



عنوان مقالات

- ارزیابی اثرات قارچ‌کش‌های مختلف روی قارچ *Podosphaera leucotricha*، عامل بیماری سفیدک پودری سیب درختی ۳۹۹
حسین کربلانی خیای - حسین خیاز جلفایی - حسین رضائی
- بررسی واکنش چند رقم غیرهیبرید و هیبرید گوجه‌فرنگی به بیماری خال‌زدگی باکتریایی ۴۰۹
افسانه عباس پورانی - مریم خضری
- پراکنش و تحلیل تاب‌زایی ویروس برگ بادبزی مو در باغات انگور استان خراسان رضوی براساس پروتئین پوششی ۴۲۱
سارا قارونی کاردانی - محمود رضا کریمی شهری - فاطمه آزاد دیسفانی
- بررسی تأثیر کاربرد هم‌زمان *Trichoderma harzianum* و مالچ گیاهی بر عملکرد و خصوصیات فیزیولوژیکی گندم رقم نارین ۴۳۳
مخدومه مهربانی - عباس محمدی - مسعود خزاعی - مجید جامی الاحمدی
- ارزیابی کنه‌کش گیاهی حاوی روغن پنبه دانه و میخک علیه کنه تارتین دو لکه‌ای سیب ۴۴۵
مصطفی میرزائی - محمدرضا نعمت الهی - هاشم کمالی
- نشاگرهای ریزوماورهای و کاربرد آن در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بالتوری سبز *Chrysoperla carnea* (Stephens, 86) (Neuroptera: Chrysopidae) ۴۵۷
فاطمه عبدالاحدی - علی نقی میرمویدی - صمد جمالی - لیل زارعی
- تأثیر ترکیبات مختلف آلی و شیمیایی روی تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه و برخی ترکیبات ثانویه گیاه لوبیا ۴۶۹
محمد کاراموزیان - مریم پهلوان پلی - کمال احمدی
- تأثیر کوددهی عناصر ریزمغذی در گیاه فلفل دلمه، *Capsicum annuum* L. بر رشد جمعیت پشه شته‌خوار، سبز *Aphidoletes aphidimyza* Rondani با تغذیه از شته سبز هلو، *Myzus persicae* (Sulzer) ۴۸۱
مجید میراب بالو - طیبه علی زمانی
- تأثیر مدت زمان و عمق دفن بر شکست خواب و درصد جوانه‌زنی بذور علف هرز میاگروم *(Myagrum perfoliatum L.)* ۴۹۵
فیروزه شریفی کالیانی - سعید جلالی هنرمند - ایرج نصرتی - علیرضا باقری - حسن حیدری
- تفاوت‌های درون گونه‌ای بین اکوتیپ‌های علف‌هرز خارلته (*Cirsium arvense* L.) ۵۰۵
مرجان دیانت

Contents

- Evaluation of Effect of Different Fungicides on Fungus *Podosphaera leucotricha*, the Causal Agent of Apple Powdery Mildew Disease 407
H. Karbalaee Khiavi - H. Khabbaz Jolfaee - H. Ramazani
- Evaluating the Reaction of some Non-hybrid and Hybrid Tomato Cultivars to Bacterial Speck Disease 420
A. Abbaspour Anbi - M. Khezri
- Distribution and Phylogeny of Grapevine fanleaf virus in Vineyards of Khorasan Razavi Province Based on Coat Protein Region 431
S. Gharouni-Kardani - M.R. Karimi Shahri - F. Azad Disfani
- The Effect of Simultaneous Application of *Trichoderma harzianum* and Plant Mulch on Yield and Physiological Characteristics of Wheat (cv. Narin) 444
M. Mehrabani - A. Mohammadi - M. Khazaei - M. Jami Al-Ahmadi
- Evaluation of a Botanical Acaricide Contain Cottonseed and Clove Oils against Two-spotted Spider Mite in Apple Orchards of Iran 455
M. Mirzaei - M.R. Nematollahi - H. Kamali
- Use of Microsatellite Markers for Analysis of Genetic Diversity between Populations of Green Lacewings *Chrysoperla carnea* (Neuroptera, Chrysopidae) 468
F. Abdolahi - A.N. Mirmoayedi - S. Jamali - L. Zarei
- Effect of Different Organic and Chemical Compounds on Population Density of *Trialeurodes vaporariorum* Westwood and Some Secondary Metabolites of Bean Plant 480
M. Karamoozian - M. Pahlavan Yali - K. Ahmadi
- The Effect of Nutritional Interaction between Micronutrient Fertilizers and *Capsicum annuum* L. on the Population Growth of *Aphidoletes aphidimyza* Rondani as Predator of Green Peach Aphid 494
M. Mirab-balou - T. Alizamani
- Effect of Time and Burial Depth on Breaking Seed Dormancy and Percentage of Germination of *Myagrum* (*Myagrum perfoliatum* L.) Weed Seeds 504
F. Sharifi Kalyani - S. Jalali Honarmand - I. Nosrati - A. Bagheri - H. Heidari
- Intra-specific Variations among Different Canada Thistle (*Cirsium arvense* L.) Ecotypes 517
M. Diyanat

نشریه پژوهش های حفاظت گیاهان ایران

(علوم و صنایع کشاورزی)

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

جلد 35 شماره 4 زمستان 1400

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

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

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

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

اعضای هیئت تحریریه:

ایزدی دربندی، ابراهیم	استاد - علوم علف های هرز (دانشگاه فردوسی مشهد)
بقائی راوری، ساره	دانشیار - بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)
پور جم، ابراهیم	استاد - 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 بالهولکداران، 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)
کریم مجنی، حسن	دانشیار - تولید و ژنتیک گیاهی (دانشگاه صنعتی اصفهان)
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 91775 صندوق پستی 1163

دانشکده کشاورزی - دبیرخانه نشریات علمی

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

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

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

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

صفحه	عنوان مقاله
399	ارزیابی اثرات قارچ کش‌های مختلف روی قارچ <i>Podosphaera leucotricha</i> , عامل بیماری سفیدک پودری سیب درختی حسین کربلائی خیاوی - حسین خباز جلفایی - حسین رمضانی
409	بررسی واکنش چند رقم غیر هیبرید و هیبرید گوجه‌فرنگی به بیماری خال‌زدگی باکتریایی افسانه عباس پور انبی - مریم خضری
421	پراکنش و تحلیل تبارزایی ویروس برگ بادبزی مو در باغات انگور استان خراسان رضوی براساس پروتئین پوششی سارا فارونی کاردانی - محمود رضا کریمی شهری - فاطمه آزاد دیسفانی
433	بررسی تأثیر کاربرد همزمان <i>Trichoderma harzianum</i> و مالچ گیاهی بر عملکرد و خصوصیات فیزیولوژیکی گندم رقم نارین مخدومه مهربانی - عباس محمدی - مسعود خزاعی - مجید جامی الاحمدی
445	ارزیابی کنه کش گیاهی حاوی روغن پنبه دانه و میخک علیه کنه تارتن دو لکه‌ای سیب مصطفی میرزائی - محمدرضا نعمت الهی - هاشم کمالی
457	نشانه‌های ریزوماهواره‌ای و کاربرد آن در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بالتوری سبز (<i>Neuroptera: Chrysopidae</i>) <i>Chrysoperla carnea</i> (Stephens, 86) فاطمه عبدالاحدی - علی نقی میرموبدی - صمد جمالی - لیلا زارعی
469	تأثیر ترکیبات مختلف آلی و شیمیایی روی تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه و برخی ترکیبات ثانویه گیاه لوبیا محمد کاراموزیان - مریم پهلوان یلی - کمال احمدی
481	تأثیر کوددهی عناصر ریز مغذی در گیاه فلفل دلمه، <i>Capsicum annuum</i> L. بر رشد جمعیت پشه شته‌خوار، <i>Aphidoletes</i> <i>Myzus persicae</i> (Sulzer) با تغذیه از شته سبز هلو، مجید میراب بالو - طیبه علی زمانی
495	تأثیر مدت زمان و عمق دفن بر شکست خواب و درصد جوانه‌زنی بذور علف هرز میاگروم (<i>Myagrurn perfoliatum</i> L.) فیروزه شریفی کالیانی - سعید جلالی هنرمند - ایرج نصرتی - علیرضا باقری - حسن حیدری
505	تفاوت‌های درون گونه‌ای بین اکوتیپ‌های علف‌هرز خارلته (<i>Cirsium arvense</i> L.) مرجان دیانت



مقاله پژوهشی

ارزیابی اثرات قارچ‌کش‌های مختلف روی قارچ *Podosphaera leucotricha* عامل بیماری

سفیدک پودری سیب درختی

حسین کربلانی خیاوی^{۱*} - حسین خباز جلفایی^۲ - حسین رمضان^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۸

چکیده

بیماری سفیدک پودری سیب یکی از مهمترین بیماری‌های سیب است که انتشار جهانی دارد و عامل بیماری آن، قارچ *Podosphaera leucotricha* Ell. Et Ev. می‌باشد. هدف از این مطالعه، تعیین میزان کارایی قارچ‌کش بوسکالید + پیراکلواستروبین (بلیس[®] WG38%) (ساخت شرکت ب آ اس اف) (با دزهای ۰/۴، ۰/۷ و ۱ در هزار) در مقایسه با قارچ‌کش‌های تری‌فلوکسی‌استروبین + فلوپیرام (لونا سنسیشن[®] SC 500) (۰/۲ در هزار)، تری‌فلوکسی‌استروبین (فلینت[®] WG50%) (۰/۲ در هزار) و تری‌فلوکسی‌استروبین + تبوکونازول (ناتیوو[®] WG50%) (۰/۲ در هزار) برای کنترل بیماری سفیدک پودری سیب است. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با هشت تیمار و هر تیمار با چهار تکرار در استان اردبیل اجرا شد. تیمارهای شاهد شامل تیمار با آب‌پاشی و تیمار بدون آب‌پاشی بودند. ده روز پس از مشاهده اولین علائم بیماری در تیمار شاهد از برگ‌ها نمونه‌برداری شد و درصد وقوع بیماری و درصد شدت بیماری محاسبه گردید. نتایج نشان داد قارچ‌کش‌های بلیس[®] با دز یک و ۰/۷ در هزار، لونا سنسیشن[®] ۰/۲ در هزار، ناتیوو[®] ۰/۲ در هزار و فلینت[®] ۰/۲ در هزار از کارایی بالایی در کنترل بیماری سفیدک پودری سیب برخوردار بودند. کارایی قارچ‌کش جدید بلیس[®] در دزهای یک و ۰/۷ در هزار به ترتیب معادل ۷۶ و ۶۰ درصد به دست آمد. از آنجا که هر دو دز بلیس[®] کارایی مطلوبی در کنترل بیماری دارند، لذا برای محافظت از سلامت کاربر قارچ‌کش، مصرف‌کننده محصولات سم‌پاشی شده و محیط زیست و همچنین کاهش هزینه‌ها، دز ۰/۷ در هزار توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: بوسکالید + پیراکلواستروبین، سیب، قارچ‌کش، کنترل شیمیایی، مقاومت

مقدمه

بیماری‌های سیب می‌باشد (۵، ۲۱ و ۲۴). قارچ بیمارگر می‌تواند به برگ، گل، میوه و سرشاخه‌ها حمله کند و باعث ریزش زود هنگام برگ‌ها و توقف رشد شاخه‌های مبتلا و در نتیجه کاهش محصول شود. در درختان به‌شدت آلوده سطح میوه نیز به صورت زنگار دیده می‌شود (۱۵). بیماری سفیدک پودری سیب اولین بار در سال ۱۸۷۷ توسط بسی از ناحیه‌ی ایوا و از داخل خزانه‌های بذری سیب که به عنوان پایه تهیه می‌شد، گزارش شده است (۵). قارچ *P. leucotricha* یک انگل اجباری است که به شکل میسلیموم در جوانه‌های خفته که در سال قبل آلوده شده‌اند، زمستان‌گذرانی می‌کند. در بهار، این میسلیموم‌ها با تولید کنیدی، برگ‌های جوان، شکوفه‌ها و گل‌ها را آلوده می‌کنند. این اندام‌ها موجب آلودگی ثانویه روی شاخه، جوانه، برگ، گل و میوه می‌شود (۱۵).

آلودگی به بیماری سفیدک پودری معمولاً در رطوبت نسبی بالای

درخت سیب در ایران با سطح زیر کشت حدود ۲۵۰ هزار هکتار و تولید بیش از ۳/۴ میلیون تن محصول در سال ۱۳۹۵، از لحاظ میزان محصول، بعد از انگور (۳/۵ میلیون تن) دومین رتبه را در بین محصولات باغی به خود اختصاص داده است (۴). بیماری سفیدک پودری با عامل *Podosphaera leucotricha* یکی از مهمترین

۱ و ۳- به ترتیب استادیار پژوهش و کارشناس، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران

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

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

۷۰ درصد ایجاد می‌شود و در روزهایی که رطوبت کم است آلودگی معمولاً در شب و یا ساعات اولیه صبح وقتی که رطوبت بالا است به وقوع می‌پیوندد. دمای مورد نیاز برای ایجاد آلودگی بین ۱۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس بوده و مطلوب‌ترین دما بین ۱۹ تا ۲۲ درجه سلسیوس می‌باشد. بر خلاف دیگر بیماری‌های ایجاد شده در برگ، برای ایجاد آلودگی به بیماری سفیدک پودری نیازی به خیس شدن برگ‌ها نیست. باوجود اینکه رطوبت بالا برای ایجاد آلودگی مورد نیاز است ولی اگر کندی‌های قارچ عامل بیماری در آب غوطه‌ور شوند جوانه نمی‌زنند. تحت شرایط بهینه، بیماری بعد از ۴۸ ساعت از شروع آلودگی قابل مشاهده است و بعد از حدود پنج روز اسپوره‌های عامل بیماری تولید می‌شوند (۲۲). مدیریت بیماری سفیدک پودری معمولاً بر پایه پیشگیری یا کاهش آلودگی اولیه است. مصرف قارچ‌کش‌ها باعث کاهش آلودگی اولیه و جلوگیری از آلودگی ثانویه در برگ‌ها و جوانه‌ها می‌شود (۱).

در دنیا قارچ‌کش‌های مختلفی برای کنترل بیماری سفیدک پودری سیب بررسی و معرفی شده‌اند. یکی از قدیمی‌ترین و رایج‌ترین قارچ‌کش‌ها سولفور است که برای کنترل این بیماری در دنیا مطرح و استفاده شده است (۶ و ۱۲) و در برنامه تولید محصول ارگانیک بسیار مورد توجه می‌باشد. اگرچه برخی از بررسی‌های اخیر از کاهش کارایی این قارچ‌کش در کنترل بیماری حکایت می‌کند (۱۹). گوپتا و شارما در هندوستان کارایی قارچ‌کش‌های هگزاکونازول، ایپریدیون + کاربندازیم، پنکونازول، مایکلوبوتانیل، مانکوزب + کاربندازیم، تیوفانات متیل و سولفور را در کنترل بیماری سفیدک پودری سیب بررسی کردند که مایکلوبوتانیل، پنکونازول و هگزاکونازول مؤثرترین قارچ‌کش‌ها در کاهش شدت بیماری بودند (۱۰). در سال ۲۰۱۵ طی یک بررسی در ایتالیا کارایی قارچ‌کش‌های تریادیمفون، فناریمول، دینوکاپ و سولفور مورد بررسی قرار گرفت که تریادیمفون و دینوکاپ بهترین کارایی را در کنترل بیماری داشتند (۷). در بررسی دیگری در عمان تریفورین و تریادیمنول به عنوان دو قارچ‌کش مؤثر علیه سفیدک پودری سیب معرفی شده است (۱).

در ایران اولین بار در سال ۱۳۳۹ بنی‌هاشمی استفاده توأم هرس سرشاخه‌های آلوده و سم‌پاشی با گوگرد و تابل یا کاراتان[®] را جهت مدیریت بیماری سفیدک پودری سیب مؤثر دانست و پلی‌سولفور را به عنوان سم‌پاشی زمستانه توصیه نمود. فیلسوف و همکاران تأثیر قارچ‌کش‌های گوگرد و تابل، کاپتان[®]، دینوکاپ[®]، کالیکسین[®]، کاربندازیم[®]، توپسین ام[®]، دودین[®]، تریمیدال[®] و توپاس[®] را ارزیابی کرده و تریمیدال[®] و توپاس[®] را طی چهار بار سم‌پاشی (قبل از باز شدن جوانه‌ی گل، بعد از ریزش کامل گلبرگ‌ها، زمان فندق‌ی شدن میوه سیب و سه هفته بعد همزمان با شدت آلودگی) به عنوان قارچ‌کش‌های برتر معرفی نمودند (۹). ایرانی و اشکان قارچ‌کش‌های گوگرد و تابل، تیوفانات متیل، بنومیل[®] و کاراتان[®] را در آذربایجان

غربی مورد بررسی قرار داده و گوگرد و تابل و کاراتان[®] را طی دو نوبت سم‌پاشی (در زمان سبز کامل شدن غنچه‌ها و قبل از صورتی شدن جوانه‌های گل) برای کنترل سفیدک پودری سیب توصیه نمودند (۱۳). خباز جلفایی و همکاران نیز طی یک بررسی فلینت[®] و استروبی[®] را برای کنترل بیماری سفیدک پودری سیب معرفی کردند (۱۸). کریمی شهری و حیدریان، ضمن مقایسه کارایی قارچ‌کش تراکونازول (دومارک[®]) با قارچ‌کش‌های فلینت[®]، استروبی[®] و توپاس[®]، قارچ‌کش‌های فلینت[®]، استروبی[®] و دومارک[®] را مؤثرتر از بقیه و در یک سطح مشاهده کردند (۱۴). آن‌ها سم‌پاشی را در سه نوبت (قبل از تورم جوانه‌ها، بعد از گل و دو هفته بعد) انجام دادند. حنیفه و همکاران در سال ۲۰۱۳ به دنبال بررسی کارایی ناتوو[®]، این قارچ‌کش را برای کنترل بیماری سفیدک پودری سیب مؤثر معرفی کردند (۱۱). در سال ۱۳۹۵ نیز خباز جلفایی و همکاران طی یک بررسی قارچ‌کش تری‌فلوکسی‌استروبین + فلوپیرام (لونا سنسیشن[®]) را برای کنترل بیماری سفیدک پودری سیب طی سه نوبت سم‌پاشی در فصل بهار (نوبت اول: غنچه‌ها در مرحله‌ی سبز کامل، نوبت دوم: اوایل مرحله صورتی‌شدن گل‌ها و نوبت سوم: ۱۰ روز پس از سم‌پاشی دوم) معرفی کردند (۱۷). در نهایت هم اکنون هشت قارچ‌کش شامل دینوکاپ (کاراتان[®])، تیوفانات متیل (توپسین ام[®])، تری-فلوکسی‌استروبین (فلینت[®])، کرزوکسیم متیل (استروبی[®])، تراکونازول (دومارک[®])، تری‌فلوکسی‌استروبین + تبوکونازول (ناتوو[®]) و تری‌فلوکسی‌استروبین + فلوپیرام (لونا سنسیشن[®]) برای کنترل سفیدک پودری سیب درختی در کشور به ثبت رسیده و استفاده می‌شود (۱۶ و ۲۵). دسترسی تولیدکنندگان به قارچ‌کش‌های مؤثر از گروه‌های شیمیایی متنوع ضمن کمک به باغداران در جهت کاهش خسارت اقتصادی ناشی از بیماری، امکان بروز مقاومت عامل بیمارگر به قارچ‌کش‌ها را کاهش می‌دهد. در بررسی حاضر کارایی قارچ‌کش جدید بوسکالید + پیراکلوآستروبین (بلیس[®] WG38%) محصول شرکت ب آ اس اف در مقایسه با قارچ‌کش‌های تری‌فلوکسی‌استروبین + فلوپیرام (لونا سنسیشن[®] SC500)، تری‌فلوکسی‌استروبین (فلینت[®] WG50%) و تری‌فلوکسی‌استروبین + تبوکونازول (ناتوو[®] WG50%) برای کنترل بیماری سفیدک پودری سیب مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

جهت انجام آزمایش، باغ سیب رقم زرد گلدن اسموتی دارای سابقه بیماری سفیدک پودری در استان اردبیل انتخاب گردید. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با هشت تیمار (جدول ۱) و هر تیمار شامل چهار تکرار انجام شد. هر تکرار شامل دو درخت سیب هم سن (۱۰ ساله) بود. بین

درخت‌های مورد آزمایش، یک درخت بدون تیمار جهت اجتناب از تأثیر تیمارها روی هم در نظر گرفته شد. تیمارها با استفاده از سم‌پاش موتوری لانس‌دار در سه نوبت به شرح زیر اعمال شد. نوبت اول: غنچه‌ها در مرحله سبز کامل، نوبت دوم: اوایل مرحله صوری شدن گل‌ها، نوبت سوم: ۱۰ روز پس از سم‌پاشی دوم. ۱۰ روز پس از مشاهده اولین علائم بیماری در تیمار شاهد، از برگ‌ها برای ارزیابی درصد وقوع بیماری و شدت بیماری نمونه‌برداری شد (۱۸).

جدول ۱- تیمارهای آزمایش در بررسی کارایی قارچ‌کش‌های مورد مطالعه برای کنترل بیماری سفیدک پودری سیب
Table 1- Experimental treatments in evaluating the effectiveness of studied fungicides for the control of apple powdery mildew

کد تیمار Treatment code	تیمارهای آزمایشی Experimental treatments	نام عمومی قارچ‌کش Common name of fungicide	میزان مصرف Consumption rate	ملاحظات Considerations
T1	بلیس® WG38% Bellis® WG 38%	بوسکالید + پیراکلواستروبین boscalid + pyraclostrobin	۰/۴ در هزار 0.4 ml L ⁻¹	دز حداقل Minimum dose
T2	بلیس® WG38% Bellis® WG 38%	بوسکالید + پیراکلواستروبین boscalid + pyraclostrobin	۰/۷ در هزار 0.7 ml L ⁻¹	دز توصیه شرکت Company recommended dose
T3	بلیس® WG38% Bellis® WG 38%	بوسکالید + پیراکلواستروبین boscalid + pyraclostrobin	یک در هزار 1 ml L ⁻¹	دز حداکثر Maximum dose
T4	فلینت® WG50% Flint® WG 50%	تری‌فلوکسی‌استروبین Trifloxystrobin	۰/۲ در هزار 0.2 ml L ⁻¹	دز ثبت شده برای بیماری سفیدک پودری سیب Recorded dose for apple powdery mildew
T5	ناتیوو® WG50% Nativo® WG 50%	تری‌فلوکسی‌استروبین + تبوکونازول Tebuconazole + Trifloxystrobin	۰/۲ در هزار 0.2 ml L ⁻¹	دز ثبت شده برای بیماری سفیدک پودری سیب Recorded dose for apple powdery mildew
T6	لونا سنسیشن® SC500 Luna Sensation® SC500	تری‌فلوکسی‌استروبین + فلوپیرام Trifloxystrobin + Flopyram	۰/۴ در هزار 0.4 ml L ⁻¹	دز ثبت شده برای بیماری سفیدک پودری سیب Recorded dose for apple powdery mildew
T7	شاهد ۱: با آب‌پاشی Control 1: with spraying	-	-	-
T8	شاهد ۲: بدون آب‌پاشی Control 2: without spraying	-	-	-

روی هر برگ، بر اساس درصد تخمینی پوشش لکه روی سطح برگ از صفر تا هفت به شرح زیر درجه بندی شدند: درجه صفر: بدون علامت، درجه یک: ۰/۱ تا ۵ درصد، درجه دو: ۵/۱ تا ۱۵ درصد، درجه سه: ۱۵/۱ تا ۳۰ درصد، درجه چهار: ۳۰/۱ تا ۴۵ درصد، درجه پنج: ۴۵/۱ تا ۶۵ درصد، درجه شش: ۶۵/۱ تا ۸۵ درصد، درجه هفت: آلودگی برگ‌ها بیشتر از ۸۵ درصد (۲۳).

سپس با استفاده از رابطه ۲ درصد شدت بیماری تعیین شد:

$$\text{PDS} = \frac{\sum (n_i \times v_i)}{V \times N \times 100} \quad \text{رابطه ۲}$$

در این فرمول PDS: درصد شدت بیماری، n_i : تعداد نمونه‌های با درجه آلودگی مشابه، v_i : درجه بیماری مربوط به هر نمونه، N : تعداد کل نمونه مربوط به هر تکرار و V : حداکثر درجه آلودگی

تجزیه آماری داده‌ها

تعیین درصد وقوع بیماری

برای این منظور از درخت‌های هر کرت به طور تصادفی ۱۰۰ برگ چیده و در کیسه‌های فریزر مجزا به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه نمونه‌ها بر اساس تعداد برگ‌های دارای علائم و فاقد علائم بیماری سفیدک پودری مشخص و طبق رابطه ۱ درصد وقوع بیماری در آن‌ها محاسبه شد.

$$\text{PDI} = \left(\frac{n_d}{N} \right) \times 100 \quad \text{رابطه ۱}$$

PDI: درصد وقوع بیماری در برگ‌ها، n_d : تعداد برگ‌های دارای علائم بیماری، N : تعداد کل برگ‌های شمارش شده

تعیین درصد شدت بیماری

برای تعیین درصد شدت بیماری روی برگ‌ها، ۱۰۰ برگ به طور تصادفی از درخت‌های هر کرت جدا و به آزمایشگاه منتقل شد. علائم

پس از محاسبه میزان درصد وقوع بیماری و نیز درصد شدت بیماری سفیدک پودری سیب برای هر کرت مقادیر مربوطه در نرم‌افزار آماری SAS تجزیه واریانس شد و مقایسه میانگین‌های هر دو صفت با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج

نتایج تجزیه‌ی واریانس داده‌های حاصل از ارزیابی برگ‌های درختان تیمار شده نشان داد که از نظر آماری اثر تیمارها بر کاهش درصد شدت بیماری و درصد وقوع بیماری معنی‌دار است (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های درصد وقوع بیماری و درصد شدت بیماری در سطح احتمال یک درصد نشان داد که قارچ‌کش‌های بلیس[®] یک و ۰/۷ در هزار، لونا سنسیشن[®] ۰/۲ در هزار، ناتیبو[®] ۰/۲ در هزار و فلینت[®] ۰/۲ در هزار از نظر کاهش شدت بیماری و نیز کاهش وقوع بیماری اختلاف معنی‌دار آماری با یکدیگر نداشته و همگی از کارایی بالایی در کنترل بیماری سفیدک پودری سیب برخوردار بودند. براساس نتایج به‌دست آمده قارچ‌کش بلیس[®] با دز ۰/۴ در هزار از کارایی ضعیفی در کنترل شدت و وقوع بیماری برخوردار بود و از نظر آماری با تیمارهای شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت (جدول ۳). همچنین نتایج حاصل نشان داد که میان تیمارهای شاهد (تیمار با آب‌پاشی و تیمار بدون آب‌پاشی) اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۳).

بحث

نتایج بررسی حاضر نشان داد که قارچ‌کش جدید بلیس[®] در هر دو دز یک در هزار و ۰/۷ در هزار از کارایی بالایی در کنترل شدت بیماری برخوردار بوده است. بلیس[®] یک در هزار ۷۶ درصد و بلیس[®] ۰/۷ در هزار ۶۰ درصد شدت بیماری را نسبت به شاهد بدون آب‌پاشی کاهش دادند. کارایی دز ۰/۴ در هزار بلیس[®] ضعیف‌تر از سایر تیمارهای قارچ‌کش بود و اختلاف آماری معنی‌داری با آنها داشت. قارچ‌کش لونا سنسیشن[®] ۰/۲ در هزار از کارایی بالایی در کنترل شدت بیماری (۸۰ درصد) برخوردار بود. در راستای تحقیق حاضر، خباز جلفایی و همکاران طی یک بررسی لونا سنسیشن[®] را قارچ‌کشی مؤثر و کارآمد برای کنترل بیماری سفیدک پودری سیب معرفی کرده‌اند (۱۷). در آمریکا، لونا سنسیشن[®] برای کنترل سفیدک پودری سیب توصیه می‌شود (۲۰). همچنین تیمار ناتیبو[®] در کنترل شدت بیماری مؤثر بود، اگرچه از لحاظ آماری با بلیس[®] یک در هزار و ۰/۷ در هزار، لونا سنسیشن[®] و فلینت[®] اختلاف معنی‌دار آماری نداشت ولی کارایی آن ۵۷ درصد و کمتر از سایر قارچ‌کش‌ها بود. قارچ‌کش فلینت[®] نیز با ۶۴ درصد از کارایی خوبی برخوردار بود. خباز جلفایی و همکاران نیز کارایی این قارچ‌کش را در کنترل بیماری سفیدک پودری سیب مورد

ارزیابی قرار دادند که نتایج آنها بیانگر کارایی خوب این قارچ‌کش در کنترل بیماری مذکور بود (۱۷). بنابراین با توجه به نتایج به‌دست آمده در بررسی حاضر می‌توان گفت کلیه قارچ‌کش‌های مورد بررسی شامل بلیس[®] با دز یک در هزار و ۰/۷ در هزار، لونا سنسیشن[®] ۰/۲ در هزار، ناتیبو[®] ۰/۲ در هزار و فلینت[®] ۰/۲ در هزار همگی از کارایی خوبی در کنترل بیماری سفیدک پودری سیب برخوردار هستند. لازم به ذکر است از آنجا که هر دو دز یک در هزار و ۰/۷ در هزار بلیس[®] کارایی مشابهی در کنترل شدت بیماری دارند، برای محافظت از سلامت کاربر قارچ‌کش، مصرف‌کننده محصولات سم‌پاشی شده و محیط زیست و همچنین کاهش هزینه‌ها، دز ۰/۷ در هزار آن ارجحیت دارد. بلیس[®] با ماده مؤثره ۲۵/۲ درصد بوسکالید + ۱۲/۸ درصد پیراکلواستروبین یک قارچ‌کش سیستمیک و محافظتی است. بوسکالید جزو گروه SDHI (بازدارنده‌های سوکسینات دهیدروناز) بوده و با تأثیر در تنفس قارچ بیمارگر از طریق بازدارندگی اسید سوکسینیک در آنزیم دهیدروناز (SDHI) از انتقال یون‌های منفی هیدروژن به گیرنده‌های الکترون جلوگیری می‌کند. ریسک مقاومت به این گروه از قارچ‌کش‌ها متوسط و مدیریت مقاومت در مورد آنها لازم است. پیراکلواستروبین در گروه QoI (بازدارنده‌های خارجی کوئینون‌ها) قرار دارد. این قارچ‌کش با تأثیر روی زنجیره تنفس میتوکندریایی، جوانه‌زنی اسپور و رشد میسلیم را متوقف می‌کند. ریسک مقاومت به این قارچ‌کش‌ها بالا می‌باشد و نیازمند مدیریت در استفاده برای ممانعت از بروز مقاومت است (۲). بر این اساس بلیس[®] در گروه‌بندی FRAC در کد ۷ و ۱۱ قرار دارد بدین معنی که هر جمعیت از قارچ‌ها می‌تواند به‌طور طبیعی به این قارچ‌کش مقاوم شود. چنانچه این گروه از قارچ‌کش‌ها به‌طور مکرر و انحصاری در برنامه‌ی سم‌پاشی قرار گیرند می‌توانند باعث بروز جمعیت مقاوم در قارچ‌ها گردند که در این صورت دیگر بیماری با این قارچ‌کش‌ها قابل کنترل نخواهند بود. بیش از دوبرابر نباید از بلیس[®] به‌طور متوالی استفاده کرد. بعد از دو بار سم‌پاشی مداوم با بلیس[®] لازم است از قارچ‌کشی با گروه مقاومت تقاطعی متفاوت استفاده شود (۳). اندکس^۱ PHI برای این قارچ‌کش ۲۱ روز است یعنی حداقل باید بین آخرین سم‌پاشی با این قارچ‌کش و برداشت محصول ۲۱ روز فاصله باشد.

لونا سنسیشن[®] یک قارچ‌کش سیستمیک با دامنه اثر وسیع است که از ۲۱/۴ درصد تری‌فلوکسی‌استروبین، ۲۱/۴ درصد فلوپیرام و ۵۷/۲ درصد مواد همراه تشکیل شده است (۳). تری‌فلوکسی‌استروبین، همانند پیراکلواستروبین متعلق به گروه QoI (بازدارنده‌های خارجی کوئینون‌ها)، زیرگروه اکسی‌آمینوآستات‌ها است که ریسک بروز مقاومت به آنها بالا می‌باشد (۸). فلوپیرام نیز همانند بوسکالید متعلق به گروه پیریدنیل اتیلن‌بنزآمیدها است که باعث بازدارندگی اسید

متوسط تا بالا است. بررسی حاضر نشان داد با توجه به تأثیر بالایی که این قارچ‌کش‌ها از خود نشان دادند به نظر می‌رسد هنوز مقاومت به قارچ‌کش‌های لونا سنسیشن[®]، ناتیوو[®] و فلینت[®] که قبلاً در باغ‌های سیب کشور استفاده شده و می‌شود، رخ نداده است. بنابراین جهت اجتناب از بروز مقاومت احتمالی در آینده روی عامل سفیدک پودری سیب می‌بایست این قارچ‌کش‌ها در تناوب با همدیگر و با قارچ‌کش‌های ثبت شده برای این بیماری استفاده شوند. قارچ‌کش جدید بلیس[®] نیز به متنوع‌تر شدن سبب قارچ‌کشی این بیماری کمک می‌کند.

سوکسینیک در آنزیم دهیدروناز (SDHI) می‌شود. ماده مؤثره قارچ‌کش فلینت[®] نیز تری‌فلوکسی‌استروبین می‌باشد به همین دلیل ریسک بروز مقاومت به آن بالا می‌باشد (۸). قارچ‌کش ناتیوو[®] نیز از ترکیب تری‌فلوکسی‌استروبین با تبوکونازول حاصل شده است. تبوکونازول در گروه DMI (بازدارنده‌های دمتیلاسیون) قرار دارد که ریسک مقاومت به آنها متوسط است. بنابراین بخش مهمی از قارچ‌کش‌های ثبت شده برای کنترل بیماری سفیدک پودری سیب در کشور (شامل قارچ‌کش‌های لونا سنسیشن[®]، ناتیوو[®]، فلینت[®] و قارچ‌کش جدید بلیس[®]) عمدتاً حاوی قارچ‌کش‌های با ریسک مقاومت

جدول ۲- تجزیه واریانس درصد شدت بیماری و درصد وقوع بیماری سفیدک پودری سیب

Table 2- Analysis of variance of percentage of disease severity and incidence of apple powdery mildew disease

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean square	
		درصد شدت بیماری Percentage of disease severity	درصد وقوع بیماری Percentage of disease incidence
بلوک Block	3	49.55	22.10
تیمار Treatment	7	613.05**	1364.70**
خطا Error	21	35.59	74.63
کل Total	31	-	-
ضریب تغییرات (%) CV	-	29.79	31.35

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

***: Significant at level of $P < 0.01$

جدول ۳- مقایسه میانگین درصد شدت بیماری و درصد وقوع بیماری سفیدک پودری سیب

Table 3- Comparison of the mean percentage of disease severity and incidence of apple powdery mildew

تیمار Treatment	میانگین درصد شدت بیماری* The mean percentage disease severity*	میانگین درصد وقوع بیماری* The mean percentage of disease incidence*
لونا سنسیشن [®] SC500 به میزان ۰/۲ در هزار Luna Sensation [®] SC500 (0.2 ml L ⁻¹)	7.12b	9.32d
بلیس [®] WG38% با ۱ در هزار Bellis [®] WG 38% (1 ml L ⁻¹)	8.52b	8.47d
فلینت [®] WG50% به میزان ۰/۲ در هزار Flint [®] WG 50% (0.2 ml L ⁻¹)	12.61b	20.66d
بلیس [®] WG38% با ۰/۷ در هزار Bellis [®] WG 38% (0.7 ml L ⁻¹)	14.25b	19.55cd
ناتیوو [®] WG50% به میزان ۰/۲ در هزار Nativo [®] WG 50% (0.2 ml L ⁻¹)	15.07b	18.22cd
بلیس [®] WG38% با ۰/۴ در هزار Bellis [®] WG 38% (0.4 ml L ⁻¹)	22.28a	36.77cd
شاهد ۱: بدون آب‌پاشی Control 1: No sparrying	35.60a	58.26ab
شاهد ۲: با آب‌پاشی Control 2: With sparrying	38.77a	49.12a

* میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، اختلاف معنی‌داری ندارند (آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد)

پیشنهادها

صورت تناوبی در نوبت‌های مختلف سم‌پاشی برای کنترل بیماری سفیدک پودری استفاده شوند. البته از آنجا که دز ۰/۷ در هزار قارچ‌کش بلیس® با دز یک در هزار آن از نظر میزان تأثیر روی شدت بیماری اختلاف معنی‌دار آماری ندارد، لذا در راستای کاهش مصرف قارچ‌کش‌ها، دز ترجیحی مصرف ۰/۷ در هزار می‌باشد.

از آنجا که قارچ‌کش‌های بلیس® WG38% با دز یک در هزار و ۰/۷ در هزار، لونا سنسیشن® SC500 با دز ۰/۲ در هزار، ناتپوو® WG50% با دز ۰/۲ در هزار و فلینت® WG50% با دز ۰/۲ در هزار از کارایی خوبی در کنترل بیماری سفیدک پودری سیب برخوردار هستند، می‌توان طبق دستورالعمل مدیریت مقاومت به

منابع

1. Al-Rawashdeh Z. 2013. Ability of mineral salts and some fungicides to suppress apple powdery mildew caused by the fungus *Podosphaera leucotricha*. Asian Journal of Plant Pathology 7: 54-59.
2. Anonymus. 2009. FRAC cod list: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC code numbering), Fungicides Resistance Action Committee, in: [http:// www.frac.info/](http://www.frac.info/) [Accessed on 2018- 8-10].
3. Anonymus. 2015. UK safety data sheet. In: <https://www.agricentre.basf.co.uk/go/Bellis> [Accessed on 2018- 10-1].
4. Anonymus. 2016. Agricultural Statistics, Ministry of Jihad Agriculture. <http://www.agri-jahad.ir>
5. Behdad E. 1990. Diseases of Fruit Trees in Iran. Neshat Isfahan Publications. Pp. 293.
6. Berrie A.M., and Xu X.M. 2003. Managing apple scab (*Venturia inaequalis*) and powdery mildew (*Podosphaera leucotricha*) using Adem™. International Journal of Pest Management 49(3): 243-249.
7. Cacaj I., Kelmendi B., Shala N., and Rexhaj B. 2015. Chemical protection of apple against leaf powdery mildew and sustainability to pathogen cultivars according to EU standards. Academic Journal of Interdisciplinary Studies 4: 117-122.
8. Fernández O.D., Torés J.A., de Vicente A., and Pérez G.A. 2010. The QoI Fungicides, the Rise and fall of a Successful Class of Agricultural Fungicides. pp. 203-220 In: Carisse, O. (ed.), Agriculture and biological science "fungicides". Janeza Trdine, Rijeka. Inc. INTECH Open Access Publisher.
9. Filsoof F., Behdad A., and Hassanpour H. 1998. Study of apple powdery mildew disease and its chemical control in Semrom, 13th Iranian Plant Protection Congress, Karaj, P. 234.
10. Gupta D., and Sharma, J.N. 2005. Chemical control of powdery mildew of apple in warmer climates of himachal pradesh India. Acta Horticulture 696: 355-358.
11. Hanifeh S., Afzali H., and Yeganeh Kh. 2014. Evaluation of the effect of Nativo (Nativo WG 75%) on apple powdery mildew in comparison with common pesticides in West Azerbaijan province. Twenty-first Congress of Plant Protection, 1 to 4 September. Orumiyeh.
12. Holdsworth R.P. 1972. European red mite and its major predators: Effects of sulfur. Journal of Economic Entomology 65: 1098-1099.
13. Irani H., and Ashkan M. 1998. The effect of several fungicides to control powdery mildew on apple in West Azerbaijan province. 13th Iranian Plant Protection Congress, Karaj, P. 216.
14. Karimi-Shahri M., and Heydarian A. 2010. Investigation of the effect of tetraconazole fungicide on apple powdery mildew. Final report of Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research Center research project, Pp. 12.
15. Keliaei R., Khabbaz Jolfaei H., and Mirkamali H. 2002. Handbook of Pests, Diseases and Weeds, Agricultural Education Publishing, Karaj, Iran, Pp. 144.
16. Khabbaz Jolfaei H., and Azimi Sh. 2011. Guidelines for the correct use of Iranian pathogens in the control of plant diseases (scientific and applied), Iranian Plant Protection Research Institute, Pp. 311.
17. Khabbaz Jolfaei H., Karimi-Shahri M.R., Irani H., and Zaker M. 2016. Evaluation of the efficacy of Luna Sensation® 500 SC fungicide against *Podosphaera leucotricha*, the disease agent of apple powdery mildew. Final report of the research project of the Iranian Plant Protection Research Institute, Pp. 16.
18. Khabbaz Jolfaei H., Irani H., Karbalaei Khiavi H., Farrokhs Eslamloo E., and Abidi A. 2002. Evaluation of the effect of Flint (WG 50%) and Strobi (WG 50%) fungicides and their comparison with common pesticides against apple powdery mildew. Final report of the research project of the Iranian Plant Protection Research Institute, Pp. 10.
19. Marine S.C., Yoder K.S., and Baudoin A. 2010. Powdery Mildew of Apple. The Plant Health Instructor. DOI:10.1094 (PH). J- 1010 – 1021 01. Virginia Polytechnic Institute and State University.
20. Pscheidt J.W., and Ocam, C.M. 2016. Pacific Northwest Plant Disease Management Handbook [online]. Corvallis, OR: Oregon State University. <http://pnwhandbooks.org/plantdisease>.
21. Rather T.R., Bhat Z.A., Pandit B.A., Sheikh K., Malik A.R., and Ganai M.A. 2019. Bioefficacy studies of new

- fungicide molecules (Proquinazid 20 EC) against powdery mildew of apple. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 8(1): 1963-1965.
22. Turechek W.W., Carroll J.E., and Rosenberger D.A. 2004. Powdery Mildew of Apple. www.nysipm.cornell.edu/factsheets/treefruit/diseases/pm/apple_pm.pdf.
23. Wang Y., Liu Y., He P., Chen J., Lamikanra O., and Lu J. 1995. Evaluation of foliar resistance to *Uncinula necator* in China wild *Vitis* species. Vitis 34(3): 159-164.
24. Wurms K.V., and Chee A.A. 2011. Control of powdery mildew (*Podosphaera leucotricha*) in apple seedlings using anhydrous milk fat and soybean oil emulsions. New Zealand Plant Protection 64: 201-208.
25. Yeganeh M. 2017. Pesticides Registered in Iran. Basir Shimi Pars. Pp. 47.



Evaluation of Effect of Different Fungicides on Fungus *Podosphaera leucotricha*, the Causal Agent of Apple Powdery Mildew Disease

H. Karbalaee Khiavi^{1*}– H. Khabbaz Jolfaei²– H. Ramazani³

Received: 23-09-2020

Accepted: 20-10-2021

Introduction: Apple (*Malus domestica*, Borkh) is considered one of the most common popular and favorite deciduous fruit trees cultivated in Iran. Various harmful factors affect the performance of this fruit. Apple powdery mildew disease is one of the most important apple diseases that has a worldwide distribution and causes disease and is caused by the fungus *Podosphaera leucotricha* Ell. Et Ev. This fungus is an obligate parasite and it can attack to leaves, flowers, fruits and twigs. In the beginning of spring the disease appeared on leaves which are the most susceptible organs. The disease appears on the upperside of infected leaf as powdery white lesions and eventually the infected part of leaf turn brown and infections on the underside of infected leaf result in chlorotic patches. Infected leaves become crinkle, curl and drop prematurely. Although blossom and fruit infections are less common, they are important because infected fruits are small and stunted if they do not drop. *P. leucotricha* survives the winter as mycelium in vegetative tissues or in infected flower buds. The primary infection starts when infected buds break dormancy and fungus resumes growth and colonizes developing shoots. Spores growing on infected shoots spread nearby and initiate secondary infections. Also it causes early loss of leaves and stop the growth of diseased branches and as a result, the loss of yield. In heavily infected trees, rust can be seen on fruit surface. Powdery mildew infection usually occurs at relative humidity above 70%, and on days when humidity is low, the infection usually occurs at night or in the early morning hours when the humidity is high. Although the use of effective fungicides can control the disease well but appearance of resistant strains of pathogens to reduce fungicide efficiency in controlling disease and producers' access to effective fungicides from various chemical groups, while helping gardeners to reduce the economic damage caused by the disease, reduces the possibility of pathogen resistance to fungicides. The aim of this study was to determine the efficacy of Boscalid + Pyraclostrobin (Bellis[®] WG38%) (Manufactured by BASF Co.) (With doses of 0.4, 0.7 and 1 ml L⁻¹) compared with Tri-floxystrobin + Fluopyram (Luna Sensation[®]) (with a dose of 0.2 ml L⁻¹), Tri-floxystrobin (Flint[®] WG50%) (0.2 ml L⁻¹) and Tri-floxystrobin + Tebuconazole (Nativo[®] WG50%) (With a dose of 0.2 ml L⁻¹) to control apple powdery mildew disease.

Materials and Methods: For the experiment, the apple orchard of Golden Smooth cultivar with a history of powdery mildew in Ardabil province was selected. The experiment was carried out in a randomized complete block design (RCBD) with 8 treatments and 4 replications. Control treatments were without any spraying and with water spraying. Treatments were applied at three stages (full green bud stage and followed up at pink flowers stage and 10 days after the 2nd spraying). Ten days after the first symptoms of the disease were observed on the control treatments, samples were taken from the sheets and the percentage of the disease incidence and disease severity percentage were calculated. After calculating the incidence and disease severity of apple powdery mildew for each plot, the corresponding values in SAS statistical software were analyzed and the means of both traits were compared by Duncan's multiple range test at one percent probability level.

Results and Discussion: The results of analysis of variance of the data obtained from the evaluation of the leaves of the treated trees showed that the effect of treatments on reducing the percentage of disease severity and disease incidence is statistically significant. The results showed that Bellis[®] fungicide with a concentration of 0.1 and 0.7 ml L⁻¹, Luna Sensation[®] 0.2 ml L⁻¹, Nativo[®] 0.2 ml L⁻¹ and Flint[®] with a concentration of 0.2 ml L⁻¹ had a high efficiency of controlling apple powdery mildew disease. The efficacy of new Bellis[®] fungicide with concentrations of 1 and 0.7 ml L⁻¹ was 76 and 60 percent, respectively. According to the obtained results, Bliss fungicide with a dose of 0.4 per thousand had poor efficacy in controlling the severity and occurrence of the disease and was not statistically significantly different from the control treatments. The results also showed that there was no significant difference between the control treatments (treatment with water spraying and treatment

1 and 3- Research Assistant Professor and Expert, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ardabil, Iran, respectively.

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

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

DOI: 10.22067/JPP.2021.32823.0

without spraying).

Conclusion: Because both Bellis[®] concentrations are effective in controlling the disease, therefore in order to protect the health of the fungicide users, the consumer of sprayed products and the environment as well as reduction in costs, the preferred dose is 0.7 ml L⁻¹.

Keywords: Apple, Chemical control, Fungicide, Pyraclostrobin + Boscalid, Resistance



مقاله پژوهشی

بررسی واکنش چند رقم غیرهیبرید و هیبرید گوجه‌فرنگی به بیماری خال‌زدگی باکتریایی

افسانه عباس پور انبی^۱ - مریم خضری^{۲*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۰

چکیده

بیماری خال‌زدگی باکتریایی گوجه‌فرنگی که توسط باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ایجاد می‌شود، یکی از بیماری‌های مهم گوجه‌فرنگی در جهان و ایران است که می‌تواند به طور جدی میزان عملکرد و کیفیت محصول را تحت تأثیر قرار دهد. این بیماری بذریع است بنابراین موثرترین راهکار در کنترل بیماری، استفاده از بذر و نشاء سالم و عاری از باکتری می‌باشد اما از روش‌های دیگری از قبیل استفاده از ارقام مقاوم یا متحمل، رعایت اصول بهداشتی، تناوب کاشت و کاربرد سموم باکتری‌کش، نیز در مدیریت تلفیقی بیماری استفاده می‌شود. در این پژوهش، واکنش ۲۴ رقم (غیرهیبرید و هیبرید) گوجه‌فرنگی در برابر بیماری خال‌زدگی باکتریایی در محیط گلخانه مورد مطالعه قرار گرفت. برای این منظور، از گیاهچه‌های چهار تا پنج برگی گوجه‌فرنگی استفاده شد و مایه‌زنی به صورت اسپری سوسپانسیون (1×10^7 CFU ml⁻¹ (OD₆₀₀)) باکتری بیماری‌زا روی گیاهچه‌ها انجام شد. در بررسی مقاومت ارقام مورد مطالعه، زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری، شدت بیماری ایجاد شده و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد، شاخص AUDPC با زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری ($r=0.71$) و شاخص شدت بیماری ($r=0.76$) همبستگی مثبت داشت اما زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری با شدت بیماری ($r=0.22$) همبستگی معنی‌داری نداشت. بر اساس یافته‌های این پژوهش، نتایج حاصل از ارزیابی چند شاخص مختلف در بررسی واکنش ارقام گیاهی به بیماری‌ها، اطلاعات دقیق‌تری در رابطه با میزان حساسیت یا مقاومت ارقام به بیماری ارائه می‌دهد. در این مطالعه، ارقام هیبرید Hyb. 1585، Hyb. Superset، Hyb. King stone، Hyb. Bellariva و Hyb. Firenze، همچنین رقم غیرهیبرید Super Chef، به عنوان ارقام با مقاومت بالاتر در برابر بیماری خال‌زدگی باکتریایی گوجه‌فرنگی ارزیابی شدند که استفاده از این ارقام در مدیریت تلفیقی این بیماری توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ارقام مقاوم، گوجه‌فرنگی، *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*، AUDPC

مقدمه

۱۸۰ میلیون تن بوده است. در همین سال، در ایران ۱۲۱۲۰۳ هکتار از زمین‌های زراعی زیر کشت این محصول بوده است که تولید بیش از پنج میلیون تن گوجه‌فرنگی را به همراه داشته است (۹).

گیاه گوجه‌فرنگی میزبان تعدادی از عوامل بیماری‌زا است و برخی از بیماری‌های ایجاد شده توسط این عوامل بطور قابل توجهی، عملکرد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲۴). بیماری‌های گوجه‌فرنگی توسط عوامل قارچی، ویروسی، نماتدی، فیتوپلاسمایی، باکتریایی و گاهی توسط تنش‌های محیطی و عوامل فیزیولوژیکی ایجاد می‌شوند. عوامل بیماری‌زای باکتریایی مهم این محصول، شامل باکتری‌های گرم منفی *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*، *Dickeya chrysanthemi*، *P. syringae* pv. *tomato*، *X. gardneri*، *X. perforans*، *Xanthomonas vesicatoria*، *euvesicatoria* و باکتری گرم مثبت *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* است (۳، ۷، ۲۴).

گوجه‌فرنگی از محصولات کشاورزی مهم در سراسر دنیا به شمار می‌آید که به صورت تازه‌خوری و فرآوری شده مصرف می‌شود. به دلیل دارا بودن انواع ویتامین‌ها، قندها، آنتی‌اکسیدان‌ها، همچنین عناصر آهن، فسفر، پتاسیم و کلسیم جایگاه خاصی را در جیره غذایی انسان‌ها به خود اختصاص داده است و یکی از پرمصرف‌ترین سبزیجات میوه‌ای در دنیا می‌باشد (۲۱). در سال ۲۰۱۹ سطح زیر کشت گوجه‌فرنگی در دنیا ۵۰۳۰۵۴۵ هکتار و میزان تولید آن بیش از

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

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

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

DOI: 10.22067/JPP.2021.67720.1000

بیماری خال‌زدگی باکتریایی گوجه‌فرنگی یکی از بیماری‌های مهم و اقتصادی گوجه‌فرنگی در دنیا است (۶). این بیماری اولین بار توسط اکابه در مزارع گوجه‌فرنگی فورموسا^۱ (تایوان) مشاهده و گزارش شد (۱۷). این بیماری در ابتدا به عنوان یک بیماری کم‌اهمیت در دنیا شناخته می‌شد اما پس از مدتی نشانه‌های بیماری در اکثر مزارع گوجه‌فرنگی در شمال و جنوب آمریکا مشاهده شد. با این حال، گزارش‌های کمی از حضور بیماری در آن زمان وجود دارد که احتمالاً دلیل آن تشابه نشانه‌های این بیماری با سایر لکه‌برگی‌های گوجه‌فرنگی، بویژه لکه باکتریایی ناشی از زانتاموناس‌ها و لکه‌برگی سیرینگایی می‌باشد (۱۰). در ایران، این بیماری اولین بار در سال ۱۳۷۴ از مزارع گوجه‌فرنگی ورامین گزارش شد (۲۲). بر اساس پژوهش‌های انجام شده، این بیماری هم‌اکنون در بیشتر شهرستان‌های استان آذربایجان غربی نیز وجود دارد (۱). بسیاری از سویه‌های *P. syringae* pv. *tomato* فقط در گوجه‌فرنگی، بیماری ایجاد می‌کند. اما آلودگی گیاهان تیره شب‌بو (Brassicaceae) نیز توسط برخی از سویه‌های این باکتری گزارش شده است (۱۸).

باکتری *P. syringae* pv. *tomato* (Pst)، عامل بیماری خال‌زدگی باکتریایی است. این باکتری گرم منفی، متحرک و هوازی اجباری است که پس از ورود به گیاه از طریق منافذ طبیعی، در فضای بین سلولی مستقر شده و تکثیر می‌شود (۲۳). این باکتری قادر است به صورت اپی‌فیت روی غلف‌های هرز و گیاهان غیرمیزبان بقاء داشته باشد، همچنین بقاء این باکتری در خاک و بذرها، گوجه‌فرنگی اثبات شده است. باکتری Pst می‌تواند بدون بروز علائم بیماری، نشاء‌های گوجه‌فرنگی را آلوده نموده و موجبات انتقال آلودگی به نشاء‌های سالم را فراهم آورد (۶).

بیماری خال‌زدگی باکتریایی از زمان معرفی در سال ۱۹۳۳ در تایوان، تا دهه ۱۹۷۰ میلادی خسارت چندانی نداشته است اما با انتقال نشاء‌های آلوده از مناطق جنوبی آمریکا به مناطق شمالی و مساعد بودن شرایط محیطی، عامل بیماری به یک تهدید جدی برای تولید گوجه‌فرنگی در این مناطق تبدیل شد (۴). این بیماری یکی از بیماری‌های اقتصادی در مناطق سرد، مرطوب و بارانی است که از اکثر مناطق کاشت گوجه‌فرنگی در جهان گزارش شده است. خسارت بیماری بسته به مرحله رشدی گیاه آلوده شده، از ۷۵ درصد در مرحله گیاهچه تا ۵ درصد در مراحل آخر رشد متفاوت است. عمده خسارت این بیماری روی گیاه گوجه‌فرنگی، به دلیل کاهش بازپسندی میوه می‌باشد. در صورتی که شدت بیماری زیاد باشد، علاوه بر کاهش کیفیت محصول، باعث خسارت کمی نیز می‌شود و حتی ممکن است محصول به‌طور کامل از بین برود (۲۶).

نشانه‌های بیماری در برگ‌ها به صورت لکه‌های آب‌سوخته کوچک

است که در مراحل اولیه بیماری، با هاله زرد کم‌رنگی احاطه می‌شوند. با گذشت زمان، هاله زرد پررنگ‌تر می‌شود. لکه‌ها که به صورت مدور، نکروزه و قهوه‌ای رنگ هستند، معمولاً در تمام سطح برگ ایجاد می‌شوند. روی میوه ابتدا خال‌های برجسته و ریز دیده می‌شود که قابل لمس هستند. در میوه سبز، اطراف لکه‌ها هاله مشخص وجود ندارد و لکه‌ها به‌ندرت توسط هاله زرد رنگ احاطه می‌شوند. ایجاد لکه روی میوه سبب کاهش بازپسندی آن می‌شود (۳ و ۴). باکتری عامل بیماری خال‌زدگی باکتریایی بذربرد است، به همین دلیل استفاده از بذر سالم و عاری از باکتری می‌تواند در کاهش بیماری تأثیرگذار باشد. به طور کلی، این بیماری از طریق استفاده از بذر و نشاء سالم، رعایت اصول بهداشتی، تناوب کاشت، آبیاری قطره‌ای با هدف کاهش رطوبت برگ‌ها، تقویت گیاه با ترکیباتی مانند سولفات روی، استفاده از ترکیبات باکتری‌کش از قبیل سموم مسی و استفاده از ارقام مقاوم مدیریت می‌شود (۱۴، ۱۸ و ۱۹).

یکی از شاخص‌هایی که در بررسی میزان خسارت بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری^۲ (AUDPC) است که روشی جهت بررسی میزان پیشرفت بیماری در طول زمان است (۲۰). این شاخص که کاربرد فراوانی دارد، جهت مقایسه بین ژنوتیپ‌های مختلف یک گیاه استفاده می‌شود و از این جهت که مولفه‌های مختلف مقاومت در آن لحاظ می‌شود و در قالب یک معیار کمی میزان مقاومت را نشان می‌دهد، اهمیت دارد (۵، ۱۵ و ۱۶).

در حال حاضر گوجه‌فرنگی در بیشتر استان‌های کشور در مزرعه یا گلخانه کشت می‌شود و تعداد زیادی از کارخانجات صنایع فرآوری گوجه‌فرنگی در این استان‌ها فعالیت می‌کنند که علاوه بر مصارف داخل کشور، برخی از فرآورده‌های آن به کشورهای همجوار نیز صادر می‌گردد. با توجه به ارزآوری مطلوب، این محصول مورد توجه مسئولین، صاحبان صنایع و کشاورزان قرار دارد. با توجه به اهمیت بیماری خال‌زدگی باکتریایی در کمیت و کیفیت محصول تولیدی (۱ و ۶)، ضروری است مدیریت این بیماری مورد توجه قرار گیرد و روش‌های مناسب با کمترین خطر آلودگی برای انسان و محیط زیست پیشنهاد شوند. از آنجایی که همه ساله ارقام مختلف گیاه گوجه‌فرنگی با ویژگی‌های متفاوت، توسط محققان اصلاح نباتات تولید و به بازار عرضه می‌شود و با توجه به اهمیت استفاده از ارقام مقاوم در مدیریت بیماری خال‌زدگی باکتریایی، بررسی واکنش چند رقم غیرهیبرید و هیبرید گوجه‌فرنگی در برابر این بیماری به عنوان هدف این پژوهش در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌ها

تهیه سویه‌های باکتری بیماری‌زا

در این تحقیق از چهار سویه باکتری *P. syringae* pv. *tomato* جداسازی شده از مزارع گوجه‌فرنگی استان آذربایجان غربی استفاده شد. شناسایی فنوتیپی و مولکولی، همچنین اثبات بیماری‌زا بودن این سویه‌ها، در مطالعات قبلی انجام شده است (۱).

بررسی واکنش ارقام گوجه‌فرنگی مورد مطالعه به بیماری

خال‌زدگی باکتریایی

ماده گیاهی مورد استفاده

جهت انجام این آزمون، از ۲۴ رقم مزرعه‌ای گوجه‌فرنگی شامل ۱۳ رقم غیرهیبرید (آزادگرده‌افشان)^۱ Early Urbana 111، Early Rio، 2270، CalJ N3، Super 22 TO، King stone، Urbana Y، Super Falat CH، Primo early، Early Urbana، grenade، Hyb. 6515، Red Stone و Primax، Chef Hyb.، Hyb. Comodoro، Hyb. Firenze، Hyb. Superset Hyb.، Hyb. Eden، Hyb. Kishmat، Hyb. 1585، Bellariva Hyb.، Ferguson F1 و Hyb. Monty marker F1، 8320 استفاده شد. بذره‌ای ارقام غیرهیبرید از موسسه تحقیقات، اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و بذره‌ای ارقام هیبرید از شرکت‌های واردکننده فرآورده‌های کشاورزی تهیه شد.

مایه‌زنی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی با سویه‌های باکتری

بذره‌ای ارقام مختلف در سینی‌های کشت حاوی مخلوط رس و ماسه کاشته شدند. پس از اینکه نشاءها به مرحله دو تا سه برگه رسیدند، به گلدان‌های پلاستیکی حاوی مخلوط رس، ماسه و خاک‌برگ به نسبت‌های مساوی انتقال داده شدند. از گیاهچه‌ها، در مرحله چهار تا پنج برگه جهت مایه‌زنی باکتری بیماری‌زا استفاده شد. جهت مایه‌زنی، سویه‌های باکتری روی محیط کشت نوترینت آگار^۲ کشت شدند و پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت، سوسپانسیون با غلظت 1×10^7 CFU ml⁻¹ (OD₆₀₀) از سویه‌های باکتری بیماری‌زا تهیه شد. سطح اندام‌های هوایی بوته‌ها، با سوسپانسون باکتری به طور کامل اسپری گردید. جهت حفظ رطوبت، گیاهچه‌ها به مدت ۲۴ ساعت زیر پوشش‌های پلاستیکی قرار داده شدند. دما در طول انجام آزمایش 27 ± 2 درجه سلسیوس و طول دوره روشنائی ۱۲ ساعت در طول شبانه‌روز تنظیم شد. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده از یک روز پس از

مایه‌زنی تا ۲۱ روز بعد، به صورت روزانه مورد بررسی قرار گرفتند و از نشانه‌های ایجاد شده یادداشت‌برداری انجام شد. در تیمار شاهد هر رقم، آب مقطر سترون روی گیاهچه‌ها اسپری شد (۱۲).

شاخص‌های بررسی شده

جهت بررسی واکنش ارقام گوجه‌فرنگی مورد مطالعه در برابر بیماری خال‌زدگی باکتریایی، از شاخص‌های زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری، شاخص شدت بیماری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) استفاده شد. جهت ارزیابی شدت بیماری، تعداد لکه‌های ایجاد شده روی شش برگ هر بوته شمارش شد و از شاخص صفر تا شش به صورت: صفر) بدون نشانه‌های بیماری، ۱) یک تا ۱۰ لکه روی برگ‌ها، ۲) ۱۱ تا ۱۵ لکه روی برگ‌ها، ۳) ۱۶ تا ۲۰ لکه روی برگ‌ها، ۴) ۲۱ تا ۲۵ لکه روی برگ‌ها، ۵) ۲۶ تا ۳۰ لکه روی برگ‌ها و ۶) بیش از ۳۰ لکه روی برگ‌ها انجام گرفت (۲۷). شاخص شدت بیماری با استفاده از فرمول ۱ محاسبه شد (۱۱).

$$DS = \frac{\sum(n \times x_0 - 6)}{N} \times 100$$

در این معادله n: تعداد برگ در هر نمره عددی، ۰-۶: نمره عددی، N: تعداد کل برگ‌های ارزیابی شده است.

شاخص سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری نیز از فرمول ۲ محاسبه شد (۵).

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{y_i + y_{i+1} + 1}{2} (t_{i+1} + 1 - t_i)$$

در این معادله، y_i درصد بیماری در مشاهده i ام، y_{i+1} میزان بیماری در مشاهده $i+1$ ام، t_i زمان یادداشت‌برداری در مشاهده i ام، t_{i+1} زمان یادداشت‌برداری در مشاهده $i+1$ ام و n تعداد کل مشاهدات است.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای هر تیمار (رقم) چهار گلدان و در هر گلدان چهار بوته استفاده شد. مقایسه میانگین و تجزیه واریانس داده‌ها به روش توکی، با استفاده از نرم‌افزار SAS (version 9.4) انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند. شاخص AUDPC با استفاده از نرم‌افزار R (version 3.5.2) و بسته Agricolae محاسبه شد (۸). بررسی همبستگی رتبه‌ای بین شاخص‌های مقاومت به بیماری نیز با استفاده از ضریب همبستگی اسپیرمن در نرم‌افزار SPSS (version 25) انجام شد.

1- Open pollination

2- Nutrient agar

نتایج

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری، شدت بیماری و AUDPC در ارقام مختلف گوجه‌فرنگی، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۱).

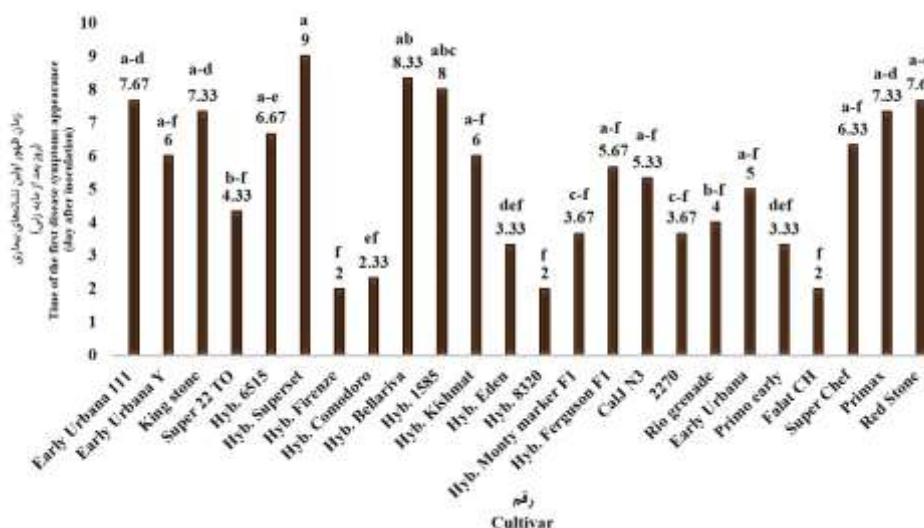
واکنش ارقام مختلف گوجه‌فرنگی به بیماری خال‌زدگی باکتریایی

جدول ۱- تجزیه واریانس شاخص‌های مورد بررسی در واکنش ارقام گوجه‌فرنگی به بیماری خال‌زدگی باکتریایی
Table 1- Variance analysis of studied indexes in tomato cultivars reaction to bacterial speck disease

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean squares		
		زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری Time of the first symptoms appearance	شدت بیماری Disease severity	سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC
رقم گوجه‌فرنگی Tomato cultivar	23	14.47 **	3.68**	176.4**
خطا Experimental error	48	2.08	0.75	31.12
درصد ضریب تغییرات Coefficient of variabilities %		27.28	22.03	19.13

** Significance level at 1%

** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد



شکل ۱- میانگین زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری در ارقام مختلف گوجه‌فرنگی پس از مایه‌زنی با باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*

ستون‌های با حروف یکسان از نظر آماری با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$).

