نشریه علمی

پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران

جلد ۳۸ شماره ۲

سال ۱۴۰۳

شماره پیاپی: ٦٤

عنوان مقالات

نشریه پژوهش های حفاظت گیاهان ایران

(علوم و صنایع کشاورزی)

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

جلد ۳۸ شماره ۲ تابستان ۱۴۰۳

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.

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

تلفن: ۰۵۱-۳۸۸۰۴۶۵۴ **نمابر:** ۰۵۱-۳۸۷۸۷۴۳۰

پست الکترونیکی: jpp1@um.ac.ir **آدرس سایت:** https;//jpp.um.ac.ir

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

Iranian Plant Protection Research

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 2, 2024, p. 105-115

Population Fluctuations and Spatial Dispersion of Onion Thrips, *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) in Bean Fields of Sanandaj County, Kurdistan Province

S. Veisi[1], A.A. Zamani[2], M. Mirab-balou[3*], B. Miri[4]

1, 2 and 4- M.Sc. Student of Entomology, Associate Professor and Postdoctoral Researcher, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran, respectively.
3- Associated Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran
(*- Corresponding Author Email: m.mirabbalou@ilam.ac.ir)

Received: 05-12-2023 Revised: 16-02-2024 Accepted: 21-04-2024 Available Online: 21-07-2024	**How to cite this article:** Veisi, S., Zamani, A.A., Mirab-balou, M., & Miri, B. (2024). Population fluctuations and spatial dispersion of onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) in bean fields of Sanandaj county, Kurdistan province. *Journal of Iranian Plant Protection Research, 38*(2), 105-115. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85738.1169

Introduction

Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) (Fabaceae) is one of the most cultivated plants of legumes in most countries. Several of insects with piercing-sucking mouthparts such as thrips, leafhopper, aphids, and plant bugs are as pest on beans. Thrips can attack beans from the seedlings emerge through to flowering, but it is the damage some do during flowering that has the greatest impact. *Thrips tabaci* Lindeman 1889, the onion thrips is a cosmopolitan species. It has hundreds of host plants but of these, the economically most important crop plants are onion, cabbage, tobacco, pepper, bean and tomato. Here, population fluctuation and spatial distribution of thrips was investigated in the bean fields of Sanandaj county (Kurdistan province, west of Iran).

Materials and Methods

Sampling was done from bean leaves from two leaves stage until ending growing season in the bean fields (bean Canyon variety) located in Arandan village (N 35° 23' 10.96", E 46° 54' 53.16", alt. 1660 m), Sanandaj county during the years 2022 and 2023. Bean leaf was selected as sampling unit. Sampling was done weekly and four rows were sampled each time. A systematic sampling pattern was used to collect the samples. In this way, in the selected rows, 24 plants at the beginning and end of each row were ignored, and the 25th plant of each row was the first plant on which thrips were counted. After that, 24 plants were left and counting was done on the 25th plant after the first plant. In this way, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300 and 325 plants were sampled in each row. Weekly sampling was done in a similar style, but each time, different rows of crops were selected for sampling. Sampling was done weekly, and for this purpose lower, middle and upper leaves were selected from each bean and the leaves were shaken on a white tray and then the thrips were put into Eppendorf containing ethyl alcohol 75%. In order to accurately count thrips, by using a stereomicroscope, some samples were separated and microscopic slides were prepared from some samples and finally the number of samples was recorded. Spatial distribution of adults of thrips was estimated using Taylor's power law and Iwao's patchiness regression methods.

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85738.1169

Results and Discussion

The results showed that the population of onion thrips was observed from July and gradually increased and in 2022 its maximum was in the first week of August with an average of 11.65 ± 0.14 thrips and in 2023 its maximum was in the end of week of August with an average of 11.29 ± 0.23 thrips at the sampling unit. In addition, the highest mean number of onion thrips was observed with a significant difference in the lower leaves compared to the middle and upper leaves. The results of the spatial distribution of the pest showed that based on the variance-to-mean ratio, Taylor’s power law and Iwao’s patchiness regression methods, the spatial distribution of onion thrips was clumped, randomized and clumped, respectively. In general, the results showed that the peak of population of onion thrips reaches in early of August. Furthermore, based on goodness of fit, the Iwao’s patchiness method was more suitable than the Taylor’s power law method for estimating the spatial distribution of the pest.

Conclusion

It can be concluded that, at the beginning of the growing season of beans in the field, a low population of onion thrips was activated, and gradually with the warming of the weather and the change of the growing stages of the beans, the population of the pest in the field increased, so that the largest population of onion thrips were observed in the first week of August. In addition, based on the sampling, the highest average number of onion thrips was observed in the lower leaves of beans compared to the middle and upper leaves. The relationship between population fluctuations of onion thrips with average positive temperature was obtained. In examining the spatial distribution pattern with the Iwao’s patchiness method, it was found that the spatial distribution of onion thrips is uniform. Considering the high activity and damage caused by onion thrips on various crops, especially on beans, it is necessary and important to conduct more studies on its various characteristics in various regions and crops of Kurdistan province so that a suitable management plan can be developed to control this pest.

Acknowledgement

This paper is extracted from part of the master's thesis of the senior author, who was financially supported by research vice-chancellor of Razi University, Kermanshah, Iran.

Keywords: Damage, Kurdistan, Larvae, Population fluctuations, Thrips

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران

https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸ شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، ص. ۱۱۵-۱۰۵

مطالعه نوسانات جمعیت و پراکنش فضایی تریپس پیاز *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) در مزارع لوبیای شهرستان سنندج، استان کردستان

سهیلا ویسی[1]- عباسعلی زمانی[2]- مجید میراب بالو[3]*- بهزاد میری[4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۲

چکیده

تریپس پیاز، *Thrips tabaci* Lindeman آفتی پلی‌فاژ است و تاکنون از روی گیاهان مختلفی گزارش شده است. در تحقیق حاضر، نوسانات جمعیت و پراکنش فضایی این آفت در شرایط مزرعه‌ای در سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲، روی لوبیا رقم کانیون در شهرستان سنندج (استان کردستان) مورد بررسی قرار گرفت. برگ لوبیا به‌عنوان واحد نمونه‌برداری انتخاب شد. نمونه‌برداری‌ها به‌صورت هفتگی انجام و برای این کار در هر نوبت ۵۲ بوته لوبیا انتخاب و از هر بوته‌ی لوبیا سه برگ پایینی، میانی و بالایی انتخاب و برگ‌ها روی سینی سفید تکانده شد و سپس تریپس‌های داخل سینی با قلم‌موی نرم به داخل اپندورف حاوی الکل اتیلیک ۷۵ درصد منتقل شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که جمعیت تریپس پیاز از تیرماه در مزرعه فعال بوده و به تدریج به میزان فعالیت و تراکم آن‌ها افزوده شد به‌طوری‌که که بیش‌ترین جمعیت تریپس پیاز در سال ۱۴۰۱، در هفته‌ی اول مرداد ماه با میانگین (۱۱/۶۵ ±۰/۱۴) و در سال ۱۴۰۲ در اواخر مرداد ماه با میانگین (۱۱/۲۹ ±۰/۲۳) تریپس در واحد نمونه‌برداری مشاهده شد. هم‌چنین بیش‌ترین میانگین تعداد تریپس پیاز با اختلاف معنی‌داری در برگ‌های پایینی نسبت به برگ‌های میانی و بالایی لوبیا مشاهده گردید. نتایج توزیع فضایی آفت نشان داد که براساس هر دو روش تیلور و آیوائو، پراکنش فضایی تریپس پیاز از نوع یکنواخت بود. به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که جمعیت تریپس پیاز در هر دو سال مورد مطالعه در مرداد ماه به اوج خود می‌رسد. هم‌چنین بر اساس نیکویی برازش، روش آیوائو برای برآورد توزیع فضایی آفت مناسب‌تر از روش تیلور ارزیابی شد.

واژه‌های کلیدی: تریپس، تغییرات جمعیت، خسارت، کردستان، لارو

مقدمه

حبوبات یکی از مهم‌ترین منابع گیاهی غنی از پروتئین و دومین منبع مهم غذایی انسان بعد از غلات به‌شمار می‌روند. لوبیا به‌عنوان سبزی تازه‌خوری و یا به‌منظور استحصال دانه (حبوبات) پرورش داده می‌شود. مهم‌ترین گونه آن لوبیای سبز یا معمولی، *Phaseolus vulgaris* L. است و اغلب برای کنسروسازی، تازه‌خوری و یا به صورت یخزده مصرف می‌گردد. لوبیا یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی است که به مصرف تغذیه مردم جهان می‌رسد و به‌دلیل قابلیت نگهداری به نسبت راحت و ارزش غذایی بالا از اهمیت زیادی برخوردار است (Bagheri *et al*., Parsa & Bagheri, 2008; 2001).

در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۴۰۰ سطح زیر کشت لوبیا در استان کردستان برابر با ۶۷۵ هکتار بوده که از این سطح، ۱۴۴۸ تن لوبیا برداشت شده است. استان کردستان از نظر سطح زیر کشت لوبیا در

۱، ۲ و ۴- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و پژوهشگر پسادکتری گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

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

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

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85738.1169

ایران در رتبه ۱۲ و از نظر میزان تولید در رتبه ۱۰ قرار دارد (Ahmadi *et al.*, 2021).

آفات مختلفی از جمله تریپس‌ها از لوبیا تغذیه کرده و باعث ایجاد خسارت به آن‌ها می‌شوند که تریپس پیاز، *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae)، به‌عنوان آفت جدی مزارع لوبیا در نقاط مختلف دنیا (Pobozniak, Trdan, 2003; Patel *et al*., 2013; 2011) و در ایران (Mirab-balou & Miri, 2016; Saeedi & Rezvani, 2001; Shoeibi *et al.*, 2016) معرفی شده است. این آفت، علاوه بر لوبیا دارای پتانسیل خسارت‌زایی در روی دیگر حبوبات از جمله نخود و عدس می‌باشد (Stevensoni *et al*., 2007; Pobozniak & Koschier, 2014).

تریپس پیاز آفتی همه‌جایی و چندین‌خوار است و به بیش از ۳۰۰ گیاه زراعی و گلخانه‌ای خسارت می‌زند (Gill *et al.*, 2015; Capinera, 2001). تغذیه شدید این تریپس از برگ گیاه میزبان موجب برهم زدن توازن هورمونی، پیچیدگی و بدشکلی برگ و در نهایت توقف رشد و از بین رفتن گیاه می‌شود (Lewis, 1973). مراحل مختلف زیستی این آفت با استقرار در پشت برگ‌های لوبیا از شیره گیاهی تغذیه نموده و در نتیجه سبب ایجاد لکه‌های نقره‌ای رنگ می‌شوند که فضولات سیاه‌رنگ آفت در داخل قسمت‌های نقره ای شده نمایان است و به راحتی می‌توان از روی علایم خسارت، به وجود آفت پی‌برد (Shoeibi *et al*., 2016). این آفت شناخته شده-ترین تریپس در جهان است و علاوه بر خسارت مستقیم به محصولات مختلف، به‌عنوان ناقل بسیاری از بیماری‌های ویروسی مطرح است (Hazir & Ulusoy, 2012). از دلایل خسارت‌زایی این آفت می‌توان به ظرفیت بالای تولیدمثل، دوره زندگی کوتاه، قدرت تحرک بالا، زندگی در مکان‌های مخفی گیاه و توان بالای مقاومت به حشره‌کش‌ها اشاره نمود (van Rijn *et al*., 1995). تریپس‌ها از طریق ریزش گل‌ها، عدم تلقیح گل‌ها، بدشکلی غلاف‌ها و در نتیجه نامناسب شدن آن‌ها برای ورود به بازار، باعث ایجاد خسارتی بین ۴۰ تا ۶۰ درصد به لوبیا می‌شوند و از طرف دیگر با تغذیه از غلاف‌ها باعث نقره‌ای شدن سطح آن‌ها شده و باعث ایجاد خسارتی در حدود ۲۰ درصد دیگر به این محصول می‌شوند (Nderitu *et al*., 2001).

مطالعات متعددی در رابطه با جمعیت، خسارت و نوع پراکنش فضایی تریپس‌ها در ایران و نقاط مختلف دنیا انجام گرفته است. پوبوژیاک (Pobozniak, 2011) در بررسی تغییرات جمعیت تریپس پیاز روی ارقام لوبیای ساندرا، تینا و ناتا نشان داد که در سال ۲۰۰۶ فعالیت آن‌ها از تاریخ ۸ ژوئن (۱۸ خرداد) آغاز و تا ۳۱ جولای (۹ مرداد) و در سال ۲۰۰۷ از تاریخ ۲۸ می (۷ خرداد) تا ۳۱ جولای (۹ مرداد) ادامه داشته است. همچنین نمودار روند تغییرات جمعیتی تریپس پیاز نشان داد که اوج جمعیتی در سال‌های ۲۰۰۶ و ۲۰۰۷ به ترتیب در روزهای ۲۶ ژوئن (۷ تیر) و ۱ جولای (۱۰ تیر) به‌دست آمد.

سیل و استنسلی (Seal & Stansly, 2000) فراوانی فصلی و نحوه توزیع گونه‌ی *T. palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) را در طی ۶ سال (۱۹۹۱ تا ۲۰۰۰) روی گیاه لوبیا در جنوب فلوریدا بررسی کردند و نشان دادند که فراوانی تریپس در لوبیاهای کاشته شده در اکتبر ۱۹۹۱ و ژانویه ۱۹۹۲ زیاد بود، در حالی‌که فراوانی تریپس در لوبیاهایی که در ماه می ۱۹۹۲ کاشته شدند کم بود. هم-چنین در لوبیاهای کاشته شده در اکتبر ۱۹۹۱، جمعیت تریپس در ۱۳ دسامبر (۲۲ آذر) به اوج خود رسید. در بررسی توزیع فضایی تریپس گل روی لوبیا فرانسوی در کنیا مشخص شد که گونه *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) به‌عنوان گونه‌ی غالب این مزارع است، همچنین مراحل لارو و بالغ تریپس غربی گل بیش‌ترین تراکم را در برگ‌های پایینی لوبیا نسبت به برگ‌های میانی و بالایی داشت (Kasina *et al*., 2009). بررسی نیاسانی و همکاران (Nyasani *et al*., 2012) در رابطه با تعیین ترکیب گونه‌های تریپس و تراکم جمعیت تریپس روی لوبیا فرانسوی کاشته شده به‌عنوان محصول منفرد و به‌عنوان کشت مخلوط با آفتابگردان، سیب‌زمینی ایرلندی و ذرت در ترکیب‌های مختلف نشان داد که جمعیت تریپس‌ها با گذشت زمان افزایش یافته و در زمان گل‌دهی به اوج خود رسید و سپس شروع به کاهش کردند. طی مطالعه‌ای که به‌منظور بررسی میزان خسارت چندین گونه تریپس از جمله تریپس پیاز روی لوبیا سبز انجام شد، داف و همکاران (Duff *et al*., 2014) نتیجه گرفتند که در سال اول ۱۰/۷۴ درصد غلاف‌ها و در سال دوم ۳۶/۶۵ درصد غلاف‌ها غیر قابل عرضه به بازار بودند.

مطالعات صدارتیان و همکاران (Sedaratian *et al*., 2010) در رابطه با تراکم جمعیت تریپس پیاز روی هفت رقم و یک ژنوتیپ سویا نشان دادند که بیش‌ترین تراکم تریپس روی رقم Dpx و ژنوتیپ KS3494 و کم‌ترین تراکم جمعیت روی دو رقم L17 و Tellar مشاهده شد. در بررسی تأثیر رقم و تراکم کاشت لوبیا روی تراکم کنه تارتن دولکه‌ای و تریپس پیاز در مزرعه‌ی لوبیا شهرستان بروجرد مشخص شد که کم‌ترین و بیش‌ترین تراکم کل تریپس پیاز به‌ترتیب در رقم اختر و تراکم کشت ۶۰ بوته در متر مربع و رقم اختر و تراکم کشت ۲۰ بوته در متر مربع مشاهده شد (Karimi *et al*., 2019). اشتری (Ashtari, 2021) در بررسی ارزیابی میزان خسارت تریپس پیاز روی پنج رقم و یک لاین لوبیا چیتی در شرایط مزرعه نشان داد که بیش‌ترین جمعیت تریپس در مراحل مختلف لارو–پوره و بالغ در دو رقم حساس چیتی محلی خمین (۱۱/۹۷ و ۳/۱۵ عدد) و صدری (۱۰/۴۴ و ۲/۳۵ عدد) مشاهده شد. از طرفی لاین KS21492 در مقایسه با بقیه ارقام، خسارت پایین‌تر وجمعیت کم‌تری در مراحل مختلف لارو–پوره و بالغ (۴/۲۷ و ۰/۹۵ عدد) داشت. اشتری (Ashtari, 2022) در مطالعه دیگری به بررسی ارزیابی میزان خسارت تریپس پیاز روی شش رقم لوبیا قرمز در شرایط مزرعه پرداخت. نتایج

این مطالعه نشان داد که بیش‌ترین جمعیت تریپس در مراحل مختلف پوره و بالغ در دو رقم اختر (۷/۰۱ و ۲/۱۵ عدد) و درخشان (۵/۹۳ و ۱/۶۵ عدد) مشاهده شد.

با توجه به فراوانی تریپس پیاز در مزارع لوبیا و هم‌چنین مشکلاتی که روی عملکرد و کیفیت این محصول ایجاد می‌کند، انجام مطالعات بیش‌تر در ایران و به‌خصوص در استان کردستان که هیچ گونه مطالعه‌ای در این رابطه صورت نگرفته است، می‌تواند برای به‌دست آوردن زمان و نحوه مناسب کنترل این آفت، مفید واقع شود. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات جمعیت و تعیین نوع پراکنش فضایی تریپس پیاز روی لوبیا سبز در منطقه سنندج، استان کردستان صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در استان کردستان، دهستان آرنذان (N 35° 23' 10.96", E 46° 54' 53.16", alt. 1660 m) واقع در شمال‌غربی سنندج صورت گرفت. برای این منظور، مزرعه‌ای به مساحت دو هکتار که در آن لوبیا سبز رقم کانیون که به‌صورت ردیفی و در هر ردیف ۳۵۰ بوته کشت شده بود، انتخاب گردید. فاصله ردیف‌ها ۷۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی هر ردیف، ۲۰ سانتی‌متر بود. عملیات زراعی از جمله شخم زدن و دیسک زدن جهت آماده‌سازی زمین و استفاده از کود ماکرو به‌صورت پیش کشت (ازت، فسفر و پتاس به‌صورت گرانوله) انجام شده بود. نمونه‌برداری‌ها به‌صورت هفتگی انجام و در هر مرتبه روی چهار ردیف نمونه‌برداری شد. برای جمع‌آوری نمونه‌ها از الگوی نمونه‌برداری سیستماتیک استفاده شد. به این ترتیب که در ردیف‌های منتخب، ۲۴ بوته ابتدا و انتهای هر ردیف نادیده گرفته شد و بوته ۲۵ از هر ردیف اولین بوته‌ای بود که روی آن شمارش تریپس-ها صورت گرفت. بعد از آن ۲۴ بوته را رها کرده و روی بیست و پنجمین بوته بعد از بوته اول شمارش انجام شد. به این ترتیب در هر ردیف، روی بوته‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰، ۱۷۵، ۲۰۰، ۲۲۵، ۲۵۰، ۲۷۵، ۳۰۰ و ۳۲۵ نمونه‌برداری صورت گرفت. نمونه-برداری‌های هفتگی با سبکی مشابه انجام شد ولی در هر مرتبه، ردیف‌های کشت متفاوتی برای نمونه‌برداری انتخاب شد.

واحد نمونه‌برداری برگ گیاه لوبیا انتخاب شد و روی هر بوته، سه برگ از قسمت‌های پایینی، میانی و بالایی بوته جدا گردید و به وسیله ضربه زدن به سطح رویی برگ، تریپس‌های آن‌ها به‌صورت جداگانه روی یک سینی سفید گرد با قطر ۲۵ سانتی‌متر تکانده شد. کف سینی، جهت جلوگیری از پرواز سریع حشرات کامل، با محلول آب–گلیسیرین مرطوب می‌شد. تریپس‌های روی سینی با استفاده از قلم‌مو جمع‌آوری و پس از قرار دادن داخل لوله‌های اپندورف حاوی الکل اتیلیک ۷۵ درصد، به آزمایشگاه انتقال داده شد. جهت شناسایی دقیق تریپس‌ها از برخی از آن‌ها اسلاید میکروسکوپی تهیه شد و در نهایت تعداد تریپس‌ها در هر نمونه شمارش و ثبت گردید.

به‌منظور تعیین تعداد نمونه مناسب، ابتدا نمونه‌برداری اولیه انجام شد، سپس با اطلاعات بدست آمده، فاکتور خطای نسبی (RV) تعیین، که این فاکتور دقت نمونه‌برداری را مشخص می‌کند و از معادله (۱) به‌دست آمد:

$$RV = \left(\frac{SE}{M}\right) \times 100 \quad (۱)$$

در این معادله، M: میانگین داده‌ها و SE: خطای معیار داده‌های نمونه‌برداری اولیه است. مقدار RV بنا به نوع کار تحقیقاتی متفاوت است. در پژوهش‌های مربوط به دینامیسم جمعیت و تشکیل جدول زندگی حشرات که نیاز به دقت زیاد دارد مقدار RV کمتر از ۱۰٪ و در مطالعات مربوط به مدیریت آفات و تعیین الگوی توزیع فضایی حشرات مقدار RV تا ۲۵٪ قابل قبول است (Southwood & Henderson, 2000). بعد از محاسبه خطای نسبی، تعداد نمونه مناسب از معادله (۲) به‌دست آمد:

$$N = \left(\frac{T}{D}\right)^2 \times \left(\frac{S}{M}\right)^2 \quad (۲)$$

در این معادله N: تعداد نمونه مناسب، D: حداکثر میزان خطای قابل قبول، T: مقدار جدول استیودنت، M: میانگین داده‌های نمونه برداری اولیه و S: انحراف معیار داده‌های نمونه‌برداری اولیه است. در پایان تعداد ۵۲ بوته لوبیا به‌عنوان تعداد نمونه مناسب تعیین شد.

جهت تعیین نوع توزیع فضایی جمعیت تریپس پیاز، از روش‌های رگرسیونی استفاده شد. در روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو، داده های مربوط به هر تاریخ به‌صورت جداگانه در نظر گرفته شد و واریانس و میانگین هر تاریخ محاسبه گردید. روش رگرسیونی تیلور به‌صورت معادله ۳ محاسبه شد:

$$\log(s^2) = \log(a) + b\log(m) \quad (۳)$$

که در آن S^2 واریانس نمونه‌ها، m میانگین نمونه‌ها در هر تاریخ نمونه‌برداری، b شیب خط رگرسیون و a عرض از مبدا خط رگرسیون است (Taylor, 1984). میانگین و واریانس مربوط به هر تاریخ نمونه‌برداری محاسبه و پس از گرفتن لگاریتم رابطه رگرسیون خطی بین آن‌ها به‌دست آمد. در روش رگرسیونی آیوائو، فرمول رگرسیونی خطی به‌صورت معادله ۴ می‌باشد:

$$m^* = \alpha + \beta m \qquad m^* = m + \left[\left(\frac{s^2}{m}\right) - 1\right] \quad (۴)$$

در این روش برای هر تاریخ نمونه‌برداری به تفکیک، میانگین ازدحام لوید (m^*) محاسبه شد و بین میانگین داده‌های هر تاریخ با m^* محاسبه شده رابطه رگرسیونی به‌دست آمد. سپس خط رگرسیون محاسبه و شیب خط رگرسیون به‌دست آمد. در این معادله S^2 بیانگر واریانس داده‌های حاصل از نمونه‌برداری، β شیب خط رگرسیون و α

محل تلاقی خط رگرسیون با محور y است. برای آگـاهی از معنـی‌دار بودن اختلاف شیب خط رگرسیون محاسبه شده (شاخص b تیلور و β آیوائـو) بـا عـدد یـک، از معادلـه ۵ اسـتفاده شـد (Taylor, 1984 ; Southwood & Henderson, 2000):

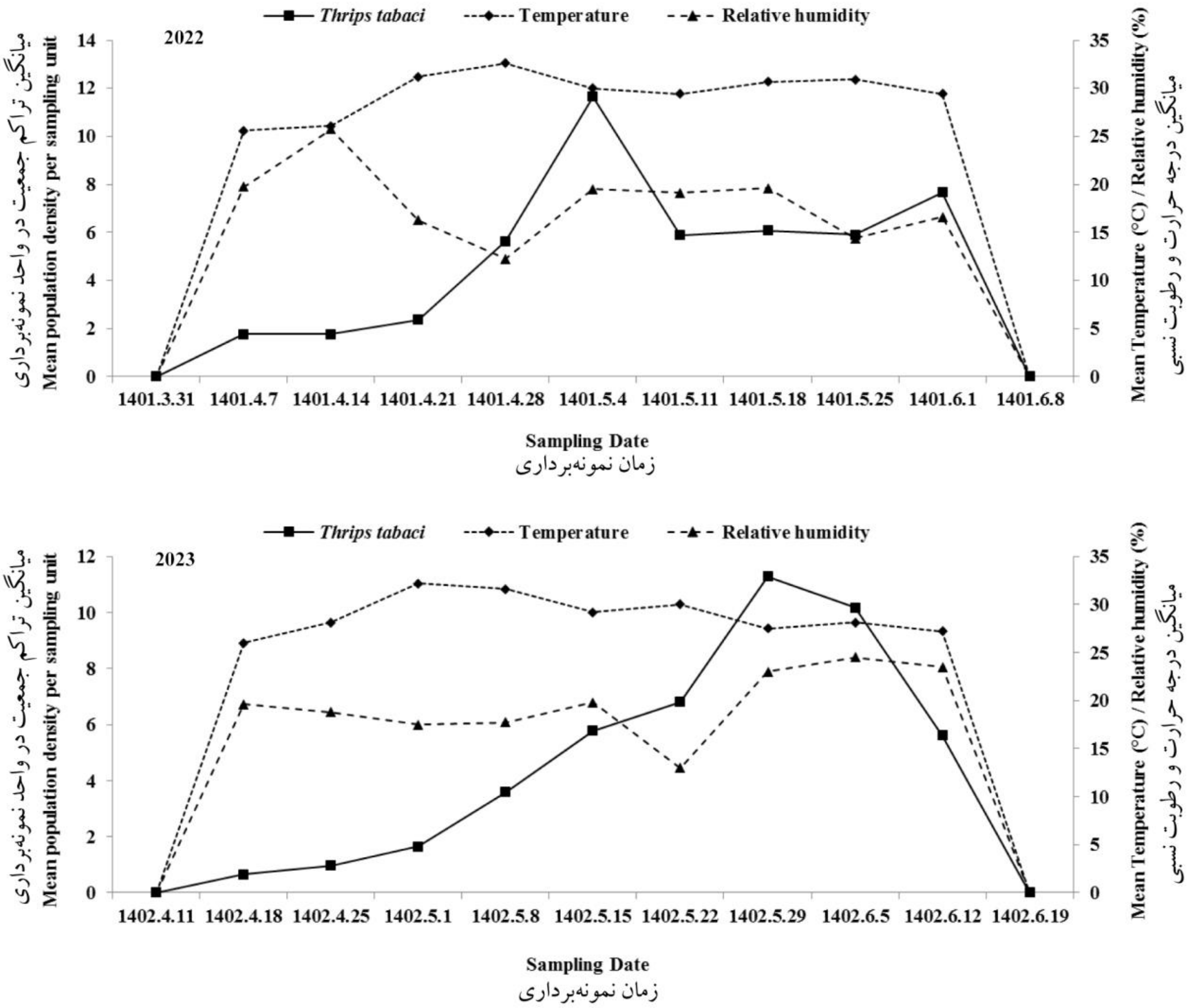
$$t = (Slope - 1)/SE_{Slope} \quad (۵)$$

در نهایت با مقایسه‌ی ضریب تبیین (R^2) بـین روابـط رگرسـیونی قانون توان تیلور و روش آیوائو، نوع مدل مناسب‌تر برای بررسی توزیع فضایی، تعیین گردید.

همچنین برای مرتب کـردن داده‌هـا، رسـم نمودارهـا و محاسـبه توزیـع فضـایی از نـرم‌افزارهـای Excel 2010 و SPSS نسـخه ۲۳ استفاده شد.

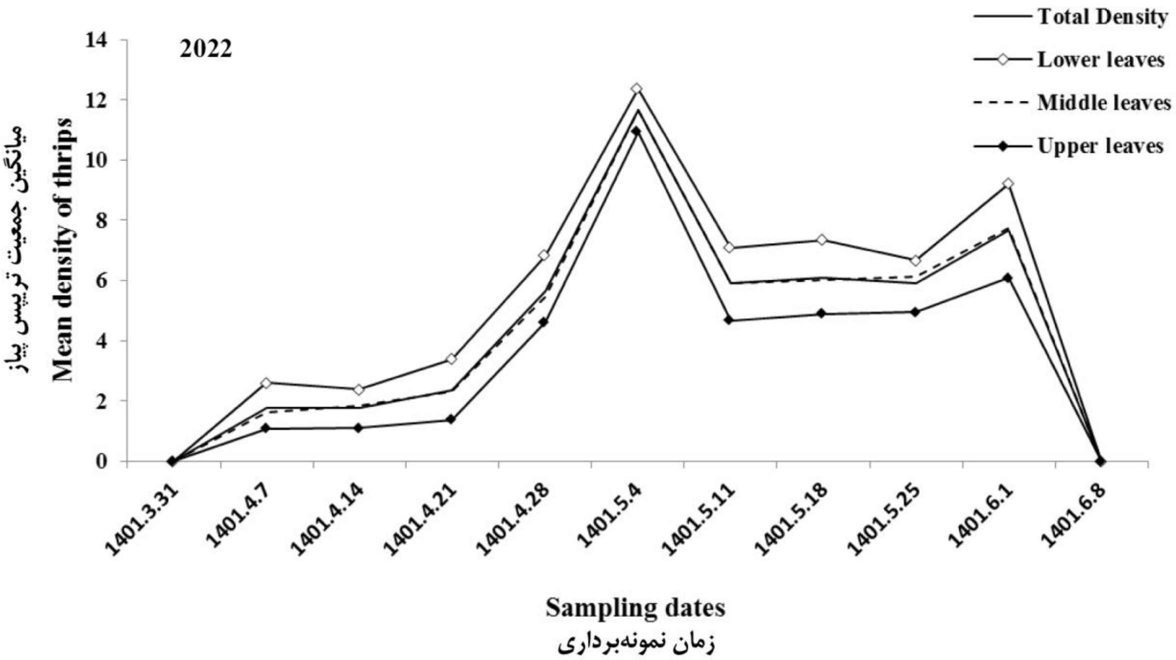
نتایج

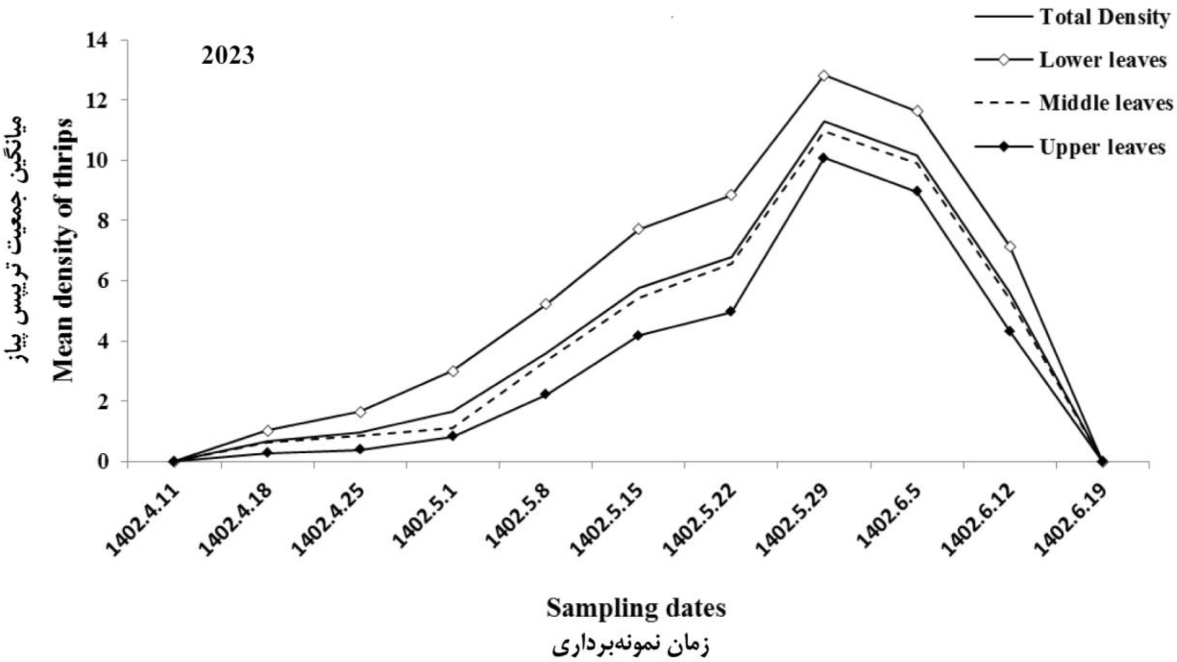
بررسی نوسانات جمعیت تریپس پیاز در مزرعه لوبیا مورد مطالعـه نشان داد که در هر دو سال مورد مطالعه در اوایل فصل رویـش لوبیـا (اوایل تیرماه)، این آفت در مزرعه فعال بوده اسـت. تغییـرات جمعیـت آفت در هر دو سال نشان داد که در ابتدا تعداد تریپس‌ها در مزرعه کم بوده و به تدریج منحنی تغییرات جمعیت سیر صعودی به خود گرفـت تا اینکه در سال ۱۴۰۱، در هفته‌ی اول مرداد ماه و در سـال ۱۴۰۲ در اواخر مرداد ماه، به اوج جمعیتی خود و به‌ترتیب بـا میـانگین (۰/۱۴± ۱۱/۶۵) و (۰/۲۳± ۱۱/۲۹) تریپس در واحد نمونه‌برداری رسید (شکل ۱).



شکل ۱- تغییرات جمعیت تریپس پیاز *T. tabaci* با میانگین درجه حرارت و رطوبت نسبی طی روزهای مختلف نمونه‌برداری، در سال‌های ۱٤۰۱ و ۱٤۰۲

Figure 1- Population fluctuation of *T. tabaci* with the mean temperature and the mean humidity during different days of sampling, in 2022 and 2023 years





شکل ۲- میانگین ± خطای استاندارد جمعیت تریپس پیاز در برگ‌های پایینی، میانی و بالایی لوبیا، طی روزهای مختلف نمونه‌برداری، در سال‌های ۱٤۰۱ و ۱٤۰۲

Figure 2- Mean ± SE of *T. tabaci* population in the lower, middle and upper leaves of bean, during different sampling days in 2022 and 2023 years

در سال ۱۴۰۱، بعد از اوج جمعیتی، منحنی در تاریخ یازدهم مرداد ماه یک سیر نزولی شدید به خود گرفت و از این تاریخ به بعد، منحنی تغییرات جمعیت تقریباً یک روند یکنواخت داشت. هم‌چنین در آخـرین نمونه‌برداری، دوباره جمعیت تریپس پیاز در مزرعه افزایش پیـدا کـرد.

اما در سال ۱۴۰۲، بعد از اوج جمعیتی، منحنی با سیر نزولـی کمتـری ادامه داشت. براساس نمودار تغییرات جمعیت تـریپس پیـاز مـی‌تـوان نتیجه گرفت که در سال ۱۴۰۱، در سه زمان شروع نمونه‌برداری، اوج جمعیتی و پایان نمونه‌برداری و به‌ترتیب در تاریخ‌هـای هفـتم تیرمـاه،

چهار مرداد ماه و اول شهریور ماه، میانگین جمعیت تریپس به‌ترتیب برابر با ۰/۰۸± ۱/۷۶، ۰/۱۴± ۱۱/۶۵ و ۰/۱۵± ۷/۶۷ تریپس در واحد نمونه‌برداری به‌دست آمد و در سال ۱۴۰۲، سه زمان شروع نمونه‌برداری، اوج جمعیتی و پایان نمونه‌برداری و به‌ترتیب در تاریخ‌های هیجدهم تیرماه، بیست و نهم مرداد ماه و دوازدهم شهریور ماه، میانگین جمعیت تریپس به‌ترتیب برابر با ۰/۰۷± ۰/۶۵، ۰/۲۳± ۱۱/۲۹ و ۰/۱۹± ۵/۶۲ تریپس در واحد نمونه‌برداری مشاهده شد (شکل ۱).

نتایج میانگین تعداد تریپس پیاز در برگ‌های پایینی، میانی و بالایی بوته لوبیا در شکل ۲ نشان داده شده است. براساس نتایج به دست آمده در هر دو سال مورد مطالعه و در تمام تاریخ‌ها بیش‌ترین میانگین تعداد تریپس پیاز در برگ‌های پایینی مشاهده شد و برگ‌های میانی نیز تعداد بیشتری تریپس نسبت به برگ‌های بالایی را به خود اختصاص دادند (شکل ۲).

نتایج اطلاعات در مورد الگوی توزیع فضایی حشره از دو روش رگرسیونی تیلور و آیوائو نشان داد که در هر دو روش مورد مطالعه، رگرسیون‌های مربوطه در هر دو سال معنی‌دار بود (P<0.001) و شیب خط رگرسیون محاسبه گردید (جدول ۱). داده‌های مربوط به تریپس پیاز نشان داد که در هر دو روش قانون توان تیلور و آیوائو، t محاسبه شده از t جدول بزرگ‌تر بود که نشانگر اختلاف معنی‌دار شیب خط رگرسیون از یک بود و از آنجا که مقدار شیب خط رگرسیون در تمام موارد از یک کوچک‌تر بود بنابراین توزیع فضایی آفت از نوع یکنواخت تعیین شد. همچنین با توجه به مقدار بالاتر ضریب تبیین در روش آیوائو نسبت به تیلور، می‌توان گفت که در برآورد ضرایب پراکنش جمعیت *T. tabaci*، شاخص آیوائو کارایی بیش‌تری نسبت به شاخص تیلور دارد و بر این اساس توزیع فضایی تریپس پیاز در مزرعه لوبیا شهرستان سنندج از نوع یکنواخت است.

جدول ۱- پارامترهای حاصل از تجزیه‌ی رگرسیونی داده‌های مربوط به تریپس پیاز *T. tabaci* به‌منظور تعیین توزیع فضایی در مزرعه لوبیای شهرستان سنندج، سال ۱۴۰۱

Table 1- Results of regression analysis to determine the spatial distribution of *T. tabaci* in the bean field of Sanandaj county, year 2022

سال Year	نوع رگرسیون Methods	شیب خط رگرسیون ± خطای استاندارد Slope ± SE فاصله اطمینان ۹۵ درصد (95% confidence interval)	ضریب تبیین R^2	t محاسبه شده $t_{calculated}$	f	P_{value}	نوع توزیع فضایی Distribution
2022 ۱۴۰۱	تیلور Taylor's	0.647 ± 0.099 (0.412 – 0.881)	0.858	3.53	42.58	<0.001	یکنواخت Uniform
	آیوائو Iwao's	0.959 ± 0.007 (0.941 – 0.978)	0.999	5.85	15331.18	<0.001	یکنواخت Uniform
2023 ۱۴۰۲	تیلور Taylor's	0.706 ± 0.093 (0.486 – 0.927)	0.891	3.14	57.35	<0.001	یکنواخت Uniform
	آیوائو Iwao's	0.944 ± 0.014 (0.910 – 0.977)	0.998	3.91	4350.62	<0.001	یکنواخت Uniform

بحث

به‌طور کلی تغییرات جمعیت تریپس پیاز در طی دو سال مورد بررسی نشان داد که تراکم جمعیت در اوایل سیر صعودی داشته و سپس در اواخر مرداد ماه روند کاهشی به خود گرفته است که از شرایط این روند می‌توان به عواملی از جمله کاهش کیفیت برگ‌ها و زردی و در نهایت ریزش برگ‌ها در اثر پیری و همچنین کاهش دمای مزرعه در اواخر فصل رشدی اشاره کرد که می‌تواند نقش مهمی در کاهش تولید مثل تریپس پیاز و در نهایت روی جمعیت آن داشته باشد.

شرایط آب و هوایی در مناطق مختلف، تاریخ کشت و همچنین نوع رقم کشت شده بر فعالیت حشرات بخصوص تریپس‌ها مؤثر است (Roozbahani *et al.*, 2016)؛ به‌طوری‌که در استان کردستان فعالیت تریپس پیاز از ۷ مرداد ماه شروع و تا ۱۲ شهریور ادامه دارد ولی در دیگر تحقیقات مشاهده می‌شود که زمان فعالیت متفاوت است. به‌طور مثال، تغییرات جمعیت تریپس پیاز روی ارقام مختلف لوبیا در لهستان حاکی از فعالیت آن از ابتدای ژوئن تا پایان جولای و اوج جمعیت انتهای ژوئن و اوایل جولای بوده است (Pobozniak, 2011).

کاسیانا و همکاران (Kasina *et al.*, 2009) در بررسی توزیع فضایی تریپس گل بر روی لوبیا فرانسوی در کنیا نشان داد که گونه *F. occidentalis* به‌عنوان گونه‌ی غالب این مزارع می‌باشد، همچنین مراحل لارو و بالغ تریپس غربی گل بیش‌ترین تراکم را در برگ‌های پایینی لوبیا نسبت به برگ‌های میانی و بالایی داشتند. در این مطالعه نیز بیش‌ترین تعداد تریپس پیاز در برگ‌های پایین لوبیا به‌دست آمد. از دلایل این تشابه می‌توان چنین گفت که برگ‌های پایین معمولا

نسبت به برگ‌های میانی و بالایی لوبیا مسن‌تر هستند و ممکن است دارای تریکوم‌های بلندتری نسبت به برگ‌های جوان باشند و این کرک‌ها باعث می‌شود که تریپس‌ها در بین آنها به فعالیت بپردازند. همچنین به‌دلیل اینکه برگ‌های پایینی نور کمتری به آنها می‌رسد بنابراین دارای محیط مرطوب‌تر و نور کمتری نسبت به قسمت بالایی بوته است و همین امر باعث می‌شود که فعالیت و در نتیجه جمعیت تریپس پیاز در برگ‌های پایینی بیشتر از برگ‌های میانی و بالایی باشد.

در مطالعه روزبهانی و همکاران (Roozbahani *et al*., 2016) مقاومت ده ژنوتیپ لوبیا قرمز به تریپس پیاز در شرایط مزرعه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها در تاریخ‌های مختلف از نظر تعداد تریپس اختلاف معنی‌داری وجود داشت. براساس میانگین تعداد لارو سن اول و دوم تریپس پیاز از بین ده ژنوتیپ مورد بررسی، ژنوتیپ‌های KS31285 و KS31169 به ترتیب با میانگین ۰/۳۲۳ و ۰/۳۳۱ تریپس/گیاه به‌عنوان ژنوتیپ حساس، KS31288، KS31286، KS31290، KS31292 و KS31287 به‌ترتیب با میانگین ۲۱۰/۰، ۰/۲۰۶، ۰/۲۶۲، ۰/۲۴۱ و ۰/۲۰۸ تریپس/گیاه به‌عنوان ژنوتیپ نیمه حساس و KS31289، KS31291 و گلی به‌ترتیب با میانگین ۰/۱۹۶، ۰/۱۷۹ و ۰/۱۹۱ تریپس/گیاه به‌عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم به این آفت بودند. از آنجا که تحقیق حاضر تغییرات جمعیت و توزیع فضایی تریپس پیاز را روی لوبیا سبز رقم کانیون مورد بررسی قرار داده است لذا با نتایج روزبهانی و همکاران تفاوت دارد.

روئی و همکاران (Rui *et al*., 2016) در بررسی خود نشان دادند که واریته‌های مختلف لوبیای معمولی دارای ترکیبات ضد تغذیه از قبیل فیتیک اسید، لکتین و مهار کننده تریپسین هستند که می‌توانند روی زیست‌شناسی تریپس پیاز تاثیر داشته باشد و با نتایج تحقیق حاضر به‌دلیل جمعیت نسبت پایین تریپس پیاز در هر دو سال مورد مطالعه مشابه می‌باشد.

ارتباط مثبت دما با تراکم جمعیت تریپس‌ها که در این تحقیق نیز مشاهده گردید، در مطالعات دیگری نیز اثبات شده است به‌طوری‌که نتایج تحقیق رمضانی و زندی سوهانی (Ramezani & Zandi Sohani, 2013) نشان داد که ارتباط بین نوسان‌های جمعیتی مراحل بالغ و لاروی دو گونه *Haplothrips tritici* (Kurdjumov) (Phlaeothripidae) و *T. tabaci* با دما، مثبت می‌باشد. میری و همکاران (Miri *et al*., 2017) در تحقیق خود نشان دادند که با افزایش دما، جمعیت تریپس گندم در مزارع گندم شهرستان ایوان (استان ایلام) نیز افزایش یافته است. همچنین اُزیسلی (Özsisli, 2011) نشان داد که بین دما و افزایش جمعیت تریپس گندم همبستگی مثبت و معناداری وجود دارد.

