انجمن قارچ شناسی ایران
2010 ۱۳۸۹

نشریه علمی

پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران

جلد ۴۰ شماره ۳

سال ۱۴۰۵

شماره پیاپی: ۷۳

عنوان مقالات

تأثیر حشره‌کش متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (متین SC 40%) روی کرم سیب *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) ۶۳۹

علی محمدی پور- فرناز سیدی صاحباری- زریر سعیدی

مطالعه تولید اسپورهای قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* در محیط‌های کشت مایع و جامد و ارزیابی میزان زهرآگینی آن نسبت به کرم ساقه‌خوار نواری برنج (*Chilo suppressalis*) در شرایط آزمایشگاهی ۶۵۱

فرزاد مجیدی شیل‌سر

ارزیابی سمیت تدخینی اسانس پونه (*Mentha longifolia*) علیه حشرات بالغ سوسک شیره‌خوار خرما *Carpophilus hemipterus* (Coleoptera: Nitidulidae) ۶۶۷

رضوان نیک‌نفس- کمال احمدی

اثر چند ترکیب زیستی و شیمیایی تجاری بر نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne incognita*) و شاخص‌های رشدی درختان کیوی (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson) ۶۷۹

رضا احمدپناه- سالار جمالی- سید محسن نساج حسینی- سیده نگین میرقاسمی

بررسی اثر پیوسیانین در مهار بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی (Solanum lycopersicum L.) ایجادشده توسط Rhizoctonia solani ۶۹۱

عارفه رحیمی- سعید طریقی- پریسا طاهری

مطالعه ریخت‌شناختی و مولکولی چهار گونه از جنس Xiphinema Cobb, ۱۹۱۳ (Nematoda: Longidoridae) از استان آذربایجان شرقی و گزارش احتمال وجود تولیدمثل جنسی در گونه X. index Thorne & Allen ۱۹۵۰ ..... ۷۰۷

آرزو نقوی- غلامرضا نیکنام

مقایسه موفقیت استقرار گیاهچه خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.) در دو جمعیت با پیشینه مدیریتی متفاوت: اثرات بافت خاک و عمق دفن بذر ۷۲۵

رفعت حسنی نسب فرزانه- احمد توبه- رسول فخاری- محمد احمدی

بررسی مقایسه‌ای تأثیر برخی علف‌کش‌های پیش‌رویشی با مزوسولفورون + یدوسولفورون + دیفلوفنیکان+ مفن‌پایر دی‌اتیل (اوتللو) بر مهار چچم (*Lolium rigidum* Gaudin.) و عملکرد گندم (*Triticum aestivum* L.) ۷۳۹

نرگس کشاورز ملایی- محمد رضوانی- حمید صالحیان- مرتضی نورعلی‌زاده اطاقسرا

بسم الله الرحمن الرحیم

مندرجات

تأثیر حشره‌کش متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (متین SC 40%) روی کرم سیب *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) ۶۳۹

علی محمدی پور- فرناز سیدی صاحباری- زریر سعیدی

مطالعه تولید اسپورهای قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* در محیط‌های کشت مایع و جامد و ارزیابی میزان زهرآگینی آن نسبت به کرم ساقه‌خوار نواری برنج(*Chilo suppressalis*) در شرایط آزمایشگاهی ۶۵۱

فرزاد مجیدی شیل‌سر

ارزیابی سمیت تدخینی اسانس پونه (*Mentha longifolia*) علیه حشرات بالغ سوسک شیره‌خوار خرما *Carpophilus hemipterus* (Coleoptera: Nitidulidae) ۶۶۷

رضوان نیک‌نفس- کمال احمدی

اثر چند ترکیب زیستی و شیمیایی تجاری بر نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne incognita*) و شاخص‌های رشدی درختان کیوی (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson) ۶۷۹

رضا احمدپناه- سالار جمالی- سید محسن نساج حسینی- سیده نگین میرقاسمی

بررسی اثر پیوسیانین در مهار بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی (Solanum lycopersicum L.) ایجادشده توسط Rhizoctonia solani ۶۹۱

عارفه رحیمی- سعید طریقی- پریسا طاهری

مطالعه ریخت‌شناختی و مولکولی چهار گونه از جنس Xiphinema Cobb, 1913 (Nematoda: Longidoridae) از استان آذربایجان شرقی و گزارش احتمال وجود تولیدمثل جنسی در گونه X. index Thorne & Allen 1950 ۷۰۷

آرزو نقوی- غلامرضا نیکنام

مقایسه موفقیت استقرار گیاهچه خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.) در دو جمعیت با پیشینه مدیریتی متفاوت: اثرات بافت خاک و عمق دفن بذر ۷۲۵

رفعت حسنی نسب فرزانه- احمد توبه- رسول فخاری- محمد احمدی

بررسی مقایسه‌ای تأثیر برخی علف‌کش‌های پیش‌رویشی با مزوسولفورون + یدوسولفورون + دیفلوفنیکان+ مفن‌پایر دی‌اتیل (اوتللو) بر مهار چچم (*Lolium rigidum* Gaudin.) و عملکرد گندم (*Triticum aestivum* L.) ۷۳۹

نرگس کشاورز ملایی- محمد رضوانی- حمید صالحیان- مرتضی نورعلی‌زاده اطاقسرا

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 ۴۰ شماره ۳ پاییز ۱۴۰۵

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 (٤ شماره در سال) چاپ و منتشر می شود.

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

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

سردبیر: حسین صادقی نامقی — استاد- بیماری شناسی گیاهی- دانشگاه فردوسی مشهد

اعضای هیئت تحریریه:

ایزدی دربندی، ابراهیم	استاد- علوم علف های هرز -دانشگاه فردوسی مشهد
اعتصامی، حسن	دانشیار-بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک- دانشگاه تهران
بقائی راوری، ساره	استاد- بیماری شناسی گیاهی - دانشگاه فردوسی مشهد
پور جم، ابراهیم	استاد- بیماری شناسی گیاهی - دانشگاه تربیت مدرس تهران
حاجی بلند، رقیه	استاد- فیزیولوژی گیاهی - دانشگاه تبریز
حسینی، مجتبی	دانشیار- حشره شناسی کشاورزی - دانشگاه فردوسی مشهد
خداپرست، سید اکبر	استاد- قارچ شناسی- دانشگاه گیلان
راستگو، مهدی	استاد- علوم علف های هرز - دانشگاه فردوسی مشهد
راشد محصل، محمد حسن	استاد- علوم علف های هرز - دانشگاه فردوسی مشهد
شریف نبی، بهرام	استاد- بیماری شناسی گیاهی - دانشگاه صنعتی اصفهان
صابری ریسه، روح اله	استاد- بیماری شناسی گیاهی- دانشگاه ولی عصر رفسنجان
صادقی نامقی، حسین	استاد- حشره شناسی کشاورزی - دانشگاه فردوسی مشهد
صبوری، علیرضا	استاد- حشره شناسی کشاورزی - دانشگاه تهران
کریم مجنی، حسن	دانشیار- تولید وژنتیک گیاهی - دانشگاه صنعتی اصفهان
کریمی، جواد	استاد- حشره شناسی کشاورزی- دانشگاه فردوسی مشهد
مرعشی، سید حسن	استاد - بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی - دانشگاه فردوسی مشهد
مصلی نژاد، هادی	دانشیار پژوهش- موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور
معصومی، حسین	استاد- ویروس شناسی گیاهی - دانشگاه شهید باهنر کرمان
مهدیخانی مقدم، عصمت	استاد- بیماری شناسی گیاهی - دانشگاه فردوسی مشهد
مهرور، محسن	دانشیار- ویروس شناسی گیاهی- دانشگاه فردوسی مشهد
تاراسکو، استاکیو	دانشیار- حشره شناسی -دانشگاه باری آلدومورو- ایتالیا
راشد محصل، آرش	محقق- اکولوژی حشرات - تگزاس
درویس، سیل	استاد-بیماری شناسی گیاهی -دانشگاه آرتوکلوماردین ترکیه
لهلالی، رشید	دانشیار- آسیب شناسی گیاهی و میکروبیولوژی- مدرسه ملی کشاورزی مکنس، مراکش
ورا کروز، کاسیانا	استاد- بیماری شناسی گیاهی- موسسه بین المللی تحقیقات برنج و آسیب شناسی گیاهی، ماکاتی، فیلیپین

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

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

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

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

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, 2026, p. 637-647

The Effect of Methoxyfenozide 30% + Indoxacarb 10% (Metin SC 48%) Against Codling Moth, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae)

Ali Mohammadipour[1]*, Farnaz Seyyedi Sahebari[2], Zarir Saeidi[3]

1- Agricultural Entomology Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
2- Plant Protection Research Department, East Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, East Azerbaijan, Iran
3- Plant Protection Research Department, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, Chaharmahal and Bakhtiari, Iran
(*- Corresponding author's Email: a.mohammadipour@areeo.ac.ir)

Received: 10-02-2026
Revised: 15-06-2026
Accepted: 22-06-2026
Available Online: 22-06-2026

How to cite this article:
Mohammadipour, A., Seyyedi Sahebari, F., & Saeidi, Z. (2026). The effect of Methoxyfenozide 30% + Indoxacarb 10% (Metin SC 48%) against Codling moth, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *Iranian Plant Protection Research*, *40*(3), 637-647. (In Persian). https://doi.org/10.22067/JPP.2026.97553.1277

Introduction

The codling moth, *Cydia pomonella* L. is a key pest of pome fruit crops, primarily apples and pears orchards and one of the important pests of other grain crops and walnuts. Losses, which can be over 80% are caused by larvae which penetrate into fruits, damaging them and causing them to fall. The control of *C. pomonella* is very complex and includes several methods. Its natural enemies can reduce its population, but their efficiency often does not have any practical value. Chemical treatment plays an important part in the control of codling moth. Insecticides of various chemical types can be used for that purpose: organophosphates, pyrethroids, inhibitors of insect growth (inhibitors of chitin synthesis, juvenoids). Chemical insecticides are the most common method used to control this pest. To diversify the basket of insecticides to control this key pest and prevent the emergence of resistance to insecticides. It is very important to efficiently suppress the first generation of this pest, so that the intensity of infestation could be reduced during the second generation. The control of the second generation causes much more problems. Imagoes flying out in succession and the presence of newly laid and almost hatched eggs at the same time make impossible the use of insect growth regulators, which proved highly efficient in the control of the first generation. Resistance development is one of the major problems in applying the insecticides for the control of *C. pomonella*. According to numerous reports, codling moth has developed the resistance to chemical insecticides with different activity mechanisms at various localities throughout its distribution area. To diversify the insecticide portfolio for the management of this key pest and delay the development of insecticide resistance, the efficacy of several insecticides was evaluated at the following concentrations: methoxyfenozide 30% + indoxacarb 10% (Metin SC 40%) with concentrations of 0.75 and 0.5 ml L^{-1}, Cypermethrin EC 40% with a concentration of 0.75 ml L^{-1}, Acetamiprid (Mospilan SP 20%) with a concentration of 0.5 ml L^{-1}, Phosalone (Zolon EC 35%) with a concentration of 1.5 ml L^{-1}, Thiacloprid (Biscaya OD 24%) 0.5 ml L^{-1}.

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

https://doi.org/10.22067/Jpp.2025.65326.1252

Materials and Methods

The effectiveness of the combinations of methoxyfenozide 30% + indoxacarb 10% (Metin® SC 40%) with concentrations of 0.75 and 0.5 ml L^{-1}, Cypermethrin EC 40% with a concentration of 0.75 ml L^{-1}, Acetamiprid (Mospilan® SP20%) with a concentration of 0.5 ml L^{-1}, Phosalone (Zolon® EC 35%) with a concentration of 1.5 ml L^{-1}, Thiacloprid (Biscaya® OD 24%) 0.5 ml L^{-1} and control without using any insecticides (only spraying) were investigated in apple orchards with dominant commercial cultivars in three provinces of Tehran (Damavand), East Azerbaijan and Chaharmahal Bakhtiari. Experiments were conducted according to RCBD experiments with four replications. The time of the first treatment was determined on the basis of monitoring the imago flight by pheromone traps and the laying of eggs.

Results and Discussion

The results of examining the efficiency of insecticides applied for control of codling moth, at the locality. Statistically significant and very significant differences were also determined between the control (untreated plot) and all treatments with the insecticides. ANOVA analysis revealed statistically significant differences among treatments, according to the obtained results from East Azerbaijan and Chaharmahal Bakhtiari. The effect of the treatments on pest control was evaluated 7, 14, 21, and 28 days after spraying. Sampling was done from apple fruits, and the average of the treatments was compared 28 days after spraying using Duncan's test. It was done at a 5% probability level. The results showed that all the evaluated treatments had a significant difference compared to the control treatment without spraying, and had an acceptable efficiency in reducing the codling moth damage. The percentage reduction of fruit contamination after 28 days of spraying in Cypermethrin treatments (EC 40%) was 0.75 ml L^{-1} with an average between 64.37-91.36%, Acetamiprid (SP 20%) with a concentration of 0.5 ml L^{-1} with The average is 64.02-91.24%, Phosalone (EC 35%) with a concentration of 1.5 ml L^{-1} with 64.29-92.78%, Thiacloprid (OD 24%) with a 0.5 ml L^{-1} with an average of 69.5-87.3%, methoxyfenozide 30% + indoxacarb 10% (SC 40%) with a concentration of 0.5 ml L^{-1} with an average of 54.04-89.17% and methoxyfenozide 30% + indoxacarb 10% (SC 40%) with a concentration of 0.75 ml L^{-1} with an average of 77.28-96.04%.

Conclusion

Finally, applied 30% methoxyfenozide + 10% indoxacarb (SC 40%) with a concentration of 0.75 ml L^{-1} had an acceptable efficiency and approved.

Keywords: Concentration, Cypermethrin, Efficacy, Insecticide, Management

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

مقاله پژوهشی
جلد ۴۰ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۶۴۷-۶۳۷

تأثیر حشره‌کش متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (متین SC 40%) روی کرم سیب *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae)

علی محمدی پور[۱*]- فرناز سیدی صاحباری[۲]- زریر سعیدی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۰۱

چکیده:

کرم سیب (*Cydia pomonella* L.)، آفت کلیدی باغات سیب و از آفات مهم دیگر درختان دانه‌دار و گردو است. استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی رایج‌ترین روش مهار این آفت می‌باشد. به‌منظور تنوع‌بخشی به سبد حشره‌کش‌های مؤثر بر این آفت و جلوگیری از بروز مقاومت به حشره‌کش‌ها، کارآیی ترکیبات متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (متین® SC 40%) با غلظت‌های ۰/۷۵ و ۰/۵ در هزار، سایپرمترین EC 40% با غلظت ۰/۷۵ در هزار، استامی پراید (موسپیلان® SP 20%) با غلظت ۰/۵ در هزار، فوزالن (زولون® EC 35%) با غلظت ۱/۵ در هزار، تیاکلوپراید (بیسکایا® OD 24%) به نسبت ۰/۵ در هزار و شاهد بدون استفاده از هر گونه حشره‌کش (صرفاً آب‌پاشی) بر مهار کرم سیب مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش در باغ سیب با ارقام تجاری ارقام رد و گلدن، در سه استان تهران (دماوند)، آذربایجان شرقی و چهارمحال بختیاری در قالب طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در نسل دوم آفت انجام و جهت ارزیابی تأثیر تیمارها بر مهار آفت، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بعد از سم‌پاشی از میوه‌ها نمونه‌برداری شد و مقایسه میانگین تیمارها، ۲۸ روز بعد از سم‌پاشی با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که تمامی تیمارهای مورد ارزیابی اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد (بدون سم‌پاشی) داشته و کارآیی قابل قبولی در کاهش خسارت کرم سیب داشتند. درصد خسارت به میوه‌ها بعد از ۲۸ روز از سم‌پاشی در تیمارهای سایپرمترین (EC 40%) ۰/۷۵ در هزار، استامی پراید (SP 20%) با غلظت ۰/۵ در هزار، فوزالن (EC 35%) با غلظت ۱/۵ در هزار، تیاکلوپراید (OD 24%) به نسبت ۰/۵ در هزار، متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) با غلظت ۰/۵ در هزار و متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) با غلظت ۰/۷۵ در هزار کمتر از ۲ درصد بود. در نهایت می‌توان اشاره کرد که تیمار حشره‌کش متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) با غلظت ۰/۷۵ در هزار، کارآیی قابل قبولی داشته است.

واژه‌های کلیدی: حشره‌کش، سایپرمترین، غلظت، کارآیی، مدیریت

۱- بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۲- بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، آذربایجان شرقی، ایران
۳- بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چهارمحال و بختیاری، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: a.mohammadipour@areeo.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/JPP.2026.97553.1277

مقدمه

سیب یکی از محصولات اصلی بخش باغبانی کشور ایران است. در سال ۱۴۰۳، بیشترین میزان تولید از بین محصولات باغی مربوط به سیب با تولید حدود ۴/۴۱ میلیون تن و سهم ۱۶/۳۶ درصد از کل میزان تولید محصولات باغی بوده که استان‌های آذربایجان غربی با سهم ۳۰/۸۲ درصدی، آذربایجان شرقی با سهم ۱۷/۹۴ درصدی، فارس با سهم ۸/۵۷ درصدی، تهران با سهم ۸/۴۴ درصدی و اصفهان با سهم ۴/۳۱ درصدی در رتبه‌های اول تا پنجم تولیدکنندگان سیب کشور را به خود اختصاص داده اند (Ministry of Agriculture-Jihad, 2024). این محصول مورد حمله تعداد زیادی از حشرات و کنه‌ها قرار می‌گیرد. کرم سیب (*Cydia pomonella* L.)، گسترده ترین آفت میوه‌های دانه‌دار و گردو در دنیا به‌جز ژاپن وکره و قسمت-های غربی استرالیا است که موجب خسارت اقتصادی می‌شود. این آفت در صورت عدم مهار، قادر است که بیش از ۵۰ درصد و گاهی تا ۹۰ درصد محصول را در مناطق مختلف کشور از بین ببرد (Barnes, 1991; Rajabi, 2011). بر همین اساس و به‌منظور جلوگیری از ایجاد خسارت در این محصول، روش‌های مختلفی برای مهار این آفت مورد استفاده قرار گرفته است (Croft & Riedl, 1991) در میان این روش‌ها، مهار شیمیایی از عمومیت بیشتری برخوردار است و سالیان درازی است که استفاده می شود. به‌طوری که به‌دنبال ظهور مقاومت به حشره‌کش کلره د.د.ت (Cutwright, 1954) و به‌دلیل افزایش مقاومت، حشره‌کش‌های فسفره آلی معرفی و از اواسط ۱۹۵۰به‌صورت گسترده مورد استفاده قرار گرفته است. آزینفوس متیل (گوزاتیون®) از جمله حشره‌کش‌های شیمیایی است که از زمان معرفی آن در اوایل ۱۹۶۰ میلادی به‌طور گسترده در باغات سیب و گلابی دنیا برای مهار آفات مورد مصرف قرار گرفت (Barnes & Moffitt, 1963). بنا بر گزارش بیرز و برونر (Beers & Brunner, 1991) در حال حاضر حشره‌کش‌های فسفره آلی پرمصرف‌ترین حشره‌کش‌ها در باغات میوه دانه‌دار در سراسر جهان و از جمله آمریکا هستند. در عین حال، گزارش مقاومت کرم سیب و پروانه‌های برگ‌خوار به ترکیبات فسفره آلی و همچنین بروز مقاومت در آفات درجه دومی از قبیل شته‌ها، زنجرک‌ها و مینوزها در باغات سیب غرب آمریکا به این ترکیبات، از جمله عوامل استفاده از دیگر ترکیبات در دنیا است (Valera et al., 1993). به هر حال، ایجاد پدیده مقاومت در کرم سیب در مقابل ترکیبات IGR نیز متصور است. در همین رابطه، آزمایش‌های انجام شده در ایتالیا نشان‌دهنده بروز مقاومت به دیفلوبنزورون (دیمیلین®) در برخی از باغ‌های جنوب فرانسه می باشد (Riedl, 1995). استفاده گسترده و عمومی از حشره‌کش‌های فسفره در باغ‌های تجاری سیب جهت مهار آفات مهمی نظیر کرم سیب منجر به مختل شدن عملیات مهار بیولوژیک سایر آفات این باغات گردیده است. لذا استفاده از ترکیباتی با دامنه تأثیر محدودتر (ترکیبات انتخابی) مناسب‌تر است (Gurr et al., 1999). بر همین اساس، بررسی جهت یافتن ترکیبات جایگزین، شروع و منجر به معرفی برخی ترکیبات جدید شده است. استامی پراید (Assil®) ترکیب جدیدی از گروه کلرونیکوتینیل‌ها و متوکسی فنوزاید (Interpid®) از تنظیم‌کنندگان رشد و اسپینوساد (Success®) که محصولی از تخمیر میکروبی است به‌عنوان سه ماده شیمیایی جدید از سوی EPA (Environmental Protection Agency) به‌عنوان جایگزین‌های کم‌خطر حشره‌کش‌های فسفره جهت مصرف در باغ‌های واشنگتن به ثبت رسیده‌اند (Granger et al., 2003). تأثیر دو حشره‌کش جدید تیاکلوپرید (کالیپسو® SC 480) و نوالرون در مقایسه با آزینفوس متیل (گوزاتیون®) علیه کرم سیب توسط آبستون و لیدستورم (Alston & Lidstrom, 2003) مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص شد که میزان تأثیر این ترکیبات با ترکیب مورد استفاده و مرسوم اختلاف معنی‌داری ندارند. همچنین‌آلسون و همکاران (Alston et al., 2010) موثرترین روش مهار کرم سیب را در ایالت یوتا، استفاده از ترکیب حشره‌کش و فرمون‌های جنسی به‌روش اخلال در جفت‌گیری بیان داشته‌اند. ایشان بر لزوم دقت در شروع استفاده از دو روش فوق (در زمان تفریخ تخم-ها) برای حشره‌کش‌ها و قبل از پرواز اولین حشره نر آفت، تأکید داشته‌اند. همزمان با ورود ترکیبات فسفره به ایران در داخل کشور نیز آزمایش‌هایی جهت تعیین کارآیی آن‌ها انجام گردیده است. دواچی و اسماعیلی (Davachi & Esmaili, 1965) پنج حشره‌کش را برای مهار کرم سیب بررسی و اثر دیازینون (بازودین® EC 60%) را بر مهار این آفت و توقف طغیان کنه‌ها مؤثر گزارش کرده‌اند و اظهار داشتند که در صورت عدم وجود کنه قرمز مخلوط د.د.ت + آزینفوس متیل (گوزاتیون®) علیه کرم سیب و دیگر کنه‌ها قابل توصیه است. همچنین کارآیی چند حشره‌کش از گروه‌های مختلف فسفره، نئو-نیکوتینوئیدها، پایرتروئیدها و تنظیم‌کننده‌های رشد"IGR" در کشور مورد مقایسه قرار گرفته و در این میان، حشره‌کش‌های تیاکلوپرید (کالیپسو® SC 480) ، فن پروپاترین (دانیتول® FL 10%) و کلروپیرفوس متیل (رلدان® EC 40%) بهترین اثر را داشته‌اند. براساس این تحقیقات، به‌کارگیری ترکیباتی مثل لوفنورون (مچ® EC 50%) و ایندوکساکارب (آوانت® SC 150) با توجه به نحوه تأثیر آن‌ها برای مناطق کوهستانی که لیسه سیب هم وجود دارد، مناسب می‌باشد، ولی کاربرد آن‌ها در مناطق دشت توصیه نشده است (Kolyaee et al., 1995). در بررسی تأثیر حشره‌کش‌های هگزافلومورون (کنسالت® EC 10%)، لوفنورون (مچ® EC 50%)، ایندوکساکارب (آوانت® SC 150)، استامی پرید (موسپیلان® SP

20%)، فوزالون (زولون® EC35%)، آزینفوس متیل (گوزاتیون® EC 20%) و فرمولاسیون جدید از فن پروپاترین (دانیتول® FL 10%) علیه کرم سیب، نتایج نشان دادند که حشره‌کش فن پروپاترین (دانیتول® FL 10%) مؤثرتر از بقیه است (Javadzadeh et al., 2002). در حال حاضر، حشره‌کش‌هایی از قبیل آزینفوس متیل، دیفلوبنزورون، استامی پرید، فوزالون، فن پروپاترین، کائولین، تیاکلوپراید و ساپیرمترین جهت مهار کرم سیب توصیه شده است. ازآنجاکه ترکیبات ارگانو فسفره، دارای دوره تأثیر طولانی می‌باشند و تاکنون باغداران به‌طور گسترده از آن‌ها استفاده کرده و می‌کنند. همچنین به‌علت تکرار سم‌پاشی‌ها، تأثیر حشره‌کش‌ها کاهش یافته و از سوی دیگر، گزارش‌هایی مبنی بر بروز مقاومت در کرم سیب و پروانه‌های برگ‌خوار نسبت به ترکیبات فسفره آلی و همچنین ایجاد مقاومت در آفات ثانویه‌ای نظیر شته‌ها، زنجرک‌ها و مینوزها نسبت به حشره‌کش‌های مورد استفاده در باغ‌های سیب وجود دارد. این مسئله موجب کاهش کارایی حشره‌کش‌ها و نارضایتی کشاورزان شده است؛ به‌طوری‌که برخی از آنان در واکنش به کاهش اثربخشی این ترکیبات، اقدام به افزایش میزان مصرف حشره‌کش‌ها به بیش از مقادیر توصیه‌شده می‌کنند. این رویکرد علاوه بر افزایش هزینه‌های تولید، می‌تواند موجب تشدید آلودگی‌های زیست‌محیطی و به خطر افتادن ایمنی و سلامت غذایی جامعه شود. ازاین‌رو جهت جلوگیری از ایجاد مقاومت در آفت مورد نظر لازم است که حشره‌کش‌های جدید و یا حشره‌کش‌های ترکیبی برای مهار این آفت به ثبت برسد، تا بتوان در هر سم‌پاشی ار گروه‌های مختلف حشره‌کش‌ها جهت مبارزه با آفت کرم سیب استفاده شود. بر این اساس، تحقیق حاضر به‌منظور تنوع بخشی به سبد آفت‌کش‌های کشور برای این آفت انجام شد تا در صورت کارآمد بودن، این حشره‌کش به‌عنوان حشره‌کش جدید برای مهار این آفت معرفی شوند. حشره‌کش جدید متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (متین ۱۰ درصد SC 40%) حشره‌کش ترکیبی می‌باشد. این حشره‌کش با ورود به بدن حشره موجب کاهش تحرک و توقف تغذیه می‌شود. امنیت بالا برای پستانداران و سایر موجودات غیرهدف (LD_{50}= 267- 1732 mg kg^{-1}) و توقف سریع تغذیه در حشرات موجب شده است که این حشره‌کش‌ها در برنامه‌های مدیریت تلفیقی باغ‌های سیب مورد استفاده قرار گیرد (Talebi Jahromi, 2006; Karimzadeh & Hejazi, 2014). ازاین‌رو با توجه به اینکه آفت کرم سیب، تخم خود را روی میوه می‌گذارد، به نظر می‌رسد که این حشره‌کش در مهار آین آفت مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سه منطقه استان تهران (منطقه جابان شهرستان دماوند با طول جغرافیایی "۱۹٫۷۶'۱۲°۵۲ و عرض جغرافیایی '۰۱/۴۳"۳۸°۳۵)، آذربایجان شرقی (نهند طول جغرافیایی "۲۲'۹/۴۱°۴۶ و عرض جغرافیایی '۹/۱۶"۳۸°۱۷) و چهار محال و بختیاری (منطقه روستای چشمه علی بخش گندمان شهرستان بروجن طول جغرافیایی "۵۶/۲۴'۸°۵۱ و عرض جغرافیایی '۲۷/۵۹"۵۱°۳۱) در باغ سیب با ارقام تجاری رد و گلدن در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با هفت تیمار و چهار تکرار در سال ۱۴۰۲ به‌شرح زیر انجام شد (جدول ۱).