Figure 1- The average of time of the first symptoms appearance in different tomato cultivars after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

There is no statistically significantly difference between columns with the same letters ($p \leq 0.05$).

نشانه‌های بیماری در گروه‌های آماری مختلف قرار گرفتند (شکل ۱). نتایج آماری نشان داد که رقم‌های Hyb. 8320، Falat CH و Hyb. Firenze، نشانه‌های بیماری را در روز دوم نشان دادند و بر اساس شاخص زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری از لحاظ آماری در گروه f

زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری خال‌زدگی در ارقام مختلف گوجه‌فرنگی

با توجه به مقایسه میانگین واکنش ارقام مختلف گوجه‌فرنگی به بیماری خال‌زدگی باکتریایی، ارقام مورد مطالعه بر اساس زمان ظهور

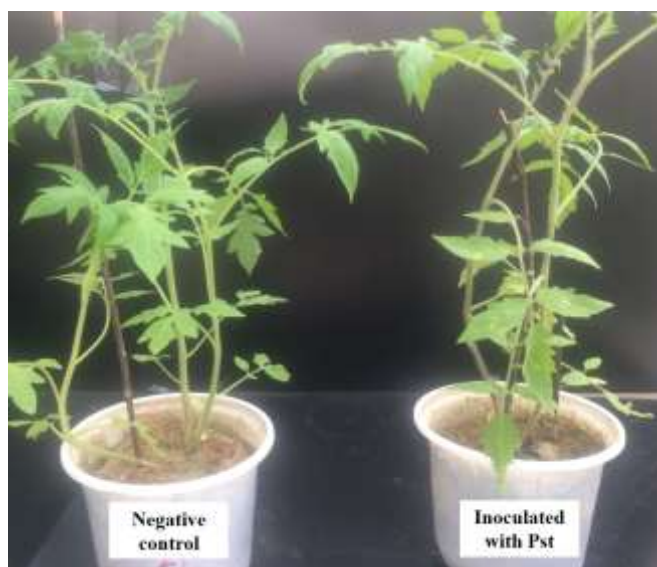
مطالعه، بین سه تا هفت روز پس از مایه‌زنی، اولین نشانه‌های بیماری را بروز دادند (شکل ۱).

شدت بیماری خال‌زدگی در ارقام مختلف گوجه‌فرنگی

نشانه‌های بیماری به صورت بروز لکه‌های نکروزه دو تا پنج میلی‌متری روی برگ که با هاله زرد رنگ احاطه شده بودند، ایجاد شد (شکل ۲). تعداد لکه‌های ایجاد شده در ارقام مورد مطالعه متفاوت بود و ارقام مورد بررسی از نظر درصد بیماری ایجاد شده، در گروه‌های آماری مختلف قرار گرفتند (شکل ۳).

قرار گرفتند. این ارقام به عنوان حساس‌ترین ارقام از نظر این شاخص، ارزیابی شدند. همچنین حساسیت رقم Hyb. Comodoro به بیماری، به این سه رقم نزدیک بود (شکل ۱).

دیرترین زمان ظهور نشانه‌های بیماری، مربوط به رقم Hyb. Superset بود که نه روز پس از مایه‌زنی و سپس ارقام Hyb. 1585 و Hyb. Bellariva که هشت روز پس از مایه‌زنی، اولین نشانه‌های بیماری را نشان دادند. از نظر زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری، رقم Hyb. Superset به عنوان رقم با مقاومت بالاتر نسبت به سایر ارقام مورد مطالعه، ارزیابی شد. سایر ارقام مورد



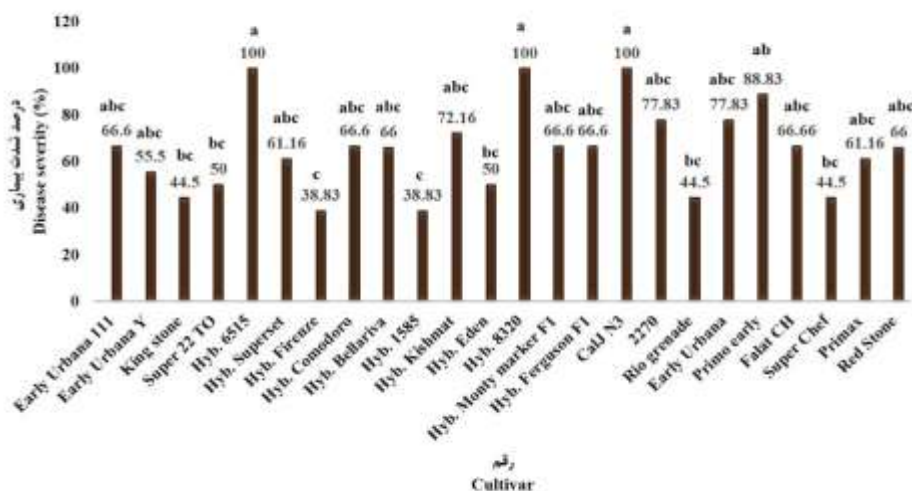
شکل ۲- نشانه‌های بیماری خال‌زدگی باکتریایی روی بوته گوجه‌فرنگی رقم Hyb. Comodoro، پنج روز پس از مایه‌زنی با باکتری بیماری‌زای *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst) (راست) و شاهد منفی (چپ)

Figure 2- Symptoms of bacterial speck disease on inoculated tomato plant cv. Hyb. Comodoro, five days after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst) (right) and negative control (left)

از بین ارقام مورد بررسی، بیشترین مقدار شاخص AUDPC مربوط به رقم Hyb. 8320 بود. این رقم به عنوان حساس‌ترین رقم به بیماری تعیین شد. پس از آن، رقم‌های Hyb. Comodoro، Early Urbana، Hyb. 6515، Primo early، Calj N3، 2270، Falat CH، Hyb. Kishmat و Hyb. Monty marker F1 نیز به ترتیب شاخص AUDPC بیشتر از ۳۰ داشتند. ارقام Hyb. Supersent و Super Chef، King stone، Bellariva حساسیت کمتری نسبت به بیماری نشان دادند و در کنار ارقام با مقاومت بالاتر قرار گرفتند. کمترین مقدار شاخص AUDPC مربوط به رقم Hyb. 1585 بود که شاخص AUDPC در آن ۱۶/۸ تعیین شد و به عنوان مقاوم‌ترین رقم از بین ارقام مورد مطالعه ارزیابی شد. سایر ارقام با AUDPC زیر ۳۰، در گروه آماری b-e قرار گرفتند (شکل ۴).

در بین ۲۴ رقم مورد بررسی، سه رقم Hyb. 6515، Hyb. 8320 و Calj N3 بیشترین شدت بیماری را نشان دادند که هر سه در گروه آماری a قرار گرفتند. درصد بیماری ایجاد شده در این ارقام ۱۰۰ درصد بود که به عنوان حساس‌ترین ارقام ارزیابی شدند (شکل ۳). پنج رقم Hyb. 1585، Hyb. Firenze، King stone، Rio grenade و Super Chef شدت بیماری کمتر از ۵۰ درصد داشتند که از میان آن‌ها، دو رقم Hyb. Firenze و Hyb. 1585 شدت بیماری ۳۸/۸۳ درصد را نشان دادند و بر اساس این شاخص به عنوان مقاوم‌ترین ارقام در بین ارقام مورد بررسی ارزیابی شدند. در سایر ارقام شدت بیماری ایجاد شده بین ۵۰ و ۸۸ درصد بود (شکل ۳).

سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC)

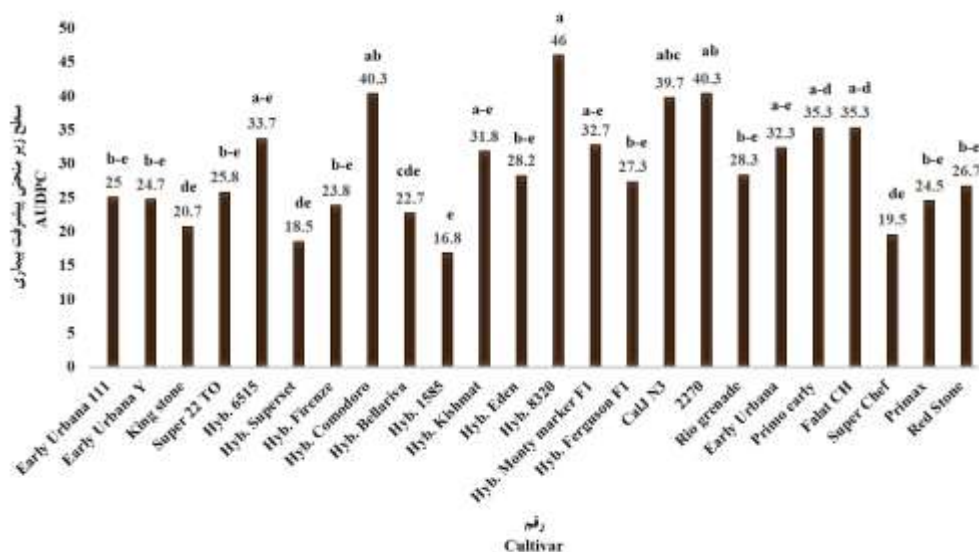


شکل ۳- میانگین داده‌های شدت بیماری در ارقام هیبرید و غیرهیبرید گوجه‌فرنگی، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی با باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

ستون‌های با حروف یکسان از نظر آماری با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$).

Figure 3- The average of disease severity in hybrid and non-hybrid tomato cultivars 21 days after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*

There is no statistically significantly difference between columns with the same letters ($p \leq 0.05$).



شکل ۴- میانگین شاخص سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) در ارقام گوجه‌فرنگی مورد مطالعه، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی با باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*

ستون‌های با حروف یکسان از نظر آماری با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$).

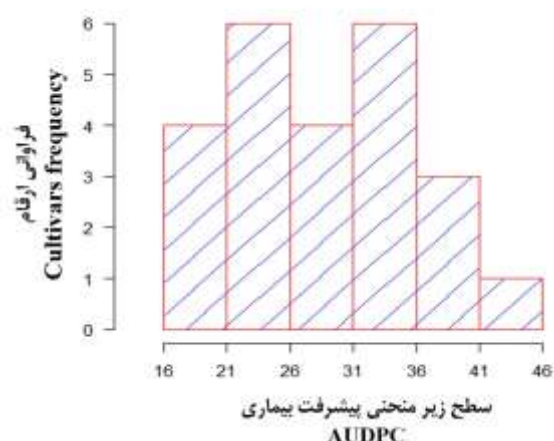
Figure 4- The average of the area under the disease progress curve (AUDPC) in studied tomato cultivars 21 days after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*

There is no statistically significantly difference between columns with the same letters ($p \leq 0.05$).

بیماری نشان می‌دهد. بنابراین از بین ۲۴ رقم گوجه‌فرنگی مورد بررسی، تعداد شش رقم (شامل ارقام هیبرید Hyb. Firenze، Hyb. Bellariva، Super Chef، Hyb. Supersent و Hyb. 1585 و رقم غیرهیبرید King stone) نسبت به سایر ارقام مقاومت بیشتری به بیماری نشان دادند.

نمودار فراوانی ارقام مورد مطالعه بر اساس شاخص AUDPC

بر اساس نمودار فراوانی ارقام مورد مطالعه، بیشترین فراوانی ارقام در AUDPC های ۲۱ تا ۲۶ و ۳۱ تا ۳۶ دیده شد. تنها رقم Hyb. 8320 دارای AUDPC دامنه ۴۱-۴۶ بود و به عنوان حساس‌ترین رقم تعیین شده رقم مورد نظر مقاومت بیشتری نسبت به عامل



نت بیماری (AUDPC)

شکل ۵- فراوانی ارقام گو

Figure 5- Frequency of studied tomato cultivars based on the area under the disease progress curve (AUDPC)

دلیل است که در محاسبه شاخص AUDPC دو پارامتر زمان و درصد شدت بیماری هر دو لحاظ شده‌اند و همبستگی آن‌ها دور از انتظار نبود. شاخص زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری با درصد شدت بیماری همبستگی معنی‌داری نداشتند ($r=0/22$).

همبستگی بین شاخص‌های مورد ارزیابی

شاخص AUDPC با زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری ($r=0/71$) و درصد شدت بیماری ($r=0/76$) همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت. این موضوع به این

جدول ۲- ضریب همبستگی بین شاخص‌های واکنش ارقام گوجه‌فرنگی (زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری، شدت بیماری و AUDPC) به بیماری خال‌زدگی باکتریایی

Table 2- Correlation coefficient between tomato cultivars reaction indexes (time of the first symptoms appearance, disease severity and AUDPC) to bacterial speck disease

	زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری Time of the first symptoms appearance	شدت بیماری Disease severity	سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC
زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری Time of the first symptoms appearance	1.00		
شدت بیماری Disease severity	0.22	1.00	
سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC	0.71**	0.76**	1.00

**Significance level at 1%

**معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

بحث

در این مطالعه، واکنش ۲۴ رقم غیرهیبرید و هیبرید گوجه‌فرنگی در برابر بیماری خال‌زدگی باکتریایی در محیط گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بررسی‌های انجام شده نشان داد، اولین نشانه‌های بیماری در رقم‌های هیبرید Hyb. Bellariva، Hyb. Superset و Hyb. 1585، هشت تا نه روز پس از مایه‌زنی و دیرتر از سایر ارقام ظاهر شد. درحالی‌که در ۱۱ رقم مورد بررسی، این نشانه‌ها دو تا پنج روز پس از مایه‌زنی مشاهده شد. با توجه به اینکه گیاه گوجه‌فرنگی در مرحله گیاهچه نسبت به بیماری خال‌زدگی باکتریایی حساس است، هرچه زمان ظهور نشانه‌های بیماری در رقم مورد نظر افزایش یابد، احتمال بروز بیماری در آن رقم کمتر و یا شدت بیماری ایجاد شده کمتر خواهد بود و در نتیجه این رقم نسبت به بیماری مقاومت بیشتری خواهد داشت. شدت بیماری با استفاده از شاخص صفر تا شش بر اساس نشانه‌هایی که پس از مایه‌زنی باکتری بیمارگر روی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی ایجاد شد، ارزیابی گردید. بر اساس نتایج شاخص شدت بیماری، درصد بیماری ایجاد شده در رقم‌های Hyb. Super، Rio grenade، King stone، Hyb. 1585، Firenze، Chef نسبت به سایر ارقام مورد بررسی کمتر بود و این ارقام جزو ارقام با مقاومت بالاتر نسبت به بیماری تعیین شدند. با توجه اینکه برخی از ارقام مورد مطالعه، ارقام هیبرید و اصلاح ژنتیکی شده با هدف دستیابی به کیفیت و کمیت بالاتر محصول بودند، توجه به این نکته که فقط در پنج رقم ذکر شده، شدت بیماری زیر ۵۰ درصد بود، حائز اهمیت است. در بررسی شدت بیماری، هرچه رقم گیاه در برابر بیماری حساس‌تر باشد، میزان نشانه‌های ایجاد شده بیشتر و شدت بیماری بالاتر خواهد بود (۲۷). از بین ۲۴ رقم مورد بررسی، رقم Hyb. 1585 که بر اساس شاخص AUDPC مقاوم‌ترین رقم بود، بر اساس زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری (روز هشتم) و شاخص شدت بیماری (۳۸/۸۳ درصد) نیز جزو ارقام با مقاومت بیشتر نسبت به بیماری بود. از بین ارقام مورد بررسی، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در رقم‌های Hyb. Comodoro، Hyb. 8320، CaIJ، 2270، Primo early، N3 و Falat CH بیشتر از سایر ارقام بود و بنابراین این ارقام نسبت به بیماری حساسیت بیشتری داشتند. هیچ‌گونه ویژگی ریخت‌شناسی مشترکی بین ارقام با مقاومت مشابه در برابر بیماری مشاهده نشد.

نتایج تحقیقات پیشین نشان داده است که شدت بیماری در ارقام مختلف گوجه‌فرنگی، در مقابل بیماری خال‌زدگی باکتریایی متفاوت است. تاکنون چندین رقم با مقاومت بالا یا متوسط به بیماری خال‌زدگی باکتریایی گوجه‌فرنگی معرفی شده است (۲ و ۲۵) اما تحقیقات نشان داده است که در بسیاری از موارد، مقاومت با ظهور نژادهای جدید عامل بیماری شکسته می‌شود (۱۹). در مطالعه‌ای،

مقاومت ارقام Dorit، Marmara، 5656، Newton، Selin، 144 و Beril نسبت به بیماری خال‌زدگی باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج، کمترین شدت بیماری مربوط به رقم 144 و بیشترین شدت بیماری مربوط به رقم Newton بود. در این مطالعه، رقم‌های 144 و Marmara به عنوان ارقام با مقاومت زیاد، ارقام Selin و Beril دارای مقاومت متوسط، ارقام Dori و 5656 ارقام حساس و رقم Newton به عنوان رقم خیلی حساس معرفی شدند (۲). در پژوهشی دیگر، سطح مقاومت ۱۷ رقم گوجه‌فرنگی از جمله رقم مقاوم Ontario 7710 در برابر بیماری خال‌زدگی مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر رقم ذکر شده، گونه وحشی *Lycopersicon hirsutum* و هیبرید ایجاد شده از تلاقی رقم Ontario 7710 با رقم حساس A100 نیز در برابر این بیماری مقاومت نشان دادند (۱۳). در مطالعه‌ای که توسط تورگات و بسیم (۲۵) انجام شد، واکنش ۹۳ رقم مختلف گوجه‌فرنگی که در ناحیه شرق مدیترانه‌ای ترکیه کشت می‌شوند، نسبت به این بیماری مورد بررسی قرار گرفت. از بین این ارقام، هفت رقم نسبت به سویه‌های باکتری *P. syringae* pv. *tomato* واکنش فوق حساسیت نشان دادند. بررسی مولکولی ارقام مورد مطالعه نشان داد، این هفت رقم حامل ژن *avrpto1* بودند. از بین این هفت رقم، ژن *pto* که در بروز مقاومت علیه بیماری خال‌زدگی باکتریایی نقش دارد، در شش رقم Atalay، Party، Petrus، Piccadilly، Prenses و Tyty ردیابی شد. توالی ژن *Pto* در این ارقام ۹۲ تا ۹۵ درصد با توالی این ژن در رقم مقاوم *L. esculentum* VFNT Cherry (AF220603) و ۹۵ تا ۱۰۰ درصد با رقم مقاوم *L. pimpinellifolium* Rio Grande 76R (AF220602) مشابهت نشان داد. این یافته‌ها نشان‌دهنده تنوع قابل توجه ارقام گوجه‌فرنگی در مقاومت به بیماری خال‌زدگی است که به انتخاب لاین‌های مقاوم گیاه برای اصلاح ژنتیکی و تولید ارقام جدید مقاوم به بیماری کمک می‌کند (۲۵). مقاومت یک گیاه به بیماری، نیازمند وجود ژن یا ژن‌های مقاوم در گیاه میزبان و ژن غیربیماری‌زایی در بیمارگر است و تعامل این ژن‌ها موجب بروز مقاومت نسبت به بیماری می‌شود. بنابراین علیرغم وجود تعدادی ژن مقاوم در ژنوم گیاه، در برابر بیماری مقاومتی ایجاد نخواهد شد (۲۵). یافته‌های این تحقیق نشان داد، بین نتایج سه شاخص ارزیابی شده در اغلب ارقام همخوانی وجود داشت. به عنوان مثال، طبق نتایج هر سه شاخص، رقم Hyb. 1585 به عنوان رقم مقاوم و رقم Hyb. 8320 به عنوان رقم حساس به این بیماری تعیین شدند. با این حال برخی ارقام از جمله Hyb. Firenze بر اساس شاخص شدت بیماری به عنوان رقم مقاوم و بر اساس شاخص زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری، حساس بودند. همچنین رقم Hyb. Bellariva با اینکه از نظر زمان ظهور نشانه‌های بیماری در رتبه دوم قرار داشت، دارای شاخص شدت بیماری چهار بود و بر اساس شاخص AUDPC

محصول، به شرایط اقلیمی و بیماری‌های غالب منطقه نیز توجه نمود و با توجه به جمع شرایط مبادرت به انتخاب و کاشت ارقام تجاری و پرمحصول نمود. از آنجایی که مقاومت به عوامل بیماری‌زای گیاهی تحت تاثیر فاکتورهای مختلف ژنتیکی، فیزیولوژیکی و تعاملات بین گیاه و بیمارگر قرار دارد، توصیه می‌شود در روند ارزیابی واکنش ارقام گیاهان به بیماری‌ها، چند شاخص مختلف مورد مطالعه قرار گیرد و از برآیند نتایج آن‌ها در تصمیم‌گیری‌های نهایی در مدیریت تلفیقی بیماری‌ها بهره گرفته شود.

رتبه پنجم قرار گرفت. با در نظر گرفتن نتایج سه شاخص بررسی شده، ارقام هیبرید King stone, Hyb. Superset, Hyb. 1585, Hyb. Bellariva و Hyb. Firenze، همچنین رقم غیرهیبرید Super Chef، به عنوان ارقام با مقاومت بالاتر نسبت به سایر ارقام، در برابر بیماری خال‌زدگی گوجه‌فرنگی معرفی می‌شوند و استفاده از این ارقام در مناطقی که بیماری از آن‌ها گزارش شده است، توصیه می‌گردد.

بنا بر نتایج تحقیق حاضر، لازم است در انتخاب ارقام محصولات کشاورزی علاوه بر در نظر گرفتن ویژگی‌های زارعی و فیزیولوژیکی

منابع

- Allahyari S., Khezri M., and Sadeghinasab F. 2017. A study on tomato gram-negative pathogenic bacteria in West Azarbaijan. p 279. In: Proceedings of the 1st International and 5th National Congress on Organic vs. Conventional Agriculture. 6-17 August. University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
- Bakir V., Özdemir Z., and Yardim H. 2012. Reaction of some popular hybrid tomato cultivars grown in Aegean region to bacterial speck disease and determination of disease incidence in Şahna, Aydın. The Journal of Turkish Phytopathology 41: 37-42.
- Blancard D. 2012. A Color Handbook Tomato Diseases, Identification, Biology and Control. 2nd. Academic press, USA. 688 pp.
- Borkar S.G., and Yumlembam R.A. 2016. Bacterial Diseases of Crop Plants. 1st ed. CRC Press, Boca Raton, USA. 594 pp.
- Campbell C.L., and Modden L.V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley and Sons, New York, USA. 532 pp.
- Canzoniere P., Francesconi S., Giovando S., and Balestra G.M. 2021. Antibacterial activity of tannins towards *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, and their potential as biostimulants on tomato plants. Phytopathologia Mediterranea 60: 23-36.
- Caruso A., Licciardello G., La Rosa R., Catara V., and Bella P. 2016. Mixed infection of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *P. carotovorum* subsp. *brasiliensis* in tomato stem rot in Italy. Journal of Plant Pathology 98: 3. doi: 10.4454/JPP.V98I3.062.
- de Mendiburu F., and de Mendiburu M.F. 2019. Package 'agricolae'. R Package, Version, 1-2.
- FAOSTAT. 2021. The Agricultural Production Domain. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [visited 27 August 2021].
- Fletcher J. 1992. Compendium of Tomato Disease. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 73 pp.
- Gullino M.L., Gilardi G., Sanna M., and Garibaldi A. 2009. Epidemiology of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on tomato. Phytoparasitica 37: 461-466.
- Hibberd A.M., Heaton J.B., Finally G.P., and Dullahide S.R. 1992. A greenhouse method for selecting tomato seedlings resistant to bacterial canker. Plant Disease 76: 1004-1007.
- Kozik E.U. 2002. Studies on resistance to bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) in tomato cv. Ontario 7710. Plant Breeding 121: 526-530.
- Le K.D., Kim J., Yu N.H., Kim B., Lee C.W., and Kim J.C. 2020. Biological control of tomato bacterial wilt, kimchi cabbage soft rot, and red pepper bacterial leaf spot using *Paenibacillus elgii* JCK-5075. Frontiers in Plant Science 11: 775. doi.org/10.3389/fpls.2020.00775.
- Louws F.J. 2018. Evaluation of biopesticides and biorationals on bacterial canker and bacterial spot disease levels in tomato fresh-market production in North Carolina. Acta Horticulture 1207: 241-248
- Najeeb S., Ahmad M., Khan R.A.A., Naz I., Ali A., and Alam S.S. 2019. Management of bacterial wilt in tomato using dried powder of *Withania coagulans* (L) Dunal. Australasian Plant Pathology 48: 183-192
- Okabe N. 1933. Bacterial disease of plants occurring in Formosa. II. Bacterial leaf spot of tomato. Journal of the Society of Tropical Agriculture 5: 25-36.
- Preston G.M. 2000. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*: the right pathogen, of the right plant, at the right time. Molecular Plant Pathology 1: 263-275.
- Quaglia M., Bocchini M., Orfei B., D'Amato R., Famiani F., Moretti C., and Buonaurio R. 2021. Zinc phosphate protects tomato plants against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Journal of Plant Diseases and Protection 128: 989-998.

20. Rossi V. 1999. Effect of host resistance and fungicide sprays against *Cercospora* leaf spot indifferent sugar beet-growing areas of the Mediterranean basin. *Phytopathologia Mediterranea* 38: 465-470.
21. Saimin J., Soetjipto, and Hendarto H. 2020. Antioxidant effects of tomato juice on reducing serum malondialdehyde levels in menopausal rats. *Pakistan Journal of Nutrition* 19: 362-366.
22. Shahriari D., and Rahimian H. 1995. Tomato bacterial speck in Varamin. p 168. In: Proceedings of the 12th Iranian Plant Protection Congress. August 27-September 1. Karaj, Iran. (In Persian with English abstract)
23. Shao X., Tan M., Xie Y., Yao C., Wang T., Huang H., Zhang Y., Ding Y., Liu J., Han L., Hua C., Wang X., and Deng X. 2021. Integrated regulatory network in *Pseudomonas syringae* reveals dynamics of virulence. *Cell Reports* 34: 108920. doi: 10.1016/j.celrep.2021.108920.
24. Thomas J.E., Geering A.D.W., and Maynard G. 2018. Detection of Candidatus *Liberibacter solanacearum* in tomato on Norfolk Island, Australia. *Australasian Plant Disease Notes* 13: 1.
25. Turgut A., and Basim H. 2013. Sensitivity of tomato (*Solanum lycopersicum*) cultivars from Turkey to bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*). *African Journal of Biotechnology* 12: 1793-1801.
26. Yang W.E.N.C.A.I., and Francis D.M. 2007. Genetics and Breeding for Resistance to Bacterial Diseases in Tomato: Prospects for Marker-Assisted Selection. Genetic Improvement of Solanaceous Crops. Volume 2: tomato. Eds M.K. Razdan and A.K. Mattoo (eds.) Science Publishers Inc, New Hampshire. pp. 379-419.
27. Yunis H., Bashan Y., Okon Y., and Heniis Y. 1980. Two sources of resistance to bacterial speck of tomato caused by *Pseudomonas tomato*. *Plant Disease* 64: 851-852.



Evaluating the Reaction of some Non-hybrid and Hybrid Tomato Cultivars to Bacterial Speck Disease

A. Abbaspour Anbi¹- M. Khezri^{2*}

Received: 30-12-2020

Accepted: 11-09-2021

Introduction: Tomato bacterial speck caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, is one of the several tomato diseases in the world. The disease can seriously affect the quantity and quality of this high-consumption crop in its cultivated areas. Disease symptoms included black spots surrounded by yellow halo on the leaves and small block spot on fruits surface. The spots on ripe fruits may surround with yellow haloes. It is difficult to diagnose the disease via symptoms, because there is high similarity among symptoms of bacterial speck and other tomato bacterial leaf spot diseases, especially bacterial spot caused by *Xanthomonas* spp. and *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. The disease is seed-borne, and application of bacterial-free seeds is the most effective strategy to reduce disease damage. Besides using healthy seed and seedling, other strategies such as applying resistant cultivars, crop rotation, drip irrigation and using pesticides are common procedures in integrated disease management

Materials and Methods: In this study, the reaction of 24 tomato cultivars including 13 non-hybrid cultivars (Early Urbana 111, Early Urbana Y, King stone, Super 22 TO, CalJ N3, 2270, Rio grenade, Early Urbana, Primo early, Falat CH, Super Chef, Primax and Red Stone, and 11 hybrid cultivars (Hyb. Superset, Hyb. Firenze, Hyb. Comodoro, Hyb. Bellariva, Hyb. 1585, Hyb. Kishmat, Hyb. Eden, Hyb. 8320, Hyb. Monty marker F1 and Hyb. Ferguson F1) was evaluated against bacterial speck disease in greenhouse. Four pathogenic *P. syringae* pv. *tomato* strains isolated from tomato fields in West Azarbaijan province, northwest of Iran, used in all experiments. For inoculation, bacterial suspension of 10^7 CFU ml⁻¹ (OD₆₀₀) was sprayed on the foliage of tomato seedling at four-five leaf stage. Inoculated seedlings were monitored daily for 21 days, and symptoms were recorded. The indexes of disease severity (DS), time of the first disease symptoms appearance and the area under the disease progress curve (AUDPC) were determined. To assess the disease severity, spots were counted on six leaves of each plant, and the index from zero to six was used, where 0) without symptom, 1) 1-10 spots, 2) 11-15 spots, 3) 16-20 spots, 4) 21-25 spots, 5) 26-30 spots and 6) more than 30 spots on leaves. Experiments were conducted in a completely randomized design, and four pots with four seedlings in each pot were considered for each treatment (cultivar). Statistical analysis of data was performed via Tukey' HSD test using SAS software (version 9.4). The AUDPC index was calculated using R (version 3.5.2) and Agricolae package. Correlation among studied indexes was evaluated via Spearman's rank correlation coefficients in SPSS (version 25).

Results and Discussion: Analysis variance of data indicated the significance at 1% level among the studied indexes. Positive correlation observed between AUDPC and the time of the first symptoms appearance ($r=0.71$), as well as the disease severity index ($r=0.76$), but there was no significant correlation between the time of the first symptoms appearance and the disease severity indexes ($r=0.22$). According to all three indexes cv. Hyb.1585 determined as a resistant cultivar and cv. Hyb. 8320 were identified as disease susceptible cultivar. However, some cultivars such as cv. Hyb. Firenze was susceptible based on the disease severity index but it considered as a resistant cultivar based on the time of the first disease symptoms appearance index. The results of previous research on tomato bacterial speck disease have shown different degrees of disease severity in various cultivars. So far, several resistant cultivars against this disease have been reported. The response of 93 different tomato cultivars growing in the Mediterranean region of Turkey was examined and seven cultivars showed resistance against *P. syringae* pv. *tomato*. Six of these cultivars included Atalay, Party, Petrus, Piccadilly, Prensas and they had the *Pto* gene, which encodes proteins related to resistance against the disease. Overall, based on the findings of this study, hybrid cultivars of Hyb. 1585, Hyb. Superset, King stone, Hyb. Bellariva and Hyb. Firenze, and non-hybrid cultivar Super Chef showed higher resistance to tomato bacterial speck disease in compare to other studied cultivars.

1- M.Sc. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

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

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

DOI: 10.22067/JPP.2021.67720.1000

Conclusion: According to the results of this study, the resistance to this pathogen depends on various genetic and physiological factors, as well as plant-pathogen interactions. Application of different disease indexes in evaluating the cultivars reaction to diseases is recommended which can be effective in the final decisions for diseases management.

Keywords: AUDPC, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, Resistance cultivars, Tomato



مقاله پژوهشی

پراکنش و تحلیل تبارزایی ویروس برگ بادبزنی مو در باغات انگور خراسان رضوی

براساس پروتئین پوششی

سارا قارونی کاردانی^{۱*} - محمود رضا کریمی شهری^۲ - فاطمه آزاد دیسفانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۱

چکیده

ویروس برگ بادبزنی مو (*Grapevine fanleaf virus, GFLV*) در تاکستان‌های مناطق مختلف دنیا شیوع دارد. علائم ایجاد شده توسط این ویروس اغلب در سه گروه برگ بادبزنی، موزاییک زرد و رگبرگ نواری تقسیم‌بندی شده‌اند که علت تفاوت در ایجاد علائم، به تنوع ژنتیکی جدایه‌ها نسبت داده شده است. شدت علائم ایجاد شده به جدایه‌ی ویروس، حساسیت رقم مو و شرایط محیطی بستگی دارد. در این تحقیق پراکنش و تحلیل تبارزایی ناحیه کدکننده پروتئین پوششی ویروس بررسی شد. نمونه‌ها از تاکستان‌های استان خراسان رضوی جمع‌آوری و ژن پروتئین پوششی از پنج جدایه تکثیر، همسانه‌سازی و تعیین ترادف گردید. به این منظور، تعداد ۱۰۹ نمونه برگ دارای علائم از تاکستان‌ها جمع‌آوری و در آزمون الایزا با استفاده از آنتی‌بادی اختصاصی GFLV آلودگی به ویروس در ۵۸ نمونه تأیید شد. بیشترین میزان آلودگی در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه محمدیه واقع در شهرستان کاشمر بود. با استفاده از آغازگرهای اختصاصی قطعه‌ای بطول ۱۷۶۰ جفت باز مربوط به طول کامل ناحیه کدکننده پروتئین پوششی ویروس و قسمتی از انتهای ۳' ژنوم تکثیر شد. پروتئین پوششی جدایه‌های انتخاب شده در سطح نوکلئوتیدی و آمینواسیدی به ترتیب ۹۴-۹۰ و ۹۷-۹۱ درصد با جدایه‌های سایر نقاط دنیا شباهت داشت. تحلیل تبارزایی بر اساس ناحیه کدکننده پروتئین پوششی، جدایه‌های ایرانی GFLV را در شاخه‌ای مجزا از جدایه‌های سایر نقاط دنیا قرار داد. همچنین جدایه‌های شمال شرق کشور در گروهی مجزا از جدایه‌های شمال غرب کشور قرار گرفتند، که نشان‌دهنده اثر جدایی جغرافیایی در تکامل GFLV است. نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر بومی بودن GFLV در ایران و گسترش احتمالی آن از این منطقه به سایر نقاط جهان است.

واژه‌های کلیدی: پراکنش، تبارزایی، خراسان رضوی، ویروس برگ بادبزنی مو

مقدمه

به‌شمار می‌رود. این ویروس عامل بیماری برگ بادبزنی مو بوده (۱۰) و در آلودگی شدید باعث کاهش تشکیل میوه و عملکرد محصول، حتی تا ۸۰ درصد می‌شود (۳). انتقال این ویروس بطور طبیعی توسط نماتد *Xiphinema index* است. با این حال بخشی از انتشار آلودگی و شیوع آن بعلت تکثیر با استفاده از قلمه، پیوندک و نهال‌های آلوده می‌باشد (۹ و ۱۱). سه گروه از علائم شامل بدشکلی مسری، موزاییک زرد و رگبرگ نواری توسط بیماری برگ بادبزنی مو ایجاد می‌شود (۱۷) که این تفاوت در علائم مربوط به تنوع در ژنوم ویروس می‌باشد زیرا دو گروه از علائم در یک رقم مشاهده شده است (۱۹). یکی از منابع تنوع در ویروس‌هایی با ژنوم آر. ان. ای، پلی‌مراز ویروس است که فاقد خاصیت دوباره خوانی می‌باشد و فشار انتخاب وارد بر این جهش یافته‌ها باعث حذف ویروس و یا حفظ و افزایش این جهش‌ها خواهد بود (۴ و ۱۹). GFLV از جنس *Nepovirus* متعلق به خانواده

انگور یک محصول صنعتی و اقتصادی با ارزش است که جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات کشاورزی در سراسر دنیا و ایران دارد. بیماری‌های ویروسی و شبه ویروسی سالانه خسارات جبران ناپذیری به بخش کشاورزی وارد می‌کنند (۱۵ و ۱۶). ویروس برگ بادبزنی انگور (*Grapevine fanleaf virus - GFLV*) یکی از مهم‌ترین و قدیمی‌ترین ویروس‌ها از لحاظ اهمیت اقتصادی و وقوع گسترده

۱، ۲ و ۳- استادیاران پژوهش، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

(*)- نویسنده مسئول: (Email: s.garooni@areeo.ac.ir)

DOI: 10.22067/JPP.2021.68789.1010

Secoviridae (۲۷) و دارای پیکره‌های ایزومتریک است که ژنوم آن از دو قطعه آر. ان. ای تک لا با قطبیت مثبت تشکیل شده است که آر. ان. ای ۱ و آر. ان. ای ۲ نامیده می‌شوند (۲۶ و ۳۲) و انتهای ۵' آر. ان. ای‌های ژنومی این ویروس، متصل به یک پروتئین کوچک به نام وی پی جی و انتهای ۳' نیز دارای دنباله‌ی پلی آدینی می‌باشند. هر کدام از آر. ان. ای‌های ژنومی یک پلی پروتئین رمزگذاری می‌کنند. پلی پروتئین رمزگذاری شده توسط آر. ان. ای ۲ به سه پروتئین کوچک‌تر به نام‌های 2A-HP در تکثیر آر. ان. ای ۲ نقش دارد، 2BMP پروتئین حرکتی و 2CCP پروتئین پوششی) شکسته می‌شود (۳).

بر طبق آمار منتشره سال ۱۳۹۸ وزارت جهاد کشاورزی، رتبه سوم بیشترین میزان تولید از بین محصولات باغبانی در کشور مربوط به انگور با تولید حدود ۳,۳ میلیون تن و سهم ۱۴,۲ درصد از کل میزان تولید محصولات باغبانی بوده که استان‌های فارس با سهم ۱۶,۵ درصدی، همدان با سهم ۱۰,۹ درصدی، خراسان رضوی با سهم ۱۰,۴ درصدی، قزوین با سهم ۱۰,۳ درصدی و آذربایجان شرقی با سهم ۷,۱ درصدی در رتبه‌های اول تا پنجم تولیدکنندگان انگور کشور قرار داشته‌اند. این پنج استان جمعاً در حدود ۵۵,۱ درصد از کل تولید انگور کشور را تأمین نموده‌اند. سطح زیر کشت انگور در استان خراسان رضوی، در سال ۱۳۹۸، حدود ۲۷,۹۴۱ هکتار و مجموع میزان تولید دیم و آبی این محصول ۳۴۶,۴۵۵ تن بوده است (۱).

بیماری ویروس برگ بادبزنی انگور تهدید عمده‌ای برای صنعت انگور به‌شمار می‌رود و در حال حاضر، استفاده از مواد تکثیری عاری از ویروس تنها راه کار مؤثر برای کنترل بیماری‌های ویروسی در تاکستان است. برای کارایی مؤثر این روش، شناسایی ویروس ضروری است. علاوه بر روش الایزا (ELISA)، آزمون رونویسی معکوس واکنش زنجیره‌ای پلی مرز (RT-PCR) رایج‌ترین روش برای تشخیص ویروس است. از آنجا که ایران یکی از سرزمین‌های اولیه کشت انگور به‌شمار می‌رود (۲۵) به‌نظر می‌رسد خواستگاه GFLV نیز ایران باشد (۳۱ و ۳۵). اولین گزارش از شیوع بیماری در ایران مربوط به سال ۱۹۷۰ میلادی است (۳۴).

تجزیه و تحلیل توالی‌ها بر اساس ژن پروتئین پوششی (Coat protein) و پروتئین حرکتی (Movement protein)، سطح بالایی از تنوع ژنتیکی را در ژنوم جمعیت‌های GFLV نشان داده است که بیانگر این است که GFLV متشکل از واریانت‌های متفاوت در یک جمعیت شبه گونه است (۲۱ و ۲۸). مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۲ در شمال غرب کشور طی تجزیه و تحلیل تبارزایی پروتئین حرکتی جمعیت‌های ویروس برگ بادبزنی مو، نشان داد که ساختار جمعیت جدایه‌های GFLV توالی‌یابی شده از اسلوونی و ایران منوفیلیک هستند و این ویروس از طریق تکامل مستقل در ایران به‌وجود آمده است، در حالی که جدایه‌های GFLV مربوط به فرانسه، ایتالیا و ایالات متحده از

چندین تبار مستقل تشکیل شده‌اند که نشان می‌دهد تمایز بین جمعیت‌های جغرافیایی GFLV رخ داده است (۳۲). طی مطالعه در رابطه با ساختار جمعیت و تنوع ژنتیکی جدایه‌های GFLV ایران در سال ۲۰۱۷، تمایز بین جمعیت‌های جغرافیایی جدایه‌های ایرانی تأیید شد و علت این وضعیت پلی‌فلیتیک جمعیت ویروس را حضور طولانی مدت ویروس در منطقه، اثرات بنیان‌گذار و یا نوترکیبی دانستند (۸). طی مطالعات انجام شده توسط محققان، ناحیه ژن پروتئین پوششی ویروس برگ بادبزنی مو به‌منظور مطالعه تنوع ژنتیکی مناسب می‌باشد (۱۸، ۲۹، ۳۳ و ۳۶) و این ناحیه از ژنوم نقش مهمی در بیولوژی ویروس و انتقال با نماتد ناقل دارد (۱۲).

با در نظر داشتن قدمت طولانی ویروس در تاکستان‌های ایران در چند سال گذشته، مطالعات مولکولی این ویروس امری ضروری است. بدین منظور ناحیه ژنومی کدکننده پروتئین پوششی برای تحلیل تبارزایی GFLV و بررسی ارتباط جدایه‌های استان با سایر جدایه‌های ویروس برگ بادبزنی مو استفاده شده است. این امر می‌تواند به توسعه روش‌های تشخیصی مطمئن در برنامه تولید گیاهان عاری از ویروس، کمک کند.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

در مجموع ۱۰۹ نمونه مشکوک به آلودگی به GFLV با علائم موزاییک زرد و رگبرگ‌نوازی طی دو سال متوالی در اواسط بهار و تابستان سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ از تاکستان‌های استان خراسان رضوی (جدول ۱) جمع‌آوری شدند.

ردیابی سرولوژیکی GFLV

ردیابی GFLV در نمونه‌های مثبت به روش الایزای غیر مستقیم انجام شد (۵). در نهایت پس از افزودن ماده‌ی زمینه، هر ۳۰ دقیقه یک بار میزان تغییر رنگ چاهک‌ها (جذب نوری در طول موج ۴۰۵ نانومتر) با دستگاه الایزا خوان تا ۹۰ دقیقه مورد سنجش قرار گرفت. معیار مثبت بودن نمونه‌ها میزان جذبی معادل یا بالاتر از دو برابر میانگین ضریب جذب نوری چاهک‌های مربوط به نمونه‌های سالم بود (۶).

استخراج آر. ان. ای کل و انجام آزمون آر تی پی سی آر

استخراج آر. ان. ای کل از برگ‌های گیاهان آلوده به GFLV (تشخیص داده شده در الایزا) به روش (CTAB) با اندکی تغییرات انجام شد (۱۲). مقدار ۲۰ میلی گرم از برگ آلوده به کمک ازت مایع

شامل یک چرخه در دمای 95°C به مدت ۳ دقیقه و 30 چرخه شامل 95°C به مدت 30 ثانیه در مرحله واسرشته سازی، 56°C به مدت 45 ثانیه و 72°C به مدت 80 ثانیه و در نهایت یک سیکل 72°C به مدت 10 دقیقه با استفاده از ترموسایکلر انجام گردید. محصول PCR در ژل آگارز یک درصد حاوی دو میکرولیتر از Green viewer (پارس توس، ایران) الکتروفورز و در نهایت در دستگاه ژل داک (Alphaimager Mini ProteinSimple, USA) عکس برداری شد.

همسانه سازی محصول (RT-PCR) و تعیین توالی نوکلئوتیدی

قطعه تکثیر شده در واکنش زنجیره ای پلی مرز قبل از همسانه سازی به درون ناقل، با استفاده از کیت استخراج از ژل (GeNet Bio, Korea, Cat No: K-8000) مطابق دستور العمل شرکت سازنده از ژل آگارز، خالص سازی شد. همسانه سازی ژن پروتئین پوششی با استفاده از کیت pTG19-T PCR Cloning (Vivantis, Malaysia) Vector در ناقل پلاسمیدی pTG19 و سویه DH5 α باکتری *Escherichia coli* و به وسیله شوک حرارتی انجام شد. پس از انجام ترانسفورماسیون دو نوع پرگنه سفید و آبی رنگ بر روی محیط کشت تشکیل گردید. غربالگری پرگنه های سفید با استفاده از پرایمر اختصاصی و انجام کلنی پی سی آر صورت گرفت. جهت استخراج پلاسمیدهای نو ترکیب از کیت استخراج پلاسمید کیاژن (Qiagen Plasmid Miniprep Kit, Germany) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. برای تعیین توالی قطعه همسانه سازی شده، مقدار 10 میکرولیتر پلاسمید با غلظت 100 نانوگرم در میکرولیتر درون میکروتیوب $1/5$ میلی لیتری ریخته شد و برای تعیین ترادف نوکلئوتیدی^۳ به شرکت ماکروژن^۴ کشور کره جنوبی ارسال شدند. خوانش ها در دو جهت رفت و برگشت انجام شد.

برای انجام ویرایش توالی ها از نرم افزار Vector NTI Advance 11.5.3 استفاده شد (۱۴). مقایسه توالی ها با استفاده از الگوریتم BLAST (۲) در مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI) انجام شد (www.ncbi.nlm.nih.gov). جدایه های توالی یابی شده GFLV از استان خراسان رضوی به همراه دیگر توالی های نوکلئوتیدی GFLV ثبت شده از ایران و سایر کشورها در بانک ژن با استفاده از مدل MUSCLE در نرم افزار MEGA7 هم تراز شدند (۱۳). اگرچه توالی های تکثیر شده توسط RT-PCR شامل طول کامل ناحیه کد کننده پروتئین پوششی ویروس و قسمتی از انتهای^۳ ژنوم بود، ولی تنها توالی ژن پروتئین پوششی برای تجزیه و تحلیل تبارزایی استفاده

پودر شده و به آن 5 میکرولیتر ۲-مرکاپتواتانول و 500 میکرولیتر از بافر استخراج (1.4M NaCl , 0.1M Tris-HCl $\text{pH}=7$, 1% PVP^۱) 40 , 2% CTAB اضافه شد. به عصاره 0.5 گرم PVPP^۲ اضافه شده و برای 15 دقیقه در دمای 60 درجه سلیسیوس قرار گرفت. نمونه در 13000 دور بر دقیقه به مدت 2 دقیقه سانتریفوژ شد. 500 میکرولیتر از روشین به میکروتیوب جدید منتقل شد. 400 میکرولیتر کلروفرم به مخلوط اضافه و بعد از همگن سازی، به مدت 2 دقیقه با سرعت 13000 دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. روشین به میکروتیوب جدید انتقال داده شد و 0.1 حجم استات آمونیوم یک مولار و هم حجم آن ایزوپروپانول سرد اضافه شد. نمونه به مدت 30 دقیقه در دمای 20 درجه سلیسیوس نگهداری شد. میکروتیوب با سرعت 13000 دور بر دقیقه به مدت 20 دقیقه و در دمای 4 درجه سلیسیوس سانتریفوژ شد. رسوب با 1 میلی لیتر اتانول 70% شستشو داده شده، سپس لوله ها به مدت 30 دقیقه در 37 درجه سلیسیوس خشک شدند. در نهایت 30 میکرولیتر آب مقطر سترون به رسوب اضافه شد و پس از حل شدن در دمای 20 درجه سلیسیوس نگهداری شدند. برای ساخت رشته مکمل (cDNA) 3 میکرولیتر از آر. آن. ای استخراج شده با 2 میکرولیتر آغازگر اختصاصی برگشت (CpR) با غلظت 10 پیکامول و $9/5$ میکرولیتر آب دیونیزه مخلوط و میکروتیوب در دمای 60 درجه به مدت 10 دقیقه قرار داده شد. سپس 2 میکرولیتر مخلوط dNTPs، 4 میکرولیتر بافر $5x$ واکنش و 0.5 میکرولیتر آنزیم نسخه بردار معکوس (MMuLV reverse transcriptase) (پارس توس، ایران) به مخلوط اضافه گردیده و میکروتیوب به مدت 60 دقیقه در دمای 47 درجه سلیسیوس ترموسایکلر (Bio-Rad MJ Mini Thermal Cycler, USA) قرار گرفت (۷).

واکنش زنجیره ای پلی مرز با استفاده از آغازگرهای طراحی شده MpF ($5'$ -AGAAGTCGCTCACGATCTGTGAGG- $3'$) و CpR ($5'$ -ACAAACAACACACTGTGCGCC- $3'$) برای تکثیر طول کامل ناحیه کد کننده پروتئین پوششی ویروس و قسمتی از انتهای^۳ ژنوم برای تمام نمونه های مثبت واکنش الایزا انجام شد (۱۲). از مخلوط آماده PCR (Ampliqon Taq DNA Polymerase Master Mix RED, Denmark) برای تکثیر طول کامل از ژن پروتئین پوششی GFLV استفاده شد. به این منظور 3 میکرولیتر از cDNA حاصل از واکنش رونویسی معکوس با 2 میکرولیتر (۱۰ پیکومول) از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت اختصاصی با یکدیگر مخلوط و به وسیله آب مقطر استریل حجم نهایی به 25 میکرولیتر رسید. برنامه دمایی واکنش زنجیره ای پلی مرز

3- Sequencing
4- Macrogen

1- Polyvinylpyrrolidone
2- Polyvinylpolypyrrolidone

شدن رگبرگ‌های اصلی، تولید جوانه‌های دوگانه، کوتاه شدن میانگره‌ها و انشعابات غیرعادی در شاخه‌ها دیده شد (شکل ۱). با استفاده از آزمون‌های الایزای غیرمستقیم (Indirect-ELISA) و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز معکوس (RT-PCR)، در مجموع آلودگی ۵۸ نمونه مو تأیید شد. فراوانی این ویروس در نمونه‌های محمدیه بیشتر از سایر مناطق بود (جدول ۱).

شد. درخت تبارزائی برای ژن پروتئین پوششی GFLV با استفاده از روش Maximum likelihood با ۱۰۰۰ تکرار در ارزیابی Bootstrap در نرم‌افزار MEGA7 رسم شد.

نتایج و بحث

در این تحقیق تعداد ۱۰۹ نمونه مو دارای علائم از باغ‌های استان خراسان رضوی جمع‌آوری شد. در نمونه‌هایی که به روش الایزا و سپس روش مولکولی آلودگی آنها اثبات گردید علائم متنوعی شامل رگبرگ زردی، بدشکلی برگ‌ها، باز شدن سینوس دمبرگ، مجتمع



شکل ۱- علائم ویروس برگ بادبزنی مو در تاک‌های آلوده جمع‌آوری شده از استان خراسان رضوی. a و b رگبرگ نواری. c. بد شکلی و باز شدن سینوس انتهایی دمبرگ، d. کپه‌ای شدن ساقه‌ها و کم شدن فاصله میانگره‌ها، e. زیکزاک‌ی شدن ساقه‌ها و کپه‌ای شدن، f. ایجاد جوانه‌های دو قلو

Figure 1- Symptoms of GFLV in infected vines of Khorasan Razavi province. (a and b) Vein banding, (c) Leaf malformation and open petiolar sinus, (d) Stunting and bushy growth of shoot, (e) Zigzagged stem, (f) Double nodes in infected stem

جدول ۱- مناطق نمونه‌برداری و تعداد نمونه‌های مو جمع‌آوری شده و آلوده به ویروس برگ بادبزنی مو شناسایی شده توسط روش‌های الایزا و مولکولی

Table 1- Location and number of collected samples and those infected with GFLV by ELISA and molecular tests

نام شهرستان City	تعداد نمونه‌های آلوده به ویروس No. infected samples	تعداد کل نمونه‌های جمع‌آوری شده No. all samples
بردسکن Bardaskan	11	27
کاشمر Kashmar	14	22
خلیل‌آباد Khalilabad	12	23
محمدیه Mohammadiyeh	19	27
نیشابور Neyshabour	2	10
تعداد کل نمونه‌ها Total samples	58	109

کشت انگور ردیابی کمترین میزان آلودگی ویروسی در گیاهان مادری و اندام‌های زایشی برای جلوگیری از انتشار آنها و احداث تاکستان‌های جدید امری ضروری می‌باشد (۳۳).

اندازه‌گیری طیف جذبی نمونه‌ها با نانودراپ نشان داد که RNA کل استخراج شده از بافت برگ با استفاده از روش CTAB دارای غلظت مناسبی است و غلظت RNA کل استخراج شده حدود ۴۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر و نسبت جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر در آنها ۲-۱/۸ بود. در واکنش نسخه‌برداری معکوس با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن پروتئین پوششی قطعه‌ای به طول ۱۷۶۰ جفت باز در نمونه‌های آلوده به GFLV شناسایی شده در روش الایزا، تکثیر شد (شکل ۲)، در حالی که در نمونه گیاه سالم هیچ‌گونه باندی مشاهده نشد. تکثیر پروتئین پوششی ویروس در آزمون نسخه‌برداری معکوس و تأیید صحت قطعه همانندسازی شده پس از تعیین توالی، تأیید کننده آلودگی تاک‌ها به ویروس برگ بادبزنی مو می‌باشد.

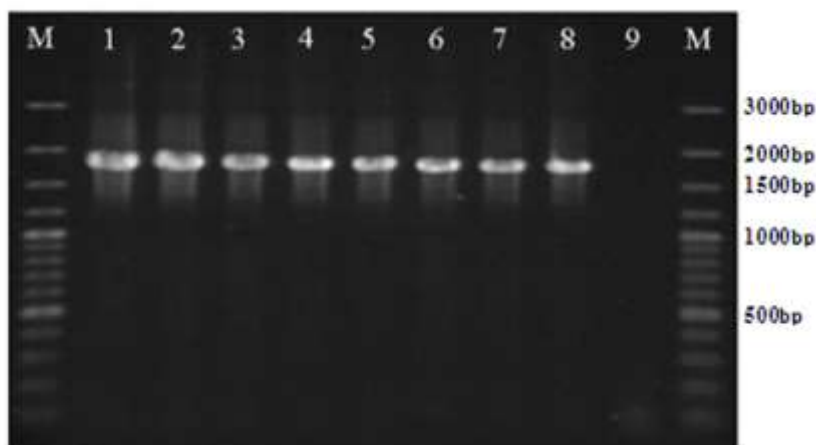
در تعداد کمی از نمونه‌ها با اینکه نشانه‌هایی از قبیل موزائیک، بدشکلی برگ‌ها، زیگزگ شدن شاخه‌ها دوقلو شدن جوانه‌ها مشاهده شد ولی در آزمون الایزا آلودگی آنها محرز نشد، هر چند در تعدادی از این نمونه‌ها آلودگی به GFLV بوسیله RT-PCR تأیید شد. این موضوع ممکن است در اثر متفاوت بودن خصوصیات سرولوژیکی در جدایه‌ها و یا کاهش غلظت ویروس در اثر شرایط محیطی نامناسب باشد یا اینکه به دلیل آلودگی به سایر ویروس‌ها باشد.

درصد آلودگی نمونه‌های ردیابی شده به (GFLV) در تابستان بسیار کمتر از نمونه‌های ردیابی شده در اواسط بهار (اردیبهشت ماه) بود. نتایج تحقیقات قبلی هم نشان می‌دهد، ردیابی (GFLV) در طول فصل رویشی به دلیل غلظت کم ویروس برگ بادبزنی در گیاهان آلوده در ماه‌های گرم سال به‌ویژه تابستان، نبود زمینه پراکنش یکنواخت ویروس در قسمت‌های مختلف گیاهی و همچنین آلودگی‌های پنهان در ارقام متحمل یا سویه‌های خفیف ویروس دچار اشکال می‌گردد. به دلیل اهمیت اقتصادی این ویروس در مناطق

جدول ۲- رس‌شمار توالی‌های ثبت شده در NCBI مربوط به جدایه‌های GFLV توالی یابی شده در تحقیق حاضر

Table 2- Accession numbers of GFLV sequences identified in this study in NCBI

میزبان Host	شماره دسترسی Accession numbers	محل جمع‌آوری Location
Grapevine	MW535300	بردسکن Bardaskan
Grapevine	MW535301	کاشمر Kashmar
Grapevine	MW535302	خلیل‌آباد Khalilabad
Grapevine	MW535303	محمدیه Mohammadiyeh
Grapevine	MW535304	نیشابور Neyshabour



شکل ۲- الکتروفورز محصول RT-PCR در ژل آگارز یک درصد با جفت آغازگر اختصاصی (MpF/CpR). راهک ۱ شاهد مثبت، راهک ۲ تا ۸ نمونه‌های آلوده به GFLV جمع‌آوری شده از استان خراسان رضوی. راهک شماره ۹ شاهد منفی. M نشانگر مولکولی (100 bp, Fermentas)
Figure 2- Results of RT-PCR using GFLV specific primers (MpF/CpR). Lane 1 positive control. Lane 2-8 GFLV infected samples from Khorasan Razavi vineyards, Lane 9 negative control, M 100bp DNA ladder (Fermentas)

ویروسی با ارقام مختلف باشد و قرار گرفتن جدایه‌های غرب و شرق کشور در شاخه‌های مجزا نشان دهنده اثر جدایی جغرافیایی در تنوع ژنتیکی و تکامل GFLV است.

در مطالعه‌ای در سال ۲۰۲۱ بر اساس تجزیه و تحلیل تبارزایی توالی ناحیه ژنی پروتئین پوششی از ۱۸ توالی GFLV جدایه‌های سیسیلی (ایتالیا)، به همراه ۱۴ جدایه ایتالیایی دیگر، ۲ جدایه از ایران، ۲ جدایه فرانسوی، ۲ جدایه از برزیل، ۱ جدایه از شیلی، ۱ جدایه از ایالات متحده آمریکا، ۱ جدایه از اتریش و ۱ جدایه از چین برگرفته از بانک ژن نشان داد، جدایه‌های مورد بررسی در دو خوشه مجزا قرار گرفتند و جدایه‌های ایرانی GFLV جدا از سایر جدایه‌های دنیا طبقه‌بندی شدند و تنوع در میان این جدایه‌ها را عامل منشا متفاوت دانستند که احتمالاً به علت تبادل مداوم مواد تکثیری آلوده به GFLV با مناطق دیگر ایتالیا یا با سایر کشورها می‌باشد (۲۲).

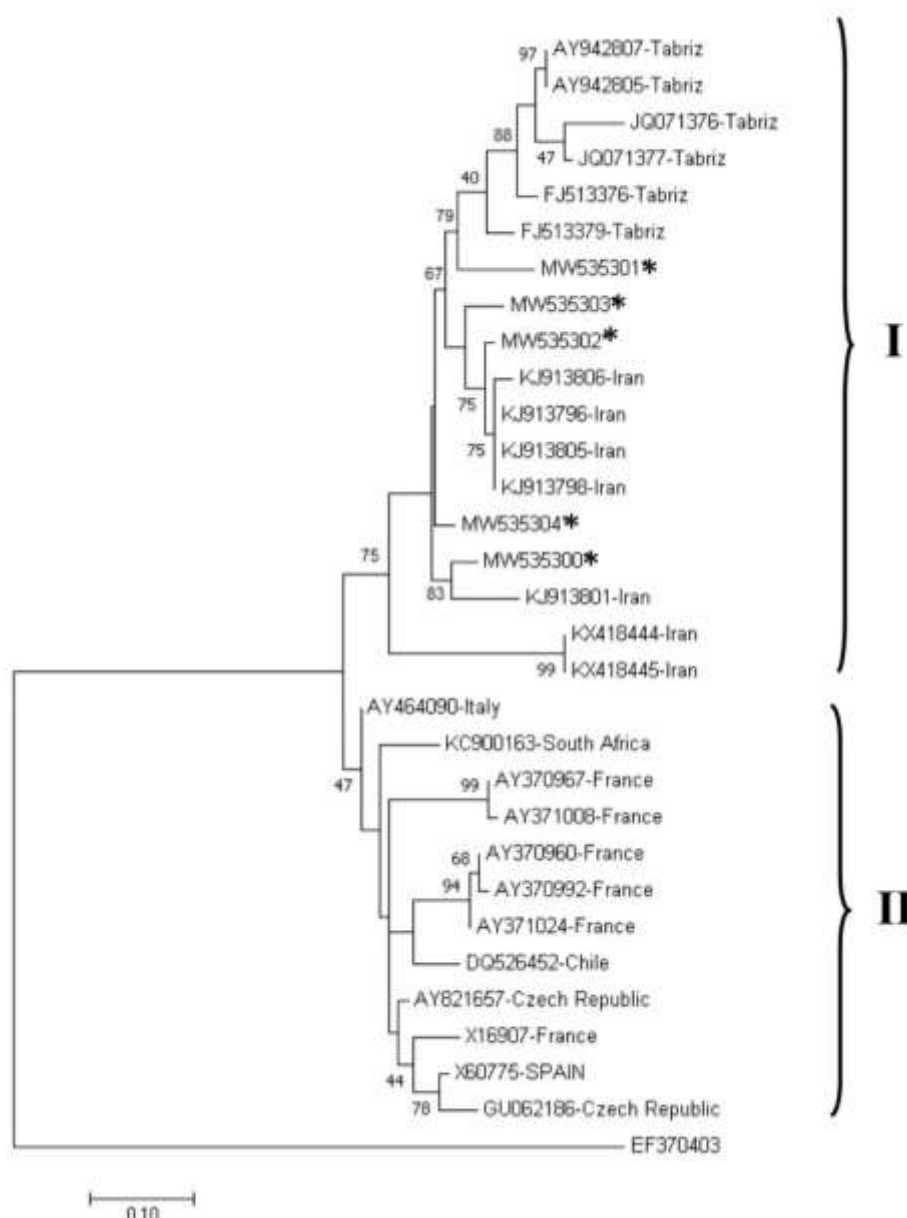
در این تحقیق با استفاده از آزمون‌های الایزا و RT-PCR ویروس برگ بادبزی مو در تاکستان‌های استان خراسان رضوی ردیابی شد. این ویروس در ایران در تاکستان‌های شمال غرب، شمال شرق و جنوب ردیابی و گزارش شده است (۷، ۲۰، ۳۰ و ۳۱). از آنجایی که GFLV به احتمال زیاد از ایران منشا گرفته است (۲۳، ۳۱ و ۳۵)، پراکنش وسیع ویروس در این مناطق امکان پذیر است. یکی از راه‌های انتقال ویروس برگ بادبزی مو تکثیر قلمه‌های آلوده است.

لذا، در گسترش ویروس در تاکستان‌ها نقش اساسی داشته است.

ترادف نوکلئوتیدی ۱۵۱۵ جفت‌بازی مربوط به طول کامل ژن پروتئین پوششی از قطعات همسانه‌سازی شده، جداسازی و در بانک ژن ثبت شد. رس‌شمار جدایه‌های مورد مطالعه در این تحقیق در جدول ۲ ذکر شده است.

قطعات تکثیر شده دارای ۹۴-۹۰ درصد یکسانی با جدایه‌های موجود در بانک ژن در سطح نوکلئوتیدی و ۹۷-۹۱ یکسانی در سطح آمینواسیدی بودند که نشان می‌دهد جهش‌های رخ داده در سطح نوکلئوتیدی CP ویروس، در سطح آمینواسیدی باعث تغییر قابل انتظار در آمینواسیدهای CP نشده است.

جدایه‌های GFLV در درخت تبارزایی رسم شده بر اساس توالی ناحیه ژنی پروتئین پوششی به دو گروه اصلی (گروه I و II) تقسیم‌بندی شدند (شکل ۳). جدایه‌های ایرانی GFLV، در شاخه‌ای مجزا از جدایه‌های سایر نقاط دنیا قرار گرفتند (گروه I) و سایر جدایه‌های GFLV شامل جدایه‌های اروپایی، آفریقا و آمریکای جنوبی (شیلی) در شاخه‌ای مجزا قرار گرفتند (گروه II). همچنین جدایه‌های ایرانی از دو خط سیر متفاوت پیروی می‌کردند، به‌طوری که جدایه‌های شرق کشور و جدایه‌های تعیین ترادف شده در تحقیق حاضر در شاخه‌ای جداگانه نسبت به جدایه‌های گزارش شده از شمال غرب ایران قرار گرفتند و این امر فرضیه منشا گرفتن ویروس از ایران را تایید می‌کند که با نتایج کارگر، سخندان بشیر، پور رحیم، نوری نژاد و همکاران (۱۲، ۲۱، ۲۴، ۳۱) و پانو و همکاران (۲۲) تطابق دارد (شکل ۳). از آنجا که ارقام مختلفی از مو در ایران وجود دارند وجود این خط سیرهای متفاوت می‌تواند دلیلی بر سازگاری واریانته‌های



شکل ۳- درخت فیلوژنی رسم شده بر اساس ترادف نوکلئوتیدی ژن پوشش پروتئینی جدایه‌های ایرانی ویروس برگ بادبزنی مو و برخی از جدایه‌های موجود در بانک ژن

رسم درخت با استفاده از نرم‌افزار MEGA7 به روش Maximum likelihood با ۱۰۰۰ تکرار در ارزیابی Bootstrap انجام شده است. Tomato ring spot virus (TRSV) به‌عنوان برون گروه انتخاب شده است. توالی‌های ثبت شده در این بررسی نشان‌دار (*) شده‌اند.

Figure 3- Dendrogram illustrating the phylogenetic relationships between the Iranian isolates of GFLV and other GFLV sequences deposited in the GenBank

The tree was constructed using MEGA 7 using Maximum likelihood method with 500 replicates of bootstrap test. TRSV served as an out group. (Recorded sequences in this study showed by *).

اظهار داشتند که این عوامل می‌تواند شامل سویه ویروس، ژنوتیپ میزبان، عفونت‌های متعدد با سویه‌های مختلف GFLV، تأثیر ویروس‌های دیگر و شرایط محیطی باشد (۱۷). بر اساس یافته‌ها

علائم موزاییک زرد و رگبرگ نواری و برگ بادبزنی مشاهده شده در تاکستان‌ها مشابه با علائم گزارش شده در منابع است (۳۲). عوامل مؤثر در بروز علائم هنوز ناشناخته است. مارتلی و ساوینو (۱۹۹۰)

سپاسگزاری

با تشکر از سازمان جهاد کشاورزی استان خراسان رضوی، که حمایت مالی این پروژه را بر عهده داشتند. مقاله مذکور مستخرج از پروژه "بررسی برخی عوامل بیمارگر مهم و حشرات ناقل دخیل در عارضه زوال مو در استان خراسان رضوی" با شماره مصوب: ۹۵۱۴۱-۱۶-۴۳ و شماره فروست ۵۸۸۳۶ می‌باشد.

