر واکنش با استفاده از بافر آنزیم (با غلظت نهایی ۱X)، ۰/۳۴ پیکومول بر میکرولیتر از هر آغازگر برای نشانگر HVCSG و ۰/۴ پیکومول بر میکرولیتر برای نشانگرهای *mlo-6* و *mlo-10* یک واحد از آنزیم Taq DNA polymerase، غلظت ۰/۲ میلی‌مولار dNTP، غلظت ۲ میلی‌مولار کلرید منیزیم و ۲۵۰-۲۰۰ نانوگرم از DNA نمونه در دستگاه ترموسایکلر انجام شد. چرخه‌های دمائی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز جهت تکثیر قطعات به صورت ذیل بودن: چهار دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد (واسرشت اولیه)؛ ۴۰ چرخه شامل ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد (واسرشت)، ۳۰ ثانیه دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد (اتصال آغازگرها) و ۸۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد (سنتز) و در نهایت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای سنتز نهایی در نظر گرفته شد.

بررسی واکنش جمعیت F_2 به بیمارگرها

جهت ارزیابی فنوتیپی، جمعیت F_2 به دو جمعیت کوچک با ۳۰ نمونه برای ارزیابی فنوتیپی در برابر دو عامل بیماری‌زای *B. graminis* و *P. graminea* تقسیم شدند. آزمون بیماری‌زایی انجام شد و تعداد نمونه‌های حساس و مقاوم شمارش شدند.

ارزیابی فنوتیپی در برابر قارچ *P. graminea*

جهت ارزیابی علایم بیماری لکه قهوه‌ای نواری، ۳۰ نمونه بذر جمعیت F_2 به همراه ۳ والد Vada، L94 و یوسف با جدایه‌ی قارچی بیمارزای *P. graminea* به روش ساندویچ آلوده شدند. ابتدا نمونه‌های کوچکی از میسیلیوم‌های ایزوله‌ی قارچ گرفته شد و به



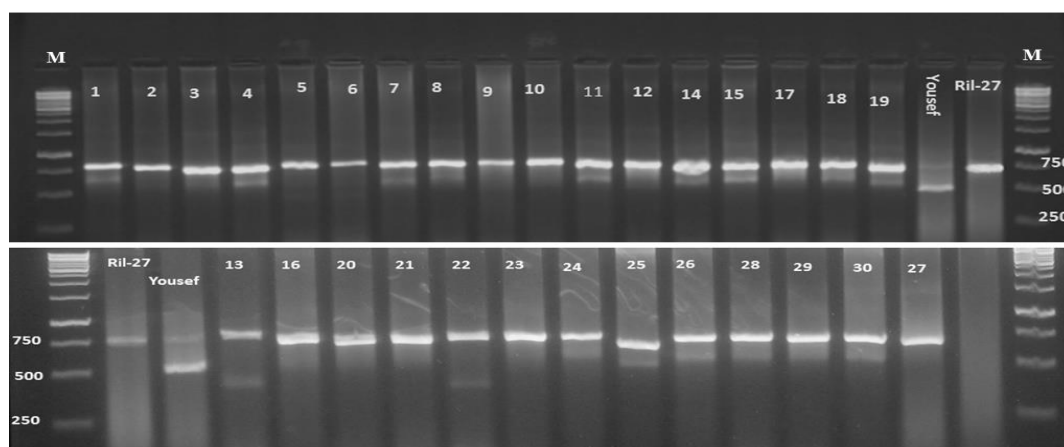
شکل ۱- چندشکلی در نشانگر HVCSG در سه رقم Vada، L94، یوسف و لاین RIL-27 (R- حضور الل مقاومت S- عدم حضور الل مقاومت M- نشانگر استاندارد ۱Kb شرکت فرمنتاز)

Figure 1- The polymorphism of the HVCSG marker in three varieties Vada, L94, Yousef and RIL-27 line (R- Resistance S- Susceptible M- Marker size 1Kb of Fermentas Company)

Vada به عنوان والد دهنده الل مقاومت *Rdg1a* است، و همچنین هدف نقشه یابی الل مقاومت *Rdg1a* است، مورد استفاده قرار بگیرد (۵). اما در این تحقیق نتایج این نشانگر در جمعیت F_2 با آنچه بایسلی و همکارانش (۵) بیان کردند کاملاً مغایرت دارد. نتایج حاصل شده، نشان می‌دهد نشانگر HVCSG از کارایی پایینی برخوردار است.

ارزیابی ژنوتیپی جمعیت F_2 برای حضور الل مقاومت *Rdg1a*

شکل ۲ نتیجه‌ی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز را جهت ارزیابی ژنوتیپی در جمعیت F_2 نشان می‌دهد. نشانگر HVCSG قطعاتی با اندازه‌ی ۷۰۵ جفت باز را در نمونه‌های جمعیت F_2 تکثیر نمود. براساس مطالعات انجام شده، نشانگر HVCSG (ناحیه‌ی تکثیری این نشانگر) می‌تواند در گزینش جمعیت‌های در حال تفرق که در آنها رقم



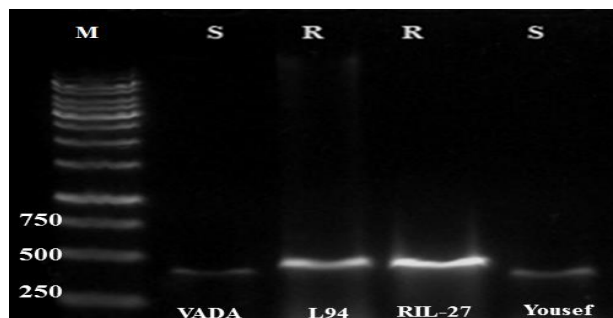
شکل ۲- باندهای تکثیر شده در والدین و جمعیت F_2 توسط نشانگر HVCSG بر روی ژل آگارز ۲٪ M- نشانگر استاندارد ۱Kb شرکت فرمنتاز

Figure 2- Amplicated bands in parents and F_2 population by HVCSG marker on agarose gel 2% M- - Marker size 1Kb of Fermentas Company

قطعه‌ای به طول ۳۸۰ جفت بازی هستند. اندازه‌ی قطعات تکثیر شده (۴۴۰ جفت باز از ژن *mlo-11* و ۳۸۰ جفت باز از ژن *MLO*) با نتایج رین استادلر و همکاران (۲۴)، که در آن برای بررسی حضور الل *mlo-11* در ارقام بومی از نشانگرهای *mlo-6* و *mlo-10* استفاده کردند، مطابقت داشت.

بررسی و تایید الل مقاومت *mlo-11*

نتیجه‌ی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز جهت بررسی حضور الل مقاومت *mlo-11* در والدین نشان داده شده است (شکل ۳). همانطور که در شکل ۳ مشخص است L94 و RIL-27 والدین مقاوم و دارای قطعه‌ای به طول ۴۴۰ جفت بازی و یوسف و Vada والدین حساس با



شکل ۳- چند شکلی در نشانگر *mlo-6* و *mlo-10* در سه رقم Vada، L94، یوسف و لاین RIL-27 (R- حضور ال مقاومت S- عدم حضور ال مقاومت M- نشانگر استاندارد ۱Kb شرکت فرمنتاز)

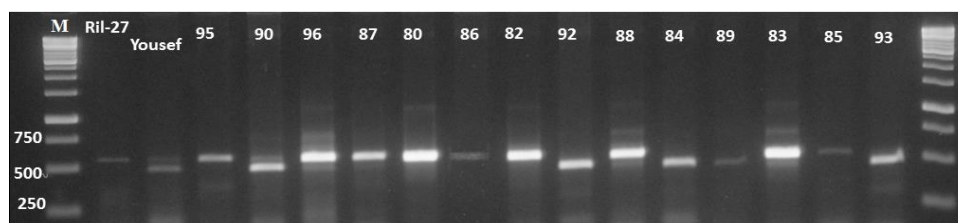
Figure 3- The polymorphism of the *mlo-6* and *mlo-10* marker in three varieties VADA, L94, Yousef and RIL-27 line (R- Resistance S- Susceptible M- Marker size 1Kb of Fermentas company)

داده شده است و در آن که نمونه‌های مقاوم دارای قطعات ۴۴۰ جفت بازی و نمونه‌های حساس دارای قطعات ۳۸۰ جفت بازی هستند.

ارزیابی ژنوتیپی جمعیت F_2 برای حضور ال مقاومت *mlo*-

11

نتیجه‌ی حاصل از ارزیابی ژنوتیپی جمعیت F_2 در شکل ۴ نشان



شکل ۴- باندهای تکثیر شده در والدین و جمعیت F_2 توسط نشانگر *mlo-6* و *mlo-10* بر روی ژل آگارز ۲٪ M- نشانگر استاندارد ۱Kb شرکت فرمنتاز (حضور ال مقاومت *mlo* در نمونه‌های گیاهی شماره ی ۹۵، ۹۶، ۸۷، ۸۰، ۸۶، ۸۲، ۸۸ و ۸۳ و عدم حضور ال مقاومت در نمونه‌های گیاهی ۹۲، ۹۳، ۸۴ و ۸۹)

Figure 4- Amplicated bands in parents and F_2 population by *mlo-6* and *mlo-10* marker on agarose gel 2% M- Marker size 1Kb of fermentas company (The presence of resistance allele *mlo* in plant samples with numbers 95, 96, 87, 80, 86, 82, 88, 83 and absence of resistance allele in plant samples with numbers 92, 84, 89, 93)

دو والد مقاوم RIL27 و Vada به دلیل داشتن ال مقاومت *Rdg1a* با درصد خیلی کم علایم بیماری لکه قهوه‌ای نواری را نشان دادند (شکل ۵). در ۳۰ نمونه‌ی جمعیت F_2 (۲۱ نمونه‌ی مقاوم و ۹ نمونه‌ی حساس) جهت تعیین اختلاف بین نتایج مشاهده شده و قابل انتظار در مقابل عامل قارچی *P. graminea* آزمون کای مربع برای تشخیص نسبت (۳:۱) انجام شد. ($X^2=0.05$ ، $P\text{-value}>0.05$) (جدول ۲). آریو و همکارانش (۲) بیان کردند که Vada به دلیل حضور ژن مقاومت درصد خیلی کمی حدود ۷٪ از علایم بیماری را نشان می‌دهد. بایسلی و همکارانش (۵) نیز میزان آلودگی والد Vada را به میزان ۲٪ گزارش نمودند.

ارزیابی فنوتیپی در برابر قارچ *B. graminis*

علایم بیماری پس از انجام آزمون بیماری‌زایی با قارچ *B. graminis*، در والد یوسف به صورت نقاط کرکی سفیدرنگ بر روی

ارزیابی واکنش مقاومتی والدین و جمعیت F_2 به بیمارگرها

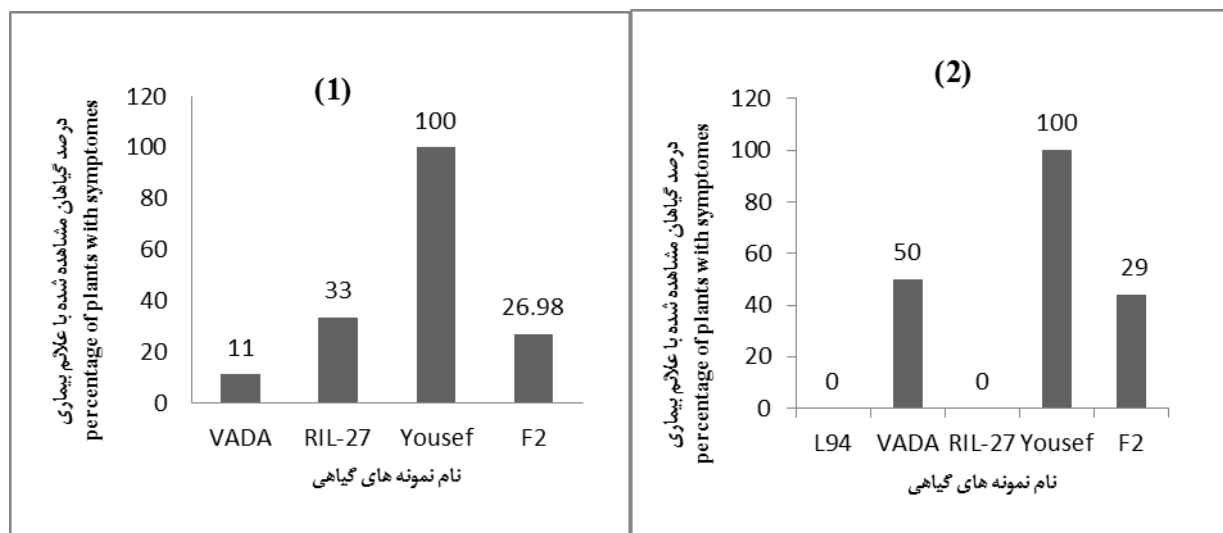
تعداد بوته‌های سالم و آلوده پس از ظهور علایم بیماری شمارش شدند و درصد بیماری بوته‌های آلوده مشخص شد (شکل ۵).

واکنش مقاومتی در برابر قارچ *P. graminea*

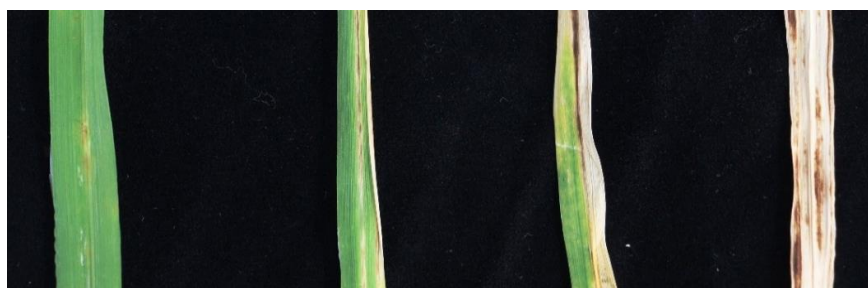
بذرهای جوانه زده‌ی حاصل از آزمون بیماری‌زایی جهت ارزیابی فنوتیپی کشت شدند. آلودگی صد درصدی رقم یوسف به عنوان والد حساس با قارچ *P. graminea* موفقیت آزمون بیماری‌زایی را نشان داد. در سایر نمونه‌ها ۲۴ روز پس از کشت، علایم بیماری لکه قهوه‌ای نواری در مرحله ی پنج برگی پدیدار شد. ابتدا بر روی برگ‌های آلوده یک نوار زرد کم‌رنگ ظاهر شد و اکثر برگ‌هایی که بعد از آن تشکیل شدند علایم بیماری را نشان دادند. سپس نوارهای زرد رنگ بر روی برگ‌های آلوده به حالت نکروتیک درآمد به یکدیگر پیوستند و سبب مرگ برگ شدند (شکل ۶).

همکارانش (۳۱) در سال ۱۹۹۷ بیان کردند که این ژن در نزدیکی ال مقاومت *Rdg1a* قرار گرفته است. واکنش این ژن در برابر عامل بیماری سفیدک پودری به صورت اختصاصی است و سبب مرگ سلولی می‌شود. علت ایجاد علایم نکروزه در رقم Vada با نتایج گزارش شده در مطالعات قبلی قابل توجیه است.

سطح برگ مشاهده شد. در رقم Vada به صورت نقاط کرکی سفیدرنگ و نقاط نکروزه مشاهده شد. L94 و RIL-27 که هر دو دارای ژن مقاومت *mlo-11* بودند علایمی از بیماری را نشان ندادند (شکل ۸). علایم نکروزه مشاهده شده در والد Vada می‌تواند ناشی از ژن مقاومت *MI(La)* باشد. ژن *MI(La)* در سال ۱۹۹۳ توسط گیز و همکارانش (۱۵) بر روی کروموزوم ۲ نقشه یابی شد. تامسون و



شکل ۵- ۱) درصد بیماری‌زایی با قارچ *P. graminea* در والدین و جمعیت F₂ ۲) درصد بیماری‌زایی با قارچ *B. graminis* در والدین و جمعیت F₂
Figure 5- 1) Percentage of pathogenicity with *P. graminea* fungi in parents and F₂ population 2) percentage of pathogenicity with *B. graminis* in parents and F₂ population



شکل ۶- روند گسترش علایم بیماری لکه قهوه‌ای نواری بر روی یکی از نمونه‌های جمعیت F₂
Figure 6- The process of spreading symptoms of leaf stripe disease on one of the F₂ population



شکل ۷- علایم موجود بر روی برگ ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به بیماری لکه قهوه‌ای نواری در جمعیت F₂ (۱- ژنوتیپ مقاوم (R) ۲- ژنوتیپ حساس (S))
Figure 7- Symptoms on leaves of resistance and susceptible genotype in F₂ population (1- resistance genotype (R) 2- susceptible genotype (S))



شکل ۸- عدم ظهور علائم بیماری سفیدک پودری در دو رقم L94 و RIL-27 و ظهور علائم کرکی، نکروزه در رقم Vada و علائم کرکی سفیدرنگ در رقم یوسف (R- ژنوتیپ مقاوم S-ژنوتیپ حساس)

Figure 8- The absence of symptoms of powdery mildew disease in two cultivars L94 and RIL-27 and appearance of powdery, necrotic symptoms in Vada and white powdery symptoms in Yousef (R- Resistant genotype S-Susceptible genotype)

ی لاین‌های والدی، به جز L94 که ژن مقاومت *mlo* را حمل می‌کند علائم بیماری را نشان می‌دهند. شاتایا و همکارانش (۲۶) تعدادی از این ناحیه‌های ژنی را در جمعیت RIL حاصل از تلاقی دو والد L94×VADA در برابر دو بیماری سفیدک پودری و سوختگی برگ جو شناسایی کردند و عکس‌العمل هر کدام از والدین را برابر این دو عامل بیماری‌زا در طی دو سال ۲۰۰۳ و ۲۰۰۴ ارزیابی کردند. آنها بیان کردند که رقم L94 علایمی از بیماری سفیدک پودری را به دلیل حضور ژن *mlo* در سال‌های ۲۰۰۳ و ۲۰۰۴ نشان ندادند در حالی که درصد آلودگی رقم Vada در سال ۲۰۰۳، ۱۴٪ و در سال ۲۰۰۴، ۴٪ بود. علاوه بر این بیان کردند با وجود داشتن ژن مقاومت *Mla* امکان ابتلا به بیماری سفیدک پودری در رقم Vada وجود دارد. که نتایج حاصل از ارزیابی فنوتیپی در این تحقیق نیز با نتایج گزارش شده در مطالعات قبلی قابل توجیه است. محققین از نشانگرهای CAPS برای گزینش همزمان ژن‌های مقاومت *Mla* و *Rph7* که به ترتیب باعث ایجاد مقاومت در برابر بیماری‌های سفیدک پودری و زنگ نواری در جو می‌شدند، استفاده کردند و به اهمیت این نشانگرها در هرمی کردن ژن‌های مقاومت در برنامه‌های اصلاحی جو اشاره کردند (۳۰). همچنین نشانگرهای CAPS را برای تمیز دادن ال‌های *rym4* و *rym5* ایجاد کننده مقاومت در برابر ویروس زرد موزائیک جو در ژن *Hv-eIF4E* توسعه دادند و به این ترتیب به اهمیت توسعه‌ی نشانگرهای مولکولی کارآمد و تأثیر مفید آن بر روی برنامه‌های اصلاح جو اشاره کردند (۲۹). در مطالعه‌ای گزارش کردند

پس از مشاهده‌ی علائم بیماری، نمونه‌ها براساس علائم امتیازبندی شدند. سپس در ۳۰ نمونه‌ی جمعیت F₂ (۲۰ نمونه‌ی مقاوم و ۷ نمونه‌ی حساس) جهت تعیین اختلاف بین نتایج مشاهده شده و قابل انتظار در مقابل عامل قارچی *B. graminis* آزمون کای مربع برای تشخیص نسبت (۳:۱) انجام شد. $P = X^2 - 0.12$ ، $value > 0.05$ (جدول ۲). L94 یک رقم بومی ایتوپی است، با دانه‌هایی به رنگ سیاه و بدون پوشش که به دلیل دارا بودن ال مقاومت *mlo* به بیماری سفیدک پودری مقاوم است (۲۶).

جمعیت F₂ براساس حضور و عدم حضور ال مقاومت علائم مختلفی نشان دادند. در جمعیت نمونه‌های دارای ال مقاومت علائم کلروزه و نکروزه خفیف داشتند و آنهایی که ال مقاومت را نداشتند علائم نکروزه و کرکی مشاهده شد. در نمونه‌های دارای ال مقاومت *mlo-11* ظهور علائم نکروزه می‌تواند به علت حضور ژن مقاومت *Ml(La)* و همچنین تظاهر متفاوت (اثرات پلیوتروپی) ژن *mlo* باشد. شینچن و همکاران (۳۳) بیان کردند که ژن‌های *mlo* که در اثر عوامل موتاسیون‌زا و خودبه‌خودی ایجاد می‌شوند می‌تواند تظاهر متفاوتی داشته باشد و همچنین ظهور علائم نکروزه بر روی برگ‌های گیاهان دارای ژن مقاومت *mlo-11* می‌تواند به دلیل اثر همپوشانی ژن *mlo* با سایر QTL ها باشد. اکتوم و همکاران (۳)، لوکوس‌های مسئول صفات کمی مرتبط با مقاومت ایجاد شده در مقابل عامل بیماری سفیدک پودری را نقشه‌یابی کردند و گزارش کردند که همه

که MAS می‌تواند در گزینش غیرمستقیم مقاومت جو نسبت به ویروس کوتولگی زرد جو BYDV در برنامه‌ی تلاقی برگشتی موثر باشد. برای نشان دادن این موضوع ژن *Yd2* از طریق دو چرخه تلاقی برگشتی به کمک نشانگر (YLM) به ارقام حساس جو منتقل شد. و به این ترتیب به کاربرد MAS در برنامه‌های تلاقی برگشتی اشاره کردند (۱۶).

جدول ۲- نتیجه‌ی ارزیابی فنوتیپی برای پاسخ به بیماری‌های سفیدک پودری و لکه قهوه‌ای نواری و ارزیابی ژنوتیپی برای حضور ال‌های *Rdg1a* و *mlo-11*

Table 2- The result of phenotypic evaluation for response to powdery mildew and leaf stripe and genotyping evaluation for the presence of *Rdg1a* and *mlo-11* alleles

نام نمونه F ₂ (Sample name F ₂)	شاخص بیماری DI (Disease index)	گزینش به کمک نشانگر توسط HVCSSG نشانگر (MAS by HVCSSG marker)	نام نمونه F ₂ (Sample name F ₂)	شاخص بیماری DI (Disease index)	گزینش به کمک نشانگر توسط مارکر <i>mlo</i> (MAS by <i>mlo</i> Marker)
1	0	R	70	0	R
2	0	R	71	0	R
3	0	R	72	0	R
4	0	R	73	0	R
5	0	R	74	0	R
6	1	R	75	0	R
7	1	R	76	0	R
8	1	R	77	0	S
9	0	R	78	0	S
10	1	R	79	1	R
11	0	R	80	0	R
12	0	R	81	0	R
13	1	R	82	0	R
14	0	R	83	0	R
15	0	R	84	1	S
16	0	R	85	1	R
17	0	R	86	0	R
18	0	R	87	0	R
19	0	R	88	0	R
20	0	R	89	1	S
21	1	R	90	0	S
22	0	R	91	1	R
23	0	R	92	1	S
24	1	R	93	1	S
25	0	R	94	0	R
26	1	R	95	0	R
27	1	R	96	1	R
28	0	R			
29	0	R			
30	0	R			

دهند که این نشانگرها را می‌توان برای شناسایی ال‌ مقاومت و همچنین کوتاه کردن مدت زمان برنامه‌های اصلاحی جو به کار برد. به طور کلی با معرفی نشانگرهای مولکولی کارآمد و شناسایی منابع ژنتیکی متفاوت در برابر بیماری‌های گیاهی و هرمی کردن منابع مقاومت، می‌توان به ارقام مقاوم دسترسی پیدا کرد و از مصرف روز افزون سموم شیمیایی جهت کنترل بیمارگر جلوگیری کرد.

امروزه برای شناسایی منابع مقاومت و اصلاح ژنتیکی از نشانگرهای مولکولی به عنوان ابزار جدیدی برای افزایش کارایی برنامه‌های اصلاحی استفاده می‌شود. از بین نشانگرهای HVCSSG، *mlo-6* و *mlo-10* که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند، نشانگرهای *mlo-6* و *mlo-10* توانستند در بین نمونه‌های حساس و مقاوم به خوبی تفرق نشان

منابع

1- Arru L., Niks R., Lindhout P., Vale G., Francia E., and Pecchioni N. 2002. Genomic regions determining resistance

- to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) in barley. *Genome* 45(3): 460-466.
- 2- Aghnoum R., Marcel T. C., Johrde A., Pecchioni N., Schweizer P., and Niks R. E. 2010. Basal host resistance of barley to powdery mildew: connecting quantitative trait loci and candidate genes. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 23(1): 91-102.
- 3- Aghnoum R., and Niks R.E. 2011. Transgressive segregation for very low and high levels of basal resistance to powdery mildew in barley. *Journal of plant physiology*, 168(1), 45-50.
- 4- Biselli C., Urso S., Bernardo L., Tondelli A., Tacconi G., Martino V., Grando S., and Valè G. 2010. Identification and mapping of the leaf stripe resistance gene *Rdg1a* in *Hordeum spontaneum*. *Theoretical and Applied Genetics* 120(6): 1207-1218.
- 5- Bulgarelli D., Biselli C., Collins N.C., Consonni G., Stanca A.M., Schulze-Lefert P., and Valè G. 2010. The CC-NB-LRR-type *Rdg2a* resistance gene confers immunity to the seed-borne barley leaf stripe pathogen in the absence of hypersensitive cell death. *PLoS One* 5(9): e12599.
- 6- Baker S., Newton A., and Gurr S. 2000. Cellular characteristics of temporary partial breakdown of mlo-resistance in barley to powdery mildew. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 56(1): 1-11.
- 7- Czembor J.H. 2000. Resistance to powdery mildew in populations of barley landraces from Morocco. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47(4): 439-449.
- 8- Castro A.J., Chen X., Hayes P.M., and Johnston M. 2003. Pyramiding quantitative trait locus (QTL) alleles determining resistance to barley stripe rust. *Crop Science* 43(2): 651-659.
- 9- Chen A., Brülé-Babel A., Baumann U., and Collins N.C. 2009. Structure-function analysis of the barley genome: the gene-rich region of chromosome 2HL. *Functional & Integrative Genomics* 9(1), 67-79.
- 10- Doyle J.J., and Dickson E.E. 1987. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis. *Taxon* 715-722.
- 11- Dreiseitl A., and Bockelman H.E. 2003. Sources of powdery mildew resistance in a wild barley collection. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50(4): 345-350.
- 12- Dreiseitl A., Dinor A., and Kosman E. 2006. Virulence and diversity of *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* in Israel and in the Czech Republic. *Plant Disease* 90(8): 1031-1038.
- 13- Francia E., Tacconi G., Crosatti C., Barabaschi D., Bulgarelli D., Dall'Aglia E., and Valè G. 2005. Marker assisted selection in crop plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 82(3): 317-342.
- 14- Giese H., Holm-Jensen A., Jensen H., and Jensen J. 1993. Localization of the Laevigatum powdery mildew resistance gene to barley chromosome 2 by the use of RFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics* 85(6-7): 897-900.
- 15- Jefferies S., King B., Barr A., Warner P., Logue S., and Langridge P. 2003. "Marker-assisted backcross introgression of the Yd2 gene conferring resistance to barley yellow dwarf virus in barley." *Plant Breeding* 122(1): 52-56.
- 16- Jørgensen J.H. 1992. Discovery, characterization and exploitation of Mlo powdery mildew resistance in barley. *Breeding for disease resistance*, Springer 152-141.
- 17- Jørgensen J.H., and Wolfe M. 1994. Genetics of powdery mildew resistance in barley. *Critical Reviews in Plant Sciences* 13(1): 97-119.
- 18- Joshi R.K., and Nayak S. 2010. Gene pyramiding-A broad spectrum technique for developing durable stress resistance in crops. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews* 5(3): 51-60.
- 19- Kang W.H., Hoang N.H., Yang H.B., Kwon J.K., Jo S.H., Seo J.K., and Kang B.C. 2010. Molecular mapping and characterization of a single dominant gene controlling CMV resistance in peppers (*Capsicum annuum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 120(8): 1587-1596.
- 20- 1- Kiesling R. 1985. The diseases of barley. *Barley*: 269-312.
- 21- Pecchioni N., Faccioli P., Toubia-Rahme H., Valè G. and Terzi, V. 1996. Quantitative resistance to barley leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) is dominated by one major locus. *Theoretical and applied genetics* 93(1-2): 97-101.
- 22- Qi X., Stam P., & Lindhout P. 1998. Use of locus-specific AFLP markers to construct a high-density molecular map in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 96(3-4): 376-384.
- 23- Riedel C., Habeku B.A., Schliephake E., Niks R., Broer I., and Ordon F. 2011. Pyramiding of *Ryd2* and *Ryd3* conferring tolerance to a German isolate of Barley yellow dwarf virus-PAV (BYDV-PAV-ASL-1) leads to quantitative resistance against this isolate. *Theoretical and Applied Genetics* 123(1): 69.
- 24- Reinstädler A., Müller J., Czembor J.H., Piffanelli P., and Panstruga R. 2010. Novel induced mlo mutant alleles in combination with site-directed mutagenesis reveal functionally important domains in the heptahelical barley Mlo protein. *BMC Plant Biology* 10(1): 31.
- 25- Sharma T. 2003. "Molecular diagnosis and application of DNA markers in the management of fungal and bacterial plant diseases." *Indian journal of Biotechnology* 2(1): 99-109.
- 26- Shtaya M., Marcel T., Sillero J., Niks R., and Rubiales D. 2006. Identification of QTLs for powdery mildew and scald resistance in barley. *Euphytica* 151(3): 421-429.
- 27- Stein N., Prasad M., Scholz U., Thiel T., Zhang H., Wolf M., and Graner A. 2007. A 1,000-loci transcript map of

- the barley genome: new anchoring points for integrative grass genomics. Theoretical and Applied Genetics, 114(5), 823-839.
- 28- Scholz M., Ruge-Wehling B., HabekuB A., Schrader O., Pendinen G., Fischer K., and Wehling P. 2009. *Ryd4Hb*: a novel resistance gene introgressed from *Hordeumbulbosum* into barley and conferring complete and dominant resistance to the barley yellow dwarf virus. Theoretical and Applied Genetics 119(5): 837-849.
- 29- Sedlacek T., Marik P., and ChrPová J. 2010. Development of CAPS marker for identification of *rym4* and *rym5* alleles conferring resistance to the barley yellow mosaic virus complex in barley. Czech J Genet Plant Breed 46(4): 159-63.
- 30- Sedláček T., and Stemberková L. 2010. Development of a molecular marker for simultaneous selection of *Rph7* gene and effective *Mla* alleles in barley. Cereal Research Communications 38(2): 175-183.
- 31- Thomsen S., Jensen H., Jensen J., Skou J., and Jorgensen J.H. 1997. Localization of a resistance gene and identification of sources of resistance to barley leaf stripe. Plant Breeding 116(5): 455-459.
- 32- Werner K., Friedt W., and Ordon F. 2005. Strategies for pyramiding resistance genes against the barley yellow mosaic virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2). Molecular Breeding 16(1): 45-55.
- 33- Xintian Ge Deng W., Lee Z.Z., Lopez-Ruiz F.J., Schweizer P., and Ellwood S.R. 2016. Tempered mlo broad-spectrum resistance to barley powdery mildew in an Ethiopian landrace. Scientific Reports 6: 29558.



Detection of *Rdg1a* and *mlo* Genes for Resistance to Leaf stripe and Powdery Mildew Diseases in Barley

M. Khalili¹- A. Mirshamsi Kakhki^{2*}- R. Aghnoum³- A. Seifi⁴

Received: 09-06-2019

Accepted: 19-07-2020

Introduction: Powdery mildew and Leaf stripe diseases are the most important of barley fungus diseases in Iran. Identification of new genetic resources and breeding for resistance is one of the most economical and adaptive methods for controlling these diseases. Therefore, the aim of this study was an identification effective molecular marker for detection *Rdg1a* and *mlo* resistance alleles for Marker Assisted Selection against two diseases Leaf stripe and powdery mildew.

Materials and Methods: This study was conducted on F₂ population derived from crosses the RIL-27 that has *Rdg1a*, *mlo-11* resistance alleles and Yousef which has susceptible alleles (*rdg1a*, *MLO*). The RIL27 line is one of the lines of the recombinant inbred line population that derived from a cross between the VADA cultivar and the L94 Ethiopian line. 60 samples of F₂ population were divided into two populations of 30 for genotyping and phenotyping against two diseases. We used HVCSG and *mlo-6* and *mlo-10* markers for the presence detection *Rdg1a* and *mlo-11* respectively. Also Manchuria cultivar, which is susceptible to powdery mildew was used to produce inoculum powdery mildew. Genomic DNA of the plants was extracted from non-infected leaves in a two-leaf stage by using the CTAB method. Then, the quantity and quality of extracting DNA were studied by using (Thermoscientific (USA)) and Agarose gel (1%). The HVCSG, *mlo-6* and *mlo-10* markers amplified fragments 705, 440 and 380 base pairs respectively. Phenotyping evaluation against *P.graminea* was performed by using the sandwich method and for phenotyping evaluation against *B. graminis* was done using Aghnoum and et al method. And then the percentage of infect plants were counted.

Results and Discussion: In this study at first, HVCSG marker was used to distinguish *Rdg1a* resistance allele in parents and F₂ population. This marker amplified the 705 base pair band that the result obtained was corresponding to what Biselli and et al showed in 2010. Biselli et al. Developed the HVCSG molecular marker to identify the *Rdg1a* resistance allele in the RIL population from the VADA × L94 crosses by rice EST sequence and they said, this marker amplifies the region from 4500 to 5025 sequences encoding the *Shalcone synthase* gene. But in this study, the results of using this marker in the F₂ population are completely inconsistent with what Biselli and et al have stated. The results show that the HVCSG marker has a low efficiency. Second to check and confirm the presence of *mlo-11* allele of *mlo-6* and *mlo-10* markers were used. The size of amplified regions (440 of the *mlo-11* gene and 380 base pairs of the *MLO* gene) was corresponding to the results of Reinstadlr and et al. showed that these markers amplified 380 and 440 base pair fragments. After of inoculation test and the appearance of the symptoms of the diseases the percentage of infect plant for phenotyping against leaf stripe disease was counted. The Yousef cultivar, which was infected with *P. graminea* as a susceptible parent, showed success in the inoculation test. In other samples, 24 days after planting, symptoms of leaf stripe disease appeared in the five leaf stage. First, on the infected leaves, a yellow strip appeared, and most of the leaves that were later formed showed signs of the disease. Then the yellow strips on the leaves infected joined each other and caused the death of the leaf. Two resistant parents, RIL27 and VADA showed very low symptoms of leaf stripe disease. The results of inoculation test in this study was corresponding with studies from Arru and et al (2002) and Biselli and et al (2010). Arru et al showed that VADA was showing very little about 7% of the symptoms disease due to the presence of the resistance gene. Biselli and et al (2010) also reported that the percentage of infections in VADA parent is 2%. For phenotyping evaluation against powdery mildew disease after infecting the seedlings with *B. graminis* fungus, in the Yousef parent, symptoms were observed as white fluffy dots on the leaf surface. In the VADA variety, there were necrotic points. L94 and RIL-27, which had *mlo-11* resistance gene, did not show any symptoms of the disease. L94 is a native Ethiopian cultivar that allele carries *mlo* resistance, so it is resistant to powdery mildew. The F₂ population showed different signs based on the presence and absence of allele resistance. The samples with resistance allele, there were appeared mildew

1, 2 and 4- M.Sc. Student and Assistant Professors, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

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

3- Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran

cholestasis and necrosis symptoms, and those that did not have resistance alleles were appeared necrotic and fluffy symptoms. In *mlo-11* resistance alleles, the necrotic symptoms can be due to the presence of the Ml (La) resistance gene and also the pleiotropy effects of the molecular gene. Xintian et al reported that the *mlo* genes were not without pleiotropic effects, and necrotic symptoms on leaves of plants with *mlo-11* resistance gene could be due to the effect Overlapping of the *mlo* gene with other QTLs. Conventional plant breeding methods are based on phenotypic selection of superior genotypes in segregation generation. Phenotyping methods are often costly and time-consuming for specific traits, but Marker Assisted Selection (MAS) is one of the methods developed to prevent of common problems in conventional plant breeding techniques. In some studies, the researchers pointed to use of molecular markers for facilitating of plant breeding programs.

Conclusion: Molecular markers are used as a new tool for increasing the efficiency of breeding programs to identify genetic resources. In addition, shortening the duration of breeding programs and the selection of recessive alleles, the molecular markers helps to facilitate the pyramiding of resistance genes to provide a broad and durable resistance. In general, the development of efficient molecular markers and the identification of different genetic resources against plant diseases and the pyramiding of resistance resources are preventing of the increasing use of chemical pesticides and fertilizers to control the pathogen.

Keywords: Leaf stripe, Marker assisted selection, Powdery mildew



مقاله علمی-پژوهشی

سمیت تنفسی حاد اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس و هم‌افزایی آن‌ها روی حشره‌ی کامل

سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus* (Col.: Chrysomelidae)

در شرایط آزمایشگاه

رضا لطیفی‌زاده^۱ - محمد خانجانی^{۲*} - بابک ظهیری^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۵

چکیده

سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، *Callosobruchus maculatus* یکی از آفات کلیدی انواع مختلف حبوباتی مانند لوبیا چشم بلبلی، نخود، عدس، ماش و باقلا بوده و می‌تواند خسارت وارد کند. برای کنترل آن در سال‌های اخیر از آفت‌کش‌های سازگار با محیط زیست به ویژه با منشاء گیاهی مورد توجه محققین قرار گرفته است. در این پژوهش سمیت اثرات تنفسی حاد اسانس‌های گیاه رزماری، *Rosmarinus officinalis* L. و اسطوخودوس، *Lavandula angustifolia* Mill و برهم‌کنش آن‌ها روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌های زیست‌سنجی اسانس‌ها با غلظت‌های ۱۲، ۲۵، ۴۵، ۸۶، ۱۶۶، ۳۲۰ میکرولیتر لیتر هوا روی حشرات کامل ۱ تا ۳ روزه این آفت در دمای 27 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 65 درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت تاریکی و ۸ ساعت روشنایی انجام شد آزمایش‌ها روی مخلوطی از دانه‌های ماش و لوبیا چشم بلبلی درون ظرف‌های شیشه‌ای درب‌دار به حجم ۶۰ میلی‌لیتر، داخل انکوباتور انجام شد. شاخص‌های LC₅₀ و LC₉₀ اسانس‌ها با نرم‌افزار POLO-PC محاسبه و تجزیه واریانس آن‌ها با نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد و سمیت تنفسی اسانس‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که رابطه مستقیمی بین غلظت اسانس و درصد مرگومیر وجود دارد. اسانس رزماری نسبت به اسانس اسطوخودوس دارای سمیت بالاتری بود. مقادیر LC₅₀ رزماری و اسطوخودوس به ترتیب ۱۷/۳۹ و ۴۰/۳۹ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آمد. برای بررسی اثرات متقابل این دو اسانس، آزمایش دیگری در غلظت‌های پیشین و به نسبت مساوی (۱:۱) از هر اسانس انجام شد و مقدار LC₅₀ مخلوط دو اسانس ۱۵/۸۴ میکرولیتر بر لیتر هوا به‌دست آمد. نسبت هم‌افزایی (SR) این دو اسانس معادل ۱/۸۲ بود که نشان می‌دهد اسانس‌های مذکور اثر یکدیگر را تشدید می‌نمایند. میانگین مرگومیر ناشی از سمیت تنفسی اسانس‌های اسطوخودوس، رزماری و مخلوط آن‌ها به ترتیب ۶۱/۲۹، ۷۷/۳۸ و ۸۱/۵۸ درصد به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: اسانس گیاه، زیست‌سنجی، محصول انباری، مدیریت آفت

مقدمه

نماید. خسارت این آفت روی لوبیا چشم بلبلی گاهی آنقدر شدید است که در مدت زمان کوتاهی قادر است تمام محصول را از بین ببرد (۲). در مواردی از غرب آفریقا گزارش شده است که بذرهای لوبیا چشم بلبلی، پس از ۳ تا ۵ ماه نگهداری در انبار، صد درصد محصول به این آفت آلوده شده بودند (۲۵). این آفت قادر است وزن بذرهای لوبیای انباری را به میزان ۶۰ درصد کاهش دهد (۳۰). این آفت با مصرف اندوخته غذایی بذرها کیفیت و قدرت جوانه‌زنی آن‌ها را کاهش داده و در صورت کاشت، گیاهچه‌های ضعیف رشد می‌کنند (۲۶).

در حال حاضر برای حفاظت محصولات انباری در برابر حمله آفات انباری از ترکیبات مصنوعی شیمیایی مختلف استفاده می‌شود، ولی کاربرد مداوم این ترکیبات مشکلات متعددی از جمله باقیمانده

سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات، *Callosobruchus maculatus* (Col., Chrysomelidae) (F.) از آفات مهم حبوبات انبارشده در سرتاسر دنیا است. این حشره با تغذیه از بیشتر حبوبات جز جنس *Phaseolus* می‌تواند به محصولات لوبیا چشم‌بلبلی، ماش، عدس، نخود و باقلا بویژه در مناطق گرم و مدیترانه‌ای خسارت وارد

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی پیشین کارشناسی‌ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، استاد و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران (*- نویسنده مسئول: Email: khanjani@bau.ac.ir)

سموم در مواد خوراکی انسان و مرگومیر موجودات غیرهدف مانند دشمنان طبیعی آفات، حشرات گرده افشان و ماهی ها را ایجاد نموده است (۱۶). همچنین گسترش مقاومت حشرات به آفت کش ها (۲۹)، طغیان مجدد آفات، ظهور آفات ثانوی و تشدید آلودگی های زیست محیطی از پیامدهای کاربرد گسترده این ترکیبات بوده است (۲۰). متیل بروماید و فسفین دو ترکیبی هستند که به طور گسترده برای کنترل آفات انباری استفاده شده اند. در حال حاضر متیل بروماید به خاطر اثرات زیان بار زیست محیطی از دایره سموم مجاز بیشتر کشورهای جهان حذف شده است. اما فسفین هنوز به طور گسترده ای مورد استفاده قرار می گیرد که در کنار خطرات آن برای محیط زیست و سلامت انسان، بروز مقاومت را در انواع مختلفی از آفات انباری در بر داشته است که باعث توجه بیشتر پژوهشگران به یافتن جایگزین های مناسب شده است (۳).

تحقیقات مختلف نشان داده است که اسانس برخی از گیاهان دارای اثرات حشره کشی قابل توجهی می باشند (۱۰ و ۱۷). ترکیبات گیاهی دارای موادی با اثرهای تخم کشی، دور کنندگی، ضد تغذیه ای، عقیم کنندگی و حشره کشی (تماسی، خوراکی یا تنفسی) هستند. از دهه ۱۹۸۰ به کاربرد سمیت تنفسی اسانس های گیاهی در کنترل خسارت آفات توجه شده است (۱۱ و ۱۲). مونوترپن های موجود در اسانس ها دارای خاصیت حشره کشی می باشند (۱۴). یکی از ویژگی های مهم اسانس ها در مقایسه با ترکیبات آفت کش سنتزی، داشتن یک ماده فعال در هر آفت کش سنتزی است، در حالی که اسانس ها ترکیبی از چندین ماده با خاصیت حشره کشی هستند. این پدیده می تواند سرعت بروز مقاومت به اسانس را در جمعیت آفت کند نماید (۱۸). گیاهان معطر به ویژه گونه های گیاهی متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) منبع مهمی از اسانس های فعال زیستی بوده که دارای خاصیت حشره کشی بالایی می باشند (۲۳). در این تحقیق از اسانس گیاهان اسطوخودوس، *L. angustifolia* Mill و رزماری، *R. officinalis* L. به صورت جداگانه به منظور بررسی سمیت تنفسی آن ها و به صورت مخلوط به منظور بررسی برهم کنش آن ها روی حشره کامل سوسک چهار نقطه ای حبوبات استفاده شده است.

مواد و روش ها

پرورش سوسک: حشرات کامل سوسک چهار نقطه ای حبوبات از موسسه تحقیقات گیاه پزشکی ایران واقع در تهران تهیه شد. این حشرات درون دستگاه انکوباتور تلکو ساخت امریکا، با دمای 27 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت تاریکی و ۸ ساعت روشنایی روی ماش و لوبیا چشم بلبلی داخل سطل های یک بار مصرف استوانه ای شکل با ارتفاع ۱۳ و قطر

۲۰ سانتی متر در آزمایشگاه اداره ی حفظ نباتات سازمان جهاد کشاورزی استان قم به صورت انبوه پرورش داده شدند. چون این آفت تمام مراحل لاروی و شفیرگی خود را داخل دانه سپری می کند، مقدار کافی از مخلوط دانه های ماش و لوبیا چشم بلبلی (۲۰۰ گرم) داخل ظرف های پرورش قرار داده شد تا از تخم گذاری انبوه آفت روی هر دانه و رقابت لاروها جلوگیری شود. برای هم سن سازی حشرات کامل، ابتدا توسط یک الک با مش ۱۰ که سوسک ها به راحتی از آن عبور می کردند ولی دانه های ماش و لوبیا چشم بلبلی روی آن باقی می ماندند، محتویات ظرف های کشت اولیه الک شدند. پس از جداسازی حشرات مرده و زنده، حشرات زنده در محیط کشت جدید حاوی ماش (۲۰۰ گرم) قرار گرفته و درب ظرف با یک قطعه توری مسدود شد. ظرف های مزبور به داخل انکوباتور منتقل شدند تا ماده ها تخم گذاری را انجام دهند. ظرف های حاوی حشرات پس از چهار روز از انکوباتور خارج شده و دوباره الک شدند تا حشرات کامل برای تخم گذاری به ظرف های مشابه جدیدی منتقل شوند. هر ظرف تقریباً بعد از گذشت ۴۰ روز دارای حشرات کامل هم سن بود. تاریخ شروع تخم گذاری و شماره هر ظرف یادداشت شد تا سن حشرات به طور دقیق مشخص باشد.

آزمون های زیست سنجی: اسانس های گیاهی مورد نظر از شرکت باریج اسانس تهیه و در آزمون ها مورد استفاده قرار گرفتند. در هر تکرار ۲۰ حشره ی کامل (نر و ماده) هم سن (یک تا سه روزه) سوسک چهار نقطه ای حبوبات داخل ظرف های شیشه ای درب دار به حجم ۶۰ میلی لیتر قرار داده شدند. پس از تعیین غلظت های مورد نظر در آزمون های اولیه، با استفاده از میکروپیپت مقادیر ۰/۷۲، ۱/۵، ۲/۷، ۵/۱۶، ۹/۹۶، ۱۹/۲ میکرولیتر (معادل ۱۲، ۲۵، ۴۵، ۸۶، ۱۶۶، ۳۲۰ میکرولیتر بر لیتر هوا) از اسانس خالص گیاهان اسطوخودوس *L. angustifolia* و رزماری (*R. officinalis*) روی قطعات کاغذ صافی درون ظرف ها ریخته و درب ظرف ها ابتدا توسط یک قطعه توری نازک (به منظور جلوگیری از تماس سوسک ها با درب اصلی) و سپس درب اصلی پوشیده شدند. برای جلوگیری از نشت اسانس، درب ظرف ها با نوار میکروفیلم پوشانیده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، تعداد حشرات مرده (حشراتی که قادر به تکان دادن پاها و شاخک خود نبودند، مرده در نظر گرفته شدند) در پنج تکرار با شش غلظت و یک شاهد برای هر اسانس ثبت شدند. برهم کنش احتمالی اسانس ها در پنج تکرار با شش غلظت پیشین از مخلوط مساوی اسانس های رزماری و اسطوخودوس انجام شده و مرگومیر حشرات بعد از ۲۴ ساعت شمارش و یادداشت شد. این آزمایش ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

تجزیه داده ها: داده های مرگومیر حشرات در غلظت های مختلف اسانس و شاهد بطور جداگانه در محیط نرم افزار اکسل ثبت

تجزیه پروبیت رابطه مرگ‌ومیر- غلظت (جدول ۱) نشان داد که مقدار فاکتور g در استفاده‌ی جداگانه و توأم اسانس رزماری و اسطوخودوس کمتر از ۰/۵ و نسبت t بیشتر از ۱/۹۶ بود (نسبت t می‌بایست از ۱/۹۶ بیشتر باشد) فاکتور هتروژنیستی برای هر دو اسانس بیشتر از یک بود. فاکتور هتروژنیستی در نتایج آنالیز پروبیت نشان دهنده اعمال فاکتور g (۰/۹۵) در تصحیح مقادیر LC₅₀ می‌باشد.

شده و پس از انجام تصحیحات لازم به روش ابوت (۱)، لگاریتم آن‌ها محاسبه شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار POLO-PC و بر اساس مدل پروبیت فینی (۶) تجزیه شده و پارامتر LC₅₀ و حدود بالا و پایین آن در سطح ۰/۹۵ محاسبه گردید. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین با آزمون دانکن توسط نرم افزار SAS 9.1 انجام شد. نمودار میانگین تلفات و نمودار پروبیت درصد مرگ‌ومیر- غلظت با نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

نتایج

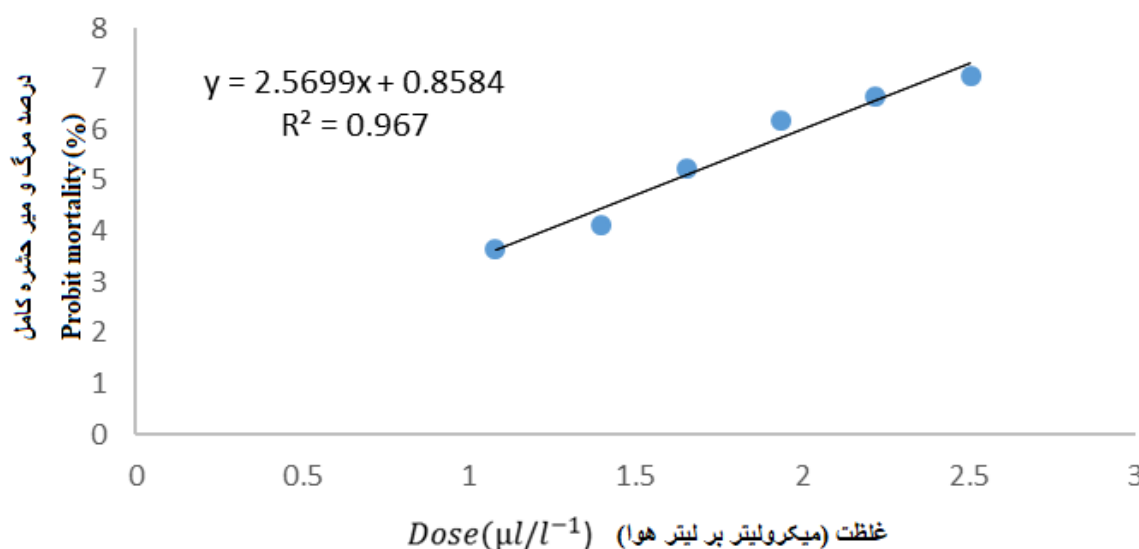
جدول ۱- آنالیز پروبیت درصد مرگ‌ومیر- لگاریتم غلظت اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس روی حشره‌ی کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات در شرایط آزمایشگاه

Table 1- Probit analysis of mortality percentage-Logarithm concentrations of essential oils of rosemary and lavender on *Callosobruchus maculatus* under laboratory conditions

تیمار Treatment	N	df	X ²	Slope ± SE	نسبت t Rate t	فاکتور g (۰/۹۵) Factor g (0.95)	هتروژنیستی Heterogenic	Lethal concentration (μL/L)		
								LC ₂₅	LC ₅₀	LC ₉₀
Lavender اسطوخودوس	700	5	11.095	± 0.191 2.803	11.08	0.119	2.77	23.20	40.39	115.72
Rosemary رزماری	700	5	7.6	± 0.179 2.250	14.70	0.099	1.9	7.59	17.39	83.90
Rosemary * اسطوخودوس * Lavender	700	5	3.8	± 0.235 2.460	10.44	0.35	0.95	8.42	15.84	52.70

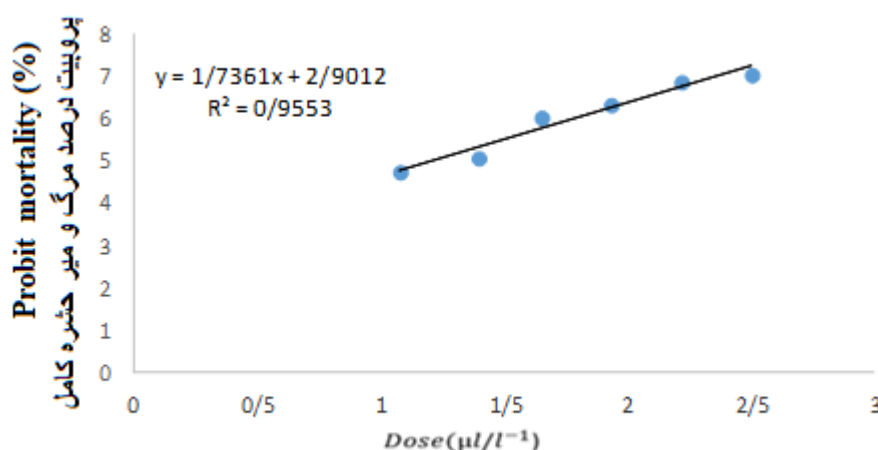
افزایش می‌یابد (شکل‌های ۱ و ۲). شیب خط رگرسیون بین درصد مرگ‌ومیر و غلظت هر دو اسانس مثبت و معنی‌دار بود.

نمودارهای پروبیت درصد مرگ‌ومیر- لگاریتم دز نشان داد که با افزایش غلظت اسانس اسطوخودوس و رزماری، درصد مرگ‌ومیر



شکل ۱- سمیت تنفسی حاد اسانس اسطوخودوس روی حشره‌ی کامل *Callosobruchus maculatus* در شرایط آزمایشگاه

Figure 1- Fumigant acute toxicity of essential oil of lavender on *Callosobruchus maculatus* mortality under laboratory conditions



غلظت (میکرولیتر بر لیتر هوا)

شکل ۲- سمیت تنفسی حاد اسانس رزماری روی حشره کامل *Callosobruchus maculatus* در شرایط آزمایشگاه

Figure 2- Fumigant acute toxicity of essential oil of rosemary on *Callosobruchus maculatus* mortality under laboratory conditions

روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد بیشترین میزان مرگومیر (۹۷/۸۵ درصد و ۹۶/۷۷ درصد) مربوط به غلظت‌های ۳۲۰ و ۱۶۶ میکرولیتر بر لیتر هوا و کمترین میزان مرگومیر (۳۹/۸۵ درصد) مربوط به غلظت ۱۲ میکرو لیتر بر لیتر هوا بود (شکل ۴). میانگین مرگومیر حاصل از تاثیر اسانس رزماری معادل ۷۷/۳۸ درصد گردید. بررسی‌های انجام شده توسط شاه کرمی و همکاران (۲۴) روی سمیت تنفسی مرزه، پونه، رزماری و اسطوخودوس روی حشره کامل سوسک چهارنقطه‌ای جنوبات میزان مرگومیر حشرات کامل را در غلظت ۵۶۰ میکرو لیتر بر لیتر هوا به ترتیب ۹۵/۷۸، ۶۵/۸۷، ۵۷/۳۳ بدست آوردند، که این اختلاف می‌تواند مربوط به نوع گونه و روش اسانس‌گیری و فضای انجام آزمایش باشد.

مقایسه‌ی میانگین درصد مرگومیر ناشی از اسانس اسطوخودوس نشان داد که بیشترین درصد مرگومیر معادل ۹۷/۷۵ درصد در غلظت ۳۲۰ میکرولیتر بر لیتر هوا و کمترین درصد مرگومیر معادل ۸/۷ درصد در غلظت ۱۲ میکرولیتر بر لیتر هوا اتفاق افتاد (شکل ۲). همچنین میانگین درصد مرگومیر ناشی از اسانس اسطوخودوس برابر ۶۱/۲۹ درصد به‌دست آمد.

