نشریه علمی

پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران

دانشگاه فردوسی مشهد

جلد ۳۸ شماره ۳

سال ۱۴۰۳

شماره پیاپی: ٦٥

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 ۳ پاییز 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.

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

Journal of Iranian Plant Protection Research
https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 3, 2024, p. 197-208

Investigating the Effect of Temperature on Abundance of *Mythimna loreyi* (Lepidoptera: Noctuidae) in Corn

L. Ebrahimi[1*], M. Amir-Maafi[2], M. Shiri[3]

1- Biological Control Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.
2- Sunn Pest Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.
3- Maize and Forage Crops Research Department, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
(*- Corresponding Author Email: ebrahimi.laleh@gmail.com)

Received: 31-10-2023
Revised: 26-05-2024
Accepted: 29-05-2024
Available Online:

How to cite this article:
Ebrahimi, L., Amir-Maafi, M., & Shiri, M. (2024). The effect of temperature on abundance of *Mythimna loreyi* (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *38*(3), 197-208. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85113.1164

Introduction

Lepidopteran pests are among the most important limiting factors for corn production (grain and fodder corn), which is one of the most important strategic products in the world and in Iran. In recent years, due to climate changes around the world, some secondary pests have become widespread. One of these pests is the false armyworm *Mythimna loreyi*. In Iran, until the past years, false armyworm did not cause significant damage. However, in recent years, its population has increased, and as a result, its damage is evident in the corn fields.

Materials and Methods

In the present research, the population of *M. loreyi* and the larval natural parasitism were assessed during three growing seasons (2021-2023). A one-hectare grain corn field was selected on the research farm of the Research Institute of Plant Breeding and Seed Preparation in Karaj, where no spraying was done during the season. In each weekly sampling, the number of *M. loreyi* larvae and the number of the parasitized larvae were recorded. Parasitized larvae were also transferred to the laboratory and the parasitoids were identified. At the end of season, 30 plants were infested with the target pest and 30 intact plants were sampled and the cobs weight was recorded for both groups. The percentage of cobs, which were infected with fungi after feeding the pest was recorded. To compare the temperature changes in the three evaluated years, the meteorological data for the sampling months were obtained. The SAS software was used for statistical analysis and mean comparisons.

Results and Discussion

The analysis of pest frequency data showed that frequency of the pest population increased, especially in the third year of the survey (2023). Population of the pest larvae showed a significant increase compared to the previous two years. Comparison of the average number of larvae in the first and second years based on the t test did not show a statistically significant difference (t value = 2.05; P = 0.06). However, it had a significant increase in the third year compared to the first year (t value = 4.34; P<0.01) and the second year (t value=2.63; P=0.019). The proportion of larvae population increased by 2.44 and 5.97 times, respectively, in the years 2022 and 2023 compared to 2021.

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85113.1164

Increase in the ratio of larvae population in 2023 compared to 2022 was also calculated to be 2.44 times. Comparing the average weight of the infected cobs that were fed by *M. loreyi* larvae with the control cobs showed a significant decrease in the weight of corn cobs due to the pest feeding (t value=3.94; $p<0.01$). On average, fungal contamination was observed in 75% of the cobs that were fed by the pest. Comparing the cumulative pest density data with the data related to temperature changes showed a possible relationship between larval density and the temperature. Comparison of the minimum temperature for four months (the months of pest activity on corn) in three years has shown that it was higher on June, August and September in 2023 than the corresponding months in 2021 and 2022. Therefore, considering density of the pest larvae and comparing three years, it seems that the minimum temperature had a role in increasing the pest density rather than the maximum and average temperature. Considering that based on the results reported by Qin et al. (2017) on the population of *M. loreyi* in China, this pest can grow at temperatures between 18 and 30 ℃, the very high maximum temperature (such as the temperature experienced in August 2021 in Karaj and the mean maximum temperature reached above 37 ℃) was not favorable for the pest and did not lead to its optimal growth. In the study of Mediouni Ben Jemâa et al., (2023) also a negative correlation has been reported between the number of captured adult *M. loreyi* and increasing temperature. Recently, *M. loreyi* has become one of the most important pests of cereals in Asia and Africa (Qin et al., 2017; Mediouni Ben Jemâa et al., 2023). It is possible that the increase in temperature in recent years in Iran has also provided optimal conditions for the appearance of *M. loreyi*, and results of the present study support this hypothesis. In this study, the average percentage of larval parasitism for three years was calculated between 11.74 and 14.86 percent. According to a study on *M. loreyi* parasitoids in Turkey, *C. ruficrus* was the most common parasitoid of this pest, and it was present in 91% of the fields where *M. loreyi* was active (Sertkaya and Bayram 2005). In the study of Sertkaya and Bayram (2005), the parasitism rate of *C. ruficrus* on *M. loreyi* was 38.5%, which was about 2 times more than compared to the highest average percentage of parasitism in the present study (14.86% at 2023). However, this average is related to the entire sampling period, and in all three years in the first half of September, the percentage of parasitism was recorded above 60% (Table 1). Therefore, this parasitoid has a high potential to control the population level of *M. loreyi* and the results of Sertkaya and Bayram (2005) confirm this claim based on the natural efficiency of *C. ruficrus* against *M. loreyi* by 42.4%.

Conclusion

The damage of *M. loreyi* is higher in late-season corn or corn that is cultivated later. In Iran, fodder corn is often sown as a second crop after harvesting wheat and barley. Considering the water crisis in the country on the one hand, and the importance of fodder corn in feeding livestock and providing fodder in the country on the other hand, which is very closely related to the country's food security, investigation on different aspects of *M. loreyi* biology, damage and management is necessary, before this pest emerges as an important and main pest in the country.

Keywords: False armyworm, Fodder corn, Lepidopteran pest, Parasitism, Temperature

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۲۰۸-۱۹۷

بررسی اثر دما روی تغییرات فراوانی *Mythimna loreyi* (Lepidoptera: Noctuidae) در ذرت

لاله ابراهیمی[1]*- مسعود امیرمعافی[2]- محمدرضا شیری[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۹

چکیده

یکی از مهمترین غلات استراتژیک در ایران و جهان ذرت می‌باشد، که بالپولکداران از مهمترین عوامل خسارت‌زای آن هستند. در سال‌های اخیر، با توجه به تغییرات اقلیمی در سراسر جهان، برخی آفات ثانویه حالت طغیانی پیدا کرده و برخی آفات مهاجم به مناطق غیر آلوده گسترش یافته‌اند. از جمله این آفات، شب‌پره برگخوار ذرت *Mythimna loreyi* است. در تحقیق حاضر، جمعیت لاروهای برگخوار ذرت و درصد پارازیتیسم طبیعی آن طی سه فصل زراعی (۱۴۰۲-۱۴۰۰) در کرج پایش گردید. تحلیل داده‌های فراوانی آفت نشان داد که جمعیت لاروهای آفت افزایش معنی‌داری داشته است ($P<0.01$). میانگین تعداد لاروها در سال اول و دوم از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نشان نداد (t value = 2.05; $P = 0.06$)، اما در سال سوم نسبت به سال اول (t value =4.34; $P<0.01$) و سال دوم (t value = 2.63; $P = 0.019$) افزایش معنی‌داری داشت. نسبت جمعیت لاروها به صورت میانگین در سال ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ نسبت به سال ۱۴۰۰ به‌ترتیب ۲/۴۴ و ۵/۹۷ برابر افزایش یافته بود. نسبت افزایش جمعیت لاروها در سال ۱۴۰۲ نسبت به ۱۴۰۱ نیز ۲/۴۴ برابر محاسبه گردید. تحلیل داده‌های هواشناسی، وجود یک رابطه مثبت بین افزایش جمعیت این آفت و افزایش دمای حداقل در سال‌های مورد بررسی را نشان داد. در این بررسی زنبور پارازیتوئید *Cotesia ruficrus* از لاروهای پارازیته برگخوار ذرت به‌عنوان پارازیتوئید غالب تعیین گردید. میانگین درصد پارازیتیسم طبیعی در سال‌های ۱۴۰۰ الی ۱۴۰۲ به‌ترتیب ۱۲/۷۴، ۱۱/۷۳ و ۱۴/۸۶ درصد بود. مقایسه میانگین وزن بلال‌های آلوده به آفت و بلال‌های سالم کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.01$). به‌طور متوسط، ۷۵ درصد از بلال‌هایی که مورد تغذیه آفت قرار گرفته بودند، درجاتی از آلودگی قارچی را نشان دادند. یافته‌های این تحقیق نشان‌دهنده رابطه بین افزایش جمعیت لاروهای *M. loreyi* با افزایش دمای حداقل در ماه‌های تابستان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بالپولکداران، برگخوار ذرت، پارازیتیسم، دما، ذرت علوفه‌ای

۱- بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۲- بخش تحقیقات سن گندم، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۳- بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: ebrahimi.laleh@gmail.com)

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85113.1164

مقدمه

ذرت دانه‌ای و علوفه‌ای به‌عنوان محصولات استراتژیک از اهمیت بسزایی برخوردارند. آفات بالپولکدار از مهمترین عوامل محدودکننده تولید ذرت در کشور می‌باشند، بنابراین پایش و کنترل به موقع و مؤثر این آفات منجر به جلوگیری از کاهش عملکرد، افزایش تولید و کمک به تأمین امنیت غذایی کشور خواهد شد. طبق آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۴۰۱-۱۴۰۰، سطح زیر کشت ذرت دانه‌ای ۱۵۹۱۰۶ هکتار و میزان تولید آن ۱۱۳۵۹۱۰ تن بود. استان‌های کرمانشاه، خوزستان، فارس و کرمان به‌ترتیب بالاترین سطح زیر کشت را داشتند. سطح زیر کشت ذرت علوفه‌ای نیز ۳۸۱۲۲۱ هکتار و میزان تولید آن ۱۸۳۷۱۴۷۶ تن بود (Ministry of Agriculture Jihad, 2023). در مورد سطح زیر کشت و میزان تولید ذرت شیرین در کشور آمار دقیقی وجود ندارد. در سال ۱۴۰۱-۱۴۰۰، بیشترین میزان تولید آبی از بین محصولات زراعی مربوط به ذرت علوفه‌ای است که با تولید ۱۸/۳۷ میلیون تن، ۲۳/۳۱ درصد از کل میزان تولید محصولات زراعی آبی را تشکیل می‌دهد (Ministry of Agriculture Jihad, 2023). با توجه به بحران آب در کشور، حفاظت از پتانسیل عملکرد تمام محصولات ضروری می‌باشد و در این میان، حفاظت از عملکرد ذرت علوفه‌ای در برابر آفات، به‌دلیل نیاز آبی بالا و نیز اهمیت تأمین علوفه در امنیت غذایی کشور باید با دقت نظر و آینده‌نگری بیشتری مورد توجه قرار گیرد.

آفت برگخوار ذرت *Mythimna* (= *Leucania*) *loreyi* (Duponchel, 1827) (Noctuidae) بومی شرق آسیا است و در آفریقا، استرالیا، خاورمیانه و آسیا گسترش دارد (Nam *et al.*, 2020). این گونه مهاجر بوده و سالانه چندین نسل دارد و روی چندین میزبان از جمله گندم، ذرت، برنج، سورگوم، جو، توتون، فلفل و نخود گزارش شده است (Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2023). ذرت میزبان بهینه برای *M. loreyi* است که منجر به بهترین عملکرد بیولوژیکی می‌شود، به‌طوری‌که در شرایط دمایی ۲۷ درجه سلسیون طول دوره لاروی ۲۰/۱۸ روز، بقای مراحل نابالغ ۶۸ درصد و وزن شفیره ماده ۳۲/۴ گرم است. در صورتی‌که این آفت قبل از گرده‌افشانی ذرت به آن حمله کند، عملکرد را به‌طور قابل توجهی کاهش می‌دهد (Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2023). این آفت در کشورهای مختلف تعداد نسل متفاوتی دارد، برای مثال در کره جنوبی یک نسل و در کشورهایی مانند هلند، آمریکای شمالی و کاپاریکا دو نسل گزارش شده است (Hong *et al.*, 2022). در ایران، این آفت با نام مترادف *Leucania loreyi* برای اولین بار در سال ۱۳۴۰ توسط فرحبخش از روی سورگوم از خوزستان گزارش شد (Khanjani, 2006). این آفت روی ذرت در مزارع ارومیه دارای شش سن لاروی، با سه نسل کامل گزارش شده است که به‌صورت لارو سن آخر وارد دیاپوز شده و زمستان‌گذرانی می‌نماید (Naseri, 1996). در سال ۱۳۹۶ اولین خسارت *M. loreyi* روی برنج در کشور از شالیزارهای استان گیلان گزارش گردید (Jalaeian *et al.*, 2017).

دشمنان طبیعی به‌ویژه پارازیتوئیدها از عوامل کنترل‌کننده طبیعی جمعیت بالپولکداران می‌باشند (Sokame *et al.*, 2021). بررسی‌های مزرعه‌ای در ارومیه منجر به شناسایی و معرفی نه گونه حشره مفید از راسته‌های دوبالان، بال غشائیان و ناجور بالان، از جمله *Euplectrus bicolor* Swederus (Hymenoptera: Eulophidae)، *Tachina nr.nupta* Rodani (Diptera: Tachinidae) و *Anthocoris nemorum* L. (Heteroptera: Anthocoridae) به‌عنوان دشمنان طبیعی *M. loreyi* در مزارع ذرت شدند (Naseri, 1996). علاوه براین، سه گونه مگس پارازیتوئید شامل *Linnaemya vulpina*، *Tachina nupta*، *Tachina paraeceps* از خانواده Tachinidae و یک گونه زنبور پارازیتوئید *C. rufricus* [*C. ruficrus*] نیز از روی *M. loreyi* از کشور جمع‌آوری و گزارش شده است (Parchami–Araghi, 1995؛ Siahpoush *et al.*, 1993).

با توجه به مساله جهانی گرمایش کره زمین و تغییر اقلیم، آفات محصولات کشاورزی نیز در حال تغییر می‌باشند (Kiritani, 2013). یکی از آفاتی که در سال‌های اخیر وقوع و خسارت آن در مزارع ذرت کشور افزایش پیدا کرده است، *M. loreyi* می‌باشد. با وجود این که این گونه همراه با سایر گونه‌های مشابه در چین و کره وجود داشت اما به‌دلیل خسارت ناچیزی که ایجاد می‌نمود، آفت ثانویه محسوب می‌شد و روش‌های کنترلی اعمال شده برای سایر آفات بالپولک‌دار در ذرت، سطح جمعیت این آفت را در حد بسیار پایین نگه می‌داشت (Qin *et al.*, 2017). این آفت اخیرا به‌صورت یک گونه مهاجم در چین و کره شیوع پیدا کرده است (Qin *et al.*, 2017) و از سال ۲۰۱۷ تحقیقات گسترده‌ای روی پایش، بیولوژی، فرمون و روش‌های کنترل آن در چین و کره در حال انجام می‌باشد. اخیرا این آفت در تونس نیز شیوع پیدا کرده و در مناطق مختلف تونس منجر به خسارت در ذرت شده است (Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2023). فرمون جنسی این آفت مشابه *Spodoptera frugiperda* می‌باشد و در تله‌های فرمونی *M. loreyi*، گونه *S. frugiperda* نیز شکار می‌شود که نشان‌دهنده قرابت‌هایی میان این دو آفت می‌باشد (Hong *et al.*, 2022).

با توجه به اهمیت برگخوار ذرت به‌عنوان آفت در حال گسترش در مزارع ذرت در جهان و اهمیت آن به‌عنوان عامل محدود کننده تولید ذرت، مطالعه حاضر، به‌منظور بررسی اثرات تغییر دما بر جمعیت آفت به‌مدت سه سال زراعی انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش مذکور در مزرعه ذرت دانه‌ای واقع در مؤسسه تحقیقات اصلاح نهال و بذر کرج به مساحت یک هکتار با طول ۲۰۰ متر و عرض ۵۰ متر و موقعیت جغرافیایی بین ۵۰ درجه و ۹۲ دقیقه طول شرقی، ۳۵ درجه و ۷۹ دقیقه عرض شمالی و ۱۳۱۲ متر ارتفاع از سطح دریا، طی سال‌های ۱۴۰۲-۱۴۰۰ در ماه‌های خرداد الی شهریور انجام شد. در این مزرعه هیچ گونه سمپاشی در طی فصل صورت نگرفت. مزرعه مورد مطالعه پس از سبز شدن ذرت تا زمان برداشت صورت هفتگی بازدید شد. در سال اول در هر تاریخ نمونه‌برداری، ۲۱۶ بوته، در سال دوم ۱۰۵ بوته و در سال سوم ۶۰ بوته به‌صورت تصادفی انتخاب و تعداد لاروهای موجود در هر بوته ثبت گردید. تمام لاروهای پارازیته نیز به آزمایشگاه منتقل و پس از خروج حشرات بالغ، درصد پارازیتیسم از طریق محاسبه درصد نسبت افراد پارازیته به تعداد کل لارو تعیین و پارازیتوئیدها شناسایی شدند. برای شناسایی پارازیتوئیدها، افراد بالغ خارج شده از بدن لاروها به بخش تحقیقات رده‌بندی حشرات مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی ارسال و بر اساس صفات مورفولوژیکی با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر، شناسایی گردید. در زمان برداشت محصول، تعداد ۳۰ عدد بوته آلوده به آفت مورد نظر و همچنین ۳۰ عدد بوته سالم نمونه‌برداری شده و وزن بلال برای هر دو گروه ثبت شد. درصد بلال‌هایی که بعد از تغذیه آفت دچار آلودگی قارچی شده بودند، نیز ثبت گردید. برای مقایسه تغییرات دما در سه سال مورد ارزیابی، میانگین ماهانه دما برای ماه های نمونه‌برداری از ایستگاه هواشناسی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال دریافت گردید. آزمایش بررسی تراکم لاروها در سه سال و با نمونه‌برداری از حداقل ۶۰ بوته انجام شد. آزایش بررسی خسارت با ۳۰ بوته در تیمار و شاهد انجام شد و میانگین محاسبه گردید. مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون t با استفاده از نسخه ۹٫۳ نرم‌افزار SAS (SAS Institute 2012) انجام شد.

نتایج

آفت مورد نظر پس از جمع‌آوری، توسط بخش تحقیقات رده‌بندی حشرات مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور به نام *M. loreyi* شناسایی و تأیید گردید. نتایج مربوط به تعداد لاروهای آفت و لاروهای پارازیته در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- تعداد لاروهای زنده و درصد لاروهای پارازیته *Mythimna loreyi* در هر تاریخ نمونه‌برداری در سه سال زراعی متوالی ۱۴۰۰ الی ۱۴۰۲

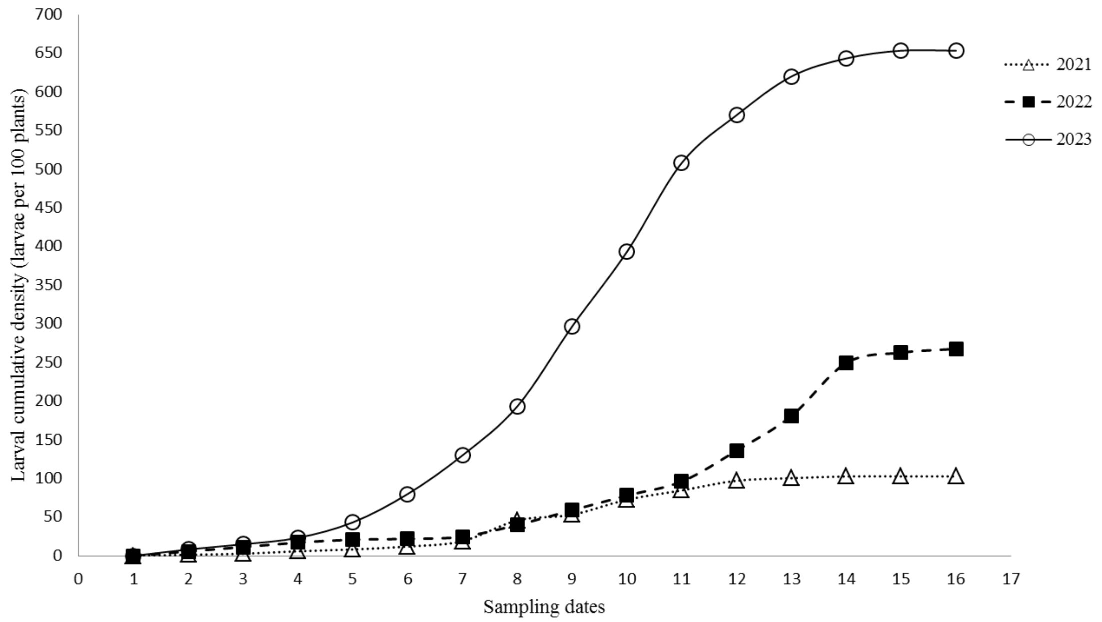
Table 1- The number of live larvae and percentage parasitized larvae of *Mythimna loreyi* on each sampling date during three cropping seasons from 2021 to 2023

Sampling date (day-month)	Year 2021		Year 2022		Year 2023	
	Larvae 100 plant^{-1}	Parasitized larvae%	Larvae 100 plant^{-1}	Parasitized larvae %	Larvae 100 plant^{-1}	Parasitized larvae %
1-June	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
08-June	2.78	0.00	5.71	0.00	8.33	0.00
15-June	3.24	0.00	5.71	16.67	6.67	0.00
22-June	4.17	11.11	5.71	0.00	8.33	20.00
29-June	3.24	0.00	3.81	50.00	20.00	0.00
6-July	5.09	27.27	0.95	0.00	36.67	13.64
13-July	6.94	0.00	2.86	0.00	50.00	6.67
20-July	26.85	1.72	15.24	6.25	63.33	13.16
27-July	7.41	12.50	19.05	5.00	103.33	11.29
03-August	19.44	4.76	19.05	0.00	96.67	6.90
10-August	12.04	15.38	18.10	0.00	115.00	4.35
17-August	12.50	18.52	40.00	0.00	61.67	13.51
24-August	3.24	14.29	44.76	8.51	50.00	23.33
31-August	2.31	60.00	68.57	19.44	23.33	28.57
07-September	0.00	0.00	13.33	50.00	10.00	66.67
14-September	0.00	0.00	4.76	20.00	0.00	0.00
Mean	6.83^{b}	12.74^{a}	17.84^{b}	11.73^{a}	40.83^{a}	14.86^{a}

- حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون t می‌باشد.

-In each column means with the same letter are not significantly different according to t-student test ($p < 0.05$)

همان‌طور که داده‌ها نشان می‌دهد، شب‌پره برگ‌خوارذرت در سال‌های مورد بررسی با تراکم‌های مختلف وجود داشت. میانگین تعداد لاروها در سال اول و دوم از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نشان نداد (t value =2.05; P= 0.06)، اما در سال سوم نسبت به سال اول (t value =4.34; P<0.01) و سال دوم (t value =2.63; P= 0.019) افزایش معنی‌داری داشت. نسبت جمعیت لاروها به‌صورت میانگین در سال ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ نسبت به سال ۱۴۰۰ به‌ترتیب ۲/۴۴ و ۵/۹۷ برابر افزایش یافته بود.



شکل ۱- نمودار تعداد تجمعی لاروهای *Mythimna loreyi* در فصل‌های زراعی ۱٤۰۰ الی ۱٤۰۲؛ زمان‌های نمونه‌برداری: نمونه‌برداری هفتگی از هفته دوم خرداد تا هفته چهارم شهریور (16 هفته):ا الی ۳: خرداد، ٤ الی ۷: تیر، ۸ الی ۱۲: مرداد، ۱۳ الی ۱٦: شهریور

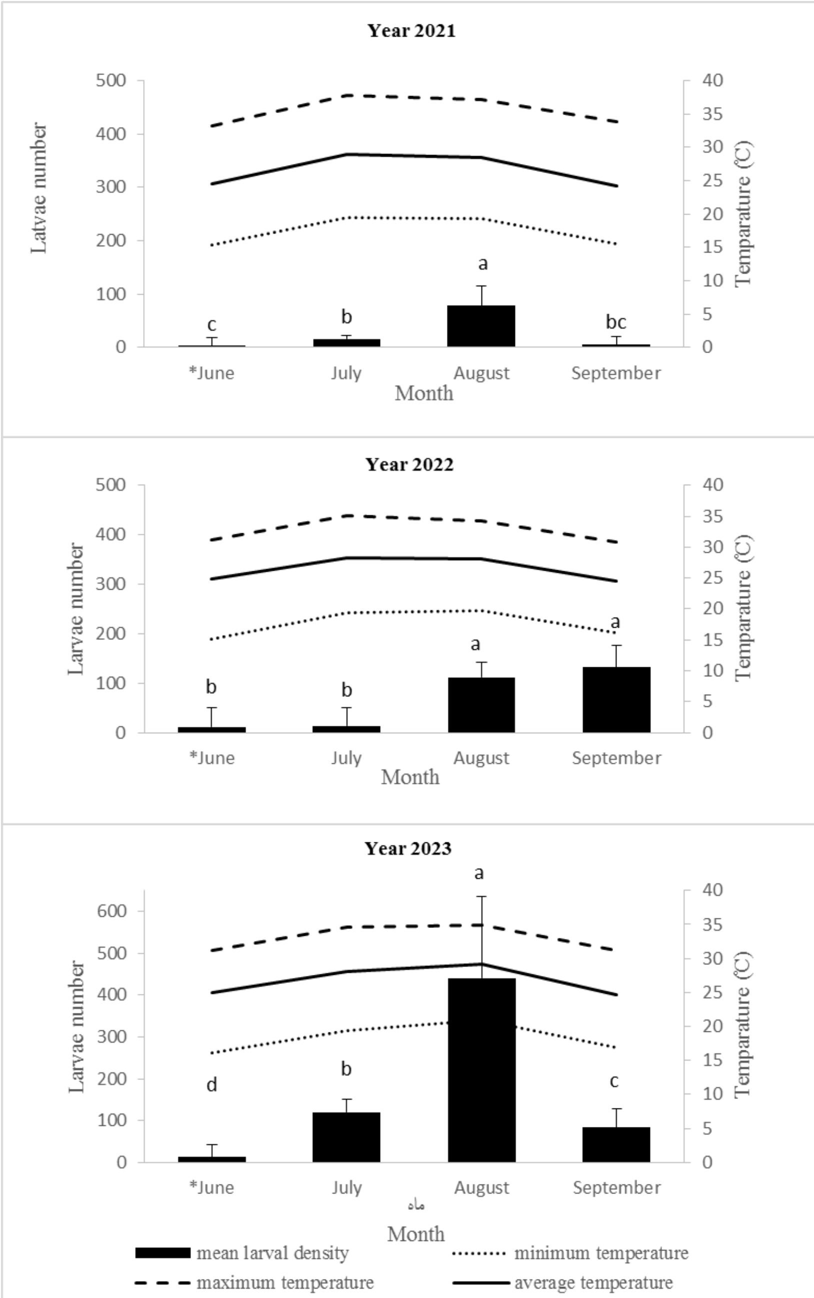
Figure 1- The graph of the cumulative number of *Mythimna loreyi* larvae in cropping seasons 2021 to 2023; Sampling times: weekly sampling from the first week of June to the second week of September (16 weeks): 1-5: June, 6-9: July, 10-14: August, 15 and 16: September

نسبت افزایش جمعیت لاروها در سال ۱۴۰۲ نسبت به ۱۴۰۱ نیز ۲/۴۴ برابر محاسبه گردید. تراکم تجمعی لاروها در تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری در سه سال متوالی در شکل ۱ نشان داده شده است.

بررسی داده‌های تراکم تجمعی آفت (شکل ۱) نشان داد که در هر سال نسبت به سال گذشته افزایش جمعیت آفت رخ داده است، هر چند این افزایش در میانگین، بین سال اول و دوم معنی‌دار نبود، اما در سال سوم (۱۴۰۲) جمعیت تجمعی لاروهای آفت نسبت به سال ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ افزایش معنی‌داری نشان داد. در مقایسه ماه به ماه، تفاوت میانگین تراکم لارو بین سال اول و دوم در سطح پنج درصد (t value =9.39; P= 0.011) و بین سال اول و سوم در سطح یک درصد معنی‌دار بود (t value =15.96; P<0.01)، در حالی‌که این تفاوت بین سال دوم و سوم (t value =1.22; P= 0.34) غیرمعنی‌دار بود. مقایسه میانگین تراکم لارو در تیر ماه نیز تفاوت معنی‌داری در سطح پنج درصد بین سال اول و دوم (t value =6.14; P= 0.02)، یک درصد بین سال دوم و سوم (t value =49.26; P<0.01) و همچنین سال اول و سوم (t value =43.20; P<0.01) را نشان داد (شکل ۲ و ۳). تفاوت تراکم لاروها در مرداد و شهریور هر سه سال با یکدیگر در سطح یک درصد معنی‌دار بود (P<0.01). در سال ۱۴۰۰ جمعیت در هفته اول شهریورماه به سطح ثابتی رسید در حالی‌که در سال ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ تا هفته سوم شهریورماه افزایش جمعیت آفت مشاهده گردید.

نمودار تغییرات دما (حداقل، حداکثر و متوسط) و تغییرات جمعیت لارو به تفکیک سال در شکل ۲ آمده است. همانطور که مشاهده می‌گردد، افزایش جمعیت لارو با افزایش دمای حداقل همگرا است و روند مشخصی را نشان می‌دهد. در شکل ۳ نمودار ارتباط دمای حداقل برای هر سه سال با تعداد لارو در سال‌های متناظر ترسیم شده است و همگرایی افزایش دمای حداقل با افزایش تراکم لارو را نشان می‌دهد.

مقایسه میانگین وزن بلال‌های آلوده که مورد تغذیه لاروهای *M. loreyi* قرار گرفته بودند با بلال‌های شاهد نشان دهنده کاهش معنی‌دار وزن بلال ذرت در اثر تغذیه این آفت بود (t value= 3.94; p<0.01). در ۷۵ درصد از بلال‌هایی که مورد تغذیه آفت قرار گرفته بودند، آلودگی قارچی مشاهده گردید.

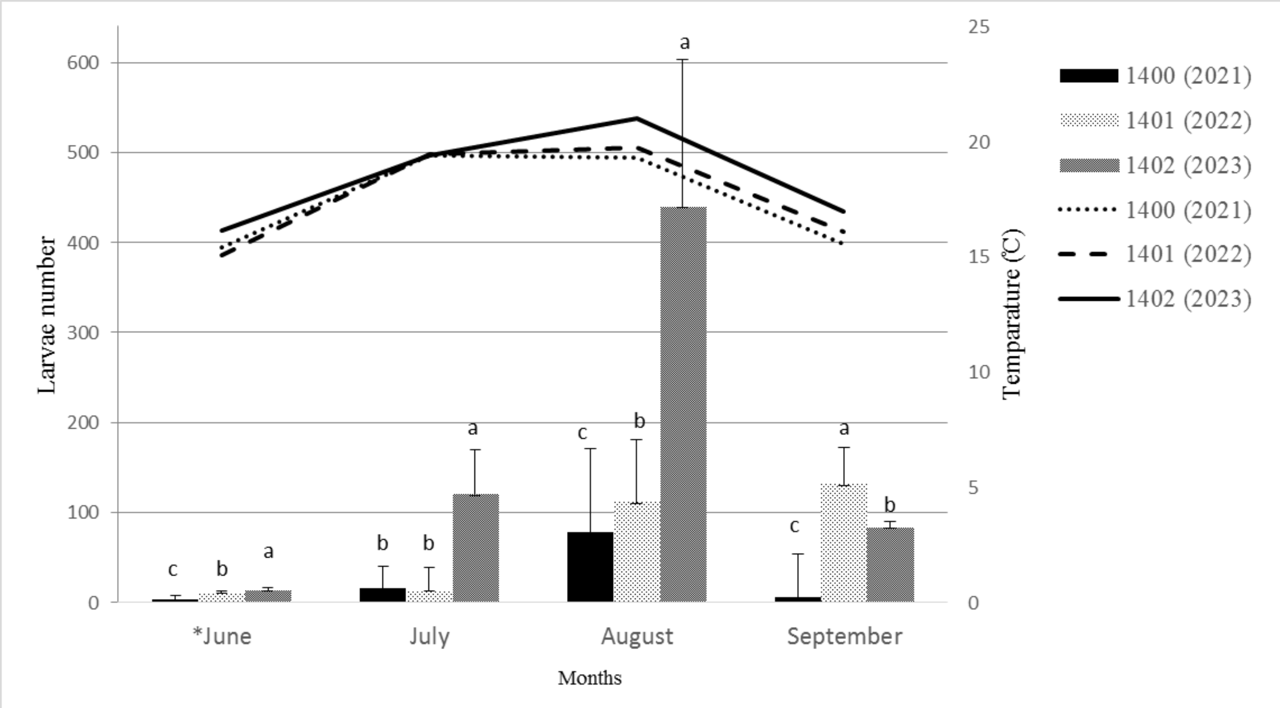


شکل ۲- مقایسه دمای حداقل، حداکثر و متوسط ماه‌های فعالیت *Mythimna loreyi* (خرداد، تیر، مرداد و شهریور) و تراکم لاروها (میانگین و خطای استاندارد) در سال‌های ۱٤۰۰ الی ۱٤۰۱

Figure 2- Comparison of the minimum, maximum and average temperature of the activity months of *Mythimna loreyi* (June, July, August and September) and larval density (mean and SD bar) in the years from 2021 to 2023

*به‌دلیل عدم تطابق ماه‌های شمسی و میلادی، نمودار شامل میانگین دمای خرداد، تیر، مرداد و شهریور می‌باشد. در هر سال، حروف یکسان نشان دهنده عدم وجود تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون t می‌باشد.

*Due to the mismatch between solar and Gregorian months the graphs including the average temperature from 21 May to 21 June for June, 22 June to 22 July for July, 23 July to 22 August for August and 23 August to 22 September for September. In each year, means with the same letter are not significantly different according to t-student test ($p < 0.05$)



شکل ۳- نمودار ارتباط تغییرات دمای حداقل و تراکم لارو *Mythimna loreyi* در سال‌های ١٤٠٠ تا ١٤٠٢

Figure 3- The graph of the relationship between minimum temperature and larval density of *Mythimna loreyi* from 2021 to 2023

*به‌دلیل عدم تطابق ماه‌های شمسی و میلادی، نمودار شامل میانگین دمای خرداد، تیر، مرداد و شهریور می‌باشد. در هر ماه، حروف یکسان نشان دهنده عدم وجود تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون t می‌باشد.

*Due to the mismatch between solar and Gregorian months the graphs including the average temperature from 21 May to 21 June for June, 22 June to 22 July for July, 23 July to 22 August for August and 23 August 22 September for September. In each month means with the same letter are not significantly different according to t-student test (p < 0.05)

از لاروهای پارازیته شده زنبور پارازیتوئید *C. ruficrus* (Haliday, 1834) (Hym.: Braconidae) جمع‌آوری و توسط بخش تحقیقات رده‌بندی حشرات موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور شناسایی و تأیید گردید (شکل ۴). درصد لاروهای پارازیته برای تاریخ‌های نمونه‌برداری و میانگین هر سال در جدول ۱ نشان داده شده است. تجزیه آماری میانگین درصد لاروهای پارازیته نیز نشان دهنده عدم تفاوت بین سال اول و دوم بود (t value =1.28; P= 0.22). در حالی‌که تعداد لارو پارازیته در سال اول و سوم در سطح یک درصد (t value =4.43; P< 0.01) و بین سال دوم و سوم در سطح پنج درصد (t value =2.53; P= 0.02) افزایش معنی‌داری نشان داد.

شکل ٤- زنبور پارازیتوئید *Cotesia ruficrus* روی لارو سن آخر *Mythimna loreyi* (اصلی)؛A : زنبور پارازیتوئید بالغ، B: لاروهای زنبور پارازیتوئید در حال خروج از بدن لارو *M. loreyi*، C: لاروهای زنبور پارازیتوئید در حال تنیدن پیله شفیرگی، D: پیله‌های شفیرگی زنبور پارازیتوئید روی برگ ذرت

Figure 4- parasitoid wasp *Cotesia ruficrus* on the last instar larva of *Mythimna loreyi*; A: adult parasitoid, B: larvae of the parasitoid leaving the body of *M. loreyi* larvae, C: larvae of the parasitoid spinning pupal cocoons, D: pupal cocoons of the parasitoid on corn leaf

بحث

لاروهای *M. loreyi* با تغذیه شدید از قسمت‌های مختلف ذرت در تمام دوره فنولوژیکی گیاه باعث کاهش عملکرد می‌شود و بنابراین یکی از آفات مهم ذرت محسوب می‌گردند (Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2023). بررسی بوته‌های آلوده به این آفت نشان دهنده تغذیه لاروهای سن اول از پارانشیم برگی بود؛ با افزایش سن لاروی تغذیه از پهنک برگ به‌صورت کامل انجام گرفت. در آلودگی با تراکم بالای آفت که در سومین سال پایش مشاهده شد، تغذیه لاروی از کل پهنک برگ انجام شده و فقط رگبرگ اصلی باقی ماند. لاروها قبل از رشد بلال از برگ‌ها تغذیه می‌کردند، اما با ظهور بلال اغلب در فاصله بین بلال و ساقه ذرت مخفی می‌شدند و از بافت‌های نرم آن تغذیه می‌کردند. تغذیه لاروها از گل تاجی ذرت نیز مشاهده شد. بررسی بوته‌های آلوده نشان داد که ممکن است بیش از یک لارو به‌صورت همزمان از یک بوته تغذیه نماید و اغلب، سنین بالا و پایین

لاروی روی یک بوته مشاهده گردید. تغذیه لاروهای این آفت از تمام قسمت‌های گیاه ذرت به جز ریشه پیش از این گزارش شده بود (Shabaa & Al-Rubaie, 2018) و مشاهدات ما، مؤید این نظر است.

با وجود این که اطلاعات کمی در مورد پویایی جمعیت *M. loreyi* در مزرعه وجود دارد، تحقیقات قبلی نشان داده است که پارامترهای اقلیمی مانند دما، رطوبت نسبی، بارندگی و سرعت باد به طور قابل‌توجهی بر پویایی جمعیت *M. loreyi* تأثیر می‌گذارد و در این میان دما مهمترین عاملی است که ظهور *M. loreyi* را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Qin *et al.*, 2017; Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2023). دمای بهینه برای رشد و نمو و تخم‌گذاری *M. loreyi* در دامنه دمایی بین ۱۸ تا ۳۰ درجه سلسیوس است. دمای بالا یا پایین تأثیر متفاوتی بر رشد، تولید مثل و بقا می‌گذارد. علاوه بر این، دما بیشترین تأثیر را بر متغیرهای زیستی این آفت و پویایی جمعیت آن در مزرعه دارد (Qin *et al.*, 2017).

بررسی داده‌های تراکم تجمعی آفت در مطالعه حاضر (شکل ۱) نشان داد که جمعیت آفت نسبت به سال‌های گذشته افزایش یافته است. مقایسه گرافیکی این داده‌ها با داده‌های تغییرات دما (شکل ۲ و ۳) نشان‌دهنده همبستگی بین تغییرات دمای حداقل و جمعیت آفت است. براساس داده‌های هواشناسی، متوسط دما در تیرماه سال ۱۴۰۰ نسبت به دو سال بعدی بالاتر و در سایر ماه‌های مورد ارزیابی، متوسط دما در ۱۴۰۲ بالاتر از سال ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ بود. مقایسه حداقل دما برای چهار ماه مورد بررسی در سه سال، نشان‌دهنده بالاتر بودن دمای حداقل در ماه‌های خرداد، مرداد و شهریور در سال ۱۴۰۲ می‌باشد. دمای حداقل در تیرماه برای هر سه سال مشابه بود. مقایسه حداکثر دما نشان‌دهنده بالاتر بودن حداکثر دما برای هر چهار ماه در سال ۱۴۰۰ نسبت به سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ بود. در سال ۱۴۰۲ که بیشترین جمعیت آفت مشاهده گردید، تا هفته اول تیر ماه تفاوت معنی‌داری بین تراکم لاروهای آفت وجود نداشت، پس از آن تفاوت افزایش یافت. براساس نمودار تراکم تجمعی لاروها، در سال ۱۴۰۲ در مرداد ماه میزان افزایش جمعیت در مقایسه با دو سال دیگر بسیار بالاتر (بیش از ۵ برابر) بود. در این سال، میانگین حداقل دما برای مرداد ماه ۲۱ دجه سلسیوس بود، در حالی‌که برای سال ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ به‌ترتیب ۱۹/۳ و ۱۹/۷ درجه سلسیوس بود (یعنی در سال ۱۴۰۲، بیش از یک درجه سلسیوس بالاتر از سال ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ بود). متوسط دمای مرداد ماه نیز در سال ۱۴۰۲ (۲۹/۱۶ درجه سلسیوس) نسبت به ۱۴۰۰ (۲۸/۴۱ درجه سلسیوس) و ۱۴۰۱ (۲۸/۱۲ درجه سلسیوس) بالاتر بود. مقایسه حداکثر دما برای مرداد ماه نشان دهنده بالاتر بودن آن در سال ۱۴۰۰ (۳۷/۱۶ درجه سلسیوس) نسبت به ۱۴۰۱ (۳۴/۲۹ درجه سلسیوس) و ۱۴۰۲ (۳۴/۹۶ درجه سلسیوس) بود. بنابراین، با در نظر گرفتن تراکم لاروهای آفت و مقایسه دما بین سه سال، به نظر می‌رسد دمای حداقل بیش از دمای حداکثر و متوسط دما روی افزایش تراکم آفت نقش دارد. بررسی‌های کین و همکاران (Qin *et al.*, 2017) در چین، نشان داده که دمای حداکثر رشد و نمو و تخم‌گذاری *M. loreyi* بین دمای ۱۸ تا ۳۰ درجه سلسیوس است، لذا دمای حداکثر بسیار بالا (مانند آنچه که در مرداد ۱۴۰۰ در کرج رخ داده، که میانگین دمای حداکثر به بالای ۳۷ درجه سلسیوس رسیده بود) برای آفت مطلوب نبوده و منجر به مرگ‌ومیر قابل توجه آن می‌شود. در مطالعه مدیونی‌بن‌جما و همکاران (Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2023) نیز همبستگی منفی بین تعداد افراد بالغ شکار شده توسط تله‌ها *M. loreyi* با افزایش دما گزارش شده است. بررسی‌های اخیر در چین و کره نیز نشان‌دهنده مناسب بودن دامنه دمایی ۲۴ الی ۳۰ درجه سلسیوس برای رشد بهینه این آفت می‌باشد، در حالی‌که برای گونه‌های دیگر همین آفت، این دامنه دمایی باریک‌تر است (Qin *et al.*, 2017; Nam *et al.*, 2020). با توجه به نتایج حاصل، به نظر می‌رسد افزایش دما در سال‌های اخیر در ایران نیز شرایط بهینه برای رشد این آفت را فراهم آورده باشد.

نتایج تحقیقات انجام شده در تونس طی سال‌های ۲۰۲۰ و ۲۰۲۱، بیشترین میزان آلودگی ذرت به این آفت را در تابستان گزارش نموده (Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2023) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه حاضر، میانگین درصد پارازیتیسم لاروی برای سه سال بین ۱۱/۷۴ تا ۱۴/۸۶ درصد محاسبه گردید (جدول ۱). براساس مطالعه‌ای که در غرب کشور ترکیه روی پارازیتوئیدهای *M. loreyi* انجام شده است، گونه *C. ruficrus* مهمترین پارازیتوئید این آفت بود، به‌طوری‌که در ۹۱ درصد از مزارع از لاروهای *M. loreyi* این پارازیتوئید جمع‌آوری گردید (Sertkaya & Bayram, 2005). در مطالعه سرت‌کایا و بایرام (Sertkaya & Bayram, 2005) میزان پارازیتیسم *C. ruficrus* ۳۸/۵ درصد بود که در مقایسه با بالاترین میانگین درصد پارازیتیسم در سه سال مورد مطالعه (۱۴/۸۶ درصد در سال ۱۴۰۲) بیش از دو برابر می‌باشد. هر چند این میانگین مربوط به کل دوره نمونه‌برداری می‌باشد و در هر سه سال در نیمه اول شهریور ماه درصد پارازیتیسم بالای ۶۰ درصد ثبت شده است (جدول ۱). بنابراین، این پارازیتوئید پتانسیل بیشتری برای کنترل سطح جمعیت *M. loreyi* را دارا می‌باشد و نتایج سرت‌کایا و بایرام (Sertkaya & Bayram, 2005) مبنی بر کارایی طبیعی *C. ruficrus* علیه *M. loreyi* به میزان ۴۲/۴ درصد مؤید این ادعا است. جمعیت دشمنان طبیعی، تابعی از تراکم جمعیت میزبان می‌باشد و این موضوع افزایش میزان پارازیتیسم را در سال ۱۴۰۲ نسبت به دو سال قبل توجیه می‌نماید. با توجه به این که پارازیتوئیدها و شکارگرها در دماهای بالاتر نشو و نمای بهتری نسبت به آفات دارند (Gilbert & Raworth, 1996)، آینده‌نگری در زمینه مدیریت آفات با در نظر گرفتن تغییرات

اقلیمی جهانی و گرمایش کره زمین، بر لزوم تحقیق روی کارایی دشمنان طبیعی و انتخاب گونه‌های کارامد تأکید می‌نماید.

آلودگی‌های قارچی که متعاقب تغذیه از بلال ذرت حاصل می‌گردد پیش از این نیز گزارش شده است. برای مثال، ساقه‌خوار اروپائی ذرت علاوه‌بر خسارت مستقیم، باعث افزایش بیماری پوسیدگی بلال ناشی از قارچ فوزاریوم می‌گردد و عامل اصلی شیوع این قارچ روی بلال‌ها می‌باشد. خطرات زیستی شدید فومونیسین تولید شده توسط قارچ عامل پوسیدگی فوزاریومی برای انسان و دام‌ها، اهمیت خسارت این آفت را چند برابر می‌کند (Mazzoni *et* Galic *et al.*, 2019; *al.*, 2011) محل تغذیه آفت در ذرت بلالی مسیرهای مناسبی جهت ورود عوامل بیماری‌زا به‌خصوص قارچ فوزاریوم را برای گیاه فراهم می‌سازد. آلودگی به فومونیسین در گیاهانی که مورد تغذیه ساقه‌خوار اروپایی ذرت قرار گرفته‌اند تا ۴۰ برابر بیشتر از بوته‌های سالم گزارش شده است (Blandino *et al.*, 2015). در مورد شب‌پره برگ‌خوار ذرت نیز آلودگی قارچی بلال بعد از تغذیه لاروها خسارت زیادی ایجاد می‌کند (Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2023). بنابراین کنترل به‌موقع و مناسب آفات بالپولک‌دار از خسارت ناشی از پوسیدگی بلال و نیز آلودگی به توکسین‌های قارچی جلوگیری خواهد کرد.

تغییرات اقلیمی و گرمایش کره زمین یک پدیده جهانی است و روی تمام ابعاد حیات و محیط‌زیست تأثیرگذار می‌باشد. تأثیرپذیری فنولوژی گیاهان به‌عنوان منابع اصلی تغذیه انسان و دام‌ها و تأثیرپذیری آفات حشره‌ای به‌عنوان رقیب اصلی انسان در بهره‌برداری از گیاهان، از تغییرات اقلیمی اجتناب‌ناپذیر است. تغییر در ترکیب آفات محصولات مختلف در کشور که اخیرا در محصولاتی مانند برنج و ذرت مشاهده شده است، و نیز بروز آفات ثانویه به‌صورت طغیانی نیز یکی از اثرات این تأثیرپذیری می‌باشد. در حالت کلی، در ذرت‌های دیررس یا ذرت‌هایی که دیرتر کشت می‌شوند شدت خسارت *M. loreyi* بیشتر می‌باشد (Kornosor, 1999). در ایران اغلب ذرت علوفه‌ای به‌عنوان کشت دوم بعد از برداشت گندم و جو کشت می‌گردد. با توجه به بحران آب در کشور و نیاز بالای ذرت علوفه‌ای به آب از یک سو، و اهمیت ذرت علوفه‌ای در تغذیه دام و تأمین علوفه کشور از سوی دیگر، اهمیت کنترل این آفت را نشان می‌دهد. بنابراین، پیشنهاد می‌گردد جنبه‌های مختلف زیستی و روش‌های کنترل این آفت به‌صورت دقیق مورد ارزیابی قرار گیرد.

سپاسگزاری

از مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور و همچنین مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذرکه امکان اجرای این مطالعه را فراهم آوردند، صمیمانه سپاسگزاریم.

References

1. Ministry of Agriculture Jihad. (2023). *Agricultural Statistics of Crops 2021-2022*, Deputy Statistics of Information and Communication Technology Center, 103 pages. (In Persian)
2. Abbasipour, H., & Taghavi, A. (2004). Morphological and biological studies of parasitoid wasp, *Cotesia rufricus* (Haliday)(Hymenoptea: Braconidae), a gregarious endoparasitoid of the rice armyworm larvae, *Mythimna unipuncta*. *Pajouhesh-va-Sazandegi*: In *Agronomy & Horticulture*, *62*, 18-24. (In Persian with English abstract)
3. Blandino, M., Scarpino, V., Vanara, F., Sulyok, M., Krska, R., & Reyneri, A. (2015). Role of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) on contamination of maize with 13 *Fusarium mycotoxins*. *Food Additives & Contaminants: Part A*, *32*(4), 533-543. https://doi.org/10.1080/19440049.2014.966158
4. Galic, V., Simic, D., Franic, M., Brkic, A., Jambrovic, A., Brkic, J., & Ledencan, T. (2019). Analysis of *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination in testcrosses of a maize biparental population. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, *19*(1), 40-46. https://doi.org/10.1590/1984-70332019v19n1a06
5. Gilbert, N., & Raworth, D.A. (1996). Insects and temperature—a general theory. *The Canadian Entomologist*, *128*(1), 1-13. https://doi.org/10.4039/Ent1281-1
6. Hong, S.Y., Yi, H.J., Yoon, Y.N., Jang, Y.W., Do Park, K., & Maharjan, R. (2022). Evaluation of commercial pheromones on the population dynamics of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) and *Mythimna loreyi* (Duponchel)(Lepidoptera: Noctuidae). *Korean Journal of Crop Science*, *67*, 285-295. https://doi.org/10.7740/kjcs.2022.67.4.285
7. Jalaeian, M., Farahpour-Haghani, A., & Esfandiari, M. (2017). First report of damage caused by *Leucania loreyi* (Lep.: Noctuidae) on rice in Guilan province. *Plant Pest Research*, *7(3)*, 77-80. https://doi.org/10.22124/iprj.2017.2593
8. Khanjani, M. (2006). *Field Crop Pests in Iran (Insects & Mites)*. Bu-Ali Sina University publishing. 719 pp.
9. Kiritani, K. (2013). Different effects of climate change on the population dynamics of insects. *Applied Entomology and Zoology*, *48*(2), 97-104. https://doi.org/10.1007/s13355-012-0158-y
10. Kornosor, S. (1999). Entomological problems of maize in Turkey. In *Proc. XX Conf. International Working Group on Ostrinia and Other Maize Pests (Adana, Turkey)* (pp. 14-23).

11. Mazzoni, E., Scandolara, A., Giorni, P., Pietri, A., & Battilani, P. (2011). Field control of Fusarium ear rot, *Ostrinia nubilalis* (Hubner), and fumonisin in maize kernels. *Pest Management Science*, *67*, 458-465. https://doi.org/10.1002/ps.2084
12. Mediouni Ben Jemâa, J., Soltani, A., Djebbi, T., Mejri, I., Kanyesigye, D., & Otim, M.H. (2023). The maize caterpillar *Mythimna* (= *Leucania*) *loreyi* (Duponchel, 1827)(Lepidoptera: Noctuidae): Identification, distribution, population density and damage in Tunisia. *Insects*, *14*(10), 786. https://doi.org/10.3390/insects14100786
13. Nam, H.Y., Kwon, M., Kim, H.J., & Kim, J. (2020). Development of a species diagnostic molecular tool for an invasive pest, *Mythimna loreyi*, using LAMP. *Insects*, *11*(11), 817. https://doi.org/10.3390/insects11110817
14. Naseri, M. (1996). Biology of the maize leafworm, *Mythimna loreyi* DUP in Urmia region and introduction of its natural enemies and investigation of the biology of dominant species. MSc Thesis. Urmia University. (In Persian with English abstract)
15. Parchami–Araghi, M. (1995). The first record of three parasitoid flies (Dup.: Tachinidae) on *Mythimna loreyi* Dup. (Lep.: Noctuidae) larva in Iran. *Journal of Entomological Society of Iran*, *14*, 77-77. (In Persian with English abstract)
16. Qin, J., Zhang, L., Liu, Y., Sappington, T.W., Cheng, Y., Luo, L., & Jiang, X. (2017). Population projection and development of the *Mythimna loreyi* (Lepidoptera: Noctuidae) as affected by temperature: application of an age-stage, two-sex life table. *Journal of Economic Entomology*, *110*(4), 1583-1591. https://doi.org/10.1093/jee/tox138
17. SAS Institute. (2012). *SAS Enterprise Guide* ver. 9.3.
18. Sertkaya, E., & Bayram, A. (2005). Parasitoid community of the loreyi leaf worm *Mythimna* (Acantholeucania) *loreyi*: novel host-parasitoid associations and their efficiency in the eastern Mediterranean region of Turkey. *Phytoparasitica*, *33*, 441-449. https://doi.org/10.1007/BF02981393
19. Shabaa, M.H., & Al-Rubaie, A.R.L. (2018). Ecological and biological study of *Leucania loreyi* (Dup.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of University of Babylon for Engineering Sciences*, *26*, 232.
20. Siahpoush, A., Azimi, A., Rabee, R., & Mozaffari, M. (1993). Introduction of three species of *Mythimna* (Lep: n.) at Khuzestan corn fields. Proceedings IX Plant Protection Congress of Iran. 94 p. (In Persian with English abstract)
21. Sokame, B.M., Tonnang, H.E., Subramanian, S., Bruce, A.Y., Dubois, T., Ekesi, S., & Calatayud, P.A. (2021). A system dynamics model for pests and natural enemies interactions. *Scientific Reports*, *11*(1), 1401. https://doi.org/10.1038/s41598-020-79553-y

Journal of Iranian Plant Protection Research
https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 3, 2024, p. 209-226

Identification, Molecular and Phylogenetic Characterization of Two Isolates of vinca mosaic virus Based on *p1* and *cp* Genes

S. Turang[1], M. Mehrvar[2]*, M. Zakiaghl[2]
1 and 2- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
(*- Corresponding Author Email: mehrvar@um.ac.ir)

Received: 24-05-2023 Revised: 15-01-2024 Accepted: 02-06-2024 Available Online:	**How to cite this article:** Turang, S., Mehrvar, M., & Zakiaghl, M. (2024). Identification, molecular and phylogenetic characterization of two isolates of *vinca mosaic virus* based on *p1* and *cp* genes. *Journal of Iranian Plant Protection Research, 38*(3), 209-226. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.82191.1144

Introduction

Vinca minor or lesser periwinkle is a perennial, herbaceous and creeping plant belonging to the genus *Vinca* and the family *Apocynaceae.* In addition to being an ornamental and cover plant, *V. minor* is a valuable herbal plant in traditional medicine, and it also acts as a natural source for the industrial manufacture of brain blood flow stimulants. Periwinkle contains more than 150 alkaloids, which have been isolated from the aerial parts and roots of the plant, so far (Proksa *et al.*,1988), consisting of vincaminorine, vincaminoreine, minovine, minovincine, vincamine, which has antihypoxic and neuroprotective properties as well as modulatory effects on brain circulation and neuronal homeostasis (Farahanikia *et al.*, 2011). Vinca mosaic virus (VMV), belonging to the genus *Potyvirus* and the family *Potyviridae*, causes severe to mild mosaic symptoms, yellowing, blistering and leaf curl in the leaves of the periwinkle plant. In this study, the molecular and phylogenetic characteristics of two isolates of VMV were investigated via analysis of *p1* and *cp* genes.

Materials and Methods

Virus-like symptoms, such as mosaic and mottling, yellowing, blistering and leaf curling were found on the leaves of *V. minor* plants in the pardis campus of Ferdowsi University of Mashhad, Razavi Khorasan, Iran, during a survey in September 2019. Total RNA was extracted from the leaves with the SV Total RNA Isolation Kit to determine the causal agent(s) (Promega, USA). Deep sequencing was carried out on the samples by Macrogen Company in South Korea. Analysis of the results with CLC Genomics Workbench v.12.0.3 software showed that these plants were infected with two isolates of VMV. The *cp* and *p1* gene sequences of VMV isolates were determined. Clustal Omega software was used to compare multiple sequence alignments among sequences and determine the percentage of identities at the nucleotide and amino acid levels. To determine phylogenetic relationships and evolutionary origin of Iranian VMV isolates, phylogenetic tree was drawn based on nucleotide and amino acid sequences of *cp* and *p1* genes using MEGA 7 software and Maximum-Likelihood (ML) method with 1000 replications (Bootstrap). The SDT software (v.1.2) and Muscle sequencing were used to plot the similarity matrix among the isolates at the nucleotide and amino acid levels.

Results and Discussion

The identities between the *cp* gene of two Iranian VMV isolates (VMV-IR-1 and VMV-IR-2) at the nucleotide (nt) and amino acid (aa) levels were 93.11% and 97.00% respectively. For the *p1* gene, the obtained results showed 68.35% identity at the nt level and 97.00% at the aa level. The highest percent of nt identity of the VMV cp with other potyviruses in the GenBank was with ASV1 (asparagus virus 1) (75.00% with VMV-IR-1 and 73.82% with VMV-IR-2) VMV-IR-1 and VMV-IR-2 showed the highest aa identity with VDMV (vanilla distortion mosaic virus) (70.39%). The highest nt and aa identity of *p1* gene of VMV isolates was with CatMV (catharanthus mosaic virus) (52.29% VMV-IR-1 and 51.31% with VMV-IR-2) and ZTMV (zucchini tigre

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.82191.1144

mosaic virus) (28.70%), respectively. Protected motifs were also identified in the *cp* and *p1* gene sequences. Dendrograms obtained from phylogenetic analysis based on nt and aa acid sequences of these genes placed two Iranian VMV isolates, along with other species of potyviruses in the GenBank, viruses in two and three separate groups respectively. Based on *cp* gene sequences, at the aa level Iranian VMV isolates is most closely related to yam mosaic virus (YMV) virus, and at the nt level with the closest viruses are include sweet potato virus 2 (SPV2), sugarcane mosaic virus (SCMV), onion yellow dwarf virus (OYDV) and johnsongrass mosaic virus (JGMV) in the same group. Based on the *p1* gene sequences, VMV isolates at the nt level were most closely related to the JGMV virus and at the aa level were most closely related to the YMV and celery mosaic virus (CeMV) viruses.

Conclusion

In this study, for the first time, the molecular properties of VMV isolates were determined based on the *cp* and *p1* genes, and the phylogenetic position of two Iranian VMV isolates was drown. The results showed that the *cp* gene can be used for taxonomic purposes. Considering the medicinal and ornamental properties of periwinkle and effect of the viruses on its properties, special attention should be paid to viral diseases of this plant.

Keywords: NGS, Phylogenetic analysis, *Potyvirus*, vinca mosaic virus

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

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۲۲۶-۲۰۹

شناسایی و بررسی خصوصیات مولکولی دو جدایه از ویروس موزائیک پیچ تلگرافی (vinca mosaic virus) بر مبنای ژن‌های *p1* و *cp*

ثریا تورنگ[۱]- محسن مهرور[۲*]- محمد زکی‌عقل[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۰۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۳

چکیده

ویروس موزائیک پیچ تلگرافی (*Vinca mosaic virus*, VMV) یک گونه جدید از پوتی‌ویروس‌هاست که به تازگی گزارش شده‌است، این ویروس روی گیاه پیچ تلگرافی نشانه‌های موزائیک شدید تا خفیف، تاولی، پیسک، زردی، چین‌دار شدن و پیچیدگی برگ ایجاد می‌کند. به‌منظور تعیین خصوصیات مولکولی و تبارزایی دو جدایه از ویروس موزائیک پیچ تلگرافی (VMV-IR-1, VMV-IR-2) بر مبنای ژن‌های *cp* و *p1*، ابتدا توالی ژن‌های *p1* و *cp* جدایه‌های موردنظر که با روش توالی‌یابی نسل جدید (Next generation sequencing, NGS) به‌دست آمده‌بودند با توالی سایر پوتی‌ویروس‌های موجود در بانک ژن مقایسه شدند، درصد تشابه میان ژن *cp* دو جدایه ایرانی VMV در سطح نوکلئوتیدی (nt) ۹۳,۱۱ درصد و در سطح آمینواسیدی (aa) ۹۷,۰۰ درصد بود. برای ژن *p1* نتایج نشان‌دهنده درصد تشابه ۶۸,۳۵ در سطح نوکلئوتیدی و ۶۶,۷۸ درصد در سطح آمینواسیدی بود. بیشترین درصد تشابه ژن *cp* جدایه‌های ویروس VMV با سایر پوتی‌ویروس‌های موجود در بانک ژن در سطح نوکلئوتیدی با asparagus virus 1 (ASV1) به میزان ۷۵,۰۰ درصد با VMV-IR-1 و ۷۳,۸۲ درصد با VMV-IR-2 بود و در سطح آمینواسیدی VMV-IR-1 و VMV-IR-2 بیشترین درصد تشابه را با *Vanilla distortion mosaic virus* (VDMV) به میزان ۷۰,۳۹ درصد نشان دادند. بیشترین درصد تشابه ژن *p1* جدایه‌های VMV در سطح نوکلئوتیدی با *Catharanthus mosaic virus* (CatMV) به میزان ۵۲,۲۹ درصد با VMV-IR-1 و ۵۱,۳۱ درصد با VMV-IR-2 بود و در سطح آمینواسیدی VMV-IR-1 و VMV-IR-2 بیشترین درصد تشابه را با zucchini tigre mosaic virus (ZTMV) به میزان ۲۸,۷۰ درصد نشان دادند. همچنین موتیف‌های حفاظت‌شده در توالی ژن‌های *cp* و *p1* مشخص شدند. دندروگرام حاصل از مطالعات تبارزایی بر مبنای توالی‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ژن‌های مورد بررسی دو جدایه ایرانی VMV به همراه گونه‌های دیگر جنس پوتی‌ویروس موجود در بانک ژن، این ویروس‌ها را به‌ترتیب در دو و سه گروه مجزا از هم، طبقه‌بندی کرد. تعیین روابط تکاملی براساس ژن *cp* در سطح آمینواسیدی نشان داد که نزدیک‌ترین ویروس به جدایه‌های VMV، ویروس *Yam mosaic virus* (YMV) بود. درخت تبارزایی رسم‌شده بر اساس ژن *CP* در سطح نوکلئوتیدی، جدایه‌های VMV را با ویروس‌های *Sweet potato virus 2* (SPV2)، (SCMV) *Sugarcane mosaic virus*، *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) و *Johnsongrass mosaic virus* (JGMV) در یک گروه قرار داد. بر اساس توالی ژن *p1* جدایه‌های VMV در سطح نوکلئوتیدی نزدیکترین ارتباط را با ویروس JGMV دارند و در سطح آمینواسیدی با ویروس‌های YMV و *Celery mosaic virus* (CeMV) در یک گروه قرار می‌گیرند. تجزیه و تحلیل تبارزایی براساس ژن‌های *CP* و *P1*، جدایه‌های VMV را در میان اعضای جنس پوتی‌ویروس گروه‌بندی کرد. بنابراین تجزیه و تحلیل بر مبنای این دو ژن قابلیت تفکیک اعضای جنس پوتی‌ویروس را دارد. همینطور خصوصیات ژنومی ژن‌های *CP* و *P1* جدایه‌های VMV مشابه ویژگی‌های این دو ژن در سایر اعضای جنس پوتی‌ویروس است.

