



## عنوان مقالات

- ۳۵۳ ..... *Brachynema signatum* Jakovlev (Hemiptera: Pentatomidae) فراستجه‌های زیستی دوجنسی سن سبز پسته  
محبوبه خواجه حبیبی صالح آباد - عباس خانی - حمزه ایزدی - لجه صاحب زاده - محمد امین سمیع
- ۳۶۵ ..... *Bacillus thuringiensis* علیه بید سیب‌زمینی، *Phthorimaea operculella* (Lep.: Gelechiidae) مطالعه اثر ترکیب عصاره گیاه کرفس، *Aptium graveolens* L. (Apiaceae) با باکتری *Bacillus thuringiensis*  
داود محمدی - اکرم حاجتی - ناصر غیورخیان کاری - رضا فرشاد پور آباد
- ۳۸۳ ..... *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* بررسی خلط‌های زیر بازدارندگی برخی اسانس‌های گیاهی بر فاکتورهای پرآزادی بیمارگر  
سحر قربانپور پادکی - ساره بقائی راوری - محمد مقدم - پژمان خداپنگان
- ۴۰۱ ..... ردیابی مولکولی سه ویروس آلوده کننده گیاه پتیرک در استان گلستان  
محدثه صادقی نیچگوئی - زهره مرادی - محسن مهرور - ولی اله بابایی زاد
- ۴۱۳ ..... *Zygophyllum fabago* L. شکستن خواب بدر و تعیین دماهای کاردینال جوانه‌زنی علف‌هرز قیج لوبیایی  
با استفاده از مدل‌های رگرسیونی  
مجید حیدری - مهدی راستگو - علی قنبری - قربانعلی اسدی
- ۴۲۷ ..... *Hordeum spontaneum* K. Koch تأثیر پی‌اچ و نور بر کارایی محلول پاشش نگهداری شده فلوآزیفوب-پی-بوتیل، هالوکسیفوب-آر-متیل و ستوکیدیم علیه جوهره  
شهرام طاهری - اکبر علی‌وردی - گوهرز احمدوند
- ۴۴۳ ..... *Triticum aestivum* L. ارزیابی برهم‌کنش نیتروژن با علف‌کش بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم  
در رقابت با علف‌های هرز  
فرزاد سلطانی - سعید سعیدی پور
- ۴۵۷ ..... *Triticum aestivum* کارایی علف‌کش‌های دومنظوره آکسیال وان (پنوکسادن + فلوراسولام) و کاسیک (دیفلوفنیکان + پدوسولفورون متیل سدیم + فلوراسولام) در مقایسه با علف‌کش‌های رایج در کنترل علف‌های هرز گندم  
ابراهیم منوچی - محمدرضا کرمی نژاد - علیرضا برجسته - عبدالعزیز حقیقی - مهدی مین پاش معینی - علیرضا شکری کستانی

# نشریه پژوهشی های حفاظت گیاهان ایران

(علوم و صنایع کشاورزی)

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

جلد ۳۷ شماره ۴ زمستان ۱۴۰۲

بر اساس مصوبه وزارت عتف از سال ۱۳۹۸، کلیه نشریات دارای درجه "علمی-پژوهشی" به نشریه "علمی" تغییر نام یافتند.  
این نشریه به صورت فصلنامه (۴ شماره در سال) چاپ و منتشر می شود.

|                       |                                                            |
|-----------------------|------------------------------------------------------------|
| صاحب امتیاز:          | دانشگاه فردوسی مشهد                                        |
| مدیر مسئول:           | رضا ولی زاده                                               |
| سر دبیر:              | عصمت مهدیخانی مقدم                                         |
| 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)       |
| جمالی، سالار          | استاد- بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه گیلان)                  |
| حسینی، مجتبی          | دانشیار- حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)          |
| خداپرست، سید اکبر     | استاد- قارچ شناسی (دانشگاه گیلان)                          |
| راستگو، مهدی          | استاد- علوم علف های هرز (دانشگاه فردوسی مشهد)              |
| راشد محصل، محمد حسن   | استاد- علوم علف های هرز (دانشگاه فردوسی مشهد)              |
| شریف نبی، بهرام       | استاد- دانشگاه صنعتی اصفهان                                |
| صابری ریشه، روح اله   | استاد- بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه ولی عصر رفسنجان)        |
| صادقی نامقی، حسین     | استاد- حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)            |
| صبوری، علیرضا         | استاد- حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه تهران)                  |
| کریم مجنی، حسن        | دانشیار- تولید و ژنتیک گیاهی (دانشگاه صنعتی اصفهان)        |
| کریمی، جواد           | استاد- حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)            |
| مرعشی، سید حسن        | استاد - بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد) |
| مصلی نژاد، هادی       | دانشیار پژوهش- موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور                |
| معصومی، حسین          | استاد- ویروس شناسی گیاهی (دانشگاه شهید باهنر کرمان)        |
| مهرور، محسن           | دانشیار- ویروس شناسی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)           |
| مهدیخانی مقدم، عصمت   | استاد- بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)            |
| اروگلو، گوزده بوشرا   | استادیار- میکروبیولوژی و ژنتیک (دانشگاه فنی ارزروم- ترکیه) |
| تاراسکو، استاکیو      | دانشیار- حشره شناسی (دانشگاه باری آلدومورو- ایتالیا)       |
| راشد محصل، آرش        | محقق، اکولوژی حشرات، تگزاس                                 |

نشانی: مشهد، میدان آزادی، پردیس دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، دبیرخانه نشریات علمی، دفتر نشریه بوم شناسی کشاورزی، صندوق پستی: ۱۱۶۳-۹۱۷۷۵

نمابر: ۰۵۱-۳۸۷۸۷۴۳۰

تلفن: ۰۵۱-۳۸۸۰۴۶۵۴

آدرس سایت: <https://jpp.um.ac.ir>

پست الکترونیکی: [jpp1@um.ac.ir](mailto:jpp1@um.ac.ir)

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

# بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## مندرجات

- ۳۵۳ فراسنجه‌های زیستی دوجنسی سن سبز پسته *Brachynema signatum* Jakovlev (Hemiptera: Pentatomidae) روی مغز پسته  
محبوبه خواجه حسینی صالح آباد-عباس خانی-حمزه ایزدی-نجمه صاحب زاده-محمد امین سمیع
- ۳۶۵ مطالعه اثر ترکیب عصاره گیاه کرفس، *Apium graveolens* L. (Apiaceae) با باکتری *Bacillus thuringiensis* علیه بید سیب زمینی،  
*Phthorimaea operculella* (Lep.: Gelechiidae)  
داود محمدی-اکرم حاتمی-ناصر عیوضیان کاری-رضا فرشایف پورآباد
- ۳۸۳ بررسی غلظت‌های زیر بازدارندگی برخی اسانس‌های گیاهی بر فاکتورهای پرآزاری بیمارگر *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*  
سحر قربانپور یدکی-ساره بقائی راوری-محمد مقدم-پژمان خدایگان
- ۴۰۱ ردیابی مولکولی سه ویروس آلوده کننده گیاه پنیرک در استان گلستان  
محدثه صادقی نیچکوهی-زهره مرادی-محسن مهرور-ولی اله بابایی زاد
- ۴۱۳ شکستن خواب بذر و تعیین دماهای کاردینال جوانه‌زنی علف‌هرز قیچ لوییایی (*Zygophyllum fabago* L.) با استفاده از مدل‌های  
رگرسیون  
مجید حیدری-مهدی راستگو-علی قنبری-قربانعلی اسدی
- ۴۲۷ تأثیر پی‌اچ و نور بر کارایی محلول پاشش نگهداری شده فلوآزیفوپ-پی-بوتیل، هالوکسیفوپ-آر-متیل و ستوکسیدیم علیه جودره  
(*Hordeum spontaneum* K. Koch)  
شهرام طاهری-اکبر علی‌وردی-گودرز احمدوند
- ۴۴۳ ارزیابی برهم‌کنش نیتروژن با علف‌کش بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم (*Triticum aestivum* L.) در رقابت با علف‌های هرز  
فرزاد سلطانی-سعید سعیدی پور
- ۴۵۷ کارایی علف‌کش‌های دومنظوره آکسیال وان (پینوکسادن+فلوراسولام) و کاسیک (دیفلوفنیکان+یدوسولفورون متیل سدیم +  
فلوراسولام) در مقایسه با علف‌کش‌های رایج در کنترل علف‌های هرز گندم (*Triticum aestivum*)  
ابراهیم ممنوعی-محمد رضا کرمی نژاد-علیرضا برجسته-عبدالعزیز حقیقی-مهدی مین‌باش معینی-علیرضا عسکری کلستانی



## Research Article

Vol. 37, No. 4, 2024, p. 351-361

**Two-sex Life Table Parameters of Pistachio Green Stink-bug, *Brachynema signatum* Jakovlev (Hemiptera: Pentatomidae)****M. Khajehoseini Saleh Abad<sup>1</sup>, A. Khani<sup>2\*</sup>, H. Izadi<sup>3</sup>, N. Sahebzadeh<sup>2</sup>, M.A. Samih<sup>3</sup>**

1 and 2- Former Ph.D. Student and Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran, respectively.

(\*- Corresponding Author Email: [abbkhani@uoz.ac.ir](mailto:abbkhani@uoz.ac.ir))

3- Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran

Received: 10-05-2023

Revised: 27-12-2023

Accepted: 06-01-2024

Available Online: 06-01-2024

**How to cite this article:**

Khajehoseini Saleh Abad, M., Khani, A., Izadi, H., Sahebzadeh, N., & Samih, M.A. (2024). Two-sex life table parameters of pistachio green stink-bug, *Brachynema signatum* Jakovlev (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 37(4), 351-361. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.2024.81629.1146>

**Introduction**

Pistachio (*Pistacia vera* L.) is the most important horticultural crop cultivated extensively in central areas of Iran and an economically important nut that ranks the first among the agricultural export commodities in Iran. The annual exportation of this nut crop reaches to 100,000 tonnes that ranks the second after the oil in revenue income of the country. Kerman province is the most important pistachio producing province in Iran. The highest acreage of the pistachio producing lands in this province are allocated to Kaleghochi, Ahmadaghai, Ohadi and Akbari cultivars, respectively. Not to mention that these are the most commonly cultivated pistachio cultivars in Iran. The pistachio trees are attacked by many different insect pests. The pistachio green stink-bug, *Brachynema signatum* (Hemiptera: Pentatomidae) is a key pest of pistachio in Iran. The adults and nymphs of this insect feed on the developing fruits of pistachio and cause significant damages in the form of pericarp lesions that result to the nut drop. The pistachio green stink-bug is also a vector of the pathogenic fungus, *Nematospora coryli* Peglion that causes the formation of corky appearance and somewhat bitter and distasteful smell of pistachio endocarp. In the pistachio producing areas of Iran, this pest is present in the pistachio orchards throughout the year and can produce four to five generations per year in Kerman province. Since the host plant can affect the growth, reproduction and survival of herbivorous insects, therefore evaluating the effects of host plant on the growth and reproductive characteristics of insect pest could be used in its integrated pest management programs. These effects could be evaluated by calculating the demographic parameters, especially the intrinsic rate of increase of the insect pest ( $r_m$ ) on preferred host plant, reminding that the demographic parameters are affected by the quality of host plant and are very useful indicators for evaluation the suitability of host plants to insect pests. This research was conducted to study a preferred natural diet (fresh kernels of pistachio) on developmental time, fecundity, survival rate, and life table parameters of pistachio green stink bug, *Brachynema signatum* (Hemiptera: Pentatomidae). This research was conducted to study a preferred natural diet (fresh kernels of pistachio) on developmental time, fecundity, survival rate, and life table parameters of pistachio green stink bug, *Brachynema signatum* (Hemiptera: Pentatomidae).

**Materials and Methods**

©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/jpp.2024.81629.1146>

Insects reared on fresh kernels of pistachio head ram species in the growth chamber at  $27 \pm 1$  °C,  $65 \pm 5\%$  RH and a photoperiod 16: 8 h (L: D) and the parameters of age-stage, two sex life table of the insect were determined. The life table study was done with 100 identical eggs of the same age. After hatching, instar nymphs were fed with fresh kernels of pistachio head ram species every day. The data of Life table were analyzed according to the theory age-stage, two sex life table.

## Results

The total development time from egg to the death of adults was 83.85 days. The survival rate from newly nymph to adult stages was 34%. Females started to oviposition on day 36, reached its pick on day 44, and then gradually declined until reached zero on day 86 of the insect's life span. The intrinsic rate of natural increase of population ( $r_m$ ) and the finite rate of population increase ( $\lambda$ ) were  $0.084 \pm 0.0030$  and  $1.088 \pm 0.003$  (female/ female/ day) respectively. Gross (GRR) and net reproduction rate ( $R_0$ ) were equal to  $140.14 \pm 15.17$  and  $78.78 \pm 11.18$  female eggs. Mean generation time (T) was  $51.55 \pm 0.387$  days.

## Discussion

The fertility life table can be constructed for analyzing and understanding the effect of external factors and host plants on the growth, survival, reproduction, and intrinsic rate of increase of insect populations. Host plant quality is an effective factor on the fecundity and population growth rate of herbivorous insects. Analysis of age-stage, two-sex life table and its parameters obtained in this study showed that stink bug had an appropriate development on natural diet. These results could help us to understand the *B. signatum* population dynamics under field conditions. The results could also help us make better management decisions in integrated pest management (IPM) programs for economically important crop, Pistachio.

**Keywords:** Green bugs, Pistachio, Population growth parameters, Two- sex life table

## فراسنجه‌های زیستی دو جنسی سن سبز پسته *Brachynema signatum* Jakovlev (Hemiptera: Pentatomidae) روی مغز پسته

محبوبه خواجه حسینی صالح آباد<sup>۱</sup> - عباس خانی<sup>۲\*</sup> - حمزه ایزدی<sup>۳</sup> - نجمه صاحب زاده<sup>۲</sup> - محمد امین سمیع<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۶

### چکیده

پسته مهم‌ترین محصول باغی است که در مناطق مرکزی ایران به‌طور گسترده کشت می‌شود. صادرات سالانه این محصول به ۱۰۰۰۰۰ تن می‌رسد که رتبه دوم پس از درآمد نفتی کشور را دارد. کرمان مهم‌ترین استان تولیدکننده پسته در ایران است. بالاترین سطح زیرکشت از اراضی تولید پسته در این استان به ارقام کله قوچی، احمدآقایی، اوحدی و اکبری اختصاص دارد. درختان پسته توسط بسیاری از آفات مورد حمله قرار می‌گیرند. سن سبز پسته *Brachynema signatum* (Hem.: Pentatomidae) از آفات مهم و کلیدی پسته در ایران است. حشرات بالغ و پوره‌های این آفت از میوه‌های در حال رشد پسته تغذیه و خسارت قابل توجهی به قسمت رویی ایجاد می‌کنند که موجب ریزش میوه می‌شوند. سن‌های بدبو ناقل قارچ بیماری‌زای *Nematospora coryli* Peglion هستند که باعث چوب‌پنبه‌ای شدن پسته و بوی تا حدودی تلخ و بد پسته می‌گردند. در مناطق پسته‌کاری ایران، این آفت در باغات پسته سرتاسر استان کرمان وجود دارد و می‌تواند چهار تا پنج نسل در سال تولید کند. در این پژوهش فراسنجه‌های جدول زیستی باروری - دو جنسی سن سبز پسته در اتاقک رشد با شرایط دمایی  $27 \pm 1$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $65 \pm 5$  درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی روی مغز تازه پسته رقم کله‌قوچی، مورد بررسی قرار گرفت. مطالعه‌ی جدول زیستی با ۱۰۰ عدد تخم هم‌زاد سن انجام شد. تمامی سنین پورگی و حشرات کامل تا پایان عمر، هر روز با مغز تازه پسته رقم کله‌قوچی تغذیه شدند و داده‌های بقا و تولید تخم روزانه، جهت تشکیل جدول زیستی باروری - دو جنسی مرحله سنی، ثبت گردید. نتایج نشان داد میانگین کل زمان رشد از تخم تا مرگ افراد بالغ  $83/85$  روز می‌باشد. ماده‌ها در روز ۳۶ شروع به تخم‌گذاری کردند و در روز ۴۴ به اوج تخم‌گذاری خود رسیدند و سپس این روند به تدریج کاهش یافت تا اینکه میزان تخم‌گذاری در روز ۸۶ به صفر رسید. نرخ ذاتی افزایش جمعیت برابر با  $0/03 \pm 0/084$  (ماده/ماده/روز)، نرخ خالص تولید مثل برابر با  $11/18 \pm 78/78$  (نتاج/فرد) و نرخ ناخالص تولید مثل برابر با  $15/17 \pm 14/14$  (نتاج/فرد)، مدت زمان یک نسل برابر با  $387 \pm 51/55$  (روز) و نرخ متناهی افزایش جمعیت برابر با  $0/03 \pm 1/088$  (ماده/ماده/روز) بدست آمد. از جدول زیستی باروری می‌توان برای تجزیه و تحلیل و درک تأثیر عوامل خارجی و گیاهان میزبان بر رشد، بقا، تولید مثل و نرخ ذاتی افزایش جمعیت حشرات استفاده نمود. کیفیت گیاه میزبان عامل مؤثری بر باروری و نرخ رشد جمعیت حشرات گیاهخوار است. تجزیه و تحلیل جدول زیستی باروری به‌دست‌آمده در این مطالعه نشان داد که *B. signatum* رشد مناسبی در رژیم غذایی طبیعی داشته است. این نتایج می‌تواند به درک تغییرات جمعیت حشره مورد مطالعه در شرایط مزرعه و تصمیم‌گیری و مدیریت بهتر این آفت در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات (IPM) برای محصول مهم اقتصادی پسته کمک کند.

**واژه‌های کلیدی:** پسته، جدول زیستی دو جنسی، سن سبز، فراسنجه‌های رشد جمعیت

۱ و ۲ - به‌ترتیب دانشجوی پیشین دکتری و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

(\*) - نویسنده مسئول: (Email: [abbkhani@uoz.ac.ir](mailto:abbkhani@uoz.ac.ir))

۳ - استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران

## مقدمه

امروزه، کشاورزی نقش مهمی در اقتصاد کشورها از جمله ایران ایفا می‌کند. پسته، یکی از مهمترین محصولات کشاورزی است که نقش کلیدی در ارزآوری غیر نفتی دارد. گرچه ایران دارای جایگاه ویژه در بازار جهانی پسته می‌باشد، اما در سال‌های اخیر ورود کشورهایی مانند آمریکا در این عرصه باعث کاهش سهم ایران در بازار صادرات پسته شده است (Khezri & Sarcheshmehpour, 2022).

یکی از مشکلات مهم در تولید پسته، خسارت آفات می‌باشد که همواره دغدغه باغداران به‌خصوص در سال‌های اخیر بوده است. آفات پسته، دارای تنوع زیادی می‌باشند و خسارت آن‌ها، میزان تولید و عملکرد پسته را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. معمولاً این آفات را براساس میزان خسارت اقتصادی و وسعت آلودگی مناطق پسته‌کاری کشور، تقسیم‌بندی می‌کنند (Khezri & Sarcheshmehpour, 2022). سن‌های پسته *Acrosternum milleri* Mulsant and *Rey, A. heegeri* Fieber, *Brachynema germari* Kolenati, *B. signatum* Jakovlev, *Apodiphus amygdale* Germar, *Lygaeus pandurus* Fabricius از آفات درجه اول هستند که در اغلب مناطق پسته‌کاری کشور وجود دارند و خسارت اقتصادی آن‌ها قابل توجه است (Mehrnejad, 2020). سن سبز پسته *B. signatum* یا لکه‌ی سفید در انتهای سپرچه، به‌عنوان گونه غالب در اکثر مناطق پسته کاری استان کرمان به ویژه شهرستان رفسنجان می‌باشد (Zeinaldini meimand, 2011). حشرات کامل این گونه زمستان را در پناهگاه‌های کوهستانی در زیر بوته‌هایی درمنه و اسپند، می‌گذرانند (Mehrnejad, 2001). این حشرات بدلیل داشتن نورگرایی مثبت، به تله‌های نوری معمولی جلب می‌شوند که با این روش می‌توان در شب، وجود این آفت را در باغات پسته تشخیص داد. این سن‌ها از اواخر شهریور ماه همزمان با رسیدن میوه‌ها و برداشت محصول به تدریج به سمت مناطق زمستان‌گذران، مهاجرت می‌کنند و به حالت دیپوز کامل در زیر بوته‌های گیاهانی نظیر درمنه، قیچ و غیره، بدون هیچ‌گونه فعالیتی پنهان می‌شوند (Pourkhatoon, 2014).

سن‌های سبز به دو صورت مستقیم و غیرمستقیم، باعث خسارت می‌شوند. در روش مستقیم، سن‌ها با داشتن قطعات دهانی زنده-مکنده، ضمن تغذیه از پسته‌های در حال رشد، سبب لهیدگی پوسته رویی می‌شوند. در این حالت، بافت‌های مزوکارپ و اندوکارپ میوه درگیر شده و باعث لکه‌دار شدن پوست استخوانی می‌گردد که به آن، لهیدگی پوست رویی گفته می‌شود. گاهی اوقات نیز، قطعات دهانی

سن‌ها به‌طور مستقیم به مغز نفوذ کرده و با تغذیه از مغز پسته، سبب ایجاد لکه روی مغز پسته می‌گردد. در روش غیرمستقیم، در هنگام تغذیه سن‌ها از مغز پسته، یک نوع قارچ با نام علمی *Nematospora corli* Peglion به مغز پسته نفوذ کرده و آن را لکه‌دار و تیره می‌کند که به آن بیماری استیگماتومایکوزیس (ماسو) گفته می‌شود. در این حالت، مغز پسته تیره رنگ و پنبه‌ای شده و بوی نامطبوعی می‌دهد (Mehrnejad, 2020).

خسارت زیاد سن‌های سبز پسته در مناطق پسته‌کاری، لزوم آگاهی از ویژگی‌های زیستی، رفتاری و اکولوژیکی سن‌های سبز را برای مدیریت موفقیت‌آمیز این آفات کلیدی، روشن می‌سازد. لذا برنامه‌های مدیریتی آفات باید براساس شناسایی و تخمین جمعیت آفت، اطلاع از مراحل زندگی، نحوه خسارت آفت، شناسایی حساس‌ترین مرحله زندگی آفت و انتخاب روش‌های مناسب مبارزه با آن، صورت گیرد (Khezri & Sarcheshmehpour, 2022). هم‌چنین در برنامه‌ی مدیریت مبارزه با این آفت مانند بسیاری از آفات دیگر، برآورد فراسنجه‌های زیستی رشد، دارای اهمیت است. از جدول زیستی باروری می‌توان برای تعیین زمان رشد و نمو، نرخ زنده‌مانی مراحل رشدی و تخمین اندازه جمعیت استفاده کرد (Medeiros et al., 2016; Chi, 2016a; 2000; Southwood & Henderson, 2000).

با توجه به این که بیشترین حشرات، دوجنسی هستند و هر دو جنس ممکن است باعث خسارت اقتصادی شوند. لذا علاوه بر تفاوت‌ها در نرخ رشد، اغلب بین جنس‌ها و بین افراد، تفاوت‌هایی وجود دارد. به‌منظور در نظر گرفتن هر دو جنس و تغییرات نرخ رشد بین افراد (Chi, 1990)، جدول زندگی دوجنسی مرحله‌ای- سنی به‌منظور ارزیابی فراسنجه‌های دموگرافی سن سبز *Brachynema signatum* (Hemiptera: Pentatomidae) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ما توصیف جامعی از بقا، رشد و تولید مثل افراد یک گروه هم‌سن<sup>۱</sup> را فراهم می‌کند. علاوه براین، فراسنجه‌های جدول زندگی اغلب با تغییرات محیطی مختلف مانند گونه میزبان و فاکتورهای دیگر تغییر می‌کند (Hu et al., 2010).

درمورد جدول زیستی دوجنسی روی گونه‌های مختلف سن‌های خانواده‌ی پنتاتومیده به‌ویژه سن‌های پسته پژوهش‌هایی در ایران انجام شده است. از جمله خواجه حسینی صالح آباد و همکاران (Khajehoseini Salehabad et al., 2022) روی جدول زیستی باروری گونه *Acrosternum milleri* پورخاتون و همکاران روی گونه‌ی *Brachynema signatum* (Pourkhatoon et al., 2014)، یزدان پناه و همکاران (Yazdanpanah et al., 2019) و پورخاتون و

دیواره‌ها و درب ظرف گذاشتند. از چند دسته تخم هم‌زاد حاصل از نسل سوم جهت انجام آزمایشات زیست‌شناسی و تعیین فراسنجه‌های جدول زیستی استفاده شد.

جدول زیستی باروری با یک گروه تخم هم‌سن (۱۰۰ تخم) آغاز شد. طول دوره جنینی و طول مراحل پورگی سن اول و دوم به‌صورت گروه‌های ۱۰ تایی مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس پوره‌های سن سوم، به ظروف پرورش انفرادی به ابعاد  $8 \times 7 \times 4$  cm منتقل گردیدند (Pourkhatoon, 2014). میزان تلفات و طول هر یک از مراحل رشدی تا زمان تبدیل به حشره کامل، به‌صورت روزانه ثبت شد. بلافاصله حشرات نر و ماده (تفکیک جنسیت بر اساس برآمدگی انتهای شکم) به‌صورت جفتی کنار هم قرار گرفتند. سپس هر روز تعداد تخم‌های که به‌وسیله‌ی حشره ماده گذاشته می‌شد یادداشت شد و تا زمانی که آخرین حشرات کامل زنده بود، این کار دنبال شد. جهت تشکیل جدول زیستی دوجنسی مرحله‌ای-سنی، وقایع روزانه همه افراد به‌صورت روزانه از تولد تا مرگ (تولید مثل روزانه افراد ماده، هر یک از مراحل رشدی نظیر تخم، پوره‌های سن اول تا پنجم و حشره کامل و جنسیت آن‌ها تعیین گردید.

نرخ بقاء ویژه مرحله‌ای-سنی  $^1 (S_{xj})$  (x: سن، j: مرحله)، باروری ویژه مرحله‌ای-سنی  $^2 (F_{xj})$ ، میانگین باروری ماده (F)، نرخ تولیدمثل مرحله‌ای-سنی  $^3 (V_{xj})$ ، نرخ بقاء ویژه سن  $^4 (l_x)$ ، باروری ویژه سنی  $(m_x)$  و فراسنجه‌های جمعیت (r: نرخ ذاتی افزایش جمعیت،  $\lambda$ : نرخ متناهی افزایش جمعیت،  $R_0$ : نرخ خالص تولیدمثل، GRR: نرخ ناخالص تولیدمثل  $^5$  و T: میانگین مدت زمان نسل)، برطبق روابط مربوطه محاسبه شدند (Chi & Su, 2006; Chi, 2016).

### تجزیه آماری داده‌ها

داده‌های مربوط به جدول زندگی توسط نرم‌افزار TWOSEX-MSChart و براساس جدول زندگی دو جنسی ویژه سنی آنالیز شد. منحنی‌ها و نمودارها در نرم‌افزار اکسل رسم گردید (Chi, 2016).

### نتایج

طول هر یک از مراحل رشدی در سن سبز پسته پس از تغذیه روی مغز تازه پسته به شرح زیر است (جدول ۱). به‌طوری‌که میانگین طول دوره جنینی حشره  $4/13 \pm 0/07$  روز بود. بیشترین و کمترین طول دوره پورگی به‌ترتیب مربوط به پوره‌های سن پنجم  $7/28 \pm$

همکاران (Pourkhatoon et al., 2016) روی گونه‌ی *Brachynema germari* باقری و همکاران (Bagheri et al., 2010) روی جدول زیستی باروری دوجنسی گونه *Acrosternum heegeri* پژوهش انجام داده‌اند. بنابراین با توجه به اهمیت سن سبز پسته گونه *B. signatum* به‌عنوان آفات درجه یک پسته، می‌توان با تعیین فراسنجه‌های زیستی باروری این حشره، در راستای مدیریت این آفت، گام مهمی برداشت.

### مواد و روش‌ها

#### جمع‌آوری و شناسایی حشرات کامل سن سبز پسته

حشرات کامل سن سبز پسته گونه *B. Signatum* از باغ‌های پسته شهرستان رفسنجان (روستای احمد آباد دفعه و منطقه صادق آباد) از اواخر اردیبهشت تا اواسط خرداد ماه در سال ۱۳۹۷ از لابلای خوشه‌های پسته و بوته‌های زاروق و اسپند سگ در کف باغ، جمع‌آوری و برای بررسی و انجام آزمایش‌ها به آزمایشگاه منتقل شدند. گونه‌ها با نمونه‌های شناسایی شده موجود در آزمایشگاه، مقایسه (Pourkhatoon, 2014) و توسط بخش رده‌بندی حشرات در مؤسسه گیاهپزشکی کشور شناسایی و تأیید شدند.

#### بررسی فراسنجه‌های زیستی باروری

پرورش حشرات کامل سن سبز پسته در آزمایشگاه بیواکولوژی دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان در اتاقک رشد در دمای  $27 \pm 1$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی  $65 \pm 5$  درصد روی مغز تازه پسته رقم کله‌قوچی انجام گردید.

جهت تشکیل کلنی، سن‌های جمع‌آوری شده از باغ‌های پسته (از لابلای خوشه‌های پسته و بوته‌های زاروق و اسپند سگ در کف باغ) پس از شناسایی و تفکیک، درون ظروف پلاستیکی درب‌دار مستطیلی‌شکل به ابعاد  $10 \times 18 \times 25$  منتقل شده و روی درب آن‌ها جهت تهویه مناسب، سوراخی ایجاد و با توری دوازده مش (۱۲ روزنه در سانتی‌متر مربع) پوشانده شد. ابتدا، کف ظرف‌های پرورش یک لایه دستمال کاغذی تمیز قرار داده شد (Pourkhatoon, 2014). جهت تأمین رطوبت و آب مورد نیاز حشرات، از چند لوله‌ی فالتکون حاوی آب که در آن با پنبه بسته شده بود، در هر طرف ظرف پرورش استفاده گردید. حشرات به‌صورت روز در میان با مغزهای تازه پسته تغذیه شدند، به این ترتیب که به‌صورت یک روز در میان مغزهای تازه جایگزین مغزهای قبلی می‌شد. به‌منظور جلوگیری از تبخیر سریع رطوبت مغزهای پسته و نیز جلوگیری از فساد، مغزها با یک لایه بسیار نازک پارافیلیم پوشانده شدند. به‌طوری‌که سن‌ها قادر بودند تا خرطوم خود را از این پارافیلیم بسیار نازک عبور داده و از مغز پسته تغذیه کنند. حشرات بالغ تخم‌های خود را روی مغز تازه پسته، روی

- 1- Survival rate to each age-stage interval
- 2- Age-stage-specific fecundity
- 3- Age-stage specific reproductive value
- 4- Age-specific survival rate
- 5- The gross reproduction rat

روز ۲۴/۳۲ روز بدست آمد (جدول ۲).

در شکل ۳ منحنی  $(e_{xj})$  سن مورد مطالعه ارائه شد. امید به زندگی، زمانی است که انتظار می‌رود هر فرد از سن  $x$  تا مرحله  $j$  زنده بماند (Yang & Chi, 2006). امید به زندگی به تدریج با افزایش سن کاهش می‌یابد چون در آزمایشگاه هیچ گونه اثرات نامطلوبی شبیه آنچه در مزرعه روی می‌دهد، وجود ندارد (Jha et al., 2012). امید به زندگی  $(e_{xj})$  در اولین روز ظهور در حشرات نر و ماده در این گونه به ترتیب ۵۲/۸۲ و ۵۹/۳۸ روز به دست آمد.

۰,۰۸ روز و پوره سن یک  $2,06 \pm 0,03$  روز بود (جدول ۱). براساس نتایج جدول ۱، طول عمر سن سبز پسته  $53/98 \pm 0/62$  روز است.

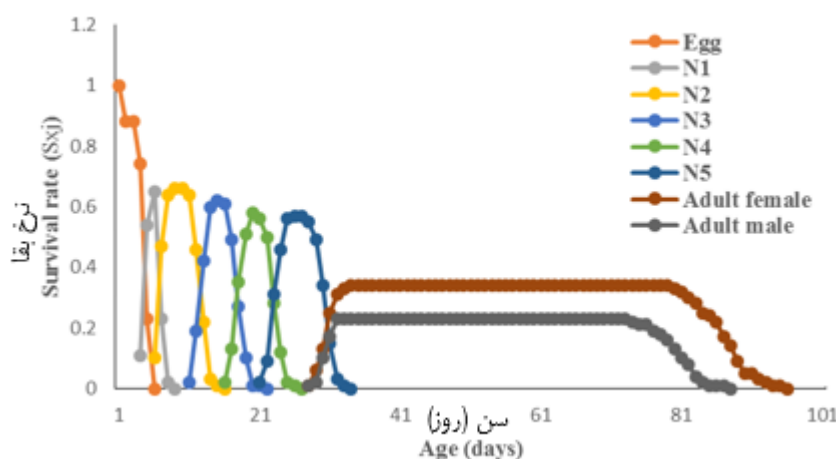
میزان نرخ بقاء ویژه مرحله ای- سنی  $(S_{xj})$ ، سن سبز  $B. signatum$  با احتمال این که یک تخم گذاشته شده تا سن  $x$  و مرحله  $j$  بقاء خواهد یافت، در شکل ۱، نشان داده است. نتایج نشان داد که در دوره رشد و نمو، مراحل مختلف رشدی، با یکدیگر هم پوشانی داشتند.

در شکل ۲ منحنی‌های  $(l_x)$ ،  $(m_x)$  و  $(l_x m_x)$  آورده شده است. دوره‌ی بقاء و دوره‌ی تخم‌گذاری حشرات کامل ماده به ترتیب ۳۴ و

جدول ۱- میانگین ( $\pm$  خطای معیار) طول دوره سنین مختلف رشدی سن سبز پسته *Brachynema signatum* روی مغز پسته بر حسب روز

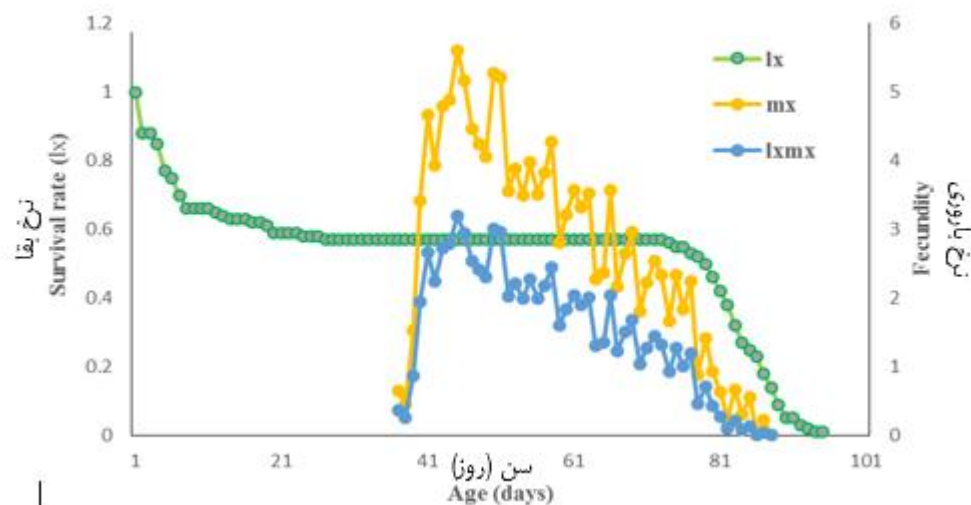
Table 1- Duration of different developmental stages (Mean  $\pm$  SE) of *B. signatum*, reared on kernels of pistachio

| ویژگی‌های زیستی<br>Biological characteristics          | میانگین $\pm$ خطای معیار (روز)<br>Mean $\pm$ SE (days) |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| طول دوره جنینی<br>Incubation period                    | 4.13 $\pm$ 0.07                                        |
| طول دوره پورگی سن یک<br>First-instar nymph duration    | 2.06 $\pm$ 0.03                                        |
| طول دوره پورگی سن دو<br>Second-instar nymph duration   | 5.9 $\pm$ 0.08                                         |
| طول دوره پورگی سن سه<br>Third-instar nymph duration    | 5.27 $\pm$ 0.06                                        |
| طول دوره پورگی سن چهار<br>Fourth-instar nymph duration | 5.23 $\pm$ 0.06                                        |
| طول دوره پورگی سن پنج<br>Fifth-instar nymph duration   | 7.28 $\pm$ 0.08                                        |
| طول دوره زندگی حشرات کامل ماده<br>Adult longevity      | 53.98 $\pm$ 0.62                                       |



شکل ۱- نرخ بقاء ویژه سن-مرحله‌ی رشدی  $(S_{xj})$  برای هر مرحله رشدی سن سبز پسته گونه *Brachynema signatum*

Figure 1- Age-stage survival rate ( $S_{xj}$ ) for each stage of *B. signatum*



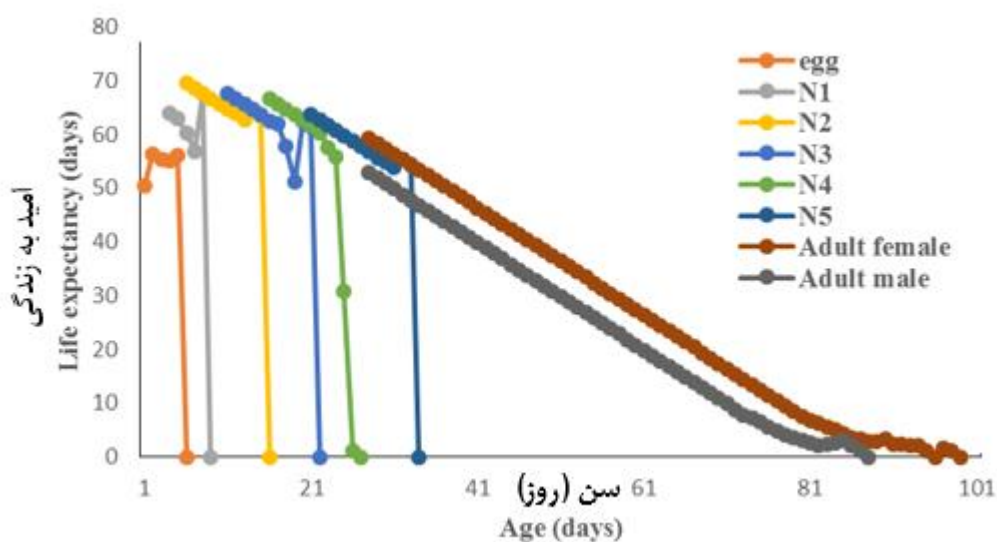
شکل ۲- نرخ بقا ویژه سن، باروری ویژه سنی و زادآوری ویژه سن گونه *Brachynema signatum*

Figure 2- The age-specific survival rate ( $l_x$ ) and the age-specific fecundity of total population ( $m_x$ ) of *B. signatum*

جدول ۲- میانگین ( $\pm$  خطای معیار) میزان بقا و دوره تخمگذاری (روز) حشرات ماده سن سبز پسته *Brachynema signatum* روی مغز پسته

Table 2- The rate of survival and egg-laying period (days) of *Brachynema signatum* female (Mean  $\pm$  SE), reared on kernels of pistachio

| ویژگی‌های زیستی<br>Biological characteristics | میانگین $\pm$ خطای معیار (روز)<br>Mean $\pm$ SE (days) |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| میزان بقا<br>survival rate                    | 34                                                     |
| دوره تخمگذاری<br>Oviposition period           | 24.32 $\pm$ 0.03                                       |

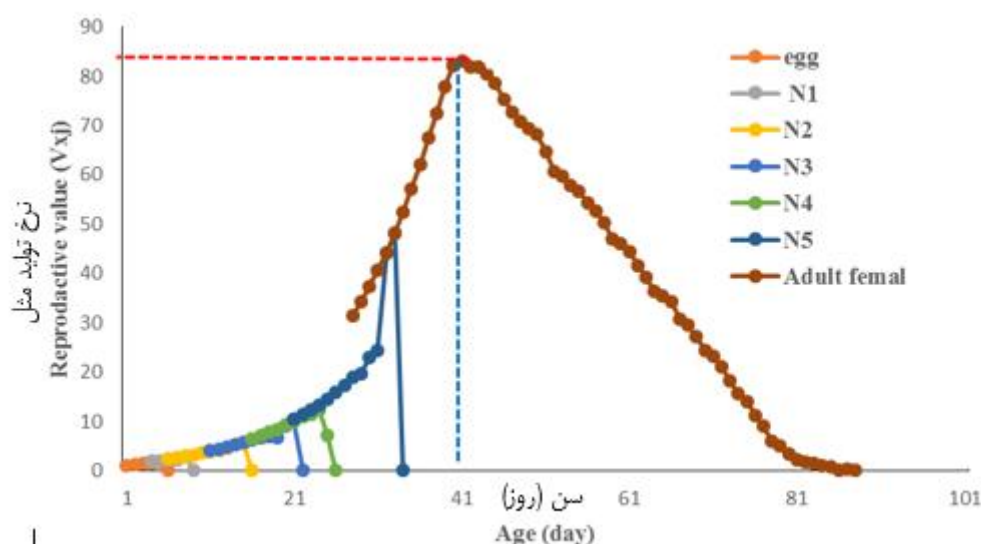


شکل ۳- امید به زندگی سن سبز پسته گونه *Brachynema signatum*

Figure 3- The age-stage life expectancy ( $e_{xj}$ ) of *Brachynema signatum*

پسته در جدول ۳ نشان داده شده است. بر اساس مدل‌های موجود فراسنجه‌های جمعیت و خطاهای استاندارد براساس داده‌های تمام گروه‌های هم‌سن در هر دو جنس و تغییرات نرخ رشد بین افراد محاسبه شدند.

در شکل ۴ منحنی نرخ تولیدمثل مرحله سنی ( $v_{xj}$ ) گونه سن مورد مطالعه آورده شده است. اوج فراسنجه‌های تولیدمثلی ماده در گونه مذکور در روز چهل و یکم و معادل ۸۳/۰۵ بدست آمد. فراسنجه‌های جمعیت پایدار سن سبز پرورش داده شده روی مغز تازه



شکل ۴- نرخ تولیدمثل مرحله سنی گونه *Brachynema signatum*  
Figure 4- The reproductive rate ( $v_{xj}$ ) of *Brachynema signatum*

جدول ۳- میانگین ( $\pm$ خطای معیار) فراسنجه‌های زیستی باروری سن سبز پسته *Brachynema signatum* روی مغز پسته  
Table 3- The main parameters of the life table (Mean  $\pm$  SE) of *B. signatum*, reared on kernels of pistachio

| فراسنجه‌های جدول زیستی<br>Life table parameters                                                   | میانگین $\pm$ خطای معیار<br>Mean $\pm$ SE |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
| نرخ خالص تولید مثل (نتاج/فرد)<br>Net reproductive rate ( $R_0$ ) Femal/Female                     | 78.78 $\pm$ 11.18                         |
| نرخ ناخالص تولید مثل (نتاج/فرد)<br>Gross reproductive rate (GRR) Egg                              | 140.14 $\pm$ 15.17                        |
| نرخ ذاتی افزایش جمعیت (ماده/ماده/روز)<br>Intrinsic rate of increase ( $r$ ) Femal/Female/Day      | 0.084 $\pm$ 0.003                         |
| مدت زمان یک نسل (روز)<br>Mean generation time (T) Day                                             | 51.55 $\pm$ 0.387                         |
| نرخ متناهی افزایش جمعیت (ماده/ماده/روز)<br>Finite rate of increase ( $\lambda$ ) Femal/Female/Day | 1.088 $\pm$ 0.003                         |

۱/۰۸۸ (ماده/ماده/روز) تعیین شد.

از آنجایی که نرخ بقاء ویژه سن<sup>۱</sup> کاهش یکسانی را در هریک از مراحل رشدی نشان داد، نرخ ناخالص تولید مثل بیش‌تر از نرخ خالص تولید مثل<sup>۲</sup> می‌باشد.

بر اساس نتایج به‌دست آمده، طول مدت زمان یک نسل سن سبز پسته با تغذیه از مغز تازه پسته ۵۱/۵۵  $\pm$  ۰/۳۸۷ روز و نرخ خالص تولیدمثل نیز که مجموع ماده‌های تولید شده توسط یک فرد ماده در طول عمر با دخالت عامل میزان بقاء را نشان می‌دهد ۷۸/۷۸ (نتاج/فرد) تعیین گردید. همچنین نرخ ذاتی افزایش جمعیت برای این گونه ۰/۰۸۴ (ماده/ماده/روز) و نرخ متناهی افزایش جمعیت ۱/۰۸۸  $\pm$  ۰/۰۰۳

1-  $l_x$

2-  $GRR > R_0$

## بحث

به طور کلی جدول زیستی تولیدمثلی توانایی میزان زنده ماندن حشرات را در مراحل سنی یا رشدی متفاوت نشان می‌دهد. فراسنجه‌های که از این جدول باروری به دست می‌آیند به عنوان وسیله‌ای هستند که می‌توانند عوامل بیرونی که بر مقدار رشد و باروری تأثیر می‌گذارند، تجزیه و مشخص کنند.

در پژوهش پورخاتون (Pourkhatoon, 2014) طول دوره جنینی برای تخم‌های سن سبز پسته *B. signatum* روی جیره غذایی طبیعی (زاروق) و جایگزین (ترکیب لوبیا سبز، کیسول اسپند و مغز تخمه آفتابگردان) به ترتیب ۳/۶ و ۳/۷۸ روز به دست آمد که با نتایج پژوهش حاضر (۴/۱۳ روز) مشابهت دارد.

در پژوهشی دیگری که توسط یزدان پناه و همکاران (2019 Yazdanpanah et al.,) انجام گرفت طول دوره جنینی در گونه‌ی دیگری از سن پسته *Brachynema germari* در دمای ۲۷/۵ درجه سلسیوس ۶/۰۳ روز به دست آمد و یک دوره کامل زندگی (از تخم تا مرگ بالغین نر و ماده) در این دما به ترتیب  $54/78 \pm 0/99$  و  $67/65 \pm 0/82$  روز طول کشید.

در تحقیق انجام شده توسط پورخاتون (Pourkhatoon, 2014) نتایج نشان داد که طول دوره زندگی بالغ‌ها برای سن سبز پسته *B. signatum* روی جیره غذایی طبیعی و جایگزین به ترتیب  $59/06 \pm 1/8$  و  $60/28 \pm 2/44$  روز به دست آمد که با نتایج پژوهش حاضر (۵۳/۹۸ روز) تا حدودی متفاوت بود.

نتایج نشان داد که در دوره رشد و نمو، مراحل مختلف رشدی هم پوشانی دارند (شکل ۱). همپوشانی بین منحنی‌های ویژه مرحله رشدی در نتیجه اختلاف بین افراد در نرخ رشد و نمو است. این تغییرات به این صورت است که بقاء حشرات نر در مقایسه با حشرات ماده طولانی‌تر بود. تغییرات میزان رشد در بین افراد باعث می‌گردد که در منحنی  $S_{xx}$  روی هم افتادگی مراحل مشاهده گردد. می‌توان گفت که نتایج به دست آمده با نتایج پورخاتون (2014 Pourkhatoon,) تقریباً هم‌خوانی داشت.

با مطالعه زیست‌شناسی و تولیدمثلی *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae)، بقای این سن‌ها در مرحله نابالغ حدود ۵۹ درصد گزارش شده است (Freitas et al., 2006). بقا برای سنین مختلف پورگی بین ۷۵ تا ۹۸ درصد بود. نتایج آزمایش حاضر در مورد بقای مراحل نالغ سن سبز با لکه‌ی سفید در انتهای سپرچه پسته مشابه سایر پنتاتومیدها می‌باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که دوره بقاء و تخم‌گذاری حشرات کامل ماده به ترتیب ۳۴ و ۲۴/۲۲ روز بدست آمد. در حالی که در پژوهش انجام شده توسط پورخاتون (Pourkhatoon, 2014) آغاز تولید نتاج به وسیله هر حشره ماده *B. signatum* در جیره غذایی

طبیعی و جایگزین به ترتیب روزهای ۳۲ و ۳۷ و پیک آن به ترتیب در روزهای ۲۹ و ۴۱ بوده است و سرانجام تخم‌گذاری حشرات ماده کاهش یافت تا اینکه در روز صدم تخم‌گذاری متوقف شد.

میزان امید به زندگی در تحقیق انجام شده، در اولین روز خروج حشرات نر و ماده در این گونه به ترتیب ۵۲/۸۲ و ۵۹/۳۸ روز به دست آمد. اما در پژوهش صورت گرفته توسط پورخاتون (2014 Pourkhatoon,) امید زندگی در حشرات نر و ماده گونه *B. signatum* روی غذای طبیعی ۶۰ و ۶۳ روز و میزان آن روی جیره غذایی جایگزین ۵۶/۵ و ۶۳ روز بود، این نتایج تا حدودی شبیه با نتایج پژوهش حاضر است.

نرخ تولید مثل به عنوان سهم یک فرد در جمعیت بعدی مشخص می‌شود. نرخ تولید مثل مرحله‌ای - سنی<sup>۱</sup> سن سبز پسته سهم یک فرد در سن x و مرحله z را در جمعیت بعدی (شکل ۴) نشان می‌دهد. نرخ تولید مثلی به طور معنی‌داری وقتی که تولید مثل شروع شد افزایش یافت. میزان تولیدمثل، معیار ویژه‌ای است که مشارکت نسبی هر گروه سنی را در ایجاد نسل‌های آینده بیان می‌کند (Pianka, 1994). اگر یک حشره ماده نتاجی را تولید نکند نرخ تولید مثل آن صفر می‌شود ولی ممکن است منحنی بقاء هم‌چنان ادامه داشته باشد که این موضوع در شکل‌ها قابل مشاهده است. اوج فراسنجه‌های تولیدمثلی ماده در گونه مورد مطالعه مربوط به روز چهل و یکم برابر ۸۳/۰۵ بدست آمد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج پورخاتون (2014 Pourkhatoon,) که اوج نرخ تولیدمثل در روز سی و هفتم است یا به عبارت دیگر حشرات ماده در روز سی و هفتم بیشترین تأثیر را در رشد جمعیت دارند، تا حدودی مشابه است.

در پژوهشی که توسط پورخاتون (Pourkhatoon, 2014) روی *B. signatum* انجام شد، فراسنجه‌های نرخ خالص تولید مثل، نرخ ناخالص تولید مثل، نرخ ذاتی افزایش جمعیت در دمای ۲۵/۵ درجه سلسیوس برای این حشره بر روی جیره غذایی طبیعی (گیاه علفی زاروق) به ترتیب  $128/75 \pm 17/56$  ماده/ ماده،  $221/484 \pm 21/53$  تخم/ ماده و  $0/03 \pm 0/1023$  ماده/ ماده/ روز بدست آمد. که مقادیر بالاتری نسبت به داده‌های حاصل در پژوهش حاضر دارند. تفاوت مشاهده شده می‌تواند به علت تفاوت در گونه‌ی گیاه میزبان باشد. چون نرخ ذاتی افزایش جمعیت این حشره روی علف هرز زاروق بیشتر بوده است (Pourkhatoon et al., 2014)، می‌توان از این گیاه به عنوان تله جهت جلب این گونه‌ی سن، استفاده نمود.

نرخ ذاتی افزایش جمعیت می‌تواند به عنوان یک فراسنجه کلیدی برای تعیین نرخ رشد تحت تأثیر ماده غذایی حشرات باشد (Southwood & Henderson, 2000). طبق نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر نرخ ذاتی افزایش جمعیت گونه سن سبز *B.*

این آفات مهم نقش بسزایی داشته باشد زیرا با محاسبه زمان دقیق ظهور حشرات کامل (پیش‌بینی اکولوژی جمعیت) می‌توان یک برنامه ریزی دقیق برای سم‌پاشی علیه بالغین ارائه داد. از داده‌های مربوط به فراسنجه‌های جمعیت شناختی که به واسطه تجزیه و تحلیل جدول زندگی در این تحقیق بدست آمده، با توجه به پرورش حشره روی غذای اصلی و ترجیحی، می‌توان در پیش‌بینی رشد و ارزیابی واقعی جمعیت آفت در برنامه‌های مدیریت یکپارچه آفت (IPM) و تهیه مدل‌های ریاضی پیش آگاهی در محیط پراکنش این آفت استفاده کاربردی داشت.

### سپاسگزاری

این پژوهش به‌وسیله دانشگاه زابل حمایت مالی (Grant No 0084) و معنوی شده است که تقدیر و تشکر می‌شود. از بخش حشره‌شناسی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان به‌خاطر امکانات آزمایشگاهی و از بخش رده‌بندی حشرات مؤسسه گیاه‌پزشکی کشور به‌خاطر تشخیص و تأیید گونه حشره، تشکر و قدردانی می‌گردد.

*signatum* ۰/۰۸۴۷ (ماده- ماده-روز) بود و گویای این مطلب است که مغز تازه پسته می‌تواند مناسب‌ترین میزبان برای پرورش انبوه گونه *B. signatum* می‌باشد. در پژوهش انجام شده توسط پورخاتون (Pourkhatoon, 2014) مقدار نرخ ذاتی افزایش جمعیت روی دو جیره غذایی طبیعی (زاروق) و جایگزین (ترکیب لوبیا سبز، کیسول اسپند و مغز تخمه آفتابگردان) به‌ترتیب ۰/۱۰۲ و ۰/۰۸۶ ماده-ماده-روز برآورد که از مقادیر نرخ ذاتی افزایش جمعیت گونه مورد بررسی در پژوهش حاضر با تغذیه از مغز تازه پسته بیشتر می‌باشد. با نگرش به اینکه این مقدار در پژوهش حاضر پایین‌تر است علت آن این است که احتمالاً میزبان‌ها و شرایط انجام آزمایش در نتایج حاصل مؤثر بوده است. بنابراین رژیم غذایی تولیدمثل گونه سن سبز را نیز تحت تأثیر قرار داده است (Liu et al., 2004).

از طرف دیگر تغییر دما نیز بر میزان نرخ ذاتی افزایش جمعیت مؤثر است. به‌طور مثال در یک بررسی میزان نرخ ذاتی افزایش جمعیت در سن *Podisus maculiventris* (Say) در دمای ۱۶ درجه سلسیوس برابر با ۰/۰۵، در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد برابر با ۰/۰۸ و در ۳۰ درجه سانتی‌گراد برابر با ۰/۰۹ می‌باشد (Legaspi, 2004). طبق نتایج حاصل از این بررسی، این اطلاعات می‌تواند در کنترل

### References

1. Bagheri, F., Hosseinaveh, V., Talebi Jahromi, K., & Bigham, M. (2010). A survey of some biological traits and fertility life table parameters of pistachio green stink bug, *Acrosternum hegeri* (Hemiptera: Pentatomidae). *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 41(1), 119-123. (In Persian with English abstract)
2. Chi, H. (1990). Timing of control based on the stage structure of pest population: a simulation approach. *Journal of Economic Entomology*, 83, 1143-1150. <https://doi.org/10.1093/jee/83.4.1143>
3. Chi, H., & Su, H.Y. (2006). Age-stage, two-sex life tables of *Aphidius gifuensis* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae) and its host *Muzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) with mathematical proof of the relationship between female fecundity and the net reproductive rate. *Environmental Entomology*, 35, 10-21. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-35.1.10>
4. Chi, H. (2016). TWOSEX-MSChart: Computer program for the age-stage, two-sex life table analysis.
5. Freitas, S.P.C., Júnior, W.S.E., Zanuncio, J.C., & Serrão J.E. (2006). Development, survival and reproduction of *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae) with salt and amino acids solutions supplementary diet. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49(3), 449-455. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132006000400013>
6. Hu, L.X., Chi, H., Zhang, J., Zhou, Q., & Zhang, R.J. (2010). Life table analysis of the performance of *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae) on two wild rice species. *Journal of Economic Entomology*, 103, 1628-1635. <https://doi.org/10.1603/EC10058>
7. Jha, R.K., Chi, H., & Tang, L.C. (2012). A comparison of artificial diet and hybrid sweet corn for the rearing of *Helicoverpa arigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) based on life table characteristics. *Environmental Entomology*, 41, 30-39. <https://doi.org/10.1603/EN11206>
8. Khajehosini Salehabad, M., Khani, A., Izadi, H., Sahebzadeh, N., Samih, M.A. (2022). Parameters of age-stage, two sex life table of pistachio green bugs, *Acrosternum milleri* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Pistachio Science and Technology*, 7(12), 127-146. (In Persian with English abstract)
9. Khezri, M., & Sarcheshmehpour, M. (2022). Iran 's pistachio (Physiology, Breeding and Management). Shahid Bahonar University of Kerman Publishing. 447 pp. (In Persian)
10. Legaspi, J.C. (2004). Life history of *Podisus maculiventris* (Hemiptera: Pentatomidae) adult female under different constant temperatures. *Journal of Environmental Entomology*, 33(5), 1200-1206. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-33.5.1200>
11. Liu, Z., Li, D., Gong, P.Y., & Wu, K.J. (2004). Life table studies of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on different host plants. *Environmental Entomology*, 33, 1570-1576.

- <https://doi.org/10.1603/0046-225X-33.6.1570>
12. Medeiros, R.S., Ramalho, F.S., Lemos, W.P., & Zanuncio, J.C. (2000). Age-dependent fecundity and life fertility tables for *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Applied Entomology*, 124, 319-324. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2000.00482.x>
13. Mehrnejad, M.R. (2001). The current status of pistachio pests in Iran. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 56, 315-322.
14. Mehrnejad, M.R. (2020). Arthropod pests of pistachio, their natural enemies and management. *Plant Protection Science*, 56, 231-260. <https://doi.org/10.17221/63/2019-PPS>
15. Pianka, E.R. (1994). *Evolutionary ecology*. 5<sup>th</sup> ed. New York, Harper Collins College, 486 pp.
16. Pourkhatoon, S. (2014). Laboratory rearing of pistachio green stink bug, *Brachynema signatum* on a composite diet with sublethal effects studies of flonicamid and lambda-cyhalothrin pesticides on the fertility life table parameters. M. Sc. Thesis, College of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Kerman, Iran. 125 pp. (In Persian)
17. Pourkhatoon, S., Ziaaddini, M., Alizade, A., Jalali, M.A., & Ebrahimi, M. (2014). Age-Stage, Two Sex Life Table Parameters of Pistachio sting bug, *Brachynema signatum* (Hemiptera: Pentatomidae) on a weed, *salsola rigida*. 3rd Integrated Pest Management Conference (IPMC) 21 & 22 January 2014, Kerman, Iran. p. 170-176.
18. Pourkhatoon, S., Ziaaddini, M., Alizade, A., Jalali, M.A., & Ebrahimi, M. (2016). Biological Characteristic of *Brachynema germari* (Hemiptera: Pentatomidae): Comparative Study of Composite and Natural Diet, *Journal of Economic Entomology*, 109(3), 1273-1282. <https://doi.org/10.1093/jee/tow038>
19. Southwood, T.R.E., & Henderson, P.A. (2000). *Ecological Methods*. 3rd ed. Blackwell Science Ltd., 592pp.
20. Yang, T.C., & Chi, H. (2006). Life table and development of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) at different temperatures. *Journal of Economic Entomology*, 99, 691-698. <https://doi.org/10.1093/jee/99.3.691>
21. Yazdanpanah, A., Nouri-Ganbalani, G., Razmjou, J., Basirat, M., & Fathi, S.A. (2019). Effects of different temperatures on the demography of pistachio green stink-bug, *Brachynema germari* Kolenati (Hemiptera: Pentatomidae), under laboratory conditions. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 78(4), 29-36. <https://doi.org/10.25085/rsea.780405>
22. Zeinaldini Meimand, N. (2011). *Faunistic study and distribution of pistachio bugs and their natural enemies in Rafsanjan area*. M.Sc. Thesis, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. 105 pp. (In Persian)





## Research Article

Vol. 37, No. 4, 2024, p. 363-379

## Studying the Combination Effect of Celery, *Apium graveolens* Extracts with *Bt*, Against Potato Tuber Moth *Phthorimaea operculella*

D. Mohammadi<sup>1\*</sup>, A. Hatami<sup>2</sup>, N. Eivazian Kary<sup>1</sup>, R. Farshbaf Pourabad<sup>3</sup><sup>1</sup>- Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran(\*- Corresponding Author Email: [mohamadi@azaruniv.ac.ir](mailto:mohamadi@azaruniv.ac.ir))<sup>2</sup>- Ph.D. Student of Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran<sup>3</sup>- Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ege University, 35100 Izmir, Turkiye

Received: 19-03-2023

Revised: 25-07-2023

Accepted: 25-07-2023

Available Online: 25-07-2023

**How to cite this article:**

Mohammadi, D., Hatami, A., Eivazian Kary, N., & Farshbaf Pourabad, R. (2024). Studying the combination effect of Celery, *Apium graveolens* extracts with *Bt*, against potato tuber moth *Phthorimaea operculella*. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 37(4), 363-379. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81209.1137>

### Introduction

Potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* is an important pest of potatoes which annually impose economic loss in potato production especially in stored places. Chemical control with spray in farms and fumigation in storages is a conventional method for depressing the population of this pest. In addition, with harmful effects of synthetic pesticides on environment and human health, developing resistant population of insects, compel researchers and plant protection institutions to utilizing new safe control methods. Delaying the resistance by keeping effectiveness of pesticides by using synergists and sublethal concentrations is a resistance management method. *Bacillus thuringiensis* is an effective microbial control agent against some insects. Its effectiveness decreased because of developing resistance in some population of insects. Combination of *Bt* with some botanical biopesticides increases its efficiency that reported in many studies. In this study combination of *B. thuringiensis* with hexane, ethyl acetate and methanol extracts of Celery, *Apium graveolens* were investigated on mortality and some biological parameters of PTM. Celery is a biennial plant in the apiaceae family, which is rich in some compounds such as phenolic and flavonoids. These compounds could affect biology and physiology of insects. Combination of sublethal concentrations of *Bt* with extracts of celery subjected for study of their effects on mortality, synergistic effects and some biological parameters on PTM larvae in this paper.

### Materials and Methods

Potato tuber moth colony established by preparing larvae from a health colony in department of plant protection, Azarbaijan Shahid Madani university. Larva reared on potato tubers in plastic containers. Rearing carried out in controlled condition of 26±2°C, 60% RH and a photoperiod of 16:8 (L: D) hrs.

Foliage of celery after well washing with distilled water, dried in shadow in laboratory condition. Coarsely powdered dry plants used for extraction. Extraction carried out using the maceration method with three solvents, hexane, ethyl acetate and methanol respectively. Sub-lethal concentrations of both agents, including LC<sub>10</sub>, LC<sub>30</sub> and LC<sub>50</sub>, individually and in combination, were assayed by the oral bioassay method. The same age and size of potato



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81209.1137>

leaves were impregnated with sub-lethal concentrations of both experimental materials using the dipping method. The first larval instars of PTM were transferred on treated leaves, and mortality was recorded in 48, 96 and 144 hours' intervals. Larval developmental period and adult's emergence as an important biological parameter recorded in all treatments. In addition, the inhibitory activity of extracts on  $\alpha$ -amylase and protease enzyme of PTM larva was considered.

Inhibitory activity of celery extracts in two concentrations 1 and 10%, on PTM larvae alpha-amylase activity was assayed by the dinitrosalicylic acid procedure, using 1% soluble starch as a substrate described by Bernfeld, (1955). And protease inhibitory activity assayed using azocasein as substrate, with comparing enzyme activity in controls and present of extracts in reactions.

All experiments were replicated three times. On-way ANOVA analysis of variance in random design was used for statistical analysis. Duncan's multiple range tests used for comparing means. For determining the synergistic, additive or antagonistic effects of combinations, chi-square test conducted between observed and expected results ( $df=1$ ).

## Results and Discussion

The results revealed that ethyl acetate extract of celery in combination with *Bt* synergistically increased the mortality of larvae. Compared to the control, the combination of methanolic extract with *Bt* didn't affect larval mortality. However, the combination of sub-lethal concentrations significantly increased larval life span compared with the control and adult emergence decreased especially in  $LC_{50}$  combinations. Increasing the mortality with exposure time progressing, observed in all combinations and the most larval mortality recorded in 144 hours' exposure time. Ethylacetate extract of celery alone and in combination with *Bt* more than other solvents affected biological parameters of PTM. Extracts in the concentration of 10 percent in reactions inhibited  $\alpha$ -amylase and protease activity of PTM larvae by 27.97-37.77 and 11.48-25.51 percent, respectively.

Numerous researchers have reported increased efficiency of *Bt* in combination with other plant extracts for controlling various insects. The observed synergistic effects can be attributed to factors such as disrupting midgut properties, inhibiting digestive enzyme activity, and disrupting the insect's immune system by plant extracts. Inhibitory activity of celery extracts on digestive enzymes activity of PTM larva, well documented in this research which is in alignment with other reports. Effects on larval life span that with prolonging it affects population dynamics of insect pests, reported in same studies. This biological effect has adverse effect on development and physiology of insects and asynchronies developmental stage with environmental variations which finally decrease the population of next generations or overwintering insect's density. Adults and pupa emergence percentage decreased in combination of *Bt* with celery extracts that same results were reported in other researches.

## Conclusion

This study aims to determine the effects of different extracts (prepared by different solvents) of celery in combination with *Bt* on potato tuber moth larvae. Effects of different solvents in separating effective compounds on PTM, was not same. In certain instances, the methanol extract of celery showed a minor effect in enhancing the potency of *Bt*. However, strong synergistic effects were observed with ethyl acetate and hexane extracts at various integrated concentrations. Time also played a crucial role in achieving the desired mortality results, with mortality and synergistic effects increasing over time in all extract combinations with *Bt*. Particularly, towards the end of the exposure period, a synergistic effect was notably observed in all integrations involving ethyl acetate extract of celery. In addition, with mortality, larval developmental period also affected by combinations. Increasing in life span observed in all treatments with different ratios. Adult emergence decreased strongly in different treatments and this is so important in decreasing the population of PTM. Because of importance of *Bt* as an effective and safe insecticide and increasing the resistance by different pests such as PTM, management of insects in integrated programs using plant extracts will improve the efficiency of *Bt*. Decreasing the sprayed concentrations in combination with other control methods are two important resistance management toll in IPM programs. Celery is a potent plant for this goal and additional studies are needed.

**Keywords:** Biological effects, Enzyme inhibition, Larval life span, Sublethal concentrations, Synergistic effects

## مقاله پژوهشی

جلد ۳۷ شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص. ۳۶۳-۳۷۹

مطالعه اثر ترکیب عصاره گیاه کرفس، *Apium graveolens* L. (Apiaceae) باباکتری *Bacillus thuringiensis* علیه بید سیب‌زمینی،*Phthorimaea operculella* (Lep.: Gelechiidae)داود محمدی<sup>۱\*</sup> - اکرم حاتمی<sup>۲</sup> - ناصر عیوضیان کاری<sup>۱</sup> - رضا فرشاف پورآباد<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۳۰

## چکیده

بید سیب‌زمینی، *Phthorimaea operculella*، یکی از آفات بسیار مهم سیب‌زمینی است که سالانه خسارات اقتصادی زیادی را در انبار و مزرعه وارد می‌کند. در این بررسی تأثیر تلفیق حشره‌کش میکروبی *Bt* با عصاره‌های هگزانی، اتیل‌استاتی و متانولی گیاه کرفس، *Apium graveolens*، بر مرگ و میر و برخی پارامترهای زیستی این آفت مطالعه شده است. عصاره‌گیری با روش خیساندن انجام گرفت. غلظت‌های زیرکشنده عوامل مورد بررسی شامل  $LC_{50}$ ،  $LC_{30}$  و  $LC_{10}$  به صورت انفرادی و در تلفیق با یکدیگر به صورت گواشی مورد بررسی قرار گرفتند. برگ‌های هم‌سن و هم‌اندازه سیب‌زمینی در هر کدام از تیمارها غوطه‌ور شده و پس از خشک شدن در اختیار لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی قرار گرفت. اثرات کشندگی هر غلظت و تلفیق دو عامل در فواصل زمانی ۴۸، ۹۶ و ۱۴۴ ساعت ثبت گردید. همچنین اثر مهارکنندگی عصاره‌ها بر آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و پروتئاز لاروهای بید سیب‌زمینی نیز مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره اتیل‌استاتی کرفس در تلفیق با باکتری *Bt* اثرات سینرژیستی بر مرگ و میر لاروها داشت. تلفیق باکتری *Bt* با عصاره متانولی اثرات کشندگی کمتری نشان داد. همچنین مشخص گردید که تلفیق غلظت‌های زیرکشنده عوامل مورد بررسی تأثیر معنی‌داری بر طول دوره رشدی لاروی داشته و به طور معنی‌داری آن را افزایش دادند. همچنین درصد ظهور حشرات کامل به شدت تحت تأثیر قرار گرفته و بخصوص در تلفیق غلظت‌های  $LC_{50}$  عصاره‌ها و حشره‌کش *Bt*، به شدت کاهش یافت. نتایج مطالعات آنزیمی نشان داد که عصاره اتیل‌استاتی کرفس در غلظت ۱۰ درصد (۳۷/۷۷ درصد فعالیت آنزیم پروتئاز و ۲۵/۵۱ درصد فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز لاروهای بید سیب‌زمینی را مهار کردند.

واژه‌های کلیدی: اثرات زیستی، اثر سینرژیستی، دوره رشدی لاروی، غلظت‌های زیرکشنده، مهار آنزیم

۱- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

(\*)- نویسنده مسئول: Email: [mohamadi@azaruniv.ac.ir](mailto:mohamadi@azaruniv.ac.ir)

۲- دانشجوی دوره دکتری حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۳- استاد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اگه (Ege University)، ۳۵۱۰۰، ازمیر، ترکیه

کاهش دز مصرفی، کاهش اثرات سوء، جلوگیری از بروز مقاومت و احتمال وجود اثرات هم‌افزایی مورد بررسی قرار گرفته است (Reddy Yang et al., 2018 & Chowdary, 2021). به‌عنوان نمونه، استفاده توام *Bt* و آزادیراکتین روی لارو سن سوم شب‌پره‌هندی، *Plodia interpunctella* Hübner (Lep.: Pyralidae) به‌دلیل هم‌افزایی باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی، کاهش وزن لاروها و کاهش میزان پروتئین، گلیکوژن و لیپید بدن، نسبت به استفاده مجزای ترکیبات شد (Nouri-Ganbalani et al., 2016). همچنین استفاده از تلفیق *Bt* با پودر زردچوبه، *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae)، در رژیم غذایی شپشه قرمز آرد، *Tribolium castaneum* Herbst 1797 (Col.: Tenebrionidae) موجب افزایش معنی‌دار مرگ و میر حشرات کامل در مقایسه با تک تک این عوامل گردید (Malik & Riasat, 2014). در مطالعه مشابهی استفاده توام از *Bt* و عصاره مغز دانه چریش و برگ‌های پنج انگشت چینی، *Vitex negundo* L. (Verbenaceae) موجب کاهش طول دوره لاروی و شفیرگی، طول عمر و باروری حشرات کامل *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (Lep.: Pyralidae) شد (Senthil-Nathan et al., 2006). استفاده توام غلظت  $LC_{50}$  حشره‌کش آزادیراکتین و *Bt* سبب کاهش وزن لارو، شفیره و افزایش مرگ‌ومیر لاروهای سن سوم کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* Hübner (Lep.: Noctuidae) شد (Abedi et al., 2014). استفاده از *Bt* و آزادیراکتین به‌دلیل هم‌افزایی سبب کاهش تعداد لاروهای زنده مینوز گوجه‌فرنگی، *Tuta absoluta* Meyrick (Lep.: Noctuidae)، در برگ و ساقه و کاهش آلودگی در گوجه‌فرنگی شده است (Nazarpour et al., 2016).

کرفس، *Apium graveolens* L. (Apiaceae)، گیاهی دوساله از تیره جعفری است که دانه‌ها و اندام‌های هوایی آن حاوی ترکیبات شیمیایی هستند که اثرات زیستی مختلفی بخصوص در حوزه علوم پزشکی به آنها نسبت داده شده است (Khalil et al., 2015). عمده ترکیبات شیمیایی اندام‌های هوایی کرفس ترکیباتی مانند لیمونن<sup>۱</sup>، مرسین<sup>۲</sup>، ترپینئول<sup>۳</sup>، سلینن<sup>۴</sup> و پاینن<sup>۵</sup> می‌باشد (Kooti et al., 2014; Rožek et al., 2016). که در مطالعات متعددی اثرات زیستی و رفتاری آنها بر حشرات مختلف گزارش شده است (Karr & Coats, Yildirim et al., 2013; Sun et al., 2020; 1988).

استفاده از غلظت‌های زیرکشنده عوامل کنترلی به‌خصوص در بحث مدیریت مقاومت و حمایت از دشمنان طبیعی اهمیت بسیار

بید سیب‌زمینی به‌عنوان یک آفت مزرعه‌ای و انباری مطرح بوده و خسارات زیادی به سیب‌زمینی وارد می‌کند (Jung et al., 2019). خسارت ۵۰ الی ۱۰۰ درصدی در کشورهای مختلفی مانند یمن، پرو، تونس، ترکیه، کنیا و هند گزارش شده است (Rodon, 2010; Alvarez et al., 2005). میزان مرجح آن سیب‌زمینی بوده اما به سایر گیاهان زراعی مانند گوجه‌فرنگی، فلفل، بادنجان، تنباکو و علف‌های هرز نظیر تاتوره نیز خسارت وارد می‌کند (Capinera, 2020). حشرات کامل در طول فصل زراعی روی اندام‌های هوایی گیاهان و گاهی روی غده‌ها تخم‌ریزی کرده و لاروها به‌صورت مینوز از برگ، دمبرگ و ساقه تغذیه کرده، باعث صدمه دیدن اندام‌های هوایی می‌شوند. هر چند این نوع خسارت تاثیر زیادی در عملکرد نهایی ندارد، اما آلوده شدن غده‌ها، سبب کاهش کیفیت محصول و آلودگی‌های ثانویه شده و از بازارپسندی غده‌ها می‌کاهد (Alvarez et al., 2005; Rondon, 2010).

بید سیب‌زمینی به بسیاری از سموم شیمیایی معمول از قبیل ارگانوفسفاتها، کارباماتها و پایتروئیدها مقاوم شده است و کارایی روش کنترل شیمیایی با لحاظ کردن بحث امنیت غذایی و محیط زیست کم‌رنگ‌تر شده است (El-Dogramaci & Tingey, 2008; kady, 2011). استفاده از روش‌های تلفیقی مانند کنترل زراعی، تله‌های فرمونی، کنترل بیولوژیک، گیاهان مقاوم، گیاهان تراریخته حاوی ژن دلتا-اندوتوکسین باکتری (*Bt*) *Bacillus thuringiensis*، حشره‌کش‌های گیاهی، استفاده متناوب از سموم شیمیایی از گروه‌های مختلف، تنظیم‌کننده‌های رشد حشرات و استفاده تلفیقی و توام با بیش از یک عامل کنترل می‌تواند باعث کاهش زیان اقتصادی آفت شده و اثرات مخرب کمتری روی انسان، موجودات غیرهدف و محیط‌زیست داشته باشد (Alvarez et al., 2005; Capinera, 2001).

حشره‌کش‌های گیاهی، سمیت کمتری برای انسان، موجودات غیرهدف و محیط‌زیست داشته، اغلب صدمه‌ای به گیاه وارد نکرده و تغییری در کیفیت مواد غذایی ایجاد نمی‌کنند (Ngegba et al., 2022). تاکنون مقاومت حشرات نسبت به ترکیبات گیاهی (به‌جز ترکیبات مشابه سنتز شده) گزارش نشده است (Isman, 2020). ترکیبات گیاهی به‌دلیل طبیعی و در دسترس بودن می‌توانند در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات برای نیل به کشاورزی پایدار و تولید غذای امن مورد استفاده قرار گیرند (Opender & Walia, 2009; Kuppasamy et al., 2016).

هر چند مطالعات مختلف اثرات قابل قبول کنترلی از عصاره‌های گیاهی را نشان می‌دهد، اما در مطالعات دیگری استفاده همزمان دو عامل کنترل مانند بیمارگرهای حشرات با حشره‌کش‌ها و پاتوژن‌ها با عصاره‌ها نیز با هدف کاهش مصرف سموم و هزینه‌های سم‌پاشی،

1- Limonene  
2- Myrcene  
3-Terpineol  
4- Selenene  
5- Pinen

با توجه به اهمیت بسیار بالای بید سیبزمینی به عنوان یکی از جدی ترین آفات سیبزمینی و سایر گیاهان تیره سیبزمینی و لزوم اعمال روش های کنترل غیرشیمیایی و امن تر برای انسان و محیط زیست، و ضرورت استفاده از عوامل کنترلی بخصوص عوامل با منشأ طبیعی (عصاره ها و اسانس های گیاهی) به منظور جلوگیری از بروز مقاومت احتمالی علیه باکتری *Bt*، در این بررسی تأثیر تلفیق غلظت های زیرکشنده *Bt* و عصاره های مختلف کرفس بر مرگ و میر لاروهای بید سیبزمینی مورد مطالعه قرار گرفت.

## مواد و روش ها

### کاشت گیاه سیبزمینی

برای بررسی اثرات گوارشی عصاره های گیاهی و باکتری *Bt*<sup>۱</sup> از برگ های تازه سیبزمینی رقم آگريا استفاده شد. به این منظور غده های جوانه زده سیبزمینی داخل گلدان های گرد به قطر دهانه ۲۵ و ارتفاع ۳۰ سانتی متر که حاوی ماسه، خاک زراعی و کود دامی (به نسبت مساوی) بودند، کاشته شدند. دمای پرورشی  $5 \pm 20^\circ\text{C}$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی  $10 \pm 50\%$  درصد انتخاب شد. گلدان ها بسته به نیاز آبیاری شده و پس از رشد مناسب گیاهان، از برگ ها جهت انجام آزمایشات استفاده شد (Hatami et al., 2022).

### پرورش بید سیبزمینی

برای تهیه کلنی بید سیبزمینی، دسته تخم های تهیه شده از انسکتاریوم گروه گیاه پزشکی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، روی غده های سیبزمینی رقم آگريا منتقل شدند. ظروف پلاستیکی مستطیلی شکل به ابعاد  $10 \times 15 \times 25$  سانتی متر که کف آنها با ماسه نرم پوشانده شده بود برای پرورش انتخاب شد. پرورش در دمای  $2 \pm 26^\circ\text{C}$  درجه سلسیوس، دوره نوری ۱۶:۸ ساعت (تاریکی: روشنایی) و رطوبت نسبی  $50 \pm 55\%$  درصد صورت گرفت. جهت اطمینان از یکنواخت بودن جمعیت، این حشره حداقل شش نسل در انسکتاریوم روی غده های سیبزمینی رقم آگريا پرورش یافت (Hatami et al., 2022).

