نشریه علمی

پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران

جلد ۳۷ شماره ۳

سال ۱۴۰۲

شماره پیاپی: ۶۱

عنوان مقالات

بررسی قارچ‌های عامل و همراه بیماری لکه‌برگی گیاه گل نرگس در استان خراسان جنوبی ۲۳۱
سعیده متولی حبیبی - مهدی جهانی - هادی محمودی - محمدرضا میرزائی

مقایسه علایم، تعیین توالی کامل و تحلیل فیلوژنتیکی جدایه‌های ویروس تریستزای مرکبات از استان‌های مازندران و فارس ۲۳۹
ندا روحانی - محمد زکی عقل - محسن مهرور

تأثیر مکمل غذایی بر چند ویژگی فیزیولوژیک و زیست‌شناختی سن نواری چتریان *Graphosoma lineatum* L. ۲۶۱
رضا فرشباف پورآباد - هانیه اسپرانی اسدی - داود محمدی

الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف زیستی سنک عناب *Monosteira alticarinata* (Hemiptera: Tingidae) در شهرستان بیرجند ۲۷۷
سیده آسیه عظمی مقدم - حسین صادقی نامقی - سعید مودی

ارزیابی کارایی فرمولاسیون میکروکپسول سنتزشده علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین در کنترل علف‌های‌هرز دم‌روباهی و تاج‌خروس در شرایط گلخانه ۲۹۱
احمد رهبری - ابراهیم ایزدی دربندی - محمد حسن راشد محصل - غلامحسین ظهوری - اسکندر زند

تأثیر مدت‌زمان تداخل بین‌گونه‌ای و تعیین دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز در نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) ۳۰۳
امیرحسین لادمخی نژاد - آلمیرا محمدوند - جعفر اصغری

اثر متقابل نوع مویان آرگانوسیلیکونی و حجم پاشش بر کارایی دیکلوفوپ-متیل در کنترل یولاف وحشی زمستانه ۳۱۷
اکبر علی‌وردی - سمیرا کرمی

رقابت بین ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز تحت شرایط گرد و خاک ۳۲۹
معصومه سادات موسوی - علیرضا ثاب - سمیه حاجی‌بابا

نشریه پژوهش های حفاظت گیاهان ایران

(علوم و صنایع کشاورزی)

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

جلد ۳۷ شماره ۳ پاییز ۱۴۰۲

بر اساس مصوبه وزارت عتف از سال ۱۳۹۸، کلیه نشریات دارای درجه "علمی-پژوهشی" به نشریه "علمی" تغییر نام یافتند.

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

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

سردبیر: عصمت مهدیخانی مقدم — استاد- بیماری شناسی گیاهی (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، آرش	محقق، اکولوژی حشرات، تگزاس
راضی، هومن	دانشیار- ژنتیک مولکولی (دانشگاه شیراز)
رجائی، حسین	حشره شناس، مدیر کلکسیون بالپولکداران، موزه ایالتی تاریخ طبیعی اشتوتگارت (آلمان)
صادقی نامقی، حسین	استاد- حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)
صبوری، علیرضا	استاد- حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه تهران)
صحراگرد، احد	استاد- حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه گیلان)
کریم مجنی، حسن	دانشیار- تولید وژنتیک 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: دانشگاه فردوسی مشهد

نشانی: مشهد- کد پستی ۹۱۷۷۵ صندوق پستی ۱۱۶۳

دانشکده کشاورزی _دبیرخانه نشریات علمی

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

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

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

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

بررسی قارچ‌های عامل و همراه بیماری لکه‌برگی گیاه گل نرگس در استان خراسان جنوبی ۲۳۱

سعیده متولی حبیبی- مهدی جهانی- هادی محمودی- محمدرضا میرزائی

مقایسه علایم، تعیین توالی کامل و تحلیل فیلوژنتیکی جدایه‌های ویروس تریستزای مرکبات از استان‌های مازندران و فارس ۲۳۹

ندا روحانی- محمد زکی عقل- محسن مهرور

تأثیر مکمل غذایی بر چند ویژگی فیزیولوژیک و زیست‌شناختی سن نواری چتریان، *Graphosoma lineatum* L. ۲۶۱

رضا فرشباف پورآباد- هانیه اسپرانی اسدی- داود محمدی

الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف زیستی سنک عناب *Monosteira alticarinata* (Hemiptera: Tingidae) در شهرستان بیرجند ۲۷۷

سیده آسیه نطقی مقدم- حسین صادقی نامقی- سعید مودی

ارزیابی کارایی فرمولاسیون میکروکپسول سنتزشده علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین در کنترل علف‌های‌هرز دم‌روباهی و تاج‌خروس در شرایط گلخانه ۲۹۱

احمد رهبری- ابراهیم ایزدی دربندی- محمد حسن راشد محصل- غلامحسین ظهوری- اسکندر زند

تأثیر مدت‌زمان تداخل بین‌گونه‌ای و تعیین دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز در نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) ۳۰۳

امیرحسین لادمخی نژاد- المیرا محمدوند- جعفر اصغری

اثر متقابل نوع مویان اُرگانوسیلیکونی و حجم پاشش بر کارایی دیکلوفوپ-متیل در کنترل یولاف وحشی زمستانه ۳۱۷

اکبر علی‌وردی- سمیرا کرمی

رقابت بین ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز تحت شرایط گرد و خاک ۳۲۹

معصومه سادات موسوی- علیرضا تاب- سمیه حاجی‌نیا

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 229-236

Investigation of Fungi Causing and Associated with Narcissus Leaf Spot Disease in Southern Khorasan Province

S. Motavalli Habibi[1], M. Jahani[2*], H. Mahmoudi[3], M.R. Mirzaee[4]

Received: 23-05-2022
Revised: 28-08-2023
Accepted: 01-10-2023
Available Online: 01-10-2023

How to cite this article:
Motavalli Habibi, S., Jahani, M., Mahmoudi, H., & Mirzaee, R. (2023). Investigation of fungi causing and associated with Narcissus leaf spot disease in Southern Khorasan province. *Journal of Iranian Plant Protection Research, 37*(3), 229-236. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2023.76784.1094

Introduction

Narcissus (*Narcissus tazetta*) is one of the perennial herbaceous and ornamental bulbous crops that is used as a cut flower garden plant and potted plant. Fungal diseases are one of the harmful factors of this ornamental plant in different parts of the world. In 2018, symptoms of Narcissus leaf spot (NLS) were observed in some planting areas of this plant in South Khorasan province. This study was carried out to identify the casual and associated fungi with NLS in Southern Khorasan province.

Materials and Methods

Samples with leaf spot symptoms were collected from two regions, Khoosf and Tabas, from 2018 to 2019. Plant tissues were transferred to the laboratory of the Department of Plant Protection in separate paper bags. The tissues were cultured on a Potato Dextrose Agar (PDA) medium and purification was performed on a 2% water-agar medium using the Hyphal tip method. Fungal agents were isolated and identified based on morphological and molecular characteristics. The DNA of representative fungal isolates was extracted according to the CTAB method. To molecularly confirm the species, part of the rDNA gene was amplified using ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') and ITS4 (5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primers. Sequencing of PCR products was done by Pishgam Biotechnology Company and deposited in the GenBank with Accession number: MN829259. Sequences were edited with Chromas software and the edited sequences were saved in FASTA format. The ITS-based phylogenetic tree was constructed using the Maximum Likelihood Method with MEGA ver6.0 software. For the pathogenicity test, the Narcissus plant was inoculated with mycelia plugs. In order to maintain moisture and establish the fungus, the inoculation area was covered with parafilm. The plants were covered with polythene bags for 24 hours. The bags were removed after 24 hours. In the control plants, the potato-dextrose-agar culture medium without fungal mycelium was used. All plants were examined after 3 to 14 days and the pathogen was re-isolated from the inoculated plant that showed leaf spot.

Results and Discussion

Symptoms of narcissus leaf spot (NLS) disease in the sampled areas included elongated, elliptical, and red to brown circles on the leaf. A total of 50 samples of different leaf spot symptoms were collected. In this study, 20 fungal strains were isolated and identified based on morphological and molecular characteristics. The growth

1 and 2- M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: mjahani@birjand.ac.ir)
3 and 4- Researcher and Assistant Professor of Plant Protection Research Section of Agricultural and Natural Research and Education Center of South Khorasan Province, Birjand, Iran, respectively.
https://doi.org/10.22067/jpp.2023.76784.1094

rate of this isolate on the PDA medium was relatively fast and the average growth rate after 7 days was 6.6 cm. Pycnidia were formed abundantly on the PDA medium after 7 days. The pycnidiospores were transparent, mostly single-celled (3-4×5-7), sometimes two-celled (11.5-15 ×5.8), round to oval and curved. Chlamydospores (8-15) were dark brown, unicellular and multicellular, intercellular and rarely terminal. Based on morphological characteristics, the strains were finally identified as *Phoma narcissi*.

The NCBI blast search revealed that the ITS region *Phoma narcissi* in our study had similarities to *Didymella curtisii*, *Phoma narcissi*, and *Phoma* sp. 100%, 100%, and 99% respectively. Phylogenetic analysis confirms that the examined strain belongs in a clade with strains of *Ph. narcissi*. In Pathogenicity tests, symptoms of the disease were observed on all plants 7 days after inoculation. No symptoms developed on non- inoculated plants. The original pathogen was re-isolated from the leaf spots of inoculated plants. *Phoma s.l.* is one of the most ubiquitous fungal genera, characterized by its great ecological diversity and difficult identification. According to our knowledge, the main cause of NLS disease in the east of the country is the *Ph. Narcissi*, *Fusarium* sp. and *Cladosporium* sp. were associated agents with this disease. Since the identification of the disease agent is effective in choosing effective and efficient strategies for disease control, the results can help to adopt effective methods in disease management.

Keywords: Narcissus, Pathogenic fungus, *Phoma narcissi*

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله کوتاه پژوهشی
جلد ۳۷ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲، ص. ۲۳۶-۲۲۹

بررسی قارچ‌های عامل و همراه بیماری لکه‌برگی گیاه گل نرگس در استان خراسان جنوبی

سعیده متولی حبیبی[۱]- مهدی جهانی[۲*]- هادی محمودی[۳]- محمدرضا میرزائی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۲
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۶/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۹

چکیده

گل نرگس گیاهی چندساله و زینتی از تیره آماریلیداسه است که استفاده آن به صورت گل بریده، گیاه باغچه‌ای و گلدانی در کشور رایج می‌باشد. بیماری‌های قارچی یکی از عوامل خسارت‌زای این گیاه زینتی در نقاط مختلف جهان محسوب می‌شوند. این مطالعه به منظور شناسایی قارچ‌های عامل و همراه بیماری لکه برگی گل نرگس در استان خراسان جنوبی طی سال‌های زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۷ انجام گرفت. نمونه‌های دارای علایم بیماری از دو منطقه در استان (شهرستان‌های خوسف و طبس) جمع‌آوری، عوامل قارچی جداسازی و بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی شناسایی انجام شد. جهت تایید مولکولی گونه، تکثیر بخشی از ژن rDNA با آغازگر ITS4 و ITS5 انجام شد. بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی عامل اصلی بیماری لکه برگی در استان خراسان جنوبی گونه *Phoma narcissi* شناسایی و بیماری‌زایی آن اثبات شد. بلاست توالی ناحیه تکثیر شده نشان داد که توالی مربوط به جدایه *Phoma narcissi* در این مطالعه با جدایه‌های (heterotypic synonym: *Phoma narcissi*) *Didymella curtisii*، *Phoma narcissi* و *Phoma* sp. در بانک ژن به‌ترتیب ۱۰۰، ۱۰۰ و ۹۹ درصد شباهت دارد. در این بررسی آرایه‌های قارچی از جنس‌های *Fusarium*، *Cladosporium* نیز به عنوان عوامل همراه این بیمارگر شناسایی و گزارش می‌شود. از آنجایی که شناسایی عامل بیماری در انتخاب روش‌های موثر و کارآمد در مدیریت بیماری موثر است، نتایج این بررسی می‌تواند به اتخاذ روش‌های موثر در مدیریت بیماری کمک نماید.

واژه‌های کلیدی: قارچ بیمارگر، گل نرگس، *Phoma narcissi*

مقدمه

نرگس با نام علمی *Narcissus tazetta* از تیره Amaryllidaceae گیاهی چندساله و جزء محصولات پیازدار زینتی محسوب می‌شود. ۳۲ هکتار از اراضی استان خراسان جنوبی زیر کشت گل نرگس بوده و بیشترین سطح زیر کشت در استان به‌ترتیب مربوط به شهرستان خوسف با سطح ۲۱ هکتار و طبس با سطح ۱۱ هکتار است (Agricultural jihad of southern Khorasan, 2019). یکی از عوامل مهم در کاهش کمی و کیفی گل نرگس بیماری‌های قارچی است. بیماری‌های قارچی ناشی از *Fusarium oxysporum* f.sp. *narcissi*، *Botrytis narcissicola*، *Ramularia vallisumbrosae*، *Botryotinia polyblastis*، *Stagonospora curtissi* و *Physoderma narcissi* از جمله بیماری‌های مهم نرگس در مناطق مختلف جهان می‌باشند (Taylor and Hanks and Chastagner *et al.*, 2019). در ایران گونه *Stagonospora curtisii*، بر اساس خصوصیات مرفولوژیک به‌عنوان عامل لکه برگی از مزارع نرگس بهبهان گزارش شده است (Mohammadi *et al.*, 2004). در سال ۱۳۹۷ علایم لکه برگی در مزارع گل نرگس در برخی از مناطق کاشت این گیاه در استان خراسان جنوبی مشاهده شد. از آنجایی که شناسایی عامل بیماری

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
(*- نویسنده مسئول: Email: mjahani@birjand.ac.ir)
۳ و ۴- به‌ترتیب پژوهشگر و استادیار بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان جنوبی بیرجند-ایران
https://doi.org/10.22067/jpp.2023.76784.1094

اولین مرحله در مدیریت بیماری است در این پژوهش، سبب‌شناسی عامل بیماری لکه برگی در مناطق کاشت گل نرگس در استان خراسان جنوبی انجام گرفت. نتایج این بررسی می‌تواند در تدوین دستورالعمل مدیریت بیماری حائز اهمیت باشد.

مواد و روش‌ها

جداسازی و شناسایی عوامل بیمارگر

نمونه‌برداری در سال‌های ۹۹-۹۷ در دو منطقه خوسف و طبس در استان خراسان جنوبی انجام گرفت. برای جداسازی عامل بیماری، از برگ‌های دارای علائم لکه برگی، بخش کوچک حدفاصل بخش آلوده و سالم جدا و به مدت ۵ دقیقه زیر جریان ملایم شیر آب شست و سپس از حدفاصل بافت سالم و آلوده قطعات ۱سانتی‌متری برش داده شد. نمونه‌ها در محلول نیم درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی سطحی و پس از شستشو با آب مقطر سترون روی سیب زمینی-دکستروز-آگار کشت داده شد. برای شناسایی مولکولی ناحیه ژنی ITS[1] با استفاده از آغازگرهای ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) و ITS5 (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) تکثیر شد و درخت فیلوژنی مبتنی بر توالی این ناحیه با استفاده از روش بیشینه درست نمایی[2] با نرم‌افزار MEGA ver6.0 ترسیم شد (Tamura *et al.*, 2013).

برای انجام آزمون اثبات بیماری‌زایی، قطعات ۱×۱ سانتی‌متری از محیط کشت دارای میسلیوم جدایه‌های قارچی روی برگ‌های گل نرگس که با الکل سفید سترون شده بود، قرار داده شد. به‌منظور حفظ رطوبت و استقرار قارچ ناحیه تلقیح با پارافیلم پوشیده شد. بوته‌ها با نایلون پلاستیکی به مدت ۴۸ ساعت پوشانده و هر روز سطح داخلی پلاستیک با آب اسپری شد تا رطوبت مورد نیاز حفظ شود. در مورد گیاهان شاهد از محیط کشت سیب زمینی-دکستروز-آگار بدون پرگنه قارچی استفاده شد. انجام آزمایشات بیماری‌زایی درون گلدان و همچنین در شرایط مزرعه (در پلات‌های آزمایشگاهی مزرعه‌ای) انجام شد. بوته‌ها بعد از گذشت ۳ تا ۱۴ روز بررسی و از گیاهانی که علائم در آن‌ها مشاهده شد، قارچ عامل بیماری مجدد جداسازی گردید.

نتایج و بحث

در نمونه‌برداری از دو منطقه عمده کاشت گل نرگس (خوسف و طبس) در استان خراسان جنوبی، مجموعا ۵۰ نمونه از علائم متفاوت لکه‌برگی جمع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق ۲۰ جدایه قارچی از بافت‌های برگی گیاهان دارای علایم لکه برگی جداسازی‌گردید. علائم بیماری لکه برگی گل نرگس در مناطق نمونه‌برداری شده شامل لکه‌های کشیده، بیضوی، دایره‌ای قرمز تا قهوه‌ای روی برگ بود که در مواردی برگ‌ها از محل لکه دچار تاخوردگی شده و کاملا زرد شده شده بودند (شکل ۱).

بر اساس صفات ریخت‌شناسی و خصوصی مولکولی سه آرایه قارچی در این بررسی در ارتباط با بیماری لکه برگی نرگس در استان خراسان جنوبی شناسایی گردید (جدول ۲).

خصوصیات گونه *Phoma narcissi*

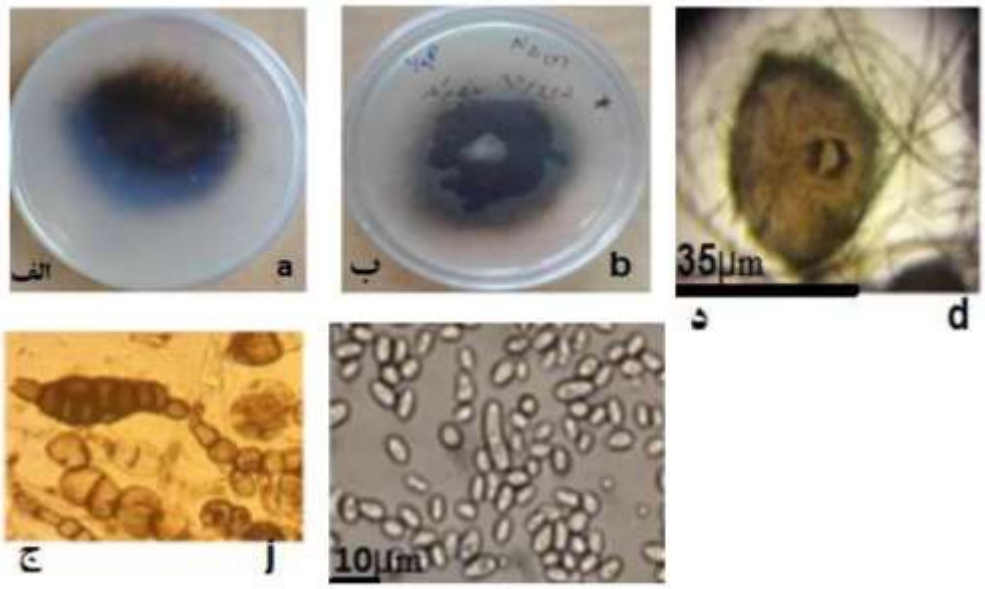
مشخصات ظاهری قارچ روی محیط کشت PDA: میزان رشد این گونه روی محیط PDA نسبتا سریع بوده و میانگین سرعت رشد بعد از ۷ روز ۶/۶ سانتی‌متر روی محیط PDA و ۸ سانتی‌متر روی محیط OA بود. پرگنه‌ها از سطح رویی محیط PDA و OA تیره و از پشت پتری‌دیش خاکستری تیره با حاشیه سیاه رنگ است. میسلیوم هوایی به صورت متراکم، کرکی یا پشم مانند است و به رنگ‌های سفید، سبز مایل به خاکستری و دودی خاکستری رنگ مشاهده گردید. در این گونه بعد از ۷ روز پیکنید به فراوانی مشاهده شد. پیکنیدها (۵۰-)۳۵ × (۱۷/۴۵-)۱۱/۲۵، تیره، منفرد و به تعداد زیاد در محیط کشت PDA تولید شد. پیکندیوسپورها شفاف، اکثرا تک سلولی (3-4*5-7) در مواردی دو سلولی (5.8 * 11.5-15)، گرد تا بیضی شکل و خمیده بودند. کلایمیدوسپورها ۸-۱۵ میکرومتر، قهوه‌ای تیره، یک و چندسلولی به صورت بین سلولی و به ندرت انتهایی مشاهده شد (شکل ۲). با توجه به صفات ریخت‌شناسی و بر اساس توصیف بورما (Borema, 1993). این جدایه‌ها به عنوان گونه *Phoma narcissi* شناسایی شد.

بلاست توالی ناحیه ژنی *ITS* با آغازگرهای عمومی ITS4 و ITS5 (ثبت شده در ژن بانک با رس شماره MN829259) نشان داد که توالی مربوط به جدایه *Phoma narcissi* در این مطالعه با جدایه‌های گونه تیپ (heterotypic synonym: *Phoma narcissi*) *Didymella curtisii*، *Phoma narcissi* و *Phoma* sp. با کدهای دسترسی KX379489، FJ427041 و KR909397 به‌ترتیب ۱۰۰، ۱۰۰ و ۹۹ درصد همولوژی دارد. بر اساس نتایج تجزیه تبار شناختی داده‌های توالی‌های ITS، توالی نمونه مربوط به این تحقیق در کنار نمونه *Didymella glomerata* MF380775 به صورت متمایز، درون یک کلاد با حمایت بوت استرپ ۹۸ درصد هم‌جوار با دودمانی مجزا شامل نمونه *Didymella curtisii* FJ427038 با حمایت بوت استرپ ۷۸ درصد قرار گرفت (شکل ۳). بررسی‌های تکمیلی مبتنی بر تجزیه چند ژنی و دامنه میزبانی جهت تعیین حدود و ثغور نمونه پیشنهاد می‌گردد.

1- Internal transcribed spacer
2- Maximum likelihood

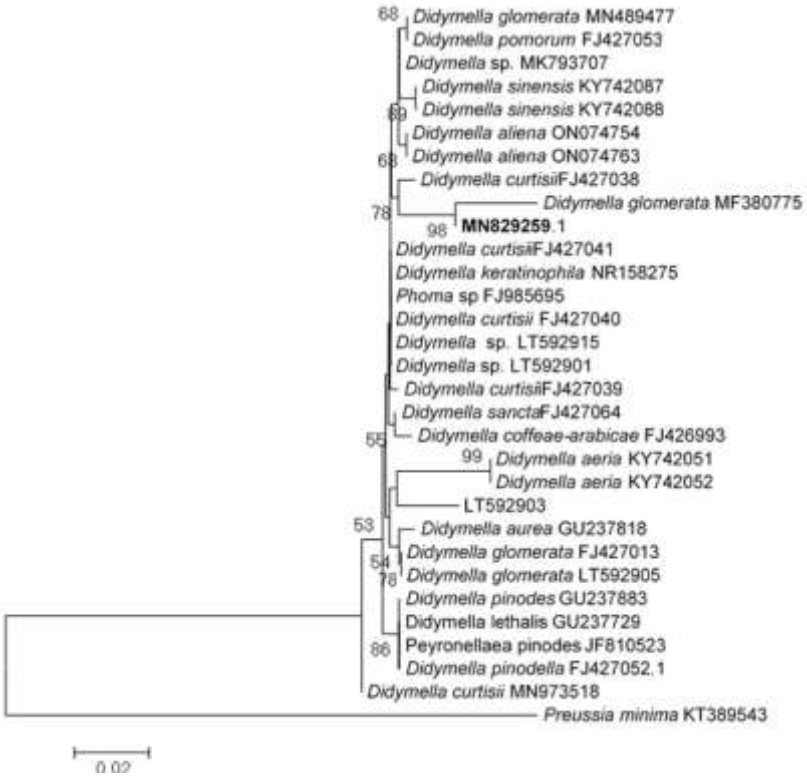
شکل ۱- علایم بیماری لکه برگی گل نرگس در مزارع استان خراسان جنوبی

Figure 1- Symptoms of Narcissus leaf spot disease in farms of Southern Khorasan province



شکل ۲- *Phoma narcissi*: ظاهر و رنگ پرگنه روی محیط PDA از رو (الف) و پشت (ب)، پکنید و روزنه آن (د)، کلایمیدوسپور زنجیره‌ای تک سلولی و چندسلولی (ج) پیکنیدیوسپور(ت)

Figure 2- *Phoma narcissi:* Appearance and color of the colony on the PDA medium from (a) and back (b), pycnidium ostiol (d), chlamydospore single-celled and multicellular chains (j) pycnidiospore (t)



شکل ۳- درخت درخت فیلوژنتیکی جدایه *Phoma narcissi* بر اساس هم ردیفی توالی ناحیه ITS با توالی گونه‌های موجود در بانک ژن به روش بیشینه درست نمایی

اعداد روی محل انشعاب شاخه‌ها نشان دهنده‌ی درصد مقادیر بوت استراپ با ۱۰۰۰ تکرار است.

Figure 3- Phylogenetic identification of *Phoma narcissi* based on ITS sequence and calculated by the maximum likelihood method

The values on the phylogenetic tree are bootstrap values, which is the percentage calculated from 1000 replicates in a bootstrap analysis.

جدول ۲- آرایه های قارچی عامل و همراه بیماری لکه برگی گل نرگس در خراسان جنوبی

Table 2- Fungal isolate of casual and associated with narcissus leaf spot disease in South Khorasan

آرایه قارچی Fungus isolate	شماره دسترسی Accession number	نتایج بلاست توالی Sequence Blast result	فراوانی Frequency(%)	بیماری‌زایی Pathogenicity
Phoma narcissi	MN829259	*Phoma narcissi* (100%) FJ427041	65	+
Cladosporium herbarum	MN611101	*Cladosporium herbarum* (100%) MK433619	17	–
Fusarium sp.	MN595065	*Fusarium* sp. (100%) KR909397	18	–

در آزمون اثبات بیماری‌زایی ۷ روز بعد از تلقیح عامل بیماری به گیاهان نرگس سالم، علایم به صورت لکه‌های گرد قهوه‌ای ظاهر شده و به تدریج از محل لکه به سمت نوک برگ نوار زرد رنگی گسترش پیدا کرد و مشابه با علایم مزرعه در آزمون‌های بیماری‌زایی با گذشت زمان برگ‌ها از محل لکه تاخورده و زرد شدند. علایم مشاهده شده در آزمون بیماری‌زایی، با علایم بیماری در مزرعه کاملا مطابقت داشت (شکل ۴).

شکل ٤- مراحل انجام آزمون اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های *Phoma narcissi* از سمت چپ به‌ترتیب گیاه سالم– تلقیح برگ با میسیلیوم قارچ و وقوع علایم ۷ روز بعد از تلقیح در پلات آزمایشی مزرعه

Figure 4- Steps of the pathogenicity of *Phoma narcissi* isolates from the left, respectively, of a healthy plant - leaf inoculation with fungal mycelium and the occurrence of symptoms 7 days after inoculation

گونه‌های آنامورفیک جنس *Phoma* spp. در دامنه وسیعی از نیچ های اکولوژیکی یافت می‌شوند. گونه‌های این جنس قارچی به عنوان عامل بیمارگر در میزبان‌های مختلف گیاهی گزارش شده‌اند. در جهان گونه *Ph. narcissi* از گیاهان گل نرین (*Nerine* sp.)، *Ismene* sp. و گل آماریلیس (*Hippeastrum* sp.) که همگی از تیره Amaryllidaceae اند گزارش شده است (Aveskamp *et al.*, 2009). در ایران گونه *Stagonospora curtisii* که در منابع همنام با گونه *Phoma narcissi* است، بر اساس خصوصیات مرفولوژیک از مزارع نرگس بهبهان به‌عنوان عامل لکه برگی گزارش شده است (Mohammadi *et al.*, 2004). جدایه مورد بررسی در مطالعه محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2004) روی محیط کشت هیچ‌گونه پیکنیدیوم تولید نکرده است اما در جدایه‌های این بررسی روی محیط کشت PDA، پیکنیدیوم‌های فراوان بعد از هفت روز ظاهر شد. بررسی جدایه‌های مختلف گونه *Peyronellaea curtisii* که در منابع همنام آنامورفیک *Ph. narcissi* است نشان دادند که جدایه‌ها در تشکیل و یا عدم تشکیل پکنیدیوم روی محیط کشت با هم تفاوت دارند (Hrynkiewic *et al.*, 2015). خصوصیات مولکولی جدایه عامل لکه برگی نرگس در ایران که در این مطالعه انجام گرفت، نشان داد گونه عامل لکه برگی نرگس در ایران با سایر جدایه‌های بیمارگر این قارچ روی جنس‌های دیگر خانواده زنبقیان در یک خوشه واحد قرار می‌گیرد. در این بررسی آرایه‌های قارچی *Cladosporium* sp. و *Fusarium* sp. به‌عنوان عوامل همراه بیماری با فراوانی ۱۷ و ۱۸ درصد گزارش می‌شوند. بر اساس دانش ما، عامل اصلی بیماری لکه برگی در مزارع نرگس شرق کشور قارچ *Ph. narcissi* است و آرایه‌های *Cladosporium* sp. و *Fusarium* sp. نیز به‌عنوان عوامل قارچی همراه با بیماری گزارش می‌شوند. از آنجایی که شناسایی عامل بیماری در انتخاب روش‌های موثر و کارآمد در مدیریت بیماری موثر است، نتایج این بررسی می‌تواند در مدیریت بیماری در منطقه مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول ارائه شده به دانشگاه بیرجند است و بدین‌وسیله از مدیریت محترم دانشگاه بیرجند بابت حمایت مالی و از ریاست محترم مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان جنوبی به جهت استفاده از امکانات آزمایشگاهی آن مجموعه قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Agricultural jihad of southern Khorasan. (2019). Agricultural information of crops in southern Khorasan province. Information website: https://www. https://kj-agrijahad.ir

2. Alhussaini, M., Moslem, M., Alghonaim, M., Al-Ghanayem, A., & Hefny, H. (2015). Biodiversity and distribution of airborne *Cladosporium* species in Riyadh city. *Journal of American Science, 11*(7), 145-154.
3. Aveskamp, M.M., Gerard, J.M., Verkley, J., Mónica, A., & Murace, A. (2009). DNA phylogeny reveals polyphyly of Phoma section *Peyronellaea* and multiple taxonomic novelties, *Mycologia, 101*(3), 363-382. https://doi.org/10.3852/08-199
4. Borema, G.H. (1993). Contribution towards a monograph of phoma coelomycetes. *Persoonia, 15*, 197-221.
5. Hanks, G.R., & Chastagner, G.A. (2018). *Diseases of Daffodil* (*Narcissus*). In: McGovern R, Elmer W. (eds) Handbook of Florists' Crops Diseases. Handbook of Plant Disease Management. Springer, Cham.
6. Hrynkiewicz, K., Deka, P., Ruszkiewicz-Michalska, M., Thiem, D., & Szmidt-Jaworska, A. (2016). Interactive physiological potential of *Peyronellaea curtisii* (=*Phoma narcissi*) strains for enzymatic attack and defense capabilities against phytoalexins. *Eurpean Journal of Plant Pathology, 145*, 89–102 https://doi.org/10.1007/s10658-015-0817-2
7. Mohammadi, H., Minasian, V., & Moosavi-jorf, S.A. (2004). *Occurrence of Narcissus leaf spot in Iran*. Proceeding of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Iran, pp: 460.
8. Taylor, A., Armitage, A.D., Handy, C., Jackson, A.C., Hulin, M.T., Harrison, R.J., & Clarkson, J.P. (2019). Basal rot of *Narcissus*: understanding pathogenicity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *narcissi*. *Frontiers in Microbiology, 10*, 2905. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02905

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 237-258

Comparison of Symptoms, Whole Genome Sequencing, and Phylogenetic Analysis of Isolates of *Citrus tristeza virus* from Mazandaran and Fars Provinces in Iran

N. Rouhani[1], M. Zakiaghl[2*], M. Mehrvar[3]

Received: 24-06-2023
Revised: 09-09-2023
Accepted: 13-09-2023
Available Online: 13-09-2023

How to cite this article:
Rouhani, N., Zakiaghl, M., & Mehrvar, M. (2023). Comparison of symptoms, whole genome sequencing, and phylogenetic analysis of isolates of *Citrus tristeza virus* from Mazandaran and Fars provinces in Iran. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *37*(3), 237-258. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2023.83109.1152

Introduction

Citrus tristeza virus (CTV) is one of the most devastating citrus diseases in Iran. The CTV genome is a positive single-stranded RNA molecule with a size of 19.3 kb containing 12 open reading frames (ORFs). CTV encodes two different coat proteins, of which the small coat protein (CPm) covers only the 3' end of the genome. CTV infected trees show symptoms such as stunting, yellows, reduced vigor and death. In addition, CTV generates three typical disease syndromes, including quick decline, stem pitting and seedling yellows. In total, more than 259 thousand hectares of citrus are grown in the north and south of Iran. Considering the lack of the complete genome sequence of Iranian CTV isolates and the different climatic conditions in citrus cultivation in the north and south of Iran, the genome of CTV isolates from Iran was determined for the first time and their phylogenetic relationships with other CTV isolates were studied.

Materials and Methods

In spring and fall 2015, 30 samples from Mazandaran province in northern Iran and 25 samples from Fars province in southern Iran were collected from trees suspected of being infected with CTVs. Total RNA was extracted using the RNX-Plus kit according to the manufacturer's instructions. CTV was identified using the specific primer pair CPF (5′AAAGAAGGCGACGATGTTGT3′) and CPR (5′AGCTCCGGTCCAAGAAATCTG3′) designed based on the coat protein gene of CTV. Reverse transcription was performed using MMuLV reverse transcriptase (Pars Tuos, Iran) and PCR reaction was performed using Amplicon 2x PCR Master Mix (Amplicon, Denmark). Infected samples were grafted onto sour orange seedlings. sRNAs were extracted using a protocol developed by Carra *et al*. (2006), and sRNA libraries were prepared according to the CATS protocol (Turchinovich *et al*., 2014). One microgram of each library was sequenced on the Illumina HiSeq2500 platform from Macrogen, South Korea. The CTV strains were determined by virtual replication and digestion or alignment of the region between the small coat protein (Cpm) and coat protein (Cp) genes. The phylogenetic tree was constructed by the maximum likelihood method using the T92+I nucleotide substitution model with 500 bootstrap repeats by MEGA7. The nucleotide and amino acid similarity matrix was calculated using SDTv.1.2 software. Potential recombination events in the genome were determined using RDP v.5.5.

1, 2 and 3- Ph.D. Gratuated in Plant Pathology and Associate Professors, Department of Plant Pathology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: zakiaghl@um.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/jpp.2023.83109.1152

Results and Discussion

CTV infection was detected in 17 samples from Mazandaran province (56% of samples) and in 8 samples from Fars province (33% of samples) using a CPF/R-specific primer pair. CTV symptoms were mild to severe stunting, chlorosis, yellowing, vein yellowing, and severe decline in the citrus samples from the north of Iran, while CTV symptoms in the samples from the south of Iran were stunting, chlorosis, dieback and quick decline. Three months post inoculation, symptoms of severe stunting and chlorosis appeared in seedlings inoculated with isolates from the north, while mild stunting and yellowing appeared in seedlings of sour orange inoculated with CTV isolates from the south. By assembling the contigs obtained from the RNA-seq data, the complete genomes of IR-North1, IR-North2, IR-South1, and IR-South2 isolates were reconstructed with lengths of 19296, 19302, 19252, and 19251 nucleotides, respectively. The Iranian CTV isolates had nucleotide similarity in the range of 95.2-77.5% with other CTV isolates deposited in GenBank. The polymerase, P65, and coat protein genes of the Iranian CTV isolates showed identity at the amino acid level of 80.6-94.1%, 88-93.9%, and 92.4-96.4%, respectively, with other CTV isolates. Analysis of the CTV strains revealed that IR-North1 resembles the severe decline strain belonging to genotypic group T36, while IR-South2, IR-North2, and IR-South1 belong to the stem pitting and seedling yellows strains of genotypic group VT/T3 and are similar to strains T3, SY, and T318A, respectively. In the phylogenetic tree based on the full length of the CTV genome, three subclades were designated: VT, T68, and T36. IR-North2, IR-South1, and IR-South2 isolates were grouped into VT, and IR-North1 isolate was grouped into T36. Like the reference CTV isolate, the four Iranian CTV isolates had 12 open reading frames. Examination of the Replicase, RdRp, P65, P61, CPm, and CP proteins revealed 280 amino acid substitutions in 33 conserved motifs in Iranian CTV isolates. The isolate IR-North1 had only five substitutions; however, 97, 85, and 93 substitutions occurred in the isolates IR-North2, IR-South1, and IR-South2, respectively. Most substitutions were found in the replicase and p61 proteins, which are involved in virus replication and assembly, respectively. RdRp and p23 proteins had the least amino acid substitutions. No known conserved motif was observed in P33, P6, P18, P13, and P20 proteins. In addition, IR-North1, IR-North2, and IR-South1 were recombinant. In IR-North1, 1426 nucleotides in the P65 gene and 773 and 2444 nucleotides in the replicase gene were recombinant in IR-North2 and IR-South1 isolates, respectively.

Conclusion

An analysis of symptoms, nucleotide diversity, dominant strains, and the phylogenetic relationship of the four Iranian CTV isolates sequenced in this study revealed that two isolates from northern Iran were quick decline and seedling yellows strains, falling within the genotypic groups T36 and VT. These groups were distinguished by distinct symptoms and a separate phylogenetic position. Conversely, the two southern CTV isolates were closely associated with CTV stem pitting strains, classified into genotypic groups VT and T3, sharing a close phylogenetic position.

Keywords: Citrus, Quick decline, NGS, Race, Seedling yellows, Stem pitting

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲، ص. ۲۵۸-۲۳۷

مقایسه علایم، تعیین توالی کامل و تحلیل فیلوژنتیکی جدایه‌های ویروس تریستزای مرکبات از استان‌های مازندران و فارس

ندا روحانی[۱]- محمد زکی عقل[۲*]- محسن مهرور[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۶/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۲

چکیده

ویروس تریستزای مرکبات (*Citrus tristeza virus*-CTV) یکی از بیماری‌های مهم درختان مرکبات در اغلب مرکبات کاری‌های ایران است. در این تحقیق توالی کامل ویروس تریستزای مرکبات از دو منطقه مرکبات خیز استان مازندران و استان فارس تعیین و برخی صفات بیولوژیکی و مولکولی آن‌ها با یکدیگر مقایسه شده است. ۵۶ درصد از نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان مازندران و ۳۲ درصد نمونه‌های تهیه شده از استان فارس در آزمون زنجیره‌ای پلی‌مراز آلوده به ویروس تریستزای مرکبات بودند. علایم CTV در نمونه‌های مرکبات استان مازندران کوتولگی خفیف تا شدید، سرخشکیدگی، زردی، زردی رگبرگ و زوال سریع بود در حالی‌که در نمونه‌های استان فارس علایم CTV، کوتولگی، سبزخشکیدگی، زردی، و سرخشکیدگی شاخه‌ها بود. سه ماه پس از مایه‌زنی نیز علائم کوتولگی شدید، رگبرگ روشنی، زردی و ریزبرگی در نهال‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های استان مازندران و علایم کوتولگی خفیف، رگبرگ روشنی، زردی و ریزبرگی در نهال‌های نارنج بذری مایه‌زنی شده با جدایه‌های استان فارس ایجاد شد. از درختان مرکبات آلوده به تریستزا از استان‌های فارس و مازندران نمونه‌برداری و از آنها کتابخانه sRNA تهیه و توالی‌یابی شدند. نتایج نشان داد که طول ژنوم کامل بازسازی شده برای جدایه‌های IR-North1، IR-North2، IR-South1 و IR-South2 به‌ترتیب ۱۹۲۹۶، ۱۹۳۰۲، ۱۹۲۵۲ و ۱۹۲۵۱ نوکلئوتید است و در سطح نوکلئوتیدی با سایر جدایه‌های CTV موجود در بانک ژن بین ۷۷/۵-۹۵/۲ درصد شباهت داشتند. بررسی توالی پروتئین‌ها نشان‌دهنده وجود ۲۸۰ جایگزینی در ۳۳ موتیف در جدایه‌های توالی‌یابی شده CTV بود. کمترین تغییرات در جدایه IR-North1 با پنج جایگزینی بود. در جدایه‌های IR-North2، IR-South1 و IR-South2 به‌ترتیب ۹۷، ۸۵ و ۹۳ جایگزینی اتفاق افتاده بود. بیشترین جایگزینی در چارچوب‌های ژنی ORF1a و p61 بود. تعیین سویه جدایه‌ها با همانندسازی و هضم مجازی و همردیف‌سازی ناحیه بین ژن‌های پوشش پروتئینی کوچک (Cpm) و پوشش پروتئینی نشان داد که جدایه IR-North1 مشابه نژادهای مولد زوال سریع و سویه T36 و جدایه‌های IR-South2، IR-North2 و IR-South1 از نژادهای مولد ساقه آبله‌ای و زردی نهالچه و به‌ترتیب مشابه با سویه T3، SY و T318A هستند. در درخت فیلوژنی ترسیم شده بر اساس طول کامل ژنوم نیز سه جدایه IR-North2 و IR-South1 و IR-South2، در گروه VT و جدایه IR-North 1 در گروه T36 قرار گرفتند. همچنین بررسی وقوع نوترکیبی احتمالی در جدایه‌های ایرانی نشان داد که جدایه‌های IR-North1، IR-North2 و IR-South1 در ژن‌های رپلیکاز و P65 نوترکیب هستند. نتایج بررسی علائم و توالی کامل چهار جدایه بدست آمده نشان داد که دو جدایه بدست آمده از استان مازندران از لحاظ نوع علائم و جایگاه فیلوژنی از هم متفاوت هستند ولی دو جدایه استان فارس از نظر فیلوژنی و ژنوتیپی با یکدیگر قرابت دارند.

واژه‌های کلیدی: توالی‌یابی نسل جدید، زردی نهالچه، زوال سریع، ساقه‌آبله‌ای، مرکبات، نژاد

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته دکتری بیماری‌شناسی گیاهی و دانشیاران گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: zakiaghl@um.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jpp.2023.83109.1152

مقدمه

ویروس تریستزای مرکبات (*Citrus tristeza virus*-CTV) متعلق به جنس *Closterovirus* از خانواده Closteroviridae، بزرگ‌ترین ویروس گیاهی شناخته شده و مخرب‌ترین و مهم‌ترین بیماری مرکبات با گسترش جهانی است. پیکره‌های CTV رشته‌ای با اندازه ۱۱×۲۰۰۰ nm می‌باشد. ژنوم شامل یک مولکول RNA تک رشته مثبت و با اندازه حدود 19.3 kb حاوی ۱۲ چارچوب خوانش (ORF[1]) با تولید بالقوه ۱۷ پروتئین و دو ناحیه غیرقابل ترجمه (NTR[2]) در انتهای '۵ و '۳ می‌باشد. CTV دارای دو پروتئین پوششی با وزن متفاوت است و پروتئین پوششی کوچک (CPm) تنها انتهای '۳ ژنوم را پوشش می دهد (Satyanarayana *et al.*, 2004). نرخ تنوع نوکلئوتیدی در نیمه '۵ ژنوم زیاد و بیشتر توالی‌های محافظت شده در نیمه '۳ قرار دارند (Albiach-Marti *et al.*, 2000b). نرخ تنوع ژنتیکی هر یک از ژن‌ها در ژنوم متفاوت است ولی از CP، p23، p20، p27 برای گروه‌بندی جدایه‌های CTV استفاده می‌شود (Herrera-Isidron *et al.*, 2009).

CTV سه سندروم آشکار بیماری همراه با تعداد بی‌شماری الگوی متفاوت ایجاد می‌کند. سه سندروم CTV شامل زوال سریع (QD[3])، ساقه آبله‌ای (SP[4]) و سندروم زردی گیاهچه می‌باشد و زمان لازم در توسعه علائم هر سندروم متفاوت است (Ruiz-Ruiz *et al.*, 2006). سندروم زوال در آلودگی به برخی از سویه‌های CTV و بیشتر در پایه حساس نارنج مشاهده می‌شود. سندروم ساقه آبله‌ای بیشتر در پرتقال ایجاد می‌شود در حالی‌که گریپ‌فروت قابلیت ایجاد این سندروم را ندارد. سندروم زردی نهالچه از لحاظ اقتصادی اهمیت زیادی ندارد و علائمی شامل کوتولگی، کلروز برگی و گاهی توقف کامل رشد را نشان می‌دهد و در گلخانه بسرعت مشخص می‌شود (Dawson *et al.*, 2015). ویروس CTV دارای سویه‌های مختلفی است که بر مبنای علائم ایجاد شده در میزبان‌های مختلف (Ramírez-Pool *et al.*, 2022)، قابلیت انتقال توسط شته (Yokomi, 2019)، نقشه پپتیدی (Albiach-Martí *et al.*, 2000)، واکنش سرولوژیکی با آنتی بادی‌های منوکلونال (Iftikhar *et al.*, 2021) و الگوی dsRNA (Moshe and Munir, 2000) با یکدیگر تفاوت دارند. این سویه‌ها در درخت فیلوژنی جدایه‌های CTV در هفت گروه ژنوتیپی شامل T36-Like، RB و HA18-9، VT-Like، HA16-5، B165 و NZ-B18، NZ-M16 و T30-Like قرار می‌گیرند (Pais da Cunha *et al.*, 2021). معمولا در طبیعت درختان مرکبات به بیش از یک سویه از CTV آلوده می‌شوند (Yokomi *et al.*, 2019) اما اطلاعات چندانی از چگونگی ایجاد توازن در جمعیت سویه‌ها وجود ندارد. سویه غالب در یک منطقه می‌تواند تحت تاثیر شرایط آب و هوایی تغییر کند (Cowell *et al.*, 2016).

در ایران سه ناحیه عمده مرکبات‌کاری شامل استان‌های گیلان و مازندران در استان مازندران، نواحی مرکزی مانند استان‌های فارس و کرمان و مرکبات‌کاری‌های نوار جنوبی ایران در استان‌های خوزستان تا سیستان و بلوچستان وجود دارد که در مجموع مساحتی حدود ۲۵۹ هزار هکتار دارند (آمارنامه جهاد کشاورزی، ۱۴۰۰). تریستزا در ایران اولین بار با استفاده از ایمینوالکترون میکروسکپی (ISEM) توسط ابراهیمی نسبت و نینهاوس (Ebrahim-Nesbat and Nienhaus, 1978) گزارش شد، سپس سویه زردی گیاهچه به عنوان سویه غالب قابل انتقال توسط شته در استان مازندران مشخص شد. بررسی توالی ژن پوشش پروتئینی جدایه‌های CTV از استان مازندران بیانگر شباهت ۹۷ درصدی آنها با سویه ساقه آبله‌ای شدید (SY568) و سویه زردی گیاهچه ژاپن (NUagA) بود ولی تفاوت چندانی بین جدایه‌های استان مازندران و استان فارس یافت نشد (Barzegar *et al.*, 2006). علوی و همکاران (Alavi *et al.*, 2005) نیز هفت جدایه جمع‌آوری شده از استان مازندران در ایران را بر اساس علائم در میزبان‌های مختلف در دو گروه مولد ساقه آبله‌ای و زوال شدید، و مولد زردی گیاهچه قرار دادند که جدایه‌های گروه اول توسط *Aphis gossypi* قابل انتقال بودند. این محققین بر اساس تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک ژن CP جدایه‌های شرق مازندران، دو منشا مستقل از CTV در ایران را پیشنهاد نمودند. مطالعات تنوع ژنتیکی بر روی جدایه‌های استان کرمان نیز این جدایه‌ها را در دو گروه متمایز قرار داد (Ahmadi *et al.*, 2006). پاک نیت و همکاران (۲۰۰۲) نیز آلودگی به CTV را در تمام استان‌های جنوبی ایران گزارش نمودند، در حالی که نتوانستند هیچ نژاد شدیدی از این ویروس را در این نواحی ردیابی کنند.

پیشتر برای ردیابی و شناسایی ویروس‌ها در سیر (Wylie *et al.*, 2014)، فلفل (Jo *et al.*, 2017)، گلابی (Jo *et al.*, 2016)، انگور (Coetzee *et al.*, 2010)، سیب‌زمینی شیرین (Kashif *et al.*, 2012)، گوجه فرنگی (Li *et al.*, 2012) و مرکبات (Matsumura *et al.*, 2017) از تکنیک توالی‌یابی نسل جدید استفاده شده است. با توجه به فقدان توالی کامل ژنوم جدایه‌های ایرانی CTV و شرایط اقلیمی متفاوت مناطق مرکبات‌خیز استان مازندران و استان فارس، ردیابی، شناسایی، بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت CTV و تعیین سویه‌های این ویروس با روش‌های آزمایشگاهی پیشرفته ضروری می باشد. بنابراین در این تحقیق با استفاده از روش توالی‌یابی نسل جدید

1- Open reading frame
2- non translational region
3- Quick decline
4- Stem pitting

ترادف کامل ژنوم جدایه‌های CTV از دومنطقه عمده مرکبات کاری ایران تعیین و برخی خصوصیات بیولوژیکی، مولکولی و رابطه فیلوژنی آنها با یکدیگر مقایسه شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

در فصول بهار و پاییز سال ۱۳۹۵ از ساقه و برگ درختان مرکبات دارای علائم مشکوک به بیماری تریستزای مرکبات تعداد ۳۰ نمونه از شهرهای بابل، قائمشهر، ساری، نکا و بهشهر در استان مازندران و ۲۵ نمونه از شهرهای خفر، جهرم و لار در استان فارس نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها در جعبه‌های حاوی یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شدند.

استخراج نوکلئیک اسید

یک گرم از دمبرگ و رگبرگ گیاه دارای علائم درون هاون چینی با استفاده از ازت مایع پودر شد. سپس استخراج RNA کل با استفاده از کیت RNX Plus (EX6101 سیناکلون) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد.

شناسایی CTV با استفاده از آغازگر اختصاصی

تشخیص اولیه تریستزا در نمونه‌های جمع‌آوری شده، با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی CPF(5′AAAGAAGGCGACGATGTTGT3′)/CPR(5′AGCTCCGGTCAAGAAATCTG3′)، که قطعه‌ای از ژن پوشش پروتئینی ویروس تریستزا (رس شمار NC001661) را همانندسازی می‌کند، انجام شد (Harper and Pearson, 2015).

واکنش ترانویسی معکوس[1] با آنزیم رونوشت‌برداری معکوس MMuLV (پارس توس، ایران) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده آنزیم به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه‌سانتی‌گراد انجام شد. واکنش PCR با استفاده از مخلوط واکنش با غلظت ۲ برابر (آمپلیکون، دانمارک) انجام شد. پروفایل دمایی واکنش به صورت یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه در ۹۴ درجه‌سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه؛ ۳۵ چرخه شامل واسرشت‌سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و بسط در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه و یک چرخه بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. محصول واکنش PCR در ژل آگارز یک درصد حاوی DNA Green Viewer (Safe Stain Dye) (پارس توس، ایران) تحت ولتاژ ۸۰ ولت، الکتروفورز و آشکارسازی شد. محصول واکنش PCR پس از خالص‌سازی با کیت استخراج از ژل (یکتا تجهیز آزما، ایران) جهت تعیین توالی به شرکت ماکروژن کره جنوبی ارسال شد. نتیجه توالی‌یابی با استفاده از ابزار BLAST با ترادف‌های نوکلئوتیدی موجود در بانک ژن مقایسه شد.

مایه‌زنی به گیاه محک

پیوندک‌های آلوده به CTV بر روی نهال بذری سالم (گواهی شده توسط مرکز پرورش نهال مرکبات بنیاد مستضعفان ساری) پیوند زده شد و نهال‌های مایه‌زنی شده در شرایط گلخانه با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

ساخت کتابخانه از RNAهای کوچک

برای ساخت کتابخانه، ابتدا sRNA[2]ها به روش کارا و همکاران (۲۰۰۷) از رگبرگ و دمبرگ استخراج و در ژل آگارز ۲٪ آشکارسازی و قطعات ۲۰-۳۰ نوکلئوتیدی با استفاده از کیت استخراج از ژل و تخلیص محصول PCR (شرکت یکتا تجهیز آزما، ایران) از ژل آگارز استخراج شدند. ساخت کتابخانه sRNA به روش CATS انجام شد (Turchinovich *et al.*, 2014). از هر کتابخانه یک میکروگرم جهت توالی‌یابی در پلت فرم Illumina HiSeq2500 به شرکت ماکروژن کره جنوبی ارسال شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

بررسی کیفیت خوانش درکتابخانه‌های sRNA توالی‌یابی شده با استفاده از نرم‌افزار FastQC 0.11.05 انجام شد و خوانش‌های با کیفیت پایین (Phred quality ≥20) و طول کمتر از ۱۸ نوکلئوتید با نرم‌افزار Alien trimmer 0.4.0 از داده‌های توالی‌یابی حذف شدند. خوانش‌های پالایش شده با سویه‌های مرجع CTV موجود در بانک ژن با استفاده از نرم‌افزار UGene همردیف‌سازی شدند. توالی‌هایی که بیشترین پوشانندگی[3] را داشتند انتخاب شدند و توالی توافقی آنها بدست آمد.

تعیین سویه ویروس

تعیین سویه جدایه‌های مورد بررسی در شرایط *in Silico* با همانندسازی و هضم مجازی و همردیف‌سازی ناحیه بین ژن‌های پوشش پروتئینی کوچک (Cpm) و پوشش پروتئینی (Cp) به روش ساپوناری و یوکومی (Saponari and Yokomi, 2010) انجام شد. در ابتدا امکان همانندسازی مجازی سه قطعه ۷۸، ۲۳۵ و ۸۱۶ نوکلئوتیدی از Cpm و Cp بوسیله آغازگرهای P27، DDE و SSP

1- RT-PCR

2- smallRNA

3- coverage

(Saponari and Yokomi, 2010) بررسی شد.

سپس قطعه ۷۸ نوکلئوتیدی شامل ۲۵ نوکلئوتید انتهای ′۳ ژن پوشش پروتئینی کوچک و ۵۳ نوکلئوتید ناحیه بین‌ژنی ژن پوشش پروتئینی کوچک و ژن پوشش پروتئینی بزرگ (نوکلئوتید ۱۶۰۶۳ تا ۱۶۱۱۴ در جدایه رفرنس، رس شمار U16304) از جدایه‌های توالی یابی شده با قطعه متناظر آن در سویه‌های شناخته شده CTV همردیف‌سازی شد. همچنین هضم مجازی قطعه ۲۳۵ نوکلئوتیدی حاصل از ژن پوشش پروتئینی کوچک و پوشش پروتئینی بزرگ (نوکلئوتید ۱۵۹۸۷ تا ۱۶۲۲۲ جدایه رفرنس، رس شمار U16304) با استفاده از آنزیم *Dde*I تفکیک سویه‌های VT و T3 انجام شد، این در حالی است که در این ناحیه در سایر سویه‌های CTV محل برش این آنزیم وجود ندارد. همچنین هضم مجازی قطعه ۸۱۶ نوکلئوتیدی حاصل از ژن پوشش پروتئینی کوچک و بزرگ و ناحیه بین ژنی آنها (نوکلئوتید ۱۵۸۸۴ تا ۱۶۷۰۰ جدایه رفرنس، رس شمار U16304) با استفاده از آنزیم برشی *Ssp*I برای شناسایی سویه‌های خفیف CTV کاربرد دارد (Saponari and Yokomi, 2010). همردیفی توالی‌ها و شبیه‌سازی همانندسازی و هضم آنزیمی در نرم‌افزار Vector NTI 10.3.1 (Invitrogen) انجام شد.

بررسی شباهت نوکلئوتیدی و روابط فیلوژنی

ترسیم درخت فیلوژنی با استفاده از توالی‌های CTV بدست آمده در این تحقیق و توالی کامل برخی جدایه‌های موجود در بانک ژن (جدول ۱) به روش Maximum likelihood با استفاده از مدل جانشینی نوکلئوتیدی T92+I با ۵۰۰ تکرار در آزمون بوت استرپ در بسته نرم‌افزاری MEGA7 انجام شد.

میزان شباهت نوکلئوتیدی و آمینواسیدی در ژنوم و چارچوب‌های ژنی در جدایه‌های CTV با همردیف‌سازی در نرم‌افزار SDTv.1.2 در الگوریتم MUSCLE محاسبه شد. شناسایی چارچوب‌های ژنی موجود در ژنوم با استفاده از نرم‌افزار CLC Genomics Workbench v.21 انجام شد. سپس با استفاده از الگوریتم BlastP موتیف‌های محافظت شده موجود در توالی پروتئینی هر ژن مشخص و با توالی پروتئین ژنوم مرجع CTV (رس شمار U16304) مقایسه شد. ردیابی نوترکیب‌های احتمالی موجود در ژنوم جدایه‌های توالی‌یابی شده نیز با استفاده از نرم‌افزار RDP v.5.5 انجام شد.

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های مورد استفاده در بررسی فیلوژنی CTV موجود در بانک ژن

Table 1- Characteristics of the CTV isolates used in the phylogenetic analysis available in the gene bank

رس شمار Accession number	سویه Strain	طول ژنوم Genome length	منطقه Location	منبع Reference
AB046398	SY	19302	Japan	Suastika, 2000
AF260651	T30	19259	USA	Albiach-Marti and Dawson, 2000
AY340974	T36	19296	Egypt	Abdelmaksoud and Gamal El-din, 2003
DQ151548	T318A	19252	Spain	Ruiz-Ruiz *et al.*, 2005
EU937519	VT	19251	USA	Weng *et al.*, 2007
EU857538	SP	19251	New Zealand	Harper *et al.*, 2009
GQ454869	HA18-9	19245	USA, Hawaii	Melzer *et al.*, 2009
JQ798289	A18	19302	Thailand	Sindhvajiva *et al.*, unpublished data
KY110737	CSL01	19251	Brazil	Matsumura *et al.*, 2017
KY110738	CSL02	19243	Brazil	Matsumura *et al.*, 2017
KU589212	S1	19248	USA	Yokomi *et al.*, 2017
KU883265	RB	19270	South Africa	Cook *et al.*, 2016
KU883267	HA16-5	19280	South Africa	Cook *et al.*, 2016
MK033511	T68	19246	South Africa	Cook *et al.*, 2020
U16304	T36, Quick decline	19296	USA	Pappu *et al.*, 1994
Y18420	mild	19259	Spain	Vives *et al.*, 1999

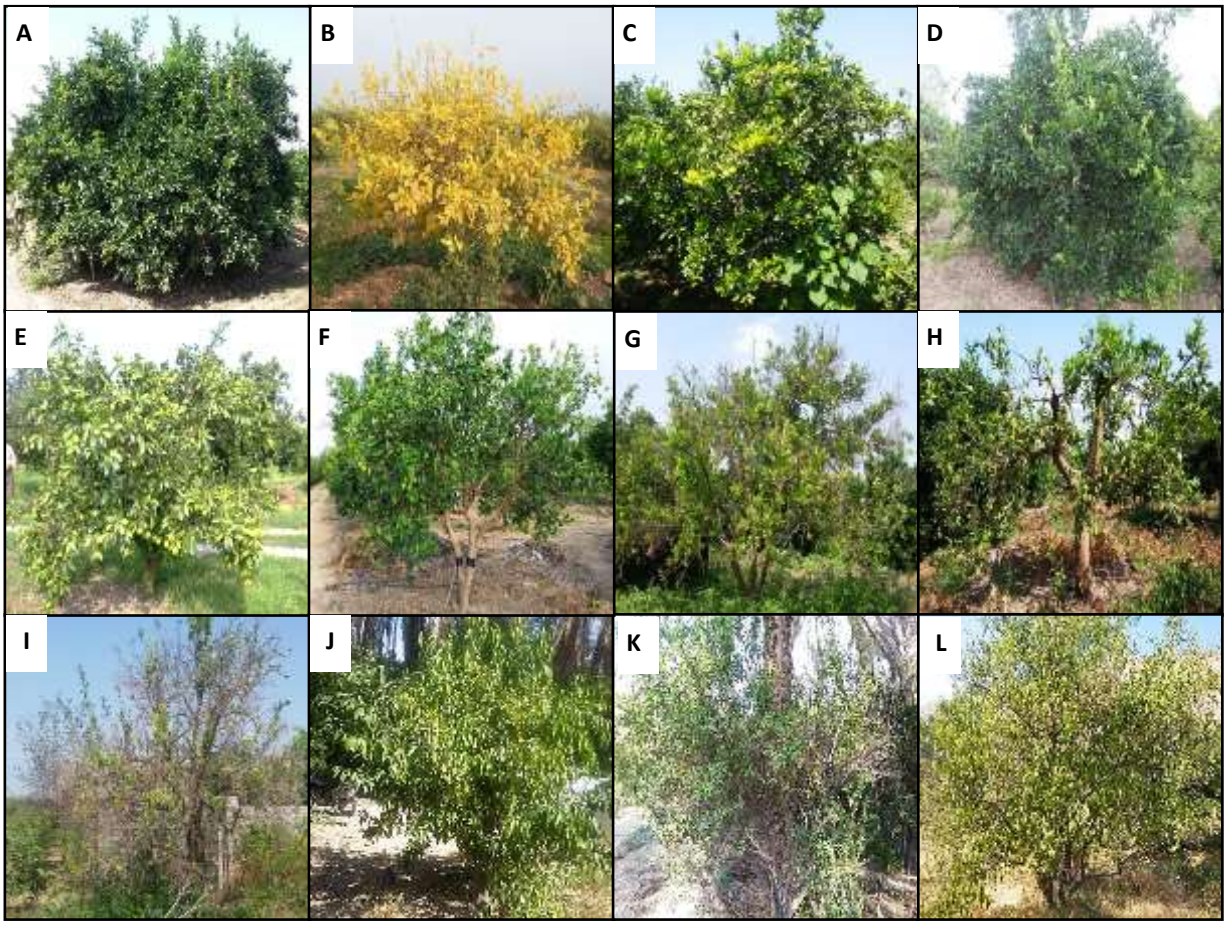
نتایج

علایم

درختان آلوده به CTV علائمی از قبیل کوتولگی، رنگ پریدگی برگ، ریزبرگی و ضعف عمومی، سرخشکیدگی و زردی داشتند (شکل ۱). علایم غالب CTV در تمام نمونه‌ها بترتیب فراوانی شامل زردی، ریزش برگ، ریزبرگی و کوتولگی بود. علایم CTV در نمونه‌های جمع‌آوری شده از مرکبات کاری‌های استان مازندران شامل کوتولگی خفیف تا شدید، سرخشکیدگی، رنگ پریدگی برگ‌ها، زردی، زردی رگبرگ، ریزبرگی، ریزش برگ، کوچکی میوه، زوال شدید و سریع بود و علایم غالب بترتیب فراوانی شامل زردی، ریزبرگی و کوتولگی خفیف بود. در نمونه‌های استان فارس علایم CTV بصورت کوتولگی، سبزخشکیدگی، رنگ پریدگی، زردی، ریزبرگی، ریزش برگ، سرخشکیدگی شاخه‌ها و علایم غالب شامل ریزش برگ‌ها و سبزخشکیدگی بود.

با نمره‌دهی باینری به علایم نمونه‌های آلوده به CTV و رسم کلادوگرام UPGMA (اطلاعات نشان داده نشده است) نمونه‌ها بر اساس علایم به سه گروه تقسیم شدند. در گروه اول نمونه‌های خفر،

جهرم، قائمشهر، ساری، نکا با علایم غالب زردی، ریزش برگ و سبزخشکیدگی یا زوال سریع؛ در گروه دوم نمونه‌های ساری، جهرم، خفر، نکا و علایم شایع کوتولگی خفیف، زردی، ریزبرگی و در گروه سوم نمونه‌هایی از ساری با علایم کوتولگی شدید یا سرخشکیدگی شاخه، زردی و ریزبرگی قرار داشتند.



شکل ۱- علایم همراه با تریستزای مرکبات. A: درخت پرتقال تامسون سالم (نکا) B: کوتولگی شدید، زردی و سرخشکیدگی در درخت پرتقال خونی (ساری)، C: کوتولگی، زردی خفیف و ریزبرگی در درخت پرتقال رقم تامسون (نکا)، D: زردی خفیف و ریزبرگی در درخت پرتقال خونی (ساری)، E: کوتولگی، کوچک شدن میوه و زردی خفیف در درخت پرتقال رقم والنسیا (ساری)، F: کوتولگی، زردی خفیف و ریزبرگی در درخت پرتقال رقم تامسون (نکا) G: سرخشکیدگی و زوال در درخت پرتقال (نکا)، H: سرخشکیدگی، ریزبرگی و ریزش برگ در درخت پرتقال خونی (ساری)، I: زوال شدید و سرخشکیدگی در درخت پرتقال خونی (ساری) J: سبزخشکیدگی، کوتولگی و ریزش برگ در درخت لیمو (خفر)، K: سبزخشکیدگی، ریزبرگی و ریزش برگ در درخت لیمو (خفر)، L: سبزخشکیدگی، سرخشکیدگی و ریزش برگ در درخت لیمو عمانی (جهرم).

Figure 1- Symptoms associated with citrus tristeza disease. A: Healthy Thomson orange tree (Neka), B: Severe stunting, yellowing, and die back on blood orange tree (Sari), C: Stunting, mild yellowing, and small leaves on Thomson orange tree (Neka), D: Mild yellowing and small leaves on blood orange tree (Sari), E: Stunting, small fruit size, and mild yellowing on Valencia orange tree (Sari), F: Stunting, mild yellowing, and small leaves on Thomson orange tree (Neka), G: Decline and dieback on orange tree (Neka), H: Dieback, small leaves, and defoliation on blood orange tree (Sari), I: Severe decline and dieback on blood orange tree (Sari), J: Green decline, stunting, and defoliation on lemon tree (Khafr), K: Green decline, small leaves, and defoliation on lemon tree (Khafr), L: Green decline, small leaves, and defoliation on Omani lemon tree (Jahrom)

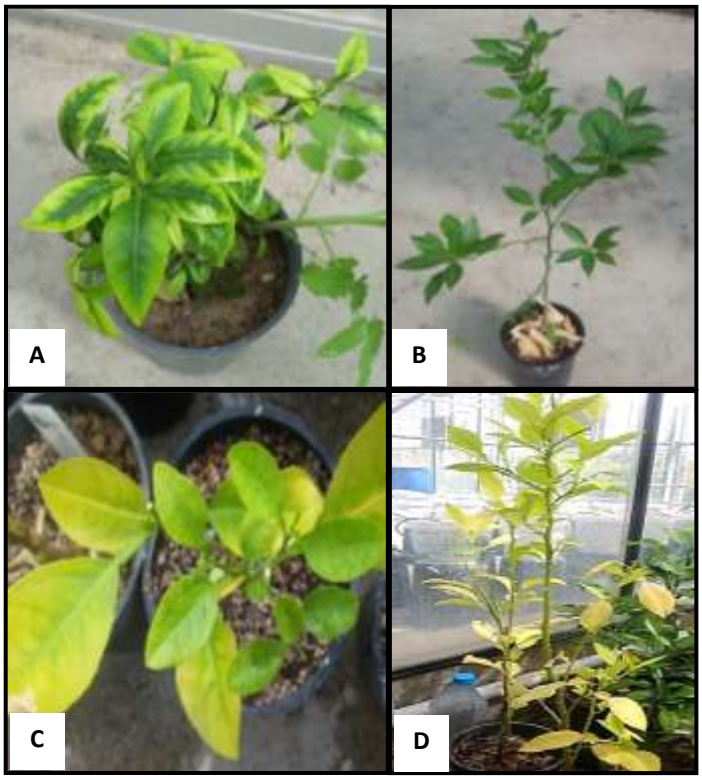
بررسی میزان آلودگی به CTV

تکثیر قطعه ۵۰۰ جفت بازی از ژن پوشش پروتئینی CTV در آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگر اختصاصی بیانگر آلودگی نمونه‌ها به ویروس تریستزای مرکبات بود. نتایج نشان داد که از ۳۰ نمونه جمع‌آوری شده از استان مازندران ، ۱۷ نمونه و از ۲۵ نمونه استان فارس ۸ نمونه آلوده به ویروس تریستزای مرکبات هستند.

توالی‌یابی محصول PCR و مقایسه آن با توالی‌های موجود در بانک ژن نشان داد که قطعه همانند سازی شده ۵۱۴ نوکلئوتید از ژن پوشش پروتئینی CTV است.

انتقال

نمونه‌هایی که آلودگی آنها به CTV در آزمون RT-PCR تایید شده بود بروی نهال‌های نارنج بذری پیوند زده شد. سه ماه پس از مایه‌زنی علائم کوتولگی شدید تا خفیف، رگبرگ روشنی، زردی و ریزبرگی در نهال‌های مایه زنی شده با جدایه‌های استان مازندران و علایم کوتولگی خفیف، رگبرگ روشنی، زردی و ریزبرگی در نهال‌های نارنج مایه‌زنی شده با جدایه‌های استان فارس ایجاد شد (شکل ۲). آلودگی نهال‌های مایه‌زنی شده به CTV در آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ویروس نیز تایید شد.



شکل ۲- علایم جدایه‌های CTV روی نارنج بذری سالم سه ماه پس از مایه زنی. A: رنگ پریدگی برگ و کوتولگی شدید ناشی از مایه‌زنی جدایه IR-North1، B: کاهش رشد ناشی از مایه زنی جدایه IR-North2، C: زردی و کوتولگی ناشی از مایه‌زنی جدایه IR-South2. ، D: علائم زردی و کاهش رشد ناشی از مایه‌زنی جدایه IR-South1.

Figure 2- Symptoms of CTV isolates on healthy sour orange seedlings three months after inoculation. A: Leaf chlorosis and severe stunting caused by inoculation with IR-North1isolae, B: Growth reduction caused by inoculation with IR-North2 isolate, C: Yellowing and stunting caused by inoculation with IR-South2 isolate, D: Symptoms of yellowing and growth reduction caused by inoculation with IR-South1 isolate.

نتایج توالی‌یابی و داده‌های بدست آمده

تعداد خوانش خام حاصل از توالی‌یابی کتابخانه IR-North1، ۵۶۸۹۵۵۷ باز بود که تعداد خوانش نهایی حاصل پس از پالایش خوانش‌ها ۳۸۶۰۰۴۶ باز بود. از توالی‌یابی کتابخانه IR-North2 ۲۷۹۸۷۰۲ باز خوانش خام بدست آمد که پس از پالایش ۲۳۴۸۳۳ باز حاصل شد. تعداد خوانش خام حاصل توالی‌یابی کتابخانه IR-South1 و کتابخانه IR-South2 به‌ترتیب ۵۴۴۶۶۴۹ و ۱۹۰۶۸۳۵ باز بود. خوانش‌های نهایی پس از پالایش دو کتابخانه IR-South1 و IR-South2 به‌ترتیب ۳۴۴۳۸۹۵ و ۱۳۰۵۷۶۰ بود. درصد GC برای هر ۴ کتابخانه ۴۴٪ بود. طول ژنوم کامل بازسازی‌شده برای جدایه‌های IR-North1، IR-North2، IR-South1 و IR-South2 به‌ترتیب ۱۹۲۹۶، ۱۹۳۰۲، ۱۹۲۵۲ و ۱۹۲۵۱ نوکلئوتید بود. جدایه‌های توالی‌یابی شده با رس شمارهای OR192037، OR192038، OR192039 و OR192040 در بانک‌ژن ثبت شدند.

تعیین سویه جدایه‌ها

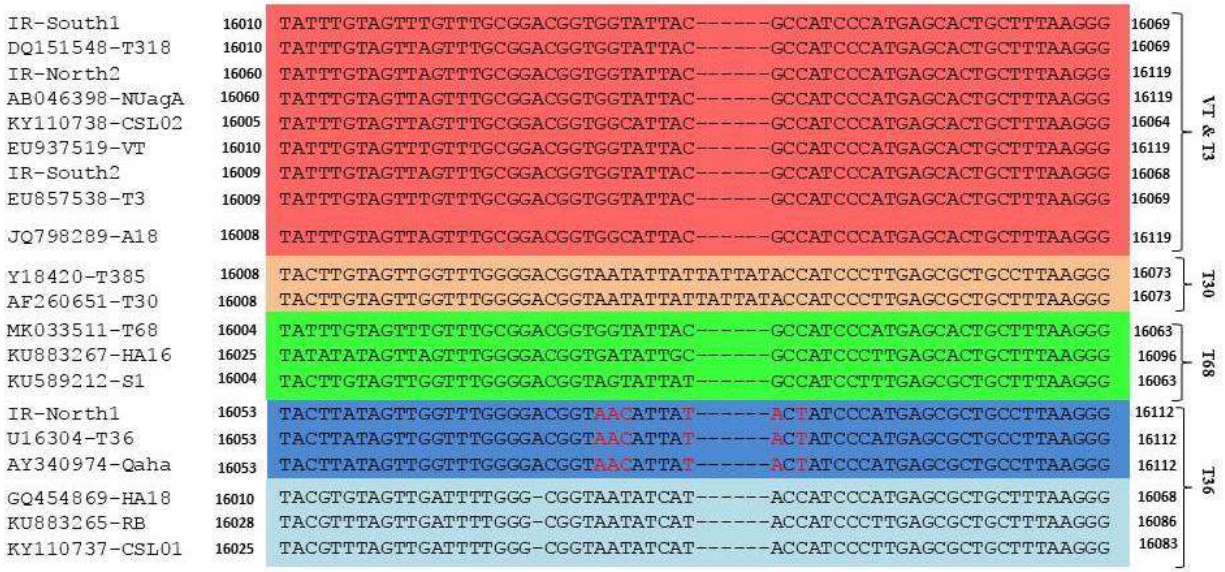
در جدایه IR-North1 آغازگرهای DDE و SSP امکان همانندسازی قطعه مورد نظر را داشتند ولی آغازگر P27 امکان اتصال به ژنوم را نداشت. قطعات ۲۳۵ و ۸۱۶ نوکلئوتیدی بترتیب فاقد محل آنزیم‌های برشی *Dde*I و *Ssp*I بودند (جدول ۲، شکل ۳). نتایج همردیف‌سازی قطعه ۷۸ نوکلئوتیدی نشان داد که جدایه IR-North1 از گروه T36 است (شکل ۳). بنابراین جدایه IR-North1 مشخصات مشابهی با سویه زوال سریع (نژاد T36، رس شمار U16304) دارد. در جدایه‌های IR-North2، IR-South1 آغازگرهای P27 و DDE امکان همانندسازی قطعه مورد نظر را داشتند ولی آغازگر SSP امکان همانندسازی قطعه ۸۱۶ نوکلئوتیدی را نداشت. قطعه ۲۳۵ نوکلئوتیدی در هر دو جدایه دارای محل آنزیم برشی *Dde*I بود (جدول ۲، شکل ۳). بعلاوه نتایج همردیف‌سازی قطعه ۷۸ نوکلئوتیدی نشان داد که این دو جدایه مشابه با اعضای گروه VT/T3 هستند. بنابراین جدایه های IR-North2، IR-South1 از نژادهای مولد ساقه‌آبله‌ای و زردی نهالچه و مشابه با سویه SY سویه (AB046398) و سویه T318A (DQ252548) هستند.