واژه‌های کلیدی: پوتی‌ویروس، پیچ‌تلگرافی، تجزیه و تحلیل تبارزایی، توالی‌یابی نسل جدید

---

۱ و ۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: mehrvar@um.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.82191.1144

مقدمه

پروانش صغیر، وینکا یا پیچ تلگرافی (*Vinca minor* L.) گیاهی پایا، علفی و خزنده متعلق به جنس *Vinca* و خانواده خرزهره (Apocynaceae) است. گیاه پروانش علاوه بر اینکه گیاه زینتی و پوششی است دارای خواص دارویی نیز می‌باشد و بیش از ۱۵۰ نوع آلکالوئید از جمله وین‌بلاستین و وین‌کریستین که در شیمی‌درمانی و درمان انواع سرطان و آجمالیسین که برای درمان فشارخون بالا مورد استفاده قرار می‌گیرند در آن شناخته شده است (Ciorita *et al*., 2021). گونه *V. minor* حاوی آلکالوئیدهای ایندول از نوع مونومرهای ابورنامین شامل وینکامین‌ها که دارای اثرات تعدیل‌کنندگی روی جریان خون در مغز و هموستازی سلول‌های عصبی و همچنین آنتی هیپوکسی و توانایی محافظت از نورون هستند می‌باشد (Moudi *et al*., 2013; Thawabteh *et al*., 2019).

جدا از بحث تأثیر ویروس‌ها روی فعالیت‌های عمومی گیاه، با توجه به دارویی بودن گیاه پیچ‌تلگرافی و تأثیر ویروس‌ها بروی میزان تولید آلکالوئیدها و متابولیت‌های ثانویه، بیماری‌های ویروسی روی این گیاه از اهمیت بیشتری برخوردار است. تاکنون بیماری‌های مختلفی روی گیاه پیچ‌تلگرافی گزارش شده‌است (Al-Zahrani *et al*., 2019; El-Dougdoug *et al*., 2007;2017; Duarte *et al*., 2008; Al-Zahrany *et al*., 2019). از ویروس‌های گزارش شده از *Vinca minor* می‌توان ویروس پیچ‌خوردگی برگ پدیلانتوس (*Pedilanthus leaf curl virus*, PLCV) (Saleem Haider *et al*., 2008)، ویروس موزاییک آرابیس (*Arabis mosaic virus*, ArMV) (Fisher, 2013)، ویروس موزاییک بذرزاد نخودفرنگی (*Pea seed-borne mosaic virus*, PsbMV)، ویروس موزائیک خفیف رگه‌ای فلفل (*Pepper veinal mottle virus*, PVMV)، ویروس موزاییک هندوانه (*Watermelon mosaic virus*, WMV) (Brunt *et al*., 1996) و ویروس موزائیک خیار (*Cucumber mosaic virus*, CMV) (Fisher, 2012) را نام برد. ویروس موزائیک پیچ‌تلگرافی (*Vinca mosaic virus*) متعلق به جنس *Potyvirus* و خانواده Potyviridae عامل ایجاد نشانه‌های موزائیک شدید تا خفیف، زردی، تاولی، پیسک، چین‌دار شدن و پیچیدگی در برگ‌های گیاه پیچ‌تلگرافی است که به عنوان یک گونه جدید از جنس *Potyvirus* می‌باشد.

خانواده پوتی‌ویریده (Potyviridae) بزرگترین خانواده در گروه ویروس‌های گیاهی آر ان‌ای دار تک رشته ای مثبت ($ssRNA^+$) می‌باشد که بر اساس نحوه انتقال توسط ناقلین و خصوصیات ژنومی، به ۱۲ جنس و ۲۴۴ گونه تقسیم‌بندی شده‌است. بزرگترین جنس این خانواده جنس *Potyvirus* است (ICTV. 2023. ICTV Master Species List 38 (2022 V1). اعضای این جنس پیکره‌ای به طول ۶۸۰-۹۰۰ نانومتر و قطری حدود ۱۱-۱۳ نانومتر دارند. پوتی‌ویروس‌ها توسط شته به روش ناپایا انتقال می‌یابند و برخی از اعضای آن توسط بذر نیز منتقل می‌شوند (Nigam *et al*., 2019). ژنوم با استراتژی پلی‌پروتئینی و زیرژنومی بیان شده، با استفاده از پروتئازهای خود ویروس، پلی‌پروتئین تولیدی شکسته و پروتئین‌های عملکردی و ساختاری به تعداد ۱۰ عدد تولید می‌شوند که شامل P1, HC-Pro, P3, 6K1, CI, 6K2, VPg , NIa, NIb, CP می‌باشند (Valli *et al*., 2015). پروتئین P1 درای نقش پروتئازی است و در بروز نشانه‌ها، تکثیر ژنوم و تعیین دامنه میزبانی نیز نقش دارد. پروتئین پوششی (CP) در محافظت و تکثیر ژنوم، انتقال با شته، حرکت سیستمیک و سلول به سلول ویروس نقش دارد (Danci *et al*., 2009). معمولا از پروتئین پوششی برای اهداف تاکسونومیکی استفاده می‌شود. بقالیان و همکاران (Baghalian *et al*., 2010) درخت تبارزایی ویروس کوتولگی زرد پیاز(OYDV) را بر اساس پروتئین پوششی (CP) آن رسم کردند. معصومی و همکاران (Masumi *et al*., 2011) با استفاده از ناحیه میانی ترادف نوکلئوتیدی پروتئین پوششی، پوتی‌ویروس‌های غلات در ایران را طبقه‌بندی نمودند. آذرفر و همکاران (Azarfar *et al*., 2012) بر اساس ترادف قسمتی از ژن *cp* تجزیه و تحلیل‌های تبارزایی را برای ویروس موزائیک زرد کدو-(ZYMV) جدایه فارس انجام دادند.

منطقه کدکننده پروتئیناز P1 در بین همه پوتی‌ویروس‌ها، متنوع‌ترین بخش ژنوم بوده، عمدتا غیرحفاظت‌شده است و در سازگاری موفقیت آمیز پوتی‌ویروس‌ها به طیف وسیعی از گونه‌های میزبان نقش دارد (Valli *et al*., 2007).

نسل جدید توالی‌یابی NGS (Next generation sequencing) به‌عنوان یک تحول بزرگ در ابزار ژنومی محسوب می‌شود این روش باعث ایجاد بینشی دقیق و تغییر وسیعی در چشم‌انداز مباحث ژنومیکس (Genomics) شده‌است. عدم نیاز به دانش و اطلاعات قبلی از عوامل بیماری‌زا، ردیابی همزمان چند عامل بیماری‌زا، هزینه کمتر، سرعت بیشتر، اندازه نمونه کمتر و دقت بیشتر از مزایای NGS نسبت به روش‌های سنتی توالی‌یابی هستند (Zhang *et al*., 2011).

در این تحقیق خصوصیات مولکولی و ویژگی‌های تبارزایی دو جدایه از ویروس VMV با استفاده از تجزیه و تحلیل‌مولکولی ژن‌های p_1 و *cp* مورد بررسی قرار گرفته‌است.

A B C D E

شکل ۱- تنوع نشانه‌های مشاهده شده روی برگ‌های گیاه پروانش A: زردی و پیسکی شدید B: موزائیک شدید و پیچیدگی C: موزائیک خفیف D: زردی و چین‌دار شدن E: حالت تاولی و پیچیدگی

Figure 1- Diversity of the symptoms observed on the leaves of the vinca plants A: Severe yellowing and mottling B: Severe mosaic and leaf curling C: Mild mosaic D: yellowing and wrinkling E: blistering and leaf curling

مواد و روش‌ها

نشانه‌های شبه ویروسی مانند موزائیک شدید تا خفیف، زردی، تاولی، پیسک، چین‌دار شدن و پیچیدگی بروی برگ‌های گیاه پیچ‌تلگرافی در محوطه پردیس دانشگاه فردوسی مشهد در بهار و تابستان سال ۱۳۹۸ مشاهده شد (شکل ۱). آران‌ای کل نمونه‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از کیت استخراج آران‌ای کل، شرکت پرومگا آمریکا (Promega, USA) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شده، پس از انجام نانودراپ و تعیین کیفیت، نمونه‌های استخراج‌شده برای تعیین توالی آران‌ای کل (RNA-Seq) به شرکت ماکروژن کره جنوبی (Macrogen Inc., South Korea) ارسال شد. برای تایید نتیجه به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل توالی‌ها با نرم‌افزار CLC، دوباره از گیاهان دارای نشانه‌ها نمونه‌برداری شد و با استفاده از آغازگرهای عمومی NIb (Ha *et al*., 2008) و اختصاصی ویروس VMV بر مبنای ژن *cp* (VMV-CPF: TCGGAGTCCCTTGTCTCTAT, VMV-CPR: AACGAGGCGAGAATACATCC)، نتایج توسط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (Polymerase Chain Reaction- PCR) مورد تأیید قرارگرفت. بدین صورت‌که در ابتدا برای سنتز cDNA ۵ میکرولیتر (µl) از اسیدریبونوکلئیک کل استخراج شده، ۲ میکرولیتر آغازگر برگشت و ۳ میکرولیتر آب مقطر استریل ترکیب و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سلسیوس در دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد سپس ۲ میکرولیتر dNTP (10 mm)، ۴،۵ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۴ میکرولیتر بافر M-MLV RT 5x و نیم میکرولیتر آنزیم نسخه‌برداری معکوس (Reverse Transcriptase-, M-MLV (200 U/µl) متعلق به شرکت تاکارا (Takara, Japan) به‌مدت یک ساعت در دمای ۴۲ درجه سلسیوس سنتز شد. سپس آزمون PCR در حجم ۲۵ میکرولیتری و با استفاده از آغازگرهای رفت و برگشت و مسترمیکس شرکت Ampliqon دانمارک صورت گرفت. جهت انجام این آزمون، ۵ میکرولیتر ازcDNA ساخته‌شده به‌عنوان الگو، ۲ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت (هر یک به غلظت ۱۰ میکرومولار) و ۱۲/۵ میکرولیتر از مخلوط واکنش MasterMix Red-Ampliqon شرکت آمپلیکون دانمارک با هم ترکیب شدند. واکنش ساخت cDNA و PCR در دستگاه ترموسایکلر A & E ساخت کمپانی Techne کشور انگلستان انجام شد.

چرخه دمایی این آزمون برای ژن *nib* شامل: واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس (°C) به‌مدت ۳ دقیقه، ۳۴ چرخه متوالی شامل ۹۴ °C به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۴۵°C به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲°C به‌مدت ۶۰ ثانیه و در آخر، مرحله گسترش نهایی در مدت زمان ۷ دقیقه در دمای ۷۲°C انجام شد. برای ژن *cp* چرخه دمایی شامل: ۹۴ °C به‌مدت ۳ دقیقه، ۳۵ چرخه متوالی شامل ۹۴ °C به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۵۸°C به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ °C به‌مدت ۶۰ ثانیه و در آخر، مرحله گسترش نهایی به‌مدت زمان ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲°C انجام شد.

تمامی محصولات واکنش PCR در ژل آگارز یک درصد رنگ آمیزی شده با گرین ویور (با استفاده از EcoDye DNA Staining Solution-Mxcell) در الکتروفورز از هم جدا شدند. سپس باندهای تکثیری مورد نظر با استفاده از کیت استخراج از ژل Qiagen متعلق به شرکت کیاژن (Qiaquick gel extraction kit, Germany) از روی ژل آگارز خالص‌سازی شدند و جهت تعیین ترادف نوکلئوتیدی به شرکت ماکروژن کره جنوبی ارسال شدند. توالی‌های دریافت‌شده ابتدا در پایگاه اطلاعاتی NCBI با برنامه BLAST با توالی‌های موجود در بانک ژن مقایسه شدند.

تجزیه و تحلیل تبارزایی

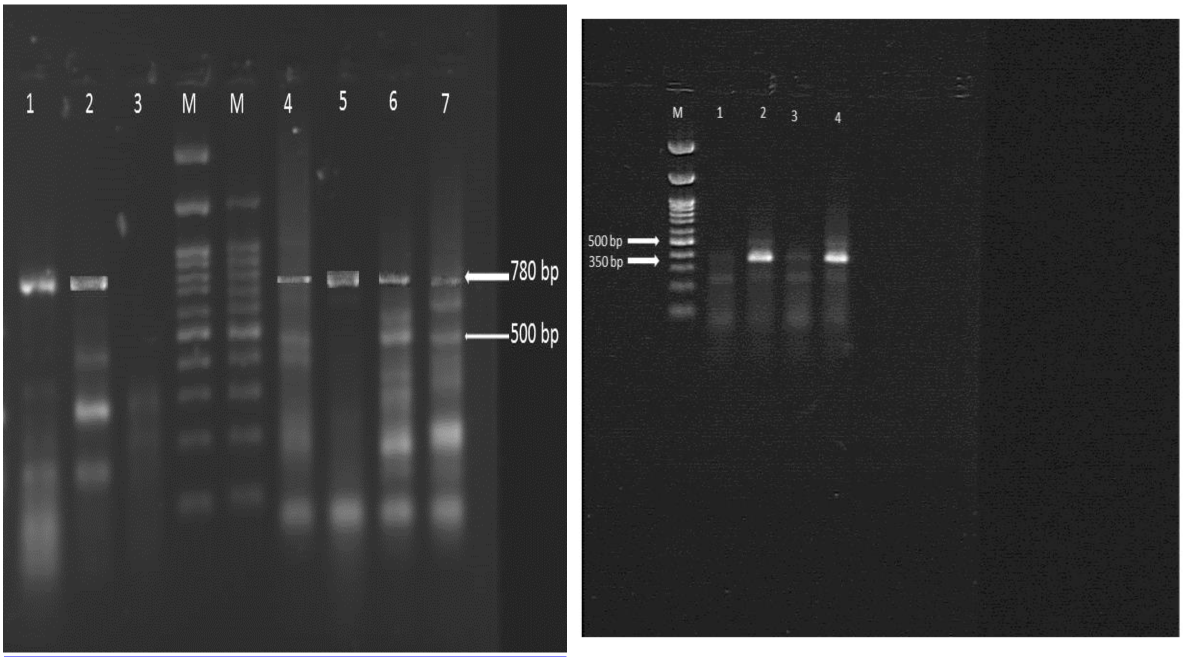
جهت مقایسه هم‌ردیفی چندگانه بین توالی‌ها و تعیین درصد تشابه در سطح نوکلئوتیدی و آمینواسیدی از نرم‌افزار Clustal Omega در EBI استفاده شد. لازم به ذکر است که توالی‌های نوکلئوتیدی در پایگاه داده NCBI قسمت Open Reading Frame Finder, (ORFfinder) به توالی‌های آمینواسیدی ترجمه شدند.

برای تعیین روابط تبارزایی و مشخص شدن منشا تکاملی

جدایه‌های ایرانی، درخت تبارزایی‌براساس ترادف نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ژن های *cp* و *p1* با استفاده از نرم‌افزار MEGA 7 و به روش (ML) Maximum-Likelihood بر اساس ۱۰۰۰ تکرار (Bootstrap) رسم شد. برای ترسیم ماتریس شباهت بین جدایه‌ها در سطح نوکلئوتیدی و آمینواسیدی از نرم‌افزار SDT (v.1.2) و هم‌ردیف‌سازی توالی‌ها به روش Muscle استفاده شد

نتایج

تجزیه و تحلیل نتایج با نرم‌افزار CLC Genomics Workbench v.12.0.3 نشان داد که این گیاهان به دو جدایه از ویروس VMM آلوده هستند. توالی ژن‌های *cp* و *p1* جدایه‌های VMV مشخص شد. تأیید این نتایج با آغازگر عمومی پوتی‌ویروس‌ها مربوط به ژن *Nib* و آغازگر اختصاصی ژن *CP* ویروس VMV در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز نشان‌دهنده تکثیر قطعاتی به طول ۳۵۰ و ۷۸۰ جفت‌باز برای ژن‌های *Nib* و *CP* بود (شکل ۲).



شکل ۲- در سمت راست تصویر الکتروفورز قطعه تکثیر شده (۳۵۰ جفت‌بازی) مربوط به بخشی از ژن *Nib* و در سمت چپ تصویر قطعه تکثیر شده (۷۸۰ جفت‌بازی) مربوط به ژن *CP* ویروس VMV در واکنش RT-PCR

Figure 2- On the right side of the image, electrophoresis of the amplified fragment (350 bp) corresponding to a part of the *NIb* gene (350 bp), on the left side of the image, amplified fragment electrophoresis *CP* gene VMV (780 bp) in the RT-PCR reaction

به‌منظور انجام تجزیه و تحلیل تبارزایی، در ابتدا هم‌ردیف‌سازی چندگانه ترادف‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی میان جدایه‌های ایرانی VMV و برخی از سایر پوتی‌ویروس‌های ثبت شده در بانک ژن از نقاط مختلف جهان صورت گرفت.

درصد تشابه VMV-IR-1 و VMV-IR-2با یکدیگر برای ژن *cp* در سطح نوکلئوتیدی ۹۳٫۱۱ و در سطح آمینواسیدی ۹۷٫۰۰ و برای ژن *p1* درصد تشابه در سطح نوکلئوتیدی ۶۸٫۳۵ و در سطح آمینواسیدی ۹۷٫۰۰ بود. بیشترین و کمترین درصد تشابه ژن‌های *cp* و *p1* VMV-IR-1 و VMV-IR-2 با تعدادی از پوتی‌ویروس‌های موجود در بانک در جدول ۱ آورده شده‌است.

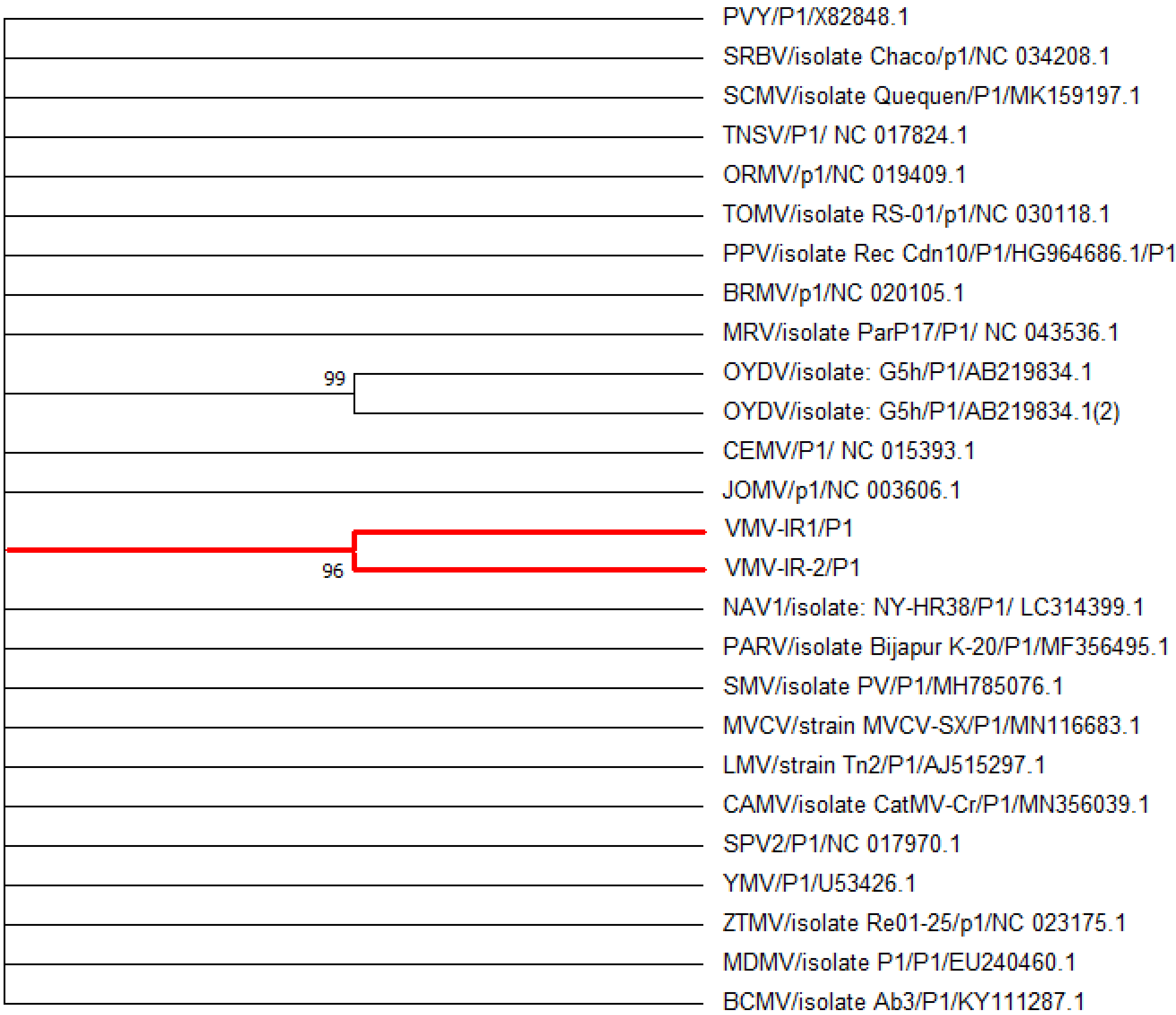
جدول ۱- بیشترین و کمترین درصد تشابه ژن‌های *cp* و *p1* جدایه‌های ایرانی VMV در سطوح نوکلئوتیدی و آمینواسیدی با سایر پوتی‌ویروس‌های موجود در بانک ژن

Table 1- The highest and the lowest percentages similarity of *cp* and *p1* genes of Iranian VMV isolates at nucleotide and amino acid levels with other potyviruses in the GenBank

	CP				P1			
	NT		AA		NT		AA	
	Highest percentages similarity	Lowest percentages similarity	Highest percentages similarity	Lowest percentages similarity	Highest percentages similarity	Lowest percentages similarity	Highest percentages similarity	Lowest percentages similarity
VMV-IR-1	75.00 ASV1 (*Asparagus virus* 1, KC570975)	26.51 MDMV (*Maize dwarf mosaic virus*, AJ416633)	70.39 VDMV (*Vanilla distortion mosaic virus*, YP_009091808)	54.78 MVCV (*Malva vein clearing virus*, YP_009667117)	52.29 CatMV (*Catharanthus mosaic virus*, MN356039)	30.92 LMV (*Lettuce mosaic virus*, AJ515297)	28.70 ZTMV (*Zucchini tigre mosaic virus*, QIM40664)	15.61 JGMV (*Johnsongrass mosaic virus*, ASZ83718)
VMV-IR-2	73.82 ASV1	26.17 MDMV	70.39 VDMV	55.51 MVCV	51.31 CAtMV	35.71 ORMV (*Ornithogalum mosaic virus*, QDC21208)	28.70 ZTMV	15.18 ASV1 (*Asparagus virus 1*. YP_009110712)

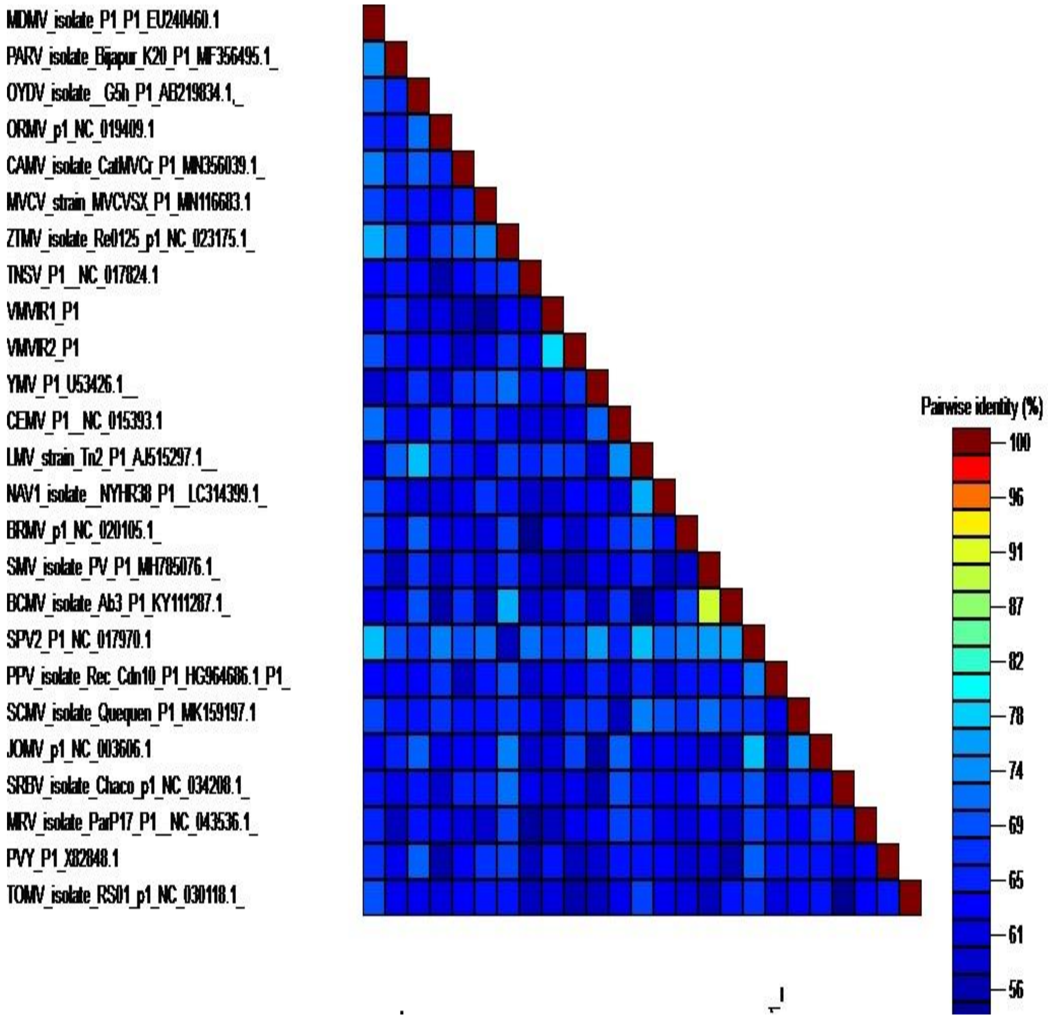
وجود موتیف‌های حفاظت شده مربوط به ژن‌های cp و *p1* پوتی‌ویروس‌ها در ژن‌های این جدایه‌ها بررسی شد. در ناحیه ژنی *P1* موتیف‌های حفاظت شده GDSG ،FIVR و FLSG در هر دو جدایه و موتیف IVFG تنها در جدایه VMV1 پیدا شد. در ژن *CP* موتیف‌های QMKAAAL ،AFDF ،MVWCIENGTSP و DAG پیدا شدند (Aterya *et al*., Dujovny *et al*., 2000; 1990; Chen *et al*., 2020).

جهت تعیین روابط تبارزایی و مشخص نمودن منشا تکاملی آن‌ها، درخت تبارزایی دو جدایه ایرانی VMV به همراه گونه‌های دیگر جنس پوتی‌ویروس موجود در بانک ژن، بر اساس تطابق ترادف نوکلئوتیدی و آمینواسیدی با روش Maximum likelihood با استفاده از نرم‌افزار MEGA 7 و بر اساس 1000 تکرار رسم گردید (شکل‌های ۳، ۷، ۵ و ۹). درآنالیز فیلوژنتیکی بر اساس ترادف نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ناحیه CP پوتی ویروس‌های مورد بررسی به ۲ زیرگروه تقسیم شدند. در سطح آمینواسیدی نزدیک‌ترین ویروس به جدایه‌های VMV، ویروس (*Yam mosaic virus*, YP_022751) YMV که میزان شباهت این ویروس با VMV-IR-1 و VMV-IR-2 به‌ترتیب ۵۹،۸۶ و۶۲،۱۲ است. در سطح نوکلئوتیدی با ویروس‌های SPV2 (*Sweet potato virus* 2, MZ962674) SCMV (*Sugarcane mosaic virus*, KC179704) OYDV (*Onion yellow dwarf* virus، MH890553) و JGMV (*Johnsongrass mosaic virus*, MH341406) در یک گروه قرار می‌گیرند که درصد شباهت این ویروس‌ها با VMV-IR-1 به‌ترتیب ۶۹،۴۹،۷۰،۹۹، ۶۰،۶۰،۴۸،۵۹ و با VMV-IR-2 ۶۹،۷۳، ۶۸،۶۴، ۵۹،۴۸، ۶۲،۰۷ هستند. تجزیه و تحلیل تبارزایی بر اساس ترادف نوکلئوتیدی و آمینواسیدی ژن *p1* ویروس‌های مورد بررسی را به‌ترتیب به ۳ و ۲ زیرگروه تقسیم نمود. ژن *p1* در سطح نوکلئوتیدی نزدیکترین ارتباط را با ویروس JGMV دارد که درصد تشابه آن با این ویروس به‌ترتیب ۴۱،۶۷ و ۳۹،۱۳ درصد است. در سطح آمینواسیدی نزدیکترین ارتباط را با ویروس‌های CeMV(*Celery mosaic virus*, YP_006423973) و YMV دارند که درصد تشابه جدایه‌های ۱ و ۲ VMV با این ویروس‌ها به ترتیب ۲۱،۱۱ و ۲۳،۳ درصد با YMV و ۲۲،۵۷ و۲۶،۰۷ با CeMV است. ماتریکس درصد تشابه میان جدایه‌های ایرانی VMV و سایر پوتی‌ویروس‌های موجود در بانک ژن، با استفاده از نرم‌افزار SDT v.1.2 در سطوح نوکلئوتیدی و آمینواسیدی برای ژن‌های cp و *p1* رسم شدند (شکل‌های ۴، ۶، ۸ و ۱۰).



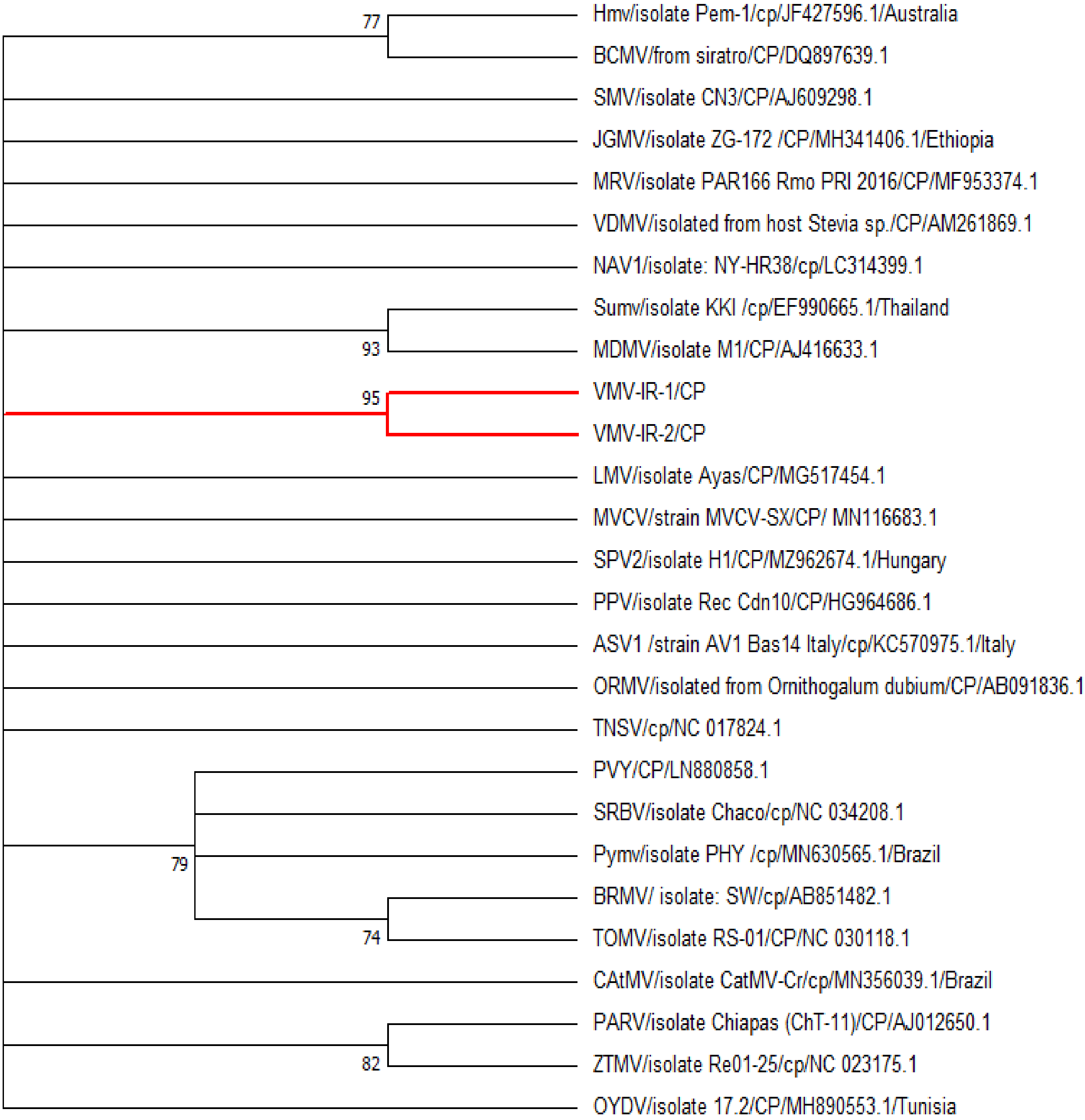
شکل ۳- درخت تبارزایی ترسیم شده با استفاده از روش Maximum-likelihood در نرم‌افزار MEGA 7 حاصل از هم‌ردیف‌سازی چندگانه ترادف نوکلئوتیدی ناحیه ژنی *p1* دو جدایه ایرانی ویروس VMV به همراه توالی ژن *p1* تعدادی از پوتی‌ویروس‌های ثبت شده در بانک جهانی ژن، اعداد نمایانگر درصد Bootstrap بر اساس 1000 تکرار می‌باشند (Bootstrap کمتر از ۷۰ درصد در درخت نمایش داده نشده است).

Figure 3- Maximum-likelihood (ML) phylogenetic tree in MEGA7 software constructed based on multiple *p1* nucleotide sequence alignments of two VMV Iranian isolates with some of the potyviruses available in the Gene Bank. Numbers at each node indicate bootstrap percentages based on 1000 replications.



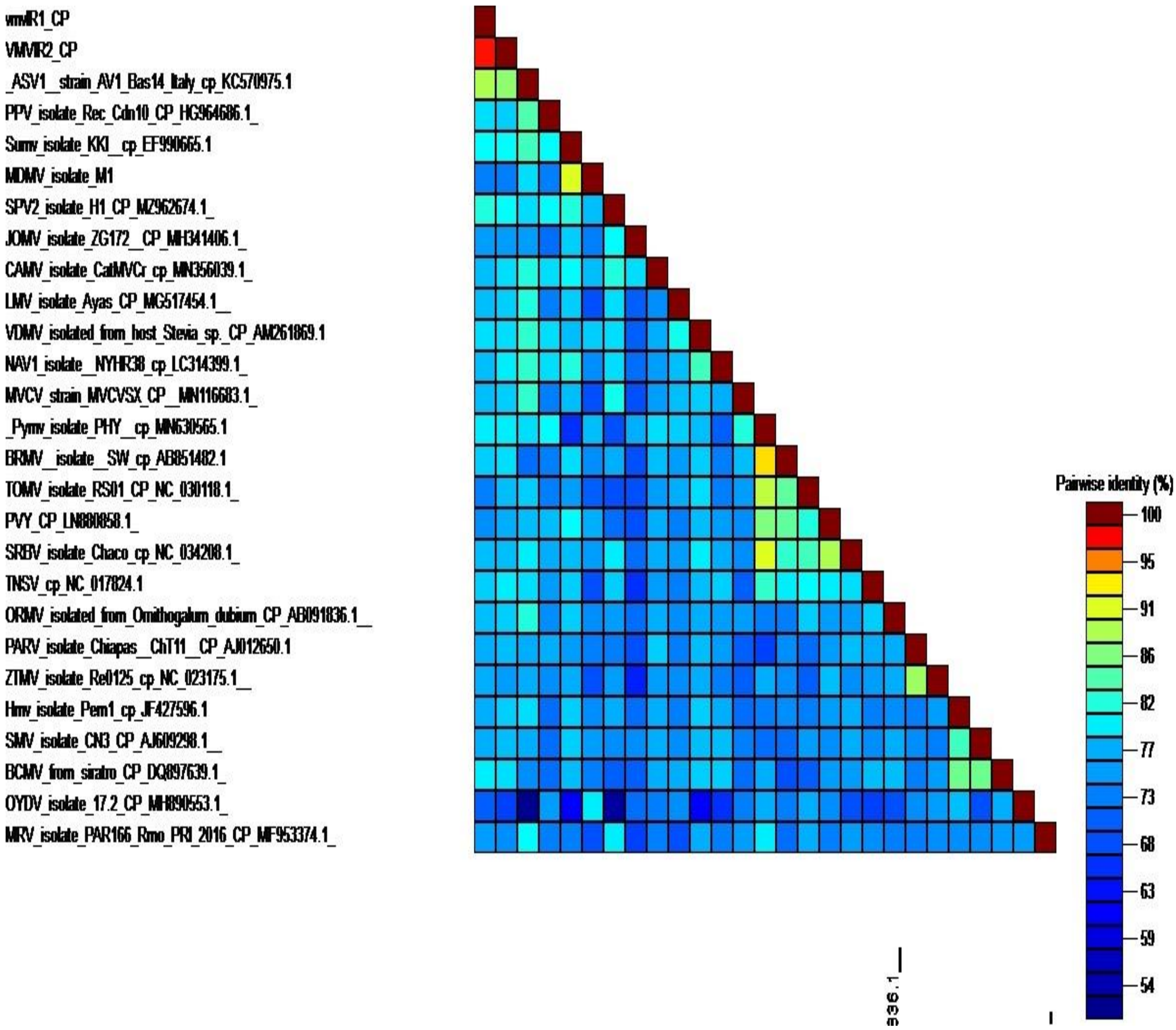
شکل ٤- ماتریکس شباهت در سطح نوکلئوتیدی ژن P1 جدایه‌های VMV و تعدادی از اعضای جنس پوتی‌ویروس با استفاده از نرم‌افزار SDT v.1.2 هم‌ردیف‌سازی توالی‌ها به روش MUSCLE ترسیم شد

Figure 4- The similarity matrix of *p1* nucleotide sequence of VMV isolates with some members of genus potyvirus constructed based on SDT MUSCLE alignment



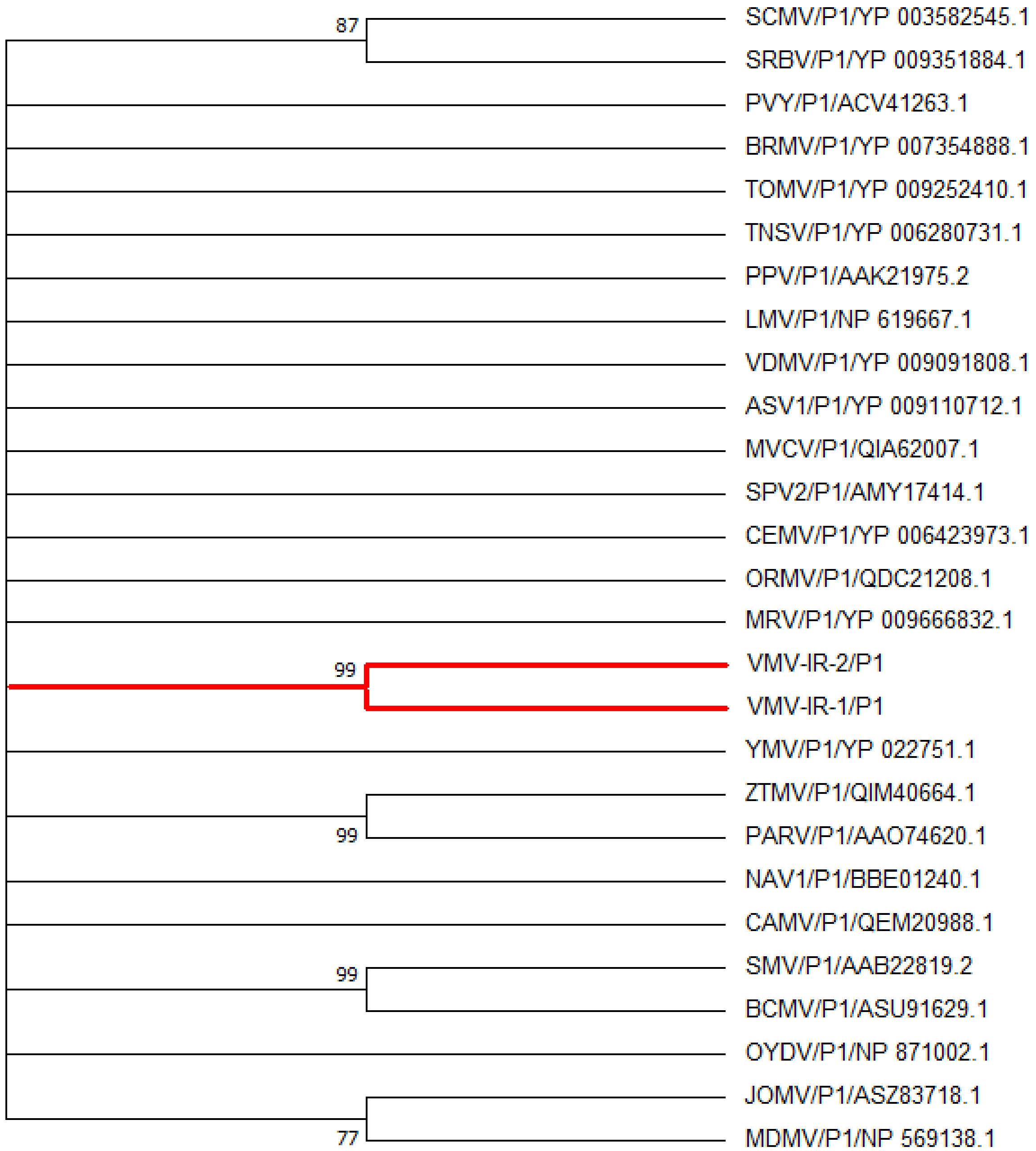
شکل ۵- درخت تبارزایی ترسیم شده با استفاده از روش Maximum-likelihood در نرم‌افزار MEGA 7 حاصل از هم‌ردیف‌سازی چندگانه ترادف نوکلئوتیدی ناحیه ژنی *CP* دو جدایه ایرانی ویروس VMV به همراه توالی ژن CP تعدادی از پوتی‌ویروس‌های ثبت شده در بانک جهانی ژن، اعداد نمایانگر درصد Bootstrap بر اساس 1000 تکرار می‌باشند (Bootstrap کمتر از ۷۰ درصد در درخت نمایش داده نشده است).

Figure 5- Maximum-likelihood (ML) phylogenetic tree in MEGA7 software constructed based on multiple *CP* nucleotide sequence alignments of two VMV Iranian isolates with some of the potyviruses available in the Gene Bank. Numbers at each node indicate bootstrap percentages based on 1000 replications.



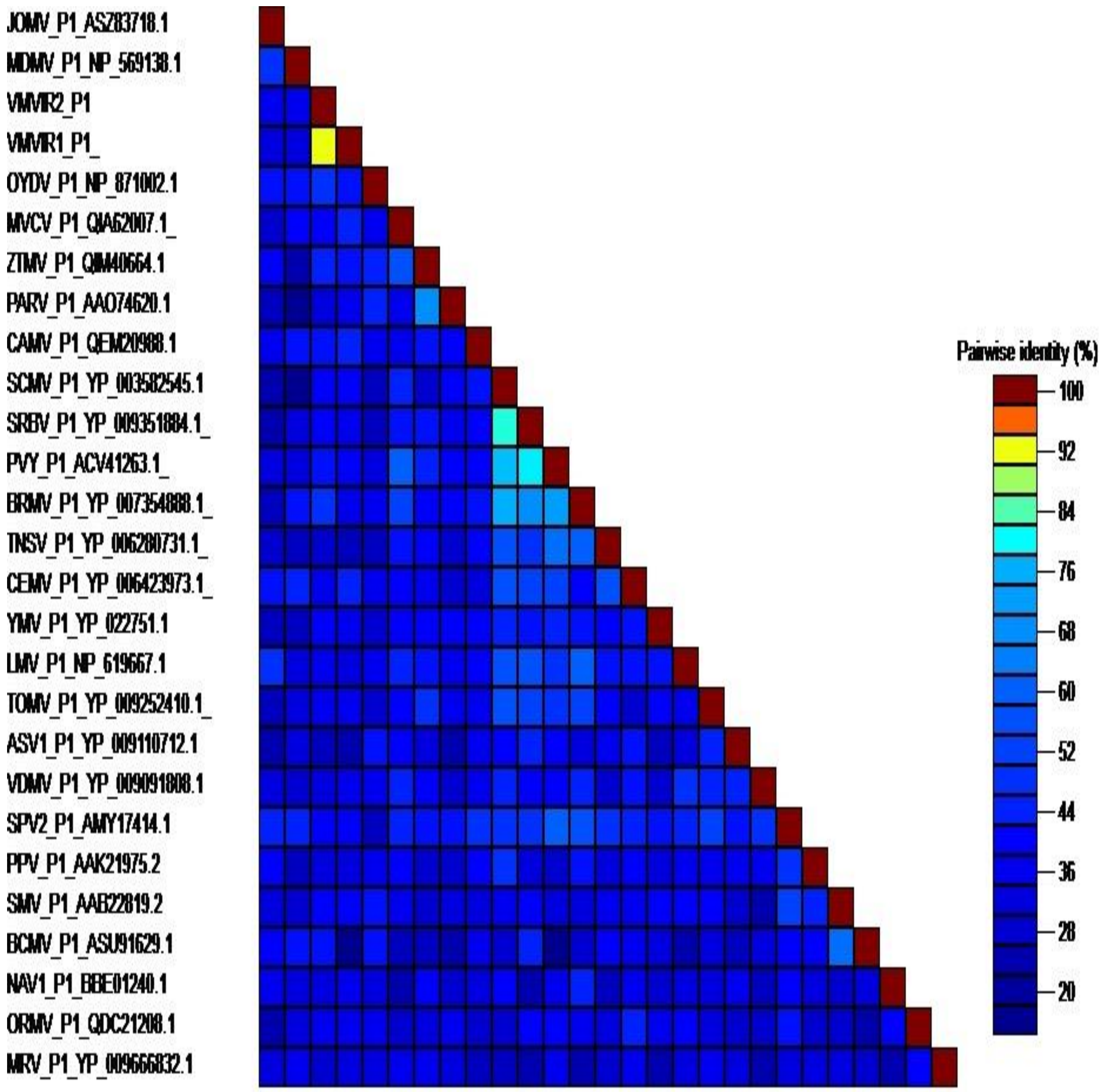
شکل ٦- ماتریکس شباهت در سطح نوکلئوتیدی ژن *CP* جدایه‌های VMV و تعدادی از اعضای جنس پوتی‌ویروس با استفاده از نرم‌افزار SDT v.1.2 هم‌ردیف‌سازی توالی‌ها به روش MUSCLE ترسیم شد

Figure 6- The similarity matrix of *CP* nucleotide sequence of VMV isolates with some members of genus potyvirus constructed based on SDT MUSCLE alignment



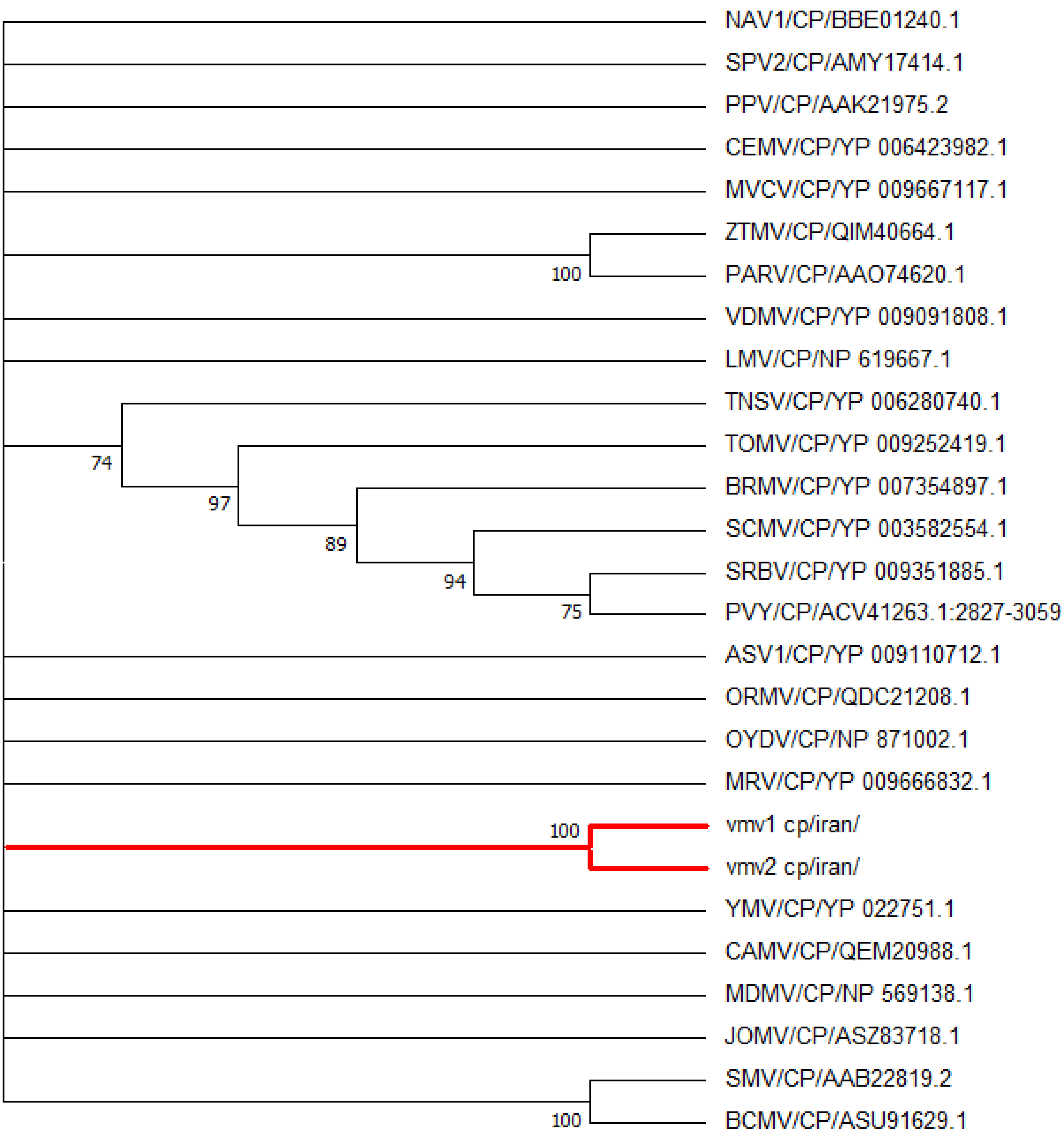
شکل ۷- درخت تبارزایی ترسیم شده با استفاده از روش Maximum-likelihood در نرم‌افزار MEGA 7 حاصل از هم‌ردیف‌سازی چندگانه ترادف آمینواسیدی P1 دو جدایه ایرانی ویروس VMV به همراه توالی آمینواسیدی P1 تعدادی از پوتی‌ویروس‌های ثبت شده در بانک جهانی ژن، اعداد نمایانگر درصد Bootstrap بر اساس 1000 تکرار می‌باشند (Bootstrap کمتر از ۷۰ درصد در درخت نمایش داده نشده است).

Figure 7- Maximum-likelihood (ML) phylogenetic tree in MEGA7 software constructed based on multiple P1 amino acid sequence alignments of two VMV Iranian isolates with some of the potyviruses available in the Gene Bank. Numbers at each node indicate bootstrap percentages based on 1000 replications



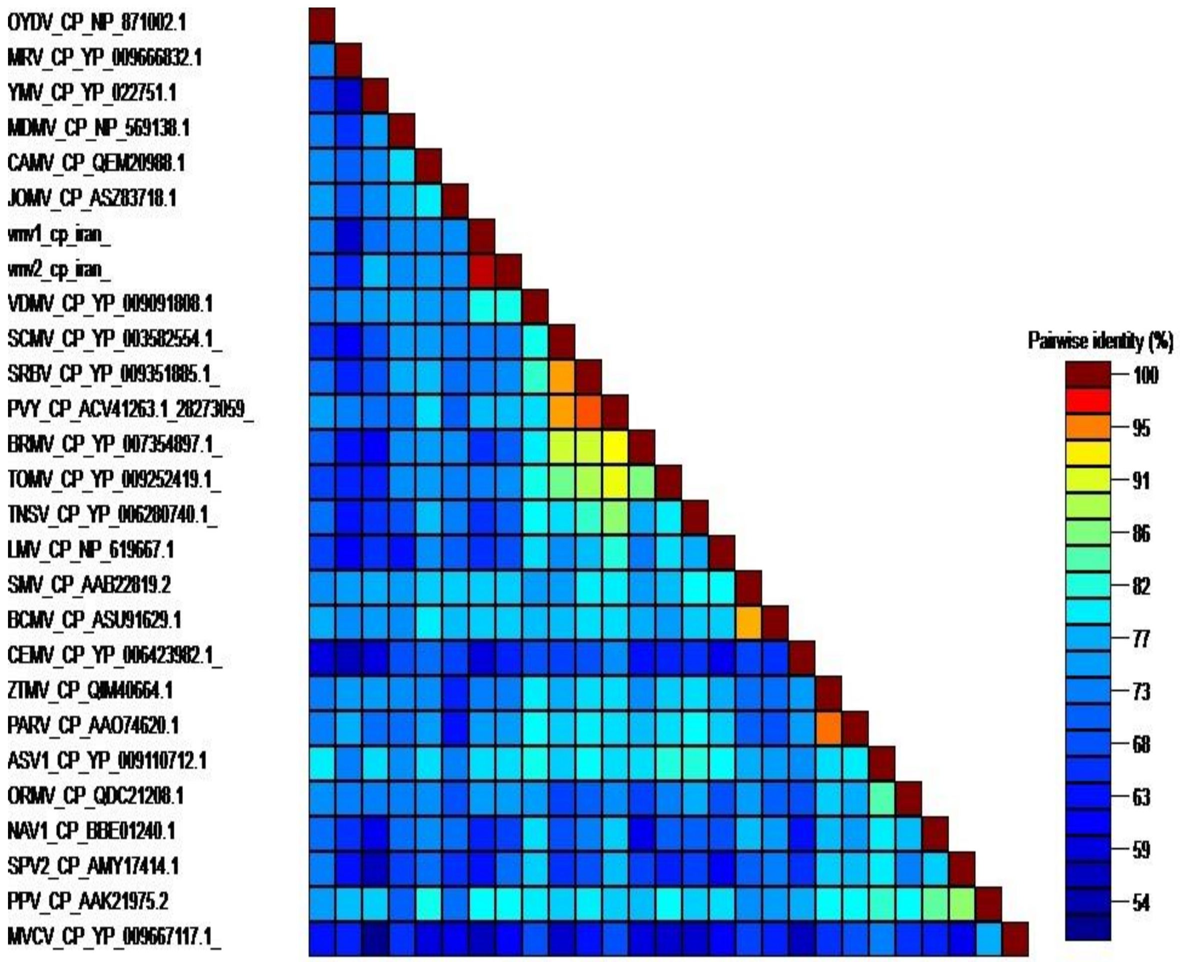
شکل ۸- ماتریکس شباهت در سطح آمینواسیدی P1 جدایه‌های VMV و تعدادی از اعضای جنس پوتی‌ویروس با استفاده از نرم‌افزار SDT v.1.2 هم‌ردیف‌سازی توالی‌ها به روش MUSCLE ترسیم شد

Figure 8- The similarity matrix of P1 amino acid sequence of VMV isolates with some members of genus potyvirus constructed based on SDT MUSCLE alignment



شکل ۹- درخت تبارزایی ترسیم شده با استفاده از روش Maximum-likelihood در نرم‌افزار MEGA 7 حاصل از هم‌ردیف‌سازی چندگانه ترادف آمینواسیدی CP دو جدایه ایرانی ویروس VMV به همراه توالی آمینواسیدی CP تعدادی از پوتی‌ویروس‌های ثبت شده در بانک جهانی ژن، اعداد نمایانگر درصد Bootstrap بر اساس 1000 تکرار می‌باشند (Bootstrap کمتر از ۷۰ درصد در درخت نمایش داده نشده است).

Figure 9- Maximum-likelihood (ML) phylogenetic tree in MEGA7 software constructed based on multiple CP amino acid sequence alignments of two VMV Iranian isolates with some of the potyviruses available in the Gene Bank. Numbers at each node indicate bootstrap percentages based on 1000 replications.



شکل ۱۰- ماتریکس شباهت در سطح آمینواسیدی CP جدایه‌های VMV و تعدادی از اعضای جنس پوتی‌ویروس با استفاده از نرم‌افزار SDT v.1.2 هم‌ردیف‌سازی توالی‌ها به روش MUSCLE ترسیم شد

Figure 10- The similarity matrix of CP amino acid sequence of VMV isolates with some members of genus potyvirus constructed based on SDT MUSCLE alignment

بحث

پروتئین پوششی ویروس‌های گیاهی، پروتئینی با چندین عملکرد است و در تجمع و گردایش ویروس، حرکت موضعی و سیستمیک ویروس و انتقال با شته نقش دارد (Urcuqui-Inchima *et al.*, 2001). توالی پروتئین پوششی به سه ناحیه‌ی N ترمینال، ناحیه مرکزی و ناحیه C ترمینال تقسیم می‌شود که توالی ناحیه N ترمینال تنوع‌پذیری بیشتری دارد. در این ناحیه توالی حفاظت شده DAG (آسپارانین، آلانین، گلیسین) وجود دارد که با HC-Pro برای انتقال با شته واکنش می‌دهد (Hasiow-Jaroszewska *et al.*, 2014) در نتیجه برای انتقال حیاتی است. ناحیه‌ی مرکزی تنوع کمتری نشان می‌دهد، زیرا این ناحیه برای حرکت سلول به سلول ویروس ضروری است و درنتیجه جهش در آن در گسترش ویروس اثر دارد (Urcuqui-Inchima *et al.*, 2001). مقایسه هم‌ردیفی چندگانه ترادف‌های ژن پروتئین پوششی جدایه‌های ویروس VMV با سایر پوتی ویروس‌ها نشان‌داد که قسمت میانی حفاظت‌شده‌ترین بخش پروتئین پوششی جدایه‌های VMV و همینطور گونه‌های مختلف پوتی‌ویروس‌هاست که نتایج پژوهش‌های قبلی روی ژن *cp* پوتی‌ویروس‌ها این نتیجه را تأیید می‌کند (Farahbakhsh *et al.*, 2013). حفاظت‌شدگی بالا در ناحیه مرکزی ژن *cp* نشان‌دهنده اهمیت این ناحیه در ساختار و هم آرایش ملکول‌های CP است (Shukla & Ward, 1989)، در حالی‌که تنوع در ناحیه N-terminal نشان‌دهنده نقش این ناحیه در برهمکنش ویروس–ناقل و میزبان است (Reichmann *et al.*, 1992)، با توجه به این موضوع در ابتدا پیش‌بینی می‌شد دو جدایه VMV از نظر صفات بیولوژیک و برهمکنش ویروس–میزبان مانند انتقال با شته و یا دامنه میزبانی با

یکدیگر تفاوت داشته باشند ولی از آنجایی‌که در سطح آمینواسیدی تفاوت دو جدایه اندک است بنظر می‌رسد تغییرات نوکلئوتیدی نقش کمکی و جزئی‌تری در تغییر وظائف پروتئین پوششی داشته باشد. وجود موتیف DAG در هر دو جدایه این ویروس نشان‌دهنده احتمال انتقال آنها با شته در طبیعت می‌باشد. از جمله پروتئازهای ویروسی پروتئین P1 است که یک سرین پروتئاز ویروسی است که پلی‌پروتئین را در انتهای کربوکسیلی خود و پروتئین بعدی برش می‌دهد. دامنه پپتیداز شبه‌سرین در ناحیه کدکننده P1 در قسمت C ترمینال و بسیار حفاظت شده برای تمام پپتیدازهای سرین، مربوط به فعالیت پروتئولیتیک و حاوی موتیف Gly-Xaa-Ser-Gly وجود دارد (Adams *et al.*, 2005). موتیف دامنه پروتئولیتیک 244GDSG (Gly-Asp-Ser-Gly) 247 در ژنوم VMV وجود دارد که به‌عنوان محل فعالیت یک پروتاز سرین (مسئول فعالیت خودبرشی P1) در نظر گرفته می‌شود که در پایین دست پروتئین را در محل F (یا Y) می‌شکافد. محل برش P1 بین (y) Tyr و Ser(S) است (Verchot *et al.*, 1992). با توجه به اینکه ژن *p1* غیرحفاظت‌شده‌ترین بخش ژنی پوتی‌ویروس‌هاست موتیف‌های حفاظت شده این قسمت از ژنوم، محل انجام فعالیت‌های حیاتی این ژن از قبیل فعال‌شدن پروتئاز سرین برش‌دهنده پروتئین‌های پایین‌دستی و همینطور مسئول تعاملات پروتئین P1 با سایر پروتئین‌های ویروسی و یا گیاه میزبان هستند (Chen *et al.*, 2003; Rohozkova & Navratil, 2011 ; Valli *et al.*, 2007). در پوتی‌ویروس‌ها p1 در تنظیم و تعدیل تکثیر و پاسخ‌های دفاعی میزبان دخالت دارد (Verma *et al.*, 2015). مشاهده بالاترین میزان تنوع در ناحیه ژنی *p1* با نتایج به‌دست آمده از مطالعه سایر محققین برروی گونه‌های دیگر پوتی‌ویروس مطابقت دارد (Ohshima *et al.*, 2007 ؛ Lecoq *et al.*, 2009؛ Verma *et al.*, 2015).

دندروگرام رسم شده بر مبنای توالی‌های آمینواسیدی و نوکلئوتیدی ژن‌های *CP* و *P1* جدایه‌های VMV را درمیان اعضای جنس پوتی‌ویروس گروه‌بندی کرد. درخت تبارزایی رسم‌شده براساس توالی نوکلئوتیدی ژن *CP* نشان می‌دهد که جدایه‌های VMV نزدیکترین ارتباط را با SPV2 دارد و با توجه به اینکه این جدایه SPV2 از کشور مجارستان است و گیاه وینکا بومی اروپا است و از اروپا وارد ایران شده است احتمالا جد این دوتا ویروس یکی است. همینطور جدایه‌های VMV با ویروس‌های OYDV، JGMV، SCMV و SPV2 در یک زیرگروه قرار می‌گیرند.

ویروس‌هایی که بیشترین درصد شباهت را با جدایه‌های VMV دارد در گروه‌های تبارزایی مجزایی قرار گرفتند، بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که ارتباطی بین روابط تبارزایی با درصد تشابه توالی این ویروس‌ها وجود ندارد. نتیجه پژوهش آذرفر و همکاران (Azarfar *et al.*, 2012) روی پوتی‌ویروس ZYMV نیز نشان داد که روابط تبارزایی با درصد تشابه توالی‌ها هم‌خوانی ندارد. در درخت‌های حاصل از مطالعات تبارزایی بر اساس ترادف‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی مشاهده‌شده جدایه‌های ایرانی VMV از سایر گونه‌های جنس پوتی ویروس تفکیک شدند. بنابراین آغازگر طراحی شده قابلیت تفکیک جدایه‌های VMV از گونه‌های دیگر موجود در آن جنس را داراست.