### تهیه عصاره های گیاهی

اندام های هوایی گیاه کرفس<sup>۲</sup>، *A. graveolens*، از بازار سبزی و میوه تهیه شد. پس از شستشو، آبیگری خرد شده، در دمای اتاق  $3 \pm 25^\circ\text{C}$  درجه سلسیوس در شرایط سایه به مدت ۱۵ روز هوا خشک

بالایی دارد. غلظت های زیرکشنده با اثراتی مانند افزایش و یا کاهش طول دوره رشدی، تغییر در نسبت جنسی، بدشکلی های مختلف، کاهش سرعت رشد جمعیت، باروری و زادآوری، تغییر در رفتار تغذیه، میزبان یابی و جفت یابی و بخصوص اثرات سینرژیستی با سایر عوامل کنترلی در بحث کاهش مصرف سموم، دارای اهمیت بسیار بالایی هستند (Lee, 2000; Stark et al., 2003; de França et al., 2017). اثرات زیرکشنده عصاره های مختلف گیاهان نیز بر زیست-شناسی و رفتار حشرات مختلف مورد توجه محققین مختلف بوده است (Alves et al., 2013; Candido et al., 2013; Silva et al., 2016).

موضوع مقاومت حشرات به آفت کش های متداول و کاهش کارایی آنها، لزوم به کارگیری استراتژی های جایگزین و یا کاهنده سرعت بروز مقاومت در حشرات را بیش از پیش بیان می کند (Zhu et al., 2016). حشره کش میکروبی *Bt* نیز از این موضوع مستثنی نبوده و موارد متعددی از مقاومت در آفات مختلف گزارش شده است (El-kady, 2011). طبیعتاً استفاده از غلظت های بالا و افزایش تعداد دفعات استفاده از سموم شیمیایی روند بروز مقاومت را تسریع خواهد کرد. استفاده از غلظت های زیرکشنده هر چند از نظر کشاورزان و تولیدکنندگان محصولات کشاورزی به عنوان یک شیوه مدیریت، به دلیل افزایش زمان حصول نتیجه قابل قبول چندان مقبول نیست، ولی مشخص شده است که استفاده از دو یا چند عامل به صورت همزمان و یا برای اهداف کنترلی مشخص در زمانهای مختلف، می تواند ضمن حصول نتیجه قابل قبول، از بروز اثرات سوء غلظت های کشنده نیز جلوگیری کند (Reddy & Chowdary, 2021). موارد متعددی از اثرات سینرژیستی تلفیق غلظت های زیرکشنده آفت کش های مصنوعی و طبیعی و حتی میکروبی با یکدیگر و یا آفت کش های گیاهی گزارش شده است (Nouri-Rajguru & Sharma, 2012; Ganbalani et al., 2016; Nazarpour et al., 2016). کشندگی به همراه اثرات زیستی زیرکشنده جزو نتایج موفق گزارش شده هستند. آفت کش میکروبی *Bt* جزو آفت کش های بسیار موفق و امن است که جدایه های مختلف آن علیه آفات مختلف مورد استفاده تجاری قرار گرفته است (Sánchez-Plata-Rueda et al., 2020; Sánchez-Yáñez et al., 2022). لزوم حفظ کارایی آن و جلوگیری از تسریع مقاومت در آفات مختلف با توجه به کاربرد وسیع این آفت کش احساس می شود. کاهش غلظت های مورد استفاده از *Bt* و همچنین استفاده تلفیقی با سایر عوامل کنترلی با نحوه اثر متفاوت و مهم تر از همه استفاده از پتانسیل اثرات هم افزایی به عنوان راه کارهای موثر در مدیریت مقاومت به *Bt* ذکر شده است (Khan et al., 2020). گیاه کرفس نیز به عنوان منبع متابولیت های موثر بر بیولوژی، رفتار و فیزیولوژی حشرات مختلف از پتانسیل خوبی برای استفاده در برنامه های مدیریت آفات برخوردار است (Qi et al., 2021).

۱- حشره کش میکروبی بی تورین Bt Var Kurstaki®، ساخت شرکت مهر آسیا بیوتکنولوژی؛ MAB Co  
۲- رقم Conquistador

تعویض می‌شد. هر غلظت در ۳ تکرار در زمانهای مختلف ارزیابی شده و کل آزمایشات نیز سه بار تکرار شد. از آب مقطر به‌عنوان شاهد منفی استفاده شد. تیمارها به ژرمیناتور با دمای  $25 \pm 2$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی  $50 \pm 5$  درصد و دوره نوری ۱۶:۸ ساعت (تاریکی: روشنایی) منتقل شد. مرگ و میر لاروها در سه زمان ۴۸، ۹۶ و ۱۴۴ ساعت ثبت گردید (Konecka et al., 2020).

جدول ۱- غلظت‌های مورد استفاده از عصاره‌های تهیه شده با حلال های مختلف گیاه کرفس و حشره‌کش میکروبی Bt برای بررسی

اثرات تلفیق آنها بر لاروهای بید سیب‌زمینی

Table 1- Different concentrations of Bt and *Apium graveolens*, used for evaluating their combined effects on *Phthorimaea operculella* larva

| عصاره‌ها<br>Extracts       | *LC <sub>10</sub> | LC <sub>30</sub> | LC <sub>50</sub> |
|----------------------------|-------------------|------------------|------------------|
| هگزان<br>Hexane            | 0.078             | 0.26             | 0.613            |
| اتیل استات<br>Ethylacetate | 0.014             | 0.07             | 0.21             |
| متانول<br>Methanol         | 3.99              | 9.07             | 16.03            |
| Bt                         | 0.78              | 1.3              | 1.84             |

\*واحد غلظت‌ها: میلی گرم بر لیتر  
\*Concentration units: mg/l

بررسی برخی اثرات زیستی Bt، عصاره‌ها و تلفیق غلظت

های مختلف آنها بر لاروهای بید سیب‌زمینی

برای بررسی اثرات زیستی، شامل طول دوره رشدی لاروی و درصد ظهور حشرات کامل، غلظت‌های مورد استفاده برای بررسی اثرات کشندگی (جدول ۱) به‌صورت آزمایش مجزایی اجرا گردید. برای این منظور در ظروف پتری برگ‌های آلوده شده به هر غلظت و تلفیق غلظت‌های مورد نظر با روش غوطه‌ور کردن تیمار شده پس از خشک شدن و تبخیر آب به پتری‌های مورد نظر منتقل و روی هر برگ تعداد ۱۰ عدد لارو سن اول بید سیب‌زمینی منتقل شد. هر دو روز یکبار برگ‌های قدیمی با برگ‌های تیمار شده جدید جایگزین می شدند. با رشد لاروها پس از یک هفته، تراکم لاروها در پتری‌ها با اضافه کردن پتری‌های جدید تعدیل می‌شد. ثبت داده‌ها به‌صورت روزانه تا ظهور حشرات کامل در تمام تیمارها ادامه یافت (Hatami et al., 2020).

استخراج آنزیم از لاروهای بید سیب‌زمینی

به‌منظور بررسی اثرات مهارکنندگی عصاره‌های گیاهی بر آنزیم های گوارشی آلفا-آمیلاز و پروتئاز تام، نیاز به استخراج آنزیم لاروهای بید سیب‌زمینی بود. به‌این منظور به ازای هر ۵۰ لارو یک روزه بید سیب‌زمینی (بی‌هوش شده با استفاده از قرار دادن در فریزر)،

شدند. برای عصاره‌گیری از روش خیساندن (Maceration) استفاده شد. گیاه خشک شده اندکی خرد شده و به‌ترتیب قطبیت در حلال‌های ان-هگزان، اتیل‌استات و متانول به نسبت ۱:۵ (گیاه: حلال) خیسانده شد. برای استهسال حداکثر عصاره‌ها پس از هر ۵ روز مخلوط صاف شده و مجدد از حلال استفاده می‌شد. این عمل در سه مرحله ۵ روزه انجام گرفت. در پایان عصاره استهسالی در سه مرحله باهم ادغام شده و به عنوان عصاره مربوط به حلال مورد نظر کدگذاری و در صورت نیاز در شرایط کاملاً تاریک نگهداری می‌شد. عصاره حل شده در حلال‌ها در نهایت صاف شده و از بقایای گیاه برای عصاره‌گیری از حلال قطبی‌تر بعدی استفاده شد. این موضوع موجب جدا شدن عصاره‌های با درجه قطبیت متفاوت می‌شود. هنگام تعویض حلال‌ها، جهت اطمینان از تبخیر کامل حلال قبلی، گیاه به مدت ۳۰ دقیقه در سایه هوادهی می‌شد (Allahverdzade & Mohammadi, 2016).

پس از اتمام دوره خیساندن و صاف کردن، به‌منظور تهیه عصاره‌های گیاهی، از دستگاه تبخیر کننده چرخشی<sup>۱</sup> در دمای ۴۰ درجه سلسیوس و ۲۵۰rpm برای تمام عصاره‌ها استفاده شد. پس از بازیافت حلال، مواد رسوب یافته به‌عنوان عصاره گیاهی جمع‌آوری، توزین و در شرایط دمایی یخچال، ۴ درجه سلسیوس و شرایط تاریک برای انجام مطالعات بعدی نگهداری شدند (Handa et al., 2008).

بررسی اثرات سینرژیستی تلفیق عصاره‌های گیاهی با Bt

اثر کشندگی حشره‌کش میکروبی Bt و عصاره‌های مختلف تهیه شده از کرفس با زیست‌سنجی به روش خیساندن برگ‌های سیب زمینی با غلظت‌های مختلف (گوارشی) در تحقیق قبلی مشخص و از مقادیر غلظت‌های زیرکشنده حاصل از نتایج همان تحقیق در بررسی حاضر استفاده شد (Hatami et al., 2022). از سه غلظت زیرکشنده عصاره‌ها و باکتری Bt با نقطه پایانی ۲۴ ساعته شامل: LC<sub>50</sub>, LC<sub>30</sub>, LC<sub>10</sub> به‌منظور بررسی اثرات مختلف ممکن سینرژیستی، تجمعی و آنتاگونیستی استفاده شد (جدول ۱). غلظت‌های مختلف باکتری Bt و عصاره‌های مختلف گیاهی و همچنین ترکیبات تیماری بین آنها در آب مقطر و ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ تهیه شد. پس از تهیه غلظت‌ها، برگ‌های هم‌اندازه سیب‌زمینی به‌مدت ۱۰ ثانیه در محلول‌های مورد نظر فرو برده و پس از خشک شدن به پتری‌های پلاستیکی ۶ سانتی‌متری منتقل و ۵ لارو سن اول ۲۴ ساعته بید سیب‌زمینی روی برگ‌های هر پتری منتقل شد. برای هر غلظت ۵ پتری در نظر گرفته شد. دمبرگ‌های سیب‌زمینی با استفاده از پنبه مرطوب نگهداشته شده و هر ۷۲ ساعت با برگ‌های جدید تیمار شده با غلظت‌های مربوطه

محلول روشن‌آور در ۵۴۰ نانومتر ثبت گردید. شاهد، فاقد نشاسته بود. تمام سنجش‌ها در سه تکرار انجام گرفت (Bernfeld et al., 1955). برای سنجش مهارکنندگی غلظت‌های مورد نظر عصاره‌ها (۱ و ۱۰ درصد) با آنزیم حشره به مدت ۱۰ دقیقه پیش‌انکوبه شده و بقیه مراحل مثل روش اشاره شده انجام گرفت. درصد مهارکنندگی از فرمول زیر محاسبه شد (فرمول شماره ۱):

$$\% \text{مهارکنندگی} = \frac{\text{جذب در شاهد} - \text{جذب در تیمار}}{\text{جذب در شاهد}} \times 100$$

برای حصول اطمینان، اثر مهارکنندگی هر غلظت مهارکننده پنج بار تکرار شد.

از آزوکازئین (Azocasein) به عنوان زیرنشت<sup>۱</sup> برای اندازه‌گیری فعالیت پروتئاز تام استفاده شد. در یک لوله آزمایش (به حجم ۱۰ میلی لیتر) مقدار ۱۰۰ μl از محلول آنزیمی حشره، همراه ۲۰۰ μl بافر گلیسین (0.2 M glycine-NaOH, pH 10) حاوی ۵ mM کلرید کلسیم، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس مقدار ۲۰۰ μl آزوکازئین ۱٪ (w/v) اضافه شده به مدت ۶۰ دقیقه دیگر در شرایط مذکور نگهداری شد تا واکنش صورت پذیرد. با اضافه کردن ۳۰۰ μl محلول ۱۰٪ Trichloroacetic acid (TCA) واکنش متوقف شد. لوله آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه به ظرف حاوی آب یخ منتقل شده سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس با دور ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شده سپس به محلول سطحی حجم مساوی NaOH (1M) اضافه شد در نهایت میزان جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محلول شاهد با اضافه کردن حجم مساوی بافر بجای زیرنشت تهیه شد. برای بررسی اثرات مهارکنندگی عصاره‌ها بر فعالیت آنزیم پروتئاز تام، ۱۰ دقیقه قبل از اضافه کردن سوبسترا نمونه آنزیمی با عصاره پیش‌انکوبه شده و بقیه مراحل مثل بالا انجام گرفت. درصد مهارکنندگی با استفاده از فرمول شماره ۱ محاسبه شد. برای حصول اطمینان، اثر مهارکنندگی هر غلظت مهار کننده پنج بار تکرار شد (Aghaali et al., 2013).

### تجزیه و تحلیل آماری

برای بررسی اثرات مختلف تلفیق باکتری Bt با عصاره‌های مختلف گیاهی از روش مورد استفاده توسط کوپن هوفر و کایا (Koppenhöfer & Kaya, 1997) و با محاسبه مرگ و میر مشاهده شده و مرگ و میر قابل انتظار و بررسی اختلاف آنها با استفاده از محاسبه کیدو ( $\chi^2$ ) با درجه آزادی ۱ به صورت زیر انجام گرفت (فرمول شماره ۲):

$$M_E = M_{Bt} + M_{ex} (1 - M_{Bt}), \chi^2 = (M_{Bt \& ex})^2 / M_E \quad (2)$$

$$D = M_{Bt \& ex} - M_E$$

یک میلی لیتر آب دیونیزه اضافه شده و سپس با استفاده از هموژنایزر (T18 digital ultra turrax) کاملاً یکنواخت شد. به مدت چهار ساعت در داخل یخچال در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری و سپس به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول روشن‌آور بلافاصله به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری منتقل و به عنوان منبع آنزیم در بررسی‌های مهارکنندگی عصاره‌های گیاهی بر آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و پروتئاز تام مورد استفاده قرار گرفت. برای یکنواختی مطالعات، یک منبع آنزیمی با حجم بالا تهیه شده و تمام مطالعات مربوط به فعالیت آنزیم‌های گوارشی و اثر مهارکنندگی عصاره‌ها با آن سنجیده شد (Mehrabadi et al., 2012).

### آماده‌سازی عصاره‌های گیاهی برای بررسی اثرات مهارکنندگی

به منظور بررسی اثرات مهارکنندگی عصاره‌های گیاهی، غلظت‌های ۱۰ و ۱ درصد عصاره‌های گیاهی در استون و ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ تهیه شد. به منظور حذف ذرات معلق احتمالی با استفاده از فیلتر سرنگی دو بار فیلتر شده و به عنوان منبع مهارکننده آنزیم‌های گوارشی لاروهای بید سیب‌زمینی مورد استفاده قرار گرفت (Mehrabadi et al., 2012).

### سنجش میزان مهارکنندگی عصاره‌های گیاهی بر فعالیت آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و پروتئاز کل بید سیب‌زمینی

به منظور بررسی تاثیر احتمالی عصاره‌های گیاهی بر آنزیم‌های گوارشی، دو سیستم آنزیمی آلفا-آمیلاز و پروتئاز انتخاب شد. با توجه به فعال شدن پروتوکسین باکتری Bt تحت تاثیر آنزیم‌های پروتئاز گوارشی معده میانی و احتمال اختلال در فعالیت آنزیم‌های گوارشی این دو سیستم آنزیمی مورد مطالعه قرار گرفت. سنجش فعالیت آلفا-آمیلاز توسط دی نیترو سالیسیلیک اسید انجام گرفت. نشاسته یک درصد به عنوان زیرنشت مورد استفاده قرار گرفت. ده میکرولیتر از هر نمونه آنزیمی به همراه ۲۰ میکرولیتر محلول نشاسته در داخل لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سلسیوس با ۴۱۰ میکرولیتر بافر فسفات (0.2 M, pH 7) داخل بن‌ماری انکوبه شد. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر دی نیترو سالیسیلیک اسید متوقف شده و لوله‌های آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه داخل آب جوش حرارت داده شده و بلافاصله به مدت پنج دقیقه داخل آب یخ قرار داده شدند. سپس داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری ریخته و سپس به مدت پنج دقیقه در سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب

که در آن  $M_E$  مرگ‌ومیر مورد انتظار،  $M_{Bt}$  میانگین درصد مرگ‌ومیر مشاهده شده در  $M_{ex}$ ،  $Bt$  میانگین درصد مرگ‌ومیر مشاهده شده در عصاره،  $M_{Bt \& ex}$  میانگین درصد مرگ‌ومیر مشاهده شده در اختلاط عصاره و  $Bt$ ،  $\chi^2$  فاکتور کیدو و  $D$  شاخص سینرژیستی می‌باشد.  $\chi^2$  به‌دست آمده با جدول کیدو و درجه آزادی یک ( $df=1$ ) مورد مقایسه قرار گرفت. اگر مقدار عددی  $\chi^2$  کوچک‌تر از  $3/84$  (جدول کیدو، درجه آزادی ۱) باشد اثر به‌صورت افزایشی<sup>۱</sup> و اگر بزرگتر از  $3/84$  باشد اثر هم‌افزایی<sup>۲</sup> یا آنتاگونیستی<sup>۳</sup> است. مقدار عددی  $D$  اگر مثبت باشد اثر سینرژیستی و اگر منفی باشد آنتاگونیستی است (Koppenhöfer & Kaya, 1997).

مقایسات میانگین با استفاده از آزمون توکی و نرم‌افزار SPSS صورت گرفت. برای ترسیم اشکال از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

## نتایج

### اثر کشندگی تلفیق غلظت‌های زیرکشنده عصاره هگزانی *A. graveolens* با *Bt* بر لاروهای بید سیب‌زمینی در زمان‌های مختلف

نتایج تأثیر تلفیق سه غلظت زیرکشنده باکتری *Bt* و عصاره هگزانی کرفس علیه لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی در زمان‌های مختلف، در جدول ۲ خلاصه شده است. مرگ و میر با افزایش غلظت افزایش یافته است و روند افزایش مرگ و میر با گذشت زمان نیز مثبت می‌باشد. در ۴۸ ساعت اول، تیمار تلفیق  $LC_{30}$  حشره‌کش *Bt* با دو غلظت  $LC_{30}$  و  $LC_{50}$  عصاره هگزانی و تلفیق  $LC_{50}$  حشره‌کش *Bt* با دو غلظت  $LC_{30}$  و  $LC_{50}$  عصاره هگزانی، اثرات سینرژیستی خوبی نشان دادند. اثرات سینرژیستی بخصوص با افزایش زمان و ۱۴۴ ساعت بعد در اغلب ترکیبات تیماری مشاهده گردید. به‌طوری‌که بجز تلفیق دو غلظت  $LC_{10}$  و  $LC_{50}$  عصاره هگزانی و *Bt* در بقیه موارد اثرات سینرژیستی خوبی مشاهده شد (جدول ۲).

### اثر کشندگی تلفیق غلظت‌های زیرکشنده عصاره اتیل‌استاتی *A. graveolens* با *Bt* بر لاروهای بید سیب زمینی در زمان‌های مختلف

مطابق جدول ۳ در ترکیب غلظت‌های زیرکشنده عصاره اتیل‌استاتی *A. graveolens* و *Bt* هم همان‌طور که انتظار می‌رفت، درصد مرگ‌ومیر با گذشت زمان افزایش پیدا کرد. این موضوع بخصوص در غلظت‌های پایین بیشتر مشهود است (جدول ۳)

- 1- Additive
- 2- Synergistic
- 3- Antagonistic

با توجه به جدول ۳، تیمار  $M_{B+EA}(LC_{50} \& LC_{50})$  با  $93/33$  درصد مرگ‌ومیر و  $25/44$  درصد هم‌افزایی، بیشترین اثر سینرژیستی در زمان ۴۸ ساعت و در سطح احتمال  $0/01$  را نشان داد. همچنین تیمار  $M_{B+EA}(LC_{50} \& LC_{30})$  در زمان ۹۶ ساعت با  $96/66$  درصد تلفات و  $26/22$  درصد هم‌افزایی در سطح احتمال  $0/01$  بیشترین اثر سینرژیستی نشان داد. در زمان ۱۴۴ ساعت، تیمار  $M_{B+EA}(LC_{30} \& LC_{30})$  با  $98$  درصد تلفات و  $28/45$  درصد هم‌افزایی در سطح احتمال  $0/01$ ، بیشترین اثر سینرژیستی را در این زمان داشته است. همچنین در بین تمام تیمارها و در سه زمان مورد مطالعه، تیمار  $M_{B+EA}(LC_{30} \& LC_{30})$  بیشترین اثر سینرژیستی را داشته است. در این آزمایش در زمان ۱۴۴ ساعت، ترکیب تمام غلظت‌های زیرکشنده، اثر سینرژیستی داشته و بیانگر تأثیر مثبت زمان در اثرات سینرژیستی می‌باشد. در مقایسه با عصاره هگزانی حتی در ۹۶ ساعت نیز اثرات سینرژیستی بیشتری در تلفیق غلظت‌های مختلف مشاهده گردید که بیانگر تأثیر خوب تلفیق عصاره اتیل‌استاتی با حشره‌کش میکروبی *Bt* می‌باشد.

### اثر کشندگی تلفیق غلظت‌های زیرکشنده عصاره متانولی *A. graveolens* با *Bt* بر لاروهای بید سیب‌زمینی در زمان‌های مختلف

با توجه به جدول ۴، در ترکیب غلظت‌های زیرکشنده عصاره متانولی *A. graveolens* و *Bt*، با افزایش مدت زمان تغذیه لاروها از برگ‌های آغشته به غلظت‌های مورد مطالعه، درصد تلفات لاروها نیز افزایش یافته است و در زمان ۱۴۴ ساعت، بیشترین درصد مرگ‌ومیر در هر یک از تیمارها مشاهده شده است.

در زمان ۴۸ ساعت تیمار  $M_{B+Me}(LC_{50} \& LC_{50})$  با  $66/66$  درصد کشندگی و  $24/99$  درصد هم‌افزایی بیشترین اثر سینرژیستی را داشته است.

در زمان ۹۶ ساعت فقط تیمار  $M_{B+Me}(LC_{50} \& LC_{50})$  اثر سینرژیستی داشته است. اما در زمان ۱۴۴ ساعت علاوه بر تیمار  $M_{B+Me}(LC_{50} \& LC_{30})$  در تیمارهای  $M_{B+Me}(LC_{30} \& LC_{30})$  و  $M_{B+Me}(LC_{30} \& LC_{50})$  نیز اثر سینرژیستی مشاهده شد و تیمار  $M_{B+Me}(LC_{50} \& LC_{30})$  با  $93/61$  درصد تلفات و  $23/32$  درصد هم‌افزایی، بیشترین اثر سینرژیستی در بین تیمارها را داشته است. در بین تمام تیمارها و در سه زمان، تیمار  $M_{B+Me}(LC_{50} \& LC_{50})$  در تمام زمان‌های مورد بررسی اثرات سینرژیستی نشان داد. همانگونه که از مقایسه جدول‌ها مشاهده می‌شود عصاره متانولی در مقایسه با دو عصاره هگزانی و اتیل‌استاتی اثرات سینرژیستی کمتری حتی با گذشت زمان نشان داده است.

جدول ۲- مقایسه تاثیر غلظت‌های زیرکشنده عصاره هگزانی کرفس با *Bt* و تلفیق آنها علیه لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی در زمان‌های مختلف  
Table 2- Comparing effects of sub-lethal concentration of *Bt* with *A. graveolens* hexane extract and their integrations on PTM first larval instar, during different time intervals

| تیمارها<br>Treatments |                  | ۴۸ ساعت<br>48 Hours          |             |       | ۹۶ ساعت<br>96 Hours          |          |       | ۱۴۴ ساعت<br>144 Hours        |          |       |
|-----------------------|------------------|------------------------------|-------------|-------|------------------------------|----------|-------|------------------------------|----------|-------|
| <i>Bt</i>             | HA*              | درصد مرگ و میر<br>Mortality% | $\chi^2$ ** | D***  | درصد مرگ و میر<br>Mortality% | $\chi^2$ | D     | درصد مرگ و میر<br>Mortality% | $\chi^2$ | D     |
| LC <sub>10</sub>      | -                | 13.10±0.51                   | -           | -     | 19.65±0.77                   | -        | -     | 32.75±1.28                   | -        | -     |
| LC <sub>30</sub>      | -                | 32.75±1.28                   | -           | -     | 45.85±1.80                   | -        | -     | 55.68±2.18                   | -        | -     |
| LC <sub>50</sub>      | -                | 45.85±1.80                   | -           | -     | 55.68±2.18                   | -        | -     | 62.23±2.44                   | -        | -     |
| -                     | LC <sub>10</sub> | 9.83±0.38                    | -           | -     | 19.65±0.77                   | -        | -     | 26.20±1.03                   | -        | -     |
| -                     | LC <sub>30</sub> | 26.20±1.03                   | -           | -     | 32.75±1.28                   | -        | -     | 39.31±1.54                   | -        | -     |
| -                     | LC <sub>50</sub> | 42.58±1.67                   | -           | -     | 49.13±1.92                   | -        | -     | 55.68±2.18                   | -        | -     |
| LC <sub>10</sub>      | LC <sub>10</sub> | 29.48±1.15                   | 2.91        | 8     | 39.31±1.54                   | 0.44     | 4     | 62.23±2.44                   | 2.92     | 12.21 |
| LC <sub>10</sub>      | LC <sub>30</sub> | 45.85±1.80                   | 2.86        | 10.22 | 58.96±2.31                   | 3.81     | 13.32 | 78.61±3.08                   | 6.65     | 20    |
| LC <sub>10</sub>      | LC <sub>50</sub> | 58.96±2.31                   | 1.63        | 9.11  | 78.61±3.08                   | 6.65     | 20    | 94.84±3.62                   | 9.18     | 25.54 |
| LC <sub>30</sub>      | LC <sub>10</sub> | 45.85±1.80                   | 1.10        | 6.66  | 68.79±2.69                   | 2.80     | 12.67 | 88.44±3.46                   | 6.95     | 21.78 |
| LC <sub>30</sub>      | LC <sub>30</sub> | 65.51±2.56                   | 4.73        | 15.55 | 85.16±3.33                   | 7.65     | 22.21 | 96.97±3.03                   | 9.13     | 26    |
| LC <sub>30</sub>      | LC <sub>50</sub> | 78.61±3.08                   | 5.08        | 17.78 | 96.97±3.03                   | 9.69     | 26.67 | 96.97±3.03                   | 4.34     | 18.78 |
| LC <sub>50</sub>      | LC <sub>10</sub> | 62.23±2.44                   | 2.47        | 11.33 | 78.61±3.08                   | 2.29     | 14.67 | 94.84±3.62                   | 7.58     | 23.56 |
| LC <sub>50</sub>      | LC <sub>30</sub> | 75.33±2.95                   | 4.08        | 15.77 | 94.84±3.62                   | 9.18     | 25.56 | 96.97±3.02                   | 6.20     | 22    |
| LC <sub>50</sub>      | LC <sub>50</sub> | 94.84±3.62                   | 10.36       | 26.88 | 96.97±3.03                   | 5.95     | 21.67 | 96.97±3.01                   | 3        | 15.89 |

\*عصاره هگزانی کرفس، \*\*کیدو با درجه آزادی یک، \*\*\*شاخص تعیین کننده نوع اثر در تلفیق، اگر مقدار کیدو کوچکتر از ۳/۸۴ باشد نشان دهنده یک اثر افزایشی است، اگر مقدار کیدو از ۳/۸۴ بزرگتر باشد و مقدار عددی D مثبت باشد نشان دهنده اثر هم‌افزایی و اگر منفی باشد نشان دهنده اثر آنتاگونیستی است. مقادیر D نوشته شده به صورت ضخیم نشان دهنده اثر هم‌افزایی است.  
\*Hexane extract of *A. graveolens*, \*\* Chi square in df=1, \*\*\* Index for determining the type of combination effect. If  $\chi^2 < 3.84$  comprise an additive effect, if  $\chi^2 > 3.84$  the positive and negative amounts of D, indicates synergistic and antagonistic effect respectively. Amounts of D marked as bold shows a synergistic effect.

جدول ۳- مقایسه تاثیر غلظت‌های زیرکشنده عصاره اتیل استاتی کرفس با *Bt* و تلفیق آنها علیه لاروهای بید سیب‌زمینی در زمان‌های مختلف  
Table 3- Comparing effects of sub-lethal concentration of *Bt* with *A. graveolens* ethyl acetate extract and their integrations on PTM first larval instar, during different time intervals

| تیمارها<br>Treatments |                  | ۴۸ ساعت<br>48 Hours          |             |       | ۹۶ ساعت<br>96 Hours          |          |       | ۱۴۴ ساعت<br>144 Hours        |          |       |
|-----------------------|------------------|------------------------------|-------------|-------|------------------------------|----------|-------|------------------------------|----------|-------|
| <i>Bt</i>             | EA*              | درصد مرگ و میر<br>Mortality% | $\chi^2$ ** | D***  | درصد مرگ و میر<br>Mortality% | $\chi^2$ | D     | درصد مرگ و میر<br>Mortality% | $\chi^2$ | D     |
| LC <sub>10</sub>      | -                | 16.90±0.77                   | -           | -     | 27.04±1.22                   | -        | -     | 33.81±1.53                   | -        | -     |
| LC <sub>30</sub>      | -                | 27.04±1.22                   | -           | -     | 37.18±1.68                   | -        | -     | 47.33±2.14                   | -        | -     |
| LC <sub>50</sub>      | -                | 43.95±1.99                   | -           | -     | 54.09±2.45                   | -        | -     | 64.23±2.91                   | -        | -     |
| -                     | LC <sub>10</sub> | 10.14±0.46                   | -           | -     | 20.29±0.92                   | -        | -     | 27.04±1.22                   | -        | -     |
| -                     | LC <sub>30</sub> | 30.43±1.38                   | -           | -     | 37.18±1.68                   | -        | -     | 47.33±2.14                   | -        | -     |
| -                     | LC <sub>50</sub> | 43.95±1.99                   | -           | -     | 57.47±2.60                   | -        | -     | 67.61±3.06                   | -        | -     |
| LC <sub>10</sub>      | LC <sub>10</sub> | 33.81±1.53                   | 2.78        | 8.33  | 50.71±2.30                   | 1.81     | 8.67  | 67.61±3.06                   | 4.73     | 15.54 |
| LC <sub>10</sub>      | LC <sub>30</sub> | 40.57±1.84                   | 0.06        | -1.66 | 71.00±3.21                   | 5.05     | 16.45 | 87.90±3.98                   | 7.66     | 22.21 |
| LC <sub>10</sub>      | LC <sub>50</sub> | 67.61±3.06                   | 3.65        | 13.88 | 87.90±3.98                   | 4.98     | 18.44 | 98.43±4.59                   | 6.35     | 22.23 |
| LC <sub>30</sub>      | LC <sub>10</sub> | 47.33±2.14                   | 4.71        | 12.65 | 60.86±2.76                   | 2.30     | 10.67 | 81.14±3.67                   | 6        | 19.11 |
| LC <sub>30</sub>      | LC <sub>30</sub> | 64.23±2.91                   | 4.42        | 14.65 | 81.14±3.67                   | 6.76     | 20.11 | 95.24±4.76                   | 11.31    | 28.45 |
| LC <sub>30</sub>      | LC <sub>50</sub> | 77.76±3.52                   | 5.68        | 18.22 | 94.12±4.31                   | 8.01     | 24.11 | 95.24±4.76                   | 3.85     | 17.78 |
| LC <sub>50</sub>      | LC <sub>10</sub> | 60.86±2.76                   | 2.47        | 11    | 81.14±3.67                   | 4.79     | 17.32 | 98.04±4.44                   | 7.58     | 23.5  |
| LC <sub>50</sub>      | LC <sub>30</sub> | 81.14±3.67                   | 6.41        | 19.65 | 94.12±4.31                   | 9.76     | 26.22 | 95.24±4.76                   | 4.75     | 19.55 |
| LC <sub>50</sub>      | LC <sub>50</sub> | 93.01±4.13                   | 9.53        | 25.43 | 90.67±4.70                   | 5.12     | 20.21 | 97.78±2.22                   | 1.7      | 1.22  |

\*عصاره اتیل استاتی کرفس، \*\*کیدو با درجه آزادی یک، \*\*\*شاخص تعیین کننده نوع اثر در تلفیق، اگر مقدار کیدو کوچکتر از ۳/۸۴ باشد نشان دهنده یک اثر افزایشی است، اگر مقدار کیدو از ۳/۸۴ بزرگتر باشد و مقدار عددی D مثبت باشد نشان دهنده اثر هم‌افزایی و اگر منفی باشد نشان دهنده اثر آنتاگونیستی است. مقادیر D نوشته شده به صورت ضخیم نشان دهنده اثر هم‌افزایی است.  
\*Ethyl acetate extract of *A. graveolens*, \*\* Chi square in df=1, \*\*\* Index for determining the type of combination effect. If  $\chi^2 < 3.84$  comprise an additive effect, if  $\chi^2 > 3.84$  the positive and negative amounts of D, indicates synergistic antagonistic effect respectively. Amounts of D marked as bold shows a synergistic effect.

جدول ۴- مقایسه تاثیر غلظت‌های زیرکشنده عصاره متانولی کرفس با *Bt* و تلفیق آنها علیه لاروهای بید سیب‌زمینی در زمانهای مختلف  
Table 4- Comparing effects of sub-lethal concentration of *Bt* with *A. graveolens* methanol extract and their integrations on PTM first larval instar, during different time intervals

| تیمارها<br>Treatments |                  | ۴۸ ساعت<br>48 Hours          |              |              | ۹۶ ساعت<br>96 Hours          |          |              | ۱۴۴ ساعت<br>144 Hours        |          |              |
|-----------------------|------------------|------------------------------|--------------|--------------|------------------------------|----------|--------------|------------------------------|----------|--------------|
| <i>Bt</i>             | MA*              | درصد مرگ و میر<br>Mortality% | $\chi^2$ *** | D***         | درصد مرگ و میر<br>Mortality% | $\chi^2$ | D            | درصد مرگ و میر<br>Mortality% | $\chi^2$ | D            |
| LC <sub>10</sub>      | -                | 1.88±0.94                    | -            | -            | 6.80±0.27                    | -        | -            | 17.01±0.68                   | -        | -            |
| LC <sub>30</sub>      | -                | 17.01±0.68                   | -            | -            | 23.82±0.96                   | -        | -            | 34.02±1.37                   | -        | -            |
| LC <sub>50</sub>      | -                | 30.63±1.23                   | -            | -            | 37.42±1.50                   | -        | -            | 51.04±2.05                   | -        | -            |
| -                     | LC <sub>10</sub> | 3.40±0.14                    | -            | -            | 10.21±0.41                   | -        | -            | 20.42±0.82                   | -        | -            |
| -                     | LC <sub>30</sub> | 6.80±0.27                    | -            | -            | 17.01±0.68                   | -        | -            | 27.22±1.09                   | -        | -            |
| -                     | LC <sub>50</sub> | 17.01±0.68                   | -            | -            | 27.22±1.09                   | -        | -            | 40.83±1.64                   | -        | -            |
| LC <sub>10</sub>      | LC <sub>10</sub> | 10.21±0.41                   | 13.36        | <b>6.67</b>  | 23.82±0.96                   | 3.36     | 7.33         | 44.23±1.78                   | 3        | 10           |
| LC <sub>10</sub>      | LC <sub>30</sub> | 13.61±0.55                   | 6.68         | <b>6.67</b>  | 27.22±1.09                   | 0.89     | 4.44         | 47.63±1.91                   | 1.55     | 7.78         |
| LC <sub>10</sub>      | LC <sub>50</sub> | 27.22±1.09                   | 6            | <b>10</b>    | 40.83±1.64                   | 2.26     | 8.45         | 64.65±2.60                   | 3.55     | 13.32        |
| LC <sub>30</sub>      | LC <sub>10</sub> | 23.82±0.96                   | 0.78         | 3.89         | 37.42±1.50                   | 1.03     | 5.65         | 61.25±2.46                   | 3.81     | 13.34        |
| LC <sub>30</sub>      | LC <sub>30</sub> | 30.63±1.23                   | 2.73         | 7.78         | 44.23±1.78                   | 1.44     | 7.22         | 68.05±2.74                   | 4.73     | <b>15.54</b> |
| LC <sub>30</sub>      | LC <sub>50</sub> | 37.42±1.50                   | 1.22         | 6.11         | 57.84±2.33                   | 3.79     | 12.85        | 81.67±3.28                   | 6.65     | <b>20</b>    |
| LC <sub>50</sub>      | LC <sub>10</sub> | 40.83±1.64                   | 1.81         | 7.66         | 54.44±2.19                   | 2.48     | 10.32        | 78.26±3.15                   | 4.62     | <b>16.66</b> |
| LC <sub>50</sub>      | LC <sub>30</sub> | 44.23±1.78                   | 2.16         | 8.65         | 61.25±2.46                   | 3.46     | 12.78        | 81.67±3.27                   | 4.38     | <b>16.67</b> |
| LC <sub>50</sub>      | LC <sub>50</sub> | 68.05±2.74                   | 14.95        | <b>24.96</b> | 78.26±3.15                   | 9.97     | <b>23.11</b> | 93.61±3.61                   | 7.78     | <b>23.32</b> |

\*عصاره متانولی کرفس، \*\* کیدو با درجه آزادی یک، \*\*\* شاخص تعیین کننده نوع اثر در تلفیق. اگر مقدار کیدو کوچکتر از ۳/۸۴ باشد نشان دهنده یک اثر افزایشی است، اگر مقدار کیدو از ۳/۸۴ بزرگتر باشد و مقدار عددی D مثبت باشد نشان دهنده اثر هم‌افزایی و اگر منفی باشد نشان دهنده اثر آنتاگونیستی است. مقادیر D نوشته شده به صورت ضخیم نشان دهنده اثر هم‌افزایی است.  
\*Methanol extract of *A. graveolens*, \*\* Chi square in df=1, \*\*\* Index for determining the type of combination effect. If  $\chi^2 < 3.84$  comprise an additive effect, if  $\chi^2 > 3.84$  the positive and negative amounts of D, indicates synergistic antagonistic effect respectively. Amounts of D marked as bold shows a synergistic effect.

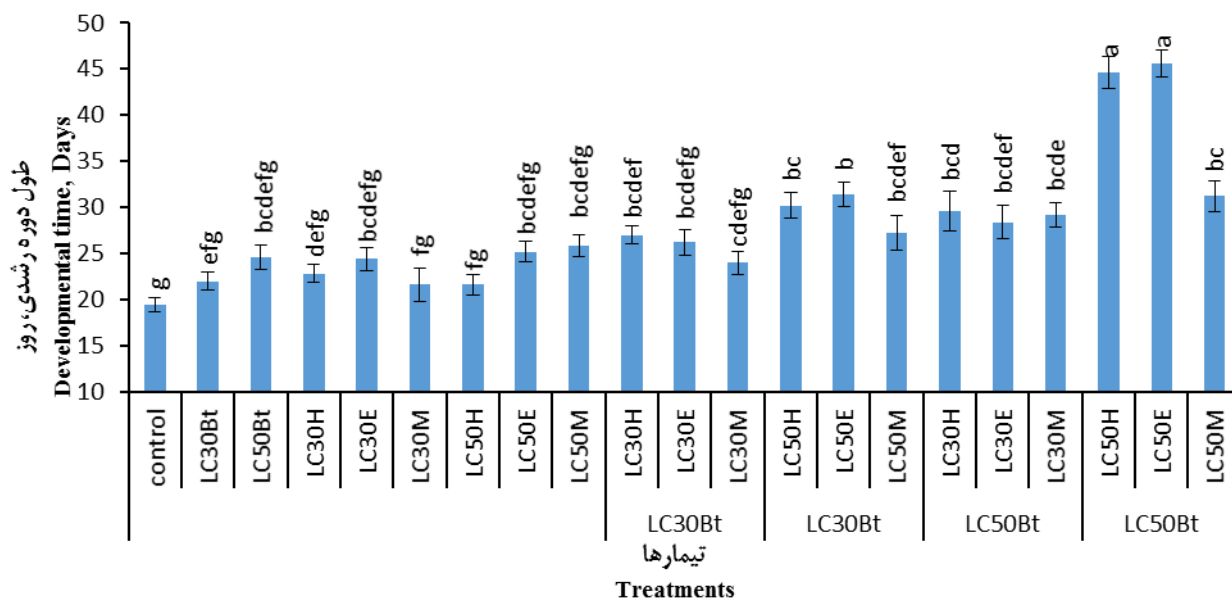
غلظت‌های مختلف دو عامل به مراتب بیشتر از تک عوامل درصد ظهور حشرات کامل را کاهش داد. تلفیق غلظت LC<sub>50</sub> حشره‌کش *Bt* با همان غلظت عصاره هگزانی، اتیل‌استاتی و متانولی به ترتیب ۳، ۳ و ۲۱ درصد، ظهور حشرات کامل نشان دادند که کمترین میزان در بین ترکیبات تیماری مختلف بود. تمام ترکیبات تیماری مورد بررسی تاثیر معنی‌داری بر کاهش درصد ظهور حشرات کامل داشتند و بخصوص عصاره متانولی کرفس به‌طور مشخصی در کاهش ظهور حشرات کامل مؤثر بود.

**نتایج درصد مهارکنندگی آنزیم آلفا-آمیلاز و پروتئاز تام لاروهای بید سیب‌زمینی، توسط عصاره‌های مختلف کرفس**  
نتایج مهارکنندگی عصاره‌های گیاهی در جدول ۵ خلاصه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود به ترتیب عصاره اتیل‌استاتی، هگزانی و متانولی کرفس موجب مهار ۲۵/۵۱، ۱۳/۸۸ و ۱۱/۴۸ درصدی آنزیم آلفا-آمیلاز بید سیب‌زمینی شده است و در غلظت‌های یک درصد نیز عصاره اتیل‌استاتی بیشترین اثر مهارکنندگی را نشان داد. همچنین عصاره اتیل‌استاتی در غلظت ۱۰ درصد بیشترین اثر مهارکنندگی را بر آنزیم پروتئاز دارد و نزدیک ۳۸ درصد فعالیت آن‌را مهار کرده است. عصاره هگزانی و متانولی بدون اختلاف معنی‌داری در مرتبه بعدی حدود ۲۸ درصد فعالیت آنزیم پروتئاز را مهار کرده است. ولی در غلظت یک درصد بیشترین اثر مهارکنندگی در عصاره هگزانی مشاهده شد.

## تأثیر غلظت‌های زیرکشنده عصاره‌های گیاهی و تلفیق آنها

### با بربرخی شاخص‌های زیستی بید سیب‌زمینی

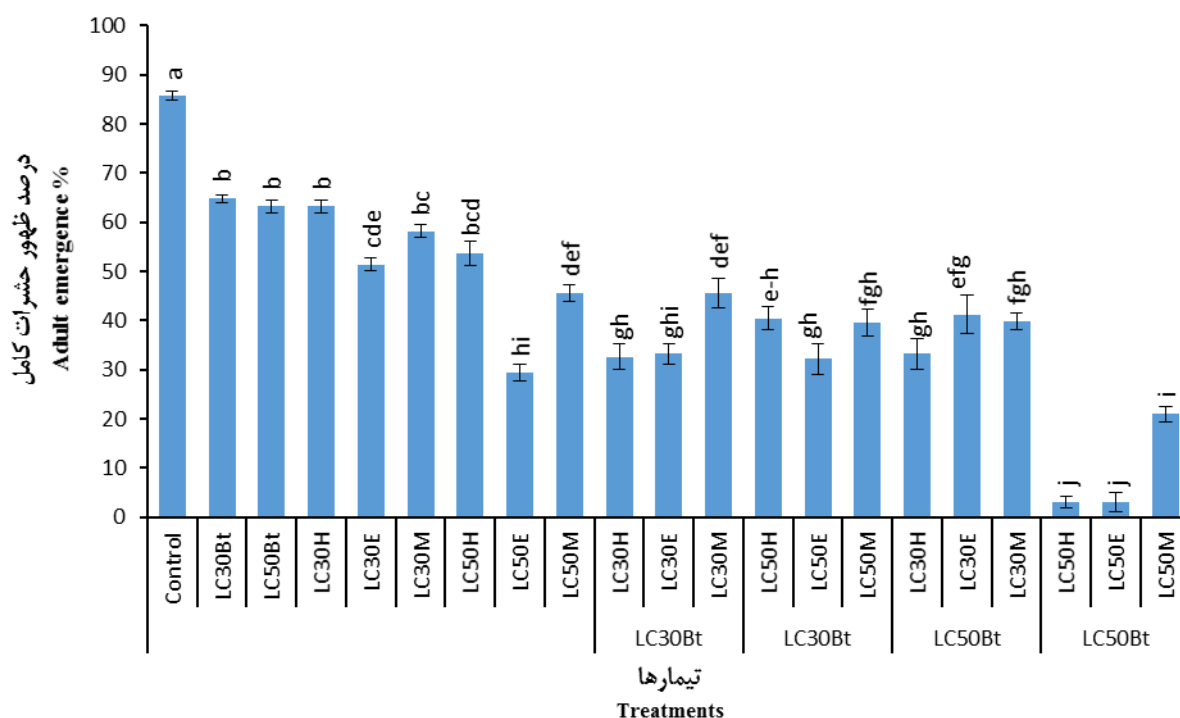
همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود تغذیه لاروهای بید سیب‌زمینی از برگ‌های تیمار شده با غلظت‌های زیرکشنده *Bt* و عصاره‌های مختلف گیاه کرفس تأثیر معنی‌داری از نظر آماری بر طول دوره رشدی آنها دارد ( $F_{24, 84} = 22.49$ ,  $p < 0.0001$ ). همان‌گونه که مشاهده می‌شود، تقریباً در تمام موارد، طول دوره رشدی تیمارها بیشتر از شاهد است. بیشترین میزان افزایش، در تلفیق غلظت LC<sub>50</sub> حشره‌کش *Bt* با غلظت مشابه عصاره‌های هگزانی و اتیل‌استاتی کرفس مشاهده شد. تلفیق این غلظت‌ها طول دوره رشدی لاروی را تا ۲۵ روز در مقایسه با شاهد افزایش داده است. در تلفیق غلظت‌های LC<sub>30</sub> حشره‌کش *Bt* با غلظت‌های LC<sub>50</sub> عصاره‌ها نیز به‌طور معنی‌داری طول دوره رشدی افزایش یافته است و بین ۴/۵ الی ۱۲ روز در مقایسه با شاهد افزایش ثبت گردید که نشان دهنده تاثیر معنی‌دار تلفیق آنها در مقایسه با تک این عوامل است (شکل ۱). همچنین تلفیق غلظت LC<sub>50</sub> حشره‌کش *Bt* با غلظت LC<sub>30</sub> عصاره‌های گیاهی نیز ۹ الی ۱۰ روز در مقایسه با شاهد طول دوره رشدی لاروی را افزایش داده است این درحالی است که خود این عوامل به تنهایی تأثیر کمتری بر طول دوره رشدی داشتند (افزایش ۲/۵ الی ۵ روز). عصاره‌های گیاهی، *Bt* و تلفیق غلظت‌های مختلف زیرکشنندگی آنها تأثیر بسیار معنی‌داری بر درصد ظهور حشرات کامل در مقایسه با شاهد نیز داشتند ( $F_{24, 84} = 83.26$ ,  $p < 0.0001$ ) (شکل ۲). تلفیق



شکل ۱- تأثیر غلظت‌های زیر کشنده عصاره‌های مختلف کرفس، *Bt* و تلفیق آنها بر طول دوره رشدی بید سیب‌زمینی (حروف مشابه بر روی هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد).

Figure 1- Effects of sub-lethal concentrations of *Bt*, *A. graveolens* and their combinations on Larval developmental time (days) of PTM

(The same letters in each bars considers as non-significant statistically ( $p=0.05$ )).



شکل ۲- درصد ظهور حشرات کامل بید سیب‌زمینی در اثر تغذیه لاروها از غلظت‌های زیر کشنده عصاره‌های کرفس، *Bt* و تلفیق آنها (حروف مشابه بر روی هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد).

Figure 2- Percent adult emergence of PTM which feed with sub-lethal concentrations of *Bt*, *A. graveolens* extracts and their combinations

(The same letters on each bar considers as non-significant statistically ( $p=0.05$ )).

جدول ۵- درصد مهارکنندگی آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و پروتئاز کل لاروهای بید سیب‌زمینی با غلظت‌های مختلف عصاره‌های کرفس  
Table 5- Alpha-amylase and protease inhibitory activity of different concentrations of *A. graveolens* extracts on PTM larvae

| آنزیم<br>Enzyme | غلظت عصاره<br>Extract concentration | مهارکنندگی عصاره‌های گیاه کرفس<br><i>A. graveolens</i> extracts inhibitory activity |                            |                           |
|-----------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|---------------------------|
|                 |                                     | هگزان<br>Hexane                                                                     | اتیل استات<br>Ethylacetate | متانول<br>Methanol        |
| آلفا-آمیلاز     | 10%                                 | 13.88±2.87 <sup>b*</sup>                                                            | 25.51±3.29 <sup>a</sup>    | 11.48±1.63 <sup>b</sup>   |
| α-amylase       | 1%                                  | 6.26±1.08 <sup>b</sup>                                                              | 11.31±2.61 <sup>b</sup>    | 6.34±1.29 <sup>b</sup>    |
| پروتئاز         | 10%                                 | 28.77±6.64 <sup>ab</sup>                                                            | 37.77±5.46 <sup>a</sup>    | 27.97±3.21 <sup>abc</sup> |
| Protease        | 1%                                  | 18.99±4.75 <sup>abc</sup>                                                           | 6.20±5.66 <sup>c</sup>     | 10.84±3.74 <sup>bc</sup>  |

\*حروف مشابه در هر سیستم آنزیمی نشان دهنده عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد.  
\*The same letters in each enzyme system considers as non-significant statistically (p=0.05)

## بحث

است. با توجه به اهمیت بالای سیستم آنزیمی پروتئاز در رشد و نمو لاروهای بید سیب‌زمینی و با توجه به نتایج تحقیقات مشابه، مهار این آنزیم توسط عصاره گیاهی از دلایل عمده اثرات سینرژیستی مشاهده شده در تحقیق حاضر است.

کاهش فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز نیز به‌عنوان عاملی مؤثر در برهم خوردن تعادل هضم و جذب در معده میانی لاروهای بید سیب‌زمینی می‌تواند نقش مؤثری در نتایج کشندگی مشاهده شده ایفا کند. آنزیم آلفا-آمیلاز با هضم نشاسته، قند مورد نیاز برای فعالیت و رشد و نمو لارو را فراهم می‌کند (Da Lage, 2018; Yazdani et al., 2010). با توجه به اینکه قند اولین منبع سوخت و ساز سلولی در حشرات است، عدم دریافت مقادیر مورد نیاز می‌تواند اثرات مخرب زیستی و فیزیولوژیکی بر لاروها داشته باشد (Hussain Shah, 2017; Schoor et al., 2020). با توجه به اینکه اثر مهارکنندگی آنزیم آلفا-آمیلاز و آلفا-گلوکوزیداز عصاره‌های مختلف کرفس اثبات شده است (Zhang et al., 2022) و در بررسی حاضر نیز نتیجه مشابهی مشاهده گردید، شاید بتوان دلیل افزایش تأثیر *Bt* در تلفیق با عصاره‌های مختلف را مهار آنزیم آلفا-آمیلاز لاروهای بید سیب‌زمینی بیان نمود. بهبود کارایی *Bt* در تلفیق با عصاره اتانولی برگ سرو نقره‌ای، *Cupressus arizonica* (Greene)، علیه کرم برگ‌خوار چغندر قند، *Spodoptera exigua* Hübner (Lep.: Nuctoidae) در مطالعه محمدی و همکاران (Mohammadi et al., 2020) گزارش شده است. تلفیق غلظت‌های زیرکشنده دو عامل، کارایی تبدیل غذای خورده شده ( $ECI^1$ ) را تحت تأثیر قرار داده و نتیجه آن کاهش ظهور شفیره و حشرات کامل کرم برگ‌خوار چغندر قند در مقایسه با شاهد بود که با نتایج تحقیق حاضر از نظر نتیجه مشاهده شده هم‌خوانی دارد. در بررسی حاضر، گذشته از دلیل اثرات سینرژیستی مشاهده شده، نتیجه اثرات زیرکشنندگی نیز بسیار با ارزش بود. طول دوره رشدی

افزایش تأثیر حشره‌کش میکروبی *Bt* در تلفیق با عصاره‌های گیاهی در مطالعات متعددی گزارش شده است که مؤید پتانسیل بالای استفاده از اثرات تلفیقی این عوامل برای افزایش کشندگی *Bt* می‌باشد (Nouri-Ganbalani et al., Rajguru et al., 2011; 2016). هر چند مکانیسم عمل دقیق اثر تلفیق *Bt* با عصاره گیاهان، بر مرگ و میر حشرات مشخص نیست، ولی با توجه به مطالعات متعدد صورت گرفته، اختلال در سامانه گوارشی، مهار آنزیم‌های گوارشی، ضعف لاروها در اثر سوء تغذیه، تأثیر بر سیستم ایمنی و حتی تأثیر بر سیستم عصبی حشرات توسط ترکیبات گیاهی به‌عنوان مکانیسم عمل، در نتایج تحقیقات زیادی گزارش شده است (Singh; El-Wakeil, 2013; Ali et al., 2021; Rattan, 2010; Madasamy, et al., 2023). براساس نتایج بدست‌آمده در تحقیق حاضر، عصاره اتیل استاتی کرفس، آنزیم پروتئاز لاروهای بید سیب زمینی را تا ۳۸ درصد مهار کرد و اثرات کشندگی بالایی نیز در مقایسه با سایر عصاره‌ها ثبت گردید. هر چند به‌طور یقین نمی‌توان دلیل افزایش فعالیت *Bt* در تلفیق با عصاره‌های گیاهی به اثر مهارکنندگی آنها بر آنزیم‌های پروتئاز نسبت داد چون در موارد متعددی مشخص شده است که فعالیت پروتئولایتیک معده میانی برای فعال نمودن پروتوکسین باکتری لازم و ضروری است (Talaie-Visweshwar et al., 2018; Hassanlou et al., 2014) ولی یکی از دلایل احتمالی افزایش تأثیر *Bt* در تلفیق با عصاره قلمداد می‌شود. تأثیر مهارکننده‌های آنزیمی پروتئاز در تلفیق با حشره‌کش میکروبی *Bt* علیه کرم غوزه پنبه، *H. armigera* بررسی و مشخص گردید اکثر مهارکننده‌ها اثر سینرژیستی بر مرگ و میر لاروهای این آفت دارند (Gujar et al., 2004). همچنین در بررسی مشابهی (Mesén-Porras et al., 2020) اثر سینرژیستی کشندگی مهارکننده استخراج شده از سویا با *Bt* علیه سوسک قهوه، *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Col.: Curculionidae) اثبات شده

از مشاهدات مهم تحقیق حاضر، تفاوت در تأثیر کشندگی و زیرکشندگی عصاره‌های مختلفی بود که با استفاده از حلال‌های مختلف تهیه شده بود. به‌طوری‌که عصاره اتیل‌استاتی بهتر از دو عصاره دیگر عمل کرد و عصاره متانولی در مجموع کارایی کمتری در مقایسه با عصاره‌های دیگر از خود نشان داد. گیاهان منابعی غنی از متابولیت‌های مختلف هستند. هر متابولیتی با توجه به ماهیت شیمیایی خود میزان حلالیت متفاوتی در حلال‌های با درجات قطبی مختلف نشان می‌دهد (Le et al., 2018; Lezoul et al., 2020). اتیل‌استات ماهیت نسبتاً قطبی دارد و متانول قطبیت بیشتری در مقایسه با آن دارد و هگزان ترکیب غیرقطبی است (Dirar et al., 2019). با توجه به فرایند عصاره‌گیری به‌نظر می‌رسد هر حلال ترکیبی با قطبیت مشابه خود را از مجموع ترکیبات موجود در گیاهان استخراج کند (Lezoul et al., 2020). به‌عبارتی با توجه به اثرات بهتر عصاره استخراجی با استفاده از اتیل‌استات این حلال ترکیبات فعال و موثر بر این آفت را به‌میزان بیشتری در مقایسه با سایر حلال‌ها استخراج کرده است. تفاوت در ترکیبات و اثرات عصاره‌های استخراج شده توسط حلال‌های مختلف مشخص شده است (Zhang et al., 2022). ترکیبات شیمیایی عمده که از اسانس برگ‌های کرفس بدست آمده است لیمون و میرسن است که در مجموع بیش از ۸۰ درصد ترکیبات را به خود اختصاص داده‌اند (Kooti et al., 2014; Rožek et al., 2016). لیمون به‌عنوان یک ترکیب مؤثر بر رفتار و بیولوژی حشرات مختلف در مطالعات متعددی گزارش شده است (Dekebo et al., 2019; Ibrahim et al., 2001). لیمون یک ترپن غیرمحلوس در آب است که اثرات تدخینی، گوارشی و مهارکنندگی آن بر سیستم‌های آنزیمی گوارشی در مطالعات مختلف گزارش شده است (Koul et al., 2008; Karr & Coats, 1988; Dolores Ibáñez et al., 2020; Theochari et al., 2020). احتمال تأثیر عصاره اتیل‌استاتی کرفس بر لاروهای بید سیب‌زمینی را می‌توان به حضور این ترکیبات نسبت داد. در مجموع با توجه به اثرات کشندگی و زیرکشندگی تلفیق عصاره‌های مختلف کرفس با حشره‌کش میکروبی *Bt*، با مطالعات تکمیلی می‌توان از این تلفیق در مدیریت بید سیب‌زمینی استفاده کرد. با توجه به امنیت نسبی و اثرات سینرژیستی مشاهده شده، عصاره کرفس از پتانسیل لازم برای این امر برخوردار است.

## سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از نتایج پایان‌نامه کارشناسی ارشد در رشته حشره‌شناسی کشاورزی است که با حمایت معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید مدنی آذربایجان انجام گرفته است که بدین وسیله از همکاری معاونت محترم تقدیر و تشکر می‌گردد. همچنین از

لاروی بخصوص در غلظت‌های  $LC_{50}$  عصاره‌ها و *Bt* افزایش چشم‌گیری داشت و در نهایت درصد بسیار پایینی از لاروها موفق به طی دوره شفیرگی شده و به مرحله ظهور حشره کامل رسیدند. این موضوع بخصوص از نظر پویایی جمعیت و کاهش معنی‌دار در ظهور حشرات کاملی که نسل بعدی را بوجود خواهند آورد اهمیت دارد. اختلال در سامانه گوارشی حشرات تأثیر منفی بر نشو و نماي حشرات دارد. هضم و جذب مواد غذایی دچار اختلال شده و به‌دلیل عدم دریافت مواد غذایی کافی حشرات دچار سوء هاضمه و مشکلات نشو و نمایی می‌شوند. مطالعات متعددی مؤید این موضوع است (Senthil- Nathan et al., 2006; Abedi et al., 2012; Rajguru & Sharma, 2012; Khorrami & Soleymanzade, 2021). در یک مطالعه تأثیر تلفیق عصاره‌های گیاهی با *Bt* بر مرگ و میر و میزان نفوذ لاروهای بید سیب‌زمینی بررسی شد. نتایج نشان داد که تلفیق این عوامل هر چند اثرات سینرژیستی در مقایسه با کاربرد عوامل به‌صورت انفرادی نداشت ولی اثرات جمعیتی خوبی داشته و پیشنهاد شده است که استفاده از تلفیق این عوامل ضمن نتیجه مطلوب موجب کاهش احتمال بروز افراد مقاوم در جمعیت بید سیب‌زمینی شده و مصرف سموم شیمیایی را کاهش خواهد داد (Fouad Sharaby et al., 2019). در یک بررسی دیگر اثرات تلفیق غلظت‌های زیرکشنده باکتری *Bt* و NPV بر *S. littoralis* مورد بررسی قرار گرفت (Magholi Fard et al., 2020). نتایج نشان داد که طول دوره لاروی در این حشره افزایش معنی‌داری دارد، و درصد تبدیل شدن به شفیره و حشره کامل کاهش یافت. همچنین در این بررسی مشخص شد که غلظت‌های زیرکشنده *Bt* می‌تواند طول دوره رشدی لاروهای حشره مورد بررسی را افزایش دهد. نتایج این تحقیقات با مشاهدات تحقیق حاضر همخوانی دارد و اثرات زیستی که منجر به کاهش معنی‌داری در ظهور حشرات کامل شد از نتایج قابل توجه پژوهش حاضر می‌باشد.

افزایش اثرات سینرژیستی با افزایش زمان در معرض قرارگیری نیز در تحقیق حاضر مشاهده شد و پس از ۱۴۴ ساعت بیشترین میزان اثرات در تلفیق‌های بیشتری در مقایسه با ۴۸ ساعت اول ثبت گردید. در بررسی تأثیر تلفیق عصاره‌های گیاهان مختلف با *Bt* علیه کرم برگ‌خوار پنبه، *S. litura*، نتیجه مشابهی گزارش گردید و با افزایش زمان در معرض قرارگیری، مرگ و میر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Rajguru & Sharma, 2012). در تحقیق دیگری تلفیق عصاره آبی چند گیاه در تلفیق با *Bt* علیه *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebiniae) بررسی و مشاهده گردید عصاره برخی گیاهان در تلفیق با *Bt*، با گذشت زمان تا ۷۲ ساعت اثر سینرژیستی بر مرگ و میر لاروها داشتند و ترکیباتی نیز اثرات آنتاگونیستی داشته و مرگ و میر کاهش یافته است (Vilani et al., 2017). نتایج این تحقیق نیز از نظر نتایج حاصله با تحقیق حاضر همخوانی دارد.

آزمایشگاه فیتوشیمی گروه شیمی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان برای  
تقدیر و تشکر می‌شود.  
در اختیار گذاشتن امکانات لازم برای عصاره‌گیری و آنالیز داده‌ها

## References

1. Abedi, Z., Saber, M., Vojoudi, S., Mahdavi, V., & Parsaeyan, E. (2014). Acute, sublethal, and combination effects of azadirachtin and *Bacillus thuringiensis* on the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Journal of Insect Science*, 14, 30. <https://doi.org/10.1093/jis/14.1.30>
2. Aghaali, N., Ghadamyari, M., Hosseiniaveh, V., & Saberi Riseh, N. (2013). Protease inhibitor from the crude extract of plant seeds affects the digestive proteases in *Hyphantria cunea* (Lep.: Arctiidae). *Journal of Plant Protection Research*, 53(4), 338-346. <https://doi.org/10.2478/jppr-2013-0051>
3. Ali, K., Sagheer, M., ul Hasan, M., Rashid, A. & Shahid, M. (2021). Bioactivity of medicinal plant extracts as toxicants and enzyme inhibitors against insect pests of stored commodities. *Journal of Crop Protection*, 10(1), 95-109. <https://doi.org/20.1001.1.22519041.2021.10.1.11.5>
4. Allahverdizadeh, N.M., & Mohammadi, D. (2016). Bioactivity of *Marrubium vulgare* and *Achillea millefolium* leaf extracts on potato tuber moth *Phthorimaea operculella* Zeller. *Munis Entomology and Zoology*, 11(1), 114-122.
5. Alvarez, J.M., Dotseth, E., & Nolte, P. (2005). *Potato tuber worm: a threat for Idaho potatoes*. University of Idaho Experiment Station Bulletin, CIS1125 1-4.
6. Alves, T.J.S., Cruz, G.S., Wanderley-Teixeira, V., Teixeira, A.A.C., Oliveira, J.V., Correia, A.A., Câmara, A.A.G., & Cunha, F.M. (2013). Effects of *Piper hispidinervum* on spermatogenesis and histochemistry of ovarioles of *Spodoptera frugiperda*. *Biotechnic and Histochemistry*, 88, 1-11. <https://doi.org/10.3109/10520295.2013.837509>
7. Bernfeld, P. (1955) Amylase  $\alpha$  and  $\beta$ . *Methods in Enzymology*, 1, 149-158. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01021-5](https://doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5)
8. Candido, L.P., Cavalcanti, M.T., & Beserra, E.B. (2013). Bioactivity of plant extracts on the larval and pupal stages of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 46(4), 420-425. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0118-2013>
9. Capinera, J.L. (2020). *Handbook of vegetable pests*. Academic Press, New York.
10. Da Lage, J-L. (2018). The amylases of insects. *International Journal of Insect Science*, 10, 1-14. <https://doi.org/10.1177/1179543318804783>
11. de França, S.M., Breda, M.O., Barbosa, D.R.S., Araujo, A.M.N., & Guedes, C.A. (2017). The sublethal effects of insecticides in insects. In: Shields, V.D.C. (Ed.), *Biological Control of Pest and Vector Insects*, Intech Open. <https://doi.org/10.5772/66461>
12. Dekebo, A., Aryal, S., & Jung, C. (2019). Olfactory responses of adult potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) measured by attraction relative to the tomato leaf volatiles. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 22, 611-618. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.04.007>
13. Dirar, A.I., Alsaadi, D.H.M., Wada, M., Mohamed, M.A., Watanabe, T., & Devkota, H.P. (2019). Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 120, 261-267. <https://doi.org/10.3390/agriculture12111820>
14. Dogramaci, M., & Tingey, W. (2008). Comparison of insecticide resistance in a North American field population and a laboratory colony of potato tuber worm (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Pest Science*, 81, 17-22. <https://doi.org/10.1007/s10340-007-0178-5>
15. Dolores Ibáñez, M., Sanchez-Ballester, N.M., & Amparo Blázquez, M. (2020). Encapsulated limonene: a pleasant lemon-like aroma with promising application in the agri-food industry. A review. *Molecules*, 25, 1-20. <https://doi.org/10.3390/molecules25112598>
16. El-kady, H. (2011). Insecticide resistance in potato tuber moth *Phthorimaea Operculella* Zeller in Egypt. *Journal of American Science*, 7(10), 263-266.
17. El-Wakeil, N.E. (2013). Botanical pesticides and their mode of action. *Gesunde Pflanzen*, 65, 125-149. <https://doi.org/10.1007/s10343-013-0308-3>
18. Fouad Sharaby, A.M., Gesraha, M.A., & Baker Fallatah, S.A. (2019). Integration of some biopesticides against potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zell.), during storage with reference to histopathological changes detected by a transmission electron microscope in the endocrine system. *Bulletin of the National Research Centre*, 43, 1-16. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0163-1>
19. Gujar, G.T., Kalia, V., Kumari, A., & Prasad, T.V. (2004). Potentiation of insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki HD-1 by proteinase inhibitors in the American bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Indian Journal of Experimental Biology*, 42, 157-163.
20. Handa, S.S., Singh Khanuja, S.P., Longo, G., & Rakesh, D.D. (2008). *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*. International center for science and high technology, 260 P.

21. Hatami, A., Mohammadi, D., & Eivazian Kary, N. (2022). Comparing oral toxicity of *Apium graveolens* and *Falcaria vulgaris* extracts with Bt against *Phthorimaea operculella* (Zeller). *Journal of Applied Research in Plant Protection*, 11(3), 17-29. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22034/ARPP.2022.15186>
22. Hussain Shah, T. (2017). Plant nutrients and insect's development. *International Journal of Entomology Research*, 2(6), 54-57.
23. Ibrahim, M.A., Kainulainen, P., Aflatuni, A., Tiilikata, K., & Holopainen, J.K. (2001). Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: With special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. *Agricultural and Food Science in Finland*, 10, 243-259. <https://doi.org/10.23986/afsci.5697>
24. Isman, M.B. (2020). Botanical insecticides in the twenty-first century—fulfilling their promise? *Annual Review Entomology*, 65, 233–249. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025010>
25. Jung, J-M., Lee, S-G., Kim, K.H., Jeon, S.W., Jung, S., & Lee, W.H. (2019). The potential distribution of the potato tuber moth (*Phthorimaea Operculella*) based on climate and host availability of potato. *Agronomy*, 10, 12. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010012>
26. Karr, L.L., & Coats, J.R. (1988). Insecticidal properties of d-limonene. *Journal of Pesticide Science*, 13, 2287–2290. <https://doi.org/10.1584/jpestics.13.287>
27. Khalil, A., Nawaz, H., Ghania, JB., Rehman, R., & Nadeem, F. (2015). Value added products, chemical constituents and medicinal uses of celery (*Apium graveolens* L.) – a review. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 8, 40-48.
28. Khan, S., Nazir Uddin, M., Rizwan, M., Khan, W., Farooq, M., Shah, A., Subhan, F., Aziz, F., Ur Rahman, K., Khan, A., Ali, S., & Muhammad, M. (2020). Mechanism of insecticide resistance in insects/pests. *Polish Journal of Environmental Studies*, 29(3), 2023–2030. <https://doi.org/10.15244/pjoes/108513>
29. Khorrami, F., & Soleymanzade, A. (2021). Efficacy of some chemical insecticides and plant extracts combined with *Bacillus thuringiensis* against *Phthorimaea operculella*. *Acta phytopathologica et entomologica Hungarica*, 56(2), 169-179. <https://doi.org/10.1556/038.2021.00119>
30. Konecka, E., Kaznowski, A., Grzesiek, W., Nowicki, P., Czarniewska, E., & Baranek, J. (2020). Synergistic interaction between carvacrol and *Bacillus thuringiensis* crystalline proteins against *Cydia pomonella* and *Spodoptera exigua*. *BioControl*, 65, 447–460. <https://doi.org/10.1007/s10526-020-10011-4>
31. Kooti, W., Ali-Akbari, S., Asadi-Samani, M., Ghadery, H., & Ashtary-Larky, D. (2014). A review on medicinal plant of *Apium graveolens*. *Advanced Herbal Medicine*, 1(1), 48-59.
32. Koppenhöfer, A.M., & Kaya, H.K. (1997). Synergism of imidacloprid and an entomopathogenic nematode: a novel approach to white grub (Coleoptera: Scarabaeidae) control in turfgrass. *Journal of Economic Entomology*, 91, 618–623. <https://doi.org/10.1093/jee/91.3.618>
33. Koul, O., Walia, S., & Dhaliwal, G. (2008). Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides International*, 4(1), 63-84.
34. Kuppusamy, P., Yusoff, M.M., Maniam, G.P., & Govindan, N., (2016). Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications - An updated report. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(4), 473-84. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2014.11.013>
35. Le, A.V., Parks, S.E., Nguyen, M.H., & Roach, P.D. (2018). Effect of solvents and extraction methods on recovery of bioactive compounds from defatted gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng.) seeds. *Separations*, 5, 39. <https://doi.org/10.3390/separations5030039>
36. Lee, C.Y. (2000). Sublethal effects of insecticide on longevity, fecundity, and behavior of insect pests: a review. *Bioscience Journal*, 11, 107–112. <https://doi.org/10.5772/66461>
37. Lezoul, N.H., Belkadi, M., Habibi, F., & Guillén, F. (2020). Extraction processes with several solvents on total bioactive compounds in different organs of three medicinal plants. *Molecules*, 25, 4672. <https://doi.org/10.3390/molecules25204672>
38. Madasamy, M., Sahayaraj, K., Sayed, S.M., Al-Shuraym, L.A., Selvaraj, P., El-Arnaouty, S.A. & Madasamy, K. (2023). Insecticidal mechanism of botanical crude extracts and their silver nanoliquids on *Phenacoccus solenopsis*. *Toxics*, 11, 305. <https://doi.org/10.3390/toxics11040305>
39. Magholi Fard, Z., Hesami, S., Marzban, R., & Salehi Jouzani, G. (2020). Individual and combined biological effects of *Bacillus thuringiensis* and multicapsid Nucleopolyhedrovirus on the biological stages of egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (B.) (Lep.: Noctuidae). *Journal of Agricultural Science Technology*, 22(2), 465-476. <https://doi.org/20.1001.1.16807073.2020.22.2.13.1>
40. Malik, K., & Riasat, R. (2014). Study of combined effect of locally isolated *Bacillus thuringiensis* and turmeric powder on red flour beetle (*Tribolium castaneum*). *International Journal of Current Microbiology Applied Science*, 3, 760–77. <https://doi.org/10.5829/idosi.aje.2015.8.1.9244>
41. Mehrabadi, M., Bandani, A.R., & Alizadeh, H. (2012). Inhibitory activity of proteinaceous alpha- amylase inhibitors from Triticale seeds against *Eurygaster integriceps* salivary alpha-amylases: Interaction of the inhibitors and the insect digestive enzymes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 102, 220-228. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.01.008>

42. Mesén-Porras, E., Dahdouh-Cabia, S., Jimenez-Quiros, c., Mora-Castro, R., Rodríguez, C., & Pinto-Tomás, A. (2020). Soybean protease inhibitors increase *Bacillus thuringiensis* subs. *Israelensis* toxicity against *Hypothenemus hampei*. *Agronomía Mesoamericana*, 31(2), 461-478. <https://doi.org/10.15517/am.v31i2.36573>
43. Mohammadi, D., Eivazian Kary, N., & Sharifi Azar, Z. (2020). Enhancing Efficiency of *Bacillus thuringiensis* by Leaf Extract of *Cupressus arizonica* against *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae). *Journal of Applied Research in Plant Protection*, 9(1), 89-105. (In Persian with English abstract)
44. Nazarpour, L., Yarahmadi, F., Saber, M., & Rajabpour, A. (2016). Short and long term effects of some bio-insecticides on *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) and its coexisting generalist predators in tomato fields. *Journal of Crop Protection*, 5(3), 331-342. <https://doi.org/10.1001.1.22519041.2016.5.3.7.0>
45. Ngegba, P.M., Cui, G., Khalid, M.Z., & Zhong, G. (2022). Use of botanical pesticides in agriculture as an alternative to synthetic pesticides. *Agriculture*, 12(5), 600. <https://doi.org/10.3390/agriculture12050600>
46. Nouri-Ganbalani, G., Borzoui, E., Abdolmaleki, A., Abedi, Z., & George Kamita, S. (2016). Individual and combined effects of *Bacillus thuringiensis* and *Azadirachtin* on *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Insect Science*, 16(1), 95. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iew086>. PMID: 27638953
47. Opende, K., & Walia, S. (2009). *Comparing impacts of plant extracts and pure allelochemicals and implications for pest control*. Cab Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 4, 1-30. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20094049>
48. Plata-Rueda, A., Quintero, H.A., Serrão, J.E., & Martínez, L.C. (2020). Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains on the nettle caterpillar, *Euprosteria elaeasa* (Lepidoptera: Limacodidae). *Insects*, 11, 310. <https://doi.org/10.3390/insects11050310>
49. Qi, X.-J., Feng, Y.X., Pang, X., & Du, S.S. (2021). Insecticidal and repellent activities of essential oils from seed and root of celery (*Apium graveolens* L.) against three stored product insects. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24(5), 1169-1179. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1981159>
50. Rajguru, M., & Sharma, A.N. (2012). Comparative efficacy of plant extracts alone and in combination with *Bacillus thuringiensis* sub sp. *kurstaki* against *Spodoptera litura* Fab. larvae. *Journal of Biopesticides*, 5(1), 81-86.
51. Rajguru, M., Sharma, A., & Banerjee, S. (2011). Assessment of plant extracts fortified with *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) for management of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 31(1-2), 92-97. <https://doi.org/10.1017/S174275841100018X>
52. Reddy, D.S., & Chowdary, N.M. (2021). Botanical biopesticide combination concept- a viable option for pest management in organic farming. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31, 1-10. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00366-w>
53. Rondon, S.I. (2010). The potato tuberworm: a literature review of its biology, ecology, and control. *American Journal of Potato Research*, 87, 149-166. <https://doi.org/10.1007/s12230-009-9123-x>
54. Rożek, E., Nurzyńska-Wierdak, R., Sałata, A., & Gumieła P. (2016). The chemical composition of the essential oil of leaf celery (*Apium graveolens* L. var. *Secalinum* Alef.) under the plants' irrigation and harvesting method. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 15(1), 147-157.
55. Sánchez-Yáñez, J.M., Rico, J.L., & Ulíbarri, G. (2022). *Bacillus thuringiensis* (Bt) is more than a special agent for biological control of pests. *Journal of Applied Biotechnology and Bioengineering*, 9(2), 33-39. <https://doi.org/10.15406/jabb.2022.09.00282>
56. Schoor, T.V., Kelly, E.T., Tam, N., & Michael Attardo, G. (2020). Impacts of dietary nutritional composition on larval development and adult body composition in the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). *Insects*, 11, 535. <https://doi.org/10.3390/insects11080535>
57. Senthil-Nathan, S., Kandaswamy, K., Kim, S., & Kadarkarai, M. (2006). The toxicity and behavioural effects of neem limonoids on *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) the rice leaf-folder. *Chemosphere*, 62, 1381-7. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.07.051>
58. Silva, C.T.S., Wanderley-Teixeira, V., Cunha, F.M., Oliveira, J.V., Dutra, K.A., Navarro, D.M.A.F., & Teixeira, A.A.C. (2016). Biochemical parameters of *Spodoptera frugiperda* treated with citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) and its influence on reproduction. *Acta Histochemistry*, 118, 347-352. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2016.03.004>
59. Singh Rattan, R. (2010). Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection*, 29(9), 913-920. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.008>
60. Stark, J.D., & Banks, J.E. (2003). Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annual Review of Entomology*, 48, 505-519. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.48.091801.112621>
61. Sun, J., Feng, Y., Wang, Y., Li, J., Zou, K., Liu, H., Hu, Y., Xue, Y., Yang, L., Shushan, Du, S., & Wu, Y. (2020). Investigation of pesticidal effects of *Peucedanum terebinthinaceum* essential oil on three stored-product insects. *Records of Natural Products*, 14(3), 177-189.
62. Talaei-Hassanlou, R., Bakhshaei, R., Hosseini-naveh, V., & Khorramnezhad, A. (2014). Effect of midgut proteolytic activity on susceptibility of lepidopteran larvae to *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki*. *Frontiers in Physiology*, 4, 406. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00406>

63. Theochari, I., Giatropoulos, A., Papadimitriou, V., Karras, V., Balatsos, G., Papachristos, D., & Michaelakis, A. (2020). Physicochemical characteristics of four limonene-based nanoemulsions and their larvicidal properties against two mosquito species, *Aedes albopictus* and *Culex pipiens molestus*. *Insects*, 11, 1-12. <https://doi.org/10.3390/insects11110740>
64. Vilani, A., Lozano, E.R., Potrich, M., Angeli, A., Luis, F., Martins, C.M.F., Dall Agnol de Lima, J., & de Gouvea, A. (2017). Activity of plant aqueous extracts on *Bacillus thuringiensis* and their interactions on *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebiniae). *Semina: Ciências Agrárias*, 38(2), 1051-1057. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n2p1051>
65. Visweshwar, R., Akbar, S.M.D., Sharma, H.C., & Sreeramulu, K. (2018). Influence of *Bacillus thuringiensis* toxins on the development and midgut proteases in different larval instars of *Helicoverpa armigera*. *Indian Journal of Entomology*, 80(3), 960-970.
66. Yang, J., Quan, Y., Sivaprasath, P., Shabbir, M.Z., Wang, Z., Ferré, J., & He, K. (2018). Insecticidal activity and synergistic combinations of ten different Bt toxins against *Mythimna separata* (Walker). *Toxins*, (Basel), 4;10(11): 454. <https://doi.org/10.3390/toxins10110454>
67. Yazdani, E., JalaliSendia, J., Zibaeaa, A., & Ghadamyari, M. (2010). Enzymatic properties of  $\alpha$ -amylase in the midgut and the salivary glands of mulberry moth, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Comptes Rendus Biologies*, 333(1), 17-22.
68. Yildirim, E., Emsen, B., & Kordali, S. (2013). Insecticidal effects of monoterpenes on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 86, 198-204.
69. Zhang, C., Yu, J., Tu, Q., Yan, F., Hu, Z., Zhang, Y., & Song, C. (2022). Antioxidant capacities and enzymatic inhibitory effects of different solvent fractions and major flavones from celery seeds produced in different geographic areas in China. *Antioxidants*, 11, 1542. <https://doi.org/10.3390/antiox11081542>
70. Zhu, F., Lavine, L., O'Neal, S., Lavine, M., Foss, C., & Walsh, D. (2016). Insecticide resistance and management strategies in urban ecosystems. *Insects*, 7, 2. <https://doi.org/10.3390/insects7010002>





## Research Article

Vol. 37, No. 4, 2024, p. 381-398

## Evaluation The Sub-Inhibitory Concentrations of Some Plant Essential Oils on Investigating Factors of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

S. Ghorbanpour-Yadaki<sup>1</sup>, S. Baghaee-Ravari<sup>ID 2\*</sup>, M. Moghaddam<sup>3</sup>, P. Khodaygan<sup>4</sup>

1 and 2- MS.C. Graduated and Associate Professor in Plant Pathology, Department of Plant Protection, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.