در جدایه IR-South2 آغازگرهای P27، DDE و SSP به‌ترتیب امکان همانندسازی قطعات ۷۸، ۲۳۵ و ۸۱۶ را داشتند. قطعه ۲۳۵ نوکلئوتیدی دارای محل آنزیم برشی *Dde*I و قطعه ۸۱۶ نوکلئوتیدی فاقد محل آنزیم برشی *Ssp*I بود (جدول ۲، شکل ۳). بعلاوه نتایج همردیف‌سازی قطعه ۷۸ نوکلئوتیدی این جدایه نشان داد که این متعلق به گروه VT/T3 است (شکل ۳). بنابراین جدایه IR-South2 نیز از نژادهای مولد ساقه‌آبله‌ای و زردی نهالچه و مشابه با سویه T3 (EU857538) است.

فقدان محل آنزیم برشی *Ssp*I در جدایه‌های IR-North1 و IR-South2 در قطعه ۸۱۶ نوکلئوتیدی نشان‌دهنده آن است که این جدایه‌ها از سویه‌های خفیف CTV محسوب نمی شوند. بعلاوه در توالی قطعه ۷۸ نوکلئوتیدی در هیچ یک از جدایه‌های توالی‌یابی شده شش نوکلئوتید الحاق شده در گروه T30 وجود نداشت.

شباهت نوکلئوتیدی

در ماتریکس شباهت نوکلئوتیدی جدایه‌های CTV در طول کامل ژنوم بین ۷۷/۵– ۹۵/۲ درصد شباهت داشتند (جدول ۳). میزان شباهت نوکلئوتیدی ژن‌های RdRp، p65 و پروتئین پوششی جدایه های CTV به ترتیب در محدوده ۹۵/۷–۷۷/۷، ۹۷–۸۵/۳ و ۹۶/۶–۹۱/۴ درصد بود و در سطح آمینواسیدی میزان شباهت به‌ترتیب بین ۹۴/۱–۸۰/۶، ۹۳/۹–۸۸ و ۹۶/۴–۹۲/۴ درصد بود (جدول ۳). جدایه IR-North1 در طول کامل ژنوم به ترتیب ۷۸٪، ۷۷/۹٪ و ۷۷/۵٪ با جدایه‌های IR-North 2، IR-South1 و IR-South 2 شباهت داشت.



شکل ۳- همردیفی قطعه ۷۸ نوکلتوتیدی شامل ۲۵ نوکلئوتید انتهای ناحیه ژن p27 و ابتدای ناحیه بین ژنی ژن‌های p27 و p25 در جدایه‌های توالی‌یابی شده و سویه‌های رفرنس CTV برای تعیین گروه ژنوتیپی جدایه‌های ایرانی توالی‌یابی شده

Figure 3- Alignment of a 78-nucleotide fragment containing the 25 nucleotides at the end of the p27 gene and the beginning of the intergenic region between p27 and p25 genes in the sequenced strains and reference strains of CTV for determining the genotypic group of Iranian CTV strains

جدول ۲- تفکیک سویه‌های ویروس تریستزای مرکبات با استفاده از همانندسازی ناحیه بین ژن‌های Cp و Cpm با آغازگرهای مختلف در واکنش زنجیره ای پلی مراز مجازی و شبیه‌سازی هضم آنزیمی قطعه همانندسازی شده با آنزیم برشی

Table 2- Differentiation of *Citrus tristeza virus* strains using *in silico* amplification of the intergenic region between Cp and Cpm genes with different primers and virtual enzymatic digestion of the amplified fragment with the restriction enzyme

سویه/جدایه Strain/Isolate	رس شمار Accession No.	محصول واکنش زنجیره ای پلی مراز مجازی Virtual PCR product			هضم آنزیمی مجازی Virtual enzymatic digestion		اسید آمینه شماره ۱۲٤ در پروتئین پوششی Amino acid at position 124 in coat protein
		P27 primer	DDE primer	SSPI primer	*Dde*I	*Ssp*I	
T30	AF260651	78	235	825	NF	197-628	Tyrosine
VT	EU937519	78	234	NF	80-154	NF	Phenylalanine
T3	EU857538	78	234	NF	80-154	NF	Phenylalanine
SY	AB046398	78	234	NF	80-154	NF	Phenylalanine
T36	U16304	NF	235	816	NF	NF	Phenylalanine
IR-North1	NF	NF	235	816	NF	NF	Phenylalanine
IR-North2	NF	78	234	NF	80-154	NF	Phenylalanine
IR-South1	NF	78	234	NF	80-154	NF	Phenylalanine
IR-South2	NF	78	234	816	80-154	NF	Phenylalanine

NF: not found

شباهت جدایه IR-North 2 با دو جدایه IR-South1 و IR-South2 در طول کامل ژنوم نیز به ترتیب ۹۵/۲٪ و ۸۹/۴٪ بود. ژنوم دو جدایه IR-South1 و IR-South 2 با یکدیگر ۹۰/۳٪ شباهت داشت. جدایه IR-North1 بیشترین شباهت را با جدایه U16304 از فلوریدا به میزان۹۶/۳٪ داشت در حالیکه بیشترین شباهت جدایه IR-North 2 با جدایه AB046398 از ژاپن به میزان ۹۷/۵ ٪ بود. جدایه IR-South1 با ۹۷/۶٪ و جدایه IR-South2 با ۹۶/۶٪ بیشترین شباهت را به‌ترتیب با سویه T318A از اسپانیا (رس شمار DQ151548) و جدایه T3 از نیوزیلند (رس شمار EU857538) داشتند. در جدایه‌های ایرانی CTV، جدایه IR-North1 کمترین شباهت (۷۷/۵٪) را با جدایه‌های MK033511 و GQ454869 از آفریقای جنوبی و هاوایی داشت. جدایه IR-North2 کمترین شباهت (۷۷/۵٪) را با جدایه AY340974 از مصر و جدایه‌های IR-South1 و IR-South2 کمترین شباهت نوکلئوتیدی را به‌ترتیب به میزان ۷۸/۴٪ و ۷۸/۱٪ با جدایه‌های AY340974 و U16304 داشتند.

تجزیه و تحلیل فیلوژنی

در درخت فیلوژنی ترسیم شده بر اساس طول کامل ژنوم، سه شاخه به نام‌های گروه VT، گروه T68 و گروه T36 با حمایت بوت استرپ بالا قابل شناسایی بود (شکل ۴). سه جدایه IR-North2 و IR-South1 و IR-South2 همراه با جدایه‌هایی از ژاپن، اسپانیا، برزیل، فلوریدا، نیوزیلند و تایلند در گروه VT و جدایه IR-North 1 همراه با جدایه‌هایی از فلوریدا، مصر، هاوایی، آفریقای‌جنوبی و برزیل در گروه T36 قرار گرفتند. در طول کامل ژنوم شباهت گروه T36 با دو گروه VT و T68 در سطح نوکلئوتیدی به‌ترتیب ۶/۵ ± ۸۵/۵ و ۶/۵۷ ± ۸۶ درصد بود. گروه VT نیز با گروه T68در سطح نوکلئوتیدی ۴/۸ ± ۸۸/۳ شباهت داشت.

تجزیه و تحلیل موتیف‌های حفاظت شده در چارچوب‌های ژنی

چهار جدایه CTV توالی‌یابی شده در این تحقیق، همانند جدایه مرجع CTV دارای ۱۲ چارچوب ژنی بودند (شکل ۵).

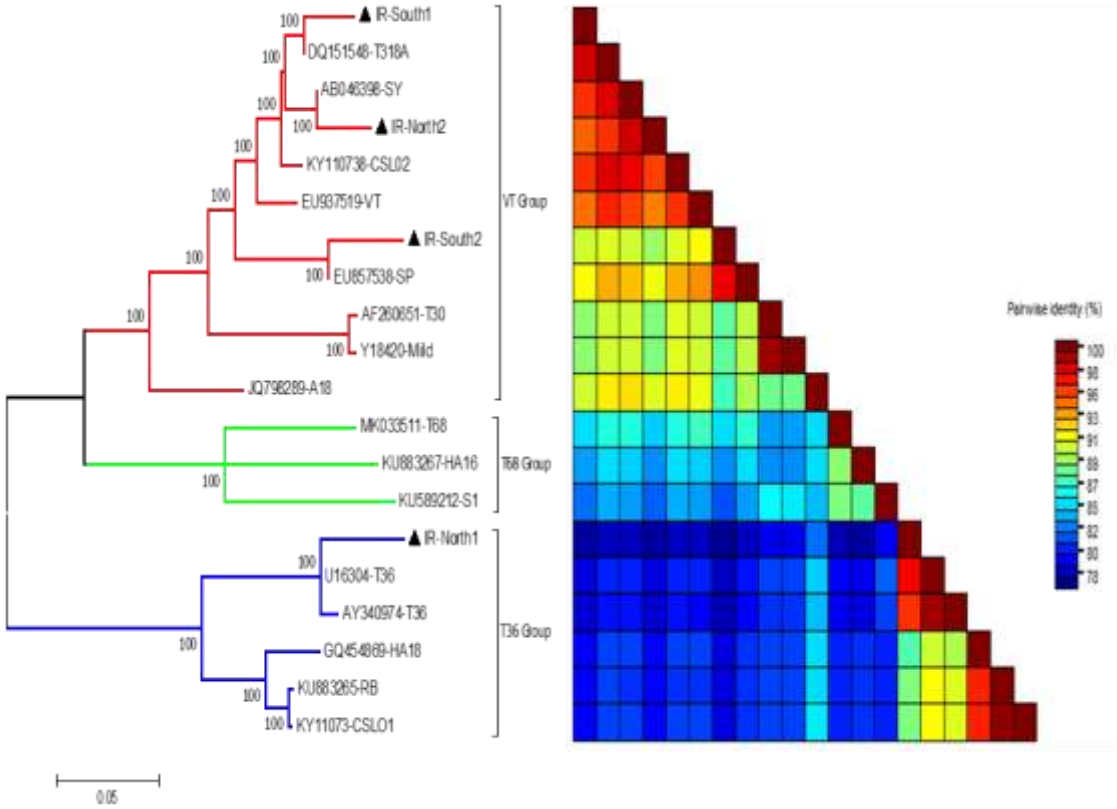
چارچوب ژنی ORF1a بطول ۹۳۷۴ نوکلئوتید پروتئین رپلیکاز ویروس را رمزگذاری می کند. در این پروتئین سه ناحیه متیل ترانسفراز (MTR)، Zemlya و هلیکاز (HEL) وجود داشت (شکل ۵). از اسید آمینه‌های ۱۰۳۶ تا ۱۳۷۰ در ناحیه متیل ترانسفراز شش موتیف یافت شد که در چهار موتیف در جدایه‌های IR-North2، IR-South1 و IR-South2 نسبت به جدایه رفرنس تفاوت‌هایی وجود داشت (شکل ۵، جدول ۴). در موتیف MTR I جانشینی N1075M، در موتیف MTR IIa سه جانشینی I1157V، Y1162F و E1165D ، در موتیف III جانشینی I1185V و در موتیف MTRIV جانشینی C1246Y در سه جدایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2 و جانشینی R1248C در جدایه IR-South2 مشاهده شد. در موتیف های MTR Ia و MTR II جدایه‌های توالی‌یابی شده با جدایه مرجع تفاوتی وجود نداشتند. اسید آمینه‌های ۱۷۰۷ تا ۱۸۱۲ ناحیه Zemlya بود که در بازسازی غشاهای شبکه آندوپلاسمی در طی آلودگی نقش دارد (Gushchin *et al.*, 2017) و دارای چهار موتیف است. در موتیف Zemlya aA جانشینی‌های L1708M و L1718S در هر چهار جدایه و جانشینی I1716M در سه جدایه IR-North1، IR-North2 و IR-South1 مشاهده شد.

جدول ۳- میزان شباهت آمینواسیدی پروتئین‌های رمزگذاری شده جدایه‌های ایرانی CTV با یکدیگر و نژادهای مرجع ویروس تریستزای مرکبات

Table 3- Similarity of the encoded protein amino acids of Iranian CTV strains with each other and reference strains of *Citrus tristeza virus*

	سویه/جدایه Strain/Isolate	رس شمار Accession number	Full length	5'UTR	polymerase	RdRp	P33	P6	P65	P61	P27	P25	P18	P13	P20	P23	3'UTR
IR-North1	T36	U16304	97	100	95.9	97	96.4	99.4	98.2	98.3	98.2	99.7	99.2	99.7	96.9	96.7	98.5
	VT	EU937519	78.5	68	70.2	78.3	82.5	87.8	87.6	86.8	87.7	92.6	92.7	91.1	87.8	87.8	96
	SY	AB046398	78.7	63.5	70.6	78	82.2	87.2	87.2	86.1	88.5	92.6	92.5	90.3	88.7	88.6	96.3
	T318A	DQ151548	78.7	61.9	70.4	78.4	82.9	87.2	87.5	86.3	87.6	92.6	91.9	90.8	88.5	88.9	96
	T3	EU857538	78.4	71.2	70.1	77.8	81.7	87.8	87.4	86.8	86.7	92.6	92.3	90.6	88.2	87.8	96
	T30	AF260651	79.6	54.8	70.2	77.1	81.7	88.5	92	93.3	92.1	92.9	94.6	91.1	87.4	87.8	95.6
	IR-North2	-	78	62.5	70	77.7	81.3	87.2	86.6	85.5	88.4	92.6	92.1	89.2	88.9	87.1	95.6
	IR-South1	-	77.9	61.9	69.9	77.6	81.5	87.2	85.9	85.8	87.6	91.4	91.1	90.8	87.8	88.7	96
	IR-South2	-	77.5	71.2	69.4	76.8	80.3	87.2	85.4	86	85.9	91.7	92.1	90	88	87.9	94.9
IR-North2	T36	U16304	79.4	63.5	71.6	79.4	83.2	87.8	87.8	86	88.5	92.7	92.5	88.9	89.6	90	97.1
	VT	EU937519	94.1	97.1	92.7	96.5	97.4	98.1	97.5	93.6	95.9	96.6	95.4	92.2	94.7	92.9	97.4
	SY	AB046398	98.2	100	97.9	98.2	97.8	100	98.9	98.3	98.2	100	99.2	98.3	97.5	97.1	99.3
	T318A	DQ151548	96.1	96.2	95.5	97.2	96.2	100	97.5	96.4	96.4	97.5	97.4	96.7	96.5	96	98.2
	T3	EU857538	91.1	81.1	88.5	90.1	88.7	98.1	96.9	93.1	93.6	96.4	95.6	91.1	94.4	92.1	97.4
	T30	AF260651	88.6	78.6	88.4	90.1	84.6	92.9	87.9	86.6	88.8	93	93.5	89.2	91.6	86.7	97.1
	IR-South1	-	95.1	96.2	94.2	96.2	95.3	100	96	96.1	96.4	96.3	96.6	96.7	96	94.9	97.8
	IR-South2	-	89.4	81.1	86.4	88.8	86.5	97.4	95.1	92.6	93.2	95.5	95	91.1	93.8	91.1	94.9
IR-South1	T36	U16304	79.4	61.9	71.7	79.4	83.8	87.8	86.6	86.5	88.7	91.7	91.9	91.1	89.6	90	96.3
	VT	EU937519	94.7	97.4	94	96.6	94.7	98.1	96.2	94.2	95.7	94.9	94.8	94.7	94.9	92.1	97.4
	SY	AB046398	96	96.2	95.2	96.9	95.8	100	96	96.9	98.1	96.3	97.4	98.3	96.9	95.4	97.8
	T318A	DQ151548	98.2	100	98	98.1	97.6	100	97.4	98.8	100	98.8	99.2	100	97.8	96.5	98.9
	T3	EU857538	91.4	85.8	89.3	90	88.6	98.1	95.6	93.8	95	95.5	94.8	93.6	94.5	91	97.4
	T30	AF260651	88.9	78.8	89.2	89.9	84.9	92.9	86.7	86.9	89.6	91.5	92.3	90.8	91.4	86.3	96.3
	IR-South2	-	90.3	85.8	87.7	88.8	86.8	97.4	95.5	93.6	93.6	96.3	94.6	93.1	94.2	90.5	94.9
IR-South2	T36	U16304	78.6	71.2	70.6	78.2	81.7	87.8	85.7	86.5	86.6	92	92.5	90.3	89.1	90.1	94.9
	VT	EU937519	91.4	90	90.1	89.7	87.8	98.1	95.4	96.7	96.5	97.3	97	97.8	96	95.6	97.4
	SY	AB046398	90.3	81.1	87.2	89.4	87.5	97.4	95.4	93.3	93.9	95.5	95.6	92.2	94.9	92.7	95.6
	T318A	DQ151548	90.7	85.8	87.9	89.4	88.2	97.4	95.7	93.6	100	95.4	95	93.1	94.7	92.5	96
	T3	EU857538	97.3	100	96.5	97.5	96.9	99.4	97.5	98.6	98.2	99	99.4	99.4	98	97.6	97.4
	T30	AF260651	87.7	75.7	87.3	88.7	83	94.2	86.6	86.8	87.4	92.6	92.5	89.4	89.6	88.1	96.3

در سایر موتیف‌های این ناحیه در جدایه IR-North1 با توالی مرجع تفاوت نداشت. در موتیف Zemlya aB جانشینی‌های V1736I، R1744A، F1753Y و L1754C در سه جدایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2 و جانشینی‌های A1739R و A1746P در جدایه IR-North2 ردیابی شد. در موتیف Zemlya aC جانشینی T1769A، R1779E و P1780A در هر سه جدایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2 وجود داشت. جانشینی R1779E در جدایه IR-North2 و R1779S در جدایه‌های S1 و S2 وجود داشت. همچنین در این موتیف جایگزینی VSMVL به CKYGV در موقعیت ۱۷۷۸-۱۷۷۴ در جدایه IR-North2 وجود داشت. در موتیف Zemlya aD، جانشینی‌های A1789G، I1806V و L1807F در سه جدایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2 و جانشینی V1802I در دو جدایه IR-North2 و IR-South1 ردیابی شد. اسید امینه ۲۹۸۴-۲۷۱۶ ناحیه هلیکاز و حاوی هفت موتیف بود که در موتیف‌های HEL I، HEL Ia و HEL IV جدایه‌های توالی‌یابی شده با جدایه مرجع تفاوتی نداشتند. در حالی‌که در موتیف‌های HEL II، HEL III، HEL V و HEL VI به‌ترتیب جانشینی‌های I2803V، K2825R، R2951K و V2974T در سه جدایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2 وجود داشت.

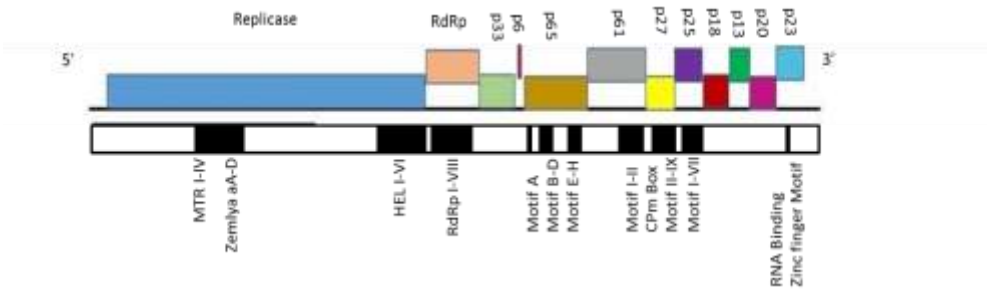


شکل ٤- درخت فیلوژنی ترسیم شده با استفاده از توالی نوکلئوتیدی ژنوم کامل جدایه‌های ایرانی توالی‌یابی شده و ژنوم کامل جدایه‌های CTV موجود در بانک ژن

رسم درخت به روش Maximum likelihood و با مدل جایگزینی نوکلئوتیدی Tamura-3- parameters با تکرار ۵۰۰ در آزمون بوت استرپ در بسته نرم‌افزاری MEGA7 انجام شده است. رس شمار و مشخصات جدایه‌های CTV موجود در بانک ژن در جدول ۱ ذکر شده است. جدایه‌های توالی‌یابی شده در این تحقیق با ▲ نشان داده شده‌اند.

Figure 4- A phylogenetic tree drawn using the nucleotide sequences of complete genomes of Iranian strains and complete genomes of CTV strains available in the gene bank

The tree was constructed using the Maximum Likelihood method and the Tamura-3-parameters nucleotide substitution model with 500 bootstrap replicates in the MEGA7 software package. The accession numbers and characteristics of the CTV strains available in the gene bank are listed in Table 1. The sequenced strains in this study are indicated by▲



شکل ٥- تصویر شماتیک از سازمان ژنومی و نواحی محافظت شده موجود در پروتئین‌های رمزگذاری شده بوسیله CTV

مشخصات و تغییر در نواحی محافظت شده در جدایه‌های ایرانی CTV در جدول ۴ ذکر شده است.

Figure 5- Schematic representation of the CTV genome organization and the conserved motifs found in CTV-encoded proteins

The characteristics of the motifs and variation of amino acids in conserved regions in Iranian CTV isolates are shown in Table 4.

جدول ٤- مقایسه تغییرات اسیدهای آمینه در موتیف‌های حفاظت شده در پروتئین‌های جدایه‌های ایرانی ویروس تریستزای مرکبات در مقایسه با جدایه مرجع CTV (رس شمار U16304). تغییرات هر موتیف با رنگ خاکستری مشخص شده است

Table 4- Comparison of amino acid changes in conserved motifs of proteins of Iranian CTV strains compared to the reference CTV strain (accession number U16304). The changes in each motif are highlighted in gray.

ژن Gene	موتیف Motif	محل موتیف Motif position	محل جایگزینی Substitution Position	توالی موتیف Sequence of the motif	جایگزینی اسید آمینه Amino acid substitution				
					U16304	IR-North1	IR-North2	IR-South1	IR-South2
Replicase	MTRI	1065-1079	1075	SDHPVAAGSRALENH	N	-	N1075M	N1075M	N1075M
	MTRIa	1090-1114		SDVGGCPLFHLRAGHSGVHVCRPVY	-	-	-	-	-
	MTR II	1117-1123		KDAHRRV	-	-	-	-	-
	MTR IIa	1155-1165	1156	NILGECYHASE	I	-	I1164V	I1163V	I1163V
			1162		Y	-	Y1169F	Y1168F	Y1168F
			1165		E	-	E1173D	E1172D	E1172D
	MTR III	1172-1186	1185	VYDVPLRELCRAMIN	I	-	I1193V	I1192V	I1192V
	MTR IV	1234-1248	1246	SAYTHTYSTICECMR	C	-	C1254Y	C1253Y	C1253Y
			1248		R	-	-	-	R1255C
	Zemlya aA	1708-1722	1708	LGLETCVSIALAIFD	L	L1708M	L1716M	L1700M	L1700M
			1716		I	I1716M	I1124M	I1708M	-
			1718		L	L1718S	L1126S	L1710S	L1710S
	Zemlya aB	1733-1756	1736	SFPVVCARVFGRLAMEVGSNFLFK	V	-	V1744I	V1728I	V1728I
			1739		A	-	A1747R	-	-
			1744		R	-	R1752A	R1736A	R1736A
			1746		A	-	A1754P	-	-
			1753-1754		FL	-	F1761Y/L1762C	F1745Y/F1746C	F1745Y/F1746C
	Zemlya Ac	1766-1780	1769	GEDTFRRTVSMVLRP	T	-	T1777A	T1761A	T1761A
			1774-1778		1774VSMVL1778	-	1774CKYGV1778	-	-
			1779-1780		RP	-	EA	SA	SA
	Zemlya aD	1788-1809	1789	DAKGLVRCSGVIPGVLRIILS	A	-	A1798G	A1782G	A1782G
			1802		V	-	V1811I	V1795I	-
			1806-1807		IL	-	I1815V/I1815F	I1799V/L1800F	I1799V/L1800F
	HEL I	2709-2722		LIVYEAPPGGGKTHS	-	-	-	-	-
	HEL Ia	2737-2751		CLVVTANKNSQTEIS	-	-	-	-	-
	HEL II	2792-2799	2803	LLFIDECF	I	-	I2804V	I2803V	I2803V
	HEL III	2819-2826	2825	VFFGDSKQ	K	-	K2834R	K2833R	K2833R
	HEL IV	2856-2863		EVSYRCPW	-	-	-	-	-
	HEL V	2938-2955	2951	VNTVHEVQGETYKRVRLV	R	-	R2961K	R2960K	R2960K
	HEL VI	2973-2983	2973	VALTRHVDSLV	V	-	V2982T	V2981T	V2981T
RdRp	RdRp I	126-173		MVKRDAKVKLDD	-	-	-	-	-
	RdRp II	143-159		HPAAQNIMFHKKFINAI	-	-	-	-	-
	RdRp III	180-193	180	VFFTEMTNAGLAEI	V	-	-	-	V180I
			193		I	-	I193V	I193V	I193V
	RdRp IV	208-219		EVDFSKFDKSQD	-	-	-	-	-
	RdRp V	263-290		VDGQRRSGGSNTWIGNSLVTLGILSLYY	-	-	-	-	-
	RdRp VI	296-310	296	DLLLVSGDDSLIYSS	D	-	D296E	D296E	D296E
			300		V	-	V300I	V300I	V300I
			310		S	-	S310K	S310K	S310K

	RdRp VII	332-342		SPSVPYFCSKF	-	-	-	-	-
	RdRp VIII	352-363		FVPDPYKLLVKL	-	-	-	-	-
	Motif A	3-15		LLGLDFGTTFSTV	-	-	-	-	-
	Motif B	148-188	168	ICSVPAGYNTLQRAFTQQSISMSGYSCVYIINEPSAAA YST	I	-	I168V	I168V	I168V
			170		M	-	M170L	M170L	M170L
			174		S	-	S174T	S174T	S174T
	Motif C	199-214		LAVYDFGGGTFDVSIV	-	-	-	-	-
	Motif D	221-245	227	FAVRSSSGDMNLGGRDIDKKLSDKI	S	-	S227G	S227G	S227G
P65			239		K	-	239R	239R	239R
	Motif E	325-348	247	LVVVGGSSYLPGLLDAL	A	-	A247T	A247T	A247T
	Motif F	355-374	362	DARTAVATGCALYSECLDGR	T	-	T362R	T362R	T362R
			374		R	-	-	R374K	-
	Motif G	377-398	380	ALLIDCITHHLSVTTFSADSVV	I	-	I380T	-	-
			384		T	-	T384S	-	T384S
			393		S	-	-	-	S393T
	Motif H	458-476	458	SVPNDVEMTLVTK	S	-	S458R	S458R	S458R
	Motif I	251-323	278	LDNVRLFKSKVLPVVLTVWDISEPDDPMDERVLIPFD PTDFVLDLPKLNIHDTMVVVGNQIRQLEYVVESDAL	M	-	M278V	M278V	M278V
			282		V	-	V282T	V282T	V282T
			284		I	-	I284G	I284G	I284G
			295		L	-	L295T	L295I	L295I
			299		N	-	N299Q	-	N299Q
			313		Q	-	Q313H	Q313H	Q313H
			316		Y	-	Y316H	Y316H	Y316H
			321		D	-	-	-	D321E
	Motif II	329-471	333	HVDLRLAADNPDLRVGLRWAGMFVYYGVYRCVVD RAVERPTLFRLPQKLLSQDDGESCSLHMGSVEALFNL VQKVNKDINVRRQFMGRHSEVALRLYRNLGLRFPPIS SVRLPAHHGYLYVDFYKRVPDGAVTADELESLRQL	R	-	R333N	R333N	R333N
			344		G	-	G344D	G344D	G344N
			348		A	A348E	A348E	A348E	A348E
			350		M	-	M350L	M350L	M350L
			356		V	-	V356I	V356I	V356I
P61			360		V	-	V360A	V360A	V360A
			361		V	-	-	-	V361A
			362		D	-	-	D362H	-
			364		A	-	A364V	A364V	A364V
			369		P	-	P369A	P369A	P369A
			372		R	-	R372N	R372N	R372H
			375		Q	-	Q375R	Q375R	-
			379		S	-	S379N	S379N	-
			386		C	-	C386A	-	-
			387		S	-	S387L	S387L	S387L
			389		H	-	H389R	H389R	H389G
			391		G	-	G391S	G391S	G391T
			395		A	-	A395T	A395T	A395T
			398		N	-	N398T	-	-
			409		V	-	V409I	V409I	V409I
			419		E	-	E419K	E419K	E419S
			427-428		NL	-	N427I/L428F	-	-
			431		R	-	R431K	R431K	R431K

			455		V	-	V455I	V455I	V455I
			461		T	-	T461D	T461D	T461D
	CPm Box	41-67	45	ALIEGVISKLDTNSIYEDSTEKFTGEH	G	-	-	-	G45S
			67		H	-	H67Q	H67Q	H67Q
	Motif II	69-88		KYVMVTMDTFLLENYKTKTE	-	-	-	-	-
	Motif III	89-93		DLLVH	-	-	-	-	-
	Motif IV	94-120	95	LTMIQKRLYTISTSTKTKFRDKGCISY	T	-	T95A	T95A	T95A
			96		M	-	M96V	-	-
			102		Y	-	Y102C	Y102C	Y102C
			103		T	-	T103S	-	-
	Motif V	125-166	139	LRYKLLDKVVFPFIISKFTDRETPNALRKFACTFEELH LCMA	I	-	-	-	I139M
CPm			146		E	-	-	-	E146D
			154		F	-	F154C	F154Y	F154C
			157		T	T157T	T157S	T157A	-
			165		M	-	-	-	M165T
	Motif VI	173-181		YENKRTTRA	-	-	-	-	-
	Motif VII	182-216	190	GTPHLKGYLSADFLSGSLPGYSEHERGIILRASES	L	-	L190F	-	-
			196		S	-	S196T	S196T	S196T
			198		S	-	S198P	-	S198P
			202		Y	-	Y202S	-	Y202S
	Motif VIII	217-221	219	MLARR	A	-	A219T	-	-
	Motif IX	226-238		EATELLNLRDLGK	-	-	-	-	-
	Motif I	29-44	31	SSVNLHIDPTLITMND	V	-	V31L	V31L	-
			35		I	-	-	I35T	-
			40		I	-	-	I40V	I40V
			41		T	-	T41A	T41A	T41A
	Motif II	45-74	49	VRQLSTQQNAALNRDLFLTLKGKHPNLPDK	S	-	S49G	S49T	S49G
			68		H	-	H68Y	H68Y	H68Y
			69		P	-	P69S	-	-
	Motif III	80-101	80	IAMMLYRLAVKSSSLQSDDDAT	I	-	I80L	I80K	I80K
CP			91		S	-	-	S91G	S91G
			100		A	-	A100T	A100T	A100T
	Motif IV	110-151	122	VEVDLSDKLWTDVVFNSKGIGNRTNALRVWGRTND ALYLAFC	V	-	-	-	V122I
			133		T	-	-	T133P	T133P
			142		T	-	T142S	T142S	-
	Motif V	154-164		NRNLSYGGRPL	-	-	-	-	-
	Motif VI	167-200		GIPAGYHYLCADFLTGAGLTDLECAVYIQAKEQL	-	-	-	-	-
	Motif VII	208-219	208	DVVVTNVRQLGK	D	-	D208E	D208E	D208E
P23	RNA Binding/Zinc finger Motif	51-86	53	RKNSYQGARFRARIIGVCVDCGRKHDKGLKTERKCK	N	-	-	-	N53T
			69		V	-	-	-	V69M
			78-80		78GLK80	-	78ASR80	78ASR80	78ASR80

ن رپلیکاز با ۴۹۹ اسید آمینه را رمزگذاری می‌کند حاوی هشت موتیف حفاظت شده می‌باشد (شکل ۵). در موتیف RdRp III در جایه IR-South2 جانشینی V180I و جانشینی I193V در سه جایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2 وجود داشت. همچنین در موتیف RdRp VI سه جانشینی اسید آمینه D296E، V300I و S310K در این سه جایه وجود داشت. در سایر موتیف های رپلیکاز جایه‌ها با جایه مرجع تفاوتی نداشتند.

چارچوب‌های ژنی بعدی به‌ترتیب ژن p33 به طول ۹۰۹ نوکلئوتید پروتئینی به طول ۳۰۲ اسید آمینه، و ژن p6 به طول ۱۵۶ نوکلئوتید پروتئینی با ۵۱ اسید آمینه را رمزگذاری می‌کنند که موتیف‌های حفاظت شده در این دو ژن ردیابی نشد.

چارچوب ژنی p65 به‌طول ۱۷۸۵ نوکلئوتید، پروتئین hsp70h با ۳۶۵ اسید آمینه که دارای هشت موتیف حفاظت شده را رمزگذاری می‌کند (شکل ۵). جانشینی‌های I168V، M170L و S174T در موتیف B، S227G و K239R در موتیف D و جانشینی‌های A247T، I380 و S458R به‌ترتیب در موتیف‌های E، F و H سه جایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2 ، جانشینی T384S در جایه‌های IR-North2 و IR-South2، جانشینی R374K در موتیف F جایه IR-South1، I380T در موتیف G جایه IR-North2 و جانشینی S393T در جایه IR-South2 ردیابی شد. موتیف A و C جایه‌ها مشابه با توالی مرجع بودند (جدول ۴).

چارچوب ژنی p61 به طول ۱۶۰۸ نوکلئوتید پروتئینی با ۴۸۴ اسید آمینه را رمزگذاری می‌کند. این پروتئین همولوگ پروتئین HSP90 و دارای دو موتیف طویل حفاظت شده با ۷۳ و ۱۴۳ اسید آمینه است. در موتیف I پنج جانشینی M278V، V282T، I284G، Q313H و Y316H در سه جایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2، جانشینی N298Q در جایه‌های IR-North2 و IR-South2 و جانشینی D321E در جایه IR-South2 وجود داشت. در موتیف II پروتئین p61 جانشینی A348E در هر ۴ جایه توالی‌یابی شده، ۱۲ جانشینی مشابه R333N، M350L، V356I، V360A، V364A، P369A، S387L، A395T، V409I، R431K، V455I و T461D در سه جایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2، دو جانشینی Q375R و S379N در IR-North2، IR-South1، جانشینی V361A در IR-South2 و جانشینی‌های C386A، N427I و L428F در IR-North2 رخ داده بود. پنج جانشینی G344D، R372N، H389R، G391S و E419K در دو جایه IR-North2، IR-South1 مشابه و در IR-South2 بصورت G344N، R372H، H389G، G391T و E419S بود (جدول ۴).

چارچوب ژنی P27 بطول ۷۲۳ نوکلئوتید پوشش پروتئینی کوچک (CPm) با ۱۹۰ اسید آمینه را رمزگذاری می‌کند که دارای نه موتیف حفاظت شده است (شکل ۵). جانشینی‌های H67Q در CPm box، T95A، Y102C در موتیف IV و S196T در سه جایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2 مشابه بود. جانشینی‌های F154C در موتیف V، S198P و Y202S در موتیف VII در IR-North2 و IR-South2، و جانشینی‌های T157S در موتیف V، L190F در موتیف VII و A219T موتیف VII و جانشینی M96V و T103S در موتیف IV تنها در جایه IR-North2 جانشینی F154Y و T157A در موتیف V تنها در جایه IR-South1 جانشینی G45S در موتیف CPm Box و I139M، E146D و M165T در موتیف V فقط در IR-South2 اتفاق افتاده بود. هیچ جانشینی در موتیف‌های II، III، VI و IX مشاهده نشد. توالی آمینواسیدی CPm در جایه IR-North1 مشابه با توالی جایه رفرنس CTV بود.

چارچوب ژنی P25 بطول ۶۷۲ نوکلئوتید رمزگذاری پوشش پروتئینی با ۱۹۴ اسید امینه را انجام می‌دهد. در پوشش پروتئینی CTV هفت موتیف حفاظت شده وجود داشت (شکل ۵). چهار جایگزینی مشابه T41A، H68Y، A100T و D208E به ترتیب در موتیف‌های I، II، III و VII در هر سه جایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2 مشاهده شد. در جایه‌های IR-North2 و IR-South1 در موتیف I جانشینی V31L و در موتیف IV جانشینی T142S بود. جانشینی در اسید آمینه ۴۹ در موتیف II در جایه‌های IR-North2 و IR-South2 بصورت S49G درحالیکه در جایه IR-South1 بصورت S49T بود. همچنین در اسید آمینه ۸۰ در موتیف III نیز در جایه‌های IR-South1 و IR-South2 جانشینی I80K و در IR-North2 جانشینی I80L رخ داده بود. جانشینی‌های I35T در موتیف I، P69S در موتیف II و V122I در موتیف IV هر کدام به ترتیب تنها از جایه‌های IR-South1، IR-North2 و IR-South2 ردیابی شدند. جانشینی I40V در موتیف I، S91G در موتیف III و T133P در موتیف IV نیز تنها در دو جایه استان فارس دیده شد. در موتیف V و VI هیچ جایگزینی در جایه‌های توالی‌یابی شده ردیابی نشد (جدول ۴). توالی آمینواسیدی پوشش پروتئینی جایه IR-North1 باپوشش پروتئینی سویه مرجع CTV یکسان و فاقد جایگزینی بود.

در سازمان ژنی ویروس تریستزا، پس از ژن پوشش پروتئینی بزرگ به‌ترتیب ژن‌های p18، p13 و p20 قرار می‌گیرند که هرکدام به‌ترتیب ۵۰۴، ۳۶۰ و ۵۴۹ نوکلئوتید طول دارند و پروتئین‌هایی با ۵۰۴، ۳۶۰ و ۵۴۹ اسید آمینه را رمزگذاری می‌کنند. در پروتئین‌های این سه ژن موتیف حفاظت شده شناخته شده مشاهده نشد.

چارچوب ژنی p23 با ۶۳۰ نوکلئوتید پروتئینی با ۲۰۹ اسید آمینه را رمزگذاری می‌کند. نقش پروتئین p23 بازدارنده خاموشی ژن،

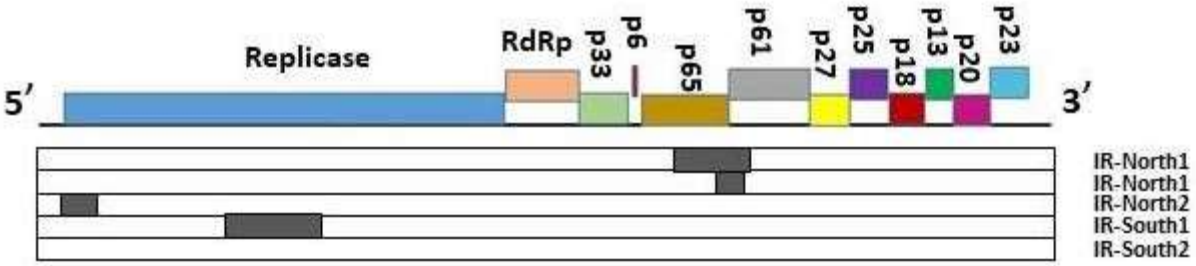
تنظیم‌کننده سنتز RNA، افزایش آلودگی سیستمیک در نارنج و القای سندروم زردی گیاهچه در نارنج و گریپ‌فروت (Flores *et al.*, 2013) است. این پروتئین دارای یک ناحیه حفاظت شده RNA binding و حاوی یک موتیف Zinc finger است (شکل ۵). بررسی توالی آمینواسیدی این پروتئین نشان داد که در ناحیه حفاظت شده RNA binding جدایه IR-South2 جانشینی N53T و V69M اتفاق افتاده است. سه جانشینی متوالی نیز در موقعیت ۷۸-۸۰ شامل G78A، L79S و K80R در سه جدایه IR-South1، IR-North2 و IR-South2 وجود داشت.

تجزیه و تحلیل نوترکیبی

بررسی وقوع نوترکیبی احتمالی در جدایه‌های ایرانی CTV نشان داد که جدایه‌های IR-North1، IR-North2 و IR-South1 نوترکیب هستند (شکل ۶).

در جدایه IR-North1 قطعه ۱۴۲۶ نوکلئوتیدی در موقعیت ۱۲۷۱۲ تا ۱۴۱۳۸ نوترکیب بود. ناحیه نوترکیب شامل ژن‌های p65 (hsp70) و p61 در ژنوم CTV است (جدول ۵، شکل ۶). این قطعه حاصل نوترکیبی سویه مصری (Qaha، رس شمار AY340974) به عنوان والد اصلی و سویه T36 (U16304) به‌عنوان والد فرعی است.

در جدایه IR-North2 نیز قطعه ۷۷۳ نوکلئوتیدی در موقعیت ۱۰۶ تا ۸۷۹ ژن رپلیکاز نوترکیب شناسایی شد (جدول ۵، شکل ۵). این قطعه حاصل نوترکیبی بین جدایه ژاپنی (NUagA، رس شمار AB046398) به‌عنوان والد اصلی و نژاد VT (رس شمار KC517494) به‌عنوان والد فرعی است. در جدایه IR-South1 نیز یک نوترکیبی در ژن رپلیکاز بطول ۲۴۴۴ نوکلئوتید در موقعیت ۳۹۷۴ تا ۶۴۱۸ ردیابی شد (جدول ۵، شکل ۵). این قطعه حاصل نوترکیبی بین نژاد VT (رس شمار EU937519) به‌عنوان والد اصلی و نژادهای SY568 (رس شمار AF001623) و VT (رس شمار EU937519) به‌عنوان والد فرعی است. هیچ نوترکیبی در جدایه IR-South2 شناسایی نشد.



شکل ٦- تصویر شماتیک از محل وقوع نوترکیبی در ژنوم جدایه‌های ایرانی CTV

شاخص‌های قطعه نوترکیب در جدول ۵ ذکر شده است.

Figure 6- A schematic representation of the recombination event location in the genome of Iranian CTV strains

The breakpoints of the recombination fragment are listed in Table 5.

جدول ٥- مشخصات قطعه نوترکیب شناسایی شده در ژنوم جدایه‌های ایرانی CTV

Table 5- Characteristics of the identified recombination fragment in the genome of Iranian CTV strains

جدایه Isolate	فراوانی Frequency	طول length	موقعیت Position	والدین Parents: اصلی Major	والدین Parents: کمکی Minor	روش ردیابی Detection methods	معناداری آماری pValue
IR-North1	2	1426	12712-14138	AY340974	U16304.1 NC001661	**R.G.B.M**.C.**S**.Se	2.23E-05
IR-North2	5	773	106-879	AB046398	KC517494	**R**.G.B.**M.C.S**.Se	1.37E-10
IR-south1	4	2444	3974-6418	EU937519 KJ790175 MK491895 MW689620	AF001623 EU937519	R.G.B.**M.C.S**.Se	9.39E-06

Abbreviations used for recombination detection programs; R: RDP, G: GENECONV, B: Bootscan, M: Maxchi, C: Chimaera, S: SiSscan, P: PhylPro, Se: 3Seq. Recombination-detecting programs representing significant signal showed in bold; (c): The greatest P-value calculated by the program for the recombination event. The highest reported P-value for the program showed in underlined in RDP4.

بحث

در این تحقیق توالی کامل ویروس تریستزای مرکبات از دو منطقه مرکبات‌خیز استان مازندران و استان فارس مشخص و برخی صفات بیولوژیکی و مولکولی آنها با یکدیگر مقایسه شده است.

علائم CTV در نمونه‌های آلوده جمع‌آوری شده از استان مازندران ایران شامل زردی، ریزبرگی، سرخشکیدگی شاخه‌ها و کوتولگی بود و در تعداد معدودی زردی رگبرگ نیز مشاهده شد. علائم زردی و کوتولگی در مطالعه برزگر و همکاران از مرکبات آلوده به CTV در استان مازندران کشور نیز گزارش شده است (Barzegar *et al.*, 2006). این علایم مشابه با علائم سندروم سویه‌های SP و SY تریستزا می‌باشد (Moreno *et al.*, 2008). در نمونه‌های استان فارس علایم ریزش برگ و سبزخشکیدگی شایع بود که اغلب همراه با رنگ‌پریدگی، کوتولگی و ریزبرگی بود. علائم مشابه با آنها در آلودگی مرکبات به سویه NUagA از ژاپن و SY568 از کالیفرنیا نیز گزارش شده است (Suastika *et al.*, 2001). نهال‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های استان مازندران علایم کوتولگی، رگبرگ روشنی، ریزبرگی و زردی نشان دادند. علائم زردی، کوتولگی شدید، ریزبرگی همراه با رگبرگ روشنی علایم ناشی از وجود سویه SY در نهال نارنج می‌باشد (Barzegar *et al.*, 2006). علائم در نهال‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های استان فارس شامل رگبرگ روشنی، ریزبرگی، کوتولگی خفیف و زردی بود.

با استفاده از توالی‌یابی RNA seq و تجزیه و تحلیل داده ها، توالی کامل چهار جدایه CTV از مناطق مرکبات‌کاری استان مازندران و استان فارس بدست آمده که به عنوان اولین گزارش از توالی کامل ویروس تریستزای مرکبات از ایران است. پیشتر نیز از این رهیافت در شناسایی، سبب‌شناسی و توالی‌یابی ژنوم CTV استفاده شده است (Bester *et al.*, 2021، Ruiz Ruiz *et al.*, 2011). تا کنون تنها توالی ژن کدکننده پروتئین پوششی (Alavi *et al.*, 2005، Barzegar *et al.*, 2006، Ahmadi *et al.*, 2006) و ژن کدکننده پروتئین پوششی کوچک از جدایه‌های CTV در ایران گزارش شده است (Barzegar *et al.*, 2010). جدایه‌های IR-North2 و IR-North1 از مرکبات استان مازندران به‌ترتیب ۱۹۳۰۲ و ۱۹۲۹۶ نوکلئوتید و جدایه‌های IR-South1 و IR-South2 از مرکبات استان فارس ۱۹۲۵۲ و ۱۹۲۵۱ نوکلئوتید طول داشتند. این اختلاف در طول ژنوم مربوط به تفاوت در طول چارچوب‌های ژنی ORF1a، ORF1b، p33، p61 و نواحی 5'UTR و 3'UTR بود. بیشترین و کمترین شباهت بین جدایه‌های استان مازندران و استان فارس ۹۵/۲٪ و ۷۷/۵٪ و به‌ترتیب بین جدایه IR-North2 با IR-South1 و IR-North1 با IR-South1 بود. جدایه IR-North1 با سویه زوال سریع CTV (سویه T36، رس شمار U16304) (Pappu *et al.*, 1995)، جدایه IR-North2 با سویه کوتولگی و ساقه آبله‌ای شدید (سویه SY، رس شمار AB046398) (Suastika *et al.*, 2001)، جدایه IR-South1 با سویه ساقه آبله‌ای شدید CTV (سویه T318A، رس شمار DQ151548) (Ruiz-Ruiz *et al.*, 2006) و جدایه IR-South2 با سویه ساقه آبله‌ای ملایم CTV (سویه T3، رس شمار EU857538) (Harper *et al.*, 2009) بیشترین شباهت را داشتند. بررسی توالی ژن کدکننده پروتئین پوششی CTV از مرکبات کاری‌های استان مازندران نیز شباهت ۹۸٪-۹۷٪ جدایه‌ها را با سویه SY نشان داده بود (Barzegar *et al.*, 2006). در درخت فیلوژنی ترسیم شده جدایه‌های CTV در سه گروه VT، T68 و T36 قرار گرفتند. توپولوژی درخت فیلوژنی مشابه با نتایج یوکومی و همکاران (Yokomi *et al.*, 2018) بود. در درخت فیلوژنی جدایه IR-North1 از مرکبات استان مازندران در گروه T36 همراه با سویه مرجع CTV (رس شمار U16304) و سه جدایه IR-North1، IR- South1 و IR- South2 در گروه VT قرار داشتند. جدایه IR-North2 ارتباط نزدیکی با سویه SY (رس شمار AB046398) داشت که علایم کوتولگی شدید، ساقه آبله‌ای و زردی نهالچه تولید می‌کند (Suastika *et al.*, 2001). جدایه‌های IR-South1 و IR-South2 از مرکبات کاری‌های استان فارس به‌ترتیب با نژاد T318A (رس شمار DQ151548) که مولد ساقه آبله‌ای شدید (Ruiz-Ruize *et al.*, 2006)، و نژاد T3 (رس شمار EU857538) که اغلب فاقد علائم یا با علایم ساقه آبله‌ای خفیف در پرتقال و غیرقابل انتقال با ناقل *Toxoptera citricida* بود (Harper *et al.*, 2009) رابطه نزدیکی داشتند. نتایج تعیین گروه ژنوتیپی جدایه‌ها با توجه به توالی ناحیه بین ژنی پوشش پروتئینی کوچک و بزرگ و هضم آنزیمی (Saponari *et al.*, 2010) نیز با گروهبندی درخت فیلوژنی جدایه‌ها تطابق داشت. اسید آمینه موقعیت ۱۲۴ در پروتئین پوششی CTV برای تعیین قدرت بیماری زایی سویه‌های CTV استفاده شده است (Gottwald *et al.*, 1998). جدایه‌های که در این موقعیت دارای اسید آمینه فنیل آلانین باشند در زمره سویه‌های شدید CTV قرار می‌گیرند. در سویه‌های خفیف CTV در این موقعیت هر اسید آمینه دیگر بجز فنیل آلانین قرار دارد (Lbida *et al.*, 2005). در هر چهار جدایه IR-North1، IR-North2، IR-South1 و IR-South2 در موقعیت ۱۲۴ پروتئین پوششی، اسید آمینه فنیل‌آلانین وجود دارد و بنابراین این چهار جدایه در گروه جدایه‌های با قدرت بیماری‌زایی زیاد قرار می‌گیرند. همچنین اسید آمینه موقعیت ۱۰۰ در پروتئین پوششی این ویروس به‌صورت حفاظت شده می‌باشد و در گروه فیلوژنی VT ترئونین و در گروه فیلوژنی T36 آلانین است (Wu *et al.*, 2014). این موقعیت در جدایه IR- North1 شامل اسید آمینه آلانین و در سه جدایه دیگر

اسید آمینه ترئونین بود. بنابراین جدایه IR- North1 در گروه فیلوژنی T36 و سه جدایه دیگر در گروه فیلوژنی VT قرار می‌گیرند که با نتایج تعیین سویه و بررسی رابطه فیلوژنی جدایه‌ها مطابقت دارد.

بررسی پروتئین‌های CP، CPm، p61، p65، RdRp و Replicase بیانگر وجود ۲۸۰ جایگزینی در ۳۳ موتیف در جدایه‌های توالی‌یابی شده CTV بود. کمترین تغییرات در جدایه IR-North1 با پنج جایگزینی بود. در جدایه‌های IR-North2، IR-South1 و IR-South2 به‌ترتیب ۹۷، ۸۵ و ۹۳ جایگزینی رخ داده بود. بیشترین جایگزینی در چارچوب‌های ژنی ORF1a و p61 بود که به‌ترتیب در همانندسازی و مونتاژ ویروس نقش دارند. چارچوب‌های ژنی RdRp و p23 کمترین جایگزینی اسید آمینه را داشتند. بیشترین جانشینی در پروتئین‌های کد شده مختلف CTV در نژاد T36 در توالی آمینواسیدهای پروتئین‌های چارچوب‌های ORF1a و p61 بود (Harper, 2013). ORF1a تحت انتخاب منفی با میزبان، تکامل یافته است و در تشکیل کمپلکس همانندسازی با چپرون پروتئین‌های میزبان تعامل دارد (Mine and Kuno 2012). پروتئین‌های مرتبط با همانندسازی چندین نقش به عهده دارند (Wang *et al*., 2009) بنابراین فشارهای انتخاب متعددی بر روی آنها اعمال و سبب تغییر در جهت ایجاد سازگاری بیشتر می‌شود. این تغییرات در ژنوتیپ‌ها و سویه‌های CTV از الگوی جانشینی مشابه پیروی می‌کند (Harper, 2013). تشابه در الگوی جانشینی بین دو جدایه IR-North2 و IR-South1 که رابطه فیلوژنی نزدیکی با یکدیگر دارند، مشاهده شد. پروتئین p61 همولوگ Hsp90 و یک چپرون مولکولی است که در مونتاژ ویریون CTV (Satyanayanana *et al*., 2006)، تشکیل کمپلکس همانندسازی ویروس (Huang *et al*., 2012) و خاموشی RNA نقش دارد (Iki *et al*., 2010) از آنجائی که بازدارنده‌های خاموشی ویروسی سرعت تکامل بالایی دارند (O'Neal *et al*., 2014) وجود تنوع در پروتئین Hsp90h قابل انتظار بود و تنوع جهش‌ها در چهار جدایه مورد بررسی ممکن است در اثر تعامل ویروس–میزبان برای سازگاری با میزبان اختصاصی ایجاد شده باشد (Harper, 2013). فشار انتخاب منفی همراه با جریان ژن و نوترکیبی از مهم‌ترین نیروهای موثر در تکامل ویروس تریستزا هستند (Cheng *et al*., 2012).

سه جدایه توالی‌یابی شده در این تحقیق نوترکیب بودند. چارچوب ژنی ORF1a در جدایه‌های IR-North2 و IR-South1 از گروه فیلوژنی VT نوترکیب بود و در جدایه IR-North1 از گروه T36، دو چارچوب ژنی p65 و p61 نوترکیب بود که مشابه با نوترکیبی گزارش شده توسط هارپر (Harper, 2013) می‌باشد. در CTV بیشترین نوترکیبی در گروه VT و در نیمه '5 ژنوم گزارش شده است و در گروه T36 نوترکیبی کمتری مشاهده شده است (Biswas *et al*., 2012) که این مسئله احتمالا به دلیل نرخ پایین تکامل و ثبات بالای ژنوم در اعضای این گروه می‌باشد (Harper, 2013). نوترکیبی یکی از نیروهای مهم در ظهور سویه‌های جدید در CTV است (Harper, 2013). جدایه‌های نوترکیب شناسایی شده CTV شامل جدایه SY568 از کالیفرنیا (Vives *et al*., 1999)، B165 (Roy and Brlansky, 2010)، Kpg3 (Biswas *et al*., 2012)، تمام اعضای نژاد RB و ژنوتیپ T68 (Harper, 2013) می‌باشند.

برآیند حاصل از بررسی علائم و توالی کامل چهار جدایه بدست آمده از این پژوهش نشان می‌دهد که دو جدایه بدست آمده از استان مازندران هرکدام در گروه ژنوتیپی T36 و VT (بصورت اختصاصی تر عامل SY) قرار می‌گیرند در حالی‌که از لحاظ علائم و جایگاه فیلوژنی از هم متفاوت هستند. دو جدایه استان فارس در گروه ژنوتیپی VT و T3 قرار می‌گیرند در حالی‌که از نظر فیلوژنی و ژنوتیپی با یکدیگر قرابت دارند. با توجه به اینکه دو جدایه استان فارس از لحاظ فیلوژنی و ژنوتیپی با یکی از جدایه‌های استان مازندران که در گروه ژنوتیپی VT قرار می‌گیرد قرابت دارند، به نظر می‌رسد تفاوت در جدایه‌های استان مازندران و استان فارس مربوط به سویه‌هایی از ویروس تریستزا در استان مازندران است که متعلق به گروه ژنوتیپی T36 می‌باشد.

منابع

1. Ahmadi, S., Afsharifar, A., Niazi, A., Sadeghi, M., & Izadpanah, K. (2006). *Distribution and analysis of genetic diversity of Citrus tristeza virus (CTV) isolates in Kerman Province*. 17th Iranian Plant Protection Congress, 289.(In Persian with English abstract)
2. Alavi, A., Khatabi, B., & Salekdeh, G.H. (2005). Comparison of biologically distinct isolates of *Citrus tristeza virus* from Iran using major coat protein seq uences. *Australian Plant Pathology*, *34*(4), 577-582. https://doi.org/10.1071/AP05079
3. Albiach-Martí, M.R., Guerri, J., Cambra, M., Garnsey, S.M., & Moreno, P. (2000). Differentiation of *Citrus tristeza virus* isolates by serological analysis of p25 coat protein peptide maps. *Journal of Virological Methods*, *88*(1), 25-34. https://doi.org/10.1016/s0166-0934(00)00165-8
4. Albiach-Marti, M.R., Mawassi, M., Gowda, S., Satyanarayana, T., Hilf, M.E., Shanker, S., Almira, E.C., Vives, M.C., Lopez, C., Guerri, J., Flores, R., Moreno, P., Garnsey, S.M., & Dawson, W.O. (2000b). Sequences of *Citrus tristeza virus* separated in time and space are essentially identical. *Journal of Virology*, *74*, 6856-6865.

https://doi.org/10.1128/jvi.74.15.6856-6865.2000
5. Barzegar, A., Rahimian, H., & Hashemi Sohi, H. (2010). Comparison of the minor coat protein gene sequences of aphid-transmissible and-nontransmissible isolates of *Citrus tristeza virus*. *Journal of General Plant Pathology*, *76*, 143-151. https://doi.org/10.1007/s10327-009-0216-7
6. Barzegar, A., Sohi, H.H., & Rahimian, H. (2006). Characterization of *Citrus tristeza virus* isolates in northern Iran. *Journal of General Plant Pathology*, *72*, 46-51. https://doi.org/10.1007/s10327-005-0249-5
7. Bester, R., Cook, G., & Maree, H.J. (2021). *Citrus tristeza virus* genotype detection using high-throughput sequencing. *Viruses*, *13*, 2-168. https://doi.org/10.3390/v13020168
8. Biswas, K.K., Tarafdar, A., & Sharma, S.K. (2012). Complete genome sequence of mandarin decline *Citrus tristeza virus* of the northeastern Himalayan hill region of India: comparative analyses determine recombinant. *Archives of Virology*, *157*, 579–583. https://doi.org/10.1007/s00705-011-1165-y
9. Carra, A.M., Gambino, G., & Schubert, A. (2007) A cetyltrimethylammonium bromide-based method to extract low-molecular-weight RNA from polysaccharide-rich plant tissues. *Anal. Biochemistry*, *360*, 318. https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.09.022
10. Cheng, X.F., Wu, X.Y., Wang, H.Z., Sun, Y.Q., Qian, Y.S., & Luo, L. (2012). High codon adaptation in *Citrus tristeza virus* to its citrus host. *Virology Journal*, *9*, 113. https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-113
11. Coetzee, B., Freeborough, M.J., Maree, H.J., Celton, J.M., Rees, D.J.G., & Burger, J.T. (2010). Deep sequencing analysis of viruses infecting grapevines: virome of a vineyard. *Virology*, *400*(2), 157-163. https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.01.023
12. Cook, G., van Vuuren, S.P., Breytenbach, J.H., Steyn, C., Burger, J.T., & Maree, H.J. (2016). Characterization of *Citrus tristeza virus* single-variant sources in grapefruit in greenhouse and field trials. *Plant Disease*, *100*(11), 2251-2256. https://doi.org/10.1094/PDIS-03-16-0391-RE
13. Cowell, S.J., Harper, S.J., & Dawson, W.O. (2016). Some like it hot: *Citrus tristeza virus* strains react differently to elevated temperature. *Archives of Virology*, *161*, 3567-3570. https://doi.org/10.1007/s00705-016-3083-5
14. Dawson, W.O., Bar-Joseph, M., Garnsey, S.M., & Moreno, P. (2015). *Citrus tristeza virus*: making an ally from an enemy. *Annual Review of Phytopathology*, *5*, 137-155. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120012
15. Ebrahim-Nesbat, F., & Nienhaus, F. (1978). Occurrence of *Citrus tristeza virus* in Iran/Auftreten von *Citrus-Tristeza virus* in Iran. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection*, 308-312.
16. Flores, R., Ruiz-Ruiz, S., Soler, N., Sánchez-Navarro, J., Fagoaga, C., López, C., Navarro, L., Moreno, P., & Peña, L. (2013). *Citrus tristeza virus* p23: a unique protein mediating key virus–host interactions. *Frontiers in Microbiology*, *4*, 98. https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00098
17. Gottwald, T.R., Garnsey, S.M., & Borbón, J. (1998). Increase and patterns of spread of *Citrus tristeza virus* infections in Costa Rica and the Dominican Republic in the presence of the brown citrus aphid, *Toxoptera citricida*. *Phytopathology*, *88*, 621-636. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1998.88.7.621
18. Gushchin, V.A., Karlin, D.G., Makhotenko, A.V., Khromov, A.V., Erokhina, T.N., Solovyev, A.G., Morozov, S.Y., & Agranovsky, A.A. (2017). A conserved region in the Closterovirus 1a polyprotein drives extensive remodeling of endoplasmic reticulum membranes and induces motile globules in *Nicotiana benthamiana* cells. *Virology*, *502*, 106-113. https://doi.org/10.1016/j.virol.2016.12.006
19. Harper, S.J., Dawson, T.E., & Pearson, M.N. (2009). Complete genome sequences of two distinct and diverse *Citrus tristeza virus* isolates from New Zealand. *Archives of Virolology*, *154*, 1505–1510.
20. Harper, S.J., & Pearson, M.N. (2015). *Citrus tristeza virus* strains present in New Zealand and the South Pacific. *Journal of Citrus Pathology*, *2*, 1. https://doi.org/10.1007/s00705-009-0456-z
21. Harper, S.J. (2013). *Citrus tristeza virus*: evolution of complex and varied genotypic groups. *Frontiers in Microbiology*, *4*, 93. https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00093
22. Herrera-Isidrón, L., Ochoa-Sánchez, J.C., Rivera-Bustamante, R., & Martinez- Soríano, J.P. (2009). Sequence diversity on four ORFs of *Citrus tristeza virus* correlates with pathogenicity. *Virology Journal*, *6*, 116. https://doi.org/10.1186/1743-422X-6-116
23. Huang, Y.W., Hu, C.C., Liou, M.R., Chang, B.Y., Tsai, C.H., & Meng, M. (2012). Hsp90 interacts specifically with viral RNA and differentially regulates replication initiation of *Bamboo mosaic virus* and associated satellite RNA. *PLoS Pathology*, *8*, e1002726. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002726
24. Iftikhar, Y., Abbas, M., Mubeen, M., Zafar-ul-Hye, M., Bakhtawar, F., Bashir, S., Sajid, A., & Shabbir, M.A., (2021). Overview of strain characterization in relation to serological and molecular detection of *Citrus tristeza Closterovirus*. *Phyton*, *90*(4), 1063. https://doi.org/10.32604/phyton.2021.015508
25. Iki, T., Yoshikawa, M., Nishikiori, M., Jaudal, M.C., Matsumoto Yokoyama, E., & Mitsuhara, I. (2010). *In vitro* assembly of plant RNA-induced silencing complexes facilitated by molecular chaperone HSP90. *Moecular Cell*, *39*, 282–291. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.05.014
26. Jo, Y., Choi, H., Kim, S.M., Kim, S.L., Lee, B.C., & Cho, W.K. (2017). The pepper virome: natural co-infection of diverse viruses and their quasispecies. *BMC Genomics*, *1*, 1-12. https://doi.org/10.1186/s12864-017-3838-8

27. Jo, Y., Choi, H., Kim, S.M., Kim, S.L., Lee, B.C., & Cho, W.K. (2016). Integrated analyses using RNA-Seq data reveal viral genomes, single nucleotide variations, the phylogenetic relationship, and recombination for Apple stem grooving virus. *BMC Genomics*, *17*, 1,1-12. https://doi.org/10.1186/s12864-016-2994-6
28. Kashif, M., Pietilä, S., Artola, K., Jones, R.A.C., Tugume, A.K., Mäkinen, V., & Valkonen, J.P.T. (2012). Detection of viruses in sweetpotato from Honduras and Guatemala augmented by deep-sequencing of small-RNAs. *Plant Disease*, *96*(10), 1430-1437. https://doi.org/10.1094/PDIS-03-12-0268-RE
29. Lbida, B., Bennani, A., Serrhini, M.N., & Zemzami, M. (2005). Biological, serological and molecular characterization of three isolates of *Citrus tristeza closterovirus* introduced into Morocco. *EPPO Bulletin*, *35*(3), 511-517. https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2005.00895.x
30. Li, R., Gao, S., Hernandez, A.G., Wechter, W.P., Fei, Z., & Ling, K.S. (2012). Deep sequencing of small RNAs in tomato for virus and viroid identification and strain differentiation. *PloS One*, *7*, e37127. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037127
31. Matsumura, E.E., Coletta-Filho, H.D., Nouri, S., Falk, B.W., Nerva, L., Oliveira, T.S., Dorta, S.O., & Machado, M.A. (2017). Deep sequencing analysis of RNAs from citrus plants grown in a citrus sudden death-affected area reveals diverse known and putative novel viruses. *Viruses*, *9*(4), 92. https://doi.org/10.3390/v9040092.
32. Melzer, M.J., Borth, W.B., Sether, D.M., Ferreira, S., Gonsalves, D., & Hu, J.S. (2010). Genetic diversity and evidence for recent modular recombination in Hawaiian *Citrus tristeza virus*. *Virus Genes*, *40*, 111-118. https://doi.org/10.1007/s11262-009-0409-3
33. Mine, A., & Okuno, T. (2012). Composition of plant virus RNA replicase complexes. *Current Opinion Virology*, *2*, 669–675. https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.09.014
34. Moreno, P., Ambros, S., Albiach-Marti, M.R., Guerri, J., & Peoa, L. (2008). *Citrus tristeza virus*: a pathogen that changed the course of the citrus industry *Molecular Plant Patholology*, *9*, 251-268. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00455.x
35. Moshe, B.J., & Munir, M. (2000). The Role of Defective RNAs in *Citrus Tristeza Virus* Diseases. https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00132
36. O'Neal, S.T., Samuel, G.H., Adelman, Z.N., & Myles, K.M. (2014). Mosquito-borne viruses and suppressors of invertebrate antiviral RNA silencing. *Viruses*, *6*(11), 4314-4331. https://doi.org/10.3390/v6114314
37. Pais da Cunha, A.T., Chiumenti, M., Ladeira, L.C., Abou Kubaa, R., Loconsole, G., Pantaleo, V., & Minafra, A. (2021). High throughput sequencing from Angolan citrus accessions discloses the presence of emerging CTV strains. *Virology Journal*, *18*(1), 1-8. https://doi.org/10.1186/s12985-021-01535-x
38. Pappu, H.R., Pappu, S.S., Kano, T., Koizumi, M., Cambra, M., Moreno, P., & Niblett, C.L. (1995). Mutagenic Analysis and Localization of a Highly Conserved Epitope. *Phytopathology*, *85*, 1311-1315. https://doi.org/10.1094/Phyto-85-1311
39. Ramírez-Pool, J.A., Xoconostle-Cázares, B., Calderón-Pérez, B., Ibarra-Laclette, E., Villafán, E., Lira-Carmona, R., & Ruiz-Medrano, R. (2022). Transcriptomic analysis of the host response to mild and severe CTV strains in naturally infected Citrus sinensis orchards. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(5), 2435. https://doi.org/10.3390/ijms23052435.
40. Roy, A., & Brlansky, R.H. (2010). Genome analysis of an orange stem pitting *Citrus tristeza virus* isolate reveals a novel recombinant genotype. *Virus Research*, *151*, 118–130. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.03.017
41. Ruiz-Ruiz, S., Moreno, P., Guerri, J., & Ambrs S. (2006). The complete nucleotide sequence of a severe stem pitting isolate of *Citrus tristeza virus* from Spain: comparison with isolates from different origins. *Archives of Virology*, *151*, 387–398. https://doi.org/10.1007/s00705-005-0618-6
42. Ruiz-Ruiz, S., Navarro, B., Gisel, A., Pena, L., Navarro, L., Moreno, P., Serio, F.D., & Flores, R. (2011). *Citrus tristeza virus* infection induces the accumulation of viral small RNAs (21–24-nt) mapping preferentially at the 3′-terminal region of the genomic RNA and affects the host small RNA profile. *Plant Molecular Biology*, *75*, 607-619. https://doi.org/10.1007/s11103-011-9754-4
43. Saponari, M., & Yokomi, R.K. (2010). Use of the coat protein (CP) and minor CP intergene sequence to discriminate severe strains of *Citrus tristeza virus* (CTV) in three US CTV isolate collections. In *International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings* (1957-2010), 17, 17.
44. Satyanayanana, T., Gowda, S., Ayllón, M.A., & Dawson, W. O. (2004). Closterovirus bipolar virion: evidence for initiation of assembly by minor coat protein and its restriction to the genomic RNA 5´region. *Proceeding of National Academic Science. USA*, 101, 799-804. https://doi.org/10.1073/pnas.0307747100
45. Suastika, C., Natsuaki, T., Terui, H., Kano, T., Ieki, H., & Okuda, S. (2001). Nucleotide sequence of *Citrus tristeza virus* seedling yellows isolate. *Journal of General Plant Pathology*, 67(1), 73-77. https://doi.org/10.1007/PL00012992
46. Turchinovich, A., Surowy, H., Serva, A., Zapatka, M., Lichter, P., & Burwinkel, B. (2014). Capture and Amplification by Tailing and Switching (CATS) An ultrasensitive ligation-independent method for generation of DNA libraries for deep sequencing from picogram amounts of DNA and RNA. *RNA biology*, *11*(7), 817-828. https://doi.org/10.4161/rna.29304

47. Vives, M.C., Rubio, L., Lopez, C., Navas-Castillo, J., Albiach-Martí, M.R., Dawson, W.O., Guerri, J., Flores, R., Moreno, P. (1999). The complete genome sequence of the major component of a mild citrus tristeza isolate. Journal of General Virology, 80, 811–816. https://doi.org/10.1099/0022-1317-80-3-811
48. Wang, X., Goregaoker, S. P., & Culver, J. N. (2009). Interaction of the *Tobacco mosaic virus* replicase protein with a NAC domain transcription factoris associated with the suppression of systemic host defenses. Journal of Virology. 83, 9720–9730. https://doi.org/10.1128/JVI.00941-09
49. Weng, Z., Barthelson, R., Gowda, S., Hilf, M. E., Dawson, W. O., Galbraith, D. W., & Xiong, Z. (2007). Persistent infection and promiscuous recombination of multiple genotypes of an RNA virus within a single host generate extensive diversity. PLoS One, 2(9), e917. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000917
50. Wylie, S. J., Li, H., Saqib, M., & Jones, M. G. (2014). The global trade in fresh produce and the vagility of plant viruses: a case study in garlic. PLoS One, 9 (8), e105044. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105044
51. Wu, G.W., Tang, M., Wang, G.P., Wang, C.X., Liu, Y., Yang, F., & Hong, N. (2014). The epitope structure of *Citrus tristeza virus* coat protein mapped by recombinant proteins and monoclonal antibodies. *Virology*, *448*, 238-246. https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.10.021
52. Yokomi, R., Selvaraj, V., Maheshwari, Y., Chiumenti, M., Saponari, M., Giampetruzzi, A., Weng, Z., Xiong, Z., & Hajeri, S. (2018). Molecular and biological characterization of a novel mild strain of *Citrus tristeza virus* in California. *Archives of Virology*, *163*, 1795-1804. https://doi.org/10.1007/s00705-018-3799-5
53. Yokomi, R. (2019). CTV vectors and interactions with the virus and host plants. *Citrus Tristeza Virus: Methods and Protocols*, 29-53. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9558-5_4.

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 259-273

Effect of Nutritional Supplements on Some Biological and Physiological Parameters of *Graphosoma lineatum* L.

R. Farshbaf Pourabad [1*], H. Esparani Asadi [2], D. Mohammadi [3]

Received: 21-02-2023
Revised: 30-05-2023
Accepted: 31-05-2023
Available Online: 06-06-2023

How to cite this article:
Farshbaf Pourabad, R., Esparani Asadi, H., & Mohammadi, D. (2023). Effect of nutritional supplements on some biological and physiological parameters of *Graphosoma lineatum* L. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *37*(3), 259-273. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81220.1132

Introduction

The striped bug, *Graphosoma lineatum* L. is one of the pests of Apiaceae family such as parsley, carrot, celery and some medicinally important plants. The adults and nymphs of this insect feed on seeds of host plants. The eggs of the striped bug have an important role in mass rearing program of some parasitoids. Nutritional supplements undertake an essential function in mass rearing of insects and increase the efficiency of production. Vitamins such as B group have different functions in physiology of insects. The growth and development of insects hinge on acquiring essential nutrients through food materials. Apart from their primary food source, insects rely on essential amino acids and certain minerals for proper nutrition. These crucial components must be obtained from their food sources. Symptoms of nutritional deficiency, as reported in various research studies, include delayed growth, weight loss, prolonged immature stages, increased mortality, wing deformities, alterations in mating behaviors, and various physiological issues. In this study the effects of some vitamins and amino acids on anatomy of salivary glands, total protein of body, developmental time and fecundity of *G. lineatum* were evaluated in controlled conditions.

Material and Methods

Insects reared on parsley seeds adhered on the inner side of big plastic containers in controlled condition. Supplements including vitamins B_{12}, B_6, B_1 and Serine and Phenylalanine amino acids selected for evaluation. These supplements used for the treatmnet of *G. lineatum* in four different concentrations dissolved in water. For evaluating the effects of nutritional supplements on anatomy of salivary glands, both glands separate after dissection of adult's thorax, and dimension of glands including width and length of posterior and anterior lobs, measured by micrometer apparatus located on stereomicroscope. Total body protein measured by Kjeldahl apparatus after well drying the total body of insects in oven followed by fine powder of dry materials. Total protein was determined using a standard method, calculated by multiplying the nitrogen amounts by 6.38, a constant value. In distinct experiments, the impact of nutritional supplements on the duration of each nymphal stage was investigated. One-day-old eggs were employed for this purpose. Following treatment justification, the time required for the development of each instar was recorded on a daily basis. All tests were replicated three times, with distilled water used for the control treatment. The data were analyzed by One-way ANOVA

1- Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran and Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ege University, 35100 izmir, Turkiye
(*- Corresponding Author Email: rfpourabad@tabrizu.ac.ir & reza.farshbaf.pourabad@ege.edu.tr)
2- M.Sc. in Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3- Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81220.1132

experimental randomized design and Duncan's multiple range test using SAS software used for comparing the means.