میراب بالو و میری (Mirab-balou & Miri, 2019) تغییرات جمعیت و پراکنش فضایی تریپس پیاز در چین‌های مختلف یونجه را مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که الگوی توزیع فضایی مراحل بالغ به‌صورت تصادفی ولی مجموع مراحل بالغ و نابالغ به صورت تجمعی به‌دست آمد. میری و همکاران (Miri *et al*., 2017) نشان دادند که توزیع فضایی مراحل بالغ تریپس گندم به‌صورت تصادفی می‌باشد اما پراکنش مراحل نابالغ و مجموع بالغ و نابالغ به صورت تجمعی است. همچنین نتایج آن‌ها نشان داد که شاخص آیوائو داده‌های نمونه‌برداری از تریپس گندم را بهتر از مدل تیلور برازش می‌کند. رمضانی و زندی سوهانی (Ramezani & Zandi Sohani, 2013) در بررسی پراکنش فضایی دو گونه تریپس در مزارع گندم شهرستان اهواز نشان دادند که مدل آیوائو برای برآورد پراکنش فضایی هر دو گونه تریپس پیاز (*T. tabaci*) و تریپس گندم (*H. tritici*) مناسب‌تر از مدل تیلور می‌باشد به‌طوری‌که پراکنش لارو و مجموع مراحل هر دو گونه به‌صورت تجمعی اما پراکنش مراحل بالغ به‌صورت تصادفی به‌دست آمد. نتایج تحقیق صدارتیان و همکاران (*Sedaratian et al*., 2013) نشان داد که توزیع فضایی تریپس پیاز روی هفت رقم سویا به همراه یک ژنوتیپ آن با استفاده از توان تیلور، پراکنش آفت روی ارقام Zane، Sahar، Williams و Tellar از نوع تجمعی و روی ارقام Sari و L17 به‌صورت تصادفی به‌دست آمد در حالی‌که توزیع فضایی *T. tabaci* با روش آیوائو روی ارقام Sari، Zane، Williams، Tellar و ژنوتیپ Ks3494 از نوع تجمعی و روی سایر ارقام سویا به‌صورت تصادفی به‌دست آمد. همچنین مهدی زاده و همکاران (Mehdizadeh *et al*., 2008) نشان دادند که توزیع فضایی تریپس پیاز روی خیار با استفاده از شاخص آیوائو به‌صورت تجمعی است. اما در تحقیق حاضر توزیع فضایی تریپس پیاز در مزارع لوبیای شهرستان سنندج از نوع یکنواخت بدست آمد، که نشان‌دهنده آن است که یک حشره و حتی یک گونه از آفت می‌تواند در شرایط متفاوت پراکنش متفاوتی را داشته باشد و می‌توان نتیجه گرفت که آلودگی بوته‌های لوبیا به تریپس پیاز یکنواخت و یکسان بوده است. همچنین شاخص آیوائو کارآیی بیش‌تری نسبت به شاخص تیلور داشت.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که در هر دو سال مورد مطالعه در اوایل فصل رشدی لوبیا (اوایل تیرماه) در مزرعه، جمعیت پایینی از تریپس پیاز فعالیت داشته و طی مراحل رشدی لوبیا، جمعیت آفت در مزرعه افزایش یافته است، به‌طوری‌که بیش‌ترین جمعیت تریپس پیاز در سال ۱۴۰۱، در هفته‌ی اول مرداد ماه و در سال ۱۴۰۲ در اواخر مرداد ماه مشاهده شد. همچنین براساس نمونه‌برداری‌های انجام شده بیش‌ترین میانگین تعداد تریپس پیاز در برگ‌های پایینی

لوبیا نسبت به برگ‌های میانی و بالایی مشاهده شد. در بررسی الگوی پراکنش فضایی با مدل رگرسیونی آیوائو مشخص شد که توزیع فضایی تریپس پیاز به‌صورت یکنواخت است. با توجه به فعالیت و خسارت بالای تریپس پیاز روی محصولات مختلف به‌ویژه روی لوبیا، ضروری است که مطالعات جامع‌تری در مورد ویژگی‌های زیستی این آفت در مناطق و محصولات مختلف استان کردستان صورت گیرد تا بتوان یک برنامه مدیریتی مناسب برای کنترل این آفت در مزارع و باغات ارائه نمود.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد نگارنده اول است و از حمایت مالی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Ahmadi, K., Ebadzadeh, H.R., Hatami, F., Mohammadnia-Afrouzi, SH., Esfandiari Pour, E., & Abbas Taleghani, R. (2021). Agricultural statistics, Volume I: crops. Ministry of Jihade-Agriculture 169 pp. (In Persian)
2. Alabi, O., Odebiyi, J., & Tamo, M. (2004). Effect of host plant resistance in some cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) cultivars on growth and developmental parameters of the flower bud thrips, *Megalurothrips sjostedti* (Trybom). *Crop Protection*, *23*, 83-88. https://doi.org/10.1016/S0261-2194(03)00171-6
3. Ashtari, S. (2021). Evaluating the damage of onion thrips (*Thrips tabaci*) on five cultivars and one genotype of chiti bean in field conditions. *Iranian Journal Pulses Research*, *12*(2), 34-45. (In Persian). https://doi.org/10.22067/IJPR.V12I2.84584
4. Ashtari, S. (2022). Assessing the damage of onion thrips (*Thrips tabaci*) on six cultivars of red bean under field conditions. *Iranian Journal Pulses Research*, *13*(1), 87-98. (In Persian). https://doi.org/10.22067/IJPR.V13I1.2109-1011
5. Bagheri, A., Mahmudi, A.A., & Ghezeli, F. (2001). Common Beans, Research for Crop Improvement. Jihad-e-daneshgahi of Mashhad. 556 pp. (In Persian)
6. Capinera, J.L. (2001). *Handbook of vegetable pests*. 1st ed. 729 pp. Academic press.
7. Dabbagh Mohammadi, A., & Amini, R. (2013). Determination of critical period of weed control in onion variety Ghermez Azarshahr. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, *23*, 43-53. (In Persian)
8. Duff, J., Church, C., Healey, M., & Senior, L. (2014). Thrips incidence in green beans and the degree of damage caused. In *XXIX International Horticultural Congress on Horticulture*: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes (IHC2014) *1105*, 19-26. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1105.3
9. Gill, H.K., Garg, H., Gill, A.K., Gillett-Kaufman, J.L., & Nault, B.A. (2015). Onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) biology, ecology, and management in onion production systems. *Journal of Integrated Pest Management*, *6*(1), 1-7. https://doi.org/10.1093/jipm/pmv006
10. Hazir, A., & Ulusoy, M.R. (2012). Adana ve Mersin illeri şeftali ve nektarin alanlarında saptanan zararlılar ile predatör ve parazitoit türler. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, *3*, 157-168. https://doi.org/10.22124/IPRJ.2017.2592
11. Karimi, A., Yarahmadi, F., & Mohseni Amin, A. (2019). Effects of bean plant density and its different cultivars on population of two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* and onion thrips, *Thrips tabaci* in field condition. *Plant Pests Research*, *9*, 39-48. (In Persian). https://doi.org/10.22124/IPRJ.2019.3622
12. Kasina, M.J., Nderitu, G., Nyamasyo, C., waturu, F., Olubayo, E., & Yobera, D. (2009). Within- plant distribution and seasonal population dynamics of flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) infesting French beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in Kenya. *Spanish Journal of Agricultural Research*, *7*(3), 625-659. https://doi.org/10.5424/sjar/2009073-450
13. Lewis, T. (1973). *Thrips, their biology, ecology and economic importance*. Academic, London, United Kingdom.
14. Mehdizadeh, P., Mossadegh, M.S., & Bagheri, S. (2008). Determining of the best level of cucumber plant and suitable life stage of onion thrips, *Thrips tabaci* Lind. (Thysanoptera: Thripidae) for sampling on under-cover cucumber in Khuzestan province. In: *Proceedings of the 18th Iranian Plant Protection Congress*, 24-27 Aug., University of Bu-Ali Sina, Hamedan, Iran, p. 375. (In Persian)
15. Mirab-balou, M., & Miri, B. (2016). Thrips species (Insecta: Thysanoptera) associated with bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Hamedan province, Iran. *The third congress of the development and promotion of agricultural sciences, natural resources and the environment, Tehran-Iran*, 3 pages.
16. Mirab-balou, M., & Miri, B. (2019). Population fluctuations and spatial distribution of onion thrips (*Thrips tabaci*) in different cuttings of Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Journal of Applied Researches in Plant Protection*, *8*(2), 101–110. (In Persian)
17. Miri, B., Moeini-Naghadeh, N., & Mirab-balou, M. (2017). Population fluctuations and spatial distribution of wheat thrips (*Haplothrips tritici*) in wheat fields of Eyvan city (Ilam Province). *Plant Pest Research*, *7*(3), 67–76. (In Persian)

18. Nderitu, J.H., Wambua, E.M., Olubayo, F.M., Kasina, J.M., & Waturu, C.M. (2001). Management of thrips (Thysanoptera: Thripidae) infestation on French beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in Kenya by combination of insecticides and varietal resistance. *Journal of Entomology*, *4*(6), 469-473.
19. Nyasani, J., Meyhöfer, R., Subramanian, S., & Poehling, H.M. (2012). Effect of intercrops on thrips species composition and population abundance on French beans in Kenya. *Entomologia experimentalis et applicata*, *142*(3), 236-246. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2011.01217.x
20. Özsisli, T. (2011). Population densities of wheat thrips, *Haplothrips tritici* Kurdjumov (Thysanoptera: Phlaeothripidae), on different wheat and barley cultivars in the province of Kahramanmaras, Turkey. *African Journal of Biotechnology*, *10*(36), 7063–7070. https://doi.org/10.5897/AJB11.090
21. Parsa, M., & Bagheri, A.R. (2008). *Pulses*. Publications University of Mashhad., 524 pp. (In Persian)
22. Patel, N.V., Pathak, D.M., Joshiand, N.S., & Siddhapara, M.R. (2013). Biology of onion thrips, *Thrips tabaci* L. (Thysanoptera: Thripidae) on onion *Allium cepa* (L.). *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences, Section B: Biological Sciences*, *3*(1), 370–377.
23. Patil, G.P., & Stiteler, W.M. (1974). Concepts of aggregation and their quantification: A critical review with some new result and applications. *Research of Population Ecology*, *15*, 238-254. https://doi.org/10.1007/BF02510670
24. Pobozniak, M. (2011). The occurrence of thrips (Thysanoptera) on food legumes (Fabaceae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, *118*(5), 185-193. https://doi.org/10.1007/BF03356402
25. Pobozniak, M., & Koschier, E. (2014). Effects of pea (*Pisum sativum* L.) cultivars on *Thrips tabaci* Lindman preference and performance. *The Journal of Agricultural Science*, *152*(6), 885–893. https://doi.org/10.1017/S0021859613000518
26. Ramezani, L., & Zandi Sohani, N. (2013). Population dynamics and spatial distribution of important Thysanoptera species on Wheat. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, *44*(2), 283–290. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijpps.2014.36677
27. Roozbahani, M., Shakarami, J., Mohiseni, A., Kushki, M., & Jafari, S. (2016). Resistance of ten red common bean (*Phseolus vulgaris*) genotypes to Onion thrips (*Thrips tabaci*) under field conditions. *Plant Pest Research*, *6*, 1-10. (In Persian)
28. Rui, S., Hua, W., Rui, G., Qin, L., Lei, P., Jianan, L., Zhihui, H., & Chanyou, C. (2016). The diversity of four anti-nutritional factors in common bean. *Horticultural Plant Journal*, *2*(2), 97-104.
29. Saeedi, Z., & Rezvani, A. (2001). Survey fauna of bean thrips and economic importance of dominant species on local bean varieties in Lordegan city. *Centre of Agricultural Scientific Information and Documentation*, *11*, 49-78. (In Persian)
30. Seal, R., & Stansly, P.A. (2000). Seasonal abundance and within plant distribution of melon thrips (Thysanoptera: Thripidae) on beans in southern Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, *113*, 201-205.
31. Sedaratian, A.A., Fathipour, Y., Talebi, A.A., & Farahani, S. (2010). Population density and spatial distribution pattern of Thrips tabaci (Thysanoptera: Thripidae) on different soybean varieties. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *12*(3), 275-288. (In Persian with English abstract). https://doi.org/20.1001.1.16807073.2010.12.3.12.2
32. Shoeibi, M., Shayanmehr, M., & Modarres Najafabadi, S.S. (2016). Identification and introduction to Thysanoptera from bean fields in some regions of Markazi province. *Journal of Plant Protection*, *30*(1), 151-163. (In Persian). https://doi.org/20.1001.1.20084749.1395.30.1.17.7
33. Southwood, T., & Henderson, P. (2000). *Ecological methods third edition*. Blackwell Publ Ltd, 278: 674.
34. Stevensoni, Ph. C., Dhillon, M.K., Sharma, H.C., & El Bouhssini, M. (2007). Insect pests of lentil and their management. In: Yadav, Sh.S., McNeil, D., Stevenson, Ph.C., (eds). *Lentil: An Ancient Crop for Modern Times*. Publisher: Springer Nature pp. 331–348.
35. Taylor, L. (1984). Assessing and interpreting the spatial distributions of insect populations. *Annual Review of Entomology*, *29*, 321-357.
36. Trdan, S. (2003). The occurrence of thrips species from the Terebrantia suborder on cultivated plants in Slovenia. *Zbornik Biotehniłke fakultete Univerze v Ljubljani*, *81*(1), 57–64.
37. van Rijn, P.C., Mollema, J.C., & Stenhuis-Broers, G.M. (1995). Comparative life history studies of *Frankliniella occidentalis* and *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) on cucumber. *Bulletin of Entomological Research*, *85*(02), 285–297. https://doi.org/10.1017/S0007485300034386

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 2, 2024, p. 117-127

Factors Affecting the Resistance of Trees Against *Microcerotermes diversus* Silvestri Termite Damage

L. Poursartip[1*], K. Saadat Vafa[2]

1 and 2- Assistant Professor and Former M.Sc Student, Department of Cellulose Industry Engineering, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: poursartip@bktu.ac.ir)

Received: 24-01-2024
Revised: 06-04-2024
Accepted: 01-05-2024
Available Online: 21-07-2024

How to cite this article:
Poursartip, L., & Saadat Vafa, K. (2024). Factors affecting the resistance of trees against *Microcerotermes diversus* Silvestri termite damage. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *38*(2), 117-127. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86542.1176

Introduction

As a very important and widely used construction material, wood is easily decomposed by biological agents such as bacteria, fungi and termites. However, some wood species are more resistant to these destructive factors, while others are very susceptible to destruction. The aim of this study was to investigate the effective factors on the resistance of the wood of four species of poplar, maple, chinaberry and Cypress against the attacks of the subterranean termite *Microcerotermes diversus* Silvestri. Since the tropical provinces of Iran, including Khuzestan, are among the regions where different species of termites are considered as the main factors in the destruction of lignocellulosic materials, therefore, knowing resistant woods, which in their natural and untreated state can have high durability compared to the attacks of this insect can help to choose better wood for making wooden products and structures.

Materials and Methods

To check the natural durability of the four mentioned species, first, wooden samples were selected and cut from healthy trunks without visible defects. Then, with the aim of collecting termites to conduct selective and non-selective feeding tests, an abandoned palm grove was considered in Dodangeh village, located 20 km from Behbahan city, and then beech wood with dimensions of 2.5 x 4 x 20 cm were planted in the soil as bait for two weeks. After this period of time, the bait sticks were removed from the soil and transferred to the laboratory. Then, the cut wood was subjected to *M. diversus* termite infestation according to AWPA-EI:06 2008 standard obtained from baits. After the desired period of time, the chemical and physical properties of wood such as the percentage of extractive materials, specific gravity, lignin and cellulose content of each species were calculated according to the standard.

Results and Discussion

The results showed that the percentage of extractive substances in maple species has a significant difference compared to other species and is lower than other species, while the highest amount of extractive substances is related to Cypress. Among the investigated species, cypress exhibited the highest lignin content, while poplar displayed the lowest. Notably, both cypress and poplar significantly differed in lignin content compared to the other

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86542.1176

two species. Cellulose analysis revealed a significantly higher percentage in spruce compared to all other species ($p < 0.05$). Conversely, no significant differences in cellulose content were observed between the remaining three species. The lowest amount of specific mass belongs to spruce and the highest It belongs to the maple species. This difference is significant at the 95% level. The results of selective, non-selective and field tests of termite feeding on wooden samples are shown in figure number five. The results show that Cypress and chinaberry samples showed the lowest percentage of weight loss and poplar and maple samples showed the highest weight loss.

Conclusion

What increases the natural durability of wood species against termite attacks and other destructive factors are wood anatomy, wood density, lignin and cellulose content, moisture content, and the composition of extractive materials in the wood. Examining the extractives of the researched species, it can be seen that maple has the lowest percentage of extractives and Cypress has the highest amount, and this problem can have a serious effect on the intensity of termite attacks. Extractive substances play a critical role in enhancing wood's natural resistance to destructive agents, particularly insects. Their significance is evident in certain durable wood species. Removing these extractives renders the wood susceptible to decay. Furthermore, the weight loss observed in both selective and non-selective decay tests, along with field trials, demonstrates a clear correlation with the content of lignin and cellulose in the wood. By increasing the percentage of lignin, the desirability of wood for termites decreases, and on the other hand, with the addition of cellulose percentage, the desirability of the species for termites increases. Lignin is a polymer that, as the second component of wood after cellulose, plays an important role in wood, and due to its phenolic groups, it is considered a toxic substance for destructive agents and has repellent properties. When lignin coats the cell wall, it forms a more impermeable matrix, making the cellulose less accessible and making the wood more resistant to biodegradation. In this research, the highest amount of lignin belongs to Cypress and the lowest amount belongs to poplar, and a significant difference between the amount of lignin in these two species is observed. Physical characteristics such as specific mass is also considered as determining factors of durability against termite attacks, and species with lower and lighter specific mass are more likely to be attacked by termites. According to the obtained results, poplar is different from other species in terms of specific gravity and is considered a lighter species, and this issue, along with the high percentage of cellulose, which is the material preferred by termites, can increase the vulnerability of this species. Based on the obtained results, the effect of factors such as chemical composition and physical characteristics of the studied species on the intensity of subterranean termite attacks *M. diversus* and according to the mentioned parameters, Cypress species was the most resistant and poplar was the weakest species to the attack of this termite species.

Keywords: Biological degradation, Cellulose, Density, Lignin

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸ شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، ص. ۱۲۷-۱۱۷

عوامل مؤثر بر میزان مقاومت چوب‌های درختان در برابر خسارت موریانه *Microcerotermes diversus* Silvestri

لادن پورسرتیپ[1*]- کوروش سعادت وفا[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۲

چکیده

هدف از انجام این مطالعه بررسی عوامل مؤثر بر مقاومت چوب چهار گونه صنوبر، افرا، زیتون تلخ و سرو شیراز در برابر حملات موریانه زیرزمینی *Microcerotermes diversus* Silvestri بود. بدین منظور ابتدا نمونه‌های چوبی از تنه‌های سالم و بدون عیوب ظاهری انتخاب و برش داده شدند و مطابق استاندارد AWPA-EI:06 2008، طی آزمون‌های تغذیه‌ای انتخابی و غیرانتخابی و میدانی، در معرض هجوم موریانه *M. diversus* گرفتند. خصوصیات شیمیایی و فیزیکی چوب مانند درصد مواد استخراجی، دانسیته، میزان لیگنین و سلولز هر کدام از گونه‌ها طبق استاندارد محاسبه شد. از چهار گونه چوبی مذکور، بالاترین درصد مواد استخراجی و لیگنین متعلق به چوب سرو شیراز و بالاترین درصد سلولز و کمترین میزان دانسیته و لیگنین متعلق به چوب صنوبر بود. نتایج انجام آزمون‌های تغذیه‌ای انتخابی، غیر انتخابی و صحرایی نشان داد که بیشترین درصد کاهش وزن پس از حمله موریانه متعلق به گونه صنوبر و کمترین آن متعلق به گونه سرو شیراز است. نتایج همبستگی بین درصد کاهش وزن در اثر تغذیه موریانه و فاکتورهای شیمیایی و فیزیکی چوب در هر سه آزمون تغذیه‌ای نشان داد که بیشترین ارتباط بین درصد لیگنین و مواد استخراجی گونه‌ها با پتانسیل آنها جهت مطلوبیت آنها برای موریانه وجود دارد. این ارتباط در سطح ۹۹ درصد معنادار بود. طبق نتایج بدست آمده می‌توان گفت چوب‌های مختلف به‌دلیل داشتن ترکیبات متفاوت، مطلوبیت مختلفی را به‌عنوان غذا برای موریانه دارند. بالاتر بودن میزان سلولز و کم بودن میزان لیگنین، مواد استخراجی و همچنین دانسیته از عوامل مهم اثرگذار بر میزان تمایل موریانه برای مصرف چوب به شمار می‌روند.

واژه‌های کلیدی: تخریب بیولوژیک، دانسیته، سلولز، لیگنین

مقدمه

چوب به‌عنوان یک ماده ساختمانی بسیار مهم و پرکاربرد، به آسانی توسط عوامل مخرب بیولوژیکی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و موریانه‌ها تجزیه می‌شود با این حال، برخی از گونه‌های چوبی در برابر این عوامل مخرب مقاوم‌تر هستند در حالی‌که برخی دیگر بسیار مستعد تخریب می‌باشند. با توجه به نقش مهم این ماده در زندگی روزمره، استفاده از چوب‌های کم‌دوام تیمار نشده که به راحتی مورد هجوم آفات گوناگون قرار گرفته و تخریب می‌شوند هزینه‌های زیادی را به دنبال دارد، لذا شناسایی و استفاده از گونه‌های با دوام طبیعی بالا می‌تواند در طولانی مدت از نظر اقتصادی به‌صرفه باشد. عوامل مخربی مانند حشرات چوبخوار و قارچ‌های عامل پوسیدگی، از مهم ترین عوامل تأثیرگذار در تخریب و کاهش کیفیت چوب به‌شمار می‌روند و در بین حشرات چوبخوار، موریانه‌ها مهمترین نقش را دارند (Owoyemi *et al*., 2013). تحقیقات زیادی روی انواع مختلفی از موریانه‌ها صورت گرفته است و نتیجه این تحقیقات نشان می‌دهد موریانه‌ها عمدتاً در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری زندگی می کنند. این حشرات عمدتاً از بسترهای لیگنوسلولزی گیاهان تغذیه می

---

۱ و ۲- به‌ترتیب استادیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه مهندسی صنایع سلولزی، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء (ص) بهبهان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: lpoursartip@yahoo.com)
https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86542.1176

کنند و در میان خدمات اکوسیستمی که ارائه می‌کنند، نقش قاطع آنها در چرخه مواد مغذی و تشکیل خاک در جنگل بسیار پررنگ است (Wu *et al.*, 2021). حبیب پور (Habibpour, 1994) طی مطالعه ای، گونه‌های مختلف موریانه را در استان خوزستان شناسایی و اعلام کرد که در بین انواع آنها گونه *Microcerotermes diversus* در تمام شهرهای استان انتشار دارد و از آنجایی‌که این گونه به گیاهان چوبی سرپا و چوب آلات موجود در منازل حمله می‌کند، از گونه‌های بسیار مهاجم به شمارمی‌رود چرا که دامنه تهاجمی وسیعی دارد. با توجه به اینکه مواد لیگنوسلولزی به راحتی توسط موریانه‌ها مورد حمله قرار می‌گیرند و موجب خسارت‌های فراوانی می‌شوند، بنابراین در مناطق موریانه خیز جنوب کشور، شناسایی گونه‌های چوبی مقاوم در برابر موریانه‌ها اهمیت زیادی دارد. منبع اصلی تغذیه موریانه‌ها سلولز است و با توجه به استفاده گسترده از مواد لیگنوسلولزی مانند چوب، کاغذ و سایر فرآورده‌های مشابه در زندگی روزمره، خطر هجوم این حشرات همواره وجود دارد. عواملی مانند ترکیبات شیمیایی و ویژگی‌های فیزیکی ماده لیگنوسلولزی مانند میزان مواد استخراجی موجود در چوب، دانسیته بالای چوب و نیز بالا بودن محتوای لیگنین می‌توانند آنرا نسبت به حملات عوامل مخرب مختلف مانند موریانه‌ها و در نتیجه تخریب بیولوژیکی مقاوم‌تر کنند (Owoyemi *et al.*, 2013). مواد استخراجی اجزای غیرساختمانی چوب به شمار می‌آیند و در برخی گونه‌ها با افزایش سن درخت و تشکیل چوب درون، تولید آنها در سلول‌های پارانشیم افزایش می‌یابد. در مطالعه‌ای که درباره اثر موریانه *Reticulitermes speratus* روی چوب درون درخت ساج (*Tectona grandis*) انجام شد اثر مواد استخراجی بازدارنده در تغذیه به وضوح نشان داده شد (Ismayati *et al.*, 2016).

نتایج تحقیقات گوناگون نشان می‌دهد که علاوه بر مواد استخراجی، لیگنین یکی دیگر از ترکیبات چوب به‌عنوان عامل بازدارنده در حمله عوامل مخرب بیولوژیک می‌باشد. نتایج مطالعه (Rowell *et al.*, 2010) نشان داد که الوارهایی با میزان لیگنین کمتر از ۲۳ درصد نسبت به حملات موریانه آسیب‌پذیرتر هستند. در تحقیقی که به بررسی ارتباط بین تخریب توسط موریانه و ویژگی‌های چوب انجام شد، مشخص شد که درصد کاهش وزن بیشترین ارتباط را با درصد لیگنین موجود در چوب دارد و وجود مقادیر بالاتر لیگنین تمایل موریانه را به مصرف چوب کاهش می‌دهد (Soleyman Nezhadian, 1991).

علاوه بر ترکیبات شیمیایی چوب، ویژگی‌های فیزیکی آن نیز در تعیین میزان تخریب آن توسط عوامل مخرب مؤثرند. در تحقیقی که توسط (Owoyemi *et al.*, 2013) روی ۱۰ گونه آفریقایی در نیجریه انجام شد مشخص شد که گونه‌هایی با دانسیته کمتر و سبک‌تر بیشتر مورد هجوم موریانه‌ها قرار می‌گیرند. بنابراین می‌توان گفت عوامل مختلفی زمینه‌ساز حفاظت طبیعی چوب در برابر حملات عوامل مخربی همچون موریانه‌ها هستند.

هدف این تحقیق بررسی عوامل مؤثر بر میزان تمایل موریانه *M. diversus* به مصرف چوب‌های صنوبر، افرا، زیتون تلخ و سرو شیراز با انجام آزمون‌های تغذیه‌ای انتخابی و غیرانتخابی و میدانی و شناسایی مقاوم‌ترین چوب بین این چهار گونه، نسبت به تخریب موریانه بود. علت انتخاب این گونه‌ها مقایسه عوامل مؤثر بر دوام گونه‌های مختلف پهن‌برگ و سوزنی‌برگ نسبت به حمله موریانه در شرایط آزمایشگاهی یکسان می‌باشد. هر کدام از گونه‌های مذکور دارای ویژگی‌هایی هستند که مطالعه میزان مقاومت آنها نسبت به حملات موریانه و مقایسه آنها با هم می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. صنوبر و افرا به‌عنوان گونه‌های مهم صنعتی کشور ایران و زیتون تلخ به‌عنوان چوبی که از دیرباز به‌عنوان یک چوب مقاوم نسبت به هجوم حشراتی مانند موریانه شهرت داشته است و همچنین سرو که به‌دلیل کیفیت بالای چوب و نیز تحمل شرایط اقلیمی سخت و نامساعد، گونه‌ای قابل توجه به‌ویژه در ساخت سقف و ستون منازل روستایی می‌باشد، گزینه‌های مناسبی برای مطالعات حفاظتی به شمار می‌روند. از سوی دیگر این مطالعه بخشی از تحقیق جامعی است که در آن به مطالعه ویژگی‌های مختلف تعدادی از چوب‌های صنعتی و کاغذهای ساخته شده از آنها می‌پرداخت و مطالعه ارزیابی دوام گونه‌های مذکور در برابر حملات موریانه، برای تکمیل اطلاعات، در کنار سایر مطالعات ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

در راستای طرح بررسی ویژگی‌های گوناگون فیزیکی، شیمیایی و همچنین دوام طبیعی تعدادی از گونه‌های چوبی که در صنایع لیگنوسلولزی کاربرد دارند، دو اصله درخت سالم و بدون عیوب ظاهری و آثار صدمات مکانیکی و خسارت حشرات به‌طور تصادفی از سه گونه پهن‌برگ صنوبر (*Populus alba*)، افرا (*Acer velutinum*) و زیتون تلخ (*Melia azedarach*) و یک گونه سوزنی‌برگ سرو شیراز (*Cupressus sempervirens* var. stricta) انتخاب و قطع شدند. هر کدام از گونه‌های مذکور دارای ویژگی‌هایی هستند که مطالعه میزان مقاومت آنها نسبت به حملات موریانه و مقایسه آنها با هم می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. برای جمع‌آوری موریانه‌ها، طعمه هایی از چوب راش با ابعاد ۲/۵×۴×۲۰ به‌مدت دو ماه درون خاک یک نخلستان متروکه در ۲۰ کیلومتری شهرستان بهبهان به مشخصات "۵۹ '۵۶ °۳۰ شمالی و"۲۰ '۲۱ °۵۰ شرقی کاشته شدند. پس از طی این مدت زمان و خروج چوب‌های طعمه از خاک، موریانه‌های بدست آمده درون پتری‌دیش‌های پوشانده شده با کاغذ صافی مرطوب قرار گرفتند. سپس به‌منظور رفع تنش از موریانه‌ها، این ظروف در انکوباتور تاریک در دمای ۲±۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۷۸ درصد

نگهداری شدند.

اندازه‌گیری دانسیته و ترکیبات شیمیایی چوب

میزان دانسیته و ترکیبات شیمیایی دیواره سلولی شامل سلولز، لیگنین و مواد استخراجی در هر گونه به‌منظور بررسی ارتباط آنها با میزان مطلوبیت چوب برای موریانه، به‌صورت جداگانه اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری مقدار سلولز و میزان لیگنین به‌ترتیب طبق استاندارد T 264cm-88 آیین‌نامه TAPPI و استاندارد T 222cm-88 آیین‌نامه TAPPI انجام گرفت. اندازه‌گیری درصد مواد استخراجی محلول در الکل- استن نیز مطابق با استاندارد شماره T 204om-88 آیین‌نامه TAPPI انجام گردید (TAPPI, 2003).

برای اندازه‌گیری دانسیته خشک از استاندارد ISO-3131 استفاده شد و نمونه‌ها مطابق دستورالعمل آماده‌سازی و ارزیابی شدند. در این تحقیق جهت بررسی مطلوبیت چوب‌ها برای موریانه از دو روش آزمونی انتخابی و غیرانتخابی در محیط آزمایشگاه و آزمون صحرایی در عرصه استفاده شد.

آزمون انتخابی و غیر انتخابی تغذیه موریانه

این دو آزمون در شرایط آزمایشگاهی و کاملا کنترل شده طبق استاندارد AWPA-EI:06 2008 انجام شد. بدین منظور برای آزمون انتخابی، نمونه‌های ۵×۲۵×۲۵ میلی‌متر تهیه و قبل از انجام آزمون وزن خشک نمونه‌ها پس از قرار دادن آنها داخل آون ۲±۱۰۳ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت، اندازه‌گیری شد.

سپس نمونه‌های تهیه شده در شش تکرار از هر چهار گونه در فواصل مساوی و اطراف مرکز یک ظرف دربدار پلاستیکی به قطر ۲۰ سانتی‌متر، بر روی یک بستر مرطوب حاوی یک لایه شن و خاک ورمیکولیت به نسبت دو به یک و به میزان ۲۰۰ گرم درون قرار داده شدند. برای شروع آزمایش بستر با ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر مرطوب و برای هر واحد آزمایشی تعداد ۴۰۰ عدد موریانه کارگر فعال و سالم درون لوله استوانه‌ای به قطر ۵ سانتی‌متر رها شد. واحدهای آزمایشی به‌مدت ۲۱ روز در درون یک انکوباتور آزمایشگاهی در دمای ۲±۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۸ درصد و در شرایط کاملاً تاریک نگهداری شدند. در پایان آزمایش، نمونه‌ها از خاک خارج و پس از تمیز کردن با قلم مو در آون ±۱۰۳ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و وزن خشک آنها محاسبه گردید. برای انجام آزمایش‌های غیرانتخابی، نمونه‌های آزمونی از گونه‌های مذکور با ابعاد مشابه آنچه در آزمون انتخابی توضیح داده شد در شش تکرار تهیه و هر یک از نمونه‌ها به تنهایی بر روی بستر مرطوب متشکل از شن و خاک ورمیکولیت به نسبت دو به یک قرار داده شدند. به هر واحد آزمایشی تعداد ۱۰۰ موریانه کارگر فعال و سالم سن آخر اضافه و در شرایط دمای ۲±۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۸ درصد به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. مراحل خشک کردن توزین و محاسبه کاهش وزن مطابق آزمون انتخابی انجام شد (Ekhtelat, 2009).

$$WL=(wp-wa)/wp\times100$$

WL: درصد کاهش وزن، wp: وزن نمونه پس از خشک شدن در آون قبل از آزمون (بر حسب گرم)، wa: وزن نمونه بعد خشک شدن در آون پس از آزمون (بر حسب گرم)

آزمون صحرایی

برای بررسی اثر حملات موریانه‌ها در شرایط طبیعی محیط و به دور از شرایط کنترل شده آزمایشگاهی، آزمون صحرایی انجام شد. آزمون‌های صحرایی به مطالعات آزمایشگاهی ترجیح داده می‌شوند، زیرا اجازه می‌دهند تا اثرات تجمعی انواع عوامل زوال غیرزیستی و زیستی مورد ارزیابی قرار گیرند (Peralta *et al.*, 2003). آزمون‌های صحرایی همچنین داده‌های قابل اعتمادی را در مورد مقاومت طبیعی چوب ارائه می‌دهند. بدین منظور نمونه‌هایی به ابعاد ۲۰×۲۰×۲۵ سانتی‌متر در شش تکرار تهیه و پس از تعیین وزن خشک، به‌مدت یک ماه به‌طور تصادفی در زمین نخلستان متروکه آلوده به موریانه که در طی مطالعات اولیه قبلاً شناسایی شده بود کاشته شدند و پس از سپری شدن این مدت زمان نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و پس از به دست آوردن وزن خشک آنها درصد کاهش وزن برای تک تک قطعات آزمایشی براساس استاندارد ASTM (2003) D1413 تعیین شد. تمامی داده‌های اندازه‌گیری شده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس در قالب طرح کاملا تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. گروه‌بندی میانگین مقادیر آزمایش شده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) برای ارزیابی تفاوت‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

درصد مواد استخراجی نمونه‌های چوبی

شکل ۱ میانگین درصد مواد استخراجی محلول در الکل- استن چهار گونه افرا، صنوبر، زیتون تلخ و سرو شیراز را مشخص می‌کند. نتایج نشان داد که درصد مواد استخراجی در گونه افرا نسبت به سایر گونه‌ها اختلاف معنادار دارد و کمتر از سایر گونه‌هاست در حالی‌که بالاترین میزان ماده استخراجی مربوط به سرو شیراز است ($P<0.05$).

درصد لیگنین نمونه‌های چوبی

شکل ۲ مقدار درصد لیگنین در هرگونه را مشخص می‌کند. با توجه به شکل مشخص است که بیشترین میزان لیگنین مربوط به

گونه سرو شیراز است و کمترین میزان لیگنین مربوط به گونه صنوبر. هر دو گونه از نظر محتوای لیگنین با دو گونه دیگر اختلاف معنادار دارند، (P<0.05).

درصد سلولز نمونه‌های چوبی

در شکل ۳ میانگین درصد سلولز چهار گونه افرا، صنوبر، زیتون تلخ و سرو شیراز را می‌توان دید. نتایج نشان می‌دهد که صنوبر از لحاظ درصد بالاتر سلولز با سایر گونه‌ها در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنادار دارد، درحالی‌که بین سایر گونه‌ها اختلاف معناداری مشاهده نمی‌شود، (P<0.05).

دانسیته نمونه‌های چوبی

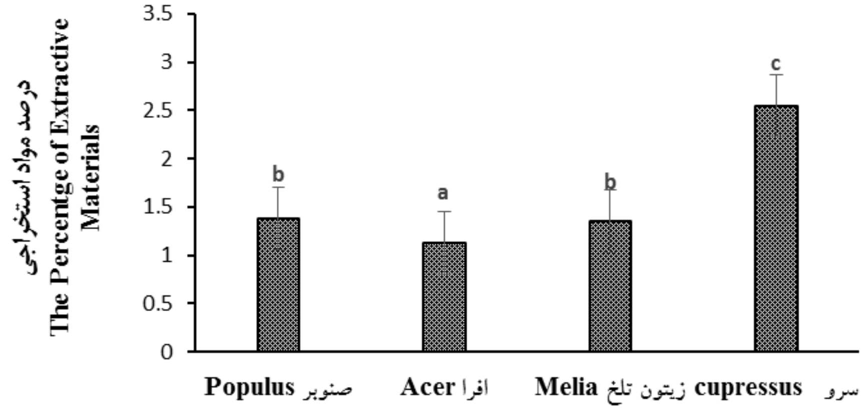
با توجه به شکل ۴ مشخص است که کمترین میزان دانسیته متعلق به صنوبر و بیشترین آن متعلق به گونه افرا است. این اختلاف در سطح ۹۵ درصد معنادار است (P<0.05).

مقایسه میزان درصد کاهش وزن در نمونه‌های چوبی در آزمون غیر انتخابی

نتایج حاصل از آزمون غیر انتخابی تغذیه موریانه از نمونه‌های چوبی در شکل ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که نمونه‌های سرو شیراز و زیتون تلخ کمترین درصد کاهش وزن و نمونه‌های صنوبر و افرا بیشترین کاهش وزن را نشان داده‌اند. بین این دو دسته اختلاف معنادار در سطح ۹۵ درصد دیده می‌شود (P<0.05).

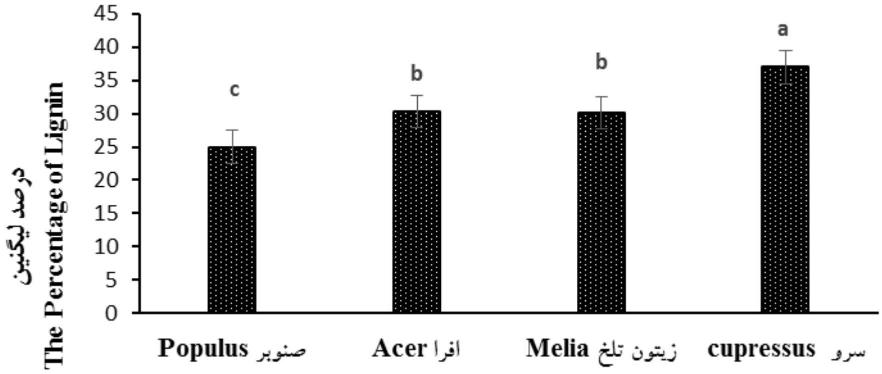
مقایسه میزان درصد کاهش وزن در نمونه‌های چوبی در آزمون انتخابی

شکل ۶ میزان درصد کاهش وزن را در آزمون انتخابی نشان می‌دهد. بیشترین میزان درصد کاهش وزن متعلق به دو گونه صنوبر و افرا است. اختلاف معناداری بین آنها و دو گونه سرو شیراز و زیتون تلخ در سطح ۹۵ وجود دارد (P<0.05).



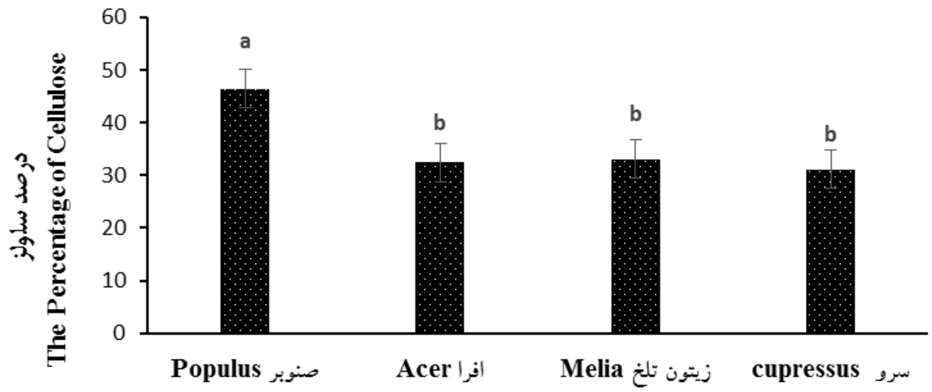
شکل ۱- میانگین درصد مواد استخراجی گونه‌های صنوبر، افرا، زیتون تلخ و سرو شیراز

Figure 1- The Percentage of extractive materials of *P. alba*, *A. velutinum*, *M. azedarach* & *C. sempervirens*

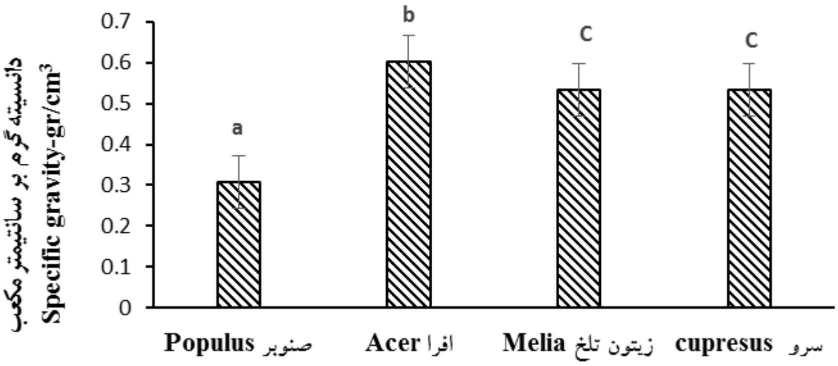


شکل ۲- مقدار درصد لیگنین گونه‌های صنوبر، افرا، زیتون تلخ و سرو شیراز

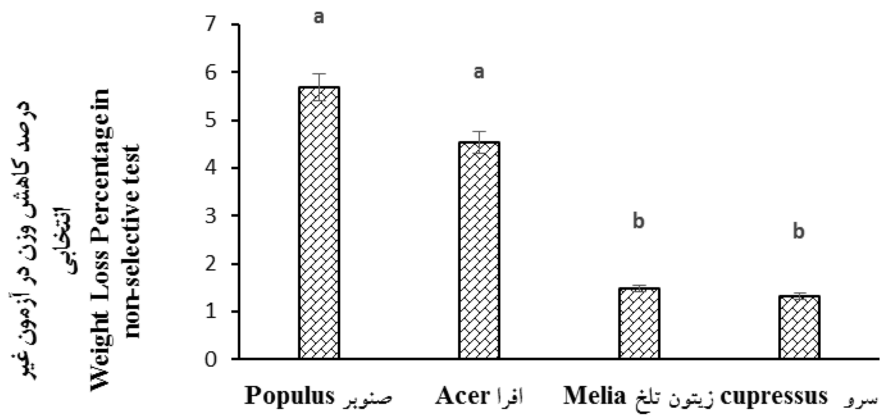
Figure 2- The percentage of lignin in the species of *P. alba*, *A. velutinum*, *M. azedarach* and *C. sempervirens*



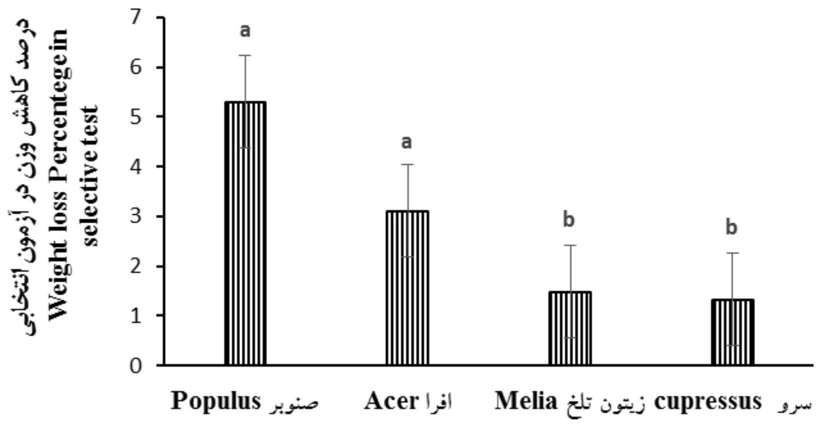
شکل ۳- مقدار درصد سلولز گونه‌های صنوبر، افرا، زیتون تلخ و سرو شیراز
Figure 3- The percentage of cellulose in the species of *P. alba*, *A. velutinum*, *M. azedarach* and *C. sempervirens*



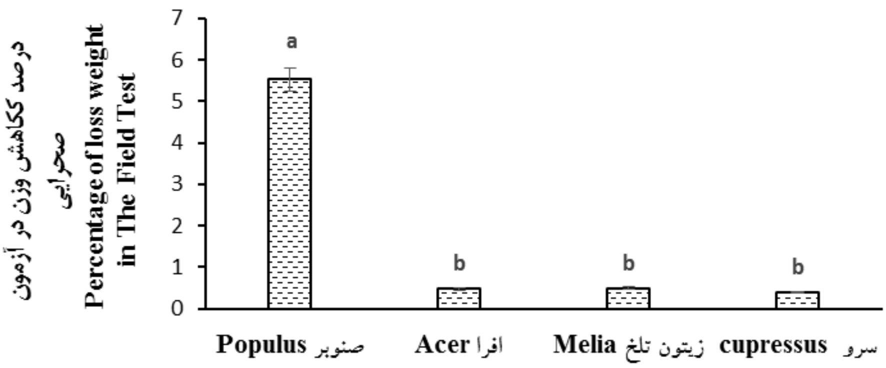
شکل ٤- میانگین دانسیته گونه‌های صنوبر، افرا، زیتون تلخ و سرو شیراز
Figure 4- Average density of *P. alba*, *A. velutinum*, *M. azedarach* and *C. sempervirens*



شکل ۵- درصد کاهش وزن نمونه‌های چوبی در اثر تغذیه موریانه در آزمون غیر انتخابی
Figure 5- Weight loss percentage of wood samples in non- choice test



شکل ٦- درصد کاهش وزن نمونه‌های چوبی در اثر تغذیه موریانه در آزمون انتخابی
Figure 6- Weight loss percentage of wood samples in choice test



شکل ۷- درصد کاهش وزن نمونه‌های چوبی در آزمون میدانی
Figure 7- Weight loss percentage of wood samples in field test

جدول ۱- همبستگی ویژگی‌های چوب با درصد کاهش وزن چوب‌ها در اثر تغذیه موریانه
Table 1- Correlation of wood properties with weight loss percentage of wood

آزمون Treatment	سلولز Cellulose	دانسیته Specific gravity	مواد استخراجی Extractive materials	لیگنین Lignin
انتخابی Selective	0.806*	-0.812*	-0.954**	-0.820**
غیرانتخابی Non-selective	0.727*	-0.651	-0.863**	-0.834**
ازمون صحرایی Field	0.747*	-0.751 *	-0.923**	-0.894**

*همبستگی در سطح ۹۵ درصد، ** همبستگی در سطح ۹۹ درصد
* 95% Correlation, ** 99% Correlation

مقایسه میزان درصد کاهش وزن در نمونـه‌هـای چـوبی در آزمون صحرایی

شکل ۷ میزان درصد کاهش وزن را در آزمون میدانی نشان می‌دهد. می‌توان گفت که بیشترین میزان درصد کاهش وزن متعلـق بـه گونه صنوبر است. اختلاف معناداری بین این گونه و سایر گونـه‌هـا در سطح ۹۵ وجود دارد ($P<0.05$).

ارتباط بین درصد کاهش وزن چوب‌ها در آزمون‌های تغذیه ای با ویژگی‌های نمونه‌ها

برای بررسی تأثیر ویژگی‌های مختلف چوب روی درصد کاهش وزن چوب‌ها از آزمون ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. نتایج در جدول ۱ آمده است.

بحث

آنچه باعث بالا رفتن میزان دوام طبیعی گونه‌های چوبی نسبت به حملات موریانه و سایر عوامل مخرب می‌گردد آناتومی چوب، دانسیته چوب، محتوای لیگنین و سلولز، میزان رطوبت و ترکیب مواد استخراجی موجود در چوب درون است (De linge *et al.*, 2021). به عبارتی ترکیبات تشکیل دهنده دیواره سلول در کنار سایر عوامل، مهمترین عامل جذب عوامل مخربی همچون حشرات و قارچها به شمار می‌روند. نتایج حاصل از انجام آزمون‌های انتخابی، غیرانتخابی و صحرایی تغذیه موریانه‌ها از چوب‌ها و بررسی نمودارها و جداول حاصله نشان داد که بیشترین درصد کاهش وزن متعلق به گونه صنوبر و کمترین آن متعلق به گونه سرو شیراز است.

در بررسی مواد استخراجی گونه‌های مورد تحقیق دیده می‌شود که افرا دارای کمترین درصد مواد استخراجی و سرو شیراز دارای بیشترین مقدار است و همین مساله می‌تواند در شدت حملات موریانه تأثیر جدی داشته باشد. مواد استخراجی موجود در چوب از جمله عوامل مؤثر در بالا بردن دوام طبیعی چوب در مقابل عوامل مخرب و خصوصا حشرات به‌شمار می‌روند (Gelb *et al.*, 2008). اهمیت مواد استخراجی به حدی است که در برخی از گونه‌های دارای چوب بادوام، در صورت حذف مواد استخراجی، چوب مستعد پوسیدگی می‌شود. نتایج تحقیقات واناتابه (Wanatabe *et al.*, 2005) نشان می‌دهد که موریانه‌ها به‌طور کلی از چوب با غلظت بالای مواد استخراجی اجتناب می‌کنند. توزیع مواد استخراجی نیز بر دوام تأثیر می‌گذارد مواد استخراجی که در دیواره سلولی رسوب می‌کنند در جلوگیری از حملات مؤثرتر از آنهایی هستند که در حفره سلولی هستند (Hillis., 2012). مواد استخراجی اجزای غیر ساختمانی چوب به شمار می‌آیند. در برخی گونه‌ها در طول تشکیل چوب درون، تولید رزین و یا ترکیبات فنولی در سلول‌های پارانشیم افزایش می‌یابد و ته‌نشینی این مواد در سلول‌های چوب درون منجر به بالا رفتن میزان مقاومت چوب در برابر حملات بیولوژیکی می‌گردد. برخی از مواد استخراجی دارای خواص ضد میکروبی و حشره‌کشی هستند، در حالی‌که برخی دیگر بر دینامیک رطوبت یا سایر خواص چوب مانند تراکم، رنگ، بو یا قابلیت اشتعال تأثیر می‌گذارند (Rodrigues *et* Amusant *et al.*, ;2014 *al.*, 2012). مطالعات انجام گرفته توسط محققین مختلف نشان می‌دهد که تیمار چوب با مواد استخراجی گرفته شده از چوب‌های گوناگون می‌تواند به بالا بردن مقاومت بیولوژیکی آن در مقابل حشراتی چون موریانه کمک کند (Syofuna *et al.*, 2012).

در بررسی ارتباط بین درصد کاهش وزن و ویژگی‌های چوب می‌توان دریافت که علاوه بر نقش مواد استخراجی درصد کاهش وزن در هر دو آزمون انتخابی، غیرانتخابی و همچنین آزمون صحرایی ارتباط مشهودی با محتوای لیگنین و سلولز چوب دارد (Soleyman (Poursartip *et al.*, 2019; Nezhadian, 1991. به‌عبارت بهتر با افزایش درصد لیگنین، میزان مطلوبیت چوب برای موریانه کاهش می‌یابد و از طرفی با اضافه شدن درصد سلولز مطلوبیت گونه برای موریانه افزایش می‌یابد. لیگنین پلیمری است که به‌عنوان دومین ماده تشکیل‌دهنده چوب پس از سلولز، نقش مهمی را در چوب ایفا می‌کند و به‌دلیل داشتن گروه‌های فنلی، برای عوامل مخرب یک ماده سمی تلقی شده و خواص دفع‌کنندگی دارد (Chirkova *et al.*, 2011). همچنین در دسترس بودن سلولز برای پوسیدگی در دیواره‌های سلولی چوب ضروری است و بیشتر قارچها و باکتری‌ها و حشراتی چون موریانه‌ها که از سلولز تغذیه می‌کنند با بالا رفتن میزان این ماده فعالیت تخریبی بیشتری از خود نشان می‌دهند (Daniel, 2016). وقتی لیگنین دیواره سلولی را آغشته می‌کند، ماتریکس غیرقابل نفوذتری را تشکیل می‌دهد و سلولز را کمتر در دسترس قرار داده و چوب را در برابر تخریب زیستی مقاوم‌تر می‌کند (Scheffer & Cowling, 196). نتایج تحقیقات سایر محققین نیز نشان می‌دهد که حتی استخراج و تزریق لیگنین در ساختمان چوب نیز به مقدار زیادی باعث افزایش دوام گونه چوبی در برابر حملات قارچها و حشرات شده است (Hasani ; Popa *et al.*, 2011Parsapajouh *et al.*, 2009 ; *et al* ., 2021). در بین گونه‌های مورد آزمایش در این تحقیق بیشترین میزان لیگنین متعلق به گونه سرو شیراز و کمترین آن متعلق به صنوبر است و اختلاف معناداری بین مقدار لیگنین در این دو گونه مشاهده می‌شود. این نتایج با نتایج سایر محققین که دوام طبیعی بالاتر سوزنی‌برگان نسبت به پهن‌برگان را به‌دلیل درصد بالاتر لیگنین اثبات کرده‌اند همخوانی داشت (Schwarze, Brunow, 2005 ; 2007). بنابراین با توجه به نقش لیگنین در مقابل عوامل مخرب بیولوژیک همچون موریانه، می‌توان بخشی از پایداری و دوام طبیعی بالای گونه سرو شیراز در مقابل حملات موریانه را به درصد بالای لیگنین ارتباط داد (Saadatvafa, 2017). از سوی دیگر بالا بودن معنادار درصد سلولز موجود در صنوبر، که منبع اصلی تغذیه موریانه به شمار می‌رود، نسبت به سایر گونه‌های مورد پژوهش، از دلایل آسیب پذیری این گونه نسبت به حملات موریانه است. علاوه بر ترکیبات شیمیایی گونه‌های چوبی، ویژگی‌های فیزیکی مانند دانسیته نیز از عوامل تعیین کننده دوام طبیعی چوب‌آلات در برابر حملات موریانه به شمار می‌رود و گونه‌هایی با دانسیته کمتر و سبک‌تر بیشتر مورد هجوم موریانه‌ها قرار می‌گیرند (Afshar *et al.*, 2014). طبق نظر

(Martin & Lopez, 2023) میزان اهمیت دانسیته چوب از اینجا مشخص می‌گردد که میزان حملات موریانه‌ها به چوب بهاره که دانسیته کمتر و دیواره الیاف و آوندهای ظریف‌تر از چوب تابستانه دارد بیشتر است. مطبق نتایج بدست آمده صنوبر از لحاظ دانسیته با بقیه گونه‌ها اختلاف دارد و گونه سبک‌تری به شمار می‌رود و همین مساله در کنار بالا بودن درصد سلولز که ماده مورد علاقه موریانه است، می تواند موجب تشدید آسیب‌پذیری این گونه گردد. گونه افرا علی‌رغم دارا بودن دانسیته بالاتر، درصد کاهش وزن قابل ملاحظه‌ای را بخصوص در آزمون‌های انتخابی و غیر انتخابی نشان می‌دهد. چنین به نظر می‌رسد که در تقابل دو فاکتور دانسیته و درصد مواد استخراجی، درصد پایین مواد استخراجی، که خود عامل بازدارنده در هجوم موریانه‌ها هستند، منجر به ضعف گونه افرا در برابر هجوم موریانه گردیده است.

بنابراین براساس نتایج بدست آمده از این تحقیق می‌توان تأثیر عواملی همچون ترکیبات شیمیایی و ویژگی‌های فیزیکی گونه‌های مورد مطالعه در شدت حملات موریانه زیرزمینی *M. diversus* را مورد تأیید قرار داد و با توجه به پارامترهای مذکور گونه سرو شیراز را مقاوم‌ترین و صنوبر را ضعیف‌ترین گونه نسبت به هجوم این گونه موریانه ارزیابی نمود.