جدول ۱- حشره‌کش‌های مورد استفاده در آزمایش

Table 1- Insecticides used in the experiment

Row	Treatment	Concentration (ml & g L)	IRAC	Manufacturer companies
1	Cypermethrin EC 40%	0.75	3A	Golsam Chemical
2	Acetamiprid (Mospilan SP20%)	0.5	4A	Golsam Chemical
3	Phosalone (Zolon 35% EC)	1.5	1B	Mahan Chemical
4	Thiacloprid (Biscaya OD 24%)	0.5	4A	Kimiya gohar khak Chemical
5	methoxyfenozide 30% + indoxacarb 10% (Metin SC 40%)	0.75	18+22A	Golsam Chemical
6	methoxyfenozide 30% + indoxacarb 10% (Metin SC 40%)	0.5	18+22A	Golsam Chemical
7	Water			

زمان محلول‌پاشی با استفاده از تله‌های فرمونی با نصب تله‌های فرمونی در محل (با فاصله حداقل ۲۰۰ متر از قطعات آزمایشی) و شمارش تله‌ها به‌طور هفتگی تعیین شد (شکل ۱). زمان انجام سم‌پاشی‌ها در هر منطقه با توجه به روند تغییرات جمعیت آفت (یک هفته بعد از اوج پرواز) تعیین و سم‌پاشی با استفاده از سم‌پاش موتوری لانس‌دار انجام گرفت. لازم به ذکر است که در هر سه منطقه انتخاب‌شده، کرم سیب دارای سه نسل است که انجام پروژه در نسل دوم کرم سیب انجام شد (نسل اول به‌دلیل: ۱- فعالیت نسل اول عموماً با سرمای بهاره و بارندگی مواجه می‌شود که عموماً فعالیت حشره را تحت تأثیر قرار می‌دهد. ۲- ریزش میوه‌ها تحت تأثیر

فنولوژی درخت در اول فصل زیاد است که این امر کار ارزیابی را مشکل می‌کند. ۳- به‌دلیل تغییرات جوی به‌خصوص بارندگی، سم‌پاشی نسل اول عموماً کم‌تأثیر است). در این آزمایش، هر درخت به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شده و برای هر تیمار ۱۰ درخت به‌فاصله پنج متر از یکدیگر در نظر گرفته شد و از چهار درختان میانی جهت نمونه‌برداری استفاده شد.



شکل ۱- نصب تله فرمونی کرم سیب در ارتفاع دو متری از سطح زمین و شکار حشرات کامل کرم سیب در تله فرمونی

Figure 1- Installing a pheromone trap of codling moth at two meters above the ground and catching adult codling moth in the pheromone trap

برای ارزیابی تأثیر تیمارها در مهار آفت، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بعد از سم‌پاشی، ۱۰۰ میوه سیب به‌طور تصادفی مورد بررسی قرار گرفت و تعداد سیب‌های کرمو روی درختان و همچنین میوه‌های ریزش‌کرده در پای درختان ثبت گردید. سپس با استفاده از روش میلتیک و همکاران (Miletic et al., 2011) (معادله ۱) درصد کارآیی تیمارها مورد ارزیابی قرار گرفت.

(۱)

$$\text{درصد کارآیی} = \frac{\text{درصد میوه‌های آلوده در شاهد} - \text{درصد میوه‌های آلوده در تیمار}}{100 - \text{درصد میوه‌های سالم در شاهد}} \times ۱۰۰$$

پس از این کار، با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 در ابتدا تجزیه واریانس مرکب براساس اثر متقابل تیمار در مکان‌های مختلف انجام شد. امّا به‌دلیل بروز اختلاف معنی‌دار در مناطق انجام پروژه، مجدداً تجزیه واریانس ساده به‌صورت جداگانه برای هر منطقه به انجام رسید. گروه‌بندی‌های مربوطه با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ = α مورد مقایسه گرفت.

نتایج

براساس تجزیه واریانس مرکب نتایج سه منطقه اثر متقابل تیمار در مکان معنی‌دار شد ($F_{10,45}$=2.47; P=0.019; C.V.= 8.52%)، لذا تجزیه واریانس به‌طور جداگانه برای هر منطقه انجام گردید. در استان آذربایجان شرقی، فعالیت نسل دوم در این منطقه از ۳۰ خرداد ماه شروع و در ۷ تیر ماه به اوج خود رسید و یک هفته بعد از اوج پرواز، سم‌پاشی انجام گرفت. براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌های استان آذربایجان شرقی پس از گذشت هفت روز از سم‌پاشی ($F_{5,15}$ = 2.82; P = 0.06; C.V.= 18.24%)، روز ۱۴ بعد از سم‌پاشی ($F_{5,15}$ = 6.74; P = 0.002; C.V.= 11.25%)، ۲۱ روز بعداز سم‌پاشی ($F_{5,15}$ = 4.99; P = 0.007; C.V.= 5.71%) و ۲۸ روز از سم‌پاشی ($F_{5,15}$ = 2.21; P = 0.02; C.V.= 17.39%) از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بین تیمارهای مورد بررسی مشاهده شد. بر این اساس، مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد ارزیابی در سطح احتمال پنج درصد وجود داشت. نکته قابل توجه مربوط به تیمار متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) ۰/۷۵ در هزار است که با میانگین درصد کاهش آلودگی میوه‌ها بین ۸۵/۱۹ – ۶۶/۳۱ درصد کمترین خسارت به آفت کرم سیب را در تمام مراحل آزمایش نشان داد و کمترین کارآیی در کاهش خسارت کرم سیب نیز در تیمار متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) ۰/۵ در هزار با میانگین ۷۰/۳۹ – ۳۶/۷۶ درصد بیشترین خسارت به کرم سیب مشاهده شد (جدول ۲).

در چشمه علی بخش گندمان شهرستان بروجن این استان چهار محال و بختیاری فعالیت نسل دوم در این منطقه از ۲۱ خرداد ماه شروع و در ۲۸ خرداد ماه به اوج خود رسید. ازآنجایی‌که یک هفته بعد از اوج، زمان تخم‌ریزی و بهترین زمان مبارزه بود، بر این اساس، پروژه در آن زمان اجرا شد. تأثیر حشره‌کش‌های مورد بررسی این منطقه در کاهش میزان خسارت کرم سیب در ۷ ($F_{5,15}$ = 1.67; P = 0.19; C.V.= 15.24%)، ۱۴ ($F_{5,15}$ = 1.17; P = 0.37; C.V.= 5.79%)، ۲۱ ($F_{5,15}$ = 1.47; P = 0.26; C.V.= 5.09%) و ۲۸

($F_{5,15}$ = 0.54; P = 0.74; C.V.= 7.43%) روز بعد از سم‌پاشی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد نداشت. امّا نتایج حاصل از مقایسه میانگین کارآیی تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد در روز هفتم روز بعد از سم‌پاشی نشان داد که کمترین کارآیی در مهار کرم سیب در تیمار متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) ۰/۵ در هزار با میانگین ۷۵/۳۱ درصد در گروه آماری (B) و بیشترین کارآیی در تیمار متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) ۰/۷۵ در هزار با میانگین ۹۶/۸۵ درصد در گروه آماری (A) مشاهده شد. امّا ۲۱ روز بعد از سم‌پاشی کمترین کارآیی در تیمار تیاکلوپراید (OD 24%) ۰/۵ در هزار با میانگین ۸۸/۸۳ درصد به دست آمد (جدول ۳).

جدول ۲- میانگین درصد کارآیی تیمارهای مختلف در مهار کرم سیب (*Cydia pomonella* L.) در روزهای هفتم، چهاردهم، بیست و یکم و بیست و هشتم، در نهند (آذربایجان شرقی)

Table 2- Mean percentage of efficacy in different experimental treatments against the codling moth (*Cydia pomonella* L.) in 7, 14, 21, and 28 days after spraying in Nahand (East Azerbaijan)

Treatments	7+	14+	21+	28+
Cypermethrin (0.75)	41.14± 4.86^{b}	61.31± 5.63^{b}	80.07± 0.81^{ab}	74.95± 5.37^{ab}
Acetamiprid (0.5)	49.21± 3.88^{ab}	71.89± 2.55^{ab}	77.43± 2.22^{bc}	58.56± 7.26^{b}
Phosalone (1.5)	43.24± 2.79^{b}	63.31± 2.05^{b}	75.65± 3.66^{bc}	74.99± 2.61^{ab}
Thiacloprid (0.5)	58.19± 4.39^{ab}	64.97± 3.24^{b}	80.06± 0.83^{ab}	74.78± 2.61^{ab}
Methoxyfenozide 30% + Indoxacarb 10% (0.5)	36.76± 3.46^{b}	49.29± 5.73^{c}	70.39± 3.32^{c}	59.69±5.82 ^{b}
Methoxyfenozide 30% + Indoxacarb 10% (0.75)	66.31± 6.51^{a}	77.15± 2.19^{a}	85.19± 1.66^{a}	80.46± 4.78^{a}

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است

Different letters within a column are significantly different according to Duncan's multiple range test (P< 0.05).

جدول ۳- میانگین درصد کارآیی تیمارهای مختلف در مهار کرم سیب (*Cydia pomonella* L.) در روزهای هفتم، چهاردهم، بیست و یکم و بیست و هشتم، در بروجن (چهار محال و بختیاری)

Table 3- Mean percentage of efficacy in different experimental treatments against the codling moth (*Cydia pomonella* L.) in 7, 14, 21, and 28 days after spraying in Borujen (Chaharmahal Bakhtiari)

Treatments	7+	14+	21+	28+
Cypermethrin (0.75)	90.01± 5.75^{ab}	93.75± 2.19^{a}	90.25± 3.37^{ab}	91.42± 3.97^{a}
Acetamiprid (0.5)	86.43± 4.72^{ab}	91.67± 3.47^{a}	93.56± 2.59^{ab}	93.29± 3.09^{a}
Phosalone (1.5)	91.85± 4.93^{ab}	93.91± 3.95^{a}	93.69± 2.56^{ab}	91.65± 4.19^{a}
Thiacloprid (0.5)	84.73± 6.06^{ab}	87.24± 3.24^{a}	88.83± 2.68^{b}	88.38± 3.15^{a}
Methoxyfenozide 30% + Indoxacarb 10% (0.5)	75.31± 5.93^{b}	93.33± 4.0873^{a}	93.71± 2.57^{ab}	91.34±3.32 ^{a}
Methoxyfenozide 30% + Indoxacarb 10% (0.75)	96.85± 3.12^{a}	95.58± 2.59^{a}	96.83± 1.86^{a}	94.87± 3.38^{a}

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است

Different letters within a column are significantly different according to Duncan's multiple range test (P< 0.05).

در منطقه جابان شهرستان دماوند استان تهران، فعالیت نسل دوم نیز به‌علت شرایط جوی همچون خنک شدن هوا و به‌خصوص بارندگی و حتی تگرگ (از ۱۵ خرداد تا ۱۸ خرداد ماه هر روز هفت ساعت در منطقه بارندگی وجود داشت) مختل شد، به‌طوری که جمعیت شکار تله‌ها کاهش یافت و یک اوج فعالیت پروازی کرم سیب که باید در این بازه زمانی (۲۱ خرداد ماه) مشاهده می‌شد، حاصل نگردید. اوج سوم فعالیت پروازی کرم سیب در این منطقه از ۱۷ تیر ماه شروع و در۲۴ تیر ماه به اوج خود رسید. ازآنجایی‌که یک هفته بعد از اوج، زمان تخم‌ریزی و بهترین زمان مبارزه بود، بر این اساس پروژه در آن زمان اجرا شد. نتایج تأثیر حشره‌کش‌های مورد بررسی در کاهش میزان خسارت کرم سیب در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بعد از سم‌پاشی نشان داد که ($F_{5,15}$ = 1.44; P = 0.27; C.V.= 10.79%) روز بعد از سم‌پاشی از نظر آماری بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. امّا ۲۱ ($F_{5,15}$= 2.67; P = 0.05; C.V.= 10.47%) و ۲۸ ($F_{5,15}$ = 2.57; P = 0.05; C.V.= 12.009%) روز بعد از سم‌پاشی از نظر آماری بین تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد مشاهده شد. براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین کارآیی تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد در روز هفتم و ۱۴ روز بعد از سم‌پاشی، تمام تیمارها در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۴). امّا مقایسه میانگین کارآیی تیمارها در ۲۱ روز بعد از سم‌پاشی نشان داد که کمترین کارآیی در تیمار متوکسی فنوزاید ۳۰

درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) ۰/۵ در هزار با میانگین ۷۹/۱۵ درصد در گروه آماری (B) و بیشترین کارآیی در تیمار فوزالن (EC 35%) ۱/۵ در هزار با میانگین ۹۹/۵۹ درصد، متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) ۰/۷۵ در هزار با میانگین ۹۹/۱۱ درصد، استامی پراید ۰/۵در هزار با میانگین ۹۸/۲۱ درصد و سایپرمترین ۰/۷۵ در هزار با میانگین ۹۴/۶۴ درصد در گروه آماری (A) و تیمار تیاکلوپراید (OD 24%) ۰/۵ در هزار با میانگین ۸۹/۳۳ درصد گروه آماری (AB) مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ٤- میانگین درصد کارآیی تیمارهای مختلف در مهار کرم سیب (*Cydia pomonella* L.) در روزهای هفتم، چهاردهم، بیست و یکم و بیست و هشتم، در جابان (شهرستان دماوند، استان تهران)

Table 4- Mean percentage of efficacy in different experimental treatments against the codling moth (*Cydia pomonella* L.) in 7, 14, 21, and 28 days after spraying in Jaban (Tehran)

Treatments	7+	14+	21+	28+
Cypermethrin (0.75)	97.21± 2.75^{a}	93.35± 5.69^{a}	94.65± 5.37^{a}	92.19± 7.81^{ab}
Acetamiprid (0.5)	99.78± 0.12^{a}	97.22± 2.77^{a}	98.21± 1.79^{a}	96.85± 3.12^{a}
Phosalone (1.5)	91.67± 5.33^{a}	99.17± 0.83^{a}	99.59± 0.41^{a}	99.65± 0.15^{a}
Thiacloprid (0.5)	88.89± 4.16^{a}	92.82± 4.09^{a}	89.33± 5.53^{ab}	85.43± 6.08^{ab}
Methoxyfenozide 30% + Indoxacarb 10% (0.5)	85.87± 6.17^{a}	88.73± 2.48^{a}	79.15± 6.87^{b}	75.53±4.39 ^{b}
Methoxyfenozide 30% + Indoxacarb 10% (0.75)	96.25± 0.99^{a}	98.28± 0.98^{a}	99.11± 0.89^{a}	89.69± 4.31^{ab}

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است

.Different letters within a column are significantly different according to Duncan's multiple range test (P< 0.05)

بحث

براساس نتایج، در سه استان آذربایجان شرقی، چهارمحال و بختیاری و تهران در فاصله زمانی ۲۸ روز بعد از سم‌پاشی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مورد بررسی در سطح احتمال پنج درصد مشاهده شد. بر این اساس، مقایسه میانگین تیمارها، ۲۸ روز بعد از سم‌پاشی با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید. در استان آذربایجان شرقی ۲۱ روز بعد از سم‌پاشی درصد کارآیی تیمارها بین ۸۵/۱۹ – ۷۰/۳۹ درصد به‌ترتیب مربوط به تیمار متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) ۰/۷۵ در هزار و تیمار متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) ۰/۵در هزار بود، همچنین در استان چهار محال و بختیاری ۲۱ روز بعد از سم‌پاشی درصد کارآیی تیمارها بین ۹۶/۸۳ – ۸۸/۸۳ درصد به‌ترتیب مربوط تیمار متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) ۰/۷۵ در هزار و تیمار تیاکلوپراید (OD 24%) ۰/۵ در هزار بود و در استان تهران ۲۱ روز بعد از سم‌پاشی کمترین کارآیی در تیمار متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) ۰/۵ در هزار با میانگین ۷۹/۱۵ درصد و بیشترین کارآیی در تیمار فوزالن ۱/۵ در هزار با میانگین ۹۹/۵۹ درصد و تیمار متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (SC 40%) ۰/۷۵ در هزار با میانگین ۹۹/۱۱ درصد به دست آمد. نتایج نشان داد که تمامی تیمارهای مورد ارزیابی با داشتن اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد (بدون سم‌پاشی)، کارآیی قابل قبولی در کاهش خسارت کرم سیب داشتند. هرچند اغلب حشره‌کش‌های مورد بررسی، کارآیی مطلوبی در مهار خسارت کرم سیب داشتند. البته این تفاوت‌ها در درصد کارآیی می‌تواند احتمالاً به‌خاطر بروز پدیده مقاومت باشد که نیاز به بررسی دارد و یا عوامل دیگری چون وجود اختلاف‌های جغرافیایی آفات و ژنتیک جمعیت‌ها در پاسخ به حشره‌کش‌ها باشد (Gao et al., 2021; Balanza et al., 2019). بنابراین کاملاً طبیعی است که جمعیت‌های مختلف پاسخ‌های متفاوتی به حشره‌کش‌ها بدهند (Mosallanejad et al., 2022). براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، در سه استان در فاصله زمانی ۲۸ روز بعد از سم‌پاشی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بین تیمارهای مورد بررسی مشاهده شد. تیمارهای سایپرمترین (EC 40%) ۰/۷۵ در هزار، استامی پراید (SP 20%) با غلظت ۰/۵ در هزار، فوزالن (EC 35%) با غلظت ۱/۵ در هزار، تیاکلوپراید (OD 24%) به نسبت ۰/۵ در هزار و متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (متین SC 40%) با غلظت ۰/۷۵ در هزار دارای کارآیی مطلوبی در مهار خسارت کرم سیب می‌باشند و می‌توان این حشره‌کش‌ها را به‌طور متناوب در مهار آفت کرم سیب مورد استفاده قرار داد.

روش‌های مهار فعلی بر علیه آفت کرم سیب عمدتاً به استفاده از حشره‌کش شیمیایی یا ویروس گرانولوزیس در طول تفریخ تخم‌ها متکی هستند. البته بررسی‌ها به صراحت بر روش‌هایی مبتنی بر مهار آللوکمیکال‌ها (semiochemical) حشرات کامل و لاروهای *C. pomonella* برای مهار در باغ‌ها تمرکز دارد. مباحث مطرح‌شده شامل نقش نیمه‌شیمیایی‌ها در مدیریت تلفیقی آفات، کنترل در سطح منطقه، اخلال در جفت‌گیری، جذب‌کننده‌های حشرات ماده،

کایرومون‌های لاروی و ترکیب آن‌ها، جاذب‌ها و دافع‌های کایرومون حشرات ماده در راهبردهای کنترل و اصلاح تله‌های پیش آگاهی برای جذاب‌تر و اختصاصی شدن وجود دارد (Whitfield & Fountain, 2024). بااین‌حال، حذف حشره‌کش‌های طیف وسیع و در کنار آن با گرم‌تر شدن و غیرقابل پیش‌بینی بودن آب‌وهوا منجر به افزایش جمعیت آفت کرم سیب و طغیان غیرقابل پیش‌بینی گونه‌های بومی و غیربومی شده است (Hulme, 2017). شاید به همین دلیل هنوز مهار شیمیایی یک روش مؤثر است، امّا ایجاد مقاومت و تغییرات آب‌وهوایی به‌طور فزاینده‌ای مهار این آفت را مشکل کرده است (Schmidt et al., 2008). از طرفی، کاهش تنوع حشره‌کش، ناگزیر به استفاده متوالی از یک حشره‌کش برای این آفت می‌شود، هرچند با حداکثر تعداد دفعات استفاده مورد تأیید، محدود شده باشد. ازاین‌رو، اقدامات کنترلی دیگری با نحوه عملکرد متفاوت مورد نیاز است که می‌توانند با حشره‌کش‌های مرسوم برای کاهش مقاومت ترکیب شوند و یا استفاده از حشره‌کش‌های انتخابی با هدف کاهش اثرات سوء بر حشرات غیرهدف در برنامه مدیریت آفت کرم سیب مدنظر قرار گیرد (Maggi & Chreil, 2023). حشره‌کش جدید متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (متین® 40% SC) یک حشره‌کش ترکیبی می‌باشد. ازآنجایی‌که حشره‌کش متوکسی فنوزاید از گروه حشره‌کش‌های شبه‌هورمون پوست‌اندازی است و در گروه ترکیبات مختل‌کننده رشد حشرات قرار می‌گیرد، متوکسی فنوزاید یک حشره‌کش دی اسیل هیدرازینی است که به‌عنوان آگونیست یا مشابه هورمون پوست‌اندازی، ۲۰ – هیدروکسی اکدایسون عمل می‌کند با خاصیت تماسی و گوارشی از گروه تنظیم کننده‌های رشد حشرات که با تأثیر بر گیرنده‌های هورمون پوست‌اندازی سبب تسریع عمل پوست‌اندازی در لارو حشرات به‌خصوص بال‌پولک‌داران می‌شود و همچنین با نابارور کردن تخم‌ها می‌تواند جمعیت آفات پروانه‌ای را مهار کند و انتخابی بودن متوکسی فنوزاید از همین موضوع ناشی می‌شود که میل ترکیب با گیرنده‌های هومورن پوست‌اندازی در لارو پروانه‌ها بیشتر است (King-Jones & Soin et al., 2010 ; Thummel, 2005). متوکسی فنوزاید به‌دلیل کم‌خطر بودن برای انسان و سایر پستانداران و همین طور ایمن بودن برای دشمنان طبیعی آفات از سوی انجمن شیمی آمریکا، جایزه سبز را در سال ۱۹۹۸ به خود اختصاص داد (Mosallanejad, 2021). متوکسی فنوزاید برای مدیریت طیف وسیعی از آفات پروانه‌ای در محصولات کشاورزی شامل درختان هسته‌دار و دانه‌دار، مرکبات، سبزیجات برگی، برنج، ذرت و پنبه در کشورهای اروپایی، استرالیا و آمریکا ثبت شده و از منظر کشاورزی پایدار به‌عنوان یکی از مؤلفه‌های مدیریت تلفیقی آفات توصیه شده است (Daane et al., 2018). ایندوکساکارب که به گروه اکسادیازین تعلق دارد، به‌علت حل شدن در بافت چربی پوسته تخم برای لارو نئونات کشنده است. همچنین این حشره‌کش می‌تواند روی لاروهای جوان نتایج رضایت‌بخشی داشته باشد (Liu et al., 2002). کاربرد این حشره‌کش روی آفت پروانه برگ‌خوار کلم (Hübner) *Trichoplusia ni* در آمریکا نشان داد که بر روی تخم‌ها اثر بسیار ضعیفی داشته، امّا روی لارو مؤثر بوده و لاروهای جوان اثر سریع‌تری نسبت به لاروهای مسن‌تر داشت. این حشره‌کش با ورود به بدن حشره موجب کاهش تحرک و توقف تغذیه می‌شود. ایندوکساکارب با توجه به امنیت بالا برای پستانداران و سایر موجودات غیرهدف و توقف سریع تغذیه در حشرات موجب شده در برنامه‌های مدیریت تلفیقی باغ‌های سیب مورد استفاده قرار گیرد (Talebi Jahromi, 2006; Karimzadeh & Hejazi, 2014). از طرفی، در کرم سیب با توجه به اینکه آفت مورد نظر تخم خود را عموماً روی میوه می‌گذارد، حشره‌کش متوکسی فنوزاید ۳۰ درصد + ایندوکساکارب ۱۰ درصد (متین® 40% SC) با دوز ۰/۷۵ در هزار در صورت پوشش مناسب میوه‌ها با این حشره‌کش می‌تواند هم تخم، لارو نئونات و هم لارو سن اول را در اثر تماس با حشره‌کش از بین ببرند.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج، تیمارهای سایپرمترین (40% EC) ۰/۷۵ در هزار، استامی پراید (موسپیلان 20% SP) با غلظت ۰/۵ در هزار، فوزالن (35% EC) با غلظت ۱/۵ در هزار، تیاکلوپراید (بیسکایا 240 OD) به نسبت ۰/۵ در هزار، متوکسی فنوزاید ۳۰٪ + ایندوکساکارب ۱۰٪ (متین 40% SC) با غلظت ۰/۷۵ در هزار دارای کارایی مطلوبی در مهار خسارت کرم سیب می باشند و می توان این حشره‌کش‌ها را بطور متناوب در مهار آفت کرم سیب مورد استفاده قرار داد.