(\*- Corresponding Author Email: [s.baghaee@um.ac.ir](mailto:s.baghaee@um.ac.ir))

3- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

4- Associate Professor, Department of Crop Protection, Faculty of Agriculture, Vali-Asr University, Rafsanjan, Iran

Received: 04-04-2023

Revised: 26-09-2023

Accepted: 30-09-2023

Available Online: 30-09-2023

**How to cite this article:**

Ghorbanpour-Yadaki, S., Baghaee-Ravari, S., Moghaddam, M. & Khodaygan, P. (2024). Evaluation the sub-inhibitory concentrations of some plant essential oils on virulence factors of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 37(4), 381-398. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81813.1141>

### Introduction

One of the important bacterial diseases of stone-fruit trees is canker caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss). This pathogen employs a vast range of pathogenic and virulence factors during its interaction with its host in order to induce disease symptoms. To control the bacterial canker disease, various methods such as sanitary measures, selection of resistant cultivars and certified seedlings and chemical component based on copper are used. Application of plant derivatives such as essential oils and extracts, is one of the compatible management methods in line with environmental goals. Essential oils include a wide range of antimicrobial components and have high efficacy, multiple mechanisms of action, and low toxicity on non-target organisms. The current study aimed to assess the inhibitory and sub-inhibitory effects of six indigenous medicinal essential oils against the causative agent of canker disease in stone fruits. The research evaluated the efficacy of these essential oils in reducing the virulence factors of the disease while identifying the active compounds within the oils.

### Material and Methods

The antimicrobial properties of six native plant EOs, namely *Thymus transcaspicus*, *Satureja khuzistanica*, *Mentha longifolia*, *Ziziphora clinopodioides*, *Perorkia abrotanoides*, and *Artemisia persica* were evaluated against Pss bacteria based on disc diffusion assay test and measurement of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). Moreover, the effect of essential oils on some virulence factors of pathogen including motility, biofilm, and syringomycine production was investigated in sub-inhibitory concentrations. The effect of selected EOs on the reduction of bacterial pathogenicity on immature cherry fruitlets was also investigated. Finally, the chemical composition of EOs was determined using gas chromatography–mass spectrometry (GC–Ms).

### Results and Discussion



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81813.1141>

All studied essential oils have different antibacterial effects in interaction with Pss bacteria. EOs of *T. transcaspicus* and *S. khuzistanica* showed a significant inhibitory effect with minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) value of 1.16 and 2.32 g L<sup>-1</sup>, respectively against Pss compared with other essential oils and streptomycin antibiotic. Sub-inhibitory concentrations test of EOs showed no significant effect on the growth pathogen. The swarming motility of bacterial cells treated with essential oil decreased by 25-55% and the swimming motility decreased by 18.42 to 35.71% compared with the control. *T. transcaspicus* and *S. khuzistanica* within the range of 70-75% showed the strongest inhibitory effect on biofilm formation. Also, in the toxin production test, *T. transcaspicus* and *S. khuzistanica* EOs are effective in reducing syringomycin production and increasing the growth of *Geotrichum candidum* by 1.5 to 1.76 times compared with control (not treatment with EOs). The EOs treatment at MICs reduced the symptoms of the disease. In immature cherries inoculated with Pss bacterium and treated with EO of *T. transcaspicus* was not observed necrosis symptom. The four selected essential oils tested all had a role in reducing the virulence factors in Pss, and the degree of effectiveness is different depending on the components of the essential oil. The higher the phenolic content in the essential oil, the greater its antimicrobial properties against plant pathogenic bacteria. According to the EOs analysis, thymol in *T. transcaspicus*, carvacrol in *S. khuzistanica*, piperitone in *M. longifolia*, and pulegone in *Ziziphora clinopodioides* were the major constituent compound. It seems that the highest amounts of compounds in essential oils have a higher antibacterial power. The EOs of *T. transcaspicus* and *S. khuzistanica* effectively reduce the pathogenic activity of bacterial cankers agent in stone fruits.

## Conclusion

The studied plant compounds in sub-inhibition concentration showed acceptable potential in inhibiting pathogenic agents in *in vitro* tests. Taking into account the growing trend of the general acceptance of natural control compounds in the field of plant diseases, it seems that planning in line with how to use plant products to reduce the consumption of pesticides can be investigated and needs complementary experiments. In order to reduce the spread of bacterial canker symptoms and increase the life span of the tree, the main effective substances (oxygenated monoterpenes) of the essential oils of *T. transcaspicus* and *S. khuzistanica* can be used as a model chemical structure for the synthesis of antimicrobial substances using the experts in the field of chemistry and pharmaceuticals. It is suggested to investigate the stability and preservation of antimicrobial properties in laboratory and field conditions.

**Keywords:** Canker of stone fruits, Control, Pathogenicity reduction, Plant volatiles, Sub-inhibitory concentration

## مقاله پژوهشی

جلد ۳۷ شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص. ۳۹۸-۳۸۱

## بررسی غلظت‌های زیر بازدارندگی برخی اسانس‌های گیاهی بر فاکتورهای پرآزاری بیمارگر

*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*سحر قربانپور یدکی<sup>۱</sup> - ساره بقائی راوری<sup>۲</sup> - محمد مقدم<sup>۳</sup> - پژمان خدایگان<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۸

## چکیده

از بیماری‌های مهم باکتریایی درختان میوه، شانکر باکتریایی درختان هسته‌دار با عامل *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) می‌باشد. در این پژوهش، خصوصیات ضدباکتریایی شش اسانس گیاهی علیه باکتری Pss براساس آزمون نشت در دیسک، تعیین حداقل غلظت بازدارنده و حداقل غلظت کشنده ارزیابی و گروه‌بندی شد. تأثیر غلظت زیربازدارندگی اسانس‌های منتخب بر برخی عوامل پر آزاری بیمارگر و نیز اثرگذاری اسانس‌های منتخب بر کاهش بیماری‌زایی باکتری روی میوه نارس گیلاس بررسی و ترکیبات اسانس‌ها مشخص گردید. براساس نتایج، اسانس مرزه خوزستانی و آویشن خراسانی اثر بازدارندگی قابل توجهی با حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی ۱/۱۶ و ۲/۳۲ گرم بر لیتر بر باکتری Pss، در مقایسه با سایر اسانس‌ها و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین نشان دادند. اسانس‌های منتخب در غلظت زیر بازدارندگی از رشد بیمارگر جلوگیری نکردند. قابلیت تحرک توده‌ای سلول‌های تحت تیمار اسانس‌ها نسبت به شاهد ۲۵ تا ۵۵ درصد و قابلیت تحرک شناوری ۱۸/۴۲ تا ۳۵/۷۱ درصد کاهش یافت. آویشن خراسانی و مرزه خوزستانی با درصد بازدارندگی به ترتیب ۷۵ و ۷۰ درصد قوی‌ترین اثر مهارکنندگی را بر میزان تشکیل بیوفیلم نشان دادند. همچنین، در آزمون تولید توکسین، دو اسانس آویشن خراسانی و مرزه خوزستانی در کاهش تولید سیرینگومایسین و افزایش رشد قارچ *Geotrichum candidum* به ترتیب به میزان ۱/۷۶ و ۱/۵ برابر در مقایسه با شاهد (عدم تیمار با اسانس) مؤثر بودند. تیمار اسانس‌ها در مقادیر حداقل غلظت بازدارنده سبب کاهش علائم بیماری شد. بر اساس آنالیز اسانس‌ها به ترتیب تیمول در اسانس آویشن خراسانی، کارواکرول در اسانس مرزه خوزستانی، پیریتون در اسانس پونه کوهی و پولگون در اسانس کاکوتی به عنوان ترکیبات عمده تعیین شد. به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد مواد مؤثره اصلی دو اسانس آویشن خراسانی و مرزه خوزستانی در کاهش فعالیت بیمارگر شانکر باکتریایی هسته‌داران مؤثر هستند که می‌توانند به عنوان ساختار شیمیایی الگو در جهت سنتز مواد ضد میکروبی مد نظر قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: شانکر هسته‌داران، غلظت زیر-بازدارندگی، کاهش بیماری‌زایی، کنترل، مواد فرار گیاهی

## مقدمه

درختان میوه هسته‌دار جزء خانواده گلسرخیان و زیر خانواده آلوسانان و جنس آلو هستند که به صورت درخت یا درختچه‌های خزان‌دار یا همیشه‌سبز هستند (Rasoolzadegan, 1997). شانکر باکتریایی با عامل *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) یکی از بیماری‌های مهم خسارت‌زای هسته‌داران است که به عنوان یک تهدید بالقوه برای تولید، کشت و پرورش درختان میوه هسته‌دار محسوب می‌شود (Farhadfar et al., 2016). این بیمارگر دامنه‌ی میزبانی وسیعی دارد و جدایه‌های آن از نظر خصوصیات بیوشیمیایی، بیماری‌زایی و ژنتیکی تفاوت‌های زیادی دارد (Gasic et al., 2012). در ایران این بیماری اولین بار روی درختان

- ۱ و ۲- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- (\*)- نویسنده مسئول: (Email: [s.baghaee@um.ac.ir](mailto:s.baghaee@um.ac.ir))
- ۳- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- ۴- دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولیعصر رفسنجان، رفسنجان، ایران

<https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81813.1141>

زردآلو در اصفهان مشاهده و میزان خسارت آن ۵۰-۲۲ درصد ذکر شد (Bahar et al., 1985). نشانه‌های بیماری بستگی به رقم و سن درخت، بافت مورد حمله میزبان، نژاد بیمارگر و شرایط محیطی دارد. بارزترین علائم بیماری در طی فصل رشد در درختان میوه، به‌صورت تشکیل شانکر همراه با تراوش صمغ روی شاخه و تنه درختان و در برگ‌ها به شکل لکه‌های آبرسوخته است که در نهایت قهوه‌ای و خشک‌شده و حالت غربالی را در برگ‌ها ایجاد می‌کند (Agrios, 2005). بیماری به شکوفه‌ها و شاخه‌های گل‌دهنده سرایت کرده و موجب مرگ سریع شاخه‌ها نیز می‌شود (Spotts et al., 2010). جمعیت این باکتری در طی فصل رشد درختان در حال تغییر و نوسان است. از عوامل اصلی افزایش یا کاهش جمعیت، دمای محیط و میزان بارندگی است (Agrios, 2005).

این بیمارگر در تعامل با میزبان از طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زایی و پرازایی استفاده می‌کند تا بتواند علائم بیماری را در میزبان‌های خود القاء کند (Ichinose et al., 2013). برای کنترل بیماری شانکر باکتریایی از شیوه‌های مختلفی، مانند اقدامات بهداشتی، انتخاب ارقام مقاوم و نهال‌های گواهی‌شده (Bultreys & Kaluzna, 2010) و سموم شیمیایی بر پایه مس استفاده می‌شود (Kennelly et al., 2007). به‌کارگیری فرآورده‌های مشتق‌شده از گیاهان مانند اسانس‌ها و عصاره‌ها، نیز یکی از روش‌های مدیریتی سازگار در راستای اهداف زیست‌محیطی است (López Belchí et al., 2021). اسانس‌ها طیف گسترده‌ای از اجزاء ضد میکروبی را در برمی‌گیرند و دارای اثربخشی بالا، عملکرد چندگانه و سمیت کم روی موجودات غیرهدف هستند (Pavela & Benelli, 2016).

در برهمکنش بین میزبان و باکتری بیمارگر، بسیاری از تمهیدات و تولیدات باکتری برای بیماری‌زایی و پرازایی تحت کنترل سیستم حد نصاب احساس (Quorum sensing) است. این مکانیسم در تنظیم پدیده‌های مختلفی مانند تولید پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی، تشکیل و بقای بیوفیلم، تولید متابولیت‌های ثانویه، بیماری‌زایی و پرازایی در باکتری‌های بیمارگر نقش کلیدی دارد (Matas et al., 2012).

اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) و مرزنجوش (*Oreganum vulgare*) حاوی کارواکرول بالا (به‌ترتیب ۲۹/۵ و ۱۹/۷ درصد) و تیمول کم (۱/۵ درصد) بوده و سبب مهار رشد بهتر جدایه‌های *P. syringae* نسبت به آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین شده‌اند (Oliva et al., 2015). همچنین در مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی بیشترین اثرگذاری را روی فاکتورهای بیماری‌زایی جدایه‌ی Pss دارند (Carezzano et al., 2017). شبانی و همکاران (Shabani et al., 2019) نشان دادند که از بین شش اسانس گیاهی علیه باکتری Pss، اسانس آویشن دناهی (*Thymus daenensis*) دارای تیمول به میزان ۷۰/۳۲ درصد، بالاترین قطر هاله

بازدارندگی (۲۰ میلی‌متر) و بیشترین اثر را در برابر بیمارگر دارد. اثر بازدارندگی ۱۳ اسانس گیاهی روی جدایه Pss به‌دست‌آمده از هسته‌داران استان کرمان بررسی و نتایج آن را با اثر ۱۳ آنتی‌بیوتیک مورد مقایسه قرار دادند. نتایج حاکی از آن است که بیشترین اثر بازدارندگی روی Pss، مربوط به آنغوزه و رزماری، اثر متوسط بازدارندگی مربوط به اسانس‌های نعناع، زوفا (*Hyssopus officinalis*)، اسطوخودوس (*Lavandula stoechas*) و آلاله (*Ranunculus sceleratus*) است و کمترین اثر بازدارندگی را گیاهان بومادران (*Achillea millefolium*)، کپوره (*Teucrium chamaedrys*) و رازیانه (*Foeniculum vulgare*) دارند و جدایه‌ها نسبت به استرپتومایسین و اریترومایسین نیز حساس بودند (Khodaygan et al., 2012).

از آن‌جاکه خسارت بیماری شانکر باکتریایی در درختان میوه هسته‌دار، کاهش کمیت و کیفیت محصولات را به دنبال دارد، به منظور کاهش گسترش علایم بیماری، افزایش طول عمر درخت و داشتن عملکرد نسبی برای باغدار می‌توان از مواد مؤثره اصلی اسانس‌های گیاهی به‌عنوان ساختار شیمیایی الگو، در جهت سنتز مواد ضد میکروبی و یا تغییرات در گروه‌های عاملی مواد ضد میکروبی حاضر در جهت بهبود کارکرد، ایده گرفت. پژوهش حاضر، باهدف ارزیابی اثر بازدارندگی و زیربازدارندگی شش اسانس دارویی بومی علیه عامل بیماری شانکر باکتریایی هسته‌داران انجام شده است. اثر اسانس‌های منتخب در کاهش فاکتورهای پرازایی بیمارگر ارزیابی و ترکیبات مؤثره اسانس‌ها نیز مشخص شده است.

## مواد و روش‌ها

### جدایه‌ی باکتریایی مورد استفاده

باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* از کلکسیون گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی شیراز (جدا شده از درختان میوه هسته‌دار) برای انجام آزمایشات تهیه گردید.

### تهیه و استخراج اسانس از نمونه‌های گیاهی

نمونه‌های گیاهی کاکوتی، آویشن خراسانی، برازمیل، پونه کوهی، درمنه از مناطق مختلف استان خراسان رضوی جمع‌آوری و مرزه خوزستانی از شرکت خرم‌ان (خرم‌آباد، ایران) تهیه شد (جدول ۱). بعد از شناسایی گونه‌های ذکر شده، مراحل بعدی شامل خشک‌کردن و آماده کردن نمونه‌ها جهت اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و به‌وسیله دستگاه کلونجر انجام شد (Jaymand & Rezaee, 2007). استخراج اسانس برای هر نمونه گیاهی در چهار تکرار و برای هر تکرار ۱۰۰ گرم از نمونه گیاهی خرد شده استفاده شد. پس از استخراج، برای انجام عمل آب‌گیری اسانس‌ها از سولفات سدیم

(اتانول ۲۰ درصد و توئین ۲۰) را به نسبت ۱ به ۱ با اسانس به صورت یکنواخت مخلوط و در انجام آزمایشات از آن استفاده شد.

خشک استفاده شد. اسانس‌ها در ظروف شیشه‌ای تیره در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Ramezani et al., 2016). به منظور بهبود توزیع اسانس در محیط کشت، محلول امولسیفایر

جدول ۱- اسانس‌های گیاهی مورد استفاده در آزمایش‌ها

| نام علمی                        | خانواده گیاهی | نام فارسی     | اندام تقطیر شده |
|---------------------------------|---------------|---------------|-----------------|
| Scientific Name                 | Plant Family  | Persian Name  | Distilled Organ |
| <i>Thymus transcaspicus</i>     | Lamiaceae     | آویشن خراسانی | برگ (leaf)      |
| <i>Satureja khuzistanica</i>    | Lamiaceae     | مرزه خوزستانی | برگ (leaf)      |
| <i>Ziziphora clinopodioides</i> | Lamiaceae     | کاکوتی        | برگ (leaf)      |
| <i>Mentha longifolia</i>        | Lamiaceae     | پونه کوهی     | برگ (leaf)      |
| <i>Perorkia abrotanoides</i>    | Lamiaceae     | برازمبل       | برگ (leaf)      |
| <i>Artemisia persica</i>        | Asteraceae    | درمنه         | برگ (leaf)      |

خانه‌ای تهیه و سپس چاهک‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفتند. حداقل غلظت مهارکنندگی که حاوی کمترین غلظت اسانس بود و در آن باکتری رشد قابل‌رؤی‌تی نداشت، به عنوان MIC انتخاب گردید. در مرحله بعد برای تخمین حداقل غلظت کشندگی، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محتویات چاهک‌های بدون رشد که در آن‌ها کدورت قابل‌مشاهده‌ای ایجاد نشده بود، روی محیط کشت نوترینت آگار کشت شد. بعد از مدت‌زمان انکوباسیون، کمترین غلظتی از اسانس که باکتری رشدی روی محیط جامد نداشت، به عنوان MBC در نظر گرفته شد. از چاهک حاوی محیط کشت و فاقد باکتری برای کنترل منفی و از چاهک حاوی باکتری و محیط کشت برای کنترل مثبت استفاده شد (Hajian-Maleki et al., 2019).

همچنین در این آزمایش، غلظت زیر بازدارندگی (Sub-MICs)<sup>۴</sup> اسانس که تأثیر باکتری‌کشی یا باکتری ایستایی قابل‌مشاهده‌ای روی سلول‌های باکتری نداشتند با تعیین OD در طول موج ۶۰۰ نانومتر به وسیله دستگاه الیزا ریدر (AWARNESSTech. Inc. USA Stat Fax 2100) تعیین گردید. اثر غلظت زیربازدارندگی بر فاکتورهای پرازایی جدایه بیمارگر مورد مطالعه، ارزیابی شد.

#### بررسی اثر اسانس بر رشد باکتری

به منظور بررسی عدم تأثیرگذاری مقادیر زیر بازدارندگی اسانس های گیاهی مورد استفاده در آزمون و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین روی رشد سلول‌های باکتری، سوسپانسیونی از کشت ۲۴ ساعته باکتری در محیط نوترینت براث به غلظت  $1 \times 10^8$  CFU ml<sup>-1</sup> در پلیت ۹۶ خانه تهیه و مقدار ۱۰ میکرولیتر از آن به هر چاهک پلیت افزوده شد.

#### بررسی اثر ضدباکتریایی اسانس با روش نشست در محیط کشت

ارزیابی اثر ضدباکتریایی اسانس‌های مورد آزمون از روش نشست در دیسک طبق اصول CLSI (CLSI, 2018) انجام گرفت. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با غلظت  $1 \times 10^8$  CFU.ml<sup>-1</sup> روی پتری‌های حاوی نوترینت آگار منتقل و به وسیله سوآپ سترون در سه جهت مختلف کشت شد. دیسک‌های به قطر شش میلی‌متری روی محیط قرار گرفته و به آن‌ها ۲۰ میکرولیتر (۱۸/۵ میلی‌گرم) اسانس اضافه شد. تستک‌های پتری به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس اثر اسانس بر رشد باکتری با اندازه‌گیری هاله بازدارنده مورد بررسی قرار گرفت. از دیسک‌های آغشته به توئین ۲۰ و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین (۱۸/۵ میلی‌گرم) به ترتیب، به عنوان شاهد منفی و مثبت استفاده گردید. آزمون برای هر تیمار با چهار تکرار انجام گرفت.

#### تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)<sup>۱</sup> و حداقل غلظت کشندگی (MBC)<sup>۲</sup>

برای تعیین باکتری‌ایستایی و باکتری‌کشی اسانس‌های گیاهی و آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین (به عنوان معیار) از روش میکرودیولوشن در محیط مایع<sup>۳</sup> استفاده شد. برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) اسانس از سری رقت از هر اسانس از غلظت ۱۸/۵ تا ۱/۸۵ میلی‌گرم در حجم ۲۰۰ میکرولیتر به روش رقیق‌سازی متوالی در محیط نوترینت براث (NB) با چهار تکرار در چاهک‌های پلیت ۹۶

1- Minimum Inhibitory Concentration

2-Minimum Bactericidal Concentration

3- Broth microdilution

4- Sub-Minimum Inhibitory Concentration

سپس پلیت کشت آماده شده درون شیکر انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس و سرعت ۱۲۰ دور بر دقیقه قرار داده شد. تغییرات رشد باکتری در بازه‌های چهارساعته به‌وسیله دستگاه الیزاید در طول موج ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند. این آزمایش در دو نوبت مستقل با ۴ تکرار انجام گرفت.

### بررسی اثر اسانس بر تشکیل بیوفیلم باکتری

برای اندازه‌گیری میزان بیوفیلم، غلظت‌های انتخاب شده اسانس‌های گیاهی و استریتومایسین در چاهک‌های پلیت با حجم ۲۰۰ میکرولیتر آماده و سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری به هر چاهک افزوده و پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به صورت ساکن به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور قرار گرفتند. پس از این مدت زمان، محتویات پلیت را خالی و چاهک‌ها را با آب مقطر سترون شست‌وشو داده و در دمای اتاق به حالت برعکس قرارداده تا خشک شوند و به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر محلول کریستال ویوله ۰/۱ درصد جهت رنگ‌آمیزی در چاهک‌ها افزوده شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه، شست‌وشو با آب مقطر سترون انجام گرفت. در نهایت ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۵ درصد جهت حل کردن رنگ متصل به چاهک‌ها اضافه و بعد از ۱۰ دقیقه میزان جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط دستگاه الیزاید در اندازه‌گیری شد (Santos et al., 2020).

### بررسی اثر اسانس بر تحرک باکتری

برای بررسی میزان حرکت شناوری<sup>۱</sup> و توده‌ای<sup>۲</sup> در بیمارگر، سوسپانسیونی از کشت تازه باکتری در محیط نوترینت براث به غلظت  $1 \times 10^8$  CFU/ml تهیه و تحت تیمار غلظت‌های زیر بازراندگی اسانس‌های گیاهی و آنتی‌بیوتیک استریتومایسین قرار گرفت. دو میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری تحت تیمار اسانس به‌صورت نقطه ای در مرکز تشک پتری حاوی لوریا برتانی براث و ۰/۳ درصد آگار برای حرکت شناوری و ۸ گرم بر لیتر نوترینت براث، ۰/۵ درصد آگار و ۵ گرم بر لیتر گلوکز برای حرکت توده‌ای مایه‌زنی و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری شدند (O'May & Tufenkji, 2011). از سوسپانسیون باکتری که تحت تیمار اسانس قرار نگرفت به‌عنوان شاهد مثبت آزمون استفاده شد. پس از ۲۴ ساعت میزان تحرک باکتری اندازه‌گیری شد. آزمون در سه تکرار انجام گرفت.

### بررسی اثر اسانس بر تولید سیرینگومایسین

بررسی میزان تولید سیرینگومایسین در جدایه PSS در شرایط حضور و عدم حضور اسانس با استفاده از جدایه قارچ *G. candidum*

(تهیه‌شده از آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد) انجام شد. جدایه باکتری تحت تیمار غلظت زیر بازراندگی اسانس‌ها روی محیط کشت PDA به صورت خطی در یک سمت تشک پتری کشت داده و به مدت پنج روز در دمای ۲۸-۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. بعد از این مدت زمان تشک پتری‌ها تحت بخار کلروفرم به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند و در آخر دیسکی از پرگنه قارچ در قسمت مرکزی تشک پتری قرار داده شد. میزان رشد قارچ براساس میزان سیرینگومایسین تولیدی توسط باکتری تحت تیمار اسانس‌ها، بعد از ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد (Hwang et al., 2005). از سوسپانسیون باکتری که تحت تیمار اسانس‌های گیاهی قرار نگرفته بود به‌عنوان شاهد مثبت استفاده شد.

### بررسی اثر اسانس بر بیماری‌زایی جدایه PSS روی میوه های گیلاس

برای ارزیابی بیماری‌زایی جدایه باکتری PSS، از میوه‌های نارس گیلاس استفاده شد. ابتدا میوه‌ها به مدت سه دقیقه درون اتانول ۵۰ درصد قرار گرفتند و سپس سه مرتبه با آب مقطر سترون شست‌وشو داده شدند. از سوسپانسیون کشت ۲۴ ساعته باکتری ( $OD_{600}=0.5$ ) که تحت تیمار مقادیر حداقل غلظت بازرانده اسانس‌های گیاهی قرار گرفته، مقدار ۲۰ میکرولیتر داخل بافت گوشتی میوه تزریق شد. پس از مایه‌زنی، میوه‌ها روی کاغذهای صافی سترون مرطوب درون پتری قرار داده شد و به مدت چهار روز در دمای ۲۴ درجه سلسیوس و رطوبت ۹۰ درصد درون ژرمیناتور نگهداری و سپس علائم بر اساس میزان آب‌سوختگی و مرگ بافت مورد ارزیابی قرار گرفت. از آب مقطر سترون به‌عنوان شاهد منفی استفاده شد.

### شناسایی توسط کروماتوگراف گازی همراه با طیف‌سنج جرمی (GC-MS)

آنالیز ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس‌های آزمایشی منتخب به‌وسیله دستگاه گاز کروماتوگراف همراه با طیف‌سنج جرمی شرکت تکنولوژی آژلینت (Thermo Quest 2000, Lancashire, UK) انجام شد. که مجهز به ستون کروماتوگرافی HP-5ms به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت روکش فیلم ۰/۲۵ میکرومتر که به یک دستگاه سنجش جرمی چهارگانه متصل است و به یک رایانه مجهز به کتابخانه Wiley 7n.l مجهز بوده است. برنامه دمایی ۲۵۰ تا ۵۰ درجه سلسیوس با افزایش تدریجی ۳ درجه سلسیوس در هر دقیقه و نهایتاً ۱۰ دقیقه در ۲۵۰ درجه سلسیوس تنظیم شد. دمای اتاق تزریق ۲۸۰ درجه سلسیوس بود و از گاز حامل هلیوم با نرخ جریان ۰/۰۶ لیتر بر ساعت استفاده شد. سپس شناسایی هر جزء با مقایسه طیف جرمی و RI با نمونه‌های معتبر و

1- Swimming  
2- Swarming

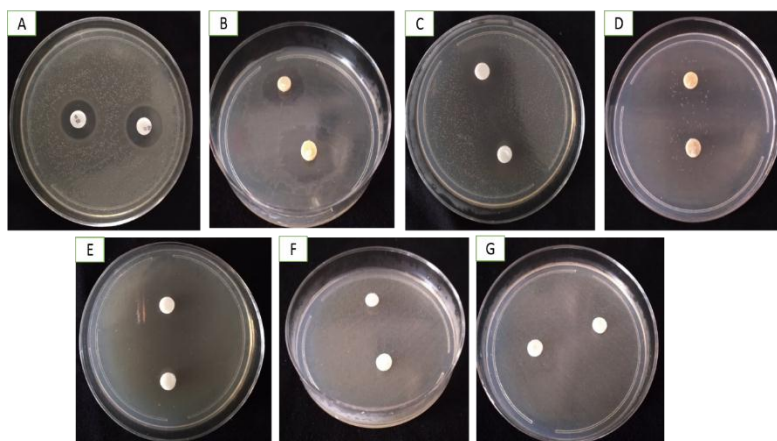
اجزای شناسایی شده در منابع (از جمله Adams et al., 2007) تکمیل شد. کمی‌سازی درصد نسبی هر جزء با توجه به سطح زیر پیک آن‌ها بدون در نظر گرفتن فاکتور کالیبراسیون انجام گرفت.

## تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها و نتایج آزمون‌های زیستی با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Version 22) براساس آزمون آنالیز واریانس ارزیابی و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی دار ۵ درصد تجزیه و تحلیل شدند.

## نتایج و بحث

### بررسی میزان بازدارندگی از رشد باکتری توسط اسانس‌های گیاهی



شکل ۱- قطر هاله بازدارندگی باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* پس از قرار گیری در معرض اسانس‌های گیاهی و استرپتومایسین. A: آنتی بیوتیک B: اسانس آویشن خراسانی C: اسانس مرزه خوزستانی D: اسانس پونه E: اسانس کاکوتی F: اسانس برازمبل و G: اسانس درمنه

Figure 1- The diameter of bacterial inhibition zone of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* after being exposed to plant essential oils and streptomycin. A: antibiotic; B: *Thymus transcaspicus* oil; C: *Satureja khuzistanica*; D: *Mentha longifolia*; E: *Ziziphora clinopodioides*; F: *Perorkia abrotanoides*; G: *Artemisia persica*

۲/۳۲ و ۴/۶۵ گرم بر لیتر است. کمترین تأثیر نیز مربوط به اسانس کاکوتی با حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی ۴/۶۵ و ۹/۳ گرم بر لیتر می‌باشد. استرپتومایسین به عنوان آنتی‌بیوتیک مرجع نیز، با حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی ۲/۴۲ و ۴/۸۱ گرم بر لیتر سبب مهار رشد باکتری PSS شده است.

### نتایج حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC)

نتایج به دست آمده از آزمون حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس علیه باکتری بیمارگر نشان می‌دهد که همه اسانس‌های انتخابی روی رشد باکتری اثر بازدارنده داشته و نتایج آزمون نشد در دیسک را تأیید می‌کنند. با توجه به جدول ۲، اسانس‌های مرزه خوزستانی و آویشن خراسانی بیشترین اثر بازدارندگی با حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی به ترتیب ۱/۱۶ و ۲/۳۲ گرم بر لیتر را دارند و در مرتبه بعد بیشترین تأثیر مربوط به اسانس پونه کوهی با حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی به ترتیب به میزان

جدول ۲- نتایج آزمون نشت در دیسک و قطر هاله بازدارنده پس از تیمار با اسانس و استرپتومایسین (۱۸/۵ میلی گرم بر دیسک) و سنجش مقادیر MIC، MBC و sub-MIC بر حسب گرم بر لیتر روی جدایه باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* هسته‌داران

Table 2-The results of the disc diffusion test and the diameter of the inhibitory halo after treatment with essential oil and streptomycin (18.5 mg/disc) and the measurement of MIC, MBC and sub-MIC values in grams per liter on *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* of stone fruits

| اسانس<br>Essential oil                         | قطر هاله بازدارنده (mm)<br>Diameter of inhibitory halo | حداقل غلظت<br>بازدارندگی<br>(MIC) | حداقل غلظت کشندگی<br>(MBC) | حداقل غلظت زیر<br>بازدارندگی<br>(Sub-MIC) |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------|
| آویشن خراسانی ( <i>Thymus transcaspicus</i> )  | 22± 0.32 a                                             | 1.16± 1.5 c                       | 2.32± 2.3 c                | 0.58± 1.5 c                               |
| مرزه خوزستانی ( <i>Satureja khuzistanica</i> ) | 20± 0.87 a                                             | 1.16± 1.5 c                       | 2.32± 2.3 c                | 0.58± 1.5 c                               |
| پونه ( <i>Mentha longifolia</i> )              | 13± 0.93 b                                             | 2.32± 0.75 b                      | 4.65± 2 b                  | 1.16± 0.75 b                              |
| کاکوتی ( <i>Ziziphora clinopodioides</i> )     | 9± 0.69 c                                              | 4.65± 2 a                         | 9.3± 0.86 a                | 2.32± 1.25 a                              |
| استرپتومایسین (Streptomycin)                   | 15± 0.12 b                                             | 2.42± 2.25 b                      | 4.81± 1.7 b                | 1.21± 0.68 b                              |

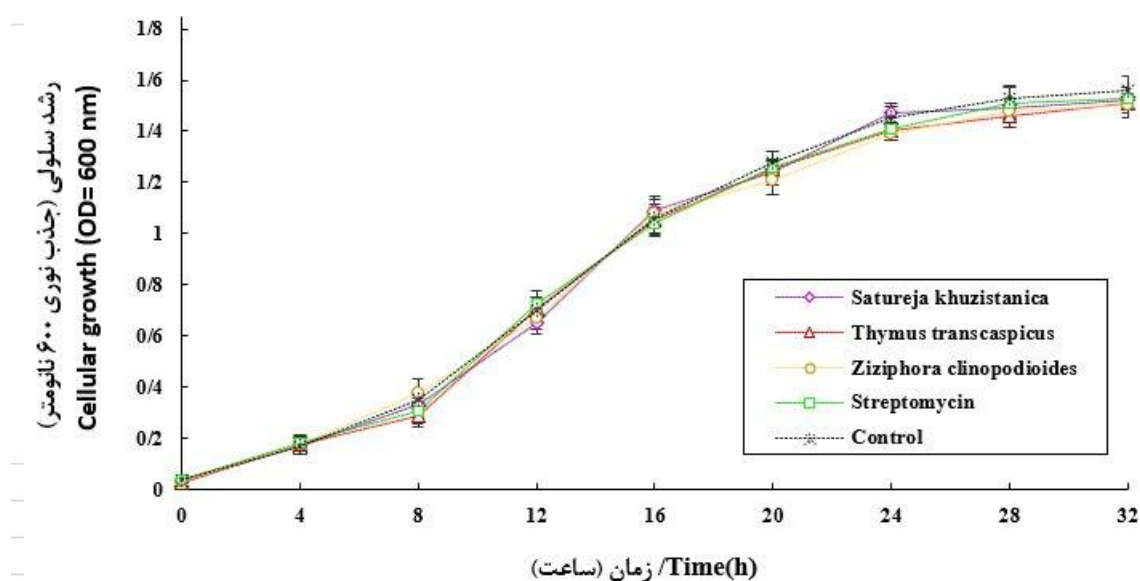
### تشکیل بیوفیلم

میزان تشکیل بیوفیلم با کمی‌سازی شدت رنگ کریستال ویوله متصل شده به سلول‌های بیوفیلم در طول موج ۵۵۰ نانومتر تخمین زده شد. نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش (شکل ۳) نشان می‌دهد که اسانس‌های به کار گرفته‌شده در توسعه طبیعی بیوفیلم در مقایسه با نمونه‌های شاهد، اختلال ایجاد نموده‌اند. آویشن خراسانی و مرزه خوزستانی با درصد بازدارندگی به‌ترتیب ۷۵ و ۷۰ درصد قوی‌ترین اثر مهارکنندگی را بر میزان تشکیل بیوفیلم نشان داده و اسانس پونه با ۶۲ درصد و کاکوتی با ۴۰/۲ درصد بازدارندگی در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. هرچه مقدار MIC اسانس‌های مورد آزمون کمتر باشد اثر مهارکنندگی قوی‌تری را بر تشکیل بیوفیلم دارند. آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین درصد بازدارندگی کمتری (۱۲ درصد) نسبت به سایر تیمارها نشان داد و کاهش معنی‌داری را در تشکیل بیوفیلم در جدایه باکتری ایجاد نکرد. اسانس‌های حاوی ترکیبات فنلی بیشترین اثرگذاری را بر مهار تشکیل بیوفیلم نشان می‌دهند (Romero et al., 2016). کاریزانو و همکاران (Carezzano et al., 2017) نیز به بررسی اثر اسانس آویشن باغی و مرزنجوش در غلظت‌های زیربازدارندگی بر تشکیل بیوفیلم در جدایه‌های باکتری *Pseudomonas syringae* پرداخته‌اند که در این بررسی اسانس آویشن باغی بیشترین کاهش را در تشکیل بیوفیلم نشان داد. نتایج حاصل از این پژوهش با بررسی‌های انجام‌شده توسط کاوانو و ریبک (Kavanaugh & Ribbeck, 2012) مطابقت دارد که در آن گفته شده که اسانس گیاهان آویشن باغی، بالزام و نوعی دارچین توانایی بیشتری در کاهش بیوفیلم باکتری‌های *Pseudomonas* spp. نسبت به آنتی‌بیوتیک مورد استفاده دارد.

بین قطر هاله بازدارنده و مقادیر حداقل غلظت بازدارنده و کشنده ارتباطی معکوس وجود دارد (Bassole et al., 2011). یکی از دلایل تفاوت در نتایج مشاهده شده در مورد تأثیر اسانس‌ها بر باکتری این است که متابولیته‌ها به چندین روش مختلف می‌توانند با باکتری‌ها برهمکنش داشته باشند تا آن‌ها را از بین ببرند و یا رشد باکتری را متوقف سازند. از بین بردن DNA، تخریب دیواره سلولی و یا تحت تأثیر قرار دادن غشای سیتوپلاسمی می‌تواند از دلایل آن باشد (Chouhan et al., 2017). برای بررسی اثرات اسانس بر فاکتورهای پر آزاری باکتری بهتر است غلظتی انتخاب شود که اثر ایستایی، بازدارندگی و یا کشندگی روی سلول‌های باکتری نداشته باشد در غیر این صورت هرگونه تغییر در فاکتورهای پر آزاری را می‌توان مرتبط با آن دانست. بنابراین برای جلوگیری از آسیب‌رسانی به سلول در مقادیر حد بازدارندگی و بالاتر از آن، غلظت اسانس‌های مورد آزمون برای سنجش صفات پر آزاری، در سطوح Sub-MIC که باعث آسیب رساندن به زیست‌پذیری سلول نمی‌شوند، تعیین گردید.

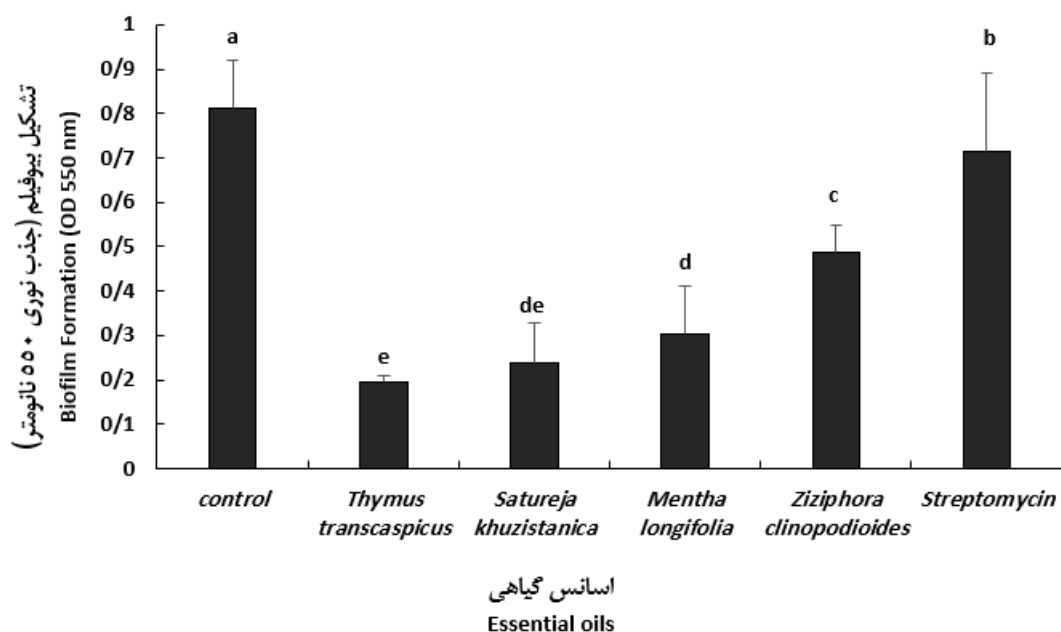
### بررسی رشد

براساس تجزیه و تحلیل منحنی رشد می‌توان بیان کرد که تأثیر معنی‌داری در الگوی رشد شاهد و سلول‌های تیمار شده با اسانس در غلظت‌های Sub-MIC مورد آزمون وجود ندارند (شکل ۲). نرخ رشد و حداکثر جمعیت باکتری در غلظت‌های Sub-MIC در تیمار با شاهد مشابه می‌باشد و تأثیرات فاز تأخیری در چرخه رشد کشت‌های باکتریایی حاوی اسانس یا استرپتومایسین مشاهده نشده است.



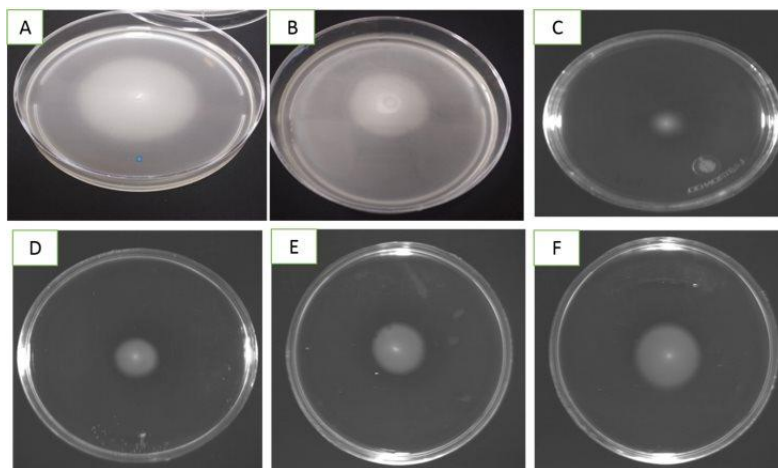
شکل ۲- منحنی رشد جدایه باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* در حضور مقادیر Sub-MIC اسانس‌های مختلف و شاهد استرپتومایسین در طول یک دوره ۳۲ ساعته

Figure 2- Growth curve of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in the presence of sub-MIC amounts of different essential oils and control streptomycin during a 32-hour period



شکل ۳- توسعه بیوفیلم توسط جدایه باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* در حضور مقادیر Sub-MIC اسانس‌های مختلف گیاهی و استرپتومایسین

Figure 3- Biofilm development by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in the presence of sub-MIC values of different plant essential oils and streptomycin



شکل ۴- آزمون تحرک شناوری جدایه باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* در محیط ۰/۳٪ آگار بعد از ۳۲ ساعت. A: جدایه باکتری *B: استرپتومایسین*; C: جدایه باکتری تحت تیمار اسانس آویشن خراسانی، D: جدایه باکتری تحت تیمار اسانس مرزه خوزستانی، E: جدایه باکتری تحت تیمار اسانس پونه و F: جدایه باکتری تحت تیمار اسانس کاکوتی

Figure 4- Swimming motility test of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on 0.3% agar medium after 32 hours. A: bacterial strain; B: Steptomycin; C: bacterial strain undertreatment of *Thymus transcaspicus*; D: *Satureja khuzistanica*; E: *Mentha longifolia* and F: *Ziziphora clinopodioides*

همین آزمون جهت تفکیک جدایه‌های مثبت در تولید زهرابه استفاده می‌شود.

بیمارگر تحت تیمار غلظت زیر-بازدارندگی اسانس‌های گیاهی سبب کاهش در تولید سیرینگومایسین در دامنه (۱/۱۵ تا ۱/۷۶ برابر) نسبت به شاخص اندازه‌گیری در شاهد (قطر پرگنه قارچ) شد (شکل ۶). در شرایط حضور اسانس‌های گیاهی، تولید کمتر سیرینگومایسین را می‌توان به عنوان حساسیت بیشتر باکتری نسبت به اسانس‌های گیاهی در نظر گرفت. بیش‌ترین میزان بازدارندگی از رشد قارچ مربوط به اسانس کاکوتی و کمترین میزان بازدارندگی از رشد قارچ مربوط به آویشن خراسانی و مرزه خوزستانی است. بر این اساس دو اسانس آویشن خراسانی و مرزه خوزستانی با اندازه‌گیری قطر کلنی قارچ به ترتیب ۲۳ و ۲۰ میلی‌متر، در کاهش تولید سیرینگومایسین و افزایش رشد قارچ به ترتیب به میزان ۱/۷۶ و ۱/۵ برابر در مقایسه با شاهد (عدم تیمار با اسانس) مؤثر می‌باشند. در مطالعات پیشین نیز به بررسی اثر اسانس آویشن باغی و مرزنجوش در تولید سیرینگومایسین جدایه‌های گونه‌های مختلف *Pseudomonas* پرداخته‌اند که شواهدی مشابه با یافته‌های ما ارائه شده و نشان داده‌اند که این دو اسانس خاصیت ضدبیوفیلم و ضد زهرابه علیه جدایه‌های این باکتری داشته‌اند (Carezzano et al., 2017).

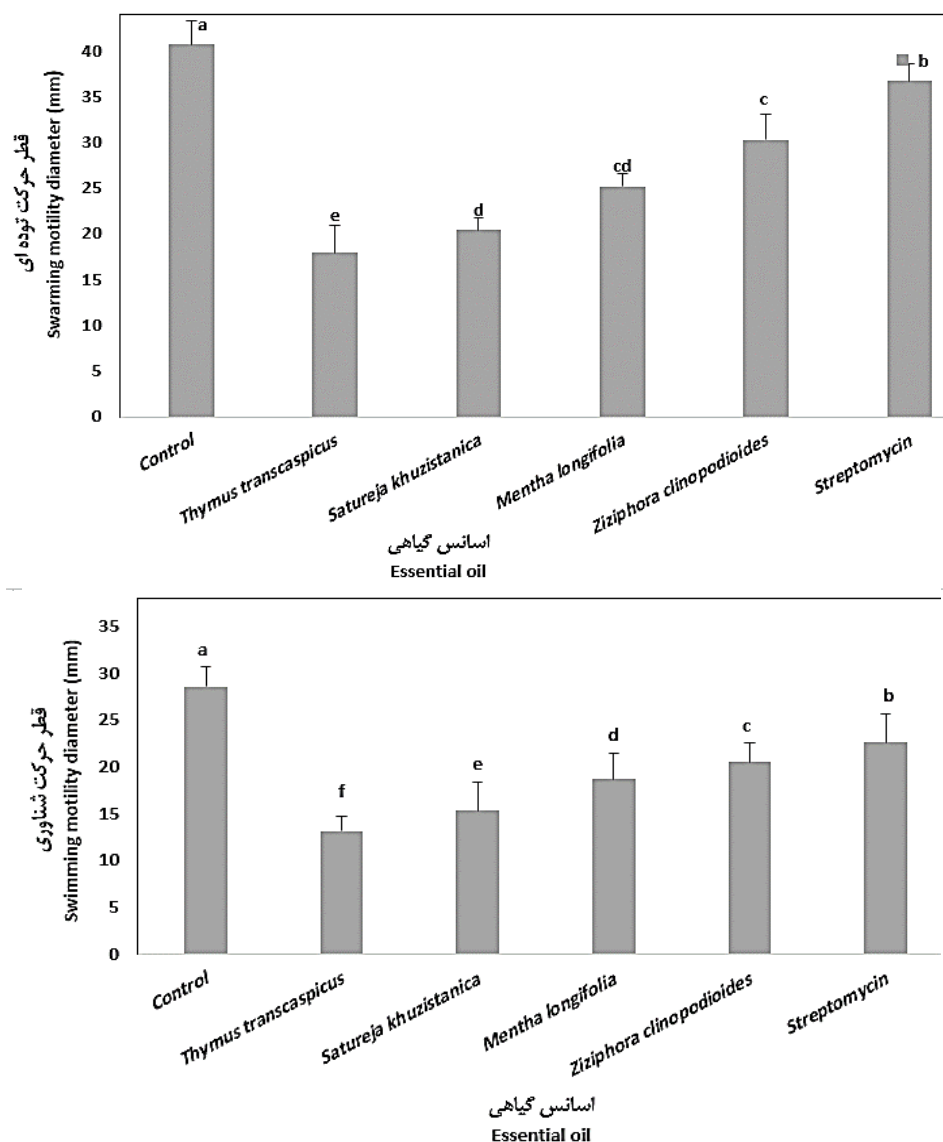
## تحرک توده‌ای و شناوری

قابلیت تحرک توده‌ای سلول‌های تحت تیمار اسانس نسبت به شاهد ۲۵ تا ۵۵٪ و قابلیت تحرک شناوری ۱۸/۴۲ تا ۳۵/۷۱٪ کاهش یافته است (شکل ۴). بیشترین اثر کاهش تحرک جدایه *Pss* در تیمار با اسانس آویشن خراسانی و مرزه خوزستانی دیده شد. در تیمار آنتی بیوتیک استرپتومایسین قطر حرکت باکتری بیشتر از تیمارهای اسانس و کمتر نسبت به شاهد (باکتری بیمارگر) تعیین شد. مشاهدات ما نشان می‌دهد که تحرک باکتری در پلیت‌های مایه‌زنی شده با جدایه باکتری که تحت تیمار اسانس‌ها قرار گرفته بود، در مقایسه با نمونه شاهد کاهش یافت که میزان آن بین اسانس‌ها متفاوت است (شکل ۵).

بررسی اثر اسانس آویشن و ترکیبات فعال آن (کارواکرول و تیمول) روی حرکت شناوری باکتری *Pseudomonas fluorescens* مشخص نمود که اسانس آویشن باعث کاهش تحرک باکتری نسبت به شاهد شده است (Myszka et al., 2016). اسانس آویشن، حرکت توده‌ای و شناوری باکتری *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* را به ترتیب به میزان ۲۴٪ و ۱۹٪ کاهش داده است (Singh et al., 2017).

## ارزیابی تولید سیرینگومایسین در حضور اسانس‌های گیاهی

جدایه بیماری‌زای *Pss* با تولید زهرابه سیرینگومایسین مانع از رشد قارچ *G. candidum* روی محیط کشت PDA می‌شود و از



شکل ۵- تحرک توده‌ای و شناوری جدایه باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* پس از قرارگیری در معرض اسانس‌های گیاهی و استرپتومایسین

میزان تحرک پس از ۳۲ ساعت اندازه‌گیری گردید و نتایج برحسب میلی‌متر می‌باشد.

Figure 5- Swarming and swimming motility of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* after exposure to plant essential oils and streptomycin

The mobility was measured after 32 hours and the results are in millimeters.

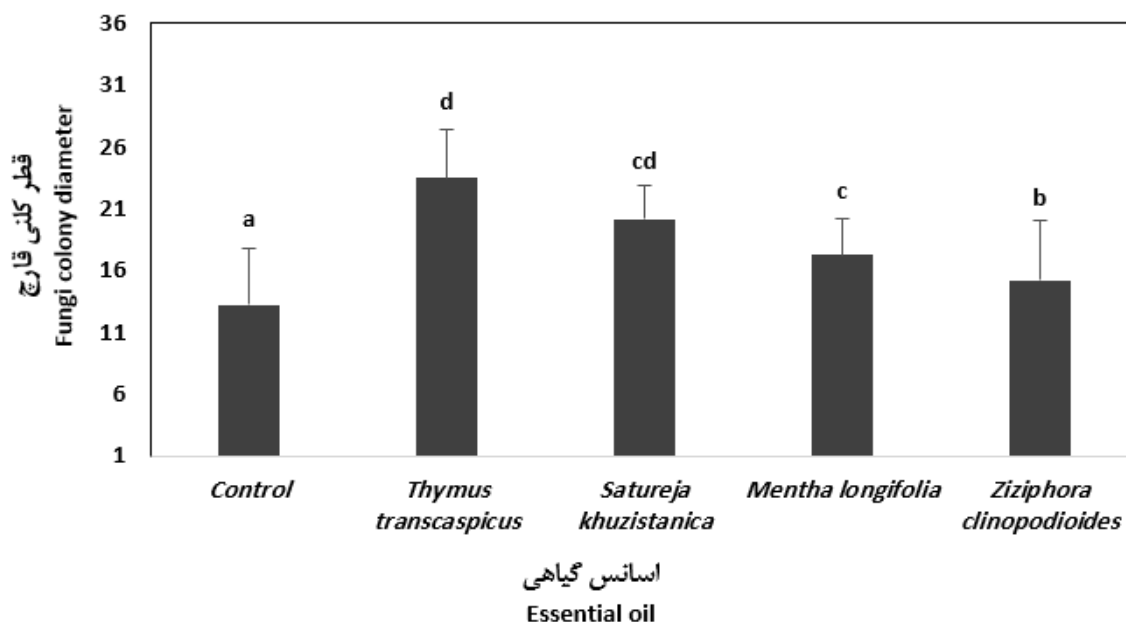
نکروز در اندازه‌های متفاوت ایجاد گردید. در این آزمون هیچ‌گونه علائمی روی میوه گیلاس مایه‌زنی شده با اسانس آویشن مشاهده نگردید و به‌طور ۱۰۰ درصد از بروز نکروز جلوگیری کرد (شکل ۷). تولید فاکتورهای پر آزاری با افزایش شدت بیماری‌زایی ارتباط مستقیم دارد، اما به‌تنهایی برای ایجاد بیماری‌زایی باکتری PSS روی درختان هسته‌دار مؤثر نمی‌باشد (Bender & Scholz-Schroeder, ۲۰۰۷).

#### ارزیابی توان اسانس‌های گیاهی در کاهش علائم بیمارگر PSS در میوه‌های نارس گیلاس

جدایه بیمارگر تحت تیمار غلظت‌های MIC اسانس‌ها، به میوه های نارس گیلاس مایه‌زنی و تا یک هفته بعد علائم بررسی شد. براساس مشاهدات، بروز علائم روی میوه گیلاس متفاوت و علائم

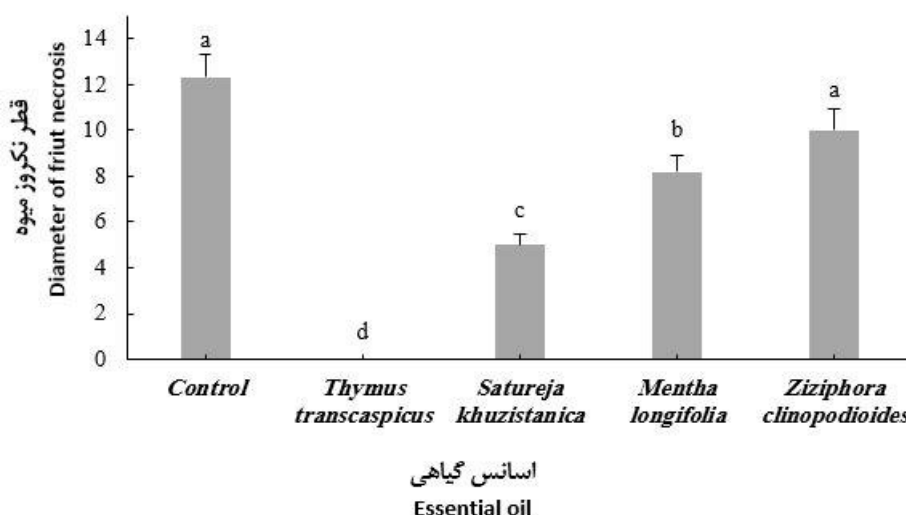
(*et al.*, 2015) دو اسانس آویشن باغی و مرزنجوش را جهت جلوگیری از رشد باکتری *Pss* مورد آزمایش قرار دادند. تحقیقات آن‌ها نشان داد که این دو اسانس به‌علت بالا بودن درصد کارواکرول، بیشترین تأثیر را در کاهش رشد باکتری نسبت به شاهد داشتند.

(2004). چهار اسانس انتخابی مورد آزمون همگی بر کاهش اثرگذاری فاکتورهای پر آزاری در *Pss* نقش داشتند که میزان اثرگذاری بسته به مواد متشکله اسانس متفاوت است. هرچه مواد فنولیک در اسانس بالاتر باشد خواص ضد میکروبی آن علیه باکتری بیمارگر گیاهی بیشتر می‌شود (Alymanesh & Mirzaei, 2013). آلیوا و همکاران (Oliva)



شکل ۶- میزان تولید سیرینگومایسین توسط جدایه باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* در حضور مقادیر Sub-MIC اسانس‌های گیاهی (براساس مقایسه قطر پرگنه قارچ *Geotrichum candidum*)

Figure 6- The amount of syringomycin production by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in the presence of sub-MIC values of plant essential oils (based on the comparison of the colony diameter of *Geotrichum candidum*)



شکل ۷- تأثیر اسانس‌های گیاهی بر توان ایجاد بیماری‌زایی جدایه *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* روی میوه گیلاس نارس و اندازه‌گیری قطر نکروز پس از یک هفته

Figure 7- The effect of plant essential oils on the pathogenicity of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on green cherry fruit and measuring the necrosis diameter after one week

جدول ۳- نتایج آنالیز GC-MS برای اسانس‌های مرزه خوزستانی، آویشن خراسانی، پونه و کاکوتی ترکیبات اصلی موجود در اسانس به صورت تیره مشخص گردیده است.

Table 3- Results of GC-MS analysis for *Satureja khuzistanica*, *Thymus transcaspicus*, *Mentha longifolia* and *Ziziphora clinopodioides* essential oils

The main ingredients in the essential oil are highlighted in bold.

| <i>Satureja khuzistanica</i> components |                                                                     |                    |                        |                                                               |                    |
|-----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|--------------------|------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------|
| RI                                      | ترکیب<br>Compound                                                   | درصد<br>Percentage | RI                     | ترکیب<br>Compound                                             | درصد<br>Percentage |
| 924                                     | tricyclene                                                          | t                  | 1635                   | $\gamma$ -eudesmol Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5 $\beta$ -ol | 0.2                |
| 930                                     | a-thujene                                                           | 0.3                | 1642                   | ol                                                            | 0.1                |
| 937                                     | a-pinene                                                            | 1.5                | 1643                   | hinseol                                                       | 0.1                |
| 952                                     | camphene                                                            | 0.3                | 1650                   | agarospirol                                                   | 0.1                |
| 964                                     | benzaldehyde                                                        | t                  | 1660                   | valerianol                                                    | 0.1                |
| 966                                     | 5- Methyl furfural                                                  | t                  | 1678                   | unknown                                                       | 0.3                |
| 980                                     | B-pinene                                                            | 0.3                | 1686                   | $\alpha$ -bisabolol                                           | 0.5                |
| 983                                     | 1-octen-3ol                                                         | 0.1                | 1700                   | heptadecane                                                   | t                  |
| 992                                     | myrcene                                                             | 2.5                | 1762                   | Benzyl benzoate                                               | t                  |
| 995                                     | 3-octanol                                                           | 0.1                | 1843d                  | Hexahydrofarnesyl acetone                                     | 0.3                |
| 1004                                    | a-phellandrene                                                      | 0.6                | Total Identified 99.6% |                                                               |                    |
| 1011                                    | $\delta$ -3-carene                                                  | 0.2                |                        |                                                               |                    |
| 1018                                    | a-terpinene                                                         | 2.7                |                        |                                                               |                    |
| 1028                                    | <b>p-cymene</b>                                                     | <b>9.1</b>         |                        |                                                               |                    |
| 1032                                    | $\beta$ - phellandrene                                              | 1.0                |                        |                                                               |                    |
| 1033                                    | 1,8-cineol                                                          | 0.2                |                        |                                                               |                    |
| 1041                                    | Cis-ocimene                                                         | t                  |                        |                                                               |                    |
| 1052                                    | trans- ocimene                                                      | 0.1                |                        |                                                               |                    |
| 1061                                    | <b><math>\gamma</math>-terpinene</b>                                | <b>5.4</b>         |                        |                                                               |                    |
| 1072                                    | cis-sabinene hydrate                                                | 0.2                |                        |                                                               |                    |
| 1073                                    | n-octanol                                                           | 0.1                |                        |                                                               |                    |
| 1089                                    | terpinolene                                                         | 0.5                |                        |                                                               |                    |
| 1091                                    | p-cymenene                                                          | 0.8                |                        |                                                               |                    |
| 1099                                    | trans-sabinene hydrate                                              | 0.1                |                        |                                                               |                    |
| 1103                                    | linalool                                                            | 1.7                |                        |                                                               |                    |
| 1169                                    | borneol                                                             | 0.1                |                        |                                                               |                    |
| 1179                                    | terpinen-4-ol                                                       | 0.8                |                        |                                                               |                    |
| 1246                                    | carvacrol methyl ether                                              | 1.1                |                        |                                                               |                    |
| 1302                                    | <b>carvacrol</b>                                                    | <b>49.4</b>        |                        |                                                               |                    |
| 1362                                    | eugenol                                                             | 1.2                |                        |                                                               |                    |
| 1375                                    | carvacrol acetate                                                   | 1.6                |                        |                                                               |                    |
| 1476                                    | Methyl- p-anisate                                                   | t                  |                        |                                                               |                    |
| 1422                                    | $\beta$ -caryophyllene                                              | 2.2                |                        |                                                               |                    |
| 1438                                    | $\alpha$ -trans-bergamotene                                         | 0.4                |                        |                                                               |                    |
| 1456                                    | $\alpha$ - humulene                                                 | 0.1                |                        |                                                               |                    |
| 1456                                    | Geranyl acetone                                                     | 0.7                |                        |                                                               |                    |
| 1484                                    | $\gamma$ -curcumene                                                 | 0.1                |                        |                                                               |                    |
| 1483                                    | $\alpha$ - curcumene                                                | 0.2                |                        |                                                               |                    |
| 1507                                    | $\beta$ -bisabolene                                                 | 9.3                |                        |                                                               |                    |
| 1525                                    | $\beta$ -sesquiphellandrene 2(4H)-Benzofuranone,5,6,7,7a-tetrahydro | 0.2                |                        |                                                               |                    |
| 1538                                    | 4,4,7a-trimethyl-                                                   | 0.1                |                        |                                                               |                    |
| 1534                                    | trans- $\gamma$ -bisabolene                                         | 1.6                |                        |                                                               |                    |
| 1558                                    | elemicin                                                            | t                  |                        |                                                               |                    |
| 1585                                    | Caryophyllene oxide                                                 | 1.0                |                        |                                                               |                    |
| 1614                                    | unknown                                                             | t                  |                        |                                                               |                    |

| <i>Thymus transcaspicus</i> components |                                      |                    |                  |                             |                    |
|----------------------------------------|--------------------------------------|--------------------|------------------|-----------------------------|--------------------|
| RI                                     | ترکیب<br>Compound                    | درصد<br>Percentage | RI               | ترکیب<br>Compound           | درصد<br>Percentage |
| 926                                    | tricyclene                           | t2                 | 1498             | viridiflorene               | 0.2                |
| 931                                    | $\alpha$ -thujene                    | 1.2                | 1502             | $\alpha$ -muurolene         | t                  |
| 939                                    | $\alpha$ -pinene                     | 1.2                | 1508             | $\beta$ -bisabolene         | 0.4                |
| 951                                    | unknown                              | t                  | 1516             | $\gamma$ -cadinene          | 0.1                |
| 954                                    | camphene                             | 0.8                | 1524             | $\delta$ -cadinene          | 0.2                |
| 963                                    | benzaldehyde                         | t                  | 1533             | trans- $\gamma$ -bisabolene | 0.9                |
| 980                                    | $\beta$ -pinene                      | 0.3                | 1578             | spathulenol                 | 0.2                |
| 982                                    | 1-octen-3-ol                         | 0.3                | 1584             | caryophyllene oxide         | 0.2                |
| 985                                    | 3-octanone                           | 0.3                | Total Identified |                             | 99.6               |
| 993                                    | myrcene                              | 1.4                |                  |                             |                    |
| 996                                    | 3-octanol                            | 0.1                |                  |                             |                    |
| 1005                                   | $\alpha$ -phellandrene               | 0.3                |                  |                             |                    |
| 1012                                   | $\delta$ -3-carene                   | 0.1                |                  |                             |                    |
| 1019                                   | $\alpha$ -terpinene                  | 2.4                |                  |                             |                    |
| 1029                                   | $\rho$ -cymene                       | 6.7                |                  |                             |                    |
| 1023                                   | $\beta$ -phellandrene                | 0.6                |                  |                             |                    |
| 1033                                   | 1,8-cineol                           | 0.8                |                  |                             |                    |
| 1052                                   | $\beta$ -E-ocimene                   | 0.1                |                  |                             |                    |
| 1061                                   | <b><math>\gamma</math>-terpinene</b> | <b>8.0</b>         |                  |                             |                    |
| 1072                                   | cis-sabinene hydrate                 | 0.7                |                  |                             |                    |
| 1090                                   | terpinolene                          | 0.3                |                  |                             |                    |
| 1099                                   | trans-sabinene hydrate               | 0.1                |                  |                             |                    |
| 1098                                   | linalool                             | 0.2                |                  |                             |                    |
| 1124                                   | trans- $\rho$ -mentha-2,8-dien-1-ol  | 0.1                |                  |                             |                    |
| 1147                                   | camphor                              | t                  |                  |                             |                    |
| 1169                                   | unknown                              | 0.2                |                  |                             |                    |
| 1170                                   | borneol                              | 1.5                |                  |                             |                    |
| 1180                                   | terpinen-4-ol                        | 1.0                |                  |                             |                    |
| 1190                                   | unknown                              | 0.2                |                  |                             |                    |
| 1184                                   | $\rho$ -cymen-8-ol                   | 0.1                |                  |                             |                    |
| 1189                                   | $\alpha$ -terpineol                  | 0.3                |                  |                             |                    |
| 1192                                   | cis-dihydrocarvone                   | 0.1                |                  |                             |                    |
| 1238                                   | thymol methyl ether                  | 1.5                |                  |                             |                    |
| 1243                                   | carvacrol methyl ether               | 0.2                |                  |                             |                    |
| 1244                                   | cumin aldehyde                       | t                  |                  |                             |                    |
| 1246                                   | <b>pulegone</b>                      | <b>2.4</b>         |                  |                             |                    |
| 1295                                   | <b>thymol</b>                        | <b>39.6</b>        |                  |                             |                    |
| 1303                                   | <b>carvacrol</b>                     | <b>21.4</b>        |                  |                             |                    |
| 1345                                   | piperitenone                         | 1.1                |                  |                             |                    |
| 1354                                   | thymol acetate                       | 0.3                |                  |                             |                    |
| 1362                                   | eugenol                              | 0.1                |                  |                             |                    |
| 1374                                   | carvacrol acetate                    | 0.2                |                  |                             |                    |
| 1389                                   | $\beta$ -bourbonene                  | t                  |                  |                             |                    |
| 1422                                   | $\beta$ -caryophyllene               | 0.7                |                  |                             |                    |
| 1434                                   | $\beta$ -copaene                     | t                  |                  |                             |                    |
| 1437                                   | trans- $\alpha$ -bergamotene         | t                  |                  |                             |                    |
| 1440                                   | aromadendrene                        | 0.1                |                  |                             |                    |
| 1455                                   | $\alpha$ -humulene                   | t                  |                  |                             |                    |
| 1462                                   | allo-aromadenderene                  | t                  |                  |                             |                    |
| 1482                                   | $\gamma$ -murrolene                  | 0.1                |                  |                             |                    |
| 1498                                   | viridiflorene                        | 0.2                |                  |                             |                    |

| <i>Mentha longifolia</i> components |                                               |                    | <i>Ziziphora clinopodioides</i> components |                          |                    |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------|--------------------------|--------------------|
| RI                                  | ترکیب<br>Compound                             | درصد<br>Percentage | RI                                         | ترکیب<br>Compound        | درصد<br>Percentage |
| 0852                                | butanoic acid                                 | 1.6                | 926                                        | $\alpha$ -Thujene        | 0.1                |
| 0880                                | ethyl2-methylbutyrate                         | 0.4                | 935                                        | $\alpha$ -pinene         | 0.3                |
| 0918                                | $\gamma$ -terpinene                           | 0.5                | 970                                        | sabinene                 | 0.2                |
| 0936                                | $\alpha$ -pinene                              | 5.5                | 976                                        | $\beta$ -pinene          | 0.6                |
| 0946                                | $\alpha$ -pipene                              | 1.6                | 981                                        | myrcene                  | 0.2                |
| 0976                                | sabinene                                      | 7.5                | 1013                                       | $\alpha$ -Terpinene      | tr                 |
| 0980                                | $\beta$ -pinene                               | 3.5                | 1015                                       | $\rho$ -Cymene           | 0.3                |
| 0991                                | $\beta$ -myrcene                              | 0.3                | 1026                                       | 1,8-Cineole              | 2.7                |
|                                     | oxygenated monoterpenes                       |                    |                                            |                          |                    |
| 1033                                | <b>1,8-cineole</b>                            | 8.5                | 1053                                       | $\gamma$ -terpinene      | 0.2                |
| 1050                                | $\beta$ -ocimene                              | t                  | 1064                                       | terpinolene              | 0.5                |
| 1062                                | thymol                                        | 0.2                | 1082                                       | Trans-Sabinene hydrate   | 0.1                |
| 1072                                | <b><math>\rho</math>-mentha-3,8-diene</b>     | 7.2                | 1085                                       | Linalool                 | tr                 |
| 1088                                | $\alpha$ -terpinolene                         | 1.36               | 1111                                       | cis-verbenol             | 0.1                |
| 1092                                | butanoic acid,2-methyl,3-methyl butyl ester   | 0.7                | 1124                                       | Trans-verbenol           | 0.1                |
| 1110                                | pentanoic acid,3-methylbutyl ester            | 0.5                | 1140                                       | <b>p-menth-3-en-8-ol</b> | 12.5               |
| 1124                                | 3-octanol acetate                             | 0.4                | 1152                                       | Menthone                 | 1.8                |
| 1143                                | 2,6-dimethyl-2,4,6-oc tatriene                | 6.5                | 1160                                       | Neomenthol               | 2.1                |
| 1150                                | <b>Cis-dihydrocarvone</b>                     | 10.6               | 1166                                       | Menthol                  | 0.1                |
| 1154                                | 3-methylene-1,5,5-trimethylcyclohexene        | t2                 | 1171                                       | Terpinen-4-ol            | 0.4                |
| 1168                                | isopulegone                                   | 4.5                | 1182                                       | Isomenthol               | 1.6                |
| 1180                                | benihinal                                     | 0.3                | 1186                                       | Verbenone                | 0.2                |
| 1188                                | benzofuran,4,7-dimethyl                       | 0.6                | 1202                                       | Cuminyl aldehyde         | 0.8                |
| 1193                                | myrtenal                                      | t                  | 1225                                       | <b>Pulegonee</b>         | 45.8               |
| 1237                                | pulegone                                      | 5.5                | 1234                                       | Piperitone               | 1.4                |
| 1244                                | <b>piperitone</b>                             | 13.3               | 1246                                       | Carvone                  | 0.1                |
| 1252                                | Piperitone oxide                              | 0.3                | 1268                                       | <b>Thymol</b>            | 8                  |
| 1268                                | cyclopentane,1,2-dimethyl-3-(1-methylethenyl) | t2                 | 1280                                       | Isomenthyl acetate       | 0.5                |
| 1285                                | borneol,acetate                               | 0.5                | 1287                                       | Eucarvone                | 0.2                |
| 1290                                | cyclohexanone,3-vinyl-3-methyl                | 2.2                | 1320                                       | <b>Piperitenone</b>      | 17.4               |
| 1398                                | 2,3-dimethylhydroquinone                      | 1.1                | 1391                                       | $\beta$ -Bourbonene      | 0.1                |
| 1312                                | 4-hydroxy-3-methylacetophenone                | 0.4                | 1484                                       | Germacrene D             | 1.1                |
| 1354                                | pulespenone                                   | 6.4                | Total Identified 95.4                      |                          |                    |
| 1380                                | $\beta$ -elemene                              | 0.5                |                                            |                          |                    |
| 1382                                | durohydroquinone                              | 0.2                |                                            |                          |                    |
| 1385                                | $\beta$ -caryophyllene                        | 2.2                |                                            |                          |                    |
| 1390                                | $\beta$ -cubebene                             | 0.4                |                                            |                          |                    |
| 1454                                | $\alpha$ -humulene                            | 0.2                |                                            |                          |                    |
| 1468                                | (+)-epi-bicyclosesquiphellandrene             | 0.3                |                                            |                          |                    |
| 1482                                | germacrene-D                                  | 1.5                |                                            |                          |                    |
| 1524                                | $\gamma$ -cadinene                            | 0.2                |                                            |                          |                    |
| Total Identified 97.46              |                                               |                    |                                            |                          |                    |

#### آنالیز ترکیبات شیمیایی اسانس

اسانس مرزه خوزستانی غنی از کارواکرول (۴۹/۴٪) می‌باشد و سایر ترکیبات اصلی آن بتا- بیسابولن (۹/۳٪)، پی- سیمن (۹/۱٪) و

گاما- ترپینن (۵/۴٪) مشخص شد. در اسانس آویشن خراسانی تیمول (۳۹/۶٪) به عنوان جزء عمده تعیین گردید و کارواکرول (۲۱/۴٪) و گاما- ترپینن (۸٪) جزء سایر ترکیبات اصلی بودند. پیریتون (۱۳/۳٪)، سیس- دی هیدرو کارون (۱۰/۶٪)، ۱ و ۸- سینئول (۸/۵٪)

## نتیجه‌گیری

ترکیبات گیاهی مورد آزمون در غلظت زیر-بازدارندگی، پتانسیل قابل قبولی در مهار عوامل پر آزاری بیمارگر در آزمون‌های درون شیشه نشان دادند. با توجه به روند رو به گسترش استقبال عمومی کاربران از ترکیبات طبیعی کنترل‌کننده حوزه بیماری‌های گیاهی، به‌نظر می‌رسد برنامه‌ریزی در راستای چگونگی بکارگیری از فرآورده‌های گیاهی در جهت کاهش مصرف سموم قابل بررسی و نیازمند آزمایشات تکمیلی می‌باشد. در ارتباط با بیماری‌های مستقر در باغ مانند شانکر باکتریایی، به‌منظور کاهش گسترش علایم بیماری و افزایش طول عمر درخت می‌توان از مواد مؤثره اصلی (مونوترپن‌های اکسیژنی) اسانس‌های گیاهان مرزه خوزستانی و آویشن خراسانی به عنوان ساختار شیمیایی الگو در جهت سنتز مواد ضد میکروبی با استفاده از تخصص افراد در حیطه شیمی و داروسازی بهره گرفت. بررسی پایداری و حفظ ویژگی‌های ضد میکروبی مواد سنتز شده در شرایط آزمایشگاهی و باغی پیشنهاد می‌گردد.

## سپاسگزاری

نگارندگان از دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر حمایت مالی این پروژه با کد ۳/۵۱۶۷۱ قدردانی می‌نمایند.

غالب‌ترین ترکیبات اسانس پونه بودند و پی-متا-۳ و ۸-دیئن (۷/۲٪)، پولسپنون (۶/۴٪) و آلفا-پین (۵/۵٪) نیز در مقادیر کمتری یافت شدند. در اسانس کاکوتی نیز ترکیبات غالب پولگون (۴۲/۷٪)، پیریتون (۱۶/۴٪)، پی-متا-۳-ان-۸-ال (۱۲/۵٪) و تیمول (۸٪) تعیین گردیدند. به‌طور کلی مونوترپن‌های اکسیژنه به‌عنوان ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده اسانس‌های مورد مطالعه تشخیص داده شدند (جدول ۳).