می‌توان نتیجه گرفت که تفاوت مشاهده شده در پروتئین پوششی جدایه‌های GFLV در دامنه قابل انتظار برای ویروس‌هایی با ژنوم آران‌ای تک رشته‌ای مثبت بود که این تنوع می‌تواند ناشی از خطای آنزیم‌های دخیل در تکثیر، آران‌ای پلی‌مراز وابسته به آران‌ای (RdRp) حین تکثیر و یا در اثر رخدادهای نوترکیبی باشد (۱۸).

منابع

- Ahmadi K., Ebadzadeh H., Hatami F., Hosseinpour R., and Abdshah H. 2020. Agricultural statistics of horticultural products in 2019. Third volume. Ministry of Jihad Agriculture, Information and Communication Technology Center. 156 pages.
- Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., and Lipman D.J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215: 403-410.
- Andret-Link P., Schmitt-Keichinger C., Demangeat G., Komar V., and Fuchs M. 2004. The specific transmission of *Grapevine fanleaf virus* by its nematode vector *Xiphinema index* is solely determined by the viral coat protein. *Virology* 320: 12-22.
- Biebricher C., and Eigen M. 2006. What is a quasispecies? In *Quasispecies: Concept and Implications for Virology*, 1-31 pp.
- Clark M.F., and Adams A.N. 1977. Characteristics of the microplate method of the enzyme linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*. 34: 474-483.
- Dijkstra J., and Jager C.P. 1998. *Practical plant virology: protocols and exercises*. Springer-Verlag GmbH.
- Gholampour Z., Zakiaghl M., Jafarpour B., and Mehrvar M. 2015. Identification and Prevalence of Grapevine fanleaf virus in Khorasan-Razavi Vineyards. *Journal of Plant Protection* 29(3): 318-324. doi: 10.22067/jpp.v29i3.27668
- Gholampour Z., Kargar M., Zakiaghl M., Siampour M., Mehrvar M., and Izadpanah K. 2017. Dynamics of the population structure and genetic variability within Iranian isolates of grapevine fanleaf virus: evidence for polyphyletic origin. *Acta Virologica* 61(3): 324-335.
- Hewitt W.B., Raski D.J., and Goheen A.C. 1958. Nematode vector of soil-borne fanleaf virus of grapevines. *Phytopathology* 48: 586-595.
- Hewitt W.B., Martelli G.P., Dias H.F., and Taylor R.H. 1970. *Grapevine fanleaf virus*. C. M. I/ A. A. B. Descriptions of Plant Viruses. No. 28.
- Hull R. 2002. *Matthews' Plant Virology*, 4th, Academic Press. London.
- Kargar M., Zakiaghl M., Masoumi M., Mehrvar M., and Izadpanah K. 2017. Analysis of genetic diversity of Grapevine fanleaf virus isolate from Fars and Kohgiluyeh-Boyer Ahmad provinces. *Iranian Journal of Plant Pathology* 52(3): 375-391.
- Kumar S., Stecher G., and Tamura K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33(7): 1870-1874.
- Lu G., and Moriyama E.N. 2004. Vector NTI, a balanced all-in-one sequence analysis suite. *Briefings in Bioinformatics* 5(4): 378-388.
- Martelli G.P., and Savino V. 1990. Fanleaf degeneration. In: Pearson, R.C., Goheen, A. (Eds.), *Compendium of Grape Diseases*. APS Press, St. Paul, MN, USA, pp. 48-49.
- Martelli G.P. 1993. Grapevine degeneration fanleaf. In: Martelli G.P. (ed.). *Graft-transmissible diseases of grapevines. Handbook for detection and diagnosis*, pp. 9-18. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Naraghi-Arani P., Daubert S., and Rowhani A. 2001. Quasispecies nature of the genome of *Grapevine fanleaf virus*. *Journal of General Virology* 82(7): 1791-1795.
- Nourinejad Zarghani S., Shams-Bakhsh M., Zand N., Sokhandan-Bashir N., and Pazhouhandeh M. 2012. Genetic analysis of Iranian population of *Potato leafroll virus* based on ORF0. *Virus Genes* 45: 567-574.
- Nourinejad Zarghani S.H., Shams-Bakhsh M., Sokhandan-Bashir N., and Pazhouhandeh M. 2012. Identification and detection of Iranian isolates of *grapevine fanleaf virus* using green-grafting and RT-PCR. *Iranian Journal of Plant Pathology* 48(3): 381-391.
- Nourinejad Zarghani S., Shams-Bakhsh M., Bashir N.S., and Wetzel T. 2013. Molecular characterization of whole genomic RNA2 from Iranian isolates of *Grapevine fanleaf virus*. *Journal of Phytopathology* 161(6): 419-425.

21. Nourinejhad Zarghani S., Karimi M., Nourinejhad Zarghani A., and Hossein Zadeh M.R. 2015. Genetic diversity of and selection pressure on Grapevine fanleaf virus movement protein in Iranian isolates. *Plant Protection* 38: 38-49.
22. Panno S., Caruso AG., Bertacca S., Pisciotto A., Lorenzo RD., Marchione S., Matic S., and Davino S. 2021. Genetic Structure and Molecular Variability of Grapevine Fanleaf Virus in Sicily. *Agriculture* 11(6): 496. <https://doi.org/10.3390/agriculture11060496>.
23. Pearson A.C., and Goheen A.C. 1988. *Compendium of Grape Diseases*. APS Press.
24. Pourrahim R., Farzadfar S., Golnaraghi A.R., and Ahoonmanesh A. 2007. Partial molecular characterization of some Grapevine fanleaf virus isolates from North-east of Iran. *Journal of Phytopathology* 155: 754-757.
25. Ritzenthaler C., Viry M., Pinck M., Margis R., Fuchs M., and Pinck L. 1991. Complete nucleotide sequence and organization of grapevine fanleaf nepovirus RNA1. *Journal of General Virology* 72: 2357-2365.
26. Sanfacon H., Wellink J., Le Gall O., Karasev A., van der Vlugt R., and Wetzel T. 2009. Secoviridae: a proposed family of plant viruses within the order Picornavirales that combines the families Sequiviridae and Comoviridae, the unassigned genera Cheravirus and Sadwavirus, and the proposed genus Torradovirus. *Archive of Virology* 154: 899-907.
27. Schneider W.L., and Roossinck M.J. 2000. Evolutionarily related Sindbis-like plant viruses maintain different levels of population diversity in a common host. *Journal of Virology* 74(7): 3130-3134.
28. Serghini M.A., Fuchs M., Pinck M., Reinbolt J., Walter B., and Pinck L. 1990. RNA2 of Grapevine fanleaf virus: sequence analysis and coat protein cistron location. *Journal of General Virology* 71: 1433-1441.
29. Sokhandan Bashir N., Hajizadeh M. 2007. Survey for Grapevine fanleaf virus in vineyards of north-west Iran and genetic diversity of isolates. *Australasian Plant Pathology* 36: 46-52.
30. Sokhandan Bashir N., Nikkhah Sh., and Hajizadeh M. 2007. Distinct phylogenetic positions of Grapevine fanleaf virus isolates from Iran based on the movement protein gene. *Journal of General Plant Pathology* 73: 209-215.
31. Sokhandan Bashir N., Pashaei A., and Doulati-baneh H. 2011. Characterization of the full length coat protein gene of Iranian Grapevine fanleaf virus isolates, genetic variation and phylogenetic analysis. *Iranian Journal of Biotechnology* 9(3): 213-221.
32. Sokhandan-Bashir N., and Melcher U. 2012. Population genetic analysis of grapevine fanleaf virus. *Archives of Virology* 157(10): 1919-1929.
33. Vigne E., Bergdoll M., Guyader S., and Fuchs M. 2004. Population structure and genetic diversity within Grapevine fanleaf virus isolates from a naturally infected vineyard: Evidence for mixed infection and recombination. *General Virology* 85: 2435-2445.
34. Vuittenz A. 1970. Fanleaf of grapevine. In: N. W. Frazier (ed.). *Virus disease of small fruits and grapevine*. University of California, Berkeley 217-228.
35. Zaki-Aghl M., and Izadpanah K. 2003. Serological and molecular identification of Grapevine fanleaf virus in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 39: 161-171.
36. Zhou J., Fan X., Dong Y., ping Zhang Z., Ren F., and Hu G. 2015. Detection and genetic variation analysis of Grapevine fanleaf virus (GFLV) isolates in China. *Archives of Virology* 160(11): 2661-2667.



Distribution and Phylogeny of *Grapevine fanleaf virus* in Vineyards of Khorasan Razavi Province Based on Coat Protein Region

S. Gharouni-Kardani^{1*}- M.R. Karimi Shahri²- F. Azad Disfani³

Received: 16-02-2021

Accepted: 02-08-2021

Introduction: Virus and virus-like diseases cause intensive damage in vineyards all over the world. *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) is one of the most economic important viruses infecting grapevine worldwide. It is a major limiting factor for grapevine productions and reduces fruit quality and shortens the longevity of grapevines in the vineyards. GFLV belongs to the genus *Nepovirus* in the family *Secoviridae* and has a bipartite single-stranded positive RNA genome which encapsidated in isometric particles. Both RNA molecules contain a genome-linked viral protein (VPg) at 5' end and a poly (A) tail at 3' end of genome. GFLV is transmitted naturally from grapevine to grapevine by the ectoparasitic nematode *Xiphinema index* in the vineyard. Fanleaf disease causes three groups of symptoms, including malformation, vein clearing and yellowing. This difference in symptoms is related to diversity in the genome of the virus because in one cultivar can be seen both groups of symptoms. Khorasan Razavi province has the third largest area under grape cultivation in Iran in this study we studied distribution and diversity of GFLV isolates in vineyards of Khorasan Razavi province.

Materials and Methods

- Plant material and virus isolates

During two consecutive growing seasons of 2019 and 2020, a survey was conducted in some of the major areas under the cultivation of grapevine in Khorasan Razavi (Kashmar, Khalilabad, Mohammadiyeh Bardaskan, Neyshabour) at the northeast of Iran. A total of 109 grapevines samples were collected and tested for GFLV infection by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as described by Clark and Adams (1977). Total RNA was extracted from petioles of ELISA positive samples using CTAB-PVPP method and were used directly or stored at - 70 °C.

- Reverse transcriptase –PCR, cloning and sequencing

cDNA was synthesized by Thermoresistant MMuLV reverse transcriptase (Parstous, Iran) according to the manufacturer's protocol. RT-PCR using specific primer pairs MpF (5'- AGAAGTCGCTCACGATCTGTGAGG -3') and CpR (5'- ACAACAACACACTGTGCGCC- 3') was amplified 1760 bp fragment corresponding to the complete length of coat protein and 230 nucleotides of 3' proximal end in order to detect infected samples. The RT-PCR products were electrophoresed on 1% agarose gel, stained with Green viewer (Pars tous, IRAN), and visualized by UV light.

The gel extracted PCR products were cloned into, pTG19-T PCR Cloning Vector, (Vivantis, Malaysia) following the manufacturer's instructions and were transformed to *Escherichia coli* strain DH5α. Then colony-PCR using M13 and the specific primer pairs were used to confirm the recombinant clones. Random recombinant clones were selected to extract plasmid DNA using a Qiagen Plasmid Miniprep Kit (Qiagen, Germany). Finally, The GFLV coat protein gene has been sequenced in both directions.

Results and Discussion: In this study, 109 samples of symptomatic vines were collected from the vineyards of Khorasan Razavi province. 58 samples were confirmed to be infected using indirect ELISA and reverse transcriptase polymerase chain reaction tests. The most symptoms in vineyards were vein banding, leaf malformation, open petiolar sinus, stunting and bushy growth of shoot, zigzagged shoot and double nodes in infected stem. The prevalence of this virus was high in the samples of Mohammadiyeh region. cDNA fragment of GFLV genome with 1760 bp in length corresponding to the GFLV coat protein gene was amplified with specific primers. Full-length sequences of the coat protein gene were recorded in the GenBank. Nucleotide sequence identities of 90-94% were found between the coat protein region of isolates of this study and that of deposited in the GenBank previously. Phylogenetic analysis carried out on the GFLV-CP gene of 5 Iranian GFLV sequences selected in this study showed that GFLV isolates of Iran and the world in the phylogenetic tree were divided into two main groups.

Conclusion: The virus has been detected in northwestern, northeastern and southern vineyards in Iran.

۱, 2 and 3- Assistant Professors, Plant Protection Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research Education Center, AREEO, Mashhad, Iran

(*- Corresponding Author Email: s.gharooni@areeo.ac.ir)

DOI: 10.22067/JPP.2021.68789.1010

Probably GFLV originated in Iran, so widespread spread of the virus in these areas is possible. The propagation of infected cuttings has played a major role in the spread of the virus in vineyards. The capsid protein gene is a conserved region and be used in the molecular phylogenetic analysis and it is the sole viral determinant of the specific transmission of GFLV by its vector. Phylogenetic analysis carried out on the GFLV-CP showed that GFLV isolates were separated into two statistically significant clusters: the first one (I) including isolates from Iran, and the second one (II) including isolates from different countries, and Iranian isolates of GFLV have distinct position in phylogentic tree. Furthermore, evidence of divergent evolution was observed between isolates from northwest, northeast and south of Iran. It confirms that genetic makeup of GFLV may be affected by geographical isolation. The percentage of GFLV infected samples in summer was much lower than the samples detected in mid-spring. The results of previous research also indicated that GFLV titer in the grapevines drops during the summer hot season. High genetic diversity has been observed in coat proteins gene, this change may be due to an error in the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) enzyme during amplification or due to recombination events. Geographical area among them has a positive effect on evolution and phylogenetic relationships.

Keywords: Distribution, Genetic diversity, Khorasan Razavi and *Grapevine fan leaf virus*



مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر کاربرد همزمان *Trichoderma harzianum* و مالچ گیاهی بر عملکرد و

خصوصیات فیزیولوژیکی گندم رقم نارین

مخدیره مهربانی^۱ - عباس محمدی^{۲*} - مسعود خزاعی^۳ - مجید جامی الاحمدی^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۰۱

چکیده

به منظور بررسی تأثیر کاربرد همزمان *Trichoderma harzianum* و مالچ گیاهی بر عملکرد و خصوصیات فیزیولوژیکی گندم رقم نارین و تأثیر آن بر روی برهم‌کنش این رقم با قارچ *Alternaria alternata* آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارها شامل شاهد (بدون کاربرد تریکودرما هارزیانوم)، تریکودرما خاک کاربرد، تریکودرما برگ کاربرد در مرحله دانه‌بندی، تریکودرما خاک کاربرد توأم با برگ کاربرد در مرحله دانه‌بندی بودند. در مرحله دانه بندی هر واحد آزمایشی به دو بخش تقسیم شد و تیمار بیمارگر عامل لکه برگ در دو سطح (تلقیح اندام هوایی در مرحله دانه بندی و بدون تلقیح) بعنوان فاکتور فرعی در آزمایش در نظر گرفته شد. هدف از کاربرد تیمار بیمارگر بررسی تأثیر قارچ تریکودرما در حضور بیمارگر بود و تأثیر آن بر صفات فیزیولوژیکی (شامل فنل کل، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، کلروفیل کل) بود جهت بررسی اثر کاربردهای مختلف تریکودرما بر رقم نارین نیز در بخش دیگر کرت که بدون تیمار بیمارگر بود تجزیه و تحلیل صفات رشدی، عملکرد و اجزای عملکرد اندازه‌گیری شد. پس از تلقیح بیمارگر هیچ گونه علائم بیماری اعم از نکروز یا کلروز برگ مشاهده نشد. تجزیه صفات فیزیولوژیکی نشان داد که تنها میانگین اثر ساده تلقیح یا عدم تلقیح *A. alternata* با وجود تریکودرما اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) از نظر محتوی فنل کل داشت و نتایج صفات رشدی، عملکردی نشان داد که تیمار *T. harzianum* بر هیچ کدام اثر معنی‌داری نداشت. داده‌های این تحقیق برای اولین بار نشان داد که *A. alternata* توانایی ایجاد بیماری بر روی گندم نارین را داشت.

واژه‌های کلیدی: آلترناریا، تریکودرما، فنل، لکه برگ، مالچ

مقدمه

فسفر توسط گندم می‌شود (۳). پنگ و همکاران (۲۲) اظهار کردند که استفاده از مالچ کاه در مناطق خشک موجب افزایش متوسط عملکرد گندم می‌شود. افزودن ۱۵ کیلوگرم در هکتار مالچ، بیشترین افزایش ارتفاع بوته (۳۴،۱۱ درصد)، عملکرد بیولوژیک (۵۶،۲۹ درصد) و عملکرد دانه (۵،۳۵ درصد) به همراه داشته است (۳۶).

گونه‌های تریکودرما با زیستگاه‌های مختلف جغرافیایی جهان سازگاری دارند و وجود ماده آلی در خاک شرایط مطلوب‌تری برای رشد این قارچ ایجاد می‌کند. گونه‌های تریکودرما بر روی گیاهان بیماری‌زا نیستند. مکانیسم عمل گونه‌های تریکودرما به صورت رقابت تغذیه‌ای، هایپرپارازیتسم^۵ و آنتی بیوز^۶ است (۲۹). هایپرپارازیتسم، قارچ‌های جنس تریکودرما را قادر می‌سازد که بیمارگرهای مختلف قارچی را پارازیته کنند (۵). این گونه‌ها عوامل عمده تجزیه و

حفظ بقایا و اصلاح خاک‌ورزی از روش‌های مدیریتی مهم حفظ آب و کاهش فرسایش خاک است که سبب عدم سله‌بندی و انسداد سطحی می‌شوند و نفوذ پذیری خاک را افزایش می‌دهند (۱۰). افزودن بقایای گیاهی به خاک و حفظ آن‌ها در فراهمی نیتروژن و افزایش عملکرد دانه گندم و ذرت نقش مؤثری دارد (۸). کاربرد بقایای گندم به همراه کود NPK سبب افزایش کارایی جذب نیتروژن و

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته بیماری‌شناسی گیاهی و دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
(*) نویسنده مسئول: Email: Amohammadi@birjand.ac.ir
۳ و ۴- به‌ترتیب دکترای فیزیولوژی گیاهان زراعی و دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

5- Hyperparasitism

6- Antibiosis

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۳۹۸ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمار آزمایشی قارچ *T. harzianum* در چهار سطح (شاهد، کاربرد تریکودرما در خاک کاربرد در زمان کاشت، تریکودرما برگ کاربرد در مرحله دانه‌بندی، تریکودرما خاک کاربرد توأم با برگ کاربرد در مرحله دانه‌بندی) بود. در هر مرحله دانه بندی هر واحد آزمایشی به دو بخش تقسیم شد (ناحیه‌ای به ابعاد ۲۰*۲۰ در داخل هر کرت انتخاب) و تیمار بیمارگر عامل لکه برگی *A. alternata* در دو سطح (تلقیح اندام هوایی و بدون تلقیح) بعنوان فاکتور فرعی در آزمایش اعمال شد. سپس در مرحله دانه‌بندی تعداد ۱۰ بوته برداشت و صفات فیزیولوژیکی شامل میزان فنل کل (۲۵)، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید و کلروفیل کل اندازه‌گیری شد (۱۱). تجزیه و تحلیل داده‌های صفات فیزیولوژیک گندم رقم نارین بصورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد.

انتخاب گونه *T. harzianum*

جدایه *T. harzianum* که توسط امینی و همکاران (۲) از مزرعه دانشکده کشاورزی شهرستان بیرجند جمع‌آوری و جزو گونه‌های غالب استان شناسایی شده بود از کلکسیون آزمایشگاه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی بیرجند تهیه شد. کشت و تکثیر این جدایه در محیط کشت عصاره سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) کشت گردید (شکل ۱). برای تکثیر بیشتر و استفاده در مزرعه، تریکودرما روی بذر گندم و قطعات خرد شده قارچ خوراکی دکمه‌ای کشت و تکثیر شد. برای تیمار تریکودرمای خاک کاربرد بعد کشت روی بقایا به مقدار ۳۰ گرم بذر گندم تلقیح با تریکودرما روی کاه و کلش استفاده شد (شکل ۱) و اولین آبیاری صورت گرفت. سوسپانسیون اسپور تریکودرما از کشت هفت روزه آن بر روی محیط کشت PDA (شکل ۱)، با جمع‌آوری اسپورها و حل نمودن در آب مقطر به غلظت ۱۰^۶ اسپور در میلی لیتر بدست آمد و سپس روی تمام برگ و قسمت‌های هوایی گیاه گندم اسپری شد (۶).

کاشت مزرعه

کاشت به صورت مکانیزه بود و ابعاد کرت‌های آزمایشی ۵ در ۳ متر، با ۱۶ ردیف کاشت با فاصله ۱۵ cm فاصله کرت‌ها در هر بلوک

پوسیدگی بقایای کشاورزی هستند و به عنوان تولید کنندگان با ارزش آنزیم‌های لیگنوسلولولیتیک شناخته می‌شوند (۴). از گونه‌های تریکودرما جهت تجزیه زیستی باقی مانده‌های محصولات کشاورزی مانند کاه، کلش و سبوس گندم و کمپوست سازی استفاده می‌شود. افزودن اوره و کود حیوانی همراه با تریکودرما به بقایای گیاهی در شرایط مزرعه‌ای نشان داده که نسبت مواد آلی-کربن و C.N را به میزان قابل توجهی در بقایای گیاهی کاهش می‌دهد در حالی که در این تیمار میزان S، K، P، N در کمپوست افزایش می‌یابد و در مزارع بزرگ که تولید بقایا زیاد است می‌توان از تجزیه بقایا برای افزایش حاصل خیزی خاک و تولید یک محصول پایدار با کیفیت و عاری از آلودگی‌های زیست محیطی استفاده نمود (۳۱).

تریکودرما با مهار رشد بیمارگر سبب کاهش رشد، درصد عفونت و افزایش درصد جوانه‌زنی بذر گردید و با پلاسمولیز و از هم گسستگی هیف‌های بیمارگر، بیماری را مهار می‌کند (۲۱) و با کلونیزه کردن ریشه موجب افزایش فعالیت در متابولیسم گیاه، رشد بهتر، افزایش دسترسی گیاه به مواد غذایی و افزایش محصول در گیاه و مقاومت گیاه می‌شود (۱۲). برهمکنش تریکودرما با ریشه گیاهان باعث ارتقاء مقاومت گیاه به تنش‌های زنده و عوامل غیر زنده (نمک زیاد، رطوبت و درجه حرارت بالا)، افزایش راندمان استفاده از نیتروژن و افزایش درصد و نسبت جوانه زنی بذرها می‌گردد (۳۲).

جنس آلترناریا شامل گروه بزرگی از گونه‌های قارچی با چرخه زندگی ساپروفیتی، اندوفیتی و بیمارگر است که روی طیف وسیعی از گیاهان ایجاد نکروز می‌کند (۳۵). آلترناریا جداسازی شده از بذر گندم و کشت متقابل آن با *T. harzianum* در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که سبب مهار رشد میسلیم آلترناریا می‌گردد زیرا هیف‌های تریکودرما با نفوذ و پیچیدن دور هیف‌های آلترناریا از فعالیت و رشد جلوگیری می‌کنند. همچنین با تولید آنزیم کیتیناز سبب تخریب دیواره سلولی، سلول‌های آلترناریا می‌شوند (۲۱).

گندم با دارا بودن مواد غذایی با ارزشی مانند انواع پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی حدود ۲۵ درصد کالری در سبب غذایی انسان را در بر می‌گیرد (۱۳). گندم رقم نارین حاصل دو رگ بین گندم پیش‌تاز با سازگاری وسیع و پتانسیل عملکرد بالا به عنوان والد پدری و لاین متحمل به شوری ۱-۶۶-۲۲ به عنوان والد مادری می‌باشد. عملکردی بالغ بر ۹۰۱۳ تن در هکتار، سازگاری بیشتر به مناطق تنش شوری و زودرسی نسبی در مقایسه با دیگر ارقام است (۱).

این تحقیق با هدف بررسی تأثیر کاربرد همزمان *T. harzianum* و مالچ گیاهی بر عملکرد، خصوصیات فیزیولوژیکی گندم رقم نارین، سنجنش مقاومت گندم به بیمارگر *A. alternata* و تأثیر قارچ تریکودرما در حضور بیمارگر بر گندم رقم نارین انجام گرفت.

میلی لیتر استون ۸۰ درصد به لوله آزمایش اضافه شد و سپس لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد، سپس میزان جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر (۱۱) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (SHIMADZO; AA670, SPAD (مقدار نسبی) JAPAN قرائت گردید. شاخص کلروفیل برگ (مقدار نسبی) کلروفیل، محاسبه شده از نسبت نور قرمز به مادون قرمز عبور داده شده از برگ را فراهم می کند، که برای تعیین این که آیا متابولیسم گیاه در محیط معین نسبت به مقدار مرجع برای گونه یا رقم به خوبی کار می کند، استفاده می شود. هرچه مقدار از مقدار کنترل بیشتر باشد، گیاه ضعیف تر است).

میزان کلروفیل a، b، کاروتنوئید و کلروفیل کل با استفاده از

فرمول‌های زیر تعیین شد:

$$\text{Chl}_a \text{ (mg g}^{-1} \text{ FW)} = 12.7 \times (\text{A}_{663}) - 2.69 \times (\text{A}_{645})$$

$$\text{Chl}_b \text{ (mg g}^{-1} \text{ FW)} = 22.9 \times (\text{A}_{645}) - 4.68 \times (\text{A}_{663})$$

$$\text{Chl}_{\text{total}} \text{ (mg g}^{-1} \text{ FW)} = \text{Chl}_a + \text{Chl}_b$$

اندازه‌گیری فنل کل

۵۰ گرم از بافت تازه‌ی برگ گندم در ۲ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد ساییده و در بن ماری به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و به ۱ میلی لیتر از محلول متانولی رویی، ۸٫۱ میلی لیتر آب مقطر ۲٫۰ میلی لیتر معرف فولین اضافه و محلول به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد. در مرحله بعد ۱ میلی لیتر سدیم کربنات ۱۲ درصد به محلول بالا اضافه شد، پس از ۲ ساعت قرار گرفتن در دمای آزمایشگاه، جذب محلول حاصل در طول موج ۷۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۲۵).

اندازه‌گیری صفات عملکردی

بعد از رسیدگی کامل، برداشت از سطحی به ابعاد ۲ در ۲ متر با حذف اثر حاشیه‌ای صورت گرفت. صفاتی شامل ارتفاع بوته، طول سنبله، تعداد دانه در هر سنبله، تعداد کل سنبله‌ها، وزن هزاردانه، وزن کل دانه، عملکرد بیولوژیکی فقط ناحیه‌ای که با قارچ تریکودرما تلقیح شده بود (از ناحیه ۲۰*۲۰ که توسط آلترناریا تلقیح شده، به دلیل محدودیت سطح تلقیح شده و افزایش احتمال خطا، بررسی صفات عملکردی صورت نگرفت) اندازه‌گیری شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل معنی‌داری (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

۷۰ cm و فاصله بلوک‌ها از یکدیگر ۲ متر در نظر گرفته شد. کود پایه مصرفی شامل ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل، ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار پتاس و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره در زمان کاشت و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره زمان دانه‌بندی استفاده گردید. پس از کاشت کاه و کلش به میزان ۳ تن در هکتار بطور یکسان در سطح کرت‌ها استفاده شد (۷). آبیاری با استفاده از سیفون و دور آبیاری با توجه به ظرفیت زراعی مزرعه بود. قبل از اجرای آزمایش جهت تعیین خصوصیات خاک مزرعه، نمونه‌برداری از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری انجام شد.

تهیه اسپور *A. alternata*

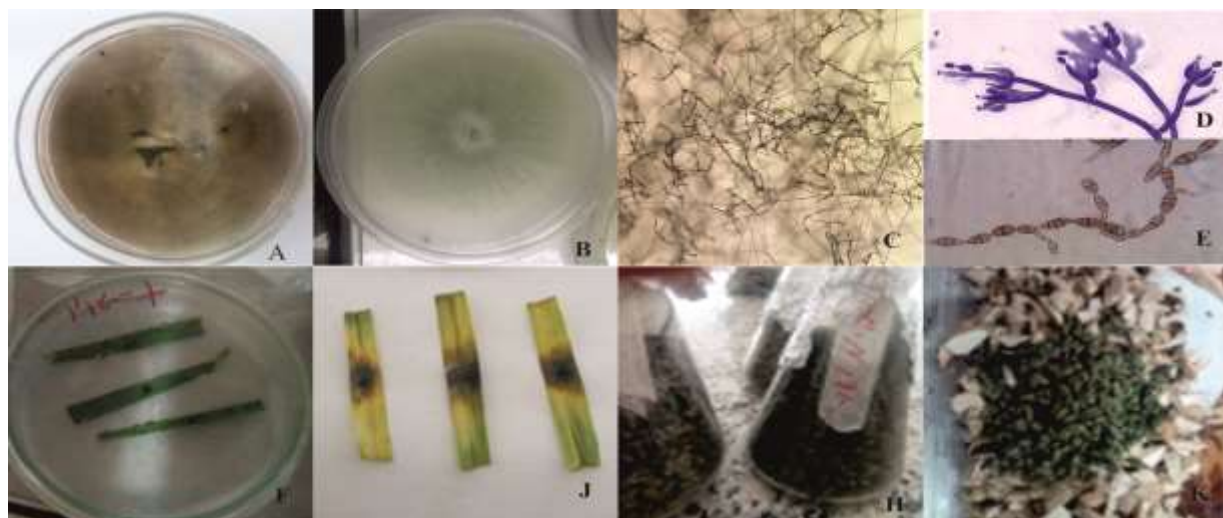
برای سنجش مقاومت گندم رقم نارین نسبت به بیماری لکه برگی با استفاده از روش‌های مختلف تلقیح تریکودرما بروی گندم از قارچ بیمارگر عامل لکه برگی *A. alternata* استفاده گردید. برای تلقیح این بیمارگر از سوسپانسیون با غلظت ۱۰^۶ اسپور در میلی لیتر آلترناریا از کلنی ۷ روزه قارچ بروی محیط کشت PDA استفاده شد (۱۷). پس از گذشت سه روز از گندم‌های مزرعه برگ سبز تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد تا تست بیماری‌زایی انجام شود (شکل ۱)، برگ‌ها با آب مقطر استریل و با محلول هیپوکلریت سدیم ۵٫۰ درصد زیر هود استریل ضد عفونی شدند، و سپس سوسپانسیون با غلظت ۱۰^۶ اسپور در میلی لیتر از محیط کشت آلترناریا با آب مقطر استریل تهیه و توسط تیغ اسکارپل استریل روی هر برگ خراش ایجاد کرده و با یک قطره از سوسپانسیون تلقیح شد (۱۹).

بعد از گذشت ۱۵ روز اسپری و تلقیح قارچ تریکودرما در مزرعه در هر کرت در مرحله دانه‌بندی پلاتی به ابعاد ۲۰*۲۰ cm علامت زده شده و با یک سم پاش دستی با کمترین فاصله *A. alternata* روی برگ و ساقه‌ها اسپری شد و پس از گذشت ۲۵ روز از تلقیح عامل لکه برگی در مزرعه هیچ گونه لکه برگی مشاهده نشد و برای اندازه‌گیری میزان مقاومت گندم و اثر تریکودرما بر آلترناریا از برگ‌های گندم قسمت پلات ۲۰*۲۰ تلقیح شده به آلترناریا و کل کرت بدون آلترناریا نمونه‌برداری شد، صفاتی شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید، کلروفیل کل برگ و میزان فنل کل اندازه‌گیری گردید. این صفات اندازه‌گیری شده از دو قسمت هر کرت با هم و در نهایت با دیگر کرت‌ها بصورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی مقایسه و تجزیه و تحلیل شدند.

اندازه‌گیری کلروفیل a، b، کاروتنوئید، کلروفیل کل و

شاخص کلروفیل برگ SPAD^۱

برای تعیین میزان کلروفیل مقدار ۵۰ گرم از بافت برگ با ۱۰



شکل ۱- A. کلنی *A. alternata* روی PDA، B. کلنی *T. harzianum* روی PDA، C. زنجیره اسپور *A. alternata*، D. فیالیدهای *T. harzianum*، E. فیالیدهای *A. alternata*، F. پتری‌دیش حاوی برگ گندم رقم نارین استریل و تلقیح شده با *A. alternata*، J. برگ‌های گندم رقم نارین نکروزه شده توسط قارچ *A. alternata*، H. توده اسپوری *T. harzianum* روی گندم، K. توده اسپوری *T. harzianum* مخلوط با *A. bisporus* برای استفاده در مزرعه

Figure 1- A. *alternata* colony on PDA, B. *T. harzianum* colony on PDA, C. spore chain *A. alternata*, D. Phialides of *T. harzianum*, E. Phialides of *A. alternata*, F. Petridish containing sterile wheat leaves of Narin cultivar inoculated with *A. alternata*, J. Wheat leaves of Narin cultivar necrotic by *A. alternata*, H. spores *T. harzianum* on wheat, K. spores *T. harzianum* mixed with *A. bisporus* for use in farm

نتایج و بحث

تست بیماری‌زایی آلترناریا روی برگ گندم رقم نارین

۷۲ ساعت پس از کشت *A. alternata* بر روی برگ سبز گندم رقم نارین در آزمایشگاه نکروز و لکه برگ‌ی دیده شد در تمامی تکرارها اثر آلودگی مشاهده گردید (شکل ۱).

صفات عملکردی

نتایج حاصل از آنالیز واریانس روش‌های مختلف کاربرد تریکودرما بر ارتفاع بوته سبز، طول سنبله، تعداد سنبله، وزن سنبله و شاخص SPAD برگ تأثیر معنی‌داری ($P < 0.05$) نداشت (جدول ۲).

مقایسه میانگین تعداد دانه در سنبله، وزن دانه در سنبله، وزن هزار دانه، عملکرد کل دانه و وزن عملکرد بیولوژیک گندم تحت تأثیر تیمار روش‌های مختلف کاربرد تریکودرما در جدول ۳ و ۴ ارائه شده است. اختلاف معنی‌داری بین روش‌های مختلف کاربرد تریکودرما از نظر تعداد دانه در سنبله، وزن دانه در سنبله، وزن هزار دانه، عملکرد کل دانه و وزن عملکرد بیولوژیک گندم وجود نداشت. در حالی‌که دیگر محققین اثبات کردند تریکودرما با افزایش سطح ریشه و بهبود عمل جذب عناصر معدنی قابل دسترس گیاه، اثرگذار برروی اجزای عملکردی مانند کاه، شاخص برداشت، تعداد دانه در هر سنبله، تعداد

سنبله در بوته، وزن دانه در هر سنبله، وزن هزار دانه به ترتیب به میزان ۳۰ درصد، ۲۷ درصد، ۵۳ درصد، ۱۱ درصد، ۵۷ درصد و ۱۰ درصد افزایش می‌دهد (۲۴). افزودن کود دامی به همراه تریکودرما سبب افزایش ارتفاع گیاه می‌شود (۲۷). همچنین *T. viride* بر روی گندم سبب افزایش ارتفاع، وزن ریشه، وزن خوشه، تعداد دانه در سنبله، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک می‌شود ولی اثرات منفی بر روی طول خوشه، تعداد خوشه دارد (۱۸). همچنین، محققان گزارش کرده‌اند که جمعیت گونه‌های مختلف تریکودرما در خاک‌های با اسیدیته مختلف یکسان نیست. به این معنی که گونه‌های مختلف تریکودرما در شرایط اسیدی خاک رشد بهتر و کارآمدتر از خاک قلیایی دارند و شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک روی بقا و دینامیک جمعیت تریکودرما مؤثرند (۳۳). جکسون و همکارانش (۱۴) نشان دادند که جدایه‌های *T. harzianum* در اسیدیته خاک بین ۸٫۴ تا ۸٫۵ رشد بهتری دارند. داده‌ها این تحقیق به دلیل قلیایی بودن خاک مزرعه و استفاده از گندم رقم نارین که برای اولین بار در منطقه کشت شد و بذر مادری نیز بود نشان داد پایداری نسبتاً خوبی نسبت به تغییرات محیطی و تیمارهای القاء شده نشان داد و سبب شد داده‌های بدست آمده با دیگر محققین متناقض باشد.

جدول ۱- نتایج تجزیه خاک محل انجام آزمایش

Table 1- Results of soil analyze at the test site

بافت خاک (Soil texture) (%)	شن (Sand) (%)	سیلت (Silt) (%)	رسی (Clay) (%)	PH	Ec (dS.m)
لومی - لومی (Clay- Loam)	20	35	45	7.9	5.5

جدول ۲- نتایج حاصل از آنالیز واریانس برای برخی از صفات فیزیولوژیکی و کمی گندم رقم نارین تحت تأثیر کاربرد همزمان *T. harzianum* و مالچ گیاهی

Table 2- Results of analysis of variance for some physiological and quantitative traits of Narin cultivar of wheat under the simultaneous application of *T. harzianum* and plant mulch

منابع تغییر Sources change	Df	وزن کل سنبله‌ها Total weight of spikes (kg)	تعداد سنبله Number of spikes	طول سنبله Spike length (cm)	ارتفاع بوته خشک Dry plant height (cm)	ارتفاع بوته سبز Green plant height (cm)	ضریب کلروفیل متر Spad Index
تکرار (Repetition)	2	62708.22	0.26	1.11	45.13	214.81	25.46
تیمار (Treatment)	3	48494.06	2.92	1.04	4.09	4.6	11.10
خطای آزمایشی (error)	6	3143.0	0.15	0.39	58.05	17.16	15.34
% ضریب تغییرات (Coefficient of variation)		11.07	10.17	7.39	8.06	4.27	7.51

جدول ۳- مقایسه میانگین برخی از صفات فیزیولوژیکی و کمی گندم رقم نارین برای سطوح مختلف *T. harzianum* با استفاده از مالچ گیاهی

Table 3- Comparison of the mean of some physiological and quantitative traits of Narin cultivar of wheat for different levels of *T. harzianum* using vegetable mulch

<i>T. harzianum</i>	وزن کل سنبله‌ها Total weight of spike (kg)	تعداد سنبله Number of spikes	طول سنبله Spike length (cm)	ارتفاع بوته خشک Dry plant height (cm)	ارتفاع بوته سبز Green plant height (cm)	ضریب کلروفیل متر Spad Index
شاهد (Control)	2.05 a	a1507.0	ab8.15	95.45 a	95.75 a	53.90 a
خاک کاربرد (Soil application)	a1.94	1548.8 a	a8.27	93.05 a	95.80 a	51.40 a
برگ کاربرد (Application sheet)	a2.05	a1588.8	b7.17	95.05 a	96.26 a	50.20 a
خاک کاربرد توأم برگ کاربرد (Soil Application + Leaf application)	a2.24	a1758.0	a8.25	94.90 a	95.97 a	53.10 a
LSD	0.31	283.59	1.01	12.18	6.26	6.26

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح معنی‌داری ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند.

صفات فیزیولوژیکی

فنل کل

پس از تلقیح بیمارگر هیچ‌گونه علائم بیماری مانند لکه برگی مشاهده نشد. بررسی تأثیر تریکودرما بر میزان فنل در سطوح مختلف بیمارگر نشان داد برهم‌کنش تریکودرما و آلترناریا بر محتوی فنل کل از نظر آماری معنی‌دار شد که نشان می‌دهد اثرگذاری تریکودرما بر محتوی فنل کل مستقل از تیمار بیمارگر نیست به طوری که در شرایط عدم کاربرد آلترناریا سطح صفر تریکودرما (تیمار شاهد)

بالاترین میزان فنل کل (۲۴۰٫۰) را داشت و فقط با تیمار خاک کاربرد توأم با برگ کاربرد تریکودرما اختلاف معنی‌دار نشان داد در حالی که در تیمار خاک کاربرد توأم با برگ کاربرد تریکودرما و تلقیح شده با آلترناریا بالاترین میزان فنل (۵۸۷٫۰) را دارا بود (جدول ۸) و اختلاف معنی‌داری نیز با سایر سطوح تریکودرما داشت به دلیل وجود آلترناریا به عنوان یک بیمارگر احتمالا منجر به واکنش سیستم دفاعی گیاه می‌شود و تریکودرما نیز می‌تواند باعث افزایش ترکیبات فنلی برای مقابله با بیمارگر گردد.

جدول ۴- مقایسه میانگین برخی از صفات عملکردی گندم رقم نارین برای سطوح مختلف *T. harzianum* با استفاده از مالچ گیاهیTable 4- Comparison of the average of some yield traits of Narin cultivar of wheat for different levels of *T. harzianum* using plant mulch

<i>T. harzianum</i>	وزن عملکرد بیولوژیک Biological yield weight (kg)	عملکرد کل دانه Totalb grain yield (kg)	وزن هزار دانه Weight of thousand seeds (gr)	وزن دانه در سنبله Grain weight in spike (gr)	تعداد دانه در سنبله Number of seeds per spike
شاهد (Control)	1.71 a	1.44 ab	46.13 a	1.42 a	28.07 a
خاک کاربرد (Soil application)	1.76 a	1.34 b	44.73 a	45.1 a	30.7 a
برگ کاربرد (Leaf application)	1.72 a	1.41 ab	45.78 a	1.46 a	30.0 a
خاک کاربرد توأم برگ کاربرد (Soil Application + Leaf application)	2.02 a	1.56 a	46.47 a	1.41 a	29.50 a
LSD	0.36	0.22	3.28	2.16	45.95

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح معنی‌داری ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند.

فتوستتیز گیاه محافظت می‌کند (۱۶). با افزایش تجمع فنل و فعالیت POX در گیاه کنگد آلوده به قارچ بیمارگر آلترناریا مقاومت خوبی مشاهده شده است (۱۵). افزایش سنتز فنل‌ها و فلاونوئیدها در اثر تریکودرما منجر به بهبود رشد، تشکیل دیواره سلولی، تنش اکسیداتیو شده و گیاهان را در مقابل بیماری‌ها محافظت می‌نماید (۳۴).

میزان کلروفیل b

برهم کنش آلترناریا و تریکودرما بر محتوی میزان کلروفیل b از نظر آماری معنی‌دار نشد که نشان می‌دهد اثرگذاری تریکودرما بر محتوی این کلروفیل مستقل از تیمار بیمارگر است.

اثر ساده تلقیح آلترناریا تأثیر معنی‌داری بر محتوی کلروفیل b ($P < 0.05$) داشت (جدول ۷). مقایسه میانگین اثر ساده تلقیح آلترناریا نشان داد تلقیح آلترناریا باعث کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل b شد.

اثر ساده روش کاربرد تریکودرما تأثیر معنی‌داری بر محتوی کلروفیل b نداشت (جدول ۶) مقایسه میانگین روش‌های مختلف استفاده از تریکودرما نیز نشان داد بیشترین میزان کلروفیل b مربوط به تیمار شاهد (۰.۷۴) و کمترین مقدار آن در تیمار تریکودرما خاک کاربرد بدست آمد ولی اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نبود. بنابراین که وجود آلترناریا سبب کاهش میزان کلروفیل b برگ گندم شده است.

نتایج دیگر تیمارها نشان می‌دهد که در سطح عدم تلقیح با آلترناریا میزان کلروفیل b تغییرات چشمگیری نداشته ولی در حضور تریکودرما به روش‌های مختلف میزان تریکودرما تغییراتی نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد. نتایج حاکی از آن است که وجود تریکودرما سبب تغییرات بارزی در سطح کلروفیل b نمی‌شود، اما در شرایط تلقیح آلترناریا منجر به کاهش و یا افزایش آن می‌گردد.

اثر ساده تلقیح آلترناریا تأثیر معنی‌داری بر محتوی فنل کل ($P < 0.05$) داشت (جدول ۷). مقایسه میانگین اثر ساده تلقیح آلترناریا نشان داد تلقیح آلترناریا باعث افزایش معنی‌دار میزان فنل کل شد. آلترناریا سبب تحریک سیستم دفاعی گیاه و افزایش میزان فنل می‌شود.

اثر ساده روش کاربرد تریکودرما تأثیر معنی‌داری بر محتوی فنل کل نداشت (جدول ۶) مقایسه میانگین روش‌های مختلف استفاده از تریکودرما نیز نشان داد بیشترین میزان فنل کل مربوط به خاک کاربرد توأم با برگ کاربرد (۳۹۹,۰) و کمترین مقدار آن در این تیمار بدون تلقیح با آلترناریا بدست آمد ولی اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نبود.

تریکودرما در شرایط عدم تلقیح آلترناریا بر روی میزان فنل تغییرات چشمگیری نداشته ولی بسته به نوع کاربرد تریکودرما تغییرات فراوانی نشان داد، ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود. استفاده از تریکودرما در گندم میزان فنل را بیشتر تحت تأثیر قرار داده است. با افزایش جمعیت تریکودرما میزان فنل گیاه بالاتر رفته و به تبع آن مقاومت گیاه بیشتر شده است. در گزارشی استفاده از تریکودرما به صورت بذری عیله سفیدک حقیقی گندم مؤثرتر از برگی بوده زیرا فعالیت تریکودرما بر روی برگ کاهش پیدا می‌کند (۶). گندم تیمار شده با تریکودرما هارزیانوم با تعدیل پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به تنش شوری پاسخ می‌دهد و با ترمیم هموستاز سلولی و سم‌زدایی موجب بهبود رشد گیاه می‌شود. ترکیبات فنلی تریکودرما علاوه بر داشتن فعالیت‌های ضد قارچی، ضد باکتریایی و ضد ویروسی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی نیز دارد (۲۶). تریکودرما با تنظیم سیستم آنتی اکسیدانی (فسفات) در نتیجه افزایش کلروفیل، از

جدول ۵- نتایج حاصل از آنالیز واریانس برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی گندم رقم نارین تلقیح شده با قارچ *A. alternata* و *T. harzianum*
Table 5- Results of analysis of variance for some physiological characteristics of Narin cultivar of wheat inoculated by *A. alternata* and *T. harzianum*

منابع تغییر Sources change	df	کاروتنوئید Carotenoids	کلروفیل کل Total chlorophyll	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	فنل کل Total phenol
تکرار (Repetition)	2	0.000 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.0129 ^{ns}
تریکودرما <i>T. harzianum</i>	3	0.000 ^{ns}	0.0012 ^{ns}	0.0004 ^{ns}	0.0004 ^{ns}	0.0370 ^{ns}
خطای a Error a	6	0.0001 ^{ns}	0.0039 ^{ns}	0.0012 ^{ns}	0.0004 ^{**}	0.01760 [*]
آلترناریا <i>A. alternata</i>	1	0.000 ^{ns}	0.0021 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.0008 ^{**}	0.0961 ^{**}
آلترناریا. تریکودرما <i>Alternaria . Trichoderma</i>	3	0.000 ^{ns}	0.0013 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.0138 ^{**}
خطای b Error b	8	0.0001	0.0018	0.0008	0.0000	0.0129
ضریب تغییرات Coefficient of change		21.78	21.43	20.15	12.80	20.01

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر ساده برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گندم رقم نارین برای روش‌های مختلف *T. harzianum*
Table 6- Comparison of the mean simple effect of some physiological characteristics of Narin cultivar of wheat for different applications of *T. harzianum*

<i>T. harzianum</i>	کاروتنوئید Carotenoid (mg g ⁻¹ FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg g ⁻¹ FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg g ⁻¹ FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg g ⁻¹ FW)	فنل کل Total phenol (mg g ⁻¹ FW)
شاهد (Control)	0.057 a	0.218 a	0.136 a	0.074 a	0.128 a
خاک کاربرد (Soil application)	0.048 a	0.173 a	0.188 a	0.054 a	0.336 a
برگ کاربرد (Application Leaf)	0.053 a	0.195 a	0.133 a	0.061 a	0.188 a
خاک کاربرد توأم برگ کاربرد (Soil Application + Leaf application)	0.055a	0.206 a	0.138 a	0.067 a	0.399 a
LSD	0.0195	0.0882	0.0497	0.0298	0.1879

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح معنی‌داری ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر ساده برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گندم رقم نارین برای تلقیح یا عدم تلقیح با *A. alternata*
Table 7- Comparison of the mean simple effect of some physiological characteristics of Narin cultivar of wheat for inoculation or non-inoculation with *A. alternata*.

<i>A. alternata</i>	کاروتنوئید Carotenoid (mg g ⁻¹ FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg g ⁻¹ FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg g ⁻¹ FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg g ⁻¹ FW)	فنل کل Total phenol (mg g ⁻¹ FW)
عدم تلقیح آلترناریا (Lack of inoculation of <i>Alternaria</i>)	0.0550 a	0.2075 a	0.1331 a	0.0706 a	0.207 b
تلقیح با آلترناریا (<i>Alternaria</i> inoculation)	0.0521 a	0.1888 a	0.1331 a	0.0578 b	0.334 a
LSD	0.0110 a	0.0400 a	0.0274 a	0.0078 a	0.0511 a

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح معنی‌داری ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند.

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گندم رقم نارین برای سطوح مختلف *A. alternata* و *T. harzianum*
 Table 8- Comparison of the mean interaction of some physiological characteristics of Narin cultivar of wheat for different levels of *T. harzianum* and *A. alternata*

A. <i>alternata</i>	T. <i>harzianum</i>	کاروتنوئید Carotenoid (mg g ⁻¹ FW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg g ⁻¹ FW)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg g ⁻¹ FW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg g ⁻¹ FW)	فنل کل Total phenol (mg g ⁻¹ FW)
0	0	0.062 a	0.247 a	0.144 a	0.086 a	0.240 c
0	1	0.049 a	0.182 ab	0.119 a	0.062 b	0.219 c
0	2	0.054 a	0.200 ab	0.126 a	0.064 b	0.281 c
0	3	0.053 a	0.200 ab	0.136 a	0.068 b	0.090 d
1	0	0.052 a	0.189 ab	0.127 a	0.061 bc	0.195 cd
1	1	0.047 a	0.163 b	0.116 a	0.047 c	0.458 b
1	2	0.051 a	0.189 b	0.130 a	0.059bc	0.096 d
1	3	0.056 a	0.212 b	0.145 a	0.067 b	0.587 a

A. alternata (شماره ۱ تلقیح). *T. harzianum* (۰ شاهد. ۱ کاربرد خاک، ۲ برگ کاربرد، ۳ مورد کاربرد خاک) میانگین‌هایی با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح معنی داری ۵٪ با اختلاف معنی دار آنها نیستند.

میزان کلروفیل a، کاروتنوئید و کلروفیل کل

در جدول ۵ نتایج تجزیه واریانس میزان کلروفیل a، کاروتنوئید و کلروفیل کل گندم تحت تأثیر تیمار آلترناریا و روش‌های مختلف کاربرد تریکودرما ارائه شده است. برهم کنش بین آلترناریا و تریکودرما بر محتوی میزان کلروفیل a، کاروتنوئید و کلروفیل کل از نظر آماری معنی دار نشد که نشان می‌دهد اثرگذاری تریکودرما بر این سه صفت مستقل از تیمار بیمارگر است.

اثر ساده تلقیح آلترناریا نیز تأثیر معنی داری بر میزان کلروفیل a، کاروتنوئید و کلروفیل کل گندم ($P < 0.05$) نداشت (جدول ۷). مقایسه میانگین اثر ساده تلقیح آلترناریا نشان داد تلقیح آلترناریا باعث کاهش معنی دار میزان کلروفیل a، کاروتنوئید و کلروفیل کل گندم شد ولی کاهش از نظر آماری معنی دار نبود. نیز اثر ساده روش کاربرد تریکودرما تأثیر معنی داری بر میزان کلروفیل a، کاروتنوئید و کلروفیل کل گندم نداشت (جدول ۶). در آزمایش گندم تحت تنش شوری افزودن *T. harzianum* به بذرهای آن سبب افزایش ۲۰ درصدی میزان فنل و افزایش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شود (۲۶). گونه‌های تریکودرما در گندم سبب افزایش ۵،۳ درصدی میزان کلروفیل کل، ۴ درصدی کلروفیل a، ۵،۱ درصدی کلروفیل b و ۶ درصدی کاروتنوئید در برگ گندم می‌شوند (۲۸ و ۹). استفاده از رقم نارین که جزو مقاوم‌ترین ارقام به تنش‌های محیطی و بیمارگرهای منطقه می‌باشد سبب شد تا نتایج این تحقیق با دیگر نتایج ثبت شده در این زمینه اختلاف داشته باشد. این تحقیق اولین بار است که زوی این رقم انجام می‌گیرد.

نتیجه‌گیری

داده‌های این تحقیق برای اولین بار نشان داد که *A. alternata* توانایی ایجاد بیماری بر روی گندم نارین را داشت. علاوه بر این به عنوان اولین مطالعه اثر تریکودرما هارزیانوم بر خصوصیات فیزیولوژیکی و عملکردی گندم رقم نارین نشان داد که قارچ تریکودرما هارزیانوم قادر است روی این خصوصیات رقم نارین اثر کمی داشته باشد. کاربرد توأم تریکودرما در خاک و اندام هوایی اثر بیشتری نسبت به کاربرد جداگانه در ریشه یا اندام‌های هوایی داشت. همچنین تلقیح رقم نارین با قارچ آلترناریا به عنوان عامل لکه برگی هر چند منجر به بروز علائم لکه برگی شدید در مزرعه نگردید ولی واکنش این رقم به بیمارگر را در پی داشت که باعث افزایش ترکیبات فنلی گیاه گردید. قارچ تریکودرما نیز با تحریک سیستم دفاعی گیاه و افزایش سطح مقاومت گیاه، میزان تولید ترکیبات فنلی را تحت تأثیر قرار داد. تحریک همزمان سیستم دفاعی گیاهی توسط بیمارگر آلترناریا و قارچ تریکودرما بیشترین اثر را روی افزایش ترکیبات فنلی گیاه داشت هر چند قارچ تریکودرما در حضور کاه و کلش در مزرعه توانسته است تغییراتی در خصوصیات رشدی، فیزیولوژیکی و عملکردی گندم رقم نارین ایجاد کند اما به نظر می‌رسد برخی عوامل همانند شرایط محیطی مزرعه نیز در برهم کنش قارچ و گیاه اثرگذار بودند. بارندگی‌های طولانی مدت در فصل زراعی ۹۹-۱۳۹۸ و مناسب بودن شرایط رشدی برای گندم از عوامل تأثیرگذار بر داده‌های این تحقیق بود. با توجه به شرایط خشکی و تنش محیطی منطقه از تریکودرما استفاده شد زیرا این قارچ در حضور تنش‌های محیطی اثر گذاری بارزتری از خود نشان می‌دهد.

1. Amini A., Akbari-Moghaddam H., and Afyoni D., Saberi H., and Tabatabai MH. 2018. Narin, a new irrigated wheat cultivar with high adaptability and yield, suitable for areas with soil and water salinity stress in temperate and temperate warm climates of the country. Scientific-Extension Journal of Research Findings in Crops and Horticultural Plants 2(1): 135-147. (In Persian with English abstract)
2. Amini Y. 2014. Taxonomic study of *Trichoderma* species in South Khorasan province. The thesis for Ms.c Degree of Plant Pathology. Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran. (In Persian with English abstract)
3. Aulakh MS., Manchanda JS., Garg AK., Kumar S., Dercon G., and Nguyen ML. 2012. Crop production and nutrient use efficiency of conservation agriculture for soybean-wheat rotation in the Indo-Gangetic Plains of Northwestern India. Soil and Tillage Research 120: 50-60.
4. Beg Q., Kapoor M., Mahajan L., and Hoondal G. 2001. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. Applied Microbiology and Biotechnology 56(3-4): 326-338.
5. Benhamou N., and Chet I. 1996. Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum* ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. Phytopathology 86: 4: 405-416.
6. Cordo CA., Monaco CI., Segarra CI., Simon MR., Mansilla AY., Perello AE., and Conde RD. 2007. *Trichoderma* spp. as elicitors of wheat plant defense responses against *Septoria tritici*. Biocontrol Science and Technology 17(7): 687-698.
7. Donjadee S., and Tingsanchali T. 2016. Soil and water conservation on steep slopes by mulching using rice straw and vetiver grass clippings. Agriculture and Natural Resources 50(1): 75-79.
8. Fischer Santiveri F., and Vidal I. 2002. Crop rotation, tillage and crop residue management for wheat and maize in the sub-humid tropical highlands: I. Wheat and legume performance. Field Crops Research 79: 2-3: 107-122.
9. Fu J., Liu Z., Li Z., Wang Y., and Yang K. 2017. Alleviation of the effects of saline-alkaline stress on maize seedlings by regulation of active oxygen metabolism by *Trichoderma asperellum*. PLoS One 12(6): e0179617.
10. Gangwar K., Singh K., Sharma S., and Tomar O. 2006. Alternative tillage and crop residue management in wheat after rice in sandy loam soils of Indo-Gangetic plains. Soil and Tillage Research 88: 1-2: 242-252.
11. Ghorbanli M., and Kiapour A. 2012. Copper-induced changes on pigments and activity of non-enzymatic and enzymatic defence systems in *Portulaca oleracea* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 28(2): 235-247. (In Persian with English abstract)
12. Harman GE., Howell CR., Viterbo A., Chet I., and Lorito M. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology 2(1): 43-56.
13. Hemmat A., and Eskandari I. 2006. Dryland winter wheat response to conservation tillage in a continuous cropping system in northwestern Iran. Soil and Tillage Research 86: 1: 99-109.
14. Jackson AM, Whipps JM, and Lynch JM. 1991. Effects of temperature, PH and water potential on growth of four fungi with disease biocontrol potential. World Journal of Microbiology Biotechnology 7: 494-501.
15. Khaledi N., and Taheri P. 2016. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* against soybean charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina*. Journal of Plant Protection Research 56(1): 359-365. (In Persian with English abstract)
16. Khan A. 2015. Using films in the ESL classroom to improve communication skills of non-native learners. Elt Voices. 5(4): 46-52.
17. Kolasa M., Ahring BK., Lubeck PS., and Lubeck M. 2014. Co-cultivation of *Trichoderma reesei* Rut C30 with three black *Aspergillus* strains facilitates efficient hydrolysis of pretreated wheat straw and shows promises for on-site enzyme production. Bioresource Technology 169: 143-148.
18. Mahato S., Bhuju S., and Shrestha J. 2018. Effect of *Trichoderma viride* as biofertilizer on growth and yield of wheat. Malaysian Journal of Sustainable Agricultur 2(2): 1-5.
19. Moaven N., Ghorbani R., and Rezaeian-Doloei R. 2012. Investigation on biological control of Russian knapweed (*Acroptilon repens* L.) with fungal pathogens. Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production 24(2): 108-122. (In Persian with English abstract)
20. Mokhtar H., and Aid D. 2013. Contribution in isolation and identification of some pathogenic fungi from wheat seeds, and evaluation of antagonistic capability of *Trichoderma harzianum* against those isolated fungi in vitro. Agriculture and Biology Journal of North America 4(2): 145-154.
21. Monaco C., Sisterna M., Perello A., and Dal-Bello G. 2004. Preliminary studies on biological control of the blackpoint complex of wheat in Argentina. World Journal of Microbiology and Biotechnology 20(3): 285-290.
22. Peng Z., Ting W., Haixia W., Min W., Xiangping M., Siwei M., and Qingfang H. 2015. Effects of straw mulch on soil water and winter wheat production in dryland farming. Scientific Reports 5: 107-125.
23. Pere J., Siika-aho, M., and Viikari L. 1995. Effects of purified *Trichoderma ressei* cellulose on the fiber properties of kraft pulp. Journal Tappi Press Atlanta GA (USA) 78(6).71-78.
24. Qasmkhyly f., Pyrdshy h., Bahmanyar M., and Tajik M. 2015. The effect of *Trichoderma harzianum* and cadmium on tolerance and yield index of wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Ecophysiological Crops 8(32): 465-482.

- (In Persian with English abstract)
25. Rajaeian S., Ehsanpour AA., and Toghyani MA. 2015. Changes in phenolic compound, TAL, PAL activity of *Nicotiana rustica* triggered by ethanolamine pretreatment under in vitro salt stress condition. Iranian Journal of Plant Biology 7(26): 1-12. (In Persian with English abstract)
 26. Rawat L., Singh Y., Shukla N., and Kumar J. 2011. Alleviation of the adverse effects of salinity stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) by seed bioprimering with salinity tolerant isolates of *Trichoderma harzianum*. Plant and Soil 1-2: 347-387.
 27. Rivero ST., Moorillon VN., and Borunda EO. 2009. Growth, yield, and nutrient status of pecans fertilized with biosolids and inoculated with rizosphere fungi. Bioresource Technology 100(6): 1992-1998.
 28. Saini S. 2016. *Trichoderma* spp. and metal chelator enhanced growth and yields in wheat plants by increasing zinc availability. International Education and Research 2(1): 375-390.
 29. Samuels GJ., Ismaiel A., Mulaw TB., Szakacs G., and Druzhinina IS. 2012. The Longibrachiatum clade of *Trichoderma*: a revision with new species. Fungal Diversity 55(1): 77-108.
 30. Scott, JD. 1976. Praise the Potato. Reader's Digest Dec, 205-212.
 31. Sharma P., Patel AN., Saini MK., and Deep S. 2012. Field demonstration of *Trichoderma harzianum* as a plant growth promoter in wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Agricultural Science 4(8): 65-77.
 32. Shores M., Harman GE., and Mastouri F. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annual Review of Phytopathology 48: 21-43.
 33. Singh A., Shahid M., Srivastava M., Pandey S., Sharma A., and Kumar V. 2013. Optimal physical parameters for growth of *Trichoderma* species at varying pH, temperature and agitation. Virology and Mycology 3: 2161-0517.
 34. Surekha C., Neelapu N., Prasad BS., and Ganesh PS. 2014. Induction of defense enzymes and phenolic content by *Trichoderma viride* in *Vigna mungo* infested with *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata*. International Journal Agric Sci Research 4(4): 31-40.
 35. Woudenberg JHC., Groenewald JZ., Binder M., and Crous PW. 2013. *Alternaria* redefined. Studies in Mycology 75:171-212.
 36. Yasin M., Munir I., and Faisal M. 2016. Can *Bacillus* spp. enhance K⁺ uptake in crop species Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture. Springer, New Delhi. 163-170.



The Effect of Simultaneous Application of *Trichoderma harzianum* and Plant Mulch on Yield and Physiological Characteristics of Wheat (cv. Narin)

M. Mehrabani¹- A. Mohammadi^{2*}- M. Khazaei³- M. Jami Al-Ahmadi⁴

Received: 08-10-2021

Accepted: 23-10-2021

Introduction: *Trichoderma* species are the main causes of decomposition and decay of agricultural residues and are considered for the control of plant pathogens, especially fungi and nematodes in the world. *Trichoderma* species have the ability to produce microbial enzymes such as xylanases, which are used in the paper and food processing industries. These enzymes improve the digestibility of nutrients in certain diets in ruminants and poultry, where there is no digestive enzyme that can digest the complex carbohydrates in the cell wall. These enzymes have the power to digest and hydrolyze these substances. South khorasan province due to hot and dry climate, water shortage and successive droughts, saline water in agriculture, pests and diseases, soil with low fertility for planting irrigated wheat needs cultivars resistant to these stresses. Narin cultivar is the latest cultivar introduced for this province. The characteristic of this cultivar are more compatibility with salinity stress areas and relative maturity with other wheat cultivars.

Materials and Methods: In order to investigate the effect of simultaneous use of *Trichoderma harzianum* and plant mulch on yield and physiological characteristics of wheat of Narin cultivar and its effect on the interaction of this cultivar with *Alternaria alternata* in 2019-2020 in Birjand Faculty of Agriculture Research Farm an experiment as Complete randomization block design was performed with four replications. Treatments included control (without application of *Trichoderma*), *Trichoderma* as soil application, *Trichoderma* as leaf application in granulation stage, *Trichoderma* application as soil and leaf application in granulation stage. In the granulation stage, each experimental unit was divided into two parts and *Alternaria* leaf spot pathogen treatment at two levels (inoculation in the granulation stage and without inoculation) was considered as a sub-factor in the experiment. The purpose of using the pathogen treatment was to evaluate the effect of *Trichoderma* in the presence of the pathogen. This fungus was prepared from the archives of the Plant Pathology Laboratory of Birjand University of Agriculture, which had previously been isolated from the wheat of this province. To inoculate this pathogen, a suspension with a concentration of 10^6 spores per ml of *A. alternata* was used from a 7-day fungus colony on PDA medium and its effect on physiological traits (including total phenol, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, total chlorophyll) were investigated. To investigate the effect of different applications of *Trichoderma* on Narin cultivar from another part of the plot without pathogen treatment was analysis of growth traits, yield and yield components including chlorophyll index, including green and dry stem height, spike length, weight, grain yield, biological yield, number and weight of grains per spike, spikes number and weight per unit area were measured.

Results and Discussion: The aim of using pathogen treatment was to evaluate the biological control of *Alternaria* wheat leaf spot agent by *T. harzianum* in different methods by using *Trichoderma* in the presence of *Alternaria* in comparison with the absence of *Alternaria* and its effect on physiological traits (including total phenol, chlorophyll a, Chlorophyll b, carotenoids, total chlorophyll) were evaluated. No symptoms of necrosis or leaf chlorosis were observed after pathogen inoculation. Analysis of physiological traits (total phenol, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, total chlorophyll) showed that only the simple effect of inoculation or non-inoculation of *Alternaria* with *Trichoderma* significantly different ($P < 0.05$) in terms of total phenol content. Due to the presence of *Alternaria* as a pathogen, it may lead to a reaction of the plant's defense system, and *Trichoderma* can also increase phenolic compounds to counteract the pathogen. Analysis of growth traits, yield and yield components showed that *Trichoderma* treatment had no significant effect on any of them.

1 and 2- M.Sc. Student and Associate Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran, respectively.

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

3 and 4- Ph.D. of Plant Physiology and Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Birjand Birjand, Iran, respectively.

DOI: 10.22067/JPP.2021.70287.1022

Conclusion: This study, for the first time showed that *A. alternata* can cause disease on wheat Narin cultivar. Also, this research studied the effect of *T. harzianum* on physiological and functional characteristics of wheat Narin cultivar and results demonstrated that *T. harzianum* can have little effect on these characteristics of Narin cultivar. Concomitant use of *Trichoderma* in soil and leaves had a greater effect than separate application in roots or leaves. Also, according to other research, the effect of trichoderma varies depending on the environmental conditions including temperature and humidity, soil texture and structure and the type of wheat cultivar.