نتایج رتبه‌بندی تیمارهای t_1 ، t_2 ، t_3 ، t_4 ، t_5 ، t_6 به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۳۲۰، ۱۶۶، ۸۶، ۴۵، ۲۵، ۱۲ میکرولیتر بر لیتر هوا نشان داد بیشترین مرگومیر مربوط به غلظت‌های ۳۲۰ و ۱۶۶ میکرولیتر بر لیتر هوا در بالاترین سطح یعنی رتبه A و کمترین مرگومیر مربوط به غلظت ۱۲ میکرولیتر بر لیتر هوا در پایین‌ترین گروه یعنی E قرار داشت (شکل ۳). مقایسه میانگین غلظت‌های اسانس رزماری به

جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر اسانس اسطوخودوس روی حشره کامل *C. maculatus* در شرایط آزمایشگاه

Table 2- Analysis of variance of effective essential oil of lavender on adult of *C. maculatus* under laboratory conditions

منابع تغییر (S.O.V.)	df	SS	MS	F	F < Pr
تکرار (Replication)	4	10.68	2.67	2.2 ^{ns}	0.99
تیمار (Treatment)	6	2202.42	367.07	302.67 ^{**}	0.0001
خطا (Error)	24	29.1	1.2127		
ضریب تغییر (CV)		10.45			

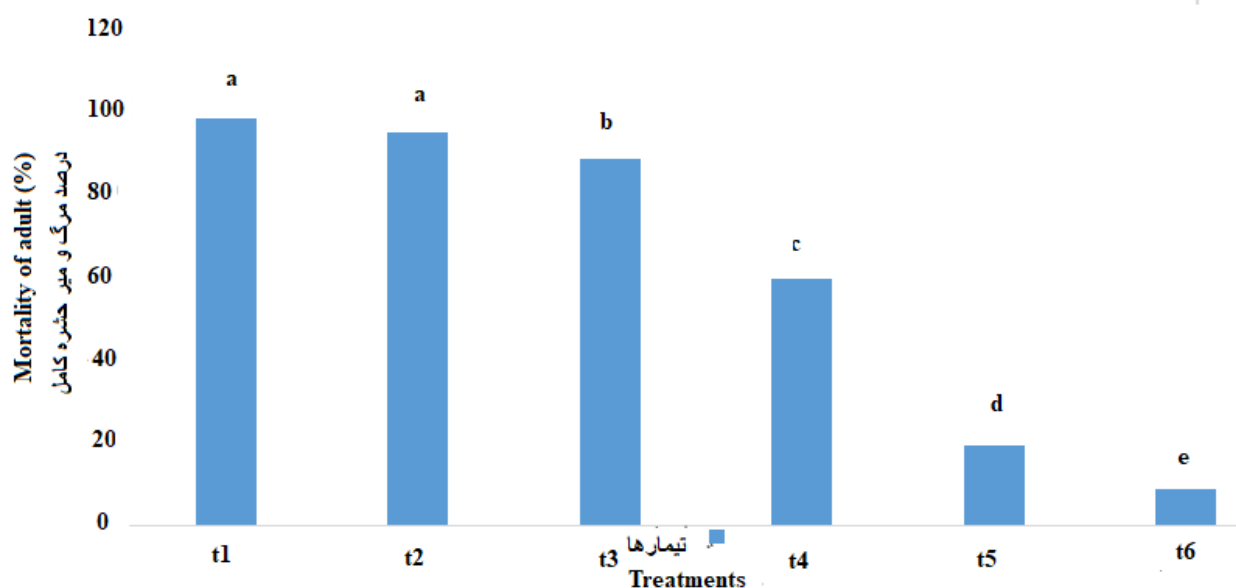
***اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد (Significant at the 1%)

سوم در رتبه AB قرار گرفت بین غلظت ۸۶ میکرو لیتر بر لیتر هوا و غلظت‌های ۱۶۶ و ۳۲۰ میکرو لیتر هوا اختلاف معنی‌دار نبوده و در یک سطح قرار داشتند، لذا جهت مصرف بهینه اسانس می‌توان غلظت

در نتایج رتبه‌بندی تیمارها بر حسب غلظت، بیشترین مرگومیر مربوط به غلظت‌های ۳۲۰ و ۱۶۶ میکرولیتر بر لیتر هوا بود که در بالاترین سطح یعنی A قرار داشت، همچنین با توجه به اینکه تیمار

سطح یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۴) و درصد مرگ‌ومیر استفاده مخلوط دو اسانس مانند استفاده جداگانه آن‌ها با افزایش غلظت افزایش می‌یابد. با مقایسه نمودار پروبیت درصد مرگ‌ومیر و غلظت استفاده توام دو اسانس مشخص گردید شیب خط رگرسیون بیش‌تر از شیب استفاده جداگانه آن‌ها می‌باشد (شکل ۵). با مقایسه میانگین مرگ‌ومیر بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن مشخص شد میزان مرگ‌ومیر در اثر استفاده توام بالاتر از میزان مرگ‌ومیر تاثیر جداگانه هر کدام از اسانس‌ها می‌باشد (شکل ۳).

۸۶ میکرو لیتر بر لیتر هوا را باید در نظر گرفت. کم‌ترین مرگ‌ومیر مربوط به غلظت ۱۲ میکرو لیتر بر لیتر هوا است که در پایین‌ترین گروه یعنی D قرار دارد. با مقایسه آن با اسانس اسطوخودوس مشخص گردید که میزان مرگ‌ومیر اسانس رزماری نسبت به اسانس اسطوخودوس در غلظت‌های یکسان بالاتر می‌باشد و این نشان می‌دهد اسانس رزماری اثر حشره‌کشی بالاتری نسبت به اسانس اسطوخودوس روی حشره کامل سوسک چهارنقطه‌ای حیوانات دارد. نتایج تجزیه واریانس استفاده توام دو اسانس نشان داد که غلظت‌های مختلف دو اسانس روی میزان مرگ‌ومیر اثر داشته و در



شکل ۳- مقایسه میانگین درصد مرگ‌ومیر ناشی از سمیت تنفسی حاد اسانس اسطوخودوس روی حشره‌ی کامل *Callosobruchus maculatus* در آزمایشگاه

با آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری را در سطح ۰/۰۵ میان میانگین‌هایی با حروف مشابه نشان نداد.

Figure 3- Mean percentage mortality of essential oil of lavender on *C. maculatus* by multiple Duncan method test (Different letters showed significant differences ($P \leq 0.05$)).

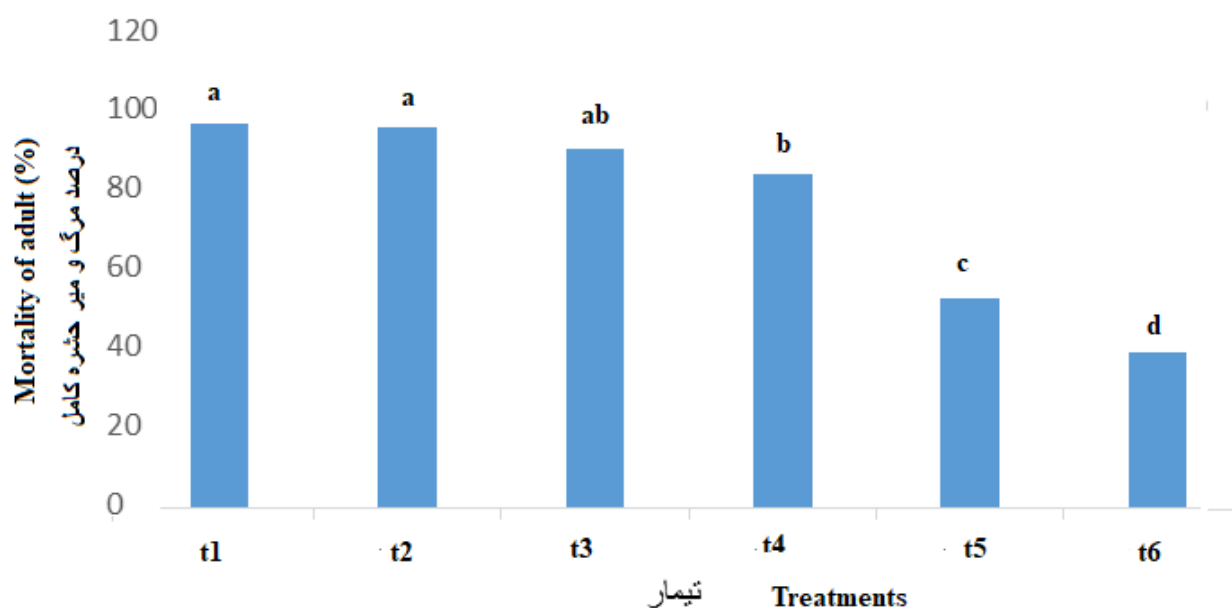
جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر اسانس رزماری روی حشره کامل، *C. maculatus* در شرایط آزمایشگاه

Table 3- Analysis variance of effective essential oil of rosmariny on adult of *C. maculatus* under laboratory conditions

منابع تغییر (S.O.V.)	df	SS	MS	F	F < Pr
تکرار Replication	4	8.43	2.11	1.52 ^{ns}	0.228
تیمار Treatment	6	1642.38	273.73	197.65 ^{**}	0.0001
خطا Error	24	32.23	1.38		
ضریب تغییر (CV)				8.85	

** اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد

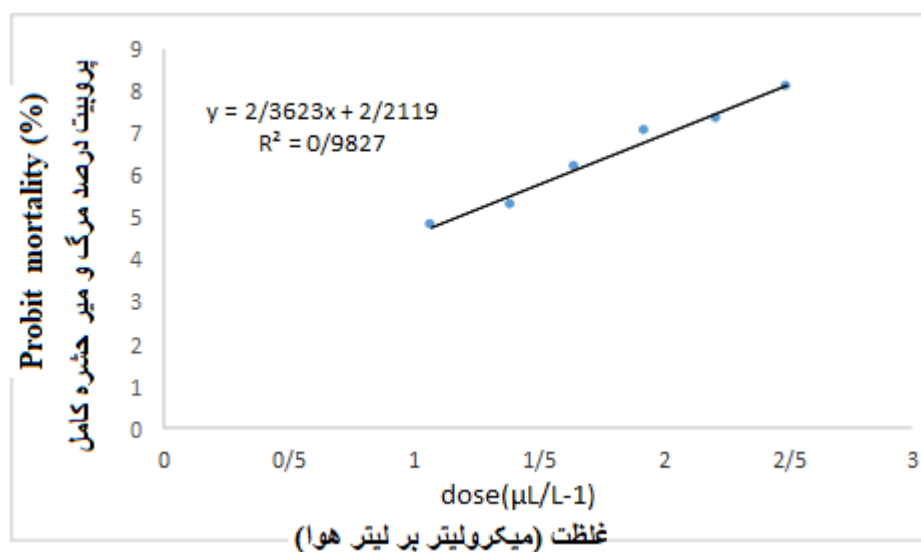
** Significant differences ($P \leq 0.01$)



شکل ۴- مقایسه میانگین درصد مرگومیر ناشی از سمیت تنفسی حاد اسانس رزماری روی حشره‌ی کامل *Callosobruchus maculatus* در آزمایشگاه

آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری را در سطح ۰/۰۵ میان میانگین‌هایی با حروف مشابه نشان نداد.

Figure 3- Mean percentage mortality of essential oil of rosemary on *C. maculatus* by multiple Duncan method test
Different letters showed significant differences ($P \leq 0.05$).



شکل ۵- تاثیر توام اسانس رزماری و اسطوخودوس روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حیوانات در آزمایشگاه

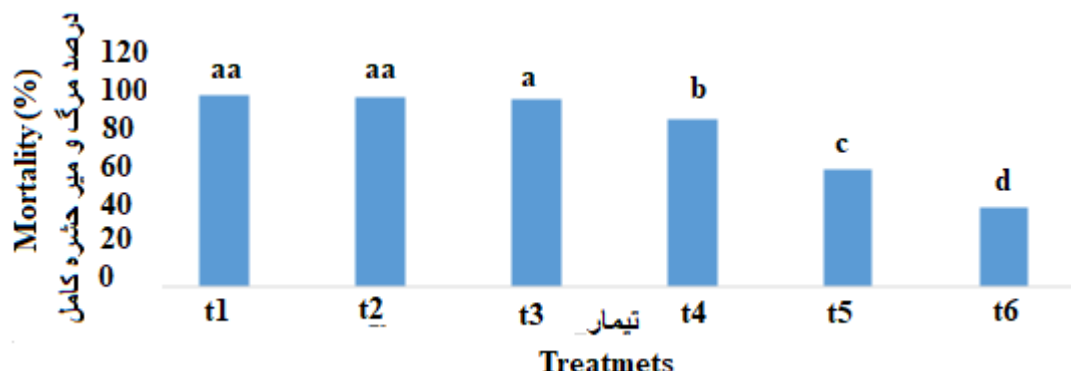
Figure 5- Simultaneously effective of rosemary and lavender on the adult of *C. maculatus* at under laboratory conditions

بندی اسانس اسطوخودوس و رزماری مشخص شد که میانگین مرگومیر استفاده توام دو اسانس بالاتر از استفاده جداگانه آن‌ها می باشد. میانگین مرگومیر تاثیر توام دو اسانس رزماری و اسطوخودوس معادل ۸۱/۵۸ درصد بود.

بر اساس نتایج حاصل از رتبه‌بندی تیمارها بر حسب غلظت نشان می‌دهد که بیش‌ترین مرگومیر مربوط به غلظت‌های ۳۲۰، ۱۶۶، ۸۶ میکرولیتر بر لیتر هوا بود که در بالاترین سطح یعنی A قرار گرفته‌اند، همچنین کمترین تلفات مربوط به غلظت ۱۲ میکرولیتر بر لیتر هوا بوده که در پایین‌ترین گروه یعنی D قرار دارند. با مقایسه آن با رتبه

جدول ۴- نتایج حاصل از تجزیه واریانس تاثیر توام اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس روی حشره کامل *C. maculatus*، در آزمایشگاه
Table 4- Analysis variance of simultaneously effective of rosemary and lavender on the adult of *C. maculatus* under laboratory conditions

منابع تغییر (S.O.V.)	df	SS	MS	F	pr>F
تکرار	4	1.31	0.33	0.41 ^{ns}	0.802
رزماری + اسطوخودوس Rosemary + lavender	6	۱۷۱۹/۳۸	286.65	356.5**	0.0001
خطا Error	24	۱۹/۲۹	0.804		
ضریب تغییر (CV)				6.4	



نمودار ۶- مقایسه میانگین درصد مرگ و میر ناشی از سمیت تنفسی حاد ناشی از نسبت مساوی از مخلوط اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس روی حشره کامل *Callosobruchus maculatus* در آزمایشگاه

آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری را در سطح ۰/۰۵ میان میانگین‌هایی با حروف مشابه نشان نمی‌دهد.

Figure 6- Mean Comparison of simultaneously effective of rosemary and lavender on the adult of *C. maculatus* under laboratory conditions

*Different letters showed significant differences ($P \leq 0.05$)

افزایش داشته است. در آزمایش‌های صورت گرفته توسط کرشناراجه و همکاران (۱۳) روی حشرات کامل پروانه بید غلات *Sitotroga cerealella* (Lep., Gelichiidae) نشان داد مخلوط ۱:۱ اسانس‌های علف لیمو، *Cymbopogon nardus* (L.) (Poaceae) و پنج انگشت *Vitex negundo* (L.) (Lamiaceae) بیشتر از سمیت هر کدام به تنهایی بود. دون پدرو (۵) اثر هم‌افزایی ترکیبات مختلف اسانس پوست مرکبات به صورت توام روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات را گزارش کردند، آنها اعلام نمودند که مخلوط آلفا فلاندرین و پی سیمن موثرتر از ترپن‌های یافت شده به تنهایی بوده است. مطالعات میکی و همکاران (۱۹) روی سمیت تنفسی اسانس پوست میوه نارنگی و اثر تشدید کنندگی دی اتیل مالئات و استون روی حشره‌ی کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نشان داد که کاربرد توام دی اتیل مالئات و اسانس پوست میوه نارنگی باعث تشدید اثرات کشندگی آن‌ها می‌شود، LC_{50} حاصل از تاثیر اسانس پوست میوه نارنگی ۸۸/۹۳ میکرولیتر بر لیتر هوا و LC_{50} استفاده توام از اسانس پوست میوه نارنگی و دی اتیل مالئات ۵۴/۵۴ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه شد، ضریب هم‌افزایی بدست آمده در آزمایش مذکور

با توجه جدول ۱ و مقایسه LC_{25} ، LC_{50} و LC_{90} بدست آمده از استفاده توام اسانس رزماری و اسطوخودوس و مقایسه آن‌ها با LC های بدست آمده از آزمایش هر کدام از اسانس‌ها به صورت جداگانه مشخص گردید این دو اسانس روی یکدیگر اثر متقابل دارند. افزایش سمیت به علت فعال شدن یکی از اجزا مخلوط می‌باشد، هم‌افزایی زمانی اتفاق می‌افتد که اثر کشندگی مصرف توام دو ماده بالاتر از مصرف آن‌ها به صورت تکی باشد، نسبت هم‌افزایی SR حاصل تقسیم LC_{50} مورد انتظار دو اسانس بر LC_{50} بدست آمده از استفاده توام (مشاهده شده) آن‌ها می‌باشد، اگر $SR < 0.7$ باشد دو ماده دارای اثر آنتاگونیستی و اگر $SR = 0.7 - 1$ دو ماده دارای اثری و اگر $SR > 1$ باشد دارای اثر هم‌افزایی شدید می‌باشند. محاسبه نسبت هم‌افزایی (SR) معادل ۱/۸۲ محاسبه گردید نشان داد که اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس نسبت به هم دارای اثر هم‌افزایی بوده و اثر یکدیگر را افزایش داده‌اند و میزان سمیت مخلوط ۱:۱ آن‌ها نسبت به استفاده جداگانه روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات

۱/۶۳ گردید. بنابراین بکارگیری توأم دو اسانس دو اسانس رزماری و اسطوخودوس مانند توأم از اسانس پوست میوه نارنگی و دی اتیل مالئات و همچنین مخلوط آلفا فلاندرین و پی سیمن اثر هم‌افزایی داشته‌اند

بحث

نتایج بدست آمده نشان داد که اسانس‌های رزماری و اسطوخودوس روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات دارای سمیت بوده و بین میزان مرگ‌ومیر و غلظت اختلاف معنی‌داری وجود داشت، یعنی با افزایش غلظت اسانس میزان مرگ‌ومیر هم افزایش یافت، که با نتایج بدست آمده توسط کیتا و همکاران (۱۲) و تربیاتی و همکاران (۲۸) مبنی بر افزایش مرگ‌ومیر حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و شپشه آرد در اثر افزایش غلظت اسانس مطابقت دارد.

همچنین با توجه جدول ۱ مشخص گردید بین میزان مرگ‌ومیر اسانس رزماری و اسطوخودوس اختلاف معنی‌داری وجود دارد، به توجه به LC_{50} ، LC_{90} بدست آمده می‌توان گفت اسانس رزماری نسبت به اسانس اسطوخودوس در غلظت یکسان دارای میزان کشندگی بالاتری می‌باشد به عبارت دیگر اسانس رزماری با غلظت کمتر نسبت به اسانس اسطوخودوس همان میزان کشندگی را دارا می‌باشد.

مقدار LC_{50} بدست آمده اسانس‌های اسطوخودوس و رزماری روی حشره‌ی کامل سوسک چهار نقطه‌ای در شرایط آزمایشگاه به ترتیب برابر ۴۰/۳۹ و ۱۷/۳۹ میکرولیتر بر لیتر هوا گردید در حالیکه گلستانی کلات و همکاران (۸) میزان LC_{50} اسانس اسطوخودوس برای حشرات نر سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات معادل ۳۴ میکرولیتر بر لیتر هوا و برای حشرات ماده معادل ۵۴ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آوردند. منظومی و همکاران (۱۷) میزان LC_{50} اسطوخودوس را برابر ۴۱/۵۲ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آوردند که نتایج بدست آمده در این تحقیق با آن‌ها مطابقت دارد. لی و همکاران (۱۴) بدون مشخص کردن نام علمی گونه‌های گیاهی، سمیت تنفسی ۱۸ اسانس گیاهی از جمله سه اسانس متعلق به گیاهانی از خانواده نعنائیان که شامل: اسطوخودوس، رزماری و آزر به روی شپشه برنج (*Sitophilus oryzae*) بررسی کردند، نامبردگان مقادیر LC_{50} تنفسی سه اسانس اخیر را پس از ۲۴ ساعت ترتیب به ۳۰/۵، ۵۴ و ۶۳/۹ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد کردند، که علت این اختلاف را می‌توان به نوع حشره و یا نوع گونه و روش اسانس‌گیری مربوط دانست.

شاه کرمی و همکاران (۲۴) در بررسی سمیت تنفسی اسانس پونه (*Mentha pulegium*)، مزره (*Satureia hortensis*)، اسطوخودوس

(*N. menthoides*) و رزماری (*R. officinalis*) روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات میزان LC_{50} اسانس‌های مذکور را به ترتیب ۱۰۶، ۶۹، ۳۲۲، ۲۰۵ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آوردند، دلیل این اختلاف را می‌توان به تفاوت شرایط دمایی، رطوبت زمان تولید، روش‌های اسانس‌گیری و نوع گونه‌ی گیاهی مربوط دانست، گونه‌ی اسطوخودوس مورد بررسی آن‌ها با گونه‌ی گیاهی این آزمایش متفاوت بود.

با توجه به جدول ۲ با اطمینان می‌توان گفت که بین تیمارها ۹۹ درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد و با توجه به شکل ۳ مقایسه میانگین درصد مرگ‌ومیر اسانس اسطوخودوس به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مشخص شد که بیش‌ترین میزان مرگ‌ومیر مربوط به t_1 که غلظت ۳۲۰ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد که با t_2 که غلظت آن ۱۶۶ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد در یک دسته آماری قرار می‌گیرند در نتیجه با توجه به اینکه در تیمار t_2 میزان اسانس کمتری مصرف می‌شود می‌توان گفت جهت استفاده بهینه اسانس اسطوخودوس می‌توان غلظت ۱۶۶ میکرو لیتر بر لیتر هوا را در نظر گرفت. همان طور که مشاهده می‌شود در سایر غلظت‌ها اثر کشندگی کمتری را دارا می‌باشد و استفاده از سایر غلظت‌های موجود در تیمارها برای کنترل حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات مناسب نمی‌باشد.

با توجه به جدول ۴ نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر اسانس رزماری در مرحله حشره کامل می‌توان گفت با اطمینان ۹۹ درصد تفاوت معنی‌دار بین تیمارها وجود دارد و با بررسی شکل ۴ مقایسه میانگین درصد مرگ‌ومیر اسانس رزماری به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مشخص گردید بیش‌ترین مرگ‌ومیر در تیمار t_1 که غلظت ۳۲۰ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد، که با t_2 که غلظت ۱۶۶ میکرولیتر بر لیتر هوا در یک دسته آماری قرار می‌گیرند، و t_3 که در جدول رتبه بندی AB است با t_1 ، t_2 اختلاف معنی‌دار ندارد در نتیجه با توجه به اینکه در تیمار t_3 میزان اسانس کمتری مصرف می‌شود می‌توان برای استفاده بهینه اسانس رزماری غلظت ۸۶ میکرولیتر بر لیتر هوا را در نظر گرفت همچنین کم‌ترین مرگ و میر مربوط به غلظت ۱۲ میکرولیتر بر لیتر هوا است که در پایین‌ترین گروه یعنی D قرار دارد.

با توجه به جدول ۱ که LC های دو اسانس اسطوخودوس و رزماری را نشان می‌دهد مشخص شد که اسانس رزماری عملکرد بالاتری نسبت به اسطوخودوس روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات داشت، همچنین نشان می‌دهد که میزان کشندگی استفاده توأم آن‌ها در غلظت یکسان بالاتر از میزان کشندگی هر کدام به تنهایی می‌باشد (LC_{50} رزماری ۱۷/۳۹ و LC_{50} اسطوخودوس ۴۰/۳۹ و LC_{50} توأم آن‌ها برابر ۱۵/۸۴ میکرولیتر بر لیتر هوا). به عبارت دیگر غلظت مصرفی برای ایجاد تلفات مساوی در استفاده توأم پایین‌تر می‌باشد.

استفاده توام دو اسانس اسطوخودوس و رزماری روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نشان داد این دو اسانس نسبت به هم دارای اثرات متقابل می‌باشند. مقایسه LC₅₀ مورد انتظار دو اسانس و LC₅₀ بدست آمده از تاثیر توام دو اسانس نسبت هم‌افزایی (SR) برابر ۱/۸۲ بود، چون بزرگتر از استاندارد سینترژیست بالاتر است بنابراین دو ماده دارای اثرات سینترژیستی هستند. همچنین میانگین درصد مرگ‌ومیر تاثیر مخلوط ۱:۱ دو اسانس بیش‌تر از میانگین درصد مرگ و میر هر کدام به تنهایی بود، میانگین درصد مرگ و میر اسانس اسطوخودوس و رزماری و مخلوط آن‌ها به ترتیب برابر ۶۱/۲۹، ۷۷/۳۸، ۸۱/۵۸ بود، که این موضوع توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است. تحقیقات صورت گرفته در بررسی اثرات حشره‌کشی اسانس برگ نوعی درمنه و کافور روی حشره کامل سرخرطومی برنج نشان داد استفاده مخلوط دو اسانس درصد حشره‌کشی بالاتری نسبت به استفاده تکی هر کدام از اسانس‌های مورد آزمایش بوده است، درصد مرگ‌ومیر اسانس درمنه و کافور و مخلوط آن‌ها به ترتیب ۳۷/۳، ۵۱/۷، ۶۱/۷ درصد بوده است (۱۵). همچنین اثر مخلوط دو اسانس سیر و عصاره فلفل روی میزان مرگ‌ومیر حشرات کامل شپشه قرمز آرد حشرات کامل افزایش معنی‌دار داشته که در واقع نشان دهنده وجود خاصیت هم‌افزایی بین دو ترکیب بوده است (۴).

نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد اسانس‌های اسطوخودوس و رزماری دارای اثر حشره‌کشی مناسبی روی حشره کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات می‌باشند. همچنین بین میزان مرگ‌ومیر و غلظت هر یک از اسانس‌ها ارتباط مثبت و معنی‌داری وجود داشت، یعنی با افزایش غلظت اسانس میزان مرگ‌ومیر هم افزایش یافت. با مقایسه میزان مرگ‌ومیر حاصل از دو اسانس و LC₅₀ آن‌ها مشخص شد که اسانس

منابع

- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology 18(2): 265-267.
- Bagheri Zanouz E. 1375. Coleoptera pests in Iran. Sepehr Press Center,
- Bell C.H. 2000. Fumigation in the 21st century. Crop Protection 19: 563-569.
- Chew J.Z.G., and Ho S.H. 2002. Bioactivities of pepper extract and garlic oil on *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Stored-product and Quarantine Entomology 92: 676-683.
- Don-Pedro K.N. 1996. Fumigant toxicity is the major route of insecticidal activity of citrus peel essential oils. Pesticide Science 46: 71-78.
- Finny D.J. 1971. Probit analysis. 3rd eds., Cambridge University Press Center, London.
- Golestani Kalat Z., Moravvej Gh., Azizi Arani M. and Hatefi S. 2011. Fumigant toxicity of the essential oils from *Lavandula angustifolia* Mill and *Zataria multiflora* Boiss on cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Plant Protection 25(3): 286-295. (In Persian with English abstract)
- Golestani kalat Z., Moravvej G., and Azizi Arani M. 2014. Repellent effects of the essential oils of *Lavandula angustifolia* Mill. and *Zataria multiflora* Boiss. on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) with

رزماری دارای سمیت بالاتری نسبت به اسانس اسطوخودوس می‌باشد و در غلظت مشخص از دو اسانس درصد حشره‌کشی اسانس رزماری بالاتر می‌باشد، LC₅₀ رزماری ۱۷/۳۹ و LC₅₀ اسطوخودوس ۴۰/۳۹ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آمد. استفاده مخلوط ۱:۱ دو اسانس رزماری و اسطوخودوس روی حشره کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات مشخص کرد این دو اسانس دارای اثرات متقابل می‌باشند و با توجه به مقایسه LC₅₀ هر کدام از اسانس‌ها با LC₅₀ تاثیر توام آن‌ها که ۱۵/۸۴ بدست آمد، نسبت هم‌افزایی برابر (SR) ۱/۸۲ محاسبه گردید، (SR>0.7) پس مشخص شد دو اسانس رزماری و اسطوخودوس نسبت به هم دارای اثرات هم‌افزایی می‌باشند. با مقایسه میانگین مرگ و میر استفاده جداگانه هر اسانس و استفاده مخلوط آن‌ها مشخص گردید، میزان مرگ و میر مخلوط آن‌ها بالاتر می‌باشد میزان مرگ و میر اسانس اسطوخودوس و رزماری و مخلوط آن‌ها به ترتیب ۶۱/۲۹، ۷۷/۳۸ و ۸۱/۵۸ درصد گردید. با مقایسه نسبت LC₅₀ دو اسانس و بالاتر بودن سمیت اسانس رزماری نسبت به اسطوخودوس می‌توان گفت تاثیر رزماری در هنگام استفاده توام آن‌ها روی اسطوخودوس بیش‌تر می‌باشد. با توجه به این‌که ترکیبات اصلی اسانس اسطوخودوس (*L. angustifolia*) لینالول، ۱ و ۸- سینئول، روزفوران اپوکساید، منتون، ایزومنترول و ترانس- دی هیدروکاروون می‌باشند (۷)، و عمده‌ترین ترکیبات موجود در اسانس رزماری ۱ و ۸- سینئول، بورنتول، کامفر، کامفن، بورنیل استات، آلفا پنین و بتا پنین تشکیل می‌دهند (۲۹)، و با توجه به این‌که ترکیبات ۱، ۸ سینئول و آلفا پنین بازدارنده آنزیم استیل کولین استراز و هم‌افزایی یکدیگرند (۹) اظهار نظر در مورد نحوه تاثیر و اینکه کدامیک از ترکیبات تشکیل دهنده این دو اسانس باعث بروز اثرات هم‌افزایی گردیده، نیاز به تحقیق و بررسی بیش‌تر روی اثرات متقابل هر یک از اجزاء تشکیل دهنده این دو اسانس می‌باشد.

- reference to their chemical compositions. Iranian Journal of Pulses Research 5(2): 131-138.
- 9- Houghton P.J., and Howes M. 2005. Natural products and derivatives affecting neurotransmission relevant to alzheimer's and Parkinson's disease. Neurosignals 14: 6-22.
- 10- Isman M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and anincreasingly regulated world. Annual Review of Entomology 51: 45-66.
- 11- Isman M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection 19(810): 603-608.
- 12- Keita S.M., Vincent C., Schmit J., Ramaswamy S., and Belanger A. 2000. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research 36: 355-364.
- 13- Krishnarajah S.R., Gawesaligam V.K., and Senanayake U.M. 1985. Repellency and toxicity of some plant oil and their terpene components to *Sitotroga cerealella*. (Oliver) (Lepidoptera, Gelichiidae). Tropical Science 25: 249-52.
- 14- Lee B.H., Choi W.S., Lee S.E., and Park B.S. 2001. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). Crop Protection 20: 317-320.
- 15- Liu C.H., Mishra A.K., Tan R.X., Tang C., Yang H., and Shen Y.F. 2006. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. Bio resource Technology 97: 1969-1973.
- 16- Mahfuz I., and Khalequzzaman M. 2007. Contact and fumigant toxicity of essential oils against *Callosobruchus maculatus*. University Journal of Zoology, Rajshahi University 26: 63-66.
- 17- Manzoomi N., Ganbalani G.N., Dastjerdi H.R., and Fathi S.A.A. 2010. Fumigant toxicity of essential oils of *Lavandula officinalis*, *Artemisia dracunculus* and *Heracleum persicum* on the adults of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae).Munis Entomology and Zoology 5(1): 118-122.
- 18- Miresmailli S., and Isman M.B. 2006. Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. Journal of Economic Entomology 99(6): 2015-2023.
- 19- Mobki1 M., Safavi S.A. and Safaralizadeh M.H. 2014. Evaluation of fumigant toxicity of the essential oil of Citrus reticulata fruit peels and synergistic effect of diethyl maleate and acetone in the control of the adult cowpea weevils, *Callosobruchus maculatus* F. (Col.: Bruchidae). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 30(2): 292-298.
- 20- Pimentel D., Andow D., Dyson-Hudson R., Gallahan D., Jacobson S., Irish M., Croop S., Moss A., Schreiner I., Shepard M., Thompson T., and Vinzant B. 1980. Environmental and social costs of pesticides: a preliminary assessment. Oikos 34(2): 125-140.
- 21- Rajapakse R., and Van Emden F. 1997. Potential of four vegetable oils and ten botanical powders for reducing infestation of cowpeas by *Callosobruchus maculatus*, *C. chinesis* and *C. rhodesianus*. Journal of Stored Products Research 33(1): 59-68.
- 22- Rajendran S., and Sriranjini V. 2008. Plant products as fumigants for stored-product insect control. Journal of Stored Products Research 44: 126-135.
- 23- Regnault-Roger C., Hamraoui A., Holeman M., Theron E. and Pinel R. 1993. Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Chemical Ecology 19: 1231-1242.
- 24- Shahkarami J., Falah Zadeh M., and Almasi S. 2010. Fumigation toxicity and oviposition deterency of four plant essential oils on cowpea beetle. Plant Protection Journal 2(4): 265 – 276.
- 25- Singh S.R., Luse R.A., Leuschner K., and Nangju D. 1978. Groundnut oil treatment for the control of *Callosobruchus maculatus* (F.) during cowpea storage. Journal of Stored Products Research 14: 77-80.
- 26- Sousa A.H., Maracaja P.B., Silva R.M.A., Moura A.M.N., and Andrade W.G. 2005. Bioactive of vegetal powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in caupi bean and seed physiological analysis. Revista de Biologia e Ciencias da Terra 5(2).
- 27- Tanzubil P.B. 1991. Control of some insect pests of cowpea (*Vigna unguiculata*) with neem (*Azadirachta indica* A. Juss) in Northern Ghana. Tropical Pest Management 37: 216-217.
- 28- Tripathi, A.K., Prajapati, V. and Kumar, S. 2003. Bioactivity of l-carvone, d-carvone and dihydrocarvone towards three stored product beetles. Journal of Economic Entomology 96: 1594–1601.
- 29- Zargari, A. 1996. Medicinal Plants. Tehran University Publication, Tehran, Vol. 3, 6th ed., 538 p.
- 30- Zettler J.L., and Cuperus G.W. 1990. Pesticide resistance in *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in wheat. Journal of Economic Entomology 83: 1677-1681.



Fumigant Acute Toxicity of Rosemary and Lavender Essential Oils and a Synergism between them Against Adults of *Callosobruchus maculatus* (Col.: Chrysomelidaed) under Laboratory Conditions

R. Latifizadeh¹- M. Khanjani^{2*}- B. Zahiri³

Received: 25-07-2018

Accepted: 24-02-2020

Introduction: Cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*) is one of the key pests in the grain storage warehouses, which feeds on a variety of crops, including cowpea, pea, lentil, mung bean, and bean and causes damage on them. Sometimes this pest could destroy 100% of the stored bean seeds within 5-6 months. Currently, fumigants pesticide are used to control of cowpea weevil. This kind of control method has different adverse effects for consumers and does not provide effective control on the target pest. In order to control this pest in recent years, environmentally friendly pesticides, especially of plant origin are considered by researchers. In this regard, the pesticide effects of the rosemary essential oils (*Rosmarinus officinalis* L.) and lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) and their synergistic effects on the adults of *Callosobruchus maculatus* were studied.

Material and Methods: Bean beetles of this study were provided from Plant, Pest and Disease Research Institute in Karaj and then were transferred to laboratory of entomology of plant protection department of Jahad Keshavazi, Gom, Iran. The provided bean beetles were reared in laboratory condition to get mass production. Bioassay experiments of essential oils were performed with concentrations of 12, 25, 45, 86, 166, and 320 microliters per liter of air on adults of *Callosobruchus maculatus* (1-3 days) in 27±1°C temperature, 65±5% relative humidity and a photoperiod of 16 hours of darkness and 8 hours of light. The experiments were done on a mixture of mung bean and cowpea seeds into 60 ml glass containers in incubators. LC₅₀ and LC₉₀ index of each of the essential oils were calculated by POLO-PC software and analysis of variance was performed using SAS 9.1 software.

Results: The results indicated rosemary and lavender essential oils had insecticidal effect on the bean beetle and the insect mortality rate increased with increasing concentration. Rosemary essential oil was more toxic than lavender essential oil. The LC₅₀ values of rosemary and lavender were 17.39 and 40.39 microliters per liter of air, respectively. To investigate the interaction effect of these two essential oils, another experiment was performed at previous concentrations in equal proportions (1: 1) of each essential oil and the LC₅₀ value of the mixture was obtained 15.84 microliters per liter of air.

Conclusion: The synergistic ratio (SR) of lavender and rosemary essential oils was the equal to 1.82, which indicates that these essential oils intensify the effect of each other. The mean mortality due to respiratory toxicity of lavender and rosemary and their mixtures were 61.29, 77.38 and 81.58%, respectively.

Keywords: Bioassay, Essential oil, Pest management, Stored product

1, 2 and 3- Former M.Sc. Agricultural Entomology, Professor and Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Iran, respectively.

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



مقاله علمی-پژوهشی

محاسبه دمای پایه و بررسی روند تغییرات تعداد نسل کرم سیب (*Cydia pomonella*)، با

استفاده از مدل درجه-روز در شهرستان چناران

مهدی حلمی جدید^۱- محمد موسوی بایگی^{۲*}- حسین صادقی نامقی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۲

چکیده

جنبه‌های متعددی از تغییر اقلیم و آثار آن بر اکوسیستم‌ها بررسی شده است، لکن تأثیر آن بر روی آفات، خصوصاً در ایران کمتر موردتوجه قرار گرفته است. تغییر اقلیم در دهه‌های اخیر تأثیرات متعددی را بر روی جامعه گیاهی و آفات گذاشته است. کرم سیب به‌عنوان یک آفت کلیدی مانند سایر آفات کشاورزی وابستگی زیادی به دمای هوا دارد. این آفت برای کامل شدن یک نسل و طی مراحل مختلف زندگی نیاز به دریافت حدود ۶۵۰ درجه-روز دما دارد. به‌منظور بررسی روند تغییرات تعداد نسل کرم سیب، پس از محاسبه دمای پایه، تعداد نسل این آفت در یک دوره آماری ۳۰ ساله (۱۳۹۷-۱۳۶۸) با استفاده از داده‌های هواشناسی ایستگاه گلمکان و مدل درجه-روز تعیین گردید و نتایج به‌دست‌آمده با نتایج تله‌های فرمونی نصب‌شده و دیتالاگر ثبت‌کننده دما در باغ گلایی در سال ۱۳۹۸ مقایسه گردید. دمای پایه برای کرم سیب ۸/۴ درجه سلسیوس به دست آمد. این آفت در دوره ۳۰ ساله گذشته به‌جز یک سال دارای ۳ نسل کامل بوده و روند درجه-روز دریافتی آن مثبت و معنادار است. در ابتدای دوره آماری زندگی آفت در ابتدای نسل سوم متوقف شده و با نزدیک شدن به اواخر دوره آماری مراحل زندگی آفت رو به تکمیل شدن پیش می‌رود. میانگین درجه-روز تجمعی دریافتی در ده سال دوم دوره نسبت به ده سال اول ۱۴۳ درجه و در ده سال سوم نسبت به ده سال دوم ۸۵ درجه افزایش داشته است. در صورت ادامه روند افزایش دما وقوع نسل چهارم آفت نیز دور از انتظار نخواهد بود. در این شرایط استفاده از سموم و هزینه‌ها افزایش خواهد یافت.

واژه‌های کلیدی: تغییر اقلیم، دمای پایه، درجه-روز، کرم سیب

مقدمه

است، افزایش دما می‌تواند تأثیرات مستقیم و غیرمستقیمی بر روی آن‌ها بگذارد (۱۱ و ۲۰). بنابراین بررسی نحوه اثر تغییر اقلیم و گرمایش جهانی، بر روی آفات که مستقیماً بر روی عملکردها و غیر مستقیم بر روی انسان و محیط زیست تأثیر گذار است ضروری می‌باشد. تغییر اقلیم به عنوان تغییر در شرایط متوسط آب و هوایی هر منطقه تعریف می‌شود و یکی از آثار آن که بسیاری محققان و دانشمندان بر آن مهر تأیید می‌گذارند افزایش دما است، که می‌تواند در رابطه با حشرات و آفات مانند کرم سیب باعث افزایش سرعت رشد، افزایش تعداد نسل و کاهش فاصله بین مراحل زندگی شده و در نهایت مبارزه و کنترل آن را دشوارتر کند (۱۵، ۲۹ و ۳۵). در صورتی که افزایش دما برای آفات اتفاق بیافتد و این افزایش بیشتر از آستانه بالایی رشد نباشد، تکمیل چرخه زندگی برخی آفات که در سال چندین بار نسل خود را کامل می‌کنند، سرعت گرفته و می‌توانند تعداد نسل بیشتری در سال داشته باشند (۱۹). در جنبه‌های متعددی از تغییر اقلیم مانند تأثیر آن بر کشاورزی، محیط‌زیست، صنعت و سلامت انسان که امروزه توسط محققین و دانشمندان موردبررسی قرار می‌گیرد، مطالعات جنبه‌های تغییر اقلیم و تأثیر آن بر روی حشرات

شرایط اقلیمی و متغیرهای هواشناسی به عنوان یکی از عوامل تأثیر گذار بر اکوسیستم‌ها، علاوه بر انسان، گیاهان و حیوانات، زندگی حشرات و آفات را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد و می‌توان آن را عامل اصلی در توزیع و پراکنش بیشتر گونه‌های حشرات و آفات دانست (۳۱). از میان متغیرهای هواشناسی می‌توان دمای هوا را یکی از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر زندگی حشرات به سبب خونسرد بودن آن‌ها تلقی نمود و از آن برای بهبود وضعیت مدیریت طیف گسترده‌ای از آفات استفاده کرد (۱۰ و ۱۲). با توجه به اینکه آفات نیز مانند گیاهان دارای یک آستانه حرارتی مطلوب برای رشد هستند و دریافت مقدار دمای خاص برای طی مراحل فنولوژیک این موجودات ضروری

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و استاد گروه علوم و مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

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

۳- استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

از آنجا حائز اهمیت است که در بسیاری از موارد تأثیر منفی بر روی برای انسان، امنیت غذایی و اکوسیستم‌های طبیعی دارد (۱۲ و ۱۶). کرم سیب از آفات کلیدی و مهم باغ‌های سیب، گلابی، به و گاهی گردو به حساب می‌آید و اهمیت اقتصادی آن بیشتر مربوط به آسیب‌های ناشی از لارو بر روی سیب یا سایر میوه‌های میزبان است که اگر با کنترل و مبارزه صحیح شیمیایی و بیولوژیکی کنترل نشود، می‌تواند خسارت زیادی را وارد کند. این آفت مانند بسیاری از آفات کاملاً تأثیرپذیر از دمای هوا بوده و برای طی مراحل زندگی خود باید یک مقدار دمای تجمعی دریافت نماید، که این مقدار را در علم کشاورزی با مفهومی به عنوان درجه-روز بیان می‌کنند و یکی از بهترین و کاربردی‌ترین روش‌های پایش آفات می‌باشد (۸، ۹، ۲۸ و ۳۵). کرم سیب جزو آفات چند نسلی در سال می‌باشد که با توجه به سطح کشت وسیع سیب و باغ‌های میوه‌های دانه‌دار در جهان و ایران همواره خسارت‌های وسیعی را به باغداران وارد می‌کند و کاربرد روش‌های نوین در مدیریت آن بسیار حائز اهمیت می‌باشد. باتوجه به اینکه تعداد نسل هر آفت رابطه مستقیم با جمعیت و میزان خسارت آن دارد، یکی از مهمترین عوامل در مدیریت آفات کلیدی مانند کرم سیب، پیش بینی تعداد نسل آن در سال‌های آینده، در شرایط تغییر اقلیم و نوسانات دمایی می‌باشد، که می‌تواند چشم‌اندازی برای تصحیح و تغییر شیوه‌های مدیریتی این آفت و آفات مشابه ایجاد کند.

در کالیفرنیا اولین شکار پروانه‌های نر در ۱۰ درجه سلسیوس و در زمان به شکوفه رفتن درختان سیب بوده و کرم سیب در مناطق گرم دارای ۴ و در مناطق سردتر ۲ نسل می‌باشد (۲۵). این آفت در حالی در منطقه خاخریان که جزو مناطق سردسیر می‌باشد، دارای دو و در منطقه سپیدان سه نسل می‌باشد که، تعداد نسل آن را برای منطقه جلگه‌ای ۴ و برای مناطق مرتفع حداکثر ۲ نسل گزارش شده است (۴، ۷ و ۲۵). در مطالعه‌ای که اسدی و همکاران (۲۰۰۹) که باهدف پایش جمعیت کرم سیب و تعیین بهترین زمان کنترل شیمیایی این آفت با استفاده از مدل درجه-روز در شیروان انجام دادند و همچنین مطالعه رجبی و همکاران (۲۰۰۶) که باهدف مقایسه تعداد نسل کرم سیب، روند پرواز و تراکم جمعیت کرم سیب در مناطق و ارتفاعات مختلف ایران انجام شد، مشخص شد که در منطقه کرج کرم سیب دارای دو نسل و در منطقه شیروان دارای سه نسل می‌باشد (۵ و ۲۶). تیلور و همکاران (۲۰۱۸) با استفاده از داده‌هایی مشاهداتی و شبیه‌سازی شده طبق گزارش چهارم هیئت بین دولتی تغییر اقلیم، تغییرات احتمالی در زندگی حشرات را باتوجه به رخداد تغییر اقلیم بررسی نمودند. نتایج این تحقیق نشان داد که در اواخر قرن ۲۱ افزایش نسل آفات چند نسلی و جمعیت آفات باعث افزایش قابل توجه استفاده از سموم کشاورزی به منظور حفظ عملکرد و بهره‌وری خواهد شد (۳۳). سمیتز و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای ضمن بیان اینکه

تأثیر تغییر اقلیم بر روی آفات کمتر مورد بحث و بررسی و توجه قرار گرفته است به مدل‌سازی تأثیر تغییر اقلیم بر مدیریت پایدار کرم سیب به عنوان آفت کلیدی سیب در سوئیس پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که تغییرات قابل توجهی برای تاریخ‌های فنولوژی این آفت در باغ‌های سیب نسبت به دوره‌های قبل رخ خواهد داد. همچنین افزایش تعداد حشرات نسل دوم، افزایش خطر بیشتر برای نسل سوم و افزایش تعداد نسل از دیگر آثار تغییر اقلیم بر روی کرم سیب در سوئیس است که می‌تواند این آفت را در برابر راه‌های مبارزه و سموم شیمیایی سازگار کند (۳۰). مندنی و همکاران (۱۳۹۳) در پژوهشی خسارت آفت سن گندم بر رشد و عملکرد گندم پاییزه تحت شرایط تغییر اقلیم را بررسی نمودند. در این پژوهش افزایش درجه حرارت و برهمکنش افزایش درجه حرارت و غلظت دی‌اکسید کربن برخلاف افزایش غلظت دی‌اکسید کربن منجر به شروع زودتر ریزش سن گندم به مزارع و افزایش طول دوره همپوشانی این حشره با طول دوره رشد گندم گردید. بنابراین به نظر می‌رسد که در شرایط تغییر اقلیم آینده در مقایسه با شرایط اقلیم فعلی، میانگین میزان خسارت سن گندم در تراکم‌های مختلف بر عملکرد دانه گندم حدود ۷ درصد افزایش یابد (۲۱).

در این شرایط، گرم شدن هوا ممکن است با طولانی شدن فصل رشد باعث افزایش جمعیت حشرات و آفات، تغییر زمان ظهور آفت، افزایش سرعت رشد و توسعه، کامل شدن سریع‌تر چرخه زندگی آفت و در نتیجه افزایش تعداد نسل و نهایتاً افزایش جمعیت آفت در سال بعد خواهد شد (۲۳ و ۳۲). مطالعات زیادی در ایران و جهان در رابطه با فنولوژی کرم سیب، تعداد نسل آن و استفاده از مدل درجه-روز برای تعیین بهترین زمان مبارزه با این آفت انجام شده است. لکن باتوجه به اهمیت موضوع تغییر اقلیم که خصوصاً در دهه اخیر موردتوجه بسیاری از محققان قرار گرفته است، انجام مطالعات و پژوهش‌هایی که بتواند تأثیر تغییر اقلیم را بر روی آفات می‌باشد، بررسی کرم سیب بررسی کند، ضروری می‌باشد. بررسی تأثیر تغییر اقلیم بر آفات که تا به امروز در ایران کمتر مورد توجه قرار گرفته است می‌تواند این جنبه تغییر اقلیم را که بر روی امنیت غذایی، محیط‌زیست، انسان و سایر موجودات زنده تأثیر بگذارد، آشکار سازد.

مواد و روش‌ها

ایستگاه هواشناسی سینوپتیک گلکان واقع در خراسان رضوی، نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی (فاصله ۱۴ کیلومتر) به باغ مورد مطالعه بود. اطلاعات این ایستگاه در جدول ۱ آمده است. تله‌های فرمونی و دیتالاگر دما جهت ثبت تعداد پروانه‌های نر به دام افتاده، تاریخ بیوفیکس و داده‌های دمایی باغ برای محاسبه درجه-روز در باغ مورد مطالعه نصب شد.

جدول ۱- مشخصات ایستگاه گلماکان و باغ گلابی

Table 1- Characteristics of Golmakan station and pear orchard

Table 1. Characteristics of Golmakan station and pear orchard						
طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی latitude	ارتفاع (متر) Altitude (m)	اقلیم (دومارتن) Climate (Dombarton)	متوسط دمای سالانه (درجه سلسیوس) Average of annual temperature (°C)	متوسط بارندگی سالانه (میلی متر) Average of annual precipitation (mm)	
ایستگاه گلماکان Golmakan station	59 17 E	36 29 N	1176	نیمه خشک Semi-arid	13.5	205
باغ گلابی Pear orchard	59 07 E	36 42 N	1128	-	-	-

تفریح شده است.

در محور مختصات دما را در محور x ها و سرعت رشد را در محور y ها و معادله خط شیب رگرسیون به دست آمده است. این معادله به شکل رابطه (۳) می باشد. اگر این رابطه را برابر صفر قرار دهیم ($y=0$) دمای پایه، در واقع دمایی که در آن سرعت رشد صفر است، طبق رابطه (۴) به دست خواهد آمد.

$$y = ax - b \quad (3)$$

$$T_{base} = \frac{b}{a} \quad (4)$$

در رابطه ۳ و ۴: a شیب خط، b عرض از مبدا و T_{base} دمای پایه است.

محاسبات درجه-روز برای کرم سیب، از تاریخی به نام بیوفیکس آغاز می شود. بیوفیکس طبق تعریف عبارت است از تاریخ: شروع پرواز پایدار پروانه های نر یا همان اولین پروانه های نر به دام افتاده در تله ها (۱۸). تاریخ بیوفیکس در مطالعه حاضر با توجه به نصب تله های فرمونی در باغی در مجاورت ایستگاه هواشناسی گلماکان، در سال ۱۳۹۸ به دست آمد. اطلاعات تله های نصب شده و مطالعات گذشته در خارج و داخل کشور نشان داد تاریخ بیوفیکس از زمانی که میانگین روزانه دمای منطقه به حدود ۱۰-۸ درجه سلسیوس و دمای هوا در زمان غروب خورشید به حدود ۶۲ درجه فارنهایت (۱۶/۶ درجه سلسیوس) می رسد (۲۲)، اتفاق می افتد. بنابراین تاریخ بیوفیکس برای سال های گذشته با توجه به رسیدن دمای عمومی منطقه به دماهای ذکر شده، ثبت شده است.

برای محاسبه تعداد نسل ها طبق مطالعات انجام شده در ایران و سایر کشورها، حدود ۶۵۰ درجه-روز دما برای تکمیل یک نسل کرم سیب (پروانه بالغ، تخم، لارو و شفیره) نیاز است (۱، ۱۶ و ۲۷). بنابراین از تاریخ بیوفیکس تا زمان برداشت میوه درختان سیب و سایر درختان دانه دار در منطقه ایستگاه مطالعاتی، درجه-روز محاسبه و بر اساس نیاز دمایی هر نسل، تعداد نسل کرم سیب از رابطه (۵) محاسبه گردید.

از سازمان هواشناسی خراسان رضوی داده های دمای ایستگاه گلماکان در دوره آماری ۳۰ ساله (۱۳۶۸-۱۳۹۷) تهیه گردید. مقدار درجه-روز آفت تا زمان متداول برداشت میوه های میزبان آفت با توجه به رابطه (۱) محاسبه گردید. با توجه به اینکه آستانه دمای بالا فعالیت کرم سیب ۸۸ درجه فارنهایت (۳۲/۷ درجه سلسیوس) در نظر گرفته می شود (۲۴، ۲۵ و ۳۵) و بالاتر از این دما فعالیت آفت کند یا متوقف می شود، در صورتی که میانگین روزانه دما از این مقدار بالاتر باشد، میانگین دمای آن روز همان ۳۲/۷ درجه سلسیوس در نظر گرفته می شود. قابل ذکر است که با توجه به اقلیم منطقه، تعداد روزهای کمی در سال این شرایط را دارا بودند.

$$GDD = \sum \left(\frac{T_{max} + T_{min}}{2} - T_{base} \right) \quad (1)$$

در این رابطه GDD مقدار درجه روز تجمعی در طول فصل رشد، T_{max} دمای حداکثر روزانه، T_{min} دمای حداقل روزانه و T_{base} دمای پایه است. دمای پایه به عنوان نقطه صفر فیزیولوژیکی در نظر گرفته می شود.

هدف تحقیق بررسی روند تغییرات تعداد نسل کرم سیب است. دمای پایه در کل دوره ثابت در نظر گرفته می شود. بنابراین روندی که با دمای پایه به دست آمده محاسبه می شود، با روندی که با دمای پایه دیگر محاسبه می شود، مشابه می باشد. لکن جهت بررسی دقیق تر مراحل فنولوژی و پژوهش های بعدی محاسبه دمای پایه انجام شده است. برای محاسبه دمای پایه یک مرحله از زندگی آفت انتخاب شد (در این مطالعه زمان تخم گذاری تا تفریح تخم). سپس تعدادی تخم کرم سیب در اتاقک هایی با دمای ثابت (۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶ و ۱۸ درجه سلسیوس) و دوره نوری و رطوبت نسبی تنظیم شده نگهداری شد. سپس تعداد روز لازم برای تفریح تخم در هر دما ثبت شد. سرعت رشد در هر دما با توجه به رابطه (۲) به دست آمد (۳).

$$V = \frac{1}{D} \quad (2)$$

در این رابطه V سرعت رشد و D تعداد روزی است که تخم

(۵)

$$NOG = \frac{GDD}{650}$$

در این رابطه GDD، درجه روز تجمعی به دست آمده از رابطه ۱ و NOG^۱ تعداد نسل کرم سیب می باشد که عدد صحیح آن تعداد نسل کامل و مقدار اعشار آن نشان دهنده نسل ناقص کرم سیب است که مراحل زندگی خود را کامل نمی کند. تعداد نسل کرم سیب، در باغ مطالعاتی در سال ۲۰۱۹ نیز ثبت و محاسبه شد. این تعداد نسل هم با توجه به پیک های پرواز در تله های فرمونی و هم دیتا لاگر نصب شده در باغ و مشابه با محاسباتی که برای دوره آماری گذشته ایستگاه گلمکان انجام شده است، به دست آمده است.

نهایتاً با استفاده از درجه- روز تجمعی به دست آمده که آفت کرم سیب در یک فصل دریافت می کند (رابطه ۱) برای هر سال، این مقدار در دوره آماری ۳۰ ساله (۱۳۶۸-۱۳۹۷) با آزمون روندیابی من-کندال مورد بررسی قرار گرفت. همانند سایر آزمون های آماری، این آزمون بر مبنای مقایسه فرض صفر و یک بوده و در نهایت در مورد پذیرش یا رد فرض صفر تصمیم گیری می نمایند. فرض صفر این آزمون مبتنی بر تصادفی بودن و عدم وجود روند در سری داده ها است و پذیرش فرض یک (رد فرض صفر) دال بر وجود روند در سری داده ها است. مراحل این آزمون به شرح ذیل می باشد:

ابتدا اختلاف بین تک تک جملات سری با همدیگر و اعمال تابع sgn و استخراج پارامتر S با استفاده از رابطه (۶):

$$s = \sum_{k=1}^{n-1} \sum_{j=k+1}^n \text{sgn}(x_j - x_k) \quad (6)$$

در این رابطه n: تعداد جملات، x_j : تابع j ام سری و x_k : داده k ام سری داده sgn به شرح ذیل معرفی می شود:

$$\text{sgn}(s) = \begin{cases} +1 & \text{if } (x_j - x_k) > 0 \\ -1 & \text{if } (x_j - x_k) = 0 \\ 0 & \text{if } (x_j - x_k) < 0 \end{cases} \quad (7)$$

بنابراین تمام مقادیر تابع (sgn)، صفر، ۱ و یا -۱ است.

در ادامه واریانس از رابطه (۸) محاسبه می شود:

$$\text{var}(s) = \frac{n(n-1)(2n+5) - \sum_{j=1}^n t(t-1)(2t+5)}{28} \quad (8)$$

سیس آماره Z به کمک یکی از روابط ذیل محاسبه می گردد:

$$\text{sgn}(s) = \begin{cases} \frac{s-1}{\sqrt{\text{var}(s)}} & \text{if } s > 0 \\ 0 & s = 0 \\ \frac{s+1}{\sqrt{\text{var}(s)}} & \text{if } s < 0 \end{cases} \quad (9)$$

S پارامتر محاسبه شده از رابطه (۶) می باشد.

در صورتی که آماره Z مثبت باشد روند صعودی و در صورتی که منفی باشد روند در سری داده ها نزولی است. قدر مطلق Z را در نظر می گیریم. اگر رابطه زیر برقرار بود فرض صفر پذیرفته می شود،

1- Number of Generation

روندی وجود ندارد و داده ها تصادفی هستند. اگر رابطه برقرار نبود، فرض یک پذیرفته می شود که دلالت بر وجود روند دارد.

$$|Z| \leq \frac{za}{2} \quad (10)$$

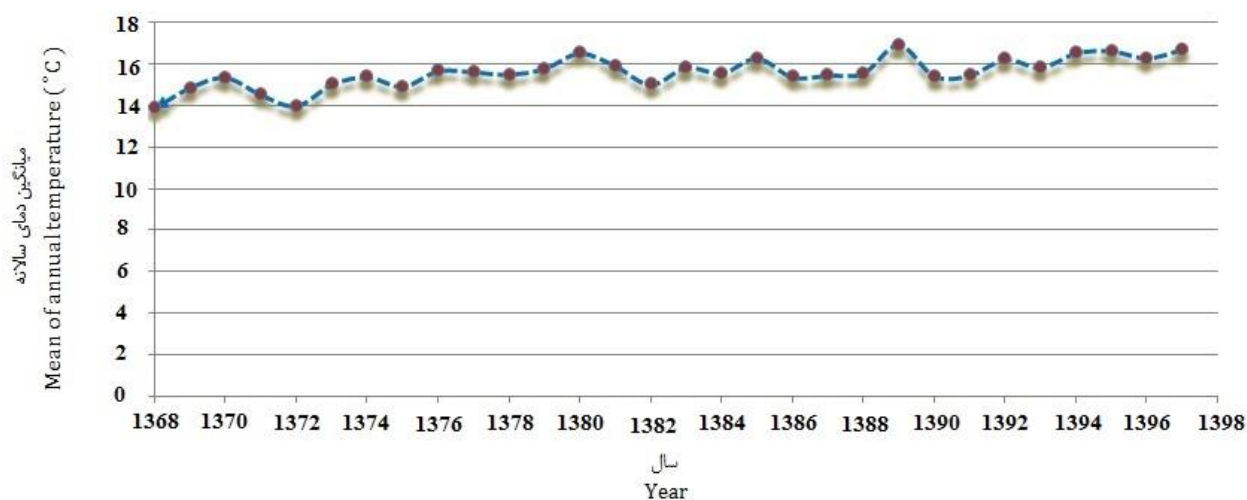
a همان سطح معنی داری است که برای آزمون در نظر گرفته می شود. za آماره توزیع نرمال استاندارد در سطوح معنی داری a است که با توجه به دو دامنه بودن آزمون a/2 استفاده شده است معمولاً این آزمون برای سطح معنی داری ۹۵ و ۹۹ درصد به انجام می رسد مقدار a برای سطح ۹۵ درصد، برابر با ۰/۰۵ و برای سطح ۹۹ درصد برابر با ۰/۰۱ است. در سطح اطمینان ۹۵ درصد: z = ۱/۹۶ و در سطح اطمینان ۹۹ درصد z = ۲/۵۸ در نظر گرفته می شود.