در پژوهش حاضر، تیمول، کارواکرول و گاما-ترپنین به‌عنوان سه جزء اصلی و فعال اسانس آویشن خراسانی تشخیص داده شدند که در مطالعات ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi et al., 2008) نیز به‌عنوان ترکیبات اصلی اسانس آویشن خراسانی گزارش شده است. کارواکرول نیز به‌عنوان ترکیب اصلی اسانس مرزه خوزستانی در مطالعات فرزانه و همکاران (Farzaneh et al., 2015) و حاجیان ملکی (Hajian-Maleki et al., 2019) گزارش شده است. سپس دی‌هیدروکارون و پیریتون به‌عنوان مهم‌ترین ترکیبات اسانس پونه در این پژوهش و مطالعات پیشین (Golparvar et al., 2015) تشخیص داده شد. همچنین مطابق با مطالعات پیشین (Amiri, 2009) پولگون و پیریتون و پی-متا-۳-ان-۸-ال به‌عنوان سه ترکیب غالب در اسانس کاکوتی تشخیص داده شد. به‌نظر می‌رسد بالاترین مقادیر ترکیبات موجود در اسانس‌ها، دارای قدرت ضد باکتریایی بالاتری می‌باشند.

## References

- Adams, R.P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (Vol. 456, pp. 544-545). Carol Stream: Allured publishing corporation.
- Agrios, G.N. (2005). *Plant Pathology* Academic Press. San Diego, USA.
- Alymanesh, MR., & Mirzaei, H. (2013). *Using some essential oils in the control of bacterial canker disease of stone fruit*. Proceeding of the second National Congress on Medicinal Plants. 15-16 May, Tehran, Iran, 1135.
- Amiri, H. (2009). Influence of growth phase on the essential oil composition of *Ziziphora clinopodioides* Lam. *Natural product research*, 23(7), 601-606. <https://doi.org/10.1080/14786410802113995>
- Bahar, M., Mojtahedi, A., & Akhiani, A. (1985). Bacterial Canker Apricot trees in Esfahan. Iran. *Plant Patho*, 18, 58-68.
- Bassole, I.H.N., Lamien-Meda, A., Bayala, B.O.L.C., Obame, L.C., Ilboudo, A.J., Franz, C., & Dicko, M.H. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine*, 18(12), 1070-1074. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.05.009>
- Bender, C.L., & Scholz-Schroeder, B.K. (2004). New insights into the biosynthesis, mode of action, and regulation of syringomycin, syringopeptin, and coronatine. In *Virulence and gene regulation* (pp. 125-158). Springer, Boston, MA.
- Bultreys, A., & Kaluzna, M. (2010). Bacterial cankers caused by *Pseudomonas syringae* on stone fruit species with special emphasis on the pathovars *syringae* and *morsprunorum* race 1 and race 2. *Journal of Plant Pathology*, S21-S33.
- Carezano, M.E., Sotelo, J.P., Primo, E., Reinoso, E.B., Paletti Rovey, M.F., Demo, M.S., & Oliva, M.D.L.M. (2017). Inhibitory effect of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* essential oils on virulence factors of phytopathogenic *Pseudomonas syringae* strains. *Plant Biology*, 19(4), 599-607. <https://doi.org/10.1111/plb.12572>
- Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58. <https://doi.org/10.3390/medicines4030058>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility

- tests; approved standard—12<sup>th</sup> ed. M02-A13. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. <https://clsi.org>
12. Ebrahimi, S.N., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A., & Yousefzadi, M. (2008). Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food Chemistry*, 110(4), 927-931. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.083>
13. Farhadfar, S., Keshavarzi, M., Bouzari, N., Moghadam, L., & Soleimani, A. (2016). Susceptibility of cherries to bacterial canker (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) in field and laboratory. *International Journal of Agriculture and Forestry*, 6(1), 20-7. <https://doi.org/10.5923/j.ijaf.20160601.04>
14. Farzaneh, M., Kiani, H., Sharifi, R., Reisi, M., & Hadian, J. (2015). Chemical composition and antifungal effects of three species of *Satureja* (*S. hortensis*, *S. spicigera*, and *S. khuzistanica*) essential oils on the main pathogens of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 145-151. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.06.014>
15. Gasic, K., Prokic, A., Ivanovic, M., Kuzmanovic, N., & Obradovic, A. (2012). Differentiation of *Pseudomonas syringae* pathovars originating from stone fruits. *Pesticidi i fitomedicina*, 27(3), 219-229. <https://doi.org/10.2298/PIF1203219G>
16. Golparvar, A.R., Hadipناه, A., & Mehrabi, A.M. (2015). Diversity in Chemical composition from two ecotypes of (*Mentha longifolia* L.) and (*Mentha spicata* L.) in Iran climatic conditions. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 6(4), 26-33.
17. Hajian-Maleki, H., Baghaee-Ravari, S., & Moghaddam, M. (2019). Efficiency of essential oils against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing potato soft rot and their possible application as coatings in storage. *Postharvest Biology and Technology*, 156, 110928. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.06.002>
18. Hwang, M.S., Morgan, R.L., Sarkar, S.F., Wang, P.W., & Guttman, D.S. (2005). Phylogenetic characterization of virulence and resistance phenotypes of *Pseudomonas syringae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 5182-5191. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.5182-5191.2005>
19. Ichinose, Y., Taguchi, F., & Mukaihara, T. (2013). Pathogenicity and virulence factors of *Pseudomonas syringae*. *Journal of General Plant Pathology*, 79(5), 285-296. <https://doi.org/10.1007/s10327-013-0452-8>
20. Jaymand, K., & Rezaee, M. (2007). Essential oil, Distillations Apparatuses, test Method of essential oil and Retention Indices in Essential oil Analysis. *Iranian Society of Medicinal Plants. Tehran*, 12, 106-108.
21. Kavanaugh, N.L., & Ribbeck, K. (2012). Selected antimicrobial essential oils eradicate *Pseudomonas* spp. and *Staphylococcus aureus* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(11), 4057-4061. <https://doi.org/10.1128/AEM.07499-11>
22. Kennelly, M.M., Cazorla, F.M., de Vicente, A., Ramos, C., & Sundin, G.W. (2007). *Pseudomonas syringae* diseases of fruit trees: progress toward understanding and control. *Plant Disease*, 91(1), 4-17. <https://doi.org/10.1094/PD-91-0004>
23. Khodaygan, P., Sedaghati, A., Hosseinipour, A., & Baghaee-Ravari, S. (2012). Study on canker disease of stone fruits and antibacterial effects of some essential oils on its causal agent in Kerman province. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 48(3), 303-317.
24. López Belchí, M.D., Cantó-Tejero, M., & Pascual-Villalobos, M.J. (2021). New insights into Biopesticides: Solid and liquid formulations of essential oils and derivatives. *Frontiers in Agronomy*, 3, 763530. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.763530>
25. Matas, I.M., Lambertsen, L., Rodríguez-Moreno, L., & Ramos, C. (2012). Identification of novel virulence genes and metabolic pathways required for full fitness of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive (*Olea europaea*) knots. *New Phytologist*, 196(4), 1182-1196. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04357.x>
26. Myska, K., Schmidt, M.T., Majcher, M., Juzwa, W., Olkowicz, M., & Czarczyk, K. (2016). Inhibition of quorum sensing-related biofilm of *Pseudomonas fluorescens* KM121 by *Thymus vulgaris* essential oil and its major bioactive compounds. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 114, 252-259. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.07.006>
27. Oliva, M.D.L.M., Carezzano, M.E., Giuliano, M., Daghero, J., Zygodlo, J., Bogino, P., & Demo, M. (2015). Antimicrobial activity of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on phytopathogenic strains isolated from soybean. *Plant Biology*, 17(3), 758-765. <https://doi.org/10.1111/plb.12282>
28. O'May, C., & Tufenkji, N. (2011). The swarming motility of *Pseudomonas aeruginosa* is blocked by cranberry proanthocyanidins and other tannin-containing materials. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(9), 3061-3067. <https://doi.org/10.1128/AEM.02677-10>
29. Pavela, R., & Benelli, G. (2016). Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in Plant Science*, 21(12), 1000-1007. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>
30. Ramezani, A., Azadi, M., Mostowfizadeh-Ghalemfarsa, R., & Saharkhiz, M.J. (2016). Effect of *Zataria multiflora* Boiss and *Thymus vulgaris* L. essential oils on black rot of 'Washington Navel' orange fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 112, 152-158. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.10.011>
31. Rasoolzadegan, Y. (1997). *Temperate Zone Fruits*. Esfahan University pub. 759 pp.

32. Romero, C.M., Vivacqua, C.G., Abdulhamid, M.B., Baigori, M.D., Slanis, A.C., Allori, M.C.G.D., & Tereschuk, M. . (2016). Biofilm inhibition activity of traditional medicinal plants from Northwestern Argentina against native pathogen and environmental microorganisms. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 49, 703-712. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0452-2016>
33. Santos, C.A., Almeida, F.A., Quecán, B.X., Pereira, P.A., Gandra, K., Cunha, L.R., & Pinto, U.M. (2020). Bioactive properties of *Syzygium cumini* (L.) skeels pulp and seed phenolic extracts. *Frontiers in Microbiology*, 11, 990. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00990>
34. Shabani, B., Rezaei, R., Charehgani, H., & Salehi, A. (2019). Study on antibacterial effect of essential oils of six plant species against *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* Van Hall 1902 and *Pseudomonas fluorescens* Migula 1894. *Journal of Plant Pathology*, 101(3), 671-675. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00266-x>
35. Singh, A., Gupta, R., Tandon, S., & Pandey, R. (2017). Thyme oil reduces biofilm formation and impairs virulence of *Xanthomonas oryzae*. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1074. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01074>
36. Spotts, R.A., Wallis, K.M., Serdani, M., & Azarenko, A.N. (2010). Bacterial canker of sweet cherry in Oregon- Infection of horticultural and natural wounds, and resistance of cultivar and rootstock combinations. *Plant Disease*, 94(3), 345-350. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-3-0345>



## Research Article

Vol. 37, No. 4, 2024, p. 399-410

## Molecular Detection of Three Viruses Infecting Mallow Plants in Golestan Province

M. Sadeghi Nichkoochi<sup>1</sup>, Z. Moradi<sup>2\*</sup>, M. Mehrvar<sup>3</sup>, V. Babaeizad<sup>4</sup>

1, 2 and 4- M.Sc. Student, Assistant Professor, and Associate Professor, Department of Plant Pathology, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran, respectively.

3- Associate Professor, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

\*-Corresponding author Email: [z.moradi@sanru.ac.ir](mailto:z.moradi@sanru.ac.ir)

Received: 21-07-2023

Revised: 26-09-2023

Accepted: 01-10-2023

Available Online: 01-10-2023

**How to cite this article:**

Sadeghi Nichkoochi, M. Moradi, Z. Mehrvar, M & Babaeizad, V (2024). Molecular Detection of Three Viruses Infecting Mallow Plants in Golestan Province. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 37(4), 399-410. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.2023.83549.1157>

### Introduction

The genus *Malva* (family *Malvaceae*) includes species of herbaceous plants which are often pluriannual and very common in borders and boundaries of cultivated fields, making them proper reservoirs for plant pathogens. They are most commonly used as ornamental plants, although they may be used as a food resource and remedy for various diseases. Common mallow (*Malva sylvestris*) is the most important *Malva* species which is used as garden flower as well as widely recognized for food and medicinal purposes. *Malva sylvestris* are reported to be affected by several viruses from different genera including malva vein clearing virus (MVCV, *Potyvirus*), alfalfa mosaic virus (AMV, *Alfavirus*), malva-associated soymovirus 1 (MaSV1, *Soymovirus*) cucumber mosaic virus (CMV, *Cucumovirus*), and cotton leaf curl Gezira virus (CLCuGeV, *Begomovirus*). In this study, we attempted to identify important viruses infecting mallow plants and compare mallow isolates with other sequences in the GenBank.

### Materials and Methods

In 2022-2023, twenty samples of mallow plants with viral-like symptoms on the leaves were collected from the urban landscape of Golestan province. Total RNA was extracted by DENAzist Total RNA Isolation Kit from fresh, infected mallow leaves. All samples were analyzed by RT-PCR with specific primer pairs for the detection of CMV, AMV, and MVCV. The amplified fragments in expected size of coat protein (CP) gene of each virus were visualized under UV light in agarose gel after electrophoresis, then amplified fragment of one isolate of each virus was bi-directionally sequenced. Obtained sequences were compared to data available in GenBank. The phylogenetic trees of viruses were constructed based on the nucleotide sequences of the coat protein gene using the neighbor-joining method by MEGA11.

### Results and Discussion

All three viruses were detected in some symptomatic samples collected from Golestan province. The most typical symptoms in positive samples were mosaic, vein clearing, and leaf malformation. Of a total of 20 sampled plants, MVCV, CMV and AMV were detected by RT-PCR in nine, five and two samples, respectively. An amplicon of each virus was selected and sequenced in both directions. BLASTn analysis of the sequenced data confirmed that the PCR-amplified fragments belonged to MVCV, AMV, and CMV. Phylogenetic analysis based on the nucleotide sequence of CP gene of MVCV (n=21) including Iranian and GenBank isolates showed



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/jpp.2023.83549.1157>

that all isolates are divided into six groups: G1 to G6. All Iranian isolates along with the isolate from the Netherlands were placed in group G5. The phylogenetic tree placed the CMV sequences (n=51) into two distinct phylogroups I and II; the obtained isolate CMV-IR-Ma clustered together with isolates from Iran, Netherlands, South Korea, Japan, China, Hungary, Australia, France and the USA into group II. According to the results of this study, AMV isolates (n=17) can be divided into two groups, I and II. Group I which includes isolates from Canada, China, Italy, Spain, Argentina, Australia and the USA, was divided into six subgroups. The obtained isolate AMV-IR-Ma was clustered in subgroup IB with a Chinese isolate (HZ) and forms a common branch with isolates (Ir-VM, Ir-WS, and Ir-WS2) from Iran. This is the first report of mallow (*Malva sylvestris*) infection with CMV and AMV in Iran using RT-PCR. In addition, mixed infection with two (MVCV+CMV and MVCV+AMV) or all three viruses (MVCV+CMV+AMV) was also confirmed in some samples. The phylogenetic trees showed that most of the viral isolates were not grouped according to their geographic locations. This suggests the dissemination and spread of these viruses through infected seeds. In Iran, *M. sylvestris* is a common weed found in fields, waste grounds, roadside verges and gardens. Considering the potential non-persistent aphid transmission as well as mechanical transmission, virus-infected mallows can act as a natural reservoir, thereby posing a threat to other ornamental plants and crops. Since the studied viruses were not detected in the other symptomatic plants, the observed symptoms can be caused by physiological disorders such as nutrient deficiencies, the presence of different viral strains, or other unknown and undetected viral species.

### Conclusions

This study provides new knowledge on the diversity and molecular characteristics of viruses in mallow plants (*M. sylvestris*) affected by the viral disease. The information obtained from this study can be helpful in improving management strategies for disease caused by these viruses in Iran. Albeit *M. sylvestris* is a host of these viruses, but more comprehensive research on other viral species that may infect this plant need to be conducted. Weed management could be an effective way to eliminate inoculum sources of these viruses.

**Keywords:** Viral diseases, Mallow, Sequencing, Detection

## مقاله پژوهشی

جلد ۳۷ شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص. ۳۹۹-۴۱۰

## ردیابی مولکولی سه ویروس آلوده کننده گیاه پنیرک در استان گلستان

محدثه صادقی نیچکوهی<sup>۱</sup> - زهره مرادی<sup>۲\*</sup> - محسن مهرور<sup>۳</sup> - ولی اله بابایی زاد<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۹

## چکیده

ویروس‌های گیاهی یکی از عوامل مهم محدودکننده تولید گیاهان مختلف می‌باشند. در این مطالعه وقوع سه ویروس مهم به نام‌های ویروس موزاییک خیار (cucumber mosaic virus, CMV)، ویروس موزاییک یونجه (alfalfa mosaic virus, AMV)، و ویروس رگبرگ روشنی پنیرک (malva vein clearing virus, MVCV) در گیاهان پنیرک (*Malva sylvestris*) در استان گلستان مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، در سال‌های ۱۴۰۱-۱۴۰۲، تعداد ۲۰ نمونه برگ با علائم مشکوک به آلودگی ویروسی از فضای سبز و گلخانه‌های پرورش این گیاه جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها توسط آزمون مولکولی Reverse transcription- polymerase chain reaction (RT-PCR) با آغازگرهای اختصاصی مربوط به هر ویروس مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر سه ویروس ردیابی شدند و در مجموع بیشترین آلودگی مربوط به ویروس MVCV بود (نه نمونه)، پس از آن به ترتیب CMV (پنج نمونه) و AMV (دو نمونه) قرار داشتند. در بررسی مولکولی نمونه‌ها، ترادف ژن پروتئین پوششی (CP) جدایه MVCV مورد مطالعه (Ma2) بیشترین شباهت نوکلئوتیدی را با جدایه ایرانی IR1 (۹۹/۶۷ درصد) و بعد از آن با جدایه NAKT-NL از هلند (۹۳/۷۳ درصد) نشان داد. ترادف ژن CP جدایه CMV-IR-Ma بیشترین شباهت (۹۹-۱۰۰ درصد) را با جدایه‌های Ir-WS و Ir-VM از خراسان رضوی و جدایه Tsh از چین داشت. ترادف ژن CP جدایه AMV-IR-Ma دارای بیشترین شباهت نوکلئوتیدی (۹۸-۹۹ درصد) با جدایه‌های Ir-WS، Ir-VM و Ir-WS2 از خراسان رضوی بود. براساس اطلاعات نگارندگان، این اولین گزارش از آلودگی گیاه پنیرک به ویروس‌های AMV و CMV در ایران با استفاده از آزمون RT-PCR می‌باشد. نتایج این تحقیق زمینه را برای کارهای تکمیلی از جمله بررسی آلودگی مخلوط ویروس‌ها، ارزیابی خسارت، و میزان پراکندگی آنها فراهم می‌نماید.

## واژه‌های کلیدی: بیماری‌های ویروسی، پنیرک، توالی‌یابی، ردیابی

## مقدمه

آلودگی‌های ویروسی گیاه یکی از جدی‌ترین مسائل تهدید کننده و برهم زننده امنیت غذایی در سراسر جهان بوده که منجر به زیان

قابل توجهی در تولید محصول می‌شوند. جنس *Malva* (خانواده *Malvaceae*) شامل گونه‌هایی است که اغلب چند ساله بوده و معمولاً در فضای سبز شهری به عنوان گیاهان زینتی کاشته می‌شوند. گونه‌های مختلف *Malva* به عنوان گیاهان دارویی نیز شناخته شده‌اند و به طور گسترده‌ای برای اهداف غذایی و دارویی در نقاط مختلف جهان استفاده می‌شوند (Heydarirad; Gasparetto et al., 2012; Al- Rubaye et al., 2017; et al., 2017). *Malva sylvestris* (پنیرک معمولی)، مهمترین گونه جنس *Malva*، بومی منطقه مدیترانه است که می‌تواند میزبان ویروس‌های مهم گیاهی از جنس‌های مختلف باشد. برخی از ویروس‌های بیماری‌زایی که از روی *M.*

۱، ۲، و ۴- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، استادیار و دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران  
۳- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، خراسان رضوی، ایران

(\*)-نویسنده مسئول: (Email: z.moradi@sanru.ac.ir)  
<https://doi.org/10.22067/jpp.2023.83549.1157>

(Edwardson and Christie, 1997). در طبیعت حداقل ۲۵ گونه شته به صورت ناپایا قادر به انتقال AMV هستند که در این میان شته سبز هلو (*Myzus persicae*) کارآترین آنها می‌باشد. همچنین انتقال این ویروس توسط بذر، دانه گرده، غده، گونه‌های مختلف سس، و تلقیح مکانیکی عصاره آلوده به گیاهان سالم نیز امکان‌پذیر است (Hiruki and Hampton, 1990; He et al., 2010). علائم AMV با توجه به ژنوتیپ میزبان می‌تواند متفاوت می‌باشد، هرچند در برخی شرایط ممکن است بدون علائم خاصی در گیاه باشد. این ویروس باعث ایجاد علائمی مانند کوتولگی، بدشکلی، موزاییک زرد روشن تا سفید در برگ‌های یونجه، زردی برگ‌ها در نخود، زرد و ابلقی شدن برگ‌ها (*Calico*)، نکروز رگبرگ‌ها و غده‌ها در سیب‌زمینی می‌شود (Jaspars and Bos, 1980; Balasubramaniam et al., 2006). AMV دارای چهار نوع پیکره می‌باشد که سه تای آن باسیلی شکل و پیکره چهارم کروی شکل می‌باشد. ژنوم آن از سه قطعه RNA تک رشته با قطبیت مثبت به نام‌های RNA1، RNA2، و RNA3 تشکیل شده است، همچنین دارای یک RNA زیرژنومی (*sgRNA*) می‌باشد که از ناحیه ۳' قطعه RNA3 نسخه‌برداری می‌شود (Bujarski et al., 2012). RNA1 و RNA2 دارای یک چارچوب ژنی بزرگ هستند که پروتئین‌های رپلیکاز P1 و P2 را رمزگذاری می‌کنند که این پروتئین‌ها در همانندسازی ویروس نقش دارند. RNA3 دارای دو چارچوب ژنی بوده و پروتئین‌های حرکتی (MP) و پوششی (CP) را رمزگذاری می‌کند (Bol, 1999; Van Dun et al., 1987). در واقع، CP توسط *sgRNA* رمزگذاری می‌گردد (Smit and Jaspars, 1982). تمامی قطعات ژنومی در انتهای ۵' خود دارای ساختار *cap* و در انتهای ۳' دارای یک ساختار شبه *t-RNA* هستند.

ویروس رشته‌ای MVCV متعلق به جنس *Potyvirus* (خانواده *Potyviridae*) بوده و به طور طبیعی گیاهان خانواده *Malvaceae* را آلوده می‌کند و باعث ایجاد موزائیک خفیف تا شدید، بدشکلی برگ، رگبرگ روشنی، و کلروز خفیف می‌گردد. انتقال آن توسط شته‌ها به طریق ناپایا و توسط عصاره گیاه آلوده به روش مکانیکی صورت می‌گیرد (Horváth, 1979; Lunello et al., 2009). ژنوم آن از یک مولکول RNA تک‌رشته مثبت تشکیل شده که در انتهای ۳' دارای *polyA* و در انتهای ۵' دارای *vpg* می‌باشد (King et al., 2012). با توجه به اینکه این گیاهان در حاشیه‌ی باغ‌ها و مزارع بسیار رایج هستند، می‌توانند به عنوان منبع مناسبی برای آفات و عوامل بیماری‌زای گیاهی عمل نمایند. استراتژی کلی مدیریت بیماری‌های ویروسی در گیاهان زینتی و دارویی شامل شناسایی سریع و حذف آلودگی‌های ویروسی در مناطق کشت، اعمال ضوابط بهداشتی-قرنطینه‌ای و کنترل ناقلین آنها می‌باشد (Hull, 2014). از اینرو تشخیص به‌موقع

*sylvestris* به روش سرولوژیکی و یا مولکولی در سراسر جهان گزارش شده‌اند شامل: *malva vein clearing virus* (جنس *alfalfa mosaic virus* (جنس *Alfavirus*), *cucumber mosaic virus* (جنس *Cucumovirus*), و *associated soybean mosaic virus 1* (جنس *Soymovirus*), و *leaf curl Gezira virus* (جنس *Begomovirus*) می‌باشند (Moradi; Bergua et al., 2014; Ozdag and Sertkaya, 2017; Bananej et al., 2022; Maachi et al., 2022; and Mehrvar, 2023). برخی از این ویروس‌ها تأثیرات منفی قابل‌توجهی روی این گیاهان دارند و سبب ایجاد طیف وسیعی از علائم می‌شوند. CMV متعلق به جنس *Cucumovirus* از خانواده *Bromoviridae* دارای پراکنش جهانی بوده، و در ایران نیز از مناطق مختلف گزارش شده است. این ویروس در مقایسه با دیگر ویروس‌های گیاهی دارای دامنه میزبانی وسیع‌تری بوده و قادر به آلوده‌سازی ۱۳۰۰ گونه در بیش از ۱۰۰ خانواده گیاهی است (García-Arenal & Palukaitis, 2008; Duarte et al., 2013). CMV از طریق شته، بذر آلوده، پیوند و انتقال مکانیکی منتقل می‌شود، همچنین گیاهان خودروی مختلف نیز به عنوان منبع آلودگی و عامل انتشار این ویروس محسوب می‌شوند (Jacquemond, 2012). پیکره آن ایزومتریک و ژنوم از سه قطعه RNA تک رشته با قطبیت مثبت تشکیل شده است (Palukaitis and García-Arenal, 2003). RNA1 پروتئین 1a را رمزگذاری می‌کند که برای تکثیر ویروس ضروری است و دارای دامنه متیل ترانسفراز در انتهای N و دامنه هلیکاز در انتهای C است (Kadaré and Haenni, 1997). RNA2 پروتئین 2a و 2b را رمزگذاری می‌کند. پروتئین 2a نقش مهمی در همانندسازی دارد (O'Reilly and Kao, 1998)، و 2b نیز در حرکت مسافت طولانی، سرکوب خاموشی ژن و بیماری‌زایی ویروس نقش دارد (Soards et al., 2002). RNA3 نیز دو پروتئین 3a (پروتئین حرکتی ویروس) و 3b (پروتئین پوششی ویروس) را تولید می‌کند. انتهای ۵' RNAهای ژنومی متصل به *cap* و انتهای ۳' نیز دارای ساختار شبه *t-RNA* می‌باشند.

AMV گونه تیپ جنس *Alfavirus* (خانواده *Bromoviridae*) است که گسترش جهانی دارد و از نظر اقتصادی به عنوان عامل بیماری‌زای مهم در ایران و جهان مطرح می‌باشد (Salamon et al., 2020; Parrella et al., 2021; Gao et al., 2020). این ویروس دامنه میزبانی بسیار وسیعی دارد و بیش از ۷۰۰ گونه گیاهی متعلق به ۱۶۹ جنس از ۷۱ خانواده را آلوده می‌کند که بیشتر آنها متعلق به خانواده‌های *Solanaceae*، *Fabaceae*، *Asteraceae* و *Apiaceae* می‌باشند (Jasper and Bos, 1980; Moradi and Mehrvar, 2021; Xu and Nie, 2006).

آلودگی ویروسی، اطلاعات مربوط به علائم بیماری و خصوصیات عوامل بیماری‌زا به توسعه عملی روشهای پیشگیری از بیماری و به حداقل رساندن استفاده از آفت‌کش‌ها کمک می‌کند. با توجه به پراکنش گسترده ویروس‌های مهم و خسارت‌زای نامبرده در گیاهان مختلف در دنیا، لذا هدف از این تحقیق شناسایی و بررسی میزان آلودگی مخلوط آنها برای اولین بار در کشور از روی *M. sylvestris* با استفاده از آزمون‌های مولکولی و تعیین جایگاه تبارزایی جدایه‌های ایرانی به منظور دستیابی به اطلاعات کافی و تدوین برنامه مدیریتی مناسب می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### نمونه‌برداری

در سالهای ۱۴۰۱ تا ۱۴۰۲ طی بازدید از محوطه، فضای سبز و گلخانه‌های پرورش پنیرک در استان گلستان، ۲۰ نمونه برگ (۶ نمونه از آزادشهر، ۹ نمونه از گرگان، و ۵ نمونه از گنبد کاووس) از گیاهان دارای نشانه‌های بیماری ویروسی جمع‌آوری شد. هر نمونه گیاهی بر مبنای علائمی از قبیل موزائیک، موزائیک زرد-روشن (ابلقی)، رگبرگ روشنی، و بدشکلی برگها (شکل ۱) جمع‌آوری و در شرایط خنک به آزمایشگاه منتقل گردید.

### ردیابی مولکولی ویروس‌ها با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمران با نسخه‌برداری معکوس (Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)

با استفاده از کیت استخراج RNA (شرکت دنازیست، ایران) و براساس دستورالعمل شرکت سازنده، RNA کل از بافت برگ نمونه‌ها استخراج شد. نمونه‌های RNA استخراج شده با استفاده از آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر ژن کامل پروتئین پوششی هر ویروس وارد واکنش RT-PCR دو مرحله‌ای گردید. در مورد AMV از آغازگرهای توصیفی توسط معصومی و همکاران (*Masumi et al., 2012*) و در مورد CMV از آغازگرهای اختصاصی ارائه شده توسط هو و همکاران (*Hu et al., 2016*)، و برای MVCV از آغازگرهای طراحی شده در این پژوهش (براساس توالی ژنوم کامل جدایه ایرانی این ویروس با رس شمار MZ555807) استفاده شد (جدول ۱). آزمون نسخه‌برداری معکوس در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر به صورت زیر انجام شد: سه میکرولیتر از RNA کل استخراج شده با دو میکرولیتر از آغازگر اختصاصی معکوس مربوط هریک از ویروس‌ها و هشت میکرولیتر آب دیونیزه مخلوط و میکروتیوب در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه قرار داده شد. سپس دو میکرولیتر مخلوط dNTPs (۱۰ میلی‌مولار)، چهار میکرولیتر بافر ۵X واکنش (5X RT Buffer) و یک میکرولیتر آنزیم نسخه‌بردار معکوس

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از مخلوط آماده PCR (Taq DNA Polymerase Master Mix Red (شرکت Ampliqon)، دانمارک) انجام شد. برای انجام این آزمون، سه میکرولیتر از محصول مرحله رونوشت‌برداری برگردان (cDNA)، یک میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای مستقیم و معکوس هر یک از ویروس‌ها (غلظت ۱۰ پیکومول)، و ۱۲/۵ میکرولیتر از مخلوط آماده Master Mix Red PCR با هم ترکیب و در نهایت با آب مقطر استریل حجم نهایی به ۲۵ میکرولیتر رسید. واکنش در دستگاه ترموسایکلر طبق برنامه توصیفی برای هر یک از سه ویروس انجام گرفت. بدین ترتیب که برای MVCV برنامه به صورت  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۵ ثانیه،  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۹۴ ثانیه،  $55^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه،  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۹۰ ثانیه و در پایان یک چرخه در دمای  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۵ ثانیه، در مورد AMV برنامه به صورت  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت پنج دقیقه،  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۵ ثانیه،  $58^{\circ}\text{C}$  به مدت ۶۰ ثانیه،  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۶۰ ثانیه و در پایان پنج دقیقه در  $72^{\circ}\text{C}$  و برای CMV به صورت  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت پنج دقیقه،  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۵ ثانیه،  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه،  $55^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه،  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۴۵ ثانیه و در پایان پنج دقیقه در  $72^{\circ}\text{C}$  انجام گردید. به منظور ارزیابی محصول حاصل از واکنش PCR از روش الکتروفورز در ژل آگارز یک درصد حاوی DNA Green viewer 0.5  $\mu\text{g/ml}$  (پارس توس، ایران) استفاده شد. نشانگر با وزن مولکولی استاندارد ۱۰۰ جفت بازی (سیناکلون، ایران) برای تعیین اندازه قطعات تکثیر یافته مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تأیید آلودگی و نیز بررسی جایگاه تبارزایی جدایه‌های ویروسی در مقایسه با جدایه‌های دنیا، محصول PCR قطعات تکثیر شده‌ی موردنظر پس از خالص‌سازی در دو جهت تعیین توالی شدند (شرکت ماکروژن، کره جنوبی). توالی‌های به دست آمده، با اطلاعات و توالی‌های موجود در بانک ژن (NCBI) مورد مقایسه قرار گرفتند. سپس با استفاده از نرم افزار BioEdit v.7.2.5 توالی‌های حاصل از خوانش مستقیم و معکوس مونتاژ شده و توالی استنتاجی (Consensus sequence) به دست آمد. داده‌های نوکلئوتیدی تعیین ترادف شده برای هر ویروس با دیگر جدایه‌های مربوط به آن ویروس که از قبل در پایگاه اطلاعاتی NCBI موجود بودند با استفاده از نرم افزار Mega 11 و روش ClustalW هم‌ردیف‌سازی چندگانه شدند. آنالیز تبارزایی با استفاده از روش Neighbor-Joining در نرم افزار Mega 11، با شاخص اعتبارسنجی bootstrap و با ۱۰۰۰ تکرار صورت گرفت. کلیه شاخه‌ها با ارزش بوت استرپ پایین‌تر از ۵۰ درصد ادغام شدند. در این تجزیه و تحلیل برای

عنوان عضو برون گروه (outgroup) استفاده شد. میزان شباهت نوکلئوتیدی و آمینواسیدی در توالی‌ها با هم‌ردیف‌سازی در نرم‌افزار SDT v.1.2 در الگوریتم MUSCLE محاسبه شد.

توالی‌های MVCV، CMV و AMV به ترتیب از توالی ژن کدکننده پروتئین پوششی ویروس‌های pea seed-borne mosaic virus، cucumber mosaic virus و peanut stunt virus به

جدول ۱- آغازگرهای مورد استفاده برای تشخیص عوامل ویروسی گیاه پنیرک  
Table1. The primers information used to detection of the mallow viral agents

| منبع                   | اندازه قطعه مورد انتظار | توالی (۵' - ۳')        | آغازگر   |
|------------------------|-------------------------|------------------------|----------|
| طراحی شده در این تحقیق | 909 bp                  | GCGGACGAAAAATTAAACGC   | MVCV-CPF |
|                        |                         | CTGAACACCTCTCATGCCA    | MVCV-CPR |
| Masumi et al., 2012    | 780 bp                  | CATTGATCGGTAATGGGCCGT  | AMV-F    |
|                        |                         | ATCCACCCAGTGGAGGTCAGCA | AMV-R    |
| Hu et al., 2016        | 657 bp                  | ATGGACAAATCTGAATCAACC  | CMV-CPF  |
|                        |                         | TCAGACTGGGAGCACCCC     | CMV-CPR  |

ها بود. بررسی‌ها نشان داد که از تعداد ۲۰ نمونه آزمایش شده با علائم مشکوک به آلودگی ویروسی به ترتیب نه نمونه آلوده به MVCV (۴۵ درصد)، پنج نمونه آلوده به CMV (۲۵ درصد)، و دو نمونه آلوده به AMV (۱۰ درصد) بودند. علاوه بر این، آلودگی مخلوط به دو (MVCV+CMV و MVCV+AMV) یا هر سه ویروس (MVCV+CMV+AMV) نیز در برخی نمونه‌ها تایید شد.

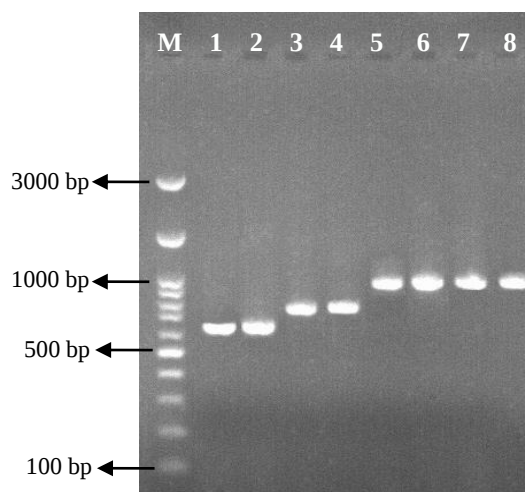
## نتایج و بحث

واکنش RT-PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی MVCV، AMV و CMV منجر به تکثیر قطعاتی به طول مورد انتظار برای هر یک از ویروس‌ها شد (شکل ۲). پس از توالی‌یابی، نتایج حاصل از جستجو با ابزار BLASTn در پایگاه داده‌های NCBI، حضور هر سه ویروس (MVCV، CMV، AMV) را در نمونه‌ها تایید نمود. قطعات تکثیر شده شامل طول کامل ژن پروتئین پوششی هر یک از ویروس-



شکل ۱- علائم موزائیک، رگبرگ روشنی، زردی، بدشکلی و تاوولی شدن سطح برگ در گیاهان پنیرک آلوده به MVCV، CMV و AMV.

Figure 1- Symptoms of mosaic pattern, vein clearing, light green, deformation, and blistering on Mallow leaves infected by MVCV, CMV, and AMV.



شکل ۲- نقوش الکتروفورزی قطعات DNA تکثیر شده در RT-PCR مربوط به توالی کامل ژن پروتئین پوششی هر یک از ویروسهای MVCV، CMV و AMV در ژل آگارز ۱٪. راهکهای ۱ و ۲: باندهای ۶۵۷ جفت‌بازی از RNA3 ویروس CMV با جفت آغازگر اختصاصی CMV-CPF/CPR. راهکهای ۳ و ۴: باندهای ۷۸۰ جفت‌بازی از RNA3 ویروس AMV با جفت آغازگر AMV-CPF/CPR. راهکهای ۵ تا ۸: باندهای ۹۰۹ جفت‌بازی مربوط به ژن کامل پروتئین پوششی ویروس MVCV با جفت آغازگرهای MVCV-CPF/R. راهک M: مارکر DNA ۱۰۰ جفت-بازی (سیناکلون).

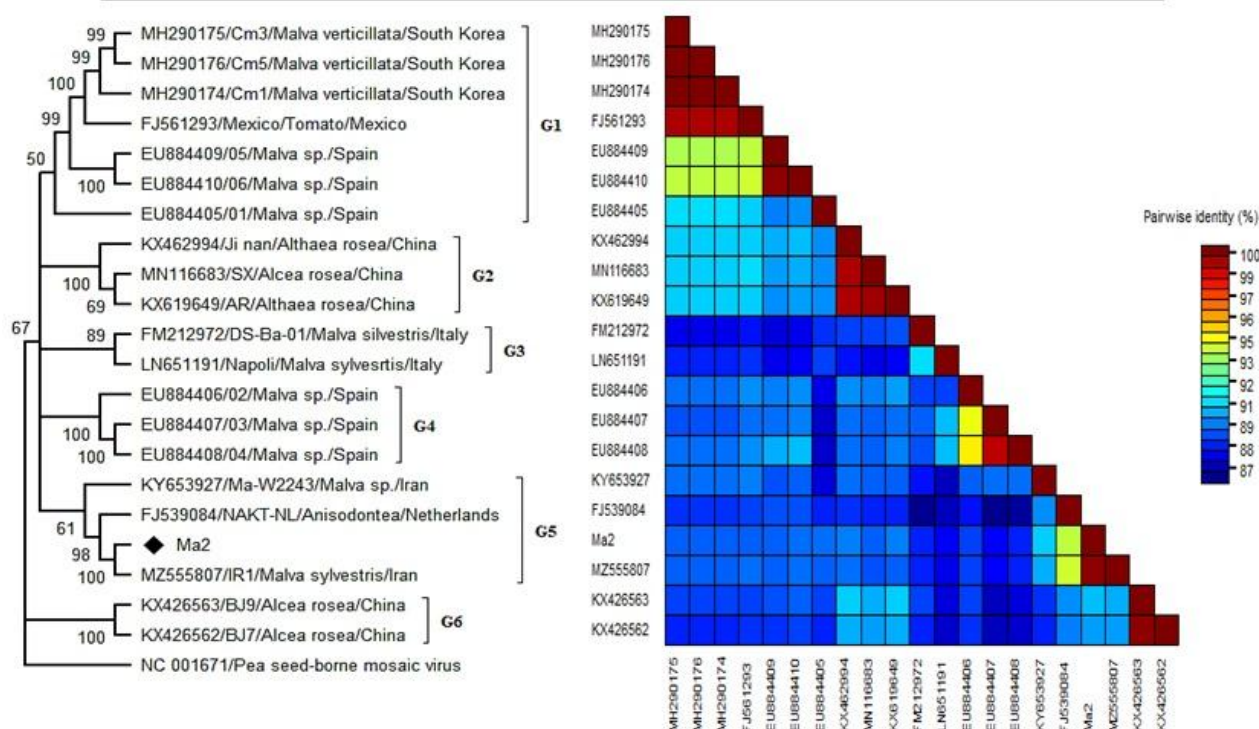
Figure 2- Electrophoresis patterns of DNA fragments amplified by RT-PCR in 1% agarose gel related to complete coat protein gene of each virus: MVCV, CMV, and AMV.

Lanes 1& 2: 657-bp fragments related to complete CP gene of CMV RNA3 amplified by specific primers CMV-CPF/CPR. Lanes 3& 4: 780-bp fragments related to complete CP gene of AMV RNA3 amplified by specific primers AMV-CPF/CPR. Lanes 5-8: 909-bp fragments related to complete CP gene of MVCV amplified by specific primers MVCV-CPF/R. M: 100 bp DNA marker (Sinaclon).

قابل شناسایی بود (شکل ۴). جدایه IR-Ma و جدایه‌های ایرانی Ir-VM، Ir-VS و Zin2 همراه با جدایه‌هایی از ژاپن، هلند، مجارستان، کره جنوبی، آمریکا، فرانسه، چین و استرالیا در گروه II قرار گرفتند که با مطالعات سایر محققان (Ohshima et al., 2020; Dabiri et al., 2016) همخوانی دارد. جدایه پنبه‌ای CMV (IR-Ma) در طول کامل ژن CP بین ۱۰۰-۷۵/۳۴ درصد با سایر جدایه‌های موجود در بانک ژن شباهت نوکلئوتیدی داشت. جدایه CMV IR-Ma دارای بیشترین شباهت نوکلئوتیدی با جدایه‌های Ir-VM و Ir-WS از خراسان رضوی (۱۰۰-۹۹/۸۵ درصد) و جدایه Tsh از چین (۹۹/۵۴-۹۹/۵۴ درصد) بوده و کمترین شباهت (۷۵/۳۴-۷۵/۹۵ درصد) را با جدایه‌های Vir از ایتالیا، Ixora از آمریکا و PHz از چین داشت. در سطح آمینواسیدی، میزان شباهت این جدایه با سایر جدایه‌ها بین ۱۰۰-۸۲/۱۱ درصد بود که بیشترین میزان شباهت (۱۰۰ درصد) با جدایه‌های ایرانی Ir-VM و Ir-WS و کمترین میزان شباهت (۸۲/۷۵-۸۲/۱۱ درصد) با جدایه‌های CS و WN1 از چین، CLW2 از مالزی، Mf و Ze از کره جنوبی، NT9 از تایوان، Ixora از آمریکا، I17F از فرانسه، و Vir از ایتالیا بود.

در درخت تبارزایی ترسیم شده بر اساس طول کامل ژن CP، ۲۱ جدایه ویروس MVCV به شش گروه تقسیم شدند. گروه G1 شامل جدایه‌هایی از کشورهای کره جنوبی، مکزیک، و اسپانیا می‌باشد. در گروه G2 سه جدایه از چین، در گروه G3 دو جدایه از ایتالیا، در گروه G4 سه جدایه از اسپانیا و در گروه G6 نیز دو جدایه از چین قرار گرفتند. جدایه مورد مطالعه (Ma2) در کنار جدایه‌های ایران (Ma- W2243 و IR1) و جدایه‌ای از هلند (NAKT-NL) در گروه G5 قرار گرفت (شکل ۳). در ماتریکس شباهت نوکلئوتیدی جدایه MVCV مورد مطالعه (Ma2) در طول کامل ژن CP بین ۹۹/۶۷-۸۷/۵۷ درصد با سایر جدایه‌های MVCV موجود در بانک ژن مشابه بود. جدایه Ma2 بیشترین شباهت نوکلئوتیدی (۹۹/۶۷ درصد) و آمینواسیدی (۱۰۰ درصد) را با جدایه IR1 (دیگر جدایه گزارش شده از این ویروس در استان گلستان) داشت. جدایه Ma2 کمترین شباهت نوکلئوتیدی (۸۷/۵۷ درصد) را با جدایه‌های 03 از اسپانیا و Napoli از ایتالیا داشت. جدایه مذکور کمترین شباهت آمینواسیدی را (۹۰/۰۹ درصد) با جدایه DS-Ba-01 از ایتالیا داشت.

در درخت تبارزایی ترسیم شده بر اساس طول کامل ژن CP ۵۱ جدایه CMV، دو شاخه اصلی (I و II) با حمایت بوت استرپ بالا



شکل ۳- درخت تبارزایی رسم شده براساس ترادف نوکلئوتیدی ژن کامل پروتئین پوششی جدایه‌ی پنیرک ویروس رگبرگ روشنی پنیرک و برخی از جدایه‌های موجود در بانک ژن (NCBI). رسم دندروگرام با استفاده از نرم‌افزار MEGA11 به روش Neighbor-joining با ۱۰۰۰ تکرار در ارزیابی bootstrap انجام شده است. مقادیر bootstrap کمتر از ۵۰ درصد فشرده شده‌اند. جدایه‌ی مورد بررسی در این مطالعه علامت‌دار شده است. از توالی ژن پروتئین پوششی ویروس موزاییک بذرزاد نخودفرنگی به عنوان عضو برون گروه استفاده شده است. در سمت راست پلات رنگی مقایسات دو به دو جدایه‌های MVCV به منظور محاسبه درصد تشابه نوکلئوتیدی نشان داده شده است.

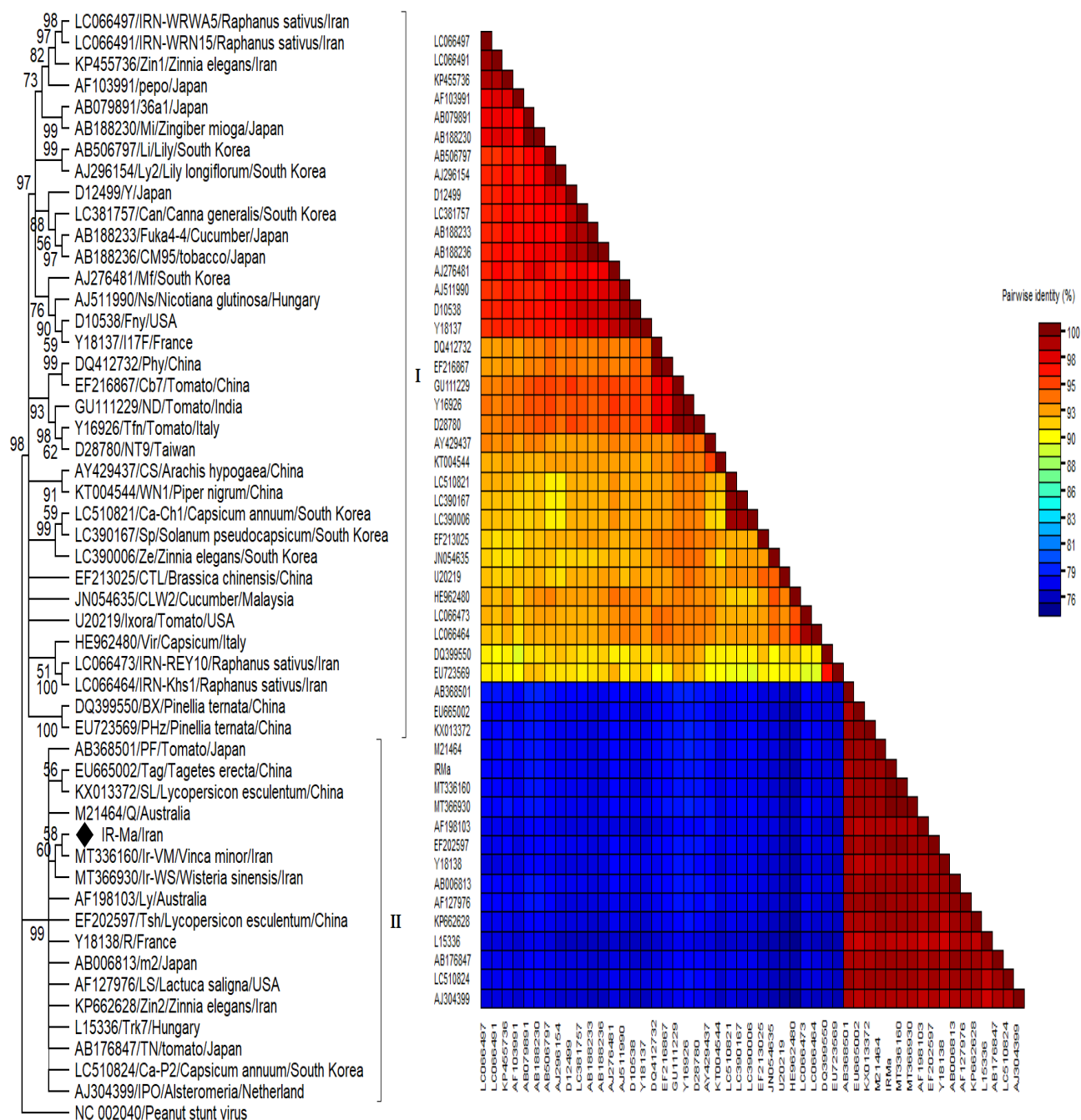
**Figure 3-** Phylogenetic tree constructed based on the nucleotide sequence of complete coat protein gene of mallow isolate of MVCV and other MVCV isolates available in NCBI GenBank database. The dendrogram was generated by MEGA11 using was used as an outgroup the neighbor- joining method with 1000 replicates of the bootstrap test. Pea seed-borne mosaic virus in this study. Two-dimensional pair wise sequence identity color plot of the MVCV isolates was shown at right.

رضوی) به ترتیب ۹۸/۳۳ و ۹۶/۳۳ درصد بود. کمترین تشابه نوکلئوتیدی (۹۳/۷۲ درصد) و آمینواسیدی (۸۹/۱۴ درصد) جدایه مورد مطالعه با استرین FERA\_160224 از بریتانیا بود.

در مطالعه حاضر، آلودگی گیاه پنیرک به AMV و CMV برای اولین بار در ایران با استفاده از آزمون RT-PCR گزارش شد. علائم بارز نمونه‌های آلوده در این بررسی به صورت موزاییک، رگبرگ روشنی، و بدشکلی برگ بود (شکل ۱) و در آلودگی مخلوط تفکیک ویروسها از روی علائم غیرممکن بود. از سوی دیگر با توجه به عدم ردیابی ویروسهای اشاره شده در سایر گیاهان علامت‌دار مورد بررسی، این احتمال وجود دارد که علائم مشاهده شده ناشی از عوارض فیزیولوژیکی همانند کمبود برخی عناصر غذایی، وجود نژادهای ویروسی مختلف و یا وجود گونه‌های ویروسی ناشناخته و ردیابی نشده‌ی دیگر باشد. بیماری‌های مهم ویروسی باعث ایجاد خسارت های مستمر بر تولیدات گیاهی می‌شوند، از اینرو شناسایی میزبانهای ویروس‌های مهم و خسارت‌زا برای مدیریت مناسب بیماری در برنامه-

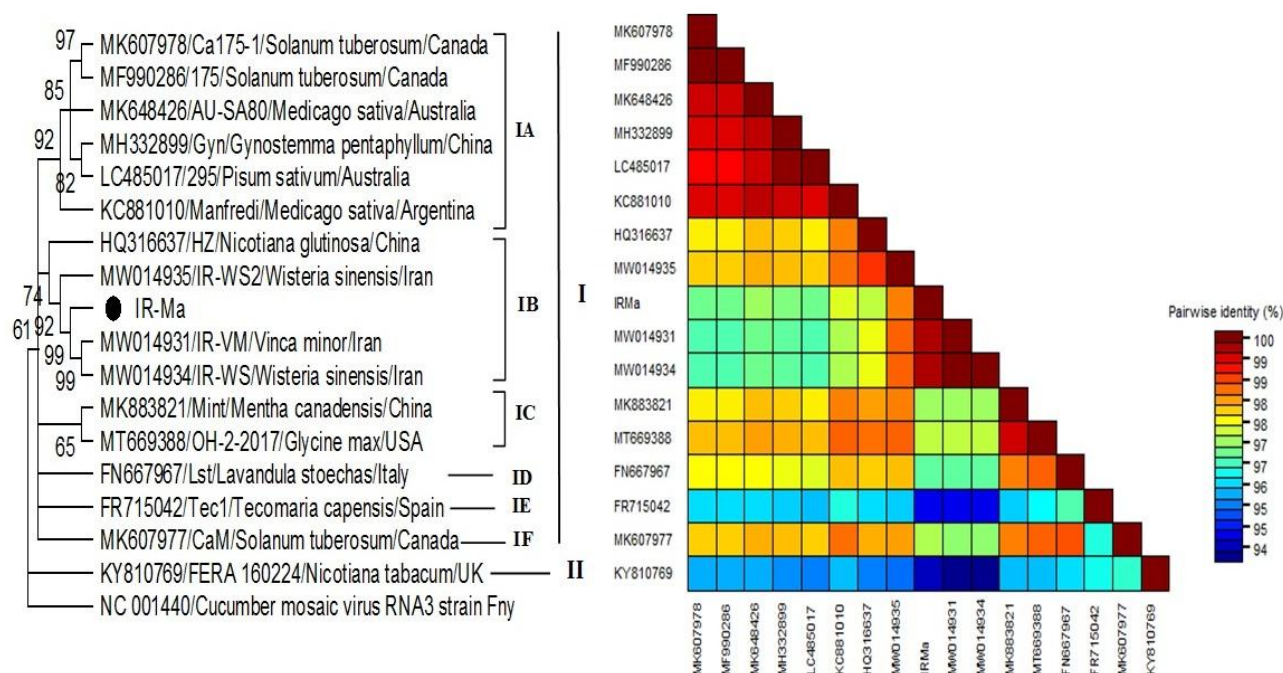
AMV در دو گروه اصلی جدا از هم (I, II) قرار گرفته و گروه I که شامل جدایه‌هایی از کشورهای کانادا، چین، ایتالیا، اسپانیا، آرژانتین، آمریکا و استرالیا می‌باشد، به شش زیرگروه تقسیم شد (شکل ۵). جدایه مورد مطالعه (AMV-IR-Ma) در کنار جدایه‌های ایران (Ir-WS، Ir-VM و Ir-WS2) و یک جدایه از چین (HZ) در زیر گروه IB قرار گرفت که با نتایج پژوهشهای قبلی (Moradi and Mehrvar, 2021) مطابقت دارد. جدایه FERA\_160224 از بریتانیا به تنهایی در زیرگروه II قرار گرفت. جدایه مورد مطالعه AMV-IR-Ma دارای ۹۹/۷۴-۹۳/۷۲ درصد تشابه نوکلئوتیدی و ۱۰۰-۸۹/۱۴ درصد تشابه آمینواسیدی با دیگر توالی‌های ثبت شده از این ویروس در بانک ژن در ناحیه ژنی مورد نظر بود. با مقایسه توالی‌ها، بیشترین درصد تشابه در سطح نوکلئوتیدی (۹۹/۷۴ درصد) و آمینواسیدی (۱۰۰ درصد) بین جدایه پنیرک گلستان (IR-Ma) و جدایه‌های Ir-VM و Ir-WS از خراسان رضوی وجود داشت. تشابه نوکلئوتیدی و آمینواسیدی جدایه AMV-IR-Ma با جدایه IR-WS2 (از خراسان

های بلند مدت موثر خواهد بود.



شکل ۴- درخت تبارزایی رسم شده براساس ترادف نوکلئوتیدی ژن کامل پروتئین پوششی ویروس موزاییک خیار-جدایه پنبه و برخی از جدایه های موجود در بانک ژن (NCBI). رسم دندروگرام با استفاده از نرم افزار MEGA11 به روش Neighbor-joining با ۱۰۰۰ تکرار در ارزیابی bootstrap انجام شده است. مقادیر bootstrap کمتر از ۵۰ درصد فشرده شده اند. جدایه ی مورد بررسی در این مطالعه علامت دار شده است. از توالی ژن پروتئین پوششی ویروس کوتولگی بادام زمینی به عنوان عضو برون گروه استفاده شده است. در سمت راست پلات رنگی مقایسات دو به دوی جدایه های CMV به منظور محاسبه درصد تشابه نوکلئوتیدی نشان داده شده است.

Figure 4- Phylogenetic tree constructed based on the nucleotide sequence of coat protein gene of mallow isolate of CMV and some CMV isolates available in NCBI GenBank database. The dendrogram was generated by MEGA11 using the neighbor-joining method with 1000 replicates of the bootstrap test. Peanut stunt virus was used as an outgroup in this study. Two-dimensional pair wise sequence identity color plot of the CMV isolates was shown at right.



شکل ۵- درخت تبارزایی رسم شده براساس ترادف نوکلئوتیدی ژن کامل پروتئین پوششی ویروس موزاییک یونجه-جدایه پتیرک و برخی از جدایه‌های موجود در بانک ژن (NCBI). رسم دندروگرام با استفاده از نرم‌افزار MEGA11 به روش Neighbor-joining با ۱۰۰۰ تکرار در ارزیابی bootstrap انجام شده است. مقادیر bootstrap کمتر از ۵۰ درصد فشرده شده‌اند. جدایه‌ی مورد بررسی در این مطالعه علامت‌دار شده است. از توالی ژن پروتئین پوششی ویروس موزاییک خیار به عنوان عضو برون گروه استفاده شده است. در سمت راست پلات رنگی مقایسات دو به دوی جدایه‌های AMV به منظور محاسبه درصد تشابه نوکلئوتیدی نشان داده شده است.

**Figure 6-** Phylogenetic tree constructed based on the nucleotide sequence of coat protein gene of mallow isolate of AMV and some AMV isolates available in NCBI GenBank database. The dendrogram was generated by MEGA11 using the neighbor-joining method with 1000 replicates of the bootstrap test. Cucumber mosaic virus was used as an outgroup in this study. Two-dimensional pair wise sequence identity color plot of the AMV isolates was shown at right.

آلودگی با پتانسیل بالا داشته باشد (Bananej *et al.*, 2021). از سوی دیگر، ناقل هر سه ویروس گونه‌های مختلف شته می‌باشد که با توجه به شرایط اکولوژیکی مناسب برای فعالیت ناقل، وجود گیاهان حساس و خودرو منبع ویروس، این احتمال وجود دارد که در آینده شاهد گسترش بیشتر این ویروس‌ها در مناطق شمالی و روی سایر گیاهان زینتی و محصولات زراعی باشیم. از اینرو پیشنهاد می‌شود علفهای خودرو حذف شده، و تحقیق‌های جامع‌تری در مورد گونه‌های دیگر ویروسی صورت گیرد تا بتوان استراتژی‌های با دوام‌تر و کارآتر برای مدیریت بیماری در نظر گرفت.

همچنین مطالعات تبارزایی نشان داد که ۱۷ جدایه ویروس علاوه بر این، میزبان‌های جدید برای AMV و CMV به طور مداوم گزارش می‌شوند، که مدیریت اپیدمیولوژیک بیماری ناشی از آنها را بسیار پیچیده می‌کند. در درخت تبارزایی به دست آمده، مشخص شد که همگروه شدن بعضی از جدایه‌ها از مناطق مختلف جهان با یکدیگر با موقعیت جغرافیایی همخوانی ندارد که این موضوع می‌تواند انتقال و انتشار این ویروس‌ها از طریق بذور آلوده را تقویت کند. در ایران، گیاه خودرو رایجی است که در مزارع، حاشیه جاده‌ها و باغ‌ها یافت می‌شود و می‌تواند نقش مهمی در اکولوژی و اپیدمیولوژی بیماری‌های ویروسی به عنوان منبع طبیعی

## References

- Al- Rubaye, A.F., Kaizal, A.F., & Hameed, I.H. (2017). Phytochemical screening of methanolic leaves extract of *Malva sylvestris*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(4), 537–552. <https://doi.org/10.25258/phyto.v9i4.8127>
- Balasubramaniam, M., Ibrahim, A., Kim, B.S., & Loesch-Fries, L.S. (2006). *Arabidopsis thaliana* is an asymptomatic host of Alfalfa mosaic virus. *Virus Research*, 121(2), 215–219. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2006.04.005>

3. Bananej, K., Shahid, M.S. & Shafiq, M. (2021). Evidence that leaf curl disease of *Malva sylvestris* in Iran is associated with cotton leaf curl Gezira virus and associated betasatellite. *Journal of Plant Pathology*, 103(2), 671–672. <https://doi.org/10.1007/s42161-021-00758-9>
4. Bergua, M., Luis-Arteaga, M., & Escriu, F. (2014). Genetic diversity, reassortment, and recombination in alfalfa mosaic virus population in Spain. *Phytopathology*, 104(11), 1241-1250. doi: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-13-0309-R>
5. Bujarski, J., Figlerowicz, M., Gallitelli, D., Roossinck, M.J., & Scott, S.W. (2012). Family *Bromoviridae*. In: King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B., Lefkowitz, E.J. (eds) *Virus taxonomy: ninth report of the international committee on taxonomy of viruses*. Academic Press, New York, pp 965–976.
6. Bol, J.F. (1999). Alfalfa mosaic virus and ilarviruses: involvement of coat protein in multiple steps of the replication cycle. *Journal of General Virology*, 80 (Pt 5), 1089-1102. <http://dx.doi.org/10.1099/0022-1317-80-5-1089>
7. Dabiri, S., Moradi, Z., Mehrvar, M. & Zakiaghl, M. (2020). Analysis of the complete genome sequence of cucumber mosaic virus from *Vinca minor* and *Wisteria sinensis* in Iran. *Journal of Plant Pathology*, 102, 1263–1268. <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00650-y>
8. Duarte, L.M.L., Rivas, E.B., Alexandre, M.A.V., Harakava, R. & Veauvy, M.C.D. (2013). Genealogy of Cucumber mosaic virus isolated from ornamental species. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 1081-1087. <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.45134>
9. Gasparetto, J.C., Martins, C.A., Hayashi, S.S., Otuky, M.F., & Pontarolo, R. (2012). Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: A millennial herbal medicine. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64(2), 172–189. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2011.01383.x>
10. Edwardson, J.R., & Christie, R.G. (1997). Alfamovirus Genus. Alfalfa mosaic virus species. Pages 63-94 in: *viruses infecting peppers and other solanaceous crops*. Monogr. 18-I. University of Florida Press, Gainesville.
11. Gao, S.Q., Liang, J., Guo, K., Zhou, X., & Su, X. (2020). First report of alfalfa mosaic virus in *Cayratia japonica*, *Justicia procumbens* and *Veronica persica* in China. *Journal of Plant Pathology*, 102(1), 267. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00408-1>
12. García-Arenal, F., & Palukaitis, P. (2008). Cucumber mosaic virus. In: García-Arenal F, Palukaitis P, Mahy BWJ, Van Regenmortel MHV, editors. *Encyclopedia of Virology*. 3. Oxford: Academic Press; pp. 614–619.
13. Heydarirad, G., Rezaeizadeh, H., Choopani, R., Mosavat, S. H., & Ameri, A. (2017). Efficacy of a traditional Persian medicine preparation for radiation- induced xerostomia: A randomized, open- label, active- controlled trial. *Journal of Integrative Medicine*, 15, 201–208. [https://doi.org/10.1016/S2095-4964\(17\)60333-9](https://doi.org/10.1016/S2095-4964(17)60333-9)
14. He, B., Fajolu, O.L., Wen, R-H., & Hajimorad, M.R. (2010). Seed transmissibility of Alfalfa mosaic virus in soybean. *Plant Health Progress*, 11, 41. <https://doi.org/10.1094/PHP-2010-1227-01-BR>
15. Hiruki, C., & Hampton, R.O. (1990). Diseases caused by viruses and viruses infectious to alfalfa. Pages 51-58 in: *Compendium of alfalfa diseases*. D. L. Stuteville and D. C. Erwin, eds. *American Phytopathological Society*, St. Paul, MN.
16. Horváth, J., Mamula, D., Besada, W.H., & Juretic, N. (1979). Some properties of Malva Vein Clearing Virus isolated in Hungary and Yugoslavia. *Journal of Phytopathology*, 95, 51–58. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1979.tb01577.x>
17. Hu, Y., Shi, H.W., Jing, C.C., Li, K., Sun, X.C., Wu, G.T., Zhou, C.Y., & Qing, L. (2016). First report of cucumber mosaic virus infecting apple in China. *Journal of Plant Pathology*, 98, 181–181. <https://doi.org/10.4454/JPP.V98I1.065>
18. Hull, R. (2014). *Plant virology* (5th ed.). New York: Academic Press. 1098 p.
19. Jacquemond, M. (2012). Cucumber mosaic virus, pp. 439-504. In: Loebenstein G. and Lecoq H. (Eds.). *Advances in Virus Research*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394314-9.00013-0>
20. Jasper, E.M.J., & Bos, L. (1980). Alfalfa mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 229. *Association of Applied Biologists*, Warwick
21. Kadare', G., & Haenni, A-L. (1997). Virus-encoded RNA helicases. *Journal of Virology*, 71, 2583–2590. <https://doi.org/10.1128/jvi.71.4.2583-2590.1997>
22. King, A.M., Lefkowitz, E., Adams, M.J., & Carstens, E.B. (2012). *Virus Taxonomy, Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Academic Press, Amsterdam. pp 1272.
23. Lunello, P., Tourino, A., Nunez, Y., Ponz, F., & Sanchez, F. (2009). Genomic heterogeneity and host recovery of isolates of malva vein clearing virus. *Virus Research*, 140, 91-97. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2008.11.006>
24. Maachi, A., Hernando, Y., Aranda, M.A., & Donaire, L. (2022). Complete genome sequence of malva-associated soymovirus 1: a novel virus infecting common mallow. *Virus Genes*, 58(4), 372-375. <https://doi.org/10.1007/s11262-022-01900-0>
25. Massumi, H., Maddahian, M., Heydarnejad, J., Hosseini Pour, A., & Farahmand, A. (2012). Incidence of viruses infecting alfalfa in the southeast and central regions of Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14 (5), 1141-1148.

26. Moradi, Z., & Mehrvar, M. (2021). Whole-genome characterization of alfalfa mosaic virus obtained from metagenomic analysis of *Vinca minor* and *Wisteria sinensis* in Iran: with Implications for the genetic structure of the virus. *Plant Pathology Journal*, 37(6), 619-631. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.10.2021.0151>
27. Moradi, Z., & Mehrvar, M. (2023). Metagenomic analysis of *Malva sylvestris* from Iran displays a malva vein clearing virus genome. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 25(1), 213–223. <https://doi.org/10.52547/jast.25.1.213>
28. Ohshima, K., Matsumoto, K., Yasaka, R., Nishiyama, M., Soejima, K., Korkmaz, S., Simon, Ho SY, Gibbs, A., & Takeshita, M. (2016). Temporal analysis of reassortment and molecular evolution of cucumber mosaic virus: Extra clues from its segmented genome. *Virology*, 487, 188–197. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.09.024>
29. O'Reilly, E.K., & Kao, C.C. (1998). Analysis of RNA dependent RNA polymerase structure and function as guided by known polymerase structures and computer predictions of secondary structure. *Virology*, 252(2), 287–303. <https://doi.org/10.1006/viro.1998.9463>
30. Ozdag, Y., & G. Sertkaya. (2017). Investigation on viruses causing yellowing disease in pepper in Hatay-Turkey. *Journal of Agricultural Faculty of Mustafa Kemal University*, 22(1), 16-22.
31. Palukaitis, P., & García-Arenal, F. (2003). Cucumoviruses. *Advances in Virus Research*, 62, 241–323. [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(03\)62005-1](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(03)62005-1)
32. Parrella, G., Troiano, E., Faure, C., Marais, A., & Candresse, T. (2021). First report of alfalfa mosaic virus in chayote in Italy. *Plant Disease*, 105(3), 698. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-20-2117-PDN>
33. Salamon, P., Sos-Hegedus, A., Gyula, P., & Szittyá, G. (2018). First report of the infection of alfalfa mosaic virus in *Salvia sclarea* in Hungary. *Journal of Plant Pathology*, 100(3), 607. <https://doi.org/10.1007/s42161-018-0117-8>
34. Smit, C.H., & Jaspars, E.M. (1982). Evidence that RNA4 of alfalfa mosaic virus does not replicate autonomously. *Virology*, 117(1), 271-274. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(82\)90528-1](https://doi.org/10.1016/0042-6822(82)90528-1)
35. Soards, A.J., Murphy, A.M., Palukaitis, P., & Carr, J.P. (2002) Virulence and differential local and systemic spread of cucumber mosaic virus in tobacco are affected by the CMV 2b protein. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 15(7), 647–653. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.7.647>
36. Van Dun, C.M.P., Bol, J.F., & Van Vloten-Doting, L. (1987). Expression of alfalfa mosaic virus and tobacco rattle virus coat protein genes in transgenic tobacco plants. *Virology*, 159(2), 299–305. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(87\)90467-3](https://doi.org/10.1016/0042-6822(87)90467-3)
37. Xu, H., & Nie, J. (2006). Identification, characterization, and molecular detection of Alfalfa mosaic virus in potato. *Phytopathology*, 96(11), 1237-1242. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-96-1237>



## Research Article

Vol. 37, No. 4, 2024, p. 411-423

## Breaking Seed Dormancy and Determining Cardinal Temperatures for Syrian Bean-Caper (*Zygophyllum fabago* L.) Using Regression Models

M. Heydari<sup>1</sup>, M. Rastgoo<sup>2\*</sup>, A. Ghanbari<sup>3</sup>, Gh.A. Asadi<sup>3</sup>

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

(\*- Corresponding Author Email: [m.rastgoo@um.ac.ir](mailto:m.rastgoo@um.ac.ir))

Received: 14-07-2021

Revised: 03-09-2021

Accepted: 05-09-2021

Available Online: 05-09-2021

**How to cite this article:**

Heydari, M., Rastgoo, M., Ghanbari, A., & Asadi, Gh.A. (2024). Breaking seed dormancy and determining cardinal temperatures for Syrian bean-caper (*Zygophyllum fabago* L.) using regression models. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 37(4), 411-423. (In Persian with English abstract).  
<https://doi.org/10.22067/jpp.2021.71460.1034>

### Introduction

Syrian bean-caper is one of the important weeds in orchards, especially pistachio orchards in Kerman. Seed germination is a critical event in determining the success of a weed species in an ecosystem and is regulated by several factors such as temperature, light, soil salinity, moisture and pH. Seed dormancy is the most important factor that prevents seed germination, especially in weeds. Breaking seed dormancy by sulfuric acid scarification is one of the most common methods of stimulating seeds for germination. Temperature is one of the factors controlling the germination and distribution of plants in natural and agricultural ecosystems. All biological events respond to temperature, and all responses can be summarized in three main temperatures. The effects of temperature on plant development are the basis of the models used to predict germination time. The seeds of any species could germinate in a certain temperature range, which is described as the cardinal temperatures (minimum, optimum and maximum). Knowledge of seed germination characteristics, seed dormancy mechanism and response of these phenomena to environmental conditions in weeds, including Syrian bean-caper, can be useful in predicting its spread potential to other areas and its management, so the aim of this study was to identify the methods of dormancy breaking (knowledge of seed dormancy mechanism), the effect of light and alternating temperature on seed germination and also to determine the cardinal germination temperatures of this species.

### Material and Methods

To evaluate the effect of some methods on breaking seed dormancy, and to evaluate the effect of alternative temperatures and light on seed germination and to determine the cardinal temperatures of Syrian bean-caper seed germination, experiments were performed in the weed research laboratory of Ferdowsi University of Mashhad in 2016. The experiments included: Experiment 1: Evaluation of different treatments for breaking Syrian bean-caper seed dormancy: This experiment was performed as a factorial in a completely randomized design with three replications. The first factor is constant germination temperatures at five levels (15, 20, 25, 30, 35 °C) and the second factor is different methods of breaking seed dormancy at 5 levels (without treatment (control), concentrated sulfuric acid (98%) at times 10, 15, 20, 25, 30 and 35 minutes, seed stratification at 5 °C for 7 and



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/jpp.2021.71460.1034>

22 days, water soaking the seeds at 25 °C for 7 days and seed scarification using sandpaper for two minutes. Experiment 2: The effect of fluctuating temperatures, light regimes and breaking seed dormancy treatment on Syrian bean-caper seed germination: This experiment was performed as a factorial of three factors in a completely randomized design with three replications. The first factor is alternating temperatures at four levels (10/20, 25/15, 10/30 and 20/30 °C (Day/Night)), the second factor is the light regime at two levels (light and dark treatment (12 hours of light and 12 hours of darkness) and continuous dark and the third factor was the breaking seed dormancy treatment with concentrated sulfuric acid, (the best treatment of the first experiment) at two levels (application and non-application). Experiment 3: Determining the cardinal temperatures of Syrian bean-caper seed germination, this experiment was performed completely randomized design in three replicates. Experimental factors included constant temperatures of 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 °C with a light / dark period of 12/12 hours. SAS 9.1 software was used to analysis of variance and compare different treatments. To calculate the germination cardinal temperatures were used, 1. Segmented 2. Dent-like and 3. 4-parameter beta models.

## Results and Discussion

The effect of breaking seed dormancy treatments, temperature and interaction of temperature and breaking seed dormancy treatments on Syrian bean-caper seed germination were significant at 1% level. Maximum germination (96%) was obtained in sulfuric acid treatment for 15 minutes. The results of this study showed that all of treatments have a significant effect (at 1% level) on seed germination rate and total seed germination of Syrian bean-caper. Seed germination of Syrian bean-caper was in the range of 10 to 35 °C. Seed germination increased with increasing temperature from 10 to 40 °C. Because this plant is native to dryland, it also had significant seed germination at high temperatures. The best temperature for seed germination of this plant was between 20.5 and 25.5 °C. Seed germination stopped at temperatures below 5 °C and at 40 °C. Besides, seed germination was strongly affected by alternating temperatures. Light had not impact on the seed germination of Syrian bean-caper. The highest total seed germination was observed in breaking seed dormancy treatments related to sulfuric acid treatment for 15 minutes at 30 °C and in alternating temperature of 25/15 °C (Day/Night). The four-parameter beta model described the relationship between seed germination rate of Syrian bean-caper and temperature, better than other models. Based on the estimation of this model, the base, optimum and ceiling temperatures for Syrian bean-caper seed germination were 9.83, 16.33 and 39.29 °C, respectively. Knowledge of these ecological parameters can be useful in quantifying the behavior of weeds in response to various climatic variables, especially temperature.

## Conclusion

The wide range of Syrian bean-caper seed germination from 5 to 35 °C indicates the ability of this weed species to grow in different seasons and in various climatic conditions. Considering the mechanisms affecting the breaking seed dormancy of Syrian bean-caper seeds (remove of seed coat (hardness) and alternating temperatures) as well as the temperature range of seed germination of this plant, it seems that the spread of this plant would be possible in temperate and semi-arid regions. Also, due to the high competitiveness of this species and the ability to produce abundant seeds, this weed might be included in the list of problematic weeds in these areas.

**Keywords:** Alternating temperature, Climate change, Modeling, Scarification

## مقاله پژوهشی

جلد ۳۷ شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص. ۴۲۳-۴۱۱

## شکستن خواب بذر و تعیین دماهای کاردینال جوانه‌زنی علف‌هرز قیچ لوبیایی (*Zygophyllum fabago* L.) با استفاده از مدل‌های رگرسیونی

مجید حیدری<sup>۱</sup> - مهدی راستگو<sup>۲\*</sup> - علی قنبری<sup>۳</sup> - قربانعلی اسدی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۱۴

## چکیده

به منظور ارزیابی اثر برخی روش‌ها بر شکست خواب بذر و آگاهی از مکانیسم خواب بذر، ارزیابی اثر دماهای متناوب و نور بر جوانه‌زنی بذر و نیز تعیین دماهای کاردینال جوانه‌زنی بذرهای قیچ لوبیایی، آزمایش‌هایی در سال ۱۳۹۵ در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. آزمایش اول شامل ارزیابی اثر دماهای ثابت جوانه‌زنی (۱۵ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد) و روش‌های مختلف حذف خواب بذر بود. آزمایش دوم شامل ارزیابی اثر دماهای متناوب (۱۰/۲۰، ۱۵/۲۵، ۲۰/۳۰ و ۲۰/۳۰ درجه سانتی‌گراد (شب/روز))، رژیم نوری و اعمال و عدم اعمال تیمار شکستن خواب بذر و آزمایش سوم اعمال دماهای ثابت (۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد) با دوره روشنایی/تاریکی ۱۲/۱۲ ساعت بود و با استفاده از برازش معادلات دوتکه‌ای، چهار پارامتره بتا و دندان مانند به رابطه بین دما و سرعت جوانه‌زنی مقادیر دماهای کاردینال تعیین شد. نتایج نشان داد که جوانه‌زنی بشدت تحت تأثیر دماهای ثابت و متناوب قرار گرفت. نور نقشی در جوانه‌زنی قیچ لوبیایی نداشت. به‌طوری که بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمارهای شکستن خواب مربوط به تیمار سولفوریک اسید ۱۵ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. همچنین بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمار دماهای متناوب مربوط به تیمار دمای متناوب ۲۵/۱۵ درجه سانتی‌گراد (زمانی که بذرهای خواب‌شکنی نشده بودند) به میزان ۵۴/۶ درصد بود. در برآورد دماهای کاردینال نیز مدل چهار پارامتره بتا نسبت به سایر مدل‌ها بهتر بود. براساس برآوردهای این مدل، دماهای پایه، مطلوب و حداکثر برای جوانه‌زنی بذرهای قیچ لوبیایی به‌ترتیب ۹/۸۳، ۱۶/۳۳ و ۳۹/۲۹ درجه سانتی‌گراد تعیین شد.

واژه‌های کلیدی: تغییر اقلیم، خراش‌دهی، دمای متناوب، مدل‌سازی

## مقدمه

(2010). قیچ لوبیایی<sup>۴</sup> (اسفندک) (*Zygophyllum fabago* L.)

گیاهی است بوته‌ای و چندساله به ارتفاع ۶۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر می‌باشد (Ghahreman, 1997). این گونه در کشورهای پاکستان، ایران، افغانستان، عراق، عربستان، شمال آفریقا، ایتالیا و ترکیه پراکنده است و بیشتر در مناطق خشک و نواحی استپی و در زمین‌های بایر و غیرقابل کشت حاشیه مزارع و باغ‌ها مشاهده می‌شود (Zarandi et al., 2017). این گیاه از طریق رقابت برای نور، آب، عناصر غذایی و فضا به رقابت با سایر گیاهان پرداخته و فصل رشد طولانی، سطح برگ زیاد با شاخه‌های فراوان و تاج پوشش گسترده نشان از توانایی رقابت‌کنندگی بالای آن است. همچنین قیچ لوبیایی به‌وسیله بذر

جنس *Zygophyllum* یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های خانواده Zygophyllaceae است که در جهان دارای حدود ۱۵۰ گونه می‌باشد و از این تعداد، ۹ گونه‌ی *Z. atriplicoides*, *Z. simplex*, *Z. fabago*, *Z. eichwaldii*, *Z. hamiense*, *qatarense*, *Z. pinnaum* و *Z. miniatum* در ایران ثبت شده‌اند (Melendo et al., 2022; Zand et al., Izadi et al., 2018)

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته دکتری، استاد و دانشیار گروه آگروتکنولوژی،

دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

(Email: m.rastgoo@um.ac.ir)

(\*)- نویسنده مسئول:

<https://doi.org/10.22067/jpp.2021.71460.1034>

تکثیر شده و علاوه بر تولید بذر فراوان، مقدار بسیار زیادی دانه گرده تولید کرده که به وسیله هوا انتقال پیدا می‌کنند و این دانه‌های گرده دارای آلرژی‌زایی بالایی برای انسان دارند (Yaripour et al., 2017). به خاطر برگ‌های مومی، این گیاه ممکن است مدت طولانی در شرایط خشک مقاومت کند و بنابراین با گونه‌های بومی به رقابت بپردازد (Roche, 1991). همچنین تولید بذر بسیار زیاد این علف‌هرز گویای توانایی تهاجمی شدن بالای آن است. این گیاه هم‌اکنون در تمام کشورهای مدیترانه‌ای و جنوب غربی ایالات متحده مشاهده می‌شود که جزء گیاهان مهاجم محسوب می‌شود (Melendo et al., 2022). این گیاه در ایران نیز به‌عنوان یکی از علف‌های هرز باغات (Zand et al., 2010) و باغات پسته در کرمان (Izadi et al., 2018) فهرست شده است.