برای ژن *p1* بالاترین درصد تشابه نوکلئوتیدی VMV-IR-1 وVMV-IR-2 با ویروس‌های مورد بررسی، ۵۲،۲۹ و ۵۱،۳۱ با ویروس CatMV است. با توجه به متفاوت و متغیر بودن ژن *p1* رنگ‌بندی نسبتا یکنواخت ماتریکس درصد تشابه قابل پیش‌بینی و قابل پذیرش است.

در این پژوهش برای اولین بار خصوصیات مولکولی جدایه‌های VMV بر پایه ژن‌های *cp* و *p1* تعیین شد و جایگاه تبارزایی دو جدایه ایرانی VMV در بین پوتی‌ویروس‌های موجود در بانک ژنی مشخص شد.

با توجه به اهمیت پوتی‌ویروس‌ها به‌عنوان بزرگترین و مهمترین جنس در خانواده پوتی‌ویریده و همینطور اهمیت گیاه پیچ تلگرافی از جنبه دارویی و زینتی بودن گیاه، تأثیر ویروس‌ها روی میزان متابولیت‌های ثانویه و همینطور تکثیر رویشی این گیاه که امکان انتقال و پراکنش بیماری‌های ویروسی به نسل بعد و گیاهان در نقاط جدید را فراهم می‌کند، لذا باید به بیماری‌های ویروسی روی این گیاه توجه ویژه داشت و ضمن بررسی و تعیین ویروس‌های غالب، تنوع ژنتیکی این ویروس‌ها، شناسایی ناقلین، از برنامه کنترلی کارآمد برای کنترل و کاهش بیماری‌های ویروسی از قبیل استفاده از پایه مادری سالم و کنترل ناقلین و سایر روش‌ها استفاده نمود.

References

1. Adams, M. J., Antoniew, J. E., & Fauquet, C. M. (2005). Molecular criteria for genus and species discrimination within the family *Potyviridae*. *Archives of Virology*, *150*, 459-479. https://doi.org/10.1007/s00705-004-0440-6
2. Al-Zahrani, H. S. M., Elbeshehy, E. K. F., Aldhebiani, A.Y., & Elbeaino, T. (2017). Effect of *Cucumber mosaic virus* (CMV) infection on antineoplastic alkaloids from periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) cultured in the Mecca region and resistance induction by plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *32*(1), 49-57. https://doi.org/10.1080/13102818.2019.1669490

3. Al-Zahrany, H. M., Elbeshehy, E. K. F., Aldhebiani, A.Y., Almaghrabi, O., Al-Jaddawi, A.A., & Alzahrani, A.H. (2019). Effect of *Catharanthus mosaic virus* (CatMV) on antineoplastic alkaloids from periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) cultured in Mecca region and resistance induction by plant growth-promoting rhizobacteria. *Biotechnology & Biotechnological Equipment, 33*(1), 1392-1401. https://doi.org/10.1007/s40858-020-00346-9
4. Atreya, C. D., Raccah, B., & Pirone, T. P. (1990). A point mutation in the coat protein abolishes aphid transmissibility of a potyvirus. *Virology, 178*(1), 161-165. https://doi.org/10.1016/0042-6822(90)90389-9
5. Azarfar, A., Izadpanah, K., Afsharifar, A., & Masumi, M. (2012). Purification and the complete genome sequence of *Zucchini yellow mosaic virus*- Fars isolate. *Iranian Journal of Plant Pathology, 48*(3), 403-409. (In Persian with English abstract)
6. Baghalian, K., Kim, O. K., & Natzuaki, K. T. (2010). Molecular variability and genetic structure of the population of *Onion yellow dwarf virus* infecting garlic in Iran. *Virus Genes, 41*(2), 282-291. https://doi.org/10.1007/s11262-010-0514-3
7. Berger, P. H. (2001). Potyviridae. In: *Encyclopedia of Life Sciences*. https://doi.org/10.1038/npg.els.0000755
8. Brunt, A. A., Crabtree, K., Dallwitz, M. J., Gibbs, A. J., Watson, L., & Surcher, E. J. (1996). *Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database*.
9. Chen, J., Adams, M. J., Zheng, H.Y., & Chen, J.P. (2003). Sequence analysis demonstrates that *Onion yellow dwarf virus* isolates from China contain a P3 region much larger than other potyviruses. *Archives of Virology, 148*(6), 1165-1173. https://doi.org/10.1007/s00705-003-0020-1
10. Chen, Z., Anane, R. F., Wang, Z., Yang, L., Chen, L., Wen, G., & Zhao, M. (2020). Complete genome sequence of a novel potyvirus isolated from *Polygonatum kingianum*. *Archives of Virology*, *165*(9), 2127-2131. https://doi.org/10.1007/s00705-020-04717-0.
11. Ciorita, A., Zagrean-Tuza, C., Mot, A. C., Carpa, R., & Parvu, M. (2021). The phytochemical analysis of *Vinca* L. species leaf extracts is correlated with the antioxidant, antibacterial, and antitumor effects. *Molecules, 26*(10), 3040. https://doi.org/10.3390/molecules26103040
12. Danci, O., Ziegler, A., Torrance, L., Gasemi, S., & Danci, M. (2009). Potyviridae family- short review. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology, 13*, 410-420.
13. Duarte, L. M. L., Salatino, M. L. F., Salatino, A., Negri, G., & Barradas, M. M. (2008). Effect of Potato virus X on total phenol and alkaloid contents in *Datura stramonium* leaves. *Summa Phytopathologica*, *34*(1), 65-67. https://doi.org/10.1590/s0100-54052008000100013
14. Dujovny, G., Sasaya, T., Koganesawa, H., Usugi, T., Shohara, K., & Lenardon, S.L. (2000). Molecular characterization of a new potyvirus infecting sunflower. *Archives of Virology, 145*(11), 2249-2258. https://doi.org/10.1007/s007050070018
15. El-Dougdoug, K., Mohamed, H., & Abo-Senna, A. (2007). Effect of PVY viral infection on alkaloid contents of cultivated medicinal plants. *Journal of Applied Sciences Research*, 558-563. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:128357263
16. Farah Bakhsh, F., Maesomi, M., Afshari Far, A., & Izadpanah, K.L. (2013). Genetic variation of *Bermuda grass southern mosaic virus* isolates based on sequence of 3' region of genome. *Iranian Journal of Plant Pathology, 49*(1), 61-75. (In Persian with English abstract)
17. Farahanikia, B., Akbarzadeh, T., Jahangirzadeh, A., Yassa, N., Shams Ardekani, M.R., Mirnezami, T., Hadjiakhoondi, A., & Khanavi, M. (2011). Phytochemical investigation of *Vinca minor* cultivated in Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 10*(4), 777-785. https://doi.org/10.22037/ijpr.2011.992
18. Fisher, J.R. (2012). Identification of three distinct classes of Satellite RNAs associated with two *Cucumber mosaic virus* Serotypes from the ornamental groundcover *Vinca minor*. *Plant Health Progress, 13*(1). https://doi.org/10.1094/php-2012-0412-01-rs
19. Fisher, J.R. (2013). First report of *Arabis mosaic virus* infecting *Vinca minor* in Ohio. *Plant Health Progress, 14*(1). https://doi.org/10.1094/php-2013-0901-02-br
20. Ha, C., Coombs, S., Revill, P.A., Harding, R. M., Vu, M., & Dale, J. L. (2008). Design and application of two novel degenerate primer pairs for the detection and complete genomic characterization of potyviruses. *Archives of Virology*, *153*(1), 25-36. https://doi.org/10.1007/s00705-007-1053-7
21. Lecoq, H. C., Wipf-Scheibel, C., Chandeysson, A., Lê Van, F., & Fabre, C. (2008). Desbiez, Molecular epidemiology of *Zucchini yellow mosaic virus* in France: An historical overview, *Virus Research*, *141*(2), 190-200. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2008.11.020
22. Hasiow-Jaroszewska, B., Fares, M., & Elena, S. (2014). Molecular evolution of viral multifunctional proteins: the case of Potyvirus HCPro. *Journal of Molecular Evolution*, 78(1), 75–86. https://doi.org/10.1007/s00239-013-9601-0
23. Masumi, M., Zare, A., & Izadpanah, K. (2011). Biological, serological and molecular comparisons of potyviruses infecting poaceous plants in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, *47*(1), 47-66. (In Persian with English abstract)

24. Moudi, M., Go, R., Yien, C. Y., & Nazre, M. (2013). Vinca alkaloids. *International Journal of Preventive Medicine*, *4*(11), 1231-1235.
25. Nigam, D., LaTourrette, K., Souza, P. F. N., & Garcia-Ruiz, H. (2019). Genome-wide variation in *Potyviruses*. *Frontiers in Plant Science, 10*, 1439. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01439
26. Ohshima, K., Tomitaka, Y., Wood, J., Minematsu, Y., Kajiyama, H., Tomimura, K., & Gibbs, A. (2007). Patterns of recombination in *Turnip mosaic virus* genomic sequences indicate hotspots of recombination. *The Journal of General Virology*, *88*, 298-315. https://doi.org/10.1099/vir.0.82335-0
27. Reichmann, E., Schwarz, H., Deiner, E. M., Leitner, I., Eilers, M., Berger, J., Busslinger, M., & Beug, H. (1992). Activation of an inducible c-FosER fusion protein causes loss of epithelial polarity and triggers epithelial-fibroblastoid cell conversion. *Cell*, *71*(7), 1103-1116. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(05)80060-1
28. Rohozkova, J., & Navratil, M. (2011). P1 peptidase - a mysterious protein of family Potyviridae. *Journal of Biosciences*, *36*(1), 189–200. https://doi.org/10.1007/s12038-011-9020-6
29. Saleem Haider, M. S., Tahir, M., Saeed, A., Ahmed, S., Parveen, R., & Rashid, N. (2008). First report of a begomovirus infecting the ornamental plant *Vinca minor* L. *Australasian Plant Disease Notes*, *3*(1), 150. https://doi.org/10.1071/dn08058
30. Shukla, D. D., & Ward, C.W. (1989). Structure of potyvirus coat proteins and its application in the taxonomy of the potyvirus group. *Advances in Virus Research*, *36*, 273-314. https://doi.org/10.1016/s0065-3527(08)60588-6
31. Thawabteh, A., Juma, S., Bader, M., Karaman, D., Scrano, L., Bufo, S. A., & Karaman, R. (2019). The biological activity of natural alkaloids against herbivores, cancerous cells and pathogens. *Toxins (Basel)*, *11*(11), 656. https://doi.org/10.3390/toxins11110656
32. Urcuqui-Inchima, S., Haenni, A. L., & Bernardi F. (2001). Potyvirus proteins: a wealth of functions. *Virus Research*, *74*, 157–175. https://doi.org/10.1016/s0168-1702(01)00220-9
33. Valli, A., Lopez-Moya, J. J., & Garcia, J.A. (2007). Recombination and gene duplication in the evolutionary diversification of P1 proteins in the family Potyviridae. *Journal of General Virology*, *88*(Pt 3), 1016-1028. https://doi.org/10.1099/vir.0.82402-0
34. Valli, A., García, J. A., & López-Moya, J. J. (2015). Potyviridae. In *eLS* (pp. 1-10): Wiley.
35. Verchot, J. M., Herndon, K. L., & Carrington, J. C. (1992). Mutational analysis of the Tobacco Etch Potyviral 35-kDa proteinase:Identification of essential residues and requirements for autoproteolysis. *Virology*, 190, 298–306. https://doi.org/10.1016/0042-6822(92)91216-h
36. Verma, R. K., Mishra, R., & Petrov, N. M. (2015). Molecular characterization and recombination analysis of an Indian isolate of *Onion yellow dwarf virus*. *European Journal of Plant Pathology, 143*, 437–445. https://doi.org/10.1007/s10658-015-0695-7
37. Walker, P. J., Siddell, S. G., Lefkowitz, E. J., Mushegian, A. R., Adriaenssens, E. M., Alfenas-Zerbini, P., Davison, A. J., Dempsey, D. M., Dutilh, B. E., Garcia, M. L., Harrach, B., Harrison, R. L., Hendrickson, R. C., Junglen, S., Knowles, N. J., Krupovic, M., Kuhn, J. H., Lambert, A. J., Lobocka, M., Nibert, M. L., Oksanen, H.M., Orton, R. J., Robertson, D. L., Rubino, L., Sabanadzovic, S., Simmonds, P., Smith, D. B., Suzuki, N., Van Dooerslaer, K., Vandamme, A. M., Varsani, A., & Zerbini, F. M. (2021). Changes to virus taxonomy and to the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2021). *Archives of Virology*, *166*(9), 2633-2648. https://doi.org/10.1007/s00705-021-05156-1
38. Zhang, J., Chiodini, R., Badr, A., & Zhang, G. (2011). The impact of next-generation sequencing on genomics. *Journal of Genetics and Genomics*, *38*(3), 95-109. https://doi.org/10.1016/j.jgg.2011.02.003

Journal of Iranian Plant Protection Research
https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 3, 2024, p. 227-240

Application of the Toxin Produced by Esca-Associated Fungi as a Bioassay Method for Screening Grapevine Cultivars

Mahmoud Reza Karimi Shahri [1*]
1- Department of Plant Protection, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran.
(*- Corresponding Author Email: karimi_in@yahoo.com)

Received: 12-11-2023
Revised: 19-06-2024
Accepted: 24-06-2024
Available Online:28-12-2024

How to cite this article:
Karimi Shahri, M.R. (2024). Application of toxin produced by Esca-associated fungi as a bioassay method for screening grapevine cultivars. *Journal of Iranian Plant Protection Research, 38*(3), 227-240. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85310.1165

Introduction

Esca of grapevine (*Vitis vinifera*) is an important complex disease in almost all areas, where grapevines are grown. The symptoms of this disease may affect the trunk, branches, shoots (brown wood-streaking and white rot of trunk), leaves (light green or chlorotic, irregular areas between the veins or along the leaf margin, which gradually spread from the basal to the distal parts of the shoot) and fruit (tiny brown spots and sometimes wilt of berries). Toxins are secondary metabolites, which are important virulence factors of phytopathogenic fungi. *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), and *Fomitiporia mediterranea* (Fme) produced two pentaketides (scytalone and isosclerone), and the α-glucan named pullulan. Several evidences indicated that at least some of these metabolites may induce the characteristic symptoms of diseases. The main objective of this research was to establish a clear efficient and cheap method using callus and extracted toxic metabolites in order to select susceptible, tolerant, or resistant commercial grapevine cultivars to the esca disease.

Materials and Methods

Esca-associated fungi were obtained from the Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Khorasan Razavi province, Iran. Five mL of a suspension of three mentioned fungi (10-day-old) in 50 ml sterile water were added to 1 L flask containing 150 mL Czapek Dox medium amended with 0.1% yeast and 0.1% malt extract. They were incubated at 25˚C for 28 days in the dark. The mycelia were removed by filtration using Filter membranes, nitrocellulose 0.22 µm. The toxic secondary metabolites were extracted from this suspension. Briefly, the culture filtrates from each fungus (2 L per strain) were treated with equal volumes of cold ethanol-acetone and incubated in an ice batch for 4 to 6 hours. The resulting precipitates were extracted by centrifugation at 3000 rpm for 10 seconds. Recrystallization was done by dissolving the polymer in hot water and adding the same volume of ethanol to it, and the formed precipitate was filtered through a Whatman filter, dried at 40°C and weighed. The toxic metabolite obtained from liquid cultures of each fungal species was assayed on detached leaves of 5 grapevine commercial cultivars of Khorasan Razavi province, including Torkaman8(TU8), Kolahdari(KOL), Torkaman6(TU6), Fakhri Shahrood(FSH), and Keshmeshi-Quchan(KQU). The leaves with their petioles were immersed in a 3 mL solution until complete absorption, which usually took a few hours, and then were transferred to

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85310.1165

distilled water. Callus of the five grapevine cultivars, micro propagated shoot cultures were cultivated on modified MS media containing 15, 30, and 45% toxic metabolites. The grown callus was inoculated with different concentrations of toxic metabolites, then dry weight of callus and vital cells were measured visually, as well as spectrophotometrically, by using Triphenyl Tetrazolium Chloride (TTC).

Results and Discussion

The Pal, Pch, and Fme fungi were all able to produce toxic secondary metabolites, but an isolate of the Pal fungus obtained from Memlejeh (a village in the Central District of Bojnord County, North Khorasan Province, Iran.) produced a large amount of pullulan. The symptoms produced on the detached leaves that absorbed a toxic solution were quite similar to those observed on the leaves of the same cultivars naturally infected by the same fungal species. Differences between cultivars in symptom severity were also observed under experimental conditions. The results showed that reduction of the callus dry weight in TU8 grapevine cultivar was the lowest (26%) compared to the other cultivars tested, followed by KOL (31%) and TU6 (40%) cultivars. The KQU and FSH cultivars showed the highest reduction in callus dry weight (48% and 44%, respectively). The effect of pullulan produced by three important esca-associated fungi indicated that the toxin produced by the Fme fungus had the least effect and the Pal fungus showed the greatest effect in reducing dry weight of the callus. Dry weight of the callus in 15% concentration of the toxic metabolite showed the least decrease and maximum decrease of the callus weight was obtained in 45% concentration. Among the cultivars tested, the callus cells of Torkaman 8 had the highest optical density, which means the number of living cells was more than other cultivars. The KQU cultivar with minimal live callus cells showed more sensitivity to the metabolite. Toxin of the Fme fungus had the least and that of the Pal fungus had the most effect on the callus cells. The percentage of survival rate in the inoculated callus cells of Torkaman 8 compared to the KQU cultivar at 45% concentration of the extract was about 50.36% and the survival rate in the KQU cultivar was about 15.51%. Also, the obtained results showed that the grapevine cultivar TU8 was comparatively more tolerant than other cultivars tested. On the other hand, the FSH and KQU cultivars were susceptible to secondary metabolite of the mentioned fungi.

Conclusions

Occurrence of the esca diseases is increasing in grapevine all over the world, whereas efficient therapeutic strategies are lacking. The use of toxic metabolites of esca-associated fungi and tissue culture of the host plants under *in vitro* conditions could be cheap,easy, and helpful assays for controlling the disease via selection, improvement, and reproduction of the tolerant genotypes. According to the reaction of grapevine cultivars to the secondary metaboilte of esca-associated fungi, it can be concluded that the TU8 grapevine cultivar is less sensitive than the KQU grapevine cultivar against the esca disease.

Keywords: Callus, Grapevine decline, Secondary metabolite

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۲۴۰-۲۲۷

استفاده از توکسین تولیدی قارچ‌های مولد اسکای مو به‌عنوان روش زیست‌سنجی برای غربالگری ارقام انگور

محمود رضا کریمی شهری[۱*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۰۴

چکیده

بیماری اسکای مو یک بیماری کمپلکس و پیچیده است که علایم ایجاد شده تحت تأثیر فاکتورهای محیطی و عوامل پاتوژنیکی متفاوتی می‌باشد. اغلب عوامل پاتوژنیک تولید متابولیت‌های سمی داخل گیاه می‌کنند که ممکن است محرک علایم بیماری باشند. عوامل قارچی مهم اسکا شامل *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal)، *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch) و *Fomitiporia mediterranea* (Fme) بوده که تولید متابولیت‌های ثانویه می‌کنند و احتمالاً در ایجاد علایم بیماری اسکای مو نقش مهمی دارند. پولولان یک پلی‌ساکارید خطی و متابولیت ثانویه مهم بوده که توسط قارچ‌های Pa1، Pch و Fme تولید می‌شود. در این آزمایش اثر پولولان برکاهش وزن‌کالوس پنج رقم انگور تجاری استان خراسان رضوی شامل‌کلاهداری، ترکمن ۸، ترکمن ۶، فخری شاهرود و کشمشی‌قوچان و همچنین تأثیر آن بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی (زنده‌مانی کالوس) با استفاده از اسپکترفتومتر ارزیابی شد. این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. هدف اصلی این تحقیق ارزیابی روشی ساده و سریع جهت غربالگری ارقام مختلف انگور به بیماری اسکا بود. برای این منظور استخراج متابولیت ثانویه اگزوپلی‌ساکارید (پولولان) از قارچ‌ها انجام و تولید کالوس پنج رقم انگور تجاری نیز با استفاده از محیط‌کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) صورت گرفت. سپس کالوس‌ها با غلظت‌های مختلفی (۱۵٪، ۳۰٪ و ۴۵٪) از پولولان مایه‌زنی شدند. همچنین تأثیر متابولیت استخراجی روی برگ‌های جداشده نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان دادند که قارچ Pal میزان پولولان بیشتری تولید کرد. تمامی برگ‌های انگور جداشده علایمی به‌صورت آب سوختگی پهنک برگ (بین‌رگبرگ‌ها) را نشان داد و قسمت‌های آب‌سوخته نکروزه و قهوه‌ای شدند. همچنین نتایج نشان داد که توکسین پولولان اثر قابل توجهی بر کاهش وزن خشک کالوس ارقام مختلف انگور مورد آزمایش دارد. رقم انگور ترکمن ۸ نسبت به سایر ارقام مورد آزمایش دارای درصد کاهش وزن کالوس کمتری بود (۲۶٪) و پس از آن ارقام کلاهداری (۳۱٪) و ترکمن ۶ (۴۰٪) در گروه‌های بعدی قرار گرفته‌اند. ارقام کشمشی قوچان (۴۸٪) و فخری شاهرود (۴۴٪) بیشترین کاهش وزن خشک کالوس را در پی داشته است. مجموع اثرات متقابل رقم، توکسین و قارچ‌های عامل مولد اسکا نشان داد که رقم ترکمن ۸ در مقابل غلظت ۴۵٪ توکسین تولید شده توسط قارچ Pal کمترین‌کاهش وزن کالوس به میزان ۶۵٪ را نسبت به شاهد داشته است و بیشترین کاهش وزن کالوس به میزان ۹۰٪ مربوط به رقم کشمشی قوچان بود. با توجه واکنش ارقام انگور نسبت به توکسین قارچ‌های مولد اسکا می‌توان نتیجه گرفت‌که رقم انگورترکمن ۸ حساسیت کمتری نسبت به رقم انگور کشمشی قوچان در مقابل بیماری اسکای انگور از خود نشان خواهد داد. سلول‌های کالوس رقم ترکمن ۸ بیشترین شدت جذب نوری را داشت یعنی تعداد سلول‌های زنده آنها نسبت به سایر ارقام بیشتر بود. رقم کشمشی قوچان با حداقل سلول‌های زنده کالوس حساسیت بیشتری به توکسین نشان داد و دارای شدت جذب نوری کمتری بود.

واژه‌های کلیدی: زوال تدریجی انگور، کالوس، متابولیت ثانویه

۱- بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: karimi_in@yahoo.com)

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.85310.1165

مقدمه

بیماری اسکا به‌عنوان یک عارضه پیچیده است که دو نوع پوسیدگی چوب و پوسیدگی آوندی تنه انگور ایجاد میکند (Surico *et al.*, 2008; Surico, 2009; Gramaje *et al.*, 2011). پوسیدگی آوندی که اغلب توسط قارچ‌های *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch) و *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal) بوجود می‌آید که بیشترین فراوانی را نیزدارند. قارچ *Phaeoacremonium* دارای ۲۴ گونه است که از تنه و شاخه‌های انگور با علایم و بدون علایم از مناطق مختلف دنیا جداسازی شده‌است (Mugnai *et al.*, 1999 ; Mostert *et al.*, 2006;). سندرم آوندی به سه صورت مشاهده می‌شود که عبارتند ازخطوط قهوه‌ای در چوب، بیماری پتری و علایم نواری برگ که قبلاًتحت عنوان اسکای جوان نامیده می‌شد (Surico, 2009Mugnai *et al.*, 1999 ;). خطوط منقوط چوب درواقع یک آلودگی اولیه هستند که از طریق قلمه‌های آلوده بوجود آمده، باعث تغییر رنگ چوب و نکروز آوندی می‌شوند و غالباً زمانی که هنوز انگور تولید برگ نکرده اتفاق می‌افتند. علایم هوایی شامل نکروز حاشیه برگ‌ها، نکروز پهنک برگ‌ها، سوختگی، قرمز و زرد شدن برگ‌ها و همچنین سبز باقی ماندن اطراف رگبرگ‌ها هستند که حالت پوست ببری به برگ می‌دهد. تمامی این علایم با علایم داخلی تنه به غیرازپوسیدگی سفید (*Fomitiporia mediterranea*) در ارتباط هستند و اما تاکنون ارتباطی بین علایم هوایی و پوسیدگی سفید داخل تنه دیده نشده‌است (Fisher& Payghami Ashnaei, 2019; Beris *et al.*, 2022;Fox,2022). کشت بافت و ریزازیادی جوانه انتهایی روش‌های ساده و راحتی هستند که برای ارزیابی زیستی و همچنین تعیین حساسیت و مقاومت گیاهان، ارتباطات بین گیاهان متحمل و حساس نسبت به بیمارگر و یا واکنش بین توکسین‌ها و گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرند (Sparapano *et al.*, 2001). بیمارگرهای گیاهی ترکیبات مختلفی برروی میزبانشان در داخل خاک و یا در محیط‌های کشت مصنوعی تولید می‌کنند و برخی از این ترکیبات در بخش‌های شیمی، بیولوژی، واکنش بین گیاه و بیمارگر و ارتباطات بیولوژیکی تقسیم‌بندی می‌شوند. در بین این متابولیت‌ها، ترکیبات سمی بیشتر برای بیماری‌شناس‌ها جذاب بوده و به‌عنوان محرک‌های بیماری و یا فاکتورهای بیماری‌زا و مهاجم بیماری محسوب می‌شوند. گیاهان حساس به بیمارگر به توکسین‌ها نیز حساس هستند (Sparapano & Evidente, 1995).

توکسین‌های غیر اختصاصی نقش مهمی در بیماری‌زایی داشته که اگر در ساختمان مولکولی توکسین‌ها خللی ایجاد گردد و یا به نحوی تجزیه شوند، از آلوده شدن گیاه نیز جلوگیری خواهد شد (Graniti *et al.*, 2013). توکسین‌های قارچ‌های مولد اسکا شامل دو نوع پلی‌کتید به نام‌های سیتالون[1] و ایزواسکلرون[2] و یک نوع آلفاگلوکان به نام پولولان[3]می‌باشد. پولولان، پلی‌ساکارید خارج سلولی[4] است که توسط برخی قارچ‌ها ازجمله قارچ‌های مولد اسکا تولید می‌شود و نقش مهمی در بیماری‌زایی این عوامل بر روی انگور دارد. این ماده در صنعت غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد و تاکنون گزارشی در خصوص سمیت آن بر روی انسان و حیوانات وجود ندارد. خاصیت سمی پولولان بر روی برگ‌ها بسته به نازکی مزوفیل به‌صورت خشکیدگی دیده می‌شود که باعث عدم جذب اکسیژن در این ناحیه می‌گردد. احتمالاً خشکیدگی بافت برگ یک عمل شیمیایی نیست و می‌تواند واکنشی فیزیکی یا واکنش ترکیبات داخلی بوجودآمده در گیاه باشد (Sparapano *et al.*, 2000a). به‌طور کلی مناسب‌ترین روش مبارزه با بیماری‌ها استفاده از ارقام مقاوم است. اصلاح گیاهان به روش انتخاب، وقت‌گیر بوده و در بسیاری از موارد امکان‌پذیر نیست (Shahpiri *et al.*, 2004). گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم را می‌توان با قراردادن سلول‌های گیاهی در معرض عوامل بیماری‌زا یا متابولیت‌های استخراج شده از آنها و سپس باززایی گیاهان از سلول‌های زنده، انجام داد (De Rafael *et al.*, 2001).

مواد و روش‌ها

استخراج متابولیت ثانویه (پولولان)

استرین‌های جدا شده از تنه انگور دارای علایم بیماری اسکا از خراسان شمالی شامل جدایه‌های مختلف *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch)، *Phaeoacremonium aleophilum* (Pa1) و *Fomitiporia mediterranea* (Fme) بودند که برای این تحقیق از کلکسیون جدایه‌های میکروبی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان‌رضوی، تهیه شد (Bahrabadi *et al.*, 2012).از کشت ۱۰ روزه هر یک از قارچ ها در محیط مایع سیب‌زمینی–دکستروز، پنج میلی‌لیتر

1- Scytalone
2- Isosclerone
3- Pullulan
4- Exopolysaccharids (EPS)

سوسپانسیون 10^6 اسپور آماده گردید و به‌صورت جداگانه در داخل فلاسک‌های یک لیتری حاوی ۱۵۰ میلی‌لیتر از محیط‌کشت زاپکس (CZ)[1] به همراه ۰/۱ درصد عصاره مالت و ۰/۱ درصد مخمر، کشت شدند. فلاسک‌ها بدون تکان‌دادن، در دمای ۲۵ درجه و به‌مدت ۲۸ روز در تاریکی نگهداری شدند. سپس میسلیوم با استفاده از پارچه ململ چهار لایه استریل، از عصاره جداسازی گردید. محلول حاصله به آرامی از کاغذ صافی نیتروسلولزی ۰/۲۲میکرومتری عبور داده شد. برای استخراج پولولان ابتدا عصاره فیلتر شده اولیه (۲ لیتر از هر قارچ) با حجم برابر محلول سرد اتانول–استون، مخلوط و سپس نمونه برای مدت چهار تا شش ساعت در حمام یخ صفر درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. رسوب متابولیت استخراجی توسط سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۱۰ ثانیه، جداسازی گردید. سپس مجددا انحلال رسوب در آب گرم و افزودن هم حجم اتانول و استون انجام گردید و رسوب حاصله از فیلتر واتمن عبور داده شد. متابولیت حاصل، در ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید (Sparapano & Bruno, Sparapano *et al*., 1998 ; 1997).

زیست‌سنجی برگ مو

بررسی پولولان حاصل از هر یک از قارچها روی برگ‌های جدا شده از پنج رقم انگور تجارتی شامل کلاهداری (KOL)، ترکمن ۸ (TU8)، ترکمن ۶ (TU6)، فخری شاهرود (FSH) و کشمشی قوچان (KQU) واقع در کلکسیون انگور مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، در اتاقک رشد انجام گرفت. برای این منظور، برگ‌ها به همراه دمبرگ ارقام مختلف بطور جداگانه در داخل محلول‌های سمی به میزان سه میلی‌لیتر قرار گرفتند تا جذب آنها به داخل برگ‌های جدا شده بطور کامل انجام شود. آب مقطر به‌عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت. برگ‌ها بعد از گذشت سه ساعت به داخل آب مقطر استریل منتقل و علایم پس از ۲۴ ساعت یادداشت شدند. در طی ارزیابی برگ‌ها در درجه حرارت پایین‌تر از ۲۳ و رطوبت ۶۰ درصد قرار گرفتند (Sparapano *et al*., 2000b). لازم به ذکر است که پولولان در آب گرم حل شده و با نسبت‌های ۱۵، ۳۰ و ۴۵ درصد تست شد.

زیست‌سنجی کالوس مو

جوانه‌های جانبی به قطر تقریبی ۰/۵ و طول ۱/۵ سانتی‌متر از شاخه‌های درختان بالغ پنج رقم انگور به‌عنوان ریزنمونه جدا شدند. این ریزنمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه تحت جریان آب قرار گرفته و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در محلول وایتکس حاوی یک درصد هیپوکلریت سدیم گذاشته شدند. در نهایت با سه بار شستشو با آب مقطر دو بار استریل، ضدعفونی انجام گرفت. محیط موراشیگ و اسکوگ (MS) حاوی ترکیبات هورمونی بنزیل آمینو پورین (BAP) (۱ میلی‌گرم بر لیتر) و نفتالین استیک اسید (NAA) (۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر)، برای کشت ریزنمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. محیط‌های حاوی ریزنمونه‌های کشت شده جهت رشد به‌مدت یک ماه در دمای ۲۳ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شدند (Bolandi *et al.*, Murashige & Skoog, 1962 ; 2016). جهت آماده کردن محیط‌کشت MS برای تلقیح کالوس‌ها، میزان تمام عناصر تشکیل دهنده محیط‌کشت که شامل محلول ماکرو، آهن، ویتامین‌ها، گلیسین و میواینوزیتول بود به نصف تقلیل یافت ولی مقادیر ساکارز و آگار مصرفی ثابت بود، PH محیط روی ۵/۷ تنظیم گردید (Pijut *et al*., 1990). متابولیت سمی، به نسبت‌های ذکر شده با عبور از فیلتر ۰/۲۲ میکرون استریل و به محیط MS اضافه شد. برای تیمار شاهد به جای توکسین، آب مقطر استریل استفاده شد. جهت مایه‌زنی، تکه‌ای از کالوس‌های سالم و زردرنگ (۰/۵گرم) انتخاب و در سطح محیط گذاشته شد. نمونه‌ها در تاریکی و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از ۴۵ روز وزن خشک کالوس اندازه‌گیری گردید (Sparapano *et al*., 2000a).

هفت هفته پس از مایه‌زنی کالوس‌ها، به‌منظور اندازه‌گیری قابلیت زنده‌مانی سلول‌ها در مواجهه با محیط‌کشت همراه با توکسین (پولولان)، از آزمون رنگ آمیزی با ماده تری‌فنیل‌تترازولیوم‌کلراید[2] (TTC)، استفاده گردید (Towill & Mazur, 1975). به این ترتیب که ۰/۵ گرم از کالوس‌های مایه‌زنی شده با عصاره قارچ در محلول بی‌رنگ تترازولیوم یک درصد قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها در انکوباتور با دمای ۴۰ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ ساعت در شرایط تاریکی قرار گرفتند. از الکل اتیلیک ۹۶ درصد برای رنگ‌بری استفاده شد. در این روش بر اساس مقدار فورمازان[3] حاصل از احیاء TTC بقاء سلول‌ها تخمین زده شد. این واکنش منجر به رنگ صورتی تا قرمز می‌گردد. جهت رنگبری از کالوس ابتدا محلول تترازولیوم موجود در لوله‌های آزمایش را خارج نموده و الکل اتیلیک را جایگزین آن می‌کنیم به‌طوری‌که حجم همه لوله‌ها تقریبا یکسان

1- Czapek Dox Medium

2- Triphenyl Tetrazolium Chloride
3- Formazan

باشد. پس از افزودن اتانول نمونه‌ها در حمام آب جوش (بن ماری) به‌مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه قرار داده شدند، پس از نفوذ رنگ قرمز موجود در کالوس به الکل اتیلیک ۹۶ درصد و رنگی شدن محلول یا به عبارتی استخراج رنگ از نمونه‌ها، کالوس‌ها از ظروف خارج گردید. مایع مورد نظر در تیمارهای مختلف رنگ‌های متفاوتی از سفید صورتی تا قرمز به خود می‌گیرد. سپس میزان جذب نور (OD) در طول موج ۴۸۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Elisa Reader Model Elx800) برآورد گردید (Pelah *et al.*, 2003). میزان زنده‌مانی سلول‌های کالوس با استفاده از فرمول زیر بدست آمد (Ibrahim & Quick, 2001).

$$x = \frac{\text{OD تیمار مایه‌زنی شده}}{\text{OD شاهد}} \times 100$$

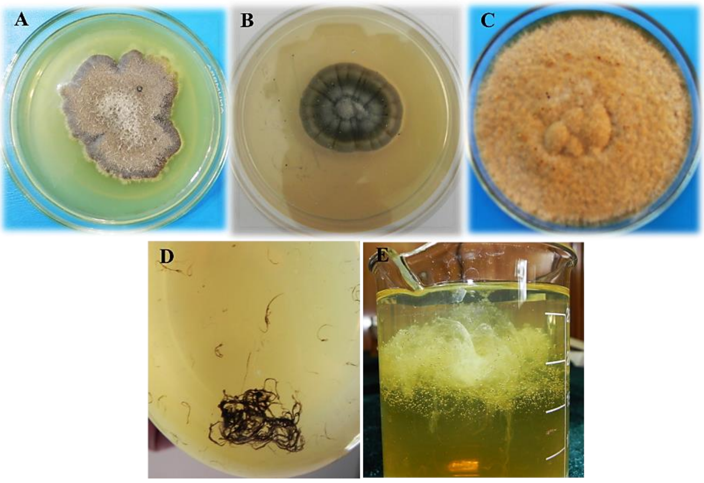
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

مایه زنی کالوس‌های پنج رقم انگور تجاری با سه غلظت توکسین (پولولان) استخراجی از سه قارچ مولد اسکای مو انجام شد. آزمایشات با استفاده از طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم فزار SAS و مقایسه میانگین تیمارها به روش دانکن در سطح اطمینان پنج درصد ارزیابی شد.

نتایج

استخراج اگزوپلی ساکارید (پولولان)

بعد از گذشت ۲۸ روز در محیط‌کشت زاپکس قارچ‌های Pal، Pch و Fme هر سه قادر به تولید متابولیت‌های ثانویه سمی بودند (شکل ۱).



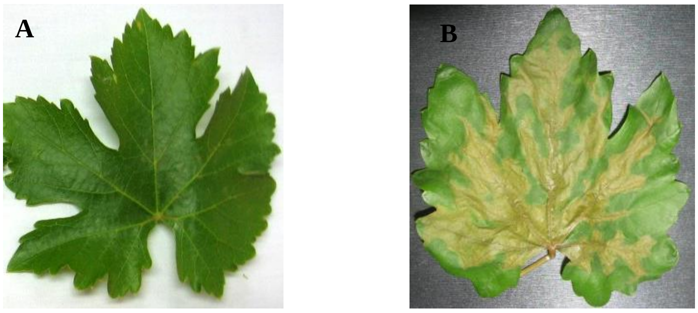
شکل ۱- پرگنه قارچ‌های مولد اسکا

A) *Phaeoacremonium aleophilum* (Pa1), B) *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), C) *Fomitiporia mediterranea* (Fme)
کلاف سفید و قهوه‌ای رنگ اگزو پلی‌ساکارید (پولولان)(E,D)

Figure 1- The colony of esca-associated fungi and extracted their metabolites. A) *Phaeoacremonium aleophilum* (Pa1), B) *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), C) *Fomitiporia mediterranea* (Fme). D and E) White and brown extracted Exopolysaccharide (Pullulan)

زیست‌سنجی برگ‌های انگورجدا شده

برگ‌های انگور جدا شده از ارقام مورد آزمایش در برابر متابولیت استخراجی پس از گذشت ۱۲ تا ۲۴ ساعت علایمی بصورت آب سوختگی پهنک برگ (بین رگبرگ‌ها) را نشان دادند و پس از گذشت ۴۸ تا ۷۲ ساعت قسمت‌های آب‌سوخته نکروزه و قهوه‌ای شدند. علایم ایجاد شده در این برگ‌ها توسط متابولیت حاوی توکسین (پولولان) مشابهت زیادی به علایمی که قارچ بیمارگر در گیاهان ایجاد می‌کند، دارد (شکل ۲).



شکل ۲-واکنش برگ جدا شده انگور پس از گذشت ۲۴ ساعت در آب مقطر (A) برگ سالم-شاهد و (B) جذب متابولیت سمی (پولولان)

Figure 2- Symptoms of the absorption of toxic metabolites (pullulan) on detached leaves (A) control, (B) pullulan

اثر توکسین بر کاهش وزن کالوس

جدول ۱- تجزیه واریانس وزن خشک کالوس ارقام مختلف انگور در برابر متابولیت ثانویه (پولولان)

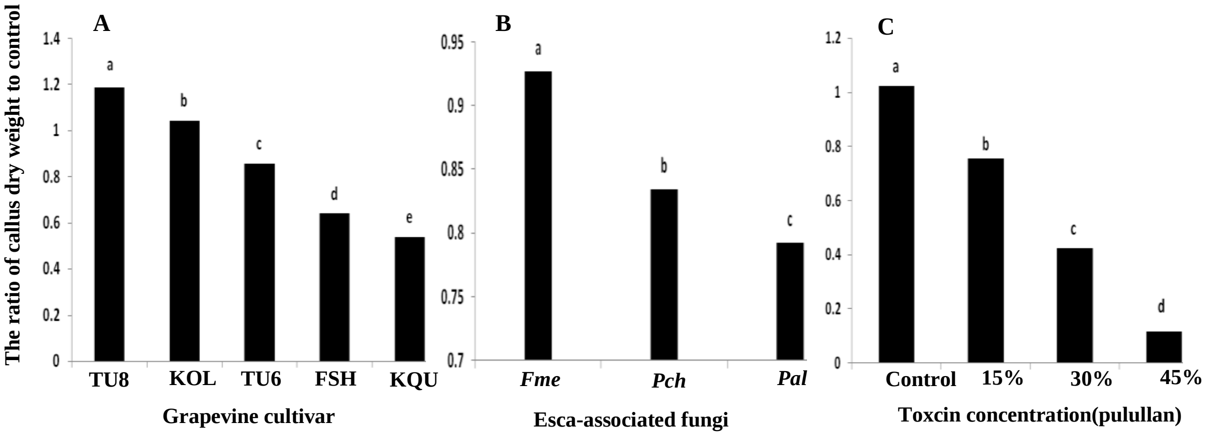
Table 1- Analysis of variance (mean of squares) of callus dry weight ratio of different grape cultivars against Pullulan

SOV	DF	Mean of Square
Fungi Treatment	2	0.02*
Concentration Treatment	3	4.894*
Cultivar Treatment	4	0.312*
Fungi Treatment * Concentration	6	0.004*
Fungi Treatment * Cultivar	8	0.001*
Cultivar Treatment * Concentration	12	0.041*
Cultivar Treatment * Concentration*Fungi	24	0.001*
Error	120	0.001
CV	---	4.67

**، * و ns به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و غیر معنی‌داری هستند.

ns: non-significant ;**and*are significant at a probability level of 1 and 5%, respectively.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان دادکه اثر توکسین (پولولان) بر روی‌کاهش وزن خشک کالوس ارقام انگور در سطح احتمال پنج درصد معنی دار شده است (جدول ۱). در شکل ۳ عکس‌العمل ارقام مختلف انگور در برابر توکسین (پولولان) به‌صورت کاهش وزن خشک کالوس نشان داده شده‌است. رقم انگور ترکمن ۸ نسبت به سایر ارقام مورد آزمایش دارای درصد کاهش وزن کالوس کمتری بوده است (۲۶٪) و پس از آن رقم کلاهداری (۳۱٪) و ترکمن ۶ (۴۰٪) در گروه‌های بعدی قرار گرفته‌اند. ارقام کشمشی قوچان و فخری شاهرود (به‌ترتیب ۴۸ و ۴۴٪ کاهش وزن) بیشترین کاهش وزن خشک کالوس را در پی داشته است که می‌توان پیش‌بینی حساسیت رقم کشمشی قوچان را در نظر داشت (شکل ۳A). در بین قارچ‌های مورد آزمایش پولولان تولیدی قارچ Fme (۲۵/۵٪) کمترین اثر و پولولان حاصل از قارچ Pal (۴۸٪) بیشترین اثر را روی کاهش وزن خشک کالوس نشان داده است. پولولان تولیدی قارچ Pch نیز میزان ۳۴٪ وزن کالوس را کاهش دهد. بنابر این می‌توان گفت که توکسین (پولولان) استخراجی از قارچ Pal کارائی بهتری نسبت به دو قارچ دیگر مورد آزمایش داشته است (شکل ۳B). در شکل ۳A نتایج حاصله از غلظت‌های مختلف توکسین (پولولان) از صفر (شاهد) تا ۴۵٪ و عکس‌العمل وزن خشک کالوس نسبت به شاهد نشان داد که با افزایش میزان غلظت توکسین در محیط‌کشت MS، میزان وزن خشک کالوس کاهش می‌یابد. در غلظت ۴۵٪ وزن خشک کالوس تا حدود ۸۰٪ نسبت به شاهد کاهش یافته است. توکسین با غلظت ۳۰٪ به میزان ۴۷٪ و در غلظت ۱۵٪ به میزان ۳۶٪ توانست وزن کالوس تولیدی را کاهش دهد (شکل ۳C).



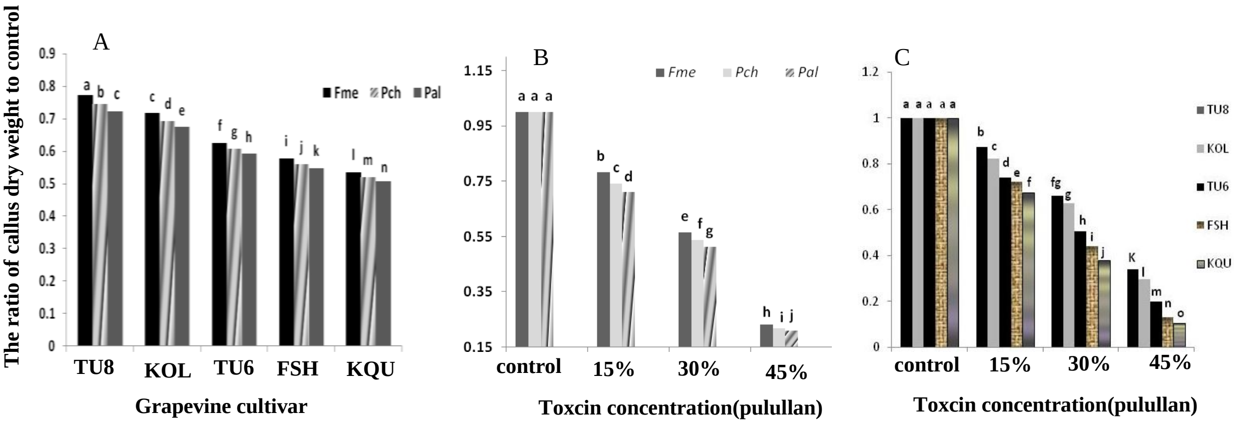
شکل ۳- مقایسه میانگین وزن خشک کالوس به شاهد در تیمارهای (A)رقم: کلاهداری (KOL)، ترکمن ۸ (TU8)، ترکمن ٦ (TU6)، فخری شاهرود (FSH) و کشمشی قوچان (KQU)، (B) قارچ: *Phaeomoniella chlamydospora* (Pal), *Phaeoacremonium aleophilum* (Pch), and *Fomitiporia mediterranea* (Fme) و (C)غلظت توکسین (پولولان)۱۵٪،۳۰٪ و ٤٥٪

میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی‌داری ندارند (آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪).

Figure 3– Mean comparison of callus dry weight to control at different treatments. A) Grapevine cultivar:KOL, TU8, TU6, FSH, KQU, B) Esca-associated fungi;:*Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), *Fomitiporia mediterranea* (Fme) and, C) Toxin concentration(pullulan): 15%, 30%, 45%

Similar letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level (Duncan's multiple range test).

مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل توکسین (پولولان) در کاهش وزن کالوس ارقام انگور در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل وزن کالوس ارقام انگور نسبت به توکسین (پولولان) قارچ‌های مولد اسکا مو نشان داد که واکنش رقم کشمشی قوچان نسبت به متابولیت ثانویه تمامی قارچ‌های Pal(۵۰٪)، Pch (۴۷٪) و Fme (۴۸٪) کاهش وزن‌کالوس را در پی داشته است. همچنین رقم ترکمن ۸ نسبت به توکسین قارچ‌های Pal (۳۰٪)، Pch (۳۲٪) و Fme (۳۵٪) کمترین میزان کاهش وزن کالوس را نسبت به سایر ارقام انگور مورد آزمایش داشته است (شکل ۴A). میانگین اثرات متقابل غلظت‌های مختلف پولولان تولید شده توسط قارچ‌های مولد اسکا نشان داد که وزن خشک کالوس در غلظت ۱۵٪ توکسین کمترین و در غلظت ۴۵٪ توکسین بیشترین کاهش وزن کالوس را داشت. غلظت ۱۵٪ توکسین تولیدی حاصل از قارچ Fme کمترین اثر روی کاهش وزن کالوس و در مقابل توکسین حاصل از قارچ Pal بیشترین اثر را در کاهش وزن‌کالوس نسبت به شاهد نشان داد. این روند نیز در غلظت‌های ۳۰٪ و ۴۵٪ نیز به چشم می‌خورد (شکل ۴B). اثرات متقابل ارقام مختلف انگور و توکسین تولیدی توسط قارچ‌های مختلف اسکا نشان داد که در غلظت ۱۵٪ توکسین رقم ترکمن ۸ (۱۲٪) و پس از آن رقم کلاهداری (۲۸٪) کاهش وزن خشک کالوس را نسبت به شاهد داشته است. رقم کشمشی قوچان و فخری شاهرود به‌ترتیب (۳۷٪) و (۳۳٪) کاهش وزن خشک کالوس نسبت به شاهد داشته که نشان‌دهنده حساسیت سلول‌های کالوس به توکسین می باشد. غلظت ۴۵٪ پولولان بر روی تمامی ارقام اثر کاهش دهنده شدیدی روی وزن خشک کالوس داشته و رقم ترکمن ۸ کمترین کاهش وزن خشک کالوس (۶۳٪) و رقم کشمشی قوچان (۹۰٪) بیشترین کاهش وزن خشک کالوس رانسبت به شاهد نشان داد (شکل ۴C).



شکل ٤- مقایسه میانگین اثرات متقابل وزن خشک کالوس در تیمارهای مختلف (A) قارچ: *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), *Fomitiporia mediterranea* (Fme)×رقم :کلاهداری (KOL)، ترکمن ۸ (TU8)، ترکمن ٦ (TU6)، فخری شاهرود (FSH) و کشمشی قوچان (KQU)، (B) قارچ: *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), *Fomitiporia mediterranea* (Fme)×غلظت توکسین (پولولان): ۱۵٪،۳۰٪ و ٤٥٪ و (C) رقم: کلاهداری (KOL)، ترکمن ۸ (TU8)، ترکمن ٦ (TU6)، فخری شاهرود (FSH) و کشمشی قوچان (KQU) ×غلظت توکسین (پولولان) ۱۵٪، ۳۰٪ و ٤٥٪

میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی‌داری ندارند (آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪).

Figure 4– Mean comparison of callus dry weight to control at different treatments. A) Grapevine cultivar (KOL, TU8, TU6, FSH, KQU) and Toxin concentration (pullulan) (15%, 30%, 45%), B) Esca-associated fungi :*Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), *Fomitiporia mediterranea* (Fme) and Grapevine cultivar (KOL, TU8, TU6, FSH, KQU), and C) Esca-associated fungi: *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), *Fomitiporia mediterranea* (Fme) and Toxin concentration (pullulan) (15%, 30%, 45%)

Similar letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level (Duncan’s multiple range test).

مجموع اثرات متقابل رقم، غلظت توکسین و قارچ‌های عامل مولداسکا نشان داد که رقم ترکمن ۸ در مقابل غلظت ۴۵٪ توکسین تولید شده توسط قارچ Pal(۶۵٪) کمترین و رقم کشمشی قوچان (۹۰٪) بیشترین کاهش وزن کالوس نسبت به شاهد را در پی داشت و بدنبال آن رقم کلاهداری و ترکمن ۶ به‌ترتیب ۷۸٪ و ۸۱٪ کاهش وزن خشک کالوس را نشان داد. در غلظت ۳۰٪ توکسین تولیدی توسط قارچ Pch نیزکاهش وزن خشک کالوس در رقم ترکمن ۸ به میزان ۳۰٪ و در رقم کشمشی قوچان به میزان ۶۷٪ بود.

اثر توکسین بر زنده‌مانی سلول‌های کالوس بر اساس جذب نوری

جدول ۲- تجزیه واریانس شدت جذب نوری سلول‌های کالوس ارقام مختلف انگور در برابر متابولیت ثانویه (پولولان)

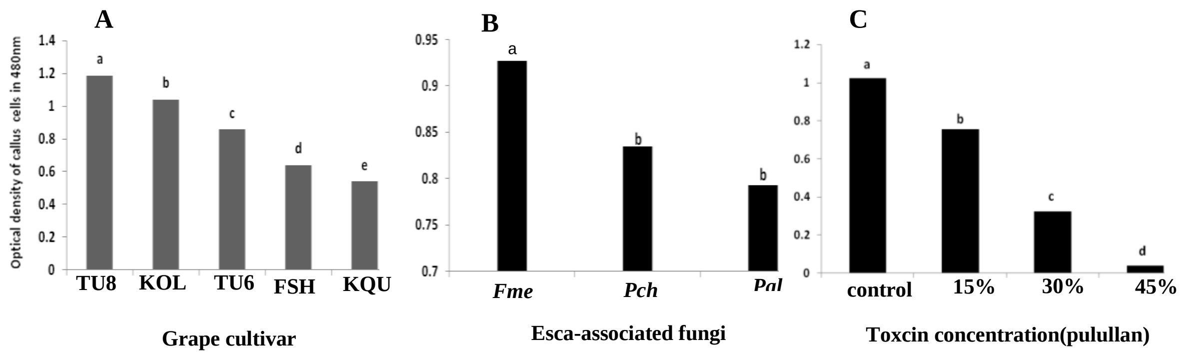
Table 2-Analysis of optical density variance (mean of squares) of callus dry weight ratio of different grape cultivars against Pullulan

Source of Variation	DF	Mean of Square
Fungi	2	0.285*
Concentration	3	7.773*
Cultivar	4	2.636*
Fungi * Concentration	6	0.022*
Fungi * Cultivar	8	0.008*
Cultivar * Concentration	12	0.049*
Cultivar * Concentration*Fungi	24	0.001*
Error	120	0.078
CV%	---	7.87

**، * و ns به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و غیر معنی‌داری هستند.

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

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که توکسین (پولولان) استخراج شده از قارچ‌های مولد اسکای مو در شدت جذب نوری کالوس پنج رقم انگور مورد آزمایش در سطح ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). سلول‌های کالوس رقم ترکمن ۸ بیشترین شدت جذب نوری را داشت یعنی تعداد سلول‌های زنده آنها نسبت به سایر ارقام بیشتر بود. رقم کشمشی قوچان با حداقل سلول‌های زنده کالوس حساسیت بیشتری به توکسین نشان داد و دارای شدت جذب نوری کمتری بود (شکل 5A). نتایج نشان دادند که متابولیت سمی تولیدی توسط سه قارچ مولد بیماری اثرات متفاوتی در شدت جذب نور داشتند. توکسین قارچ Fme دارای کمترین اثر بر روی سلول‌های کالوس بود ولی در مقابل توکسین تولیدی دو قارچ دیگر Pal و Pch هر دو اثرات مخرب‌تری روی زنده‌مانی سلول‌های کالوس داشتند (شکل 5B). هرچه غلظت توکسین در محیط افزایش یافت، میزان مرگ‌ومیر سلول‌های کالوس نیز بیشتر شد (شکل 5C).



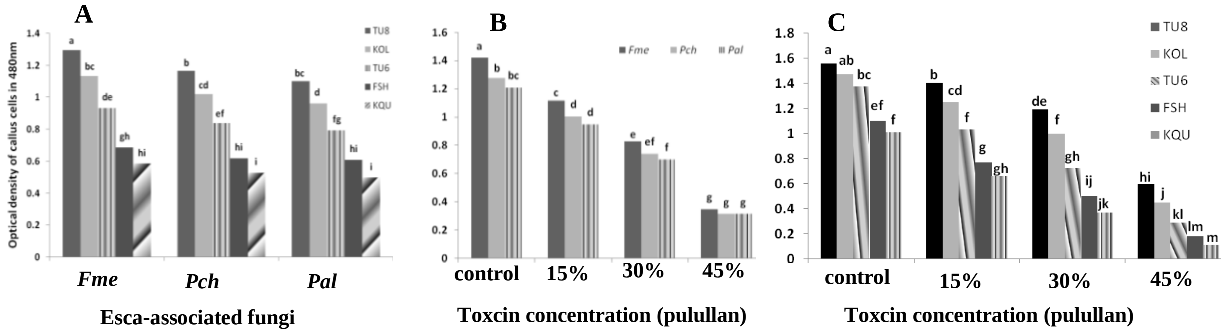
شکل ۵- مقایسه میانگین شدت جذب نوری سلول‌های کالوس در تیمارهای (A)رقم: کلاهداری (KOL)، ترکمن ۸ (TU8)، ترکمن ٦ (TU6)، فخری شاهرود (FSH) و کشمشی قوچان (KQU)، (B)قارچ : *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), and *Fomitiporia mediterranea* (Fme) و(C) غلظت توکسین (پولولان)۱۵٪، ۳۰٪ و ٤٥٪

میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی‌داری ندارند (آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪).

Figure 5- Mean comparison of optical density of callus cells at different treatments A) Grapevine cultivar: KOL, TU8, TU6, FSH, KQU, B) Esca-associated fungi:*Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), *Fomitiporia mediterranea* (Fme) and, C) Toxin concentration(pullulan): 15%, 30%, 45%

Similar letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level (Duncan's multiple range test).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اثرات متقابل توکسین تولیدی قارچ‌های مولد اسکای مو در شدت جذب نوری کالوس ارقام انگور در سطح ۵٪ معنی‌دار بود (شکل ۶). بیشترین میزان جذب نوری سلول‌های کالوس در توکسین‌های حاصل از قارچ Fme در رقم ترکمن ۸ مشاهده شد و پس از آن به‌ترتیب رقم کلاهداری، ترکمن ۶، فخری شاهرود و کشمشی قوچان به توکسین حاصل از قارچ Fme واکنش نشان دادند. توکسین قارچ Pal نیز دارای بیشترین اثر بود و سلول‌های زنده کالوس دارای حداقل مقدار بودند (شکل 6A). همچنین نتایج اثرات متقابل قارچ نشان داد که بیشترین میزان شدت جذب نوری سلول‌های کالوس در تمامی قارچ‌های Fme، Pch و Pal در غلظت صفر (شاهد) وجود دارد. در غلظت ۱۵ درصد بیشترین میانگین جذب نوری در متابولیت حاصل از قارچ Fme و کمترین جذب نوری در توکسین حاصل از قارچ Pal مشاهده شد. با افزایش غلظت توکسین‌های حاصل از تمامی قارچ‌ها کاهش معنی‌داری در جذب نوری مشاهده شد (شکل 6B). همچنین نتایج نشان دادند که اثر متقابل رقم درغلظت توکسین نیز بسیار معنی‌دار بود. در تمامی غلظت‌های توکسین (پولولان)، بیشترین جذب نوری به‌ترتیب مربوط به رقم ترکمن ۸ بود و بعد از آن به‌ترتیب کلاهداری، ترکمن ۶ فخری شاهرود و کشمشی قوچان قرار داشتند، گرچه با افزایش غلظت توکسین در تمامی ارقام کاهش بسیار معنی‌دار شدت جذب نوری مشاهده شد. در نتیجه رقم ترکمن ۸ مقاومت نسبی به توکسین داشته و رقم کشمشی قوچان بیشترین حساسیت را نشان داد. پس از گذشت ۷ هفته از کشت کالوس، در غلظت ۱۵ درصد میزان زنده‌مانی سلول‌های کالوس ارقام انگور ۷۴ تا ۸۰/۵ درصد و در غلظت شاهد به ترتیب ۷۹/۵ و ۸۴ درصد بود. درصد حیات در سلول‌های کالوس مایه‌زنی شده ترکمن ۸ در غلظت ۴۵ درصد توکسین حدود ۵۰/۳۶ درصد و میزان زنده‌مانی در رقم کشمشی قوچان حدود ۱۵/۵۱ درصد بود (شکل 6C).



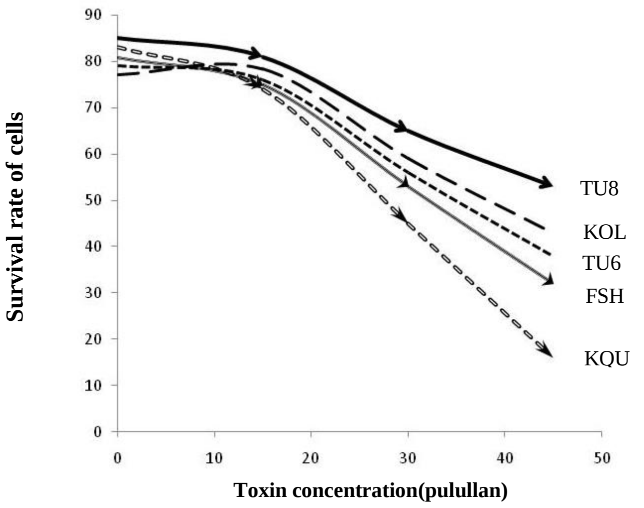
شکل ٦– مقایسه میانگین اثرات متقابل شدت جذب نوری سلول‌های کالوس در تیمارهای مختلف (A) قارچ: *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), *Fomitiporia mediterranea* (Fme)×رقم: کلاهداری (KOL)، ترکمن ۸(TU8)، ترکمن ٦ (TU6)، فخری شاهرود (FSH) و کشمشی قوچان (KQU)، (B) قارچ: *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), *Fomitiporia mediterranea* (Fme)×غلظت توکسین (پولولان): ۱۵٪،۳۰٪ و ٤۵٪ و (C) رقم: کلاهداری (KOL)، ترکمن ۸ (TU8)، ترکمن ٦ (TU6)، فخری شاهرود (FSH) و کشمشی قوچان (KQU) ×غلظت توکسین (پولولان) ۱۵٪، ۳۰٪ و ٤۵٪

میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی‌داری ندارند (آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪).

Figure 6– Mean comparison of callus dry weight to control at different treatments. A) Grapevine cultivar (KOL,TU8,TU6,FSH,KQU)and Toxin concentration(pullulan) (15%,30%,45%), B) Esca-associated fungi :*Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), *Fomitiporia mediterranea* (Fme) and Grapevine cultivar (KOL, TU8, TU6, FSH, KQU), and C) Esca-associated fungi: *Phaeoacremonium aleophilum* (Pal), *Phaeomoniella chlamydospora* (Pch), *Fomitiporia mediterranea* (Fme) and Toxin concentration (pullulan)(15%, 30%, 45%)

Similar letters in each column indicate no significant difference at the 5% probability level (Duncan's multiple range test).

با افزایش غلظت توکسین (پولولان) درصد زنده‌مانی سلول‌های کالوس در پنج رقم انگور مورد آزمایش کاهش یافت و بنابراین درصد زنده‌مانی سلول‌ها با افزایش غلظت توکسین رابطه معکوسی نشان داد (شکل ۷). در غلظت‌های ۳۰ و ۴۵ درصد توکسین، میزان مرگ و میر در سلول‌های کالوس بیشتر بود. در غلظت ۱۵ درصد نیز میزان زنده مانی سلول‌های کالوس ارقام انگور ۷۴ تا ۸۰/۵ درصد و در غلظت شاهد به‌ترتیب ۷۹/۵ و ۸۴ درصد زنده‌مانی بوده است. درصد حیات در سلول‌های کالوس مایه‌زنی شده ترکمن ۸ در مقایسه با رقم کشمشی قوچان در غلظت ۴۵ درصد از پولولان حدود ۵۰/۳۶ درصد در صورتی که میزان زنده‌مانی در رقم کشمشی قوچان حدود ۱۵/۵۱ درصد بود. به‌عبارت دیگر پس از گذشت ۷ هفته از کشت کالوس رقم ترکمن ۸ در غلظت ۴۵٪ توکسین حدود ۵۰ درصد از سلول‌های کالوس بر روی محیط ۱/۲ MS زنده ماندند، در حالی‌که در رقم کشمشی قوچان در غلظت ۴۵٪ از توکسین حدود ۱۹٪ از سلول‌های کالوس زنده باقی ماندند.