روش من-کندال ابتدا توسط من (۱۹۴۵) ارائه و سپس توسط کندال (۱۹۷۰) بسط و توسعه یافت. فرض صفر آزمون من-کندال بر تصادفی بودن و عدم وجود روند در سری داده ها دلالت دارد و پذیرش فرض یک (رد فرض صفر) دال بر وجود روند در سری داده ها است. آماره ای که نهایتاً از آزمون من-کندال به دست می آید (Z)، با مقادیر (Z_0) در سطح معنی داری ۹۵ و ۹۹ درصد مقایسه می شود. اگر $Z_0 > Z$ باشد، نشان دهنده عدم روند مشخصی در داده ها و تصادفی بودن آن ها و اگر $Z_0 < Z$ باشد نشان دهنده روند در سری داده ها است.

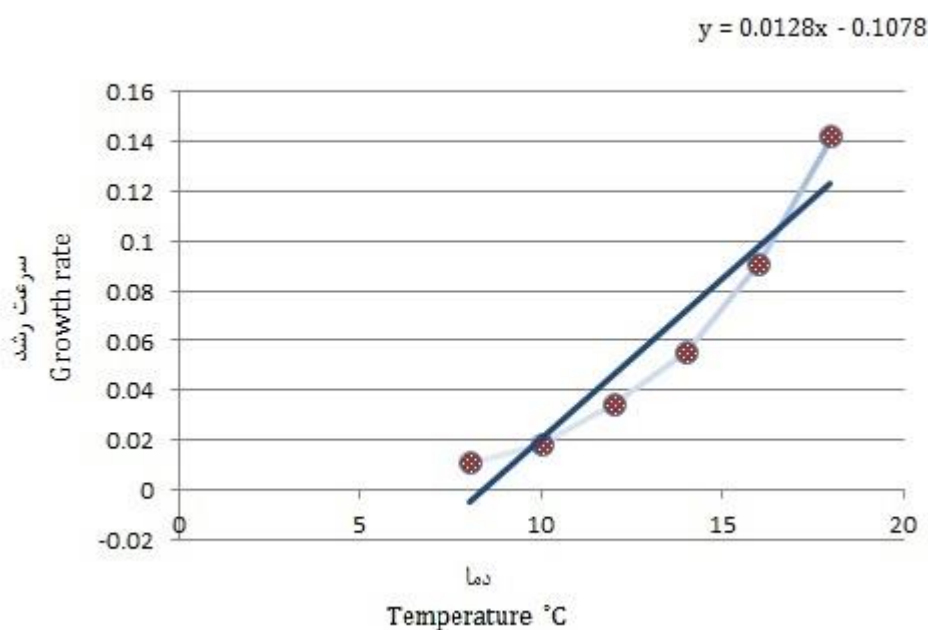
نتایج و بحث

یکی از عواملی که می تواند به ما کمک کند تا وضعیت تغییرات دمایی را در دوره های گذشته بهتر درک کنیم، بررسی میانگین دمای سالانه است و بررسی میانگین دماهای ایستگاه گلمکان نشان می دهد که میانگین دمای سالانه در دوره آماری ۳۰ ساله ایستگاه گلمکان (۱۳۶۸-۱۳۹۷) بین ۱۳/۹ و ۱۶/۷ درجه سلسیوس متغیر بوده است. از سال ۱۳۶۸ لغایت ۱۳۷۹ و به مدت ۱۲ سال میانگین دمای سالانه زیر ۱۶ درجه سلسیوس و از سال ۱۳۸۰ به بعد ۸ سال میانگین دمای بالای ۱۶ درجه سلسیوس در ایستگاه مطالعاتی به وقوع پیوسته است. این افزایش از آنجا اهمیت پیدا می کند که بالا رفتن میانگین دمای سالانه نشان دهنده دریافت دمای بیشتری در هر روز توسط آفات و در نتیجه بالا رفتن میزان درجه-روز دریافتی در زمان حضورشان خواهد شد. تغییرات میانگین دمای سالانه در ایستگاه گلمکان در شکل ۱ نشان داده شده است.

برای محاسبه تعداد نسل کرم سیب در اولین قدم نیاز به محاسبه درجه-روز بود و بدین منظور محاسبه دمای پایه انجام شده است. برای محاسبه دمای پایه از سرعت رشد در یک مرحله خاص از زندگی آفت استفاده کرده ایم و خطی که معادله رگرسیون را برای محاسبه دمای پایه تشکیل داده است در شکل ۲ نشان داده شده است. با توجه به این خط و معادله رگرسیونی آن و رابطه ۴، دمای پایه ۸/۴ درجه سلسیوس به دست آمده است.



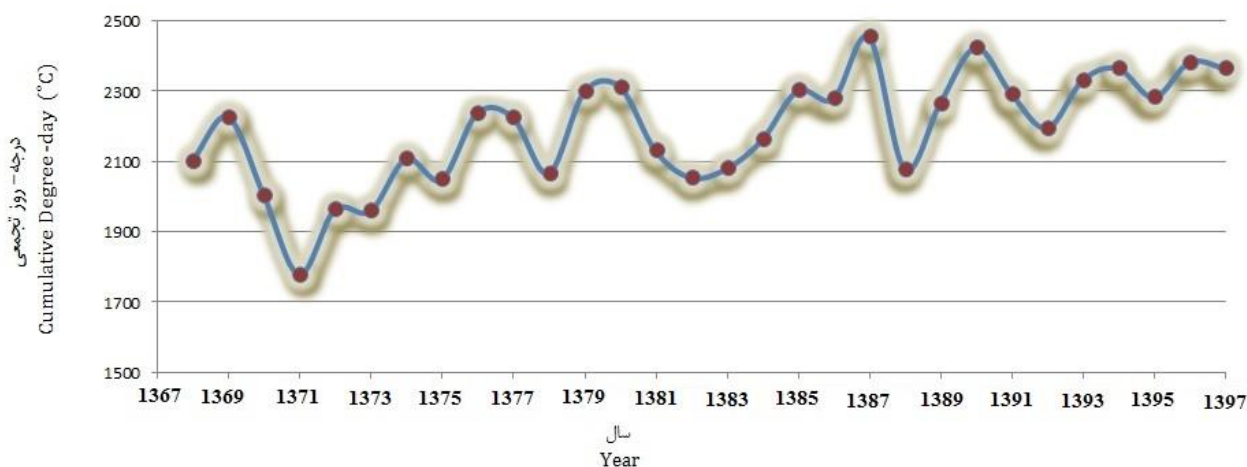
شکل ۱- تغییرات میانگین دمایی ایستگاه گلماکان
Figure 1- Changes in the mean temperature of the Golmakan station



شکل ۲- نمودار دما- سرعت رشد کرم سیب برای محاسبه دمای پایه
Figure 2- Graph of Temperature- growth rate of Codling moth for calculating base temperature

۸/۴ درجه سلسیوس به دست آمده است. با محاسبه دمای پایه، درجه-روز تجمعی کرم سیب در هر سال به دست آمد و تغییرات آن با توجه به تاریخ بیوفیکس کرم سیب در دوره آماری مورد مطالعه، در شکل ۳ نشان داده شده است.

باتوجه به اینکه هدف در مطالعه حاضر بررسی روند تغییرات تعداد نسل کرم سیب در دوره گذشته است و دمای پایه در کل محاسبات (در هر سال) ثابت در نظر گرفته می شود، نتایج به دست آمده به کمک دمای پایه محاسبه شده، به خوبی می تواند وضعیت آفت در دوره گذشته را نشان دهد. دمای پایه برای کرم سیب در منطقه مطالعاتی



شکل ۳- تغییرات درجه-روز تجمعی کرم سیب در ایستگاه گلماکان
Figure 3- Changes in cumulative degree-days at Golmakan Station

مراحل اولیه تمام می‌شود، در سال‌های اخیر چرخه زندگی این آفت رو به کامل شدن و رسیدن به مراحل انتهایی نسل سوم است. با توجه این شرایط و روند افزایشی دما در صورتی که این شرایط ادامه پیدا کند ظهور نسل چهارم کرم سیب در منطقه دور از انتظار نخواهد بود و می‌تواند پیامدهایی از قبیل، افزایش خسارت به باغداران، افزایش هزینه‌های مبارزه و کنترل، خسارت به محیط‌زیست و جامعه انسانی را در بر داشته باشد.

با توجه به تله‌های فرمونی نصب شده در باغ گلابی واقع در چناران، علاوه بر اطلاعات پروانه‌های نر به دام افتاده در تله‌ها، مقدار درجه-روز دریافتی کرم سیب از تاریخ بیوفیکس تا زمان برداشت گلابی نیز که با توجه به داده‌های دیتالاگر نصب شده در باغ و همان روش مورد استفاده در داده‌های ایستگاه گلماکان به دست آمده است، در شکل ۵ نشان داده شده.

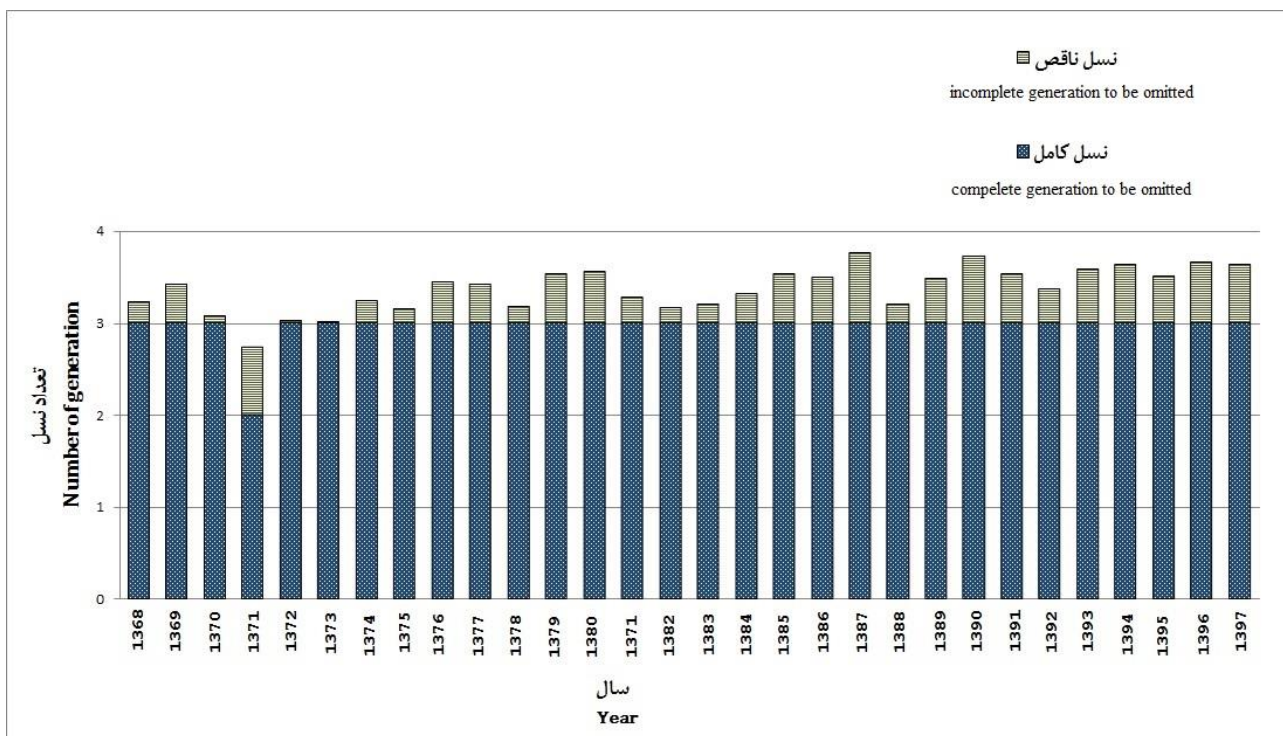
نتایج نشان‌دهنده چهار پیک پروازی کرم سیب در منطقه چناران است که پیک پروازی بین پیک پرواز نسل اول و دوم مربوط به بارش و کاهش دما در روزهای قبل می‌باشد. در واقع در هر نسل و در تاریخ خاصی تعداد پروانه‌های پروازی در اوج خود نسبت به روزهای قبل و بعد هستند و این همان تاریخی است که بیشترین جفت‌گیری و بعد از آن تخم‌گذاری اتفاق می‌افتد. میانگین درجه-روز بین پیک‌های پروازی هر نسل که به عنوان یک رخداد فنولوژیکی تلقی می‌شود، ۶۵۰ درجه-روز سلسیوس است و این نشان‌دهنده مقدار درجه-روز لازم برای تکمیل هر نسل می‌باشد. علاوه بر پیک‌های پروازی که نشان‌دهنده سه نسل از کرم سیب در منطقه چناران در سال ۱۳۹۸ می‌باشد، مدل درجه-روز نیز که با توجه به داده‌های دمایی دیتالاگر نصب شده در باغ به دست آمده است، برای کرم سیب در این سال ۳

با توجه به شکل ۳ می‌توان دریافت که درجه-روز دمای دریافتی آفت کرم سیب در سال‌های اخیر رو به افزایش است و این افزایش باعث کامل شدن نسل‌های ناقص این آفت و یا ظهور نسل جدید در منطقه شده است. میانگین درجه-روز تجمعی دریافتی در (۱۳۷۷-۱۳۶۸) ۲۰۶۷ درجه سلسیوس، در (۱۳۸۷-۱۳۷۸) ۲۲۱۵ درجه سلسیوس و در (۱۳۹۷-۱۳۸۸) ۲۳۰۰ درجه سلسیوس بوده و نشان می‌دهد که در ده سال اول ۱۴۳ درجه-روز و در ده سال دوم ۸۵ درجه-روز افزایش میانگین درجه-روز تجمعی برای کرم سیب وجود داشته است. بر اساس نتایج این مطالعه، درحالی که در ابتدای دوره آماری زندگی آفت در ابتدای نسل سوم متوقف شده و آفت وارد مرحله سفیرگی و زمستان‌گردانی می‌شود، به مرور زمان و با نزدیک شدن به اواخر دوره آماری مراحل زندگی آفت رو به تکمیل شدن و نزدیک شدن به نسل چهارم پیش می‌رود. پس از روندیابی به روش من کندال، آماره آزمون انجام شده برای دوره ۳۰ ساله ۳/۹۶ به دست آمده و باتوجه به آماره ثابت آزمون من کندال (در سطح اطمینان ۹۵ درصد ۱/۹۶ و در سطح اطمینان ۹۹ درصد ۲/۵۶)، مشخص شد که روند درجه-روز دریافتی کرم سیب در دوره ۳۰ ساله ایستگاه گلماکان هم در سطح معنی‌داری ۹۵ درصد و هم در سطح معنی‌داری ۹۹ درصد معنادار است. با داشتن درجه-روز دریافتی کرم سیب در هر سال و مقدار درجه-روز لازم برای تکمیل یک نسل از این آفت (۶۵۰ درجه-روز) تعداد نسل‌های کرم سیب در دوره ۳۰ ساله ایستگاه گلماکان به دست آمده و در شکل ۴ نشان داده شده است.

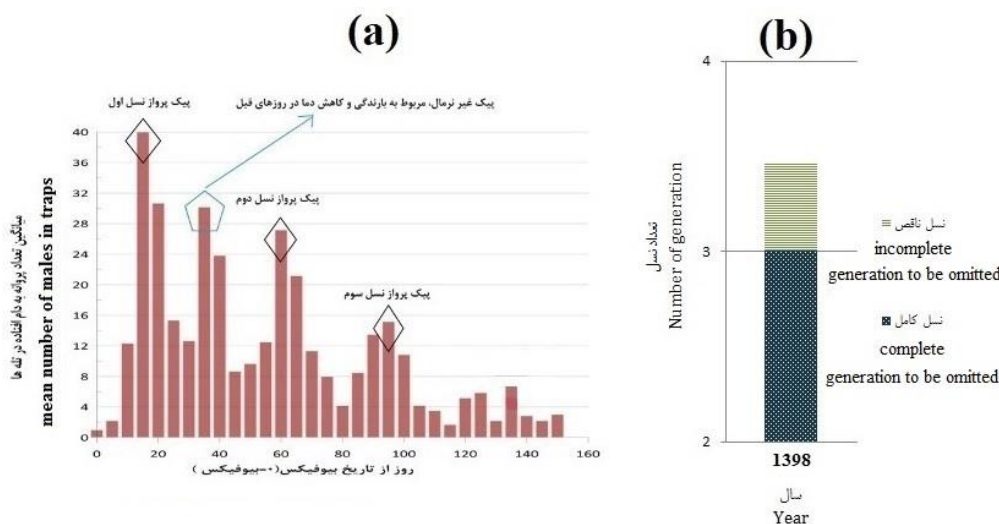
با توجه به شکل ۴ می‌توان دریافت که به‌جز یک سال در مابقی دوره آماری سه نسل کامل از کرم سیب حضور پیدا کرده است و برخلاف سال‌های اولیه دوره آماری که چرخه زندگی سالانه آفت در

توجه با نتایج تحقیق حاضر و در صورت ادامه روند افزایشی دما برای این مناطق، تعداد نسل‌های کرم سیب نیز افزایش می‌یابد و مبارزه و کنترل این آفت در این مناطق نیز دشوارتر خواهد شد.

نسل کامل و یک نسل ناقص را نشان می‌دهد (شکل ۵ ب). در مطالعه‌ای که باهدف بررسی مقایسه‌ای در مورد تعداد نسل، روند پرواز و تراکم جمعیت کرم سیب در ایران انجام شده است، نتایج نشان داد که کرم سیب دارای سه نسل روی گردو و سیب در منطقه توپسرکان و سه نسل در منطقه یوانات فارس می‌باشد (۲ و ۲۷) که با



شکل ۴- تعداد نسل‌های کرم سیب در ایستگاه گل‌مکان (۱۳۶۸-۱۳۹۷)
Figure 4- Number of Codling Moth generation at Golmakan station (1989-2018)



شکل ۵- a: تعداد پروانه‌های نر به دام افتاده از تاریخ بیوفیکس تا برداشت (۲۰۱۹) b: نسل‌های کرم سیب در باغ گلابی با توجه به مدل درجه-روز (۲۰۱۹)

Figure 5- a: Number of trapped male from biofix to harvest (2019), b: Generations of Codling moth in the pear orchard according to the degree-day model (2019)

بیفتد و نسل سوم این آفت که در لهستان دیده نشده است، در آینده ظهور پیدا کند (۱۷).

تغییر اقلیم در دهه های اخیر علاوه بر تاثیر بر منابع آب، گیاهان، انسان می تواند زندگی آفات را نیز تحت تاثیر قرار دهد و افزایش تعداد نسل های کرم سیب به عنوان یک آفت کلیدی و خسارت آن روی میوه هایی که کشت وسیعی از ایران را به عنوان میوه های دانه دار به خود اختصاص داده اند، می تواند خسارت های جبران ناپذیری به بخش کشاورزی وارد نماید. نتیجه پژوهش انجام شده در منطقه مطالعاتی به عنوان یک نمونه نشان می دهد که گرم تر شدن هوا می تواند کنترل آفت را دشوارتر کرده و طبیعتاً هرچقدر تعداد نسل آفت در یک سال افزایش پیدا کند، مقاومت آن در برابر سموم و روش های کنترلی افزایش خواهد یافت. در صورت ادامه روند دمایی فعلی و گرم تر شدن هوا، جهت تعدیل اثراتی از قبیل افزایش هزینه ها، افزایش مصرف سموم، افزایش خسارت، تخریب محیط زیست، پایین آمدن کیفیت میوه و به خطر افتادن سلامت انسان که به موجب تغییر اقلیم و تاثیر آن بر آفات اتفاق می افتد، پایش و رصد دقیق آفاتی مانند کرم سیب با تله های فرمونی به منظور مبارزه به موقع و کاهش خسارت و همچنین ارائه روش هایی جهت کنترل بیولوژیک، ضروری به نظر می رسد.

طبق گزارش چهارم هیئت بین دولتی تغییر اقلیم تا انتهای قرن ۲۱ دمای سطح زمین با توجه به سناریوهای خوش بینانه بین ۲/۹- ۱/۱ و حدود ۱/۸ و برای سناریوهای بدبینانه بین ۶/۴-۲/۴ و حدود ۴ درجه سلسیوس افزایش می یابد (۱۳ و ۱۴). در تحقیق حاضر مشخص شد که یکی از پیامدهای تغییر اقلیم و گرمایش جهانی که باید توجه ویژه ای به آن شود، تغییر در فنولوژی آفات و روند توسعه و چرخه زندگی آن ها می باشد که می تواند جامعه گیاهی، محیط زیست، امنیت غذایی و به تبع آن ها حیات و سلامت انسان را به خطر انداخته و این خطر در تمامی نقاط جهان وجود خواهد داشت. به نحوی که محققین نشان دادند با گرمایش جهانی در صورتی که میانگین دما ۱ درجه سلسیوس افزایش یابد، درجه روز تجمعی در صورتی که دمای پایه صفر در نظر گرفته شود، حدود ۲۰۵ درجه-روز و در صورتی که دمای پایه ۱۰ درجه سلسیوس در نظر گرفته شود حدود ۸۵ درجه-روز افزایش می یابد (۱۶). افزایش پیدا می کند. رادوسلاو و همکاران (۲۰۱۳) نیز پس از بررسی تاثیر تغییر اقلیم بر توسعه کرم سیب دریافتند که طبق داده های مدل HadCM3 و GISS برای پیش بینی آینده، دریافتند که به طور متوسط در یک دهه، درجه-روز دریافتی کرم سیب با دمای پایه صفر درجه سلسیوس ۱۴۲ درجه و با دمای پایه ۱۰ درجه سلسیوس، ۹۱ درجه افزایش می یابد. این اتفاق باعث می شود مراحل کلیدی زندگی آفت در آینده ۴ الی ۷ روز در هر دهه، زودتر اتفاق

منابع

- 1- Alston D., Marion M., and Reding M. 2010. Codling moth (*Cydia pomonella*). Published by Utah state University Extension and Utah Plant Pest Diagnostic Laboratory. Available at <http://extension.usu.edu/files/publications/factsheet/codling-moths 06.pdf>.
- 2- Amiri R., Shojaaadini M., Motazedian N., and Zibayee K. 2014. Degree-day and pheromone traps in control timing of codling moth, *Cydia pomonella* L. Journal of Agricultural Pests Management 1: 34-40. (In Persian with English abstract)
- 3- Arnold C.Y. 1959. The development and significance of the base temperature in a linear heat unit system. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 74: 430-445.
- 4- Asadi GH., Alich M., Zibayee K., and Mosalaie K. 2001. Use Degree-Days to determined time for chemical control for *Cydia pomonella* in Sepidan. Journal of Agriculture Sciences and Natural Resources, 98 p. (In Persian with English abstract)
- 5- Asadi GH., Gholami M.R., and Lakzyan A. 2009. Study of seasonal population of *Cydia pomonella* and best time for chemical control in Shiravan. Journal of Agriculture Sciences and Natural Resources 3: 71-78. (In Persian with English abstract)
- 6- Charmillot P.J., Pasquier D., and Briand D. 2005. Resistance du carpocapse *Cydia pomonella* aux insecticides. REV. Suisse viticulture Arboriculture Horticulture 37: 123-127.
- 7- Daneshnia N., Alich M., and Heidari B. 2012. Determining the appropriate spray time for *Cydia pomonella* (Lep: Tortricidae) in apple orchards using sex pheromone and degree day in Khanehzenyan, Fars 4: 37-44. (In Persian with English abstract).
- 8- Delisle J. 1992. Monitoring the seasonal male flight activity of *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) in eastern Canada using virgin females and several different pheromone blends. Environmental Entomology 21(5): 1007-1012.
- 9- Durant J.A., Manley D.G., and Carde R.T. 1986. Monitoring of the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) in South Carolina using pheromone traps. Journal of Economic Entomology 79(6): 1539-1543.
- 10- Edelson J.V. 1989. Development of onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman, as a function of temperature.

- Southwest. Entomologist 13: 171-176.
- 11- Gilbert N., and Raworth D.A. 1996. Insects and temperature—a general theory. The Canadian Entomologist 128(1): 1-13.
- 12- Harrington R., Fleming R.A., and Woiwod I.P. 2001. Climate change impacts on insect management and conservation in temperate regions: can they be predicted?. Agricultural and Forest Entomology 3(4): 233-240.
- 13- IPCC (2007a) IPCC Fourth Assessment Report: Climate Change 2007 (AR4). Working Group I Report. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- 14- IPCC (2007b) IPCC Fourth Assessment Report: Climate Change 2007 Synthesis Report, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, pp. 52.
- 15- Jonsson A.M., Appelberg G., Harding S., and Barring L. 2009. Spatio-temporal impact of climate change on the activity and voltinism of the spruce bark beetle, *Ips typographus*. Global Change Biology 15(2): 486-499.
- 16- Juszczak R., Panfil M., and Lesny J. 2010. Changes of cumulative degree-days as an indicator of climate changes in the Masuria Region. In: Leśny J (ed) Agrometeorology research. Acta Agrophysica 185: 141–153.
- 17- Juszczak R., Kuchar L., Leśny J., and Olejnik, J. 2013. Climate change impact on development rates of the codling moth (*Cydia pomonella* L) in the Wielkopolska region, Poland. International Journal of Biometeorology 57(1): 31-44.
- 18- Knodel J.J., and Agnello A.M. 1990. Field comparison of nonsticky and sticky pheromone traps for monitoring fruit pests in western New York. Journal of Economic Entomology, 83(1): 197-204.
- 19- Lange H., Okland B., and Krokene P. 2006. Thresholds in the life cycle of the spruce bark beetle under climate change. International Journal for Complex Systems 1648:1-10.
- 20- Logan D.J., Wolesensky W., and Joern A. 2006 Temperature-dependent phenology and predation in arthropod systems. Ecological modelling 196(3-4): 471-482.
- 21- Mondani F., Nassiri M.M., and Koochaki A. Modeling of Sunn Pest (*Eurygaster integriceps* Put.) Damage on Winter Wheat (*Triticum aestivum*) Growth and Yield under Climate Change Condition. Plant Production Technology 14(2):61-75.
- 22- Ohlendorf B. 1998. UC IPM pest management guidelines. UC IPM pest management guidelines. Available at <http://ipm.ucanr.edu/PMG/r4300111.html>.
- 23- Olfert O., and Weiss R.M. 2006. Impact of climate change on potential distributions and relative abundances of *Oulema melanopus*, *Meligethes viridescens* and *Ceutorhynchus obstrictus* in Canada. Agriculture, Ecosystems and Environment 113(1-4): 295-301.
- 24- Pitcarin M.J., Zalon F.G., and Rice R. 1992. Degree-day forecasting of generation of *Cydia pomonella* population in California. Environmental Entomology 21: 441–446.
- 25- Rajabi G.R. 1985. Insects Attacking of Rosaceous Fruit Trees in Iran. Iranian Research Institute of Pest and Disease of Plant, Tehran. 209 p. (In Persian)
- 26- Rajabi G.R., Malmir A., and Naderian H. 2006. Comparative study of number of generation, flight span and population density of Codling moth in walnut and apple orchards in various altitudes of Iran. Journal of Pest and Disease of Plants 2: 1-12. (In Persian)
- 27- Reyes M., Franck P., Charmillot P.J., Ioriatti C., Olivares J., Pasqualini E., and Sauphanor B. 2007. Diversity of insecticide resistance mechanisms and spectrum in European populations of codling moth, *Cydia pomonella*. Pest Management Science 63: 890-902.
- 28- Roberts W.P., and Higley C.E.A. 1986. Pest management program for apple series: codling moth. Journal of Ontario Ministry of Agriculture and Food of Canada 8: 1-9.
- 29- Rosenzweig C., Iglesias A., Yang X.B., Epstein P.R., and Chivian E. 2001. Climate change and extreme weather events; implications for food production, plant diseases, and pests. Global Change and Human Health 2(2): 90-104.
- 30- Samietz J., Stoeckli S., Hirschi M., Spirig C., Hohn H., Calanca P., and Rotach M. 2011. Modelling the impact of climate change on sustainable management of the codling moth (*Cydia pomonella*) as key pest in apple. 1068 pp. 35-42. In 9th International Symposium on Modelling in Fruit Research and Orchard Management. 19 June 2011.
- 31- Stara J., and Kocourek F. 2007. Insecticidal resistance and cross-resistance in populations of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) in central Europe. Journal of Economic Entomology 100(5): 1587-595.
- 32- Sutherst R.W. 2000. Climate change and invasive species: a conceptual framework. Invasive species in a changing world: 211-240.
- 33- Taylor R.A.J., Herms D.A., Cardina J., and Moore R.H. 2018. Climate change and pest management: unanticipated consequences of trophic dislocation. Agronomy 8(1):7.
- 34- Vincent C., Mailloux M., Hagley E.A.C., Reissig W.H., Coli W.M., and Hosmer T.A. 1990. Monitoring the codling moth (Lepidoptera: Olethreutidae) and the *obliquebanded leafroller* (Lepidoptera: Tortricidae) with sticky and nonsticky traps. Journal of Economic Entomology 83(2): 434-440.



Calculation of the Base Temperature and Investigation of Changes in Number of Codling Moth (*Cydia pomonella*) Generations, with Degree-Day Model in Chenaran

M. Helmi Jaded¹- M. Musavi Baygi^{2*}- H. Sadeghi Namaghi³

Received: 04-01-2020

Accepted: 11-05-2020

Introduction: Codling moth (*Cydia pomonella*) is one of the most important agricultural pests which annually damages apples, pears, and walnuts orchards. Like other pests, coldling moth development depends to the air temperature. Climate changes have many impacts on the environment and pests are affected by these changes, too. Codling moth has two generations in cold regions and 4 to 5 generations in warm regions per year. The number of this pest generations and the damages which it caused in the orchards depends on the amount of received cumulative temperature during a growing season. Increasing the average daily temperature will increase the cumulative degree-day and subsequently, this can increase the number of pest generations annually. The increase in the number of pests as a result of global warming can damage the environment and food security significantly. One of the effects of climate changes on the pest can be identified with an overview of the codling moth generation and its changes over the past years.

Materials and Methods: Maximum and minimum temperature data of Golmakan synoptic station (Khorasan Razavi) were used to calculate the number of codling moth generations (1989-2018). Average daily temperature was calculated using maximum and minimum temperatures. To estimate the degree-day, the base temperature was obtained by the growth rate method at different temperatures. In this method, the growth rate of one stage of pest life (egg laying to egg hatching) was recorded at different temperatures and the temperature in which the growth rate becomes zero was considered as the base temperature. Then, degree-day was calculated by subtracting the base-day temperature from daily mean temperature and cumulative degree-day for each year was obtained by summing degree-days biofix to harvest. The biofix date in 2019 was obtained by the pheromone traps and the first male trapped in the pear orchard near Golmakan station. Pest activity initiates at temperatures higher than the base temperature, so the biofix date for each year (1989-2018) was selected based on the mean daily temperature that reached the base temperature and then increased. Biofix in the pear orchard also occurred under these circumstances. Trend of cumulative degree-day was analyzed by Mann-Kendall nonparametric test in the statistical period 1989-2018 to examine cumulative degree-day changes. Pheromone trap data in pear orchards in 2019 and previous studies show that codling moth need about 650°C degrees-day temperature to complete each generation. Consequently, the number of pest generations for each year was calculated by dividing the cumulative degree-day by 650 DD. The number of male trapped in pheromone traps from biofix to harvest and flight peaks shows the number of the codling moth generations in the area of observation. Finally, the number of codling moth generations in 2019 were compared to the number of generations of this pest in the statistical period 1989-2018.

Results and Discussion: The average annual temperature in Golmakan station varied from 13.9°C to 16.7°C from 1989 to 2018. Considering the codling moth growth rate from laying to hatching at 8, 10, 12, 14, 16, 18°C, base temperature in which the growth rate was zero, was obtained 8.4°C. The cumulative degree-day for codling moth from biofix to harvest in the statistical period 1989-2018 was between 1780°C in 1992 and 2456°C in 2008. Recorded air temperature data by data logger in pear orchard showed that the pest received 2251°C degree-day in 2019. The results of Mann-Kendall test showed an increasing and significant trend for cumulative degree-day. After calculating the cumulative degree-day, it was determined that the codling moth had three generations in the past 30 years except one year. The mean cumulative degree-day was 2067°C in 1989-1998, 2215°C in 1999-2008, and 2300°C in 2009-2018. This shows that the average cumulative degree-day increased by 143°C in the first ten years and 85°C in the second ten years. According to the results of this study, at the beginning of the statistical period, pest's life cycle stops at the beginning of the third generation and it enters the pupal and overwintering stage. Toward the end of the statistical period, pest life cycle is going to complete and reach to the fourth generation. In 2019, pheromone traps registered 3 pike flights for codling moth in the pear

1 and 2- Ph.D. Candidate and Professor, Department of Water Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, respectively.

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

3- Professor, Department of Plant protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

orchard near the Golmakan station. Thus, in 2019, there were three generations of this pest in the area of observation. If these conditions continue, the fourth generation may be presented in the area of observation in next years.

Conclusion: The results of this study showed that increasing the mean of daily temperature increases the cumulative degree-day and if the temperature continues to rise, the occurrence of fourth generation will not be unexpected in the coming years. Damage to apple, pear, and walnut orchards increases by increasing number of codling moth. Therefore it will be more difficult to control this pest. Under these conditions, using pesticides will increase in agriculture and there will be environmental problems. According to the results of this study in order to manage codling moth, it is necessary to determine the exact number of generations and the appropriate time of spraying due to the time of egg hatching in each region.

Keywords: Base temperature, Climate change, Codling moth, Degree-day

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی تجزیه بیولوژیکی و شیمیایی متری بیوزین در خاک و تأثیر کود آلی بر نیمه عمر و تجزیه آن در شرایط کنترل شده

سیده فاطمه فخرراد^۱ - ابراهیم ایزدی دربندی^{۲*} - محمد حسن راشد محصل^۳ - محمدحسن زاده خیاط^۴ - حوریه نصیرلی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۱۱

چکیده

به منظور بررسی تجزیه بیولوژیکی و شیمیایی متری بیوزین در خاک و نقش کود دامی در روند تجزیه و نیمه عمر آن، آزمایشی در شرایط کنترل شده در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی شامل نوع خاک در دو سطح (سترون شده و غیرسترون)، مقدار کود دامی (کود گاوی) در چهار سطح (۰، ۱، ۵ و ۱۰ درصد وزنی خاک) و زمان برداشت نمونه‌ها از داخل انکوباتور، در ۷ سطح (صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۶، ۶۴ و ۹۰ روز) بودند. بر اساس نتایج آزمایش، روند تجزیه در خاک غیرسترون سریع تر از خاک سترون شده بود، بطوریکه باقیمانده متری بیوزین در روزهای ۳۶، ۶۴ و ۹۰ روز بعد از نگهداری در خاک غیرسترون به ترتیب ۵۹/۱۲، ۳۸/۱۸ و ۲۸/۵۵ درصد و در خاک سترون شده ۶۷/۱۳، ۴۹/۳۸ و ۳۴/۷۶ درصد بود و کاربرد ۱، ۵ و ۱۰ درصد کود دامی به خاک غیرسترون منجر به کاهش نیمه عمر متری بیوزین از ۸۵/۵۷ روز به ترتیب به ۴۷/۸۰، ۵۷/۲۸ و ۳۸/۰۸ روز شد و در خاک سترون شده از ۸۳/۵۱ روز به ۹۱/۰۳، ۴۹/۵۰ و ۵۱/۳۴ روز شد. بر مبنای این آزمایش اضافه کردن کود گاوی می تواند تجزیه متری بیوزین را در خاک افزایش و نیمه عمر آن را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: خاک سترون شده، خاک غیرسترون شده، ماندگاری

مقدمه

از محصولات زراعی از جمله سیب زمینی، گوجه فرنگی و گندم به کار می‌رود. بر اساس اطلاعات موجود، این علف‌کش جزء علف‌کش‌های با ماندگاری متوسط و بالا در خاک محسوب می‌شود و از پتانسیل بالایی در آلودگی منابع آب‌های زیرزمینی و نیز آسیب به گیاهان زراعی موجود در تناوب برخوردار است (۱۶ و ۱۸). از اینرو ارائه راهکارهایی در جهت کاهش اثرات زیان‌بار آن ضروری است. در این راستا توجه به عوامل موثر در سرنوشت علف‌کش‌ها در خاک از جمله تبخیر، تصعید، آبشویی، رواناب سطحی، جذب توسط ذرات خاک و گیاه، مهم و بویژه نقش تجزیه شیمیایی (در خاک‌های استریل و عاری از میکروارگانیسم) و تجزیه زیستی (توسط میکروارگانیسم‌های خاک) در سرنوشت آفت‌کش‌ها، نقش مهمی در مدیریت ماندگاری و بقایای آن‌ها دارد. بر اساس گزارش‌های موجود از بین تمام عوامل موثر بر سرنوشت علف‌کش‌ها در محیط نقش تجزیه شیمیایی و زیستی مهم‌تر است (۱۴) از اینرو درک و شناخت میزان تجزیه شیمیایی و بیولوژیکی در هر یک از علف‌کش‌ها نقش مهمی در شناخت سرنوشت محیطی آنها دارد. در این ارتباط عوامل مختلفی از جمله محتوای رطوبت خاک، جمعیت و فعالیت ریزجانداران تجزیه کننده علف‌کش و نیز عوامل موثر بر فعالیت آنها بر تجزیه شیمیایی و

ماندگاری علف‌کش‌ها در محیط از مهم‌ترین تبعات رهاسدن، آن‌ها در خاک است (۴). این مساله، ضمن اثرات زیان‌بار بر فعالیت ریزموحودات و پایداری اکوسیستم خاک، خسارت به محصولات تناوبی را نیز بدنبال خواهد داشت. از سوی دیگر، آبشویی تدریجی و رواناب آن‌ها تهدیدی جدی برای آلودگی آب‌های زیرزمینی و جاری خواهد بود (۴ و ۱۵). این مهم به ویژه در علف‌کش‌های خاک مصرفی از قبیل تریازین‌ها و تریازینون‌ها که خاک مخزن اصلی ذخیره و نگهداری آن‌ها است اهمیت بیشتری دارد (۶). در بین این علف‌کش‌ها، متری بیوزین از مهم‌ترین علف‌کش‌های گروه تریازینون‌ها و ازبازدارندگان فتوسیستم II می باشد که به طور گسترده‌ای در کنترل علف‌های هرز پهن برگ و باریک برگ بسیاری

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز، دانشیار و استاد دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

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

۴- استاد دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۵- مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

DOI: 10.22067/jpp.v34i2.31780

روند تجزیه زیستی و شیمیایی آن و نقش افزودن کود گاوی در خاک در تجزیه و نیمه عمر آن در شرایط کنترل شده انجام شد. نتایج حاصل از این بررسی می تواند در جهت کاهش اثرات زیست محیطی و باقیمانده آن بر محصولات زراعی تناوبی مفید باشد.

مواد و روش ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار در شرایط کنترل شده در آزمایشگاه تحقیقاتی علف های هرز دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، انجام شد. عوامل مورد بررسی در این آزمایش شامل نوع خاک (سترون شده و غیرسترون)، مقدار کود آلی (کود گاوی) در چهار سطح (۰، ۱، ۵ و ۱۰ درصد وزنی خاک) و زمان برداشت نمونه ها در ۸ سطح (صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۶، ۶۴ و ۹۰ روز پس از نگهداری نمونه ها در انکوباتور در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد بودند (این دما، دمای مطلوب برای فعالیت اغلب میکروارگانیسم ها بوده و برای جلوگیری از نوسانات دما در طول آزمایش از انکوباتور استفاده شد). برای انجام آزمایش، پس از تهیه خاکی از عمق ۰ تا ۱۰ سانتی متری مزرعه ای که حداقل تا ۵ سال قبل هیچ گونه آفت کش و کود دامی در آن استفاده نشده بود و انتقال آن به آزمایشگاه و تعیین ویژگی های فیزیکی و شیمیایی و درصد رطوبت زراعی آن، بقایای گیاهی آن توسط الک ۲ میلی متری جدا شدند. برای سترون کردن خاک، نمونه های خاک تهیه شده در دمای ۱۲۱ درجه و فشار ۱/۲ بار به مدت ۴۵ دقیقه داخل اتوکلاو قرار داده و این عمل سه بار تکرار شد (۱۳). برای آلوده کردن خاک ها به متری بیوزین، پس از تهیه خاک های مورد نظر در سطوح مختلف کود آلی (با احتساب ۵۰ گرم خاک خشک)، در درون شیشه های ۱۵۰ میلی لیتری درب دار قرارداد شده و به نسبت ۵ میلی گرم در کیلوگرم خاک (که معادل ۲۵/۱ میلی گرم متری بیوزین در ۵۰ گرم خاک می باشد)، با علف کش متری بیوزین آلوده شدند. برای این منظور پس از اضافه کردن یک گرم متری بیوزین (با در نظر گرفتن درجه خلوص آن، ۷۰ درصد پودر و تابل) در ۱۰۰۰ سی سی متانول تجاری و تهیه محلول ۱۰۰۰ پی پی ام، و سپس رقیق سازی این محلول به ۱۰۰ پی پی ام، ۲/۵ سی سی از این محلول را با استفاده از پیت سرنگی روی خاک مخلوط شده با نسبت های مختلف کود آلی ریخته شد، پس از تبخیر کامل متانول از سطح خاک داخل شیشه ها، درب آن ها را بسته و آن ها را به شدت تکان داده تا علف کش به طور یکنواخت با خاک و کود دامی ترکیب شود، سپس به تمام نمونه ها آب استریل شده در حد ۷۵ درصد ظرفیت زراعی (رطوبتی که میکروارگانیسم بتوانند به خوبی رشد کنند) به خاک اضافه کرده و درب شیشه ها را با کاغذ آلومینیوم منفذدار بسته و در شرایط تاریکی و دمای ۲۷ درجه سانتی گراد (هوک، ۲۰۰۵) به مدت ۹۰ روز در داخل انکوباتور، نگهداری شدند. (انتخاب

بیولوژیکی علف کش ها در خاک دخیل هستند (۱۴). هیزاک وزیمدال (۱۰) بیان کردند که تجزیه غیر زیستی متری بیوزین در خاک های لومی شنی مهم ترین عامل تجزیه این علف کش می باشد. خوری و همکاران (۱۴) و هنریکسون و همکاران (۸) نیز در مطالعات خود به اهمیت تجزیه شیمیایی متری بیوزین اشاره کرده اند. هرچند بر اساس مطالعات انجام شده تجزیه شیمیایی متری بیوزین از عوامل مهم در تجزیه ی آن به شمار می رود. اما بر اساس گزارش های انجام شده، تجزیه زیستی نقش مهم تری را در سرنوشت این علف کش دارد. اکسینلی و همکاران (۱) در آزمایشی که به منظور بررسی تجزیه آترازین و متولاکلر در خاک سترون شده و غیرسترون و در اعماق سطحی و عمیق خاک و در شرایط هوازی و غیر هوازی انجام دادند، گزارش کردند که تجزیه شیمیایی و بیولوژیکی در علف کش آترازین هر دو در سرنوشت آن دخیل هستند. حال اینکه در علف کش متری بیوزین تجزیه شیمیایی نقشی در سرنوشت آن ندارد و تجزیه آن فقط به روش بیولوژیکی صورت می گیرد. با این وجود، از آنجا که که روند تجزیه علف کش ها در مناطق مختلف، متفاوت است بررسی تجزیه شیمیایی این علف کش در آب و هوای ایران نیز ضروری است. اعتقاد بر این است که محتوی مواد آلی خاک از مهمترین عوامل موثر بر سرعت تجزیه علف کش ها است که با تاثیر بر محتوی رطوبت قابل دسترس خاک و فراهمی منابع غذایی و انرژی برای ریزجانداران خاک، نقش مهمی بر تجزیه شیمیایی و زیستی علف کش ها دارند (۲). در آزمایشی که به منظور بررسی نقش مواد آلی در تجزیه علف کش 2,4-D انجام شد، مشاهده شد که افزایش مواد آلی خاک از ۰/۹ درصد به ۲/۹ درصد وزنی خاک منجر به افزایش فعالیت میکروبی خاک شد، اما به دلیل جذب سطحی علف کش به مواد آلی خاک و کاهش فراهمی زیستی آن برای ریزموجودات خاک، تجزیه آن در خاک کاهش یافت (۷). کادین و همکاران (۱۲) با افزایش کود آلی، کمپوست قارچ و پساب به خاک آلوده شده با آترازین، دریافتند که این مواد، تجزیه آترازین را از طریق تحریک ریزجانداران تجزیه کننده آن، افزایش دادند. بر اساس گزارش نامبردگان، درصد تجزیه آترازین نسبت به شاهد در سه تیمار مذکور به ترتیب ۲۲/۰۷، ۲۹/۷، ۳۴/۱۷ درصد بود. ایزدی و همکاران (۱۱) نیز در بررسی تجزیه آترازین در شرایط مزرعه ای، ماندگاری بیشتری با افزایش میزان کاربرد علف کش و هم چنین افزایش مقدار کود آلی نتیجه گرفتند بطوری که در آزمایش آنها بیشترین نیمه عمر (۱۲/۹۲ روز) در تیمار مربوط به ۵۰ تن کود آلی و ۴ کیلوگرم آترازین در هکتار و کمترین نیمه عمر آن (۳/۶۴ روز) در کاربرد ۲ کیلوگرم آترازین و بدون کاربرد کود آلی مشاهده شد. با توجه به اینکه که متری بیوزین از علف کش های مهمی است که در کنترل علف های هرز مزارع سیب زمینی، گندم، جو و سویا کاربرد دارد (۲۰) و از آنجا که مطالعاتی در ارتباط با روند تجزیه شیمیایی و زیستی این علف کش در کشور انجام نشده است، این مطالعه با هدف بررسی

۹۰ روز برای انجام زمان نمونه برداری به این خاطر بود که بر اساس اطلاعات موجود نیمه عمر متری بیوزین در شرایط مخلف از ۳۰ روز تا ۷۰ روز گزارش شده است. از طرفی باتوجه به اینکه بر اساس معادله سینتیک درجه اول وجود حداقل ۶ نقطه برای برازش داده‌ها به معادله مذکور لازم است، لذا زمان بندی نمونه گیری ها با توجه به این دو مهم انجام شد. در طول آزمایش با توزین شیشه‌ها، رطوبت خاک‌ها در حد ۷۵ درصد ظرفیت زراعی (رطوبتی که میکروارگانیسم‌ها به خوبی فعالیت کنند)، حفظ شدند. پس از خروج نمونه‌های خاک در دوره‌های زمانی معین، برای تعیین غلظت باقیمانده متری بیوزین، نمونه‌ها تا مرحله استخراج متری بیوزین از خاک در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد و در داخل فریزر نگهداری شدند (۱۳). استاندارد شیمیایی متری بیوزین با خلوص ۹۹/۵ درصد از شرکت آلمانی بایر کراپ ساینس و با همکاری بخش علف‌های هرز موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه شد، (در مورد علت استفاده از استاندارد متری بیوزین باید اشاره کرد که در آزمایشات مربوط به بررسی تجزیه آفت‌کش‌ها، قبل از تزریق نمونه‌های استخراج‌شده‌ی آزمایش به دستگاه HPLC، با تهیه محلول‌هایی با غلظت مشخص از استاندارد آفت‌کش مورد نظر و تزریق آن‌ها به دستگاه HPLC می‌توانیم معادله‌ای به دست آوریم که بر اساس این معادله، غلظت باقیمانده آفت‌کش استخراج شده از نمونه‌های خاک بدست می‌آید). متری بیوزین تجاری نیز با خلوص ۷۵ درصد به صورت پودر و تابل، از موسسه مذکور تهیه شد. به منظور استخراج متری بیوزین از نمونه‌های آزمایش، ۱۰ گرم از خاک مربوط به هر تیمار را درون فالدکون‌های ۵۰ سی‌سی منتقل و ۲۰ سی‌سی متانول با درجه خلوص ۹۹/۹ درصد به آن‌ها اضافه شد و پس از تکان دادن آن‌ها به مدت ۱/۵ ساعت توسط دستگاه شیکر، با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۵۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه عملیات سانتریفیوژ انجام تا فاز مایع (متانول) از فاز جامد (خاک) جدا شود، سپس فاز مایع توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ درون ارلن شیشه‌ای صاف شد. مراحل مذکور برای خاک باقی مانده داخل فالدکون، مجدداً تکرار شد و محلول صاف‌شده از دو مرحله را درون ارلن‌هایی به حجم ۱۰۰ سی‌سی ریخته و برای ممانعت از تبخیر حلال درب آن‌ها توسط پارافیلیم بسته و در یخچال با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت آماده‌سازی نمونه‌ها برای تزریق به دستگاه HPLC، برای تغلیظ باقیمانده‌ی متری بیوزین در محلول جمع‌آوری شده، با استفاده از دستگاه روتاری اوپراتور^۱ در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم آن، حلال متانول به طور کامل تبخیر و پس از آن، با استفاده از پیپت سرنگی، ۵ میلی لیتر متانول به باقیمانده متری بیوزین موجود در بالون روتاری اوپراتور اضافه و جهت تحلیل

نتایج، محلول حاصل پس از انتقال در ظروف شیشه‌ای به حجم ۱۰ سی‌سی، تا زمان تزریق به دستگاه HPLC، در یخچال و در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۱). دستگاه HPLC مورد استفاده در این آزمایش مدل شیمادزو مجهز^۲ به آشکارساز Spectrophotometric Uv-Vis و طول موج ۲۹۰ نانومتر و یک ستون فاز معکوس C18 (به طول ۲۵ و قطر ۴/۵ سانتی متر) بود. فاز متحرک با نسبت ۸۰ به ۲۰ متانول (HPLC Grade) به آب دیونایز و با سرعت جریان ۰/۵ میلی لیتر در دقیقه تنظیم شد. حجم نمونه‌ی تزریق شده به HPLC نیز برابر ۲۵ میکرولیتر بود. برای واسنجی دستگاه HPLC پیش از تزریق نمونه‌های مورد آزمایش، محلول‌های استاندارد با غلظت‌های مشخص تهیه و منحنی استاندارد آنها ترسیم شد (شکل ۱). برای این منظور، محلول‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ پی‌ام متری بیوزین از محلول استوک ۶۰ میلی‌گرم در لیتر متری بیوزین با خلوص ۹۹/۵ درصد در متانول با خلوص ۹۹/۹ درصد تهیه شد و به وسیله سرنگ همپلتون با سه تکرار به دستگاه HPLC تزریق شدند و زمان بازیابی (۱۰ دقیقه) و سطح زیر منحنی محلول‌های استاندارد مشخص شد. منحنی استاندارد متری بیوزین بر حسب سطح زیر منحنی با استفاده از نرم‌افزار اکسل ترسیم شد و بر اساس نتایج حاصل، معادله خط با همبستگی برابر با ۰/۹۹ به دست آمد. مبنای تعیین غلظت نمونه‌های مجهول، معادله بدست آمده از منحنی‌های محلول‌های استاندارد بود که با بدست آوردن سطح زیر منحنی نمونه‌های مجهول، غلظت آنها بدست آمد. آنالیز واریانس داده‌های حاصل از آزمایش پس از تبدیل آنها به درصد نسبت به شاهد با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام شد و مقایسه‌ی میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار اکسل ۲۰۰۷ استفاده شد. تجزیه رگرسیون داده‌های آزمایش از برازش میانگین داده‌های آزمایش به معادله‌ی سینتیکی درجه اول (معادله ۱) در نرم‌افزار Sigmaplot Ver.11 بدست آمد.

$$C_t = C_0 \exp(-kt) \quad (1)$$

که در آن C_t غلظت متری بیوزین در زمان t ، C_0 غلظت اولیه متری بیوزین (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و k سرعت تجزیه (میلی گرم در کیلوگرم خاک در روز) هستند و بر اساس پارامترهای حاصل از معادله مذکور نیمه‌عمر (DT_{50}) و زمان لازم برای تجزیه ۹۰ درصد متری بیوزین (DT_{90}) نیز با توجه به سرعت تجزیه آن از معادله‌های (۲) و (۳) محاسبه شدند.

$$DT_{90} = \frac{\ln 10}{k} \quad (2)$$

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k} \quad (3)$$

1- Rotary evaporator

2- Shimadzu

جدول ۱- ویژگی‌های خاک و کود گاوی مورد مطالعه

Table 1- Characteristics of the soil and cow manure studied

ویژگی‌های خاک (Soil characteristics)	خاک (Soil)	کود گاوی (Cow manure)
بافت خاک (Soil texture)	رسی clay	-
PH اشباع خاک (PH clay saturated soil)	7.2	-
درصد کربن آلی (Percentage of organic carbon)	0.429	10.4
درصد نیتروژن (Percentage of nitrogen)	0.0819	1.73
درصد رطوبت زراعی (Percentage of Agricultural moisture)	15.42	-

نتایج و بحث

کارایی استخراج متری بیوزین

بر اساس نتایج حاصل از آزمایش، اختلافی در کارایی استخراج متری بیوزین در سطوح مختلف ماده آلی وجود نداشت. کارایی استخراج متری بیوزین در سطوح ۱، ۵ و ۱۰ درصد به ترتیب ۹۲/۵۲، ۹۱/۷۶ و ۹۱/۵۱ درصد در مقایسه با شاهد بدون کاربرد کود آلی (۹۵/۵۲) بود. کارایی بالا در این روش ممکن است به تکرار عملیات شیک، سانتریفیوژ و صاف کردن عصاره برگردد، در این ارتباط تکرار عملیات شیک و سانتریفیوژ جهت افزایش کارایی استخراج باقیمانده علف کش در مطالعات هنریکسون و همکاران (۹) و خوری و همکاران (۱۳) گزارش شده است.

بررسی روند تجزیه شیمیایی و زیستی متری بیوزین

و تاثیر کود آلی بر آن

نتایج نشان داد که تجزیه متری بیوزین در خاک سترون شده و سترون نشده اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0.01$) با هم داشتند (جدول ۲ و شکل ۱) و افزودن ماده آلی منجر به افزایش سرعت تجزیه متری بیوزین در هر دو خاک شد (جدول ۳). از سوی دیگر با افزایش دوره نگهداری نمونه‌های خاک در انکوباتور باقیمانده متری بیوزین در خاک بطور معنی‌داری کاهش یافت و اثرات متقابل سترون کردن خاک و افزودن کود آلی به خاک و نیز زمان خواباندن نمونه‌های خاک بر تجزیه متری بیوزین معنی‌دار ($P \leq 0.01$) شد (جدول ۲).

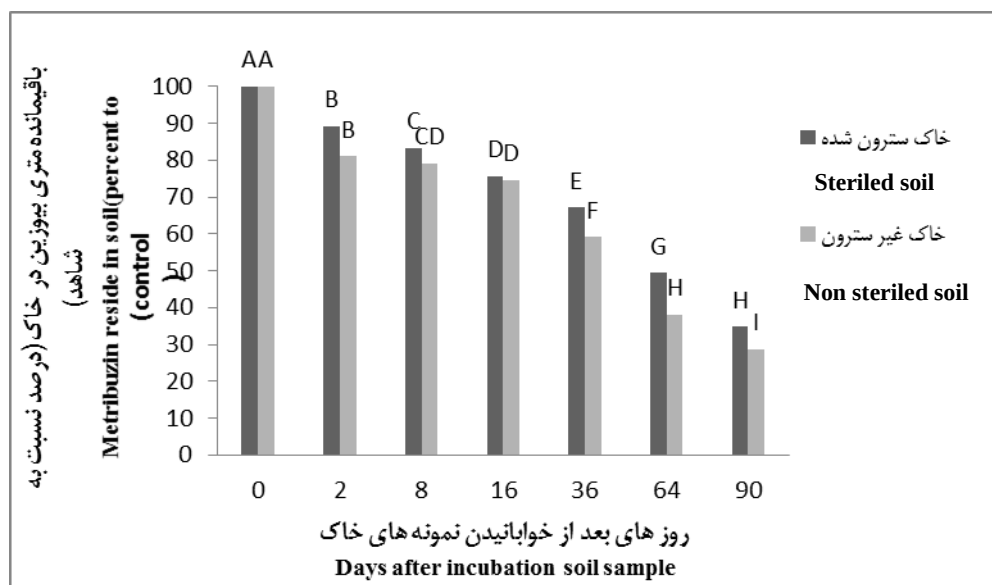
براساس نتایج آزمایش باقیمانده متری بیوزین در خاک سترون شده تا ۱۶ روز اختلاف معنی‌داری با خاک سترون نشده نداشت (شکل ۲)

اما بعد از این مدت، دو خاک اختلاف معنی‌داری به لحاظ باقیمانده متری بیوزین با هم داشتند. به طوری که باقیمانده متری بیوزین در روزهای ۳۶، ۶۴ و ۹۰ روز بعد از خواباندن در خاک غیرسترون به ترتیب ۵۹/۱۲، ۳۸/۱۸ و ۲۸/۵۵ درصد مقدار اولیه و در خاک سترون شده به ترتیب ۶۷/۱۳، ۴۹/۳۸ و ۳۴/۷۶ درصد مقدار اولیه بود. عدم اختلاف معنی‌دار باقیمانده متری بیوزین در دو خاک، در روزهای اول بعد از خواباندن نمونه‌های خاک، ممکن است مرتبط با عدم سابقه‌ی کاربرد علف کش و نیاز به سازگاری ریزجانداران تجزیه‌کننده متری بیوزین در خاک برای تجزیه آن باشد. در این ارتباط در سایر مطالعات انجام شده نیز وجود دوره تاخیر در شروع تجزیه آفت‌کش‌ها در خاک گزارش شده است (۵). بر اساس پژوهش‌های انجام شده در مورد تجزیه زیستی علف‌کش‌های گروه تریازین‌ها، مشاهده شده است که هر علف‌کشی در خاک توسط گروه خاصی از ریزجانداران تجزیه می‌شود و سمومی که برای اولین بار در خاک بکار می‌روند، در ابتدا ممکن است یا به دلیل پایین بودن جمعیت ریزجانداران تجزیه‌کننده آن و یا عدم سازگاری آنها به تجزیه علف‌کش، روند تجزیه آنها با یک دوره تاخیری مواجه خواهد بود (۵). فوگ و بوکسال (۵) نیز در بررسی روند تجزیه ایزوپروتورون در خاک‌های سطحی و بسترهای آماده شده زیستی (شامل خاک سطحی، کمپوست و بقایای گندم)، تجزیه سریعتری را در خاک سطحی ($DT90 < 52$) در مقایسه با بستر زیستی ($DT90 < 147$) مشاهده کردند. نامبردگان علت این مهم را سابقه کاربرد علف‌کش در خاک سطحی و نیز جمعیت بالا و سازگاری ریزجانداران خاک در عمق سطحی خاک به تجزیه ایزوپروتورون نسبت به بستر زیستی ذکر کردند (۵).