References

1. Alston, D., & Lidstrom, T. (2003). Codling moth control in apple 2002. In 77th Annual Western Orchard Pest & Disease Management Conference, Portland, Oregon,Vol. 61, p. 150.
2. Alston, D., Murray, M., & Reding, M. (2010). Codling Moth (*Cydia pomonella*). Pests Fact Sheet, Utah State University Extension and Utah Plant Pest Diagnostic Laboratory, ENT-13-06. 7 p.
3. Balanza, V., Mendoza, J. E., & Bielza, P. (2019). Variation in susceptibility and selection for resistance to imidacloprid and thiamethoxam in Mediterranean populations of *Orius laevigatus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *167*, 626–635. https://doi.org/10.1111/eea.12813

4. Barnes, M. M., & Moffitt, H. R. (1963). Resistance to D.D.T in the adult codling moth and reference curves for Guthion and Carbaryl. *Journal of Economic Entomology*, *56*, 722-725. https://doi.org/10.1093/jee/56.6.722
5. Barnes, M. M. (1991). Codling moth occurrence, host race information, and damage. pp. 313-327. In L. P. S. van dar Geest & H. H. Evenhuis (eds.). World Crop Pests, Vol. 5. Tortricid Pests: Their Biology, Natural Enemies and Control, Elsevier, Amsterdam.
6. Beers, E. H., & Brunner, J. F. (1991). Washington state apple and pear pesticide use survey, 1989-1990. Report to USDA- NAPIAP.
7. Croft, B. A., & Riedl, H. W. (1991). Chemical control and resistance to pesticides of codling moth. pp. 371–387. In: L. P. S. van der Geest & H. H. Evenhuis (eds.). World Crop Pests, Vol. 5. Tortricid Pests: Their Biology, Natural Enemies and Control, Elsevier, Amsterdam.
8. Cutwright, C. R. (1954). A codling moth population resistant to D.D.T. *Journal of Economic Entomology*, *47*, 189-190. https://doi.org/10.1093/jee/47.1.189
9. Daane, K. M., Vincent, C., Isaacs, R., & Ioriatti, C. (2018). Entomological opportunities and challenges for sustainable viticulture in a global market. *Annual Review of Entomology*, *63*, 193–214. https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023547
10. Davachi, A., & Esmaili, M. (1965). Testing five poison formulas in controlling apple maggots, *Carpocapsa pomonella* L. *Plant Pests and Diseases*, 23. (In Persian).
11. Gao, Y. F., Gong, Y. J., Cao, L. J., Chen, J. C., Gao, Y. L., Mirab-balou, M., Chen, M., Hoffmann, A. A., & Wei, S.J. (2021). Geographical and interspecific variation in susceptibility of three common thrips species to the insecticide, spinetoram. *Journal of Pest Science*, *94*, 93–99. https://doi.org/10.1007/s10340-019-01128-2
12. Granger, K. R.; Brunneer, J. F., & Doerr, M. D. (2003). Managing codling moth with new insecticides. Assail, Interpid and Success Proceeding of the 77th Annual Western orchard pest & Diseases Management Conference, Portland, Washington.
13. Hulme, P. E. (2017). Climate change and biological invasions: Evidence, expectations, and response options. *Journal Biological Review*, *92*, 1297–1313. https://doi.org/10.1111/brv.12282
14. Javadzadeh. M., Poorhajy, A., & Kolyaee, R. (2002). An investigation on the efficacy of some new insecticides on codling moth, *Cydia pomonella* L. in Iran. In 15th Iranian Plant Protection Congress, Kermanshah, Iran, Vol. 1, p. 356. (In Persian)
15. Karimzadeh. R., & Hejazi, M. J. (2014). The effects of Indoxacarb and Methoxyfenozide against Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Applied Research in Plant Protection*, *4*(1), 93-102. (In Persian)
16. King-Jones, K., & Thummel, C. S. (2005). Nuclear receptors - A perspective from Drosophila. *Nature Reviews Genetics*, *6*, 311–323. https://doi.org/10.1038/nrg1581
17. Kolyaee, R., Akbarzadeh Shokat, G., & Kouroshnejad, M. A. (1995). Final Report on the Effectiveness of Several New Insecticides in Controlling Apple Maggots, 22 p. (in Persian)
18. Liu, T. X., Sparks, A. N., Chen, W., Lian, G. M., & Brister, C. (2002). Toxicity, persistence, and efficacy of indoxacarb on cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae) cabbage. *Journal of Economic Entomology*, *95*, 360-367. https://doi.org/10.1603/0022-0493-95.2.360
19. Maggi, C., & Chreil, R. (2023). Codling moth (*Cydia pomonella*) biology, and integrated pest management. *Tree Fruit Insects*, *1*, 1-12.
20. Miletic, N., Tamas, N., & Graora, D. (2011). The control of codling moth (*Cydia pomonella* L.) in apple trees. *Zemdirbyste (=Agriculture)*, *98*(2), 213-128.
21. Ministry of Agriculture-Jihad. (2024). Iran Agricultural Statistics of the Year 2024. Amarmameh J.3. (in Persian)
22. Mosallanejad, H. (2021). Guidelines for the rotation use of insecticides and acaricides (Classification based on mode of action, IRAC system). Iranian Research Institute of Plant Protection. (In Persian)
23. Mosallanejad, H., Kamali, H., Alizadeh, E., & Gharali, B. (2022). Efficacy comparison of Methoxyfenozide with some insecticides against grape berry moth, *Lobesia botrana* Denis & Schiffermuller (Lepidoptera: Tortricidae) under field conditions. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *36*(1), 55-65. (In Persian). https://doi.org/10.22067/JPP.2021.72410.1048
24. Rajabi, G. R. (2011). Insect Pests of Rosaceous Fruit Trees in Iran. Agricultural Research, Education and Extension Organization Publications. Tehran, Iran. 640 pp.
25. Riedl, H. (1995). First results of studies on resistance of codling moth to diflubenzuron. *Review of Agricultural Entomology*, *7*, 762.
26. Schmidt, S., Tomasi, C., Pasqualini, E., & Ioriatti, C. (2008). The biological efficacy of pear ester on the activity of granulosis virus for codling moth. *Journal of Pest Science*, *81*, 29–34. https://doi.org/10.1007/s10340-007-0181-x
27. Soin, T., Swevers, L., Kotzia, G., Iatrou, K., Janssen, C. R., Rougé, P., Harada, T., Nakagawa, Y., & Smagghe, G.

(2010). Comparison of the activity of non- steroidal ecdysone agonists between dipteran and lepidopteran insects, using cell-based EcR reporter assays. *Pest Management Science*, *66*, 1215–1229. https://doi.org/10.1002/ps.1998

28. Talebi Jahromi, Kh. (2006). Toxicology of Pesticides (Insecticides, Acaricides, and Rodenticides). Tehran University Press. Tehran, Iran. 492 pp.
29. Gurr, G., Thwaite, G. G. W., & Nicol, H. (1999). Field evaluation of the effects of insect growth regulator Tebufenizide on entomophagous arthropods and pests of apples. *Australian Journal of Entomology*, *38*, 135. https://doi.org/10.1046/j.1440-6055.1999.00097.x
30. Valera, L. G., Welter, S. C., Jones, V. P., Brunner, J. F., & Riedl, H. (1993). Monitoring and characterization of insecticide resistance in codling moth (Lep. Torticidae) in four western states. *Journal of Economic Entomology*, *86*(1), 1-10. https://doi.org/10.1093/jee/86.1.1
31. Whitfield, E. C., & Fountain, M. T. (2024). Future semi chemical control of codling moth. *Cydia pomonella*. *Frontiers in Horticulture*, *3*, 1-14. https://doi.org/10.3389/fhort.2024.1446806

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, 2026, p. 649-663

Study of the Production of Spores of the Pathogenic Fungus *Beauveria bassiana* in Liquid and Solid Culture Media and Evaluation of Its Pathogenicity to the Rice Stem Borer (*Chilo suppressalis*) *in vitro*

Farzad Majidi-Shilsar[1*]

1- Rice Research Institute of Iran Rasht, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran
(*- Corresponding author's Email: f.majidi@areeo.ac.ir, majidi14@yahoo.com)

Received: 09-12-2025
Revised: 15-08-2026
Accepted: 19-08-2026
Available Online: 22-06-2026

How to cite this article:
Majidi-Shilsar, F. (2026). Study of the production of spores of the pathogenic fungus *Beauveria bassiana* in liquid and solid culture media and evaluation of its pathogenicity to the rice stem borer (*Chilo suppressalis*) *in vitro*. *Iranian Plant Protection Research*, *40*(3), 649-663. (In Persian). https://doi.org/10.22067/JPP.2026.96878.1267

Introduction

Rice strip stem borer, *Chilo suppressalis* Walker (Lep., Crambidae) is considered as a dangerous pest in rice fields in the north of the country and for more than four decades, the control of this pest is based on the application of chemical insecticides (Solutions and Granules). The use of chemical insecticides and consideration of environmental, economic and ecological considerations in rice fields. The possibility of using *B. bassiana* fungus in the framework of integrated pest management program and in the form of biological control was examined and emphasized. Also, to reduce the use of chemical insecticides, agricultural entomologists today design pest control operations so that living natural agents are more involved in agricultural crops. In this regard, as in the rice agricultural ecosystem, pests are under the influence of numerous enemies, including fungi, viruses and fungi, meanwhile, *B. bassiana* the fungus is of special importance in the control of rice stem borer due to its distribution and abundance in the north of the country. This fungus is now used as a biological control agent and bioinsecticide to control pests of agricultural and horticultural products. Under natural conditions, the fungus causes 10 to 11 percent mortality in the stem-eating pest population.

Materials and Methods

To conduct this study, the *Beauveria bassiana* isolate Mcb18, originally isolated from the rice stem borer and obtained from the Rice Research Institute of Rasht, Iran, was initially cultured on Sabouraud Dextrose Agar supplemented with Yeast Extract (SDAY) medium. The cultures were then incubated at 25 ± 1°C to allow conidial germination. After complete sporulation (14–21 days), the conidia were gently scraped from the surface of the culture medium using a sterile inoculating loop. Sterile distilled water containing 0.02% (v/v) Tween 80 was added to detach the conidia from the culture surface, and the resulting suspension was transferred into a sterile Erlenmeyer flask. After this step, the special suspension was passed through the muslin cloth (mesh 0.5 mm) until it was smooth and only the fungal spores remained.

Solid Culture Media:

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

https://doi.org/10.22067/Jpp.2025.65326.1252

Four solid culture media consisting of rice grains (Hashemi cultivar), wheat grains (Durum cultivar), maize kernels (Chavosh cultivar), and barley grains (Sahand cultivar) were evaluated. Initially, healthy rice grains were boiled for 8–10 min. Wheat grains were immersed in boiling water for 10 min. Cracked maize kernels were soaked in water for 60 min, while barley grains, which had been broken into small pieces, were soaked in water for 10 min.

Liquid Culture Media Tested:

Liquid culture media including potato extract, corn grits extract, corn syrup, washed rice water, and the artificial media SPMB and CSYE were also evaluated Spore Germination Assay. A spore germination assay was conducted for the fungal isolate. Initially, a conidial suspension with a concentration of 1×10^6 conidia mL^{-1} was prepared using a hemocytometer. One milliliter of the conidial suspension obtained from each liquid culture medium was transferred into 10 mL of sterile distilled water supplemented with 0.02% (v/v) Tween 80. Subsequently, 100 µL of the resulting suspension was spread onto PDA plates and incubated at 26 ± 0.5°C under a 12 /12 h light//dark photoperiod for 16–18 h to allow spore germination.

Determination of Fungal Colony-Forming Units (CFU)

To determine the number of fungal colony-forming units (CFU), 250-mL Erlenmeyer flasks, each containing 1 L of the previously prepared liquid culture medium, were used. The flasks were sealed with cotton plugs and aluminum foil and sterilized in an autoclave at 120°C for 20 min. After sterilization, the media were allowed to cool, and tetracycline was aseptically added to each flask at a final concentration of 50 mg L^{-1} (50 ppm) to suppress bacterial contamination.

Insect Rearing

The rice stem borer colony was established using adult moths collected with light traps. Following collection, five pairs of male and female moths were introduced into 1-L Erlenmeyer flasks containing freshly cut rice leaves for oviposition. The flasks were maintained under laboratory conditions at 25 ± 1°C**,** 85% relative humidity, and a 16:8 h (light/ dark) photoperiod. Egg masses were deposited on the rice leaves within 24–48 h after the adults were introduced into the flasks. The egg masses were then carefully removed from the leaves and transferred to test tubes for incubation. Approximately 5 days later, the first-instar larvae hatched from the egg masses. Newly hatched larvae were transferred to plastic containers supplied with fresh rice stems as a food source.

Bioassay of *Beauveria bassiana* and Estimation of LC_{50} and LT_{50}

Larvae of different instars were individually reared in Petri dishes from the beginning of the experiment until the sixth instar. The larvae were fed daily with freshly collected, surface-sterilized rice stems. Each treatment was performed with three replicates, with 10 larvae per replicate. Daily mortality was recorded, and the occurrence of fungal infection in dead larvae was monitored. The observed mortality rates were corrected using Abbott's formula (Abbott, 1925), and the mean time to mortality was calculated.

Results and Discussion

The results of this study showed that the highest conidial production on solid culture media was obtained from rice grains. Moreover, the highest conidial yields in liquid culture media were achieved in CSYE, SPMB, and washed rice water, followed by potato extract, corn syrup, and corn meal media, respectively. The highest dry mycelial biomass in solid and liquid media was recorded in rice grains and wheat grains, SPMB, CSYE, and washed rice water, respectively

Conclussion

Furthermore, the calculated LC_{50} values at 10 days' post-inoculation indicated that conidial concentrations ranging from 7.5×10^5 to 1.8×10^6 conidia mL^{-1} resulted in increased larval cumulative mortality, with mortality rates ranging from 56.8% to 70.34%. The findings of this study highlight the potential of solid culture media for the development of large-scale production systems of the entomopathogenic fungus B. bassiana, which can be incorporated into integrated pest management (IPM) programs, particularly for the control of the rice striped stem borer under field conditions.

Keywords: Bioassay, Conidia, Stem borer

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

مقاله پژوهشی
جلد ۴۰ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۶۶۳-۶۴۹

مطالعه تولید اسپورهای قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* در محیط‌های کشت مایع و جامد و ارزیابی میزان زهرآگینی آن نسبت به کرم ساقه‌خوار نواری برنج (*Chilo suppressalis*) در شرایط آزمایشگاهی

فرزاد مجیدی شیل‌سر[۱*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۲۸

چکیده

قارچ *Beauveria bassiana* برای رشد و تولید اسپور، نیاز غذایی خود را از منابع کربن، فسفر و نیتروژن تـأمین می‌کنـد. تحقیـق حاضـر بـه‌منظور معرفی محیط کشت مناسب برای تولید انبوه در بستر مواد غذایی جامد و مایع می‌باشد. در این پژوهش، اثر چند محیط کشت جامد شامل دانـه جـو (*Hordeum vulgare* L.)، دانه برنج(*Oryza sativa* L.) ، دانه گندم (*Triticum aestivum* L.) و دانه ذرت (*Zea mays* L.) و محیط‌های کشـت مـایع شامل عصاره سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.)، بلغور ذرت، شربت ذرت، آب برنج شسته‌شده، محیط کشـت SPMB و محـیط کشـت CSYE مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش، از جدایه MCB18 قارچ *Beauveria* جداشده از کرم ساقه خوار نواری برنج (*Chilo suppressalis*) اسـتفاده شد. برای تهیه اسپور پایه، محیط کشت[۲] PDA مورد استفاده قرار گرفت. بعد از اسپورزایی، اسپورهای مورد نظر قارچ به ارلن‌های ضدعفونی‌شده حـاوی مواد جامد و مایع، به محیط‌های کشت اضافه شد. سپس محتویات ارلن‌ها تا سه هفته در انکوباتور با دمای ۲ ± ۲۵ نگهداری شدند. نتایج این پـژوهش نشان داد که بیشترین تعداد اسپورها در محیط کشت جامد مربوط به دانه برنج بود. همچنین بیشترین اسپورهای تولیدشده برای محیط‌های کشت مـایع، به‌ترتیب در SPMB، CSYE و آب برنج شسته‌شده، عصاره سیب‌زمینی، شربت ذرت و بلغور ذرت استحصـال شـد. بیشـترین وزن خشـک میسـلیوم در محیط کشت جامد و مایع به‌ترتیب در دانه برنج و دانه گندم، SPMB، CSYE و برنج شسته‌شده مشاهده گردید. در این پژوهش، بیشترین تراکم اسـپور تولیدشده در ماده غذایی برنج شسته‌شده به دست آمد. نتایج بررسی‌های این پژوهش نشان داد که بیشترین میزان کلنی (CFU) در محیط مایع مربـوط به SPMB و CSYE بود. همچنین در این بررسی، محیط‌های غذایی با منشأ گیاهی(دانه برنج و دانه برنج شسته‌شده) در مقایسه با مواد غذایی ترکیبی و مصنوعی از قبیل CSYE و SPMB به‌دلیل ارزان بودن می‌تواند جایگزین مناسبی برای تولید قارچ *B. bassiana* باشد. سرانجام، زهرآگینی اسـپورهای به‌دست‌آمده در محیط مایع و کنیدیوم‌های برداشت‌شده از محیط کشت جامد نسبت به لاروهای آفت ساقه‌خوار (*C. suppressalis*) مورد مقایسـه قـرار گرفت. نتایج حاصل از آزمون زیست‌سنجی کنیدیوم‌های قارچ رشدیافته روی دانه شسته‌شده برنج نشان داد که قدرت زهرآگینی غلظت ۱×۱۰^{۷} کنیـدیوم در میلی‌لیتر روی لارو سن ششم بیشتر از سنین اولیه (۷۳/۳۳ درصد) بود. همچنین نتایج مقدار LC_{50} محاسبه‌شده در ۱۰ روز پس از تلقیح نشان داد که تراکم $۷/۱\times۱۰^{۵}$ تا $۱/۸\times۱۰^{۶}$ کنیدی در میلی‌لیتر، مرگ و میر تجمعی لاروها روند افزایشی داشت، به‌طوری کـه از ۵۶/۸ تـا ۷۰/۳۴ درصـد متغیـر بـود. اهمیت این تحقیق حاکی از آن است که محیط‌های کشت جامد می‌توانند در توسعه برنامه‌های تولید انبوه قـارچ بیمـارگر *B. bassiana* در برنامـه‌های مدیریت تلفیقی آفات به‌ویژه کرم ساقه‌خوار نواری برنج در شرایط مزرعه‌ای مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: آفت ساقه‌خوار،کنیدی، زیست سنجی

۱- مؤسسه تحقیقات برنج کشور، رشت، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: majidi14@yahoo.com
https://doi.org/10.22067/JPP.2026.96878.1267

2-Potato Dextrose Agar

مقدمه

کرم ساقه‌خوار نواری برنج Walker (Lep., Crambidae) (*Chilo suppressalis*) به‌عنوان آفت خطرناک در مزارع برنج (*O. sativa L.*) شمال کشور محسوب می‌گردد و بیش از چهار دهه است که مهار این آفت برپایه کاربرد حشره‌کش‌های شیمیایی (محلول و گرانول) صورت می‌گیرد. سالانه حدود تا ۸۰۰۰ تن از این سموم به شالیزارهای کشور وارد می‌شود که پیامدهای نامطلوب و زیان‌باری برای سلامت جامعه و محیط زیست (انسان، دشمنان طبیعی، آلودگی آب‌های سطحی چاه‌ها، رودخانه‌ها و دریاها) به دنبال دارد (Majidi Shilsar, 2015)، لذا به‌منظور کاهش مخاطرات ناشی از مصرف حشره‌کش‌های شیمیایی و توجه به ملاحظات زیست‌محیطی، اقتصادی و بوم‌شناختی در شالیزارها، امکان استفاده قارچ *B. Bassiana* در چارچوب برنامه مدیریت تلفیقی آفات[1] و در قالب مهار بیولوژیک مورد بررسی و تأکید قرار می‌گیرد (Majdi Shilsar, 2017). همچنین برای کاهش مصرف حشره‌کش‌های شیمیایی، امروزه متخصصان حشره‌شناسی کشاورزی عملیات مهار آفات را طوری طراحی می‌کنند که عوامل طبیعی زنده دخالت بیشتری داشته باشند (Ghasemi et al., 2022). در این ارتباط چون در بوم‌نظام زراعی برنج، حشرات زیان‌آور تحت تأثیر دشمنان متعددی از جمله باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌های بیمارگر حشرات قرار می‌گیرند، در این میان، قارچ *B. Bassiana* به‌لحاظ پراکنش و فراوانی بیشتر در شمال کشور از اهمیت ویژه‌ای در مهار کرم ساقه خوار برنج برخوردار است (Majidi Shilsar et al., 2013). این قارچ امروزه به‌عنوان یک عامل مهار بیولوژیک و حشره‌کش زیستی[2] برای مبارزه با آفات محصولات زراعی و باغی مورد توجه و مصرف می‌شود. در شرایط طبیعی شالیزار، قارچ *B. Bassiana* میزان ۱۰ تا ۱۱ درصد تلفات در جمعیت آفت ساقه‌خوار ایجاد می‌نماید (Majidi Shilsar et al., 2007; Majidi Shilsar, 2017). بنابراین به‌منظور افزایش کارآیی تأثیر بیشتر این عامل در شرایط طبیعی و در سطح مزرعه، نیاز به تولید انبوه قارچ و کاربرد گسترده آن با استفاده از فرمولاسیون‌های مناسب در بوم‌نظام زراعی برنج ضروری به نظر می‌رسد. شایان ذکر است که نزدیک به دو قرن از اثبات توانایی قارچ‌های بیمارگر حشرات در تنظیم و مهار جمعیت برخی حشرات زیان‌آور به محصولات کشاورزی می‌گذرد (Gillespie, 1988).

در بین قارچ‌های بیمارگر حشرات، قارچ (Balsamo) *B. bassiana* Vuillemin (Sordariomycetes, Hypocreales) به‌دلیل دارا بودن توانایی قابل ملاحظه برای مهار جمعیت حشره آفت، بیشترین توجهات را به خود اختصاص داده است (Feng et al., 1994). بنا به گزارش سامسیناکووا و همکاران (Samsinakova et al., 1981)، تولید اسپورهای قارچ *Beauveria* به روش‌های زیر انجام می‌شود: الف-کشت در محیط مایع و تولید اسپورهای درشت (بلاستوسپور)، ب-کشت در محیط جامد و تولید اسپورهای ریز، ج-کشت در دو فاز مایع و جامد. در این ارتباط، نعیمی و همکاران (Naemi et al., 2010) در بررسی کارآیی تراکم‌های مختلف قارچ *B. bassiana* حاصل از محیط‌های غذایی برنج، گندم و سویا (*Glycine max* (L.) Merr.) علیه کرم ساقه‌خوار نواری برنج، دانه برنج را به‌عنوان سوبسترای بهینه برای تولید اسپور معرفی نمودند. همچنین براساس نتایج مطالعات بناموالایی و همکاران (Bana-Molaei et al., 2010) بررسی تأثیر محیط کشت روی زهرآگینی قارچ *B.bassiana* علیه شب‌پره دم قهوه‌ای نشان داد که اسپورهای حاصل از محیط کشت سبوس برنج با ۸۴/۹۵ درصد بیشترین مرگ و میر را روی لارو شب پره داشته است. در مطالعه‌ای دیگر، بناموالایی و همکاران (Bana-Molaei et al., 2008) در ارزیابی محیط‌های جامد طبیعی برای تولید کنیدی قارچ *B.bassiana*، محیط حاوی سبوس گندم به اضافه آب پنیر را به‌عنوان محیطی که بیشترین میزان تولید کنیدی را به خود اختصاص داد، معرفی کردند.