Keywords: *Alternaria*, Leaf spot, Mulch, Phenol, *Trichoderma*



مقاله پژوهشی

ارزیابی کنه‌کش گیاهی حاوی روغن پنبه دانه و میخک علیه کنه تارتن دو لکه‌ای سیب

مصطفی میرزائی^{۱*} - محمدرضا نعمت الهی^۲ - هاشم کمالی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۷

چکیده

کنه تارتن دولکه‌ای سیب (*Tetranychus urticae* Koch) همه ساله در باغات سیب کشور خساراتی را به باغداران تحمیل می‌نماید. استفاده مداوم از کنه‌کش/حشره‌کش‌های شیمیایی طیف وسیع جهت کنترل این آفت، علاوه بر احتمال ایجاد مقاومت، باعث از بین بردن دشمنان طبیعی نیز شده است. همچنین تا به امروز هیچ کنه‌کش گیاهی بر روی این گونه در ایران ثبت نشده است. در این راستا، کنه‌کش گیاهی حاوی روغن پنبه دانه و میخک (*Pestout*®) جهت کنترل مراحل فعال این آفت با غلظت‌های ۳ و ۵ در هزار و در مقایسه با سموم رایج اسپیرودیگلوکوف با غلظت نیم در هزار، فناژاکوئین با غلظت نیم در هزار و شاهد (آب‌پاشی) در سه استان تهران، اصفهان و خراسان رضوی مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و در سه تکرار (هر تکرار شامل دو درخت سیب ده ساله رقم زرد و با شرایط یکسان) برای هر تیمار انجام شد. نمونه‌برداری یک روز قبل از سمپاشی و زمان‌های ۳، ۷ و ۱۴ روز پس از سمپاشی از هر واحد آزمایشی صورت گرفت. درصد تلفات با فرمول هندرسون-تیلتون محاسبه و پس از تجزیه واریانس مرکب داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS، مقایسه میانگین درصد کارایی تیمارها با آزمون دانکن صورت گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده از سه منطقه هر دو غلظت پست‌اوت در تمام روزها کارایی بالایی داشته و قابل مقایسه با سموم رایج شیمیایی بودند. بنابراین می‌توان گفت که کنه‌کش پست‌اوت جایگزین خوبی جهت کنترل این آفت بوده و غلظت ۳ در هزار این ترکیب در ایران قابل توصیه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پست‌اوت، سیب، کنه تارتن دو لکه‌ای، کنه‌کش گیاهی

مقدمه

می‌باشند. این آفت چن‌دخوار با دامنه میزبانی بیش از ۳۸۷۷ گونه گیاهی (۲۶) و پراکنش جهانی (۲۲ و ۲۵) با استقرار در سطح زیرین برگ و تغذیه از سلول‌های آن باعث از بین رفتن سبزینه گیاه و ایجاد لکه‌های زرد مایل به قهوه‌ای در سطح برگ می‌شود. همچنین تارهای تنیده شده باعث تجمع گرد و غبار و نرسیدن نور کافی برای انجام عمل فتوسنتز در برگ‌ها می‌شود و در صورت تشدید آلودگی، خزان زودرس و کوچک ماندن میوه‌ها را به دنبال خواهد داشت (۲۱ و ۴۱). شدت خسارت ناشی از این روش تغذیه در کنار تعداد نسل بالای این گونه بر روی گیاه میزبان منجر به خسارت کیفی و کمی بالایی به درختان سیب شده و از نظر اقتصادی نیز بسیار زیان بار می‌باشد. عموماً هزینه این کنترل بیش از یک میلیارد دلار در هر سال در اتحادیه اروپا می‌باشد. بنابراین با توجه به اهمیت اقتصادی و حجم بالای تولید سیب در کشور، کنترل کنه تارتن دولکه‌ای امری ضروری می‌باشد. به دلیل استفاده بیش از حد از آفت‌کش‌ها و بروز مشکلات مرتبط عدیده‌ای همچون بروز مقاومت، از بین بردن دشمنان طبیعی و آلودگی‌های زیست محیطی همه نگاه‌ها به سمت ایجاد یک روش کنترل پایدار و دوست‌دار محیط زیست می‌باشد (۱۷، ۳۰ و ۳۳).

بر اساس آمار سال ۱۳۹۶ از مجموع ۲/۸۵ میلیون هکتار سطح باغات کشور حدود ۲۷۹ هزار هکتار به میوه‌های دانه‌دار اختصاص یافته که از این مقدار بیش از ۸۸/۵ درصد مربوط به باغات سیب می‌باشد (۱). یکی از مهمترین آفات این باغات در سراسر کشور کنه تارتن دو لکه‌ای (*Tetranychus urticae* Koch) می‌باشد و همه ساله باغداران جهت کنترل آن لاجرم مجبور به کنترل شیمیایی

۱- استادیار پژوهش بخش تحقیقات جانورشناسی کشاورزی، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

(*)- نویسنده مسئول: Email: mirzaei@iripp.ir

۲- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران

۳- دانشیار پژوهش، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، خراسان رضوی، ایران

میزان تولید ۲۸۸۶۲۴ تن)، استان اصفهان (۲۱۶۳۶ هکتار و میزان تولید ۲۳۷۸۴۲ تن) و استان خراسان رضوی (۱۵۸۵۳ هکتار و میزان تولید ۲۴۰۷۸۹ تن) مورد بررسی قرار گرفت (۱).

مواد و روش‌ها

در این تحقیق اثر کنه‌کش پست اوت روی مراحل نابالغ و ماده بالغ کنه تارتن دولکه‌ای سیب در سه استان تهران (شهرستان دماوند)، خراسان رضوی (شهرستان مشهد) و اصفهان (شهرستان اصفهان) مورد بررسی قرار گرفت. ۵ تیمار مورد آزمایش در این تحقیق شامل غلظت‌های ۳ و ۵ در هزار کنه‌کش پست اوت ۷۰٪ اس ال، اسپیرودیکلوفن ۲۴٪ اس سی با غلظت نیم در هزار، پراید ۲۰٪ اس سی با غلظت نیم در هزار و شاهد (محلولپاشی با آب) می‌باشند. این آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و در سه تکرار (هر تکرار شامل دو درخت سیب ده ساله رقم زرد و با شرایط یکسان) برای هر تیمار انجام شد. سمپاش مورد استفاده پستی موتوری ۱۰۰ لیتری با فشار ثابت بود. جهت مشخص شدن زمان دقیق سمپاشی از خردادماه نمونه‌برداری به طور تصادفی از تعداد ۶۰ برگ در فواصل ۵ روز بر اساس روش آماری حضور و عدم حضور جمعیت کنه و مشاهده میانگین ۵ کنه فعال در هر برگ انجام شد (۲۷). نمونه‌برداری از درختان مورد آزمایش یک روز قبل از سمپاشی و بعد از سمپاشی در فواصل ۳، ۷ و ۱۴ روز از ۴۰ برگ از هر واحد آزمایشی صورت گرفت. پس از قراردادن برگ‌ها در کیسه‌های پلاستیکی و نوشتن مشخصات هر نمونه، نمونه‌ها به آزمایشگاه‌های کنه‌شناسی منتقل و مراحل زیستی فعال کنه تارتن موجود در برگ‌ها با استفاده از بینوکولار شمارش و ثبت شد. میزان تلفات از طریق حضور و عدم حضور آفت قبل و بعد از سمپاشی محاسبه شد. درصد تلفات کنه تارتن دو لکه‌ای با فرمول هندرسون-تیلتون محاسبه شد (۱۶):

$$100 * (Ta * Cb / Tb * Ca) - = \text{درصد کارایی}$$

Ta = تعداد کنه زنده در برگ در تیمار بعد از محلول‌پاشی

Ca = تعداد کنه زنده در برگ در تیمار شاهد بعد از محلول‌پاشی

Tb = تعداد کنه زنده در برگ تیمار شده قبل از تیمار

Cb = تعداد کنه زنده در برگ قبل از تیمار

پس از تعیین کارایی هر یک از تیمارهای مورد آزمایش در کنترل کنه تارتن دولکه‌ای، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و آزمون Kolmogorov-Smirnov مورد بررسی قرار گرفت. پس از انجام تجزیه واریانس مرکب داده‌ها در نرم‌افزار SAS 9.4 و معنی‌دار بودن اثر متقابل تیمار × مکان، تیمار و مکان، مقایسه میانگین درصد کارایی تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد انجام و بهترین تیمار مشخص شد. نتایج هر مکان نیز به صورت جداگانه مورد بحث و بررسی قرار گرفت.

ضمن اینکه روش‌های کنترلی مبنی بر استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی گاهی اوقات در کنترل جمعیت این آفت با شکست مواجه شده‌اند (۴۰ و ۴۲). لذا یافتن ترکیباتی که در کنار کنترل موثر و طولانی مدت اثرات زیان بار بر محیط زیست و دشمنان طبیعی را به حداقل برساند، می‌تواند در قالب برنامه مدیریت تلفیقی آفات ابزاری کارآمد تلقی گردد (۳۹). در این راستا در میان ترکیبات جایگزین، استخراج عصاره‌های گیاهی و سنتز آفت‌کش‌های بر پایه عصاره‌های گیاهی راه‌کاری جایگزین یا مکمل بوده که روز به روز بیشتر مطرح می‌شود (۱۷). این ترکیبات گیاهی اغلب معطر بوده و عمدتاً متعلق به خانواده‌های موردیان (Myrtaceae)، برگ‌بوها (Lauraceae)، نعنائیان (Lamiaceae)، کاسنیان (Asteraceae)، سنجد (Meliaceae)، پنیرک (Malvaceae)، سدابیان (Rutaceae) و نهایتاً گیاهان خانواده دارچین (Canellaceae) می‌باشند (۲۰، ۳۵). طی تحقیقات انجام شده در ایران، عصاره اتانولی دانه زیتون تلخ (۲)، دو گونه اکالیپتوس (۱۴)، نعناع (۳۲)، ترکیب زیتون تلخ ۵ درصد + نعناع فلفلی ۲ درصد + پونه ۲ درصد + اکالیپتوس ۵ درصد (۶)، رزماری و نعناع فلفلی بر پایه عصاره میوه زیتون تلخ (۲۹) و آویشن شیرازی (۲۸) روی کنه تارتن دو لکه‌ای تیمار و اثرات کشندگی آن بررسی شده است. در خارج از کشور نیز ترکیبات گیاهی زیادی همچون ترکیبات مشتق شده از گیاهان زیتون پنگام، چریش و پیرتروم (۳۴)، تاتوره (۲۳)، سیر، خرزهره، گل بی مرگ، خربق و بابونه کبیر (۱۲)، گیاه جارو (۳۸)، دو گیاه Carvacrol و linalool (۷)، گیاهان ژرانیول، اوژنول (eugenol) و سینامالدهید (cinnamaldehyde) (۱۰)، گیاه گز (۳۷)، گیاهان خانواده Labiatae (۲۴)، سلمه (۸)، ارژن، سانتولینا و سیر (۳، ۴ و ۵) جهت کنترل کنه تارتن دولکه‌ای مورد ارزیابی و مطالعه قرار گرفته‌اند. از آنجایی که تا به امروز چندین ترکیب تجاری شده است، لذا جایگزین کردن آفت‌کش‌های گیاهی به دلیل تجزیه پذیری و حداقل عوارض جانبی در موجودات غیر هدف و سازگاری با محیط زیست امری ضروری است (۱۹ و ۳۹).

در این راستا ترکیب پست اوت یک کنه‌کش / حشره‌کش گیاهی مشتق از روغن پنبه دانه، روغن گل میخک و سایر مواد طبیعی (بی‌کربنات سدیم، اسید اولئیک، اسید لائوریک) جهت کنترل کنه تارتن دو لکه‌ای توصیه شده و با اختلال در غشای سلولی، از بین بردن ماهیچه‌ها، سیستم عصبی تغذیه آفت و مسدود شدن راه‌های هوایی و جلوگیری از تبادل اکسیژن و در نتیجه خفگی آفت را از بین می‌برد (۱۳). پست اوت توسط موسسه بررسی مواد ارگانیک (Organic Materials Review Institute) به عنوان یک آفت‌کش گیاهی معرفی شده است. در تحقیق حاضر تاثیر کنه‌کش گیاهی پست اوت روی مراحل مختلف زیستی کنه تارتن دو لکه‌ای درختان سیب و در مقایسه با کنه‌کش‌های رایج در سه استان تهران (۸۸۴۸ هکتار و

نتایج

داده‌های مربوط به کنه‌کش‌های مورد آزمایش تجزیه و تحلیل شده و تجزیه واریانس مرکب داده‌های روزهای ۳، ۷ و ۱۴ پس از انجام سمپاشی آفت‌کش‌ها علیه کنه تارتن دو لکه‌ای در درختان سیب در سه شهرستان اصفهان، دماوند و مشهد در سال ۱۳۹۷ مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به معنی‌دار بودن اثر متقابل تیمار در مکان، تیمار و مکان؛ تجزیه واریانس و بررسی داده‌ها در هر یک از مناطق مذکور به صورت جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج کارایی کنه‌کش‌های مورد بررسی به تفکیک مناطق آزمایش

استان تهران (منطقه دماوند)

تجزیه واریانس داده‌های روزهای ۳، ۷ و ۱۴ پس از انجام سمپاشی علیه کنه تارتن دو لکه‌ای در درختان سیب مورد بررسی قرار گرفت و تجزیه واریانس میانگین درصد تلفات در جدول ۱ و مقایسه میانگین درصد تلفات در جدول ۲ آمده است. بر اساس نتایج بدست آمده، در روز سوم هر دو غلظت ۳ و ۵ در هزار پست اوت دارای کارایی مورد قبولی بوده و با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. در این روز بیشترین میزان تلفات مربوط به تیمار انویدور با غلظت ۰/۵ در هزار بود، اما با هیچ یک از غلظت‌های پست اوت اختلاف معنی‌داری نداشت. تیمارهای انویدور ۰/۵ در هزار و پست اوت ۳ و ۵ در هزار و به ترتیب حدود ۹۴، ۸۹ و ۸۵ درصد از جمعیت آفت را کنترل کردند. تیمار پراید هم که کمترین کارایی را از خود نشان داد منجر به تلفات ۷۷/۷۲ درصدی شد که با تیمار انویدور اختلاف معنی‌داری داشت. در روز هفتم تیمار انویدور و هر دو غلظت ۳ و ۵ در

هزار پست اوت در یک گروه قرار گرفتند و به ترتیب با ۹۱/۴۲، ۹۴/۷۸ و ۹۴/۷۵ درصد مرگ و میر با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. در همین روز کارایی تیمار پراید نسبت به روز سوم کاهش یافته و با ۵۱/۳۸ درصد مرگ و میر در گروه دوم قرار گرفته و کارایی قابل قبولی از خود نشان نداد. ضمن اینکه با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. در روز چهاردهم نیز نتایج همچون روز هفتم رقم خورد و سه تیمار انویدور، پست اوت ۵ و ۳ در هزار به ترتیب با ۸۶/۵۸، ۸۹/۲۵ و ۸۲/۱۰ درصد مرگ و میر در یک گروه قرار گرفته و اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. باز هم تیمار پراید کمترین کارایی را داشته و با تنها ۴۲/۱۰ درصد تلفات با داشتن اختلاف معنی‌دار در گروه دوم قرار گرفت. بنابراین همانطور که در تمام روزها مشاهده گردید هر دو غلظت پست اوت با بیش از ۸۲ درصد مرگ و میر در کنار انویدور (با بیش از ۸۶ درصد تلفات) بهترین کارایی را داشته و در نقطه مقابل پراید با یک سیر نزولی و کاهش کارایی از حدود ۷۷ به ۴۲ درصد کمترین تلفات را نشان داد.

استان اصفهان

تجزیه واریانس داده‌های روزهای ۳، ۷ و ۱۴ پس از انجام سمپاشی سموم علیه کنه تارتن دو لکه‌ای در درختان سیب واقع در شهرستان اصفهان مورد بررسی قرار گرفته و تجزیه واریانس میانگین درصد تلفات به شرح جدول ۳ و مقایسه میانگین درصد تلفات در جدول ۴ مشاهده می‌گردد. در بررسی میزان کارایی آفت‌کش‌های مورد مطالعه در استان اصفهان در روز سوم اختلاف معنی‌داری بین هیچ یک از تیمارها وجود نداشت و میزان مرگ و میر در آنها در دامنه حدود ۷۰ تا ۸۰ درصد متغیر بود.

جدول ۱- تجزیه واریانس میانگین درصد تلفات مراحل مختلف کنه تارتن دو لکه‌ای درختان سیب در استان تهران
Table 1- Analysis of variance of the mean mortality in different stages of *T. urticae* on apple trees in Tehran province

میانگین مربعات Mean square				
روزهای پس از سمپاشی Days after spray				
روز چهاردهم 14 th day	روز هفتم 7 th day	روز سوم 3 rd day	درجه آزادی df	منابع تغییر S.O.V
1469.76 **	1347.71 **	153.47 ^{ns}	4	تیمار Treatment
16.07 ^{ns}	56.06 ^{ns}	34.61 ^{ns}	2	بلوک Block
49.33	120.27	50.35	6	خطا Error

** در سطح یک درصد معنی‌دار است؛ ^{ns} در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

** significant at 1% of probability; ^{ns}: non-significant at 5% of probability.

جدول ۲- میانگین درصد تلفات کنه‌کش‌های مورد مقایسه علیه کنه تارتن دو لکه ای درختان سیب در استان تهران
Table 2- Mean mortality % ($\pm$ SE) effects of different acaricides on *T. urticae* of apple trees in Tehran province

میانگین درصد تلفات Mean mortality % ($\pm$ SE)			
تیمار Treatment	روز سوم 3 rd day	روز هفتم 7 th day	روز چهاردهم 14 th day
پست اوت ۵ Pestout 5	89.68 $\pm$ 3.62 ab	94.78 $\pm$ 3.12 a	89.25 $\pm$ 7.4 a
پست اوت ۳ Pestout 3	84.99 $\pm$ 4.91 ab	94.75 $\pm$ 1.08 a	82.10 $\pm$ 9.33 a
انویدور Envidor	94.52 $\pm$ 3.31 a	91.42 $\pm$ 3.56 a	86.58 $\pm$ 0.58 a
پراید Pride	77.72 $\pm$ 11.72 b	51.38 $\pm$ 12.83 b	42.10 $\pm$ 4.73 b

استان خراسان رضوی

تجزیه واریانس داده‌های روزهای ۳، ۷ و ۱۴ پس از انجام سم‌پاشی سموم علیه کنه تارتن دو لکه‌ای در درختان سیب واقع در شهرستان مشهد مورد بررسی قرار گرفتند و تجزیه واریانس میانگین درصد تلفات به شرح جدول ۵ و مقایسه میانگین درصد تلفات در جدول ۶ مشاهده می‌گردد. در این منطقه، در روز سوم هر دو کنه‌کش انویدور و پراید (با ۱۰۰ درصد مرگ و میر) در یک گروه قرار داشته و بیشترین کارایی را داشتند. کنه‌کش پست اوت ۵ در هزار با بیش از ۹۲ درصد تلفات در گروه دوم قرار گرفت و دارای اختلاف معنی‌داری با بقیه تیمارها بود. کنه‌کش پست اوت ۳ در هزار نیز با بیش از ۸۴ درصد مرگ و میر در گروه آخر قرار گرفته و در مقایسه با دیگر تیمارهای مورد آزمایش تلفات پایین‌تری را نشان داد.

حال آنکه اختلاف معنی‌داری بین دو غلظت مورد آزمایش ۳ و ۵ در هزار کنه‌کش پست اوت مشاهده نگردید. در روز هفتم و چهاردهم نیز همچون روز سوم اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد آزمایش وجود نداشت و از نظر آماری هر دو غلظت ۳ و ۵ در هزار کنه‌کش پست اوت در یک گروه قرار داشتند. در روز چهاردهم میزان مرگ و میر در پست اوت ۵ در هزار، پست اوت ۳ در هزار، انویدور و پراید به‌ترتیب ۷۷/۴۹، ۷۴/۳۰، ۷۶/۴۹ و ۷۴/۱۰ درصد بود. بنابراین همانطور که مشاهده گردید میزان کارایی کنه‌کش گیاهی پست اوت در هر دو غلظت همچون کنه‌کش‌های شیمیایی انویدور و پراید بوده و از طرف دیگر در تمام روزها هیچ اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارهای مورد آزمایش مشاهده نگردید.

جدول ۳- تجزیه واریانس میانگین تلفات مراحل مختلف کنه تارتن دو لکه‌ای درختان سیب در استان اصفهان
Table 3- Analysis of variance of the mean mortality in different stages of *T. urticae* on apple trees in Isfahan province

میانگین مربعات Mean square				
روزهای پس از سمپاشی Days after spray				
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	روز سوم 3 rd day	روز هفتم 7 th day	روز چهاردهم 14 th day
تیمار Treatment	4	59.15 ^{ns}	93.15 ^{**}	8.28 ^{**}
بلوک Block	2	36.99 ^{ns}	29.71 ^{ns}	208.87 ^{ns}
خطا Error	6	50.47	83.41	52.05

^{**}: در سطح یک درصد معنی‌دار است؛ ^{ns}: در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

^{**} significant at 1% of probability; ^{ns}: non-significant at 5% of probability.

جدول ۴- میانگین درصد تلفات کنه‌کش‌های مورد مقایسه علیه کنه تارتن دو لکه‌ای درختان سیب در استان اصفهان
Table 4- Mean mortality % ($\pm$ SE) effects of different acaricides on *T. urticae* of apple trees in Isfahan province

میانگین درصد تلفات Mean mortality % ($\pm$ SE)			
تیما Treatment	روز سوم 3 rd day	روز هفتم 7 th day	روز چهاردهم 14 th day
پست اوت ۵ Pestout 5	79.49 $\pm$ 5.98 a	82.46 $\pm$ 6.70 a	77.49 $\pm$ 10.18 a
پست اوت ۳ Pestout 3	76.85 $\pm$ 4.82 a	80.12 $\pm$ 3.60 a	74.30 $\pm$ 5.19 a
انویدور Envidor	78.77 $\pm$ 6.15 a	80.33 $\pm$ 6.05 a	76.49 $\pm$ 6.38 a
پراید Pride	69.77 $\pm$ 9.57 a	70.03 $\pm$ 13.62 a	74.10 $\pm$ 13.92 a

یکدیگر نداشته و در یک گروه قرار گرفتند. در این روز نیز همچون روزهای گذشته کمترین کارایی مربوط به کنه‌کش پست اوت با غلظت ۳ در هزار بوده و با ۸۲/۱۶ درصد تلفات در گروه دوم قرار گرفت. البته اختلاف معنی‌داری بین دو غلظت ۳ و ۵ در هزار کنه‌کش پست اوت وجود نداشت. اشاره به این نکته الزامی است که هر چند درصد تلفات در هر دو غلظت ۳ و ۵ در هزار کنه‌کش گیاهی پست اوت کمتر از دو کنه‌کش شیمیایی انویدور و پراید بود و دارای اختلاف آماری معنی‌داری با آنها بودند، اما از نظر میزان کارایی و کنترل جمعیت آفت عملکرد قابل قبولی داشته و از طرف دیگر در کنترل آفات نیازی به کنترل ۱۰۰ درصدی نمی‌باشد. بنابراین کارایی هر دو غلظت کنه‌کش پست اوت مطلوب و قابل قبول است.

در روز هفتم نیز نتایج مشابه روز سوم ثبت گردید، به طوری‌که کنه‌کش انویدور با ۹۸/۳۳ درصد مرگ و میر و کنه‌کش پراید با ۹۹/۴۶ درصد مرگ و میر در گروه اول قرار گرفته و اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. کنه‌کش پست اوت با غلظت ۵ در هزار در گروه دوم قرار گرفته و با ۹۴/۱۸ درصد مرگ و میر با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. باز هم کنه‌کش پست اوت با غلظت ۳ در هزار در گروه آخر قرار گرفته و با ۸۹/۹۱ درصد تلفات در مقایسه با دیگر تیمارها در رتبه آخر قرار گرفت. در روز چهاردهم نتایج کمی متفاوت بود، به طوری‌که کنه‌کش‌های پراید (۹۷/۷۳) درصد مرگ و میر، انویدور (۹۱/۳۲) درصد مرگ و میر و پست اوت با غلظت ۵ در هزار (۸۹/۶۹) درصد مرگ و میر از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با

جدول ۵- تجزیه واریانس میانگین درصد تلفات مراحل مختلف کنه تارتن دو لکه ای درختان سیب در روزهای پس از سم‌پاشی در استان خراسان رضوی

Table 5- Analysis of variance of the mean mortality in different stages of *T. urticae* on apple trees in Khorasan Razavi province

میانگین مربعات Mean square				
روزهای پس از سمپاشی Days after spray				
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	روز سوم 3 rd day	روز هفتم 7 th day	روز چهاردهم 14 th day
تیما Treatment	4	161.18 **	56.66 **	122.86 **
بلوک Block	2	1.81 ^{ns}	0.29 ^{ns}	4.48 ^{ns}
خطا Error	6	0.83	1.76	18.21

** : در سطح یک درصد معنی‌دار است؛ ^{ns} : در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

** significant at 1% of probability; ^{ns}: non-significant at 5% of probability.

جدول ۶- میانگین درصد تلفات کنه‌کش‌های مورد مقایسه علیه کنه تارتن دو لکه ای درختان سیب در استان خراسان رضوی
Table 6- Mean mortality % ($\pm$ SE) effects of different acaricides on *T. urticae* of apple trees in Khorasan Razavi province

میانگین درصد تلفات Mean mortality % ($\pm$ SE)			
تیمار Treatment	روز سوم 3 rd day	روز هفتم 7 th day	روز چهاردهم 14 th day
پست اوت ۵ Pestout 5	92.30 $\pm$ 1.92 b	94.18 $\pm$ 1.02 b	89.69 $\pm$ 1.26 ab
پست اوت ۳ Pestout 3	84.70 $\pm$ 0.78 c	89.91 $\pm$ 0.95 c	82.16 $\pm$ 6.03 b
انویدور Envidor	100 a	98.33 $\pm$ 1.65 a	91.32 $\pm$ 4.58 a
پراید Pride	100 a	99.46 $\pm$ 0.93 a	97.73 $\pm$ 0.44 a

بحث

از آنجایی که جهت کنترل کنه تارتن درختان سیب علاوه بر روش‌های کنترل زراعی و بیولوژیک، کنترل شیمیایی هم به خوبی نتوانسته این آفت را کنترل نماید، این نگرانی محققان را ترغیب کرده که به دنبال گزینه‌های بهتری برای کنترل این آفت باشند تا در کنار کنترل موثر و طولانی مدت، اثرات زیان بار بر محیط زیست و دشمنان طبیعی به حداقل رسانده شود. یکی از بهترین جایگزین‌ها در این زمینه ترکیبات با پایه‌ی گیاهی می‌باشد. نتایج حاصل از استفاده از کنه‌کش گیاهی پست اوت علیه کنه تارتن دو لکه‌ای درختان سیب نشان داد که این ترکیب دارای قدرت بالایی جهت کنترل این آفت می‌باشد. در استان تهران کارایی این ترکیب در تمام روزهای آزمایش بیش از ۸۲ درصد بوده که همانند کنه‌کش شیمیایی انویدور کارایی بالایی از خود نشان داد و از طرف دیگر بسیار بهتر از کنه‌کش شیمیایی پراید عمل کرد. علی‌رغم معایبی همچون حساسیت به نور، فرار بودن و حلالیت پایین که به ترکیبات گیاهی نسبت داده می‌شود، کنترل پایدار تا روز چهاردهم این آفت‌کش نشان می‌دهد که می‌تواند ترکیب قابل اعتمادی برای کشاورزان جهت کنترل پایدار آفت باشد. در استان اصفهان نیز نتایج نشان داد که کارایی هر دو غلظت پست اوت با دو کنه‌کش شیمیایی انویدور و پراید هیچ تفاوت معنی‌داری نداشته و بنابراین می‌تواند جایگزین خوبی برای آفت‌کش‌های شیمیایی باشد. در استان خراسان رضوی نیز کارایی مطلوب کنه‌کش گیاهی پست اوت مورد تأیید بوده و با بیش از ۸۲ درصد تلفات در تمام روزهای آزمایش کنترل مطلوب و قاطعی از این ترکیب به ثبت رسید. هر چند که دو کنه‌کش انویدور و پراید مرگ و میر بالاتری داشته اما بر اساس تلفات ثبت شده میزان مرگ و میر حدود ۸۵ درصد آفت بسیار مطلوب تر از تلفات‌های نزدیک به ۱۰۰ درصد بوده و این موضوع به دشمنان طبیعی آفت هدف اجازه تقویت جمعیت خود و کنترل آفت را می‌دهد. به طوری که به مرور زمان حتی امکان تقویت

و احیای جمعیت دشمنان طبیعی بالا رفته و به تدریج می‌توان به کنترل تلفاتی و پایدار آفت نزدیک تر می‌شویم (۱۸). از جمله محدودیت‌های آفت‌کش‌های طبیعی در مقایسه با سموم شیمیایی خواص احتمالی گیاه‌سوزی و نتایج نه چندان یکنواخت می‌باشد که در این زمینه نیز نتایج آزمایشات ۳ منطقه مورد بررسی نشان داد علی‌رغم اختلاف کم بین میزان کارایی در روزها و مناطق مختلف، در کل هر دو غلظت ۳ و ۵ در هزار ترکیب گیاهی پست اوت کارایی قابل قبولی داشته و هیچ گونه اثر گیاه‌سوزی در آن مشاهده نگردید. هر چند که اثرات گیاه‌سوزی ناشی از استفاده از ترکیب پست اوت با غلظت ۱۱/۵ در هزار روی گل ژربرا گزارش شد (۹) و در تحقیق دیگری نیز اثرات گیاه‌سوزی ناشی از تیمار عصاره میخک به تنهایی با غلظت ۵ در هزار در باغات سیب گزارش گردید و از طرف دیگر علیه ماده‌های بالغ کنه تارتن کارایی کمتری در مقایسه با روغن‌های با پایه نفتی داشت (۳۶). اما اثر کشندگی روغن پنبه دانه علیه مرحله تخم کنه تارتن دولکه‌ای در گیاه کدو مسمایی مطلوب ارزیابی گردید (۳۱). از طرف دیگر کنه‌کش گیاهی جی سی مایت که شباهت بسیار زیادی با ترکیب پست اوت دارد قبلاً در کشور ثبت شده و تحقیقات اربابی و بنی عامری در سال ۱۳۹۴ نشان داد که غلظت‌های ۰/۷۵ و ۱ در هزار کنه‌کش گیاهی جی سی مایت می‌تواند در کنترل کنه تارتن خیار و کنه حنایی گوجه فرنگی گلخانه‌ای موثر باشد که از نظر غلظت مورد استفاده با تحقیق حاضر اختلاف زیادی (حدود ۳ تا ۴ برابری) دارد. حال آنکه در تحقیق دیگری کنه‌کش جی سی مایت روی کنه تارتن نیشکر در خوزستان با غلظت ۱ لیتر در هکتار جی سی مایت در زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار موثر بوده و تفاوت معنی‌داری بین اوبرون و انویدور مشاهده نگردید (۴۳) که غلظت و نتایج حاصله به نتایج حاضر نزدیک تر می‌باشد. همچنین در پژوهش دیگری ترکیب جی سی مایت با غلظت ۱۱/۷ در هزار علیه کنه تارتن دو لکه‌ای روی گل همیشه بهار مورد استفاده قرار گرفته و کارایی بسیار مطلوبی نیز

داشته و هیچ گونه تاثیر گیاه‌سوزی گزارش نگردیده است (۹).

بنابراین به نظر می‌رسد ترکیبات گیاهی روز به روز بیشتر توسعه یافته و به دلیل عدم وجود اثرات سوء و منفی بر طبیعت، تجزیه سریع و عدم باقیمانده در خاک و آب و عدم تاثیر سوء بر جمعیت غیرهدف جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی باشند (۱۱). در نهایت باید به این نکته اشاره کرد که با توجه به اینکه استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی (به خصوص انواع طیف وسیع) باعث کاهش تنوع زیستی شده و در نتیجه عملکرد و فعل و انفعالات اکوسیستم را تحت تاثیر قرار دهند (۱۵) استفاده از آفت‌کش‌های گیاهی همانند پست اوت می‌تواند در این زمینه باعث حفظ پایداری در سیستم‌های زراعی گردد.

نتیجه‌گیری

بر اساس میزان کارایی ثبت شده از غلظت ۳ در هزار کنه‌کش گیاهی پست اوت در تمام روزها کارایی بالای ۸۲ درصد در

منابع

- Ahmadi K., Gholizadeh H., Ebadzadeh H.R., Hossinpour R., Hatami F., Abdeslah H., Rezaei M.M., Kazemifard R., and Fazlietabragh M. 2017. Agricultural Statistics - Volume Three Horticultural Products. Ministry of Jihad-e Agriculture, Ministry of Jihad-e-Agriculture, Deputy of Planning and Economics, ICT Center. Tehran.
- Ashrafju M., Ahmadi K., Takiloozadeh H.M., Baniadami Y., and Nazarian A. 2011. Effect of ethanolic extract of *Melia azedarach* L. seeds on oviposition and egg hatching of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Journal of Herbal Drugs 2(3):165-169. (In Persian with English abstract)
- Attia S., Grissa K.L., Lognay G., Bitume E., Hance T., and Mailleux A.C. 2013. A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with special reference to natural pesticides. Journal of Pest Science 86(3): 361-386.
- Attia S., Grissa K.L., Lognay G., Heuskin S., Mailleux A. C., and Hance T. 2011. Chemical composition and acaricidal properties of *Deverra scoparia* essential oil (Araliales: Apiaceae) and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Journal of Economic Entomology 104(4): 1220-1228.
- Attia S., Grissa K.L., Mailleux A.C., Lognay G., Heuskin S., Mayoufi S., and Hance T. 2012. Effective concentrations of garlic distillate (*Allium sativum*) for the control of *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). Journal of Applied Entomology 136(4): 302-312.
- Azizian N., Moayeri H.S., Kavousi O., and Bolandnazar A. 2013. Contact Toxicity of Some Formulated Herbal Composition on Two Spotted Spider Mite. Journal of Plant Protection 28(3): 393-399. (In Persian with English abstract)
- Campos E.V., Proença P.L., Oliveira J.L., Melville C.C., Della Vechia J.F., De Andrade D.J., and Fraceto L.F. 2018. Chitosan nanoparticles functionalized with β -cyclodextrin: a promising carrier for botanical pesticides. Scientific Reports 8(1): 2067.
- Chiasson H., Bostanian N.J., and Vincent C. 2004. Acaricidal properties of a Chenopodium-based botanical. Journal of Economic Entomology 97: 1373-1377.
- Cloyd R.A., Galle C.L., Keith S.R., Kalscheur N.A., and Kemp K.E. 2009. Effect of commercially available plant-derived essential oil products on arthropod pests. Journal of Economic Entomology 102(4): 1567-1579.
- de Oliveira J.L., Campos E.V., Germano-Costa T., Lima R., Vechia J.F.D., Soares S.T., ... and Fraceto L.F. 2019. Association of zein nanoparticles with botanical compounds for effective pest control systems. Pest Management Science 75(7): 1855-1865.
- Dubey N.K., Shukla R., Kumar A., Singh P., and Prakash B. 2010. Prospects of botanical pesticides in sustainable agriculture. Current Science 98(4): 479-480.
- Erdogan P., Yildirim A., and Sever B. 2012. Investigations on the effects of five different plant extracts on the two-spotted mite *Tetranychus urticae* Koch (Arachnida: Tetranychidae). Psyche: A Journal of Entomology 2012: 1-5.
- Gilrein D. 2002. Control of two spotted spider Mite on with ovation and unconventional new miticides, Cornell Cooperative Ixtension of Suffolk country Long Island Horticultural Research and Extension Center Riverhead,

سپاسگزاری

این پژوهش نتیجه طرح تحقیقاتی به شماره ۹۷۱۰۹۹ می‌باشد و با استفاده از اعتبارات پژوهشی مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور انجام شده است که بدین‌وسیله نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

- NewYork.
14. Hariri M.F. and Moharramipour S. 2012. Ovicidal activity of essential oils from two species of Eucalyptus on two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* koch. Plant Protection 35(2): 13-25. (In Persian with English abstract)
15. Hector A., and Bagchi R. 2007. Biodiversity and ecosystem multifunctionality. Nature 448: 188-190.
16. Henderson C.F., and Tilton E.W. 1955. Tests with acaricides against the brown wheat mite. Journal of Economic Entomology 48(2): 157-161.
17. Heuskin S., Verheggen F.J., Haubruge E., Wathelet J.P., and Lognay G. 2011. The use of semiochemical slow-release devices in integrated pest management strategies. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement 15(3): 459-470.
18. Huffaker C., Van de Vrie M., and McMurtry J. 1970. Ecology of tetranychid mites and their natural enemies: A review: II. *Tetranychid populations* and their possible control by predators: An evaluation. California Agriculture 40(11): 391-458.
19. Isman M.B. 2004. Plant essential oils as green pesticides for pest and disease management. ACS Symp Ser, 887: 41-51.
20. Jacobson M. 1989. Botanical pesticides: past, present and future. Insecticides of Plant Origin 387: 1-10.
21. Johnson W.T., and Lyon H.H. 1991. Insects That Feed on Trees and Shrubs (2nd), New York.
22. Kolyae A., Rezvani A., and Kamali H. 2012. Pests of fruit crops in Iran. Ministry of Jihad-e Agriculture, Agricultural Research Education and Extension Organization, Iranian research Institute of Plant Protection, Tehran.
23. Kumral N.A., Çobanoğlu S., and Yalcin C. 2010. Acaricidal, repellent and oviposition deterrent activities of *Datura stramonium* L. against adult *Tetranychus urticae* (Koch). Journal of Pest Science 83(2): 173-180.
24. Mansour F., Ravid U., and Putievsky E. 1986. Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species of Labiatae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. Phytoparasitica 14(2): 137-142. (In Persian with English abstract)
25. McMurtry J., Huffaker C., and Van de Vrie M. 1970. Ecology of tetranychid mites and their natural enemies: A review: I. Tetranychid enemies: Their biological characters and the impact of spray practices. California Agriculture 40(11): 331-390.
26. Migeon A., Nougier E., and Dorkeld F. 2011. Spider Mites Web: a comprehensive database for the Tetranychidae. In Trends in Acarology (pp. 557-560). Springer Netherlands.
27. Mirzaei M., Nematollahi M.R., and Golmohammadi G. 2020. Evaluating currently used pesticides in apple orchards on field populations of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Archives of Phytopathology and Plant Protection 53: 1-11.
28. Moayeri H.R.S., and Pirayeshfar F. 2014. Acaricidal effects of shirazi thyme, galbanum and savory essential oils on two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 3(5): 771-779. (In Persian with English abstract)
29. Moayeri H.R.S., Pirayeshfar F., Azizian N., and Bolandnazar A.R. 2015. Acaricidal effect of some formulated compositions based on cinabery extract and herbal essential oils on the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 31(1): 102-114. (In Persian with English abstract)
30. Moin Aldini S.A., Zand E., Kambozia J., Mahdavi Damghani A., and Deihim Fard R. 2014. Environmental hazard assessment by using insecticides registered in Iran with the EIQ index. Journal of Agroecology 6(2): 250-265. (In Persian with English abstract)
31. Mousa G.M., and El-Sisi A.G. 2001. Evaluating of some local alternatives: mineral oils, plant materials and surfactant against piercing and sucking pests infesting squash crops. In 1. Conference on Safe Alternatives of Pesticides for Pest Management, Assiut (Egypt), 28-29 Oct 2001.
32. Muayeri H.R.S., Pirayeshfar F., and Kavousi O. 2013. Repellency effect of three herbal essential oils on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. Iranian Journal of Plant Protection Science 44(1): 103-112. (In Persian with English abstract)
33. Nauen R., Stumpf N., Elbert A., Zebitz C.P.W., and Kraus W. 2001. Acaricide toxicity and resistance in larvae of different strains of *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae). Pest Management Science 57(3): 253-261.
34. PaVela R. 2009. Effectiveness of some botanical insecticides against *Spodoptera littoralis* Boisduvala (Lepidoptera: Noctuidae), *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) and *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Plant Protection Science 45(4): 161-167.
35. Regnault-Roger C., Vincent C., and Arnason J.T. 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. Annual Review of Entomology 57: 405-424.
36. Rock G., and Crabtree K.W. 1987. Biological activity of petroleum and cottonseed oils against two Tetranychid mite species and two tortricid insect species found on apple. Journal Agricultural Entomology 4: 247-253.
37. Seifi R., Moharramipour S., and Ayyari M. 2018. Acaricidal activity of different fractions of *Moringa peregrina* on two spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Industrial Crops and Products 125: 616-

621. (In Persian with English abstract)
38. Shi G.L., Zhao L.L., Liu S.Q., Cao H., Clarke S.R., and Sun J.H. 2006. Acaricidal activities of extracts of *Kochia scoparia* against *Tetranychus urticae*, *Tetranychus cinnabarinus*, and *Tetranychus viennensis* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology* 99(3): 858-863.
39. Steiner M.Y., Spohr L.J. and Goodwin S. 2011. Impact of two formulations of the acaricide bifenazate on the spider mite predator *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae). *Aust Journal Entomology* 50: 99-105.
40. Tirello P., Pozzebon A. and Duso C. 2012. Resistance to chlorpyrifos in the predatory mite *Kampimodromus aberrans*. *Experimental Applied Acarology* 56: 1-8.
41. Van de Vrie M., McMurtry J., and Huffaker C. 1972. Ecology of tetranychid mites and their natural enemies: A review: III. Biology, ecology, and pest status, and host-plant relations of tetranychids. *California Agriculture* 41(13): 343-432.
42. Van Leeuwen T., Vontas J., Tsagkarakou A., and Tirry L. 2009. Mechanisms of acaricide resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. In *Biorational control of arthropod pests* (pp. 347-393). Springer Netherlands.
43. Ziaee M., Nikpay A., Koohzad-Mohammadi P., and Behnam-Oskuyee S. 2017. The toxicity of Biomite®, GC-mite®, Oberon® and Envidor® acaricides against sugarcane yellow mite, *Oligonychus sacchari* (Acari: Tetranychidae). *Persian Journal of Acarology* 6(2): 137-141. (In Persian with English abstract)



Evaluation of a Botanical Acaricide Contain Cottonseed and Clove Oils against Two-spotted Spider Mite in Apple Orchards of Iran

M. Mirzaei^{1*} - M.R. Nematollahi² - H. Kamali³

Received: 01-02-2020

Accepted: 19-10-2021

Introduction: One of the major pests of apple trees all-around of Iran is two-spotted spider mites (TSM, *Tetranychus urticae* Koch (1836)). This pest reported from Gorgan and Mazandaran areas for the first time. This cosmopolitan mite is reported in almost all parts of the country and found in all countries of the world on more than 150 economic plant species. This pest has been causing damage to the farmer in various apple orchards in the country every year. Because of high rate of fecundity, high population density, short life cycle and develop resistance to pesticides, TSM is an invasive pest on apple trees and difficult to control. Also, due to the continued use of various broad-spectrum chemical insecticides / Acaricides to controlling this pest, in addition to making the potential of resistance, it has also eliminated natural enemies. Up to date no botanical acaricides has been registered on TSM in apple orchards of Iran. Accordingly, Pestout[®] as a botanical acaricide to control the active stages of TSM at two concentrations and in comparison to spiroadiclofen and fenazaquin were evaluated in three provinces of Tehran, Isfahan and Khorasan Razavi in 2018.

Materials and Methods: During 2018, Pestout[®] contain cottonseed and clove oils as a botanical acaricide to control the active stages of TSM at concentrations of 3 and 5 ml/l and in comparison of spiroadiclofen SC 24% (Envidor[®]) 0.5 ml/l, fenazaquin SC 20% (Pride[®]) 0.5 ml/l and control (spraying) were evaluated in three provinces of Tehran, Isfahan and Khorasan Razavi in 2018. The experiment was carried out in a randomized complete block design with three replications (each replicate containing two trees variety yellow with the same conditions) for each treatment. Sampling was taken 1 day before and after spraying, at 3, 7 and 14 days' intervals from 40 leaves of each experimental unit. Then the immature and female adults of spider mites in the leaves were counted and registered by using binocular in Agricultural Zoology Research Laboratory of the Iranian research institute of plant protection and also in Isfahan and Khorasan Razavi provinces. Data obtained from sampling were corrected by Henderson-Tilton formula. The normality of the data was evaluated using SAS software and Kolmogorov-Smirnov test. After analysis of variance using one-way ANOVA in SAS software mean comparison was performed by Duncan's multiple range test in SAS 9.4 software.

Results and Discussion: The analysis of variance showed that there was a significant difference between all treatments with control in three provinces across all days. Based on the results obtained in Tehran province, both concentrations of Pestout (With more than 82% mortality) besides of Envidor (with more than 86% mortality) were most efficient in all days after spraying. In Isfahan province, the efficacy of Pestout in both concentrations were in the same group with Envidor and Pride. On the other hand, no significant differences were observed between the abovementioned treatments in all days. In fact, for all four treatments acceptable performance recorded. In this province, the mean mortality of 3 ml/l Pestout varied between 74% to 80% during the test days and for concentrations 5 ml/l were 77% to 82%. In Khorasan Razavi province, the efficacy of Pestout 5 ml/l on 3, 7 and 14 days after treatment were more than 92%, 94% and 89% mortality, respectively. Also, mean mortality at concentrations 3 ml/l were recorded 84.70%, 89.91% and 82.16%, respectively. Therefore, both concentrations in this province had a good efficacy.

Conclusion: Poor orchard management and the effects of climate change, are increasing pest problems, including TSM incidence, in Iranian orchards. Increased chemical pesticide use is leading to greater occurrence of pest resistance, insufficient control and increased production costs are some of the problems. The registration

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

(*- Corresponding Author Email: mirzaei@iripp.ir)

2- Assistant Professor, Plant protection research department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran

3- Associate Professor, Plant protection research department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Khorasan Razavi, Iran

DOI: 10.22067/JPP.2021.32703.0

and implementation of low risk and effective botanical pesticides are one of the best methods for solving the problem and make a great IPM program in the orchards. Therefore, in the present study, it can be concluded that Pestout is a good candidate for controlling the two-spotted spider mite on apple trees, and the concentration 3 ml/l of this compound is recommendable in Iran.

Keywords: Apple, Botanical acaricide, Pestout, Two-spotted spider mite



مقاله پژوهشی

نشانگرهای ریزماهورهای و کاربرد آن در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بالتوری سبز

Chrysoperla carnea (Stephens, 1836) (Neuroptera: Chrysopidae)

فاطمه عبدالاحدی^۱ - علی نقی میرمویدی^{۲*} - صمد جمالی^۳ - لیلا زارعی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۳۰

چکیده

مطالعات کمی روی تنوع و ساختار ژنتیکی دشمنان طبیعی آفت‌ها که به عنوان عوامل کنترل زیستی نیز شناخته می‌شوند، در کشور انجام شده است. این پژوهش با هدف مقایسه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بالتوری سبز *Chrysoperla carnea* انجام شد. جمعیت‌های مختلف از چهارده استان کشور شامل استان‌های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، اصفهان، کرمان، کرمانشاه، لرستان، مازندران، گیلان، هرمزگان، تهران، کردستان، شیراز، زنجان و همدان جمع‌آوری شدند. این جمعیت‌ها با جمعیت‌های هلندی با استفاده از ۱۰ نشانگر مولکولی ISSR مقایسه شدند. بیشترین درصد چندشکلی مربوط به جایگاه ژنی UBC-809 به میزان ۸۸/۸۸ درصد و کمترین آن متعلق به جایگاه ژنی UBC-886 به میزان ۳۳/۳۳ درصد بود. کمترین فاصله ژنتیکی جمعیت هلندی با جمعیت‌های مورد مطالعه، مربوط به جمعیت استان گیلان و بیشترین فاصله ژنتیکی با جمعیت استان کرمان بود. میانگین تعداد آلل، برای جمعیت هلندی، گیلان و کرمان به ترتیب معادل ۶/۹، ۶/۶ و ۴/۱ و میانگین تعداد آلل موثر، ۱/۴۸، ۱/۴۱ و ۱/۱۹ بدست آمد. مطالعه حاضر نشان داد که نشانگرهای ISSR در مطالعه تنوع ژنتیکی این حشره کارایی بالایی دارند.

واژه‌های کلیدی: بالتوری سبز، تنوع ژنتیکی، جایگاه ژنی، جمعیت جغرافیایی، ISSR

مقدمه

مورد کنترل بیولوژیکی آفات از قبیل شپشک آردآلود، شته‌ها و زنجرف‌ها صورت گرفته است (۲۳). کتاب‌های متعددی در مورد پرورش و رهاسازی بالتوری‌های سبز به چاپ رسیده که کتاب مربوط به مک ایون و همکاران یکی از بهترین آنها در این زمینه بشمار می‌آید (۱۶) در کشور ایران تا سال ۲۰۰۲ حدود چهل گونه از بالتوری‌های خانواده کریزوپیده شناسایی شده است (۱۸). این شکارگرها به دلایلی، از جمله مقاومت نسبی در برابر برخی آفت‌کش‌ها، امکان تولید انبوه، پراکنش جغرافیایی و دامنه میزبانی در کنترل بیولوژیک مورد توجه قرار گرفته‌اند. فعالیت‌های انسانی بر فراوانی اندازه جمعیت بسیاری از گونه‌ها و پراکنش جغرافیایی آنها اثر گذاشته است. امروزه انتقال، تکثیر مصنوعی و انقراض گونه‌ها به امری معمول تبدیل شده، بنابراین لازم است که اثر این موضوع بر تنوع ژنتیکی و پراکنش افراد در یک جمعیت مورد بررسی قرار گیرد (۷). در نتیجه شناخت ترکیب طبیعی و ساختار ژنتیکی جمعیت گونه‌ها امری ضروری به نظر می‌رسد (۱۱). جمعیت به مجموعه متنوعی از ژن‌ها گفته می‌شود که عواملی همچون فاصله نسل‌ها، شرایط نامناسب آب و هوایی و از بین رفتن زیستگاه‌ها منجر به کاهش اندازه

بالتوری‌های سبز (*Chrysoperla carnea* (S.)) از خانواده‌ی (Chrysopidae)، راسته‌ی (Neuroptera) و زیرراسته‌ی (Hemerobiiform) می‌باشند. این خانواده دارای زیرخانواده‌های Chrysopinae، Apochrysopinae، Chrysopinae بوده و با داشتن ۸۰ جنس و ۱۲۰۰ گونه در تمام نقاط دنیا انتشار یافته است و تا کنون به عنوان بزرگترین خانواده از این راسته شناسایی شده است (۵ و ۲۳). لاروهای بالتوری سبز بعنوان شکارچی شته‌ها، سفید بالک‌ها، تریپس‌ها و لارو پروانه‌ها کارایی داشته و در بسیاری از کشورها رهاسازی بالتوری‌ها برای کنترل آفات مختلف صورت می‌گیرد (۲۳). در ایالات متحده آمریکا کنترل بیولوژیکی با استفاده از بالتوری سبز در

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری حشره‌شناسی کشاورزی، استاد و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی، کرمانشاه
(*)- نویسنده مسئول: Email: alimirmoayedi@gmail.com

۴- استادیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی، کرمانشاه

بصورت جارویی روی یونجه، و در طول شب با استفاده از تله‌نوری صورت گرفت. نمونه‌برداری از مزارع یونجه هر منطقه صورت گرفت. در کل ۲۰۰۰ نمونه جمع‌آوری گردید و از هر استان ۲۷ عدد برای مطالعات مولکولی انتخاب گردید. گونه‌های جمع‌آوری شده با تله‌نوری، در اتانول مطلق نگهداری شده و باقی به صورت اتاله و تعدادی به صورت خشک بین پدهای پنبه‌ای دولایه نگهداری شدند. دسترسی به نمونه‌های هلندی که از شهر و دانشگاه واگنینگن هلند بود به تعداد ۵۰ عدد با مساعدت پارک علم و فن‌آوری استان همدان از طریق شرکت تکنو آگرو محقق گردید. که از این تعداد ۲۷ عدد برای مطالعات مولکولی انتخاب شدند.

استخراج DNA

استخراج DNA نمونه با استفاده از TOP (TOPAZ Inc) General Genomic DNA Purification kit و بر اساس کتابچه‌ی راهنمای آن با اندکی تغییرات صورت گرفت. بعد از این مرحله ارزیابی کمیت و کیفیت DNA استخراجی انجام شد. جهت مشاهده کیفیت DNA از ژل آگارز ۲ درصد استفاده شد.

واکنش زنجیره‌ی پلی‌مرز (Polymerase Chain Reaction)

براساس مطالعات قبلی انجام شده به منظور بررسی تنوع ژنتیکی تعداد ۱۰ آغازگر انتخاب گردید. نام، توالی، دمای اتصال و سایر خصوصیات تمام آغازگرها در (جدول ۲) آورده شده است. اجزای واکنش زنجیره پلی‌مرز در حجم ۲۵ میکرولیتر تهیه شد که شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (۱۰X)، ۲ میکرولیتر از دی‌ان‌ای ژنومی (با غلظت ۳۰ نانوگرم در میکرولیتر)، ۱ میکرولیتر کلرید منیزیم (با غلظت ۵۰ میلی‌مول) و ۱/۵ میکرولیتر جایگاه ژنی با غلظت ۱ پیکومول، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq DNA Polymerase، ۰/۲ میکرولیتر DNTP (با غلظت ۱۰ میلی‌مول) و ۱۶ میکرولیتر آب مقطر استریل بود. مواد مورد استفاده از شرکت تکاپو زیست تهیه شدند. تکثیر در دستگاه ترموسایکلر Bio RAD، C 1000™ Thermal Cycler و چرخه‌ها بدین شرح انجام شد. یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰۰ ثانیه، ۳۵ چرخه شامل واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ثانیه، اتصال آغازگر در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد (بسته به نوع آغازگر) به مدت ۶۰ ثانیه، مرحله بسط به مدت ۱۱۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و یک چرخه بسط نهایی به مدت ۷۰۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. فرآورده‌های زنجیره‌ای پلی‌مرز با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد در محلول اتیدیوم بروماید یک نانوگرم بر میلی‌لیتر رنگ‌آمیزی شدند (۳).

جمعیت‌های موثر و در نتیجه کاهش تنوع ژنتیکی می‌گردد و این موضوع خطر انقراض گونه‌ها را افزایش می‌دهد (۸). از نظر اقتصادی *C. carnea* یکی از مهم‌ترین گونه‌های خانواده کریزوپیده محسوب می‌گردد. لذا برنامه‌ریزی و اعمال مدیریت لازم برای حفاظت ذخایر ژنتیکی آن بسیار مهم می‌باشد. صفات مرفومتریک و مریستیک برای مطالعات اولیه بررسی ساختار ذخایر استفاده می‌شد. با گذشت زمان مارکرهای مولکولی که متأثر از فاکتورهای محیطی نبودند مورد توجه قرار گرفتند. از جمله این مارکرها، مارکرهای DNA ریزماهورهای (Microsatellite) هستند که قادرند پلی‌مورفیسم موجود در جمعیت‌های حشرات را نشان دهند (۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۹، ۲۰، ۲۵ و ۲۸). هم چنین مارکرهای ISSR نیز دز طیف گسترده‌ای از حشرات قادر به تعیین مقدار پلی‌مورفیسم در جمعیت‌های مورد مطالعه بوده است (۶، ۱۰، ۱۲، ۲۶، ۳۰ و ۳۴). گسترش برنامه‌های مدیریتی و انجام فعالیت‌های بازسازی ذخایر بالتوری هنگامی می‌تواند مفید باشد که تنوع ژنتیکی ساختار جمعیت آن گونه به خوبی مورد بررسی قرار گیرد. برای انتخاب جمعیت‌های دهنده ژن در تکثیر مصنوعی در خصوص ساختار جمعیت و در امر بازسازی ذخایر نیاز به اطلاعات ضروری به نظر می‌رسد (۱۱). اهمیت این مطالعه از این واقعیت به خوبی شناخته می‌شود که سازگاری هر جمعیت بستگی به پتانسیل فنوتیپی و اکولوژیکی آن دارد و موفقیت در زمینه کنترل آفات توسط یک عامل بیولوژیک به طور مستقیم به انتخاب جمعیت مناسب بستگی دارد و زمانی ایجاد می‌شود که عوامل فشار محیطی با ظرفیت‌های مربوط مطابقت داشته باشند. بنابراین دانستن ساختار ژنتیکی آن‌ها در فرآیند انتخاب جمعیت کنترل آفات اهمیت زیادی دارد (۴). تنوع ژنتیکی بستر اساسی تکامل را فراهم می‌کند، با این حال مطالعات کمی تأثیرات تغییرات اقلیمی بر تنوع ژنتیکی جمعیت‌های حشرات مفید را ارزیابی می‌کنند. هدف از این پژوهش بررسی ساختار و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *C. carnea* در شرایط اقلیمی متفاوت و شناسایی پتانسیل تحقیقات آینده بر نقش بالقوه تنوع ژنتیکی در عملکرد این حشرات مفید است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

در ماه‌های اردیبهشت تا اواخر آبان ماه سال‌های ۱۳۹۷-۱۳۹۵ نمونه‌های مورد مطالعه از مناطق مختلفی از استان‌های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، اصفهان، کرمان، کرمانشاه، لرستان، مازندران، گیلان، هرمزگان، تهران، کردستان، فارس، زنجان و همدان جمع‌آوری شدند (جدول ۱). نمونه‌برداری در طول روز با تور زدن

جدول ۱- مختصات جغرافیایی مناطق نمونه‌برداری

Table 1- Sampling localities and their geographical coordinates

Province استان	City شهرستان	Latitude طول جغرافیایی	Longitude عرض جغرافیایی	Height ارتفاع	Code کد شهر
آذربایجان غربی Western Azerbaijan	Urumia	37.55321585	45.07627659	1348	1
	Bukan	36.51512233	46.20708472	1340	2
	Khoy	38.55179431	44.95974594	1136	3
لرستان Lorestan	Khorramabad	33.48868134	48.35929003	1188	4
	Borujerd	33.89813714	48.7501026	1572	5
	Kuhdasht	33.52941544	47.60903406	1192	6
اصفهان Isfahan	Isfahan	32.67210698	51.67157274	1575	7
	Khansar	33.22605745	50.31752524	2215	8
	Shahreza	32.00734554	51.85222690	1833	9
گیلان Gilan	Rudbar	36.82289358	49.42928867	212	10
	Rasht	37.28079786	49.59250067	3	11
	Astara	38.42208367	48.86927386	24	12
مازندران Mazandaran	Sary	36.56611747	53.05876297	42	13
	Amol	36.46981559	52.35124183	94	14
	Chaloos	36.65428442	51.42130387	29	15
کرمانشاه Kermanshah	Kermanshah	34.32365879	47.07410791	1351	16
	Kangavar	34.50332392	47.96530129	1468	17
	Sarpol-zahab	34.45758373	45.86860067	556	18
همدان Hamedan	Hamedan	34.79881288	48.51516762	1818	19
	Malayer	34.29290641	48.82193253	1748	20
	Kabudarahang	35.20000154	48.71226525	1672	21
آذربایجان شرقی East Azerbaijan	Maragheh	37.38950217	46.23764728	1451	22
	Tabriz	38.07847882	46.30374328	1402	23
	Marand	38.43060508	45.77383802	1331	24
کرمان Kerman	Kerman	30.28451186	57.07261258	1764	25
	Baft	29.23494228	56.59894493	2275	26
	Kuhbanan	31.41029769	56.28292425	1990	27
هرمزگان Hormozgan	Minab	27.14554001	57.07321481	40	28
	BandarAbbas	27.19463488	56.30798292	17	29
	Rudan	27.44130894	57.19104800	196	30
تهران Tehran	Tehran	35° 49'54.15	051° 25'35.00	1862	31
	Varamin	35° 20'51.16	051° 40'48.69	950	32
	Damavand	35° 43'44.11	052° 07'00.70	2233	33
زنجان Zanjan	Zanjan	36° 42'37.00	048° 22'25.99	1546	34
	Soltanieh	36° 26'32.37	048° 46'03.02	1788	35
	Ghydar	36° 01'57.55	048° 37'25.27	1836	36
کردستان Kurdistan	Saghez	36° 10' 22.60	046° 17' 22.05	1775	37
	Maryvan	35° 37' 36.87	046° 17' 18.38	1989	38
	Baneh	35° 55' 43.60	045° 58' 42.11	1561	39
شیراز Shiraz	Shiraz	29° 24' 31.51	051° 36' 53.96	2105	40
	kazeron	29° 36' 54.32	051° 34' 44.82	807	41
	Fasa	28° 59' 19.33	053° 39' 56.47	1563	42

تجزیه و تحلیل داده‌ها

انجام تجزیه واریانس مولکولی بین و درون جمعیت‌های مورد مطالعه و تعداد مطلوب خوشه از نرم‌افزار GenAlex 6. استفاده شد (۲۴)، از نرم‌افزار AMOVA (Analysis of molecular variance) برای بررسی تنوع ژنتیکی بین و درون جمعیت‌ها استفاده گردید.

برای محاسبه شاخص‌های ژنتیک جمعیت، شامل: الف) تعداد آل مشاهده شده چندشکل و درصد آن تعادل هاردی-واینبرگ، ب) هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، ج) شاخص شانون، تنوع ژنی نی (۲۲) و فواصل ژنتیکی از نرم‌افزار POPGENE (۳۶) و برای

جدول ۲- جایگاه ژنی‌های نشانگر ISSR استفاده شده در این تحقیق باربوسا و همکاران (۲۰۱۴)

Table 2- The list of ISSR - primers used by us (Barbosa et al., 2014)

نام پرایمر Name of Prime	توالی جایگاه ژنی Sequence (5' → 3')	دمای اتصال Annealing temperature (C°)
UBC-809	5'-AGAGAGAGAGAGAGAGG-3'	51
UBC-820	5'-GTGTGTGTGTGTGTGTC-3'	55
UBC-836	5'-AGAGAGAGAGAGAGAGCA-3'	48
UBC-849	5'-GTGTGTGTGTGTGTGTCA-3'	55
UBC-856	5'-ACACACACACACACTA-3	55
UBC-880	5'-GGAGAGGAGAGGAGA-3	48
UBC-886	5'-CTCCTCCTCCTCCTCGT-3'	46
UBC-891	5'-GAGCTCTCTCTCTCTCT-3'	50
UBC-810	5'-GAGAGAGAGAGAGAGAT-3	48
UBC812	5'-GAGAGAGAGAGAGAGAA-3	51

نتایج و بحث

ارزیابی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده نشان داد که نمونه‌های DNA استخراج شده از کمیت و کیفیت بالایی برخوردار می‌باشند. تعداد کل باندها ۶۴ باند بود که ۴۳ باند چندشکل بودند. دامنه اندازه آللی آغازگرهای مورد بررسی بین ۱۵۰ – ۱۵۰۰ (bp) متغیر بود. دامنه اندازه آللی آغازگرهای استفاده شده در این مطالعه دارای اختلافاتی نسبت به دامنه آللی گزارش شده در مطالعات باربوسا و همکاران (۳) بوده است. از بین جایگاه ژنی‌های مورد استفاده، ۱۰ جایگاه ژنی الگوی باندی واضح و قابل امتیازدهی تولید کردند. تمام جایگاه ژنی چندشکلی نشان دادند و این موضوع مطلوبیت استفاده از آن‌ها را افزایش می‌دهد. محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC) بین ۰/۳۰۲ تا ۰/۶۴۳ متغیر بود که بیشترین آن مربوط به آغازگر UBC-809 و کمترین مقدار آن مربوط به آغازگر UBC-812 بود. با وجود پنج آلل در جایگاه UBC-812 و نه آلل در جایگاه UBC-809 این نتیجه منطقی به نظر می‌رسد (جدول ۳). به طور کلی بالا بودن مقدار محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC) نشان دهنده قدرت بالای جایگاه‌ها در تفکیک ژنوتیپ‌ها معادل تنوع ژنتیکی بوده در مطالعه‌ای که باربوسا و همکاران در سال ۲۰۱۴ روی گونه *Chrysoperla externa* (H) (Neuroptera, Chrysopidae) پرایمر مورد استفاده ۴۳ پرایمر باندهای ضعیف، ۲۷ پرایمر باندهای چندشکلی و ۱۶ پرایمر، UBC-809 (AG)8G, UBC-810 (GA)8T, UBC-812 (GA)8A, UBC-817 (CA)8A, UBC-818(CA)8G, UBC-819 (GT)8A, UBC-820 (GT)8C, UBC-828(TG)8A, UBC-836 (AG)8YA, UBC-840 (GA)8YT, UBC-846(CA)8RT, UBC-849 (GT)8YA, UBC-856 (AC)8YA, UBC-880(GGAGA)3, UBC-886 VDV(CT)7, UBC-891 HVH(TG)7 تولید کردند (۳). درصد باندهای چندشکل نیز به طور میانگین ۴۸/۶۷ گزارش شد. از بین جایگاه‌های ژنی مورد استفاده، بیشترین تعداد آلل در سه جمعیت هلندی، گیلان و کرمان در جایگاه ژنی UBC-809

مشاهده شد (جدول ۴). بیشترین دامنه آللی مربوط به همین جایگاه ژنی بود (شکل ۱). بالا بودن فراوانی میانگین تعداد آلل مشاهده شده در این جایگاه ژنی در مطالعات باربوسا و همکاران (۳) نیز گزارش شده است که این موضوع حاکی از چندشکلی بالای این جایگاه ژنی می‌باشد.

نمونه الگوی باندی محصولات ISSR-PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ (آغازگر UBC-809). اعداد در شکل مربوط به مکان‌هایی است که در جدول ۱ شرح داده شده است.