شکل ۷- درصد زمانی سلول‌های کالوس پنج رقم انگور (ترکمن ۸-TU8، کلاهداری -KOL، ترکمن ٦-TU6، فخری شاهرود-FSH، کشمشی قوچان-KQU)

Figure 7- Percentage of callus cell survival of five grapevine cultivars(Turkman 8-TU8, Kolahdari-KOL, Turkman 6- TU6, Fakhri ShahroodT, Keshmeshi Qouchan-KQU)

بحث

اویدنت و همکاران در سال ۲۰۰۰ متابولیت‌های سمی مختلفی از محیط‌کشت‌های Pal جداسازی کردند. دو تا از متابولیت‌های مهم این قارچ که توسط روش اسپکتروفتومتری و روش شیمیائی بررسی و تحت عنوان سیتالون و ایزواسکلرون شناسائی گردید. ارزیابی روی برگ‌های جدا شده رقم ایتالیا (Italia) با میزان ۰/۰۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر از متابولیت ایزو اسکلرون ایجاد رنگ پریدگی، روشن شدن برگ‌ها و نهایتا کلروز برگی، لکه‌های گرد بین رگبرگ‌ها و در حاشیه برگ‌ها مشاهده گردید. متابولیت ایزواسکلرون به میزان ۰/۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر سبب لکه‌های کلروتیک بزرگ و نهایتا نکروز همراه با تخریب لامینا[1]می‌شود. با توجه به نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نیز حضور پولولان در متابولیت‌های استخراجی از قارچ‌های مولد اسکا Pal، Fme، Pch تائید و باعث بروز علائم مختلفی برگی بر روی ارقام مختلف انگور گردید. در انگور بیشترین مکانیسم دفاعی مشاهده شده مربوط به تجمع ترکیبات فنلی است. برونو و سپاراپانو (Bruno & Sparapano, 2006) تحقیقات وسیعی بر روی میزان فنل روی کالوس، فعالیت‌ها و واکنش‌های بیوشیمیایی فنل‌ها بویژه دو متابولیت سمی و α-glucan (پولولان) تولید شده توسط دو قارچ *Phaeomoniella chlamydospora* و *Togninia minima* در محیط‌های کشت مایع و کالوس و همچنین نقش سیتالون و ایزواسکلرون، در سنتز ملانین و بیماری‌زایی آن، انجام دادند و نتایج نشان داد که اختلاف فاحشی بین واکنش‌های کالوس دو رقم انگور در مقابل آلودگی به دو قارچ یاد شده، وجود دارد. وزن ترکالوس اختلاف زیادی در رقم حساس به بیماری اسکا با شاهد داشت. همچنین اختلافات زیادی بین رقم حساس و نیمه مقاوم در قهوه‌ای شدن بافت، تجمع میزان فنل و نفوذ به داخل سلول در مقابل قارچ های مولد وجود داشت. کالوس‌هایی که در مقابل قارچ‌های مولد بیماری در پتری و داخل انکوباتور قرار داده شده منتج به افزایش سریع رشد پرگنه قارچ‌ها شد و در مقابل رشد کالوس در هر دو رقم در مقابل قارچ‌های مولد کاهش چشم‌گیری داشت، زمانی‌که پرگنه قارچ نزدیک کالوس می‌رسد رشد آن متوقف شده و زمانی‌که کالوس بطور کامل با هر یک از پرگنه‌ها نزدیک می‌شود رنگ آن تغییر یافته و به رنگ قهوه‌ای در می‌آید. در خصوص شدت جذب نوری سلول‌های کالوس باید یادآوری نمود که انجام رنگ‌آمیزی با ماده TTC و درصد زنده‌مانی سلول‌های کالوس می‌تواند تا حدود زیادی تغییرات سلول‌ها را در برابر متابولیت‌های داخل محیط‌کشت نشان دهد. هر چه میزان شدت جذب نوری توسط دستگاه اسپکترومتری بیشتر باشد میزان سلول‌های زنده کالوس در محیط بیشتر خواهد بود و افزایش ماده قرمزرنگ (Fmearazin) در محلول الکلی نشان‌دهنده زنده‌مانی بیشتر سلول‌های کالوس بوده و برخلاف آن یعنی هر چه میزان ماده رنگی در محلول کمتر باشد بخاطر جذب بیشتر ماده قرمز در پروتوپلاست سلولی بوده و کمتر به داخل محلول الکلی نشت کرده و رسوب بیشتری در سلول‌های مرده دارد، و بنابراین محلول الکلی رنگ کمتری بخود می‌گیرد و شدت جذب نوری کمتر خواهد بود که نشان

1-lamina

دهنده وجود سلول‌های مرده در کالوس می‌باشد. شیمومورا و هاسبه (Shimomura & Hasebe, 2004) میزان زنده‌مانی و تخریب سلول‌های بافت داخلی پوست تنه بلوط توسط قارچ *lentinula* را با استفاده از روش طیف‌سنجی نمک TTC تخمین زدند و گزارش کردند که این روش می‌تواند میزان نسبتا دقیق سلول‌های تخریب شده را نشان دهد. ممغانی و همکاران (Mamaghani *et al*., 2012) گزارش کردند که استفاده از روش زنده‌مانی سلول‌ها در ارزیابی مقاومت و حساسیت ارقام نارون روشی مناسب بوده و می‌توان با استفاده از اثر عصاره خام قارچ *Ophiostoma* بر روی سلول‌های کالوس میزان مقاومت و حساسیت دو رقم نارون چینی و اوجا را تعیین نمود. در تحقیق اخیر نیز زنده‌مانی سلول‌های کالوس ۵ رقم انگور تجاری مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که رقم ترکمن ۸ در واکنش به توکسین (پولولان) دارای بیشترین درصد زنده‌مانی و در مقابل رقم کشمشی قوچان دارای کمترین درصد زنده‌مانی سلول کالوس بود. با توجه به اهمیت کنترل بیماری که به روش‌های معمول به دشواری می‌توان این بیماری مدیریت نمود و یکی از روش‌هایی که می‌تواند از شدت بیماری در منطقه جلوگیری کند استفاده از ارقام نسبتا مقاوم می‌باشد. در مرحله اول انتخاب ارقام نسبتا مقاوم به بیماری و جایگزینی آن با ارقام حساس و مرسوم منطقه نقش بسزائی در کنترل بیماری خواهد داشت و انتخاب ارقام و ارزیابی مقاومت و حساسیت آن به بیماری اسکای موکاری دشوار و مدت زمان طولانی لازم دارد ولی با استفاده از روش کشت بافت و عکس‌العمل سلول-های کالوس نسبت به متابولیت‌های ثانویه می‌تواند در انتخاب ارقام متحمل به بیماری اسکا سرعت بخشیده و نتایج قابل قبولی را ارائه دهد.

References

1. Bahrabadi, M., Karimishahri, M.R., &Hashemi, M. (2012). Study on Genetic Variability in Fungi Associated with Esca Disease in North Khorasan Province Vineyards with RAPD-PCR. *Journal of Plant Protection Research.* 26:92-100.https://doi.org/ 10.22067/jpp.v26i1.12721.
2. Beris, E., Selim, M., Kechagia, D., & Evangelou, A. (2022). Overview of the esca complex as an increasing threat in vineyards worldwide: Climate change, control approaches and impact on grape and wine quality. In *Recent Advances in Grapes and Wine Production-New Perspectives for Quality Improvement*. IntechOpen.
3. Bolandi, A.R., Hamidi, H., & Rezagholy, A.A. (2016). Effects of culture media and growth regulators on propagation of rootstock GF677 in tissue culture conditions. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, *29*(1), 1-14. (In Persian with English abstract)
4. Bruno, G., & Sparapano, L. (2006a). Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L.: II. Characterization of biomolecules in xylem sap and leaves of healthy and diseased vines. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *69*(4-6), 195-208. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2007.04.007
5. Bruno, G., & Sparapano, L. (2006b). Effects of three esca-associated fungi on *Vitis vinifera* L.: I. Characterization of secondary metabolites in culture media and host responses to the pathogens in calli. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *69*(4-6), 209-223. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2007.04.008
6. De Rafael, M.A., Valle, T., Babiano, M.J., & Corchete, P. (2001). Correlation of resistance and H_2O_2 production in *Ulmus pumila* and *Ulmus campestris* cell suspension cultures inoculated with *Ophiostoma novo-ulmi*. *Physiologia Plantarum*, *111*(4), 512-518. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1110411.x
7. Evidente, A., Sparapano, L., Andolfi, A., & Bruno, G. (2000). Two naphthalenone pentakides from liquid cultures of «*Phaeoacremonium aleophilum*», a fungus associated with esca of grapevine. *Phytopathologia Mediterranea*, *39*(1), 162-168. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-1559
8. Fischer, M., & Payghami Ashnaei, S. (2019). Grapevine, esca complex, and environment: The disease triangle. *Phytopathologia Mediterranea*, *58*(1), 17-37. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-25086
9. Fox, H. (2022). A review of blackfoot, petri, and esca; grapevine fungal diseases, their treatments and the impacts of copper based fungicides. *Ecorestoration: RNS Technical Series*, (1).
10. Gramaje, D., Mostert, L., & Armengol, J. (2011). Characterization of *Cadophora luteo-olivacea* and *C. melinii* isolates obtained from grapevines and environmental samples from grapevine nurseries in Spain. *Phytopathologia Mediterranea*, *50*(4), 112-126. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-8723
11. Graniti, A., Durbin, R.D., & Ballio, A. (Eds.). (2013). *Phytotoxins and plant pathogenesis* (Vol. 27). Springer Science & Business Media. https://doi.org/10.1007/978-3-642-73178-5
12. Ibrahim, A.M., & Quick, J.S. (2001). Heritability of heat tolerance in winter and spring wheat. *Crop Science*, *41*(5), 1401-1405. https://doi.org/10.2135/cropsci2001.4151401x
13. Mostert, L., Groenewald, J.Z., Summerbell, R.C., Gams, W., & Crous, P.W. (2006). Taxonomy and pathology of Togninia (Diaporthales) and its *Phaeoacremonium* anamorphs. *Studies in Mycology*, *54*, 1-113. https://doi.org/10.1016/S0166-0616(14)60211-6
14. Mamaghani, M., Rahnama, K., Mashayekhi, K., & Haghighi, H. (2012). Application of culture filtrates of

Ophiostoma novo-ulmi and *O. ulmi* under *in vitro* condition as a bioassay to screen for disease tolerant *Ulmus parvifolia* and *Ulmus campestris*. *Journal of Plant Production Research*, *19*(4). (In Persian with English abstract)

15. Mugnai, L., Graniti, A., & Surico, G. (1999). Esca (black measles) and brown wood-streaking: two old and elusive diseases of grapevines. *Plant Disease*, *83*(5), 404-418. https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.5.404
16. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, *15*(3), 473-497. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
17. Pelah, D., Kaushik, R.A., Nerd, A., & Mizrahi, Y. (2003). Validity of in vitro viability tests for predicting response of different vine cacti in the field to high and low temperatures. *Journal of the Association for Cactus Development*, *Chapingo*, *5*, 65-71.
18. Pijut, P.M., Domir, S.C., Lineberger, R.D., & Schreiber, L.R. (1990). Use of culture filtrates of *Ceratocystis ulmi* as a bioassay to screen for disease tolerant *Ulmus americana*. *Plant Science*, *70*(2), 191-196. https://doi.org/10.1016/0168-9452(90)90133-9
19. Shahpiri, A., Omidi, M., Tehrani, P.A., & Davoodi, D. (2004). A study of tissue culture and somaclonal variation in potato. *Iranian Journal Agriculture Science*, *35*(2), 323-335. (In Persian with English abstract)
20. Shimomura, N., & Hasebe, K. (2004). Estimation of viability of inner bark tissue of *Quercus serrata*, a substrate for log cultivation of *Lentinula edodes*, using the TTC assay method. *Mycoscience*, *45*(5), 362-365. https://doi.org/10.1007/S10267-004-0188-6
21. Sparapano, L., & Evidente, A.A. (1995). Studies on structure-activity relationship of seiridins, phytotoxins produced by three species of *Seiridium*. *Natural Toxins*, *3*(3), 166-173. https://doi.org/10.1002/nt.2620030308
22. Sparapano, L., & Bruno, G. (1997). Production of pullulans by virulent and hypovirulent strains of *Cryphonecteria parasitica*. Proccedings 10th Congress of Mediterranean Phytopathogical Union, June 1-5, 1997. Montepellier, Societe Francasie de pathologie-ORSTOM, Montpellier, France, 488-493.
23. Sparapano, L., Bruno, G., & Graniti, A. (1998). Esopolisaccaridi fitotossici sono prodotii in coltura da due specie di Phaeoacremonium associate al complesso del mal dell esca della vite. Petria, *8*, 210-212.
24. Sparapano, L., Bruno, G., Ciccarone, C., & Graniti, A. (2000a). Infection of grapevines with some esca-disease associated fungi. II. Interaction among *Fomitiporia punctata*, *Phaeoacremonium chlamydosporum* and *P. aleophilum*. *Phytopathologia Mediterranea*, *39*, 53-58. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-1543
25. Sparapano, L., Bruno, G., & Graniti, A. (2000b). Effects on plants of metabolites produced in culture by *Phaeoacremonium chlamydosporum*, *P. aleophilum* and *Fomitiporia punctata*. *Phytopathologia Mediterranea*, *39*(1), 169-177. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-1535
26. Sparapano, L., Bruno, G., & Campanella, A. (2001). Interactions between three fungi associated with esca of grapevine and their secondary metabolites. *Phytopathologia Mediterranea (Italy)*. *40*(4), 417-422. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-1626
27. Surico, G., Mugnai, L., & Marchi, G. (2008). The esca disease complex. In *Integrated management of diseases caused by fungi, phytoplasma and bacteria* (pp. 119-136). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8571-0_6
28. Surico, G. (2009). Towards a redefinition of the diseases within the esca complex of grapevine. *Phytopathologia Mediterranea*, *48*(1), 5-10. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-2870
29. Towill, L.E., & Mazur, P. (1975). Studies on the reduction of 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride as a viability assay for plant tissue cultures. *Canadian Journal of Botany*, *53*(11), 1097-1102. https://doi.org/10.1139/b75-129

Journal of Iranian Plant Protection Research
https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 3, 2024, p. 241-258

Investigating the Allelopathic and Antifungal Effects of Saffron Leaves and Corms Water Extract on the Germination Criteria and Seedling Growth of Whitetop and *Aspergilus niger*

Z. Tavakoli[1], M. Jahani[2*], H. Hammami[3]

1 and 2- Department of Plant Pathology, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.
3- Department of Plant Production and Genetics Engineering, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran and Member of the Plant and Environmental Stresses Research Group, University of Birjand, Birjand, Iran.
(*- Corresponding Author Email:mjahani@birjand.ac.ir)

Received: 08-01-2024 Revised: 01-06-2024 Accepted: 11-06-2024 Available Online: 28-12-2024	**How to cite this article:** Tavakoli1, Z., Jahani, M., & Hammami, H. (2024). Investigating the allelopathic and antifungal effects of saffron (*Crocus sativus*) leaves and corms water extract on the germination criteria and seedling growth of Whitetop (*Cardaria draba*) and Aspergilus (*Aspergilus niger*). *Journal of Iranian Plant Protection Research, 38*(3), 241-258. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86305.1174

Introduction

Weeds and diseases significantly hinder agricultural production. Chemical pesticides are frequently used to control weeds and plant diseases in many fields. However, they have numerous adverse effects. Therefore, it is advisable to consider using natural pesticides, which have fewer environmental impacts and decompose more rapidly, to try to protect plants. Currently, there is a growing recognition of the potential of plant extracts as a useful resource for the development of natural herbicides and fungicides. Saffron (*Crocus sativus* L.) is cultivated as one of the important medicinal plants in Iran. Saffron leaves and corm can be used as natural pesticides as available and cheap sources. Saffron extracts have been found to possess antiherbal and antifungal properties by multiple sources.

Materials and Methods

In order to evaluate the antiherbal and antifungal properties of saffron leaf and corm extracts on the germination and growth characteristics of whitetop weed and *Aspergillus niger* fungus, independent factorial experiments were conducted based on the completely randomized design with four replications at the Faculty of Agriculture of Birjand University in 2022. The allelopathic treatments consisted of two saffron organs (leaf and stem) and seven extract concentrations (0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, and 4% v/w). The antifungal treatments consisted of two saffron organs (leaf and corm) and seven extract concentrations (0, 0.0312, 0.625, 0.125, 0.25, 0.5, and 1 by v/w). Whitetop seeds were collected from the research field of the Faculty of Agriculture of Birjand University in 2022. Saffron leaves and seeds were harvested from four-year-old plantations in Sarayan city, then subjected to drying and grinding. To create the aqueous extract, a mixture of 40 g of dehydrated saffron leaves and corms was combined with 1000 ml of distilled water. The mixture was then placed on a shaker at a speed of 200 revolutions per minute for a duration of two hours, resulting in the preparation of the stock extract. Subsequently, the extract was diluted with double distilled water to prepare the necessary concentrations for the experiment. To examine the fungicidal properties of saffron extracts, the Potato Dextrose Agar (PDA) culture

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86305.1174

media were used containing different concentrations of the extract. After solidification of the culture media, 5 mm diameter mycelial plug of the fungus was inserted upside down in the middle of each Petri plate using a cork borer. Subsequently, the petri dishes were sealed with parafilm and relocated to the incubator set at 25ºC temperature. They were maintained under these specific circumstances until the completion of each test period.

Results and Discussion

Results Results of the experiments showed that the type of extract was significant only on the mean germination time of whitetop and the highest mean germination time (MGT) was obtained from the corm extract. The corm extract showed the maximum germination time. Regarding the impact of concentration on seedling, it was discovered that concentrations up to 0.5% had a stimulatory effect, while higher concentrations had an inhibitory effect on the attributes of whitetop plants. Increasing the concentration of the extract to 4% resulted in reduction of 21.9%, 17%, and 22% in the root length, root fresh weight, and shoot fresh weight, respectively. The findings of this experiment indicated that 4% concentration of the corm extract resulted in the lowest shoot dry weight and seedling dry weight. The lowest dry weight of root was obtained using 2% concentration of the corm extract. The antifungal test findings indicated that *Aspergillus niger* fungus exhibited the smallest colony diameter on the third day when treated with 0.0312%, 0.625%, and 1%. concentrations of the leaf extract. Any antifungal effect was not observed in the media treated with the extract compared to the controls. The experimental findings revealed that saffron extracts, when present in high quantities, effectively suppressed the growth of whitetop weed. However, the concentrations of saffron extracts used in this study were insufficient to avoid the growth of *A. niger*. The study demonstrated the allelopathic effects of saffron leaf and corm extracts on various plant species including *Amaranthus retroflexus* (Rashed Mohassel *et al*., 2009), *Rapistrum rugosum* (Alimoradi *et al*., 2008), *Plantago psyllium* (Rashed Mohassel *et al*., 2009), *Gypsophylla pilosa* (Azizi *et al*., 2013), *Hordeum spontaneum* (Ghesmati *et al*., 2018), *Agropayron repense* (Ghesmati *et al*., 2018), and *Cardaria draba* (Soltanipoor *et al*., 2006). Furthermore, the saffron extracts were found to have antifungal properties against *Fusarium oxysporum* (Rubio-Moraga *et al.,* 2013), *Aspergillus parasiticus* (Tzanidi *et al.,* 2012), *Candida albicans* (Vahidi *et al.,* 2002), *Penicillium raistriicki* (Rubio-Moraga *et al.,* 2013), and *Bipolaris spicifera* (Rubio-Moraga *et al.,* 2013) in previous studies. Hence, extracts derived from saffron leaves and corms possess antiherbal and antifungal properties.

Conclusion

Overall, the findings of this study indicated that saffron extract type did not have any impact on the seedling traits of whitetop weed. Nevertheless, saffron extract with concentration of less than 0.5% exhibited a stimulating impact, whereas at higher concentrations had an inhibitory influence on the characteristics of whitetop. The used amounts of saffron extracts failed to inhibit the growth of *A. niger*. Hence, based on the findings of this experiment, it is advisable to examine effect of higher doses of saffron extracts on *A. niger*.

Keywords: Antifungal, Fungus colony, Germination percent, Water extract, Weed

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۲۵۸-۲۴۱

بررسی اثرات دگرآسیبی و قارچ‌کشی عصاره آبی برگ و بنه زعفران بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ی شاهی وحشی و قارچ *Aspergillus niger*

زهرا توکلی[1]- مهدی جهانی[2*]- حسین حمامی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۲

چکیده

بیماری‌ها و علف‌های هرز از عوامل اصلی محدودکننده تولید محصولات کشاورزی است. استفاده از سموم شیمیایی روشی رایج جهت مدیریت علف‌های هرز و بیماری‌های گیاهی در مزارع مختلف است که اثرات منفی زیادی به دنبال دارد لذا آفت‌کش‌های طبیعی به علت تجزیه سریع‌تر و اثرات زیست‌محیطی کمتر در محیط، بیشتر مورد توجه هستند. امروزه کاربرد عصاره‌های گیاهی به‌عنوان منبع با ارزشی جهت تولید علف‌کش‌ها و قارچ‌کش‌های طبیعی مورد توجه قرار گرفته است. برگ و بنه زعفران به‌عنوان منابع قابل دسترس و ارزان می‌تواند به‌عنوان آفت‌کش طبیعی مورد استفاده قرار گیرد. به‌منظور ارزیابی خاصیت دگرآسیبی و قارچ‌کشی عصاره برگ و بنه زعفران بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ی علف‌هرز شاهی وحشی (*Cardaria draba*) و قارچ آسپرژیلوس نیجر (*Aspergillus niger*) آزمایش‌های مستقل به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۱۴۰۱ انجام شد. تیمارهای آزمایش دگرآسیبی شامل دو نوع اندام زعفران (برگ و بنه) و هفت غلظت عصاره (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۴ درصد وزنی- حجمی) بودند. تیمارهای آزمایش ضد قارچی شامل دو نوع اندام زعفران (برگ و بنه) و هفت غلظت عصاره (صفر، ۰/۰۳۱۲، ۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ وزنی-حجمی) بودند. نتایج دگرآسیبی نشان داد که نوع عصاره تنها بر میانگین زمان جوانه‌زنی شاهی وحشی معنی‌دار بود و بیشترین میانگین زمان جوانه‌زنی از عصاره بنه با افزایش ۷/۸ درصدی نسبت به عصاره برگ به‌دست آمد. در خصوص اثر غلظت بر صفات گیاهچه مشخص شد که تا غلظت ۰/۵ درصد اثر تحریک‌کنندگی داشت. اما با افزایش غلظت عصاره اثر بازدارندگی بر صفات گیاهچه شاهی وحشی مشاهده شد. به‌طوری‌که افزایش غلظت عصاره به چهار درصد سبب کاهش به‌ترتیب ۲۱/۹، ۱۷ و ۲۲ درصدی در طول ریشه‌چه، وزن‌تر ریشه‌چه و وزن‌تر ساقه‌چه شد. نتایج اثر متقابل نوع و غلظت عصاره نشان داد که کم‌ترین وزن خشک ساقه‌چه و گیاهچه از غلظت چهار درصد عصاره بنه به‌دست آمد. کم‌ترین وزن خشک ریشه‌چه از غلظت دو درصد عصاره بنه حاصل شد. نتایج آزمایش ضدقارچی نشان داد که بیشترین اثر بازدارندگی بر قارچ آسپرژیلوس (*A. niger*) نیجر در روز سوم از غلظت ۰/۰۳۱۲، ۰/۶۲۵ و ۱ درصد عصاره برگ به‌دست آمد. در نهایت نتایج این آزمایش‌ها نشان داد که عصاره‌های زعفران در غلظت‌های ۱، ۱/۵، ۲ و ۴ درصد تأثیر بازدارندگی بر رشد گیاهچه شاهی وحشی دارد. اما غلظت‌های عصاره زعفران تأثیری بر رشد قارچ آسپرژیلوس (*A. niger*) ندارد. به‌طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که، نوع عصاره زعفران تأثیری بر صفات گیاهچه شاهی وحشی نداشت. اما غلظت عصاره زعفران تا ۰/۵ درصد اثر تحریک‌کنندگی و در غلظت‌های بالاتر اثر بازدارندگی بر صفات گیاهچه شاهی وحشی داشت. با توجه به نتایج این آزمایش پیشنهاد می‌شود اثر غلظت‌های بالاتر عصاره زعفران بر رشد قارچ آسپرژیلوس (*A. niger*) بررسی شود.

واژه‌های کلیدی: درصد جوانه‌زنی، ضد قارچ، عصاره آبی، کلونی قارچ، علف‌هرز

---

۱ و ۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
۳- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند و عضو گروه پژوهشی گیاه و تنش‌های محیطی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
(*- نویسنده مسئول Email: mjahani@birjand.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86305.1174

مقدمه

رویکرد و علاقه روزافزون مردم به استفاده از گیاهان دارویی و فرآورده‌های حاصل از آن سبب افزایش نقش این گیاهان در چرخه اقتصادی جهانی شده است. به‌طوری‌که مصرف فرآورده‌های این گیاهان در کشورهای در حال توسعه و پیشرفته نیز در حال افزایش است (Moradi *et al.*, 2009). تنوع آب و هوایی و شرایط اکولوژیک متفاوت ایران باعث شده که ایران به‌عنوان یکی از بزرگ‌ترین مخازن گیاهان دارویی دنیا محسوب شود (Omidbeygi *et al.*, 2001). زعفران نیز یکی از این گیاهان است. زعفران[1] گیاهی از خانواده زنبق[2] است که به‌عنوان گران‌بهاترین محصول کشاورزی و دارویی کشور ایران و دنیا شناخته می‌شود (Kafi *et al.*, 2002).

وجود بیماری‌ها و علف‌های هرز از عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی است. اقدامات مختلفی در راستای حفاظت از گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا و علف‌های هرز صورت می‌گیرد که استفاده از سموم شیمیایی یکی از این موارد است (Hadian *et al.*, 2006). مشکل عمده‌ی این سموم مصنوعی، باقی ماندن و تجزیه طولانی‌مدت آن‌ها در طبیعت است که سبب آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی شده و احتمال ورود سموم به زنجیره‌غذایی را افزایش می‌دهد (Hajian Far & Zarbakhsh, 2006). امروزه کنترل زیستی علف‌های هرز و عوامل بیماری‌زای گیاهی با هدف کاهش اثرات خطرناک آفت‌کش‌های شیمیایی از جمله تهدید سلامتی بشر، آلودگی محیطزیست و از بین رفتن موجودات غیر هدف و پیدایش عوامل بیماری‌زای مقاوم یک اولویت به شمار می‌رود (Afif *et al.*, 2021; Azadi *et al.*, 2018, 2020).

دگرآسیبی به اثرات تحریک‌کنندگی یا بازدارنده حاصل از مواد شیمیای تولیدی توسط اندام‌های مختلف گیاهان شامل ریشه، ساقه، برگ و دانه و ریزجانداران بر سایر گیاهان مجاور و ریزجانداران گفته می‌شود (Motmainna *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2001; Elmetwally *et al.*, 2022). مواد دگرآسیب شامل، مواد متابولیکی ثانویه و محصولات فرعی حاصل از فرآیندهای متابولیکی اولیه گیاهان هستند (Azadi *et al.*, 2018, 2020) . این ترکیبات رشد و نمو گیاهان را با اختلال در فرآیندهای مهم فیزیولوژیک آن‌ها همچون تغییر ساختار دیواره سلولی، نفوذپذیری و عملکرد غشا در ورود و خروج مواد، جلوگیری از تقسیم سلولی و فعالیت برخی آنزیم‌ها، جوانه‌زنی بذور، جذب عناصر غذایی، فتوسنتز، تنفس و تغییر

1- *Crocus sativus* L.
2- Iridaceae

ساختار RNA و DNA دچار مشکل می‌کنند (Seigler, 1996; Ghimire *et al.*, 2020). برخی گزارش‌ها بیانگر آن است که برخی از گیاهان دارویی دارای پتانسیل دگرآسیبی هستند. لذا گیاهان دارویی، منبع مناسبی از مواد دگرآسیب به‌شمار می‌روند که در توسعه علف‌کش‌ها و آفت‌کش‌های طبیعی مفید خواهند بود. گیاه دارویی زعفران دارای اثرات بازدارندگی روی رشد قارچها و علف‌های هرز مختلف است (Azizi *et al.*, 2013).

نتایج بررسی اثر عصاره برگ، بنه و گلپوش زعفران بر روی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه چهار رقم سورگوم، کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه، ساقه، برگ و وزن تازه و خشک گیاهچه هر چهار رقم سورگوم را نشان داد (Taheri et *al.*, 2011). علاوه بر این تأثیر بازدارندگی عصاره آبی زعفران بر جوانه‌زنی تاج‌خروس[3] و اسفرزه[4] نیز گزارش شده است. عصاره برگ و بنه‌ی زعفران، ارتفاع، سطح برگ، وزن برگ، وزن ساقه و وزن تک بوته‌ی علف‌هرز تاج‌خروس را کاهش داد (Rashed Mohassel *et al.*, 2009). نتایج یک بررسی نشان داد که با افزایش غلظت عصاره بنه و برگ زعفران درصد و سرعت جوانه‌زنی علف‌هرز شلمبیک[5] و گچ دوست[6] به‌نحو چشمگیری کاهش یافت. علاوه بر این با افزایش غلظت عصاره، میزان طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه روند نزولی نشان داد (Azizi *et al.*, 2013). بررسی دگرآسیبی زعفران زراعی روی شاخص‌های جوانه‌زنی بذور زیره سبز[7]، زنیان[8] و رازیانه[9] نشان داد که موادی در اندامهای زعفران است که در مقادیر بالا اثر ممانعت‌کنندگی روی شاخص‌های مرتبط با جوانه‌زنی و بنیه بذر دارد که می‌تواند روی استقرار و رشد اولیه گیاهچه اثر منفی داشته باشد (Agah *et al.*, 2013). با افزایش بقایای برگ و بنه زعفران به محیط‌کشت، به‌ترتیب طول ساقه سورگوم[10] و طول ریشه گندم[11] بطور معنی‌داری کاهش یافت (Noorian *et al.*, 2013).

ویژگی‌های ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی از گونه‌های مختلف در کنترل توسعه قارچی در شرایط آزمایشگاه و محیط ثابت شده است. در بررسی که محققین انجام دادند، نشان داده شد که در شرایط آزمایشگاه عصاره گیاه تاتوره[12]، چریش[1] و سیر[2] در غلظت ۵

3- *Amaranthus retroflexus* L.
4- *Plantago psyllium* L.
5- *Rapistrum rugosum* L.
6- *Gypsophila pilosa* Huds.
7- *Cuminum cyminim* L.
8- *Trachyspermum ammi* L.
9- *Foeniculum vulgare* L.
10- *Sorghum bicolor* (L.) Moench
11- *Triticum aestivum* L.
1- *Datura stramonium* L.

درصد باعث بیش‌ترین درصد بازدارندگی رشد قارچ آلترناریا[3] شده و بیش‌ترین کاهش شدت بیماری توسط عصاره سیر در غلظت ۵ درصد در شرایط گلخانه‌ای مشاهده شد (Nashwa & Abo-Elyousr, 2012). اثرات زعفران بر روی قارچ‌های کاندیدا آلبیکنس[4] و آسپرژیلوس[5] بررسی شده و توانایی مهارکنندگی آن را بر قارچ‌های مورد مطالعه تأیید شده است (Vahidi *et al.*, 2002). محققین دیگری نیز اثر ضد قارچی بنه زعفران بر روی برخی قارچ‌ها نظیر فوزاریوم[6]، پنی‌سیلیوم[7]، آسپرژیلوس و بایپولاریس[8] را گزارش کردند (Rubio-Moraga *et al.*, 2013). با توجه به گزارش‌های مبنی بر خاصیت دگرآسیبی زعفران در مدیریت علف‌های هرز و نقش مؤثر عصاره‌های گیاهی در کنترل و جلوگیری از رشد کلونی پاتوژن‌ها این آزمایش با هدف ارزیابی خاصیت دگرآسیبی عصاره آبی برگ و بنه زعفران بر جوانه‌زنی و رشد علف‌هرز شاهی وحشی و کنترل قارچ آسپرژیلوس در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش دگرآسیبی

به‌منظور ارزیابی خاصیت دگرآسیبی عصاره برگ و بنه زعفران بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ی شاهی وحشی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در آزمایشگاه تحقیقات بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۱۴۰۱ انجام شد. تیمارهای آزمایش اثر بازدارندگی عصاره زعفران بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر شاهی وحشی (آزمایش دگرآسیبی) شامل دو نوع اندام زعفران (برگ و بنه) و هفت غلظت عصاره (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۴ درصد وزنی- حجمی) بودند. صفات مورد مطالعه در آزمایش دگرآسیبی شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر و خشک ریشه‌چه، وزن تر و خشک ساقه‌چه، وزن تر و خشک گیاهچه، بنیه گیاهچه و ضریب تخصیص شاهی وحشی بودند. بذرهای رسیده شاهی وحشی از مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۱۴۰۰ جمع‌آوری شدند. برگ‌ها و بنه‌های زعفران از مزارع چهارساله شهرستان سرایان از توابع استان خراسان جنوبی استفاده گردید. سپس به‌منظور جداسازی بقایای خاک با آب شستشو شده و به‌مدت یک هفته در شرایط سایه خشک شده و به تفکیک به‌وسیله آسیاب پودر شدند. برای تهیه عصاره آبی، مقدار ۴۰ گرم پودر خشک برگ و بنه زعفران با ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و به‌مدت ۲ ساعت بر روی شیکر با ۲۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت، محلول حاصل، از کاغذ صافی واتمن عبور داده شدند و عصاره مادر تهیه شد (بیشترین غلظت در تیمارها). سپس با رقیق‌سازی بوسیله آب دوبار تقطیر عصاره به دست آمده غلظت‌های مورد نیاز جهت اجرای آزمایش تهیه‌شده و مورد استفاده قرار گرفت (Mojab & Mahmodi, 2008).

به‌منظور بررسی عصاره‌های برگ و بنه زعفران بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌ی شاهی وحشی از پتری‌دیش‌های شیشه‌ای با قطر ۹ سانتی‌متر استفاده شد. ابتدا پتری‌دیش‌ها در اتوکلاو در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد و ضدعفونی گردید. بذرها نیز به کمک محلول هیپوکلریت سدیم نیم درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی شده و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند. در هر واحد آزمایشی ۲۵ بذر سالم بر روی یک لایه کاغذ واتمن شماره یک قرار داده شده و ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره‌ها به آن‌ها اضافه شد. پتری‌دیش‌ها در انکوباتور قرار داده شده و به‌مدت ۱۰ روز شمارش بذرهای جوانه‌زده که دارای حداقل دو میلی‌متر طول ریشه‌چه بود در ساعت نه صبح هر روز انجام شد. در انتهای روز دهم طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با استفاده از کاغذ میلی‌متری اندازه‌گیری شد. سپس وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه پس از ۴۸ ساعت قرار دادن در آون در دمای ۶۰ درجه سلسیوس با ترازو با دقت ده هزارم گرم اندازه‌گیری شد. درصد جوانه‌زنی (تعداد بذر جوانه‌زده در روز آخر آزمایش×۱۰۰) طبق معادله ۱، سرعت جوانه‌زنی (مجموع حاصل تقسیم تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز بر همان روز) طبق معادله ۲ (Heivachi Feizi *et al.*, 2013; *et al.*, 2023)، میانگین زمان جوانه‌زنی طبق معادله ۳، بنیه گیاهچه بر حسب معادله ۴ و ضریب تخصیص بر اساس معادله ۵ محاسبه شد.

$$FGP = NSG/NST \qquad (۱)$$

$$GR = \Sigma\, Ni/Ti \qquad (۲)$$

$$MGT = \Sigma\,(Di \times Ni)/\Sigma Ni \qquad (۳)$$

$$\text{بنیه گیاهچه} = \frac{\text{طول گیاهچه} \times GP}{100} \qquad (۴)$$

2- *Azadirachta indica*
3- *Allium sativum* L.
4- *Alternaria solani*
5- *Candida albicans*
6- *Aspergillus niger*
7- *Fusarium oxysporum*
8- *Penicillium raistriicki*
9- *Bipolaris spicifera*

$$\text{ضریب تخصیص} = \frac{\text{میانگین طول ریشه‌چه}}{\text{میانگین طول ساقه‌چه}} \quad (۵)$$

در این معادله‌ها FGP درصد نهایی جوانه‌زنی، NSG تعداد بذر جوانه‌زده در انتهای آزمایش در هر واحد آزمایشی، NST تعداد کل بذرهای مورد آزمایش در هر واحد آزمایشی، GR سرعت جوانه‌زنی (تعداد بذر در روز)، Ni تعداد بذرهای جوانه زده در روز i ام، Ti روز i ام آزمایش، MGT میانگین زمان جوانه‌زنی، N تعداد بذرهایی که در روز D ام جوانه زدند و D تعداد روزهایی‌که از آغاز زمان جوانه‌زنی گذشته می‌باشند.

آزمایش ضد قارچی

برای آزمایش ضد قارچی، از غلظت‌های عصاره آبی در هفت سطح (صفر، ۰/۰۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی-حجمی) استفاده شد. قارچ مورد استفاده در این آزمایش از قبل شناسایی و خالص شده بود. برای جداسازی قارچهای عامل پوسیدگی از بنه زعفران بعد از سترون کردن سطح بنه‌ها با محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به‌مدت ۲ دقیقه و سپس با آب مقطر استریل شستشو گردید و بعد از حد فاصل بخش سالم و بیمار بنه زعفران قطعات کوچکی به قطر حدودا یک سانتیمتر جداسازی گردید و پس از اطمینان از خشک شدن قطعات جداسازی شده روی محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار کشت داده و در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. خالص‌سازی به روش تک اسپور صورت گرفت و برای شناسایی از پرگنه‌های قارچی اسلاید میکروسکوپی تهیه گردید و با توجه به ویژگی‌های ریخت‌شناسی، شناسایی اولیه جدایه‌ها براساس کلیدهای شناسایی معتبر انجام گرفت و برای مراحل شناسایی مولکولی جدایه‌ها، استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش chelex (Walsh *et al*., 1991) انجام گردید همچنین برای تکثیر ژن DNA ریبوزومی در چرخه‌های دمایی به کار رفته طی فرایند PCR از جفت آغازگرهای ITS4 و ITS5 استفاده شد. به‌منظور بررسی اثر ضدقارچی عصاره‌های زعفران از محیط کشت PDA[1] استفاده شد. در این روش، محیط کشت در ارلن‌های یک لیتری تهیه گردید و اتوکلاو شد. بعد از سرد شدن محیط، عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف به محیط اضافه گردید و به‌هم زده شدند تا امولسیونی کاملاً یکنواخت ایجاد گردد. سپس محیط‌های حاصل درون پتری‌دیش‌هایی به قطر نه سانتی‌متر تقسیم و اجازه داده شد تا محیط کاملاً جامد گردد. بعد از بستن کامل محیط کشت، دیسک‌هایی به قطر پنج میلی‌متر به وسیله کورک بورر[2] از حاشیه میسیلیوم‌های قارچ هفت روزه به‌صورت معکوس در مرکز پتری‌دیش‌ها روی محیط کشت قرار داده شد. برای هر غلظت سه پتری‌دیش به‌عنوان تکرار استفاده شد. سپس پتری‌دیش‌ها با پارافیلم بسته شده و به داخل انکوباتور[3] با دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شده و تا پایان هر دوره آزمایش در این شرایط نگهداری شدند.

برای هر گروه از تیمارها، تیمار بدون عصاره به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. رشد رویشی هاله قارچها تا زمانی که سطح محیط کشت پتری شاهد توسط قارچ کاملاً اشغال شد به‌طور روزانه اندازه‌گیری شد. داده‌ها پس از بررسی نرمال بودن توسط نرم‌افزار SAS 9.4 آنالیز شد. برای رسم شکل‌ها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد. به‌منظور مقایسه میانگین از آزمون LSD محافظت شده استفاده گردید.

نتایج

آزمایش دگرآسیبی: اثر عصاره‌های زعفران بر شاخص‌های جوانه‌زنی شاهی وحشی

نتایج تجزیه واریانس عصاره‌های زعفران بر خصوصیات جوانه‌زنی شاهی وحشی در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج این آزمایش نشان داد که غلظت عصاره بر درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار بود. نوع عصاره بر میانگین زمان جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اما هیچ یک از خصوصیات جوانه‌زنی تحت تأثیر اثر متقابل تیمارها قرار نگرفتند. مقایسه میانگین اثر غلظت نشان داد که کم‌ترین درصد جوانه‌زنی از سطح ۲ درصد بدست آمد و بین سایر سطوح با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۱). سرعت جوانه‌زنی بذر شاهی وحشی تا سطح ۱/۵ درصد اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت و کم‌ترین میزان شاخص مذکور از غلظت ۲ درصد به‌دست آمد (شکل ۱). بیش‌ترین میانگین زمان جوانه‌زنی بذر مربوط به عصاره بنه بود (شکل ۲).

1- Potato Dextrose Agar
2- Cork borer
3- Incubator

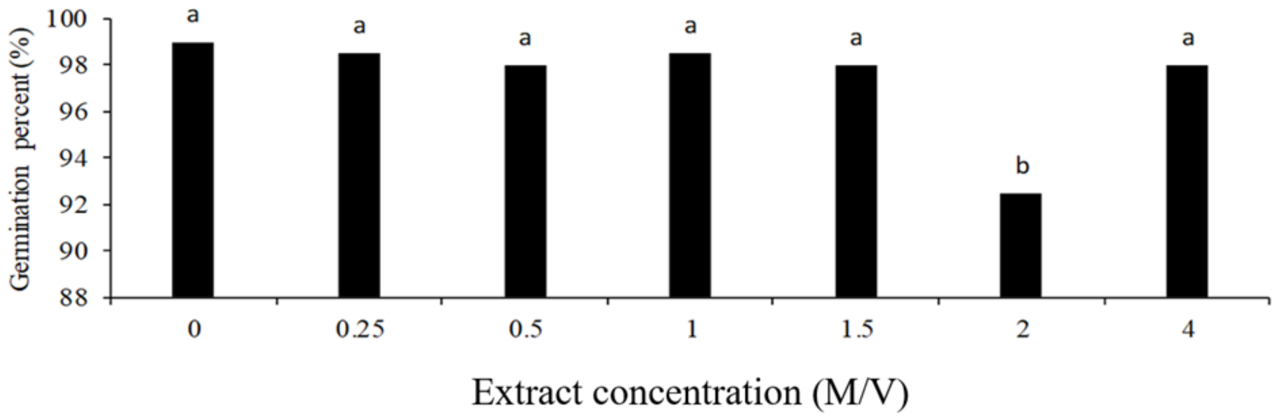
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات جوانه‌زنی شاهی وحشی تحت تأثیر عصاره‌های زعفران

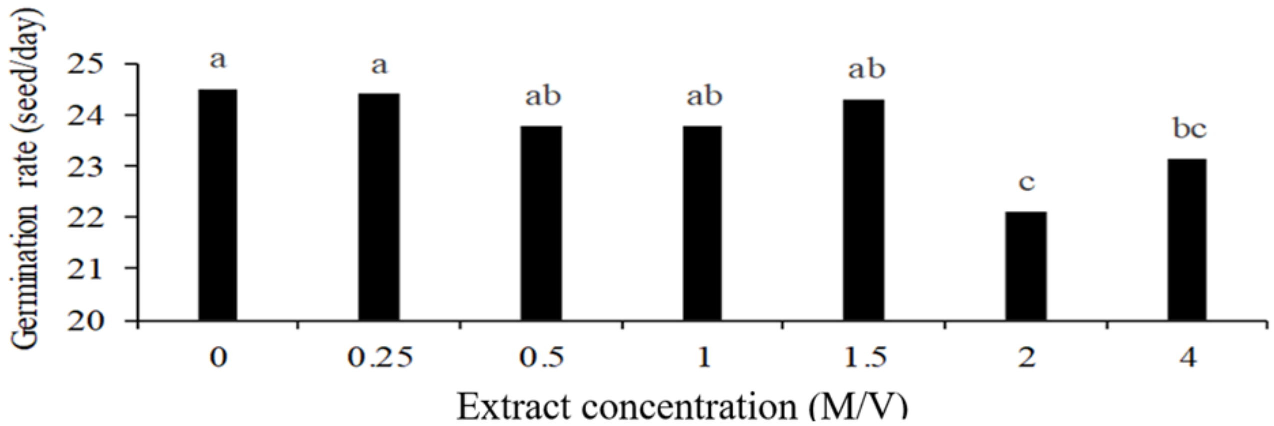
Table 1- Analysis of variance (Mean of squares) germination characteristics of whitetop under the effect saffron extracts

S.O.V.	DF	Germination percent	Germination rate	Mean germination time
Extract type	1	23.143 ns	2.926 ns	0.090 **
Extract concentration	6	40 *	5.741 **	0.011 ns
E×C	6	9.143 ns	1.812 ns	0.005 ns
Error	42	16.476	1.541	0.009
C.V (%)	-	4.16	5.23	9.30

NS، * و ** : به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد است.

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



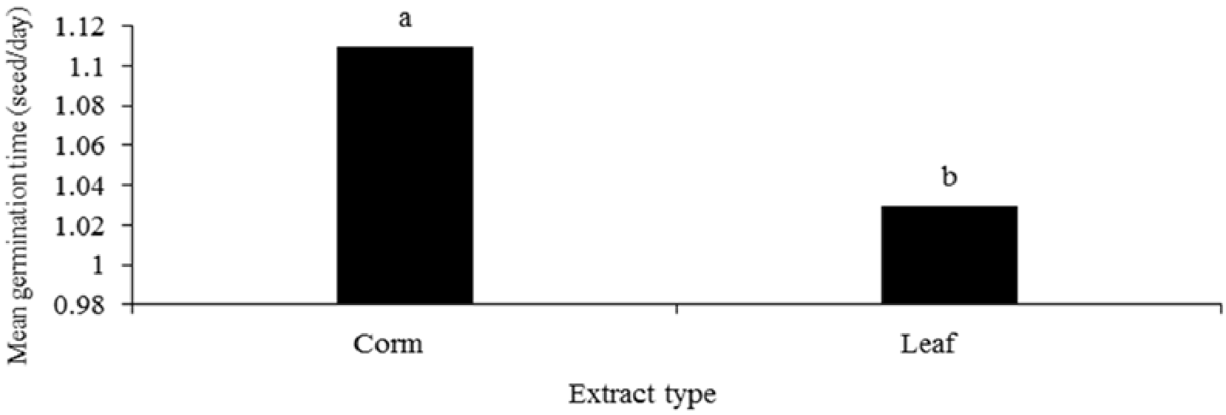


شکل ۱- اثر غلظت عصاره زعفران بر درصد و سرعت جوانه‌زنی شاهی وحشی

(میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ با توجه به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند).

Figure 1- The effect of extract concentration of saffron on germination percent and rate of whitetop

(The means with the same letter are not significantly different at the 0.05 level of probability according to the LSD test).



شکل ۲- اثر نوع عصاره زعفران بر میانگین زمان جوانه‌زنی شاهی وحشی

(میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ با توجه به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند).

Figure 2- The effect of type concentration of saffron mean germination time of whitetop

(The means with the same letter are not significantly different at the 0.05 level of probability according to the LSD test).

نتایج تجزیه واریانس اثر نوع عصاره، غلظت عصاره و اثر متقابل نوع عصاره و غلظت عصاره بر صفات گیاهچه شاهی وحشی در جدول ۲ نشان داده شده است. نوع عصاره بر هیچ یک از صفات مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری نداشت. غلظت عصاره بر طول ریشه‌چه، طول ساقه چه، وزن تر و خشک ریشه‌چه، وزن تر و خشک ساقه‌چه در سطح یک درصد اثر معنی‌داری داشت. اثر متقابل تیمارها هم در بین صفات تنها بر وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی‌داری داشتند (جدول ۲).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش غلظت عصاره به چهار درصد به‌ترتیب سبب کاهش ۲۱/۹، ۱۷ و ۲۲ درصدی در طول ریشه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و وزن تر ساقه‌چه شد (شکل ۳). کم‌ترین طول ساقه‌چه از غلظت دو درصد به‌دست آمد (شکل ۳). با توجه به نتایج اثر متقابل تیمارها، بیش‌ترین وزن خشک ریشه‌چه از غلظت ۰/۵ درصد عصاره بنه و شاهد (۰/۹۷ میلی‌گرم) و کم‌ترین وزن خشک ریشه‌چه از غلظت دو درصد عصاره بنه حاصل شد (شکل ۴). بیش‌ترین وزن خشک ساقه‌چه از غلظت صفر و کم‌ترین شاخص مذکور از غلظت ۴ درصد عصاره بنه به‌دست آمد (شکل ۵).

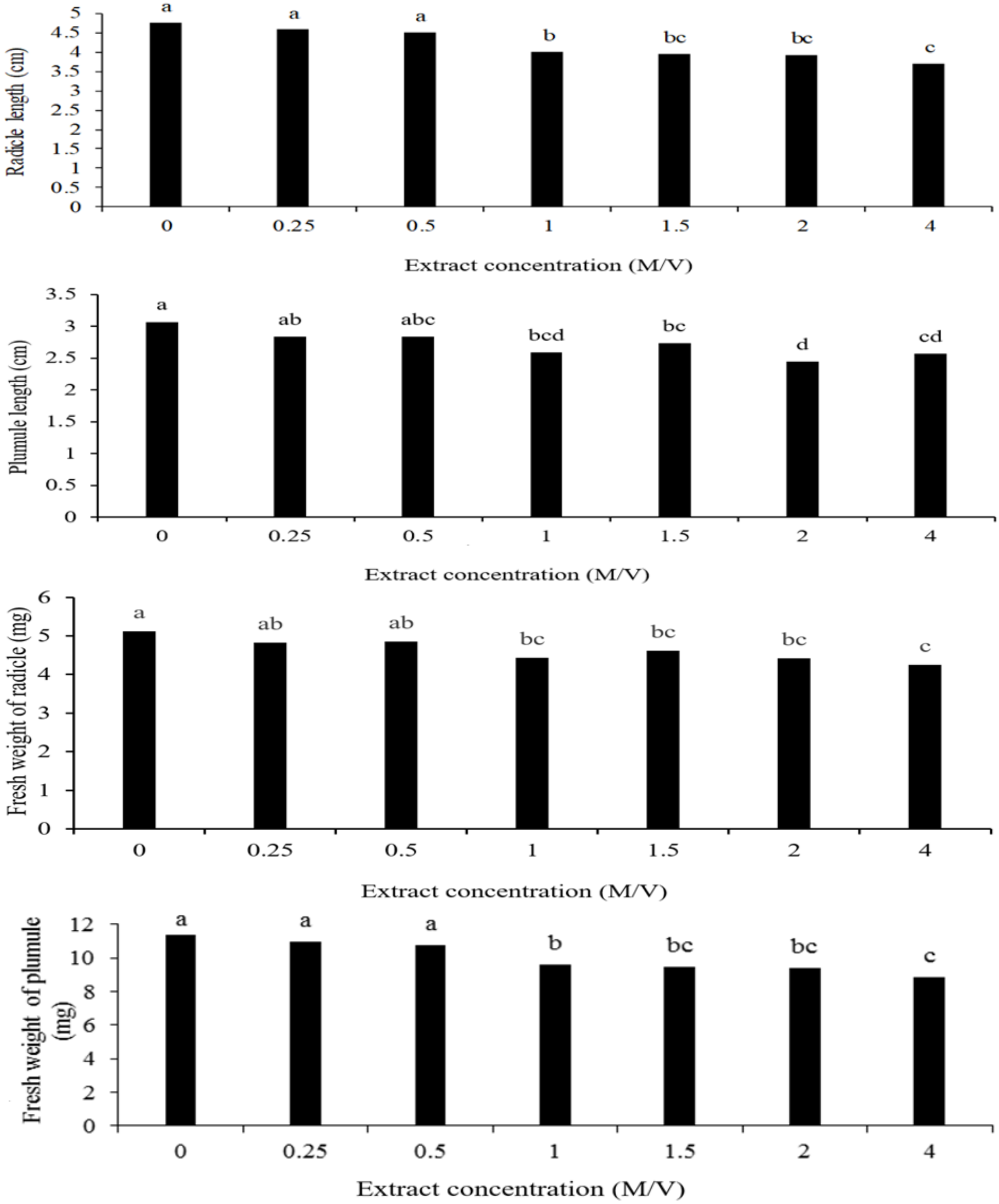
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات گیاهچه شاهی وحشی تحت تأثیر عصاره‌های زعفران

Table 2- Analysis of variance (Mean of squares) seedling characteristics of whitetop under the effect saffron extracts

S.O.V.	DF	Radicle length	Plumule length	Fresh weight of radicle	Dried weight of radicle	Fresh weight of plumule	Dried weight of plumule
Extract type (E)	1	0.041 ns	0.063 ns	0.145 ns	0.004 ns	0.233 ns	0.012 ns
Extract concentration (C)	6	1.278 **	0.351 **	0.734 **	0.023 **	7.363 **	0.644 **
E×C	6	0.105 ns	0.111 ns	0.224 ns	0.013 *	0.608 ns	0.088 *
Error	42	0.071	0.074	0.207	0.005	0.408	0.036
C.V (%)	-	6.32	9.94	9.78	8.44	6.33	7.57

NS، * و ** : به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد است.

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

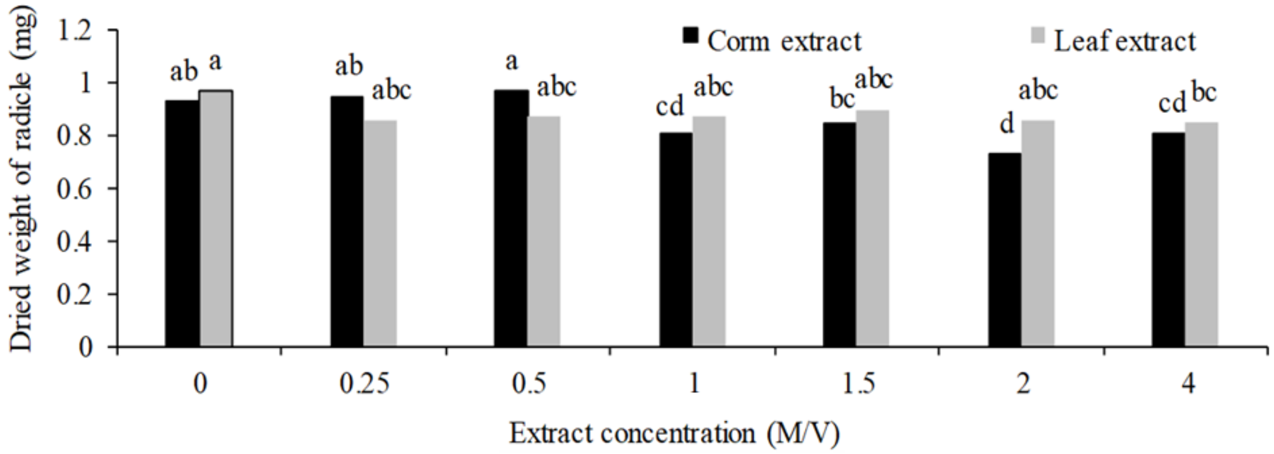


شکل ۳- اثر غلظت عصاره زعفران بر طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و وزن تر ساقه‌چه شاهی وحشی

(میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ با توجه به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند).

Figure 3- The effect of extract concentration of saffron on radicle length, plumule length, radicle weight, and plumule weight of whitetop

(The means with the same letter are not significantly different at the 0.05 level of probability according to the LSD test).



شکل ٤- اثر متقابل غلظت و نوع عصاره های زعفران بر وزن خشک ریشه‌چه شاهی وحشی

(میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ با توجه به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند).

Figure 4- The interaction effects of concentration and type of saffron extract on dried weight of radicle of whitetop
(The means with the same letter are not significantly different at the 0.05 level of probability according to the LSD test).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که وزن خشک گیاهچه، بنیه گیاه چه و ضریب تخصیص شاهی وحشی تحت تأثیر نوع عصاره زعفران قرار نگرفتند. غلظت زعفران بر وزن خشک گیاهچه، بنیه گیاهچه در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری داشت. اثر متقابل نوع عصاره و غلظت عصاره بر وزن خشک گیاهچه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌داری بود (جدول ۳). نتایج اثر متقابل تیمارها بر وزن خشک گیاهچه نشان داد که به‌ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین آن مربوط به تیمار غلظت چهار درصد عصاره بنه و غلظت صفر بود (شکل ۶). نتایج اثر اصلی غلظت عصاره بر بنیه گیاهچه نشان داد که کم‌ترین بنیه گیاهچه از غلظت دو درصد و بیش‌ترین آن از غلظت صفر به دست آمد (شکل ۷).

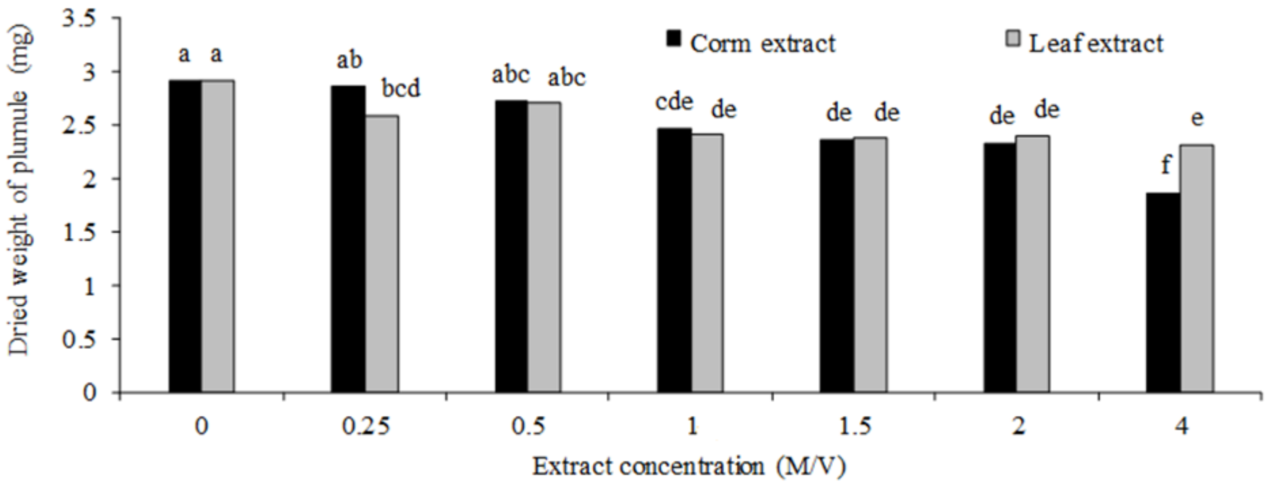
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات گیاهچه شاهی وحشی تحت تأثیر عصاره‌های زعفران

Table 3- Analysis of variance (Mean of squares) seedling characteristics of whitetop under the effect saffron extracts

S.O.V.	DF	Dried weight of seedling	Seedling vigour	Allometric coefficient
Extract type (E)	1	0.031 ns	0.021 ns	0.066 ns
Extract concentration (C)	6	0.872 **	0.900 **	0.044 ns
E×C	6	0.131 *	0.103 ns	0.027 ns
Error	42	0.043	0.062	0.028
C.V (%)	-	6.10	7.38	10.83

NS، * و ** : به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد است.

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

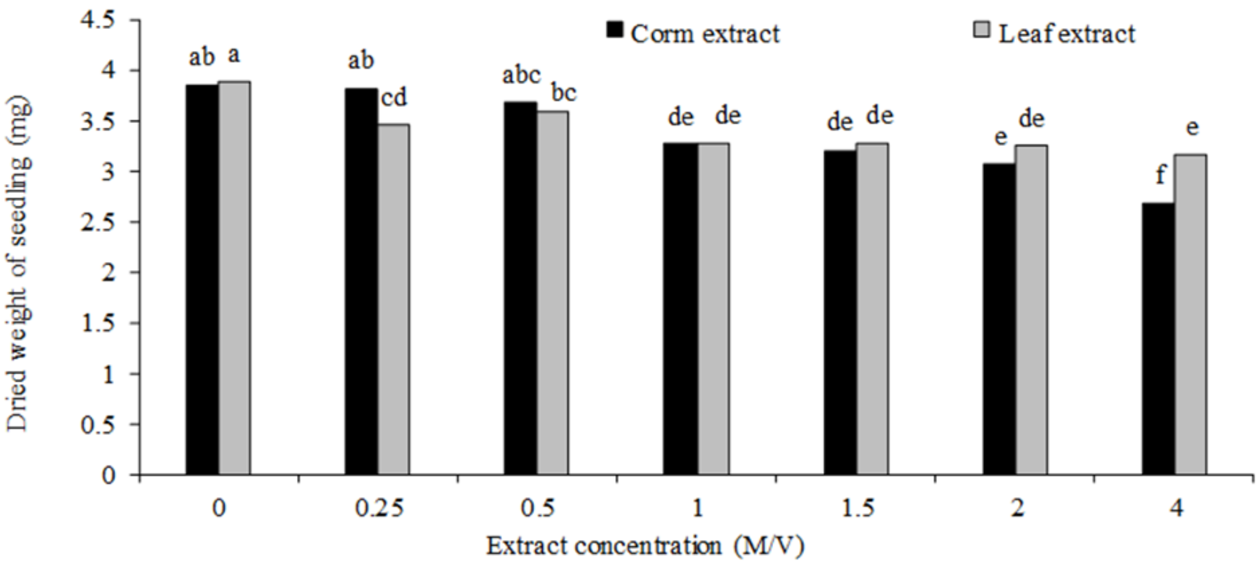


شکل ۵- اثر متقابل غلظت و نوع عصاره‌های زعفران بر وزن خشک ساقه‌چه و وزن خشک گیاه‌چه شاهی وحشی

(میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ با توجه به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند).

Figure 5- The interaction effects of concentration and type of saffron extract on dried weight of plumule and dried weight of seedling of whitetop

(The means with the same letter are not significantly different at the 0.05 level of probability according to the LSD test).

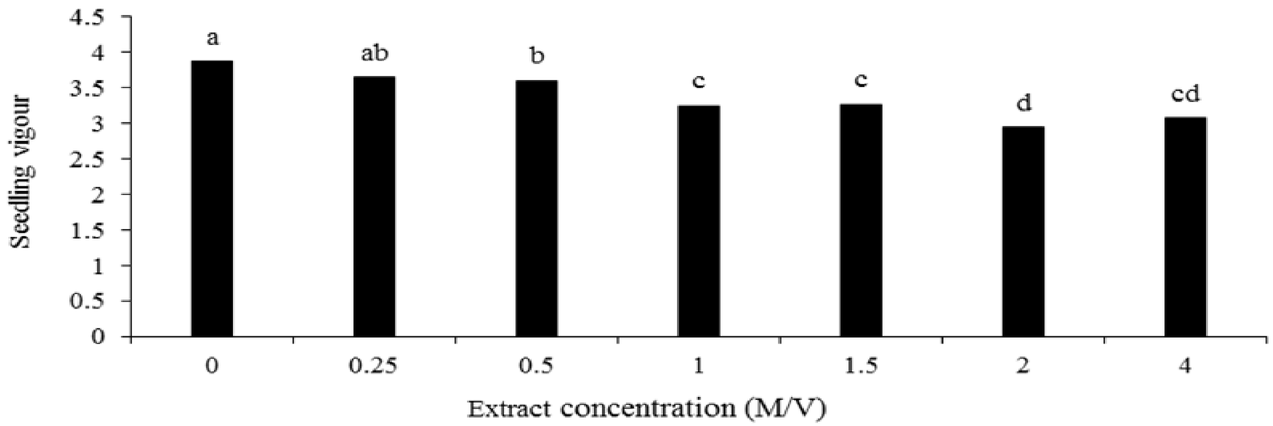


شکل ٦- اثر متقابل غلظت و نوع عصاره‌های زعفران بر وزن خشک گیاه‌چه شاهی وحشی

(میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ با توجه به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند).

Figure 6- The interaction effects of concentration and type of saffron extract on of whitetop

(The means with the same letter are not significantly different at the 0.05 level of probability according to the LSD test).