مطالعات اولیه در زمینه تولید اسپور قارچ *B.bassiana* مک لود (Macleod, 1954) نشان داد که این قارچ در محیط کشت جامد، اسپورهای کروی تولید کرده و این اسپورها به‌راحتی در هوا پراکنده و پخش شده و هنگام آلوده‌سازی حشره میزبان به اسپورهای بیضی شکل تبدیل می‌شوند. در مقابل، سامسیناکف (Samsinakova, 1966) در بررسی‌های خود مشاهده کرد که قارچ *B. bassiana* در محیط‌های کشت مایع فقط اسپورهای بیضی شکل تولید می‌کند. پژوهش‌های متعددی روی جنبه‌های مختلف فیزیولوژی و متابولیسم *B.bassiana* متمرکز شد، از جمله تولید آنزیم‌های برون سلولی توسط لئوپلد و سامسیناکووا (Leopold & Samsinakova, 1970)، تولید توکسین توسط سوزوکی وهمکاران (Suzuki et al., 1977) و تولید زیست‌توده در محیط کشت‌های گوناگون توسط توماس و همکاران (Thomas et al., 1987) و سامسیناکف (Samsinakova, 1966). این تحقیقات در نهایت به تولید تجارتی قارچ *B.bassiana* برای استفاده به‌عنوان یک حشره‌کش زیستی انجامید. در زمینه تولید انبوه قارچ *B.bassiana*، گرایس و جارونسکی (Grace & Jaronski, 2005) در سه مرحله بسترهای مختلف از جمله دانه‌های گندم (*T. aestivum*)، جو (*H. vulgare*) و برنج، (*O. sativa*) محیط کشت مایع و مواد جامد را ارزیابی کردند. براساس یافته‌های آن‌ها، دانه جو و محیط کشت CSYP به‌عنوان

1- Integrated pest managemen
2- Bioinsecticide

مناسب‌ترین بسترها معرفی شدند. در مطالعه دیگر، سانتا و همکاران (Santa et al., 2005) با استفاده از بقایای صنایع تبدیلی کشاورزی نشان دادند که ترکیب ۶۰ درصد پوست سیب‌زمینی و ۴۰ درصد تفاله نیشکر بیشترین تولید اسپورهای هوازی قارچ *B. bassiana* با $۱۰^{۱۰}$ ×۳/۴ کنیدی بر گرم توده خشک را در ارلن مایر افزایش داده است. مطالعات لو و همکاران (Lou et al., 2024) به‌منظور بهینه‌سازی محیط کشت قارچ *Beauveria bassiana* و میزان اسپورزایی آن از محصولات جانبی کشاورزی کم‌هزینه نشان دادند که سیب‌زمینی (*S. tuberosum*) سبوس‌گندم و گندم (*T. aestivum*) بیشترین تأثیر را بر تولید هاگ پس از ۱۴ روز کشت داشتند. همچنین آن‌ها اظهار داشتند که گندم، سبوس گندم و چوب بلال بیشترین تأثیر را بر تولید اسپور قارچ داشتند. هدف از انجام این پژوهش، دستیابی به محیط یا محیط‌های کشت بهینه جهت تولید انبوه قارچ *B.bassiana* به‌عنوان یک عامل مهار زیستی علیه *C. suppressalis*، با بررسی اثرات آن در مراحل مختلف لاروی و غلظت‌های مختلف اسپور انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای اجرای این پژوهش، ابتدا جدایه Mcb18 قارچ *B.bassian* (جداشده از حشره کرم ساقه‌خوار برنج در مؤسسه تحقیقات برنج، رشت) روی محیط SDAY[1] کشت داده شد و سپس برای جوانه‌زنی در انکوباتور با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس نگهداری گردید. بعد از اسپوردهی کامل (۱۴ تا ۲۱ روز)، اسپورها از سطح محیط کشت به‌وسیله میله لوپ خراشیده شدند و سپس با افزودن آب مقطر حاوی محلول توئین ۸۰ (۰/۰۲ درصد) اسپورها از سطح جدا و مجدداً در داخل ارلن سترون برای ایجاد محلول سوسپانسیون ریخته شد. بعد از این مرحله، سوسپانسیون حاصل از پارچه ململ (مش ۰/۵ میلی‌متر) عبور داده شد تا صاف شده و فقط اسپور قارچ باقی بماند. بعد از این مرحله، شمارش اسپورها در سوسپانسیون مادر[2] با استفاده از لام گلبول‌شمار انجام گردید و تراکم ۱×۱۰^{۸} کنیدیوم در میلی‌لیتر برای انجام کار تهیه شد.

محیط کشت جامد

چهار نوع محیط کشت جامد شامل دانه برنج (رقم هاشمی)، دانه گندم (رقم دوروم)، دانه ذرت (رقم چاووش) و دانه جو (رقم سهند) مورد آزمایش قرار گرفت. ابتدا دانه‌های برنج سالم به مدت ۸ تا ۱۰ دقیقه جوشانده شد. دانه‌های گندم به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار داده شدند. همچنین دانه‌های شکسته ذرت به مدت ۶۰ دقیقه در آب نگهداری گردید. دانه‌های جو که به قطعات کوچک تبدیل شده بودند به مدت ۱۰ دقیقه در آب نگهداری شد. برای تولید اسپور قارچ *B.bassian* از روش آلوز و پریرا (Alves & Pereira, 1989) که از طبق یا سینی[3] استفاده شده بود به‌کار گرفته شد، در این پژوهش ابتدا ۳۰۰ گرم از دانه‌های موجود به‌طور جداگانه در فلاسک‌های شیشه‌ای ۵۰۰ میلی‌لیتری برای رشد قارچ پخته شد. درب فلاسک‌های شیشه‌ای با پنبه و فویل آلومینیوم بسته شده و در فشار ۱۵ psi به مدت یک ساعت و در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس استریل گردیدند. سپس فلاسک‌های شیشه‌ای برای سرد شدن به زیر هود منتقل شدند. بعد از سرد شدن، درب فلاسک‌ها باز شده و حدود پنج میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور قارچ با تراکم $۱۰^{۸}$ کنیدیوم در میلی‌لیتر اسپور قارچ به‌وسیله میکروپیپت درون هر فلاسک اضافه گردید. مجدداً درب فلاسک‌ها بسته شده و برای پراکنده شدن یکنواخت اسپورها، به‌خوبی تکان داده شدند. سپس در دمای ۰/۵±۲۶ درجه سلسیوس با دوره نوری (L:D) ۱۲:۱۲ به مدت سه هفته در انکوباتور نگهداری شدند. بعد از گذشت ۵۶ تا ۷۲ ساعت، رشد میسلیوم روی سطح دانه‌ها مشاهده گردید. در چهارمین روز، درب فلاسک‌ها باز شدند تا هوادهی و فرآیند اسپورزایی قارچ تسهیل گردد و بعد از هفت روز، رشد یکنواخت میسلیوم و اسپورزایی آشکار شد. در این مرحله، درب فلاسک‌ها باز شده و محتویات آن‌ها روی سینی‌های پلاستیکی استریل با ابعاد ۱۲/۵ × ۴۵ × ۳۰ پخش شد. محتویات هر تیمار در چهار سینی ریخته شده و به مدت چهار روز در زیر هود استریل با دمای ۱±۲۹ درجه سلسیوس در تاریکی نگهداری شدند. به‌منظور اجتناب از کلوخه شدن دانه‌های داخل فلاسک شیشه‌ای، بعد از هفت روز فلاسک‌ها به‌شدت تکان داده شدند تا دانه‌ها و توده میسلیومی از همدیگر جدا شوند.

محیط کشت مایع

همچنین از محیط‌های کشت مایع عصاره سیب‌زمینی، بلغور ذرت، شربت ذرت، آب برنج شسته‌شده، محیط‌های کشت مصنوعی[4] SPMB و CSYE[5] مورد بررسی قرار گرفت. محیط‌های کشت مایع شامل عصاره سیب‌زمینی (شامل ۲۰۰ گرم سیب‌زمینی پوست‌کنده، ۲۰ گرم دکستروز و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب)، بلغور ذرت (شامل ۲۰ گرم بلغور ذرت، ۲۰ گرم پپتون، دو گرم دکستروز و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب)، شربت ذرت (CPY)[6] (شامل ۴۰ گرم شربت ذرت، ۱۰ گرم عصاره مخمر، ۱۰ گرم پپتون و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب)، آب برنج شسته‌شده، و

1-Sabouraud Dextrose Agar Yeast
2-Stock

3-Tray
4- Sabouraud Potato Malt Broth
5- Casein Sucrose Yeast Extract
6- Corn Peptone Yeast

CSYE (شامل ۴۰ گرم گلوکز، ۱۰ گرم KNO3، پنج گرم KH_2PO_4، دو گرم $MgSO_4$، ۰/۰۵ گرم $CaCl_2$، ۲/۵ گرم عصاره مخمر و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب) و SPMB (شامل ۳۰ گرم گلوکز، ۱۵ گرم عصاره مخمر، چهار گرم K_2HPO_4، ۸۰ میلی‌لیتر توین و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب) برای رشد و اسپورزایی قارچ *B. bassiana* مورد ارزیابی قرار گرفتند. بدین ترتیب، ابتدا به‌میزان یک لیتر از محیط را آماده کرده و سپس به‌مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت را در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و در فشار psi15 به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. هم‌زمان با سرد شدن، ۵۰ پی پی ام (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) آنتی بیوتیک (تتراسیکلین) به هر ارلن اضافه شد. در نهایت، یک میلی‌لیتر سوسپانسیون قارچی (تهیه‌شده از محیط کشت SDAY در چهار ارلن از هر محیط کشت به‌طور جداگانه ریخته و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت دو تا سه هفته در انکوباتور نگهداری شدند.

آزمون جوانه‌زنی اسپور

آزمون جوانه‌زنی اسپور برای این جدایه انجام شد. برای انجام آزمون جوانه‌زنی، ابتدا، اقدام به تهیه سوسپانسیون با غلظت 1×10^6 کنیدی در میلی‌لیتر با استفاده از لام گلبول شمارش شد. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپورهای حاصل از هر محیط مایع را در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به اضافه محلول توئین ۸۰ دوصدم درصد ریخته و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون فوق را داخل تشتک پتری حاوی PDA[1] ریخته و بعد از ۱۶ تا ۱۸ ساعت در دمای ۰/۵± ۲۶ در دوره نوری ۱۲:۱۲ نگهداری گردید تا اسپورها جوانه زدند و پس از ۲۴ ساعت یک لامل استریل را روی لام قرار داده و در محیط این لامل تعداد ۱۰۰ کنیدی که دارای لوله جوانه‌زنی با هر طولی که بودند و کنیدی‌هایی که فاقد لوله جوانه‌زنی بودند شمارش شدند و درصد جوانه‌زنی با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد (Petlamul & Prasertsan, 2012). برای صحت شمارش، این عمل سه بار تکرار گردید. جوانه‌زنی اسپور ۹۸ درصد را نشان داد.

$$\text{Germination (\%)} = (a/\ a + b) \times 100 \qquad (۱)$$

که در آن، Germination: (%) درصد جوانه‌زنی، a: تعداد اسپور جوانه‌زده و b: تعداد اسپور جوانه‌نزده است.

تعیین تعداد واحد کلنی قارچ[2]

برای این کار، ابتدا یک لیتر از محیط‌های کشت مایع را که از قبل آماده‌شده را در چهار ارلن مایری ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و درب هرکدام را با پنبه و فویل محکم بسته بسته و در دمای ۱۲۰ درجه به مدت ۲۰ دقیقه داخل اتوکلاو استریل گردیدند. هنگام سرد شدن، ۵۰ میلی‌گرم در لیتر (۵۰ پی پی ام) آنتی بیوتیک (تتراسیکلین) به هر ارلن اضافه شد. در مرحله بعدی، یک دیسک به قطر دو میلی‌متر از قارچ را که در محیط کشت SDAY تهیه شده به ارلن‌ها اضافه گردیدند. این ارلن‌ها روی شیکر چرخان با ۲۲۰ دور در دقیقه در دمای ۱ ±۲۶ درجه سلسیوس به مدت چهار روز نگهداری شدند. در همین مرحله پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون روی شیکر چرخان، میزان یک میلی‌لیتر از هر تکرار به لوله آزمایش استریل با نُه میلی‌لیتر آب مقطر و توئین ۸۰ دو صدم درصد به‌عنوان ماده فعال‌کننده و جداکننده ریخته شد. سوسپانسیون قارچی فوق تا جایی که امکان داشت، رقیق شد (10^{-3} یا 10^{-4}). مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از این سوسپانسیون قارچی را به‌وسیله سمپلر به داخل محیط کشت PDA ریخته و با لوله‌های استریل پیپت پاستور به‌طور یکنواخت پخش شد. در مرحله بعد، سه عدد تشتک پتری از هر تکرار را که تلقیح شده بودند در دمای ۱±۲۶ درجه سلسیوس و با دوره نوری (L:D) ۱۲:۱۲ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند. اسپورهای قارچ بعد از ۱۵ تا ۱۷ ساعت شروع به تندش کردند. سپس تا ۲۴ ساعت در دمای ۱۰ درجه سلسیوس در یخچال نگه‌داری شدند، پس از آن شمارش کلنی‌های تشکیل‌شده انجام شد (Javar et al., 2025). تعداد کلنی‌های تشکیل‌شده (CFU) با استفاده از معادله ۲ محاسبه شد.

$$\text{تعداد واحدهای کلنی (CFU)} = \frac{\text{مجموع تعداد CFU آلوده‌کننده}}{\text{تعداد کل CFU}} \times ۱۰۰ \qquad (۲)$$

پرورش حشره

پرورش حشره ساقه‌خوار با شکار شب‌پره‌های آفت توسط تله‌های نوری صورت گرفت. افراد بالغ شب‌پره‌های بعد از جمع‌آوری به تعداد ۵ جفت فرد نر و ماده با برگ گیاه برنج که از دمبرگ بریده شده بودند در داخل ارلن مایر به حجم یک لیتر برای تخمگذاری قرار داده و در شرایط اتاق (دمای۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۸۵ درصد با دوره نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی) منتقل شدند. ۲۴ تا ۴۸ ساعت بعد، تخمریزی روی برگ‌های داخل ارلن صورت گرفت. سپس دسته‌های تخم از برگ جدا و در لوله آزمایش قرار داده شدند. بعداز ۵ روز لاروها از دسته‌های تخم خارج شدند. سپس لاروهای سن اول به ظرف پلاستیکی که حاوی ساقه‌های تازه برنج بودند انتقال داده شدند. لاروها تا شش سن در آزمایشگاه پرورش داده شدند. درضمن، هر ۴۸ ساعت ساقه‌های برنج قدیمی که زرد و تغییر رنگ داده بودند، تعویض شده و ساقه‌های جدید برای تغذیه لاروهای در ظرف قرار داده شدند. سپس زیست‌سنجی برای لاروها به‌روش غوطه‌وری انجام گردید. در روش غوطه‌وری، هر سن لاروی به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه داخل سوسپانسیون قارچی با سه غلظت مشخص 1×10^5، 1×10^6 و 1×10^7 کنیدی بر میلی‌لیتر غوطه‌ور شدند و سپس

1- Potato dextrose agar
2- Colony-forming unit

لاروهای غوطه‌ور به‌وسیله قیف‌های با سیم توری به‌طور همزمان خارج شدند. برای هر لارو ساقه‌خوار، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول فوق استفاده شد. در تیمار شاهد، لاروهای سن پنجم در محلول Tween 80 ۰/۲ درصد به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه فرو برده شدند. در همه تیمارها، کف داخل تشتک پتری با کاغذ صافی استریل و پنبه استریل آغشته به آب مقطر استریل برای حفظ رطوبت صورت گرفت، سپس ساقه‌های برنج به قطعات پنج سانتی‌متری برش داده و در اختیار لاروهای ساقه‌خوار برنج قرار داده شدند. سپس تشتک‌های پتری به اطاقک رشد با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شدند. قطعات ساقه داخل تشتک پتری در مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت همزمان با تغییر رنگ ساقه تعویض شدند. برای یک دورهٔ دو هفته‌ای، هر روز مرگ‌و میر ثبت گردید. لاروهای مرده از تشتک‌های پتری خارج و با الکل اتیلیک ۷۵ درصد (یک دقیقه)، سدیم هیپوکلریت پنج درصد (یک دقیقه) و سه بار آب‌شویی با آب مقطر استریل ضدعفونی شدند و به تشتک‌های حاوی کاغذ صافی مرطوب و استریل انتقال یافتند و بعد از مرگ، لاروها در انکوباتور با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد در رطوبت نسبی ۵±۸۵ درصد نگهداری شدند تا اسپورزایی روی لاشه‌ها امکان‌پذیر گردد.



شکل ۱- تخم‌گذاری افراد ماده در داخل ارلن‌مایر روی برگ‌های گیاه برنج
Figure 1- Females laying eggs inside erlenmeyer flasks on rice plant leaves

زیست‌سنجی قارچ *B.bassian* و محاسبه LC_{50} و LT_{50}

لاروهای سنین مختلف از همان ابتدا به‌صورت انفرادی تا سن ششم در پتری‌دیش پرورش داده شدند. لاروها روزانه با ساقه‌های تازه و ضدعفونی‌سطحی‌شده تغذیه می‌شدند. هر تیمار در سه تکرار و با ۱۰ لارو در هر تکرار انجام شد. میزان مرگ‌ومیر روزانه ثبت و بروز آلودگی قارچی در لاروها مشاهده گردید.

تحلیل آماری

کشت محیط‌های جامد و مایع در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و چهار تکرار در آزمایشگاه انجام شد. در آزمون زیست سنجی، درصد مرگ و میر با فرمول ابوت اصلاح شد و میانگین زمان تا وقوع مرگ محاسبه گردید. داده‌هایی که توزیع نرمال نداشتند، با تغییر شکل داده‌ها به Arcsin دارای توزیع نرمال جهت ورود به تجزیه و تحلیل آماری شدند آزمون توکی برای مقایسه‌های چندگانه بین غلظت‌های ۱×۱۰^{۵} اسپور ۱×۱۰^{۶} و ۱×۱۰^{۷} کنیدی در میلی‌لیتر انجام شد. آنالیز پروبیت برای تخمین غلظت‌های کشنده LC_{50} و زمان‌های کشنده LT_{50} برای هر سن لاروی و غلظت اسپور قارچ انجام گردید. محدودیت‌های مرجع برای مقادیر LC و LT با فاصله اطمینان ۹۵ درصد محاسبه شدند. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این آزمایش به‌شرح جدول ۱ قابل مشاهده می‌باشد.

مقایسه میانگین تغییرات pH در محیط‌های غذایی جامد (تولید اسپور) و مایع (بلاستوسپور) در جدول ۱ قابل مشاهده است. براساس ان جدول، بیشترین تغییرات در عصاره سیب‌زمینی و کمترین تغییرات در دانه برنج و دانه جو رخ داده است. پس از بررسی تغییرات pH در محیط‌های کشت مایع و جامد در زمان تولید بلاستوسپور و اسپور در هر مورد pH اولیه محیط در اثر فعالیت قارچ به سمت اسیدی شدن پیش رفته است.

جدول ۱- مقایسه میانگین محیط‌های کشت جامد و مایع جهت تولید قارچ بووریا

Table 1- The comparison of the average traits studied in solid and liquid culture mediums for the production for the production of *Beauveria bassiana*

Culture mediums	PH before the test	PH after the test	Spore density Con. ml^{-1} 10^{-7}	Biomass (grams per 200 grams of material)	Colony formed number
CSYE	6.07 ± .05 a*	5.47 ± .10 a	422 ± .01 b	3.92 ± .006 b	301 ±.48 b
Potato extract	6.07 ± .14 a	4.9 ± .07 ab	288± .12 d	1.56 ± .004 d	199 ±.29 d
Corn kernels	6 ± .04 ab	5.37 ± .15 a	251± .12 e	1.23 ± .12 a	109 ±.48
Washed rice grains	5.97 ± .16 ab	5.05 ± .10 ab	620.5 ± .12 a	3.87 ± .12 b	235.5 ± .25 c
Corn grits	5.87 ± .08 ab	4.85 ± .26 ab	187.50 ± .10 f	1.33 ± .008 ed	183 ± .95 c
Barley seed	5.87 ± .14 ab	5.32 ± .20 a	198.75 ± .12 f	1.26 ± .004 ed	110 ±.82
SPMB	5.82 ± .14 ab	5.15 ± .12 ab	458 ± .12 b	4.53 ± .209 a	317± 6.4 a
Rice grain	5.75 ± .06 ab	5.22 ± .09 ab	425.75 ± .12 c	2.38 ± .01 a	179±6.48
Corn syrup	5.52 ± .21 ab	4.45 ± .21 b	202.50 ± .12 f	1.47 ± .006 ed	197.5±.41 d
Wheat grain	535 ± .23 b	4.77 ± .26 ab	250.25 ± .25 e	1.29 ± .004 ed	169±5.35

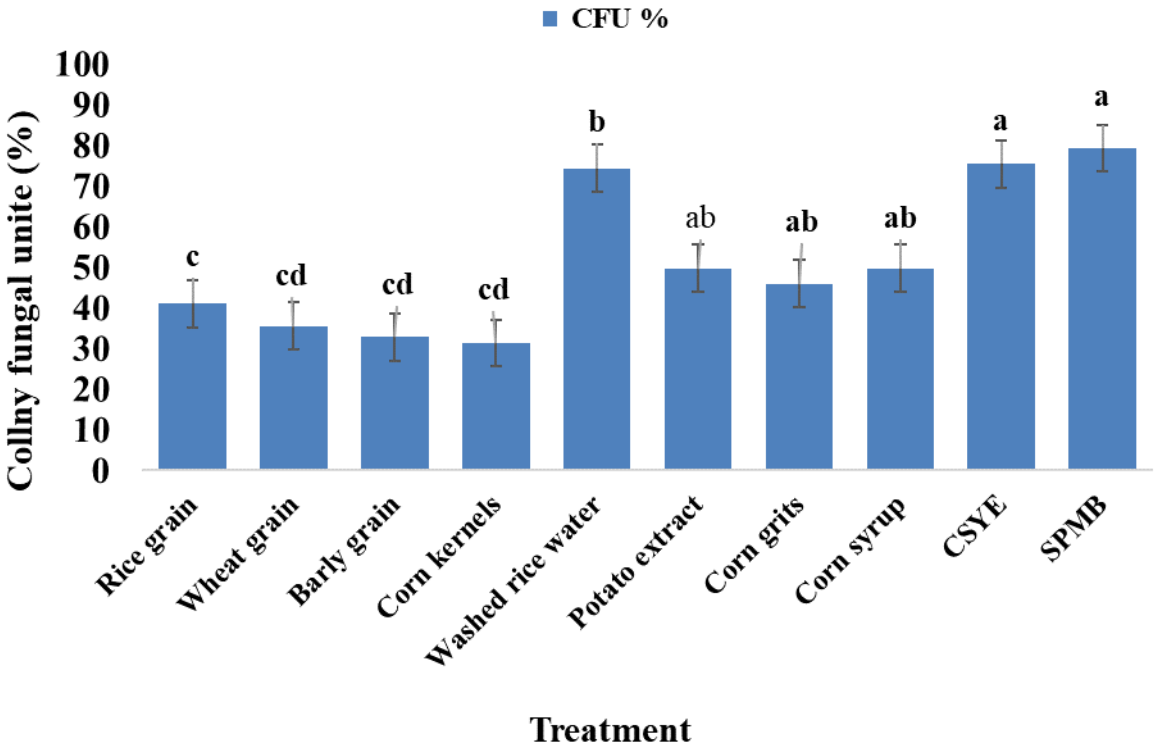
*میانگین‌های دارای حروف مشابه، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی انجام شد.

*Means with similar letters do not differ significantly from each other. Mean comparison was done by Tukey's test.

در همین ارتباط، عسکری و همکاران (Askari et al., 2008) نشان دادند که بیشترین تغییرات pH در محیط کشت ملاس چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) و کمترین آن در محیط کشت با عصاره سیب‌زمینی برای تولید قارچ B. bassiana بوده است. آن‌ها بیان کردند که بیشترین بلاستوسپور تولیدشده مربوط به محیط کشت ملاس چغندر بود. همین پژوهشگران اظهار داشتند که تولید بلاستوسپور در محیط کشت ملاس چغندرقند با افزودن هیدروکربور افزایش یافته است. در مطالعه صورت‌گرفته توسط استفان و زیمرمن (Stephan & Zimmermann, 1997) برای تولید بلاستوسپور قارچ Metarhizium *flavoviride* از منابع غذایی مختلف حاوی مقادیر متفاوت نیتروژن و قند استفاده گردید. آن‌ها بیشترین تولید بلاستوسپور قارچ را سه روز پس از تیمار در مخلوطی از ملاس چغندر قند با مواد حاوی هیدروکربور و نیتروژن مشاهده کردند. همچنین بررسی‌های لتیفیان و راد(Latifian & Rad, 2012) در تولید انبوه قارچ *B. bassiana* روی محیط‌های کشت جامد و مایع شامل آرد گندم، آرد برنج، آرد ذرت، ملاس چغندر قند، ذرت، جو، برنج و سورگوم (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) نشان دادند که اختلاف معنی‌داری بین محیط‌های کشت به‌لحاظ تولید اسپور وجود دارد. همچنین آن‌ها گزارش کردند که بیشترین کلامیدوسپور و کنیدیوفورهای تولیدشده مربوط به ملاس چغندر قند و برنج بود. نتایج پژوهش حاضر برای تولید انبوه قارچ با محیط کشت برنج مطابقت دارد. پاتل و همکاران (Patel et al., 1990) برای تولید قارچ *Metarhizium anisopliae* به‌عنوان عامل بیمارگر حشرات روی محیط کشت‌های مختلف نشان دادند که آب برنج شسته‌شده بیشترین تعداد اسپور را داشته است. همچنین براساس بررسی‌های دیگر پژوهشگران، در تولید انبوه قارچ *B. bassiana*، دانه برنج مناسب‌ترین محیط کشت برای تولید انبوه قارچ عنوان شد (Ibrahim & Low, 1993; Sharma et al., 2002). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که از بین همه محیط‌های کشت مورد آزمایش، بیشترین بلاستوسپور تولیدشده در محیط‌های کشت مایع مربوط به دانه برنج شسته‌شده بوده و به‌لحاظ آماری در گروه اول و سپس دو محیط CSYE و SPMB در گروه دوم قرار گرفتند، و نتایج حاصل از پژوهش حاضر با تحقیقات پاتل و همکاران (Patel et al., 1990) مطابقت دارد. همچنین در آزمایش حاضر، در بین محیط‌های کشت جامد، بیشترین اسپور تولیدشده در دانه برنج به دست آمد که با نتایج تحقیق شرما و همکاران (Sharma et al., 2002) مطابقت دارد. جدول ۲ نشان می‌دهد که بیشترین زیست‌توده تولیدشده در محیط‌های کشت مورد آزمایش مربوط به محیط کشت SPMB به‌مقدار ۴/۵۳ گرم در ۲۰۰ گرم ماده غذایی بود. بعد از آن، در دو نوع مواد غذایی CSYE و دانه برنج شسته‌شده مشاهده شد. در این آزمون، کمترین زیست‌توده تولیدشده مربوط به محیط کشت حاوی دانه ذرت بود. در پژوهش‌های دیگر، گوپلاکریشنان و موهان (Gopalakrishnan & Mohan, 2000)، گوپلاکریشنان و همکاران (Gopalakrishnan et al., 1999) تنسلی و همکاران (Tincilly et al., 2000) گزارش کردند که هویج مناسب‌ترین و ارزان‌ترین محیط کشت برای تولید قارچ‌های ناقص (*Deuteromycetes*) به‌ویژه قارچ *B.bassiana* در مقایس بزرگ می‌باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که محیط‌های غذایی با منشأ گیاهی (دانه برنج و دانه برنج شسته‌شده) از بین مواد غذایی جامد نیز در مقایسه با مواد غذایی ترکیبی و مصنوعی از قبیل CSYE و SPMB به‌دلیل ارزان‌تر بودن، جایگزین مناسبی برای مواد غذایی مصنوعی برای تولید قارچ *B. bassiana* بوده و می‌توان از آن در تولید قارچ بیمارگر حشرات استفاده نمود. در این ارتباط، ابراهام و همکاران (Abraham et al., 2003) بررسی‌هایی برای تولید قارچ

B. bassiana روی مواد مختلف گیاهی انجام داده‌اند. آن‌ها مقادیر مختلف از ملاس چغندر قند را برای تولید قارچ به کار برده و ملاحظه کردند که بیشترین رشد رویشی و تولید اسپور قارچ در غلظت سه تا شش درصد بود.