Results and Discussion

The results disclosed a significant impact of all vitamins and amino acids on all studied parameters. Notably, in the case of salivary glands, the posterior lobe exhibited a more pronounced effect in insects fed with B1, B6, and Phenylalanine. Different concentrations of vitamin B_6, B_1 and Phenylalanine affected total protein content of male and female insect's body. Vitamin B_{12} had non-significant effect on male and female total body protein. Nutritional supplements changed the rate of laid and hatched eggs in addition with nymph's developmental time. Vitamin B_{12} in the concentration of 0.005 g/l, B_6 in the concentration of 0.25 g/l, B_1 in the concentration of 0.5 g/l, Serine and Phenylalanine both in the concentration of 0.5 g/l showed the highest rate of laid and hatched eggs. Vitamin B_6 and B_1 in the concentration of 1 and 1.5 g/l resulted in prolonging the nymph's life span in comparing with controls. The negative effects of high concentrations of nutritional supplements on fecundity and normal developmental period of nymphs well documented in this study. Metabolism, cell division, hormone synthesis, enzymes activity and many physiological parameters affects by supplements especially vitamins. Any disorder in utilization, absorption and inhibition of their function leads to biological and behavioral problems in insects. In some cases, the function of symbionts for compensation essential supplements documented.

Conclusion

The results of this study indicate important function of vitamins B_{12}, B_6 and B_1 on *G. lineatum* nymphal developmental period. In high concentrations, rate of growth decreased in comparison with controls. Salivary glands anatomy showed some changes in dimensions especially in posterior lobs in dose-depending manner. Number of eggs laid and hatched decreased especially in high concentrations of nutritional supplements. The results of this study will help to justify better meridic diet for rearing striped bug. In semi-artificial diets for rearing this insect, corporation of little concentrations (optimum) will improve the fitness of insects.

Keywords: Biological parameters, Phenylalanine, Salivary glands, Vitamin B

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲، ص. ۲۷۳-۲۵۹

تأثیر مکمل غذایی بر چند ویژگی فیزیولوژیک و زیست‌شناختی سن نواری چتریان، *Graphosoma lineatum* L.

رضا فرشباف پورآباد[۱*] – هانیه اسپرانی اسدی[۲] – داود محمدی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۲
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۳/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۰

چکیده

سن نواری چتریان *Graphosoma lineatum* L. یکی از آفات مهم گیاهان تیره چتریان است. حشرات کامل و پوره‌های این سن از بذر گیاهان میزبان خود تغذیه می‌کنند. از تخم‌های این حشره برای تولید انبوه زنبورهای پارازیتوئید نیز استفاده می‌شود. در پرورش انبوه حشرات مکمل‌های غذایی نقش بسزایی در افزایش کارایی تولید دارند. در این بررسی تأثیر برخی ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه بر ریخت‌شناسی غده بزاقی، میزان پروتئین کل بدن، طول دوره رشدی و زادآوری این حشره در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. سن‌ها بر روی بذرهای گیاه جعفری که به دیواره داخلی ظروف پرورش چسبانده شده بودند پرورش یافتند. مکمل‌های مورد مطالعه شامل ویتامین‌های B_{12}، B_6، B_1 و اسید آمینه‌های سرین و فنیل آلانین بودند. این مکمل‌ها به‌صورت محلول در آب مورد استفاده برای پرورش سن، در چهار غلظت مختلف مورد استفاده قرار گرفتند. برای بررسی تاثیر مکمل‌ها بر غدد بزاقی، پس از تشریح و خارج کردن این غدد ابعاد آن‌ها شامل طول و عرض لوب‌های جلویی و عقبی با استفاده از استریومیکروسکوپ و میکرومتر اندازه‌گیری شد. پروتئین کل بدن با روش کلدال پس از خشک کردن حشرات در تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد. در بررسی دیگری، طول دوره رشدی پنج سن پورگی سن نواری چتریان تحت تاثیر مکمل‌های غذایی مختلف اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که مورفولوژی غدد بزاقی تحت تاثیر مکمل‌های غذایی تغییرات معنی‌داری پیدا کرد. ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه مورد استفاده بیشتر لوب عقبی غدد بزاقی را تحت تأثیر قرار دادند و کاهش معنی‌داری در ابعاد لوب های غدد بزاقی در مقایسه با شاهد ثبت گردید. همچنین، غلظت‌های مختلف ویتامین‌های B_6، B1 و اسید آمینه فنیل آلانین بیشترین تأثیر را روی میزان پروتئین کل بدن حشرات نر و ماده داشتند. ویتامین B_{12} روی تغییر درصد پروتئین کل بدن در دو جنس نر و ماده تأثیر معنی‌داری نداشت ولی درصد پروتئین کل بدن در غلظت‌های بالا از غلظت‌های پایین بیشتر بود. نتایج بررسی‌های زیستی نیز نشان داد که افزودن مکمل‌های غذایی روی میانگین تعداد تخم‌های گذاشته شده و تفریخ شده و طول دوره‌های سنین پورگی تأثیر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف مکمل‌های غذایی نشان داد که تغذیه از ویتامین‌های B_{12}، B_6 و B_1 به‌ترتیب با غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در لیتر و اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر بالاترین زادآوری و درصد تفریخ تخم را داشتند. میزان تفریخ تخم‌ها در مقایسه با تیمار شاهد در تمام تیمارها کاهش نشان داد. با مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف تیمارهای به‌کار رفته، غلظت بالای ویتامین‌های B_6 و B_1 (۱ و ۱/۵ گرم در لیتر) باعث افزایش طول دوره های پورگی گردید. در مطالعه حاضر مشخص گردید که تغذیه از برخی مکمل‌های غذایی بر درصد تفریخ تخم‌ها و طول دوره رشدی سن نواری چتریان تاثیر منفی داشت.

واژه‌های کلیدی: سرین، فراسنجه‌های زیستی، فنیل آلانین، غدد بزاقی، ویتامین B

۱- استاد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: rfpourabad@tabrizu.ac.ir)
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81220.1132

مقدمه

مواد غذایی مورد استفاده حشرات از لحاظ کمیت و کیفیت باید نیازهای غذایی آن‌ها را تامین و رشد و تولید مثل حشره را تضمین نماید. این مواد غذایی اغلب توسط تغذیه وارد بدن می‌شوند که یا به طور مستقیم یا بر اثر واکنش‌های آنزیمی و متابولیسمی تغییر می‌یابند و مورد استفاده قرار می‌گیرند. هر چند کربوهیدرات‌ها به‌عنوان منبع اصلی انرژی حشرات گیاه‌خوار شناخته شده‌اند ولی پروتئین‌ها و لیپیدها نیز در نشوونمای حشرات نقش مستقیمی دارند. در این بین برخی مواد معدنی، ویتامین‌ها و املاح هستند که، هر چند به‌مقدار اندک مورد نیاز هستند، اما نشوونما و تولید مثل حشرات وابسته به آن‌هاست (Kraus *et al*., 2019;Genc, 2006). ویتامین‌ها به‌عنوان مهم‌ترین بخش از گروه‌های مختلف مواد غذایی، هر چند به مقدار بسیار کم مورد نیاز هستند، ولی بدون دریافت آنها زیست‌شناسی و فیزیولوژی حشرات دچار اختلال خواهد شد. این گروه از مواد غذایی یا مستقیما از طریق تغذیه، سنتز و یا با استفاده از همزیست‌های حشرات دریافت می‌شوند. ویتامین‌ها به دو گروه قابل حل در آب و قابل حل در چربی تقسیم می‌شوند. ویتامین‌های قابل حل در آب مانند ویتامین‌های گروه B نمی‌توانند در بدن ذخیره شوند و پیوسته باید تامین شوند (Kraus *et al*., 2019). بیشتر حشرات برای نشو ونما به ویتامین‌های قابل حل درآب نیاز دارند (Genç, 2006). این ویتامین‌ها شامل تیامین (B_1)، ریبوفلاوین (B_2)، اسید نیکوتنیک (B_3)، پایریدوکسین (B_6)، اسید پانتوتنیک، اسید فولیک و بیوتین برای نشو و نما و تولید مثل حشرات ضروری هستند و نقش‌های مختلفی مانند کوآنزیم، افزایش متابولیسم، مقابله با تنش‌های زیست‌محیطی، رفتار و دیاپوز به آن‌ها نسبت داده شده است (Cohen, 2015; Douglas, Genç, 2006; 2017). مشخص شده که تیامین، ریبوفلاوین و نیاسین در بیوسنتز ATP نقش دارند. همچنین ویتامین‌های پانتوتنات در انتقال گروه آسیل، و بیوتین و فولیک اسید به‌عنوان فاکتور رشد در حشرات نقش دارند (Kraus *et al*., 2019).

در بررسی‌های مختلف، ضرورت وجود ویتامین‌های گروه B برای نشوونمای عادی پشه‌ها (Kleinjan and Dadd, 1977)، و B6 برای رشد مناسب غدد ابریشم‌ساز، توازن اسیدهای آمینه همولنف و دفع عادی اسید اوریک در کرم ابریشم (Hori *et al*., 1966) گزارش شده است. فاروکی (Faruki, 2005) اظهار کرد که ویتامین B_6 در متابولیسم پروتئین‌ها به‌عنوان کوآنزیم نقش دارد و باعث افزایش رشد حشرات می‌شود. فقدان ویتامین B_{12} در غذای حشرات رشد را کند و میزان طول عمر حشرات کامل را کاهش می‌دهد (Dadd, 1985; Genc, 2006). در برخی حشرات، برخی ویتامین‌های گروه B توسط همزیست‌های دستگاه گوارش سنتز می‌شوند (Salem *et al*., 2014). ویتامین B در حشرات نقش دفاعی نیز دارد (Yoshii *et al*., 2019). ویتامین B_1 یا تیامین در سنتز ATP و تولید انرژی در حشرات نقش بسیار مهمی را بر عهده دارد (Serrato-Salas and Gendrin, 2022).

پروتئین‌ها نیز به‌عنوان ترکیبات حیاتی که نقش‌های بسیار متنوعی را در بدن موجودات زنده ایفا می‌کنند شناخته شده‌اند. نقش های مختلف ساختمانی، منبع انرژی، عامل اصلی حرکت، انتقال ترکیبات مختلف در خون یا همولنف، هورمون‌ها، آنزیم‌ها، گیرنده‌های مختلف، دیاپوز، فرومون‌ها و رفتار و تمام واکنش‌های متابولیسمی بدن حشرات به نوعی با پپتیدها، اسیدهای آمینه و یا پروتئین‌ها در ارتباط هستند (Zanotto *et al*., 2010;Kraus *et al*., 2019). ارزش غذایی یک ماده پروتئینی تابع ترکیب کیفی و کمی اسیدهای آمینه آن می‌باشد. نیاز به اسیدهای آمینه بر حسب گونه و مرحله زیستی حشره فرق می‌کند (Li *et al*., 2020). آرژنین، هیستیدین، لوسین، ایزولوسین، لایزین، متیونین، فنیل آلانین، ترئونین، تریپتوفان و والین اسیدهای آمینه ضروری بدن هستند که فقدان هر کدام از این اسیدهای آمینه باعث اختلال در نشو و نمای حشرات می‌شود (Mirth *et al*., 2020). آلانین و سرین دو اسید آمینه دیگر هستند که برای رشد مطلوب اغلب حشرات ضروری می‌باشند (Liu *et al*., 2017). مطالعاتی که روی سوسری آمریکایی، *Periplaneta Americana* (Linnaeus, 1758) انجام گرفت نشان دادکه با کم کردن پروتئین از رژیم غذایی این سوسری، طول عمر آن در مقایسه با شاهد کاهش یافت (Genc, 2006). پروتئین‌ها همچنین در ساخت و استحکام جلد بدن حشرات نقش بسیار مهمی دارند (Merzendorfer and Zimoch, 2003).

روبل و همکاران (Robel *et al*., 1995) میزان پروتئین کل برخی سن‌های خانواده Miridae را بیشتر از ۷۰ درصد وزن خشک بدن و سن‌های بذرخوار دو خانواده Lygaeidae و Delphasidae را ۵۶-۵۴ درصد وزن خشک بدن گزارش کردند. میانکبا و همکاران (Miankeba *et al*., 2022) درصد پروتئین کل بدن حشرات مختلف مورد بررسی را ۴۳ الی ۵۳ درصد وزن خشک گزارش کردند که عدد قابل تامل و بزرگی است. این موضوع موید اهمیت پروتئین در بدن حشرات است. گزارش شده است که وجود ویتامین‌های مختلف در غذای حشرات اثرات معنی‌داری بر تجمع پروتئین در بدن آنها دارد. مشخص گردیده است که اسید فولیک، اسید نیکوتنیک و بیوتین باعث افزایش سطوح پروتئین زنبور *Pimpla turionella* (L) شده و با کاهش دوزهای کلسیم پانتوتنات و پایریدوکسین از میزان پروتئین کل بدن کاسته شد (Sulanc and Emre, 2000).

غدد بزاقی سن نواری چتریان از نظر شکل و ساختار بسیار متنوع هستند، با وجود این یک ویژگی مشترک دارند یعنی در هر طرف بدن

یک غده اصلی و یک غده ضمیمه وجود دارد. این غدد معمولاً در قفس‌سینه و در دو طرف روده قرار دارند اما ممکن است در داخل سر قرار گرفته و یا وارد فضای شکم شوند. در گونه‌های مختلف ممکن است نسبتاً ساده یا به شدت پیچیده و منشعب باشند (Baptist, 1941). بنا به اظهار هوری (Hori, 1967)، اندازه غدد بزاقی *Lygus disponsi* Linnavuori, 1961 در مراحل مختلف نشوونمایی متفاوت است. غدد بزاقی در سن‌ها که قطعات دهانی مکنده دارند نقش بسیار مهمی در امر تغذیه دارند. با توجه به ماهیت قطعات دهانی و هضم خارج دهانی، وجود بزاق به‌عنوان مرطوب کننده، نرم‌کننده، حل‌کننده، رقیق‌کننده و گوارش‌دهنده اهمیت بسیار زیادی دارد (Reis et al., 2003; Azevedo et al., 2007; Emilano and Bonning, 2020). غدد بزاقی نقش‌های مختلف دیگری نیز در حشرات مختلف دارند: تولید تارهای ابریشمی، تولید فرومون‌ها، تنظیم فشار اسمزی، دفاع در مقابل ترکیبات سمی و بیمارگرها و ضد انعقاد خون به‌عنوان نقش‌های مختلف این غدد گزارش شده‌اند (Ribeiro, 1995; Azevedo et al., 2007; Martínez et al., 2014; Celerio-Mancera and Labavitch, 2016). در صورت صدمه دیدن و یا هر تغییری در غدد بزاقی نقش آن‌ها دچار اختلال می‌شود و حشرات از نظر فیزیولوژیک، رفتاری و زیستی دچار اختلال خواهند شد (Castellanos et al., 2017;Ramm et al., 2015). با توجه به این که در سن‌ها غدد بزاقی از قسمت‌های مختلف تشکیل شده‌اند و هر کدام نقش‌های متفاوتی را در ترکیب نهایی بزاق بر عهده دارند، بروز هر گونه تغییر مورفولوژیک و یا ناهنجاری در ساختمان این غدد می‌تواند بسته به مرحله زیستی حشره به ایجاد اختلال در ایفای نقش این غدد منجر شود (Koçakoğlu and Cossolin et al., 2019; Candan, 2022).

سن *Graphosoma lineatum* از آفات مهم تیره چتریان مانند جعفری، گشنیز و هویج می‌باشد که در ایران از استان‌های مختلفی گزارش شده است. همچنین از این سن در پرورش انبوه زنبورهای پارازیتوئید سایر سن‌ها مانند سن گندم به‌عنوان میزبان آزمایشگاهی استفاده می‌شود (Roversi et al., 2018). با توجه به این مطلب، در بررسی حاضر، اثر تغذیه از مکمل‌های غذایی شامل چند ویتامین و اسید آمینه روی ریخت‌شناسی غده بزاقی و نیز میزان پروتئین کل بدن در حشرات کامل نر و ماده این سن مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، اثر آنها بر برخی ویژگی‌های زیستی مانند طول دوره رشدی، زادآوری ماده‌ها و درصد تفریخ تخم‌ها نیز مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش سن نواری چتریان

حشرات کامل سن نواری چتریان از کلنی پرورشی در انسکتاریوم گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز تهیه و یک کلنی جدید شکل گرفت. قبل از انجام آزمایش‌های اصلی، حشره تا پنج نسل بر روی دانه‌های جعفری خالص‌سازی شد.

ابتدا دانه‌های جعفری جهت ایجاد یکنواختی الک شدند. سپس جهت حذف ناخالصی‌ها و دانه‌های پوک، داخل آب ریخته شده و بلافاصله پس از حذف ناخالصی‌های سطحی، دانه‌های باقیمانده در کف ظروف در شرایط آزمایشگاهی در مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. دانه‌های آماده شده جهت مصارف بعدی در ظروف سربسته نگهداری شدند. جهت پرورش حشرات از ظروف پلاستیکی درپوش‌دار مات به ابعاد ۸×۲۲×۳۰ سانتی‌متر (ظروف پرورش) و ۳۰×۳۲×۴۵ سانتی‌متر (ظروف تخم‌گیری) استفاده شد. به‌منظور ایجاد تهویه در ظروف پرورشی، بخشی از سطح فوقانی درپوش برداشته و با پارچه توری مسدود گردید (شکل ۱). در دیواره‌های طولی و در ارتفاع ۴ سانتی‌متری از کف ظروف چهار شکاف افقی به‌طول ۴ سانتی‌متر و عرض یک میلی‌متر تعبیه گردید که محل قرار دادن نوارهای کاغذ صافی به‌طول ۱۵و عرض ۵ سانتی‌متر بود. یک سانتی‌متر از این نوارها از طریق شکاف به داخل ظروف پرورش وارد می‌شد. نوارهای کاغذ صافی با جذب آب از ظروف پلاستیکی آب مورد نیاز سن‌ها را در اختیار آن‌ها قرار می‌دادند.

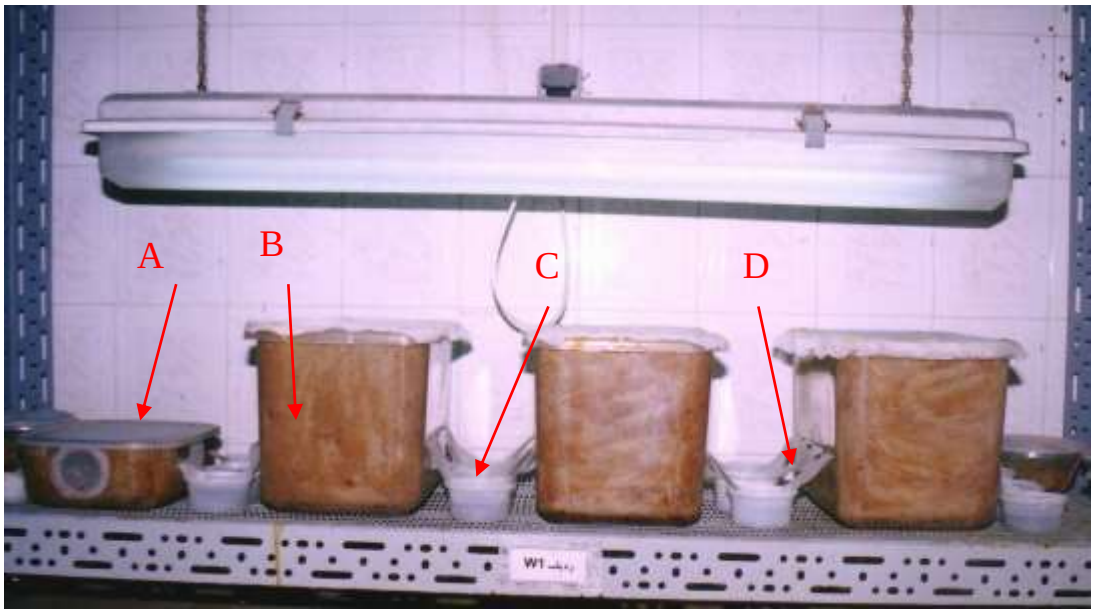
جهت تغذیه پوره‌ها و حشرات کامل از دانه‌ها جعفری، چسب طبیعی سریشم به‌صورت یک لایهٔ یکنواخت به کف و دیواره‌های داخلی ظروف پرورش مالیده می‌شد و دانه‌های جعفری در داخل ظروف ریخته می‌شدند و طوری عمل می‌گردید تا تمام سطوح داخلی آن‌ها با دانه‌های جعفری پوشانیده شود. سپس اجازه داده می‌شد تا سریشم در مجاورت هوای آزاد خشک شود. ظروف مورد استفاده هر ۱۵ روز یک بار تعویض می‌شدند. شرایط پرورش در انسکتاریوم شامل دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ±۶۰ درصد و دورهٔ نوری ۱۶:۸ (L:D) ساعت بود (Yazdanian et al., 2011).

مکمل‌های غذایی مورد بررسی

در این پژوهش از ویتامین‌های B_1 (تیامین)، B_6 (پایریدوکسین) و B_{12} (کوبال‌آمین) و اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین استفاده شد که همگی حالت پودری داشتند.

ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه ذکر شده هر کدام در ۴ غلظت و ۴ تکرار مورد استفاده قرار گرفتند و برای هر کدام یک تیمار شاهد (آب مقطر) در نظر گرفته شد. ویتامین B_1 در غلظت‌های ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر، ویتامین B_6 در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر، ویتامین B_{12} در غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۲ گرم در لیتر و اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین هر دو در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ گرم در لیتر مورد استفاده قرار گرفتند. غلظت‌های مختلف ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه در آب مقطر تهیه

شدند. سپس در اختیار پوره‌های سن اول به بعد سن قرار گرفته و ویژگی‌های مختلف زیستی در حشرات کامل و پورهای سنین مختلف ثبت گردید.



شکل ۱- ظروف پلاستیکی مورد استفاده در پرورش آزمایشگاهی سن *Graphosoma lineatum*: (A) ظروف پرورش، (B) ظروف تخم‌گیری، (C) ظرف آب مقطر، (D) فیلتر کاغذی تعبیه شده

Figure 1- Plastic containers used for laboratory rearing of *G. lineatum*: (A) Rearing plastic container; (B) egg harvesting container, (C) Distilled water container; (D) Filter paper

تشریح و خارج ساختن غدد بزاقی حشرات کامل

غدد بزاقی حشرات کامل به روش یزدانیان و همکاران (Yazdanian *et al.*, 2006) از بدن آن‌ها خارج شدند. در این روش حشرات در داخل ظروف پتری که کف آن با یک لایه پارافین جامد پوشانیده شده بود به پشت قرار گرفته و توسط یک سوزن که به قسمت میانی شکم آن‌ها وارد می‌شد، ثابت گردیدند. سپس اسکلریت های بین پیش‌ران‌های پاهای جفت اول و دوم توسط دو نوک یک پنس که در مجاورت هم نگه داشته شدند، شکسته شد به‌طوری که با این کار اتصال پیش‌قفس‌سینه به ناحیه عقبی خود بسیار سست گردید. بعد از این کار دو نوک پنس به اندازه عرض پیش‌قفس‌سینه باز و در کناره‌های آن فرو برده شد و پیش‌قفس‌سینه به آرامی به دور از شکم کشیده شد. با این کار غدد بزاقی و مجاری مربوطه از روده جدا شده و درداخل پیش‌قفس‌سینه قرار گرفتند. سپس غدد بزاقی از بدن جدا و از نظر ریخت شناسی مورد بررسی قرار گرفتند شدند.

بررسی ریخت‌شناسی غده بزاقی

غدد بزاقی پس از جدا شدن از بدن حشرات کامل نر و ماده به دو گروه غده اصلی سمت راست و غده اصلی سمت چپ تقسیم شدند. طول و عرض قسمت‌های مختلف غدد بزاقی با استفاده از میکرومتر کالیبره و نصب شده بر روی استریومیکروسکوپ بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. طول لوب‌های جلویی و عقبی از هایلوس[1] تا انتهای هر لوب و در امتداد خط مستقیمی که هایلوس را به انتهای لوب متصل می‌کند، و عرض لوب‌های جلویی و عقبی نیز در عریض‌ترین قسمت آن دو اندازه‌گیری شد (Yazdanian *et al.*, 2006) (شکل ۲).

تعیین میزان پروتئین کل بدن حشرات کامل

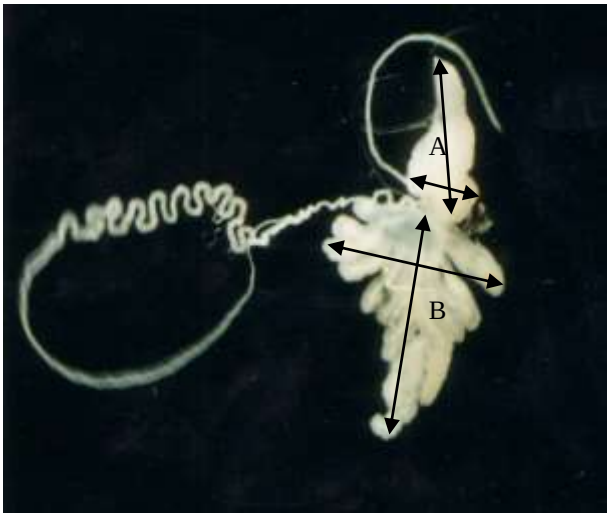
برای تعیین پروتئین کلی بدن از روش کلدال[2] استفاده شد. حشرات کامل نر و ماده مرده پس از خشک شدن کامل به شکل پودر درآورده شدند. مقدار ۰/۲گرم از نمونه‌های خشک شده بدن سن‌ها توزین و با اسید سولفوریک غلیظ و کاتالیزور (سولفات مس + سولفات پتاسیم) مورد هضم قرار داده شد. ازت نمونه‌های هضم شده پس از رقیق شدن با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دستگاه کلدال مدل Foss2300 Kjeltec® اندازه‌گیری شد. برای محاسبه پروتئین کل از ضریب ۶/۲۵ استفاده شد (Kamizake *et al.*, 2003).

1- Hilus
2- Kjeldahl

بررسی ویژگی‌های زیستی

طول دوره‌های سنین مختلف پورگی

پس از تخم‌گذاری حشرات ماده تغذیه کرده از مکمل‌های غذایی و تفریخ شدن تخم‌ها، ۲۰ عدد پوره سن اول ۲۴ ساعته در هر تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. مدت زمان لازم برای تکمیل هر یک از مراحل پورگی به تفکیک هر سن با توجه به وجود پوسته‌های تعویض جلد از طریق نمونه‌برداری‌های روزانه تعیین شد.



شکل ۲- نحوه اندازه‌گیری طول و عرض قسمت‌های مختلف غده بزاقی سن *G. Lineatum*

طول و عرض لوب جلویی (A)، طول و عرض لوب عقبی (B)

Figure 2- Measuring method for the salivary glands dimensions of *G. lineatum*

Posterior lobe length and width (A), anterior lobe length and width (B)

زادآوری و درصد تفریخ تخم‌ها

برای تخم‌گیری، یک عدد حشره ماده و دو عدد حشره نر به داخل ظروف آزمایش استوانه‌ای به ارتفاع ۱۲ و قطر دهانه ۱۰ سانتی‌متر انتقال داده شدند. سن نواری چتریان تخم‌های خود را به‌صورت دسته ای بر روی در پوش‌های پارچه توری قرار می‌داد. تخم‌های گذاشته شده توسط حشرات ماده بر روی پارچه توری روزانه شمارش می‌شدند. این شمارش تا زمان مرگ حشرات ماده ادامه داشت. به‌منظور محاسبه میزان تفریخ تخم‌ها، دسته‌های تخم روزانه بررسی و پوره‌های ظاهر شده از ظروف حذف می‌شدند. شمارش پوره‌ها تا روز دهم پس از شروع تخمگذاری ادامه یافت. در نهایت درصد تفریخ تخم‌ها محاسبه گردید. آزمایش‌ها در سه تکرار و در هر تکرار تعداد ۷ حشره ماده و ۱۴ حشره نر مورد بررسی قرار گرفتند.

تجزیه آماری

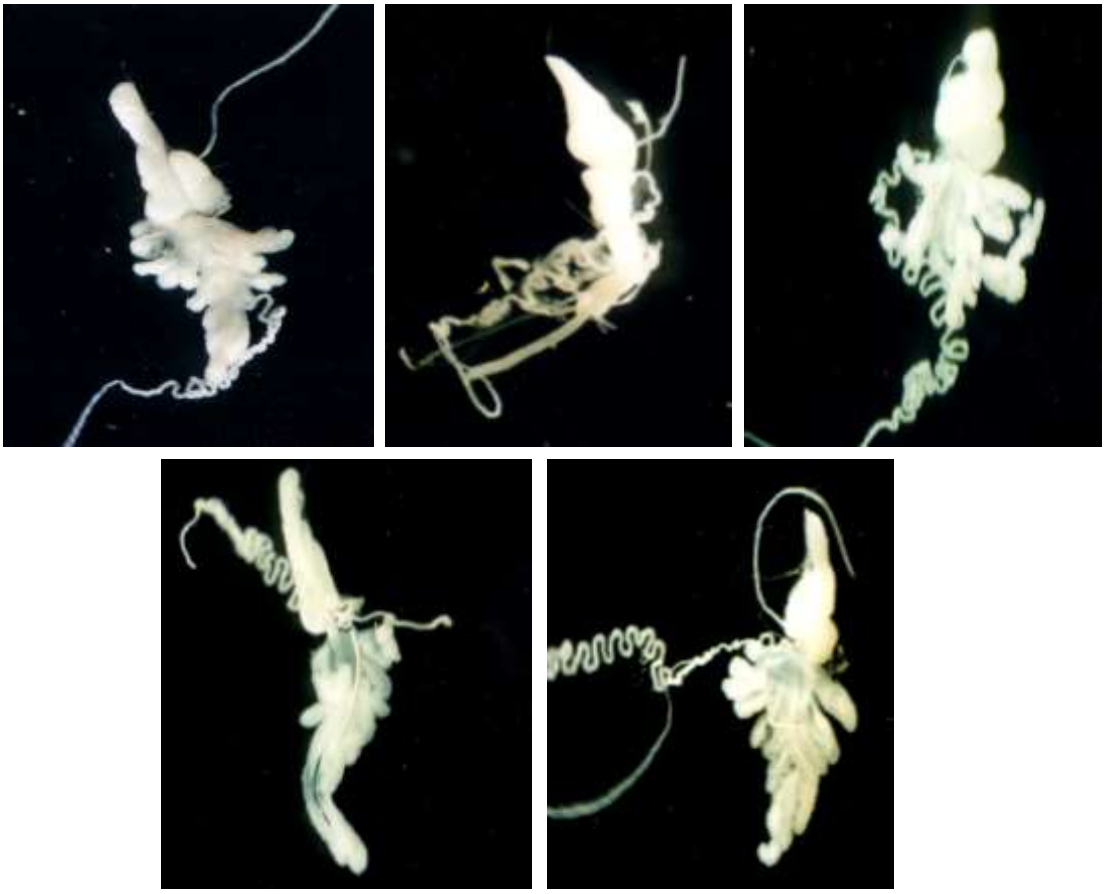
پیش از تجزیه واریانس، نرمال بودن داده‌های حاصل بررسی شد و در صورت نیاز تبدیل داده مناسب انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS به‌صورت طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار تجزیه واریانس (یک طرفه) شدند. مقایسه میانگین‌ها نیز به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج

تأثیر مکمل‌های غذایی بر ریخت‌شناسی غده بزاقی

طبق نتایج، تغذیه حشرات کامل از مکمل‌های غذایی مورد بررسی روی شکل و اندازه غدد بزاقی تاثیر داشت. لوب عقبی این غدد در حشرات مختلف و تیمارهای مختلف بیشتر از سایر بخش‌ها تحت تاثیر قرار گرفت (شکل ۳).

در هر دو جنس نر و ماده، اثر تیمارهای مورد بررسی بر رشد طولی و عرضی لوب‌های جلویی و عقبی غدد براقی سن نواری چتریان معنی‌دار بود. در حشرات ماده (جدول ۱) بیشترین اندازه ابعاد غدد در تیمار شاهد ثبت گردید و سایر تیمارها نیز بسته به غلظت مورد استفاده اثرات متفاوتی داشتند و معمولا تغذیه از غلظت‌های بالاتر مکمل‌ها باعث کاهش بیشتر ابعاد غدد شد.



شکل ۳- تأثیر تغذیه پوره‌ها از مکمل‌های غذایی بر ریخت‌شناسی غده بزاقی حشرات کامل ظاهر شده سن *G. lineatum*

به‌ترتیب A تا E: ویتامین B_{12}، ویتامین B_6، ویتامین B_1، اسید آمینه سرین و شاهد

Figure 3- Effect of nutritional supplements consumption by nymphs on salivary glands dimensions of emerged adults of *G. lineatum*

A-E respectively: B12, B6, B1, Serine amino acid and control

تغذیه پوره‌ها از مکمل‌های غذایی موجب تغییرات مورفومتریک در غدد بزاقی حشرات کامل نر شد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که غلظت‌های بالای مکمل‌ها اثرات بیشتری در کاهش اندازه لوب‌های جلویی و عقبی سن‌ها داشتند. ابعاد غده بزاقی در تیمار شاهد به‌صورت معنی‌داری بیشتر از تیمار با مکمل‌های غذایی بود.

مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه (جداول ۱ و ۲) نشان داد که در کلیه تیمارهای به‌کار رفته بجز تیمار شاهد، تغذیه از پایین‌ترین سطح غلظت همیشه بیشترین اثر را بر روی رشد طول و عرض لوب جلویی در نر و ماده گذاشته است. اما غلظت های متفاوت و نوع رژیم‌های غذایی به‌کار برده شده اثرات متفاوتی را بر روی طول و عرض لوب عقبی در نر و ماده داشته است.

اگر چه غلظت‌های پایین تیمارها در مجموع اثرات نسبتا مشابهی در رشد و اندازه طول و عرض لوب عقبی درحشرات نر و ماده داشته اند. اما اثرات متفاوت این نوع رژیم‌های غذایی بر روی رشد طول و عرض لوب عقبی چه در حشرات نر و چه در حشرات ماده مشاهده شد.

درصد پروتئین کل بدن

طبق نتایج، اثر تغذیه از ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه مورد بررسی بر درصد پروتئین کل بدن در حشرات ماده ($F_{4,15}$= 36.199, p<0.0001) و نر ($F_{4,15}$= 19.182, p<0.0001) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین درصد پروتئین کل بدن در سن‌های تغذیه کرده از مکمل‌های غذایی مختلف در جدول ۳ خلاصه شده است.

جدول ۱- اثر تغذیه پوره‌های سن *G. lineatum* از مکمل‌های غذایی مختلف بر اندازه طول و عرض قسمت‌های مختلف غده بزاقی حشرات کامل ماده ظاهر شده

Table 1- Effects of different nutritional supplements consumption by nymphs on width and length of emerged Female *G. lineatum* salivary glands different parts

تیمارها Treatments	غلظت‌ها(گرم در لیتر) Concentrations (g/l)	عرض لوب عقبی Posterior lobe width (mm)		طول لوب عقبی Posterior lobe length (mm)		عرض لوب جلویی Anterior lobe width (mm)		طول لوب جلویی Anterior lobe length (mm)	
		راست Right	چپ Left	راست Right	چپ Left	راست Right	چپ Left	راست Right	چپ Left
B_{12}	0.02	1.17e	1.16cd	1.58gh	1.58b-f	0.69c-f	0.68b-d	1.35a-d	1.22b-f
	0.015	1.31e	1.27cd	2.22b-d	2.22a	0.8a-d	0.7b-d	1.29a-d	1.31b-e
	0.01	1.38de	1.33cd	2.29a-d	2.43a	0.88ab	0.85a	1.32a-d	1.24a-f
	0.005	1.86bc	1.86b	2.50ab	2.43a	0.90a	0.78a	1.35 a-d	1.38a-e
B_6	1	2.01ab	2.01ab	1.5gh	1.45c-f	0.49g	0.44g	1.11d-f	1.14e-f
	0.75	2.02ab	2.02ab	1.47gh	1.47b-f	0.52g	0.49g	1.20c-f	1.17c-f
	0.5	2.07ab	2.07ab	2.01c-e	1.83b	0.54g	0.49g	1.22b-e	1.22b-f
	0.25	2.31a	2.29a	2.38ab	2.41a	0.88g	0.50g	1.54 a	1.59a
B_1	1.5	1.22e	1.06d	1.33h	1.92f	0.55e-g	0.58d-g	1.02ef	1.10ef
	1	1.37de	1.11cd	1.43gh	1.28f	0.60e-g	0.59d-g	1.20cf	1.25b-f
	0.75	1.42de	1.48c	1.48gh	1.30ef	0.62e-g	0.64c-e	1.31a-d	1.44a-c
	0.5	1.94bc	1.95ab	2.23b-d	1.78bc	0.81a-c	0.79a-c	1.47 ab	1.35a-e
Serine	2	1.26e	1.05d	1.74e-g	1.56b-f	0.47g	0.46g	0.97ef	1.01f
	1.5	1.17e	1.14cd	1.63f-h	1.56b-f	0.47g	0.46g	0.96f	0.99f
	1	1.17e	1.16cd	16.8e-h	1.67b-e	0.72b-e	0.69b-d	1.13d-f	1.14ef
	0.5	1.35de	1.29cd	2.33a-c	2.26a	0.79a-d	0.81ab	1.45 a-c	1.31b-e
Phenylalanine	2	1.10e	1.07d	1.4gh	1.39b-f	0.68c-f	0.63d-f	1.27b-d	1.16d-f
	1.5	1.16e	1.16cd	1.53gh	1.45c-f	0.68c-f	0.7b-d	1.42a-c	1.42a-d
	1	1.17e	1.13cd	1.61f-h	1.59b-f	0.72b-e	0.81ab	1.47ab	1.45b
	0.5	1.66cd	1.37cd	1.96d-f	1.72b-d	0.78a-d	0.91a	1.48 ab	1.46ab
Control	–	2.30a	2.26a	2.61a	2.46a	0.93a	0.91a	1.47ab	1.46ab

در هر ستون، حروف مشابه به‌معنی عدم اختلاف معنی‌دار است (آزمون چنددامنه‌ای دانکن، ۰/۰۱ = α).

The same letters in each column considers statistically non-significant (Duncan's multiple range test, α=0.01).

مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه مورد استفاده در هر دو جنس نر و ماده نشان می‌دهد که تغذیه از غلظت‌های مختلف ویتامین B_6 بیشترین تأثیر را بر افزایش درصد پروتئین کل بدن سن نواری چتریان گذاشتند (جدول ۳). مکمل غذایی فنیل آلانین نیز در غلظت ۲ گرم بر لیتر اثری مشابه با ویتامین B_6 در هر دو جنس نر و ماده داشتند و موجب افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین کل بدن در سن نواری چتریان شدند (جدول ۳). هرچند با کاهش غلظت این اسید آمینه در جنس نر، کاهش معنی‌داری در درصد پروتئین کل سن‌ها مشاهده شد. ویتامین B_{12} کمترین تأثیر را در درصد پروتئین کل در هر دو جنس نر و ماده داشت (جدول ۳). این موضوع بخصوص در حشرات نر بسیار معنی‌دار و حتی از تیمار کنترل بدون مکمل غذایی هم کمتر بود. اسید آمینه سرین و ویتامین B_1 در مقایسه با سایر تیمارها اثر متوسطی روی پروتئین کل داشتند.

اثر تغذیه از مکمل‌های غذایی روی فراسنجه‌های زیستی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تغذیه پوره‌ها از ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه مورد بررسی روی زادآوری ماده‌های ظاهر شده، درصد تفریخ تخم‌های آن‌ها و نیز طول دوره سنین مختلف پورگی در پوره‌های حاصل از تخم‌ها (به‌جز پوره سن اول) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

زادآوری و درصد تفریخ تخم

با مقایسه میانگین تاثیر تغذیه از مکمل‌های غذایی مختلف بر زادآوری و درصد تفریخ تخم‌های سن نواری چتریان (جدول ۴) مشاهده شد که ویتامین B_{12} در غلظت ۰/۰۰۵ گرم بر لیتر، ویتامین B_6 در غلظت ۰/۲۵گرم بر لیتر، ویتامین B_1 در غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر و اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین در غلظت ۰/۵گرم بر لیتر، بالاترین تاثیر را بر میزان تخم گذاشته شده و تفریخ شده داشتند. با افزایش غلظت هر یک از ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه کاهش معنی

داری در تعداد تخم گذاشته شده و تفریخ شده توسط سن‌های تیمار شده مشاهده گردید. اثر ویتامین‌های B_1 ، B_6 و B_{12} مشابه اثر اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین بوده و هیچکدام بر دیگری برتری نداشت (جدول ۴).

جدول ۲- اثر تغذیه پوره‌های سن *G. lineatum* از مکمل‌های غذایی مختلف بر اندازه طول و عرض قسمت‌های مختلف غده بزاقی حشرات کامل نر ظاهر شده

Table 1- Effects of different nutritional supplements consumption by nymphs on width and length of emerged male *G. lineatum* salivary glands different parts

تیمارها Treatments	غلظت‌ها(گرم در لیتر) Concentrations (g/l)	عرض لوب عقبی Rear lobe width (mm)		طول لوب عقبی Rear lobe length (mm)		عرض لوب جلویی Front lobe width (mm)		طول لوب جلویی Front lobe length (mm)	
		راست Right	چپ Left	راست Right	چپ Left	راست Right	چپ Left	راست Right	چپ Left
B_{12}	0.02	1.3d-f	1.22c-e	1.92ef	1.46g-j	0.73ab	0.69ab	1.03de	0.94d
	0.015	1.45b-d	1.45a-d	1.59ef	1.51g-i	0.73ab	0.69a-c	1.12b-e	1.14a-d
	0.01	1.46b-d	1.47a-c	1.6ef	1.82c-f	0.69ab	0.67a-d	1.26b-e	1.34ab
	0.005	1.52b	1.5ab	2.08b	1.91b-d	0.73ab	0.73a	1.53a	1.37a
B_6	1	1.17fg	1.18e	1.49fg	1.44h-j	0.41f	0.4i	1.18b-e	1.18a-d
	0.75	1.23e-g	1.27b-e	1.51fg	1.5g-j	0.44f	0.42hi	1.19b-e	1.2a-d
	0.5	1.34c-f	1.39b-e	1.56fg	1.55g-j	0.55f-h	0.51f-h	1.34a-c	1.31a-c
	0.25	1.48 bc	1.43b-e	1.69c-f	1.7d-g	0.8a	0.71a	1.36ab	1.32a-c
B_1	1.5	1.2e-g	1.42b-e	1.43fg	1.6f-h	0.56d-g	0.56d-g	1.09b-e	1.06b-d
	1	1.2e-g	1.45a-d	1.67d-f	1.56g-i	0.61b-g	0.59b-g	1.09b-e	1.09a-d
	0.75	1.3d-f	1.48ab	1.72c-f	1.66e-h	0.67a-f	0.61a-f	1.11b-e	1.15a-d
	0.5	1.44 b-d	1.5ab	1.96bc	1.72d-g	0.69a-e	0.65a-e	1.18b-e	1.18a-d
Serine	2	1.21e-g	1.17e	1.28g	1.26j	045g-i	0.48g-i	1.04d-e	1.02cd
	1.5	1.22e-g	1.2de	1.87b-e	1.87b-e	0.52f-h	0.52f-h	1.02e	1.05b-d
	1	1.21e-g	1.22c-e	1.91b-d	1.9b-e	0.57e-g	0.55eg	1.07cd	1.06b-d
	0.5	1.25e-g	1.25b-e	2.11ab	2.1b	0.57c-g	0.57c-g	1.20b-e	1.15a-d
Phenylalanine	2	0.96h	0.91f	1.31g	1.33i-j	0.67a-e	0.64a-e	1.16b-e	1.18a-d
	1.5	1.10gh	0.92f	1.5fg	1.46g-j	0.71ab	0.69ab	1.17b-e	1.16a-d
	1	1.26e-g	1.18e	1.91b-d	1.94b-d	0.7ab	0.69ab	1.26b-e	1.25a-c
	0.5	1.38b-e	1.38b-e	1.96bc	2.03bc	0.72ab	0.69ab	1.35ab	1.33ab
Control	–	1.71a	1.69a	2.35a	2.34a	0.71ab	0.71ab	1.3a-d	1.3a-d

در هر ستون، حروف مشابه به‌معنی عدم اختلاف معنی‌دار است (آزمون چنددامنه‌ای دانکن، α = ۰/۰۱).

The same letters in each column considers statistically non-significant (Duncan's multiple range test, α=0.01).

طول دوره سنین مختلف پورگی

سن نواری چتریان در پرورش با کلیه مکمل‌ها، دارای پنج سن پورگی بود. با مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف تیمارهای به‌کار رفته طبق جدول ۴ مشاهده می‌شود، غلظت بالای ویتامین B_6 وB_1 (۱ و ۱/۵ گرم بر لیتر) باعث افزایش طول دوره‌های پورگی شده است. اما اختلاف ما بین نوع تیمارهای به‌کار رفته (ویتامین‌ها در مقابل اسیدهای آمینه) مشاهده نشد. به‌طوری که اثر هر یک از مکمل‌های غذایی به‌کار رفته بر طول سنین مختلف پورگی یکسان می‌باشد.

بحث

در بررسی حاضر افزودن مکمل‌های غذایی به رژیم غذایی سن *G. lineatum* و تغذیه حشره در دوره پورگی از آن‌ها بر ابعاد غده بزاقی حشرات کامل ظاهر شده هر دو جنس اثرات معنی‌داری داشت. به‌طور کلی، تغذیه از غلظت‌های بالاتر مکمل‌ها باعث کوچک‌تر شدن اندازه غدد بزاقی شد. ابعاد غدد بزاقی در مقایسه با تیمار شاهد بخصوص در غلظت‌های بالای مکمل‌های غذایی کوچکتر بود. بدشکلی‌ها و تغییر در ابعاد عادی قسمت‌های مختلف حشرات تحت تاثیر دو عامل مهم شرایط پرورش و موادی است که حشرات از آن‌ها تغذیه می‌کنند. این تغییرات مشاهده شده به ژن‌های دخیل در تقسیم سلولی برمی‌گردد که سطح آنزیم‌ها، هورمون‌ها، متابولیسم را بیان یا خاموشی ژن‌های دخیل را تحت تاثیر قرار می‌دهند. ترکیب غذا به عنوان فاکتوری بسیار مهم در نشو و نمای حشرات نقش بسیار مهمی در این خصوص ایفا می‌کند (Seyedalmoosavi *et al*., 2022).

جدول ۳- مقایسه تاثیر تغذیه پوره‌های سن *G. lineatum* از مکمل‌های غذایی مختلف بر درصد پروتئین کل بدن حشرات کامل نر و ماده ظاهر شده

Table 3- Comparing effects of different nutritional supplements consumption by nymphs on total protein percentage male and female *G. lineatum* emerged adults

تیمارها Treatments	درصد پروتئین کل بدن در حشرات کامل نر Male total protein percent	درصد پروتئین کل بدن در حشرات کامل ماده Female total protein percent
B_{12}	46.5±4.2 ij	48.92±3.2h
	45.14±3.5j	46.69±2.4i
	45.47±3.5j	45.96±2.5i
	45.74±4.2j	46.19±2.5i
B_6	59.63±5.4a	60.42±3.1a
	59.99±5.4a	59.87±2.6ab
	59.25±2.4b	59.58±2.4ab
	58.77±3.2ab	59.65±3.6ab
B_1	57.62±3.4bc	58.32±3.6bc
	53.73±3.1ef	55.23±2.4d
	51.18±3.2g	52.95±2.5eg
	49.02±2.6h	51.4±2.4g
Serine	52.71±3.2fg	54.67±3.1ed
	52.49±3.2fg	54.91±4.2ed
	51.59±4.2g	53.7±4.6ed
	51.08±2.4g	52.65±4.2ed
Phenylalanine	59.51±2.4a	60.33±2.3a
	57.75±3.4bc	59.11±3.2ab
	56.58±2.5cd	58.94±3.4ab
	55.13±3.2de	56.94±2.6c
Control	48.74±3.4hi	48.86±4.2h

در هر ستون، حروف مشابه به‌معنی عدم اختلاف معنی‌دار است (آزمون چنددامنه‌ای دانکن، α = ۰/۰۱).

The same letters in each column considers statistically non-significant (Duncan's multiple range test, α=0.01).

ویتامین‌های گروه B بخصوص در فعالیت آنزیم‌های مختلف نقش به سزایی دارند و تکثیر سلولی عادی نیازمند مقادیر کافی و متوازن از هر گروه از مواد غذایی است. اختلال و کمبودهای موجود در گروهی از مواد غذایی بخصوص در حشرات دارای دوره رشدی کوتاه، بر رشد عادی اندام‌های داخلی و خارجی بدن آن‌ها اثرات سوئی دارد (Offor, 2010). تاثیر ترکیبات سمی بر آناتومی غدد بزاقی نیز در مطالعاتی گزارش شده است. مارتینز و همکاران (Martínez *et al.*, 2014) نشان دادند که در سن *Podisus nigrispinus* تیمار سن‌ها با حشره‌کش اسپاینوسد موجب تغییرات موفولوژیک در غدد بزاقی شده و بافت غدد بزاقی در مقایسه با تیمار شاهد تغییراتی در تجمع ملانین، تکثیر سلولی و غیره داشته است. با توجه به اهمیت و نقش بسیار مهم غدد بزاقی در سن‌ها هر نوع تغییر آناتومیکی می‌تواند منجر به وقوع اثرات زیستی و فیزیولوژیکی گردد.

در بررسی حاضر که سطوح مختلفی از مکمل‌های غذایی مورد بررسی قرار گرفته است دوزهای پایین اثرات مثبت و دوزهای بالاتر اثرات منفی بر برخی ویژگی‌های زیستی سن نواری چتریان نشان داد. درصد پروتئین کل بدن به‌عنوان فاکتور مهم تحت تاثیر مکمل‌های غذایی قرار گرفته است. پروتئین نقش بسیار مهمی در ساختمان، نشو و نما، متابولیسم، دگردیسی و تقریبا در تمام ویژگی‌های زیستی و فیزیولوژیکی حشرات ایفا می‌کند (Le gall and Behmer, 2014). بیشترین میزان پروتئین کل با کاربرد ویتامین B_6 و فنیل آلانین مشاهده گردید و با افزایش غلظت‌های آسیدآمینه سرین و ویتامین B_1 بر مقدار پروتئین کل بدن افزوده شد. ویتامین B_{12} تأثیری در مقدار پروتئین ایجاد نکرد. سولانس و امر (Sulanc and Emre, 2000) در بررسی تأثیر ویتامین B_6 بر درصد پروتئین کل زنبور *Pimpla turionella* نتیجه گرفتند، با کاهش غلظت‌های به‌کار رفته ویتامین، از میزان پروتئین کل بدن کاسته می‌شود. در بررسی حاضر نیز با کاهش غلظت‌های به‌کار رفته ویتامین B_6 از میزان پروتئین کل بدن سن نواری چتریان کاسته شد.

همچنین بررسی حاضر نشان داد که افزودن مکمل‌های غذایی شامل ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه ذکر شده اثرات معنی‌داری را بر تعداد تخم‌های گذاشته شده و تفریخ شده سن *G. lineatum* داشتند. با افزایش غلظت هر کدام از مکمل‌های غذایی کاهش معنی‌داری در تعداد تخم گذاشته شده مشاهده شد. در یک بررسی مشخص گردید

که پایریدوکسین (B6) تاثیر معنی‌داری بر کاهش زاداوری در کرم ابریشم داشت و با افزایش غلظت زادآوری به میزان بیشتری کاهش یافت (Faruki, 2005). همچنین خلیستوسکی و آلفیمو (Khlisyovskii and Alfimov, 1979) اظهار داشتند که اضافه شدن اسید آسکوربیک به ماده غذایی، باعث افزایش طول دوره‌های پورگی در سن *G. lineatum* می‌شود. در بررسی حاضر در غلظت های بالای ویتامین‌های B_1 وB_6 در مقایسه با شاهد و سایر تیمارها طول دوره‌های پورگی افزایش نشان داد.

جدول ٤- تأثیر تغذیه پوره‌های سن نواری چتریان از مکمل‌های غذایی روی برخی فراسنجه‌های زیستی پوره‌ها و حشرات کامل

Table 4– Effects of nutritional supplements consumption by nymphs on some biological parameters of *G. lineatum* adults and nymphs

تیمار Treatments	غلظت Concentration (g/l)	تعداد تخم گذاشته شده Produced eggs	تعداد تخم تفریخ شده Hatched eggs	*طول دوره پوره سن ۲ 2nd instar life span	طول دوره پوره سن ۳ 3rd instar life span	طول دوره پوره سن ٤ 4th instar life span	طول دوره پوره سن ٥ 5th instar life span
B_{12}	0.02	37hi**	20g	5c	6c	7.25b	8c
	0.015	56f	36e	5c	6c	7b	8c
	0.01	78c	56.2bc	5c	6c	7b	8c
	0.005	84a	62.8a	5c	6c	7b	8c
B_6	1	28.25j	11.8h	6a	7a	8a	9a
	0.75	39.5h	19g	5.5b	6c	7.8a	9a
	0.5	74.2d	54c	5c	6c	7.2b	8c
	0.25	82.7ab	61.5a	5c	6c	7b	8c
B_1	1.5	25.3 i	15.2gh	6a	7a	8a	8a
	1	25.5 g	29.8f	5.2bc	6c	7b	8.25b
	0.75	75.7 de	49d	5c	6c	7b	8c
	0.5	84.2a	62.5a	5c	6c	7b	8c
Serine	2	50g	28.2f	5c	6c	7b	8c
	1.5	58.2f	37e	5c	6c	7b	8c
	1	71.5de	49.2d	5c	6c	7b	8c
	0.5	79.7 bc	58.5abc	5c	6c	7b	8c
phenylalanine	2	50.5g	29f	5c	6c	7b	8c
	1.5	59.2f	37.7e	5c	6c	7b	8c
	1	70e	47.5d	5c	6c	7b	8c
	0.5	80.5abc	59.2ab	5c	6c	7b	8c
control	-	71e	65a	5c	6c	7b	8c

*واحد طول دوره رشدی به روز محاسبه شده است.

** در هر ستون، حروف مشابه به‌معنی عدم اختلاف معنی‌دار است (آزمون چنددامنه‌ای دانکن، α = ۰/۰۱)

*life span unit calculated as days

** The same letters in each column considers statistically non-significant (Duncan's multiple range test, α=0.01).

در مطالعات مختلف تاثیر ریبوفلاوین و بیوتین در زاد و ولد حشرات مختلف گزارش شده است. در مگس سرکه، مگس میوه، ملخ‌ها و برخی حشرات دیگر مشخص شده است که حذف همزیست های تولید کننده ویتامین موجب کاهش معنی‌داری در تعداد تخم حشرات مذکور می‌شود. علاوه بر کاهش زادآوری، باروری نیز تحت تاثیر قرار گرفته و درصد تفریخ تخم‌ها کاهش یافته است (Serrato-Salas and Gendrin, 2022). همچنین گزارش شده است که، اضافه کردن ریبوفلاوین و بیوتین به جیره غذایی ساس موجب بهبود نشو و نما و تولید مثل آن شده است (Moriyama *et al.*, 2015). در بررسی مشابهی اسمیت و همکاران (Smith *et al.*, 2007) نشان دادند که اضافه کردن بیوتین در رژیم غذایی مگس سرکه موجب افزایش باروری و طول دوره رشدی شده است. وزن لاروهای تغذیه کرده از مکمل بیوتین در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نشان داده ولی این تاثیر در حشرات نر و ماده یکسان نبوده و ماده‌ها به میزان ۱۳ درصد کمتر از حشرات نر، محتوای چربی بدن افزایش یافته است. ولی در حشرات ماده میزان پروتئین همولنف در اثر تغذیه از بیوتین بیشتر از حشرات نر افزایش یافته است. تفاوت در محتوای پروتئین در حشرات نر و ماده در بررسی حاضر نیز مشاهده شد. متیوز و همکاران (Matthews *et al.*, 2020)، نقش بسیار مهم ویتامین B_6 را در مقایسه با متیونین در طول دوره رشدی مگس سرکه نشان دادند. همچنین لندنبرگر و همکاران (Landenberger *et al.*, 2004)، در بررسی خود نشان دادند که در مگس میوه، اضافه کردن

بیوتین موجب کاهش طول دوره رشدی می‌شود. با توجه به اهمیت بیوتین در تقسیم میتوز در حشرات به‌نظر می‌رسد کاهش میزان دریافت این ویتامین اثرات مستقیمی بر نشو و نما و طول دوره رشدی مراحل مختلف سنی حشرات داشته باشد (Neophytou and Pitsouli, 2022).

ویتامین‌های گروه B نقش بسیار مهمی در متابولیسم حشرات دارند. کاهش معنی‌دار این گروه از ویتامین‌ها در رژیم غذایی اثرات فیزیولوژیکی و بیولوژیکی متعددی در حشرات مختلف گذاشته است، گزارش شده که نسبت جنسی در برخی حشرات بر اثر تغذیه از غلظت های مختلف ویتامین B تغییر می‌کند (Wang *et al*., 2020).

در مواردی مشخص شده است که غلظت‌های بالای مکمل‌های غذایی تأثیر سوء بر نشو و نما و فیزیولوژی حشرات داشته و طول عمر، زاد و ولد و بقا به شدت تحت تاثیر غلظت‌های مختلف قرار دارد (Bouchebti *et al*., 2022). گزارش شده است که بتا آلانین در غلظت بالا موجب کاهش طول دوره رشدی و رفتار جستجوگری زنبور *Vespa orientalis* شده است. در حالی که غلظت پایین این مکمل تاثیر مثبتی در مقایسه با شاهد نشان داد. این محققان مشخص کردند که غلظت بالای پرولین و بتاآلانین برای حشرات سمی بوده و نه تنها اثرات مثبتی بر نشو و نمای زنبور نداشته است بلکه ویژگی‌های زیستی به‌صورت منفی تحت تأثیر قرار گرفته است. این ویتامین‌ها میزان تغذیه را هم تحت تأثیر قرار داده‌اند و در غلظت‌های بالا کاهش معنی‌داری در دریافت غذا مشاهده شده است. نتایج مشابهی در غلظت‌های بالای ویتامین‌های گروه B مورد مطالعه در بررسی حاضر نیز مشاهده شد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر و مطالعات صورت گرفته غلظت بهینه ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه در نشو و نما و تولید مثل حشرات ضروری است.

با توجه به مجموع اثرات بیولوژیک و فیزیولوژیک مشاهده شده در بررسی حاضر مشخص می‌گردد که مکمل‌های غذایی در غلظت مشخصی می‌توانند ویژگی‌های زیستی سن نواری چتریان را بهبود بخشند و غلظت‌های بالا در مواردی تاثیر عکس داشته و بیولوژی حشره به‌صورت منفی تحت تأثیر قرار خواهد گرفت. زادآوری و درصد تفریخ تخم‌ها به‌شدت تحت تأثیر مکمل‌های غذایی قرار دارد. اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین در غلظت‌های پایین موجب افزایش باروری شده ولی غلظت‌های بالای این مکمل نیز تأثیر سوء بر باروری سن نواری چتریان گذاشته است. هر چند در منابع مختلف اثرات مکمل‌های غذایی در تغییر طول دوره رشدی حشرات گزارش شده است ولی در بررسی حاضر مشخص شد که طول دوره رشدی پوره‌های سنین مختلف سن نواری چتریان در سنین مختلف پورگی بجز غلظت‌های بالای ویتامین‌های B_1، B_6 و B_{12} تحت تأثیر مکمل‌های غذایی قرار نگرفتند. از مهم‌ترین نتایج تحقیق حاضر این بود که پروتئین کل بدن در استفاده از مکمل‌های غذایی افزایش معنی‌داری نشان داده و در غلظت‌های بالا میزان ذخیره پروتئین بیشتر از غلظت‌های پایین و بخصوص تیمار شاهد بود.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه تبریز صورت گرفته است که از مساعدت آن معاونت محترم کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع

1. Azevedo, D., Zanuncio, J., Zanuncio, J., Martins, G., Marques-Silva, S., Sossai, & M., Serrão, J. (2007). Biochemical and morphological aspects of salivary glands of the predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *3*, 469-477. https://doi.org/10.1590/S1516-89132007000300013
2. Baptist, B.A. (1941). The morphology and physiology of the salivary glands of Hemiptera-Heteroptera. *Journal of Cell Sciences*, *2*(329), 91–139.
3. Bouchebti, S., Bodner, L., Bergman, M., Cohen, T.M., & Levin, E. (2022). The effects of dietary proline, β-alanine, and γ-aminobutyric acid (GABA) on the nest construction behavior in the Oriental hornet (*Vespa orientalis*). *Scientific Reports*, *12*, 7449, 1-8. https://doi.org/10.1038/s41598-022-11579-w
4. Castellanos, N., Martínez, L.C., Silva, E.H., Teodoro, A.V., Serrão, J.E., & Oliveira, E.E. (2017). Ultrastructural analysis of salivary glands in a phytophagous stink bug revealed the presence of unexpected muscles. *PLOS ONE*, *12*(6), 1-15.
5. Celorio-Mancera, P.M., & Labavitch, J. (2016). Salivary gland secretions of phytophagous arthropods. In: Cohen E., Moussian B. (eds) *Extracellular Composite Matrices in Arthropods. Springer*, Cham. 601-623.
6. Cohen, A.C. (2015). *Insect diets: Science and technology*. CRC Press.
7. Cossolin, J., Martínez, L., Pereira, M., Vivan, L., Bozdoğan, H., Fiaz, M., & Serrão, J. (2019). Anatomy, histology, and ultrastructure of salivary glands of the burrower bug, *Scaptocoris castanea* (Hemiptera: Cydnidae). *Microscopy and Microanalysis*, *25*(6), 1482-1490. https://doi.org/10.1017/S1431927619015010
8. Dadd, R.H. (1985). Nutrition: organism, In: Kerkut G., Gilbert L. (eds.). *Comprehensive insect physiology*,

biochemistry and pharmacology. 4, 313-390. Pergamon, Oxford.
9. Emiliano, C.P., & Bonning, B.C. (2020). Extraoral digestion: outsourcing the role of the hemipteran midgut. *Current Opinion in Insect Science*, *41*, 86-91. https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.07.006
10. Faruki, S.I. (2005). Effect of pyridoxine on the reproduction of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* (Lep., Bombycidae), *International Studies Journal*, *2*, 28-31.
11. Genç, H. (2006). General principals of insects nutritional ecology. *Trakya Univercity Journal of Science*, *7*(1), 53-57.
12. Hori, K. (1967). Preliminary observations on the salivary glands of cabbage stink bug, *Eurydema rugosa* Motschulsky (Hem., Pentatomidae). *Applied Entomology and Zoology*, *2*, 187-194.
13. Hori, Y., Watanabe, K., & Ito, T. (1966). Nutrition of silkworm *Bombyx mori*. XIV. Further studies on the requirements for B vitamin. *Bulletin of Sericult Experimental Station*, *20*, 393-409.
14. Kamizake, N.K.K., Gonçalves, M.M., Zaia, C.TB.V., & Zaia, D.A.M. (2003) Determination of total proteins in cow milk powder samples: a comparative study between the Kjeldahl method and spectrophotometric methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, *16*, 507–16. https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00004-8
15. Khlistovskii, E.D., & Alfimov, V.A. (1979). The role of ascorbic acid in the feeding of the noxious pentatomid *Eurygaster integriceps* and the striped bug *Graphosoma lineatum* (L.) reared on artificial media. *Entomologicheskoe Obozyenie*, *58*, 233-239.
16. Kleinjan, J.E., & Dadd, R.H. (1977). Vitamin requirements of the larval mosquito, *Culex pipiens*. *Annals of Entomological Society of America*, *70*, 541-543.
17. Koçakoğlu, O., & Candan, S. (2022). Ultrastructural characterization of salivary glands, alimentary canal and malpighian tubules of the red shield bug *Carpocoris mediterraneus Tamanini*, 1958 (Heteroptera, Pentatomidae). *Microscopy and Microanalysis*, *28*(3), 824-836. https:/doi.org/10.1017/S1431927622000307
18. Kraus, S., Tamara, G-M., Mathieu, L., & Coline, M. (2019). Insect Diet. Vonk J., Shackelford T. *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*, Springer, 1–9.
19. Landenberger, A., Kabil, H., Harshman, L.G., & Zempleni, J. (2004). Biotin deficiency decreases life span and fertility but increases stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *15*, 591–600.
20. Le Gall, D., & Behmer S.T. (2014). Effects of protein and carbohydrate on an insect herbivore: The vista from a fitness landscape, *Integrative and Comparative Biology*, *54*(5), 942–954. https://doi.org/10.1093/icb/icu102
21. Li, Y., Wang, S., Liu, Y., Lu, Y., & Wang, S. (2020). The effect of different dietary sugars on the development and fecundity of *Harmonia axyridis*. *Frontires in Physiology*, *11*, 1-12. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.574851
22. Liu, C., Du, B., Hao, F., Lei, H., Wan, Q., & He, G. (2017). Dynamic metabolic responses of brown planthoppers towards susceptible and resistant rice plants. *Plant Biotechnology Journal*, *15*, 1346–1357. https://doi.org/10.1111/pbi.12721
23. Martínez, L.C., Fialho, M.C.Q., Zanuncio, J.C., & Serrão, J.E. (2014). Ultrastructure and cytochemistry of salivary glands of the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Protoplasma*, *251*, 535–543. https://doi.org/10.1007/s00709-013-0549-0
24. Matthews, M.K., Wilcox, H., Hughes, R., Veloz, M., Hammer, A., Banks, B., Walters, A., Schneider, K.J., Sexton, C.E., & Chaston, J.M. (2020). Genetic influences of the microbiota on the lifespan of *Drosophila melanogaster*. *Applied and Environmental Microbiology*, *86*(10), 1-17. https://doi.org/10.1128/AEM.00305-20
25. Merzendorfer, H., & Zimoch, L. (2003). Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. *Journal of Experimental Biology*, *206*, 4393-412.
26. Miankeba, P., Taofic, A., Kiatoko, N., Mutiaka, K., Francis, F., Megido, C., & Protein, R. (2022). Content and amino acid profiles of selected edible insect species from the Democratic Republic of Congo Relevant for Transboundary Trade across Africa. *Insects*, *13*, 994. https://doi.org/10.3390/insects13110994
27. Mirth, C.K., Hall, M.D., & Piper, M.D.W. (2020). Amino acid quality modifies the quantitative availability of protein for reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2020.104050
28. Moriyama, M., Nikoh, N., Hosokawa, T., & Fukatsu, T. (2015). Riboflavin provisioning underlies Wolbachia's fitness contribution to its insect host. *mBio*, *10*(6), 1-8. https://doi.org/10.1128/mBio.01732-15
29. Neophytou, C., & Pitsouli, C. (2022). Biotin controls intestinal stem cell mitosis and host-microbiome interactions. *Cell Reports*, *38*, 1-36. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110505
30. Offor, E. (2010). The nutritional requirements of phytophagous insects: Why do insects feed on plants? *SSRN Electronic Journal*, 1-17.
31. Ramm, C., Wayadande, A., Baird, L., Nandakumar, R., Madayiputhiya, N., Amundsen, K., Donze-Reiner, T., Baxendale, F., Sarath, G., & Heng-Moss, T. (2015). Morphology and proteome characterization of the salivary glands of the western chinch bug (Hemiptera: Blissidae), *Journal of Economic Entomology*, *108*(4), 2055–2064.
32. Reis, M.M., Meirelles, R.M.S., & Soares, M.J. (2003). Fine structure of the salivary glands of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Tissue & Cell*, *35*, 393-400.

33. Ribeiro, J.M.C. (1995). *Insect saliva: function, biochemistry, and physiology*. In: Chapman R.F., de Boer G. (eds) Regulatory mechanisms in insect feeding. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1775-7_3
34. Robel, R.J., Press, B.M., Hennig, B.L., & Johnson, K.W. (1995). Nutrient and energetic characteristics of sweepnet-collected invertebrates. *Journal of Field Ornithology*, *66*, 44-53.
35. Roversi, P.F., Maltese, M., Simoni, S., Cascone, P., Binazzi, F., Strangi, A., Sabbatini, G., & Guerrieri, E. (2018). *Graphosoma lineatum* (Hemiptera: Pentatomidae): a suitable host for mass rearing *Ooencyrtus telenomicida* (Hymenoptera: Encyrtidae). *International Journal of Pest Management*, *64*, 294-302. https://doi.org/10.1080/09670874.2017.1403059
36. Salem, H., Bauer, E., Strauss, A.S., Vogel, H., Marz, M., & Kaltenpoth, M. (2014). Vitamin supplementation by gut symbionts ensures metabolic homeostasis in an insect host. *Proceeding of Royal Society, B 281*, 20141838. https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1838
37. Serrato-Salas, J., & Gendrin, M. (2022). Involvement of microbiota in insect physiology: Focus on B Vitamins. *ASM Journals*. https://doi.org/10.1128/mbio.02225-22
38. Seyedalmoosavi, M.M., Mielenz, M., & Veldkamp, T. (2022). Growth efficiency, intestinal biology, and nutrient utilization and requirements of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae compared to monogastric livestock species: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *13*, 31. https://doi.org/10.1186/s40104-022-00682-7
39. Smith, E., Hoi, J., Eissenberg, J., Shoemaker, J., Neckameyer, W., Ilvarsonn, A., Harshman, L., Schlegel, V., & Zempleni, J. (2007). Feeding *Drosophila* a biotin-deficient diet for multiple generations increases stress resistance and lifespan and alters gene expression and histone biotinylation patterns. *The Journal of nutrition*, *137*, 2006-12. https://doi.org/10.1093/jn/137.9.2006
40. Sulanc, M., & Emre, I. (2000). Effects of B group vitamins and choline chloride on the development and protein synthesis in the male larve of *Pimpla turionella* L. (Hym., Ichneumonidae). *Journal of Applied Entomology*, *124*, 151.
41. Wang, Y., Ren, F.R., Yao, Y.L., Sun, X., Walling, L.L., Li, N.N., Bai, B., Bao, X.Y., Xu, X.R., & Luan, J.B. (2020). Intracellular symbionts drive sex ratio in the whitefly by facilitating fertilization and provisioning of B vitamins. *ISME Journal*, *14*, 2923–2935. https://doi.org/10.1038/s41396-020-0717-0
42. Yazdanian, M., Farshbaf Pour Abad, R., Rashidi, M.R., Valizadeh, M., & Rashtchi Zadeh, N. (2006). Morphology of the gut and salivary gland of the stripped bug, *Graphosoma lineatum* (Het.; Scutelleridae). *Agricultural Science*, *16*(2), 77-90. (In Persian)
43. Yazdanian, M., Farshbaf Pourabad, R., Rashidi, M.R., Valizadeh, M., & Rashtchizade, N. (2011). Effects of some biological properties of the stripped bug, *Graphosoma lineatum* (L.) (Hem., Scutelleridae) on its salivary alpha-amylase activity. *Plant Protection*, *33*, 49-62. (In Persian with English abstract)
44. Yoshii, K., Hosomi, K., Sawane, K., & Kunisawa, J. (2019). Metabolism of dietary and microbial vitamin B family in the regulation of host immunity. *Frontires in Nutrition*, *6*, 48. https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00048
45. Zanotto, F.P., Simpson, S.J., & Raubenheimer, D. (2010). The regulation of growth by locusts through post-ingestive compensation for variation in the levels of dietary protein and carbohydrate. *Physiological Entomology*, *18*, 425–434.

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 275-288

Spatial Distribution of Different Life Stages of *Monosteira alticarinata* (Hemiptera: Tingidae) in Birjand Region

S.A. Notghi Moghadam[1], H. Sadeghi-Namaghi[2]*, S. Moodi[3]

Received: 19-06-2023
Revised: 01-09-2023
Accepted: 05-09-2023
Available Online: 05-09-2023

How to cite this article:
Notghi Moghadam, S.A., Sadeghi-Namaghi, H., & Moodi, S. (2023). Spatial distribution of different life stages of *Monosteira alticarinata* (Hemiptera: Tingidae) in Birjand region. *Journal of Iranian Plant Protection Research, 37*(3), 275-288. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2023.83016.1149

Introduction

The jujube, *Ziziphus jujuba* Mill. is a well-known medicinal plant with various nutritional values and pharmacological properties which grows in South Khorasan province, Iran, as the major producer of jujube in Iran. The jujube lace bug, *Monosteira alticarinata* Ghauri (Hemiptera: Tingidae) is the second most important pest of jujube trees after the jujube fruit fly, *Carpomyia vesuviana* Costa (Diptera: Tephritidae) in South Khorasan province. Its occurrence in Iran was reported for the first time in 2012 by Moodi from Birjand in South Khorasan province. Adults of *M. alticarinata* overwinter on the bark of trees, under fallen leaves and in spring they move to young jujube leaves where they feed and lay eggs on the underside, thus starting infestations. Both *M. alticarinata* adults and nymphs feed on underside of leaves and produce small chlorotic stippling on the upper leaf surface. Leaf undersides appear specifically black varnish spotted due to lace bug excrement. Their injury reduces photosynthesis and respiration and also causes aesthetically displeasing injured leaves. As a result, foliage becomes bronzed and leaves may drop early. The accumulation of excrements on the leaves, also results in reduction of the gas exchange like other lace bugs. Distribution pattern of an insect population is an important aspect as it represents the interaction between individuals of the species and their habitat. The importance of spatial distribution comes from its central role in ecological theories and its practical role in population sampling theory as well as in the development of rational pest management strategies. For these reasons, a great deal of effort has been invested in characterizing the spatial distribution of insect populations. Spatial dispersion of a population usually follows one of three models: aggregated (or contagious), random (or by chance) or uniform (or regular). To determine the spatial distribution pattern of a given species it is necessary to obtain data on the count of individuals in the ecosystem to be considered. Despite the importance of *M. alticarinata* in the region, no study has been conducted on the distribution of this pest in jujube plant in Iran. Knowledge of spatial distribution of *M. alticarinata* is useful for designing, pest management and development of population models and assessment of levels of its damage.