جدول ۲- منابع تغییر، درجه آزادی و میانگین مربعات (MS) حاصل از تجزیه واریانس باقیمانده متری بیوزین در خاک
Table 2- Sources of variation, degree of freedom and mean square (MS) analysis of variance metribuzin residues in soil

منابع تغییر Sources of variation	میانگین مربعات Mean square	درجه آزادی Degree of freedom
سترون کردن خاک (Soil sterilization)	1293.5**	1
ماده آلی (Organic matter)	127.7**	3
سترون کردن خاک × ماده آلی (Soil sterilization × Organic matter)	240.1**	3
زمان (Time)	13889.7**	6
سترون کردن خاک × زمان (Soil sterilization × Time)	98**	6
ماده آلی × زمان (Time × organic matter)	237.5**	18
سترون کردن خاک × زمان × ماده آلی (Soil sterilization × Time × Organic matter)	204.1**	18
خطا (Error)	31.4	112)
ضریب تغییرات (Coefficient of variation)	8.1	-

**معنی داری در سطح ۱ درصد
(Significant at 1%)



شکل ۱- تأثیر دوره‌های مختلف نگهداری نمونه‌ها در انکوباتور بر تجزیه متری بیوزین در خاک سترون شده و غیر سترون
Figure 1- The effect of different periods of storage in incubators on metribuzin degradation in soil sterile and non sterile

(زمانی که ۹۰ درصد علف‌کش در خاک تجزیه می‌شود) از شاخص‌های مهم در ارزیابی ماندگاری آن‌ها و نیز تعیین فاصله زمانی لازم برای کشت گیاهان تناوبی حساس به باقیمانده آنها محسوب می‌شوند (۱۹). بر اساس نتایج آنالیز رگرسیون داده‌های حاصل از این

تأثیر تجزیه علف‌کش در خاک سترون شده و غیر سترون
بر نیمه عمر متری بیوزین

در مطالعات مربوط به باقیمانده علف‌کش‌ها در خاک DT50 (زمانی که ۵۰ درصد علف‌کش در خاک تجزیه می‌شود) و DT90

آزمایش، روند تجزیه متری بیوزین در هر دو خاک از معادله سینتیکی درجه اول پیروی می‌کرد (جدول ۳) که در تطابق با نتایج سایر محققین در این زمینه بود (۸ و ۱۹). بر مبنای نتایج حاصل، نیمه عمر متری بیوزین در خاک غیرسترون و بدون کاربرد ماده آلی ۸۵/۷ روز بود و کاربرد ۱، ۵ و ۱۰ درصد کود دامی به خاک غیرسترون منجر به کاهش نیمه عمر آن از ۸۵/۷ روز به ترتیب به ۴۷/۸، ۵۷/۸، ۳۸ روز

شد و DT90 آن را نیز از ۲۸۴/۲ روز در خاک شاهد به ۱۵۸/۷، ۱۹۰/۲ و ۱۲۶/۵ روز کاهش داد (جدول ۳). از سوی دیگر نیمه عمر متری بیوزین در خاک سترون شده و بدون کاربرد کود گاوی ۸۰/۵ روز بود و با کاربرد ۱، ۵ و ۱۰ درصد مواد آلی نیمه عمر آن به ۹۱، ۴۹/۵۰ و ۵۱/۳ روز تغییر یافت (جدول ۳).

جدول ۳- پارامترهای برآورده شده توسط معادله سینتیکی درجه اول و طول عمر متری بیوزین در تیمارهای مختلف آزمایش

Table 3- The parameters that predicted by first order kinetic equation and persistence metribuzin in experimental treatments

نوع خاک (Soil type)	مواد آلی (درصد) Organic matter (%)	DT90 (Day) (روز)	DT50 (Day) (روز)	C0	K (میلی گرم در کیلوگرم در روز) K(mg/kg/day)	سطح احتمال Probabil ity level	R2
سترون شده (Steriled)	0	277.4	80.5	86.49(4.25)	0.0083(0.0017)*	0.004	0.93
	1	302.9	91	90.83(3.14)	0.0076(0.0011)	0.0011	0.95
	5	164.4	49.5	95.08(2.89)	0.014(0.0001)	0.0001	0.98
	10	170.5	51.3	103.61(5.03)	0.0135(0.0014)	0.0014	0.96
سترون نشده (Non steriled)	0	284.2	85.5	85.84(6.37)	0.0081(0.0025)*	0.022	0.72
	1	158.7	47.8	92.27(3.35)	0.0145(0.0017)	0.0003	0.96
	5	190.2	57.2	87.92(7.60)	0.0121(0.0035)	0.0181	0.82
	10	126.5	38	98.85(4.34)	0.018(0.0008)	0.0006	0.96

*خطای استاندارد

*standard error

به ترتیب نمایانگر مدت زمانی است که ۵۰ و ۹۰ درصد علف کش تجزیه می‌شود. DT50 و DT90

DT50 and DT 90, respectively, represent 50 and 90 percent of the time the herbicide is decomposed.

غلظت اولیه متری بیوزین (درصد) C0 ضریب تجزیه متری بیوزین (میلی گرم در کیلوگرم در روز) و K

K coefficient of metribuzin degradation (mg per kg per day) and C0 initial concentration of metribuzin (%)

معنی‌داری نداشت. بر اساس گزارش نامبرده، اضافه کردن ۲ درصد ماده آلی، تجزیه متری بیوزین را در خاک سطحی و زیر سطحی سترون شده و غیرسترون فاقد گلوکز افزایش داد. اما تاثیر آن در خاک سطحی سترون نشده بمراتب بیشتر بود. نامبرده علت این مساله را جمعیت بالای ریزجانداران تجزیه کننده متری بیوزین در خاک سطحی سترون نشده گزارش کردند. با توجه به نتایج این بررسی مشاهده شد که هر چند نیمه عمر متری بیوزین در خاک سترون شده و خاک سترون نشده زمانی که هیچ گونه کود آلی به آن اضافه نشده بود، اختلاف چندانی با هم نداشتند اما کاهش معنی‌دار آن در خاک سترون نشده با افزایش کود آلی نشان از تاثیرگذار بودن تجزیه زیستی متری بیوزین در خاک دارد. در این ارتباط روند تغییرات سرعت تجزیه متری بیوزین نیز بیانگر این واقعیت است. بطوری که، کاربرد ۱، ۵ و ۱۰ درصد کود دامی منجر به افزایش ضریب تجزیه متری بیوزین از ۰/۰۰۸۱ به ۰/۰۱۴۵، ۰/۰۱۲۱ و ۰/۰۱۸۲ میلی گرم متری بیوزین در کیلوگرم خاک در روز در خاک غیرسترون شد. حال اینکه در خاک سترون شده با کاربرد کود آلی در سطوح مذکور سرعت تجزیه را از ۰/۰۰۸۳ به ۰/۰۰۷۶، ۰/۰۱۴ و ۰/۰۱۳۵ افزایش یافت (جدول ۳). در

هر چند که بر اساس مطالعات انجام شده تجزیه زیستی در مقایسه با تجزیه شیمیایی نقش مهم تری را در سرنوشت متری بیوزین دارد ولی عدم مشاهده این موضوع در نیمه عمرهای حاصل از تجزیه شیمیایی و زیستی در این مطالعه، ممکن است ناشی از کمبود جمعیت میکروبی خاک مورد مطالعه باشد. در این ارتباط سایر دانشمندان نیز در تحقیقات خود به نقش فرایندهای شیمیایی در تجزیه متری بیوزین اشاره کرده‌اند. خوری و همکاران (۱۴) در بررسی تجزیه زیستی و شیمیایی متری بیوزین، با مشاهده تجزیه متری بیوزین در خاک سترون شده بیان کردند که تجزیه شیمیایی از عوامل موثر در تجزیه متری بیوزین در خاک است. نامبردگان نیمه عمر حاصل از تجزیه شیمیایی متری بیوزین را در خاک رسی مورد مطالعه، ۱۰۷ روز و در خاک لوم شنی ۱۴۴ روز گزارش کردند. در آزمایشی که توسط ساواج (۱۷) به منظور بررسی تجزیه متری بیوزین در خاک سترون، غیرسترون و خاک آمیخته شده به دو درصد گلوکز به عنوان ماده آلی در نمونه‌های مربوط به خاک سطحی و زیر سطحی، انجام شد، مشاهده شد که در خاک زیر سطحی بر خلاف خاک سطحی، سرعت تجزیه متری بیوزین در دو خاک سترون و غیرسترون اختلاف

در تیمار حاوی کاه گندم نیز ۸ درصد از متری بیوزین اولیه بعد از ۸ هفته باقی ماند. کاربرد بقایای خشک یونجه باعث کاهش تجزیه متری بیوزین شد بطوریکه نیمه عمر آن (۴۲ روز) در مقایسه با شاهد (۱۲ روز) دو برابر شد. این محققان ضمن اشاره به اهمیت افزودنی‌های آلی در تجزیه متری بیوزین، اظهار داشتند که نوع و ماهیت پالایند آلی نقش موثری در روند تجزیه آن دارد.

بطور کلی نتایج این آزمایش ضمن اینکه نشان از تأثیر گذار بودن تجزیه شیمیایی و بخصوص تجزیه زیستی در تجزیه متری بیوزین در خاک دارند. نشان می‌دهند که تأثیر سطوح مختلف کود آلی در افزایش تجزیه و کاهش باقیمانده متری بیوزین، احتمالاً از طریق فراهم کردن بستر مناسب برای رشد و فعالیت ریزموجودات تجزیه کننده در تجزیه زیستی و تسریع واکنش‌های شیمیایی در تجزیه شیمیایی موثر است و این مساله بخصوص برای خاک‌های شورمان که دارای مواد آلی کمی هستند اهمیت دارد. با این حال با توجه به عوامل متعدد تأثیرگذار بر سرنوشت علف‌کش‌ها، در مطالعات آتی انجام مطالعات مزرعه‌ای و مقایسه نتایج حاصل از آنها با نتایج آزمایش‌های کنترل شده و هم چنین بررسی روش‌های مختلف برای مطالعه تجزیه شیمیایی پیشنهاد و تأکید می‌شود.

خاک غیرسترون، کاربرد ۱۰ درصد کود آلی و در خاک سترون شده کاربرد ۵ درصد کود آلی بیشترین تأثیر را در کاهش نیمه عمر علف‌کش در مقایسه با خاک بدون ماده آلی (به ترتیب از ۸۵/۵۷ روز به ۳۸ روز در خاک غیرسترون و از ۸۳/۵ روز به ۴۹/۵ روز در خاک سترون شده) داشت، اهمیت مواد آلی در تجزیه زیستی و شیمیایی متری بیوزین و سایر علف‌کش‌ها، در مطالعات سایر محققین نیز گزارش شده است. خوری و همکاران (۱۳) در آزمایشی که به منظور بررسی نقش مواد آلی در تجزیه متری بیوزین در خاک انجام دادند، گزارش کردند که با افزایش ماده آلی، نیمه عمر متری بیوزین به صورت صعودی کاهش پیدا کرد. بطوری که کاربرد کود آلی از صفر درصد به ۲۵، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد منجر به کاهش نیمه عمر علف‌کش از ۱۵/۴ به ۱۲/۴، ۹/۶، ۷ و ۳/۱ روز شد. دنیس و نیلور (۵) در آزمایشی تأثیر پالایند‌های آلی گلوکز، کاه گندم و بقایای خشک یونجه را بر تجزیه متری بیوزین مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که در ابتدا سرعت تجزیه در تیمارهای حاوی گلوکز و کاه گندم با هم برابر بود اما دو الی سه هفته بعد سرعت تجزیه در تیمار حاوی گلوکز بیشتر بود، بطوریکه فقط ۱ و ۰/۱ درصد از میزان اولیه کاربرد متری بیوزین به ترتیب بعد از ۸ و ۱۲ هفته خوابانیدن باقی ماند و این مقادیر برای خاک بدون ماده آلی به ترتیب ۱۶ و ۶ درصد بود.

منابع

- 1- Accinelli C., Dinelli G., Vicari A., and Catizone P. 2001. Atrazin and metolachlor degradation in subsoils, *Biology and Fertility of Soils* 33: 495-500.
- 2- Briceno G., and Palma C. 2007. Influence of Organic Amendment on the Biodegradation and Movement of Pesticides, *Environmental Science and Technology* 37: 233-271.
- 3- Dennis R.P., and Naylor D. 1985. Metribuzin degradation kinetics in organically amended soil, *Weed Science* 3: 267-270.
- 4- Fan M. 2009. Fate and transport of herbicides in a sandy soil in the presence of antibiotics in poultry manures. M. S. Thesis, Mc Gill University, Montreal, Quebec.
- 5- Fogg P., and Boxall A.B. 2003. Degradation of pesticides in biobeds: the effect of concentration and pesticide mixtures, *Agricultural and Food Chemistry* 51: 5344-5349.
- 6- Fuscaldo F., Bedmar F., and Monterubbiansi G. 1999. Persistence of atrazine, metribuzin and simazine herbicides in two soils, *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 34: 2037-2044.
- 7- Gaultier J., Farenhorst A., Cathcart J., and Goddard T. 2008. Degradation of [carboxyl-14C] 2,4-D and [ring-U-14C] 2,4-D in 114 agricultural soils as affected by soil organic carbon content, *Soil Biology and Biochemistry* 40: 217-227.
- 8- Henriksen T., Svensmark B., Juhler R.K. 2002. Analysis of Metribuzin and transformation products in soil by pressurized liquid extraction and liquid chromatographic-tandem mass spectrometry. *Chromatography* 957: 79-87.
- 9- Henriksen T., Svensmark B., Juhler R. K. 2004. Degradation and Sorption of Metribuzin and Primary Metabolites in a Sandy Soil, *Environmental Quality* 33: 619-627.
- 10- Hyzak D. ., and Zimdah R.L. 1974. Rate of degradation of metribuzin and two analog in soi, l. *Weed Science* 22: 75-79.
- 11- Izadi Darbandi E. 2008. Evaluation persistence of atrazine in the laboratory and farm, and the effect of it on soil microbial activity and agricultural ecosystems. PhD thesis, Mashhad Ferdowsi University.
- 12- Kadian N., Gupta A., Satya S., Kumari Mehta R., and Malik A. 2007. Biodegradation of herbicides (atrazine) in contaminated soil using various bioprocessed materials, *Bioresour Technology* 99: 4642-4647.
- 13- Khoury R., Geahchan A., Coste C.M., Cooper J.F., and Bobe A. 2003. Retention and degradation of metribuzin in, sandy loam and clay soils of Lebanon, *Weed Research* 43: 252-259.
- 14- Khoury R., Geahchan A., Coste C.M., and Antoun M.A. 2001. The behavior of pesticide in soils: The influence of

- various environmental factors on the degradation of metribuzin,. Environment and Solar, Mediterranean Conference 34-39.
- 15- Kjaer J., Olsen P., Sjelborg I., Fomsgaard B., Mogensen B., and Plauborg F. 2001. The Danish Pesticide Leaching Assessment Programme. GEUS Report, Geological Survey of Denmark and Greenland, Copenhagen.
 - 16- Ratsch H.C., Johndro D.J., and Farlane J.C. 1986. Growth inhibition and morphological effects of several chemicals in *Arabidopsis thaliana* (L.) Henh, Environmental Toxicology and Chemistry 5: 55-60.
 - 17- Savage K.E. 1977. Metribuzin persistence in soil, Weed science 25: 55-59.
 - 18- Singh N. 2008. Biocompost from sugar distillery effluent: effect on metribuzin degradation, sorption and mobility, Pest Management Science 64:1057-1062.
 - 19- Wang C.Y. 2002. Effect of glyphosate on tuber sprouting and growth of purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.), Weed Technology 16: 477-481.
 - 20- Zand A., This A., Mousavi K., and Heidari A. 2008. Herbicides and methods of their application optimization and reduce application approach. Jihad Daneshgahi, Mashhad Press.



Investigation of Biological and Chemical Degradation of Metribuzin in Soil and the Effect of Organic Manure on its Half- Life and its Degradation in Controlled Conditions

S.F. Fakhrerad¹- E. Izadi Darbandi^{2*}- M.H. Rashed Mohassel³- M. Hassanzadeh-Khayat⁴- H. Nassirli⁵

Received: 02-03-2016

Accepted: 01-05-2017

Introduction: persistence of herbicide in the environment is one of the most important consequences of the release of herbicide in the soil. This is more important particularly, in soil consumer herbicides such as metribuzin. Metribuzin is from the group of photosystem II inhibitors and is widely used for controlling broadleaf weeds in many crops such as potatoes, tomatoes and wheat. According to available information, metribuzin has medium and high persistence in soil and the high potential for contaminating groundwater resources as well as damaging crops in the rotation. Therefore, using strategies for reducing harmful effect of this herbicide is essential. In this regard, attention to factors affecting the fate of herbicide such as evaporation, distillation, leaching, surface runoff, absorption by soil and plant matter and especially the role of chemical analysis and biodegradation is essential and has important role in management of persistence and remains of herbicide.

Materials and Methods: An experiment was conducted in completely randomized design with factorial arrangement and three replications. Treatments included the soil at two levels (sterile and non- sterile), cow manure amount at four levels (0, 1, 5 and 10 based on soil percentage weight), and soil incubation periods at 8 levels (0, 2, 4, 8, 16, 36, 64, 90 days). To perform the test, after preparing the soil to a depth of 0 to 10 cm from the place that has no history of using herbicide for at least 5 years, the soil samples were transferred the laboratory to determine the physiochemical properties. For Sterile soil, soil samples were taken at 121 ° C and 2.1 bar pressure in the autoclave for 45 minutes, and this was repeated three times. For contaminated soil to metribuzin, after preparing the soil, at interested different levels of organic fertilizers (including 50 g dry soil), the soil samples were contaminated with metribuzin at amount of 5 mg per kilogram of soil (the equivalent of 0.25mg metribuzin in 50 g soil). The sterile water at 75% field capacity soil was then added and the bottles were closed with vent aluminum paper and placed in the incubator in darkness at 27 ° C for 90 days. After leaving the soil samples at specific time periods, the extraction of metribuzin from the soil samples was stored in freezer at - 25 °C to be used for Hplc analyses.

Result: There was no difference in the several levels of organic matter. Extraction efficiency of metribuzin at levels of 1, 5 and 10% was, respectively, 92.52, 91.76 and 91.51 % compared with the control without the use of organic fertilizers (95.52). According to the results, degradation rate was more rapid in non-sterile soil, therefore, metribuzin soil residue was 59.12, 38.18 and 28.55 %, after 36, 64 and 90 days incubation period, respectively, in non-sterile soil relative to sterile soil. No significant differences in metribuzin residues in the soil, in the first days of incubation of soil samples, may be related to the lack of a history of herbicide application and need of compatibility of soil microorganisms to metribuzin. Using 1, 5 and 10 % of cow manure amendment to non-sterile soil, decreased metribuzin halflife from 85.57 days to 47.80, 57.28 and 38.08 days, respectively, and in sterile soil its half-life decreased from 83.51 to 91.03, 49.50 and 51.34 days, respectively. Khoury et al. reported that by increasing the organic matter, the half-life of metribuzin decreases. In this experiment, increasing the organic fertilizers from 0 to 25, 50.75 and 100% resulted in a reduction of half-life from 15.4 to 12.4, 9.6, 7 and 3.1 day, respectively.

Conclusion: According to the results of this experiment, addition of cow manure can increase metribuzin degradation in soil and decrease its half-life.

Keywords: Non-sterile, Persistence, Sterile soil

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

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

4- Professor Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

5- Pharmaceutical Research Center, Institute of Pharmaceutical Technology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran



مقاله علمی-پژوهشی

ارزیابی شیوه‌های تهیه بستر بذر و کاربرد علف‌کش در مدیریت علف‌های هرز لوبیا (*Phaselous vulgaris* L.)

مرید علی فتحی^۱ - الهام الهی فرد^{۲*} - عبدالرضا سیاهپوش^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۵

چکیده

علف‌های هرز یکی از مهمترین عوامل کاهش دهنده عملکرد لوبیا می‌باشند. به منظور بررسی اثر روش‌های تهیه بستر کاشت و مصرف علف‌کش‌های خاک کاربرد بر عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار، در سال زراعی ۱۳۹۵-۱۳۹۴ در روستای حاتم آباد، واقع در بخش فیروزآباد شهرستان سلسله، در استان لرستان اجرا شد. عوامل مورد بررسی شامل تهیه بستر کاشت در دو سطح (دائم و غیردائم) و علف‌کش‌های خاک کاربرد در سه سطح شامل [لینوران (۱/۵ لیتر در هکتار)، ای‌پی‌تی‌سی (۳ لیتر در هکتار)، تریفلورالین (۱/۵ لیتر در هکتار)] بودند. همچنین دو تیمار عدم کنترل علف‌های هرز (به عنوان شاهد آلوده) و وجین دستی به عنوان تیمار مهار علف‌های هرز در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد بیشترین درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز در ۳۰ روز پس از سمپاشی به ترتیب متعلق به بستر بذر دائم به همراه کاربرد علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی (۷۹/۰۹ درصد)، و تریفلورالین (۷۸/۵۷ درصد) بود. درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز ۶۰ روز پس از کاربرد علف‌کش در بستر کاشت غیردائم (۷۶/۵۸ درصد) کمتر از بستر کاشت دائم (۸۴/۳۴ درصد) بود. بیشترین درصد افزایش تعداد غلاف در بوته نسبت به شاهد آلوده متعلق به تیمار وجین (۵۲/۰۱ درصد) و پس از آن به لینورون (۴۲/۰۵ درصد)، ای‌پی‌تی‌سی (۴۰/۴۳ درصد) و تریفلورالین (۳۴/۳۴ درصد) بود. بیشترین درصد افزایش تعداد دانه در غلاف متعلق به تیمار وجین (۳۶/۱۴ درصد) و پس از آن ای‌پی‌تی‌سی (۲۹/۵۴ درصد)، لینورون (۲۸/۰۶ درصد) و تریفلورالین (۲۸/۰۶ درصد) بودند. در خصوص عملکرد دانه، بیشترین درصد افزایش به ترتیب متعلق به وجین (۵۲/۹۲ درصد)، ای‌پی‌تی‌سی (۴۴/۱۱ درصد)، لینورون (۳۱/۱۳ درصد) و تریفلورالین (۳۰/۳۰ درصد) بودند. بیشترین درصد افزایش عملکرد بیولوژیک به ترتیب متعلق به به وجین (۳۲/۴۶ درصد)، لینورون (۲۵/۵۰ درصد)، ای‌پی‌تی‌سی (۲۰/۸۱ درصد) و تریفلورالین (۱۷/۸۳ درصد) بود. بیشترین درصد افزایش شاخص برداشت متعلق به وجین (۳۴/۳۳ درصد) و پس از آن لینورون (۲۱/۳۷ درصد)، ای‌پی‌تی‌سی (۱۹/۸۵ درصد) و تریفلورالین (۱۸/۲۳ درصد) بودند. به طور کلی، تریفلورالین نسبت به ای‌پی‌تی‌سی و لینوران به میزان بیشتری علف‌های هرز را مهار نمود. همچنین، درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز در بستر بذر دائم نسبت به بستر بذر کاذب بیشتر بود.

واژه‌های کلیدی: بستر بذر دائم و غیر دائم، تراکم و وزن خشک علف‌های هرز، عملکرد دانه

مقدمه

لوبیا مهمترین حبوبات در کشور است و ۳۶/۸ درصد تولید کل حبوبات را شامل می‌باشد (۲).

یکی از راه‌های افزایش تولید محصول لوبیا، جلوگیری از خسارت‌های حاصل از هجوم علف‌های هرز می‌باشد. علف‌های هرز مهمترین عامل زیستی هستند که عملکرد حبوبات را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۴). کنترل علف‌های هرز به عنوان مهم‌ترین مشکل تولید لوبیا در بسیاری از کشورها از جمله ایران می‌باشد (۱، ۳ و ۱۳).

تاکنون ۱۲ علف‌کش به منظور مهار علف‌های هرز حبوبات توصیه شده است که از این بین، چهار علف‌کش برای لوبیا کاربرد دارند (۱۸). این علف‌کش‌ها عبارتند از: اتال فلورالین (سونالان)، بنتازون (بازاگران)، کلرتال دی‌متیل (داکتال) و ای‌پی‌تی‌سی (اپتام). همچنین علف‌کش‌های دیگری نیز به منظور کاربرد در حبوبات توصیه

لگوم‌های دانه‌ای از عمده‌ترین منابع پروتئینی در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان محسوب شده و نقش عمده‌ای در اقتصاد این مناطق دارد (۳). در کشور ما لوبیا بعد از نخود (*Cicer arietinum* L.)، بیشترین سطح زیر کشت (۱۴/۱ درصد اراضی زیر کشت حبوبات) را به خود اختصاص داده است (۲). اما از لحاظ میزان تولید،

۱ و ۲ - به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز و استادیاران گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، باوی، ملائانی، ایران
(*) - نویسنده مسئول: Email: e.elahifard@asnrukh.ac.ir
DOI: 10.22067/jpp.v34i2.75813

شده‌اند که از جمله آن‌ها می‌توان به تریفلورالین و لینوران اشاره کرد که تریفلورالین در لوبیا و لینوران در نخود، سویا (*Glycine max* (L.)) (Merr.) و عدس (*Lens culinaris* Medik.) توصیه شده‌اند (۱۲). با این وجود و علی‌رغم پژوهش‌های متعددی که توسط محققان انجام گرفته، حذف کامل علف‌های هرز لوبیا به روش کنترل شیمیایی میسر نگردیده است و علف‌کشی که بتواند همه گونه‌های علف هرز را در این محصول کنترل کند وجود ندارد (۱۳). جهت مهار مؤثر علف‌های هرز لوبیا لازم است روش زراعی و شیمیایی توأماً مورد استفاده قرار گیرند. این امر مستلزم ارائه‌ی یک برنامه‌ی مشخص می‌باشد. این برنامه بستگی به نوع رقم لوبیا، گونه‌های علف هرز، تناوب کشت، نوع خاک و روش آبیاری دارد (۱۳).

با توجه به اینکه شخم، جوانه‌زنی بذر بسیاری از گونه‌های هرز را تسریع می‌کند، چنانچه عملیات شخم به ترتیبی انجام شود که ضمن حداقل بهم زدگی خاک، موجب از بین رفتن گیاهچه علف‌های هرز شود، موجب کاهش تراکم علف‌های هرز در محصول زراعی نیز خواهد شد؛ این روش تحت عنوان بستر کاشت دائم^۱ بذر خوانده می‌شود (۱۰). روش کار در بستر بذر غیر دائم^۲ مشابه بستر بذر دائم است. در این روش، ابتدا در مراحل قبل از کاشت گیاه زراعی و به فاصله هر یک هفته یکبار اقدام به انجام عملیات شخم سطحی با کولتیواتور کرده و سپس بستر بذر آماده می‌شود (۱۰).

امروزه با مطرح شدن مسائل زیست محیطی و کشاورزی پایدار بر به کارگیری یک سیستم مدیریت تلفیقی کنترل علف‌های هرز و با حداقل استفاده از مواد شیمیایی تأکید می‌گردد (۱۴). از آنجائی که تاکنون تحقیقی مبنی بر کنترل علف‌های هرز بر اساس روش بستر بذر کاذب و غیر کاذب صورت نگرفته است؛ لذا این آزمایش به‌منظور بررسی روش تلفیقی استفاده از تهیه بستر بذر لوبیا همراه با کاربرد علف‌کش‌های خاک مصرف شامل ای‌پی‌تی‌سی، لینوران و تریفلورالین، با هدف مهار علف‌های هرز لوبیا در منطقه الشتر انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت یک آزمایش مزرعه‌ای به شیوه فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار در سال زراعی ۱۳۹۴-۱۳۹۵ در روستای حاتم آباد، واقع در بخش فیروزآباد شهرستان سلسله (عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۵۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۲۰ دقیقه شرقی با ارتفاع ۱۶۷۰ متر از سطح دریا)، در استان لرستان انجام شد.

- 1- Stale seedbed
- 2- False seedbed

هر کرت شامل ۸ خط کشت که هر کدام به طول ۶ متر و عرض ۳/۲۰ متر، با فاصله خطوط کشت ۴۰ سانتیمتر و فاصله بوته‌ها ۵۰ سانتیمتر با تراکم ۵۰ بوته در متر مربع در نظر گرفته شد. همچنین فاصله بین هر دو کرت ۰/۵ متر و فاصله بین دو بلوک ۱ متر در نظر گرفته شد. بذور کشت شده، توده محلی لوبیا سفید بود که در خرداد ماه ۱۳۹۵ کشت گردید. فاکتور تهیه بستر کشت به دو شکل دائم (استفاده از علف‌کش پاراکوات (گراماکسون ۲۰٪ SL به میزان ۴ لیتر در هکتار) به منظور کنترل علف‌های هرز سبز شده قبل از کشت) و غیر دائم (در این روش قبل از کاشت گیاه زراعی دو بار و به فاصله هر دو هفته یکبار اقدام به انجام عملیات شخم سطحی با کولتیواتور شد و سپس بستر کشت آماده گردید) انجام گرفت. فاکتور علف‌کش در سه سطح (لینوران (لوروکس ۴۵٪ EC، به مقدار ۱/۵ لیتر در هکتار به صورت قبل از کاشت مخلوط با خاک)، ای پی تی سی (ایتام ۸۲٪ EC، به مقدار ۳ لیتر در هکتار به صورت پیش کاشت مخلوط با خاک) و تریفلورالین (ترفلان ۴۸٪ EC، بلافاصله قبل از کاشت به مقدار ۱/۵ لیتر در هکتار و اختلاط با خاک تا عمق ۷ سانتیمتر) به همراه کرت‌های شاهد (وجین یا کنترل کامل علف‌های هرز و بدون کنترل علف‌های هرز) اعمال گردید.

اندازه‌گیری تراکم و وزن خشک علف‌های هرز

به منظور یادداشت‌برداری از تیمارهای پیش‌رویشی با پرتاب کردن کادرهایی به ابعاد ۵۰×۵۰ سانتی‌متر به صورت تصادفی در دو نیمه سمپاشی نشده و سمپاشی شده در هر کرت ۳۰ و ۶۰ روز پس از تیمار علف‌کش، تعداد و تنوع علف‌های هرز درون کادر یادداشت‌برداری و سپس، درصد کاهش تراکم علف‌های هرز نسبت به شاهد آلوده محاسبه گردید. به منظور محاسبه وزن خشک، علف‌های هرز درون کادرها از سطح خاک کف‌بر شده و نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه به مدت ۷۲ ساعت در آونی با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از خشک شدن توزین گردید. سپس درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز نسبت به شاهد آلوده محاسبه گردید. کرت‌ها به صورت دو بخشی، آلوده به علف هرز (به عنوان شاهد آلوده) و تیمار شده با علف‌کش در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا

به منظور اندازه‌گیری عملکرد لوبیا و اجزای عملکرد آن دو ردیف کناری و ۰/۵ متر از ابتدا و انتهای هر کرت حذف شد و از کوادرات‌هایی به ابعاد ۵۰×۵۰ سانتیمتر نمونه‌گیری انجام شد. صفات مورد مطالعه عبارت بودند از ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد شاخه فرعی در هر بوته، طول غلاف در بوته و تعداد دانه در هر غلاف، عملکرد اقتصادی، بیولوژیک و شاخص برداشت که بدین

منظور تعداد ۱۰ بوته به صورت تصادفی از کوادرات انتخاب گردید و میانگین صفات محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به منظور تجزیه آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS9.2 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) و رسم نمودارها با استفاده از برنامه Excel انجام شد.

نتایج و بحث

درصد کاهش تراکم و وزن خشک علف هرز ۳۰ و ۶۰ روز

پس از تیمار با علف‌کش

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر ساده

جدول ۱- تجزیه واریانس کاهش تراکم و وزن خشک علف‌های هرز تحت تأثیر بستر کاشت و کاربرد علف‌کش در مزرعه لوبیا

Table 1- Analysis of variance of weed density and dry weight influenced by seedbed and herbicide application in common bean field

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean of squares			
		درصد کاهش تراکم علف‌های هرز Percentage reduction of weed density		درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز Percentage reduction of weed dry weight	
		۳۰ روز پس از کاربرد علف‌کش 30 days after herbicide application	۶۰ روز پس از کاربرد علف‌کش 60 days after herbicide application	۳۰ روز پس از کاربرد علف‌کش 30 days after herbicide application	۶۰ روز پس از کاربرد علف‌کش 60 days after herbicide application
		علف‌کش 30 days after herbicide application	علف‌کش 60 days after herbicide application	علف‌کش 30 days after herbicide application	علف‌کش 60 days after herbicide application
تکرار Replication	3	273.68 ^{ns}	42.06 ^{ns}	104.78 ^{ns}	50.68 ^{ns}
بستر کاشت Seedbed	1	288.15 ^{ns}	355.78*	734.49*	360.84*
علف‌کش Herbicide	2	3699.66**	1658.19**	3857.26**	1544.46**
بستر کاشت×علف‌کش Seedbed×Herbicide	2	264.46 ^{ns}	84.99 ^{ns}	744.12**	95.13 ^{ns}
Error خطا	23	200.79	49.32	166.73	60.21
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)	-	25.37	8.66	22.87	9.64

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

ns, * and ** means non-significant, and significant at probability level of 5 and 1%, respectively.

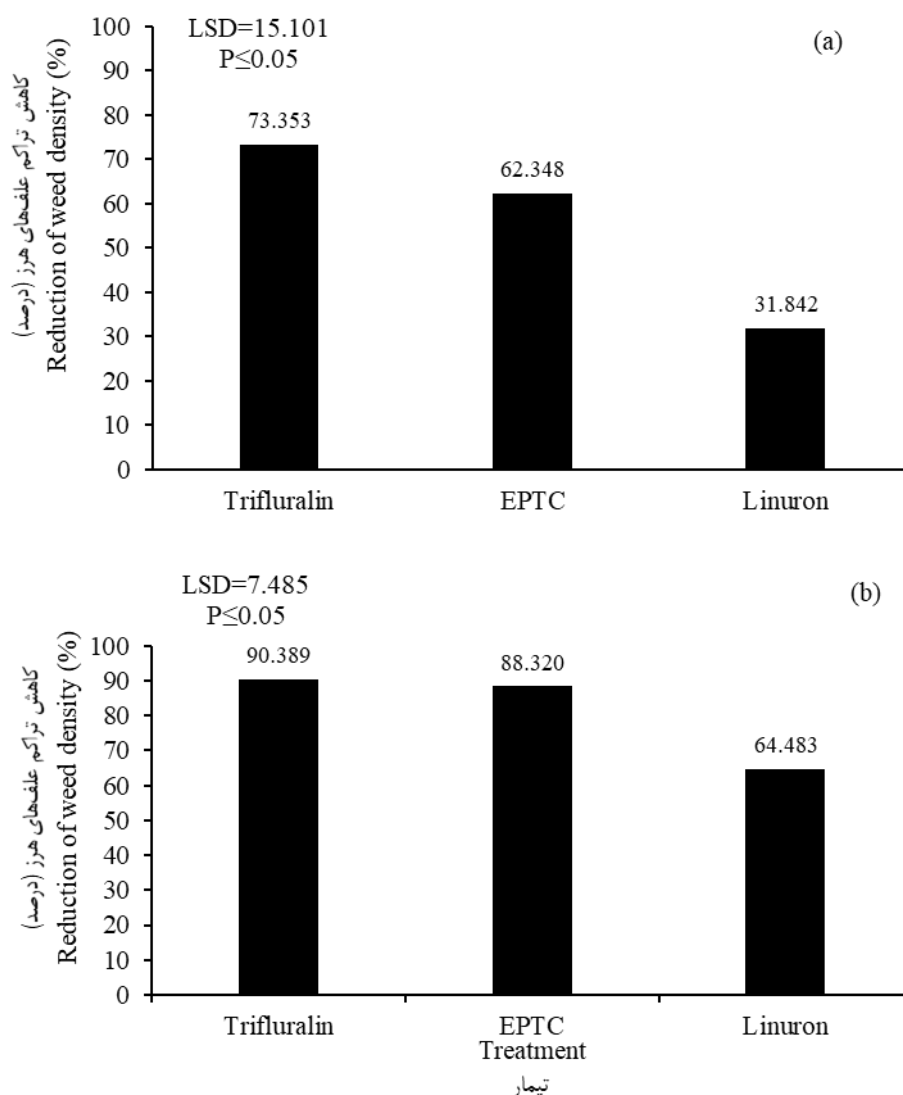
(شکل ۱) نشان داد، بیشترین و کمترین درصد کاهش تراکم علف‌های هرز (۹۰/۳۸۹ و ۶۴/۴۸۳ درصد) به ترتیب متعلق به تریفلورالین و لینوران بود (شکل ۱). درحالی که بین تیمارهای تریفلورالین و ای‌پی‌تی‌سی (به ترتیب ۹۰/۳۸۹ و ۸۸/۳۲۰ درصد) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱).

در خصوص اثر متقابل کاربرد علف‌کش و شیوه تهیه بستر بذر بر درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز، بیشترین درصد کاهش پس

مقایسه میانگین اثر کاربرد تیمارهای تریفلورالین، ای‌پی‌تی‌سی، و لینوران بر درصد کاهش تراکم علف‌های هرز پس از ۳۰ روز (شکل ۱) نشان داد که بیشترین درصد کاهش تراکم علف‌های هرز به ترتیب متعلق تریفلورالین (۷۳/۳۵۳ درصد)، ای‌پی‌تی‌سی (۶۲/۳۴۸ درصد) و لینوران (۳۱/۸۴۲ درصد) بود. در حالی که بین تریفلورالین و ای‌پی‌تی‌سی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (۰/۰۵) (شکل الف). مقایسه میانگین‌های تیمارهای مذکور، ۶۰ روز پس از کاربرد

بستر بذر غیر دائم نیز منجر به مهار مطلوب علف‌های هرز (۶۹/۵۲۳ درصد) شد؛ به‌طوری‌که اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0.05$) میان تیمار مذکور با دو تیمار اشاره شده در قبل مشاهده نشد (شکل ۲).

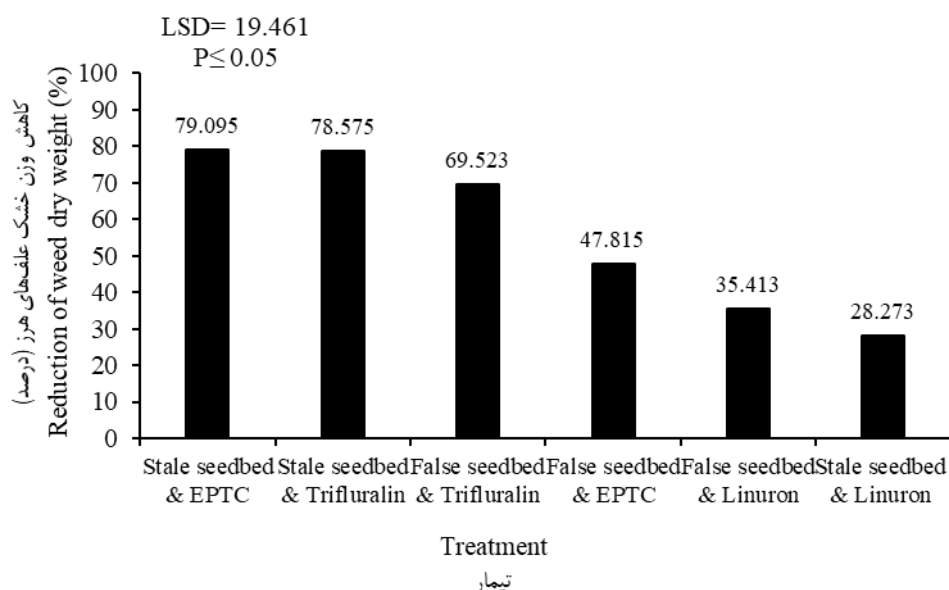
از ۳۰ روز به ترتیب متعلق به بستر بذر دائم به همراه کاربرد علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی (۷۹/۰۹۵ درصد)، تریفلورالین (۷۸/۵۷۵ درصد) بود (شکل ۲). این درحالی بود که تیمار کاربرد تریفلورالین در



شکل ۱- تأثیر کاربرد علف‌کش بر درصد کاهش تراکم علف‌های هرز ۳۰ (الف) و ۶۰ (ب) روز پس از کاربرد علف‌کش در مزرعه لوبیا سفید
Figure 1- Effect of herbicide application on weed density reduction percentage in 30 (a) and 60 (b) days after herbicide application in common bean field

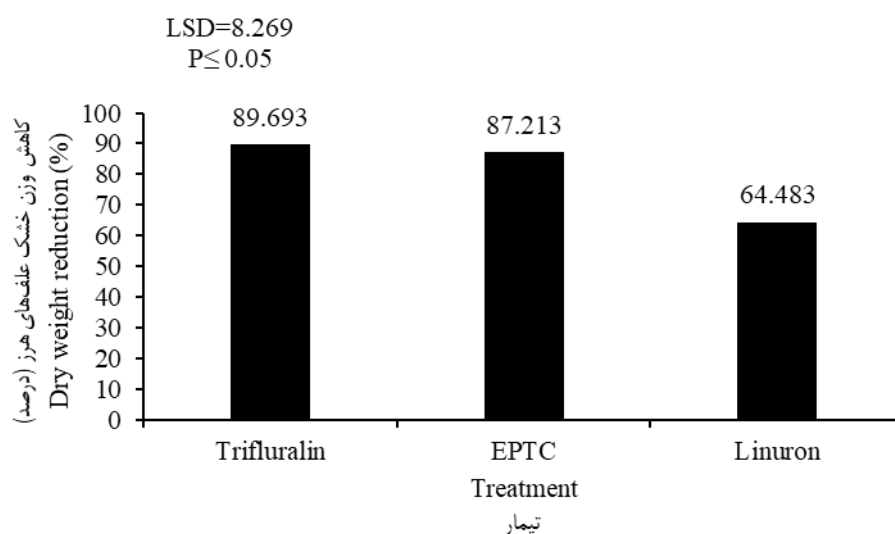
درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز متعلق به تریفلورالین (۸۹/۶۹۳ درصد) و ای‌پی‌تی‌سی (۸۷/۲۱۳ درصد) و کمترین به لینورون (۶۴/۴۸۳ درصد) تعلق داشت؛ به‌طوری‌که اختلاف میان لینورون با دو علف‌کش دیگر معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$).

کمترین میزان کاهش وزن خشک علف‌های هرز نیز متعلق به تیمارهای بستر بذر دائم به همراه کاربرد لینورون (۲۸/۲۷۳ درصد)، بستر بذر غیر دائم و کاربرد لینورون (۳۵/۴۱۳ درصد) و بستر بذر غیر دائم و کاربرد ای‌پی‌تی‌سی (۴۷/۸۱۵ درصد) بود (شکل ۲). اثر کاربرد علف‌کش بر درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز ۶۰ روز پس از کاربرد علف‌کش (شکل ۳) نشان داد که بیشترین



شکل ۲- اثر متقابل کاربرد علف‌کش و شیوه تهیه بستر کاشت بر درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز ۳۰ روز پس از کاربرد علف‌کش در مزرعه لوبیا سفید

Figure 2- Interaction effect of herbicide application and preparing seedbed method on weed dry weight reduction percentage in 30 days after herbicide application in common bean field



شکل ۳- اثر کاربرد علف‌کش بر درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز ۶۰ روز پس از کاربرد علف‌کش در مزرعه لوبیا سفید

Figure 3- Effect of herbicide application on weed dry weight reduction percentage in 60 days after herbicide application in common bean field

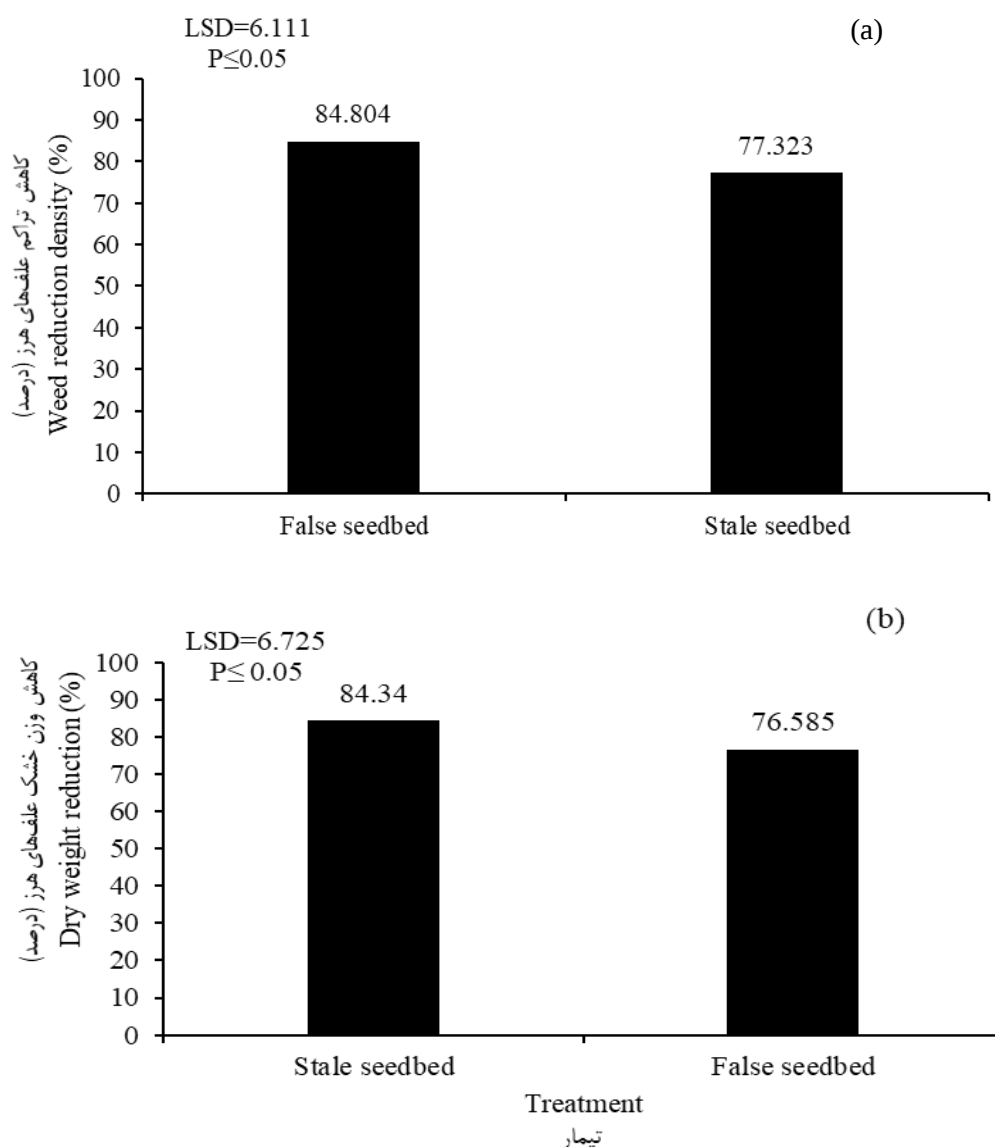
تداخل علف‌های هرز تا ۹۶ درصد گزارش شده است (۱۱). به طوری که استفاده از علف‌کش‌ها را در این محصول غیر قابل اجتناب نموده است. در آزمایشی کاربرد پیش کاشت آمیخته با خاک اتا‌فلورالین در

در آزمایشی استفاده از بستر بذر دروغین به همراه کاربرد ۵۰ گرم علف‌کش ایمازتاپیر، زیست توده علف‌های هرز کشیده‌برگ و پهن‌برگ را به میزان ۹۰ درصد کاهش داد (۱۷). کاهش عملکرد لوبیا بر اثر

وزن خشک علف‌های هرز نسبت به بستر کاشت غیردائم (۷۶/۵۸۵ درصد) داشت (شکل ۴ب). از آن‌جاکه کاهش وزن خشک علف‌های هرز معیار قوی‌تری نسبت به کاهش تراکم علف‌های هرز در ارزیابی تأثیر تیمارها می‌باشد؛ لذا می‌توان تیمار بستر دائم را از این نظر برتر دانست، چرا که اختلاف میان تیمارها نیز، برخلاف معنی‌دار بودن آن‌ها، خیلی زیاد نمی‌باشد.

تلفیق با کاربرد پس‌رویشی مقادیر کاهش یافته ایمازتاپیر سبب کنترل مناسب علف‌های هرز شد (۱۱).

مقایسه میانگین اثر بستر کاشت بر درصد کاهش تراکم و وزن خشک علف‌های هرز ۶۰ روز پس از تیمار با علف‌کش نشان داد که درصد کاهش تراکم علف‌های هرز در بستر کاشت غیردائم (۸۸/۸۰۴ درصد) بیشتر از بستر کاشت دائم (۷۷/۳۲۳ درصد) بود (شکل ۴الف). درحالی‌که بستر کاشت دائم (۸۴/۳۴۰ درصد) تأثیر بیشتری در کاهش



شکل ۴- تأثیر بستر کاشت بر درصد کاهش تراکم (الف) و وزن خشک (ب) علف‌های هرز ۶۰ روز پس از کاربرد علف‌کش در مزرعه لوبیا سفید
Figure 4- Effect of seedbed on weed density (a) and dry weight (b) reduction percentage in 30 and 60 days after herbicide application in common bean field

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر بستر کاشت بر

اندازه‌گیری عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا

صفات تعداد غلاف در بوته و عملکرد بیولوژیک ($P \leq 0.05$)، کاربرد علف‌کش بر تعداد غلاف در بوته ($P \leq 0.05$)، تعداد دانه در غلاف، عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و شاخص برداشت لوبیا ($P \leq 0.01$) و

جدول ۲- تجزیه واریانس عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا تحت تأثیر بستر کاشت و کاربرد علف‌کش

Table 2- Analysis of variance yield and component yield influenced by seedbed and herbicide application

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean of squares				
		تعداد غلاف در بوته Number of pod per plant	تعداد دانه در غلاف Number of seed per pod	عملکرد بیولوژیک Biologic yield	عملکرد دانه Seed yield	شاخص برداشت Harvest index
تکرار Replication	3	158.18 ^{ns}	125.45 ^{ns}	141.30*	327.51*	45.36 ^{ns}
بستر کاشت Seedbed	1	998.59*	296.64 ^{ns}	597.02**	67.95 ^{ns}	118.16 ^{ns}
علف‌کش Herbicide	3	429.83*	371.05**	325.16**	949.33**	434.16**
بستر کاشت×علف‌کش Seedbed×Herbicide	3	70.06 ^{ns}	26.57 ^{ns}	112.81*	150.31 ^{ns}	57.84 ^{ns}
خطا Error	21	142.51	72.72	37.99	89.39	55.23
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)	-	28.28	30.09	25.52	23.87	31.69

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

ns, * and ** means non-significant, and significant at probability level of 5 and 1%, respectively.

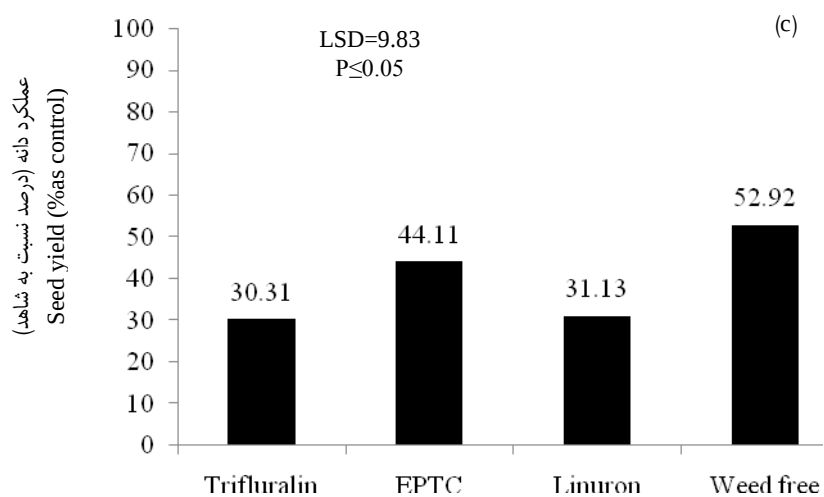
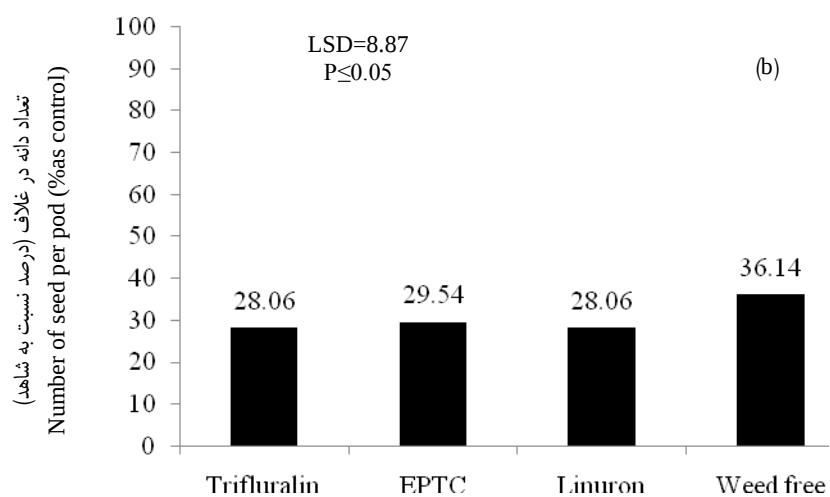
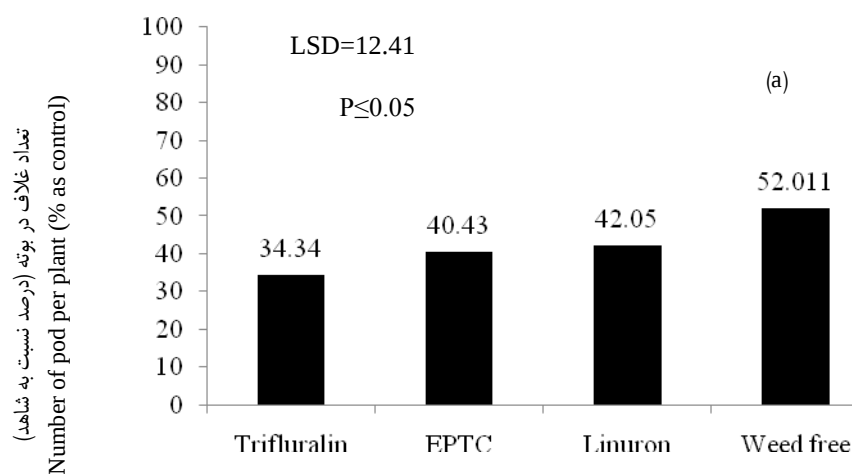
عملکرد دانه (داده‌ها نشان داده نشد) کرت‌های تیمار شده نشان داد که تیمار وجین با دارا بودن ۲۹۵۶/۸۰ کیلوگرم در هکتار، بیشترین عملکرد را نسبت به سایر تیمارها داشت؛ به‌طوری‌که اختلاف با سایر تیمارها معنی‌دار بود ($P \leq 0.01$). پس از آن تیمارهای لینورون، تریفلورالین و ای‌پی‌تی‌سی، عملکردی معادل ۲۳۴۲/۷-۱۹۷۳/۴ کیلوگرم در هکتار، داشتند که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P \leq 0.01$). کمترین عملکرد دانه (۱۳۴۷/۹۰ کیلوگرم در هکتار) متعلق به تیمار آلوده به علف‌هرز بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ($P \leq 0.01$).

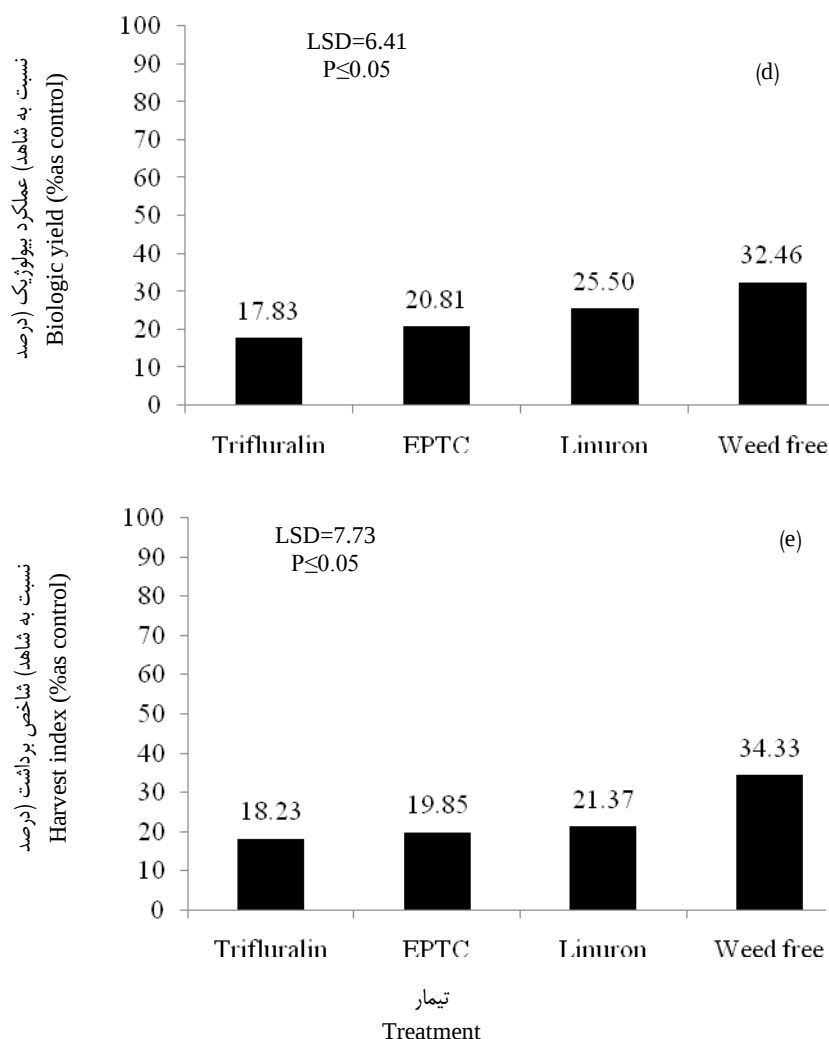
همچنین، در خصوص اثر متقابل بستر کاشت و کاربرد علف‌کش بر عملکرد بیولوژیک (شکل ۶) بیشترین درصد افزایش متعلق به تیمار وجین و بستر بذر دائم (۳۷/۵۹ درصد) و غیر دائم (۲۷/۳۳ درصد) مشاهده شد. در مورد لینورون اختلاف معنی‌داری میان دو بستر بذر مشاهده نشد (شکل ۶). در مورد ای‌پی‌تی‌سی (۲۸/۹۱ درصد) و تریفلورالین (۲۲/۷۶ درصد) بیشترین درصد افزایش عملکرد بیولوژیک متعلق به بستر بذر دائم بود (شکل ۶).