شکل ۲- درصد رشدکلنی قارچ *Beauveria bassiana* در محیط کشت مختلف

Figure 2- Percentage of colony growth *of Beauveria bassiana* fungus in different culture

همچنین آن‌ها در ادامه پژوهش‌های خود نشان دادند که از بین دانه‌های غلات نظیر سورگوم، انواع ارزن Panicum miliaceum (Blanco.) و برنج و همچنین گیاهان غده‌ای نظیر سیب‌زمینی، هویج (*Daucus carota* L.)، چغندرقند و تاپیوکا[1] (نشاسته‌ای است که از گیاه کاسوا (Manihot esculenta *Crantz*) استخراج می‌شود)، بیشترین رشد میسلیوم روی برنج و سپس سورگوم اتفاق افتاد. این در حالی است که در مقایسه با محیط کشت PDA، بیشترین اسپورزایی روی تکه‌های هویج، تاپیوکا و سیب‌زمینی رخ داد. تأثیر نوع محیط کشت تنها به میزان رشد رویشی و اسپورزایی قارچ مربوط نمی‌شود. در همین رابطه، پژوهش‌های سیواچ و جایپال (Siwach & Jaipal, 2004) نشان داده است که بستر غذایی نه‌تنها روی میزان اسپورزایی بلکه روی میزان بیمارگری قارچ نیز تأثیرگذار است. آن‌ها نشان دادند که قارچ *B. bassiana* روی محیط‌های جامد سبوس ذرت و سبوس گندم بیشترین اسپورزایی را داشت و روی میزبان خود حدود ۷۰ درصد مرگ‌ومیر ایجاد کرد. درحالی‌که اسپورهای تولیدشده روی پوسته برنج ۸۱/۵ درصد مرگ‌ومیر را روی کرم ساقه‌خوار ذرت (*Chilo auricilius*) ایجاد نمود.

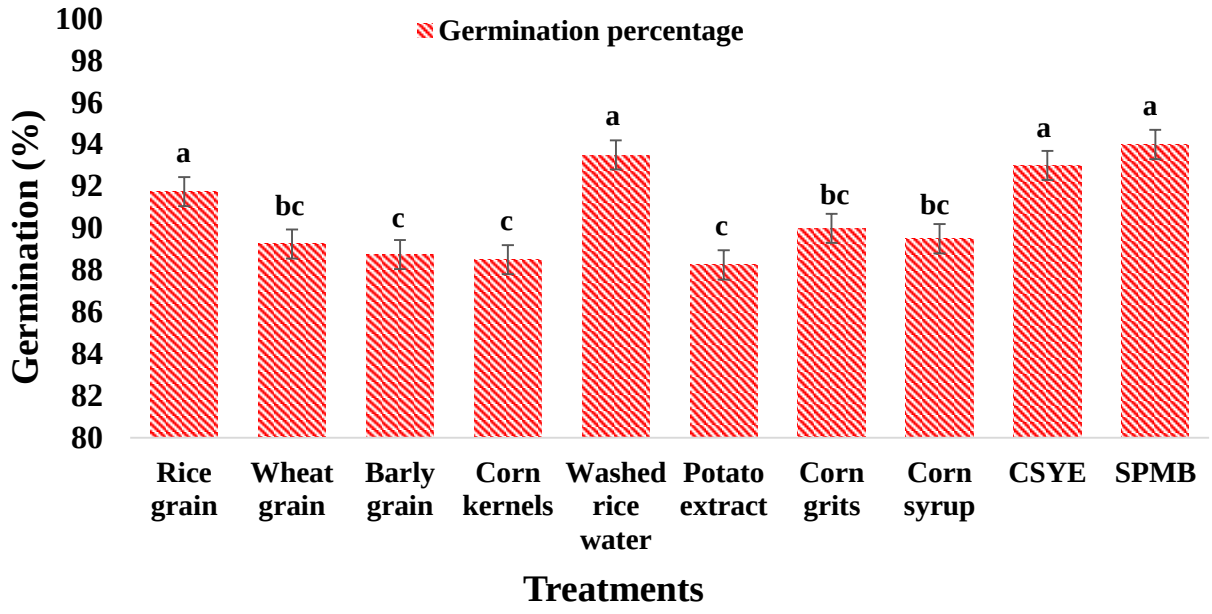
شکل ۲ نشان می‌دهد که بیشترین آلودگی (توده میسیلیومی) در بین محیط‌های کشت مایع مربوط به مواد غذایی SPMB با مقدار ۷۹/۱۸ درصد و بعد از آن ماده غذایی مصنوعی CSYE با مقدار ۷۵/۸۱ درصد می‌باشد. بعد از دو محیط کشت مصنوعی مذکور، آب برنج شسته‌شده به‌لحاظ آلودگی به قارچ *B.bassiana* با مقدار ۵۸/۸۷ درصد در گروه بعدی قرار گرفت. در این ارتباط، چون دو محیط کشت مصنوعی گران بوده و مقرون‌به‌صرفه نمی‌باشد، پیشنهاد می‌گردد که از محیط کشت برنج شسته‌شده برای تولید انبوه قارچ استفاده شود. همچنین در این پژوهش، بیشترین کلنی تشکیل‌شده، روی مواد غذایی SPMB و CSYE و نیز دانه برنج شسته‌شده حاصل شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که دو محیط کشت مایع SPMB و CSYE از مواد غذایی مصنوعی بوده و گران قیمت می‌باشند، لذا، می‌توان از دانه برنج شسته‌شده به‌عنوان مواد غذایی مایع و از دانه

1- Tapioca

برنج به‌عنوان مواد جامد برای تولید قارچ *B. bassiana* استفاده نمود.

شکل ۳، درصد جوانه‌زنی قارچ *B.bassiana* در محیط‌های کشت مختلف را نشان می‌دهد. در این شکل، بیشترین جوانه‌زنی به‌ترتیب در سه محیط کشت SPMB، CSYE و Washed rice grains و Rice grain به دست آمد و به‌لحاظ آماری در یک گروه قرار گرفتند. در همین شکل، نتایج این پژوهش نشان داد که کمترین جوانه‌زنی قارچ در محیط‌های کشت، شربت ذرت، بلغور ذرت، عصاره سیب‌زمینی، دانه ذرت، و دانه گندم مشاهده شد و همگی در گروه بعدی طبقه‌بندی شدند.

در این پژوهش، اثر زهرآگینی اسپورهای تولید شده قارچ *B.bassiana* از دانه برنج شسته‌شده روی لاروهای کرم ساقه‌خوار نواری برنج آزمایش شد. در این مطالعه، همچنین LC_{50} محاسبه‌شده برای هر سن لاروی با استفاده از آنالیز پروبیت در حد اطمینان ۹۵ درصد ارائه شده است (جدول ۲).



شکل ۳-درصد جوانه‌زنی از قارچ *Beauveria bassiana* در محیط‌های کشت جامد و مایع

Figure 3- Germination percentage of *Beauveria bassaina* fungus in solid and liquid culture media

جدول ۲-مقادیر غلظت کشنده قارچ *Beauveria bassiana* علیه سنین مختلف لاروی *Chilo suppressalis* با حدود اطمینان ۹۵ درصد

Table 2- Lethal concentration of *Beauveria bassiana* against *Chilo suppressalis* larvae at 95% fiducial limit

Larval stage	No. larvae	LC_{50} (con ml^{-1}) (95% fiducial limits)	Regression equation	X^2 test
L1	30	7.1×10^5 (39971.56-101867.87)	Y=1.55X-2.55	0.02
L2	30	7.1×10^5 (35853.75-109402.88)	Y=1.27X-1.15	0.16
L3	30	6.8×10^5 (28649.37-122579.36)	Y=0.88X+0.74	1.55
L4	30	1.1×10^6 (60596.36-184455.16)	Y=0.96X+0.09	0.85
L5	30	1.5×10^6 151015.76-254347.06)	Y=0.79X+0.90	0.002
L6	30	1.8×10^6 (95033.26-296624.72)	Y=0.88X+0.37	0.001

جدول ۳، میزان مرگ‌ومیر ناشی از تأثیر قارچ *B.bassiana* روی لاروهای سنین مختلف کرم ساقه‌خوار نواری برنج را نشان می‌دهد. در این جدول، کمترین مرگ‌ومیر لارو در سن اول مربوط به تراکم 10^5 کنیدی بر میلی‌لیتر با مقدار ۴۳/۰۸ و بیشترین

مرگ‌ومیر در تراکم 10^7 کنیدی بر میلی‌لیتر با مقدار ۵۳/۳۳ درصد بود. بیشترین مرگ‌ومیر در تراکم‌های مختلف برای لارو سن ششم با مقدار ۷۳/۳۳ درصد در تراکم 10^7 کنیدی بر میلی‌لیتر مشاهده شد.

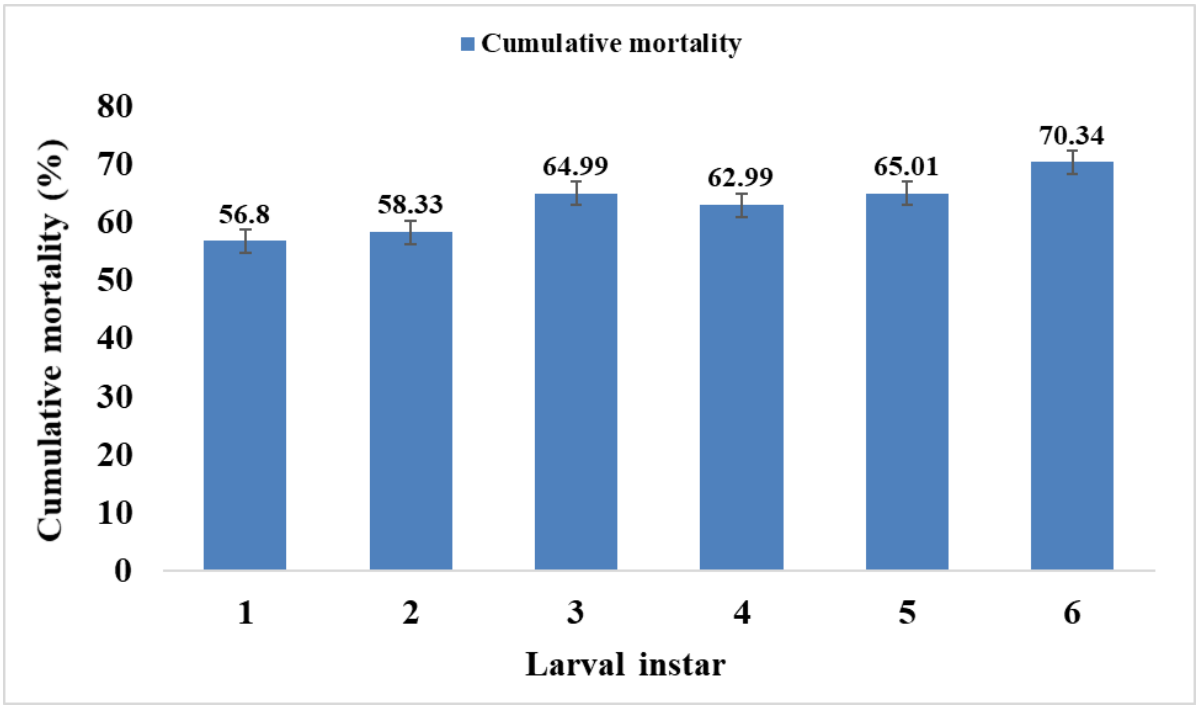
شکل ۴، مرگ و میر تجمعی لاروهای سنین مختلف کرم ساقه‌خوارنواری برنج با تراکم‌های $7/1\times10^5$ تا $1/8\times10^6$ کنیدی در میلی‌لیتر در ۱۰ روز پس از تلقیح با قارچ *B.bassiana*، نشان می‌دهد. همان‌طور که در در این شکل مشاهده میشود مرگ و میر لاروها روند افزایشی داشت، به‌طوری که از ۵۶/۸ تا ۷۰/۳۴ درصد متغیر بود (شکل ۴). شواهد حاصل از این پژوهش، نویدبخش آن است که در فرآیند تجاری‌سازی قارچ‌های بیمارگر حشرات، می‌توان بر پتانسیل بلاستوسپورهای تولیدشده در محیط‌های کشت مایع به‌عنوان یک جایگزین عملی و اقتصادی اتکا نمود.

در این پژوهش، بیشترین مقدار LC_{50} مربوط به لاروهای سن پنجم و ششم ساقه‌خوار به‌ترتیب برابر با $1/5\times10^6$ و $1/8\times10^6$ (کنیدیوم در میلی‌لیتر) به‌ترتیب با حدود اطمینان (95033.26-296624.72; 151015.76-254347.06) محاسبه گردید. در مقابل، در جدول ۲، کمترین مقدار LC_{50} مربوط به لاروهای سن اول و دوم این آفت بود که نشان‌دهنده حساسیت کمتر آن‌ها به قارچ *B. bassiana* می‌باشد، به‌طوری که با افزایش غلظت کنیدی، میزان مرگ‌ومیر لاروها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین اسپورزایی قارچ روی سنین مختلف لاروی با تراکم‌های مختلف متفاوت بود. درصد اسپورزایی با افزایش سن لاروی از لاروهای سن اول تا ششم در هر تراکم افزایش یافت (شکل ۵).

جدول ۳- درصد (میانگین ± خطای استاندارد) مرگ‌ومیر روی مراحل مختلف لاروی کرم ساقه‌خوار *Chilo suppressalis* ناشی از قارچ *Beauveria bassiana* و درصد (میانگین±خطای استاندارد)

Table 3- Percentages (mean±SE) of mortality on differnt larval instars of *Chilo suppressalis* caused by *Beauveria bassiana*

Larval stage	No. larvae	10^5	10^6	10^7
L1	30	43.08 ±5.77	50.00 ±10.00	53.33 ±5.77
L2	30	44.99 ±5.77	53.33 ±5.77	53.33 ±5.77
L3	30	46.66 ±5.77	53.33 ±5.77	53.33 ±5.77
L4	30	50.85 ±5.77	53.53 ±5.77	56.67 ±5.77
L5	30	52.77 ±5.77	53.33 ±5.77	56.67 ±5.77
L6	30	56.99 ±5.77	66.66 ±5.77	73.33 ±5.77



شکل ٤- مرگ و میر تجمعی کرم ساقه‌خوار نواری برنج (*C. suppressalis*) تحت تأثیر غلظت‌های کنیدی قارچ *B. bassiana*

Figure 4- Cumulative mortality of *C. suppressalis* as affected by conidial concentrations of *B. bassiana*

میله‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد میانگین‌ها هستند.

Bars represent the standard error of the means.



شکل ۵- آلودگی لارو سن ششم *C. suppressalis* توسط *B. bassiana*

Figure 5- Infection of sixth-instar Chilo suppressalis larvae by Beauveria bassiana

نتایج این بررسی نشان داد که هرچه تراکم قارچ *B. bassiana* افزایش یابد، مدت زمان کمتری (LT_{50}) لازم است تا آلودگی قارچ روی لاروهای ساقه‌خوار انجام شود، به‌طوری که با تراکم بیشتر کنیدی در میلی‌لیتر، سریع‌ترین مدت زمان (LT_{50})، به مدت ۶/۹۶ روز به دست آمد. این موضوع با بررسی‌های بادی و همکاران (Budi et al., 2013) مطابقت دارد که هرچه حمله بیشتر باشد، لاروها سریع‌تر از عفونت می‌میرند. نتایج بررسی‌های ماسکارین و همکاران (Mascarin et al., 2010) در تولید قارچ‌های *Isaria fumosorosea* و *Isaria farinosa* در تخمیر دو فازی با استفاده از محصولات و پسماندهای کشاورزی-صنعتی نشان داد که بهترین محیط‌های کشت مایع، ملاس نیشکر + آبگوشت برنج، آبگوشت برنج + مخمر و ملاس نیشکر + مخمر + آبگوشت برنج بودند که منجر به بالاترین غلظت کنیدی قابل دوام شدند. در این ارتباط، آنها محیط کشت ملاس + آبگوشت برنج برای مرحله بعدی مطالعه انتخاب شد که در آن تولید هر دو جدایه قارچی در بسترهای دانه جامد ارزیابی شد. در تخمیر حالت جامد، بهترین تولید کنیدی برای *I. farinosa* با کنجاله سویا و ذرت شکسته و برای *I. fumosorosea* با برنج کامل و برنج شکسته حاصل شد. نتایج نشان داد که این دو گونه قارچی را می‌توان با استفاده از تکنیک‌های تخمیر دو فازی به سرعت و با بازده بالاتر کنیدی در منابع کشاورزی-صنعتی تولید کرد. همچنین هاسبیوان و همکاران (Hasibuan et al., 2024) عنوان کردند که تفاوت‌های ایجادشده در LT_{50} در تیمارها ناشی از تعداد کنیدی‌های قارچ *B. bassiana* است که روی بدن لارو قرار گرفته و موجب مرگ آن می‌شوند. در این ارتباط، بررسی‌های هاسیبون و همکاران (Budi et al., 2013)، میزان بیماری‌زایی *B. bassiana* بر مرگ‌ومیر لاروهای کرم ساقه‌خوار سفید برنج (*Scirpophaga innotata*) را در سه سطح تقسیم کرد: بالاترین سطح با درصد مرگ‌ومیر بیش از ۶۴/۴۹ درصد با سریع‌ترین مرگ‌ومیر در مدت ۱۱/۱۱ ساعت، بیماری‌زایی متوسط با مرگ‌ومیر ۳۰/۹۹ تا ۴۹/۶۴ درصد در مدت ۱۷/۳۲ ساعت و بیماری‌زایی کم با مرگ و میر کمتر از ۳۰/۹۹ درصد در مدت ۲۰/۲۹ ساعت. نتایج پژوهش عده‌ای از نعیمی جوبینی و همکاران (Naimi Jobni et al., 2010) در بررسی تاثیر چند محیط کشت به روش تخمیر در بستر جامد توسط سوسبتراهای دانه گندم، دانه برنج و سویا نشان دادند که دانه برنج با بیشترین راندمان تولید اسپور به عنوان سوسترای بهینه معرفی گردید. پژوهشگران نشان داد که بیشترین مرگ‌ومیر مراحل لاروی *Spodoptera exigua* با قارچ *Metarhizium rileyi* در غلظت‌های 1×10^{8} و 1×10^{9} کنیدی در میلی‌لیتر تا ۱۰۰ درصد بود، درحالی‌که در غلظت‌های پایین‌تر، مرگ و میر کمتر و کُندتری را در ۱۰ روز پس از تلقیح ایجاد کرد (از ۳۳/۸۸ درصد در 1×10^{5} کنیدی در میلی‌لیتر؛ ۴۱/۴۸ درصد در 1×10^{6} کنیدی در میلی‌لیتر و ۴۵/۱۹ درصد در 1×10^{7} کنیدی در میلی‌لیتر) (Montecalvo et al., 2022). طبق بیان آلفیان و همکاران (Alfian et al., 2022)، یکی از عوامل مهم در کاهش مرگ‌ومیر، افت توانایی بیماری‌زایی ناشی از کشت‌هایی است که بارها به محیط‌های کشت جدید منتقل شده‌اند، به‌طوری که سازوکار بیماری‌زایی به‌طور بهینه روی محیط کشت عمل نکند. همچنین آن‌ها بیان کردند که تکثیر و کشت مداوم قارچ *B. bassiana* جدا شده از کرم ساقه‌خوار سفید برنج (Scirpophaga innotata) از کشور اندونزی (مرکز بذر و حفاظت از گیاهان[1]) در محیط کشت PDA توانست جهش‌های تصادفی را ایجاد کند تا بیماری‌زایی جدایه‌های *B. bassiana* را کاهش دهد. در این ارتباط، کائور و همکاران (Kaur et al., 2011) گزارش دادند که مقدار LC_{50} محاسبه‌شده در ۱۰ روز پس از تلقیح *S. litura* با از $5/59\times10^{5}$ تا $10^{6}\times5/95$ کنیدی در میلی‌لیتر متغیر بود. به‌طوری که در آن، مقادیر LC_{50} با افزایش سن لاروی افزایش یافت. به همین ترتیب، افزایش غلظت کنیدی‌های LC_{50} جدایه *M. rileyi* هنگام آلودگی روی *Spodoptera frugiperda* با افزایش مقادیر LC_{50} از $1/44\times10^{5}$ تا $10^{8}\times9/36$ کنیدی در میلی‌لیتر برای لاروهای جوان تا مسن مشاهده شد (Montecalvo & Navasero, 2021). همان‌طور که توسط هاران و همکاران (Harun et al., 2022) بیان

1- BBPPTP

شده است، فرآیند آلودگی قارچی *B. bassiana* علیه لارو کرم برگ‌خوار (*Spodoptera frugiperda*) حداقل دو روز و حداکثر ۱۰ روز طول می‌کشد، به‌طوری که بعد از دو روز نخست لاروها تغییر رنگ داده و قرمز شده و ۱۰ روز بعد، مرگ کامل ظاهر می شود.

نتایج پژوهش جاور و همکاران (Javar et al., 2022) در زیست سنجی آزمایشگاهی اثر قارچ *B. bassiana* علیه سفیدبالک نشان داد که کلیه تیمارها بین ۸۰ تا ۸۵ درصد تلفات نشان دادند، امّا در زیست سنجی گلخانه‌ای، کنیدیوم تولیدشده روی سبوس برنج، سبوس ذرت و سبوس گندم به‌ترتیب با ۱/۸ ±۵۶، ۲/۵۶ ± ۵۲ و ۲/۹۱ ±۴۹ درصد مرگ‌ومیر بالاترین میزان تلفات را ایجاد کردند. براساس نتایج پژوهش آن‌ها، سبوس برنج، سبوس ذرت و سبوس گندم به‌عنوان بسترهای مناسب برای این جدایه قارچی معرفی شدند. در این ارتباط، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش تراکم کنیدی از $۷/۱\times۱۰^{۵}$ تا $۱/۸\times۱۰^{۶}$ کنیدی در میلی‌لیتر، مرگ‌ومیر لاروها روند افزایشی داشته است و مرگ‌ومیر ایجادشده روی کرم ساقه‌خوار نواری برنج از ۵۶/۸ تا ۷۰/۳۴ درصد متغیر بود. این یافته با یافته‌های پژوهشگران مذکور مطابقت دارد. نتایج مطالعه یاداو و همکاران (Yadav et al., 2025) روی هشت محیط کشت جامد و مایع برای تولید انبوه قارچ *Beauveria bassiana* نشان دادند که تعداد کنیدی‌ها ۱۰ روز پس از تلقیح، ۲۰ روز پس از تلقیح و ۳۰ روز پس از تلقیح، برنج به‌ترتیب حداکثر تعداد کنیدی‌ها ($۶۳/۹۰/\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی‌لیتر، $۷۰/۷۹\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی‌لیتر و $۷۷/۹۵\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی‌لیتر) را نشان داد. همچنین آن‌ها اظهار داشتند که کمترین تعداد کنیدی به‌ترتیب در نخود کبوتری ($۳/۴۱\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی‌لیتر)، ($۵/۴۰\times۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر) و ($۸/۰۸۰\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی‌لیتر) مشاهده شد. نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش کمک شایانی به تسهیل تولید انبوه قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana* در محیط‌های کشت جامد می‌کند و می‌تواند در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات به ویژه کرم ساقه‌خوارنواری برنج در شرایط مزرعه‌ای مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی‌های این پژوهش نشان داد که بیشترین میزان کلنی (CFU) در محیط مایع مربوط به SPMB و CSYE بود. همچنین در این بررسی، محیط‌های غذایی با منشأ گیاهی(دانه برنج و دانه برنج شسته‌شده) در مقایسه با مواد غذایی ترکیبی و مصنوعی از قبیل CSYE و SPMB به‌دلیل ارزان بودن می‌توانند جایگزین مناسبی برای تولید قارچ *B. bassiana* باشد. سرانجام، زهرآگینی اسپورهای به‌دست‌آمده در محیط مایع و کنیدیوم‌های برداشت‌شده از محیط کشت جامد نسبت به لاروهای آفت ساقه‌خوار (*C. suppressalis*) مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمون زیست‌سنجی کنیدیوم‌های قارچ رشدیافته روی دانه شسته‌شده برنج نشان داد که قدرت زهرآگینی غلظت ۱×۱۰^{۷} کنیدیوم در میلی‌لیتر روی لارو سن ششم بیشتر از سنین اولیه (۷۳/۳۳ درصد) بود. همچنین نتایج مقدار LC_{50} محاسبه‌شده در ۱۰ روز پس از تلقیح نشان داد که تراکم $۷/۱\times۱۰^{۵}$ تا $۱/۸\times۱۰^{۶}$ کنیدی در میلی‌لیتر، مرگ و میر تجمعی لاروها روند افزایشی داشت، به‌طوری که از ۵۶/۸ تا ۷۰/۳۴ درصد متغیر بود. اهمیت این تحقیق حاکی از آن است که محیط‌های کشت جامد می‌توانند در توسعه برنامه‌های تولید انبوه قارچ بیمارگر *B. bassiana* در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات به‌ویژه کرم ساقه‌خوار نواری برنج در شرایط مزرعه‌ای مورد استفاده قرار گیرند.