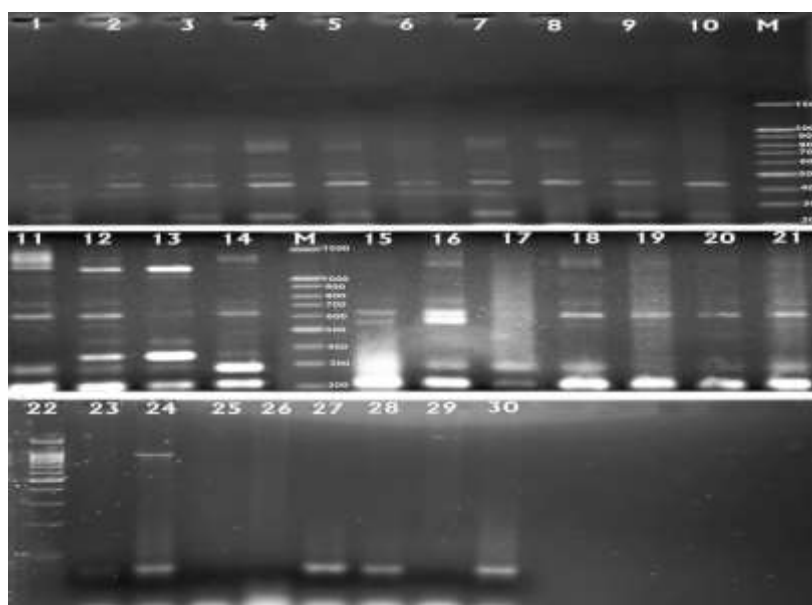
نتایج حاصل از تجزیه کلاستر براساس نشانگر ISSR (Inter Simple Sequence Repeats)

نتایج حاصل از تجزیه کلاستر جمعیت‌های مورد مطالعه براساس ضریب تشابه جاکارد در (شکل ۲) ارایه داده شده است. جمعیت‌های مورد مطالعه در سه گروه قرار گرفتند. جمعیت هلندی به همراه جمعیت استان‌های گیلان، مازندران، خرم‌آباد و آذربایجان شرقی و غربی در گروه اول و جمعیت‌های استان‌های کرمان، سیستان، اصفهان و شیراز در گروه دوم و جمعیت‌های استان‌های همدان، زنجان، کرمانشاه، تهران و کردستان در گروه سوم قرار گرفتند. مقادیر عددی فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها پایین و حاکی از شباهت زیاد جمعیت‌های مورد مطالعه بود. براساس درخت فیلوژنی ترسیم شده با استفاده از داده‌های حاصل از نشانگر ISSR (شکل ۲ و ۳) که جمعیت‌های مورد مطالعه را در سه گروه قرار داد. فواصل ژنتیکی پایین بین جمعیت‌های این جنس نیز توسط ولز (۳۵) و سایر محققین گزارش شده است. ولز چهار گونه از بالتوری‌های سبز جنس *Chrysoperla* را از نظر تنوع در هفده مکان جایگاه قابل تشخیص الکتروفورزی مورد بررسی قرار داد. از اهداف مورد مطالعه می‌توان به بررسی میزان تنوع ژنتیکی بین دو گونه سیبلینگ *C. plorabunda* (F) و *C. johnsoni* (H) و مقایسه این دو گونه با *C. downesi* (S.) را برشمرد. فاصله ژنتیکی نی و راجر در بین کل جمعیت تفاوت

تغییراتی که توسط هریک از این مولفه‌ها نشان داده می‌شود در (جدول ۵) آورده شده است. ۱۰۰ درصد از تغییرات توسط ۱۰ مولفه اول توجیه شدند. مولفه‌ی اول، دوم و سوم به ترتیب ۲۷/۶۸، ۲۰/۵۷ و ۱۳/۰۱ درصد از کل تغییرات را توجیه کردند. این مولفه‌ها به صورت مستقل از یکدیگر، و هر کدام درصدی از تنوع را که توسط مولفه اصلی قبلی توجیه نشده بود، را توجیه کردند.

معنی‌داری نداشت. تجزیه کلاستر براساس روش UPGMA نمونه‌های مورد مطالعه *C. Plorabunda* و *C. johnsoni* را در دو خوشه مجزا قرار نداد.

برای تعیین نحوه پراکنش نشانگر ISSR آزمون تجزیه به مولفه‌های اصلی انجام گرفت. مقادیر ویژه ماتریس شباهت، درصد تجمعی تغییرات توجیه شده توسط مولفه‌های مستقل و میزان



شکل ۱- نمونه الگوی باندی محصولات ISSR-PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد (آغازگر UBC-809)

اعداد موجود در شکل مربوط به مکان‌هایی است که در جدول ۱ شرح داده شده است.

Figure 1- The sample of band pattern of ISSR-PCR products on 2% agarose gel (UBC-809 primer)
The numbers in figure corresponds to locations described in Table 1.

جدول ۳- نتایج حاصل از بررسی چندشکلی در جمعیت‌های مختلف *Chrysoperla carnea* با استفاده از نشانگرهای ISSR

Table 3- Polymorphism in different populations of *Chrysoperla carnea* by use of ISSR primers

نام آغازگر Name of primer	دامنه اندازه آلی مشاهده شده The size range of observed allele	تعداد کل باندها The total number of bands	تعداد باندهای چند- شکل The number of polymorphic bands	محتوای اطلاعات چندشکلی Polymorphic information content (PIC)	درصد چندشکلی Polymorphism Percentage
UBC-809	150-1400	9	8	0.643	88.88
UBC-820	220-1500	8	6	0.615	75
UBC-836	280-1200	7	5	0.572	71.42
UBC-849	300-1500	6	4	0.464	66/66
UBC-856	180-1500	6	4	0.444	66.66
UBC-880	170-1400	7	4	0.521	57/14
UBC-886	300-750	6	2	0.391	33/33
UBC-891	250-1100	5	4	0.320	80
UBC-810	300-700	5	3	0.311	60
UBC-812	210-1000	5	3	0.302	60

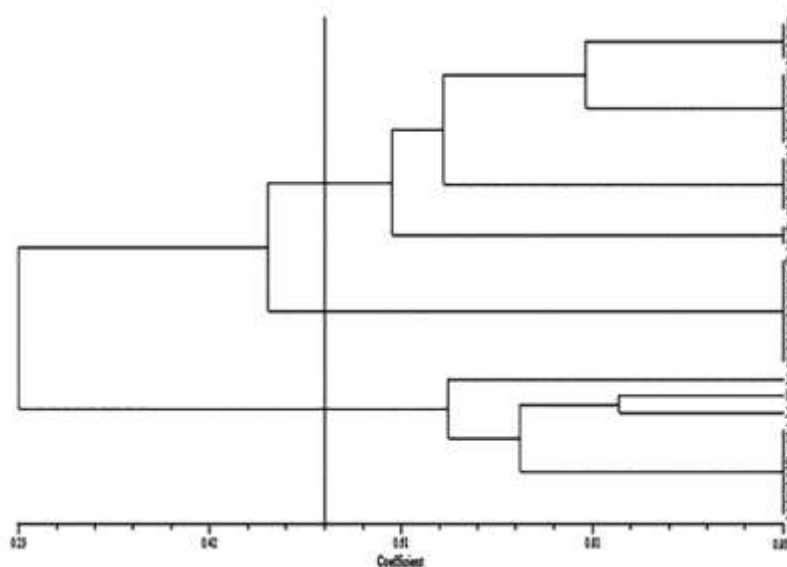
جدول ۴- میانگین تعداد آلل مشاهده شده و موثر آغازگرهای نشانگر ISSR استفاده شده

Table 4- Mean number of observed and effective alleles of ISSR marker primers used

UBC-880	UBC-810	UBC-891	UBC-856	UBC-820	UBC-812	UBC-886	UBC-849	UBC-836	UBC-809	n.o
5.7	4.9	5.1	5.35	6.4	4.8	5.5	5.4	5.9	6.8	n.o
1.36	1.28	1.35	1.34	1.41	1.30	1.29	1.35	1.37	1.45	n.e

n.o: میانگین تعداد آلل مشاهده شده و n.e: میانگین تعداد آلل موثر

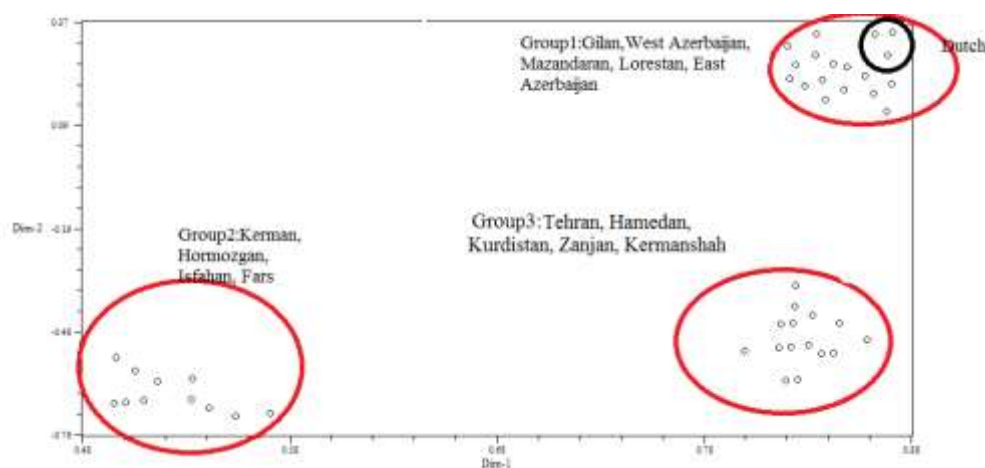
n.o: average number of observed alleles and n.e: average number of effective alleles



شکل ۲- دندروگرام حاصل از نشانگرهای ISSR با استفاده از روش UPGMA و براساس ضریب تشابه جاکارد براساس کدهای تعریف شده در

جدول ۱

Figure 2-Cluster analysis based on UPGMA using Jaccard similarity coefficient. The numbers in figure corresponds to locations described in Table 1



شکل ۳- نمودار پراکنش جمعیت‌های مورد مطالعه با استفاده از نشانگر ISSR

Figure 3- Distribution chart of studied populations using ISSR marker

جدول ۵- مقادیر ویژه حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی براساس نشانگر ISSR
Table 5- Eigenvalues obtained from principle component analysis based on ISSR primer

مولفه های اصلی Principal components	مقادیر ویژه Eigenvalues	درصد واریانس Variance (%)	واریانس تجمعی Cumulative variance
مولفه اول First component	2.13	27.68	27.68
مولفه دوم Second component	1.30	20.57	48.25

هتروزایگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، بهترین جایگاه‌زنی جهت بیان تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های *C. carnea* می‌باشد. در این تحقیق تعادل هاردی-واینبرگ برای تمام جایگاه‌های ژنی، با استفاده از آزمون کای اسکور (χ^2) جمعیت‌های مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به فرض H_0 (وجود تعادل در جمعیت) در بین جایگاه‌های ژنی، بیشترین میزان تعادل در جایگاه‌زنی UBC-809 مشاهده گردید. تعدادی از جمعیت‌ها و جایگاه‌ها در تعادل هاردی-واینبرگ قرار داشته و تعدادی دیگر دارای انحراف معنی‌داری از تعادل هاردی-واینبرگ بودند. علت انحرافات از تعادل هاردی-واینبرگ را می‌توان ناشی از حضور برخی از عوامل برهم زننده مانند ناکافی بودن تعداد نمونه‌ها، امکان وجود آلل‌های تکثیر نشده، دانست (۲ و ۶). انحراف معنی‌دار از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت‌های ایرانی نسبت به جمعیت هلندی در تعداد بیشتری از لوکوس‌ها مشاهده شد. مطالعات صورت گرفته بر تنوع ژنتیکی حشرات اطلاعات کاملی از مخازن ژنتیکی و تاثیر از بین رفتن زیست‌گاه‌های بومی در اختیار بشر قرار می‌دهد (۲۷). مطالعه حاضر اولین مطالعه ارزیابی این گونه با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره می‌باشد. نتایج این پژوهش حاکی از کارایی روش ISSR-PCR در بررسی پلی‌مورفیسم این گونه بود.

با توجه به جایگاه‌های ژنی به ازای جمعیت‌ها، بیشترین میزان شاخص شانون در جایگاه‌زنی UBC-809 جمعیت استان گیلان (۰/۵۳) و کمترین میزان این شاخص در جایگاه‌زنی UBC-812 جمعیت استان کرمان (۰/۰۴) مشاهده گردید. با توجه به وجود نه آلل در جایگاه‌زنی UBC-809 جمعیت استان گیلان و وجود دو آلل در جایگاه‌زنی UBC-812 جمعیت کرمان، وجود بیشترین و کمترین میزان شاخص شانون در این جمعیت‌ها منطقی به نظر می‌رسد. این مقدار برای جمعیت هلندی (۰/۵۸) محاسبه گردید. بیشترین میزان H (تنوع ژنی) در جایگاه‌زنی UBC-809 جمعیت استان گیلان (۰/۳۵) و کمترین مقدار آن در جایگاه‌زنی UBC-812 (۰/۰۰۹) جمعیت استان کرمان مشاهده گردید. این مقدار برای جمعیت هلندی (۰/۳۹) محاسبه گردید. بیشترین میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (H_o) در جایگاه‌زنی UBC-809 جمعیت استان گیلان (۰/۴۹) و کمترین میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (H_o) مربوط به جایگاه‌زنی UBC-812 جمعیت استان کرمان (۰/۰۳۱) می‌باشد. همچنین، بیشترین میزان هتروزایگوسیتی مورد انتظار (H_e) در جایگاه‌زنی UBC-809 جمعیت استان مازندران (۰/۵۷۹) و کمترین میزان هتروزایگوسیتی مورد انتظار (H_e) در جایگاه‌زنی UBC-886 جمعیت استان هرمزگان (۰/۰۳۴) مشاهده گردید. آغازگر UBC-809 با توجه به وجود ۹ آلل در این جایگاه و بیشترین میزان

جدول ۶- میانگین تعداد آلل مشاهده شده و موثر در جمعیت‌های *Chrysoperla carnea* استان‌های مورد مطالعه
Table 6- Mean number of observed and effective alleles in *Chrysoperla carnea* populations of the studied provinces

اصفهان Esfahan	آذربایجان شرقی E.Azerbaijan	آذربایجان غربی W.Azerbaijan	لرستان Lorestan	کرمان Kerman	گیلان Gilan	کرمانشاه Kermanshah	مازندران Mazandaran	همدان Hamedan	هرمزگان Hormozgan
n.o 4.9 n.e 1.25	5.6 1.26	5.5 1.27	6.1 1.35	4.1 1.19	6.6 1.41	5.1 1.25	6.3 1.36	5.8 1.26	4.5 1.20

n.o: میانگین تعداد آلل مشاهده شده و n.e: میانگین تعداد آلل موثر

n.o: average number of observed alleles and n.e: average number of effective alleles

ادامه جدول ۶- میانگین تعداد آلل مشاهده شده و موثر در جمعیت‌های *Chrysoperla carnea* استان‌های مورد مطالعهTable 6(continued)- Mean number of observed and effective alleles in *Chrysoperla carnea* populations of the studied provinces

	تهران Tehran	شیراز Shiraz	زنجان Zanjan	کردستان Kurdistan	هلندی Dutch
n.o	5.4	5.1	5.7	5.3	6.9
n.e	1.23	1.20	1.27	1.24	1.48

در مطالعات مختلف برای سایر راسته‌های حشرات نیز از تعدادی از پرایمرهای این تحقیق استفاده شده، که از آن جمله می‌توان به جایگاه ژنی UBC-809 برای راسته‌های پروانه‌ها و سخت‌بالپوشان (۱، ۲۸ و ۳۱) و UBC-812 و UBC819 برای راسته نیم‌بالان (۳۲) اشاره کرد. در این مطالعه نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان‌های گیلان و مازندران و لرستان مقدار بالاتری از تعداد آلل‌ها و شاخص‌ها را به خود اختصاص دادند. از دلایل این موضوع می‌توان به بالا بودن سطح پوشش گیاهان بومی در این مناطق اشاره کرد (۳).

با توجه به جایگاه‌های ژنی به ازای جمعیت‌ها، بیشترین میزان شاخص شانون در جایگاه‌های ژنی UBC-809 جمعیت استان گیلان (۵۳/۰) و کمترین میزان این شاخص در جایگاه‌های ژنی UBC-812 جمعیت استان کرمان (۰/۰۴) مشاهده گردید. با توجه به وجود نه آلل در جایگاه‌های ژنی UBC-809 جمعیت استان گیلان و وجود دو آلل در جایگاه‌های ژنی UBC-812 جمعیت کرمان، وجود بیشترین و کمترین میزان شاخص شانون در این جمعیت‌ها منطقی به نظر می‌رسد. این مقدار برای جمعیت هلندی (۵۸/۰) محاسبه گردید. بیشترین میزان H (تنوع ژنی) در جایگاه‌های ژنی UBC-809 جمعیت استان گیلان (۳۵/۰) و کمترین مقدار آن در جایگاه‌های ژنی UBC-812 (۰/۰۰۹) جمعیت استان کرمان مشاهده گردید. این مقدار برای جمعیت هلندی (۳۹/۰) محاسبه گردید. بیشترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_0) در جایگاه‌های ژنی UBC-809 جمعیت استان گیلان (۴۹/۰) و کمترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_0) مربوط به جایگاه‌های ژنی UBC-812 جمعیت استان کرمان (۰/۰۳۱) می‌باشد. همچنین، بیشترین میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) در جایگاه‌های ژنی UBC-809 جمعیت استان مازندران (۵۷۹/۰) و کمترین میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) در جایگاه‌های ژنی UBC-886 جمعیت استان هرمزگان (۰/۰۳۴) مشاهده گردید. آغازگر UBC-809 با توجه به وجود ۹ آلل در این جایگاه و بیشترین میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده، بهترین جایگاه‌های جهت بیان تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های *C. carnea* می‌باشد. در این تحقیق تعادل هاردی-واینبرگ برای تمام جایگاه‌های ژنی، با استفاده از آزمون کای اسکور (χ^2) جمعیت‌های مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به فرض H_0 (وجود تعادل در جمعیت) در بین جایگاه‌های

ژنی، بیشترین میزان تعادل در جایگاه‌های ژنی UBC-809 مشاهده گردید. تعدادی از جمعیت‌ها و جایگاه‌ها در تعادل هاردی-واینبرگ قرار داشته و تعدادی دیگر دارای انحراف معنی‌داری از تعادل هاردی-واینبرگ بودند. علت انحرافات از تعادل هاردی-واینبرگ را می‌توان ناشی از حضور برخی از عوامل برهم زننده مانند ناکافی بودن نمونه‌ها، امکان وجود آلل‌های تکثیر نشده دانست (۲۹). انحراف معنی‌دار از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت‌های ایرانی نسبت به جمعیت هلندی در تعداد بیشتری از لوکوس‌ها مشاهده شد. مطالعات صورت گرفته بر تنوع ژنتیکی حشرات اطلاعات کاملی از مخازن ژنتیکی و تاثیر از بین رفتن زیست‌گاه‌های بومی در اختیار بشر قرار می‌دهد (۲۷). مطالعه حاضر اولین مطالعه ارزیابی این گونه با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره می‌باشد. نتایج این پژوهش حاکی از کارایی روش ISSR-PCR در بررسی پلی‌مورفیسم این گونه بود. در مطالعات مختلف برای سایر راسته‌های حشرات نیز از تعدادی از پرایمرهای این تحقیق استفاده شده، که از آن جمله می‌توان به جایگاه‌های ژنی UBC-809 برای راسته‌های پروانه‌ها و سخت‌بالپوشان توسط سایر محققین (۱، ۲۹ و ۳۱) و UBC-812 و UBC819 برای راسته نیم‌بالان (۳۲) اشاره کرد. در این مطالعه نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان‌های گیلان و مازندران و لرستان مقدار بالاتری از تعداد آلل‌ها و شاخص‌ها را به خود اختصاص دادند. از دلایل این موضوع می‌توان به بالا بودن سطح پوشش گیاهان بومی در این مناطق اشاره کرد (۳). سعی بر آن شد که تمام نمونه‌ها از مزارع یونجه جمع‌آوری شوند تا شرایط تغذیه‌ای تقریباً یکسانی بین نمونه‌ها حاکم باشد. در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مزارع یونجه‌ای که اطراف آن پوشش گیاهی غنی‌تری وجود داشت نسبت به نمونه‌های مزارع قرار گرفته بین زمین‌های کشاورزی که برای مبارزه با آفات گیاهی از سموم کشاورزی استفاده می‌شد تنوع ژنتیکی بالاتری دیده شد. این نتایج با تحقیقات صورت گرفته توسط مورالس و همکاران (۲۰) و نیز مطالعات باربوسا و همکاران (۳) مطابقت داشت آن‌ها عنوان داشتند که چهار گونه از بالتوری‌های سبز در برزیل وجود دارند، که *C. externa* وسیع‌ترین توزیع جغرافیایی را در این کشور دارد. با استفاده از ژن میتوکندری سیتوکروم اکسیداز I به عنوان یک نشانگر مولکولی به بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های جمع‌آوری شده از محیط‌های بومی و اکوسیستم‌های زراعی پرداختند.

بودن میزان هتروزیگوسیتی و تعداد آلل‌های جمعیت‌های ایرانی نسبت به جمعیت هلندی می‌تواند ناشی از پرورش غیر اصولی و نیز پدیده درون‌آمیزی باشد. در مقایسه نتایج هتروزیگوسیتی و تعداد متوسط آلل مشاهده شده این تحقیق با تحقیقاتی که باربوسا و همکاران (۳) انجام دادند. تنوع ژنتیکی کمتری در این تحقیق مشاهده می‌شود. تعدادی از محققان کاهش تعداد آلل و هتروزیگوسیتی ناشی از کاهش اندازه مؤثر جمعیت می‌دانند (۹). کاهش تنوع به مرور زمان می‌تواند باعث کاهش جمعیت‌ها و یا حتی گونه‌ها شود. توانایی جمعیت‌ها در محیط‌های جدید نیز تحت تأثیر این موضوع قرار خواهد گرفت. در جمعیت‌های پرورشی کاهش تنوع ژنتیکی می‌تواند منجر به کاهش و حتی از دست دادن توانایی سازگاری با محیط شود (۲۷). به طور کلی می‌توان گفت که فعالیت‌های انسانی نقش زیادی در تداخل جمعیت‌ها، کاهش تنوع ژنتیکی و تبادل آلل‌ها داشته و شاید بتوان تعداد کم گروه‌ها را به این موضوع نسبت داد. باتوجه به موارد فوق پیشنهاد می‌گردد، این تحقیق بصورت گسترده‌ای با جمع‌آوری نمونه‌هایی از تمامی نواحی کشور و با روش‌های دیگر مولکولی انجام گیرد، تا بتوان بر اساس نتایج بدست آمده و شناسایی جمعیت‌های احتمالی بیشتر، مدیریت اصولی و جداگانه‌ای را برای ذخایر این گونه مهم اعمال نمود.

جمعیت به دست آمده از مناطق بومی نرخ بالاتری از تنوع ژنتیکی را در مقایسه با جمعیت‌های موجود در اکوسیستم‌های زراعی نشان داد. تغییرات جمعیتی در قالب گسترش جمعیت در اکوسیستم‌های کشاورزی مشاهده شد، در حالی که جمعیت‌های موجود در محیط‌های بومی با گذشت زمان پایدار گزارش شدند. دلایل کم بودن تنوع ژنتیکی بین مناطق جغرافیایی عواملی چون جریان ژن، عملکرد انسان، عملکرد باده‌ها، و پتانسیل تولید مثل زیاد *C. externa* عنوان شد. از نتایج بدست آمده استنباط می‌شود که اگر اکوسیستم‌ها، ممکن است در از بین رفتن ساختار موجود در بین جمعیت‌ها حتی در صورت زندگی در اکوسیستم‌های بومی نقش داشته باشند. در مطالعه کنونی ما فاصله ژنتیکی کم بین نمونه‌های جمعیت‌ها نشانگر شباهت زیاد تنوع ژنتیکی استان‌های مورد مطالعه می‌باشد. مقدار کم فاصله ژنتیکی در سایر جنس‌های گونه کریزوپرلا توسط دیگر محققین گزارش شده است (۲۱ و ۳۵). عدم انطباق داده‌های مولکولی و مناطق جغرافیایی در تحقیقات باربوسا و مورالس و همکاران (۳) و (۲۰) نیز گزارش شده است. آن‌ها به بررسی تنوع ژنتیکی دوازده جمعیت *C. externa* در کشور برزیل با استفاده از دو نشانگر مولکولی ژن سیتوکروم اکسیداز I و ISSR پرداختند. هر دو نشانگر سطح بالایی از تنوع ژنتیکی را نشان دادند. این موضوع ممکن است ناشی از پدیده جریان ژن بالا بین جمعیت‌ها باشد. کم

منابع

- 1-Abbot P. 2001. Individual and population variation in invertebrates revealed by Inter-simple Sequence Repeats (ISSR). *Journal of Insect Science* 1(1): 1-8.
- 2-Andrews C.A. 2010. Natural Selection, Genetic Drift, and Gene Flow Do Not Act in Isolation in Natural Population. *Nature Education Knowledge* 3 (10):5, Available at [https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/natural-selection-genetic-drift-and-gene-flow-15186648/#\(visited 15.December2020\)](https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/natural-selection-genetic-drift-and-gene-flow-15186648/#(visited 15.December2020)).
- 3-Barbosa N.C., Freitas S.D., and Morales A.C. 2014. Distinct genetic structure in populations of *Chrysoperla externa* (Hagen)(Neuroptera, Chrysopidae) shown by genetic markers ISSR and COI gene. *Revista Brasileira de Entomologia* 58(2): 203-211.
- 4-Borba R.D.S., Garcia M.S., Kovaleski A., Oliveira A.C., Zimmer P.D., Castelo Branco J.S., and Malone G. 2005. Genetic dissimilarity of lines of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) through ISSR markers. *Neotropical Entomology* 34(4): 565-569.
- 5-Canard M., McEwen P., New T., and Whittington A. 2001. Natural food and feeding habits of lacewings. *Lacewings in the Crop Environment* 1: 116-129.
- 6- Chatterjee SN., and Mohandas T.P. 2003. Identification of ISSR markers associated with productivity traits in silkworm, *Bombyx moni* L, 46(3): 438-47.
- 7- Costa R.I., Souza B., and de Freitas S. 2010. Spatio-Temporal Dynamic of Green Lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) Taxocenosis on Natural Ecosystems. *Neotropical Entomology* 39(4): 470-475.
- 8- Duran C., Appleby N., Edwards D., and Batley J. 2009. Molecular genetic markers: discovery, applications, data storage and visualisation. *Current Bioinformatics* 4(1): 16-27.
- 9- Fumagalli L., Snoj A., Jesenšek D., Balloux F., Jug T., Duron O., Brossier F., Crivelli A.J., and Berrebi, P. 2002. Extreme genetic differentiation among the remnant populations of marble trout (*Salmo marmoratus*) in Slovenia. *Molecular Ecology* 11(12): 2711-2716.
- 10- Huala L., Paredes M., Salazar L., Elgueta M., and Rebolled R. 2018. Genetic variability in *Aegorhinus superciliosus* (Coleoptera: Curculionidae) populations in Chilean *Maytenus boaria* (Celastrales: Celastraceae). *Revista Colombiana de Entomología* 44(2): 260-265
- 11- Hufbauer R.A., and Roderick G.K. 2005. Microevolution in biological control: mechanisms, patterns, and

- processes. *Biological Control* 35(3): 227-239.
- 12- Hundsdoerfer A.K., and Wink M. 2009. Experimental population genetics in insects: inheritance of ISSR-PCR bands in an artificial population. *Zootaxa* 2231(1): 40-46.
- 13- Khidr S.K., Hardy I.C., Zaviezo T., and Mayes S. 2014. Development of microsatellite markers and detection of genetic variation between *Goniozus* wasp populations. *Journal of insect science* (Online), 14, 43. Available at <https://doi.org/10.1093/jis/14.1.43> (visited 8. December 2020).
- 14- Lourenço P., Brito C., Backeljau T., Thierry D., and Ventura M. 2006. Molecular systematics of the *Chrysoperla carnea* group (Neuroptera: Chrysopidae) in Europe. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 44(2): 180-184.
- 15- Luque C., Legal L., Staudter H., Gers C., and Wink M. 2002. ISSR (inter simple sequence repeats) as genetic markers in Noctuids (Lepidoptera). *Hereditas* 136(3): 251-253.
- 16- McEwen P., New T., and Whittington A.E. 2001. Lacewings in the crop environment. Cambridge university press.
- 17- Miller N., Birley A., Overall A., and Tatchell G. 2003. Population genetic structure of the lettuce root aphid, *Pemphigus bursarius* (L.), in relation to geographic distance, gene flow and host plant usage. *Heredity* 91(3): 217-223.
- 18- Mirmoayedi A. 2002. New records of Neuroptera from Iran. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 48: 197-201.
- 19- Mirmoayedi A., Rashidikhah F., Kahrizi D., Yari K. 2018. Genetic relationship between neuropteran families (Insecta, Neuropterida, Neuroptera) based on cytochrome oxidase sequences.- *Genetika* 50(2): 717-730.
- 20- Morales A.C and Freitas S. 2010. Haplotype characterization of the COI mitochondrial gene in *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) from different environments in Jaboticabal, state of São Paulo, southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 70(4): 1115-1121.
- 21- Morales A., Lavagnini T., and Freitas S. 2013. Loss of genetic variability induced by agroecosystems: *Chrysoperla externa* (Hagen)(Neuroptera: Chrysopidae) as a case study. *Neotropical Entomology* 42(1): 32-38.
- 22- Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist* 106(949): 283-292.
- 23- Pappas M., Broufas G., and Koveos D. 2011. Chrysopid predators and their role in biological control. *Journal of Entomology* 8(3): 301-326.
- 24- Peakall R., and Smouse P.E. 2006. Genalex 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6(1): 288-295.
- 25- Rahimi A., Mirmoayedi A., Kahrizi D., Abdolshahi R., Kazemi E., and Yari KH. 2014. Microsatellite genetic diversity of *Apis mellifera meda* skorikov. *Molecular Biology Reports* 41: 7755-7761.
- 26- Rahimi A., Mirmoayedi A., Kahrizi D., Zarei L., and Jamali S. 2016. Genetic diversity of Iranian honey bee (*Apis mellifera meda* Skorikow, 1829) populations based on ISSR markers. *Rahimi et al. Cellular and Molecular Biology* 62(4): 53-58.
- 27- Reed D.H., Lowe E.H., Briscoe D.A., and Frankham R. 2003. Fitness and adaptation in a novel environment: effect of inbreeding, prior environment, and lineage. *Evolution* 57(8): 1822-1828.
- 28- Roux O., Gevrey M., Arvanitakis L., Gers C., Bordat D., and Legal L. 2007. ISSR-PCR: Tool for discrimination and genetic structure analysis of *Plutella xylostella* populations native to different geographical areas. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43(1): 240-250.
- 29- Royan M., Rahimi G., Esmaeilkhani S., Mirhoseini S., and Ansari Z. 2007. A study on the genetic diversity of the *Apis mellifera meda* population in the south coast of the Caspian Sea using microsatellite markers. *Journal of Apicultural Research* 46(4): 236-241.
- 30- Saha D., Ranjan S.K., Mallick C.B., Vidyarthi A.S., and Ramani R. 2011. Genetic diversity in lac resin-secreting insects belonging to *Kerria* spp., as revealed through ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 39(2): 112-120.
- 31- Souza G.A.D., Carvalho M.R.D.O., Martins E.R., Guedes R.N.C., and Oliveira L.O.D. 2008. Genetic diversity estimated through ISSR markers in populations of *Zabrotes subfasciatus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 43(7): 843-849.
- 32- Taylor S., Downie D., and Paterson I. 2011. Genetic diversity of introduced populations of the water hyacinth biological control agent *Eccritotarsus catarinensis* (Hemiptera: Miridae). *Biological Control* 58(3): 330-336.
- 33- Vaulin O., Zharikov T.Y., Gunderina L., and Zakharov I. 2006. Variability and differentiation of genomic DNA in the *Drosophila melanogaster* populations of Russia and Ukraine. *Drosophila Information Service* 89: 59-62.
- 34- Vianna M.F., Pelizza S., Russo M.L., Toledo A., Mourellos C., and Scorsetti A.C. 2020. ISSR markers to explore entomopathogenic fungi genetic diversity: Implications for biological control of tobacco pests. *Journal of Biosciences* 45, 136. Available at <https://doi.org/10.1007/s12038-020-00108-4> (visited 7. December 2020)
- 35- Wells M.M. 1994. Small genetic distances among populations of green lacewings of the genus *Chrysoperla* (Neuroptera: Chrysopidae). *Annals of the Entomological Society of America* 87(6): 737-744.
- 36- Yeh F.C. 1999. POPGENE (version 1.3. 1). Microsoft Window-Bases Freeware for Population Genetic Analysis. Available at <http://www.ualberta.ca/~fyeh/> (visited 7. December 2020)



Use of Microsatellite Markers for Analysis of Genetic Diversity between Populations of Green Lacewings *Chrysoperla carnea* (Neuroptera, Chrysopidae)

F. Abdollahadi^۱- A.N. Mirmoayedi^{۲*}- S. Jamali^۳- L. Zarei^۴

Received: 29-12-2020

Accepted: 21-09-2021

Introduction: Green lacewings are active predators of Aphids, Psyllids, Mealy bugs. We used ISSR markers with 10 primers to evaluate the genetic polymorphism between populations of *Chrysoperla carnea* collected in 30 cities of 14 provinces of Iran with different climatic conditions and compared them with specimens of a population from Netherlands. Maximum and minimum of polymorphism were calculated successively of 88.88% for UBC-809 and 33.33% for UBC-886 primers. The Dutch specimens had the smallest genetic distance with populations of Guilan province and the largest genetic distance to Kerman province. The mean number of alleles for Dutch, Guilan and Kerman populations were successively 6.9, 6.6 and 4.1 and mean number of effective alleles were successively 1.48, 1.41 and 1.19.

Materials and Methods: 2000 specimens of *Chrysoperla carnea* collected from alfa alfa plantations in each of 14 provinces of Iran, 27 specimens sampled from each province besides another 27 specimens of a Dutch population acquired from Hamedan center for Science and technology and DNA extracted using Topaz Inc. kit, ISSR marker with 10 primers used. BioRad[®] thermocycler was used for PCR and PCR end product was electrophoresed in 2% Agarose gel and stained with ethidium bromide. Bands photographed using Gel Doc 2000. Hardy-weinberg's chi square (χ^2) equation was used for evaluate of equilibrium in the number of polymorphic alleles, Shannon and Nei indice for evaluation of heterozygosity, POPGENE for genetic distance, GenAlex 6 for cluster analysis, AMOVA for analysis of inter and intra populations diversity.

Results and Discussion: The total number of electrophoresis bands were 64 bands, 43 of them were polymorphic. The range of changes of allelic sizes of primers were between 150-1500 bp. Polymorphic information content (PIC) was between 0.302-0.643 the maximum of it belonged to the primer UBC-809 and the minimum belonged to the primer UBC-812 (Table 3). In three populations of Dutch, Guilan and Kerman the maximum of alleles were seen in gene locus of UBC-809 suggesting that it is highly polymorphic, similar findings was found by Barbosa and co-workers. As in Fig (2) the cluster analysis based on use of Jaccard similarity coefficient, the populations clustered in three groups, the Dutch population together with those of Guilan, Mazendaran, Lorestan, East and west Azerbaijan provinces were gathered in the first cluster and populations of Kerman, Sistan and Beluchestan, Isfahan and Fars province were gathered in the second cluster and the populations of Hamedan, Zanzan, Kermanshah, Tehran and Kudistan provinces were in the third cluster. Principal Component analysis was also done, Eigen values, variances percentage and cumulative variances percentages by independent components and the range of variations represented by these components was shown in Table (5). 100% of variations were represented by first ten independent components. The first, second and third components successively represented 27.68, 20.57 and 13.01 percentages of all variations. These components independently from each other represented a percent of genetic diversity, not already known. The maximum of Shannon index was seen in gene locus of UBC-809 was 0.53 in Guilan province and the minimum 0.04 in Kerman province. These data were conceivable because there were nine alleles in gene locus of UBC-809 in population of Guilan province and two alleles in gene locus of UBC-812 in populations of Kerman province, the same index was calculated 0.58 for Dutch population. The maximum and the minimum of Nei's index (H) of gene diversity was calculated 0.35 for gene locus of UBC-809 in Guilan province and 0.009 for gene locus of UBC-812 in Kerman province successively and for Dutch population the index was 0.39. The maximum and minimum of observed heterozygosity (Ho) was 0.49 in gene locus of UBC-809 in Guilan and 0.031 in gene locus of UBC-812 in Kerman province successively. The maximum and minimum of expected heterozygosity

^۱, 2 and 3- Ph.D. Student of Agricultural Entomology, Professor and Associate Professor Department Plant Protection, Campus of Agriculture and Natural Resources Razi University, Kermanshah, Iran, respectively.

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

4- Assistant Professor Department Plant Production and Genetic Engineering, Campus of Agriculture and Natural Resources Razi University, Kermanshah, Iran

DOI: 10.22067/JPP.2021.67819.1001

was calculated as 0.579 in gene locus of UBC-809 in Mazendaran province and 0.034 in gene locus of UBC-886 in Hormozgan province successively. Having nine alleles in its gene locus and getting of maximum observed and expected heterozygosity therefore we can consider the UBC-809 primer as the best gene locus to express of gene diversity in all *Chrysoperla carnea* populations studied in our present study. We used χ^2 of Hardy-Weinberg equilibrium for all alleles studied, and with regard to H0 (Equilibrium in alleles frequency in studied populations) the most well adapted status to Hardy-Weinberg equilibrium was seen in gene loci of UBC-809, some of populations and gene loci did have Hardy-Weinberg equilibrium but others did have significant biases from this equilibrium which should be attributed to inadequate number of samples chosen (sampling errors) in the studied populations and or existence of non-reproducing alleles. Our study on population genetic diversity of *Chrysoperla carnea* showed that ISSR-PCR markers are the best to study the polymorphism of populations of this species, did not study hitherto in Iran. The primers used by us in this study for *Chrysoperla carnea* was equally used for other orders of insects such as Lepidoptera and Coleoptera (UBC-809) and used for order of Hemiptera (UBC-812, UBC-819).

Conclusion: More genetic diversity of alleles in populations of *Chrysoperla carnea* collected from non-treated alfalfa plantations than those treated with insecticides. Similar results was obtained in Brazil concerning populations of *Chrysoperla externa*. Our present study on *Chrysoperla carnea* in Iran showed us the similarity between gene frequencies in the studied provinces, similar results was found for other species of *Chrysoperla*. Some authors believe that reduction in heterozygotes alleles in population was caused by a reduction in effective number of alleles in that population. The decrease of allele's diversity could bring about a reduction of populations, even species, as well as the reproduction vigor of populations in a new environment. In insect breeding programs a reduction in genetic diversity has an impact of reduction of fitness or even the loss of fitness in such an environment in which those populations should be released. We propose that our research on heterozygosity of populations of *Chrysoperla carnea* to be continued in more agroecosystems in Iran with a similar or different molecular markers to have more informations about populations genetic diversity and finally to consider a logical management for preserving genetic reservoirs of them.

Keywords: *Chrysoperla carnea*, ISSR primers, Geographical populations, Genetic diversity



مقاله پژوهشی

تأثیر ترکیبات مختلف آلی و شیمیایی روی تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه و برخی ترکیبات ثانویه گیاه لوبیا

محمد کاراموزیان^۱ - مریم پهلوان یلی^{۲*} - کمال احمدی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۸

چکیده

سفیدبالک گلخانه، *Trialeurodes vaporariorum* Westwood یکی از آفات مهم گیاه لوبیای معمولی است. در این تحقیق تأثیر برخی ترکیبات آلی شامل عصاره متانولی پوست گردو (MW)، عصاره ان‌هگزانی پوست گردو (NW)، عصاره متانولی دانه شوید (MD)، عصاره ان‌هگزانی دانه شوید (ND) و اسید سالیسیلیک (SA)، به تنهایی و در ترکیب با آفتکش اسپیروتترامات (SP) روی سفیدبالک گلخانه و برخی ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه لوبیا بررسی شد. آزمایش‌ها در شرایط گلخانه با محلول‌پاشی تیمارهای مورد بررسی روی گیاهان لوبیا انجام شد. نتایج تحقیق نشان داد که تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه و ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی بود. میزان فنل کل در تیمارهای مختلف بین ۵۸/۹۶ تا ۱۱۴/۰۷ میلی گرم بر گرم وزن خشک متغیر بود که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار آن به‌ترتیب در تیمارهای ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید و ترکیب اسپیروتترامات با عصاره ان‌هگزانی پوست گردو به‌دست آمد. بیش‌ترین مقدار فلاونوئید کل گیاه لوبیا نیز در تیمار ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک بود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه در تیمار اسپیروتترامات به تنهایی کم‌تر از سایر تیمارها بود اما اختلاف معنی‌داری نیز با تیمارهای تلفیقی و تیمار عصاره متانولی پوست گردو نداشت. همچنین همه تیمارهای مورد مطالعه در مقایسه با شاهد به‌طور قابل توجهی موجب تغییر تراکم جمعیت این آفت و افزایش مقدار فنل کل گیاه لوبیا شدند. بنابراین می‌توان از این ترکیبات بویژه عصاره متانولی پوست گردو در برنامه‌های مدیریت تلفیقی این آفت استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: سفیدبالک گلخانه، اسید سالیسیلیک، عصاره گیاهی، فلاونوئید کل، فنل کل

مقدمه

زیادی قرار می‌گیرد که از جمله آن‌ها می‌توان به سفیدبالک‌ها، شته‌ها، تریپس لوبیا، مگس گیاه‌خوار و کنه تار عنکبوتی اشاره کرد (۱۹).

سفیدبالک گلخانه، *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hem., Aleyrodidae) آفتی با اهمیت اقتصادی بالا

و پراکنش وسیع می‌باشد و بیشتر در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری فعالیت می‌کند (۱۲). تغذیه این حشره بیشتر روی انواع گیاهان زراعی و گلخانه‌ای مانند بادمجان، خیار، گوجه‌فرنگی، لوبیا، فلفل کاهو و غیره می‌باشد. این آفت می‌تواند به صورت مستقیم و غیر مستقیم باعث ایجاد خسارت در گیاهان میزبان شود. خسارت مستقیم از طریق مکیدن شیره گیاهی است که سبب پژمردگی زودرس گیاه و کاهش درصد رشد محصول می‌شود و در صورت تراکم بالای جمعیت آن روی گیاه، کلروز برگ، خشکی، ریزش زود هنگام برگ‌ها و مرگ گیاه اتفاق می‌افتد (۴۰). خسارت غیر مستقیم آن از طریق ترشح عسلک است که سبب رشد قارچ‌های دوده‌ای سیاه روی برگ‌ها

حبوبات پس از غلات به عنوان دومین منبع غذایی بشر بعنوان عمده‌ترین منبع پروتئین گیاهی محسوب می‌شوند. در بین حبوبات از لحاظ سطح زیر کشت و ارزش اقتصادی مقام اول متعلق به لوبیا است (۴۹). لوبیای معمولی با نام علمی *Phaseolus vulgaris* L. یکساله از تیره Fabaceae است. از نظر گیاه‌شناسی، لوبیا گیاهی حرارت دوست و به سرما و یخبندان بسیار حساس است و در بهار تا زمانی که درجه حرارت محیط به اندازه کافی بالا نرود نمی‌توان به کشت آن مبادرت ورزید. درجه حرارت مناسب برای رشد و نمو لوبیا حدود ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس است (۲۵). گیاه لوبیا مورد حمله آفات

۱ و ۲ - به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

(*) - نویسنده مسئول: Email: pahlavanm@uk.ac.ir

و میوه‌ها، کاهش فتوستتوز و نیز کاهش بازارپسندی محصول می‌شود (۷). همچنین، انواع سفیدبالک‌ها قادر به انتقال ۱۱۴ ویروس گیاهی مختلف به گیاهان میزبان می‌باشند (۱۶).

کنترل سفیدبالک گلخانه اغلب متکی بر استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی و دشمنان طبیعی است؛ اما، کاربرد حشره‌کش‌ها موجب توسعه مقاومت این آفت به بیشتر آفت‌کش‌ها شده است (۳۳). بنابراین، امروزه سعی می‌شود با استفاده از روش‌های سازگار با محیط زیست مانند استفاده از ترکیبات آلی طبیعی، میزان مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی یا معدنی کاهش داده شود تا تاثیر سوء زیست محیطی آن‌ها به کمترین مقدار ممکن برسد (۴۳ و ۴۷).

گیاهان در مسیر تکاملی خود به یک سامانه‌ی دفاعی کارآمد برای مقابله با حمله گیاه‌خواران مجهز شده‌اند. وجود ترکیبات شیمیایی ثانویه مختلف در بافت یا رایحه گیاهان با دارا بودن خاصیت دورکنندگی یا ضدتغذیه‌ای برای حشرات، جزئی از این سامانه‌ی دفاعی محسوب می‌شود (۴۴).

گردو با نام علمی *Juglans spp.* (تیره Juglandaceae) در بیشتر مناطق ایران به وفور یافت می‌شود (۴۲). برگ درخت گردو حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی از جمله ترکیبات فنولیک می‌باشد که این ترکیبات اثرات سمی زیادی برای بسیاری از حشرات، باکتری‌ها و قارچ‌ها دارند (۶ و ۲۷). همچنین عصاره آبی پوست سبز گردو به عنوان یک منبع ارزان قیمت و غنی از ترکیبات پلی فنول با خاصیت ضد اکسیداسیونی و ضد میکروبی می‌باشد (۱۱ و ۳۲).

گیاه شوید با نام علمی *Anethum graveolens L.* یکساله و معطر از تیره Apiaceae می‌باشد که دارای ترکیبات فراری مانند فلاندرن، کاروون و لیمونن می‌باشد. بذر شوید نیز دارای ترکیبات مختلفی مانند دیلانوزید، کومارین، کامپفرول، ویسنین، میریستیسین و سایر فلاونوئیدها، اسیدهای فنلی، پروتئین، چربی و... است (۴، ۱۵ و ۲۴). استفاده از اسانس شوید و یا کاشت آن به صورت گیاه همراه در مزرعه، اثر دورکنندگی موثری روی حشرات آفت دارد (۳۶ و ۳۷).

سالیسیلیک اسید یک ترکیب آلی طبیعی مهم دیگر در گیاهان محسوب می‌شود. این ماده یک گروه از ترکیبات فنولی است که در آن یک حلقه آروماتیک متصل به یک گروه هیدروکسیل است (۲۰) و به عنوان یک ماده شبه هورمونی نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو گیاهان دارد. سالیسیلیک اسید به وسیله سلول‌های ریشه تولید می‌شود و نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک مختلف مثل رشد و نمو گیاه، جذب یون‌ها، فتوستتوز و جوانه‌زنی ایفا می‌کند (۱۴). این ماده تحت تاثیر بسیاری از تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها، تنش سرمازدگی، تنش خشکی و تنش شوری در بافت‌های گیاهی تجمع یافته و در افزایش مقاومت گیاه به

این تنش‌ها موثر است (۲، ۳۴ و ۴۱). گزارش شده است که در آلودگی گیاهان توسط آفاتی مانند شته، اسید سالیسیلیک جزء مهم‌ترین ترکیبات دفاعی گیاه می‌باشد که در مقاومت سیستمیک بسیاری از گیاهان علیه شته‌ها نقش دارد (۹ و ۲۸).

اسپیروترامات یکی از آفت‌کش‌های شیمیایی رایج و موثر در کنترل سفیدبالک گلخانه می‌باشد. این حشره‌کش از مشتقات اسید تترا میک و جزء گروه آفت‌کش‌های کتوانول‌های حلقوی (Cyclic ketoenol) است که کارایی مناسبی روی بیشتر آفات مانند پسیل، شپشک، شته و سفیدبالک دارد. اسپیروترامات با خاصیت سیستمیک خود قادر است در همه بافت‌های گیاهی مانند آوندهای آبکش، آوندهای چوبی، ساقه، برگ و ریشه گیاه گسترش یافته و با کاهش فعالیت استیل کوآنزیم A، از سنتز چربی‌ها در بدن حشرات جلوگیری کند (۳۰). این آفت‌کش در حشرات کامل موجب کاهش زادآوری و در پوره‌ها باعث پوست‌اندازی ناقص می‌شود (۳۱).

بسیاری از مواد آلی و شیمیایی مورد مصرف در کشاورزی از قبیل حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها، اسانس و عصاره‌ها، مواد تنظیم کننده رشد گیاهان و کودها اثرات متفاوت و متنوعی روی گیاه‌خواران آفت دارند. این ترکیبات با تاثیر بر خواص شیمیایی گیاه ممکن است موجب تغییر در مقدار و غلظت متابولیت‌های گیاهی شوند و این تغییر می‌تواند علاوه بر کارایی آفات، میزان مقاومت گیاه به آفات را تحت تاثیر قرار دهد (۴۳). به همین منظور، در این مطالعه با توجه به اهمیت استفاده از ترکیبات سازگار با محیط زیست در کنترل آفات، تاثیر ترکیبات آلی مانند عصاره‌های متانولی و آن‌هگزانی دانه شوید و پوست گردو و اسید سالیسیلیک و نیز آفت‌کش شیمیایی اسپیروترامات روی جمعیت سفیدبالک گلخانه و برخی ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه لوبیا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه می‌تواند در طراحی مدیریت تلفیقی سفیدبالک گلخانه در مناطق تحت کشت لوبیا مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه میزبان

در این بررسی از گیاه لوبیا، رقم برلوتی تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی استان کرمان برای پرورش سفیدبالک گلخانه و انجام آزمایش‌ها استفاده شد. بذرهای لوبیا داخل گلدان‌هایی به قطر دهانه ۱۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر با خاکی حاوی ۳۰ درصد خاک رس، ۴۰ درصد شن و ۳۰ درصد ورمی‌کمپوست کاشته شدند و پس از سبز شدن کامل، یک گیاه در گلدان باقی ماند. برای تامین نیاز آبی گیاه، گلدان‌ها داخل ظروف پلاستیکی قرار داده شدند تا به واسطه فشار اسمزی ناشی از آب ریخته شده به داخل ظروف پلاستیکی، رطوبت کافی به گیاه منتقل شود. سپس، این گلدان‌ها به درون قفس‌هایی از

این گیاهان که در مرحله هشت برگی هستند، تخمگذاری کنند. پس از آن، گیاهان مذکور از قفس‌ها خارج و با استفاده از قلم‌مو حشرات کامل از روی برگ‌ها حذف شدند. این گیاهان به درون سیلندرهای به قطر ۴۰ سانتی‌متر و ارتفاع یک متر که از جنس ورقه‌های پلی استر ضخیم و شفاف با سرپوش توری منتقل شده و به مدت ۵ تا ۷ روز درون سیلندرها نگهداری شدند تا تخم‌های موجود روی برگ‌ها تفریح شده و پوره‌های سفیدبالک روی برگ‌ها مستقر شوند.

برای بررسی تأثیر ترکیبات آلی و شیمیایی روی پوره‌های سفیدبالک گلخانه از ۱۲ تیمار مختلف شامل: (۱) آفتکش اسپیروتترامات (SP)، (۲) اسید سالیسیلیک (MW)، (۳) عصاره ان‌هگزانی دانه شوید (NW)، (۴) عصاره متانولی دانه شوید (MD)، (۵) عصاره ان‌هگزانی پوست گردو (ND)، (۶) عصاره متانولی پوست گردو (SA)، (۷) ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک (SP+SA)، (۸) ترکیب اسپیروتترامات با عصاره ان‌هگزانی دانه شوید (SP+ND)، (۹) ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید (SP+MD)، (۱۰) ترکیب اسپیروتترامات با عصاره ان‌هگزانی پوست گردو (SP+NW)، (۱۱) ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی پوست گردو (SP+MW)، و (۱۲) شاهد (آب) (CO) استفاده شد. غلظت تیمارهای مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است (تعیین غلظت‌های نهایی پس از آزمایشات اولیه یا پیش تست صورت گرفته است).

جنس پارچه ارگانزا به ابعاد ۶۰×۶۰×۸۰ سانتی‌متر که دارای درب زیپ‌دار بودند، منتقل شدند. گیاهان در شرایط گلخانه‌ای در دمای $3 \pm$ ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت $10 \pm$ ۵۰ درصد و دوره نوری طبیعی پرورش یافتند. این گیاهان در مرحله ۶ تا ۸ برگی برای انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

پرورش حشره

کلنی سفیدبالک گلخانه از گلخانه‌های تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان تهیه شد. برای آلوده‌سازی گیاهان، از جمعیتی که روی بوته‌های گوجه‌فرنگی به مدت چندین نسل خالص‌سازی شده بود استفاده شد. بدین صورت که، گلدان حاوی گیاه سالم لوبیا در مجاورت گیاهان آلوده گوجه‌فرنگی گذاشته شد و مدت سه روز به حشرات کامل سفیدبالک گلخانه اجازه داده شد تا روی گیاه تخمگذاری کنند. سپس، گیاه آلوده لوبیا به گلخانه اصلی منتقل و داخل قفس در مجاورت سایر گیاهان لوبیا قرار گرفت تا به تدریج آلودگی به این گیاهان منتقل شود.

نحوه انجام آزمایش

برای ایجاد و استقرار سفیدبالک گلخانه، گیاهان سالم لوبیا داخل قفس‌های حاوی جمعیت بسیار بالای کلنی منتقل شدند. مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت به حشرات کامل سفیدبالک گلخانه اجازه داده شد تا روی

جدول ۱- نام و غلظت نهایی ترکیبات مورد نیاز جهت انجام آزمایش

Table 1- Name and final concentration of required compounds for testing

Treatment	Concentration
تیمار	غلظت
Spirotetramat	0.5 L/1000
Salicylic acid	0.13 g/litr
Dill seed n-hexanic extract	50 µl/litr
Dill seed methanolic extract	50 µl/litr
Walnut husk n-hexanic extract	50 µl/litr
Walnut husk methanolic extract	50 µl/litr
Spirotetramat + Salicylic acid	
Spirotetramat + Dill seed n-hexanic extract	
Spirotetramat + Dill seed methanolic extract	
Spirotetramat + Walnut husk n-hexanic extract	
Spirotetramat + Walnut husk methanolic extract	
Control	

به‌طور جداگانه، با استفاده از دستگاه آسیاب برقی به‌طور کامل پودر شدند. برای عصاره‌گیری، مقدار ۵۰ گرم از پودر گیاهی در داخل کیسه دستگاه سوکسله ریخته شد و مخزن حلال دستگاه نیز با ۵۰۰ میلی لیتر از محلول متانول (مرک) پر گردید. پس از گذشت چهار ساعت، عصاره استحصالی دستگاه با استفاده از کاغذ صافی واتمن

جهت تهیه عصاره پوست سبز گردو و دانه شوید نیز از دستگاه حمام التراسونیک مدل C250T (Ultrasonic Cleaner) استفاده شد. بدین منظور، در ابتدا پوست‌های سبز گردو از منطقه بافت استان کرمان جمع‌آوری و در دمای اتاق و دور از نور خورشید سبز خشک شدند. نمونه‌های گیاهی آماده شده (پوست سبز گردو و دانه شوید)

صاف و با دور ۱۲۰۰۰ (دور بر دقیقه) در مدت ۵ دقیقه سانتیفریوژ شد. سپس مایع رویی به‌وسیله‌ی دستگاه تیخیر کننده دوار تحت فشار خلاء تا حد امکان تغلیظ و آن‌گاه جهت خشک شدن، داخل پتری‌های استریل در دستگاه انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. عصاره خام خشک شده درون پتری‌ها با استفاده از تیغ اسکالپل زیر هود تراشیده و سپس به ظرف‌های مجزای درپوش دار استریل منتقل و در دمای ۲۲- درجه سلسیوس، جهت انجام آزمایش‌ها نگهداری شد.

عصاره‌های گیاهی پس از انجام آزمایش‌های اولیه با غلظت ۵۰ میکروگرم بر لیتر، سالیسیک اسید با غلظت یک میلی‌مولار و اسپیروترامات (Movento®) با غلظت نیم در هزار از فرم تجاری آن در آزمایشگاه تهیه و روی بوته‌های آلوده به پوره‌های سفیدبالک گلخانه محلول‌پاشی شدند. یک روز قبل از محلول‌پاشی، ۳۰ تا ۴۰ عدد برگ به طور تصادفی از هر تیمار انتخاب و با نخ رنگی نشانه‌گذاری شدند پنج روز بعد، برگ‌های مورد نظر از هر بوته جدا، درون کیسه پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل و با استریومیکروسکوپ بررسی شدند تا تلفات یا زنده‌مانی مراحل ثابت سفیدبالک گلخانه (شامل پوره‌های سنین دوم، سوم، چهارم و در صورت وجود شفیره این حشره) در پشت برگ‌های هر بوته شمارش و یادداشت شود.

بررسی تاثیر تیمارهای آزمایشی بر مقدار ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه لوبیا تهیه عصاره گیاهی

در این آزمایش، ۴۸ ساعت پس از محلول‌پاشی گیاهان لوبیا با تیمارهای مورد بررسی، تعدادی از برگ گیاهان تیمار شده چیده شده و در دمای اتاق و در شرایط سایه به طور کامل خشک و با آسیاب به حالت پودر در آورده شدند. سپس، ۵ گرم از پودر برگ خشک گیاهان تیمار شده، با ۲۰ میلی‌لیتر حلال متانول با درجه خلوص ۹۵ درصد داخل ارلن‌های شیشه‌ای مخلوط شد. سر تمامی ظروف با فویل آلومینیومی بسته و در یک محل تاریک با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت، هر عصاره داخل لوله فالکون ۵۰ میلی‌لیتر ریخته شد و با دور ۶۰۰۰ هزار در مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شد. سپس، مایع رویی عصاره‌ها صاف شده و داخل لوله فالکون تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در یخچال نگهداری شدند.

اندازه‌گیری میزان فنل کل

جهت اندازه‌گیری میزان فنل کل از روش پورمراد و همکاران (۳۵) استفاده شد. ابتدا، ۵ میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالتو با ۴ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم یک مولار مخلوط شد. سپس، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هر عصاره گیاهی یا اسید گالیک به مخلوط اضافه

شد. مخلوط‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. پس از این مدت، میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Lambda 45-UV/Visible در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها در ۵ تکرار بررسی و منحنی استاندارد توسط غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ (میلی‌گرم بر لیتر) از محلول اسید گالیک تهیه شد. مقدار فنل کل در هر یک از تیمارهای آزمایشی به صورت معادل میلی‌گرم اسید گالیک (GAE) بر گرم وزن خشک محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل

مقادیر فلاونوئید کل در نمونه عصاره‌های گیاهی مورد بررسی با روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد (۳۵). ابتدا، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد را با ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار مخلوط کرده و سپس به آن‌ها ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر اضافه شد. در مرحله بعد، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هر عصاره که با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول مخلوط شده بود، به مخلوط کلرید آلومینیوم، استات پتاسیم و آب اضافه شد. مخلوط نهایی حاصل برای هر عصاره (با حجم ۵ میلی‌لیتر) برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس، جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل Lambda 45-UV/Visible اندازه‌گیری شد. مقدار فلاونوئید کل به صورت معادل میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک محاسبه و بیان شد. ارزیابی هر کدام از عصاره‌های گیاهی مورد بررسی در ۵ تکرار انجام پذیرفت.

تجزیه داده‌ها

پیش از تجزیه آماری داده‌ها، توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov test) در نرم‌افزار SPSS 23.0 ارزیابی شد. تجزیه داده‌ها با آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS 23.0 انجام شد. مقایسه میانگین‌های مربوط به تراکم پوره‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای (Student-Newman-SNK) (Keuls) و مقایسه میانگین‌های مربوط به ترکیبات شیمیایی ثانویه با استفاده از آزمون توکی (Tukey's test) در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج

تاثیر تیمارهای آزمایشی روی تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه

بر اساس نتایج به دست آمده، تاثیر تیمارهای آزمایشی بر تراکم

اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید با $0.57 \pm 3/53$ پوره در هر برگ کمترین و در تیمار شاهد با $1/4 \pm 14/96$ پوره در هر برگ بیشترین بود (جدول ۲).

جمعیت پوره‌های سفیدبالک گلخانه معنی‌دار بود ($P < 0.001$)؛ به طوری‌که، محلول‌پاشی گیاهان لوبیا با تیمارهای آزمایشی مختلف، تراکم جمعیت پوره‌های سفیدبالک گلخانه را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. میانگین تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه در تیمار اسپیروتترامات با $0.32 \pm 1/76$ پوره و ترکیب

جدول ۲- میانگین ($SE \pm$) تراکم جمعیت پوره‌های سفیدبالک گلخانه (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood) روی برگ گیاهان لوبیایی محلول‌پاشی شده با تیمارهای مختلف

Table 2- Mean ($\pm SE$) Population density of *Trialeurodes vaporariorum* Westwood nymphs on bean plants leaves, sprayed with different treatments

Treatment تیمار	N تکرار	Density of nymph per leaf of plant تراکم پوره به ازای هر برگ در بوته
Spirotetramat	38	1.76 ± 0.32^e
Spirotetramat + Salicylic acid	31	4.45 ± 0.68^{de}
Spirotetramat + Dill seed methanolic extract	39	3.53 ± 0.57^e
Spirotetramat + Walnut husk methanolic extract	40	3.87 ± 0.72^{de}
Spirotetramat + Dill seed n-hexanic extract	40	5.30 ± 0.67^{de}
Spirotetramat + Walnut husk n-hexanic extract	39	4.23 ± 0.70^{de}
Dill seed n-hexanic extract	35	10.77 ± 1.33^b
Walnut husk n-hexanic extract	33	10.69 ± 1.26^b
Salicylic acid	32	7.38 ± 1.06^{cd}
Walnut husk methanolic extract	39	4.85 ± 0.66^{de}
Dill seed methanolic extract	32	9.47 ± 1.06^{bc}
Control	24	14.96 ± 1.39^a

حروف کوچک متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (آزمون SNK، $P < 0.05$).

Different lowercase letters indicate significant differences among treatments (SNK test, $P < 0.05$)

*SP: اسپیروتترامات؛ SP+SA: ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک؛ SP+MD: ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید؛ SP+MW: ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی پوست گردو؛ ND: عصاره متانولی پوست گردو؛ SP+ND: ترکیب اسپیروتترامات با عصاره ان‌هگزانی دانه شوید؛ SP+NW: ترکیب اسپیروتترامات با عصاره ان‌هگزانی پوست گردو؛ MD: عصاره متانولی دانه شوید؛ CO: شاهد

ان‌هگزانی دانه شوید؛ NW: عصاره ان‌هگزانی پوست گردو؛ SA: اسید سالیسیلیک؛ MW: عصاره متانولی پوست گردو؛ MD: عصاره متانولی دانه شوید؛ CO: شاهد
*SP: Spirotetramat; SP+SA: Spirotetramat combined with Salicylic acid; SP+MD: Spirotetramat combined with methanolic extract of dill seed; SP+MW: Spirotetramat combined with methanolic extract of walnut husk; SP+ND: Spirotetramat combined with n-hexanic extract of dill seed; SP+NW: Spirotetramat combined with n-hexanic extract of walnut husk; ND: n-hexanic extract of dill seed; NW: n-hexanic extract of walnut husk; SA: Salicylic acid; MW: Methanolic extract of walnut husk; MD: Methanolic extract of dill seed; CO: Control

شوید، ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک و عصاره ان‌هگزانی دانه شوید بیش‌تر از سایر تیمارها بود (جدول ۳).

میزان فلاونوئید کل گیاه لوبیا نیز به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (جدول ۳). به طوری‌که، بیش‌ترین مقدار فلاونوئید کل در تیمار ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک و کم‌ترین مقدار آن در شاهد و عصاره متانولی پوست گردو بود (جدول ۳). میزان فلاونوئید کل در تیمار ترکیب اسپیروتترامات و عصاره ان‌هگزانی پوست گردو و پس از آن در ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید بیش‌تر از سایر تیمارها بود (جدول ۳).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر مقدار ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه لوبیا

نتایج به دست آمده حاکی از تأثیر معنی‌دار تیمارهای مورد بررسی بر میزان فنل کل گیاه لوبیا بود (جدول ۳). میزان فنل کل در تیمارهای مختلف بین $58/96$ تا $114/07$ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک متغیر بود که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار آن به ترتیب در تیمارهای اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید و شاهد به دست آمد (جدول ۳). همچنین، میزان فنل کل در تیمارهای عصاره متانولی پوست گردو، ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی پوست گردو، اسید سالیسیلیک، عصاره ان‌هگزانی پوست گردو، عصاره متانولی دانه

جدول ۳- میزان فنل کل و فلاونوئید کل (میانگین $\pm$ SE) گیاهان لوبیای محلول‌پاشی شده با تیمارهای مختلفTable 3- Total phenol and total flavonoid content (Mean $\pm$ SE) of bean plants sprayed with different treatments

Treatments تیمارها	Total Phenol فنل کل (mg/ g dry weight)	Total Flavonoid فلاونوئید کل (mg/ g dry weight)
Spirotetramat	73.14 $\pm$ 1.51 ^c	63.32 $\pm$ 4.07 ^{de}
Spirotetramat + Salicylic acid	92.46 $\pm$ 0.91 ^b	117.47 $\pm$ 3.17 ^a
Spirotetramat + Dill seed methanolic extract	114.07 $\pm$ 1.38 ^a	80.87 $\pm$ 2.72 ^{bc}
Spirotetramat + Walnut husk methanolic extract	97.15 $\pm$ 2.88 ^b	67.25 $\pm$ 4.43 ^{cde}
Spirotetramat + Dill seed n-hexanic extract	71.55 $\pm$ 5.49 ^c	68.26 $\pm$ 7.04 ^{cde}
Spirotetramat + Walnut husk n-hexanic extract	66.79 $\pm$ 1.14 ^{cd}	84.12 $\pm$ 4.38 ^b
Dill seed n-hexanic extract	89.66 $\pm$ 1.68 ^b	66.30 $\pm$ 0.97 ^{cde}
Walnut husk n-hexanic extract	93.18 $\pm$ 6.02 ^b	74.82 $\pm$ 0.61 ^{bcd}
Dill seed methanolic extract	92.9 $\pm$ 5.42 ^b	63.97 $\pm$ 7.46 ^{de}
Walnut husk methanolic extract	97.48 $\pm$ 7.07 ^b	33.71 $\pm$ 4.62 ^f
Salicylic acid	93.53 $\pm$ 4.94 ^b	57.08 $\pm$ 7.04 ^e
Control	58.96 $\pm$ 2.64 ^d	30.73 $\pm$ 2.27 ^f
F	15.26	23.12
df	11,59	11,59
P	<0.0001	<0.0001

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد دارند (آزمون توکی، $P < 0.05$).

Means followed by different letters in each column are significantly different (Tukey test, $P < 0.05$).