References

1. Afshar, M., Habibpour, B., & Shishebor, P. (2014). Evaluation of resistance of cellulosic and non cellulosic building materials to underground termites *Microcerotermes diversus* Silvestri (Isoptera: Termitidae) in vitro and in the field. *Journal of Plant protection, 37*(4), 79-90. (In Persian with English abstract)
2. Amusant, N., Nigg, M., Thibaut, B., & Beauchêne, J. (2014). Diversity of decay resistance strategies of durable tropical woods species: *Bocoa prouacencsis* Aublet, *Vouacapoua americana* Aublet, *Inga alba* (Sw) . *International Biodeterioration & Biodegradation*, *94*, 103-108. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.06.012
3. Brunow, G. (2005). *Methods to Reveal the Structure of Lignin*: 89-116. In: Steinbüchel, A. (Ed). Biopolymers Online. Wiley-VCH: Winheim, 360p. https://doi.org/10.1002/3527600035.bpol1003
4. Chirkova, J., Andersone, I., Irbe, I., Spince, B., & Andersons, B. (2011). Lignins as agents for bio-protection of wood. *Holzforschung*, *65*(4), 497-502. https://doi.org/10.1515/hf.2011.092
5. Daniel, G. (2016). *Fungal degradation of wood cell walls*: 131–169. In Kim, Y. S., Funada, R., Singh, A. P., (Eds). Secondary Xylem Biology, Academic Press: Cambridge, 380p. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802185-9.00008-5
6. De linge, L., Van den Bulcke, J., Baetens, J.M., De Baets, B., Wang, G., De Windt, I., Beeckman, H., & Van Acker, J. (2021). Unraveling the natural durability of wood: revealing the impact of decay-influencing characteristics other than fungicidal components. *Holzforschung*, *75*(4), 368–378. https://doi.org/10.1515/hf-2020-0109
7. Ekhtelat, M. (2009). Investigation on feeding behavior and estimating foraging population of *Microcerotermes diversus* Silvestri (Isoptera: Termitidae). M.Sc. Thesis, College of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran. 131 pp. (In Persian with English abstract)
8. Gelb, S.M., Filley, T.R., Hatcher, P.G., Hoover, K., Carlson, J.E, Jimenez-Gasco, M., Nakagawa-Izumi, A., Sleighter, R.L., & Tien, M. (2008). Lignin degradation in wood-feeding insects. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*, *105*(35), 12932-12937. https://doi.org/10.1073/pnas.0805257105
9. Habibpour, B. (1994). Termites (Isoptera) fauna, economic importance and their biology in Khuzestan. M.Sc. Thesis, College of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran. 143pp. (In Persian with English abstract)
10. Hasani, A., Saadatnia, M.A., Moradian M.H., & Efhami D. (2021). Improvement of natural durability of date palm against termites (*Microcerotermes diversus*) by black liquor of kraft impregnation. *Iranian Journal of Wood and Paper Industries*, *12*(1), 45-56. (In Persian with English abstract)
11. Hillis, W.E. (2012). *Heartwood and tree exudates*. Springer Science & Business Media.
12. Ismayati, M., Nakagawa-Izumi, A., Kamaluddin, N.N., & Ohi, H. (2016). Toxicity and feeding deterrent effect of 2-Methylanthraquinone from the wood extractives of *Tectona grandis* on the subterranean termites *Coptotermes formosanus* and *Reticulitermes speratus. Insects*, *7*(4), 63-65. https://doi.org/10.3390/insects7040063
13. Martin, J.A., & Lopez, R. (2023). Biological deterioration and natural durability of wood in Europe. *Forests, 14*(2), 1-34. https://doi.org/10.3390/f14020283
14. Owoyemi, J.M., Olaniran, S.O., & Aliyu, D.I. (2013). Effect of density on the natural resistance of ten selected Nigerian Wood species to subterranean termites. *Prolignio*, *9*(1), 32-40.
15. Parsapajouh, D., Faezipour, M., & Taghiyari, H.R. (2009). *Industrial timber preservation* (translation), 4th ed. Tehran: Tehran University Publications, 657 p. (In Persian)
16. Peralta, R.C.G., Menezes, E.B., Carvalho, A.G., & Menezes, E.L.A. (2003). Feeding preferences of subterranean termites for forest species associated or not to wood decaying fungi. *Floresta e Ambiente*, *10*(2), 58-63.
17. Popa, V.I., Capraru, A.M., Grama, S., & Malutan, T. (2011). Agents for wood bio protection on natural aromatic

compounds and their complexes with cooper and zinc. *Cellulose Chemistry and Technology*, *45*(3), 227-231.

18. Poursartip, L., Saadatvafa, K., & Rezayati Charani, P. (2019). Study on the feeding preference of *Microcerotermes diversus* Silvestri termite to three species of beech, eucalyptus and cypress. *Journal of Plant Protection*, *33*(1), 35-43. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.v33i1.74552
19. Rodrigues, A.M., Stien, D., Eparvier, V., Espindola, L.S., Beauchêne, J., Amusant, N., Leménager, N., Baudassé, C., & Raguin, L. (2012). The wood preservative potential of long-lasting Amazonian wood extracts. *Intetnational Biodeterior Biodegrad*, *75*, 146-149. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.03.014
20. Rowell, R.M., Pettersen, R., Han J.S., Rowell J.S., & Tshabalala M.A. (2010). *Handbook of wood chemistry and wood composites*. CRC press, 704 pp.
21. Saadatvafa, K. (2017). Desirability evaluation of some Lignocellulosic material, on food diet of Termites (*Microcerotermes diversus*). M.Sc. Thesis, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran. 71pp. (In Persian with English abstract)
22. Scheffer, T.C., & Cowling, E. (1966). Natural resistance of wood to microbial deterioration. *Annual Review of Phytopathology*, *4*, 147–168. https://doi.org/10.1146/annurev.py.04.090166.001051
23. Schwarze, F.W.M.R. (2007). Wood decay under the microscope. *Fungal Biology Reviews*, *21*(4), 133–170. https://doi.org/10.1016/j.fbr.2007.09.001
24. Soleyman Nezhadian, E. (1991). *Termites: The Diagnosis and Fight Against them*. Tehran: Nashr Daneshgahi publication. (In Persian)
25. Syofuna, A., Banana, A.Y., & Nakabonge, G. (2012). Efficiency of natural wood extractives as wood preservatives against termite attack. *Maderas Cienciay Tecnología*, *14*(2), 155-163. https://doi.org/10.4067/S0718-221X2012000200003
26. Tappi Standard Test Methods. (2003). *Tappi press*, Altanta GA.
27. Watanabe, Y., Mihara, R., Mitsunaga, T., & Yoshimura, T. (2005). Termite repellent sesquiterpenoids from *Callitris glaucophylla* heartwood. *Journal of Wood Science*, *51*, 514–519. https://doi.org/10.1007/s10086-004-0683-6
28. Wu, C., Ulyshen, M.D., Shu, C., Zhang, Z., Zhang, Y., Liu, Y., & Geoff Wang, G. (2021). Stronger effects of termites than microbes on wood decomposition in a subtropical forest. *Forest Ecology and Management*, *493*, 119263. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119263

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 2, 2024, p. 129-145

Evaluation of Resistance of Wheat Promising Lines to *Eurygaster integriceps* in Neyshabur Climatic Conditions

S. Jahandari[1], G. Asadi[2], S. Khorramdel[2*], D. Roodi[3]

1 and 2- M.Sc Student and Associate Professor, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: Khorramdel@um.ac.ir)
3- Assistant Professor, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Mashhad, Iran

Received: 04-02-2024 Revised: 11-04-2024 Accepted: 07-05-2024 Available Online: 21-07-2024	**How to cite this article:** Jahandari, S., Asadi, G., Khorramdel, S., & Roodi, D. (2024). Evaluation of resistance of wheat promising lines to *Eurygaster integriceps* in Neyshabur climatic conditions. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *38*(2), 129-145. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86688.1177

Introduction

The Sunn pest (*Eurygaster integriceps* Put) is a significant pest of wheat in Turkey, west and central Asia, and Iran. Damage caused by this pest to leaves, stems, spikes, and grains can reduce the baking quality of flour made from affected grains of cereals. Sunn pest adults typically overwinter in mountainous areas under plants such as oak, wild liquorice, and echinacea, migrating to wheat fields when temperatures warm up in spring. Their feeding behavior involves piercing and cutting tissues, as well as injecting digestive enzymes through a salivary canal to predigest food.

Wheat is a major crop, covering vast areas of agricultural land worldwide. The pest causes significant damage to grain crops, particularly wheat (Iranipour et al., 2010). Among these pests, the sunn pest stands out as the most devastating insect (El Bouhssini et al., 2013). High-quality bread wheat genotypes have shown to be less susceptible to the effects of bug proteinase in baking compared to poor-quality wheat varieties. Chemical control of Sunn pest is not only costly but also hazardous to human health and the environment, and has adverse effects on natural predators (Krupnov, 2012). Identifying resistant cultivars could serve as an effective integrated pest management (IPM) strategy, reducing the need for chemical applications. The use of resistant cultivars is both an effective and cost-efficient method for protecting wheat crops from this insect pest while minimizing pesticide use.

Therefore, the widespread and rampant spread of this pest highlights the urgent need to identify and use non-chemical control methods, especially the selection of resistant varieties. This study aimed to assess the agronomic characteristics and quality of wheat lines to Sunn pest under Neyshabur climatic conditions.

Materials and Methods

This research was conducted during the growing season in 2022-2023 at Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Neyshabur, based on a randomized complete block design with three replications. Treatment was 20 lines/cultivars, including 18 promising lines, along with two cultivars of Amin and Farin as control. The studied traits included density of overwintered adults (OWAs), density of of nymphs and new-generation adults (NGAs), seed damage percentage, density of whitish spikes, leaf damage level, plant height, 1000-kernel weight, gluten and nitrogen contents of kernel and grain yield. The counting of damaged plants was done at

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86688.1177

the flowering stage using quadrats (0.5×0.5 m^2). Pearson's correlation was calculated to evaluate the correlation between all quantitative traits and quality of wheat lines. Statistical analysis of data was performed using Minitab software, and figures were plotted using Excel software. Means were compared using the LSD test at the 5% and 1% probability levels.

Results and Discussion

The results of the statistical analysis indicated a significant difference among the studied lines in terms of the examined traits, including density of NGAs, seed damage percentage, leaf damage level, plant height, 1000-kernel weight, gluten content of kernel, nitrogen content of kernel and grain yield. The density of OWAs was not significantly impacted by the wheat lines, so line 18 (with 1.33 numbers per m^2) and line 20 (without OWAs) had the highest and lowest OWAs, respectively. The maximum damage percentage was observed in Amin cultivar (6%) and line 15 (5.6%), while the minimum level was recorded for Farin cultivar (0.53%) and lines 19 and 10 (1.06%). Line 19 had the highest leaf damage (11.11 leves.m^{-2}), while line 6 had the lowest (1 leves.m^{-2}). Line 8 had the highest plant height (99 cm), while line 20 had the lowest (83 cm). Lines 15 (44.57 g) and 20 (35.16 g) had the highest and lowest 1000-kernel weight, respectively. The highest percentage of kernel gluten was found in line 15 (27.05%), while the lowest was found in line 9 (24.2%). Line 15 also had the highest percentage of kernel nitrogen (2.35%), while the Amin cultivar had the lowest (1.97%). Line 6 had the highest grain yield (6.08 t.ha^{-1}), while Amin cultivar (4.31 t.ha^{-1}) and line 20 (4.33) had the lowest grain yield. The correlation analysis between the studied traits showed that leaf damage level had a significant negative correlation with grain yield ($r=0.57^{**}$). Plant height showed a significant positive correlation with grain yield ($r=0.45^{*}$), 1000-kernel weight had a significant positive correlation with nitrogen content of kernel ($r=0.70^{**}$), and grain yield had a significant positive correlation with nitrogen content of kernel ($r=0.62^{**}$). The damage percentage had a significant negative correlation with leaf damage level ($r=0.04^{ns}$), plant height ($r=0.13^{ns}$), grain yield ($r=0.57^{**}$), and grain nitrogen percentage ($r=0.05^{ns}$).

Conclusion

In Neyshabur county, line 6 exhibited the highest tolerance to Sunn pest and produced the highest grain yield compared to other lines. On the other hand, Amin cultivar was sensitive to Sunn pest and had a lower 1000-kernel weight and grain yield.

Keywords: Damage percentage, New-generation adults, Overwintered adults, Percentage of grain sunn pest damage

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸ شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، ص. ۱۴۵-۱۲۹

ارزیابی مقاومت لاین‌های امیدبخش گندم نسبت به خسارت سن (*Eurygaster integriceps*) در شرایط آب و هوایی نیشابور

شهاب جهانداری[1]- قربانعلی اسدی[2]- سرور خرم دل[2*]- داود رودی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸

چکیده

سن گندم یکی از مهم‌ترین آفات در مزارع غلات بوده که سالانه خسارت کیفی و کمی جبران‌ناپذیری به گندم و جو وارد می‌کند. این پژوهش به منظور بررسی مقاومت ۲۰ لاین امیدبخش گندم نسبت به آفت سن، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در ایستگاه تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان نیشابور در سال زراعی ۱۴۰۲-۱۴۰۱ انجام شد. تیمارها شامل ۱۸ لاین بهاره گندم حاصل برنامه‌های به‌نژادی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و دو رقم امین و فرین به‌عنوان شاهد بودند. نتایج تجزیه واریانس آماری داده‌های آزمایش نشان داد که بین لاین‌های مورد مطالعه از نظر صفات مورد بررسی شامل تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید، درصد خسارت سن‌زدگی دانه، خسارت برگی، ارتفاع بوته، وزن هزار دانه، درصد گلوتن دانه، درصد نیتروژن دانه و عملکرد دانه گندم از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود داشت. درصد خسارت سن‌زدگی دانه در رقم امین و لاین ۱۵ حداکثر و در رقم فرین و لاین‌های ۱۹ و ۱۰ حداقل مقدار بود. بیشترین خسارت برگی در لاین ۱۹ و کمترین در لاین ۶ مشاهده شد. لاین‌های ۱۵و ۲۰ به‌ترتیب بیشترین و کمترین وزن هزار دانه را به خود اختصاص دادند. بیشترین درصد گلوتن مربوط به لاین ۱۵ بود و کمترین میزان به لاین ۹ اختصاص یافت. بیشترین درصد نیتروژن برای لاین ۱۵ و کمترین میزان برای رقم امین مشاهده شد. از نظر عملکرد دانه، لاین ۶ حداکثر و رقم امین و لاین ۲۰ حداقل میزان این صفت را داشتند. ارزیابی همبستگی بین صفات مورد مطالعه نشان داد که میزان خسارت برگی با عملکرد دانه همبستگی منفی و معنی‌داری داشت. ارتفاع بوته با عملکرد دانه، وزن ۱۰۰۰ دانه با درصد نیتروژن دانه، وزن ۱۰۰۰ دانه با درصد گلوتن دانه، عملکرد دانه با درصد گلوتن دانه، عملکرد دانه با درصد نیتروژن دانه و نیز درصد گلوتن دانه با درصد نیتروژن دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. لاین ۶ با کمترین خسارت برگی و بیشترین درصد گلوتن و عملکرد دانه به‌عنوان متحمل لاین به سن و رقم امین با بیشترین میزان سن‌زدگی، کمترین درصد گلوتن، وزن هزار دانه و عملکرد دانه به‌عنوان لاین حساس به سن شناسایی شدند.

واژه‌های کلیدی: تراکم پوره، حشره کامل زمستان‌گذرانی نموده، حشرات کامل نسل جدید، درصد خسارت سن‌زدگی دانه

مقدمه

گندم با نام علمی (*Triticum aestivum* L.) مساحت وسیعی از زمین‌های کشاورزی دنیا را به خود اختصاص داده است. براساس آخرین آمار، سطح زیرکشت گندم در دنیا ۲۴۰ میلیون هکتار گزارش شده است (Foreign Agricultural Service/ USDA, 2023). براساس آخرین آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی در ایران، سطح زیرکشت گندم حدود شش میلیون و ۷۰۰ هزار هکتار گزارش شده که دو میلیون و ۳۰۰ هزار هکتار به کشت آبی و چهار میلیون و ۴۰۰ هزار هکتار به کشت دیم اختصاص یافته است. متوسط تولید گندم در کشور ۱۲ میلیون تن اعلام شده که هشت میلیون تن مربوط به مزارع آبی و چهار میلیون تن به شرایط دیم اختصاص دارد (Ministry of Agriculture- Jihad, 2022).

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار گروه اگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: khorramdel@um.ac.ir)
۳- استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، مشهد، مشهد، ایران

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86688.1177

گندم، به‌عنوان یکی از منابع مهم غذایی بشر همواره تحت تأثیر تنش‌های محیطی بوده و در این میان آفات، خسارت بسیاری به غلات و به‌ویژه گندم و جو وارد می‌کنند (Iranipour *et al.*, 2010; Mutlu *et al.*, 2014). شارما و همکاران (Sharma *et al.*, 2017) خسارت ناشی از آفات کشاورزی در مقیاس جهانی را در حدود ۲۰–۱۸ درصد برابر با ارزش ۴۷۰ میلیارد دلار در سال اعلام نمودند. میزان این خسارت در کشور ایران معادل با ۴۰ درصد گزارش شده است (Najafi *et al.*, 2012). به‌همین جهت ضروری است که عوامل کاهنده عملکرد گندم در راستای انتخاب مدیریت زراعی مناسب چون ارقام و لاین‌های مقاوم به‌منظور کنترل آفت و جلوگیری از توسعه خسارت به کشاورزان شناسایی و معرفی گردند.

سن گندم (*Eurygaster integriceps*) که معمولاً به‌عنوان آفت مزارع غلات شناخته می‌شود، گونه‌ای از حشرات متعلق به راسته نیم بالان (Hemiptera) و خانواده Scutelleridae می‌باشد. سن گندم در غرب و آسیای مرکزی، خاورمیانه، اروپای شرقی و شمال آفریقا مهم‌ترین آفت گندم محسوب شده (Critchley, 1998; El Bouhssini *et al.*, 2013) و آستانه اقتصادی خسارت آن بستگی به عوامل متعددی چون مرحله رشدی گیاه، مقاومت رقم، تاریخ آلودگی و غیره دارد (Ghanadha & Aeeneh, 2003). این حشره در بسیاری از نواحی ایران (Iranipour *et al.*, 2010; Najafi *et al.*, 2012) و کشورهای مختلف چون ترکیه (Mutlu *et al.*, 2014) به‌عنوان عامل کاهنده عملکرد محسوب شده و شایان ذکر است که به‌صورت کمی و کیفی به گندم خسارت قابل توجهی وارد می‌کند (Davari & Bruce, 2018). این آفت اندام‌های مختلفی از غلات مانند جوانه‌ها، برگ‌ها، ساقه‌ها و دانه‌ها را تغذیه و درجات مختلفی از آسیب را ایجاد می‌نماید (Dizlek & Ozer, 2017;Alizadeh *et al.*, 2010)؛ به‌طوری‌که در برخی مناطق کاهش ۱۰۰ درصدی عملکرد در شرایط آلودگی شدید گزارش شده است (Alizadeh *et al.*, 2010). بر این اساس، شیخ و راهبی (Sheikh & Rahbi, 1996) آستانه خسارت اقتصادی[1] آفت سن در شرایط اقلیمی سوریه را ۱۰–۵ پوره در مرحله گلدهی و ۶–۵ پوره در مرحله بعد از گلدهی گندم گزارش نمودند. البته نتایج برخی بررسی‌ها نشان داده است که شرایط اقلیمی، واریته، خصوصیات زراعی و تنوع گیاهی نیز سطح این آستانه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Mutlu *et al.*, 2014).

سالانه بیش از ۱۵ میلیون هکتار از اراضی گندم در جهان، تحت تأثیر آلودگی سن قرار می‌گیرند (Salehi *et al.*, 2017). دامنه خسارت کمی و کیفی سن طی مراحل مختلف پوره و حشره کامل نسل جدید (NGAs)[2] بین پنج تا ۹۵ درصد گزارش شده است (Rajabi, 2000). مولتو و همکاران (Mutlu *et al.*, 2014) دامنه افت عملکرد جو تحت تأثیر تغذیه حشرات کامل زمستان‌گذرانی نموده (OWAs)[3] و خسارت دانه تحت تأثیر تغذیه پوره و حشرات کامل نسل جدید آفت سن را به‌ترتیب ۸۹/۱ تا ۱۴۵/۳ گرم بر متر مربع گزارش نمودند. این محققان همچنین دامنه افت عملکرد دانه گندم و جو تحت تأثیر این آفت در ترکیه را به‌ترتیب ۹۰–۵۰ و ۳۰–۲۰ درصد گزارش نمودند. آرمسترانگ و همکاران (Armstrong *et al.*, 2019) و همچنین باساتی و همکاران (Basati *et al.*, 2018) طی مطالعاتی جداگانه میزان خسارت آفت سن را در گندم با استفاده از تکنیک طیف‌سنجی مرئی و مادون قرمز دور[4] ارزیابی نمودند. این محققان همگی تأکید کردند که این آفت علاوه بر افت عملکرد، محتوی گلوتن دانه را نیز به‌طور چشم‌گیری کاهش می‌دهد. البته ازکان (Ozkan, 2009) بیان داشت که دامنه کاهش عملکرد دانه گندم تحت تأثیر خسارت سن، علاوه بر موارد ذکر شده، بسته به شرایط اقلیمی منطقه و همچنین مدیریت زراعی متفاوت می‌باشد.

مبارزه شیمیایی با آفت سن علاوه‌بر پرهزینه بودن، برای سلامت انسان و محیط‌زیست خطرناک بوده و نیز برای شکارگرهای طبیعی عوارض جانبی منفی به همراه دارد (Krupnov, 2012). بنابراین، به‌کارگیری روش‌های جایگزین برای کنترل این آفت ضروری به‌نظر می‌رسد. در این راستا، یکی از روش‌های مناسب برای کاهش جمعیت و خسارت سن، شناسایی و بهره‌گیری از لاین‌ها و ارقام مقاوم است (Sanaey & Najafi-Mirak, 2012). از جمله این مزایای متعدد می‌توان به ارقام مقاوم مانند عدم تأثیر منفی بر محیط‌زیست، قابلیت تلفیق با سایر روش‌های کنترل، به‌کارگیری آسان و کاهش هزینه‌های تولید اشاره کرد (Brain, 1998; Rezabeigi, 2000). ارقام مقاوم به این آفت، ضمن ایجاد اثرات نامطلوب بر بیولوژی آفت، نقش مؤثر و پررنگی نیز در کاهش جمعیت این آفت دارند (Rezabeigi, 2000). استفاده از ارقام مقاوم در مدیریت تلفیقی سن، علاوه‌بر کاهش جمعیت و خسارت این آفت، در کاهش غلظت سموم شیمیایی نیز بسیار سودمند خواهد بود (Brain, 1998).

نتایج پژوهشی روی ارزیابی مقاومت ۳۰ لاین گندم نشان داد که لاین‌های مورد بررسی از نظر وزن دانه، عملکرد دانه، درصد خسارت سن‌زدگی دانه تحت تأثیر تراکم حشرات کامل زمستان‌گذرانی نموده، پوره و حشرات کامل نسل جدید با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند (Zamani *et al.*, 2004). در پژوهشی دیگر، گزارش شد که رقم فلات نسبت به خسارت دانه ناشی از تغذیه پوره سن، حساس‌تر از سایر ارقام بود (Najafimirak *et al.*, 2012). قنادها و آیینه (Ghanadha & Aeeneh, 2003) در پژوهشی روی ارزیابی مقاومت

1- Economic threshold
2- Nymphs and new-generation adults
3- Overwintered adults
4- Visible and Near Inferared Spectroscopy

لاین‌های گندم نسبت به سن بیان نمودند که کاشت ارقام مقاوم، روشی مطمئن و مقرون به‌صرفه برای کاهش خسارت این آفت می‌باشد. بنابراین، ضرورت دارد تا در برنامه‌های به‌نژادی ارقام دارای صفات مناسب زراعی و مقاومت نسبی بالا نسبت خسارت سن، شناسایی و معرفی گردند تا بر این اساس، تنوع ژنتیکی لاین‌ها و رقم‌های مختلف از نظر مقاومت به سن بررسی شده و بتوان از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی استفاده نمود. علاوه بر این، بررسی‌ها مؤید آن است که تغییرات اقلیمی نیز باعث توسعه دامنه توزیع این آفت شده و انتظار می‌رود این حشره در قلمروهای جدید گسترش یافته که این موضوع به واسطه افت چشم‌گیر عملکرد، تهدید امنیت غذایی را به دنبال خواهد داشت (Emebiri *et al*., 2017).

شایان ذکر است که کنترل این آفت عمدتاً بر مبنای استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی صورت می‌پذیرد که این عمل همیشه رضایت‌بخش نبوده و ضمن هزینه‌بر بودن، عوارض ناشی از مصرف این سموم بر سلامت انسان، آلودگی آب‌های زیرزمینی و خاک، کاهش دشمنان طبیعی آفات را نیز به همراه دارد (Nasrollahi *et al*., 2019). بر این اساس، با توجه به گسترش و طغیان این آفت و از طرفی تأثیر تغییر عوامل اقلیمی بر بیولوژی و تشدید خسارت آن (Mondani *et al*., 2014)، تشخیص و به‌کارگیری روش‌های کنترل غیرشیمیایی به‌خصوص شناسایی ارقام مقاوم جهت معرفی به کشاورزان ضرورت می‌یابد. بنابراین، با توجه به موارد ذکر شده در فوق و اهمیت کشت گندم در شرق کشور، این مطالعه با هدف ارزیابی لاین‌های مقاوم معرفی شده به کشاورزان به سن جهت کاهش خسارت آن، در شرایط آب و هوایی نیشابور انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در ایستگاه تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان نیشابور در سال زراعی ۱۴۰۲-۱۴۰۱، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. بیست لاین و رقم شامل ۱۸ لاین امیدبخش بهاره گندم حاصل برنامه‌های به‌نژادی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به همراه دو رقم امین و فرین (به‌عنوان ارقام مرسوم در منطقه معتدل سرد) به‌عنوان شاهد مدنظر قرار گرفتند. شجره لاین‌های مورد مطالعه در جدول ۱ آورده شده است.

به‌منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، چند نمونه تصادفی از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک برداشت و نمونه مرکب به آزمایشگاه ارسال شد (جدول ۲).

در مهر ماه ۱۴۰۱، عملیات آماده‌سازی بستر کاشت با استفاده از شخم عمیق، دیسک و لولر انجام شد. با توجه به نتایج آزمایش خصوصیات خاک (جدول ۲) و نیاز گیاه، کود پایه به میزان ۱۵۰ کیلوگرم سوپرفسفات تریپل در هکتار، ۷۰ کیلوگرم سولفات پتاسیم در هکتار و ۱۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار به خاک اضافه شد. مساحت هر کرت آزمایشی برابر با ۱۰/۸ متر مربع (۳/۶ متر× ۳ متر) بود و در هر کرت، شش ردیف با فاصله ۶۰ سانتی‌متر ایجاد شد. کاشت بذور با تراکم ۴۵۰ بذر در متر مربع و با دستگاه بذرکار مخصوص غلات در نیمه آبان ماه انجام گرفت. در دو مرحله پنجه‌زنی و شروع گلدهی نیز ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره همراه با آب آبیاری استفاده شد. با توجه به نیاز گیاه، آبیاری به‌صورت جوی و پشته در پنج مرحله اصلی رشد گندم شامل جوانه‌زنی، سبز شدن، آخر پنجه‌زنی، ساقه‌رفتن و سنبله‌دهی انجام شد. جهت کنترل علف‌های هرز از علف‌کش گرانستار (به میزان ۲۵ گرم در هکتار) استفاده شد.

صفات مورد ارزیابی برای خسارت سن شامل میانگین تراکم حشرات کامل زمستان‌گذرانی‌نموده (سن مادری) (OWAs)، میانگین تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید (NGAs)، درصد خسارت سن زدگی دانه، تراکم خوشه‌های سفید بدون دانه و خسارت برگی بودند. بدین‌منظور، در اواخر اسفند ماه همزمان با ریزش حشرات کامل زمستان‌گذرانی‌نموده، شمارش برگ‌های خسارت‌دیده و میانگین تراکم حشرات کامل زمستان‌گذرانی نموده با استفاده از کوادرات ۰/۵ متر× ۰/۵ متر انجام شد. بعد از گذشت یک ماه، تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید و در مرحله خوشه‌دهی، تراکم خوشه‌های سفید نیز اندازه‌گیری و ثبت شد. درصد خسارت سن‌زدگی دانه با بررسی ۲۵۰ عدد دانه در هر لاین ارزیابی شد.

فاکتورهای کمی و کیفی گیاه شامل ارتفاع بوته، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و درصد گلوتن و نیتروژن دانه بودند. قبل از برداشت اندازه‌گیری انجام و سپس عملیات برداشت هر کرت به‌صورت جداگانه با کمباین مخصوص غلات در دهم تیر ماه انجام شد.

محتوی گلوتن دانه طبق روش ژو و همکاران (Zhao *et al*., 2013) اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ۱۰ گرم آرد گندم و ۴/۵ میلی‌لیتر محلول سدیم کلرید (۲۰ گرم در لیتر) در محفظه دستگاه اندازه‌گیری گلوتن قرار داده و به‌مدت ۴۰ ثانیه مخلوط شده و خمیر به مدت سه دقیقه با محلول کلرید سدیم (۲۰ گرم در لیتر) شسته شد. گلوتن به‌دست آمده در ۶۰۰۰ گرم به‌مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ قرار داده شد تا سطح هیدراتاسیون بهینه تعیین شود (Jiang *et al*., 2008). گلوتن سانتریفوژ شده بین دو صفحه الکترود با توان ۱۰۰۰ وات قرار داده شد. ولتاژ با تنظیم فاصله صفحات الکترود روی ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ ولت تنظیم شد. در مرحله پایان انجماد، دمای گلوتن تا ۱۸- درجه سانتی‌گراد کاهش داده شد و نمونه‌ها در خشک‌کن فریز لیوفیلیزه شدند. گلوتن خشک شده به پودرهای ریز آسیاب و با استفاده از الک ۱۰۰ مشبک غربال شد (Zhang *et al*., 2023).

جدول ۱- شجره لاین‌های گندم

Table 1- Pedigree of the studied wheat lines

لاین‌ها Lines	شجره Pedigree	فصل رشد Growing season
1	امین Amin	بهاره Spring
2	فرین Farin	بهاره Spring
3	M-97-12	بهاره Spring
4	M-97-18	بهاره Spring
5	KINGBIRD #1//INQALAB 91*2/TUKURU/3/BECARD/FRNCLN	بهاره Spring
6	OASIS/SKAUZ//4*BCN*2/3/PASTOR/4/HEILO/5/PAURAQ/6/BECARD/QUAIU #1	بهاره Spring
7	SOKOLL/WBLL1/4/D67.2/PARANA 66.270//AE.SQUARROSA (320)/3/CUNNINGHAM	بهاره Spring
8	COPIO/3/ATTILA*2/PBW65*2//KACHU/4/NELOKI	بهاره Spring
9	ATTILA*2/PBW65//PIHA/3/ATTILA/2*PASTOR/5/ATTILA/3*BCN*2//BAV92/3/KIRITATI/WBLL1/4/DANPHE	بهاره Spring
10	SUP152/BAJ #1/3/KINGBIRD #1//INQALAB 91*2/TUKURU	بهاره Spring
11	PREMIO//PI 610750/PIFED/4/VORB/FISCAL//KACHU/3/WBLL1*2/BRAMBLING	بهاره Spring
12	BORL14*2//BECARD/QUAIU #1	بهاره Spring
13	ATTILA/3*BCN*2//BAV92/3/HEILO/4/CHIBIA//PRLII/CM65531/3/MISR 2/5/TRCH/HUIRIVIS #1/6/CHIPAK	بهاره Spring
14	FRNCLN*2/TECUE #1//TRCH/HUIRIVIS #1	بهاره Spring
15	ATTILA/3*BCN*2//BAV92/3/KIRITATI/WBLL1/4/DANPHE/5/TAITA	بهاره Spring
16	KACHU/DANPHE//BORL14	بهاره Spring
17	KENYA SUNBIRD/KACHU//KIDEA	بهاره Spring
18	SWSR22T.B./2*BLOUK #1//WBLL1*2/KURUKU/3/MISR 1	بهاره Spring
19	KACHU//WBLL1*2/BRAMBLING*2/6/ROLF07*2/5/REH/HARE//2*BCN/3/CROC_1/AE.SQUARROSA (213)//PGO/4/HUITES	بهاره Spring
20	KACHU//WBLL1*2/BRAMBLING*2/6/ROLF07*2/5/REH/HARE//2*BCN/3/CROC_1/AE.SQUARROSA (213)//PGO/4/HUITES	بهاره Spring

جدول ۲- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک (عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری)

Table 2- Some physical and chemical properties of the soil (0-30 cm)

بافت Texture	شاخص واکنش pH	هدایت الکتریکی EC (dS m $^{-1}$)	نیتروژن کل Total N (%)	فسفر قابل دسترس Available P (ppm)	پتاسیم قابل دسترس Available K (ppm)
شنی سیلتی Silty sand	7.9	0.93	0.029	5.8	190

جهت اندازه‌گیری درصد دانه، مقدار ۰/۳ گرم از نمونه آسیاب شده توزین و در لوله هضم ریخته شد. سپس مقدار ۱/۱ گرم کاتالیزور مخلوط (سولفات پتاسیم+ سولفات مس+ پودر سلنیوم دی‌اکسید) به همراه پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به آن اضافه و محتویات لوله به‌مدت یک ساعت روی دستگاه هضم با دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از سرد شدن محتویات لوله با آب مقطر به حجم۵۰ رسانیده شد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر از نمونه هضم شده با ۲۰ میلی‌لیتر سود ۱۰ نرمال در لوله و ۲۰ میلی‌لیتر محلول اسید بوریک در لوله دیگر به داخل دستگاه کجلدال افزوده و سپس با استفاده از دستگاه تقطیر، محتوی نیتروژن تعیین شد.

بعد از بررسی نرمالیتی داده‌ها، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار Minitab و رسم شکل‌ها با نرم‌افزار Excel انجام و میانگین‌ها با آزمون LSD در سطوح احتمال پنج و یک درصد با یکدیگر مقایسه شدند. ارزیابی همبستگی بین صفات کمی و کیفی با استفاده روش پیرسون[1] انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفات کمی ارزیابی مقاومت، رشد و عملکرد لاین‌های گندم در برابر سن و ارزیابی صفات کیفی نشان داد که تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید، درصد خسارت سن‌زدگی دانه، سطح خسارت برگی، ارتفاع بوته، وزن هزار دانه، درصد گلوتن دانه، درصد نیتروژن دانه و عملکرد دانه لاین‌های مختلف گندم با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ($p\leq0.05$) داشتند؛ در حالی‌که برای میانگین تراکم حشرات کامل زمستان‌گذرانی نموده و تراکم خوشه‌های سفید در واحد سطح در مقایسه بین لاین‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳).

با توجه به تفاوت غیرمعنی‌دار تراکم حشرات کامل زمستان‌گذرانی نموده (جدول ۳) در مقایسه بین لاین‌های مختلف گندم، می‌توان چنین اظهار کرد که احتمالاً پراکندگی آفت در سطح مزرعه نسبتاً یکنواخت بوده و اختلاف در میزان خسارت تحت تأثیر حشرات مادری عمدتاً مربوط به تفاوت در لاین‌ها و ارقام، سرعت زادآوری و تولید پوره و حشرات کامل نسل جدید می‌باشد. البته تجربه، نشان داده است که بین تراکم حشرات کامل زمستان‌گذرانی نموده و سطح خسارت در مزرعه معمولاً ارتباط مستقیم وجود دارد.

جدول ۳- نتایج آنالیز واریانس (میانگین مربعات) شاخص‌های خسارت سن، عملکرد، اجزای عملکرد و خصوصیات کیفی لاین‌های گندم

Table 3- ANOVA (mean squares) for damage indicators of Sunn pest, yield, yield components and quality of wheat lines

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Df	تراکم حشرات کامل زمستان‌گذرانی نموده Density of overwintered adults	تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید Density of nymphs and new-generation adults	درصد خسارت سن‌زدگی دانه Percentage of grain sunn pest damage	تراکم خوشه‌های سفید Density of whitish spikes	خسارت برگی Leaf damage level	ارتفاع بوته Plant height	وزن هزار دانه 1000-kernel weight	درصد گلوتن دانه Gluten content of kernel	درصد نیتروژن دانه Nitrogen content of kernel	عملکرد دانه Grain yield
بلوک Block	2	1.13^{ns}	1.02^{*}	11.45^{*}	843^{*}	31.62^{**}	28.72^{ns}	11.20^{ns}	0.02^{ns}	0.006^{ns}	0.46^{ns}
لاین‌ها Lines	19	1.05^{ns}	0.60^{**}	6.74^{*}	245^{ns}	20.37^{**}	58.44^{*}	18.63^{**}	1.61^{*}	0.03^{*}	0.66^{**}
خطا Error	38	0.88	0.24	2.87	176	5.42	25.19	5.07	0.63	0.01	0.22

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

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

1- Pearson

بر این اساس، جبله و همکاران (Jabaleh *et al*., 2019) و قنادها و آیینه (Ghanadha & Aeeneh, 2003) مشاهده نمودند که بین لاین‌های مختلف گندم از لحاظ میانگین تراکم حشرات کامل زمستان‌گذرانی نموده در واحد سطح اختلاف معنی‌داری وجود دارد که این امر درجه خسارت متفاوتی را بر لاین‌های مختلف به‌دنبال خواهد داشت. این نتیجه همچنین می‌تواند حاکی از این موضوع باشد که مقاومت لاین‌های مختلف گندم به لحاظ ژنتیکی تحت تأثیر تراکم حشرات کامل زمستان‌گذرانی نموده بوده است، بدین‌مفهوم که لاین‌های مورد مطالعه به میزان متفاوتی مورد حمله حشرات کامل زمستان‌گذرانی نموده قرار گرفته‌اند. البته شرایط اقلیمی (چون درجه حرارت و محتوی رطوبتی)، خصوصیات خاک و مدیریت زراعی نیز می‌تواند این مقاومت لاین‌ها را تحت تأثیر قرار دهد. در این راستا، جبله و همکاران (Jabaleh *et al*., 2019) بیان داشتند که بیشترین تعداد حشرات کامل زمستان‌گذرانی نموده در نمونه‌برداری ششم فروردین ماه با میانگین ۰/۹۲ حشره کامل در نیم متر مربع مشاهده شد و در سایر زمان‌های اندازه‌گیری، این میزان روند کاهشی داشت. این پژوهشگران علت این مهم را بالاتر بودن میانگین درجه حرارت هوا، میزان ابرناکی و پایین بودن درصد رطوبت نسبی در زمان نمونه-برداری نسبت به سایر روزها معرفی نمودند.

میانگین تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید: مقایسه لاین‌های مختلف از نظر تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید سن نشان داد که لاین‌های مختلف در سطح احتمال یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۳)؛ به‌طوری‌که بیشترین تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید برای رقم امین و لاین ۱۸ (۱/۳۳ حشره در متر مربع) و کمترین تراکم برای لاین‌های ۲، ۳، ۸، ۱۲، ۱۴، ۱۵ و ۲۰ (بدون حشره) مشاهده شد که از لحاظ آماری بیشترین و کمترین مقدار این صفت با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند. لاین‌های ۱۶ و ۱۷ با کاهش ۲۴/۸۲ درصدی تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید سن نسبت به رقم امین در جایگاه دوم قرار گرفتند. همچنین، لاین‌های ۴، ۵، ۶، ۹، ۱۱، ۱۳ و ۱۹ با افزایش ۳۳ درصدی نسبت‌های به لاین‌های بدون حضور پوره و حشرات کامل، کمترین میانگین تراکم را به خود اختصاص دادند (جدول ۴). با توجه به مشاهدات مزرعه‌ای، مشخص شد که لاین‌های مختلف گندم از نظر تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید سن متفاوت بوده که این امر می‌تواند درصد خسارت سن‌زدگی دانه متفاوتی را در آنها ایجاد نماید. بر این اساس، به‌نظر می‌رسد که انتخاب و معرفی لاین‌های مناسب و مقاوم به کشاورزان می‌تواند در راستای حفظ محیط‌زیست و تولید پایدار گندم مدنظر قرار گیرد. در راستای این پژوهش، صالحی و همکاران (Salehi *et al*., 2017) با ارزیابی مقاومت لاین‌های گندم نسبت به سن در شرایط اقلیمی در کردستان چنین نتیجه گرفتند که تراکم پوره در لاین‌های مختلف به‌طور معنی‌داری متفاوت بود و علت این امر به تفاوت لاین‌های مختلف و امکان انتخاب آن‌ها براساس صفات مذکور نسبت داده شد. همچنین قابل ذکر است که میزان زادآوری و تولید پوره سن در لاین‌های مختلف گندم متفاوت بود.

درصد خسارت سن‌زدگی دانه: مقایسه لاین‌های مختلف از نظر درصد خسارت سن‌زدگی دانه نشان داد که لاین‌های مختلف گندم در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین بررسی اثر لاین‌های مختلف بر درصد خسارت سن‌زدگی دانه نشان داد که بیشترین درصد خسارت سن‌زدگی دانه مربوط به رقم امین با شش درصد و کمترین میزان مربوط به رقم فرین با ۰/۵ درصد بود. همچنین بیشترین و کمترین درصد خسارت سن‌زدگی دانه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۴). بر این اساس، مشخص است که تمایل سن برای تغذیه از لاین‌های مختلف گندم متفاوت بوده و این آفت برخی از لاین‌ها را به لاین‌های دیگر ترجیح داده که در نهایت، منجر به بروز اختلاف معنی‌دار در درصد خسارت سن‌زدگی دانه شده است. همچنین لاین ۱۵ با کاهش ۶/۶۷ درصدی نسبت به رقم امین جایگاه دوم از نظر درصد خسارت سن‌زدگی دانه را به خود اختصاص داد و لاین‌های ۱۰ و ۱۹ با افزایش ۱۰۰ درصدی نسبت به رقم فرین، کمترین درصد خسارت سن‌زدگی دانه را داشتند (جدول ۴). بدیهی است لاین‌های مقاوم به سن، سطح خسارت کمتری داشتند که این امر می‌تواند در توصیه و معرفی لاین‌های مقاوم به کشاورزان جهت کاشت در منطقه نیشابور مدنظر قرار داده شود. براساس تجزیه و تحلیل‌ها، اندازه‌گیری-ها و همچنین مشاهدات مزرعه‌ای، به نظر می‌رسد که درجه خسارت سن تحت تأثیر مقاومت لاین‌ها قرار گرفته و از این طریق، می‌توان با انتخاب لاین‌های مقاوم پتانسیل رشد و تکثیر این آفت را به واسطه مدیریت زراعی به طور معنی‌داری به‌ویژه در شرایط اقلیمی نیشابورکاهش داد. البته با توجه به تغییرات اقلیمی طی سال‌های اخیر و افزایش درجه حرارت هوا که تشدید خسارت آفات را به دنبال داشته، مشخص است که مدیریت زراعی و انتخاب ارقام و لاین‌های متحمل می‌تواند تأثیر بسزایی در کنترل درصد و خسارت سن به‌عنوان یکی از آفات مهم مزارع غلات به همراه داشته باشد.

درصد خسارت برگی: براساس نتایج، میزان خسارت برگی در لاین‌های مختلف گندم با یکدیگر به لحاظ آماری در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۳). به‌طوری‌که بیشترین خسارت برگی مربوط به لاین ۱۹ (۱۱/۱۱ برگ در متر مربع) بود و کمترین میزان برای لاین ۶ (یک برگ در متر مربع) مشاهده شد. رقم امین با کاهش ۸/۰۲ درصدی نسبت به لاین ۱۹ رتبه دوم را از نظر میزان خسارت برگی به خود اختصاص داد. همچنین در لاین ۱۴ با افزایش ۴۳ درصدی نسبت لاین ۶، کمترین خسارت برگی مشاهده

شد (جدول ۴). از آنجا که آفت سن به‌منظور تغذیه از تمام اندام‌های هوایی گیاه از جمله برگ‌ها استفاده می‌کند (Sajedi, 2016) و با توجه به این موضوع که برگ‌ها به‌عنوان اصلی‌ترین اندام فتوسنتزکننده نقش مؤثری در تعیین عملکرد گیاه دارد، لذا به‌منظور کاهش جمعیت این آفت باید لاین‌هایی را برگزید که تمایل کمتری برای تغذیه از اندام‌های هوایی داشته باشند تا در نهایت، با کاهش جمعیت این آفت میزان خسارت وارده کاهش یابد. این نتیجه حاکی از نقش مثبت لاین‌های مقاوم در کاهش خسارت برگی نسبت به رقم امین می‌باشد. در همین راستا، قنادها و آیینه (Ghanadha & Aeeneh, 2003) نیز طی مطالعه‌ای روی ارزیابی مقاومت لاین‌های گندم نسبت به آفت سن بیان داشتند که بین لاین‌های مختلف، از نظر درصد خسارت برگی، حساسیت و مقاومت تفاوت معنی‌داری مشاهده و دلیل این امر به تفاوت در صفات موفولوژیکی لاین‌ها نسبت داده شد.

ارتفاع بوته: براساس نتایج، لاین‌های مختلف گندم از نظر ارتفاع بوته با یکدیگر به لحاظ آماری در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۳). نتایج حاکی از آن است که بیشترین ارتفاع بوته مربوط به لاین ۸ (۹۹ سانتی‌متر) و کمترین ارتفاع مربوط به لاین ۲۰ (۸۳ سانتی‌متر) می‌باشد (شکل ۱).

براساس نتایج این آزمایش، لاین ۵ با کاهش ۲/۷ درصدی نسبت به حداکثر مقدار این صفت در جایگاه دوم قرار گرفت و لاین ۳ با افزایش ۱/۲ درصدی نسبت به لاین ۵ کوتاه‌ترین ارتفاع بوته را به خود اختصاص داد. بنابراین، لاین ۲۰ کوتاه‌ترین و لاین ۸ بلندترین لاین، در ارزیابی این صفت در مقایسه با شاهد و سایر لاین‌های مورد بررسی در شرایط آب و هوایی نیشابور بودند (شکل ۱). برخلاف پژوهش حاضر، جبله و همکاران (Jabaleh *et al*., 2019) و نقوی و همکاران (Naghavi *et al*., 2002) مشاهده نمودند که لاین‌های مختلف گندم از لحاظ ارتفاع بوته اختلاف معنی‌داری نداشتند. در پژوهش حاضر، دامنه تغییرات معنی‌دار برای ارتفاع گندم حاکی از یکنواختی بیشتر لاین‌ها به‌منظور برداشت مکانیزه گندم جهت معرفی به کشاورزان به‌ویژه در منطقه مورد مطالعه می‌باشد. همچنین ارتفاع بوته غلات به‌عنوان فاکتوری مؤثر در بهبود سهم انتقال مجدد مواد فتوسنتزی به دانه به‌ویژه در شرایط وقوع تنش خشکی، معرفی شده است (Ansari *et al*., 2018)، بنابراین می‌توان با انتخاب لاین‌هایی با ارتفاع بیشتر، عملکرد دانه را به‌ویژه در شرایط وقوع تنش‌های محیطی و زیستی افزایش داد.

جدول ٤- مقایسه میانگین شاخص‌های خسارت سن در لاین‌های گندم در شرایط آب و هوایی نیشابور

Table 4- Mean comparisons for damage indicators of Sunn pest for wheat lines under climatic conditions of Neyshabur

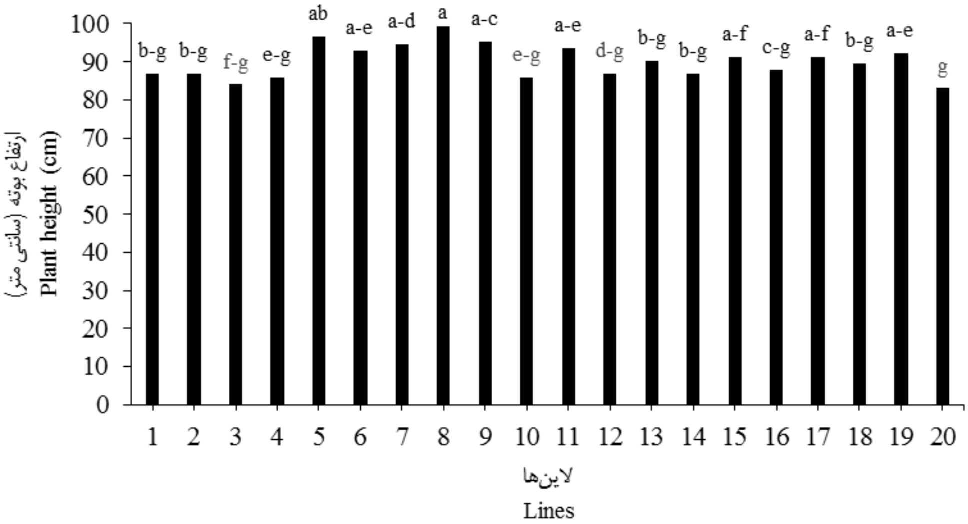
لاین‌ها Lines	تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید Density of nymphs and new-generation adults (m^2)	درصد خسارت سن‌زدگی دانه Percentage of grain Sunn pest damage	درصد خسارت برگی Leaf damage level
1	1.33a*	6.00a	10.23ab
2	0.00c	0.53f	0.8a-c
3	0.00c	1.60d-f	5.80c-e
4	0.33bc	2.67c-f	7.57a-d
5	0.33bc	2.40c-f	5.77c-e
6	0.33bc	2.73c-f	1.00g
7	0.6a-c	2.40c-f	5.00c-f
8	0.00c	1.33ef	6.67b-d
9	0.33bc	3.40a-e	4.43c-g
10	0.67a-c	1.07ef	4.00d-g
11	0.33bc	4.27a-d	2.23e-g
12	0.00c	3.20b-f	2.20e-g
13	0.33bc	3.73a-e	5.33c-f
14	0.00c	3.20b-f	1.77fg
15	0.00c	5.60ab	5.80c-e
16	1.00ab	3.73a-e	5.33c-f
17	1.00ab	3.20b-f	5.33c-f
18	1.33a	4.27a-d	6.67b-d
19	0.33bc	1.07ef	11.10a
20	0.00c	4.80a-c	7.13b-d

برای اطلاعات شجره لاین‌های گندم به جدول ۱ مراجعه شود.

See Table 1 for wheat lineage information.

*میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، تفاوت معنی‌داری ($p\leq0.05$) براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند.

*Averages with at least one same letter in each column do not have a significant difference ($p\leq0.05$) based on the LSD test.



شکل ۱- مقایسه میانگین ارتفاع بوته لاین‌های گندم تحت تأثیر سن در شرایط آب و هوایی نیشابور

برای اطلاعات شجره لاین‌های گندم به جدول ۱ مراجعه شود.

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری ($p\leq0.05$) بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند.

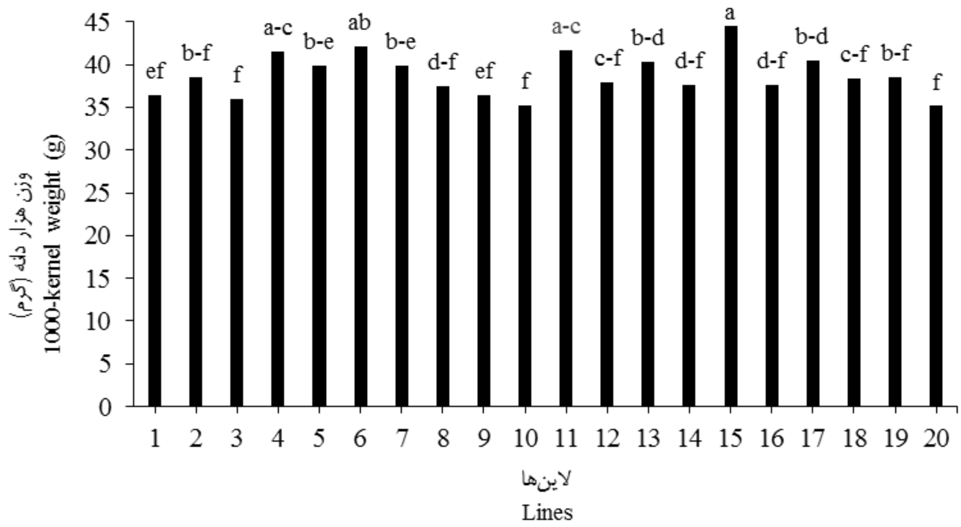
Figure 1- Mean comparison for plant height of wheat lines affected as Sunn pest under climatic conditions of Neyshabur

See Table 1 for wheat lineage information.

Averages with at least one same letter do not have a significant difference ($p\leq0.05$) based on the LSD test.