مهم‌ترین عاملی که از جوانه‌زنی بذرهای به‌ویژه در علف‌های هرز جلوگیری می‌کند، خواب بذر است. شکستن خواب بذر به‌وسیله خراش دهی با سولفوریک اسید یکی از روش‌های مرسوم در تحریک بذرهای برای جوانه‌زنی می‌باشد. به‌طوری‌که در بذرهای علف‌هرز کور<sup>۱</sup> (Sozzi & Chiesa, 1995)، ماستونک<sup>۲</sup>، سس<sup>۳</sup> و تلخ بیان<sup>۴</sup> (Ghadiri & Niazi, 2005)، تلخه<sup>۵</sup> (Al-e Ebrahim et al., 2011) و بسیاری از بذرهای باعث شکست خواب و جوانه‌زنی شده است. در تحقیقی تیمار سولفوریک اسید (۹۸٪) به‌مدت ۵ دقیقه، خواب بذرهای تاج خروس ریشه قرمز<sup>۶</sup>، سوروف<sup>۷</sup>، سلمه تره<sup>۸</sup> و خارستر<sup>۹</sup> را شکست (Khaje-Hosseini et al., 2010).

دما یکی از عوامل کنترل جوانه‌زنی و پراکنش گیاهان در هر منطقه است (Baskin & Baskin, 2014). همچنین مهم‌ترین عامل محیطی است که رشد و نمو و عملکرد گیاهان را کنترل می‌کند. همه فرآیندهای زیستی به دما واکنش نشان می‌دهند و همه پاسخ‌ها را می‌توان در سه دمای اصلی خلاصه کرد. اثرات دما روی نمو گیاه، اساس مدل‌های مورد استفاده برای پیش‌بینی زمان جوانه‌زنی است. بذرهای هر گونه دارای توانایی جوانه‌زنی در محدوده حرارتی معینی هستند که به‌عنوان دماهای اصلی (دماهای کاردینال) (حداقل، بهینه و حداکثر)، توصیف می‌شود. دمای حداقل پایین‌ترین دمایی که رشد گیاه می‌تواند رخ دهد و به‌عنوان دمای پایه ( $T_b$ ) نامیده می‌شود و هیچ رشدی در

دمای پایین‌تر از آن رخ نمی‌دهد. در درجه حرارت بهینه، بذرهای سریع‌تر جوانه زده و درصد جوانه‌زنی بالاتری در مقایسه با سایر رژیم‌های حرارتی خواهند داشت. درجه حرارت مناسب ( $T_o$ )، بر حسب تعریف دمایی است که در آن بیشترین درصد جوانه‌زنی در کوتاه‌ترین دوره زمانی انجام می‌شود و درجه حرارت حداکثر ( $T_m$ )، بالاترین درجه حرارتی است که بذر قادر به جوانه‌زنی می‌باشد (Kmakar et al., 2006). با این حال واکنش شاخص‌های جوانه‌زنی به دما به عواملی مانند گونه گیاهی، منطقه رویش و کیفیت توده بذری بستگی دارد. رابطه بین دما و سرعت جوانه‌زنی به صورت غیرخطی است و معمولاً از رگرسیون غیرخطی برای این رابطه استفاده می‌کنند (Sarmadi et al., 2017 Soltani et al., 2001).

پاسخ جوانه‌زنی گیاهان به شرایط نوری بسیار متفاوت و متنوع است. بذر برخی از گیاهان در تاریکی جوانه نمی‌زنند، ولی در برخی نور اثر جزئی بر جوانه‌زنی دارد. در تحقیقی که روی ۴۱ گونه گیاهی صورت گرفت بیان شد که ۲۰ گونه در شرایط نوری بهتر جوانه می‌زنند ولی ۱۱ گونه در شرایط نور و تاریکی به‌صورت یکسان جوانه‌زنی دارند (Zarandi et al., 2017).

آگاهی از خصوصیات جوانه‌زنی بذر، سازوکار خواب بذر و پاسخ این پدیده‌های حیاتی به شرایط محیطی در علف‌های هرز و از جمله قیچ لوبیایی، می‌تواند در پیش‌بینی پتانسیل انتشار آن به سایر مناطق، مدیریت و کنترل هر چه بهتر آن، مفید باشد، لذا این مطالعه با هدف شناخت روش‌های شکستن خواب (آگاهی از مکانیسم خواب بذر)، تأثیر نور و دمای متناوب بر جوانه‌زنی بذرهای و نیز تعیین دماهای کاردینال جوانه‌زنی این گونه انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور ارزیابی اثر برخی روش‌ها بر شکست خواب بذرهای آگاهی از مکانیسم خواب بذرهای و همچنین انجام سایر آزمایش‌ها، ارزیابی اثر دماهای متناوب و نور بر جوانه‌زنی بذرهای و نیز تعیین دماهای کاردینال جوانه‌زنی بذرهای قیچ لوبیایی، آزمایش‌هایی در سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه تحقیقات علف‌های هرز دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. بذرهای قیچ لوبیایی در پاییز همان سال، همزمان با رسیدگی و با شروع ریزش بذر از گیاه مادری از مناطق آلوده به این علف هرز در پردیس دانشگاه فردوسی (طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۳۸ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۵ دقیقه شمالی) مشهد برداشت شد. بذرهای بوجاری و تمیز شده و تا شروع آزمایش، در آزمایشگاه و در دمای اتاق ( $25 \pm 2$ ) نگهداری شدند. وزن هزار دانه قیچ لوبیایی ( $3/33 \pm 0/02$ ) گرم تعیین شد. آزمایش اولیه جوانه‌زنی روی بذرهای جمع‌آوری شده، حاکی از درصد پایین جوانه‌زنی (کمتر از ۲۰ درصد) و در نتیجه وجود خواب در بذور بود.

- 1- *Capparis spinosa* L.
- 2- *Turgenia latifolia* (L.) Hoffm.
- 3- *Cuscuta campestris* L.
- 4- *Sophora alopecuroides* L.
- 5- *Acroptilon repens* (L.) DC.
- 6- *Amaranthus retroflexus* L.
- 7- *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.
- 8- *Chenopodium album* L.
- 9- *Alhagi camelorum* L.

### نحوه اجرای عمومی آزمون‌های جوانه‌زنی

در تمامی آزمون‌های جوانه‌زنی، جوانه‌زنی بذرهای قیچ لوبیایی با قرار دادن ۲۵ عدد بذر ضد عفونی شده با هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۳ دقیقه و سپس شستشو با آب مقطر به مدت ۲ دقیقه، در پتری دیش‌های شیشه‌ای استریل شده با اتوکلاو، با قطر ۹ سانتی‌متر تعیین شد. در هر پتری‌دیش یک کاغذ صافی واتمن شماره ۱ قرار گرفت و پس از قرار دادن بذرهای روی آن، به هر پتری‌دیش هفت میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. برای جلوگیری از تبخیر آب درون پتری‌دیش‌ها، از پارافیلیم استفاده شد. سپس بذرور به ژرمیناتور در دماهای مورد نظر منتقل شدند و با شمارش بذرهای جوانه‌زده در صورت نیاز نسبت به افزودن آب به پتری‌دیش‌ها اقدام شد. شمارش بذرهای جوانه‌زده (خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر) در آزمایش تعیین دماهای کاردینال، ابتدا بصورت ساعتی پایش و سپس بصورت روزانه و در آزمایش‌های اول و دوم پس از ۱۴ روز انجام شد (پس از طی ۱۴ روز، سه روز دیگر هم جهت جوانه‌زنی به بذرها فرصت داده شد، و چون در هیچ یک تیمارها، تغییری در جوانه‌زنی مشاهده نشد، همان شمارش پس از ۱۴ روز ملاک قرار گرفت) (Soltani et al., 2001).

درصد جوانه‌زنی کل و سرعت جوانه‌زنی در هر درجه حرارت محاسبه شد. اندازه‌گیری سرعت جوانه‌زنی بذرها (بذر در روز) در آزمایش اول و دوم با استفاده از معادله ۱ انجام شد.

$$Gr = \sum_{i=1}^n \frac{Si}{Di} \quad (1)$$

در این معادله،  $Gr$  سرعت جوانه‌زنی،  $Si$  تعداد بذرهای جوانه زده در هر شمارش و  $Di$  تعداد روز شمارش تا روز  $n$  می‌باشد (Hardegree, 2006).

در آزمایش سوم ابتدا نمودارهای پراکنش نقاط درصد جوانه‌زنی تجمعی نسبت به زمان رسم و سپس تابع سه پارامتره سیگموئیدی بدان برازش داده شد (معادله ۲) (Ansari et al., 2016).

$$G = \frac{a}{1 + e^{-\left(\frac{x - x_{50}}{b}\right)}} \quad (2)$$

در این معادله  $G$  درصد جوانه‌زنی تجمعی،  $a$  حداکثر درصد جوانه‌زنی تجمعی،  $x_{50}$  زمان رسیدن به ۵۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی بذر و  $b$  شیب منحنی یا فاز تأخیر  $x$  روز یا ساعت است.

### آزمایش اول: ارزیابی تیمارهای مختلف شکستن خواب بذرهای قیچ لوبیایی

این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول دماهای ثابت جوانه‌زنی در پنج سطح (۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ درجه سانتی‌گراد) و فاکتور دوم روش‌های مختلف حذف خواب بذرها در ۵ سطح (بدون تیمار (شاهد)، سولفوریک اسید

غلظت (۹۸٪) در زمان‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ دقیقه، سرمادهی مرطوب در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ و ۲۲ روز، خیساندن بذر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز و خراش دهی با کاغذ سنباده به مدت دو دقیقه) بود (Ansari et al., 2016; Ebrahimi & Eslami, 2014; Khajeh-Hosseini et al., 2010). بذرهای تیمار شده توسط سولفوریک اسید غلیظ ابتدا با آب شیر و سپس با آب مقطر فراوان به مدت ۱۵ دقیقه شسته شده و روی دستمال کاغذی خشک شدند. شمارش تعداد بذرهای جوانه زده ۱۴ روز پس شروع آزمایش انجام شد. از نرم‌افزار SAS 9.1 جهت تجزیه واریانس و مقایسه تیمارهای مختلف استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. همچنین پیش از آنالیز واریانس و با استفاده از آزمون اندرسون-دارلینگ<sup>۱</sup> در نرم‌افزار Minitab 17.0، آزمون نرمال بودن داده‌ها انجام شد و در مواردی که داده‌ها نرمال نبود، از تبدیل زاویه‌ای ( $\arcsin\sqrt{x}$ ) استفاده شد.

### آزمایش دوم: تأثیر دماهای متناوب، رژیم‌های نوری و

#### تیمار شکستن خواب بر جوانه‌زنی بذرهای قیچ لوبیایی

این آزمایش نیز به صورت فاکتوریل سه فاکتوره در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول دماهای متناوب در چهار سطح (۲۰/۱۰، ۲۵/۱۵، ۳۰/۱۰ و ۳۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد (شب/روز))، فاکتور دوم رژیم نوری در دو سطح (تیمار نور و تاریکی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و تیمار تاریکی مداوم و فاکتور سوم تیمار شکستن خواب با سولفوریک اسید غلیظ تیمار برتر (آزمایش اول) در دو سطح (اعمال و عدم اعمال) بود. برای اعمال تاریکی پتری‌دیش‌ها توسط فویل آلومینیومی پوشیده شدند تا از نفوذ نور جلوگیری به عمل آید. شمارش تعداد بذرهای جوانه زده ۱۴ روز پس شروع آزمایش انجام شد. از نرم‌افزار SAS 9.1 جهت تجزیه واریانس و مقایسه تیمارهای مختلف استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. همچنین پیش از آنالیز واریانس و با استفاده از آزمون اندرسون-دارلینگ<sup>۱</sup> در نرم‌افزار Minitab 17.0، آزمون نرمال بودن داده‌ها انجام شد و در مواردی که داده‌ها نرمال نبود، از تبدیل زاویه‌ای ( $\arcsin\sqrt{x}$ ) استفاده شد.

### آزمایش سوم: تعیین دماهای کاردینال جوانه‌زنی بذرهای

#### قیچ لوبیایی

این آزمایش بصورت کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد.

تیمارهای آزمایش شامل دماهای ثابت ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد با دوره روشنایی/تاریکی ۱۲/۱۲ ساعت بود (بهترین تیمار نوری آزمایش دوم) که در انکوباتور اعمال شد.

برای محاسبه دماهای کاردینال جوانه‌زنی از معادلات ۳ تا ۵ استفاده شد.

مدل خطوط متقاطع<sup>۱</sup> با استفاده از مجموعه معادلات ۳ محاسبه شد (Soltani et al., 2006).

$$Y = (T - T_b) / (T_o - T_b) \text{ if } T_b < T < T_o \quad (3)$$

$$Y = (T_c - T) / (T_c - T_o) \text{ if } T_o < T < T_c$$

$$Y = 0 \text{ if } T < T_o \text{ or } T > T_c$$

مدل دندان مانند<sup>۲</sup> با استفاده از مجموعه معادلات ۴ (Piper et al., 1996)

$$Y = ((T - T_b) / (T_{o1} - T_b)) \text{ if } T_b < T \leq T_{o1} \quad (4)$$

$$Y = ((T_c - T) / (T_c - T_{o2})) \text{ if } T_{o2} < T \leq T_c$$

$$Y = 1 \text{ if } T_{o1} < T \leq T_{o2}$$

$$Y = 0 \text{ if } T \leq T_c \text{ or } T \geq T_c$$

مدل چهار پارامتره بتا (β) با استفاده از معادله ۵ (Yan & Hunt, 1999)

$$Y = (T_c - T) / (T_c - T_o) \times (T - T_b) / (T_o - T_b) \quad (5)$$

در این معادلات Y معیاری از سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز)،  $T_b$  دمای پایه،  $T_o$  دمای مطلوب،  $T_{o1}$  حد پایین دمای مطلوب،  $T_{o2}$  حد بالای دمای مطلوب،  $T_c$  دمای حداکثر و c پارامتر شکل در تابع بتا (β) می‌باشد. جهت ترسیم نمودارها و نیز برازش توابع از نرم‌افزار Sigma plot نسخه ۱۲/۳ استفاده شد. همچنین برای مقایسه مدل‌های مختلف علاوه بر ضریب تبیین ( $R^2$ )، همچنین از جذر میانگین مربعات خطا ( $RMSE^3$ ) طبق معادله ۶ استفاده شد (Ansari et al., 2016).

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum (Y_o - Y_p)^2}{n}} \quad (6)$$

در این معادله  $Y_o$  و  $Y_p$  به ترتیب مقادیر داده‌های مشاهده شده و پیش‌بینی شده و n تعداد نقاط می‌باشد.

## نتایج و بحث

### آزمایش اول: ارزیابی تیمارهای شکستن خواب بذر

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر تیمارهای شکستن خواب، اثر دما و اثر متقابل دما و تیمارهای شکستن خواب بر سرعت و درصد جوانه‌زنی کل بذرهای قیچ لوبیایی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). در بین

تیمارهای شکستن خواب، حداکثر جوانه‌زنی به میزان ۹۶ درصد مربوط به اثر متقابل تیمار سولفوریک اسید ۱۵ دقیقه و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و کمترین درصد جوانه‌زنی به میزان صفر درصد (عدم جوانه‌زنی) مربوط به اثر متقابل دمای ۱۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد در تیمار ۱۰ دقیقه سولفوریک اسید، و سرمادهی مرطوب (۷ و ۲۲ روز) بود (جدول ۱). خراش‌دهی با سولفوریک اسید به دلیل حذف لایه سلولی ضخیم زیر پوشش بذر، باعث نفوذ بیشتر و بهتر آب، گازها، افزایش آماس بذر، کاهش مقاومت پوسته بذر و بدنبال آن رهایی از محدودیت پوسته بذر می‌شود (Ebrahimi & Eslami, 2014).

با بررسی‌هایی که در این تحقیق صورت گرفت مشخص شد که خواب بذر در قیچ لوبیایی از نوع فیزیکی بوده و با از بین رفتن پوسته بذر، جوانه‌زنی حتی تا ۹۶ درصد نیز اتفاق افتاد. در آزمایشی که روی شکستن خواب بذر اسپرک زرد<sup>۴</sup> (Ebrahimi & Eslami, 2014) انجام شد مشخص شد که تیمار سولفوریک اسید ۹۶٪ به مدت ۳۰ ثانیه سبب بیشترین جوانه‌زنی (۷۳/۳ درصد) بذرهای اسپرک زرد در شرایط تاریکی شد و کمترین درصد جوانه‌زنی (۸ درصد) در تیمار شاهد در شرایط نور/تاریکی بدست آمد. همچنین شریفی و همکاران (Sharifi et al., 2012) در بررسی خود بیان داشتند که با اعمال تیمار خراش‌دهی مکانیکی روی خارخسک<sup>۵</sup> جوانه‌زنی از ۱۳ به ۹۹ درصد رسید. در بررسی مشابهی که روی دو گونه Boiss. & Buhse *Zygophyllum eurypterum* و *Zygophyllum eichwaldii* C.A.M. انجام شد مشخص شد که تیمار خراش‌دهی با کاغذ سنباده به ترتیب ۵۳ و ۵۴/۲ درصد نسبت به تیمار شاهد باعث افزایش جوانه‌زنی شد. در ضمن این تیمار بیشترین تأثیر را در بهبود سرعت جوانه‌زنی این دو گونه داشت (Tavili et al., 2011).

4- *Reseda lutea* L.

5- *Tribulus terrestris* L.

1- Segmented

2- Dent-like model

3- Root mean of squares of error

جدول ۱. مقایسه میانگین اثرات متقابل دما و روش‌های شکستن خواب بذر بر سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی کل بذرهای قیچ لوبیایی

| Table 1. Mean comparison of interaction effects of temperature and breaking seed dormancy methods on germination rate and total germination of Syrian bean-caper Seeds |                                               |                                                           |                                                                         |                      |                      |                      |                      |                     |                      |                      |                      |                      |                                                                            |                                                                |                                                                                       |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| صفت<br>Trait                                                                                                                                                           | Temperature<br>(C)<br>دما<br>(درجه سانتیگراد) | شاهد<br>(بدون تیمار)<br>Control<br>(Without<br>treatment) | سرما دهی مرطوب در دمای<br>۵ درجه سانتیگراد<br>Stratification at<br>5 °C |                      |                      |                      |                      |                     |                      |                      |                      |                      | خرانش دهی با<br>سولفوریک اسید (دقیقه)<br>Sulfuric acid scarification (min) | خیساندن<br>بذر در آب<br>(روز ۷)<br>Water<br>soaking (7<br>day) | خرانش دهی با<br>کاغذ سنباده<br>(۲ دقیقه)<br>Sandpaper<br>scarification<br>(2 minutes) |
|                                                                                                                                                                        |                                               |                                                           |                                                                         |                      |                      |                      |                      |                     |                      |                      |                      |                      |                                                                            |                                                                |                                                                                       |
|                                                                                                                                                                        |                                               |                                                           | 10                                                                      | 15                   | 20                   | 25                   | 30                   | 35                  | 7 Days<br>(روز ۷)    | 22 Days<br>(روز ۲۲)  |                      |                      |                                                                            |                                                                |                                                                                       |
| سرعت جوانه زنی<br>(بذر در روز)<br>Germination rate<br>(Seed per day)                                                                                                   | 15                                            | 2.24 <sup>h-p</sup>                                       | 0.00 <sup>r</sup>                                                       | 3.22 <sup>mn</sup>   | 5.11 <sup>lm</sup>   | 14.15 <sup>fh</sup>  | 14.87 <sup>eg</sup>  | 19.00 <sup>b</sup>  | 0.00 <sup>r</sup>    | 0.00 <sup>r</sup>    | 0.00 <sup>r</sup>    | 0.37 <sup>p-r</sup>  | 0.20 <sup>r</sup>                                                          |                                                                |                                                                                       |
|                                                                                                                                                                        | 20                                            | 2.20 <sup>h-p</sup>                                       | 0.16 <sup>qr</sup>                                                      | 10.65 <sup>j</sup>   | 7.80 <sup>k</sup>    | 13.2 <sup>g-i</sup>  | 13.72 <sup>fh</sup>  | 18.47 <sup>bc</sup> | 1.24 <sup>o-r</sup>  | 2.16 <sup>m-p</sup>  | 2.16 <sup>m-p</sup>  | 0.83 <sup>o-r</sup>  | 1.91 <sup>n-r</sup>                                                        |                                                                |                                                                                       |
|                                                                                                                                                                        | 25                                            | 2.06 <sup>h-q</sup>                                       | 0.38 <sup>p-r</sup>                                                     | 13.85 <sup>fh</sup>  | 9.94 <sup>j</sup>    | 16.27 <sup>de</sup>  | 12.69 <sup>hi</sup>  | 20.97 <sup>a</sup>  | 0.18 <sup>qr</sup>   | 0.73 <sup>o-r</sup>  | 0.73 <sup>o-r</sup>  | 1.07 <sup>o-r</sup>  | 1.29 <sup>r</sup>                                                          |                                                                |                                                                                       |
|                                                                                                                                                                        | 30                                            | 1.11 <sup>o-r</sup>                                       | 0.00 <sup>r</sup>                                                       | 16.88 <sup>cd</sup>  | 13.52 <sup>fh</sup>  | 14.03 <sup>fh</sup>  | 14.67 <sup>eg</sup>  | 19.89 <sup>ab</sup> | 2.04 <sup>m-q</sup>  | 2.48 <sup>no</sup>   | 2.48 <sup>no</sup>   | 1.23 <sup>o-r</sup>  | 1.67 <sup>n-r</sup>                                                        |                                                                |                                                                                       |
| تولید کل جوانه زنی<br>(درصد)<br>Total germination<br>(%)                                                                                                               | 35                                            | 0.51 <sup>p-r</sup>                                       | 0.00 <sup>r</sup>                                                       | 5.92 <sup>kl</sup>   | 11.39 <sup>ij</sup>  | 15.19 <sup>d-f</sup> | 16.33 <sup>de</sup>  | 19.25 <sup>ab</sup> | 0.00 <sup>r</sup>    | 0.00 <sup>r</sup>    | 0.00 <sup>r</sup>    | 0.94 <sup>r</sup>    | 1.51 <sup>n-r</sup>                                                        |                                                                |                                                                                       |
|                                                                                                                                                                        | 15                                            | 61.33 <sup>h-n</sup>                                      | 0.00 <sup>u</sup>                                                       | 26.66 <sup>st</sup>  | 34.66 <sup>p-s</sup> | 80.00 <sup>ag</sup>  | 93.33 <sup>ae</sup>  | 92.00 <sup>ae</sup> | 0.00 <sup>u</sup>    | 0.00 <sup>u</sup>    | 0.00 <sup>u</sup>    | 16.00 <sup>tu</sup>  | 5.33 <sup>u</sup>                                                          |                                                                |                                                                                       |
|                                                                                                                                                                        | 20                                            | 86.66 <sup>a-d</sup>                                      | 2.66 <sup>u</sup>                                                       | 60.00 <sup>h-n</sup> | 48.00 <sup>h-n</sup> | 77.33 <sup>b-i</sup> | 69.33 <sup>dk</sup>  | 85.33 <sup>ae</sup> | 34.66 <sup>p-s</sup> | 61.33 <sup>h-n</sup> | 61.33 <sup>h-n</sup> | 26.66 <sup>st</sup>  | 48.00 <sup>m-q</sup>                                                       |                                                                |                                                                                       |
|                                                                                                                                                                        | 25                                            | 77.33 <sup>b-i</sup>                                      | 5.33 <sup>u</sup>                                                       | 82.66 <sup>ae</sup>  | 53.33 <sup>k-o</sup> | 86.66 <sup>a-d</sup> | 62.66 <sup>gn</sup>  | 93.33 <sup>ae</sup> | 5.33 <sup>u</sup>    | 16.00 <sup>tu</sup>  | 16.00 <sup>tu</sup>  | 37.33 <sup>o-s</sup> | 37.33 <sup>o-s</sup>                                                       |                                                                |                                                                                       |
|                                                                                                                                                                        | 30                                            | 37.30 <sup>o-r</sup>                                      | 0.00 <sup>u</sup>                                                       | 96.00 <sup>a</sup>   | 88.00 <sup>ae</sup>  | 65.33 <sup>fm</sup>  | 76.00 <sup>o-j</sup> | 92.00 <sup>ae</sup> | 68.00 <sup>e-l</sup> | 52.00 <sup>k-p</sup> | 52.00 <sup>k-p</sup> | 45.33 <sup>j-n</sup> | 58.66 <sup>j-n</sup>                                                       |                                                                |                                                                                       |
| میانگین                                                                                                                                                                | 35                                            | 21.30 <sup>e-t</sup>                                      | 0.00 <sup>u</sup>                                                       | 50.66 <sup>b-q</sup> | 81.33 <sup>ae</sup>  | 84.00 <sup>ae</sup>  | 78.66 <sup>a-h</sup> | 94.66 <sup>ab</sup> | 0.00 <sup>u</sup>    | 0.00 <sup>u</sup>    | 0.00 <sup>u</sup>    | 33.33 <sup>q-t</sup> | 57.33 <sup>k-n</sup>                                                       |                                                                |                                                                                       |

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی داری (LSD) تفاوت معنی داری (P≤0.05) ندارند.  
The Means within a column followed by the same letters are not significantly different at p≤0.05 according to the LSD test.

با افزایش دما از ۱۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد درصد جوانه‌زنی افزایش نشان داد، اما از دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به بعد روند کاهشی در درصد جوانه‌زنی مشاهده شد. نتایج سایر مطالعات نیز بهترین دمای جوانه‌زنی برای این گیاه را دمای بین ۲۰/۵ تا ۲۵/۵ تعیین کرده‌اند (Baskin & Baskin, 2004). همچنین در پژوهشی که تأثیر نور و دما بر جوانه‌زنی قیچ لوبیایی مطالعه شد، مشخص شد که دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و شرایط تاریکی منجر به افزایش جوانه‌زنی بذر شد (Zarandi et al., 2017).

نکته قابل توجه در این بررسی درصد جوانه‌زنی بالا در تیمار شاهد است که بیشترین درصد جوانه‌زنی مربوط به دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به میزان ۸۶/۶۶ درصد بود (جدول ۱). اما سرعت جوانه‌زنی در تیمار شاهد از سرعت پایین‌تری نسبت به تیمار شکستن خواب توسط سولفوریک اسید برخوردار است. که دلیل آن جوانه‌زنی بیش از نیمی از بذرهای در روزهای پایانی شمارش جوانه‌زنی (روز سیزدهم) بود. با توجه به کاربرد سولفوریک اسید به عنوان یکی از روش‌های مرسوم جهت شکستن خواب بذرهای مختلف که در آزمایش‌های فراوانی به اثبات رسیده است (Ebrahimi & Eslami, Ansari et al., 2016; Khajeh-Hosseini et al., 2014)، اما کاربرد سولفوریک اسید غلیظ در زمان‌های بیشتر احتمالاً سبب آسیب به گیاهچه و در نتیجه عدم رشد گیاهچه در روزهای شمارش بذرهای شد. به همین جهت از تیمار سولفوریک اسید ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد برای سایر آزمایش‌ها استفاده شد. طی چرخه زندگی یک گیاه، بذرهای بیشترین تحمل شرایط سخت محیطی را دارا هستند. با این وجود گیاهچه‌ها بسیار حساس اند و این نکته برای گیاهان بیابانی بسیار حائز اهمیت می‌باشد (Zarandi et al., 2017). نتایج تحقیقی که روی بذرهای خارخسک انجام شد، نشان داد که خارخسک در دامنه دمایی از ۱۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد جوانه می‌زند که نشان از توانایی و سازگاری بالایی آن می‌باشد (Sarmadi et al., 2017). همچنین در بررسی دیگری که روی علف شور<sup>۱</sup> انجام شد مشخص شد که این گیاه توانایی جوانه‌زنی در بازه وسیعی از دماها (۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد) را دارد (Asgarpour et al., 2014).

**تأثیر همزمان رژیم‌های نوری، دمای متناوب و تیمار شکستن خواب بر جوانه‌زنی بذرهای علف‌هرز قیچ لوبیایی**  
نتایج نشان داد که تأثیر رژیم‌های نوری و دماهای متناوب بر درصد جوانه‌زنی کل معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) بود. اما سرعت جوانه‌زنی فقط تحت تأثیر تیمار شکستن خواب بذرهای قرار گرفت ( $P \leq 0.01$ ) و

تحت تأثیر تیمار رژیم نوری و دماهای متناوب قرار نگرفت (داده‌ها نشان داده نشده‌اند).

این نتایج نشان داد که رژیم نوری و دماهای متناوب تأثیری در افزایش سرعت جوانه‌زنی بذرهای قیچ لوبیایی ندارد. در واقع رژیم نوری و دماهای متناوب بر جوانه‌زنی کل مؤثرند ولی بر سرعت جوانه‌زنی خیر که نشان‌دهنده نقش کلیدی این دو عامل در شروع جوانه‌زنی است و ادامه جوانه‌زنی (سرعت جوانه‌زنی) بر خلاف دماهای ثابت، تحت تأثیر این عوامل قرار نمی‌گیرد. بیشترین درصد جوانه‌زنی کل بذرهای دارای خواب قیچ لوبیایی در دمای متناوب ۲۵/۱۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی مداوم به میزان ۵۴/۶ درصد و کمترین جوانه‌زنی در تیمار ۳۰/۲۰ درجه سانتی‌گراد و در شرایط نور-تاریکی به میزان ۱۳/۳ درصد اتفاق افتاد (جدول ۲).

در شرایطی که تیمار شکستن خواب روی بذرهای انجام شد، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای جوانه‌زنی وجود نداشت و در همه دماها، جوانه‌زنی به صورت یکسانی رخ داد (جدول ۲). این موضوع نشان داد که با حذف سختی پوسته (شکستن خواب بذر)، جوانه‌زنی بذر هیچ واکنشی نسبت به رژیم نوری نشان نداد. در تحقیقی مشابه در اسپرک زرد (*Reseda lutea* L.) بیشترین درصد جوانه‌زنی (۷۶ درصد) در دمای ۲۵/۱۵ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط تاریکی مداوم و کمترین جوانه‌زنی (۱۰ درصد) در دمای ۲۰/۱۰ درجه سانتی‌گراد در شرایط نور/تاریکی مشاهده شد (Ebrahimi & Eslami, 2014). بر این اساس می‌توان گفت که بذرهای علف‌هرز قیچ لوبیایی همانند بذرهای اسپرک زرد فاقد خاصیت فتوبلاستیک هستند. از سوی دیگر می‌توان بیان کرد که احتمالاً در بذرهای قیچ لوبیایی از نور برای تعیین عمق قرارگیری بذر، استفاده نمی‌شود ولی دماهای متناوب که از خصوصیات اعماق کم خاک است، یکی از مکانیزم‌های اصلی تشخیص عمق قرارگیری بذرهای در خاک است.

نور شرایط خواب بذر را برای محافظت گیاهچه در شرایط سخت محیطی تسهیل می‌کند و می‌تواند پاسخ‌های جوانه‌زنی را به صورت مستقل یا در برهمکنش با سایر عوامل محیطی مانند شوری و دما کنترل کند (El-Keblawy et al., 2011). بذرهای برخی از گیاهان از جمله (*Zygophyllum simplex* L. و *Haloxylon recurvum* L.) در حضور نور (Khan & Ungar, 1997) و *Lasiurus scindicus* L. و *Panicum turgidum* در تاریکی مطلق بهتر جوانه می‌زنند. اما بذرهای تعدادی از گیاهانی مانند *Atriplex stocksii* L. بطور یکسان در نور و تاریکی جوانه می‌زنند (El-Keblawy et al., 2011).

1- *Salsola kali* L.

جدول ۲- مقایسات میانگین تاثیر دماهای متناوب، رژیم نور و تیمار شکستن خواب بر درصد جوانه‌زنی کل بذرهای قیج لوبیایی  
Table 2- Mean comparisons of the effect of alternative temperatures, light regimes and breaking seed dormancy treatment on total seed percentage of Syrian bean caper

| دماهای متناوب (شب/روز) (درجه سانتیگراد)<br>Alternative temperature (Day/Night) (° C) | رژیم نوری<br>Light regime | بدون شکستن خواب بذر<br>Without breaking seed dormancy | شکستن خواب بذر<br>Breaking seed dormancy |
|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| 20/10                                                                                | تاریکی Dark               | 16.0 <sup>de</sup>                                    | 90.6 <sup>a</sup>                        |
|                                                                                      | نور Light                 | 17.3 <sup>de</sup>                                    | 82.6 <sup>a</sup>                        |
| 25/15                                                                                | تاریکی Dark               | 54.6 <sup>b</sup>                                     | 82.6 <sup>a</sup>                        |
|                                                                                      | نور Light                 | 20.0 <sup>de</sup>                                    | 90.6 <sup>a</sup>                        |
| 30/10                                                                                | تاریکی Dark               | 17.3 <sup>de</sup>                                    | 84.0 <sup>a</sup>                        |
|                                                                                      | نور Light                 | 13.3 <sup>de</sup>                                    | 86.6 <sup>a</sup>                        |
| 30/20                                                                                | تاریکی Dark               | 22.6 <sup>d</sup>                                     | 88.0 <sup>a</sup>                        |
|                                                                                      | نور Light                 | 5.3 <sup>f</sup>                                      | 84.0 <sup>a</sup>                        |

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) تفاوت معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) ندارند.  
The means within a column followed by the same letters are not significantly different at  $p \leq 0.05$  according to the LSD test.

این‌حال دماهای خیلی زیاد باعث توقف فعالیت برخی از آنزیم‌ها می‌شوند (Bonhome, 2000).

برای کمی‌سازی جوانه‌زنی تجمعی در طی زمان در دماهای مختلف (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد) از معادله سیگموئیدی سه پارمتره استفاده شد (شکل ۱ و جدول ۵). همانطور که مشاهده می‌شود الگوی جوانه‌زنی بذرهای قیج لوبیایی از روند سیگموئیدی تبعیت کرده و این مدل برازش مناسبی به داده‌ها نشان داد (شکل ۱ و جدول ۵).

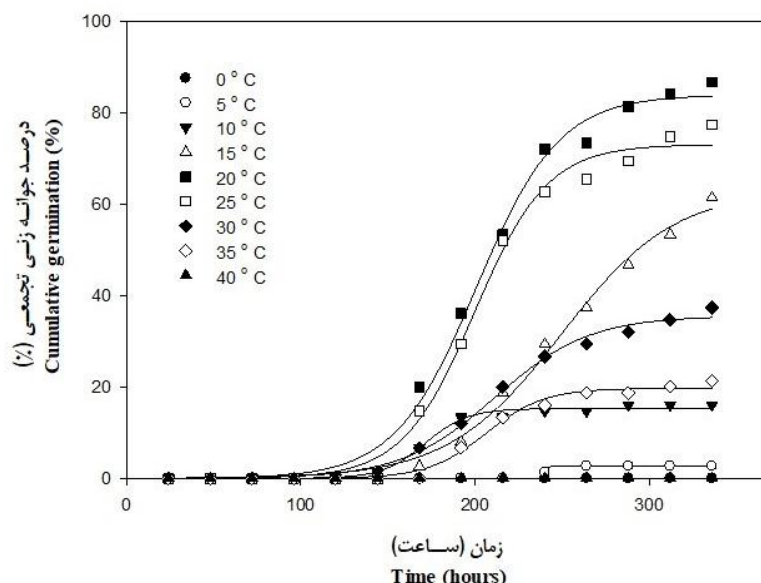
#### دماهای کاردینال جوانه‌زنی

دماهای مختلف تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر جوانه‌زنی کل و سرعت جوانه‌زنی داشتند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی مربوط به دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به میزان ۸۶/۷ درصد و ۲/۴۶ بذر در روز بود و کمترین درصد و سرعت جوانه‌زنی مربوط به دمای صفر و ۴۰ درجه سانتی‌گراد به میزان صفر بود (جدول ۳). جوانه‌زنی در دماهای پایین‌تر از ۵ درجه سانتی‌گراد و ۴۰ درجه سانتی‌گراد متوقف شد (جدول ۳). فعالیت آنزیم‌ها با افزایش دما زیاد شده و به دنبال آن سرعت جوانه‌زنی افزایش می‌یابد، با

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر درجه حرارت‌های مختلف بر درصد جوانه‌زنی کل و سرعت جوانه‌زنی بذرهای قیج لوبیایی  
Table 3- Means comparison of total germination and germination rate as affected by different temperature in Syrian bean caper

| دما (درجه سانتیگراد)<br>Temperature (° C) | جوانه‌زنی کل (درصد)<br>Total Germination (%) | سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز)<br>Germination rate (seed per day) |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 0                                         | 0.0 <sup>c</sup>                             | 0.00 <sup>c</sup>                                              |
| 5                                         | 2.7 <sup>bc</sup>                            | 0.06 <sup>c</sup>                                              |
| 10                                        | 17.3 <sup>bc</sup>                           | 1.05 <sup>b</sup>                                              |
| 15                                        | 61.3 <sup>a-c</sup>                          | 2.25 <sup>a</sup>                                              |
| 20                                        | 86.7 <sup>a</sup>                            | 2.20 <sup>a</sup>                                              |
| 25                                        | 77.3 <sup>ab</sup>                           | 2.07 <sup>a</sup>                                              |
| 30                                        | 37.3 <sup>a-c</sup>                          | 1.12 <sup>b</sup>                                              |
| 35                                        | 21.3 <sup>a-c</sup>                          | 0.51 <sup>c</sup>                                              |
| 40                                        | 0.0 <sup>c</sup>                             | 0.00 <sup>c</sup>                                              |

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) تفاوت معنی‌داری ( $P \leq 0.05$ ) ندارند.  
The Means within a column followed by the same letters are not significantly different at  $p \leq 0.05$  according to the LSD test.



شکل ۱- درصد جوانه‌زنی تجمعی بذره‌های قیچ لوبیایی در طی زمان در پاسخ به دماهای مختلف

نقاط مشاهدات واقعی و خطوط حاصل از برازش مدل سیگموئیدی سه پارامتره می‌باشند.

Figure 1- Cumulative germination percentage of Syrian bean caper seeds over time in response to different temperatures  
Points are real observations and lines resulting from fitting three parameters sigmoid function.

جدول ۴- زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذرها و پارامترهای حاصل از برازش معادله سیگموئیدی سه پارامتره به داده‌های جوانه‌زنی بذره‌های قیچ لوبیایی در طی زمان، در دماهای مختلف

Table 4- Time to reach to 50% seed germination and parameters resulted from fitting three parameters sigmoid function to seed germination of Syrian bean caper over time at different temperature

| دما (درجه سانتیگراد)<br>Temperature (°C) | حداکثر جوانه‌زنی تجمعی (درصد)<br>Maximum seed germination (%) (a) | شیب خط<br>(b) b (slope) | زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی<br>(X <sub>50</sub> ) (ساعت)<br>Time to reach 50% germination (hour) | ضریب تبیین<br>R <sup>2</sup> | سطح معنی‌داری<br>Probability level |
|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|------------------------------------|
| 0                                        | 0.00                                                              | -                       | -                                                                                                    | -                            | -                                  |
| 5                                        | 2.66*                                                             | 0.96*                   | 240.00*                                                                                              | 0.97                         | 0.0001                             |
| 10                                       | 15.25*                                                            | 12.32*                  | 171.14*                                                                                              | 0.99                         | 0.0001                             |
| 15                                       | 63.11*                                                            | 32.55*                  | 249.61*                                                                                              | 0.99                         | 0.0001                             |
| 20                                       | 83.83*                                                            | 23.55*                  | 201.00*                                                                                              | 0.99                         | 0.0001                             |
| 25                                       | 72.98*                                                            | 20.78*                  | 199.93*                                                                                              | 0.99                         | 0.0001                             |
| 30                                       | 35.49*                                                            | 26.98*                  | 211.61*                                                                                              | 0.99                         | 0.0001                             |
| 35                                       | 19.69*                                                            | 16.79*                  | 206.29*                                                                                              | 0.98                         | 0.0001                             |
| 40                                       | 0.00                                                              | -                       | -                                                                                                    | -                            | -                                  |

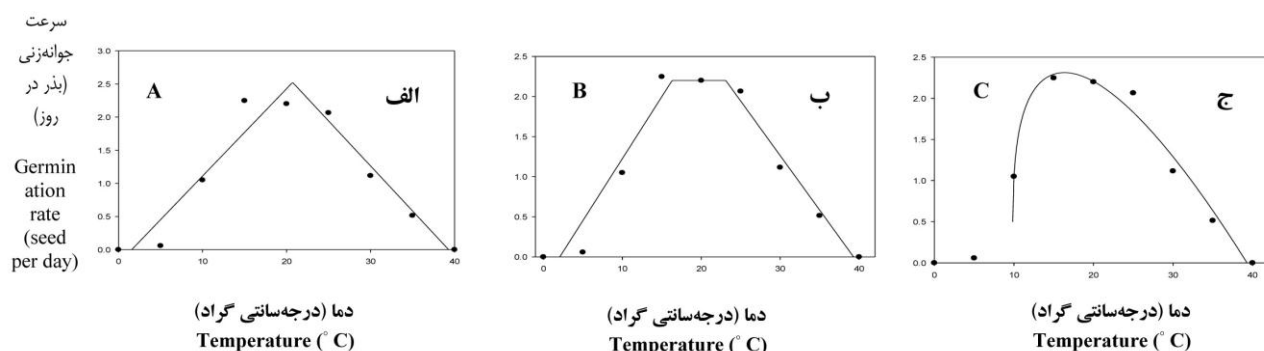
\*: معنی‌دار بر اساس آزمون t در سطح ۵ درصد.

\*: Significant based in t-Test at 5% probability.

اغلب، سرعت جوانه‌زنی نسبت به درصد جوانه‌زنی از حساسیت بالاتری نسبت به دما برخوردار است (Tabrizi et al., 2004). به همین جهت از واکنش سرعت جوانه‌زنی نسبت به دما برای بدست آوردن درجه حرارت‌های کاردینال استفاده می‌شود (Hardgree, 2006). همانطور که قبلاً ذکر شد، دماهای کاردینال (دمای پایه، مطلوب، و حداکثر) جوانه‌زنی بذره‌های قیچ لوبیایی با استفاده از برازش

با توجه به شکل ۱ و جدول ۴، دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بر مبنای میزان جوانه‌زنی حداکثر (a) و زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (X<sub>50</sub>) بهترین دما برای جوانه‌زنی بذره‌های قیچ لوبیایی می‌باشد. دامنه گسترده جوانه‌زنی بذره‌های قیچ لوبیایی از ۵ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد، نشان از توانایی بالای این گونه برای رویش در فصول مختلف و در شرایط آب و هوایی متنوع می‌باشد.

مربعات (RMSE) نزدیک به هم بود، از شاخص ضریب تبیین ( $R^2$ ) استفاده شد و بر این اساس مدل چهار پارامتره بتا بهترین مدل تشخیص داده شد و در نتیجه دماهای کاردینال جوانه‌زنی بذرهای قیچ لوبیایی براساس این مدل معرفی تعیین شد (شکل ۲ و جدول ۵).



شکل ۲- رابطه بین دما و سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) بذرهای قیچ لوبیایی بر اساس مدل‌های الف) خطوط متقاطع ب) دندان مانند ج) بتا چهار پارامتره

Figure 2- Relationship between temperature and germination rate (seeds per day) based on (A) segmented (B) dent-like (C) four parameters beta models for Syrian bean-caper

گیاه قیچ لوبیایی انجام شد مطابقت دارد (Zarandi et al., 2017). نتایج مطالعه‌ای در بیوتیپ‌های مختلف سلمه تره (*Chenopodium album*) (Leblanc, 2003) نشان داد که دمای حداقل جوانه‌زنی بین ۲ تا ۷ درجه سانتی‌گراد، دمای مطلوب بین ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دمای حداکثر بین ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد بود. رومن و همکاران (Roman et al., 1999) دماهای کاردینال جوانه‌زنی را برای بذرهای سلمه تره به ترتیب دمای پایه ۴/۲، دمای بهینه ۲۶ و دمای بیشینه ۳۹/۵ درجه سانتی‌گراد تعیین کردند.

عباسیان و همکاران (Abbasian et al., 2017) در بررسی که روی گیاه نوظهور گل گندم (*Centaurea balsamita* Lam.) انجام دادند، بیان کردند که بالاترین درصد و سرعت جوانه‌زنی مربوط به دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. کوپلند و مکدونالد (Copeland & McDonald, 1995) بیان داشتند که دماهای مطلوب و حداکثر جوانه‌زنی بیشتر بذرهای بین ۱۵ تا ۳۰ و ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. در مجموع، دامنه دمایی مطلوب برای جوانه‌زنی قیچ لوبیایی ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد است (شکل ۲) که با تحقیق مشابهی که روی

جدول ۵- ضرایب تبیین و دماهای کاردینال جوانه‌زنی قیچ لوبیایی برآورد شده براساس برازش معادلات خطوط متقاطع، دندانه مانند و چهار پارامتره بتا به رابطه بین سرعت جوانه‌زنی و دما

Table 5- Coefficient of determination and cardinal germination temperatures of bean shears estimated based on fitting equations of Segmented, Dent-like and four beta parameters to the relationship between germination rate and temperature

| دما (درجه سانتی‌گراد)<br>Temperature (°C) | مدل خطوط متقاطع<br>Segmented model | مدل دندان مانند (DL)<br>Dent-like model | مدل چهار پارامتره بتا<br>Beta 4 parametrs model |
|-------------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------|
| پایه ( $T_b$ )                            | 1.57                               | 2.07                                    | 9.83                                            |
| مطلوب ( $T_o$ )                           | 20.72                              | 16.30-23.10                             | 16.33                                           |
| حداکثر ( $T_m$ )                          | 39.29                              | 39.29                                   | 39.29                                           |
| ضریب تبیین ( $R^2$ )                      | 0.88                               | 0.88                                    | 0.97                                            |
| RMSE                                      | 1.368345                           | 1.36973                                 | 1.36002                                         |

از مکانیسم‌های شکست خواب بذرهای این گیاه بود. باتوجه به اینکه جوانه‌زنی بذرهای خواب و غیرخواب نسبت به نور واکنش نشان نداد، می‌توان گفت که بذرهای قیچ لوبیایی فتوبلاست نیستند. دماهای پایه، مطلوب و حداکثر جوانه‌زنی بذرهای قیچ لوبیایی به ترتیب ۹/۸،

## نتیجه‌گیری

بطور کلی نتایج این پژوهش نشان از وجود مکانیسم خواب فیزیکی در بذرهای گیاه قیچ لوبیایی بود. دمای متناوب نیز یکی دیگر

های هرز مساله ساز این مناطق قرار خواهد گرفت. از بعد مدیریتی نیز به نظر می‌رسد پایش جمعیت‌های این گونه در مناطق مذکور می‌بایست با دقت نظر بیشتری صورت گیرد و از سوی دیگر با توجه به اثرات ناشی از تغییر اقلیم و بهره‌گیری از مدل‌ها و سناریوهای موجود در این خصوص، می‌توان زیستگاه‌های در معرض خطر را شناسایی و از ابزارهای پیشگیری در جهت جلوگیری از تهاجم این گونه به زیستگاه‌های در معرض خطر، جلوگیری کرد.

۱۶/۳ و ۳۹/۲ درجه سانتی‌گراد و بهترین دامنه دمایی برای جوانه‌زنی بین ۱۶ تا ۲۳ درجه بود. با توجه به مکانیسم‌های مؤثر بر شکست خواب بذرهای قیچ لوبیایی (حذف سختی پوسته و تیمار دماهای متناوب) و نیز دامنه دمایی جوانه‌زنی بذرهای این گیاه، به نظر می‌رسد گسترش این گیاه در مناطق با اقلیم معتدل و نیمه خشک افزایش خواهد یافت. از سوی دیگر با توجه به توان رقابتی بالای این گونه و قابلیت تولید بذر فراوان، بزودی این گونه علف هرز در فهرست علف

## References

1. Abbasian, A., Asadi, G., & Ghorbani, R. (2017). The effect of temperature on some germination index of invasive plant of *Centaurea balsamita* and determination of its germination Cardinal Temperatures. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 5(2), 215-222. (In Persian with English abstract)
2. Al-e-Ebrahim, M., Rashed Mohassel, M., Maighany, F., & Baghestani, M.A. (2011). Study of different techniques for breaking dormancy and optimum temperature for germination of Russian Knapweed (*Acroptilon repens*). *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 24(4). (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.v24i4.8127>
3. Ansari, O., Gherekhloo, J., Kamkar, B., & Ghaderi-Far, F. (2016). Breaking seed dormancy and determining cardinal temperatures for *Malva sylvestris* using nonlinear regression. *Seed Science and Technology*, 44(3), 447-460. <https://doi.org/10.15258/sst.2016.44.3.05>
4. Asgarpour, R., Mijani, S., & Ghorbabi, R. (2014). Effect of temperature on germination rate of Russian thistle (*Salsola kali* L.) based on regression models. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 27(4), 476-483. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.v27i4.29893>
5. Baskin, C., & Baskin, J.M. (2014). *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, San Diego, 150-162.
6. Baskin, J., & Baskin, C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14(1), 1-16. <https://doi.org/10.1079/SSR2003150>
7. Bonhomme, R. (2000) Bases and limits to using "Degree Day" Units. *European Journal of Agronomy*, 13, 1-10. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(00\)00058-7](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(00)00058-7)
8. Copeland, L.O., & McDonald, M.B. (1995). Principles of seed science and technology. 4<sup>th</sup> edn. *Annals of Botany*, 89(6), 798.
9. Ebrahimi, E., & Eslami, S. (2013). Breaking dormancy and effect of some environmental factors on germination of Cutleaf Mignonette (*Reseda lutea* L.) Seeds. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 27(2), 177-184. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.v27i2.24535>
10. El-Keblawy, A., Al-Ansari, F., & Al-Shamsi, N. (2011). Effects of temperature and light on salinity tolerance during germination in two desert glycophytic grasses, *Lasiurus scindicus* and *Panicum turgidum*. *Grass and Forage Science*, 66(2), 173-182. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2010.00773.x>
11. Gadiri, H., & Niazi, M. (2005). Effects of scarification and stratification on seed germination and dormancy of *Turgenia latifolia*, *Cuscuta* sp. and *Sophora alopecuroides* in different temperature regimes. *Iran Agricultural Research*, 23.24(1), 9-17. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22099/iar.2005.4248>
12. Ghahreman, A. (1997). *Flora of Iran*. Tehran: Research Institute of Forests and rangelands. 250p. (In Persian)
13. Hardegree, S.P. (2006). Predicting germination response to temperature. I. Cardinal-temperature models and subpopulation-specific regression. *Annals of botany*, 97(6), 1115-1125. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl071>
14. Izadi-Darbandi, E., Mirzaei, M., & Mehdikhani, H. (2018). Evaluation of flora and distribution of weeds in pistachio (*Pistacia vera*) orchards of Kerman City. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 32(1), 59-69. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.v32i1.60787>
- 15- Kamkar, B., Koocheki, A.R., Nassiri-Mahallati, M., & Rezvani-Moghaddam, P. (2006). Cardinal temperatures for germination in three millet species (*Panicum miliaceum*, *Pennisetum glaucum* and *Setaria italica*). *Asian Journal of Plant Sciences*, 5(2):316-319. <http://doi.org/10.3923/ajps.2006.316.319>
16. Khajeh-Hosseini, M., Orooji, K., & Avarseji, Z. (2010). Evaluation of some seed dormancy breaking methods on twenty weeds species. The 3rd Iranian Weed Science Congress. February 2010. p 167-169. (In Persian with English abstract)
17. Khan, M.A., & Ungar, I.A. (1997). Effect of light, salinity and thermoperiod on the seed germination of halophytes. *Canadian Journal of Botany*, 75(5), 835-841. <http://doi.org/10.1139/b97-093>

18. Leblanc, M., Cloutier, D., Stewart, K., & Hamel, C. (2003). The use of thermal time to model common lambsquarters (*Chenopodium album*) seedling emergence in corn. *Weed Science*, 51(5), 718-724. <https://doi.org/10.1614/P2002-108>
19. Melendo, M., Benitez, E., & Nogales, R. (2002). Assessment of the feasibility of endogenous Mediterranean species for phytoremediation of Pb contaminated areas. *Fresenius Environmental Bulletin*, 11(2), 1105-1109.
20. Piper, E.L., Boote, K.J., Jones, J.W., & Grimm, S.S. (1996). Comparison of two phenology models for predicting flowering and maturity date of soybean. *Crop Science*, 36(6), 1606-1614. <https://doi.org/10.2135/cropsci1996.0011183X003600060033x>
21. Roche, C. (1991). *Syrian beancaper (Zygophyllum fabago L.)*. Pacific Northwest Extension Publication PNW-370. WSU Cooperative Extension, Pullman, Wash.
22. Roman, E., Thomas, A., Murphy, S., & Swanton, C. (1999). Modeling germination and seedling elongation of common lambsquarters (*Chenopodium album*). *Weed Science*, 47(2), 149-155. <https://doi.org/10.1017/S0043174500091554>
23. Sarmadi, A., Tavakkol-Afshari, R., Rahimian-Mashhadi, H., & Mamed, A. (2017). Cardinal temperatures for germination of *Tribulus terrestris*. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 48(2), 413-419. (In Persian with English abstract)
24. Sharifi, S., Nejad Sattari, T., Zebarjadi, A.R., Majd, A., & Ghasempour, H.R. (2012). Enhanced callus induction and high-efficiency plant regeneration in *Tribulus terrestris* L., an important medicinal plant. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(27), 4401-4408. <https://doi.org/10.5897/JMPR12.260>
25. Soltani, A., Robertson, M.J., Torabi, B., Yousefi-Daz, M., & Sarparast, R. (2006) Modeling seedling emergence in chickpea as influenced by temperature and sowing depth. *Agricultural and Forest Meteorology*, 138, 156-167. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2006.04.004>
26. Soltani, A., Zeinali, E., Galeshi, S., & Latifi, N. (2001). Genetic variation for and interrelationships among seed vigor traits in wheat from the Caspian Sea coast of Iran. *Seed Science and Technology*, 29, 653-662.
27. Sozzi, G.O., & Chiesa, A. (1995). Improvement of caper (*Capparis spinosa* L.) seed germination by breaking seed coat-induced dormancy. *Scientia Horticulturae*, 62(4), 255-261.
28. Tabrizi, L., Nasiri Mahalati, M., & Koocheki, A. (2004). Investigations on the cardinal temperatures for germination of *Plantago ovata* and *Plantago psyllium*. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 2(2), 143-150. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/gsc.v2i2.1248>
29. Tavili, A., Saberi, M., & Shahriari, A. (2011). Effect of different treatments on improving germination characteristics and early growth of species *Zygophyllum eurypterum* Boiss. & Buhse and *Zygophyllum eichwaldii* C.A.M. *Watershed Research (Research & Construction)*, 86, 64-69. (In Persian with English abstract)
30. Yan, W., & Hunt, L.A. (1999). An equation for modelling the temperature response of plants using only the cardinal temperatures. *Annals of Botany*, 84, 607-614. <https://doi.org/10.1006/ANBO.1999.0955>
31. Yaripour, S., Delnavazi, M. R., Asgharian, P., Valiyari, S., Tavakoli, S., & Nazemiyeh, H. (2017). A survey on phytochemical composition and biological activity of *Zygophyllum fabago* from Iran. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 7(1), 109-114. <https://doi.org/10.15171/apb.2017.014>
32. Zand, A., Baghestani, M.A., Nezam-Abadi, N., MinBashi-Moeini, M., & Hadizade, M.H. (2010). A review of the latest list of important Iranian herbicides and weeds. *Journal of Weed Research*, 1(2), P82-100. (In Persian with English abstract)
33. Zarandi, L., Chaparzade, N., & Hajizade, G. (2017). Interactive effects of light and temperature on germination of *Zygophyllum fabago* L. *Desert Ecosystem Engineering Journal*, 5(11), 1-8. (In Persian with English abstract)





## Research Article

Vol. 37, No. 4, 2024, p. 425-439

## The effect of pH and light on the efficacy of spray solution stored of haloxyfop-r-methyl, fluazifop-p-butyl, and sethoxydim against wild barley (*Hordeum spontaneum* K. Koch)

Sh. Taheri<sup>1</sup>, A. Aliverdi<sup>2\*</sup>, G. Ahmadvand<sup>2</sup>

1 and 2– Master's Degree and Associate Professor 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](mailto:a.aliverdi@basu.ac.ir))

Received: 17-01-2023

Revised: 19-03-2023

Accepted: 26-06-2023

Available Online: 01-07-2023

**How to cite this article:**

Taheri, Sh., Aliverdi, A., & Ahmadvand, G. (2024). The effect of pH and light on the efficacy of spray solution stored of haloxyfop-r-methyl, fluazifop-p-butyl, and sethoxydim against wild barley (*Hordeum spontaneum* K. Koch). *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 37(4), 425-439. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.2023.80667.1128>

### Introduction

After preparing the spray solution of herbicide, there are situations where the farmer intentionally or unintentionally has to store the prepared spray solution for some time, even several days, in the sprayer tank. For example, when weather conditions for spraying become unfavorable, when a piece of failure in herbicide application equipment occurs, or when the spray solution at night is prepared to use at dawn. Herbicides either decompose chemically or react with compounds in the water, decreasing the efficacy of controlling weeds. Now, the first question that comes to mind is: how long can the herbicide be kept in the sprayer tank without losing its efficacy? In the water, herbicides inhibiting acetyl coenzyme A carboxylase (ACCase) undergo hydrolysis or photolysis, producing metabolites that do not have herbicidal properties. Therefore, the stored spray solution of ACCase-inhibiting herbicides cannot effectively control weeds. For this reason, it is suggested such a spray solution should be thrown away. The metabolites from ACCase-inhibiting herbicides, while not having herbicidal properties, are leached faster in the soil, have a higher half-life, and are more toxic to non-target organisms. Therefore, the suggestion to throw away the stored spray solution of ACCase-inhibiting herbicides does not seem logical not only from the environmental point of view but also from the economic point of view. Now, the second question that comes to mind is: what is the solution to reduce the speed of hydrolysis or photolysis? This study was carried out to investigate (i) the effect of the storage time of the spray solution of three ACCase-inhibiting herbicides (haloxyfop-r-methyl, fluazifop-p-butyl, and sethoxydim) on their efficacy in controlling wild barley (*Hordeum spontaneum*) and (ii) the effect of two factors of pH and light on the relationship above.

### Materials and Methods

For each herbicide, an experimental three-factorial arrangement ( $6 \times 2 \times 9$ ) as a completely randomized design with 4 replications. The first factor was six doses of herbicide (0, 20, 40, 60, 80, and 100% of the labeled dose); the second factor was two pHs of spray water (5 and 8); and the third factor was nine storage time/conditions (0, 24, 48, 96, and 192 h storage in the dark, 12+12, 24+24, 48+48, and 96+96 h storage in the dark+light). The spray solution corresponding to the zero level of the aforementioned third factor was prepared on the same day of spraying. For other levels of this factor, the relevant spray solution with a volume of one liter was prepared in the previous days (24, 48, 96, and 192 h before the day of spraying) and stored in transparent



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/jpp.2023.80667.1128>

polyethylene terephthalate plastic bottles. The bottles were kept in two outdoor conditions: 1) kept in complete darkness - for this purpose, the bottles were kept in black plastic packed in a carton; and 2) kept in the darkness of the night and the light of the day - for this purpose, the bottles without any cover were exposed to the darkness of the night as well as to the sunlight. The treatments were applied at the four-leaf stage of wild barley; four weeks later, they were harvested, oven-dried, and weighed. A methodology known as dose-response curves was used to analyze the data to obtain the dose required for 50% control ( $ED_{50}$ ).

## Results and Discussion

When the solution was sprayed immediately after preparation, reducing the pH from 8 to 5 did not significantly affect the  $ED_{50}$  of haloxyfop-r-methyl and fluazifop-p-butyl. While the  $ED_{50}$  of sethoxydim significantly decreased from 136.64 to 113.35 g a.i.  $ha^{-1}$ , indicating that pH reduction can improve the efficacy of sethoxydim in the control of wild barley. The possible reason can be related to the difference in the formulation of the above herbicides. Haloxyfop-r-methyl and fluazifop-p-butyl are formulated as pre-herbicide. Under each condition (in terms of pH and light), when the time of storing the spray solution of herbicides was prolonged, a steady reduction of efficacy was observed. In the case of haloxyfop-R-methyl spray solution, when pH was not changed (pH 8), 24 h storage in the dark (43.78 g a.i.  $ha^{-1}$ ) and 12+12 h storage in the dark+light (41.44 g a.i.  $ha^{-1}$ ) significantly increased the  $ED_{50}$  as compared to the control treatment (0 h storage (34.60 g a.i.  $ha^{-1}$ )). While when pH was reduced (pH 5), the efficacy of five treatments (including: 24 and 48 h storage in the dark and 12+12, 24+24, and 48+48 h storage in the dark+light) did not differ significantly from the efficacy of the control treatment. In the case of fluazifop-p-butyl spray solution, when pH was not changed (pH 8), all storage treatments significantly increased the  $ED_{50}$  as compared to the control treatment (0 h storage (80.64 g a.i.  $ha^{-1}$ )). While when pH was reduced (pH 5), the efficacy of two treatments of 24 and 48 h storage in the dark did not differ significantly from the efficacy of the control treatment. In the sethoxydim spray solution, when pH was not changed (pH 8), all storage treatments significantly increased the  $ED_{50}$  as compared to the control treatment (0 h storage (136.64 g a.i.  $ha^{-1}$ )). When pH was reduced (pH 5), the efficacy of all storage treatments still did not differ significantly from the efficacy of the control treatment.

## Conclusion

If the pH of the spray solution was reduced, the spray solution of haloxyfop-r-methyl can be stored for at least 48 h in each light condition without losing its efficacy. If the pH of the spray solution was reduced and stored in the dark, the spray solution of fluazifop-p-butyl can be stored for 48 h without losing its efficacy. Sethoxydim is very sensitive to the storage of its spray solution. Changing the storage conditions, especially the pH, not only does not help in maintaining the efficacy but also causes a further loss in its efficacy.

**Keywords:** Alkaline decomposition, Effective dose, Grassicide, Hydrolysis, Photolysis

## مقاله پژوهشی

جلد ۳۷ شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص. ۴۳۹-۴۲۵

## تأثیر پی‌اچ و نور بر کارایی محلول پاشش نگهداری شده فلوآزیفوپ-پی-بوتیل، هالوکسیفوپ-آر-متیل و ستوکسیدیم علیه جودره (*Hordeum spontaneum* K. Koch)

شهرام طاهری<sup>۱</sup> - اکبر علی‌وردی<sup>۲\*</sup>  - گودرز احمدوند<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۵

## چکیده

گاهی اوقات محلول علف کش های آماده پاشش برای چند روز در مخزن سمپاش باقی می ماند. نگهداری علف کش های بازدارنده آنزیم استیل کوآنزیم آر-متیل و ستوکسیدیم در مخزن برای چند روز منجر به تجزیه علف کش، کاهش کارایی محصول و ایجاد سمیت برای موجودات غیر هدف می شود. آزمایش حاضر با دو هدف (۱) بررسی تأثیر مدت زمان نگهداری محلول پاشش هالوکسیفوپ-آر-متیل، فلوآزیفوپ-پی-بوتیل و ستوکسیدیم بر کارایی آنها در کنترل علف هرز جودره و (۲) بررسی تأثیر دو عامل پی‌اچ آب سمپاشی و نور بر رابطه فوق اجرا گردید. پژوهش حاضر در سه آزمایش مستقل برای هر علف کش انجام گرفت. طرح آزمایشی برای هر آزمایش (هر علف کش) به صورت فاکتوریل ( $9 \times 2 \times 6$ ) در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار بود. اولین فاکتور شامل ۶ سطح از مقدار علف کش (صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد مقدار توصیه شده روی برچسب)، دومین فاکتور شامل ۲ سطح از مقدار پی‌اچ آب سمپاشی (۵ و ۸) و سومین فاکتور شامل ۹ سطح از مدت زمان و شرایط نگهداری (صفر، ۲۴، ۴۸، ۹۶ و ۱۹۲ ساعت نگهداری تحت شرایط تاریکی، ۱۲+۱۲، ۲۴+۲۴، ۴۸+۴۸ و ۹۶+۹۶ ساعت نگهداری تحت شرایط تاریکی و روشنایی طبیعی) بودند. مقادیر ED<sub>50</sub> (مقدار علف کش لازم برای کنترل ۵۰ درصدی) برای هالوکسیفوپ-آر-متیل و فلوآزیفوپ-پی-بوتیل تحت تأثیر پی‌اچ آب سمپاشی قرار نگرفت. در حالی که با کاهش پی‌اچ آب سمپاشی از ۸ به ۵، مقدار پارامتر ED<sub>50</sub> برای ستوکسیدیم به طور معنی داری از ۱۳۶/۶۴ به ۱۱۳/۳۵ گرم ماده مؤثره در هکتار کاهش یافت که نشان دهنده آن است که کاهش پی‌اچ آب می تواند باعث بهبود کارایی ستوکسیدیم در کنترل جودره شود. در تیمار شاهد (تهیه محلول پاشش در همان روز سمپاشی با آبی دارای پی‌اچ ۸)، مقدار هالوکسیفوپ-آر-متیل، فلوآزیفوپ-پی-بوتیل و ستوکسیدیم لازم برای کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک جودره به ترتیب برابر ۳۴/۶۰، ۸۰/۶۴ و ۱۳۶/۶۴ گرم ماده مؤثره در هکتار بدست آمد. در هر وضعیتی (از نظر پی‌اچ و نور)، با افزایش مدت زمان نگهداری محلول پاشش علف کش ها، مقادیر پتانسیل نسبی آنها به طور پیوسته کاهش یافت که حاکی از کاهش کارایی علف کشی آنهاست. ستوکسیدیم حساسیت بسیار شدیدی به نگهداری محلول پاشش نشان داشت؛ به طوری که امکان نگهداری محلول پاشش ستوکسیدیم بدون آفت کارایی آن، حتی به مدت یک روز و حتی با تغییر در پی‌اچ و حذف نور میسر نشد. در حالی که با کاهش پی‌اچ و نگهداری محلول پاشش هالوکسیفوپ-آر-متیل و فلوآزیفوپ-پی-بوتیل در شرایط تاریکی، می توان از آفت کارایی آنها تا دو روز جلوگیری کرد.

**واژه های کلیدی:** باریک برگ کش، تجزیه قلیایی، تجزیه نوری، دز مؤثر

۱ و ۲- به ترتیب کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

(\*)-نویسنده مسئول: (Email: [a.aliverdi@basu.ac.ir](mailto:a.aliverdi@basu.ac.ir))

## مقدمه

حتی در مقیاس روز و ساعت، پیش‌بینی تغییرات جوی بسیار سخت است. پیش‌بینی ناپذیری شرایط جوی می‌تواند به سرعت شرایط را برای کاربرد علف‌کش نامناسب سازد. اغلب، بعد از آماده کردن محلول سمپاشی، شرایط نامناسب جوی مانع از کاربرد آن می‌شود. برای مثال، وقوع بارندگی بعد از کاربرد علف‌کش سبب شستشوی علف‌کش از روی سطوح علف‌های هرز می‌شود و وزش باد در حین سمپاشی نیز سبب بادبردگی قطرات پاشش علف‌کش به محل غیر هدف و آسیب به موجودات غیر هدف می‌شود (Stewart et al., 2009). گاهی نیز بعد از آماده کردن محلول سمپاشی، وقوع نقص در تجهیزات کاربرد علف‌کش مانع از کاربرد آن می‌شود (Eure et al., 2011) و گاهی کشاورزان اقدام به آماده کردن شبانه محلول سمپاشی با هدف پاشش آن در سحرگاه می‌کنند (Eure et al., 2013). در وضعیت‌های بالا، محلول سمپاشی آماده شده (خواسته یا ناخواسته) باید برای مدت زمانی، حتی چندین روز، در مخزن سمپاش نگهداری شود. بطور طبیعی، علف‌کش‌ها در محیط آب یا تجزیه (از طریق واکنش‌های شیمیایی نورکافت<sup>۱</sup> و آبکافت<sup>۲</sup>) می‌شوند، که شدت آن به مدت زمان و شرایط محیطی نگهداری، پی‌اچ آب، علف‌کش و فرمولاسیون آن بستگی دارد، یا اینکه با ترکیبات داخل آب سمپاشی واکنش می‌دهند، که باعث کاهش کارایی علف‌کش‌ها در کنترل علف‌های هرز می‌شود. برخی از علف‌کش‌ها، به‌ویژه علف‌کش‌های بازدارنده استیل کوآنزیم آ کربوسیلاز مانند کلتودیم، ستوکسیدیم (Sandín-España et al., 2016)، کلودینافوپ پروپارژیل (Roy and Singh, 2005)، فلوآزیفوپ-پی-بوتیل (Balah et al., 2017)، هالوکسیفوپ-آر-متیل (Harrison and Wax, 1986) به نورکافت بسیار حساس هستند و با نگهداری محلول سمپاشی در شرایط حضور نور، مولکولشان تجزیه می‌شود. این درحالی است که خود مولکول آب می‌تواند مولکول بسیاری از علف‌کش‌ها را تجزیه کند. در مطالعه‌ای، نگهداری محلول سمپاشی علف‌کش‌های گلایفوسیت، لاکتوفن، توفوردی، آترازین، ایمازتاپیر، کلتودیم و دایکامبا به مدت هشت روز در یک شرایط تاریک سبب کاهش قابل توجه کارایی آنها برای کنترل گونه‌ای علف‌هرز باریک‌برگ *Urochloa subquadriflora* شد ولی بر کارایی علف‌کش پاراکوات تأثیری نداشت (Eure et al., 2013). در مطالعه‌ای دیگر، نگهداری سه روزه محلول سمپاشی توفوردی تأثیری بر کارایی این علف‌کش علیه گل قاصدک (*Taraxacum officinale*) نداشت (Schortgen & Patton, 2020). همچنین، کارایی فرمولاسیون مخلوط علف‌کش‌های دیورون و کارفترازون

وقتی محلول سمپاشی آنها به مدت نه روز نگهداری شده بود تحت تأثیر قرار نگرفت (Eure et al., 2011). این در حالی بود که محلول سمپاشی تهیه شده از فرمولاسیون جداگانه هر کدام از این علف‌کش‌ها وقتی یک روز نگهداری شدند، کارایی آنها به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. استیوارت و همکاران (Stewart et al., 2009) هیچ کاهشی در کنترل علف‌های هرز با نگهداری هفت روزه محلول سمپاشی دیفلوفنزوپیر، گلایفوسیت، گلو فوسینات آمونیوم، مزوتریون، آترازین، نیکوسولفورون و ریم‌سولفورون در یک شرایط تاریک مشاهده نکردند. نگهداری محلول سمپاشی علف‌کش پیرمترین به مدت چهار ماه در آب مخزن در شرایط طبیعی سبب افت تقریباً ۵۰ درصدی در کارایی آن شد (Xue et al., 2008). محققان نشان دادند که هر چقدر مدت زمان نگهداری علف‌کش ستوکسیدیم در آب سخت‌تر باشد، منجر به کاهش کارایی آن می‌شود. آنها علت کاهش کارایی ستوکسیدیم را پیوند آن با کاتیون‌های موجود در آب (نه آبکافت) بیان کردند (Nalewaja et al., 1994). اتفاقی مشابه بین علف‌کش ایزوکسافلوتول با هیپوکلریت موجود در آب شرب گزارش شده است وقتی محلول سمپاشی آن به مدت یک روز نگهداری شد (Lin et al., 2003). با این وجود، نگهداری مخلوط ایزوکسافلوتول به همراه آترازین در آب شرب شهری به مدت هفت روز باعث شده تا اثر منفی هیپوکلریت موجود در آب شرب بر کارایی ایزوکسافلوتول از بین برود (Stewart et al., 2009). بوربوم (Boerboom, 2004) گزارش کرد که نگهداری محلول سمپاشی دایکامبا به مدت یک روز سبب کاهش کارایی آن می‌شود. وی بعد از تخلیه مخزن سمپاش مجدداً آنرا با آب مقطر پر کرد و محلول جدید را بر روی گیاه سویا پاشید و علائم خسارت را روی سویا مشاهده کرد. بدین صورت، وی علت کاهش کارایی دایکامبا در زمان نگهداری محلول سمپاشی را مربوط به اتصال مولکول دایکامبا به جداره سمپاش دانست. در تحقیقی دیگر گزارش شده است که محلول پاشش نیکوسولفورون با گذشت زمان اسیدی‌تر می‌شود و نگهداری ۷۲ ساعته آن باعث کاهش ۳۰ درصدی کارایی آن در کنترل علف‌هرز باریک‌برگ پالیز (*Urochloa brizantha*) می‌شود (Silveira et al., 2020).

حال، اولین سوالی که در ذهن متبادر می‌شود این است که تا چه مدت زمانی می‌توان علف‌کش را در مخزن سمپاش بدون افت در کارایی آن نگهداشت (Stewart et al., 2009)؟ در محیط آب، علف‌کش‌های بازدارنده استیل کوآنزیم آ کربوسیلاز دچار آبکافت شدیدی می‌شوند. حاصل آبکافت این علف‌کش‌ها، تولید ترکیباتی است که خاصیت علف‌کشی ندارند (Badawi et al., 2015). از این‌رو، محلول سمپاشی نگهداری شده علف‌کش‌های بازدارنده استیل کوآنزیم آ کربوسیلاز نمی‌تواند علف‌های هرز باریک‌برگ (مثل جو دره) را به

1- Photolysis

2- Hydrolysis

کش پروپاکویزالفوپ در پی‌اچ آب خنثی در مقایسه با پی‌اچ‌های اسیدی و قلیایی کندتر گزارش شده است (Hazra et al., 2015). با این وجود، علف‌کش‌های کویزالوپ-پی-اتیل و کلودینافوپ پروپارژیل در محیط آب خاک با پی‌اچ اسیدی‌تر با سرعت کمتری آب‌کافت می‌شوند (Ahemad & Khan, 2009).

آزمایش حاضر با دو هدف اجرا گردید: (۱) بررسی تأثیر مدت زمان نگهداری محلول سمپاشی هالوکسیفوپ-آر-متیل، فلوازیفوپ-پی-بوتیل و ستوکسیدیم بر کارایی آنها در کنترل علف‌هرز جودره و (۲) بررسی تأثیر دو عامل پی‌اچ آب و نور بر رابطه فوق.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در اواخر تابستان و اوایل پاییز ۱۴۰۰ در گلخانه تحقیقاتی بخش زراعت و آزمایشگاه بیولوژی علف‌های هرز دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان اجرا گردید. سنبله‌های علف‌هرز جودره از محوطه داخلی دانشگاه بوعلی سینا همدان در بهار ۱۳۹۹ جمع‌آوری شد. سنبله‌های جمع‌آوری شده درون کارتن بسته‌بندی تا زمان اجرای آزمایش در محیط اتاق نگهداری شدند. هیچ سابقه کاربرد علف‌کشی در محوطه جمع‌آوری سنبله‌ها وجود ندارد.

قبل از شروع آزمایش، به صورت دستی پوشینه لِمای (نه پالئا) بذرها از آنها جدا شد. حذف پوشینه لِما به دلیل عمل مانع‌کنندگی فیزیکی آن برای سر راه رشد جنین و خروج ریشه‌چه انجام گرفت که به وسیله چن و همکاران (Chen et al., 2004) به اثبات رسیده بود. بذره‌های اصطلاحاً پوسته‌کنده به مدت یک دقیقه درون محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد قرار گرفتند تا ضدعفونی سطحی شوند. بذرها از سمت شیاردار (جهت یکنواختی در جوانه‌زنی بذرها) بر روی یک لایه کاغذ صافی داخل پتری‌دیش‌هایی پلاستیکی با قطر ۱۰ سانتی‌متری قرار داده شدند (داخل هر پتری‌دیش در حدود ۵۰ بذر). سپس، داخل هر پتری‌دیش در حدود ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۲ گرم نیترات پتاسیم در لیتر اضافه شد. تمامی پتری‌دیش‌ها داخل کارتن بسته‌بندی قرار گرفتند و به مدت ۴۸ ساعت در درون یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از چینه‌سرمایی، پتری‌دیش‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند. تمامی مراحل نگهداری بذرها در شرایط تاریکی انجام گرفت (Aliverdi & Karami, 2020).