سپاسگزاری

این پژوهش بخشی از نتایج پروژه تحقیقاتی به‌شماره مصوب ۹۱۱۰۷-۰۴-۰۴-۲ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی است که با حمایت مالی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی و مؤسسه تحقیقات برنج کشور انجام شده است. به این جهت، نگارندگان از تمام همکارانی که ما را در اجرای پروژه یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Abraham, T., Easwaramoorthy, S., & Santhalakshmi, G. (2003). Mass production of *Beauveria bassiana* isolated from sugarcane root borer, *Emmalocera depresella*. Swinhoe. *Sugar Technology, 5*(4), 225-229. https://doi.org/10.1007/BF02942477
2. Alfian, R., Solichah, C., & Rizal, A. (2022). Uji kualitas dan patogenisitas jamur Metarhizium anisopliae dan *Beauveria bassiana* berbagai konsentrasi terhadap hama ulat krop (*Crocidolomia pavonana*) pada kubis. *Agrivet, 28*(2), 110-120. https://doi.org/10.31315/agrivet.v28i2.8357
3. Alves, S. B., & Pereira, R. M. (1989). Produção do *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill em bandejas. *Ecossistema, 4*, 188-192.
4. Askari, H., Zamani, S. M., & Ashuri, A. (2008). Investigating the effect of several solid and liquid culture media on the sporulation of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales). *Iranian Journal of Plant Protection Science, 39*(1), 31-43. (In Persian). https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.20084781.1387.39.1.4.9
5. Bana Molaei, P., Tolai-Hasanloui, R., Askari, H., & Kharazi Pakdel, A. (2008). Evaluation of natural solid culture

medium in the production of *B. bassiana* fungi. Proceedings of 18th Iranian Plant Protection Congress. 24-27 Aguust 2008. University of Bu-Ali Sina, Hamedan, Iran. Vol. 18, p. 58. (In Persian).
6. Bana Molaei, P., Talai-Hasanloui, R., & Askari, H. (2010). The effect of culture medium on the toxicity of B. bassiana conidia against the brown-tailed moth, Euproctis Chrysorrhoea (Lep., Lymantridae). Proceedings of 19th Iranian Plant Protection Congress. 24-27 Aguust 2008. University of Tehran, Iran. Vol. 19, p. 110.
7. Budi, A. S., Afandhi, A., & Puspitarini, R. D. (2013). Patogenisitas jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* Balsamo (Deuteromycetes: Moniliales) pada larva *Spodoptera litura* Fabricus (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal HPT (Hama Penyakit Tumbuhan), 1*(1), 57-65. (In Persian).
8. Feng, M. G., Poprawski, Y. J., & Khachatourians, G. G. (1994). Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control. *Biocontrol Science and Technology*, *4*, 3-34. https://doi.org/10.1080/09583159409355309
9. Ghasemi, M. H., Bahloulbandi, E., Naseri, M., Thaghafi, R., & Yarahmadi G. (2022). New strategies in controlling agricultural pests using chemicals. 8th International Conference on Knowledge and Technology of Agricultural Sciences, Natural Resources, and Environment of Iran, pp. 593 (In Persian).
10. Gillespie, A. T. (1988). Use of fungi to control pests of agriculture importance. pp. 37-60. In: M. N. Burge (ed). Fungi in Biological Control System. Manchester University Press, UK, 269 p.
11. Gopalakrishnan, C., & Mohan, S. C. (2000). A simple and cost effective *In vitro* method for the mass production of conidia of *Nomuraea rileyi*. *Insect Enviromental, 6*, 52-53.
12. Gopalakrishnan, C., Anusuya, D., & Narayanan, D. (1999). *In vitro* production of conidia of entomopathogenic fungus *Pycilomyces farinosus*. *Entomology, 24*, 389-392.
13. Grace, J., & Jaronski, S. (2005). Solid substrate fermentation of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. USDA. ARS. Northern Sidney, Montana. Workshop.
14. Harun, Y., Parawonsa, A. K., & HARIS, A. (2022). Kajian patogenisitas *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium* sp terhadap Larva Ulat Grayak (*Spodoptera frugiperda*) pada Tanaman Jagung. *Journal Agrotek, 6*(2), 81-93.
15. Hasibuan, S., Simbolon, Z. & Candra, I. A. (2024). Pathogenicity efficacy of entomopathogen fungus *Beauveria bassiana* against *in vitro* rice stem borer (*Scirpophaga innotata*). *Journal Teknik Pertanian Lampung, 13*(2), 441–448.
16. Ibrahim, Y. B., & Low W. (1993). Potential of mass production and field efficacy of isolates of the Entomopathoghenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* on *Plutella xylostella*. *Journal of Invertebrate Pathology, 39*, 222-232.
17. Javar, S., Farrokhi, S., Sharifi, M., Ghaderi, K., & Hosseini, S. F. (2025). Comparative efficacy of two oil-based liquids of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly *Bemisia tabaci*. *Journal of Applied Research in Plant Protection, 14*(3), 207–220, https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2025.20280 .
18. Kaur, S., Kaur, H. P., Kaur, K., & Kaur, A. (2011). Effect of different concentrations of *Beauveria bassiana* on development and reproductive potential of *Spodoptera litura* (Fabricius). *Journal of Biopest, 4*(2), 161.
19. Latifian, M., & Rad, B. (2012). Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillmin, *Beauveria brongniartii* Saccardo and *Metarhizium anisopliae* Metsch to adult *Oryctes elegans* Prell and effects on feeding and fecundity. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 4*(14), 1026-1032.
20. Leopold, J., & Samsinakova, A. (1970). Quantitative estimation of chitinase and several other enzymes in the fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology, 17*, 34-42 https://doi.org/10.1016/0022-2011(70)90095-9
21. Lou, H., Lou, Q., Guo, Q., Su, R., Liu, J., He, H., & Cheng, Y. (2024). Optimization of the culture medium of *Beauveria bassiana* and spore yield using response surface methodology. *Fermentation, 10*(11), 587. https://doi.org/10.3390/fermentation10110587 .
22. Macleod, D. M. (1954). Investigations on the genera Beauveria Vull. and *Tritirachium* Limber. *Canadian Journal of Biotechnology, 32*, 818-890. https://doi.org/10.1139/b54-070
23. Majidi Shilsar, F., Amouoghli Tabari, M., & Amini-Khalafbadam, M. (2013). Evaluation of the effectiveness of fipronil insecticide in control of *Chilo suppressalis* Walker in the paddy field. *Journal of Iranian Plant Protection Research, 27*(3), 333-341. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jpp.v27i3.26760
24. Majidi-Shilsar, F. (2015). Crop loss assessment of rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker on Hashemi rice variety under field conditions. *Plant Pests Research, 5*(2), 25-37. (In Persian).
25. Majidi-Shilsar, F. (2017). Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and Met*arhizium anisopliae* to the striped rice stem borer, *Chilo suppressalis*. *Schilar Academic & Scintific Publishers, Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences (SJAVS), India, 12*, 552-559.
26. Majidi-Shilsar, F., Ershad, D. J., & Padashat, F. (2007). A study of pathogenic effect of two species of fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, on rice striped stem borer *Chilo suppressalis* Walker (Lep., Pyralidae) in Guilan province, Iran. *Journal of Agricultural Science, 1*, 135-143.
27. Mascarin, G. M., Alves, S. B., & Lopez, R. B. (2010). Culture media selection for mass production of *Isaria fumosorosea* and *Isaria farinose*. *Brazilian Archives of Biology and Technology, 53*, 4.

https://doi.org/10.1590/S1516-89132010000400002
28. Montecalvo, M. P., Macaraig J. S. T., Navasero, M. M., & Navasero M. V. (2022). Bicontrol efficacy of natine *Metarhizium rileyi* to various life stages of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of the International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences, 28*(1), 1-11.
29. Montecalvo, M. P., & Navasero, M. M. (2021). Metarhizium (Nomuraea) rileyi (Farlow) Samson from *Spodoptera exigua* (Hübner) cross infects fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Philipp. *Journal of Science, 150*(1), 193-199.
30. Naimi Jobni, M., Majidi-Shilsar, F., & Arjamand, M. (2010). Investigating the effectiveness of different concentrations of *B. bassiana* (Balsamo) Vuill. resulting from food culture media of rice, wheat and soybean on the larvae of the rice striped stem borer. Proceedings of 19th Iranian Plant Protection Congress. 31 July-3 Aguust 2010. University of Tehran, Tehran, Iran. Vol. 19, p. 76. (In Persian).
31. Patel, K. C., Yadaw, D. V., Dube, H. C., & Patel, R. J. (1990). Laboratory and mass production studies with Metarhizium anisopliae. *Annual Biology, 6*, 135-138.
32. Petlamul W., & Prasertsan P. (2012). Evaluation of strains of Metarhizium anisopliae and *Beauveria bassiana* against *Spodoptera litura* on the basis of their virulence, germination rate, conidia production, radial growth and enzyme activity. *Mycobiology, 40*(2), 111-116. https://doi.org/10.5941/MYCO.2012.40.2.111
33. Samsinakova, A. (1966). Growth and sporulation of submersed cultures of the fungus *Beauveria bassiana* in various media. *Journal of Invertebrate Pathology, 8*, 395-400. https://doi.org/10.1016/0022-2011(66)90056-5
34. Samsinakova, A. S., Kalakova, J. D., Vlcek, V., & Kybal, J. (1981). Mass production of *Beauveria bassiana* for regulation of *Leptinotarsa decemlineata* population. *Journal of Invertebrate Pathology*, 38, 169-174. https://doi.org/10.1016/0022-2011(81)90119-1 .
35. Santa, H. S. D., Santa, O. R. D., Brand, D., Vandenberghe, L. P. de S., & Soccol, C. R. (2005). Spore production of Beauveria bassiana from agro-industrial residues. *Brazilian Archives of Biology and Technology, 48*, 51-61. https://doi.org/10.1590/S1516-89132005000400007 .
36. Sharma, S. P., Gupta, R. B. L., & Yadava C. P. S. (2002). Selection of a suitable medium for mass multiplication of entomofungal pathogens. *Indian Journal of Entomology, 14*, 255-261.
37. Siwach, P., & Jaipal. S. (2004). Evaluation of industrial wastes for the mass production of *Beauveria bassiana* and their effects against *Chilo auricillus*. *Annals of Plant Protection Sciences, 12*(1), 193-195.
38. Stephan, D., & Zimmermann, G. (1997). Mass production of *Metarhzium flavoviride* in submerged culture using waste products. p. 227-229, In: S. Krall, R. Peveling & D. Ba Diallo9eds. New Strategies in Locust Control. Birkhauser Verlag, Basel.
39. Suzuki, A., Kanaoka, M., Murakoshi, A., Ichnoe, M., & Tamura, S. (1977). Brassianolide a new insecticidal cyclodepsipeptide from *Beauveria bassiana* and *Verticillium lecanii*. *Tetrahedron Letters, 25*, 2170-2187.
40. Thomas, K. C., Khachatorians, G. G., & Ingledew, W. M. (1987). Production and properties of Beauveria bassiana conidia cultured in submerged culture. *Canadian Journal of Microbiology, 33*, 12-20. https://doi.org/10.1139/m87-003 .
41. Tincilly, A., Easwaramoothy, S., & Santhanalakshim, G. (2000). Attempts on mass production of Nomuraea rileyi on various agricultural products and by products. *Journal of Biological Control, 18*(1), 33-40.
42. Yadav, H., Singh, R., Yadav, S. S., Singh, A., Dixit, A., & Vikrant, R. (2025). Study the mass production of Beauveria bassiana (Balsamo) on different media under laboratory conditions. *International Journal of Advanced Biochemistry Research, 9*(8), 1103-1106.

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, 2026, p. 665-675

Evaluation of the Fumigant Toxicity of Pennyroyal (*Mentha longifolia*) Essential Oil against Adults of the Dried-Fruit Beetle *Carpophilus hemipterus* (Coleoptera: Nitidulidae)

Rezvan Niknafs[1], Kamal Ahmadi[1*]

1- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
(*- Corresponding author's Email: kahmadi@uk.ac.ir)

Received: 22-12-2025
Revised: 03-05-2026
Accepted: 25-05-2026
Available Online: 22-06-2026

How to cite this article:
Niknafs, R., & Ahmadi, K. (2026). Evaluation of the fumigant toxicity of pennyroyal (*Mentha longifolia*) essential oil against adults of the dried-fruit beetle *Carpophilus hemipterus* (Coleoptera: Nitidulidae). *Iranian Plant Protection Research*, *40*(3), 665-675. (In Persian). https://doi.org/10.22067/JPP.2026.97128.1271

Introduction

Stored-product insects cause significant quantitative and qualitative losses to agricultural commodities worldwide, particularly in dried fruits and nuts. Among these pests, the dried-fruit beetle, *Carpophilus hemipterus* (L.) (Coleoptera: Nitidulidae), is considered one of the most destructive species due to its high reproductive potential, broad host range, and ability to infest both stored and semi-processed products. Infestation by this beetle not only results in direct feeding damage but also facilitates microbial contamination, leading to reduced market value and potential health risks for consumers. Chemical fumigants such as phosphine and methyl bromide have traditionally been used to control stored-product pests. However, the extensive and prolonged use of synthetic fumigants has led to several serious concerns, including the development of insect resistance, environmental pollution, residues in food products, and adverse effects on non-target organisms and human health. In addition, the phase-out or restriction of some conventional fumigants due to international regulations has intensified the need for safer and more sustainable alternatives in stored-product pest management. In recent years, plant-derived essential oils have gained increasing attention as potential alternatives to synthetic insecticides. Essential oils are complex mixtures of volatile secondary metabolites, primarily terpenoids and phenolic compounds, which exhibit a wide range of biological activities, including insecticidal, repellent, antifeedant, and fumigant effects. Their high volatility, rapid degradation, and relatively low mammalian toxicity make essential oils particularly suitable for use as fumigants in stored-product protection. Pennyroyal (*Mentha longifolia* L.), a perennial aromatic plant belonging to the family Lamiaceae, is widely distributed in many regions and has been traditionally used for medicinal and culinary purposes. The essential oil of *M. longifolia* is rich in bioactive compounds such as pulegone, menthone, and 1,8-cineole, which have been reported to possess antimicrobial and insecticidal properties. Several studies have demonstrated the toxicity of pennyroyal essential oil against different insect pests; however, information regarding its fumigant activity against *C. hemipterus* remains limited. Given the economic importance of *C. hemipterus* and the growing demand for eco-friendly pest control strategies, evaluating the fumigant toxicity of plant essential oils is of considerable interest. The present study aims to investigate the fumigant toxicity of pennyroyal (*M. longifolia*) essential oil against adults of *C. hemipterus*. The findings of this research may contribute to the development of

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

https://doi.org/10.22067/JPP.2026.97128.1271

plant-based fumigants as effective and environmentally benign alternatives for the management of stored-product beetles.

Materials and Methods

Adults of the dried-fruit beetle *C. hemipterus* were collected from a date storage facility in Anbarabad (Kerman Province, Iran) and reared for several generations under controlled laboratory conditions (25 ± 2 °C, 20 ± 10% RH, and darkness) on dates supplemented with watermelon as a moisture source. The aerial parts of *M. longifolia* were collected from a natural habitat near Rayen (Kerman province) and the essential oil was extracted by hydrodistillation using a Clevenger apparatus. The obtained oil was stored at −4 °C in dark glass vials until use, and its chemical composition was analyzed by GC–MS. Fumigant bioassays were conducted in sealed plastic containers to evaluate the toxicity of the essential oil against young adult beetles. Preliminary tests were performed to determine the appropriate concentration range, followed by dose–response assays using six concentrations (20–120 µL L^{-1} air) to estimate LC_{50} values at 24, 48, and 72 h. Mortality was assessed based on lack of movement in response to gentle probing, corrected using Abbott's formula, and analyzed by probit regression. LT_{50} values were determined at selected concentrations (20 and 35 µL L^{-1}) by recording mortality at 6-h intervals up to 72 h under the same environmental conditions.

Results and Discussion

The GC–MS analysis of *M. longifolia* essential oil identified 16 compounds, with pulegone (63.24%) as the dominant component, followed by 1,8-cineole (9.14%), Menthofuran (9.11%), menthone isomers (1.82–4.41%), and piperitenone oxide (1.3–2.53%). Fumigant bioassays showed strong toxicity against adult *C. hemipterus*, with LC_{50} values decreasing significantly over time from 35.58 µL L^{-1} at 24 h to 5.57 µL L^{-1} at 72 h, and LT_{50} decreasing with increasing concentration (88.92 h at 20 µL L^{-1} to 26.64 h at 35 µL L^{-1}). These results confirm a clear dose- and time-dependent fumigant effect. The observed toxicity is likely associated with the high content of volatile monoterpenoids such as pulegone, Menthofuran, and 1,8-cineole, which can disrupt insect nervous system pathways, including octopaminergic receptors and acetylcholinesterase. Compared with other plant essential oils reported for *C. hemipterus*, *M. longifolia* shows comparable or superior efficacy, with rapid action, broad-spectrum activity against multiple stored-product pests, high volatility, rapid degradation, low mammalian toxicity, and compatibility with integrated pest management strategies.

Conclusion

These findings suggest that *M. longifolia* essential oil is a promising, eco-friendly fumigant for controlling *C. hemipterus*, although further research is needed to evaluate its effectiveness under industrial storage conditions and develop controlled-release formulations.

Keywords: Integrated pest management (IPM), LC_{50}, LT_{50}, Plant derivatives, Stored-product pests

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

مقاله پژوهشی
جلد ۴۰ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۶۷۵-۶۶۵

ارزیابی سمیت تدخینی اسانس پونه (*Mentha longifolia*) علیه حشرات بالغ سوسک شیره‌خوار خرما *Carpophilus hemipterus* (Coleoptera: Nitidulidae)

رضوان نیک‌نفس[۱]- کمال احمدی[۱*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۰۴

چکیده

سوسک شیره‌خوار خرما، *Carpophilus hemipterus* (Linnaeus) یکی از آفات مهم انباری خرما است که موجب کاهش کمّی و کیفی محصول و انتقال ریزجانداران تولیدکننده آفلاتوکسین می‌شود. کنترل شیمیایی این آفت با سموم تدخینی متداول مانند فسفین و متیل‌بروماید، با مشکلاتی از جمله مقاومت، باقی‌مانده‌های سمی و اثرات زیست‌محیطی همراه است. اسانس‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین‌های ایمن و مؤثر در مدیریت تلفیقی آفات مورد توجه قرار گرفته‌اند. هدف از این مطالعه، بررسی سمیت تدخینی اسانس پونه، *Mentha longifolia* (Linnaeus) بر حشرات بالغ *C. hemipterus* بود. جمعیت آزمایشی آفت از انبار خرما در استان کرمان جمع‌آوری و در شرایط کنترل‌شده پرورش یافت. اسانس پونه از بخش‌های هوایی تازه گیاه به‌روش تقطیر با آب استخراج شد و ترکیبات شیمیایی آن با GC–MS شناسایی گردید. آزمایش‌های زیست‌سنجی شامل تعیین مقادیر غلظت کشنده (LC_{50}) در زمان‌های تماس ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و شاخص زمان کشنده (LT_{50}) در غلظت‌های ۲۰ و ۳۵ میکرولیتر در لیتر با استفاده از روش رهایش تدخینی انجام شد. تحلیل GC–MS نشان داد که اسانس شامل ۱۶ ترکیب اصلی است که بیشترین فراوانی مربوط به پولیگون (۶۳/۲۴ درصد)، ۱،۸-سینئول (۹/۱۴ درصد)، منتوفوران (۹/۱۱ درصد) و ایزومرهای منتون (۴/۴۱–۱/۸۲ درصد) است. نتایج آزمایش‌های زیست‌سنجی نشان داد که سمیت تدخینی اسانس وابسته به دُز و زمان تماس است؛ LC_{50} با افزایش مدت تماس از ۳۵/۵۸ میکرولیتر در لیتر در ۲۴ ساعت به ۵/۵۷ میکرولیتر در لیتر در ۷۲ ساعت کاهش یافت. همچنین LT_{50} با افزایش غلظت اسانس کاهش یافت و از ۸۸/۹۲ ساعت در ۲۰ میکرولیتر در لیتر به ۲۶/۶۴ ساعت در ۳۵ میکرولیتر در لیتر رسید، که نشان‌دهنده تأثیر مستقیم ترکیبات فرار بر سیستم عصبی حشرات است. نتایج این آزمایش نشان داد که اسانس گیاه پونه یک حشره‌کش تدخینی مؤثر و سازگار با محیط زیست برای مهار *C. hemipterus* است و می‌تواند در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات انباری جایگزین سموم شیمیایی شود. تحقیقات بیشتری برای ارزیابی اثر آن در مقیاس صنعتی و طراحی سامانه‌های رهایش کنترل‌شده توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آفات انباری، مدیریت تلفیقی آفات، مشتقات گیاهی، LC_{50}، LT_{50}

مقدمه

محصولات ذخیره‌ای به‌ویژه میوه‌های خشک، حبوبات و غلات، نقش مهمی در تأمین امنیت غذایی جهانی دارند و در بسیاری از مناطق گرمسیری و کشورهای در حال توسعه، خسارت‌های کمّی و کیفی ناشی از آفات انباری همچنان یک چالش جدی محسوب می‌شود (Shakarami et al., 2004; Sohrabi et al., 2024; Bagheri-Khanimani et al., 2025; Rangriz & Khosravi, 2024). خرما *Phoenix dactylifera* (Linnaeus) نیز به‌عنوان یکی از محصولات باغی ارزشمند، همواره در معرض حمله آفات مختلف قرار دارد که برجسته‌ترین آن‌ها سوسک شیره خوار خرما *Carpophilus hemipterus* (Linnaeus) است (Sohrabi et al., 2016; Bansal et al., 2024). این آفت جهانی در طیف وسیعی از کشورهای تولیدکننده خرما مشاهده شده و در انبارهای نگهداری، محل‌های ذخیره‌سازی مواد غذایی و حتی روی میوه‌های رسیده در باغ‌ها مشکل‌آفرین است (Bansal et al., 2024). تغذیه لارو و

۱- بخش گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: kahmadi@uk.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/JPP.2026.97128.1271

حشرات بالغ از پالپ خرما باعث کاهش کمّی محصول، افت کیفیت و ارزش بازاری آن شده و همچنین می‌تواند ناقل ریزجاندارانی باشد که آفلاتوکسین تولید می‌کنند (Bansal et al., 2024; Rangriz & Khosravi, 2024; Sohrabi et al., 2016). تحمل بالای *C. hemipterus* نسبت به دماهای بالا، حضور مستمر آن در مناطق خرماخیز را تضمین می‌کند (Bansal et al., 2024). مهار این آفت اغلب با سموم تدخینی شیمیایی مانند فسفین و متیل‌بروماید انجام شده است (Ghafari et al., 2022; Hamzepour et al., 2023; Jafari et al., 2021). با وجود اثربخشی، استفاده مکرر از این ترکیبات موجب پیدایش مقاومت در جمعیت آفات مانند شپشه قرمز آرد *Tribolium castaneum* (Herbst) (Bagheri-Khanimani et al., 2025; Mirzaei et al., 2025)، باقی‌مانده‌های سمی در مواد غذایی، تخریب لایه اوزون (Jafari et al., 2021; Hamzepour et al., 2023) و تهدید سلامت انسان و موجودات غیرهدف شده است (Ghafari et al., 2022; Rangriz & Khosravi, 2024; Shakarami et al., 2004; Momen Beitollahi et al., 2022). این محدودیت‌ها، ضرورت به‌کارگیری جایگزین‌های ایمن، مؤثر، مقرون‌به‌صرفه و سازگار با محیط زیست را در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات بیش از پیش آشکار می‌کند (Bagheri-Khanimani et al., 2025; Hamzepour et al., 2023; Ghafari et al., 2022).

در سال‌های اخیر، اسانس‌های گیاهی به‌دلیل منشأ طبیعی و ویژگی‌های منحصربه‌فرد خود به‌عنوان گزینه‌ای مؤثر در مهار آفات معرفی شده‌اند. این ترکیبات فرّار و زیست‌تخریب‌پذیر هستند، برای انسان، پستانداران و محیط زیست کم‌خطرند و برخلاف سموم مصنوعی سنتی، مقاومت گسترده، باقی‌مانده پایدار و آسیب‌های محیط‌زیستی ایجاد نمی‌کنند (Rangriz & Khosravi, 2024; Hamzepour et al., 2023; Ghafari et al., 2022; Jafari et al., 2021; Bagheri-Khanimani et al., 2025; Kiani et al., 2024; Shakarami et al., 2004). فرّار بودن و تجزیه سریع آن‌ها همچنین باعث می‌شود که در محیط و محصولات انبارشده باقی‌مانده سمی ایجاد نشود و برای استفاده در محیط‌های بسته مانند انبارها مناسب باشند (Shakarami et al., 2004; Mirzaei et al., 2025; Hamzepour et al., 2023; Bagheri-Khanimani et al., 2025). علاوه‌بر این، اسانس‌ها دارای سازوکارهای عمل چندگانه هستند، از جمله اثر مستقیم حشره‌کشی، بازدارندگی تغذیه و اختلال در تخم‌ریزی که احتمال شکل‌گیری مقاومت در جمعیت آفات را کاهش می‌دهد (Mirzaei et al., 2025; Momen Beitollahi et al., 2022; Rangriz & Khosravi, 2024; Shakarami et al., 2004).