Materials and Methods

To investigate the spatial distribution pattern of different life stages of *M. alticarinata*, samplings were done weekly of jujube trees in 2020. Jujube leaf was selected as sampling unit and the reliable sample size with maximum relative variation of 20% was obtained 50. The number of egg, nymph and adult was recorded in three heights of jujube trees (1.5, 2, and 3 meters). The spatial distribution pattern of different life stages of lace bug was determined using mean-variance ratio, Lloyd's mean crowding index, Taylor´s power low and Iwao´s

1 and 2- Ph.D. and Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: sadeghin@um.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Birjand University, Birjand, Iran
https://doi.org/10.22067/jpp.2023.83016.1149

patchiness regression model.

Results and Discussion

Spatial distribution of an insect is affected by various environmental factors such as food, temperature, light, habitat condition, and other biotic and abiotic factors. The results of the study indicated an aggregated pattern for the spatial distribution of *M. alticarinata* in almost all heights of jujube. In other words, different heights of jujube did not have any marked effect on the distribution pattern of this pest. Information on spatial distribution of *M. alticarinata* can be used in estimating the number of samples required from an area to reliably estimate pest infestation levels to develop effective management programs. Similar to our results, the change in plant height did not affect the spatial distribution pattern of *Agonoscena pistaciae* and *Diaphorina citri* nymphs and in both cases the pattern of distribution was reported to be aggregated. Aggregated distribution is the most common pattern of spatial distribution in the world of harmful insects which is consistent with the results of this research.

Conclusion

M. alticarinata presented an aggregated spatial distribution in different life stages. The causes of aggregation in these lace bugs might be due to their inherent active aggregative behavioral response such as in a situation where the presence of one individual attracts the others, perhaps for the purpose of feeding and reproduction. Knowledge of the spatial distribution of this pest can be useful in designation of suitable sampling programs and it makes us estimate the density of this pest faster with low cost.

Keywords: Jujube lace bug, Jujube pests, Population distribution indices, Spatial distribution

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲، ص. ۲۸۸-۲۷۵

الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف زیستی سنک عناب *Monosteira alticarinata* (Hemiptera: Tingidae) در شهرستان بیرجند

سیده آسیه نطقی مقدم[۱]- حسین صادقی نامقی[۲*]- سعید مودی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۲۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۶/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۴

چکیده

عناب، *Ziziphus jujuba* Mill. گیاه دارویی شناخته شده با ارزش غذایی و خواص دارویی مختلف است که بیش‌ترین سطح زیر کشت آن در ایران به استان خراسان جنوبی اختصاص دارد. سنک عناب *Monosteira alticarinata* Ghauri (Hemiptera: Tingidae) پس از مگس عناب *Carpomyia vesuviana* Costa (Diptera: Tephritidae) از مهم‌ترین آفات درختان عناب در استان خراسان جنوبی است. حشرات کامل و پوره‌ها از شیره‌ی گیاهی در سطح زیری برگ‌های میزبان تغذیه می‌کنند و باعث ایجاد نقاط رنگ‌پریده در سطح رویی برگ‌ها می‌شوند. درختان آلوده دچار خزان زودرس شده و کمیت و کیفیت محصول آن‌ها به شدت کاهش می‌یابد. به منظور بررسی الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف زندگی این آفت، نمونه‌برداری‌های هفتگی و منظم از درختان عناب در سال ۱۳۹۹ انجام شد. برگ عناب به عنوان واحد نمونه‌برداری انتخاب و اندازه‌ی مناسب نمونه با حداکثر خطای ۲۰ ٪، معادل ۵۰ واحد نمونه‌برداری تعیین و تراکم جمعیت تخم، پوره و حشره‌ی کامل در سه ارتفاع مختلف درختان عناب (۱/۵، ۲ و ۳ متر) شمارش شد. الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف زندگی سنک با استفاده از روش‌های نسبت واریانس به میانگین، شاخص میانگین ازدحام لوید، روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو تعیین شد. پراکنش فضایی مراحل مختلف زندگی سنک عناب در سه ارتفاع درختان عناب مورد بررسی با استفاده از روش‌های یادشده، از نوع تجمعی به دست آمد. آگاهی از نحوه‌ی پراکنش *M. alticarinata* موجب درک بهتر رابطه‌ی حشره و زیستگاه آن شده و می‌تواند اطلاعاتی برای تفسیر جابجایی‌های مکانی، مدل‌های رشد جمعیت و مهم‌تر از همه مدیریت و کنترل آفت فراهم آورد.

واژه‌های کلیدی: آفات عناب، توزیع مکانی، سنک عناب، شاخص‌های پراکنش جمعیت

مقدمه

عناب با نام علمی *Ziziphus jujuba* Mill متعلق به خانواده‌ی Rhamnaceae و یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس *Ziziphus* است (Tahergorabi *et al.*, 2015). گیاه عناب دارای کاربردهای دارویی فراوانی است به طوری که از این گیاه در طب سنتی چین با عنوان "میوه‌ی زندگی" یاد می‌شود. در ایران، کشت عناب به‌صورت پراکنده در استان‌های اصفهان، فارس، قزوین، قم، گلستان، لرستان، کرمان، مازندران، مرکزی، همدان، یزد، خراسان رضوی و شمالی گزارش شده است ولی بیش‌ترین سطح زیر کشت این درخت به استان خراسان جنوبی اختصاص دارد (Ghouth, 2008;Zargari, 1997). با توجه به محدودیت منابع آب شیرین و خشکسالی‌های مداوم، تولید عناب در مقایسه با سایر محصولات باغی و زراعی استان از مزیت نسبی بالاتری برخوردار بوده است. به همین دلیل استقبال عمومی باغداران برای توسعه‌ی این محصول در حال افزایش است (Tawizi, 2018).

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته دکتری تخصصی و استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: sadeghin@um.ac.ir)
۳- استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
https://doi.org/10.22067/jpp.2023.83016.1149

سنک عناب یکی از آفات مهم عناب است که پس از مگس عناب در درجه‌ی دوم اهمیت قرار دارد. این آفت برای نخستین بار توسط مودی (Moodi, 2002) از ایران و از شهرستان بیرجند گزارش شد. این آفت بیشتر در سطح زیری برگ‌ها و از شیره‌ی سلولی تغذیه و در صورت تراکم آفت روی هر دو سطح فعالیت می‌کند. فعالیت پوره‌ها و حشرات کامل در زیر برگ باعث ایجاد نقاط رنگ‌پریده در سطح رویی می‌شود. درختان آلوده دچار خزان زودرس شده و کمیت و کیفیت محصول آن‌ها به شدت کاهش می‌یابد (Moodi, 2002).

مطالعه‌ی بسیاری از ویژگی‌های جمعیتی آفات و دشمنان طبیعی آن‌ها در شرایط صحرایی مستلزم نمونه‌برداری از جمعیت آن‌ها است. در نمونه‌برداری از جمعیت حشرات، علاوه بر انتخاب تکنیک مناسب، بایستی برنامه‌ی مناسب نمونه‌برداری را نیز طراحی کرد (Southwood and Henderson, 2000). آن‌چه در یک برنامه‌ی مناسب نمونه‌برداری دنبال می‌شود شامل انتخاب واحد نمونه‌برداری، تعیین تعداد مناسب نمونه، تعیین توزیع مکانی واحد نمونه‌برداری و انتخاب زمان مناسب نمونه‌برداری است (Pedigo and Buntin, 1994). برنامه‌ی نمونه‌برداری به‌عنوان یک ابزار تصمیم‌گیری در مدیریت مبارزه با آفات مورد استفاده قرار می‌گیرد و در این میان تعیین الگوی توزیع فضایی آفت نقش موثری را در طراحی یک برنامه‌ی مناسب نمونه‌برداری ایفا می‌کند (Boeve and Weiss, 1998; Liu *et al.*, 2002; Cho *et al.*, 2005). الگوی توزیع فضایی حشرات نه تنها در تنظیم برنامه‌ی نمونه‌برداری مفید است بلکه ابزاری برای استفاده در مدل‌های ارزیابی خسارت آفات (Hughes, 1996)، بررسی ویژگی‌های رفتاری و اکولوژیک گونه‌ها (Faleiro *et al.*, 2002; Southwood and Henderson, 2000)، مطالعه‌ی روابط میزبان–دشمن طبیعی (Southwood, 1995; Winder *et al.*, 1999; Bakshizadeh *et al.*, 2011) و تعیین میزان رشد جمعیت گونه‌ها (Jarosik *et al.*, 2003) محسوب می‌شود. پراکنش جمعیت یک گونه حشره ممکن است به یکی از سه نوع تصادفی[1]، تجمعی[2] یا یکنواخت[3] باشد (Southwood and Henderson, 2000). دما، رطوبت، الگوی تخم‌گذاری، محل تخم‌گذاری، کارایی دشمنان طبیعی، انبوهی گونه‌ی میزبان، کیفیت گیاه میزبان، کایرومون‌های میزبان، فرومون‌های تجمعی، ویژگی‌های رفتاری مراحل نابالغ، نحوه‌ی توزیع منابع غذایی (Nestel *et al.*, 1995)، شکل و شیوه‌ی کاشت زراعت‌ها، میزان یکنواختی محصول، نوع خاک (Rajabi, 1999)، رقم‌های (واریته‌های) مختلف گیاه میزبان (Sedaratian *et al.*, 2010) و شدت نور (Gossner, 2009) می‌توانند در شکل و نوع پراکنش فضایی حشرات گیاه‌خوار موثر باشند. بنابراین، آگاهی از الگوی توزیع فضایی جمعیت حشرات می‌تواند اطلاعات مهمی را در مورد ویژگی‌های رفتاری گونه‌ها و نیز تاثیر عوامل محیطی بر جمعیت آن‌ها ارایه کند (Shanower and Romeis, 1999). روش‌های مختلفی از جمله: شاخص تجمع[4]، نسبت واریانس به میانگین[5]، شاخص میانگین ازدحام لوید[6]، شاخص موریسیتا[7]، شاخص گرین[8] و روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو[9] برای تعیین نوع الگوی توزیع فضایی وجود دارد (Sedaratian *et al.*, 2010; Darbemamieh *et al.*, 2011).

الگوی توزیع فضایی حشرات توسط محققین مختلفی بررسی شده است. به عنوان مثال، جمشیدی و همکاران (Jamshidi *et al.*, 2017) پراکنش فضایی مرحله پورگی پسیل زبان‌گنجشک *Psyllopsis discrepans* Flor را در کرمانشاه در طی دو سال بررسی کردند. نتایج آن‌ها بر اساس شاخص های تیلور و آیوائو، الگوی توزیع فضایی پسیل را در هر دو سال از نوع تجمعی نشان داد. صبوری و همکاران (Sabouri *et al.*, 2018) الگوی توزیع فضایی شته‌های مهم یونجه در مزارع یونجه‌ی شمال استان لرستان را با استفاده از روش رگرسیونی تیلور و آیوائو از نوع تصادفی به دست آوردند. نهرنگی و واحدی (Nehrangi and Vahedi, 2018) الگوی توزیع فضایی شپشک *Kermes quercus* (L.) در جنگل‌های بلوط گیلان‌غرب را در مدل آیوائو برای تمام مراحل زندگی و در مدل تیلور برای مرحله‌ی بالغ بعد از تخم‌ریزی از نوع تجمعی گزارش کردند. در بررسی‌های توکلی‌زاده و همکاران (Tavakoli Zadeh *et al.*, 2019) در منطقه‌ی رفسنجان، الگوی پراکنش فضایی پوره‌ی پسیل معمولی پسته *Agonoscena pistaciae* Burckhardt and Lauterer در سه ارتفاع بالا، پایین و میانی درخت با روش نسبت واریانس به میانگین، شاخص ازدحام لوید و روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو از نوع تجمعی و برای تخم پسیل نیز با استفاده از روش‌های نسبت واریانس به میانگین و شاخص ازدحام لوید ازنوع تجمعی گزارش شد. دهپهنی و همکاران (Deh-Pahni *et al.*, 2020) پراکنش فضایی مراحل نابالغ زنجرک مو *Arboridia kermanshah* Dlabola را با استفاده از روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو، شاخص پراکندگی، شاخص موریسیتا و میانگین ازدحام لوید روی انگور در شهرستان کرمانشاه بررسی کردند. پراکنش فضایی این حشره با

1- Random
2- Clumped
3- Uniform

4- Index of dispersion
5- Variance to the mean
6- Lloyd's mean crowding index
7- Morisita's index
8- Green index
9- Iwao's patchiness regression and Taylor's power law methods

استفاده از اغلب روش‌های یاد شده، تجمعی به دست آمد. زارعی احمدآبادی و همکاران (Zareii Ahmad-Abadi *et al.*, 2022) الگوی توزیع فضایی مراحل مختلف زندگی شپشک *Eulecanium tiliae* L. روی گیلاس در غرب ایران را با استفاده از روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو از نوع تجمعی به دست آوردند.

اطلاع از نوع پراکنش فضایی مراحل مختلف سنک عناب *M. alticarinata*، می‌تواند در طراحی و اجرای برنامه‌های کنترلی این آفت مفید واقع شود. هدف از انجام این پژوهش تعیین نوع پراکنش فضایی مراحل مختلف سنک عناب روی درختان عناب در منطقه‌ی بیرجند و تکمیل اطلاعات برای ارایه‌ی یک برنامه جامع مدیریت این آفت بود.

مواد و روش‌ها

واحد نمونه‌برداری

در این پژوهش برگ عناب به عنوان واحد نمونه‌برداری انتخاب شد. از ابتدای فصل زراعی سال ۱۳۹۹ و همزمان با فعال شدن درختان عناب، به طور هفتگی از تعداد حداقل ۱۰ درخت عناب در باغ شخصی در حومه‌ی بیرجند به طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۱۳ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۵۳ دقیقه واقع در انتهای بلوار شهید آوینی اقدام به نمونه‌برداری‌های هفتگی شد. برای این کار از هر درخت جمعا ۱۵ برگ از ارتفاع های ۱/۵ متری، ۲ متری و ۳ متری از سطح زمین (هر ارتفاع ۵ برگ) به صورت تصادفی (۴ برگ از چهار جهت جغرافیایی و یک برگ از میانه آسمانه درخت) تهیه و پس از حمل به آزمایشگاه بلافاصله نسبت به شمارش مراحل مختلف زیستی آفت در زیر استریومیکروسکوپ اقدام و نتایج به طور جداگانه برای هر مرحله‌ی زیستی در جداول مربوط ثبت شد.

زمان نمونه‌برداری

نمونه‌برداری در طول یک فصل زراعی و در فاصله‌های زمانی هفت روز به طور منظم، از تاریخ ۱۳۹۹/۲/۱۳ تا ۱۳۹۹/۸/۲ بین ساعت ۴ تا۶ عصر انجام شد. جمعاً نمونه‌برداری در ۲۶ تاریخ انجام شد.

تعیین اندازه‌ی نمونه

برای تعیین تعداد نمونه‌ی مورد نیاز، ابتدا یک نمونه برداری اولیه با ۵۰ واحد نمونه (برگ) انجام شد. با توجه به میانگین تراکم جمعیت در نمونه‌برداری اولیه و دقت مورد نیاز برای تخمین میانگین جمعیت (حداکثر خطای ۰/۲۵)، برای محاسبه‌ی درصد خطای نسبی RV از معادله‌ی (۱) و تخمین اندازه‌ی نمونه در نمونه‌برداری‌های بعدی از معادله‌ی (۲) استفاده شد.

$$RV = \frac{SE}{m} \quad (۱)$$

در این معادله، m میانگین جمعیت در نمونه‌برداری اولیه و SE خطای استاندارد نمونه‌برداری اولیه است.

$$N = ((t * SD)/(D * m))^2 \quad (۲)$$

در این معادله N تعداد نمونه‌ی مورد نیاز، t عدد t در جدول t استیودنت، SD انحراف معیار داده‌ها در نمونه‌برداری اولیه، D حداکثر خطای قابل قبول است که برای کارهای مدیریتی ۲۵ صدم و برای کارهای تحقیقاتی ۱۰ صدم است و m میانگین داده‌های حاصل در نمونه‌برداری اولیه است (Pedigo and Buntin, 1994).

تعیین الگوی پراکنش فضایی

برای تعیین نوع پراکنش فضایی مراحل مختلف زیستی حشره از چهار روش نسبت واریانس به میانگین، شاخص میانگین ازدحام لوید و روشهای رگرسیونی قانون توان تیلور و آیوائو به شرح ذیل استفاده شد:

روش نسبت واریانس به میانگین

در این روش اگر نسبت S^2/m بزرگ‌تر از یک باشد، پراکنش از نوع تجمعی، اگر این نسبت برابر یک بود پراکنش تصادفی و اگر نسبت کوچک‌تر از یک بود پراکنش از نوع یکنواخت خواهد بود. پس از محاسبه‌ی نسبت واریانس به میانگین، شاخص I_D یا شاخص پراکندگی به منظور انجام آزمون وجود اختلاف معنی‌دار نسبت واریانس به میانگین، با عدد ۱ از معادله‌ی (۳) محاسبه شد (Pedigo and Buntin, 1994):

$$I_D = \frac{(n-1)S^2}{m} \quad (۳)$$

در این معادله S^2، واریانس نمونه‌ها؛ n تعداد نمونه و m میانگین داده‌ها است. پس از محاسبه‌ی I_D مقدار عددی Z از معادله‌ی (۴) محاسبه شد:

$$Z = \sqrt{2I_D} - \sqrt{(2v-1)} \quad (۴)$$

در این معادله v درجه آزادی (n-1) و n تعداد نمونه است. هرگاه مقدار Z به دست آمده بین ۱/۹۶ و ۱/۹۶- باشد، توزیع از نوع تصادفی بوده و مقدار S^2/m اختلاف معنی‌داری با یک ندارد. هرگاه مقدار Z بیش‌تر از ۱/۹۶ باشد، توزیع از نوع تجمعی و اگر کوچک‌تر از ۱/۹۶- باشد، توزیع از نوع یکنواخت خواهد بود (Patil and Stiteler, 1974; Southwood and Henderson, 2000).

شاخص میانگین ازدحام لوید (x^*)

شاخص میانگین ازدحام لوید با استفاده از معادله‌ی (۵) به دست

آمد.

$$x^* = m + \left(\frac{S^2}{m}\right) - 1 \quad (۵)$$

در این معادله x^* شاخص میانگین ازدحام لوید، S^2 واریانس و m میانگین داده‌ها است. معادله‌ی فوق بعدها توسط لوید تکمیل شد و به عنوان شاخص ازدحام لکه‌ای (IP) به صورت رابطه x^*/m ارایه شد. زمانی‌که x^*/m بزرگ‌تر از یک، مساوی یک و کوچک‌تر از یک باشد الگوی توزیع فضایی به ترتیب تجمعی، تصادفی و یکنواخت در نظر گرفته می‌شود.

روش رگرسیونی تیلور

برای تعیین الگوی پراکنش فضایی با استفاده از این روش، لگاریتم میانگین و واریانس داده‌های مربوط به هر تاریخ نمونه‌برداری محاسبه شد. آنگاه با استفاده از معادله‌ی (۶) مقدار a و b به دست آمد (Taylor, 1961).

$$\log s^2 = \log a + b \log m \quad (۶)$$

در این معادله S^2 واریانس، m میانگین نمونه‌ها در هر تاریخ نمونه‌برداری، a عرض از مبدأ خط رگرسیون، b شیب خط رگرسیون است. در صورتی که b بزرگ‌تر، مساوی یا کوچک‌تر از یک باشد، توزیع فضایی آفت به ترتیب تجمعی، تصادفی یا یکنواخت خواهد بود. آزمون معنی‌دار بودن اختلاف ضریب رگرسیون (شاخص b) نسبت به عدد یک به کمک آماره‌ی t با معادله‌ی (۷) انجام شد.

$$t = (b-1)/SE_b \quad (۷)$$

مقدار t محاسبه شده با مقدار t جدول با درجه آزادی n-1 مورد مقایسه قرار گرفت. چنانچه قدر مطلق مقدار t محاسبه شده نسبت به t جدول بیش‌تر بود، در آن صورت شاخص b تیلور نسبت به یک اختلاف معنی‌داری داشته و توزیع فضایی آفت تجمعی است (Feng and Nowierski, 1992).

شاخص β آیوائو

این شاخص در حقیقت شیب رابطه‌ی رگرسیونی بین شاخص متوسط ازدحام لوید (m^*) و میانگین جمعیت آفت (m) است که طبق معادله‌ی (۸) محاسبه می‌شود:

$$m^* = \alpha + \beta m \quad (۸)$$

در معادله‌ی فوق α نشان دهنده‌ی تمایل افراد جمعیت به تجمع (در صورت مثبت بودن) یا دافعه‌ی بین افراد (در صورت منفی بودن) است (Southwood, 1978) و β (شیب خط رگرسیون) نشان‌دهنده‌ی نوع پراکنش جمعیت است که مانند پارامتر b تیلور عمل می‌کند (Iwao and Kuno, 1968). برای مقایسه‌ی معنی‌دار بودن آن نسبت به عدد یک از معادله‌ی (۷) استفاده شد.

نتایج

تعیین تعداد نمونه

مقدار خطای نسبی نمونه‌برداری اولیه برای هر سه ارتفاع ۱/۵، ۲ و ۳ متر درخت برای سنک عناب به ترتیب ۹/۸۸، ۱۰/۰۴ و ۱۰/۰۷ به دست آمد که برای هدف‌های این پژوهش مناسب بود. بنابر نتایج به دست آمده از نمونه‌برداری اولیه، تعداد نمونه‌ی مورد نیاز، برای برنامه‌ی نمونه‌برداری با خطای قابل قبول ۲۰ درصد برابر با ۵۰ واحد نمونه‌برداری به دست آمد. با توجه به نزدیک بودن مقادیر به دست آمده در تعیین تعداد نمونه‌ی مورد نیاز، برای هر سه ارتفاع، برابر با بالاترین مقدار به دست آمده یعنی ۵۰ عدد برگ انتخاب شد (جدول ۱) برای این منظور ۱۰ اصله درخت عناب به طور تصادفی انتخاب و از هر درخت ۱۵ برگ شامل سه ارتفاع و هر ارتفاع ۵ برگ به‌طور تصادفی چیده شد.

جدول ۱- خطای نسبی و اندازه‌ی نمونه‌ی مورد نیاز برای تعیین الگوی پراکنش فضایی سنک عناب (*Monosteira alticarinata*) در سه ارتفاع (۱/۵، ۲ و ۳ متر) درخت عناب

Table 1- Relative variation and required sample size for spatial distribution of *Monosteira alticarinata* in three heights (1.5, 2 and 3 m) of jujube tree

ارتفاع Height	1.5 m	2 m	3 m
خطای نسبی RV	9.88	10.04	10.07
تعداد نمونه N	48.88	50.38	50.74

تعیین الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف سنک عناب با استفاده از روش نسبت واریانس به میانگین در ارتفاع‌های مختلف درختان میزبان

میانگین، واریانس، نسبت واریانس به میانگین (S^2/m)، ضریب پراکندگی (ID) و مقدار عددی Z مربوط به نمونه‌برداری از مراحل مختلف زندگی سنک عناب در ارتفاع‌های مورد بررسی به شرح جدول ۲ به دست آمد. بر اساس این نتایج، توزیع فضایی کلیه‌ی مراحل زندگی سنک عناب در هر سه ارتفاع مورد بررسی از نوع تجمعی (مقدار عددی Z بزرگ‌تر از ۱/۹۶+) تعیین شد. فقط توزیع فضایی حشره‌ی کامل در ارتفاع ۳ متر از نوع تصادفی (مقدار عددی Z بین ۱/۹۶- و ۱/۹۶+) به‌دست آمد.

جدول ۲- پارامترهای محاسبه شده با استفاده از روش نسبت واریانس به میانگین برای تعیین نوع الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف زندگی سنک عناب (*Monosteira alticarinata*) در سه ارتفاع درخت عناب

Table 2- Parameters estimated by variance-mean method for spatial distribution of different life stages of *Monosteira alticarinata* in three heights (1.5, 2 and 3 m) of jujube tree

مرحله‌ی زندگی Life stage	ارتفاع نمونه‌برداری Sampling height	m	S^2	S^2/m	I_D	Z	توزیع فضایی Spatial distribution
تخم Egg	1.5 m	7.58	38.68	5.88	147.06	10.15	Aggregated
	2 m	7.14	39.38	5.52	137.92	9.61	Aggregated
	3 m	5.59	28.88	5.16	129.06	9.07	Aggregated
پوره Nymph	1.5 m	2.08	7.28	3.49	83.89	6.1	Aggregated
	2 m	1.87	4.19	2.24	55.96	3.58	Aggregated
	3 m	1.69	4.99	2.94	73.62	5.13	Aggregated
حشره کامل Adult	1.5 m	0.92	2.15	2.34	58.54	3.82	Aggregated
	2 m	0.65	1.09	1.67	41.73	2.14	Aggregated
	3 m	0.44	0.53	1.19	29.64	0.7	Random
پوره+حشره کامل Nymph+Adult	1.5 m	2.99	13.22	4.41	110.23	7.85	Aggregated
	2 m	2.52	6.5	2.57	64.34	4.34	Aggregated
	3 m	2.06	5.86	2.84	71.1	4.92	Aggregated
تخم+پوره+حشره کامل Egg+Nymph+Adult	1.5 m	9.57	60.73	6.34	158.59	10.81	Aggregated
	2 m	9.66	50.88	5.27	131.66	9.23	Aggregated
	3 m	7.66	39.89	5.21	130.26	9.14	Aggregated

جدول ۳- پارامترهای به دست آمده از شاخص لوید برای تعیین الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف زندگی سنک عناب (*Monosteira alticarinata*) در سه ارتفاع مختلف درخت عناب

Table 3- Parameters estimated by Lloyd´s mean crowding index for spatial distribution of different life stages of *Monosteira alticarinata* in three different heights (1.5, 2 and 3 m) of jujube tree

مرحله‌ی زندگی Life stage	ارتفاع نمونه‌برداری Sampling height	m	X^*	X^*/m	توزیع فضایی Spatial distribution
تخم Egg	1.5 m	6.58	9.37	1.43	Aggregated
	2 m	7.14	10.56	1.48	Aggregated
	3 m	5.59	8.66	1.55	Aggregated
پوره Nymph	1.5 m	2.08	3.59	1.72	Aggregated
	2 m	1.87	2.75	1.47	Aggregated
	3 m	1.7	2.75	1.62	Aggregated
حشره کامل Adult	1.5 m	0.92	1.59	1.75	Aggregated
	2 m	0.65	1.12	1.71	Aggregated
	3 m	0.44	0.57	1.3	Aggregated
پوره+حشره کامل Nymph+Adult	1.5 m	2.99	5.12	1.71	Aggregated
	2 m	2.52	3.69	1.46	Aggregated
	3 m	2.06	3.09	1.5	Aggregated
تخم+پوره+حشره کامل Egg+Nymph+Adult	1.5 m	9.57	12.94	1.35	Aggregated
	2 m	9.66	13.15	1.36	Aggregated
	3 m	7.65	10.85	1.42	Aggregated

تعیین الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف سنک عناب با استفاده از شاخص میانگین ازدحام لوید در ارتفاع‌های مختلف درختان میزبان

میانگین، میانگین ازدحام لوید و نسبت میانگین ازدحام لوید به میانگین مربوط به نمونه‌برداری از مراحل مختلف زندگی سنک عناب در ارتفاع‌های مورد بررسی به شرح جدول ۳ به دست آمد. بر اساس این نتایج، توزیع فضایی تخم، پوره، حشره‌ی کامل و مجموع پوره و حشره‌ی کامل در هر سه ارتفاع مورد بررسی از نوع تجمعی (مقدار عددی نسبت X^*/m بزرگ‌تر از ۱) تعیین شد.

تعیین الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف سنک عناب با استفاده از روش رگرسیونی تیلور در ارتفاع‌های مختلف درختان میزبان

آماره‌های رگرسیونی قانون توان تیلور برای مراحل مختلف زندگی *M. alticarinata* در سه ارتفاع مختلف درختان میزبان مطابق جدول ۴ به دست آمد. نتایج نشان داد که بر اساس روش تیلور، رگرسیون بین Log m و Log S^2 برای همه‌ی مراحل مورد بررسی در ارتفاعات مختلف معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). از آن جا که t محاسبه شده، بزرگ‌تر از t جدول (t_{table}= ۲/۰۶۴) بود، فرض صفر مبنی بر تصادفی بودن الگوی توزیع فضایی رد شد و چون مقدار شیب خط برای کلیه‌ی مراحل با یک اختلاف معنی‌دار داشت و بزرگ‌تر از ۱ بود ($b > ۱$)، پراکنش فضایی از نوع تجمعی به دست آمد.

جدول ٤- پارامترهای به دست آمده از روش رگرسیونی تیلور مربوط به الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف زندگی سنک عناب (*Monosteira alticarinata*) در سه ارتفاع مختلف درخت عناب.

Table 4- Parameters estimated by Taylor´s power law for spatial distribution of different life stages of *Monosteira alticarinata* in three different heights (1.5, 2 and 3 m) of jujube tree.

مرحله زندگی Life stage	ارتفاع نمونه‌برداری Sampling height	a±SE CI	b±SE CI	r^2	$t_{calculated}$	P_{value}	توزیع فضایی Spatial distribution
تخم Egg	1.5 m	0.063±0.104 (-0.152_0.278)	1.582±0.135 (1.304_1.860)	0.852	11.742	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.292±0.092 (0.102_0.482)	1.407±0.115 (1.170_1.643)	0.862	12.267	0.000 **	Aggregated
	3 m	0.221±0.095 (0.026_0.417)	1.452±0.133 (1.177_1.728)	0.831	10.881	0.000 **	Aggregated
پوره Nymph	1.5 m	0.198±0.039 (0.118_0.279)	1.560±0.099 (1.357_1.764)	0.912	15.802	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.234±0.023 (0.187_0.282)	1.209±0.050 (1.107_1.312)	0.961	24.402	0.000 **	Aggregated
	3 m	0.208±0.067 (0.069_0.347)	1.263±0.148 (0.958_1.568)	0.753	8.544	0.000 **	Aggregated
حشره کامل Adult	1.5 m	0.247±0.031 (0.182_0.312)	1.353±0.069 (1.210_1.496)	0.941	19.526	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.195±0.025 (0.142_0.247)	1.115±0.040 (1.032_1.198)	0.970	27.833	0.000 **	Aggregated
	3 m	0.084±0.020 (0.043_0.124)	1.060±0.024 (1.011_1.109)	0.988	44.843	0.000 **	Aggregated
پوره+حشره کامل Nymph+Adult	1.5 m	0.160±0.046 (0.065_0.255)·	1.677±0.093 (1.484_1.870)	0.931	17.965	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.258±0.028 (0.201_0.315)	1.223±0.059 (1.102_1.344)	0.947	20.789	0.000 **	Aggregated
	3 m	0.215±0.028 (0.158_0.272)	1.355±0.060 (1.231_1.479)	۰/۹۵۵	22.498	0.000 **	Aggregated
تخم+پوره+حشره کامل Egg+Nymph+Adult	1.5 m	-0.152±0.119 (0.398_0.094)	1.778±0.127 (1.515_2.041)	0.890	13.966	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.195±0.122 (-0.056_0.447)	1.453±0.131 (91.182_1.723)	0.837	11.085	0.000 **	Aggregated
	3 m	0.60±0.139 (-0.226_0.347)	1.561±0.166 (1.218_1.903)	0.787	9.406	0.000 **	Aggregated

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱، a: عرض از مبدا، b: شیب خط رگرسیون، CI : فاصله‌ی اطمینان، $t_{calculated}$: t محاسبه شده، t_{table}= ۲/۰۶۴.

** significant difference at the level of 0.01, t_{table}= 2.064, CI: Confidence Interval, a: Intercept, b: slope of regression line.

تعیین الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف سنک عناب با استفاده از روش رگرسیونی آیوائو در ارتفاع‌های مختلف درختان میزبان

آماره‌های رگرسیونی روش آیوائو برای مراحل مختلف زندگی *M. alticarinata* در سه ارتفاع مختلف درختان میزبان مطابق جدول ۵ به دست آمد. نتایج نشان داد که بر اساس روش آیوائو، رگرسیون بین m (میانگین جمعیت) و m^* (شاخص میانگین ازدحام لوید) برای همه‌ی مراحل مورد بررسی در ارتفاعات مختلف معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). از آن جا که t محاسبه شده، بزرگ‌تر از t جدول (t_{table}= ۲/۰۶۴) بود، فرض صفر مبنی بر تصادفی بودن الگوی توزیع فضایی رد شد و چون مقدار ضریب آیوائو برای کلیه‌ی مراحل با یک اختلاف معنی‌دار داشت و بزرگ‌تر از ۱ بود ($\beta>۱$)، پراکنش فضایی از نوع تجمعی محاسبه شد.

بحث

توزیع فضایی مراحل مختلف زندگی سنک *M. alticarinata* در سه ارتفاع درختان عناب با استفاده از شاخص ازدحام لوید و روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو از نوع تجمعی به دست آمد. در مورد روش نسبت واریانس به میانگین که ساده‌ترین و اساسی‌ترین شاخص برای تعیین تجمع است (Lloyd, 1967) به استثنای یک مورد (توزیع فضایی حشره‌کامل در ارتفاع ۳ متر) که توزیع فضایی از نوع تصادفی بود در بقیه‌ی موارد از نوع تجمعی به دست آمد.

جدول ۵- پارامترهای به دست آمده از روش رگرسیونی آیوائو مربوط به الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف زندگی سنک عناب (*Monosteira alticarinata*) در سه ارتفاع مختلف درخت عناب

Table 5- Parameters estimated by Iwao´s patchiness regression for spatial distribution of different life stages of *Monosteira alticarinata* in three different heights (1.5, 2 and 3 m) of jujube tree

مرحله زندگی Life stage	ارتفاع نمونه‌برداری Sampling height	α±SE CI	β±SE CI	r^2	$t_{calculated}$	P_{value}	توزیع فضایی Spatial distribution
تخم Egg	1.5 m	-1.11±0.682 (-2.516_0.297)	1.594±0.084 (1.421_1.767)	0.938	19.047	0.000 **	Aggregated
	2 m	1.751±0.559 (0.596_2.905)	1.234±0.061 (1.109_1.360)	0.945	20.252	0.000 **	Aggregated
	3 m	1.149±1.086 (-1.092_3.390)	1.346±0.155 (1.026_1.667)	0.758	8.670	0.000 **	Aggregated
پوره Nymph	1.5 m	-0.401±0.493 (-1.418_0.616)	1.916±0.192 (1.520_2.312)	0.806	9.977	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.466±0.148 (0.161_0.772)	1.220±0.058 (1.101_1.339)	0.949	21.134	0.000 **	Aggregated
	3 m	-0.040±0.236 (-0.527_0.447)	1.641±0.103 (1.429_1.854)	0.914	15.935	0.000 **	Aggregated
حشره کامل Adult	1.5 m	-0.200±0.193 (-0.598_0.197)	1.964±0.159 (1.635_2.292)	0.864	12.349	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.173±0.115 (-0.064_0.411)	1.441±0.134 (1.164_1.718)	0.828	10.730	0.000 **	Aggregated
	3 m	0.057±0.062 (-0.070_0.185)	1.166±0.105 (0.948_1.383)	0.836	11.074	0.000 **	Aggregated
پوره+حشره کامل Nymph+Adult	1.5 m	-0.410±0.495 (-1.432_0.611)	1.844±0.134 (1.567_2.121)	0.887	13.726	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.630±0.194 (0.230_1.030)	1.213±0.058 (1.093_1.332)	0.948	20.918	0.000 **	Aggregated
	3 m	0.007±0.202 (-0.410_0.425)	1.500±0.074 (1.348_1.651)	0.945	20.390	0.000 **	Aggregated
تخم+پوره+حشره کامل Egg+Nymph+Adult	1.5 m	-1.158±0.609 (-2.415_0.098)	1.473±0.053 (1.363_1.582)	0.970	27.755	0.000 **	Aggregated
	2 m	2.090±0.641 (0.768_3.412)	1.144±0.053 (1.035_1.254)	0.951	21.562	0.000 **	Aggregated
	3 m	1.181±1.228 (-1.354_3.715)	1.263±0.131 (0.993_1.534)	0.795	9.652	0.000 **	Aggregated

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱، α: شاخص تعیین درجه انبوهی، β: شیب خط رگرسیون، CI : فاصله‌ی اطمینان، $t_{calculated}$: t محاسبه شده، t_{table}= ۲/۰۶۴.

** significant difference at the level of 0.01, t_{table}= 2.064, CI: Confidence Interval, a: Iwao Intercept, b: slope of regression line.

این بدان معناست که ارتفاع درخت عناب نقش چندانی در نوع پراکنش فضایی این آفت نداشت. پراکنش تجمعی، برای اکثر مراحل زندگی این آفت با روش‌های استفاده شده دلالت بر این دارد که حضور یک فرد در یک نقطه باعث افزایش احتمال حضور فرد دیگر در نزدیکی آن می‌شود و به عبارت دیگر احتمال اشغال هر یک از نقاط زیستگاه توسط افراد این آفت برابر نیست.

از آن جایی که در روش های رگرسیونی، میانگین و واریانس هر زمان نمونه‌برداری به طور جداگانه مورد استفاده قرار می‌گرفت، بنابراین روش‌های تیلور و آیوائو دقیق‌تر از روش نسبت واریانس به میانگین بود. در روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو مقدار ضریب تبیین (r^2) در ارتفاع‌های مختلف و مراحل مختلف زندگی متفاوت به دست آمد. به عنوان مثال در مورد مرحله‌ی تخم در روش رگرسیونی تیلور مقدار r^2 در ارتفاع ۱/۵ متر ۰/۸۵۲ و در روش آیوائو ۰/۹۳۸ به دست آمد که بالاتر بودن مقدار r^2 در روش آیوائو نشان دهندهٔ کارایی بهتر این مدل در توجیه رابطهٔ میان واریانس و میانگین انبوهی تخم حشره بود. در ارتفاع ۲ متر نیز مقدار r^2 در روش آیوائو (r^2=۰/۹۴۵) به طور مشابه بیش‌تر از r^2 در روش تیلور (r^2= ۸۶۴/) بود اما در ارتفاع ۳ متر مقدار r^2 در روش آیوائو (r^2=۰/۷۵۸) کم‌تر از r^2 در روش تیلور (r^2= ۸۳۱/) بود و در این ارتفاع، کارایی روش تیلور بهتر از آیوائو بود. اما در مورد مرحله‌ی پورگی در سه ارتفاع ۱/۵، ۲ و ۳ متری درختان عناب، مقدار r^2 در روش رگرسیونی تیلور به‌ترتیب ۰/۹۱۲، ۰/۹۶۳ و ۰/۷۵۳ و در روش آیوائو به ترتیب ۰/۸۰۶، ۰/۹۴۹ و ۰/۹۱۴به دست آمد که بر عکس مرحله‌ی تخم نشان‌دهنده‌ی کارایی بهتر مدل تیلور در ارتفاع ۱/۵ و ۲ متری و روش آیوائو در ارتفاع ۳ متری در مرحله‌ی پورگی آفت است. در مورد مرحله‌ی حشره‌ی کامل و پوره+حشره‌ی کامل مقادیر r^2 در هر سه ارتفاع در روش تیلور بالاتر از آیوائو بود.

تیلور (Taylor, 1984) با بررسی منابع به این نتیجه رسید که توزیع تجمعی یا کپه‌ای مرسوم‌ترین الگوی پراکنش فضایی در دنیای حشرات مضر است. این نوع پراکنش ممکن است در تمام طول زندگی یک حشره یا بخشی از آن مشاهده شودکه با نتایج به دست آمده در این بررسی مطابقت دارد. تیلور همچنین اظهار کرد بر خلاف فراسنجه‌هایی مانند نرخ رشد جمعیت و تولیدمثل که ممکن است از یک نسل به نسل دیگر تغییر کنند، توزیع فضایی یک ویژگی نسبتاً ثابت است. نتایج این بررسی با نتایج تعدادی از پژوهشگران همخوانی داشت. به عنوان مثال، در بررسی‌های توکلی‌زاده و همکاران (9Tavakoli Zadeh *et al.*, 201) در منطقه‌ی رفسنجان، الگوی پراکنش فضایی پوره‌ی پسیل معمولی پسته *A. pistaciae* در سه ارتفاع بالا، پایین و میانی درخت با روش نسبت واریانس به میانگین، شاخص ازدحام لوید و روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو از نوع تجمعی و برای تخم پسیل نیز با استفاده از روش‌های نسبت واریانس به میانگین و شاخص ازدحام لوید از نوع تجمعی گزارش شد. همچنین لشکری و شهبازوار (Lashkari and Shahbazvar, 2016) الگوی توزیع فضایی پوره‌ی پسیل آسیایی مرکبات *Diaphorina citri* Kuwayama در نیمه‌ی بالایی و پایینی آسمانه درختان لیمو و پرتقال را با روش‌های نسبت واریانس به میانگین، شاخص پراکنش، شاخص ازدحام لوید و روش رگرسیونی تیلور از نوع تجمعی به دست آوردند. ده‌پهنی و همکاران (Deh-Pahni *et al.*, 2020) توزیع فضایی کلیه‌ی مراحل نابالغ زنجرک مو *A. kermanshah* را با استفاده از روش شاخص ازدحام لوید از نوع تجمعی به دست آوردند. اختر و همکاران (Akhtar *et al.*, 2010) الگوی فضایی شته‌ی خردل *Lipaphis erysimi* Kaltenbach و زنبور پارازیتوئید آن *Diaeretiella rapae* MacIntosh را روی گیاه خردل سیاه با استفاده از شاخص‌های نسبت میانگین به واریانس و شاخص میانگین ازدحام لوید، از نوع تجمعی به دست آوردند. در بررسی‌های انجام یافته روی چهار گونه شته‌ی غلات شامل *Diuraphis noxiae* Mordvilko، *Metopolophium dirhoclum* Walker، *Sitobion avenae* Fabricius و *Schizaphis graminum* Rondani در گندم بهاره، در جنوب غربی آیداهو پراکنش فضایی تمام گونه‌ها با استفاده از قانون توان تیلور از نوع تجمعی گزارش گردید (Feng and Nowierski, 1992). کیان‌پور و همکاران (Kianpur *et al.*, 2010) توزیع فضایی زنجرک‌های *B. tabaci* و *B. argentifolii* و زنجرک *E. decipiens* را در مزارع بادنجان منطقه‌ی ورامین با استفاده از روش‌های شاخص ازدحام لوید و روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو از نوع تجمعی گزارش کردند. الگوی پراکنش فضایی پوره و حشرات کامل پسیل گلابی *Cacopsylla pyri* Linnaeus با استفاده از روش رگرسیونی تیلور و آیوائو از نوع تجمعی گزارش شده است (Sanchez and Ortin-Angulo, 2011). توزیع فضایی پسیل آسیایی مرکبات *D. citri*، روی لیموترش و پرتقال، با استفاده از روش‌های مختلف نسبت واریانس به میانگین، شاخص ازدحام لوید و روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو از نوع تجمعی گزارش شد (Lashkari and Shahbazvar, 2016).

الگوی فضایی شته‌ی مومی کلم *Brevicoryne brassicae* Linnaeus و زنبور پارازیتوئید آن *D. rapae* با هر دو روش رگرسیونی تیلور و آیوائو از نوع تجمعی به دست آمد (Haqqani *et al.*, 2004; Amini and Maddi, 2014). این محققین با توجه به ضریب تبیین (r^2) بالاتر رگرسیون در مدل تیلور، این مدل را در پیشگویی نوع الگوی پراکنش شته‌ی مومی کلم و زنبور پارازیتوئید آن بهتر از آیوائو دانستند. افشاری و دسترنج (Afshari and Dastranj, 2009) الگوی پراکنش فضایی شته‌های خوشه‌ی گندم شامل *S. avenae* و *S. graminum* را با روش‌های نسبت واریانس به میانگین، روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو از نوع تجمعی گزارش کردند و بر اساس ضرایب تبیین (r^2) به دست آمده، مدل تیلور برای برآورد پراکنش فضایی شته‌ها مناسب‌تر از آیوائو بود.

البته گزارش‌هایی نیز وجود دارد که روش رگرسیونی آیوائو در مقایسه با تیلور برای تعدادی از حشرات از کارایی بیش‌تری برخوردار است که با بخشی از نتایج ما در این بررسی مطابقت دارد. به عنوان مثال صبوری و همکاران (Sabouri *et al.*, 2018) در بررسی پراکنش فضایی شته‌های مهم یونجه گزارش کردند که بر اساس مقادیر r^2 مدل آیوائو مناسب‌تر از تیلور برای نشان دادن رابطه‌ی بین واریانس و میانگین بود. غلامی‌مقدم و همکاران (Gholam Moghaddam *et al.*, 2018) نیز در بررسی پراکنش فضایی پوره های پسیل پسته *A. pistaciae* در ارقام مختلف پسته با روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو، کارایی بهتر مدل آیوائو را در توجیه رابطه‌ی میان واریانس و میانگین انبوهی حشره (به دلیل بالاتر بودن مقدار r^2 در مدل آیوائو) اعلام کردند. بر اساس مقادیر ضرایب تبیین به دست آمده در تعیین پراکنش پسیل زبان گنجشک *P. discrepans*، مدل آیوائو در مقایسه با مدل تیلور همبستگی بیش‌تری با داده‌ها داشت و بهتر از شاخص تیلور داده های این آفت را برازش کرد (Jamshidi *et al.*, 2017). در بررسی الگوی پراکنش فضایی شتهٔ نخود، *Acyrthosiphon pisum* و کفشدوزک‌های شکارگر آن، *Hippodamia variegata* و *Coccinella septempunctata*، مشخص شد، مدل آیوائو مناسب‌تر از مدل تیلور برای توصیف رابطهٔ میانگین و واریانس بود (Soleimani and Madadi, 2013). با وجود این، در بسیاری از مطالعات شاخص تیلور به دلیل عدم تغییر در مقابل نوسان‌های اندک محیط (Nestel *et al.*, 1995) و عدم تأثیرپذیری از اندازه‌ی نمونه (Croft *et al.*, 1976) کارایی بیشتری نسبت به شاخص آیوائو دارد (Farrar and Haghani, 2012; Arbab, 2006;

(Mohiseni and Kushki, 2016). به نظر می‌رسد میزان انبوهی، تحرکات حشره تعیین کننده‌ی الگوی پراکنش آن است. به طوری که در حشراتی که کم‌تحرک هستند و در یک جا ساکن مانده، زاد و ولد می‌کنند، یا حرکات موضعی محدود دارند وقوع تجمع در انبوهی بالا محتمل است. این با وضعیت سنک عناب در این بررسی، شته‌ی کوچک گردو (Mahdavi *et al.*, 2015)، شته‌ی مومی کلم (Haghani *et al.*, 2004)، کنه‌ی تارتن دولکه‌ای (Ahmadi *et al.*, 2005; So, 1991) و سرخرطومی یونجه (Haddadi *et al.*, 2016) در سایر بررسی‌ها تایید می‌شود. ازطرفی، در مورد حشرات پرتحرک مانند ملخ ایتالیایی با افزایش سن، افراد به تدریج از هم فاصله گرفته و پراکنش از حالت کپه‌ای خارج می‌شود (Alipour, 2011). در بررسی‌های تعدادی از محققین الگوی توزیع فضایی لارو بالپولک داران مختلف از نوع توزیع تصادفی به دست آمد. این پژوهشگران دلیل این امر را تحرکات زیاد شب‌پره‌ها و نحوه‌ی تخم‌ریزی آن‌ها گزارش کردند (Goze *et al.*, 2003; Story and Keaster, 1982; Melo *et al.*, 2006; Mendoza *et al.*, 2008). در تعدادی از حشرات ناهماهنگی بین زیستگاه‌ها و محیط و رفتارها و عواملی که به شرایط محیطی وابسته نیستند، به‌عنوان دلایل اصلی توزیع فضایی تجمعی در آن‌ها عنوان شده‌اند (Nehrangi and Vahedi, 2018; Zareii Ahmad-Abadi *et al.*, 2022) که می‌تواند در مورد سنک عناب در این پژوهش نیز صادق باشد.

ژنتیک، الگوهای رفتاری و محیط می‌تواند تعیین کننده‌ی توزیع فضایی افراد جمعیت در یک اکوسیستم باشد. به‌عنوان مثال دلیل تجمع برخی از حشرات مانند پسیل‌ها واکنش رفتاری تجمعی فعال ذاتی آن‌ها ذکر شده است مانند شرایطی که حضور یک نفر سایر افراد را به منظور تغذیه، تولیدمثل و نیز به دلیل برخی ناهمگنی‌های زیستگاه و محیط مانند ریزاقلیم و بخش ترجیحی گیاه جذب می‌کند (Jamshidi *et al.*, 2017; Lashkari and Shahbazvar, 2016). عوامل مختلفی از جمله شکل و شیوه‌ی کاشت زراعت‌ها، میزان یکنواختی محصول، نوع خاک (Rajabi, 1999) ارقام مختلف گیاهی (Gholam Moghaddam *et al.*, 2018; Sedaratian *et al.*, 2010)، توانایی پراکنش گونه‌ها، تعاملات بین افراد و انتخاب زیستگاه (Vinatier *et al.*, 2011) می‌توانند در شکل و نوع پراکنش فضایی حشره تأثیرگذار باشند. اطلاعات به‌دست آمده در این بررسی، می‌تواند در طراحی و توسعه‌ی برنامه‌های نمونه‌برداری و به دنبال آن راهبردهای مدیریتی مناسب برای کنترل سنک عناب استفاده شود.

منابع

1- Alipour, M. (2011). *Population dynamics of the most common species of grasshoppers in Khodaafarin*. M.Sc. thesis on Agricultural Entomology, Islamic Azad University, Tabriz branch, 69 p. (In Persian)

2- Afshari, A., & Dastranj, M. (2009). Density, spatial distribution and sequential sampling plans for cereal aphids infesting wheat spike in Gorgan, northern Iran. *The Journal of Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 32*(2), 89-102. (In Persian)

3- Ahmadi, M., Fathipour, Y., & Kamali, K. (2005). Population density and spatial distribution pattern of *Tetranychus urticae* Koch on different bean cultivars in Tehran region. *Iranian Journal of Agriculture Science, 36*(5), 1087-1092. (In Persian)

4- Akhtar, M.S., Dey, D., & Usmani, M.K. (2010). Spatial distribution of mustard aphid *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) vis-à-vis its parasitoid, *Diaeretiella rapae* (M'intosh). *World Applied Sciences Journal, 11*(3), 284-288.

5- Amini, B., & Madadi, H. (2014). Spatial distribution of *Brevicoryne brassicae* and *Diaeretiella rapae* and development a fixed precision sampling plan. *Plant Pests Research, 4*(1), 1-10. (In Persian with English abstract)

6- Arbab, A. (2006). Spatial distribution pattern of immature stages of alfalfa seed weevil, *Tychius aureolus* (Keiswetter) (Col.Curculionidae), and alfalfa seed wasp, *Brochophagus roddi*, (Hym. Eurytomidae) (Gussakovski) in alfalfa seed fields. *Journal of Agricultural Sciences, 12*(2), 263-268. (In Persian with English abstract)

7- Bakhshizadeh, N., Mohiseni, A., & Fathi, S.A.A. (2011). Spatial distribution patterns and fixed-precision sequential sampling plans for estimating population overwintered adult sunn pest, Eurygaster integriceps Put. in rainfed wheat fields in Ardabil province. *The Journal of Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 33*(2), 63-75. (In Persian)

8- Boeve, P.J., & Weiss, M. (1998). Spatial distribution and sampling plans with fixed levels of precision for cereal aphids (Homoptera: Aphididae) infesting spring wheat. *The Canadian Entomologist, 130*(1), 67-77. https://doi.org/10.4039/Ent13067-1

9- Cho, K., Eckel, C.S., Walgenbach, J.F., & Kennedy, G.G. (2005). Spatial distribution and sampling procedures for *Frenkliniella spp.* in stanked tomato. *Journal of Economic Entomology, 88*(6), 1658-1665.

10- Croft, B.A., Welch, S.M., & Dover, M.J. (1976). Dispersion statistics and sample size estimates for populations of the mite's species *Panonychus ulmi* and *Amblyseius fallacis* on apple. *Environmental Entomology, 5*(2), 227-233. https://doi.org/10.1093/ee/5.2.227

11- Darbemamieh, M., Fathipour, Y., & Kamali, K. (2011). Population abundance and seasonal activity of *Zetzellia*

pourmirzai (Acari: Stigmaeidae) and its preys *Cenopalpus irani* and *Bryobia rubrioculus* (Acari: Tetranychidae) in sprayed apple orchards of Kermanshah, Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *13*(2), 143–154.

12- Deh-Pahni, S., Vahedi, H., & Darbemamieh, M. (2020). Spatial distribution of grape leafhopper, *Arboridia kermanshah* (Hemiptera: Cicadellidae) immature stages, in vineyards of Kermanshah County. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, *9*(4), 49-60. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22034/ARPP.2021.12239.

13- Faleiro, J.R., Kumar, J.A., & Rangnekar, P.A. (2002). Spatial distribution of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. (Coleoptera: Curculionidae) in coconut plantations. *Crop Protection*, *21*(2), 171-176. https://doi.org/10.1016/S0261-2194(01)00083-7.

14- Farrar, N., & Haghani, M. (2012). Spatial distribution of *Thiacidas postica* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) larvae on *Ziziphus spina-christi* in Bushehr region. *Plant Pests Research*, *2*(1), 21-28. (In Persian with English abstract)

15- Feng, M.G., & Nowierski, R.M. (1992). Spatial distribution and sampling plans for four species of cereal aphids (Homoptera: Aphididae) infesting spring wheat in southwestern Idaho. *Journal of Economic Entomology*, *85*(3), 830-837. https://doi.org/10.1093/jee/85.3.830

16- Gholam Moghaddam, S., Moeini-Naghadeh, N., & Naderloo, L. (2018). Population density of *Agonoscena pistaciae* (Hemiptera: Psyllidae) and spatial distribution pattern of its nymphs on three pistachio varieties in Khorasan Razavi province. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, *49*(1), 57-67. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijpps.2018.229355.1006769

17- Ghouth, K. (2009). *Ziziphus jujube, the neglected fruit*. Saeedimanesh Press. 351 p. (In Persian)

18- Gossner, M.M. (2009). Light intensity affects spatial distribution of Heteroptera in deciduous forests. *European Journal of Entomology*, *106*(2), 241–252. https://doi.org/10.14411/eje.2009.032

19- Goze, E., Nibouche, S., & Deguine, J.P. (2003). Spatial and probability distribution of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton: Systematic sampling, exactconfidence intervals and sequential test. *Biological Sciences*, *32*(5), 1203-1210. https://doi.org/10.1093/ee/32.5.1203

20- Haddadi, A., Iranipour, S., Kazemi, M.H., & Alizadeh, E. (2016). Spatial distribution of alfalfa leaf weevil, *Hypera postica* (Col.: Curculionidae) in Urmia. *Journal of Field Crop Entomology*, *6*(1), 35-51. (In Persian with English abstract)

21- Haghani, M., Fathipour, Y., Hosseini, A., Talebi, A., Moharramipour, S., & Bahrami, F. (2004). *Spatial distribution pattern of Brevicoryne brassicae (Hem.: Aphididae) and its parasitoid Diaeretiella rapae (Hym.: Aphidiidae).* In the Sixteenth Iranian Plant Protection Congress Proceedings. University of Tabriz, Iran (Vol 1, P. 11).

22- Hughes, G. (1996). Incorporating spatial pattern of harmful organisms into crop loss models. *Crop Protection*, *15*(5), 407-421. https://doi.org/10.1016/0261-2194(96)00003-8

23- Iwao, S., & Kuno, E. (1968). Use of the regression of mean crowding on mean density for estimating sample size and the transformation of data for the analysis of variance. *Researches on Population Ecology*, *10*(2), 210-214. https://doi.org/10.1007/BF02510873

24- Jamshidi, A., Vahedi, H.A & Zamani, A.A. (2017). Population dynamic, the spatial distribution pattern and management of ash tree, *Fraxinus rotundifolia* psyllid *Psyllopsis discrepans* Flor (Hem., Psyllidae) in Kermanshah Province, Iran. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *30*(4), 727-743. (In Persian). https://doi.org/10.22067/JPP.V30I4.55216

25- Jarosik, V., Honek, A., & Dixon, A.F.G. (2003). Natural enemy ravine revisited: the importance of sample size for determining population growth. *Ecological Entomology*, *28*(1), 85-91. https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2003.00485.x.

26- Khodayari, S., Fathipour, Y., Kamali, K., & Naseri, B. (2010). Seasonal activity of *Zetzellia mali* (Stigmaeidae) and Its preys *Eotetranychus frosti* (Tetranychidae) and *Tydeu longisetosus* (Tydeidae) in unsprayed apple orchards of Maragheh, Northwestern of Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *12*, 549–558.

27- Kianpur, R., Fathipour, Y., & Kamali, K. (2010). Population fluctuation and spatial distribution patterns of *Bemisia tabaci* and *Bemisia argentifolii* and *Empoasca decipiens* on eggplants in Varamin. *Plant Pests and Diseases*, *77*(2), 71-94. (In Persian with English abstract)

28- Lashkari, M.R., & Shahbazvar, N. (2016). Spatial distribution pattern of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hem: Liviidae) on lime (*Citrus aurantifolia*) and orange (*Citrus sinensis*) in citrus orchards of Iran. *Entomology and Applied Science Letters*, *3*(2), 81-87.

29- Liu, C., Wang, G., Wang, W., & Zhou, S. (2002). Spatial pattern of *Tetranychus urticae* population in apple tree garden. *Journal of Applied Ecology*, *13*(8), 993-996. PMID: 12418263.

30- Lloyd, M. (1967). Mean crowding. *Journal of Animal Ecology*, *36*(1), 1-30. https://doi.org/10.2307/3012

31- Mahdavi, H., Iranipour, S., Mehrvar, A., & Karimzadeh, R. (2015). Spatial distribution of *Chromaphis juglandicola* (Kaltenbach) (Hem.: Aphididae) in east AzerbaijanWalnut Orchards. *Journal of Applied Research in Plant*

Protection, *4*(2), 27-40. (In Persian with English abstract)
32- Melo, E.P.de., Fernandes, M.G., Degrande, P.E., Cessa, R.M.A., Salomao, J.L., & Nogueira, R.F. (2006). Spatial distribution of plants infested with *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) on corn crop. *Neotropical Entomology*, *35*(5), 689-97. https://doi.org/10.1590/s1519-566x2006000500018
33- Mendoza, H., Barbosa, L., Gonzalez, G., & Perez, M. (2008). Spatial distribution of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize landraces grown in Colima, Mexico. *International Journal of Tropical Insect Science*, *28*(3), 126-129. https://doi.org/10.1017/S1742758408096112
34- Mohiseni, A., & Kushki, M.H. (2016). Fixed precision sequential sampling plans of two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) in *Phaseolus vulgaris* L. Fields. *Plant Pest Research*, *6*(3), 11-23. (In Persian with English abstract)
35- Moodi, S. (2002). Introduction of *Monosteira alticarinata* Gh. (Hemiptera: Tingidae) and its damage on jujube trees in Iran. In *the fifteenth Iranian Plant Protection Congress Proceedings. Razi University, Kermanshah*. (Vol 1, P. 189). (In Persian)
36- Nehrangi, H., & Vahedi, H.A. (2018). Population fluctuations and the spatial distribution pattern of the scale insect, *Kermes quercus* (L.) (Hem.: Kermesidae) in *Quercus* spp. Oak forests of Gilan-e-Gharb. *Iranian Journal of Forest and Range Protection Research*, *16*(1), 13-34. https://doi.org/10.22092/ijfrpr.2018.121477.1331. (In Persian with English abstract)
37- Nestel, D., Cohen, H., Saphir, N., Klein, M., & Mendel, Z. (1995). Spatial distribution of scale insects: Comparative study using Taylor's power law. *Environmental Entomology*, *24*(3), 506-512. https://doi.org/10.1093/ee/24.3.506
38- Patil, G.P., & Stiteler, W.M. (1974). Concepts of aggregation and their quantification: a critical review with some new results and applications. *Researches on Population Ecology*, *15*(1), 238-254. https://doi.org/10.1007/BF02510670
39- Pedigo, L.P., & Buntin, G.D. (1994). *Handbook of sampling methods for arthropods in agricultur*e. CRC Press, Florida.
40- Rahmani, H., Fathipour, Y., & Kamali, K. (2010). Spatial distribution and seasonal activity of *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae) and its predator *Zetzellia mali* (Acari: Stigmaeidae) in apple orchards of Zanjan, Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *12*(2), 155–65.
41- Rajabi, Gh. (1999). *Insect ecology (with regard to Iranian conditions and emphasis on practical points).* Ministry of Agriculture Extension, Education and Research Organization, 649 p. (In Persian)
42- Sabouri, I., Mohseni Amin, A., Alipanahi, N., Goldasteh, Sh., & Chavoshi, S. (2018). Spatial distribution pattern of important alfalfa aphids in north of lorestan province. *Journal of Entomological Research*, *10*(3), 153-161. (In Persian with English abstract)
43- Sanchez, J.A., & Ortin-Angulo, M.C. (2011). Sampling of *Cacopsylla pyri* (Hemiptera: Psyllidae) and *Pilophorus gallicus* (Hemiptera: Miridae) in pear orchards. *Journal of Ecoomic Entomology*, *104*(5), 1742-1751. https://doi.org/10.1603/ec11040
44- Sedaratian, A., Fathipour, Y., Talebi, A.A., & Farahani, S. (2010). Population density and spatial distribution pattern of *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) on different soybean varieties. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *12*(3), 275-288.
45- Shanower, T.G., & Romeis, J. (1999). Insect pests of pigionpea and their management. *Annual Review of Entomology*, *44*, 77-96. https://doi.org/10.1146/annurev.ento.44.1.77
46- So, P.M. (1991). Distribution patterns and sampling plans for *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on roses. *Researches on Population Ecology*, *33*(2), 229-243. https://doi.org/10.1007/BF02513551
47- Soleimani, S., & Madadi, H. (2013). Spatial distribution pattern of pea aphid, *Acyrthosiphon pisum* and predatory ladybirds *Coccinella septempunctata* and *Hippodamia variegata* in alfalfa fields of Hamedan. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, *2*(2), 139-148. (In Persian). https://doi.org/10.22059/JBIOC.2014.51686
48- Southwood, T.R.E. (1978). *Ecological methods with particular reference to the study of insect populations*. 2nd ed. Chapman and Hall, London.
49- Southwood, T.R.E. (1995). *Ecological methods with particular reference to the study of insect populations.* Champan and Hall, London. UK.
50- Southwood, T.R.E., & Henderson, P.A. (2000). *Ecological methods*. Third edition. Blackwell Sciences, Oxford.
51- Story, R.N., & Keaster, A.J. (1982). The Overwintering biology of the black cutworm, *Agrotis ipsilon*, in field cages (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, *55*(3), 621-624. https://www.jstor.org/stable/25084339
52- Tahergorabi, Z., Abedini, M.R., Moodi, M., Hassanpour Fard, M., & Beydokhti, H. (2015). "*Ziziphus jujuba*": A red fruit with promising anticancer activities. *Pharmacognosy* Reviews, *9*(18), 99-106. https://doi.org/10.4103/0973-7847.162108

53- Tavakoli Zadeh, A., Hassani, M.R., & Sheibani Tezerji, Z. (2019). Spatial distribution of immature stages of *Agonoscena pistaciae* (Hemiptera: Aphalaridae) in Rafsanjan region. *Iranian Journal of Plant Protection Science, 49*(2), 289-298. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijpps.2018.244929.1006810

54- Tawizi, H. (2018). *Jujube: plant, grow and harvest*. Agricultural Education affiliated to the Office of Educational Technology Services of the Ministry of Agricultural Jihad. First edition. 84 p. (In Persian)

55- Taylor, L.R. (1961). Aggregation, variance to the mean. *Nature, 189*, 732–735.

56- Taylor, L.R. (1984). Assessing and interpreting the spatial distribution of insect population. *Annals Review of Entomology, 29*, 321-358. https://doi.org/10.1146/annurev.en.29.010184.001541

57- Vinatier, F., Tixier, P., Duyck, P.F., & Lescourret, F. (2011). Factors and mechanisms explaining spatial heterogeneity: a review of methods for insect populations. *Methods in Ecology and Evolution*, 2, 11–22. https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2010.00059.x

58- Winder, L., Perry, J.N., & Holland, J.M. (1999). The spatial and temporal distribution of the grain aphid *Sitobion avenae in* winter wheat. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *93*(3), 277-290. https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1999.00588.x

59- Zareii Ahmad-Abadi, Z., Darbemamieh, M., & Vahedi, H.A. (2022). Population fluctuation and spatial distribution pattern of the nut scale, *Eulecanium tiliae* (L.) (Hem.: Coccidae) on Cherries of the West of Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology, 24*(3), 649-663.

60- Zargari, A. (1997). *Medicinal plants (volume 1).* University of Tehran Printing and Publishing Institute. 976 p. (In Persian)

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 289-299

Evaluating Weed Control Efficacy of Microencapsulated EPTC and Trifluralin Herbicides under Greenhouse Condition

A. Rahbari[1], E. Izadi Darbandi[2*], M.H. Rashed Mohassel[3], G. Zohuri[4], E. Zand[5]

Received: 01-06-2019
Revised: 14-02-2021
Accepted: 10-03-2021
Available Online: 10-03-2021

How to cite this article:
Rahbari, A., Izadi Darbandi, E., Rashed Mohassel, M.H., Zohuri, G., & Zand, E. (2023). Evaluating weed control efficacy of microencapsulated EPTC and trifluralin herbicides under greenhouse condition. *Journal of Iranian Plant Protection Research, 37*(3), 289-299. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2021.32596.0

Introduction

In conventional formulations such as emulsifiable concentrates (EC), wettable powders, soluble liquids, etc., complete availability of the active agent is usually considered immediate or rapid following usage. Application rates of these formulations of pesticides are greater than the minimum threshold concentration to counter losses from sorption, volatilization, photodecomposition, microbial and chemical degradation, and leaching. Controlled-release technology for pesticides could reduce environmental damage and increase efficiency by enhancement of delivery to the site of action. This survey was conducted to determine the possibility of EPTC and trifluralin efficiency improvement by using microencapsulated formulation (MC) that were first synthesized in Iran.

Materials and Methods

Two separated greenhouse experiments were conducted in Tirtash Research and Education Center (Mazandaran–Iran) in 2014. The experiments were carried out in a factorial arrangement based on a randomized complete block design with three replications. The Microencapsulated formulation of EPTC and trifluralin herbicides were compared with emulsifiable concentrate formulation (Eradicane 82% and Treflan 48%) in 0 (control), 25, 50, 75 and 100 percent of active ingredient (a.i.) (4.92 and 1.2 kg a.i./ha, recommended doses for EPTC and trifluralin, respectively). For this purpose, the soil of pots were infested with the seed of Green foxtail (*Setaria viridis*) and Redroot pigweed (*Amaranthus retroflaxus*). The responses of weeds to treatments, specifically seedling number, were analyzed using ANOVA tests, non-linear regression, and fitting to three parameters of Weibull and log-logistic equations. This analysis was based on Akaike's Information Criterion, Residual Standard Error, and Lack-of-Fit Test indices in the R3.4.1 program. The effective dose were determined for 10, 50 and 90 percent of weed control (ED_{10}, ED_{50} and ED_{90}, respectively). Relative potency index (R) of formulation types were determined by divided ED_{50} of EC into MC formulations.

Results and Discussion

According to the results of the experiments, the formulation type had a significant effect on the weed numbers. The MC formulations of EPTC increased Green foxtail and Redroot pigweed control efficiencies. The

1, 2 and 3- Ph.D. Student and Professors of Weed Sciences, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author.Email: e-izadi@um.ac.ir)
4- Professor of Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad
5- Professor of Weed Science, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran
https://doi.org/10.22067/jpp.2021.32596.0

ED_{10}, ED_{50} and ED_{90} decreased from 0.72, 2.94 and 7.18 kg a.i.ha^{-1} in the EC to 0.41, 1.87 and 4.89 kg a.i.ha^{-1} in the MC formulation for Green foxtail and 1.08, 3.29 and 10.02 kg a.i.ha^{-1} in the EC to 0.57, 2.36 and 9.67 kg a.i.ha^{-1} in the MC formulation for Redroot pigweed. The R index of EPTC in Green foxtail and Redroot pigweed control were 1.57 and 1.39, respectively. Weed control increased as trifluralin dosage increased in both of the formulation types, although in higher doses of the MC, weed control efficiency increased more than the EC formulation. So the efficiency of the MC formulations depended on application dosages. The ED_{10}, ED_{50} and ED_{90} of Green foxtail were 0.14, 0.55 and 1.27 kg a.i.ha^{-1} in the EC and 0.19, 0.52 and 0.98 kg a.i.ha^{-1} in the MC formulation. The ED_{10}, ED_{50} and ED_{90} of Redroot pigweed were 0.20, 0.64 and 2.02 kg a.i.ha^{-1} in the EC and 0.26, 0.56 and 1.19 kg a.i.ha^{-1} in the MC formulation. So that the R index of trifluralin in Green foxtail and Redroot pigweed control were 1.05 and 1.14, respectively. The dependency of trifluralin behavior to applied microcapsule dose may be connected to capture of herbicide in microcapsule particles which it causes reduction of bioavailability of herbicide in soil lower than the threshold doses of injury level. Whiles under this experimental conditions, the herbicides are less affected by degrading agents and therefore have less opportunity to express the advantages of MC formulation. Whereas the field studies results showed that the 50% of the recommended dosage of MC formulation had same efficiency as 75% of the recommended dosage of EC formulations (results were not published).

Conclusion

Microencapsulation is a versatile tool for product design and is successfully used in various sectors and for a variety of different product features. However, although lot of research has been performed, only relatively few developments have made it into products in the agrochemical area. For example 37 actives out of 908 listed in total in the pesticide manual, mainly insecticides, are described as being formulated as control solutions. While the development of this technology in agriculture can play an important role in preserving the environment and reducing the pollution caused by pesticides. The purpose of the application of controlled release formulations is the gradual release of herbicides in a suitable amount with maintaining efficiency in agronomic conditions. This type of formulation is a combination of the herbicide and associated material that releases effective material over a given period due to weed control. The results of this study showed that the R index of EPTC and trifluralin were 1.57 and 1.05 in Green foxtail, and 1.39 and 1.14 in Redroot pigweed control, respectively. So that the microcapsule formulation of EPTC and trifluralin herbicides increased the efficacy and reduced the application dose.

Keywords: Controlled release, Dose-response, Relative potential

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲، ص. ۲۹۹-۲۸۹

ارزیابی کارایی فرمولاسیون میکروکپسول سنتزشده علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین در کنترل علف‌های‌هرز دم‌روباهی و تاج‌خروس در شرایط گلخانه

احمد رهبری[۱]- ابراهیم ایزدی دربندی[۲*]- محمد حسن راشد محصل[۳]- غلامحسین ظهوری[۴]- اسکندر زند[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۱۱
تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۱۱/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۰

چکیده

به‌منظور بررسی کارایی فرمولاسیون میکروکپسول در مقایسه با فرمولاسیون امولسیون علف‌کش‌های ارادیکان و ترفلان (ای‌پی‌تی‌سی ۸۲ درصد و تریفلورالین ۴۸ درصد) در کنترل علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز دو آزمایش مجزا به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۳ در گلخانهٔ تحقیقاتی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش استان مازندران اجرا گردید. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از مقادیر صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد مادهٔ موثره توصیه شده در هکتار از فرمولاسیون‌های میکروکپسول و امولسیون علف‌کش‌های ارادیکان و ترفلان (مقادیر توصیه شده ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین به‌ترتیب ۴/۹۲ و ۱/۲ کیلوگرم در هکتار). پاسخ دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز با استفاده از آزمون‌های تجزیه واریانس و تجزیه رگرسیون غیرخطی مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر ED_{10}، ED_{50} و ED_{90} با استفاده از روابط ویبول و لگاریتم لجستیک برآورد گردید. ED_{50} در فرمولاسیون امولسیون ای‌پی‌تی‌سی در کنترل دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز به‌ترتیب ۲/۹۴ و ۳/۲۹ و در فرمولاسیون میکروکپسول به‌ترتیب ۱/۸۷ و ۲/۳۷ کیلوگرم مادهٔ موثره در هکتار تعیین گردید. همچنین این پارامتر در فرمولاسیون امولسیون تریفلورالین در کنترل دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز به‌ترتیب ۰/۵۵ و ۰/۶۴ کیلوگرم مادهٔ موثره در هکتار و در فرمولاسیون میکروکپسول به‌ترتیب ۰/۵۲ و ۰/۵۶ کیلوگرم مادهٔ موثره در هکتار برآورد شد. شاخص پتانسیل نسبی ای‌پی‌تی‌سی در کنترل دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز به‌ترتیب ۱/۵۷ و ۱/۳۹ و در علف‌کش تریفلورالین به‌ترتیب ۱/۰۵ و ۱/۱۴ تعیین گردید. بدین لحاظ می‌توان با استفاده از پوشش پلیمری ضمن افزایش کارایی علف‌کش‌ها تا حدود زیادی از مقادیر مصرفی کاست.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل نسبی، دُز پاسخ، رهاسازی‌کنترل‌شده

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری علوم علف‌های‌هرز و استادان گروه اگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: e-izadi@um.ac.ir)
۴- استاد گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد
۵- استاد بخش تحقیقات علف‌های هرز، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران، ایران

https://doi.org/10.22067/jpp.2021.32596.0

مقدمه

نقش فناوری‌های رهاسازی کنترل شده در راستای بهینه‌سازی رسانش آفت‌کش‌ها برجسته بوده و ابزار منحصر به فردی را برای دستکاری فرمولاسیون آفت‌کش‌ها توسط شرکت‌های تولیدکننده سموم شیمیایی فراهم نموده است. میکروکپسول یکی از این نوع فرمولاسیون‌ها است که مادهٔ موثره در یک لایه ماکرو مولکول محبوس شده است. این فرمولاسیون برای رهاسازی یکنواخت علف‌کش در دوره زمانی طولانی‌تر با آستانه حداقل غلظت مؤثر بر علف‌هرز طراحی شده است. مزایای فرمولاسیون میکروکپسول عبارتند از: رهاسازی کنترل شده مادهٔ مؤثره، کاهش مقدار علف‌کش مصرفی، کارایی بهتر علف‌کش، کاهش روند کند شدن فعالیت مادهٔ مؤثره، کاهش بروز مقاومت، کاهش تلفات علف‌کش، امکان اختلاط آفت‌کش‌ها بخصوص ترکیبات ناسازگار، کاهش گیاهسوزی، کاهش خطرات علف‌کش برای سلامت انسان، شستشوی راحت‌تر سمپاش، کاهش بوی نامطبوع، حذف برخی از حلال‌ها و بهبود حمل و نقل علف‌کش‌ها (Cobb and Reade, 2010; Bernards *et al*., 2006; Ueji and Inao, 2001; Wilkins, 2003; Zand *et al*. and Zhang *et al*., 2016). در حالی‌که این مزیت‌ها از سال ۱۹۴۸ شناخته شده، ولیکن توسعه و گسترش آن در حوزه کشاورزی کندتر بوده است به‌طوری‌که اولین فرمولاسیون میکروکپسول در سال ۱۹۷۴ به بازار عرضه شد (Wilkins, 2003) و از آن تاریخ به بعد در صنعت، بهداشت، کشاورزی و دامپزشکی استفاده گردید (Li *et al*., 2016; Matthews, 2000; Meredith *et al*., 2016 and Wilkins, 2003). تنها ۳۷ مورد از ۹۰۸ مورد آفت‌کش با بهره‌گیری از این تکنولوژی تولید شده است (Hack *et al*., 2012). کشش کم بازار برای آفت‌کش‌هایی با این نوع فرمولاسیون می‌تواند بدلیل هزینه‌های بالای تکنولوژی‌های جدید تولید چنین محصولاتی باشد. وضع قوانین توسط سازمان‌هایی همچون سازمان حفاظت محیطزیست و افزایش محدودیت در تعداد و مصرف آفت‌کش‌ها و عرضه کمتر ترکیبات مؤثرهٔ جدید به بازار و از سوی دیگر کند و هزینه‌بر بودن ثبت آفت‌کش‌ها موجب شده است تا انتقال مطلوب آفت‌کش‌ها مورد توجه مجدد قرار گیرد و سود فرمولاسیون‌هایی با رهاسازی کنترل شده به هزینه‌های آن رجحان یابد (Wilkins, 2003).