وزن هزار دانه: یکی از مهم‌ترین صفات مؤثر در عملکرد بذر، وزن هزار دانه بوده که نشان‌دهنده محتوی مواد تجمع یافته و انتقال یافته به مخازن زایشی چون دانه است (Ghorbani *et al*., 2008). سایر بررسی‌ها نیز مؤید آن است که وزن هزار دانه بالا بر بهبود عملکرد مؤثر است (Nour-Mohamadi *et al*., 2009). ارزیابی وزن هزار دانه لاین‌های گندم نشان داد که لاین‌های مختلف به لحاظ آماری از نظر وزن هزار دانه در سطح احتمال یک درصد با یکدیگر به طور معنی‌داری تفاوت داشتند (جدول ۳). حداکثر وزن هزار دانه مربوط به لاین ۱۵ (۴۴/۵۷ گرم) بود و حداقل میزان به لاین ۲۰ (۳۵/۱۶ گرم) اختصاص داشت. همچنین بین بیشترین و کمترین میزان این صفت به لحاظ آماری با ارقام شاهد (امین و فرین) تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. کاهش ۵/۵ درصدی وزن هزار دانه در لاین ۶ نسبت به لاین ۱۵ موجب قرارگیری آن در رتبه دوم شد. همچنین لاین ۱۰ با افزایش ۰/۲ درصدی نسبت به لاین ۲۰ کمترین میزان این صفت را بعد این لاین به خود اختصاص داد (شکل ۲). جبله و همکاران (Jabaleh *et al*., 2019) در پژوهشی مشابه چنین نتیجه گرفتند که تفاوت لاین‌های مختلف از نظر وزن هزار دانه از منظر آماری معنی‌دار بوده و علت این تفاوت را حمله پوره سن در مرحله شیری شدن دانه‌ها اعلام کردند. دیزلک و اُزر (Dizlek & Ozer, 2017) نیز چنین نتیجه گرفتند که بیشترین درجه خسارت آفت سن مربوط به مرحله شیری شدن می‌باشد. همچنین به‌نظر می‌رسد که مواد فتوسنتزی ذخیره شده در دانه‌ها، در این مرحله رشدی به‌وسیله آفت مکیده شده که این امر سبب کاهش معنی‌دار وزن هزار دانه می‌گردد. این یافته‌ها با نتایج این پژوهش هم‌جهت بوده و به‌نظر می‌رسد کاهش وزن هزار دانه در بذرهای خسارت دیده مربوط به افت تولید و تجمع مواد فتوسنتزی در دانه‌ها و همچنین انتقال مجدد مواد فتوسنتزی به دانه می‌باشد.

درصد گلوتن دانه: محتوی گلوتن دانه لاین‌های مختلف گندم در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر معنی‌دار خسارت آفت سن قرار گرفت (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین حاکی از آن است که بیشترین درصد گلوتن مربوط به لاین ۱۵ (۲۷/۰۵ درصد) بود و کمترین محتوی به لاین ۹ (۲۴/۲ درصد) اختصاص داشت که با یکدیگر به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۵). این اختلاف معنی‌دار در لاین‌های مختلف گندم به این علت است که آفت سن به‌طور مستقیم از طریق تغذیه از بذر و یا به‌صورت غیرمستقیم تحت تأثیر تغذیه از شیره گیاهی مانع تکمیل ظرفیت مخازن زایشی (بذرها) و افت کیفیت دانه می‌شود.



شکل ۲- مقایسه میانگین وزن هزار دانه لاین‌های گندم تحت تأثیر سن در شرایط آب و هوایی نیشابور

برای اطلاعات شجره لاین‌های گندم به جدول ۱ مراجعه شود.

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری ($p\leq0.05$) بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند.

Figure 2- Mean comparison for 1000- kernel weight of wheat lines affected as Sunn pest under climatic conditions of Neyshabur

See Table 1 for wheat lineage information.

Averages with at least one same letter do not have a significant difference ($p\leq0.05$) based on the LSD test.

همچنین احتمال می‌رود که تفاوت در دسترسی بهتر به نیتروژن موجود در خاک تحت تأثیر تفاوت ژنتیکی بین لاین‌های مختلف موجب تفاوت در میزان تجمع پروتئین در دانه شده است. لاین ۱۴ با کاهش ۰/۵۶درصدی نسبت به حداکثر مقدار این صفت در رتبه دوم قرار گرفت. لاین ۱ (رقم امین) نیز با افزایش ۱/۰۳ درصدی نسبت به لاین ۹ کمترین عملکرد دانه را به خود اختصاص داد (جدول ۵). برخی بررسی‌ها نشان داده است که کمیت پروتئین دانه گندم متأثر از فاکتورهای محیطی چون شرایط قلیمی، خصوصیات خاک، عملیات زراعی بوده، در حالی‌که کیفیت آن تحت تأثیر فاکتورهایی چون خصوصیات ژنتیکی ارقام می‌باشد (Hruskova & Famera, 2003). انصاری و همکاران (Ansari *et al*., 2018) در پژوهشی روی ارزیابی صفات زراعی و کیفی در لاین‌های مختلف تریتیکاله بیان داشتند که میزان نیتروژن دانه، متفاوت بود و علت این امر را به صفات موفولوژیکی و ژنتیکی در لاین‌های مختلف نسبت دادند. نتایج دیگر تحقیقات (Armstrong *et al.*, 2019;Basati *et al.*, 2018) نیز مؤید افت محتوی گلوتن دانه گندم تحت تأثیر حمله آفت سن می-باشد. لازم به ذکر است که این تنوع بین لاین‌ها برنامه‌ریزی هدفمندی را برای معرفی و توسعه کشت لاین‌های برتر در مناطق مختلف کشور به‌ویژه در شرایط مواجهه با تغییرات اقلیمی فراهم می-نماید.

درصد نیتروژن دانه: محتوی نیتروژن دانه لاین‌های مختلف گندم تحت تأثیر معنی‌دار خسارت سن قرار گرفت و از لحاظ این صفت در سطح احتمال پنج درصد از نگاه آماری اختلاف معنی‌داری بین لاین‌ها مشاهده شد (جدول ۳). براساس نتایج، بیشترین درصد نیتروژن مربوط به لاین ۱۵ (۲/۳۵ درصد) بود و کمترین میزان به رقم امین (۱/۹۷ درصد) اختصاص یافت. همچنین حداکثر و حداقل این صفت به لحاظ آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۵). لاین ۶ با کاهش ۱/۰۷ درصدی نسبت به لاین ۱۵، رتبه دوم را از نظر میزان خسارت برگی به خود اختصاص داد. همچنین در لاین ۲۰ با افزایش ۰/۲۵ درصدی محتوی نیتروژن دانه نسبت لاین ۱ کمترین محتوی نیتروژن به‌دست آمد (جدول ۵).

عملکرد دانه: همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، لاین‌های مختلف گندم از لحاظ میزان عملکرد در سطح احتمال یک درصد با یکدیگر به‌طور معنی‌داری اختلاف داشتند. براساس نتایج به‌دست آمده، بیشترین عملکرد دانه به لاین ۶ (۶/۰۸ تن در هکتار) و کمترین میزان به رقم امین (۴/۳۱ تن در هکتار) اختصاص داشت. لاین ۱۲ با کاهش ۵/۵۴ درصدی نسبت به بیشترین مقدار این صفت در رتبه دوم قرار گرفت. همچنین قابل ذکر است که لاین ۲۰ با افزایش ۰/۴۷ درصدی نسبت به رقم امین، کمترین عملکرد دانه را به خود اختصاص داد (شکل ۳). دیگر محققان (Armstrong *et al.*, 2019; Basati *et al.*, 2018) نیز طی مطالعه‌ای روی طیف‌سنجی خسارت سن گندم نتیجه گرفتند که این آفت عملکرد دانه را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد.

جدول ۵- مقایسه میانگین خصوصیات کیفی لاین‌های گندم تحت تأثیر خسارت سن در شرایط آب و هوایی نیشابور

Table 5- Mean comparisons for quality of wheat lines affected as Sunn pest under climatic conditions of Neyshabur

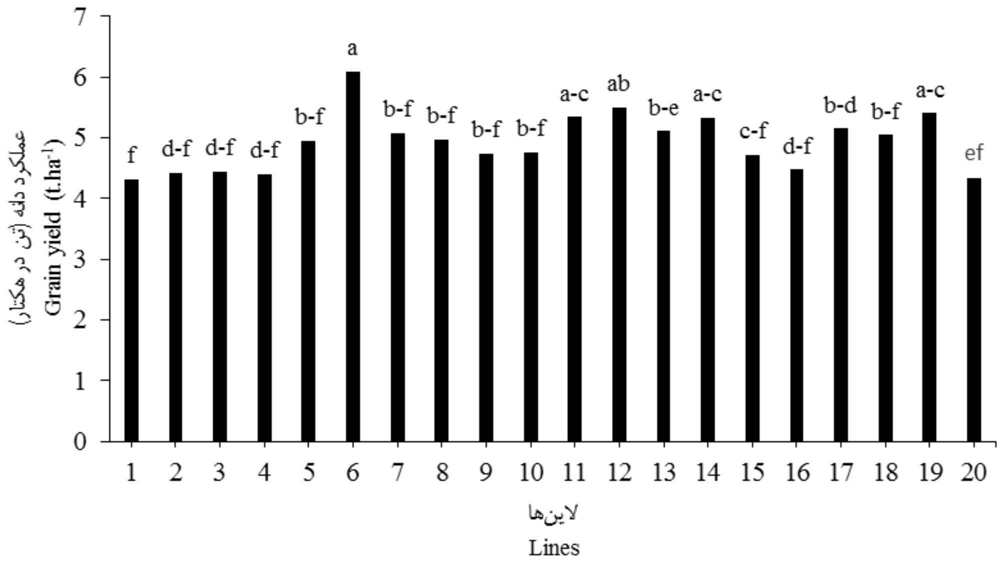
لاین‌ها **Lines**	درصد گلوتن دانه **Gluten content of kernel (%)**	درصد نیتروژن دانه **Nitrogen content of kernel (%)**
1	24.45ef*	1.97f
2	25.85a-f	2.19a-e
3	25.3b-f	2.03d-f
4	25.4a-f	2.04c-f
5	24.65d-f	2.06c-f
6	26.5a-c	2.35a
7	26.5a-c	2.21a-d
8	25c-f	2.02d-f
9	24.2f	1.98ef
10	24.55d-f	2.00d-f
11	26.7a-b	2.18a-f
12	26a-e	2.10b-f
13	25.65a-f	2.07c-f
14	26.9ab	2.19a-e
15	27.05a	2.35a
16	25c-f	1.98ef
17	26.7ab	2.24a-c
18	26.2a-d	2.17a-f
19	26.6a-c	2.31ab
20	25.3b-f	1.98ef

برای اطلاعات شجره لاین‌های گندم به جدول ۱ مراجعه شود.

*میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در هر ستون تفاوت معنی‌داری (p≤0.05) بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند.

See Table 1 for wheat lineage information.

*Averages with at least one same letter in each column do not have a significant difference (p≤0.05) based on the LSD test.



شکل ۳- مقایسه میانگین عملکرد دانه لاین‌های گندم تحت تأثیر سن در شرایط آب و هوایی نیشابور

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری (p≤0.05) براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند.

برای اطلاعات شجره لاین‌های گندم به جدول ۱ مراجعه شود.

Figure 3- Mean comparison for grain yield of wheat lines affected as Sunn pest under climatic conditions of Neyshabur

See Table 1 for wheat lineage information.

Averages with at least one same letter do not have a significant difference (p≤0.05) based on the LSD test.

جدول ٦– ضرایب همبستگی بین صفات مورد ارزیابی لاین‌های گندم در شرایط آب و هوایی نیشابور

Table 6- Correlation coefficient between the evaluated traits of wheat lines in the climatic conditions of Neyshabur

متغیرها Variables	تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید Density of nymphs and new-generation adults	درصد خسارت سن‌زدگی دانه Percentage of grain sunn pest damage	خسارت برگی Leaf damage level	ارتفاع بوته Plant height	وزن هزار دانه 1000-kernel weight	عملکرد دانه Grain yield	درصد گلوتن دانه Gluten content of kernel	درصد نیتروژن دانه Nitrogen content of kernel
تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید Density of nymphs and new-generation adults	1							
درصد خسارت سن‌زدگی دانه Percentage of grain sunn pest damage	0.33^{ns}	1						
خسارت برگی Leaf damage level	0.24^{ns}	-0.04^{ns}	1					
ارتفاع بوته Plant height	0.32^{ns}	-0.13^{ns}	-0.11^{ns}	1				
وزن هزار دانه 1000-kernel weight	-0.09^{ns}	0.21^{ns}	-0.20^{ns}	0.38^{ns}	1			
عملکرد دانه Grain yield	-0.10^{ns}	-0.13^{ns}	-0.57^{**}	0.45^{*}	0.38^{ns}	1		
درصد گلوتن دانه Gluten content of kernel	-0.16^{ns}	0.08^{ns}	-0.26^{ns}	0.06^{ns}	0.62^{**}	0.57^{**}	1	
درصد نیتروژن دانه Nitrogen content of kernel	-0.12^{ns}	-0.05^{ns}	-0.15^{ns}	0.27^{ns}	0.70^{**}	0.62^{**}	0.89^{**}	1

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

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

ازکان (Ozkan, 2009) تأکید نمود که میزان خسارت سن و کاهش عملکرد دانه گندم بسته به شرایط اقلیمی و همچنین مدیریت زراعی متفاوت می‌باشد. زمانی و همکاران (Zamani *et al.*, 2004) در پژوهشی روی ارزیابی مقاومت ۳۰ لاین گندم نسبت به آفت سن اظهار داشتند که عملکرد لاین‌ها نسبت به یکدیگر متفاوت و از لحاظ آماری معنی‌دار بود. جبله و همکاران (Jabaleh *et al.*, 2019) در بررسی مقاومت ۲۰ لاین گندم به آفت سن دریافتند که عملکرد دانه در لاین‌های مختلف به‌طور معنی‌دار متفاوت است. بر این اساس، با توجه به این مطلب که گندم گیاهی خودگرده‌افشان است، پیشنهاد می‌شود که با انتخاب لاین‌های برتر تولید در واحد سطح را بهبود بخشید. لاین‌های مورد بررسی در شرایط آب و هوایی نیشابور از نظر ارزیابی عملکرد از تنوع قابل قبولی برخوردار بودند که این موضوع بیان‌گر کارایی مطلوب برخی از این لاین‌ها برای توصیه در برنامه‌های به‌نژادی آینده و همچنین معرفی به کشاورزان منطقه نیشابور است.

بررسی ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه: ضرایب همبستگی بین صفات کمی و کیفی لاین‌های گندم تحت تأثیر آفت سن در جدول ۶ نشان داده است.

همان‌طور که در جدول ۶ ملاحظه می‌شود، تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید با درصد خسارت سن‌زدگی دانه ($r=۰/۳۳^{ns}$) و خسارت برگی ($r=۰/۲۴^{ns}$) همبستگی مثبت اما غیرمعنی‌داری داشت. بر این اساس، مشخص است که با افزایش تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید، درصد خسارت سن‌زدگی دانه و درجه خسارت برگی افزایش می‌یابد. همبستگی تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید با وزن هزار دانه ($r=۰/۰۹^{ns}$)، عملکرد دانه ($r=۰/۱۰^{ns}$)، درصد گلوتن دانه ($r=۰/۱۶^{ns}$) و درصد نیتروژن دانه ($r=۰/۱۲^{ns}$) منفی و از لحاظ آماری بی‌معنی بود. بر این اساس نیز مشخص است که با افزایش تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، درصد گلوتن دانه و نیتروژن دانه کاهش می‌یابد (جدول ۶). با این وجود، در پژوهشی چنین نتیجه‌گیری شد که بین وزن دانه و تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید همبستگی معنی‌داری وجود ندارد (Rezabeigi *et al.*, 2007). جالب توجه است هنگامی‌که دانه گندم در مرحله شیری مورد حمله آفت سن قرار می‌گیرد، مقدار زیادی از محتوی مواد فتوسنتزی توسط آن مکیده شده که این امر سبب کاهش وزن ۱۰۰۰ دانه می‌شود (Kinaci & Kinaci, 2007) و این مهم با نتیجه پژوهش حاضر مطابق است. علاوه بر این، خسارت این آفت، افت کیفیت نانوایی را نیز موجب می‌شود (Mutlu *et al.*, 2014). نتایج دیگر پژوهشگران (Armstrong *et al.*, 2019; Basati *et al.*, 2018) نیز روی طیف‌سنجی خسارت سن گندم مؤید وجود همبستگی منفی بین عملکرد دانه و محتوی گلوتن دانه با درصد خسارت سن‌زدگی دانه می‌باشد. بر این اساس، توصیه می‌شود لاینی را جهت معرفی به کشاورزان انتخاب نمود که کمترین درصد خسارت سن‌زدگی دانه را داشته و از لحاظ صفات کمی و کیفی ارزیابی شده نسبت به سایر لاین‌ها برتر باشد.

درصد خسارت سن‌زدگی دانه با درجه خسارت برگی ($r=۰/۰۴^{ns}$)، ارتفاع بوته ($r=۰/۱۳^{ns}$)، عملکرد دانه ($r=۰/۱۳^{ns}$) و درصد نیتروژن دانه ($r=۰/۰۵^{ns}$) همبستگی منفی و غیرمعنی‌دار و با وزن هزار دانه ($r=۰/۲۱^{ns}$) و درصد گلوتن دانه ($r=۰/۰۸^{ns}$) همبستگی غیرمعنی‌دار اما مثبت داشت (جدول ۶). درجه خسارت برگی با تمام صفات کمی و کیفی دانه همبستگی منفی داشت؛ به‌طوری‌که ضرایب همبستگی آن با ارتفاع بوته ($r=۰/۱۱^{ns}$)، وزن هزار دانه ($r=۰/۲۰^{ns}$)، درصد گلوتن دانه ($r=۰/۲۶^{ns}$) و درصد نیتروژن دانه ($r=۰/۱۵^{ns}$) غیرمعنی‌دار و با عملکرد دانه ($r=۰/۵۷^{**}$) معنی‌دار محاسبه گردید. بدین مفهوم که با تشدید خسارت برگی کلیه خصوصیات رشدی، ویژگی‌های کیفی و کمی دانه و به‌ویژه عملکرد دانه گندم کاهش می‌یابد. البته بایستی توجه نمود که تمایل سن برای تغذیه از لاین‌های مختلف گندم به دلیل ویژگی‌های ژنتیکی متفاوت بوده است.

ارتفاع بوته با وزن هزار دانه ($r=۰/۳۸^{ns}$)، عملکرد دانه ($r=۰/۴۵^{*}$)، درصد گلوتن دانه ($r=۰/۰۶^{ns}$) و درصد نیتروژن دانه ($r=۰/۲۷^{ns}$) همبستگی مثبت داشت. ضرایب همبستگی بین ارتفاع بوته با وزن هزار دانه، درصد گلوتن دانه و درصد نیتروژن دانه غیرمعنی‌دار و با عملکرد دانه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۶). با توجه به وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار ارتفاع بوته با عملکرد دانه، پیشنهاد می‌شود به جهت انتخاب لاین‌های مقاوم برای دستیابی به عملکرد بالا، توجه به صفت ارتفاع بوته مدنظر قرار گیرد. لذا همان‌طور که پیش‌تر نیز ذکر گردید، ارتفاع بوته در گندم به‌عنوان عاملی مثبت و مؤثر در انتقال مجدد مواد فتوسنتزی به دانه به‌ویژه در شرایط وقوع تنش خشکی، شناخته شده است (Ansari *et al.*, 2018)، بنابراین می‌توان با انتخاب لاین‌های دارای ارتفاع بیشتر عملکرد دانه را افزایش داد.

از دیدگاه آماری براساس نتایج حاصل، وزن هزار دانه با عملکرد دانه ($r=۰/۳۸^{ns}$) همبستگی غیرمعنی‌داری داشت. همبستگی وزن هزار دانه با عملکرد دانه، درصد گلوتن دانه و درصد نیتروژن دانه مثبت تعیین گردید (جدول ۶). وزن هزار دانه با درصد نیتروژن دانه ($r=۰/۷۰^{**}$) و درصد گلوتن دانه ($r=۰/۶۲^{**}$) همبستگی مثبت داشت و در سطح احتمال یک درصد از منظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۶).

عملکرد دانه با درصد گلوتن دانه ($r=۰/۵۷^{*}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد و با درصد نیتروژن دانه نیز ($r=۰/۶۲^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۶). بدین‌صورت، مشخص است که با افزایش عملکرد دانه، محتوی نیتروژن دانه و درصد گلوتن دانه افزایش می

یابد. مرحله پرشدن دانه از جمله حساس‌ترین مراحل رشدی گندم نسبت به وقوع تنش‌های دمایی می‌باشد. حساسیت عملکرد گندم نسبت به وقوع دماهای بالا و تنش گرمایی به تسریع در مراحل نموی و فنولوژیکی گیاه می‌انجامد که کاهش فتوسنتز و تأثیر منفی درجه حرارت‌های بالا روی مرحله زایشی گیاه را به‌دنبال دارد (Hesam Aref *et al*., 2019). اگرچه نتایج برای محصولات زراعی و مناطق مختلف جغرافیایی بسیار متفاوت است، ولی ژائو و همکاران (Zhao *et al*., 2017) نیز گزارش نمودند که به ازای هر یک درجه سانتی‌گراد افزایش درجه حرارت در مناطق مختلف اقلیمی در جهان، میانگین عملکرد گندم، برنج، ذرت و سویا به‌ترتیب برابر با ۶/۰، ۳/۲، ۷/۴ و ۳/۱ درصد کاهش می‌یابد. ترکمان و همکاران (Torkaman *et al*., 2023) نیز افت عملکرد دانه گندم در کشور تحت تأثیر افزایش درجه حرارت را تأیید نمودند. در چنین شرایطی به نظر می‌رسد لاین‌هایی که خصوصیات کیفی مطلوب‌تری به لحاظ درصد نیتروژن دانه دارند، از نظر عملکرد دانه موفق‌تر عمل می‌نمایند. این درحالی است که با افزایش وزن ۱۰۰۰ دانه و در نهایت، افزایش عملکرد در واحد سطح، محتوی گلوتن دانه کاهش می‌یابد و دانه‌های چروکیده با وزن کمتر قادرند میزان گلوتن بالاتری را در خود ذخیره نمایند.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش روی مقایسه مقاومت لاین‌های گندم نسبت به آفت سن در شرایط آب و هوایی نیشابور نشان داد که بین لاین‌های مختلف از نظر مقاومت به سن و عملکرد دانه تفاوت معنی‌داری وجود داشت. به این صورت‌که با مقایسه ارقام شاهد (امین و فرین) با لاین‌های مورد بررسی و نیز بررسی همبستگی صفات مورد مطالعه (چون تراکم پوره و حشرات کامل نسل جدید، درصد خسارت سن زدگی دانه، خسارت برگی، ارتفاع بوته، وزن هزار دانه، درصد گلوتن دانه، درصد نیتروژن دانه و عملکرد دانه)، لاین ۶ با کمترین خسارت برگی، درصد گلوتن بالا و بیشترین عملکرد دانه به‌عنوان لاین متحمل به سن و رقم امین با بیشترین میزان سن‌زدگی، کمترین درصد گلوتن، وزن هزار دانه و عملکرد دانه به‌عنوان رقم حساس به سن شناسایی شدند. رقم امین در مقایسه با فرین نسبت به خسارت آفت سن حساس‌تر بود؛ به‌طوری‌که در ارزیابی صفات مورد مطالعه حداقل مقادیر مورد بررسی را به خود اختصاص داد. به‌طور نسبی هر دو رقم شاهد نسبت به سایر لاین‌ها عملکرد دانه پایین‌تری داشتند. بنابراین، می‌توان چنین نتیجه گرفت لاین‌های مقاوم‌تر به سن، عملکرد دانه بهتری را تولید نموده که البته با توجه به تغییرات اقلیمی و تغییر واکنش آفات به نظر می‌رسد نیاز به آزمایشات تکمیلی در مناطق مختلف اقلیمی کشور می‌باشد.

References

1. Alizadeh, M., Bandani, A.R., & Amiri, A. (2010). Evaluation of insecticide resistance and biochemical mechanism in two populations of *Eurygaster integriceps* Puton (Heteroptera: Scutelleridae). *Munis Entomology & Zoology*, *5*(2),734–74.
2. Ansari, S., Mirmohammady Maibody, S.A., Arzani, A., & Golkar, P. (2018). Evaluation of different Triticale (X Triticosecale Wittmack) genotypes for agronomic and qualitative characters. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *15*(4), 872-884. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/gsc.v15i4.55994
3. Armstrong, P., Maghirang, E., & Ozulu, M. (2019). Determining damage levels in wheat caused by Sunn pest (*Eurygaster integriceps*) using visible and near-infrared spectroscopy. *Journal of Cereal Science*, *86*, 102-107. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.02.003
4. Basati, Z., Jamshidi, B., Rasekh, M., & Abbaspour-Gilandeh, Y. (2018). Detection of sunn pest-damaged wheat samples using visible/near-infrared spectroscopy based on pattern recognition. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *203*, 308.314. https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.05.123
5. Brain, R.C. (1998). Literature review of sunn pest *Eurygaster integriceps* Put (Hemiptera, Scutelleridae). *Crop Protection*, *17*(4), 271-288. https://doi.org/10.1016/S0261-2194(98)00022-2
6. Critchley, B.R. (1998). Literature review of sunn pest, *Eurygaster integriceps* Put. (Hemiptera, Scutelleridae). *Crop Protection*, *17*, 271-287. https://doi.org/10.1016/S0261-2194(98)00022-2
7. Davari, A., & Parker, B. (2018). A review of research on Sunn Pest {*Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae)} management published 2004–2016. *Asia-Pacific Entomology*, *21*(1), 352-360. https://doi.org/10.1016/j.aspen.2018.01.016
8. Dizlek, H., & Özer, M.S. (2017). Improvement bread characteristics of highlevel sunn pest (*Eurygaster integriceps*) damaged wheat by using transglutaminase and some additives. *Journal of Cereal Science*, *77*, 90-96. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.08.003
9. El Bouhssini, M., Ogbonnaya, F.C., Chen, M., Lhaloui, S., Rihawi, F., & Dabbous, A. (2013). Sources of resistance in primary synthetic hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) to insect pests: Hessian fly, Russian wheat aphid and Sunn pest in the Fertile Crescent. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *60*, 621-627.
10. Emebiri, L., El Bousshini, M., Tan, M.K., & Ogbonnaya, F. (2017). Field-based screening identifies resistance to

Sunn pest (*Eurygaster integriceps*) feeding at vegetative stage in elite wheat genotypes. *Crop & Pasture Science, 62*(2), 126-133. https://doi.org/10.1071/CP16355

11. Foreign Agricultural Service /USDA. 2023. World Agricultural Production. Available from https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf
12. Ghanadha, M.R., & Ayeeneh, S. (2003). Evaluation of sunnpest resistance in wheat. *Iranian Journal of Agricultural Sciences, 34*, 769-783. (In Persian with English abstract)
13. Ghorbani, R., Koocheki, A., Jahan, J., & Asadi, G.A. (2008). Impact of organic amendments and compost extracts on tomato production and storability in agroecological systems. *Agronomy for Sustainable Development*, *28,* 307-311.
14. Hesam Arefi, I., Saffari, M., & Moradi, R. (2019). Effect of different planting dates on growth attributes, grain yield and protein content of three wheat cultivars in Kerman. *Applied Research in Field Crops, 31*(4), 72-89. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/aj.2018.115369.1189
15. Hruskova, M., & Famera, O. (2003). Prediction of wheat and flour Zeleny sedimentation value using NIR technique. *Czech Journal Food Science*, *21*, 91-96.
16. Iranipour, S., Kharazi Pakdel, A., & Radjabi, G. (2010). Life history parameters of Sunn pest, *Eurygaster integriceps*, held at four constant temperatures. *Insect Science*, *10*, 1-12. https://doi.org/10.1673/031.010.10601
17. Jabaleh, I., Askari, R., & Taherian, M. (2019). Comparison of Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Put., resistance in barley in Neyshabour. *Applied Plant Protection*, *7*(2), 61-72. (In Persian with English abstract)
18. Jiang, B., Kontogiorgos, V., Kasapis, S., & Goff, H.D. (2008). Rheological investigation and molecular architecture of highly hydrated gluten networks at subzero temperatures. *Food Engineering*, *89*(1), 42-48. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.04.001
19. Kinaci, E., & Kinaci, G. (2007). Genotypic variations in yield and quality of wheat damaged by Sunn pest (*Eurygaster* spp.). *Pakistan Journal of Botany, 39*(2), 397-403.
20. Krupnov, V.A. (2012). Wheat breeding for resistance to Sunn pest (*Eurygaster* spp.): Does risk occur? *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, *2*(1), 79–84. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.04.001
21. Ministry of Agriculture-Jihad. (2022). Agricultural Statistics. Islamic Republic of Iran, Ministry of Agriculture Jihad, available at: https://ajkhz.ir › main › akj1-keshvar-2020.2021. (In Persian)
22. Mondani, F., Nassiri-Mahallati, M., & Koocheki, A. (2014). Modeling of Sunn pest damage (*Eurygaster integriceps* Put.) on winter wheat (*Triticum aestivum*) growth and yield under climate change condition. *Plant Production Technology*, *14*(2), 61-75. (In Persian with English abstract)
23. Mutlu, Ç., Canhilal, R., Karaca, V., Duman, M., Gözüaçik, C., & Kan, M. (2014). Economic threshold revision of the Sunn Pest (*Eurygaster integriceps* Put.) (Hemiptera: Scutelleridae) on wheat in Southeastern Anatolia Region Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Süne (*Eurygaster integriceps* Put.) (Hemiptera: Scutelleridae). *Türkiye Entomoloji Bülteni*, *4*(3), 157-169. https://doi.org/10.16969/teb.80534
24. Naghavi, M.R., Shahbaz, P.A., & Taleie, A. (2002). Study of genetic variation in durum wheat germ plasm for some morphological and agrononic characteristics. *Iranian Journal of Crop Sciences*, *4*(2), 81-88. (In Persian with English abstract)
25. Najafi, F. (2012). Resistance and susceptibility of some wheat lines to green aphid, *Schizaphis graminum* (R.) (Hom: Aphididae) under laboratory conditions. M.Sc. Thesis. University of Mohaghegh Ardabili Faculty, Ardabil, Iran. (In Persian with English abstract)
26. Najafimirak, T. (2012). Evaluation of resistance to Sunn pest (*Eurygaster integriceps* Put.) in wheat and triticale genotypes. *Crop Breeding*, *2*(1), 43-48. https://doi.org/10.22092/cbj.2012.100416
27. Nasrollahi, S., Badakhshan, H., & Sadeghi, A. (2019). Analyzing Sunn pest resistance in bread wheat genotypes using phenotypic characteristics and molecular markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *25*(3), 765-778. https://doi.org/10.1007/s12298-019-00662-8
28. Nour-Mohamadi, G., Siadat, A., & Kashani, A. (2009). *Agronomy*, Vol. 1: Cereal crops. Shahid Chamran University Press. Iran-Ahwaz. 446 p.
29. Ozkan, M., & Babaroğlu, N. (2009). Orta Anadolu Bölgesi'nde Avrupa Sünesi (*Eurygaster maura* L.)'nin neden olduğu ürün kayıpları ve ekonomik zarar eşiği üzerinde araştırmalar. *Tagem Yayınlanmamış Araştırma Projesi*, 59s. (In Turkish with English abstract)
30. Rajabi, G.H. (2000). *Ecology of cereals sunn pests in Iran*. Agricultural Research, Education and Extention Organization Publication. 343 pp. Tehran, Iran. (In Persian)
31. Rezabeigi, M. (2000). Investigation on resistance mechanism of wheat cultivars to the Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Put., based on HMW- glutenin subunits and measurement of starch granules in kernel endosperm. Ph.D. Thesis, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran. (In Persian with English abstract)
32. Rezabeigi, M., Radjabi, G.H., & Nouri Ganbalani, G. (2007). The effect of starch granule size of grains endosperm on the resistance of wheat cultivars to Sunn pest (*Eurygaster integriceps* Puton). In: Parker, B.L., Skinner, M., El Bouhssini, M., Kumari, S.G. (Eds.) Sunn pest management: A decade of progress 1994–2004. The Arab Society

for Plant Protection, Beirut, pp. 391–39.
33. Sajedi, N.A. (2016). Effect of seed priming and foliar application of selenium onphysiological traits and Stink bug injury percentage of rainfed wheat Azar 2 cultiva. *Plant Ecophsiology*, *10*(33), 200-211. (In Persian with English abstract)
34. Salehi, M.S., Sadeghi, A., Badakhshan, H., & Maroufpoor, M. (2017). Evaluation of wheat genotypes resistance to the nymphs of sunn pest, *Eurygaster integriceps* (Hem.: Scutelleridae) in field conditions in Kurdistan province. *Plant Pest Research*, *7*(4), 29-40. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22124/IPRJ.2018.2745
35. Sanaey, N., & Najafimirak, T. (2012). Wheat resistance to the adult insect of sunn pest, *Eurygaster integriceps* Put. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences, 7*(1), 56-60. https://doi.org/10.3844/ajabssp.2012.56.60
36. Sharma, S., Kooner, R., & Arora, R. (2017). Insect pests and crop losses. Breeding Insect Resistant Crops for Sustainable Agriculture, pp. 45-66.
37. Sheikh, K., & Rahbi, M.A. (1996). Sunn Pest and their control in the Near East. *FAO Plant Production and Protection*. Pp. 138-165.
38. Torkaman, M., Khorramdel, S., Rezvani Moghaddam, P., & Nassiri Mahallati, M. (2023). Investigating the spatial variations of water use efficiency, and fertilizer sources for irrigated and rainfed wheat systems in different regions of Iran. *Plant Productions, 46*(2), 263-277. (In Persian with English abstract)
39. Zamani, P., Rezabeigi, M., Gannadha, M.R., & Bozorgipour, R. (2004). A study of the relationship between resistance to sunn pest (*Eurygaster integriceps* Put.) of different wheat genotypes and starch granules in their grain endosperm. *Iranian Journal Agricultural Sciences, 35*(1), 107-114. (In Persian with English abstract)
40. Zhang, Y., Zhang, S., Wang, B., Wang, H., Liu, X., & Zhang, H. (2023). Effects of electrostatic field-assisted freezing on the functional properties and aggregation behavior of gluten. *Food Physics, 1*, 100004. https://doi.org/10.1016/j.foodp.2023.100004
41. Zhao, C., Liu, B., Piao, S., Wang, X., Lobell, D.B., Huang, Y., Huang, M., Yao, Y., Bassu, S., Ciais, P., Durand, J.L., Elliott, J., Ewert, F., Janssens, I.A., Li, T., Lin, E., Liu, Q., Martre, P., Müller, C., Peng, S., Peñuelas, J., Ruane, A.C., Wallach, D., Wang, T., Wu, D., Liu, Z., Zhu, Y., Zhu, Z., & Asseng, S. (2017). Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *114*(35), 9326-9331.
42. Zhao, L., Li, L., Liu, G.O., Chen, L., Liu, X.X., Zhu, J., & Li, B. (2013). Effect of freeze-thaw cycles on the molecular weight and size distribution of gluten. *Food Research Internationa*, *53*(1), 409-416. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.013

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 2, 2024, p. 147-157

Inhibitory Effect of Endophytic Bacteria with Auxin Production Ability on *Diplodia bulgarica*, the Causative Agent of Apple Canker in East Azerbaijan Province

S. Hagverdi[1], R. Khakvar[2*], M. Arzanlou[2], N. Aliasgharzad[3]

1 and 2- Former M.Sc Student and Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: khakvar@tabrizu.ac.ir)
3- Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Received: 18-06-2023 Revised: 12-04-2024 Accepted: 15-04-2024 Available Online: 21-07-2024	**How to cite this article:** Hagverdi, S., Khakvar, R., Arzanlou, M., & Aliasgharzad, N. (2024). Inhibitory effect of endophytic bacteria with auxin production ability on *Diplodia bulgarica*, the causative agent of apple canker in East Azerbaijan province. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *38*(2), 147-157. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.82876.1148

Introduction

The apple (*Malus domestica* Borkh.), a cornerstone of Iran's agricultural exports, plays an important role in the nation's economy. The cultivation of this fruit, however, is frequently exposed to a multitude of pests and diseases, especially fungi from the Botryosphaeriaceae family emerging as a significant threat. Among these, *Diplodia bulgarica* is a particularly harmful fungus that causes a lot of damage to apple orchards. Traditional management strategies have predominantly relied on chemical fungicides; however, these methods have several problems, including environmental contamination, food safety concerns, and the potential for pathogen resistance. These issues highlight the critical need for alternative solutions. To deal with these problems, experts in plant diseases are looking more at using biological control agents as a viable and environmentally friendly option. Endophytic bacteria, a group of non-pathogenic microorganisms that inhabit plant tissues, are leading this change. By producing essential growth factors, these bacteria not only enhance the metabolic processes of their host plants but also protect them from many diseases and environmental stress. Their mode of action is not limited to direct antagonistic actions like nutrient competition and antibiotic production; they also take in a range of indirect strategies that effectively inhibit plant diseases. Using endophytic bacteria to control plant diseases is a new, exciting and promising direction toward sustainable agriculture. Their dual role as biocontrol agents and promoters of plant health offers a comprehensive strategy for enhancing crop resilience. Ongoing research is revealing how endophytic bacteria could transform the way we protect plants and increase farm yields, marking a new era in the management of apple and other fruit tree diseases.

Materials and Methods

This study aimed to isolate auxin-producing endophytic bacteria from apple trees in the orchards of East Azerbaijan province and assess their capacity to inhibit the pathogenic fungus *Diplodia bulgarica* the major causal agent of apple tree decline in Northwest Iran. To do this, healthy branches from apple trees in East Azerbaijan

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.82876.1148

province in northwest Iran were sampled, resulting in 110 isolates of endophytic bacteria being isolated and subsequently analyzed. Employing the dual-culture method, researchers identified the most effective isolate exhibiting the strongest antagonistic effect. Subsequently, fifty isolates out of the initial 110 were chosen for further investigation based on their promising antifungal properties. To statistically analyze the auxin production data, researchers conducted a variance analysis (ANOVA). Finally, Duncan's multiple range test (DMRT) at a 1% significance level was used to compare the mean auxin production values among these selected isolates. Identification was carried out based on polymerase chain reaction (PCR) and sequencing of the 16S rDNA region, along with biochemical assays including gram staining, catalase, oxidase, arginine hydrolase, and others.

Results and Discussion

The dual-culture assay results led to the selection and preservation of 50 isolates demonstrating varying degrees of antagonistic potential. Of these, 37 isolates (74%) were identified as gram-positive, while the remaining 13 isolates were gram-negative. The inhibition percentage of these isolates ranged from 10% to 79%. Notably, five endophytes exhibited high inhibition rates (74-79%), were also effective in auxin production. The auxin production assay revealed that, on average, bacterial isolates produced 5.5 mg/ml of auxin in the absence of tryptophan and 8.58 mg/ml in its presence. Based on biochemical and molecular identification, all five isolates belonged to the *Bacillus* genus, with more than 99% similarity. These included *Bacillus xiamenensis*, *Bacillus sonorensis*, *Bacillus tequilensis*, *Bacillus mojavensis*, and *Bacillus subtilis*. *Bacillus mojavensis* demonstrated the highest auxin production, yielding up to tenfold more auxin without tryptophan and fivefold more with tryptophan compared to other isolates. The study also found that adding L-tryptophan to the bacterial growth medium generally increased auxin production. In the qualitative evaluation, a pink color change was observed exclusively in the *B. mojavensis* isolate.

Conclusion

While fungicides are highly effective, their escalating use has led to serious repercussions, including environmental pollution, toxic residues in food, pathogen resistance, and socio-economic issues. The substantial costs and consumer demand for chemical-free produce have spurred researchers to seek viable alternatives to these agents. In this study, five *Bacillus* bacterial isolates were identified from apple trees in Iran's northwestern regions. These isolates not only exhibit strong inhibitory effects against the fungus *Diplodia bulgarica* but also possess the capability to produce significant amounts of the phytohormone auxin (IAA). Consequently, they can be recommended to farmers as both an alternative to fungicides and as biofertilizers. The deployment of these bacteria promises not only the effective and safe mitigation of pathogens but also supports plant growth and development through hormone production.

Keywords: *Bacillus*, Biocontrol, Pphytohormone, Trunk canker

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران

https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸ شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، ص. ۱۵۷-۱۴۷

بررسی اثر بازدارندگی باکتری‌های اندوفیت با توان تولید اکسین، روی قارچ *Diplodia bulgarica* عامل بیماری شانکر سیب در استان آذربایجان شرقی

سمانه حق‌وردی[۱]- رضا خاک‌ور[۲*]- مهدی ارزنلو[۲]- ناصر علی‌اصغرزاد[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۲۷

چکیده

درخت سیب از عمده‌ترین محصولات باغی و صادراتی ایران و استان آذربایجان‌شرقی می‌باشد. از مهم‌ترین بیماری‌های این محصول در منطقه، بیماری شانکر ناشی از قارچ *Diplodia bulgarica* می‌باشد. روش‌های مختلفی برای کنترل این بیماری معرفی شده است که در بین آن‌ها استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک، به‌عنوان روشی دوستدار محیط‌زیست و پایدار مورد توجه گیاه‌پزشکان می‌باشد. از عوامل کنترل بیولوژیک نوین که اخیرا بسیار مورد توجه بوده است استفاده از باکتری‌های اندوفیت می‌باشد. هدف از تحقیق حاضر، جداسازی باکتری‌های اندوفیت تولیدکننده اُکسین، از درختان سیب در باغات اطراف شهرستان تبریز و بررسی توان آن‌ها در کنترل قارچ بیمارگر *Diplodia bulgarica* بود. بدین منظور، نمونه‌برداری از شاخه‌های سالم درختان سیب باغات استان آذربایجان‌شرقی انجام پذیرفت و ۱۱۰ جدایه باکتری اندوفیت جداسازی و مورد بررسی قرارگرفت. انتخاب بهترین جدایه با بیشترین اثر آنتاگونیستی به روش کشت متقابل انجام پذیرفت. پنجاه جدایه باکتریایی از ۱۱۰ جدایه جمع‌آوری شده که اثر بازدارندگی روی قارچ را از خود نشان دادند، از لحاظ تولید اکسین مورد آزمایش قرار گرفتند. تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده انجام و مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ صورت گرفت و شناسایی براساس واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و تعیین توالی ناحیه 16S rDNA و تعدادی آزمون‌های بیوشیمیایی صورت گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان داد که پنج جدایه باکتریایی از مجموع جدایه‌های مورد آزمایش با ۷۹-۷۴٪ بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر، توان تولید مؤثر اکسین را نیز داشتند. براساس داده‌های بیوشیمیایی و توالی‌یابی انجام گرفته در پژوهش حاضر، هر پنج جدایه انتخاب شده متعلق به جنس *Bacillus* می‌باشند. کاربرد چنین باکتری‌هایی علاوه بر کنترل بهینه و بی‌خطر بیمارگر، می‌توانند در رشد و نمو گیاه نیز بعلت تولید هورمون‌های گیاهی مفید واقع شوند.

واژه‌های کلیدی: باسیلوس، بیوکنترل، شانکر تنه، هورمون گیاهی

مقدمه

سیب با نام علمی *Malus domestica* Borkh. در ایران یکی از محصولات مهم کشاورزی و یکی از اصلی‌ترین منابع صادرات غیرنفتی کشور در بخش کشاورزی می‌باشد به‌طوری‌که در حال حاضر کشور ایران مقام هفتم تولید سیب در جهان و در مقام دهم از لحاظ صادرات را در دنیا دارا می‌باشد (Najari, 2020). گونه‌های مختلفی از تیره Botryosphaeriaceae به‌عنوان عوامل مولد پوسیدگی و شانکر شاخه و تنه روی درختان سیب از مناطق مختلف دنیا گزارش شده‌اند که در بین آن‌ها گونه *Diplodia bulgarica* یکی از مخرب‌ترین قارچ‌های بیمارگر سیب در جهان است که باعث شانکر شاخه، تنه و سرانجام زوال درخت می‌شود (Zeynali Eken, 2022 ; *et al*., 2021). برای کنترل این بیماری روش‌های مختلف شیمیایی،

---

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی و استاد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

(*- نویسنده مسئول: Email: khakvar@tabrizu.ac.ir)

۳- استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.82876.1148

فیزیکی و بیولوژیک توصیه شده است که در بین آن‌ها کنترل شیمیایی با استفاده از قارچ‌کش‌ها به‌عنوان مهم‌ترین روش در مدیریت بیماری‌های شانکر ناشی از قارچ‌های خانواده Botryosphaeriaceae در نظر گرفته می‌شود (Hanifeh *et al.*, 2017). با وجود این که کارایی سموم قارچ‌کش زیاد می‌باشد، استفاده روز افزون از سموم شیمیایی تأثیرات منفی شدیدی از جمله آلودگی‌های زیست‌محیطی، وجود باقی‌مانده سموم روی مواد غذایی، ظهور مقاومت در بیمارگر و همچنین بروز مشکلات اجتماعی و اقتصادی را به‌دنبال دارد (Cawoy *et al.*, 2014).

از بین روش‌های نوین و دوست‌دار محیط‌زیست، استفاده از باکتری‌های اندوفیت بعنوان عامل بیوکنترل به سرعت در حال توسعه می‌باشد (Vasebi *et al.*, 2023; Jacob *et al.*, 2020). باکتری های اندوفیت از میکروارگانیسم‌های غیر بیماری‌زای ساکن بافت گیاهی‌اند که با حفظ بقای خود در گیاه میزبان، نه تنها زیانی به میزبان نمی‌رسانند بلکه با تولید فاکتورهای رشدی باعث افزایش متابولیسم، رشد و مقاومت گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا و تنش‌های محیطی می‌شوند (Luna *et al*., Mantelin & Touraine, 2004; 2002). باکتری‌های اندوفیت علاوه بر روش‌های مستقیم (رقابت غذایی با بیمارگر، پارازیتیسم و یا تولید آنتی بیوتیک‌ها علیه بیمارگر) بصورت غیر مستقیم نیز باعث کنترل بیمارگرهای مختلف گیاهی می شوند (Moslehi *et al.*, 2021). یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌هایی که انواع مختلف باکتری‌های اندوفیت به‌وسیله آن موجب ارتقا رشد و افزایش عملکرد گیاه می‌شوند، تولید گروهی از فیتوهورمون‌های محرک رشد می‌باشد که مهم‌ترین آن‌ها ایندول استیک اسید (IAA) است (Thoa *et al.*, 2022). لذا هدف از این پژوهش بررسی فعالیت ضد قارچی باکتری‌های اندوفیت با توان تولید اکسین علیه قارچ *Diplodia bulgarica* عامل شانکر سیب می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه‌های باکتریایی و قارچی

به‌منظور جداسازی و شناسایی باکتری‌های اندوفیت درختان سیب، نمونه‌های گیاهی از ساقه‌های یکساله و دوساله ازدرختان سیب بالغ، سالم و بدون هیچ گونه نشانه‌ی بیماری از باغات سیب استان آذربایجان‌شرقی درسال ۱۴۰۰–۱۳۹۹ طی ماه‌های تیر تا شهریور به صورت تصادفی جمع‌آوری گردید. نمونه‌های بلافاصله پس از جمع‌آوری، به آزمایشگاه باکتری‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز انتقال یافتند و در یخچال با دمای ۴ درجه سیلسیوس نگهداری و حداکثر تا ۴۸ ساعت پس از نمونه‌برداری در محیط آگار غذایی (NA) کشت داده شدند. جدایه قارچی *Diplodia bulgarica* از آزمایشگاه قارچ‌شناسی تحصیلات تکمیلی دانشگاه تبریز، تهیه و در محیط‌کشت سیب زمینی- دکستروز آگار (PDA) تجدید کشت گردید.

به‌منظور جداسازی باکتری‌های اندوفیت، شاخه‌ها با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. پس از خشک شدن روی کاغذ صافی، نمونه‌ها با قیچی باغبانی سترون، به قطعات کوچک‌تر خرد و با غوطه ور نمودن در محلول‌های ضدعفونی (پنج دقیقه الکل ۷۰٪، ده دقیقه هیپوکلریت سدیم ۱٪، سی ثانیه الکل ۹۶٪ سپس سه بار شستشو با آب مقطر سترون) سترون شدند. بافت‌های ضدعفونی‌شده به قطعات ۱ الی ۲ سانتی‌متری تقسیم شدند و در زیر جریان هوای هود لامینار خشک شده و در روی محیط NA قرار گرفتند. پتری‌ها به‌مدت ۱۴ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری‌شدند (Javadi-Dodoran *et al.*, 2022). برای اثبات اندوفیت بودن جدایه‌های جمع‌آوری شده و حذف باکتری‌های اپی‌فیت احتمالی، از روش غلامی و همکاران (Gholami *et al.*, 2013) استفاده گردید. بدین منظور قطعاتی از بافت‌هایی که به روش بالا ضدعفونی شده بودند در ۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر سترون فرو برده شدند و به‌مدت ۱ دقیقه تکان داده شدند. ۰/۳میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاصل روی محیط NA مایه‌زنی و در ۲۸ درجه‌ی سانتی‌گراد جهت بررسی رشد احتمالی میکروبی نگهداری شد.

بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های باکتریایی

برای انجام این آزمایش و به‌منظور انتخاب جدایه‌های مناسب از روش کشت متقابل استفاده گردید. برای شروع کار در پتری‌های ۹ سانتی‌متری محیط کشت NA+PDA (به نسبت ۱:۱) تهیه شد (Arzanlou *et al.*, 2016). سپس به فاصله یک سانتی‌متری از حاشیه پتری، باکتری‌ها به‌صورت خطی کشت داده شدند. یک قرص ۵ میلی‌متری از کشت تازه جدایه قارچی برش داده شد و در مرکز پتری‌قرار گرفت. پتری شاهد حاوی دیسک جدایه قارچی در مرکز بود. پتری‌ها به‌مدت ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در داخل انکوباتور نگه‌داری شدند. این آزمون در ۴ تکرار انجام شد و درصد بازدارندگی از رشد شعاعی بیمارگر در مقایسه با شاهد براساس فرمول زیر محاسبه و یادداشت گردید (Gholami *et al.*, 2014). تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده انجام و مقایسه میانگین رشد با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ صورت گرفت.

$$PIRG(\%) = [(R_1 - R_2)/R_1] \times 100$$

PIRG= درصد بازدارندگی رشد شعاعی بیمارگر

R_1= رشد شعاعی بیمارگر در تیمار شاهد

R_2= رشد شعاعی بیمارگر در تیمار حاوی بیمارگر و آنتاگونیست

اندازه‌گیری توان تولید اُکسین جدایه‌ها

توان تولید اکسین یا ایندول‌استیک‌اسید (IAA) جدایه‌های بدست آمده با استفاده از محیط‌کشت عاری از نیتروژن (N-free media; NF) در ۳ تکرار انجام شد. از کلریدآمونیوم به مقدار یک گرم در لیتر جهت تأمین نیتروژن مورد نیاز باکتری‌ها در این محیط استفاده شد. ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر از کشت شبانه هر جدایه به ۳۰ میلی‌لیتر محیط حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر ال-تریپتوفان منتقل شد و بعد از ۷۲ ساعت سوسپانسیون باکتری رسوب داده شد (rpm=۵۰۰۰ به‌مدت ده دقیقه) و دو میلی‌لیتر از محلول رویی با چهار میلی‌لیتر از معرف سالکوفسکی (۰٫۵ مولار $FeCl_3$ در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده ۳۰۰ میلی‌لیتر اسید سولوفوریک H_2SO_4 یک مولار به آن اضافه می‌گردد) مخلوط شد. این مخلوط به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و سپس مقدار جذب نوری با استفاده از اسپکتوفوتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت شد. مقدار تولید IAA توسط هر جدایه از مقایسه جذب نور در سوسپانسیون آن جدایه با منحنی استاندارد (تهیه شده در غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر IAA) محاسبه شد. تولید اکسین توسط جدایه‌ها در دو حالت حضور (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و عدم حضور تریپتوفان مورد بررسی قرار گرفت (Deaker *et al.*, 2011). سنجش کیفی تولید IAA توسط جدایه‌های باسیلوس براساس روش ساریواستاوا و کومار (Sharivastava & Kumar, 2011) با اندکی تغییر انجام شد. در این روش پتری حاوی محیط‌کشت جامد NF دارای ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسید آمینهٔ L-تریپتوفان (سترون شده با روش فیلتر) آماده شد. پتری به چهار قسمت مساوی تقسیم و در هر قسمت، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با چگالی نوری (Optical Dencity) یکسان مایه‌زنی شد. پتری‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. واکنش مثبت در تولید اکسین سی دقیقه بعد از اضافه کردن معرف سالکوفسکی به‌صورت ظهور هاله به رنگ صورتی مشخص گردید. در انتهای آزمایش قطر هاله (HD) و قطر پرگنه (CD) اندازه‌گیری و متوسط نسبت قطر هاله به قطر پرگنه CD/HD برای هر جدایه محاسبه و این میزان مبنای درجه‌بندی نیمه‌کمی توان تولید IAA قرار گرفت (Bric *et al.*, 1991). از محلول‌های استاندارد IAA در غلظت‌های متفاوت، برای سهولت تشخیص و شدت رنگ هاله‌ی صورتی استفاده شد.