پتری‌دیش‌ها به گلخانه منتقل و تعداد پنج گیاهچه (بذر جوانه زده) که دارای ساقه‌پوش در حدود یک سانتی‌متری بودند به درون هر گلدان نشاء شد. بدین طریق که گیاهچه‌ها روی سطح خاک گلدان که قبلاً آبیاری شده بودند قرار داده شدند و بر روی آنها در حدود یک سانتی‌متر خاک ریخته شد. با ظهور اولیه ساقه‌پوش و قبل از پارگی آن، مجدداً در حدود یک سانتی‌متر خاک روی بستر کشت ریخته شد. از این‌رو، عمق کشت مجموعاً دو سانتی‌متر بود. اندازه گلدان‌ها که

طور مؤثر کنترل نماید. به همین دلیل، پیشنهاد شده است که چنین محلول‌های پاششی را باید دور ریخت. تحقیقات نشان داده است که ترکیبات حاصل از آب‌کافت علف‌کش فلوازیفوپ-پی-بوتیل (Buerge et al., 2020)، کوئیزالفوپ-پی-اتیل (Badawi et al., 2015) سریعتر از خود علف‌کش از نیم‌رخ خاک شسته می‌شوند و به آب‌های سطحی و زیر سطحی وارد می‌شوند. این در حالی است که نیمه عمر ترکیبات حاصل از تجزیه همین علف‌کش‌ها بیشتر از نیمه عمر خود آنها است. سلویا-موران و همکاران (Sevilla-Morán et al., 2017) نیز با شناسایی ترکیبات حاصل از تجزیه نوری ستوکسیدیم در آب، گزارش کردند که ترکیبات حاصل از تجزیه ستوکسیدیم در برابر نور پایدارتر از خود علف‌کش هستند، بنابراین احتمالاً در محیط‌زیست پایدارتر هستند. از طرفی دیگر، از نظر سمیتی نیز ترکیبات حاصله از علف‌کش‌های بازدارنده استیل‌کوانزیم آ کربوکسیلاز از خود علف‌کش سمی‌تر گزارش شده است. برای مثال، ترکیبات حاصل از آب‌کافت علف‌کش فنوکساپروپ-پی-اتیل سمیت بیشتری در مقایسه با خود علف‌کش علیه کک آبی مزین (Daphnia magna) دارند که در آب‌های شیرین یافت می‌شوند (Lin et al., 2016; 2007). ترکیبات حاصل از تجزیه نوری علف‌کش آلکوسیدیم در محیط آب علیه باکتری (Vibrio fischeri) و گوجه‌فرنگی سمی است (Sandín-España et al., 2013)؛ این در حالی است که خود علف‌کش سمیتی برای آنها نداشته است. بطور مشابه، ترکیبات حاصل از آب‌کافت علف‌کش دیکلوفوپ-متیل سمیت بیشتری در مقایسه با خود علف‌کش علیه جلبک آب شیرین (Chlorella pyrenoidosa) دارند (Cai et al., 2007). حتی ثابت شده است که ترکیبات حاصل از نورکافت علف‌کش فنوکساپروپ-پی-اتیل سمیت بیشتر در مقایسه با خود علف‌کش علیه جلبک آب شیرین دارند و نیمه عمر آنها نیز در محیط زیست بیشتر است (Lin et al., 2008). در مطالعه‌ای با مقادیر کمتر از حد‌کننده علف‌کش، تجمع ترکیب حاصل از تجزیه دیکلوفوپ-متیل، یعنی دیکلوفوپ اسید، و عدم تجمع خود علف‌کش را در در بافت‌های ماهیچه بدن گونه‌ای از ماهی مورد بررسی و گزارش شده است (Abd-Allah et al., 2014).

از این‌رو، پیشنهاد دور ریختن محلول سمپاشی نگهداری شده علف‌کش‌های بازدارنده استیل‌کوانزیم آ کربوکسیلاز نه تنها از نظر محیط‌زیستی، بلکه از نظر اقتصادی نیز منطقی به نظر نمی‌رسد. حال، دومین سوالی که در ذهن متبادر می‌شود این است که با چه راهکاری می‌توان سرعت آب‌کافت یا نورکافت علف‌کش را کاهش داد؟ گزارش شده است که علی‌رغم اینکه سرعت آب‌کافت علف‌کش متامیوفوپ با افزایش پی‌اچ آب کاهش می‌یابد ولی عدم تأثیر پی‌اچ آب بر کارایی علف‌کش بیس‌پریاک در طول زمان نگهداری را نیز مشاهده شده است (Saha et al., 2018). به‌طور مشابه، سرعت آب‌کافت علف

پلاستیکی قهوه‌ای رنگ با مقطع مربعی بودند  $۱۳ \times ۱۳ \times ۱۳$  سانتی‌متر بود. با توجه به مساحت گلدان‌ها، تراکم کاشت در حدود ۲۰۰ بوته در متر مربع بود. خاک مورد استفاده در تهیه بستر به‌ترتیب دارای نسبت چهار:یک:یک به‌ترتیب از خاک:ماسه بادی:کود دامی بود. گلدان‌ها درون گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان نگهداری شدند و هر شش روز یکبار، به‌طور یکنواخت و یکسان آبیاری شدند. در طول مدت آزمایش، دما و رطوبت نسبی داخل گلخانه در حدود ۱۵ الی ۲۶ درجه سانتی‌گراد و ۳۲ الی ۵۹ درصد اندازه‌گیری شد.

پژوهش حاضر در سه آزمایش مستقل انجام گرفت که در هر کدام یکی از علف‌کش‌ها (ستوکسیدیم، هالوکسیفوپ-آر-متیل و فلوآزیفوپ-پی-بوتیل) مورد بررسی قرار گرفت. تمام مراحل این سه آزمایش با فاصله حدوداً یک هفته‌ای از یکدیگر انجام گرفت. طرح آزمایشی برای هر آزمایش (هر علف‌کش) به‌صورت فاکتوریل ( $۶ \times ۲ \times ۹$ ) در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار بود. اولین فاکتور شامل ۶ سطح از مقدار علف‌کش (صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد مقدار توصیه شده روی برچسب)، دومین فاکتور شامل ۲ سطح از مقدار پی‌اچ آب سمپاشی (۵ و ۸) و سومین فاکتور شامل ۹ سطح از مدت زمان و شرایط نگهداری (صفر، ۲۴، ۴۸، ۹۶ و ۱۹۲ ساعت نگهداری تحت شرایط تاریکی، ۱۲+۱۲، ۲۴+۲۴، ۴۸+۴۸ و ۹۶+۹۶ ساعت نگهداری تحت شرایط تاریکی و روشنایی طبیعی) بودند. مقادیر علف‌کش استفاده شده در آزمایش‌ها برای ستوکسیدیم برابر ۱۱۲/۵، ۱۵۰، ۲۲۵، ۳۰۰ و ۳۷۵ گرم ماده مؤثره در هکتار، برای هالوکسیفوپ-آر-متیل برابر ۲۱/۶، ۴۳/۲، ۶۴/۸، ۸۴/۴ و ۱۰۸ گرم ماده مؤثره در هکتار و برای فلوآزیفوپ-پی-بوتیل برابر ۶۷/۵، ۹۰، ۱۳۵، ۱۸۰ و ۲۲۵ گرم ماده مؤثره در هکتار بودند که مقادیر نهایی ذکر شده برابر مقدار توصیه شده روی برچسب علف‌کش‌ها می‌باشد. در تحقیقات قبلی ثابت شده بود که آب شرب شهری چون محتوی مقادیری هیپوکلریت است بر کارایی علف‌کش‌ها تأثیر سوء می‌گذارد (Lin et al., 2003). از این رو و اینکه شرایط آزمایش به حالت واقعی نزدیکتر باشد، در آزمایش حاضر از آب مزرعه‌ای در همدان که دارای پی‌اچ حدوداً ۸ بود به‌منظور آب سمپاشی استفاده شد. از طریق پیش آزمایش، افزودن مقدار ۰/۳ گرم اسید سیتریک به ازای هر لیتر آب مذکور توانست پی‌اچ آن‌را به حدود ۵ کاهش دهد. محلول پاشش مربوط به سطح صفر سومین فاکتور پیش گفته در همان روز سمپاشی تهیه و بکار برده شد. برای سایر سطوح این فاکتور، محلول پاشش مربوطه با حجم یک لیتر در روزهای قبل (۱، ۲، ۴ و ۸ روز قبل از روز سمپاشی) تهیه و درون بطری‌هایی شفاف پلاستیکی پلی‌اتیلن ترفتالات نگهداری شدند. بطری‌ها تحت دو شرایط محیطی در محوطه بیرونی گلخانه نگهداری شدند: (۱) نگهداری در تاریکی کامل - برای این منظور بطری‌ها درون پلاستیک سیاهی که درون کارتن

بسته‌بندی شده بودند نگهداری شدند؛ و (۲) نگهداری در تاریکی شب و روشنایی روز - برای این منظور بطری‌ها بدون هیچ پوششی که در معرض تاریکی شب و نیز در معرض تابش نور خورشید قرار داشتند نگهداری شدند (Lin et al., 2000). لازم به ذکر است که در طول مدت نگهداری بطری‌ها (در بازه زمانی مهر ماه ۱۴۰۰) هیچ وقت ساعات ابرناکی رخ نداد. دمای محیط در طول مدت نگهداری بطری‌ها برابر  $۱۷ \pm ۶$  درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی  $۱۲ \pm ۳۵$  درصد اندازه‌گیری شد. تیمارها در فضای آزاد بیرون گلخانه (دما هوا: ۱۴ الی ۲۱ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی: ۳۲ الی ۵۹ درصد و سرعت وزش باد: ۰ الی ۰/۴ متر بر ثانیه) به وسیله سمپاش پشتی فشاری مجهز به نازل بادپزنی ۱۱۰۰۲ در فشار ۳ بار با حجم پاشش ۲۳۰ لیتر در هکتار در مرحله ۴ برگ‌ری جودره بکار رفتند. در روز سمپاشی، بوته‌های موجود در داخل ۴ گلدان از فاصله ۱ سانتی‌متری سطح خاک برداشت و وزن خشک به‌طور جداگانه توزین شد. میانگین آنها (۰/۱۷) گرم برای تک بوته (به‌عنوان وزن اولیه گیاهان در زمان اعمال تیمارها در نظر گرفته شد که از تمامی داده‌های بعدی بدست آمده در زمان برداشت نهایی آزمایش کسر گردید. پس از سمپاشی، گلدان‌ها مجدداً در درون گلخانه قرار داده شدند.

چهار هفته پس از سمپاشی، بوته‌های داخل گلدان‌ها از فاصله یک سانتی‌متری سطح خاک برداشت شدند و وزن خشک آنها پس از دو روز خشکاندن در درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد توزین شد. داده‌های بدست آمده در ابتدا تقسیم بر پنج (تعداد بوته در هر گلدان) و سپس منهای وزن اولیه هر بوته در روز سمپاشی (۰/۱۷ گرم برای تک بوته) شدند. سپس، پاسخ وزن خشک تک بوته جودره به تیمارها با روش رگرسیون غیرخطی تجزیه و تحلیل گردید (Ritz et al., 2015)؛ بدین صورت که پاسخ وزن خشک تک بوته جودره به تیمارها نسبت به مقادیر علف‌کش بکار رفته برازش غیرخطی داده شد. براساس نتایج آزمون عدم برازش ( $p\text{-value} > 0/05$ )، مدل ۴ پارامتری لگاریتمی (معادله ۱) برازش قابل قبولی روی داده‌ها فراهم کرد. همچنین، با بررسی نمودار باقی‌مانده‌ها مربوط به هر منحنی واکنش به مقدار، توزیع مستقل، تصادفی و یکنواخت آن‌ها محرز گردید. این مدل به صورت زیر بیان می‌شود:

$$Y = \frac{C + (D - C)}{1 + \exp[B(\log X - \log ED_{50})]} \quad (1)$$

در این معادله، Y بیانگر وزن خشک تک بوته جودره، پارامترهای C و D به‌ترتیب حدود مجانب بالا و پایین وزن خشک جودره در مقادیر صفر و بی‌نهایت علف‌کش، پارامتر  $ED_{50}$  بیانگر مقدار علف‌کش لازم (X) برای کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک جودره بین حدود مجانب بالا و پایین (C و D) است، و پارامتر B متناسب با شیب منحنی در محدوده‌ی پارامتر  $ED_{50}$  می‌باشد. آنالیزهای آماری در محیط نرم‌افزار R انجام گرفت. برای مقایسه آماری بین مقادیر پارامتر

ED<sub>50</sub> از خطای استاندارد آن‌ها استفاده شد.

در پایان، پتانسیل نسبی تیمار شاهد (تهیه محلول پاشش علف کش در همان روز سمپاشی با آب دارای پی‌اچ ۸) نسبت به هر یک از تیمارها با استفاده از نسبت پاسخ دوزهای مشابه (معادله ۲) محاسبه گردد که نشان دهنده میزان جابجایی افقی بین دو منحنی واکنش به مقدار علف کش است.

$$R = \frac{ED_{50} control}{ED_{50} x} \quad (2)$$

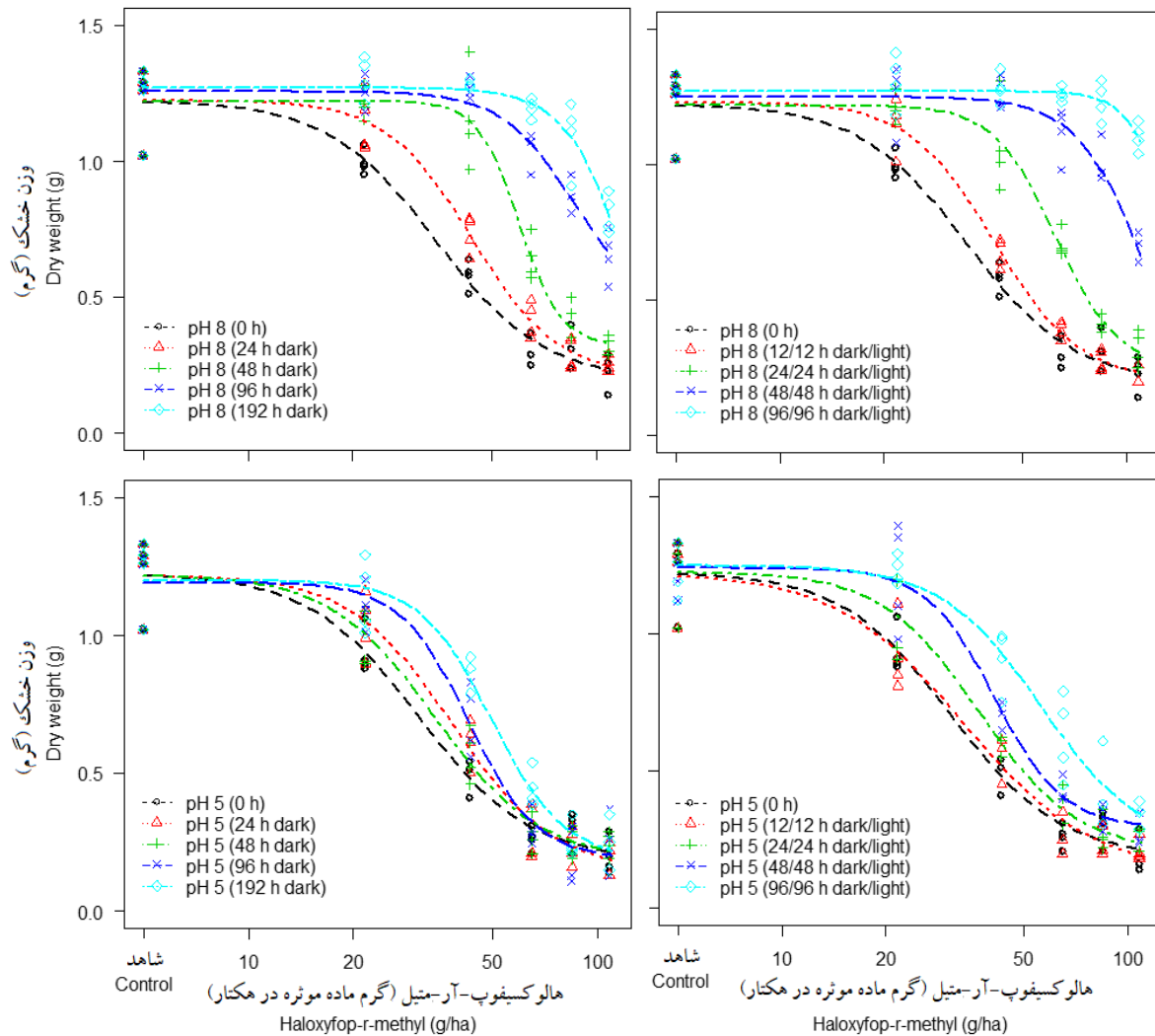
در این معادله، پتانسیل نسبی (R)، ED<sub>50x</sub> بیانگر مقدار علف کش لازم برای کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک جودره در هر یک از تیمارها و ED<sub>50control</sub> بیانگر مقدار علف کش لازم برای کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک جودره در تیمار شاهد (تهیه محلول پاشش علف کش در همان روز سمپاشی با آب دارای پی‌اچ ۸) است. چنانچه R برابر با یک باشد، نشان دهنده این است که تیمارهای x و شاهد دارای توانایی نسبی یکسانی است. اگر R بزرگتر از یک باشد، تیمار x قوی‌تر از تیمار شاهد است و اگر R کوچکتر از یک باشد، برعکس آن صادق خواهد بود. به عبارتی دیگر، اگر پتانسیل نسبی کوچکتر و یا بزرگتر از یک باشد، اعمال تیمار x موجب کاهش و یا افزایش کارایی علف کش شده است (Ritz et al., 2015).

## نتایج و بحث

منحنی‌های واکنش وزن خشک جودره به مقادیر هالوکسیفوپ-آر-متیل، فلوآزیفوپ-پی-بوتیل و ستوکسیدیم وقتی پی‌اچ محلول پاشش آنها تغییر داده شده بود و تحت شرایط نوری مختلف برای مدت زمان متفاوت نگهداری شده بود به ترتیب در شکل ۱، ۲ و ۳ نمایش داده شده است. مقادیر ED<sub>50</sub> این منحنی‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

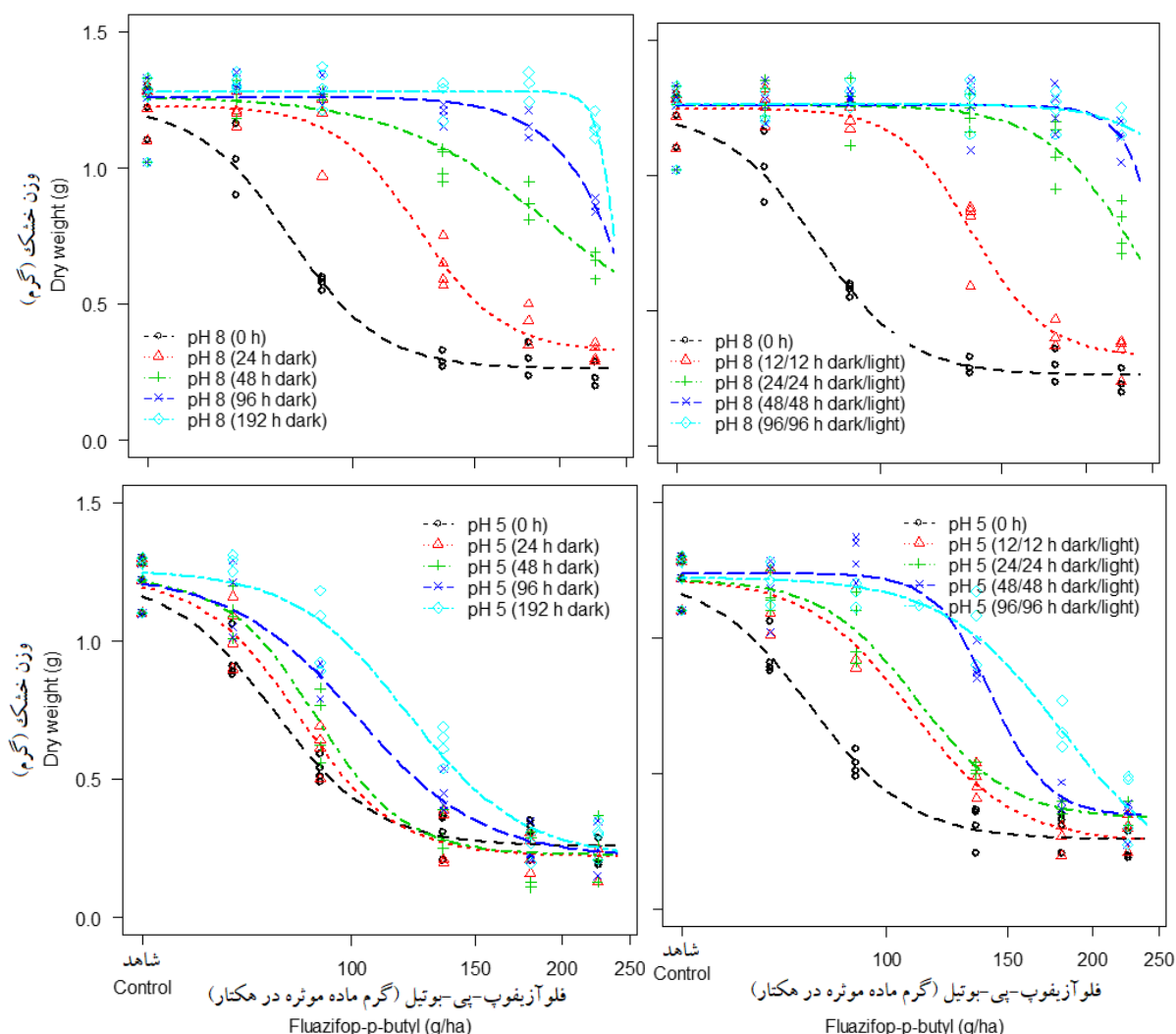
در شرایطی که محلول پاشش بلافاصله بعد از تهیه پاشیده شد، کاهش دادن پی‌اچ از ۸ به ۵، تأثیر معنی‌داری بر مقادیر ED<sub>50</sub> برای هالوکسی فوپ-آر-متیل و فلوآزیفوپ-پی-بوتیل نداشت؛ در حالی که مقدار ED<sub>50</sub> ستوکسیدیم را به طور معنی‌داری از ۱۳۶/۶۴ به ۱۱۳/۳۵ گرم ماده موثره در هکتار کاهش داد که نشان دهنده آن است که کاهش پی‌اچ آب می‌تواند باعث بهبود کارایی ستوکسیدیم در کنترل جودره شود (جدول ۱). نتیجه‌ای مشابهی قبلاً (McMullan, 1996) مشاهده شده است. به طوری که کارایی علف‌کش‌های دیم (کلنودیم و ترالکوکسیدیم) علیه علف‌هرز قیاق با افزایش پی‌اچ محلول پاشش به بالای ۷ کاهش یافت. در حالی که کارایی علف‌کش‌های فوپ (کویزالوفوپ-اتیل و فنوکساپروپ-پی-اتیل) تحت تأثیر پی‌اچ محلول پاشش قرار نگرفت. وی دلیل احتمالی را به تفاوت در فرمولاسیون علف‌کش‌های فوق ارتباط داد. علف‌کش‌های فوپ به صورت پیش علف‌کش فرموله می‌شوند. یعنی به مولکول علف‌کش یک بخش

استری متصل است (مانند اتیل، متیل، بوتیل و غیره). از این‌رو، آنها در محلول پاشش بدون بار الکتریکی هستند و به تغییر پی‌اچ واکنشی نمی‌دهند. در حالی که در محیط قلیایی، علف‌کش‌های اسیدی ضعیف (مانند دیم‌ها) دارای بار الکتریکی منفی در ساختار خود هستند؛ لذا، دارای خاصیت آب‌دوستی بیشتری هستند. در محیط اسیدی، این علف‌کش‌ها با دریافت یون هیدروژن به حالت بدون بار الکتریکی تبدیل و خاصیت آب‌گریزی بیشتری پیدا می‌کنند. به همین سبب، حلالیت در آب ستوکسیدیم در پی‌اچ‌های ۴ و ۷ به ترتیب برابر ۲۵ و ۴۷۰۰ میلی گرم در لیتر گزارش شده است (Tomlin, 2003). این تغییر در ویژگی شیمیایی علف‌کش، آنرا قادر می‌سازد تا از کوتیکول برگ بهتر نفوذ و جذب شود. سپس، علف‌کش بدون بار الکتریکی در داخل سلول (جایی که یون هیدروژن به دلیل پمپاژ آن به بیرون سلول نسبتاً کمیاب است) یک یون هیدروژن از دست می‌دهد و مجدداً مولکول‌های علف‌کش با بار الکتریکی منفی (آب‌دوست) تشکیل می‌شوند که خاصیت آب‌دوستی بیشتری پیدا می‌کند و قادر به خروج از سلول نیستند. به این طریق، علف‌کش‌های اسیدی ضعیف درون سلول (یا درون آوندهای آبکش) به دام افتاده و به طور کارآمدی منتقل می‌شوند (Sterling, 1994). در منابع، این پدیده را تله یونی نامیده‌اند. به همین دلیل، در پژوهش حاضر کارایی ستوکسیدیم با کاهش پی‌اچ آب سمپاشی افزایش یافت. بهبود کارایی دیگر علف‌کش‌های اسیدی با نحوه‌های عمل متفاوت مانند توفوردی (Devkota and Johnson, 2019)، کلروسولفورون (Fahl et al., 1995)، گلایفوسیت (Molin & Hirase, 2004)، کلپیرالید و پیکلورم (Palma et al., 2015)، نیکوسولفورون (Green & Cahill, 2003) و سولفوسولفورون (Aliverdi et al., 2020) ناشی از کاهش پی‌اچ محلول پاشش قبلاً گزارش شده است. با این حال، گزارشی مبنی بر عدم همبستگی پی‌اچ آب سمپاشی با کارایی علف‌کش‌های ستوکسیدیم و کلنودیم علیه قیاق وجود دارد (Bridges, 1989) که در آن از آب مقطر برای تهیه محلول سمپاشی استفاده شده است. در حالی که در آزمایش حاضر از آب مزرعه‌ای که حاوی کاتیون‌هایی است برای تهیه محلول‌های پاشش استفاده شد. یک دلیل احتمالی برای توضیح تضاد بین نتایج ما و گزارش قبلی (Bridges, 1989) آن است که کاتیون‌های موجود در آب دارای پی‌اچ ۸ از ابتدا با ستوکسیدیم واکنش داده و کارایی آنرا کاهش داده که با افزودن اسید سیتریک کارایی آن افزایش یافته است. با کاهش دادن پی‌اچ، اتصال مولکول علف‌کش به کاتیون‌های موجود در آب کاهش می‌یابد و کمپلکس کاتیون-علف‌کش کمتری تشکیل خواهد شد. در حالی که در آب قلیایی، مولکول علف‌کش در وضعیت یونیزه (بار الکتریکی منفی) قرار داشته و مستعد تشکیل کمپلکس کاتیون-علف-کش است.



شکل ۱- منحنی‌های واکنش وزن خشک جو دره به مقادیر مختلف علف‌کش هالوکسیفوپ-آر-متیل وقتی پی‌اچ محلول پاشش آن تغییر داده شده بود و تحت شرایط نوری مختلف برای مدت زمان متفاوت نگهداری شده بود

Figure 1- The response curves of the dry weight of wild barely to different doses of haloxyfop-r-methyl when the pH of spray solution was changed and it was kept under different light conditions for different periods of time



شکل ۲- منحنی‌های واکنش وزن خشک جودره به مقادیر مختلف علف‌کش فلوآزیفوپ-پی-بوتیل وقتی پی‌اچ محلول پاشش آن تغییر داده شده بود و تحت شرایط نوری مختلف برای مدت زمان متفاوت نگهداری شده بود

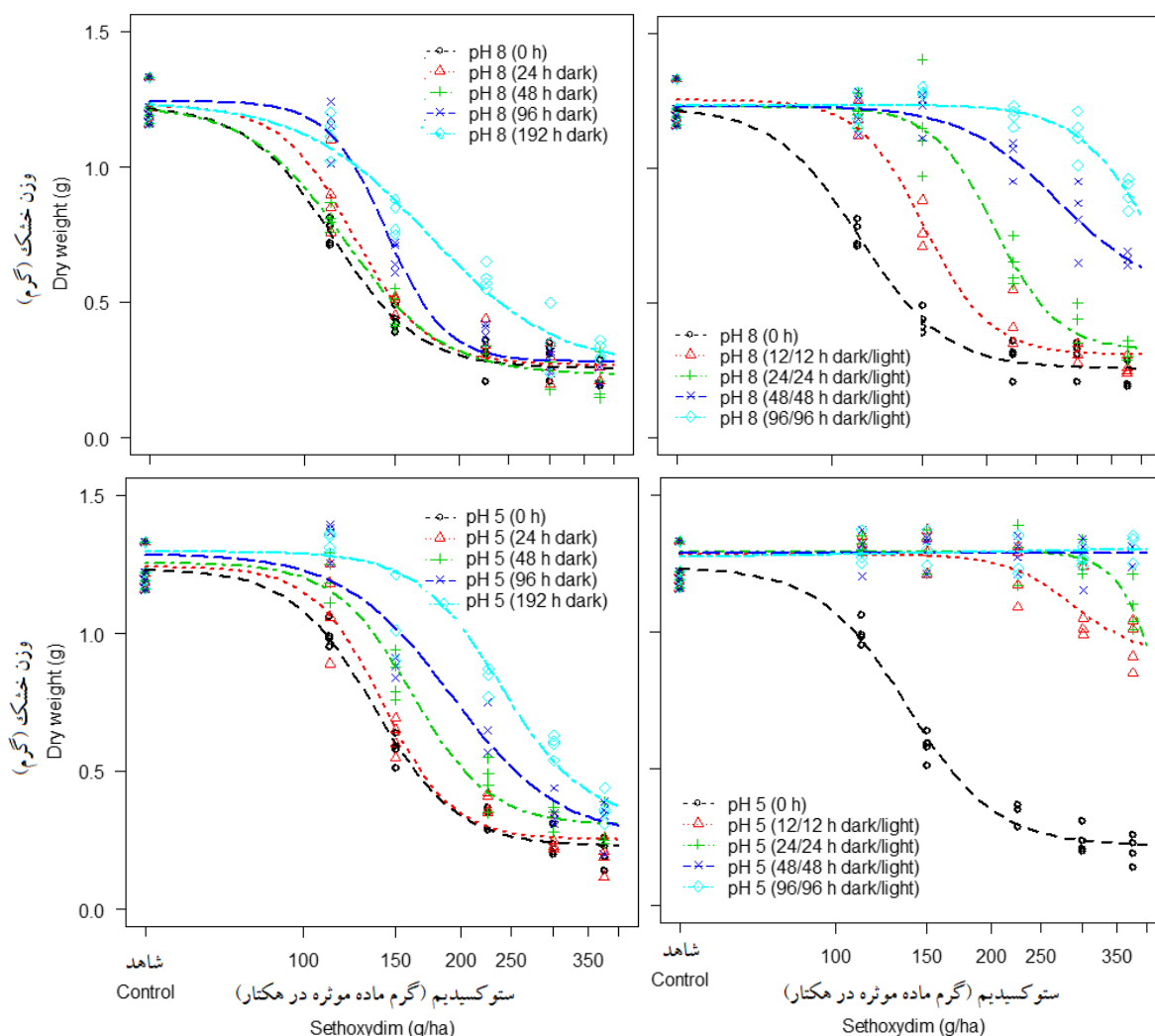
Figure 2- The response curves of the dry weight of wild barley to different doses of fluzifop-p-butyl when the pH of spray solution was changed and it was kept under different light conditions for different periods of time

۲۴+۲۴ و ۴۸+۴۸ ساعته تحت شرایط تاریکی و روشنایی طبیعی) با کارایی تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که با کاهش پی‌اچ محلول پاشش سرعت تجزیه هالوکسیفوپ-آر-متیل در آب کاهش یافته است و محلول پاشش آنرا می‌توان حداقل برای ۲ روز در هر شرایط نوری بدون افت کارایی آن نگهداری کرد. براساس گزارشات (FAO, 2012)، هالوکسیفوپ-آر-متیل در آبی با پی‌اچ برابر ۴ کاملاً پایدار است ولی در آبی با پی‌اچ‌های ۷ و ۹ به ترتیب دارای نیمه عمر ۴۳ و ۶۳/۰ روز است. نتایج نشان داد که در هر وضعیتی (از نظر پی‌اچ و نور)، با افزایش مدت زمان نگهداری محلول پاشش هالوکسیفوپ-آر-متیل، مقادیر پتانسیل نسبی به‌طور پیوسته کاهش یافت که حاکی از کاهش کارایی علف‌کش است

در تیمار شاهد (تهیه محلول پاشش در همان روز سمپاشی با آبی دارای پی‌اچ ۸)، مقدار هالوکسیفوپ-آر-متیل لازم برای کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک جودره برابر ۳۴/۶۰ گرم ماده مؤثره در هکتار بدست آمد (جدول ۳-۱). وقتی پی‌اچ محلول پاشش تغییر داده نشده بود (پی‌اچ ۸)، تیمارهای نگهداری ۲۴ ساعته محلول پاشش هالوکسیفوپ-آر-متیل تحت شرایط تاریکی (۴۳/۷۸ گرم ماده مؤثره در هکتار) و نگهداری ۱۲+۱۲ ساعته تحت شرایط تاریکی و روشنایی طبیعی (۴۱/۴۴ گرم ماده مؤثره در هکتار) به‌طوری معنی‌داری سبب کاهش کارایی هالوکسیفوپ-آر-متیل شدند. در حالی که وقتی پی‌اچ محلول پاشش کاهش داده شد (پی‌اچ ۵)، کارایی پنج تیمار (شامل: نگهداری ۲۴ و ۴۸ ساعته تحت شرایط تاریکی و نگهداری ۱۲+۱۲،

شرایط تاریکی و نگهداری ۴۸+۴۸ ساعته تحت شرایط تاریکی و روشنائی طبیعی در زمانی که پی‌اچ محلول پاشش تغییر داده نشده بود (پی‌اچ ۸). این نتیجه نشان می‌دهد که هالوکسیفوپ-آر-متیل به حضور نور حساس نیست. لذا، می‌توان استنباط کرد که اُفت کارایی مشاهده شده در این علف‌کش احتمالاً به دلیل آب‌کافت باشد، نه نورکافت. قبلاً، نیمه عمر ۲۰ روزه برای تجزیه نوری هالوکسیفوپ-آر-متیل گزارش شده است (FAO, 2012).

(جدول ۱). بدترین کارایی هالوکسیفوپ-آر-متیل در تیمار نگهداری ۹۶+۹۶ ساعته تحت شرایط تاریکی و روشنائی طبیعی وقتی که پی‌اچ محلول پاشش تغییر داده نشده بود (پی‌اچ ۸) مشاهده شد؛ به‌طوری‌که مدل قادر به برازش مناسب روی داده به دلیل عدم انتخاب مقادیر بالاتر علف‌کش در آزمایش نبود. همچنین نتایج نشان داد که در هر پی‌اچی، دو تیمار با مدت زمان کلی برابر از نظر آماری کارایی یکسانی به نمایش گذاشتند (بجز در مورد دو تیمار نگهداری ۹۶ ساعته تحت



شکل ۳- منحنی‌های واکنش وزن خشک جو دره به مقادیر مختلف علف‌کش ستوکسیدیم وقتی پی‌اچ محلول پاشش آن تغییر داده شده بود و تحت شرایط نوری مختلف برای مدت زمان متفاوت نگهداری شده بود

Figure 3- The response curves of the dry weight of wild barley to different doses of sethoxydim when the pH of spray solution was changed and it was kept under different light conditions for different periods of time

جدول ۱- تأثیر پی‌اچ و مدت نگهداری محلول پاشش علف‌کش‌ها در شرایط نوری مختلف بر گرم ماده موثره در هکتار لازم از آنها برای کنترل ۵۰ درصدی علف‌هز جودره.

| Table 1- The effect of pH and the storage time of the spray solution of herbicides in different lightness conditions on the g a.i. ha <sup>-1</sup> required to control 50% of wild barely. |                                 |                    |              |                   |              |                   |              |                  |                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------|--------------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|------------------|------------------|
| pH                                                                                                                                                                                          | Storage time (h) and conditions | هالوکسیفوپ-آر-متیل | پتانسیل نسبی | Fluazifop-p-butyl | پتانسیل نسبی | Sethoxydim        | پتانسیل نسبی | Relative potency | Relative potency |
| 8                                                                                                                                                                                           | 0 (Control شاهد)                | 34.60 (2.16) ab    | 1.00         | 80.64 (2.12) ab   | 1.00         | 136.64 (3.28) c   | 1.00         | 1.00             | 1.00             |
|                                                                                                                                                                                             | 24 in dark تاریکی               | 43.78 (2.57) c     | 0.79         | 124.33 (4.10) e   | 0.64         | 124.44 (5.81) b   | 0.64         | 1.09             | 1.09             |
|                                                                                                                                                                                             | 48 in dark تاریکی               | 60.17 (3.47) e     | 0.57         | 192.16 (5.36) g   | 0.41         | 119.62 (3.38) ab  | 0.41         | 1.14             | 1.14             |
|                                                                                                                                                                                             | 96 in dark تاریکی               | 86.43 (9.39) f     | 0.40         | 289.01 (15.94) i  | 0.27         | 144.22 (3.38) d   | 0.27         | 0.94             | 0.94             |
|                                                                                                                                                                                             | 24 in dark تاریکی               | 141.30 (18.47) g   | 0.24         | > 297.40 i        | 0.27         | 174.17 (13.00) e  | 0.27         | 0.78             | 0.78             |
|                                                                                                                                                                                             | 12 in dark + 12 in light روشنی  | 41.44 (3.17) cd    | 0.83         | 135.85 (3.72) f   | 0.59         | 151.43 (5.04) de  | 0.59         | 0.90             | 0.90             |
|                                                                                                                                                                                             | 24 in dark + 24 in light روشنی  | 62.46 (3.57) e     | 0.55         | 222.97 (17.68) h  | 0.36         | 207.21 (7.92) f   | 0.36         | 0.65             | 0.65             |
|                                                                                                                                                                                             | 48 in dark + 48 in light روشنی  | 130.94 (19.07) g   | 0.26         | > 293.28 i        | 0.27         | 275.42 (39.44) g  | 0.27         | 0.49             | 0.49             |
|                                                                                                                                                                                             | 96 in dark + 96 in light روشنی  | > 145.36 g         | 0.23         | > 330.89 i        | 0.24         | 431.76 (37.76) i  | 0.24         | 0.31             | 0.31             |
|                                                                                                                                                                                             | 0                               | 30.75 (2.03) a     | 1.12         | 77.42 (2.12) a    | 1.04         | 113.35 (3.04) a   | 1.04         | 1.21             | 1.21             |
| 5                                                                                                                                                                                           | 24 in dark تاریکی               | 38.21 (2.71) bc    | 0.90         | 83.99 (2.54) b    | 0.96         | 141.64 (95.02) cd | 0.96         | 0.96             | 0.96             |
|                                                                                                                                                                                             | 48 in dark تاریکی               | 34.22 (2.71) ab    | 1.01         | 88.55 (2.81) b    | 0.91         | 161.25 (6.87) e   | 0.91         | 0.84             | 0.84             |
|                                                                                                                                                                                             | 96 in dark تاریکی               | 42.59 (2.63) c     | 0.81         | 101.31 (4.86) c   | 0.79         | 191.62 (17.60) ef | 0.79         | 0.71             | 0.71             |
|                                                                                                                                                                                             | 24 in dark تاریکی               | 49.72 (2.89) d     | 0.69         | 120.12 (5.69) e   | 0.67         | 237.81 (33.00) fg | 0.67         | 0.57             | 0.57             |
|                                                                                                                                                                                             | 12 in dark + 12 in light روشنی  | 33.46 (3.44) ab    | 1.03         | 108.20 (4.87) cd  | 0.74         | 292.11 (44.10) g  | 0.74         | 0.46             | 0.46             |
|                                                                                                                                                                                             | 24 in dark + 24 in light روشنی  | 37.10 (2.88) b     | 0.93         | 110.35 (3.87) c   | 0.73         | > 450.04 i        | 0.73         | 0.30             | 0.30             |
|                                                                                                                                                                                             | 48 in dark + 48 in light روشنی  | 41.12 (2.49) bc    | 0.84         | 141.84 (4.41) f   | 0.56         | > 473.56 i        | 0.56         | 0.28             | 0.28             |
|                                                                                                                                                                                             | 96 in dark + 96 in light روشنی  | 56.03 (7.67) de    | 0.61         | 179.58 (24.11) gh | 0.44         | > 611.70 i        | 0.44         | 0.22             | 0.22             |
|                                                                                                                                                                                             | 0                               | 30.75 (2.03) a     | 1.12         | 77.42 (2.12) a    | 1.04         | 113.35 (3.04) a   | 1.04         | 1.21             | 1.21             |
|                                                                                                                                                                                             | 24 in dark تاریکی               | 38.21 (2.71) bc    | 0.90         | 83.99 (2.54) b    | 0.96         | 141.64 (95.02) cd | 0.96         | 0.96             | 0.96             |

اعداد داخل پرانتز خطای استاندارد هستند. در هر ستون، ED<sub>50</sub> های دارای حرف مشترک از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد اختلافی ندارند.

مقادیر پتانسیل نسبی از حاصل تقسیم مقدار شاهد به مقدار تیمارها بدست آمده است.

Numbers in parentheses are standard errors. In the column, the ED<sub>50</sub>s with the same letter are not statistically different at the 5% probability level. Relative potential values are obtained by dividing the control value by the treatment value.

در تیمار شاهد، مقدار فلوازیفوپ-پی-بوتیل لازم برای کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک جوهره برابر ۸۰/۶۴ گرم ماده مؤثره در هکتار بدست آمد (جدول ۱). وقتی پی‌اچ محلول پاشش تغییر داده نشده بود (پی‌اچ ۸)، تمامی تیمارهای نگهداری محلول پاشش فلوازیفوپ-پی-بوتیل به‌طوری معنی‌داری سبب کاهش کارایی فلوازیفوپ-پی-بوتیل شدند. در حالی که وقتی پی‌اچ محلول پاشش کاهش داده شد (پی‌اچ ۵)، کارایی دو تیمار شامل نگهداری ۲۴ و ۴۸ ساعته محلول پاشش فلوازیفوپ-پی-بوتیل در تاریکی (به‌ترتیب با ED<sub>50</sub> برابر ۸۳/۹۹ و ۸۸/۵۵ گرم ماده مؤثره در هکتار) با کارایی تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که با کاهش پی‌اچ محلول پاشش و عدم حضور نور سرعت تجزیه فلوازیفوپ-پی-بوتیل در آب کاهش یافته است. از اینرو، محلول پاشش فلوازیفوپ-پی-بوتیل را می‌توان برای ۲ روز در شرایط تاریکی و کاهش پی‌اچ بدون افت کارایی آن نگهداری کرد. براساس گزارشات (FAO, 2016)، فلوازیفوپ-پی-بوتیل در آبی با پی‌اچ ۵ پایدار است ولی در آبی با پی‌اچ‌های ۷ و ۹ به ترتیب دارای نیمه عمر ۷۸ روز و ۲۹ ساعت است. نتایج نشان داد که در هر وضعیتی (از نظر پی‌اچ و نور)، با افزایش مدت زمان نگهداری محلول پاشش فلوازیفوپ-پی-بوتیل، مقادیر پتانسیل نسبی به طور پیوسته کاهش یافت که حاکی از کاهش کارایی علف‌کش است (جدول ۱). بدترین کارایی در سه تیمار (شامل: تیمارهای نگهداری ۱۹۲ ساعته در تاریکی و نگهداری ۴۸+۴۸ و ۹۶+۹۶ ساعته تحت شرایط تاریکی و روشنایی طبیعی وقتی پی‌اچ محلول پاشش تغییر داده نشده بود (پی‌اچ ۸) مشاهده شد؛ به طوری که مدل قادر به برازش مناسب روی داده به دلیل عدم انتخاب مقادیر بالاتر علف‌کش نبود. به هر حال، مقدار فلوازیفوپ-پی-بوتیل لازم برای کنترل ۵۰ درصدی وزن خشک جوهره در سه تیمار فوق حدوداً بیشتر از ۳۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار پیش‌بینی شده است. همچنین، نتایج نشان داد که در هر پی‌اچی، دو تیمار با مدت زمان کلی برابر از نظر آماری کارایی متفاوتی به نمایش گذاشتند به طوری که تیمارهای تاریکی + روشنایی مقادیر بالاتری از ED<sub>50</sub> را در مقایسه با تیمارهای تاریکی متناظر خود داشتند (جدول ۱). این نتیجه نشان می‌دهد که فلوازیفوپ-پی-بوتیل به حضور نور حساس است. لذا، می‌توان استنباط کرد که افت کارایی مشاهده شده در این علف‌کش توأم با دلیل آب‌کافت و نوکافت اتفاق افتاده است. قبلاً، نیمه عمر ۶ روزه برای تجزیه نوری فلوازیفوپ-پی-بوتیل تحت شرایط تابش نور خورشید در شرایط فلوریدای آمریکا گزارش شده است (FAO, 2016). قبلاً، عدم تجزیه نوری فلوازیفوپ-پی-بوتیل تحت شرایط نور ماوراء بنفش (Burger et Balah et al., 2017; al., 2012) گزارش شده است. در حالی که تجزیه نوری فلوازیفوپ-پی-بوتیل تحت شرایط نور خورشید و نور ماوراء بنفش نیز گزارش

شده است (Li et al., 2019). آنها بیان کردند که در طی فرآیند تجزیه نوری فلوازیفوپ-پی-بوتیل، ۱۲ متابولیت مختلف در ۵ مسیر مختلف تجزیه‌ی مختلف تشکیل می‌شود. سرعت تجزیه فلوازیفوپ-پی-بوتیل تحت شرایط نور ماوراء بنفش بیشتر از نور خورشید بود. در تحقیقی دیگر (Li et al., 2021)، گزارش شده است که تجزیه نوری فلوازیفوپ-پی-بوتیل به حضور نوع کاتیون در آب وابسته است. کاتیون‌های منگنز و قلع باعث تسریع و کاتیون‌های کبالت و لیتیوم باعث توقف تجزیه نوری فلوازیفوپ-پی-بوتیل می‌شوند. وابستگی تجزیه نوری آنراژین به حضور کاتیون کبالت در آب (Chan & Chu, 2009) و فلوازیفوپ-پی-بوتیل به حضور اکسید تیتانیوم در آب (Li et al., 2019) به اثبات رسیده است.

در تیمار شاهد، مقدار ستوکسیدیم لازم برای کاهش ۵۰ درصدی وزن خشک جوهره برابر ۱۳۶/۶۴ گرم ماده مؤثره در هکتار بدست آمد (جدول ۱). وقتی پی‌اچ محلول پاشش تغییر داده نشده بود (پی‌اچ ۸)، تمامی تیمارهای نگهداری به‌طوری معنی‌داری سبب کاهش کارایی ستوکسیدیم علیه جوهره در مقایسه با تیمار شاهد شدند. وقتی پی‌اچ محلول پاشش کاهش داده شد (پی‌اچ ۵) نیز کارایی تمامی تیمارها در مقایسه با تیمار بدون نگهداری به‌طور معنی‌داری کمتر بود. این نتایج نشان دهنده حساسیت بسیار شدید ستوکسیدیم به نگهداری محلول پاشش آن است که تغییر شرایط نگهداری، بویژه پی‌اچ، نه تنها کمکی در حفظ کارایی این علف‌کش نکرده است؛ بلکه سبب افت بیشتر کارایی نیز شد. در هر پی‌اچی، دو تیمار با مدت زمان کلی برابر از نظر آماری کارایی متفاوتی به نمایش گذاشتند (جدول ۱). به طوری که کارایی تیمار وقتی محلول پاشش آن نور دریافت کرده بود پایین تر از وقتی بود که محلول پاشش در تاریکی نگهداری شده بود. این نتیجه نشان می‌دهد که ستوکسیدیم به حضور نور حساس است. از طرفی دیگر، با مقایسه جفت جفت تیمارهای متناظری که فقط از نظر پی‌اچ تفاوت داشتند، مشخص شد وقتی پی‌اچ از ۸ به ۵ کاهش داده شد، کارایی ستوکسیدیم در کنترل جوهره به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به طوری که در سه تیمار (شامل: تیمارهای نگهداری ۲۴+۲۴، ۴۸+۴۸ و ۹۶+۹۶ ساعته تحت شرایط تاریکی و روشنایی طبیعی در زمانی که پی‌اچ محلول پاشش به ۵ تغییر داده شده بود)، به دلیل عدم کنترل جوهره با کاربرد مقادیر مختلف ستوکسیدیم که پاشیده شد، مدل توانایی برازش مناسب روی داده‌ها را نداشت. به هر حال، مقدار ستوکسیدیم لازم برای کنترل ۵۰ درصدی وزن خشک جوهره در سه تیمار فوق بیشتر از ۴۵۰ گرم ماده مؤثره در هکتار پیش‌بینی شده است. لذا، می‌توان استنباط کرد که کاهش کارایی مشاهده شده در کارایی این علف‌کش به دلیل هم آب‌کافت است و هم نورکافت. نتایج نشان داد که در هر وضعیتی (از نظر پی‌اچ و نور)، با افزایش مدت زمان نگهداری محلول پاشش ستوکسیدیم، مقادیر پتانسیل نسبی به

در روز سمپاشی کاهش یافت.

### نتیجه‌گیری

در بین علف‌کش‌های مورد بررسی در این آزمایش، ستوکسیدیم حساسیت بسیار شدیدی به نگهداری محلول پاشش نشان داشت؛ به طوری که امکان نگهداری محلول پاشش ستوکسیدیم بدون افت کارایی آن، حتی به مدت یک روز، با تغییر در پی‌اچ و حذف نور میسر نشد. در حالی که با کاهش پی‌اچ و نگهداری محلول پاشش هالوکسیفوپ-آر-متیل و فلوآزیفوپ-پی-بوتیل در شرایط تاریکی، می‌توان از افت کارایی این دو علف‌کش تا دو روز بعد از نگهداری محلول پاشش جلوگیری کرد. براساس نتایج بدست آمده بنظر می‌رسد که افت کارایی علف‌کش‌های ستوکسیدیم و فلوآزیفوپ-پی-بوتیل در طول مدت نگهداری محلول پاشش توأمأً به سبب نورکافت و آب-کافت باشد ولی افت کارایی علف‌کش‌های هالوکسیفوپ-آر-متیل در طول مدت نگهداری محلول پاشش صرفاً به سبب آب‌کافت باشد.

طور پیوسته کاهش یافت که حاکی از کاهش کارایی علف‌کش است (جدول ۱). براساس گزارش قبلی، ستوکسیدیم در آب با پی‌اچ‌های برابر ۳، ۶ و ۹ به ترتیب دارای نیمه عمر ۱/۶، ۴۵ و ۴۳۸ روز است (ECHA, 2022). در پی‌اچ برابر ۸/۷، وقتی محلول علف‌کش در معرض تابش نور لامپ زنون به مدت ۱۲ ساعت در روز بود، نیمه عمر ستوکسیدیم ۵/۵ روز گزارش شده است. در تحقیقات قبلی نیز تجزیه سریعتر ستوکسیدیم با افزایش پی‌اچ گزارش شده است (Shoaf & Carlson, 1992). در تحقیقی دیگر، تجزیه نوری ستوکسیدیم و کلتودیم مورد بررسی و گزارش شده است (Sandín-España et al., 2016). آنها همچنین ثابت کردند که هر چقدر مدت زمانی علف‌کش‌ها در معرض نور قرارگیر می‌گیرند بیشتر باشد، میزان تجزیه بیشتر می‌شود. در طول مدت آزمایش (۳ ساعت)، تیمار تاریکی هیچ تأثیری در تجزیه علف‌کش‌ها نداشت. در گزارشی دیگر (Hamami & Farrokhi, 2018)، محققین گزارش کردند که با افزایش دوره نگهداری محلول پاشش علف‌کش سیکلوکسیدیم (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) در ظروف پلی‌اتیلنی، کارایی آن در کنترل علف‌هرز یولاف وحشی به ترتیب ۵، ۳۵ و ۵۶ درصد در مقایسه با تهیه و کاربرد

### References

1. Abd-Alrahman, S.H., Kotb, G.A.M., Farag, A.A.Gh., & Elhalwagy, M.E.A. (2014). Bioconcentration and metabolism of diclofop-methyl in freshwater fish (*Oreochromis niloticus*). *Asian Journal of Chemistry*, 26(10), 3101-3104. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2014.16903>
2. Ahemad, M., & Khan, M.S. (2009). Toxicity assessment of herbicides quizalafop-p-ethyl and clodinafop towards *Rhizobium* pea symbiosis. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82(6), 761-766. <https://doi.org/10.1007/s00128-009-9692-x>
3. Aliverdi, A., & Karami, S. (2020). The effect of type and size of single, twin, and triplet flat fan nozzles on the activity of cycloxydim against wild barley (*Hordeum spontaneum* Koch.). *Journal of Plant Protection*, 33(4), 465-474. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.v33i4.81208>
4. Aliverdi, A., Badrkhani, S., & Ahmadvand, G. (2020). The effect of sequence and time interval of adding adjuvant and sulfosulfuron to hard water in the control of winter wild oat (*Avena sterilis* sp. *ludoviciana* Durieu.). *Journal of Plant Protection*, 34(3), 373-383. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.v34i3.85993>
5. Badawi, N., Rosenbom, A.E., Olsen, P., & Sørensen, S.R. (2015). Environmental fate of the herbicide fluzafop-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>
6. Balah, M.A., Gamal Aldin, A.-R., Zidan, Z.H., & Dahroug, S.A. (2017). Photo and thermal degradation of glyphosate and fluzafop-butyl herbicides with and without additives. *Al-Mukhtar Journal of Sciences*, 32(2), 118-127. <https://doi.org/10.54172/mjsc.v32i2.184>
7. Boerboom, C. (2004). *Field case studies of dicamba movement to soybeans*. Wisconsin Fertilizer, Aglime, and Pest Management Conference Proceedings. Information website: [www.soils.wisc.edu/extension/FAPM/fertaglime04.htm](http://www.soils.wisc.edu/extension/FAPM/fertaglime04.htm)
8. Bridges, D.C. (1989). Adjuvant and pH effects on sethoxydim and clethodim activity on rhizome johnsongrass (*Sorghum halepense*). *Weed Technology*, 3(4), 615-620. <https://doi.org/10.1017/S0890037X00032905>
9. Buerge, I.J., Pavlova, P., Hanke, I., Bächli, A., & Poiger, T. (2020). Degradation and sorption of the herbicides 2, 4-D and quizalafop-P-ethyl and their metabolites in soils from railway tracks. *Environmental Sciences Europe*, 32(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s12302-020-00422-6>
10. Burger, K., MacRae, I., & Alexander, M. (2012). Decomposition of phenoxyalkyl carboxylic acids. *Soil Science Society of America Journal*, 26(3), 243-246.
11. 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>

12. Chan, K.-H., & Chu, W. (2009). Degradation of atrazine by cobalt-mediated activation of peroxymonosulfate: different cobalt counteranions in homogenous process and cobalt oxide catalysts in photolytic heterogeneous process. *Water Research*, 43(9), 2513-2521. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.02.029>
13. Chen, G., Tamar, K., Fahima, T., Zhang, F., Korol, A.B., & Nevo, E. (2004). Differential patterns of germination and desiccation tolerance of mesic and xeric wild barley (*Hordeum spontaneum*) in Israel. *Journal of Arid Environments*, 56(1), 95-105. [https://doi.org/10.1016/S0140-1963\(02\)00321-X](https://doi.org/10.1016/S0140-1963(02)00321-X)
14. Devkota, P., & Johnson, W.G. (2019). Influence of carrier water pH, foliar fertilizer, and ammonium sulfate on 2,4-D and 2,4-D plus glyphosate efficacy. *Weed Technology*, 33(4), 562-568. <https://doi.org/10.1017/wet.2019.31>
15. ECHA. (2022). *European Chemicals Agency*. Sethoxydim. Information website: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sethoxydim#section=Information-Sources>
16. Eure, P.M., Jordan, D.L., Bacheler, J.S., York, A.C., Fisher, L.R., & Wells, R. (2011). Performance of cotton agrochemicals when spray solution application is delayed. *Journal of Cotton Science*, 15, 215-223.
17. Eure, P.M., Jordan, D.L., & York, A.C. (2013). Efficacy of herbicides when spray solution application is delayed. *International Journal of Agronomy*, 2, 782486. <https://doi.org/10.1155/2013/782486>
18. Fahl, G.M., Kreft, L., Altenburger, R., Faust, M., Boedeker, W., & Grimme, L.H. (1995). pH-dependent sorption, bioconcentration and algal toxicity of sulfonylurea. *Aquatic Toxicology*, 31(2), 175-187. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(94\)00067-Z](https://doi.org/10.1016/0166-445X(94)00067-Z)
19. FAO, (2012). *FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides. Haloxyfop-P-Methyl*. Information website: [https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests\\_Pesticides/Specs/haloxfop\\_2012.pdf](https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/haloxfop_2012.pdf)
20. FAO, (2016). *FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides. Fluazifop-P-butyl*. Information website: [https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests\\_Pesticides/JMPR/Report2016/FLUAZIFOP-P-BUTYL.pdf](https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Report2016/FLUAZIFOP-P-BUTYL.pdf)
21. Green, J.M., & Cahill, W.R. (2003). Enhancing the biological activity of nicosulfuron with pH adjusters. *Weed Technology*, 17(2), 338-345. [https://doi.org/10.1614/0890-037X\(2003\)017\[0338:ETBAON\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0890-037X(2003)017[0338:ETBAON]2.0.CO;2)
22. Hamami, H., & Farrokhi, A. (2018). *Evaluation of the shelf life of the herbicide solution in the reservoir on the effectiveness of wild oat control (Avena ludoviciana Durieu.)*. The 8th Iranian Weed Science Conference. 5-7 September 2018. Ferdowsi University of Mashhad. 755-758. (In Persian)
23. Harrison, S.K., & Wax, L.M. (1986). The effect of adjuvants and oil carriers on photodecomposition of 2,4-D, bentazon, and haloxyfop. *Weed Science*, 34(1), 81-87. <https://doi.org/10.1017/S0043174500026503>
24. Hazra, D.K., Karmakar, R., Majumder, S.P., Maji, S., Bhattacharya, S., Chakraborty, M., & Bhattacharaya, A. (2015). Effect of pH on dissipation of propaquizafop in water. *International Journal of Bioresource Science*, 2(1), 33-36.
25. 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>
26. Li, G., Hou, Z., Zhang, R., Chen, X., & Lu, Z. (2019). Nanometer Titanium Dioxide mediated high efficiency photodegradation of Fluazifop-p-Butyl. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(19), 3600. <https://doi.org/10.3390/ijerph16193600>
27. Li, G., Li, S., Liu, C., & Jiang, J. (2021). Effect of main inorganic metal elements in Panax ginseng field soil on the photodegradation of fluazifop-p-butyl. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(38), 52901-52912. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14091-2>
28. Lin, Y., Lin C., Yeh K., & Lee A. (2000). Photodegradation of the herbicides butachlor and ronstar using natural sunlight and diethylamine. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 64(6), 780-785. <https://doi.org/10.1007/s001280000071>
29. Lin, C.H., Lerch, R.N., Garrett, H.E., & George, M.F. (2003). Degradation of isoxaflutole (Balance) herbicide by hypochlorite in tap water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 8011-8014. <https://doi.org/10.1021/jf034473b>
30. 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>
31. Lin, J., Chen, J., Wang, Y., Cai, X., Wei, X., & Qiao X. (2008). More toxic and photoresistant products from photodegradation of fenoxaprop-p-ethyl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(17), 8226-8230. <https://doi.org/10.1021/jf801341s>
32. McMullan, P.M. (1996). Grass herbicide efficacy as influenced by adjuvant, spray solution pH, and ultraviolet light. *Weed Technology*, 10(1), 72-77. <https://doi.org/10.1017/S0890037X00045735>
33. Molin, W.T., & Hirase, K. (2004). Comparison of commercial glyphosate formulations for control of prickly side, purple nutsedge, and sicklepod. *Weed Biology and Management*, 4(3), 136-141. <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2004.00130.x>

34. Nalewaja, J.D., Matysiak, R., & Szelezniak, E. (1994). Sethoxydim response to spray carrier chemical properties and environment. *Weed Technology*, 8(3), 591-597. <https://doi.org/10.1017/S0890037X00039749>
35. Palma, G., Demanet, R., Jorquera, M., Mora, M.L., Briceño, G., & Violante, A. (2015). Effect of pH on sorption kinetic process of acidic herbicides in a volcanic soil. *Journal of Soil Science and Plant Nutrient*, 15(3), 549-560.
36. 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>
37. Roy, S., & Singh, S.B. (2005). Phototransformation of clodinafop-propagyl. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 40(4), 525-534. <https://doi.org/10.1081/PFC-200061518>
38. Saha, S., Majumder, S., Das, S., Das, T.K., Bhattacharyya, A., & Roy, S. (2018). Effect of ph on the transformation of a new readymix formulation of the herbicides bispyribac sodium and metamifop in water. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100(4), 548-552. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2269-9>
39. Sandín-España, P., Sevilla-Morán, B., Calvo, L., Mateo-Miranda, M., & Alonso-Prados, J.L. (2013). Photochemical behavior of alloxydim herbicide in environmental waters. Structural elucidation and toxicity of degradation products. *Microchemical Journal*, 106, 212-219. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.07.003>
40. Sandin-Espana, P., Sevilla-Moran, B., Lopez-Goti, C., Mateo-Miranda, M.M., & Alonso-Prados, J.L. (2016). Rapid photodegradation of clethodim and sethoxydim herbicides in soil and plant surface model systems. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(5), 694-703. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.04.007>
41. Schortgen, G.P., & Patton, A.J. (2020). Weed control by 2, 4-D dimethylamine depends on mixture water hardness and adjuvant inclusion but not spray solution storage time. *Weed Technology*, 34(1), 107-116. <https://doi.org/10.1017/wet.2019.117>
42. Sevilla-Morán, B., Calvo, L., López-Goti, C., Alonso-Prados, J.L., & Sandín-España, P. (2017). Photodegradation behaviour of sethoxydim and its comercial formulation Poast® under environmentally-relevant conditions in aqueous media. Study of photoproducts and their toxicity. *Chemosphere*, 168, 501-507. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.026>
43. Shoaf, A.R., & Carlson, W.C. (1992). Stability of sethoxydim and its degradation products in solution, in soil, and on surfaces. *Weed Science*, 40(3), 384-389. <https://doi.org/10.1017/S004317450005178X>
44. Silveira, R.R., Santos, M.V., dos Santos, J.B., Ferreira, E.A., & da Silva, L.D. (2020). The effect of spray solution storage time on nicosulfuron efficacy applied in *Urochloa brizantha* cv. Marandu. *Research, Society and Development*, 9(7), e778974713-e778974713. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4713>
45. Sterling, T.M. (1994). Mechanisms of herbicide absorption across plant membranes and accumulation in plant cells. *Weed Science*, 42(2), 263-276. <https://doi.org/10.1017/S0043174500080383>
46. Stewart, C.L., Nurse, R.E., Cowbrough, M., & Sikkema, P.H. (2009). How long can a herbicide remain in the spray tank without losing efficacy?. *Crop Protection*, 28(12), 1086-1090. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.05.003>
47. Tomlin, C.D.S. (2003). *The e-Pesticide Manual: a world compendium*. Sethoxydim. British Crop Protection Council, UK.
48. Xue, R.D., Qualls, W.A., Zhong, H., & Brock, C.L. (2008). Permethrin decomposition after four month storage in the spray truck tanks during mosquito off season. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(1), 127-129. <https://doi.org/10.2987/5581.1>
49. Zhang, Q., & Pehkonen, S.O. (1999). Oxidation of diazinon by aqueous chlorine: kinetics, mechanisms, and product studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1760-1766. <https://doi.org/10.1021/jf981004e>





## Research Article

Vol. 37, No. 4, 2024, p. 441-454

## Evaluation of Nitrogen-herbicide Interaction on Wheat Yield and Yield Components in Competition with Weed

F. Soltani<sup>1</sup>, S. Saeedipour<sup>2\*</sup> 

<sup>1</sup> and <sup>2</sup>- Post Graduate Student in Weed Science and Associate Professor of Department of Agronomy, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

(\*- Corresponding Author Email: [saeedsaeedipour@iau.ac.ir](mailto:saeedsaeedipour@iau.ac.ir))

Received: 21-02-2023  
Revised: 01-09-2023  
Accepted: 26-09-2023  
Available Online: 26-09-2023

**How to cite this article:**

Soltani, F., & Saeedipour, S. (2024). Evaluation of nitrogen-herbicide interaction on wheat yield and yield components in competition with weed. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 37(4), 441-454. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81218.1131>

### Introduction

Increasing the competitiveness of crops through the use of nitrogen fertilizers and herbicides is an important part of integrated weed management. In recent years, concern over the environmental effects, costs of cultivation, and long-term efficacy of conventional weed management systems have led to increasing number of researchers to seek alternative systems that are less reliant on herbicides and more reliant on ecological processes. This research was conducted with the aim of studying the interaction of different levels of herbicide and nitrogen on weed control and wheat yield improvement.

### Materials and Methods

A field study was conducted at Agronomy Research Farm, Islamic Azad University during 2018-19 with factorial arrangement in a randomized complete block design with four replications. Four herbicide levels (0, 32, 40 and 48 g. metsulfuron-methyl plus sulfosulfuron. ha<sup>-1</sup>) were applied as early post-emergence application (30 DAS) and five nitrogen levels (0, 60, 120, 180 and 240 kg.ha<sup>-1</sup>). Hand weeding (control) was applied to compare other treatments.

### Results and Discussion

Results showed that nitrogen × herbicide interaction was significant on grain yield and dry matter of wheat and weed. Grain yield and dry matter of wheat significantly decreased with increasing nitrogen at lower herbicide levels. The effect of herbicide treatment on 1000 grain weight was significant. So that increasing the dose of herbicide up to 48 g.ha<sup>-1</sup> increased 1000 grain weight as much as the control treatment. The effect of nitrogen and herbicide on the number of spikes was also significant. By increasing the amount of nitrogen up to 120 kg.ha<sup>-1</sup>, the number of spike increased. The results showed that the mutual effect of nitrogen and herbicide on grain yield and dry matter of wheat and weed was significant. With the increasing of nitrogen, the grain yield and dry matter of wheat increased in higher herbicide doses and decreased in lower dosed. At low levels of nitrogen, no significant difference was observed between herbicide levels in terms of grain yield and dry matter of weeds, which indicates the higher competitiveness of wheat at low levels of nitrogen and no need to use herbicides. At the same time, at high levels of nitrogen, wheat yield increases at much slower rate than weeds. Therefore, in terms of nitrogen consumption, we will have to use more herbicides in intensive cropping system.

Negative and significant correlation of dry matter of wheat and weeds showed the existence of a close relationship in the interaction of treatments. Therefore, it is possible to use the combination of nitrogen substitutes



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/jpp.2023.81218.1131>

and herbicides in the integrated management of wheat weeds.

### Conclusion

In general, it was observed in this research that with the increase of nitrogen fertilizer, the competitive ability of wheat against weeds decreases, probably due to the higher efficiency of nitrogen consumption in weeds. If weeds are not properly controlled, we will see a significant decrease in wheat grain yield at high nitrogen levels.

**Keywords:** Grain yield, Metsulfuron-methyl plus sulfosulfuron, Nitrogen, Weed control efficiency, Weeds dry matter

## مقاله پژوهشی

جلد ۳۷ شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص. ۴۵۴-۴۴۱

## ارزیابی برهم‌کنش نیتروژن با علف‌کش بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم (*Triticum aestivum* L.) در رقابت با علف‌های هرز

فرزاد سلطانی<sup>۱</sup> - سعید سعیدی پور<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۴

## چکیده

با هدف بررسی عملکرد گندم در رقابت با علف‌های هرز تحت سطوح مختلف نیتروژن و علف‌کش، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر در سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۷ با آرایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارها شامل: چهار سطح علف‌کش مت‌سولفورون + سولفوسولفورون (صفر، ۳۸، ۴۰ و ۴۸ گرم در هکتار) ۳۰ روز پس از کاشت و پنج سطح نیتروژن (۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار) بودند. کنترل مکانیکی با دست به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که اثر تیمار علف‌کش بر وزن هزار دانه معنی‌دار بود. به‌طوری‌که افزایش دوز علف‌کش تا ۴۸ گرم در هکتار، افزایش وزن هزار دانه را به‌اندازه تیمار شاهد (وجین دستی) بالا برد. اثر نیتروژن و علف‌کش بر تعداد سنبله نیز معنی‌دار بود. با افزایش مقدار نیتروژن تا ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار تعداد سنبله افزایش یافت. این تغییرات در مقادیر نیتروژن بالاتر از ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار معنی‌دار نبود. اثر متقابل نیتروژن و علف‌کش بر عملکرد دانه و ماده خشک گندم و علف هرز معنی‌دار بود. با افزایش نیتروژن، عملکرد و ماده خشک گندم در دوزهای بالاتر علف‌کش افزایش و در دوزهای پایین، کاهش یافت. در سطوح پایین نیتروژن، بین سطوح علف‌کش به لحاظ عملکرد دانه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بیش‌ترین عملکرد دانه و کم‌ترین ماده خشک علف هرز به‌ترتیب با ۵۰۲۶/۳ و ۱۷۸ کیلوگرم در هکتار در تیمار ۲۴۰ کیلوگرم نیتروژن + ۴۸ گرم علف‌کش در هکتار به‌دست آمد. همبستگی منفی و معنی‌دار ماده خشک گندم و علف‌های هرز، وجود ارتباط نزدیک در برهم‌کنش تیمارها را نشان داد. از این رو می‌توان از طریق اعمال ترکیب مناسب نیتروژن و علف‌کش در مدیریت تلفیقی علف‌های هرز گندم بهره جست.

واژه‌های کلیدی: عملکرد دانه، کارایی کنترل علف هرز، ماده خشک علف هرز، مت‌سولفورون + سولفوسولفورون، نیتروژن

## مقدمه

مواد غذایی مهم برای دستیابی به عملکرد بالا در گیاهان زراعی بوده (Wang et al., 2016) و یک جزء مهم در سیستم مدیریت یک‌پارچه علف‌های هرز به‌شمار می‌رود؛ از این‌رو دست‌کاری سطوح نیتروژن می‌تواند به‌طور قابل ملاحظه‌ای بر تداخل علف هرز-گیاه زراعی تأثیر بگذارد (Blackshaw & Brant, 2008; Giambalvo et al., 2010).

گیاهان زراعی و علف‌های هرز نیازهای اولیه یکسانی داشته از این‌رو رقابت بین آن‌ها بر میزان نیتروژن خاک تأثیر می‌گذارد (Camara et

علف‌کش‌ها و کودهای شیمیایی نهاده‌های اصلی کشت، در ایران هستند. مصرف کود در نظام‌های کشت، باعث تغییر سطح مواد غذایی شده و این عمل می‌تواند فرایندهای جمعیت شناختی علف‌های هرز و برهم‌کنش‌های رقابتی گیاه زراعی- علف هرز را تحت تأثیر قرار دهد. اهمیت استفاده از نیتروژن و اثربخشی آن در تولید گندم و سایر غلات به دلیل بالا رفتن هزینه‌های تولید افزایش یافته است. نیتروژن یکی از

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم علف‌های هرز و دانشیار گروه زراعت، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

(\*)- نویسنده مسئول: Email: saeedsaeedipour@iaui.ac.ir

مدیریت مناسب علف‌های هرز و دستیابی به عملکرد اقتصادی قابل قبول همراه با کاهش اثرات زیست‌محیطی ضروری به نظر می‌رسد. برخی از یافته‌ها نشان داده که در سطوح پایین نیتروژن برای کنترل تاج‌خروس ریشه قرمز به مقادیر بیش‌تری از علف‌کش‌های نیکوسولفورون و گلی‌فوزیت نیاز است (Mithila et al., 2008). در تحقیق دیگری جهت کنترل کلزا در مزرعه گندم با افزایش سطح نیتروژن از ۱۴۰ به ۳۶۰ کیلوگرم در هکتار مقادیر کم‌تری از علف‌کش مت‌سولفورون متیل مصرف شد (Kim et al., 2006). در پژوهشی دیگر مشاهده شد که با افزایش مصرف نیتروژن از صفر به ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار میزان ماده خشک علف هرز ارشته خطایی<sup>۱</sup> به بیش از ۱۲۰۰ گرم در متر مربع افزایش یافت، این در حالی است که مصرف علف‌کش میزان ماده خشک این علف هرز را در مقادیر بالاتر نیتروژن، بیشتر کاهش داد (Yaghoobi et al., 2011). از طرفی، بروز مقاومت به علف‌کش‌ها (Heap, 2017) و عدم کارایی برخی از پهن‌برگ‌کش‌های مانند تربینورون و نیز توسعه مقاومت به علف‌کش‌های بازدارنده ACCase در علف‌های هرز باریک‌برگ (Derakhshan & Gharekhloo, 2012) منجر به تعیین راه‌کارهای جایگزینی مدیریت علف‌های هرز شده تا ضمن به حداقل رساندن میزان کاربرد علف‌کش‌ها، هزینه‌های کنترل را نیز کاهش دهد (Bobrovsky et al., 2022). یکی از روش‌های جایگزین، استفاده از علف‌کش‌های دومنظوره نظیر علف‌کش مزوسولفورون + یدوسولفورون (شوالیه) که می‌تواند با یک‌بار سم‌پاشی گونه‌های مختلف علف‌های هرز پهن‌برگ و باریک‌برگ را به‌صورت هم‌زمان کنترل نماید. استفاده از این علف‌کش‌ها، ضمن امکان تغییر دوز علف‌کش (کاهش دوز)، کاربرد علف‌کش‌های موجود را به‌طور متناوب جهت پیشگیری از ایجاد مقاومت ممکن ساخته و بدین ترتیب گزینه‌های جدیدی در پیش رو قرار می‌دهند. هدف این تحقیق، مطالعه برهم‌کنش برخی علف‌کش‌های دو منظوره مت‌سولفورون متیل + سولفوسولفورون (توتال WG 80%) و سطوح مختلف نیتروژن بر کنترل علف‌های هرز، عملکرد و اجزاء عملکرد گندم می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۸-۹۷ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، با موقعیت جغرافیایی ۳۲ درجه و ۳ دقیقه شمالی و ۴۸ درجه و ۵۰ دقیقه شرقی، و آب و هوای خشک و نیمه‌خشک، میانگین بارش ۳۲۱/۴ میلی‌متر و متوسط درجه حرارت سالانه حداقل و حداکثر به‌ترتیب ۹/۵ و ۴۶/۳ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سایر خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک قطعه آزمایشی در جدول ۱ آمده است.

alf., 2003). علف‌های هرز سه تا چهار بار بیش‌تر از یک گیاه عاری از علف هرز از نیتروژن، پتاسیم و منیزیم استفاده می‌کنند (Nayyar et al., 2014). میزان کاهش عملکرد در نتیجه تداخل علف‌های هرز، ۱۷-۲۵ درصد معادل ۲/۴۳ تا ۳/۵۷ میلیون تن دانه گندم در سال گزارش شده است (Shad, 2016). علف‌های هرز باعث کاهش مقدار نیتروژن قابل‌دسترس برای گیاه زراعی می‌شوند و در صورت بالا بودن سطح نیتروژن، رشد فرایندهای خواهند داشت (Supasilapa et al., 1992). این امر تداعی‌کننده این موضوع است که کودها قدرت رقابت علف‌های هرز را بیش‌تر از گیاهان زراعی افزایش داده و در رقابت با علف‌های هرز موجب ثابت ماندن عملکرد گیاهان زراعی و یا کاهش آن خواهند شد (Jornsgard et al., 1996). نتایج ضد و نقیض از تأثیر نیتروژن بر رشد و نمو علف‌های هرز و عملکرد گیاهان زراعی ناشی از تفاوت در روش کاربرد، حاصلخیزی اولیه خاک، نوع کود، نیاز گیاه زراعی و ترکیب گونه‌ای علف‌های هرز است (Blackshaw & Brandt, 2008). توانایی‌های رقابتی نسبی گندم و علف‌های هرز تحت تأثیر عرضه نیتروژن قرار می‌گیرد (Iqbal & Wright, 1997). اثرات متقابل رقابتی گیاه زراعی- علف هرز می‌تواند توسط مقدار نیتروژن (Blackshaw et al., 2003; Hu et al., 2017) و روش مصرف کود نیتروژن (Blackshaw et al., 2004) و منبع نیتروژن (Blackshaw et al., 2005) تغییر کند.

بلک‌شاو و همکاران (Blackshaw et al., 2003) نشان دادند که افزایش رشد تعداد زیادی از گونه‌های علف هرز در اثر مصرف نیتروژن، در مقایسه با افزایش عملکرد گندم به‌مراتب بیش‌تر بود و مقادیر اضافی نیتروژن موجب کاهش عملکرد گندم شده و افزایش ماده خشک علف‌های هرز را در پی داشت. ایوانز و همکاران (Evans et al., 2003) نشان دادند که عملکرد دانه ذرت در سطوح مختلف نیتروژن با حضور علف‌های هرز در مقایسه با شرایط بدون علف هرز به‌طور چشم‌گیری پایین‌تر بود. بر اساس یافته فریک و جانسون (Frick & Johnson, 2007) یولاف وحشی در سطوح بالاتر نیتروژن رقابت شدیدتری با گندم داشته و موجب کاهش معنی‌دار عملکرد گندم می‌شود. بنابراین، در نظام‌های کشت زراعی افزودن کود نیتروژن می‌تواند پیامد ناخواسته افزایش رشد و توان رقابتی علف‌های هرز نسبت به گیاه زراعی را در پی داشته باشد.