بحث

این محققین، خاصیت حشره‌کشی عصاره‌های مذکور را با غلظت بالای ماده‌ای به نام juglone مرتبط دانستند. کاربرد عصاره متانولی گردو در غلظت‌های مختلف توسط رستمی جیوان و همکاران (۳۸) نیز، حاکی از ایجاد مرگ و میر بیش‌تر این عصاره روی لاروهای سن دوم سوسک کلرادوی سیب‌زمینی بود. دیناری و همکاران (۸) گزارش کردند که کاربرد غلظت ۸۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک در گیاه گندم موجب کاهش طول عمر حشرات کامل شته روسی گندم و تراکم جمعیت پوره‌های آن شد. خانی و بساوند (۱۸) نشان داد که استفاده از اسانس بذر شوید، سمیت تدخینی بالایی روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات داشت. نتایج بررسی‌های موسوی (۲۹) و ساراربت و اومچرون (۳۹) به ترتیب نشان داد که اسانس شوید خاصیت کشندگی روی مراحل زیستی مختلف سفیدبالک گلخانه و شته جالیز و اثر کنه‌کشی و دورکنندگی روی کنه‌های تارتن *Tetranychus truncatus* Ehara و *T. urticae* Koch داشت. در مطالعه دیگری، محلول‌پاشی گیاه لوبیا با اسید سالیسیلیک با تاثیر بر بقاء و تولیدمثل کنه تارتن دولکه‌ای موجب کاهش تراکم جمعیت این کنه روی گیاه لوبیا گردید (۵). همچنین، تاثیر منفی آفت‌کش اسپیروتترامات روی جمعیت سفیدبالک پنبه در گیاه پنبه و تاثیر ۹۶ درصدی آن روی تخم و پوره‌های سفیدبالک گوجه‌فرنگی در گیاه گوجه‌فرنگی به ترتیب در تحقیقات کومار و همکاران (۲۲) و ون و همکاران (۴۸) اثبات شده است. یافته‌های تحقیق حاضر در زمینه تاثیر منفی هر کدام از عصاره‌های دانه شوید و پوست گردو، اسید سالیسیلیک و آفت‌کش اسپیروتترامات به تنهایی بر جمعیت سفیدبالک گلخانه همسو با نتایج گزارش‌های اخیر مبنی بر اثرات منفی ترکیبات مذکور روی جمعیت

بر اساس نتایج به دست آمده، تیمارهای آزمایشی مورد بررسی تراکم جمعیت پوره‌های سفیدبالک گلخانه را تحت تاثیر قرار دادند. با این وجود، ترکیب آفت‌کش اسپیروتترامات با عصاره‌های دانه شوید و گردو و نیز اسید سالیسیلیک در مقایسه با محلول‌پاشی غیر ترکیبی این آفت‌کش روی گیاه لوبیا تاثیر معنی‌داری روی تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه نداشته است. به طوری که، همه تیمارهای مورد مطالعه در مقایسه با شاهد موجب کاهش تراکم جمعیت پوره‌های سفیدبالک گلخانه شدند. بنابراین از آن جا که مصرف سم در تیمارهای تلفیقی کاهش نیافته است و نیز با توجه به عدم وجود اختلافات معنی‌دار بین تیمارها، می‌توان گفت کاربرد اسپیروتترامات به تنهایی در مقایسه با تیمارهای تلفیقی کنترل این آفت بصرفه‌تر و موثرتر می‌باشد. همچنین مصرف این آفت‌کش در مقایسه با کاربرد اسید سالیسیلیک، عصاره‌های دانه شوید و عصاره ان هگزانی پوست گردو به تنهایی تاثیر قابل توجهی در کاهش جمعیت سفیدبالک گلخانه نشان داد اما در مقایسه با کاربرد عصاره متانولی پوست گردو اختلاف معنی‌داری نداشت. بنابراین در بین تیمارهای مورد مطالعه، کاربرد عصاره متانولی پوست گردو به تنهایی روی تراکم جمعیت این آفت تاثیر قابل توجهی داشت و در نتیجه می‌تواند جایگزین مناسبی برای آفت‌کش باشد. لازم به ذکر است که عصاره پوست گردو روی گیاه گیاه‌سوزی ایجاد می‌کند و باید ملاحظات لازم را در این مورد در نظر گرفت. سان و همکاران (۴۵) با کاربرد عصاره‌های الکلی و کلروفرمی برگ گردو گزارش کردند که این دو عصاره خاصیت کشندگی روی لاروهای پروانه ابریشم باف‌ناچور و بید کلم داشتند.

آفات مختلف است.

نتایج بررسی حاضر نشان داد که میزان فنل و فلاونوئید کل گیاه لوبیا تحت تأثیر تیمارهای مورد بررسی بود. میزان فنل کل در تیمار ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید و هم‌چنین در تیمارهای عصاره متانولی گردو، ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی گردو، اسید سالیسیلیک، عصاره ان‌هگزانی گردو، عصاره متانولی دانه شوید، ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک و عصاره ان‌هگزانی دانه شوید بیش‌تر از سایر تیمارها بود. هم‌چنین، میزان بالای فلاونوئید کل در تیمار ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک و نیز در تیمار ترکیب اسپیروتترامات با عصاره ان‌هگزانی پوست گردو به دست آمد. منتشلو و همکاران (۲۶) مقدار فنل و فلاونوئید را در عصاره‌های اتانولی، متانولی، کلروفرمی و اتیل‌استاتی پوست تنه و شاخه درخت بید اندازه‌گیری و گزارش کردند که مقدار فنل و فلاونوئید در عصاره اتانولی پوست تنه و شاخه درخت بید بیش‌تر از سایر عصاره‌ها بود. در بررسی انجام شده توسط آشاو همکاران (۳) نیز، عصاره‌های کلروفرمی، اتیل‌استاتی، اتانولی و متانولی پوست درخت گردو دارای مقادیر متفاوتی از فنل و فلاونوئید بودند. به طوری‌که، در عصاره اتیل‌استاتی مقدار ترکیبات شیمیایی ثانویه مذکور بیش‌تر از سایر تیمارها بود. نتایج دو گزارش اخیر حاکی از تأثیر متفاوت حلال‌های مختلف روی مقدار حلالیت متابولیت‌های ثانویه است. از طرف دیگر، محلول‌پاشی گیاهان با عصاره‌ها ممکن است مقدار ترکیبات شیمیایی گیاه بیمار شده را نیز تحت تأثیر قرار دهد. چنان‌که در بررسی ال‌یازال (۱۰)، محلول‌پاشی گیاه اسفناج با عصاره پروپولیس (بره‌موم) موجب تغییر مقدار برخی ترکیبات شیمیایی مانند کلروفیل a و b، غلظت کاروتنوئیدهای کل، آنتوسیانین، کربوهیدرات‌ها، اسیدآمین‌های آزاد، پرولین آزاد، فنل کل و مقدار عناصری مانند نیتروژن، پتاسیم و فسفر در گیاه اسفناج شد. در بررسی حاضر، هر چند ترکیبات شیمیایی موجود در ساختار هر عصاره تعیین نشد ولی یافته‌های تحقیق حاضر در زمینه تأثیر نوع عصاره بر مقدار ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه لوبیا حاکی از تحت تأثیر قرار گرفتن مقدار فنل و فلاونوئید کل گیاهان بیمار شده بود. در بررسی انجام شده توسط تومونارو و همکاران (۴۶)، تیمار گیاه گوجه‌فرنگی با سالیسیلیک اسید موجب افزایش ترکیبات شیمیایی ثانویه مانند مقدار فنل کل گردید. طبق نظر این محققین، اکسیداسیون فنل ترکیبات دفاعی زیادی مانند هیدروژن پراکساید، سوپراکساید و رادیکال‌های آزاد تولید می‌کند که موجب تغییر فیزیولوژی و متابولیسم گیاه و فعال شدن آنزیم‌های دفاعی گیاه شده و به این ترتیب به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم باعث مقاومت در برابر تنش‌های مختلف می‌شود. بکر و همکاران (۵) نیز ثابت کردند که تیمار گیاه لوبیا با اسید سالیسیلیک موجب افزایش برخی ترکیبات دفاعی گیاه مانند آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز، فنل و فلاونوئید کل گردید. کاربرد آفت‌کش‌های

شیمیایی نیز ممکن است مقدار ترکیبات شیمیایی ثانویه مانند فلاونوئیدها، هیدروکسی‌سینامیک‌اسیدها، آنتوسیانین‌ها، آلکالوئیدها و مواد فرار ترپنوئیدی را تغییر دهد (۱۳). یافته‌های بررسی حاضر نیز نشان داد که کاربرد آفت‌کش اسپیروتترامات به تنهایی و یا در ترکیب با سایر تیمارهای آزمایشی بر مقدار دو ترکیب شیمیایی ثانویه مهم گیاه لوبیا یعنی فنل و فلاونوئید کل موثر بود.

بر اساس گزارش لیشتستین و همکاران (۲۳)، گیاه شوید دارای چهار ترکیب مهم است که علاوه بر خاصیت حشره‌کشی، باعث تشدید اثر آفت‌کش فسفره و کارباماته می‌شود. این ترکیبات عبارتند از: d-carvone که در بخش‌های هوایی به ویژه در دانه‌ها، myristicin که در بخش هوایی و ریشه، apiol و ایزومر آن dillapiol که فقط در ریشه‌ها است. طبق نظر این محققین، عصاره قسمت‌های هوایی به ویژه بذرها به دلیل غلظت بالای d-carvone خاصیت حشره‌کشی و تشدید اثر بالاتری نسبت به عصاره ریشه دارد. نتایج بررسی حاضر نیز حاکی از آن است که عصاره متانولی بذر شوید نقش موثری در افزایش کارایی آفت‌کش اسپیروتترامات از طریق افزایش ترکیبات دفاعی گیاه به ویژه فنل کل داشت. افزایش کمی یا کیفی مکانیسم دفاعی گیاه در مقابل آفات در واکنش به محرک‌های شیمیایی یا فیزیکی خارجی تحت عنوان مقاومت اکتسابی شناخته می‌شود (۴۴). در نتیجه این مقاومت، ترکیبات شیمیایی دفاعی مختلفی مانند پروتئین‌های ضدتغذیه، فنولیک‌ها، فلاونوئیدها، پروتئین‌های مهارکننده آنزیمی و غیره در گیاه تولید می‌شود (۱). تداوم مقاومت اکتسابی می‌تواند در کاهش نرخ رشد جمعیت حشرات گیاه‌خوار و تولیدمثل آن‌ها موثر باشد (۲۱). این احتمال وجود دارد که کاهش جمعیت سفیدبالک گلخانه و افزایش ترکیبات دفاعی گیاه لوبیا در گیاهان محلول‌پاشی شده با ترکیب اسپیروتترامات و عصاره متانولی شوید ناشی از القاء مقاومت در گیاه لوبیا باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه در تیمار اسپیروتترامات به تنهایی کم‌تر از سایر تیمارها بود اما اختلاف معنی‌داری نیز با تیمارهای تلفیقی و تیمار عصاره متانولی پوست گردو نداشت. هم‌چنین همه تیمارهای مورد مطالعه در مقایسه با شاهد روی تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه و افزایش مقدار فنل کل گیاه لوبیا نقش داشت. مصرف آفت‌کش‌ها به تنهایی ممکن است پیامدهای مضری مانند بروز سریع مقاومت در آفات را به همراه داشته باشد که همین عامل دلیل موجهی برای مصرف ترکیبات آلی به ویژه عصاره متانولی پوست گردو می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و کم خطر بودن ترکیبات آلی در کنترل تلفیقی آفات بر موجودات غیرهدف، استفاده از این ترکیبات برای کنترل سفیدبالک گلخانه قابل توصیه است. هم‌چنین، با توجه به دامنه وسیع این ترکیبات پیشنهاد می‌شود تا در خصوص تلفات ایجاد شده روی جمعیت آفت، تأثیر احتمالی بر ویژگی‌های زیستی و تولیدمثلی آفت و تأثیر روی سایر

سپاسگزاری

ترکیبات ثانویه گیاه پژوهش‌های بیش‌تری صورت بگیرد.

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد که بدین وسیله قدردانی می‌شود.

منابع

1. Agrawal A.A., and Karban R. 1999. Why induced defenses may be favored over constitutive strategies in plants. In: Tollrian, R. and Harvell, C.D. (eds) The ecology and evolution of inducible defenses. Princeton University press, Princeton, NJ., pp. 45-61.
2. Al-Hakimi A.N. 2008. Effect of salicylic acid on biochemical changes in wheat plants under khat leaves residue. Plant Soil and Environment 54: 288-293.
3. Asha K., Sucheta G., Kavita M., Nirmala D., and Jyoti S. 2010. Quantification of phenolics and flavonoids by spectrophotometer from Juglans regia. International Journal of Pharma and Bio Sciences 3: 1-4.
4. Babri R.A., Khokhar I., Mahmood Z. and Mahmud S. 2012. Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of *Anethum graveolens* L. Science International (Lahore) 24: 453-455.
5. Bakr A.A., Rezk H.A., Saleh S.M., and El-Morshedy N.H. 2020. Significance of foliar sprayed salicylic acid in kidney bean resistance against *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae) attack. Persian Journal of Acarology 9: 193-205.
6. Buttery R.G., Flath R.A., Mon T.R., and Ling L.C. 1986. Identification of Germacrene D in walnut husk and fig leaf volatiles. Journal of Agricultural and Food Chemistry 34: 820-822.
7. De Vis R.M., and Van Lenteren C. 2008. Biological control of *Trialeurodes vaporariorum* by *Encarsia formosa* on tomato in unheated greenhouse in the high altitude tropics. Bulletin of Insectology 61: 43-57.
8. Dinari A., Dolati L., Nematollahi M.R., Froutan S., and Food C. 2016. The effect of different concentrations of salicylic acid in inducing wheat resistance against Russian wheat aphid. The first electronic conference on new findings in the environment and agricultural ecosystems. Research Institute for New Energy and Environment, University of Tehran, Iran. (In Persian with English abstract)
9. Elhamahmy M.A.M., Mahmoud M.F., and Bayoumi T.Y. 2016. The effect of applying exogenous salicylic acid on aphid infection and its influence on histo-physiological traits and thermal imaging of canola. Cercetări Agronomice în Moldova XLIX: 67-85.
10. El-Yazal M.A.S. 2019. Impact of propolis extract as foliar spray on growth, yield and some chemical composition of spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants grown under calcareous saline soil. International Journal for Empirical Education and Research DOI: 10.35935/edr/32.141
11. Fernandez-Agullo A., Pereira E., Freire M.S., Valentao P., and Andrade P.B., González-Álvarez J., and Pereira J.A. 2013. Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. Industrial Crops and Products 42: 126-132.
12. Ghahari H., and Hatami B. 2000. Morphological and biological study of greenhouse whitefly. Journal of Agricultural Science and Technology and Natural Resources 4: 141-154.
13. Hancianu M., and Aprotosoae A.C. 2012. The effects of pesticides on plant secondary metabolites. Biotechnological Production of Plant Secondary Metabolites. Pp. 176-186 (11). DOI: 10.2174/978160805114411201010176
14. Hayat Q., Hayat S., Alyemeni M., and Ahmad A. 2012. Salicylic acid mediated changes in growth, photosynthesis, nitrogen metabolism and antioxidant defense system in *Cicer arietinum* L. Plant Soil and Environment 58: 417-423.
15. Huopalahti R., Lahtinen R., Hiltunen R., and Laakso I. 1988. Studies on the essential oils of dill seed herb, *Anethum graveolens* L. Flavour and Fragrance Journal 3: 121- 125.
16. Jones D.F. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. European Journal of Plant Pathology 109: 195-219.
17. Kannaiyan S. 2002. Insect pest management strategies: current trends and future prospectus. In: Ignacimuthu S. and S. Jeyaraj (eds) Strategies in integrated pest management. Phoenix Publishing House, New Delhi, India, pp. 1-13.
18. Khani A., and Basavand F. 2013. Chemical composition and insecticide activity of essential oil from dill seed seeds. International Journal of Agriculture: Research and Review 3: 489-494.
19. Khanjani M. 2005. Vegetable pests in Iran. Abu Ali Sina University Press, Hamedan, Iran, 467 p. (In Persian with English abstract)
20. Khavari-nejad R., and Asadi A. 2006. The effect of salicylic acid on some of the secondary metabolites (saponins and anthocynins) and induction of antimicrobial resistance in the medicinal plant *Bellis perennis* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 21: 553-586. (In Persian with English abstract)
21. Kogan M., and Paxton J. 1983. Natural inducers of plant resistance to insects. In: Hedin, P.A. (ed) Plant resistance

- to insects. American Chemical Society, Washington D.C., pp. 153-170.
22. Kumar B.V., Kuttalam S., and Chandrasekaran S. 2009. Efficacy of a new insecticide spirotetramat against cotton whitefly. *Pesticide Research Journal* 21: 45-48.
23. Lichtenstein, E.P., Liang T.T., Schulz K.R., and Schnoes H.K. 2002. Insecticidal and synergistic components isolated from dill seed plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 22: 658-64.
24. Mahram G., Kadry H., Thabet C., Olem N., Azizi M., Shiff J., Wong L., and Liv N. 1992. GC/MS analysis of volatile oil of fruits of *Anethum graveolens* L. *International Journal of Pharmacognoy* 30: 139-144.
25. Majnoon Hosseini N. 1989. Cereals in Iran. University Jihad Publications, University of Tabriz, 240 p. (In Persian with English abstract)
26. Mantashloo J., Deljoo A., and Aging S.T. 2017. Evaluation of phenols and flavonoids and antioxidant activity of ethanolic, methanolic, chloroform and ethyl acetate extracts of willow bark and willow branches (*Salix alba* L.). *Journal of Cellular and Molecular Research* 30: 295-303. (In Persian with English abstract)
27. Miliuskas G., Venskutonis P.R., and Van Beek T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal plants and aromatic plant extract. *Food Chemistry* 85: 231-237.
28. Morkunas I., and Gabrys B. 2011. Phytohormonal signaling in plant responses to aphid feeding. *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 2057-2073.
29. Mousavi M. 2014. Insecticidal effect of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) and dill seed (*Anethum graveolens* L.) essential oils on different biological stages of *Trialeurodes vaporariorum* Westwood and *Aphis gossypii* Glover invitro. Master Thesis in Entomology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran. (In Persian with English abstract)
30. Nauen R., Bretschneider T., Elbert A., Fischer R., Reckmann U., and Waetermeulen X.V. 2006. Biological and mechanistic considerations on the mode of action of spirotetramat 11 IUPAC Int. Congress of Pesticide Chemistry, Kobe, Japan. Book of Abstracts (2), II-1-i-21C, p.109th.
31. Nauen R., Reckmann U., Thomzik J., and Thielert W. 2008. Biological profile of spirotetramat (Movento)—a new two ways systemic (amimobile) insecticide against sucking pests. *Bayer Crop Science Journal* 61: 245-277.
32. Oliveira I., Sousa A., Ferreira C.F.R., Bento A., Estevinho L., Alberto Pereira J. 2008. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Food and Chemical Toxicology* 46: 2326-2331.
33. Pappas M.L., Migkou F., and Broufas G. 2013. Incidence of resistance to neonicotinoid insecticides in greenhouse populations of the whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Greece. *Applied Entomology and Zoology* 48: 378. DOI: 10.1007/s13355-013-0197-z
34. Pirasteh-Anosheh H., Emam Y., Ashraf M., and Foolad M.R. 2012. Exogenous application of salicylic acid and chlormequat chloride alleviates negative effects of drought stress in wheat. *Advanced Study in Biology* 11: 501-520.
35. Pourmorad F., Hosseinimehr S.J., and Shahabimajd N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* 5: 1142-1145.
36. Rafiei Karhroudi Z., Moharramipour S., Farazmand H., and Karimzadeh Isfahani J. 2010. Repellent and respiratory toxicity of 18 plant essential oils on the Indian *Plodia interpunctella* Hubner (Lep., Pyralidae). *Plant Protection* 24: 165-172. (In Persian with English abstract)
37. Rezaei Chianeh A., Valizadegan A., Tajbakhsh M., Dabbagh Mohammadi Nasab A., and Rimaz V. 2014. Study of crop yield and insect diversity in different cultivation patterns of bean and dill seed. *Journal of Crops Improvement* 16: 353-368. (In Persian with English abstract)
38. Rostami Jiwan N., Hejazi M.J., and Karimzadeh R. 2018. The effect of extracts of five plant species on second instar larvae of potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Applied Research in Plant Protection* 6: 87-99. (In Persian with English abstract)
39. Sararit P., and Auamcharoen W. 2020. Biological activities of essential oils from *Anethum graveolens* L. and *Allium sativum* L. for controlling *Tetranychus truncatus* Ehara and *Tetranychus urticae* Koch. *Journal of Biopesticides* 13: 1-12.
40. Seddigh S., and Kiani L. 2012. Whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) control by *Encarsia Formosa* Gahan and its color preference in commercial Gerbera greenhouse in Iran. *Annals of Biological Research* 3: 2414-2418.
41. Senaranta T., Teuchela D., Bumm, E., and Dixon K. 2002. Acetylsalicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Journal of Plant Growth Regulation* 30: 157-161.
42. Sharafati-Chaleshtori R., Sharafati-Chaleshtori F., Rafieian-kopaei M., Drees F., and Ashrafi K. 2010. Comparison of the antibacterial effect of ethanolic walnut (*Juglans regia*) leaf extract with chlorhexidine mouth rinse on *Streptococcus mutans* and *sanguinis*. *Journal of Islamic Dental Association of Iran (JIDAI)* 22: 211-17. (In Persian with English abstract)
43. Shishebor P. 2003. Whitefly (Biology, situation of pest and their management) by Geering Den .1988. Chamran University Press Center, Ahvaz Iran, p. 500-626. (In Persian with English abstract)

44. Smith C.M. 1989. Plant resistance to insects: a fundamental approach. John Wiley and Sons. New York.
45. Sun M.L., Song Z.Q., and Fang G.Z. 2007. Insecticidal activity and active components of alcohol extract from *Juglans mandshurica* Maxim leaves. Ying Yong Sheng Tai Xue Bao 18: 2910-4.
46. Tommonaro G., De prisco R., Abbamondi G.R., Marzocco S., Saturnino C., Poli A., and Nicolaus B. 2012. Evaluation of antioxidant properties, total phenolic content, and biological activities of new tomato hybrids of industrial interest. Journal of Medicinal Food 15: 483-489.
47. Toscano N.C., and Prabhaker N. 2011. Spiromesifen: a new pest management tool for whitefly management. Available at <http://www.insectscience.org/8.04/ref/abstract78.html>.
48. Wen X., Wu Q.J., Xu B.Y., Shao-Li W., and Zhang Y.u. 2011. Evaluation of the effect of spirotetramat on controlling *Bemisia tabaci*. China Vegetables 31: 69-73.
49. Yazdani Motlagh A. 2019. Agronomic and physiological responses of pinto bean to drought stress with the application of nano selenium. Master Thesis in Agronomy, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil. Iran. (In Persian with English abstract)



Effect of Different Organic and Chemical Compounds on Population Density of *Trialeurodes vaporariorum* Westwood and Some Secondary Metabolites of Bean Plant

M. Karamoozian¹- M. Pahlavan Yali^{2*}- K. Ahmadi³

Received: 13-02-2021

Accepted: 19-07-2021

Introduction: Greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemiptera: Aleyrodidae), is a serious pest of a wide range of plants, such as common bean, cucumber, tomato, pepper, lettuce, etc, in both field and greenhouse production. It typically feeds on the underside of leaves, sucking phloem sap from the plant, which causes both direct damage, by overall weakening the plant and reducing yield, and indirect damage, by excreting honeydew, on which sooty mold grows, as well as transmission of several plant viruses. The widespread use of insecticides to control *T. vaporariorum* has resulted in developing resistance to the insecticides and affected human's health and safety. The utilization of plant extract and elicitors is an environmentally safe method that is used in the control recently. Therefore, alternative control strategies are required to minimize the harmful effects of insecticides. In order to control this pest, environmentally friendly methods, especially of plant origin are recently considered by researchers. For this regard, the effect of some organic compounds including methanolic and n-hexanic extract of walnut's husk or dill's seeds and salicylic acid, individually and in combination with spirotetramat on population density of greenhouse whitefly's nymphs and some secondary compounds of bean plant were investigated.

Materials and Methods: Seeds of common bean, *Phaseolus vulgaris* L. (Berloty cultivar) were sown and grown in 15-cm-plastic pots in a greenhouse at $25 \pm 3^\circ\text{C}$, $50 \pm 10\%$ RH, and a natural photoperiod. For the experiments, potted bean plants at 6-8 leaf stage, highly infested with *T. vaporariorum* nymphs, were sprayed with 12 different treatments, including: (1) spirotetramat (SP), (2) methanolic extract of walnut husk (MW), (3) n-hexanic extract of walnut husk (NW), (4) methanolic extract of dill seed (MD), (5) n-hexanic extract of dill seed (ND), (6) salicylic acid (SA), (7) spirotetramat in combination with salicylic acid (SP+SA), (8) spirotetramat in combination with methanolic extract of dill seed (SP+MD), (9) spirotetramat in combination with methanolic extract of walnut husk (SP+MW), (10) spirotetramat in combination with n-hexanic extract of dill seed (SP+ND), (11) spirotetramat in combination with n-hexanic extract of walnut husk (SP+NW), and (12) water as a control (CO). After five days, the population density of *T. vaporariorum* nymphs on bean plants leaves was recorded. Furthermore, the effects of tested treatments on the total phenol and flavonoid contents of bean plants were evaluated. For this reason, dried leaves (5 g) from each treatment were used for the preparation of extracts. The total phenolic of the extracts were determined using the Folin - Ciocalteu reagent. Sample and standard readings were made using a spectrophotometer (Lambda 45-UV/Visible) at 765 nm against the reagent blank. Furthermore, the aluminum chloride colorimetric method was used for determination of the total flavonoid content of treatments. For total flavonoid determination, quercetin was used to make the standard calibration curve. The absorbance was read using a spectrophotometer (Lambda 45-UV/Visible) in the wavelengths of 415 nm. Data were analyzed by one-way ANOVA using SPSS 23.0 software. Comparison of means for nymph density using SNK (Student-Newman-Keuls) multi-range test and comparison of means for secondary chemical compositions using Tukey's test at probability level five Percentage occurred.

Results and Discussion: Results showed that the population density of greenhouse whitefly and the secondary metabolites of plant were significantly affected by the tested treatments. The lowest number of whitefly's nymphs was on spirotetramat and spirotetramat in combination with methanolic extract of dill seed and the highest number was on control. Total phenolic contents ranged from 58.96 to 114.07 mg g⁻¹ dry weight on different treatments, which the highest and lowest amount of it was obtained in spirotetramat in combination with methanolic extract of dill seed and spirotetramat in combination with n-hexanic extract of walnut husk, respectively. The highest amount of total flavonoid content of bean plants was in spirotetramat in combination with salicylic acid. The results of the present study showed that the density of greenhouse whitefly population in spirotetramate treatment was lower than other treatments but there was no significant difference with the

1, 2 and 3- M.Sc. Student, Associate Professor and Assistant Professor in Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: pahlavanm@uk.ac.ir)

DOI: 10.22067/JPP.2021.68750.1009

combined treatments and methanolic extract of walnut husk. Also, all the treatments compared to the control significantly changed the population density of this pest and increased the amount of total phenolic compound in bean plant. Therefore, these compounds, especially the methanolic extract of walnut husk, can be used in integrated management programs of this pest.

Conclusion: This research could provide valuable information for control of *T. vaporariorum* in other plants like ornamental plants in the field and greenhouse and thus can be useful for the production of healthy and organic crops. So it can be used in the IPM programs of this pest.

Keywords: Salicylic acid, Plant extract, Total flavonoid, Total phenol, Whitefly



مقاله پژوهشی

تأثیر کوددهی عناصر ریزمغذی در گیاه فلفل دلمه، *Capsicum annuum* L. بر رشد جمعیت پشه شته‌خوار، *Aphidoletes aphidimyza* Rondani با تغذیه از شته سبز هلو، *Myzus persicae* (Sulzer)

مجید میراب بالو^{۱*} - طیبه علی زمانی^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۱

چکیده

روابط میان گیاه-گیاه‌خوار-دشمن طبیعی بسیار پیچیده بوده و کیفیت گیاهان میزبان در سطح اول تغذیه می‌تواند پارامترهای زیستی دشمن طبیعی را در سطح سوم تغذیه‌ای تحت تأثیر قرار دهد. پشه شته‌خوار *Aphidoletes aphidimyza* Rondani در مرحله‌ی لاروی شکارگر اختصاصی گونه‌های مختلف‌ها شته از جمله شته سبز هلو *Myzus persicae* (Sulzer) است. در بررسی حاضر، تأثیر محلول‌پاشی گیاه فلفل دلمه، *Capsicum annuum* L. با کودهای ریزمغذی آهن، روی، مس و منگنز در مقایسه با شاهد روی پارامترهای زیستی و رشد جمعیت پشه شته‌خوار *A. aphidimyza* در تغذیه از شته سبز هلو مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج به دست آمده، محلول‌پاشی فلفل دلمه با کودهای ریزمغذی پارامترهای زیستی و جدول زندگی شکارگر را تحت تأثیر قرار داد و منجر به افزایش باروری، طول عمر حشرات کامل نر و ماده و دوره تخم‌ریزی شد. بیشترین و کمترین میزان باروری شکارگر به ترتیب در تیمار آهن (۳۹/۵ تخم) و شاهد (۲۴/۶۹ تخم) مشاهده شد. نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r) و نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ) پشه شته‌خوار در تیمار آهن بیشترین (به ترتیب ۰/۱۴۸ و ۱/۱۶۰ بر روز) و در شاهد کمترین (به ترتیب ۰/۰۹۷ و ۱/۱۰۲ بر روز) بود. بیشترین و کمترین مقادیر نرخ خالص تولید مثل (R_0) شکارگر نیز به ترتیب در تیمارهای آهن و شاهد (۱۵/۸ و ۶/۴۲ ماده/ماده/نسل) ثبت شد. همچنین، کمترین میانگین طول یک نسل (T)، *A. aphidimyza* در تیمار منگنز (۱۸/۰۹۶ روز) به دست آمد. بنابراین، استفاده از عناصر ریزمغذی با بهبود کیفیت گیاهان میزبان حشرات گیاه‌خوار می‌تواند با تأثیر مثبت بر زیست‌شناسی و جدول زندگی شکارگر *A. aphidimyza* در برنامه‌های مدیریت تلفیقی شته سبز هلو مورد استفاده موثر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: برهمکنش سه سطحی، پشه شته‌خوار، جدول زندگی دو جنسی، عناصر ریزمغذی

مقدمه

این محصول می‌شود. یکی از مهم‌ترین آفات آن شته‌ی سبز هلو، *Myzus persicae* (Sulzer) می‌باشد که حشره‌ای چندین‌خوار با دامنه میزبانی وسیع است. این آفت با تغذیه از شیره گیاهی و انتقال بیماری‌های ویروسی خسارت شدیدی در گیاهان میزبان ایجاد می‌کند (۱۲). به طور معمول برای کنترل شته‌ها از حشره‌کش‌های مختلف به ویژه سموم فسفره استفاده می‌شود. کاربرد بی‌رویه آفت‌کش‌ها علاوه بر صرف هزینه‌های بالا و تهدید سلامتی انسان و محیط زیست پیامدهایی مانند ایجاد مقاومت حشرات، از بین رفتن حشرات مفید، آلودگی محیط زیست، افزایش جمعیت آفات ثانویه و طغیان مجدد آفات دارد (۵). بنابراین استفاده از روش‌های جایگزین و البته سازگار با زیست بوم‌های زراعی الزامی است. کنترل بیولوژیک یکی از مهم‌ترین اجزا و بخش‌های مدیریت تلفیقی آفات است که با توجه به

فلفل دلمه‌ای، با نام علمی *Capsicum annuum* L.، گیاهی یک‌ساله، متعلق به تیره‌ی بادمجانیان و از محصولات مهم جالیزی است که غنی از مواد مغذی، ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های مهم برای سلامت انسان می‌باشد. موطن اولیه این گیاه کشور مکزیک و آمریکای جنوبی است (۲۹). فلفل دلمه‌ای در معرض حمله‌ی آفات و بیماری‌های مختلف قرار می‌گیرد که موجب کاهش کیفیت و کمیت

۱- دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
(*)- نویسنده مسئول: (Email: m.mirabbalou@ilam.ac.ir)

۲- دانش‌آموخته دکتری حشره‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران

aphidimyza مطالعه‌ای صورت نگرفته است، لذا در تحقیق حاضر، تاثیر کاربرد کودهای ریزمغذی در گیاه فلفل دلمه و تاثیر آن بر پارامترهای زیستی و رشد جمعیت پشه شته‌خوار *A. aphidimyza* با تغذیه از شته سبز هلو مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق می‌تواند در مدیریت شته سبز هلو و کاهش خسارت ناشی از آن در مزارع و گلخانه‌ها موثر باشد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاهان میزبان

بذر گیاه فلفل دلمه (رقم کالیفرنیا واندر) مورد استفاده در این پژوهش از شرکت گلپاد استان اصفهان تهیه شد. به منظور تسهیل در رشد و جوانه‌زنی، بذر این گیاه در داخل دستمال کاغذی مرطوب در ظروف پتری شیشه‌ای (به قطر ۹ و ارتفاع ۱/۵ سانتی‌متر) به مدت ۱۰ روز خیس‌انده شد. هر بذر در داخل گلدان پلاستیکی با قطر دهانه ۱۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر در مخلوطی از خاک و ماسه (به ترتیب با نسبت دو به یک) در گلخانه با شرایط دمایی 25 ± 5 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد با دوره نوری طبیعی کاشته شد. مقداری از خاک مورد استفاده برای کاشت گلدان‌ها به عنوان نمونه برای آزمایش تجزیه خاک و تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن مورد استفاده قرار گرفت. خاک مورد استفاده حاوی ۵/۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر، ۰/۱۴۰ درصد نیتروژن، ۱/۲۳ درصد کلسیم، ۰/۰۲ درصد پتاسیم، ۰/۰۳۶ درصد سدیم، ۰/۰۶۲ درصد منیزیم با اسیدیته ۷/۴۳ و هدایت الکتریکی ویژه آن ۰/۴۸۱ دسی‌سیمینز بر متر (ds/m) بود.

تیمارهای مورد مطالعه

این تحقیق در سال ۱۳۹۹ در گلخانه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۵۰ تکرار در هر تیمار انجام شد. تیمار کودی، محلول‌پاشی گیاهان فلفل با استفاده از ریزمغذی‌ها در مرحله رشدی چهار تا شش برگی بود. سطوح تیمار شامل: (۱) محلول‌پاشی با ریزمغذی مگنر ۵ درصد به میزان یک میلی‌لیتر در یک لیتر آب، (۲) محلول‌پاشی با ریزمغذی مس ۴ درصد به میزان یک میلی‌لیتر در یک لیتر آب، (۳) محلول‌پاشی ریزمغذی روی ۷ درصد به میزان یک میلی‌لیتر در یک لیتر آب، (۴) محلول‌پاشی با ریزمغذی آلفا آهن ۱۳ درصد به میزان ۱/۷ گرم در یک لیتر آب و (۵) محلول‌پاشی با آب به عنوان شاهد بدون کوددهی انجام گرفت.

پرورش حشرات

جمعیت اولیه شته سبز هلو از یک کلنی آزمایشگاهی موجود در آزمایشگاه تحصیلات تکمیلی گروه گیاهپزشکی دانشگاه لرستان - خرم‌آباد تهیه شد. شته‌ها با قلم موی نازک روی گیاهان فلفل دلمه

سازگاری این روش با دیگر روش‌های کنترل آفات و خطر کمتر نسبت به استفاده از سموم شیمیایی می‌تواند نقش و اهمیت قابل توجهی در مدیریت تلفیقی آفات داشته باشد (۳۱). یکی از مهم‌ترین دشمنان طبیعی گونه‌های مختلف شته در اکوسیستم‌های زراعی، پشه شته‌خوار *Aphidoletes aphidimyza* Rondani است (۳۰). لاروهای این شکارگر ابتدا با تزریق سم به بدن شته باعث فلج شدن طعمه می‌شوند و سپس با ایجاد سوراخ در ناحیه قفس سینه طعمه، شروع به تغذیه از محتویات بدن آن می‌کنند (۲۳). پشه شته‌خوار *A. aphidimyza* به علت سازگاری با بیشتر آفت‌کش‌ها و تغذیه اختصاصی از جمعیت شته‌ها از سال ۱۹۷۰ به عنوان عامل کنترل بیولوژیک گونه‌های مختلف شته در محصولات گلخانه‌ای مطرح شده است (۲۰، ۲۴، ۲۶ و ۳۶). تعیین کارایی یک عامل بیوکنترل مناسب می‌تواند از طریق ارزیابی پارامترهای زیستی و رشد جمعیت با استفاده از مدل‌های مربوط به سیستم شکار-شکارگر انجام گیرد.

استفاده از عناصر غذایی کم مصرف و کودهای ریزمغذی که به مقدار کمتر از عناصر غذایی اصلی مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم مصرف می‌شوند، می‌تواند با بهبود کیفیت رشد و عملکرد محصول به عنوان ابزاری برای رسیدن به حداکثر تولید محصول و کاهش خسارت آفات مورد توجه قرار گیرد. عناصر ریزمغذی مانند آهن، روی، مس و منگنز از اجزای اصلی در ساختار آنزیم‌ها و پروتئین‌های گیاهان هستند و نقش مهمی در فرآیندهای سلولی، فتوسنتز، تقسیم سلولی و سنتز ماکرومولکول‌ها دارند (۱۵ و ۱۹). محلول‌پاشی این عناصر به علت فقدان آن‌ها در خاک می‌تواند باروری خاک، کیفیت رشد و میزان مواد شیمیایی دفاعی گیاهان را بهبود بخشد که به نوبه خود می‌توانند بر ویژگی‌های اکولوژی و فیزیولوژی گیاه‌خواران و متعاقباً سطوح غذایی بالاتر آن‌ها یعنی دشمنان طبیعی تأثیر بگذارند (۸، ۱۵ و ۲۱). گزارش‌های متعدد حاکی از ارتباط بین کوددهی با کیفیت محصول و تاثیر آن بر رشد جمعیت حشرات آفات و دشمنان طبیعی آن‌ها می‌باشد. از سوی دیگر گزارش‌هایی مبنی بر نقش گیاهان بر روابط متقابل دشمنان طبیعی و حشرات گیاه‌خوار ارائه شده است. به عنوان مثال گیاهان به عنوان یکی از عوامل موثر بر تخم‌ریزی *A. aphidimyza* گزارش شده‌اند (۲۵). مطالعه تاثیر کود نیتروژن در سه سطح غذایی نشان می‌دهد که نیتروژن در روابط متقابل گیاه-گیاه‌خوار موثر است. به طوری که، این عنصر نه تنها کیفیت گیاه را به عنوان غذا برای گیاه‌خوار تغییر می‌دهد بلکه از طریق حشره گیاه‌خوار به طور گسترده روی دشمن طبیعی آن تأثیر می‌گذارد (۶). در یک تحقیق دیگر، متقی‌نیا و همکاران (۲۷) تاثیر گیاه میزبان (نوع رقم) و مقدار کود ورمی‌کمپوست را بر اغلب پارامترهای زیستی شته جالیز، *Aphis gossypii* Glover و پشه شته‌خوار *A. aphidimyza* گزارش کردند. با توجه به این که تاکنون در ایران در ارتباط با تاثیر عناصر ریزمغذی روی ویژگی‌های زیستی و جدول زندگی پشه شته‌خوار *A.*

برای برآورد پارامترهای رشد جمعیت شکارگر شامل نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r)، نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ)، نرخ خالص تولید مثل (R_0)، نرخ ناخالص تولید مثل (GRR) و میانگین طول یک نسل (T) و همچنین پارامترهای زیستی شامل نرخ بقای ویژه سنی - مرحله‌ی رشدی (S_{xj})، نرخ بقای ویژه سنی (l_x)، باروری ویژه سنی - مرحله‌ی رشدی (f_{xj}) و باروری ویژه سنی (m_x) از روش جدول زندگی دو جنس، (۷) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌های خام به دست آمده از مراحل زیستی پشه شته خوار *A. aphidiomyza* در تغذیه از شته سبز هلو روی تیمارهای مختلف، با استفاده از روش جدول زندگی دو جنسی سنی-مرحله رشدی در نرم‌افزار TWOSEX-MSChart توصیف شده به وسیله چی (۷) صورت گرفت. برای تکراردار کردن پارامترها از روش بوت استرپ با ۱۰۰۰۰ تکرار استفاده شد. مقایسه اختلاف آماری پارامترها با استفاده از روش Paired Bootastrap در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل انجام شد.

تاثیر کودهای ریزمغذی بر پارامترهای زیستی شکارگر *A. aphidimyza*

براساس نتایج به دست آمده، طول دوره‌های جینی تخم ($P < 0.05$)، $P < 0.05$ ، $F = 1374/181$ ، $df = 4$ و 23.5 ، $P < 0.05$ ، $F = 719/216$ و $df = 4$ و 152 ، $P < 0.05$ و $df = 4$ ، پشه شته‌خوار *A. aphidimyza* در تیمارهای مختلف معنی‌دار بود (جدول ۱). طول دوره جینی تخم ($3/34$ روز) و سفیرگی ($8/23$ روز) در تیمار شاهد بیش‌ترین بود. طول دوره رشد لاروی شکارگر ($4/76$ و $4/60$ روز) نیز در تیمارهای روی و آهن بیش‌تر از سایر تیمارها به دست آمد. تاثیر کوددهی و تغذیه از شته‌های پرورش یافته روی گیاهان تیمار شده با ریزمغذی‌های مختلف بر طول عمر حشرات کامل نر ($P < 0.05$)، $P < 0.05$ ، $F = 66/0.9$ ، $df = 4$ و 68 و ماده ($P < 0.05$)، $P < 0.05$ ، $F = 97/532$ ، $df = 4$ و 79 شکارگر معنی‌دار بود (جدول ۱). به طوری‌که در مقایسه با شاهد، کوددهی منجر به افزایش طول

جمعیت اولیه پشه شته‌خوار از گلخانه‌های پرورش خیار آلوده به شته‌ی جالیز تهیه شد. شناسایی پشه شته‌خوار *A. aphidimyza* در مرحله حشره کامل انجام شد (۱۳). به منظور تأمین منبع غذایی مطلوب (عسلک) و بستر مناسب تخم‌ریزی برای پشه شته‌خوار *A. aphidimyza* از بوته‌های آلوده به شته سبز هلو استفاده شد. این بوته‌ها در گلخانه داخل قفس‌های طلقی شفاف (۶۰×۶۰×۶۰ سانتی‌متر) قرار داده شدند. لاروهای خارج شده از تخم، از شته‌های موجود بر روی برگ‌های آلوده به عنوان منبع غذایی استفاده نمودند. برای رهاسازی پشه شته‌خوار روی گیاهان مذکور، شفیبه‌های این شکارگر داخل ظروف حاوی ماسه مرطوب (جهت حفظ رطوبت) به داخل قفس‌ها منتقل شدند تا حشرات کامل پس از خارج شدن از شفیبه، جفت‌گیری کرده و تخم‌ها را در کلنی شته‌ها قرار دهند. به منظور تداوم کلنی پشه شته‌خوار *A. aphidimyza*، گیاهان سالم آلوده به شته داخل قفس‌های حاوی پشه انتقال داده می‌شد. پشه شته‌خوار *A. aphidimyza* در هر یک از تیمارهای مورد بررسی قبل از شروع آزمایش‌ها دو نسل پرورش یافت.

برای بررسی زیست‌شناسی و جدول زندگی زادآوری پشه شته‌خوار *A. aphidimyza* با تغذیه از شته سبز هلو پرورش یافته روی هر یک از تیمارهای آزمایشی، از ظروف پلاستیکی شفاف به ابعاد ۴×۷×۸ سانتی‌متر استفاده شد. برای تامین تهویه این ظروف سوراخی به ابعاد ۲×۲ سانتی‌متر در سرپوش هر ظرف ایجاد و با پارچه‌ی توری ظریف پوشانده شد. در کف هر ظرف یک برگ تهیه شده از گیاهان کوددهی شده با ریزمغذی‌های مختلف روی یک لایه پنبه‌ی مرطوب قرار داده شد، به طوری که سطح زیرین برگ رو به بالا باشد. در ابتدای آزمایش یک عدد تخم تازه گذاشته شده با عمر کمتر از ۱۲ ساعت روی برگ فلفل دلمه‌ای استفاده از قلم موی ظریف قرار داده شد. طول دوره جنینی تخم (۵۰) تخم در هر تیمار، زنده‌مانی و طول دوره لاروی شکارگر در هر تیمار ثبت شد. طی آزمایش روزانه مخلوطی از سنین مختلف شته (۶۰ شته از سنین سوم و چهارم پوره‌گی و بیش از حد مورد نیاز یک فرد شکارگر) در هر یک از تیمارهای آزمایشی، برای تغذیه لاروهای پشه شته‌خوار *A. aphidimyza*، به تفکیک روی برگ‌های هر یک از تیمارها قرار داده شد. پیش از وارد شدن لاروهای پشه به مرحله‌ی شفیرگی، مقداری ماسه‌ی استریل جهت مهیا کردن بستر شفیرگی در اطراف برگ‌ها ریخته شد. طول دوره شفیرگی در تیمارهای مختلف ثبت شد. پس از ظهور حشرات کامل، یک حفت

کامل ($F = 40/145$, $df = 4$ و 79 , $P < 0/05$) و روزهای تخم‌ریزی ($F = 86/85$, $df = 4$ و 79 , $P < 0/05$) معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین (۱۶/۱۵۳ روز) و کمترین (۱۴/۸۲۳) مقادیر دوره پیش از تخم‌ریزی کل شکارگر به ترتیب در تیمارهای شاهد و منگنز مشاهده شد. بیشترین (۶/۴ روز) و کمترین (۵/۱۵۳ روز) دوره تخم‌ریزی حشرات ماده *A. aphidimyza* به ترتیب با تغذیه از شته‌های پرورش یافته روی گیاهان تیمار شده با ریزمغذی آهن و شاهد به دست آمد و بین ریزمغذی آهن با دیگر ریزمغذی‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

عمر حشرات کامل نر و ماده شکارگر شد (جدول ۱). همچنین، تاثیر کوددهی بر دوره زیستی ($F = 53/347$, $df = 4$ و 152 , $P < 0/05$) و زادآوری شکارگر ($F = 178/744$, $df = 4$ و 79 , $P < 0/05$) معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین دوره زیستی (۲۱/۲۸۵ روز) و زادآوری شکارگر (۳۹/۵۰ تخم) در تیمار ریزمغذی آهن ثبت شد دوره پیش از تخم‌ریزی حشرات ماده پشه شته‌خوار (APOP) یعنی مدت زمان ظهور حشرات کامل تا اولین تخم‌ریزی در تیمارهای مختلف معنی‌دار نبود و در همه تیمارها برابر یک بود. اما کل دوره پیش از تخم‌ریزی (TPOP) یعنی بازه زمانی از مرحله تخم تا اولین تخم‌ریزی حشره

جدول ۱- میانگین ($\pm$ خطای معیار) دوره رشد و نمو و طول عمر افراد بالغ *Aphidoletes aphidimyza* در تغذیه از شته سبب هلو *Myzus persicae* پرورش یافته روی فلفل دلمه *Capsicum annuum* L. تیمار شده با کودهای ریزمغذی

Table 1- The mean ($\pm$) of developmental time period and adult individuals' longevity of *Aphidoletes aphidimyza* fed on *Myzus persicae* reared on bell pepper *Capsicum annuum* L. treated with micronutrient fertilizers.

تیمار	تخم	لارو	شفیره	طول عمر ماده	طول عمر نر
Treatment	Egg	Larvae	Pupa	Female-longevity	Male-longevity
شاهد Control	3.34±0.10a	3.47±0.09c	8.23±0.15a	6.153±0.153c	4.769±0.199c
آهن Fe	2.34±0.07c	4.60±0.11a	7.43±0.10b	7.450±0.133a	6.200±0.323a
منگنز Mn	2.34±0.07c	4.05±0.11b	7.41±0.12b	7.352±0.239ab	5.823±0.211ab
مس Cu	2.76±0.10b	4.15±0.14b	7.59±0.17b	6.875±0.238b	5.307±0.260bc
روی Zn	2.32±0.07c	4.76±0.11a	7.67±0.13b	7.111±0.224ab	5.466±0.234ab

خطای استاندارد با ۱۰۰۰۰۰ بوت استرپ محاسبه شد و اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون بوت استرپ جفت شده براساس فاصله اطمینان است.

The standard errors were estimated via 100,000 bootstraps and compared through paired bootstrap test based on confidence intervals of differences.

جدول ۲- میانگین ($\pm$ خطای معیار) برخی پارامترهای زیستی *Aphidoletes aphidimyza* تغذیه شده از شته سبب هلو *Myzus persicae* پرورش یافته روی فلفل دلمه *Capsicum annuum* L. تیمار شده با کودهای ریزمغذی

Table 2- The mean ($\pm$) of some biological parameters of *Aphidoletes aphidimyza* fed on *Myzus persicae* reared on bell pepper *Capsicum annuum* L. treated with micronutrient fertilizers.

تیمار	دوره پیش از تخم‌ریزی افراد بالغ	کل دوره پیش از تخم‌ریزی افراد بالغ	زادآوری	چرخه زیستی	روزهای تخم‌ریزی
Treatment	APOP	TPOP	Fecundity	Life span	Ovi-days
شاهد Control	1±0a	16.153±0.295a	24.69±1.750d	20.576±0.292ab	5.153±0.153b
آهن Fe	1±0a	15.300±0.204bc	39.50±1.252a	21.285±0.246a	6.400±0.132a
منگنز Mn	1±0a	14.823±0.296c	36.76±2.224ab	20.441±0.293b	6.294±0.251a
مس Cu	1±0a	15.375±0.442abc	32.50±1.679bc	20.517±0.345ab	5.875±0.238a
روی Zn	1±0a	15.611±0.213ab	28.83±2.018cd	21.030±0.277ab	6.111±0.224a

خطای استاندارد با ۱۰۰۰۰۰ بوت استرپ محاسبه شد و اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون بوت استرپ جفت شده براساس فاصله اطمینان است.

The standard errors were estimated via 100,000 bootstraps and compared through paired bootstrap test based on confidence intervals of differences.

افزایش جمعیت (۰/۱۴۸ بر روز)، نرخ خالص تولید مثل (۱۵/۸۰) ماده/ماده/نسل) و نرخ متناهی افزایش جمعیت (۱/۱۶۰ بر روز) در ریزمغذی آهن و کمترین مقدار این پارامترها در شاهد مشاهده شد. همچنین بیشترین (۳۸/۱۴) ماده/ماده/نسل) و کمترین (۱۹/۹۲) ماده/ماده/نسل) مقادیر نرخ خالص تولید مثل *A. aphidimyza* با تغذیه از شته‌های پرورش یافته در گیاهان فلفل تیمار شده با ریزمغذی مس و شاهد ثبت شد بیشترین (۱۹/۰۰۳ روز) و کمترین (۱۸/۰۹۶ روز) مقادیر میانگین طول یک نسل شکارگر *A. aphidimyza* به ترتیب در تیمارهای شاهد و ریزمغذی منگنز به دست آمد.

تأثیر کودهای ریزمغذی بر پارامترهای رشد جمعیت *aphidimyza*

تأثیر تغذیه از شته‌های پرورش یافته روی گیاهان فلفل دلمه تیمار شده با کودهای ریزمغذی بر پارامترهای رشد جمعیت *A. aphidimyza* معنی‌دار بود (جدول ۳). براساس نتایج به دست آمده، محلول‌پاشی گیاهان با کودهای ریزمغذی منجر به افزایش معنی‌دار نرخ ذاتی افزایش جمعیت، ($P < 0.05$ ، $df=4$ و 245 ، $F=129/183$)، نرخ متناهی افزایش جمعیت، ($P < 0.05$ ، $df=4$ و 245 ، $F=129/187$)، نرخ خالص تولید مثل، ($P < 0.05$ ، $df=4$ و 245 ، $F=112/466$) و نرخ خالص تولید مثل، ($P < 0.05$ ، $df=4$ و 245 ، $F=99/849$) در مقایسه با شاهد شد. بیشترین مقادیر نرخ ذاتی

جدول ۳- میانگین ($\pm$ خطای معیار) پارامترهای جدول زندگی *Aphidoletes aphidimyza* تغذیه شده از شته سبز هلو *Myzus persicae* پرورش یافته روی فلفل دلمه *Capsicum annuum* L. تیمار شده با کودهای ریزمغذی

Table 3- The mean ($\pm$) of demographic parameters of *Aphidoletes aphidimyza* fed on *Myzus persicae* reared on bell pepper *Capsicum annuum* L. treated with micronutrient fertilizers

تیمار Treatment	نرخ ذاتی افزایش جمعیت r (day ⁻¹)	نرخ خالص تولیدمثل R_0 (offspring/individual)	نرخ متناهی افزایش جمعیت λ (day ⁻¹)	میانگین طول یک نسل T (day)	نرخ ناخالص تولیدمثل GRR (offspring)
شاهد Control	0.097 $\pm$ 0.014b	6.42 $\pm$ 1.595b	1.102 $\pm$ 0.015b	19.003 $\pm$ 0.375ab	19.92 $\pm$ 3.364b
آهن Fe	0.148 $\pm$ 0.010a	15.80 $\pm$ 2.774a	1.160 $\pm$ 0.011a	18.579 $\pm$ 0.187ab	27.57 $\pm$ 3.988ab
منگنز Mn	0.139 $\pm$ 0.012a	12.50 $\pm$ 2.569a	1.149 $\pm$ 0.013a	18.096 $\pm$ 0.293b	29.09 $\pm$ 4.346ab
مس Cu	0.128 $\pm$ 0.012ab	10.40 $\pm$ 2.203ab	1.137 $\pm$ 0.014ab	18.235 $\pm$ 0.541ab	38.14 $\pm$ 6.782a
روی Zn	0.123 $\pm$ 0.011ab	10.38 $\pm$ 2.090ab	1.131 $\pm$ 0.012ab	18.878 $\pm$ 0.228a	23.75 $\pm$ 3.393ab

خطای استاندارد با ۱۰۰۰۰۰ بوت استرپ محاسبه شد و اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون بوت استرپ جفت شده براساس فاصله اطمینان است.

The standard errors were estimated via 100,000 bootstraps and compared through paired bootstrap test based on confidence intervals of differences.

بیشترین نسبت زنده‌مانی مراحل شفیره‌گی (۰/۸ درصد)، حشرات کامل ماده (۰/۴ درصد) و نر (۰/۳۲ درصد) به ترتیب در تیمارهای آهن و منگنز مشاهده شد. باروری ویژه سنی- مرحله رشدی (f_{xj}) و میزان باروری ویژه سنی- *A. aphidimyza* (m_x) روی تیمارهای مختلف ریزمغذی در شکل ۲ نشان داده شده است. بیشترین مقادیر باروری ویژه سنی- مرحله رشدی پشه‌ی شته‌خوار ۷/۰۵، ۷/۳۳، ۶/۵۸، ۵/۹۴ و ۵/۵ تخم به ترتیب در روزهای ۲۲، ۱۹، ۱۷، ۱۸ و ۲۰ در تیمارهای مس، آهن، منگنز، روی و شاهد بود. شروع باروری ویژه سنی- شکارگر در تیمارهای مس، آهن، منگنز، روی و شاهد به ترتیب در روزهای ۱۱، ۱۳، ۱۳، ۱۴ و ۱۴ بود. بیشترین مقادیر باروری ویژه سنی به ترتیب برابر ۵/۵، ۴/۲۷، ۴، ۳/۴۵ و ۴ تخم در روزهای ۲۲، ۱۹، ۱۹، ۱۸ و ۲۱ در تیمارهای فوق‌الذکر مشاهده شد. حداکثر

تأثیر کودهای ریزمغذی بر نرخ بقا ویژه سنی- مرحله رشدی (S_{xj})، باروری ویژه سنی- مرحله رشدی (f_{xj})، باروری ویژه سنی (m_x) و زادآوری ویژه سنی ($l_x m_x$) پشه‌ی شته‌خوار

تأثیر تیمارهای ریزمغذی بر نرخ بقای ویژه سنی- مرحله رشدی (S_{xj}) پشه‌ی شته‌خوار که احتمال زنده ماندن هر فرد در سن x و رشد تا مرحله z را نشان می‌دهد در شکل ۱ نمایش داده شده است. همینطور به علت تفاوت و تغییرات در زمان رشد افراد مختلف یک جمعیت در منحنی بقای ویژه سنی هم‌پوشانی مراحل مختلف رشدی دیده می‌شود. براساس نتایج، حداکثر نرخ بقای مراحل لاروی شکارگر در تیمارهای آهن، روی و مس در روزهای ۴، ۳ و ۵ بود. همچنین

زادآوری ویژه سنی ($A. aphidimyza$ (l_{xm})) یعنی حداکثر تعداد تخم تولید شده در هر روز به ترتیب برابر $۱/۶۸$ ، $۲/۸۲$ ، $۲/۲۴$ ، $۲/۱۴$ و $۱/۳۶$ تخم در روزهای ۱۷، ۱۹، ۱۷ و ۱۸ در تیمارهای مس، آهن، منگنز، روی و شاهد بود. امید به زندگی ($A. aphidimyza$ (e_{xj})) با تغذیه از شته سبز هلو در گیاهان فلفل دلمه‌ای تیمار شده با ریزمغذی‌های مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است. بیشترین امید به زندگی شکارگر در اولین روز از مراحل تخم، لارو و شفیره به ترتیب برابر با $۱۷/۹۸$ ، $۱۵/۹۸$ و $۱۵/۳۵$ روز در ریزمغذی آهن بود. بیشترین امید به زندگی در حشرات کامل ماده و نر به ترتیب برابر $۱۱/۲۵$ و $۷/۶۸$ روز در روزهای ۱۰ و ۱۲ در ریزمغذی مس و منگنز بود کمترین امید به زندگی تمامی مراحل رشدی $A. aphidimyza$ در تیمار شاهد مشاهده شد.

بحث

روابط و اثرات متقابل سه سطح تغذیه‌ی اصلی زیست بوم‌های کشاورزی یعنی گیاهان، گیاهخواران و دشمنان طبیعی بسیار پیچیده می‌باشد (۳۵). گیاهان میزبان به عنوان سطح اول تغذیه، پارامترهای زیستی و فیزیولوژیک حشره گیاهخوار و دشمن طبیعی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱۸). از طرفی دینامیسم جمعیت حشرات شکارگر آفات گیاهی به کیفیت گیاهان میزبان آفت وابسته است (۳۲).

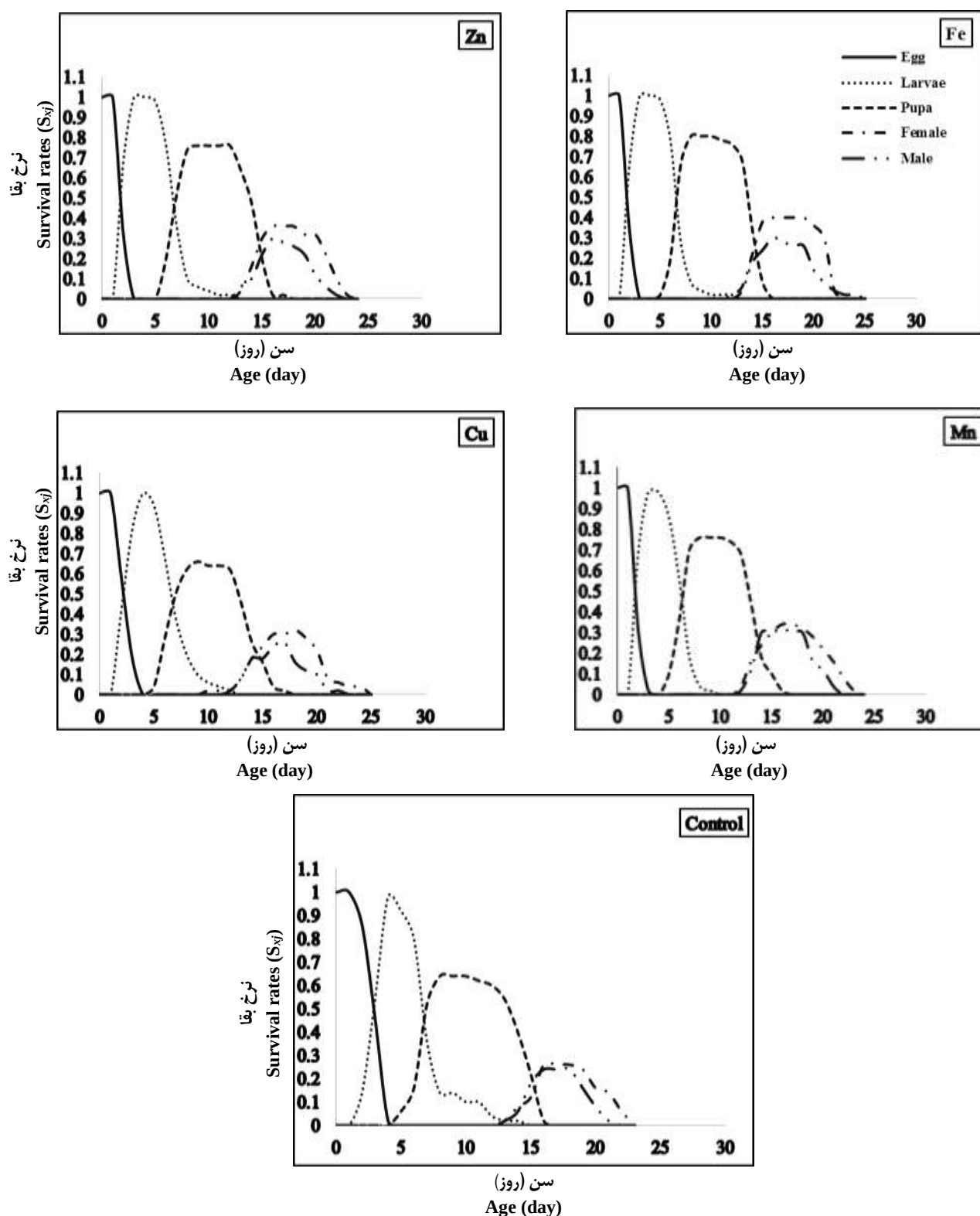
نتایج بررسی حاضر نشان داد که تغذیه از شته سبز هلو پرورش یافته روی فلفل دلمه تیمار شده با کودهای ریزمغذی پارامترهای زیستی و جدول زندگی $A. aphidimyza$ را به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار داد. دوره جنینی تخم، شفیره‌گی و کل دوره رشد و نمو پیش از بلوغ شکارگر در تیمارهای ریزمغذی در مقایسه با شاهد کوتاه‌تر و دوره رشد لاروی، دوره تخم‌ریزی، باروری و طول عمر حشرات کامل نر و ماده شکارگر در تیمارهای ریزمغذی نسبت به شاهد طولانی‌تر بود. با توجه به فعالیت تغذیه‌ای و قدرت شکارگری $A. aphidimyza$ در مرحله لاروی از شته‌ها، می‌توان گفت که محلول‌پاشی گیاهان فلفل دلمه با کودهای ریزمغذی با تاثیر بر رشد و کیفیت مواد غذایی سطوح پایین و میانی زنجیره غذایی (گیاه-گیاهخوار) تاثیر مثبتی بر رشد و نمو $A. aphidimyza$ داشت. همچنین براساس نتایج به دست آمده در بررسی حاضر، محلول‌پاشی گیاهان فلفل دلمه‌ای با عناصر ریزمغذی منجر به افزایش طول عمر حشرات کامل شکارگر در تیمارهای ریزمغذی نسبت به شاهد شد که طبیعتاً افزایش نرخ تولیدمثل و باروری شکارگر را در پی داشت. از طرفی باروری حشرات کامل ماده $A. aphidimyza$ به تغذیه لاروها بستگی دارد و طولانی‌تر شدن دوره رشد لاروی در تیمارهای ریزمغذی با توجه به قدرت اختصاصی آن‌ها در این مرحله رشدی برای تغذیه از شته‌ها می‌تواند منجر به افزایش باروری و طول عمر حشرات کامل شکارگر شود.

نتایج بررسی حاضر حاکی از کاهش دوره پیش از تخم‌ریزی کل (TPOP) شکارگر در تیمارهای ریزمغذی در مقایسه با شاهد بود. در واقع محلول‌پاشی گیاهان با عناصر ریزمغذی زمان رسیدن به تخم‌ریزی شکارگر را کاهش داد. این یافته با نتایج گزارش شده فلاچ‌پور و همکاران (۱۰) در بررسی سطوح مختلف کوددهی نیتروژن در گیاه کلزا با شته خردل (*Lipaphis erysimi* Kalt) و پشه شکارگر ($A. aphidimyza$) همخوانی دارد.

منبع غذایی با کیفیت بالا، منجر به کاهش دوره پیش از تخم‌ریزی، بلوغ زودرس تخمدان‌ها و طولانی‌تر شدن دوره تخم‌ریزی می‌شود (۱۷ و ۲۸). همچنین گزارش شده است که کیفیت طعمه بر باروری، طول عمر و بقا حشرات تاثیر دارد (۳) و کیفیت پایین‌تر مواد غذایی، رشد و نمو و دوره کمون تخم را به تاخیر می‌اندازد (۳۳) که نتایج بررسی حاضر هم حاکی از بهبود کیفیت طعمه با کاربرد عناصر ریزمغذی است.