بیشترین درصد افزایش شاخص برداشت متعلق به وجین (۳۴/۳۳ درصد) و پس از آن لینورون (۲۱/۳۷ درصد)، ای‌پی‌تی‌سی (۱۹/۸۵ درصد) و تریفلورالین (۱۸/۲۳ درصد) بودند که اختلاف معنی‌داری میان لینورون، ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین با یکدیگر مشاهده نشد ($P \leq 0.05$) (شکل ۵د).

مقایسه میانگین (شکل ۵الف) درصد افزایش تعداد غلاف در بوته نسبت به شاهد آلوده نشان داد که بیشترین درصد افزایش تعداد غلاف در بوته نسبت به شاهد آلوده متعلق به تیمار وجین (۵۲/۰۱ درصد) و پس از آن به لینورون (۴۲/۰۵ درصد)، ای‌پی‌تی‌سی (۴۰/۴۳ درصد) و تریفلورالین (۳۴/۳۴ درصد) بود که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P \leq 0.05$). در مورد تعداد دانه در غلاف بیشترین درصد افزایش متعلق به تیمار وجین (۳۶/۱۴ درصد) و پس از آن ای‌پی‌تی‌سی (۲۹/۵۴ درصد)، لینورون (۲۸/۰۶ درصد) و تریفلورالین (۲۸/۰۶ درصد) بودند که اختلاف معنی‌داری نیز با یکدیگر نداشتند (شکل ۵ب) ($P \leq 0.05$).

در خصوص عملکرد دانه، بیشترین درصد افزایش به ترتیب متعلق به وجین (۵۲/۹۲ درصد)، ای‌پی‌تی‌سی (۴۴/۱۱ درصد)، لینورون (۳۱/۱۳ درصد) و تریفلورالین (۳۰/۳۰ درصد) بودند (شکل ۵ج). اگرچه، اختلاف معنی‌داری میان تیمار وجین و ای‌پی‌تی‌سی مشاهده نشد (شکل ۵ج). در حالی‌که دو تیمار مذکور با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان دادند و کمترین درصد افزایش عملکرد دانه متعلق به تیمار تریفلورالین (۳۰/۳۱ درصد) بود که با تیمار لینورون (۳۱/۱۳ درصد) اختلاف معنی‌داری نداشت ($P \leq 0.01$) (شکل ۵ج). بیشترین عملکرد بیولوژیک به ترتیب متعلق به به وجین (۳۲/۴۶ درصد)، لینورون (۲۵/۵۰ درصد)، ای‌پی‌تی‌سی (۲۰/۸۱ درصد) و تریفلورالین (۱۷/۸۳ درصد) بود. به‌طوری‌که ای‌پی‌تی‌سی با لینورون و تریفلورالین اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P \leq 0.05$) (شکل ۵د). مقایسه میانگین



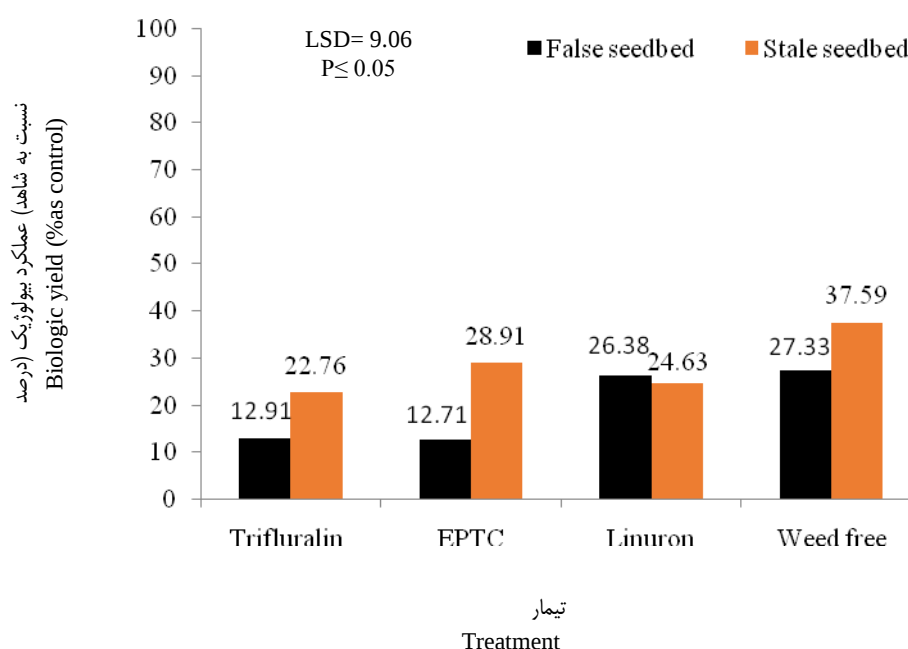


شکل ۵- تأثیر کاربرد علف‌کش بر تعداد غلاف در بوته (الف)، تعداد دانه در غلاف (ب)، عملکرد دانه (ج)، عملکرد بیولوژیک (د) و شاخص برداشت (د) لوبیا سفید

Figure 5- Effect of herbicide application on number of pod per plant (a), number of seed per pod (b), biologic yield (c) seed yield (d) and harvest index (e) of common bean

کاهش تراکم آنها احتمالاً از طریق کاهش رقابت بین بوته‌ای، توزیع مناسب تشعشع در سایه‌انداز گیاهی و بهبود فضای میکروکلیمایی باعث افزایش تعداد غلاف در بوته می‌گردد (۵). در آزمایشی مشخص شد کاربرد گلایفوسیت مناسب‌ترین تیمار در کنترل علف‌های هرز لوبیا قرمز در روش تهیه بستر بذر زود هنگام بود (۶). در آزمایشی مشخص شد تأثیرپذیری عملکرد دانه ذرت در شرایط رقابت با علف‌های هرز نسبت به عملکرد بیولوژیک بیشتر بود و در نتیجه شاخص برداشت ذرت بر اثر رقابت کاهش یافت (۷).

استانگاری و پیسانته (۱۶) اظهار نمودند که با افزایش طول دوره حضور علف‌های هرز در مزرعه، روندی کاهشی در تعداد غلاف در بوته و عملکرد لوبیا مشاهده گردید. رقابت از طریق کاهش اجزای عملکرد سبب کاهش عملکرد نهایی محصول می‌شود. قلی‌پور و همکاران (۹) کاهش وزن دانه در اثر رقابت علف‌های هرز را گزارش نمودند. قطری و روزبهانی (۸) گزارش دادند کاربرد کولتیواسیون به همراه ۱ لیتر درهکتار ایمازتاپیر به صورت پیش‌رویشی در مزرعه لوبیا موجب افزایش تعداد غلاف در بوته لوبیا و کاهش وزن خشک علف‌های هرز به کمترین میزان خود شد. کنترل علف‌های هرز و



شکل ۶- تأثیر شیوه تهیه بستر کاشت و کاربرد علف کش بر عملکرد بیولوژیک لوبیا سفید
Figure 6- Effect of seedbed method and herbicide application on biologic yield of common bean

بستر بذر دائم نسبت به بستر بذر کاذب بیشتر بود. در خصوص عملکرد و اجزای آن می توان اظهار داشت که در تمامی تیمارها درصد افزایش عملکرد در تیمار وجین، بیشتر از سایر تیمارها بود و به جز عملکرد دانه که اختلاف معنی داری در میان تیمارها مشاهده شد، در خصوص اجزای عملکرد لوبیا در میان تیمارهای علف کش، اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در میان علف کش های به کار رفته، افزایش عملکرد ایجاد شده توسط ای پی تی سی اختلاف معنی داری با وجین نداشت. به طور کلی، نتایج نشان داد بهترین تیمار مهار کننده علف های هرز لوبیا تیماری است که عملیات وجین در آن انجام شده است. این موضوع نشان دهنده اهمیت و کارایی وجین در زراعت لوبیا می باشد. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، پیشنهاد می شود که کشاورز به منظور تهیه زمین از روش بستر بذر دائم در تلفیق با علف کش های پیش کاشت و مخلوط با خاک استفاده نماید.

صادقی پور و غفاری خلیق (۱۵) گزارش کردند که مصرف تریفلورالین به تنهایی در مهار علف های هرز لوبیا اهمیت زیادی ندارد؛ بنابراین توصیه کردند، به منظور مهار هرچه بهتر علف های هرز لوبیا بایستی قبل از کاشت از تریفلورالین استفاده شود و پس از کاشت و سبز شدن علف های هرز نیز دو مرحله وجین دستی انجام شود. از نظر عملکرد نیز تیمارهایی که عملیات وجین به همراه علف کش به کار برده شده بود، عملکرد بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشتند و این موضوع را نشان دهنده اهمیت و اولویت وجین در زراعت لوبیا دانستند (۱۵).

نتیجه گیری

نتایج آزمایش پیش رو نشان داد که علف کش تریفلورالین توانست نسبت به ای پی تی سی و لینوران به میزان بیشتری علف های هرز را مهار نماید. همچنین درصد کاهش وزن خشک علف های هرز در

منابع

- 1- Ahmadi A.R., Rashed Mohassel M.H., Baghestani Meibodi M.A., and Rostami M. 2004. The effects of critical period of weed competition on yield, yield components and morphological characteristics of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Derakhshan (K.R.D-29). Journal of Plant Pests and Diseases 72(1): 31-49. (In Persian with English abstract)
- 2- Anonymous. 2014. Agricultural Statistical Book. Ministry of Agriculture-Jahad.
- 3- Bagheri A.R. 2006. An analysis to strategy of pulse research in Iran based upon the first national pulse symposium approaches. Iranian Journal of Field Crops Research 4(1): 1-13. (In Persian with English abstract)

- 4- Bagheri A., Rahimian H., and Oveisi M. 2018. The effect of interaction between imazethapyr herbicide dose and bean cultivar (*Phaseolus vulgaris* L.) on weed control. Journal of Plant Protection 32(1): 1-9. (In Persian with English abstract)
- 5- Canevari W.M., Vargas R.N., and Orloff S.B. 2007. Weed Management in Alfalfa. p. 18. In C.G. Summers, and D.H. Putnam (ed.) Irrigated Alfalfa Management for Mediterranean and Desert Zones. Oakland: University of California Agriculture and Natural Resources Publication 8294.
- 6- Farhangfar M., Saydi H., Entesari M., Rahimian H., and Moghaddam H. 2012. Evaluation of chemical weed management on two varieties of red beans in stale seedbed system. Iranian Journal of Weed Science 8(1): 101-110. (In Persian with English abstract)
- 7- Gerami A., Siadat S.A. Bakhshandeh A. Fathi G., and Alami Saeid K. 2013. Determination of critical weed of corn (*Zea mays* L.) in Ahvaz region. The Plant Production (Scientific Journal of Agriculture) 36(1): 39-49. (In Persian with English abstract)
- 8- Ghatari A.S., and Roozbahani A. 2015. Chemical and mechanical weed control methods and their effects on photosynthetic pigments and grain yield of kidney bean. Journal of Crop Ecophysiology 9(3): 461-476. (In Persian with English abstract)
- 9- Gholipour H., Mirshekari B., Hossein Zadeh Moghbeli A.H., and Hanifiyan, S. 2010. Critical period of weed control in sunflower's field. Journal of New Agricultural Science 17(2): 75-82. (In Persian with English abstract)
- 10- Liebman M., Mouler C.L., and Staver C.P. 2004. Ecological Management of Agricultural Weeds. Cambridge University Press.
- 11- Mousavi S.K., Nazer Kakhki S.H., Lack M.R., Tabatabaie R., and Behrozi D. 2011. Evaluation of imazethapyr herbicide efficiency for weed control in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Pulses Research 1(2): 111-122. (In Persian with English abstract)
- 12- Musavi M.R. 2013. Herbicides, Knowledge and Application. Marz-e Danesh Publishing House. (In Persian)
- 13- Parsa M., and Bagheri A. 2008. Pulses. Jahad-e Daneshgahi Mashhad Publication. (In Persian)
- 14- Pourreza J. 2017. Evaluating the wheat (*Triticum aestivum*) yield loss caused by wild oat (*Avena fatua*) interference at nitrogen different levels. The Plant Production (Scientific Journal of Agriculture) 40(1): 41-52. (In Persian with English abstract)
- 15- Sadeghipour O., and Ghaffari Khaligh H. 2002. Effects of weeding and different herbicides on weed control in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Crop Science 4(4): 277-282. (In Persian with English abstract)
- 16- Stagnari F., and Pisante M. 2011. The critical period for weed competition in French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Mediterranean areas. Crop Protection 30: 179-184.
- 17- Yousefi A.R., and Peri M.A. 2015. Use of false seedbed and reduced doses of imazethapyr for weed management in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Pulses Research 6(1): 108-116. (In Persian with English abstract)
- 18- Zand E., Baghestani M.A., Nezamabadi N., Shimi P., and Mousavi S.K. 2017. A Guide to Chemical Control of Weeds in Iran. Jahad-e Daneshgahi Mashhad Publication. (In Persian)



Evaluating Seedbed Preparing Methods and Herbicide Application in Weed Management of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

M.A. Fathi¹- E. Elahifard^{2*}- A. Siahpoosh³

Received: 04-11-2018

Accepted: 24-02-2020

Introduction: *Phaseolus vulgaris* L., known as the common bean and green bean among other names, is a herbaceous annual plant grown worldwide for its edible dry seeds or unripe fruit. Weeds are one of the most important factors in reducing the yield of common bean. Since tillage promotes germination of many weed species, tillage followed by destruction of weed seedlings with minimal further soil disturbance often leads to lower weed density in the crop. This is referred to as the stale seedbed method of planting. In false seedbed technique, preparation of a seedbed is followed by one or more superficial cultivations as about one-week intervals prior to planting the crop. Although these procedures are widely used by farmer, they have received little scientific study. This experiment was conducted to investigate the combined method of using seed bean bed preparation with application of herbicides such as EPTC, linuron, and trifluralin, in order to bean weeds control in Aleshtar region.

Materials and Methods: In order to investigate the effect of seedbed preparing methods and soil applied herbicides in weed management and yield of common bean, an experiment was carried out as factorial in a randomized complete block design with four replications in 2015-2016 growing season in Hatam Abad village, Selseleh, Aleshtar, Lorestan, Iran. Experimental factors included seedbed at two levels (false seedbed and stale seedbed) and soil applied herbicides at three levels (EPTC (3 L ha⁻¹), linuron (1.5 L ha⁻¹), and trifluralin (1.5 L ha⁻¹)). Two treatments including weed infested (as control) and weed free (as treatment), are also considered. Each plot was divided into two parts, one infested with weed (as contaminated control) and the other treated with herbicide. The percent reduction of weed density and dry weight were calculated at 30 and 60 days after spraying. The studied traits were plant height, number of pods per plant, number of branches per plant, length of pod per plant and number of seeds per pod, economic and biological yield and harvest index. The SAS9.2 software was used to analyze the data.

Results and Discussion: The results showed that weed dry weight reduction (79.09% and 78.57%) was greatest in stale seedbed plus EPTC and trifluralin at 30 days after herbicide application (DAHA), respectively. While, the lowest reduction in weed dry weight (28.27% and 35.41%) was observed in stale and false seedbed with linuron application. Weed dry weight reduction at 60 DAHA in false seedbed (76.58%) was lesser than stale seedbed (84.34%). The highest and lowest weed density and dry weight reduction percentages (90.38% and 89.69%) and (64.48% and 64.48%) were obtained trifluralin and linuron, respectively. The highest percentage of increase in number of pods per plant belonged to weed free (52.01%), followed by linuron (42.5%), EPTC (40.43%) and trifluralin (34.34%). The highest percentage of increase in the number of seeds per pod belonged to weed free (36.14%) and then EPTC (29.54%), linuron (28.06%), and trifluralin (28.06%). Regarding grain yield, the highest percentages were weed free (52.92%), EPTC (44.11%), linuron (31.13%) and trifluralin (30.30%), respectively. The highest percentage of biological yield increase belonged to weed free (32.46%), linuron (25.5%), EPTC (20.81%), and trifluralin (17.83%), respectively. The highest percentage of harvest index belonged to weed free (34.33%), followed by linuron (21.37%), EPTC (19.55%), and Trifluralin (18.23%).

Conclusion: The result of present study showed that trifluralin could control weed more than EPTC and linuron. The weed dry weight reduction percentage in the stale seedbed was also higher than that of the false seedbed. In all treatment, the percentage of yield increase of weed free was higher than the other treatments. Except for grain yield, which showed a significant difference in herbicide treatments, other treatments did not differ significantly. Totally, the false seedbed technique has several limitations. First it can only be effective if the soil is warm and moist enough to allow germination of weed seeds. A second limitation is that the soil is kept bare and loose for a more period, and this may lead to more erosion. A third limitation is that yield may be lost if planting is delayed by the pre-plant cultivation. A fourth problem is that although cultivation prior to planting may greatly reduce one set of species, if planting is delayed, a new set of species may become physiologically

1, 2 and 3- Former M.Sc. Student in Weed Science and Assistant Professors of Plant Production and Genetics Department, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Bavi, Mollasani, Iran, respectively.

(* - Corresponding Author Email: e.elahifard@asnrukh.ac.ir)

ready to germinate.

Keywords: Seed yield, Stale and false seedbeds, Weed density and dry weight



مقاله علمی-پژوهشی

اثر برخی علف‌کش‌ها و کولتیواسیون بر کنترل علف‌های هرز و عملکرد کلزا (*Brassica napus* L.) در استان کرمانشاه

کیانوش مرادی^۱ - المیرا محمدوند^{۲*} - جعفر اصغری^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۶

چکیده

این تحقیق در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۲۰ تیمار و سه تکرار در منطقه ماهیدشت کرمانشاه به اجرا در آمد. تیمارها عبارت بود از کاربرد تری‌فلورالین + هالوکسی‌فوپ‌آرمتیل‌استر (تیمار ۱) یا ستوکسیدیم (تیمار ۲)، کاربرد پیش‌رویشی پندی‌متالین + هالوکسی‌فوپ‌آرمتیل‌استر (تیمار ۳) یا ستوکسیدیم (تیمار ۴)، کاربرد کلویپیرالید + هالوکسی‌فوپ‌آرمتیل‌استر (تیمار ۵) یا ستوکسیدیم (تیمار ۶) یا سیکلوکسیدیم (تیمار ۷) یا کلتودیم (تیمار ۸) یا کوپیزالوفوپ-اتیل (تیمار ۹) یا فلوازیفوپ-پی-بوتیل (تیمار ۱۰)، کاربرد هالوکسی‌فوپ‌آرمتیل‌استر (تیمار ۱۱) یا ستوکسیدیم (تیمار ۱۲) یا سیکلوکسیدیم (تیمار ۱۳) یا کلتودیم (تیمار ۱۴) یا کوپیزالوفوپ-اتیل (تیمار ۱۵) یا فلوازیفوپ-پی-بوتیل (تیمار ۱۶)، یک‌بار (تیمار ۱۷) و دوبار کولتیواسیون (تیمار ۱۸) و شرایط آلوده به (تیمار ۱۹) و عاری از علف‌هرز (وجین دستی) (تیمار ۲۰). هیچ یک از تیمارها قادر به کاهش تراکم و وزن خشک کل گیاهان هرز (شامل گندم خودرو) تا حد شرایط عاری از علف‌هرز نشد؛ اما کاربرد توام کلویپیرالید با باریک‌برگ‌کش‌ها سبب کاهش تراکم کل علف‌های هرز (کل گیاهان هرز بجز گندم) تا حد شرایط عاری از علف‌هرز شد. در بررسی صفات کلزا، میزان کاهش ارتفاع بوته، عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه، شاخص برداشت، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در خورجین، وزن هزار دانه و درصد روغن دانه کلزا در نتیجه آلودگی به علف‌های هرز به ترتیب ۲۶، ۴۸، ۸۱، ۶۳، ۵۹، ۵۱۶ و ۵ درصد بود. حداکثر مقدار کاهش صفات در کاربرد کلویپیرالید با هالوکسی‌فوپ هفت، با کوپیزالوفوپ ۱۱، با فلوازیفوپ ۱۶، با کلتودیم ۱۷ و با سایر باریک‌برگ‌کش‌ها ۲۰ درصد بود. لذا می‌توان از کاربرد توام کلویپیرالید و هالوکسی‌فوپ در مزارع کلزا به‌ویژه در شرایطی که کشت قبلی گندم بوده و احتمال حضور این گیاه در کلزا وجود دارد، بهره برد.

واژه‌های کلیدی: پندی‌متالین، تری‌فلورالین، علف‌کش باریک‌برگ‌کش، کلویپیرالید، مدیریت شیمیایی علف‌های هرز

مقدمه

به‌شمار می‌روند (۱۱ و ۲۳). به‌علت رشد بطئی کلزا در اوایل دوره رویش، این گیاه زراعی در معرض رقابت جدی علف‌های هرز قرار دارد (۲۳). کاهش عملکرد کلزا به واسطه رقابت در کشت پاییزه عمدتاً در هنگام طویل‌شدن ساقه و در کشت بهاره اغلب در مراحل اولیه رشد صورت می‌گیرد (۲). افزایش طول دوره تداخل علف‌های هرز سبب کاهش طول دوره گلدهی و کوتاه‌شدن بازه زمانی تولید گل‌های بارور و خورجین می‌شود (۱۸). آلودگی به خردل وحشی (*Sinapis arvensis*)، چاودار وحشی (*Secale montanum*)، جو وحشی (*Hordeum spp.*) و سیاه‌تخمه (*Agrostemma githago*) تا مرحله رزت کلزا، کاهش قابل توجهی را در عملکرد دانه ایجاد نکرد؛ اما رقابت تمام‌فصل علف‌های هرز، سبب ۲۸، ۵۰، ۵۷، ۴۰، ۵۵، ۵ و ۵۵ درصد کاهش به ترتیب در ارتفاع، تعداد شاخه جانبی در بوته، تعداد خورجین در بوته، زیست‌توده، عملکرد دانه، شاخص برداشت و عملکرد روغن دانه کلزا نسبت به شاهد شد (۱۸). رقابت تاج‌خروس

کلزا (*Brassica napus* L.) به عنوان یکی از مهمترین گیاهان دانه روغنی در سطح جهان مطرح می‌باشد. در ایران نیز کشت کلزا به عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی رو به افزایش است (۲۴). در استان کرمانشاه سطح زیر کشت کلزا ۳۷۵۰ هکتار به صورت کشت آبی است که از آن ۸۹۸۳ تن محصول کلزا برداشت می‌شود و متوسط عملکرد ۲۳۹۶ کیلوگرم در هکتار است (۱). کشت ارقام پاییزه کلزا جهت استفاده بهتر از بارش‌ها، آبیاری کمتر و تولید عملکرد بیشتر مورد استقبال کشاورزان است (۱۴).

علف‌های هرز یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده کشت کلزا

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته، استادیار و استاد علوم علف‌های هرز گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان
(*) نویسنده مسئول: Email: mohammadvand@guilan.ac.ir

ممکن است یک یا چند جمعیت بخصوص را تحت فشار کمتر یا بیشتر قرار دهند و سبب تغییر در پویایی جوامع علف‌های هرز شوند. لذا این تحقیق با هدف ارزیابی اثر برخی علف‌کش‌های ثبت‌شده در کنترل علف‌های هرز مزارع کلزا در شرایط اقلیمی-خاکی ماهیدشت کرمانشاه به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مزرعه‌ای واقع در منطقه ماهیدشت کرمانشاه با طول و عرض جغرافیایی به ترتیب $38^{\circ}46'$ شرقی و $33^{\circ}34'$ شمالی و ارتفاع ۱۴۰۰ متر بالاتر از سطح دریاهای آزاد که سال قبل زیر کشت گندم آبی بود، طی سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ انجام شد. آنالیز بافت خاک با تهیه نمونه مرکبی از سطح تا عمق ۱۰، ۲۰ و ۳۰ سانتی‌متری نقاط مختلف خاک مزرعه و انتقال آن به آزمایشگاه خاک‌شناسی انجام شده و برای توصیه کودی مورد استفاده قرار گرفت. خاک منطقه با ۴۶٪ رس، ۳۶٪ سیلت و ۱۸٪ شن دارای بافت رسی و pH ۷/۱ بود. برای آماده‌سازی زمین زراعی، ابتدا شخم عمیق به وسیله گاوآهن برگردان دار انجام شده و سپس کلوخه‌ها به وسیله دیسک خرد شدند و کودهای پایه به صورت یکنواخت در سطح زمین پخش و با اعمال دیسک عمود بر جهت دیسک قبلی با خاک مخلوط گردید. کاربرد نیتروژن (اوره، ۴۶ درصد نیتروژن) به میزان ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار طی سه مرحله (یک سوم مرحله کاشت، یک سوم مرحله ریزش و یک سوم مرحله قبل از تشکیل غلاف) و کاربرد فسفر به صورت (سوپر فسفات تریپل، ۴۶ درصد اکسید فسفر) به میزان ۲۲۰ کیلوگرم در هکتار در زمان کاشت صورت گرفت. کود پتاسیم به علت توصیه نشدن در آزمون خاک استفاده نگردید. محلول‌پاشی با کودهای میکرو در زمان ریزش و ساقه‌رفتن انجام شد.

کرت‌های آزمایشی به طول ۳ متر و عرض ۲/۵ متر (۷/۵ مترمربع) شامل ۱۰ ردیف کاشت هریک به طول ۳ متر و به فاصله ۲۵ سانتی‌متر بود. برای تمایز بلوک‌ها از یکدیگر یک متر فاصله و برای تمایز کرت‌ها از یکدیگر، دو ردیف نکاشت معادل نیم متر فاصله بین آنها در نظر گرفته شد. کاشت پاییزه کلزا رقم اولیس بر روی ردیف در عمق ۲ تا ۳ سانتی‌متر به صورت دستی در تاریخ ۲۸ شهریور صورت گرفت. پس از سبز شدن بوته‌ها، عمل تنک جهت ایجاد تراکم مطلوب ۸۰ بوته در مترمربع (فاصله تقریبی ۵ سانتی‌متر بین بوته‌ها) انجام شد.

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۸ تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارها عبارت بودند از: ۱) کاربرد پیش‌از کاشت تری‌فلورالین + کاربرد پس‌رویشی هالوکسی‌فوپ‌اتوکسی‌اتیل، ۲) کاربرد پیش‌از کاشت تری‌فلورالین + کاربرد پس‌رویشی ستوکسیدیم، ۳) کاربرد پیش‌رویشی پندی‌تالین + کاربرد پس‌رویشی

(*Amaranthus retroflexus*) و سلمه‌تره (*Chenopodium album*) ارتفاع، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در خورجین، عملکرد دانه و عملکرد روغن دانه کلزا را نسبت به شاهد به ترتیب ۵۷، ۵۴، ۱۰ و ۵۵ درصد کاهش داد (۹).

رقابت علف‌های هرز نه تنها عملکرد کلزا را کاهش می‌دهد، بلکه کیفیت و ارزش اقتصادی آن را نیز کاهش می‌دهد (۲۳). علف‌های علاوه بر رقابت با گیاه زراعی و اثر بر کیفیت و کمیت محصول، می‌توانند سبب اختلال در برداشت محصول نیز شده و منجر به توسعه آفات و بیماری‌ها گردند (۲۶).

با توجه به اینکه عملکرد کلزا می‌تواند بواسطه رقابت علف‌های هرز کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان دهد (۱۰، ۳۰)، بسیاری آزمایشات حذف نسبتاً زود هنگام علف‌های هرز را توصیه کرده‌اند (۷، ۱۶). در نتیجه کاربرد علف‌کش‌های پیش‌رویشی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. مزیت این فرمولاسیون‌ها اثر طولانی‌مدت آنها و کنترل موثر علف‌های هرز قوی در رقابت از ابتدای دوره رشد است (۲۳). شیمی و همکاران (۲۸) اظهار داشتند که کاربرد پیش‌رویشی ۲۲۰ گرم کوپین‌مراک + ۸۳۲/۵ گرم متازاکلر (بیوتیزان استار) ۸/۸٪ + متازاکلر در هکتار همراه با کاربرد ۸۱ گرم هالوکسی‌فوپ آر متیل استر (گالانت سوپر) عملکرد کلزا را نسبت به شاهد آلوده به علف هرز ۱۸ درصد در استان فارس و ۳۰۹ درصد در استان خوزستان افزایش داد. در این آزمایش کنترل تمام فصل علف‌های هرز توانست عملکرد کلزا را نسبت به شاهد آلوده به علف هرز ۶۰ درصد در استان فارس و ۳۴۲ درصد در استان خوزستان افزایش داد. راوسیک و ادامزسکی (۱۵) گزارش کردند که این علف‌کش علف‌های هرزی نظیر شیربنیر (*Galium aparine*)، سبزاب (*Veronica persica*)، و گندمک (*Stellaria media*) را به خوبی کنترل می‌کند. باقرانی و شیمی (۳) نشان دادند که کاربرد علف‌کش‌های تری‌فلورالین، اتال‌فلورالین و پروپیزامید جمعیت خردل وحشی و یولاف وحشی را نسبت به شرایط آلوده به علف‌هرز کاهش داد و موجب افزایش معنی‌دار عملکرد کلزا شد.

کلزا گیاهی است که تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای در بنیه آن مشاهده می‌شود؛ این پدیده بستگی به عوامل متعددی مانند نوع و کیفیت خاک‌ورزی، تاریخ کاشت و شرایط خاک در هنگام کاشت گیاه زراعی، شرایط اقلیمی و زمان جوانه‌زنی علف‌های هرز و در نتیجه زمان کاربرد علف‌کش‌ها دارد (۲۳). بنابراین انتظار می‌رود که این عوامل بر قابلیت رقابت کلزا با علف‌های هرز نیز اثر بگذارند. از آنجا که زمان و نحوه کاربرد علف‌کش‌ها بسته به نوع آنها متفاوت خواهد بود، لذا انتظار می‌رود که با کاربرد انواع مختلف علف‌کش‌ها رقابت کلزا با علف‌های هرز نیز بسته به شرایط اکرواکولوژیکی منطقه و جمعیت علف‌های هرز موجود نتایج متفاوتی به همراه داشته باشد. همچنین انواع علف‌کش اثرات متفاوتی بر جوامع علف‌هرز دارند و

(مرحله ریزش) و با استفاده از سمپاش پستی مجهز به نازل بادبزی تخت با فشار ۲ بار که برای سمپاشی ۳۰۰ لیتر در هکتار محلول سم کالیبره شد، صورت گرفت. مقادیر کاربرد (دز توصیه‌شده) و خصوصیات علف‌کش‌های مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است. کولتیواسیون اول در مرحله شش برگگی کلزا در اواسط آبان و کولتیواسیون دوم ۱۵ روز بعد با استفاده از کولتیواتور بیلچه‌ای و بین ردیف‌های کاشت انجام شد. در تیمارهای دارای وجین، وجین دستی طی سه مرحله (اوایل سبز شدن، ریزش و ساقه‌رفتن) انجام شد. آبیاری به صورت بارانی انجام شد. اولین آبیاری بلافاصله بعد از کاشت و آبیاری دوم چهار روز پس از آن بود. سایر مراحل آبیاری به فواصل هفت روز یکبار با توجه به شرایط محیطی و بارندگی طی فصل رشد صورت گرفت. عمده ترین آفات موجود موش مغان (*Brevicoryne brassicae*) بود. جهت مبارزه و جلوگیری از پیشروی موش مغان به داخل محل انجام آزمایش، از فسفو دوزنگ به صورت طعمه مسموم در اوایل آذر استفاده شد. جهت مبارزه با شته مومی از شته‌کش پرمیکارب (پرمور، WP 50%) به میزان یک کیلوگرم در هکتار استفاده شد.

هالوکسی فوپ اتوکسی اتیل، ۴) کاربرد پیش‌رویشی پندی متالین + کاربرد پس‌رویشی ستوکسیدیم، ۵) کاربرد پس‌رویشی کلوپیرالید + کاربرد پس‌رویشی هالوکسی فوپ اتوکسی اتیل، ۶) کاربرد پس‌رویشی کلوپیرالید + کاربرد پس‌رویشی ستوکسیدیم، ۷) کاربرد پس‌رویشی کلوپیرالید + کاربرد پس‌رویشی سیکلوکسیدیم، ۸) کاربرد پس‌رویشی کلوپیرالید + کاربرد پس‌رویشی کلتودیم، ۹) کاربرد پس‌رویشی کلوپیرالید + کاربرد پس‌رویشی کوئیزالوفوپ-اتیل، ۱۰) کاربرد پس‌رویشی کلوپیرالید + کاربرد پس‌رویشی فلوآزیفوپ-پی-بوتیل، ۱۱) کاربرد پس‌رویشی هالوکسی فوپ اتوکسی اتیل، ۱۲) کاربرد پس‌رویشی ستوکسیدیم، ۱۳) کاربرد پس‌رویشی سیکلوکسیدیم، ۱۴) کاربرد پس‌رویشی کلتودیم، ۱۵) کاربرد پس‌رویشی کوئیزالوفوپ-اتیل، ۱۶) کاربرد پس‌رویشی فلوآزیفوپ-پی-بوتیل، ۱۷) یکبار کولتیواتور، ۱۸) دوبار کولتیواتور، ۱۹) شرایط آلوده به علف‌های هرز و ۲۰) شرایط عاری از علف‌های هرز (وجین دستی).

در کاربرد پیش از کاشت علف‌کش، اختلاط مکانیکی علف‌کش با خاک دو روز قبل از کاشت و به صورت دستی با استفاده از دندان صورت گرفت. در کاربرد پیش‌رویشی، پاشش علف‌کش پس از کاشت بر روی سطح خاک بود. در تیمارهای پس‌رویشی، پاشش سم در اوایل فروردین بر روی برگ‌های گیاه در مرحله حدود ۷-۸ برگگی کلزا

جدول ۱- خصوصیات و روش کاربرد علف‌کش‌ها در آزمایش

Table 1- Herbicide characteristics and application method in the experiment

نام عمومی Common name	نام تجاری Trade name	فرمولاسیون Formulation	خانواده شیمیایی Chemical family	دز توصیه‌شده (گرم ماده موثره در هکتار) Recommended rate (g ai.ha ⁻¹)	
				روش کاربرد Application method	
تری‌فلورالین trifluralin	ترفلان Treflan	امولسیون، ۴۸٪ EC, 48%	دی‌نیتروآنیلین Dinitroaniline	۱۴۴۰	پیش کاشت آمیخته با خاک Pre-plant incorporated
پندی متالین pendimethalin	استامپ Stomp	امولسیون، ۳۳٪ EC, 33%	دی‌نیتروآنیلین Dinitroaniline	۹۹۰	پیش‌رویشی Pre-emergence
هالوکسی فوپ متیل haloxyfop methyl	سوپر گالانت Super gallant	امولسیون، ۱۰/۸٪ EC, 10.8%	آریلوکسی فنوکسی پروپیونات Aryloxyphenoxy propionate	۱۰۸	پس‌رویشی Post-emergence
کلوپیرالید clopyralid	لونتزل Lontrel	امولسیون، ۳۰٪ SL, 30%	پیریدین کربوکسیلیک اسید pyridine carboxylic acid	۱۰۸	پس‌رویشی Post-emergence
ستوکسیدیم sethoxydim	نابواس Nabo-S	امولسیون، ۱۲/۵٪ EC, 12.5%	سیکلو هگز اندیون Cyclohexanedione	۱۲۵	پس‌رویشی Post-emergence
سیکلوکسیدیم cycloxydim	فوکوس Focus	امولسیون، ۱۰٪ EC, 10%	سیکلو هگز اندیون Cyclohexanedione	۱۰۰	پس‌رویشی Post-emergence
کلتودیم clethodim	سلکت سوپر Select	امولسیون، ۱۰٪ EC, 10%	سیکلو هگز اندیون Cyclohexanedione	۱۰۰	پس‌رویشی Post-emergence
کوئیزالوفوپ quizalofop	تارگا Targa	امولسیون، ۵٪ EC, 5%	آریلوکسی فنوکسی پروپیونات Aryloxyphenoxy propionate	۵۰	پس‌رویشی Post-emergence
فلوآزیفوپ fluzifop	فوزیلید Fusilade	امولسیون، ۱۵٪ EC, 15%	آریلوکسی فنوکسی پروپیونات Aryloxyphenoxy propionate	۱۵۰	پس‌رویشی Post-emergence

مترمربع (کوادرات به ابعاد ۱۰۰×۱۰۰ سانتی‌متر) یک روز قبل از سمپاشی (تراکم) و چهار هفته پس از سمپاشی (تراکم و وزن خشک)

نمونه‌برداری از جامعه علف‌های هرز، جهت تعیین تراکم و وزن خشک گونه‌های علف‌هرز، به صورت تخریبی از مساحت یک

انجام شد. علف‌های هرز به تفکیک گونه شناسایی، شمارش و سپس کف‌بر شده و در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک و سپس توزین شد. در هر کرت، ۲ ردیف کناری و نیز نیم‌متر ابتدا و انتهای هر ردیف به عنوان حاشیه در نظر گرفته شده و نمونه‌برداری علف‌های هرز از این نواحی صورت نگرفت.

محاسبه کارایی کنترل علف‌های هرز توسط علف‌کش‌ها هم از طریق شمارش گیاهان هرز و هم با توزین زیست‌توده علف‌های هرز (درصد کاهش تعداد یا زیست‌توده علف‌هرز نسبت به شاهد آلوده به علف‌هرز) و استفاده از معادله (۱) صورت گرفت:

$$WCE = \frac{A-B}{A} \times 100$$

معادله (۱)

که در آن، WCE (Weed Control Efficacy) کارایی کنترل علف‌هرز به وسیله علف‌کش؛ A تراکم یا زیست‌توده علف‌هرز در کرت آلوده به علف‌هرز؛ B تراکم یا زیست‌توده علف‌هرز در کرت سمپاشی شده می‌باشد (۲۹).

برداشت در هنگام رسیدگی گیاه زراعی (اول تیرماه؛ ۲۵۶ روز پس از کاشت) صورت گرفت. جهت تعیین عملکرد بیولوژیک (وزن گیاه بر اساس رطوبت صفر)، و عملکرد دانه (با رطوبت ۱۴ درصد) بوته‌های مساحت ۳ متر مربع از هر کرت پس از حذف اثرات حاشیه‌ای (ردیف کناری هر کرت و ۵۰ سانتی‌متر ابتدا و انتهای هر ردیف) برداشت شدند. شاخص برداشت از تقسیم عملکرد دانه بر وزن خشک کل اندام‌های هوایی به صورت درصد محاسبه شد (عملکرد دانه ÷ وزن خشک کل اندام‌های هوایی). جهت تعیین ارتفاع بوته و تعداد خورجین در بوته، ده بوته از سطح نمونه‌برداری به‌طور تصادفی انتخاب شد و تعداد دانه در خورجین در ده خورجین با انتخاب تصادفی شمارش شد. وزن هزار دانه بعد از برداشت محصول به وسیله دستگاه بذرشمار به‌دست آمد. برای تعیین درصد روغن دانه مقدار سه گرم بذر آسیاب و مقدار روغن با استفاده از دستگاه سوکسله تعیین شد. عملکرد روغن در هکتار از حاصلضرب عملکرد دانه و درصد روغن محاسبه شد.

پس از مرتب‌سازی داده‌ها در نرم‌افزار Excel، آزمون نرمالیتیه انجام و داده‌ها در موارد مورد نیاز نرمال شدند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SAS, ver. 9.2 صورت گرفته و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون L.S.D محافظت‌شده در سطح احتمال پنج‌درصد انجام شد. تراکم و وزن خشک گونه‌های غالب و کل علف‌های هرز چهار هفته پس از سمپاشی و نیز صفات کلزا بجز وزن هزار دانه به طور معنی‌داری تحت تأثیر نحوه مدیریت شیمیایی و یا مکانیکی (اعمال کولتیواتور) علف‌های هرز قرار گرفت.

نتایج و بحث

ویژگی‌های جامعه علف‌های هرز

گونه‌های غالب علف‌هرز

از مجموع پنج گونه غالب مشاهده شده، سه گونه متعلق به تیره مینا و دو گونه دیگر متعلق به تیره پیچک و گندمیان بودند. سه گونه یک‌ساله و دو گونه چندساله بودند. چهار گونه پهن‌برگ بودند و تنها گونه باریک‌برگ، گیاه زراعی گندم بود که مربوط به بذره‌های رویش نیافته کشت قبلی بود. گونه‌های علف‌هرز غالب مشاهده شده شامل کاسنی‌تلخ (*Cichorium intybus*)، گلرنگ‌وحشی (*Carthamus tinctorius*)، پیچک‌صحرائی (*Convolvulus arvensis*)، گندم (*Triticum aestivum*)، و کاهوی‌وحشی (*Lactuca serriola*) بودند (جدول ۲).

سلیمی و همکاران (۲۵) اظهار داشتند که ۷۰ درصد علف‌های هرز مزارع کلزای ایران را علف‌های هرز پهن‌برگ و ۳۰ درصد آنها را باریک‌برگان تشکیل می‌دهند. همچنین از مجموع ۲۶ گونه مهم علف‌هرز گزارش شده برای مزارع کلزا، ۱۷ گونه یک‌ساله پهن‌برگ بوده‌اند (۳۱).

جدول ۲- نام علمی و گروه‌های کارکردی علف‌های هرز غالب مشاهده شده در مزرعه کلزا

Table 2- Scientific name and functional groups of dominant weed species observed in rapeseed field

درجه سماجت	مسیر فتوسنتزی	شکل رویشی	چرخه زندگی	گروه‌های کارکردی		
				نام تیره	نام علمی	نام رایج
Noxious/Non-noxious	Photosynthetic pathway	Vegetative form	Life cycle	Family name	Scientific name	Common name
سمج	سه کرینه	پهن‌برگ	چندساله	مینا (کلپر کداریان)	<i>Cichorium intybus</i>	کاسنی تلخ
Noxious	C3	Broad-leaf	Perennial	Asteraceae		Common chicory
سمج	سه کرینه	پهن‌برگ	یک‌ساله	مینا (کلپر کداریان)	<i>Carthamus tinctorius</i>	گلرنگ وحشی
Noxious	C3	Broad-leaf	Annual	Asteraceae		Safflower
سمج	سه کرینه	پهن‌برگ	چندساله	پیچک	<i>Convolvulus arvensis</i>	پیچک صحرائی
Noxious	C3	Broad-leaf	Perennial	Convolvulaceae		field bindweed
گیاه زراعی	سه کرینه	باریک‌برگ	یک‌ساله	گندمیان	<i>Triticum aestivum</i>	گندم
کشت قبلی	C3	Narrow-leaf	Annual	Poaceae		Wheat

تراکم و وزن خشک علف‌های هرز و کارایی علف‌کش

بررسی جمعیت گونه‌های غالب علف‌هرز و نیز کل علف‌های هرز پیش از سم‌پاشی حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف بود. این نتیجه نشان می‌دهد که تراکم نسبتاً یکنواختی از علف‌های هرز در سطح قطعه آزمایشی وجود داشته است.

کاسنی تلخ: در بین تیمارهای کاربرد کلوپیرالید، بیشترین کارایی کاهش تراکم علف‌هرز کاسنی در تیمارهای مصرف کلوپیرالید با علف‌کش‌های پس‌رویشی (هالوکسی‌فوپ، ستوکسیدیم، سیکلوکسیدیم کلتودیم، کوپیزالوفوپ و فلوآزیفوپ) و نیز کاربرد تری‌فلورالین + هالوکسی‌فوپ، پندی‌متالین + ستوکسیدیم و اعمال دوبار کولتیواسیون مشاهده شد. تیمارهای مذکور تفاوت معنی‌داری با وجین دستی علف‌های هرز نشان ندادند. کاهش وزن خشک کاسنی تلخ، با کاربرد توام کلوپیرالید با علف‌کش‌های پس‌رویشی بجز کلتودیم، در حد تیمار عاری از علف‌هرز بود. کاربرد انفرادی علف‌کش‌های باریک‌برگ‌کش اثر مطلوبی در کنترل کاسنی تلخ نداشت؛ چنانکه بجز فلوآزیفوپ (کارایی ۳۳ درصد)، بقیه تفاوت معنی‌داری از نظر تراکم و وزن خشک با تیمار آلوده به علف‌هرز نشان ندادند.

کاربرد تری‌فلورالین و پندی‌متالین با هریک از علف‌کش‌های هالوکسی‌فوپ و ستوکسیدیم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر از نظر کاهش تراکم و وزن خشک کاسنی تلخ نداشتند؛ اگرچه فقط کاربرد تری‌فلورالین با هالوکسی‌فوپ در کاهش تراکم و پندی‌متالین با ستوکسیدیم در کاهش تراکم و وزن خشک کاسنی تلخ تفاوت معنی‌داری با شاهد عاری از علف‌هرز نشان ندادند.

اعمال دوبار کولتیواسیون از نظر کاهش تراکم مشابه وجین دستی و بهتر از یک‌بار کولتیواسیون عمل کرد؛ ولی از نظر وزن خشک تفاوتی بین یک‌بار و دوبار کولتیواسیون مشاهده نشد و هیچیک نتوانستند وزن خشک علف‌های هرز را بیشتر از ۶۶ درصد کاهش دهند (جدول ۳ و ۴).

گلرنگ وحشی: تراکم و وزن خشک گلرنگ وحشی با کاربرد توام کلوپیرالید با باریک‌برگ‌کش‌ها و نیز کاربرد تری‌فلورالین + هالوکسی‌فوپ تفاوت معنی‌داری با شرایط عاری از علف‌هرز نشان نداد. کاربرد انفرادی علف‌کش‌های باریک‌برگ‌کش اثر مطلوبی در کنترل گلرنگ وحشی نداشت و بجز فلوآزیفوپ (تراکم و وزن خشک) و ستوکسیدیم (وزن خشک)، بقیه تفاوت معنی‌داری با تیمار آلوده به علف‌هرز نشان ندادند.

کاربرد تری‌فلورالین و پندی‌متالین با هریک از علف‌کش‌های هالوکسی‌فوپ و ستوکسیدیم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر از نظر کاهش تراکم و وزن خشک گلرنگ وحشی نداشتند؛ اگرچه فقط

تری‌فلورالین + هالوکسی‌فوپ تفاوت معنی‌داری با شرایط عاری از علف‌هرز نشان نداد.

اثر اعمال دوبار کولتیواتور بر تراکم و وزن خشک گلرنگ تفاوت معنی‌داری با یکبار کولتیواسیون نداشت (کارایی ۴۴ تا ۵۴ درصد) و تراکم و وزن خشک گلرنگ در هر دو تیمار بالاتر از شرایط عاری از علف‌هرز ولی کمتر از شرایط آلوده به علف‌هرز بود (جدول ۳ و ۴).

پیچک صحرایی: بیشترین کارایی کنترل علف‌هرز پیچک صحرایی در تیمار مصرف توام کلوپیرالید با بازدارنده‌های استیل کوآنزیم‌آکربوکسیلاز مشاهده گردید و این تیمارها با تیمارهای مصرف توام تری‌فلورالین و پندی‌متالین با ستوکسیدیم و نیز پندی‌متالین با هالوکسی‌فوپ‌اتوکسی‌اتیل، و شرایط عاری از علف‌های هرز تفاوت معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۳ و ۴). کاربرد انفرادی علف‌کش‌های باریک‌برگ‌کش هالوکسی‌فوپ و کلتودیم (از نظر تراکم و وزن خشک)، و ستوکسیدیم و سیکلوکسیدیم (فقط از نظر تراکم)، تفاوت معنی‌داری با تیمار آلوده به علف‌هرز نداشت.

اثر اعمال دوبار کولتیواتور بر تراکم و وزن خشک پیچک صحرایی تفاوت معنی‌داری با یکبار کولتیواسیون نداشت (کارایی حداکثر ۶۱ درصد) و تراکم و وزن خشک علف‌هرز در هر دو تیمار بالاتر از شرایط عاری از علف‌هرز ولی کمتر از شرایط آلوده به علف‌هرز بود (جدول ۳ و ۴).

گندم: همه تیمارهای علف‌کشی تراکم و وزن خشک گندم را نسبت به عدم کنترل علف‌های هرز کاهش دادند؛ اگرچه بیشترین کاهش در تیمار مصرف انفرادی و توام هالوکسی‌فوپ مشاهده گردید. این تیمارها تفاوت معنی‌داری با شرایط عاری از علف‌هرز نداشتند. اثر یک و دوبار کولتیواتور فاقد تفاوت معنی‌دار با یکدیگر و حداکثر ۶۱ درصد بود (جدول ۳ و ۴).

مجموع علف‌های هرز (همه گیاهان هرز بجز گندم): بررسی اثر علف‌کش‌ها بر علف‌های هرز (کلیه گونه‌ها بجز گندم) حاکی از اثر بهتر تیمارهای کاربرد توام کلوپیرالید با علف‌کش‌های پس‌رویشی بود؛ به‌نحوی که تراکم علف‌های هرز تا حد شرایط عاری از علف‌هرز کاهش یافت؛ اگرچه در هیچ‌یک از آنها کاهش وزن خشک علف‌های هرز تا حد تیمار عاری از علف‌هرز نبود. مصرف انفرادی باریک‌برگ‌کش‌ها کارایی مطلوبی نشان نداد (کارایی ۱۰ تا ۴۰ درصد)، به طوری که تراکم و وزن خشک کل علف‌های هرز با کاربرد سیکلوکسیدیم تفاوتی با شرایط آلوده به علف‌هرز نداشت و در سایر آنها نیز به طور معنی‌داری کمتر از شرایط عاری از علف‌هرز بود.

کارایی کاربرد تری‌فلورالین و پندی‌متالین با هریک از علف‌کش‌های هالوکسی‌فوپ و ستوکسیدیم، تفاوت معنی‌داری با کاربرد توام کلوپیرالید با باریک‌برگ‌ها نداشت؛ اگرچه از نظر تراکم علف‌های هرز کمتر از شرایط عاری از علف‌هرز بود.

اثر یک و دوبار کولتیواتور حداکثر ۵۶ درصد و بیشتر از کاربرد انفرادی باریک‌برگ‌کش‌ها بود (جدول ۳ و ۴).

مجموع گیاهان هرز (همه گیاهان هرز شامل گندم): بررسی اثر علف‌کش‌ها بر کلیه گونه‌های هرز (شامل گندم) نشان داد که هیچ‌یک از آنها قادر به کاهش تراکم و وزن خشک علف‌های هرز تا حد صفر (شرایط عاری از علف‌هرز) نبود. کاربرد توام علف‌کش‌های پیش‌کاشت یا پیش‌رویشی (به‌ویژه کلوپیرالید) با علف‌کش‌های پس‌رویشی بهترین اثر را در کاهش تراکم و وزن خشک علف‌های هرز نشان داد.

کاربرد تری‌فلورالین و پندی‌متالین با هریک از علف‌کش‌های هالوکسی‌فوپ و ستوکسیدیم، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند.

اثر اعمال یک یا دوبار کولتیواسیون تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت و تراکم و وزن خشک علف‌های هرز بالاتر از شرایط عاری از علف‌هرز ولی کمتر از شرایط آلوده به علف‌هرز بود (جدول ۳ و ۴).

بررسی کلی علف‌های هرز: کلیه تیمارهای کاربرد توام کلوپیرالید با باریک‌برگ‌کش‌ها در کاهش تراکم کاسنی‌تلخ، گلرنگ وحشی، پیچک صحرایی و کل علف‌های هرز و همچنین در کاهش وزن خشک کاسنی‌تلخ (بجز کلوپیرالید + کلتودیم)، گلرنگ وحشی و پیچک صحرایی اثری در حد تیمار عاری از علف‌های هرز نداشتند. کاربرد کلوپیرالید با هالوکسی‌فوپ تراکم و وزن خشک گندم را تا حد شرایط عاری از علف هرز کاهش داد؛ اگرچه کاربرد توام کلوپیرالید با سایر باریک‌برگ‌کش‌ها نیز سبب کاهش معنی‌دار نسبت به عدم کنترل علف‌های هرز شد. تیمارهای کاربرد توام کلوپیرالید با علف‌کش‌های پس‌رویشی تراکم علف‌های هرز را تا حد شرایط عاری از علف‌هرز کاهش داد؛ ولی در هیچ‌یک از آنها کاهش وزن خشک علف‌های هرز تا حد تیمار عاری از علف هرز نبود.

کاربرد تری‌فلورالین و پندی‌متالین با هریک از علف‌کش‌های هالوکسی‌فوپ و ستوکسیدیم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر از نظر کاهش تراکم و وزن خشک کاسنی‌تلخ، گلرنگ وحشی، پیچک صحرایی و کل علف‌های هرز و نیز تراکم کل گیاهان نداشتند؛ اگرچه علیرغم کاهش قابل توجه قادر به کاهش تراکم علف‌های هرز و کل گیاهان هرز (شامل گندم) تا حد شرایط عاری از علف‌هرز نشدند. وجود هالوکسی‌فوپ در ترکیب اثر بهتری در کنترل گندم نشان داد؛ چنانکه تراکم و وزن خشک گندم و وزن خشک کل گیاهان هرز در کاربرد تری‌فلورالین با هالوکسی‌فوپ به نحو معنی‌داری بهتر از کاربرد این علف‌کش با ستوکسیدیم بود.

کاربرد تری‌فلورالین با هالوکسی‌فوپ در کاهش تراکم کاسنی تلخ، و تراکم و وزن خشک گلرنگ وحشی و گندم، کاربرد تری‌فلورالین با ستوکسیدیم در کاهش تراکم و وزن خشک پیچک صحرایی، کاربرد پندی‌متالین با هالوکسی‌فوپ در کاهش تراکم و وزن خشک پیچک صحرایی و تراکم گندم و کاربرد پندی‌متالین با ستوکسیدیم در کاهش تراکم و وزن خشک کاسنی‌تلخ و پیچک صحرایی تفاوت معنی‌داری با شاهد عاری از علف‌هرز نشان ندادند.

کاربرد انفرادی علف‌کش‌های باریک‌برگ‌کش در اکثر موارد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. کارایی این علف‌کش‌ها در کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ عمدتاً فاقد تفاوت با شرایط آلوده به علف‌هرز بود؛ اگرچه کاهش تراکم و وزن خشک علف‌هرز پیچک صحرایی در کاربرد انفرادی کوئیزالوفوپ تفاوت معنی‌داری با تیمارهای کاربرد ترکیبی با پهن‌برگ‌کش‌ها نداشت و نیز فلوازیفوپ، در تمام موارد سبب کاهش جزئی در تراکم و وزن خشک پهن‌برگ‌ها (تفاوت معنی‌دار با تیمار آلوده به علف‌هرز ولی عدم تفاوت با سایرین) شد. به نظر می‌رسد در صورت آلودگی شدید به پهن‌برگ‌ها حضور فلوازیفوپ و در صورت آلودگی شدید به پیچک صحرایی بهره‌گیری از کوئیزالوفوپ با پهن‌برگ‌کش‌ها بهتر باشد. بازدارنده‌های استیل کوآنزیم‌آکربوکسیلاز، گندم را به نحو مطلوبی کنترل کردند؛ اگرچه تنها کاربرد انفرادی هالوکسی‌فوپ تراکم و وزن خشک گندم را تا حد صفر کاهش داد.

اعمال یک و دوبار کولتیواسیون تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان نداشت و علیرغم کاهش تراکم و وزن خشک کلیه گونه‌ها و مجموع علف‌ها و گیاهان هرز، در اکثر موارد قادر به کاهش تا حد شرایط عاری از علف‌هرز نبود (جدول ۳ و ۴).

کاربرد آلاکلر، متولاکلر، پندی‌متالین، دیفن‌آمید، و اپتام علف‌های هرز باریک‌برگ و کاربرد دیفن‌آمید و اگزیدازون علف‌های هرز پهن‌برگ را تا زمان برداشت به‌خوبی کنترل کرد (۱۳). در مطالعه‌ای دیگر عملکرد دانه کلزا با کاربرد هالوکسی‌فوپ آر متیل استر + کلوپیرالید، مشابه شرایط عاری از علف‌هرز بود (۱۷). ترکیب تری‌فلورالین + ستوکسیدیم + کلوپیرالید بهترین کنترل علف‌های هرز و ترکیب تری‌فلورالین + هالوکسی‌فوپ آر متیل استر + کلوپیرالید بیشترین عملکرد دانه کلزا را به همراه داشت (۳۲). بررسی امکان کنترل شیمیایی علف‌های هرز کلزای بهاره توسط تری‌فلورالین، کلومازون، کوئیزالوفوپ و کلوپیرالید حاکی از تاثیر بهتر این علف‌کش‌ها بر روی علف‌های هرز پهن‌برگ بود؛ همچنین علف‌کش‌ها تاثیر معنی‌داری بر پارامترهای کمی و کیفی کلزای بهاره گذاشتند (۱۹).