شناسایی باکتری‌ها

شناسایی باکتری‌های اندوفیت که توان آنتاگونیستی بالا همراه با توان تولید اکسین را از خود نشان دادند با استفاده از تعدادی آزمون بیوشیمیایی شامل آزمون گرم، اکسیداز، کاتالاز، هیدرولیز نشاسته و تجزیه آرژنین (Schaad *et al.*, 2001) و توالی‌یابی نوکلوتیدی ناحیه 16s rDNA انجام گرفت. پس از استخراج DNA باکتریایی به روش (Sambrook, 1990) واکنش PCR با استفاده از آغازگرهای عمومی 8f (5’-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3’) و 1492r (5’-GGTTACCTTGTTACGACTT-3’) و در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گردید (Alizadeh *et al.*, 2017).

محصولات PCR در ژل آگاروز ۱٪ به‌مدت ۴۵ دقیقه در اختلاف پتانسیل ۸۰ ولت الکتروفورز گردید. محصول PCR جهت تعیین توالی به شرکت ژن فن‌آوران ارسال گردید. توالی بدست آمده پس از ویرایش با نرم‌افزار BioEdite با فرمت FASTA ذخیره و با توالی‌های موجود در بانک توالی‌های ژنی (NCBI) و با آزمون مشابهت‌یابی Blastn مقایسه شدند. آنالیز توالی‌ها و رسم درخت فیلوژنی با Bootstrap بر پایه ۱۰۰۰ تکرار با استفاده از نرم‌افزار مگا نسخه ۱۰ (MEGA X) و به روش اتصال مجاور (Neighbor Joining) انجام گردید.

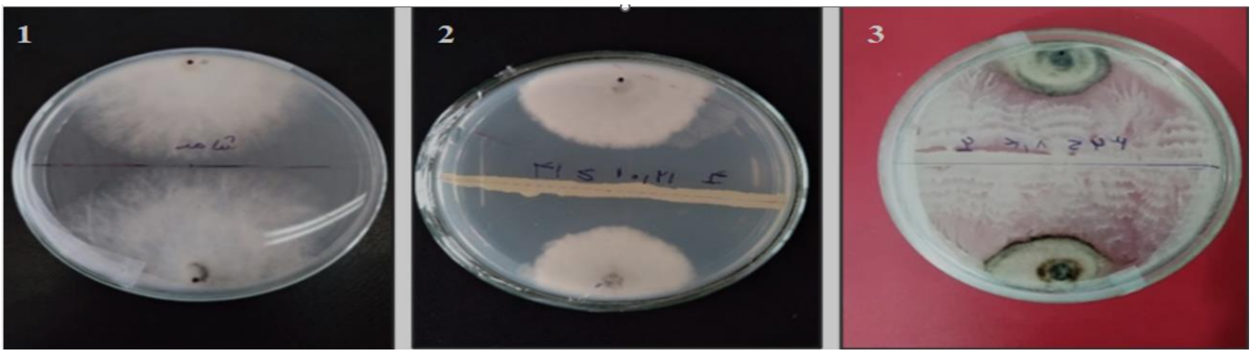
نتایج

در مجموع ۱۱۰ جدایه‌ی باکتری اندوفیت از شاخه‌های درختان سالم سیب باغات استان آذربایجان‌شرقی جداسازی گردید و برای ارزیابی فعالیت آنتاگونیستی علیه قارچ *Diplodia bulgarica* در آزمایشگاه مورد بررسی قرارگرفتند. براساس نتایج آزمون کشت متقابل، در بین جدایه‌های بدست آمده، ۵۰ جدایه که درجاتی از توان آنتاگونیستی از خود نشان دادند انتخاب و نگهداری شدند (شکل ۱). ۳۷ جدایه از این ۵۰ جدایه، گرم مثبت (۷۴٪) و ۱۳ جدایه (۲۶٪) گرم منفی مشخص شدند. درصد بازدارندگی این جدایه‌ها از رشد قارچ بیمارگر بین ۱۰ تا ۷۹٪ تعیین گردید.

ارزیابی کمی و کیفی تولید اکسین

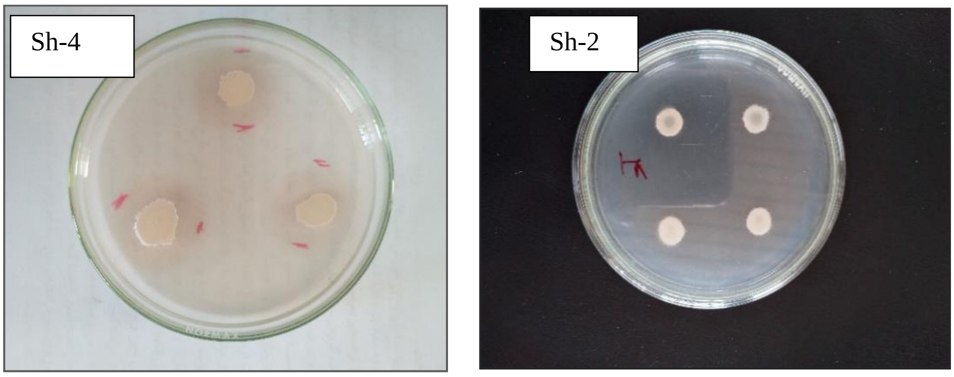
تمام ۵۰ جدایه منتخب با توان آنتاگونیستی، مورد ارزیابی کمی و کیفی تولید اکسین قرار گرفتند. از بین ۵۰ جدایه منتخب، فقط شش جدایه تولید حد قابل توجه اکسین در بازه ۳ تا ۱۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر (ppm) از خود نشان دادند که نتایج در جدول ۱ آورده شده است. میانگین تولید اکسین توسط جدایه‌های باکتریایی در عدم حضور تریپتوفان ۵٫۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و در حضور تریپتوفان ۸٫۵۸ میلی گرم بر میلی‌لیتر بدست آمد. بیشترین میزان تولید اکسین در هر دو حالت مربوط به جدایه Sh-4 بود. نتایج نشان داد که افزودن ال-تریپتوفان به محیط رشد باکتری‌ها، کم و بیش باعث تولید بیشتر اکسین شده است (جدول ۱). در روش ارزیابی کیفی، تغییر رنگ صورتی در هیچ‌کدام یک از جدایه‌ها بغیر از جدایه Sh-4 مشاهده نگردید (شکل ۲). همچنین برای این جدایه، مقدار تولید اکسین CD/HD=3.2/1.3=1.76 تعیین گردید. از شش جدایه با

توان تولید اکسین به جز یک جدایه (Sh-5) بقیـه تـوان انتاگونیسـتی بالای ۷۰٪ را از خود نشان داده بودند. بنـابراین ایـن پـنج جدایـه بـه روش‌های مولکولی و بیوشیمیایی مورد شناسایی قرار گرفتنـد (جدول ۲)(شکل ۳).



شکل ۱- کشت متقابل قارچ *Diplodia bulgarica* با جدایه‌های باکتریایی اندوفیت جداشده از درختان سیب در استان آذربایجان‌شرقی جهت ارزیابی فعالیت آنتاگونیستی

Figure 1- Dual-culture of *Diplodia bulgarica* with endophytic bacteria isolated from apple trees in East Azerbaijan for antagonistic activity assay



شکل ۲- آزمون کیفی توان تولید اکسین توسط جدایه‌های باکتریایی اندوفیت شاخه درختان سیب باغات استان آذربایجان‌شرقی– تولید مشخص رنگ صورتی در حضور معرف سالکوفسکی در نمونه قوی (Sh-4)(چپ) و تولید اندک رنگ صورتی در حضور معرف سالکوفسکی در نمونه ضعیف (Sh-2) (راست)

Figure 2- Qualitative assessment of auxin (IAA) production capability by endophytic bacterial isolates from apple tree in East Azerbaijan Province for antagonistic activity assay- the distinct production of a pink color in the presence of Salkowski's colorimetric assay (left)(Sh-4) and weaker (right)(Sh-2) samples

جدول ۱- مقایسه میانگین تولید اکسین توسط جدایه‌های باکتریایی اندوفیت در حضور و عدم حضور تریپتوفان

Table 1– Mean comparison of IAA production by endophytic bacteria in presence and absent of Tryptophan

تولید اکسین در حضور تریپتوفان Auxin production in Tryptophan presence (ppm)	تولید اکسین در عدم حضور تریپتوفان Auxin production in Tryptophan absence (ppm)	جدایه باکتری Bacterial Isolate code
8.04[bc]	3.58[d]	Sh-1
1.46[e]	2.15[e]	Sh-2
7.88[cd]	5.33[c]	Sh-3
10.26[b]	5.49[c]	Sh-12
15.04[a]	7.56[a]	Sh-4
8.79[bc]	6.85[bc]	Sh-5
1.66[e]	0.39[f]	Control

جدول ۲- درصد بازدارندگی جدایه‌های باسیلوس اندوفیت منتخب در برابر قارچ *Diplodia bulgarica* و نتیجه توالی‌یابی ناحیه 16S rDNA و نیز برخی آزمون‌های بیوشیمیایی

Table 2- The inhibition percentage of selected endophytic *Bacillus* isolates on *Diplodia bulgarica*, and the outcomes of 16S rDNA sequencing alongside with biochemical assays

گونه Species	کد جدایه Code	درصد بازدارندگی Inhibition percentage	تست ارژنین Arginine assay	اکسیداز Oxidase assay	کاتالاز Catalase assay	لهانیدن سیب‌زمینی Potato softening assay	تست گرم Gram staining
Bacillus xiamenensis	Sh-1	79%	−	−	+	−	+
Bacillus sonorensis	Sh-2	74.5%	+	+	−	+	+
Bacillus tequilensis	Sh-3	76%	−	−	−	−	+
Bacillus mojavensis	Sh-4	78%	−	−	−	+	+
Bacillus subtilis	Sh-12	74%	+	+	−	+	+

شکل ۳- تبارنمای رسم شده بر اساس ناحیه 16S rDNA با روش Neighbor Joining و با بوت استرپ برابر با ۱۰۰۰ برای باکتری‌های اندوفیت جدا شده از درختان سیب با توان تولید اکسین، سه جدایه از باکتری‌های گرم منفی شامل (*Agrobacterium, Pseudomonas, Erwinia*) بعنوان گروه خارجی استفاده شده است

Figure 3- Phylogenetic tree drawn for 16srDNA region using Neighbor Joining algorithm with 1000 bootstrap replication for endophytic bacteria with IAA production capability isolated from apple trees; three gram-negative bacteria (*Agrobacterium, Pseudomonas, Erwinia*) were used as out-group

پنج باکتری منتخب مورد شناسایی مولکولی و بیوشیمیایی قرار گرفتند. هر پنج جدایه منتخب با پرایمرهای عمومی ناحیه 16S rDNA باند تقریبا ۱۵۰۰ نوکلئوتیدی تولید کردند. محصولات PCR پس از توالی‌یابی و رسم درخت فیلوژنتیک همگی جز جنس باسیلوس

شناسایی شدند (جدول ۲)(شکل ۳). آزمون‌های بیوشیمیایی نتایج شناسایی مولکولی را تأیید کردند.

بحث

در این تحقیق پنج جدایه از باکتری‌های جنس باسیلوس از درختان سیب استان آذربایجان‌شرقی جداسازی و شناسایی شدند که هم علاوه بر قدرت بازدارندگی بالا علیه قارچ *Diplodia bulgarica* توان تولید فیتوهورمون اکسین (IAA) را دارا هستند. قبلاً نیز گونه‌های متعددی از جنس باسیلوس بعنوان عنوان کنترل بیولوژیک مفید گزارش شده است. در تحقیق بیننده (Binanadeh, 2016) نیز از ۱۷ گونه باسیلوس برای کنترل بیمارگر مهم قارچی *Roselinia necatrix* در شرایط آزمایشگاهی استفاده شد؛ که بالاترین کنترل مربوط به جدایه‌های *B. amyloliquefaciens* و *B. subtilis* به ترتیب با ۶۶/۹ و ۶۵/۹ درصد بود. مطالعات سوتو و همکاران هم نشان داده است که متابولیت‌های ثانویه که توسط باکتری *B. amyloliquifaciens* تولید می‌شود، بشدت مانع رشد مسیلیوم قارچ های *Sclerotinia sclerotiorum*، *Fusarium solani*، *R. solani* و *F. oxysporum* fsp. *lycopercici* شده‌اند (Souto *et al.*, 2004). طی این مطالعه مشخص گردید که عامل کنترل بیولوژیک از جنس باسیلوس می‌تواند جایگزینی ایده‌آل برای قارچ‌کش‌های شیمیایی برای پیشگیری و کنترل بیماری کپک‌خاکستری باشد؛ در آن تحقیق گونه ضدقارچی جدا شده از ریزوسفر گیاهان (*B. velezensis*) فعالیت ضدقارچی زیادی در برابر عوامل بیماری‌زای گیاهی از جمله *Botrytis cinerea*, *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum*, *F. moniliforme*, *S. sclerotiorum*, *Colletotrichum orbiculare*, *Alternaria nees*, *F. equiseti*, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* نشان داد.

در ایران در تحقیقات نوروزی و همکاران (Norozi *et al.*, 2024) توانایی جدایه‌های بومی باسیلوس و تولید متابولیت توسط آن‌ها به‌منظور ممانعت از رشد بیمارگرها را نشان داده شده است. در این تحقیق برخی جدایه‌های باسیلوس توان کنترل‌کنندگی در حد قارچ‌کش قوی رورال تی اس (Rovral-TS) در برابر قارچ بیمارگر *Rhizoctonia solani* را از خود نشان دادند. در تحقیقی دیگر جهان بخش و همکاران (Jahanbakhsh *et al.*, 2014) طی مطالعه گلخانه‌ای ثابت کردند که برخی جدایه‌های باکتری‌های جنس باسیلوس در کنار کنترل بیمارگرهای مهمی مثل *Meloidogyne javanica* می‌توانند باعث بهبود رشد گیاه گوجه‌فرنگی گردند. کلاً گونه‌های مختلف *Bacillus* spp. باکتری‌های مناسبی برای تجاری‌شدن به‌عنوان ترکیبات بیوکنترلی هستند. در حال حاضر فرمولاسیون‌های مختلف و موفقی از محصولات بیولوژیک بر پایه باکتری باسیلوس در سطح جهان و ایران تولید شده که به‌عنوان قارچ کش‌ها و کودهای زیستی در سطح مزارع مورد استفاده قرار می‌گیرند (Ahmadzadeh & Sharifi-Tehrani, 2021).

کنترل بیولوژیک قارچ *Diplodia bulgarica* با استفاده از قارچ‌های آنتاگونیست قبلا گزارش شده است (Alijani *et al.*, 2016) ولی کنترل این قارچ با استفاده از باکتری‌های اندوفیت تا کنون گزارش نشده است و این تحقیق اولین تلاش در این زمینه در ایران می‌باشد. تولید فیتوهورمون‌های گیاهی نظیر اکسین، سیتوکینین و جیبرلین توسط گونه‌های باسیلوس قبلاً گزارش شده است. اکسین از مهم‌ترین هورمون‌های گیاهی می‌باشد که به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد گیاه شناخته می‌شود و تأثیر آن بر رشد و نمو و تمایز گیاه قابل ذکر می‌باشد (Duca *et al.*, 2014). مهم‌ترین نوع اکسین (ایندول‌استیک‌اسید) IAA است که از طریق متابولیسم ال-تریپتوفان توسط گیاهان و ریزموجودات مختلف مانند باکتری‌های اندوفیت ساخته می‌شود که به‌طور مستقیم به‌وسیله تحریک طویل شدن سلول‌های گیاه و یا تقسیم سلولی و یا به‌صورت غیرمستقیم به‌وسیله تأثیر بر فعالیت ACC دآمیناز، رشد ریشه‌های اولیه و شاخه‌ها را بیشتر نموده و تعداد ریشه‌های جانبی را افزایش می‌دهد (Geetha *et al.*, 2012). باکتری‌های وابسته به جنس *Bacillus* جزء گروه باکتری‌های بهبوددهنده رشد گیاهی محسوب می‌شوند و قادرند از طریق ترشح بعضی هورمون‌های گیاهی مانند ایندول‌استیک‌اسید (IAA)، جیبرلین و سیتوکینین، رشد گیاه را افزایش دهند. این ترکیبات باعث می‌شوند که ریشه‌های آسیب دیده توسط عوامل بیماری‌زا هر چه سریع‌تر توسط ریشه‌های جدید جایگزین شوند و به این ترتیب خسارت بیماری را کاهش دهند (Sadfi *et al.*, 2002).

کومار و همکاران (Kumar *et al.*, 2011) گزارش کردند گونه های *Bacillus* قادر به تولید ایندول‌استیک‌اسید می‌باشد که نتایج آن‌ها مشابه نتایج پژوهش حاضر می‌باشد. همچنین در مطالعه مجید و همکاران (Majeed *et al.*, 2015) مشخص شد که گونه‌های *Bacillus* به‌طور متوسط قادر به تولید ۰/۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندول‌استیک‌اسید می‌باشند. سزیالگی- زچین و همکاران (Szilagyi-Zeechin *et al.*, 2014) باکتری‌*Bacillus* را از ریشه و ساقه گیاه ذرت جداسازی کردند و به این نتیجه دست یافتند که این باکتری قادر به تولید هورمون ایندول‌استیک‌اسید به میزان ۳/۱ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. امارسان و همکاران (Amaresan *et al.*, 2012) نیز بیان داشتند که جدایه‌های *Bacillus* قادر به تولید هورمون ایندول‌استیک‌اسید هستند که بیشترین مقدار آن۴۴ و کمترین مقدار آن ۹/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. بهبود جوانه‌زنی بذر، افزایش طول ریشه، طول شاخه و تعداد ریشه‌های جانبی گیاهچه‌های سویا به علت توانایی جدایه‌های *Bacillus* spp. در تولید ایندول‌استیک‌اسید و محلول‌سازی فسفات در آزمایشات نشان داده شده است (Wahyundi *et al.*, 2011). محققین زیادی از جمله

پارنــت و همکــاران (Parent *et al.*, 2018) احمــد و همکــاران (Ahmad *et al.*, 2018) و علـی و همکـاران (Ali *et al.*, 2009) ثابت کرده‌اند که با افزایش غلظت تریپتوفان در محـیط میـزان تولیـد IAA توسط باکتری‌ها افزایش پیدا می‌کند که این مـورد در پـژوهش حاضر نیز قابل مشاهده است.

نتیجه‌گیری

طی این بررسی ۱۱۰ جدایه اندوفیت از شاخه‌های سـالم درختـان سیب باغات استان آذربایجان شرقی جداسازی گردید. سنجش فعالیت آنتاگونیستی این جدایه‌ها در آزمایشگاه با روش کشـت متقابـل نشـان داد که ۵۰ جدایه بین ۱۰تا ۷۹ درصد توان کاهش در رشد میسـلیومی قارچ بیمارگر *Diplodia bulgarica* را دارا هسـتند. از بـین ایـن ۵۰ جدایه، پنج جدایه به‌عنوان آنتاگونیست قوی (بازدارندگی از رشد بالای ۷۰٪) با توان تولید اکسین انتخاب و شناسایی شدند. هـر پـنج جدایـه شناسایی شده در ایـن تحقیـق متعلـق بـه جـنس *Bacillus* هسـتند. بررسی سایر ویژگی‌های بیـوکنترلی و رشـدی جدایـه‌هـای انـدوفیت منتخب، توانایی آنها در کاهش شانکر شاخه سیب در شرایط گلخانه و باغ در تحقیقات تکمیلی‌تر پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از کلیـه کارکنـان آزمایشـگاه‌هـای بـاکتری شناسی و قارچ‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز کمال تشـکر را دارند.

References

1. Abdollahzadeh, J. (2015). *Diplodia bulgarica*, as a new pathogen and potential threat to the apple industry in Iran. *Phytopathologia Mediterranea*, *54*, 128–132. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-14686
2. Ahmad, F., Ahmad, I., & Khan, M.S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiology Research*, *163*, 173–181. https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.04.001
3. Ahmadzadeh, M., & Sharifi-Tehrani, A. (2021). *Plant probiotic bacteria*. University of Tehran Press, 629 pp. (In Persian)
4. Ali, B., Sabri, N., Ljung, K., & Hasnain, S. (2009). Quantification of indole-3-acetic from plant associated *Bacillus* spp. and their phytostimulatory effect on *Vigna radiata* (L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *25*, 519-526. https://doi.org/10.1007/s11274-008-9918-9
5. Alijani, N., Manafi Shabestari, M., & Ghosta, Y. (2016). *Biocontrol effects of endophytic fungi isolated from apple trees against Diplodia bulgarica the causal agent of apple canker disease*. In 22th Iranian Plant Protection Congress (p. 339). (In Persian)
6. Alizadeh, M., Khakvar, R., & Babai-Ahari, A. (2017). Isolation and characterization of bacterial agents associated of wetwood disease on elm trees in Iran. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, *52*, 157-168. https://doi.org/10.1556/038.52.2017.028
7. Amaresan, N., Jayakumar, V., & Thajuddin, N. (2012). Isolation and characterization of endophytic bacteria associated with chili (*Capsicum annuum*) grown in coastal agricultural ecosystem. *Indian Journal of Biotechnology*, *13*, 247-255.
8. Arzanlou, M., Mousavi, S., Bakhshi, M., Khakvar, R., & Bandehagh, A. (2016). Inhibitory effects of antagonistic bacteria inhabiting the rhizosphere of the Sugar beet plants, on *Cercospora beticola* Sacc., the causal agent of *Cercospora* leaf spot disease on Sugar beet. *Journal of Plant Protection Research*, *56*, 6-14. https://doi.org/10.1515/jppr-2016-0002
9. Binandeh, N. (2016). biological control of white rot of root in some cultivars of apples and pears using antagonistic bacteria. Master thesis. Tarbiat Modarres University. 125Pp. (In Persian)
10. Bric, J.M., Bosrock, R.M., & Silversone, S.E. (1991). Rapid in situ assay for indole acetic acid production by bacteria immobilization on a nitrocellulose membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, *57*, 535-538. https://doi.org/10.1128%2Faem.57.2.535-538.1991
11. Cawoy, H., Mariutto, M., Henry, G., Fisher, C., & Vasilyeva, N. (2014). Plant defense stimulation by natural isolates of *Bacillus depends* on efficient surfactin production. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *27*, 87–100. https://doi.org/10.1094/mpmi-09-13-0262-r
12. Deaker, R., László Kecskés, M., Timothy Rose, M., Amprayn, K., & Krishnen, G. (2011). Practical methods for the quality control of inoculant biofertilizers. *Australian Center for International Agriculture Research*, 104.
13. Duca, D., Lorv, J., Chery, L., Rose, D., & Bernard, R. (2014). Indol-3- acetic acid in plant- microbe interactions. *Antonie van Leeuwenhoek*, *106*, 85-125. https://doi.org/10.1007/s10482-013-0095-y
14. Eken, C. (2022). *Diplodia bulgarica*, cause of postharvest rot on apples in Turkey. *Australasian Plant Disease Notes*, *17*, 15. https://doi.org/10.1007/s13314-022-00460-4
15. Geetha, T., Vishwaprakash, N., Sycheva, M., & Babu, J.R. (2012). Sequestosome 1/p62: across diseases. *Biomarkers*, *17*, 99–103. https://doi.org/10.3109/1354750x.2011.653986

16. Gholami, M., Khakvar, R., & Aliasgarzad, N. (2013). Application of endophytic bacteria for controlling anthracnose disease (*Colletotrichum lindemuthianum*) on bean plants. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, *46*, 1831-1838. https://doi.org/10.1080/03235408.2013.778477
17. Gholami, M., Khakvar, R., & Niknam, G. (2014). Introduction of some new endophytic bacteria from *Bacillus* and *Streptomyces* genera as successful biocontrol agents against *Sclerotium rolfsii*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, *47*, 122-130. https://doi.org/10.1080/03235408.2013.805043
18. Hanifeh, S., Zafari, D., & Soleimani, M.J. (2017) Reaction of some apple cultivars to *Diplodia bulgarica* in Iran. *Mycosphere*, *8*, 1253–1260. https://doi.org/10.5943/mycosphere/8/2/9
19. Jacob, J., Krishnan, G.V., Thankappan, D., & Amma, D.K.B. (2020). Endophytic bacterial strains induced systemic resistance in agriculturally important crop plants. In *Microbial Endophytes* (pp. 75-105). Woodhead Publishing. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819654-0.00004-1
20. Jahanbakhsh, V., Mahdikhani Moghadam, E., Baghaee Ravari, S., & Rouhani, H. (2014). Study plant growth promoting *Bacillus* isolates in tomato root colonization and *Meloidogyne javanica* population reduction. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *28*, 79-86. https://doi.org/10.22067/jpp.v28i1.36035
21. Javadi-Dodaran, N., Khakvar, R., & Aliasgarzad, N. (2022). Isolation and characterization of bacterial endophytes from weeds against *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* causing bacterial canker of stone fruit trees. *Fundamental and Applied Agriculture*, *7*, 104-111. https://doi.org/10.5455/faa.26526
22. Kumar, A., Prakash, A., & Johri, B.N. (2011). *Bacillus* as PGPR in crop ecosystem. Bacteria in Agrobiology. *Crop Ecosystems*, *1*, 37-59. https://doi.org/10.1007/978-3-642-18357-7_2
23. Luna, C.L., Mariano, R.L.R., & Souto-Maior, A.M. (2002). Production of a biocontrol agent for crucifers black rot disease. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, *19*, 133-140. https://doi.org/10.1590/S0104-66322002000200007
24. Majeed, A., Abbasi, M.K., Hameed, S., Imran, A., & Rahim, N. (2015). Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion. *Frontiers in Microbiology*, *6*, 198. https://doi.org/10.3389%2Ffmicb.2015.00198
25. Mantelin, S., & Touraine, B. (2004). Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. *Journal of Experimental Botany*, *55*, 27-34. https://doi.org/10.1093/jxb/erh010
26. Moslehi, S., Pourmehr, S., Shirzad, A., & Khakvar, R. (2021). Potential of some endophytic bacteria in biological control of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *31*, 1-11. https://doi.org/10.1186/s41938-021-00396-4
27. Najari, H.H. (2020). *Guide to planting and growing apples*. Jahad Daneshgahi Press. 430 Pp. (In Persian)
28. Norozi, H., Baghaee-Ravari, S., & Mojerlou, S. (2023). Biocontrol potential of Bacillus strains in interaction with *Rhizoctonia solani* pathogen of potato. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, *54*, 187-205. https://doi.org/10.22059/ijpps.2023.357079.1007026
29. Parent, P.Z., Basime, G.C., Nachigera, G.M., Thonart, P., & Ongena, M. (2018). Efficacy of *Bacillus amyloliquefaciens* as biocontrol agent to fight fungal diseases of maize under tropical climates: from lab to field assays in south Kivu. *Environmental Science and Pollution Research International*, *25*(30), 29808–29821. https://doi.org/10.1007/s11356-017-9314-9.
30. Sadfi, N., Cherif, M., Hajlaoui, M.R., Boudabbous, A., & Belanger, R. (2002). Isolation and partial purification of antifungal metabolites produced by *Bacillus cereus*. *Annals of Microbiology*, *52*, 323-338.
31. Sambrook, J., Russell, D.W., & Russell, D.W. (2001). *Molecular cloning a laboratory manual* (3-volume set) . New York: Cold spring harbor laboratory press, 999, 502-510.
32. Schaad, N.W., Jones, J.B., & Chun, W. (2001). *Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria* (No. Ed. 3). American Phytopathological Society (APS Press). 373Pp.
33. Shrivastava, U.P., & Kumar, A. (2011). A simple and rapid plate assay for the screening of indole-3- acetic acid (IAA) producing microorganisms. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, *2*, 120-124.
34. Souto, G.I., Correa, O.S., Montecchia, M.S., Kerber, N.L., Pucheu, N.L., Bachur, M., & García, A.F. (2004). Genetic and functional characterization of a *Bacillus* sp. strain excreting surfactin and antifungal metabolites partially identified as iturin-like compounds. *Journal of Applied Microbiology*, *97*, 1247-1256. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02408.x
35. Szilagyi-Zecchin, V.J., Ikeda, A.C., Hungria, M., Adamoski, D., Kava-Cordeiro, V., Glienke, C., & Galli-Terasawa, L.V. (2014). Identification and characterization of endophytic bacteria from corn (*Zea mays* L.) roots with biotechnological potential in agriculture. *AMB Express*, *4*, 2-9. https://doi.org/10.1186%2Fs13568-014-0026-y
36. Thoa, N.T.K., Mai, D.T.H., Hiu, B.L., Duong, C.A., Chau, N.N.B., Nghiep, N.M., & Quoc, N.B. (2022). Roles of β-Indole acetic acid (IAA) producing endophytic bacteria on the recovery of plant growth and survival ability of sugarcane infected white leaf disease (SWLD). *Current Microbiology*, *79*, 389. https://doi.org/10.1007/s00284-022-03091-1

37. Vasebi, Y., Khakvar, R., & Vinatzer, B.A. (2023). Characterization of culturable epiphytic and endophytic bacteria of *Prunus* spp. and their potential for plant growth promotion and antagonistic activity against bacterial canker disease. *Journal of Plant Pathology*, *105*(3), 749-766. https://doi.org/10.1007/s42161-023-01342-z
38. Wahyudi, A.T., Astuti, R.P., Widyawati, A., Meryandini, A., & Nawangsih, AA. (2011). Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting Rhizobacteria. *Journal of Microbiology and Antimicrobials, 3*, 34-40.
39. Zeynali Bari, R., Abrinbana, M., & Ghosta, Y. (2021). Genetic variation, vegetative compatibility, and aggressiveness diversity of *Diplodia bulgarica* isolates from apple orchards in West Azarbaijan province of Iran. *Plant Pathology*, *70*, 1326-1341. https://doi.org/10.1111/ppa.13374

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 2, 2024, p. 159-170

The Response of Boxwood Accesstions from Hyrcanian Forest Areas of Northern Iran to Blight Disease (Agent: *Calonectria pseudonaviculata*)

S.M. Zamani[1*], M.R. Arefipour[2], R. Gholami Ghavam abad[2], S. Ghanaei[3]

1- Assistant Professor, Research Institute of Forests and Rangeland, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: mzamani@rifr-ac.ir)
2- Research Expert, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
3- Senior Research Expert, Payame Noor University, Shahrood, Iran

Received: 27-08-2023 Revised: 20-02-2024 Accepted: 16-04-2024 Available Online: 21-07-2024	**How to cite this article:** Zamani, S.M., Arefipour, M.R., Gholami Ghavam abad, R., & Ghanaei, S. (2024). The response of boxwood accesstions from Hyrcanian forest areas of Northern Iran to blight disease (Agent: *Calonectria pseudonaviculata*). *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *38*(2), 159-170. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.84112.1161

Introduction

The Caspian boxwood (*Buxus sempervirens* subsp. *hyrcana*) trees are endangered, evergreen and endemic species in the Hyrcanian forests areas of northern Iran growing in Guilan, Mazandaran and Golestan provinces. This protected evergreen trees species is considered a unique and genetically valuable forest resource for Iran. The habitats of this valuable species, which is located in the lowlands, like other similar trees, always faced with overharvesting problems. But in addition to excessive harvesting, box tree moth *Cydalima perspectalis* and boxwood blight disease caused by the pathogen *Calonectria pseudonaviculata* (also known as box blight or buxus blight), as growing problems, are additional causes of boxwood habitats degradation. the outbreak of caspian buxus die-back due to boxwood blight disease was first reported in the summer of 2012 in the buxus forests located in the north of Iran and quickly infected more than 70% of the boxwood forests in the northern part of the country. Since then, there was intense concern that this disease might be the end of boxwood plants, and due to the importance of the subject, various research projects were implemented in research centers and universities in Iran, like other countries in the world. Currently, processes related to biodiversity protection of Hyrcanian boxwood are performed by Natural Resources and Watershed Management Organization as the best protection strategies, in which there are two protection strategies (in situ/ex situ) with different techniques. As the current approach to disease management in the world largely depends on the use of tolerant cultivars, research into boxwood blight resistance continues, so new resistant cultivars continue to be introduced worldwide. However, despite the importance of Caspian boxwood trees, there are no such studies in Iran. The objective of this study was to fill this knowledge gap by evaluating possible hyrcanian buxus accessions resistant to boxwood blight as a further step in improving the effectiveness and efficiency of this species protection management in the conditions of re-facing with the disease. Results of this study will enable growers and landscapers to better manage box blight disease.

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.84112.1161

Materials and Methods

In order to investigate the resistance of boxwood accessions from hyrcanian Forest areas of northern Iran to blight disease, infected boxwood habitats were visited in Golestan, Mazandaran and Gilan provinces, and to find boxwood plants with natural resistance, healthy buxux seedlings were collected from these habitats. Because in these types of studies, the process of resistance assessment begins by searching in natural forests for trees that remain healthy relative to their counterparts after exposure to an interest pathogen. In order to ensure buxus seedlings health, the seedlings that were collected from 12 boxwood forest habitats were kept for six months in the Alborz Research Complex (affiliated to the Research Institute of Forests and Rangelands of Iran) and their health was monitored. Finally, from the seedlings of each habitat, the freshest and most equal-sized seedlings were selected and used for greenhouse evaluations. In order to prepare the inoculum from the disease-causing fungus, the combination of four isolates of *C. pseudonaviculata* species, which had appropriate genetic diversity based on previous studies, was used. Seedlings were inoculated through foliar spraying of fungal spores (1×10^5 spores/ml). Three weeks after inoculation, the average number of spots created on the stem and leaves of each boxwood plant as well as the average diameter of the largest leaf spot for each boxwood accession were recorded and analyzed.

Results and Discussion

The results of inoculation of blight pathogen on boxwood accessions showed that there were similar results in measuring the diameter of the leaf spot with the number of blight spots in each accession, so that, in plants with a higher number of blight spots, there was also a larger diameter of the leaf spot. Also, the results showed that although no accession is completely resistant to this disease and the disease appeared with different degrees in all accession; but a number of accessions are less sensitive to boxwood blight and the disease occurred in them with a lower severity. These results suggest to breeders to find natural resistance or create resistance in boxwood plants against blight disease through breeding programs.

Conclusion

In this study, for the first time, the resistance of different accessions of *Buxus sempervirens* subsp. *hyrcana* from boxwood habitats in the north of the country (as the only native and endangered boxwood species of Iran) to blight disease was evaluated. Based on the obtained results, it was determined that some degrees of disease tolerance can be found among different Hyrkani boxwood accessions. These results show that there is potential for plant breeders to select and recommend less susceptible boxwoods or to develop cultivars with improved resistance to boxwood blight.

Keywords: Boxwood, Blight, Pathogenicity, Screening, Tolerable

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸ شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، ص. ۱۷۰-۱۵۹

واکنش جمعیت‌های شمشاد جنگلی هیرکانی ایران به بیماری بلایت (*Calonectria pseudonaviculata*)

سیده معصومه زمانی[1]*- محمدرضا عارفی پور[2]- ریحانه غلامی قوام آباد[2]- صدیقه غنایی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۲۸

چکیده

بیماری بلایت شمشاد جنگلی (*Buxus sempervirens* sub sp. *hyrcana*) با عامل *Calonectria pseudonaviculata* در جنگل‌های خزری واقع در شمال ایران به سرعت بیش از دو سوم جنگل‌های شمشاد شمال کشور را آلوده نموده است. از آنجاکه راهبرد اصلی مدیریت بیماری در دنیا تا حد زیادی به استفاده از ارقام متحمل متکی است، تحقیق حاضر با هدف یافتن جمعیت‌های احتمالی مقاوم به بلایت شمشاد به‌عنوان یک قدم فراتر در بهبود اثربخشی و کارآیی مدیریت حفاظت از گونه در شرایط مواجه مجدد با بیماری پایه‌ریزی شد. برای این منظور از رویشگاه‌های آلوده شمشاد در استان‌های گلستان، مازندران و گیلان بازدید صورت گرفت و بمنظور ردیابی مقاومت طبیعی شمشادهای جنگلی ایران نهال‌های سالم شمشاد از این رویشگاه‌ها جمع‌آوری شدند. نهال‌های بدست آمده از ۱۲ رویشگاه شمشاد جنگلی به‌منظور اطمینان از سلامت آنها به‌مدت شش ماه نگهداری شدند و وضعیت سلامتی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت از نهال‌های مربوط به هر رویشگاه نهال‌های سالم و هم‌اندازه برای ارزیابی‌های گلخانه‌ای انتخاب و مورد استفاده قرار گرفتند. به‌منظور تهیه زادمایه قارچ عامل بیماری، ترکیب چهار جدایه از قارچ *C. pseudonaviculata* که از تنوع ژنتیکی مناسبی برخوردار بودند مورد استفاده قرار گرفت و مایه‌زنی از طریق محلول‌پاشی اسپور قارچی با غلظت 1×10^5 اسپور در میلی‌لیتر روی برگ‌های شمشاد و از چهار جهت گیاه برای آغشته‌سازی کامل آنها با قارچ بیمارگر انجام شد. سه هفته پس از مایه‌زنی، میانگین تعداد لکه‌های ایجاد شده روی ساقه و برگ‌های هر یک از گیاهان شمشاد و نیز متوسط قطر بزرگترین لکه‌برگی برای هر گیاه ثبت و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج حاصل از مایه‌زنی قارچ عامل بلایت نشان داد اولا نتایج مشابهی در ارزیابی‌های قطر لکه‌برگی با تعداد لکه‌های بلایت در هر گیاه وجود دارد، بطوری‌که در گیاهان دارای تعداد بیشتری از لکه‌های بلایت، قطر بیشتری از لکه‌برگی نیز وجود داشت. همچنین نتایج نشان داد اگرچه هیچ جمعیتی به‌طور کامل در برابر این بیماری مقاوم نیست و بیماری با درجات متفاوتی در تمام گیاهان ظاهر شد؛ اما تعدادی از گیاهان کمتر به سوختگی شمشاد حساس هستند و بیماری در آنها شدت پایین‌تری دارد. این نتایج به متخصصین یافتن مقاومت طبیعی یا ایجاد مقاومت در گیاهان شمشاد در برابر بیماری بلایت را پیشنهاد می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: بلایت، بیماری‌زایی، شمشاد، غربالگری، متحمل

۱- استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: mzamani@rifr-ac.ir)
۲- پژوهشگر، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۳- مربی، دانشگاه پیام نور، شاهرود، ایران

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.84112.1161

مقدمه

شمشاد جنگلی (با نام علمی *Buxus sempervirens* subsp. *hyrcana* (Pojark.) Takht.) از مهم‌ترین گونه‌های گیاهی همیشه سبز از خانواده شمشاد (Buxaceae) و از مهمترین گونه‌های گیاهی پهن‌برگ و بومی جنگل‌های هیرکانی در شمال ایران است که از لحاظ قدمت، به‌عنوان یکی از درختان بازمانده اقلیمی مربوط به دوران سوم زمین‌شناسی (مزوزوئیک) برمی‌گردد و از اهمیت خاصی بین ذخایر جنگلی جهان برخوردار است (Akhani *et al*., 2010).

در ایران بنا بر ماده یک قانون حفاظت و حمایت از منابع طبیعی و ذخایر جنگلی کشور، شمشاد ممنوع‌القطع بوده و از ذخایر جنگلی با ارزش ژنتیکی و بوتانیکی خاص و در حقیقت از گونه‌های در حال انقراض محسوب می‌شود که خطر نابودی آن در آینده محتمل است (Shamekhi, 2011).

اگرچه ارشاد چندین عامل بیماری‌زا از جمله قارچهای مولد سفیدک و زنگ را از گیاهان شمشاد در ایران گزارش نموده است (Ershad, 2009)؛ اما بطور کلی در دنیا گیاهان شمشاد بعنوان گیاهانی مقاوم به بسیاری از بیماری‌ها و آفات شناخته می‌شدند (Henricot *et al*., 2008). تا اینکه در اواسط دهه ۹۰ میلادی شیوع نوعی بیماری قارچی با نام بلایت شمشاد (Boxwood blight) در سراسر اروپا گسترش یافت. این بیماری در نوامبر ۲۰۱۱ به ایالات متحده (کارولینای شمالی) و در دسامبر ۲۰۱۱ به کانادا (انتاریو) رسید (Ivors *et al*., 2012; Henricot, 2006). با توجه به سرعت گسترش سریع این بیماری و خسارت‌زایی قابل توجه، این بیماری از سال ۲۰۰۴ به بعد، بلایت شمشاد در فهرست بیماری‌های گیاهی تحت مراقبت سازمان حفظ نباتات اروپا (The European and Mediterranean Plant Protection Organization=EPPO) قرار گرفت.

آلودگی ناشی از این بیمارگر قارچی در شرایط آب و هوایی ۲۰ تا ۲۵ درجه سیلیسیوس و رطوبت بالای ۸۰ درصد بسیار سریع رخ می دهد. این در حالی است که قارچ بیمارگر می‌تواند حداقل دمای ۵ و حداکثر دمای ۳۰ درجه سیلیسیوس را تحمل کند. اسپورهایی که با قطرات آب پراکنده می‌شوند و یا از طریق حشرات، پرندگان و یا قطعات گیاهی منتقل می‌شوند، منبع آلودگی اولیه این بیماری هستند. نفوذ بیمارگر قارچی از محل روزنه‌های هوایی موجود در سطح تحتانی برگ‌ها و یا مستقیماً از محل کوتیکول موجود در سطح فوقانی برگ رخ می‌دهد. بیمارگر می‌تواند به شکل بین سلولی در بافت‌های درونی برگ رشد کند. ظهور دوباره قارچ دو تا سه روز پس از آلودگی از محل روزنه‌های هوایی انجام می‌شود. هفت روز پس از آلودگی، در شرایط مساعد رطوبتی و دمایی، سطح تحتانی برگ با لایه‌ای از کنیدیوفورهای قارچ که قادر به تولید کنیدی‌ها (اسپورهای غیرجنسی) هستند، پوشیده می‌شود (Henricot *et al*., 2008). عامل این بیماری قارچی هوا زاد است و طی فصل می‌تواند تعداد زیادی چرخه ثانویه با اسپورهای خود تشکیل دهد. هر چرخه ثانویه در حدود یک هفته تکمیل می‌شود و در طی آن به سرعت باعث ایجاد بیماری و در نهایت از بین رفتن برگ گیاه می‌شود (Henricot *et al*., 2008).

در اروپا عامل بیماری با عنوان گونه *Cylindrocladium buxicola* (Henricot *et al*., Henricot & Culham, 2002; 2008) و در نیوزلند با عنوان گونه *Cylindrocladium pseudonaviculata* توصیف گردید (Crous *et al*., 2002). چند سال بعد، عامل بیماری *Calonectria pseudonaviculata* نام گذاری شد (Lombard *et al*., 2010).

هنری کات و کالهام (Henricot & Culham, 2002) جدایه‌های مختلفی از انگلستان و نیوزلند را بررسی و توصیف نموده و گزارش کردند که آنها از نظر ژنتیکی همگن بوده و احتمالاً کلونال هستند. بعدتر، گهسکوایر و همکاران (Gehesquière *et al*., 2016) تنوع ژنتیکی را در مجموعه‌ای از ۲۳۴ جدایه *Calonectria* بدست آمده از ۱۵ کشور از سراسر دنیا بررسی نموده و یک گونه خواهری فیلوژنتیک به نام *Calonectria henricotiae* را شناسایی و معرفی نمودند. هیچ تفاوتی در بیماری‌زایی بین دو گونه عامل بلایت (*Calonectria henricotiae* و *Calonectria pseudonaviculata*) در آزمون بیماری‌زایی روی مجموعه‌ای از ۳۷ رقم و گونه شمشاد مشاهده نشده است (Gehesquière, 2014).

بیماری سوختگی شمشاد برای اولین بار در سال ۲۰۱۰ در ایران مشاهده شد و عامل بیماری آن در سال ۲۰۱۲ از جنگل‌های مازندران و گیلان معرفی گردید (Mirabolfathy *et* Mirabolfathy, 2013; *al*., 2013; Rezaee *et al*., 2013). این بیماری به شرق جنگل‌های هیرکانی سرایت کرد و از استان گلستان نیز گزارش شد (Khazaeli *et al*., 2015). در دهه اخیر عامل بیماری با دارا بودن درجات متفاوتی از شدت بیماری‌زایی با سرعت بسیار زیادی توده‌های شمشاد جنگل‌های هیرکانی به خصوص سطح وسیعی از جنگل‌های گیلان و مازندران را آلوده و این توده‌ها را در شرایط نامناسبی قرار داده است (Khazaeli *et al*., 2016).

در ایران بر اساس مجموع نتایج مطالعات ریخت‌شناسی و مولکولی جمعیت‌های ایرانی قارچ عامل خشکیدگی شمشاد خزری مشخص شد تمام جدایه‌های بدست آمده از استان‌های شمالی کشور خصوصیات تیپ اصلی گونه *Calonectria pseudonaviculta* را داشتند (Zamani & Mojerlou, 2020).

به نظر می‌رسد که فقدان تنوع ژنتیکی در بین جدایه‌های ایرانی احتمالاً بدلیل معرفی اخیر این پاتوژن در جنگل‌های هیرکانی و

برهمکنش بین پاتوژن و میزبان خاص آن است که محدود به یک زیرگونه *B. sempervirens* sub sp. *hyrcana*، بومی جنگل‌های هیرکانی است (Khazaeli *et al.*, 2018).

گونه قارچی *Calonectria pseudonaviculata* (syn. *Cylindrocladium pseudonaviculatum* = *Cylindrocladium buxicola*) تک میزبانه از شاخه آسکومیست‌ها و خانواده Nectriacea بوده که تاکنون فرم جنسی (مرحله تلوموروف) آن مشاهده نشده و تنها بر اساس بررسی‌های مولکولی جایگاه آن در جنس *Calonectria* از گروه قارچ‌های آسکومیست تعیین شده است. بیماری در مرحله تلوموروف رخ نمیدهد و تا کنون این بیماری از مرحله آناموروف (فرم غیرجنسی) قارچ عامل بیماری مشاهده و گزارش گردیده است (Lombard *et al.*, 2010).

گسترش سریع این بیماری و خطر انقراض گونه شمشاد ضرورت برنامه‌ریزی و تدوین راهبردهای مناسب برای مبارزه با این بیماری را ایجاب می‌نمود.

تاکنون مناسب‌ترین شیوه‌های مدیریت بیماری بلایت شمشاد در دنیا شامل استفاده از ارقام و پایه‌های مقاوم به بیماری (Ganci *et al.*, 2013; Shishkoff *et al.*, 2015; LaMondia, 2015)، استفاده از قارچ‌کش‌ها (Henricot & Wedgwood, 2013; LaMondia, 2014; Baudoin *et al.*, 2015; Fakhredin *et al.*, 2016)، عملیات بهداشتی از طریق حذف شاخه‌های آلوده، حذف بافت‌های گیاهی ریخته، اجتناب از آبیاری بارانی در نهالستان‌ها (Dart *et al.*, 2015; Shishkoff, 2016) و استفاده از عوامل بیوکنترل مانند قارچ *Trichoderma koningiopsis* (Kong & Hong, 2017) بوده است.

رویکردهای مدیریت بلندمدت مستلزم شناسایی یا توسعه شمشاد مقاوم یا نسبتاً مقاوم است. جنس *Buxus* با داشتن ۹۱ گونه (Batdorf, 2004) و تعداد زیادی هیبرید و اکسشن‌های (جمعیت) متنوع در دنیا شناخته شده است. اعتقاد بر این است که این تنوع می تواند ظرفیت بی‌بدیلی برای یافتن منبع مقاومت در برابر *C. pseudonaviculata* باشد.

در کشور ما نیز با توجه به وجود درختان شمشاد در اکوسیستم‌های طبیعی جنگل و نیز در فضای سبز و مناطق شهری و نتیجتاً لزوم استفاده از روش‌های ایمن و دوستدار محیط‌زیست در جهت کنترل بیماری؛ مناسب‌ترین و پایدارترین روش، یافتن ارقام مقاوم شمشاد و استفاده از آنها در کشت و کارهای جدید است. همانطور که ذکر شد، جمعیت *Calonectria pseudonaviculata* موجود در کشور ایران برخلاف آنچه که در برخی مناطق دنیا گزارش شده است، قابل تفکیک به گروه‌های متمایز تاکسونومیک (گونه‌های مختلف، زیرگونه و یا واریته) نمی‌باشد (Zamani & Mojerlou, 2020). نظر به نرخ پایین تنوع میان جدایه‌ها، به نظر می‌رسد در کنترل این بیماری، استفاده از ارقام متحمل مهمترین راهکار است.

تاکنون تحقیقاتی متعددی با استفاده از روش‌ها و جدایه‌های مختلف عامل بیماری‌زا در دنیا برای شناسایی ارقام شمشادِ با مقاومتِ طبیعی در برابر بیماری صورت گرفته و گزارش‌های بدست آمده از این مطالعات نشان می‌دهند میان گونه‌های مختلف شمشاد و نیز واریته‌های مختلف یک گونه از نظر حساسیت به بیماری بلایت اختلاف وجود دارد (Ganci *et al.*, 2013; Gehesquière, 2014; Gehesquière *et al.*, 2016; Guo *et al.*, 2016; Henricot *et al.*, 2008; LaMondia, 2015; LaMondia & Shishkoff, 2017). علاوه بر این، یک متاآنالیز توسط کرامر و همکاران (Kramer *et al.*, 2020) انجام شد که به‌طور سیستماتیک رتبه‌بندی بلایت را در میان چندین مطالعه از سراسر دنیا ارزیابی و وجود درجات متفاوتی از تحمل‌پذیری بیماری را میان گونه‌ها و واریته‌های مختلف شمشاد در دنیا گزارش نمود.

به‌طور کلی، غربالگری‌های حساسیت میزبانی نشان داده‌اند که گونه‌های *B. sempervirens* نسبت به گونه‌های آسیایی *B. microphylla* و *B. harlandii* به *Calonectria* حساس‌تر هستند (Guo *et al.*, 2016; LaMondia & Gehesquière, 2014; Shishkoff, 2017).

همچنین، در گونه *B. sempervirens*، درجات مختلفی از حساسیت در بین ارقام مختلف آن در دنیا گزارش شده است (Avenot *et al.*, 2017).

در ایران تحقیقات گسترده‌ای روی مقاومت پایه‌های شمشاد به بیماری صورت نگرفته است. از آنجا که حفظ ژنوم گونه شمشاد از طریق راهبردهای حفاظتی در شرایط درونجا و برونجا توسط سازمان منابع طبیعی و آبخیزداری کشور در دست انجام است (Naseri *et al.*, 2022)؛ تحقیق حاضر با هدف ردیابی مقاومت طبیعی در شمشادهای جنگلی ایران به بیماری بلایت بمنظور بهبود اثربخشی و کارآیی مدیریت حفاظت از گونه در شرایط مواجه مجدد با بیماری پایه ریزی شد. استفاده از ارقام مقاوم یا متحمل می‌تواند به بخشی از شیوه های مدیریت تلفیقی بیماری برای نهالستان‌ها، فضاهای سبز شهری و جنگل‌کاری‌ها تبدیل شود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی قارچ بیمارگر

ضمن بازدید از مناطق رویشگاهی شمشاد جنگلی در استان‌های گیلان، مازندران و گلستان، نمونه‌برداری از شاخه‌های سبز دارای علائم شانکر و سوختگی صورت گرفت. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، جهت جداسازی عامل بیماری، شاخه‌ها به قطعات حدوداً ده سانتی‌متری تقسیم و به‌مدت یک ساعت تحت جریان آب معمولی

پیش‌سترون‌سازی شدند. سپس، شاخه‌ها به قطعات حدوداً سه سانتی‌متری برش داده شده و به اتاقک کشت استریل منتقل شدند. در اتاقک کشت نمونه‌ها در محلول سترون‌کننده هیپوکلریت سدیم یک درصد ضدعفونی و از آنها قطعاتی دارای علائم بیماری جداسازی و در محیط‌کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) کشت گردید. کشت‌ها دمای ۲±۲۴ درجه سیلیسیوس تا زمان ایجاد و رشد کلنی قارچی نگهداری شدند.