در میان روش‌های کنترل علف‌های هرز، کنترل شیمیایی یکی از ساده‌ترین و موفق‌ترین شیوه‌های کنترلی است. مدیریت صحیح علف‌های هرز توسط علف‌کش‌ها باعث سرکوب مؤثر جوانه‌زنی و رشد علف‌های هرز شده و در نتیجه افزایش عملکرد گیاهان زراعی را به‌دنبال دارد (Grichar et al., 2015; Shekhawat et al., 2017). در عین‌حال ارزیابی برهم‌کنش علف‌کش و مصرف کود نیتروژن جهت

پس از انجام عملیات تهیه زمین، بذر گندم (رقم چمران ۲) به‌وسیله بذرکار پنوماتیک گندم و با تراکم ۴۰۰ بوته در متر مربع در تاریخ ۱۵ آبان کشت شد. ابعاد هر کرت ۸×۲ متر مربع و فواصل خطوط کاشت ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. آزمایش با آرایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل سطوح مختلف نیتروژن (۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار) از منبع اوره و فاکتور دوم سطوح علف‌کش متسولفورون + سولفوسولفورون (WG 80٪، تولید کشور هند، شرکت UPL) (صفر، ۳۸، ۴۰ و ۴۸ گرم در هکتار) ۳۰ روز پس از کاشت به همراه تیمارهای کنترل دستی به‌عنوان شاهد بودند. مقدار توصیه‌شده این علف‌کش ۴۰ تا ۵۰ گرم به‌صورت محلول‌پاشی می‌باشد. قبل از کاشت مقادیر کود پایه بر اساس آزمون خاک (جدول ۲)، به میزان ۱۰۰ کیلوگرم کود فسفر و ۱۰۰ کیلوگرم پتاس در هکتار به‌ترتیب از منابع سوپر فسفات تریپل (۴۷٪  $P_2O_5$ ) و سولفات پتاسیم (۵۰٪  $K_2O$ ) و کود نیتروژن‌دار، اوره (۴۶٪ N)، در دو مرحله کاشت و اواخر پنجه‌زنی به خاک افزوده شد. سم‌پاشی با استفاده از سم‌پاش پستی تک نازله تی‌جت (بادبونی) با شماره ۸۰۰۲ VS و عرض پاشش یک متر، در فشار ثابت ۲ اتمسفر

در اواخر مرحله پنجه‌زنی گندم (مرحله ۲ تا ۴ برگ‌های هرز) و براساس پاشش ۳۰۰ لیتر در هکتار انجام شد. نمونه‌برداری‌های تخریبی از خطوط کاشت دو و هفت و نمونه‌برداری عملکرد دانه از خطوط چهار و پنج صورت گرفت. سطح نمونه‌برداری در خطوط ذکر شده معادل دو متر مربع بود. برای تعیین ماده خشک علف‌های هرز در هر کرت از میانگین سه کادر نیم متر مربعی به‌صورت تصادفی سه هفته بعد از اعمال تیمار علف‌کش استفاده شد. برای تعیین وزن خشک، نمونه‌ها در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. درصد فراوانی گونه‌های مختلف علف هرز از رابطه  $FK = Y_i/n \times 100$  محاسبه شد. در این رابطه درصد فراوانی گونه مورد نظر،  $Y_i$  تعداد کرت‌هایی که گونه مورد نظر در آن حضور دارد و  $n$  تعداد کل کرت‌ها می‌باشد. در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک محصول در تاریخ پانزدهم اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۸ عملکرد و اجزای عملکرد گندم شامل تعداد سنبلچه در سنبله و تعداد دانه در سنبله از میانگین ۱۵ بوته و وزن هزاردانه از میانگین سه نمونه ۵۰۰ عددی از هر کرت محاسبه شدند. تجزیه اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مزرعه

Table 1- The Physical and chemical properties of field soil

| عمق نمونه‌برداری<br>Sampling Depth<br>(cm) | کربن آلی<br>Organic<br>matter (%) | هدایت<br>الکتریکی<br>EC<br>( $\mu\text{mhos.cm}^{-1}$ ) | اسیدیته<br>خاک<br>pH | ازت کل<br>Total<br>Nitrogen<br>(%) | پتاسیم<br>Potassium<br>( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) | فسفر<br>Phosphorus<br>( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) | بافت خاک<br>Soil<br>Texture |
|--------------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------|
| 0-30                                       | 0.4                               | 320                                                     | 7.4                  | 0.038                              | 155                                            | 10.4                                          | لوم - رسی<br>Loamy-clay     |

## نتایج و بحث

### عملکرد دانه و ماده خشک گندم و ماده خشک علف‌های هرز

اثرات متقابل نیتروژن و علف‌کش بر عملکرد دانه و ماده خشک گندم و علف‌های هرز معنی‌دار بود (جدول ۲). افزایش مقدار نیتروژن بدون کنترل شیبایی کاهش معنی‌داری عملکرد دانه را به‌دنبال داشت (شکل ۱). برش‌دهی اثرات متقابل نشان داد با افزایش مقدار نیتروژن بین سطوح علف‌کش اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳). با افزایش نیتروژن، عملکرد گندم در دوزهای بالاتر علف‌کش به‌دلیل تغییر رقابت به‌نفع گیاه زراعی، افزایش و در دوزهای پایین علف‌کش به‌دلیل کاهش توان رقابتی گندم، کاهش یافت. نتایج برخی از تحقیقات نشان داد که افزایش نیتروژن فراتر از حد مطلوب گندم در رقابت با خردل

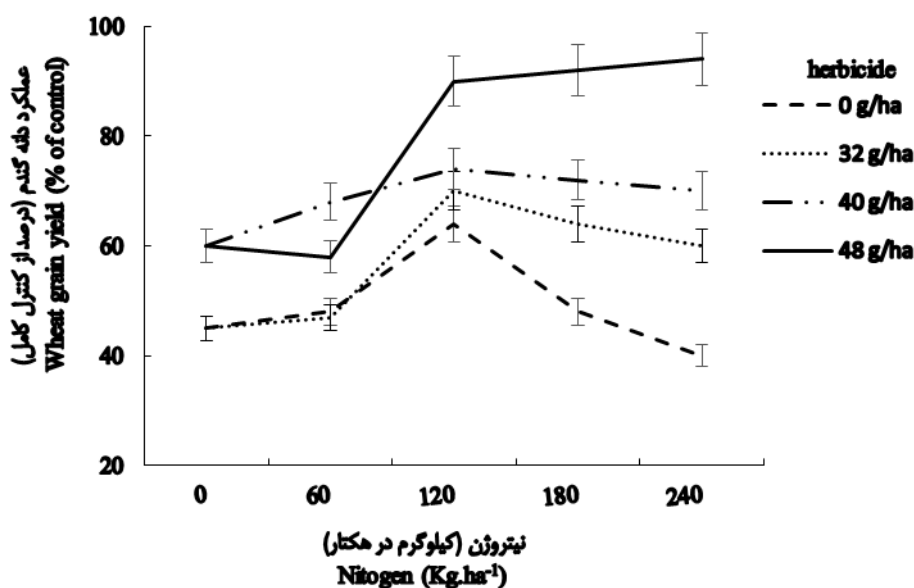
وحشی موجب افزایش تلفات عملکرد از ۴۲/۱ به ۵۰/۴ درصد گردید (Mosavi et al., 2002). کاهش عملکرد در برخی از محصولات زراعی به دلیل رقابت با علف‌های هرز تا ۸۰ درصد گزارش شده است. در سطوح پایین نیتروژن، اختلاف معنی‌داری بین سطوح علف‌کش به لحاظ عملکرد دانه مشاهده نشد (شکل ۱ و جدول ۳). با افزایش مقدار نیتروژن فراتر از ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار ماده خشک گندم خصوصاً در سطح صفر علف‌کش، کاهش چشمگیری نشان داد (شکل ۲). این موضوع نشان از توان رقابتی بالاتر گندم در سطوح پایین نیتروژن دارد. به‌عبارتی روشن‌تر، در سطوح پایین نیتروژن، دوز مصرفی علف‌کش نقشی ندارد (جدول ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات سطوح نیتروژن و علف‌کش بر صفات اندازه‌گیری شده گندم و علف‌های هرز

Table 2- ANOVA (mean squares) for the effects of nitrogen levels and herbicide treatments on wheat and weed measured traits

| میانگین مربعات<br>Means of square |                  |                             |                                                    |                                      |                                             |                                         |                                           |
|-----------------------------------|------------------|-----------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------|
| منابع تغییر<br>S.O.V.             | درجه آزادی<br>df | تعداد سنبله<br>No. of spike | تعداد دانه در<br>سنبله<br>Grain spike <sup>1</sup> | وزن هزاردانه<br>1000 grain<br>weight | عملکرد دانه<br>گندم<br>Wheat Grain<br>yield | ماده خشک<br>گندم<br>Wheat dry<br>matter | ماده خشک<br>علف‌هرز<br>Weed dry<br>matter |
| تکرار<br>Replication              | 3                | 2613.96 <sup>ns</sup>       | 32.94 <sup>ns</sup>                                | 131.14 <sup>ns</sup>                 | 3355902.6 <sup>ns</sup>                     | 2990980.1 <sup>ns</sup>                 | 7505.59 <sup>ns</sup>                     |
| علف‌کش<br>Herbicide               | 4                | 93811.1**                   | 615.09 <sup>ns</sup>                               | 154.66*                              | 22030168.8**                                | 95309731**                              | 1057972.21**                              |
| نیتروژن<br>Nitrogen               | 4                | 14856.69**                  | 126.4**                                            | 36.26 <sup>ns</sup>                  | 2087359**                                   | 4233293.6*                              | 154992.61**                               |
| علف‌کش × نیتروژن<br>H×N           | 16               | 7520.84 <sup>ns</sup>       | 30.21 <sup>ns</sup>                                | 21.98 <sup>ns</sup>                  | 1127552.8*                                  | 3605839.8**                             | 6505.17**                                 |
| خطا<br>Error                      | 72               | 2848.53                     | 14.72                                              | 5.44                                 | 352895                                      | 1634334.6                               | 3054.82                                   |
| ضریب تغییرات<br>%CV               |                  | 13.43                       | 15.23                                              | 10.42                                | 14.81                                       | 16.24                                   | 32.52                                     |

<sup>ns</sup>, \*\*, \* و \* به ترتیب نشان‌دهنده غیرمعنی‌داری و معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد  
ns, \*\*, \* and \*: Representing of non-significant, significant at  $p \leq 0.01$  and  $p \leq 0.05$ , respectively.



شکل ۱- اثر تیمارهای نیتروژن و علف‌کش بر عملکرد دانه گندم نسبت به تیمار کنترل کامل

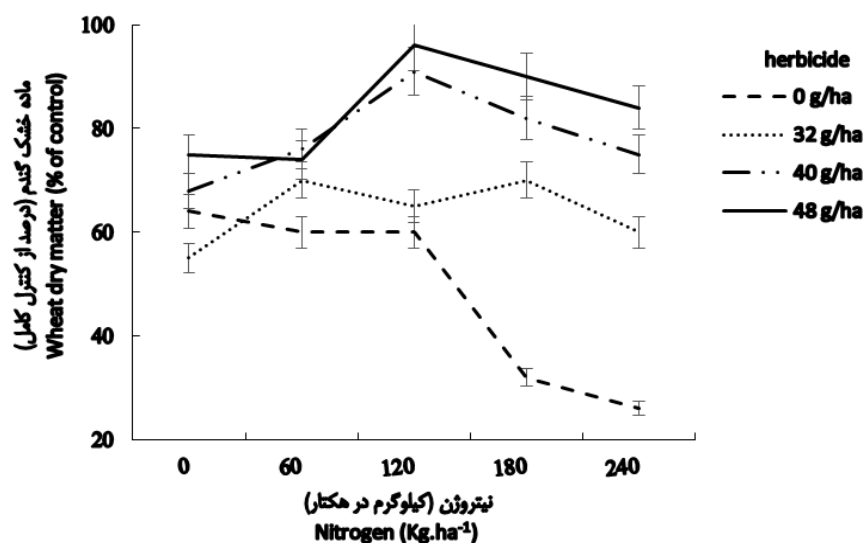
Figure 1- Effect of nitrogen and herbicide treatments on wheat grain yield in comparison with hand weeding

یافت (شکل ۳). شیبانی و قادری (Sheibani & Ghadiri, 2012) نیز بیش‌ترین ماده خشک علف هرز را در کرت‌های عدم کنترل گزارش دادند.

علف‌های هرز نازک‌برگ مزروع شامل: یولاف وحشی<sup>۱</sup>، جو دره<sup>۲</sup> و علف‌های هرز پهن برگ شامل: خردل وحشی<sup>۳</sup> و خاکشیر<sup>۴</sup> بودند (جدول ۴). بررسی اثرات متقابل نشان داد که با مصرف بیش‌تر نیتروژن و عدم کاربرد علف‌کش ماده خشک علف‌های هرز به‌طور فزاینده‌ای افزایش

3- *Sinapis arvensis* L.  
4- *Descurainia sophia* L.

1- *Avena ludoviciana* L.  
2- *Hordeum spontaneum* L.



شکل ۲- اثر تیمارهای نیتروژن و علف کش بر ماده خشک گندم نسبت به تیمار کنترل کامل

Figure 2- Effect of nitrogen and herbicide treatments on wheat dry matter in comparison with hand weeding

جدول ۳- برش دهی اثر متقابل نیتروژن و علف کش در تیمارهای نیتروژن بر ماده خشک و عملکرد دانه گندم و ماده خشک علف هرز

Table 3- Slicing of nitrogen×herbicide on dry matter and grain yield of wheat and dry matter of wild oat in nitrogen treatments

| نیتروژن<br>Nitrogen (Kg.ha <sup>-1</sup> ) | درجه آزادی<br>d.f | میانگین مربعات<br>Means of square     |                                          |                                            |
|--------------------------------------------|-------------------|---------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------|
|                                            |                   | عملکرد دانه گندم<br>Wheat grain yield | عملکرد ماده خشک گندم<br>Wheat dry matter | عملکرد ماده خشک علف هرز<br>Weed dry matter |
| 0                                          | 4                 | 249531 <sup>ns</sup>                  | 1542693 <sup>ns</sup>                    | 1012003 <sup>ns</sup>                      |
| 60                                         | 4                 | 120600 <sup>ns</sup>                  | 1486547 <sup>ns</sup>                    | 478265 <sup>ns</sup>                       |
| 120                                        | 4                 | 1256988*                              | 12797786**                               | 1599659**                                  |
| 180                                        | 4                 | 2834186**                             | 14362291**                               | 10823669**                                 |
| 240                                        | 4                 | 5153678**                             | 62435006**                               | 45676511**                                 |

<sup>ns</sup>, \*\* و \* به ترتیب نشان دهنده غیرمعنی داری و معنی داری در سطح پنج و یک درصد

<sup>ns</sup>, \*\* and \*: Representing of non-significant, significant at  $p \leq 0.01$  and  $p \leq 0.05$ , respectively.

که در سطوح پایین نیتروژن، تفاوت معنی داری بین سطوح علف کش مشاهده نشد (جدول ۳). همبستگی منفی و معنی دار ماده خشک گندم و علف های هرز حاکی از وجود ارتباط بین سطوح نیتروژن و علف کش دارد (جدول ۵).

میانگین اثرات متقابل (شکل ۴) نشان داد که بیش ترین ماده خشک علف های هرز با مقدار ۷۵۲۴ کیلوگرم در هکتار (شکل ۴ C) با مصرف ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن و عدم مصرف علف کش و کم ترین میزان عملکرد دانه و ماده خشک گندم به ترتیب با ۲۷۵۴ و ۳۹۲۲ کیلوگرم در هکتار در این ترکیب تیماری مشاهده شد (شکل ۴ A و B).

برخی محققین گزارش کردند که رشد ریشه و ساقه علف های هرز خردل وحشی، سلمک<sup>۱</sup>، تاج خروس<sup>۲</sup> و یولاف وحشی با افزایش نیتروژن افزایش یافت (Blackshaw et al., 2003). در ارزیابی رقابت گندم با علف های هرزی مانند بی تی راخ<sup>۳</sup>، یولاف وحشی و علف پشمکی<sup>۴</sup>، افزایش ماده خشک و توان رقابتی علف های هرز در مقایسه با گندم در پاسخ به افزایش مصرف کود نیتروژن گزارش شده است (Lintell-Smith et al., 1991). در این تحقیق، در سطوح بالای علف کش، با افزایش سطح نیتروژن وزن خشک علف های هرز کاهش یافت. در این شرایط، توان رقابتی علف های هرز تیمار شده با دوز بالای علف کش به دلیل افزایش سایه اندازی ناشی از رشد بهتر گیاه زراعی، با افزایش مصرف کود به شدت کاهش یافت (شکل ۳). این در حالی است

3- *Gallium aparine* L.

4- *Bromus sterilis* L.

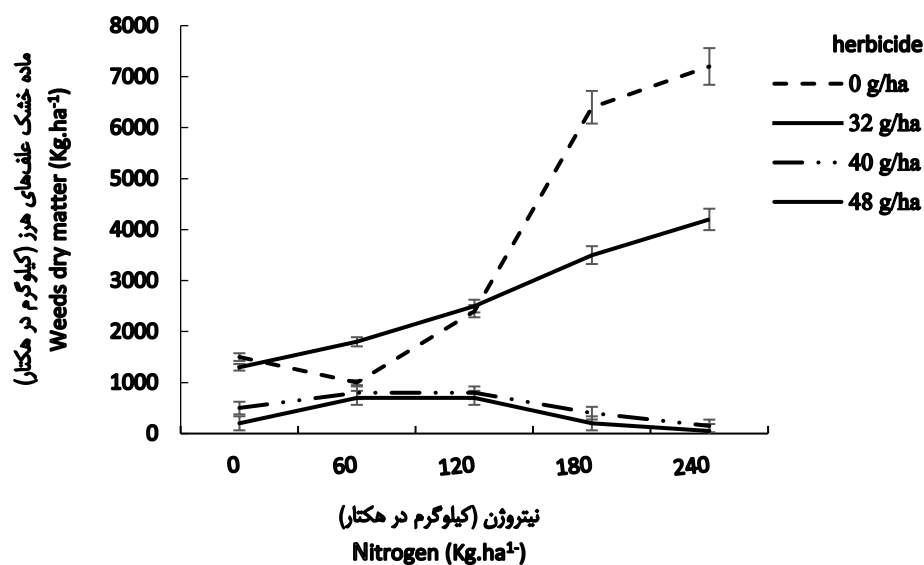
1- *Chenopodium album* L.

2- *Amaranthus retroflexus* L.

جدول ۴- اسامی علمی، فارسی، تیره و فراوانی گونه‌های علف هرز شناسایی شده در مزرعه

Table 4- Persian, scientific, and family names and frequency of weeds identified in the field

| نام فارسی    | نام علمی                        | نام تیره     | فراوانی       |
|--------------|---------------------------------|--------------|---------------|
| Persian name | Scientific name                 | Family name  | Frequency (%) |
| یولاف وحشی   | <i>Avena ludoviciana</i> L.     | Poaceae      | 100           |
| چودره        | <i>Hordeum spontaneum</i> Koch. | Poaceae      | 65            |
| خاکشیر       | <i>Descurainia sophia</i> L.    | Brassicaceae | 45            |
| خردل وحشی    | <i>Sinapis arvensis</i> L.      | Brassicaceae | 60            |



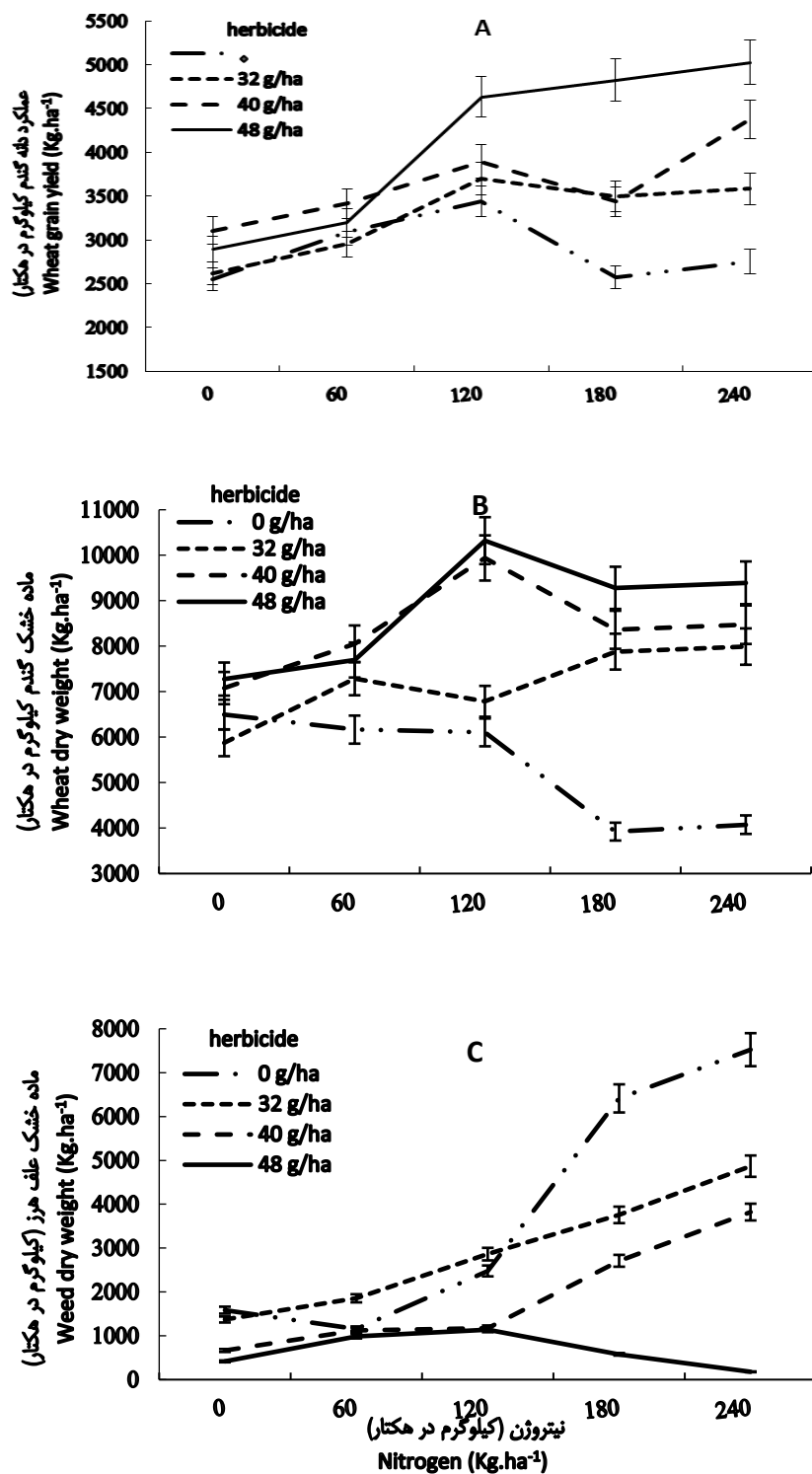
شکل ۳- اثر تیمارهای نیتروژن و علف کش بر ماده خشک علف‌های هرز

Figure 3- Effect of nitrogen and herbicide treatments on weed dry matter

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین عملکرد دانه و ماده خشک گندم، ماده خشک علف‌های هرز و اجزای عملکرد گندم

Table 5- Correlation coefficients between wheat grain yield and dry matter, weed dry matter and wheat grain yield component

|                                                         | عملکرد دانه<br>گندم<br>Wheat grain<br>yield | ماده خشک گندم<br>Wheat dry<br>matter | ماده خشک<br>علف‌هرز<br>Weed dry<br>matter | تعداد سنبله در<br>متر مربع<br>No. of spike.m <sup>-2</sup> | تعداد دانه در<br>سنبله<br>No. of<br>grain.spike <sup>-1</sup> | وزن هزاردانه<br>1000 grain<br>weight |
|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| عملکرد دانه گندم<br>Wheat grain yield                   | 1                                           |                                      |                                           |                                                            |                                                               |                                      |
| ماده خشک گندم<br>Wheat dry matter                       | 0.68**                                      | 1                                    |                                           |                                                            |                                                               |                                      |
| ماده خشک علف هرز<br>Weed dry matter                     | -0.35*                                      | 0.54**                               | 1                                         |                                                            |                                                               |                                      |
| تعداد سنبله در مترمربع<br>No. of spike.m <sup>-2</sup>  | 0.84**                                      | 0.70**                               | -0.15                                     | 1                                                          |                                                               |                                      |
| تعداد دانه در سنبله<br>No. of grain.spike <sup>-1</sup> | 0.54**                                      | 0.21 <sup>ns</sup>                   | 0.06 <sup>ns</sup>                        | 0.29*                                                      | 1                                                             |                                      |
| وزن هزاردانه<br>1000 grain weight                       | 0.73**                                      | 0.49**                               | 0.31 <sup>ns</sup>                        | 0.28*                                                      | 0.1 <sup>ns</sup>                                             | 1                                    |



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف علف‌کش و نیتروژن بر عملکرد دانه (A)، ماده خشک گندم (B) و ماده خشک علف‌های هرز (C)

Figure 4- Mean comparison of different levels of herbicide and nitrogen on grain yield (A) and dry matter of wheat (B) and dry matter of weed (C)

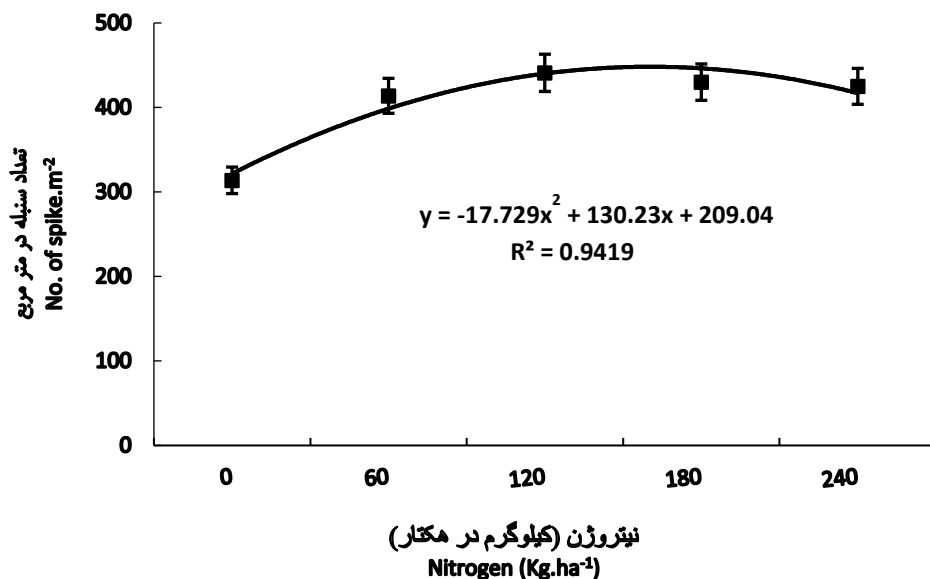
سپس به ۶۴۱۳/۱ در سطح ۱۸۰ کیلوگرم نیتروژن رسید که به ترتیب افزایش معادل ۱۱۴/۶ و ۱۵۸/۷ درصد را نشان داد (شکل ۴ C). این موضوع نشان می‌دهد که در سطوح بالای نیتروژن، عملکرد گندم با سرعت بسیار کمتری نسبت به علف‌های هرز افزایش می‌یابد. از این رو در سیستم‌های زراعی پرنهاده به لحاظ مصرف نیتروژن ناگزیر از مصرف بیش‌تر علف‌کش خواهیم بود.

#### اجزاء عملکرد گندم

نتایج نشان داد که اثر نیتروژن و علف‌کش بر تعداد سنبله در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش مقدار نیتروژن تا ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار تعداد سنبله از ۳۱۳ به ۴۴۱ افزایش یافت. تغییرات تعداد سنبله در مقادیر نیتروژن بالاتر از ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار معنی‌دار نبود (شکل ۵).

این در حالی است که بیش‌ترین عملکرد دانه و ماده خشک گندم و کم‌ترین ماده خشک علف‌های هرز با همین مقدار نیتروژن در ترکیب با ۴۸ گرم در هکتار علف‌کش به‌دست آمد. در عین حال در سطوح پایین نیتروژن، تفاوت معنی‌داری بین سطوح علف‌کش به لحاظ عملکرد دانه و ماده خشک گندم و علف‌های هرز وجود نداشت، که بیان‌گر توان رقابتی بالاتر گندم در سطوح پایین نیتروژن و عدم نیاز به مصرف علف‌کش است.

با مصرف ۴۸ گرم علف‌کش در هکتار، عملکرد دانه گندم با مصرف ۶۰ کیلوگرم نیتروژن و افزایش ۴۴ درصدی از ۳۱۹۴ به ۴۶۲۴/۲ کیلوگرم در هکتار افزایش یافت. با افزایش بیش‌تر نیتروژن تا ۱۸۰ و ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار به ترتیب عملکردهای ۴۸۲۶/۵ و ۵۰۲۶/۳ کیلوگرم در هکتار، افزایشی معادل ۴/۳ و ۴/۱ به‌دست آمد (شکل ۴ A). در حالی که در شرایط عدم کنترل علف‌های هرز، ماده خشک آن‌ها از ۱۱۵۵/۱ در سطح ۶۰ کیلوگرم نیتروژن به ۲۴۷۸/۹ در سطح ۱۲۰ و



شکل ۵- اثر تیمارهای کود نیتروژن بر تعداد سنبله گندم در متر مربع  
Figure 5- Effect of nitrogen treatments on number of spike.m<sup>2</sup>

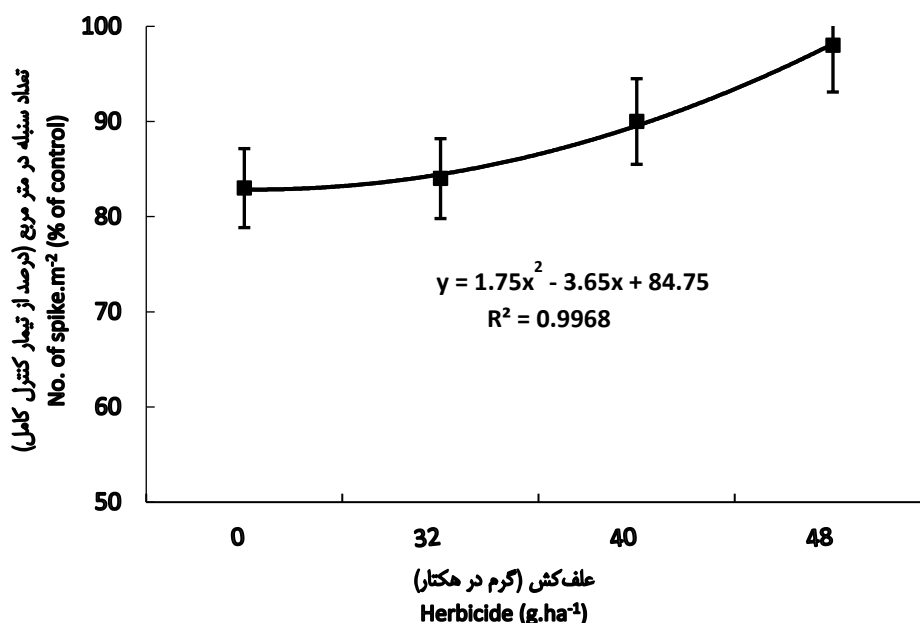
دستی ممکن‌پذیر است.

با افزایش مصرف نیتروژن تا ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار تعداد دانه در سنبله افزایش یافت (شکل ۷). نظر به ضریب همبستگی بالاتر عملکرد با تعداد سنبله در واحد سطح (جدول ۵)، عملکرد دانه در مقادیر نیتروژن بیش از ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار غالباً کاهش نشان داد (شکل ۱)، زیرا عملکرد دانه ممکن است به‌دلیل سایه‌اندازی (Vance & Nevai, 2007) افزایش پنجه‌های نابارور (Kim et al., 2006) و بالا رفتن رقابت بین‌گونه‌ای برای نور (Ryan et al., 2009) تحت تأثیر قرار گیرد. اثر تیمار علف‌کش بر وزن هزار دانه در سطح آماری پنج درصد

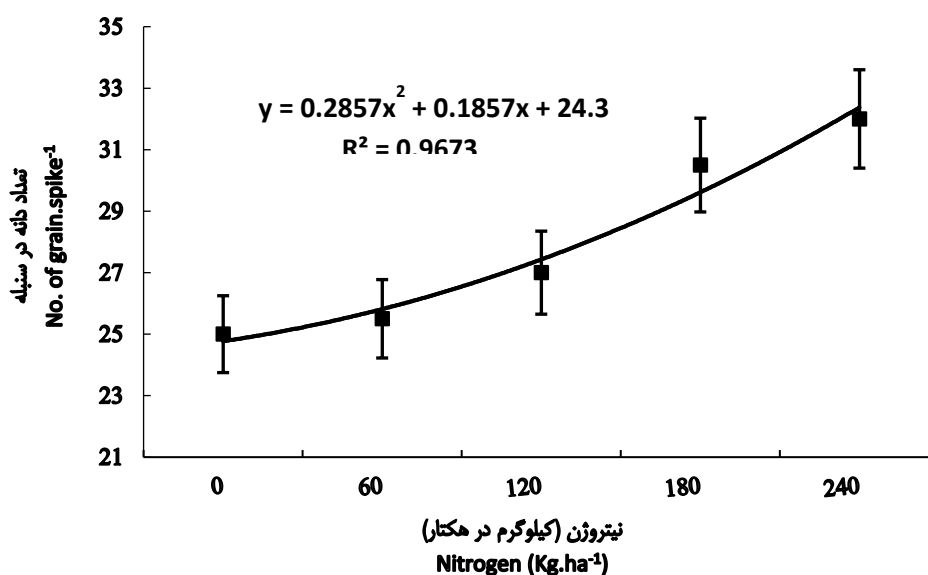
با افزایش مصرف علف‌کش تعداد سنبله از ۸۳ در تیمار شاهد به ۹۸ سنبله در متر مربع در تیمار دوز ۴۲ گرم در هکتار رسید (شکل ۶)، که نشان از کنترل مناسب علف‌های هرز توسط علف‌کش دارد. همبستگی مثبت و معنی‌دار عملکرد دانه گندم و تعداد سنبله در متر مربع (جدول ۵) پیش‌تر توسط سایر محققین گزارش شده است (Faraji, 2006). همان‌گونه که مشاهده می‌شود مصرف ۴۸ گرم در هکتار علف‌کش موجب افزایش تعداد سنبله در متر مربع تا نزدیک به تیمار شاهد (وجین دستی) گردید که خود بیان‌گر این نکته است که امکان بهبود این جزء از عملکرد توسط علف‌کش حداکثر تا تیمار وجین

افزایش نداده بلکه به واسطه مسمومیت گیاه زراعی موجب کاهش نسبی عملکرد نیز شد. مرادی تلاوت و همکاران (Moradi-Telavat *et al.*, 2010) نیز نشان دادند که مصرف ۱/۲ لیتر در هکتار علف‌کش کلودینافوب پروپاژل وزن هزار دانه گندم را تا نزدیک تیمار کنترل کامل یولاف وحشی افزایش داد ولی مقادیر بیش از آن اثر مثبتی نداشته است.

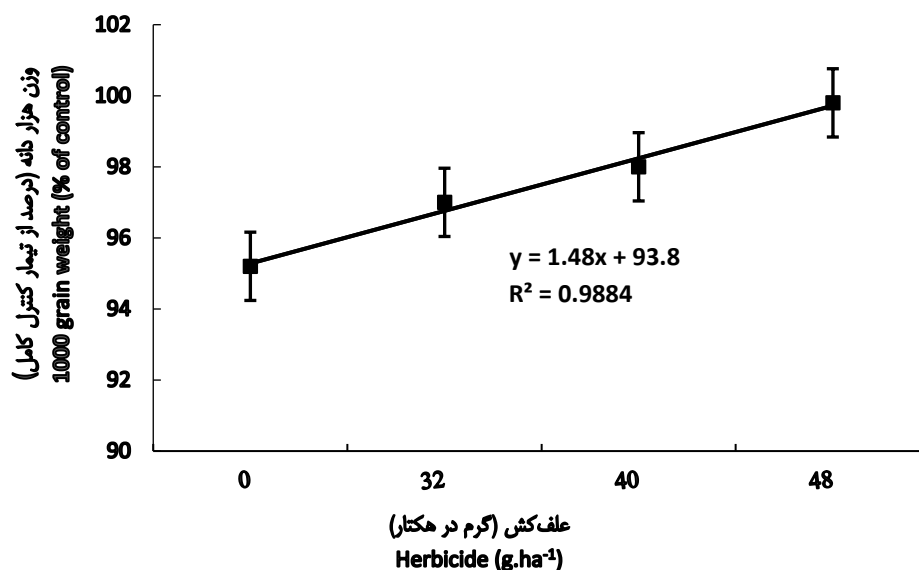
معنی‌دار بود (جدول ۳). افزایش دوز علف‌کش تا ۴۸ گرم در هکتار، افزایش وزن هزار دانه تا سرحد تیمار شاهد (وجین دستی) را به دنبال داشته است (شکل ۸). از این رو مصارف بالاتر علف‌کش وزن هزار دانه گندم را افزایش نخواهد داد. موسوی و همکاران (Moosavi *et al.*, 2008) نشان دادند که مصرف بیش از پنج لیتر در هکتار علف‌کش مولینات در تراکم بهینه برنج (۱۲۰ کیلوگرم در هکتار) عملکرد را نه تنها



شکل ۶- اثر تیمارهای علف‌کش بر تعداد سنبله گندم در متر مربع  
Figure 6- Effect of herbicide treatments on number of spike.m<sup>-2</sup>



شکل ۷- اثر تیمارهای نیتروژن بر تعداد دانه در سنبله گندم  
Figure 7- Effect of nitrogen treatments on wheat grain number.spike<sup>-1</sup>



شکل ۸- اثر تیمارهای علف‌کش بر وزن هزار دانه گندم در مقایسه با تیمار کنترل کامل

Figure 8- Effect of herbicide treatments on wheat 1000 grain weight in comparison with hand weeding

## نتیجه‌گیری

به‌طور کلی در این تحقیق مشاهده شد که با افزایش نیتروژن، عملکرد گندم در اثر افزایش مصرف علف‌کش افزایش یافت، اما توان رقابت گندم با افزایش نیتروژن در برابر علف‌های هرز کاهش یافت و به‌نظر می‌رسد که برای حفظ عملکردهای بالا، نیاز به مصرف علف‌کش بیش‌تر و کنترل کامل‌تر علف‌های هرز باشد. در سطوح بالای نیتروژن عملکرد گندم با نرخ کم‌تری افزایش یافت. در عین حال، رشد و تولید ماده خشک علف‌های هرز با شدت بالایی نسبت به گیاه زراعی پیشی گرفت. این موضوع می‌تواند دلیل قابل قبولی بر افزایش رشد بسیاری از علف‌های هرز در اکوسیستم‌های زراعی باشد که در آن‌ها کودهای نیتروژن‌دار زیاد استفاده شده و در نتیجه نیاز به مصرف بیش‌تر علف‌کش خواهد بود. در سطوح پایین نیتروژن تفاوت معنی‌داری میان سطوح علف‌کش از نظر عملکرد دانه وجود نداشت. به یک معنی، توان رقابت گندم در سطوح پایین نیتروژن در برابر علف‌های هرز نسبت به سطوح بالای نیتروژن، بیش‌تر بوده و این موضوع مستقل از میزان علف‌کش مصرفی است. لذا، با توجه به این که کود نیتروژن هم زیست‌توده گیاه زراعی و هم زیست‌توده علف‌های هرز را تحت تأثیر قرار می‌دهد،

درحالی‌که علف‌کش در هنگام کاربرد کم‌تر از دوز توصیه‌شده به‌طور معمول تنها بر زیست‌توده علف‌های هرز تأثیرگذار است، در تصمیم‌گیری برای کنترل مطلوب علف‌های هرز باید میزان مصرف کود و علف‌کش را با هم در نظر گرفت. در این تحقیق، افزایش عملکرد دانه گندم در مقادیر نیتروژن بیش از ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار معنی‌دار نبوده، در مقابل تجمع ماده خشک علف‌های هرز در این دامنه از مصرف نیتروژن احتمالاً به‌دلیل کارایی بالا، افزایش قابل توجهی نشان داد. از طرف دیگر در سطح ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن تفاوت معنی‌داری بین سطوح علف‌کش ۴۰ و ۴۸ گرم در هکتار به‌لحاظ عملکرد دانه گندم وجود نداشت. لذا با توجه به نگرانی‌های زیست‌محیطی و توسعه سیستم‌های زراعی کم‌نهاد، ترکیب تیماری ۱۲۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار + ۴۰ گرم در هکتار علف‌کش مت‌سولفورون + سولفوسولفورون توصیه می‌گردد.

## سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری مسئولین و کارشناسان محترم دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد واحد شوشتر تشکر و قدردانی می‌گردد.

## References

1. Blackshaw, R.E., Brandt, R.N., Janzen, H.H., Entz, T., Grant, C.A., & Derksen, D.A. (2003). Differential response of weed species to add nitrogen. *Weed Science*, 51, 532-539.
2. Blackshaw, R.E., Molnar, L.J., & Janzen, H.H. (2004). Nitrogen fertilizer timing and application method affect weed growth and competition with spring wheat. *Weed Science*, 2, 614-622.
3. Blackshaw, R.E., & Brandt, R.N. (2008). Nitrogen fertilizer rate effect on weed competitiveness is species dependent. *Weed Science*, 56 (5), 743-747.

4. Bobrovsky, A.V., Kazulina, N.S., Vasilenko, A.V., & Kryuchkov, A.A. (2022). The effect of herbicide tank mixtures on the phytosanitary condition of crops and the productivity of barley variety. *Acha Agriculture*, 1, 44-48. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1112/1/012066>
5. Camara, K.M., Payne, W.A., & Rasmussen, P.E. (2003). Long-term effect of tillage, nitrogen, and rainfall on winter wheat yields in the Pacific Northwest. *Agronomy Journal*, 95, 828-835.
6. Derakhshan, A., & Gharekhloo, J. (2012). Investigating cross-resistance of resistant-*Phalaris minor* to ACCase herbicides. *Weed Research Journal*, 4, 15-25.
7. Evans, S.P., Knezevic, S.Z., Lindquist, J.L., Shapiro, C.A., & Blankenship, E.E. (2003). Nitrogen application influence the critical period for weed control in corn. *Weed Biology Management*, 51, 408- 417.
8. Faraji, H. (2006). *The mechanism of nitrogen effect on eco-physiological restrictions of wheat yield in Khuzestan*. Ph.D. thesis. Ramin Agriculture and Natural Resources University. (In Persian)
9. Frick, B., & Johnson, E. (2007). Soil fertility affects weed and crop competition. Organic Agriculture Center of Canada.
10. Giambalvo, D., Ruisi, P.G.D., Miceli, G., Frenda, A.S., & Amato, G. (2010). Nitrogen use efficiency and nitrogen fertilizer recovery of durum wheat genotypes as affected by interspecific competition. *Agronomy Journal*, 102, 707-715.
11. Grichar, W.J., Dotray, P.A., & Trostle, C.L. (2015). Castor (*Ricinus communis* L.) tolerance and weed control with pre emergence herbicides. *Industrial Crops and Products*, 76, 710-716. <https://doi.org/10.1155/2012/832749>
12. Heap, I. (2017). International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Available at: <http://weedsscience.org/summary/MOA.aspx>.
13. Hu, W.S., Liu, Q.X., & Ren, T. (2017). Mechanism of controlling weed biomass through increasing winter rapeseed seeding amount and nitrogen application rate. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 23, 137-143. (In Chinese). <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00529>
14. Iqbal, J., & Wright, D. (1997). Effects of nitrogen supply on competition between wheat and three annual weed species. *Weed Research*, 37, 391-400.
15. Jornsgrard, B., Rasmussen, K., Hill, J., & Christiansen, J.L. (1996). Influence of nitrogen on competition between cereals and their natural weed populations. *Weed Research*, 36, 461-470.
16. Kim, D.S., Marshall, E.J.P., Brain, P., & Caseley, J.C. (2006). Modelling the effects of sub-lethal doses of herbicide and nitrogen fertilizer on crop-weed competition. *Weed Research*, 46, 492-502.
17. Lintell-Smith, G., Watkinson, A.R., & Firbank, L.G. (1991). The effects of reduced nitrogen and weed-weed competition on the populations of three common cereal weeds. Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference-Weeds. Brighton, UK. pp. 135-140.
18. Mithila, J., Swanton, C.J., Blackshaw, R.E., Cathcart, R., & Christopher Hall, J. (2008). Physiological basis for reduced glyphosate efficacy on weeds grown under low soil nitrogen. *Weed Science*, 56, 12-17.
19. Moradi-Telavat, M. R., Siadat, S.A., Fathi, Gh., Zand, E., & Alamisaeid, Kh. (2010). Effect of itrogen and herbicide application on competition between wheat and wild oat. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 12(4), 364-376. (In Persian)
20. Mosavi, K., Nasiri Mahallati, M., Rahimian, H., Ghanbari, A., Banaian, M., & Rashed Mohasel, M.H. (2002). Seed rate and nitrogen fertilizer effects on wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) and winter wheat (*Triticum aestivum* L.) competition. *Iranian Jornal of Crop Science*, 11, 218-224. (In Persian with English abstract)
21. Moosavi, H., Moradi-Telavat, M.R., Fathi, G., & Alamisaeid, K. (2008). *Rice and barnyard grass responses to herbicide and planting density in direct seeding in Ahwaz region*. 10<sup>th</sup> Iranian Crop Science Congress, 24-26 Aug. Karaj. Iran. (In Persian)
22. Nayyar, M., Shafi, M., & Mahmood, T. (2014). *Weed Eradication Studies in Wheat*, Abstract, 4<sup>th</sup> Pakistan Weed Science Conference, University of Agriculture, Faisalabad, 26-27 March.
23. Ryan, M.R., Smith, R.G., Mortensen, D.A., Teasdale, G.R., Curran, W.S., Seidel, R., & Shumway, D.L. (2009). Weed-crop competition relationships differ between organic and conventional cropping systems. *Weed Research*, 49, 572-575.
24. Shad, R.A. (2016). Status of weed science activities in Pakistan. *Progressive Farming*, 7(1), 10-16.
25. Sheibani, S., & Ghadiri, H. (2012). Integration effects of split nitrogen fertilization and herbicide application on weed management and wheat yield. *Journal of Agronomy Science and Technology*, 14, 77-86.
26. Shekhawat, K., Rathore, S.S., & Dass, A. (2017). Weed menace and management strategies for enhancing oilseed brassicas production in the Indian sub-continent: a review. *Crop Protectection*, 96, 245-257. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.02.017>
27. Supasilapa, S., Steer, B.T., & Milroy, S.P. (1992). Competition between lupin (*Lupinus angustifolia* L.) and great brome (*Bromus diandrus* Roth.) development of leaf area, light interaction and yields. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 32, 475-479.
28. Vance, R.R., & Nevaï, A.L. (2007). Plant population growth and competition in a light gradient a mathematical model of canopy partitioning. *Journal of Theoretical Biology*, 245, 210-219.

29. Wang, L., Muhling, K.H., & Schulte auf'm Erley, G. (2016). Nitrogen efficiency and leaf nitrogen remobilization of oilseed rape lines and hybrids. *Annals of Applied Biology*, 169, 125-133. <https://doi.org/10.1111/aab.12286>
30. Yaghobi, S., Agha Ali Khani, M., Ghalavand, A., & Zand, A. (2011). Investigation of Herbicide-Nitrogen interaction on wheat yield and yield components in competition with *Lepyrrodiclis holosteoides* Fenzl. *Iranian Society of Weed Science*, 7(1), 13-31.



## Research Article

Vol. 37, No. 4, 2024, p. 455-469

## Evaluation of the Efficacy of Dual-purpose Herbicides Axial One® (Pinoxaden + Flurasulam) and Cassic® (Diflufenican + Iodosulfuron methyl sodium + Flurasulam) Compared to Common Herbicides for Weed Control in Wheat (*Triticum aestivum*)

E. Mamnoie<sup>1\*</sup>, M. R. Karaminejad<sup>2</sup>, A. R. Barjasteh<sup>3</sup>, A. A. Haghighi<sup>4</sup>, M. Minbashi Moeini<sup>5</sup>, A. R. Askari Kelestani<sup>6</sup>

1- Assistant Professor of Plant Protection Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Education and Extension Organization (AREEO), Darab, Iran

(\*- Corresponding Author Email: [e.mamnoie@areeo.ac.ir](mailto:e.mamnoie@areeo.ac.ir))

2 and 5- Lecture and Research Associate Professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, respectively.

3- Assistant Professor of Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Semnan, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrood, Iran

4- Research Associate of Plant Protection Department, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Golestan, AREEO, Gonbad-e- Kavous, Iran

6- Assistant Professor of Horticulture Crops Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Darab, Iran

Received: 09-03-2023

Revised: 01-05-2023

Accepted: 28-06-2023

Available Online: 01-07-2023

### How to cite this article:

Mamnoie, E., Karaminejad, M.R., Barjasteh, A.R., Haghighi, A.A., Minbashi, Moeini, M., & Askari Kelestani A.R. (2024). Evaluation of the efficacy of dual-purpose herbicides Axial One® (Pinoxaden + Flurasulam) and Cassic® (Diflufenican + Iodosulfuron methyl sodium + Flurasulam) compared to common herbicides for weed control in wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 37(4), 455-469. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/JPP.2023.81511.1134>

### Introduction

Wheat is a crucial crop that plays a significant role in ensuring food security in Iran. Weeds have been one of the major limiting factors for wheat production in Iran and globally. If they are not adequately controlled, weeds can cause significant damage to wheat crops. Weed damage in wheat fields has been reported to range from 20% to 30% in Iran. The herbicide application is the most important method for weed control of wheat until now. Axial-one® herbicide, with common names of pinoxaden + florasulam, has been suggested for weed control of *Lolium rigidum*, *Echinochloa colonum*, *Alopecurus myosuroides*, *Phalaris brachystachys*, *Avena ludoviciana*, *Stellaria media*, *Trifolium alexandrinum*, *Polygonum aviculare*, *Sinapis arvensis*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Amaranthus retroflexus*, *Cirsium arvense*. This herbicide has been registered by Syngenta for use in wheat and barley. Pinoxaden (Axial®) belongs to the phenylpyrazolines family and is an inhibitor of the Acetyl-CoA carboxylase (ACC). It has been recorded in the control of narrow-leaved weeds in wheat and barley. Florasulam herbicide belongs to the triazolopyrimidine sulfonamide family and inhibits acetolactate synthase (ALS). Florasulam is the selective herbicide that has been recommended for controlling broadleaf weeds in cereals such as wheat, barley, oats, rye (*Secale cereale* L.) and triticale (*Triticale hexaploid* Lart). Also, the Cassic herbicide, which is also known as diflufenican + iodosulfuron-methyl-sodium + florasulam + cloquintocet-mexyl, is a dual-purpose herbicide that has been registered by Syngenta for controlling both broadleaf and narrow-leaved weeds in wheat



©2023 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/JPP.2023.81511.1134>

and barley, oats, rye, and triticale crops. This experiment was conducted to investigate the effectiveness of the herbicides of Cassic and Axial-one in the controlling weeds in wheat fields, determination of the most appropriate dose, comparing their effectiveness with other herbicides commonly used in wheat fields, and evaluating the response of wheat plants to the herbicides.

## Materials and Methods

An experiment was carried out in weed control in the wheat fields of Karaj, Fars (Darab), Golestan (Gonbad), and Shahrud using a randomized complete block design with 13 treatments and 4 replications during 2020-2021. Experimental treatments included the application of Bromycid AM (bromoxynil + MCPA, 40% EC) + Axial (Pinoxaden, 5% EC) at 1.5 + 1.2 l/ha, Othello (diflufenican+ mesosulfuron methyl+ iodosulfuron methyl sodium, 6%OD) at 1.6 l /ha, Axial One (Pinoxaden+ Florasulam, 5% EC) at 1.1, 1.3, 1.5, 1.7 l/ha, Cassic (diflufenican+ iodosulfuron-methyl-sodium+ florasulam+ cloquintocet mexyl, 47% WG) at 170, 200 and 230 g/ha with and without cytogit, and control (weed free). Herbicide treatments were applied during the tillering stage (Zadok's Stage 25). The plot had dimensions of 8 x 2 m with a plant density of 400 plants m<sup>-2</sup>. Each plot consisted of 8 planting lines with a row spacing of 15 cm. The distance between the plots was one meter, and there was a two-meter gap between replications. To increase the accuracy of the experiment, each test plot was divided into two equal sections, with the upper half serving as the control without spraying and the lower half being sprayed. The spraying was done using a fixed-pressure back sprayer equipped with a fan spray nozzle (8002) at a pressure of 2 bar and spray volume of 300 L ha<sup>-1</sup>. Traits such as weed density, weed biomass, and grain yield were recorded. Weed numbers and dry weights were determined by randomly selecting 0.50-m<sup>2</sup> quadrats per plot, while grain yield was recorded for 3 m<sup>2</sup> in each plot. The data were checked for normality and analyzed using SAS 9.3 software through analysis of variance. The means were separated using the Duncan test at the 5% level of significance.

## Results and Discussion

The results of experiment indicated that the herbicide treatments led to a significant decrease in the density and dry weight of weeds, as well as a significant increase in grain yield. The Axial One<sup>®</sup> at rate 1.7 L ha<sup>-1</sup> was found to be more effective in controlling *Avena ludoviciana*, reducing its density by 95%, compared to On the other hand, Cassic herbicide at a rate of 230 g per hectare was more effective in controlling *Lolium rigidum*, reducing its density by 95%, compared to Axial One<sup>®</sup> herbicide. Both herbicides, however, led to a significant reduction in the dry weight of *Descurania sophia*, *Polygonum avicular*, *Sonchus oleracea*, *Veronica persica* and *Sinapis arvensis* from 85 to 95%. No visual injury symptoms were observed on wheat after the application of these herbicides. Grain yield increased with the application of Axial One (at rate of 1.5 to 1.7 L ha<sup>-1</sup>) by 5 to 24%, and Cassic (at rates of 200-230 g ha<sup>-1</sup> + cytogit) by 8 to 28%. These findings were consistent with the results of previous studies (Minbashi *et al.*, 2020). The application of Oxial herbicide increased grain weight of wheat (Azhar *et al.*, 2013).

## Conclusion

Based on the results of these experiments, it can be concluded that Axial One<sup>®</sup> and Cassic<sup>®</sup> herbicides showed the best control on *A. ludoviciana* and *L. rigidum* respectively, and also led to a significant increase in grain yield compared to half of the control plot. Therefore, the Axial One<sup>®</sup> (1.7 L ha<sup>-1</sup>) and Cassic<sup>®</sup> (200-230 g ha<sup>-1</sup> + cytogit) can be considered as good to excellent options for weed control in wheat fields. It is recommended to use these herbicides for weed control in wheat fields.

**Keyword:** Chemical control, Control percentage, Dry weight, Weed species

## مقاله پژوهشی

جلد ۳۷ شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص. ۴۶۹-۴۵۵

کارایی علف‌کش‌های دو منظوره آکسیال وان (پینوکسادن + فلوراسولام) و کاسیک (دیفلوفنیکان +  
یدوسولفورون متیل سدیم + فلوراسولام) در مقایسه با علف‌کش‌های رایج در کنترل علف‌های  
هرز گندم (*Triticum aestivum*)

ابراهیم ممنوعی<sup>۱\*</sup> - محمدرضا کرمی نژاد<sup>۲</sup> - علیرضا برجسته<sup>۳</sup> - عبدالعزیز حقیقی<sup>۴</sup> - مهدی مین باش معینی<sup>۵</sup> - علیرضا عسکریگلستانی<sup>۶</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۷

## چکیده

به منظور بررسی کارایی علف‌کش‌های آکسیال وان و کاسیک آزمایشی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۱۳ تیمار و چهار تکرار در چهار منطقه البرز (کرج)، فارس (داراب)، سمنان (شاهرود) و گلستان (گنبد کاووس) در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل کاربرد علف‌کش‌های برومایسیدام (بروموکسینیل + ام‌ث‌پ‌ا) + آکسیال (پینوکسادن) به ترتیب به مقدار ۱/۵ + ۱/۲۵ لیتر در هکتار، اُتِللو (مزوسولفورون + یدوسولفورون + دیفلوفنیکان) به مقدار ۱/۶ لیتر در هکتار، آکسیال وان (پینوکسادن + فلوراسولام) به مقدار ۱/۱، ۱/۳، ۱/۵ و ۱/۷ لیتر در هکتار، کاسیک (دیفلوفنیکان + یدوسولفورون + فلوراسولام + کلوکینوست مکسیل) به مقدار ۱۷۰، ۲۰۰ و ۲۳۰ گرم در هکتار با و بدون سیتوگیت و شاهد وجین دستی بود. نتایج نشان داد که کاربرد تیمارهای علف‌کش قادرند تراکم و وزن خشک علف‌های هرز را به طور معنی‌دار کاهش و عملکرد دانه گندم را افزایش دهند. در مجموع کارایی آکسیال وان (۱/۷ لیتر در هکتار) در کنترل یولاف وحشی (بیش از ۹۵ درصد) مطلوب‌تر از کاسیک (۲۰۰ تا ۲۳۰ گرم در هکتار) بود. علف‌کش کاسیک (۲۳۰ گرم در هکتار) توانست چپم (بیش از ۹۵ درصد) را بهتر از آکسیال وان کنترل کند. با این وجود، کارایی علف‌کش‌های آکسیال وان و کاسیک در کنترل علف‌های هرز پهن برگ خاکشیر، هفت بند، سیزاب، شیر تیغی، خردل وحشی (۸۵ تا ۹۵ درصد) مشابه بود. از سوی دیگر، با کاربرد این علف‌کش‌ها در مقادیر مصرف شده هیچ خسارت ظاهری در گندم مشاهده نگردید. همچنین، عملکرد دانه گندم در کاربرد آکسیال وان (۱/۵ تا ۱/۷ لیتر در هکتار) ۵ تا ۲۴ درصد و در کاربرد کاسیک (۲۰۰ تا ۲۳۰ گرم در هکتار + سیتوگیت) ۸ تا ۲۸ درصد افزایش یافت. لذا با توجه به طیف کنترل و افزایش عملکرد، کاربرد علف‌کش آکسیال وان در مقادیر ۱/۵ تا ۱/۷ لیتر در هکتار و کاربرد کاسیک در مقادیر ۲۰۰ تا ۲۳۰ گرم در هکتار + سیتوگیت می‌توانند در تناوب با علف‌کش‌های ثبت شده پر کاربرد گندم در اقلیم‌های مشابه پیشنهاد شوند.

واژه‌های کلیدی: درصد کنترل، کنترل شیمیایی، گونه‌های علف‌های هرز، وزن خشک

۱- استادیار پژوهش بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، داراب، ایران  
(نویسنده مسئول: Email: [e.mamnoie@areeo.ac.ir](mailto:e.mamnoie@areeo.ac.ir))

۲ و ۵- به ترتیب مربی و دانشیار پژوهش مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی تهران، ایران

۳- استادیار پژوهش مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی سمنان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، شاهرود، ایران

۴- استادیار پژوهش مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، گنبد، ایران

۶- استادیار پژوهش بخش تحقیقات زراعی باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، داراب، ایران

## مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) از مهمترین گونه‌های زراعی است که نقش حیاتی در تغذیه انسان و دام دارد. یکی از عوامل محدود کننده تولید در این گیاه زراعی علف‌های هرز می‌باشد که عمدتاً از طریق رقابت سبب افت ۲۰ تا ۳۰ درصدی عملکرد گندم می‌شود (Zare et al., 2014). در حال حاضر کنترل شیمیایی به عنوان متداول‌ترین روش کنترل علف هرز در مزارع گندم مطرح می‌باشد. تاکنون ۲۲ فرمولاسیون علف‌کش در گندم کشورمان ثبت شده که ۱۶ علف‌کش ثبت شده آنها دو منظوره است (Nourbakhsh, 2019). با این وجود برخی گونه‌های علف‌های هرز سخت کنترل نظیر چچم (*Lolium rigidum* Gaudin) به دلیل کشت متوالی گندم، کاهش تناوب زراعی و آیش، کاربرد بیش از حد علف‌کش‌ها، کاهش کیفیت سموم مصرفی در بازار داخلی و عدم دسترسی به برندهای معتبر علف‌کش‌ها به دلیل شرایط فعلی کشور (Mamnoie et al., 2022) باعث بروز مقاومت و گسترش گونه‌های دشوار کنترل شده است که خارج از طیف کنترل علف‌کش‌های ثبت شده موجود است (Minbashi et al., 2022). لذا معرفی علف‌کش‌های جدید با نحوه عمل متفاوت به منظور افزایش طیف کنترل گونه‌های علف‌های هرز، تأخیر در بروز مقاومت و افزایش تعداد علف‌کش‌های ثبت شده در تناوب علف‌کش‌ها یک ضرورت به شمار می‌رود.

علف‌کش آکسیال وان (پینوکسادن، ۴۵ گرم در لیتر + فلوراسولام، ۵ گرم در لیتر) علف‌کشی دو منظوره انتخابی در گندم و جو (*Hordeum vulgare* L.) که توسط شرکت سینجنتا معرفی شده است. این علف‌کش در کنترل علف‌های هرز باریک‌برگ چچم، سوروف (*Echinochloa colonum* (L.) link)، دم روباهی (*Huds.* *Phalaris* *brachystachys* Link)، یولاف زمستانه (*Avena ludoviciana* Durieu) و برخی از پهن‌برگ‌ها مانند گندمک (*Stellaria media* Vill. (L.))، شبدر وحشی (*Trifolium alexandrinum* L.)، هفت بند (*Polygonum aviculare* Jord. ex Boreau)، خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.)، آمبروزیا (*Ambrosia artemisiifolia* L.)، تاج خروس ریشه قرمز (*Amaranthus retroflexus* L.)، خارلته (*Cirsium arvense* (L.) Scop.) مؤثر است (Loux et al., 2015).

علف‌کش پینوکسادن (آکسیال) متعلق به فنیل پیرازولین‌ها و بازدارنده استیل کو آنزیم کربوکسیلاز است که در کنترل علف‌های هرز باریک برگ در گندم و جو ثبت شده است (Zand et al., 2019). پینوکسادن در کنترل علف‌های هرز باریک‌برگ

دم‌روباهی، آپرا (*Apera spica-venti*)، چچم (*Lolium spp.*)، خونی واش (*Phalaris spp.*)، ارزن وحشی (*Setaria spp.*) مؤثر است (Hofer et al., 2006). در این ارتباط گزارش شده که کاربرد علف‌کش پینوکسادن قادر است علف‌هرز خونی‌واش (*Phalaris minor*) را ۹۰ درصد کنترل کند (Rasool et al., 2017).

علف‌کش فلوراسولام از خانواده تریازولوپیریمیدین سولفانامید بوده و بازدارنده استولاکتات سینتاز (ALS) است (Zand et al., 2019). فلوراسولام علف‌کش انتخابی برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ در غلات نظیر گندم، جو، یولاف، چاودار (*Secale cereale* L) و تریتیکاله (*Triticale hexaploid* Lart) معرفی شده است (Mehmeti et al., 2018). در این ارتباط گزارش شده که کارایی آکسیال وان (پینوکسادن + فلوراسولام) در کنترل علف‌های هرز آپرا (*Apera spica-venti* (L.) P. Beauv)، بی‌تی‌راخ (*Gallium aparine* L.)، فراموشم نکن (*Myosotis arvensis* (L.) Hill.)، کیسه کشیش (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.)، گندمک (*Stellaria media* (L.) Vill.)، شقایق (*Papaver rhoeas* L.) تا ۸۶ درصد است (Idziak et al., 2012). همچنین آکسیال وان (پینوکسادن + فلوراسولام) قادر است یولاف بهاره (*Avena fatua* L.) را در گندم تا ۹۵ درصد کنترل کند (Manea et al., 2016).

علف‌کش کاسیک (دیفلوفنیکان، ۴۰۰ گرم در لیتر + یدوسولفورون متیل سدیم، ۵۰ گرم در هکتار + فلوراسولام، ۲۰ گرم در لیتر + کلوکینوست مکسیل، ۱۰۰ گرم در هکتار) است. در این علف‌کش فلوراسولام و دیفلوفنیکان دارای خاصیت پهن‌برگ‌کشی و یدوسولفورون متیل سدیم با خاصیت باریک‌برگ‌کشی و کلوکینوست مکسیل به عنوان ماده محافظت کننده محصول توسط شرکت سینجنتا معرفی شده است. کاسیک علف‌کشی دو منظوره برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ و باریک‌برگ در محصولات گندم و جو، یولاف، چاودار، تریتیکاله توصیه شده که در کنترل علف‌های هرز آن‌گالیس (*Anagallis arvensis* L.)، بی‌تی‌راخ، چچم، شقایق (*Rumex crispus* L.)، ساق ترشک (*Papaver rhoeas* L.)، خردل وحشی، گندمک و سیزاب ایرانی (*Veronica persica* Poir.) مؤثر است (Anonymous, 2017).

این آزمایش با هدف بررسی کارایی علف‌کش‌های آکسیال وان و کاسیک در کنترل علف‌های هرز، تعیین مناسب‌ترین مقادیر کاربرد این علف‌کش‌ها، مقایسه کارایی این علف‌کش‌ها با علف‌کش‌های پرکاربرد ثبت شده (اتللو و اکسیال + برومیسیدام آ) در مزارع گندم و ارزیابی واکنش احتمالی خسارت‌زایی گندم به این علف‌کش‌ها است.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۱۳ تیمار با چهار تکرار در چهار منطقه البرز (کرج)، فارس (داراب)، سمنان (شاهرود) و گلستان (گنبد کاووس) در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۴۰۰ اجرا شد. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است.

تیمارهای آزمایش شامل، کاربرد علف‌کش برومایدام + آکسیال به ترتیب به مقدار ۱/۵ + ۱/۲ لیتر در هکتار، اُتللو به مقدار ۱/۶

لیتر در هکتار، آکسیال وان به مقدار ۱/۱، ۱/۳، ۱/۵ و ۱/۷ لیتر در هکتار، کاسیک به مقدار ۱۷۰، ۲۰۰ و ۲۳۰ گرم در هکتار با و بدون سیتوگیت، شاهد وجین در طول فصل رشد گیاه بود. (کاربرد مقادیر علف‌کش آکسیال وان و کاسیک و استفاده از ماده افزودنی به توصیه شرکت وارد کننده بود). مشخصات علف‌کش‌های استفاده شده در زیر ذکر شده است (جدول ۲). شایان ذکر است، جهت کوتاه شدن واژه‌ها در بخش نتایج و بحث، از نام تجاری علف‌کش استفاده شد.

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1- Some soil physicochemical characteristics at different experimental locations

| محل اجرا<br>Location | هدایت الکتریکی<br>EC<br>(dS.m <sup>-1</sup> ) | اسیدیته<br>pH | K2O<br>(mg/kg) | P2O5<br>(mg/kg) | کربن آلی<br>Organic C<br>(%) | بافت خاک<br>Soil texture        |
|----------------------|-----------------------------------------------|---------------|----------------|-----------------|------------------------------|---------------------------------|
| کرج<br>Karaj         | 0.75                                          | 7.91          | 140            | 3.6             | 0.58                         | لومی<br>Loamy                   |
| داراب<br>Darab       | 0.68                                          | 7.9           | 248            | 23              | 0.65                         | لومی-رسی<br>Loamy clay          |
| شاهرود<br>Shahrood   | 1.5                                           | 7.8           | 253            | 7.5             | 0.54                         | لومی<br>Loamy                   |
| گنبد<br>Gonbad       | 0.94                                          | 7.8           | 425            | 3.9             | 1.25                         | شنی-رسی-لومی<br>Silty clay Loam |

جدول ۲- اسامی و مقدار مصرف علف‌کش‌های مورد استفاده در آزمایش

Table 2- Names and application dose of herbicides used in the experiment

| نام تجاری<br>Trade name     | فرمولاسیون<br>Formulation | ماده موثره<br>Active ingredient(s)                                                                                                                | مقدار مصرف<br>(ماده موثره)<br>Dose<br>g.a.i.ha <sup>-1</sup> | مقدار مصرف<br>(ماده تجاری)<br>Dose<br>L ha <sup>-1</sup> (g ha <sup>-1</sup> ) | شرکت<br>Manufacturer   |
|-----------------------------|---------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| آکسیال<br>Axial®            | 5% EC                     | پینوکسادن<br>Pinoxaden                                                                                                                            | 60                                                           | 1.2                                                                            | Syngenta               |
| اکسیان وان<br>Axial One®    | 5% EC                     | پینوکسادن + فلوراسولام + کلوکینتوست مکسیل<br>Cloquintocet-mexyl+ Pinoxaden+ Florasulam                                                            | 55, 65, 75, 85                                               | 1.1, 1.3, 1.5, 1.7                                                             | Syngenta               |
| کاسیک<br>Cassic®            | 47% WG                    | دیفلوفنیکان + یدوسولفورون متیل سدیم + فلوراسولام + کلوکینتوست مکسیل<br>Diflufenican+ Iodosulfuron-methyl-sodium + Florasulam + Cloquintocet-mexyl | 79.9, 94, 108                                                | 170, 200, 230                                                                  | Syngenta               |
| برومایدام آ<br>Bromicide®MA | EC 40%                    | بروموکسینیل + ام ث پی آ<br>Bromoxynil+ MCPA                                                                                                       | 600                                                          | 1.5                                                                            | نوفام<br>Nofam         |
| اُتللو<br>Othello®          | 6% OD                     | دیفلوفنیکان + یدوسولفورون سدیم + مزوسولفورون + مفن پایر<br>Diflufenican + Iodosulfuron-methyl-sodium+ Mesosulfuron-methyl +Mefenpyr-diethyl       | 96                                                           | 1.6                                                                            | بایر<br>Bayer          |
| سیتوگیت<br>Citogate®        | 100%                      | الکیل آریل پلی گلیکول اتر<br>Alkylaryl polyglycol ether (surfactant)                                                                              | -                                                            | 0.1%<br>vv <sup>-1</sup>                                                       | زرنگاران<br>Zarnegaran |

جدول ۳- تقویم عملیات زراعی و زمان کاربرد علف‌کش‌ها در مناطق مختلف آزمایش

Table 3- Timetable for field operations and application dates of herbicides at different experimental locations

| محل اجرا<br>Location | رقم گندم<br>Cultivar | بذر مصرفی<br>Density<br>(Kg ha <sup>-1</sup> ) | تاریخ کاشت<br>Planting date | تاریخ سمپاشی<br>Spraying date | تاریخ برداشت<br>Harvest date |
|----------------------|----------------------|------------------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| کرج                  | طلایی                | 200                                            | ۲۱ آبان ۱۳۹۹                | ۲۰ اسفند ۱۳۹۹                 | ۲۶ خرداد ۱۴۰۰                |
| Karaj                | Talaei               |                                                | 11 Nov 2020                 | 20 Feb 2021                   | 16 Jun 2021                  |
| داراب                | مهرگان               | 220                                            | ۱۰ آذر ۱۳۹۹                 | ۱۹ بهمن ۱۳۹۹                  | ۱۸ خرداد ۱۴۰۰                |
| Darab                | Mehrgan              |                                                | 11 Nov 2020                 | 7 Feb 2021                    | 8 Jun 2021                   |
| شاهرود               | پیشگام               | 200                                            | ۱۰ آبان ۱۳۹۹                | ۳ فروردین ۱۴۰۰                | ۵ تیر ۱۴۰۰                   |
| Shahrood             | Pishgam              |                                                | 31 Oct 2020                 | 23 Mar 2021                   | 26 Jun 2021                  |
| گنبد                 | قابوس                | 200                                            | ۲ آذر ۱۳۹۹                  | ۴ بهمن ۱۴۰۰                   | ۲۳ خرداد ۱۴۰۱                |
| Gonbad               | Qaboos               |                                                | 22 Nov 2020                 | 23 Jan 2021                   | 13 Jun 2021                  |

(1992). تغییرات عملکرد دانه از خطوط وسط به ابعاد سه متر مربع در هر نیم کرت شاهد و تیمار انجام شد (معادله ۲).

$$WCE = \left( \frac{A - B}{A} \right) \times 100 \quad (1)$$

$$\% Y_i = 100 \times \frac{Y_f}{Y_w} \quad (2)$$

در معادله یک، WCE عبارت از کارایی کنترل تراکم (وزن خشک) علف‌های هرز، A و B به ترتیب تراکم (وزن خشک) گونه علف‌های هرز در کادر سمپاشی نشده و شده است. در معادله دو  $\% Y_i$  درصد تغییرات عملکرد،  $Y_f$  و  $Y_w$  به ترتیب عملکرد در نیم کرت‌های سمپاشی شده و نشده است. آزمون همگنی واریانس‌ها و نرمال بودن داده‌ها قبل از تجزیه واریانس انجام شد. مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد و محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۳) انجام شد.

## نتایج و بحث

فهرست علف‌های هرز غالب مورد مطالعه در مناطق کرج، فارس (داراب)، گلستان (گنبد) و شاهرود در جدول ۴ ذکر شده است. با توجه به تفاوت گونه‌های علف‌های هرز در هر منطقه، داده‌های گونه‌های هر منطقه به صورت جداگانه تجزیه و تحلیل شدند. همچنین، نتایج تجزیه واریانس مرکب تراکم، وزن خشک مجموع علف‌های هرز (کل علف‌های هرز) و عملکرد دانه نیز نشان داد اثر متقابل مکان  $\times$  تیمار صفات مذکور معنی‌دار است. این نتیجه بیانگر آن است که کارایی علف‌کش در مکان‌های مختلف متفاوت است. به عبارت دیگر، پاسخ‌های گونه‌های مختلف هر منطقه به علف‌کش‌های کاربردی متفاوت است. این نتیجه مؤید این مطلب است که کاربرد علف‌کش‌ها در هر منطقه بایستی متناسب با فلور علف‌های هرز آن منطقه باشد. بنابراین صفات مذکور نیز در هر منطقه جداگانه مورد بررسی قرار

عملیات آماده‌سازی بستر کاشت شامل شخم، دیسک و تسطیح بود. تاریخ کاشت، رقم و مقدار مصرف بذر گندم در زیر ذکر شده است (جدول ۳). هر واحد آزمایشی (کرت) دارای هشت خط کاشت به طول هشت متر و به عرض دو متر در نظر گرفته شد. جهت جلوگیری از هر گونه اختلاط سموم بویژه در زمان سمپاشی فاصله بین کرت‌های آزمایش یک متر و بین بلوک‌ها دو متر در نظر گرفته شد. برای افزایش دقت آزمایش از شاهد متناظر استفاده شد (هر کرت آزمایش به دو قسمت تقسیم شد، قسمت بالایی به عنوان شاهد سمپاشی نشده و قسمت پایین کرت‌ها به عنوان تیمار سمپاشی شده. شایان ذکر است که تیمار شاهد وجین فقط در ارزیابی عملکرد دانه در نظر گرفته شده و در تعیین درصد کنترل علف‌های هرز از سر جمع تیمارها حذف گردید. سمپاشی با سمپاش پستی فشار ثابت مدل ماتابی<sup>۱</sup> مجهز به نازل شره‌ای (۸۰۰۲) با فشار دو بار و حجم پاشش ۳۰۰ لیتر در هکتار انجام شد. زمان کاربرد علف‌کش‌ها در مناطق مختلف در جدول زیر ذکر شده است (جدول ۳). تیمارهای علف‌کش در مرحله پنجه‌دهی گندم (معادل کد ۲۵ زادوکس) مطابق سه تا پنج برگ علف هرز اعمال گردید (Zadoks, 1974). کلیه مراقبت‌های زراعی و آبیاری (کرج نشتی، شاهرود و داراب نوار تیپ، گنبد به صورت دیم) در هر منطقه برای تیمارهای علف‌کشی یکسان بود. کوددهی براساس نتایج آزمون خاک (جدول ۱) از منابع کود نیتروژن از منبع اوره (۴۶ درصد نیتروژن)، کود فسفات از منبع سوپرفسفات‌تریپل (۴۶ درصد فسفر) و سولفات پتاسیم (۵۰ درصد پتاسیم) به مقدار مورد نیاز در زمان کاشت در هر منطقه استفاده شد. نمونه برداری علف‌های هرز شامل تعیین تراکم و وزن خشک علف‌های هرز در کادری به ابعاد ۵۰  $\times$  ۵۰ سانتی‌متر به تفکیک گونه‌ها در هر نیم کرت شاهد و تیمار شمارش گردید و پس از خشک شدن توزین شدند و سپس درصد کاهش جمعیت علف هرز (تراکم) و وزن خشک گونه‌های علف‌های هرز (WCE)<sup>۲</sup> به تفکیک در هر منطقه تعیین شد (معادله ۱) (Somani,

1- MATABI e+

2- Weed Control Efficacy

گرفت. نتایج جدول تجزیه واریانس صفت اندازه‌گیری شده در مناطق چهارگانه مورد مطالعه حاکی از معنی‌دار ( $P \leq 0.01$ ) بودن اثر تیمارهای علف‌کش بر درصد کاهش تراکم و وزن خشک

جدول ۴- فهرست فراوانی نسبی علف‌های هرز غالب در مزرعه‌ی آزمایشی گندم

Table 4- The list of relative density of the dominant weeds in the experimental wheat field

| نام علمی<br>Scientific name                  | تیره<br>Family | کرج<br>Karaj | داراب<br>Darab | شاهرود<br>Shahrood | گنبد<br>Gonbad | نام فارسی<br>Persian name |
|----------------------------------------------|----------------|--------------|----------------|--------------------|----------------|---------------------------|
| <i>Avena ludoviciana</i> Durieu              | Poaceae        | 12.22        | -              | 42.65              | 20.23          | یولاف وحشی زمستانه        |
| <i>Carthamus oxyacanthus</i> M. Bieb.        | Asteraceae     | -            | 13.45          | -                  | -              | گلرنگ وحشی                |
| <i>Centaurea pallens</i> Delile              | Asteraceae     | -            | 11.32          | -                  | -              | گل گندم                   |
| <i>Chorispora tenella</i> (Pall.) DC.        | Brassicaceae   | -            | -              | 23.03              | -              | خردل آبی فام              |
| <i>Descurania sophia</i> (L.) Webb ex Prantl | Brassicaceae   | 25.56        | -              | -                  | -              | خاکشیر معمولی             |
| <i>Fumaria officinalis</i> L.                | Papaveraceae   | 10           | -              | -                  | 20.65          | شاتره                     |
| <i>Hirschfeldia incana</i> (L.) Lagr.-Foss.  | Brassicaceae   | -            | 6.98           | -                  | -              | خردل کاذب                 |
| <i>Hypocnemum pendulum</i> L.                | Papaveraceae   | -            | -              | 34.27              | -              | شا تره ای                 |
| <i>Lolium rigidum</i> Gaudin                 | Poaceae        | 19.44        | 11.68          | -                  | 21.78          | چچم                       |
| <i>Malva neglecta</i> Wallr.                 | Malvaceae      | -            | 8.68           | -                  | -              | پنیرک                     |
| <i>Polygonum avicular</i> L.                 | Polygonaceae   | -            | -              | -                  | 19.38          | هفت بند                   |
| <i>Sinapis arvensis</i> L.                   | Brassicaceae   | -            | -              | -                  | 17.96          | خردل وحشی                 |
| <i>Sonchus oleracea</i> L.                   | Asteraceae     | 8.59         | -              | -                  | -              | شیر تیغی                  |
| <i>Veronica persica</i> Poir.                | Plantaginaceae | 23.89        | 47.97          | -                  | -              | سیزاب                     |

عدم حضور (-)

افزودنی سیتوگیت توام با افزایش مقدار کاربرد علف‌کش کاسیک، کارایی کنترل علف‌های هرز مزبور بیشتر می‌گردد. به نظر می‌رسد مواد افزودنی از طریق بهبود نشست، جذب و انتقال علف‌کش سبب بهبود و افزایش کارایی کنترل علف‌های هرز می‌گردند (Aliverdi et al., 2009). در مجموع، کارایی کاسیک در کنترل علف‌های هرز پهن برگ مذکور مطلوب تر از آکسیال وان و اتللو بود. به‌طوری‌که کاربرد علف‌کش کاسیک (۲۳۰ گرم در هکتار + سیتوگیت) قادر است تراکم و وزن علف‌های هرز خاکشیر، شاه‌تره، سیزاب، شیر تیغی و کل علف‌های هرز را بیش از ۹۵ درصد کنترل کند. همچنین، این تیمار توانست وزن خشک چچم (۹۹ درصد) و یولاف وحشی (۹۱ درصد) را کاهش دهد و با تیمار برومایدیدام + آکسیال در یک گروه آماری قرار داشت (جدول‌های ۵ و ۶). در مجموع، در شرایطی که علف‌های هرز غالب مزرعه باریک‌برگ چچم و یولاف باشد، علف‌کش آکسیال وان توصیه می‌گردد، اما در شرایطی که آلودگی مزرعه از نوع پهن‌برگ و باریک‌برگ باشد علف‌کش کاسیک + سیتوگیت در اولویت قرار می‌گیرد.