شکل ۷- اثر غلظت عصاره زعفران بر بنیه گیاه‌چه شاهی وحشی

(میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ با توجه به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند).

Figure 7- The effect of extract concentration of saffron on seedling vigour of whitetop
(The means with the same letter are not significantly different at the 0.05 level of probability according to the LSD test).

جدول ٤- نتایج تجزیه واریانس قطر کلونی قارچ آسپرژیلوس (*Aspergilus niger*) تحت تأثیر عصاره‌های زعفران (میانگین مربعات)

Table 4- Analysis of variance *Aspergilus niger* fungus colony diameter under the effect saffron extracts (Mean of squares)

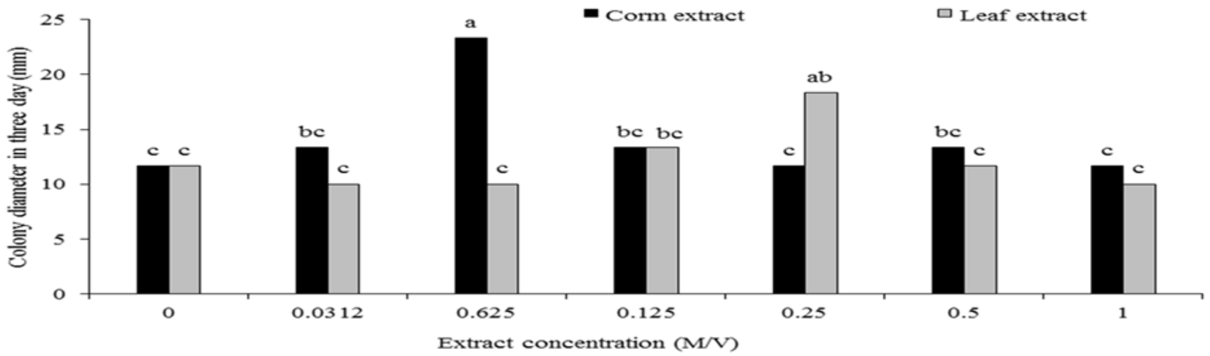
S.O.V.	DF	Colony diameter in three day	Colony diameter in six day	Colony diameter in nine day	Colony diameter in twelve day
Extract type (E)	1	0.036 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.166 ^{ns}	0.011 ^{ns}
Extract concentration (C)	6	0.017 ^{ns}	0.039 *	0.030 *	0.025 *
E×C	6	0.040 **	0.012 ^{ns}	0.013 ^{ns}	0.016 ^{ns}
Error	42	0.011	0.014	0.010	0.009
C.V (%)	-	6.74	8.15	6.74	6.06

^{NS}، * و ** : به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد است.

^{NS}, * and **: non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

آزمایش ضدقارچی: اثر عصاره‌های زعفران بر قطر کلونی آسپرژیلوس (*A. niger*)

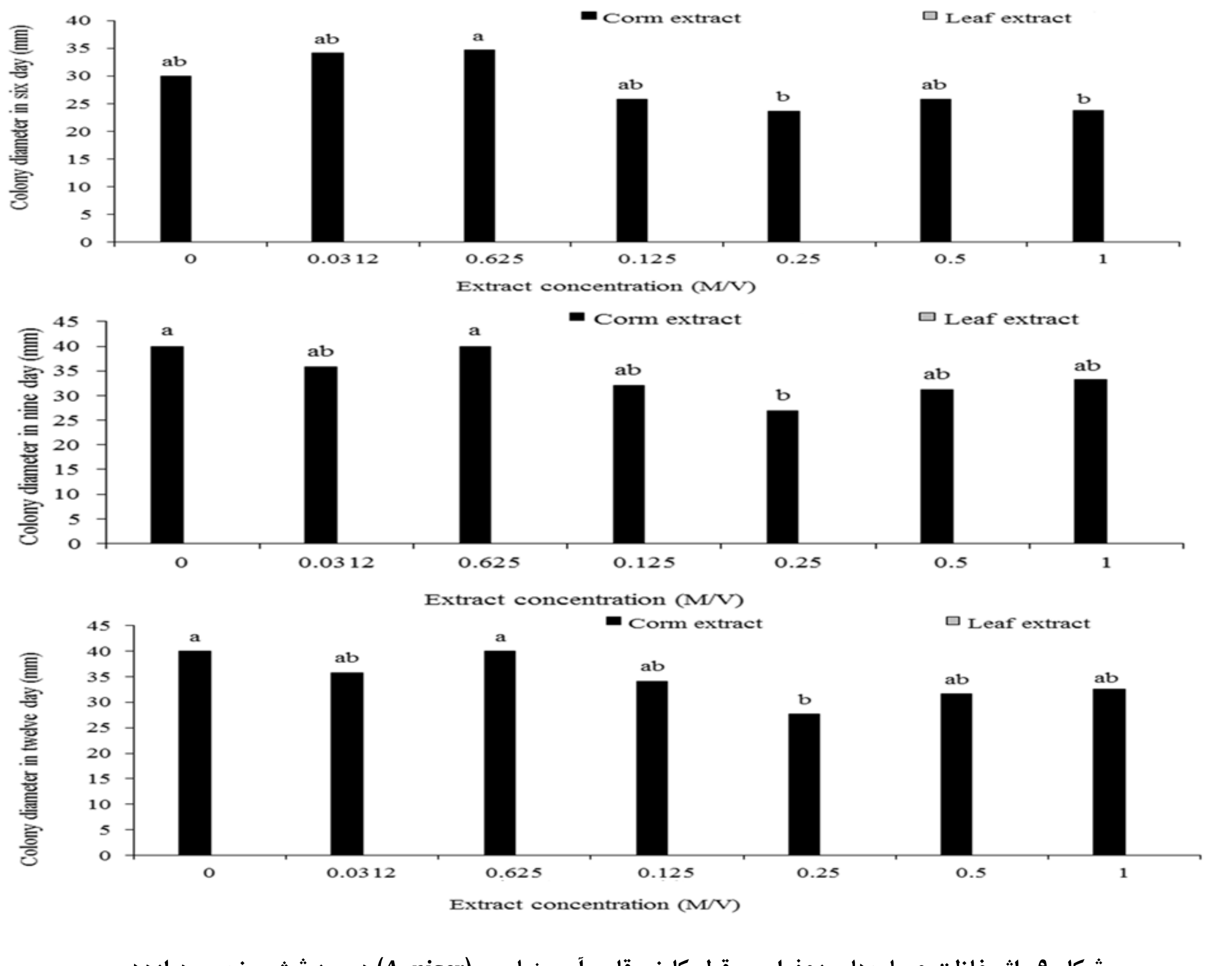
نتایج به‌دست آمده حاصل از تجزیه آماری (جدول ۴) حاکی از آن است که تنها اثر متقابل نوع عصاره در غلظت عصاره بر قطر کلونی قارچ آسپرژیلوس (*A. niger*) در روز سوم معنی‌دار بود. و فقط اثر اصلی غلظت عصاره بر قطر کلونی قارچ در روز ششم، نهم و دوازدهم معنی‌دار بود. با توجه به نتایج اثر متقابل تیمارها، بیش‌ترین قطر کلونی قارچ در روز سوم از غلظت ۰/۶۲۵ عصاره بنه به‌دست آمد و کم‌ترین قطر کلونی قارچ از غلظت ۰/۰۳۱۲، ۰/۶۲۵ و ۱ درصد عصاره برگ حاصل گردید که اختلاف معنی‌دار آماری با شاهد، ۰/۲۵ و ۱ درصد عصاره بنه و ۱ درصد عصاره برگ نداشتند (شکل ۸). مقایسه میانگین اثر اصلی غلظت نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین قطر کلونی در روز ششم از غلظت ۰/۶۲۵ و ۰/۲۵ درصد به‌دست آمد (شکل ۹). در روز نهم و دوازدهم بیش‌ترین قطرکلونی در تیمار بدون عصاره و ۰/۶۲۵ و کم‌ترین آن در غلظت ۰/۲۵ به دست آمد (شکل ۹).



شکل ۸- اثر متقابل غلظت و نوع عصاره‌های زعفران بر قطر کلونی قارچ آسپرژیلوس (*A. niger*) در روز سوم

(میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ با توجه به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند).

Figure 8- The interaction effects of concentration and type of saffron extract on colony diameter *Aspergilus niger* in third day
(The means with the same letter are not significantly different at the 0.05 level of probability according to the LSD test).



شکل ۹- اثر غلظت عصاره‌های زعفران بر قطر کلونی قارچ آسپرژیلوس (*A. niger*) در روز ششم، نهم و دوازدهم

(میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ ٪ با توجه به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند).

Figure 9- The effects of concentration saffron extracts on colony diameter *Aspergilus niger* in sixth, ninth, and twelveth day
(The means with the same letter are not significantly different at the 0.05 level of probability according to the LSD test).

بحث

نتایج اثر عصاره‌های زعفران بر خصوصیات جوانه‌زنی شاهی وحشی نشان داد که زعفران اثر بازدارندگی بر جوانه‌زنی بذور شاهی وحشی دارد. در بررسی اثر دگرآسیبی اندام‌های مختلف زعفران بر جوانه‌زنی گونه‌های علف‌هرز شامل شلمبیک[1] و گچ‌دوست[2] با افزایش غلظت عصاره آبی برگ و بنه زعفران، درصد و سرعت جوانه‌زنی این دو علف‌هرز کاهش پیدا کرد (Azizi *et al*., 2013). در آزمایشی دیگر مشخص شد که با افزایش غلظت عصاره آبی اندام‌های هوایی و بنه از صفر تا ۴ درصد مدت زمان لازم برای رسیدن تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذر شلمی به‌ترتیب ۶۹ و ۷۴ درصد افزایش یافت (Fekrat *et al*., 2012). همچنین، با افزایش غلظت عصاره زعفران از صفر به ۲ درصد، سرعت جوانه‌زنی بذر چغندرقند[3] ۲۹ درصد کاهش یافت (Feizi *et al*., 2018). کم‌ترین درصد و سرعت جوانه‌زنی جو وحشی[4] و مرغ[5] به‌ترتیب از تیمارهای دو درصد عصاره‌ی برگ و دو درصد عصاره بنه زعفران مشاهده شده است (Ghesmati *et al*., 2018).

زعفران حاوی متابولیت‌های ثانویه فراوانی از جمله فنل‌ها، کومارین‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، مشتقات سینامیک اسید و کوئینون‌ها به‌عنوان مواد دگرآسیب است (Kohli *et al*., 2001). ترکیبات دگرآسیب به‌ویژه ترکیبات فنلی مانند تانن‌ها باعث کاهش تقسیم سلولی و طویل شدن سلول‌ها به‌دلیل جلوگیری و کاهش سرعت تقسیم میتوز می‌شوند و از جوانه‌زنی بذور جلوگیری می‌کنند (Meyghani, 2003). در گزارش دیگری ذکر شده که اسیدهای فنلی موجود در عصاره زعفران موجب کاهش هدایت آبی و جذب مواد غذایی شده در نتیجه منجر به کاهش طول ریشه‌چه می‌شود (Kohli *et al*., 2001).

اثر غلظت عصاره زعفران بر خصوصیات گیاهچه شاهی وحشی نشان داد که تا غلظت ۰/۵ درصد دارای اثر تحریک‌کنندگی و در غلظت‌های بالاتر اثر بازدارندگی بر رشد گیاهچه شاهی وحشی بود. برخی از محققین معتقدند دگرآسیبی در غلظت‌های پایین ممکن است اثراتی مثبت و یا منفی داشته باشند، امّا در غلظت‌های بالا، همواره دارای تأثیراتی منفی و بازدارنده است (Abbasi & Jahani, 2007; Alipoor & Mahmoodi, 2015). در این آزمایش نیز صفات گیاهچه تا سطح ۰/۵ درصد اختلاف معنی‌دار آماری با سطح شاهد نداشتند و باعث تحریک رشد گیاهچه شاهی وحشی شدند و با افزایش غلظت اثرات عصاره بر رشد گیاهچه بازدارنده بود. در تأیید نتایج این آزمایش، علیمرادی همکاران (Alimoradi *et al*., 2008) طی تحقیقی نشان دادند که با افزایش سطوح غلظت عصاره برگ و بنه طول ریشه‌چه علف‌هرز شلمی و گچ‌دوست به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. اثرات معنی‌دار دگرآسیبی عصاره زعفران بر شاخص‌های رشد گیاهچه‌ی منداب[6] گزارش شده است (Fallahi *et al*., 2014). با افزایش غلظت عصاره، طول و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه منداب کاهش یافت، به‌طوری‌که حداقل این شاخص‌ها در غلظت شش درصد عصاره بنه به‌دست آمد (Fallahi *et al*., 2014). همچنین کاهش معنی‌دار طول ساقه‌چه و گیاهچه خرفه[7] در نتیجه کاربرد عصاره زعفران گزارش شده است (Hammami *et al*., 2020).

در آزمایشی با افزایش غلظت عصاره بنه زعفران، رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه گندم نیز کاهش یافت (Maleki & Paravar, Farahani 2012). مواد موجود در اندام برگ و بنه زعفران باعث کاهش طول ریشه‌چه علف‌هرز مرغ شد (Ghesmati *et al*., 2018). کاهش رشد گیاهچه در حضور ترکیبات دگرآسیب با توقف شدید میتوز در سلول‌های مریستمی ریشه‌چه و ساقه‌چه همراه می‌شود و در نتیجه وزن گیاهچه کاهش می‌یابد (Bohm *et al*., 2006). همچنین کاهش طول ریشه‌چه در بذر تیمار شده با مواد دگرآسیب زعفران تأیید شده است (Hejazi, 2000).

افزایش غلظت عصاره زعفران سبب کاهش وزن خشک گیاهچه و بنیه گیاهچه شاهی وحشی شد. به‌نظر می‌رسد مواد دگرآسیب با کاهش تقسیمات میتوزی در مریستم ریشه و رشد سلول‌ها و همچنین مختل کردن جذب یون‌های معدنی، سبب کاهش میزان رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه علف‌های هرز می‌شوند (Soltanipoor *et al*., 2006). کاهش وزن خشک گیاهچه علف‌هرز شلمی (Alimoradi *et al*., 2008) و مَرغ (Ghesmati *et al*., 2018) تحت تأثیر سطوح مختلف عصاره برگ و بنه زعفران به اثبات رسیده است. وزن خشک گیاهچه مَرغ و یولاف با افزایش غلظت عصاره‌های سوخ و برگ نرگس به‌طور نزولی کاهش یافت. غلظت سه درصد عصاره سوخ و برگ نرگس به‌ترتیب وزن خشک گیاهچه اگروپیرون را ۸۷ و ۸۱ درصد در مقایسه با شاهد کاهش دادند. وزن خشک گیاهچه یولاف نیز تحت تأثیر غلظت سه درصد عصاره سوخ و برگ به‌ترتیب

1- *Rapistrum rugosum* L.
2- *Gypsophila pilosa* L.
3- *Beta vulgaris*
4- *Hordeum spontaneum*
5- *Agropayron repense*
6- *Eruca sativa*
7- *Portulaca oleracea*

۶۹ و ۵۹ درصد کاهش یافت (Bayat *et al*., 2020). طی مطالعات دیگر روی علف‌های هرز مختلف غلامی و همکاران (Gholami *et al*., 2011) با مطالعه اثر دگرآسیبی گیاه درمنه دشتی روی علف‌هرز اسپرس به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت میزان وزن ریشه‌چه، طول ریشه‌چه، وزن تر گیاهچه و شاخص بنیه بذر کاهش می‌یابد. نتایج یک بررسی گواه بر اثر معنی‌دار غلظت زعفران بر قوه نامیه خرفه بود. علاوه بر این کم‌ترین قوه نامیه در غلظت چهار درصد مشاهده شد (Hammami *et al*., 2020).

حضور مواد دگرآسیب باعث کاهش رشد اولیه گیاهچه می‌شود (Worsham, 1991). کاهش فعالیت آنزیمی از اثرات جانبی ترکیبات آللوپاتیک است که به تخریب پروتئینی منجر می‌شود (Heivachi *et al*., 2023; Pandey *et al*., 1993). مواد دگرآسیب علاوه بر کاهش فعالیت آنزیم‌ها از طریق کاهش هورمون های گیاهی چون اکسین و اسید جبرلیک می‌توانند باعث کاهش رشد گیاهچه شود (Ranjana & Singh, 2003). مواد دگرآسیب منجر به کاهش تنفس میتوکندریایی شده در نتیجه کاهش تولید ATP می‌تواند باعث تغییر در سایر فرآیندهای سلولی از جمله جذب یون‌ها و رشد که مراحل پرمصرفی از نظر انرژی هستند شود. از طرفی کاهش رشد گیاه در حضور ترکیبات دگرآسیب با توقف شدید میتوز در سلول‌های مریستمی گیاهچه همراه می‌شود در نتیجه طول گیاهچه کاهش می‌یابد (Bertin *et al*., 2003; Heivachi *et al*., 2023).

نتایج آزمایش ضد قارچی بیانگر این بود که غلظت‌های به‌کار برده شده در این آزمایش نتواست مانع توقف رشد قارچ آسپرژیلوس (*A. niger*) شود در صورتی‌که فعالیت ضدقارچی زعفران توسط تعدادی از محققان تأیید شده است. اثرات عصاره زعفران بر رشد قارچ‌های کاندیدا آلبیکنس و آسپرژیلوس گواه بر توانایی مهارکنندگی این عصاره بر قارچ‌های مورد مطالعه است (Vahidi *et al*., 2002). تأثیر معنی‌دار فعالیت ضدقارچی زعفران علیه کاندیدا آلبیکنس، آسپرژیلوس فومیگیتس[1] و آسپرژیلوس نیجر نیز گزارش شده است (Muzaffar *et al*., 2016). محققین دیگری نیز اثر ضدقارچی بنه زعفران بر روی برخی قارچ‌ها نظیر فوزاریوم، پنی‌سیلیوم[2]، آسپرژیلوس و بایپولاریس گزارش کردند (Rubio-Moraga *et al*., 2013). همچنین تأثیر معنی‌دار زعفران بر کاهش رشد آسپرژیلوس پارازیتیکوس[3] نیز گزارش شده است (Tzanidi *et al*., 2012).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که، نوع عصاره زعفران صفات گیاهچه شاهی وحشی را تحت تأثیر قرار نداد. اما عصاره زعفران تا غلظت ۰/۵ درصد اثر تحریک‌کنندگی و در غلظت‌های بالاتر اثر بازدارندگی بر صفات گیاهچه شاهی وحشی داشت. غلظت‌های بکار برده شده از عصاره‌های زعفران مانع توقف رشد قارچ آسپرژیلوس نیجر نشدند. بنابراین با توجه به نتایج این آزمایش پیشنهاد می‌شود غلظت‌های بالاتر عصاره زعفران روی قارچ آسپرژیلوس بررسی شود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از گروه پژوهشی گیاه و تنش‌های محیطی دانشگاه بیرجند به‌دلیل حمایت مالی از پایان‌نامه دانشجو خانم توکلی در قالب طرح پژوهشی به شماره ابلاغیه ۵۴۴۱/ د/۱۴۰۲ مورخ ۱۴۰۲/۰۳/۲۲ تشکر و قدردانی می‌نمایند.

1- *Aspergillus fumigates*
2- *Penicillium raistriicki*
3- *Aspergillus parasiticus*

References

1. Abbasi, F., & Jahani, M. (2007). Allelopathic effects of saffron corms on seed germination of several important crops. II[nd] International Symposium of Saffron Biology and Technology. *Acta Horticulturae*, *739*, 269-273. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.739.33
2. Afifi, H. S., Marzooqi, H. M. A., Tabbaa, M.J., & Arran, A.A. (2021). Phytochemicals of *Conocarpus* spp. as a natural and safe source of phenolic compounds and antioxidants. *Molecules*, *26*(4), 1069. https://doi.org/10.3390/molecules26041069
3. Agah, F., Khayat Moghadam, M., & Sadrabadi Haghighi, R. (2013). Investigating the allelopathy saffron (*Crocus sativus* L.) on the germination indices of cumin, Ajwain and fennel seeds. *Seed Research* (*Seed Science and Technology*), *4*(1), 52-65. (In Persian with English abstract)
4. Alimoradi, L., Azizi, G., Jahani, M., Siah-Marguee, A., & Keshavarzi, A. (2008). Allelopathy as an alternative method for weed control in saffron fields: A suitable approach to sustainable agriculture. Competition for resources in a changing world: New drive for rural development, Stuttgart, p.127-145.
5. Alipoor, Z., & Mahmoodi, S. (2015). Allelopathic effects of leaf and corm water extract of saffron (*Crocus sativus* L.) on germination and seedling growth of flixweed (*Descurainia sophia* L.) and downy brome (*Bromus tectorum* L.). *Saffron Agronomy and Technology*, *3*(1), 13-24. https://doi.org/10.22048/jsat.2014.9606
6. Azadi, A., Sadrabadihaghighi, R., & Hammami, H. (2020). The Investigation of Allelopathic Effects of Aqueous Extract of Different Parts of the Giradol (*Chrozophora tinctoria* L.) on Seed Germination of Tomato (*Lycopersicon esculentum* mill.). Iranian plant protection research, 34 (1), 137-144. https://doi.org/10.22067/jpp.v34i1.75331
7. Azadi, A., Sadrabadihaghighi, R., & Hammami, H. (2018). Evaluation of Allelopathic Effects of Decay Duration of Giradol (*Chrozophora tinctoria* L.) on Seedling Growth of Tomato (*Lycopersicon esculentum* mill.). Iranian plant protection research, 32 (1), 157-161. https://doi.org/10.22067/jpp.v32i1.59541
8. Azizi, E., Alimoradi, L., Jahani Kondori, M., & Siahmargouei, A. (2013). Investigating the allelopathy effects of saffron on the germination and initial growth of *Gypsophylla pilosa* and Schlambic weeds (*Rapistrum rugosum*). *Journal of Plant Environmental Physiology*, *8*(2), 1-12.
9. Bayat, H., Naseri Moghaddam, A., & Aminifard, M.H. (2020). Allelopathic effects of narcissus (*Narcissus tazetta* L.) extract on germination, growth and physiological characteristics of couch grass (*Agropyron repens*) and wild oat (*Avena fatua*). *Iranian Journal of Seed Sciences and Research*, *6*(4), 457-469. https://doi.org/10.22124/JMS.2020.3925
10. Bertin, C., Yang, X., & Weston, L. A. (2003). The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. *Plant and Soil*, *256*, 67-83. https://doi.org/10.1023/A:1026290508166
11. Bohm, P.A.F., Zanardo, F.M.L., & Ferrarese, O. (2006). Peroxidase activity and lignification in soybean root growth-inhibition by juglone. *Biologia Plantarum*, *50*(2), 315-317. https://doi.org/10.1007/s10535-006-0029-x
12. Elmetwally, I., Shehata, S., Abdelgawad, K., & Elkhawaga, F. (2022). Utilization of phenolic compounds extracted from agro-industrial wastes as natural herbicides. *Egyptian Journal of Chemistry*, *65*(2), 265-274. https://doi.org/10.21608/ejchem.2021.85380.4167
13. Fallahi, H.R., Paravar, A., Behdani, M.A., Aghavani, M., & Fallahi, M.J. (2014). Effect of saffron corm and leaf extract on early growth of some plants to germination using them as associated crop. *Notuale Scientica Biologica*, *6*(3), 282-287. https://doi.org/10.15835/nsb639259
14. Farahani Maleki, S., & Paravar, A. (2012). Investigating the allelopathic effects of saffron root on the growth of wheat seedlings in laboratory conditions. Ayatollah Amoli Science and Research Unit. *Association of Medicinal Plants*. Iran. pp. 53-62.
15. Feizi, H., Kamali, M., Jafari, L., & Moghaddam, P.R. (2013). Phytotoxicity and stimulatory impacts of nanosized and bulk titanium dioxide on fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). *Chemosphere*, *91*(4), 506-511. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.12.012
16. Feizi, H., Salari, A., & Gharari, F. (2018). Study of the allelopathic effect of saffron (*Crocus sativus* L.) organs' aqueous extract on the seed germination and seedling growth of sugar beet and safflower at different concentrations. *Journal of Medicinal and Spice Plants*, *22*(4), 156–161. (In Persian with English abstract)
17. Fekrat, L., Khorram Del, S., & Siahmargouee, A. (2012). Evaluation of the germination characteristics of two weed species, wild mustard and Shlami, under the influence of different concentrations of aqueous extracts of aerial parts and saffron corms. The 5[th] Iran Weed Science Conference, Tehran, Iran.
18. Ghesmati, M., Aminifard, M. H., Abdollahi, M., & Shakeri, M. (2018). Allelopathic effects of saffron (*Crocus sativus* L.) on germination and seedling growth characteristics of wild barley (*Hordeum spontaneum*) and couch grass (*Agropayron repense*). *Saffron Agronomy and Technology*, *6*(1), 35-48. (In

Persian with English abstract). https://doi.org/10.22048/jsat.2017.54263.1163
19. Ghimire, B. K., Hwang, M. H., Sacks, E. J., Yu, C.Y., Kim, S. H., & Chung, I. M. (2020). Screening of allelochemicals in *Miscanthus sacchariflorus* extracts and assessment of their effects on germination and seedling growth of common weeds. *Plants*, *9*(10), 1313.
20. Gholami, F., diyanati-tilaki, G., & Behtari, B. (2011). Study of allelopathic effect of *Artemisia herba alba* Asso. on seed germination and seedling growth of *Onobrychis sativa* L. and *Medicago sativa* L. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, *19*(1), 181-191. (In Persian with English abstract)
21. Ghimire, B. K., Hwang, M. H., Sacks, E. J., Yu, C.Y., Kim, S. H., & Chung, I.M. (2020). Screening of allelochemicals in *Miscanthus sacchariflorus* extracts and assessment of their effects on germination and seedling growth of common weeds. *Plants*, *9*(10), 1313.
22. Hadian, J., Fakhr Tabatabaei, S.M., Ghorbanpour, M., Salehi, P., & Hagi Eghrari, B. (2006). A phytochemical study of cymbopogon parkeri stapf. essential oil, and its biological activity against some phytopathogenic fungi. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* (*Journal of Agriculture*), *37*(3), 425-431. (In Persian with English abstract)
23. Hajian Far, R., & Zarbakhsh, A. (2006). Identification of pathogenic factors of wave spot and alternaria stem canker of tomato in major production areas in the country. Summary of articles of the 77th Congress of Iranian Herbal Medicine. Agriculture and Natural Resources Campus of Tehran University.
24. Hammami, H., Jahani, M., Shoshtary, M., & Noferesti, F. (2020). Evaluation of allelopathic and antifungal effects of different concentrations of aqueous leaves and corm extracts of saffron (*Crocus sativus* L.) on common purslane and *Penicillium* fungi. *Journal of Saffron Research*, *8*(2), 255-267. https://doi.org/10.22077/jsr.2020.3196.1123
25. Heivachi, M., Alamdari, E. G., Avarseji, Z., & Habibi, M. (2023). Effect of the *Lactuca serriola* L. extract on the cytogenetic behaviors of *Crocus sativus* L. roots and its allelopathic potential. *South African Journal of Botany*, *160*, 525-534. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.07.026
26. Hejazi, A. (2000). *Allelopathy*. Tehran University Press, Tehran, Iran. 324 pages.
27. Kafi, M., Rashid Mozal, M. H., Kochaki, A., & Malafilabi, A. (2002). *Saffron, production and processing technology*. First Edition. Zaban and Adab Publications, Mashhad. pp 250.
28. Kohli, R. K., Singh, H. P., & Batish, D. R. (2001). *Allelopathy in Agroecosystems*. Food Products Press, USA, 447 pp.
29. Kato, T. A., & Haskins, J.S. (2022). *Mitotic Index Analysis*. Chromosome Analysis: Methods and Protocols. Springer US, New York, NY, pp. 17–26.
30. Meyghani, F. (2003). *Allelopathy from Concept to Application*. Incident Beam Press, Iran. p. 41-107.
31. Mojab, M., & Mahmodi, M. (2008). Allelopathic effects of shoot and root water extracts of Hoary cress (*Cardaria draba*) on germination characteristic and seedling growth of Sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Crop Production*, *1*(4), 65-78. (In Persian with English abstract)
32. Moradi, R., Rezvani Moghaddam, P., Nasiri Mahallati, M., & Lakzian, A. (2009). The effect of application of organic and biological fertilizers on yield, yield components and essential oil of *Foeniculum vulgare* (Fennel). *Iranian Journal of Field Crops Research*, *7*(2), 625-635. (In Persian with English abstract)
33. Motmainna, M., Juraimi, A. S., Uddin, M. K., Asib, N. B., Islam, A. K. M. M., Ahmad-Hamdani, M.S., & Hasan, M. (2021). Phytochemical constituents and allelopathic potential of *Parthenium hysterophorus* L. in comparison to commercial herbicides to control weeds. *Plants, 10*, 1445. https://doi.org/10.3390/plants10071445
34. Muzaffar, S., Rather, S. A., & Zaman Khan, K. (2016). In vitro bactericidal and fungicidal activities of various extracts of saffron (*Crocus sativus* L.) stigmas from Jammu & Kashmir, India. *Cogent Food and Agriculture*, *2*(1), 1158999. https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1158999
35. Nashwa, S. M., & Abo-ElyouSr, K. A. (2012). Evaluation of various plant extracts against the early blight disease of tomato plants under greenhouse and field conditions. *Plant Protection Science, 48*(2), 74-79.
36. Noorian, N., Hadizadeh, M. H., & Baqerzadeh Charjavii, A. (2013). Investigation of the allelopathy of saffron leaf and corms of *Crocus Sativus* L. on several crops and weeds. 6th National Conference of New Ideas in Agriculture, Isfahan.
37. Omidbeygi, R., Sadeghi, B., & Ramezanim, A. (2001). Effects of cultivation site on quality of Saffron (*Crocus sativus* L.). *Iranian Journal of Horticulture, Science and Technology*, *1*(3), 167-178. (In Persian with English abstract)
38. Pandey, D., Kauraw, L., & Bhan, V. (1993). Inhibitory effect of *Partenium hysterophorus* residue on growth of *Eichhornita crassipes*. *Chemistry Ecology*, *19*, 2651-2662. https://doi.org/10.1007/BF00980699
39. Rashed, M.H., Gherekhloo, J., & Rastgoo, M. (2009). Allelopathic effects of saffron (*Crocus sativus* L.)

leaves and corms on seedling growth of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) and lambsquarter (*Chenopodium album*). *Iranian Agricultural Research Journal*, *7*, 51-61. (In Persian with English abstract)

40. Rubio-Moraga, Á., Gómez-Gómez, L., Trapero, A., Castro-Díaz, N., & Ahrazem, O. (2013). Saffron corm as a natural source of fungicides: The role of saponins in the underground. *Industrial Crops and Products*, *49*, 915-921. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.029
41. Samanta, A. (2019). Study of some cytotoxic chemicals on onion (*Allium cepa* L.) and grass pea (*Lathyrus sativus* L.). *Bulletin of Pure and Applied Sciences Botany*, *38b*(2), 68–73. https://doi.org/10.5958/2320-3196.2019.00009.0
42. Seigler, D. S. (1996). Chemistry and mechanism of allelopathic interaction. *Agronomy Journal*, *88*, 876-885. https://doi.org/10.2134/AGRONJ1996
43. Singh, N. B., & Ranjana, R. (2003). Effect of leaf leachate of Eucalyptus on germination, growth and metabolism of green gram, black gram and peanut. *Allelopathy Journal*, *11*, 43-52.
44. Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2001). Allelopathy in agroecosystems. *Journal of Crop Production*, *4*, 1-41. https://doi.org/10.1300/J144v04n02_01
45. Soltanipoor, M., Moradshahi, A., Rezaei, M., Kholdebarin, B., & Barazandeh, M. (2006). Allelopathic effects of essential oils of *Zhumeria majdae* on Wheat (*Triticum aestivum*) and Tomatto (*Lycopersicon esculentum*). *Iranian Journal of Biology*, *19*, 19-28. (In Persian with English abstract)
46. Taheri, K., Saboora, A., & Kiarostami, K. (2011). Allelopathic effect of saffron (*Crocus sativus* L.) on germination and seedling growth of four sorghum (*Sorghum bicolor* L.) cultivars. *Iranian Journal of Biology*, *24*, 89-103. (In Persian with English abstract)
47. Tzanidi, C., Proestos, C., & Markaki, P. (2012). Saffron (*Crocus sativus* L.) inhibits aflatoxin B1 production by *Aspergillus parasiticus*. *Advances in Microbiology*, *2*(2), 310-316.
48. Vahidi, H., Kamalinejad, M., & Sedaghati, N. (2002). Antimicrobial properties of *Croccus sativus* L. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, *1*(1), 33-35. https://doi.org/10.22037/ijpr.2010.6
49. Walsh, P. S., Metzger, D. A., & Higuchi, R. (1991). Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, *10*(4), 506-513. https://doi.org/10.2144/000114018
50. Worsham, A. D. (1991). Allelopathic cover crops to reduce herbicide input. *Journal of the South West Africa Scientific Society*, *44*, 58-69.

Journal of Iranian Plant Protection Research
https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 3, 2024, p. 259-273

A report on powdery mildew fungi (Erysiphaceae) of Ardabil province and introduction of some new hosts for Iran

A. Saheli[1], M. Davari[2]*, K. Sharifi[3], M. Bidarlord[4]

1 and 2- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran, respectively.
3- Royan Research Laboratory of Isfahan, Isfahan, Iran
4- Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Guilan, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
(*- Corresponding Author Email: mdavari@uma.ac.ir)

Received: 17-03-2024
Revised: 04-06-2024
Accepted: 11-06-2024
Available Online: 28-12-2024

How to cite this article:
Saheli, A., Davari, M., Sharifi, K., & Bidarlord, M. (2024). A report on powdery mildew fungi (Erysiphaceae) of Ardabil province and introduction of some new hosts for Iran. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *38*(3), 259-273. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.87290.1181

Introduction

Powdery mildews belong to the order Erysiphales, class Leotiomycetes, and phylum Ascomycota. These fungi belong to the family Erysiphaceae and cause a fungal disease called powdery mildew in various host plants. The symptoms of powdery mildew are mostly seen as spots or a layer of white, yellow, brown, or gray mycelium (conidiophores) or spherical sexual structures with yellow, brown to black color (chasmothecium). As obligate biotrophs, powdery mildew fungi obtain their nutrients from living cells of their host plants through specialized feeding organs known as the haustoria. The host range of this group of fungi is limited to Angiosperms, and no powdery mildew is known to occur on gymnosperms. The life cycle of most members of the Erysiphaceae family consists of both sexual and asexual stages, and only in a few genera, the asexual stage is not known. The infection usually starts rapidly with conidia on the leaf surface. The conidia of powdery mildew fungi are transferred by wind from infected hosts to other plants and to initiate infection, they germinate on the budding leaves of plants and form appressorium, leading to the formation of haustorium. With more than 7500 plant species and a diverse climate, Iran harbors many plant pathogenic fungal species, including powdery mildew causing fungi. According to the available literature, about 33 species belonging to nine genera, which cause powdery mildew, have been identified and described from Ardabil province. As we know, the major use of land in Ardabil province is for agriculture and pasture. For this reason, fungi belonging to the Erysiphaceae family are important and diverse in this province. Due to limited studies in this area, the fungi causing powdery mildew disease on various plants in some cities of Ardabil province including Ardabil, Parsabad, Khalkhal, Sarein, Meshginshahr, Namin and Nir were investigated and identified in the present study.

Materials and Methods

To study powdery mildew fungi, samples of various crops, landscapes, fruit trees, and forests were collected from some cities of Ardabil province during the years 2021 and 2022. Each sample was given a unique code corresponding to the host. The plant samples were identified with helping of a botanist and using literature related to the flora of Iran. Microscopic slides were prepared from different structures of fungi such as sexual

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.87290.1181

and asexual forms. Morphological characteristics of the samples were measured and recorded to identify the fungus causing the disease via microscopic analyses using an optical microscope. In the case of fresh fungal samples, conidia germination was investigated according to the method described by Cook and Braun (2009). Finally, powdery mildew species were identified using Braun and Cook's (2012) monograph and related literature at the level of genus and species. In addition, microscopic color photos were prepared with helping of a digital camera connected to a Zeiss optical microscope.

Results and Discussion

In recent years in Iran and compared to other important groups of fungi, articles related to fungi have been significant and are increasing more or less. Some recent publications include lists of powdery mildew causing fungi from Iran, but they are often incomplete and limited to regional studies (Khodaparast *et al*., 2002; Tavanaei *et al*., 2005; Pirnia *et al*., 2007). In the past, according to the research conducted in Ardabil province, until today, about 32 species belonging to 9 genera powdery mildew causing fungi have been identified and described (Davari *et al*., 2015). In this research, seven genera and 33 species including *Erysiphe* (13 species), *Golovinomyces* (4 species), *Leveillula* (3 species), *Neoerysiphe* (1 species), *Phyllactinia* (2 species), *Podosphaera* (9 species) and *Sawadaea* (one species) were identified from the Erysiphaceae. *Erysiphe trifoliorum* on clover (*Trifolium tumens*), *Golovinomyces orontii* species complex on ash (*Fraxinus excelsior*) and lettuce (*Lactuca scarioloides*), *G. sonchicola* on prickly sow-thistle (*Sonchus asper*) and *L. taurica* on common vetch (*Vicia sativa*) are reported for the first time from these new hosts from Iran. Also, 11 species on 14 hosts, including *E. capreae*, *E. prunastri*, *E. trifoliorum*, *E. ulmi* var. *ulmi*, *G. cichoracearum*, *G. orontii*, *L. chrozophorae*, *L. taurica*, *P. euphorbiae*, *P. fusca* and *P. plantaginis* are reported for the first time, on these hosts from Ardabil province.

Conclusion

Among the fungal species causing powdery mildew in Ardabil province, four species are reported for the first time from Iran on related host plants, including *Golovinomyces* (two species), *Erysiphe* (one species), and *Leveillula* (One species). Moreover, 11 species are reported for the first time from Ardabil province including *Erysiphe* (four species), *Podosphaera* (three species), *Golovinomyces* (two species), and *Leveillula* (two species). Generally, *Erysiphe* and *Podosphaera* genera with 13 and nine species were the most prevalent genera, respectively. Powdery mildew causes a decrease in yield and product quality as a result of direct and indirect damage; hence, accurate identification of these fungi, their host range, and geographical distribution can be useful in biodiversity studies as well as management of these pathogens.

Keywords: Biodiversity, Erysiphaceae, Helotiales, Landscape

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۲۷۳-۲۵۹

گزارشی از سفیدک‌های پودری (تیره Erysiphaceae) استان اردبیل و معرفی چند میزبان جدید برای ایران

افسانه ساحلی[1]- مهدی داوری[2*]- کوثر شریفی[3]- محمود بیدارلرد[4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۲

چکیده

قارچ‌های عامل سفیدک پودری متعلّق به تیره Erysiphaceae، یکی از گسترده‌ترین و قابل تشخیص‌ترین بیماری‌های گیاهی هستند و خسارت قابل توجهی را به محصولات کشاورزی وارد می‌کنند. به‌منظور مطالعه این قارچ‌های بیماری‌زا، طی سال‌های ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ نمونه‌هایی از انواع گیاهان زراعی، فضای سبز و درختان میوه و جنگلی در برخی شهرهای استان اردبیل جمع‌آوری و خشک شدند. گیاهان میزبان به کمک متخصص گیاه‌شناسی و با استفاده از منابع مرتبط با فلور ایران شناسایی گردید. از اندام‌های مختلف قارچ‌ها از قبیل فرم جنسی یا غیرجنسی، اسلاید میکروسکوپی تهیه شد. با استفاده از میکروسکوپ نوری، مشخصات ریخت‌شناختی نمونه‌ها جهت شناسایی قارچ عامل بیماری یادداشت شده و در نهایت به کمک تک‌نگاشت براون و کوک (۲۰۱۲) و برخی مقالات معتبر، قارچ‌های عامل سفیدک پودری در حد جنس و گونه مورد شناسایی قرار گرفتند. در این پژوهش، تعداد ۳۳ گونه قارچ عامل سفیدک پودری از هفت جنس مختلف بر روی ۴۶ میزبان گیاهی شناسایی شدند. در بین آرایه‌ها، گونه‌های *Erysiphe trifoliorum* از روی *Trifolium tumens*، *Golovinomyces orontii* species complex از روی *Fraxinus excelsior* و *Lactuca scarioloides*، *G. sonchicola* از روی *Sonchus asper* و *Leveillula taurica* از روی *Vicia sativa* برای اولین بار از روی این میزبان‌های جدید از ایران گزارش می‌شوند. هم‌چنین گزارش ۱۱ گونه شامل *E. capreae*، *E. prunastri*، *E. trifoliorum*، *E. ulmi* var. *ulmi*، *G. cichoracearum*، *G. orontii*، *L. chrozophorae*، *L. taurica*، *Podosphaera euphorbiae*، *P. fusca* و *P. plantaginis* از روی ۱۴ میزبان برای میکوفلور استان اردبیل جدید می‌باشد. جنس‌های *Erysiphe* و *Podosphaera* به‌ترتیب با ۱۳ و نه گونه، دارای بیشترین فراوانی بودند.

واژه‌های کلیدی: تنوع زیستی، فضای سبز، Erysiphaceae، Helotiales

۱ و ۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۳- آزمایشگاه تحقیقاتی رویان اصفهان، اصفهان، ایران.
۴- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.
(* نویسنده مسئول: Email: mdavari@uma.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.87290.1181

مقدمه

قارچ‌های تیره Erysiphaceae، باعث ایجاد نوعی بیماری قارچی به نام سفیدک‌های پودری (سطحی، حقیقی) در انواع گیاهان میزبان می‌شوند (Braun, 1987). این قارچ‌ها متعلّق به راسته Erysiphales، رده Leotiomycetes و شاخه Ascomycota (Wijayawardene *et al*., 2020) بوده و باعث بیماری‌های جدی در بسیاری از گیاهان مهم اقتصادی مانند غلات، محصولات زراعی، سبزیجات، درختان میوه، گیاهان زینتی و جنگلی می‌شوند (Amano, 1986; Braun & Cook, 2012). علایم سفیدک‌های پودری بیشتر به‌صورت لکه‌ها یا یک لایه از میسلیوم سفید، زرد، قهوه‌ای یا خاکستری (حاوی کنیدیوفورها[1] و کنیدیوم‌ها) و یا ساختارهای جنسی کروی و به رنگ زرد، قهوه‌ای تا سیاه (کاسموتسیوم[2]) مشاهده می‌شود. سفیدک‌های پودری که جزء انگل‌های اجباری گیاهان می‌باشند، به ندرت گیاه را کشته و با مصرف مواد غذایی گیاهان باعث کاهش فتوسنتز، افزایش تنفس و تعریق و اختلال در رشد گیاه می شوند (Agrios, 2005). علی‌رغم تحقیقات گسترده در مورد بیماری-زایی، همه‌گیری‌شناسی و کنترل آن‌ها، گونه‌های سفیدک پودری به دلیل هزینه‌های بالای اقدامات کنترل شیمیایی جهت حفاظت از محصول و در نهایت از دست دادن عملکرد آن‌ها، از نظر اقتصادی یکی از مهمترین بیمارگرهای گیاهی در کشاورزی و باغبانی در سراسر جهان باقی مانده‌اند (Dunn & Fuller *et al*., 2014; Gaynor, 2020). چرخه زندگی اغلب اعضای تیره Erysiphaceae شامل دو مرحله جنسی و غیرجنسی است و فقط در جنس‌های معدودی مرحله غیرجنسی شناخته نشده است (Braun, 1987). آلودگی معمولاً با کنیدیوم‌های روی برگ میزبان سریعاً شروع شده و با ترشح مواد، باعث چسبیدن آن‌ها به برگ میزبان می‌شود (Nicholson *et al*., 1988). سپس این کنیدیوم‌ها توسط باد به سایر گیاهان منتقل شده و جهت تولید آپرسوریوم[3] (میخ رخنه) روی برگ‌های گیاهان جوانه زده و مبادرت به تشکیل هوستوریوم[4] برای شروع آلودگی می‌نمایند (Matsuda *et al*., 2005). دامنه میزبانی این قارچ‌ها به نهان‌دانگان محدود شده و هرگز از روی سرخس‌ها و بازدانگان گزارش نشده‌اند (Amano, 1986; Khodaparast, 2007). تعداد گونه‌های میزبان توسط آمانو در سال ۱۹۸۶ تا ۱۰۰۰۰ گونه (Amano, 1986) و توسط برادشاو در سال ۲۰۲۲ حدود ۱۶۰۰۰ گونه (Bradshaw *et al*., 2022a) تخمین زده شده است.

1- Conidiophores
2- Chasmothecium
3- Appressorium
4- Hostorium

اولین راهنمای تک‌نگاشت[5] این گروه قارچی توسط سالمون در سال ۱۹۰۰ (Salmon, 1900) و پس از آن توسط براون در سال ۱۹۸۷ منتشر شد (Braun, 1987). بعدها یک کتاب راهنمای طبقه‌بندی مدرن، بر اساس اولین بررسی‌های فیلوژنتیکی سفیدک‌های پودری توسط براون و کوک در سال ۲۰۱۲ منتشر گردید (Braun & Cook, 2012). قبل از دوران فیلوژنی‌های مبتنی بر DNA، مفهوم فیلوژنتیک عمومی در تیره Erysiphaceae بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی شکل‌های جنسی بود (Braun, 1995). با مطالعات گسترده از اشکال فرم غیرجنسی (Cook *et al*., 1997) و داده‌های مولکولی تأیید شد که شکل زوائد اهمیت ثانویه‌ای دارد (Mori *et al*., 2000; Takamatsu, 2004). در آرایه‌بندی این قارچ‌ها، برخی صفات مورفولوژیکی جدیدی که تاکنون نادیده گرفته می‌شدند، معرفی شده‌اند؛ به‌عنوان مثال، موقعیت کنیدیوفورها بر روی سلول مادر (Shin & Zheng, 1998)، اختلافات در طرح کلی زنجیره‌ای کنیدیوم (Shin & La, 1993)، تفاوت در سطح کنیدیوم‌ها هنگام مشاهده با SEM (Cook *et al*., 1997) و جزئیات الگوهای جوانه زنی کنیدیوم‌ها (Cook & Braun, 2009). در آخرین رده‌بندی، این تیره قارچی شامل ۱۹ جنس و بیش از ۹۰۰ گونه می‌باشد (Vaghefi *et al*., 2022; McNeill *et al*., 2012). ایران با داشتن بیش از ۷۵۰۰ گونه گیاهی و آب و هوای متنوع (Haftlang, 2003; Assadi, 2019)، در موقعیت مناسبی برای مطالعه قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی از جمله سفیدک پودری قرار دارد. سال‌های اخیر در ایران و در مقایسه با سایر گروه‌های مهم قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی، مقالات مرتبط با سفیدک‌های پودری قابل توجه بوده و کم و بیش در حال افزایش است. برخی از نشریات اخیر شامل لیست قارچ های عامل سفیدک پودری از ایران هستند، اما اغلب ناقص بوده و محدود به مطالعات منطقه‌ای بوده است (Khodaparast *et al*., 2007; Tajik-Ghanbary *et al*., 2005; Tavanaei *et al*., 2002, *al*., 2005; Pirnia *et al*., 2007). همچنین با استناد به مقاله خداپرست و عباسی در ایران، تعداد ۱۴ گونه قارچ روی ۱۹۴ گونه میزبان گیاهی از جنس *Leveillula* (Lév.) Arnaud، ۱۵ گونه قارچ روی ۵۵ گونه میزبان گیاهی از جنس *Podosphaera* (Lev.) Braun and Takamatsu، ۳۲ گونه قارچ روی ۱۲۴ گونه میزبان گیاهی از جنس *Erysiphe* DC.، هفت گونه قارچ روی ۴۵ گونه میزبان گیاهی از جنس *Phyllactinia* (wallr.) Lev.، نه گونه قارچ روی ۶۱ گونه میزبان گیاهی از جنس *Golovinomyces* (Wallr.) Heluta، یک گونه قارچ روی ۵۸ گونه میزبان گیاهی از جنس *Blumeria* (DC.) Speer، دو گونه قارچ روی ۱۲ گونه میزبان

5- Monograph

گیاهی از جنس *Sawadaea* (Fuckel) Homma و دو گونه قارچ روی نه گونه میزبان گیاهی از جنس *Neoerysiphe* U. Braun گزارش شده است (Khodaparast and Abbasi, 2009). طبق نظر خداپرست، جامع‌ترین مرجع در خصوص سفیدک‌های پودری کتاب قارچهای ایران می‌باشد (Khodaparast & Ershad, 1971; 2009, 2007). در استان اردبیل نیز بر اساس تحقیقات انجام گرفته تا به امروز حدود ۳۲ گونه متعلّق به ۹ جنس عامل سفیدک پودری شناسایی و توصیف شده است (Davari *et al*., 2015). همان‌طور که می‌دانیم عمده اراضی در سطح استان اردبیل کشاورزی و مرتع می‌باشد و به همین منظور، قارچهای تیره Erysiphaceae در این استان دارای اهمیت و تنوع میزبانی بوده و به‌دلیل مطالعات محدود در این زمینه، قارچهای عامل بیماری سفیدک پودری روی انواع گیاهان در برخی شهرهای استان اردبیل شامل اردبیل، پارس‌آباد، خلخال، سرعین، مشگین‌شهر، نمین و نیر مورد بررسی و شناسایی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌ها

در این تحقیق، نمونه‌های گیاهی آلوده به سفیدک پودری طی سال‌های ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ از رویشگاه‌های مختلف شهرهای اردبیل، پارس‌آباد، خلخال، سرعین، مشگین‌شهر، نمین و نیر جمع‌آوری شدند. سپس در بین لایه‌های کاغذ یا روزنامه خشک شده شدند. به هرکدام از نمونه‌ها کد اختصاصی متناسب با میزبان داده شد و با درج اطلاعاتی از قبیل کد، نام میزبان، تاریخ و محل جمع‌آوری درون پاکت‌های مناسب قرار گرفتند. نمونه‌های گیاهی میزبان به کمک منابع مرتبط با فلور ایران (Assadi *et al*., Rechinger, 2015; 2023) شناسایی شده و جنس و گونه آن‌ها مشخص گردید.

مطالعه میکروسکوپی اندام‌های جنسی و غیرجنسی

به‌منظور مطالعه میکروسکوپی، از اندام‌های جنسی و غیرجنسی قارچها به‌صورت مستقیم و از بستر طبیعی، اسلایدهای میکروسکوپی تهیه شد. برای این منظور، ابتدا با استفاده از چسب نواری شفاف از اندام‌های قارچ از قبیل کنیدیوم‌ها و کنیدیوفورها، کاسموتسیوم‌ها، آسک‌ها و آسکوسپورها مقداری را برداشته و روی لام حاوی اسیدلاکتیک ۵۰ درصد قرار داده شد و جهت تثبیت نمونه از حرارت غیرمستقیم چراغ الکلی استفاده شد. جهت مطالعه میکروسکوپی اندام های جنسی قارچها از سر سوزن استفاده شد. بعد از تهیه اسلایدهای میکروسکوپی، مشخصات کنیدیوم از قبیل طول و عرض کنیدیوم، طول و عرض کنیدیوفور، طول و عرض سلول پایه کنیدیوفور، تعداد سلول بعد از سلول پایه کنیدیوفور، فاصله اولین دیواره از منشاء کنیدیوفور، ابعاد ریسه، مشخصات کاسموتسیوم از قبیل عرض کاسموتسیوم و شکل و تراکم زوائد کاسموتسیوم، طول و عرض و تعداد آسک و آسکوسپور توسط میکروسکوپ نوری مطالعه و بررسی شدند (Shin, 2000; Braun & Cook, 2012).

بررسی جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها

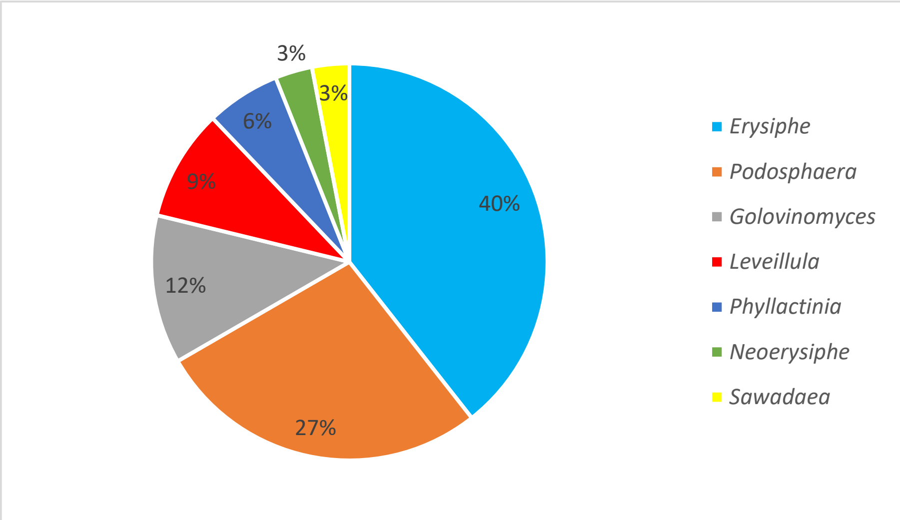
در مورد نمونه‌های قارچی تازه، بررسی جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها انجام شد. برای جوانه‌زنی از روش کوک و براون (۲۰۰۹) استفاده شد. در این روش، برگ آلوده حاوی کنیدیوم‌های تازه، بالای سطح داخلی درب تشتک پتری قرار گرفت و از پشت با وارد کردن ضربه کنیدیوم ها در آن ریخته، سپس در تشتک پتری، پنبه مرطوب (پنبه آغشته به آب مقطر) قرار داده شد و درب تشتک پتری روی آن قرار گرفت و دور آن با پارافیلم بسته شد و در انکوباتور در دمای حدود ۲۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد (Cook & Braun, 2009). سپس جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها با عدسی شیئی ۲۰× میکروسکوپ نوری بررسی شدند. جهت مقایسه و توصیف گونه‌ها از اندام‌های مختلف قارچی از قبیل کاسموتسیوم‌ها، آسک‌ها، کنیدیوم‌ها و کنیدیوفورها با استفاده از کاغذ کالک، ترسیم‌های دقیقی صورت گرفت. علاوه بر آن، تصاویر رنگی میکروسکوپی از این اندام‌های قارچی به کمک دوربین دیجیتال مدل Canon 450D متصل به میکروسکوپ نوری Zeiss مدل Axiolab (ساخت آلمان) تهیه شد.

نتایج و بحث

در این تحقیق، هفت جنس (*Erysiphe*، *Golovinomyces*، *Leveillula*، *Neoerysiphe*، *Phyllactinia*، *Podosphaera* و *Sawadaea*) شامل ۳۳ گونه قارچی متعلّق به این تیره مهم از روی ۴۶ میزبان گیاهی گزارش می‌شود. جنس‌های *Erysiphe* و *Podosphaera* به‌ترتیب با ۱۳ و نه گونه، دارای بالاترین درصد فراوانی هستند. نمودار فراوانی جنس‌ها در شکل ۱ آمده است. به‌طور کلی، در بین گونه‌های سفیدک پودری شناسایی شده، چهار گونه برای اولین بار از روی میزبان‌های گیاهی جدید از ایران گزارش می‌شوند که عبارتند از: *Erysiphe trifoliorum* از روی شبدر (*T. tumens*)، *Golovinomyces orontii* species complex از روی زبان گنجشک (*F. excelsior*) و کاهو دنیایی (*L. scarioloides*)، *G. sonchicola* از روی شیرتیغک (*S. asper*) و *L. taurica* از روی ماشک (*V. sativa*). همچنین گزارش ۱۱ گونه از روی میزبان‌های زیر برای استان اردبیل جدید است که عبارتند از:

گونه *E. capreae* از روی بیدمشک (*Salix aegyptica*)، *E. prunastri* از روی آلو (*Prunus domestica*)، *E. trifoliorum* از روی شبدر قرمز (*Trifolium pratense*)، *E. ulmi var. ulmi* از روی ملچ (*Ulmus glabra*)، *G. cichoracearum* از روی شنگ

(*Tragopogon sp.*)، *G. orontii* از روی آفتابگردان (*Helianthus annuus*)، *L. chrozophorae* از روی ارزق (*Chrozophora tinctoria*)، *L. taurica* از روی کنگر صحرایی (*Cirsium arvense*)، کَبَر (*Capparis spinosa*)، اسپند (*Peganum harmala*) و شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*)، *P. euphorbiae* از روی فرفیون (*Euphorbia sp.*)، *P. fusca* از روی توق (*Xanthium strumarium*) و *P. plantaginis* از روی بارهنگ کبیر (*Plantago major*).



شکل ۱- درصد فراوانی جنس‌های تیره Erysiphaceae در این پژوهش

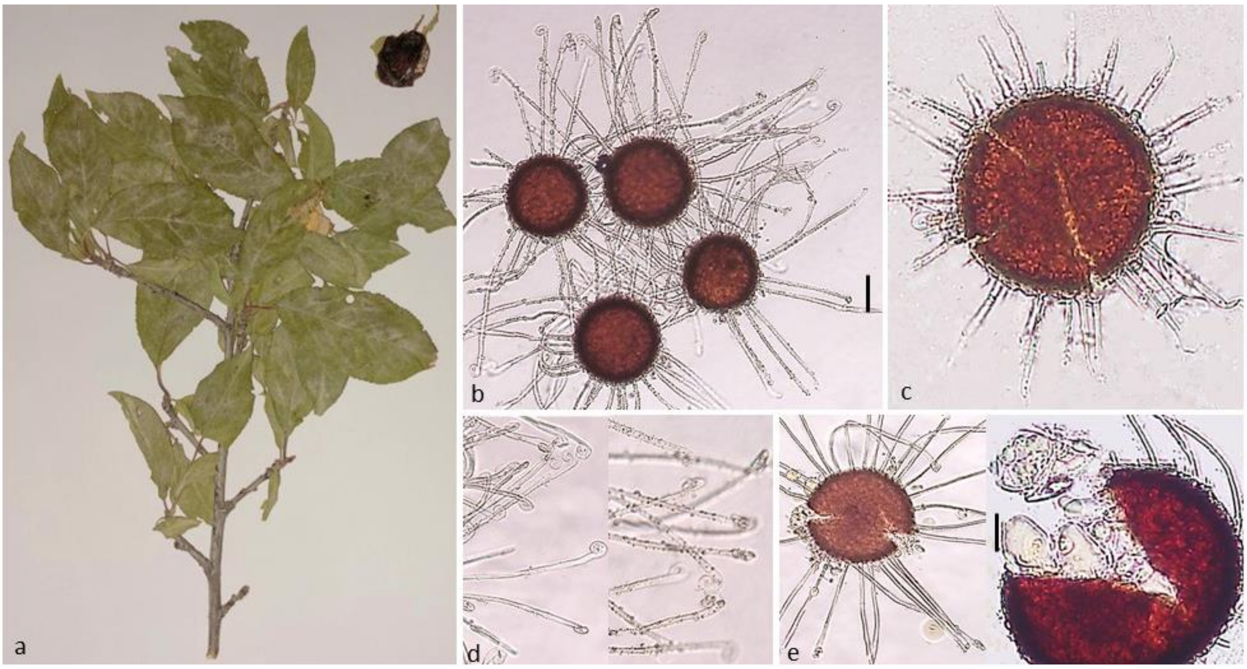
Figure 1- Percentage abundance of Erysiphaceae genera in this research

مشخصات برخی گونه‌های قارچی شناسایی شده در این تحقیق با گزارش میزبان جدید برای ایران و استان اردبیل به شرح زیر است:

گونه ***Erysiphe prunastri*** **DC., 1815**

نمونه بررسی شده: روی *Prunus domestica* (آلو)، شاهرود، خلخال، ۲/۶/۰۰، جمع‌آوری: بیدارلرد؛ محوطه درون شهری، نمین، ۷/۸/۰۰، جمع‌آوری: ساحلی

میسلیوم در سطح بالایی برگ با پوشش سفیدرنگ به‌صورت پراکنده دیده می‌شود. فرم جنسی قارچ در سطح بالایی برگ به‌صورت متراکم پراکنده شده و کاسموتسیوم‌ها کروی، متراکم، قهوه‌ای روشن و به قطر (۱۳۰-) ۱۱۰/۳ (۹۳-) میکرومتر هستند. زوائد سرعصایی به تعداد فراوان حول محور کاسموتسیوم، بی‌رنگ و به عرض (۶-) ۳/۸ (۳-) میکرومتر می‌باشند. آسک‌ها گلابی‌شکل، ۵-۴ عدد و گاهاً بیشتر، بی‌رنگ و یا زردرنگ و به ابعاد (۲۸-) ۲۳ (۲۰-) × (۵۰-) ۴۳/۳ (۳۹-) میکرومتر هستند. آسکوسپورها بیضوی، بی‌رنگ و ۵-۴ عدد داخل هر آسک مشاهده می‌شوند (شکل ۲). با توجه به مشخصات بیان شده از فرم جنسی قارچ از قبیل انتهای عصایی‌شکل زوائد کاسموتسیوم، تعداد آسک‌ها و ابعاد کاسموتسیوم، این گونه *Erysiphe prunastri* تشخیص داده شد. همچنین این گونه از روی *P. domestica* توسط توانایی و همکاران در سال ۲۰۰۱ از ورزقان و کلیبر (Tavanaei *et al.*, 2001) و توسط کریمی و حاجیان در سال ۱۹۹۸ از خراسان گزارش شده است (Karimi & Hajian, 1998). این گونه از روی همین میزبان از سایر کشورها از جمله مجارستان توسط ناگی و کیس در سال ۲۰۰۶ (Nagy & Kiss, 2006) و آذربایجان توسط عباس‌اف در سال ۲۰۱۶ گزارش گردیده است (Abasova *et al.*, 2018). گزارش این گونه برای فلور قارچ‌های استان اردبیل جدید می‌باشد.