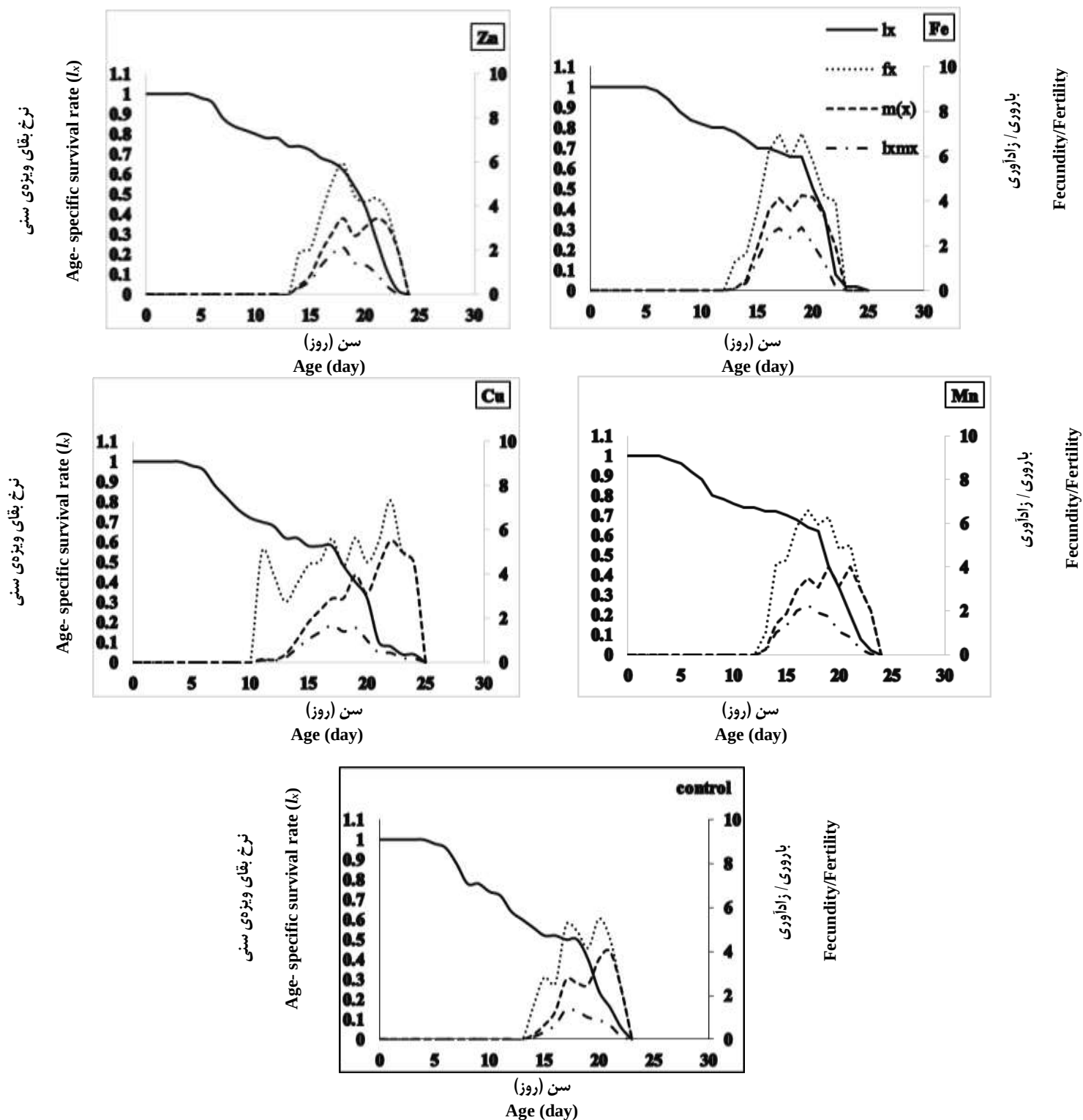
جدول زندگی می‌تواند توصیف جامع‌ای از رشد و نمو، بقا و باروری یک جمعیت را ارائه دهد و در میان پارامترهای رشد جمعیت، نرخ ذاتی افزایش جمعیت به عنوان مهم‌ترین شاخص کلیدی نشان دهنده تاثیر کلی طعمه، تغذیه و شرایط محیطی بر ویژگی‌های رشد، تولیدمثل، بقا، باروری و سازگاری جمعیت حشرات است (۳۴).

محلول‌پاشی گیاهان فلفل دلمه‌ای با کودهای ریزمغذی به ویژه آهن و بعد منگنز منجر به افزایش معنی‌دار مقادیر نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r)، نرخ خالص تولید مثل (R_0)، نرخ ناخالص تولید مثل (GRR) و نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ) شد که حاکی از اهمیت کیفیت تغذیه گیاه از طریق محلول‌پاشی با عناصر ریزمغذی و تاثیر مثبت آن بر رشد و نمو شکارگر بود. در حقیقت تغذیه گیاه با مواد مغذی، بقا، تغذیه و رشد طعمه و شکارگر را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۴). مقادیر نرخ ذاتی و نرخ خالص تولید مثل به دست آمده در این مطالعه مشابه مقادیر گزارش شده به وسیله سایر محققین است (۱۰، ۱۶ و ۲۴). افزایش مقادیر پارامترهای رشد جمعیت شکارگر به ویژه شاخص r در تیمارهای ریزمغذی نسبت به شاهد را می‌توان به پتانسیل تولیدمثل بیشتر شکارگر در تیمارهای ریزمغذی به علت تغذیه مناسب و جذب سریع‌تر مواد غذایی در گیاه میزبان نسبت داد. کودهای ریزمغذی به ویژه آهن و منگنز با تغییر در کیفیت گیاهان میزبان حشرات گیاهخوار، منجر به بهبود جنبه‌های مختلفی از ویژگی‌های زیستی و جدول زندگی سطح غذایی بالاتر (دشمن طبیعی) در برهمکنش گیاه-گیاهخوار شده‌اند. در این تحقیق، گیاهان فلفل دلمه تیمار شده با ریزمغذی‌های آهن و منگنز با تاثیر بر ارزش غذایی گیاهان میزبان، منجر به افزایش قابل توجه نرخ ذاتی افزایش جمعیت، نرخ خالص تولید مثل، طول عمر حشرات بالغ ماده، متوسط تخم‌ریزی روزانه و زادآوری پشه شته‌خوار $A. aphidimyza$ در مقایسه با سایر تیمارهای ریزمغذی و به ویژه شاهد شده است.

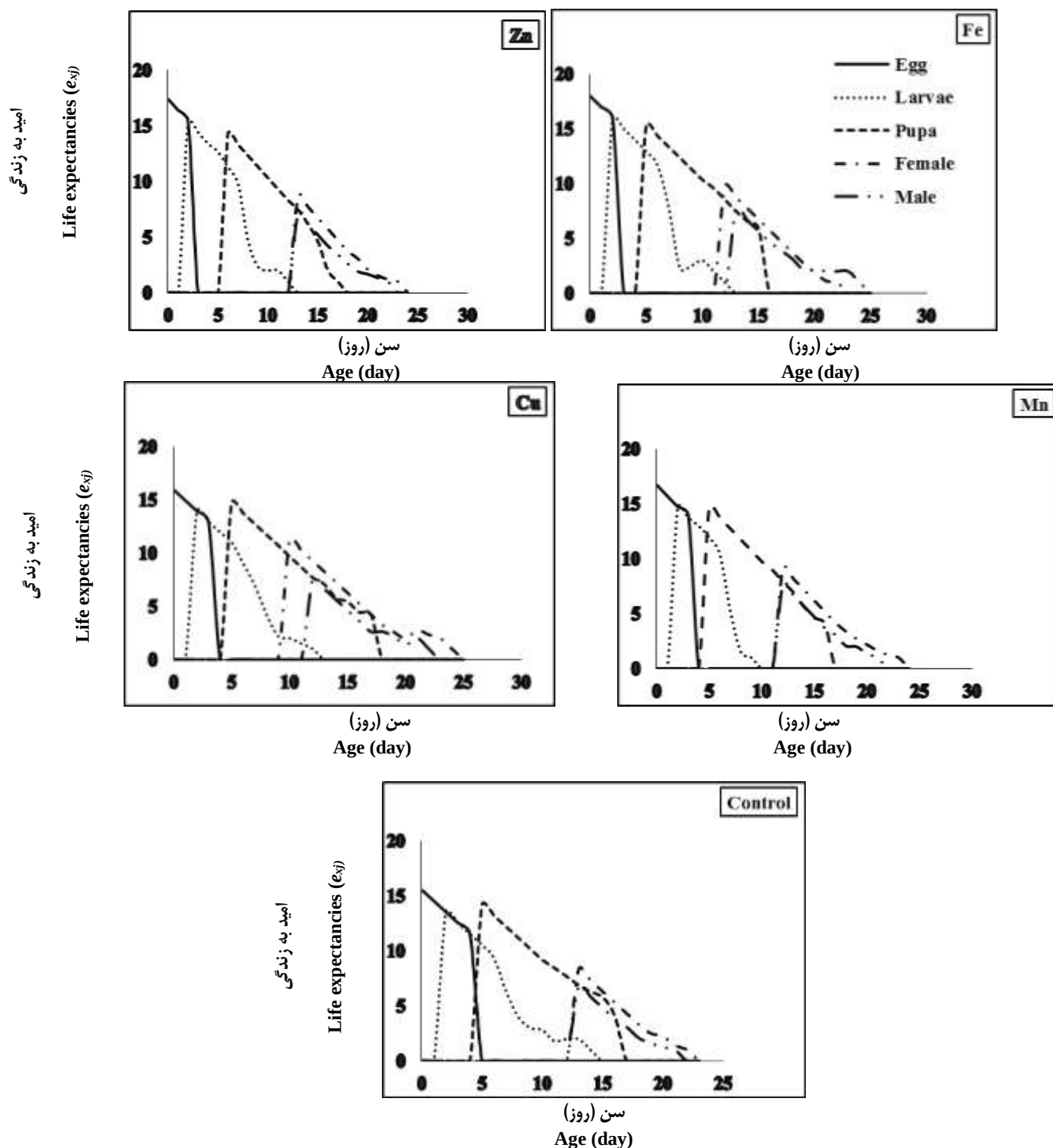


شکل ۱- نرخ بقای ویژه سنی-مرحله رشدی پشه شته‌خوار *Aphidoletes aphidimyza* تغذیه کرده از شته سبزه‌هلو *Myzus persicae* پرورش یافته روی فلفل دلمه، *Capsicum annuum* تیمار شده با کودهای ریزمغذی

Figure 1- The age-stage specific survival rates (S_{xj}) of *Aphidoletes aphidimyza* fed on *Myzus persicae* reared on bell pepper *Capsicum annuum* L. treated with micronutrient fertilizers



شکل ۲- نرخ بقا ویژه سنی (l_x)، باروری ویژه سنی-مرحله رشدی (f_x)، باروری ویژه سنی (m_x) و نرخ ناخالص باروری ویژه سنی ($l_x m_x$) پشه شته‌خوار، *Aphidoletes aphidimyza* تغذیه کرده از شته سبب هلو، *Myzus persicae* پرورش یافته روی فلفل دلمه تیمار شده با کودهای ریزمغذی Figure 2- The survival rate (l_x), age-stage specific fecundity (f_x), age-specific fecundity (m_x) and age-specific fertility ($l_x m_x$) of *Aphidoletes aphidimyza* fed on *Myzus persicae* reared on bell pepper *Capsicum annuum* L. treated with micronutrient fertilizers



شکل ۳- امید به زندگی سنی-مرحله‌ای (e_{xj}) پشه شته‌خوار، *A. aphidimyza* تغذیه کرده از شته سبز هلو، *M. persicae* پرورش یافته روی فلفل دلمه تیمار شده با کودهای ریزمغذی

Figure 3- The age-stage life expectancies (e_{xj}) *Aphidoletes aphidimyza* fed on *Myzus persicae* reared on bell pepper *Capsicum annuum* L. treated with micronutrient fertilizers

کمپوست مربوط به اهمیت تغذیه و کیفیت ارزش غذایی گیاهان میزبان، ترکیبات شیمیایی آن‌ها و متعاقباً تأثیر بر طعمه (شکار) و سطح غذایی بالاتر (دشمن طبیعی) گزارش شده است (۱). در تحقیق

بهبود پارامترهای رشد جمعیت کفشدوزک *Hippodamia* *variegata* (Goeze) در تغذیه از شته جالیز (*Aphis gossypii*) روی گیاهان خیار تیمار شده با نسبت‌های مختلف ورمی-
Glover

دشمن طبیعی است. همچنین گزارش شده است که کوددهی کلزا به طور قابل توجهی بر عملکرد *A. aphidimyza* به عنوان شکارگر شته خردل موثر است (۸).

محلول‌پاشی گیاهان با عناصر غذایی کم مصرف با ایجاد تعادل تغذیه‌ای در گیاه از طریق جذب سریع‌تر و آسان‌تر مواد غذایی، کاهش هزینه تولید را به دنبال دارد (۳۷). همچنین براساس نتایج ما در این مطالعه و یافته‌های قبلی، کاربرد این عناصر نه تنها باعث بهبود پارامترهای رشدی گیاهان میزبان از طریق تاثیر بر فعالیت‌های آنزیمی و فیزیولوژی گیاهان می‌شوند بلکه با تاثیر بر تولید فنول و ترکیبات ثانویه دفاعی، بافت گیاهی را برای تغذیه آفت نامطبوع کرده و با مکانیسم مقاومت آنتی‌بیوز گیاهان در برابر آفت به طبع ویژگی‌های زیستی و جدول زندگی دشمن طبیعی گیاهخوار را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۲). در این راستا به نظر می‌رسد که کاهش پارامترهای رشد پیش از بلوغ، میانگین طول یک نسل شکارگر و افزایش پارامترهایی مانند باروری، دوره تخم‌ریزی، طول عمر حشرات کامل و پارامترهای رشد جمعیت از جمله r و R_0 شکارگر در تیمارهای ریزمغذی به ویژه در تیمارهای آهن و منگنز حاکی از آن بود که کاربرد عناصر ریزمغذی با تاثیر بر برهمکنش فلفل دلمه‌- شته سبز هلو، بر کارایی شکارگر *A. aphidimyza* موثر بود.

بنابراین کاربرد عناصر غذایی کم مصرف با توجه به خطرات زیست محیطی کمتر در مقایسه با کودهای شیمیایی و نیز با بهبود کیفیت گیاهان میزبان می‌تواند در برنامه‌های کنترل تلفیقی شته سبز هلو به ویژه در محصولات گلخانه‌ای مورد استفاده قرار گیرد.

دیگر، ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاهان میزبان مانند محتوای گوسپیول بالا در پنبه در سطح مقاومت آنتی‌بیوز گیاه میزبان و تاثیر مثبت آن بر رشد و نمو *Propylaea japonica* در سطح سوم تغذیه گزارش شده است (۹). چنان که، آفات گیاه‌خوار با دریافت ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه، می‌توانند تاثیر قابل توجهی بر پارامترهای نشو و نمای دشمنان طبیعی داشته باشند (۴). بر اساس نتایج بررسی حاضر، محلول‌پاشی گیاهان با کودهای ریزمغذی میانگین طول یک نسل *A. aphidimyza* (T) را در مقایسه با شاهد کاهش داد. این یافته با گزارش ارائه شده در ارتباط با کاربرد کود نیتروژن و کاهش میانگین طول یک نسل پشه شته‌خوار همسو است (۱۰). کوددهی و تغذیه مناسب گیاهان منجر به جبران خسارت شته خردل و تاثیر مثبت بر کارایی پشه شته‌خوار *A. aphidimyza* و بهبود عملکرد گیاهان کلزا شده است (۱۱). ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی گیاهان از عوامل تاثیرگذار در جلب حشرات گیاه‌خوار می‌باشد، به طوری که می‌تواند نشو و نمای مراحل قبل از بلوغ، بقا، تولید مثل و پارامترهای رشد جمعیت حشرات را تحت تاثیر قرار دهد (۲۲). مقایسه منحنی‌های بقا، باروری و امید به زندگی *A. aphidimyza* با تغذیه از شته سبز هلو پرورش یافته روی گیاهان فلفل دلمه تیمار شده با کودهای ریزمغذی نیز نشان داد که کوددهی و محلول‌پاشی گیاهان با عناصر ریزمغذی مقادیر e_x ، m_x ، f_{xj} و S_{xj} شکارگر را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داد. در یک بررسی تاثیر کود نیتروژن روی روابط سه سطح غذایی (۶) نشان داد که اثر نیتروژن بر کارایی موفقیت آمیز دشمن طبیعی از طریق تاثیر بر کمیت و کیفیت مواد فرار گیاهی ناشی از آسیب حشره گیاه‌خوار، تغییر در ساختار گیاه و یا تغییر در کیفیت غذای مصرفی

منابع

1. Alizamani T., Razmjou J., Naseri B., Hassanpour M., Asadi A., and Kerr Ch. 2017. Effect of vermicompost on life history of *Hippodamia variegata* preying on *Aphis gossypii* Glover. Journal of the Entomological Research Society 19(1): 51–60.
2. Alizamani T., Shakarami J., Mardani-Talaei M., Zibae A., and Serrão J.E. 2020. Direct interaction between micronutrients and bell pepper (*Capsicum annum* L.), to affect fitness of *Myzus persicae* (Sulzer). Journal of Plant Protection Research 60: 253-262.
3. Arshad M., Ullah M.I., Shahid U., Tahir M., Khan M., Rizwan M., Abrar M., and Niaz M.M. 2020. Life table and demographic parameters of the coccinellid predatory species, *Hippodamia convergens* Guérin-Méneville (Coleoptera: Coccinellidae) when fed on two aphid species. Egyptian Journal of Biological Pest Control 30: 79.
4. Awmack C.S., and Leather S.R. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. Annual Review of Entomology 47: 817- 844.
5. Bolandandam J., Barker H., and Fenton B. 2004. Differences in potato leaf roll transmitting ability of individual genotypes of Scottish *Myzus persicae* with different susceptibilities to Lambda- cyhalothrin insecticide. In: Proceedings of 15th International Plant Protection Congress, 11-16 May., Beijing, China, 221 pp.
6. Chen Y., Dawn M., Olson J., and Ruberson R. 2010. Effects of nitrogen fertilization on tritrophic interactions. Arthropod-Plant Interactions 4: 81–94.
7. Chi H. 2018. TWOSEX-MSChart: A Computer Program for the Age-stage, Two Sex Life Table Analysis. Available in: <http://140.120.197.173/Ecology/Download/TWOSEX-MSChart.zip>. (Accessed 12 June 2018).
8. Dehghani-Yakhdani H., Iranipour Sh., Mehrnejad M.R., and Farshbaf-Pourabad R. 2019. The role of iron (Fe) in

- the population dynamics of pistachio psyllid, *Agonoscena pistaciae* (Hemiptera: Aphalaridae) in Pistacia orchards. European Journal of Entomology 116: 194–200.
9. Du L., Ge F., Zhu S., and Parajulee M.N. 2004. Effect of cotton cultivar on development and reproduction of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) and its predator *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae). Journal of Economic Entomology 97: 1278-1283.
10. Fallahpour F., Ghorbani R., Nassiri Mahallati M., and Hosseini M. 2015. Interaction of different nitrogen fertilization regimes of canola with mustard aphid (*Lipaphis erysimi* Kalt.) and the predatory gall midge (*Aphidoletes aphidimyza* Rondani). Biological Control of Pests and Plant Diseases 4: 1-12. (In Persian with English abstract)
11. Fallahpour F., Ghorbani R., Nassiri Mahallati M., Hosseini M. 2020. Plant fertilization helps plants to compensate for aphid damage, positively affects predator efficiency and improves canola yield. Journal of Pest Science 93: 251-260.
12. Fenton B., Kasproiwicz L., Malloch G., and Pickup J. 2010. Reproductive performance of asexual clones of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*, (Homoptera: Aphididae), colonising Scotland in relation to host plant and field ecology. Bulletin of Entomological Research 100: 451–460.
13. Gagné R.J. 1971. The genus *Aphidoletes* Kieffer (Diptera: Cecidomyiidae) in North America. Entomological News 82: 177- 181.
14. Ghafouri Moghaddam M., Golizadeh A., Hassanpour M., Rafiee-Dastjerdi H., and Razmjou J. 2016. Demographic traits of *Hippodamia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae) fed on *Sitobion avenae* Fabricius (Hemiptera: Aphididae). Journal of Crop Protection 5: 431–445
15. Hansch R., and Mendel, R.R. 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). Current opinion in plant Biology 12(3): 259-66.
16. Havelka J., and Zemek R. 1999. Life table parameters and oviposition dynamics of various populations of the predacious gall-midge *Aphidoletes aphidimyza*. Entomologia Experimentalis et Applicata 91: 481-484.
17. Honek A. 1980. Population density of aphid at the time of settling and ovariole maturation in *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). Entomophaga 23: 213–216
18. Kalushkov P., and Hodek I. 2004. The effects of thirteen species of aphids on some life history parameters of the ladybird *Coccinella septempunctata*. Biological Control 50: 223-233.
19. Khosa S.S., Younis A., Rayit A., Yasmeen S., and Riaz A. 2011. Effect of Foliar Application of Macro and Micro Nutrients on Growth and Flowering of *Gerbera jamesonii* L. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 11(5): 736–757.
20. Labafi Y. 1995. Biology of *Aphidoletes aphidimyza* and methods of laboratory rearing. M.Sc. Thesis, University of Tehran, Karaj, Iran. (In Persian)
21. Lahijie M.F. 2012. Application of micronutrients FeSO₄ and ZnSO₄ on the growth and development of gladiolus variety "Oscar". International Journal of Agriculture and Crop Sciences 4: 718- 720. Lahijie M.F. 2012. Application of micronutrients FeSO₄ and ZnSO₄ on the growth and development of Gladiolus variety "Oscar". International Journal of Agriculture and Crop Sciences 4(11): 718–720.
22. Liu Z., Li D., Gong, P.Y., and Wu K.J. 2004. Life table studies of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on different host plants. Environmental Entomology 33: 1570- 1576.
23. Lucas E., and Brodeur J. 2001. A fox in sheep's clothing: furtive predator benefit from the communal defense of their prey. Ecology 82: 3246- 3250.
24. Madahi K., Sahragard A., and Hosseini R. 2013. Influence of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) density on life table parameters of *Aphidoletes aphidimyza* Rondani (Diptera: Cecidomyiidae) under laboratory conditions. Journal of Crop Protection 2: 355- 368.
25. Mansour M.H. 1975. The role of plants as a factor affecting oviposition by *Aphidoletes aphidimyza* (Diptera: Cecidomyiidae). Entomologia Experimentalis et Applicata 18: 173-179.
26. Meadow R.H., Kelly W.C., and Shelton A.M. 1985. Evaluation of *Aphidoletes aphidimyza* (Dip.: Cecidomyiidae) for control of *Myzus persicae* (Hom.: Aphididae) in greenhouse and field experiments in the United States. Entomophaga 30: 385-392.
27. Mottaghinia L., Hassanpour M., Razmjou J., Chamani E., and Hosseini M. 2015. The effect of vermicompost on some biological characteristics of the melon aphid *Aphis gossypii* Glover and the predatory gall midge *Aphidoletes aphidimyza* Rondani on two cultivars of greenhouse cucumber. Applied research in plant protection 4(2): 56-70.
28. Omkar O., Srivastava S. 2003. Influence of six aphid prey species on development and reproduction of ladybird beetle, *Coccinella septempunctata*. Biological Control 48: 379–393.
29. Sanatombi K., and Sharma G.J. 2007. Micropropagation of *Capsicum annum* L. using axillary shoot explants. Scientia Horticulturae 113: 96-99.
30. Schmidt M.H., Thewes U., Thies C., and Tschardt T. 2004. Aphid suppression by natural enemies in mulched cereals. Entomologia Experimentalis et Applicata 113: 87-93.

31. Scholler M., Prozell S.A., Al-Kirshi G., and Reichmuth C. 1997. Towards biological control as a major component of integrated pest management in stored product protection. *Journal of Stored Products Research* 33: 81-97.
32. Skirvin D.J., and De Courcy W.M. 1999. Differential effects of plant species on a mite pest (*Tetranychus urticae*) and its predator (*Phytoseiulus persimilis*): implications for biological control. *Experimental and Applied Acarology* 23: 497-512.
33. Snyder W.E., Joseph S.B., Preziosi R., and Moore A.J. 2000. Nutritional benefits of cannibalism for the lady beetle *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) when prey quality is poor. *Environmental Entomology* 29: 1173-1179.
34. Southwood T.R.E. and Henderson P.A. 2000. *Ecological methods*. Blackwell Science, USA. 575pp.
35. Walker M., Jones T.H. 2001. Relative roles of top-down and bottom-up forces in terrestrial tritrophic plant-insect herbivore-natural enemy systems. *Oikos* 93: 177-187.
36. Warner L.A., and Croft B.A. 1982. Toxicities of azinphos methyl and selected orchard pesticides to an aphid predator, *Aphidoletes aphidimyza*. *Journal of Economic Entomology* 75: 410-415.
37. Yassen A., Abou El-Nour E., and Shedeed S. 2010. Response of wheat to foliar Spray with urea and micronutrients. *Journal of American Science* 6: 14-22.



The Effect of Nutritional Interaction between Micronutrient Fertilizers and *Capsicum annuum* L. on the Population Growth of *Aphidoletes aphidimyza* Rondani as Predator of Green Peach Aphid

M. Mirab-balou^{1*}-T. Alizamani²

Received: 07-06-2021

Accepted: 02-08-2021

Introduction: Bell pepper (*Capsicum annuum* L.) is an important plant of belong to family Solanaceae with the origin of Mexico, which is a rich source of vitamins and beneficial antioxidants to the health and the immune system. The green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) is one of the severe important pests of bell pepper in the greenhouse, which cause damage in both direct and indirect by feeding on sap and transmitting of viral diseases. The use of insecticides is the most commonly used method for controlling *M. persicae*, but in addition to the environmental contaminating, it increased the aphid resistance to chemical pesticides. Biological control is one of the alternative methods compatible with the crop ecosystems and is an important component in integrated pest management programs. The aphidophagous midge, *Aphidoletes aphidimyza* Rondani is an appropriate and important predator of various species aphids including *M. persicae*. Also, the quality of host plants on the first level of nutrition have important effect on the eco- physiology characteristics of the predator on the third level of nutrition. In this study, the effect of foliar application of micronutrient fertilizers of iron, zinc, copper and manganese on bell pepper was investigated on the biological and demographic parameters of *A. aphidimyza* fed on *M. persicae* in greenhouse conditions.

Materials and Methods: The experiments were done as a completely randomized design with 50 replications per treatments during 2020-2021 in the greenhouse. The foliar application of micronutrient was carried out in four-to six-leaf stages with a certain amount of each fertilizer. At the beginning of the experiment, 100 eggs were considered to investigate the study of biology and the life table parameters of *A. aphidimyza* reared on the *M. persicae* fed on in each of the experimental treatments. Then daily, these eggs on the all treatments were monitored for recording incubation duration, survival rate and larval developmental duration (50 larvae). A mixture of aphids of different stages were Placed daily on each leaves treatment to feed of *A. aphidimyza*. Then, the experiments and the observations continued until the emergence of adult insects. After, a pair of male and female adult insects (15 pairs per treatment) were released into each experimental container containing leaves aphid infestation. Daily, the investigate continued for recording of pre-oviposition and oviposition duration, fecundity, male and female longevity until the death of the last individual. Recording of life table parameters and data analysis was performed using the bisexual life table method in TWOSEX-MSChart software. The results were accomplished by Tukey's post hoc Honestly Significant Difference (HSD) test for showing the mean comparisons (Mean $\pm$ SE).

Results and Discussion: Based on results, the highest and lowest the intrinsic rate of increase (0.148 and 0.097 / day), the finite rate of population increase (1.160, 1.102 per day) and the net reproduction rate (15.8, and 6.42 offspring/individual) of *A. aphidimyza* were observed on iron and control treatments, respectively. The results show that there was a significant difference between the different treatments in terms of mean generation time (T) and the highest and the lowest T was obtained on control (19.003 day) and manganese treatment (18.096 day), respectively. Also, the foliar application of micronutrient fertilizers led to reduce the pre-adult time and increase, fecundity, oviposition period and the male and female longevity of *A. aphidimyza*. The results of this study show that the foliar application of plants with micronutrient fertilizers by improving the growth quality and inducing antibiotic resistance in host plants, has a positive effect on the biology and life table of *A. aphidimyza*.

Conclusion: The host plants, as the first level of nutrition, have important effects on the predator biology as the third level of nutrition. So, the use of micronutrients by improving the quality of host plants herbivorous insects can be affect the different aspects of the biological characteristics of the higher nutrient level in plant-herbivorous interactions.

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

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

2- Former Ph.D. Student of Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Lorestan, Iran

DOI: 10.22067/JPP.2021.70745.1028

Therefore, the foliar application of bell pepper with micronutrient fertilizers along with the use of *A. aphidimyza* as an appropriate biological control agent for aphids can be effective in integrated management programs of *M. persicae*.

Keywords: Life table, Micronutrient fertilizer, Nutritional interaction, Three trophic study



مقاله پژوهشی

تأثیر مدت زمان و عمق دفن بر شکست خواب و درصد جوانه‌زنی بذور علف هرز میاگروم (*Myagrurn perfoliatum* L.)

فیروزه شریفی کالیانی^۱ - سعید جلالی هنرمند^{۲*} - ایرج نصرتی^۳ - علیرضا باقری^۴ - حسن حیدری^۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۰۹

چکیده

میاگروم با نام علمی *Myagrurn perfoliatum* L. علف هرزی زمستانه است که در ایران و بویژه در استان کرمانشاه در محصولات زمستانه و پاییزه مانند گندم و جو مشکل ساز شده است و جمعیت آن رو به افزایش است اما متأسفانه علی‌رغم خسارت و پراکنش بالای میاگروم، مطالعات زیادی راجع به اکولوژی، فیزیولوژی و بیولوژی آن انجام نشده است. بنابراین این آزمایش در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ با هدف بررسی تأثیر مدت زمان و عمق دفن بذور بر شکست خواب و جوانه‌زنی بذور علف هرز میاگروم به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی در آزمایش شامل مدت زمان دفن بذور در خاک (۲۷۰، ۳۶۰ و ۴۲۰ روز)، عمق دفن بذور (صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ سانتی‌متر)، دما (۲۵ درجه سانتی‌گراد ثابت، ۵/۱۰ و ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد متغیر) و نور (نور و تاریکی) بودند. نتایج نشان داد که درصد جوانه‌زنی بذور علف هرز میاگروم در نور و تاریکی اختلاف معنی‌داری نداشتند، همچنین زمان دفن بذور، دما، عمق دفن بذور و اثر متقابل زمان دفن*دما اثر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر درصد جوانه‌زنی بذور گذاشت. بالاترین درصد جوانه‌زنی (۶۹/۵ درصد) با گذشت زمان دفن ۴۲۰ روز و در دمای ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد متغیر مشاهده شد، همچنین در سطح خاک و با افزایش عمق دفن بذور (بیشتر از ۵ سانتی‌متر) زنده مانی و درصد جوانه‌زنی بذور در مقایسه با عمق ۵ سانتی‌متری خاک کاهش یافت (به ترتیب ۵۰/۴۹، ۵۱/۷۶، ۵۴/۳۶ و ۶۷/۹۹ درصد کاهش درصد جوانه‌زنی در عمق ۰، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ سانتی‌متری خاک در مقایسه با عمق ۵ سانتی‌متری خاک) زیرا بذور برای جوانه‌زنی به شرایط خاص رطوبتی و دمایی نیاز دارند که بنابر نتایج به دست آمده این شرایط در عمق ۵ سانتی‌متری خاک وجود داشته است پس می‌توان نتیجه گرفت که انجام شخم عمیق و رفتن بذور به اعماق ممکن است به مدیریت این علف هرز کمک کند.

واژه‌های کلیدی: درصد جوانه‌زنی، دمای متغیر، شخم، گندم

مقدمه

۲۰ سانتی‌متر می‌باشد، گل‌های آن به رنگ زرد لیمویی، میوه آن از نوع خورجینک و تکثیر آن با بذور صورت می‌گیرد و زمان گلدهی این گیاه اردیبهشت تا شهریور ماه بوده و گاهی تولید گل تا زمان خشک شدن اندام‌های هوایی ادامه دارد (۲۸). این علف هرز در حاشیه اقلیم‌های گرم و معتدل دیده می‌شود و خاک‌های آهکی و لومی رسی را می‌پسندد (۱۸). میاگروم بومی اروپا و آسیا است (۱۷) به عنوان گونه مهاجم در استان دیاربکر ترکیه به عنوان علف هرز پاییزه گندم و میزبان سوسک سرخرطومی نیز گزارش شده است (۲۷). در ایالت‌های جنوبی استرالیا نیز مقررات سنگینی برای کنترل و قرنطینه این علف هرز از سال ۲۰۰۵ تا سال ۲۰۲۰ تحت نظارت سازمان مدیریت منابع طبیعی این کشور برنامه ریزی شد که به خوبی اهمیت این علف هرز را نشان می‌دهد (۱۷). در ایران و بویژه در استان کرمانشاه علف هرز میاگروم در محصولات زمستانه و پاییزه

میاگروم با نام علمی *Myagrurn perfoliatum* L. علف هرزی

از خانواده چلیپاییان^۶، پاییزه، یک‌ساله، ایستا، علفی و با ارتفاع آن ۸۰-

۱- دانشجوی دکتری زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران. دانش آموخته‌ی کارشناسی ارشد آگرواکولوژی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۲، ۳، ۴ و ۵- به ترتیب دانشیاران و استادیاران گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

(Email: sjhonarmand@yahoo.com

*)- نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/JPP.2021.70381.1023

6- Brassicaceae

retroflexus L. از ۳۰ درصد در دمای ثابت به ۹۰ درصد در دمای متناوب افزایش یافته است (۱۰). طبق بررسی‌های انجام شده دمای متناوب باعث افزایش جوانه‌زنی بذور سوروف (*Echinochloa crusgalli* L.)، تاج خروس ریشه قرمز (*Amaranthus retroflexus* L.) و سلمه تره (*Chenopodium album* L.) شد، همچنین اگر بذور سلمه تره در معرض نور قرمز و دمای متناوب قرار گیرند بیش‌ترین جوانه‌زنی را خواهند داشت (۲۶). متأسفانه علی‌رغم خسارت و پراکنش بالای میاگروم مطالعات زیادی راجع به اکولوژی، فیزیولوژی و بیولوژی آن وجود ندارد. بنابراین این پژوهش با هدف بررسی اکولوژی جوانه‌زنی و بررسی تأثیر عمق دفن بذر و گذشت زمان دفن بر شکستن خواب و جوانه‌زنی بذور میاگروم انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه (طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۹ دقیقه، عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۲۱ دقیقه و ارتفاع از سطح دریا ۱۳۱۹ متر) در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل مدت زمان دفن بذور در خاک (۲۷۰، ۳۶۰ و ۴۲۰ روز)، عمق دفن بذور (صفر، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ سانتی‌متر)، دما (۲۵ درجه سانتی‌گراد ثابت، ۵/۱۰ و ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد متغیر) و نور (نور و تاریکی) بودند.

مانند گندم و جو مشکل‌ساز شده است و جمعیت آن رو به افزایش است. یکی از عوامل مهم در پراکنش و خواب بذور علف‌های هرز عملیات خاک‌ورزی و شخم می‌باشد (۲۳)، در واقع خاک‌ورزی اثرات بسزایی در پراکنش عمودی بذور دارد (۴). کنترل علف‌های هرز در سیستم‌های بدون خاک‌ورزی و یا دارای خاک‌ورزی حداقل امری دشوار می‌باشد (۲۲). همچنین نتایج آزمایش کن (۶) نشان داد که خاک‌ورزی اثر معنی‌داری بر بانک بذر علف‌هرز ارزن وحشی (*Setaria viridis* L.) و کیسه کشیش (*Capsella bursapastoris* L.) داشته است. در واقع عمق و مدت زمان دفن بذور نقش مهمی در بانک بذر خاک دارند به‌طوری که در برخی گونه‌های علف هرز سبز شدن در دامنه وسیعی از عمق خاک صورت می‌گیرد مثلاً بذور علف‌هرز خرفه‌سا (*Trianthema portulacasrum* L.) در اعماق کمتر از ۱۰ سانتی‌متری خاک درصد جوانه‌زنی بالایی دارند (۲۵)، این در حالی است که برخی علف‌های هرز در سطح خاک بیشترین درصد جوانه‌زنی و سبز شدن را دارند (۳). علاوه بر عمق دفن بذور، جوانه‌زنی و سبز شدن بذور تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله دما، نور، pH و ... قرار می‌گیرند (۷). معمولاً بذوری که پوسته‌ی سخت دارند برای جوانه زدن به نور احتیاجی ندارند (۵)، از طرفی بذور بسیاری از علف‌های هرز در دمای متناوب بهتر از دمای ثابت جوانه می‌زنند (۱۴). دمای متناوب تعادل بین مواد تحریک کننده و مواد بازدارنده‌ی جوانه‌زنی را به نفع مواد تحریک کننده به هم می‌زند. تحریک جوانه‌زنی بذور با استفاده از دمای متناوب در علف‌های هرز مختلفی دیده شده است، برای مثال جوانه‌زنی بذور دم روباهی (*Setaria viridis* L.) و تاج خروس (*Amaranthus*)

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1- Physical and chemical characteristics of soil of the test site

بافت خاک Soil texture	ماده آلی Organic matter (%)	سیلت Silt (%)	شن Sand (%)	رس Clay (%)	نیترژن N (%)	هدایت الکتریکی (dS cm ⁻¹) EC	فسفر P (ppm)	پتاسیم K (ppm)	اسیدیته pH
Silty-Clay	1.5	43.9	10.7	54.4	0.15	0.5	20.6	282	7.74

گذشت هر یک از سطوح دوره‌های دفن در خاک (۲۷۰، ۳۶۰ و ۴۲۰ روز) کیسه‌های توری از اعماق مختلف خارج شدند. در ابتدا تعداد بذور جوانه‌زده در هر کیسه شمارش و درصد جوانه‌زنی محاسبه گردید. سپس بذور جوانه‌زده از داخل کیسه‌ها خارج شدند و مابقی بذور به آزمایشگاه زراعت پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی منتقل شدند. نتایج مطالعه مندی و همکاران (۱۶) نشان داد که بذور میاگروم دارای خواب فیزیولوژیکی و خواب مکانیکی ناشی از پوسته خارجی سخت می‌باشند بنابراین بذور جوانه‌زده شامل بذور آسیب دیده و بذور دارای خواب فیزیولوژیکی و خواب مکانیکی بودند. بنابراین بذور خارج شده (بذور جوانه‌زده) از اعماق مختلف در هر یک

در خرداد ماه ۱۳۹۳ بذور میاگروم از گیاهانی که به بلوغ رسیده بودند و در مرحله رسیدگی کامل بودند جمع‌آوری شدند و تا زمان شروع آزمایش بذور در نایلون پلاستیکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در زمان شروع آزمایش بذور در داخل کیسه‌های توری که دارای منافذ ریز بودند و بذر از داخل آن‌ها خارج نمی‌شد بسته‌بندی شدند و در اعماق مختلف خاک مزرعه قرار گرفتند. در هر بسته ۳۴۰ عدد بذر قرار گرفت. کیسه‌های توری به‌گونه‌ای بودند که بذر را در معرض رژیم‌های رطوبتی، دمایی و محیط شیمیایی خاک قرار می‌دادند. برای سهولت در امر خارج کردن کیسه‌ها از خاک، به هر کیسه یک نخ وصل بود که در سطح خاک قرار می‌گرفت. بعد از

جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه قابل مشاهده بود (۵). در نهایت تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS (version 9.4) و مقایسات میانگین بر اساس آزمون دانکن و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

اثر مدت زمان دفن و عمق دفن بر درصد جوانه‌زنی بذور داخل خاک

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که مدت زمان دفن و عمق دفن اثر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) بر درصد جوانه‌زنی بذور داشته است این در حالی بود که اثر متقابل مدت زمان دفن و عمق دفن معنی‌دار نبود (جدول ۲).

از دوره‌های دفن به مدت ده دقیقه در محلول هیپوکلرید سدیم دو درصد جهت ضدعفونی قرار گرفتند (۱۲). سپس برای اطمینان از زنده بودن بذور تعدادی از بذور هر عمق را به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از محلول تترازولیم ۰/۱ درصد آزمایش شدند (۱۳). برای حذف خواب مکانیکی ناشی از پوسته خارجی سخت در بذور، پوسته خارجی بذور حذف شد و سپس بذور در پتریدیش‌های استریل با قطر دهانه هفت سانتی‌متر حاوی کاغذ صافی واتمن شماره یک و میزان ۵ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفتند (در هر پتری‌دیش ۳۰ عدد بذور قرار گرفت) و برای جلوگیری از تبخیر آب، پتریدیش‌ها به وسیله پارافیلیم بسته شدند. سپس پتری‌دیش‌ها در داخل ژرمیناتور در معرض دماهای مختلف (۲۵ درجه سانتی‌گراد ثابت، ۵/۱۰ و ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد متغیر) و در شرایط نور و تاریکی قرار گرفتند. برای اعمال اثر تاریکی پتریدیش‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده شدند. بعد از مدت زمان ۱۴ روز تعداد بذور جوانه‌زده در هر پتری‌دیش شمارش شد. معیار

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) درصد جوانه‌زنی بذور علف هرز میاگروم (بذور داخل خاک) تحت تأثیر مدت زمان دفن و عمق دفن

Table 2- Analysis of variance (Mean square) Germination percentage of *Myagrum perfoliatum* L. (seeds in the soil) affected by burial time and burial depth.

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی
Source of variance	Degree of freedom	Germination percentage
بلوک	3	31.95*
Block		
زمان دفن	2	413.56**
Burial time		
عمق دفن	4	314.75**
Burial depth		
زمان دفن* عمق دفن	8	18.73 ^{ns}
Burial time* Burial depth		
خطا	42	9.16
Error		
ضریب تغییرات	-	27.96
Coefficient of variation		

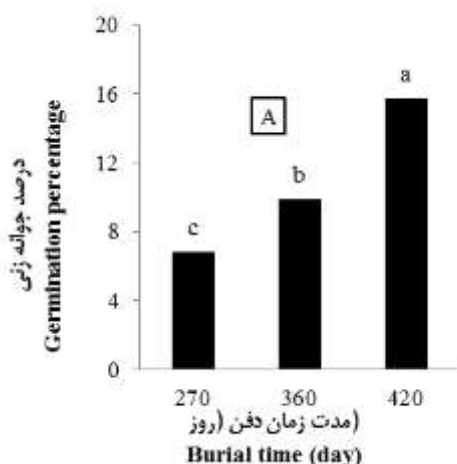
***، * و ^{ns}، به ترتیب اختلاف معنی‌داری را در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و عدم اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند.

***, *, and ^{ns}, indicate a significant difference at 1%, 5% probability level and no significant difference, respectively.

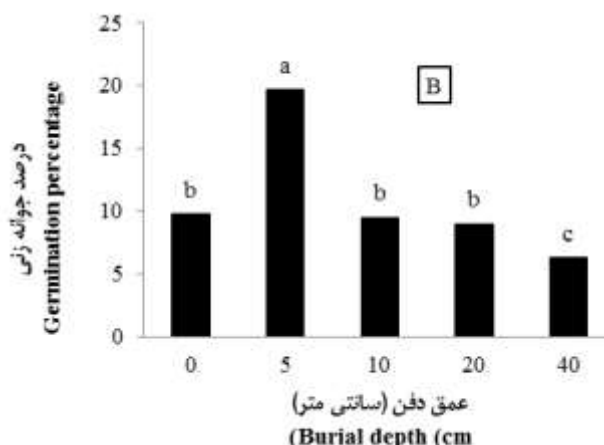
این پوسته بوسیله‌ی عمل خاک‌ورزی و یا در نتیجه‌ی تماس بین ذرات خاک و پوسته خارجی و نیز فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک و پوسیده شدن پوسته خارجی صورت می‌گیرد که این حذف می‌تواند کلی یا جزئی باشد. همچنین نتایج مطالعه‌ی مندنی و همکاران (۱۶) نشان داد که بذور علف هرز میاگروم دارای خواب فیزیکی ناشی از پوسته خارجی سخت و خواب فیزیولوژیکی می‌باشند و خراش‌دهی پوسته خارجی می‌تواند باعث افزایش درصد جوانه‌زنی گردد. همچنین

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش مدت زمان دفن بذور در خاک، درصد جوانه‌زنی آن‌ها افزایش یافته است (شکل ۱-A). با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه نظری (۱۸) می‌توان گفت که خواب بذور در این علف هرز بوسیله پوسته خارجی اعمال و کنترل می‌شود و پوسته خارجی بذور به عنوان یک مانع فیزیکی برای جلوگیری از ورود آب و اکسیژن و نیز خروج ریشه‌چه عمل می‌کند و در طبیعت و اکوسیستم‌های کشاورزی حذف

عمق دفن بر درصد جوانه‌زنی و سبز شدن بذور علف هرز ترشک (*Rumex obtusifolius* L.) گزارش کردند که با افزایش عمق دفن، درصد جوانه‌زنی بذور کاهش پیدا کرده‌اند و بیشترین درصد جوانه‌زنی تا عمق ۱۰ سانتی‌متری خاک رخ داده است. قادری‌فر و همکاران (۱۱) نیز در آزمایش خود بر روی علف هرز شاه افسر زرد (*Melilotus officinalis* L.) گزارش کردند که با افزایش عمق دفن بذور، درصد جوانه‌زنی بذور کاهش یافته است. همچنین نتایج پژوهش نشیموتو و مک کارتی (۱۹) بیانگر آن بود که درصد جوانه‌زنی بذور علف هرز چمن غاز (*Eleusine indica* L.) در لایه‌های سطحی خاک بالاتر بوده که ممکن است یکی از دلایل آن نوسان دمایی بیشتر در لایه های سطحی خاک در مقایسه با اعماق باشد. بنونوتی و همکاران (۲) در آزمایش خود بر روی علف هرز ترشک (*Rumex obtusifolius* L.) بیان کردند که یکی از دلایل اصلی عدم جوانه‌زنی با افزایش عمق، ایجاد خواب ثانویه است و دلیل این امر به طور کامل روشن نیست و ممکن است به علت محدودشدن تبادلات گازی، کمبود اکسیژن، زیاده‌شدن کربن دی اکسید ناشی از متابولیسم بذور و یا انرژی ذخیره شده در بذور برگردد، همچنین فساد و نابودی بذور در اعماق خاک یکی دیگر از دلایل کاهش جوانه‌زنی می‌باشد.



نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین درصد جوانه‌زنی در عمق ۵ سانتی‌متری و کم‌ترین درصد جوانه‌زنی در عمق ۴۰ سانتی‌متری خاک مشاهده شد (شکل B-۱). در سطح خاک (عمق صفر) جوانه‌زنی کمتر از عمق پنج سانتی‌متری اتفاق افتاد که احتمالاً علت آن این است که خاک در سطح سریع مرطوب و خشک می‌گردد و با خشک شدن خاک، فعالیت میکروارگانیسم‌ها کمتر شده و همچنین مواد آلی کمتری در سطح خاک وجود دارد و یا مواد آلی موجود در سطح خاک به دلیل خشک شدن سریع خاک نقش کم‌رنگ‌تری ایفا می‌کنند، همچنین در سطح خاک (عمق صفر) بذور بیشتر در معرض خورده شدن توسط پرندگان و ... قرار می‌گیرند و از طرفی در سطح خاک فقط یک سمت بذور در تماس با خاک است، در نتیجه امکان جوانه‌زنی از عمق پنج سانتی‌متری کمتر است. نتایج مطالعه پیامنی و همکاران (۲۱) نشان داد که عمق‌های مختلف خاک از نظر میزان نور، رطوبت، محیط گازی اطراف بذور و نوسانات دمایی روزانه متفاوت می‌باشند و درصد جوانه‌زنی بذور علف هرز ماستونک (*Torilis arvensis* L.) نیز در اعماق مختلف خاک متفاوت است، بنابراین عمق دفن بر تشدید خواب و یا جوانه‌زنی بذور اثرات بسزایی دارد. بنونوتی و همکاران (۲) در آزمایشی بر روی اثر



شکل ۱- اثر مدت زمان دفن (A) و عمق دفن (B) بر درصد جوانه‌زنی بذور علف هرز میاگروم در داخل خاک (حروف مشابه نمایانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است)

Figure 1- Effect of burial time and burial depth on germination percentage of *Myagrum perfoliatum* L. weed seeds in the soil (Similar letters indicate no significant difference at the 5% probability level)

این عامل در تجزیه واریانس خودداری و فقط به ذکر نتایج حاصل از این بخش اکتفا شد. بذور این علف هرز فتوبلاستیک نیستند، بدین معنی که بذور آن برای جوانه‌زدن نیاز به قرار گرفتن در معرض نور ندارند، به همین علت بذور قادرند که در قسمت‌های پایینی تاج پوشش، زیر بقایای گیاهی و یا بعد از دفن شدن در خاک جوانه بزنند

اثر نور بر جوانه‌زنی بذور بدون پوسته خارجی علف هرز میاگروم

اثر نور بر درصد جوانه‌زنی بذور علف هرز میاگروم بررسی شد و نتایج نشان داد که نور بر درصد جوانه‌زنی بذور اثر معنی‌داری نداشته است، به همین علت و برای کاهش اثرات متقابل بین عوامل از آوردن

و این امر از دلایل موفقیت آن‌ها و غلبه آن‌ها بر گیاهان زراعی از جمله گندم و نخود است. جوانه‌زنی بذور علف‌های هرزی مانند شلمی (*Rapistrum rugosum* L.) که به لحاظ ریخت‌شناسی و نیز خصوصیات اکولوژیکی شباهت بسیار زیادی به میاگروم دارد (۲۰) و ابلک ماسه‌ای (*Ceratocarpus arenarius* L.) وابسته به نور نیستند و تاریکی نیز جوانه‌زنی بالایی خواهند داشت (۸)، اما برخلاف نتیجه بدست آمده، پژوهشگران زیادی گزارش کرده‌اند که جوانه‌زنی بذور برخی علف‌های هرز در حضور نور انجام می‌شود و به طور کلی می‌توان گفت که اغلب گونه‌هایی که نور جوانه‌زنی آن‌ها را تحریک می‌کند معمولاً دارای بذور ریز بوده و گونه‌هایی که بذور درشت دارند

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) درصد جوانه‌زنی بذور علف هرز میاگروم تحت تأثیر مدت زمان دفن، دما و عمق دفن

Table 3- Analysis of variance (Mean square) Germination percentage of *Myagrum perfoliatum* L. affected by burial time, temperature and burial depth

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی
Source of variance	Degree of freedom	Germination (%)
Block بلوک	3	2600 **
Burial time زمان دفن	2	14455 **
Temperature دما	2	3901 **
Burial depth عمق دفن	4	13940 **
زمان دفن* دما	4	1007 **
Burial time* Temperature		
زمان دفن* عمق دفن	8	144 ns
Burial time* Burial depth		
دما* عمق دفن	8	232 ns
Temperature* Burial depth		
زمان دفن* دما* عمق دفن	16	189 ns
Burial time* Temperature* Burial depth		
خطا	132	152
Error		
ضریب تغییرات	-	26.06
Coefficient of variation		

ns، *، و **، به ترتیب اختلاف معنی‌داری را در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و عدم اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند.

ns، *، and ** indicate a significant difference at 1%, 5% probability level and no significant difference, respectively.

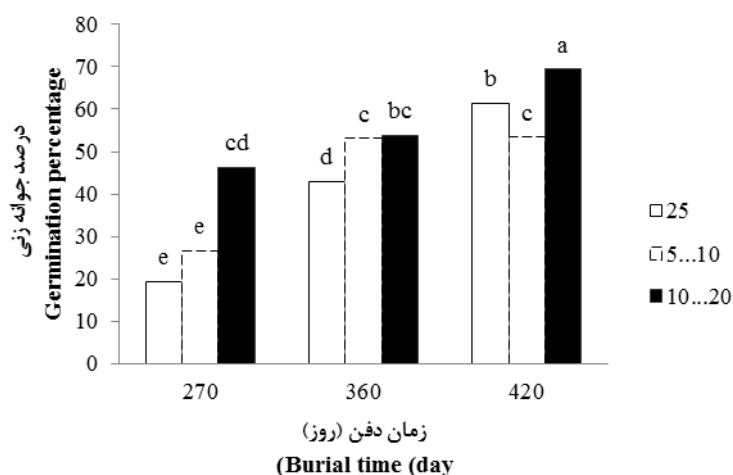
دماهای متغیر بود و کمترین درصد جوانه‌زنی در دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد، اما با گذشت زمان ۴۲۰ روز (۱۴ ماه) از دفن بذور بیشترین درصد جوانه‌زنی در دمای ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد متغیر و کمترین درصد جوانه‌زنی در دمای ۵/۱۰ درجه سانتی‌گراد متغیر اتفاق افتاد. در واقع می‌توان این چنین اظهار داشت که با گذشت زمان، درصد جوانه‌زنی بذور افزایش یافته است، همچنین در همه دوره‌های دفن بذور، بالاترین درصد جوانه‌زنی بذور میاگروم نیز در دمای ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد رخ داده است. به‌طور کلی می‌توان

اثر برهمکنش زمان دفن و دما بر جوانه‌زنی بذور بدون پوسته خارجی علف هرز میاگروم

نتایج این مطالعه نشان داد که با گذشت زمان ۲۷۰ روز (۹ ماه) از دفن بذور در خاک، درصد جوانه‌زنی بذور در دمای ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد بالاترین میزان و دماهای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ثابت و ۵/۱۰ درجه سانتی‌گراد تفاوت معنی‌داری نداشتند این در حالی بود که با گذشت ۳۶۰ روز (۱۲ ماه) از دفن بذور، بیشترین درصد جوانه‌زنی در

فیزیولوژیکی می‌باشد که منجر به تغییرات هورمونی در بذر و تجزیه بازدارنده‌های جوانه‌زنی می‌گردد (۱۰). در آزمایش فوق نیز بذور میاگروم در دمای ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد بالاترین درصد جوانه‌زنی را داشتند چرا که میاگروم علف هرزی زمستانه است و جوانه‌زنی آن در ماه‌های خیلی سرد و خیلی گرم سال محدود می‌شود و همین امر باعث می‌شود که معمولاً این علف هرز در اواخر زمستان و اوایل بهار در مزرعه ظهور یابد و دامنه دمایی ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد با زمان ظهور این علف هرز در مزارع تقریباً هم‌زمان است. بنابراین این علف هرز ممکن است با علف‌کش‌های رایج در گندم و جو که برای کنترل علف‌های هرز پهن برگ استفاده می‌شود مثل توفوردی، کنترل کرد زیرا زمان استفاده از این علف‌کش در مزارع گندم معمولاً در اسفند و فروردین ماه است که مصادف با زمان جوانه‌زنی بذور میاگروم می‌باشد. متأسفانه اگر این علف هرز در مزارع نخود و عدس ظاهر شود بدلیل این‌که علف‌کش مناسب برای کنترل علف‌های هرز پهن برگ مانند میاگروم در این محصولات وجود ندارد ممکن است شاهد گسترش هر چه بیشتر علف هرز میاگروم خواهیم بود.

گفت که بیشترین درصد جوانه‌زنی با گذشت زمان ۴۲۰ روز از دفن بذور در خاک و در دمای ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد و کمترین درصد جوانه‌زنی در زمان ۲۷۰ روز و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد دیده شده است (شکل ۲). افزایش درصد جوانه‌زنی بذور میاگروم با افزایش مدت زمان دفن بذور در خاک به دلیل پوسیده شدن بیشتر پوسته خارجی بذر میاگروم در آزمایش نظری (۱۸) نیز گزارش شده است. از طرفی استفاده از دمای متغیر نوعی شبیه سازی شرایط واقعی موجود در منطقه است و در بیشتر موارد بذور علف‌های هرز در دمای متناوب بهتر جوانه می‌زنند چرا که خواب بذور توسط دمای متغیر تحت تأثیر قرار گرفته و شکسته می‌شود، به عبارتی می‌توان گفت که تناوب دمایی مثل یک مکانیسم درک فصول عمل کرده، چون بذرها بعد از افزایش ناگهانی دما مثل آنچه که در بهار اتفاق می‌افتد جوانه می‌زنند (۱). افزایش درصد جوانه‌زنی بذور با استفاده از دمای متناوب در علف‌های هرز مختلفی مانند بذور دم روباهی (*Alopecurus myosuroides* L.) و تاج خروس (*Amaranthus retroflexus* L.) گزارش شده است که احتمالاً علت جوانه‌زنی بیشتر در دمای متناوب تغییرات



شکل ۲- برهمکنش زمان دفن بذور و دما بر درصد جوانه‌زنی بذور علف هرز میاگروم (بذور بدون پوسته خارجی)

(حروف مشابه نمایانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است)

Figure 2- Interaction of burial time and temperature on germination percentage of *Myragrum perfoliatum* L. weed seeds (Seeds without outer shell)

(Similar letters indicate no significant difference at the 5% probability level)

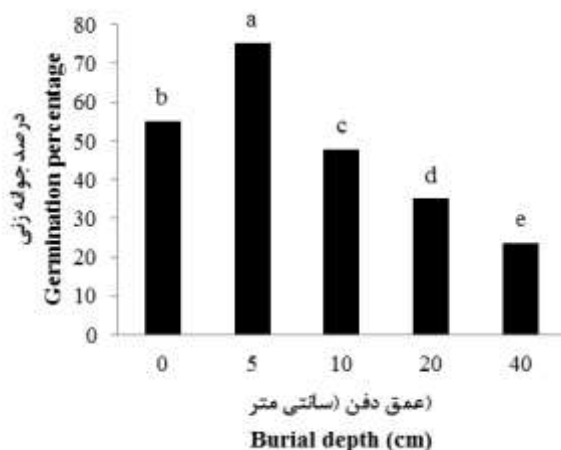
نگهداری شده بودند. در مطالعه نظری (۱۸) نیز با افزایش عمق دفن بذور، درصد جوانه‌زنی کاهش یافت این در حالی بود که در مطالعه مندنی و همکاران (۱۶) نیز نتایج بیانگر خواب ناشی از پوست سخت بذر و خواب فیزیولوژیکی در بذور میاگروم بود، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که قرار گرفتن بذور در اعماق بالا ممکن است از طریق افزایش خواب فیزیولوژیکی در بذر باعث کاهش درصد جوانه‌زنی گردد. همچنین بنونوتی و همکاران (۲) گزارش کردند که افزایش

اثر عمق دفن بر جوانه‌زنی بذور بدون پوسته خارجی علف هرز میاگروم

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش عمق دفن بذر در خاک، درصد جوانه‌زنی بذور میاگروم در آزمایشگاه کاهش یافته است (شکل ۳). بیشترین درصد جوانه‌زنی در بذوری دیده شد که در عمق پنج سانتی‌متری خاک دفن شده بودند و کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به بذوری بود که در عمق ۴۰ سانتی‌متری خاک

کاهش خواب در بذور می‌گردد نوسان دمایی است که در اعماق میزان نوسانات دمایی در مقایسه با لایه‌های سطحی خاک اندک است (۱۹).

عمق دفن بذر، به دلیل محدود شدن تبادلات گازی، کمبود اکسیژن و زیاد شدن کربن دی اکسید ناشی از متابولیسم بذر منجر به تشدید خواب ثانویه در بذر می‌گردد. همچنین یکی از عواملی که منجر به



شکل ۳- اثر عمق دفن بر درصد جوانه‌زنی بذور علف هرز میاگروم (بذور بدون پوسته خارجی)

(حروف مشابه نمایانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است)

Figure 3- Effect of burial depth on germination percentage of *Myragrum perfoliatum* L. weed seeds (Seeds without outer shell)

(Similar letters indicate no significant difference at the 5% probability level)

نتیجه‌گیری

دارند در اواخر اسفند و اوایل فروردین که دما حدوداً ۱۰/۲۰ سانتی‌گراد است و زمان ظهور و جوانه‌زنی میاگروم است استفاده می‌شوند ولی اگر این علف هرز در مزارع نخود ظاهر شود کنترل آن دشوار است زیرا در مزارع نخود برای کنترل علف‌های هرز پهن برگ از جمله میاگروم علف‌کش خاصی وجود ندارد. همچنین در سطح خاک و با افزایش عمق دفن بذور (بیشتر از ۵ سانتی‌متر) زنده مانی و درصد جوانه‌زنی بذور در مقایسه با عمق ۵ سانتی‌متری خاک کاهش یافت زیرا بذور برای جوانه‌زنی به شرایط خاص رطوبتی و دمایی نیاز دارد که بنابر نتایج به دست آمده این شرایط در عمق ۵ سانتی‌متری خاک وجود داشته است پس می‌توان نتیجه گرفت که انجام شخم عمیق و رفتن بذور به اعماق ممکن است به مدیریت این علف هرز کمک کند.

با گذشت زمان پاسخ بذور میاگروم به رژیم دمایی و نوری تغییر نکرد و با توجه به این که در زمان‌های مختلف دفن بذور، در رژیم دمایی ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی مشاهده شد (به ترتیب با گذشت زمان ۲۷۰، ۳۶۰ و ۴۲۰ روز درصد جوانه‌زنی بذور در دمای ۱۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد ۴۶/۳۳، ۵۳/۸۳ و ۶۹/۵ درصد بود) می‌توان این احتمال را داد که این علف هرز در محصولات تابستانه و پاییزه می‌تواند مشکل ساز شود چرا که در اواخر زمستان و اوایل بهار این رنج دمایی وجود دارد. از طرفی امکان کنترل این علف هرز در مزارع گندم وجود دارد. در واقع در مزارع گندم علف‌کش‌هایی مانند توفوردی و MCPA که برای کنترل علف‌های هرز پهن برگ کاربرد

منابع

1. Baskin C.C., and Baskin J.M. 1998. Seeds: ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination. Elsevier.
2. Benvenuti S., Macchia M., and Miele S. 2001. Light, temperature and burial depth effects on *Rumex obtusifolius* seed germination and emergence. Weed Research 41(2): 177-186.
3. Biswas P.K., Bell P.D., Crayton J.L., and Paul K.B. 1975. Germination behavior of Florida pusley seeds. I. Effects of storage, light, temperature and planting depths on germination. Weed Science 400-403.
4. Cardina J., Herms C.P., and Doohan D.J. 2002. Crop rotation and tillage system effects on weed seed banks. Weed Science 50(4): 448-460.
5. Chauhan B.S., and Johnson D.E. 2008. Seed germination and seedling emergence of giant sensitiveplant (*Mimosa*

- invisa*). Weed Science 244-248.
6. Conn J.S. 2006. Weed seed bank affected by tillage intensity for barley in Alaska. Soil and Tillage Research 90(1-2): 156-161.
7. Cristaudo A., Gresta F., Luciani F., and Restuccia A. 2007. Effects of after-harvest period and environmental factors on seed dormancy of *Amaranthus* species. Weed Research 47(4): 327-334.
8. Ebrahimi E., and Eslami S. 2010. Seed germination and seedling emergence of dodder (*Cuscuta monoqyna* L.) (Iran). In: Proceedings of the 3th Iranian weed science Congress. Babolsar, pp. 52-56. (In Persian with English abstract)
9. Evans S.P., Knezevic S.Z., Lindquist J.L., Shapiro C.A., and Blankenship E.E. 2003. Nitrogen application influences the critical period for weed control in corn. Weed Science 51(3): 408-417.
10. Faccini D., and Vitta J.I. 2005. Germination characteristics of *Amaranthus quitensis* as affected by seed production date and duration of burial. Weed Research 45(5): 371-378.
11. Ghaderi-Far F., Gherekhloo J., and Alimagham M. 2010. Influence of environmental factors on seed germination and seedling emergence of yellow sweet clover (*Melilotus officinalis*). Planta Daninha 28(3): 463-469.
12. Haghighi-Khah M., Khajeh-Hosseini M., and Bannayan-Awal M. 2013. Effect of different treatments on breaking dormancy of various species of Barnyard grass (*Echinochloa crus galli* and *Echinochloa awal orizy cola*). Journal of Plant Protection 27(2): 255-257. (In Persian with English abstract)
13. Kamkar B., Soltani A., and Akram Ghaderi F. 2014. Seed Science and Technology. Publications University of Mashhad, Iran. 512 pp.
14. Koller D., and Kozlowski T.T. 1972. Environmental control of seed germination. Seed Biology 2.
15. Milberg P., Andersson L., and Thompson K. 2000. Large-seeded spices are less dependent on light for germination than small-seeded ones. Seed Science Research 10(1): 99-104.
16. Mondani F., Jalilian A., and Olfati A. 2018. Evaluation of the chemical and physical treatments on seed germination characteristics of *Myagrurn* (*Myagrurn perfoliatum* L.). Iranian Journal of Seed Science and Research 5(1): 55-68. (In Persian with English abstract)
17. Muskweed policy. 2004. Declared Plant Policy under the Natural Resources Management Act, muskweed (*Myagrurn perfoliatum*). Government of South Australia.
18. Nazari Kh. 2016. Study of germination and emergence of *Myagrurn perfoliatum* L. M. Sc. Dissertation, University of Razi, Iran. (In Persian with English abstract)
19. Nishimoto R.K., and McCarty L.B. 1997. Fluctuating temperature and light influence seed germination of goosegrass (*Eleusine indica*). Weed Science 426-429.
20. Ohadi S., Mashhadi H.R., and Tavakol-Afshari R. 2009. Seasonal changes in germination responses of seeds of the winter annual weed littleseed canarygrass (*Phalaris minor*) to light. Weed Science 57(6): 613-619.
21. Payamani R., Nosratti I., and Amerian M. 2020. The effect of thermal shock, burial depth and seed position on germination of seeds of heteromorphism hedge parsley (*Torilis arvenis* L.). International Journal of Plant Production 43(1): 1-12. (In Persian with English abstract)
22. Pollard F., and Cussans G.W. 1976. Influence of tillage on the weed flora of four sites sown to successive crops of spring barley. In Proceedings.
23. Roger-Estrade J., Colbach N., Leterme P., Richard G., and Caneill J. 2001. Modelling vertical and lateral weed seed movements during mouldboard ploughing with a skim-coulter. Soil and Tillage Research 63(1-2): 35-49.
24. Singh H.P., Batish D.R., Setia N., and Kohli R.K. 2005. Herbicidal activity of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* against *Parthenium hysterophorus*. Annals of Applied Biology 146(1): 89-94.
25. Singh M., and Achhireddy N.R. 1984. Germination ecology of milkweedvine (*Morrenia odorata*) Weed Science 781-785.
26. Tang D.S., Hamayun M., Ko Y.M., Zhang Y.P., Kang S.M., and Lee I.J. 2008. Role of Red Light, Temperature, Stratification and Nitrogen in Breaking Seed Dormancy of *Chenopodium album* L. Journal of Crop Science and Biotechnology 11(3): 199-204.
27. Tela-Botanica. 2011. Digitization project of the flora of Abbot. Costa by Tela-Botanica Network.
28. USDA. 2016. [http:// plants. usda. gov/ core/ profile? symbol= MYPE](http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MYPE).



Effect of Time and Burial Depth on Breaking Seed Dormancy and Percentage of Germination of *Myagrum* (*Myagrum perfoliatum* L.) Weed Seeds

F. Sharifi Kalyani¹- S. Jalali Honarmand ^{2*}- I. Nosrati³- A. Bagheri⁴- H. Heidari ⁵

Received: 12-05-2021

Accepted: 31-07-2021

Introduction: The internal factors of seeds and the conditions outside the seeds can affect the germination and emergence of seeds. In some cases, environmental conditions are suitable for seed to germinate, while the seeds do not have seed dormancy which is regarded to be one of the factors in seed survival. Seeds are exposed to different conditions of temperature fluctuations, moisture fluctuations, activity of microorganisms, etc. by being located at different depths of the soil. For instance, seeds that are located in the surface layers of the soil are more exposed to soil moisture fluctuations, which may also affect their dormancy. The results of various experiments have shown that in addition to the depth of burial of seeds, their burial time also affects their germination. Due to the fact that no experiments have been performed on the germination of myagrums weed seeds in this field, this study was conducted to investigate the effect of time and burial depth on breaking seed dormancy and percentage of germination of myagrums.