مطالعات پیشین، اثربخشی این ترکیبات را علیه آفات مختلف انباری و مزرعه‌ای تأیید کرده‌اند. به‌طور مثال، اسانس‌های بومادران *Achillea millefolium* (Linnaeus) و آویشن دنایی (Celak.) *Thymus daenensis* باعث مرگ حشرات بالغ سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) و بید غلات *Sitotroga cerealella* (Olivier) شده‌اند و در غلظت‌های بالا منجر به تلفات بالغ گردیده است (Rangriz & Khosravi, 2024; Mahmoudvand et al., 2022; Hatami Bavarsad et al., 2020; Shakarami et al., 2004). همچنین اسانس‌های گل رز *Rosa damascene* (Herrm.)، یاس *Jasminum officinale* (Linnaeus) و بهارنارنج *Citrus aurantium* (Linnaeus) علیه لارو شب‌پره آرد مدیترانه *Ephestia kuehniella* (Zeller) اثرات کشنده قابل توجهی نشان داده‌اند (Hamzepour et al., 2023). ترکیباتی مانند زیره سیاه *Carum carvi* (Linnaeus)، زنیان *Trachyspermum ammi* (Linnaeus)، رازیانه *Foeniculum vulgare* (Mill.) و باریجه *Ferula gummosa* (Boiss.) سمیت قابل توجهی علیه شپشه دندانه‌دار برنج *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus) و شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus) داشته‌اند و در بررسی‌های انجام‌شده، گیاه آویشن *Thymus serpyllum* (Linnaeus) نیز تأثیر قابل ملاحظه‌ای را علیه کنه بنه زعفران *Rhizoglyphus robini* (Claparede) نشان داده است (Kiani et al., 2024; Honarmand & Nateq Golestan, 2023; Mirzaei et al., 2025).

در زمینه اثرات زیرکشنده، اسانس‌ها باعث تغییرات فیزیولوژیک از جمله افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی در برخی از آفات شده‌اند (Mahmoudvand et al., 2022). همچنین اثرات بازدارندگی از تخم‌ریزی و کاهش تغذیه در حشرات برگ‌خوار و کاهش رشد جمعیت آفات مهمی مانند بید سیب‌زمینی *Phthorimaea operculella* (Zeller) و شته مومی کلم مشاهده شده است (Momen Beitollahi et al., 2022; Kiani et al., 2024; Jafari et al., 2021; Shakarami et al., 2004).

ترکیب اسانس‌ها با عوامل بیولوژیک یا مواد غیرفعال، مانند اختلاط اسانس گیاه مورد *Origanum vulgare* (Linnaeus) با خاک دیاتومه در مهار شپشه گندم *Sitophilus granarius* (Linnaeus) موجب توقف چرخه تولید نسل شده است (Yazdanian & Reihani, 2021). در برخی موارد نیز اثرات متضاد مانند استفاده از دماهای پایین همراه برخی اسانس‌ها مشاهده شده است (Rajaei et al., 2021). توسعه فرمولاسیون‌های نوین شامل استفاده از فناوری نانو برای افزایش پایداری و کارآیی اسانس‌ها، در مهار آفات مانند سنک عناب *Monosteira alticarinata* (Ghauri) مورد توجه قرار گرفته است (Mirzaei et al., 2025). در غلظت‌های پایین، اسانس‌ها آثار منفی بر دشمنان طبیعی مانند زنبور پارازیتوئید *Trichogramma brassicae* (Bezdenko) نداشته‌اند که سازگاری آن‌ها با برنامه‌های IPM را نشان می‌دهد (Jafari et al., 2021). برآیند این

یافته‌ها نشان می‌دهد که اسانس‌های گیاهی، با توجه به ایمنی، کارآیی چندجانبه و قابلیت کاربرد در مدیریت تلفیقی آفات، گزینه‌های مؤثری برای مهار آفات انباری و کشاورزی هستند (Ghafari et al., 2022; Amjad et al., 2022; Honarmand & Nateq Golestan, 2023).

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که ترکیبات طبیعی به‌ویژه اسانس‌های گیاهی، پتانسیل بالایی در مهار آفات خرما و میوه‌های خشک دارند. برای مثال، اسانس‌های برگ اکالیپتوس (Labill.) *Eucalyptus globulus* و مرزنجوش (Moench) *Majorana hortensis* سمیت تدخینی قابل توجهی علیه حشرات بالغ *C. hemipterus* ایجاد کرده‌اند (Sohrabi et al., 2016).

در میان اسانس‌های گیاهی، پونه (Linnaeus) *Mentha longifolia* به‌دلیل وجود ترکیبات مونوترپنوئیدی فعال مانند کاروون، منتوفوران، ترپینول و پولیگون[1] (Rangriz & Khosravi, 2024) یکی از مؤثرترین گزینه‌ها برای کنترل تدخینی آفات انباری محسوب می‌شود. بررسی‌ها نشان داده‌اند که این اسانس علیه حشرات بالغ *C. maculatus* در غلظت‌های بالا تلفات ۱۰۰ درصد ایجاد می‌کند (Rangriz & Khosravi, 2024) و LC_{50} بسیار پایینی برابر با ۰/۰۴ میکرولیتر در لیتر هوا در لارو سن چهارم *S. cerealella* دارد (Mahmoudvand et al., 2022). سمیت آن بر لارو *S. cerealella* با ایجاد تنش اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT) همراه است (Mahmoudvand et al., 2022). علاوه‌بر این، اثر کشندگی اسانس پونه بر حشرات بالغ *T. castaneum* تا حدود ۲۰ روز پایدار باقی مانده است که این ویژگی برای انبارداری محصولات مهمی مانند خرما حیاتی است (Bagheri-Khanimani et al., 2025).

با توجه به خسارت جدی *C. hemipterus* و نیاز به جایگزین‌های ایمن برای سموم شیمیایی، این مطالعه با هدف بررسی و ارزیابی سمیت تدخینی اسانس پونه بر حشرات بالغ *C. hemipterus* طراحی شده است. نتایج این پژوهش می‌تواند راهبردی پایدار برای محافظت از میوه خرما ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

الف- پرورش آفت انباری سوسک شیره خوار خرما

جمعیت اولیه آفت سوسک شیره‌خوار خرما از یک انبار خرمای رقم مضافتی در شهرستان عنبرآباد، استان کرمان جمع‌آوری و به کرمان منتقل شد. پس از شناسایی و تأیید گونه در بخش گیاه‌پزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، جمعیت اولیه به همراه خرما و مقدار اندکی هندوانه (جهت تأمین رطوبت کلنی) در دو سطل پلاستیکی به ارتفاع ۲۶ سانتی‌متر و قطر ۲۸ سانتی‌متر قرار داده شد. برای تأمین تهویه مناسب، در مرکز درب سطل‌ها، سوراخ‌هایی به قطر ۱۲ سانتی‌متر ایجاد و با پارچه توری و چسب پوشانده شد. سطل‌ها در دمای ۲۵ ± ۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۲۰ ± ۱۰ درصد و در شرایط تاریکی در داخل اتاقک رشد نگهداری گردید. این حشرات چندین نسل در شرایط ذکرشده در بالا پرورش داده شدند. شفیره‌های حشره جمع‌آوری و به ظروف نگهداری مجزا منتقل شدند و پس از خروج حشرات از شفیره، به‌دلیل دشواری تشخیص جنسیت نر و ماده حشرات بالغ جوان، حشرات بالغ بدون توجه به جنسیت برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی از کلنی جداسازی شدند.

ب- استخراج اسانس گیاه پونه

پس از شناسایی گونه گیاه پونه، در اواخر تیرماه در طول زمان گل‌دهی گیاه، بخش‌های هوایی گیاه از رویشگاه طبیعی این گونه در نزدیکی آبشار راین، استان کرمان (با مختصات ۲۹ درجه و ۳۳ دقیقه و ۸ ثانیه شمالی و ۵۷ درجه و ۱۷ دقیقه و ۴۸ ثانیه شرقی و ارتفاع ۱۱۸۵ متر از سطح دریا) به‌مقدار ۱۰ کیلوگرم جمع‌آوری شد. فرآیند اسانس‌گیری به‌روش تقطیر با آب و به‌وسیله دستگاه کلونجر انجام گردید. ابتدا قسمت‌های هوایی تازه گیاه با دستگاه خردکن آسیاب شد و سپس یک کیلوگرم از ماده خردشده به بالن دو لیتری منتقل گردید، به‌گونه‌ای که حدود نصف حجم بالن را پر کند. سپس بالن با آب مقطر پر شد، کندانسور (مبرد) روی آن نصب و دستگاه روی هیتر قرار گرفت. حداقل زمان لازم برای تقطیر چهار ساعت بود. در پایان فرآیند، لایه روغنی تشکیل‌شده در بخش فوقانی با باز کردن شیر خروجی جدا و در ویال شیشه‌ای حدود شش گرم جمع‌آوری شد. ویال در فریزر قرار گرفت تا آب باقی‌مانده منجمد شده و اسانس خالص جدا گردد. اسانس‌های استخراجی در ویال شیشه‌ای تیره، در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد، دور از نور، تا زمان آزمایش نگهداری شدند. این اسانس برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های اسانس استخراج‌شده از گیاه پونه پس از آماده‌سازی، جهت تعیین ترکیب شیمیایی و شناسایی اجزای فعال به شرکت پژوهشی کیمیا شنگرف پارس ارسال گردید. آنالیز نمونه‌ها با استفاده از تکنیک GC–MS (Gas Chromatography–Mass Spectrometry) انجام شد و داده‌های حاصل از این آنالیز برای استخراج مشخصات بالغ شیمیایی اسانس و تهیه جدول ترکیب اجزای آن مورد استفاده قرار گرفت.

ج- آزمایش‌های زیست‌سنجی برای تعیین LC_{50} و LT_{50}

آزمایش مقدماتی و تعیین دامنه غلظت

برای انتخاب غلظت‌های مناسب اسانس پونه، ابتدا دو تیمار

۱- Pulegone

آزمایشی هرکدام در دو تکرار شامل ۱۰۰ میکرولیتر اسانس در لیتر و شاهد (فاقد اسانس) مورد استفاده قرار گرفت. اسانس توسط میکروپیپت بر روی کاغذ بلاتر (برند Panda)(Blotter Paper) به ابعاد ۷/۵×۰/۷ سانتی‌متر در چند نقطه کاغذ ریخته شد؛ انتخاب بلاتر به‌دلیل جذب بیشتر و ضخامت بالاتر نسبت به کاغذ معمولی بود.

برای هر تیمار، ظرف پلاستیکی به ارتفاع سه سانتی‌متر و قطر ۵/۳ سانتی‌متر آماده و ۱۰ عدد حشره بالغ و جوان به همراه مقدار کمی خرما به‌عنوان غذا داخل آن قرار گرفت. درپوش ظرف با پارچه توری ریزبافت پوشانده و با کش بسته شد. سپس این ظرف درون ظرف بزرگ‌تر درپوش‌دار به قطر ۸/۵ سانتی‌متر، ارتفاع ۶/۵ سانتی‌متر و حجم ۳۲۰ سانتی‌متر مکعب قرار داده شد و کاغذ بلاتر آغشته به اسانس نیز در کنار آن گذاشته شد. با توجه به اینکه غلظت مورد نظر ۱۰۰ میکرولیتر در لیتر بود، غلظت متناظر برای حجم ۳۲۰ سانتی‌متر مکعب برابر با ۳۲ میکرولیتر محاسبه و با سمپلر کالیبره‌شده بر روی کاغذ بلاتر اعمال گردید. سپس درپوش ظرف با سلفون (Cellophane)پوشانده و محکم شد. دو تیمار شاهد نیز با همین شرایط امّا بدون اسانس اجرا گردید. تمامی تیمارها در دمای ۲۵ ± ۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۲۰ ± ۱۰ درصد و شرایط تاریکی نگهداری شدند.

پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، مرگ حشرات با عدم واکنش به لمس قلم‌موی نرم و نبود هرگونه حرکت طی ۳۰ ثانیه تشخیص داده شد و درصد تلفات حشرات در هر تیمار محاسبه گردید. نتایج این آزمایش مقدماتی برای انتخاب غلظت‌های مورد استفاده در آزمایش اصلی به کار رفت.

آزمایش محاسبه شاخص سمیت (LC_{50})

براساس نتایج آزمایش مقدماتی، غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ میکرولیتر در لیتر انتخاب شدند (هرکدام با سه تکرار) و همراه با چهار تکرار شاهد اجرا گردید. تمامی مراحل آزمایش مشابه آزمایش مقدماتی رعایت شد. برای جلوگیری از خشک شدن خرما (به‌عنوان غذا)، مقدار کمی هندوانه نیز به ظرف‌ها اضافه گردید. شرایط دمایی، رطوبتی و تاریکی مشابه قبل بود. شمارش مرگ‌ومیر حشرات در ساعات ۲۴، ۴۸ و ۷۲ انجام شد و درصد تلفات هر تیمار محاسبه گردید. پس از اصلاح درصد مرگ‌ومیر تیمارها با فرمول Abbott (Abbott, 1925)، شاخص سمیت (LC_{50}) محاسبه شد. تحلیل دُز-پاسخ با استفاده از مدل رگرسیون پروبیت براساس روش فینی (Finney) انجام گرفت و مقادیر LC_{50} وLT_{50} به‌همراه حدود اطمینان ۹۵ درصد از طریق برازش مدل Probit regression برآورد گردید. داده‌های حاصل نیز برای تحلیل‌های آماری تکمیلی در نرم‌افزار StatPlus 2007 پردازش شدند.

آزمایش‌های تعیین شاخص زمان کشندگی LT_{50}

براساس نتایج مراحل قبلی، برای تعیین LT_{50}، غلظت‌های ۲۰ و ۳۵ میکرولیتر در لیتر اسانس پونه انتخاب گردید. برای هر غلظت، دو تکرار در نظر گرفته شد و شاهد نیز با دو تکرار اجرا شد. مراحل انجام آزمایش مشابه مراحل محاسبه شاخص سمیت LC_{50} بود. در طول کل دوره آزمایش، دما در ۲۵ ± ۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی در ۲۰ ± ۱۰ درصد و شرایط تاریکی ثابت نگه داشته شد. شمارش مرگ‌ومیر حشرات هر شش ساعت تا ۷۲ ساعت انجام شد. محاسبات آماری برای تعیین شاخص زمان کشندگی (LT_{50}) نیز مشابه روش استفاده شده در آزمایش LC_{50} صورت گرفت.

نتایج

ترکیب شیمیایی اسانس پونه (*M. longifolia*) براساس تحلیل GC–MS

آنالیز GC–MS اسانس پونه نشان داد که اسانس شامل ۱۶ ترکیب شیمیایی اصلی است (جدول و شکل ۱). بیشترین فراوانی مربوط به پولیگون با ۶۳/۲۴ درصد بود. سایر ترکیبات شناسایی‌شده شامل ۸،۱- سینئول (۹/۱۴ درصد)، منتوفوران (۹/۱۱ درصد)، منتون و ایزومر آن (۱/۸۲–۴/۴۱ درصد) و پیپریتِنون اکسید و ایزومرهای آن (۲/۵۳–۱/۱۳ درصد) بودند. همچنین مقادیر کمی از α–پینن، β–پینن، سابینن، لیمونن و β–مایرسن (۰/۱۷-۱/۵۹ درصد) شناسایی شد.

شاخص‌های بازداری تجربی (RI) برای هر ترکیب با شاخص‌های بازداری مرجع (RI) از کتابخانه آدامز(Adams, 2017) مقایسه شد و تطابق قابل توجهی بین داده‌های تجربی و مرجع مشاهده گردید. مقادیر ارائه‌شده به‌صورت درصدی از کل اسانس بیان شده‌اند.

مقادیر غلظت کشنده (LC_{50}) اسانس پونه (*M. longifolia*) علیه *C. hemipterus* در زمان‌های مختلف تماس

مقادیر LC_{50} اسانس پونه علیه حشرات بالغ *C. hemipterus* در زمان‌های تماس ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تعیین شد (جدول ۲). شاخص سمیت LC_{50} کاهش معناداری با افزایش مدت تماس نشان داد، به‌طوری‌که از ۳۵/۵۸ میکرولیتر در لیتر در ۲۴ ساعت به ۵/۵۷ میکرولیتر در لیتر بعد از ۷۲ ساعت رسید. برای هر زمان تماس، شیب پروبیت (β) به همراه خطای استاندارد آن، حدود اطمینان ۹۵ درصد (UCLوUCL)، و مقادیر آماره χ^2، درجات آزادی و p-value محاسبه و ارائه شد. نتایج نشان‌دهنده برازش مناسب مدل پروبیت به داده‌های دُز–پاسخ در تمامی زمان‌های تماس بود.

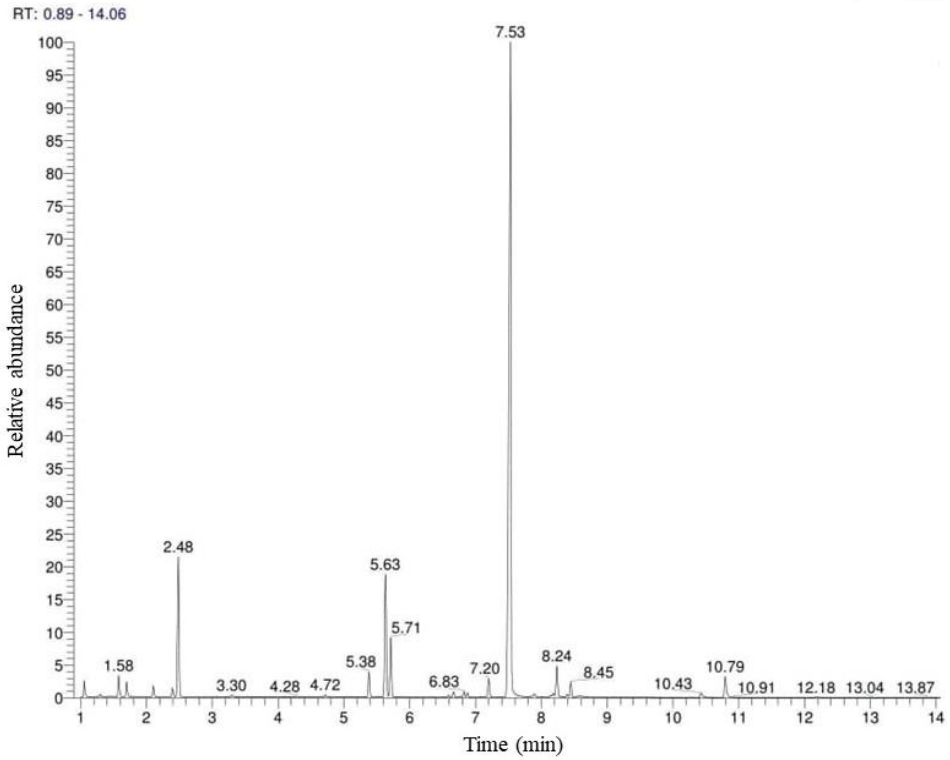
جدول ۱- ترکیب شیمیایی روغن اسانسی پونه (*Mentha longifolia*) براساس تحلیل GC–MS

Table 1- Chemical composition of *Mentha longifolia* essential oil analyzed by GC–MS

No.	Compound	CAS number	Retention time (min)	Retention index (RI)[a]	Retention index (RI)[b]	Percentage (%)	Chemical formula
1	α-Pinene	80-56-8	1.05	1024	932	1.00	$C_{10}H_{16}$
2	Camphene	79-92-5	1.30	1040	946	0.17	$C_{10}H_{16}$
3	β-Pinene	127-91-3	1.58	975	974	1.59	$C_{10}H_{16}$
4	Sabinene	3387-41-5	1.70	1080	969	1.08	$C_{10}H_{16}$
5	β-Myrcene	123-35-3	2.10	991	988	0.96	$C_{10}H_{16}$
6	Limonene	138-86-3	2.39	1030	1024	0.55	$C_{10}H_{16}$
7	1,8-Cineole	470-82-6	2.48	1031	1026	9.14	$C_{10}H_{18}O$
8	Menthone	89-80-5	5.38	1178	1148	1.82	$C_{10}H_{18}O$
9	Menthofuran	494-90-6	5.63	1191	1159	9.11	$C_{10}H_{14}O$
10	Menthone (isomer)	491-07-6	5.71	1180	1158	4.41	$C_{10}H_{18}O$
11	Pulegone (isomer)	89-82-7	6.66	1210	1233	0.42	$C_{10}H_{16}O$
12	Pulegone (isomer)	89-82-7	6.83	1212	1233	0.38	$C_{10}H_{16}O$
13	Pulegone	89-82-7	7.53	1235	1233	63.24	$C_{10}H_{16}O$
14	Piperitenone oxide	35178-55-3	8.24	1250	1366	2.53	$C_{10}H_{14}O_2$
15	Piperitenone oxide (isomer)	35178-55-3	8.45	1255	1366	1.13	$C_{10}H_{14}O_2$
16	Piperitenone oxide (isomer)	35178-55-3	10.79	1260	1366	2.17	$C_{10}H_{14}O_2$

توجه: مقادیر به‌صورت درصدی از ترکیب کل روغن اسانسی بیان شده‌اند. a: شاخص‌های بازداری تجربی (RI) تقریبی بوده و براساس داده‌های معمول GC–MS تعیین شده‌اند. b: شاخص‌های بازداری مرجع (RI) از کتابخانه آدامز (Adams, 2017) استخراج شده‌اند.

Note: Values are expressed as percentages of the total essential oil composition. a: Experimental retention indices (RI) are approximate and based on typical GC–MS data. b: Reference retention indices (RI) are taken from Adams library (Adams, 2017).



شکل ۱- کروماتوگرام GC-MS اسانس پونه (*Mentha longifolia*) که ترکیبات مختلف آن در بازه زمانی ۰/۸۹ تا ۱٤/۰٦ دقیقه شناسایی شده‌اند

Figure 1- GC–MS chromatogram of *Mentha longifolia* essential oil, in which its various components were identified within the retention time range of 0.89 to 14.06 minutes

جدول ۲- مقادیر غلظت کشنده (LC_{50}) اسانس پونه (*Mentha longifolia*) روی سوسک *Carpophilus hemipterus* در زمان‌های مختلف تماس

Table 2- Lethal concentration (LC_{50}) values of *Mentha longifolia* essential oil against *Carpophilus hemipterus* at different exposure times

Exposure time (h)	LC_{50} (µL L^{-1})	SE	LC_{50} LCL* (95% CI)	LC_{50} UCL** (95% CI)	β (Probit Slope) ±SE	χ^2	df	p-value
24	35.58	2.87	29.84	40.94	6.55±1.13	0.039	4	0.9998
48	9.98	4.72	2.88	17.27	2.43±0.50	0.045	4	0.9997
72	5.57	1.72	2.61	8.62	1.97±0.28	0.136	4	0.9978

*حد پایین بازه اطمینان ۹۵ درصد برای مقدار LC_{50}

(Lower Confidence Limit) LCL *

**حد بالای بازه اطمینان ۹۵ درصد برای مقدار LC_{50}

(Upper Confidence Limit) UCL **

مقادیر زمان کشنده (LT_{50}) اسانس پونه (*M. longifolia*) روی حشرات بالغ *C. hemipterus* در غلظت‌های مختلف

مقادیر LT_{50} اسانس پونه علیه حشرات بالغ *C. hemipterus* در دو غلظت ۲۰ و ۳۵ میکرولیتر در لیتر تعیین شد (جدول ۳). نتایج نشان داد که LT_{50} با افزایش غلظت کاهش یافت، به‌طوری‌که زمان کشندگی نیمه مؤثر از ۸۸/۹۲ ساعت در غلظت ۲۰ میکرولیتر در لیتر به ۲۶/۶۴ ساعت در غلظت ۳۵ میکرولیتر در لیتر رسید. برای هر غلظت، شیب پروبیت (β) همراه با خطای استاندارد، حدود اطمینان ۹۵ درصد (UCL وLCL) و مقادیر آماره χ^2، درجات آزادی و p-value محاسبه و ارائه شد. تمامی داده‌ها براساس مدل پروبیت و تحلیل زمان–دُز برازش داده شدند و نشان‌دهنده اعتبار مدل آماری مورد استفاده بود.