شکل ۲- گونه *Erysiphe prunastri*، a: گیاه *Prunus domestica* آلوده به سفیدک پودری، b و c: کاسموتسیوم، d: انتهای عصایی‌شکل زوائد کاسموتسیوم، e: آسک‌ها و آسکوسپورها (مقیاس b: ۵۰ میکرومتر و e: ۵ میکرومتر)

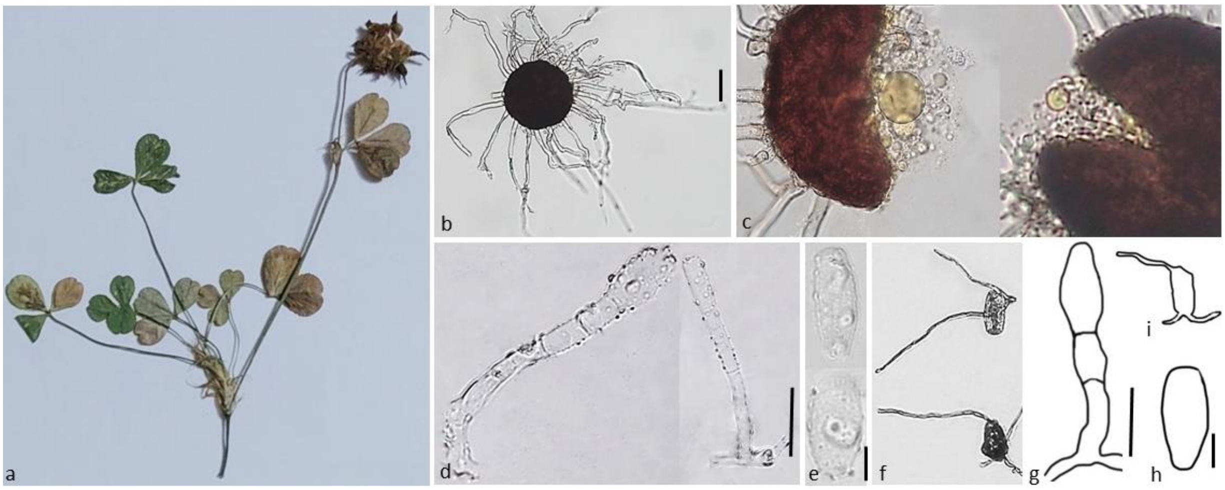
Figure 2- *Erysiphe prunastri*, a: *Prunus domestica* plant infected with powdery mildew, b and c: Chasmothecium, d: rod-shaped ends of Chasmothecium appendages, e: Asci and Ascospores (scale b: 50 µm and e: 5 µm)

گونه *Erysiphe trifoliorum* (Wallr.) U. Braun, 2010

نمونه بررسی شده: روی *Trifolium tumens* (شبدر)، بولاغلار، نیر، ۰۰/۷/۲۴؛ دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ۰۱/۳/۱۰؛ جمع‌آوری: ساحلی

میسلیوم سفیدرنگ بیشتر در پایین برگ و به ندرت در سطح بالایی برگ مشاهده می‌شود. ریسه به عرض (۷-) ۴/۹ (۳-) میکرومتر است. کنیدیوفور استوانه‌ای و قائم، گاهاً خمیده و به ابعاد (۸-) ۶/۵ (۴-) × (۵۹-) ۴۵/۷ (۱۷-) میکرومتر می‌باشد. سلول پایه استوانه‌ای قائم و گاهاً خمیده، بی‌رنگ، گاهاً دارای اجسام برجسته در سطح، به ابعاد (۸) ۶/۵ (۴-) × (۴۳-) ۲۹/۵ (۱۴-) میکرومتر و بعد از آن، ۲-۱ عدد سلول دیده می‌شود. فاصله اولین دیواره از منشأ کنیدیوفور (۳۹-) ۱۱/۸ (۲-) میکرومتر است. کنیدیوم‌ها بشکه‌ای تا بیضوی کمی کشیده، برخی استوانه‌ای، به صورت منفرد، دارای اجسام برجسته در سطح، بی‌رنگ و به ابعاد (۱۷-) ۱۴ (۱۰-) × (۴۳-) ۳۱ (-۱۸) میکرومتر می‌باشند. جوانه‌زنی به شکل لونجیتوبوس[1] دیده می‌شود. کاسموتسیوم‌ها گرد تا بیضوی، قهوه‌ای تیره، به صورت پراکنده و به قطر (۱۱۳-) ۹۲ (۵۷-) میکرومتر هستند. انتهای زوائد ساده و یا دو شاخه‌ای، بی‌رنگ، حول محور کاسموتسیم و به عرض (۹-) ۵/۹ (۴-) میکرومتر می‌باشند. آسک‌ها تقریباً گرد و به قطر (۵۲-) ۴۴/۸ (۳۹-) میکرومتر هستند و داخل آن‌ها آسکوسپورهای بیضوی به قطر (۱۶-) ۱۳/۷ (۱۰-) میکرومتر مشاهده می‌شود (شکل ۳). با توجه به توضیحات بیان شده از هر دو فرم جنسی و غیرجنسی این نمونه قارچی از قبیل شکل کنیدیوفور، تیپ جوانه‌زنی و فرم زوائد کاسموتسیوم، این گونه *Erysiphe trifoliorum* شناسایی شد. این گونه در گذشته از روی *Trifolium* sp. توسط داوری و همکاران در سال ۲۰۱۵ از استان اردبیل (Davari *et al*., 2015) و شریفی در سال ۲۰۲۱ از اصفهان و لرستان (Sharifi, 2021) گزارش شده است. این گونه تا به حال از روی *T. tumens* از ایران گزارشی نداشته است و بر اساس منابع موجود، این مطالعه اولین گزارش گونه *E. trifoliorum* از روی *T. tumens* در ایران محسوب می‌شود.

1- Longitubus



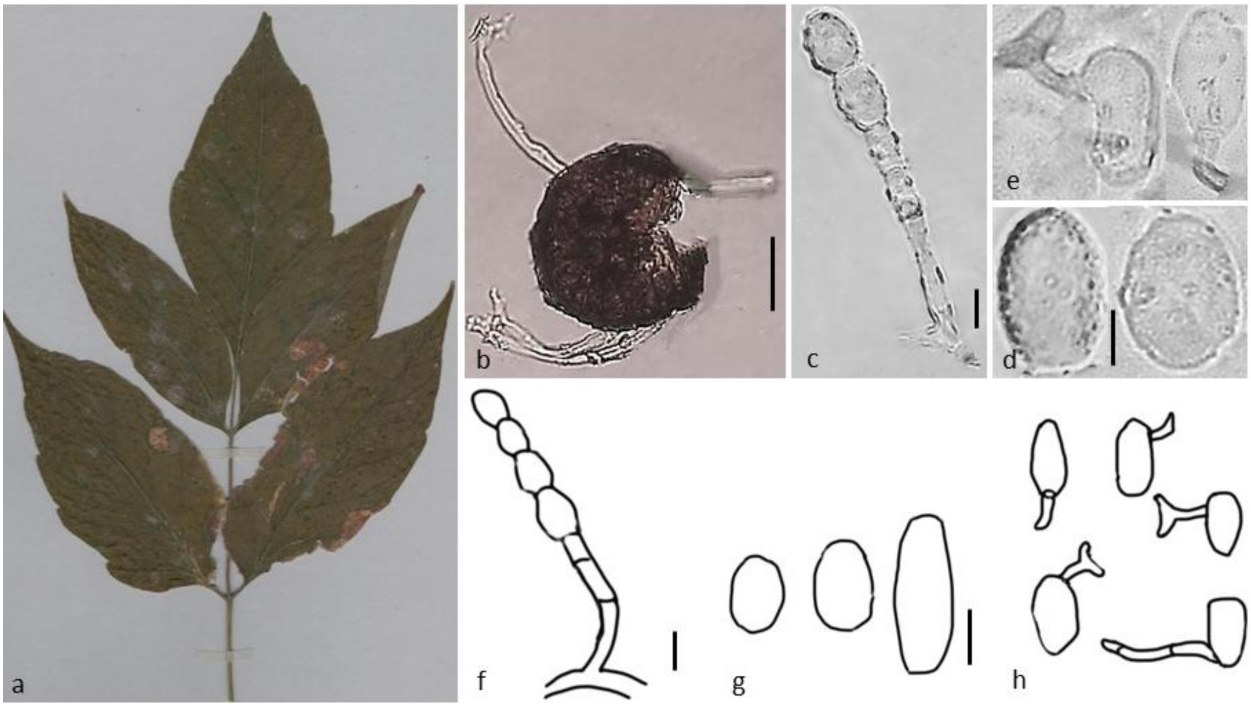
شکل ۳- گونه *Erysiphe trifoliorum*، a: گیاه *Trifolium tumens* آلوده به سفیدک پودری، b: کاسموتسیوم، c: آسک و آسکوسپور، d و g: کنیدیوفورها، e و h: کنیدیوم، f و i: جوانه‌زنی (مقیاس b: ۵۰ میکرومتر، d و g: ۲۰ میکرومتر و e و h: ۱۰ میکرومتر)

Figure 3- *Erysiphe trifoliorum*, a: *Trifolium tumens* plant infected with powdery mildew, b: Chasmothecium, c: Ascus and Ascospore, d and g: Conidiophores, e and h: Conidium, f and i: Germination (Scale b: 50 µm, g and d: 20 µm, and e and h: 10 µm)

گونه *Golovinomyces orontii* species complex (Castagne) Heluta, 1988

نمونه‌های بررسی شده: روی *Fraxinus excelsior* (زبان گنجشک/ون)، محوطه دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ۰۰/۷/۸؛ پارک لاله، اردبیل، ۰۰/۷/۸، جمع‌آوری: ساحلی؛ روی *L. scarioloides* و*Lactuca*. sp (کاهو دنایی، کاهوی‌وحشی)، محوطه دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ۰۰/۷/۸؛ بولاغلار، نیر، ۰۰/۷/۲۴؛ جاده سردابه، اردبیل، ۰۰/۶/۱۵؛ جمع‌آوری: ساحلی میسلیوم سفیدرنگ به‌صورت متراکم در هر دو سطح برگ، به‌خصوص سطح بالایی پراکنده شده است. ریسه بسیار نازک به عرض (۶-) ۳ (-۲) میکرومتر است. کنیدیوفور استوانه‌ای دارای فرورفتگی در طول و بعضاً راست و قائم به ابعاد (۸-) ۶/۰۸ (-۴) × (۸۸-) ۵۳ (-۳۵) میکرومتر، سلول پایه استوانه‌ای و باریک و دارای خمیدگی و فرورفتگی، بی‌رنگ، دارای کمی تورم در بخش قاعده، به ابعاد (۸-) ۶/۰۸ (-۴) × (۵۲-) ۳۶/۷ (-۲۲) میکرومتر بوده و بعد از آن ۳-۱ عدد سلول کوتاه‌تر قرار دارد. فاصله اولین دیواره از منشأ کنیدیوفور (۵-) ۴ (-۲) میکرومتر است. کنیدیوم‌ها بیضوی کوتاه تا کشیده و گاهی کاملاً گرد و کروی، بی‌رنگ، به ابعاد (۱۷-) ۱۴/۳ (-۱۱) × (۴۲-) ۲۸/۰۷ (-۲۰) میکرومتر، به‌صورت زنجیری و بعد از کنیدیوفور ۵-۲ عدد سلول دیده می‌شود. جوانه‌زنی به شکل رتیکولوئیدیون[1] بوده و اغلب حالت انتهایی دارد. کاسموتسیوم به تعداد بسیار کم، بیضوی تا گرد، قهوه‌ای تیره، به صورت پراکنده در سطح بالایی و به ندرت در سطح پایینی برگ بوده و به قطر (۱۵۴-) ۱۲۳/۵ (-۹۳) میکرومتر می‌باشند. برخی زوائد به صورت رشته‌ای متراکم و برخی دوشاخه‌ای با تعداد کم در اطراف کاسموتسیوم، بی‌رنگ و به عرض (۶-) ۴/۵ (-۳) میکرومتر هستند (شکل ۴ و ۵). با توجه به مشخصات ذکر شده از هر دو فرم جنسی و غیرجنسی قارچ از قبیل شکل کنیدیوفور و کنیدیوم، فرم جوانه‌زنی و انتهای زوائد کاسموتسیوم، این گونه *Golovinomyces orontii* species complex شناسایی شد. این گونه قبلاً از روی *Fraxinus* sp. توسط شریفی و همکاران در سال ۲۰۱۳ (Sharifi *et al.*, 2013) گزارش شده است. این گونه تا به حال از روی *L. scarioloides* و *F. excelsior* از ایران گزارشی نداشته است و بر اساس منابع موجود، این مطالعه اولین گزارش گونه *G. orontii* species complex از روی *L. scarioloides* و *F. excelsior* در ایران محسوب می‌شود.

1- Reticuloidiun



شکل ٤- گونه *Golovinomyces orontii* species complex، a: گیاه *Fraxinus excelsior* آلوده به سفیدک پودری، b: کاسموتسیوم و زوائد آن، c و f: کنیدیوم‌بر، d و g: کنیدیوم‌ها، e و h: جوانه‌زنی (مقیاس b: ۵۰ میکرومتر، c و f: ۱۰ میکرومتر و d و g: ۱۰ میکرومتر)

Figure 4- *Golovinomyces orontii* species complex, a: *Fraxinus excelsior* plant infected with powdery mildew, b: Chasmothecium and its appendages, c and f: Conidiophore, d and g: Conidia, e and h: Germination (scale b: 50 µm, c and f: 10 µm and d and g: 10 µm)

شکل ۵- گونه *Golovinomyces orontii* species complex، a: گیاه *Lactuca scarioloides* آلوده به سفیدک پودری، b و e: کنیدیوفورها، c و f: کنیدیوم‌ها، d و g: جوانه‌زنی (مقیاس b و e: ۲۰ میکرومتر و c و f: ۱۰ میکرومتر)

Figure 5- *Golovinomyces orontii* species complex, a: *Lactuca scarioloides* plant infected with powdery mildew, b and e: Conidiophores, c and f: Conidia, d and g: Germination (scale b and e: 20 µm and c and f: 10 µm)

گونه *Golovinomyces sonchicola* U. Braun and R.T.A. Cook, 2009

نمونه‌های بررسی شده: روی *Sonchus asper* و *Sonchus* sp. (شیرتیغک)، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ۰۱/۳/۲۵، جمع‌آوری: ساحلی میسلیوم سفیدرنگ سطح بالایی برگ را به‌صورت پراکنده تا متراکم پوشانده است. ریسه تا حدودی پهن و به عرض ۷ میکرومتر است. کنیدیوفور استوانه‌ای و بعضاً دارای انحنا و به ابعاد (۱۲–) ۱۰/۶ (–۹) × (۷۸–) ۷۲/۷ (–۶۰) میکرومتر، سلول پایه استوانه‌ای گاهاً دارای انحنا، به ابعاد (۱۱–) ۹/۸ (–۷) × (۵۸–) ۴۹/۳ (–۴۳) میکرومتر بوده و بعد از آن ۳–۱ عدد سلول قرار دارد. کنیدیوم‌ها بیضوی کشیده، به ابعاد (۱۴–) ۱۲/۶ (–۱۱) × (۳۷–) ۲۶/۴ (–۲۱) میکرومتر، به‌صورت زنجیری و بعد از کنیدیوفور ۳–۱ سلول دیده می شود. جوانه‌زنی از نوع یواویدیوم بوده و غالباً حالت انتهایی و به ندرت حالت کناری دارد. فرم جنسی در این گونه در هر دو سطح برگ مشاهده می‌شود. کاسموتسیوم‌ها کروی، قهوه‌ای روشن و به قطر (۱۸۱–) ۱۱۵/۱ (–۷۰) میکرومتر هستند. زوائد رشته‌ای، به تعداد زیاد، حدوداً ۱۵ عدد، در بخش قاعده قهوه‌ای تیره و در انتها بی‌رنگ، دارای دیواره عرضی به عرض (۱۱–) ۶/۱ (–۴) میکرومتر هستند. آسک‌ها بیضوی، بی‌رنگ و به ابعاد (۳۰–) ۲۴ (–۱۹) × (۴۸–) ۴۰/۴ (–۲۸) میکرومتر بوده و آسکوسپورها هم بیضوی‌شکل، زردرنگ و به ابعاد (۱۳–) ۱۱ (–۱۰) × (۱۶–) ۱۳/۵ (–۱۱) میکرومتر می‌باشند (شکل ۶). با مشخصات بیان شده از فرم جنسی قارچ از قبیل شکل زوائد کاسموتسیوم، تعداد و شکل آسک و آسکوسپور، این گونه *Golovinomyces sonchicola* تشخیص داده شد. این گونه در گذشته از روی *Sonchus* sp. توسط خداپرست در سال ۲۰۱۰ از جاده زنجان و از منجیل (Khodaparast *et al*., 2010) و همچنین توسط شریفی در سال ۲۰۱۲ از استان گیلان (Sharifi, 2012) گزارش شده است. در آلمان نیز از روی همین جنس گزارش گردیده است (Bradshaw *et al*., 2022). این گونه تا به حال از روی *S. asper* از ایران گزارشی نداشته است و بر اساس منابع موجود، این مطالعه اولین گزارش گونه *G. sonchicola* از روی *S. asper* در ایران محسوب می‌شود.

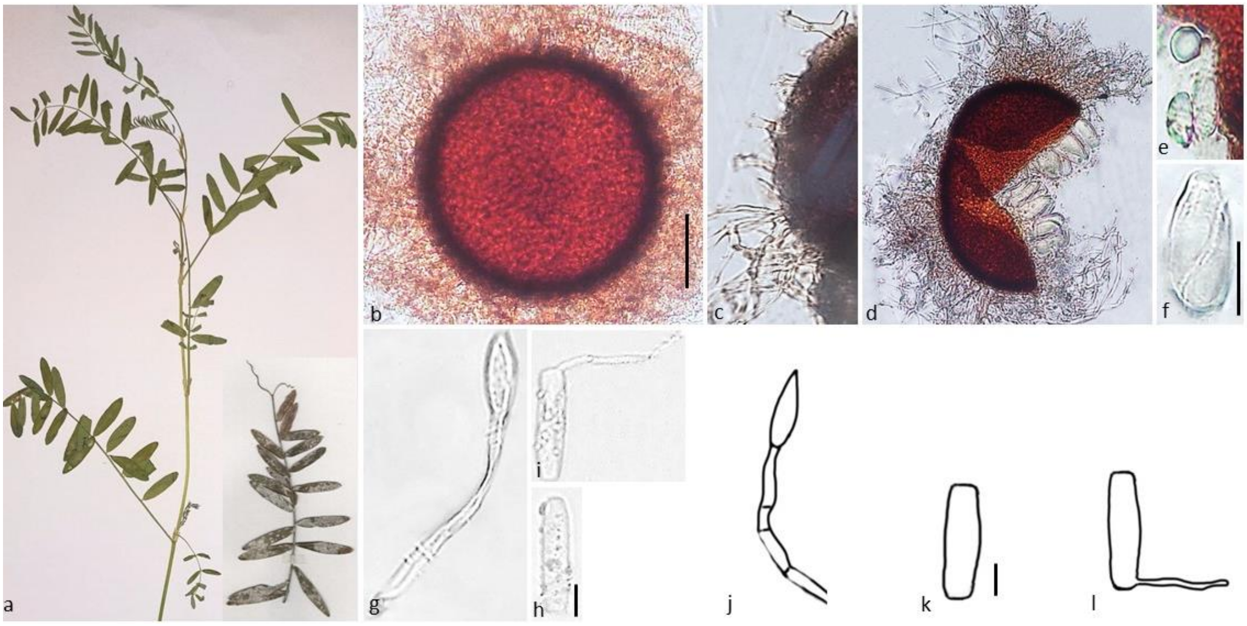
شکل ٦– گونه *Golovinomyces sonchicola*، a و b: گیاه *Sonchus asper* و *Sonchus* sp. آلوده به سفیدک پودری، c: کاسموتسیوم، d: سلول‌های پریدیوم، e: زوائد کاسموتسیوم، f: آسک‌ها و آسکوسپورها، g و h: جوانه‌زنی (مقیاس c: ۵۰ میکرومتر و f: ۲۰ میکرومتر)

Figure 6- *Golovinomyces sonchicola*, a and b: *Sonchus asper* and *Sonchus* sp. plant infected with powdery mildew, c: Chasmothecium, d: Peridium cells, e: Appendages of Chasmothecium, f: Asci and ascospores, g and h: Germination (scale c: 50 µm and f: 20 µm)

گونه *Leveillula taurica* (Lév.) G. Arnaud, 1921

نمونــه بررســی شــده: روی *Vicia sativa* (ماشــک)، خلخــال، ۰۰/۶/۳، جمع‌آوری: بیدار لرد

میسلیوم سفیدرنگ هر دو سطح برگ‌ها را پوشـانده اسـت. ریسـه بسیار باریک و نازک با قطر خیلی کم ۰/۵ تا ۱ میکرومتر، کنیدیوم‌هـا بیضوی بسیار کشیده، بی‌رنگ، دارای اجسام برجسته در سطح، به ابعاد (۱۷-) ۱۴/۲ (-۱۱) × (۶۵-) ۵۷/۴ (-۴۷) میکرومتر، کاسموتسیم گرد و به ندرت بیضوی، قهوه‌ای روشن تا تیره، به قطر (۱۹۷-) ۱۵۸/۲ (-۷۴) میکرومتر، زوائد به صورت میسلیومی با انشعابات نامنظم باریک و بلند با انتهای صاف به تعداد زیاد و نامحدود به عرض (۷-) ۴/۲ (-۳) میکرومتـر و گـاهی بـه‌صـورت رشـته‌ای و ضـخیم در کـل اطـراف کاسموتسیم دیده می‌شود. آسک‌ها تقریباً بیضوی کشیده، حـدوداً ۲۰-۱۵ عدد در داخل هـر کاسموتسـیوم، بـه ابعـاد (۲۹-) ۲۱/۷ (-۱۹) × (۵۸-) ۵۱/۳ (-۴۲) میکرومتر و داخل هر آسک دو آسکوسپور بیضوی و بی‌رنگ مشاهده می‌شود (شکل ۷). این گونه بـا ویژگـی‌هـای ذکـر شده از فرم جنسی و غیرجنسی از قبیل کاسموتسیوم، آسک‌ها، شـکل کنیدیوم‌ها و نوع جوانه‌زنی، گونه *Leveillula taurica* شناسایی شد. این گونه در گذشته از روی *Vicia* sp. توسط قیّمی در سال ۲۰۰۵ از یزد (Samadi *et al*., 2010) و توسط حسـین‌خانی‌ها و همکـاران در سال ۲۰۱۲ از قزوین (Hoseinkhaniha *et al*., 2012) گزارش شده است. این گونه تا به حال از روی *V. sativa* از ایران گزارش نشـده و بر اساس منابع موجود، این مطالعه اولین گزارش گونه *L. taurica* از روی *V. sativa* در ایران محسوب می‌شود.



شکل ۷- گونه *Leveillula taurica*، a: گیاه *Vicia sativa* آلوده به سفیدک پودری، b: کاسموتسیوم، c: زوائد کاسموتسیوم، d: آسک‌های درون کاسموتسیوم، e: آسکوسپورها، f: یک آسک به همراه دو آسکوسپور درون آن، g و j: کنیدیوفور، h و k: کنیدیوم، i و l: جوانه‌زنی (مقیاس b: ۵۰ میکرومتر، f: ۲۵ میکرومتر و h و k: ۲۰ میکرومتر)

Figure 7- *Leveillula taurica*, a: *Vicia sativa* plant infected with powdery mildew, b: Chasmothecium, c: Appendages of Chasmothecium, d: Asci inside Chasmothecium, e: Ascospores, f: an ascus with two ascospores inside, g and j: Conidiophore, h and k: Conidium, i and l: Germination (Scale b: 50 µm, f: 25 µm and h and k: 20 µm)

گونــه *Podosphaera euphorbiae* (Castagne) U. Braun and S. Takam, 2000

نمونه بررسـی شـده: روی *Euphorbia* sp. (فرفیـون)، دانشـگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ۰۰/۷/۸؛ بولاغلار، نیر، ۰۰/۷/۲۴، جمـع‌آوری: ساحلی؛ ابتـدای جـاده مشـگین‌شـهر، اردبیـل، ۰۰/۷/۲۹، جمـع‌آوری: داوری

میسلیوم سفیدرنگ در هر دو سطح برگ با حجم کم پراکنده شده است. ریسه به‌صورت مارپیچی و به عرض (۷-) ۵/۲ (-۳) میکرومتـر است. کنیدیوفور استوانه‌ای، برخی انحنادار و خمیده و تعـدادی قـائم و راست، بـه ابعـاد (۹-) ۷/۳ (-۳) × (۱۳۶-) ۱۰۰/۱ (-۴۸) میکرومتـر، سلول پایه استوانه‌ای، گاهاً خمیده، در بخش قاعده دارای تورم جزئی، دارای اجسام فیبروزین بادی در سطح، به ابعاد (۹-) ۷/۲ (-۳) × (۶۰-

) ۴۳/۸ (–۱۵) میکرومتر بوده و بعد از آن ۴-۱ سلول دیده می‌شود. فاصله اولین دیواره از منشأ کنیدیوفور (۴–) ۲/۲ (–۱) میکرومتر است. کنیدیوفورها به شکل استوانه‌ای کشیده، بی‌رنگ، به ابعاد (۱۳–) ۱۰/۸ (–۸) × (۳۲–) ۲۶/۶ (–۲۲) میکرومتر، دارای اجسام فیبروزین‌بادی، به صورت زنجیری و بعد از کنیدیوفور ۲-۱ سلول کوتاه نیز دیده می‌شود. جوانه‌زنی به شکل زیرتیپ برویتوبوس یعنی مگنیسلولات بوده و باریک هم می‌باشند (شکل ۸). با توجه به توضیحات بیان شده از فرم غیرجنسی قارچ همانند کم و بیش استوانه‌ای بودن کنیدیوم‌ها، قطر ریسه و سایر موارد، این گونه *Podosphaera euphorbiae* شناسایی شد. نام قبلی گونه *P. euphorbiae*، (synonym) *Sphaerotheca euphorbiae* نام داشت. این گونه قبلاً از روی *Euphorbia* sp. توسط کچوئیان‌جوادی و همکاران در سال ۲۰۰۰ از جاجرود (Kachooeian-Javadi *et al*., 2006) و خداپرست و عباسی در سال ۲۰۰۹ از برخی شهرهای ایران (Khodaparast & Abbasi, 2009) گزارش گردیده است. گزارش این گونه برای فلور قارچ‌های استان اردبیل جدید می‌باشد.

شکل ۸- گونه *Podosphaera euphorbiae*، a و b: گیاه *Euphorbia* sp. آلوده به سفیدک پودری، c و f: کنیدیوفورها، d و g: کنیدیوم، e و h: جوانه‌زنی (مقیاس c و f: ۲۰ میکرومتر و d و g: ۱۰ میکرومتر)

Figure 8- ***Podosphaera euphorbiae*****, a and b:** ***Euphorbia*** **sp. plant infected with powdery mildew, c and f: Conidiophores, d and g: Conidium, e and h: Germination (scale in c and f: 20 µm and d and g: 10 µm)**

به‌طور کلی در این تحقیق، هفت جنس و ۳۳ گونه سفیدک پودری از روی ۴۶ میزبان گیاهی شناسایی گردید. در این بین، دو جنس *Erysiphe* و *Podosphaera* به‌ترتیب با ۱۳ و نه گونه، دارای بالاترین درصد فراوانی بودند. از میان گونه‌ها، چهار میزبان جدید برای سفیدک پودری برای اولین بار از ایران و همچنین ۱۱ گونه برای اولین بار از استان اردبیل گزارش می‌شوند. با توجه به اینکه سفیدک‌های پودری در اثر خسارت مسقیم و غیرمستقیم باعث کاهش عملکرد و کاهش کیفیت محصول می‌شوند، شناسایی دقیق این قارچ ها، دامنه میزبانی و پراکنش جغرافیایی آن‌ها می‌تواند در مطالعات تنوع زیستی و همچنین راهکارهای مدیریت این عوامل بیماری‌زا مفید باشد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول ارایه شده به دانشگاه محقق اردبیلی است و بدینوسیله از معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه بابت حمایت مالی از این پژوهش قدردانی می‌شود.

References

1. Abasova, L. V., Aghayeva, D. N., & Takamatsu, S. (2018). Notes on powdery mildews of the genus *Erysiphe* from Azerbaijan. *Current Research in Environmental and Applied Mycology*, *8*(1), 30-53. https://doi.org/10.5943/cream/8/1/3
2. Agrios, G. N. (2005). *Introduction to plant pathology* (5th Edition). Elsevier Academic Press, p. 494-500.
3. Amano, K. (1986). Host range and geographical distribution of powdery mildews. Faculty of Agriculture Niigata University, Niigata, Japan.
4. Assadi, M. (2019). Flora of Iran. *Iran Nature*, *4*, 29-41.
5. Assadi, M., Maassoumi, A. A., Khatamsaz, M., & Mozaffarian, V. (1988-2023). Flora of Iran. *Research Institute of Forests and Rangelands Publication*, Tehran, p. 1-152. (In Persian)
6. Bradshaw, M. J., Braun, U., & Pfister, D.H. (2022). Phylogeny and taxonomy of the genera of Erysiphaceae, part 1: *Golovinomyces*. *Mycologia*, *114*(6), 964-993. https://doi.org/10.1080/00275514.2022.2115419
7. Bradshaw, M. J., Quijada. L., Tobin, P. C., Braun, U., Newlander, C., Potterfield, T., Alford, E.R., Contreras, C., Coombes, A., & Moparthi, S. (2022a). More than just plants: Botanical gardens are an untapped source of fungal diversity. *HortScience*, *57*(10), 1289-1293. https://doi.org/10.21273/HORTSCI16755-22
8. Braun, U. (1987). A monograph of the Erysiphales (powdery mildew). Beiheft zur, *Nowa Hedwigia*, *89*, 1-700.
9. Braun, U. (1995). *The Powdery Mildews (Erysiphales) of Europe*; Gustav Fischer: Stuttgart, Germany, Spektrum Akademischer Verlag, ISBN: 3334609944.
10. Braun, U., & Cook, R.T.A. (2012). Taxonomic manual of the *Erysiphales* (powdery mildews). In CBS Biodiversity Series; *CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre*: Utrecht, The Netherlands, 11: 1-707. ISBN: 9789070351892.
11. Cook, R. T. A., & Braun, U. (2009). Conidial germination patterns in powdery mildews. *Mycological Research*, *113*(5), 616-636. https://doi.org/10.1016/j.mycres.2009.01.010
12. Cook, R. T. A., Inman A. J., & Billings, C. (1997). Identification and classification of powdery mildew anamorphs using light and scanning electron microscopy and host range data. Central Science Laboratory (MAFF), Sand Hutton, York YO4 1LZ, U.K. *Mycological Research*, *101*(8), 975-1002. https://doi.org/10.1017/S0953756297 00364X
13. Davari, M., Bagheri-Kheirabadi, M., Sharifi, K., & Khodaparast, S.A. (2015). A study on the identification of Erysiphaceae based on morphological characteristics in Ardabil province, Iran. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, *4*(1), 29-40. http://jcp.modares.ac.ir/article-3-11845-en.html
14. Dunn, M. W., & Gaynor, L. G. (2020). Impact and control of powdery mildew on irrigated soybean varieties grown in Southeast Australia. *Agronomy*, *10*(4), 514. https://doi.org/10.3390/agronomy10040514
15. Ershad, D. (1971). Contribution to the knowledge of Erysiphaceae of Iran. *Iran Journal Plant Pathology*, *6*, 50-60.
16. Ershad, D. J. (2009). Fungi of Iran. Iranian Research Institute of Plant Protection, 531 pp.
17. Fuller, K.B., Alston, J.M., & Sambucci, O.S. (2014). The value of powdery mildew resistance in grapes: evidence from California. *Wine Economics and Policy*, *3*, 90-107. https://doi.org/10.1016/j.wep.2014.09.001
18. Haftlang, K. K. (2003). The Book of Iran: A Survey of the Geography of Iran. *Alhoda UK*.
19. Hoseinkhaniha, S., Khodaparast, S.A., Zarabi, M.M., & Razaz-Hashemi, S.R. (2012). Powdery mildew of tomato in Qazvin province of Iran: host range, morphological and molecular characterization. *Journal of Crop Protection*, *1*(2), 143-152. http://jcp.modares.ac.ir/article-3-11227-en.html
20. Kachooeian-Javadi, S., Abbasi, M., Riahi, H., & Mousavi, S.M. (2006). A study of the fungal flora (Erysiphales, Ustilaginales, Uredinales) of the Jajroud protected area. *Environmental Sciences*, *4*(13), 40-60.
21. Karimi, A. R., & Hajian, M. (1998). New hosts of powdery mildew in Iran. *Applied Entomogy and Phytophathology*, *66*(1and 2), 145-146. (In Persian with English abstract)
22. Khodaparast, S. A. (2007). *A monograph on Erysiphaceae from Guilan province*, Iran University of Guilan Press.
23. Khodaparast, S. A., & Abbasi, M. (2009). Species, host range and geographical distribution of powdery mildew fungi (Ascomycota: Erysiphales) in Iran, *Mycotaxon*, *108*, 213-216.

https://doi.org/10.5248/108.213
24. Khodaparast, S. A., Fathi, F., Abbasi, M., & Mirzaei, M. R. (2010). A contribution to the study of *Erysiphaceae* (Ascomycota: Erysiphales) in Iran. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, *40*(2), 69-78.
25. Khodaparast, S. A., Hedjaroude, G. H. A., Takamatsu, S., & Braun, U. (2002). Three new species of the genus *Leveillula* from Iran. *Mycoscience*, *43*, 459-462.
26. Khodaparast, S. A., Niinomi, S., & Takamatsu, S. (2007). Molecular and morphological characterization of *Leveillula* (Ascomycota: Erysiphales) on monocotyledonous plants. *Mycological Research*, *111*(6), 673-679.
27. Matsuda, Y., Sameshima, T., Moriura, N., Inoue, K., & Nonomura, T. (2005). Identification of individual powdery mildew fungi infecting leaves and direct detection of gene expression by single conidium polymerase chain reaction. *Phytopathology*, *95*, 1137-1143. https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-1137
28. McNeill, J., Barrie, F. R., Buck, W. R., Demoulin, V., Greuter, W., Hawksworth, D.L., Herendeen, P.S., Knapp, S., Marhold, K., Prado, J., Prud'homme Van Reine, W.F., Smith, G. F., Wiersema, J. H., & Turland, N.J. (eds). (2012). International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants (Melbourne Code) adopted by the Eighteenth International Botanical Congress Melbourne, Australia, July 2011. Regnum Vegetabile, 154. *Koeltz Scientific Books*, Germany.
29. Mori, Y., Sato, Y., & Takamatsu, S. (2000). Evolutionary analysis of the powdery mildew fungi using nucleotide sequences of the nuclear ribosomal DNA. *Mycological Research*, *92*, 74-93. https://doi.org/10.1080/00275514.2000.12061132.
30. Nagy, G. S., & Kiss, L. (2006). A check-list of powdery mildew fungi of Hungary. Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences, H-1525 Budapest, P.O. Box 102, Hungar. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, *41*(1-2), 79-91. https://doi.org/10.1556/APhyt.41.2006.1-2.9
31. Nicholson, R. L., Yoshioka, H., Yamaoka, N., & Kunoh, H. (1988). Preparation of the infection court by *Erysiphe graminis*. Release of esterase enzyme from conidia in response to a contact stimulus, *Experimental Mycology*, *12*, 336-349. https://doi.org/10.1016/0147-5975(88)90025-4
32. Pirnia, M., Khodaparast, S. A., & Abbasi, M. (2007). Study on the genus *Phyllactinia* (Erysiphaceae) in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, *43*(4), 445-464.
33. Rechinger, K. H. (1963-2015). Flora Iranica. *Akademische Druck-u, Verlagsanstalt*, Graz, p. 1-181.
34. Salmon, E.S. (1900). A Monograph of the Erysiphaceae. *New York: Torrey Botanical Club*, 9. (Memoirs of the Torrey Botanical Club; 9)
35. Samadi, S., Abbasi, M., & Esmaeilzadeh-Hosseini, S.A. (2010). Identification of fungi in Yazd Province (Powdery Mildews, Rusts and Smuts). *Andishmandan-e Yazd*, Yazd, Iran, 184 pp. https://www.researchgate.net/publication/235225639.
36. Sharifi, K. (2012). Taxonomy of anamorphic genus *Oidium* in Guilan Province. M.Sc. thesis and faculty of agricultural sciences, Gilan University.
37. Sharifi, K. (2021). Morphological and phylogenetic study of ornamental and landscape plants powdery mildew in Isfahan, Chaharmahal and Bakhtiari, Markazi and Lorestan provinces. Ph.D. thesis. Faculty of Agriculture, Lorestan University.
38. Sharifi, K., Khodaparast, S. A., & Mousanejzhad, S. (2013). A contribution to the knowledge of taxonomy and identification of anamorphic genus *Oidium* in Guilan province, Iran. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, *44*(1), 1-13. https://doi.org/10.22059/IJPPS.2013.35618
39. Shin, H. D. (2000). Erysiphaceae of Korea. *Plant Pathogens of Korea*, *1*, 1-320.
40. Shin, H. D., & La, Y. J. (1993). Morphology of edge lines of chained immature conidia on conidiophores in powdery mildew fungi and their taxonomic significance. *Mycotaxon*, *46*, 445-451.
41. Shin, H. D., & Zheng, R. Y. (1998). Anamorphic morphology of *Uncinula* and allied genera (I). *Mycotaxon*, *66*, 243-266.
42. Tajik-Ghanbary, M. A., Hedjaroude, G. H. A., Ershad, D., Termeh, F., & Mousavi, M. (2005). Identification of fungi belonging to Erysiphaceae in Golestan National Park. *Khazar Agricultural and Bioresource Research*, *4*, 63-71.
43. Takamatsu, S. (2004). Phylogeny and evolution of the powdery mildew fungi (Erysiphales, Ascomycota) inferred from nuclear ribosomal DNA sequences. *Mycoscience*, *45*, 147-157. https://doi.org/10.1007/s10267-003-0159-3
44. Tavanaei, G. H., Fazlali, Y., & Khodaparast, S.A. (2005). Introduction of the fungi causing powdery mildews on Oak trees in Arasbaran forests. *Iranian Journal of Forest and Range Protection Research*, *3*(1),

69-83.

45. Tavanaei, G. H., Peighami, E., & Ershad, D. (2001). *Uncinula celtidis*, a new record to Iran. *Journal Plant Pathology*, *37*(3 and 4), 323-324. (In Persian with English abstract)
46. Vaghefi, N., Kusch, S., Németh, M. Z., Seress, D., Braun, U., Takamatsu, S., Panstruga, R., & Kiss, L. (2022). Beyond nuclear Ribosomal DNA sequences: Evolution, taxonomy, and closest known saprobic relatives of powdery mildew fungi (Erysiphaceae) inferred from their first comprehensive genome-scale phylogenetic analyses. *Fronties in Microbiology*, *13*, 903024. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.903024
47. Wijayawardene, N. N., Hyde, K. D., Al-Ani, L. K. T., Tedersoo, L., & Haelewaters, D. (2020). Outline of Fungi and fungus-like taxa. *Mycosphere*, *11*(1), 1060-1456. https://doi.org/10.5943/mycosphere/11/1/8

Journal of Iranian Plant Protection Research
https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 3, 2024, p. 275-291

Investigating the Effect of Phosphorus Fertilizer Levels and Density of Wild Mustard (*Sinapis arvensis* L.) on Morphophysiological Traits of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.)

M. Khosravi[1] , M. Jami Al-Ahmadi[2*], S.V. Eslami[3], M. H. Sayari-Zohan[3]

1, 2 and 3- Department of Plant Production and Genetics, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.
(*- Corresponding Author Email: mjamialahmadi@birjand.ac.ir)

Received: 24-10-2023
Revised: 26-04-2024
Accepted: 11-06-2024
Available Online: 28-12-2024

How to cite this article:
Khosravi, M., Jami Al-Ahmadi, M., Eslami, S. V., & Sayari-Zohan, M. H. (2024). Investigating the effect of phosphorus fertilizer levels and density of wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) on morphophysiological traits of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *38*(3), 275-291. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.84836.1162

Introduction

Oilseeds are very important as the raw material for the production of vegetable oil (one of the basic needs of the society in the food field). Therefore, achieving any success in increasing the amount of production and supplying as many of these products as possible to meet the domestic needs of the country is considered a valuable and great success. Safflower, with the scientific name *Carthamus tinctorius* L., is an annual long-day plant from the chicory family. Wild mustard (*Sinapis arvensis* L.), which is also called *Brassica kaber* in some literatures, is one of the most important weeds belonging to the Brassicaceae family. Competition can perhaps be considered the most important biological interference factor effective in determining crops productivity.Effective management of weeds in agricultural systems is very decisive. Extensive and repeated use of herbicides has led to the emergence of resistant weed biotypes, which has often increased the cost of control. It has also caused some concerns about the negative environmental effects of herbicides. When the competition is for light, the competitive ability of the species is first determined by the morphological traits. The response of crop height to weed competition is related to the density and intensity of competition and the type of weeds and can be positive or negative.

Materials and Methods

An split plots experiment based on randomized complete block design with three replication was carried out in the Research Farm of University of Birjand during the 2018-2019 cropping year. The treatments include four level of phosphorus fertilizer (0, 25, 50 and 75 kg P_2O_5 ha^{-1}) as the main plot and the four wild mustard densities (0, 7, 14 and 28 pl m^{-2}) as subplots. Plant growth characteristics were measured from 150 to 210 days after planting (DAP) in five stages at 15-day intervals. Also, at the harvest maturity, the yield and yield components of the crop were determined.

Results and Discussion

According to the results, the highest (35.48 g m^{-2}) and lowest (28.23 g m^{-2}) safflower leaf dry weights were obtained from control (no-mustard) and 28 pl m^{-2} mustard densities at 165 DAP, respectively. The highest (1.67) and lowest (1.19) leaf area index of safflower were achieved at 210 DAP using 25 and 50 kg P_2O_5 ha^{-1}, respectively. Based on these results, it can be concluded that the most effective level of phosphorus on the

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.84836.1162

improvement of safflower growth traits (e.g. leaf area and dry weight and stem dry weight) and its competitive ability was 25 kg P2O5 ha^{-1}, although the its effects were not significant for many traits, and as phosphorus levels increased, the competition shifted more in favor of wild mustard. In accordance with these results, and probably due to luxury consumption by weeds, it has been observed that when weed density is high, adding fertilizer leads to superiority of weed growth over crop (Blackshaw *et al*., 2008). Also, the highest leaf area index of mustard (0.63) was obtained at a density of 56 mustard pl m^{-2} at 165 DAP and the lowest one of (0.26) was observed at a density of 14 pl m^{-2} at the same time. It was also observed that the height and leaf area index of wild mustard were the highest in all measuring stages at higher weed densities, indicating the competitiveness of the weed. The increase in weed density had a negative impact on the safflower, although insignificant in many cases, which could be the result of the competitive effect of mustard for resources such as radiation and nutrients (Wright *et al*., 1999).

Conclusion

In general, the increase in weed density had a positive effect on the yield and its components in wild mustard and a negative effect on the safflower, and under these condition, the application of more than 25 kg P_2O_5 ha^{-1} does not have a positive effect on the crop. Thus, it seems that the revision in weed management and the use of fertilizer as an agronomic strategy can be effective in reducing the crop losses caused by the presence of high densities of weeds (Clements *et al*., 2014).

Keywords: distribution, growth analysis, height, weed density, weed competition

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۲۹۱-۲۷۵

بررسی اثر سطوح کود فسفر و تراکم خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.) بر صفات مورفوفیزیولوژیک گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.)

مجتبی خسروی[۱]- مجید جامی الاحمدی[۲*]- سید وحید اسلامی[۳]- محمد حسن سیاری زهان[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۲

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر تراکم علف‌هرز و میزان کود فسفر بر ویژگی‌های رشدی و نحوه تخصیص ماده خشک در گیاه زراعی گلرنگ و علف‌هرز خردل وحشی، آزمایشی بصورت کرت‌های خرد شده درقالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه بیرجند در سال زراعی ۹۹-۹۸ اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح کود فسفر (چهار سطح صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگرم فسفر خالص در هکتار) به‌عنوان عامل اصلی و تراکم خردل وحشی (چهار سطح صفر، ۱۴، ۲۸ و ۵۶ بوته در متر مربع) به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. نتایج مقایسات میانگین نشان داد بیشترین میزان وزن خشک برگ گلرنگ با ۳۵/۴۸ گرم در متر مربع در ۱۶۵ روز بعد از سبز شدن در تیمار شاهد (عدم وجود خردل وحشی) بدست آمد و کمترین میزان وزن خشک برگ نیز با ۲۸/۲۳ گرم از تیمار تراکم ۲۸ بوته خردل وحشی حاصل گردید. بیشترین مقدار شاخص سطح برگ کل گیاه گلرنگ معادل ۱/۶۷ در ۲۱۰ روز پس از سبز شدن از تیمار ۲۵ کیلوگرم در هکتار مصرف فسفر حاصل گردید و کمترین میزان این شاخص نیز برابر با ۱/۱۹ از تیمار ۵۰ کیلوگرم مصرف فسفر به‌دست آمد. همچنین بیشترین شاخص سطح برگ بوته خردل وحشی در ۱۶۵ روز بعد از کشت (۰/۶۳) در تراکم ۵۶ بوته خردل وحشی در متر مربع بوده و کمترین میزان این شاخص در این مرحله (۰/۲۶) از تراکم ۱۴ بوته حاصل شده است. به‌صورت کلی مشاهده شد که ارتفاع گیاه و شاخص سطح برگ در گیاه خردل وحشی در شرایط تراکم بالاتر در همه‌ی مراحل رشد بیشترین مقدار بوده که نشان دهنده‌ی رقابت‌پذیری علف‌هرز می‌باشد. هرچه تراکم علف‌هرز بالاتر رفته ارتفاع گیاه زراعی بیشتر شده است، اما این افزایش تراکم علف‌هرز منجر به کاهش شاخص سطح برگ گیاه زراعی گردیده است.

واژه‌های کلیدی: آنالیز رشد، ارتفاع، تراکم علف هرز، تسهیم، رقابت علف هرز

۱، ۲ و ۳- گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: mjamialahmadi@birjand.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.84836.1162

مقدمه

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) یک گیاه دانه روغنی مهم بومی مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان است که قرن‌هاست در سرتاسر جهان کشت می‌شود. گلرنگ گیاهی یک ساله متعلق به خانواده کاسنی (Asteraceae) است که تحمل و سازگاری نسبتاً بالایی به محیط‌هایی با بارندگی محدود دارد (Nogales-Delgado *et al*., 2019).

دانه‌های روغنی به‌عنوان ماده اولیه تولید روغن نباتی برای تغذیه انسان از اهمیت بسیار بالایی برخوردار هستند و علاوه بر آن به‌طور گسترده به‌منظور تولید غذای دام و طیور، تولید رنگ در صنایع رنگرزی و همچنین دارو برای درمان برخی بیماری‌ها کشت می‌شوند (Sarhady Nasab *et al*., 2017). گلرنگ یک گیاه مقاوم به خشکی و شوری است که مقاومت به خشکی آن ناشی از وجود ریشه توسعه یافته و مقامت به شوری آن نیز به سبب مکانیسم‌های مولکولی خاص ساختمان گیاه می‌باشد. این گیاه همچنین به سرما و گرما مقاوم است و در مناطق دارای نوسان دمایی می‌تواند کشت گردد. بنابراین با توجه به توقع کم و مقاومت به شرایط مختلف محیطی، توسعه کاشت آن در استان‌های کم آب و دارای خاک شور می‌تواند نقش مهمی در تأمین نیازها و نهایتاً خودکفایی در این زمینه ایفا کند (Sarhadhi Nasab *et al*., 2017). روغن استخراج شده از دانه گلرنگ بسیار با کیفیت بوده و به‌عنوان یکی از مطلوب‌ترین روغن‌ها به حساب می‌آید (Nazir *et al*., 2021).

یکی از عوامل کاهش عملکرد، رقابت علف‌های هرز با گیاهان زراعی می‌باشد که سالیانه خسارات فراوانی وارد می‌کند. خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.) گیاهی یک ساله و از خانواده شب بو (Brassicaceae) است که توسط بذر تکثیر می‌شود و در بین علف های هرز پهن برگ مشکل ساز در رتبه سوم قرار دارد. این گیاه یکی از متداول‌ترین و شایع‌ترین علف‌های هرز غالب در مزارع می‌باشد که سبب کاهش عملکرد و افزایش هزینه‌های تولید در محصولات زراعی می‌گردد (Pawar, 2009). خردل وحشی تاکنون به‌عنوان علف‌هرز بیش از ۳۰ محصول زراعی در ۵۲ کشور جهان معرفی شده است (Zand *et al*., 2003). جوانه‌زنی سریع در پاییز و در دمای پایین و رشد سریع آن در ابتدای بهار باعث افزایش توان رقابتی این علف هرز با گیاهان زراعی مختلف می‌گردد. در اکثر مناطق دنیا، پایداری بانک بذر، قدرت رقابتی بالا، زادآوری زیاد و مقاومت به علف‌کش‌ها از مهمترین مشکلات کنترل خردل وحشی به شمار می‌رود (Motaghi *et al*., 2016). خردل وحشی حداکثر سطح برگ خود را بسیار زودتر از گونه‌های زراعی تشکیل داده و دارای قدرت رقابتی بالایی در کسب نور است که از این طریق خسارت‌های جبران‌ناپذیری وارد می‌سازد (Minbashi Moeini *et al*., 2008). به‌دلیل سرعت بالای خردل وحشی در رسیدن به حداکثر سطح برگ، از قدرت رقابت بالاتری برای کسب نور برخوردار بوده و از این طریق خسارت‌های جبران ناپذیری بر گونه‌های زراعی وارد می‌کند (Warwick *et al*., 2000).

افزایش توان رقابتی گیاهان زراعی با استفاده از مدیریت حاصلخیزی خاک یکی از مباحث مهم در مدیریت علف‌های هرز محسوب می‌شود، چرا که رقابت بر سر منابع محدود عناصر غذایی از مهمترین خسارت‌های علف‌های هرز است (Heydarian Ardakani *et al*., 2010). فسفر دومین ماده مغذی دارای کمبود بعد از نیتروژن از نظر بهره‌وری گیاه در خاک‌ها است. فسفر به‌عنوان یک عنصر مورد نیاز در ساخت فسفولیپید، اسید نوکلئیک، ATP و به‌عنوان یک تنظیم کننده واکنش‌های آنزیمی و فرآیند انتقال سیگنال دارای اهمیت بالایی است. اثر مثبت کودهای حاوی فسفر بر عملکرد و اجزای عملکرد گلرنگ (تعداد دانه بارور در متر مربع، وزن هزاردانه و ارتفاع بوته) به‌دلیل نقش مستقیم این عنصر در فرآیندهای سوخت و ساز گیاه، تقسیم و رشد سلول، انتقال انرژی، ساخت مواد آلی، تنفس و فتوسنتز است. هرگاه گیاه بتواند مقدار بیشتری از تابش خورشیدی را جذب نماید، می‌تواند با مقدار بیشتری از ذخایر فتوسنتزی در مرحله رشد رویشی، وارد مرحله زایشی شود. در نتیجه، علاوه بر تولید محصول بیشتر، قادر خواهد بود که مقدار بیشتری از ترکیبات آلی فتوسنتزی را به دانه منتقل نماید و از این طریق باعث افزایش عملکرد دانه شود. از طرفی، تأمین بهینه فسفر در هنگام گلدهی باعث افزایش گرده‌افشانی در گیاه می‌شود، چرا که فسفر نقش مهمی در گرده‌افشانی گیاهان دارد. از این رو به نظر می‌رسد فسفر از راه افزایش اجزای عملکرد، می‌تواند موجب بهبود عملکرد دانه گردد (Ahmadpour Abnavi *et al*., 2019).

زمانی که گیاه زراعی آفتابگردان در جذب منابع بهتر از تاج خروس باشد، ارتفاع ساقه، تعداد برگ‌ها و سطح برگ بیشتری خواهد داشت، که در نهایت نور بیشتری را جذب نموده و به دنبال آن فتوسنتز بیشتر و با سرعت بالاتری انجام خواهد شد (Heydarian Ardakani, 2009). در نتیجه، منبع قوی می‌تواند مخزن که همان دانه‌ها هستند را به نحو مؤثرتری پر کرده و به تبع آن وزن دانه و متعاقباً عملکرد را افزایش داده و نهایتاً منجر به افزایش عملکرد روغن گردد. استفاده از عناصر غذایی برای کاهش اثرگذاری رقابت علف‌های هرز با گیاه زراعی نیز در بررسی‌های مختلف مدنظر بوده است. به عبارت دیگر، تقویت گیاه زراعی از طریق عناصر مغذی درحد مناسب، باعث ایجاد اندام‌ها و بافت های مطلوب گیاهی شده و توان رقابتی آن را در استفاده از امکانات محیطی مانند آب و نور فراهم می‌کند و برتری خود را نسبت به علف‌های هرز نشان می‌دهد (Fayaznia *et* *al.*, 2014). در تحقیقی با موضوع کاربرد کود حاوی فسفر برای دو رقم گلرنگ کشت شده در منطقه معتدل سرد کرمانشاه نشان داده شد که کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم بر هکتار سوپرفسفات تریپل در رقم گلدشت، موجب افزایش ۱۰ درصدی عملکرد دانه گلرنگ نسبت به تیمار شاهد (بدون مصرف فسفر) گردیده است. در رقم پدیده این مقدار افزایش به ۱۶۶ درصد رسید (Khodamoradi *et al.*, 2014).

تراکم علف‌هرز نیز یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر رقابت علف‌های هرز با گیاهان زراعی است که بخشی از افت عملکرد گیاهان زراعی را باعث می‌شود (BlackShaw, 2001). افزایش تراکم، به‌دلیل تشدید تداخل علف هرز با گیاه زراعی، موجب رقابت برای نور و در نتیجه کاهش سهم نور مؤثر در فتوسنتز گیاه مغلوب شده و سایر عوامل رشد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش شاخص سطح برگ گیاه زراعی در کشت با علف هرز، یکی از مهم‌ترین طرق تأثیرگذاری رقابت علف‌های هرز است. شاخص سطح برگ بیانگر توانایی کانوپی گیاه درجذب نور ورودی و تولید ماده خشک است. هر عاملی که باعث کاهش این شاخص گردد گیاه را تحت تأثیر قرار می دهد (Foroughi *et al.*, 2014). در تحقیقی افزایش تراکم خردل وحشی منجر به کاهش معنی‌داری در شاخص سطح برگ گندم شد، به طوری‌که در انتهای مرحله ساقه‌دهی در تراکم‌های ۸، ۱۶ و ۳۲ بوته در متر مربع خردل وحشی، شاخص سطح برگ گندم نسبت به شاهد به‌ترتیب ۱۶، ۲۳ و ۲۷ درصد کاهش یافت. این مسئله همچنین باعث افزایش شاخص سطح برگ خردل وحشی شد (Rastgoo, 2000).

با عنایت به مطالب ذکر شده فوق هدف تحقیق حاضر، بررسی اثر سطوح کود فسفر و تراکم‌های مختلف علف‌هرز خردل وحشی بر صفات مورفوفیزیولوژیک گیاه زراعی گلرنگ تحت تأثیر رقابت بین گونه‌ای در دو گیاه در منطقه بیرجند بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق طی دو مرحله در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند با عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۵۶ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۱۳ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۴۸۰ متر از سطح دریا انجام شد.

در مرحله اول، طی تابستان سال ۱۳۹۸ در زمین مورد نظر پیش از انجام مرحله اصلی آزمایش، گیاه زراعی جو (*Hordeum vulgare*) که دارای برداشت بالای عناصر غذایی است، با تراکم بالا (چهار برابر تراکم نرمال) و بدون مصرف هیچ نوع کودی کشت شد، تا ضمن رفع عدم یکنواختی احتمالی عناصر غذایی در خاک قطعه آزمایشی، از میزان عناصر غذایی موجود در زمین و علی‌الخصوص فسفر کاسته شده و میزان این عناصر به حداقل ممکن برسد. قبل ازکاشت جو، نمونه‌برداری از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک محل آزمایش برای تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و میزان عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن و روی انجام گردید که نتایج آن در جدول ۱ مشاهده می‌شود.

جدول ۱- میزان عناصر موجود در خاک قبل کشت و بعد از برداشت گیاه پیش کاشتی جو

Table 1- The amount of elements in the soil before and after the cultivation of sour barley pre-planting

Sampling time	Element				
	N	P	K	Fe	Zn
	------------------------------------ mg kg^{-1} ------------------------------------				
Before planting	195	5.3	207	10.91	2.31
After Harvest	190	2.7	40.5	2.798	0.49

در مرحله دوم به‌منظور ارزیابی رقابت گلرنگ و خردل وحشی در سطوح مختلف فسفر و تراکم‌های مختلف علف‌هرز، در پاییز ۱۳۹۸ آزمایشی بصورت کرت‌های خردشده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح مختلف کود فسفر (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ کیلوگرم فسفر خالص در هکتار) به‌عنوان عامل اصلی و تراکم خردل وحشی در چهار سطح (صفر، ۱۴، ۲۸ و ۵۶ بوته در متر مربع) به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. ابتدا محصول قبلی (جو) در تاریخ ۱۰ شهریور برداشت و کل بیومس تولیدی از مزرعه خارج شد و به‌دنبال آن در پاییز و قبل از کاشت گلرنگ، مجدداً نمونه‌برداری از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک محل آزمایش برای تعیین میزان عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن و روی انجام شد (جدول ۱). برای آماده‌سازی زمین پس از شخم، کلوخه‌ها توسط دیسک نرم شده و در نهایت زمین تسطیح گردید. کوددهی به خاک براساس آزمون خاک برای نیتروژن (کود اوره ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار در سه مرحله به تفکیک همزمان با کشت و سپس به‌صورت سرک در شروع رشد سریع و شروع گلدهی)، پتاس (سولفات پتاسیم ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار همزمان با کشت) و تیمارهای کود فسفر (پس از تسطیح زمین همزمان با کشت) صورت گرفت. روش آبیاری به‌صورت ردیفی (جوی و پشته) و براساس نیاز آبی گیاه انجام شد. در هر کرت ۶ ردیف به طول ۵ متر با فاصله

ردیف‌های ۵۰ سانتی‌متر وجود داشت. فاصله بـین کـرت‌هـای اصـلی چهار ردیف معادل ۲ متر، فاصله بین کرت‌های فرعی از یکدیگر یـک ردیف معادل ۰/۵ متر و فاصله بین تکرارها ۲ متر بـود. رقـم گلرنـگ مورد استفاده دراین آزمایش، رقم پدیده بود و تراکم آن ۴۰۰,۰۰۰ بوته در هکتار درنظر گرفته شد (Bonyadi *et al*., 2018). کاشـت علـف هرز خردل وحشی بطور همزمان بـا گلرنـگ در زمـین اصـلی انجـام گردید، به این صورت که بذور گلرنگ و خردل وحشی با تـراکم‌هـای تعیین شده در طرفین هر پشته در تاریخ ۱۱ آذر ماه کشت شدند.

اولین نمونه‌برداری هشتم اردیبهشت ماه انجام شـد و سـپس بـه فاصله هر ۱۵ روز یک بار تا ۵ مرحله نمونه‌برداری ادامه یافت. در هـر نمونه‌برداری از هر کرت فرعی با رعایت اثر حاشیه، تعداد ۳ بوته گیـاه زراعی و ۳ بوته علف هـرز کـف برشـده و در پاکـت‌هـایی مجـزا بـه آزمایشگاه منتقل شده و پس از انـدازه‌گیری سـطح بـرگ، نسـبت بـه اندازه‌گیری وزن خشک (برگ و کل گیاه) اقدام شد. بدین صـورت‌کـه به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شده و با ترازوی با دقت اندازه‌گیری ۰/۰۱ توزین گردید. بـرای انـدازه‌گیـری سطح برگ درکانوپی گیاه زراعی و علف هـرز، پـس از تعیـین ارتفـاع ساقه این گیاهان، سطح برگ با استفاده از دستگاه تعیین سطح بـرگ (Leaf area meter) مدل CI 202 کمپانی CID اندازه‌گیری شـد. در آخر فصل، بوته‌های موجود در سطحی معادل ۴ متر مربع در مرکز هر کرت برداشت و عملکرد دانه تعیین شد. اجزای عملکرد گیـاه گلرنـگ شامل تعداد و وزن طبق، وزن بـذر در طبـق، عملکـرد بـذر و اجـزای عملکرد خردل وحشی شامل وزن تک بوتـه، وزن بـذر در متـر مربـع، وزن غلاف در متر مربع، تعداد غلاف در بوته، وزن تـک غـلاف، وزن غلاف در بوته، وزن بذر در بوته در انتهـای فصـل بـر روی ۱۰ بوتـه شمارش و اندازه‌گیری شد. محاسبات آماری بـا اسـتفاده از نـرم‌افـزار SAS (9.3) و رسم نمودارهـــا توسـط نـرم‌افـزار Excel انجـام شـد. میانگین صفات مورد مطالعه نیز با اسـتفاده از آزمـون حـداقل تفـاوت معنی‌دار (LSD) در سطح پنج درصد مـورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

وزن خشک برگ گلرنگ

نتایج آنالیز داده‌ها نشـان داد کـه اثـر فسـفر در مرحلـه رسـیدگی فیزیولوژیک نمونه‌برداری (۲۱۰ روز پس از سبز شدن) و اثر تـراکم در ۱۵۰ و ۱۶۵ روز پس از سبز شدن بر وزن خشک برگ گیاه گلرنگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

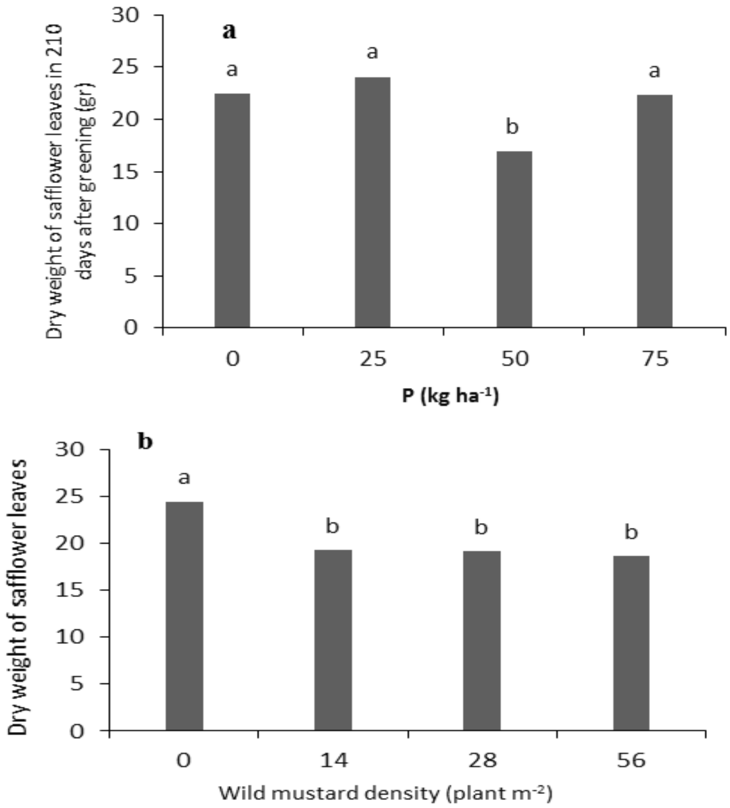
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس سطوح مختلف فسفر و تراکم خردل وحشی بر وزن خشک برگ گلرنگ

Table 2– ANOVA results for different levels of phosphorus and wild mustard density on dry weight of safflower leaves

S.O.V	df	Days after emergence				
		150	165	180	195	210
Replication (R)	2	108 ns	137 ns	14.15ns	87.45 ns	30.47 ns
Phosphorus	3	17.91 ns	10.34 ns	186 ns	43.11 ns	117**
Main plot error	6	33.26 ns	122 ns	76.70ns	25.35 ns	5.30 ns
Density	3	90.62**	133**	110 ns	71.75 ns	40.80 ns
P×D	9	13.66 ns	78.96 ns	172 ns	52.07 ns	37.31
Subplot error	24	17.69 ns	32.25 ns	85.92ns	29.94 ns	28.36 ns
c.v (%)		20.65 ns	18.58 ns	23.53ns	18.14 ns	24.84 ns

* and ** and ns are respectively significant at the probability level of five and one percent and non-significant.