جدول ۳- اثر برنامه مدیریت علف‌های هرز بر تراکم علف‌های هرز (بوت‌در متر مربع) در مزرعه کلزا Table 3- Effect of weed management program on weed density (plant.m⁻²) at rapeseed field

برنامه مدیریت Program	علف‌های هرز Weed management	کاسنی تلخ <i>Cichorium intybus</i>	گلرنگ وحشی <i>Carthamus tinctorius</i>	پیچک صحرایی <i>Convolvulus arvensis</i>	گندم <i>Triticum aestivum</i>	کل علف‌های هرز Total weeds	کل گیاهان هرز Total Weed-plants
کاربرد علف‌کش پیش کاشت/پیش‌رویش Pre-plant/emergence تری‌فلورالین trifluralin تری‌فلورالین trifluralin پندی‌متالین pendimethalin پندی‌متالین pendimethalin	Herbicide application						
	پس‌رویش Post-emergence						
	+haloxyfop فوپ		1.67 (64) de	2.00 (42) abcd	0.67 (91) d	5.33 (63) def	6.00 (74) fg
	+sethoxydim		2.00 (57) cd	0.67 (81) def	2.67 (65) bc	5.33 (63) def	8.00 (64) def
	+haloxyfop فوپ		2.00 (58) cd	1.00 (72) def	1.33 (83) cd	6.67 (56) de	8.00 (66) def
	+sethoxydim		1.00 (82) de	1.00 (67) def	3.33 (56) b	4.67 (68) ef	8.00 (65) def
	clopyralid+haloxyfop		1.33 (71) de	0.33 (89) ef	1.33 (82) cd	2.33 (84) fg	3.67 (84) g
	clopyralid+sethoxydim		1.33 (73) de	0.33 (92) f	3.00 (61) b	2.67 (82) fg	5.67 (75) fg
	clopyralid+cycloxydim		0.33 (94) de	0.67 (83) ef	3.67 (54) b	2.67 (82) fg	6.33 (72) efg
	clopyralid+clethodim		1.00 (82) de	0.33 (92) f	2.67 (65) bc	2.00 (88) fg	4.67 (79) fg
	clopyralid+quizalofop		0.67 (86) de	1.00 (75) edf	2.67 (66) bc	3.00 (80) fg	5.67 (75) fg
	clopyralid+fluazifop		0.33 (94) de	1.33 (64) cdef	2.67 (64) bc	2.67 (82) fg	5.33 (76) fg
	haloxyfop فوپ		3.67 (25) ab	3.00 (14) ab	1.33 (83) cd	11.33 (21) bc	12.67 (13) bc
	sethoxydim		3.67 (26) ab	2.67 (28) abc	2.67 (65) bc	11.00 (24) bc	13.67 (39) b
کنترل شاهد آلوده به علف‌هرز عاری از علف‌هرز	سیکلوکسی‌دیم		5.00 (0) a	2.00 (36) abcd	2.33 (68) bc	12.67 (10) ab	15.00 (33) b
	clethodim		4.00 (19) ab	2.33 (33) abcd	2.33 (70) bc	11.33 (21) bc	13.67 (38) b
	quizalofop		4.00 (15) ab	3.00 (14) a	2.67 (65) bc	10.33 (26) bc	13.00 (41) bc
	fluazifop		3.33 (33) bc	2.00 (44) bcde	3.00 (59) b	8.67 (40) cd	11.67 (48) bc
	One-time cultivation		2.00 (62) cd	1.33 (61) cde	3.00 (61) b	6.67 (54) de	9.67 (57) cd
	Two-times cultivation		1.67 (66) de	1.67 (50) bcde	3.33 (57) b	6.67 (53) de	10.00 (55) cd
	weed infested		5.00 (0) a	3.33 (0) a	8.00 (0) a	14.67 (0) a	22.67 (0) a
	weed free		0 (100) e	0 (100) f	0 (100) d	0 (100) g	0 (100) h

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با یکدیگر ندارند. اعداد داخل پرانتز کارآیی علف‌کش (درصد کاهش نسبت به شاهد آلوده به علف‌هرز) هستند.
Means within a column followed by the same letter are not different according to Fisher's protected LSD at P=0.05. Values in parentheses represent herbicide efficacy (percentages of reduction comparing to weed infested control).

جدول ۵- اثر برنامه مدیریت علف‌های هرز بر صفات کلزا در زمان برداشت

برنامه مدیریت Program	علف‌های هرز Weed management	ارتفاع بوته Plant height (cm)	عملکرد بیولوژیک Biological Yield (kg.ha ⁻¹)	عملکرد دانه Grain Yield (kg.ha ⁻¹)	شاخص Harvest index	تعداد خورجین Silique no. per plant	تعداد دانه Grain no. per Silique	وزن 1000-grain weight	روغن دانه (درصد) Grain oil (%)
کاربرد علف کش									
Herbicide application									
پیش‌رویش									
Post-emergence									
Pre-plant/emergence	+haloxyfop (ha)	131.5 (86) e	13800.15 (77) f	3864.15 (52) fg	28.00 (67) ki	67.27 (67) hi	17.10 (79) def	4.20 (98)	45.73 (97) bcdef
trifluralin	+sethoxydim (se)	130.2 (85) ef	13298.06 (74) fg	3810.06 (51) fgh	28.66 (68) j	69.60 (69) fg	16.43 (76) efgh	4.17 (98)	45.20 (96) defg
trifluralin	+haloxyfop (ha)	130.3 (85) ef	13059.34 (73) gh	3934.01 (53) f	30.12 (72) i	73.20 (73) e	16.27 (75) fgh	4.13 (97)	46.00 (98) bcd
pendimethalin	+sethoxydim (se)	130.2 (85) ef	12908.85 (72) ghi	3564.85 (48) hi	27.62 (66) k	68.67 (68) gh	15.83 (73) h	4.10 (96)	45.93 (97) bcde
pendimethalin	clopyralid(cl) +ha	145.8 (95) b	17031.45 (95) b	6932.78 (93) b	40.71 (97) b	99.37 (98) ab	20.93 (96) b	4.17 (98)	46.70 (99) ab
کلورپراید+هالوکسی فوب									
cl+se									
کلورپراید+ستوکسی‌دیم									
cl+cy									
کلورپراید+سیکلوکسی‌دیم									
cl+ct									
کلورپراید+کتودیم									
cl+qu									
کلورپراید+کوئیزالوفوب									
cl+fl									
کلورپراید+فلوآزینفوب									
ha									
هالوکسی فوب									
ha									
ستوکسی‌دیم									
se									
سیکلوکسی‌دیم									
cycloxydim (cy)									
کتودیم									
clethodim (ct)									
کوئیزالوفوب									
quizalofop (qu)									
فلوآزینفوب									
fluzifop (fl)									
کولتیوایسون									
Cultivation									
یکبار کولتیوایسون									
One-time cultivation									
دوبار کولتیوایسون									
Two-times cultivation									
شاهد									
Control									
آلوده به علف‌هرز									
weed infested									
عاری از علف‌هرز									
weed free									

Means within a column followed by the same letter are not different according to Fisher's protected LSD at P=0.05. Values in parentheses represent herbicide efficacy (percentages of reduction comparing to weed infested control).

Table 4- Effect of weed management program on weed dry weight (gr.m⁻²) at rapeseed field

برنامه مدیریت Program	علف‌های هرز Weed management	کاسنی ناخ <i>Cichorium intybus</i>	گلرنگ وحشی <i>Carthamus tinctorius</i>	پیچک صحرایی <i>Convolvulus arvensis</i>	گندم <i>Triticum aestivum</i>	کل علف‌های هرز Total weeds	کل گیاهان هرز Total Weed-plants
جدول ۴- اثر برنامه مدیریت علف‌های هرز بر وزن خشک علف‌های هرز (گرم در مترمربع) در مزرعه کلزا							
کاربرد علف‌کش							
Herbicide application							
پس‌روشی							
Post-emergence							
پیش کاشت/پیش‌روشی Pre-plant/emergence	+haloxyfop	0.42 (66) d	0.41 (71) def	0.43 (42) bcd	0.40 (88) ef	1.36 (69) e	1.76 (78) h
تری‌فلورالین trifluralin	+haloxyfop	0.50 (60) cd	0.66 (52) bcde	0.16 (78) cde	1.38 (57) bc	1.57 (65) de	2.95 (63) defg
تری‌فلورالین trifluralin	+sethoxydim	0.53 (58) cd	0.84 (39) bcde	0.20 (74) cde	0.67 (80) cde	1.87 (58) de	2.54 (68) fgh
پندیمتالین pendimethalin	+haloxyfop	0.26 (82) de	0.64 (55) bcde	0.23 (68) cde	1.04 (65) bcde	1.34 (71) e	2.38 (70) gh
پندیمتالین pendimethalin	+sethoxydim	0.33 (74) de	0.35 (75) ef	0.23 (69) cde	0.52 (83) def	1.33 (70) e	1.85 (76) gh
	clopyralid+haloxyfop	0.33 (74) de	0.45 (68) cdef	0.15 (79) de	1.45 (56) b	1.25 (71) e	2.70 (66) efigh
	clopyralid+sethoxydim	0.25 (81) de	0.32 (77) ef	0.25 (67) cde	0.98 (68) bcde	1.14 (74) e	2.12 (73) gh
	clopyralid+cycloxydim	0.43 (67) d	0.44 (69) cdef	0.15 (80) de	0.90 (70) bcde	1.14 (75) e	2.04 (74) gh
	clopyralid+quizalofop	0.26 (80) de	0.51 (64) cdef	0.22 (70) cde	1.11 (68) bcde	1.19 (74) e	2.30 (71) gh
	clopyralid+fluzafop	0.24 (81) de	0.41 (71) def	0.21 (71) cde	1.14 (64) bcd	1.20 (74) e	2.33 (70) gh
کولتیواسیون							
Cultivation							
	haloxyfop	0.94 (29) ab	0.98 (31) abc	0.61 (17) ab	0.50 (85) def	3.19 (28) bc	3.69 (53) cde
	sethoxydim	0.99 (24) ab	0.82 (42) bcde	0.44 (40) bcd	1.32 (59) bc	3.18 (29) bc	4.50 (43) bc
	cycloxydim	1.25 (2) a	1.16 (17) ab	0.46 (37) bc	1.09 (65) bcde	3.73 (15) ab	4.82 (39) b
	clethodim	1.04 (22) ab	0.94 (34) abcd	0.67 (9) ab	0.99 (70) bcde	3.33 (25) bc	4.31 (45) bc
	quizalofop	1.02 (19) ab	0.99 (31) abc	0.30 (60) cd	1.07 (67) bcde	2.99 (32) bc	4.06 (48) bc
	fluzafop	0.86 (35) bc	0.63 (56) bcde	0.39 (48) bcd	1.39 (57) b	2.43 (47) cd	3.81 (52) bcd
شاهد							
Control							
آلوده به علف‌هرز	weed infested	1.33 (0) a	1.41 (0) a	0.74 (0) a	3.40 (0) a	4.52 (0) a	7.92 (0) a
عارى از علف‌هرز	weed free	0 (100) e	0 (100) f	0 (100) e	0 (100) f	0 (100) f	0 (100) i

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با یکدیگر ندارند. اعداد داخل پرانتز کارایی علف‌کش (درصد کاهش نسبت به شاهد آلوده به علف‌هرز) هستند.
Means within a column followed by the same letter are not different according to Fisher's protected LSD at P=0.05. Values in parentheses represent herbicide efficacy (percentages of reduction comparing to weed infested control).

صفات گیاه زراعی

ارتفاع بوته

بیشترین ارتفاع بوته کلزا در تیمار وجین دستی علف‌های هرز، به میزان ۱۵۳/۶ سانتی‌متر و کمترین ارتفاع بوته کلزا در تیمار عدم کنترل علف‌هرز مشاهده گردید. پس از تیمار وجین دستی علف‌های هرز، بیشترین ارتفاع بوته کلزا در تیمار مصرف توأم کلوپیرالید با هالوکسی‌فوپ و سپس مصرف توأم کلوپیرالید با علف‌کش‌های ستوکسیدیم، سیکلوکسیدیم، کلتودیم، کوپیزالوفوپ و فلوازیفوپ مشاهده شد (جدول ۵).

کاربرد تری‌فلورالین و پندی‌متالین با هریک از علف‌کش‌های هالوکسی‌فوپ و ستوکسیدیم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. در مقایسه با مصرف انفرادی هالوکسی‌فوپ، در کاربرد توأم با تری‌فلورالین ارتفاع کلزا بیشتر بود؛ ولی در کاربرد توأم با پندی‌متالین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. کاربرد توأم ستوکسیدیم با تری‌فلورالین، پندی‌متالین و کوپیرالید سبب افزایش ارتفاع کلزا شد. کاربرد توأم تری‌فلورالین و پندی‌متالین با هریک از علف‌کش‌های هالوکسی‌فوپ و ستوکسیدیم تفاوت معنی‌داری با کاربرد انفرادی فلوازیفوپ نداشت.

با کاربرد انفرادی باریک‌برگ‌کش‌ها ارتفاع کلزا در مصرف فلوازیفوپ، کلتودیم، کوپیزالوفوپ و هالوکسی‌فوپ تفاوت معنی‌داری نشان نداد و ارتفاع کلزا به نحو معنی‌داری کمتر از کاربرد توأم کلوپیرالید با باریک‌برگ‌کش‌ها (بازدارنده‌های استیل‌کوانزیم‌آکربوکسیلاز) بود.

با انجام یک مرتبه کولتیواسیون ارتفاع کلزا بیشتر از تیمار دو مرتبه کولتیواتور بود. لیکن هر دوی این تیمارها از نظر تاثیر بر روی ارتفاع بوته کلزا، اختلاف زیاد و معنی‌داری با تیمار وجین دستی داشتند و تیمار وجین دستی تنها تیماری بود که باعث افزایش ارتفاع بوته کلزا به بیش از ۱۵۰ سانتی‌متر گردید.

میرشکاری (۱۸) گزارش کرد که رقابت تمام‌فصل علف‌های هرز، ارتفاع کلزا را ۲۸ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. رقابت تاج‌خروس (*Amaranthus spp.*) و سلمه‌تره، ارتفاع کلزا را نسبت به شاهد ۵۷ درصد کاهش داد (۹). ارتفاع بوته از جمله صفاتی است که در رقابت گیاه زراعی با علف‌های هرز بسیار حائز اهمیت می‌باشد. چرا که در دسترسی بهتر گیاه به نور و انجام فتوسنتز تاثیر بسزایی دارد (۲۳). رقابت بر سر نور، قدرت دست‌یابی به سایر منابع (آب و مواد غذایی) را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد. رقابت بر سر نور و فضا از مهمترین عوامل افزایش ارتفاع نهایی بوته می‌باشد (۲۰).

عملکرد بیولوژیک

بیشترین عملکرد بیولوژیک کلزا در تیمار وجین دستی علف‌های هرز، به میزان ۱۷/۸۹ تن در هکتار مشاهده گردید. تیمار مصرف توأم کلوپیرالید با هالوکسی‌فوپ، سیکلوکسیدیم و کوپیزالوفوپ در مرتبه بعدی و با باقی‌باریک‌برگ‌کش‌ها پس از آن قرار گرفت. کمترین عملکرد بیولوژیک نیز در تیمارهای عدم کنترل علف‌هرز مشاهده شد. عملکرد بیولوژیک کلزا در مصرف توأم تری‌فلورالین با هالوکسی‌فوپ به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار کاربرد پندی‌متالین با علف‌کش‌های هالوکسی‌فوپ و ستوکسیدیم، و در تیمارهای اخیر نیز بیشتر از کاربرد انفرادی علف‌کش‌های باریک‌برگ‌کش و کنترل علف‌های هرز با کولتیواتور بود (جدول ۵).

عملکرد بیولوژیک کلزا در مصرف انفرادی علف‌کش‌های بازدارنده استیل‌کوانزیم‌آکربوکسیلاز به‌طور معنی‌داری کمتر از مصرف توأم با کلوپیرالید بود؛ اگرچه تفاوت معنی‌داری با یک و دوبار کولتیواسیون نداشت.

طی رقابت تمام‌فصل مخلوطی از علف‌های هرز یک‌ساله با کلزا، به ازای هر ۱۰ درصد افزایش وزن ماده خشک علف‌های هرز، عملکرد بیولوژیک و دانه کلزا به ترتیب ۱۲ و ۱۸/۵ درصد کاهش پیدا کرد (۱۲). رقابت تمام‌فصل علف‌های هرز، زیست‌توده کلزا را ۴۰ درصد نسبت به شاهد کاهش داد (۱۸).

عملکرد دانه

بیشترین عملکرد دانه کلزا در تیمار وجین دستی علف‌های هرز، به میزان ۷/۴۸ تن در هکتار مشاهده گردید. کمترین عملکرد دانه نیز ۱/۴۱ تن در هکتار بود که در تیمار عدم کنترل علف‌هرز مشاهده شد (جدول ۵). آلودگی به علف‌های هرز عملکرد دانه کلزا را ۸۱ درصد کاهش داد. عملکرد دانه در تیمار وجین دستی علف‌های هرز در مقایسه با شاهد (عدم کنترل علف‌هرز) به میزان ۴۳۰/۵ درصد بیشتر بود (۵/۳ برابر).

عملکرد دانه کلزا پس از وجین کامل علف‌های هرز در تیمار کاربرد کلوپیرالید با هالوکسی‌فوپ بیشترین مقدار بود؛ اگرچه در این تیمار عملکرد دانه ۷ درصد کاهش یافت. کاربرد توأم کلوپیرالید با کوپیزالوفوپ (۱۱ درصد کاهش)، با سیکلوکسیدیم، کلتودیم و فلوازیفوپ (۱۶ درصد) در مراتب بعدی قرار داشتند. در مقایسه کاربرد توأم کلوپیرالید با علف‌کش‌های بازدارنده استیل‌کوانزیم‌آکربوکسیلاز، کمترین عملکرد دانه کلزا در مصرف توأم کلوپیرالید با ستوکسیدیم (۲۰ درصد کاهش) مشاهده شد.

عملکرد دانه کلزا در مصرف توأم تری‌فلورالین با هالوکسی‌فوپ (۴۸ درصد کاهش) تفاوتی با مصرف توأم تری‌فلورالین با ستوکسیدیم

کمترین شاخص برداشت نیز در تیمار عدم کنترل علف‌هرز ۱۵ درصد بود. شاخص برداشت مصرف توأم کلوپیرالید با کلتودیم و کوئیزالوفوپ به ترتیب ۳۹ و ۴۰ درصد و با باقی باریک‌برگ‌کش‌ها ۳۸ درصد بود. شاخص برداشت در مصرف انفرادی باریک‌برگ‌کش‌ها بیشتر از کاربرد توأم تری‌فلورالین و پندی‌متالین با هالوکسی‌فوپ و ستوکسیدیم و یک یا دوبار کولتیواسیون بود بطور کلی، علف‌های هرز از طریق سایه‌اندازی و اختلال در تسهیم و انباشتگی ماده خشک در اندام‌های زایشی گیاهان زراعی، شاخص برداشت را کاهش می‌دهند (۲۱). با افزایش طول دوره تداخل علف‌های هرز در پی کاهش اختصاص ماده خشک به دانه‌ها و کاهش عملکرد دانه، شاخص برداشت کلزا ۵ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (۱۸).

تعداد خورجین در بوته

بیشترین تعداد خورجین در بوته کلزا در تیمار وجین دستی علف‌های هرز، به میزان ۱۰۰ عدد و نیز مصرف توأم کلوپیرالید با هالوکسی‌فوپ (۹۹ خورجین در بوته) ثبت شد. کمترین تعداد خورجین در بوته نیز در تیمار عدم کنترل علف‌هرز وجود داشت (۴۱ خورجین در بوته) (جدول ۵). پس از تیمارهای وجین دستی علف‌های هرز و مصرف توأم کلوپیرالید با هالوکسی‌فوپ، بیشترین تعداد خورجین در بوته کلزا در تیمار مصرف توأم کلوپیرالید با سایر علف‌کش‌های باریک‌برگ‌کش (۹۷ خورجین در بوته) مشاهده شد. پندی‌متالین + هالوکسی‌فوپ و کاربرد انفرادی هالوکسی‌فوپ در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. به نظر می‌رسد هالوکسی‌فوپ اثر خوبی در تولید خورجین در بوته داشته است. در مقایسه کاربرد انفرادی باریک‌برگ‌کش‌ها، بالاترین تعداد خورجین در بوته با کاربرد هالوکسی‌فوپ و کلتودیم مشاهده شد. یک و دوبار کولتیواسیون با ۶۶ خورجین در بوته عملکرد مناسبی در تولد خورجین در بوته نداشتند.

تعداد خورجین در بوته حساس‌ترین جزء عملکرد از نظر تداخل دوره رشد کلزا با علف‌های هرز می‌باشد؛ چنان‌که رقابت علف‌های هرز با کلزا، سبب کاهش ۵۷ درصدی تعداد خورجین در بوته کلزا شد (۹ و ۱۸).

تعداد دانه در خورجین

بیشترین تعداد دانه در خورجین کلزا در تیمار وجین دستی علف‌های هرز، به میزان ۲۲ دانه در خورجین و پس از آن در تیمارهای مصرف توأم کلوپیرالید با هالوکسی‌فوپ و با کوئیزالوفوپ با ۲۱ دانه در خورجین و سپس مصرف توأم کلوپیرالید با سایر علف‌کش‌های باریک‌برگ‌کش (۱۹ دانه در خورجین) مشاهده شد. کمترین تعداد دانه

(۴۹ درصد کاهش) نداشت؛ اما به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار کاربرد توأم پندی‌متالین با ستوکسیدیم بود (۵۲ درصد کاهش). در بین روش‌های مدیریت شیمیایی مصرف انفرادی علف‌کش‌های بازدارنده استیل‌کوانزیم‌آکربوکسیلاز کمترین مقدار عملکرد دانه در کلزا را سبب شد که در مقایسه با شرایط عاری از علف‌هرز ۴۹ درصد کاهش نشان داد؛ اگرچه کمترین عملکرد دانه در اعمال یک و دوبار کولتیواسیون (۵۳ درصد کاهش) مشاهده شد (جدول ۵).

علف‌های هرز با جذب منابع محیطی به نفع خود و با محدود کردن فضای رشد برای گیاه زراعی، سبب کاهش عملکرد دانه در آن می‌شوند. کاهش عملکرد دانه کلزا در نتیجه رقابت علف‌های هرز به مقدار ۵۵ درصد (۱۸) و ۵۰ درصد (۲۲) گزارش شده است. در مطالعه‌ای دیگر عملکرد کلزا بواسطه رقابت علف‌های هرز ۲۳ تا ۶۴ درصد کاهش یافت (۳). تداخل چچم ایرانی (*Lolium persicum*) با کلزا عملکرد گیاه زراعی را از طریق کاهش تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد خورجین در بوته و تعداد دانه در خورجین تا حدود ۷۰ درصد کاهش داد (۱۲). رقابت تاج‌خروس و سلمه‌تره، عملکرد دانه کلزا را نسبت به شاهد ۵۴ درصد کاهش داد (۹). حضور علف‌هرز خردل وحشی با تراکم ۲۰ بوته در مترمربع سبب افت ۳۶ درصدی (۴) و حضور علف‌هرز یولاف وحشی (*Avena fatua*) در ۴۰ روز اول دوره رشد کلزا سبب کاهش ۶۱ درصدی (۸) عملکرد کلزا شد. حضور علف‌هرز خردل وحشی و سلمه‌تره عملکرد دانه کلزا را به میزان ۲۰ درصد کاهش داد (۵). تربچه وحشی (*Raphanus raphanistrum*) در تراکم‌های ۴ و ۶۴ بوته در مترمربع که هم‌زمان با کلزا سبز شده بود، عملکرد دانه کلزا را به ترتیب ۹ تا ۱۱ و ۷۷ تا ۹۹ درصد کاهش داد (۶). کاربرد ۹۸۰ گرم ماده موثر تری‌فلورالین به همراه ۸۱ گرم هالوکسی‌فوپ آر متیل استر (گلانت سوپر) با کاهش تراکم علف‌های هرز تاج‌خروس (*Amaranthus spp.*)، سلمه‌تره (*Chenopodium album*)، ماشک (*Vicia spp.*)، گاوزبان بدل (*Anchusa sp.*)، خردل وحشی (*Sinapis arvensis*)، دم‌روباهی سبز (*Setaria vericillata*) و سوروف (*Echinochloa crus-galli*) به‌میزان به ترتیب ۹۴، ۹۳، ۵۸، ۵۰، ۵۳، ۱۰۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد و وزن خشک آنها به ترتیب ۱۰۰، ۹۶، ۸۰، ۶۰، ۵۴، ۱۰۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد سبب ۸ درصد افزایش عملکرد کلزا شد، در حالیکه شرایط عاری از علف‌های هرز عملکرد کلزا را ۴۲ درصد افزایش داد (۲۷).

شاخص برداشت

بیشترین شاخص برداشت کلزا در تیمار وجین دستی علف‌های هرز، به میزان ۴۲ درصد و پس از آن در تیمار مصرف توأم کلوپیرالید با هالوکسی‌فوپ با شاخص برداشت ۴۲ درصد مشاهده شد (جدول ۵).

در خورجین نیز در تیمار عدم کنترل علف‌هرز وجود داشت (جدول ۵). کاربرد انفرادی باریک‌برگ‌کش‌ها تعدد دانه در خورجین کمتر از کاربرد توأم آنها با کلوپیرالید بود؛ اگرچه تفاوت معنی داری با کاربرد توأم با تریفلورالین نداشت. کاربرد تری‌فلورالین با هالوکسی‌فوپ اثر بهتری نسبت به پندی متالین با ستوکسیدیم داشت. مدیریت فیزیکی اثر کمتری نسبت به مدیریت شیمیایی نشان داد. بررسی تداخل دوره‌های مختلف رشدی علف‌های هرز تاج خروس و سلمه‌تره بر عملکرد و اجزای عملکرد ارقام پاییزه کلزا، حاکی از کاهش ۱۰ درصدی تعداد دانه در خورجین به دلیل اثرات منفی این علف‌های هرز بر روی رشد و دوره زایشی کلزا بود (۹).

وزن هزار دانه

اثر تیمارهای آزمایش بر وزن هزار دانه کلزا معنی‌دار نشد. دامنه وزن هزار دانه از ۴/۲۷ گرم (در تیمار وجین دستی علف‌های هرز) تا ۴ گرم (در تیمار آلوده به علف‌هرز) قرار گرفت.

درصد روغن دانه

بیشترین درصد روغن دانه کلزا در تیمار وجین دستی علف‌های هرز، به میزان ۴۷ درصد و فاقد تفاوت معنی‌دار با تیمارهای مصرف توأم کلوپیرالید با علف‌کش‌های بازدارنده استیل‌کوانزیم‌آکربوکسیلار (هالوکسی‌فوپ، ستوکسیدیم، سیکلوکسیدیم، کلتودیم، کوپیزالوفوپ و فلوازیفوپ) بود (جدول ۵). کمترین درصد روغن دانه نیز در تیمارهای عدم کنترل علف‌هرز به میزان ۴۵ درصد و نیز مصرف توأم تری‌فلورالین با هالوکسی‌فوپ و ستوکسیدیم، مصرف انفرادی علف‌کش‌های ستوکسیدیم، سیکلوکسیدیم، کلتودیم، کوپیزالوفوپ و فلوازیفوپ و کنترل علف‌های هرز با کولتیواتور مشاهده شد. کاهش کیفیت و درصد روغن دانه کلزا در شرایط رقابت با علف‌های هرز توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (۲۳). رقابت تمام‌فصل علف‌های هرز، عملکرد روغن دانه کلزا را ۵۵ درصد کاهش داد (۹ و ۱۸).

بررسی کلی صفات کلزا

بررسی صفات کلزا، حاکی از برتری تیمار وجین دستی علف‌های هرز نسبت به سایر تیمارها است. میزان کاهش ارتفاع بوته، عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه، شاخص برداشت، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در خورجین، وزن هزار دانه و درصد روغن دانه کلزا در نتیجه آلودگی به علف‌های هرز به ترتیب ۲۶، ۴۸، ۸۱، ۶۳، ۵۹، ۵۱، ۶ و ۵ درصد بود.

مقدار کاهش صفات اندازه‌گیری‌شده در کاربرد کلوپیرالید با هالوکسی‌فوپ حداکثر ۷ درصد و با کوپیزالوفوپ حداکثر ۱۱ درصد و

با فلوازیفوپ حداکثر ۱۶ و با کلتودیم حداکثر ۱۷ درصد بود. لذا می‌تواند با در نظر گرفتن ترکیب جامعه علف‌های هرز گزینه قابل قبولی بعنوان مدیریت شیمیایی باشد.

کاربرد تری‌فلورالین و پندی متالین با هریک از علف‌کش‌های هالوکسی‌فوپ و ستوکسیدیم، تفاوت چندانی با کاربرد انفرادی علف‌کش‌های بازدارنده استیل‌کوانزیم‌آکربوکسیلار نداشت و لذا گزینه مناسبی نبود. کنترل علف‌های هرز از طریق اعمال کولتیواتور تاثیر چندانی بر روی کنترل علف‌های هرز نداشت.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش، با توجه به کاهش ۸۱ درصد عملکرد دانه در نتیجه رقابت تمام فصل علف‌های هرز، مدیریت علف‌های هرز در کلزا ضروری است. رقابت علف‌های هرز نه تنها عملکرد دانه کلزا را کاهش می‌دهد، بلکه بر روی درصد روغن دانه آن نیز اثر سوء دارد (۵ درصد کاهش).

برتری تیمار وجین دستی علف‌های هرز نسبت به سایر تیمارها در کلیه صفات مورد بررسی کاملاً مشهود بود. همچنین تقریباً در تمامی صفات مورد بررسی تیمار عدم کنترل علف‌های هرز در پایین‌ترین رتبه قرار گرفت. کاربرد ترکیبات مختلف علف‌کش‌ها با یکدیگر، اثربخشی متفاوتی بر روی کنترل علف‌های هرز و رقابت آنها با کلزا داشت. لیکن تقریباً در تمامی صفات مورد بررسی، مصرف توأم علف‌کش‌های هالوکسی‌فوپ، ستوکسیدیم، سیکلوکسیدیم، کلتودیم، کوپیزالوفوپ و فلوازیفوپ با کلوپیرالید، از مصرف آنها به تنهایی تاثیر بهتری بر روی صفات مورد بررسی کلزا داشت. کنترل علف‌های هرز از طریق اعمال کولتیواتور در مقایسه با تیمار وجین دستی علف‌های هرز تاثیر چندانی بر روی کنترل علف‌های هرز نداشت.

علی‌رغم برتری تیمار وجین دستی علف‌های هرز نسبت به سایر تیمارها، امروزه کنترل دستی علف‌های هرز به دلیل وقت‌گیر بودن و پرهزینه بودن آن، چندان رایج نیست. علاوه بر این با توجه به اینکه درصدی از کاهش عملکرد بین ۵ تا ۱۰ درصد در شرایط کاربرد علف‌کش‌ها قابل قبول است، لذا کاربرد توأم کلوپیرالید و هالوکسی‌فوپ به‌ویژه در شرایطی که کشت قبلی گندم بوده و احتمال حضور این گیاه در کلزا وجود دارد، میتوان مورد توجه قرار گیرد. ترکیب کلوپیرالید و فلوازیفوپ یا کوپیزالوفوپ در شرایط غالبیت پهن‌برگ‌ها نتیجه مطلوبی به همراه خواهد داشت.

با توجه به اینکه انواع علف‌کش اثرات متفاوتی بر جوامع علف‌هرز دارند و ممکن است هریک از علف‌کش‌ها، چند جمعیت بخصوص از علف‌های هرز را تحت فشار قرار دهند، لذا جهت تغییر در پویایی جوامع علف‌های هرز در مزارع کلزا، در صورت همخوانی فرمولاسیون علف‌کش‌ها با هم و عدم بروز اختلال در کارکرد آنها، مصرف توأم

منابع

- 1- Anonymous. 2018. Annual Agricultural Statistics. Ministry of Jihad-e-Agriculture of Iran. (Available a <https://www.maj.ir/>) (In Persian)
- 2- Azizi M., Soltani D., and Khavari E. 1999. Rapeseed: Physiology, Agronomy, Breeding, and Biotechnology. Jihad-e-Daneshgahi of Mashhad Publication. PP 230. (In Persian)
- 3- Bagherani N., and Shimi P. 2001: Evaluation of some herbicides for weed control in oil rapeseed (*Brassica napus* L.). Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources 8: 157-163. (In Persian with English abstract)
- 4- Blackshaw R.E. and Harker K.N. 1992. Combined post emergence grass and broadleaved weed control in canola (*Brassica napus* L.). Weed Technology 6: 892-897.
- 5- Blackshaw R.E., Anderson G.W., and Dekker J. 1987. Interference of *Sinapis arvensis* L. and *Chenopodium album* L. in spring rapeseed (*Brassica napus* L.). Weed Research 27: 207-213.
- 6- Blackshaw R.E., Lemerle D., Mailer R. and Young K.R. 2002. Influence of wild radish on yield and quality of canola. Weed Science 50: 344-349.
- 7- Clayton G.W., Harker K.N., O'donovan J.T., Baig M.N., and Kidnie M.J. 2002. Glyphosate timing and tillage system effects on glyphosate-tolerant canola (*Brassica napus*). Weed Technology 16: 124-130.
- 8- Daugovish O., Thill D.C., and Shafii B. 2002. Competition between wild oat (*Avena fatua*) and yellow mustard (*Sinapis alba*) or canola (*Brassica napus*). Weed Science 50: 587-594.
- 9- Firouzi H., Mirshekari B., and Khorshidi Benam M.B. 2011. Assessment of interference of growing period of amarant (*Amaranthus retroflexus* L.) and lambs quarter (*Chenopodium album*) on yield and its components of rapeseed. Journal of Crop and Weed Ecophysiology 5(2): 1-10. (In Persian with English abstract)
- 10- Harker K.N. 2001: Survey of yield losses due to weeds in Central Alberta. Canadian Journal of Plant Science, 81: 339-342.
- 11- Harker K.N., O'Donovan J.T., Smith E.G., Johnson E.N., Peng G., Willenborg C.J., and Grenkow L.A. 2014. Seed size and seeding rate effects on canola emergence, development, yield and seed weight. Canadian Journal of Plant Science, 95(1): 1-8.
- 12- Hucl P. 1998. Response to weed control by four spring rapeseed genotypes differing in competitive ability. Canadian Journal of Plant Science 78: 171-173.
- 13- Ibrahim A.F., Shaban Sh.A., and El-Metwally El.A. 1987. Effect of some Herbicides on Oil Seed Rape (*Brassica Napus* L.) and Associated Weeds. Journal of Agronomy and Crop Science 158: 236-240.
- 14- Koocheki A., Fallahpour F., Khorramdel S., and Jafari L. 2014. Intercropping wheat (*Triticum aestivum* L.) with canola (*Brassica napus* L.) and their effects on yield, yield components, weed density and diversity. Journal of Agroecology 6(1): 11-20. (In Persian with English abstract)
- 15- Krawczyk R., and Adamczewski K. 2002: Early post emergence applications of Butisan Star 416 SC for broad leaf weed control in winter oil seed rape. Progress in Plant Protection 42: 505-507.
- 16- Martin S.F., Van Acker R.C., and Friesen L.F. 2001. Critical period of weed control in spring canola. Weed Science 49: 326-333.
- 17- Miri H.R., and Rahimi Y. 2009. Effect of some new herbicides on rapeseed weed control in Boushehr province. Journal of Plant Ecophysiology 1(1):49-64. (In Persian with English abstract)
- 18- Mirshekari B. 2010. Study effects of different times of weeds control on morphological traits, yield and harvest index of three winter rapeseed cultivars. Electronical Journal of Crop Production 4(4): 51-66. (In Persian with English abstract)
- 19- Mitrovic P., Marinkovic R., Marisavljevic D., Pavlovic D., and Dolovac E.P. 2013. Using herbicides in spring rapeseed and effect on quantity and quality parameters of yield. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences 76(3): 561-564.
- 20- Moriles J., Hansen S., Horvath D.P., Reicks G., Clay D.E., and Clay S.A. 2012. Microarray and growth analyses identify differences and similarities of early corn response to weeds, shade and nitrogen stress. Weed Science 602: 158-166.
- 21- Mulugeta D., and Boerboom C.M. 2000. Critical time of weed removal in glyphosate - resistant Glycine max. Weed Science 48: 35-42.
- 22- Nelson J.J., Glogoza P., MacCrae I., Oelke E., and Meronuk R. 2000. Crop profile for canola in Minnesota. Minnesota Canola Council, USA.
- 23- Pacanoski Z. 2014. Application time and herbicide rate effects on weeds in oilseed rape (*Brassica napus* var. *oleifera*). Herbologia 14 (1): 2014.
- 24- Safikhani S., Biabani A., Faraji A., Rahemi A., and Gholizadeh A. 2015. Response of some agronomic characteristics of canola (*Brassica napus* L.) to nitrogen fertilizer and sowing date. Journal of Crop Ecophysiology

- 9(3): 429-446. (In Persian with English abstract)
- 25- Salimi H., Ahmadi M.A., Barjesteh A., Hatami S., Delghandi M.R., Fereidoonpoor M.R., Ghanbaribirgani D., Narimani V., Yunesabadi M., Nazerkakhki S.H. and Sajedi S. 2004. Identification, density and phenology of dominant weeds of canola fields in ten provinces of Iran. 16th Plant Protection Congress, Iran, p.538. (In Persian with English abstract)
- 26- Senior I.J., and Bavage A.D. 2003. Comparison of genetically modified and conventionally derived herbicide tolerance in oilseed rape: A case study. *Euphytica* 132: 217–226.
- 27- Shimi P., Darvish N., Mighani F. 2014a. Investigating efficiency of new Butisan Star (metazachlor + qinmerac) herbicide to weeds control in canola. *Crop Improvement Research* 6(1): 31-38. (In Persian with English abstract)
- 28- Shimi P., Pourazar R., Ghezeli F., and Sasanfar H. 2014b. Efficiency of two commercial forms of clopyralid at different doses in controlling canola weeds. *Iranian Journal of Weed Science* 10(2): 145-153. (In Persian with English abstract)
- 29- Somani L.I. 1992. Dictionary of weed science. Agronomy Publishing Academy (India). 256 pp
- 30- Swanton C.J., Harker K.N., and Anderson R.L. 1993: Crop losses due to weeds in Canada. *Weed Technology* 7: 537-542.
- 31- Zand E., Baghestani M.A., Nezamabadi N., Shimi P., and Mousavi S.K. 2017. A Guide to Chemical Control of Weeds in Iran, with the approach of shifting flora, Fifth edition. Jdmpress. 223pp. (In Persian with English abstract)
- 32- Zohrabi A., Naderidarbaghshahi M., and Jalalizand A. 2012. Chemical weed control of autumnal rapeseed in Isfahan (Iran). *International Journal of AgriScience* 2(8): 696-701. (In Persian with English abstract)



The Efficacy of some Herbicides and Cultivation on Weed Control and Rapeseed (*Brassica napus* L.) Yield

K. Moradi¹- E. Mohammadvand^{2*}- J. Asghari³

Received: 01-02-2020

Accepted: 14-04-2020

Introduction: Rapeseed (*Brassica napus* L.) represents considerable diversity in vigorous potential depending on field management practices, such as herbicides application which is an effective option in rapeseed production. Herbicides types determine time and application method; thereby utilizing different types of herbicides influences competitive ability of rapeseed against weeds and subsequently alters the outcome of the competition depending on agro-ecological conditions and existent weed populations. Moreover, response to different type of herbicides can vary among weed populations, and one or more population might be more constrained, which would change the weed population dynamics. This experiment was conducted to evaluate the efficacy of some preplant, preemergence and postemergence registered herbicides (in Iran) besides cultivation on weed control and rapeseed yield.

Materials and Methods: A randomized complete block design with 20 treatments each in three replications was established in Mahidasht region of Kermanshah Province. The treatments included preplant soil incorporated application of trifluralin+ postemergence application of haloxyfop (treatment 1), preplant soil incorporated application of trifluralin+ postemergence application of sethoxydim (treatment 2), preemergence application of pendimethalin + postemergence application of haloxyfop (treatment 3), preemergence application of pendimethalin + postemergence application of sethoxydim (treatment 4), postemergence application of clopyralid + postemergence application of haloxyfop (treatment 5), postemergence application of clopyralid + postemergence application of sethoxydim (treatment 6), postemergence application of clopyralid + postemergence application of cycloxydim (treatment 7), postemergence application of clopyralid + postemergence application of clethodim (treatment 8), postemergence application of clopyralid + postemergence application of cycloxydim quizalofop (treatment 9), postemergence application of clopyralid + postemergence application of fluazifop (treatment 10), postemergence application of haloxyfop (treatment 11), postemergence application of sethoxydim (treatment 12), postemergence application of cycloxydim (treatment 13), postemergence application of clethodim (treatment 14), postemergence application of quizalofop (treatment 15), postemergence application of fluazifop (treatment 16), one (treatment 17) and two cultivation (treatment 18), and weed infested (treatment 19) and weed free (treatment 20) conditions.

Results and Discussion: The results revealed that the clopyralid application with grass herbicides effectively reduced both density and dry weight of broadleaf weeds. Clopyralid application along with haloxyfop-methyl decreased wheat (as a weed in canola, and the prior crop in the field) density and dry weight as much as weed-free conditions. Applying clopyralid with other grass herbicides also resulted in significant reduction compared to weed infested control. Application of trifluralin and pendimethalin with each of haloxyfop and sethoxydim was not significantly different in terms of density and dry weight of broadleaf weeds and total weeds (total weed-plants except wheat), and also density of total weed-plants (including wheat). Thus, they caused substantially reduction in density and dry weight of broadleaf weeds and total weed-plants. However, they were not as effective as weed free treatment. As compared with sethoxydim, application of Haloxyfop accompanied by either trifluralin or pendimethalin was more effective for wheat control (as a weed); as density and dry weight of wheat and dry weight of total weed-plants in treatments of trifluralin along with haloxyfop were significantly lower than with sethoxydim. Using acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors alone which did not control the broad-leaf weeds properly. The haloxyfop caused a higher decrease in density and dry weight of wheat (as a weed), while the least impact was found for fluazifop. The effect of twice cultivation on weed density and dry weight was not significantly different from once cultivation, therefore, weed density and dry weight were higher than weed free condition. However, they were less than weed-infested condition. In general, Although none of the treatments were able to decrease total weed-plants (including wheat as a weed) density and dry weight up to the weed-free condition, but applying clopyralid with grass herbicides considerably reduced the total weed density (total weed-plants minus weeds) as well as the level of weed-free conditions. For canola traits,

1, 2 and 3- Former M.Sc. Student, Assistant Professor and Professor, Faculty of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran, respectively.

(* - Corresponding Author Email: mohammadvand@guilan.ac.ir)

hand weeding treatment showed superiority to the other treatments. The magnitude of loss occurred in plant height, biological yield, grain yield, harvest index, Silique number per plant, grain number per plant, 1000-grain weight and grain oil percentage was 26, 48, 81, 63, 59, 6, 51, and 5 %, respectively. The maximum reduction in rapeseed measured traits was observed to be 7 % for clopyralid applied along with haloxyfop, 11 % for quizalofop, 16 % for fluazifop, 17 % for clethodim, and 20 % for the other grass herbicides. Using trifluralin and pendimethalin with each of haloxyfop and sethoxydim was not significantly different from the individual application of acetyl coenzyme A carboxylase inhibitors; and consequently it does not appear to be an appropriate option.

Conclusion: Weed competition not only reduces grain yield, but also grain oil (5% loss). Since a yield reduction between 5% and 10% is acceptable with herbicide application, it is possible to utilize clopyralid along with haloxyfop-methyl in rapeseed fields particularly where wheat has been previously cultivated.

Keywords: Chemical weed management, Clopyralid, Grass herbicides, Pendimethalin, Trifluralin

مقاله علمی-پژوهشی

مطالعه ارتباط مکانی رشد و عملکرد گندم زمستانه با علف‌های هرز با استفاده از روش‌های زمین آماری و سنجش از دور

مژده مرادی کل بلندی^۱ - حسن مکاریان^{۲*} - مهدی برادران فیروز آبادی^۳ - حمیدرضا اصغری^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۱۷

چکیده

به منظور بررسی همبستگی توزیع مکانی رشد و عملکرد گندم زمستانه با علف‌های هرز با استفاده از روش‌های زمین آماری و سنجش از دور، آزمایشی در سطح یک مزرعه گندم واقع در دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ انجام شد. بدین منظور عملکرد بیولوژیک و دانه گندم منطبق بر محل اندازه‌گیری تراکم و زیست توده علف‌های هرز در ۱۱۰ نقطه در سطح مزرعه در محل تقاطع سیستم شبکه‌ای ۸ × ۸ متر اندازه‌گیری و ثبت شد. به منظور بررسی عملکرد بیولوژیک و دانه گندم با استفاده از سنجش از دور نیز عکس هوایی با کوادکوپتر از ارتفاع ۱۲۰ متری از سطح مزرعه تهیه شد و سپس ارزش عددی پیکسل‌های تصویر هوایی استخراج و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد جمعیت و زیست توده علف‌های هرز با عملکرد بیولوژیک گندم همبستگی مکانی منفی ۷۵/۸۹ و ۶۲/۵۰ درصدی و با عملکرد دانه گندم همبستگی مکانی منفی ۹۱/۹ و ۵۶/۲۵ درصدی نشان داد. داده‌های حاصل از عکس هوایی نیز همبستگی مکانی قوی ۸۸/۲۳ و ۷۸/۱۲ درصدی به ترتیب با عملکرد بیولوژیک و دانه گندم نشان داد. براساس نتایج این پژوهش روش‌های زمین آماری و داده‌های تصویر هوایی به خوبی نشان داد که توزیع ناهمگون تراکم و زیست توده علف‌های هرز در سطح مزرعه می‌تواند سبب توزیع مکانی ناهمگون عملکرد بیولوژیک و دانه گندم گردد.

واژه‌های کلیدی: تصویر هوایی، توزیع مکانی، ناهمگونی رشد، نقشه عملکرد

مقدمه

عملکرد محصولات زراعی حائز اهمیت بوده و چنان‌چه دلایل این تغییرات نیز مشخص شود می‌توان برنامه‌های مدیریتی برای افزایش عملکرد و کاهش صدمات زیست محیطی را در قالب مدیریت وابسته به مکان یا به عبارت دیگر کشاورزی دقیق طراحی کرد (۱۶). علف‌های هرز به عنوان یکی از عوامل ناهمگونی عملکرد محصولات کشاورزی در سطح مزارع مطرح هستند. در این راستا، نصیری محلاتی و همکاران (۲۲) با مطالعه نوسانات درون مزرعه‌ای عملکرد گندم و رابطه آن با توزیع مکانی تراکم علف‌های هرز و میزان نیتروژن خاک با استفاده از روش‌های زمین آمار گزارش کردند که نوسانات مکانی عملکرد گندم بین ۴/۹-۱/۵ با میانگین ۳/۳ تن در هکتار بود. در همین پژوهش تراکم علف‌های هرز و نیتروژن خاک بدون در نظر گرفتن توزیع مکانی آن‌ها، حدود ۸۰ درصد از نوسانات عملکرد گندم را توصیف می‌کرد. در پژوهش دیگری توزیع علف‌های هرز در مزارع زعفران نیز ارتباط مکانی بالایی با توزیع عملکرد گل، زیست توده و عملکرد کلالة زعفران نشان داد (۱۹). تنوع، توزیع و تراکم علف‌های هرز متأثر از فاکتورهای زنده و غیر زنده متعددی است. توزیع ناهمگون و طبیعت لکه‌ای جمعیت علف‌های هرز به دلیل

گندم (*Triticum aestivum* L.) از نظر تولید و سطح زیر کشت مهم‌ترین محصول کشاورزی ایران است به طوری که حدود ۶۰-۷۰ درصد اراضی زیر کشت محصولات زراعی در کشور به گندم اختصاص دارد (۲۷). بنابراین، مدیریت بهینه این محصول استراتژیک و حصول حداکثر عملکرد با رعایت اصول اکولوژیک از راهبردهای اصلی محققین می‌باشد. تجزیه و تحلیل تغییرپذیری مکانی رشد و عملکرد، فرایند مهمی برای دستیابی به فاکتورهای بیولوژیکی و مدیریتی موثر در رشد گیاه می‌باشد (۱۱). عملکرد در هر نقطه‌ای از یک مزرعه تابعی از تراکم گیاهی، ریزاقلیم، مدیریت و مجموعه‌ای از تنش‌های زنده و غیر زنده محیطی می‌باشد که گیاه در طی فصل رشد با آن مواجه می‌شود (۴). بنابراین شناخت الگوی نوسانات مکانی

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیاران گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود
(*) نویسنده مسئول
Email: h.makarian@yahoo.com
DOI: 10.22067/jpp.v34i2.85286

زمین آماری و یا سنجش از دور امکان قابل برآورد است، در پیش‌بینی لکه‌های با تراکم بالای علف‌هرز و دارای عملکرد کم مزرعه دارای اهمیت می‌باشد. بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی توزیع مکانی علف‌های هرز و تاثیر آن بر زیست توده و عملکرد گندم با روش‌های زمین آمار و سنجش از دور بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶ در یک مزرعه گندم به وسعت یک هکتار واقع در دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود انجام شد. شاهرود با طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۵۷ دقیقه شرقی و عرض ۳۶ درجه و ۲۵ دقیقه شمالی دارای اقلیم خشک و سرد و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۳۶۷ متر می‌باشد. براساس اطلاعات ثبت شده در ایستگاه هواشناسی شاهرود میانگین سالانه دما در این منطقه ۱۴/۴ درجه سانتی‌گراد و میانگین بارندگی دراز مدت سالیانه ۱۶۰ میلی‌متر گزارش شده است. رقم گندم روشن در دیماه سال ۹۶ در این مزرعه کشت شد. بافت خاک مزرعه محل آزمایش از نوع لومی بود. مقدار ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره طبق عرف محل در دو مرحله پنجه‌زنی و خوشه‌دهی در سطح مزرعه پخش شد. در این مزرعه هیچ عملیات مدیریتی برای کنترل علف‌های هرز انجام نشد. نمونه برداری‌ها از کل سطح مزرعه به ابعاد ۱۰۰×۱۰۰ متر (۱۰۰ متر عرض در جهت شرقی - غربی و ۱۰۰ متر طول در جهت شمالی - جنوبی) بر روی یک شبکه علامت‌گذاری شده مربعی^۱ به ابعاد ۸×۸ متر انجام و در مجموع از ۱۱۰ نقطه نمونه‌برداری صورت گرفت (شکل ۱). در محل نقاط نمونه‌برداری شاخص‌های چوبی قرار گرفت و تا پایان فصل رشد محل نقاط ثابت بود. محل نقاط نمونه‌برداری از صفات مختلف گندم بر نقاط نمونه‌برداری از علف‌های هرز منطبق بود.

برای محاسبه عملکرد بیولوژیک و دانه گندم نیز در پایان فصل رشد (مرحله رسیدن فیزیولوژیکی) از کادرهایی به ابعاد ۵×۵/۵۰ متر در محل تقاطع خطوط شبکه گرید استفاده شد و پس از برداشت بوته های گندم درون کادر در هر نقطه، وزن آن اندازه‌گیری شد و نقشه عملکرد بیولوژیک گندم بر اساس کیلوگرم در هکتار ترسیم گردید. برای محاسبه عملکرد دانه گندم نیز دانه‌های بوته‌های برداشت شده از هر نقطه جداسازی و توزین گردید و نقشه توزیع عملکرد دانه گندم بر اساس کیلوگرم در هکتار ترسیم شد.

نمونه‌برداری از جمعیت علف‌های هرز در مرحله پنجه‌زنی گندم در طی یک نوبت در مزرعه انجام شد و علف‌های هرز به تفکیک گونه شناسایی و ثبت شدند. نمونه‌برداری از زیست توده هوایی علف‌های هرز نیز با استفاده از کادرهایی به ابعاد ۵×۵/۵۰ متر در محل تقاطع

اثرات متقابل بیولوژی علف هرز، شرایط موضعی میکروکلیم و عملیات مدیریتی می‌باشد (۳). احمد و همکاران (۱) گزارش کردند که عملیات مدیریتی از قبیل کاربرد کودها، آبیاری و کاربرد علف‌کش‌ها می‌تواند توزیع جمعیت علف‌های هرز را تحت تاثیر قرار دهد. علف های هرز با تخلیه بیشتر منابع مورد نیاز گیاه زراعی در محل لکه‌ها می‌توانند سبب توزیع ناهمگون رشد و عملکرد گیاه زراعی شوند (۲۲). زمین آمار یک ابزار قدرتمند برای مطالعه تنوع مکانی و زمانی جمعیت علف‌های هرز و تغییرات عملکرد گیاهان زراعی می‌باشد. روابط بین تک بوته‌ها و اجتماعی از گیاهان را می‌توان با استفاده از واریوگرام و نقشه‌های ایجاد شده توسط کریجینگ مورد بررسی قرار داد (۱۲). در روش ژئواستاتستیک با استفاده از آمار مکانی سمی واریوگرام‌هایی را که ساختار مکانی جمعیت‌ها را تشریح می‌کند، برازش داده می‌شود. سپس با استفاده از کریجینگ نقشه‌های توزیع علف‌های هرز ترسیم می‌شود تا جهت درون‌یابی در نقاطی که نمونه برداری انجام نشده مورد استفاده قرار گیرد (۸). آنالیز کراس سمی واریوگرام آمار مکانی نیز یکی از راه‌های تشخیص همبستگی مکانی یا زمانی بین دو متغیری است که به وسیله شرایط محیطی یا فرایندهای مکانی مشابه تحت تاثیر قرار می‌گیرند (۸). برای مثال کراس سمی واریوگرام، برای بررسی تطابق بین توزیع علف‌های هرز و زیست توده گیاه زراعی و جفت متغیرهای دیگر که تحت تاثیر شرایط یکسان محیطی قرار می‌گیرند، به کار گرفته می‌شوند (۱۸). مکاریان و حسینی (۱۸) با استفاده از روش‌های زمین آماری ارتباط نزدیکی بین نقاط با تراکم بالای علف هرز و عملکرد بیولوژیک اندک گندم زمستانه مشاهده کردند. کلی و همکاران (۷)، با استفاده از روش درون‌یابی کریجینگ، میزان کاهش عملکرد را در نقاط نمونه‌برداری نشده تخمین زده و نقشه‌های کاهش عملکرد را برای چندین سال متوالی تهیه کردند.

امروزه می‌توان از کاربردهای متعدد سنجش از دور به عنوان ابزاری مناسب در مشاهده، ارزیابی، کنترل، نظارت و مدیریت منابع خاک، آب، پوشش گیاهی، محیط زیست و اکوسیستم و بلایای طبیعی، استفاده نمود (۳۲). مطالعات اخیر در بخش کشاورزی مبتنی بر شاخص‌های پوشش گیاهی به دست آمده از تصاویر پهپاد نشان می‌دهد که این تکنولوژی کاربردهای متعددی مانند تهیه نقشه پوشش برگ در غلات (۱۳ و ۳۲)، محتوای کلروفیل در غلات (۲)، آلودگی‌های علف هرز (۳۱) و اثرات محصول در کنترل علف‌هرز (۲۴ و ۲۹) دارد. در همین راستا لو و همکاران (۱۷) با استفاده از تصاویر تهیه شده بوسیله پهپاد نیاز گیاه برنج به نیتروژن را مورد بررسی قرار دادند. به هرحال، شناخت و توصیف الگوهای توزیع مکانی رشد و عملکرد گندم و ارتباط آن با حضور علف‌های هرز در مزرعه اطلاعات مهمی را در خصوص مدیریت بهینه مزرعه بر اساس اصول اکولوژیک در اختیار مدیران قرار می‌دهد. این یافته‌ها که اغلب با روش‌های

مزرعه بدست آمد. شدت روشنایی تصویر بین صفر و ۲۵۵ متغیر بود بطوری که مقدار صفر نشان دهنده رنگ تیره (سیاه) و مقدار ۲۵۵ نشان دهنده رنگ روشن (سفید) بود. سپس برای مقایسه بهتر با نقشه های گیاه، نقشه توزیع مکانی ارزش پیکسل‌های کل مزرعه ترسیم شد و در مرحله بعد همبستگی آن با عملکرد و صفات مختلف گندم با کراس سمی واریوگرام محاسبه گردید.

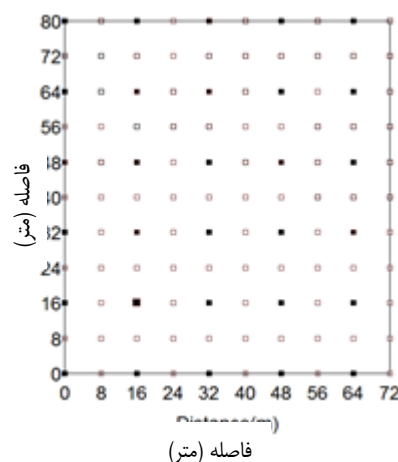
روش آنالیز داده‌ها

برای توصیف وابستگی مکانی بین نمونه‌ها از مدل ریاضی سمی واریوگرام یا نیم‌تغییرنما (معادله ۱) استفاده شد (۲۰).

$$\gamma(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum_{i=1}^{N(h)} [Z(X_i) - Z(X_i + h)]^2 \quad (1)$$

که در آن $N(h)$: زوج نمونه ای است که به فاصله h از یکدیگر واقع شده‌اند. $Z(X_i)$: مقدار متغیر در موقعیت X_i ; $Z(X_i + h)$: مقدار متغیر مورد مطالعه در موقعیت $X_i + h$ و $Y(h)$ نیز سمی واریوگرام می‌باشد. از نقطه نظر تئوریک، واریوگرام عبارت از نصف واریانس تفاوت بین مقادیر متغیر مورد نظر که در فاصله h از یکدیگر قرار گرفته‌اند. از آنجایی که در عمل تنها تعداد محدودی نمونه در دسترس است لذا می‌بایستی واریوگرام تجربی محاسبه شود. نمایش معمول واریوگرام از طریق ترسیم نمودار واریانس توزیع اختلاف‌ها برحسب فاصله صورت می‌گیرد. بدین ترتیب براساس نمونه‌های موجود مقدار تجربی این معادله بدست آمده و سپس مدل برحسب این مقادیر تجربی برازش داده می‌شود (۱۰). از پارامترهای مدل جهت تخمین تراکم علف‌های هرز، زیست توده علف‌های هرز، زیست توده و عملکرد گندم و سایر صفات اندازه‌گیری شده گندم در نقاط نمونه برداری نشده در کریجینگ استفاده شد. این پارامترها عبارت بودند از: حدآستانه $(C_0 + C)$ یا (مجاوب^۱: A)، با افزایش یافتن فاصله h مقدار واریوگرام‌ها به تدریج تا فاصله معینی زیاد شده و از آن به بعد به حد ثابتی می‌رسد و در چنین شرایطی تابع مورد نظر، فاقد هرگونه صعود و یا نزول مشخصی است که نشانگر حدآستانه است و برای پیش‌بینی دامنه تأثیر مورد استفاده قرار می‌گیرد. دامنه تأثیر^۲ (A_0)، فاصله‌ای است که در آن واریوگرام به حداکثر مقدار خود رسیده و ثابت می‌شود. وقتی واریوگرام ثابت می‌شود نشان دهنده این است که داده‌ها در ورای این فاصله دیگر با هم همبستگی ندارند و از یکدیگر مستقل می‌شوند، خصوصیت مورد نظر در آن فاصله دارای همبستگی است. عرض از مبدأ^۳ (I) یا اثر قطعه‌ای (C_0)، مقداری است که در اثر تغییرات غیر قابل پیش‌بینی یا خطاهای ذاتی نمونه‌برداری حادث می

خطوط شبکه گردید ۸×۸ متر به طور مماس با محل نمونه‌برداری جمعیت گونه‌های مختلف علف‌های هرز در اوایل خرداد ماه انجام شد (شکل ۱). برای این کار کلیه زیست توده هوایی علف‌های هرز از داخل کادر مذکور جمع آوری و در پاکت‌های مقوایی با برچسب تعیین کننده مختصات هر نقطه قرار داده شد. سپس نمونه‌های مذکور در آزمایشگاه زراعت به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد خشک شده و با ترازوی دیجیتال توزین و نقشه بیوماس هوایی علف‌های هرز نیز براساس کیلوگرم در هکتار ترسیم شد.