برخی از مصرف‌کنندگان به فقدان دوام و پایداری برخی از علف‌کش‌های خانواده دی‌نیتروآنیلین با فرمولاسیون رایج امولسیون اشاره داشته‌اند (Parochetti and Kennedy and Talbert, 1977; Dec, 1978 and Savage, 1978) در حالی که مطالعات نشان داده است که فرمولاسیون رهاسازی کنترل شده علف‌کش تریفلورالین دارای فعالیت علف‌کشی هم تراز و یا بیشتر از مصرف دو برابر فرمولاسیون امولسیون بوده است. بطور مثال کاربرد فرمولاسیون‌های میکروکپسول تریفلورالین در مقادیر ۱/۱ و ۲/۲ کیلوگرم در هکتار در هفته دوم پس از کاربرد دارای فعالیت مساوی یا بیشتر از فرمولاسیون امولسیون به ترتیب در مقادیر ۲/۲ و ۴/۴ کیلوگرم در هکتار بوده است (Coffman and Gentner, 1980). فرمولاسیون میکروکپسول تریفلورالین موجب کنترل طولانی‌تر علف‌های‌هرز گرامینه یکساله شده و تبخیر کمتری نسبت به فرمولاسیون امولسیون داشته است.

فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش آلاکلر نسبت به فرمولاسیون امولسیون کنترل بهتری بر روی علف‌های‌هرز سوروف[1]، علف‌انگشتی[2] و ارزن در گیاهان زراعی ذرت[3] و سویا[4] نشان داده است (Doub *et al*., 1988). فرمولاسیون میکروکپسول استوکلر می‌تواند به طور ایمن و موثری علف‌های‌هرز پنبه[5] را تحت کنترل قرار دهد به طوری که موجب کنترل علف‌های‌هرز مرغ خوشه سرخ[6] و علف‌انگشتی به ترتیب ۹۱ و ۱۰۰ درصد گردید (Cahoon *et al*., 2015). در بررسی انجام شده توسط وسیلاکوگلو و همکاران (Vasilakoglou *et al*., 2001) از نظر بیولوژیکی کاربرد فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش‌های آلاکلر و استوکلر در مقایسه با فرمولاسیون امولسیون باقیمانده کمتری در محلول خاک و نیز آبشویی کمتری داشت. همچنین فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش کلومازون با هدف کاهش تبخیر و جابجایی به محل غیر هدف در بازار مصرف توسعه یافته است (Monaco *et al*., 2002).

در تحقیق انجام شده توسط داب و همکاران (Doub *et al*., 1988) به نقش رطوبت بر نفوذپذیری یا تخریب دیواره میکروکپسول علف‌کش آلاکلر اشاره شده است. به طوری که کاربرد فرمولاسیون میکروکپسول آلاکلر در خاک خشک کارآیی بیشتری در کنترل علف‌هرز ارزن پاییزه[7] نسبت به کاربرد در خاک مرطوب داشت. همچنین در بررسی انجام شده توسط پترسن و شای (Petersen and Shea, 1989) بر روی میکروکپسول پلی‌آمیدی آلاکلر نشان داده شد که اولین شکل آزادسازی این علف‌کش از طریق انتشار است، نرخ انتشار به شیب غلظت علف‌کش، میزان املاح موجود در میکروکپسول و محلول آبی اطراف بستگی داشت.

علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین برای اولین بار در ایران طی فرآیندهای تخصصی با قرار دادن پوشش یا ماتریکس حفاظتی پلیمری، به ذرات کروی و یا در مواردی نامنظم با قطر حدوداً ۱۵ تا

1- *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.
2- *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.
3- *Zea mays* L.
4- *Glycine max* L.
5- *Gossypium herbaceum* L.
6- *Eleusine indica* (L.) Gaertn.
7- *Panicum dichotomiflorum* Michx.

۵۰ میکرومتر تبدیل گردیدند. فرمولاسیون میکروکپسول ساخته شده دارای پوشش یا ماتریکس حفاظتی از جنس متیل متااکریلات[1] بوده و با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی ذرات میکروکپسول به صورت تک و یا چند هسته‌ای دیده شدند (نتایج منتشر نشده است).

با توجه به موارد اشاره شده این پژوهش با هدف بررسی نقش فرمولاسیون‌هایی با رهاسازی کنترل شده بر کارایی علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین در کنترل علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز در شرایط گلخانه به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی کارایی فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین (سنتز شده برای اولین بار در ایران)، دو آزمایش مجزا فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. این آزمایش در شرایط گلخانه در گلدان‌هایی به ابعاد ۱۹×۱۵ سانتی‌متر در گلخانهٔ تحقیقاتی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش (مازندران- بهشهر) واقع در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۳ درجه و ۴۴ دقیقه شرقی و با ارتفاع ۱۴ متر از سطح دریا در فروردین ماه سال ۱۳۹۳ انجام گرفت. در این بررسی اثرات نوع فرمولاسیون در دو سطح میکروکپسول و امولسیون[2] و مقدار کاربرد علف‌کش در پنج سطح صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد مادهٔ موثره (۰، ۱/۲۳، ۲/۴۶، ۳/۶۹ و ۴/۹۲ کیلوگرم مادهٔ موثره علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی در هکتار و ۰، ۰/۳، ۰/۶، ۰/۹ و ۱/۲ کیلوگرم مادهٔ موثره علف‌کش تریفلورالین در هکتار به‌ترتیب معادل ۰، ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۶ لیتر در هکتار علف‌کش ارادیکان و ۰، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۱/۸۷۵ و ۲/۵ لیتر در هکتار علف‌کش ترفلان) بر روی تغییرات تعداد دانهال (درصد بقاء) علف‌های‌هرز غالب مزرعه دم‌روباهی‌سبز[3] و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز[4] مورد بررسی قرار گرفت. خاک از مزرعه تحقیقاتی مرکز (جدول ۱) به گلخانه منتقل و پس از پر نمودن گلدان‌ها، بذور علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز از هر یک به مقدار ۰/۱۲ گرم اضافه گردید. پیش از انجام آزمایش ابتدا قوه نامیه بذور علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز بررسی گردید و با شیوه سرمادهی اقدام به شکستن خواب بذور تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز گردید.

مقادیر کاربرد علف‌کش‌ها بر اساس سطح گلدان محاسبه شد. محلول علف‌کش بر روی سطح خاک پخش شده و کاملاً با عمق هفت تا ده سانتی‌متری خاک مخلوط گردید. شرایط دمایی گلخانه ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد با طول روز ۱۴ ساعت تنظیم گردید. آبیاری گلدان‌ها به طور یکنواخت از سطح گلدان انجام شد. میزان آبیاری به حدی نبود که آب از انتهای گلدان خارج شود. ۱۸ روز پس از کاربرد علف‌کش، تعداد دانهال و وزن‌تر علف‌های‌هرز ثبت گردید. در این آزمایش به دلیل وزن ناچیز علف‌های‌هرز، تأثیر تیمارها تنها بر تغییرات درصد بقاء آنها مورد بررسی قرار گرفت.

پاسخ علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز به تیمارها پس از انجام آزمون نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس توسط نرم‌افزار SAS 9.1 (Institute, SAS, 2002) و تجزیه رگرسیون غیرخطی در محیط نرم‌افزار $R_{3.4.1}$ (Team, 2017) و با استفاده از بسته نرم‌افزاری DRC (Ritz *et al.*, 2015) مورد سنجش قرار گرفت. داده‌ها بر اساس شاخص‌های آماری آکیاک[5]، خطای استاندارد باقیمانده[6] و آزمون فقدان برازش[7]، با استفاده از روابط سه پارامتری ویبول[8] (معادله ۱) و لگاریتم لجستیک[9] (معادله ۲) برازش داده شد.

$$y = d^{\left(\frac{1}{b(log(x)-log(e))}\right)}$$ معادله (۱)

$$y = \frac{d}{1+exp(b(log(x)-log(ED_{50})))}$$ معادله (۲)

در معادلات فوق y، بیانگر درصد بقاء علف‌های‌هرز، d حد مجانب بالا و یا به عبارتی حداکثر درصد بقاء در مقدار صفر علف‌کش، b شیب منحنی در نقطهٔ عطف، e نقطهٔ عطف و ED_{50} مقدار علف‌کش لازم (x) برای کاهش ۵۰ درصدی مقدار بقاء است. همچنین با استفاده از رابطه‌های مذکور مقادیر ED_{10}، ED_{50} و ED_{90} علف‌کش‌ها برآورد گردید.

پتانسیل نسبی علف‌کش (R) با استفاده از معادله (۳) و تقسیم مقادیر علف‌کش لازم از فرمولاسیون امولسیون (EC) و میکروکپسول (MC) برای کاهش ۵۰ درصدی بقاء علف‌هرز تعیین شد. در صورتی که پتانسیل نسبی برابر یک باشد، دو فرمولاسیون دارای کارایی یکسان است و در صورتی که پتانسیل نسبی بزرگتر و یا کوچکتر از یک باشد، فرمولاسیون دوم (مخرج کسر) نسبت به فرمولاسیون اول به‌ترتیب دارای کارایی بیشتر و یا کمتر است (Nielsen *et al*, 2004).

$$R = \frac{ED_{50}(EC)}{ED_{50}(MC)}$$ معادله (۳)

1- Methyl methacrylate
2- Eradicane (EPTC EC 82%) and Treflan (Trifluralin EC 48%)
3- *Setaria viridis* L.
4- *Amaranthus retroflexus* L.
5- Akaike's information criterion
6- Residual standard error
7- Lack-of-fit test
8- Weibull
9- Log logistic

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

Table 1- The physical and chemical characteristics of the experimental field soil

عمق Depth (cm)	هدایت الکتریکی EC (dS.m^{-1}))	اسیدیته pH	نیتروژن Nitrogen (percent)	فسفر Phosphorus (PPM)	پتاسیم Potassium (mg.kg^{-1})	رس Clay (percent)	سیلت Silt (percent)	شن Sand (percent)
0-30	0.36	7.66	0.09	12.1	242	14	18	68

نتایج و بحث

علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی بر درصد بقاء علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز در سطح یک درصد معنی‌دار شد. نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش تریفلورالین اثر معنی‌داری ($P\leq۰/۰۱$) بر درصد بقاء علف‌هرز دم‌روباهی‌سبز داشت. همچنین اثر متقابل نوع فرمولاسیون و مقدارکاربرد علف‌کش تریفلورالین بر درصد بقاء علف‌هرز تاج خروس در سطح آماری پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲).

با توجه به منحنی‌های پاسخ علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز به مقدار علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی، صرف نظر از نوع فرمولاسیون با افزایش مقدار کاربرد علف‌کش درصد بقاء به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین با کاربرد فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی منحنی پاسخ به سمت چپ جابجا شد (شکل ۱). این نتیجه بیانگر آن است که کاربرد فرمولاسیون میکروکپسول موجب افزایش کارایی علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی در کنترل علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز گردید به‌نحوی‌که برای کاهش ۱۰، ۵۰ و ۹۰ درصدی تعداد علف‌هرز دم‌روباهی‌سبز به‌ترتیب به ۰/۷۲، ۲/۹۴ و ۷/۱۸ کیلوگرم مادهٔ موثره در هکتار از فرمولاسیون امولسیون علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی نیاز است در حالی که در فرمولاسیون میکروکپسول این مقادیر به‌ترتیب به ۰/۴۱، ۱/۸۷ و ۴/۸۹ کیلوگرم مادهٔ موثره در هکتار کاهش یافت. همچنین برای کاهش ۱۰، ۵۰ و ۹۰ درصدی تعداد علف‌هرز تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز به ترتیب به ۱/۰۸، ۳/۲۹ و ۱۰/۰۲ کیلوگرم مادهٔ موثره در هکتار از فرمولاسیون امولسیون علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی نیاز است در حالی‌که در فرمولاسیون میکروکپسول این مقادیر به‌ترتیب به ۰/۵۷، ۲/۳۶ و ۹/۶۷ کیلوگرم مادهٔ موثره در هکتار کاهش یافت (جدول ۳). بر اساس نتایج شاخص پتانسیل نسبی، کاربرد فرمولاسیون میکروکپسول ای‌پی‌تی‌سی کارایی این علف‌کش را در کنترل علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز در مقایسه با فرمولاسیون امولسیون به‌ترتیب ۱/۵۷ و ۱/۳۹ برابر بهبود داد. به بیان ساده‌تر کاربرد یک گرم مادهٔ مؤثره فرمولاسیون میکروکپسول معادل ۱/۵۷ و ۱/۳۹ گرم مادهٔ مؤثره این علف‌کش در فرم امولسیون به‌ترتیب برای کاهش درصد بقاء علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز می‌باشد (جدول ۳).

بدین لحاظ به‌نظر می‌رسد فرمولاسیون میکروکپسول موجب رهاسازی تدریجی علف‌کش و افزایش کارایی گردیده است. افزایش و بهبود کارایی فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش‌ها در مطالعات قبل نیز به اثبات رسیده است. محققانی همچون لی و نیکلسون (Lee and Nicholson, 1991) با میکروکپسول نمودن علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و ورنولیت به‌طور معنی‌داری تبخیر مادهٔ مؤثره این سموم را کاهش دادند و توانستند علف‌کش را بدون اختلاط با خاک بکار برده و یا اختلاط را به تأخیر اندازند. همچنین کاربرد فرمولاسیون میکروکپسول استوکلر موجب افزایش دوره زمانی کنترل علف‌های‌هرز گردید (Scher *et al.*, 1998). شریبر و همکاران (Schreiber *et al.*, 1978) بیان داشتند که فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و بوتیلات در مقایسه با فرمولاسیون امولسیون آهسته‌تر در محیط رها شده و فعالیت علف‌کشی طولانی‌تری را نشان دادند. طی سه سال آزمایش مشخص شد که فرمولاسیون میکروکپسول آلاکلر کارایی بالاتری در کنترل علف‌هرز دم‌روباهی‌کبیر[1] نسبت به فرمولاسیون امولسیون داشت (Doub *et al.*, 1988). در گزارش دیگر نیز کاربرد پیش رویشی فرمولاسیون میکروکپسول آلاکلر و ای‌پی‌تی‌سی موجب کنترل مناسب علف‌های‌هرز گرامینه یکساله شده است (Ritter *et al.*, 1989).

نتایج پاسخ درصد بقاء علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز به کاربرد فرمولاسیون‌های مختلف علف‌کش تریفلورالین در منحنی‌های شکل ۲، بیانگر آن است که با افزایش مقدار کاربرد علف‌کش در هر دو فرمولاسیون درصد بقاء این علف‌های‌هرز به‌طور معنی‌دار کاهش می‌یابد. هر چند که فرمولاسیون میکروکپسول بسته به مقدار کاربرد اثرات متفاوتی بر علف‌های‌هرز داشت به‌طوری‌که در مقادیر کمتر کاربرد این علف‌کش اثر آن کاسته شده و در مقادیر بالاتر به کارایی این علف‌کش افزوده شد. به‌نحوی‌که برای کاهش ۱۰، ۵۰ و ۹۰ درصدی تعداد علف‌هرز دم‌روباهی‌سبز به ترتیب به ۰/۱۴، ۰/۵۵ و ۱/۲۷ کیلوگرم مادهٔ موثره در هکتار از

1- *Setaria faberi* Herrm.

فرمولاسیون امولسیون و ۰/۱۹، ۰/۵۲ و ۰/۹۸ کیلوگرم مادهٔ موثره در هکتار از فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش تریفلورالین نیاز است و برای کاهش ۱۰، ۵۰ و ۹۰ درصدی تعداد علف‌هرز تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز به‌ترتیب به ۰/۲۰، ۰/۶۴ و ۲/۰۲ کیلوگرم مادهٔ موثره در هکتار از فرمولاسیون امولسیون و ۰/۲۶، ۰/۵۶ و ۱/۱۹ کیلوگرم مادهٔ موثره در هکتار از فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش تریفلورالین نیاز است (جدول ۴).

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین بر درصد بقاء دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز

Table 2- Analysis of variance the effects of formulation and dose of EPTC and trifluralin herbicides on green foxtail and redroot pigweed survival

منابع تغییر Sources of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square			
		علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی EPTC herbicide		علف‌کش تریفلورالین Trifluralin herbicide	
		دم‌روباهی‌سبز Green foxtail	تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز Redroot pigweed	دم‌روباهی‌سبز Green foxtail	تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز Redroot pigweed
بلوک Block	2	23.98*	34.97 n.s	0.33 n.s	26.33*
فرمولاسیون (A) Formulation (A)	1	252.95**	302.55**	173.27**	7.56 n.s
مقدار کاربرد علف‌کش (B) Herbicide dose (B)	4	592.23**	928.48**	900.30**	830.47**
A × B	4	5.10 n.s	8.45 n.s	2.61 n.s	19.22*
خطا Error	18	4.41	15.91	9.11	5.16
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)		13	15	19	12

n.s، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

n.s, * and **: non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۳- پارامترهای برآورد شده حاصل از تجزیه رگرسیونی غیرخطی داده‌های درصد بقاء علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز در پاسخ به نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی به‌ترتیب با استفاده از رابطه‌های ویبول و لجستیک

Table 3- Estimated parameters from nonlinear regression of green foxtail and redroot pigweed survivals with formulation and dose of EPTC herbicide by weibull and logistic equations, respectively

علف‌های‌هرز Weed	فرمولاسیون Formulation	پارامتر Parameter			کیلوگرم ماده موثره در هکتار Kg a.i.ha^{-1}			$R_{\frac{(EC)}{(MC)}}$
		b	d	e	ED10	ED50	ED90	
دم‌روباهی‌سبز Green foxtail	EC	1.34 (0.17)	100.96 (3.75)	3.86 (0.22)	0.72 (0.16)	2.94 (0.19)	7.18 (0.72)	1.57
	MC	1.25 (0.15)	99.90 (3.89)	2.51 (0.16)	0.41 (0.10)	1.87 (0.15)	4.89 (0.42)	
تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز Redroot pigweed	EC	1.97 (0.37)	100.08 (4.85)	-	1.08 (0.27)	3.29 (0.28)	10.02 (2.01)	1.39
	MC	1.56 (0.26)	100.09 (5.03)	-	0.57 (0.17)	2.37 (0.26)	9.67 (2.12)	

d حداکثر درصد بقاء در مقدار صفر علف‌کش، e نقطهٔ عطف، b شیب منحنی در نقطهٔ عطف، EC و MC به ترتیب فرمولاسیون‌های امولسیون و میکروکپسول

اعداد داخل پرانتز خطای استاندارد می‌باشد.

d= the maximum of survival at zero herbicide, e= infection point and b= curved slope at infection point, EC = Emulsifiable Concentrate, MC= Microcapsule formulations. Standard errors are in parenthesis.

جدول ٤- پارامترهای برآورد شده حاصل از تجزیه رگرسیونی غیرخطی داده‌های درصد بقاء علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز در پاسخ به نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش تریفلورالین به ترتیب با استفاده از رابطه‌های ویبول و لگاریتم لجستیک

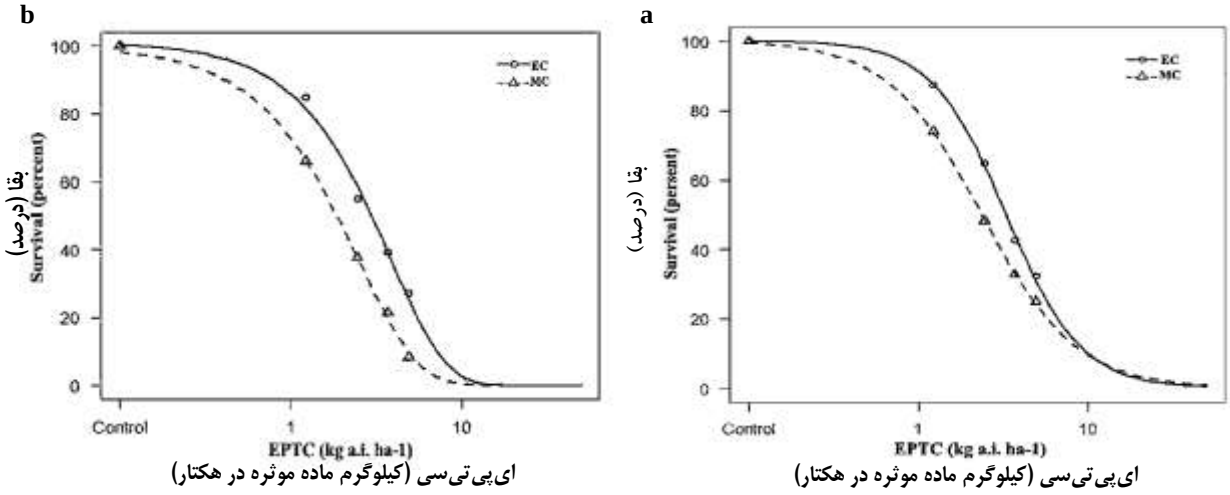
Table 4- Estimated parameters from nonlinear regression of green foxtail and redroot pigweed survivals with formulation and dose of trifluralin herbicide by weibull and logistic equations, respectively

علف‌های‌هرز Weed	فرمولاسیون Formulation	پارامتر Parameter			کیلوگرم ماده موثره در هکتار Kg a.i.ha^{-1}			R $\frac{(EC)}{(MC)}$
		b	d	e	ED_{10}	ED_{50}	ED_{90}	
دم‌روباهی‌سبز Green foxtail	EC	1.44 (0.23)	100.48 (5.30)	0.71 (0.05)	0.14 (0.04)	0.55 (0.05)	1.27 (0.13)	1.05
	MC	1.91 (0.32)	100.35 (5.25)	0.64 (0.04)	0.19 (0.04)	0.52 (0.04)	0.98 (0.08)	
تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز Redroot pigweed	EC	1.92 (0.31)	98.89 (4.73)	-	0.20 (0.05)	0.64 (0.06)	2.02 (0.32)	1.14
	MC	2.89 (0.41)	100.43 (4.43)	-	0.26 (0.04)	0.56 (0.04)	1.19 (0.11)	

d حداکثر درصد بقاء در مقدار صفر علف‌کش، e نقطهٔ عطف، b شیب منحنی در نقطهٔ عطف، EC و MC به ترتیب فرمولاسیون‌های امولسیون و میکروکپسول اعداد داخل پرانتز خطای استاندارد می‌باشد.

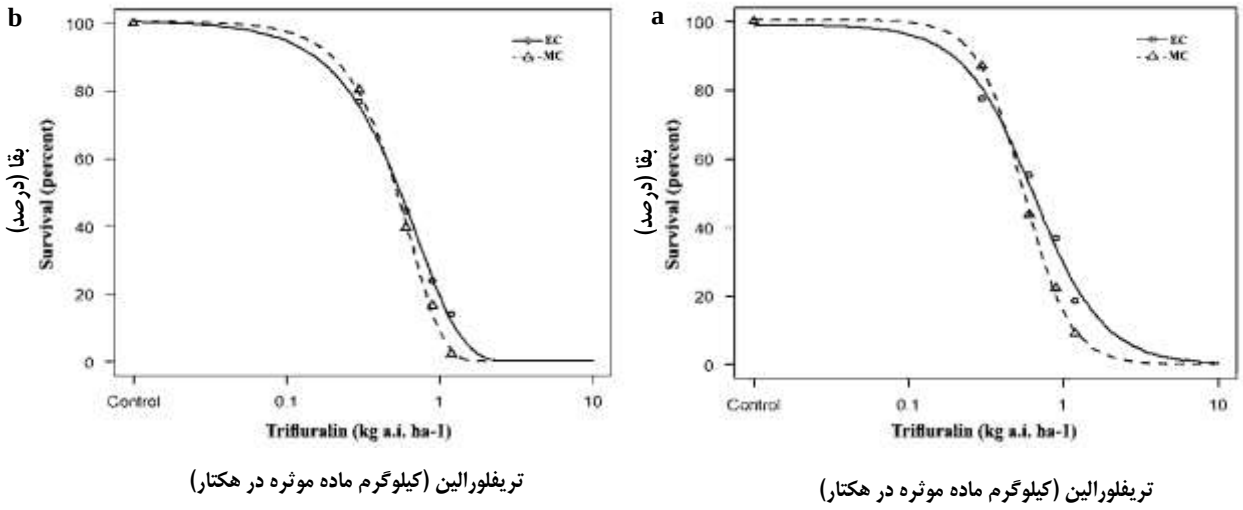
d= the maximum of survival at zero herbicide, e= infection point and b= curved slope at infection point, EC = Emulsifiable Concentrate, MC= Microcapsule formulations. Standard errors are in parenthesis.

بر اساس نتایج شاخص پتانسیل نسبی، کاربرد فرمولاسیون میکروکپسول تریفلورالین کارایی این علف‌کش را در کنترل علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز در مقایسه با فرمولاسیون امولسیون به‌ترتیب ۱/۰۵ و ۱/۱۴ برابر بهبود داد. به بیان ساده‌تر کاربرد یک گرم مادهٔ مؤثره فرمولاسیون میکروکپسول معادل ۱/۰۵ و ۱/۱۴ گرم مادهٔ مؤثره این علف‌کش در فرم امولسیون به ترتیب برای کاهش درصد بقاء علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز می‌باشد (جدول ۴). کاهش کارایی در مقادیر پایین به‌نظر می‌رسد به دلیل حبس علف‌کش در ذرات میکروکپسول و عدم تأمین آستانه حداقل غلظت برای کنترل علف‌های‌هرز باشد. از سوی دیگر با توجه به کاهش برخی از عوامل مؤثر بر هدر رفت علف‌کش تریفلورالین در شرایط گلخانه همچون تجزیه نوری بدلیل تأمین نور مصنوعی، ممکن است نقش فرمولاسیون میکروکپسول در کاهش تلفات علف‌کش کم رنگ شده باشد. در صورتی‌که در مقادیر بالاتر، بدلیل آزاد سازی تدریجی و تأمین آستانه حداقل غلظت علف‌کش در خاک کارایی این فرمولاسیون بیش از امولسیون بود.



شکل ۱- منحنی‌های پاسخ به نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی مربوط به درصد بقاء علف‌هرز دم‌روباهی‌سبز (a) و علف‌هرز تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز (b)

Figure 1- Dose response curves of green foxtail (a) and redroot pigweed (b) to emulsifiable concentrate (EC) and microcapsule (MC) formulations of EPTC herbicide



شکل ۲- منحنی‌های پاسخ به نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش تریفلورالین مربوط به درصد بقاء علف‌هرز دم‌روباهی‌سبز (a) و علف‌هرز تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز (b)

Figure 2- Dose response curves of green foxtail (a) and redroot pigweed (b) to emulsifiable concentrate (EC) and microcapsule (MC) formulations of trifluralin herbicide

با توجه به مطالب ارایه شده، همانطور که محققانی همچون پترسن و شی (Petersen and Shea, 1989)، کارتر (Carter, 2000)، داریسانک و همکاران (Dhareesank *et al.*, 2006)، ژرسیک و همکاران (Jursik *et al.*, 2015) و فوگلمن و همکاران (Fogleman *et al.*, 2018) در مطالعات خود اشاره نمودند به‌نظر می‌رسد بتوان این روند را به تعامل فرمولاسیون میکروکپسول، نوع علف‌کش و شرایط محیطی تأثیرگذار بر رفتار علف‌کش مرتبط دانست.

مطالعات قبلی نشان داده است که در فرمولاسیون‌های متداول برخلاف فرمولاسیون میکروکپسول، مادهٔ موثره در یک زمان و به طور کامل در محیط قرار گرفته می‌شود (Sopena *et al.*, 2009 and Wilkins, 2003). ویلسون (Wilson, 2003) در بررسی‌های خود نشان داد که فرمولاسیون میکروکپسول موجب افزایش کارایی علف‌کش دایکامبا گردید اما در مقایسه با فرمولاسیون انحلال در آب اثرات علف‌کشی دیرتر ظاهر شد. در فرمولاسیون میکروکپسول افزایش انتشار علف‌کش از غشای پلیمری موجب جبران تلفات ناشی از تجزیه علف‌کش در اثر افزایش دما خواهد شد. در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۱۵ درصد، نیمه عمر فرمولاسیون امولسیون علف‌کش‌های آلاکلر و استوکلر در حدود ۳۵ روز بود در حالی‌که نیمه عمر فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش‌های آلاکلر و استوکلر به ۵۶ روز افزایش یافت. بعبارتی دما و رطوبت اثرات کمتری بر تجزیه علف‌کش‌هایی با فرمولاسیون میکروکپسول نسبت به فرمولاسیون امولسیون داشتند (Petersen *et al.*, 1988). در سری‌های زمانی ابتدایی آزمایش زیست‌سنجی، فرمولاسیون امولسیون نسبت به فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش تریفلورالین گیاهسوزی بیشتری برروی گیاه چچم[1] مشاهده شد (Coffman and Gentner, 1984).

همان طور که در بالا به‌طور مبسوط ذکر گردید به نظر می‌رسد این روند را بتوان به تعامل فرمولاسیون میکروکپسول، نوع علف‌کش و شرایط محیطی تأثیرگذار بر رفتار علف‌کش مرتبط دانست. در مجموع نتایج نشان داد که کاربرد فرمولاسیون میکروکپسول موجب افزایش کارایی این علف‌کش گردیده است. افزایش و بهبود کارایی فرمولاسیون میکروکپسول در مطالعات قبل نیز در این راستا است. به طور مثال بررسی‌ها نشان داده است که فرمولاسیون رهاسازی کنترل شده علف‌کش تریفلورالین دارای فعالیت علف‌کشی هم تراز و یا بیشتر از مصرف دو برابر فرمولاسیون امولسیون بوده است (Coffman and Gentner, 1984). فرمولاسیون میکروکپسول تریفلورالین موجب کنترل طولانی‌تر علف‌های‌هرز گرامینه یکساله شده و تبخیر کمتری نسبت به فرمولاسیون امولسیون داشته است (Doub *et al.*, 1988). در ادامه این آزمایش، نتایج بررسی‌های مزرعه‌ای نشان داد که از نظر آماری کاربرد ۵۰ درصد دُز توصیه شده فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش تریفلورالین از اثر کنترل‌کننده مشابه کاربرد ۷۵ درصد و افزایش عملکرد هم سطح کاربرد ۱۰۰ درصد فرمولاسیون امولسیون برخوردار بوده است (نتایج منتشر نشده است).

1- *Lolium multiflorum* Lam.

نتیجه‌گیری

هدف از کاربرد فرمولاسیون‌هایی با رهاسازی کنترل‌شده، آزادسازی تدریجی علف‌کش‌ها در مقدار مناسب و با حفظ کارآیی در شرایط زراعی است. این نوع فرمولاسیون‌ها ترکیبی از مادهٔ مؤثرهٔ علف‌کش و مواد همراه است که با توجه به مقدار لازم برای کنترل علف‌های‌هرز، مادهٔ موثرهٔ را در یک دوره زمانی مشخص رهاسازی می‌کنند. نتایج این بررسی گویای آن است که فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین موجب افزایش کارایی و کاهش مقدار مصرف گردید هر چند که در شرایط اجرای آزمایش، تأثیر فرمولاسیون میکروکپسول بر افزایش کارایی علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی مشهودتر بود. به‌طوری‌که کارایی نسبی فرمولاسیون‌ها در کنترل علف‌های‌هرز دم‌روباهی‌سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز در علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی به‌ترتیب ۱/۵۷ و ۱/۳۹ و در علف‌کش تریفلورالین به‌ترتیب ۱/۰۵ و ۱/۱۴ برآورد گردید.

منابع

1. Bernards, M.L., Simmons, J.T., Guza, C.J., Schulz, C.R., Penner, D., & Kells, J.J. (2006). Inbred corn response to acetamide herbicides as affected by safeners and microencapsulation. *Weed Technology, 20*, 458-465. https://doi.org/10.1614/WT-05-130R.1
2. Cahoon, C.W., York, A.C., Jordan, D.L., Everman, W.J., Seagroves, R.W., Braswell, L.R., & Jennings, K.M. (2015). Weed control in cotton by combinations of microencapsulated acetochlor and various residual herbicides applied preemergence. *Weed Technology, 29*(4): 740-750**.** https://doi.org/10.1614/WT-D-15-00061.1
3. Carter, A.D. (2000). Herbicide movement in soils: Principles, pathways and processes. *Weed Research, 40*, 113-122. https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2000.00157.x
4. Cobb, A.H., & Reade, P.H. (2010). *Herbicide and plant physiology*. 2th edn. Wiley-Blackwell, 296Pp. https://doi.org/10.1002/9781444327793
5. Coffman, C.B., & Gentner, W.A. (1980). Persistence of several controlled release formulations of trifluralin in greenhouse and field. *Weed Science, 28*(1), 21-23. https://doi.org/10.1017/S0043174500027697
6. Coffman, C.B., & Gentner, W.A. (1984). Herbicidal activity of controlled release formulations of trifluralin. *Indian Journal Agricultural Science, 54*(2), 117-122. http://www.jstor.org/stable/4044606
7. Dhareesank, A.M., Kobayashi, K., & Usui, K. (2006). Residual phytotoxic activity of pethoxamid in soil and its concentration in soil water under different soil moisture conditions. *Weed Biology and Management, 6*, 50-54. http://dx.doi.org/10.1111/j.1445-6664.2006.00195.x
8. Doub, J.P., Wilson, H.P., & Hatzios, K.K. (1988). Comparative efficacy of two formulations of alachlor and metolachlor. *Weed Science, 36*, 221-226. https://www.jstor.org/stable/3989325
9. Doub, J.P., Wilson, H.P., Hines, T.E., & Hatzios, K.K. (1988). Consecutive annual applications of alachlor and metolachlor to continuous no-till Corn (*Zea mays*). *Weed Science, 36*(3), 340-344.
10. Fogleman, M., Norsworthy, J.K., Barber, T., & Gbur, E. (2018). Influence of formulation and rate on rice tolerance to early-season applications of acetochlor. *Weed Technology, 33*(2), 239-245. https://doi.org/10.1017/wet.2018.98
11. Hack, B., Egger, H., Uhlemann, J., Henriet, M., Wirth, W., Vermeer, A.W.P., & Duff, D.G. (2012). Advanced Agrochemical Formulations through Encapsulation Strategies? *Chemie Ingenieur Technik, 84*(3), 223-234. https://doi.org/10.1002/cite.201100212
12. Institute, SAS. (2002). *The SAS system for windows*. Release 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC 27513, USA.
13. Jursik, M., Soukup, J., Holec, J., Andr, J., & Hamouzova, K. (2015). Efficacy and selectivity of pre-emergent sunflower herbicides under different soil moisture conditions. *Plant Protection Science, 51*, 214-222. https://doi.org/10.17221/82/2014-PPS
14. Kennedy, J.M., & Talbert, R.E. (1977). Comparative persistence of dinitroaniline type herbicides on the soil surface. *Weed Science, 25*, 373-381. https://doi.org/10.1017/S0043174500033695
15. Lee, F.T.H., & Nicholson, P. (1991). International patent WO 96/14743.
16. Li, D., Liu, B., Yang, F., Wang, X., Shen, H., & Wu, D. (2016). Preparation of uniform starch microcapsules by premix membrane emulsion for controlled release of avermectin. *Carbohydrate Polymers, 136*, 341–349. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.050
17. Matthews, G.A. (2000). *Pesticide application methods*. 3th edn. Blackwell Sci. Ltd. 432 Pp. https://doi.org/10.1002/9780470760130
18. Meredith, A.N., Harper, B., & Harper, S.L. (2016). The influence of size on the toxicity of an encapsulated pesticide: a comparison of micron- and nano-sized capsules. *Environment International, 86*, 68–74. https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.10.012
19. Monaco, T.J., Weller, S.C., & Ashton, F.M. (2002). *Weed science: principles and practices*. 4th edn. Wiley-Blackwell, 688 Pp.
20. Nielsen, O.K., Ritz, C.H., & Streibig, J.C. (2004). Nonlinear mixed model regression to analyze herbicide dose-response relationships. *Weed Technology, 18*, 30-37. https://doi.org/10.1614/WT-03-070R1

21. Parochetti, J.V., & Dec, G.W. (1978). Photodecomposition of eleven dinitroaniline herbicides. *Weed Science, 26*(2), 153-156. https://www.jstor.org/stable/4042852
22. Petersen, B.B., Shea, P.J., & Wicks, G.A. (1988). Acetanilide activity and dissipation as influenced by formulation and Wheat stubble. *Weed Science*, *36*(2), 243-249. https://doi.org/10.1017/S0043174500074786
23. Petersen, B.B., & Shea, P.J. (1989). Microencapsulated alachlor and its behavior on Wheat (*Triticum aestivum*) straw. *Weed Science*, *37*(5), 719-723. https://www.jstor.org/stable/4045135
24. Ritter, R.L., Kaufman, L.M., Monaco, T.J., Novitzky, W.P., & Moreland, D.E. (1989). Characterization of triazine-resistant Giant foxtail (*Setaria faberi*) and its control in no-tillage Corn (*Zea mays*). *Weed Science, 37*(4), 591-595. https://doi.org/10.3923/ajps.2002.334.336
25. Ritz, C., Baty, F., Streibig, J.C., & Gerhard, D. (2015). Dose-response analysis using R PLOS ONE, 10 (12), e0146021.
26. Savage, K.E. (1978). Persistence of several dinitroaniline herbicides as affected by soil moisture. *Weed Science, 26*, 465-471. https://www.jstor.org/stable/4042903
27. Scher, H.B., Rodson, M., & Lee, K. (1998). Microencapsulation of pesticides by interfacial polymerisation utilizing isocyanate or aminoplast chemistry. *Pesticide Science, 54*, 394-400. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199812)54:4<394::AID-PS829>3.0.CO;2-S
28. Schreiber, M.M., Shasha, B.S., Ross, M.A., Orwick, P.L., & Edgecomb, D.W. (1978). Efficacy and rate of release of EPTC and butylate from starch encapsulated formulations under greenhouse conditions. *Weed Science, 26*, 679-686. https://doi.org/10.1017/S0043174500064821
29. Sopeña, F., Maqueda, C., & Morillo, E. (2009). Controlled release formulations of herbicides based on micro-encapsulation. *Ciencia e Investigacion Agraria, 35*(1), 27-42. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202009000100002
30. Team, R.C. (2017). Homepage of R: A language and environment for statistical computing. https://www.R-project.org, Accessed October 1, 2017.
31. Ueji, M., & Inao, K. (2001). Rice paddy field herbicides and their effects on the environment and ecosystems. *Weed Biology Management, 1*, 71-79. http://dx.doi.org/10.1046/j.1445-6664.2001.00002.x
32. Vasilakoglou, I.B., Eleftherohorinos, I.G., & Dhima, K.B. (2001). Activity, adsorption and mobility of three acetanilide and two new amide herbicides. *Weed Research, 41*, 535-546. https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2001.00256.x
33. Wilkins, R. (2003). *Controlled release formulations of pesticides*. P. 386-398 In Encyclopedia of agrochemicals. John Wiley & Sons Ltd. https://doi.org/10.1002/047126363X
34. Wilson, M. (2003). *Optimising pesticide use*. first edn. John Wiley & Sons Ltd, 214 Pp. https://doi.org/10.1002/0470871792
35. Zand, E., Baghestani, M.A., Mousavi, S.K., Oveisi, M., Ebrahimi, M., Rastgoo, M., & Labafi Hossienzadeh, M.R. (2008). *Weed management handbook*. Mashhad Jehad-e Daneshghahi Publication, (In Persian), 480. Pp.
36. Zhang, D.X., Li, B.X., Zhang, X.P., Zhang, Z.Q., Wang, W.C., & Liu, F. (2016). Phoxim microcapsules prepared with polyurea and urea−formaldehyde resins differ in photostability and insecticidal activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2841-2846. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00231

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 301-314

Influence of Duration of Inter-species Interference and Determination of the Critical Period for Weed Control in Peppermint (*Mentha piperita* L.)

A.H. Ladmakhi-nezhad[1], E. Mohammadvand[2*], J. Asghari[3]

Received: 17-07-2021
Revised: 02-09-2023
Accepted: 05-09-2023
Available Online: 05-09-2023

How to cite this article:
Ladmakhi-nezhad, A.H., Mohammadvand, E., & Asghari, J. (2023). Influence of duration of inter-species interference and determination of the critical period for weed control in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Iranian Plant Protection Research, 37*(3), 301-314. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2023.71514.1035

Introduction

Peppermint (*Mentha piperita*) is considered as one of the oldest medicinal plants. It is herbaceous and perennial belonging to the Lamiaceae family. The production of secondary metabolites in plants is influenced by the environment. Weed competition is of the most effective factors affecting crop yield in medicinal plant production systems, and can influence the quantity and quality of the essence constituents. The extent of crop yield loss depends on presence and competition duration of weeds. A period during the crop growing season in which weeds control is essential to prevent yield loss is called the critical period of weeds control. Respect to the importance of weed presence duration in yield loss, and the variability for critical period of weeds control depending on crop species and cultivar, and characteristics of weeds communities in different areas, and also because of increased interest in medicinal plants production and extraction, and limitation for herbicide application in medicinal plants, it is essential to understand different aspects of weed- peppermint competition. Therefore, the objective of this research was to acquire information about the effects of weed competition duration on peppermint growth and yield, which possibly can lead to integrate various approaches into weed management programs, and improve weed control strategies.

Materials and Methods

This study was conducted as a randomized complete block design with 12 treatments and three replications at research farm of the University of Guilan. Treatments were arranged in two series including weed-free and weed-infested treatments which respectively hand-weeded and un-weeded from the beginning of the growing season up to 16, 32, 48, 64, 80, and 96 days after crop planting. Peppermint cuttings with 6-8 cm height were hand-planted on 50-cm apart rows with 20 cm spacing between plants (density of 10 plants.m^{-2}) on early May. Peppermint plants were hand-harvested 96 days after planting when 50% flowering occurred at the full-season weed-free plot.

Results and Discussion

Dominant weed species included barnyard-grass (*Echinochloa crus-qalli* (L.) Beauv.), yellow foxtail (*Setaria qlauca* (L.) Beauv.), annual nutsedge (*Cyperus difformis* L.), crab-grass (*Digitaria sanquinalis* (L.) Scop), knotgrass (*Paspalum distichum* L.), common cocklebur (*Xanthium strumarium* L.), spurge (*Euphorbia indica*

1, 2 and 3- M.Sc. Graduate, Assistant Professor and Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: mohammadvand@guilan.ac.ir
https://doi.org/10.22067/jpp.2023.71514.1035

Lam.) and redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.). Maximum height of peppermint (71.2 cm) was observed in treatments with at least 32 weed-free and at most 32 weed-infested days from the beginning of the growing season. In the other treatments, final height of peppermint plants reduced by 9.1%. Nod number per stem (22 nodes) was not influenced by weed control or interference. The maximum branch number per plant (37.1) was observed in treatments with at least 32 weed-free and at most 48 weed-infested days. The minimum branch number per plant was observed in the full-season weed-infested treatment (14.6) and also in the treatment that hand weeded just 16 days from the beginning of the growing season (17.6). The maximum dry weight of peppermint at harvest (193.62 $g.m^{-2}$) was observed in treatments with at least 48 weed-free and at most 32 weed-infested days. The minimum dry weight of peppermint was 30.06 $g.m^{-2}$ and belonged to the treatments including at least 64 weed-infested days, and also to the treatment was weed-infested from 16 days after planting up to the end of the growth seaso. Biological yield of peppermint in full-season weed-free treatment was 2044 $kg.ha^{-1}$. For control treatments, weedy condition during 16, 32, 48, 64, and 80 days led to a biological yield loss of 0.3, 3.2, 7.8, 27.9, and 87.2%, respectively, whereas for infested treatments, weedy condition during 16, 32, 48, 64, and 80 days caused 4.8, 15.6, 41.5, 75.1, and 87.7% biological yield loss, respectively. Also 91.3% reduction was recorded for biological yield of full-season un-weeded treatment. The highest percentage and yield of peppermint essence were observed in treatments of 64, 80, and 96-day weed-free (3.38% and 68.30 $kg.ha^{-1}$). The least essence percentage was 0.48% and was recorded for 96-day (full-season) weed-infested treatment. The least essence yield was belonged to 96, 80 and 64-day weed-infested, and 16-day weed-free treatments (4.4 $kg.ha^{-1}$).

Conclusion

In general, the growth and yield of peppermint diminished with decreasing weed-free duration and increasing weed-infested duration. Full-season weed competition compared to the full-season weed-free control, reduced height, branch number, biological yield, essence percentage, and essence yield of peppermint by 13.5, 61.1, 91.3, 86.3, and 98.8%, respectively. These results support the importance of weed management in peppermint, as weeding was necessary from 22 to 49 days after peppermint planting by accepting up to 5% yield loss, and from 29 to 42 days by accepting up to 10% yield loss.

Keywords: Critical period for weed competition, Gompertz equation, Logistic Model, Medicinal plants, Weed management

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷ شماره ۳، پاییز ۱٤۰۲، ص. ۳۱٤-۳۰۱

تأثیر مدت‌زمان تداخل بین‌گونه‌ای و تعیین دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز در نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

امیرحسین لادمخی نژاد[۱]- المیرا محمدوند[۲*]- جعفر اصغری[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۶/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۴

چکیده

این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۲ تیمار شامل وجین علف‌های هرز (تیمارهای عاری از علف‌هرز) و نیز تداخل علف‌های هرز (تیمارهای آلوده به علف‌هرز) طی ۱۶، ۳۲، ۴۸، ۶۴، ۸۰ و ۹۶ روز ابتدای فصل رشد (از زمان کاشت نعناع فلفلی) با سه تکرار اجرا شد. گونه‌های غالب علف‌هرز عبارت از سوروف (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.)، دم‌روباهی زرد (*Setaria glauca* (L.) Beauv.)، اویارسلام یک‌ساله (*Cyperus difformis* L.)، علف خرچنگ (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop)، بندواش (*Paspalum distichum* L.)، توق (*Xanthium strumarium* L.)، فرفیون (*Euphorbia indica* Lam.)، و تاج‌خروس ریشه قرمز (*Amaranthus retroflexus* L.) بودند. در تیمارهایی که ۳۲ تا ۹۶ روز ابتدای فصل رشد عاری از علف‌هرز بودند و نیز تیمارهایی که فقط ۱۶ و یا ۳۲ روز ابتدای فصل رشد در شرایط آلوده به علف‌هرز قرار گرفتند، بیشترین ارتفاع (۷۱/۲ سانتی‌متر) و عملکرد بیولوژیک (۱۸۷۰ کیلگرم در هکتار) نعناع فلفلی مشاهده شد. تعداد نهایی گره در ساقه (۲۲ گره) تحت تأثیر کنترل و یا تداخل علف‌های هرز قرار نگرفت. در تیمارهایی که ۳۲ تا ۹۶ روز وجین دستی علف‌های هرز صورت گرفت و نیز تیمارهایی که ۱۶ تا حداکثر ۴۸ روز آلوده به علف‌هرز بودند، بیشترین تعداد شاخه فرعی (۳۷/۱) مشاهده شد. بیشترین وزن خشک نعناع فلفلی هنگام برداشت نهایی (۱۹۳/۶۲ گرم در متر مربع) در تیمارهایی ثبت شد که ۴۸ تا ۹۶ روز وجین شده بودند و یا فقط ۱۶ تا ۳۲ روز ابتدای فصل رشد در شرایط آلوده به علف‌هرز قرار گرفته بودند. بیشترین مقدار درصد و عملکرد اسانس (۳/۳۸ درصد و ۶۸/۳۰ کیلوگرم در هکتار) در تیمارهای ۶۴، ۸۰ و ۹۶ روز عاری از علف‌هرز مشاهده شد. رقابت تمام فصل علف‌های هرز سبب کاهش ارتفاع، تعداد شاخه فرعی در بوته، عملکرد بیولوژیک، درصد اسانس و عملکرد اسانس نعناع فلفلی به‌ترتیب به میزان ۱۳/۵، ۶۱/۱، ۹۱/۳، ۸۶/۳ و ۹۸/۸ درصد نسبت به تیمار کنترل تمام‌فصل علف‌های هرز شد. این نتایج حاکی از اهمیت کنترل علف‌های هرز در نعناع فلفلی است؛ چنانکه با پذیرش ۵ درصد اُفت مجاز عملکرد، کنترل علف‌های هرز از ۲۲ تا ۴۹ روز و با پذیرش ۱۰ درصد اُفت عملکرد، کنترل از ۲۹ تا ۴۲ روز پس از کاشت گیاهچه‌های نعناع فلفلی ضروری بود.

واژه‌های کلیدی: تابع گامپرتز، دوره بحرانی رقابت علف‌های هرز، گیاهان دارویی، مدیریت علف‌های هرز، معادله لجستیک

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته‌کارشناسی ارشد، استادیار و استاد گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: mohammadvand@guilan.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jpp.2023.71514.1035

مقدمه

نعناع فلفلی با نام علمی (*Mentha piperita* L.) گیاهی علفی و چندساله از تیره نعناعیان و یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی می باشد (Hedge, 1982; Shah and D'Mello, 2004). حدود ۴۰ گونه از جنس نعناع در جهان شناسایی‌شده است (Yadav *et al.*, 2019). در میان گیاهان دارویی جمع‌آوری‌شده در استان گیلان، تیره نعناعیان ۱۲ جنس و ۲۳ گونه را به خود اختصاص دادند (Akbarzadeh *et al.*, 2010). مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی اسانس برگ‌های نعناع فلفلی شامل منتول، منتون، منتوفوران و متیل استات می‌باشد (Maffei *et al.*, 1988). اسانس گیاه جهت مصارف دارویی از قسمت‌های هوایی گیاه در آغاز مرحله گلدهی و با روش تقطیر با بخار آب به دست می‌آید و به‌گونه‌ای استاندارد می‌شود که حاوی حداقل ۴۴ درصد منتول، ۱۵ تا ۳۰ درصد منتون و ۵ درصد استر به علاوه انواع ترپنوئیدها باشد (Kumar *et al.*, 2004). مقدار منتول معیار اصلی در تعیین کیفیت اسانس نعناع فلفلی است (*Aflatuni et al.*, 2005). علاوه بر مصارف دارویی، غذایی و آرایشی و بهداشتی (Mahmoudzadeh *et al.*, 2015; Niakan *et al.*, 2004) فعالیت حشره‌کشی و علف‌کشی ترکیبات اسانس نعناع فلفلی در مطالعات آزمایشگاهی تایید شده و جهت کاربرد در کشاورزی مورد توجه روز افزون قرار گرفته است (Kalemba and Synowiec, 2020). اهمیت ترکیبات طبیعی جهت جایگزینی آفت‌کش‌های شیمیایی در راستای کاهش اثرات منفی آنها بر سلامت انسان و محیطزیست سبب افزایش تلاش‌ها برای توسعه و تجاری‌سازی فراورده‌های طبیعی با عنوان آفت‌کش‌های سبز شده است (Verdeguer *et al.*, 2020).

انواع عوامل زیستی و غیرزیستی بر رشد، کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی موثر هستند (Russo *et al.*, 2013). عوامل محیطی مختلف از جمله میزان مواد غذایی موجود در خاک، شرایط اقلیمی منطقه کاشت (از جمله ارتفاع، دما و بارندگی) و زمان برداشت از جمله عوامل مهم تاثیرگذار روی میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه می‌باشند. کمیت و کیفیت ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس تحت تأثیر شرایط و عوامل محیطی نظیر کودهای شیمیایی (Castro *et al.*, 2010)، مناطق جغرافیایی (Mahboubi and Kazempour, 2014)، عوامل ژنتیکی و شرایط محیط رشد و مراحل رشد و نمو گیاه (Verma *et al.*, 2010) قرار می‌گیرد.

یکی از عوامل مهم تاثیرگذار بر رشد و تولید گیاهان در سیستم‌های تولید، رقابت علف‌های هرز است. رقابت علف‌های هرز با گیاهان زراعی در جذب منابع می‌تواند منجر به از دست رفتن بخش قابل توجهی از عملکرد محصول شود. میزان خسارت واردشده به گیاه زراعی بر اثر تداخل علف‌های هرز، بسته به مرحله و طول دوره رقابت گیاه زراعی و علف‌هرز متغیر است (Gibson and Liebman, 2003). رشد زودتر گیاه زراعی نسبت به علف‌های هرز می‌تواند تا حد زیادی توازن رقابتی را به نفع گیاه زراعی در برابر علف‌های هرز تغییر دهد (Mohler, 2001). آگاهی از اثرات دوره حضور و رقابت علف‌های هرز با گیاهان زراعی، در طراحی برنامه‌های مدیریت تلفیقی علف‌های هرز موثر خواهد بود.

دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز، مدت زمانی طی فصل رشد گیاه زراعی است که کنترل علف‌های هرز برای جلوگیری از کاهش عملکرد ضروری می‌باشد (Kenzevic *et al.*, 2002; 2003). حضور علف‌های هرز در این دوره بیشترین خسارت را به عملکرد وارد می‌کنند (Omafra, 2006). در تعیین دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز با بهره‌گیری از معادلات غیرخطی، درصد افزایش یا کاهش عملکرد به ازای هر روز افزایش دوره کنترل یا تداخل علف‌های هرز محاسبه می‌شود. مطالعات دوره بحرانی در بعضی گیاهان دارویی نظیر زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) (Hosseini *et al.*, 2006)، رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) (Khuram *et al.*, 2009)، مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) (Setvati-nayyeri *et al.*, 2014)، سیاه‌دانه (*Nigella Sativa* L.) (Seyedi *et al.*, 2011)، و آویشن (*Thymus vulgaris* L.) (Khazaie *et al.*, 2012) انجام شده است. تفاوت در توان رقابتی ارقام و گونه‌های مختلف گیاهان زراعی و نیز ویژگی‌های متفاوت جوامع علف‌های هرز در مناطق مختلف سبب می‌شود تا دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز در گیاهان زراعی مختلف و حتی در یک گیاه زراعی در مناطق مختلف متفاوت باشد (Aghaalikhani *et al.*, 2005).

نظر به اهمیت روزافزون گیاهان دارویی جهت تولید و استخراج مواد اولیه (Mehta *et al.*, 2009) و نیز اهمیت حضور علف‌های هرز در کاهش عملکرد گیاهان دارویی که با محدودیت کاربرد علفکش‌ها نیز مواجه هستند، بررسی جنبه‌های مختلف موثر در رقابت علف‌های هرز با گیاهان دارویی ضرورت بیشتری می‌یابد. لذا این پژوهش به منظور دست‌یابی به اطلاعاتی در زمینه اثر زمان آغاز و طول دوره رقابت علف‌های هرز بر عملکرد نعناع فلفلی و تعیین دوره بحرانی رقابت علف‌های هرز که می‌تواند در راستای فراهمی امکان بهره‌گیری از رهیافت‌های متنوع در برنامه‌های مدیریت تلفیقی و نیز بهبود استراتژی‌های کنترل علف‌های‌هرز به‌کار رود، به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه گیلان با طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۳۸ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و

۱۲ دقیقه شمالی و ارتفاع ۲۹ متر بالاتر از سطح دریاهای آزاد طی بهار و تابستان ۱۳۹۶ با میانگین دمای ۲۱/۲۷ درجه سانتی‌گراد طی رشد نعناع فلفلی به اجرا درآمد.

طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۲ تیمار و سه تکرار بود. دو سری تیمار تحت عنوان تیمارهای عاری از علف‌هرز (کنترل از طریق وجین دستی) و تیمارهای آلوده به علف‌هرز (تداخل) در نظر گرفته شد. در تیمارهای عاری از علف‌هرز، وجین دستی علف‌های هرز به ترتیب از ابتدای فصل رشد تا ۱۶، ۳۲، ۴۸، ۶۴، ۸۰ و ۹۶ روز پس از کاشت در مزرعه انجام‌شده و سپس تا زمان برداشت به علف‌های هرز اجازه رشد و رقابت با نعناع فلفلی داده شد. در تیمارهای تداخل به ترتیب از ابتدای فصل رشد تا ۱۶، ۳۲، ۴۸، ۶۴، ۸۰ و ۹۶ روز پس از کشت به علف‌های هرز اجازه رشد و رقابت با نعناع فلفلی داده شد و پس از آن تا زمان برداشت وجین دستی علف‌های هرز انجام گرفت. طولانی‌ترین دوره کنترل و تداخل به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

عملیات خاک‌ورزی و آماده‌سازی زمین زراعی، پس از گاورو شدن زمین و قبل از پیاده‌سازی طرح آزمایش با انجام شخم برگرداندار، یکبار دیسک و سپس تسطیح زمین صورت گرفت. آنالیز بافت خاک با تهیه نمونه مرکبی از عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک مزرعه و انتقال آن به آزمایشگاه خاک و آب دانشکده کشاورزی انجام‌شده و برای توصیه کودی مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). کوددهی به میزان ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار اوره (۴۶٪ نیتروژن)، ۷۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل (۴۶٪ اکسید فسفر) و ۹۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم (۵۰٪ درصد اکسید پتاسیم) قبل از کشت به‌صورت شیاری انجام گرفت.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1- Soil physical and chemical analysis of the study location

بافت خاک Soil texture	درصد رس Clay (%)	درصد سیلت Silt (%)	درصد شن Sand (%)	ظرفیت تبادل کاتیونی Cation exchange Capacity Meq.100^{-1}	پتاسیم قابل‌جذب Absorbable Potassium (mg.kg^{-1})	فسفر قابل‌جذب Absorbable Phosphorus (mg.kg^{-1})	نیتروژن کل Total Nitrogen (%)	کربن آلی Organic carbon (%)	اسیدیته خاک Soil pH	هدایت الکتریکی Electrical Conductivity (dS.m^{-1})
Clay loam	36	52	12	26	208	31.5	0.137	1.7	6.54	1.25

هر کرت به ابعاد ۳/۵×۲ متر (۷ متر مربع) شامل ۷ ردیف کاشت هر یک به طول ۲ متر و فاصله بین‌ردیف ۵۰ سانتی‌متر بود. برای تمایز کرت‌ها درون هر بلوک، ۵۰ سانتی‌متر فاصله و برای تمایز بلوک‌ها یک متر فاصله بین آن‌ها لحاظ شد. کاشت دستی گیاهچه‌های نعناع فلفلی که دارای طول ساقه حدود ۸-۶ سانتی‌متر بودند، به فاصله ۲۰ سانتی‌متر (تراکم ۱۰ بوته در متر مربع) در عمق ۸ تا ۱۰ سانتی‌متری خاک در اواسط اردیبهشت‌ماه صورت گرفت. اولین آبیاری قبل از کاشت و سپس یک روز در میان تا اطمینان از استقرار گیاهچه‌ها انجام شد و پس‌ازآن با توجه به نیاز گیاه تکرار شد.

نمونه‌برداری تخریبی جهت بررسی ویژگی‌های جامعه علف‌های هرز با استفاده از استقرار کادر ۰/۵×۰/۵ متری در هر کرت پس از حذف اثر حاشیه‌ای صورت گرفت. ارزیابی در کرت‌های آلوده به علف‌هرز ۱۶، ۳۲، ۴۸، ۶۴، ۸۰ و ۹۶ روز پس از کاشت نعناع فلفلی انجام شد. در هر نمونه‌برداری، تعداد بوته متعلق به گونه‌های علف‌هرز به تفکیک شمارش شد و سپس به‌منظور تعیین وزن خشک علف‌های هرز، بوته‌ها کف‌بُرشده و به تفکیک گونه درون پاکت‌های کاغذی قرار گرفته و در آون الکتریکی با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک‌شده و با ترازوی دیجیتال توزین شدند.

نمونه‌برداری از نعناع فلفلی در شش مرحله طی فصل رشد صورت گرفت، به‌طوری‌که هر نمونه‌برداری بلافاصله قبل از هر وجین و آخرین نمونه‌برداری در هنگام برداشت انجام شد. در نمونه‌برداری‌های میان‌فصل دو بوته و در مرحله آخر نمونه‌برداری ده بوته برداشت شد و میانگین صفت موردنظر در بوته‌های برداشت‌شده به‌عنوان مقدار صفت ثبت شد. در هر مرحله از نمونه‌برداری، طول بلندترین ساقه در بوته، تعداد شاخه فرعی در بوته، تعداد گره در بلندترین ساقه و وزن خشک اندام هوایی نعناع فلفلی اندازه‌گیری شد. به‌منظور تعیین وزن خشک نعناع فلفلی، در هر مرحله نمونه‌برداری بوته‌ها کف‌بُرشده و درون پاکت‌های کاغذی در آون الکتریکی با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک و سپس با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند. در آخرین نمونه‌برداری (مرحله ۵۰ درصد گلدهی)، از آنجا که ادامه رشد بوته‌ها برای چین بعدی مدنظر بود، برداشت بوته‌ها به فاصله ۱۰ سانتی‌متری سطح خاک انجام شد. برداشت نعناع فلفلی به جهت استحصال اسانس در زمان ۵۰ درصد گلدهی کرت شاهد با دست صورت گرفت و علاوه بر صفات مذکور، اسانس هر کرت نیز اندازه‌گیری شد.

استخراج اسانس

برای استخراج اسانس از روش تقطیر با آب استفاده شد. به‌منظور اندازه‌گیری اسانس مقدار ۴۲ گرم از اندام‌های هوایی (برگ‌ها، سرشاخه‌ها، ساقه‌ها و گل‌ها) خشک‌شده‌ی نعناع فلفلی در دمای ۲۵ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد به همراه ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر درون بالن مخصوص دستگاه اسانس‌گیر (کلونجر) ریخته و عمل اسانس‌گیری با

حرارت‌دادن بالن محتوی آب و گیاه شروع شده و برای هر نمونه به مدت سه ساعت ادامه یافت. پس از سردشدن دستگاه حدود نیم ساعت حجم اسانس استخراج‌شده از طریق شیر تخلیه با دقت به‌طوری‌که با آب مخلوط نشود خارج گردید. در صورت مخلوط‌شدن اسانس با آب از ماده سوپر جاذب آب سدیم کربنات برای خشک‌کردن اسانس استفاده شد (Charles and Simon, 1990). درصد اسانس براساس اسانس حاصل شده از ۴۲ گرم ماده خشک محاسبه و به‌صورت درصد (میلی‌لیتر اسانس در ۱۰۰ گرم ماده خشک) گزارش شد. برای به‌دست آوردن عملکرد اسانس، درصد اسانس مربوط به هر کرت در عملکرد بیولوژیک ضرب شد.

تعیین دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز

برای تعیین دوره بحرانی تداخل علف‌های هرز، از مدل گامپرتز و لجستیک استفاده شد. تابع گامپرتز چهارپارامتره (معادله ۱) به داده‌های عملکرد نسبی سری عاری از علف‌هرز برازش داده شد.

$$Y = C + D \exp\left(-\exp\left(-\frac{t-A}{B}\right)\right) \quad \text{(معادله ۱)}$$

در این مدل Y عبارت از عملکرد بیولوژیک برحسب درصدی از تیمار عاری از علف‌های هرز، C مجانب پایینی منحنی برای عملکرد (حداقل عملکرد در شرایط آلوده به علف‌هرز)، D اختلاف مجانب بالایی و پایینی منحنی، exp ثابت ریاضی e یا ثابت نپر (پایه لگاریتم طبیعی)، t زمان (برحسب روز پس از کشت نعناع فلفلی) و A و B پارامترهای تعیین‌کننده شکل منحنی است (Halford *et al.*, 2001; Smitchger *et al.*, 2012).

مدل لجستیک چهار پارامتره (معادله ۲) به داده‌های عملکرد نسبی سری آلوده به علف‌های هرز برازش داده شد.

$$Y = C + D/(1 + \exp(-A + Bt)) \quad \text{(معادله ۲)}$$

در این مدل Y عبارت از عملکرد بیولوژیک برحسب درصدی از تیمار عاری از علف‌هرز، C مجانب پایینی منحنی، D اختلاف مجانب بالایی و پایینی منحنی، exp ثابت ریاضی e یا ثابت نپر (پایه لگاریتم طبیعی)، A و B پارامترهای تعیین‌کننده شکل منحنی، و t زمان (برحسب روز پس از کشت نعناع فلفلی) است (Martin *et al.*, 2001; Ratkowsky, 1990).

محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار SAS, 9.2 و مقایسه میانگین‌ها بر اساس LSD محافظت‌شده در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت و نمودارها در نرم‌افزار Excel و Sigmaplot, ver 12 ترسیم شد.

نتایج و بحث

بررسی جامعه علف‌های هرز

در بررسی ترکیب گونه‌ای علف‌های هرز مزرعه نعناع فلفلی چهار گونه از تیره گندمیان (Poaceae) و یک گونه متعلق به هریک از تیره‌های اویارسلام (Cyperaceae)، مینا (Asteraceae)، تاج‌خروس (Amaranthaceae) و فرفیون (Euphorbiaceae) بود. از هشت گونه غالب مشاهده‌شده، پنج گونه باریک‌برگ، سه گونه پهن‌برگ و یک‌گونه جگن و عبارت از گونه‌های سوروف (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.)، دم‌روباهی زرد (*Setaria glauca* (L.) Beauv.)، اویارسلام یک‌ساله (*Cyperus difformis* L.)، علف خرچنگ (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.)، بندواش (*Paspalum distichum* L.)، توق (*Xanthium strumarium* L.)، فرفیون (*Euphorbia indica* Lam.)، و تاج‌خروس ریشه قرمز (*Amaranthus retroflexus* L.) بود (جدول ۲). فراوانی این علف‌های هرز در کرت‌های آلوده به علف‌هرز طی فصل رشد به‌ترتیب براساس تراکم و وزن خشک برای سوروف ۴۹ و ۴۲ درصد، برای دم‌روباهی زرد ۲۳ و ۲۶ درصد، برای اویارسلام ۱۴ و ۱۷ درصد، برای علف‌خرچنگ ۱۰ و ۱۱ درصد ثبت شد. حضور علف‌های هرز بندواش، توق، فرفیون و تاج‌خروس ریشه قرمز تنها در برخی کرت‌های آزمایشی و در بازه زمانی کوتاه و به تعداد بسیار کم با فراوانی ۴ درصد بود. حضور گونه‌های علف‌هرز تاج‌خروس ریشه‌قرمز، سلمه‌تره (*Chenopodium album* L.) پیچک صحرایی (*Convolvulus arvensis* L.)، گاو زبان بدل (*Anchusa italica* Retz.) و علف‌شور (*Salsola kali* L.) در تمام کرت‌های نعناع فلفلی در شرایط اردبیل گزارش شد (Didehbaz Moghanlo *et al.*, 2019).

صفات گیاه زراعی

ارتفاع بوته

در نمونه‌برداری اول (۱۶ روز بعد از کشت) طول ساقه در تیمارهای عاری از علف‌هرز بیشتر از تیمارهای آلوده به علف‌هرز بود. از آنجا که تا ۱۶ روز بعد از کاشت در همه تیمارهای سری عاری از علف‌هرز، وجین دستی انجام شده بود و همه تیمارهای تداخل نیز در شرایط آلوده به علف‌هرز بودند، لذا تفاوت مشاهده‌شده درون هر سری، مربوط به تفاوت طول گیاهچه‌های منتقل شده بود؛ چنانکه در نمونه‌برداری دوم (۳۲ روز بعد از کشت) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در نمونه‌برداری سوم (۴۸ روز پس از کاشت) تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای سری عاری از علف‌هرز (تیمارهای ۳۲، ۴۸، ۶۴، ۸۰، ۹۶ روز عاری از علف‌هرز) با یکدیگر دیده نشد (۳۵/۶۹ سانتی‌متر)؛ اگرچه در اکثر تیمارهای سری آلوده به علف‌هرز افزایش طول ساقه مشاهده شد.

جدول ۲- نام علمی و گروه‌های کارکردی علف‌های‌هرز غالب مشاهده شده در مزرعه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

Table 2- Scientific name and functional groups of dominant weed species observed in peppermint field (*Mentha piperita* L.)

	نام عمومی Common name	نام علمی Scientific name	نام تیره Family name	چرخه‌زندگی Life cycle	شکل‌رویشی Vegetative form	مسیرفتوسنتزی Photosynthetic pathway	درجه سماجت Degree of noxiousness
1	سوروف Barnyardgrass	*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.	گندمیان Poaceae	یک‌ساله Annual	باریک‌برگ Narrow-leaf	چهار کربنه C4	سمج Noxious
2	دم‌روباهی زرد Yellow foxtail	*Setaria glauca* (L.) Beauv.	گندمیان Poaceae	یک‌ساله Annual	باریک‌برگ Narrow-leaf	چهار کربنه C4	سمج Noxious
3	اویارسلام یک‌ساله Smallflower nutsedge	*Cyperus difformis* L.	جگنیان Cyperaceae	یک‌ساله Annual	جگن Sedge	چهار کربنه C3	سمج Noxious
4	علف‌خرچنگ Crabgrass	*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.	گندمیان Poaceae	یک‌ساله Annual	باریک‌برگ Narrow-leaf	چهار کربنه C4	سمج Noxious
5	بندواش Knotgrass	*Paspalum distichum* L.	گندمیان Poaceae	چندساله Perennial	باریک‌برگ Narrow-leaf	چهار کربنه C4	سمج Noxious
6	توق Common cocklebur	*Xanthium strumarium* L.	کاسنی Asteraceae	یک‌ساله Annual	پهن‌برگ Broad-leaf	سه کربنه C3	سمج Noxious
7	فرفیون Spurge	*Euphorbia indica* Lam.	فرفیون Euphorbiaceae	یک‌ساله Annual	پهن‌برگ Broad-leaf	سه کربنه C3	غیر سمج Non-noxious
8	تاج‌خروس ریشه قرمز Redroot pigweed	*Amaranthus retroflexus* L.	تاج‌خروس Amaranthaceae	یک‌ساله Annual	پهن‌برگ Broad-leaf	چهار کربنه C4	سمج Noxious

در این مرحله طول ساقه در تیماری که تنها ۱۶ روز ابتدای فصل رشد آلوده به علف‌هرز بود و سپس وجین شد، فاقد تفاوت معنی‌دار با سری عاری از علف‌هرز بود و تیمارهایی که از ابتدای فصل رشد تا روز نمونه‌برداری آلوده به علف‌هرز باقی مانده بودند (تیمارهای ۴۸، ۶۴، ۸۰ و ۹۶ روز آلوده به علف‌هرز)، بیشترین طول ساقه (۴۷/۳۳ سانتی‌متر) را داشتند. به نظر می‌رسد در این مرحله رقابت بین گیاه زراعی و علف‌های هرز شروع شده و در پاسخ به شروع رقابت طول بوته‌های نعناع فلفلی افزایش یافت. ۶۴ روز پس از کاشت (نمونه‌برداری چهارم) تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت. به نظر می‌رسد افزایش رشد شاخساره نعناع فلفلی در شرایط بدون علف‌هرز با افزایش طول ساقه همراه بوده؛ درحالی‌که در تیمارهای آلوده به علف‌هرز که در مرحله قبل طول ساقه بیشتری داشتند، رقابت شدیدتر شده و افزایش طول ساقه کمتر بوده است. ۸۰ روز پس از کاشت (نمونه‌برداری پنجم) بیشترین طول ساقه در تیمارهایی که از ابتدای فصل رشد تا زمان نمونه‌برداری عاری از علف‌هرز بودند (۸۰ و ۹۶ روز عاری از علف‌هرز) به میزان ۶۲/۶ سانتی‌متر مشاهده شد. سایر تیمارها (۵۵/۴ سانتی‌متر) تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. ۹۶ روز پس از کاشت (نمونه‌برداری ششم، هنگام برداشت) بیشترین طول ساقه نعناع فلفلی (۷۱/۲ سانتی‌متر) در تیمارهایی مشاهده شد که ۳۲ تا ۹۶ روز در ابتدای فصل رشد عاری از علف‌هرز بودند (تیمارهای ۳۲، ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز عاری از علف‌هرز) و یا تنها ۱۶ و ۳۲ روز در ابتدای فصل رشد در شرایط آلوده به علف‌هرز قرار داشتند. سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (طول ساقه ۶۴/۷ سانتی‌متر). به طور کلی طول نهایی ساقه در بوته‌های نعناع فلفلی در نتیجه رقابت با علف‌های هرز ۹/۱ درصد کاهش یافت. طول ساقه نعناع فلفلی در تیمارهایی با دوره کنترل طولانی‌تر، بیشتر از تیمارهایی با دوره رقابت طولانی‌تر بود (جدول ۳). علف‌های هرز با داشتن توانایی رقابتی بالاتر در استفاده از منابع، رشد بهتری داشته و قادر به توسعه ارتفاع خود در بالای کانوپی نعناع فلفلی شده‌اند. ارتفاع بوته از عوامل مؤثر بر عملکرد گیاه است. کاهش ارتفاع گیاه زراعی در اثر افزایش طول دوره رقابت علف‌های هرز گزارش شده است (Hussain *et al.*, 2019; *Kavurmaci et al.*, 2010)؛ اگرچه در برخی مطالعات رقابت با علف‌هرز سبب افزایش ارتفاع گیاه زراعی شده است؛ دلیل این امر را می‌توان به نوع و تراکم علف‌های هرز و نیز به نوع و گونه گیاه زراعی نسبت داد که شدت و نتیجه رقابت را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Amador-Ramirez, 2002). رقابت تمام‌فصل علف‌های هرز با نعناع ژاپنی (*Mentha arvensis* L.) ارتفاع نهایی بوته را در مقایسه با تیمار دوبار وجین دستی ۲۱ درصد کاهش داد (Walia *et al.*, 2007).