بیشترین میزان وزن خشک برگ در مرحله رسیدگی فیزیولوژیـک نمونه‌برداری یعنی ۲۱۰ روز پس از سـبز شـدن (۲۴/۰۶ گـرم در متـر مربع) از تیمار مصرف ۲۵ کیلوگرم فسفر در هکتار به‌دست آمـد. البتـه این تیمار با تیمارهای ۷۵ و شاهد (صفر کیلوگرم) در یک گروه آماری قرار گرفت و تفاوت معنی‌داری بین تیمـار ۷۵ کیلـوگرم فسـفر، تیمـار شاهد (صفر کیلوگرم فسفر) و تیمار ۲۵ کیلوگرم فسفر مشـاهده نشـد. کمترین وزن خشک برگ (۱۶/۹ گرم در متر مربـع) از تیمـار مصـرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار حاصل گردید (شکل ۱- الف). مقایسه میـانگین ها نشان داد که بیشترین میـزان وزن خشـک بـرگ گلرنـگ (۲۴/۴۶ گرم) از تیمار شاهد حاصـل گردیـد و کمتـرین میـزان ایـن شـاخص (۱۸/۵۹ گرم) نیز از تیمار تراکم ۵۶ بوته خردل وحشـی در متـر مربـع به‌دست آمد. می‌توان گفت که افزایش تراکم خـردل وحشـی موجـب کاهش وزن خشک برگ گلرنگ شد (شکل ۱-ب). کاهش وزن مـاده خشک در بالاترین سـطح فسـفر می‌توانـد بـه‌دلیـل کـاهش توانـایی فیزیولوژیکی متابولیسمی فسفر با افزایش غلظت این عنصر در گیاه یا تأثیر برهمکنش منفی فسفر بر جذب سایر عناصر باشد (Sofy *et al*., 2020).



شکل ۱- اثر فسفر (الف) و تراکم خردل وحشی (ب) بر وزن خشک برگ گلرنگ

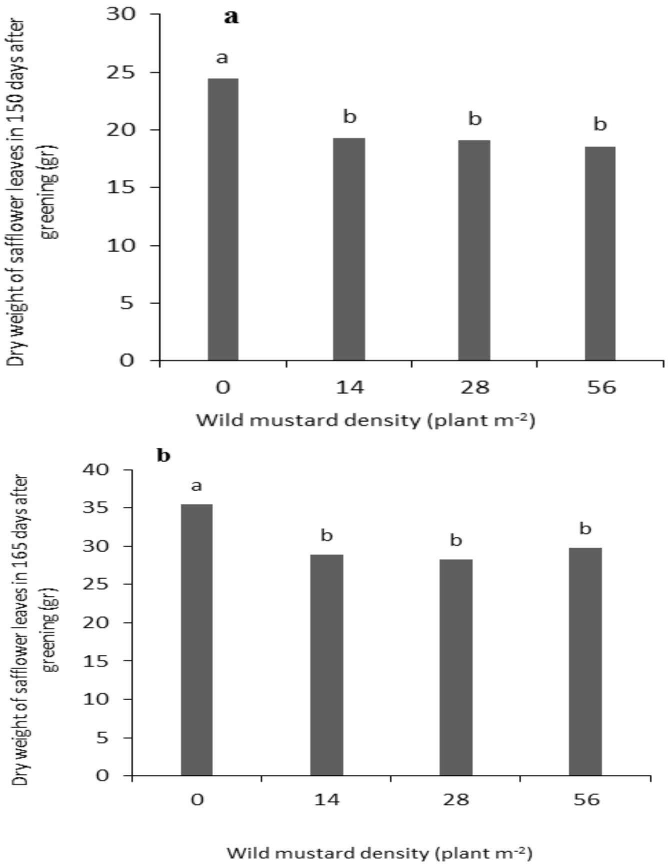
میانگین‌های با حروف مشابه تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر مبنای آزمون LSD ندارند.

Figure 1- The effect of phosphorus (a) and wild mustard densities (b) on the leaf dry weight of safflower

Similar letters above columns indicate a non-significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

با توجه به مقایسه بین میانگین‌ها در می‌یابیم افزایش تراکم خردل وحشی در تمام سطوح موجب کاهش وزن خشک برگ گلرنگ در ۱۵۰ و ۱۶۵ روز پس از سبز شدن شد. به‌طوری‌که بیشترین وزن خشک برگ گلرنگ به میزان ۳۵/۴۸ گرم مربوط به تراکم صفر خردل وحشی در ۱۶۵ روز پس از سبز شدن و کمترین میزان این شاخص (۱۸/۵۹ گرم) نیز از تیمار تراکم ۵۶ بوته خردل وحشی در ۱۵۰ روز بعد از سبز شدن بدست به‌دست آمد (شکل ۲).

مطالعات زیادی گویای آن است که در اثر افزایش تراکم علف های هرز، وزن خشک تولیدی گیاه زراعی کاهش می‌یابد. در تحقیقی گزارش شد که حضور ۱۰ بوته خردل وحشی در هر متر مربع مزارع کلزا، علاوه بر کاهش عملکرد کمی، سبب حضور ۵ درصدی بذرهای خردل وحشی در محصول دانه کلزای برداشت شده گردیده است (MacMullan, 1994). بالاتر بودن مقدار تجمع ماده خشک و محل قرارگیری برگ باعث افزایش دسترسی گیاه به نور و نهایتاً افزایش قدرت رقابتی گیاهان می‌شود. تاتوره درصد بیشتری از ماده خشک خود را به بالاترین ارتفاع انتقال داد که این میزان ماده خشک به‌دلیل تشکیل برگ بود، اما تاج خروس در رقابت، سطح برگ خود را در لایه‌های مختلف سایه‌انداز توزیع نمود. این نوع راهبردهای گیاهان جهت دریافت نور را صفاهانی و همکاران (Safahani *et al.*, 2009) نیز در رقابت خردل وحشی در کلزا گزارش کردند. نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که هیچ کدام از تیمارهای این آزمایش در هیچ مرحله‌ای روی وزن خشک برگ گیاه خردل وحشی معنی‌دار نشد.



شکل ۲- اثر تراکم خردل وحشی بر وزن خشک برگ گلرنگ در ۱۵۰ روز پس از سبز شدن (شکل الف) و ۱۶۵ روز پس از سبز شدن (شکل ب)

میانگین‌های با حروف مشابه تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر مبنای آزمون LSD ندارند.

Figure 2- The effect of wild mustard density on the dry weight of safflower leaves in 150(A) and 165(B) days after greening

Similar letters above columns indicate a non-significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

شاخص سطح برگ گیاه گلرنگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر فسفر در مرحلـه رسـیدگی فیزیولوژیک (۲۱۰ روز پس از سبز شدن) در سطح پـنج درصـد و اثـر تراکم خردل وحشی در ۱۶۵ روز پـس از سـبز شـدن در سـطح یـک درصد بر شاخص سطح برگ گلرنگ معنی‌دار شد (جدول ۳).

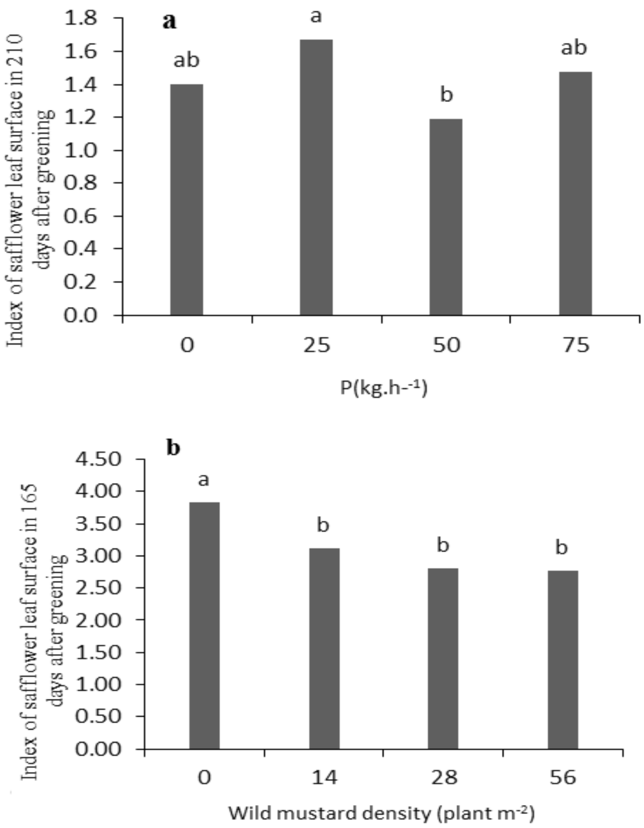
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس سطوح مختلف فسفر و تراکم خردل وحشی بر شاخص سطح برگ بوته گلرنگ

Table 3- ANOVA results for different levels of phosphorus and mustard density on the leaf area index of safflower plant

S.O.V	df	Days after emergence				
		150	165	180	195	210
Replication (R)	2	11.40 ns	1.47 ns	3.36 ns	0.43 ns	15.02 ns
Phosphorus	3	0.10 ns	0.64 ns	2.72 ns	0.39 ns	0.47*
Main plot error	6	0.90 ns	3.60 ns	0.77 ns	0.32 ns	0.09 ns
Density	3	0.33 ns	2.97**	1.40 ns	0.60 ns	0.24 ns
P×D	9	0.16 ns	0.55 ns	2.38 ns	0.51 ns	0.55 ns
The second error	24	0.13 ns	0.24 ns	1.39 ns	0.33 ns	0.40 ns
c.v (%)		20.50 ns	15.66 ns	19.03 ns	23.38 ns	14.05 ns

* and ** and ns are respectively significant at the probability level of five and one percent and non-significant.

بیشترین میزان شاخص سطح برگ گیاه گلرنگ در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک یعنی ۲۱۰ روز پس از سبز شدن ۱/۶۷ از تیمار ۲۵ کیلوگرم در هکتار مصرف فسفر حاصل گردید و کمترین میزان این شاخص ۱/۱۹ از تیمار ۵۰ کیلوگرم مصرف فسفر به‌دست آمد (شکل ۳). عموماً روند رشد سطح برگ گیاهان طی فصل رشد به صورت غیرخطی می‌باشد، به‌طوری‌که در مرحله گلدهی به حداکثر خود می‌رسد و سپس با از بین رفتن برگ‌های پیر کاهش می‌یابد. این مرحله زمانی است که تولید برگ‌های جدید کفاف سطح برگ از بین رفته را نمی‌دهد (Beckie *et al*., 2008). در مطالعه‌ای بر روی گیاهان زراعی دانه‌ای، مشخص گردید پیر شدن برگ‌ها عمدتاً تحت تأثیر رشد دانه‌ها و انتقال مجدد نیتروژن از برگ‌ها قرار دارد.



شکل ۳- الف) اثر فسفر بر شاخص سطح برگ گلرنگ در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک ۲۱۰ روز پس از سبز شدن. ب) اثر تراکم خردل وحشی برشاخص سطح برگ گلرنگ در ۱۶۵ روز پس از سبز شدن

میانگین‌های با حروف مشابه تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر مبنای آزمون LSD ندارند.

Figure 3- A: The effect of phosphorus on safflower leaf surface index in the physiological stage 210 days after greening due to the effect of wild mustard concentration on safflower leaf surface at 165 days after greening

Similar letters above columns indicate a non-significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

مقایسه بین میانگین‌ها نشان داد که تحت تأثیر تیمار تراکم علف هرز خردل وحشی، بیشترین میزان شاخص سطح برگ گلرنگ در ۱۶۵ روز بعد از سبز شدن با ۳/۸۳ از تیمار شاهد به‌دست آمد که نسبت به سایر سطوح دارای تفاوت معنی دار بود؛ هم‌چنین کمترین میزان این شاخص با ۲/۷۶ از تراکم ۵۶ بوته خردل وحشی حاصل گردید که تفاوت معنی‌داری با سایر سطوح تراکم نداشت (شکل ۳). نتایج تحقیقی نشان داد زمانی که گیاه در معرض افزایش تراکم بیش از حد مطلوب قرار می‌گیرد، توسعه سطح برگ کاهش می‌یابد (Blackshaw *et al*., 2004). از طرفی در این شرایط سرعت گسترش سطح برگ کمتر از سرعت زوال آن‌ها است و مقدار مواد ذخیره کربوهیدرات گیاه به نسبت سطح برگ کاهش ولی مقدار کربوهیدرات مورد نیاز برای ادامه رشد گیاه افزایش می‌یابد. بنابراین در شرایط تراکم بیش از حد مطلوب به علت رقابت شدید بین بوته‌ای، گیاه قادر نخواهد بود کربوهیدرات مورد نیاز برای ادامه رشد کامل گیاه

را فراهم کند. در نتیجه گسترش سطح برگ متوقف شـده و گیـاه بـه مرور زمان ضعیف می‌شود. در مطالعه رقابت خردل با کلزا مشخص شد که شاخص سطح برگ یکی از معیارهـای اساسـی و مهـم در تعیـین قدرت فتوسنتزی گیاه محسـوب مـی‌گـردد و مشـابه بـودن تغییـرات عملکرد با روند تغییر شاخص سطح بـرگ، ممکـن اسـت مؤیـد تـاثیر کاهش سطح برگ بر عملکرد کلزا در تراکم‌های بـالای خـردل باشـد (Abtali *et al*., 2006).

در پژوهشی که روی گندم انجام شد نتایج نشان داد که با افزایش تراکم خردل وحشی شاخص سطح برگ کاهش یافت. علـت کـاهش شاخص سطح برگ گندم در رقابت با یولاف وحشـی را بـه سـریع‌تـر بسته شدن کانوپی علف هرز و همچنین نحوه توسعه برگ‌های یولاف وحشی نسبت دادند که مانع نفوذ نور به درون کانوپی گیاه زراعی شده و در نتیجه، ریزش برگ‌های پایین بوته و کاهش شاخص سطح برگ را به دنبال دارد (Van Acker, 1992). علاوه بر عدم امکان نفوذ نور، اثرات آللوپاتیک خردل برگندم از عوامل مهم کاهش سطح برگ گندم در رقابت با خردل می‌باشد (Rezvani, 2014).

شاخص سطح برگ علف هرز خردل وحشی

نتایج جدول ۴ نشان داد اثر تـراکم در مرحلـه ۱۵۰ و ۱۶۵ و ۱۸۰ روز پس از سبز شدن روی شاخص سطح برگ خردل وحشی در سطح یک درصد معنی‌دار شد.

جدول ٤- نتایج تجزیه واریانس سطوح مختلف فسفر و تراکم بر شاخص سطح برگ خردل وحشی

Table 4- The results of analysis of variance of different levels of phosphorus and density on the leaf area index of the mustard plant

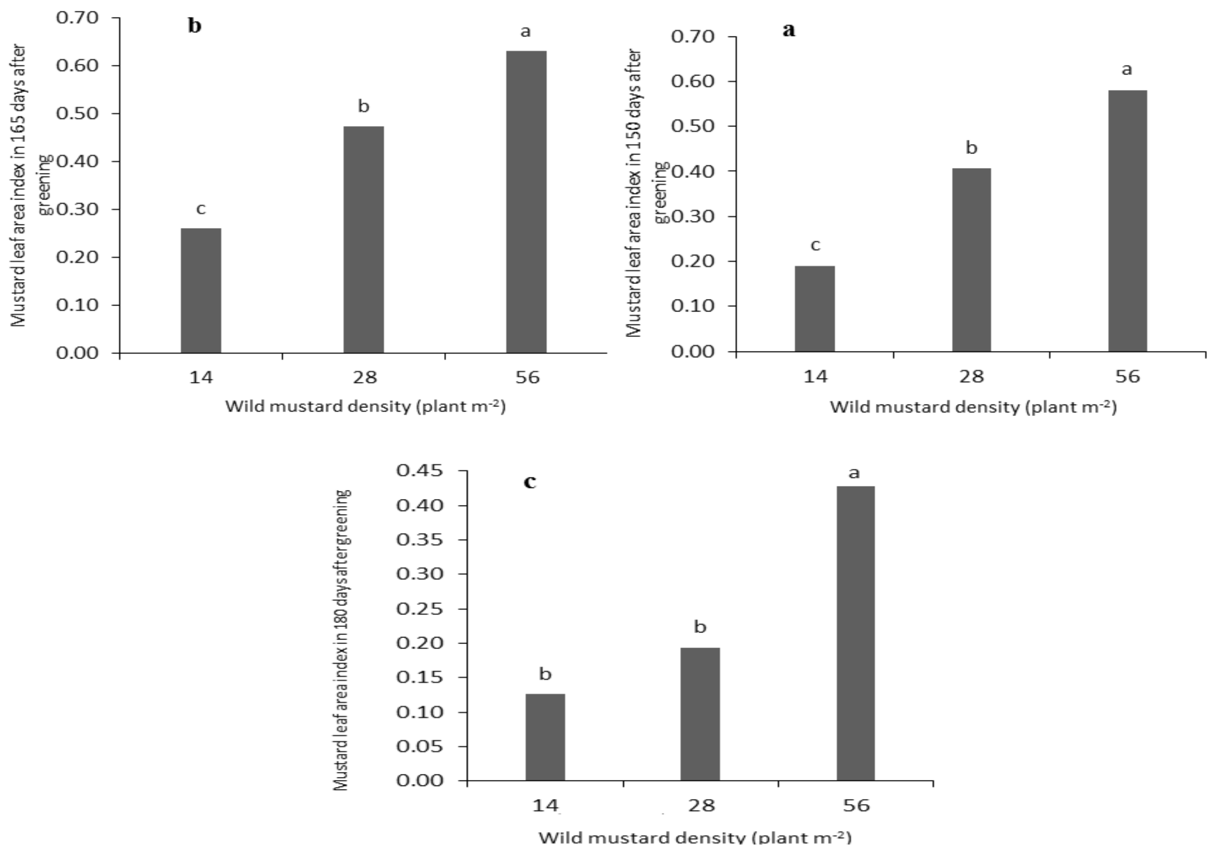
S.O.V	df	days after emergence				
		150	165	180	195	210
Replication (R)	2	0.058 ns	0.079 ns	0.156 ns	0.0009 ns	0.0003 ns
Phosphorus	3	0.016 ns	0.080 ns	0.037 ns	0.0003 ns	0.0001 ns
Main plot error	6	0.110 ns	0.135 ns	0.105 ns	0.0006 ns	0.0001 ns
Density	3	0.459**	0.412**	0.299**	0.0009 ns	0.0004 ns
P×D	9	0.030 ns	0.010 ns	0.030 ns	0.0007 ns	0.00007 ns
Sub Plot	24	0.022 ns	0.024 ns	0.026 ns	0.0007 ns	0.00008 ns
c.v (%)		18.14 ns	14.05 ns	15.20 ns	17.14 ns	20.54 ns

* and ** and ns are respectively significant at the probability level of five and one percent and non-significant.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میـزان شـاخص سـطح برگ خردل وحشی در مرحله اول اندازه‌گیری (۰/۵۸) از تیمـار تـراکم ۵۶ بوته در متر مربع به‌دست آمد و کمتـرین میـزان ایـن شـاخص در مرحله اول (۰/۱۹) از تراکم ۱۴ بوته در متر مربع مشاهده شد (شـکل ۴-الف). بیشترین میزان شاخص سطح برگ خردل وحشی در مرحلـه دوم (۰/۶۳) از تراکم ۵۶ بوتـه خـردل وحشـی در متـر مربـع بـوده و کمترین میزان این شاخص در این مرحلـه (۰/۲۶) از تـراکم ۱۴ بوتـه حاصل شد (شکل ۴-ب). مقایسه میانگین‌ها نشان داد رونـد تغییـرات شاخص سطح برگ بوته مانند مراحل قبلی بوده و بیشترین میزان این شاخص در مرحله سوم نیز در تـراکم ۵۶ بوتـه (۰/۴۳) حاصـل شـد و کمترین میزان این شاخص (۰/۱۳) از تیمار ۱۴ بوته به‌دست آمـد کـه با تیمار ۲۸ بوته در متر مربع در یک گروه آماری قرار گرفـت (شـکل ۴-ج).

در شرایط تراکم بیش از حد مطلوب به علت رقابـت شـدید بـین بوته‌ای، گیاه قادر نخواهد بود که کربوهیدرات مـورد نیـاز بـرای ادامـه رشد کامل گیاه را فراهم کند. در نتیجه گسترش سطح بـرگ متوقـف شده و بقیه گیاه به مرور زمان ضعیف می‌شود.

در مطالعه رقابت خردل با کلزا مشخص شد کـه شـاخص سـطح برگ یکی از معیارهای اساسی و مهم در تعیین قدرت فتوسنتزی گیاه محسوب می‌گردد و مشابه بودن تغییرات عملکرد با روند تغییر شاخص سطح برگ، ممکن است مؤید تأثیر کاهش سطح برگ بر عملکرد کلزا در تراکم‌های بالای خردل وحشـی باشـد (Abtali *et al*., 2006). در تحقیقی دیگر علت کاهش شاخص سـطح بـرگ گنـدم در رقابـت بـا یولاف وحشی را به سریعتر بسته شدن سایه انداز علف‌هرز و هم چنین نحوه توسعه برگ‌های یولاف وحشی نسبت دادند که مانع نفوذ نور به درون سایه‌انداز گیاه زراعی شد و در نتیجه، ریزش برگ‌های پایین بوته و کاهش شاخص سطح برگ را به دنبال داشت. علاوه بر عدم امکان نفوذ نور، اثرات دگرآسیبی خردل وحشی بر گندم نیـز از عوامـل مهـم کاهش سطح برگ گندم در نتیجه رقابت با خردل وحشی گزارش شده است.



شکل ٤- اثر تراکم خردل وحشی بر روند تغییرات شاخص سطح برگ ۱۵۰ روز پس سبز شدن (الف)، ١٦٥ روز پس از سبز شدن (ب)، ۱۸۰ روز پس از سبز شدن (ج)

میانگین‌های با حروف مشابه تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر مبنای آزمون LSD ندارند.

Figure 4- The effect of Wild mustard density on the changes in leaf area index in different stages of measurement (A: 150 days after greening (B: 165 days after greening) (C: 180 days after greening)

Similar letters above columns indicate a non-significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

ارتفاع بوته گلرنگ

نتایج این آزمایش نشان داد هیچ کدام از اثرات اصلی و برهمکنش آن‌ها روی ارتفاع بوته گیاه گلرنگ معنی‌دار نشد. در تحقیقی مشابه نیز نشان داده شد که سطوح متفاوت مصرف کود فسفر روی ارتفاع ارقام مورد مطالعه گلرنگ منجر به تفاوت معنی‌داری نگردید که می‌تواند ناشی از اختلاف ژنتیکی اثر کود بر روی این خصوصیت در ارقام مختلف باشد (Sofy *et al*., 2020).

اعتقاد بر این است که نوع واکنش ارتفاع گیاه زراعی به رقابت با علف‌های هرز، به تراکم و نوع علف هرز مرتبط است و می‌تواند مثبت یا منفی باشد. در برخی از گیاهان ارتفاع بلندتر گیاه در اثر داشتن محور گل‌آذین بلندتر و یا به عبارتی داشتن تعداد بالقوه گل بیشتری روی گل آذین ساقه حاصل می‌شود. به طور کلی داشتن ساقه طویل‌تر به معنی داشتن سطح فتوسنتز کننده بیشتر و تولید مواد متابولیکی بیشتر برای پر کردن دانه‌ها می‌باشد، چرا که ریزش برگ‌ها در مرحله پرشدن دانه باعث می‌شود که بخشی از فتوسنتز گیاه توسط ساقه‌ها انجام شود.

ارتفاع بوته خردل وحشی

اثر اصلی تراکم روی ارتفاع بوته گیاه خردل وحشی در تمامی مراحل اندازه‌گیری به‌جز یک مرحله (۱۸۰ روز پس از سبز شدن) معنی‌دار شد. با توجه به شکل ۵ روند تغییرات ارتفاع خردل وحشی در

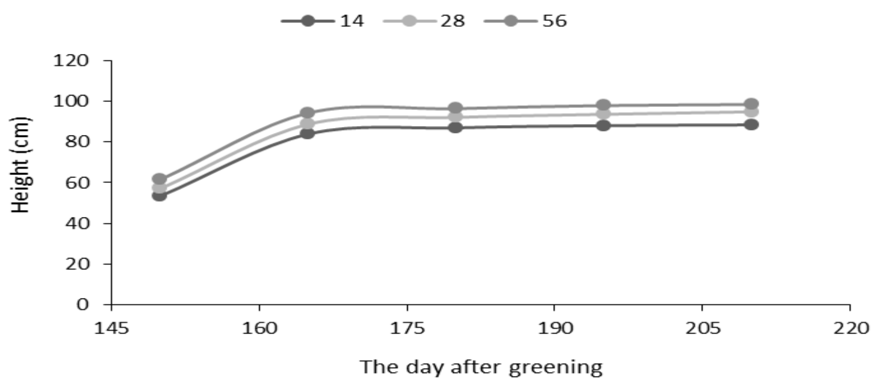
تراکم‌های مختلف از یک روند مشابه پیروی کرده است. ابتدا سرعت افزایش ارتفاع روند صعودی ناگهانی داشته و سپس از مرحله ۱۶۵ روز پس از سبز شدن به بعد این افزایش ارتفاع شیب ملایم و نسبتاً کمی داشته است. در این بین برترین تیمار تراکم ۵۶ بوته خردل در متر مربع بوده که در تمامی مراحل بیشترین ارتفاع را در تمام طول دوره‌ی رشد داشته است (شکل ۵). برخی از محققان عقیده دارند که رقابت علف‌های هرز در مراحل اولیه رشد می‌تواند موجب افزایش ارتفاع گیاه گردد (Beckie *et al*., 2008). این موضوع که به‌دلیل تغییر کیفیت نور رسیده به گیاه زراعی (کاهش نسبت نور قرمز به نور قرمز دور) و نیز از طریق افزایش اندازه سلول‌ها (نه مقدار آنها) صورت می‌گیرد، جز مکانیزم‌های گریز از سایه محسوب می‌شود. در تحقیقی گزارش شد که ارتفاع بیشتر و گستردگی سطح برگ خردل وحشی سبب می‌شود نور جذب شده توسط گیاه گندم کمتر شده و در مقایسه با تیمار بدون علف هرز مقدار بیشتری از نور در لایه‌های بالاتر جذب شود. به‌طوری که در سایه‌انداز گندم نسبت نور در زیر سایه‌انداز به نور در بالای سایه انداز به میزان ۵۷ درصد کاهش نشان داد (Abtali *et al*., 2006). از طرف دیگر کیفیت نور ورودی به سایه‌انداز نیز تحت تأثیر قرار گرفت و در شرایط رقابت گندم با خردل وحشی، نور قرمز به قرمز دور کاهش معنی‌داری را نشان داد.

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس سطوح مختلف فسفر و تراکم بر ارتفاع خردل

Table 5- The results of variance analysis of different levels of phosphorus and density in mustard altitude

S.O.V	df	Days after emergence				
		150	165	180	195	210
Replication (R)	2	23.95 ns	429 ns	509 ns	508 ns	462ns
Phosphorus	3	73.29 ns	208 ns	199 ns	185ns	*197
Main plot error	6	179 ns	643 ns	588 ns	604 ns	612 ns
Density	2	197 **	322**	269 ns	293 *	309*
P×D	6	77.40 ns	145 ns	171ns	149 ns	153 ns
The second error	16	42.53 ns	66.82 ns	74.73 ns	68.73 ns	73.59 ns
c.v (%)		11.46ns	9.18 ns	9.41 ns	8.89ns	9.13 ns

* and ** and ns are respectively significant at the probability level of five and one percent and non-significant.



شکل ۵- اثر تراکم خردل وحشی بر روند تغییرات ارتفاع بوته در مراحل مختلف رشد

Figure 5- Scatter diagram of the effect of density on the trend of changes in the height of the mustard plant in different stages of measurement

صفات عملکردی گلرنگ

با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس اثر تراکم بر وزن تک

طبق گلرنگ و وزن بذر در طبق گلرنگ در سطح پنج درصد معنی‌دار شد، اما اثر فسفر و اثر متقابل تـراکم و فسـفر بـر وزن بوتـه در متـر مربع، وزن تک بوته، وزن طبق در متر مربع، تعداد طبق در متر مربع، تعداد طبق در بوته و عملکرد دانه معنی‌دار نشد (جدول ۶).

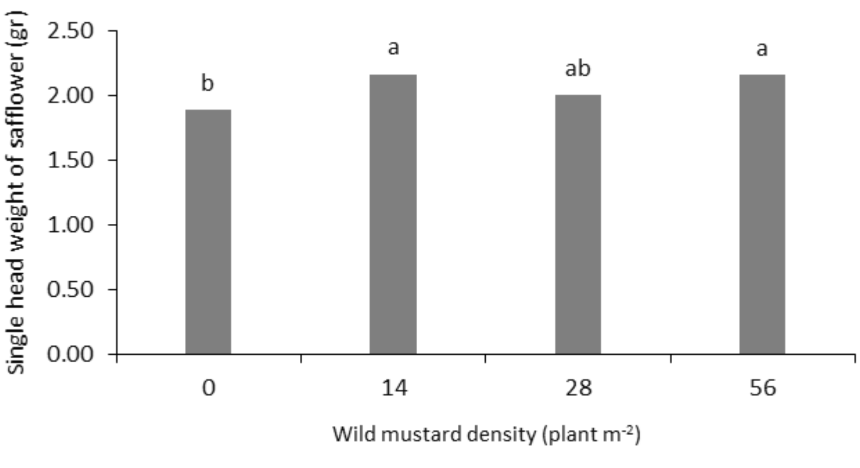
جدول ٦- نتایج تجزیه واریانس سطوح مختلف فسفر و تراکم خردل بر برخی صفات زراعی گلرنگ

Table 6- The results of analysis of variance of different levels of phosphorus and density of mustard on some agronomic traits of safflower

	df	Single head weight	Seed weight per head	Grain yield
Replication (R)	2	0.04 ns	0.02 ns	505019 ns
Phosphorus	3	0.18 ns	0.05 ns	19938 ns
Main plot error	6	0.34 ns	0.13 ns	119378 ns
Density	3	0.21*	0.05*	81098 ns
P×D	9	0.8 ns	0.03 ns	99999 ns
Sub Plot	24	0.07 ns	0.01 ns	70442 ns
c.v (%)		12.80	12.28	14.43

* and ** and ns are respectively significant at the probability level of five and one percent and non-significant.

بیشترین وزن تک طبق از تراکم ۱۴ بوته خردل وحشی در متـر مربع با ۲/۱۷ گرم و کمترین وزن تک طبق بـا ۱/۸۹ گـرم از تیمـار شاهد تراکم علف هرز حاصل گردید (شکل ۶). در پژوهشی کـه اثـر رقابت کلزا و خردل وحشی مورد بررسی قرار گرفت، نتـایج حـاکی از کـاهش تعـداد دانـه در خورجین با ورود علف هـرز خـردل وحشـی بود. دلیل این موضوع ارتفـاع بیشتر خـردل وحشی نسبت بـه کلـزا و بـه دنبـال آن افزایش سـایه‌انـدازی علـف هـرز، کـاهش کـارآیی فتوسـنتز در کلـزا و درنتیجـه کـاهش قــدرت رقابــت در دریافــت نـور، مواد غذایی و تخصیص آسیمیلات بـه انـدام‌هـای زایشی گیـاه زراعی بوده است. برای حفظ تعادل بین میزان مـواد تولیدی منبـع و میزان مصـرف مـواد مخـزن، تعـدادی از گـل‌هـا ریـزش نمـوده و یا اینـکـه بـه‌دلیـل کمبـود مـواد فتوسـنتزی تلقـیح بـه‌طـور کامـل صورت نمی‌گیرد. در نتیجه با افزایش تراکم، علف هرز در رقابـت بـا گیاه زراعی برنده شده است (Abbas Dokht, 2012).



شکل ٦- اثر تراکم خردل وحشی بر وزن تک طبق گلرنگ

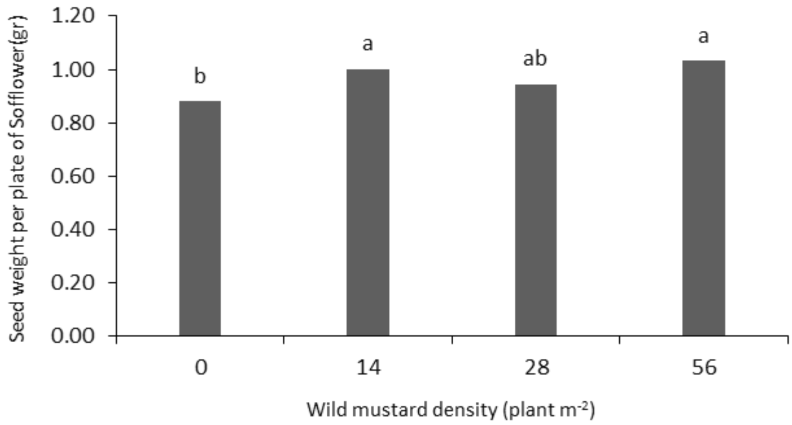
میانگین‌های با حروف مشابه تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر مبنای آزمون LSD ندارند.

Figure 6- The effect of mustard density on weight of Single head weight of safflower

Similar letters above columns indicate a non-significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

بیشترین وزن بذر گلرنگ در طبق (۱/۰۳ گرم) از تراکم ۵۶ بوته خردل در متر مربع به‌دست آمد که با سایر تـراکم‌هـا در یـک گـروه آماری از لحاظ معنی‌دار قرار گرفت و کمترین میزان وزن بذر گلرنگ با ۰/۸۸ گرم از تیمار شاهد تراکم (عدم وجود بوتـه خـردل) مشـاهده

گردید. اختلاف بین این دو تیمار ۱۷ درصد بود (شکل ۷). یکـی از مواردی که نقش مهمی در تولید ماده خشک دارد و عملکرد زراعـی دارد افزایش شاخص سطح برگ می‌باشد. شرط اول افزایش عملکـرد و تولید بالا را در نتیجه بهینه‌سازی جذب از طریـق شـاخص سـطح برگ و کارایی مصرف نور دانسته است. به عبارتی دیگر اگر یک گیاه بتواند ضمن دریافت نور بیشتر، آن را با ضریب بالاتری بـه بیومـاس تبـدیل کنـد، در تولیـد بیومـاس و عملکـرد موفـق ترخواهـد بـود (Blackshaw *et al*., 2008). این ویژگی گلرنگ را بـه‌طـور معنـی داری تحت تأثیر تیمار کود فسفر دانسته و بین این ویژگی و عملکرد دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری گزارش نمودند (Sofy, 2020).



شکل ۷- اثر تراکم خردل وحشی بر وزن بذر در طبق گلرنگ

میانگین‌های با حروف مشابه تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر مبنای آزمون LSD ندارند.

Figure 7- The effect of mustard density on seed weight according to safflower (gr)

Similar letters above columns indicate a non-significant difference at the 5% probability level based on the LSD test.

صفات عملکردی خردل وحشی

با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس، اثر فسفر بر وزن تک غلاف در خردل وحشی در سطح یک درصد و اثر تراکم بر مـاده خشـک در واحـد سطح، وزن تک بوته، وزن غلاف در متر مربع، تعداد غلاف در متر مربع، تعداد غلاف در بوته، وزن غلاف در بوته و وزن بذر در بوته در سـطح یـک درصد معنی‌دار شد. هم‌چنین برهمکنش اثر فسفر و تراکم موجب معنی‌داری وزن غلاف در متر مربع در سطح یک درصد شد (جدول ۷).

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس سطوح مختلف فسفر و تراکم بر برخی صفات عملکردی و اجزای عملکرد خردل

Table 7- Results of variance analysis of different levels of phosphorus and density on some functional traits and yield components of mustard

S.O.V	**df**	**Dry matter per unit area(g)**	**Single plant weight**	**Seed weight /m²**	**Pod weight /m²**	**Pod number/m²**	**Pod number per plant**	**Single pod weight**	**Weight per plant (g)**	**Seed weight per plant(g)**
Replication (R)	2	680 ns	1.42 ns	35.02 ns	183 ns	48849 ns	120 ns	0.0002 ns	0.47 ns	0.07 ns
Phosphorus	3	1028 ns	0.94 ns	27.08 ns	137 ns	65807 ns	92.93 ns	0.0011**	0.13 ns	0.05 ns
First error	6	2295 ns	3.70 ns	62.11 ns	205 ns	29161 ns	43.11 ns	0.0001 ns	0.37 ns	0.12 ns
Density	2	6802**	56.98**	33.58 ns	672**	183611**	311**	0.0004 ns	2.30**	0.44**
P×D	6	1469 ns	1.05 ns	12.38 ns	118**	20511 ns	33.08 ns	0.0002 ns	0.13 ns	0.04 ns
The second error	16	539 ns	1.03 ns	11.19 ns	43.16 ns	9516 ns	21.44 ns	0.0003 ns	0.13 ns	0.04 ns
c.v (%)		19.08 ns	21.49 ns	33.12 ns	23.38 ns	25.47 ns	13.49 ns	21.08 ns	15.34 ns	5.03 ns

* and ** and ns are respectively significant at the probability level of five and one percent and non-significant.

با افزایش تراکم خردل وحشی وزن تک بوته، تعداد غلاف در بوته، وزن غلاف در بوته و وزن بذر در بوته کاهش یافت. تاثیر این افزایش تراکم بر ماده خشک در واحد سطح و تعداد غلاف در مترمربع خردل وحشی افزایشی بود.

جدول ۸- بررسی مقایسه میانگین اثر تراکم بر صفات عملکردی گیاه خردل

Table 8- Comparison of the average effect of density on functional traits of mustard plant

	Density		
Characteristics	14	28	56
Dry matter per unit area (g)	97.12c	120b	144a
Single plant weight (g)	6.94a	4.21b	2.58c
Pod number/m^2	270c	390b	515a
Pod number per plant	19.28a	13.1b	9.20b
Pod weight per plant (g)	1.51a	1.12b	0.64c
Seed weight per plant (g)	0.59 a	0.35 b	0.21c

In each row and for each trait, different letters indicate a significant difference at the %5 probability level with the LSD test.

از دلایل موفقیت علف‌هرز خردل وحشی در رقابت با گیاه زراعی گلرنگ می‌توان به رفتار رشد نامحدود و دستیابی به ارتفاع بلندتر و شاخص سطح برگ و تجمع ماده خشک بیشتر اوایل رشد اشاره کرد که باعث می‌شود خردل وحشی دارای پتانسیل رقابت بسیار بالایی در برابر گلرنگ برای جذب منابع مورد نیاز برای رشد باشد. به نظر می‌رسد رقابت خردل وحشی در مرحله رشد رویشی، از طریق سایه اندازی روی گلرنگ و تشدید رقابت برای نور منجر به کاهش وزن و تعداد دانه و نهایتاً کاهش عملکرد دانه در گلرنگ می‌گردد. در مورد رقابت برنج و سورف نیز برخی از محققین به نتایج مشابه دست یافتند (Aminpanah *et al*., 2008). در آزمایشی قابلیت رقابت ارقام مختلف گندم در برابر علف‌هرز یولاف وحشی مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که عملکرد ارقام گندم در کرت‌های مخلوط با علف‌هرز کاهش یافته و این کاهش در ارقام مختلف متفاوت است (VanAcker *et al*., 2004).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده، افزایش تراکم خردل وحشی سبب کاهش وزن خشک گیاه گلرنگ می‌گردد. این موضوع نشان می‌دهد که در تراکم‌های بالاتر علف‌هرز، خردل وحشی در رقابت با گلرنگ موفق بوده و تأثیر زیادی در کاهش وزن خشک گیاه گلرنگ داشته است، اما تغییر در مدیریت و استفاده از کود فسفر به‌عنوان یک راهکار زراعی می‌تواند در کاهش افت ایجاد شده ناشی از حضور علف هرز با تراکم بالا مؤثر باشد. کود فسفر از طریق بهبود ویژگی‌های رشدی می‌تواند در طول فصل رشد موجب افزایش توانایی تحمل رقابتی گلرنگ با خردل وحشی در تراکم‌های مختلف علف‌هرز شود. ارتفاع گیاه و شاخص سطح برگ خردل در شرایط تراکم بالاتر در همه مراحل رشد بیشترین مقدار بوده و نشان‌دهنده رقابت‌پذیری علف‌هرز می‌باشد. هر چه تراکم خردل وحشی بالاتر رفته ارتفاع گیاه و شاخص سطح برگ این علف‌هرز نیز بیشتر شده است. بر اساس نتایج این تحقیق، مصرف ۲۵ کیلوگرم در هکتار فسفر در شرایط عدم حضور خردل وحشی بهترین شرایط برای رشد گلرنگ می‌باشد.

References

1. Abbas Dokht, H. (2012). Ecophysiological study of the competition between *Amaranthus retroflexus* L. and soybean (*Glycine max* L.). Ph.D. thesis on Crop Ecology. University of Tehran. 205 p. (In Persian)
2. Abtali, Y., Baghestani, M.A., Mirhadi M.J., & Ramee, A. (2016). Evaluation and determination of competitive strength between rapeseed and wild mustard. Master's Thesis in Weed Science, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran. P. 98. (In Persian)
3. Ahmadpour Abnavi, S., Ramroudi, M., & Galavi, M. (2019). Effect of biological and chemical phosphorus fertilizer on yield and yield components of safflower (*Carthmous tinctorius* L.) under low irrigation condition. *Agricultural Science and Sustainable Production*, *29*(1), 269-284. (In Persian)
4. Aminpanah, H., Sorooshzadeh, A., Zand, E., & Momeni, A. (2009). Investigation of light extinction coefficient and canopy structure of more and less competitiveness of rice cultivars (*Oryza sativa*) against barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*). *Crop Production*, *2*(3), 69-84. (In Persian). https://dorl.net/dor/20.1001.1.2008739.1388.2.3.5.7
5. Beckie, H.J., Blackshaw, E.N.R.E., & Gan, Y. (2008). Weed suppression by canola and mustard cultivars.

Weed Technology, *22*(1),182-185. https://doi.org/10.1614/WT-07-126.1
6. BlackShaw, R.E. (2001). Downy brome (*Bromus tectorum*) density and relative time of emergence effects interference in winter wheat (*Triticum aestivum*). *Weed Science*, *41*, 551-556. https://doi.org/10.1017/S004317450007630X
7. Blackshaw, R.E., & Brandt, R.N. (2008). Nitrogen fertilizer rate effects on weed competitiveness is species dependent. *Weed Science*, *56*, 743-747. https://doi.org/10.1614/WS-08-065.1
8. Blakshaw, R.E., Molnar, L.J., & Janzen, H.H. (2004). Nitrogen fertilizer timing and application method affect weed growth and competition with spring wheat. *Weed Science*, *52*, 614-622. https://doi.org/10.1614/WS-03-104R
9. Bonyadi, M., Yadvi, A., Mohadi Dehnavi M., & Fallah Heki, M.H. (2018). Determining the critical period of autumn safflower weed control (*Carthamus tinctorius* L.) in Yasouj. *Journal of Agroecology*, *3*(4), 419-429. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jag.v3i4.13570
10. Clements, D., DiTommaso, A., & Hyvönen, T. (2014). Ecology and management of weeds in a changing climate. p.13-47. In: Chauhan, B., Mahajan, G. (eds) *Recent Advances in Weed Management*. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1019-9_2
11. Fayaznia, F., Siahpoosh, A.R., Moraditelavat, M.R., Siadat A.S., & Bakhshandeh, A.M. (2014). *Interaction of plant density with nutrients on competition between wheat (Triticum aestivum L.) and weeds*. In the 6th Iranian Weed Science Conference. (Vol. 6, p. 910) (In Persian)
12. Foroughi, A., Gerekhloo, J., & Ghadrifar, F. (2014). Evaluation of competitive ability in two sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars with cocklebur (*Xanthium strumarium* L.) in different crop row spacing. *Crop Production*, *8*(3), 19-40. (In Persian). https://dorl.net/dor/20.1001.1.2008739.1394.8.3.2.6
13. Hamidi, R., Mazaheri, D., Rahimian, & Alizadeh, H.M. (2009). *Growth response of winter wheat (Triticum aestivum L.) and wild barley (Hordeum spontanerum Koch) to nitrogen using additive method*. In the 11th Iranian Crop Science Congress. (Vol. 11, p. 5004). (In Persian).
14. Heydarian Ardakani, H., Haj SeyedHadi, S.M.R., Nabavi Kalat, S.M., & Shamsi Mahmoodabadi, H. (2009). *Investigating the structure of the sunflower canopy in the conditions of competition with amarnth (Amaranthus retroflexus) weed*. In the 11th Iranian Crop Science Congress. (Vol. 11, p. 5004). (In Persian)
15. Heydarian Ardakani, H., Haj SeyedHadi, S.M.R., Nabavi Kalat, S.M., & Shamsi Mahmoodabadi, H. (2010). *Investigating the trend of yield and yield components changes of different sunflower cultivars under the conditions of competition with amarnth weed (Amaranthus retroflexus)*. In National Conference of Water, Soil, Plant and Agricultural Mechanization Sciences. Dezful, Iran. (Vol. 1, p. 425). (In Persian)
16. J. da Silva, C., da Silva, A.C., Zoz, T., Victor. B., Toppa, E., Silva, P.B., & Zanotto, M.D. (2015). Genetic divergence among accessions of *Carthamus tinctorius* L. by morphoagronomic traits. *African Journal of Agricultural Research*, *10*(25), 4825-4830.
17. Khodamoradi, M., Sarajuoghi, M., & Mohammadi, A.A. (2014). *Investigating the effects of different levels of phosphorus on vegetative traits and yield of safflower cultivars under irrigated conditions*. In National Conference on Climate Change and Engineering Sustainable Development of Agriculture and Natural Resources. Hamedan, Iran. (Vol. 1, p. 2389). (In Persian)
18. Kristensen, L., Olsen, J., & Winer, J. (2008). Crop density, sowing pattern, and nitrogen fertilization effects on weed suppression and yield in spring wheat. *Weed Science*, *56*, 97-102. https://doi.org/10.1614/ws-07-065.1
19. MacMullan, P.M., Daun, J.K., & DeClerq, D.R. (1994). Effect of wild mustard (*Brassica kaber*) competition on yield and quality of triazine-tolerance and triazine susceptible canola (*Brassica napus* and *Brassica rapa*). *Canadian Journal of Plant Science*, *74*, 369-374. https://doi.org/10.4141/cjps94-071
20. Minbashi Moeini, M., Baghestani, M., Rahimian Mashhadi, H., & Aleefard, M. (2008). Weed mapping for irrigated wheat fields of Tehran province using Geographic Information System (GIS). *Iranian Weed Research Journal*, *4*(1), 97-118. (In Persian)
21. Motaghi, S., Mostafavi, K., Lotfifar, O., & Mirtahari, S.M. (2016). Study the vigour and early growth of resistant and susceptible biotypes of wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) to acetolactate synthase inhibitors under different environmental conditions. *Journal of Weed Research*, *8*(2), 15-33. (In Persian)
22. Nazir, M., Arif, S., Ahmed, I., & Khalid, N. (2021). Safflower (*Carthamus tinctorius*) seed. p. 427–453. In: Tanwar, B., Goyal, A. (eds) *Oilseeds: Health Attributes and Food Applications*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4194-0_17
23. Nogales-Delgado, S., Encinar, J.M., & González, J.F. (2019). Safflower biodiesel: Improvement of its oxidative stability by using BHA and TBHQ. *Energies*, *12*(10), 1-13. https://doi.org/10.3390/en12101940
24. Pawar, R.K. (2009). *Weed management*. Oxford book company. Jaipur. India. 300p.
25. Rastgoo, M., Ghanbari, A., Banayan, M., & Rahimian, H. (2000). Investigating the growth indices of wild

mustard (*Sinapis arvensis*) and autumn wheat in response to the amount and time of nitrogen application. *Scientific Journal of Agriculture*, *27*(1), 51-63. (In Persian)

26. Rezvani, H., Asghari, J., Ehteshami, S.M.R., & Kamkar, B. (2014). Investigation of light use efficiency and light extinction coefficient of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars in competition with wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) at Gorgan. *Journal of Plant Process and Function, 3*(8), 97-109. (In Persian). http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1393.3.8.3.8
27. Rodriguez, D., Zubillaga, M.M., Ploschuck, E., Keltjens, W., Goudriaan, J., & Lavado, R. (1998). Leaf area expansion and assimilate prediction in sunflower growing under low phosphorus conditions. *Plant and Soil*, *202*, 133–147. https://doi.org/10.1023/A:1004348702697
28. Safahani Langeroudi, A.R., & Kamkar, B. (2009). Field screening of canola (*Brassica napus*) cultivars against wild mustard (*Sinapis arvensis*) using competition indices and some empirical yield loss models in Golestan province, Iran. *Crop Protection*, *28*, 577–582. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.03.007
29. Sarhadi Nasab, S., & Sarhadhi Nasab, M. (2017). *Safflower, a multi-purpose plant for the development of agriculture in low water areas*. In The 4th International Conference on New Findings in Agricultural Science,Natural Resources and the Environment. Tehran, Iran (Vol. 4, p. 3643). (In Persian).
30. Sarmadnia, G.H., & Kochaki, A. (1994). *Crop Physiology*. Mashhad Jihad Daneshgahi press. (In Persian)
31. Sofy, S.O., Hama, S.J., & Hamma-Umin, B.O. (2020). Influence of phosphorus fertilizer on yield and oil of safflower (*Carthamus tinctorius*) varieties under rain fed condition. *Applied of Ecology and Environmental Research*, *18*(2), 3409-3418. https://doi.org/10.15666/aeer/1802_34093418
32. Van Acker, S.F. (1992). The critical period of weed control in soybean (*Glycine max* L.) and influence of weed interference on soybean growth. M.Sc. Thesis. University of Guelph. pp. 104.
33. Warwick, S.I., Beckie, H.J., Thomas, A.G., & McDonald, T. (2005). The biology of Canadian weeds. 8. *Sinapis arvensis*. L. (updated). *Canadian Journal of Plant Science*, *80*(4), 939-961. https://doi.org/10.4141/P99-139
34. Wright, K.J., Seavers, G.P., Peters, N.C.B., & Marshall, M.A. (1999). Influence of soil moisture on the competitive ability and seed dormancy of *Sinapis arvensis* in spring wheat. *Weed Research*, *39*, 309-317. https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.1999.00147.x
35. Zand, A., Koocheki, A., & Nassiri Mohallati, M. (2003). Canopy structure changes in some Iranian bread wheat. *Journal of Agricultural Knowledge*, *13*, 13-26. (In Persian)

Journal of Iranian Plant Protection Research
https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 3, 2024, p. 293-307

Efficacy Evaluation of Different Herbicides to Control *Echinochloa crus-galli* and *Paspalum distichum* in Transplanted Rice

S. Tokasi[1*], M. Nouralizadeh Otaghsara[2], E. Kazerooni Monfared[3]
1- Plant Protection Research Department, Guilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
2- Plant Protection Research Department, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran
3- University of Applied Science and Technology, Guilan, Rasht, Iran
(*- Corresponding Author Email: s.tokasi@areeo.ac.ir)

Received: 08-02-2024 Revised: 10-06-2024 Accepted: 19-06-2024 Available Online: 28-12-2024	**How to cite this article:** Tokasi, S., Nouralizadeh Otaghsara, M., & Kazerooni Monfared, E. (2024). Efficacy evaluation of different herbicides to control of *Echinochloa crus-galli* and *Paspalum distichum* in transplanted rice. *Journal of Iranian Plant Protection Research,, 38*(3), 293-307. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86748.1178

Introduction

Continuous rice cultivation in the paddy fields of northern regions in Iran has led to the spread of weeds such as *Echinochloa crus-galli* and *Paspalum distichum* gradually. The presence of these grass weeds in paddy fields leads to waste of water and nutrients and adversely affects on rice productivity. Herbicide application helps for keeping the fields free of weeds during the critical period and minimize the costs of weeding and allows for selective weed control. No repeated application of herbicides or mixed application of herbicides are necessary, because these strategies need to prevent herbicide resistance in weeds. This experiment aimed to assess and compare the effectiveness of some herbicides, including metsulfuron-methyl, tiobencarb, bispyribac sodium, triafamon + ethoxysulfuron, cyhalofop-butyl, and the tank mixed application of cyhalofop-butyl and bispyribac sodium, in controlling grassy weeds in the rice fields.

Material and Methods

A field experiment was conducted in Gilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center (Rasht) in 2021, utilizing a Randomized Complete Block Design (RCBD) with three replications and 15 treatments, including tiobencarb 50%EC at 2750 and 3000 g a.i. ha^{-1}, bispyribac sodium 40%SC at 26 g a.i. ha^{-1}, triafamon+ethoxysulfuron 30%WG at 37.5 and 45 g a.i. ha^{-1}, cyhalofop-butyl 20%OD at 100 g a.i. ha^{-1}, bispyribac sodium 40%SC at 26 g a.i. ha^{-1} + cyhalofop-butyl 20%OD at 100 g a.i. ha^{-1}, metsulfuron-methyl 60%DF at 6 and 8 g a.i. ha^{-1}, pertilachlor 50%EC at 875 g a.i. ha^{-1}, twice hand weeding, and weedy check. Thiobencarb, pertilachlor, and triafamon + ethoxysulfuron were applied in water, five days after transplanting, and cyhalofop-butyl, metsulfuron-methyl, and bispyribac sodium were applied to the weeds at the two- to four-leaves stage, using a knapsack sprayer equipped with a flat fan nozzle. Weed control via application of herbicides was evaluated visually based on the European Weed Research Society rating scale and weed density and biomass were assessed. The yield of rice from each plot was measured. The data collected for different parameters were subjected to analysis of variance (ANOVA) using R-studio and the treatment means were compared using Duncan's Multiple Range Test at a significance level of 1%.

Results and Discussion

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86748.1178

All weed control treatments significantly increased the weed control efficiency (WCE) over the weedy check. Triafamon + ethoxysulfuron and tiobencarb in both examined doses had the highest WCE in reducing *E. crus-galli* pressure with 100% control. After that the effectiveness of pertilachlor at 875 g a.i. $ha^{-1}$and cyhalofop-butyl at 100 g a.i. ha^{-1} in reducing *E. crus-galli* density was ≥90% and biomass reduction was ≥78%. There were no significant differences between these treatments in controlling *E. crus-galli*. The highest WCE in *P. distichum* control was observed in applying triafamon + ethoxysulfuron at doses of 37.5 and 45 g a.i. ha^{-1} with ≥91.1% and ≥94.4% density reduction and ≥95.6% and ≥99.8% biomass reduction, respectively; followed by application of cyhalofop-butyl with ≥83.6% and ≥79.7%, density and biomass reduction, respectively. After that, tiobencarb in both doses resulted in ≥72% density reduction and ≥84.5% biomass reduction. There was no significant difference between these treatments in *P. distichum* control. Pertilachlor was not very effective in controlling of *P. distichum*; its efficacy was 48.8, 56.5, and 78.4% biomass reduction, in three samplings, respectively. The highest efficacy of metsulfuron-methyl in controlling *E. crus-galli* and *P. distichum* was 75.9 and 73.1%, respectively for biomass reduction in the first sampling in the application of 8 g a.i. ha^{-1}. Herbicide application resulted in improved rice grain yield compared to the weedy check. The highest grain yield of rice was achieved with tiobencarb at doses of 3000 and 2750 g a.i. ha^{-1}, yielding 5051 and 4965 Kg ha^{-1}, respectively. There was no significant difference between observed manually weeded treatment and thiobencarb treatments, and also with bispyribac sodium, pertilachlor, triafamon + ethoxysulfuron in both doses (45 and 37.5 g a.i. ha^{-1}), and cyhalofop-butyl; these treatments increased grain yield by 68.4, 65.5, 54.56, 52.8, 39.2, 35.4, 34.6%, respectively, compared to the weedy check.

Conclusions

The results of this research showed that application of triafamon + ethoxysulfuron at 37.5 g a.i. ha^{-1} or thiobencarb at 2750 g a.i. ha^{-1} applied at 3-5 days after rice seedlings transplanting into the water, or application of cyhalofop-butyl at 100 g a.i. ha^{-1} in the form of a foliar spray in the stage of two- to four-leaf of grass weeds were the efficient control practice for both grass weeds (*E. crus-galli* and *P. distichum*) in paddy field.

Keywords: weed biomass reduction, weed control efficiency, weed density reduction, yield

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

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۳، ص. ۳۰۷-۲۹۳

ارزیابی کارایی علف‌کش‌های مختلف در کنترل سوروف (*Echinochloa crus-galli* L.) و بندواش (*Paspalum distichum* L.) در کشت نشایی برنج

سمیه تکاسی[1*] - مرتضی نورعلیزاده اطاقسرا[2] - ابراهیم کازرونی منفرد[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۳۰

چکیده

این پژوهش به‌منظور ارزیابی کارایی چند علف‌کش در مقادیر مختلف به‌صورت منفرد یا ترکیب با هم در کنترل علف‌های هرز سوروف و بندواش در کشت نشایی برنج (*Oryza sativa* L.)، در سال ۱۴۰۰ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گیلان انجام شد. تیمارها شامل تیوبنکارب (EC 50%) در مقادیر ۲۷۵۰ و ۳۰۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار، بیس‌پیریباک سدیم (SC 40%) به‌میزان ۲۶ گرم ماده مؤثره در هکتار، تریافامون+ اتوکسی سولفورون (WG 30%) در مقادیر ۳۷/۵ و ۴۵ گرم ماده مؤثره در هکتار، سای‌هالوفوپ بوتیل (OD 20%) به‌میزان ۱۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار، بیس‌پیریباک سدیم (۲۶ گرم ماده مؤثره در هکتار)+ سای‌هالوفوپ-بوتیل (۱۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار)، مت‌سولفورون-متیل (DF 60%) در مقادیر ۶ و ۸ گرم ماده مؤثره در هکتار، پرتیلاکلر (EC 50%) به‌میزان ۸۷۵ گرم ماده مؤثره در هکتار، دو بار وجین دستی و شاهد بدون کنترل علف‌هرز بودند. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج سه نمونه‌برداری انجام شده از علف‌های هرز نشان داد که علف‌کش‌های تریافامون+ اتوکسی سولفورون و تیوبنکارب در هر دو مقدار مورد بررسی، بالاترین کارایی را در کنترل سوروف داشتند (۱۰۰ درصد)، پس از آن، علف‌کش‌های پرتیلاکلر و سای‌هالوفوپ-بوتیل به‌ترتیب، زیست‌توده سوروف را ٪۹۰ ≤ و ٪۷۸≤ کاهش دادند. در ارزیابی کنترل بندواش، علف‌کش تریافامون+ اتوکسی سولفورون در دو مقدار مورد بررسی منجر به بیشترین میزان کاهش زیست‌توده بندواش (٪۹۵≤) شد. تیوبنکارب نیز در دو مقدار مورد بررسی حدود ٪۸۴ ≤ و پس از آن، سای هالوفوپ-بوتیل موجب ٪۷۹ ≤ کاهش زیست‌توده بندواش شد. در ارزیابی عملکرد برنج، پس از تیمار دو بار وجین دستی، تیمار تیوبنکارب ۳۰۰۰ گرم ماده مؤثره در هکتار بالاترین عملکرد شلتوک را تولید کرد (۵۰۵۱ کیلوگرم در هکتار). به طور کلی، تیمارهای تیوبنکارب ۳۰۰۰ و ۲۷۵۰ گرم ماده مؤثره در هکتار، بیس پیریباک سدیم، پرتیلاکلر، تریافامون+ اتوکسی سولفورون ۴۵ و ۳۷/۵ گرم ماده مؤثره در هکتار و سای هالوفوپ بوتیل تیمارهای کارآمدی در افزایش معنی‌دار عملکرد برنج نسبت به شاهد بدون کنترل علف‌هرز بودند و با تیمار دو بار وجین دستی اختلاف آماری معنی‌دار نداشتند.

واژه‌های کلیدی: عملکرد، کارایی کنترل علف‌هرز، کاهش زیست‌توده علف‌هرز، کاهش تراکم علف‌های هرز

۱- بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی(AREEO) ، رشت، ایران.
۲- بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی(AREEO) ، ساری، ایران.
۳- دانشگاه علمی کاربردی، گیلان، رشت، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: s.tokasi@areeo.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86748.1178.

مقدمه

برنج یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی در ایران و مهمترین فعالیت زراعی، اقتصادی و اشتغال در استان گیلان می‌باشد. علف‌های هرز با جذب آب و مواد غذایی، نقش مؤثری در کاهش عملکرد برنج دارند (Singh *et al.*, 2011). دو علف‌هرز باریک‌برگ سوروف (*Echinochloa crus-galli* L.) و بندواش (*Paspalum distichum* L.)، اغلب در زراعت برنج شمال ایران، مشکل‌ساز هستند. سوروف به‌دلیل دارا بودن مسیر فتوسنتزی چهارکربنه و ظرفیت بالای تبادل کربن نسبت به برنج، کارایی بالایی در جذب مواد غذایی و آب نسبت به برنج دارد (Gibson *et al.*, 2003). بندواش نیز گیاهی چندساله ریزوم‌دار است که بسیاری از علف‌کش های رایج، کارایی کافی را در کنترل آن ندارند و در سال‌های اخیر، بسیاری از شالیکاران در کنترل آن دچار مشکل شده‌اند (Tokasi & Nouralizadeh, 2021). روش‌های رایج کنترل علف‌های هرز در شالیزارهای شمال ایران در گذشته شامل بهره‌گیری از ترکیب روش های غرقاب، وجین دستی و کاربرد علف‌کش بود. روش وجین دستی با اینکه باعث حذف کامل علف‌های هرز می‌شود و از نظر محیط زیست، بسیار مناسب می‌باشد، به‌دلیل کمبود نیروی کارگری و هزینه-های بالای کارگری برای کشاورزان، امروزه اغلب کشاورزان به‌دنبال جایگزین کردن کامل روش کنترل شیمیایی به‌جای آن می‌باشند؛ همچنین در صورت آلودگی مزارع به علف‌های هرز چندساله، روش وجین دستی کارایی لازم را برای کنترل ندارد. کاربرد علف‌کش‌های شیمیایی علی‌رغم معایب زیست‌محیطی که به‌همراه دارد، به‌دلیل راحتی اجرا، کم هزینه بودن و درصد بالای کنترل علف‌های هرز، در سال‌های اخیر، جایگزین روش وجین دستی شده است. همچنین امروزه به‌دلیل معرفی و ورود علف‌کش های با کارایی بسیار خوب و چندمنظوره (باریک‌برگ‌کش، پهن‌برگ‌کش و جگن‌کش)، اغلب کشاورزان به کاربرد علف‌کش ها بسنده می‌کنند و روش وجین دستی به‌ویژه در مزارع بزرگ حذف شده است (Tokasi & Nouralizadeh, 2020; Smaeeltabar *et al.*, 2023) لذا برای حفظ کارایی بالای علف‌کش‌ها و پیشگیری از بروز مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش ها در سال‌های آینده، لازم است از تناوب کاربرد علف‌کش های با نحوه عمل متفاوت یا کاربرد علف‌کش ها به‌صورت مخلوط بهره گرفته شود (Matzenbacher *et al.*, 2015). فراوانی کاربرد علف‌کش های بازدارنده ALS در برنج به‌دلیل کنترل تمامی علف‌های هرز مزرعه است (Roso *et al.*, 2010) و در صورت عدم رعایت تناوب کاربرد این علف‌کش ها، امکان بروز مقاومت سوروف به این علف‌کش ها وجود دارد. بر این اساس ترکیب کاربرد علف‌کش-های بازدارنده ALS با علف‌کش‌های با مکانیسم عمل متفاوت برای کنترل علف‌های هرز در برنج، ضرورت دارد (Matzenbacher *et al.*, 2015). کاربرد علف‌کش های مخلوط، امکان کنترل هم زمان طیف گسترده‌ای از علف‌های هرز را فراهم می‌کند، برای مثال کاربرد علف‌کش باریک‌برگ کش سای‌هالوفوپ-بوتیل با علف‌کش های پهن‌برگ و جگن‌کش، این امکان را فراهم می‌کند که با یک‌بار سمپاشی مزرعه، مجموع علف‌های هرز را به‌طور مؤثری کنترل نمود و در ضمن هزینه‌های کنترل را نیز می‌توان کاهش داد (Buehring *et al.*, 2006).