شکل ۱- نمایی از محل نقاط نمونه‌برداری برای صفات مختلف گندم و

علف‌های هرز در مزرعه مورد مطالعه

Figure 1- View of sampling points for different wheat and weed traits in the field under study

تهیه تصویر هوایی مزرعه و آنالیزهای سنجش از دور

تصویر هوایی مزرعه گندم از ارتفاع ۱۲۰ متری توسط کوادکوپتر فانتوم ۴ ساخت کمپانی DJI چین تهیه شد که به دوربین ۱۲/۴ مگاپیکسل و سنسور CMOS 1/2.3 مجهز بود. رزولوشن تصویر نیز 4096×2160 پیکسل بود. لازم به ذکر است تصویر مورد استفاده بصورت رنگی بود و در دامنه امواج مرئی طیف الکترومغناطیس خورشید تهیه شد و بدون اعمال هیچ گونه تبدیلی روی آن به درون نرم‌افزار فراخوان شد و مورد بررسی قرار گرفت. تصویر در تاریخ ۲۵ اردیبهشت ماه زمانی که گندم در مرحله شروع ساقه‌دهی بود، تهیه شد و تصویر مذکور توسط نرم‌افزار Envi نسخه ۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. به‌طوری که در نقاطی منطبق بر نقاط نمونه‌برداری برای خصوصیات مختلف گندم روی شبکه ایجاد شده، ارزش عددی پیکسل‌های تصویر توسط نرم‌افزار استخراج شد و در هر نقطه میانگین حداقل ۸ پیکسل به‌عنوان ارزش عددی نقطه نمونه‌برداری ثبت گردید. بدین ترتیب ۱۱۰ عدد مربوط به ارزش نقاط در تصویر

1- Asymptote

2- Range

3- Intercept

ابتدا داده‌ها به کمک نرم‌افزار Excel نرمال شد. بطوری که پس از افزودن یک به تمامی داده‌ها از آنها لگاریتم طبیعی گرفته شد. رسم کراس سمی واریوگرام‌ها، برازش دادن مدل (۳) با استفاده از نرم‌افزار Variowin (نسخه ۲/۴) انجام شد.

نتایج و بحث

توزیع مکانی تراکم و زیست توده علف‌های هرز در سطح مزرعه

نتایج نشان داد که گونه‌های متعددی از علف‌های هرز پهن برگ از قبیل هفت بند (*Polygonum aviculare* L.)، سلمه تره (*Chenopodium album* L.)، علف شور (*Salsola komarovi* L.)، سینه‌کفتی (*Goldbachia laevigata* L.)، خردل آبی‌فام (*Corispora tenella* L.)، گرگ‌زبان (*Anchusa italica* L.)، خاک‌شیر (*Descurainia sophia* L.)، آلاله (*Ranunculus arvensis* L.)، درشتوک (*Malcolmia africana* L.)، گل زرد (*Rapistrum rugosum* L.)، شاه‌تره (*Fumaria afficinallis* L.) و همچنین تراکم بسیار اندکی از چاودار (*Secale cereal* L.) در مزرعه حضور داشتند. در این پژوهش مهم‌ترین گونه‌های هرز موجود در مزرعه علف‌های هرز سلمه تره و هفت‌بند بودند که جمعیت غالب را تشکیل می‌دادند، در حالی که سایر گونه‌ها از تراکم بسیار اندکی در مزرعه برخوردار بودند (جدول ۱). همانطور که مشاهده می‌شود حدود ۱۰ درصد نقاط نمونه‌برداری شده عاری از هرگونه علف هرز بود، اما در مراحل پایانی فصل رشد درصد نقاطی که هیچ زیست‌توده علف هرزی در آن وجود نداشت حدود ۳۱ درصد بود (جدول ۱). بطور مشابه با نتایج این پژوهش گزارش شده است که ۳۷/۱۹ درصد از نقاط نمونه‌برداری شده در سطح مزرعه گندم فاقد هر گونه علف‌هرزی بود (۱۸). تراکم و زیست توده علف‌های هرز در هر مزرعه بسته به گونه علف هرز و سوابق مدیریتی مزرعه تغییر می‌کند، اما درصد نقاط فاقد علف هرز می‌تواند پتانسیل کاربرد مدیریت متناسب با مکان را در هر مزرعه مشخص نماید (۱۹).

برازش مدل‌های سمی‌واریوگرام نشان داد که جمعیت و زیست توده کل علف‌های هرز در سطح مزرعه دارای الگوی توزیع لکه‌ای بود، به‌طوری‌که همبستگی مکانی قوی ۷۷/۰۷ و متوسط ۵۱/۴۹ درصد بترتیب برای الگوهای پراکنش جمعیت و زیست توده مجموع علف‌های هرز در سطح مزرعه بدست آمد (جدول ۲). همچنین دامنه تاثیر ۱۷۶ متر نشان دهنده تغییرات گسترده زیست توده علف‌های هرز در سطح مزرعه در این آزمایش می‌باشد. نوردمیر (۲۳)، دامنه تاثیر ۸۳ تا ۲۷۲/۴ متر را برای علف‌های هرز پهن برگ موجود در غلات زمستانه در آلمان بدست آورد. جودی و همکاران (۹)، دامنه تاثیر ۱۱/۵ تا ۶۱/۵ متر را برای علف‌های هرز متداول در یک مزرعه

شود. به این معنا که مشاهدات جدا شده به وسیله فواصل بی‌نهایت کوچک مشابه نیستند. هرچه عرض از مبدأ به سمت صفر میل کند از تصادفی بودن توزیع متغیر مورد نظر کاسته شده و همبستگی مکانی قوی تری پدیدار می‌شود. زمانی که مقدار اثر قطعه‌ای از صفر افزایش پیدا می‌کند، نشان دهنده این است که عوامل تصادفی غیر قابل پیش بینی وجود دارند. در واقع تفاوت بین حد آستانه و عرض از مبدأ نشان دهنده مقدار واریانسی است که بوسیله فواصل بین نقاط نمونه‌برداری شده توصیف می‌شود. این مقدار هنگامی که به عنوان درصدی از حد آستانه بیان شود نشان‌دهنده درصد همبستگی مکانی است. برای محاسبه درصد همبستگی مکانی از معادله زیر استفاده شد (۶).

$$\text{معادله (۲)} \quad \text{Autocorrelation (\%)} = \left[\frac{\text{Asymptote} - \text{Intercept}}{\text{Asymptote}} \right] \times 100$$

که در آن Autocorrelation (%) یا درصد همبستگی مکانی، Asymptote یا مجانب و Intercept یا عرض از مبدأ می‌باشد. مقادیر همبستگی مکانی بین صفر (نشان دهنده عدم وجود همبستگی مکانی یا پراکنش کاملاً تصادفی) تا ۱۰۰ درصد (همبستگی مکانی قوی) تغییر می‌کند. مقادیر کوچکتر یا مساوی ۲۵ درصد بیانگر همبستگی مکانی ضعیف، از ۲۵ تا ۷۵ درصد همبستگی مکانی متوسط و بیشتر از ۷۵ درصد همبستگی مکانی قوی محسوب می‌شود (۱۲).

در این بررسی برآورد آماری برای بلوک‌های دارای ابعاد ۸×۸ صورت گرفت. بخش عمده ویژگی‌های آماری، نرمال کردن داده‌ها، تبدیل برگشت (پس از برآورد آماری، نتایج از حالت لگاریتمی به حالت اولیه برگشت داده شد و سپس نقشه‌ها ترسیم شدند)، رسم واریوگرام‌های تجربی، برازش مدل (معادله ۱)، برآورد کریجینگ و رسم نقشه‌ها برای صفات مختلف از قبیل جمعیت و زیست توده علف‌های هرز و عملکرد بیولوژیک و دانه گندم با استفاده از نرم‌افزار GS+ نسخه ۵/۱ انجام شد. جهت توصیف همبستگی مکانی بین دو متغیر (مانند جمعیت کل علف‌های هرز و عملکرد گندم و همچنین همبستگی بین داده‌های حاصل از سنجش از دور و صفات گندم) از سمی واریوگرام متقاطع (کراس سمی واریوگرام) (رابطه ۳) استفاده شد (۸).

$$\gamma_{AB}(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum_{i=1}^{N(h)} [ZA(X_i) - ZA(X_i + h) \times ZB(X_i) - ZB(X_i + h)]^2 \quad (3)$$

که در آن $AB(h)$: کراس سمی واریوگرام برای مکان‌های نمونه برداری است که به فاصله h از یکدیگر واقع شده است. $ZA(X_i)$ و $ZB(X_i)$ به ترتیب مقدار دو متغیر (مثلاً تراکم جمعیت علف هرز و عملکرد گندم) در نقاط X و Xh می‌باشد. بدین ترتیب براساس نمونه‌های موجود مقدار تجربی این معادله بدست آمده و سپس مدلی را با این مقادیر تجربی وفق دادیم.

جهت برازش دادن مدل‌ها و ترسیم کراس سمی واریوگرام‌ها،

بنابراین هر عاملی که بر توزیع جمعیت علف‌های هرز تاثیر بگذارد، دامنه تاثیر را نیز تغییر خواهد داد.

ذرت بدون شخم در کانادا گزارش کردند. دامنه تاثیر زیاد نشانگر پراکنش گسترده علف‌های هرز به وسیله اندام‌های تولید مثلی است که توسط عملیات مدیریتی تحت تأثیر قرار می‌گیرند و در واقع نشان دهنده الگوهای پراکنش علف‌های هرز در سطح مزارع می‌باشد (۹).

جدول ۱- خلاصه آماری داده‌های جمعیت و زیست توده علف‌های هرز موجود در مزرعه
Table 1- Statistical summary of population and biomass data of weeds in the field

گونه علف هرز Weed species	حداقل مقادیر Minimum values	حداکثر مقادیر Maximum values	میانگین Mean	انحراف معیار Standard deviation	خطای استاندارد Standard Error (± SE)	درصد نقاط عاری از علف هرز Weed free points (%)
تراکم سلمه تره <i>Chenopodium album</i> density	0	16.00	2.47	3.08	0.29	40.90
تراکم هفت بند <i>Polygonum aviculare</i> density	0	52.00	8.01	9.49	0.90	18.18
تراکم کل علف‌های هرز Total weeds density	0	60.00	11.80	11.22	1.07	10.90
زیست توده کل علف‌های هرز Total weeds biomass	0	89.16	13.52	20.12	1.91	30.90

لکه‌ای شدن علف‌های هرز دارند (۹).

همبستگی مکانی تراکم و زیست توده علف‌های هرز با عملکرد بیولوژیک و دانه گندم

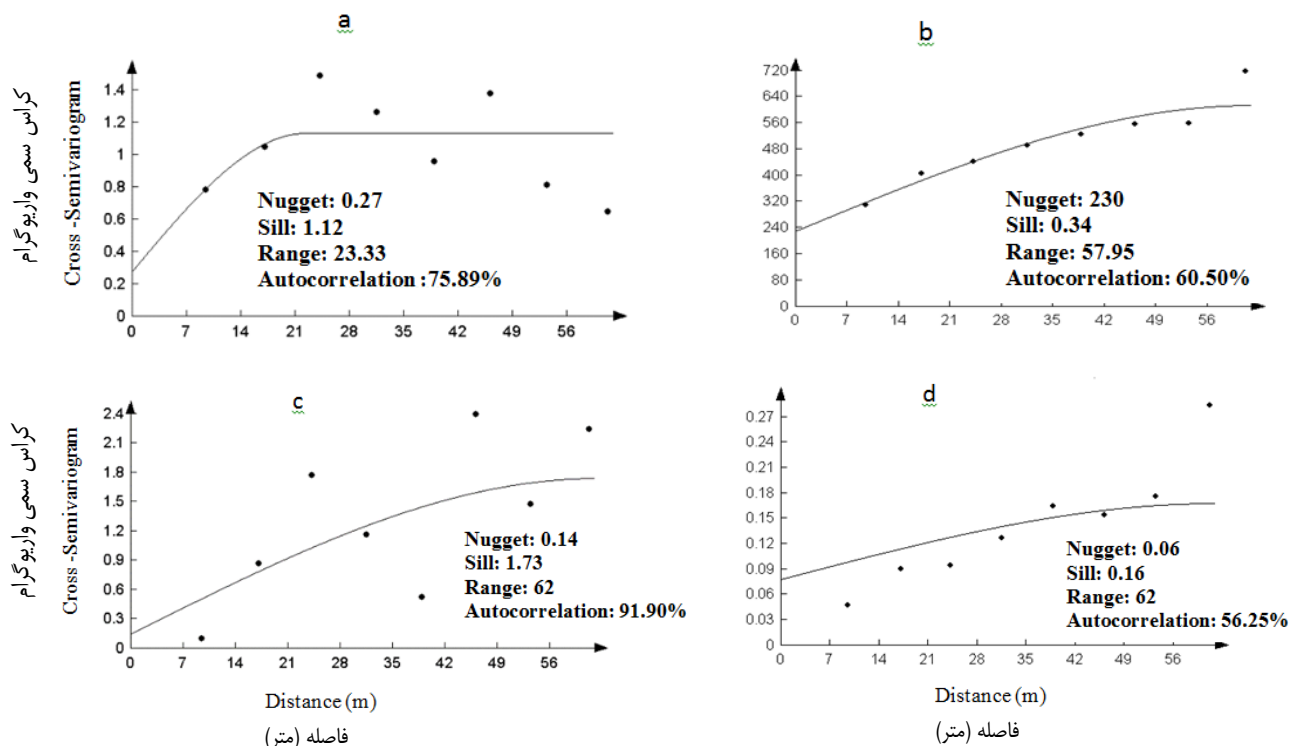
مدل‌های برازش داده شده بر کراس سمی واریوگرام‌ها بین تراکم کل گونه‌های علف‌هرز و عکس وزن عملکرد بیولوژیک گندم (شکل ۲) و نیز نقشه‌های ترسیم شده، نشان داد (شکل ۳) که الگوهای توزیع جمعیت کل علف‌های هرز به مقدار قابل توجهی بر الگوهای تغییر عملکرد بیولوژیک گندم منطبق بودند، به طوری که تطابق مکانی بین این دو متغیر ۷۵/۸۹ درصد بود (شکل ۲a). همچنین بین زیست توده علف‌های هرز و عکس عملکرد بیولوژیک گندم همبستگی مکانی ۶۰/۵ درصد مشاهده گردید (شکل ۲b). سایر پژوهشگران نیز همبستگی منفی معنی‌دار ۶۲ درصدی بین کل ماده خشک علف‌های هرز و عملکرد دانه گندم گزارش نموده‌اند (۲۸). مکاریان و حسینی (۱۸) با برازش مدل‌های کراس سمی واریوگرام بین جمعیت کل علف‌های هرز و عکس عملکرد بیولوژیک گندم همبستگی مکانی قوی ۸۹ درصد بین دو متغیر مذکور مشاهده نمودند و آنها بیان کردند که تراکم ناهمگون علف‌های هرز در سطح مزرعه می‌تواند منجر به توزیع ناهمگون عملکرد گندم گردد. بنابراین نادیده گرفتن این توزیع ناهمگون، می‌تواند تخمین عملکرد و محاسبات عملیات کنترل سراسری علف‌های هرز را با خطا مواجه سازد و منجر به استفاده بیش از حد نیاز علف‌کش‌ها در سطح مزرعه گردد.

گونه‌های هفت بند و سلمه تره که گونه‌های غالب بودند نیز الگوی توزیع لکه‌ای قوی نشان دادند. در این راستا گزارش شده است که ویژگی‌های بیولوژیکی گونه علف‌هرز، عوامل مربوط به بانک بذر خاک و سابقه عملیات مدیریتی می‌تواند سبب توزیع لکه‌ای علف‌های هرز یکساله‌ای مانند هفت بند و جوموشی شود (۱۹). نقشه پراکنش علف‌های هرز نشان داد (شکل ۳) که بخش زیادی از مزرعه دارای تراکم اندکی از علف‌های هرز بود در حالی که لکه‌های کوچک و بزرگی از علف‌های هرز در سطح و خصوصاً حواشی مزرعه به چشم می‌خورد. حواشی مزرعه به دلیل ورود بذور از خارج به داخل مزرعه، اثرات حاشیه‌ای، کارایی کمتر علف‌کش‌ها در این نواحی (سمپاشی ناصحیح)، سطوح کمتر استقرار گیاه زراعی، برخورداری بهتر از تشعشع و رقابت کمتر گیاهان زراعی با علف‌های هرز مکان‌های مناسب‌تری برای حضور علف‌های هرز می‌باشند (۹). همچنین عواملی از قبیل تنوع و تداخل گونه‌های گیاه زراعی و علف‌هرز، غیر یکنواختی مکانی بوته‌های والد، اندازه و شکل بذر، وجود بذور برای پراکنش، بانک بذر پایدار، پراکنش غیر تصادفی بذور (یا اندام‌های تولیدمثل رویشی)، میزان فعالیت و کارایی عوامل انتشار، جهت و سرعت باد، جوانه زنی و مرگ و میر گیاهچه‌ها در پراکنش مکانی علف‌های هرز دخالت دارند و عموماً باعث پراکنش غیر یکنواخت علف‌های هرز در مزرعه می‌شوند. علاوه بر این عوامل دیگری نیز مانند تنوع شرایط محیطی، تاریخچه مدیریت مزرعه، شرایط میکروکلیمایی (دما و رطوبت خاک)، تنوع شرایط خاک، شرایط فیزیکی، توپوگرافی، بافت و ساختار خاک) و حاصل خیزی خاک نقش مهمی در پراکنش غیر یکنواخت و در نتیجه

جدول ۲- ضرایب مدل‌های برازش داده شده بر سمی واریوگرام‌های تجربی برای داده‌های تراکم و زیست توده خشک علف‌های هرز

Table 2- Spherical and exponential model parameters of semivariogram for weeds density and dry biomass

گونه علف هرز Weed species	مدل سمی واریوگرام Semi- variogram Model	عرض از مبدأ Nugget	مجاناب Sill + Nugget	دامنه تأثیر (متر) Range (m)	درصد همبستگی Autocorrelation (%)	کلاس مکانی Spatial class
تراکم هفت بند <i>Polygonum aviculare</i> density	کروی Spherical	0.1570	0.6930	8.00	77.34	قوی Strong
تراکم سلمه تره <i>Chenopodium album</i> density	کروی Spherical	0.1280	1.930	17.50	88.28	قوی Strong
تراکم کل علف‌های هرز Total weeds density	نمایی Exponential	0.243	1.060	7.40	77.07	قوی Strong
زیست توده کل علف‌های هرز Total weeds biomass	کروی Spherical	1.634	3.369	176.07	51.49	متوسط Moderate



شکل ۲- برازش مدل‌های کروی واریوگرام بین داده‌های: a: عکس عملکرد بیولوژیک با تراکم علف‌های هرز، b: عکس عملکرد بیولوژیک با زیست توده علف‌های هرز، c: عکس عملکرد دانه با تراکم علف‌های هرز، d: عکس عملکرد دانه با زیست توده علف‌های هرز

Figure 2- Empirical cross-semivariograms between a: wheat biological yield and weed density, b: wheat biological yield and weed biomass, c: wheat grain yield and weed density, d: wheat grain yield and weed biomass

رابطه معکوس وجود دارد. همچنین نتایج نشان داد که همبستگی مکانی ۵۶/۲۵ درصد تا دامنه تأثیر ۶۲ متر بین زیست توده علف‌های هرز با عکس عملکرد دانه گندم وجود داشت (شکل ۲د). محمدی

نتایج نشان داد که تراکم علف‌های هرز با عکس عملکرد گندم دارای همبستگی ۹۱/۹۰ درصد بود (شکل ۲c). این بدان معنی است که بین تراکم علف‌هرز و عملکرد گیاه زراعی در سطح مزرعه یک

ها تا دامنه تاثیر ۵۸ متر مشاهده شد (شکل ۵). توزیع عملکرد گندم نیز با ارزش عددی پیکسل‌ها در تصویر هوایی دارای همبستگی قوی ۷۸/۱۲ درصدی بود. نقشه‌های ترسیم شده با داده‌های درون‌یابی شده بوسیله کریجینگ نیز نشان داد (شکل ۳) بخش شرقی مزرعه که ارزش عددی پیکسل‌ها در آن کم بود با نقاط دارای عملکرد بیولوژیک و دانه کم مطابقت داشت. با توجه به تشابه مکانی بالا بین عملکرد بیولوژیک و دانه گندم در سطح مزرعه با خصوصیات عکس هوایی (ارزش عددی پیکسل‌های تصویر)، می‌توان گفت تصاویر هوایی مزرعه می‌تواند به‌عنوان معیار مناسبی در مطالعه وضعیت پوشش گیاهی و عملکرد مزرعه مورد استفاده قرار گیرد. زوو و همکاران (۳۴) همبستگی قوی ($r = 0.71$) بین عملکرد محصول و شاخص پوشش گیاهی بدست آمده از تصاویر هوایی گزارش نمودند و اشاره کردند که این همبستگی مشابه همبستگی بدست آمده بین عملکرد و شاخص سطح برگ حاصل از سنسورها در سطح زمین بود. به هر حال، زوو و همکاران (۳۴) معتقدند که تصاویر تهیه شده از بالای مزرعه توسط سنسورها و دوربین‌ها می‌تواند به خوبی در مقیاس کم تغییرات عملکرد محصول را نشان دهد.

به‌صورت تجاری نیز بعضی از صفات مهم گیاهی نظیر شاخص سطح برگ، کلروفیل برگ و عملکرد با استفاده از ادواتی که در سطح زمین حرکت می‌کنند یا بوسیله سنسورها اندازه گیری می‌شوند، برای اهداف مدیریتی مورد ارزیابی قرار می‌گیرند (۲۵ و ۳۰). لو و همکاران (۱۷) نیز به بررسی انواع شاخص‌های پوشش گیاهی استخراج شده از پهبادها در مراحل مختلف رشد و نموی برنج جهت تخمین محتوای نیتروژن پرداختند. هم‌چنین ساواساوا (۲۶) طی تحقیقی در هندوستان میزان عملکرد برنج را با استفاده از تصاویر ماهواره‌ای و سنجش از دور و تعدادی از فاکتورهای محیطی تخمین زد. نتایج پژوهش دیگری روی عملکرد برنج با استفاده از تصاویر ماهواره‌ای نشان داد که بین عملکرد مشاهده شده و عملکرد واقعی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (۳۳).

همبستگی مکانی بین داده‌های سنجش از دور با تراکم و

زیست توده علف‌های هرز

نتایج برآزش مدل‌های کروی کراس سمی واریوگرام نشان داد که بترتیب همبستگی مکانی ۹۵ و ۹۰/۹ درصد بین الگوهای توزیع تراکم و زیست توده علف‌های هرز با داده‌های حاصل از سنجش از دور وجود داشت (شکل ۶). هم‌چنین نتایج نشان داد که همبستگی بین الگوهای توزیع جمعیت و زیست توده با داده‌های سنجش از دور بترتیب تا دامنه تاثیر ۵۷/۶ و ۶۰/۷ متر ادامه داشت. این دامنه تاثیر نشان دهنده این است که لکه‌های نسبتاً طولی از جفت متغیرهای مذکور در سطح مزرعه وجود داشتند که در این محدوده لکه‌ها بر هم منطبق بودند (شکل ۳). از آنجا که زیست توده علف‌های هرز در

(۲۰) همبستگی منفی (-0.31) بین الگوهای توزیع علف‌هرز و عملکرد دانه گندم بدست آورد. سینگ (۲۰۱۲) نیز همبستگی منفی معنی‌دار ۵۱ درصدی بین عملکرد دانه گندم زمستانه با علف‌های هرز گزارش نمود. وجود نقاط با تراکم بالای علف هرز در سطح مزرعه سبب شد تا در محل لکه‌ها، علف‌های هرز با جذب آب، عناصر غذایی و نور به رقابت با گیاه زراعی پرداخته و در نتیجه موجبات کاهش رشد و عملکرد زیست توده گندم و در نهایت عملکرد گیاه زراعی را به صورت موضعی در سطح مزرعه فراهم کنند (شکل ۳). گرچه احتمال می‌رود تا تخلیه لکه‌ای مواد غذایی خاک توسط جمعیت علف‌های هرز در سال‌های قبل باعث ایجاد بخشی از این غیریکنواختی در عملکرد زیست توده شده باشد. آمار مختلف نشان می‌دهد که درجه رقابت و به تبع آن میزان خسارت ناشی از علف‌های هرز به شدت متأثر از عوامل مدیریتی و شرایط اکولوژیکی هر منطقه است (۲۱). کلی و همکاران (۷) با استفاده از روش‌های زمین آماری، میزان کاهش عملکرد ذرت در اثر رقابت با علف‌های هرز باریک برگ یکساله را تخمین زده و نشان دادند که بعضی نقاط به دلیل اینکه کاهش عملکرد آن از حد آستانه مورد نظر کم‌تر بود نیاز به کاربرد علف‌کش نداشت.

توزیع مکانی داده‌های حاصل از سنجش از دور

نتایج نشان داد که داده‌های حاصل از عکس هوایی که مقادیر ارزش پیکسل‌های تصویر بودند با استفاده از برآزش مدل سمی واریوگرام توزیع مکانی قوی نشان دادند (شکل ۴) به‌طوری‌که همبستگی مکانی قوی ۹۱/۹ درصدی بین ارزش عددی پیکسل‌ها در نقاط مختلف تصویر مشاهده شد. دامنه تاثیر بدست آمده نیز ۷۶/۹ متر بود که گویای وجود لکه‌های بزرگی از پوشش گیاهی در تصویر بود که دارای تراکم کم یا زیاد بودند. نقشه توزیع ارزش پیکسل‌ها نیز گویای نقاط با مقادیر ارزش بالا در قسمت شمال غربی مزرعه و بخش‌های وسیعی از نیمه غربی مزرعه بود، درحالی‌که در بخش شرقی مزرعه ارزش پیکسل‌ها کمتر بود یا به عبارتی تصویر بدلیل پوشش گیاهی کمتر، روشن‌تر بود (شکل ۳e). با توجه به اینکه تصویر هوایی حاصل انعکاس نور از سطح برگ گندم و پوشش گیاهی مزرعه می‌باشد که بوسیله دوربین عکس‌برداری در مرحله شروع ساقه‌دهی ثبت شده است، بنابراین توزیع مکانی غیر یکنواخت آن مشابه با عملکرد بیولوژیک منطقی به نظر می‌رسد.

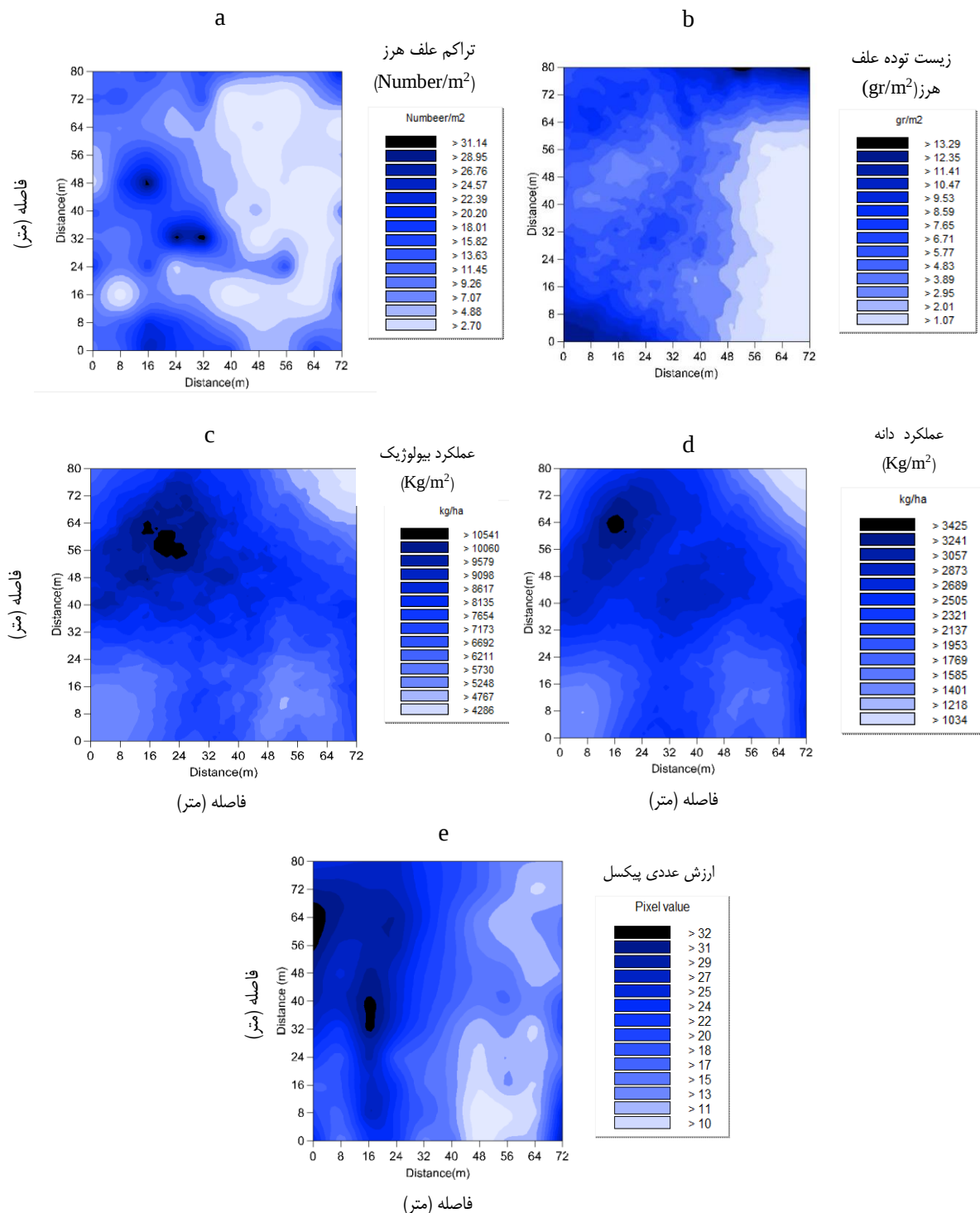
همبستگی مکانی داده‌های حاصل از سنجش از دور با

عملکرد بیولوژیک و دانه گندم

بررسی همبستگی مکانی بین عملکرد بیولوژیک گندم و ارزش عددی پیکسل‌های عکس هوایی نشان داد که تشابه مکانی بالایی بین دو متغیر وجود داشت یا به عبارتی همبستگی مکانی ۸۸/۲۳ درصد بین الگوهای توزیع عملکرد بیولوژیک و ارزش عددی پیکسل

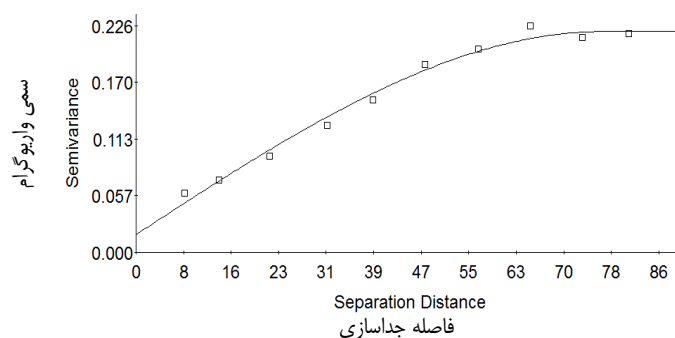
شکل‌گیری ارزش عددی پیکسل‌های تصویر هوایی مزرعه بطور مستقیم نقش دارند، بنابراین الگوهای توزیع تراکم و زیست توده

علف‌های هرز بخشی از نقاط تیره در تصویر هستند که گویای پوشش گیاهی بیشتر می‌باشد.



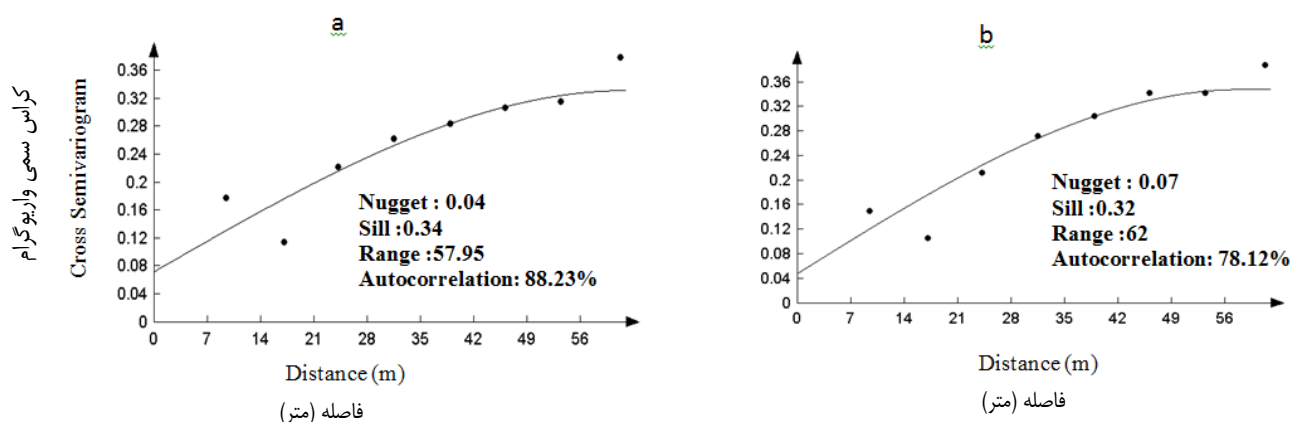
شکل ۳- نقشه‌های توزیع تراکم (a)، زیست توده علف هرز (b)، عملکرد بیولوژیک گندم (c)، عملکرد دانه گندم (d) و ارزش عددی پیکسل‌های تصویر هوایی (e)

Figure 3- Kriged maps of weed density (a), biomass (b), wheat biological yield (c), wheat grain yield (d), and pixel value (e)



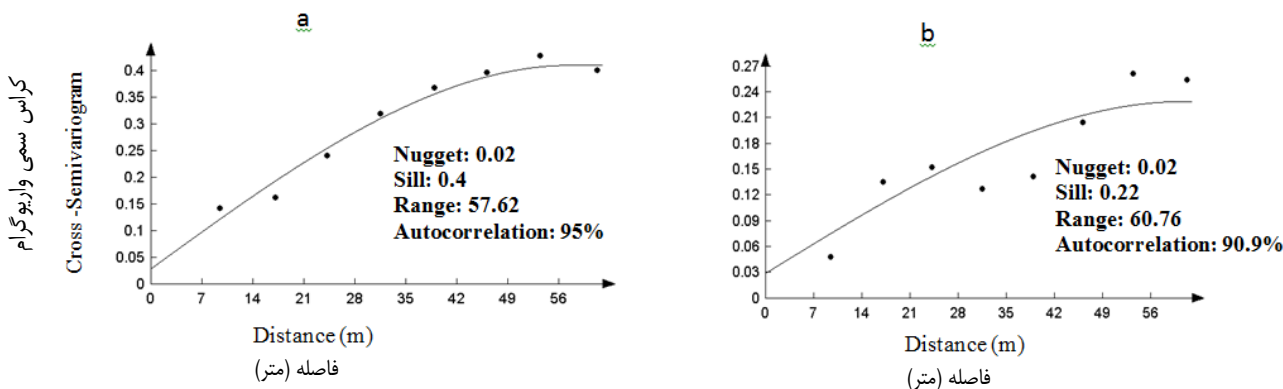
شکل ۴- برازش مدل کروی سمی واریوگرام بر داده‌های ارزش عددی پیکسل‌های مستخرج از تصویر هوایی (ارزش عددی پیکسل‌ها)

Figure 4- Empirical semivariogram for numerical value data of pixels derived from aerial image



شکل ۵- برازش مدل‌های کروی کراس سمی واریوگرام بین داده‌های عملکرد بیولوژیک (a) و عملکرد دانه گندم (b) با ارزش عددی پیکسل‌های تصویر هوایی

Figure 5- Cross-semivariograms models between biological (a) and grain yield of wheat with numerical value data of pixels derived from aerial image



شکل ۶- برازش مدل‌های کروی کراس سمی واریوگرام بین تراکم (a) و زیست توده (b) مجموع علف‌های هرز با مقادیر ارزش عددی پیکسل‌های حاصل از تصویر هوایی

Figure 6- Cross-semivariograms models between density (a) and biomass of total weeds with numerical value data of pixels derived from aerial image

تحقیقات زیادی در خصوص سنجش علف‌های هرز بوسیله عکس‌های هواپرد و دوربین‌های دیجیتالی نصب شده روی سکوها زمینی (مانند تراکتور، روبات، یا دکل) تاکنون انجام شده است. بعنوان مثال لاس و همکاران (۱۵)، تصاویر دیجیتالی را با استفاده از دوربین‌هایی تهیه کردند که با خطای کمتر از ۲۰ درصد قادر به دسته‌بندی آلودگی‌های علف‌هرز گل‌گندم، و گل‌راعی از سایر گیاهان مرتع شدند. همچنین لامب و همکاران (۱۴) با استفاده از سیستم عکس‌برداری دیجیتالی از یک سکوی هوایی علف‌هرز ارزن وحشی را در میان کاه و کلش کلزا مورد بررسی قرار دادند. عقیده براین است که پیکسل‌های علف‌های هرز مهاجم بطور طبیعی با یکدیگر در یک و یا دو رده گروه‌بندی می‌شوند، بطوری‌که کامپیوتر تمامی بازتابش‌های دارای الگوی مشابه را گروه‌بندی می‌کند و بدین طریق آلودگی‌های مشخص علف‌های هرز روی زمین از سایر موضوعات قابل تفکیک می‌گردند (۵).

نتیجه‌گیری

منابع

نتایج نشان داد که تراکم و زیست توده علف‌های هرز در سطح مزرعه دارای الگوی توزیع لکه‌ای بودند، بنابراین محدودیت بیشتر منابع در محل لکه‌ها به دلیل رقابت شدیدتر، می‌تواند ساختار ناهمگونی را برای رشد و عملکرد گندم رقم بزند. همچنین مشخص شد که با استفاده از اطلاعات تصویر هوایی می‌توان با دقت قابل قبولی عملکرد بیولوژیک و دانه گندم و حتی تراکم و زیست توده علف‌های هرز را در سطح مزرعه پایش نمود. بطور کلی ناهمگونی مکانی عملکرد گندم و تراکم و زیست‌توده علف‌های هرز بوسیله روش‌های آنالیز ژئواستاتستیک قابل بررسی بوده و روش سنجش از دور از طریق تهیه تصاویر هوایی نیز پتانسیل خوبی در مطالعه تغییرات مکانی رشد و عملکرد گیاهان دارد. بدون شک، یکی از راه‌های عملی کردن مدیریت متناسب با مکان گیاهان زراعی و نیل به سوی کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی و دستیابی به کشاورزی پایدار استفاده از روش‌های نوین گردآوری و آنالیز داده‌ها به منظور کسب اطلاعات مزرعه می‌باشد که از طریق روش‌های زمین آمار و سنجش از دور قابل دسترس خواهد بود.

- 1- Ahmad Z., Khan S. M., Abd_Allah E.F., Alqarawi A.A., and Hashem A. 2016. Weed species composition and distribution pattern in the maize crop under the influence of edaphic factors and farming practices: A case study from Mardan, Pakistan. Saudi Journal of Biological Sciences 23(6): 741-748.
- 2- Berni J.A., Zarco-Tejada P.A., Suarez L., and Fereres E. 2009. Thermal and narrowband aerial vehicle. IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing 47(3): 722-738.
- 3- Bigwood D.B., and Inouye D.W. 1988. Spatial pattern analysis of seed banks: an improved method and optimized sampling. Ecology 69: 497-507.
- 4- Calvino P., and Sadras V. 2002. On-farm assessment of constraints to wheat yield in the south-eastern Pampas. Field Crop Research 74: 1-11.
- 5- Cambell J.B. 2002. Introduction to Remote Sensing. 3rd ed. New York. Guilford. 622.
- 6- Cardina J., Sparrow D. H., and McCoy E.L. 1996. Spatial relationships between seed bank and seedling populations of common lambsquarters (*Chenopodium album*) and annual grasses. Weed Science 44: 298-308.
- 7- Clay S. A., Kreutner B., Clay D. E., Reese C., Kleinjan J., and Forcella F. 2006. Spatial distribution, temporal stability, and yield loss estimates for annual grasses and common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) in a corn /soybean production field over nine years. Weed Science 54: 380-390.
- 8- Colbach N., Forcella F., and Jonson G.A. 2000. Spatial and temporal stability of weed factors on the weed flora in crops in the Gadyvir. Valley 30: 375-382.
- 9- Goudy H.J., Bennett K.A., Brown R.B., and Tardif F.J. 2001. Evaluation of site-specific weed management using a direct- injection sprayer. Weed Science 49: 359-366.
- 10- Isaaks E.H., and Srivastava R.M. 1989. An Introduction to Applied Geostatistics. Oxford University Press. New York. 561p.
- 11- Jiang P., and Telen K.D. 2004. Effect of soil and topographic properties on crop yield in a north- central corn soybean cropping system. Agronomy Journal 96: 252-258.
- 12- Jurado-Exposito M., Lopez-Granados F., Garcia-Torres L., Garcia-Ferrer A. Sanches de La Orden M., and Atenciano S. 2003. Multi-species weed spatial variability and site-specific management maps in cultivated sunflower. Weed Science 51: 319 -328.
- 13- Kipp S., Mistele R., Baresel P., and Schmidhalter U. 2014. High-throughput phenotyping early plant vigor of winter wheat. European Journal of Agronomy 52: 271-278.
- 14- Lamb D.W., Weedon D., and Rew L.J. 1999. Evaluating the accuracy of mapping weeds in seedling crops using airborne digital imaging: *Avena spp.* in seedling triticale. Weed Research 39: 481-492.

- 15- Lass L. W., Carson H. W., and Callihan R.H. 1996. Detection of Yellow Starthistle (*Centaurea solstitialis*) and Common St. Johnswort (*Hypericum perforatum*) with Multispectral Digital Imagery. *Weed Technology* 10(3): 466-474.
- 16- Lowenberg DeBoer J., and Erickson K. 2000. Precision Farming Profitability Purdue. University, Ag Communications, West Lafayette in USA 132.
- 17- Lu J., Miao Y., Huang Y., Shi W., Hu X., Wang X., and Wan J. 2015. Evaluating an unmanned aerial vehicle-based remote sensing system for estimation of rice nitrogen status. 4th International Conference on Agro-Geoinformatics, Istanbul, 20-24 July 2015, 198-203.
- 18- Makarian H., and Hosseini R. S. 2011. Spatial distribution of weed and its effect on wheat (*Triticum aestivum* L.) biomass. *Journal of Agriculture Science* 3(4): 31-47. (In Persian with English abstract)
- 19- Makarian H. 2008. Investigation of spatial and temporal dynamic of weed seed bank and seedling populations and its effect on saffron (*Crocus sativus* L.) leaf dry weight under different weed management conditions. Ph.D. Thesis in weed science. Ferdowsi University of Mashhad: 193pp.
- 20- Mohammadi J. 2002. Spatial variability of soil fertility, wheat yield and weed density in a one-hectare field in Shahre Kord. *Journal of Agricultural Science and Technology* 4: 83-92.
- 21- Montazeri M., Zand A., and Baghestani M.A. 2004. Weeds and Control Them in Iran Wheat Fields. Agriculture Education Press. 85 pp. (In Persian with English abstract)
- 22- Nassiri Mahallati M., Koocheki A., and Jahani M. 2016. Estimating Within Field Variability of Wheat Yield Using Spatial Variables: An Approach to Precision Agriculture. *Journal of Agroecology* 3: 329-345. (In Persian with English abstract)
- 23- Nordmeyer H. 2006. Patchy weed distribution and site-specific weed control in winter cereals. *Precision Agriculture* 7: 219-231.
- 24- Rasmussen J., Nielsen J., Garcia-Ruiz F., Christensen S., and Streibig J. 2013. Potential uses of small unmanned aircraft system (UAS) in weed research. *Weed Research* 53: 242-248.
- 25- Sankaran S., Khot L.R., Espinoza C.Z., Jarolmasjed S., Sathuvalli V.R., Vandemark G.J. 2015. Low-altitude, high-resolution aerial imaging systems for row and field crop phenotyping: A review. *European Journal of Agronomy* 70: 112-123.
- 26- Sawasawa H.L.A. 2003. Crop yield estimation: integration RS, GIS and management factors. ITC, International Institute for Geo-information science and earth observation Enschede, The Netherlands.
- 27- Shahbaziyan N., Dadi A., and Irannejad H. 2007. Response of winter wheat yield to rotation with wheat, fallow, soybean and alfalfa and application of manure in Qazvin province in Iran. *Journal of Agriculture Science* 13: 125-135. (In Persian with English abstract)
- 28- Singh R. 2012. Weed management in irrigated wheat (*Triticum aestivum*) with special reference to buttercup weed (*Ranunculus* spp.) in north-west Himalayas. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 82: 706-710.
- 29- Stribig J. C., Rasmussen J., Andujar D., Anderson C., Berge T. W. 2014. Sensor- based assessment of herbicide effects. *Weed Research* 54(3): 223-233.
- 30- Taugourdeau S., Le Maire G., Avelino J., Jones J.R., Ramirez L.G., Jara Quesada M., and Roupsard O. 2014. Leaf area index as an indicator of ecosystem services and management practices: An application for coffee agroforestry. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 192: 19-37.
- 31- Torres-Sánchez J., López-Granados F., De Castro and A.I., Penã-Barragán J.M. 2013. Configuration and specifications of an unmanned aerial vehicle (UAV) for early site specific weed management. *PLoS One* 8(3), Published: March 6 2013.
- 32- Torres-Sánchez J., Pena J.M., de Castro A.I., and López-Granados F. 2014. Multi-temporal mapping of the vegetation fraction in early-season wheat fields using images from UAV. *Computer and Electronic in Agriculture* 103: 104-113.
- 33- Wang L., Chen F., Zhang F., and Mi G. 2010. Two strategies for achieving higher yield under phosphorus deficiency in winter wheat grown in field conditions. *Field Crops Research* 118: 36-42.
- 34- Zhou X., Zhng H., Xu X., and He J. 2017. Predicting grain yield in rice using multi-temporal vegetation indices from UAV- based multispectral and digital imagery. *Journal of Photogrammetry and Remote Sensing* 130: 246-255.



Spatial Dependence of Growth and Yield of Winter Wheat and Weeds Using Geostatistical and Remote Sensing Methods

M. Moradi Kalbolandi¹– H. Makarian^{2*}– M. Baradaran Firouz Abadi³– H.R. Asghari⁴

Received: 01-02-2020

Accepted: 06-05-2020

Introduction: Understanding the spatial relationship of weed populations and crop growth and yield within fields is increasingly important as methods are being developed for the site-specific management of weeds. Knowledge of spatial variability helps to improve weeds and crop management efficiency. It is well known that weed populations have a patchy distribution and a weed patch is considered stable if is consistent with density and location over time. Most of the spatial variability studies about weed populations have provided very precise information for site-specific recommendations and they are referred to as density data. The knowledge of spatial patterns within a field is critical not only to farmers for potential variable rate applications, but also to select homogenous zones within the field to run crop models with site-specific input to better understand and predict the impact of weeds, soil and landscape characteristics on spatial and temporal patterns of crop yields to enhance resource use efficiency at field level. Remote sensing and geostatistic methods have been widely explored as a tool for detection and mapping of weeds distribution in agricultural crops. Remote sensing is the science and art of obtaining information about an object, area, or phenomenon through the analysis of data acquired by a device that is not in contact with the object, area, or phenomenon under investigation. Thus, on the basis of different types of platforms carrying specific sensors, agricultural remote sensing could generally be categorized into satellite, aerial, and handheld or tractor mounted remote sensing. The cross-semivariogram analysis is one of geostatistical methods to describe the joint spatial dependence, or continuity between two variables such as crop yield and density of weeds and other pairs of variables that are influenced by the same local conditions or spatial processes. The objective of this study was to describe the spatial relationship between winter wheat and weeds using geostatistic and remote sensing.

Material and Methods: Geostatistic and remote sensing techniques were used to describe spatial relationship between weeds distribution and wheat biological and grain yield on a winter wheat fields located in Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology in growing season 2017-2018. Wheat traits such as biological and grain yield, weed density, and biomass were measured at 110 points of field based on an 8×8 m grid. Also, in order to investigation of biological and grain yield of wheat using remote sensing, an aerial image was taken by a quadcopter from the height of 120 m and then numerical values of aerial image pixels extracted and analyzed using geostatistics methods. Before subjecting data to spatial statistical analysis, they were log-transformed and detrended by a median polishing procedure as described previously. To describe the co-continuity of two variables (wheat yield and weeds populations) cross-semivariance was used. Semivariograms and cross-semivariograms were calculated both using GS+ and Variowin (Software for spatial data analysis in 2D, Spring Verlag, New York, USA) softwares, respectively.

Results and Discussion: Semivariogram analysis showed that total weed density and biomass had patchy patterns on the field. Cross-semivariograms showed weed density and biomass had negative spatial correlation of 75.89 to 62.50% with wheat biological yield and negative spatial correlation of 91.9 and 56.25 with grain yield of wheat, respectively. Remote sensing data showed a strong correlation of 88.23 and 78.12% with biological and grain yield of wheat, respectively. High spatial dependence was observed between the maps of biological and grain yield of wheat. Also, weed density and biomass patterns on the maps of weeds were similar to patterns of wheat biological and grain yield on the maps. Competition for resources among plants has long been considered to generate stress for plants and to be important for determining the distribution of species, as well as their evolution. Weeds reduce crop yields primarily by competing with the crop for limited resources (light, water, nutrients, etc.). Knowledge of the distribution of weeds across the field creates an opportunity for site-specific weed management. One potential way to utilize this information is through variable-rate herbicide application (VRA). While mapping weeds via field scouting or remote sensing for precisely varying application can be expensive, photographs taken from an airplane at times when weed-crop discrimination is good may be a more affordable method of roughly mapping weed patches to allow for some reduction in herbicide use.

1, 2, 3 and 4- M.Sc. Student and Associate Professors, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology. Shahrood, Iran, respectively.

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

Conclusion: Base on this experiment results, weed density and biomass had a patchy distribution and so they can, depending on their impact degree, affect the growth and yield patterns of wheat in a non-uniform manner. Also geostatistical and remote sensing data has great potential for study of plant distribution and their relationships on the fields.

Keywords: Aerial image, Growth heterogeneity, Spatial distribution, Yield map

مقاله علمی-پژوهشی

تأثیر تراکم و الگوی کاشت بر کنترل علف‌های هرز و عملکرد ارقام لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) در حضور علف‌کش بتازون

پروین یادگار^۱ - رضا قربانی^{۲*} - علی قنبری^۳ - حمید رحیمیان مشهدی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۵

چکیده

به منظور بررسی تأثیر تراکم، روش کاشت و دزهای کاهش یافته علف‌کش بتازون بر زیست توده علف‌های هرز و عملکرد ارقام اختر (ایستاده) و گلی (رونده) لوبیا، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار، در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۳ انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل تراکم کاشت لوبیا با توجه به تراکم بهینه رقم گلی ۴۰ و رقم اختر ۵۰ بوته در مترمربع شامل (تراکم بهینه، ۲۰ و ۴۰ درصد بیشتر از تراکم بهینه) و دزهای علف‌کش بتازون در سه سطح (۰، ۵۰ درصد (۱/۲۵ لیتر در هکتار) و ۱۰۰ درصد (۲/۵ لیتر در هکتار) دز توصیه شده) و کشت جداگانه و مخلوط ارقام اختر (ایستاده) و گلی (رونده) به صورت ردیفی و با نسبت (۱:۱)، اجرا شد. نتایج آزمایش نشان داد که افزایش تراکم کاشت و استفاده از رقم گلی در کشت مخلوط با اختر، موجب شد که زیست توده علف‌های هرز در کشت مخلوط نسبت به کشت خالص اختر کاهش بیشتری داشته باشد که می‌توان از این ویژگی در کاهش دز مصرفی علف‌کش استفاده نمود. همچنین بیش‌ترین و کم‌ترین عملکرد دانه به ترتیب با مقدار ۴۶۳ و ۱۳۲ گرم در مترمربع مربوط به کشت خالص رقم اختر در غلظت‌های ۱۰۰ و ۰ درصد علف‌کش بود. اما در رقم گلی و کشت مخلوط بیش‌ترین عملکرد دانه به ترتیب با ۳۴۱/۳ و ۳۷۲/۲ گرم در مترمربع در غلظت ۵۰ درصدی علف‌کش مشاهده شد که این روند در عملکرد بیولوژیک نیز مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین اثر سه‌گانه نشان داد که بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک در کشت مخلوط مربوط به غلظت ۵۰ درصدی علف‌کش و تراکم ۴۰ درصدی کاشت بود اما در کشت خالص اختر و گلی بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک مربوط به غلظت ۱۰۰ درصدی علف‌کش و تراکم ۴۰ درصدی کاشت بود. با توجه به این نتایج، می‌توان گفت که امکان استفاده از دزهای کاهش یافته علف‌کش تنها در صورت استفاده از گیاه زراعی با توانایی رقابتی بالا و افزایش تراکم کاشت، که بتواند قدرت رقابتی علف‌های هرز را کاهش دهند، امکان‌پذیر است.

واژه‌های کلیدی: دزهای کاهش یافته، کشت مخلوط، تراکم کاشت، مدیریت تلفیقی علف‌هرز

مقدمه

تنش‌های غیر زنده، عوامل تنش‌زای زنده از جمله آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز از جمله موانع موثر در تولید این محصول به حساب می‌آیند. در این میان مشکل علف‌های هرز همواره وجود دارد. علف‌های هرز از جمله عوامل مهم محدود کننده افزایش تولیدات کشاورزی در کشورهای در حال توسعه می‌باشند که با گیاه زراعی در دسترسی به آب، مواد غذایی، نور، فضا و دی اکسیدکربن رقابت کرده و سبب کاهش کمی و کیفی و افزایش تلفات عملکرد محصول می‌گردند (۱۹). مدیریت علف‌های هرز از عوامل ضروری برای موفقیت یک سیستم تولید کشاورزی است. استفاده گسترده از علف‌کش‌ها به عنوان یکی از ابزارهای اصلی مدیریت جمعیت علف‌های هرز در اواخر قرن بیستم باعث افزایش تولید ذخایر غذایی در کشورهای توسعه یافته شده است (۸).

لوبیا اگر چه گیاهی با رشد بوته‌ای قوی است، اما در رقابت با علف‌های هرز بسیار حساس است (۲۳). گرایش جدید جامعه جهانی به

لوبیا یک غذای سنتی در رژیم غذایی انسان‌ها است، که حاوی چربی کم و غنی از پروتئین، ویتامین، کربوهیدرات‌های پیچیده و مواد معدنی است (۱۴). این گیاه به عنوان یکی از منابع اصلی پروتئین به حساب می‌آید و ارزش بیولوژیک پروتئین آن به دلیل دارا بودن اسیدهای آمینه ضروری بسیار بالا است. با این وجود یکی از مشکلات اصلی در مورد این محصول، عملکرد پایین آن در اکثر کشورهای جهان می‌باشد (۱۱). در کنار حساسیت این گیاه به

۱ و ۲ - به ترتیب دکتری، استاد و دانشیار گروه آگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(*) - نویسنده مسئول: (Email: ghorbani43@gmail.com)

۴ - دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

سمت کشاورزی پایدار در راستای کم کردن استفاده از نهاده‌های شیمیایی می‌باشد و هم چنین فراهم آوردن سیستمی که بیشتر بر نیروی انسانی متکی بوده تا بتواند در این راستا به سامانه‌ای دست یابد که در آن فقر روستایی نیز مد نظر قرار گرفته و در نهایت با رسیدن به کشاورزی دارای ثبات در عملکرد و کم‌ترین آثار سوء زیست محیطی، قادر به بهبود وضعیت معیشتی جوامع روستایی باشد (۱۸). مدیریت تلفیقی علف‌های هرز روش‌هایی مثل اصلاح گیاهان زراعی، کود دهی، تناوب، کشت مخلوط، کنترل شیمیایی علف‌های هرز و مدیریت خاک را به صورتی با هم تلفیق می‌کند که باعث کاهش تداخل علف‌هرز شده، در حالی که باعث حفظ عملکرد گیاه زراعی در حد قابل قبول می‌شود (۹).

استفاده از ارقام دارای قدرت رقابت بالا به عنوان یکی از این راهکارها مطرح می‌باشد. به عبارتی با مصرف کمتر علف‌کش، ضربه اولیه را به علف‌هرز زده تا مقداری از قدرت رقابتی آن‌ها کاهش یافته و در ادامه گیاه زراعی دارای قدرت رقابت بالا علف‌های هرز را از صحنه رقابت خارج سازد. استفاده از ارقام دارای قدرت رقابت بالا که دارای خصوصیات فیزیولوژیکی موثری در غلبه بر علف‌های هرز باشند، می‌تواند در کاهش مصرف علف‌کش‌ها مورد توجه قرار گیرد. لوبیا دارای ارقامی با تیپ‌های رشدی (ایستاده، نیمه‌رونده و رونده) است. رقم اختر، منشاء آن کلمبیا، فرم بوته ایستاده و رشد محدود دارد، متوسط ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر و دوره رشد و نمو ۹۸ روز است. قابلیت رقابت آن با علف‌های هرز ضعیف است. به دلیل فرم ایستاده این رقم می‌توان از آن در برنامه‌های برداشت مکانیزه استفاده نمود. رقم گلی مبداء آن نیشابور، رنگ بذر گلی بوده و این رقم نسبت به شرایط اقلیمی کشور از سازگاری مناسبی برخوردار است. تیپ رشد نامحدود و رونده، متوسط ارتفاع بوته ۷۰ سانتیمتر و دوره رشد ۹۵ روز می‌باشد. نسبت به علف‌های هرز از قدرت مناسبی برخوردار است و قادر به پوشش سریع فضا و رقابت با آن‌ها می‌باشد (۱). در آزمایشی شیب منحنی با روند کاهش وزن خشک سلمه‌تره با توجه به افزایش یک واحد در غلظت علف‌کش ایمازتاپیر در ارقام ایستاده (اختر) و رونده (گلی) لوبیا قرمز و کشت مخلوط آن‌ها به ترتیب ۳/۵، ۶/۶ و ۳/۹ بدست آمد که این نتایج نشان داد که رقم رونده گلی با دارا بودن توان پوشاندگی سریع، فضا را از سلمه‌تره گرفته و می‌توان از این خاصیت در کنار مصرف دزهای پایین‌تر از حد توصیه شده، در کاهش زیست توده این علف‌هرز استفاده نمود (۵).