جدول ۳- اثر دوره حضور علف‌های هرز بر صفات نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

Table 3- The effect of weed presence duration on peppermint (*Mentha piperita* L.) traits

		Sampling times (days after peppermint planting) مراحل نمونه‌برداری (روز بعد از کاشت نعناع فلفلی)					
		16	**32**	**48**	**64**	**80**	**96**
				Stem lenght (cm) طول ساقه			
دوره عاری از علف‌هرز از ابتدای فصل رشد Weed-free period from the beginning of the growing season	**16**	12.3 a	22.2	35.2 e	40.3	55.5 cd	64.4 c
	32	10.1 ab	18.7	35.7 de	43.7	54.3 d	70.0 ab
	48	10.2 abc	21.8	35.8 de	44.0	56.2 bcd	72.0 a
	64	9.7 bc	18.3	35.7 de	45.3	56.0 cd	72.0 a
	80	10.5 ab	19.2	35.7 de	48.5	62.8 a	70.0 ab
	96	12.0 ab	20.33	36.2 de	51.3	62.3 ab	72.1 a
دوره آلوده به علف‌هرز از ابتدای فصل رشد Weed-infested period from the beginning of the growing season	**16**	9.7 cd	16.7	36.7 de	49.2	53.0 d	72.2 a
	32	8.5 d	20.2	40.5 cd	50.5	57.0 bcd	70.3 ab
	48	9.7 cd	25.7	43.5 abc	49.7	54.3 d	64.5 c
	64	10.3 bc	24.0	46.3 a	47.0	55.7 cd	66.6 bc
	80	9.9 bcd	22.0	45.7 ab	46.0	57.7 bcd	65.7 bc
	96	8.3 d	24.2	44.3 abc	46.0	54.2 d	62.3 c
				Branch number in plant تعداد شاخه فرعی در بوته			
دوره عاری از علف‌هرز از ابتدای فصل رشد Weed-free period from the beginning of the growing season	**16**	5.50	14.2 abc	15.5 cd	13.67 c	16.6 d	17.6 d
	32	3.83	15.5 ab	28.2 a	26.33 ab	33.7 ab	36.3 ab
	48	5.50	12.2 abcd	27.5 a	31.83 ab	35.3 ab	36.1 ab
	64	3.83	14.3 abc	23.2 ab	26.33 ab	32.7 ab	37.9 a
	80	3.17	16.7 a	27.5 a	32.50 a	36.2 ab	38.6 a
	96	5.67	14.2 abc	29.7 a	31.67 ab	42.3 a	37.5 ab
دوره آلوده به علف‌هرز از ابتدای فصل رشد Weed-infested period from the beginning of the growing season	**16**	3.17	12.2 abcd	26.2 ab	35.83 a	35.0 ab	39.2 a
	32	3.67	9.3 cd	19.8 bc	26.67 ab	37.7 ab	36.7 ab
	48	6.17	10.0 bcd	13.3 de	20.50 bc	30.2 bc	34.2 ab
	64	5.50	7.3 d	7.3 e	9.50 c	21.3 cd	31.6 bc
	80	6.00	7.5 d	11.8 de	12.83 c	12.0 e	25.5 c
	96	4.17	6.7 d	8.3 de	10.67 c	6.6 e	14.6 d
				Dra matter (gr.m^{-2}) وزن خشک			
دوره عاری از علف‌هرز از ابتدای فصل رشد Weed-free period from the beginning of the growing season	**16**	5.93	17.5 a	37.7 cde	19.6 e	23.4 de	26.3 c
	32	3.78	15.2 abc	81.2 ab	85.1 bcd	140.8 bc	147.5 b
	48	3.02	18.5 a	94.1 a	123.5 ab	159.8 b	188.4 a
	64	2.73	13.0 abc	62.6 abc	129.5 a	142.3 bc	197.9 a
	80	3.53	15.8 ab	64.2 abc	118.4 a	199.1 a	203.9 a
	96	5.20	14.6 abc	97.0 a	131.2 a	174.4 ab	204.4 a
دوره آلوده به علف‌هرز از ابتدای فصل رشد Weed-infested period from the beginning of the growing season	**16**	1.70	13.7 abc	62.4 abc	91.7 abc	189.0 ab	194.7 a
	32	1.95	10.0 cd	30.6 cde	48.7 de	90.0 cd	172.6 a
	48	4.78	10.3 bcd	23.7 de	23.4 e	49.4 de	119.7 b
	64	4.73	10.4 bcd	22.8 e	15.3 e	18.4 e	50.9 c
	80	4.63	10.7 bcd	30.0 cde	19.2 e	22.8 de	25.2 c
	96	4.67	8.8 cd	24.6 de	18.1 e	9.4 e	17.8 c

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با یکدیگر ندارند؛ تیمارهای عاری از و آلوده به علف‌های هرز از ابتدای فصل رشد تا ۱۶، ۳۲، ۴۸، ۶۴، ۸۰ و ۹۶ روز پس از کشت به‌ترتیب عاری از و آلوده به علف‌های هرز بودند.

Means within a column followed by the same letters are not significantly different at the α=0.05 (LSD test); Weed-free and weed-infested treatments respectively were hand-weeded and un-weeded from the beginning of the growing season up to 16, 32, 48, 64, 80, and 96 days after crop planting.

تعداد شاخه فرعی در بوته

تفاوت تعداد شاخه فرعی در بوته بجز در نمونه‌برداری اول (۴/۷ شاخه فرعی در بوته)، در سایر نمونه‌برداری‌ها بین تیمارها معنی‌دار بود. ۳۲ روز بعد از کاشت، تعداد شاخه فرعی در تیمارهای سری عاری از علف‌هرز و نیز در تیماری که فقط ۱۶ روز ابتدای فصل رشد آلوده به علف‌هرز بود (۱۴/۲ شاخه فرعی در بوته)، بیشتر از تیمارهایی بود که تا این مرحله نمونه‌برداری در شرایط آلوده به علف‌هرز بودند (تیمارهای ۳۲، ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز آلوده به علف‌هرز). ۴۸ روز بعد از

کاشت، بیشترین تعداد شاخه فرعی در تیمارهایی مشاهده شد که از ابتدای فصل رشد تا ۳۲ روز پس از کاشت و یا از ابتدای فصل رشد تا روز نمونه‌برداری عاری از علف‌هرز بودند (تیمارهای ۳۲، ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز عاری از علف‌هرز) و همچنین در تیماری که فقط ۱۶ روز آلوده به علف‌هرز بود (میانگین ۲۷/۰). تعداد شاخه فرعی در تیماری که ۳۲ روز ابتدای فصل رشد آلوده به علف‌های هرز بود و سپس وجین شده بود، ۱۹/۸ و در تیمارهایی که تا روز نمونه‌برداری (۴۸ روز پس از کاشت) همچنان آلوده به علف‌هرز باقی مانده بودند، ۱۰/۱ شاخه فرعی در بوته بود. ۶۴ و ۸۰ روز بعد از کاشت، بیشترین تعداد شاخه فرعی (۳۰/۲ و ۳۶/۱ شاخه فرعی در بوته) در تیمارهایی مشاهده شد که بیشتر از ۳۲ روز در شرایط عاری از علف‌هرز قرار گرفته بودند (تیمارهای ۳۲، ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز عاری از علف‌هرز) و یا کمتر از ۳۲ روز آلوده به علف‌هرز بودند (تیمارهای ۱۶ و ۳۲ روز آلوده به علف‌هرز). تعداد شاخه فرعی در بوته در تیمارهایی که تا روز نمونه‌برداری همچنان در شرایط آلوده به علف‌هرز قرار داشتند، به‌ترتیب ۱۱ و ۹/۴ شاخه فرعی در بوته بود. در هنگام برداشت نعناع فلفلی در ۹۶ روز پس از کاشت، بیشترین تعداد شاخه فرعی در تیمارهایی مشاهده شد که از ابتدای فصل رشد بیشتر از ۳۲ روز در شرایط عاری از علف‌هرز قرار گرفته بودند (تیمارهای ۳۲، ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز عاری از علف‌هرز) و نیز تیمارهایی که کمتر از ۴۸ روز آلوده به علف‌هرز بودند (تیمارهای ۱۶، ۳۲ و ۴۸ روز آلوده به علف‌هرز) (۳۷/۱ شاخه فرعی در بوته). تعداد شاخه فرعی در بوته در تیمار آلودگی تمام‌فصل (۱۴/۶ شاخه فرعی در بوته) و تیماری که تنها ۱۶ روز ابتدای فصل رشد وجین شد (۱۷/۶ شاخه فرعی در بوته)، کمترین مقدار بود (جدول ۳).

دوره طولانی‌تر حضور علف‌های هرز با تشدید رقابت بر سر منابع، کاهش جذب منابع برای نعناع فلفلی و کاهش توان تولید مواد فتوسنتزی در نعناع فلفلی را به دنبال داشته و درنتیجه میزان رشد و تولید شاخه فرعی کاهش یافته است. افزایش دوره‌های حضور علف‌های هرز در هر دو سری تیمار کنترل و تداخل علف‌هرز باعث کاهش روند تشکیل شاخه‌های جانبی در طول فصل رشد در گیاه سیاه‌دانه شده است (Seyedi *et al.*, 2011). حسین و همکاران (Hussain *et al.*, 2009) نیز نشان دادند که افزایش دوره‌های رقابت علف‌های هرز اثر معنی‌داری در کاهش تعداد شاخه جانبی در بوته سیاه‌دانه داشت. در رقابت تمام‌فصل علف‌های هرز با نعناع ژاپنی در مقایسه با تیمار دوبار وجین دستی تعداد شاخه در متر ردیف ۲۷ درصد کاهش یافت (Walia *et al.*, 2007).

تعداد گره در ساقه

تعداد نهایی گره در بلندترین ساقه بوته نعناع فلفلی در هنگام برداشت تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایش نداشت (۲۲ گره در بلندترین ساقه هر بوته). به نظر می‌رسد تعداد گره در بوته تحت تأثیر کنترل و یا تداخل علف‌های هرز (رقابت و عدم رقابت) قرار نمی‌گیرد، بلکه فاصله گره‌ها از یکدیگر یعنی طول میانگره در تعیین طول ساقه مهم است.

زیست‌توده طی فصل رشد

زیست‌توده بوته‌های نعناع فلفلی ۱۶ روز بعد از کاشت ۳/۸۸ گرم در مترمربع در همه تیمارها بود و ۳۲ روز بعد از کاشت بیشترین زیست‌توده (۱۵/۴۶ گرم در متر مربع) در سری تیمارهای عاری از علف‌هرز و نیز تیماری که فقط ۱۶ روز ابتدای فصل رشد آلوده به علف‌هرز بود، مشاهده شد. سایر تیمارها که پس از کاشت تا روز نمونه‌برداری (۳۲ روز) آلوده به علف‌هرز باقی مانده بودند، با ۳۵ درصد کاهش دارای زیست‌توده ۱۰/۰۵ گرم در متر مربع بودند. ۴۸ روز بعد از کاشت، بیشترین زیست‌توده (۷۶/۸۹ گرم در متر مربع) در تیمارهایی که بیشتر از ۳۲ روز عاری از علف‌هرز بودند (تیمارهای ۳۲، ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز عاری از علف‌هرز) و نیز تیماری که فقط ۱۶ روز ابتدای فصل رشد آلوده به علف‌هرز بود، مشاهده شد و کمترین زیست‌توده (۲۸/۲۱ گرم در متر مربع، ۶۳ درصد کاهش) در تیمارهایی که بیشتر از ۳۲ روز آلوده به علف‌هرز بودند (تیمارهای ۳۲، ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز آلوده به علف‌هرز) و نیز تیماری که فقط ۱۶ روز ابتدای فصل وجین شده و سپس بدون کنترل رها شده بود، مشاهده شد. ۶۴ روز بعد از کاشت در نمونه‌برداری چهارم، بیشترین زیست‌توده (۱۱۸/۸۶ گرم در متر مربع) در تیمارهایی که بیشتر از ۴۸ روز عاری از علف‌هرز بودند (تیمارهای ۴۸، ۶۴، ۸۰ و ۹۶ روز عاری از علف‌هرز) و نیز تیماری که فقط ۱۶ روز ابتدای فصل رشد آلوده به علف‌هرز بود، مشاهده شد. تیماری که فقط ۳۲ روز ابتدای فصل رشد وجین شده و سپس بدون کنترل رها شد، زیست‌توده ۸۵/۰۸ گرم در واحد سطح (۲۸ درصد کاهش) بود. کمترین زیست‌توده در شرایطی که علف‌های هرز بیشتر از ۴۸ روز با نعناع فلفلی رقابت کردند (تیمارهای ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز آلوده به علف‌هرز) (۲۴/۰۴ گرم در متر مربع، ۸۰ درصد کاهش) ثبت شد. ۸۰ روز بعد از کاشت در نمونه‌برداری پنجم، بیشترین زیست‌توده مربوط به تیمارهایی بود که تا روز نمونه‌برداری وجین شده بودند (۱۸۶/۷۶ گرم در مترمربع) و کمترین مقدار زیست‌توده (۲۴/۶۸ گرم در متر مربع) مربوط به تیمارهایی بود که از ابتدای فصل رشد به مدت بیش از ۴۸ روز در شرایط آلوده به علف‌هرز قرار گرفته بودند و نیز تیماری که از ۱۶ روز پس از کاشت تا روز نمونه‌برداری در شرایط آلوده به علف‌هرز قرار گرفته بود.

۹۶ روز بعد از کاشت و در هنگام برداشت نهایی که زیست‌توده نعناع فلفلی به بیشترین مقدار خود رسید، بیشترین زیست‌توده

(۱۹۳/۶۲ گرم در متر مربع) در تیمارهایی که ۴۸ روزِ ابتدای فصل رشد و یا بیشتر در شرایط عاری از علف‌هرز قرار گرفته بودند (تیمارهای ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز عاری از علف‌هرز) و یا تنها ۱۶ و ۳۲ روز از ابتدای فصل رشد در شرایط آلوده به علف‌هرز قرار داشتند (تیمارهای ۱۶ و ۳۲ روز آلوده به علف‌هرز)، مشاهده شد. کمترین زیست‌توده (۳۰/۰۶ گرم در متر مربع) در تیماری که از ۱۶ روز پس از کاشت تا انتهای فصل رشد در شرایط آلوده به علف‌هرز قرار داشت (تیمار ۱۶ روز عاری از علف‌هرز) و نیز در تیمارهایی که از ابتدای فصل رشد به مدت بیش از ۶۴ روز در شرایط آلوده به علف‌هرز قرار گرفته بودند (تیمارهای ۶۴ و ۹۶ روز آلوده به علف‌هرز) مشاهده شد (جدول ۳).

حضور علف‌های هرز در مزارع گیاهان زراعی باعث افت عملکرد و اجزای عملکرد گیاهان زراعی می‌شود. در نعناع فلفلی نیز همانگونه که مشاهده شد ظهور و رقابت علف‌های هرز موجب کاهش تولید ماده خشک شد. در واقع علف‌های هرز با جذب منابع مشترک و محدود سبب نقصان فراهمی منابع می‌شوند که کاهش رشد و عملکرد گیاه را به دنبال خواهد داشت. میزان این کاهش تحت تأثیر طول دوره حضور علف‌های هرز قرار می‌گیرد؛ چنانکه با افزایش طول دوره حضور علف‌های هرز تبعات آن نیز افزایش می‌یابد. حسین و همکاران (Hussain *et al.*, 2009) اظهار داشتند که افزایش طول دوره رقابت علف‌های هرز اثر معنی‌داری در کاهش عملکرد بیولوژیک سیاه‌دانه داشت. رقابت تمام‌فصل علف‌های هرز در مقایسه با تیمار سه‌بار وجین دستی به‌ترتیب سبب کاهش ۷۰ و ۸۰ درصدی وزن تر و وزن خشک نعناع ژاپنی شد (Yadav *et al.*, 2019).

عملکرد بیولوژیک، درصد و عملکرد اسانس نعناع فلفلی

عملکرد بیولوژیک: نعناع فلفلی در تیمار کنترل تمام‌فصل علف‌های هرز، ۲۰۴۴ کیلوگرم در هکتار بود. بیشترین عملکرد بیولوژیک نعناع فلفلی (۱۸۷۰ کیلگرم در هکتار) در تیمارهایی مشاهده شد که از ابتدای فصل رشد بیشتر از ۳۲ روز عاری از علف هرز بودند و همچنین تیمارهایی که کمتر از ۳۲ روز آلوده به علف‌هرز بودند. با بررسی سری عاری از علف‌هرز می‌توان دریافت که عدم کنترل علف‌های هرز در ۱۶، ۳۲، ۴۸ و ۶۴ روز انتهای فصل رشد به‌ترتیب سبب ۰/۳، ۳/۲، ۷/۸ و ۲۷/۹ درصد کاهش عملکرد بیولوژیک نعناع فلفلی شده است؛ درحالی‌که وقتی کنترل تنها در ۱۶ روز ابتدای فصل رشد صورت گرفته و پس از آن رها شد (عدم کنترل در ۸۰ روز انتهای فصل رشد) عملکرد بیولوژیک نعناع فلفلی ۸۷/۲ درصد کاهش یافت. رقابت تمام فصل علف‌های هرز عملکرد بیولوژیک نعناع فلفلی را ۹۱/۳ درصد کاهش داد. عدم کنترل علف‌های هرز در سری آلوده به علف‌هرز تا ۱۶، ۳۲، ۴۸، ۶۴ و ۸۰ روز از ابتدای فصل رشد به‌ترتیب موجب ۴/۸، ۱۵/۶، ۴۱/۵، ۷۵/۱ و ۸۷/۷ درصد کاهش عملکرد بیولوژیک نعناع فلفلی شد (جدول ۴).

درصد اسانس: در تیمارهایی که از ابتدای فصل رشد تا ۶۴، ۸۰ و ۹۶ روز پس از کاشت عاری از علف‌هرز بودند، بیشترین مقدار (۳/۳۸ درصد) بود. کمترین درصد اسانس مربوط به تیمار آلودگی تمام‌فصل علف‌های هرز با ۸۶ درصد کاهش به میزان ۰/۴۸ درصد بود (جدول ۳). به نظر می‌رسد رقابت تمام‌فصل علف‌های هرز سبب کاهش تولید اسانس به ازای واحد وزن خشک نعناع فلفلی می‌شود.

عملکرد اسانس: در تیمارهایی که از ابتدای فصل رشد تا ۶۴، ۸۰ و ۹۶ روز پس از کاشت عاری از علف‌هرز بودند، بیشترین مقدار (۶۸/۳۰ کیلوگرم در هکتار) بود. کمترین عملکرد اسانس در تیمار آلودگی تمام‌فصل علف‌های هرز و تیمارهایی که از ابتدای فصل رشد تا ۶۴ و ۸۰ روز پس از کاشت در شرایط رقابت بودند و نیز تیماری که تنها ۱۶ روز ابتدای فصل وجین شده و سپس رها شده بود، مشاهده شد (میانگین ۴/۴ کیلوگرم در هکتار) (جدول ۴).

علفهای هرز عامل مهمی در کاهش عملکرد نعناع فلفلی به‌شمار می‌روند؛ چنانکه در جمعیت‌های بالا می‌توانند تا ۴۰ درصد سبب کاهش عملکرد شوند. علاوه بر آن ممکن است سبب کاهش کیفیت اسانس نعناع شوند (Sabra and Mahmoud, 2015). علف‌های هرز با سایه‌اندازی و کاهش نور در دسترس و نیز با رقابت در جذب آب و عناصر غذایی با رشد گیاه زراعی تداخل ایجاد کرده و سبب کاهش پارامترهای رشدی و در نهایت عملکرد آن می‌شوند. به همین ترتیب با طولانی‌ترشدن دوره حضور علف‌های هرز، طول دوره رقابت بر سر منابع نیز افزایش یافته و اثرات منفی تداخل بر تولید محصول افزایش می‌یابد. عملکرد بیولوژیک نعناع ژاپنی درنتیجه رقابت تمام‌فصل علف‌های هرز ۳۲ درصد نسبت به تیمار دوبار وجین دستی کاهش یافت (Walia *et al.*, 2007). در مطالعه دیگری رقابت تمام‌فصل علف‌های هرز عملکرد روغن نعناع ژاپنی را نسبت به تیمار سه‌بار وجین دستی ۷۱ درصد (Yadav *et al.*, 2019) و نسبت به تیمار دوبار وجین دستی ۳۲ درصد (Walia *et al.*, 2007) کاهش داد.

دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز

با برازش توابع گامپرز و لجستیک (جدول ۵ و شکل ۱)، دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز نعناع فلفلی با پذیرش ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد کاهش عملکرد بیولوژیک به‌ترتیب از ۲۲ تا ۴۹، ۲۷ تا ۴۵ و ۲۹ تا ۴۲ روز پس از کاشت گیاهچه‌های نعناع فلفلی بود (جدول ۶).

در رازیانه ضمن مشاهده افزایش تلفات عملکرد دانه با افزایش دوره رقابت علف‌های هرز، کنترل تا ۵۰ روز پس از سبزشدن رازیانه جهت جلوگیری از تلفات شدید عملکرد ضرورت داشت (Mubeen *et al.*, 2009).

جدول ٤- اثر دوره حضور علف‌های هرز بر صفات نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در هنگام برداشت

Table 4- The effect of weed presence duration on peppermint (*Mentha piperita* L.) traits at harvest

		عملکرد بیولوژیک Biological yield (kg/ha)	درصد اسانس Essence percentage (%)	عملکرد اسانس Essence yield (kg/ha)
دوره عاری از علف‌هرز از ابتدای فصل رشد Weed-free period from the beginning of the growing season	16	262.6c	1.51e	3.73e
	32	1474.7ab	2.14c	39.45c
	48	1883.8a	2.38bc	44.85bc
	64	1978.7a	3.17ab	63.14ab
	80	2038.6a	3.49a	71.87a
	96	2043.9a	3.49a	69.90a
دوره آلوده به علف‌هرز از ابتدای فصل رشد Weed-infested period from the beginning of the growing season	16	1946.7a	2.05c	40.20c
	32	1725.9a	2.22c	41.05c
	48	1196.6b	2.38bc	27.84cd
	64	509.3c	1.75de	8.54de
	80	252.3c	1.75de	4.48e
	96	178.2c	0.48f	0.85e

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با یکدیگر ندارند؛ تیمارهای عاری از و آلوده به علف‌های هرز از ابتدای فصل رشد تا ۱۶، ۳۲، ۴۸، ۶۴، ۸۰ و ۹۶ روز پس از کشت به‌ترتیب عاری از و آلوده به علف‌های هرز بودند.

Means within a column followed by the same letters are not significantly different at the α=0.05 (LSD test); Weed-free and weed-infested treatments respectively were hand-weeded and un-weeded from the beginning of the growing season up to 16, 32, 48, 64, 80, and 96 days after crop planting.

با افزایش دوره رقابت علف‌های هرز با زیره سبز عملکرد این گیاه کاهش و با افزایش دوره عاری از علف‌هرز عملکرد افزایش یافت و دوره بحرانی این گیاه بین ۲۲ تا ۳۹ روز پس از کاشت تعیین شد (Kumar, 2001). در آزمایش دیگری حذف علف‌های هرز از ۲۴ تا ۳۸ روز پس از سبزشدن، مانع کاهش عملکرد زیره سبز شد (Hosseini *et al.*, 2006).

در سیاه‌دانه شروع دوره بحرانی در سه سطح ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد افت عملکرد قابل قبول به‌ترتیب ۱۱، ۱۳ و ۱۷ روز و پایان دوره بحرانی ۷۷، ۷۵ و ۷۱ پس از سبز شدن سیاه‌دانه تعیین شد (Seyedi *et al.*, 2011). در آویشن دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز براساس کاهش عملکرد وزن‌تر پیکر رویشی به‌میزان ۵ درصد بین ۴۱ تا ۹۰ روز و به‌میزان ۱۰ درصد بین ۵۴ تا ۷۶ روز و براساس کاهش عملکرد وزن خشک پیکر رویشی به‌میزان ۵ درصد بین ۱۲ تا ۹۴ روز و به‌میزان ۱۰ درصد بین ۲۹ تا ۷۸ روز پس از آغاز فصل رشد محاسبه شد (Khazaie *et al.*, 2012). در مریم‌گلی دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز بر اساس ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد کاهش عملکرد قابل‌قبول، به‌ترتیب ۷۶، ۶۰ و ۵۳ روز بود (Setvati nayyeri *et al.*, 2014). در اسفرزه دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز با پذیرش ۱۰ و ۵ درصد کاهش عملکرد به ترتیب ۲۱ تا ۵۲ روز و ۲۶ تا ۳۸ روز پس از کاشت بود (Sharifi noori and Ebadi, 2009).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی با کاهش طول دوره عاری از علف‌های هرز و نیز افزایش طول دوره آلوده به علف‌های هرز، رشد و عملکرد نعناع فلفلی کاهش یافت. اگرچه تعداد گره در شاخه فرعی تحت تأثیر تداخل علف‌های هرز قرار نگرفت؛ اما رقابت تمام فصل علف‌های هرز سبب کاهش ارتفاع، تعداد شاخه فرعی در بوته، عملکرد بیولوژیک، درصد اسانس و عملکرد اسانس نعناع فلفلی به‌ترتیب به میزان ۱۳/۵، ۶۱/۱، ۹۱/۳، ۸۶/۳ و ۹۸/۸ درصد نسبت به تیمار کنترل تمام‌فصل علف‌های هرز شد. این نتایج حاکی از اهمیت کنترل علف‌های هرز در نعناع فلفلی است، چنان‌که با پذیرش ۵ درصد اُفت عملکرد، کنترل علف‌های هرز از ۲۲ تا ۴۹ روز و با پذیرش ۱۰ درصد اُفت عملکرد، کنترل از ۲۹ تا ۴۲ روز پس از کاشت گیاهچه‌های نعناع فلفلی ضروری بود.

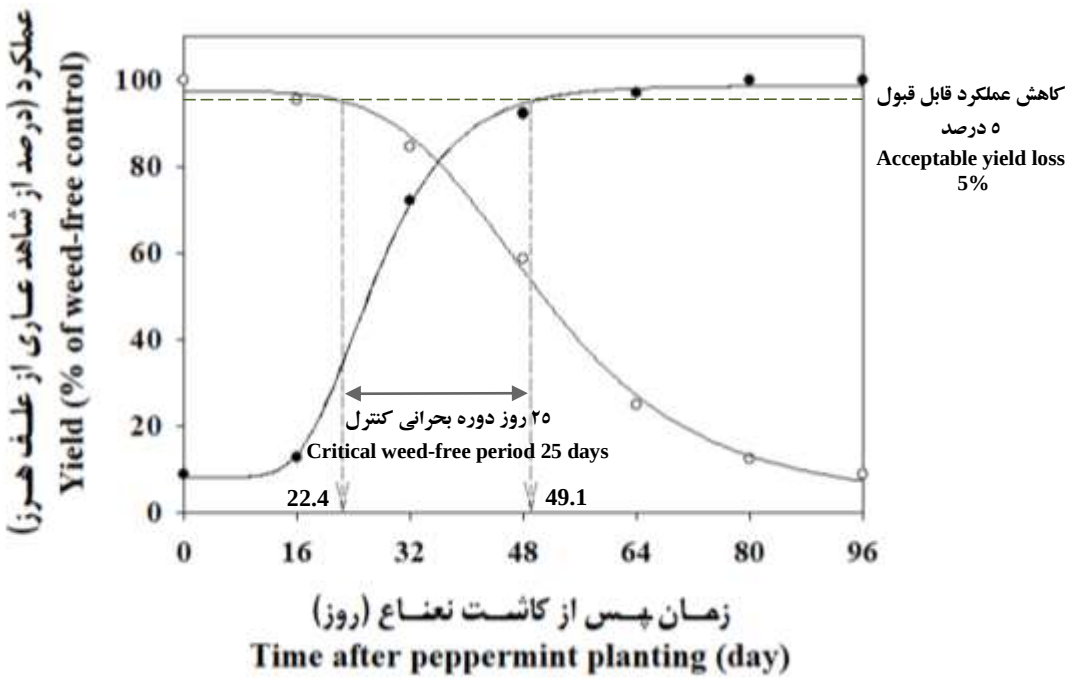
جدول ۵- براورد ضرایب برازش توابع گامپرتز و لجستیک به عملکرد بیولوژیک نسبی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

Table 5- Coefficient estimates to determine relative peppermint (*Mentha piperita* L.) biological yield using the Gompertz and logistic models

پارامترهای معادله گامپرتز Gompertz parameters					پارامترهای معادله لجستیک Logistic parameters				
D	B	A	C	R^2	D	B	A	C	R^2
90.25	5.72	22.18	8.62	0.99	94.96	4.53	50.82	2.30	0.99

تابع گامپرتز، Y= C+Dexp(-exp(-(t-A)/B))، و تابع لجستیک، Y=C+D/(1+exp(-A+Bt))، به‌ترتیب به داده‌های عملکرد بیولوژیک نسبی سری‌های عاری از و آلوده به علف‌های هرز برازش داده شد. در هر دو معادله Y عملکرد بیولوژیک نسبی، C مجانب پایینی منحنی، D اختلاف مجانب بالایی و پایینی منحنی، exp ثابت ریاضی، A و B پارامترهای تعیین‌کننده شکل منحنی، و t زمان برحسب روز پس از کشت نعناع فلفلی است.

Gompertz, Y= C+Dexp(-exp(-(t-A)/B)), and logistic, Y=C+D/(1+exp(-A+Bt)), equation was fitted to relative biological yield of weed-free and weed infested series respectiely, where in both models, Y is the relative biological yield, C is the lower asymptote, D is the difference between the upper and lower asymptotes, exp is the mathematical constant e, A and B are parameters that determine the shape of the curve, and t is the number of days after peppermint planting.



شکل ۱- اثر دوره عاری از علف‌هرز (تابع گامپرتز، ●) و آلوده به علف‌هرز (تابع لجستیک، ○) بر عملکرد بیولوژیک نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) نسبت به شاهد کنترل تمام‌فصل علف‌های هرز

Figure 1- The effect of weed free (Gompertz equation, ●) and weed infested (Logistic equation, ○) duration on peppermint (*Mentha piperita* L.) biological yield compared to full-season weed-frre control

جدول ٦- تعداد روز آلوده به و عاری از علف‌های هرز در سطوح ۱۰، ۷/۵ و ۵ درصد کاهش عملکرد بیولوژیک نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

Table 6- Number of weed-infested and weed-free days for 5, 7.5 and 10 percent biological yield reduction of peppermint (*Mentha piperita* L.)

	آلوده به علف‌هرز Weed infested			عاری از علف‌هرز Weed free		
کاهش عملکرد بیولوژیک Biological yield reduction	5%	7.5%	10%	5%	7.5%	10%
روز Day	22.40	26.56	29.33	49.07	44.78	41.97

منابع

1. Aflatuni, A., Uusitalo, J., Ek, S., & Hohtola, A. (2005). Variation in the amount of yield and in the extract composition between conventionally produced and micropropagated peppermint and spearmint. *Journal of Essential Oil Research*, *17*, 66-70. https://doi.org/10.1080/10412905.2005.9698833
2. Aghaalikhani, M., Yadavi, A.R., & Modarres-Sanavy, S.A.M. (2005). Critical period of weed control of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Lordegan, *Journal of Agricultural Science*, *28*(1), 111-126. (In Persian with English abstract). (Available from: https://sid.ir/paper/24795/fa)
3. Akbarzadeh, A., Jaimand, K., Hemmati, A., & Khanjani-shiraz, B. (2010). Medicinal plants of Gilan province and their applications. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *26*(3), 326-347. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2010.6793
4. Amador-Ramirez, M.D. (2002). Critical period of weed control in transplanted chili. *Weed Research*, *42*, 203-209. https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2002.00278.x
5. Castro, L.W.P., Deschamps, C., Biasi, L.A., Scheer, A.P., & Bona, C. (2010). Development and essential oil yield and composition of mint chemo types under nitrogen fertilization and radiation levels. 19th World Congress of Soil Science, *Soil Solutions for a Changing World*. Brisbane, Australia, p. 13-15.
6. Charles, D.J., & Simon, J.E. (1990). Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. *Journal American Society for Horticultural Science*, *115*, 458-462. https://doi.org/10.21273/JASHS.115.3.458
7. Didehbaz-Moghanlo, G., Tobeh, A., Fakhari, R., Alebrahim, M.T., & Saadat, S.A. (2019). Weed management of peppermint (*Mentha piperita*) using narrow leaf cover crops and their effect on yield. *Journal of Agroecology*, *9*(1), 1-16. (Available from: https://sid.ir/paper/391152/fa)
8. Gibson, L., & Liebman, M. (2003). A laboratory exercise for teaching critical period for weed control concepts. *Weed Technology*, *17*, 403-411. https://doi.org/10.1614/0890-037X(2003)017[0403:ALEFTC]2.0.CO;2
9. Halford, C., Hamill, A.S., Zhang, J., & Doucet, C. (2001). Critical period of weed control in no-till soybean (*Glycine max*) and corn (*Zea mays*). *Weed Technology*, *15*(4), 737-744. https://doi.org/10.1614/0890-037X(2001)015[0737:CPOWCI]2.0.CO;2
10. Hedge, A. (1982). Labiateae (*Salvia*). In: Rechinger, K.H. Eds. *Flora Iranica*. Akademische drucku Verlangsanstalt, Graz Austria, 598 p.
11. Hosseini, A., koocheki, A., & Nassiri-Mahalati, M. (2006). Critical period of weed control in cumin (*Cuminum cyminum*). *Iranian Journal of Field Crops Research*, *4*(1), 23-34. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/GSC.V4I1.1316
12. Hussain, A., Nadeem, A., Ashraf, I., & Awan, M. (2009). Effect of weed competition periods on the growth and yield of black seed (*Nigella sativa* L.). *Pakistan Journal of Weed Science Research*, *15*, 71-81.
13. Kalemba, D., & Synowiec, A. (2020). Agrobiological interactions of essential oils of two menthol mints: *Mentha piperita* and *Mentha arvensis*. *Molecules*, *25*(1), 59. https://doi.org/10.3390/molecules25010059
14. Kavurmaci, Z., Karadavut, U., Kokten, K., & Bakoglu, A. (2010). Determining critical period of weed- crop competition in fava bean (*Vicia faba*). *International Journal of Agriculture and Biology*, *12*(2), 318-320.
15. Khazaie, M., Habibi, H., Zand, E., Kordenaeej, A., Amini, Dehghi M., & Hadizadeh, M.H. (2012). Determining the critical period of weed control in thyme (*Thymus vulgaris*). *Iranian Journal of Weed Science*, *8*(1), 25-37. (In Persian with English abstract). (Available from: https://sid.ir/paper/185228/fa)
16. Khuram, M., Tanveer, A., Nadeem, M.A., Sarwar, N., & Shahzad, M. (2009).Critical period for weed-crop competition in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). *Pakistan Journa of Weed Science and Research*, *15*(2-3), 171-181.
17. Knezevic, S.Z., Evans, S.P., & Mainz, M. (2003). Row spacing influences the critical timing for weed removal in soybean (*Glycine max*). *Weed Technology*, *17*, 666-673. https://doi.org/10.1614/WT02-49
18. Knezevic, S.Z., Evans, S.P., Blankenship, E., Evan Aker, R.C., & lindqist, J.L. (2002). Critical period for weed control: The concept and data analysis. *Weed Science*, *50*, 773-786. https://doi.org/10.1614/0043-1745(2002)050[0773:CPFWCT]2.0.CO;2
19. Kumar, S. (2001). Critical period of weed competition in cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Indian Journal of Weed Science*, *33*, 30-33.
20. Kumar, A., Samarth, R.M., & Yasmeen, S. (2004). Anticancer and radio protective potentials of *Mentha piperita* L. *Bio Factors*, *22*(1-4), 87-91. https://doi.org/10.1002/biof.5520220117
21. Maffei, M., Chialva, F., & Sacco, T. (1988). Glandular trichomes and essential oils in developing peppermint leaves. *New Phytologist*, *111*(1), 707-716. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1989.tb02366.x
22. Maffei, M., Chialva, F., & Sacco, T. (2004). Are leaf area index (LAI) productivity in peppermint?. *Flavor and Fragrance Journal*, *9*(3), 119-124. https://doi.org/10.1002/ffj.2730090306
23. Mahboubi, M., & Kazempour, N. (2014). Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential oil. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, *36*(1), 83-87.

24. Mahmoudzadeh, M., Rasouli-Sadaghiani, M.H., Hassani, A., & Barin, M. (2015). The role of mycorrhizal inoculation on growth and essential oil of peppermint (*Mentha piperita*). *Journal of Horticulture Science*, *29*(3), 342-348. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/JHORTS4.V0I0.23756
25. Martin, S.G., Van-Acker, R.C., & Friesen, L.F. (2001). Critical period of weed control in spring canola. *Weed Science*, *49*, 326-333. https://doi.org/10.1614/0043-1745(2001)049[0326:CPOWCI]2.0.CO;2
26. Mehta, B.K., Pandit, V., & Gupta, M. (2009). New principle from seeds of *Nigella sativa*. *Natural Product Research*, *23*, 138-148. https://doi.org/10.1080/14786410801892078
27. Mohler, C.L. (2001). Enhancing the competitive ability of crops. In M. Liebman, C. Mohler, and C. staver, (eds). *Ecological Management of Agricultural weeds*. Cambridge: Cambridge University Press. p.269 – 321.
28. Mubeen, K., Tanveer, A., Nadeem, M.A., Sarwar, N., & Shahzad, M. (2009). Critical period of weed-crop competition in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Pakistan Journal of Weed Science Research*, *15*(2-3), 171-181.
29. Niakan, M., Khavarinejad, R.A., & Rezaei, M.B. (2004). The effect of three fertilizer systems K.P.N on fresh and dry weight, leaf area and essential oil content of *Mentha piperita*. *Journal of Medicinal Plants*, *2*, 131-148. (In Persian with English abstract)
30. Omafra, S. (2006). *Principles of integrated weed management: Critical period for weed control*. Publication 75, guide to weed control. Minister of Agriculture, Food and Rural Affairs.
31. Ratkowsky, D.A. (1990). *Handbook of Nonlinear Regression Models*. New York: Marcel Dekker. p. 123–147.
32. Russo, A., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Delfine, S., Cardile, V., Rosselli, S., & Bruno, M. (2013). Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food and Chemical Toxicology*, *55*, 42-47. https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.12.036
33. Sabra, F.S., & Mahmoud, M.S. (2015). Utilization of herbicidal treatments to overcome weed problems in peppermint (*Mentha piperita* L.) cultivation under Egyptian conditions. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, *3*(1), 103-108.
34. Setvati-nayyeri, S., Gholipoori, A., Tobeh, A., & Jamaati, Sh. (2014). *Determination of critical period of weed control in medicinal plant of salvia* (*Salvia officinalis* L.). Proceeding of 2nd Nation Sampusiom Basic Research of Agriculturic Since, Tehran, p. 2923.
35. Seyedi, S.M., Ghorbani, R., Rezvani-Moghaddam, P., & Nasiri-Mahalati, M. (2011). The critical period of weed control in black seed (*Nigella sativa* L.) at Mashhad. *Iranian Journal of Field Crop Science*, *42*(4), 809-819. DOR: 20.1001.1.20084811.1390.42.4.16.8
36. Shah, P.P., & D'Mello, P.M. (2004). A review of medicinal uses and pharmacological effects of *Mentha piperita*. *Natural Product Radiance*, *3*(4), 214-221.
37. Sharifi Noori, M.S., & Ebadi, A.M. (2009). Determination of critical period of weed control in *Plantago ovata*. *Journal of Applied Crop Research*, *22*, 56-67. (In Persian with English abstract)
38. Smitchger, J.A., Burk,e I.C., & Yenish, J.P. (2012). The critical period of weed control in lentil (*Lens culinaris*) in the pacific northwest, *Weed Science*, *60*(1), 81-85. https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00069.1
39. Verdeguer, M., Castañeda, L.G., Torres-Pagan, N., Llorens-Molina, J.A., & Carrubba, A. (2020). Control of *Erigeron bonariensis* with *Thymbra capitata*, *Mentha piperita*, *Eucalyptus camaldulensis*, and *Santolina chamaecyparissus* essential oils. *Molecules*, *25*(1), 562. https://doi.org/10.3390/molecules25030562
40. Verma, R.S., Rahman, L., Verma, R.K., Chauhan, A., Yadav, A.K., & Singh, A. (2010). Essential oil composition of menthol mint (*Mentha arvensis*) and peppermint (*Mentha piperita)* cultivars at different stages of plant growth from Kumauni region of Western Himalaya. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *1*, 1-13.
41. Walia, U.S., Singh, S., & Singh, B. (2007). Performance of oxyfluorfen for weed control in *Mentha arvensis*. *Indian Journal of Weed Science*, *39*(3-4), 211-213.
42. Yadav, Y., Kumar, R., Kumari, A., Nand, V., & Verma, S. (2019). Effect of herbicides on dry matter accumulation, fresh herbage yield, oil yield and profitability of Japanese mint (*Mentha arvensis* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *8*(2), 49-53.

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 315-325

The Interaction of Organosilicon Surfactant Type and Spray Volume on Diclofop-methyl Efficacy in Control of Winter Wild Oat

A. Aliverdi[1*], S. Karami[2]

Received: 03-10-2022
Revised: 31-03-2023
Accepted: 09-04-2023
Available Online: 26-04-2023

How to cite this article:
Aliverdi, A., & Karami, S. (2023). The interaction of organosilicon surfactant type and spray volume on diclofop-methyl efficacy in control of winter wild oat. *Journal of Iranian Plant Protection Research, 37*(3), 315-325. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2023.79032.1108

Introduction

Diclofop-methyl is labeled for use in wheat and barley to control many grassy species, e.g., the genus *Avena*. Efforts should be made to use diclofop-methyl correctly, allowing the reduced doses to be applied. The response of herbicides to spray volume is different. After determining a suitable spray volume for a foliage-applied herbicide, the next step is to adjust it. The spray volume can be adjusted by two methods: the change in application speed or nozzle size. If less spray volume is necessary to apply an herbicide, it is needed to increase application speed. It causes the spray droplets to be more bounced or shattered from the leaf surface, causing the herbicide not to achieve optimal efficacy. Therefore, selecting a smaller orifice nozzle is much more applicable, of course, if the spray drift is controlled. The surface tension of water, which is used to spray herbicides, can be slightly reduced after adding the formulation of herbicides. Therefore, the relatively high surface tension of the spray solution poses three main problems. First, the spray droplets can easily be bounced off the leaf surface. Second, those remaining on the leaf surface after impact have a relatively spherical shape. Third, the crystalline wax in the cuticles, is considered an essential barrier to penetrating herbicides into the leaf tissues. It is well-established that the three main issues mentioned above can be addressed by selecting a suitable surfactant to add to the spray solution. This addition enables optimal efficacy of the herbicide. Consequently, numerous previous studies have highlighted the superiority of trisiloxane surfactants over non-silicone surfactants in enhancing herbicidal activity. This study aims to assess whether the effect of spray volume, adjusted by changing nozzle size, on the herbicidal activity of diclofop-methyl could be influenced by two types of trisiloxane surfactants – one with super wetting properties and the other with non-super wetting properties.

Materials and Methods

A greenhouse trial was performed as a dose-response relationship at the Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. The experiment was designed as a four-factor completely randomized design. The first factor was the dose of diclofop-methyl (Illoxan® EC 36%) including 0, 112.5, 225, 450, 900 (labeled dose), and 1350 g ha^{-1}. The second factor was spray volume, including 60, 120, 240, and 480 L ha^{-1}, which were adjusted using 1100075, 110015, 11003, and 11006 flat fan nozzle, respectively. The third factor was two types of trisiloxane surfactants, Break-Thru® S 233 having a non-super wetting property and Break-Thru® S 240 having a super wetting property. Both are non-ionic surfactants and manufactured by Evonik company in Germany. They formed their critical micelle concentration (CMC) at 0.1% v v^{-1} at which the surface tension of distilled water (72.1 mN m^{-1}) containing Break-Thru® S 233 and Break-Thru® S 240 was measured to be 24.1 and 22.6 mN m^{-1}, respectively.

1 and 2– Associate Professor and Ph.D. Student in Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: a.aliverdi@basu.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/jpp.2023.79032.1108

The fourth factor was surfactant concentration, including 0, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, and 0.8% v v^{-1} (a range from ⅛ to 8 CMC, respectively). A compressor sprayer was used to apply the treatments at 300 kPa spray pressure. A nonlinear regression analysis was conducted to analyze the 'drc' using the software R.

Results and Discussion

A 40% increase in the ED_{50} value occurred with increasing the spray volumes from 60 to 480 L ha^{-1} (536.4 and 865.1 g ha^{-1}, respectively), indicating a negative relationship between diclofop-methyl activity and spray volume. Adding Break-Thru® S 233 at 0.025% v v^{-1} to 60, 120, 240, and 480 L ha^{-1} spray volumes caused a 1.16, 3.31, 2.04, and 2.13-fold decrease in the ED_{50} value compared with no surfactant at their corresponding spray volumes, respectively. While, adding Break-Thru® S 240 at 0.025% v v^{-1} to 60, 120, 240, and 480 L ha^{-1} spray volumes caused a 1.39, 1.32, 1.34, and 1.19-fold decrease in the ED_{50} value compared with no surfactant at their corresponding spray volumes, respectively. A decrease in the ED50, attributed to the addition of surfactants, signifies an enhanced activity of diclofop-methyl against sterile oat. This improvement may stem from a reduction in the surface tension of the spray solution, resulting in an expanded retention and/or spreading area of the spray droplets on the leaf surface. This, in turn, facilitates increased penetration of the herbicide into the leaf tissue. These findings indicate that Break-Thru® S 233 works better when added at low concentration to a low-volume spray solution, while Break-Thru® S 240 works better when added at high concentration to a low-volume spray solution. It can be attributed to the difference in the wetting property of surfactants. The natural relationship between diclofop-methyl activity and spray volume at higher concentrations of Break-Thru® S 233 may be related to its phytotoxic effect, resulting in an antagonism effect on diclofop-methyl activity against sterile oat. In the case of Break-Thru® S 240, the relationship mode between diclofop-methyl activity and spray volume was not affected by surfactant concentration indicating the lack of phytotoxic effect by this surfactant.

Conclusion

The current study revealed a negative relationship between diclofop-methyl efficacy and spray volume, which was adjusted by nozzle size. Although this finding differs from a previous study in which spray volume has been adjusted by application speed, they showed that the effect of spray volume on the herbicide's efficacy depends not only on herbicide but also on how it is adjusted. The smaller, more concentrated spray droplets are necessary to get a better action of diclofop-methyl against sterile oat. However, the negative relationship observed between diclofop-methyl efficacy and spray volume could also be observed with two types of trisiloxane when they surfactants, were used at 0.0125 to 0.1 v v^{-1}. While, when they were used at 0.2 to 0.8% v v^{-1}, the relationship mode changed from negative to neutral for Break-Thru® S 233, but it did not change for Break-Thru® S 240. Moreover, Break-Thru® S 240 works better when added at high concentration to a low-volume spray solution due to the danger of spray run-off, while Break-Thru® S 233 works better when added at low concentration to a low-volume spray solution due to its phytotoxic effect.

Keywords: Effective dose, Nozzle size, Organosilicon surfactant, Sterile oat, Spray volume

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲، ص. ۳۲۵-۳۱۵

اثر متقابل نوع مویان اُرگانوسیلیکونی و حجم پاشش بر کارایی دیکلوفوپ-متیل در کنترل یولاف وحشی زمستانه

اکبر علی‌وردی[۱*] - سمیرا کرمی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۱/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۰

چکیده

در تحقیق گلخانه‌ای حاضر، اثر نوع مویان تری‌سیلوکسانی و حجم پاشش بر فعالیت علف‌کش دیکلوفوپ-متیل علیه یولاف وحشی زمستانه ارزیابی شد. تحقیق به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت که فاکتورها شامل مقدار علف‌کش (صفر، ۱۱۲/۵، ۲۲۵، ۴۵۰، ۹۰۰ و ۱۳۵۰ گرم در هکتار)، حجم پاشش (۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار)، نوع مویان (بِریک-ترو اِس ۲۳۳ و بِریک-ترو اِس ۲۴۰) و غلظت مویان (صفر، ۰/۰۱۲۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ درصد حجمی) بودند. ماده خشک یولاف وحشی زمستانه روی مقادیر دیکلوفوپ-متیل برازش داده شد تا مقدار علف‌کش لازم جهت کنترل ۵۰ و ۹۰ درصدی (ED_{50} و ED_{90}) بدست آید. در شرایط بدون مویان، با افزایش حجم پاشش از ۶۰ به ۴۸۰ لیتر در هکتار مقادیر ED_{50} به‌ترتیب از ۵۳۶/۴ به ۸۶۵/۱ گرم در هکتار و مقادیر ED_{90} به‌ترتیب از ۸۱۵/۳ به ۱۳۶۶/۸ گرم در هکتار افزایش یافت. رابطه‌ای منفی بین کارایی دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش مشاهده شد. این مشاهده با کاربرد هر دو مویان در غلظت‌های ۰/۰۱۲۵ تا ۰/۱ درصد حجمی نیز مشاهده شد. در غلظت‌های بالاتر، حالت رابطه از منفی به خنثی برای بِریک-ترو اِس ۲۳۳ تغییر کرد؛ ولی برای بِریک-ترو اِس ۲۴۰ این حالت تغییری نکرد. ضرورت قطرات پاشش کوچک‌تر و غلیظ‌تر برای عملکرد بهتر دیکلوفوپ-متیل محرز گردید. در حجم پاشش کم (۶۰ لیتر در هکتار)، بِریک-ترو اِس ۲۳۳ در غلظت کم (بین ۰/۱ تا ۰/۲ درصد حجمی) ولی بِریک-ترو اِس ۲۴۰ در غلظت بالا (بین ۰/۲ تا ۰/۸ درصد حجمی) کارآمدتر بودند.

واژه‌های کلیدی: حجم پاشش، شماره نازل، مقدار مؤثر، مویان ارگانوسیلیکون، یولاف وحشی زمستانه

مقدمه

علف‌کش دیکلوفوپ-متیل (بازدارنده بیوسنتز اسیدهای چرب) از خانواده شیمیایی آریلوکسی فنوکسی پروپیونات‌ها است که برای استفاده در گندم و جو جهت کنترل بسیاری از گونه های باریک‌برگ نظیر جنس یولاف برچسب شده است. در چنین گونه‌های حساسی، آنزیم استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز در مسیر بیوسنتز اسیدهای چرب توسط علف‌کش‌های گروه آریلوکسی فنوکسی پروپیونات مهار می شود. این عمل تقسیم سلولی و رشد سلولی را مختل کرده و منجر به مرگ علف‌های هرز می‌شود (Zhang *et al.*, 2017). در گیاه زراعی و خاک، پیوند استری علف‌کش دیکلوفوپ-متیل می‌تواند به ترتیب با و بدون دخالت آنزیمی به اسید مربوطه خود (دیکلوفوپ) هیدرولیز شود. سپس دیکلوفوپ اسید مجدداً هیدرولیز می‌شود تا برخی از مواد تجزیه‌ای را تشکیل دهد. در نتیجه، هیچ باقیمانده‌ای از علف‌کش مادری و اسید مربوط به آن در هنگام برداشت گیاه زراعی قابل تشخیص نیست (Tandon, 2019). با این حال بداوی و همکاران (Badawi *et al.*, 2015) گزارش کردند که مواد تجزیه‌ای مشتق شده از علف‌کش فلوآزیفوپ-بوتیل می‌توانند سریع‌تر از خود

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشیار و دانشجوی دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: a.aliverdi@basu.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/jpp.2023.79032.1108

فلوآزیفوپ-بوتیل شسته شوند. از نظر سمیت شناسی، مواد تجزیه‌ای مشتق شده از علف‌کش فنوکساپروپ-پی-اتیل سمیت بالایی برای کک آبزی مزین[1] نسبت به خود فنوکساپروپ-پی-اتیل دارند (Lin *et al.*, 2007; Jing *et al.*, 2016). به طور مشابه، کای و همکاران (Cai *et al.*, 2007) گزارش کردند که مواد تجزیه‌ای مشتق شده از علف‌کش دیکلوفوپ-متیل نسبت به خود دیکلوفوپ-متیل سمیت بالایی برای ریزجلبک آب شیرین[2] دارند. بنابراین، باید تلاش‌های بیشتری برای استفاده صحیح از دیکلوفوپ-متیل و سایر علف‌کش های خانواده شیمیایی آریلوکسی فنوکسی پروپیونات صورت گیرد تا امکان اعمال مقادیر کاهش یافته آن‌ها فراهم شود.

معمولاً از آب به عنوان حامل برای پاشش علف‌کش‌ها استفاده می‌شود. در اولین قدم، باید مشخص شود که چه مقدار حجم پاشش یک علف کش از خانواده شیمیایی آریلوکسی فنوکسی پروپیونات مناسب است، زیرا تنظیم میزان حجم پاشش به عنوان روشی ساده برای دستیابی و استفاده از مقادیر کاهش یافته علف‌کش‌های شاخ و برگ مطرح است. پاسخ علف‌کش‌های خانواده شیمیایی آریلوکسی فنوکسی پروپیونات به حجم پاشش متفاوت است. در برخی از مطالعات، کاهش حجم پاشش باعث افزایش کارایی کلودینافوپ-پروپارژیل (Gauvrit and Lamrani, 2008)، فلوآزیفوپ-پی-بوتیل (Chandrasena and Sagar, 1989) و هالوکسی‌فوپ-آر-متیل (Aliverdi and Borghei, 2021) شده است. در برخی مطالعات دیگر، کاهش حجم پاشش باعث کاهش کارایی دیکلوفوپ-متیل (Knoche, 1994) و کویزالوفوپ-پی-اتیل (Sikkema, 2008) شده است. گاهی نیز هیچ اثر متقابلی بین کارایی علف‌کش‌های فنوکساپروپ-پی-اتیل (McMullan, 1995) و فلوآزیفوپ-پی-بوتیل (Creech, 2015) و حجم پاشش مشاهده نشده است. پس از تعیین حجم پاشش مناسب برای یک علف‌کش شاخ و برگ مصرف، قدم بعدی تنظیم آن است. حجم پاشش را می توان با دو روش تنظیم کرد: تغییر در سرعت حرکت سمپاش یا شماره نازل. اگر حجم پاشش پایین برای استفاده از علف‌کش لازم باشد، سرعت حرکت سمپاش نیز افزایش می‌یابد. این باعث می‌شود که قطرات پاشش بیشتر از سطح برگ مومی پرش کنند (Jensen, 2012)؛ لذا علف‌کش به کارایی مطلوب دست نیابد. بنابراین، انتخاب یک نازل با روزنه کوچکتر بسیار کارآمدتر خواهد بود، البته اگر بادبردگی پاشش کنترل شود. نوچی (Knoche, 1994) حجم پاشش برای علف‌کش دیکلوفوپ-متیل را از طریق تغییر سرعت حرکت سمپاش تنظیم کرد و نتیجه گرفت که کارایی این علف‌کش با کاهش حجم پاشش کاهش می‌یابد.

1- *Daphnia magna*
2- *Chlorella pyrenoidosa*

افزودن یک مویان به محلول پاشش علف‌کش‌های آریلوکسی فنوکسی پروپیونات را می‌توان راه دیگری برای کاهش مقدار کاربرد آن‌ها در نظر گرفت. کشش سطحی آب سمپاشی پس از افزودن فرمولاسیون علف‌کش‌های آریلوکسی فنوکسی پروپیونات‌ها به صورت جزئی کاهش می‌یابد (Gauvrit and Lamrani, 2008). کشش سطحی نسبتاً بالای محلول پاشش سه مشکل اصلی را ایجاد می‌کند: اول، قطرات پاشش به راحتی از سطح برگ مومی لغزیده و پایین می افتد، به ویژه از روی گونه‌های باریک برگ که دارای برگ‌های افراشته هستند (Jensen, 2012) یا از روی گونه‌هایی که برگ‌هایی با کرک متراکم دارند (Xu *et al.*, 2010). دوم، آن‌قطراتی که پس از برخورد روی سطح برگ مومی باقی می‌مانند، شکل نسبتاً کروی دارند و در نتیجه سطح برگ خیس شده نسبتاً کمی دارند. این بدان معناست که آن‌ها به طور مؤثری در خیس کردن سطح برگ موفق نیستند؛ لذا در این حالت کارایی جذب و نفوذ علف‌کش به داخل بافت‌های برگ کاهش می‌یابد (Xu *et al.*, 2011). سوم، موم بلورین در کوتیکول‌ها، به‌ویژه در گونه‌های باریک برگ (Knoche, 1994)، به عنوان مانعی اساسی برای نفوذ علف‌کش‌ها به بافت‌های برگ مطرح است (Schönherr *et al.*, 2000). در چنین شرایطی، علف‌کش به کارایی مطلوب دست نخواهد یافت. به خوبی ثابت شده است که اگر یک مویان مناسب برای افزودن به محلول پاشش انتخاب شود، می توان بر سه مشکل اصلی اشاره شده در بالا غلبه کرده و به کارایی مطلوب علف‌کش دست یافت.

مولکول مویان دو بخش قطبی و غیر قطبی دارد به این صورت که سر مولکول مویان آب‌دوست و دم مولکول مویان چربی‌دوست است. مویان‌ها انواع مختلفی دارند. در یک مویان تری‌سیلوکسانی، سر آب‌دوست شامل سه سیلوکسان (سه اتم سیلیکون) است که به طور متناوب توسط دو اتم اکسیژن (–Si–O–Si–O–Si–) به هم مرتبط شده‌اند. ساختار تری‌سیلوکسانی به آن‌ها انعطاف پذیری بیشتر و توانایی بهتری برای کاهش کشش سطحی آب به حدود ۲۲ میلی نیوتون بر متر می‌دهد، در حالی‌که مویان‌های غیرسیلیکونی کشش سطحی آب را تا حدود ۳۴ میلی نیوتون بر متر کاهش می‌دهند (Gao *et al.*, 2022). چنین توانایی از مویان‌های تری‌سیلوکسانی باعث می شود که آن‌ها پدیده منحصر به فردی به نام خیس کنندگی عالی[3] را نشان دهند. هنگامی که آن‌ها به محلول پاشش اضافه می‌شوند، قطرات پاشش می‌توانند زاویه قطره تقریباً صفر درجه را با سطح برگ تشکیل دهند. در مقایسه با قطره‌ای که حاوی مویان‌های غیرسیلیکونی هستند، این عمل باعث گسترش تقریباً ۵۰ برابری قطرات پاشش بر روی سطح برگ می‌شود (Saynal *et al.*, 2008)

3- Super wetting

که منجر به افزایش تعداد روزنه‌های پوشیده شده توسط قطرات پاشش می‌شود (Penner, 2000). در نتیجه، آن‌ها نفوذ روزنه‌ای علف‌کش را تقویت کرده و منجر به جذب و انتقال بیشتر و سریع‌تر علف‌کش می‌شوند (Li *et al*., 2016;Singh and Singh, 2008). به همین دلیل، بسیاری از مطالعات قبلی گزارش داده‌اند که مویان های تری سیلوکسان نسبت به مویان‌های غیرسیلیکونی در افزایش کارایی علف‌کش‌های آریلوکسی فنوکسی پروپیونات‌ها نظیر کوئیزالوفوپ-پی-اتیل (Green, 1997)، سی‌هالوفوپ-بوتیل (Li *et al*., 2016). و بسیاری دیگر از علف‌کش‌ها با نحوه عمل متفاوت، برتری داشته‌اند (Saynal *et al*., 2008;Singh and Singh, 2008).

دو مشکل می‌تواند توانایی خیس کنندگی عالی مویان‌های تری سیلوکسان را تحت تاثیر قرار دهد که نهایتا این امر می‌تواند دستیابی به کارایی بهینه علف‌کش را مختل کند. اول، افزایش سطح پخش قطرات پاشش روی سطح برگ، زمان خشک شدن آن را کوتاه می کند (Zhou *et al*., 2018) و در نتیجه علف‌کش سریع‌تر تبلور و دسترسی آن برای جذب کوتاه می‌شود. برای حل این مشکل، همیشه یک خیس کننده به فرمولاسیون مویان‌های تری سیلوکسان اضافه می‌شود (Knoche, 1994). دوم، آن‌ها علف‌کش را از سطوح برگ، به ویژه در حجم‌های پاشش بالا، حرکت می‌دهند. به عبارتی، علف کش از روی برگ شسته می‌شود. برای حل این مشکل باید حجم پاشش کمتری انتخاب شود (Roehrig *et al*., 2018). علاوه بر این، تولیدکنندگان سعی کرده‌اند مویان‌های تری‌سیلوکسانی را توسعه دهند که علی‌رغم داشتن توانایی بالا در کاهش کشش سطحی، خاصیت خیس کنندگی عالی نداشته باشند؛ که یک نمونه از این نوع مویان‌ها بِریک-ترو اِس ۲۳۳ است (Sieverding *et al*., 2006). این مطالعه با هدف بررسی اثر متقابل بین نوع مویان اُرگانوسیلیکونی (یکی با خاصیت خیس کنندگی عالی و دیگری با خاصیت خیس کنندگی غیر عالی) و حجم پاشش بر کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایشی گلخانه‌ای به صورت دز-پاسخ در دانشگاه بوعلی سینا همدان در سال ۱۴۰۰ انجام شد. بدین منظور، بذرهای یولاف وحشی زمستانه[1] در داخل ظروف پتری‌دیش قرار داده شدند و به آن‌ها محلول نیترات پتاسیم ۰/۲ درصد اضافه شد. این بذور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد درون یخچال به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. سپس، پتری‌دیش‌ها به دستگاه ژرمیناتور با دمای تنظیمی ۲۰/۱۰ درجه سانتی‌گراد با دوره ۱۶/۸ ساعت منتقل و به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند. سپس، پتری‌دیش‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط آزمایشگاه در دمای حدوداً ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تمام مراحل نگهداری بذرها (در یخچال، ژرمیناتور و آزمایشگاه) در تاریکی انجام شد. پنج بذر جوانه زده با طول ریشه‌چه یک سانتی متر در عمق یک سانتی‌متری خاک در گلدان‌های پلاستیکی پر شده با ۱/۷ کیلوگرم خاک لومی-رسی حاوی ۰/۷ درصد ماده آلی کاشته شدند. سطح خاک گلدان‌ها حداقل یک بار در روز مرطوب می شد تا زمانی که گیاهچه‌ها شروع به ظهور کنند. سپس بوته‌ها در صورت نیاز هر چهار یا پنج روز یکبار به طور یکنواخت آبیاری و در مرحله سه برگی تیمار شدند. شرایط محیطی گلخانه دارای دمای هوا ۶ ± ۲۰ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۱۲ ± ۴۰ درصد بود.

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. اولین فاکتور مقدار دیکلوفوپ-متیل شامل صفر، ۱۱۲/۵، ۲۲۵، ۴۵۰، ۹۰۰ (مقدار توصیه شده) و ۱۳۵۰ گرم در هکتار بود. از فرمولاسیون ایلوکسان[2] ۳۶ درصد EC استفاده شد. فاکتور دوم حجم پاشش شامل ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار بود که به ترتیب با استفاده از نازل بادبزنی لبه یکنواخت ۱۱۰۰۰۷۵، ۱۱۰۰۱۵، ۱۱۰۰۳ و ۱۱۰۰۶ تنظیم شد. بر اساس کاتالوگ، قطرات ۶۱ تا ۱۰۵ میکرون با نازل بادبزنی لبه یکنواخت ۱۱۰۰۰۷۵ (Hardi, 2022)، قطرات ۱۰۶ تا ۲۳۵ میکرون با نازل‌های بادبزنی لبه یکنواخت ۱۱۰۰۱۵ و ۱۱۰۰۳، و قطرات ۲۳۶ تا ۳۴۰ میکرون با نازل بادبزنی لبه یکنواخت ۱۱۰۰۶ (Agrotop, 2022) را می‌توان در فشار پاشش ۳۰۰ کیلو پاسکال ایجاد کرد. عامل سوم دو نوع مویان تری سیلوکسان بود: بِریک-ترو اِس ۲۳۳[3] که خاصیت خیس کنندگی غیر عالی و بِریک-ترو اِس ۲۴۰[4] دارای خاصیت خیس‌کنندگی عالی بود. هر دو مویان غیر یونی بوده و توسط شرکت ایونیک[5] در آلمان تولید می‌شوند. آن‌ها غلظت میسل بحرانی خود را در ۰/۱ درصد حجمی تشکیل دادند که در این غلظت کشش سطحی آب مقطر (۷۲/۱ میلی نیوتون بر متر) حاوی بِریک-ترو اِس ۲۳۳ و بِریک-ترو اِس ۲۴۰ با استفاده از یک دستگاه کشش سطحی سنج مدل تی اِم-تی اِن-۵۵۵[6] به‌ترتیب برابر ۲۴/۱ و ۲۲/۶ اندازه‌گیری شد. فاکتور چهارم غلظت مویان بود که شامل صفر، ۰/۰۱۲۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، و ۰/۸ درصد حجمی بود (به ترتیب محدوده ای از یک هشتم تا هشت برابر غلظت میسل بحرانی). برای اعمال تیمارها در فشار پاشش ۳۰۰

1- *Avena sterilis* subsp. *ludoviciana* Durieu.

2- Illoxan®
3- Break-Thru® S233
4- Break-Thru® S240
5- Evonik
6- TM-TN-555

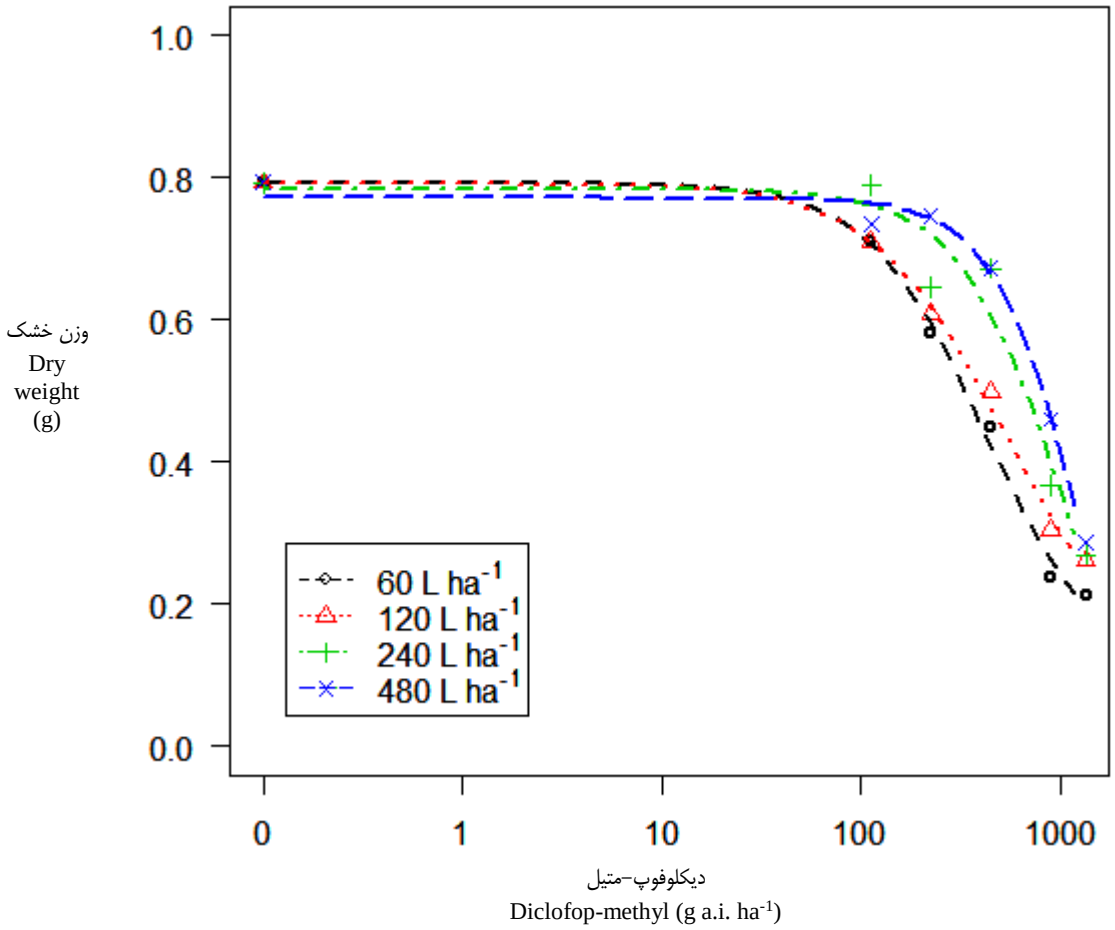
کیلو پاسکال از سمپاش فشاری مدل سولو ۴۶۱ آلمان استفاده شد. دمای هوا در زمان سمپاشی ۳ ± ۲۴ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۴ ± ۳۲ درصد بود.

اندام‌های هوایی گیاهان ۴ هفته پس از تیمار برداشت و به مدت ۴۸ ساعت در داخل آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس برای بدست آوردن ماده خشک وزن شدند. تجزیه و تحلیل رگرسیون غیرخطی در محیط نرم‌افزار R پس از نصب بسته نرم افزاری *'drc'* نسخه ۳,۵,۱ انجام شد. با استفاده از مدل چهار پارامتری لُجستیک، $Y = ((D - C) + C / (1 + exp (B (log X) - log E))$، ماده خشک یولاف وحشی زمستانه روی مقادیر دیکلوفوپ-متیل برازش داده شد تا مقدار علف‌کش لازم جهت کاهش وزن خشک ۵۰ درصدی بدست آید. چهار پارامتر مدل فوق D، C، B و E بودند که با استفاده از دستور *'summary'* تخمین زده شدند. D و C به‌ترتیب مقادیر حداکثر و حداقل مجانب Y هستند. E جایی است که Y در نیمه راه بین D و C قرار دارد و به اصطلاح مقدار علف‌کش مؤثر برای کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک یولاف وحشی (ED_{50}) است. B شیب خط رگرسیون غیرخطی برازش داده شده پیرامون E است. خطای استاندارد ED_{50}s در سطح معنی‌داری ۵ درصد برآورد شد و برای ارزیابی وجود تفاوت‌های معنی‌داری در بین ED_{50}ها استفاده شد (Ritz *et al.*, 2015). با ED_{90}ها (مقدار علف‌کش لازم جهت کاهش وزن خشک ۹۰ درصدی) نیز رفتار مشابهی صورت گرفت. از آنجایی که روند تغییرات در ED_{50} و ED_{90} تقریباً یکسان بود و نیز پژوهش حاضر به صورت گلخانه‌ای انجام گرفته است، برای تفسیر و بیان نتایج صرفاً به ED_{50} اتکا شد.

نتایج و بحث

خطوط رگرسیون غیرخطی برازش داده شده برای ماده خشک یولاف وحشی روی مقادیر علف‌کش دیکلوفوپ-متیل پاشیده شده با چهار حجم پاشش بدون مویان در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، خطوط رگرسیون با افزایش حجم پاشش به سمت راست تغییر مکان داده‌اند. هنگامی که پارامتر ED_{50} برای هر خط به طور جداگانه برآورد شد، مشخص شد که افزایش در حجم پاشش باعث افزایش مقدار ED_{50} می‌شود (جدول ۱). تفاوت معنی‌داری بین مقادیر ED_{50} دیکلوفوپ متیل پاشیده شده با ۶۰ و ۱۲۰ لیتر در هکتار مشاهده نشد. اما، تفاوت معنی‌داری بین مقادیر ED_{50} دیکلوفوپ-متیل پاشیده شده با سایر حجم‌های پاشش مشاهده شد. یک افزایش ۴۰ درصدی در مقدار ED_{50} با افزایش حجم پاشش از ۶۰ به ۴۸۰ لیتر در هکتار (به‌ترتیب ۵۳۶/۴ و ۸۶۵/۱ گرم در هکتار) رخ داد که نشان دهنده وجود رابطه منفی بین کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش است. این رابطه منفی را می‌توان به دو دلیل نسبت داد: اول اینکه، حجم پاشش با شماره نازل در مطالعه فعلی تنظیم شد (۱۱۰۰۰۷۵، ۱۱۰۰۱۵، ۱۱۰۰۳، و ۱۱۰۰۶؛ همه نازل‌های بادبزنی لبه یکنواخت). همانطور که در بالا ذکر شد، کیفیت قطرک‌سازی نازل تحت تأثیر اندازه آن است. با افزایش شماره نازل، اندازه قطرات تولید شده نیز افزایش می‌یابد (Hardi, 2022; Agrotop, 2022). پیشتر، به خوبی ثابت شده است که قطرات درشت‌تر نسبت به قطرات کوچک‌تر آسان‌تر از سطح برگ پرش می کنند (Butts *et al.*, 2018) لذا، این امر منجر به کاهش کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل در کنترل علف‌هرز یولاف وحشی زمستانه می‌شود. دوم، اینکه با کاهش حجم پاشش، غلظت قطرات پاشش افزایش می‌یابد. به همین دلیل یک گرادیان غلظتی برای علف‌کش دیکلوفوپ-متیل ایجاد می‌شود تا جریان بهتری از قطره پاشش به بافت برگ انتشار یابد (Aliverdi and Borghei, 2021) و در نتیجه کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل در کنترل علف‌هرز یولاف وحشی زمستانه افزایش می‌یابد. با ترکیب دو استدلال بالا، قطرات پاشش کوچکتر و غلیظتر برای عملکرد بهتر علف‌کش دیکلوفوپ-متیل مورد نیاز است. با این حال، نوچی (Knoche, 1994) دریافت که اگر حجم پاشش برای دیکلوفوپ-متیل با تغییر سرعت کاربرد (نه با تغییر شماره نازل) تنظیم شده باشد، نمی‌تواند بر کارایی آن تأثیر بگذارد. اگرچه یافته‌های مطالعات نوچی (Knoche, 1994) و ما متفاوت است، اما نشان از آن دارد که اثر حجم پاشش بر کارایی علف‌کش نه تنها به علف‌کش، بلکه به چگونگی تنظیم حجم پاشش نیز بستگی دارد.