مقادیر توصیه شده علف‌کش تریافامون+ اتوکسی سولفورون (WG 30%) ۱۰۰ تا ۱۵۰ گرم ماده تجاری در هکتار، تیوبنکارب (EC 50%) ۵ تا ۶ لیتر در هکتار، پرتیلاکلر (EC 50%) ۱/۵ تا ۲ لیتر در هکتار، سای هالوفوپ-بوتیل (OD 20%) ۵۰۰ میلی‌لیتر در هکتار، بیس‌پیریباک سدیم (SC 40%) ۶۵ میلی‌لیتر در هکتار می باشد (Nourbakhsh, 2023). سوندیا (Sondhia, 2009) کاربرد مقادیر ۸-۲ گرم ماده مؤثره در هکتار متسولفورون-متیل را در کشت نشایی برنج به‌عنوان علف‌کش پس‌رویشی با باقیمانده کمتر از ۰/۰۰۱ میکروگرم بر گرم در خاک مزرعه در زمان برداشت محصول پیشنهاد کرد. آنترالینا و همکاران (Antralina *et al.*, 2015) نیز کاربرد تیمارهای بیس‌پیریباک سدیم و توفوردی + مت‌سولفورون متیل را در برنج مشابه روش وجین دستی در کنترل علف‌های هرز برنج گزارش کردند.

بر اساس مطالب بیان شده درخصوص اهمیت کنترل دو علف‌هرز سوروف و بندواش در کشت نشایی برنج و همچنین ملاحظات زیست محیطی برای کاربرد علف‌کش های قدیمی با دز زیاد، در این پژوهش کارایی چند علف‌کش پیش‌رویشی و پس‌رویشی ثبت شده و رایج در برنج در مقادیر توصیه شده به‌صورت منفرد یا ترکیب با هم بررسی شد. ضمن این‌که میزان کارایی علف‌کش چند منظوره و ثبت نشده مت‌سولفورون-متیل نیز در کنترل این دو علف هرز مهم شالیزار مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۴۰۰ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گیلان واقع در عرض جغرافیایی ′39 °49 N و طول جغرافیایی E ′11 °37، به‌صورت مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل مزرعه‌ای با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تیوبنکارب (EC 50%) در مقادیر ۲۷۵۰ و ۳۰۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار، بیس پیریباک سدیم (SC 40%) به میزان ۲۶ گرم ماده مؤثر در هکتار، تریافامون+ اتوکسی سولفورون (WG 30%) در مقادیر ۳۷/۵ و ۴۵ گرم ماده مؤثر در هکتار، سای هالوفوپ-بوتیل

(OD 20%) به میزان ۱۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار، بیس پیریباک سدیم (۲۶ گرم ماده مؤثر در هکتار) + سای هالوفوپ-بوتیل (۱۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار)، مت سولفورون-متیل (60% DF) در مقادیر ۶ و ۸ گرم ماده مؤثر در هکتار، پرتیلاکلر (EC 50%) به میزان ۸۷۵ گرم ماده مؤثر در هکتار، دوبار وجین دستی و شاهد بدون کنترل علف‌هرز بودند (جدول ۱).

جدول ۱- اطلاعات کلی تیمارهای آزمایش

Table 1– General information of experimental treatments

Treatment	General name	Formulation	Recommended dose (g a.i. ha^{-1})
1	Metsulfuron-methyl	60% DF	6
2			8
3	Triafamon+Ethoxysulfuron	30% WG	37.5
4			45
5	Cyhalofop-butyl	20%OD	100
6	Bispyribac sodium	40% SC	26
7	Cyhalofop-butyl +Bispyribac sodium	20%OD + 40% SC	100+26
8	Pertilachlor	50% EC	875
9	Thiobencarb	50% EC	2750
10			3000
11	Twice weeding	–	–
12	Weedy check	–	–

آماده‌سازی زمین شامل خاک‌ورزی اول و دوم زمین بود که به صورت عمود برهم و خاک‌ورزی سوم یک روز قبل از نشاءکاری انجام شد (خاک‌ورزی با تیلر و تسطیح زمین با ماله انجام گرفت). ابعاد هر کرت در آزمایش ۵ × ۴ متر مربع بود، هر کرت دارای دریچه مستقل ورود آب بود. جهت حفظ و کنترل آب و جلوگیری از ورود آب کرت‌ها به همدیگر، فواصل بین کرت‌ها مرزبندی و رو و دو طرف پشته‌ها (ارتفاع پشته‌ها ۵۰ سانتی‌متر) با پلاستیک پوشش و همچنین تا عمق تقریبی ۳۰ سانتی‌متر داخل خاک نیز با پلاستیک پوشش داده شد. گیاهچه‌های برنج رقم هاشمی دارای ۵-۴ برگ با فاصله بین ردیف ۲۵ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر به تعداد ۳ بوته در هرکپه نشاءکاری شدند. میزان کود نیتروژن از منبع اوره به مقدار ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار در دو نوبت (۵۰ درصد قبل نشاءکاری در شرایط بدون آب و مخلوط با خاک و ۵۰ درصد در اوایل پنجه‌زنی)، کود پتاس از منبع سولفات‌پتاسیم به مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار (قبل نشاءکاری در شرایط بدون آب و مخلوط با خاک) و کود فسفات از منبع سوپر فسفات تریپل ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار (قبل نشاءکاری در شرایط بدون آب و مخلوط با خاک) به‌کار برده شدند. خصوصیات فیزیکو-شیمیایی خاک مزرعه در جدول ۲ بیان شده است (نمونه گیری از خاک قبل از اجرای آزمایش انجام شد).

جدول ۲- خصوصیات فیزیکو-شیمیایی خاک مکان آزمایش

Table 2- Soil properties of studied location

Soil texture (%)			K (ppm)	P (ppm)	N (%)	Organic C (%)	pH
Clay	Silt	Sand					
23	30	47	256	6.65	0.19	1.42	7.24

به‌منظور مهار کرم ساقه‌خوار برنج، گرانول‌پاشی با حشره‌کش دیازینون ۱۰ درصد به مقدار ۱۵ کیلوگرم در هکتار طی دو نوبت انجام شد. سایر عملیات زراعی (شخم و آماده‌سازی زمین، کشت، آبیاری، کوددهی و ..) نیز در زمان مورد نیاز انجام شد. کاربرد علف‌کش‌های تیوبنکارب، پرتیلاکلر و تریافامون+ اتوکسی سولفورون در زمان پنج روز پس از نشاءکاری (به‌صورت پیش از رویش علف‌های هرز) در حالتی که تمام کرت‌ها غرقاب و ارتفاع آب در کرت‌ها حدود پنج سانتی‌متر بود، به‌صورت قطره پاشی انجام شد. کرت‌ها دارای دریچه ورودی مستقل و فاقد دریچه خروجی بودند و در صورت پایین آمدن آب، آبیاری انجام می‌شد و تا دو هفته قبل از برداشت برنج، حالت غرقابی کرت‌ها حفظ شد. مقدار علف‌کش مورد نیاز نیز برای هر تیمار بر اساس مساحت کرت محاسبه شد و حجم علف‌کش با آب به نیم لیتر رسانده و با قوطی‌های مخصوص مصرف علف‌کش‌های خاک پاش شالیزار توزیع شد. کاربرد علف‌کش‌های سای هالوفوپ-بوتیل، بیس پیریباک سدیم و مت سولفورون-متیل در مرحله ۵-۳ برگی علف‌های هرز به‌صورت برگ‌پاشی انجام گرفت. بدین منظور ۲۴ ساعت قبل از اعمال این تیمارها، کرت‌ها به‌طور کامل زهکشی شدند و سپس سمپاشی انجام شد. غرقاب مجدد کرت‌ها یک روز پس از سمپاشی انجام گرفت. پس از آن تا دو هفته قبل از برداشت برنج، حالت غرقابی کرت‌ها حفظ شد. مقدار علف‌کش مورد نیاز برای هر

تیمار بر اساس مساحت محاسبه گردید و با سمپاش پشتی شارژی با نازل شره‌ای و فشار ۲ تا ۲/۵ بار و کالیبراسیون ۲۰۰ لیتر در هکتار به کار برده شد. ارزیابی کارایی علف‌کش‌ها در کنترل علف‌های هرز و میزان خسارت ایجاد شده بر روی برنج به روش ارزیابی چشمی نمره دهی شد. یادداشت برداری‌های مربوط به نمره‌دهی بر اساس روش EWRS[1] در زمان دو هفته پس از سمپاشی سموم پس‌رویشی انجام شد. میزان مهار یا سوختگی علف‌های هرز و میزان سوختگی یا خسارت به برنج شامل کلروز، نکروز، شادابی، وضعیت استقرار و ارتفاع گیاهچه‌ها بر اساس درصد یادداشت شد (Sandral *et al.*, 1997 ; Dear *et al.*, 2003). کارایی تیمارها در کنترل علف‌های هرز همچنین با نمونه‌برداری در زمان‌های ۲، ۴ و ۹ هفته پس از کاربرد علف‌کش‌های پس‌رویشی در سطح نیم مترمربع در هر کرت انجام شد. بدین صورت که علف‌های هرز به تفکیک گونه شمارش و سپس از سطح زمین کف‌بر شده و پس از انتقال به آزمایشگاه به تفکیک گونه به‌مدت ۲۴ ساعت در آون ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از آن وزن‌خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی عملکرد برنج، یک هفته قبل از برداشت برنج، سطح یک متر مربع هر کرت به صورت تصادفی نمونه‌برداری و به آزمایشگاه انتقال یافت و برای به‌دست آوردن عملکرد بیولوژیک برنج، بوته‌ها در آون ۷۵ درجه سانتی‌گراد تقریباً به‌مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند تا به‌طور کامل خشک شوند، سپس توزین شدند. در مرحله برداشت برنج با حذف یک ردیف حاشیه از هر کرت ۵ متر مربع با دست درو و با استفاده از خرمنکوب دانه (شلتوک) از کاه و کلش جدا شد. شلتوک (دانه) پس از قرارگیری در آفتاب مزرعه به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شد. سپس عملکرد دانه و همچنین وزن هزار دانه برنج اندازه‌گیری شد.

به‌منظور محاسبه درصد مهار علف‌های‌هرز (WCE[2]) نسبت به شاهد بدون کنترل از معادله ۱ استفاده شد (Baghestani *et al.*, 2014). در این معادله، WCE درصد کاهش زیست‌توده یا تراکم علف‌های هرز و A و B به‌ترتیب بیانگر زیست‌توده یا تراکم علف‌های هرز در کرت شاهد بدون کنترل و تیمار مورد نظر می‌باشند. درصد تغییر عملکرد شلتوک و بیولوژیک نسبت به شاهد بدون کنترل نیز با استفاده از معادله ۲ محاسبه شد (Baghestani *et al.*, 2014). در این معادله Y_i، درصد تغییرات عملکرد؛ Y_f، عملکرد در تیمار مورد نظر و Y_w، عملکرد شاهد علف‌هرز می‌باشند. به‌منظور محاسبه درصد افزایش عملکرد تیمارها نسبت به شاهد علف‌هرز، عدد به‌دست آمده منهای ۱۰۰ شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری R آنالیز آماری (آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین (آزمون چنددامنه ای دانکن) در سطح معنی‌داری یک درصد شدند.

1- European Weed Resear Society
2- Weed Control Efficacy

$$WCE = \left(\frac{A-B}{A}\right) \times 100 \qquad (۱)$$

$$\%Yi = \left(\frac{Yf}{Yw}\right) \times 100 \qquad (۲)$$

نتایج و بحث

کنترل علف‌هرز سوروف

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تراکم و زیست‌توده علف هرز سوروف در زمان‌های ۲، ۴ و ۹ هفته پس از کاربرد علف‌کش‌های پس‌رویشی، تحت تأثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفت و اختلاف بین تیمارها معنی‌دار شد ($p<0.01$) (جدول ۳). کارایی علف‌کش‌های تریافامون+ اتوکسی سولفورون و تیوبنکارب (در هر دو مقدار مورد بررسی) در نمونه‌برداری‌های ۲، ۴ و ۹ هفته پس از کاربرد علف‌کش های پس‌رویشی در کاهش تراکم و زیست‌توده سوروف ۱۰۰ درصد بود. کارایی علف‌کش پرتیلاکلر نیز در سه نمونه‌برداری به‌ترتیب ۹۰/۵، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد کاهش تراکم سوروف و ۹۴/۳، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد کاهش زیست‌توده سوروف بود. همچنین، علف‌کش سای هالوفوپ–بوتیل به‌ترتیب موجب ۸۶/۷، ۷۷/۸ و ۹۸ درصد کاهش تراکم سوروف و ۹۶/۴، ۹۶/۸ و ۸۸/۳۰ درصد کاهش زیست‌توده سوروف در سه نمونه‌برداری شد (جدول ۴). کارایی مؤثر سای هالوفوپ–بوتیل در کنترل علف‌های هرز باریک‌برگ در این آزمایش با یافته‌های اوتیس و همکاران (Ottis *et al.*, 2003)، اسکدر و همکاران (Scherder *et al.*, 2001)، بورینگ و همکاران (Buehring *et al.*, 2001)، لازرت و همکاران (Lassiter *et al.*, 2000) و تکاسی و نورعلیزاده اطاقسرا (Tokasi & Nouralizadeh, 2022) مطابقت داشت. از نظر آماری، تیمارهای تریافامون+ اتوکسی سولفورون در مقادیر ۳۷/۵ و ۴۵ گرم ماده مؤثر در هکتار، تیوبنکارب در مقادیر ۲۷۵۰ و ۳۰۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار، پرتیلاکلر ۸۷۵ گرم ماده مؤثر در هکتار و سای هالوفوپ–بوتیل ۱۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار در کاهش تراکم و زیست‌توده سوروف، دارای اختلاف آماری معنی‌دار با هم نبودند و در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کارایی مخلوط در تانک علف‌کش‌های سای هالوفوپ–بوتیل + بیس پیریباک سدیم در کنترل سوروف تا حدودی کمتر از کارایی علف‌کش سای هالوفوپ–بوتیل تنها بود. درصد کاهش تراکم سوروف در تیمار سای هالوفوپ–بوتیل + بیس پیریباک سدیم در سه نمونه برداری به‌ترتیب ۹۴/۳، ۷۲/۲ و ۶۹/۰ درصد و درصد کاهش زیست-توده سوروف نیز به‌ترتیب ۹۴/۷، ۶۳/۲ و ۶۵/۳ درصد بود. کارایی این تیمار در کاهش تراکم سوروف در دو نمونه‌برداری اول و دوم و در کاهش زیست‌توده سوروف در نمونه‌برداری اول، اختلاف آماری معنی‌دار با تیمار سای هالوفوپ–بوتیل تنها نداشت، در سایر موارد با اختلاف آماری معنی‌دار، کارایی کمتری داشت (جدول ۴). اختلاط

علف‌کش‌های مختلف، ممکن است منجر به پاسخ‌های افزایشی[1]، هم افزایی[2] یا هم‌کاهی[3] شود (Kruse *et al.*, 2001). ماتزنباخر و همکاران (Matzenbacher *et al.*, 2015) گزارش کردند که اختلاط علف‌کش‌های پنوکسولام + پروکسیدیم، پنوکسولام + سای هالوفوپ-بوتیل و بیس پیریباک سدیم + سای هالوفوپ-بوتیل دارای نتایج کنترل مشابه با کاربرد منفرد علف‌کش‌ها بود که نتیجه آن اثر افزایشی است. بلوئین و همکاران (Blouin *et al.*, 2010) گزارش کردند که اختلاط فنوکساپروپ-پی-اتیل با علف‌کش‌های ایمازتاپیر، بیس پیریباک سدیم، کوئین کلوراک و پنوکسولام منجر به اثر متقابل هم‌کاهی در کنترل سوروف *E. crus-galli* شد. ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2005) نیز گزارش کردند که ترکیب فنوکساپروپ-پی-اتیل + کارفنترازون کنترل سوروف را در مقایسه با کاربرد فنوکساپروپ-پی-اتیل تنها کاهش داد. بیس واس و همکاران (Biswas *et al.*, 2020) گزارش کردند که علف‌کش بروموکسنیل، جذب علف‌کش کوئیزالوفوپ-پی را توسط برگ‌های علف ارزنی (*Setaria glauca* L.) کاهش داد و به‌همین دلیل کارایی آن را کاهش داد. جردن (Jordan, 1995) گزارش کرد که کارایی فنوکساپروپ-اتیل در کنترل سوروف زمانی که در ترکیب با علف‌کش بنتازون به‌صورت مخلوط به‌کار رفت، به‌میزان ۴۰ درصد کاهش یافت (Jordan, 1995). اثرات هم‌کاهی در کنترل سوروف در اختلاط کاربرد فنوکساپروپ-پی-اتیل + هالوسولفورون-متیل و فنوکساپروپ-پی-اتیل + بن سولوفورون نیز گزارش شد (Zhang *et al.*, 2005). کارایی پایین برخی از اختلاط‌های بازدارنده‌های ALS و ACCase ناشی از کاهش جذب، یا در اغلب موارد کاهش ناشی از انتقال بازدارنده های ACCase (Croon *et al.*, 1989; Ferreira *et al.*, 1995; Barnes & Oliver, 2004) بیان شده است. راه حل پرهیز از اثرات هم کاهی اختلاط‌ها، کاربرد این علف‌کش ها به‌صورت جداگانه با ایجاد فاصله بین زمان سمپاشی بین علف‌کش‌ها است که این امر منجر به افزایش هزینه‌های کنترل خواهد شد. مانع دیگر در ارتباط با اثرات هم کاهی اختلاط علف‌کش‌ها، ضرورت تکرار سمپاشی یا حتی کاهش عملکرد برنج است، زیرا تکرار سمپاشی در مراحل دیرتر توسعه محصول انجام خواهد شد و در طی این مدت، رقابت علفهرز با گیاه زراعی برای منابع محیطی اتفاق خواهد افتاد (Matzenbacher *et al.*, 2015).

کارایی علف‌کش بیس پیریباک سدیم در این آزمایش در کاهش تراکم و زیست‌توده سوروف، کمتر از کارایی علف‌کش‌های تریافامون+ اتوکسی سولفورون، تیوبنکارب، پرتیلاکلر و سای هالوفوپ-بوتیل بود و از نظر آماری نیز با آنها اختلاف آماری معنی‌دار داشت. کارایی بیس پیریباک سدیم در کاهش تراکم سوروف به‌ترتیب ۲۶/۷، ۳۸/۹ و ۵۸/۶ درصد و در کاهش زیست‌توده سوروف به‌ترتیب ۴۷/۱، ۴۹/۳ و ۷۱/۳ درصد در سه نمونه‌برداری بود (جدول ۴). داس و همکاران (Das *et al.*, 2017) کارایی مقادیر ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم ماده مؤثر در هکتار علف‌کش بیس پیریباک سدیم را به‌ترتیب ۹۳/۶، ۹۴/۷ و ۹۶/۱ درصد در زمان ۴۰ روز بعد نشاکاری گزارش کردند. پراملا و همکاران (Prameela *et al.*, 2014) در بررسی کارایی علف‌کش‌های مختلف در کشت برنج مستقیم شامل باریک‌برگ‌کش‌ها (متامی‌فوپ ۱۲۵ گرم در هکتار، فنوکساپروپ-پی-اتیل ۶۰ گرم در هکتار و سای هالوفوپ-بوتیل ۱۰۰ گرم در هکتار)، باریک‌برگ‌کش ها +کاربرد متعاقب (آلمیکس (مت سولفورون-متیل+ کلوریمورون-اتیل) ۴ گرم در هکتار، کارفنترازون ۲۰ گرم در هکتار و اتوکسی سولفورون ۱۵ گرم در هکتار) و علف‌کش‌های چندمنظوره (بیس پیریباک سدیم ۳۰ گرم در هکتار، پنوکسولام ۲۵ گرم در هکتار و آزیم سولفورون ۳۵ گرم در هکتار) گزارش کردند که بالاترین کارایی کنترل را تیمارهای باریک برگ‌کش+ آلمیکس (مت سولفورون متیل ۱۰٪ + کلریمورون اتیل ۱۰٪ WP) و پس از آن بیس پیریباک سدیم داشتند.

در ارزیابی کارایی علف‌کش مت سولفورون-متیل، اختلاف آماری معنی‌دار بین کارایی این علف‌کش در مقادیر ۶ و ۸ گرم ماده مؤثر در هکتار در کاهش تعداد و زیست‌توده سوروف نسبت به شاهد عدم کنترل نبود. کارایی تیمار مت سولفورون-متیل ۶ گرم ماده مؤثر در هکتار در سه نمونه‌برداری به‌ترتیب ۴۷/۶، ۴۱/۷ و ۵۷/۱ درصد کاهش تراکم و ۶۸/۹، ۴۸/۴ و ۴۳/۹ درصد کاهش زیست‌توده سوروف بود. کارایی تیمار مت سولفورون-متیل ۸ گرم ماده مؤثر در هکتار نیز در سه نمونه‌برداری به‌ترتیب ۵۲/۴، ۶۳/۹ و ۷۱/۴ درصد کاهش تراکم و ۷۵/۹، ۵۷/۰ و ۵۳/۱ درصد کاهش زیست‌توده سوروف بود. نتایج مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که در کنترل سوروف، کارایی علف‌کش مت سولفورون-متیل با اختلاف آماری معنی‌دار کمتر از کارایی علف‌کش های تریافامون+ اتوکسی سولفورون، تیوبنکارب، پرتیلاکلر و سای هالوفوپ-بوتیل بود، ولی تقریباً در اکثر نمونه‌برداری‌ها دارای اختلاف آماری معنی‌دار با تیمار بیس‌پیریباک سدیم نبود (جدول ۴). علف‌کش مت سولفورون-متیل به‌دلیل انتخابی بودن برای کنترل گروه وسیعی از علف‌های هرز در غلات، گیاهان مرتعی و زراعی به‌کار می‌رود (Sondhia, 2008). سوندیا (Sondhia, 2009) کاربرد مقادیر ۸-۲ گرم ماده مؤثر در هکتار مت‌سولفورون-متیل را در کشت نشایی برنج به‌عنوان علف‌کش پس‌رویشی با باقیمانده کمتر از ۰/۰۰۱ میکروگرم بر گرم در خاک مزرعه در زمان برداشت محصول پیشنهاد کرد. روشید (Roshid, 2006) بیان کرد که مت سولفورون-متیل، علف‌کش انتخابی است و کاربرد آن را به‌صورت پیش یا پس رویشی برای کنترل علف‌های هرز

1- additive
2- synergistic
3- antagonistic

پهن‌برگ و جگن به‌تنهایی یا در ترکیب با سایر علف‌کش‌ها برای کنترل مجموع علف‌های هرز توصیه نمود.

به‌طور کلی، هلدر و پترا (Halder & Patra, 2007) و داس و همکاران (Das *et al.*, 2015)، کنترل بالای ۷۰ درصد علف‌های هرز را کنترل مؤثر علف‌های هرز بیان کردند، بر این اساس، تیمارهایی که درصد کنترل سوروف در آن‌ها کمتر از ۷۰ درصد بود، تیمارهای مؤثری در کنترل سوروف نبودند.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای علف‌کش بر کاهش تراکم و زیست‌توده علف‌هرز سوروف (*E. crus-galli*) نسبت به شاهد عدم سمپاشی در زمان‌های ۲، ٤ و ۹ هفته پس از کاربرد علف‌کش‌های پس رویشی (اعداد میانگین مربعات می‌باشند)

Table 3- Analysis of variance of the effect of herbicide treatments on the density and dry weight reduction of *E. crus-galli*, at 2, 4 and 9 weeks after post-emergence herbicide application

Source of variation	df	*E. crus-galli* 2		4		9	
		Density	Dry matter	Density	Dry matter	Density	Dry matter
Block	2	234.1 ^{ns}	46.7 ^{ns}	322.6 *	140.0 ^{ns}	68.1 ^{ns}	60.3 ^{ns}
Treatment	9	2201.9 **	971.2 **	1827.8 **	1669.7 **	1068.8 **	1445.1 **
Error	18	149.6	47.1	86.8	178.7	88.3	39.0
CV (%)		15.32	7.82	11.73	16.41	11.00	7.60

^{ns} and **: Not-significant and significant at 1 % probability level, respectively.

جدول ٤- کارایی تیمارهای علف‌کش در کنترل سوروف (*E. crus-galli*) نسبت به شاهد عدم سم‌پاشی در زمان‌های ۲، ٤ و ۹ هفته پس از کاربرد علف‌کش‌های پس‌رویشی

Table 4- The effects of herbicide treatments on the control of *Echinochloa crus-galli* (relative to untreated control), 2, 4 and 9 weeks after post herbicide application

Treatment	Density reduction (%) 2	4	9	Dry matter reduction (%) 2	4	9
Metsulfuron-methyl, 6 g a.i. ha $^{-1}$	47.62±21.8 b	41.67±16.6 c	57.13±18.9 b	68.92±10.9 b	48.43±14.1 b	43.93±8.7 d
Metsulfuron-methyl, 8 g a.i. ha $^{-1}$	52.38±8.2 b	63.90±63.9 b	71.43±12.4 b	75.97±6.6 b	57.03±9.6 b	53.13±7.1 cd
Triafamon+Ethoxysulfuron 37.5 g a.i. ha $^{-1}$	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a
Triafamon+Ethoxysulfuron, 45 g a.i. ha $^{-1}$	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a
Cyhalofop-butyl , 100 g a.i. ha $^{-1}$	86.67±23.1 a	77.8±3.3 ab	98.0±3.5 a	96.43±6.2 a	96.8±5.5 a	88.30±5.7 a
Bispyribac sodium, 26 g a.i. ha $^{-1}$	26.7±11.5 b	38.9±22.2 c	58.57±14.8 b	47.1±9.4 c	49.33±36.7 b	71.33±13.9 b
Cyhalofop-butyl 100 g a.i. ha $^{-1}$+Bispyribac sodium 26 g.a.i. ha $^{-1}$	94.29±9.9 a	72.20±12.7 b	69.03±10.9 b	94.75±9.1 a	63.17±8.8 b	65.27±7.7 bc
Pertilachlor, 875 g a.i. ha $^{-1}$	90.48±16.5 a	100±0.0 a	100±0.0 a	94.24±9.9 a	100±0.0 a	100±0.0 a
Thiobencarb, 2750 g a.i. ha $^{-1}$	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a
Thiobencarb, 3000 g a.i. ha $^{-1}$	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a	100±0.0 a

Different letters in the same column show significant differences (Duncan P≤0.01)

کنترل علف‌هرز بندواش

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تراکم ساقه و زیست‌توده علف‌هرز بندواش در سه نمونه‌برداری انجام شده، تحت تأثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفت و اختلاف بین تیمارها معنی‌دار بود (p<0.01) (جدول ۵). علف‌کش تریافامون+ اتوکسی سولفورون در مقادیر ۳۷/۵ و ۴۵ گرم ماده مؤثر در هکتار در کنترل علف‌هرز چندساله بندواش بسیار کارآمد بود؛ کارایی تیمار ۳۷/۵ گرم در هکتار این علف‌کش به‌ترتیب ۹۱/۱، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد کاهش تراکم ساقه های بندواش و به‌ترتیب ۹۵/۶، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد کاهش زیست‌توده این علف‌هرز در سه نمونه‌برداری بود؛ کارایی تیمار ۴۵ گرم در هکتار علف‌کش نیز در کاهش تراکم ساقه‌های بندواش به‌ترتیب ۱۰۰، ۹۴/۴۳ و ۱۰۰ درصد و کاهش زیست‌توده بندواش به‌ترتیب ۱۰۰، ۹۴/۴ و ۱۰۰ درصد بود. تیمار سای هالوفوپ-بوتیل نیز تیمار بسیار کارآمدی برای کنترل بندواش بود، کارایی این تیمار در کاهش تراکم ساقه‌های بندواش به‌ترتیب ۱۰۰، ۹۷/۲ و ۸۳/۶ درصد و کاهش زیست‌توده بندواش ۱۰۰، ۹۹ و ۷۹/۷ درصد در سه نمونه‌برداری بود. کارایی علف‌کش تیوبنکارب در کاربرد مقدار ۲۷۵۰ گرم ماده مؤثر در هکتار به‌ترتیب ۸۸/۹، ۸۲/۸ و ۹۶/۴ درصد کاهش تراکم ساقه‌های بندواش و به‌ترتیب ۹۱، ۹۷/۷ و ۹۷/۵ درصد کاهش زیست‌توده بندواش بود؛ کارایی تیمار ۳۰۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار این علف کش نیز در کاهش تراکم ساقه‌های بندواش به‌ترتیب ۹۵/۲، ۸۰/۳ و ۹۶/۳ درصد و در کاهش زیست‌توده بندواش به‌ترتیب ۹۷/۸، ۸۰/۹ و

۹۳/۵ درصد در سه نمونه‌برداری بود. اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارهای تریافامون+ اتوکسی سولفورون، سای هالوفوپ-بوتیل و تیوبنکارب در کنترل بندواش در کاهش تراکم و زیست‌توده بندواش در سه نمونه‌برداری وجود نداشت ($P\leq0.01$) (جدول ۶).

کارایی تیمار سای هالوفوپ-بوتیل + بیس پیریباک سدیم در کاهش تراکم ساقه‌های بندواش به‌ترتیب ۷۱/۱، ۷۰/۶ و ۴۹/۵ درصد و کاهش زیست‌توده بندواش ۸۱/۷، ۷۷ و ۶۹/۲ درصد در سه نمونه برداری بود. کارایی این تیمار در کاهش تراکم ساقه‌های بندواش در مقایسه با تیمار سای هالوفوپ-بوتیل با اختلاف آماری معنی‌دار، کمتر بود ($P\leq0.01$) ولی از نظر کاهش زیست‌توده بندواش، اختلاف آماری معنی‌داری با آن نداشت ($P\leq0.01$) (جدول ۶). کارایی تیمار بیس پیریباک سدیم در کاهش تراکم و زیست‌توده بندواش با اختلاف آماری معنی‌دار، کمتر از کارایی تیمارهای تریافامون+ اتوکسی سولفورون، سای هالوفوپ-بوتیل و تیوبنکارب بود. کارایی بیس پیریباک سدیم در کاهش تراکم ساقه‌های بندواش به‌ترتیب ۶۴/۴، ۷۸/۳ و ۳۳/۳ درصد و در کاهش زیست‌توده بندواش ۳۸، ۴۲ و ۱۶/۶ درصد در سه نمونه‌برداری بود. کارایی علف‌کش پرتیلاکلر در کاهش تراکم ساقه‌های بندواش به‌ترتیب ۷۳/۳، ۶۷ و ۶۹/۴ درصد و کاهش زیست‌توده بندواش ۴۸/۸، ۵۶/۵ و ۷۸/۴ درصد در سه نمونه‌برداری بود. تیمار پرتیلاکلر در نمونه‌برداری‌های اول و دوم در کاهش تراکم و زیست‌توده بندواش، اختلاف آماری معنی‌دار با تیمار بیس پیریباک سدیم نداشت، ولی با اختلاف آماری معنی‌دار، کارایی کمتری از تیمارهای تریافامون+ اتوکسی سولفورون، سای هالوفوپ-بوتیل و تیوبنکارب داشت (جدول ۶).

کارایی علف‌کش مت سولفورون-متیل ۶ گرم ماده مؤثر در هکتار نیز در کاهش تراکم بندواش به‌ترتیب ۶۴/۴، ۴۰/۷ و ۵۵/۰ درصد و در کاهش زیست توده بندواش ۷۲/۳، ۳۳/۱ و ۵۰/۳ درصد در سه نمونه‌برداری بود. کارایی مت سولفورون-متیل ۸ گرم ماده مؤثر در هکتار نیز در کاهش تراکم بندواش به‌ترتیب ۵۵/۵، ۳۵/۵ و ۵۵/۰ درصد و در کاهش زیست‌توده بندواش ۷۳/۱، ۳۵/۰ و ۵۳/۸ درصد بود که از نظر آماری بین این دو تیمار، اختلاف آماری معنی‌دار وجود نداشت. کارایی علف‌کش مت سولفورون-متیل در کاهش تراکم بندواش در نمونه‌برداری اول، کاهش زیست توده بندواش در نمونه برداری دوم، مشابه کارایی بیس پیریباک سدیم بود؛ در کاهش تراکم بندواش در نمونه‌برداری سوم و کاهش زیست‌توده بندواش در نمونه- برداری های اول و سوم، بالاتر از کارایی بیس پیریباک سدیم بود (جدول ۶).

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر تیمارهای علف‌کش بر کاهش تراکم و زیست‌توده علف‌هرز بندواش (*P. distichum*) نسبت به شاهد عدم سمپاشی در زمان‌های ۲، ٤ و ۹ هفته پس از کاربرد علف‌کش‌های پس رویشی

(اعداد میانگین مربعات می‌باشند)

Table 5- Analysis of variance of the effect of herbicide treatments on the density and dry weight reduction of *P. distichum*, at 2, 4 and 9 weeks after post-emergence herbicide application

Source of variation	df	*E. crus-galli*					
		2		4		9	
		Density	dry matter	density	dry matter	density	dry matter
Block	2	25.3^{ns}	25.3^{ns}	35.8^{ns}	67.8^{ns}	1.7^{ns}	46.2^{ns}
Treatment	9	812.6**	1466.8**	1471.6**	2266.3**	1813.7**	2207.2**
Error	18	104.8	154.8	57.4	105.1	72.7	90.2
CV (%)		12.73	15.54	10.14	14.32	11.54	12.85

^{ns} and **: Not-significant and significant at 1 % probability level, respectively.

ارزیابی چشمی کنترل علف‌های هرز سوروف و بندواش

نتایج آنالیز واریانس داده‌های ارزیابی چشمی کنترل دو علف‌هرز سوروف و بندواش در زمان دو هفته پس از کاربرد علف‌کش های پس رویشی نشان داد که اختلاف بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۷). پایین‌ترین درصد کنترل سوروف در تیمار بیس پیریباک سدیم (۵۰ درصد) و بالاترین درصد کنترل در تیمار تریافاومون+ اتوکسی سولفورون در کاربرد مقادیر ۳۷/۵ و ۴۵ گرم ماده مؤثر در هکتار و پرتیلاکلر مشاهده شد که ۱۰۰ درصد بود و "کنترل کامل" سوروف به‌دست آمد.

جدول ٦- کارایی تیمارهای علف‌کش در کنترل علف‌هرز بندواش (*P. distichum*) نسبت به شاهد بدون کنترل علف‌هرز در زمان های ۲، ٤ و ۹ هفته پس از کاربرد علف‌کش‌های پس‌رویشی

Table 6- The effect of herbicide treatments in the control of *P. distichum* (relative to untreated control), 2, 4 and 9 weeks after post herbicide application

Treatment	Density reduction (%)			Dry matter reduction (%)		
	2	4	9	2	4	9
Metsulfuron-methyl, 6 g a.i. ha^{-1}	64.44±10.2 cd	40.67±4.9 d	54.97±8.3 c	72.29±7.3 ab	33.13±15.2 c	50.33±11.9 c
Metsulfuron-methyl, 8 g a.i. ha^{-1}	55.55±13.9 d	35.53±5.5 d	54.97±5.7 c	73.11±5.3 ab	34.97±14.4 c	53.80±3.1 c
Triafamon+Ethoxysulfuron 37.5 g a.i. ha^{-1}	91.11±15.4 ab	100±0.0 a	100±0.0 a	95.57±7.7 a	100±0.0 a	100±0.0 a
Triafamon+Ethoxysulfuron , 45 g a.i. ha^{-1}	100±0.0 a	94.43±9.6 ab	100±0.0 a	100±0.0 a	94.4±9.6 a	100±0.0 a
Cyhalofop-butyl, 100 g a.i. ha^{-1}	100±0.0 a	97.23±4.8 ab	83.60±14.4 ab	100±0.0 a	99.10±1.5 a	79.67±18.4 ab
Bispyribac sodium, 26 g a.i. ha^{-1}	64.44±5.1 cd	78.33±16.4 bc	33.33±10.4 d	38.05±26.7 c	42.1±1.0 c	16.6±11.7 d
Cyhalofop-butyl 100 g a.i. ha^{-1}+Bispyribac sodium 26 g a.i. ha^{-1}	71.11±10.2 bcd	70.63±3.4 c	49.53±12.2 cd	81.75±9.5 a	77.03±10.3 ab	69.20±6.4 bc
Pertilachlor, 875 g a.i. ha^{-1}	73.33±11.5 bcd	67.07±6.9 c	69.40±3.1 bc	48.78±20.2 bc	56.50±7.4 bc	78.37±6.5 ab
Thiobencarb, 2750 g a.i. ha^{-1}	88.89±10.2 abc	82.8±5.5 abc	96.40±6.2 a	91.08±7.9 a	97.67±2.0 a	97.5±4.3 a
Thiobencarb, 3000 g a.i. ha^{-1}	95.24±8.2 ab	80.33±4.5 bc	96.30±6.4 a	99.77±0.4 a	80.9±17.1 ab	93.5±11.2 a

Different letters in the same column show significant differences (Duncan P≤0.01)

کارایی علف‌کش تیوبنکارب در مقادیر ۲۷۵۰ و ۳۰۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار، ۹۷-۹۵ درصد کنترل بود که بر اساس پرتکل ارائه شده توسط ساندرال و همکاران (Sandral *et al*., 1997)، "کنترل خوب" سوروف فراهم شد. پس از آن، تیمارهای سای هالوفوپ-بوتیل + بیس پیریباک سدیم و سای هالوفوپ-بوتیل به‌ترتیب با ۹۰ و ۸۶/۷ درصد به‌ترتیب موجب "کنترل خوب-مطلوب"و "کنترل متوسط" سوروف شدند. کنترل در سایر تیمارها نیز پایین‌تر از این تیمارها بود (شکل ۱). در ارزیابی چشمی کنترل بندواش نیز اختلاف بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۷) و نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بالاترین درصد کنترل این علف‌هرز در کاربرد تریافامون+ اتوکسی سولفورون در دو تیمار ۳۷/۵ و ۴۵ گرم ماده مؤثر در هکتار مشاهده شد که ۱۰۰ درصد بود و "کنترل کامل" علف‌هرز به‌دست آمد. تیمار تیوبنکارب ۲۷۵۰ گرم ماده مؤثر در هکتار موجب ۹۱/۷ درصد کنترل بندواش شد و "کنترل خوب-مطلوب" به‌دست آمد. در سطح بعدی، تیمارهای سای هالوفوپ-بوتیل و سای هالوفوپ-بوتیل + بیس پیریباک سدیم با ۸۶/۷ درصد کنترل، "کنترل متوسط" بندواش را موجب شدند. کنترل در سایر تیمارها نیز پایین‌تر از این تیمارها بود (شکل ۱).

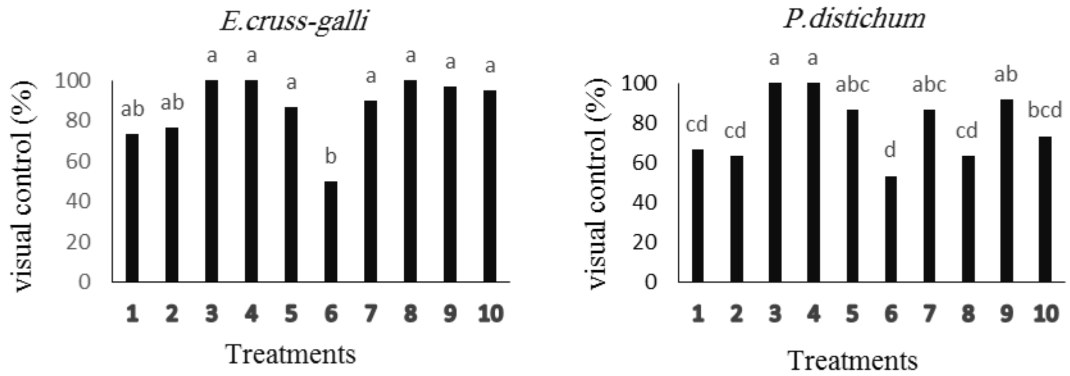
جدول ۷- تجزیه واریانس اثر تیمارهای علف‌کش بر ارزیابی چشمی کنترل علف‌های هرز سوروف (*E. crus-galli*) و بندواش(*P. distichum*) بر اساس روش استاندارد کمیته پژوهش علوم علف‌های هرز اروپا، در زمان ۲ هفته پس از کاربرد علف‌کش‌های پس‌رویشی

(اعداد میانگین مربعات می‌باشند)

Table 7- Analysis of variance for EWRC rating scale used to herbicides treatment effects on *E. crus-galli*, and *P. distichum*, at 2 weeks after post-emergence herbicide application

Source of variation	df	*E. crus-galli*	*P. distichum*
Block	2	10.8^{ns}	40.0^{ns}
Treatment	9	778.6^{**}	830.5^{**}
Error	18	119.2	89.1
CV (%)		12.57	12.02

^{ns} and **: Not-significant and significant at 1 % probability level, respectively.



شکل ۱- ارزیابی چشمی کنترل علف‌های هرز بر اساس سیستم EWRC در زمان ۲ هفته پس از کاربرد علف‌کش های پس‌رویشی

Figure 1- EWRC rating scale used to score the weed control following application of herbicide treatments two weeks after herbicide application

(1, 2: Metsulfuron-methyl 60% DF 6, 8 g a.i. ha^{-1}; 3, 4: Triafamon+Ethoxysulfuron 30% WG 37.5, 45 g a.i. ha^{-1}; 5: Cyhalofop-butyl 20%OD 100 g a.i. ha^{-1}; 6: Bispyribac sodium 40% SC 26 g a.i. ha^{-1}; 7: Cyhalofop-butyl+Bispyribac sodium 100+26 g a.i. ha^{1}; 8: Pertilachlor 50% EC 875 g a.i. ha^{-1}; 9, 10: Tiobencarb 50% EC 2750, 3000 g a.i. ha^{-1})

عملکرد برنج

در ارزیابی چشمی کاربرد علف‌کش های مورد بررسی بر بوته‌های برنج در زمان دو هفته پس از کاربرد علف‌کش‌های پس‌رویشی بر اساس پرتکل ارائه شده توسط ساندرال و همکاران (Sandral *et al.*, 1997)، هیچ گونه علائم خسارتی مانند زرد شدن، نکروز شدن، بدشکل شدن و ... در گیاهچه‌های برنج مشاهده نشد و افزایش عملکرد شلتوک و عملکرد بیولوژیک در تیمارها نسبت به شاهد بدون کنترل علف‌هرز به‌دست آمد. اختلاف بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۸). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بالاترین عملکرد بیولوژیک و عملکرد شلتوک برنج در تیمار دو بار وجین دستی به‌دست آمد که به‌ترتیب ۱۲۲۳۶ و ۵۱۸۰ کیلوگرم در هکتار بود و نسبت به شاهد بدون کنترل علف‌هرز به‌ترتیب ۶۹/۸ و ۷۲/۷ درصد افزایش عملکرد بیولوژیک و عملکرد شلتوک داشت (شکل ۲). برتری تیمار دو بار وجین دستی، به‌دلیل حذف کامل علف های هرز و در نتیجه عدم وجود رقابت ناشی از آنها و در نتیجه رشد بهتر برنج و تولید عملکرد بالا می‌باشد (Sing *et al.*, 2014). نتایج مشابه توسط ساها (Saha, 2005)، تیم‌گودا و همکاران (Thimme Gowda *et al.*, 2009) و پراشانتا و همکاران (Prashanthi *et al.*, 2017) نیز گزارش شد. روش وجین دستی، روشی کارآمد و مناسب از نظر محیط‌زیست است، ولی به‌دلیل کمبود نیروی کارگری و بالابودن هزینه‌های کارگری، روشی مقرون به‌صرفه برای کشاورزان نمی‌باشد، همچنین با وجود معرفی علف‌کش‌هایی با خاصیت انتخابی بالا در برنج که کارایی مطلوبی در کنترل علف‌های هرز شالیزار دارند و هزینه‌های کنترل علف‌های هرز را کاهش می‌دهند، امروزه کشاورزان اغلب تمایل دارند که از روش کنترل شیمیایی استفاده کنند و آن را جایگزین روش وجین دستی در مزارع کنند. در مقایسه بین تیمارهای علف‌کشی، تیمار تیوبنکارب ۳۰۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار به‌ترتیب با ۱۰۴۲۹ و ۵۰۵۱ کیلوگرم در هکتار عملکرد بیولوژیک و عملکرد شلتوک، بالاترین عملکرد را داشت. نتایج مقایسه میانگین تیمارها از نظر عملکرد بیولوژیک نیز نشان داد که کلیه تیمارهای علف‌کشی، اختلاف آماری معنی‌دار با هم در تولید عملکرد بیولوژیک برنج نداشتند. تیمارهای تیوبنکارب ۳۰۰۰ و ۲۷۵۰ گرم ماده مؤثر در هکتار، بیس پیریباک سدیم و سای هالوفوپ-بوتیل، اختلاف آماری معنی‌دار با تیمار وجین دستی نداشتند، عملکرد بیولوژیک در این تیمارها به ترتیب ۱۰۴۲۹، ۹۸۱۲، ۹۶۹۸ و ۹۶۶۴ کیلوگرم در هکتار بود (شکل ۲). نتایج مقایسه میانگین تیمارها از نظر عملکرد شلتوک نیز نشان داد که تیمارهای تیوبنکارب ۳۰۰۰ و ۲۷۵۰ گرم ماده مؤثر در هکتار، بیس پیریباک سدیم، پرتیلاکلر، تریافامون+ اتوکسی سولفورون ۴۵ و ۳۷/۵ گرم ماده مؤثر در هکتار، سای هالوفوپ بوتیل به‌ترتیب با ۵۰۵۱، ۴۹۶۵، ۴۶۳۷، ۴۵۸۴، ۴۱۷۷، ۴۰۶۳، ۴۰۳۹ کیلوگرم در هکتار با تیمار دو بار وجین دستی اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد نداشتند. همچنین مشاهده شد که تیمارهای بیس پیریباک سدیم، پرتیلاکلر، تریافامون+ اتوکسی سولفورون ۴۵ و ۳۷/۵ گرم ماده مؤثر در هکتار، سای هالوفوپ بوتیل، سای هالوفوپ بوتیل + بیس پیریباک سدیم و مت سولفورون-متیل ۸ و ۶ گرم ماده مؤثر در هکتار نیز از نظر تولید عملکرد شلتوک با هم در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۲).

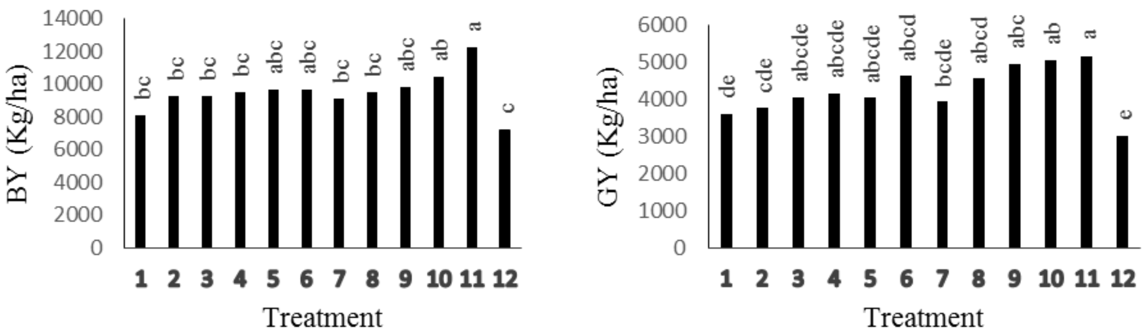
جدول ۸- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر عملکرد بیولوژیک و عملکرد شلتوک برنج

(اعداد میانگین مربعات می‌باشند)

Table 8- Analysis of variance of the effect of treatments on biological yield and grain yield of rice

Source of variation	df	Biologic yield	Grain yield
Block	2	82192^{ns}	43049^{ns}
Treatment	11	4347870^{**}	1278226^{**}
Error	22	1102091	213423
CV (%)		11.06	10.87

^{ns} and **: Not-significant and significant at 1 % probability level, respectively.



شکل ۲- اثر تیمارها بر عملکرد زیستی (BY) و عملکرد شلتوک (GY) برنج (کیلوگرم در هکتار)

Figure 2- Effects of treatments on Biologic Yield (BY), and Grain Yield (GY) of rice (Kg ha^{-1})

(1, 2: Metsulfuron-methyl 60% DF 6, 8 g a.i. ha^{-1}; 3, 4: Triafamon+Ethoxysulfuron 30% WG 37.5, 45 g a.i. ha^{-1}; 5: Cyhalofop-butyl 20%OD 100 g a.i. ha^{-1}; 6: Bispyribac sodium 40% SC 26 g a.i. ha^{-1}; 7: Cyhalofop-butyl+Bispyribac sodium 100+26 g a.i. ha^{1}; 8: Pertilachlor 50% EC 875 g a.i. ha^{-1}; 9, 10: Tiobencarb 50% EC 2750, 3000 g a.i. ha^{-1} ; 11:twice hand weeding; 12:weedy check)

نتیجه‌گیری

نتایج نهایی پژوهش حاضر نشان داد که تیمارهای تریافامون+ اتوکسی سولفورون در مقادیر ۳۷/۵ و ۴۵ گرم ماده مؤثر در هکتار، سای هالوفوپ-بوتیل ۱۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار، تیوبنکارب در مقادیر ۲۷۵۰ و ۳۰۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار و پرتیلاکلر ۸۷۵ گرم ماده مؤثر در هکتار، تیمارهای مؤثر و کاربردی برای کنترل سوروف بودند. در کنترل بندواش نیز تیمارهای تریافامون+ اتوکسی سولفورون در مقادیر ۳۷/۵ و ۴۵ گرم ماده مؤثر در هکتار، سای هالوفوپ-بوتیل ۱۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار و تیوبنکارب در مقادیر ۲۷۵۰ و ۳۰۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار، تیمارهای کاربردی و مؤثری بودند، ولی پرتیلاکلر در کنترل بندواش طی سه نمونه‌برداری کارایی لازم را نداشت (۷۸٪ ≥ کاهش تراکم و ۴۲٪ ≥ کاهش زیست‌توده). میانگین تراکم و زیست‌توده سوروف در تیمار شاهد بدون کنترل علف‌هرز در سه نمونه‌برداری به‌ترتیب ۷، ۱۲ و ۱۴ عدد در متر مربع و ۱۳/۵۳، ۲۸ و ۴۶/۷ گرم در متر مربع بود. میانگین تراکم ساقه و زیست‌توده بندواش نیز به‌ترتیب ۱۵، ۱۲ و ۳۷ عدد در متر مربع و ۳۴، ۳۷ و ۳۱/۳۷ گرم در متر مربع بود و نتایج این پژوهش نشان داد که در این سطح آلودگی، در کاربرد علف‌کش تریافامون+ اتوکسی سولفورون بین مقادیر ۳۷/۵ و ۴۵ گرم ماده مؤثر در هکتار و همچنین در کاربرد علف‌کش تیوبنکارب، بین مقادیر ۲۷۵۰ و ۳۰۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار در کنترل علف‌های هرز سوروف و بندواش و عملکرد برنج اختلاف آماری معنی‌دار وجود نداشت؛ بنابراین، به‌منظور حفظ سلامت محیط‌زیست و کاهش ورود سموم شیمیایی به آن، کاربرد مقادیر پایین این علف‌کش ها به‌صورت پیش‌رویشی علف‌های هرز، ۵-۳ روز پس از نشاکاری به‌صورت خاک مصرف در این سطح آلودگی برای کنترل این دو علف‌هرز توصیه می‌شود. همچنین، علف‌کش سای هالوفوپ-بوتیل به‌میزان ۱۰۰ گرم ماده مؤثر در هکتار به‌صورت پس رویشی در زمان ۴-۲ برگی علف‌های هرز باریک‌برگ شالیزار (سوروف و بندواش) به‌صورت برگ‌مصرف قابل توصیه می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که کارایی مخلوط در تانک علف‌کش‌های سای هالوفوپ-بوتیل + بیس پیریباک سدیم از کارایی علف‌کش سای هالوفوپ-بوتیل تنها در کنترل سوروف و بندواش، تا حدودی کمتر بود. راه حل پرهیز از اثرات هم‌کاهی ناشی از این اختلاط، کاربرد این علف‌کش ها به‌صورت جداگانه با ایجاد فاصله زمان سمپاشی بین علف‌کش‌ها می‌باشد. کارایی علف‌کش های بیس پیریباک سدیم و مت سولفورون-متیل نیز در کنترل دو علف‌هرز سوروف و بندواش،

کمتر از کـارایی علـف‌کـش هـای تریافـامون+ اتوکسـی سـولفورون، تیوبنکارب و سای هالوفوپ-بوتیل بود. کارایی مت سـولفورون-متیـل در کنترل سوروف و بندواش، تقریباً مشابه علـف‌کـش بـیس‌پیریبـاک سدیم بود. همچنین نتایج نشان داد که کارایی مقادیر ۶ و ۸ گرم ماده مؤثر در هکتار مت سولفورون-متیـل در کنتـرل سـوروف و بنـدواش مشابه بود و اختلاف آماری معنی‌دار با هم نداشتند. در ارزیابی عملکرد برنج، پس از تیمار دو بار وجین دستی (بـا ۵۱۸۰ کیلـوگرم در هکتـار عملکرد شلتوک)، تیمار تیوبنکارب ۳۰۰۰ گـرم مـاده مـؤثر در هکتـار بالاترین عملکرد شلتوک را تولید کرد (۵۰۵۱ کیلوگرم در هکتـار). بـه طور کلی، تیمارهـای تیوبنکـارب ۳۰۰۰ و ۲۷۵۰ گـرم مـاده مـؤثر در هکتار، بیس پیریباک سدیم، پرتیلاکلر، تریافامون+ اتوکسی سولفورون ۴۵ و ۳۷/۵ گرم ماده مؤثر در هکتار و سای هالوفوپ بوتیل تیمارهای کارآمدی در افزایش معنی‌دار عملکرد بـرنج نسبت بـه شـاهد بـدون کنترل علف‌هرز بودند و با تیمار دو بار وجین دسـتی اخـتلاف آمـاری معنی‌دار نداشتند.

سپاسگزاری

این مقاله از طرح پژوهشی مصوب مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشـکی کشور به شماره مصـوب ۹۸۰۰۹۷-۰۱۸-۱۶-۵۸-۰۴ اسـتخراج شـده است. از حمایت مالی مؤسسه تحقیقـات گیـاه‌پزشـکی کشـور و کلیـه همکارانی که در اجرای این پژوهش کمک کردنـد، سپاسـگزاری مـی شود.

References

1. Antralina, M., Nur Istina, I., Yuwariah, Y., & 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. Baghestani, M.A., Zand, E., Lotfimavi, F., Esfandiari, H., Pour Azar, R., & Mamnoei, E. (2014). Evaluation of spectrum efficacy of registered herbicides used in corn. *Applied Entomology and Phytopathology*, *81*(2), 109-122. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/jaep.2014.100369
3. Barnes, J.W., & Oliver, L.R. (2004). Cloransulam antagonizes annual grass control with aryloxyphenoxypropionate graminicides but not cyclohexanediones. *Weed Technology*, *18*(3), 763-772. https://www.jstor.org/stable/3989372
4. Biswas, B., Timsina, J., Garai, S., Mondal, M., Banerjee, H., Adhikary, S., & Kanthal, S. (2020). Weed control in transplanted rice with post-emergence herbicides and their effects on subsequent rapeseed in Eastern India. *International Journal of Pest Management*, *69*(1), 1-13. https://doi.org/10.1080/09670874.2020.1853276
5. Blouin, D.C., Webster, E.P., & Bond, J.A. (2010). On a method of analysis for synergistic and antagonistic jointaction effects with fenoxaprop mixtures in rice (*Oryza sativa*). *Weed Technology*, *24*(4), 583-589. https://doi.org/10.1614/WT-D-10-00025.1
6. Buehring, N.W., Baldwin, F.L., Talbert, R.E., Scherder, E.F., & Lovelace, M.L. (2001). Graminicides in programs for broad-spectrum weed control in rice. In: *B.R. Wells Rice Research Studies 2000*; Norman R.J., Meullenet J.F., Eds.; University of Arkansas Agricultural Experiment Station Research Series: Fayetteville, A.R., 2001, vol. 485, 58-61.
7. Buehring, N.W., Talbert, R.E., & Baldwin, F.L. (2006). Interactions of graminicides with other herbicides applied to rice (*Oryza sativa*). *Weed Technology*, *20*(1), 215-220. https://doi.org/10.1614/WT-04-263R.1
8. Croon, K.A., Ketchersid, M.L., & Merkle, M.G. (1989). Effect of bentazon, imazaquin and chlorimuron on the absorption and translocation of the methyl-ester of haloxyfop. *Weed Science*, *37*(5), 645-650. https://www.jstor.org/stable/4045123
9. Das, R., Bera, S., Pthak, A., & Mandal, M.K. (2015). Weed management in transplanted rice through bispyribac sodium 10% SC and its effect on soil microflora and succeeding crop-blackgram. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *4*(6), 681-688.
10. Das, T., Banerjee, M., Malik, G.C., & Mandal, B. (2017). Efficacy of herbicides against weeds in transplanted wet season rice (*Oryza sativa* L.). *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, *10*(5), 1-3. https://doi.org/10.9790/2380-1005010103
11. Dear, B.S., Sandral, G., Spencer, D., Khan, M.R., & Higgins, T.J.V. (2003). The tolerance of three transgenic subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) lines with the bxn gene to herbicides containing bromoxynil. *Australian Journal of Agricultural Research*, *54*(2), 203-210. https://doi.org/10.1071/AR02134
12. Ferreira, K.L., Burton, J.D., & Coble, H.D. (1995). Physiological-basis for antagonism of fluazifop-P by DPXPE350. *Weed Science*, *43*(2), 184-191. https://doi.org/10.1017/S0043174500081042

13. Gibson, K.D., Fischer, A.J., Foin, T.C., & Hill, J.E. (2003). Crop traits related to weed suppression in water-seeded rice (*Oryza sativa* L.). *Weed Science*, *51*, 87-93. https://doi.org/10.1614/0043-1745(2003)051[0087:CTRTWS]2.0.CO;2
14. Halder, J, & Patra, AK. (2007). Effect of chemical weed control methods on productivity of productivity of transplanted rice (*Oryza sativa*). *Indian Journal of Agronomy*, *52*, 111-113. https://doi.org/10.59797/ija.v52i2.4903
15. Jordan, D.L. (1995). Interactions of fenoxaprop-ethyl with bensulfuron and bentazon in dry-seeded rice (*Oryza sativa*). *Weed Technology*, *9*(4), 724–727. https://doi.org/10.1017/S0890037X00024118
16. Kruse, N.D., Vidal, R.A., Bauman, T.T., & Trezzi, M.M. (2001). Sinergismo potencial entre herbicidas inibidores do fotossistema II e da síntese de carotenóides. *Ciencia Rural*, *31*(4), 569-575. https://doi.org/10.1590/S0103-84782001000400002
17. Lassiter, R.B., Simpson, D.M., Grant, D.L., Richburg, J.S., Langston, V.B., & Mann, R.K. (2000). Efficacy and crop tolerance of cyhalofop post-applied in direct seeded rice. In *Southern Weed Science Society Proceeding*, *53*, p.170.
18. Matzenbacher, F.O., Bortoly, E.D., Kalsing, A., & Merotto Jr, A. (2015). Distribution and analysis of the mechanism of resistance of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) to imidazolinone and quinclorac herbicides. *The Journal of Agricultural Science*, *153*(6), 1044-1058. https://doi.org/10.1017/S0021859614000768
19. Nourbakhsh, S. (2023). The list of important pest, diseases and weeds of major agricultural products; pesticides and recommended methods for their control. Plant Protection Organization. Ministry of Agricultural-Jahad. (In Persian)
20. Ottis, B.V., Talbert, R.E., Scherder, E.F., Lovelace, M.L., Malik, M.S., Lassiter, R.B., & Gardisser, D.R. (2003). Early postemergence tank-mix programs with cyhalofop (Clincher) for residual grass control in rice. In *Southern Weed Science Society Proceeding*, 56.
21. 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. https://jtropag.kau.in/index.php/ojs2/article/view/310
22. Prashanthi, C.H., Laxminarayana, P., Vidyasagar, G.E.C.H., & Harish Kumar Sharma, S. (2017). Yield parameters and yield of aerobic rice (*Oryza sativa*) as influenced by different seeding methods and weed control measures. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, *6*(7), 2474-2480. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.607.351
23. Roshid, I. (2006). Mixed application study of glyphosate herbicide with the metsulfuron methyl in several agriculture weed agricultura control (in Bahasa Indonesia). Thesis. Undergraduate, Bogor Agricultural Institute. 65 pp.
24. Roso, A.C., Merotto JR, A., & Delatorre, C.A. (2010). Bioassays for diagnosis of resistance to the herbicides imidazolinones in rice plants. *Planta Daninha*, *28*(2), 411-419. https://doi.org/10.1590/S0100-83582010000200021
25. Saha, S. (2005). Evaluation of some new herbicide formulations alone or in combination with hand weeding in direct sown rainfed lowland rice. *Indian Journal of Weed Science*, *37*(1&2), 103-104. https://doi.org/IJWS-2005-37-1&2-29
26. Sandral, G.H., Dear, B.S., Pratley, J.E., & Cullis, B.R. (1997). Herbicide dose response rate response curve in subterranean clover determined by a bioassay. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, *37*, 67-74.
27. Scherder, E.F., Talbert, R.E., Scherder, E.E., Lovelace, M.L., & Buchring, N.W. (2001). *Research Series-Arkansas Agricultural Experiment Station*, No. 485, 86-98.
28. Singh, Y., Singh, V.P., Singh, G., Yadav, D.S., Sinha, R.K.P., & Johnson, D.E. (2011). The implications of land preparation, crop establishment method and weed management on rice yield variation in the rice-wheat system in the Indo-Gangetic plains. *Field Crops Research*, *121*(1), 64-74. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.11.012
29. Sondhia, S. (2008). Leaching behaviour of metsulfuron-methyl in two texturally different soil. *Environmental Monitoring and Assessment*, *154*, 111–115.
30. Sondhia, S. (2009). Persistence of Metssulfuron-methyl in paddy field and detection of its residues in crop produce. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicoloy*, *83*, 799-802. https://doi.10.1007/s00128-009-9822-5
31. Smaeeltabar, M., Zaefarian, F., Nazari, Sh., & Abbasi, R. (2023). The effect of different weed control managements on yield and yield components of three rice cultivars. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *36*, 4: 453-466. https://doi.10.22067/jpp.2022.74285.1069
32. Thimme Gowda, P., Shankaraiah, C., Jnanesh, A.C., Govindappa, M., & Murthy, K.N. (2009). Studies on chemical weed control in aerobic rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Crop and Weed*, *5*(1), 320-323.

33. Tokasi, S., & Nouralizadeh Otaghsara, M. (2020). Investigating the efficacy of bispyribac sodium SC42% herbicide in rice (*Oryza sativa* L.) weeds control. *Cereal Research*, *9*(4), 331-345. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22124/cr.2020.15096.1539
34. Tokasi, S., & Nouralizadeh Otaghsara, M. (2021). Comparison the effect of paddy field herbicides in grass weed control. *Iranian Weed Science Congress*, *9*, 402-407. (In Persian with English abstract)
35. Tokasi, S., & Nouralizadeh Otaghsara, M. (2022). Grass weeds control in transplanted rice with Cyhalofop-butyl. *Journal of Crop Protection*, *12*(4), 433-443. (In Persian with English abstract). https://doi.org/20.1001.1.22519041.2022.11.4.1.8
36. Zhang, W., Webster, E.P., Blouin, D.C., & Leon, C.T. (2005). Fenoxaprop interactions for barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) control in rice. *Weed Technology*, *19*(2), 293-297. https://www.jstor.org/stable/3989709

Contents

Iranian Plant Protection Research

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol . 38 No. 3 2024

Published by: College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

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.3
2024

Iranian Plant Protection Research

Contents