Materials and Methods: This study aimed to investigate the effect of burial time and burial depth on breaking seed dormancy and germination of myagrums seeds in factorial experiment based on a randomized complete block design with 4 replications in the research farm of Razi University of Kermanshah in 2014-2015. Experimental factors include burial time (270, 360 and 420 days), burial depth (0, 5, 10, 20 and 40 cm), temperature (25 °C, 5/10 and 10/20 °C variable temperature) and light (light and dark). In June 2014, myagrums seeds were collected from plants that had become mature and were in the full mature stage stored in plastic nylon at 25 °C until the seeds were tested. At the beginning of the experiment, the seeds were packed in lace bags that had small pores from which the seeds could not exit and then placed at different depths of the farm soil. 340 seeds were placed in each lace bag. The lace bags were such that the seeds were exposed to the moisture, temperature and chemical regimes of the soil. To make it easier to exit the lace bags from the soil, a thread was attached to each bag that was placed on the soil surface. After each level of burial time in the soil (270, 360 and 420 days), lace bags were exited from different depths. Firstly, the number of germinated seeds in each lace bag was counted and the germination percentage was calculated. Germinated seeds were then removed from the bags and the residual of seeds was transferred to the Agriculture Laboratory of the Agricultural and Natural Resources Campus of Razi University. The results of Mondani et al. (16) study showed that myagrums seeds have physiological dormancy and mechanical dormancy due to hard outer shell. Therefore, seeds do not germinate included damaged seeds and seeds had physiological dormancy and mechanical dormancy. Extracted seeds (not germinated seeds) from different depths in each burial time were disinfected in sodium hypochlorite solution (2%) for ten minutes. Then, to ensure the viability of the seeds, a number of seeds of any depth were randomly selected and tested using tetrazolium solution (0.1%). The appearance of red color indicated the existence of respiration and viability of the seeds (13). To remove the mechanical dormancy caused by the hard outer shell in the seeds, the outer shell of the seeds was removed and then the seeds were placed in sterile petri dish with a diameter of 7 cm containing Whatman No. 1 filter paper and 5 ml of distilled water (30 seeds were placed in per petri dish) and to prevent water evaporation, the petri dishes were closed with parafilm. The petri dishes were then exposed to different temperatures (25 °C, 5/10 and 10/20 °C variable temperature) inside the germinator

1- Ph.D. Student in Agriculture, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran and Graduated from M.Sc. in Agroecology, Department of Agronomy and Plant Breeding, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Razi, Kermanshah, Iran

2, 3, 4 and 5- Associate Professors and Assistant Professors in Department of Agronomy and Plant Breeding, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Razi, Kermanshah, Iran, respectively.

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

DOI: 10.22067/JPP.2021.70381.1023

and in light and dark conditions. To exert the effect of darkness, petri dishes were wrapped in an aluminum foil. After 14 days, the number of germinated seeds in each petri dish was counted. Germination criterion was visible root exit. Finally, data analysis was performed by SAS (version 9.4) software and mean comparisons were performed based on Duncan at 5% probability.

Results and Discussion: The results showed the germination percentage of myagrums weed seeds in light and dark were not significantly difference, and also seed burial time, temperature, burial depth and burial time * temperature interaction had a significant effect ($p \leq 0.01$) on the germination percentage. The highest germination percentage was observed after 420 days of burial at a variable temperature of 10/20 °C. Also, at the soil surface and with the increasing seed burial depth (more than 5 cm) the survival and seed germination percentage decreased compared to soil depth of 5 cm because seeds need special moisture and temperature conditions for germination. According to the results, these conditions existed at a depth of 5 cm in the soil, so it can be concluded that deep plowing and going -deep seeds may help to manage this weed.

Conclusion: Considering that the highest germination percentage was observed in the temperature regime of 10/20 °C, it can be assumed that this weed can be problematic in summer and autumn crops because this temperature range synchronizes in late winter and early spring. On the other hand, it is possible to control this weed in wheat fields. In fact, in wheat fields, herbicides such as 2,4-D and MCPA are used to control broad-leaf weeds in late March and early April, when the temperature is about 10/20 °C and the time of germination and emergence of myagrums is used. However, if this weed appears in chickpea fields, it is difficult to control because there is no specific herbicide in chickpea fields to control broadleaf weeds, including myagrums. Also, as the depth of burial increased, the germination percentage of the seeds decreased, so deep plowing and deepening of the seeds may help to manage this weed.

Keywords: Germination percentage, Plowing, Variable temperature, Wheat



مقاله پژوهشی

تفاوت‌های درون گونه‌ای بین اکوتیپ‌های علف‌هرز خارلته (*Cirsium arvense* L.)

مرجان دیانت^{*}

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۰

چکیده

در ایران خارلته یکی از مهم‌ترین علف‌های هرز چند ساله در مزارع گندم، مراتع و زمین‌های زراعی در اغلب استان‌ها است. جهت مطالعه تفاوت‌های ریخت‌شناسی ۱۰ اکوتیپ خارلته، دو قطعه ریشه به طول ۱۰ سانتی‌متر در گلدان‌های ۲۵ کیلوگرمی حاوی خاک شنی-لومی کاشته شدند. بعد از گذشت ۷۰ روز تعداد برگ‌ها و شاخه‌های ساقه اصلی، تعداد کاپیتول شمارش و طول ریشه، ارتفاع ساقه اصلی، طول کاپیتول و وزن خشک اندازه‌گیری شد. در آزمایش دوم به منظور مطالعه اثر دما بر درصد و سرعت سبز شدن ریشه‌ها، دماهای ۱ تا ۳۸ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج آزمایش‌ها نشان داد تفاوت معنی‌داری در تمام صفات مورد بررسی به جزء طول کاپیتول بین اکوتیپ‌ها وجود داشت. تجزیه خوشه‌ای اکوتیپ‌ها یک نمودار چنگالی با ۴ گروه اصلی تولید کرد. گروه اول شامل اکوتیپ‌های بابل، گنبد و مغان بود. اکوتیپ‌های ورامین، شهرضا، مشهد، همدان و شیراز در خوشه دوم و اکوتیپ‌های کرمانشاه و دزفول نیز به ترتیب متعلق به خوشه‌های سوم و چهارم بودند. در مرحله بعد روی ماتریس همبستگی داده‌ها تجزیه به مولفه‌های اصلی انجام شد در کل ۳ مولفه اصلی حدود ۸۰/۲۰ درصد تغییرات کلی داده‌ها را توجیه نمودند. مولفه اول ۳۴/۳۳ درصد تغییرات را توجیه نمود. ارتفاع ساقه اصلی، وزن خشک کل و تعداد برگ با این مولفه دارای همبستگی مثبت بودند و وزن خشک اندام هوایی با آن همبستگی منفی داشت. مولفه دوم ۳۳/۸۲ درصد تغییرات کل داده‌ها را توجیه نمود. وزن خشک اندام زیرزمینی و طول ساقه + ریشه در این مولفه ضرایب بالایی داشتند. مولفه سوم ۱۲/۰۳ درصد تغییرات را در برگرفت که تنها تعداد کاپیتول در هر شاخه همبستگی بالایی مثبتی با این مولفه داشت. دمای پایه تخمین زده شده برای اکوتیپ‌های بابل، ورامین، شهرضا، گنبد، مشهد، دزفول، کرمانشاه، مغان، همدان و شیراز به ترتیب ۵/۳۴، ۴/۹۱، ۵/۷۰، ۴/۴۲، ۴/۵۲، ۳/۱۲، ۶/۲۶، ۳/۸۰ و ۵/۹۱ درجه سانتی‌گراد و درجه روز-رشد سبز شدن ۲۰۱، ۲۱۰، ۲۰۰، ۲۰۵، ۱۹۰، ۲۲۰، ۱۸۲، ۲۰۲، ۱۹۰ و ۲۱۰ به دست آمد. درک بهتر اثرات افزایش دما بر سبز شدن در شرایط محیطی متغیر توانایی راهکارهای موجود مدیریتی را در مدیریت علف‌های هرز بهبود بخشیده و به توسعه راهکارهای جدید می‌انجامد.

واژه‌های کلیدی: تعداد کاپیتول، درجه روز-رشد، دمای پایه سبز شدن، سرعت سبز شدن، وزن خشک اندام هوایی

مقدمه

زراعی از جمله ذرت (*Zea mays* L.)، نخود (*Pisum sativum*)، لوبیا (*Phaseolus vulgaris*)، چغندرقلند (*Beta vulgaris*) و سیبزمینی (*Solanum tuberosum*) وجود دارد (۱۰). خارلته میزبان حشراتی است که به ذرت و گوجه‌فرنگی خسارت می‌زنند و میزبان جایگزین برای بعضی از بیماری‌های گیاهی است (۲۳). این علف‌هرز از مناطق گرم خاورمیانه منشأ گرفته و گسترش آن کاملاً به مهاجرت انسان‌ها و فعالیت‌های کشاورزی وابسته است (۴۵). خارلته در ابتدا در شمال آفریقا، شرق مدیترانه، آسیا، افغانستان، ایران، پاکستان و چین پراکنش داشته ولی اکنون در همه دنیا پراکنده شده است (۴۸). در کشاورزی ارگانیک به دلیل عدم استفاده از علف‌کش‌ها جمعیت این علف هرز همراه با دو گونه شیر تیغی (*Sonchus arvensis*) و بید گیاه (*Elymus repens* L.) افزایش یافته است (۳۴ و ۳۷). خارلته مناطق زراعی طبیعی مسکونی و تجاری را نیز مورد تهاجم قرار

خارلته (*Cirsium arvense* L.) یک علف‌هرز سمج چند ساله با پراکنش وسیع در دنیا است که در اروپا و آمریکای شمالی بسیار در دسرساز است (۲۷ و ۴۴). خارلته حداقل ۲۷ گیاه زراعی را در ۳۷ کشور آلوده کرده است و در مناطق گرم نیم‌کره شمالی یافت می‌شود (۵۱). این علف‌هرز در ۵۳ درصد مزارع غلات و کلزا (*Brassica napus* L.) گزارش شده است (۴۴) و همچنین در مراتع و مزارع بذری یونجه (*Medicago sativa* L.) (۷) و در بسیاری از گیاهان

۱- استادیار دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و

تحقیقات، تهران، ایران

(*) نویسنده مسئول:

Email: m.diyant@srbiau.ac.ir

DOI: 10.22067/JPP.2021.72064.1046

می‌دهد (۴۲). اثرات محیطی و اقتصادی خارلته توسط محققان گزارش شده است. برای مثال این گونه می‌تواند جایگزین علف‌زارها و مراتع شده و تولید علوفه را در مراتع محدود کند (۲۴). کاهش تراکم خارلته با تیمارهای علف‌کش در مناطق ساحلی، غنای گونه‌های مهم برای پرندگان آبی را افزایش داده است (۲۰).

در علف‌های هرز چند ساله، استقرار اولیه از جوانه‌های ساختارهای رویشی زیرزمینی در شروع فصل رشد عامل مهمی در بقاء علف‌هرز است (۶). ذخیره کربوهیدرات‌ها در ساختارهای رویشی زیرزمینی، زمستان‌گذرانی منابع را برای رشد جوانه‌های جدید در حال نمو فراهم می‌کند. جوانه‌زنی و رشد تحت تاثیر بسیاری از عوامل قرار می‌گیرند که در این بین دما نقش مهمی را بازی می‌کند (۳۰ و ۳۸). اسپنسر و ساندر دریافتند که سرعت سبز شدن رامت‌های نی هندی (*Arundo donax*) به وزنشان و دما بستگی دارد (۴۳). افزایش دما از ۲۹ تا ۳۸ درجه سانتی‌گراد نه تنها سرعت سبز شدن اوپارسلام زرد (*Cyperus esculentus* (L.)) را افزایش داد بلکه همچنین رشد جوانه‌ها را افزایش داد و بنابراین طول و وزن خشک ساقه با افزایش دما افزایش یافت (۲۲). سبز شدن خارلته زمانی که متوسط دمای هفتگی به ۵ درجه سانتی‌گراد می‌رسد شروع شده و هنگامی که دما حداقل ۸ درجه سانتی‌گراد باشد بیشترین سبز شدن اتفاق می‌افتد. در ایالت مونتانا در ایالات متحده ساقه‌ها در اوایل اردیبهشت سبز می‌شوند سپس تشکیل روزت داده و ۳ هفته بعد رشد سریع عمودی می‌کنند. بیشترین سرعت رشد با متوسط ۳ سانتی‌متر در روز در طول ۲ هفته پایانی خرداد انجام می‌شود و در طول تیر سرعت رشد کاهش یافته و در مرداد صفر می‌شود. خارلته یک علف هرز C₃ است که در مناطق گرم با بارندگی کافی رشد می‌کند (۸). در حالی که خارلته غرقاب را تحمل نمی‌کند اما ریشه‌هایش به کمبود آب حساس هستند و خاک خشک توانایی استقرار گیاهان جدید را کاهش می‌دهد (۴۵).

عناوین متعددی برای توصیف جمعیت‌های محلی سازگار مورد استفاده قرار می‌گیرد برای مثال می‌توان به اکوتیپ اشاره کرد (۴) و

(۳۱). اکوتیپ یعنی گیاهانی که به طور ژنتیکی به محیطی که در آن ساکن شده اند، عادت کرده‌اند (۱۹). در ایران این علف‌هرز در مراتع و زمین‌های زراعی در اغلب استان‌ها شامل گلستان، مازندران، زنجان، همدان، اصفهان، خراسان، لرستان، سمنان، فارس، کرمان، سیستان و قزوین وجود دارد و یکی از علف‌های هرز عمده در زمین‌های زراعی است (۳۳). خارلته یکی از مهم‌ترین علف‌های هرز چند ساله در مزارع گندم است به خصوص در مناطقی که گندم به مدت چند سال مداوم کاشته شده است. مطالعه تفاوت‌های ژنتیکی بین اکوتیپ‌های آن در بسیاری از مناطق دنیا انجام شده است (۱، ۲ و ۳) اما در ایران مطالعه کمی روی آن صورت گرفته است. تنها سیف و همکاران به مطالعه بیوسیتماژیک این گونه در ایران پرداخته‌اند (۴۰).

افزایش درک ما از عوامل محیطی تعیین‌کننده سبز شدن خارلته می‌تواند راهکارهایی را برای کنترل آن فراهم آورد (۲۵ و ۳۵). بنابراین در این مقاله ویژگی‌های ریخت‌شناسی ۱۰ اکوتیپ جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران و همچنین اثر دما بر درصد و سرعت سبز شدن جوانه‌های ریشه در شرایط کنترل شده مورد بررسی قرار گرفت. دما به عنوان تیمار در نظر گرفته شد به این دلیل که یکی از مهمترین عواملی است که در بین مناطق انتشار خارلته در ایران تغییر می‌کند.

مواد و روش‌ها

آزمایش اول

جهت بررسی تفاوت‌های ریخت‌شناسی بین اکوتیپ‌های خارلته، قطعات ریشه از ۱۰ استان ایران (جدول ۱) در سال ۱۳۹۹ جمع‌آوری شدند. خارلته توانایی قابل ملاحظه‌ای در تغییر ویژگی‌های ریخت‌شناسی ریشه‌ها و ساقه‌های خود در واکنش به شرایط محیطی دارد (۲۸).

جدول ۱- منطقه، طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا اکوتیپ‌های خارلته جمع‌آوری شده

Table 1- Geographical location, longitude, latitude and altitude of collected ecotypes of Canada thistle

شماره	استان	منطقه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا
No.	Province	Location	Longitude	Latitude	Altitude (m)
1	Mazandarn	Babol	53° 04'	36° 29'	-2
2	Tehran	Varamin	51° 30'	35° 03'	1210
3	Esfahan	Shahreza	51° 23'	32° 21'	1263
4	Golestan	Gonbad	54° 33'	37° 07'	53
5	Khorasan-Razavi	Mashhad	55° 06'	36° 20'	1049
6	Khozestan	Dezful	48° 26'	32° 14'	151
7	Kermanshah	Kermanshah	47° 26'	34° 22'	1380
8	Ardebil	Moghan	47° 46'	39° 33'	30
9	Hamedan	Hamedan	48° 51'	34° 80'	1830
10	Fars	Shiraz	52° 54'	29° 61'	1580

شده در نظر گرفته شدند که طول بافت جدید سبز شده بیش‌تر از ۳ میلی‌متر بود (۳۸). در انتهای آزمایش درصد سبز شدن محاسبه شد. برای محاسبه سرعت سبز شدن از فرمول زیر استفاده شد (۱۷).

$$R_s = \sum_{i=1}^n \frac{S_i}{D_i}$$

که در آن R_s : سرعت سبز شدن (تعداد بذر در روز)، S_i : تعداد جوانه سبز شده در هر روز و D_i : تعداد روز از شروع آزمایش تا شمارش نام است. منحنی سرعت سبز شدن در مقابل دما رسم شد. دمای پایه (دمایی که در آن سرعت سبز شدن صفر است) با استفاده از معادله رگرسیون خطی بین سرعت سبز شدن و دما به دست آمد.

نتایج و بحث

آزمایش اول

جدول ۲ میانگین مربعات صفات مورد بررسی اکوتیپ‌های خارلته را نشان می‌دهد. تفاوت بین اکوتیپ‌ها در صفات مورد بررسی در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما تفاوت معنی‌داری در طول کاپیتول بین اکوتیپ‌ها وجود نداشت (جدول ۲).

طول ریشه

جدول ۳ میانگین صفات ریخت‌شناسی مورد بررسی را نشان می‌دهد. کم‌ترین طول ریشه را اکوتیپ کرمانشاه نشان داد که تفاوت معنی‌داری با اکوتیپ‌های مغان گنبد و بابل نداشت اما اکوتیپ دزفول طویل‌ترین ریشه را تولید کرد.

طول ساقه اصلی

کمترین و بیشترین طول ساقه اصلی در اکوتیپ‌های کرمانشاه ۳۴/۲۵ سانتی‌متر و دزفول ۵۶/۷۵ سانتی‌متر مشاهده شد. مور طول ساقه اصلی خارلته را ۴۵ تا ۷۵ سانتی‌متر گزارش کرده است (۲۶).

تعداد شاخه فرعی

تعداد شاخه فرعی در هر ساقه از ۴/۲۵ تا ۷ متغیر بود. کمترین طول ساقه+ریشه در اکوتیپ کرمانشاه مشاهده شد در مقابل اکوتیپ دزفول رشد بیشتری داشت و تفاوت آنها معنی‌دار بود.

وزن خشک اندام هوایی

اکوتیپ‌های مشهد و دزفول به‌ترتیب کمترین و بیشترین وزن خشک اندام هوایی را داشتند. تفاوت‌های زیادی در ویژگی‌های ریخت‌شناسی خارلته تا کنون گزارش شده است. اکوتیپ‌ها تفاوت‌هایی را در فنولوژی، فتوسنتز، عادت رشدی و اندازه، فراوانی روزنه‌ها، واکنش به علف‌کش‌ها، خواب بذر و جوانه‌زنی نشان داده‌اند (۲۶).

برای کاهش اثر محیط، ریشه‌ها مجدداً در گلدان در گلخانه و تحت شرایط کنترل شده، تکثیر شدند. دمای روز و شب به‌ترتیب ۳۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد بود و طول مدت روشنایی ۱۸ ساعت بود. خاک در تمام مدت مرطوب نگه داشته شد. قطعات ریشه سپس برداشت شدند و در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳ ماه نگهداری شدند. دو قطعه ریشه به طول ۱۰ سانتی‌متر با وزن مشابه و تعداد سه جوانه در گلدان‌هایی حاوی خاک شنی لومی کاشته شدند. آبیاری گلدان‌ها در طول آزمایش انجام شد و گیاهان در معرض تنش آبی نبودند. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی در گلخانه واقع در دماوند متعلق به دانشگاه آزاد اسلامی- واحد علوم و تحقیقات تهران انجام شد. بعد از ۷۰ روز گیاهان برداشت شدند. تعداد برگ‌ها و شاخه‌های ساقه اصلی، تعداد کاپیتول شمارش و طول ریشه، ارتفاع ساقه اصلی و طول کاپیتول اندازه‌گیری شد. وزن خشک ساقه و ریشه بعد از خشک شدن در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD حفاظت شده انجام شد. تجزیه به مولفه‌های اصلی برای تبیین درصد اهمیت هر صفت انجام شد. مقدار ویژه نسبتی از واریانس کل متغیرهاست که توسط هر عامل تبیین می‌شود و از طریق مجموع مجذورات بارهای عاملی مربوط به تمام متغیرها در آن عامل قابل محاسبه است. بنابراین مقادیر ویژه اهمیت عامل‌ها را در ارتباط با متغیرها نشان می‌دهد و پایین بودن این مقدار برای یک عامل به این معنی است که عامل مذکور نقش اندکی در تبیین واریانس متغیرها داشته و از این‌رو قابل چشم‌پوشی است. عواملی که دارای مقادیر یک و بالاتر از آن باشند در تحلیل نهایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. تجزیه خوشه‌ای با محاسبه فاصله اقلیدسی برای گروه‌بندی جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام و نمودار چنگالی آن رسم گردید.

آزمایش دوم

به منظور مطالعه اثر دما بر درصد و سرعت سبز شدن و تعیین دمای پایه سبز شدن جوانه‌های ریشه‌های خارلته، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی ۱۰ اکوتیپ خارلته و دما در ۱۵ سطح بودند. ریشه‌هایی با طول و وزن یکسان (۷ سانتی‌متر) و دارای تعداد دو جوانه در ظروف پلاستیکی با قطر ۱۰ سانتی‌متر و عمق ۶ سانتی‌متر بدون خاک قرار گرفتند. هر ظرف حاوی ۶ قطعه ریشه بود. ظروف در انکوباتور در معرض ۱۵ دمای ثابت ۱، ۳، ۵، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۱۸، ۲۰، ۲۳، ۲۶، ۲۹، ۳۲، ۳۵ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. جهت جلوگیری از تنش آبی، ظروف در زمان نیاز با آب مقطر آبیاری شدند. سبز شدن جوانه‌ها به صورت روزانه مورد بررسی قرار گرفت. جوانه‌ها زمانی سبز

جدول ۲- میانگین مربعات صفات ریخت شناسی اکوتیپ‌های خارلته
Table 2- Mean squares of morphological traits of Canada thistle ecotypes

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	طول ریشه Root length	ارتفاع ساقه اصلی Main shoot height	تعداد شاخه های فرعی در هر ساقه Number of branches per shoot	طول کل ساقه و ریشه Total length (shoot + root)	وزن خشک اندام هوایی Above-ground dry weight	وزن خشک اندام زیرزمینی Below-ground dry weight	وزن خشک کل Total plant dry weight	وزن خشک ساقه / ریشه Dry weight shoot to root ratio	تعداد برگ Number of leaves	تعداد کاپیتول در هر شاخه Number of capitulum per branch	طول کاپیتول Capitulum length
اکوتیپ Ecotype	9	217.65**	249.05**	3.95**	556.29**	18.79**	4.73**	30.27**	0.249**	4.09**	1.113*	0.747 ^{h.s}
خطا Error	30	13.96	5.07	0.45	24.92	0.89	0.70	1.81	0.24	0.76**	0.458	0.608
ضریب تغییرات C.V	-	3.27	5.14	13.02	2.82	6.54	8.90	5.66	9.97	6.11	19.76	5.2

تعداد کاپیتول در هر شاخه

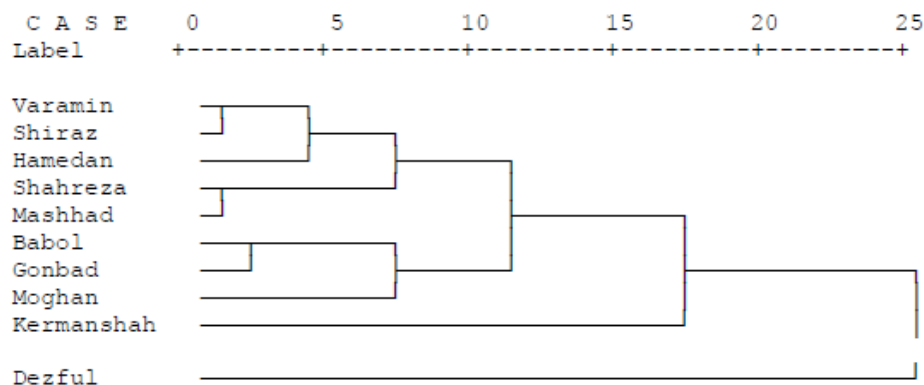
تعداد کاپیتول در هر شاخه از ۲/۷۵ در اکوتیپ شیراز تا ۴/۲۵ در اکوتیپ ورامین و دزفول متغیر بود. مور نیز بیان کرد که تعداد کاپیتول در هر شاخه از ۱ تا ۵ متغیر و طول کاپیتول بین ۱۵ تا ۲۵ میلی‌متر است (۲۶). تفاوت در ویژگی‌های ریخت‌شناسی در سایر علف‌های هرز نیز مشاهده شده است. تغییرات ریخت‌شناسی در تعداد زیادی از علف‌های هرز از جمله سوروف (*Echinochloa crus-galli* Beauv. (L.)، توق (*Xanthium strumarium* L.)، دسمودیوم (*Desmodium tortuosum* (Sw.) DC.)، اپوسینوم (*Apocynum cannabinum* L.)، گاوپنبه (*Abutilon theophrasti* Medic.) و سایر علف‌های هرز گزارش شده است (۴، ۲۴، ۳۲ و ۴۹).

وزن خشک ریشه

وزن خشک ریشه از ۸ گرم در اکوتیپ گنبد تا ۱۱/۵ گرم در اکوتیپ ورامین تغییر می‌کرد. وزن خشک کل در همدان کمترین مقدار را داشت و تفاوت معنی‌داری با اکوتیپ‌های مشهد و گنبد نداشت.

وزن خشک کل

بیشترین وزن خشک کل متعلق به اکوتیپ شیراز بود. نسبت وزن خشک ساقه به ریشه از ۱/۳۲ تا ۲/۱۷ متغیر بود. کمترین و بیشترین تعداد برگ به ترتیب در اکوتیپ‌های کرمانشاه و دزفول مشاهده شد.



شکل ۱- نمودار چنگالی اکوتیپ‌های خارلته بر اساس روش اقلیدوسی
Table 1- Dendrogram of Canada thistle ecotype based on Euclidean distance

جدول ۳- میانگین (انحراف معیار) صفات ریخت‌شناسی اکوتیپ‌های خارلته

Table 3- Mean (Standard Error) of morphological traits of Canada thistle ecotype

اکوتیپ Ecotype	میانگین Mean									
	طول	ارتفاع	تعداد شاخه	طول کل	وزن خشک	وزن خشک	وزن خشک	وزن خشک	تعداد برگ	تعداد کاپیتول
	ریشه Root length (cm)	ساقه اصلی Main shoot height (cm)	های فرعی در هر ساقه Number of branches per shoot	ریشه و Total length (shoot + root) (cm)	اندام هوایی Above-ground dry weight(g)	زیرزمینی Below-ground dry weight(g)	کل Total plant dry weight(g)	ساقه/ریشه Dry weight shoot to root ratio(g)	Number of leaves	در هر شاخه Number of capitulum per branch
Babol بابل	107.5 (3.23)	50.50 (1.71)	6.0 (0.41)	178.0 (4.74)	13.55 (0.58)	8.75 (0.48)	22.30 (1.04)	1.55 (0.04)	12.58 (0.31)	3.0 (0.41)
Varamin ورامین	115.0 (1.44)	36.75 (1.38)	7.0 (0.41)	172.50 (2.18)	15.92 (0.54)	11.5 (0.29)	27.42 (0.65)	1.45 (0.06)	12.37 (0.52)	4.25 (0.25)
Shahreza شهرضا	120.25 (1.84)	42.25 (1.11)	4.5 (0.29)	182.50 (1.32)	12.76 (0.25)	9.75 (0.48)	22.51 (0.37)	1.32 (0.08)	13.20 (0.11)	3.0 (0.41)
Gonbad گنبد	109.75 (2.25)	53.50 (1.32)	5.5 (0.29)	183.25 (3.52)	12.76 (0.13)	8.0 (0.41)	20.76 (0.43)	1.60 (0.08)	13.02 (0.35)	3.25 (0.48)
Mashhad مشهد	117.0 (1.29)	42.75 (0.85)	4.0 (0.41)	179.75 (1.70)	11.44 (0.45)	9.0 (0.41)	20.44 (0.74)	1.27 (0.05)	12.97 (0.18)	3.0 (0.41)
Dezful دزفول	127.75 (2.17)	56.75 (0.48)	6.0 (0.41)	202.50 (1.84)	18.42 (0.48)	8.5 (0.29)	26.92 (0.46)	2.17 (0.03)	14.37 (0.20)	4.25 (0.25)
Kermanshah کرمانشاه	103.0 (1.08)	34.25 (2.72)	4.5 (0.29)	157.25 (0.75)	14.34 (0.45)	9.25 (0.48)	23.59 (0.57)	1.56 (0.11)	10.60 (0.48)	3.5 (0.29)
Moghan مغان	105.0 (0.71)	47.50 (0.65)	5.5 (0.29)	169.50 (1.32)	15.13 (0.25)	9.25 (0.48)	24.38 (0.70)	1.64 (0.07)	12.12 (0.11)	3.5 (0.29)
Hamedan همدان	120.0 (1.47)	35.75 (0.48)	4.25 (0.25)	172.75 (1.93)	13.02 (0.25)	9.0 (0.41)	22.0 (0.56)	1.38 (0.06)	11.89 (0.57)	3.75 (0.25)
Shiraz شیراز	115.5 (1.94)	38.25 (0.45)	4.25 (0.25)	170.75 (2.56)	16.97 (0.87)	11 (0.41)	27.97 (0.70)	1.55 (0.13)	11.73 (0.56)	2.75 (0.25)
FLSD	5.39	3.25	0.96	7.20	1.36	1.20	1.94	0.22	1.10	0.97

تفاوت بیشتری بودند.

در مرحله بعد روی ماتریس همبستگی داده‌ها تجزیه به مولفه‌های اصلی انجام شد در کل ۳ مولفه اصلی حدود ۸۰/۲۰ درصد تغییرات کلی داده‌ها را توجیه نمودند که مقادیر ویژه و درصد واریانس مولفه‌ها در جدول ۴ آورده شده است. مجموع مجذورات بارهای عاملی مربوط به عواملی که از مقادیر ویژه قابل قبول (بالتر از یک) برخوردار بوده‌اند، در جدول ۴ آمده است. درصد تجمعی مجموع واریانس‌های تبیین شده توسط عوامل، شاخصی است که جهت ارزیابی متغیرهای انتخاب شده به کار می‌رود و باید بیش از ۵۰ درصد باشد همانطور که در ستون آخر جدول ۴ ملاحظه می‌شود، این میزان ۸۰/۲۰ درصد است.

تجزیه خوشه‌ای اکوتیپ‌های خارلته بر اساس فاصله تولید شده برای ویژگی‌های مورد مطالعه یک نمودار چنگالی با ۴ گروه اصلی تولید کرد. گروه اول شامل اکوتیپ‌های بابل، گنبد و مغان بود. اکوتیپ‌های ورامین، شهرضا، مشهد، همدان و شیراز در خوشه دوم قرار گرفتند و اکوتیپ‌های کرمانشاه و دزفول نیز به ترتیب متعلق به خوشه‌های سوم و چهارم بودند (شکل ۱). خوشه‌بندی اکوتیپ‌ها زیاد با توزیع جغرافیایی آنها در ارتباط نبود. هابنر و همکاران (۱۵) تفاوت‌های زیادی را در ویژگی‌های مرفولوژیکی در ۵ جمعیت گالیوم (*Galium aparine*) مشاهده کردند و این تفاوت‌ها تا حدی با توزیع جغرافیایی جمعیت‌ها ارتباط داشت. جمعیت‌های سوئدی و بلژیکی شباهت بیشتری به یکدیگر داشتند اما جمعیت‌های نروژی دارای

جدول ۴- مقادیر ویژه، درصد واریانس و درصد واریانس تجمعی مولفه‌های اصلی

Table 4- Eigen value, % Variance, % Cumulative variance of principal components

مولفه اصلی Principal component	مقدار ویژه Eigen value	درصد واریانس % Variance	درصد تجمعی % Cumulative
1	34.33	34.33	34.33
2	3.38	33.82	68.16
3	1.20	12.03	80.20

خشک اندام زیرزمینی و طول کل ساقه + ریشه در این مولفه ضرایب بالایی داشتند. مولفه سوم ۱۲/۰۳ درصد تغییرات را در برگرفت که تنها تعداد کاپیتول در هر شاخه همبستگی بالایی مثبتی با این مولفه داشت (جدول ۵).

مولفه اول ۳۴/۳۳ درصد تغییرات را توجیه نمود. ارتفاع ساقه اصلی، وزن خشک کل و تعداد برگ با این مولفه دارای همبستگی مثبت بودند و وزن خشک اندام هوایی با آن همبستگی منفی داشت. مولفه دوم ۳۳/۸۲ درصد تغییرات کل داده‌ها را توجیه نمود. وزن

جدول ۵- ماتریس دوران یافته مولفه‌های اصلی، معرف بارهای عامل بعد از چرخش (واریماکس)

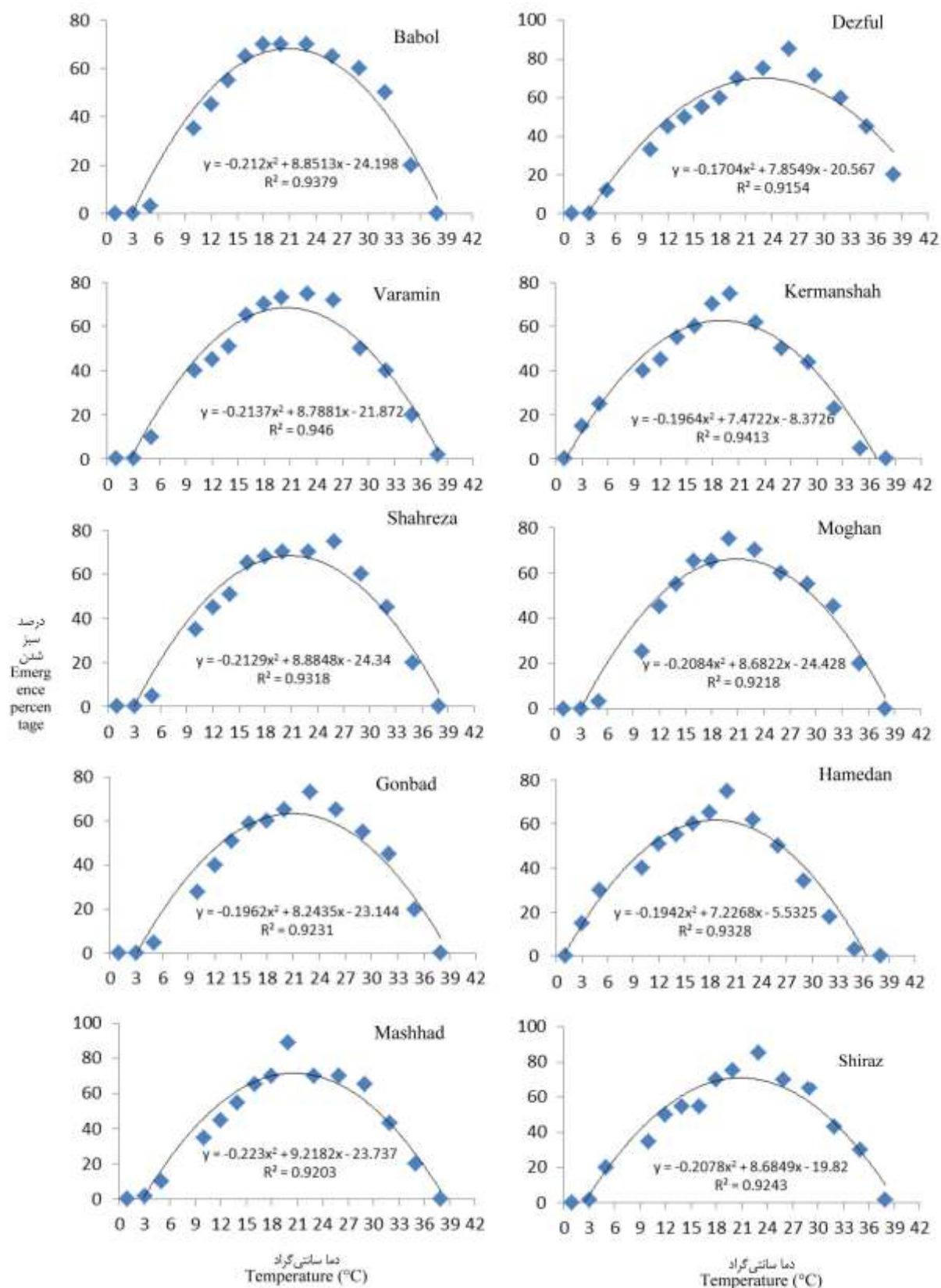
Table 5-Rotated Component Matrix, Varimax with Kaiser Normalization

صفات ریخت شناسی Morphological traits	مولفه اصلی Principal component		
	1	2	3
طول ریشه Root length	0.152	0.672	0.054
ارتفاع ساقه اصلی Main shoot height	0.878	0.160	-0.249
تعداد شاخه‌های فرعی در هر ساقه Number of branches per shoot	0.559	0.673	0.227
طول کل ساقه و ریشه Total length (shoot + root)	-0.258	0.923	-0.108
وزن خشک اندام هوایی Above-ground dry weight	-0.715	0.457	-0.330
وزن خشک اندام زیرزمینی Below-ground dry weight	0.030	0.942	0.028
وزن خشک کل Total plant dry weight	0.901	0.212	-0.291
وزن خشک ساقه /ریشه Dry weight shoot to root ratio	0.283	0.657	0.117
تعداد برگ Number of leaves	0.923	0.113	0.238
تعداد کاپیتول در هر شاخه Number of capitulum per branch	-0.065	0.125	0.900

آزمایش دوم

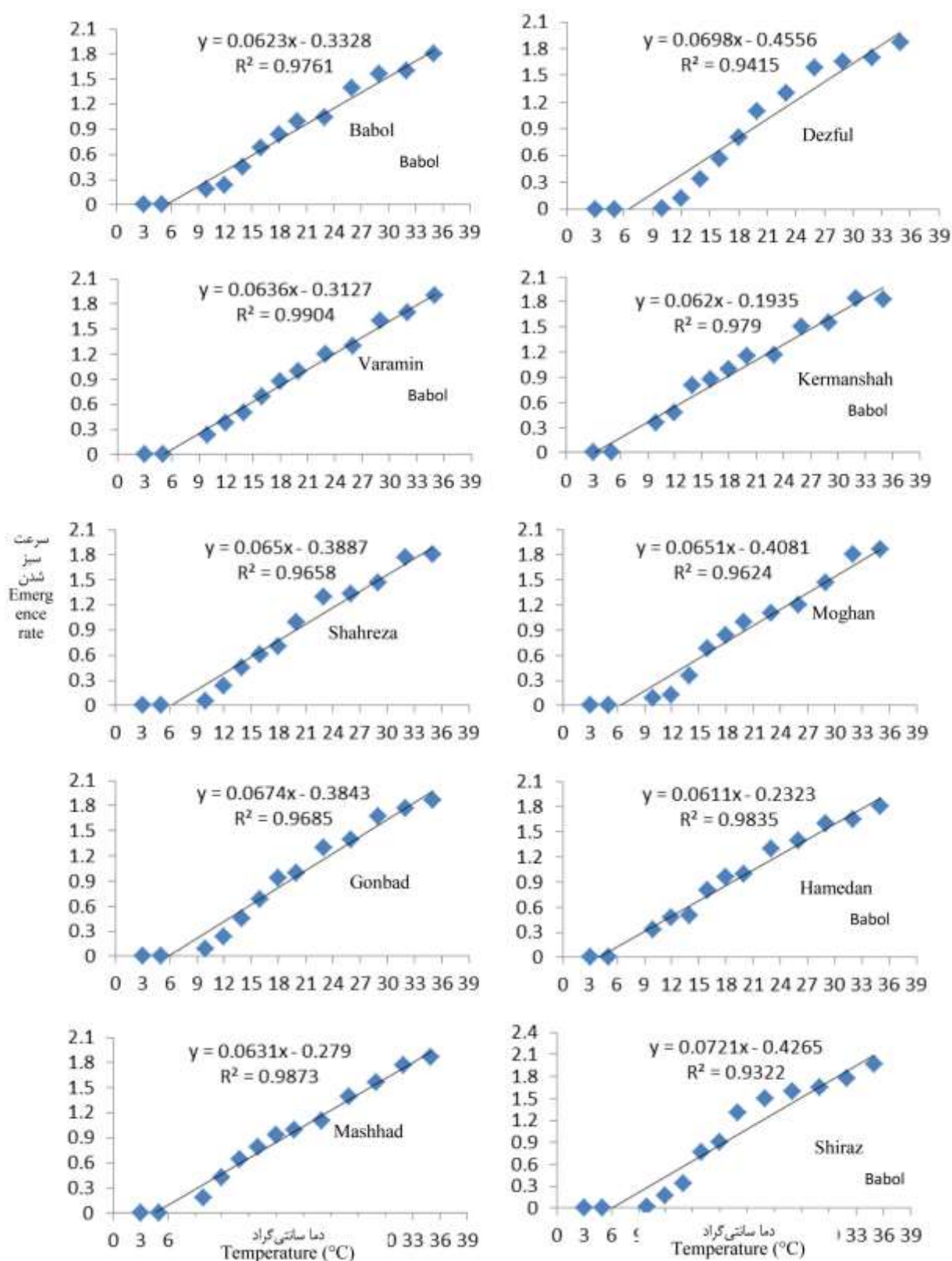
دما اثر مهمی بر سبز شدن ریشه‌های همه اکوتیپ‌های خارلته داشت (شکل ۲). زمانی که دما زیر ۳ درجه سانتی‌گراد بود جوانه‌های ریشه‌ها در هیچ یک از اکوتیپ‌ها سبز نشدند. اثر مثبت دما روی سبز شدن جوانه‌های ریزوم نوعی ارزن (*Panicum repens* L.) نیز توسط حسین و همکاران مشاهده شده است (۱۳). آنها دریافتند که افزایش دما از ۱۰ به ۲۰ درجه سانتی‌گراد جوانه‌زنی ریزوم‌ها را از ۵۰ درصد به ۹۰ درصد افزایش داد. ساتوره و همکارانش نیز دریافتند که سرعت جوانه‌زنی با افزایش دما در محدوده ۱۱-۳۳ درجه سانتی‌گراد در ریزوم‌ها و استولن‌های پنجه‌مرغی (*Cynodon dactylon* (L.)) افزایش یافت (۳۹). دمای بالا احتمالاً منجر به فعال شدن عملکردهای آنزیمی و فیزیولوژیکی جوانه‌های ریزوم‌ها شده و سرعت متابولیسم ذخایر عناصر غذایی را در ساقه‌های در حال رشد زیرزمینی افزایش می‌دهد. بالاترین درصد سبز شدن جوانه‌های ریشه‌های خارلته در اکوتیپ‌های بابل، مشهد، کرمانشاه، مغان و همدان در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در اکوتیپ‌های ورامین، گنبد و شیراز در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و در اکوتیپ‌های شهرضا و دزفول در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد حاصل شد و پس از این دماها درصد سبز شدن جوانه‌ها کاهش یافت. میزان و روند کاهش درصد سبز شدن با

افزایش دما در بین اکوتیپ‌ها متفاوت بود. برای مثال در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد جوانه‌های ریشه اکوتیپ کرمانشاه سبز نشدند درحالی‌که اکوتیپ دزفول ۲۰ درصد سبز شدن در این دما نشان داد (شکل ۲). توانایی متفاوت سبز شدن اکوتیپ‌ها در واکنش به دما توسط سایر محققین نیز گزارش شده است. برای مثال سبز شدن اکوتیپ‌های اویارسلام قرمز (*Cyperus rotundus* L.) (CYPRO) که در معرض دمای ثابت ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داشتند از ۱۱ تا ۸۵ درصد متغیر بود (۱۸). دما نه تنها درصد سبز شدن بلکه سرعت سبز شدن را نیز تحت تاثیر قرار داد. رابطه خطی بین سرعت سبز شدن و دما در شکل ۳ نشان داده شده است. ترولوس و همکاران (۴۷) اظهار کردند که سرعت و درصد سبز شدن اویارسلام قرمز در دمای بین ۱۸ و ۲۲ درجه سانتی‌گراد کمترین و در دماهای بین ۳۴ و ۳۸ درجه سانتی‌گراد بیشترین بود. سرعت سبز شدن با افزایش دما تا ۳۵ درجه افزایش و با افزایش دما از ۳۵ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت (شکل ۳). شکستن خواب جوانه‌ها در قیاق (*Sorghum halepense* (L.)) با افزایش دما در طیف ۲۸-۳۶ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت اما با افزایش بیشتر دما سرعت شکستن خواب جوانه‌ها کاهش یافت (۱۱). دمای پایه تخمین زده شده (داده‌های دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد در تخمین دمای پایه در نظر گرفته نشده‌اند).



شکل ۲- درصد سبز شدن ریشه های اکوتیپ‌های خارلته در واکنش به دما

Figure 2 –Emergence percentage of Canada thistle ecotypes in response to temperature (°C)



شکل ۳- رگرسیون خطی بین سرعت سبز شدن ریشه‌های خارلته و دما

Figure 3- Linear regression between emergence rate of Canada thistle roots and temperature (°C)

بین اکوتیپ‌ها مشخص شد انتظار می‌رود منشاء ژنتیکی داشته باشد (۴۶). نتایج آزمایش نشان داد که دما اثر مهمی بر سبز شدن جوانه‌های ریشه خارلته داشت نتایج مشابهی روی تعدادی از علف‌های هرز چندساله مثل چایر آبی (*Paspalum distichum*) (۱۴)، قیاق و مرغ (۳۹) گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق تفاوت معنی‌داری بین اکوتیپ‌های مورد بررسی در صفات ریخت‌شناسی مشاهده شد. دمای پایه سبز شدن از ۳/۱۲ تا ۶/۵۲ درجه سانتی‌گراد و GDD سبز شدن از ۱۹۰ تا ۲۲۰ متغیر بود. وجود تفاوت بین اکوتیپ یا جمعیت‌های علف‌هرز ممکن است قدرت رقابتی گونه‌های علف‌هرز را تحت تاثیر قرار دهد و در واکنش به روش‌های مدیریت شیمیایی و زراعی موثر باشد (۲۰، ۳۶ و ۵۰). برای مثال اکوتیپ‌های خارلته واکنش متفاوتی به علف‌کش‌های توفور-دی (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) (۲۰ و ۲۵) و آمیترو (1 H-1,2,4-triazol-3-amine) (۳۶) نشان داده‌اند. بررسی بیشتر این اکوتیپ‌ها از لحاظ فیزیولوژیکی و فنتولوژیکی و همچنین واکنش آنها به روش‌های مدیریتی پیشنهاد می‌گردد. درک بهتر اثر دما بر سبز شدن و پیش‌بینی زمان سبز شدن در شرایط اقلیمی در حال تغییر توانایی راهکارهای مدیریتی را برای علف‌های هرز موجود افزایش داده و به توسعه راهکارهای جدید می‌انجامد.

برای اکوتیپ‌های بابل، ورامین، شهرضا، گنبد، مشهد، دزفول، کرمانشاه، مغان، همدان و شیراز به‌ترتیب ۵/۳۴، ۴/۹۱، ۵/۹۸، ۵/۷۰، ۴/۴۲، ۶/۵۲، ۳/۱۲، ۶/۲۶، ۳/۸۰ و ۵/۹۱ درجه سانتی‌گراد به دست آمد (شکل ۳). هادسون (۹) دریافت که سبز شدن ریشه خارلته زمانی اتفاق می‌افتد که متوسط دمای هوا ۵ درجه سانتی‌گراد است و زمانی که دما به حداقل ۸ درجه سانتی‌گراد باشد بیشترین سبز شدن اتفاق می‌افتد. برای محاسبه ضریب حرارت از روش درجه-روز استفاده شد که مجموع میانگین دماهای بالاتر از صفر بیولوژیکی است (۱۲). برای محاسبه نیاز حرارتی مرحله سبز شدن جوانه‌ها در آزمایشگاه از مجموع حاصل ضرب هر یک از دماها در مدت زمان سبز شدن میانگین گرفته شد. بدین ترتیب درجه روز-رشد سبز شدن اکوتیپ‌های بابل، ورامین، شهرضا، گنبد، مشهد، دزفول، کرمانشاه، مغان، همدان و شیراز ۲۰۱، ۲۱۰، ۲۰۰، ۲۰۵، ۱۹۰، ۲۲۰، ۱۸۲، ۲۰۲، ۱۹۰ و ۲۱۰ درجه-روز به دست آمد. دونالد (۵) شروع رشد جوانه‌های ریشه خارلته را از خاک ۱۹۷ درجه-روز و درجه روز-رشد لازم برای رسیدن به ۸۰ و ۹۰ درصد سبز شدن را حدود ۵۸۷ و ۶۴۷ درجه-روز برآورد کرد.

نظام آبادی و همکاران (۲۹) دمای پایه سبز شدن ریزوم‌های شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) را ۶ درجه سانتی‌گراد و درجه روز-رشد لازم برای سبز شدن ریزوم‌های شیرین بیان را ۱۵۴ درجه-روز بیان کردند. با تکثیر گیاهانی از منابع مختلف در شرایط گلخانه‌ای یکسان اثرات گیاه مادری حذف شد و بنابراین هر تفاوت فنوتیپی که

منابع

1. Bodo Slotta T.A., Foley M., Chao S.H., Hufbaue R.A., and Horvath D.P. 2010. Assessing genetic diversity of Canada thistle (*Cirsium arvense*) in North America with microsatellites. *Weed Science* 58: 387-394.
2. Bodo Slotta T.A., Horvath D.P., and Foley M.E. 2006. Relationships of weedy and native thistles (*Cirsium*) in the Northern Great Plains. – *Weed Science Society of America*.
3. Bodo Slotta T.A., and Horvath D.P. 2005. Development of poly-morphic markers for *Cirsium arvense*, Canada thistle, and their amplification in closely related taxa. *Molecular Ecology Notes* 5: 917-919.
4. Cardina J., and Brecke B.J. 1989. Growth and development of Florida beggarweed (*Desmodium tortuosum*) selections. *Weed Science* 37: 207-210.
5. Donald W.W. 2000. A degree-day model of *Cirsium arvense* shoot emergence from adventitious root buds in spring. *Weed Science* 48: 333-341.
6. Ghersa C.M., Satorre E.H., Van ESSO M.L., Pataro A., and Elizagaray, R. 1990. The use of thermal calendar models to improve the efficiency of herbicide applications in *Sorghum halepense* (L.) Pers. *Weed Research* 30: 153-60.
7. Goodwin M.S., Morrison I.N., and Thomas A.G. 1986. A weed survey of pedigreed alfalfa seed fields in Manitoba. *Canadian Journal of Plant Science* 66: 413-416.
8. Hakansson S. 2003. Weeds and weed management in arable land: An ecological approach. CABI Publishing, Wallingford, UK. 274 pp.
9. Hodgson J.M. 1968a. The nature, ecology and control of Canada thistle. U.S. Dep. Agric. Tech. Bull. 1386. 32 pp.
10. Hodgson J.M. 1968b. Canada thistle and its control. U.S. Dep. Agric. Leaf. No. 523. 8 pp.
11. Holshouser D.L., Chandler J.M., and Wu H.I. 1996. Temperature-dependent model for non-dormant seed germination and rhizome bud break of Johnsongrass (*Sorghum halepense*). *Weed Science* 44: 257-265.
12. Holt J.S., and Orcutt D.R. 1996. Temperature thresholds for bud sprouting in perennial weeds and seed

- germination in cotton. *Weed Science* 44: 523–533.
13. Hossain A.M., Akamine H., Nakamura Yukioishimine I., and Kuramochi H. 2001. Influence of temperature levels and planting time on the sprouting of rhizome-bud and biomass production of torpedo grass (*Panicum repens* L.) in Okinawa Island, southern Japan. *Weed Biology and Management* 1: 164–169.
14. Huang W.Z., Hsiao A.I., and Jordan L. 1987. Effects of temperature, light and certain growth regulating substances on sprouting, rooting and growth of single-node rhizome and shoot segments of *Paspalum distichum* L. *Weed Research* 27: 57–67.
15. Hubner R., Fykse H., Hurle K., and Klemsdal S.S. 2003. Morphological differences, molecular characterization, and herbicide sensitivity of catchweed bedstraw (*Galium aparine*) population. *Weed Science* 51: 214–225.
16. Hunter J.H., and Smith L.W. 1972. Environment and herbicide effects on Canada thistle ecotypes. *Weed Science* 20: 163–167.
17. Hutman H., Kester D., and Davis F. 1990. Plant propagation, principle and practices, Prentice Hall Imitational Edition. 647 p.
18. Kawabata O., and Nishimoto R.K. 2003. Temperature and rhizome chain effect on sprouting of purple nutsedge (*Cyperus rotundus*) ecotypes. *Weed Science* 51: 348–355.
19. Klingaman T.E., and Oliver L.R. 1996. Existence of ecotypes among populations of entireleaf morningglory (*Ipomoea hederacea* var. *integriuscula*). *Weed Science* 44: 540–544.
20. Krueger-Mangold J., Sheley R.L., and Roos B.D. 2002. Maintaining plant community diversity in a waterfowl production area by controlling Canada thistle (*Cirsium arvense*) using glyphosate. *Weed Technology* 16: 457–463.
21. Kurokawa S., Shimizu N., Uozumi S., and Yoshimura Y. 2003. Intraspecific variation in morphological characteristics and growth habit of newly and accidentally introduced velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medic.) into Japan. *Weed Biology and Management* 3: 28–36.
22. Li B., Shibuya T., Yogo Y., and Hara T. 2000. Effects of temperature on bud-sprouting and early growth of *Cyperus esculentus* in the dark. *Journal of Plant Research* 113:19–27.
23. Link A.J., and Kommedahl T. 1958. Canada thistle - spotlight on a troublesome weed. *Minnesota Farm and Home Science* 15: 21–22.
24. Lym R.G., and Duncan C. 2005. Canada thistle (*Cirsium arvense* (L.) Scop. pp 69–83. In C.A. Duncan, and J.K. Clark (eds.) *Invasive Plants of Range and Wild lands and their Environmental, Economic and Societal Impacts*. Weed Science Society of America, Allen Press.
25. Maxwell B.D., Lehnhoff E.A., and Rew L.J. 2009. The rationale for monitoring invasive plant populations as a crucial step for management. *Invasive Plant Science Managment* 2: 1–9.
26. Moore R.J. 1975. The biology of Canadian weeds. 13. *Cirsium arvense* (L.) Scop. *Canadian Journal of Plant Science* 55: 1033–1048.
27. Morishita D.W. 1999. Canada thistle. Pages 162–174. In R.L. Sheley and J.K. Petroff, (eds.). *Biology and Management of Noxious Rangeland Weeds*. Corvallis, OR: Oregon State University.
28. Nadeau L.B., and Vanden Born W.H. 1989. The root system of Canada thistle. *Canadian Journal of Plant Science* 69: 1199–1206.
29. Nezamabadi N., Rahimian mashhadi H., Zand E., and Alizadeh H.M. 2006. Investigation of some ecophysiological aspects of licorice *Glycyrrhiza glabra*. *Pest and Diseases Plant* 74: 45–61.
30. Nilsen E.T., and Orcutt D.M. 1996. *Physiology of Plants under Stress: Abiotic Factors*. John Wiley and Sons, New York.
31. Norris R.F. 1996. Morphological and phenological variation in barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) in California. *Weed Science* 44: 804–814.
32. Ransom C.V., Kelis J.J., Was, L.M., and Orfanedes M.S. 1998. Morphological variation among hemp dogbane (*Apocynum cannabinum*) populations. *Weed Science* 46: 71–75.
33. Rechynger K.H. 1979. *Cirsium* Adans. Pages 231–280. In K.H. Rech'nyger, (ed.). *Flora Iranica*, Tomus 139a. Compositae III—Cynareae. Graz, Austria: Akademische Druck-und-Verlansanstalt.
34. Riesinger P., and Hyvönen T. 2006. Impact of management on weed species composition in organically cropped spring cereals. *Biological Agricultural Horticulture* 24: 257–274.
35. Rew L.J., Lehnhoff E.A., and Maxwell B.D. 2007. Nonindigenous species management using a population prioritization framework. *Canadian Journal of Plant Science* 87: 1029–1036.
36. Saidak W.J., and Marriage P.B. 1976. Response of Canada thistle varieties to amitrole and glyphosate. *Canadian Journal of Plant Science* 56: 211–214.
37. Salonen J., Hyvönen T., and Jalli H. 2001. Weed flora in organically grown spring cereals in Finland. *Agricultural and Food Science in Finland* 10: 231–242.
38. Satorre E.H., Ghersa C.M.G., and Pataro A.M. 1985. Prediction of *Sorghum halepense* (L.) Pers. rhizome sprout emergence in relation to air temperature. *Weed Research* 25: 103–109.
39. Satorre E.H., Rirro F.A., and Arias S.P. 1996. The effect of temperature on sprouting and early establishment of *Cynodon dactylon*. *Weed Research* 36: 431–440.

40. Seif E., Sheidai M., Norouzi M., and Noormohammadi Z. 2012. Biosystematic studies of *Cirsium arvense* populations in Iran. *Phytologia Balcanica* 18: 305–314.
41. Skinner K., Smith L., and Rice P. 2000. Using noxious weed lists to prioritize targets for developing weed management strategies. *Weed Science* 48: 640–644.
42. Sole M., Durka W., Eber S., and Brandl R. 2004. Genotypic and genetic diversity of the common weed *Cirsium arvense* (Asteraceae). *International Journal of Plant Science* 165: 437–444.
43. Spencer D.F., and Ksander G.G. 2006. Estimating *Arundo donax* ramet recruitment using degree-day based equations. *Aquatic Botany* 85: 282–288.
44. Thomas A.G., Frick, B.L., and Hall L.M. 1998. Alberta Weed Survey of Cereal and Oilseed Crops in 1997. Saskatoon, SK, Canada: Agriculture Canada, Weed Survey Series Publ. 98-2. 283 p.
45. Tiley G.E.D. 2010. Biological flora of the British Isles: *Cirsium arvense* (L.) Scop. *Journal of Ecology* 98: 938–983.
46. Townsend C.R., Begon M., and Harper J.L. 2003. *Essentials of ecology*, 2nd edn. Blackwell Publishing Ltd., Malden, USA.
47. Travlos I.S., Economou G., Kotoulas V.E., Kanatas P.J., Kontogeorgos A.N., and Karamanos A. 2009. Potential effects of diurnally alternating temperatures and solarization on purple nutsedge (*Cyperus rotundus*) tuber sprouting. *Journal of Arid Environment* 73: 22–25.
48. Van Driesche R.G., Blossey B., Hoddle M., Lyon S., and Reardon R. 2002. Biological Control of Invasive Plants in the Eastern United States. Morgantown, WV: USDA Forest Service, FHTET-2002-04.
49. Wassom J.J., Tranel P.J., Wax L.M. 2002. Variation among U.S. accessions of common cocklebur (*Xanthium strumarium*). *Weed Technology* 16: 171–179.
50. White D.E. 1979. Physiological Adaptations in Two Ecotypes of Canada Thistle, *Cirsium arvense* (L.) Scop. M.S. Thesis, Univ. California, Davis, CA. 69 p.
51. Zouhar K. 2001. *Cirsium arvense*. – In: Fire Effects Information System. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Fire Sciences Laboratory (Producer). <http://www.fs.fed.us/database/feis/> (accessed February 2012).



Intra-specific Variations among Different Canada Thistle (*Cirsium arvense* L.) Ecotypes

M. Diyanat^{1*}

Received: 19-09-2021

Accepted: 12-10-2021

Introduction: Canada thistle (*Cirsium arvense* L.) occurs in pastures and wheat fields and is common in most provinces, where it is considered a major agricultural weed in Iran. Increasing our understanding of the environmental factors that determine Canada thistle emergence can provide strategies to control it. Therefore, in this paper the morphological characteristics of 10 ecotypes collected from different regions of Iran and the effect of temperature on the percentage and rate of emergence of root buds in controlled conditions were investigated. Temperature was considered as the treatment because it is one of the most important factors that fluctuate between the diffusion regions in Iran.

Materials and Methods: To evaluate any morphological differences among ecotypes of Canada thistle, root fragments were collected from 10 provinces of Iran in 2020. To reduce the effect of the environment, the roots were propagated again in pots in the greenhouse under controlled conditions. Day and night temperatures were 30 and 15 °C, respectively. The root pieces were then harvested and stored at 5 °C for 3 months. Two 10 cm long roots with same weight and same number of buds were planted in pots containing loamy sandy soil. The pots were irrigated during the experiment and the plants were not exposed to water stress. A Completely Randomized Design was conducted at Science Research Branch, Islamic Azad University. After 70 days plants were harvested. The numbers of leaves and branches on the main shoot and number of capitulum were counted and the root length, height of the main shoot and capitulum length were measured. Data analysis of variance was performed using SAS software and means were compared using protected LSD test. Cluster analysis was performed by calculating the Euclidean distance for grouping populations using SPSS software and its dendrogram was drawn. The root and shoot dry weights were measured after drying at 70 °C for 48 h after harvest. At second experiment, temperatures 1- 38° C were evaluated for studying the effect of temperature on percent and rate of shoot emergence. Base temperature (temperature at which the germination rate is zero) was obtained using the linear regression equation between germination rate and temperature.

Results: There were significant differences at morphological traits among Canada thistle ecotypes except capitulum length. Root dry weight varied from 8 g in Gonbad ecotype to 11.5 g in Varamin ecotype. Total dry weight was the lowest in Hamedan and was not significantly different from Mashhad and Gonbad ecotypes. The highest total dry weight belonged to Shiraz ecotype. Cluster analysis grouped 10 ecotypes at four groups. First group consisted of Babol, Gonbad and Moghan ecotypes. Varamin, Shahreza, Mashhad, Hamedan and Shiraz placed at second group. Kermanshah and Dezful were placed at third and fourth groups, respectively. In the next step, the data were correlated into principal components on the correlation matrix. In total, the three main components explained about 80.20% of the total data changes. The first component explained 34.33% of the changes. Main stem height, total dry weight and number of leaves had a positive correlation with this component and shoot dry weight had a negative correlation with it. The second component explained 33.82% of the changes in the total data. Groundwater dry weight and total stem + root length had high coefficients in this component. The third component accounted for 12.03% of the changes, with only the number of capitols in each branch having a high positive correlation with this component. The estimated base temperatures for the emergence of bud root were 5.34, 4.91, 5.98, 5.70, 4.42, 6.52, 3.12, 6.26, 3.80 and 5.91°C for Babol, Varamin, Shahreza, Gonbad, Mashhad, Dezful, Kermanshah, Moghan, Hamedan and Shiraz ecotypes, respectively. Emergence growth degree day for Babol, Varamin, Shahreza, Gonbad, Mashhad, Dezful, Kermanshah, Moghan, Hamedan and Shiraz were 201, 210, 200, 205, 190, 220, 182, 202, 190 and 210, respectively.

Conclusion: Temperature had a significant influence on the root of Canada thistle. When the temperature

1- Assistant Professor of Department of Agricultural Sciences and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(*- Corresponding Author Email: m.diyant@srbiau.ac.ir)

DOI: 10.22067/JPP.2021.72064.1046

was below 3°C, no emergence occurred. Temperature affected not only the percentage of emergence but also the emergence rate. There was a significant linear relationship between the emergence rate and incubation temperature. High temperature probably causes activation of the enzymatic and physiological function of root buds and increases the rate of mobilization of nutrient reserves to the growing belowground shoots.

Keywords: Capitule number emergence temperature base, Emergence rate, Growing degree day, Shoot dry weight

Contents

Evaluation of Effect of Different Fungicides on Fungus <i>Podosphaera leucotricha</i>, the Causal Agent of Apple Powdery Mildew Disease	407
H. Karbalaee Khiavi – H. Khabbaz Jolfaee– H. Ramazani	
Evaluating the Reaction of some Non-hybrid and Hybrid Tomato Cultivars to Bacterial Speck Disease	420
A. Abbaspour Anbi - M. Khezri	
Distribution and Phylogeny of <i>Grapevine fanleaf virus</i> in Vineyards of Khorasan Razavi Province Based on Coat Protein Region	431
S. Gharouni-Kardani - M.R. Karimi Shahri - F. Azad Disfani	
The Effect of Simultaneous Application of <i>Trichoderma harzianum</i> and Plant Mulch on Yield and Physiological Characteristics of Wheat (cv. Narin)	444
M. Mehrabani - A. Mohammadi- M. Khazaei- M. Jami Al-Ahmadi	
Evaluation of a Botanical Acaricide Contain Cottonseed and Clove Oils against Two-spotted Spider Mite in Apple Orchards of Iran	455
M. Mirzaei - M.R. Nematollahi - H. Kamali	
Use of Microsatellite Markers for Analysis of Genetic Diversity between Populations of Green Lacewings <i>Chrysoperla carnea</i> (Neuroptera, Chrysopidae)	468
F. Abdollahadi - A.N. Mirmoayed- S. Jamali- L. Zarei	
Effect of Different Organic and Chemical Compounds on Population Density of <i>Trialeurodes vaporariorum</i> Westwood and Some Secondary Metabolites of Bean Plant	480
M. Karamoozian - M. Pahlavan Yali- K. Ahmadi	
The Effect of Nutritional Interaction between Micronutrient Fertilizers and <i>Capsicum annuum</i> L. on the Population Growth of <i>Aphidoletes aphidimyza</i> Rondani as Predator of Green Peach Aphid	494
M. Mirab-balou -T. Alizamani	
Effect of Time and Burial Depth on Breaking Seed Dormancy and Percentage of Germination of <i>Myagrurn</i> (<i>Myagrurn perfoliatum</i> L.) Weed Seeds	504
F. Sharifi Kalyani - S. Jalali Honarmand - I. Nosrati- A. Bagheri- H. Heidari	
Intra-specific Variations among Different Canada Thistle (<i>Cirsium arvense</i> L.) Ecotypes	517
M. Diyanat	

Iranian Plant Protection Research

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol . 35

No. 4 2021

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	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Baghaee Ravari ,S	Plant Pathology	Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Karim Mojeni ,H	Production and Plant Genetics	Asso. Prof. Isfahan University of Technology
Pourjam, E.	Plant Pathology	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	Researcher and Curator of Lepidoptera collection, Department Entomology State Museum of Natural History 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: <https://jpp.um.ac.ir/>