براساس نتایج حاصل از داده‌های منطقه البرز (کرج)، کاربرد علف‌کش‌های مورد بررسی تراکم و وزن خشک علف‌های هرز چچم، یولاف، خاکشیر، شاتره، سیزاب و کل علف‌های هرز را به‌طور معنی‌داری کاهش دادند. همچنین نتایج نشان داد با افزایش مقادیر کاربرد علف‌کش‌های آکسیال وان و کاسیک، تراکم و وزن خشک علف‌های هرز مذکور به‌طور معنی‌دار کاهش یافتند. با ارزیابی نتایج این منطقه مشخص شد، کاربرد مقادیر مختلف علف‌کش آکسیال وان کارایی بسیار مطلوبی در کنترل علف‌های هرز چچم و یولاف دارد. به‌طوری‌که این علف‌کش توانست تراکم و وزن خشک این دو علف هرز را ۹۰ تا ۱۰۰ درصد کنترل کرد. کارایی علف‌کش آکسیال وان در کنترل چچم و یولاف برتر از اتللو و کاسیک (بدون افزودنی) بود. با این وجود، کارایی این علف‌کش در کنترل گونه‌های پهن برگ متفاوت بود. هرچند با افزایش مقدار کاربرد مصرف آن، کارایی کنترل علف‌های هرز محل آزمایش بهبود یافتند. به‌طوری‌که کارایی آکسیال وان (۱/۷ لیتر در هکتار)، در کاهش تراکم و وزن خشک علف‌های هرز خاکشیر، سیزاب و شیر تیغی (۸۰ تا ۹۳ درصد) و در کنترل شاه تره (۵۲ تا ۵۷ درصد) بود. از سوی دیگر، نتایج نشان داد کاربرد ماده

جدول ۵- مقایسه میانگین تاثیر تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها بر درصد کاهش تراکم علف‌های هرز نسبت به شاهد متناظر در کرج  
Table 5- Mean comparison of the effect herbicide application treatments on the percentage reduction of weed density compared to the corresponding control in Karaj

| تیمار<br>Treatment | Rate<br>(g-l/ha) | چچم<br><i>Lolium rigidum</i> | یولاف<br><i>Avena ludoviciana</i> | خاکشیر<br><i>Descurania sophia</i> | شاه تره<br><i>Fumaria officinalis</i> | سبزاب<br><i>Veronica persica</i> | شیر تیغی<br><i>Sinapis arvensis</i> | کل علف<br>هرز<br>Total weed |
|--------------------|------------------|------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| Bro-Axi            | 1.5+ 1.2         | 100 <sup>a</sup>             | 100 <sup>a</sup>                  | 100 <sup>a</sup>                   | 88.75 <sup>ab</sup>                   | 88.73 <sup>a</sup>               | 82.50 <sup>a-c</sup>                | 93 <sup>a</sup>             |
| Othello            | 1.6              | 72.98 <sup>cd</sup>          | 77.50 <sup>bc</sup>               | 74.30 <sup>cd</sup>                | 65 <sup>b-d</sup>                     | 89.95 <sup>a</sup>               | 43.50 <sup>e</sup>                  | 71 <sup>cd</sup>            |
| Axi-One            | 1.1              | 90.52 <sup>a-c</sup>         | 90 <sup>ab</sup>                  | 57.81 <sup>d</sup>                 | 23 <sup>f</sup>                       | 60.50 <sup>c</sup>               | 57.92 <sup>de</sup>                 | 72 <sup>cd</sup>            |
| Axi-One            | 1.3              | 93.75 <sup>a-c</sup>         | 100 <sup>a</sup>                  | 71.35 <sup>cd</sup>                | 32.50 <sup>ef</sup>                   | 61.42 <sup>bc</sup>              | 66.67 <sup>cd</sup>                 | 74 <sup>c</sup>             |
| Axi-One            | 1.5              | 98.08 <sup>ab</sup>          | 100 <sup>a</sup>                  | 76.73 <sup>b-d</sup>               | 43.75 <sup>d-f</sup>                  | 76.62 <sup>a-c</sup>             | 66.25 <sup>cd</sup>                 | 75 <sup>c</sup>             |
| Axi-One            | 1.7              | 100 <sup>a</sup>             | 100 <sup>a</sup>                  | 79.02 <sup>bc</sup>                | 51.25 <sup>cd</sup>                   | 80.59 <sup>a-c</sup>             | 100 <sup>a</sup>                    | 75 <sup>c</sup>             |
| Cassic             | 170              | 64.33 <sup>d</sup>           | 44.17 <sup>e</sup>                | 76.56 <sup>b-d</sup>               | 48.45 <sup>c-f</sup>                  | 84.56 <sup>ab</sup>              | 43.33 <sup>e</sup>                  | 62 <sup>d</sup>             |
| Cassic             | 200              | 62.84 <sup>d</sup>           | 48.96 <sup>de</sup>               | 81.25 <sup>a-c</sup>               | 48.75 <sup>c-f</sup>                  | 97.06 <sup>a</sup>               | 87.50 <sup>a-c</sup>                | 76 <sup>c</sup>             |
| Cassic             | 230              | 74.01 <sup>b-d</sup>         | 70.63 <sup>bc</sup>               | 88.71 <sup>a-c</sup>               | 70 <sup>a-c</sup>                     | 99.50 <sup>a</sup>               | 93.33 <sup>ab</sup>                 | 76 <sup>c</sup>             |
| Cas-Cyt.           | 170+ 0.1%        | 61.78 <sup>d</sup>           | 67.08 <sup>cd</sup>               | 95.66 <sup>ab</sup>                | 73.75 <sup>a-c</sup>                  | 95 <sup>a</sup>                  | 71.75 <sup>b-d</sup>                | 81 <sup>bc</sup>            |
| Cas-Cyt.           | 200+ 0.1%        | 88.75 <sup>a-c</sup>         | 78.23 <sup>a-c</sup>              | 100 <sup>a</sup>                   | 82.50 <sup>ab</sup>                   | 97 <sup>a</sup>                  | 100 <sup>a</sup>                    | 88 <sup>ab</sup>            |
| Cas-Cyt.           | 230+ 0.1%        | 96.15 <sup>a-c</sup>         | 88.86 <sup>a-c</sup>              | 100 <sup>a</sup>                   | 95 <sup>a</sup>                       | 100 <sup>a</sup>                 | 100 <sup>a</sup>                    | 96 <sup>a</sup>             |

در هر ستون میانگین‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. (Duncan  $P \leq 0.05$ ).

In each column, means followed by the same letter in each treatment are not significantly different, (Duncan  $P \leq 0.05$ )

Bro-Axi (Bromicide®/MA + Axial®), Axi-One (Axial One®), Cas-Cyt. (Cassic®+ Citogate®), 0.1% (0.1% v v<sup>-1</sup>)

جدول ۶- مقایسه میانگین تاثیر تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها بر درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز نسبت به شاهد متناظر در کرج  
Table 6- Mean comparison of the effect herbicide application treatments on the percentage reduction of weed biomass compared to the corresponding control in Karaj

| تیمار<br>Treatment | Rate<br>(g-l/ha) | چچم<br><i>Lolium rigidum</i> | یولاف<br><i>Avena ludoviciana</i> | خاکشیر<br><i>Descurania sophia</i> | شاه تره<br><i>Fumaria officinalis</i> | سبزاب<br><i>Veronica persica</i> | شیر تیغی<br><i>Sinapis arvensis</i> | کل علف<br>هرز<br>Total weed |
|--------------------|------------------|------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| Bro-Axi            | 1.5+ 1.2         | 100 <sup>a</sup>             | 100 <sup>a</sup>                  | 100 <sup>a</sup>                   | 95.52 <sup>a</sup>                    | 95.80 <sup>a</sup>               | 76.66 <sup>a-c</sup>                | 95 <sup>ab</sup>            |
| Othello            | 1.6              | 79.98 <sup>bc</sup>          | 98.58 <sup>a</sup>                | 96.16 <sup>a-c</sup>               | 73.63 <sup>bc</sup>                   | 93.61 <sup>a</sup>               | 49.01 <sup>c</sup>                  | 82 <sup>c-e</sup>           |
| Axi-One            | 1.1              | 91.42 <sup>ab</sup>          | 99.70 <sup>a</sup>                | 88.43 <sup>cd</sup>                | 46.38 <sup>d</sup>                    | 65.01 <sup>c</sup>               | 47.83 <sup>c</sup>                  | 80 <sup>d-f</sup>           |
| Axi-One            | 1.3              | 93.75 <sup>ab</sup>          | 100 <sup>a</sup>                  | 86 <sup>d</sup>                    | 54.75 <sup>cd</sup>                   | 74.39 <sup>bc</sup>              | 65.41 <sup>bc</sup>                 | 83 <sup>c-e</sup>           |
| Axi-One            | 1.5              | 99.74 <sup>a</sup>           | 100 <sup>a</sup>                  | 89.90 <sup>b-d</sup>               | 54.63 <sup>cd</sup>                   | 84.08 <sup>a</sup>               | 83.18 <sup>ab</sup>                 | 82 <sup>c-e</sup>           |
| Axi-One            | 1.7              | 100 <sup>a</sup>             | 100 <sup>a</sup>                  | 95.99 <sup>a-c</sup>               | 57.25 <sup>b-d</sup>                  | 92.45 <sup>ab</sup>              | 100 <sup>a</sup>                    | 83 <sup>c-e</sup>           |
| Cassic             | 170              | 30.88 <sup>e</sup>           | 33.66 <sup>c</sup>                | 5193 <sup>a-d</sup>                | 53.50 <sup>d</sup>                    | 93.04 <sup>a</sup>               | 61.59 <sup>bc</sup>                 | 70 <sup>f</sup>             |
| Cassic             | 200              | 49.30 <sup>d</sup>           | 60.32 <sup>b</sup>                | 95.30 <sup>a-c</sup>               | 65.63 <sup>b-d</sup>                  | 95.92 <sup>a</sup>               | 90.02 <sup>ab</sup>                 | 75 <sup>ef</sup>            |
| Cassic             | 230              | 80.66 <sup>a-c</sup>         | 65.66 <sup>b</sup>                | 96.64 <sup>a-c</sup>               | 84.88 <sup>ab</sup>                   | 99.20 <sup>a</sup>               | 97 <sup>a</sup>                     | 80 <sup>d-f</sup>           |
| Cas-Cyt.           | 170+ 0.1%        | 73.08 <sup>c</sup>           | 73.72 <sup>b</sup>                | 96.85 <sup>ab</sup>                | 82.50 <sup>ab</sup>                   | 99.38 <sup>a</sup>               | 63.34 <sup>bc</sup>                 | 87 <sup>b-d</sup>           |
| Cas-Cyt.           | 200+ 0.1%        | 95.13 <sup>ab</sup>          | 92.57 <sup>a</sup>                | 100 <sup>a</sup>                   | 95.75 <sup>a</sup>                    | 99.23 <sup>a</sup>               | 100 <sup>a</sup>                    | 92 <sup>a-c</sup>           |
| Cas-Cyt.           | 230+ 0.1%        | 99 <sup>ab</sup>             | 91.50 <sup>a</sup>                | 100 <sup>a</sup>                   | 95.13 <sup>a</sup>                    | 100 <sup>a</sup>                 | 100 <sup>a</sup>                    | 97 <sup>a</sup>             |

در هر ستون میانگین‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. (Duncan  $P \leq 0.05$ ).

In each column, means followed by the same letter in each treatment are not significantly different, (Duncan  $P \leq 0.05$ )

Bro-Axi (Bromicide®/MA + Axial®), Axi-One (Axial One®), Cas-Cyt. (Cassic®+ Citogate®), 0.1% (0.1% v v<sup>-1</sup>)

سیتوگیت)، اتللو و برومایدسیدآم + آکسیال می‌باشد. اما کارایی علف‌کش آکسیال وان در کنترل گلرنگ و خردل کاذب مشابه با اتللو بودند. به‌طوری‌که علف‌کش آکسیال وان (۱/۵ لیتر در هکتار) توانست تراکم و وزن خشک چچم، گل گندم و سبزاب را ۶۰ تا ۶۷ درصد، گلرنگ، خردل کاذب و پنیرک را ۸۰ تا ۸۵ درصد) و کل علف‌های هرز (۶۵ تا ۷۲ درصد) نسبت به شاهد کاهش داد. از سوی دیگر، نتایج

براساس نتایج حاصل از صفات اندازه‌گیری شده در فارس (داراب)، با افزایش مقادیر کاربرد علف‌کش‌های آکسیال وان و کاسیک تراکم و وزن خشک علف‌های هرز چچم، گل گندم، سبزاب گلرنگ و خردل کاذب، پنیرک به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. همچنین با ارزیابی نتایج این منطقه مشخص شد کارایی علف‌کش آکسیال وان در کنترل چچم، گل گندم، سبزاب و پنیرک ضعیف‌تر از کاسیک (با و بدون

کل علف‌های هرز ۸۹ تا ۹۲ درصد، پنیرک، گلرنگ و خردل کاذب ۹۵ تا ۱۰۰ درصد و چچم را ۷۷ تا ۷۸ درصد نسبت به شاهد بدون کنترل بود (جدول‌های ۷ و ۸). این نتایج بیانگر این مطلب است که علف‌کش کاسیک (۲۰۰ تا ۲۳۰ گرم در هکتار) + سیتوگیت در کنار علف‌کش پرکاربرد برومایدام آ+ آکسیال قادر است در زمره مطلوب‌ترین تیمار در این آزمایش معرفی گردد.

کاربرد علف‌کش کاسیک نیز بیانگر این مطلب است که کاربرد ماده افزودنی سیتوگیت با مقادیر مختلف علف‌کش سبب بهبود کارایی کنترل علف‌های هرز مزبور می‌گردد. بر خلاف نتایج کارایی علف‌کش آکسیال وان، کارایی علف‌کش کاسیک + سیتوگیت در کنترل علف‌های هرز مذکور بیشتر از اتللو و در حد تیمار برومایدام آ+ آکسیال بود. به‌طوری‌که کارایی علف‌کش کاسیک (۲۳۰ گرم در هکتار + سیتوگیت) در کاهش تراکم و وزن خشک گل گندم، سیزاب و

جدول ۷- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها بر درصد کاهش تراکم علف‌های هرز نسبت به شاهد متناظر در داراب  
Table 7- Mean comparison of the effect herbicide application treatments on the percentage reduction of weed density compared to the corresponding control in Darab

| تیمار<br>Treatment | Rate<br>(g-l/ha) | چچم<br><i>Lolium rigidum</i> | گل گندم<br><i>Centaurea pallescens</i> | گلرنگ<br><i>Carthamus oxyacanthu</i> | خردل کاذب<br><i>Hirschfeldia incana</i> | سیزاب<br><i>Veronica persica</i> | پنیرک<br><i>Malva neglecta</i> | کل علف<br>هرز<br>Total weed |
|--------------------|------------------|------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| Bro-Axi            | 1.5+ 1.2         | 80.41 <sup>a</sup>           | 92.31 <sup>a</sup>                     | 100 <sup>a</sup>                     | 100 <sup>a</sup>                        | 92.19 <sup>a</sup>               | 100 <sup>a</sup>               | 93 <sup>a</sup>             |
| Othello            | 1.6              | 65.39 <sup>bc</sup>          | 81.6 <sup>a-c</sup>                    | 65.13 <sup>f-h</sup>                 | 85.23 <sup>bc</sup>                     | 73.5 <sup>b-d</sup>              | 82.35 <sup>b-e</sup>           | 73 <sup>de</sup>            |
| Axi-One            | 1.1              | 40.81 <sup>f</sup>           | 43.75 <sup>g</sup>                     | 50.65 <sup>i</sup>                   | 65.6 <sup>e</sup>                       | 41.19 <sup>f</sup>               | 50 <sup>i</sup>                | 46 <sup>h</sup>             |
| Axi-One            | 1.3              | 45.65 <sup>ef</sup>          | 55.35 <sup>fg</sup>                    | 54.9 <sup>hi</sup>                   | 70.49 <sup>de</sup>                     | 55.25 <sup>ef</sup>              | 60.27 <sup>hi</sup>            | 55 <sup>g</sup>             |
| Axi-One            | 1.5              | 50.42 <sup>d-f</sup>         | 57.09 <sup>e-g</sup>                   | 55.4 <sup>hi</sup>                   | 75.36 <sup>cd</sup>                     | 57.55 <sup>d-f</sup>             | 68.06 <sup>f-h</sup>           | 58 <sup>fg</sup>            |
| Axi-One            | 1.7              | 63.73 <sup>b-d</sup>         | 61.48 <sup>d-f</sup>                   | 75.27 <sup>d-f</sup>                 | 85.36 <sup>bc</sup>                     | 60.52 <sup>d-e</sup>             | 80.42 <sup>c-f</sup>           | 65 <sup>f</sup>             |
| Cassic             | 170              | 50.41 <sup>d-f</sup>         | 58.84 <sup>e-g</sup>                   | 60.09 <sup>g-i</sup>                 | 75.5 <sup>cd</sup>                      | 58.79 <sup>de</sup>              | 65.56 <sup>gh</sup>            | 60 <sup>fg</sup>            |
| Cassic             | 200              | 55.95 <sup>c-e</sup>         | 63.54 <sup>d-f</sup>                   | 70.29 <sup>e-g</sup>                 | 80.36 <sup>b-d</sup>                    | 63.78 <sup>de</sup>              | 75 <sup>d-g</sup>              | 66 <sup>ef</sup>            |
| Cassic             | 230              | 65.87 <sup>bc</sup>          | 73.49 <sup>b-e</sup>                   | 84.41 <sup>b-d</sup>                 | 90 <sup>b</sup>                         | 81.83 <sup>a-c</sup>             | 85.21 <sup>b-d</sup>           | 80 <sup>cd</sup>            |
| Cas-Cyt.           | 170+ 0.1%        | 55.66 <sup>c-e</sup>         | 68.75 <sup>c-f</sup>                   | 80.45 <sup>c-e</sup>                 | 80.36 <sup>b-d</sup>                    | 68.76 <sup>c-e</sup>             | 70 <sup>b-d</sup>              | 71 <sup>e</sup>             |
| Cas-Cyt.           | 200+ 0.1%        | 70.56 <sup>ab</sup>          | 77.57 <sup>a-d</sup>                   | 90.6 <sup>a-c</sup>                  | 100 <sup>a</sup>                        | 84.07 <sup>a-c</sup>             | 90.08 <sup>a-c</sup>           | 84 <sup>bc</sup>            |
| Cas-Cyt.           | 230+ 0.1%        | 75.05 <sup>ab</sup>          | 88.88 <sup>a-c</sup>                   | 95 <sup>ab</sup>                     | 100 <sup>a</sup>                        | 88.98 <sup>ab</sup>              | 95 <sup>b</sup>                | 89 <sup>ab</sup>            |

در هر ستون میانگین‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. (Duncan  $P \leq 0.05$ ).

In each column, means followed by the same letter in each treatment are not significantly different, (Duncan  $P \leq 0.05$ )

Bro-Axi (Bromicide®MA + Axial®), Axi-One (Axial One®), Cas-Cyt. (Cassic®+ Citogate®), 0.1% (0.1% v v<sup>-1</sup>)

جدول ۸- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها بر درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز نسبت به شاهد متناظر در داراب  
Table 8- Mean comparison of the effect herbicide application treatments on the percentage reduction of weed biomass compared to the corresponding control in Darab

| تیمار<br>Treatment | Rate<br>(g-l/ha) | چچم<br><i>Lolium rigidum</i> | گل گندم<br><i>Centaurea pallescens</i> | گلرنگ<br><i>Carthamus oxyacanthu</i> | خردل کاذب<br><i>Hirschfeldia incana</i> | سیزاب<br><i>Veronica persica</i> | پنیرک<br><i>Malva neglecta</i> | کل علف<br>هرز<br>Total weed |
|--------------------|------------------|------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| Bro-Axi            | 1.5+ 1.2         | 83.06 <sup>a</sup>           | 95.11 <sup>a</sup>                     | 100 <sup>a</sup>                     | 100 <sup>a</sup>                        | 95.06 <sup>a</sup>               | 100 <sup>a</sup>               | 96 <sup>a</sup>             |
| Othello            | 1.6              | 67.17 <sup>bc</sup>          | 85.07 <sup>bc</sup>                    | 76.01 <sup>d-g</sup>                 | 85.11 <sup>bc</sup>                     | 75.11 <sup>b-e</sup>             | 88.26 <sup>cd</sup>            | 81 <sup>cd</sup>            |
| Axi-One            | 1.1              | 43.2 <sup>e</sup>            | 49.05 <sup>h</sup>                     | 60.09 <sup>h</sup>                   | 65.11 <sup>e</sup>                      | 46.01 <sup>f</sup>               | 55.09 <sup>i</sup>             | 54 <sup>g</sup>             |
| Axi-One            | 1.3              | 48.05 <sup>de</sup>          | 58.01 <sup>gh</sup>                    | 65.07 <sup>gh</sup>                  | 70.16 <sup>de</sup>                     | 55.04 <sup>ef</sup>              | 66.13 <sup>h</sup>             | 62 <sup>fg</sup>            |
| Axi-One            | 1.5              | 53.11 <sup>de</sup>          | 60.1 <sup>g</sup>                      | 68.07 <sup>f-h</sup>                 | 75.07 <sup>c-e</sup>                    | 59.01 <sup>ef</sup>              | 70.04 <sup>gh</sup>            | 65 <sup>ef</sup>            |
| Axi-One            | 1.7              | 64.13 <sup>bc</sup>          | 67.06 <sup>e-g</sup>                   | 80.04 <sup>c-e</sup>                 | 85.1 <sup>bc</sup>                      | 63.29 <sup>d-f</sup>             | 85.09 <sup>de</sup>            | 72 <sup>de</sup>            |
| Cassic             | 170              | 52.15 <sup>de</sup>          | 65.04 <sup>fg</sup>                    | 72.03 <sup>e-g</sup>                 | 75.03 <sup>c-e</sup>                    | 61.09 <sup>ef</sup>              | 69.12 <sup>h</sup>             | 67 <sup>ef</sup>            |
| Cassic             | 200              | 58.17 <sup>cd</sup>          | 70.4 <sup>ef</sup>                     | 78.07 <sup>d-f</sup>                 | 80.06 <sup>b-d</sup>                    | 66.17 <sup>c-f</sup>             | 80.01 <sup>ef</sup>            | 74 <sup>de</sup>            |
| Cassic             | 230              | 78.05 <sup>a</sup>           | 80.12 <sup>cd</sup>                    | 90.12 <sup>a-c</sup>                 | 90.04 <sup>ab</sup>                     | 82.08 <sup>a-d</sup>             | 90.71 <sup>b-d</sup>           | 85 <sup>bc</sup>            |
| Cas-Cyt.           | 170+ 0.1%        | 59.05 <sup>cd</sup>          | 75.05 <sup>de</sup>                    | 86.05 <sup>b-d</sup>                 | 80.03 <sup>b-d</sup>                    | 71.11 <sup>b-e</sup>             | 76.39 <sup>fg</sup>            | 77 <sup>d</sup>             |
| Cas-Cyt.           | 200+ 0.1%        | 74.12 <sup>ab</sup>          | 87.03 <sup>a-c</sup>                   | 95.02 <sup>ab</sup>                  | 100 <sup>a</sup>                        | 86.08 <sup>a-c</sup>             | 94.19 <sup>a-c</sup>           | 91 <sup>ab</sup>            |
| Cas-Cyt.           | 230+ 0.1%        | 78.12 <sup>a</sup>           | 91.02 <sup>ab</sup>                    | 96.19 <sup>ab</sup>                  | 100 <sup>a</sup>                        | 91 <sup>ab</sup>                 | 96.26 <sup>ab</sup>            | 92 <sup>ab</sup>            |

در هر ستون میانگین‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. (Duncan  $P \leq 0.05$ ).

In each column, means followed by the same letter in each treatment are not significantly different, (Duncan  $P \leq 0.05$ )

Bro-Axi (Bromicide®MA + Axial®), Axi-One (Axial One®), Cas-Cyt. (Cassic®+ Citogate®), 0.1% (0.1% v v<sup>-1</sup>)

وزن خشک علف‌های هرز چچم، یولاف، خردل وحشی، شاتره و هفت

براساس نتایج حاصل از داده‌های منطقه گلستان (گنبد)، تراکم و

بند با کاربرد تیمارهای علف‌کش، به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. همچنین، با افزایش مقادیر کاربرد علف‌کش‌های آکسیال وان و کاسیک تراکم و وزن خشک علف‌های هرز مذکور نیز به‌طور معنی‌دار کاهش یافتند. کارایی علف‌کش آکسیال وان در کنترل یولاف وحشی بیشتر از چچم بود. به‌طوری‌که کاربرد آکسیال وان (۱/۷ لیتر در هکتار) قادر است تراکم و وزن خشک یولاف (۹۶ و ۹۸ درصد) و چچم (۷۱ و ۸۳ درصد) نسبت به شاهد بدون کنترل کاهش دهد. کارایی این علف‌کش در کنترل یولاف و چچم مطلوب‌تر از آتللو و برومایسیدام آ+ آکسیال بود. همچنین کارایی آکسیال وان (۱/۷ لیتر در هکتار) در کنترل علف‌های هرز پهن برگ ذکر شده بیشتر از آتللو و برومایسیدام آ+ آکسیال ارزیابی شد. به‌طوری‌که آکسیال وان (۱/۷ لیتر در هکتار) توانست تراکم و وزن خشک خردل وحشی (۱۰۰ درصد)، شاه‌تره و هفت‌بند ۸۵ تا ۹۸ درصد کاهش دهد. از سوی دیگر، کارایی علف‌کش کاسیک در کنترل یولاف وحشی مشابه با آکسیال وان بود، اما کارایی این علف‌کش در کنترل چچم مطلوب‌تر بود. مشابه با نتایج مناطق قبل کاربرد ماده افزودنی با علف‌کش کاسیک سبب افزایش کارایی کنترل علف‌های هرز شد. به‌طوری‌که تراکم و وزن خشک چچم با کاربرد کاسیک در مقادیر ۲۰۰ تا ۲۳۰ گرم در هکتار + سیتوگیت، ۹۵ تا ۱۰۰ درصد کاهش یافت. اما تراکم و وزن خشک یولاف بدنال کاربرد کاسیک (۲۳۰ گرم در هکتار + سیتوگیت)، ۹۱ تا ۹۸ درصد کاهش یافت. کارایی این تیمار در کنترل علف‌های هرز پهن برگ مذکور بسیار مطلوب ارزیابی شد. به‌طوری‌که کاربرد کاسیک (۲۳۰ گرم در هکتار + سیتوگیت) قادر است تراکم و وزن خشک خردل وحشی، شاه‌تره، هفت‌بند و کل علف‌های هرز را ۹۸ تا ۱۰۰

درصد کاهش دهد. همچنین، کارایی این تیمار در کنترل علف‌های هرز مزبور برتر از علف‌کش‌های شاهد (اتللو و برومایسیدام آ+ آکسیال) بود و به‌عنوان مطلوب‌ترین تیمار در این منطقه معرفی می‌شود (جدول‌های ۹ و ۱۰).

نتایج بدست آمده از داده‌های منطقه شاهرود نیز نشان داد که علف‌های هرز غالب این منطقه شامل یولاف وحشی، شاه‌تره‌ای و خردل آبی فام تحت تاثیر کاربرد علف‌کش‌ها آکسیال وان و کاسیک به‌طور معنی‌دار کاهش یافتند. با این وجود، کارایی علف‌کش آکسیال وان در کنترل یولاف وحشی در مقایسه با کاسیک (با و بدون سیتوگیت) بسیار مطلوب‌تر بود و با علف‌کش‌های شاهد (اتللو و برومایسیدام آ+ آکسیال) در یک گروه آماری بودند. به‌طوری‌که مقادیر مختلف کاربرد علف‌کش آکسیال وان (۱/۱ تا ۱/۷ لیتر در هکتار) توانست تراکم و وزن خشک یولاف وحشی را ۱۰۰ درصد کنترل کند. در حالی‌که کارایی علف‌کش کاسیک (۲۳۰ گرم در هکتار + سیتوگیت) در کاهش تراکم و وزن خشک یولاف وحشی به‌ترتیب ۶۷ و ۷۴ درصد بود. با این وجود، کارایی هر دو علف‌کش آکسیال وان و کاسیک در کنترل دو علف هرز شاه‌تره‌ای و خردل آبی فام بسیار مطلوب بود و حتی برتر از تیمار برومایسیدام آ+ آکسیال نشان دادند. علف‌کش آکسیال وان (۱/۵ و ۱/۷ لیتر در هکتار) و کاسیک (۲۰۰ و ۲۳۰ گرم + سیتوگیت) قادرند تراکم و وزن خشک خردل آبی فام (۱۰۰ درصد) و شاه‌تره‌ای (۹۵ تا ۱۰۰ درصد) نسبت به شاهد بدون کنترل کاهش دهند. در مجموع علف‌کش آکسیال وان نسبت به کاسیک کارایی بیشتری در کنترل کل علف‌های هرز داشت.

جدول ۹- مقایسه میانگین تاثیر تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها بر درصد کاهش تراکم علف‌های هرز نسبت به شاهد متناظر در گنبد

Table 9- Mean comparison of the effect herbicide application treatments on the percentage reduction of weed density compared to the corresponding control in Gonbad

| تیمار<br>Treatment | Rate<br>(g-l/ha) | چچم<br><i>Lolium<br/>rigidum</i> | یولاف وحشی<br><i>Avena<br/>ludoviciana</i> | خردل وحشی<br><i>Sinapis<br/>arvensis</i> | شاه‌تره<br><i>Fumaria<br/>officinalis</i> | هفت بند<br><i>Polygonum<br/>avicular</i> | کل علف هرز<br>Total weed |
|--------------------|------------------|----------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------|
| Bro-Axi            | 1.5+ 1.2         | 69.16 <sup>cd</sup>              | 94.37 <sup>ab</sup>                        | 90.17 <sup>a-c</sup>                     | 74.43 <sup>c-e</sup>                      | 71.69 <sup>cd</sup>                      | 80 <sup>c</sup>          |
| Othello            | 1.6              | 68.12 <sup>d</sup>               | 86.42 <sup>a-c</sup>                       | 85.18 <sup>b-d</sup>                     | 88.60 <sup>ab</sup>                       | 75.41 <sup>b-d</sup>                     | 81 <sup>c</sup>          |
| Axi-One            | 1.1              | 41.95 <sup>e</sup>               | 74.76 <sup>de</sup>                        | 66.19 <sup>e</sup>                       | 71.50 <sup>de</sup>                       | 54.51 <sup>f</sup>                       | 62 <sup>e</sup>          |
| Axi-One            | 1.3              | 61.87 <sup>d</sup>               | 78.12 <sup>c-e</sup>                       | 78.48 <sup>ab</sup>                      | 77.91 <sup>b-d</sup>                      | 62.29 <sup>d-f</sup>                     | 72 <sup>d</sup>          |
| Axi-One            | 1.5              | 67.70 <sup>d</sup>               | 93.65 <sup>ab</sup>                        | 94.09 <sup>ab</sup>                      | 85.57 <sup>a-c</sup>                      | 82.33 <sup>bc</sup>                      | 85 <sup>bc</sup>         |
| Axi-One            | 1.7              | 71.67 <sup>cd</sup>              | 96.87 <sup>a</sup>                         | 100 <sup>a</sup>                         | 86.80 <sup>a-c</sup>                      | 84.55 <sup>a-c</sup>                     | 88 <sup>b</sup>          |
| Cassic             | 170              | 81.90 <sup>bc</sup>              | 68.67 <sup>e</sup>                         | 80.28 <sup>cd</sup>                      | 64.41 <sup>e</sup>                        | 55.62 <sup>ef</sup>                      | 70 <sup>d</sup>          |
| Cassic             | 200              | 89.13 <sup>ab</sup>              | 76.19 <sup>c-e</sup>                       | 85.17 <sup>b-d</sup>                     | 74.58 <sup>c-e</sup>                      | 69.43 <sup>c-e</sup>                     | 79 <sup>c</sup>          |
| Cassic             | 230              | 100 <sup>a</sup>                 | 85.97 <sup>a-d</sup>                       | 90.52 <sup>a-c</sup>                     | 89.15 <sup>ab</sup>                       | 83.48 <sup>b-c</sup>                     | 90 <sup>b</sup>          |
| Cas-Cyt.           | 170+ 0.1%        | 88 <sup>ab</sup>                 | 75.69 <sup>c-e</sup>                       | 88.02 <sup>b-d</sup>                     | 81.75 <sup>b-d</sup>                      | 73.95 <sup>b-d</sup>                     | 82 <sup>c</sup>          |
| Cas-Cyt.           | 200+ 0.1%        | 95 <sup>a</sup>                  | 83.75 <sup>b-d</sup>                       | 94.44 <sup>ab</sup>                      | 89.76 <sup>ab</sup>                       | 87.22 <sup>ab</sup>                      | 90 <sup>b</sup>          |
| Cas-Cyt.           | 230+ 0.1%        | 100 <sup>a</sup>                 | 91.56 <sup>ab</sup>                        | 100 <sup>a</sup>                         | 97.72 <sup>a</sup>                        | 97.22 <sup>a</sup>                       | 97 <sup>a</sup>          |

در هر ستون میانگین‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. (Duncan  $P \leq 0.05$ ).

In each column, means followed by the same letter in each treatment are not significantly different, (Duncan  $P \leq 0.05$ )

Bro-Axi (Bromicide®/MA + Axial®), Axi-One (Axial One®), Cas-Cyt. (Cassic®+ Citogate®), 0.1% (0.1% v v<sup>-1</sup>)

جدول ۱۰- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها بر درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز نسبت به شاهد متناظر در گنبد  
Table 10- Mean comparison of the effect herbicide application treatments on the percentage reduction of weed biomass compared to the corresponding control in Gonbad

| تیمار<br>Treatment | Rate<br>(g-l/ha) | چچم<br><i>Lolium<br/>rigidum</i> | یولاف وحشی<br><i>Avena<br/>ludoviciana</i> | خردل وحشی<br><i>Sinapis<br/>arvensis</i> | شآترة<br><i>Fumaria<br/>officinalis</i> | هفت بند<br><i>Polygonum<br/>avicular</i> | کل علف هرز<br>Total weed |
|--------------------|------------------|----------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------|
| Bro-Axi            | 1.5+ 1.2         | 85.94 <sup>de</sup>              | 94.67 <sup>ab</sup>                        | 94.85 <sup>a-d</sup>                     | 90.77 <sup>cd</sup>                     | 93.40 <sup>bc</sup>                      | 92 <sup>e</sup>          |
| Othello            | 1.6              | 85.19 <sup>de</sup>              | 88.55 <sup>b-e</sup>                       | 95.90 <sup>a-c</sup>                     | 96.56 <sup>a-c</sup>                    | 94.88 <sup>a-c</sup>                     | 92 <sup>de</sup>         |
| Axi-One            | 1.1              | 71.20 <sup>f</sup>               | 83.70 <sup>e</sup>                         | 87.45 <sup>c</sup>                       | 87.15 <sup>d</sup>                      | 87.67 <sup>de</sup>                      | 83 <sup>g</sup>          |
| Axi-One            | 1.3              | 80.85 <sup>e</sup>               | 87.06 <sup>de</sup>                        | 89.74 <sup>de</sup>                      | 91.53 <sup>b-d</sup>                    | 87.56 <sup>de</sup>                      | 87 <sup>f</sup>          |
| Axi-One            | 1.5              | 82.25 <sup>e</sup>               | 97.97 <sup>ab</sup>                        | 97.96 <sup>ab</sup>                      | 93 <sup>a-d</sup>                       | 95.88 <sup>a-c</sup>                     | 93 <sup>de</sup>         |
| Axi-One            | 1.7              | 83.13 <sup>e</sup>               | 98.56 <sup>a</sup>                         | 100 <sup>a</sup>                         | 95.74 <sup>a-c</sup>                    | 98.12 <sup>ab</sup>                      | 95 <sup>b-d</sup>        |
| Cassic             | 170              | 90.43 <sup>cd</sup>              | 80.44 <sup>f</sup>                         | 90.85 <sup>c-e</sup>                     | 87.52 <sup>d</sup>                      | 86.36 <sup>e</sup>                       | 87 <sup>f</sup>          |
| Cassic             | 200              | 92.79 <sup>bc</sup>              | 87.35 <sup>c-e</sup>                       | 94.49 <sup>b-d</sup>                     | 93.05 <sup>a-d</sup>                    | 91.81 <sup>cd</sup>                      | 92 <sup>e</sup>          |
| Cassic             | 230              | 100 <sup>a</sup>                 | 91.45 <sup>b-d</sup>                       | 96.84 <sup>ab</sup>                      | 97.98 <sup>ab</sup>                     | 95.33 <sup>a-c</sup>                     | 96 <sup>bc</sup>         |
| Cas-Cyt.           | 170+ 0.1%        | 97.28 <sup>ab</sup>              | 89.44 <sup>b-e</sup>                       | 93.97 <sup>b-d</sup>                     | 92.60 <sup>a-d</sup>                    | 94.03 <sup>bc</sup>                      | 93 <sup>c-e</sup>        |
| Cas-Cyt.           | 200+ 0.1%        | 98.73 <sup>a</sup>               | 93.80 <sup>a-c</sup>                       | 97.97 <sup>ab</sup>                      | 97.73 <sup>a-c</sup>                    | 97.91 <sup>ab</sup>                      | 97 <sup>ab</sup>         |
| Cas-Cyt.           | 230+ 0.1%        | 100 <sup>a</sup>                 | 98.07 <sup>a</sup>                         | 100 <sup>a</sup>                         | 99.48 <sup>a</sup>                      | 99.75 <sup>a</sup>                       | 99 <sup>a</sup>          |

Duncan  $P \leq 0.05$ . (In each column, means followed by the same letter in each treatment are not significantly different, (Duncan  $P \leq 0.05$ )  
Bro-Axi (Bromicide®/MA + Axial®), Axi-One (Axial One®), Cas-Cyt. (Cassic®+ Citogate®), 0.1% (0.1% v v<sup>-1</sup>)

جدول ۱۱- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها بر درصد کاهش تراکم علف‌های هرز نسبت به شاهد متناظر در شاهرود  
Table 11- Mean comparison of the effect herbicide application treatments on the percentage reduction of weed density compared to the corresponding control in Shahrood

| تیمار<br>Treatment | Rate<br>(g-l/ha) | یولاف<br><i>Avena<br/>ludoviciana</i> | شآترة ای<br><i>Hypocum<br/>pendulom</i> | خردل آبی فام<br><i>Chorispora<br/>tenella</i> | کل علف هرز<br>Total weed |
|--------------------|------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------|
| Bro-Axi            | 1.5+ 1.2         | 100 <sup>a</sup>                      | 80.42 <sup>b</sup>                      | 83.75 <sup>b</sup>                            | 75 <sup>ab</sup>         |
| Othello            | 1.6              | 96.87 <sup>a</sup>                    | 91.32 <sup>ab</sup>                     | 95.83 <sup>a</sup>                            | 78 <sup>a</sup>          |
| Axi-One            | 1.1              | 100 <sup>a</sup>                      | 87.50 <sup>ab</sup>                     | 100 <sup>a</sup>                              | 79 <sup>a</sup>          |
| Axi-One            | 1.3              | 100 <sup>a</sup>                      | 89.09 <sup>ab</sup>                     | 100 <sup>a</sup>                              | 78 <sup>a</sup>          |
| Axi-One            | 1.5              | 100 <sup>a</sup>                      | 92.26 <sup>ab</sup>                     | 95 <sup>a</sup>                               | 80 <sup>a</sup>          |
| Axi-One            | 1.7              | 100 <sup>a</sup>                      | 93.675 <sup>ab</sup>                    | 100 <sup>a</sup>                              | 81 <sup>a</sup>          |
| Cassic             | 170              | 46.42 <sup>cd</sup>                   | 59.96 <sup>c</sup>                      | 95 <sup>a</sup>                               | 58 <sup>d</sup>          |
| Cassic             | 200              | 51.80 <sup>cd</sup>                   | 61.46 <sup>c</sup>                      | 100 <sup>a</sup>                              | 61 <sup>d</sup>          |
| Cassic             | 230              | 59.02 <sup>bc</sup>                   | 65.28 <sup>c</sup>                      | 100 <sup>a</sup>                              | 64 <sup>cd</sup>         |
| Cas-Cyt.           | 170+ 0.1%        | 45.42 <sup>d</sup>                    | 90.00 <sup>ab</sup>                     | 96.87 <sup>a</sup>                            | 68 <sup>bc</sup>         |
| Cas-Cyt.           | 200+ 0.1%        | 51.26 <sup>cd</sup>                   | 95.83 <sup>ab</sup>                     | 100 <sup>a</sup>                              | 69 <sup>bc</sup>         |
| Cas-Cyt.           | 230+ 0.1%        | 67.80 <sup>b</sup>                    | 100 <sup>a</sup>                        | 100 <sup>a</sup>                              | 76 <sup>a</sup>          |

در هر ستون میانگین‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. (Duncan  $P \leq 0.05$ )  
In each column, means followed by the same letter in each treatment are not significantly different, (Duncan  $P \leq 0.05$ )  
Bro-Axi (Bromicide®/MA + Axial®), Axi-One (Axial One®), Cas-Cyt. (Cassic®+ Citogate®), 0.1% (0.1% v v<sup>-1</sup>)

غالب مزرعه یولاف باشد این علف‌کش در کنار اتللو و برومایسیدام آ+ آکسیال می‌تواند در تناوب علف‌کشی قرار گیرد. بر اساس مطالعه‌های انجام شده، کارایی علف‌کش آکسیال در کاهش تراکم و وزن خشک کل علف‌های هرز باریک برگ به‌ترتیب ۸۸ و ۸۷ درصد اعلام شده است (Azhar et al., 2013). در گزارش دیگری، کارایی علف‌کش آکسیال وان در کنترل یولاف وحشی (*A. fatua*) بسیار مطلوب ارزیابی گردید (Manea et al., 2016).

به‌طوری‌که کارایی آکسیال وان (۱/۷ لیتر در هکتار) در کاهش تراکم و وزن خشک کل علف‌های هرز آزمایش به‌ترتیب ۸۱ و ۸۳ درصد بود، اما کارایی کاسیک (۲۳۰ گرم در هکتار+ سیتوگیت) در کنترل صفات مذکور به‌ترتیب ۷۶ و ۷۷ درصد بود (جدول‌های ۱۱ و ۱۲). لذا با توجه به نتایج بدست آمد در این منطقه می‌توان اذعان داشت که تیمار مطلوب و برتر در این منطقه علف‌کش آکسیال وان در مقادیر ۱/۵ تا ۱/۷ لیتر در هکتار است و در شرایطی که علف‌های هرز

براساس مطالعات انجام شده علف‌کش‌های مختلف کارایی متفاوتی در کنترل گونه‌های مختلف علف‌های هرز دارند. به‌طوری‌که کارایی علف‌کش بوکسر (پروسولفوکارپ) در کنترل چچم (*L. rigidum*)، پنیرک (*Malva neglecta* L.)، یونجه زرد (*Mamnoie* Karaminejad, 2020) و علف‌کش‌های کاسیک در کنترل گلرنگ وحشی و چچم (*L. rigidum*) مطلوب اعلام شده است (Mamnoie et al., 2022). همچنین، علف‌های هرز گلرنگ وحشی،

گل گندم، پنیرک و خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.) نیز با کاربرد برومایسیدام به نحوه مطلوب کنترل می‌گردد (Mamnoie et al., 2022; Veisi et al., 2018). در صورتی‌که کنترل علف هرز هفت‌بند (*Polygonum aviculare* L.) با کاربرد علف‌کش‌های اُتللو و آتلاتیس (مزوسولفورون + یدوسولفورون) ضعیف می‌باشد (Ebadati et al., 2019).

جدول ۱۲- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها بر درصد کاهش وزن خشک علف‌های هرز نسبت به شاهد متناظر در شاهرود  
Table 12- Mean comparison of the effect herbicide application treatments on the percentage reduction of weed biomass compared to the corresponding control in Shahrood

| تیمار<br>Treatment | Rate<br>(g-l/ha) | یولاف<br><i>Avena<br/>ludoviciana</i> | شا تره ای<br><i>Hypocum<br/>pendulom</i> | خردل آبی فام<br><i>Chorispora<br/>tenella</i> | کل علف هرز<br>Total weed |
|--------------------|------------------|---------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------|
| Bro-Axi            | 1.5+ 1.2         | 100 <sup>a</sup>                      | 87.06 <sup>b</sup>                       | 89.19 <sup>b</sup>                            | 79 <sup>a-c</sup>        |
| Othello            | 1.6              | 97.32 <sup>a</sup>                    | 92.89 <sup>ab</sup>                      | 96.13 <sup>a</sup>                            | 80 <sup>ab</sup>         |
| Axi-One            | 1.1              | 100 <sup>a</sup>                      | 91.93 <sup>ab</sup>                      | 100 <sup>a</sup>                              | 79 <sup>ab</sup>         |
| Axi-One            | 1.3              | 100 <sup>a</sup>                      | 89.69 <sup>ab</sup>                      | 100 <sup>a</sup>                              | 80 <sup>ab</sup>         |
| Axi-One            | 1.5              | 100 <sup>a</sup>                      | 94.54 <sup>ab</sup>                      | 100 <sup>a</sup>                              | 81 <sup>a</sup>          |
| Axi-One            | 1.7              | 100 <sup>a</sup>                      | 94.94 <sup>ab</sup>                      | 100 <sup>a</sup>                              | 83 <sup>a</sup>          |
| Cassic             | 170              | 56.98 <sup>c</sup>                    | 65.96 <sup>c</sup>                       | 100 <sup>a</sup>                              | 65 <sup>d</sup>          |
| Cassic             | 200              | 64.27 <sup>bc</sup>                   | 70.70 <sup>c</sup>                       | 98.33 <sup>a</sup>                            | 67 <sup>d</sup>          |
| Cassic             | 230              | 64.60 <sup>bc</sup>                   | 73.06 <sup>c</sup>                       | 100 <sup>a</sup>                              | 67 <sup>d</sup>          |
| Cas-Cyt.           | 170+ 0.1%        | 62.97 <sup>c</sup>                    | 93.55 <sup>ab</sup>                      | 98.40 <sup>a</sup>                            | 73 <sup>c</sup>          |
| Cas-Cyt.           | 200+ 0.1%        | 59.44 <sup>c</sup>                    | 97.88 <sup>ab</sup>                      | 100 <sup>a</sup>                              | 75 <sup>bc</sup>         |
| Cas-Cyt.           | 230+ 0.1%        | 74.31 <sup>b</sup>                    | 100 <sup>a</sup>                         | 100 <sup>a</sup>                              | 77 <sup>a-c</sup>        |

در هر ستون میانگین‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. (Duncan  $P \leq 0.05$ ).

In each column, means followed by the same letter in each treatment are not significantly different, (Duncan  $P \leq 0.05$ )  
Bro-Axi (Bromicide®/MA + Axial®), Axi-One (Axial One®), Cas-Cyt. (Cassic®+ Citogate®), 0.1% (0.1% v v<sup>-1</sup>)

کاربرد علف‌کش‌ها سبب افزایش معنی‌دار عملکرد دانه گندم در مناطق مختلف گردید. با افزایش مقدار کاربرد علف‌کش‌های آکسیال وان و کاسیک درصد افزایش عملکرد دانه نیز به‌طور معنی‌دار در مناطق مختلف بیشتر شد. این مطلب ناشی از کنترل مطلوب علف‌های هرز با کاربرد علف‌کش‌های مذکور است که با کاهش جمعیت و وزن خشک علف‌های هرز سبب کاهش فشار رقابت می‌گردد. با این وجود مقادیر تغییرات عملکرد بسته به نوع و مقدار کاربرد علف‌کش‌ها در مناطق مختلف مقادیر متفاوتی نشان دادند، هر چند از روند مشابه ای برخوردار بودند. به‌طوری‌که تغییرات عملکرد دانه در کاربرد آکسیال وان در مقادیر ۱/۱ تا ۱/۷ لیتر در هکتار به‌ترتیب در شاهرود (۱۹ تا ۲۴ درصد)، کرج (۱۱ تا ۱۴ درصد)، داراب (۸ تا ۱۹ درصد) و گنبد (۳ تا ۴ درصد) افزایش عملکرد نشان دادند. درصد افزایش عملکرد دانه در تیمارهای کاربردی حاصل از مقادیر مختلف آکسیال وان در شاهرود، کرج و گنبد با تیمارهای علف‌کش‌های شاهد (اتلو و برومایسیدام + آکسیال) در یک گروه آماری است. اما در داراب فقط دز حداکثری آکسیال وان (۱/۷ لیتر در هکتار) با علف‌کش‌های شاهد (اتلو و برومایسیدام + آکسیال) در یک گروه آماری بودند. با این وجود جهت دستیابی به عملکرد بیشتر در مناطق کرج، گنبد و شاهرود

با این وجود، علف‌کش‌های اُتللو و آتلاتیس کارایی مطلوبی در کنترل علف‌های هرز پیچک و آناگالیس (*Anagallis arvensis*) (Abbas et al., 2018)، چچم (Baziyar et al., 2010)، یولاف و خاکشیر (Zare et al., 2014) دارند. از سوی دیگر، علف‌کش پینوکسادن (آکسیال) کارایی مطلوبی در کنترل علف‌های هرز باریک برگ‌ها دارد (Azhar et al., 2013)، اما کارایی تایپیک (کلودینافوپ) در کنترل چچم ضعیف‌تر است (Baziyar et al., 2010). سایر گزارش نیز حاکی از کنترل مؤثر علف‌های هرز با کارایی علف‌کش‌های گرانتار (تری‌بنورون) (Nazary-Alam et al., 2013)، توتال (مت سولفورون + سولفوسولفورون) (Mortazavi & Armin, 2019)، آپروس (سولفوسولفورون) (Babaei & Saeedipour, 2017) است.

### عملکرد گندم

براساس نتایج بدست آمده از مناطق مختلف کرج، داراب، شاهرود و گنبد مشخص شد که هیچ یک از علف‌کش‌های کاربردی خسارتی و تأثیر منفی بر گندم و عملکرد دانه نداشتند. در این ارتباط ایدزیاک و همکاران (Idziak et al., 2012) اظهار کردند که اختلاط علف‌کش‌های پینوکسادن + فلورآسولام خسارتی بر گندم ندارد.

مقادیر ۱/۵ تا ۱/۷ لیتر و در داراب ۱/۷ لیتر در هکتار آکسیال وان پیشنهاد می‌شود. مقدار عملکرد دانه در کاربرد آکسیال وان (۱/۷ لیتر در هکتار) در کرج (۶ تن در هکتار)، گنبد (۴/۰۳ تن در هکتار)، شاهرود (۵/۳ تن در هکتار) و داراب (۴/۶ تن در هکتار) بود (جدول ۱۳). در گزارشی اظهار شده عملکرد گندم در زراعت آبی و دیم با کاربرد علف‌کش‌ها به ترتیب ۲۹ و ۱۱ درصد افزایش یافت (Sayili et al., 2006).

کاربرد ماده افزودنی به همراه علف‌کش کاسیک سبب بهبود و افزایش درصد عملکرد دانه گندم شد. گزارش‌های قبل نیز نشان داد مواد افزودنی با بهبود کارایی علف‌کش‌ها در کنترل علف‌های هرز سبب افزایش عملکرد دانه می‌شوند (Mamnoie et al., 2017). کاربرد کاسیک (۱۷۰ تا ۲۳۰ گرم در هکتار + سیتوگیت) توانست عملکرد دانه در کرج (۱۴ تا ۱۷ درصد)، داراب (۲۵ تا ۲۸ درصد)، گنبد (۸ تا ۱۳ درصد) و شاهرود (۷ تا ۱۴ درصد) نسبت به شاهد بدون کنترل افزایش داشتند. همچنین، مقدار عملکرد دانه در تیمار کاربرد علف‌کش کاسیک (۲۳۰ گرم در هکتار + سیتوگیت) در کرج، داراب، گنبد و شاهرود به ترتیب ۶/۶، ۵/۹، ۴/۳ و ۵/۲ تن در هکتار بود. از نظر درصد افزایش عملکرد دانه، علف‌کش کاسیک (۲۰۰ یا ۲۳۰ گرم در هکتار + سیتوگیت) ضمن اینکه با شاهد وجین در یک گروه آماری بودند نسبت به علف‌کش‌های شاهد (اتللو و برومایسیدام آ+ آکسیال) و آکسیال وان در تمام مناطق بحر شاهرود مطلوب‌تر نشان دادند. اگر چه کارایی این دو علف‌کش در افزایش عملکرد دانه در مناطق مختلف مطلوب ارزیابی شد اما اولویت کاربرد در منطقه شاهرود آکسیال وان و در سایر مناطق کاسیک پیشنهاد می‌شود (جدول ۱۳).

ارزیابی نتایج کارایی علف‌کش آکسیال وان در منطقه شاهرود (جدول‌های ۱۱ و ۱۲) و درصد افزایش عملکرد دانه در مناطق چهارگانه (جدول ۱۳) بیانگر این مطلب است، با وجود اینکه کارایی هر دو علف‌کش آکسیال وان و کاسیک در کنترل علف‌های هرز پهن برگ مشابه هستند اما کارایی آکسیال وان در مهار و کنترل یولاف وحشی نسبت به کاسیک بیشتر است. در این ارتباط مانا و همکاران (Manea et al., 2016) نشان دادند که کارایی علف‌کش آکسیال وان در کنترل یولاف وحشی (A. fatua) ۹۵ درصد است. بنابراین به نظر می‌رسد آکسیال وان با کنترل مطلوب علف‌های هرز بویژه یولاف که بیشترین تراکم نسبی (جدول ۴) در شاهرود داشت توانست با کاهش رقابت علف هرز، عملکرد دانه را بیشتر از کاسیک افزایش دهد (جدول ۱۳). از سوی دیگر، برتری افزایش عملکرد دانه (جدول ۱۳) در تیمارهای کاربرد علف‌کش کاسیک + ماده افزودنی در مناطق کرج، دارب و گنبد (جدول‌های ۵ تا ۱۲) نیز با کارایی این علف‌کش در کنترل و مهار علف‌های هرز بویژه درصد کاهش جمعیت و بیوماس کل علف‌های هرز نیز مطابقت دارد. این نتیجه مؤید این مطلب است که علف‌کش‌های آکسیال وان و کاسیک با کاهش مطلوب جمعیت و بیوماس علف‌های هرز در واحد سطح قادرند با کاهش فشار رقابت علف‌های هرز، عملکرد دانه گندم را افزایش دهند. بر اساس نتایج گزارش‌های انجام شده کاربرد علف‌کش‌ها با کنترل علف‌های هرز سبب افزایش عملکرد دانه در گندم می‌گردد (Mamnoie & Koprivlenski et al., 2019; Ebadati et al., 2020; Karaminejad, 2020; al., 2015).

جدول ۱۳- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها بر عملکرد دانه و درصد افزایش عملکرد دانه گندم نسبت به شاهد متناظر

Table 13- Mean comparison of the effect herbicide application treatments on wheat grain yield and percentage of grain yield increase compared to the corresponding control

| تیمار<br>Treatment | مقدار<br>Rate<br>(g-l/ha) | کرج<br>Karaj        |                     | داراب<br>Darab      |                      | گنبد<br>Gonbad      |                    | شاهرود<br>Shahrood  |                     |
|--------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
|                    |                           | kg ha <sup>-2</sup> | (%)                 | kg ha <sup>-2</sup> | (%)                  | kg ha <sup>-2</sup> | (%)                | kg ha <sup>-2</sup> | (%)                 |
| Bro-Axi            | 1.5+ 1.2                  | 6166 <sup>a-c</sup> | 15.03 <sup>bc</sup> | 5610 <sup>a-c</sup> | 26.11 <sup>ab</sup>  | 4064 <sup>a-c</sup> | 7.48 <sup>ab</sup> | 5320 <sup>ab</sup>  | 22.71 <sup>a</sup>  |
| Othello            | 1.6                       | 5723 <sup>a-c</sup> | 13.10 <sup>bc</sup> | 5410 <sup>a-d</sup> | 25.17 <sup>ab</sup>  | 3949 <sup>bc</sup>  | 4.00 <sup>b</sup>  | 5307 <sup>ab</sup>  | 20.10 <sup>ab</sup> |
| Axi-One            | 1.1                       | 5438 <sup>c</sup>   | 11.75 <sup>bc</sup> | 4050 <sup>f</sup>   | 8.17 <sup>e</sup>    | 3930 <sup>c</sup>   | 3.26 <sup>b</sup>  | 5300 <sup>ab</sup>  | 19.36 <sup>ab</sup> |
| Axi-One            | 1.3                       | 5623 <sup>bc</sup>  | 12.16 <sup>bc</sup> | 4150 <sup>f</sup>   | 10.08 <sup>e</sup>   | 3996 <sup>bc</sup>  | 4.03 <sup>b</sup>  | 5317 <sup>ab</sup>  | 22.63 <sup>a</sup>  |
| Axi-One            | 1.5                       | 5875 <sup>a-c</sup> | 14.03 <sup>bc</sup> | 4250 <sup>ef</sup>  | 13.06 <sup>de</sup>  | 4007 <sup>bc</sup>  | 4.64 <sup>b</sup>  | 5336 <sup>ab</sup>  | 23.25 <sup>a</sup>  |
| Axi-One            | 1.7                       | 6023 <sup>a-c</sup> | 14.49 <sup>bc</sup> | 4650 <sup>d-f</sup> | 19.06 <sup>b-d</sup> | 4033 <sup>a-c</sup> | 4.78 <sup>b</sup>  | 5360 <sup>ab</sup>  | 23.91 <sup>a</sup>  |
| Cassic             | 170                       | 5130 <sup>c</sup>   | 6.07 <sup>c</sup>   | 4350 <sup>ef</sup>  | 16.13 <sup>c-e</sup> | 4024 <sup>a-c</sup> | 5.15 <sup>b</sup>  | 4917 <sup>ab</sup>  | 6.81 <sup>d</sup>   |
| Cassic             | 200                       | 5412 <sup>c</sup>   | 10.80 <sup>bc</sup> | 4850 <sup>c-f</sup> | 22.13 <sup>a-c</sup> | 4154 <sup>a-c</sup> | 7.84 <sup>ab</sup> | 4318 <sup>b</sup>   | 6.80 <sup>d</sup>   |
| Cassic             | 230                       | 5858 <sup>a-c</sup> | 13.74 <sup>bc</sup> | 5010 <sup>b-e</sup> | 24.07 <sup>a-c</sup> | 4193 <sup>a-c</sup> | 8.61 <sup>ab</sup> | 5106 <sup>ab</sup>  | 8.86 <sup>cd</sup>  |
| Cas-Cyt.           | 170+ 0.1%                 | 5935 <sup>a-c</sup> | 14.48 <sup>bc</sup> | 5360 <sup>a-d</sup> | 25.03 <sup>ab</sup>  | 4229 <sup>ab</sup>  | 8.66 <sup>ab</sup> | 5053 <sup>ab</sup>  | 7.74 <sup>cd</sup>  |
| Cas-Cyt.           | 200+ 0.1%                 | 6539 <sup>ab</sup>  | 16.66 <sup>ab</sup> | 5750 <sup>ab</sup>  | 27.1 <sup>ab</sup>   | 4298 <sup>a</sup>   | 9.44 <sup>ab</sup> | 5148 <sup>ab</sup>  | 8.96 <sup>cd</sup>  |
| Cas-Cyt.           | 230+ 0.1%                 | 6606 <sup>ab</sup>  | 17.71 <sup>ab</sup> | 5950 <sup>a</sup>   | 28.06 <sup>a</sup>   | 4306 <sup>a</sup>   | 13.50 <sup>a</sup> | 5247 <sup>ab</sup>  | 14.06 <sup>bc</sup> |
| Weed free          |                           | 6698 <sup>a</sup>   | 23.42 <sup>a</sup>  | 6110 <sup>a</sup>   | 30.08 <sup>a</sup>   | 4316 <sup>a</sup>   | 15.14 <sup>a</sup> | 6257 <sup>a</sup>   | 24.89 <sup>a</sup>  |

در هر ستون میانگین‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند. (Duncan, P ≤ 0.05).

In each column, means followed by the same letter in each treatment are not significantly different, (Duncan, P ≤ 0.05)

Bro-Axi (Bromicide®MA + Axial®), Axi-One (Axial One®), Cas-Cyt. (Cassic®+ Citogate®), 0.1% (0.1% v v-1)

توان چنین استیاب نمود که کارایی علف‌کش آکسیال وان در کنترل یولاف وحشی بیشتر از کاسیک است. از طرفی کارایی علف‌کش کاسیک در کنترل چچم بیشتر از آکسیال وان می‌باشد. لذا با توجه به تشابهی کارایی مطلوب علف‌کش‌های مذکور در کنترل علف‌های هرز پهن برگ و با در نظر گرفتن درصد مقدار افزایش عملکرد دانه، کاربرد آکسیال وان به مقدار ۱/۵ تا ۱/۷ لیتر در هکتار و کاسیک به مقدار ۲۰۰ تا ۲۳۰ گرم در هکتار + ماده افزودنی سیتوگیت می‌تواند به‌عنوان تیمارهای برگزیده در تناوب با علف‌کش‌های پرکاربرد ثبت شده‌ی گندم، در اقلیم‌های مشابه پیشنهاد گردد.

### سپاسگزاری

با سپاس از مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور که در حمایت مالی این پژوهش نقش داشت. این مقاله حاصل پروژه تحقیقاتی با شماره مصوب ۹۹۰۹۷۴-۱۲۷-۱۶-۱۶-۰۴ است.

درصد افزایش عملکرد دانه در کاربرد علف‌کش‌های مختلف متفاوت گزارش شده است. به‌طوری‌که کاربرد پیش‌روی علف‌کش بوکسر قادر است عملکرد دانه ۵۲ درصد افزایش یابد (Mamnoie & Karaminejad, 2020). افزایش عملکرد دانه با کاربرد آکسیال وان ۲۰ درصد (Manea et al., 2016)، با آکسیال (پینوکسادن) ۴۲ درصد (Azhar et al., 2013)، با فلوروکسی پیر ۲۳ درصد (Minbashi et al., 2022) و در اختلاط آتلاتتیس با بوکتریل (بروموکسینیل + ام‌سی‌پی‌آ) ۵۸ درصد (Veisi et al., 2018) گزارش شده است.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایش‌های چهار منطقه و بر اساس مقدار درصد کنترل تراکم و وزن خشک علف‌های هرز و نیز مقادیر درصد افزایش عملکرد دانه نسبت به شاهد بدون کنترل، می‌

### References

1. Abbas, N., Tanveer, A., Ahmad, T., & Amin, M. (2018). Use of adjuvants to optimize the activity of two broad-spectrum herbicides for weed control in wheat. *Planta Daninha*, 36, e018174762. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582018360100126>
2. Aliverdi, A., Rashed-Mohassel, M.H., Zand, E., & Nassiri-Mahallati, M. (2009). Increased foliar activity of clodinafop propargyl and or tribenuron-methyl by surfactants and their synergistic action on wild oat (*Avena ludoviciana*) and wild mustard (*Sinapis arvensis*). *Weed Biology and Management*, 9, 292-299. <https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2009.00353.x>
3. Anonymous. (2017). Registration report Part A. Anses. National Assessment Country France. SAP405210WGH (Joystick). 32P. Available at : [https://www.anses.fr/fr/system/files/phyto/evaluations/JOYSTICK\\_PAMM\\_2014-3624\\_PARTA.pdf](https://www.anses.fr/fr/system/files/phyto/evaluations/JOYSTICK_PAMM_2014-3624_PARTA.pdf)
4. Azhar, M., Javadi, I., Chattha, M.B., & Azhar, G.S. (2013). Evaluation of various herbicides for controlling grassy weeds in wheat. *Mycopath*, 11(1), 39-44.
5. Babaei, M., & Saeedipour, S. (2017). The effect of crop seed rate and post emergence herbicide application on weed control and grain yield of wheat. *Journal of Plant Production*, 31(1), 117-123. (In Persian). <https://doi.org/10.22067/JPP.V31I1.53092>
6. Baziary, S., Vazan, S., Oveisi, M., & Paknezhad, F. (2010). Optimization of herbicide doses of mesosulfuron-methyl (Atlantis) and clodinafop-propargyl (Topik) in control of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) in competition with wheat. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 41(4), 755-761. (In Persian). <https://doi.org/10.1001.1.20084811.1389.41.4.11.6>
7. Ebadati, A., Gholamalipour-Alamdari, E., Avasaji, Z., & Rahemi-Karizaki, A. (2019). Effect of application time of dual purpose herbicides and mixing herbicides on weeds control and wheat yield. *Journal of Plant Ecophysiology*, 39, 192-209. (In Persian).
8. Hofer, U., Mühlebach, U.M., Hole, S., & Zoschke, A. (2006). Pinoxaden: for broad spectrum grass weed management in cereal crops. *The Journal of Plant Diseases and Protection*, 113, 989-995.
9. Idziak, R., Kierzek, R., Sip, D., & Krawczyk, R. (2012). Possibility of using pinoksaden and florasulam in mixtures with other herbicides for weed control in winter wheat. *Progress in Plant Protection*, 52(4), 898-902.
10. Koprivlenski, V.N., Dimitrova, M.D., Jalnov, I.S., Zheliazkov, I.D., & Zorovski, P.I. (2015). Economic assessment of new herbicides used to fight the weeds in wheat. *Agriculture, Forestry and Fisheries*, 4(2), 66-70.
11. Loux, M.M., Doohan, D., Dobbels, A.F., Johnson, W.G., Young, B.G., Legleiter, T.R., & Hager, A. (2015). *Weed Control Guide for Ohio, Indiana and Illinois*. Ohio State University Extension . 210 P.
12. Mamnoie, E., & karaminejad, M.R. (2020). Evaluation time and rate application of prosulfocarb herbicide in the weed control of wheat in South Kerman. *Journal of Crop Production*, 13(1), 51-66 <https://doi.org/10.22069/EJCP.2020.17165.2269>
13. Mamnoie, E., Izadi-Darbandi, E., Rastgoo, M., Baghestani, M.A., & Hasanzade, M. (2017). The effect of organic

- and bio fertilizers on maize (*Zea mays*) and HydroMax Adjuvants application on optimizing of nicosulfuron herbicide efficacy. *Journal of Crop Production and Processing*, 7(1), 55-71. <https://doi.org/10.18869/acadpub.jcpp.7.1.55>
14. Mamnoie, E., karaminejad, M.R., Minbash, M.M., & Askary, A.R. (2022). Evaluation of ready-mix herbicide efficiency of clodinafop propargil+ metribuzin in comparison with registered herbicides in weed control of wheat (*Triticum aestivum*) in Fars. *Journal of Plant Protection*, Articles in Press, 1-19. <https://doi.org/10.22067/JPP.2022.73993.1068>
15. Manea, D.N., Ștef, R., Pet, I., Ienciu, A.A., Grozea, I., & Carabet, A. (2016). Control of *Avena fatua* species (Wild Oat) a weed in expansion in banat area. *Bulletin UASVM series Agriculture*, 73(1), Electronic ISSN 1843-5386. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-agr:12008>
16. Mehmeti, A., Pacanoski, Z., Fetahaj, R., Kika, A., & Kabashi, B. (2018). Weed control in wheat with post-emergence herbicides. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 24(1), 74-79.
17. Minbashi, M.M., Hadizadeh, M.H., Karaminejad, M.R., Sabet-Zanganeh, H., Jamali, M., & Haghighi, A.A. (2022). Efficacy of fluroxypyr compared with common broadleaf herbicides in the wheat fields. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 36(3), 367-384. <https://doi.org/10.22067/JPP.2022.74981.1074>
18. Mortazavi, E., & Armin, M. (2019). The effect of adjuvant on reducing the dose of sulfosulfuron+metsulfuronmethyl. *Journal of Plant Ecophysiology*, 39, 253-243. (In Persian).
19. Nazary-Alam, J., Mousavi, A.M., Sihrahi, N., Sadeghi, N., & Sadeghi-Shoa, M. (2013). Evaluation of herbicide for *Cerastium sp.* and *Vaccaria sp.* weed control in wheat (*Triticum aestivum* L.) fields of Lorestan, Alashtar. *Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding*, 9, 3. 55-65. (In Persian)
20. Nourbakhsh, S. (2019). List of important pests, diseases and weeds of major agricultural products, chemicals and recommended ways for their control. Plant Protection organization, Ministry of Jihad-e Agriculture. Tehran, Iran, 208 Pp. (In Persian)
21. Rasool, R., Bhullar, M.S., & Gill, G.S. (2017). Growth stage of *Phalaris minor* Retz. and wheat determines weed control and crop tolerance of four post-emergence herbicides. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 15(1), e1001. <https://doi.org/10.5424/sjar/2017151-9728>
22. Sayili, M., Akca, H., & Qnen, H. (2006). Economic analysis of herbicide usage in wheat fields. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 755-760.
23. Somani, L.I. (1992). *Dictionary of weed science*. Agronomy Publishing Academy (India). 256 pp.
24. Veisi, M., Baghestani, M.A., & Minbashi, M.M. (2018). Study of tank mix application of dual propose and broad leaf herbicides for weed control in wheat fields. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 49, 2: 171-183. (In Persian). <https://doi.org/10.22059/IJFCS.2017.228155.654282>
25. Zadoks, J.C., Chang, T.T., & Konzak, C.F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14(6), 415-421. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1974.tb01084.x>
26. Zand, E., Baghestani, M.A., Nezamabadi, N., Shimi, P., & Mousavi, S.K. (2019). *A guide for herbicides in Iran*. University Press Center, 143pp.
27. Zare, A., Miri, H.R., & Jafari-Haghighi, B. (2014). Effect of plant density and reduced dosages of iodosulfuron+ mesosulfuron (Atlantis) on integrated weed management in wheat *Journal of Plant Ecophysiology*, 6(16), 38-93. (In Persian). <https://doi.org/20.1001.1.20085958.1393.6.16.4.9>

# Contents

|                                                                                                                                                                                                                                                          |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Two-sex Life Table Parameters of Pistachio Green Stink-bug, <i>Brachynema signatum</i> Jakovlev (Hemiptera: Pentatomidae)</b>                                                                                                                         | 351 |
| M. Khajehoseini Saleh Abad, A. Khani, H. Izadi, N. Sahebzadeh, M.A. Samih                                                                                                                                                                                |     |
| <b>Studying the Combination Effect of Celery, <i>Apium graveolens</i> Extracts with <i>Bt</i>, Against Potato Tuber Moth <i>Phthorimaea operculella</i></b>                                                                                              | 363 |
| D. Mohammadi, A. Hatami, N. Eivazian Kary, R. Farshbaf Pourabad                                                                                                                                                                                          |     |
| <b>Evaluation The Sub-Inhibitory Concentrations of Some Plant Essential Oils on Investigating Factors of <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i></b>                                                                                             | 381 |
| S. Ghorbanpour-Yadaki1, S. Baghaee-Ravari, M. Moghaddam, P. Khodaygan                                                                                                                                                                                    |     |
| <b>Molecular Detection of Three Viruses Infecting Mallow Plants in Golestan Province</b>                                                                                                                                                                 | 399 |
| M. Sadeghi Nichkoohi, Z. Moradi, M. Mehrvar, V. Babaeizad                                                                                                                                                                                                |     |
| <b>Breaking Seed Dormancy and Determining Cardinal Temperatures for Syrian Bean-Caper (<i>Zygophyllum fabago</i> L.) Using Regression Models</b>                                                                                                         | 411 |
| M. Heydari, M. Rastgoo, A. Ghanbari, Gh.A. Asadi                                                                                                                                                                                                         |     |
| <b>The effect of pH and light on the efficacy of spray solution stored of haloxyfop-r-methyl, fluazifop-p-butyl, and sethoxydim against wild barley (<i>Hordeum spontaneum</i> K. Koch)</b>                                                              | 425 |
| Sh. Taheri, A. Aliverdi, G. Ahmadvand                                                                                                                                                                                                                    |     |
| <b>Evaluation of Nitrogen-herbicide Interaction on Wheat Yield and Yield Components in Competition with Weed</b>                                                                                                                                         | 441 |
| F. Soltani, S. Saeedipour                                                                                                                                                                                                                                |     |
| <b>Evaluation of the Efficacy of Dual-purpose Herbicides Axial One® (Pinoxaden + Flurasulam) and Cassic® (Diflufenican + Iodosulfuron methyl sodium + Flurasulam) Compared to Common Herbicides for Weed Control in Wheat (<i>Triticum aestivum</i>)</b> | 455 |
| E. Mamnoie, M. R. Karaminejad, A. R. Barjasteh, A. A. Haghighi, M. Minbashi Moeini, A. R. Askari Kelestani                                                                                                                                               |     |

# Iranian Plant Protection Research

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol . 37

No. 4

2024

**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.                                     |
| Pourjam, E.            | Plant Pathology                | Prof. Tarbiat Modarres University.                                              |
| Jamali, S.             | Plant Pathology                | Prof. University of Guilan                                                      |
| Hosseini, M.           | Agricultural Entomology        | Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.                                     |
| Khodaparast, S. A.     | Mycology                       | Prof. University of Guilan                                                      |
| Rastgoo, M.            | Weed Science                   | Prof. Ferdowsi University of Mashhad.                                           |
| Rashed- Mohassel, M.H. | Weed Science                   | Prof. Ferdowsi University of Mashhad.                                           |
| Sharifnabi, B          | Plant Pathology                | Prof. Isfahan University of Technology                                          |
| Saberi riseh, R        | Plant Pathology                | Prof. Vali Asr University of Rafsanjan                                          |
| Sadeghi Namaghi, H.    | Agricultural Entomology        | Prof. Ferdowsi University of Mashhad.                                           |
| Saboori, A.            | Agricultural Entomology        | Prof. Tehran University                                                         |
| Karim Mojeni ,H        | Production and Plant Genetics  | Asso. Prof. Isfahan University of Technology                                    |
| Karimi, J              | Agricultural Entomology        | Prof. Ferdowsi University of Mashhad.                                           |
| Marashi, S.H.          | Biotechnology & Plant Breeding | Prof. Ferdowsi University of Mashhad.                                           |
| Mosallanejad, H        | Entomolog                      | Asso. Prof. of Research. Iranian Research Institute of Plant Protection (IRIPP) |
| Masumi, H              | Plant Virology                 | Prof. Shahid Bahonar University of Kerman                                       |
| Mehrvar, M             | Plant Virology                 | Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.                                     |
| Mahdikhani Moghadam, E | Plant Pathology                | Prof. Ferdowsi University of Mashhad.                                           |
| Tarasco, Estacu        | Entomology                     | Asso. Prof. University of Bari Aldo Moro - Italia                               |
| Eroglu, Gozde Busra    | Microbiology And Genetics      | Assistant prof. Erzurum Teknik University                                       |
| Rashed- Mohassel, A.   | Insect Ecology                 | Post-Doctoral Research Associate ,Texas A&M AgriLife Extension Service          |

**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/>

## Contents

|                                                                                                                                                                                                                                                               |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Two-sex Life Table Parameters of Pistachio Green Stink-bug, <i>Brachynema signatum</i> Jakovlev (Hemiptera: Pentatomidae).....</b>                                                                                                                         | <b>351</b> |
| M. Khajehosseini Saleh Abad, A. Khani, H. Izadi, N. Sahebzadeh, M.A. Samih                                                                                                                                                                                    |            |
| <b>Studying the Combination Effect of Celery, <i>Apium graveolens</i> Extracts with <i>Bt</i>, Against Potato Tuber Moth <i>Phthorimaea operculella</i>.....</b>                                                                                              | <b>363</b> |
| D. Mohammadi, A. Hatami, N. Eivazian Kary, R. Farshbaf Pourabad                                                                                                                                                                                               |            |
| <b>Evaluation The Sub-Inhibitory Concentrations of Some Plant Essential Oils on Investigating Factors of <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Syringae</i>.....</b>                                                                                             | <b>381</b> |
| S. Ghorbanpour-Yadakil, S. Baghaee-Ravari, M. Moghaddam, P. Khodaygan                                                                                                                                                                                         |            |
| <b>Molecular Detection of Three Viruses Infecting Mallow Plants in Golestan Province.....</b>                                                                                                                                                                 | <b>399</b> |
| M. Sadeghi Nichkoohi, Z. Moradi, M. Mehrvar, V. Babaeizad                                                                                                                                                                                                     |            |
| <b>Breaking Seed Dormancy and Determining Cardinal Temperatures for Syrian Bean-Caper (<i>Zygophyllum fabago</i> L.) Using Regression Models.....</b>                                                                                                         | <b>411</b> |
| M. Heydari, M. Rastgoo, A. Ghanbari, Gh.A. Asadi                                                                                                                                                                                                              |            |
| <b>The effect of pH and light on the efficacy of spray solution stored of haloxyfop-r-methyl, fluazifop-p-butyl, and sethoxydim against wild barley (<i>Hordeum spontaneum</i> K. Koch).....</b>                                                              | <b>425</b> |
| Sh. Taheri, A. Aliverdi, G. Ahmadvand                                                                                                                                                                                                                         |            |
| <b>Evaluation of Nitrogen-herbicide Interaction on Wheat Yield and Yield Components in Competition with Weed.....</b>                                                                                                                                         | <b>441</b> |
| F. Soltani, S. Saeedipour                                                                                                                                                                                                                                     |            |
| <b>Evaluation of the Efficacy of Dual-purpose Herbicides Axial One® (Pinoxaden + Flurasulam) and Cassic® (Diffufenican + Iodosulfuron methyl sodium + Flurasulam) Compared to Common Herbicides for Weed Control in Wheat (<i>Triticum aestivum</i>).....</b> | <b>455</b> |
| E. Mamnole, M. R. Karaminejad, A. R. Barjasteh, A. A. Haghighi, M. Minbashli Mocini, A. R. Askari Kelestani                                                                                                                                                   |            |