شناسایی قارچ‌های بدست آمده، با توجه به خصوصیات ماکروسکوپی (ریخت‌شناسی، الگوی رویشی و رنگ پرگنه) و میکروسکوپی (خصوصیات کنیدیوم‌ها) و مطابقت این ویژگی‌های ریخت‌شناسی با منابع معتبر (Crous *et* Crous *et al.*, 1993a, b, *al.*, 2002) و نیز با عنایت به توصیف مجدد گونه توسط هنریکات و کالهام (Henricot & Culham, 2000) انجام شد.

خالص‌سازی جدایه‌ها با روش تک اسپور صورت گرفت. بعنوان مایه تلقیح قارچ عامل بلایت، ترکیبی از چهار جدایه قارچی *C. pseudonaviculata* که بر اساس مطالعات قبلی بالاترین تنوع ژنتیکی را داشتند (Zamani & Mojerlou, 2020) انتخاب و بکار گرفته شدند (جدول ۱).

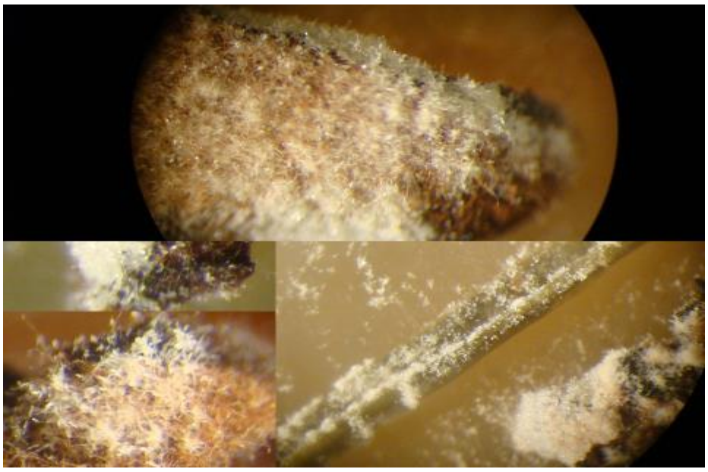
جدول ۱- مشخصات جدایه‌های قارچی بلایت شمشاد (*Calonectria pseudonaviculata*) مورد استفاده در آزمون گلخانه‌ای تحقیق حاضر

Table 1- Characterization of boxwood blight isolates (*Calonectria pseudonaviculata*) used in the greenhouse experiment

شماره No.	کد جدایه Isolate code	میزبان Host	منطقه جمع‌آوری Area/sample collection site
1	MCB-4	شمشاد خزری Hyrcanian box tree	مازندران، نوشهر Noshahr, Mazandaran
2	GICB-3	شمشاد خزری Hyrcanian box tree	گیلان، ذخیره گاه جنگلی دکتر درستکار Dr. Dorostkar forest park, Guilan
3	GOCB-8	شمشاد خزری Hyrcanian box tree	گلستان، بندرگز Bandar-e Gaz, Golestan
4	GICB-7	شمشاد خزری Hyrcanian box tree	گیلان، شفارود Shafaroud, Guilan

تهیه سوسپانسیون اسپوری قارچ عامل بلایت به عنوان مایه تلقیح

با هدف تولید اسپورهای رویشی قارچ *C. pseudonaviculata* بعنوان مایه تلقیح نهال‌های شمشاد در گلخانه، از کشت قارچ‌ها در محیط آب آگار ۲ درصد به همراه برگ میخک و قرار دادن کشت‌ها در تناوب ۱۲ ساعت تاریکی/روشنایی تحت نور نزدیک فرابنفش (طول موج ۳۸۰–۲۰۰ نانومتر) جهت اسپورزایی استفاده شد. در این روش برای تکثیر اسپور قارچی، علاوه بر رعایت فاکتور فقر غذایی، از افزوده برگ میخک و نیز قرار دادن نمونه‌ها در نور نزدیک فرابنفش بعنوان محرک اسپوردهی قارچ در محیط‌کشت استفاده گردید و بدین ترتیب جمعیت زیادی از اسپور تولید شد (شکل ۱).



شکل ۱- اسپورهای قارچ عامل بیماری بلایت شمشاد (*Calonectria pseudonaviculata*) تشکیل شده در محیط‌کشت آب-آگار به همراه برگ میخک

Figure 1- Spores boxwood blight (*Calonectria pseudonaviculata*)spores, produced on water agar with clove leaf

پس از ۱۴ روز اسپورهای ایجاد شده با استفاده از آب مقطر استریل و ۰/۰۱ درصد (v/v) توئین ۸۰ درصد از ظروف پتری جمع آوری شدند. جهت تسهیل در جدا شدن اسپورها، ظروف پتری بمدت نیم ساعت روی شیکر قرار داده شدند تا جمعیت بالایی از اسپورها جدا شده و در محلول آب و توئین قرار گیرند.

تعداد اسپور موجود در حجم یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپوری با استفاده از لام هماسیتومتر شمارش و اندازه‌گیری گردید.

غلظت اسپورها به میزان $10^5 \times 1$ اسپور در میلی‌لیتر تنظیم شد و پس از ترکیب حجم‌های برابر از سوسپانسیون اسپوری چهار جدایه منتخب در غلظت ذکر شده، استوک بدست آمده جهت آزمون بررسی مقاومت/حساسیت اکسشن‌های شمشاد جنگلی در برابر قارچ عامل بلایت در آزمایشات گلخانه‌ای بکار گرفته شد.

آماده‌سازی گیاهان شمشاد از مناطق مختلف استان‌های شمالی

با شروع فصل کشت و نهال‌کاری، به تهیه نهال‌های شمشاد از مناطق مختلف رویشگاهی اقدام شد. جمعیت‌های مختلف شمشاد از ۱۲ رویشگاه‌ها طبیعی آن در استان‌های گلستان، مازندران و گیلان تهیه شد. لیست این جمعیت‌ها در جدول ۱ آمده است. نهال‌های بدست آمده به مجتمع تحقیقات البرز (زیر مجموعه مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور) منتقل، در گلدان‌های پلاستیکی غرس گردیدند و به‌منظور اطمینان از سلامت آنها به‌مدت شش ماه در مجتمع نگهداری شدند و وضعیت سلامتی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت از نهال‌های مربوط به هر رویشگاه نهال‌های سالم و هم‌اندازه برای ارزیابی‌های گلخانه‌ای انتخاب و مورد استفاده قرار گرفتند.

ارزیابی میزان حساسیت/مقاومت جمعیت‌ها به بیماری بلایت

پس از آماده‌سازی سوسپانسیون اسپور قارچی و نهال گیاه میزبان، در گلخانه‌ایی با دما و رطوبت کنترل شده ۲۲ تا ۲۵ درجه سلیسیوس و رطوبت ۹۰٪ و دوره نوری ۱۶ ساعت نور (۵۰۰۰– ۳۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی، مایه‌زنی گیاهان از طریق محلول‌پاشی سوسپانسیون اسپوری قارچ بیمارگر *C. pseudonaviculata* با غلظت $10^5 \times 1$ اسپور در میلی‌لیتر روی برگ‌های شمشاد و از چهار جهت گیاه برای آغشته‌سازی کامل آنها با قارچ بیمارگر انجام گردید. در گیاهان شاهد از آب برای پاشش روی گیاهان استفاده شد.

میزان حساسیت پایه‌ها بر اساس شدت ظهور علائم بیماری، مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور سه هفته پس از تلقیح (LaMondia & Shishkoff, 2017)، میانگین تعداد لکه‌های ایجاد شده روی ساقه و برگ‌های هر یک از گیاهان شمشاد مورد شمارش و ثبت قرار گرفت. جهت محاسبه این میانگین در هر گیاه انفرادی، هر ده سانتی‌متر از ارتفاع گیاه بعنوان یک واحد در نظر گرفته شد و تعداد لکه‌های برگی و شاخه‌ای تمام واحدها در گیاه شمارش شد، سپس میانگین تعداد لکه‌های گیاه به ازای هر ده سانتی‌متر از ارتفاع گیاه محاسبه گردید (LaMondia & Shishkoff, 2017). همچنین متوسط قطر بزرگترین لکه برگی برای هر گیاه تعیین شد (Van Laere *et al.*, 2019). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون ناپارامتریک Square-Chi و کروسکال والیس (Kruskal-wallis) نرم‌افزار spss نسخه ۲۱ انجام شد.

نتایج

ارزیابی میزان حساسیت/مقاومت جمعیت‌ها به بیماری بلایت

نتایج نشان داد در کلیه جمعیت‌های شمشاد مایه‌زنی شده، علائم لکه‌برگی ایجاد شده و دچار ریزش برگ شدند (شکل ۲).

اگرچه کلیه جمعیت‌های شمشاد جنگلی *B. sempervirens* در برابر هجوم قارچ عامل بلایت، حساس بوده و در واقع هیچ پایه کاملا مقاومی نسبت به این بیماری در میان آنها وجود نداشت؛ اما میان تعداد لکه‌های بلایت در هر گیاه که پس از مایه‌زنی قارچ عامل بلایت روی گیاهان ایجاد شده بود اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲).

همچنین در بین ویژگی متوسط قطر بزرگترین لکه برگی بلایت که روی گیاهان ایجاد شده بود اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۳).

در واقع تعدادی از جمعیت‌ها کمتر به سوختگی شمشاد حساس بودند و بیماری در آنها شدت پایین‌تری داشت (جدول ۴).

دو اکسشن از مازندران با داشتن میانگین تعداد لکه‌های کمتر از ۵ عدد در هر ده سانتی‌متر از ارتفاع گیاه، اکسشن‌های با حساسیت پایین‌تر شناخته شدند. در حالی‌که اکسشن‌های مربوط به استان گلستان با داشتن میانگین تعداد لکه‌های بیشتر از ۱۵ عدد در هر ده سانتی‌متر از ارتفاع گیاه، بعنوان حساس‌ترین اکسشن‌ها شناخته شدند.

نتایج مشابهی هنگام مقایسه نمرات قطر لکه برگی و تعداد لکه های بلایت در هر گیاه وجود داشت. در واقع در گیاهان دارای تعداد بالاتری از لکه‌های بلایت، قطر بالاتری از لکه برگی نیز وجود داشت (جدول ۴).

بحث

تعیین میزان حساسیت گونه‌ها، کولتیوارها و اکسشن‌های مختلف شمشاد به بیماری بلایت به‌دلایل متعددی حائز اهمیت است. داشتن اطلاعات از حساسیت نسبی به بیماری بلایت در انتخاب گیاهان شمشاد برای احیاء رویشگاه‌های جنگلی امری ضروری است چراکه پایدارترین راه حل درازمدت در کنترل بیماری بلایت، یافتن ارقام با مقاومت طبیعی و یا توسعه ارقام شمشاد مقاوم به بیماری است. بطور کلی، زمانی که آسیب اقتصادی بیمارگر بالا باشد، مانند مورد *Calonectria* در شمشاد، نه تنها یافتن مقاومت طبیعی، بلکه ایجاد مقاومت به بیماری در برنامه‌های اصلاحی نیز اولویت بالایی دارد (Van Laere, 2019).

شکل ۲- ظهور نشانه‌های آلودگی (لکه‌برگی و کلنی قارچی) بعد از مایه‌زنی قارچ بلایت شمشاد (*Calonectria pseudonaviculata*)، روی برگ‌های شمشاد جنگلی (راست) و گسترش آلودگی و شروع ریزش برگ‌ها (چپ)

Figure 2- Disease symptoms (Leaf spot and fungal colony) following inoculation with boxwood blight (*Calonectria pseudonaviculata*), on the leaves of the Hyrcanian box tree (right), the spread of contamination and falling leaves (left)

جدول ۲- نتایج شاخص‌های آزمون کروسکال والیس جهت مقایسه میانگین تعداد لکه در هر گیاه

Table 2- The results of Kruskal-Wallis test for comparison of the average number of spots per plant

میانگین تعداد لکه‌ها در هر ده سانتی‌متر از ارتفاع گیاه The average number of spots per ten centimeters of plant height	تعداد Number	میانگین رتبه Mean rank	مقدار شاخص کای اسکور Chi-square T value	درجه آزادی Degrees of freedom	سطح معناداری Significance level
1-5	3	2			
6-10	4	5.5			
11-15	3	9			
16-20	1	11			
21-25	1	12			
Total	12		10.30	4	0.036

جدول ۳- نتایج شاخص‌های آزمون کروسکال والیس جهت مقایسه متوسط قطر بزرگترین لکه برگی

Table 3- The results of Kruskal-Wallis test for comparison of the average diameter of the largest leaf spot (mm)

متوسط قطر بزرگترین لکه برگی Average diameter of the largest leaf spot (mm)	تعداد Number	میانگین رتبه Mean rank	مقدار شاخص کای اسکور Chi-square T value	درجه آزادی Degrees of freedom	سطح معناداری Significance level
1-5	2	1.5			
6-10	4	4.5			
11-15	2	7.5			
16-20	3	10			
21-25	1	12			
Total	12		10.56	4	0.032

جدول ٤- حساسیت جمعیت‌های مختلف شمشاد *Buxus sempervirens* جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های شمال ایران به قارچ عامل بیماری بلایت شمشاد (*Calonectria pseudonavicula*)

Table 4- Susceptibility of *Buxus sempervirens* accessions from the Habitats of northern Iran to boxwood blight (*Calonectria pseudonavicula*)

شماره No.	کد اکسشن Accession code	منطقه جمع‌آوری Area/sample collection site	میانگین تعداد لکه در هر گیاه Average number of spots per plant	متوسط قطر بزرگترین لکه برگی Average diameter of the largest leaf spot (mm)
1	*B. sempervirens* ‘Noshahr’	مازندران، نوشهر Noshahr, Mazandaran	13.1	18
2	*B. sempervirens* ‘Tonekabon’	مازندران، نوشهر Tonekabon, Mazandaran	4.5	5
3	*B. sempervirens* ‘Chalous’	مازندران، نوشهر Chalous, Mazandaran	7.8	7
4	*B. sempervirens* ‘Noor’	مازندران، نوشهر Noor, Mazandaran	11.6	9
5	*B. sempervirens* ‘Neka’	مازندران، نوشهر Neka, Mazandaran	2.9	4
6	*B. sempervirens* ‘Abbas abad’	مازندران، نوشهر Abbas abad, Mazandaran	6	11
7	*B. sempervirens* ‘Dorostkar’	گیلان، ذخیره گاه جنگلی دکتر درستکار Dr. Dorostkar forest park, Guilan	8.2	7
8	*B. sempervirens* ‘Shafaroud’	گیلان، شفارود Shafaroud, Guilan	7.3	12
9	*B. sempervirens* ‘Siahkal’	گیلان، سیاهکل Siahkal, Guilan	12.7	17
10	*B. sempervirens* ‘Roodsar’	گیلان، رودسر Roodsar, Guilan	6.4	7
11	*B. sempervirens* ‘Cheshmeh bolbol’	گلستان، چشمه بلبل Cheshmeh bolbol, Guilan	19.5	18
12	*B. sempervirens* ‘Bandar Gaz’	گلستان، بندرگز Bandar Gaz, Guilan	21.7	23

تنوع ژنتیکی بالا (Thammina *et al.*, 2017) و در دسترس بودن منابع مقاومت به بیماری در جنس شمشاد (Gehesquière, 2017; Henricot *et al.*, 2008; LaMondia & Shishkoff, 2014) فرصت‌هایی بی‌نظیر را برای ایجاد برنامه اصلاحی بین گونه‌ای با تمرکز بر مقاومت به بیماری ایجاد کرده‌اند (Van Laere *et al.*, 2015).

در تحقیق حاضر مشخص شد که تمام اکسشن‌های شمشاد خزری نسبت به آلودگی بیماری بلایت حساس بودند. این نتایج با مطالعات دیگر محققین دنیا روی گونه *B. sempervirens* مطابقت دارد (Henricot *et al.*, 2008; Ganci *et al.*, 2013; Ehsen, 2011; Gehesquière 2014; LaMondia & Shishkoff 2017). به‌طور کلی، چه در ارزیابی‌های صورت گرفته روی شاخه‌های بریده شمشاد (Henricot *et al.*, 2008) و چه ارزیابی روی گیاهان کامل در گلخانه یا نهالستان (Ganci *et al.*, 2013)، مشخص شده است که کولتیوارهای *B. sempervirens* حساس می‌باشند؛ درحالی که حساسیت در کولتیوارهای گونه شمشاد *B. microphylla* کمتر است.

هنریکت و همکاران (Henricot *et al.*, 2008) از روش برگ‌های جدا شده برای ارزیابی مقاومت استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که حساس‌ترین گیاهان (بر اساس درصد لکه برگی) شامل 'Suffruticosa' *B. sempervirens*، *B. sinica* var. *insularis* و *B. harlandii* بودند و *B. microphylla* کمتر مستعد ابتلا به این بیماری بود، اگرچه شدت بیماری بسته به ایزوله مورد استفاده تفاوت داشت. گنسی و همکاران (Ganci *et al.*, 2013) طیف وسیعی از حساسیت را در میان گونه‌ها و اکسشن‌های مختلف شمشاد مشاهده کردند و به این نتیجه رسیدند که ارقام *B. sempervirens* حساس‌ترین و *B. microphylla* var. *japonica*، *B. sinica* var. *insularis*، *B. harlandii* و *B. microphylla* کمترین حساسیت را داشتند.

گائو و همکاران (Guo *et al.*, 2016) تکنیک‌های مختلف

غربالگری و حساسیت هشت کولتیوار شمشاد به بیماری بلایت را ارزیابی کردند و به این نتیجه رسیدند که در غربالگری‌ها میسلیوم یا هاگ می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد؛ اما آزمایش‌های صورت گرفته روی شاخه‌های بریده شمشاد (detached leaves and stems) یا کلِ گیاه (whole plant) نتایج نامشابه را ارائه می‌دهد. مطابق با نتایج تحقیق مذکور، آنها در ارزیابی‌های صورت گرفته روی کل گیاه دریافتند که کولتیوارهایی از *B. sempervirens* وجود دارد که حساسیت آنها به بلایت در رنج متوسط قرار می‌گیرد. بر اساس نتایج تحقیق حاضر نیز، اگرچه تمام اکسشن‌های مورد بررسی *B. sempervirens* در برابر بیماری بلایت حساس بودند؛ اما میان تعداد لکه‌های بلایت و همچنین قطر بزرگترین لکه برگی بلایت که در اکسشن‌ها ایجاد شده بود اختلاف معنی‌داری وجود داشت. به عبارت دیگر حساسیت تعدادی از اکسشن‌ها به بلایت شمشاد کمتر بوده و بیماری در آنها شدت پایین‌تری داشت.

این نتایج سودمندی استفاده از روش‌های شاخه‌های بریده برای غربالگری واکنش به بیماری را زیر سوال می‌برد و نشان می‌دهد که برخی از اجزای مقاومت ممکن است سیستمیک باشند (Browne *et al.*, 2005) و روش شاخه بریده نمی‌تواند بیانگر این نوع مقاومت سیستمیک باشد. در حالی‌که در روش غربالگری مقاومت بر اساس مطالعه بیماری‌زایی روی گیاهان کامل، مانند آنچه در این تحقیق به کار گرفته شد، به‌دلیل بروز مقاومت سیستمیک القایی یا مکانیسم‌های دیگر مقاومت موجود در گیاهان کامل و همچنین منظور شدن معماری گیاه در بروز مقاومت، نتایج معتبرتر است.

سنجش‌های غربالگری روی برگ یا شاخه‌های بریده سریع‌تر و کم‌هزینه‌تر هستند و می‌توانند به‌عنوان غربال‌های اولیه مفید باشند (Zamani & Mojerlou, 2020)، اما لازم است با ارزیابی حساسیت از طریق آزمون روی کل گیاه تکمیل شوند.

بر اساس مطالعات صورت گرفته در دنیا مشخص شده است که در مورد گیاهان شمشاد حساسیت به *C. pseudonaviculata* در یک رقم معین را می‌توان بر اساس دو شاخص اساسی تخمین زد: حساسیت میزبان به آلودگی (شروع بیماری) و میزان توسعه ضایعه پس از آلودگی به *C. pseudonaviculata* (پیشرفت بیماری) (LaMondia & Shishkoff, 2017; Van Gehesquière, 2014; Laere *et al.*, 2019).

بویژه، به نظر می‌رسد که تفاوت در توسعه ضایعه (لکه برگی)، به نحو مؤثرتری اختلاف در حساسیت به بیماری را بین گونه‌ها و ارقام نشان می‌دهد. مشابه با تحقیق حاضر، وان لیر و همکاران (Van Laere *et al.*, 2019) گزارش نموده‌اند ارقام با تحمل پایین‌تر نسبت به بیماری، پس از تلقیح با *C. pseudonaviculata* لکه برگی‌های بزرگ‌تر و با رشد سریع را نشان می‌دهند. در حالی‌که ارقامی که مقاومت بالاتری نسبت به بیماری دارند، لکه برگی‌های کوچکتر را ایجاد می‌کنند. در این ارقام مقاوم، رشد لکه برگی‌ها در نهایت متوقف خواهد شد. همچنین *C. pseudonaviculata* در لکه‌های کوچک به میزان کمتری هاگ ایجاد می‌کند و به این ترتیب وجود مقاومت در گیاه بطور مؤثری از گسترش بیماری جلوگیری می‌کند. بنابراین، تعداد لکه‌های بلایت در هر گیاه و قطر لکه برگی دو پارامتر مناسب برای ارزیابی شدت *C. pseudonaviculata* شناخته شدند.

در مطالعه خزائلی و همکاران (Khazaeli *et al.*, 2016) برای ارزیابی شدت بیماری در میان ۳۵ جدایه از این قارچ علاوه بر ارزیابی شاخص شدت بیماری (Disease severity index)، فاکتور ریزش برگ‌ها نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. در مطالعه ایشان محاسبه ضریب همبستگی پیرسون برای یافتن همبستگی بین نتایج حاصل از این دو روش ارزیابی در برآورد و مقایسه شدت بیماری جدایه‌ها، نشان داد که از هر دو روش می‌توان برای ارزیابی شدت بیماری استفاده کرد. ایشان توصیه نمودند با توجه به اینکه خزان برگ‌ها از علائم اصلی این بیماری است و بیشتر خسارت بیماری بواسطه ریزش برگ‌ها می‌باشد، برای آزمون ارزیابی و مقایسه میزان بیماریزایی یا قدرت تهاجمی جدایه‌ها در گلخانه می‌توان از شاخص درصد برگ‌های ریزش یافته که روشی صریح‌تر و آسان‌تر است و نتایج آن همبستگی بالایی با روش شاخص برگی دارد، استفاده نمود.

تنوع ژنتیکی بسیار کمی در جمعیت‌های ایرانی قارچ *C. pseudonaviculata* وجود دارد؛ بطوری‌که در مطالعه خزائلی و همکاران (Khazaeli *et al.*, 2017) درخت فیلوژنتیکی رسم شده بر اساس ژن بتا توبولین، نشان داد که تمامی جدایه‌ها در یک گروه قرار دارند.

همچنین بررسی تنوع ژنتیکی بر اساس نشانگر ژنومی rep تأیید کرد که جمعیت جدایه‌های این قارچ در ایران از تنوع ژنتیکی پایینی برخوردار هستند. بطوری‌که در سطح اختلاف ژنتیکی ۵ درصد جمعیت مورد بررسی به چهار گروه ژنتیکی مجزا تفکیک شدند (Zamani & Mojerlou, 2020). در این تحقیق از هر یک از چهار گروه ژنتیکی یک جدایه بعنوان نماینده انتخاب و با مخلوط نمودن سوسپانسیون اسپوری چهار جدایه مذکور و بکارگیری استوک حاصل در مایه‌زنی گلخانه‌ای تلاش شد شرایطی مشابه با آنچه گیاهان در رویشگاه‌های طبیعی کشور با آن مواجه هستند ایجاد گردد. بنابراین، اکسشن‌هایی از شمشاد خزری که علائم بیماری را پس از تلقیح مصنوعی با شدت بیشتری نشان می‌دهند، احتمالا در شرایط عرصه‌ای و تحت آلودگی طبیعی نیز با شدت بیشتری بیمار خواهند شد.

این مطالعه برای اولین بار روی حساسیت به بیماری بلایت در اکسشن‌های مختلف گونه *Buxus sempervirens* subsp. *hyrcana* از رویشگاه‌های شمشاد شمال کشور بعنوان تنها گونه شمشاد بومی و در حال انقراض ایران انجام شد و بر اساس نتایج گلخانه‌ای انجام شد و مشخص گردید درجاتی از تحمل به بیماری را

می‌توان در میان پایه‌های مختلف آن یافت. این نتایج نشـان می‌دهـد کـه ایـن پتانسـیل بـرای متخصصـین اصـلاح نبـات وجـود دارد کـه شمشادهای با حساسیت کمتر را انتخاب و توصیه کنند و یـا ارقـام بـا مقاومت اصلاح شده در برابر بلایت شمشاد را توسعه دهند.

References

1. Akhani, H., Djamali, M., Ghorbanalizadeh, A., & Ramezani, E. (2010). Plant biodiversity of Hyrcanian relict forests in Iran: An overview of the flora, vegetation, palaeoecology and conservation. *Pakistan Journal of Botany, 42*(1), 231-258.
2. Avenot, H.F., King, C., Edwards, T.P., Baudoin, A., & Hong, C.X. (2017). Effects of inoculum dose, temperature, cultivar, and interrupted leaf wetness period on infection of boxwood by *Calonectria pseudonaviculata*. *Plant Disease, 101*(6), 866-873. https://doi.org/10.1094/PDIS-05-16-0742-RE
3. Batdorf, L.R. (2004). *Boxwood: An illustrated encyclopedia*. American Boxwood Society, Boyce, VA.
4. Baudoin, A., Avenot, H.F., Edwards, T., Diallo, Y., & Lucernoni, C. (2015). Evaluation of fungicides for control of boxwood blight. *Plant Disease Management, Reports 9*, OT006.
5. Browne, R.A., Cooke, B.M., Devaney, D., Murphy, J.P., Walsh, E.J., Griffey, C.A., Hancock, J.A., Harrison, S.A., Hart, P., Kolb, F.L., McKendry, A.L., Milus, E.A., Sneller, C., & Van Sanford, D.A. (2005). Evaluation of components of *Fusarium* head blight resistance in soft red winter wheat germ plasm using a detached leaf assay. *Plant Disease, 89*, 404-411. https://doi.org/10.1094/PD-89-0404
6. Crous, P.W., Groenewald, J.Z., & Hill, C.F. (2002). *Cylindrocladium pseudonaviculata* sp. nov. from New Zealand, and new *Cylindrocladium* records from Vietnam. *Sydowia, 54*, 23-34.
7. Crous, P.W., Janse, B.H.J., Victor, D., Marais, G.F., & Alfenas, A.C. (1993a). Characterization of some *Cylindrocladium* species with three-septate conidia using morphology, isozyme banding patterns and DNA polymorphisms. *Systematic and Applied Microbiology, 16*, 266-273. https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80479-0
8. Crous, P.W., Wingfield, M.J., & Alfenas, A.C. (1993b). *Cylindrocladium parasiticum* sp. nov., a new name for *C. crotalariae*. *Mycological Research, 97*, 889-896. https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)81168-4
9. Dart, N.L., Allen, C., & Hong, C.X. (2015). Efficacy of bleach and ethanol as sanitizers on the boxwood blight pathogen, *Calonectria pseudonaviculata*. *Virginia Nursery and Landscape Association Newsletters, 85*, 46-47.
10. Ehsen, B. (2011). In de afächlichkeit gibt es deutliche sortenunterschiede. *Deutsche Baumschule, 8*, 48-49.
11. Ershad, G. (2009). Fungi of Iran. Agricultural research, Education & Extension Organization (AREEO), Ministry of agriculture. Tehran.
12. Fakhredin, F., Mirabolfathy, M., & Pirnia, M. (2016). *Comparative effects of some fungicides to control boxwood blight.* Proceeding of 21th Iranian plant protection congress, Orumieh, Iran, p. 69-70.
13. Ganci, M.L., Benson, D.M., & Ivors, K.L. (2013). Susceptibility of commercial boxwood cultivars to *Cylindrocladium buxicola*, the causal agent of box blight. *Phytopathology, 103*, 47. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.1014.83
14. Gehesquière, B. (2014). *Cylindrocladium buxicola* nom. Cons; prop. (syn. *Calonectria pseudonaviculata*) on *Buxus*: molecular characterization, epidemiology, host resistance and fungicide control. Ph.D. thesis, Ghent University, Ghent, Belgium.
15. Gehesquière, B., Crouch, J.A., Marra, R.E., Van Poucke, K., Rys, F., Maes, M., & Heungens, K. (2016). Characterization and taxonomic reassessment of the box blight pathogen *Calonectria pseudonaviculata*, introducing *Calonectria henricotiae* sp. nov. *Plant Pathology, 65*(1), 37-52. https://doi.org/10.1111/ppa.12401
16. Guo, Y., Olsen, R.T., Kramer, M., & Pooler, M. (2016). Use of mycelium and detached leaves in bioassays for assessing resistance to boxwood blight. *Plant Disease, 100*(8), 1622-1626. https://doi.org/10.1094/PDIS-01-16-0016-RE
17. Henricot, B. (2006). *Box blight rampages onwards: The latest news on the spread and control of a devastating disease*. Plantsman London, 153 p.
18. Henricot, B., & Culham, A. (2002). *Cylindrocladium buxicola*, a new species affecting *Buxus* spp., and its phylogenetic status. *Mycologia, 94*, 980-997. https://doi.org/10.1080/15572536.2003.11833155
19. Henricot, B., & Wedgwood, E. (2013). Evaluation of foliar fungicide sprays for the control of boxwood blight, caused by the fungus *Cylindrocladium buxicola*. *Plant Health Progress*. https://doi.org/10.1094/PHP-2013-1024-01-RS
20. Henricot, B., Gorton, C., Denton, G., & Denton, J. (2008). Studies on the control of *Cylindrocladium buxicola* using fungicides and host resistance. *Plant Disease, 92*, 1273-1279. https://doi.org/10.1094/PDIS-92-9-1273
21. Ivors, K.L., Lacey, L.W., Milks, D.C., Douglas, S.M., Inman, M.K., Marra, R.E., & La-Mondia J.A. (2012). First report of boxwood blight caused by *Cylindrocladium pseudo naviculatum* in the United States. *Plant Disease, 96*, 1070-1070. https://doi.org/10.1094/PDIS-03-12-0247-PDN
22. Khazaeli, P., Mirabolfathy, M., Zamanizadeh, H., & Kiadaliri. H. (2018). Genetic and phenotypic variation of

Calonectria pseudonaviculata isolates causing boxwood blight disease in the Hyrcanian forest of Iran. *Agricultural Research & Technology Open Access Journal*, *19*(1), 556081. https://doi.org/10.19080/artoaj.2018.19.556081

23. Khazaeli, P., Rezaee, S., Mirabolfathy, M., Zamanizadeh, H.R., & Kiadaliri, H. (2016). Distribution, specific detection and the pathogenesis variation of *Calonectria pseudonaviculata* isolates causal agent of boxwood blight disease, in Hyrcanian forest of Iran. *Iranian Applied Entomology and Phytopathology*, 78-90. https://doi.org/10.22092/jaep.2016.106536
24. Khazaeli, P., Rezaee, S., Mirabolfathy, M., Zamanizadeh, H.R., & Kiadaliri, H. (2017). Study on genetic variation of Hyrcanian *Calonectria pseudonaviculata*. *Journal of Microbial World, 10(2)*, 164-175.
25. Khazaeli, P., Rezaeei, S., Mirabolfathy, M., Zamanizadeh, H., & Kiadaliri, H. (2015). Report of boxwood blight extension to Golestan province forests. *Applied Entomology and Phytopathology, 83*, 85-86. https://doi.org/10.22092/jaep.2015.101701
26. Kong, P., & Hong, C. (2017). Biocontrol of boxwood blight by *Trichoderma koningiopsis* Mb2. *Crop Protection, 98*, 124-127. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.03.015
27. Kramer, M., Guo, Y.H., & Pooler, M. (2020). Ranking resistance of *Buxus* cultivars to boxwood blight-an integrated approach. *Journal of Environmental Horticulture, 38*(2), 50-55. https://doi.org/10.24266/0738-2898-38.2.50
28. LaMondia, J.A., & Shishkoff, N. (2017). Susceptibility of boxwood accessions from the national boxwood collection to boxwood blight and potential for differences between *Calonectria pseudonaviculata* and *C. henricotiae*. *HortScience, 52*(6), 873-879. https://doi.org/10.21273/HORTSCI11756-17
29. LaMondia, J.A. (2014). Fungicide efficacy against *Calonectria pseudonaviculata*, causal agent of Boxwood Blight. *Plant Disease, 98*, 99-102. https://doi.org/10.1094/PDIS-04-13-0373-RE
30. LaMondia, J.A. (2015). Management of *Calonectria pseudonaviculata* in boxwood with fungicides and less susceptible host species and varieties. *Journal of Plant Disease, 99*(3), 363-369. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-14-0217-RE
31. Lombard, L., Crous, P.W., Wingfield, B.D., & Wingfield, M.J. (2010). Phylogeny and systematics of the genus *Calonectria*. *Studies in Mycology, 66*, 31-69. https://doi.org/10.3114/sim.2010.66.03
32. Mirabolfathy, M. (2013). Outbreak of boxwood tree leaf drop in Guilan and Mazandaran forests. Proceeding of 1st Iranian Mycological Conference, 3-5 Sep. 2013, University of Rasht, Guilan, Iran, Pp. 8.
33. Mirabolfathy, M., Ahangaran, Y., Lombard, L., & Crous, Y.P.W. (2013). Leaf blight of *Buxus sempervirens* in northern forests of Iran caused by *Calonectria pseudonaviculata*. *Plant disease, 97*(8), 1121-1122. https://doi.org/10.1094/PDIS-03-13-0237-PDN
34. Naseri, B., Shafizadeh, F., Nourshad, M., Ahangaran, Y., & Rezaee, G. (2022). Ex-situ conservation of Hyrcanian boxwood. *Iran Nature, 7*(1), 53-58. (In Persian). https://doi.org/10.22092/irn.2022.357787.1447
35. Rezaee, S., Kia-daliri, H., Sharif, K., Ahangaran, Y., & Hajmansoor, S. (2013). Boxwood blight caused by *Cylindrocladium buxicola* in Tonekabon forest. *Applied Entomology and Phytopathology*, *80*(2), 197-198. (In Persian). https://doi.org/10.22092/jaep.2013.100577
36. Shamekhi, T. (2011). *Rules and Management of Natural Resources*. Tehran University Press, 287pp. (In Persian)
37. Shishkoff, N. (2016). Survival of microsclerotia of *Calonectria pseudonaviculata* and *C. henricotiae* exposed to sanitzers. *Plant Health Progress, 17*, 13-17. https://doi.org/10.1094/PHP-RSe15e0038
38. Shishkoff, N., Daughtrey, M., Aker, S., & Olsen, R.T. (2015). Evaluating boxwood susceptibility to *Calonectria pseudonaviculata* using cuttings from the national boxwood collection. *Plant Health Progress*. https://doi.org/10.1094/PHP-RS-14-0033
39. Thammina, C.S., Olsen, R.T., Kramer, M., & Pooler, M.R. (2017). Genetic relationships of boxwood (*Buxus* L.) accessions based on genic simple sequence repeat markers. *Genetic Resources and Crop Evolution, 64*, 1281-1293. https://doi.org/10.1007/s10722-016-0436-6
40. Van Laere, K., Hermans, D., Leus, L., & Van Huylenbroeck, J. (2015). Interspecific hybridisation within *Buxus* spp. *Scientia Horticulturae, 185*, 139-144. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.01.030
41. Van Laere, K., Heungens, K., Gehesquière, B., Leus, L., Hermans, D., & Van Huylenbroeck, J. (2019). Breeding and selection of Buxus for resistance to *Calonectria pseudonaviculata*. *Journal of Phytopathology*, 1-8. https://doi.org/10.1111/jph.12807
42. Zamani, S.M., & Mojerlou, S. (2020). Phenotypic and genotypic diversity of boxwood blight causal agent populations in Iran. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 33*(4), 938-952. (In Persian)

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 2, 2024, p. 171-181

Detection and Complete Genome Analysis of Grapevine Deformation Virus from the Vineyards of Khorasan-Razavi Province

Z. Gholampour[1], M. Zakiaghl[2*], M. Mehrvar[2], A. Si-Ammour[3]

1 and 2- Ph.D. Student in Plant Pathology and Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: zakiaghl@um.ac.ir)
3- Professor, Research and Innovation Center, Fondazione Edmund Mach, San Michele All'Adige, Italy

Received: 05-12-2023 Revised: 04-02-2024 Accepted: 07-05-2024 Available Online: 21-07-2024	**How to cite this article:** Gholampour, Z., Zakiaghl, M., Mehrvar, M., & Si-Ammour, A. (2024). Detection and complete genome analysis of grapevine deformation virus from the vineyards of Khorasan-Razavi province. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *38*(2), 171-181. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85726.1168

Introduction

More than 80 viral diseases of grapevines have been reported worldwide. The infectious degeneration disease complex causes growth reduction, stunting, shortening of internodes, bushy growth and decline in susceptible vines. Grapevine fanleaf viruses (GFLV), arabis mosaic virus (ArMV), grapevine deformation virus (GDefV), tomato ring spot virus (ToRSV) and tobacco ring spot virus (TRSV), which belong to the genus *Nepovirus*, are known to cause infectious degeneration. The genus *Nepovirus* has been divided into three subgroups A, B and C based on genome length, genomic organization, serological relationships, proteinase cleavage sites and the phylogenetic relationship of their coat protein (CP) gene. GDefV with the new name *Nepovirus deformationis* belongs to subgroup A of the genus *Nepovirus* and is closely related to ArMV and GFLV. Prevalence of GFLV in the vineyards of Iran raises the possibility that a mixed infection of GFLV and GDefV is also present in these areas. In Khorasan-Razavi Province, Iran's third-largest grape production center, research has addressed grape-affecting viruses with potential economic consequences, including reduced yield and product quality. Studying the distribution and genetic diversity of GDefV and other grape viruses is crucial for developing effective management and prevention strategies in the region's vineyards. In this study, GDefV was identified in the vineyards of Khorasan-Razavi province in Northeastern Iran and its complete genome was sequenced. In addition, the phylogenetic relationship of these isolates to other GDefV isolates deposited in GenBank was analyzed.

Materials and Methods

Samples from three grapevines were collected from a vineyard in Kashmer, Khorasan-Razavi Province; total RNA was extracted from the petiole of young leaves using the CTAB-PVPP method., GDefV and mixed infections of GDefV/GFLV were detected by PCR using specific primers. The PCR products were electrophoresed in a 1% agarose gel and sequenced. The miRNAs were extracted from grapevine petiole tissue using the modified CTAB method, and small RNA libraries were prepared using the TruSeq Small RNA Sample Prep Kit and sequenced on the Illumina Novaseq 6000 platform. After trimming the reads, contigs were generated using k-mer 15 in Velvet assembler 0.7.31. Contigs were verified using BLASTn and BLASTx in NCBI, and reconstruction of the GDefV genome from the NGS reads was performed using CLC Genomics Workbench (CLC Bio) software. Phylogenetic

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85726.1168

trees were generated in MEGA7 using the maximum likelihood (ML) method with 1000 replicates in the bootstrap test. The occurrence of possible recombinations in the GDefV genome was analyzed using the RDP v.6 package.

Results and Discussion

The samples showed leaf deformation, shortening of internodes, bushy growth, stunting and decline, but these symptoms are probably related to GFLV, and GDefV only causes leaf deformation in the infected vine. The PCR amplification and sequencing of a segment of the coat protein gene revealed a co-infection of GDefV and GFLV in the samples. GFLV is widely distributed in Iranian vineyards, GDefV has also been previously reported in the vineyards of northwestern Iran, but this is the first report of GDefV in the vineyards of Khorasan-Razavi Province.

After refining the reads, approximately 15 million reads (92-99.7% of the original reads) remained for further analysis. The read sequences of each library were deposited in the Sequence Read Archive (SRA) under the accession number SAMN33747579-81. Three Iranian GDefV isolates obtained from three miRNA libraries were deposited in GenBank (accession numbers **-**).

RNA1 and RNA2 of the three Iranian GDefV isolates had a length of 7386 and 3753 nucleotides, respectively. The RNA1 in GDefV had an open reading frame (ORF) of 6852 nucleotides in length, which started with the start codon AUG at position 288 and ended with the stop codons UAA or UAG at position 7142. The 5' end of the genome had 287 nucleotides long and contained two repeating sequences of 15 nucleotides that formed stem-loop structures. The length of the non-coding region at the 3' end had 244 nucleotides. Translation of RNA1 of the GDefV genome produces a polyprotein (p1) of 2285 amino acids (approximately 252 kda). The polyprotein p1 comprises the cofactor proteins proteinase, helicase, VPg, proteinase and polymerase with approximate weights of 45, 88, 3, 25 and 91 kDa, respectively. RNA2 also has one ORF, located between nucleotides 237 and 3560. This open reading frame also produces a 122 kDa polyprotein (P2) with 1108 amino acids. The second fragment of the GDeFV genome had 236 nucleotides as a 5'-noncoding region with three repeating sequences of 15 nucleotides that produced stem-loop structures with a 3-nucleotide loop and a 6bp stem. The 3'-noncoding region was also 193 nucleotides long. Polyprotein P2 comprised protein 2A, movement protein (MP) and coat protein (CP). The GDefV polyproteins had cysteine/alanine (C/A) and arginine/glycine (R/G) cleavage sites similar to those of the GFLV polyprotein. Comparison of the RNA1 sequences from three Iranian GDefV isolates with other GDefV isolates available in GenBank showed that the Iranian isolates had 88.1-92.2 % nucleotide identity with each other and 90.3-93.9 % with GenBank isolates at the nucleotide level. At the amino acid level, the Iranian isolates were 86.6-91.6 % identity with each other and 88.9-92.7 % with GenBank isolates. For RNA2, the Iranian isolates showed 89.4-92 % similar to each other and 89.6-94.2 % similar to GenBank isolates at the nucleotide level. The amino acid similarity between the Iranian GDefV isolates was 85-88.6 %. In the phylogenetic tree based on the nucleotide and amino acid sequences of RNA1 and RNA2 of the GDefV genome, the Iranian isolates of this study were clustered in a distinct clade than other GDefV isolates from Turkey (HE613269 and NC017939).

GDefV was reported in 2003 and no further information is available on its distribution in vineyards around the world. GDefV has already been reported from Turkey and Iran, but the complete genome sequence of the Iranian GDefV isolate is being reported for the first time. Further studies on the population diversity of GDefV isolates in different regions of Iran are required to gain more insight into the mechanisms affecting the dynamics of GDefV populations.

Keywords: Complete genome, Grapevine deformation virus, *Nepovirus*, Phylogeny, Small RNAs

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸ شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، ص. ۱۸۱-۱۷۱

ردیابی و تجزیه و تحلیل ژنوم کامل ویروس بدشکلی برگ انگور (Grapevine deformation virus) از تاکستان‌های استان خراسان رضوی

زهرا غلام پور[۱]- محمد زکی عقل[۲*]- محسن مهرور[۲]- عزالدین سی امور[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸

چکیده

نپوویروس‌ها عامل زوال عفونی مو در سراسر دنیا هستند. ویروس بدشکلی برگ انگور (Grapevine deformation virus-GDefV) با نام جدید *Nepovirus deformationis* به زیرگروه A جنس نپوویروس تعلق دارد. علائم GDefV به‌صورت بدشکلی برگ انگور، کوتولگی و زوال درختچه است. GDefV در اغلب موارد در آلودگی مخلوط با ویروس برگ بادبزنی مو مشاهده می‌شود. برای شناسایی و تعیین توالی ژنوم کامل GDefV سه نمونه انگور با علائم رشد کپه‌ای و زوال در بهار سال ۱۳۹۸ از شهرستان کاشمر در استان خراسان رضوی در شمال‌شرق ایران جمع‌آوری شدند. پس از استخراج RNA از دمبرگ برگ‌های جوان مو، شناسایی اولیه GDefV در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام شد. سپس کتابخانه‌هایی از RNA های کوچک از سه تاک مورد بررسی تهیه و در پلت فرم ایلومینا تعیین توالی شدند. پس از پالایش خوانش‌ها، ۱۵ میلیون خوانش باکیفیت مناسب برای آنالیزهای پایین‌دست باقی ماندند. که از آن‌ها، ژنوم سه جدایه ایرانی GDefV به طول ۷۳۸۶ و ۳۷۵۳ نوکلئوتید بازسازی شد. مقایسه ترادف این جدایه‌ها با توالی‌های GDefV موجود در GenBank بیانگر شباهت ۹۴/۳-۸۷/۶ درصدی در سطح نوکلئوتیدی و ۹۰/۵-۸۸/۸ درصد در سطح آمینواسیدی بود. در درخت‌های فیلوژنتیک ترسیم‌شده، جدایه‌های شمال شرق ایران در شاخه‌ای مجزا از سایر جدایه‌های GDefV قرار گرفتند. مقاله حاضر اولین گزارش از تحلیل ژنوم و تبارزایی جدایه‌های GDefV از تاکستان‌های ایران را ارائه می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: ژنوم کامل، فیلوژنی، ویروس بدشکلی برگ انگور، RNA های کوچک، *Nepovirus*

مقدمه

ویروس‌های مو منجر به کاهش عملکرد و کیفیت محصول می‌شوند. تاکنون بیش از ۸۰ بیماری ویروسی از تاکستان‌های سراسر دنیا در انگور شناخته شده است (Fuchs, 2020). بیماری زوال مسری مو (Infectious degeneration) در ۱۹۷۰ از فرانسه گزارش شد و مشخص شده است که در تاکستان‌های سراسر دنیا شیوع دارد (Hewitt & Bovey, 1979). علائم بیماری به‌صورت ضعف و زوال درختچه‌ها، کوتولگی، کوتاهی میانگره‌ها، در برخی موارد همراه با علائم بدشکلی برگ ،پیسک، موزائیک یا حتی زردی برگ‌ها است. خوشه‌ها تنک و باردهی درخت بشدت کاهش می‌یابد (Eichmeier *et al.*, 2016). ویروس‌های برگ بادبزنی مو (Grapevine fanleaf virus, GFLV)، موزائیک آرابیس (Arabis mosaic virus, ArMV)، لکه حلقه‌ای گوجه‌فرنگی (Tomato ringspot virus, ToRSV) و لکه حلقه‌ای توتون (Tobacco ringspot virus, TRSV) متعلق به جنس نپوویروس به‌عنوان عوامل بروز زوال مسری مو گزارش شده‌اند (Martelli, 2017). اعضای جنس نپوویروس در رده Picornavirales، خانواده Secoviridae، زیرخانواده Comovirinae قرار دارند که بر اساس طول ژنوم، سازمان ژنومی، روابط سرولوژیکی، محل‌های برش پروتئیناز و تجزیه‌وتحلیل

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی دکتری بیماری‌شناسی گیاهی و دانشیار، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: zakiaghl@um.ac.ir)
۳- استاد مرکز تحقیقات و نوآوری، مؤسسه فوندازیون ادموند مخ، سان میکله آل آدیگ، ایتالیا

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85726.1168

فیلوژنتیکی ژن پروتئین پوششی (CP) به سه زیرگروه A، B و C تقسیم می‌شوند (Sanfacon *et al.*, 2011). ویروس بدشکلی برگ انگور (Grapevine Deformation Virus-GDefV) با نام جدید *Nepovirus deformationis* نخستین بار در ترکیه شناسایی شد (Cigsar *et al.*, 2003). GDefV متعلق به زیرگروه A جنس نپوویروس است و رابطه نزدیکی با ویروس موزائیک آرابیس (ArMV) و ویروس برگ بادبزنی مو (GFLV) به‌ویژه RNA2 دارد (Abou Ghanem-Sabanadzovic *et al.*, 2005). پروتئین پوششی GDefV با ArMV دارای ۷۲٪ شباهت بوده و ارتباط سرولوژیکی نزدیکی با یکدیگر دارند (Cigsar *et al.*, 2003). احتمال داده می‌شود که GDefV حاصل نوترکیبی بین ArMV و GFLV و تکامل واگرای آن باشد (Elbeaino *et al.*, 2012).

در ایران GDefV از تاکستان‌های استان‌های آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و اردبیل ردیابی شده است (Hajizadeh *et al.*, 2012) لیکن اطلاعی از حضور آن در سایر نقاط ایران در دست نیست. همچنین تنها بخشی از پروتئین پوششی GDefV توالی‌یابی شده (Moradi *et al.*, 2018; Hajizadeh *et al.*, 2012) و اطلاعاتی از ژنوم کامل ویروس موجود نیست. با توجه به شیوع گسترده GFLV در تاکستان‌های شرق کشور (Gholampour *et al.*, 2015) این احتمال داده شد که آلودگی مخلوط GFLV و GDefV نیز در این مناطق وجود داشته باشد.

در استان خراسان رضوی که به‌عنوان سومین مرکز تولید انگور در ایران شناخته شده است، تحقیقاتی در مورد ویروس‌های آلوده کننده انگور انجام شده است. این ویروس‌ها می‌توانند تأثیرات اقتصادی قابل توجهی از طریق کاهش عملکرد و کیفیت محصول بر تولید انگور داشته باشند. درک توزیع و تنوع ژنتیکی GDefV و سایر ویروس‌های انگور در ایران می‌تواند به ارائه استراتژی‌های مدیریت و پیشگیری از بیماری در تاکستان‌های کشور کمک کند. در این مطالعه، GDefV از تاکستان‌های استان خراسان رضوی در شمال شرق ایران ردیابی و ژنوم کامل آن توالی‌یابی شده است. همچنین رابطه فیلوژنی این جدایه‌ها با سایر جدایه‌های GDefV موجود در GenBank تحلیل شده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، استخراج RNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

در بهار سال ۱۳۹۸ سه نمونه مو از شهرستان کاشمر در استان خراسان رضوی جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. استخراج RNA از دمبرگ برگ‌های جوان مو به روش بهینه‌سازی شده CTAB-PVPP (Polyvinylpolypyrolidon) انجام شد (Gholampour & Zakiaghl, 2016).

سنتز رشته مکمل (cDNA) با مخلوط کردن چهار میکرولیتر از آران‌ای کل با یک میکرولیتر آغازگر اختصاصی معکوس GDefV و GFLV، دو میکرولیتر مخلوط dNTPs، چهار میکرولیتر بافر 5X، و ۰/۲۵ میکرولیتر آنزیم نسخه‌بردار معکوس (Thermo-resistant H-MMuLV RT, Parstous) در حجم ۲۰ میکرولیتر و در دمای ۴۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶۰ دقیقه انجام شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی GDefV-F/R و GFLV-F/R (جدول ۱) برای تکثیر بخشی از ژن پروتئین پوششی انجام شد. حجم نهایی واکنش ۲۰ میکرولیتر شامل سه میکرولیتر از cDNA، یک میکرولیتر از هر آغازگر و ۱۰ میکرولیتر از کیت PCR (Ampliqon Red Dye Master Mix، Denmark) بود. برنامه دمایی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شامل یک مرحله در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت سه دقیقه و ۳۵ چرخه، شامل دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه در مرحله واسرشت‌سازی، دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه و در انتها یک مرحله ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از ترموسایکلر (Bio-Rad MJ Mini Thermal Cycler، USA) انجام شد.