بنتازون یک علف‌کش بنزوتیادیا زول انتخابی برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ از قبیل سلمه، خرفه، ماشک گل خوشه‌ای، تاتوره، گاوپنبه، علف هفت بند، خردل وحشی و توق است و تنها علف کش پس‌رویشی است که طی سالیان متمادی برای کنترل علف‌های هرز زراعت لوبیا مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۷). هزینه مدیریت علف‌های هرز با استفاده از مقادیر کاهش یافته علف‌کش‌ها در مراحل

رشد علف‌های هرز کاهش خواهد یافت (۲۴). هارکر و همکاران (۱۶) در مقایسه کاربرد غلظت کامل و نصف علف‌کش‌های ایمازتاپیر و ایمازامکس به صورت مخلوط مشاهده نمودند که بین غلظت کامل و نصف تفاوتی از نظر عملکرد گیاه زراعی وجود ندارد. یکی دیگر از راهکارهایی که به منظور کاهش مصرف علف‌کش‌ها مطرح می‌باشد، استفاده از کشت مخلوط است. در کشت مخلوط می‌توان با پر کردن فضاهای خالی مانع از استقرار علف‌هرز در منطقه شد. کشت مخلوط یا زراعت همزمان دو یا چند محصول در یک قطعه زمین، از جمله قدیمی‌ترین نظام‌های زراعی جهان محسوب می‌شود (۱۷). پوگیو (۲۲) با بررسی اثر تراکم و آرایش کاشت بر رشد علف‌های هرز گزارش کرد که افزایش تراکم و انتخاب آرایش کاشت مناسب گیاه زراعی، باعث کاهش رشد علف‌های هرز و افزایش توان رقابتی گیاه زراعی در کنترل علف‌های هرز می‌شود. از این دو فاکتور می‌توان به عنوان ابزاری موثر در جهت کاهش مصرف علف‌کش‌ها استفاده کرد. نتایج برخی آزمایشات نشان دهنده افزایش کارایی مصرف نور (۳)، عناصر غذایی (۲۵)، آب و زمین در سیستم‌های کشت مخلوط نسبت به تک کشتی می‌باشد. نور جزء مهم‌ترین منابع مصرفی در رشد و نمو گیاهان می‌باشد. تراکم کاشت یکی دیگر از عوامل مهم در تعیین عملکرد گیاهان محسوب می‌شود، تراکم کاشت نه تنها تعیین کننده رقابت جهت دستیابی به نور و عناصر غذایی است، بلکه تقسیم و تخصیص ماده خشک بین اندام‌های گیاهی را نیز کنترل می‌کند (۲). مطالعه‌ای مشخص شد که با افزایش تراکم کاشت لوبیا از ۲۰ به ۳۰ و ۴۰ بوته در متر مربع، میزان عملکرد نیز به ترتیب ۱۵/۴ و ۲۴/۷ درصد افزایش یافت و زیست توده علف‌های هرز نیز با افزایش تراکم از ۲۰ به ۴۰ به میزان ۳۰ درصد کاهش یافت (۲۰).

پرویزی و همکاران (۲۱) در بررسی تاثیر تراکم بر ارقام لوبیا نشان دادند که با افزایش تراکم، صفات روز تا رسیدگی، تعداد غلاف در بوته، وزن ۱۰۰ دانه و درصد پروتئین کاهش یافت؛ هر چند به دلیل افزایش تعداد غلاف در واحد سطح، عملکرد دانه افزایش یافت. در آزمایشی میزان عملکرد در شرایط بدون علف‌هرز در بین ارقام اختر (تیپ رشدی ایستاده)، گلی (تیپ رشدی رونده) و کشت مخلوط به ترتیب ۴۴۷۸، ۴۲۱۶ و ۴۱۶۵ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. از میان دزهای کاهش یافته، تنها در رقم گلی استفاده از دز ۷۵ درصد علف‌کش ایمازتاپیر عملکرد بالای ۴۰۰۰ کیلوگرم داشت و میزان عملکرد در کاربرد دز ۷۵ درصد در رقم اختر و کشت مخلوط به ترتیب ۳۶۱۷ و ۳۶۴۱ کیلوگرم در هکتار به دست آمد (۵).

با توجه به اهمیت مطلب و ناکافی بودن تحقیقات در موارد ذکر شده، این تحقیق به منظور بررسی روش‌های کشت خالص و مخلوط ارقام لوبیا با تراکم‌های مختلف به منظور تاثیر آنها بر کاهش دُز مصرفی علف‌کش بنتازون، کنترل علف‌های هرز و نیز عملکرد گیاه زراعی انجام گرفته است. کشت مخلوط با این فرض در بین تیمارهای

ارزیابی زیست توده علف‌های هرز هر دو هفته یک بار پس از سمپاشی توسط کادر ۲۵×۱۰۰ سانتی‌متری از دو ردیف میانی انجام گرفت. در هر مرحله نمونه‌های داخل هر کادر کف‌بر شد و در آزمایشگاه وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان فصل رشد در شهریور ماه به منظور تعیین عملکرد با حذف اثرات حاشیه از دو ردیف میانی با یک کادر ۱×۱ متری برداشت انجام شد و در آزمایشگاه پس از جداسازی دانه‌ها، عملکرد مورد محاسبه قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها به وسیله نرم افزارهای SAS و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون LSD محافظت شده در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت. و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار SigmaPlot 12.0 ترسیم شدند. همچنین از معادله سیگموئیدی سه پارامتری برای بیان تغییرات زیست توده‌ی علف‌های هرز نسبت به پیشرفت فصل رشد استفاده شد که در این معادله a حداکثر مقدار زیست توده علف هرز، b شیب خط، X0 نقطه تولید ۵۰ درصد ماده خشک علف‌هرز بود.

$$f = a / (1 + \exp(-(x - x_0)/b)) \quad (1)$$

نتایج و بحث

اثر علف‌کش بنتازون بر زیست توده علف‌های هرز: معادله سیگموئیدی سه پارامتری برای بیان تغییرات زیست توده‌ی علف‌های هرز نسبت به پیشرفت فصل رشد، برآزش داده شد و روند تغییرات زیست توده در (شکل ۱) و ضرایب معادلات (جدول ۱) ارائه شده است. نتایج آزمایش نشان داد که کاربرد علف‌کش در دزهای ۵۰ و ۱۰۰ درصد، بر روی میزان زیست توده‌ی علف‌های هرز موثر و با پیشرفت فصل رشد، تفاوت‌ها بیشتر شد. حداکثر زیست توده علف‌های هرز در دزهای ۵۰ و ۱۰۰ درصد به ترتیب ۵۹۲/۲، ۳۸۹/۵ و ۱۹۸/۶ گرم در مترمربع بود. به طوری که حداکثر زیست توده علف‌های هرز در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ درصد نسبت به تیمار شاهد بدون کنترل به ترتیب ۳۴/۳ و ۶۶/۵ درصد کاهش پیدا نمود که نشان از تأثیرگذاری خوب علف‌کش بر علف‌های هرز حتی در دزهای کاهش یافته است (شکل ۱).

آزمایش قرار گرفت که کشت این دو تیپ ارقام در کنار هم می‌تواند کاستی‌های یکدیگر را پوشش داده و ضمن اینکه برداشت رقم رونده ساده‌تر گردد، رقابت پذیری رقم ایستاده افزایش یابد.

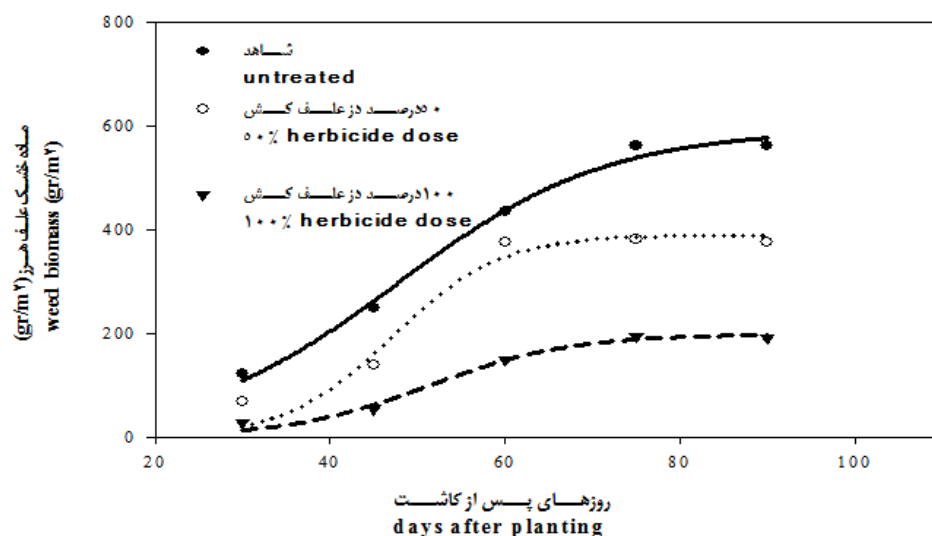
مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. عملیات تهیه‌ی بستر بذر با زدن یک شخم در پاییز آغاز و در بهار عملیات آماده سازی بستر بذر با انجام دو دیسک عمود بر هم آغاز و نهایتاً با انجام یک کولتیواتور تکمیل شد. برای کاشت (۲۵ اردیبهشت ماه) در هر کرت با استفاده از کج بیل خطوطی به عمق ۴-۵ سانتی‌متر ایجاد شد. بذرهای لوبیا با فاصله بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر و فواصل ردیف‌های تعیین شده و تراکم‌های مختلف به روش کپه‌کاری کشت گردیدند. اندازه کرت‌های آزمایشی ۴ متر طول در ۲ متر عرض (شامل ۴ ردیف لوبیا) در نظر گرفته شد. جهت اعمال تیمارهای کشت مخلوط در هر ردیف، یک رقم و به صورت یک در میان کشت گردید. بعد از کاشت بذرهای لوبیا آبیاری به فاصله هر ۵ روز یکبار انجام گرفت. آزمایش مزرعه‌ای بصورت فاکتوریل (با سه عامل) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با ۴ تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل کشت تک کشتی رقم اختر (تیپ رشدی ایستاده)، رقم گلی (تیپ رشدی رونده) و کشت مخلوط این دو رقم در کنار هم به صورت ردیفی و با نسبت ۱:۱، تراکم کاشت لوبیا در سه سطح شامل: تراکم بهینه کاشت (رقم گلی ۴۰ و رقم اختر ۵۰ بوته در متر مربع)، ۲۰ و ۴۰ درصد بیشتر از تراکم بهینه هر دو رقم اختر و گلی و دزهای علف‌کش بنتازون در سه سطح (بر پایه دز توصیه شده ۲/۵ لیتر در هکتار از شکل تجاری علف‌کش با نام بازآگران به عنوان دز ۱۰۰ درصد و مقادیر ۵۰ و ۰ درصد از دز توصیه شده) (۰٪، ۵۰٪ و ۱۰۰٪). سمپاشی در مرحله ظهور ۲-۳ برگ حقیقی لوبیا و سبز شدن علف‌های هرز (مرحله ۲ تا ۴ برگ) با یک سمپاش پشتی مجهز به نازل شره‌ای کالیبره شده براساس پاشش ۳۰۰ لیتر آب در هکتار و با فشار ۲ تا ۲/۵ بار در ساعات اولیه صبح انجام شد.

جدول ۱- پارامترهای مربوط به مدل سه پارامتری سیگموئیدی اثر دزهای علف‌کش بنتازون بر ماده خشک علف‌های هرز
Table 1- Parameter related to the sigmoid model 3 parameters of bentazon herbicide dose on weeds biomass

Treatment	f = a/(1+exp(-(x-x ₀)/b))	a (st)	b(st)	x ₀ (st)	R ²	P
untreated شاهد		592.9(28.5)	11.9(1.8)	47.7(2)	0.99	0.007
۵۰ درصد غلظت علف‌کش Herbicide dose 50 %		389.5(32.3)	6.1(2.8)	47.1(3)	0.96	0.03
۱۰۰ درصد غلظت علف‌کش Herbicide dose 100%		198.6(13)	8.1(2)	51.3(2.5)	0.98	0.01

a: حداکثر مقدار زیست توده علف هرز، b: شیب خط، X₀: دز مورد نیاز علف‌کش جهت کاهش زیست توده علف‌هرز به ۵۰ درصد، St: میزان خطای استاندارد
a: Maximum weed dry matter, b: Slope of the curve, X₀: point of dry matter to 50%, St: standard error



شکل ۱- اثر غلظت‌های علف‌کش بنتازون بر زیست توده‌ی علف‌های هرز در طول دوره رشد
Figure 1- Effect bentazon herbicide doses on weeds biomass during the growing season

جهت برآورد وزن خشک علف‌های هرز در طول دوره رشد در جدول (۳) ارائه شده است. نتایج آزمایش نشان داد که حداکثر مقدار ماده خشک علف‌های هرز در کشت خالص رقم اختر، کشت خالص رقم گلی و ترکیب ارقام به ترتیب ۴۷۱/۳، ۳۹۰ و ۴۱۴ (گرم در متر مربع) بود که نشان از نقش مثبت رقم گلی در سرکوبی علف‌های هرز است که به دلیل خاصیت رونده بودن و خوابیدگی در بین ردیف‌های کاشت مانع از رشد علف‌های هرز گردیده است. رقم رونده با دارا بودن توان پوشاندگی سریع، فضا را از علف‌هرز گرفته و می‌تواند از این خاصیت در کنار مصرف غلظت‌های پایین‌تر از حد توصیه شده علف‌کش، در کاهش زیست توده علف‌های هرز موثر باشد.

اثر تراکم‌های مختلف کاشت بر زیست توده‌ی علف‌های هرز: نتایج آزمایش نشان داد که افزایش تراکم کاشت بر روی زیست توده‌ی علف‌های هرز موثر است. بطوری که میزان حداکثر زیست توده‌ی علف‌های هرز در تراکم ۴۰ درصد بیشتر از تراکم بهینه کاشت نسبت به تراکم بهینه کاشت ۲۱/۷ درصد کاهش یافت (شکل ۲ و جدول ۲). در آزمایشی با افزایش تراکم باقلا از هشت بوته به ۱۴ بوته در متر مربع، وزن خشک کل علف‌های هرز با ۱۰/۳۳ درصد کاهش از ۹۲/۴۲ به ۸۳/۷۶ گرم در مترمربع رسید (۱۰). عظیم خان و ماروات (۴) در بررسی چهار مقدار بذر ۱۰۰، ۱۲۰، ۱۴۰ و ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار از گندم، کم‌ترین وزن خشک علف‌های هرز در تراکم ۱۶۰ کیلوگرم بذر به میزان ۱۶۲۷ کیلوگرم در هکتار گزارش نمودند.

اثر ارقام اختر و گلی در کشت خالص و ترکیبی بر زیست توده‌ی علف‌های هرز: ضرایب مربوط به برازش معادله سیگموئیدی

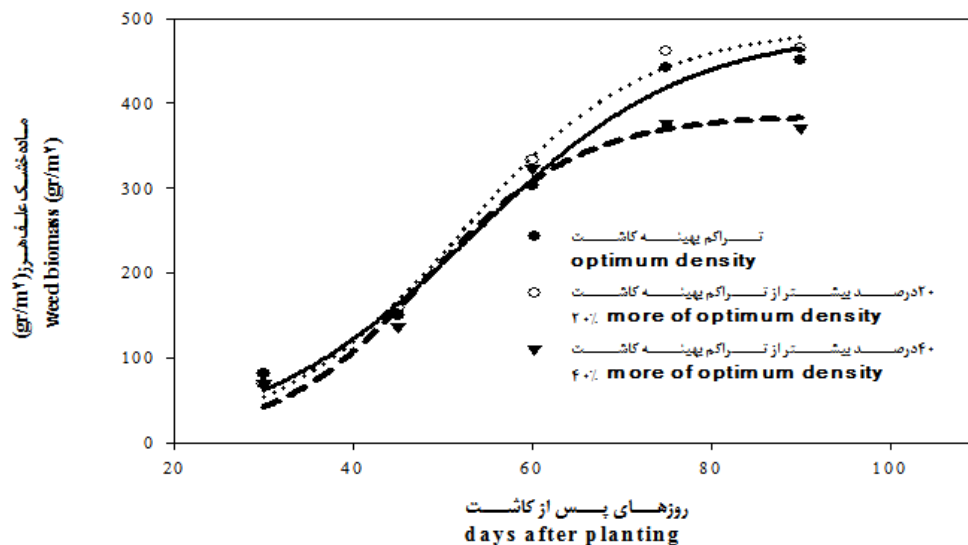
جدول ۲- پارامترهای مربوط به مدل سه پارامتری سیگموئیدی اثر تراکم‌های مختلف کاشت بر ماده خشک علف‌های هرز

Table 2- Parameter related to the sigmoid model 3 parameters of different densities on weeds biomass

$f = a / (1 + \exp(-(x - x_0)/b))$	a (st)	b (st)	x_0 (st)	R^2	P
Treatment تیمار					
تراکم بهینه کاشت planting optimum density	468.9(31.2)	9.8(2/2)	50.6(2.6)	0.01	0.98
۲۰٪ درصد بیش‌تر از تراکم بهینه کاشت 20% more planting optimum density	458.9(31)	9.8(2.3)	50(2.5)	0.98	0.01
۴۰٪ درصد بیش‌تر از تراکم بهینه کاشت 40% more planting optimum density	366.9(31.2)	7.8(2.9)	47.1(3.3)	0.96	0.03

a: حداکثر مقدار زیست توده علف هرز، b: شیب خط، x_0 : نقطه تولید ۵۰ درصد ماده خشک، St: میزان خطای استاندارد

a: Maximum weed dry matter, b: Slope of the curve, x_0 : point of dry matter to 50%, St: standard error



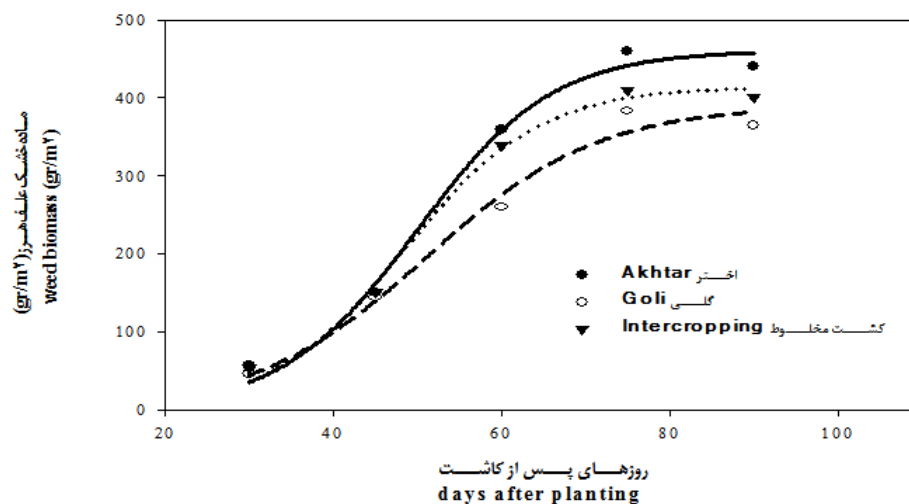
شکل ۲- اثر تراکم‌های مختلف کاشت لوبیا بر زیست توده‌ی علف‌های هرز در طول دوره رشد
Figure 2- Effect of different densities of bean on weeds biomass during the growing season

جدول ۳- پارامترهای مربوط به مدل سه پارامتری سیگموئیدی اثر روش کاشت بر ماده خشک علف‌های هرز

Table 3- Parameter related to the sigmoid model 3 parameters of planting method on weeds biomass

Treatment	a (st)	b (st)	x ₀ (st)	R ²	P
Akhtar	471.3 (32.2)	(2.1)7.9	(2.6)50.3	0.98	0.01
Goli	390.09 (28.6)	10.2(2.4)	(2.9)51.09	0.98	0.01
Intercropping	414.07 (15.6)	(1.2)7.9	(1.4)48.5	0.99	0.006

a: حداکثر مقدار زیست توده علف هرز، b: شیب خط، X₀: نقطه تولید ۵۰ درصد ماده خشک، St: میزان خطای استاندارد
a: Maximum weed dry matter, b: Slope of the curve, X₀:point of dry matter to 50%, St: standard error



شکل ۳- اثر روش کاشت بر زیست توده‌ی علف‌های هرز در طول دوره رشد
Figure 3- Effect planting method on weeds biomass during the growing season

جدول ۴- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تراکم‌های مختلف کاشت، دز علف‌کش بنتازون (بازاگران) و روش کاشت بر عملکرد لوبیا
Table 4- Results of analysis of variance (mean squares) of different planting densities, herbicide dose and planting method on bean yield

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	عملکرد دانه Seed yield	عملکرد بیولوژیک Biologic yield	شاخص برداشت HI
Block بلوک	3	2233.12 ^{ns}	32766.16 ^{ns}	12.03 ^{ns}
Planting method روش کاشت	2	34193.86 ^{ns}	132762.48*	2726.68**
Herbicide علف کش	2	213728.37**	580829.45**	450.92 ^{ns}
Planting Density تراکم کاشت	2	19335.7**	832457.09**	1016.07**
PM*H روش کاشت*علف کش	4	198896.76**	347471.21*	835.15**
PM*PD روش کاشت*تراکم کاشت	4	39177.86*	114217.86*	751.16**
H*PD علف کش*تراکم کاشت	4	70023.18**	130988.55**	922.11**
PM*PD*H روش کاشت*تراکم کاشت*علف کش	8	67148.15**	177088.58**	396.68 ^{ns}
Error خطا	78	13912.4	33101.59	200.74
Total کل	107	44.6	31.7	36
CV ضریب تغییرات				

ns ، * و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۱۰ درصد
ns ، *، ** Non Significant, Significant at 5% and 1% levels of probability, respectively.

علف کش عملکرد در همه ارقام لوبیا نسبت به شاهد افزایش یافت. در رقم اختر با افزایش دز علف کش عملکرد دانه روندی افزایشی داشت اما در رقم گلی و کشت مخلوط بیشترین عملکرد در دز ۵۰ درصد علف کش مشاهده شد، اگر چه با دز ۱۰۰ درصد علف کش اختلاف معنی داری نداشت. نتایج نشان داد که افزایش دز علف کش تأثیرپذیری بیشتری بر رقم اختر نسبت به رقم گلی داشت. که می توان دلیل آن را توانایی رقابتی کمتر رقم اختر در برابر علف های هرز دانست که کاربرد علف کش تأثیر بیشتری بر عملکرد آن از طریق سرکوبی علف های هرز داشته است. همچنین نتایج اثر متقابل روش کاشت در تراکم کاشت لوبیا بر عملکرد دانه نشان داد که با افزایش تراکم کاشت، عملکرد دانه در واحد سطح روندی افزایشی داشت، بطوری که بیشترین و کمترین عملکرد در همه ارقام به ترتیب در تراکم ۴۰ درصد بیشتر از تراکم بهینه و تراکم بهینه مشاهده شد (جدول ۶). بیشترین عملکرد با مقدار (۳۴۶/۵ گرم در مترمربع) در کشت مخلوط و تراکم ۴۰ درصد بیشتر از تراکم بهینه مشاهده شد که نسبت به تراکم بهینه (۲۲۶/۴ گرم در مترمربع)، عملکرد ۳۴ درصد افزایش یافت، اما اختلاف معنی داری با کشت خالص رقم اختر و گلی در همین تراکم کاشت نداشت. افزایش عملکرد دانه به موازات افزایش تراکم بوته، به واسطه استقرار بوته بیشتر و افزایش تعداد غلاف های تولیدی در واحد سطح می باشد.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل علف کش در تراکم کاشت نشان داد که بیشترین عملکرد دانه مربوط به دز ۱۰۰ درصد علف کش و تراکم ۴۰ درصد بیشتر از تراکم بهینه (۴۲۴/۱ گرم در مترمربع) بود و

همچنین این تفاوت در توانایی رقابت ارقام در سرکوبی علف های هرز در طول دوره رشد به خوبی مشاهده گردید (شکل ۳). فریدنیا و همکاران (۱۳) در مطالعات خود روی گندم مشاهده کردند که هر چه قدرت رقابت (شاخص رقابتی) بیشتر باشد، عملکرد دانه گندم بیشتر بوده و رشد علف هرز کاهش خواهد یافت. نتایج آزمایشی نشان داد که کشت مخلوط جو و نخود بر تراکم و بیومس علف های هرز تأثیر معنی داری داشت. بطوریکه بیشترین تراکم (۴۴ بوته در مترمربع) وزیست توده علف هرز (۱۳۰ گرم در متر مربع) در کشت خالص نخود بدست آمد. کشت مخلوط جو با نخود تراکم (۱۷/۳ بوته در متر مربع) و زیست توده علف هرز (۱۲/۴ گرم در متر مربع) را کاهش داد (۱۵).

عملکرد دانه، بیولوژیک و شاخص برداشت لوبیا

عملکرد دانه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های آزمایش نشان داد که اثر اصلی علف کش و تراکم کاشت و اثرات متقابل دو گانه علف کش در تراکم کاشت، علف کش در روش کاشت و همچنین اثر سه گانه آنها بر عملکرد دانه در سطح ۱ درصد و اثر متقابل روش کاشت در تراکم کاشت در سطح ۵ درصد معنی دار شد (جدول ۴). مقایسه میانگین ها (جدول ۵) نشان داد که بیشترین و کمترین عملکرد دانه در اثر متقابل روش کاشت در علف کش به ترتیب مربوط به رقم اختر در کشت خالص و ۱۰۰ درصد دز علف کش بنتازون (۸۶/۴۶۳ گرم در مترمربع) و رقم اختر در کشت خالص و دز ۰ علف کش (۱۳۲/۹ گرم در مترمربع) بود (جدول ۵). نتایج نشان داد با کاربرد

بیولوژیک در دز ۵۰ درصدی علف‌کش مشاهده شد اگر چه با دز ۱۰۰ درصد اختلاف معنی‌داری نداشت، اما می‌توان با کشت مخلوط دو رقم دز مصرفی علف‌کش را تا حدی کاهش داد. این موضوع نشان می‌دهد که با استفاده از روش‌های تلفیقی مبارزه با علف‌های هرز دز مصرفی علف‌کش را بدون کاهش در عملکرد لوبیا، کاهش داد.

همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل روش کاشت در تراکم کاشت نشان داد که با افزایش تراکم کاشت در همه ارقام عملکرد بیولوژیک افزایش معنی‌داری یافت بطوری که عملکرد بیولوژیک در کشت مخلوط و تراکم ۴۰ درصد (۸۱۳/۷ گرم در مترمربع) نسبت به تراکم بهینه (۵۴۵/۶ گرم در مترمربع) ۳۲/۹ درصد افزایش یافت (جدول ۶). کاهش ۴۵ درصدی عملکرد لوبیا در اثر تداخل علف‌های هرز نیز توسط لاک و همکاران (۱۶) گزارش شده است. بوروماندان و همکاران (۶) گزارش کردند تراکم‌های مختلف سویا اثر معنی‌داری روی عملکرد داشت و عملکرد دانه با افزایش تراکم از ۱۵ (۲۵۱۳/۶ کیلوگرم در هکتار) به ۴۵ (۳۸۷۱/۱ کیلوگرم در هکتار) بوته در مترمربع افزایش پیدا کرد. علی‌رغم کاهش عملکرد تک بوته در تراکم‌های بالا، عملکرد در واحد سطح افزایش یافت و کاهش عملکرد تک بوته از طریق افزایش تعداد گیاه در واحد سطح جبران شد. اثر برهمکنش علف‌کش و تراکم کاشت نشان داد که بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک مربوط به دز ۱۰۰ درصد علف‌کش و تراکم ۴۰ درصد (۹۲۹/۸ گرم در متر مربع) بود که نسبت به تراکم بهینه و دز ۰ علف‌کش ۶۳/۳ درصد افزایش یافت (جدول ۷). نتایج حاکی از آن است که تراکم کاشت و کاربرد علف‌کش تأثیر بسزایی در افزایش عملکرد گیاه زراعی از طریق سرکوبی علف‌های هرز و افزایش توانایی رقابتی گیاه زراعی دارند. اما عملکرد بیولوژیک در دز ۱۰۰ درصد و تراکم ۴۰ درصد اختلاف معنی‌داری با دز ۵۰ درصد علف‌کش و تراکم‌های ۲۰ و ۴۰ درصد کاشت نداشت.

مقایسه میانگین اثر سه‌گانه نشان داد که اثر سه‌گانه اگر چه اثر مثبتی بر عملکرد بیولوژیک داشت اما این روند در همه روش‌های کاشت و تراکم‌های کاشت یکسان نبود. نتایج نشان داد که بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک در کشت مخلوط مربوط به دز ۵۰ درصدی علف‌کش و تراکم کاشت ۴۰ درصد به میزان ۱۱۶۶ گرم در متر مربع بود (جدول ۸). نتایج نشان داد که عملکرد بیولوژیک در دز ۱۰۰ درصدی علف‌کش در همین تیمار نسبت به دز ۵۰ درصدی پایین‌تر بود که می‌تواند به دلیل کنترل کامل علف‌های هرز در دز ۱۰۰ درصدی علف‌کش باشد که باعث ایجاد رقابت بین دو رقم لوبیا و استفاده از رقم اختربه عنوان قیم و پوشاننده شدن رقم اختر، توسط رقم گلی باشد. اما در دز ۵۰ درصدی علف‌کش، عدم کنترل کامل علف‌های هرز و رقابت رقم گلی با علف‌های هرز و استفاده از علف‌های هرز به عنوان قیم و سرکوبی آنها مانع از تأثیر منفی رقم گلی بر روی رقم اختر و کاهش عملکرد باشد (جدول ۸).

کم‌ترین عملکرد دانه مربوط به عدم کاربرد علف‌کش و تراکم بهینه کاشت (۱۰۶/۸ گرم در متر مربع) بود، که نشان دهنده نقش مثبت کاربرد علف‌کش و افزایش تراکم کاشت بر عملکرد دانه است (جدول ۷). همچنین مقایسه میانگین اثر سه‌گانه بر عملکرد دانه نشان داد که تقریباً در تمام ارقام با افزایش دز علف‌کش و افزایش تراکم کاشت عملکرد دانه روندی افزایشی داشت. بطوری که بیش‌ترین عملکرد دانه مربوط به کشت خالص رقم اختر، دز ۱۰۰ درصد علف‌کش و تراکم ۴۰ درصد بیشتر از تراکم بهینه کاشت (۶۲۶/۹ گرم در مترمربع) بود، اما در رقم گلی عملکرد دانه در دز ۵۰ درصدی علف‌کش و تراکم ۲۰ درصد بیشتر از تراکم بهینه با دز ۱۰۰ درصدی علف‌کش و تراکم ۴۰ درصد بیشتر از تراکم بهینه کاشت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت که دلیل بالا نبودن عملکرد با افزایش دز علف‌کش در این تیمار می‌تواند به دلیل تراکم بالای کاشت و ایجاد رقابت درون گونه‌ای باشد (جدول ۸). نتایج نشان داد که افزایش دز علف‌کش و تراکم کاشت تأثیر پذیری بیشتری بر رقم اختر نسبت به رقم گلی داشت. در رقم اختر افزایش تراکم کشت از طریق جلوگیری از رشد علف‌های هرز و سرکوبی آنها باعث افزایش توان رقابتی رقم اختر و در نتیجه افزایش عملکرد شد اما در رقم گلی این تأثیرپذیری به دلیل خاصیت رونده بودن و خوابیدگی در بین ردیف‌های کاشت و توان پوشانندگی سریع، فضا را از علف‌هرز گرفته و مانع از رشد علف‌های هرز گردیده است، کمتر بود. در آزمایشی میزان عملکرد در شرایط بدون علف‌هرز در بین ارقام اختر (تیپ رشدی ایستاده)، گلی (تیپ رشدی رونده) و کشت مخلوط به ترتیب ۴۴۷۸، ۴۲۱۶ و ۴۱۶۵ کیلوگرم در هکتار بدست آمد. از میان دزهای کاهش یافته، تنها در رقم گلی استفاده از دز ۷۵ درصد علف‌کش ایمازاتاپیر عملکرد بالای ۴۰۰۰ کیلوگرم داشت و میزان عملکرد در کاربرد دز ۷۵ درصد در رقم اختر و کشت مخلوط به ترتیب ۳۶۱۷ و ۳۶۴۱ کیلوگرم به دست آمد (۴).

عملکرد بیولوژیک: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی علف‌کش و تراکم کاشت در سطح ۱ درصد و اثر اصلی روش کاشت در سطح ۵ درصد، اثرات دوگانه علف‌کش در روش کاشت و روش کاشت در تراکم کاشت در سطح ۵ درصد و اثر دوگانه علف‌کش در تراکم کاشت در سطح ۱ درصد و اثر سه‌گانه آنها در سطح ۱ درصد بر عملکرد بیولوژیک معنی‌دار بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل روش کاشت در علف‌کش نشان داد که در دز ۱۰۰ درصد علف‌کش، عملکرد بیولوژیک به ترتیب در رقم اختر در کشت خالص، گلی در کشت خالص و کشت ترکیبی برابر با ۸۳۲/۱، ۵۷۱/۱ و ۶۰۲/۷ گرم در مترمربع بود (جدول ۵). در رقم اختر کاربرد و افزایش دز علف‌کش تأثیر بسزایی بر عملکرد بیولوژیک داشت و بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک در رقم اختر در دز ۱۰۰ درصد علف‌کش مشاهده شد اما در رقم گلی و کشت مخلوط بیش‌ترین عملکرد

جدول ۵- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل روش کاشت و علف کش بر عملکرد لوبیا

Table 5- Mean comparison results of interaction effects of herbicide application and planting method on bean yield

روش کاشت Planting method	علف کش (%) Herbicide	عملکرد دانه (گرم در مترمربع) Seed yield (gr/m ²)	عملکرد بیولوژیک (گرم در مترمربع) Biologic yield (gr/m ²)	شاخص برداشت (%) HI (%)
Akhtar اختر	0	132.92 ^d	317.48 ^e	38.39 ^{ab}
Akhtar اختر	50	173.62 ^d	406.89 ^{de}	37.45 ^{ab}
Akhtar اختر	100	463.86 ^a	832.63 ^a	55.4 ^a
Goli گلی	0	134.75 ^d	428.59 ^{cde}	23.91 ^b
Goli گلی	50	341.31 ^{abc}	682.8 ^{abc}	37.12 ^{ab}
Goli گلی	100	179.88 ^{cd}	571.07 ^{bcde}	22.34 ^b
Intercropping مخلوط	0	220.52 ^{bcd}	539.64 ^{bcde}	38.76 ^{ab}
Intercropping مخلوط	50	372.25 ^{ab}	740.44 ^{ab}	44.05 ^a
Intercropping مخلوط	100	246.84 ^{bcd}	602.7 ^{abcd}	42 ^{ab}

جدول ۶- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل روش کاشت و تراکم کاشت بر عملکرد لوبیا

Table 6 -Mean comparison results of interaction effects on planting method and planting density on bean yield

روش کاشت Planting method	تراکم کاشت Planting density	عملکرد دانه (گرم در مترمربع) Seed yield (gr/m ²)	عملکرد بیولوژیک (گرم در مترمربع) Biologic yield (gr/m ²)	شاخص برداشت (%) HI (%)
Akhtar اختر	optimum density	228.26 ^{ab}	470.32 ^{cd}	42.39 ^a
Akhtar اختر	20 % higher than the optimum density	247.58 ^a	478.95 ^{cd}	47.47 ^a
Akhtar اختر	40 % higher than the optimum density	294.57 ^a	607.15 ^{abc}	41.43 ^a
Goli گلی	optimum density	67.24 ^b	311.89 ^d	11.71 ^b
Goli گلی	20 % higher than the optimum density	271.13 ^a	572.67 ^{abc}	38.14 ^a
Goli گلی	40 % higher than the optimum density	317.58 ^a	798.13 ^{ab}	33.52 ^a
Intercropping مخلوط	optimum density	226.47 ^{ab}	545.63 ^{bcd}	41.81 ^a
Intercropping مخلوط	20 % higher than the optimum density	265.93 ^a	555.97 ^{bcd}	41.58 ^a
Intercropping مخلوط	40 % higher than the optimum density	346.55 ^a	813.76 ^a	41.90 ^a

جدول ۷- نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل علف کش بتازون و تراکم کاشت بر عملکرد لوبیا

Table 7- Mean comparison results of interaction effects on herbicide application and Planting density on bean yield

علف کش (%) Herbicide (%)	تراکم کاشت Planting density	عملکرد دانه (گرم در مترمربع) Seed yield (gr/m ²)	عملکرد بیولوژیک (گرم در مترمربع) Biologic yield (gr/m ²)	شاخص برداشت (%) HI (%)
0	optimum density	106.88 ^d	340.89 ^c	29.49 ^b
0	20 % higher than the optimum density	154.71 ^{cd}	400.7 ^c	31.39 ^b
0	40 % higher than the optimum density	226.61 ^{cd}	544.13 ^{bc}	40.18 ^{ab}
50	optimum density	180.79 ^{cd}	427.68 ^c	30.3 ^b
50	20 % higher than the optimum density	398.45 ^{ab}	689.19 ^{ab}	55.6 ^a
50	40 % higher than the optimum density	307.94 ^{abc}	745.13 ^{ab}	33.14 ^b
100	optimum density	234.29 ^{bcd}	558.28 ^{bc}	36.11 ^{ab}
100	20 % higher than the optimum density	231.48 ^{cd}	517.7 ^{bc}	40.2 ^{ab}
100	40 % higher than the optimum density	424.15 ^a	929.78 ^a	43.52 ^{ab}

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD ندارند ($p \leq 0.05$).

Means followed by the same letter are not significantly different ($p > 0.05$) according to the LSD test.

جدول ۸- نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سه گانه کاربرد علف‌کش، روش کاشت و تراکم کاشت بر عملکرد لوبیا
 Table 8- Mean comparison results of interaction effects on herbicide application × planting method × planting density on bean yield

روش کاشت Planting method	علف‌کش (%) Herbicide (%)	تراکم کاشت Planting density	عملکرد دانه (گرم در مترمربع) Seed yield (gr/m ²)	عملکرد بیولوژیک (گرم در مترمربع) Biologic yield (gr/m ²)	شاخص برداشت (%) HI (%)
اکتار	0	optimum density	107.99 ^{ijk}	271.55 ^{ij}	38.43 ^{bcdefghi}
اکتار	0	40 % higher than the optimum density	123.84 ^{ijk}	312.09 ^{hij}	34.91 ^{cdefghi}
اکتار	0	40 % higher than the optimum density	166.93 ^{ghijk}	368.79 ^{ghij}	41.83 ^{abcdefgh}
اکتار	50	optimum density	204.27 ^{ghi}	400.46 ^{fghij}	37.89 ^{bcdefghi}
اکتار	50	40 % higher than the optimum density	226.76 ^{efghi}	425.96 ^{efghij}	51.39 ^{abcd}
اکتار	50	40 % higher than the optimum density	89.83 ^{ijk}	394.24 ^{fghij}	23.06 ^{hij}
اکتار	100	optimum density	372.52 ^{cdef}	738.95 ^{bc}	50.84 ^{abcde}
اکتار	100	40 % higher than the optimum density	392.13 ^{bcde}	698.8 ^{bcd}	56.11 ^{ab}
اکتار	100	40 % higher than the optimum density	626.95 ^a	1058.41 ^a	59.40 ^a
گلی	0	optimum density	34.12 ^{ik}	201.62 ^j	12.93 ^{ik}
گلی	0	40 % higher than the optimum density	179.28 ^{ghij}	467.28 ^{defghi}	30.21 ^{fghij}
گلی	0	40 % higher than the optimum density	190.85 ^{ghij}	616.87 ^{cdefg}	28.59 ^{ghij}
گلی	50	optimum density	155.56 ^{hijk}	458.36 ^{defghi}	19.49 ^{ijk}
گلی	50	40 % higher than the optimum density	553.14 ^{ab}	912.78 ^{ab}	60.12 ^a
گلی	50	40 % higher than the optimum density	315.23 ^{defgh}	675.1 ^{bcde}	31.73 ^{defghij}
گلی	100	optimum density	12.02 ^{JK}	272.67 ^{ij}	2.7 ^{JK}
گلی	100	40 % higher than the optimum density	80.95 ^{ijk}	337.93 ^{hij}	24.09 ^{hij}
گلی	100	40 % higher than the optimum density	446.66 ^{bcd}	1102.42 ^a	40.23 ^{abcdefgh}
مخلوط	0	optimum density	178.52 ^{ghij}	549.5 ^{cdefgh}	37.1 ^{bcdefghi}
Intercropping مخلوط	0	40 % higher than the optimum density	160.99 ^{ghijk}	422.71 ^{efghij}	29.04 ^{ghij}
Intercropping مخلوط	0	40 % higher than the optimum density	322.04 ^{defg}	646.72 ^{cdef}	50.14 ^{abcdef}
Intercropping مخلوط	50	optimum density	182.54 ^{ghij}	424.2 ^{efghij}	33.53 ^{defghi}
Intercropping مخلوط	50	40 % higher than the optimum density	415.44 ^{bcd}	728.84 ^{bc}	55.28 ^{ab}
Intercropping مخلوط	50	40 % higher than the optimum density	518.77 ^{abc}	1166.05 ^a	44.62 ^{abcdefg}
Intercropping مخلوط	100	optimum density	221.35 ^{fghi}	663.21 ^{bcde}	54.8 ^{abc}
Intercropping مخلوط	100	40 % higher than the optimum density	318.34 ^{defgh}	516.37 ^{cdefghi}	40.41 ^{abcdefgh}
Intercropping مخلوط	100	40 % higher than the optimum density	198.85 ^{ghij}	628.51 ^{cdef}	30.93 ^{efghij}
Intercropping		optimum density			

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون LSD ندارند ($p \leq 0.05$).

Means followed by the same letter are not significantly different ($p > 0.05$) according to the LSD test.

بین شاخص برداشت در دز ۵۰ درصدی علف‌کش و تراکم ۲۰ درصد کاشت با دز ۱۰۰ درصدی علف‌کش و تراکم ۴۰ درصد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

کاربرد علف‌کش و افزایش تراکم کاشت نقش مثبتی بر شاخص برداشت داشت و کم‌ترین شاخص برداشت با مقدار ۲۹/۴ درصد مربوط به تیمار عدم کاربرد علف‌کش و تراکم بهینه کاشت بود (جدول ۷). نتایج حاکی از آن است که می‌توان با استفاده از سایر روش‌های مدیریتی چون افزایش تراکم کاشت تا حدی که موجب رقابت درون گونه‌ای نشود، دز مصرفی علف‌کش را کاهش داد.

نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد استفاده از ارقام با قدرت رقابتی بالا در کشت مخلوط به دلیل خاصیت پوشانندگی، تسخیر فضا و توانایی رقابت بالا با علف‌های هرز و همچنین افزایش تراکم کاشت نقش مهمی در سرکوبی علف‌های هرز و افزایش عملکرد داشت. با توجه به قدرت رقابت رقم گلی هم در کشت خالص و هم در کشت مخلوط و قدرت پوشانندگی بالاتر آن نسبت به رقم ایستاده‌ی اختر، استفاده از این رقم می‌تواند در کنار دزهای کاهش یافته علف‌کش بنتازون به عنوان یک ترکیب مدیریتی مناسب مورد توجه قرار گیرد.

اما بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک در کشت خالص رقم اختر و گلی در به ترتیب با مقدار ۱۰۵۸/۴ و ۱۱۰۲/۴ گرم در متر مربع مربوط به دز ۱۰۰ درصدی علف‌کش و تراکم ۴۰ درصد کاشت بود، می‌توان نتیجه گرفت که با استفاده از سیستم کشت مخلوط و افزایش تراکم کاشت، می‌توان دز علف‌کش مصرفی را کاهش داد و عملکردی مناسب با استفاده از روش‌هایی جایگزین دزهای بالای علف‌کش بدست آورد.

شاخص برداشت: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی روش کاشت و تراکم کاشت و همچنین اثرات متقابل دوگانه در سطح ۱ درصد بر شاخص برداشت معنی‌دار بودند (جدول ۴). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیش‌ترین شاخص برداشت در اثر متقابل روش کاشت در علف‌کش مربوط به کشت خالص رقم اختر و دز ۱۰۰ درصد علف‌کش (۵۵/۴ درصد) بود اما با کشت مخلوط و دز ۵۰ درصد علف‌کش (۴۴ درصد) اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۵). همچنین اثر روش کاشت در تراکم کاشت بر شاخص برداشت روند مشخصی نداشت اما شاخص برداشت در کشت خالص رقم اختر و کشت ترکیبی بیشتر از رقم گلی بود (جدول ۶).

اثر متقابل علف‌کش در تراکم کاشت بر شاخص برداشت در بین تیمارهای مختلف متفاوت بود. بطوری که تقریباً با افزایش تراکم کاشت شاخص برداشت افزایش یافت (جدول ۷). نتایج نشان داد که

منابع

- 1- Amini R.A., and Fateh E. 2011. Effect of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) on growth indices and yield of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars. Journal of Agricultural and Sustainable 20(2): 4.
- 2- Anis R., Wells R., and Thomas G. 2001. Reproductive allocation of virginia-type peanut cultivars bred for yield in North Carolina. Crop Science 41: 72-77.
- 3- Awal M.A., Koshi H., and Iked T. 2006. Radiation interception and use by maize / peanut intercrop canopy. Agricultural and Forest Meteorology 139: 74- 83.
- 4- Azim Khan M., and Marwat K.B. 2006. Impact of crop and weed densities on competition between wheat and *Silybum marianum* gaertn. Pakistan Journal Biological Science 38(4): 1205- 1215.
- 5- Bagheri A., Rahimian H., and Oveisi M. 2018. Interaction of Imazethaper herbicide dose and bean cultivars (*Phaseolus vulgaris*) on weed control. Journal of Plant Protection 32(1): 1-9. (In Persian with English abstract).
- 6- Bastiaans L., Kropff M.J., Goudriaan J., and Van Laar H.H. 2000. Design of weed management systems with a reduced reliance on herbicides poses new challenges and prerequisites for modeling crop±weed interactions. Field Crop Research 67: 161-179.
- 7- Boroomandan P., Khoramivafa M., Hafhi Y., and Ebrahimi A. 2009. The effect of Nitrogen starter fertilizer and plant density on yield, yield components and oil and protein content of Soybean (*Glycine max* L.). Pakistan Journal of Biological Science 12(4): 378-382.
- 8- Coble H.D., and Mortensen D.A. 1992. The threshold concept and application to weed science. Weed- Technology- J-Weed-Science-Soc-Am 6(1): 191-195.
- 9- Conley P.S., Binning L.K., Boerboom C.M., and Stoltenberg D.E. 2002. Estimating giant foxtail cohort productivity in soybean based on weed density, leaf area, or volume. Weed Science 50: 72-78.
- 10- Dabaghzadeh M., Fathi Gh., Bakhshandeh A., and Almi-Said Kh. 2016. Effect of weed interference times on Faba Bean (*Vicia faba* L.) growth indices in different plant. Iranian Journal of Field Crops Research 14(2): 215-225. (In Persian with English abstract).
- 11- Fageria N.K., Baligar V.C., and Zobel R.W. 2007. Yield, nutrient uptake, and soil chemical properties as influenced by liming and boron application in common bean in a No-Tillage system. Communications in soil science and plant analysis 38:1637-1653.

- 12- FAO. 2010. Food and agriculture organization of the united nation quaterlybulletion of statistucs. rome, italy: FAO.
- 13- Farbodnia A., Baghestani M. A., Zand E., and NurMohammadi A.H. 2009. Evaluation of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars against Flixweed (*Descurainia sophia*). Plant Protect 23:74-81. (In Persian with English abstract)
- 14- Gathu W.E., and Njage P.M.K. 2012. Physical characterization of new advanced drought tolerant common bean (*Phaseolus vulgaris*) lines for canning quality. American Journal of Food Technology, Nairob 7(2): 22-28.
- 15- Hamzei J., and Seyedi M. 2015. Evaluation of Barley (*Hordeum vulgare*) and Chickpea (*Cicer arietinum*) intercropping systems using advantageous indices of intercropping under weed interference condition.jdas 5(9):1-12.
- 16- Harker K.N., Clayton G.W., Blackshaw R. E., O Donovan J.T., and Stevenson F. C. 2004. Seeding rate, herbicide timing and competitive hybrids contribute to integrated weed management in canola (*Brassica napus*). Canadian Journal of Plant Science 83(2): 433-440.
- 17- Hauggaard-Nielsen H., Andersen M.K., Jornsagaard B., and Jensen E.S. 2006. Density and relative frequency effects on competitive interactions and resource use in pea–barley intercrops. Field Crops Research 95: 256-267.
- 18- Hibberd J.M., Sheehy J.E., and Langdale A. 2008. Using C4 photosynthesis to increase the yield of rice-rationale and feasibility. Current Opinion in Plant Biology 11: 228-231.
- 19- Kavurmaci Z., Karadavut U., kokten K., and Bakoglu A. 2010. Determination critical period of weed-crop competition in Faba bean (*Vicia faba* L.). International Journal of Agriculture & Biology 12(2): 318-320.
- 20- Lack M.R., Dori H.R., Ramezani M.K., and Hadizadeh M.H. 2006. Determine the critical period of weed control bean. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 3.
- 21- Parvizi S., Amirnia R., Bernosy I., Paseban Islam B., Hasanzadeh Ghorttapeh A., and Raeii Y. 2011. Evaluation of different plant densities effects on rate and process of grain filling, yield and yield components in varieties of dry bean. Journal of Plant Production 18(1): 69-87. (In Persian with English abstract).
- 22- Poggio S.L. 2005. Structure of weed communities occurring in monoculture and intercropping of field pea and barley. Agriculture, Ecosystems and Environment 109: 48-58.
- 23- Rastegar A. 2005. Weed and their control methods. Tehran University Press. 413 pp.
- 24- Rosales-Robles E., Sanchez-de-la-Cruz R., Salinas-Garcia J., and Pecina- Quintero V. 2005. Broadleaf weed management in grain Sorghum with reduced rates of postemergence herbicides. Weed Technology 19(2):358-390.
- 25- Rowe E.C., Noordwijk M.V., Suprayogo D., and Cadisch G. 2005. Nitrogen use efficiency of monoculture and hedgerow intercropping in the humid tropics. Plant and Soil 268: 61–74.
- 26- Wang Y., Yang W.Y., Zhang X., Yong T.W., Liu W.G. Ben-Ying SU. 2006. Effects of shading at different growth stages on different traits and yield of Soybean. Acta Agronomica Sinica, 2013; 39: 1871. [[Google Scholar](#)]
- 27- Zand E., Bena Kashani F., Alizadeh H. M., Soufizadeh S., Ramezani K., Maknali A., and Fereidounpoor M. 2006. Resistance to Aryloxyphenoxypropionate herbicides in wild oat (*Avena ludoviciana*). Iranian Journal of Weed Science 2: 17-31.



Effect of Planting Pattern and Density on Control of Weeds and Yield of Red Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Varieties in the Presence of Bentazon Herbicide

P. Yadegar¹- R. Ghorbani^{2*}-A. Ghanbari³- H. Rahimian Mashhadi⁴

Received: 06-01-2020

Accepted: 24-02-2020

Introduction: Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is so sensitive to intercompetition especially with weed species. Weed management is an essential factor for the success of an agricultural production system. The use of high competitiveness figures is one of these approaches. Another way to manage properly is just to reduce herbicide dose using through the mixed herbicides in crops. By intercropping, filling the empty space prevents weed development in the area. Mixing or simultaneous cultivation of two or more species in one plot of land is one of the oldest agricultural systems in the world. Planting density is another important factor in determining plant yield. Planting density not only determines competition for light and nutrients, but also controls the distribution and allocation of dry matter between plant organs. The studies showed that by increasing bean planting density from 20 to 30 and 40 plants m², yield increased by 15.4% and 24.7%, respectively, and the weed biomass also increased by a density of 20 to 40 by 30 percent. The use of high competitive cultivars and increasing planting density are the main strategies to increase the competitive ability of beans against weeds. This study was carried out to investigate the methods of pure and mixed cultivation of bean cultivars with different densities for their effect on reduction of bentazone herbicide dose, weed control and crop yield.

Materials and Methods: In order to investigate the effect of planting density and reducing herbicide doses on weeds biomass and crop yield in pure and mixed cultivation of red bean cultivars, a field experiment was carried out at Agronomy Research Field of Ferdowsi University of Mashhad during 2013 - 2014. A factorial experiment (with three factors) was conducted in a completely randomized block design with 4 replications. Experimental treatments including bean planting densities in three levels consisting of optimum density (Goli 40 and Akhtar 50 /m²), 20 and 40 % higher than the optimum density of both Akhtar and Goli cultivars, and Bentazone herbicide concentrations (0, 50 and 100 %) based on the recommended dose (2.5 liters per hectare), and separate and mixed cultivation of Akhtar (standing) and Goli (ascending) cultivars were performed in rows (1:1). Weed biomass was evaluated every two weeks after spraying by 100*25 cm² cadaver from two middle rows. At the end of the growing season, a 1*1 m² staff was used to determine the performance. Data were analyzed by SAS 9.1 software and averages were compared with the LSD test at 5% probability level and the graphs were analyzed using SigmaPlot 12.0 software.

Results and Discussion: The results showed that for the weed biomass, the mixed cultivation of Akhtar and Goli cultivars was more than pure cultivation due to its success in suppressing high competitive weeds through rapid space cover, which can be attributed to this feature. It was used to reduce the herbicide dose. Also, the highest and lowest grain yield (respectively 463 and 132 g/m²) were found for the pure cultivation of Akhtar cultivar at concentration of 100 and 0 % herbicide, respectively. However, in flowering and mixed cultivars, the highest grain yield was observed at 372.2 and 341.3 g/m², at 50% herbicide concentration, which was also observed in biological yield. Results of interaction effect showed that the highest biological yield in intercropping (1166 g/m²) was observed for 50% herbicide concentration and 40% planting density. It can be, therefore, concluded that reduced doses of herbicides can only be used if the crop has high competitive ability and planting density is increased, which can reduce the competitive ability of weeds. The use of high competitive crops and increased density of crops have the greatest potential in suppressing weeds and reducing herbicide dosage. The previous studies also showed that limiting bean growth leads to a decrease in leaf area index and bean growth rate, which in turn reduces its competitiveness against weeds.

Conclusion: The use of high-strength cultivars in mixed cultivation due to their overlap, space conquest, and ability to compete with weeds along with increased plant density has a high potential for weed suppression and can be used in other ways to reduce herbicide dose. The results of this experiment showed that there was no

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

(*- Corresponding Author Email: ghorbani43@gmail.com)

4- Associate Professor, Department of Agronomy, Tehran University

significant difference between biological yield at 50% and 100% herbicide concentrations in the mixed cultivation and the highest biological yield was observed in the mixed cultivation.

Keywords: Herbicide reduced dose, Integrated weed management, Intercropping, Planting density

Contents

Evaluation the Efficiency of Different Methods of RAN Extraction for the Identification of the <i>Squash Mosaic Virus</i>	152
M. Gerami Nooghabi - M. Mehrvar - M. Zakiaghl	
Evaluation of Aliado Fungicide in Control of Citrus Gummosis Disease	168
Y. Mohammad Alian - S.N. Banihashemian- S.M. Banihashemian- M. Golmohammadi- I. Jourbonian	
Survey of Frequency of some Pathogens Associated with Potato Purple Top Disease	181
A. Bagheri - Gh. Babaei	
Detection of <i>Rdga</i> and <i>mlo</i> Genes for Resistance to Leaf stripe and Powdery Mildew Diseases in Barley	194
M. Khalili - A. Mirshamsi Kakhki - R. Aghnoum - A. Seifi	
Fumigant Acute Toxicity of Rosemary and Lavender Essential Oils and a Synergism between them Against Adults of <i>Callosobruchus maculatus</i> (Col.: Chrysomelidae) under Laboratory Conditions	205
R. Latifizadeh - M. Khanjani- B. Zahiri	
Calculation of the Base Temperature and Investigation of Changes in Number of Codling Moth (<i>Cydia pomonella</i>) Generations, with Degree-Day Model in Chenaran	217
M. Helmi Jaded - M. Musavi Baygi - H. Sadeghi Namaghi	
Investigation of Biological and Chemical Degradation of Metribuzin in Soil and the Effect of Organic Manure on its Half- Life and its Degradation in Controlled Conditions	227
S.F. Fakhrerad - E. Izadi Darbandi- M.H. Rashed Mohassel- M. Hassanzadeh-Khayat- H. Nassirli	
Evaluating Seedbed Preparing Methods and Herbicide Application in Weed Management of Common Bean (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	241
M.A. Fathi - E. Elahifard- A. Siahpoosh	
The Efficacy of some Herbicides and Cultivation on Weed Control and Rapeseed (<i>Brassica napus</i> L.) Yield	258
K. Moradi - E. Mohammadvand- J. Asghari	
Spatial Dependence of Growth and Yield of Winter Wheat and Weeds Using Geostatistical and Remote Sensing Methods	271
M. Moradi Kalbolandi – H. Makarian– M. Baradaran Firouz Abadi– H.R. Asghari	
Effect of Planting Pattern and Density on Control of Weeds and Yield of Red Bean (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) Varieties in the Presence of Bentazon Herbicide	285
P. Yadegar - R. Ghorbani-A. Ghanbari- H. Rahimian Mashhadi	

Plant Protection

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol . 34

No. 2

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.

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>