در هر یک از چهار حجم پاشش، افزودن هر دو مویان در ۰/۰۱۲۵ درصد حجمی (یک هشتم غلظت میسل بحرانی) نتوانست بر مقدار ED_{50} علف‌کش دیکلوفوپ-متیل تأثیر بگذارد (جدول ۱). پیش از این، ناکارآمدی مویان‌ها در غلظت یک بیست و پنجم تا یک پنجم غلظت میسل بحرانی بر کارایی علف‌کش‌ها مشاهده شده بود (Green, 1996). در هر یک از چهار حجم پاشش، به جز در ۶۰ لیتر در هکتار با بِریک-ترو اِس ۲۳۳ (ED_{50} برابر ۴۵۹/۶ گرم در هکتار)، زمانی که مویان‌ها در ۰/۰۲۵ درصد حجمی (یک چهارم غلظت میسل بحرانی) به محلول پاشش افزوده شدند، مقدار ED_{50} به طور قابل توجهی کاهش یافت. افزودن بِریک-ترو اِس ۲۳۳ در غلظت ۰/۰۲۵ درصد حجمی به حجم‌های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار موجب کاهش ۱/۱۶، ۳/۳۱، ۲/۰۴ و ۲/۱۳ برابری در مقادیر ED_{50} به ترتیب در حجم پاشش مربوطه خود در مقایسه با بدون مویان شد.



شکل ۱- خطوط رگرسیون غیرخطی برازش داده شده برای ماده خشک یولاف وحشی زمستانه (گرم) روی مقادیر مختلف دیکلوفوپ-متیل (گرم ماده موثره در هکتار) که با حجم‌های پاشش ٦٠، ١٢٠، ٢٤٠ و ٤٨٠ لیتر در هکتار و بدون مویان پاشیده شده است.

Figure 1- The fitted nonlinear-regression lines for the dry matter of sterile oat (g) over the doses of diclofop-methyl (g a.i. ha^{-1}) spraying with 60, 120, 240, and 480 L ha^{-1} spray volumes without surfactant.

در حالی که، افزودن بِریک-ترو اِس ۲۴۰ در غلظت ۰/۰۲۵ درصد حجمی به حجم های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار موجب کاهش ۱/۳۹، ۱/۳۲، ۱/۳۴ و ۱/۱۹ برابری در مقادیر ED_{50} به ترتیب در حجم پاشش مربوطه خود در مقایسه با بدون مویان شد. افزودن بِریک-ترو اِس ۲۳۳ در غلظت ۰/۰۵ درصد حجمی (یک دوم غلظت میسل بحرانی) به حجم‌های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار موجب کاهش ۱/۴۱، ۳/۹۳، ۲/۵۹ و ۲/۱۲ برابری در مقادیر ED_{50} به ترتیب در حجم پاشش مربوطه خود در مقایسه با بدون مویان شد. در حالی که، افزودن بِریک-ترو اِس ۲۴۰ در غلظت ۰/۰۵ درصد حجمی به حجم‌های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار باعث کاهش ۲/۹۰، ۱/۵۰، ۱/۵۹ و ۱/۲۳ برابری در مقدار ED_{50} به‌ترتیب در حجم پاشش مربوطه خود در مقایسه با بدون مویان شد. افزودن بِریک-ترو اِس ۲۳۳ در غلظت ۰/۱ درصد حجمی (غلظت میسل بحرانی) به حجم‌های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار باعث کاهش ۲/۰۳، ۴/۲۶، ۴/۷۳ و ۴/۱۴ برابری در ED_{50} به‌ترتیب در حجم پاشش مربوطه خود در مقایسه با بدون مویان شد. در حالی که، افزودن بِریک-ترو اِس ۲۴۰ در غلظت ۰/۱ درصد حجمی به حجم‌های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار باعث کاهش ۳/۵۷، ۲/۲۲، ۱/۷۲ و ۱/۲۱ برابری در مقدار ED_{50} به ترتیب در حجم پاشش مربوطه خود در مقایسه با بدون مویان شد. کاهش ED_{50} با افزودن مویان‌ها نشان‌دهنده بهبود کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل علیه یولاف وحشی زمستانه است که می تواند به دلیل کاهش کشش سطحی محلول پاشش باشد که منجر به افزایش نشست پاشش (Jensen, 2012) و یا سطح پخش قطره بر روی برگ (Schönherr *et al.*, 2000) می‌شود. پخش شدن قطرات پاشش روی سطح برگ منجر به افزایش نفوذ علف‌کش به بافت برگ

می‌شود. با اندازه‌گیری نفوذ کوتیکولی و روزنه‌ای حشره‌کش کلرانترانیلی‌پرول به برگ سیب ثابت شده است که نسبت نفوذ کوتیکولی به نفوذ روزنه‌ای با افزودن بِریک-ترو اِس ۲۳۳ بیشتر از بِریک-ترو اِس ۲۴۰ است (Melo *et al.*, 2019).

نتایج در محدوده غلظت‌های یک چهارم تا یک غلظت میسل بحرانی نشان داد که افزودن بِریک-ترو اِس ۲۴۰ به حجم پاشش ۶۰ لیتر در هکتار باعث پتانسیل نسبی بیشتر (که از نسبت ED_{50} بدون مویان به ED_{50} با مویان بدست می‌آید) نسبت به افزودن بِریک-ترو اِس ۲۳۳ شد (به ترتیب ۱/۳۹ در مقابل ۱/۱۶ در غلظت یک چهارم غلظت میسل بحرانی، ۲/۹ در مقابل ۱/۴۱ در یک غلظت دوم غلظت میسل بحرانی و ۳/۵۷ در مقابل ۲/۰۳ در غلظت میسل بحرانی). در حالی که در حجم‌های پاشش ۱۲۰ تا ۴۸۰ لیتر در هکتار، مقدار پتانسیل نسبی به نفع بِریک-ترو اِس ۲۳۳ تغییر کرد. از سوی دیگر، کمترین مقدار ED_{50} با افزودن بِریک-ترو اِس ۲۳۳ در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، و ۰/۲ درصد حجمی به حجم پاشش ۱۲۰ لیتر در هکتار (به‌ترتیب ۱۵۷/۲، ۱۴۵/۱، و ۱۵۰/۰ گرم در هکتار) یا با افزودن بِریک-ترو اِس ۲۴۰ در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، و ۰/۸ درصد حجمی به حجم پاشش ۶۰ لیتر در هکتار (به‌ترتیب ۱۴۹/۹، ۱۴۸/۸، ۱۵۷/۲ و ۱۴۲/۸ گرم در هکتار) بدست آمد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که بِریک-ترو اِس ۲۳۳ زمانی که در غلظت کم به محلول پاشش کم حجم اضافه شود، بهتر عمل می‌کند؛ در حالی که بِریک-ترو اِس ۲۴۰ زمانی که در غلظت بالا به محلول پاشش حجم کم اضافه شود، بهتر عمل می‌کند. دلیل این مشاهده را می‌توان به تفاوت در خاصیت مرطوب کنندگی مویان‌ها نسبت داد. اگرچه تفاوت قابل توجهی بین کشش سطحی آب مقطر حاوی هر یک از مویان‌ها در غلظت میسل بحرانی (۲۴/۱ در مقابل ۲۲/۶ میلی‌نیوتون بر متر) مشاهده نشد که این نتیجه نیز مشابه مطالعات قبلی بود (Sieverding *et al.*, 2006; Melo *et al.*, 2019)، با این حال گزارش شده است که زاویه خیس شدن و سطح پخش است که قطرات حاوی آن‌ها در غلظت میسل بحرانی روی سطوح مختلف با جنس‌های کاملاً متفاوت از یکدیگر هستند. ملو و همکاران (Melo *et al.*, 2019) یک زاویه خیس شدن ۶۸/۶ در مقابل ۳۹/۳ درجه را برای قطرات ۵ میکرولیتری حاوی به ترتیب بِریک-ترو اِس ۲۳۳ و بِریک-ترو اِس ۲۴۰ با سطح برگ گندم گزارش کردند. کوالچاک و همکاران (Kovalchuk *et al.*, 2019) نیز یک سطح پخش ۹۰ در مقابل ۴۰۰ میلی متر مربعی برای قطرات ۵ میکرولیتری حاوی به ترتیب بِریک-ترو اِس ۲۳۳ و بِریک-ترو اِس ۲۴۰ را بر روی سطح پلی اتیلن گزارش کردند. سیوردینگ و همکاران (Sieverding *et al.*, 2006) سطح پخش ۱/۶ در مقابل ۵۳/۳ سانتی‌متر مربعی را برای قطرات ۵۰ میکرولیتری حاوی به‌ترتیب بِریک-ترو اِس ۲۳۳ و بِریک-ترو اِس ۲۴۰ روی سطح پلی پروپیلن گزارش کردند. گسکین و موری (Gaskin and Murray, 1997) به خوبی ثابت کرده‌اند که در هر غلظت از مویان تری سیلوکسان[1] با خاصیت خیس کنندگی عالی، با افزایش حجم پاشش، نشست قطرات روی سطح برگ گندم افزایش می یابد. اما راندمان جذب قطرات به دلیل پرش قطرات کاهش می‌یابد. علاوه بر این، آن‌ها گزارش کردند که در حجم پاشش کمتر از ۲۸۰ لیتر در هکتار، پرش قطرات رخ نمی‌دهد. در نتیجه، راندمان جذب قطرات در حجم پاشش کمتر و غلظت بالاتر مویان تری سیلوکسان با خاصیت خیس‌کنندگی عالی بیشتر است (Gaskin *et al.*, 2000). در حالی که با یک مویان تری سیلوکسان با خاصیت خیس کنندگی غیر عالی، هنوز ظرفیت افزایش جذب روزنه‌ای با افزایش حجم پاشش بدون خطر پرش قطرات وجود دارد. با این حال، به نظر می‌رسد که این ظرفیت تا حدی به دلیل اثر نامطلوب حجم پاشش بر کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل محدود شده است. در غلظت‌های یک هشتم تا غلظت میسل بحرانی هر دو مویان، رابطه‌ای منفی بین کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش مشاهده شد. البته، اگر حجم پاشش ۶۰ لیتر در هکتار برای بِریک-ترو اِس ۲۳۳ در غلظت ۰/۱ درصد حجمی در نظر گرفته نشود. اما، در غلظت‌های ۲ تا ۸ برابر غلظت میسل بحرانی، حالت رابطه از حالت منفی به حالت خنثی برای بِریک-ترو اِس ۲۳۳ تغییر کرده است. در حالی که هنوز برای بِریک-ترو اِس ۲۴۰ حالت رابطه به صورت منفی بود. رابطه خنثی بین کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش در غلظت‌های بالای بِریک-ترو اِس ۲۳۳ ممکن است با اثر سمی آن مرتبط باشد که منجر به یک اثر تضاد بر کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل در کنترل یولاف وحشی زمستانه شده است (جدول ۱). به طور مشابه، تضاد کارایی علف‌کش‌های ریم سولفورون بر روی دم‌روباهی سبز[2] (Green, 1996) و گلایفوسیت بر روی گندم و باقلا[3] (Liu, 2004) قبلاً با افزایش غلظت مویان های غیرسیلیکونی گزارش شده است. علاوه بر این، یک مویان تری-سیلوکسانی (Silwet® L-77) با خاصیت خیس کنندگی عالی در غلظت بالا دارای اثر تضاد بر کارایی علف‌کش گلایفوسیت در کنترل گندم است (Gaskin and Stevens, 1993). هنگامی که از مویان در غلظت‌های بالا استفاده می‌شود، سلول‌های قرار گرفته در زیر قطرات پاشش ممکن است آسیب ببینند و در نتیجه جذب، انتقال و کارایی علف‌کش‌ها کاهش یابد. با این حال، اعتقاد بر این است که مویان در غلظت‌های بالا می‌تواند یک محیط ژلاتینی برای قطرات پاشش ایجاد کند و جذب، انتقال و کارایی علف‌کش‌ها را کاهش دهد (Green, 1996). در مورد بِریک-ترو اِس ۲۴۰، ارتباط بین کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش تحت تأثیر غلظت مویان

1- Silwet® 408
2- *Setaria faberi*
3- *Vicia faba*

قرار نگرفت که نشان دهنده غیر سمی بودن این مویان است. بنابراین، افزایش ED_{50} به سبب افزودن بِریک-ترو اِس ۲۴۰ در غلظت‌های بالا به محلول پاشش با حجم بالا، می‌تواند به ترکیبی از اثر نامطلوب حجم پاشش بر کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل و شستشوی قطرات پاشش مربوط باشد.

جدول ۱- مقادیر علف‌کش موثر (ED_{50} و ED_{90} برحسب گرم در هکتار ± خطای استاندارد) دیکلوفوپ-متیل برای کنترل یولاف وحشی زمستانه هنگامی که در حجم‌های پاشش و با انواع مویان‌ها در غلظت‌های مختلف استفاده شد.

Table 1- The effective dose (ED50 (g/ha^{-1}) ± standard error) values of diclofop-methyl against sterile oat when it was applied with different spray volumes, surfactant types, and surfactant concentrations

Surfactant مویان	Concentration (% v v^{-1}) غلظت مویان	Spray volume (L ha^{-1}) حجم پاشش			
		60	120	240	480
		(ED_{50} برحسب گرم در هکتار ± خطای استاندارد)			
No surfactant بدون مویان	0	536.4 ± 52.8	619.2 ± 31.2	801.6 ± 49.2	865.1 ± 44.4
Break-Thru® S 233	0.0125	546.6 ± 19.2	624.0 ± 38.4	734.4 ± 46.8	828.0 ± 49.2
	0.025	459.6 ± 27.6	187.2 ± 9.6	392.5 ± 22.9	405.6 ± 15.6
	0.05	378.0 ± 25.2	157.2 ± 10.8	308.3 ± 44.5	408.0 ± 34.9
	0.1 (CMC)	264.1 ± 9.6	145.1 ± 4.8	169.2 ± 14.4	208.7 ± 12.0
	0.2	280.8 ± 45.6	150.0 ± 19.2	180.0 ± 18.1	225.5 ± 26.4
	0.4	466.8 ± 44.4	448.8 ± 33.6	456.1 ± 50.4	387.6 ± 28.4
	0.8	565.2 ± 30.1	586.9 ± 46.7	591.3 ± 61.2	662.4 ± 46.9
Break-Thru® S 240	0.0125	567.6 ± 32.4	580.8 ± 26.4	670.9 ± 40.7	885.6 ± 22.8
	0.025	383.9 ± 43.2	466.9 ± 58.7	597.6 ± 30.0	722.4 ± 69.5
	0.05	184.8 ± 10.8	412.7 ± 36.0	495.3 ± 45.6	703.2 ± 74.4
	0.1 (CMC)	149.9 ± 6.0	278.4 ± 25.2	464.4 ± 16.8	711.5 ± 44.0
	0.2	148.8 ± 7.1	236.4 ± 16.8	457.2 ± 39.5	968.7 ± 60.1
	0.4	157.2 ± 8.4	292.6 ± 18.1	660.0 ± 57.6	976.8 ± 85.2
	0.8	142.8 ± 8.8	307.2 ± 27.6	706.8 ± 82.7	1120.4 ± 71.3
		(ED_{90} برحسب گرم در هکتار ± خطای استاندارد)			
No surfactant بدون مویان	0	815.3 ± 69.2	873.7 ± 49.9	1378.7 ± 68.8	1366.8 ± 59.4
Break-Thru® S 233	0.0125	792.5 ± 23.6	829.2 ± 21.0	1211.7 ± 55.3	1217.1 ± 36.9
	0.025	611.2 ± 35.1	303.4 ± 25.8	608.3 ± 24.7	697.6 ± 26.0
	0.05	642.6 ± 43.5	264.1 ± 23.3	566.7 ± 61.0	738.4 ± 49.1
	0.1 (CMC)	390.8 ± 12.5	195.6 ± 15.1	321.4 ± 32.9	378.5 ± 34.1
	0.2	476.0 ± 35.5	207.0 ± 23.7	349.2 ± 45.0	416.2 ± 34.3
	0.4	605.0 ± 52.1	631.6 ± 25.3	570.0 ± 43.9	526.3 ± 43.1
	0.8	910.1 ± 50.2	843.5 ± 65.0	868. 7 ± 43.1	840.7 ± 60.3
Break-Thru® S 240	0.0125	839.1 ± 39.7	788.8 ± 41.2	1078.7 ± 60.1	1327.5 ± 31.5
	0.025	486.4 ± 50.4	731.6 ± 51.9	865.5 ± 43.7	1162.4 ± 83.1
	0.05	303.6 ± 12.3	663.3 ± 38.5	866.5 ± 37.2	1230.3 ± 83.1
	0.1 (CMC)	216.0 ± 14.6	397.5 ± 31.9	812.1 ± 41.0	1237.4 ± 71.2
	0.2	259.0 ± 18.3	306.5 ± 21.0	827.1 ± 62.6	1655.2 ± 81.5
	0.4	204.1 ± 12.5	411.7 ± 34.5	818.4 ± 49.0	1278.6 ± 76.4
	0.8	218.6 ± 15.0	426.7 ± 30.1	995.0 ± 70.5	1332.2 ± 78.0

ED_{50} و ED_{90} به‌ترتیب نشان دهنده مقدار دیکلوفوپ-متیل (گرم در هکتار) است که باعث کنترل ۵۰ و ۹۰ درصد یولاف وحشی زمستانه می‌شود. غلظت بحرانی میسل به CMC مخفف شده است. حجم پاشش به‌ترتیب با استفاده از نازل‌های بادبزنی مسطح ۱۱۰۰۰۷۵، ۱۱۰۰۱۵، ۱۱۰۰۳ و ۱۱۰۰۶ تنظیم شده است.

The ED_{50} and ED_{90} is a dose of diclofop-methyl (g h^{-1}) causing 50 and 90% sterile oat control, respectively. The critical micelle concentration is abbreviated to CMC. The spray volumes were adjusted using 1100075, 110015, 11003, and 11006 flat-fan nozzles, respectively.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر رابطه منفی بین کارایی دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش را نشان داد که با شماره نازل تنظیم شده بود. اگرچه این یافته با مطالعه قبلی که در آن حجم پاشش با سرعت کاربرد تنظیم شده

است متفاوت است، اما نشان می‌دهد که اثر حجم پاشش بر فعالیت علف‌کش نه تنها به علف‌کش، بلکه به نحوه تنظیم آن نیز بستگی دارد. بنابراین، به نظر می‌رسد که قطرات پاشش کوچکتر و غلیظ تر برای عملکرد بهتر علف‌کش دیکلوفوپ متیل در کنترل یولاف وحشی زمستانه ضروری است. با این حال، رابطه منفی مشاهده شده بین کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش زمانی که از دو نوع مویان تری سیلوکسان که خاصیت خیس گنندگی متفاوتی داشتند در غلظت‌های ۰/۰۱۲۵ تا ۰/۱ درصد حجمی قابل مشاهده بود. در حالی که، کاربرد آن‌ها در غلظت‌های ۰/۲ تا ۰/۸ درصد حجمی، حالت رابطه را از منفی به خنثی برای بِریک-ترو اِس ۲۳۳ تغییر داد، اما برای بِریک-ترو اِس ۲۴۰ تغییری نکرد. در حجم پاشش کم (۶۰ لیتر در هکتار)، بِریک-ترو اِس ۲۳۳ در غلظت کم (بین ۰/۱ تا ۰/۲ درصد حجمی) ولی بِریک-ترو اِس ۲۴۰ در غلظت بالا (بین ۰/۲ تا ۰/۸ درصد حجمی) کارآمدتر بودند. در کشورمان، مقاومت یولاف وحشی زمستانه به علف‌کش دیکلوفوپ-متیل با مکانسیم مبتنی بر تغییر در محل هدف گزارش شده است که حاکی از کاربرد متوالی این علف کش در مقادیر مصرف بالاست. اگرچه با استفاده از مویان‌ها می‌توان مقادیر مصرف علف‌کش را کاهش داد، ولی اگر تناوب علف‌کشی صحیح اجرا نگردد، کاربرد مقادیر کاهش یافته دیکلوفوپ متیل (یا حتی سایر علف‌کش‌ها) می‌تواند مقاومتی مبتنی بر متابولسیم علف-کش در علف‌های هرز را توسعه دهد.

منابع

1. Agrotop (2022) Catalog. https://www.agrotop.com/Katalog_109E/mobile/index.html. Accessed 4 May 2022.
2. Aliverdi, A., & Borghei, S.M. (2021). The effect of spray pattern and volume on Haloxyfop-r-methyl efficacy against wild barley (*Hordeum spontaneum*). (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/JPP.2021.67963.1003
3. Badawi, N., Rosenbom, A.E., Olsen, P., & Sørensen, S.R. (2015). Environmental fate of the herbicide fluazifop-P-butyl and its degradation products in two loamy agricultural soils: A combined laboratory and field study. *Environmental Science & Technology*, *49*(15), 8995-9003. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00406
4. Butts, T.R., Samples, C.A., Franca, L.X., Dodds, D.M., Reynolds, D.B., Adams, J.W., ... & Kruger, G.R. (2018). Spray droplet size and carrier volume effect on dicamba and glufosinate efficacy. *Pest Management Science*, *74*(9), 2020-2029. https://doi.org/10.1002/ps.4913
5. Cai, X., Liu, W., Jin, M., & Lin, K. (2007). Relation of diclofop-methyl toxicity and degradation in algae cultures. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, *26*(5), 970-975. https://doi.org/10.1897/06-440R.1
6. Chandrasena, N.R., & Sagar, G.R. (1989). Fluazifop toxicity to quackgrass (*Agropyron repens*) as influenced by some application factors and site of application. *Weed Science*, *37*(6), 790-796. https://doi.org/10.1017/S0043174500072854
7. Creech, C.F., Henry, R.S., Werle, R., Sandell, L.D., Hewitt, A.J., & Kruger, G.R. (2015). Performance of postemergence herbicides applied at different carrier volume rates. *Weed Technology*, *29*(3), 611-624. https://doi.org/10.1614/WT-D-14-00101.1
8. Gao, X., Wang, D., Jiang, Z., Li, X., & Chen, G. (2022). Effect of adjuvants on the wetting behaviors of bifenthrin droplets on tea leaves. *Applied Sciences*, *12*(9), 4217. https://doi.org/10.3390/app12094217
9. Gaskin, R.E., & Stevens, P.J. (1993). Antagonism of the foliar uptake of glyphosate into grasses by organosilicone surfactants. Part 1: Effects of plant species, formulation, concentrations and timing of application. *Pesticide Science*, *38*(2-3), 185-192. https://doi.org/10.1002/ps.2780380213
10. Gaskin, R.E., & Murray, R.J. (1997, August). Effect of surfactant concentration and spray volume on retention of organosilicone sprays on wheat. In *Proceedings of the New Zealand Plant Protection Conference* (Vol. 50, pp. 139-142). https://doi.org/10.30843/nzpp.1997.50.11364
11. Gaskin, R.E., Elliott, G., & Steele, K.D. (2000). Novel organosilicone adjuvants to reduce agrochemical spray volumes on row crops. *New Zealand Plant Protection*, *53*, 350-354. https://doi.org/10.30843/NZPP.2000.53.3607
12. Gauvrit, C., & Lamrani, T. (2008). Influence of application volume on the efficacy of clodinafop-propargyl and fenoxaprop-P-ethyl on oats. *Weed Research*, *48*(1), 78-84. https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2008.00599.x
13. Green, J.M. (1996). Interaction of surfactant dose and spray volume on rimsulfuron activity. *Weed Technology*, *10*(3), 508-511. https://doi.org/10.1017/S0890037X00040343
14. Green, J.M. (1997). Varying surfactant type changes quizalofop-P herbicidal activity. *Weed Technology*, *11*(2), 298-302. https://doi.org/10.1017/S0890037X00042986
15. Hardi. (2022) Catalog. https://myhardi.com.au/index.php/manuals/931-parts-and-components/file. Accessed 4 May 2022
16. Jensen, P.K. (2012). Increasing efficacy of graminicides with a forward angled spray. *Crop Protection*, *32*, 17-23. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.10.017

17. Jing, X., Yao, G., Liu, D., Liu, M., Wang, P., & Zhou, Z. (2016). Environmental fate of chiral herbicide fenoxaprop-ethyl in water-sediment microcosms. *Scientific Reports*, *6*(1), 1-7. https://doi.org/10.1038/srep26797
18. Knoche, M. (1994). Effect of droplet size and carrier volume on performance of foliage-applied herbicides. *Crop Protection*, *13*(3), 163-178. https://doi.org/10.1016/0261-2194(94)90075-2
19. Knoche, M. (1994). Organosilicone surfactant performance in agricultural spray application: a review. *Weed Research*, *34*(3), 221-239. https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1994.tb01990.x
20. Kovalchuk, N.M., Dunn, J., Davies, J., & Simmons, M.J. (2019). Superspreading on hydrophobic substrates: effect of glycerol additive. *Colloids and Interfaces*, *3*(2), 51. https://doi.org/10.3390/colloids3020051
21. Li, J., Chen, W., Xu, Y., & Wu, X. (2016). Comparative effects of different types of tank-mixed adjuvants on the efficacy, absorption and translocation of cyhalofop-butyl in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* [L.] Beauv.). *Weed Biology and Management*, *16*(2), 80-89. https://doi.org/10.1111/wbm.12095
22. Lin, J., Chen, J., Cai, X., Qiao, X., Huang, L., Wang, D., & Wang, Z. (2007). Evolution of toxicity upon hydrolysis of fenoxaprop-p-ethyl. *Journal of agricultural and food chemistry*, *55*(18), 7626-7629. https://doi.org/10.1021/jf071009o
23. Liu, Z. (2004). Effects of surfactants on foliar uptake of herbicides–a complex scenario. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *35*(3-4), 149-153. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2004.02.016
24. McMullan, P.M. (1995). Effect of spray volume, spray pressure and adjuvant volume on efficacy of sethoxydim and fenoxaprop-p-ethyl. *Crop Protection*, *14*(7), 549-554. https://doi.org/10.1016/0261-2194(95)00061-5
25. Melo, A.A., Hunsche, M., Guedes, J.V., Hahn, L., & Feltrin, N.M. (2019). Study of the effects of adjuvants associated with insecticides on the physicochemical properties of the spray solution and characterization of deposits on wheat and maize leaves under simulated rain. *Engenharia Agrícola*, *39*, 315-322. http://dx.doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v39n3p315-322/2019
26. Penner, D. (2000). Activator adjuvants. *Weed Technology*, *14*(4), 785-791. https://doi.org/10.1614/0890-037X(2000)014[0785:AA]2.0.CO;2
27. Ritz, C., Baty, F., Streibig, J.C., & Gerhard, D. (2015). Dose-response analysis using R. *PloS One*, *10*(12), e0146021. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146021
28. Roehrig, R., Boller, W., Forcelini, C.A., & Chechi, A. (2018). Use of surfactant with different volumes of fungicide application in soybean culture. *Engenharia Agrícola*, *38*, 577-589. https://doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v38n4p577-589/2018
29. Sanyal, D., Bhowmik, P.C., & Reddy, K.N. (2008). Effects of surfactants on primisulfuron activity in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* [L.] Beauv.) and green foxtail (*Setaria viridis* [L.] Beauv.). *Weed Biology and Management*, *8*(1), 46-53. https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2007.00273.x
30. Schönherr, J., Baur, P., & Uhlig, B.A. (2000). Rates of cuticular penetration of 1-naphthylacetic acid (NAA) as affected by adjuvants, temperature, humidity and water quality. *Plant Growth Regulation*, *31*(1), 61-74. https://doi.org/10.1023/A:1006354732358
31. Sieverding, E., Humble, G.D., & Fleute-Schlachter, I. (2006). A new herbicide adjuvant based on a non-super spreading trisiloxane surfactant. *Journal of Plant Diseases Protection* (Special Issue): 1005-1011.
32. Sikkema, P.H., Brown, L., Shropshire, C., Spieser, H., & Soltani, N. (2008). Flat fan and air induction nozzles affect soybean herbicide efficacy. *Weed Biology and Management*, *8*(1), 31-38. https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2007.00271.x
33. Singh, D., & Singh, M. (2008). Absorption and translocation of glyphosate with conventional and organosilicone adjuvants. *Weed Biology and Management*, *8*(2), 104-111. https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2008.00282.x
34. Tandon, S. (2019). Degradation of fenoxaprop-p-ethyl and its metabolite in soil and wheat crops. *Journal of Food Protection*, *82*(11), 1959-1964. https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-127
35. Xu, L., Zhu, H., Ozkan, H.E., & Thistle, H.W. (2010). Evaporation rate and development of wetted area of water droplets with and without surfactant at different locations on waxy leaf surfaces. *Biosystems Engineering*, *106*(1), 58-67. https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2010.02.004
36. Xu, L., Zhu, H., Ozkan, H. E., Bagley, W.E., & Krause, C.R. (2011). Droplet evaporation and spread on waxy and hairy leaves associated with type and concentration of adjuvants. *Pest Management Science*, *67*(7), 842-851. https://doi.org/10.1002/ps.2122
37. Zhang, P., Wu, H., Xu, H., Gao, Y., Zhang, W., & Dong, L. (2017). Mechanism of fenoxaprop-P-ethyl resistance in Italian ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*) from China. *Weed Science*, *65*(6), 710-717. https://doi.org/10.1017/wsc.2017.54
38. Zhou, Z., Cao, C., Cao, L., Zheng, L., Xu, J., Li, F., & Huang, Q. (2018). Effect of surfactant concentration on the evaporation of droplets on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaves. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *167*, 206-212. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.04.018

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 327-350

Competition between Mungbean (*Vigna radiate* (L.) Wilczek) and Redroot Pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) under Dust Conditions

M.S. Mousavi[1], A. Taab[2*], S. Hajinia[3]

Received: 10-04-2023
Revised: 26-06-2023
Accepted: 29-06-2023
Available Online: 01-07-2023

How to cite this article:
Mousavi, M.S., Taab, A., & Hajinia, S. (2023). Competition between mungbean (*Vigna radiate* (L.) Wilczek) and redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) under dust conditions. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *37*(3), 327-350. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81895.1142

Introduction

The dust storm has become a regional phenomenon due to occurrence of severe droughts. Dust storms, recognized as significant atmospheric phenomena and associated with climate change, exert detrimental effects on plant growth and crop yield. This study aimed to assess the impact of soil dust on the competition between mung bean and red-root pigweed.

Materials and Methods

An experiment was carried out at the research greenhouse of Faculty of Agriculture at Ilam University during spring and summer 2022. The experiment was conducted as a factorial based on a completely randomized design with four replications. The experimental treatments were included five replacement ratios of mung bean and redroot pigweed (planting patterns 75% mung bean + 25% pigweed; 50% mung bean + 50% pigweed; 25% mung bean + 75% pigweed; monoculture of mung bean and redroot pigweed) and dust were at two levels (0 and 60 gr m^{-3}).

Results and Discussion

The results showed that the dust causes symptoms of necrosis and leaf burn in mung bean and pigweed. The highest amount of carotenoids (3.59 mg g^{-1} fresh weight of leaf) was observed in the planting pattern of 75% mung bean + 25% pigweed under no dust conditions. The monoculture of pigweed under dust conditions had the lowest amount of carotenoids. Dust reduced the amount of total chlorophyll, leaf relative water content, plant height and length of inflorescence in Pigweed plant by 23.4, 12, 14.7 and 12%, respectively. Dust caused a decrease in the leaf area in pigweed in different patterns of intercropping. Photosynthesis rate, transpiration rate, leaf area, plant height, number of pods per plant and number of seed per plant in mung bean were respectively decreased by 31.2, 24.9, 28.8, 17.7, 29.7 and 36.7% due to dust application. The highest photosynthesis rate in mungbean (5.28 µmol of CO_2 m^{-2} s^{-1}), leaf area (129.1 cm^2) and the number of seeds per plant (13 seed $plant^{-1}$) were obtained from monoculture of mungbean. However, they were decreased under competition with pigweed. The biological yield in mungbean and pigweed under dust condition were, respectively, 42.6 and 16.8 % lower than that of no dust condition. Under dust conditions, the grain yield of mung bean and pigweed were, respectively, 32.8% and 42.6% lower than that of no dust condition. The actual yield of mung bean under competition with pigweed was lower than the predicted yield indicating the higher competitive effects of pigweed. In all planting patterns with and without dust, the total actual yields were higher than the predicted

1, 2 and 3- Graduated M.Sc., Assistant Professor and Visiting Teacher at Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: a.taab@ilam.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81895.1142

yield indicating a negative interference effects for mung bean. The relative total yield in most of the planting patterns was greater than one, suggesting increase in the partial relative yield and reduction of intra-species competition in pigweed. The negative effects of pigweed on mungbean were more visible in high densities of pigweed, which also showed a higher positive dominance index. The competition index showed a value greater than one for the pigweed indicating the greater competitive ability of this weed compared to mung bean. Under both conditions, with and without dust, pigweed exhibited the highest relative density coefficient in all planting patterns, establishing itself as the dominant plant compared to mung bean, which had a relative density coefficient less than one. The competition index for mung bean, across all intercropping patterns, was also less than one, indicating its lower competitive ability compared to pigweed. Interspecific competition with pigweed resulted in an actual yield loss for mung bean, highlighting that interspecific competition in mung bean surpasses intraspecific competition. Conversely, pigweed showed a greater susceptibility to intraspecific competition.

Conclusion

The results showed that pigweed has a higher competitive ability and by increased exploitation of environmental resources, cause a decrease in mung bean yield. Despite the high competition ability of pigweed, soil dust cause reduction in its growth and biomass.

Keyword: Competition; Dust, Mungbean, Physiological traits, Yield

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲، ص. ۳۵۰-۳۲۷

رقابت بین ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز تحت شرایط گرد و خاک

معصومه سادات موسوی[۱]- علیرضا تاب[۲*]- سمیه حاجی‌نیا[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۱
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۴/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۸

چکیده

به‌منظور ارزیابی شبیه‌سازی اثرات گرد و خاک بر قدرت رقابتی ماش در برابر تاج‌خروس ریشه قرمز، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ایلام در بهار و تابستان سال ۱۴۰۱ اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل پنج الگوی کاشت جایگزینی ماش و تاج‌خروس (الگوی کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس؛ ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس؛ ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس، کشت خالص ماش و تاج‌خروس) و گرد و خاک در دو سطح (صفر و ۶۰ گرم بر متر مکعب ریزگرد) بودند. نتایج نشان داد جریان گرد و خاک باعث علائم نکروز و سوختگی برگ ماش و تاج‌خروس می‌گردد. گرد و خاک میزان کلروفیل، مقدار رطوبت نسبی برگ، ارتفاع بوته و طول گل‌آذین در گیاه تاج‌خروس را به‌ترتیب به‌میزان ۲۳/۴، ۱۲، ۱۴/۷ و ۱۲ درصد کاهش داد. گرد و خاک باعث کاهش سطح برگ تاج‌خروس در الگوهای مختلف کاشت گردید. سرعت فتوسنتز، سرعت تعرق، سطح برگ، ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در بوته ماش با اعمال گرد و خاک به‌ترتیب به‌میزان ۳۱/۲، ۲۴/۹، ۲۸/۸، ۱۷/۷، ۲۹/۶ و ۳۶/۷ درصد کاهش یافتند. رقابت تاج‌خروس با ماش باعث کاهش سرعت فتوسنتز، سطح برگ و تعداد دانه در بوته ماش گردید. عملکرد بیولوژیک ماش و تاج‌خروس به‌ترتیب ۴۲/۶ و ۱۶/۸ و عملکرد دانه ماش و عملکرد گل‌آذین تاج‌خروس به‌ترتیب ۳۲/۸ و ۴۲/۶ درصد با اعمال گرد و خاک کمتر از شرایط بدون گرد و خاک بودند. در حضور تراکم‌های مختلف تاج‌خروس عملکرد واقعی ماش کمتر از عملکرد پیش‌بینی شده بود و منحنی تغییرات عملکرد ماش به‌صورت مقعر بود که این نشان از برتری رقابتی تاج‌خروس نسبت به ماش دارد. تحت شرایط بدون و گرد و خاک در همه الگوهای کاشت مجموع عملکرد واقعی بیشتر از عملکرد پیش‌بینی شده بود که نشان‌دهنده روابط زیان‌بری یک‌جانبه برای ماش و سودبری یک‌جانبه برای تاج خروس است. عملکرد نسبی کل در اکثر الگوهای کاشت بیشتر از یک بود که ناشی از افزایش عملکرد نسبی جزئی تاج‌خروس و کاهش رقابت درون گونه‌ای تاج‌خروس است. با افزایش تراکم تاج‌خروس اثرات منفی این علف‌هرز بر ماش نمایان‌تر گردید و دارای شاخص غالبیت مثبت و بیشتری بود. محاسبه نسبت رقابت نشان داد که ضریب آن برای تاج‌خروس بیشتر از یک بود که معرف قدرت رقابتی بیشتر این علف‌هرز در مقایسه با ماش است. تحت هر دو شرایط با و بدون گرد و خاک علف‌هرز تاج‌خروس در همه الگوهای کاشت به‌عنوان گیاه غالب دارای بیشترین ضریب تراکم نسبی بود و ماش با ضریب تراکم نسبی کمتر از یک به‌عنوان گیاه مغلوب بود. شاخص رقابت نیز در همه الگوهای کاشت برای ماش پایین‌تر از یک به‌دست آمد، که نشان می‌دهد ماش نسبت به تاج‌خروس قدرت رقابت کمتری دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز از قدرت رقابتی بالاتر نسبت به ماش برخوردار بود که با افزایش بهره‌برداری از منابع محیطی باعث کاهش عملکرد ماش می‌گردد. علی‌رغم قدرت رقابت زیاد این علف‌هرز، تحت شرایط گرد و خاک رشد و زیست‌توده آن کاهش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: خصوصیات فیزیولوژیکی، رقابت، ریزگردها، عملکرد، ماش

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اکولوژی گیاهان زراعی، استادیار و مدرس مدعو گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: a.taab@ilam.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81895.1142

مقدمه

امروزه گرد و خاک به‌عنوان یکی از چالش‌های مهم زیست‌محیطی مطرح بوده و در غرب و جنوب‌غرب ایران به‌ویژه استان‌های خوزستان، کرمانشاه، کردستان و ایلام مشکلات بسیاری به بار آورده و منجر به کاهش عملکرد در گیاهان زراعی نیز شده است. ذرات گرد و غبار با قطر بین ۰/۰۰۲ تا ۰/۱ میلی‌متر در هوا پدیده گرد و غبار را تشکیل می‌دهند که می‌توانند بیشتر در اثر وزش بادها در فصول بهار و تابستان به مناطق مختلف منتقل شوند (Wang *et al.*, 2006). انسان با استفادهٔ ناصحیح از منابع آب سطحی و زیرزمینی، تخریب پوشش گیاهی، ضعیف شدن خاک به‌علت فعالیت‌های کشاورزی و استفادهٔ ناصحیح از زمین، شرایط را برای وقوع پدیدهٔ گرد و غبار را فراهم می‌کند (Soltani-Gerdefaramarzi *et al.*, 2021). یانگ و همکاران (Yang *et al.*, 2007) تغییر اقلیم و خشک‌سالی را عامل مؤثر در طوفان‌های گرد و خاک دانسته‌اند. از آثار مخرب ریزگردها می‌توان به کاهش نور رسیده به گیاه، کاهش عملکرد محصولات کشاورزی، کاهش حاصلخیزی خاک، اختلال در سامانه‌های مکانیکی و ارتباطات و بروز مشکلات تنفسی اشاره کرد (Akbari, 2011). ذرات ریزگرد با قطر کمتر از پنج میکرومتر بیشترین اثر را در مسدود کردن روزنه‌ها و کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه دارند (Takashi, 1995). این ذرات با نشست بر اندام‌های گیاهان باعث تغییرات فیزیکی و شیمیایی مختلفی همچون مسدود کردن روزنه‌ها، کاهش فعالیت فتوسنتزی، ریزش برگ‌ها و مرگ بافت‌های گیاهی، افزایش دما و تغییر رنگدانه‌های برگ، تغییر در مقدار رطوبت نسبی برگ و مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ و همچنین کاهش دریافت تابش فعال فتوسنتزی و در نهایت کاهش عملکرد محصولات زراعی می‌شوند (Chaturvedi *et al.*, 2013). در بعضی منابع به‌طور متوسط درصد کاهش محصول در اثر ریزگردها در محیط تا ۵ درصد برآورد شده است (Chauhan and Joshi, 2010). مطالعه آدو و همکاران (Addo *et al.*, 2013) نشان داد که ریزگردها با نشستن بر سطح برگ‌ها، از طریق کاهش محتوای کلروفیل، کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی و کاهش رشد گیاه منجر به کاهش عملکرد لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) شده‌اند. رنجبر و همکاران (Ranjbar *et al.*, 2021) در بررسی اثرات ریزگردها بر نخود (*Cicer arietinum* L.) رقم بیونیچ گزارش دادند رسوب ریزگردها در مرحله شروع گلدهی عملکرد زیستی، عملکرد دانه، تعداد دانه در بوته، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئیدها و کارایی مصرف آب را نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ۲۴/۵، ۱۶/۸، ۱۵/۴، ۱۳/۵، ۲۱/۷، ۱۰/۷ و ۲۴/۶ درصد کاهش می‌دهند.

ماش (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) یکی از مهمترین منابع پروتئینی در جنوب و جنوب‌شرقی آسیا می‌باشد (Somta *et al.*, 2014). کشت گیاه زراعی ماش معمولاً به‌صورت تابستانه صورت می‌گیرد که دوره رشد آن تحت شرایط ریزگردها قرار می‌گیرد. با توجه به اینکه این گیاه دارای ارزش غذایی بالایی در بین بقولات است، اعمال مدیریت زراعی بهینه به‌منظور بهره‌گیری هر چه بیشتر از پتانسیل عملکرد آن ضروری است. علاوه بر اثرات ریزگردها بر گیاه ماش وجود رقابت علف‌های‌هرز مانند تاج‌خروس ریشه قرمز باعث کاهش رشد و عملکرد این گیاه می‌شوند. تاج‌خروس ریشه قرمز (*Amaranthus retroflexus* L.) سومین علف‌هرز غالب دولپه‌ای در سطح جهان بوده که به‌دلیل دارا بودن طبیعت رشد نامحدود و مسیر فتوسنتزی چهار کربنه، در دمای بالا و نور شدید به‌ویژه در کشت گیاهان زراعی تابستانه و گرمادوست توان رقابتی بالایی از خود نشان می‌دهد (Ronald and Smith, 2000). عدم کنترل علف‌های‌هرز در زراعت ماش باعث کاهش عملکرد بین ۵ تا ۶۲ درصد می‌شود (Dalish and Poulton, 2011). صابرعلی و محمدی (Saberali and Mohammadi, 2015) کاهش عملکرد دانه سویا (*Glysin max* L.) را در رقابت با ۱۰ و ۲۰ بوته تاج‌خروس به‌ترتیب ۱۸/۴ و ۵۹/۵ درصد گزارش دادند. قاسمی و همکاران (Ghasemi *et al.*, 2020) در بررسی اثر گرد و خاک بر توان رقابتی بین لوبیاچیتی رقم کوشا و علف‌هرز سلمه‌تره (*Chenopodium album* L.) نشان دادند با افزایش نسبت تراکمی سلمه‌تره صفات لوبیا بیشتر تحت تأثیر علف‌های‌هرز قرار گرفته و این اثرها با اعمال تیمار گرد و خاک نیز تشدید گردید. گرد و خاک به‌طور متوسط سبب کاهش ۳۹/۷ درصدی عملکرد و ۵۲/۸ درصد زیست‌توده لوبیا شد. عملکرد لوبیا در نسبت تراکمی ۵۰ درصد لوبیا در حالت رقابت با سلمه‌تره و در شرایط بدون گرد و خاک و با آن به‌ترتیب ۷/۸ و ۴/۷ گرم در بوته بود. کاهش زیست‌توده سلمه‌تره ۱۰/۶ درصد در مقایسه با تیمارهای بدون گرد و خاک بود.

با استناد بر منابع ذکر شده در بالا، احتمالاً تحت شرایط گرد و خاک، علف‌های‌هرز قادرند در شرایط موجود با ویژگی‌های اکوفیزیولوژیکی خود از منابع به شکل مؤثرتری نسبت به گیاه زراعی استفاده کنند. به همین دلیل فراهم نمودن تمهیدات لازم برای مبارزه با علف‌های‌هرز در شرایط گرد و خاک از ضرورویات‌های لازم به‌منظور حصول عملکرد بهینه در شرایط فوق می‌باشد. در این راستا کمی‌سازی اثر تنش غیرزیستی گرد و خاک بر روابط تداخلی علف‌هرز و گیاه زراعی از ضروریات اولیه به‌منظور بهینه‌سازی تصمیمات مدیریتی در سیستم کشت است. بنابراین اولویت‌بندی بر اساس درجه ضرورت کنترل علف‌های‌هرز به‌ویژه تاج‌خروس در مزارع ماش، نیازمند آگاهی از پتانسیل خسارت‌زایی آن در هر منطقه و شناخت اکوفیزیولوژی رقابت این علف‌هرز با ماش تحت اثر گرد و خاک

می‌باشد. نتایج این پژوهش می‌تواند جهت آگاهی و پیش‌بینی اثرهای زیان‌بار پدیده گرد و خاک بر رشد و عملکرد ماش و در نتیجه مدیریت اثر تداخلی این پدیده مورد بهره‌برداری قرار گیرد. لذا با کمی‌سازی اثر مخرب گرد و خاک بر رقابت بین گیاه زراعی ماش و علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز، می‌توان برآورد مناسبی از اثرات این پدیده زیست‌محیطی داشت. بنابراین با مشخص شدن میزان اهمیت این پدیده، می‌توان نتایج آن را در راستای تصمیمات مدیریتی و نیز توجه به راهکارهای مدیریت این عامل مخرب مورد استفاده قرار داد. در نتیجه این پژوهش با هدف بررسی تأثیر توأم رقابت و گرد و خاک بر رشد و عملکرد ماش انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور ارزیابی اثرات گرد و خاک بر قدرت رقابتی ماش با تاج‌خروس ریشه قرمز، آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در بهار و تابستان سال ۱۴۰۱ اجرا شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل پنج الگوی کاشت جایگزینی ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز (۱۰۰ درصد ماش+ ۰ درصد تاج‌خروس یا کشت خالص ماش؛ ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس؛ ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس؛ ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس و ۰ درصد ماش+ ۱۰۰ درصد تاج‌خروس یا کشت خالص تاج‌خروس) و گرد و خاک در دو سطح (صفر و ۶۰ گرم بر متر مکعب ریزگرد) بودند.

گلخانه از نوع گلخانه‌های کوانست بوده که در طول دوره رشد گیاهان دمای گلخانه در روز ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در شب ۱۵ درجه سانتی‌گراد بود. مقدار رطوبت نسبی گلخانه ۷۰ درصد بود و میزان روشنایی با استفاده از لامپ‌های فلورسنت به‌صورت ۱۰ ساعت تاریکی و ۱۴ ساعت روشنایی به‌علاوه دریافت نور معمول آفتاب بوده است. برای اجرای این آزمایش بذر ماش رقم محلی استفاده شد و بذر تاج‌خروس ریشه قرمز از مزارع دانشگاه ایلام تهیه گردید. برای کشت از گلدان‌های سفالی با ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر و قطر دهانه ۱۵ سانتی‌متر با ظرفیت سه کیلوگرم خاک در گلدان استفاده گردید. خاک گلدان مخلوطی از خاک زراعی مزرعه، کود دامی و ماسه بادی با نسبت ۲:۱:۱ بود. کاشت هر دو گیاه ماش و تاج‌خروس به‌صورت همزمان در ۲۰ فروردین ماه سال ۱۴۰۱ انجام گرفت. برای کاشت ابتدا بذور هر دو گیاه با دو برابر تراکم مورد نظر کشت و سپس بعد از استقرار گیاهچه تراکم‌های مورد نظر، چهار بوته در گلدان، اعمال گردید. تراکم گیاهان داخل هر گلدان ثابت و برابر چهار بوته در گلدان بود. الگوهای مختلف کاشت بر اساس سری‌های جایگزینی طراحی گردید. در الگوی کاشت (۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس) سه بوته ماش و یک بوته تاج‌خروس، در الگوی کاشت (۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس) دو بوته ماش و دو بوته تاج‌خروس و در الگوی کاشت (۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس) یک بوته ماش و سه بوته تاج‌خروس در گلدان بود. در کشت خالص ماش و تاج‌خروس نیز چهار بوته به کشت خالص هر کدام از آن‌ها اختصاص یافت. آبیاری بر اساس نیاز گیاه به‌صورت منظم انجام شد.

گرد و خاک از ریزگردهای طبیعی ناشی از جریان پدیده گرد و غبار در شهرستان دهلران که جزء کانون‌های اصلی گرد و خاک در منطقه هستند، جمع‌آوری و بر گیاهان اعمال گردید. اعمال ریزگردها بعد از استقرار گیاهان، در مر حله رشد زایشی ماش، در یک مرحله و به‌میزان حدود ۶۰ گرم در مترمکعب انجام گردید. اندازه ذرات گرد و خاک جمع‌آوری حدود ۰/۰۵۳ میلی‌متر بوده که از الک آزمایشگاهی ۲۷۰ مش (ASTM, KTA-Tator, Inc., USA) عبور داده شدند. برای اعمال و شبیه‌سازی ریزگردها بر گیاهان اتاقکی با پوشش پلاستکی شفاف با ابعاد ۲×۲×۱ متر مکعب طراحی و ساخته شد (شکل ۱ الف). سپس گلدان‌ها به داخل اتاقک منتقل شدند. ورود گرد و خاک با استفاده از یک مخزن پلاستیکی از دریچه تعبیه شده در یک سمت اتاقک صورت گرفت و مقدار ۲۴۰ گرم گرد و خاک با استفاده از فن دمنده هوا در داخل اتاقک پخش شد (شکل ۱ ب). فن را پس از اتمام پخش گرد و خاک خاموش کرده و برای اینکه گرد و خاک به‌صورت یکنواخت در سطح برگ‌ها پخش گردد حدود ۴۰ دقیقه اجازه داده شد تا رسوب و نشست کامل گرد و خاک بر سطح برگ انجام شود (شکل ۱ ج). بعد از اعمال گرد و خاک گلدان‌ها به محل اصلی در گلخانه منتقل شدند.

۱۵ روز بعد از اعمال گرد و خاک در مرحله تشکیل دانه‌ها در ماش اقدام به اندازه‌گیری خصوصیات فیزیولوژیکی شد. برای سنجش سرعت فتوسنتز، سرعت تعرق، غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای و دمای برگ از دستگاه فتوسنتزمتر قابل حمل استفاده گردید. اندازه‌گیری در هوای آفتابی و در صبح انجام شد. به‌منظور سنجش مقدار رطوبت نسبی برگ‌های هر گیاه مطابق روش ریتچی و همکاران (Ritchie *et al*., 1990) اقدام شد. برای سنجش مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدهای برگ از روش آرنون (Arnon, 1967) و استون ۸۰ درصد استفاده شد. در مرحله پر شدن دانه‌ها سطح برگ هر گیاه در گلدان با اندازه‌گیری طول و عرض هر برگ با خط‌کش اندازه‌گیری شد. در مرحله رسیدگی ماش اقدام به برداشت بوته‌ها گردید.

شکل ۱- تصاویری از اتاقک تهیه شده برای اعمال گرد و خاک (الف)؛ اعمال گرد و خاک با استفاده از فن (ب)، مشاهده گرد و خاک اعمال شده بر روی گیاه ماش و تاج‌خروس ریشه‌قرمز (ج)

Figure 1- Pictures of the chamber prepared for applying dust (A); application of dust using fan (B), observing the dust applied on the mungbean and redroot pigweed (C)

قطر ساقه در هر گیاه توسط کولیس دیجیتالی، ارتفاع بوته در هر گیاه و طول گل‌آذین تاج‌خروس با استفاده از خط‌کش، تعداد ساقه فرعی، تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف ماش، وزن خشک اندام‌های هوایی برای هر دو گیاه به‌عنوان عملکرد بیولوژیکی و عملکرد دانه ماش و عملکرد گل‌آذین تاج‌خروس اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام‌های هوایی پس از خشک کردن بوته‌ها در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت اقدام به توزین آن‌ها گردید. بعد از توزین وزن خشک بوته برای ماش اقدام به جدا کردن دانه‌ها و برای تاج‌خروس گل‌آذین‌ها جدا و توزین گردیدند. شاخص برداشت ماش با استفاده از تقسیم عملکرد دانه به عملکرد بیولوژیکی ضربدر ۱۰۰ محاسبه گردید.

به‌منظور سنجش میزان رقابت ماش و تاج‌خروس در الگوهای کاشت، از معیارهای مختلف سنجش رقابت به شرح زیر استفاده گردید (Dhima *et al*., 2007; Willey, 1979).

معادله (۱) عملکرد نسبی[1]

$$RY_{(Mungbean)} = \frac{Y_{MP}}{Y_{MM}}$$

$$RY_{(Pigweed)} = \frac{Y_{PM}}{Y_{PP}}$$

$$RY_{total} = RY_{Pigweed} + RY_{Mungbean}$$

معادله (۲) ضرایب ازدحام نسبی[2]

$$RCC_{(Mungbean)} = \frac{Y_{MP} \times Z_{PM}}{(Y_{MM} - Y_{MP}) \times Z_{MP}}$$

$$RCC_{(Pigweed)} = \frac{Y_{PM} \times Z_{MP}}{(Y_{PP} - Y_{PM}) \times Z_{PM}}$$

معادله (۳) شاخص غالبیت[3]

$$A_{Mungbean} = \frac{Y_{MP}}{Y_{MM} \times Z_{MP}} - \frac{Y_{PM}}{Y_{PP} \times Z_{PM}}$$

$$A_{Pigweed} = \frac{Y_{PM}}{Y_{PP} \times Z_{PM}} - \frac{Y_{MP}}{Y_{MM} \times Z_{MP}}$$

معادله (۴) شاخص رقابت[4]

$$CI = \frac{(Y_{PP} - Y_{PM}) \times (Y_{MM} - Y_{MP})}{Y_{PM} \times Y_{MP}}$$

معادله (۵) نسبت رقابت[5]

$$CR_{(Mungbean)} = \frac{RY_{Mungbean}}{RY_{Mungbean}} \times \frac{Z_{PM}}{Z_{MP}}$$

$$CR_{(Pigweed)} = \frac{RY_{Pigweed}}{RY_{Mungbean}} \times \frac{Z_{MP}}{Z_{PM}}$$

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات الگوهای مختلف کاشت و گرد و خاک بر مقدار صفات فتوسنتزی برگ ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز

Table 1- Analysis of variance (mean squares) of the effect of different planting patterns and dust on photosynthetic traits in the leaves of mungbean and redroot pigweed

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	ماش Mungbean				تاج‌خروس ریشه قرمز Redroot pigweed			
		کلروفیل Chlorophyll	کاروتنوئیدها Carotenoids	سرعت فتوسنتز Photosynthetic rate	سرعت تعرق Transpiration rate	کلروفیل Chlorophyll	کاروتنوئیدها Carotenoid	سرعت فتوسنتز Photosynthetic rate	سرعت تعرق Transpiration rate
گرد و خاک Dust	1	0.0498^{ns}	0.0042^{ns}	8.2012*	5.7800*	0.2663*	0.1201*	0.26145^{ns}	0.23420^{ns}
الگوی کاشت Planting pattern	3	0.0197^{ns}	0.0136^{ns}	9.2492**	1.6258^{ns}	0.1260^{ns}	0.1033*	0.09874^{ns}	0.05262^{ns}
گرد و خاک× الگوی کاشت Dust× Planting pattern	3	0.0279^{ns}	0.0358^{ns}	2.7821^{ns}	1.1458^{ns}	0.0883^{ns}	0.0808*	0.00515^{ns}	0.03679^{ns}
خطای آزمایشی Error	24	0.0614	0.0443	1.7802	1.3275	0.0574	0.0251	0.26537	0.43308
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)	-	22.98	15.54	35.58	38.57	21.16	12.14	35.43	50.87

^{ns}، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

^{ns}, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively.

1- RY: Relative Yield
2- RCC: Relative Crowding Coefficient
3- A: Aggresivity
4- CI: Competition Index
5- CR: Competitive Ratio

در این روابط Y_{PP} و Y_{PM} به‌ترتیب عملکرد تاج‌خروس در کشت خالص و مخلوط؛ Y_{MM} و Y_{MP} به‌ترتیب عملکرد ماش در کشت خالص و مخلوط؛ Z_{PM} نسبت مخلوط گیاه تاج‌خروس و Z_{MP} نسبت مخلوط گیاه ماش هستند.

تجزیه آماری داده‌ها و بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS Var 9.4 با رویه proc univariate normal و آزمون‌های شاپیرو- والک[1]، کولموگراف- اسمیرنوف[2]، کرامر ون- میزس[3] و اندرسون دارلینگ[4] مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها با در نظر گرفتن اثرات گرد و خاک و الگوی کاشت به‌عنوان متغیرهای مستقل بر روی صفات اندازه‌گیری شده به‌عنوان متغیرهای وابسته با رویه Proc glm و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد توسط نرم‌افزار SAS Var 9.4 صورت گرفت. نمودارها در نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیولوژیکی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد گرد و خاک در سطح احتمال پنج درصد تأثیر معنی‌داری بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ تاج‌خروس، سرعت فتوسنتز و سرعت تعرق ماش داشت. تأثیر الگوی کاشت در سطح یک درصد بر سرعت فتوسنتز ماش و در سطح احتمال پنج درصد بر مقدار کاروتنوئیدهای برگ تاج‌خروس معنی‌دار بود. همچنین اثرات متقابل تیمارها بر مقدار کاروتنوئیدهای برگ تاج‌خروس در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱).

گرد و خاک میزان کلروفیل برگ تاج‌خروس را به‌میزان ۲۳/۵ درصد در مقایسه با شرایط بدون گرد و خاک کاهش داد (جدول ۲). بیشترین مقدار کاروتنوئیدهای برگ تاج‌خروس (۳/۵۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در الگوی کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس تحت شرایط بدون گرد و خاک مشاهده شد و کشت خالص تاج‌خروس تحت شرایط گرد و خاک کمترین میزان (۱/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) این صفت را به خود اختصاص داد (جدول ۴).

نتایج این پژوهش نشان داد گرد و خاک بر مقدار کلروفیل برگ ماش تأثیر معنی‌داری ندارد؛ که احتمالاً به‌عنوان پاسخ سازشی گیاه جهت افزایش سرعت فتوسنتز استفاده می‌شود که در نتیجه کاهش سطح برگ را جبران می‌کند. حفظ و افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه در معرض آلودگی هوا می‌تواند بیانگر مقاومت و تحمل گیاه نسبت به آلودگی هوا باشد (Singh and Verma, 2007). عباس‌نسب و همکاران (Abbasnasab *et al*., 2019) گزارش کردند گرد و خاک بر مقدار کلروفیل برگ گونه‌های *Bromus tomentellus* و یونجه (*Medicago sativa*) تأثیر معنی‌داری ندارد؛ که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. همچنین گرد و خاک باعث کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ تاج‌خروس شد که مطابق با یافته‌های سلامه و همکاران (Salama *et al*., 2011) مبنی بر کاهش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ *Datura innoxia* Mill. تحت شرایط آلودگی هوا است. همچنین رسوب ذرات گرد و خاک بر سطح برگ موجب کاهش تشعشع فعال فتوسنتزی و سایه‌اندازی بر برگ شده که در نتیجه سرعت فتوسنتز و رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش می‌یابند و به‌علت همراهی اثر سایه و آسیب بر غشای سلولی و افزایش لیپد پروکسید در سلول، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت شرایط گرد و خاک کاهش می‌یابند (Abu-Romman and Alzubi, 2015). چائوهان و جوشی (Chauhan and Joshi, 2010) گزارش کردند که مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدهای گیاهان گندم (*Triticum aestivum* L.) و خردل (*Sinapis arvensis*) رشد یافته در مناطق آلوده، کاهش چشمگیری نشان می‌دهد. علوی و کریمی (Alavi and Karimi, 2015) تأثیر طوفان گرد و غبار شبیه‌سازی شده در آزمایشگاه را بر فلورسنس کلروفیل a، محتوای کلروفیل، فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی در گیاه دارویی آویشن (*Thymus vulgaris* L.) را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این محققان نشان داد که رابطه معکوسی بین مقدار گرد و غبار و محتوای کلروفیل و فلورسنس کلروفیل a وجود دارد. در مطالعه حاضر مقدار کاروتنوئیدهای برگ تاج‌خروس ریشه قرمز تحت شرایط گرد و خاک کاهش یافت؛ در بررسی دیگری میزان کاروتنوئیدهای برگ گیاه *Eucalyptus camaldulensis* در منطقه آلوده نسبت به شاهد ۱۶/۹ درصد کاهش یافته است (Seyyednejad and Koochak, 2011).

بیشترین سرعت فتوسنتز ماش (۴/۲۶ میکرومول دی‌اکسید کربن بر متر مربع در ثانیه) تحت شرایط عدم گرد و خاک مشاهده گردید که در مقایسه با شرایط گرد و خاک ۳۱/۲۱ درصد بیشتر بود (جدول ۲). بیشترین سرعت فتوسنتز ماش (۵/۲۸ میکرومول دی‌اکسید کربن بر متر مربع در ثانیه) در بین الگوهای کاشت از کشت خالص ماش به‌دست آمد و تحت شرایط رقابت با تاج‌خروس سرعت فتوسنتز ماش کاهش یافت. میزان کاهش سرعت فتوسنتز ماش در الگوهای کاشت ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس، ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس و ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس به‌ترتیب ۴۷/۸۶، ۳۲/۹۴ و ۳۴/۸۳ درصد در مقایسه با کشت خالص ماش بودند (جدول ۲).

1- Shapiro-Wilk
2- Kolmogorov-Smirnov
3- Cramer-von Mises
4- Anderson-Darling

جدول ۲- اثرات الگوهای مختلف کاشت و گرد و خاک بر خصوصیات فیزیولوژیک ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز

Table 2- Effect of different planting patterns and dust on physiological traits in mungbean and redroot pigweed

گرد و خاک Dust	ماش Mungbean			تاج‌خروس ریشه قرمز Redroot pigweed	
	سرعت فتوسنتز Photosynthetic rate (μmol CO_2 m^{-2} s^{-1})	سرعت تعرق Transpiration rate (mmol H_2O $m^{-2}s^{-1}$)	دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای Intercellular CO_2 concentration (mmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)	کلروفیل Chlorophyll (mg $g^{-1}fw^{-1}$)	مقدار رطوبت نسبی برگ RWC* (□)
بدون گرد و خاک Without dust	4.26[a]	3.41[a]	437.3[b]	1.795[a]	74.76[a]
با گرد و خاک With dust	3.24[b]	2.56[b]	530.6[a]	1.373[b]	65.77[b]
الگوی کاشت Planting pattern					
۱۰۰ درصد ماش+ ۰ درصد تاج‌خروس 100□ Mungbean+ 0□ Pigweed	5.28[a]	-	478.5[ab]	–	-
۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس 75□ Mungbean+ 25□ Pigweed	3.44[b]	-	453.3[b]	–	-
۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس 50□ Mungbean+ 50□ Pigweed	3.54[b]	-	482.9[ab]	–	-
۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس 25□ Mungbean+ 75□ Pigweed	2.75[b]	-	521.1[a]	–	-

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letters in each column are not significantly different according to Duncan' s multiple range test (*P<0.05*).

* Relative water content

گرد و خاک تأثیری بر سرعت فتوسنتز تاج‌خروس نداشت؛ با توجه به اینکه تاج‌خروس ریشه قرمز جزء گیاهان C4 است احتمالاً بتواند از مقدار دی‌اکسید کربن کم به‌خوبی استفاده نماید و سرعت فتوسنتزی آن تحت تأثیر گرد و خاک قرار نگیرد. اما این احتمال می‌رود که در ماش گرد و خاک موجب بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تبادلات گازی گردیده است. ذرات گرد و خاک قادر به نفوذ بین کرک‌های برگ بوده و باعث مسدود شدن روزنه‌ها می‌شوند و می‌توانند از طریق کاهش روند تبادلات گازی، دریافت نور و آسیب به سیستم فتوسنتزی گیاه سبب کاهش سرعت فتوسنتز و در نتیجه تولید ماده خشک شوند. این نتایج با مطالعات علوی و کریمی (Alavi and Karimi, 2015) مبنی بر کاهش سرعت فتوسنتز در گیاه آویشن تحت شرایط گرد و خاک مطابقت دارد. رسوب گرد و خاک بر روی برگ‌ها سبب دریافت جذب نور کمتر برای فتوسنتز و در نتیجه کاهش هدایت روزنه‌ای و عملکرد گیاه می‌شوند. ذرات گرد و خاک باعث انسداد روزنه‌ها و نیز کاهش تبادل گازها شده که عامل دیگری برای کاهش سرعت فتوسنتزی در گیاه هستند (Zia-khan *et al.*, 2015). اسدی‌سبزی و همکاران (Asadi-Sabzi *et al.*, 2019) گزارش دادند که با افزایش میزان ریزگرد وزن تر و خشک روند کاهشی نشان دادند به‌طوری‌که تیمارهای ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم ریزگرد بر مترمکعب در زمان شروع بذردهی، به‌ترتیب باعث کاهش وزن خشک علف‌های هرز به‌میزان ۱۷ و ۳۳ درصد شد. با افزایش میزان ریزگرد از صفر به ۱۵۰۰ میکروگرم بر مترمکعب، سرعت فتوسنتز و سرعت تعرق نیز به حدود نصف کاهش یافت. با توجه به روند متفاوت تغییر در سرعت فتوسنتزی دو گونه ماش و تاج‌خروس تحت شرایط گرد و خاک، می‌توان نتیجه گرفت که نوع محدودیت فتوسنتزی به‌وجود آمده در دو گونه متفاوت است. رقابت تاج‌خروس باعث کاهش سرعت فتوسنتز ماش گردید. علت این امر احتمالاً به‌دلیل افزایش رقابت بین گونه‌ای ماش و تاج‌خروس برای جذب مواد غذایی و نور، افزایش سایه‌اندازی تاج‌خروس روی ماش و در نهایت افزایش تنفس و کاهش سرعت فتوسنتز ماش است؛ بنابراین اثرات گرد و خاک توأم با رقابت

تاج‌خروس اثر زیان‌باری بر سرعت فتوسنتز ماش دارد و از این طریق باعث کاهش رشد و تولید ماش می‌شوند.

بیشترین سرعت تعرق ماش (۳/۴۱ میلی‌مول آب بر متر مربع در ثانیه) تحت شرایط بدون گرد و خاک و کمترین میزان آن (۲/۵۶ میلی‌مول آب بر متر مربع در ثانیه) در شرایط گرد و خاک مشاهده شد. میزان کاهش سرعت تعرق ماش تحت شرایط گرد و خاک در مقایسه با عدم گرد و خاک ۲۴/۹۰ درصد بود (جدول ۲). گرد و خاک باعث کاهش سرعت تعرق ماش شد و بر سرعت تعرق تاج‌خروس تأثیر معنی‌داری نداشت. این نتایج با نتایج عباس‌نسب و همکاران (Abbasnasab *et al*., 2019) مبنی بر کاهش سرعت تعرق در یونجه و عدم تأثیر معنی‌دار در *B. tomentellus* مطابقت دارد.

زیاخان و همکاران (Zia-Khan *et al*., 2015) گزارش کردند گرد و خاک در گیاه پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) در همه مراحل رشد سرعت تعرق را کاهش می‌دهد.

گرد و خاک و الگوی کاشت تأثیر معنی‌داری بر غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای هر دو گیاه داشت. اثرات متقابل آنها بر غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای تاج‌خروس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. دمای برگ هر دو گیاه تحت تأثیر گرد و خاک و الگوی کاشت قرار نگرفتند. همچنین مقدار رطوبت نسبی برگ ماش تحت تأثیر تیمارهای گرد و خاک و الگوی کاشت قرار نگرفتند؛ اما مقدار رطوبت نسبی برگ تاج‌خروس در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر گرد و خاک قرار گرفت (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات الگوهای مختلف کاشت و گرد و خاک بر صفات فیزیولوژیک ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز

Table 3- Analysis of variance (mean squares) of the effect of different planting patterns and dust on physiological traits in mungbean and redroot pigweed

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	ماش Mungbean			تاج‌خروس ریشه قرمز Redroot pigweed		
		غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای Intercellular CO_2 concentration	دمای برگ Leaf temperature	مقدار رطوبت نسبی برگ Relative water content	غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای Intercellular CO_2 concentration	دمای برگ Leaf temperature	مقدار رطوبت نسبی برگ Relative water content
گرد و خاک Dust	1	69573.8**	0.00031ns	63.901ns	42884.9**	0.02311ns	647.91*
الگوی کاشت Planting pattern	3	6270.3*	0.03081ns	10.872ns	10831.8**	0.03571ns	5.85ns
گرد و خاک× الگوی کاشت Dust× Planting pattern	3	2405.4ns	0.02064ns	20.677ns	4304.3**	0.00954ns	10.76ns
خطای آزمایشی Error	24	1817.7	0.5202	137.122	323.1	1.1108	135.52
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)	-	8.81	2.15	15.71	3.52	3.14	16.57

ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively.

گرد و خاک باعث افزایش غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای ماش گردید، میزان افزایش غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه ماش تحت تأثیر گرد و خاک در مقایسه با شرایط بدون گرد و خاک ۲۱/۳ درصد بود (جدول ۲). رقابت با تاج‌خروس در الگوهای مختلف کاشت باعث افزایش غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای ماش گردید؛ به‌طوری‌که بیشترین غلظت (۵۲۱/۱ میلی‌مول دی‌اکسید کربن بر متر مربع در ثانیه) در الگوی کاشت ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس مشاهده گردید که با نسبت‌های ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس و کشت خالص ماش تفاوت معنی‌داری نداشت و کمترین مقدار (۴۵۳/۳ میلی‌مول دی‌اکسید کربن بر متر مربع در ثانیه) در الگوی ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس مشاهده گردید (جدول ۲). گرد و خاک باعث افزایش غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای تاج‌خروس گردید؛ به‌طوری‌که بیشترین غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای (۵۶۴/۹ میلی‌مول دی‌اکسید کربن بر مترمربع در ثانیه) در الگوی ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس تحت شرایط گرد و خاک مشاهده شد که با کشت خالص تاج‌خروس تفاوت معنی‌داری نداشت و کمترین مقدار (۳۹۱/۵ میلی‌مول دی‌اکسید کربن بر متر مربع در ثانیه) در الگوی کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس تحت شرایط بدون گرد و خاک به‌دست آمد (جدول ۴).

جدول ٤- تأثیر گرد و خاک بر مقدار کاروتنوئیدهای برگ، غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای و سطح برگ تاج‌خروس ریشه قرمز در الگوهای مختلف کشت

Table 4- The effect of dust on the amount of leaf carotenoids, the intercellular CO_2 concentration and the leaf area in redroot pigweed in different planting patterns

گرد و خاک Dust	الگوی کاشت Planting pattern	غلظت کاروتنوئیدهای برگ Carotenoid (mg $g^{-1}fw^{-1}$ leaf)	غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای Intercellular CO_2 concentration (mmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)	سطح برگ Leaf area (cm^2)
بدون گرد و خاک No dust	۰ درصد ماش+ ۱۰۰ درصد تاج‌خروس 0 Mungbean+ 100 Pigweed	3.361^{ab}	507.0^{c}	115.3^{b}
	۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس 25 Mungbean+ 75 Pigweed	2.368^{bc}	524.9^{c}	218.9^{a}
	۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس 50 Mungbean+ 50 Pigweed	2.680^{bc}	474.0^{bd}	169.7^{ab}
	۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس 75 Mungbean+ 25 Pigweed	3.587^{a}	391.5^{be}	226.3^{a}
با گرد و خاک With dust	۰ درصد ماش+ ۱۰۰ درصد تاج‌خروس 0 Mungbean+ 100 Pigweed	1.893^{d}	558.7^{ab}	106.7^{b}
	۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس 25 Mungbean+ 75 Pigweed	2.682^{bc}	564.9^{a}	113.0^{b}
	۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس 50 Mungbean+ 50 Pigweed	2.288^{c}	534.6^{bc}	196.5^{a}
	۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس 75 Mungbean+ 25 Pigweed	3.237^{ab}	533.2^{bc}	118.1^{b}

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

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

گرد و خاک باعث افزایش غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای در هر دو گیاه ماش و تاج‌خروس شد که با نتایج مرادی و همکاران (Moradi *et al.*, 2017) مطابقت دارد. به‌نظر می‌رسد ته‌نشینی گرد و خاک بر سطح برگ ممکن است توسط تأثیر بر ظرفیت فتوسنتزی کلروپلاست و مکانیسم‌های درونی برگ از فرآوری دی‌اکسید کربن ممانعت کرده باشد. به‌طوری‌که به‌علت انتقال نیافتن دی‌اکسید کربن به سایت‌های پذیرنده کربن، آسیمیلاسیون کندتر کربن و تخریب آنزیم کربوکسیلاز از دی‌اکسید کربن موجود در برگ به‌خوبی استفاده نمی‌شود. به‌عبارت دیگر، افزایش یا تجمع دی‌اکسید کربن برگ در شرایط تنش، نشان دهنده ناتوانی سلول‌های مزوفیل در استفاده از دی‌اکسید کربن و هدایت مزوفیلی کمتر است (Ulrichs *et al.*, 2008). رقابت تاج‌خروس نیز باعث افزایش غلظت دی‌اکسیدکربن زیر روزنه‌ای ماش گردید؛ که احتمالاً به‌دلیل مقاومت‌های موجود بر سر راه انتشار دی‌اکسیدکربن به فضای درون برگ از جمله مقاومت روزنه‌ای و مقاومت لایه مرزی بتوان نسبت داد (Liu *et al.*, 2011). همچنین کشت مخلوط ماش با تاج‌خروس باعث کاهش غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای تاج‌خروس ریشه قرمز گردید.