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای اختصاصی مورد استفاده برای GFLV و GDefV

Table 1- Specific primers used for GDefV and GFLV

نام پرایمر Primer name	توالی Sequence	اندازه قطعه Product size	ژن Gene	منبع Reference
GDefV -F	5'- CACTGCGACGTGGAACAATG -3'	500	Coat Protein	Moradi *et al.*, 2018
GDefV -R	5'- TTGTGCCCAGACTCCACATG -3'			
GFLV -F	5'- CGGCAGACTGGCAAGCTGT -3'	1000	Coat Protein	Gholampour *et al.*, 2015
GFLV -R	5'- GGTCCAGTTTAATTGCCATCCA -3'			

محصول واکنش در ژل آگارز یک درصد حاوی دو میکرولیتر از Green Viewer (پارس توس، ایران) الکتروفورز و درنهایت با استفاده از دستگاه ژل‌داک (Alphaimager Mini ProteinSimple، USA) تصویربرداری شد. محصول PCR هر سه نمونه برای توالی‌یابی نوکلئوتیدی به شرکت ماکروژن (Macrogen) کره جنوبی ارسال شد.

ساخت کتابخانه ژنومی و توالی‌یابی و آنالیز داده‌ها

بـه روش اصلاح‌شـده CTAB (Carra *et al.*, 2007) miRNA ها از یک گرم بافت برگ استخراج شدند. سپس RNA های کوچـک از ژل پلی آکریل آمید بازیـابی شـدند. کتابخانـه‌هایی از RNA هـای کوچـک از سـه تـاک بـا اسـتفاده از کیـت TruSeq Small RNA Sample Prep (شماره کاتولوگ RS-930-1012) تهیه و در پلتفـرم Illumina NovaSeq 6000 (Cambridge, United Kingdom) تعیین توالی شدند.

کیفیت خوانش‌ها توسـط FastQC (Andrews, 2010) بررسـی گردید و آداپتورها با Cutadapt 1.9 (Martin, 2011) حـذف شـدند. بازسازی خوانش‌ها و تولید contig ها بـا اسـتفاده از اسـمبلر Velvet 0.7.31 بـا k-mer ۱۵ انجـام شـد (Zerbino & Birney, 2008). همسانی Contig هـای ساخته‌شـده بـا ویروس‌هـای گیـاهی توسـط BLASTn و BLASTx، در NCBI، مـورد بررسـی قـرار گرفـت (https://www.ncbi.nlm.nih.gov). سـپس از جدایـه مرجـع GDefV کـه بیشـترین همسـانی را بـا Contig هـا داشـت، بـرای بازسازی ژنوم از خوانش‌هـای NGS در نرم‌افـزار CLC Genomics Workbench (CLC Bio) اسـتفاده شـد. توالی‌هـای مشـترک (consensus) به‌دست‌آمده در آنالیزهای پایین‌دست استفاده شدند.

تجزیه و تحلیـل شـباهت تـوالی نوکلئوتیـدی و هـم‌ردیف‌سـازی چندگانه جدایه‌های این مطالعه و جدایه‌های موجود در GenBank بـا استفاده از نرم‌افزار MAFFT نسـخه ۷ انجـام شـد. پـس از انتخـاب بهترین مـدل جـایگزینی نوکلئوتیـدی در نرم‌افـزار MEGA7، رسـم درخت تبارزائی به روش Maximum-Likelihood (ML) بـا ۱۰۰۰ تکرار در آزمون بوت‌استرپ انجام شد.

بررسی بروز نوترکیبی احتمـالی در ژنـوم GDefV بـا اسـتفاده از بسته نرم‌افـزاری RDP v.5 (Martin *et al.*, 2021) بـا پارامترهـای پیش‌فرض نرم‌افزار انجام شد.

بررسی آلودگی مخلوط GDefV و GFLV

بـــه‌منظور بررســـی آلـــودگی مخلـــوط GDefV و GFLV از آغازگرهای اختصاصی هر ویروس که قطعه‌ای از ژن پروتئین پوششی هر ویروس را همانندسازی می‌کنند (جدول ۱) استفاده شد و محصول PCR در ژل آگاروز یک درصد الکتروفورز شد.

نتایج و بحث

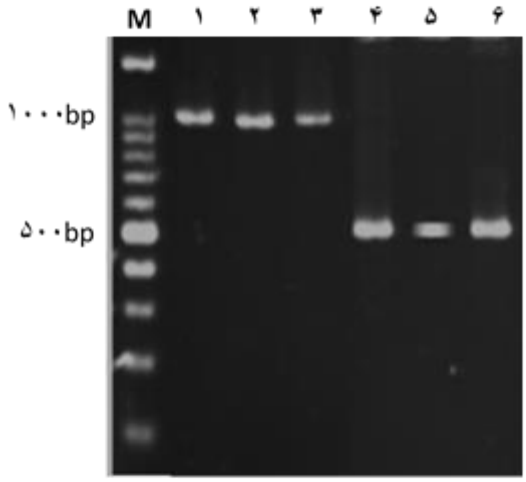
در نمونـه‌های جمع‌آوری‌شـده بدشـکلی بـرگ، کوتـاه شـدن میانگره‌ها، رشد کپه‌ای و کوتولگی مشاهده شد (شکل ۱) ایـن علائـم احتمالا مربـوط بـه GFLV اسـت (Schmitt-Keichinger *et al.*, 2017) و GDefV در تاک آلوده تنها بدشکلی در برگ ایجاد می‌کنـد (Cigsar *et al.*, 2003). همانندسـازی قسـمتی از پـروتئین پوششـی GDefV با آغازگرهای اختصاصی در واکنش زنجیـره‌ای پلـی‌مـراز و تائید تطابق قطعـه همانندسـازی شـده نشان‌دهنده آلـودگی تاک‌هـا به GDefV است. GDefV پیشتر از تاکستان‌های آذربایجان غربـی، آذربایجان شرقی و اردبیل در ایران گزارش شده اسـت (Hajizadeh *et al.*, 2012) بنـابراین ایـن اولـین گـزارش از حضـور GDefV در تاکستان‌های خراسان رضوی است. به‌علاوه در هر سـه نمونـه مـورد بررسی آلودگی مخلوط GDefV و GFLV ردیابی شد (شکل ۲).

شکل ۱- علائم بدشکلی برگ، رشد کپه‌ای و کوتولگی در نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از تاکستان‌های شهرستان کاشمر در استان خراسان رضوی

نمونه‌ها آلودگی مخلوط به GDefV و GFLV داشتند.

Figure 1- Leaf deformation, bushy growth and stunting symptoms were observed in the collected samples from the vineyards in Kashmar, Razavi Khorasan Province

The samples were contaminated with a mixed infection of GDefV and GFLV.



شکل ۲- الکتروفورز محصول RT-PCR در ژل آگارز یک درصد با دو جفت آغازگر اختصاصی GDefV-F/R و
FLV-F/R. راهک ۱ تا ۳ تکثیر بخشی از ژن پروتئین پوششی GFLV و راهک ۴ تا ۶ تکثیر بخشی از ژن پروتئین پوششی GDefV. راهک M: نشانگر وزن مولکولی ۱۰۰ جفت‌باز (فرمنتاز).

Figure 2– Results of RT-PCR products were analyzed on a 1% agarose gel using two pairs of specific primers, GDefV-F/R and GFLV-F/R
Lanes 1 to 3 represent the amplification of a segment of the GFLV coat protein gene, lanes 4 to 6 represent the amplification of a segment of the GDefV coat protein gene. M 100bp DNA ladder (Fermentas).

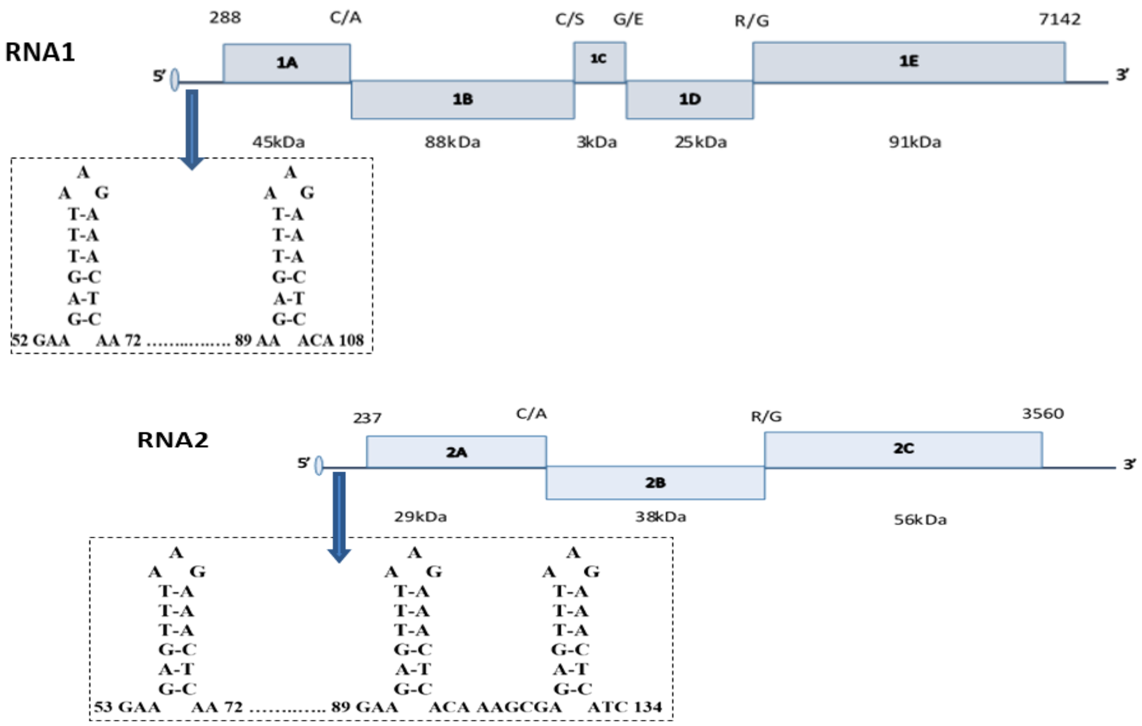
با حذف خوانش‌های باکیفیت پایین از کتابخانه‌های میکروآران‌ای توالی‌یابی شده حدود ۱۵ میلیون خوانش (٪۹۹،۷-٪۹۲ از خوانش‌های اولیه) از هر کتابخانه برای آنالیزهای پایین‌دست باقی ماندند. توالی‌های بازیابی شده هر کتابخانه در Sequence Read Archive (SRA) با شماره دسترسی‌های SAMN33747579-81 ثبت شدند. از توالی مرجع از کشور ترکیه (NC017938, NC017939) برای بازسازی ژنوم کامل GDefV از خوانش‌های NGS استفاده شد. سه جدایه ایرانی GDefV به‌دست‌آمده از ۳ کتابخانه در GenBank با رس شمار PP187691–96 ثبت شدند.

قطعات ژنوم سه جدایه ایرانی GDefV توالی¬یابی شده به‌ترتیب ۷۳۸۶ و ۳۷۵۳ نوکلئوتید طول دارند. RNA1 در GDefV دارای یک چارچوب خوانش باز (ORF) به طول ۶۸۵۲ نوکلئوتید است که با کدون آغاز AUG در موقعیت ۲۸۸ شروع و به کدون‌های خاتمه UAA یا UAG در موقعیت ۷۱۴۲ ختم می‌شود. انتهای'۵ ژنوم ۲۸۷ نوکلئوتید طول دارد و شامل دو توالی تکراری ۱۵ نوکلئوتیدی است که توانایی ایجاد ساختارهای ساقه–حلقه (stem-loop) را دارند. این ساختار پیشتر نیز برای GDefV گزارش‌شده است (Wetzel *et al.*, 2001). ناحیه غیررمزگذاری‌کننده در انتهای'۳ نیز دارای ۲۴۴ نوکلئوتید است. ترجمه چارچوب خوانش باز RNA1 از ژنوم GDefV، یک پلی‌پروتئین (P1) با ۲۲۸۵ اسیدآمینه (حدود ۲۵۲ کیلو دالتون) تولید می‌کند. پلی پروتئین P1 شامل پروتئین‌های کوفاکتور پروتئیناز، هلیکاز، VPg، پروتئیناز و پلیمراز به‌ترتیب با وزن‌های تقریبی ۴۵، ۸۸، ۳، ۲۵ و ۹۱ کیلو دالتون است. محل‌های برش بین این پروتئین در P1 مشابه با GFLV است (Wetzel *et al.*, 2008)، که در شکل ۳ نمایش داده شده است.

RNA2 دارای یک چارچوب خوانش باز است. منطقه رمزگذاری کننده بین نوکلئوتیدهای ۲۳۷ تا ۳۵۶۰ قرار داشت. این چارچوب خوانش باز نیز یک پلی‌پروتئین (P2) به وزن ۱۲۲ کیلو دالتون با ۱۱۰۸ اسیدآمینه تولید می‌کند. قطعه دوم ژنوم GDefV نیز ناحیه غیر رمزگذاری کننده '۵ به طول ۲۳۶ نوکلئوتید و شامل سه توالی تکراری ۱۵ نوکلئوتیدی بود که ساختارهای ساقه–حلقه (stem-loop) حاوی یک حلقه ۳ نوکلئوتیدی و ساقه ۶ جفت بازی را تولید می‌کردند (Wetzel *et al.*,Abou Ghanem-Sabanadzovic *et al.*, 2005 ; 2001). ناحیه غیر رمزگذاری کننده '۳ نیز ۱۹۳ نوکلئوتید طول داشت. پلی‌پروتئین P2 شامل پروتئین 2A، پروتئین حرکتی (MP) و پروتئین پوششی (CP) بود. پلی پروتئین‌های GDefV دارای مکان‌های برشی Cysteine/Alanine (C/A) و Arginine/Glycine (R/G) مشابه با پلی‌پروتئین GFLV بودند (Margis *et al.*, 1993) (شکل ۳).

مقایسه توالی سه جدایه GDefV توالی¬یابی شده به همراه RNA1 و RNA2 دو جدایه موجود در GenBank نشان داد که همسانی نوکلئوتیدی RNA1 جدایه‌های ایرانی با یکدیگر ۸۷/۶ – ۹۲/۲ درصد و با جدایه‌های GenBank ۹۲/۹ – ۹۴/۳ درصد بود. در سطح آمینواسیدی جدایه‌های ایرانی با یکدیگر ۹۰/۶ – ۹۱/۶ درصد و با جدایه‌های GenBank ۹۲/۱ – ۹۲/۸ درصد شباهت داشتند.

جدایه‌های ایرانی با یکدیگر در RNA2 در سطح نوکلئوتیدی ۹۰/۸ – ۹۲/۷ درصد و با جدایه‌های GenBank ۹۲/۷ – ۹۴/۲ درصد شباهت داشتند. همسانی آمینواسیدی جدایه‌های ایرانی GDefV با یکدیگر ۸۶/۶–۸۸/۶ درصد و با سایر جدایه‌های GDefV ۸۸/۸ – ۹۰/۵ درصد بود (شکل ۴).



شکل ۳- شماتیک سازماندهی ژنوم DefV

هر یک از قطعات ژنوم با یک جعبه نمایش داده شده است. انتهای '۵ و '۳ با خط مشخص شده‌اند. VPg به‌صورت دایره آبی در ابتدای ژنوم و ساختارهای ساقه–حلقه (stem-loop) انتهای '۵ ژنوم در زیر هر قطعه نشان داده شده است. وزن مولکولی پروتئین‌های رمزگذاری شده به‌وسیله RNA1 و RNA2 ژنوم GDefV در زیر جعبه‌ها ذکر شده است. 1A: پروتئیناز، 1B: هلیکاز، 1C: VPg، 1D: پروتئیناز، 1E: پلیمراز، 2A: پروتئین خانگی، 2B: پروتئین حرکتی و 2C: پروتئین پوششی. مکان‌های برش بین دو آمینواسید بالای جعبه‌ها نشان داده شده است.

Figure 3- Schematic organization of the GDefV genome

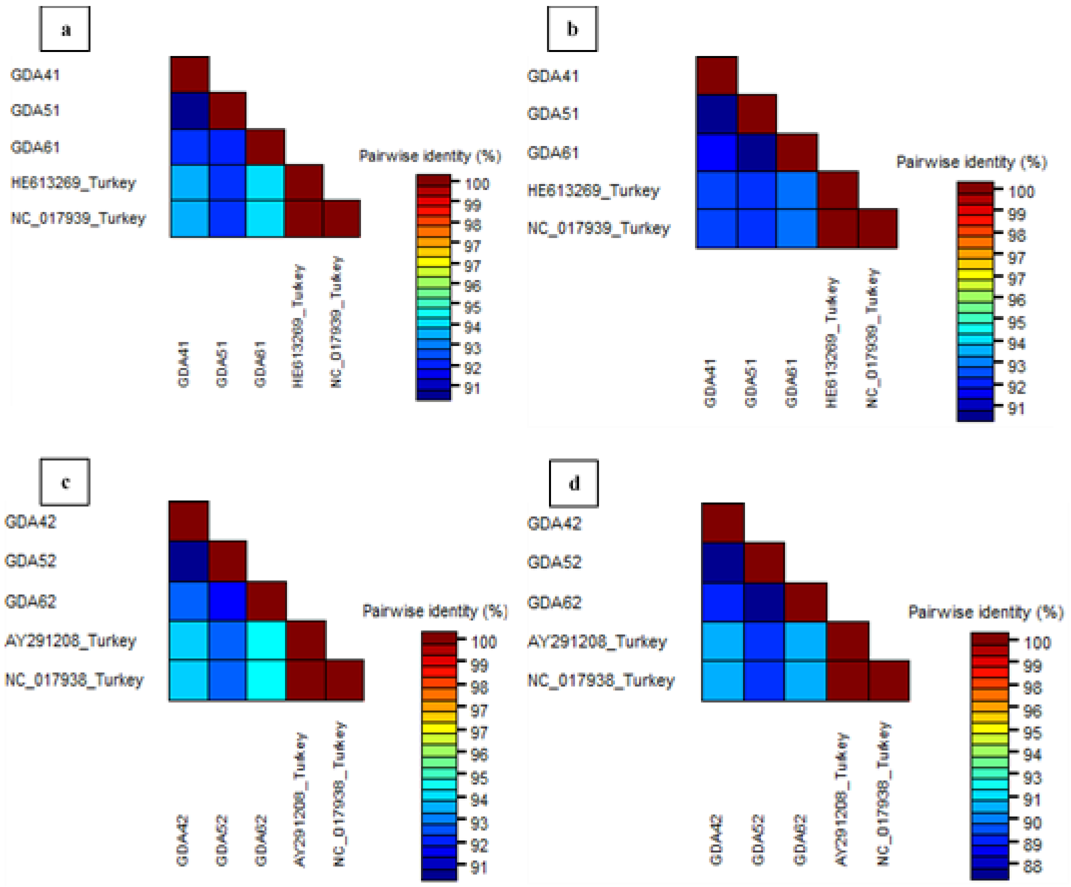
The ORF of each genomic RNA is displayed in a box. The '5 and '3 ends are indicated by a line. The VPg is shown as a blue circle at the beginning of the genome and stem-loop structures at the '5 end of the genome are shown below each piece. The molecular masses of proteins encoded by RNA1 and RNA2 of the GDefV genome is mentioned below the boxes. 1A: putative proteinase cofactor, 1B: putative Helicase, 1C: viral genome-linked protein, 1D: proteinase, 1E: putative RNA-dependent RNA polymerase, 2A: homing protein, 2B: movement protein, and 2C: coat protein. The cleaved sites are indicated as dipeptide above the boxes.

میزان شباهت نوکلئوتیدی جدایه‌های GDefV در RNA1 و RNA2 ژنوم به‌ترتیب ۹۴/۳–۸۷/۶ و ۹۴/۲–۹۰/۸ درصد بود. میزان شباهت نوکلئوتیدی در ژن پروتئین پوششی کلیه جدایه‌های GDefV ۱۰۰ –۸۹/۷ درصد بود.

جدایه GDA62 به‌عنوان جدایه نوترکیب شناسایی شد (جدول ۲). رویداد نوترکیبی بین گونه‌ای در قسمت C ترمینال ژن CP ردیابی شد و جدایه‌های GFLV-F13 و ArMV-NW به‌عنوان والدین احتمالی مشابه با نتایج البیاینو و همکاران (Elbeaino *et al.*, 2012) هستند. این سایت نوترکیبی با حداقل ۵ روش مختلف در بسته نرم‌افزاری RDP5 پیش‌بینی شده است.

در درخت فیلوژنی بر اساس توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی RNA1و RNA2 ژنوم GDefV جدایه‌های ایرانی توالی‌یابی شده در این مطالعه در گروهی مجزا از دو جدایه دیگر این ویروس که از ترکیه (HE613269 و NC017939) گزارش‌شده‌اند قرار گرفتند (شکل ۵ a و b). درخت فیلوژنتیکی ترسیم‌شده بر اساس توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی پروتئین پوششی GDefV نیز توپولوژی

مشابه با درخت ژنوم کامل داشت و جدایه‌های این مطالعه مجزا از دو جدایه دیگر گزارش‌شده از ایـران (MG763926 و MW054857) و ترکیــه (AY291208، AY233975 و NC017938) قــرار گرفتنــد (شکل c۵).



شکل ٤- ماتریس مقایسه دوبه‌دو ترادف‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ژنوم کامل a GDefV) RNA1 در سطح نوکلئوتیدی b) RNA1 در سطح آمینواسیدی c) RNA2 در سطح نوکلئوتیدی d) RNA2 در سطح آمینواسیدی

Figure 4- Pair-by-pair comparison matrix of nucleotide and amino acid of the complete GDefV genome a) RNA1 at the nucleotide level b) RNA1 at the amino acid level c) RNA2 at the nucleotide level d) RNA2 at the amino acid level using SDT v1.2 software

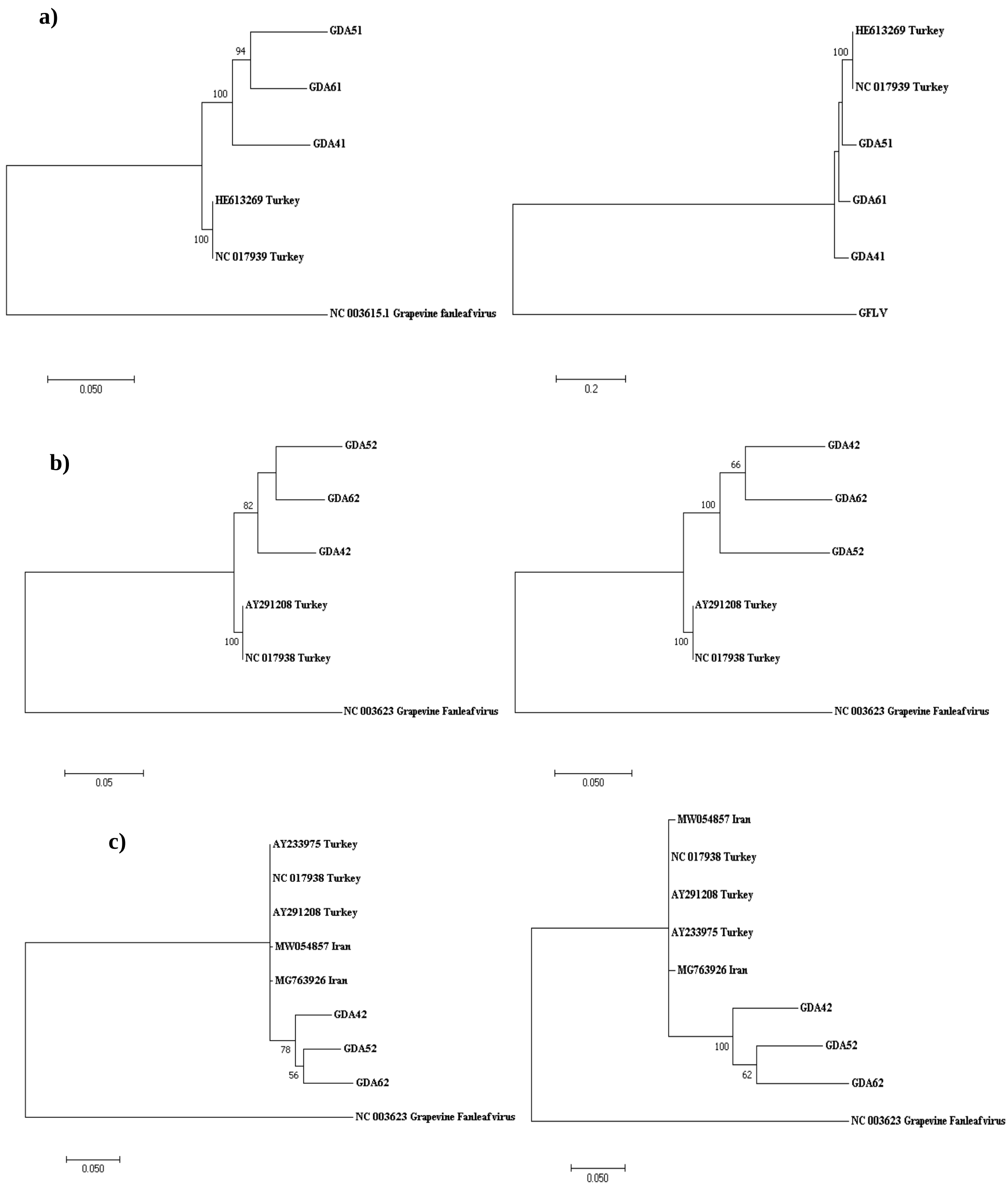
جدول ۲- بررسی وقوع نوترکیبی در توالی کامل ژنوم RNA2 جدایه‌های GDefV با استفاده از RDP5

Table 2- Recombination crossover events in of GDefV-RNA2 detected by the Recombination detecting program RDP5

توالی نوترکیب Rec. Seq.	محل ژن Gene region	موقعیت نوکلئوتید Nt. Position	ایزوله‌های والد (اصلی × فرعی) Parental isolates (Major × minor)	ضریب احتمال در نرم‌افزار RDP5 RDP5 (P value)[a]
GDA62	2C	3377-3500	GFLV-F13 × ArMV-NW	RGBMC3sSL

a) RDP5-implemented methods supporting the corresponding recombination sites: R (RDP), G (GENECONV), B (BOOTSCAN), M (MAXCHI), C (CHIMAERA), 3Seq (3s), S (SISCAN) and L (Lard)

a) روش‌های بکاربرده شده در RDP5 که از جایگاه‌های نوترکیبی پشتیبانی می‌کنند: R (RDP)، G (GENECONV)، B (BOOTSCAN)، M (MAXCHI)، C (CHIMAERA)، 3Seq (3s)، S (SISCAN) و L (Lard).



شکل ۵- درخت تبارزائی جدایه‌های ویروس بدشکلی برگ انگور بر اساس توالی نوکلئوتیدی (سمت چپ) و آمینواسیدی (سمت راست) RNA1 (a) RNA2 (b) و ژن پروتئین پوششی GDefV (c) با استفاده از نرم‌افزار MEGA7 ترسیم‌شده است

مقادیر بوت‌استراپ (۱۰۰۰ تکرار) بر شاخه‌ها نشان داده شده است. ویروس برگ بادبزنی مو (GFLV) به‌عنوان گروه خارجی استفاده شد.

Figure 5. ML phylogenetic tree of the isolates of the GDefV is drawn based on the nucleotide sequence (left side) and amino acid sequence (right side) of RNA1 (a), RNA2 (b), and the GDefV coat protein gene (c) using the MEGA7 software.
Bootstrap values (1000 repetitions) are shown on the branches. Grapevine fanleaf virus (GFLV) was used as an outgroup.

ویروس بدشکلی برگ انگور در ۲۰۰۳ از ترکیه گزارش شده است (Cigsar *et al.*, 2003) و اطلاع چندانی از پراکنش آن در تاکستان‌های دنیا دسترس نیست. GDefV تاکنون از ترکیه (Cigsar *et al.*, 2003) و ایران (Hajizadeh *et al.*, 2012) گزارش‌شده است، ولی تاکنون توالی کامل ژنوم جدایه ایرانی GDefV در دسترس نبود و در این تحقیق برای اولین بار ژنوم GDefV تعیین توالی شده است. در این بررسی جدایه‌های توالی‌یابی شده GDefV در شاخه‌ای جدا از جدایه‌های ترکیه قرار گرفتند. این امر ممکن است ناشی از جدایی جغرافیایی بین جدایه‌های ایرانی و سایر جدایه‌های GDefV باشد به این معنی که جدایی جغرافیایی می‌تواند بر روند تکاملی ویروس تأثیر بگذارد ولی با توجه به وجود داده‌های اندک نیاز به بررسی بیشتری است. در رابطه با ویروس برگ بادبزنی مو که رابطه نزدیکی با GDefV دارد نیز اثر جدایی جغرافیایی بر مسیر تکاملی ویروس پیشتر گزارش‌شده است (Sokhandan-Bashir *et al.*, 2007; Gholampour *et al.*, 2017).

در حال حاضر، نیاز به تحقیقات بیشتر در زمینه تنوع جمعیت جدایه‌های GDefV در مناطق مختلف ایران وجود دارد تا شواهد بیشتری درباره مکانیسم‌های مؤثر بر پویایی جمعیت‌های GDefV ازجمله انتخاب مثبت و منفی، ترکیب ژنتیکی و تأثیر تبادل مواد گیاهی آلوده بین مناطق جغرافیایی مختلف ارائه شود. این یافته‌ها به توسعه راهکارهای مؤثرتری برای تشخیص و مدیریت GDefV کمک خواهند کرد.

References

1. Abou Ghanem-Sabanadzovic, N., Sabanadzovic, S., Digiaro, M., & Martelli, G.P. (2005). Complete nucleotide sequence of the RNA-2 of Grapevine deformation and Grapevine Anatolian ringspot viruses. *Virus Genes*, *30*, 335-340. https://doi.org/10.1007/s11262-005-6776-5
2. Andrews, S. (2010). FastQC: A quality control tool for high throughput sequence data. Retrieved from http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc
3. Carra, A., Gambino, G., & Schubert, A. (2007). A cetyltrimethylammonium bromide-based method to extract low-molecular-weight RNA from polysaccharide-rich plant tissues. *Analytical Biochemistry*, *360*(2), 318-320. https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.09.022
4. Cigsar, I., Digiaro, M., Gokalp, K., Abou Ghanem-Sabanadzovic, N., De Stradis, A., Boscia, D., & Martelli, G.P. (2003). Grapevine deformation virus, a novel nepovirus from Turkey. *Journal of Plant Pathology*, *85*(3), 183-191.
5. Eichmeier, A., Komínková, M., Komínek, P., & Baránek, M. (2016). Comprehensive virus detection using next generation sequencing in grapevine vascular tissues of plants obtained from the wine regions of Bohemia and Moravia (Czech Republic). *PLoS ONE*, *11*(12), e0167966. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167966
6. Elbeaino, T., Digiaro, M., Ghebremeskel, S., & Martelli, G.P. (2012). Grapevine deformation virus: completion of the sequence and evidence on its origin from recombination events between Grapevine fanleaf virus and Arabis mosaic virus. *Virus Research*, *166*(1-2), 136-140. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.03.011
7. Fuchs, M. (2020). Grapevine viruses: a multitude of diverse species with simple but overall poorly adopted management solutions in the vineyard. *Journal of Plant Pathology*, *102*(3), 643-653. https://doi.org/10.1007/s42161-020-00579-2
8. Gholampour, Z., Kargar, M., Zakiaghl, M., Siampour, M., Mehrvar, M., & Izadpanah, K. (2017). Dynamics of the population structure and genetic variability within Iranian isolates of grapevine fanleaf virus: evidence for polyphyletic origin. *Acta Virologica*, *61*(3), 324-335. https://doi.org/10.4149/av_2017_311
9. Gholampour, Z., & Zakiaghl, M. (2016). Comparison of RNA extraction methods for the identification of Grapevine fan leaf virus. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *30*(1), 127-133. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jpp.v30i1.40075
10. Gholampour, Z., Zakiaghl, M., Jafarpour, B., & Mehrvar, M. (2015). Identification and prevalence of Grapevine fanleaf virus in Khorasan-Razavi vineyards. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *29*(3), 318-324. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jpp.v29i3.27668
11. Grassi, F., & De Lorenzis, G. (2021). Back to the origins: Background and perspectives of grapevine domestication. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(9), 4518. https://doi.org/10.3390/ijms22094518
12. Hajizadeh, M., Sokhandan-Bashir, N., & Elbeaino, T. (2012). First report of Grapevine deformation virus and Grapevine Anatolian ring spot virus in Iran. *Journal of Plant Pathology*, *94*(S4), 96.
13. Hewitt, W.B., & Bovey, R. (1979). The viroses and virus-like diseases of the grapevine. *Vitis*, *18*(3), 316-376.
14. Margis, R., Ritzenthaler, C., Reinbolt, J., Pinck, M., & Pinck, L. (1993). Genome organization of grapevine fanleaf nepovirus RNA2 deduced from the 122K polyprotein P2 in vitro cleavage products. *Journal of General Virology*, *74*(9), 1919-1926. https://doi.org/10.1099/0022-1317-74-9-1919
15. Martelli, G.P. (2017). An overview on grapevine viruses, viroids, and the diseases they cause. p. 31-46. In: *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management*. Springer International Publishing. New York.
16. Martin, D.P., Varsani, A., Roumagnac, P., Botha, G., Maslamoney, S., Schwab, T., Kelz, Z., Kumar, V., &

Murrell, B. (2021). RDP5: a computer program for analyzing recombination in, and removing signals of recombination from, nucleotide sequence datasets. *Virus Evolution*, *7*(1), veaa087. https://doi.org/10.1093/ve/veaa087

17. Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet Journal*, *17*(1), 10. https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200
18. Moradi, R., Koolivand, D., Eini, O., & Hajizadeh, M. (2018). Molecular identification of four important nepovirus from vineyards of Zanjan province. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, *49*(1), 99-110. (In Persian). https://doi.org/10.22059/ijpps.2018.246930.1006816
19. Reynolds, A.G. (2017). The grapevine, viticulture, and winemaking: A brief introduction. p. 3-29. In: Meng B., Martelli G.P., Golino D.A., Fuchs M. (eds) *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management*. Springer International Publishing. Cham.
20. Sanfaçon, H., Iwanami, T., Karasev, A.V., van der Vlugt, R., Wellink, J., Wetzel, T., & Yoshikawa, N. (2012). Secoviridae. p. 881-899. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. (eds) *Virus Taxonomy*. Elsevier.
21. Schmitt-Keichinger, C., Hemmer, C., Berthold, F., & Ritzenthaler, C. (2017). Molecular, cellular, and structural biology of *Grapevine fanleaf virus*. In *Grapevine Viruses: Molecular Biology, Diagnostics and Management* (pp. 83-107): Springer International Publishing.
22. Sokhandan Bashir, N., Zarghani, S.N., & Hejazi, M.S. (2007). Diversity of Grapevine fanleaf virus isolates from Iran. *Virus Research*, *128*(1-2), 144-148. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.04.013
23. Wetzel, T., Chisholm, J., Bassler, A., & Sanfacon, H. (2008). Characterization of proteinase cleavage sites in the N-terminal region of the RNA1-encoded polyprotein from Arabis mosaic virus (subgroup A nepovirus). *Virology*, *375*(1), 159-169. https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.01.046
24. Wetzel, T., Meunier, L., Jaeger, U., Reustle, G.M., & Krczal, G. (2001). Complete nucleotide sequences of the RNAs 2 of German isolates of Grapevine fanleaf and Arabis mosaic nepoviruses. *Virus Research*, *75*(2), 139-145. https://doi.org/10.1016/S0168-1702(01)00235-0
25. Zerbino, D.R., & Birney, E. (2008). Velvet: algorithms for de novo short read assembly using de Bruijn graphs. *Genome Research*, *18*(5), 821-829. https://doi.org/10.1101/gr.074492.107

Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article

Vol. 38, No. 2, 2024, p. 183-195

Study the Efficiency of Different Formulations of the Bispyribac-Sodium Herbicide in Ratoon Rice Weeds Control in Comparison with Common Herbicides

F. Pouramir[1*], B. Yaghoubi[2]

1 and 2- Assistant Professor and Professor, Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: f.pouramir@areeo.ac.ir)

Received: 13-11-2023 Revised: 25-02-2024 Accepted: 10-03-2024 Available Online: 21-07-2024	**How to cite this article:** Pouramir, F., & Yaghoubi, B. (2024). Study the efficiency of different formulations of the bispyribac-sodium herbicide in Ratoon rice weeds control in comparison with common herbicides. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *38*(2), 183-195. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85325.1166

Introduction

Rice rationing is one of the ways to increase rice production without expanding the cultivation area. Currently, the average ratoon rice production per unit area is very low, and one of the most important reasons is the decrease in yield due to the lack of control or improper control of weeds. Weed control in ratoon rice is difficult for various reasons such as lack of water and big weed seedlings after harvesting the main crop of rice. In rice ratooning, unlike the main rice cultivation, in which several methods such as puddling, flooding, manual weeding and herbicides are used to manage weeds, the control of weeds is limited to foliar herbicides. Currently, there is not much information about ratoon rice weed control, therefore, investigating the efficiency of different herbicides in this field can lead to the introduction of high-efficiency herbicides in controlling weeds and thus improving the yield of ratoon rice per unit area.

Materials and Methods

This research was carried out during the 2017 and 2018 crop seasons in the research fields of Rice Research Institute of Iran in Gilan and Mazandaran provinces. The studied herbicide treatments were; Doses of 25, 38, 50, and 63 g/ha, a.i of bispyribac sodium SC 10% (Chif), doses of 31, 47, and 63 g/ha, a.i of bispyribac sodium SC 12.5% (Vejin), 40 g/ha, a.i of bispyribac sodium SC 40% (Clean-weed), 25 g/ha, a.i of bispyribac sodium SC 10% (Nomini), 1398 g/ha, a.i of propanil + benzosulfuronmethyl DF 46.6% (Stamdox), 1150 g/ha, a.i of bentazon + MTHPA SL 46% (Bazagran), 45 g/ha, a.i of Triaphamon + Ethoxysulfuron WG 30% (Council) and weedy control. The rice cultivar used in the main cultivation in both locations was Hashemi. The main rice seedlings were transplanted in 20 x 20 cm planting distance. Visual assessment of weeds control and weed biomass measurement were done in two stages. The evaluation of phytotoxicity and growth disorders of herbicides on rice plant and the effectiveness of them in weed control was carried out based on the European standard system.

Results and Discussion

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85325.1166

The results showed that bispyribac sodium herbicide, up to 63 g/ha, a.i, did not lead to visible phytotoxicity symptoms in ratoon rice. In Gilan province, Four weeks after herbicide application, the biomass of barnyardgrass (*Echinochloa crus galli*) in the weedy check was 35 g/m^2. The range of barnyardgrass biomass varied from 19 g/m^2 for Stamdax to 32 g/m^2 for Bazagaran herbicide. Six weeks after spraying, Vejin herbicide (47 and 63 g/ha, a.i), Clean-weed and Nomini had the lowest amount of barnyardgrass biomass with 26, 20, 23 and 26 g/m^2, respectively. Which were 71, 78, 75 and 71 percent reduction compared to the weedy check (91 g/m^2). The highest efficiency in the sedge (*Schoenoplectus maritimus*) control was also recorded in the same four treatments. Four weeks after herbicide application, weedy check had the highest weed biomass per unit area with 53 g, although it did not have a significant difference with Stamdax, Clean-weed, Nomini and Vejin herbicide recommended dose. Bazagaran and Council had the lowest amount of sedge biomass with 30 and 32 g/m^2, respectively. Sedge biomass reached 150 g/m^2 six weeks after herbicide application in the weedy check. Twice the recommended dose of Vejin herbicide with 21 g/m^2 had the highest efficiency (86%) in sedge control compared to the weedy check. Although there was no significant difference in this respect with the Nomini, Cleanweed and 150% of Vejin herbicide recommended dose. The lowest efficiency with 35 and 37% belonged to Chif and Stamdax herbicide treatments, respectively. The highest paddy yield with 1683 kg/ha was observed in Clean-weed herbicide treatment, which was 237% increase compared to the weedy check control (710 kg/ha). In Mazandaran province, two herbicides, Stamdax and Bazagaran, were the most effective in reducing weed biomass with 90% and 87%, respectively. This was while the highest paddy yield was observed in Clean-weed and Nomini herbicide treatments (2180 and 2210 k kg/ha, respectively).

Conclusion

This study demonstrated that bispyribac-sodium herbicide effectively controlled weeds in rice ratooning without causing any visible signs of phytotoxicity to the rice plants. This positive outcome led to a significant increase in grain yield. Among the different formulations of this herbicide, Nomini (25 g/ha, a.i) and Cleanweed (40 g/ha, a.i) had the highest efficiency in weed control and as a result, increasing the paddy yield. Therefore, bispyribac sodium herbicide can be used as a suitable replacement for current herbicides in rice ratooning.

Keywords: Barnyardgrass, Herbicide, Rice field, Sedge

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸ شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، ص. ۱۹۵-۱۸۳

بررسی کارایی فرمولاسیون‌های مختلف علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم در کنترل علف‌های‌هرز برنج راتون در مقایسه با علف‌کش‌های رایج

فرزین پورامیر[1*]- بیژن یعقوبی[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۰

چکیده

کنترل علف‌های‌هرز یکی از مهمترین مشکلات در پرورش برنج راتون می‌باشد. از این‌رو در این تحقیق، کارایی فرمولاسیون‌های مختلف علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم در کنترل علف‌های‌هرز برنج در پرورش راتون مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش طی سال‌های زراعی ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ در استان های گیلان و مازندران اجرا شد. تیمارهای علف‌کشی مورد مطالعه عبارت بودند از؛ دوزهای ۲۵، ۳۸، ۵۰ و ۶۳ گرم در هکتار ماده مؤثره بیس‌پایریباک سدیم (چیف SC 10%)، دوزهای ۳۱، ۴۷ و ۶۳ گرم در هکتار ماده مؤثره بیس‌پایریباک سدیم (وجین SC 12.5%)، ۴۰ گرم در هکتار ماده مؤثره بیس‌پایریباک سدیم (کلین‌وید SC 40%)، ۲۵ گرم در هکتار ماده مؤثره بیس‌پایریباک سدیم (نومینی SC 10%)، ۱۳۹۸ گرم در هکتار ماده مؤثره پروپانیل + بن‌سولفورون‌متیل (استمداکس DF 46.6%)،۱۱۵۰ گرم در هکتار ماده مؤثره بنتازون + ام‌ث‌پآ (بازاگران SL 46%)، ۴۵ گرم در هکتار ماده مؤثره تریافامون + اتوکسی سولفورون (کانسیل WG 30%) و شاهد آلوده به علف‌هرز. نتایج تحقیق نشان داد که مصرف علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم تا ۶۳ گرم ماده مؤثره در هکتار منجر به بروز علائم گیاهسوزی قابل مشاهده در برنج راتون نشد. در گیلان علف‌کش وجین (۴۷ و ۶۳ گرم ماده مؤثره در هکتار)، کلین‌وید و نومینی به‌ترتیب با ۲۶، ۲۰، ۲۳ و ۲۶ گرم در متر مربع دارای کمترین مقدار زیست‌توده سوروف (*Echinochloa crus galli*) بودند که در مقایسه با شاهد آلوده به علف‌هرز (۹۱ گرم در متر مربع) به‌ترتیب ۷۱، ۷۸، ۷۵ و ۷۱ درصد کاهش داشتند. بالاترین کارایی در کنترل علف‌هرز جگن (*Bolboschoenus planiculmis*) نیز در همین چهار تیمار ثبت شد. بیشترین عملکرد شلتوک با ۱۶۸۳ کیلوگرم در هکتار در تیمار علف‌کشی کلین‌وید مشاهده شد که در مقایسه با شاهد آلوده به علف‌هرز (۷۱۰ کیلوگرم در هکتار)، ۲/۳۷ برابر افزایش داشت. در مازندران دو علف‌کش استمداکس و بازاگران به‌ترتیب با ۹۰ و ۸۷ درصد، بیشترین کارایی را در کاهش زیست‌توده علف‌های‌هرز داشتند. این درحالی بود که بیشترین عملکرد شلتوک در تیمارهای علف‌کشی کلین‌وید و نومینی (به‌ترتیب با ۲۱۸۰ و ۲۲۱۰ کیلوگرم در هکتار) به‌دست آمد. نتایج این تحقیق نشان داد که علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم در عین حال که دارای کارایی مطلوبی در کنترل علف‌های‌هرز بود، اثرات گیاهسوزی قابل مشاهده‌ای نیز بر روی گیاه برنج نداشت که این امر منجر به افزایش عملکرد شلتوک در پرورش راتون شد. در بین فرمولاسیون‌های مختلف این علف‌کش، نومینی (۲۵ گرم ماده مؤثره در هکتار) و کلین‌وید (۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار) بالاترین کارایی را در کنترل علف‌های‌هرز و درنتیجه افزایش عملکرد شلتوک داشتند. از این‌رو، علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم را می‌توان به‌عنوان جایگزینی مناسب برای علف‌کش‌های قدیمی در پرورش برنج راتون مورد استفاده قرار داد.

واژه‌های کلیدی: جگن، سوروف، شالیزار، علف‌کش

۱ و ۲- به‌ترتیب استادیار و استاد پژوهشی، مؤسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: f.pouramir@areeo.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85325.1166

مقدمه

یکی از روش‌های افزایش تولید برنج بدون گسترش سطح زیر کشت، پرورش راتون می‌باشد. امروزه به‌دلیل بالا رفتن قیمت برنج و همچنین هزینه پایین پرورش راتون، کشاورزان شالیکار رغبت بیشتری به پرورش راتون پیدا کرده‌اند که همین عامل می‌تواند اثر خوبی بر افزایش تولید این محصول استراتژیک داشته باشد. سطح زیر کشت راتون در استان گیلان حدود ۸۰ هزار هکتار گزارش شده است. در حال حاضر میانگین تولید برنج راتون در واحد سطح در استان گیلان بسیار پایین (۹۵۰ کیلوگرم در هکتار) است که یکی از مهمترین دلایل آن، کاهش عملکرد ناشی از عدم کنترل و یا کنترل نامناسب علف‌های‌هرز می‌باشد (Yaghoubi & Pouramir, 2018). کنترل علف‌های‌هرز در کشت راتون به‌دلایل مختلفی از قبیل کمبود آب و همچنین بزرگ بودن گیاهچه علف‌های‌هرز پس از برداشت محصول اصلی مشکل است. در کشت راتون، برخلاف کشت اصلی برنج که در آن از روش‌ها یا ابزارهای متعددی مانند پادلینگ، غرقاب، وجین دستی و علف‌کش‌ها برای مدیریت علف‌های‌هرز استفاده می‌کنند، کنترل علف‌های‌هرز منحصر و محدود به علف‌کش‌های برگ پاش می‌باشد. در حال حاضر مطالعات زیادی در زمینه کنترل علف‌های‌هرز برنج راتون انجام نشده است، از این‌رو بررسی کارایی علف‌کش‌های مختلف در این زمینه می‌تواند منجر به معرفی علف‌کش‌هایی با کارایی بالا در کنترل علف‌های‌هرز و در نتیجه بهبود عملکرد برنج راتون در واحد سطح گردد.

بیس‌پایریباک سدیم علف‌کشی سیستمیک، پس‌رویشی و از خانواده پیریمیدینیل‌اکسی‌بنزویک اسید است که به‌منظور کنترل طیف وسیعی از علف‌های‌هرز معرفی شده است (Damalas *et al.*, 2008; Norsworthy *et al.*, 2014). یعقوبی و همکاران (Yaghoubi *et al.*, 2016 b) نشان دادند که مقادیر توصیه شده علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم دارای هیچ‌گونه اثرات گیاه‌سوزی بر گیاه برنج نیست. کارایی دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ درصد دوز توصیه‌شده این علف‌کش جهت کنترل علف‌های‌هرز سوروف و جگن تا شش هفته پس از نشاکاری به‌ترتیب بیش از ۸۰ و ۷۱ درصد بود. مشخص شد که بیس‌پایریباک سدیم منجر به کاهش جمعیت علف‌های‌هرز باریک‌برگ و همچنین کنترل ۱۰۰ درصدی جگن‌ها در زراعت برنج می‌گردد (Prameela *et al.*, 2014). نورثورثی و همکاران (Norsworthy *et al.*, 2014) نشان دادند که کاربرد تیمار بیس‌پایریباک سدیم (۳۶-۲۴ گرم ماده مؤثره در هکتار) در مرحله ۵ تا ۶ برگی سوروف منجر به کنترل ۷۱ تا ۱۰۰ درصدی گونه‌های مختلف این علف‌هرز می‌گردد. آنترالینا و همکاران (Antralina *et al.*, 2014) اثر تیمارهای علف‌کشی پنوکسولام + سی‌هالوفوپ-بوتیل، بیس‌پایریباک سدیم و توفوردی + مت‌سولفورون متیل را درکنترل علف‌های‌هرز برنج مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق، بیشترین عملکرد برنج در تیمارهای وجین‌دستی، بیس‌پایریباک سدیم و ترکیب علف‌کشی توفوردی + مت سولفورون متیل به‌دست آمد. از این‌رو آنها نتیجه‌گیری کردند که استفاده از این علف‌کش‌ها می‌تواند جایگزینی برای کنترل دستی علف‌های‌هرز باشد.

یعقوبی و همکاران (Yaghoubi & Pouramir, 2018) نشان دادند که افزایش دو برابری دوز توصیه‌شده علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم (۸۰ گرم ماده مؤثره در هکتار) بدون اینکه منجر به بروز علائم گیاه‌سوزی قابل مشاهده بر روی گیاه برنج شود منجر به کنترل ۸۳ درصدی علف‌های‌هرز در پرورش برنج راتون گردید. یاداو و همکاران (Yadav *et al.*, 2009) بیان داشتند که عدم کنترل علف‌های‌هرز می‌تواند عملکرد برنج را تا ۶۸ درصد کاهش دهد. این درحالی بود که کاربرد ۲۵ گرم ماده مؤثره بیس‌پایریباک سدیم در هکتار منجر به افزایش عملکرد برنج در مقایسه با شاهد آلوده به علف‌هرز گردید. جابران و همکاران (Jabran *et al.*, 2012) تأثیر علف‌کش‌های پنوکسولام (۱۵ گرم ماده مؤثره در هکتار)، بیس‌پایریباک سدیم (۲۵ گرم ماده مؤثره در هکتار) و پندیمتالین (۸۲۵ گرم ماده مؤثره در هکتار) را در کنترل علف‌های‌هرز برنج در کشت مستقیم مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که عدم کنترل علف‌های‌هرز منجر به کاهش ۷۵ درصدی عملکرد شلتوک می‌گردد. این درحالی بود که تیمارهای علف‌کشی پنوکسولام، پندیمتالین و بیس‌پایریباک سدیم به ترتیب فقط منجر به کاهش ۱۴، ۱۴ و ۷ درصدی عملکرد در مقایسه با شاهد دو بار وجین دستی شدند (Jabran *et al.*, 2012). در تحقیقی، کارایی تیمارهای علف‌کشی شامل دوز توصیه‌شده و دو برابر دوز توصیه‌شده بیس‌پایریباک سدیم، پروپانیل (۱۲ لیتر در هکتار)، بنتازون+ ام‌ث‌پ‌آ (۲/۵ لیتر در هکتار) و توفوردی (یک لیتر در هکتار) در کنترل علف‌های‌هرز برنج راتون مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد بیس‌پایریباک سدیم علاوه بر اینکه نسبت به علف‌کش‌های رایج دارای گیاه‌سوزی کمتری بر روی بوته‌های برنج بوده، کارایی بالاتری نیز در کنترل علف‌های‌هرز سوروف و اویارسلام زرد داشت. کاربرد دو برابر مقدار توصیه‌شده علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم با ۱۵۴۰ کیلوگرم در هکتار، دارای بیشترین مقدار عملکرد شلتوک بود که با دوز توصیه‌شده آن علف‌کش و تیمار علف‌کشی بنتازون اختلاف معنی‌داری نداشت (Yaghoubi & Pouramir, 2018).

سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 2009) گزارش کردند که علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم به‌عنوان یک علف‌کش پس‌رویشی تأثیر خوبی در کنترل علف‌هرز سوروف دارد. افزایش مقدار علف‌کش

ممکن است کارایی آن در کنترل علف‌هرز را افزایش دهد، اما همزمان ممکن است منجر به آسیب به گیاه برنج شود. کوهان و جانسون (Chauhan & Johnson, 2011) در مطالعه‌ای به بررسی واکنش گیاه برنج به علف‌کش‌های بیس‌پایریباک سدیم و اگزادیازون پرداختند. در این تحقیق اگزادیازون در مقادیر یک و ۱/۵ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار و بیس‌پایریباک سدیم در مقادیر ۳۰ و ۴۵ گرم ماده مؤثره در هکتار به صورت پس‌رویشی به‌کار برده شدند. آنها گزارش کردند که نشانه‌های گیاه‌سوزی ناشی از این علف‌کش‌ها بر روی برنج در زمانی که در خاک غرقاب به‌کار برده شده بودند، بیشتر از شرایط هوازی بود. کاربرد علف‌کش اگزادیازون به‌مقدار یک کیلوگرم در هکتار، اندام هوایی گیاه برنج را در شرایط هوازی ۲۲ تا ۳۶ درصد و در شرایط غرقاب ۴۳ تا ۵۶ درصد در مقایسه با تیمار شاهد کاهش داد. کاربرد بیس‌پایریباک سدیم به‌مقدار ۳۰ گرم در هکتار، اندام هوایی برنج را در خاک هوازی ۹ تا ۱۷ درصد و در خاک غرقاب ۲۳ تا ۳۷ درصد کاهش داد. نتایج مطالعه این محققان نشان داد که مقدار رطوبت خاک در زراعت برنج تأثیر قابل‌توجهی در تعیین مقدار سمیّت این علف‌کش‌ها بر روی گیاه برنج دارد. این درحالی بود که بررسی‌های کوگر و همکاران (Koger *et al*., 2007) نشان داد که افزایش مقدار آب خاک ممکن است اثربخشی علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم را بر روی سوروف افزایش دهد.

در طی سالیان اخیر علف‌کش‌های زیادی برای کنترل علف‌های‌هرز برنج در سیستم کشت نشایی و مستقیم معرفی شدند که دارای کارایی مطلوبی نیز بوده‌اند. این درحالی است که تاکنون تحقیقات گسترده‌ای در زمینه کنترل شیمیایی علف‌های‌هرز در برنج راتون انجام نشده است. با توجه به اهمیت راتون و همچنین تفاوت در شرایط پرورش برنج راتون با برنج نشایی و همچنین بزرگ بودن علف‌های‌هرز در این سیستم کشت در این تحقیق سعی شد تا کارایی فرمولاسیون‌های مختلف علف‌کش جدید بیس‌پایریباک سدیم در کنترل علف‌های‌هرز برنج در پرورش راتون مورد بررسی قرار گیرد و بهترین ترکیب و دوز مصرفی برای این سیستم کشت معرفی شود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در قالب دو آزمایش جداگانه در مزارع تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات برنج کشور در طی سال‌های زراعی ۱۳۹۷ در شهرستان آمل (استان مازندران) و ۱۳۹۸ در شهرستان رشت (استان گیلان) به‌صورت طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در سال اول کارایی دوزهای مختلف فرمولاسیون جدید علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم با نام تجاری چیف در کنترل علف‌های هرز برنج راتون در استان مازندران در مقایسه با دیگر فرمولاسیون‌های این علف‌کش و همچنین علف‌کش‌های رایج مورد استفاده در زراعت برنج مورد ارزیابی قرار گرفت. در سال دوم بهترین دوز مصرفی علف‌کش چیف در آزمایش اول انتخاب شده و در کنار سایر علف‌کش‌های رایج و همچنین دوزهای مختلف علف‌کش جدید وجین با ماده مؤثره بیس‌پایریباک سدیم در کنترل علف‌های هرز برنج راتون در استان گیلان مورد بررسی قرار گرفت. نام عمومی، نام تجاری، دوز مصرفی، فرمولاسیون و مقدار مصرف هر کدام از تیمارهای علف‌کشی مورد مطالعه در این تحقیق در جداول ۱ و ۲ آورده شده‌اند. دوز توصیه شده استفاده شده در این تحقیق مربوط به مطالعه کارایی این علف‌کش‌ها در کنترل علف‌های‌هرز در کشت نشایی برنج می‌باشد (Yaghoubi *et al*., 2018).

جدول ۱- خصوصیات مربوط به تیمارهای علف‌کشی مورد استفاده در سال ۱۳۹۷- آمل

Table 1- Characteristics of herbicide treatments used in 2017- Amol

نام عمومی General name	نام تجاری Trade name	دوز توصیه‌شده Recommended dose (g.ai.ha-1)	فرمولاسیون Formulation
بیس‌پایریباک سدیم Bispyribac-sodium	چیف Chif	25	SC 10%
بیس‌پایریباک سدیم Bispyribac-sodium	کلین‌وید Clean-weed	40	SC 40%
بیس‌پایریباک سدیم Bispyribac-sodium	نومینی Nomini	25	SC 10%
پروپانیل + بن‌سولفورون‌متیل Propanil + Bensulfuron-methyl	استمداکس Stamdax	1398	DF 46.6%
بنتازون + MCPA Bentazone + MCPA	بازاگران Basagran	1150	SL 46%
تریافامون + اتوکسی سولفورون Triafamone + Ethoxysulfuron	کانسیل Council	45	WG 30%
شاهد آلوده به علف‌هرز Weedy		-	-

جدول ۲- خصوصیات مربوط به تیمارهای علف‌کشی مورد استفاده در سال ۱۳۹۸- رشت

Table 2- Characteristics of herbicide treatments used in 2018- Rasht

نام عمومی General name	نام تجاری Trade name	دوز توصیه‌شده Recommended dose (g.ai.ha-1)	فرمولاسیون Formulation
بیس‌پایریباک سدیم Bispyribac-sodium	وجین Vejin	31	SC 12.5%
بیس‌پایریباک سدیم Bispyribac-sodium	کلین‌وید Clean-weed	40	SC 40%
بیس‌پایریباک سدیم Bispyribac-sodium	نومینی Nomini	25	SC 10%
بیس‌پایریباک سدیم Bispyribac-sodium	چیف Chif	25	SC 10%
پروپانیل + بن‌سولفورون‌متیل Propanil + Bensulfuron-methyl	استمداکس Stamdax	1398	DF 46.6%
بنتازون + MCPA Bentazone + MCPA	بازاگران Basagran	1150	SL 46%
تریافامون + اتوکسی سولفورون Triafamone + Ethoxysulfuron	کانسیل Council	45	WG 30%
شاهد آلوده به علف‌هرز Weedy		-	-

عملیات زراعی در دو مکان مورد مطالعه به شرح جدول ۳ صورت گرفت. گیاه اصلی برنج در کرت‌هایی به ابعاد ۶ × ۵ متر کشت شد. در هر دو مکان مورد مطالعه بیشتر علف‌های‌هرز در زمان سمپاشی در مرحله ۳ تا ۵ برگی بودند. علف‌کش‌ها با استفاده از سمپاش پشتی ماتابی با نازل شره‌ای با فشار ۲ تا ۲/۵ بار و براساس ۲۰۰ لیتر آب در هکتار کالیبره شده و سمپاشی شدند. ارزیابی گیاه‌سوزی و اختلالات رشدی علف‌کش‌ها بر روی برنج و نیز کارایی تیمارهای مورد بررسی در کنترل علف‌های‌هرز براساس سیستم استاندارد اروپایی انجام شد (Sandral *et al*., 1997). در ارزیابی میزان گیاه‌سوزی به گیاهان کاملاً شاداب عدد صفر و به گیاهان کاملاً مرده عدد ۱۰۰ داده شد. در ارزیابی میزان کارایی علف‌کش‌ها نیز به تیمار شاهد آلوده به علف‌هرز عدد صفر و به تیمار با کنترل کامل علف‌های‌هرز عدد ۱۰۰ تعلق گرفت. سایر تیمارها نیز در بین این دو عدد امتیاز دهی شدند. ارزیابی چشمی در دو مرحله (دو و چهار هفته پس از سمپاشی) و اندازه‌گیری زیست‌توده نیز در دو مرحله (چهار و شش هفته پس از سمپاشی) انجام شد. به‌منظور اندازه‌گیری زیست‌توده علف‌های‌هرز از کادرهای یک متر مربعی برای برداشت علف‌های‌هرز از هر کرت آزمایشی استفاده شد. در زمان برداشت، شلتوک پنج متر مربع در وسط هر کرت برداشت شده و با رطوبت ۱۴ درصد به‌عنوان عملکرد شلتوک محاسبه گردید.

جدول ۳- عملیات زراعی در دو مکان مورد مطالعه

Table 3- Agronomic practices in two study locations

عملیات زراعی Agronomic practices	رشت Rasht	آمل Amol
واریته برنج Rice variety	هاشمی Hashemi	هاشمی Hashemi
فاصله کاشت گیاه اصلی (سانتی‌متر) Planting distance of the main plant (cm)	20 × 20	20 × 20
اولین آبیاری First irrigation	یک روز پس از برداشت محصول اصلی One day after harvesting the main crop	یک روز پس از برداشت محصول اصلی One day after harvesting the main crop
دور آبیاری Irrigation period	هر هفت روز Every 7 days	هر هفت روز Every 7 days
کود Fertilizer	50 kg of urea per hectare	50 kg of urea per hectare
تاریخ برداشت محصول اصلی Harvest date of the main plant	2019.08.22	2018.08.09
تاریخ اعمال تیمار علف‌کشی Date of application of herbicide treatment	2019.08.29	2018.08.16
تاریخ برداشت راتون Ratoon harvest date	2019.10.31	2018.10.20

تجزیه واریانس داده‌ها با اسـتفاده از نـرم‌افـزار SAS (ver.9.4)، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمـون LSD در سـطح احتمـال پـنج درصد و رسم شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

آزمایش سال ۱۳۹۷- آمل

گونه‌های علف‌هرز مزرعه آزمایشی

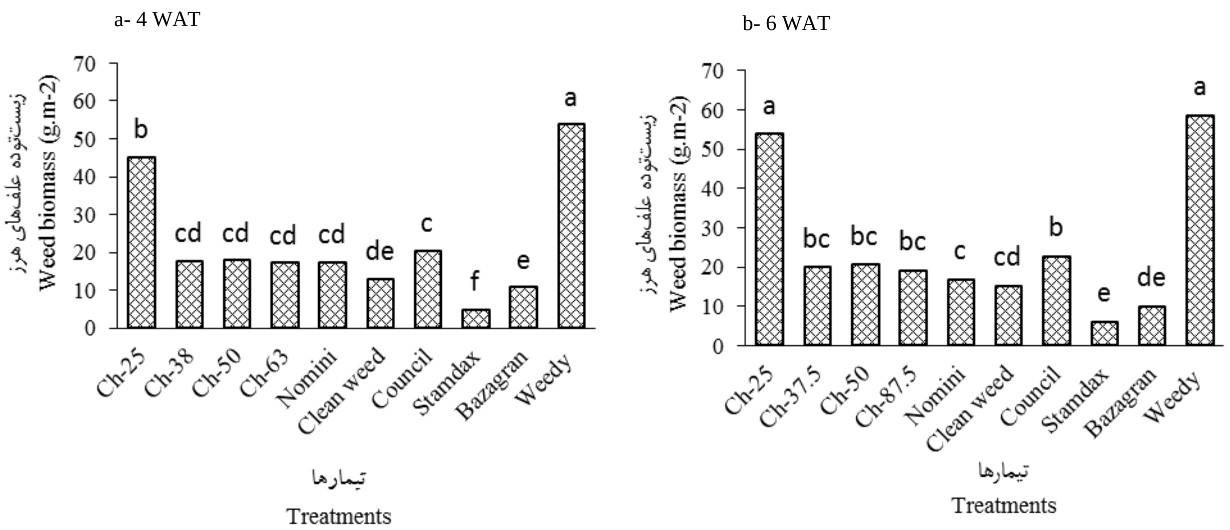
علف‌های‌هرز عمده محصول اصلی برنج در مزرعـه تحقیقـاتی در آمل عبارت بودند از سـوروف (*Echinochloa crus galli*)، جگن‌هـا (*Schoenoplectus maritimus*، *Cyperus difformis*، *Cyperus esculentus*)، قاشق‌واش (*Alisma plantago aquatica*)، سل‌واش (*Monochoria vaginalis*)، تیرکمـان‌آبی (*Sagittaria trifolia*) و بندواش (*Paspalum distichum*). پس از برداشت محصول اصلی و اوایل شروع پرورش راتون، مطابق ارزیابی‌هـای چشـمی، بـیش از ۹۰ درصد علف‌های‌هرز مزارع راتون را جگن‌ها تشکیل می‌دادند. از این‌رو در این تحقیق منظور از زیست‌توده علف‌های‌هرز، وزن خشک جگن‌ها می‌باشد.

گیاه‌سوزی برنج

ارزیابی‌های چشمی نشان داد که هیچ کدام از دوزهـای مصـرفی علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم منجر به بروز علائم گیاه‌سوزی در گیاه برنج نشدند. در بین سایر علف‌کش‌ها نیز فقط علـف‌کش اسـتمداکس منجر به بروز ۵ تا ۱۰ درصد گیاه‌سوزی در گیاه برنج شد (داده‌ها نشان داده نشدند).

زیست‌توده علف‌های‌هرز

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای علف‌کشی در هـر دو مرحله نمونه‌گیری بر زیست‌توده علف‌های‌هرز معنی‌دار بود ($p \leq 0.01$). چهار هفته پس از اعمال تیمارهای علف‌کشی، تیمار شـاهد آلـوده بـه علف‌هرز و علف‌کش استمداکس با ۵۴ و ۵ گرم در متر مربع به‌ترتیـب بیشترین و کمترین زیست‌توده علف‌هرز را دارا بودند (شـکل ۱، الـف). در بین تیمارهای مورد مطالعه، ۲۵ گرم ماده مؤثره علف‌کش چیف بـا ۱۷ درصد، کمترین کارایی را در کنترل علف‌های‌هرز داشت. علف‌کش کانسیل با کارایی ۶۳ درصدی، دومین تیمار ضعیف از ایـن نظـر بـود. نومینی و کلین‌وید دارای کارایی مشابه حدود ۷۵ درصـدی در کنتـرل زیست‌توده علف‌های‌هرز بودند. علف‌کش‌های بازاگران و اسـتمداکس به‌ترتیب با کارایی ۸۰ و ۹۱ درصـدی بیشـترین کـارایی را در کنتـرل علف‌های‌هرز در این مرحله از نمونه‌گیری دارا بودند.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تیمارهای علف‌کشی بر زیست‌توده علف‌های‌هرز. الف، چهار هفته و ب، شش هفته پس از اعمال تیمار، سال ۱۳۹۷- شهرستان آمل

اعداد روبروی علف‌کش چیف (Ch) بیانگر دوز مصرفی می‌باشد.

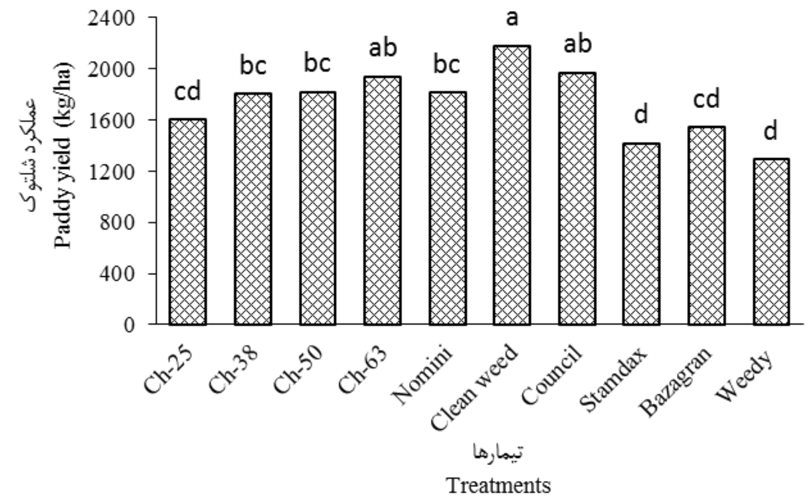
Figure 1- Mean comparison of the herbicide treatments effect on weed biomass. A, four weeks and B, six weeks after herbicide application, 2017-Amol

The numbers in front of Chif Herbicide (Ch) indicate the dosage.

شش هفته پس از اعمال تیمارهای علف‌کشی، همچنان تیمار شاهد آلوده به علف‌هرز دارای بیشترین زیست‌توده (۵۹ گرم در متر مربع) بود (شکل ۱، ب). در بین تیمارهای علف‌کشی، استمداکس و بازاگران به‌ترتیب با ۶ و ۱۰ گرم، کمترین و ۲۵ گرم در هکتار ماده مؤثره چیف با ۵۴ گرم، بیشترین مقدار زیست‌توده علف‌هرز را دارا بودند. در بین چهار دوز مورد مطالعه چیف، فقط کمترین دوز فاقد کارایی قابل قبول در کاهش زیست‌توده علف‌های‌هرز بود و دوزهای بالاتر از این نظر دارای کارایی مطلوبی بودند.

عملکرد شلتوک

تیمارهای علف‌کشی مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری بر عملکرد شلتوک داشتند ($p \leq 0.01$). عملکرد شلتوک در تیمار شاهد آلوده به علف‌هرز ۱۲۹۶ کیلوگرم در هکتار ثبت شد (شکل ۲)، که حدود ۴۰ درصد کمتر از دو علف‌کش نومینی و کلین‌وید بود. در بین تیمارهای علف‌کشی، کلین‌وید و کانسیل به‌ترتیب با ۲۱۸۰ و ۱۹۷۳ کیلوگرم، بیشترین و استمداکس با ۱۴۲۰ کیلوگرم کمترین عملکرد را داشتند. در بین دوزهای مختلف علف‌کش چیف، ۶۳ و ۵۰ گرم ماده مؤثره در هکتار دارای بیشترین (به‌ترتیب ۱۹۴۰ و ۱۸۲۰ کیلوگرم در هکتار)، و ۲۵ و ۳۸ گرم ماده مؤثره در هکتار دارای کمترین (به‌ترتیب ۱۶۰۶ و ۱۸۰۶ کیلوگرم در هکتار)، عملکرد شلتوک بودند. بطور کلی، عملکرد شلتوک در بین تیمارهای علف‌کشی از ۱۴۲۰ تا ۲۱۸۰ کیلوگرم در هکتار متغیر بود که در مقایسه با شاهد آلوده به علف‌هرز، افزایش ۱۰ تا ۶۸ درصدی داشتند.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر تیمارهای علف‌کشی بر عملکرد شلتوک، سال ۱۳۹۷- شهرستان آمل

اعداد روبروی علف‌کش چیف (Ch) بیانگر دوز مصرفی می‌باشد.

Figure 2- Mean comparison of the herbicide treatments effect on paddy yield, 2017-Amol

The numbers in front of Chif Herbicide (Ch) indicate the dosage.

آزمایش سال ۱۳۹۸- رشت

گونه‌های علف‌هرز مزرعه آزمایشی

فلور علف‌های‌هرز موجود در کشت اصلی برنج در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات برنج در شهرستان رشت مشابه شهرستان آمل و شامل؛ سوروف، جگن‌ها، قاشق‌واش، سل‌واش، تیرکمان‌آبی، گوشاب (*Potamogeton nodosus*) و بندواش بودند. این درحالی بود که در زمان پرورش راتون برخلاف مزرعه تحقیقاتی آمل که بیش از ۹۰ درصد زیست‌توده علف‌های‌هرز را جگن‌ها تشکیل دادند، در مزرعه تحقیقاتی رشت بیش از ۹۰ درصد جمعیت علف‌های‌هرز مربوط به دو علف‌هرز جگن (*Cyperus esculentus*) و سوروف (*Echinochloa crus galli*) بود. از این‌رو در این آزمایش زیست‌توده این دو نوع علف‌هرز مورد بررسی قرار گرفت. مزرعه تحقیقاتی رشت آلودگی بسیار بالایی به علف‌های‌هرز داشت، بطوری که زیست‌توده علف‌های‌هرز شش هفته پس از اعمال تیمارهای علف‌کشی (۲۴۱ گرم در متر مربع در شاهد آلوده به علف‌هرز) تقریباً چهار برابر آمل (۵۹ گرم در متر مربع در شاهد آلوده به علف‌هرز) بود که این عامل تأثیر قابل توجهی بر کارایی علف‌کش‌ها و همچنین عملکرد شلتوک در دو منطقه مورد مطالعه داشت.

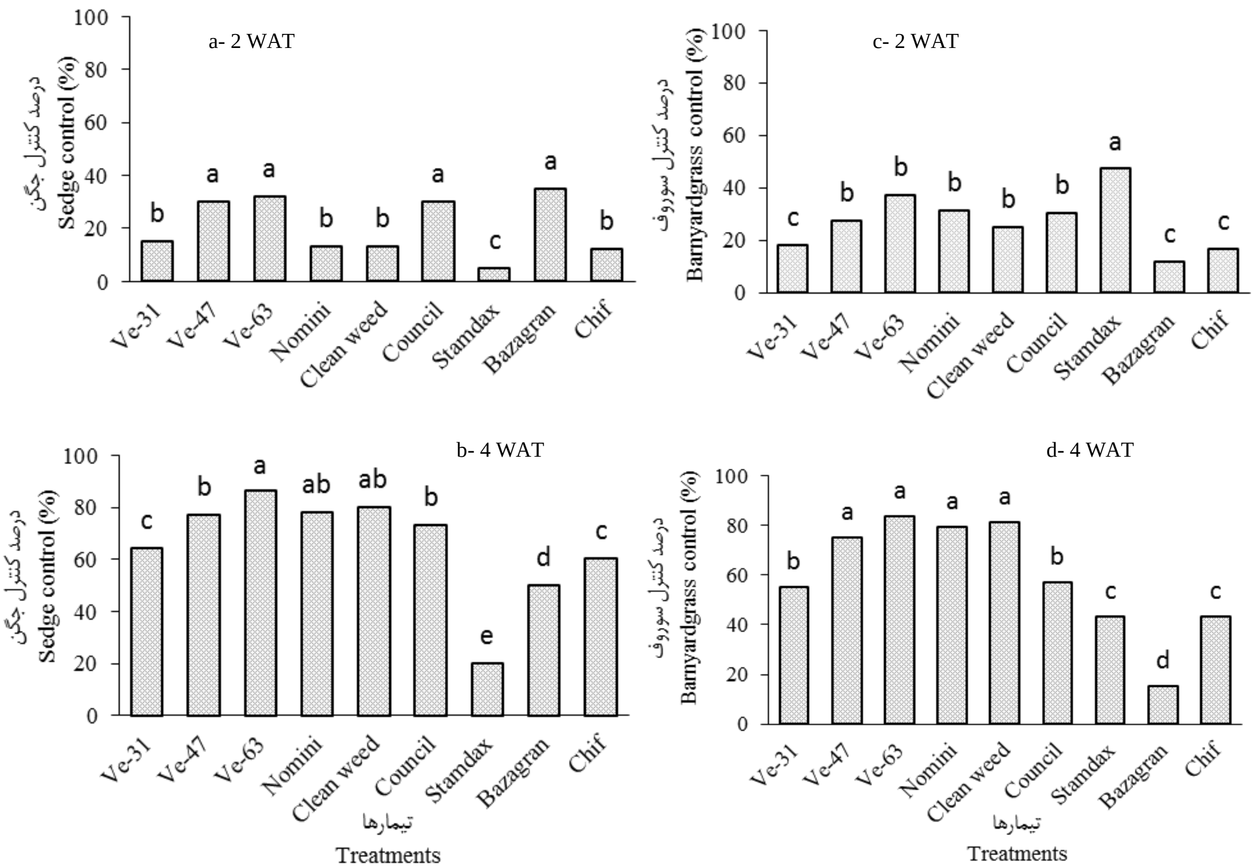
گیاه‌سوزی برنج

براساس ارزیابی‌های چشمی صورت گرفته، هیچ کدام از دوزهای علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم منجر به بروز علائم گیاه‌سوزی قابل مشاهده در گیاه برنج نشدند. در بین سایر علف‌کش‌ها نیز فقط دو علف‌کش استمداکس و بازاگران در حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد علائم گیاه‌سوزی قابل مشاهده از خود نشان دادند (داده‌ها نشان داده نشدند).

ارزیابی چشمی کارایی تیمارهای مورد بررسی

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای علف‌کشی بر درصد کنترل سوروف و جگن معنی‌دار بود ($p\leq0.01$). مقایسه میانگین‌ها نشان داد دو هفته پس از اعمال تیمارهای علف‌کشی، علف‌کش استمداکس و بازاگران به‌ترتیب با ۴۷ و ۱۲ درصد بیشترین و کمترین کارایی را در کنترل علف‌هرز سوروف داشتند (شکل ۳ الف). چهار هفته پس از سمپاشی، کارایی برخی از تیمارهای علف‌کشی از قبیل کلین‌وید، نومینی و مقادیر ۶۳ و ۴۷ گرم در هکتار ماده مؤثره وجین بسیار افزایش یافت. بطوری‌که دامنه تغییرات آنها در کنترل سوروف از ۲۵ تا ۳۷ درصد به ۷۵ تا ۸۳ درصد رسید (شکل ۳ ب). تیمارهای بازاگران (۱۵ درصد) و ۶۳ گرم در هکتار ماده مؤثره وجین (۸۳ درصد) به‌ترتیب کمترین و بیشترین کارایی را از این نظر دارا بودند. اگرچه بین مقادیر ۶۳ و ۴۷ گرم در هکتار ماده مؤثره وجین و تیمارهای کلین‌وید و نومینی از این نظر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

دو هفته پس از سمپاشی، علف‌کش‌های استمداکس و بازاگران با ۵ و ۳۵ درصد به‌ترتیب کمترین و بیشترین کارایی را در کنترل علف‌هرز جگن داشتند (شکل ۳ ج). اگرچه، بین بازاگران، کانسیل و مقادیر ۶۳ و ۴۷ گرم در هکتار ماده مؤثره وجین اختلاف معنی‌داری از این نظر مشاهده نشد.



شکل ۳- مقایسه میانگین ارزیابی چشمی درصد کنترل سوروف (الف، دو و ب، چهار هفته پس از اعمال علف‌کش‌ها) و جگن (ج، دو و د، چهار هفته پس از اعمال علف‌کش‌ها) در تیمارهای علف‌کشی مورد بررسی، سال ۱۳۹۸- شهرستان رشت

اعداد روبروی علف‌کش وجین (Ve) بیانگر دوز مصرفی می‌باشد.

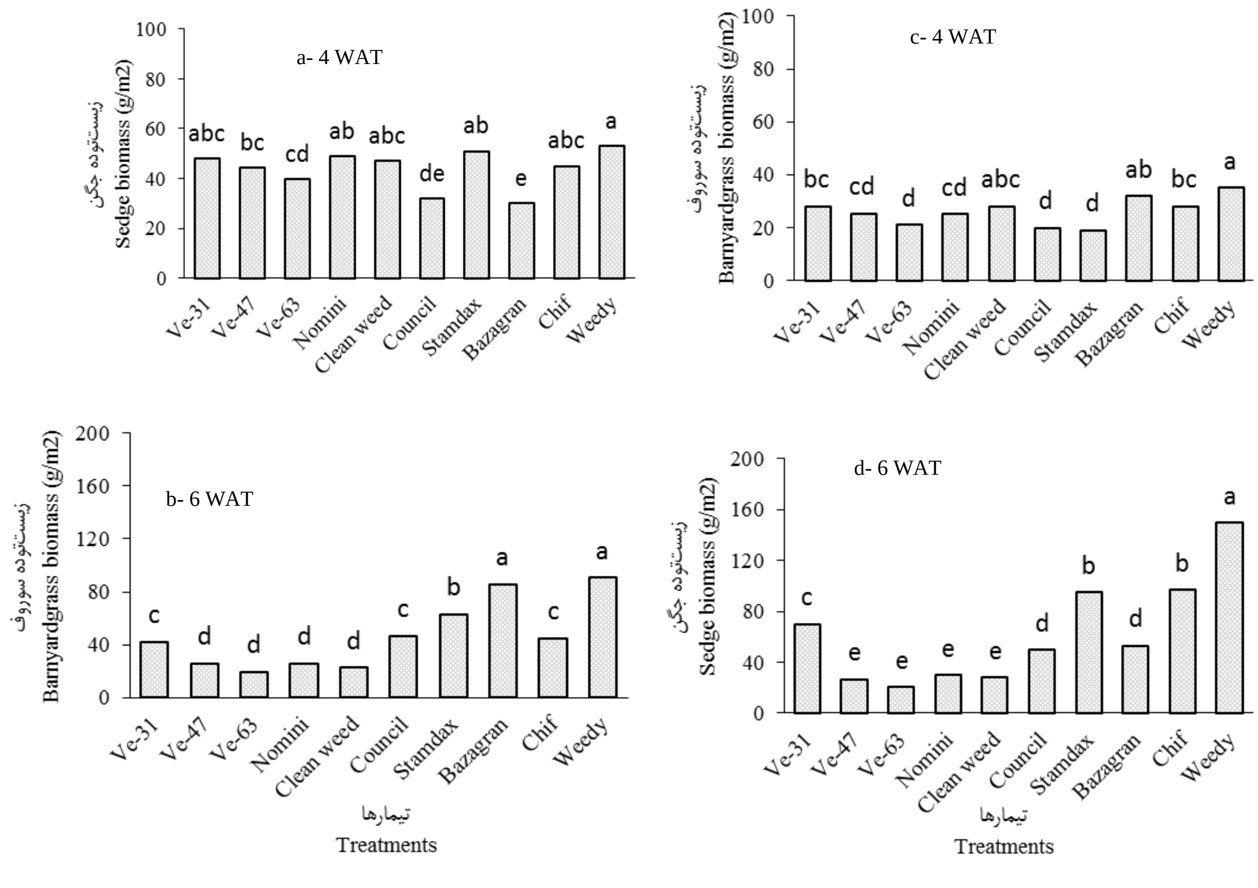
Figure 3- Mean comparison of the herbicide treatments effect on barnyardgrass (a, two weeks and b, four weeks after herbicide application) and sedge (c, two weeks and d, four weeks after herbicide application) control percentage, 2018-Rasht

The numbers in front of Vejin Herbicide (Ve) indicate the dosage.

چهار هفته پس از اعمال علف‌کش‌ها، سه تیمار وجین (۶۳ گرم در هکتار ماده مؤثره)، کلین‌وید و نومینی به‌ترتیب با ۸۶، ۸۰ و ۷۶ درصد، بیشترین کارایی را در کنترل علف‌هرز جگن داشتند که در مقایسه با هفته دوم به‌ترتیب ۵۴، ۶۷ و ۶۵ درصد رشد داشتند (شکل ۳ د). در بین تیمارهای مورد مطالعه، استمداکس با ۲۰ درصد، کمترین کارایی را در کنترل جگن دارا بود.

زیست‌توده علف‌های‌هرز

براساس نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای علف‌کشی بر زیست‌توده سوروف و جگن معنی‌دار بود ($p≤0.01$). چهار هفته پس از اعمال تیمارها، زیست‌توده سوروف در شاهد آلوده به علف‌هرز ۳۵ گرم در متر مربع بود (شکل ۴ الف). دامنه تغییرات زیست‌توده سوروف از ۱۹ گرم در متر مربع برای علف‌کش استمداکس تا ۳۲ گرم در متر مربع برای علف‌کش بازاگران متغییر بود. شش هفته پس از سمپاشی، مقادیر ۶۳ و ۴۷ گرم در هکتار ماده مؤثره وجین، کلین‌وید و نومینی به‌ترتیب با ۲۰، ۲۶، ۲۳ و ۲۶ گرم در متر مربع کمترین زیست‌توده سوروف را داشتند که در مقایسه با شاهد آلوده به علف‌هرز به‌ترتیب ۷۸، ۷۱، ۷۵ و ۷۱ درصد کاهش داشتند (شکل ۴ ب). تیمار بازاگران با ۸۶ گرم در متر مربع کمترین کارایی را در کاهش زیست‌توده سوروف داشت که از این نظر اختلاف معنی‌داری با شاهد آلوده به علف‌هرز نداشت. سه تیمار دیگر شامل چیف، کانسیل و ۳۱ گرم در هکتار ماده مؤثره وجین، منجر به کاهش ۴۸ تا ۵۳ درصدی زیست‌توده سوروف در مقایسه با شاهد آلوده به علف‌هرز شدند، هرچند دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نبودند.



شکل ٤- مقایسه میانگین اثر تیمارهای علف‌کشی بر زیست‌توده علف‌هرز سوروف (الف، چهار و ب، شش هفته پس از اعمال علف‌کش‌ها) و جگن (ج، چهار و د، شش هفته پس از اعمال علف‌کش‌ها)، سال ۱۳۹۸- شهرستان رشت

اعداد روبروی علف‌کش وجین (Ve) بیانگر دوز مصرفی می‌باشد.

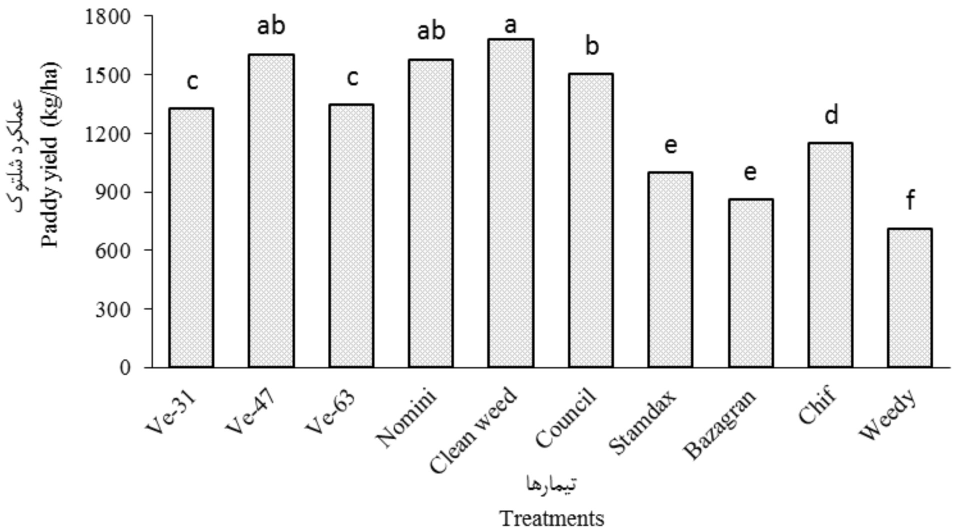
Figure 4- Mean comparison of the herbicide treatments effect on barnyardgrass (a, four weeks and b, six weeks after herbicide application) and sedge (c, four weeks and d, six weeks after herbicide application) biomass, 2018-Rasht

The numbers in front of Vejin Herbicide (Ve) indicate the dosage.

چهار هفته پس از اعمال تیمارها، شاهد آلوده به علف‌هرز با ۵۳ گرم بیشترین مقدار زیست‌توده جگن را در واحد سطح دارا بود، اگرچه از این نظر اختلاف معنی‌داری با تیمارهای علف‌کشی استمداکس، کلین‌وید، نومینی و ۳۱ گرم در هکتار ماده مؤثره وجین نداشت (شکل ۴ ج). علف‌کش‌های بازاگران و کانسیل به‌ترتیب با ۳۰ و ۳۲ گرم در متر مربع، کمترین مقدار زیست‌توده جگن را داشتند. زیست‌توده جگن شش هفته پس از اعمال تیمارهای علف‌کشی در تیمار شاهد آلوده به علف‌هرز به ۱۵۰ گرم در متر مربع رسید (شکل ۴ د). مقدار ۶۳ گرم در هکتار ماده مؤثره وجین با ۲۱ گرم در متر مربع دارای بیشترین کارایی (۸۶ درصد) در کنترل این علف‌هرز در مقایسه با شاهد آلوده به علف هرز بود. اگرچه با ۴۷ گرم در هکتار ماده مؤثره وجین و علف‌کش‌های نومینی و کلین‌وید اختلاف معنی‌داری از این نظر نداشت. کمترین کارایی نیز با ۳۵ و ۳۷ درصد به‌ترتیب به تیمارهای علف‌کشی چیف و استمداکس تعلق داشت.

عملکرد شلتوک

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که عملکرد شلتوک به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای مورد مطالعه قرار دارد ($p \leq 0.01$). بیشترین عملکرد شلتوک با ۱۶۸۳ کیلوگرم در هکتار در تیمار علف‌کشی کلین‌وید و کمترین مقدار نیز در شاهد آلوده به علف‌هرز با ۷۱۰ کیلوگرم در هکتار مشاهده شد که نشانگر افزایش ۲/۳۷ برابری عملکرد شلتوک با کاربرد علف‌کش کلین‌وید می‌باشد (شکل ۵). در بین مقادیر مختلف علف‌کش وجین، مصرف ۴۷ گرم ماده مؤثره در هکتار با ۱۶۰۴ کیلوگرم در هکتار بطور معنی‌داری عملکرد بیشتری در مقایسه با مقادیر ۳۱ و ۶۳ گرم (به‌ترتیب با ۱۳۲۶ و ۱۳۴۷ کیلوگرم در هکتار) داشت. هر سه دوز این علف‌کش در مقایسه با شاهد آلوده به علف‌هرز، منجر به افزایش ۱/۸۷ تا ۲/۲۶ برابری عملکرد شلتوک شدند. بطور کلی بین سه علف‌کش نومینی، کلین‌وید و ۴۷ گرم در هکتار ماده مؤثره وجین اختلاف معنی‌داری از نظر عملکرد شلتوک مشاهده نشد. در بین سایر تیمارهای علف‌کشی، بازاگران و استمداکس به‌ترتیب با ۸۵۹ و ۱۰۰۰ کیلوگرم در هکتار کمترین عملکرد شلتوک را داشتند که در مقایسه با شاهد آلوده به علف‌هرز افزایش ۱/۲۱ و ۱/۴۱ برابری داشتند.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر تیمارهای علف‌کشی بر عملکرد شلتوک، سال ۱۳۹۸- شهرستان رشت

اعداد روبروی علف‌کش وجین (Ve) بیانگر دوز مصرفی می‌باشد.

Figure 5- Mean comparison of the herbicide treatments effect on paddy yield, 2018-Rasht

The numbers in front of Vejin Herbicide (Ve) indicate the dosage.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم منجر به بروز علائم گیاه‌سوزی قابل مشاهده در برنج راتون نگردید. اگرچه، در دو برابر دوز توصیه‌شده این علف‌کش در رشت، با وجود کنترل بهتر علف‌های‌هرز سوروف و جگن، کاهش عملکرد در مقایسه با دوزهای پایین‌تر مشاهده شد. یعقوبی و همکاران (Yaghoubi & Pouramir., 2018) در مطالعه‌ای که بر روی کارایی علف‌کش‌های مختلف در کشت برنج راتون انجام دادند، نشان دادند که کاربرد علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم، 40% SC تا دو برابر مقدار

توصیه‌شده، منجر به بروز علائم گیاه‌سوزی قابل مشاهده در برنج راتون نشد. یاداو و همکاران (Yadav *et al*., 2009) نیز بیان کردند که علاوه بر اینکه کاربرد بیس‌پایریباک سدیم هیچ گونه اثر سمیّتی بر روی گیاه برنج ندارد، بلکه باقیمانده آن در خاک نیز روی گیاه زراعی بعدی تأثیر منفی ندارد. در تحقیقات دیگری که بر روی علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم (نومینی و کلین‌وید) در کشت نشایی برنج صورت گرفت؛ مشخص شد که هیچ کدام از آن‌ها تا دو برابر دوز توصیه‌شده منجر به بروز گیاه‌سوزی در گیاه برنج نمی‌شوند (Yaghoubi *et al*., 2016 a, b).

در شهرستان آمل کارایی علف‌کش‌های استمداکس و بازاگران در کاهش زیست‌توده علف‌های‌هرز بیشتر از سایر تیمارهای علف‌کشی و همچنین بیس‌پایریباک سدیم بود. دلیل این امر را می‌توان به غالب بودن جگن‌ها در مزرعه تحقیقاتی آمل و کارایی اختصاصی و خوب این علف‌کش‌ها بر روی جگن‌ها دانست. بطور کلی بازاگران علف‌کشی اختصاصی برای جگن‌ها بوده و استمداکس نیز که از ترکیب دو علف‌کش پروپانیل + بن سولفورون متیل تشکیل شده است، بر روی جگن و سوروف کارایی بالایی دارند (Yaghoubi *et al*., 2019). این در حالی بود که در مزرعه تحقیقاتی رشت، کارایی فرمولاسیون‌های مختلف بیس‌پایریباک سدیم شامل؛ چیف، نومینی، کلین‌وید و وجین در کنترل علف‌های‌هرز بهتر از سایر علف‌کش‌ها بودند. از آنجایی که در این مزرعه دو گونه علف‌هرز سوروف و جگن غالب بودند، علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم در مقایسه با سایر علف کش‌ها کارایی بالایی در کنترل آنها داشت. در همین راستا، یعقوبی و پورامیر (Yaghoubi & Pouramir., 2018) گزارش کردند که علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم (کلین‌وید) کارایی مطلوبی در کنترل علف‌های‌هرز سوروف و اویارسلام زرد در پرورش راتون دارد. تحقیقات نشان داده است که کاربرد ۲۰ تا ۳۶ گرم در هکتار بیس‌پایریباک سدیم منجر به کارایی بین ۷۱ تا ۱۰۰ درصدی در کنترل گونه‌های مختلف علف‌هرز سوروف می‌شود (Dillon *et al*., 2004؛ Norsworthy *et al*., 2014).

تمامی تیمارهای مورد مطالعه در هر دو منطقه منجر به افزایش عملکرد شلتوک در مقایسه با شاهد آلوده به علف‌هرز شدند ولی این افزایش در بین آنها بسیار متغییر بود. دو فرمولاسیون نومینی و کلین‌وید دارای بیشترین عملکرد شلتوک در هر دو منطقه مورد مطالعه بودند. دلیل عملکرد بالاتر در این علف‌کش‌ها می‌تواند طیف علف‌کشی وسیع و کنترل مطلوب علف‌های‌هرز سوروف و جگن و همچنین نداشتن اثرات مضر قابل مشاهده بر روی گیاه برنج باشد. یاداو و همکاران (Yadav *et al*., 2009) نشان دادند که کاربرد ۲۵ گرم بیس‌پایریباک سدیم در هکتار با کنترل مناسب علف‌های‌هرز منجر به افزایش ۳۷ تا ۹۹ درصدی عملکرد در مقایسه با شاهد آلوده به علف‌هرز در طی دو سال مورد مطالعه گردید.

نکته مهم تحقیق حاضر این بود که لزوماً علف‌کشی که منجر به کارایی بهتر در کنترل علف‌های‌هرز شود، منجر به عملکرد شلتوک بیشتر نخواهد شد. بطوری‌که در آمل علف‌کش‌های بازاگران و استمداکس بیشترین کارایی را در کاهش زیست‌توده علف‌های‌هرز داشتند ولی مقدار عملکرد شلتوک در آنها از سایر تیمارهای علف‌کشی کمتر و با شاهد آلوده به علف‌هرز معنی‌دار نبود. یکی از دلایل عمده این امر ممکن است اثرات منفی غیر قابل مشاهده برخی از علف‌کش‌ها بر فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه زراعی برنج باشد که نهایتاً منجر به کاهش عملکرد می‌گردد. حضرتی و همکاران (Hazrati *et al*., 2023) عملکرد کمتر شلتوک در تیمار شاهد وجین دستی نسبت به تیمارهای علف‌کشی را مصرف منابع توسط علف‌های هرز قبل از عملیات وجین گزارش کردند. به‌نظر می‌رسد در این تحقیق نیز عملکرد کمتر در تیمارهای علف‌کشی پس‌رویشی به‌دلیل مشابهی باشد. بعلاوه موفولوژی و نیچ اکولوژیک علف‌های هرز در میزان خسارت آنها مؤثر است، بطوری‌که روغن‌واش با زیست‌توده مشابه سوروف دارای خسارت به‌مراتب کمتری نسبت به سوروف بر گیاه زراعی برنج بود، که دلیل خسارت کمتر روغن‌واش رفتار رشدی متفاوت این علف‌هرز و قرار گرفتن آن در زیر کانوپی برنج گزارش شد (Yaghoubi *et al*., 2018). یعقوبی و پورامیر (Yaghoubi & Pouramir., 2018) نشان دادند که عملکرد شلتوک در پرورش برنج راتون در زمانی‌که ۴۰ تا ۸۰ گرم ماده مؤثره بیس‌پایریباک سدیم (کلین وید) در هکتار استفاده شده بود از سایر تیمارهای علف‌کشی بیشتر بود. در تحقیقی دیگر مشخص شد که تیمار علف‌کشی بیس‌پایریباک سدیم (نومینی) در مقایسه با علف‌کش پروپانیل منجر به عملکرد شلتوک بیشتری شد. آنها دلیل این افزایش عملکرد را به کارایی بالای این علف‌کش در کنترل طیف وسیعی از علف‌های هرز نسبت دادند (Yaghoubi *et al*., 2016 b).

بطور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که علف‌کش جدید بیس‌پایریباک سدیم در عین حال که دارای کارایی مطلوبی در کنترل علف‌های‌هرز بود، اثرات گیاه‌سوزی قابل مشاهده‌ای نیز بر روی گیاه برنج نداشت که این امر منجر به افزایش عملکرد شلتوک در پرورش راتون شد. در بین فرمولاسیون‌های مختلف این علف‌کش، نومینی (۲۵ گرم در هکتار ماده مؤثره) و کلین‌وید (۴۰ گرم در هکتار ماده مؤثره) بالاترین کارایی را در کنترل علف‌های‌هرز و درنتیجه افزایش عملکرد شلتوک داشتند. از این‌رو، می‌توان از فرمولاسیون‌های مختلف علف‌کش بیس‌پایریباک سدیم به‌عنوان جایگزینی برای علف‌کش‌های قدیمی مورد استفاده در پرورش برنج راتون به‌منظور کنترل علف‌های هرز استفاده کرد.

References

1. Antralina, M., Istina, I.N., & Simarmata, T. (2015). Effect of difference weed control methods to yield of lowland rice in the SOBARI. *Procedia Food Science, 3*, 323-329. https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.01.035
2. Chauhan, B.S., & Johnson, D.E. (2011). Growth response of direct-seeded rice to oxadiazon and bispyribac-sodium in aerobic and saturated soils. *Weed Science, 59*, 119-122. https://doi.org/10.1614/WS-D-10-00075.1
3. Damalas, C.A., Dhima, K.V., & Eleftherohorinos, I.G. (2008). Morphological and physiological variation among species of the genus *Echinochloa* in Northern Greece. *Weed Science, 56*(3), 416-423. https://doi.org/10.1614/WS-07-168.1
4. Dillon, T.W., Scott, R.C., & Smith, K.L. (2004). Clincher post-flood for grass control in rice. *Proceedings Southern Weed Science Society, 57*, 285-300.
5. Hazrati, Z., Yaghoubi, B., Hosseini, P., & Chauhan, B.S. (2023). Herbicides for monochoria (*Monochoria vaginalis*) control in transplanted rice. *Weed Technology*. https://doi.org/10.1017/wet.2023.50
6. Jabran, K., Farooq, M., Hussain, M., Khan, M.B., Shahid, M., & Dong-Jin, L. (2012). Efficient weeds control with penoxsulam application ensures higher productivity and economic returns of direct seeded rice. *International Journal of Agriculture and Biology, 14*(6), 901-907.
7. Koger, C.H., Dodds, D.M., & Reynolds, D.B. (2007). Effect of adjuvants and urea ammonium nitrate on bispyribac efficacy, absorption, and translocation in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*), I: efficacy, rainfastness, and soil moisture. *Weed Science, 55*, 399-405. https://doi.org/10.1614/WS-06-146.1
8. Norsworthy, J.K., Wilson, M.J., Scott, R.C., & Gbur, E.E. (2014). Herbicidal activity on acetolactate synthase-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Arkansas, USA. *Weed Biology and Management, 14*(1), 50-58. https://doi.org/10.1111/wbm.12032
9. Prameela, P., Menon, S.S., & Menon, M.V. (2014). Effect of new post emergence herbicides on weed dynamics in wet seeded rice. *Journal of Tropical Agriculture, 52*(1), 94-100.
10. Sandral, G.A., Dear, B.S., Pratley, J.E., & Cullis, B.R. (1997). Herbicide dose rate response curves in subterranean clover determinate by a bioassay. *Australian Journal of Experimental Agriculture, 37*, 67-74.
11. Singh, S., Chhokar, R.S., Gopal, R., Ladha, J.K., Gupta, R.K., Kumar, V., & Singh, M. (2009). Integrated weed management: a key to success for direct-seeded rice in the Indo–Gangetic Plains. In: Ladha, J.K., Singh, Y., Erenstein, O., Hardy, B. (Eds.), Integrated Crop and Resource Management in the Rice-wheat System of South Asia. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines, pp. 261–278.
12. Yadav, D., Yadav, A., & Punia, S. (2009). Evaluation of bispyribac-sodium for weed control in transplanted rice. *Indian Journal of Weed Science, 41*(1&2), 23-27.
13. Yaghoubi, B., & Pouramir, F. (2018). Study the efficacy of Clean-weed herbicide on weed control in rice rationing. Final report. Agricultural Research, Education and Extension Organization. p. 31. (In Persian with English abstract)
14. Yaghoubi, B., Erfani, A., Pouramir, F. (2016 a). Study the efficacy of new formulation of Bispyribac sodium SC 40% (Clean-weed) in paddy field weed control. Final report. Agricultural Research, Education and Extension Organization. p. 74. (In Persian with English abstract)
15. Yaghoubi, B., Erfani, A., Pouramir, F., Omrani, M. (2016 b). Efficacy of bispyribac-sodium herbicide (SC 10%) (Nominal) in controlling rice paddy weeds. Final report. Agricultural Research, Education and Extension Organization. p. 52. (In Persian with English abstract)
16. Yaghoubi, B., Erfani, A., Pouramir, F., Omrani, M. (2018). Study the efficacy of “Vejin” herbicide on paddy field weeds control in transplanted rice. Final report. Agricultural Research, Education and Extension Organization. p. 28. (In Persian with English abstract)
17. Yaghoubi, B., Fanooschi, M.M., Pouramir, F., Rahimian, H., Mohammadvand, E., & Oveisi, M. (2018). Evaluation of some ecophisiological aspects of Pondweed (*Potamogeton nodosus* Poir.) in response to fertilizers levels, rice variety and flooding. *Iranian Journal of Weed Science, 14*(1), 43-58. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/IJWS.2018.1401.05
18. Yaghoubi, B., Pouramir, F., Abadian, H., Mansoorpour, F., Erfani Moghadam, R., Omrani, M., Irvijehdoost, S., Abbasian, A., & Pourreza, Z. (2019). Study the efficacy of Stamdox 46.6% DF on paddy rice weed control. Final report. Agricultural Research, Education and Extension Organization. p. 46. (In Persian with English abstract)

Contents

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol . 38 No. 2 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: Taheri, P. (Plant Pathology) Prof. Ferdowsi University of Mashhad

Publisher: Ferdowsi University of Mashhad.

Address: College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

P.O.BOX: 91775- 1163

Fax: +98 -0511- 8787430

E-Mail: Jpp1@um.ac.ir

Web Site: https://jpp.um.ac.ir/

Ferdowsi University of Mashhad

Vol.38 No.2

2024

Iranian Plant Protection Research

Contents