تحت شرایط گرد و خاک مقدار رطوبت نسبی برگ تاج‌خروس ۱۲ درصد کاهش یافت (جدول ۲). این مسئله در بلندمدت سبب شده که توانایی جذب آب در گیاه کاهش یافته و گیاه نتوانسته به‌مقدار کافی آب جذب نماید و از این طریق بر مقدار رطوبت نسبی برگ تأثیر منفی گذاشته است. کاهش رطوبت نسبی برگ در اثر گرد و غبار در *Tectona grandis*، *Syzygium cumini* و *Anthocephalus cadamba* توسط چاتوردی و همکاران (Chaturvedi *et al.*, 2013) گزارش شده است.

خصوصیات مورفولوژیکی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات گرد و خاک بر ارتفاع بوته و سطح برگ ماش در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار است. تعداد ساقه فرعی و سطح برگ ماش در بین الگوهای کاشت نیز معنی‌دار گردید. گرد و خاک و الگوی کاشت تأثیری بر رویش قطری ساقه ماش نداشتند (جدول ۵). گرد و خاک و الگوی کاشت تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع بوته تاج‌خروس داشت. سطح برگ تاج‌خروس تحت تأثیر گرد و خاک، الگوی کاشت و اثرات متقابل آن‌ها در سطح پنج درصد قرار گرفت. تأثیر گرد و خاک بر طول گل‌آذین تاج‌خروس در سطح پنج درصد معنی‌دار گردید. قطر ساقه تاج‌خروس تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند (جدول ۵).

جدول ۵- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات الگوهای مختلف کاشت و گرد و خاک بر مورفولوژیک ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز

Table 5- Analysis of variance (mean squares) of the effect of different planting patterns and dust on morphological traits in mungbean and redroot pigweed

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	ماش Mungbean				تاج‌خروس ریشه قرمز Redroot pigweed			
		ارتفاع بوته Plant height	تعداد ساقه فرعی Number of branches	سطح برگ Leaf area	قطر ساقه Stem diameter	ارتفاع بوته Plant height	سطح برگ Leaf area	قطر ساقه Stem diameter	طول گل‌آذین Inflorescence length
گرد و خاک Dust	1	26.357*	0.0156ns	3.0258*	0.01386ns	0.22339*	0.67396*	0.03649ns	1.7095*
الگوی کاشت Planting pattern	3	5.418ns	0.5915**	2.4843*	0.10314ns	0.104661*	0.35225*	0.00126ns	0..3731ns
گرد و خاک× الگوی کاشت Dust× Planting pattern	3	5.369ns	0.0074ns	0.1975ns	0.06850ns	0.04391ns	0.35137*	0.03933ns	0.5353ns
خطای آزمایشی Error	24	5.654	0.0129	0.6443	0.19382	0.03303	0.09812	0.04036	0.3029
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)	-	25.50	13.18	20.08	24.63	6.56	6.29	16.40	33.43

ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively

جدول ٦- اثرات الگوهای مختلف کاشت و گرد و خاک بر صفات مورفولوژیک ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز

Table 6- Effect of different planting patterns and dust on morphological traits in mungbean and redroot pigweed

گرد و خاک Dust	ماش Mungbean					تاج‌خروس ریشه قرمز Redroot pigweed	
	ارتفاع بوته Plant height (cm)	سطح برگ Leaf area (cm^2)	تعداد ساقه در بوته Number of branch per plant	تعداد غلاف در بوته Number of pods per plant	تعداد دانه در بوته Number of seed per plant	ارتفاع بوته Plant height (cm)	طول گل‌آذین Inflorescence length (cm)
بدون گرد و خاک No dust	10.23a	89.16a	-	3.23a	11.81a	17.61a	6.11a
با گرد و خاک With dust	8.42b	63.50b	-	2.28b	7.47b	15.02b	3.90b
الگوی کاشت Planting pattern							
۱۰۰ درصد ماش+ ۰ درصد تاج‌خروس 100% Mungbean+ 0% Pigweed	-	129.07a	1.13a	-	13.84a	-	-
۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس 75% Mungbean+ 25% Pigweed	-	64.66b	0.00b	-	9.17b	15.63ab	-
۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس 50% Mungbean+ 50% Pigweed	-	74.32b	0.13b	-	6.69b	17.75a	-
۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس 25% Mungbean+ 75% Pigweed	-	37.28c	0.00b	-	8.88b	17.75a	-
۰ درصد ماش+ ۱۰۰ درصد تاج‌خروس 0% Mungbean+ 100% Pigweed	-	–	-	-	-	14.14b	-

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

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

گرد و خاک باعث کاهش ارتفاع بوته ماش و تاج‌خروس به‌ترتیب به‌میزان ۱۷/۷ و ۱۴/۷ درصد در مقایسه با عدم گرد و خاک گردید (جدول ۶). بیشترین ارتفاع بوته تاج‌خروس در الگوهای کاشت مخلوط با ماش حاصل گردید و کشت خالص تاج‌خروس کمترین ارتفاع بوته را به خود اختصاص داد (جدول ۶).

رسوب گرد و خاک بر برگ‌های ماش ممکن است به‌عنوان سایه عمل کرده و باعث کاهش جذب تشعشع فعال فتوسنتزی و در نتیجه کاهش سرعت فتوسنتز شود؛ که در نهایت رشد و ارتفاع ماش تحت تأثیر گرد و خاک کاهش یافته است. شارما و بایدیانات (Sharma and Baidyanath, 2015) نیز کاهش ارتفاع بوته نخود تحت تأثیر آلودگی با گرد و خاک ناشی از کارخانه سنگ‌شکنی گزارش کردند. کاهش ارتفاع بوته تاج‌خروس تحت تأثیر گرد و خاک به‌دلیل کاهش ماده خشک (شکل ۱) و کاهش میزان کلروفیل (جدول ۲) آن وانده باشد. ریزگردها از طریق ایجاد تنش منجر به بسته شدن روزنه‌ها، کاهش سرعت تعرق و تبادل گرمایی، کاهش تبادل دی‌اکسید کربن، افزایش دمای برگ، کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاهش سرعت فتوسنتزی و در نتیجه باعث کاهش رشد و ارتفاع در گیاه می‌شوند که نتایج این آزمایش با نتایج آدو و همکاران (Addo *et al.*, 2013) در لوبیاچشم‌بلبلی مطابقت داشت.

عدم تأثیر نسبت‌های مختلف کاشت بر ارتفاع بوته ماش نیز می‌تواند به‌علت ارتفاع بیشتر تاج‌خروس باشد. احتمالاً تاج‌خروس به‌دلیل داشتن ارتفاع بلندتر و سایه‌اندازی روی گیاه ماش باعث کاهش نسبت نور قرمز به قرمز دور شده و در نتیجه از کاهش ارتفاع بوته ماش تحت شرایط رقابت جلوگیری کرده و ارتفاع بوته ماش تحت شرایط رقابت با تاج‌خروس همانند کشت خالص بوده است (Agegnehu *et al.*, 2006). کاهش تشعشع فعال فتوسنتزی و نسبت نور قرمز به قرمز دور سبب ایجاد سازگاری از طریق اختصاص فرآورده‌های فتوسنتزی به اندام هوایی و افزایش ارتفاع گیاه زراعی می‌شود (Yang *et al.*, 2018). علت افزایش ارتفاع تاج‌خروس در الگوهای کشت مخلوط با ماش، در نتیجه کاهش رقابت درون گونه‌ای بوده که فضای بیشتری در اختیار تاج‌خروس قرار گرفته و در نتیجه رشد و ارتفاع آن بیشتر شده است. همچنین به‌دلیل تفاوت در خصوصیات مورفولوژیکی دو گیاه و کارایی بیشتر تاج‌خروس از منابع محیطی رشد آن نسبت به کشت خالص بیشتر شده است. گونه‌ای که در ابتدای فصل رشد توانایی بیشتری جهت افزایش ارتفاع و بستن تاج‌پوشش خود دارد در رقابت موفق‌تر خواهد بود. آگویو و ماسیوناس (Aguyoh and Masiunas, 2003) برتری ارتفاع بوته تاج‌خروس در مقایسه با بوته لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) را از جمله مهمترین شاخص قدرت رقابتی این علف‌هرز گزارش کردند.

بیشترین تعداد ساقه فرعی ماش در کشت خالص آن مشاهده شد و الگوهای مختلف کشت مخلوط کمترین تعداد ساقه فرعی را به خود اختصاص دادند (جدول ۶). به‌نظر می‌رسد افزایش رقابت برون گونه‌ای بین ماش و تاج‌خروس در جذب منابع موجود، باعث کاهش تعداد ساقه فرعی در بوته ماش شده است. تعداد ساقه فرعی از جمله خصوصیاتی است که با وضعیت رشد و ارسال مواد فتوسنتزی ارتباط مستقیمی دارد. به‌نظر می‌رسد در کشت خالص ماش فضا بیشتری برای رشد و شاخه‌دهی در مقایسه با کشت‌های مخلوط و رقابت با تاج‌خروس فراهم است. علت کاهش تعداد ساقه فرعی ماش در کشت مخلوط با تاج‌خروس می‌تواند به‌علت تداخل و سایه‌اندازی بوته‌های تاج‌خروس روی ماش باشد.

گرد و خاک باعث کاهش سطح برگ ماش به‌میزان ۲۸/۷۸ درصد در مقایسه با شرایط عدم اعمال گرد و خاک شد (جدول ۶). بیشترین سطح برگ ماش (۱۲۹/۱ سانتی‌متر مربع) در کشت خالص ماش به‌دست آمد و کمترین مقدار آن (۳۷/۳ سانتی‌متر مربع) تحت شرایط رقابت با تاج‌خروس در الگوی کاشت ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس مشاهده شد که در مقایسه با شرایط عدم رقابت یا کشت خالص ماش ۷۱/۱ درصد کمتر بود (جدول ۶). نسبت‌های پایین تاج‌خروس تأثیری بر سطح برگ ماش نداشت؛ اما با افزایش تراکم و نسبت تاج‌خروس سطح برگ ماش به‌شدت کاهش یافت.

گرد و خاک باعث کاهش سطح برگ تاج‌خروس در الگوهای مختلف کشت مخلوط گردید؛ اما کشت مخلوط تاج‌خروس با ماش باعث افزایش سطح برگ تاج‌خروس شد. بین الگوهای کاشت در شرایط بدون گرد و خاک از نظر سطح برگ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و بیشترین سطح برگ تاج‌خروس در الگوی کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس تحت شرایط بدون گرد و خاک مشاهده شد که در مقایسه با کشت خالص ۹۶/۳ درصد بیشتر بود (جدول ۴).

گرد و خاک باعث کاهش سطح برگ هر دو گیاه شد. گیاهان معمولاً گرد و خاک را توسط برگ‌ها جذب می‌کنند. برگ‌ها به‌عنوان آسیب‌پذیرترین بافت‌های گیاه بوده که اثرات ناشی از آلودگی هوا را به‌صورت نکروز و کلروز شدن نشان می‌دهند. در این پژوهش تأثیر آلودگی گرد و خاک بر برگ‌ها به‌صورت قهوه‌ای شدن (نکروزه شدن) و سوختگی برگ‌ها نمایان گردید. همچنین داشتن کرک و زبری سطح برگ عاملی است که باعث جذب و رسوب بیشتر گرد و خاک می‌شود. در این پژوهش برگ‌های گونه ماش دارای کرک و برگ‌های تاج‌خروس ریشه قرمز معمولاً زبر هستند در نتیجه این عوامل باعث تسهیل رسوب گرد و خاک بر سطح آنها شده است. در واقع وجود کرک در سطح گیاه ماش، در سطح برگ سبب جذب بیشتر گرد و خاک و افزایش آسیب ناشی از آن می‌گردد (Fateminejhad *et al.*, 2017). به‌دلیل اینکه برگ‌های اندام‌های اصلی فتوسنتز هستند، صفت مناسبی برای بررسی اثرات گرد و خاک می‌باشند. احتمالاً گرد و خاک باعث بسته شدن روزنه‌ها و در نتیجه کاهش سرعت فتوسنتز ماش شده و این امر باعث کاهش تولید و انتقال مواد فتوسنتزی و در

نهایت کاهش سطح برگ گردیده است. سلامه و همکاران (Salama *et al.*, 2011) در بررسی اثر آلودگی هوا بر گیاه *Datura innoxia* Mill. گزارش کردند آلودگی هوا باعث کاهش سطح برگ، وزن خشک و غلظت کلروفیل در این گیاه شد که کاهش سطح برگ مطابق با یافته‌های این تحقیق است.

در کشت مخلوط تاج‌خروس با ماش، به‌نظر می‌رسد به‌دلیل وجود رقابت بین گونه‌ای کمتر ودریافت بیشتر تشعشع فعال فتوسنتزی، تاج‌خروس توانسته از فضای موجود به نحو مناسب‌تری استفاده و در نتیجه، سطح برگ بالایی تولید کند؛ و از سطح سبز تولید شده در جهت تولید بیشتر ماده خشک استفاده گردد و در رقابت با ماش بهتر عمل نموده است. همچنین با توجه به ارتفاع کمتر ماش و تاج‌پوشش کوچک‌تر ماش در مقایسه با تاج‌خروس چنین به‌نظر می‌رسد که رشد بوته‌های تاج‌خروس عمدتاً تحت تأثیر رقابت درون گونه‌ای است، به‌طوری‌که کاهش رقابت درون گونه‌ای در الگوهای کشت مخلوط باعث بهبود شرایط برای رشد و در نتیجه افزایش سطح برگ تاج‌خروس شده است. در نتیجه رقابت درون گونه‌ای موجود در کشت خالص تاج‌خروس بر سر منابع موجود و سایه‌اندازی بوته‌ها روی همدیگر، سبب کاهش سطح برگ آن در تک‌کشتی شده است. افزایش سطح برگ ماش در کشت خالص می‌تواند به‌دلیل برخورداری ماش از فضای بیشتر رشد در مقایسه با کشت مخلوط با تاج‌خروس باشد. در واقع می‌توان نتیجه گرفت که رقابت شدید برای نور، سایه‌اندازی و احتمالاً رقابت از نظر جذب عناصر غذایی و آب بین دو جزء مخلوط باعث کاهش سطح برگ ماش شده است.

طول گل‌آذین تاج‌خروس ریشه قرمز تحت شرایط گرد و خاک در مقایسه با عدم گرد و خاک به‌میزان ۱۲/۰۳ درصد کاهش یافت (جدول ۶). کمتر شدن طول گل‌آذین می‌تواند به‌علت کاهش رشد رویشی گیاه باشد که در این شرایط عملکرد گیاه کاهش می‌یابد و اعمال ریزگردها نیز با کاهش رشد رویشی گیاه موجب شده است تا طول گل‌آذین گیاه کاهش یابد.

عملکرد ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات گرد و خاک بر تعداد غلاف در بوته ماش، تعداد دانه در بوته ماش، عملکرد بیولوژیکی و عملکرد دانه ماش و عملکرد بیولوژیکی و عملکرد گل‌آذین تاج‌خروس معنی‌دار بود. تعداد دانه در بوته ماش، عملکرد بیولوژیکی و عملکرد دانه ماش و عملکرد بیولوژیکی و عملکرد گل‌آذین تاج‌خروس تحت تأثیر الگوی کاشت قرار گرفتند (جدول ۷). شاخص برداشت ماش تحت تأثیر الگوی کاشت و گرد و خاک قرار نگرفت (جدول ۷).

جدول ۷- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات الگوهای مختلف کاشت و گرد و خاک بر عملکرد و اجزای عملکرد ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز

Table 7- Analysis of variance (mean squares) of the effect of different planting patterns and dust on yield and yield components in mungbean and redroot pigweed

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	ماش Mungbean					تاج‌خروس ریشه قرمز Redroot pigweed	
		تعداد غلاف در بوته Number of pod per plant	تعداد دانه در بوته Number of seed per plant	عملکرد بیولوژیکی Biological yield	عملکرد دانه Grain yield	شاخص برداشت Harvest index	عملکرد بیولوژیکی Biological yield	عملکرد گل‌آذین Inflorescence yield
گرد و خاک Dust	1	0.5990**	150.581*	0.8395*	0.1522*	0.01054ns	0.2742*	0.5582*
الگوی کاشت Planting pattern	3	0.0659ns	72.528*	2.0606**	0.4423**	0.00183ns	1.1129**	0.5995**
گرد و خاک× الگوی کاشت Dust× Planting pattern	3	0.0832ns	26.850ns	0.0693ns	0.0092ns	0.02270ns	0.0990ns	0.0663ns
خطای آزمایشی Error	24	0.0606	19.728	0.1514	0.0330	0.15944	0.0476	0.1009
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)	-	13.82	46.06	33.34	42.19	12.94	12.01	51.51

ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

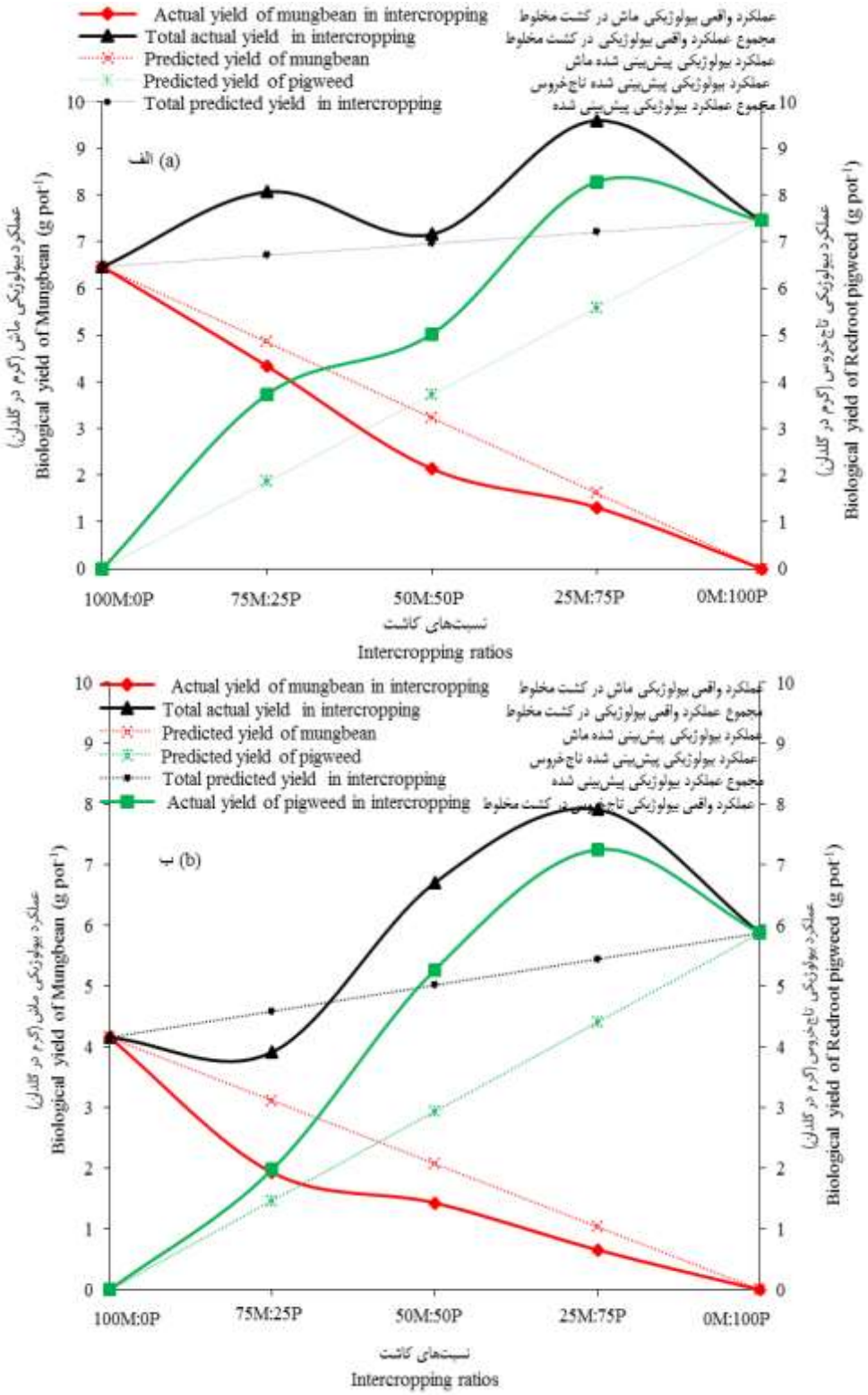
ns, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively.

به‌نظر می‌رسد تحت شرایط گرد و خاک و رقابت با تاج‌خروس عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی ماش به یک نسبت کاهش یافته‌اند از آن‌جایی که شاخص برداشت حاصل تقسیم عملکرد دانه به عملکرد بیولوژیکی است در نتیجه شاخص برداشت ماش تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند.

گرد و خاک باعث کاهش تعداد غلاف در بوته ماش و تعداد دانه در بوته ماش به‌میزان ۲۹/۶۳ و ۳۶/۷۳ درصد در مقایسه با شرایط بدون گرد و خاک شد (جدول ۶). بیشترین تعداد دانه در بوته ماش (۱۳ دانه در بوته) در کشت خالص ماش مشاهده شد و با افزایش نسبت تاج‌خروس در الگوهای کاشت با ماش تعداد دانه در بوته ماش کاهش یافت. میزان کاهش تعداد دانه در بوته ماش در نسبت‌های کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس، ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس و ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس در مقایسه با کشت خالص به‌ترتیب ۳۳/۷۸، ۵۱/۶۹ و ۳۵/۸۹ درصد بود (جدول ۶).

از جمله موارد تأثیر ریزگردها بر محصولات زراعی، اختلال در گرده‌افشانی و دانه‌بندی گیاهان می‌باشد (Squires, 2016). بنابراین رسوب ریزگردها در مراحل حساس رشد مانند غلاف‌دهی با کاهش گرده‌افشانی، تعداد غلاف در بوته را کاهش داده و در ادامه آن عملکرد بیولوژیکی و عملکرد دانه نیز کاهش می‌یابد. در این پژوهش تعداد غلاف در بوته ماش تحت تأثیر رقابت تاج‌خروس قرار نگرفت؛ که علت آن احتمالا افزایش تعداد غلاف‌های پوک در بوته است. در الگوهای کشت مخلوط و تحت شرایط رقابت با تاج‌خروس اگرچه غلاف تشکیل شده است ولی به‌دلیل رقابت شدید تاج‌خروس با ماش و اختلال در تأمین فرآورده‌های فتوسنتزی تعدادی از غلاف‌ها تولید دانه نداشتند که این نتیجه با کاهش تعداد دانه در غلاف قابل مشاهده است. بدیهی است که گیاه برای تشکیل دانه به کربوهیدارت‌های ساخته شده در فرآیند فتوسنتز نیاز دارد. هنگامی که گرد و خاک بر سطح برگ ماش نشست می‌کند به‌طور کلی سرعت فتوسنتز ماش را کاهش داده، و در نهایت تشکیل دانه با مشکل مواجه می‌شود. نتایج نشان داد که تأثیر منفی رقابت تاج‌خروس ریشه قرمز بر عملکرد دانه ماش از طریق اثر بر اجزای آن به‌ویژه تعداد دانه در غلاف بوده است. پاندیتا و همکاران (Pandita *et al.*, 2000) نیز در تحقیقی بر کشت مخلوط ذرت و ماش کاهش تعداد دانه در غلاف ماش در الگوهای مختلف کشت مخلوط گزارش کردند. آگیگنهو و همکاران (Agegnehu *et al.*, 2006) در کشت مخلوط باقلا (*Vicia faba*) و جو (*Hordeum vulgare*) به نتایج مشابهی دست یافتند.

بیشترین عملکرد بیولوژیکی و دانه برای هر دو گونه ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز تحت شرایط عدم اعمال گرد و خاک مشاهده شد. گرد و خاک باعث کاهش عملکرد بیولوژیکی ماش و تاج‌خروس به‌ترتیب به‌میزان ۴۲/۶ و ۱۶/۸ درصد در مقایسه با عدم گرد و خاک شد (شکل ۲ الف و ب). بیشترین عملکرد بیولوژیکی ماش از کشت خالص ماش به‌دست آمد و در حضور تراکم‌های مختلف تاج‌خروس عملکرد بیولوژیکی ماش کاهش یافت و عملکرد بیولوژیکی واقعی ماش کمتر از عملکرد بیولوژیکی پیش‌بینی شده بود. تحت هر دو شرایط گرد و خاک و بدون گرد و خاک تغییرات عملکرد بیولوژیکی ماش به‌صورت مقعر بود که این نشان از برتری رقابتی تاج‌خروس نسبت به ماش دارد. میزان کاهش عملکرد بیولوژیکی واقعی ماش در تراکم‌های ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس، ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس و ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس تحت شرایط گرد و خاک به‌ترتیب ۳۶/۵، ۳۱/۰ و ۳۸/۰ درصد و تحت شرایط بدون گرد و خاک به‌ترتیب ۱۰/۶، ۳۳/۹ و ۱۸/۹ درصد بود؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد احتمالاً تاج‌خروس ریشه قرمز ضمن رقابت شدید با ماش اثر بازدارندگی روی آن دارد. تحت هر دو شرایط گرد و خاک تغییرات منحنی عملکرد بیولوژیکی تاج‌خروس به‌صورت محدب بود. عملکرد بیولوژیکی واقعی تاج‌خروس در تراکم‌های ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس، ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس و ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس تحت شرایط گرد و خاک به‌ترتیب ۶۴/۴، ۷۹/۳ و ۳۴/۸ درصد و تحت شرایط بدون گرد و خاک به‌ترتیب ۱۰۰/۵، ۳۴/۹ و ۴۸/۲ درصد بیشتر از عملکرد بیولوژیکی پیش‌بینی شده بود. تحت شرایط بدون گرد و خاک در همه الگوهای کاشت مجموع عملکرد واقعی بیشتر از عملکرد پیش‌بینی شده بود که نشان‌دهنده روابط زیان‌بری یک جانبه برای ماش است. همچنین تغییرات منحنی عملکرد نشان می‌دهد که در همه الگوهای کاشت منحنی‌ها همدیگر را در نسبت ۵۰ درصد تاج‌خروس+ ۵۰ درصد ماش قطع نکرده‌اند که نشان از وجود رقابت بین گونه‌ای است؛ اما در الگوی کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس قطع می‌کنند که بیانگر قابلیت رقابت بالاتر علف‌هرز نسبت به گیاه زراعی است (شکل ۲ الف). تحت شرایط گرد و خاک مجموع عملکرد بیولوژیکی واقعی در الگوی کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس کمتر از عملکرد پیش‌بینی شده و منحنی به‌صورت مقعر بود که نشان‌دهنده رقابت شدید و زیان‌بری دو جانبه بین دو گونه تاج‌خروس و ماش در این الگوی کاشت است. در الگوی کاشت ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس و ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس ریشه قرمز مجموع عملکرد بیولوژیکی واقعی بیشتر از عملکرد پیش‌بینی شده و منحنی به‌صورت محدب بود که نشان‌دهنده اثرات زیان‌بار یک جانبه برای ماش است (شکل ۲ ب).



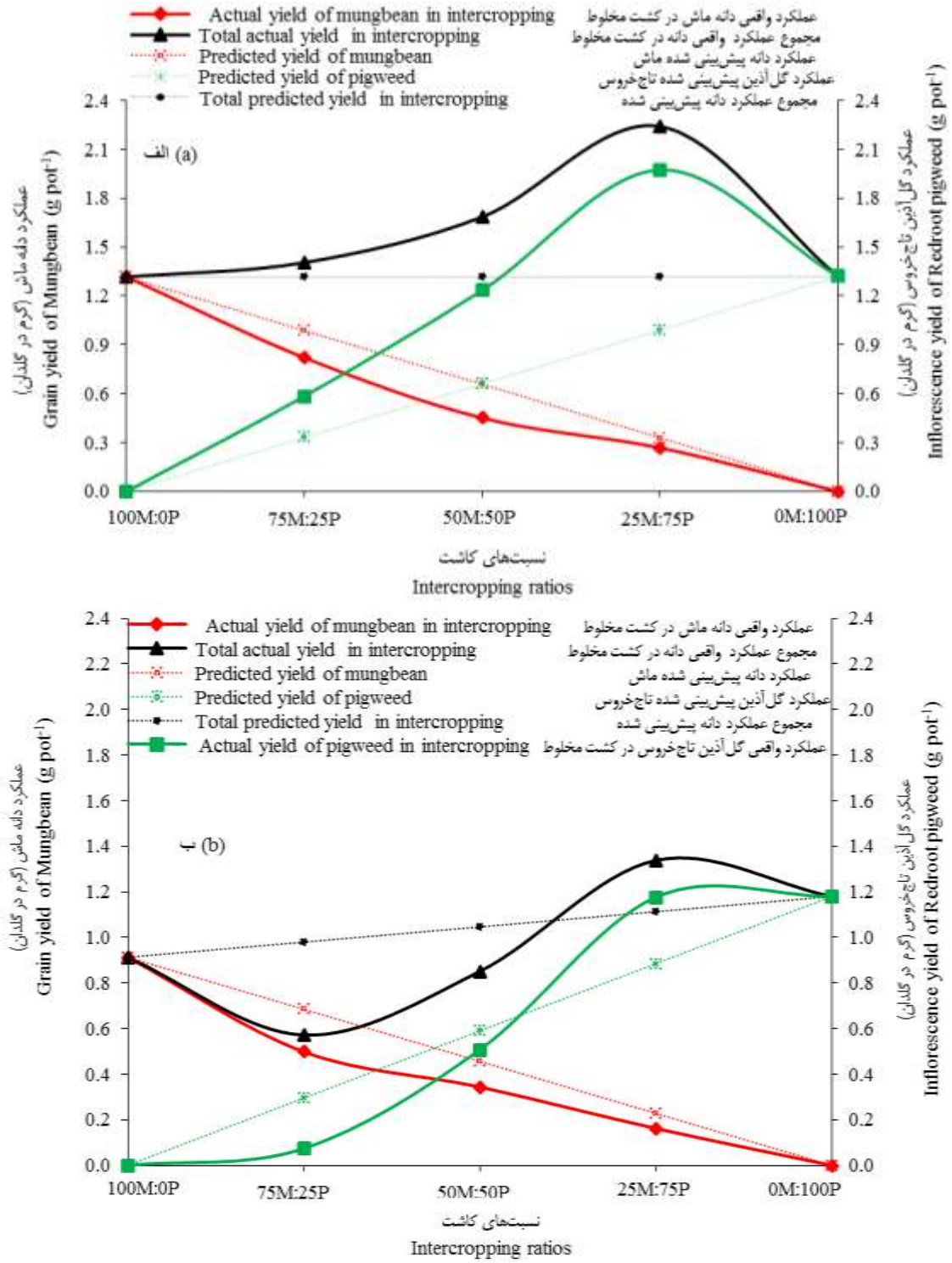
شکل ۲- عملکرد بیولوژیکی واقعی و پیش‌بینی شده ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز در الگوهای مختلف کاشت جایگزینی تحت شرایط بدون گرد و خاک (الف) و با گرد و خاک (ب)

Figure 2- Actual and predicted biological yield of mung bean and redroot pigweed in different replacement planting patterns under conditions of without dust (a) and with dust (b)

عملکرد دانه ماش و عملکرد گل‌آذین تاج‌خروس تحت شرایط گرد و خاک ۳۲/۸ و ۴۲/۶ درصد کمتر از شرایط بدون گرد و خاک بود (شکل ۳ الف و ب). تحت شرایط گرد و خاک برای عملکرد گل‌آذین تاج‌خروس، در نسبت‌های کاشت ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس و ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس تغییرات منحنی عملکرد به‌صورت مقعر و عملکرد واقعی تاج‌خروس به‌ترتیب ۵۷/۱ و ۱۴/۱ درصد کمتر از عملکرد پیش‌بینی شده بود؛ اما در الگوی کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس ۳۲/۹ درصد بیشتر از عملکرد پیش‌بینی شده و منحنی به شکل محدب بود (شکل ۳ ب). تحت شرایط بدون گرد و خاک روند متفاوتی برای عملکرد گل‌آذین تاج‌خروس مشاهده شد. در همه نسبت‌های کاشت عملکرد گل‌آذین تاج‌خروس بیشتر از عملکرد پیش‌بینی شده بود به‌نحوی‌که در نسبت‌های کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس، ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس و ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس عملکرد واقعی تاج‌خروس ۷۷/۰، ۸۷/۰ و ۹۹/۳ درصد بیشتر از عملکرد پیش‌بینی شده بود (شکل ۳ الف). تحت هر دو شرایط با و بدون گرد و خاک عملکرد دانه ماش در مقایسه با عملکرد پیش‌بینی شده کمتر بود. عملکرد واقعی دانه ماش در نسبت‌های ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس، ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس و ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس تحت شرایط گرد و خاک به‌ترتیب ۲۹/۰، ۲۴/۷ و ۲۷/۲ درصد و تحت شرایط بدون گرد و خاک به‌ترتیب ۱۸/۸، ۳۱/۵ و ۱۶/۹ درصد کاهش یافت. تحت شرایط گرد و خاک در نسبت‌های کاشت ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس و ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس مجموع عملکرد دانه هر دو گونه کمتر از عملکرد پیش‌بینی شده و از رابطه بازدارندگی دو جانبه پیروی کرد؛ اما در الگوی کاشت ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس از زیان‌بری یک جانبه پیروی کرده است. تحت شرایط بدون گرد و خاک مجموع عملکرد دانه هر دو گونه بیشتر از پیش‌بینی شده و زیان‌بری یک جانبه برای ماش بوده است. نقطه تقاطع دو محور ماش و تاج‌خروس در هیچ یک از سطوح در نسبت ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس حادث نشده است، لذا وجود رقابت بین گونه‌ای تأیید می‌شود (شکل ۳ الف و ب).

عملکرد ماش و تاج‌خروس تحت شرایط گرد و خاک کاهش یافته است. گرد و خاک باعث کاهش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ تاج‌خروس شد. کاهش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی سبب ماده‌سازی کمتر در گیاه و در نتیجه کاهش عملکرد بیولوژیکی می‌شود. رسوب گرد و خاک همچنین از طریق کاهش ارتفاع بوته، سطح برگ، کاهش غلاف و تعداد غلاف در بوته ماش عملکرد بیولوژیکی ماش را تحت تأثیر قرار داد. بعضی از مطالعات به‌طور متوسط درصد کاهش عملکرد در اثر گرد خاک محیط تا ۵ درصد برآورد کرده‌اند (Chauhan & Joshi, 2010). همچنین قاسمی و همکاران (Ghasemi *et al.*, 2020) گزارش کردند گرد و خاک به‌طور متوسط باعث کاهش عملکرد دانه و ماده خشک لوبیا به‌ترتیب به‌مقدار ۳۹/۷ و ۵۲/۸ درصد شد. عملکرد لوبیا در نسبت ۵۰ درصد لوبیا+ ۵۰ درصد سلمه‌تره در رقابت با سلمه‌تره تحت شرایط بدون گرد وخاک و با آن به‌ترتیب ۷/۸ و ۴/۷ گرم در بوته بود. کاهش زیست‌توده لوبیا به‌دلیل گرد و خاک در سلمه‌تره ۱۰/۶ درصد در مقایسه با شرایط بدون گرد وخاک بود. رشد و عملکرد لوبیا به‌نحو معنی‌داری تحت تأثیر رقابت علف هرز قرار گرفت و با افزایش تراکم علف‌هرز سلمه‌تره صفات لوبیا بیشتر تحت تأثیر علف هرز قرار گرفته و این اثرها با اعمال گرد و خاک نیز تشدید گردید. در واقع گرد و خاک به‌صورت رسوب بر سطح برگ هر دو گیاه نشست کرده و در نتیجه کاهش سطح برگ به‌عنوان واحد فتوسنتزکننده در سیستم فتوسنتزی و در نتیجه رنگیزه‌های فتوسنتزی اختلال ایجادکرد و در نهایت کاهش فتوسنتز و کاهش عملکرد را به‌دنبال دارند. شریفی کالیانی و همکاران (Sharifi Kaliani *et al.*, 2021) گزارش کردند که ریزگردها با کاهش کلروفیل و ارتفاع بوته باعث کاهش وزن خشک لوبیا شد که این خسارت‌ها ممکن است به‌دلیل کاهش فتوسنتز باشد. زیاخان و همکاران (Zia-Khan *et al.*, 2015) گزارش کردند که میانگین کاهش عملکرد پنبه تحت تأثیر رسوب ریزگردها ۲۸ درصد بوده است. گیاهان به مواد فتوسنتزی برای رشد رویشی و زایشی بهینه و تولید عملکرد نیازمند هستند. اعمال گرد و خاک روی گیاه ماش با تأثیر بر اجزای عملکرد دانه شامل تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف باعث کاهش عملکرد دانه ماش گردید. رنجبر و همکاران (Ranjbar *et al.*, 2021) گزارش کردند رسوب ریزگردها در مرحله شروع گلدهی نخود عملکرد بیولوژیکی، عملکرد دانه، تعداد دانه در بوته، کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ۲۴/۵، ۱۶/۸، ۱۵/۴ ۱۳/۵ و ۲۱/۷ درصد کاهش داد.

در این پژوهش انعکاس عملکرد بیولوژیکی ماش با افزایش تراکم تاج‌خروس در الگوهای کشت مخلوط حاکی از آن بود که با افزایش نسبت تاج‌خروس عملکرد بیولوژیکی ماش کاهش یافته است. این نتیجه می‌تواند بیانگر افزایش توانایی رقابت برون گونه‌ای بوته‌های تاج‌خروس با ماش بوده باشد که سبب ضعیف شدن بوته‌های ماش و در نهایت سبب افت عملکرد بیولوژیکی ماش می‌شوند. تاج‌خروس به‌دلیل رشد زیاد و استفاده حداکثر از فضای درون گلدان بر ماش در رقابت برای جذب عناصر غذایی و آب غالبیت پیدا کرده و همچنین با دارا بودن کانوپی بزرگ‌تر باعث کاهش دسترسی ماش به نور شده است.



شکل ۳- عملکرد واقعی و پیش‌بینی شده دانه ماش و گل‌آذین تاج‌خروس ریشه قرمز در الگوهای مختلف کاشت جایگزینی تحت شرایط بدون گرد و خاک (الف) و با گرد و خاک (ب)

Figure 3- Actual and predicted grain yield of mung bean and inflorescence yield redroot pigweed in different replacement planting patterns under conditions of without dust (a) and with dust (b)

سایه‌اندازی گسترده آن طی فصل رشد از عوامل کاهش فتوسنتز ماش و کاهش عملکرد بیولوژیکی آن است. زانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2013) کاهش عملکرد گیاهان در کشت مخلوط را به‌دلیل رقابت برای جذب منابع مانند مواد غذایی، آب و نور و فضا

برای هر دو گونه در کشت مخلوط می‌دانند.

کاهش عملکرد دانه ماش با کاهش تراکم آن در الگوهای کاشت و رقابت با تاج‌خروس یک امر طبیعی و قابل انتظار است. پژوهشگران بسیاری کاهش عملکرد دانه را تحت شرایط رقابت با تاج‌خروس گزارش کرده‌اند (Saberali and Aguyoh and Masiunas, 2003 ; Mohammadi, 2015). کاهش عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی ماش با افزایش تراکم تاج‌خروس را می‌توان به افزایش رقابت تاج‌خروس با ماش نسبت داد که باعث کاهش رشد، کاهش تعداد دانه در غلاف و وزن دانه گردید. در این تحقیق احتمالاً با توجه به اندازه کوچک گلدان‌ها، تأثیر رقابتی تاج‌خروس بر ماش شدید بوده و نتیجه آن تاثیر همه‌جانبه رقابت بر اکثر خصوصیت رویشی و زایشی ماش است. همچنین علف‌هرز تاج‌خروس با توجه به دارا بودن سیستم فتوسنتزی C4 دارای کارایی بالاتری در استفاده از منابع محیطی است و از توان رقابتی بالاتری در جذب و تبدیل منابع در مقایسه با ماش که یک گیاه C3 است، برخوردار است. علاوه بر این احتمالاً این علف‌هرز از طریق مصرف تجملی عناصر غذایی باعث کاهش شدید عملکرد دانه ماش شده است. مطالعات نشان داده است که اکثر علف‌های‌هرز بیش از میزان مورد نیازشان عناصر غذایی را جذب می‌کنند و در نتیجه این مصرف‌کننده‌های لوکس ممکن است بیشتر از گیاه زراعی از منابع محیطی بهره ببرند (Burgos *et al*., 2006).

با توجه به مقایسه عملکردهای پیش‌بینی شده و واقعی ماش و تاج‌خروس می‌توان نتیجه گرفت رقابت بین گونه‌ای نسبت به رقابت درون گونه‌ای برای ماش بیشتر بوده است و کاهش بیشتر عملکرد ماش در رقابت با تاج‌خروس نشان دهنده توانایی بیشتر این گونه در تسخیر منابع و کاهش سهم ماش در بهره‌گیری از منابع محدود و مشترک است. با توجه به اینکه علف‌هرز از ویژگی‌های جذب تجملی برخوردارند؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که علف‌هرز تاج‌خروس ریشه قرمز با جذب بیشتر عناصر باعث کاهش محدودیت منابع برای ماش و کاهش رشد آن شده‌اند.

عملکرد نسبی

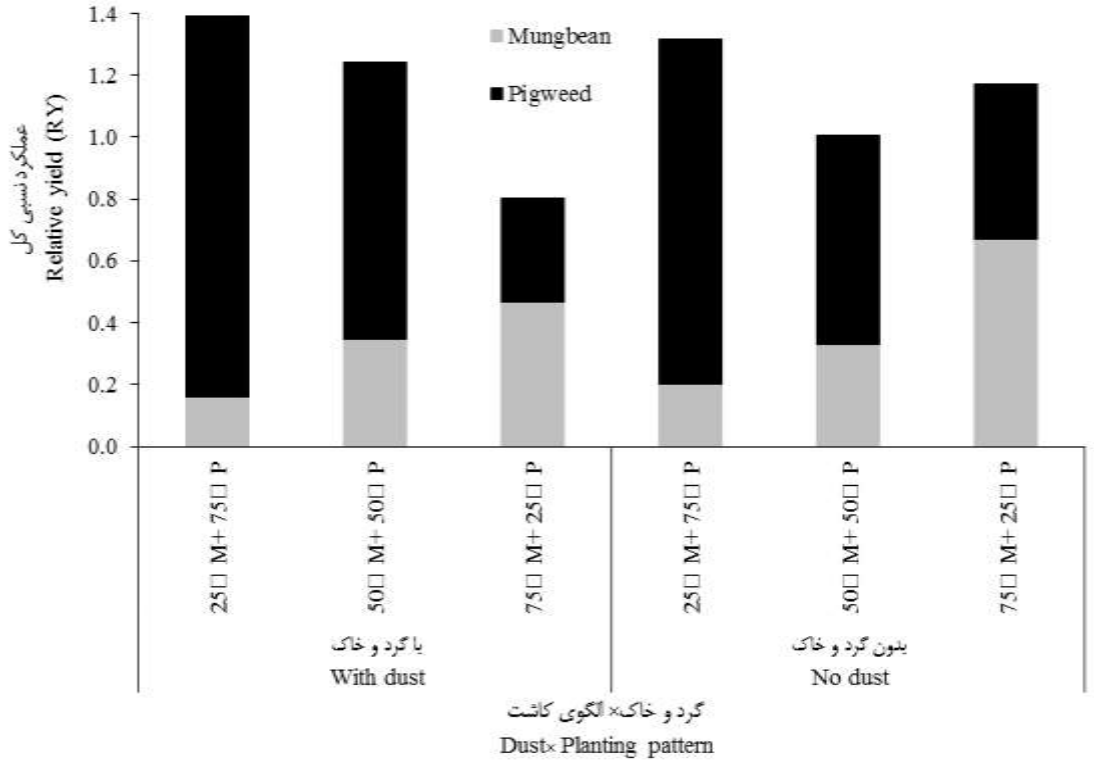
عملکرد نسبی کل در الگوی کاشت ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس و ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس بیشتر از یک است که ناشی از افزایش عملکرد نسبی جزئی تاج‌خروس و کاهش رقابت درون گونه‌ای تاج‌خروس است. تحت شرایط گرد و خاک بیشترین عملکرد نسبی کل (۱/۳۹) در الگوی کاشت ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس به‌دست آمد که عملکرد نسبی جزئی ماش و تاج‌خروس به‌ترتیب ۰/۱۵۹ و ۱/۲۳۳ بود. همچنین تحت شرایط بدون گرد و خاک نیز نتایج مشابهی به‌دست آمد و این الگوی کاشت بیشترین مقدار (۱/۳۲) عملکرد نسبی کل را دارا بود. الگوی کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس تحت شرایط گرد و خاک کمترین عملکرد نسبی کل (۰/۸۰۲) را به خود اختصاص داد (شکل ۴).

عملکرد نسبی جزئی تاج‌خروس تقریباً در همه الگوهای کاشت، بالاتر از ماش بوده است که می‌توان چنین استنباط نمود که در الگوهای کشت مخلوط، تاج‌خروس گیاه غالب بوده و از کشت مخلوط با ماش اثر مثبت پذیرفته،دارای قدرت رقابتی بالاتری بودهو از منابع تغذیه بهتر بهره برده است. دلیل غالب بودن رشد تاج‌خروس را می‌توان اختلافات مورفولوژیکی دو گونه و در نتیجه ایجاد نیچ‌های مختلف، بالاتر بودن سطح برگ، جذب تشعشع فعال فتوسنتزی بیشتر، قدرت تسخیر منابع بالا و سایه‌اندازی بالا بر ماش دانست. در الگوهای کشت مخلوط گیاهان C3 و C4 دارای آشیان‌های اکولوژیکی متفاوتی هستند، کارایی جذب آب و عناصر غذایی و عملکرد نسبی کل به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (Cong *et al*., 2015). دلیل کاهش عملکرد نسبی ماش را می‌توان به بالاتر بودن رقابت برون گونه‌ای آن با تاج‌خروس نسبت به رقابت درون گونه‌ای در دو گیاه، مربوط دانست.

شاخص‌های رقابتی

گیاه ماش در همه الگوهای کاشت دارای کمترین ضریب نسبی تراکم و پایین‌تر از یک بود. محاسبه ضریب نسبی تراکم نشان داد تحت شرایط گرد و خاک بیشترین ضریب نسبی تراکم (۸/۶۸) برای تاج‌خروس در الگوی کاشت ۵۰ درصد ماش+۵۰ درصد تاج‌خروس و سپس در نسبت کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس (۱/۵۳) بود. تحت شرایط بدون گرد و خاک ضریب نسبی تراکم در نسبت‌های کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس و ۵۰ درصد ماش+۵۰ درصد تاج‌خروس به‌ترتیب ۳/۰۱ و ۲/۰۷ بود. در الگوی کاشت ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس ضریب نسبی تراکم برای تاج‌خروس کمتر از یک حاصل گردید (جدول ۸).

شاخص ضریب تراکم نسبی میزان رقابت بین دو گونه را تعیین می‌کند و این شاخص بیانگر غالبیت یک گونه نسبت به سایر گونه‌های موجود در سیستم چند کشتی است (Lithourgidis *et al*., 2011). ضریب تراکم نسبی مساوی یک بیانگر قدرت رقابتی مشابه و یکسان برای هر دو گونه و مقدار کمتر یا بیشتر از یک نشان دهنده مغلوب یا غالب بودن یک گونه در مقایسه با گونه دیگر است (Lithourgidis *et al*., 2011). ضریب تراکم نسبی در الگوهای کشت جایگزینی ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس و ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس برای علف‌هرز تاج‌خروس بزرگ‌تر از یک بود؛ که نشان دهنده برتری رقابتی این علف‌هرز در مقایسه با ماش است و پایین بودن ضریب تراکم نسبی ماش بیانگر ضعیف بودن قدرت رقابتی ماش نسبت به تاج‌خروس است.



شکل ٤- عملکرد نسبی در الگوهای مختلف کاشت جایگزینی ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز تحت تأثیر گرد و خاک

Figure 4- The Relative yield of mungbean and redroot pigweed in different replacement planting patterns under dust conditions

تاج‌خروس با ارتفاع بلندتر، سطح برگ بیشتر و کانوپی بزرگ‌تر در بهره‌برداری از منابع محیطی بر گیاه ماش غلبه کرده و در نتیجه ضریب تراکم نسبی برای این علف‌هرز بیشتر از یک حاصل گردید. در بررسی وهلا و همکاران (Wahla *et al*., 2009) نیز ضریب نسبی تراکم برای گیاه جو در مقایسه با ماش و عدس (*Lens culinaris*) بیشتر بود. این محققان علت این امر بهره‌مندی بیشتر جو از منابع محیطی در مقایسه با ماش و عدس گزارش کردند.

شاخص غالبیت نشان داد که در الگوی کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس که سهم ماش در نسبت کاشت زیاد بوده است ماش دارای شاخص غالبیت مثبت (۲/۰۱۴ و ۱/۴۱۰ شاخص غالبیت ماش به‌ترتیب بدون و با گرد و خاک) و شاخص غالبیت برای تاج‌خروس منفی شده است که در نتیجه تاج‌خروس مغلوب بوده است. در سایر الگوهای کاشت با افزایش تراکم تاج‌خروس قدرت رقابتی آن بر اساس شاخص غالبیت افزایش یافته است و در نتیجه علف‌هرز تاج‌خروس دارای شاخص غالبیت مثبت و به‌صورت غالب و ماش به‌صورت مغلوب نمایان‌گر شده است (جدول ۸).

یکی دیگر از مؤلفه‌هایی که در آزمایش‌های سری‌های جانشینی محاسبه می‌شود شاخص غالبیت است. اگر مقدار عددی این شاخص برای گیاه زراعی منفی باشد معرف غالب بودن علف‌هرز در رقابت بوده و اگر مقدار عددی این شاخص برای گیاه زراعی مثبت گردد نشان‌دهنده غالب بودن گیاه زراعی در رقابت است و همچنین اگر مقدار عددی آن صفر شود هیچ‌کدام از گونه‌ها در رقابت برتری ندارند (Yilmaz *et al*., 2008). در این پژوهش مشخص شد با افزایش تراکم تاج‌خروس در نسبت‌های کاشت، تاج‌خروس با داشتن شاخص غالبیت مثبت و بیشتر در رقابت با ماش موفق‌تر عمل کرده است و گونه غالب بوده است. به‌نظر می‌رسد به‌علت رقابت درون گونه‌ای تاج‌خروس در نسبت کاشت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس، نتوانسته با ماش مقابله نماید، ولی با کاهش نسبت ماش در الگوهای کاشت، رقابت درون گونه‌ای تاج‌خروس کاهش و رقابت بین‌گونه‌ای به نفع تاج‌خروس تغییر یافته و این علف‌هرز توانسته در مقایسه با ماش رشد بیشتری داشته باشد. تراکم بالا و سایه‌اندازی تاج‌خروس بر روی ماش و رقابت بین گونه‌ای از دلایل افت عملکرد ماش و مغلوب بودن آن در برابر تاج‌خروس است. شاخص غالبیت موفقیت نسبی دو گونه گیاهی در بهره‌برداری از منابع را مشخص می‌کند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت در مغلوب و غالب بودن گونه‌ها مورفولوژی و ساختار کانوپی اجزای تشکیل دهنده چند کشتی مؤثر هستند و

تاج‌خروس با رشد بیشتر و تشکیل سریع‌تر کانوپی، رقیب سرسختی برای ماش به‌حساب می‌آید. نتایج مشابهی توسط راحتلا و همکاران (Rahetlah *et al.*, 2010) در ارزیابی کشت مخلوط ماش و یولاف (*Avena sativa* L.) مشاهده شد این محققان نشان دادند مقادیر شاخص غالبیت برای برای ماش منفی و برای یولاف مثبت بود که نشان‌دهنده غالب بودن یولاف می‌باشد. همچنین یلماز و همکاران (Yilmaz *et al.*, 2008) غالبیت ذرت در الگوهای کشت مخلوط ذرت– لوبیا و ذرت –لوبیا چشم‌بلبلی در همه الگوهای کشت مخلوط را گزارش کردند.

محاسبه نسبت رقابت نشان داد در همه الگوهای کاشت تحت هر دو شرایط با و بدون گرد و خاک نسبت رقابت برای جزء علف‌هرز تاج‌خروس بیشتر از یک و برای ماش کمتر از یک که نشان‌دهنده قدرت رقابتی بیشتر آن در برابر ماش است (جدول ۸). زمانی که مقدار عددی نسبت رقابت از یک کمتر باشد بیانگر سودمندی مثبت آن گونه و اگر از یک بیشتر باشد بیانگر سودمندی منفی و غالبیت آن گونه است و کشت مخلوط گونه‌ها امکان‌پذیر نیست. اگر نسبت رقابت برابر یک باشد معرف تعادل رقابتی بین گونه‌هاست (Ding *et al.*, 2006). در این بررسی بیشتر بودن نسبت رقابت تاج‌خروس در کشت مخلوط با ماش بیانگر این موضوع است که این گیاه می‌تواند با بهره‌برداری بیشتر از منابع محیطی رشد، محدودیت‌هایی در جذب مواد غذایی، آب و نور برای ماش ایجاد کرده و باعث کاهش رشد ماش شود. این برتری رقابت‌کنندگی تاج‌خروس نسبت به ماش، در هر دو شرایط با و بدون گرد و خاک نیز مشاهده می‌شود. این مسئله احتمالاً به‌علت ارتفاع بیشتر، سطح برگ بزرگ‌تر و کانوپی بزرگ‌تر تاج‌خروس در مقایسه با ماش است.

جدول ۸- شاخص‌های رقابتی در الگوهای مختلف کاشت جایگزینی ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز تحت تأثیر گرد و خاک

Table 8- The competitive indices of mung bean and redroot pigweed in different replacement planting patterns under effect of dust conditions

گرد و خاک Dust	الگوی کاشت Planting pattern	ضریب تراکم نسبی Relative Crowding Coefficient		شاخص غالبیت Aggresivity		نسبت رقابت Competitive Ratio		شاخص رقابت Competition Index
		ماش Mungbean	تاج‌خروس Pigweed	ماش Mungbean	تاج‌خروس Pigweed	ماش Mungbean	تاج‌خروس Pigweed	
بدون گرد و خاک Without dust	۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس 75□ Mungbean+ 25□ Pigweed	0.679	3.014	2.014	-2.014	0.446	2.242	7.91
	۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس 50□ Mungbean+ 50□ Pigweed	0.494	2.070	-0.687	0.687	0.490	2.039	10.50
	۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس 25□ Mungbean+ 75□ Pigweed	0.763	-3.314	-1.212	1.212	0.547	1.828	-4.29
با گرد و خاک With dust	۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس 75□ Mungbean+ 25□ Pigweed	0.290	1.525	1.410	-1.410	0.460	2.175	8.66
	۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس 50□ Mungbean+ 50□ Pigweed	0.526	8.678	-1.104	1.104	0.385	2.601	1.65
	۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس 25□ Mungbean+ 75□ Pigweed	0.566	-1.762	-4.722	4.722	0.386	2.590	-4.79

شاخص رقابت نشان داد بر اساس این شاخص، الگوهای کاشت ۵۰ درصد ماش+ ۵۰ درصد تاج‌خروس و ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس تحت هر دو شرایط با و بدون گرد و خاک شاخص رقابت بیشتر از یک بود ودر نسبت کاشت ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس شاخص رقابت کمتر از یک بود (جدول ۸). در این پژوهش شاخص رقابت فقط در نسبت ۲۵ درصد ماش+ ۷۵ درصد تاج‌خروس کمتر از یک بود که نشان‌دهنده رقابت ضعیف تاج‌خروس با ماش در این الگوی کاشت و عملکرد ماش تحت رقابت با علف‌هرز تاج‌خروس کمتر کاهش یافته است. بنابراین با محاسبه شاخص‌های رقابتی در سیستم چند کشتی گیاهان زراعی و علف‌های‌هرز می‌توان جهت بررسی و اطلاع از قدرت رقابتی (رقابت درون و برون گونه‌ای) بین گیاه زراعی و علف‌هرز به‌منظور مدیریت و افزایش توان رقابتی گیاه زراعی، تعیین میزان خسارت و زمان مناسب مبارزه با علف‌های‌هرز بهره برد.

نتیجه‌گیری

با افزایش گرمایش جهانی و خشکسالی‌های اخیر طوفان ریزگردها یکی از پدیده‌هایی است که با به‌طور فزاینده‌ای روی می‌دهد. جهت مدیریت خسارت‌های ناشی از این پدیده بر تولید گیاهان زراعی، با شناخت مکانیسم‌های فیزیولوژیک گیاهان در برابر این پدیده، می‌توان برای کاهش آسیب‌های آن راهکاری اندیشید. بر اساس نتایج این پژوهش، رسوب ۶۰ گرم گرد و خاک بر مترمکعب روی اندام‌های هوایی ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز باعث کاهش در صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی هر دو گیاه شد. با ارزیابی روند تغییرات عملکرد بر اساس آزمایش سری‌های جایگزینی مشخص گردید رقابت تاج‌خروس ریشه قرمز باعث کاهش عملکرد واقعی ماش به کمتر از حد مورد انتظار می‌شود که عملکرد تاج‌خروس بیشتر از عملکرد پیش‌بینی شده بود؛ که نشان‌دهنده رقابت برون گونه‌ای در ماش و رقابت درون گونه‌ای در تاج‌خروس بوده است و نوع زیان‌بری یک‌جانبه برای ماش می‌باشد. همچنین نتایج نشان می‌دهد که ماش به رقابت بین گونه‌ای حساس است و تاج‌خروس بیشتر به‌وسیله رقابت درون گونه‌ای رشد آن‌ها محدود می‌شود. ضریب نسبی تراکم کل در همه الگوهای کاشت برای تاج‌خروس بیش از یک بود که نشان‌دهنده غالب بودن تاج‌خروس است. همچنین شاخص غالبیت نشان از مغلوب بودن ماش در بیشتر نسبت‌های کاشت داشت و توانایی کمتر آن در رقابت را نشان می‌دهد و تاج‌خروس می‌تواند بر آن چیره شود؛ هر چند در نسبت ۷۵ درصد ماش+ ۲۵ درصد تاج‌خروس هنگامی که تراکم تاج‌خروس کمتر شود این گیاه قدرت تهاجمی بالایی نخواهد داشت. کاهش عملکرد ماش در تراکم‌های مختلف تاج‌خروس و تحت شرایط گرد و خاک بیانگر ضرورت بالای کنترل تاج‌خروس در ماش است. نتایج این پژوهش می‌تواند جهت پیش‌بینی اثرهای زیان‌بار پدیده گرد و خاک بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی تحت شرایط رقابت با علف‌های‌هرز مؤثر باشد. اجرای این پژوهش در شرایط تداخل با سایر علف‌های‌هرز می‌تواند در افزایش درک هر چه بهتر تأثیرپذیری شاخص‌های رشد از رقابت و توجیه تغییرات عملکرد در شرایط رقابت بسیار مؤثر باشد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه ایلام که منابع مالی این تحقیق را تأمین نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Abbasnasab, Z., Abedi, M., & Sadati, S.A. (2019). Effects of dust on some morphological and physiological parameters in *Bromus tomentellus* and *Medicago sativa*. *Iranian Journal of Range and Desert Research*, *26*(1), 214-225. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/ijrdr.2019.119338
2. Abu-Romman, S., & Alzubi, J. (2015). Effects of cement dust on the physiological activities of Arabidopsis thaliana. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, *10*(4), 157-164. https://doi.org/10.3844/ajabssp.2015.157.164
3. Addo, M.A., Darko, E.O., Gordon, C., & Nyarko, B.J.B. (2013). Contamination of soils and loss of productivity of Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) caused by cement dust pollution. *International Journal of Research in Chemistry and Environment (IJRCE)*, *3*(1), 272-282. https://doi.org/197.255.68.203/handle/123456789/6265
4. Agegnehu, G., Ghizaw, A., & Sinebo, W. (2006). Yield performance and land-use efficiency of barley and faba bean mixed cropping in Ethiopian highlands. *European Journal of Agronomy*, *25*(3), 202-207. https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.05.002
5. Aguyoh, J.N., & Masiunas, J.B. (2003). Interference dust of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) with snap beans. *Weed Science*, *51*(2), 202-207. https://doi.org/10.1614/0043-1745(2003)051[0171:IOLCDS]2.0.CO;2
6. Akbari, S. (2011). Dust storms, sources in the Middle East and economic model for survey its impacts. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, *5*(12), 227-233.
7. Alavi, M., & Karimi, N. (2015). Effect of the simulated dust storm stress on the chlorophyll a fluorescence,

Chlorophyll content, Flavonoids and phenol compounds in medicinal plant *Thymus vulgaris* L. *Journal of Plant Process and Function*, *4*(13), 17-23. (In Persian with English abstract). http://jispp.iut.ac.ir/article-1-185-fa.html
8. Arnon, I. (1975). Physiological principles of dry land crop production. *Physiological Aspects of Dryland Farming. US Gupta, ed*.
9. Asadi-Sabzi, M., Keshtkar, K., & Mokhtassi-Bidgoli, A. (2019). Effect of dust on the growth and physiological traits of wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) and wild barley (*Hordeum spontaneum* [K. Koch] Thell.) in the greenhouse conditions. *Iranian Journal of Weed Science*, *15*(1), 29-39. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/IJWS.2019.1501.03
10. Burgos, N.R., Norman, R.J., Gealy, D.R., & Black, H. (2006). Competitive N uptake between rice and weedy rice. *Field Crops Research*, *99*(2), 96-105. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2006.03.009
11. Chaturvedi, R.K., Prasad, S., Rana, S., Obaidullah, S.M., Pandey, V., & Singh, H. (2013). Effect of dust load on the leaf attributes of the tree species growing along the roadside. *Environmental Monitoring and Assessment*, *185*(1), 383-391. https://doi.org/10.1007/s10661-012-2560-x
12. Chauhan, A., & Joshi, P.C. (2010). Effect of ambient air pollutants on wheat and mustard crops growing in the vicinity of urban and industrial areas. *New York Science Journal*, *3*(2), 52-60.
13. Cong, W.F., Hoffland, E., Li, L., Six, J., Sun, J.H., Bao, X.G., & Van Der Werf, W. (2015). Intercropping enhances soil carbon and nitrogen. *Global Change Biology*, *21*(4), 1715-1726. https://doi.org/10.1111/gcb.12738
14. Dalish, H., & Poulton, P. (2011). Sustainable intensification of radi cropping in south of Bangladesh using wheat and mungbean. *Applied Agronomy*, *18*, 202-211.
15. Dhima, K.V., Lithourgidis, A.S., Vasilakoglou, I.B., & Dordas, C.A. (2007). Competition indices of common vetch and cereal intercrops in two seeding ratio. *Field Crops Research*, *100*(2-3), 249-256. 10.1016/j.fcr.2006.07.008
16. Ding, G., Liu, X., Herbert, S., Novak, J., Amarasiriwardena, D., & Xing, B. (2006). Effect of cover crop management on soil organic matter. *Geoderma*, *130*(3-4), 229-239. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2005.01.019
17. Fateminejhad, P., Lary-Yazdy, H., & Rafiee, M. (2017). Effect of aerosols and drought stresses on some physiological traits of Mungbean (*Vigna radiata* L.). *Applied Research in Field*, *30*(2), 19-30. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/aj.2018.109025.1109
18. Ghasemi, E., Taab, A., & Radicetti, E. (2020). Study the effect of soil dust on the competitiveness between bean (*Phaseolus vulgaris* cv. Kosha) and *Chenolodium album* L. and *Echinochloa cruss-galli* (L.) P.Beauv. *Environmental Sciences*, *18*(2), 219-236. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.29252/envs.18.2.219
19. Lithourgidis, A.S., Vlachostergios, D.N., Dordas, C.A., & Damalas, C.A. (2011). Dry matter yield, nitrogen content, and competition in pea–cereal intercropping systems. *European Journal of Agronomy*, *34*(4), 287-294.
20. Liu, T., Song, F., Liu, S., & Zhu, X. (2011). Canopy structure, light interception, and photosynthetic characteristics under different narrow-wide planting patterns in maize at silking stage. *Spanish Journal of Agricultural Research*, *9*(4), 1249-1261. https://doi.org/10.5424/sjar/20110904-050-11
21. Moradi, A., Taheri Abkenar, K., Afshar Mohammadian, M., & Shabanian, N. (2017). Effects of dust on forest tree health in Zagros oak forests. *Environmental Monitoring and Assessment*, *189*, 1-11. https://doi.org/10.1007/s10661-018-6917-7
22. Pandita, A.K., Shah, M.H., & Bali, A.S. (2000). Effect of row ratio in cereal-legume intercropping systems on productivity and competition functions under Kashmir conditions. *Indian Journal of Agronomy*, *45*(1), 48-53.
23. Rahetlah, V.B., Randrianaivoarivony, J.M., Razafimpamoa, L.H., & Ramalanjaona, V.L. (2010). Effects of seeding rates on forage yield and quality of oat (*Avena sativa* L.) vetch (*Vicia sativa* L.) mixtures under irrigated conditions of Madagascar. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, *10*(10), 4257-4267. https://doi.org/10.4314/ajfand.v10i10.62905
24. Ranjbar, S., Ghobadi, M.A., & Ghobadi, M. (2021). Influence of dust deposition and light intensity on yield and some agro-physiologic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in dry conditions. *Iranian Journal of Pulses Research*, *12*(2), 69-84. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ijpr.v12i2.86464
25. Ritchie, S.W., Nguyen, H.T., & Holaday, A.S. (1990). Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, *30*(1), 105-111.
26. Ronald, A.E. (2000). (*Amaranthus retroflexus*)/pigweed. U. S. Department of Agriculture, New York.
27. Saberali, S.F., & Mohammadi, K. (2015). Organic amendments application down weight the negative effects of weed competition on the soybean yield. *Ecological Engineering*, *82*, 451-458. https://doi.org/0.1016/j.ecoleng.2015.05.038
28. Salama, H.M., Al-Rumaih, M.M., & Al-Dosary, M.A. (2011). Effects of Riyadh cement industry pollutions on some physiological and morphological factors of *Datura innoxia* Mill. plant. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *18*(3), 227-237. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2011.05.001
29. Seyyednejad, S.M., & Koochak, H. (2011). A study on air pollution-induced biochemical alterations in *Eucalyptus camaldulensis*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, *5*(3), 601-606.

30. Sharifi Kaliani, F., Babaei, S., & Zafar Sohrabpour, Y. (2021). Study of the effects of dusts on the morphological and physiological traits of some crops. *Journal of Plant Production, 28*(3), 205-220. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22069/jopp.2021.18782.2768
31. Sharma, S.B., & Baidyanath, K. (2015). Effects of stone crusher dust pollution on growth performance and yield status of gram (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 4*(3), 971-979.
32. Singh, S.N., & Verma, A. (2007). Phytoremediation of air pollutants: a review. *Environmental Bioremediation Technologies*, 293-314. https://doi.org/10.1007/978-3-540-34793-4_13
33. Soltani-Gerdefaramarzi, S., Ghasemi, M., & Ghaneie-Bafghi, M.J. (2021). Spatial and temporal variability in the dust deposition rate of Yazd city and its relationship with some climatic parameters. *Journal of Natural Environment, 73*(4), 701-714. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/jne.2021.303249.1993
34. Somta, P., Prathet, P., Kongjaimun, A., & Srinives, P. (2014). Dissecting quantitative trait loci for agronomic traits responding to iron deficeincy in Mungbean [*Vigna Radiata* (L.) Wilczek]. *Journal of Agricultural Science, 36*(2), 101-111. https://doi.org/10.17503/agrivita.v36i2.391
35. Squires, V.R. (2016). Dust Particles and Aerosols: Impact on Biota "A Review" (Part I). *Journal of Rangeland Science, 6*(1), 82-91. https://doi.org/10.1007/s40808-017-0302-3
36. Takashi, H. (1995). Studies on the effects of dust on photosynthesis of plant leaves [in Japanese], laboratory, of environmental control in biology, college of agriculture. *Environmental Pollution, 89*(3), 255-261.
37. Ulrichs, C., Welke, B., Mucha-Pelzer, T., Goswami, A., & Mewis, I. (2008). Effect of solid particulate matter deposits on vegetation: a review. *Functional Plant Science and Biotechnology, 2*(1), 56-62.
38. Wahla, I.H., Ahmad, R.I.A.Z., Ehsanullah, A.A., & Jabbar, A.B.D.U.L. (2009). Competitive functions of components crops in some barley based intercropping systems. *International Journal of Agriculture and Biology, 11*(5), 69-72.
39. Wang, X., Oenema, O., Hoogmoed, W., Perdok, U., & Cai, D. (2006). Dust storm erosion and its impact on soil carbon and nitrogen losses in northern China. *Catena, 66*, 221-227.
40. Willey, R. (1979). Intercropping-its importance and its research needs. Part I. Competition and yield advantages. *In Field Crop Abstracts, 32*, 1-10.
41. Yang, B.; Bruning, A.; Zhang, Z.; Dong, Z., & Espe, J. (2007). Dust storm frequency and its relation to climate changes in northern China during the past 1000 years. *Atmospheric Environment, 41*, 9288-9299.
42. Yang, F., Fan, Y., Wu, X., Cheng, Y., Liu, Q., Feng, L., & Yang, W. (2018). Auxin-to-gibberellin ratio as a signal for light intensity and quality in regulating soybean growth and matter partitioning. *Frontiers in Plant Science, 9*, 56-68. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00056
43. Yilmaz, S., Atak, M., & Erayman, M. (2008) .Identification of advantages of maize-legume intercropping over solitary cropping through competition indices in the East Mediterranean region. *Turkish Journal of Agricultural and Forestry, 32*, 111-119.
44. Zhang, X.N.A.U., Huang, G.N.A.U., Bian, X.N.A.U., & Zhao, Q.C.A.O. (2013). Effects of root interaction and nitrogen fertilization on the chlorophyll content, root activity, photosynthetic characteristics of intercropped soybean and microbial quantity in the rhizosphere. *Plant, Soil and Environment, 59*(2), 80-88. https://doi.org/10.17221/613/2012-PSE
45. Zia-Khan, S., Spreer, W., Pengnian, Y., Zhao, X., Othmanli, H., He, X., & Muller, J. (2015). Effect of dust deposition on stomatal conductance and leaf temperature of cotton in northwest China. *Water, 7*(1), 116-131. https://doi.org/10.3390/w7010116

Contents

Investigation of Fungi Causing and Associated with Narcissus Leaf Spot Disease in Southern Khorasan Province 229
S. Motavalli Habibi, M. Jahani, H. Mahmoudi, M.R. Mirzaee
Comparison of Symptoms, Whole Genome Sequencing, and Phylogenetic Analysis of Isolates of *Citrus tristeza virus* from Mazandaran and Fars Provinces in Iran 237
N. Rouhani, M. Zakiaghl, M. Mehrvar
Effect of Nutritional Supplements on Some Biological and Physiological Parameters of *Graphosoma lineatum* L. 259
R. Farshbaf Pourabad, H. Esparani Asadi, D. Mohammadi
Spatial Distribution of Different Life Stages of *Monosteira alticarinata* (Hemiptera: Tingidae) in Birjand Region 275
S.A. Notghi Moghadam, H. Sadeghi-Namaghi, S. Moodi
Evaluating Weed Control Efficacy of Microencapsulated EPTC and Trifluralin Herbicides under Greenhouse Condition 289
A. Rahbari, E. Izadi Darbandi*, M.H. Rashed Mohassel, G. Zohuri, E. Zand
Influence of Duration of Inter-species Interference and Determination of the Critical Period for Weed Control in Peppermint (*Mentha piperita* L.) 301
A.H. Ladmakhi-nezhad, E. Mohammadvand, J. Asghari
The Interaction of Organosilicon Surfactant Type and Spray Volume on Diclofop-methyl Efficacy in Control of Winter Wild Oat 315
A. Aliverdi, S. Karami
Competition between Mungbean (*Vigna radiate* (L.) Wilczek) and Redroot Pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) under Dust Conditions 327
M.S. Mousavi, A. Taab , S. Hajinia

Iranian Plant Protection Research

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol . 37 No. 3 2023

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: Mahdikhani Moghadam, E (Plant Pathology) 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/

Ferdowsi University of Mashhad

Vol.37 No.3

2023

Iranian Plant Protection Research

Contents

Investigation of Fungi Causing and Associated with Narcissus Leaf Spot Disease in Southern Khorasan Province 229
S. Motavalli Habibi, M. Jahani, H. Mahmoudi, M.R. Mirzaee

Comparison of Symptoms, Whole Genome Sequencing, and Phylogenetic Analysis of Isolates of *Citrus tristeza virus* from Mazandaran and Fars Provinces in Iran 237
N. Rouhani, M. Zakiaghl, M. Mehrvar

Effect of Nutritional Supplements on Some Biological and Physiological Parameters of *Graphosoma lineatum* L. 259
R. Farshbaf Pourabad, H. Esparani Asadi, D. Mohammadi

Spatial Distribution of Different Life Stages of *Monosteira alticarinata* (Hemiptera: Tingidae) in Birjand Region 275
S.A. Notghi Moghadam, H. Sadeghi-Namaghi, S. Moodi

Evaluating Weed Control Efficacy of Microencapsulated EPTC and Trifluralin Herbicides under Greenhouse Condition 289
A. Rahbari, E. Izadi Darbandi*, M.H. Rashed Mohassel, G. Zohari, E. Zand

Influence of Duration of Inter-species Interference and Determination of the Critical Period for Weed Control in Peppermint (*Mentha piperita* L.) 301
A.H. Ladmakhi-nezhad, E. Mohammadvand, J. Asghari

The Interaction of Organosilicon Surfactant Type and Spray Volume on Diclofop-methyl Efficacy in Control of Winter Wild Oat 301
A. Aliverdi, S. Karami

Competition between Mungbean (*Vigna radiate* (L.) Wilczek) and Redroot Pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) under Dust Conditions 301
M.S. Mousavi, A. Taab , S. Hajimia