جدول ۳- مقادیر زمان کشنده (LT_{50}) اسانس پونه (*Mentha longifolia*) روی سوسک *Carpophilus hemipterus* در غلظت‌های مختلف

Table 3- Lethal time (LT_{50}) values of *Mentha longifolia* essential oil against *Carpophilus hemipterus* at different concentrations

Concentration (µL L^{-1})	LT_{50} (h)	SE	LT_{50} LCL* (95% CI)	LT_{50} UCL** (95% CI)	β (Probit Slope) ±SE	χ^2	df	p-value
20	88.92	21.90	65.65	170.77	1.88±0.41	3.14	10	0.9780
35	26.64	2.22	22.28	30.89	2.85±0.36	3.81	10	0.9556

*حد پایین بازه اطمینان ۹۵ درصد برای مقدار LT_{50}

(Lower Confidence Limit) **LCL** *

**حد بالای بازه اطمینان ۹۵ درصد برای مقدار LC_{50}

(Upper Confidence Limit) **UCL** **

نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس پونه دارای توان بالقوه بالایی در ایجاد سمیت تدخینی علیه حشرات بالغ *C. hemipterus* است، به‌طوری که مقادیر LC_{50} با گذر زمان کاهش معنی‌دار داشت و LT_{50} نیز با افزایش غلظت کاهش یافت. این الگو، وابستگی سمیت به زمان و دُز ترکیبات فرّار را تأیید می‌کند و با یافته‌های مطالعات پیشین درباره سایر اسانس‌های گیاهی هم‌خوانی دارد. برای مثال، در *T. castaneum*، اسانس پونه در غلظت ۲۶/۶۷ میکرولیتر بر لیتر باعث ۸۲/۵ درصد مرگ‌ومیر شد و LC_{50} آن ۱۵/۲۶ میکرولیتر بر لیتر برآورد گردید که نشان می‌دهد ترکیبات غالب پونه می‌توانند به‌طور مشابه روی گونه‌های مختلف اثر کشندگی داشته باشند. مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که افزایش زمان تماس حشرات با اسانس‌های گیاهی، سمیت را افزایش و LC_{50} را کاهش می‌دهد؛ به‌عنوان نمونه، LC_{50} اسانس پونه روی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات از ۲۸/۵۴ به ۱۴/۲۳ میکرولیتر در لیتر و LC_{50} اسانس زیره سیاه روی شپشه دندانه‌دار برنج از ۰/۷۰۱ به ۰/۳۹۴ میکرولیتر/گرم کاهش یافت (Rangriz & Khosravi, 2024; Mirzaei et al., 2025) و اثرات زیرکشنده مانند کاهش باروری نیز با افزایش زمان تقویت می‌شود (Rajaei et al., 2021). این نتایج نشان می‌دهد که تماس طولانی‌تر باعث جذب بیشتر ترکیبات فعال و افزایش سمیت حشرات می‌شود. ترکیب‌یابی GC–MS در مطالعه حاضر نشان داد که پولیگون، منتوفوران، ایزومرهای منتون و ۸،۱–سینئول اجزای غالب اسانس پونه هستند. نتایج مشابهی در مطالعات روی آفات دیگر نیز گزارش شده است و این ترکیبات اغلب به‌عنوان عوامل مؤثر در سمیت تنفسی شناسایی شده‌اند. برای مثال، روغن اسانسی *M. pulegium* با غلظت بالای پولیگون دارای LC_{50} برابر با ۷/۳۳ میکرولیتر بر لیتر علیه *T. castaneum* بود (Sohrabi et al., 2024) که این نتیجه با سهم

بالای پولیگون در اسانس مطالعه حاضر مطابقت دارد. افزون بر این، بررسی‌ها نشان داده‌اند که ۸،۱-سینیول و کارواکرول، که در برخی گونه‌های جنس *Mentha* بسیار فراوان هستند، در غلظت‌های پایین اثرات شدیداً کشنده بر *C. maculatus* داشته‌اند (Ajayi et al., 2014)؛ بنابراین مشاهده سمیت قابل توجه در مطالعه حاضر احتمالاً ناشی از نقش ترکیبات مونوترپنوئیدی فرار در اختلال در انتقال پیام‌های عصبی از جمله گیرنده‌های اکتوپامینرژیک و مهار استیل‌کولین‌استراز است که در پژوهش‌های پیشین نیز به آن اشاره شده است (Ajayi et al., 2014; Bansal et al., 2024).

مقایسه یافته‌های این تحقیق با نتایج گزارش‌شده برای *C. hemipterus* در سایر مطالعات نشان می‌دهد که عملکرد اسانس پونه مشابه یا حتی در برخی موارد قوی‌تر از سایر اسانس‌های گیاهی بوده است. به‌عنوان نمونه، اسانس *Eucalyptus maidenii* موجب ۹۸ درصد مرگ‌ومیر *C. hemipterus* در غلظت ۷۴/۷۳ میکرولیتر بر لیتر پس از ۲۴ ساعت شد (Soltani et al., 2020) و اسانس *M. hortensis* مرگ‌ومیر ۱۰۰ درصد لاروهای *C. Hemipterus* را در غلظت ۶۶۶/۶۶ میکرولیتر بر لیتر پس از ۷۲ ساعت ایجاد کرده است (Sohrabi et al., 2016). بنابراین، نتایج حاضر نشان می‌دهد که اسانس *M. longifolia* در محدوده سمیت گزارش‌شده برای سایر گیاهان دارویی با کاربرد تدخینی قرار می‌گیرد و قابلیت رقابتی بالایی دارد.

اثربخشی اسانس *M. longifolia* در مطالعات صورت‌گرفته بر سایر آفات نیز به‌طور گسترده تأیید شده است. برای مثال، در آفت *C. maculatus* غلظت ۸۰ میکرولیتر بر لیتر موجب تلفات ۱۰۰ درصدی شده است (Rangriz & Khosravi, 2024). همچنین رفتارهای عصبی ـ حرکتی مختل‌شده نظیر جمع شدن پاها و کاهش شدید دفع نیز در این گونه گزارش شده است. نتایج مشابهی در بید غلات *S. cerealella* ثبت شده که برای آن LC_{50} بسیار پایین ۰/۰۴ میکرولیتر بر لیتر گزارش شده است (Mahmoudvand et al., 2022). علاوه‌بر سمیت مستقیم، برخی مطالعات نشان داده‌اند که اسانس پونه باعث ایجاد تنش اکسیداتیو از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و افزایش مالون‌دی‌آلدئید می‌شود (Mahmoudvand et al., 2022) که این مسیر می‌تواند یک سازوکار مکمل در ایجاد مرگ‌ومیر باشد.

براساس مجموعه این شواهد، مشخص است که اسانس پونه دارای طیف عملکرد گسترده‌ای بر گونه‌های مختلف آفات انباری است و می‌تواند به‌عنوان یک گزینه جدی در مدیریت آفات معرفی شود. ویژگی‌های برجسته‌ای مانند فراریت بالا، تجزیه سریع و عدم بر جای گذاشتن باقی‌مانده، ایمنی نسبی برای پستانداران و همچنین امکان ترکیب با عوامل زیستی مانند قارچ *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin که اثر هم‌افزایی نشان داده است (Bagheri-Khanimani et al., 2025)، جایگاه آن را در برنامه‌های IPMتقویت می‌کند. این مزایا به‌ویژه در مقایسه با چالش‌های سموم تدخینی شیمیایی (از جمله توسعه مقاومت، باقی‌مانده‌های سمی و اثرات محیط‌زیستی) اهمیت بیشتری پیدا می‌کنند.

با توجه به نتایج حاضر و شواهد گسترده موجود در مطالعات دیگر پژوهشگران، اسانس پونه را می‌توان یک عامل حشره‌کش تدخینی مؤثر و سازگار با محیط زیست برای مهار *C. hemipterus* و سایر آفات انباری دانست. بااین‌حال، انجام پژوهش‌های بیشتر برای ارزیابی کارآیی آن در مقیاس انبارهای صنعتی، پایداری اثر در حضور ماده غذایی و شرایط واقعی انبارداری، و طراحی سامانه‌های رهایش کنترل‌شده ضروری است.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اسانس پونه از ظرفیت قابل‌توجهی برای کنترل تدخینی حشرات بالغ سوسک شیره‌خوار خرما برخوردار است. کاهش مقادیر LC_{50} با افزایش زمان مواجهه و کاهش LT_{50}با افزایش غلظت اسانس، بیانگر وابستگی اثر کشندگی آن به دُز و مدت تماس است. شناسایی پولیگون، منتوفوران، ایزومرهای منتون و ۸،۱-سینئول به‌عنوان ترکیبات غالب اسانس نیز نشان می‌دهد که مونوترپنوئیدهای فرّار احتمالاً در بروز این اثر نقش مهمی دارند؛ هرچند تعیین سهم اختصاصی هر ترکیب و سازوکار دقیق اثر آن‌ها به بررسی‌های تکمیلی نیاز دارد. هم‌خوانی یافته‌های حاضر با نتایج مطالعات انجام‌شده روی سایر آفات انباری، ظرفیت بالقوه این اسانس را به‌عنوان جایگزینی گیاهی برای بخشی از تدخین‌کننده‌های شیمیایی متداول برجسته می‌کند. بااین‌حال، اثربخشی، ایمنی و پایداری آن در شرایط واقعی انبارداری، به‌ویژه از نظر تأثیر بر کیفیت و بوی محصولات ذخیره‌شده، سمیت برای موجودات غیرهدف و امکان استفاده در مقیاس صنعتی، باید به‌طور دقیق ارزیابی شود. در مجموع، اسانس پونه می‌تواند گزینه‌ای امیدوارکننده برای توسعه روش‌های کم‌خطرتر کنترل حشرات بالغ سوسک شیره‌خوار خرما در چارچوب مدیریت تلفیقی آفات انباری باشد، مشروط بر آنکه کارایی و ایمنی عملی آن در مطالعات تکمیلی تأیید شود.

References

1. Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, *18*(2), 265-267. https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a
2. Adams, R. P. (2017). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (4th

ed.). Allured Publishing, Carol Stream, IL.
3. Ajayi, O. E., Appel, A. G., & Fadamiro, H. Y. (2014). Fumigation toxicity of essential oil monoterpenes to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *Journal of Insects*, *2014*, 917212. https://doi.org/10.1155/2014/917212
4. Amjad, L., Noori, A., Ranjbar, M., & Rezaeizadeh, G. (2022). The chemical analysis and insecticidal activity of *Francoeuria undulata* essential oil on German cockroaches (*Blattella germanica*). *Journal of Entomological Society of Iran*, *42*(3), 195-203. (in Persian). https://doi.org/10.52547/jesi.42.3.3
5. Bagheri-Khanimani, M., Sedaratian-Jahromi, A., Mohammadi, H., & Haghani, M. (2025). Integrated application of *Mentha longifolia* essential oil and *Beauveria bassiana* for managing the population of *Tribolium castaneum* under laboratory conditions. *Plant Pest Research*, *14*(4), 71-89. (in Persian). https://doi.org/10.22124/iprj.2025.29979.1627
6. Bansal, R., Burks, C. S., & Walse, S. S. (2024). Gene expression patterns to identify stable reference genes for expression analyses in *Carpophilus hemipterus* (L.) (Coleoptera: Nitidulidae). *Gene Reports*, *36*, 101982. https://doi.org/10.1016/j.genrep.2024.101982
7. Ghafari, A., Taghavi, L., Marouf, A., & Moradi, P. (2022). Comparing the insecticidal effect of eucalyptus and thyme essential oils on potato aphid (*Macrosiphom euphorbiae*). *Iranian Journal of Entomological Research*, *14*(3), 198-212. (in Persian)
8. Hamzepour, K., Ghassemi-Kahrizeh, A., & Hosseinzadeh, A. (2023). Fumigant toxicity of three essential oils of *Rosa hybrida* L., *Citrus aurantium* L., and *Ixora chinensis* L., on second, third and fourth instars larvae of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae) under laboratory conditions. *Applied Biology*, *35*(4), 43-55. (in Persian). https://doi.org/10.22051/jab.2022.38709.1456
9. Hatami Bavarsad, Sh., Zandi Sohani, N., & RajabPour, A. (2020). Fumigant toxicity and repellency of some essential oils against *Callosobruchus maculatus* (Col.: Bruchidae). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, *36*(3), 404-416. (in Persian). https://doi.org/10.22092/ijmapr.2020.128639.2674
10. Honarmand, A., & Nateq Golestan, M. (2023). Study the effect of toxicity of several plant essential oils on saffron stem mite (Acari: Acaridae) Claparède *Rhizoglyphus Robini* under laboratory conditions. *Saffron Agronomy and Technology*, *11*(2), 199-208. (in Persian). https://doi.org/10.22048/jsat.2023.391164.1484
11. Jafari, M., Rafee-Dastjerdi, H., Nouri-Ganbalani, G., Fathi, A., Hassanpour, M., & Ebadollahi, A. (2021). Fumigant toxicity of three essential oils on *Phthorimaea operculella* (Zeller) and their impacts on parasitism of *Trichogramma brassicae* (Bezdenko). *Plant Pest Research*, *11*(1), 71-85. (in Persian). https://doi.org/10.22124/iprj.2021.4846
12. Kiani, M., Karimi, J., Abbasipour, H., & Askarianzadeh, A. (2024). Fumigant toxicity of essential oil of the Galbanum, *Ferula gummosa* on biological parameters of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Phytoallexines*, *1*(1). (in Persian)
13. Mahmoudvand, S., Shakarami, J., Alirezaei, M., Jafari, S., & Mardani-Talaee, M. (2022). Toxicity of plant essential oils three on antioxidant enzymes activity of fourth instar larvae of *Sitotroga cerealella* (Oliver). *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *45*(2), 1-16. (in Persian). https://doi.org/10.22055/ppr.2022.17384
14. Mirzaei Kohsareh, F., Naseri, B., Rafiee-Dastjerdi, H., & Ebadollahi, A. (2025). Toxicity and antinutritional effects of some plant essential oils, separately and in combination, against the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis*. *Plant Pest Research*, *14*(4), 1-15. (in Persian). https://doi.org/10.22124/iprj.2025.29020.1608
15. Momen Beitollahi, S., Vafaie, R., & Rafiea Karahrudi, Z. (2022). Investigation of effects of toxicity and healthy eating (nutritional) index of *Cinnamomum*, *Rosmarinus officinalis* L., and *Lavandula angustifolia* L. essential oils on biological stages of *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Iranian Journal of Entomological Research*, *14*(2), 105-124. (in Persian)
16. Rajaei, A., Yazdanian, M., & Asadeh, G. (2021). Lethal and sublethal effects of low temperature, alone and in combination with eucalyptus essential oil, against adult Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *43*(4). (in Persian). https://doi.org/10.22055/ppr.2021.16769
17. Rangriz, R., & Khosravi, M. (2024). Evaluation of the biopesticidal effects of pennyroyal (*Mentha longifolia*) and yarrow (*Achillea talagonica*) essential oils native to Sistan and Baluchestan province on the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*). *Development Engineering Conferences Center Articles Database*, *1*(4). (in Persian)
18. Shakarami, J., Kamali, K., Moharramipour, S., & Meshkatassadat, M. H. (2004). Effects of three plant essential oils on biological activity of *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *Iranian Journal of Agriculture Science*, *35*(4). (in Persian)
19. Sohrabi, F., Kohanmoo, M. A., & Jamali, F. (2016). Fumigant toxicity of five medicinal plant essential oils against the date sap beetle, *Carpophilus hemipterus* (Linnaeus) and identification of their chemical composition. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *39*(3). (in Persian). https://doi.org/10.22055/ppr.2016.11975
20. Sohrabi, F., Jamali, F., & Saber, M. (2024). Effect of the integrated use of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* and some plant essential oils against the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, *13*(4), 399-412. (in Persian). https://doi.org/10.22034/arpp.2024.18597

21. Soltani, A., Aouadi, G., Yangui, I., Haddadi, S., Gueayed, M. B., Boushih, E., & Jemâa, J. M. B. (2020). Fumigant toxicity of two cineole-rich essential oils and their combinations for the control of *Carpophilus hemipterus* Linnaeus and *Sitophilus oryzae* Linnaeus. *Annales de l'INRGREF*, *21*, 85-101.
22. Yazdanian, M., & Reihani, M. (2021). Chemical composition of myrtle essential oil and its insecticidal activity in combination with diatomaceous earth against adults of the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.). *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *35*(2), 203-216. (in Persian). https://doi.org/10.22067/jpp.2021.69214.1015

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, 2026, p. 677-688

The Effect of Several Commercial Biological and Chemical Compounds on Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) and Growth Indices of Kiwifruit Trees (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson)

Reza Ahmadpanah[1], Salar Jamali[1*], Seyae Mohsen Nassaj Hosseini[2*], Seyede Negin Mirghasemi[1]
1- Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2- Department of Natural Environment, Environmental Research Institute, Academic Center for Education, Culture and Research, Rasht, Iran
(*- Corresponding author's Email: jamali@guilan.ac.ir; nassaj@acecr.ac.ir)

Received: 07-09-2025
Revised: 10-06-2026
Accepted: 16-06-2026
Available Online: 22-06-2026

How to cite this article:
Ahmadpanah, R., Jamali, S., Nassaj Hosseini, S. M., & Mirghasemi, S. N. (2026). The effect of several commercial biological and chemical compounds on root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and growth indices of kiwifruit trees (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson). *Iranian Plant Protection Research*, *40*(3), 677-688. (In Persian).
https://doi.org/10.22067/JPP.2026.95303.1251

Introduction

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are among the most widespread and economically important plant-parasitic nematodes. They have a broad host range and are sedentary endoparasites that cause severe damage to crops.. These nematodes induce root galls, impairing the absorption of water and nutrients and consequently reducing kiwifruit (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson) yield and qualityAlthough chemical nematicides are effective in controlling root-knot nematodes, their use is limited due to negative environmental consequences, the emergence of resistance, and adverse effects on human health. Therefore, in recent years, the use of biological compounds such as antagonistic bacteria, nematode-pathogenic fungi, and plant compounds has been considered as a sustainable and environmentally friendly solution. This study aimed to compare the effectiveness of biological and chemical compounds in controlling this nematode and to investigate their effects on kiwifruit trees under orchard conditions.

Materials and Methods

Soil and root samples were collected from kiwifruit orchards exhibiting symptoms of nematode infection, including leaf yellowing and wilting and the presence of root galls.The numbers of eggs, root galls, and egg masses were determined in the root systems, and the population density of second-stage juveniles (J2) was determined in soil samples.. Morphometric diagnosis was performed by preparing microscopic slides of second-stage juveniles and cutting the cuticular network at the end of the body of female nematodes. Identification of the nematode species was performed. After determining the population, the orchard with the highest contamination level and the most similar conditions (tree age, row spacing, soil type, and land slope) was selected for the experiment. This study was conducted in a randomized complete block design with 10 treatments and 3

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

https://doi.org/10.22067/Jpp.2025.65326.1252

replications in a kiwifruit orchard located in Siahkal Rudkhani village, Rudsar city, Gilan province. The experimental treatments included control, two different levels of each of the biofertilizers and organic compounds, including Nemacob, Nemacob Plus at two levels (150 and 300 mL m^{-2}), Bactoland as a biofertilizer containing rhizosphere growth-promoting bacteria and humic acid at 100 and 200 mL m^{-2}, Biolap as a biological pesticide at 15 and 25 mL m^{-2} and Cadosphos (Rugby) 10%WG as a chemical treatment. All treatments were applied in the tree canopy zone throughout the entire growing cycle. The evaluated indices included the number of galls, eggs and larvae, egg sacs in the root, second-stage juveniles (J2) in soil, nematode reproductive factor, and fruit traits including weight, length, and diameter.

Results and Discussion

Based on the morphological and morphometric characteristics of the second-stage juveniles and perineal pattern of the female nematodes, the studied species was identified as *Meloidogyne incognita*. Results showed that all treatments significantly (at the 1% level) reduced nematode pathogenicity indices but had no significant effect on fruit weight and length. All compounds led to a significant reduction in the population of second-stage juveniles in the soil (up to 89.4%), number of root galls (18.8-61.1%), number of egg sacs (37.2-77.7%), and reproduction factor (2.5 in the control to 0.4-0.5 in the treatments). Bactoland at 200 mL m^{-2} achieved the greatest reduction in nematode indices, while Biolap at 15 mL m^{-2} was the least effective. The treatments had no significant effect on fruit weight and length ($P>0.05$). Regarding the increase in fruit width, Nemacob 300 mL m^{-2} (2.5 cm) and Rugby (1.5 cm) had the greatest effect and showed a significant increase compared to the control (9.4 cm).

Conclusion

The results demonstrated that both biological and chemical treatments significantly reduced nematode population and pathogenicity indices under orchard conditions.. Although these compounds did not have much effect on fruit growth traits, especially fruit weight and length, the time frame of the study is also important in increasing the yield of perennial fruit trees. The use of biological compounds such as Bactoland was very effective in reducing nematode density. The superiority of Bactoland can be attributed to the presence of plant growth-promoting bacteria (PGPR) such as *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas* spp., which play a role in suppressing nematode populations through mechanisms such as production of secondary metabolites, nematode cell wall-lyzing enzymes (such as chitinase and protease), secretion of siderophores, and induction of systemic resistance. The present findings indicated that increasing the concentration of treatments improved the effectiveness in reducing pathogenicity indices, although this increase did not have a significant effect on fruit growth, especially in terms of weight and length. Biological compounds are preferable due to their desirable effectiveness and lower ecological impacts.

Keywords: Actinidia deliciosa, Biological control, Root-knot nematode, Sustainable management

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

مقاله پژوهشی
جلد ۴۰ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۶۸۸-۶۷۷

اثر چند ترکیب زیستی و شیمیایی تجاری بر نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne incognita*) و شاخص‌های رشدی درختان کیوی (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson)

رضا احمدپناه[۱]- سالار جمالی[۱*]- سید محسن نساج حسینی[۲*]- سیده نگین میرقاسمی[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۲۶

چکیده

نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne incognita*) یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای گیاهی در باغ‌های کیوی (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson) است که با ایجاد گال در ریشه موجب اختلال در جذب آب و عناصر غذایی و در نتیجه کاهش کمّی و کیفی محصول می‌شود. این پژوهش با هدف مقایسه اثربخشی ترکیبات زیستی و شیمیایی بر مهار این نماتد و بررسی تأثیر آن‌ها بر درختان کیوی در شرایط باغ انجام شد. تیمارها شامل ترکیبات زیستی نماکوب و نماکوب پلاس در دو سطح ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌لیتر، باکتولند در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌لیتر، بایولپ در سطوح ۱۵ و ۲۵ میلی‌لیتر و یک تیمار شیمیایی با کادوزفوس (راگبی) به‌میزان ۱۵ گرم در هر مترمربع بود. تمامی ترکیبات در سایه‌انداز درخت و طی یک دوره رشد اعمال گردیدند. شاخص‌های مورد ارزیابی شامل تعداد گال، تخم و لارو در ریشه و کیسه تخم در ریشه، لارو سن دو در خاک، فاکتور تولیدمثل نماتد و صفات میوه شامل وزن، طول و عرض بود. نتایج نشان داد که همه تیمارها به‌طور معنی‌داری (در سطح یک درصد) شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد را کاهش دادند، امّا بر وزن و طول میوه تأثیر معناداری نداشتند. باکتولند با دُز مصرفی ۲۰۰ میلی‌لیتر در مترمربع بیشترین کاهش را در شاخص‌های بیماری‌زایی ایجاد کرد. در مقابل، تیمار بایولپ با دُز مصرفی ۱۵ میلی‌لیتر کمترین اثربخشی را نشان داد. از بین صفات رشدی میوه، تنها عرض میوه در تیمار نماکوب با دُز ۳۰۰ میلی‌لیتر در مترمربع افزایش معنی‌داری داشت. به‌طورکلی، نتایج این تحقیق نشان‌دهنده اثربخشی ترکیبات زیستی در مهار نماتد ریشه‌گرهی کیوی است. در شرایطی که تفاوت معنی‌داری بین عملکرد ترکیبات زیستی و شیمیایی مشاهده نشد، انتخاب ترکیبات زیستی به‌دلیل اثربخشی مطلوب و کاهش خطرات زیست‌محیطی قابل توصیه خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: مدیریت پایدار، مهار زیستی، نماتد مولد غده، *Actinidia deliciosa*

مقدمه

کیوی‌فروت (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson) از جمله مهم‌ترین محصولات باغی نیمه‌گرمسیری است که به‌دلیل ارزش غذایی بالا، به‌ویژه محتوای غنی ویتامین C و عناصر معدنی، از جایگاه ویژه‌ای در بازارهای جهانی برخوردار است (Ferguson, 2011; Santoni et al., 2014). براساس آخرین آمار فائو در سال ۱۴۰۳، میزان تولید و سطح زیرکشت کیوی در جهان به‌ترتیب حدود ۴/۴ میلیون تن و ۲۸۰ هزار هکتار می‌باشد (FAOSTAT, 2024). ایران در بین تولیدکنندگان محصول کیوی، جایگاه چهارم را به خود اختصاص داده است (Golmohammadi et al., 2019). این محصول که بومی چین بوده و امروزه در مناطق مختلف جهان از جمله شمال ایران کشت می شود، با چالش‌های متعددی از جمله آلودگی به نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) مواجه است (Gholamian &

۱- گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲- گروه محیط زیست طبیعی، پژوهشکده محیط زیست جهاد دانشگاهی، رشت، ایران
(*- نویسندگان مسئول:
Email: nassaj@acecr.ac.ir, jamali@guilan.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/JPP.2026.95303.1251

(Aghajanzadeh, 2016). گونه *Meloidogyne incognita* Kofoid & White, 1919 به‌عنوان یکی از مخرب‌ترین عوامل بیماری‌زای گیاهی، با ایجاد گال بر روی ریشه، جذب آب و مواد مغذی را مختل کرده، موجب کاهش عملکرد (کمّی و کیفی) کیوی می‌گردد (Shaukat et al., 2009). براساس گزارش‌ها، خسارت سالانه نماتدها به محصولات کشاورزی بالغ بر ۱۵۷ میلیارد دلار تخمین زده می‌شود (Singh et al., 2015)، که اهمیت مدیریت این عوامل زیان‌بار را بیش از پیش آشکار می‌سازد. اگرچه نماتدکش‌های شیمیایی مانند کادوزفوس (Rugby®) در مهار نماتد ریشه‌گرهی مؤثرند، امّا استفاده از آن‌ها به‌دلیل پیامدهای منفی زیست‌محیطی، بروز مقاومت و اثرات سوء بر سلامت انسان، با محدودیت‌هایی همراه است (Chelinho et al., 2017). ازاین‌رو، در سال‌های اخیر استفاده از ترکیبات زیستی (مانند باکتری‌های آنتاگونیست، قارچ‌های بیمارگر نماتد و ترکیبات گیاهی) به‌عنوان راهکاری پایدار و سازگار با محیط‌زیست مورد توجه قرار گرفته است (Abd-Elgawad, 2016).

نتایج پژوهش صالح و همکاران (Saleh et al., 2023) نشان داد که همه سطوح مایه تلقیح باکتری *Pasteuria penetrans* به‌طور موفقیت‌آمیزی *M. javanica* را مهار کرده و منجر به کاهش شاخص گال ریشه و همچنین تعداد تخم نسبت به وزن ریشه در مقایسه با شاهد (گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) آلوده به نماتد و فاقد باکتری) شد. ترکیبات زیستی مانند باکتری‌های آنتاگونیست به‌عنوان جایگزین‌های ایمن ترکیبات شیمیایی مطرح شده‌اند. بررسی اثربخشی شش جدایه باکتریایی (*Beijerinckia mobilis*, *Paenibacillus amylolyticus*, *Brevibacillus agri*, *Gluconobacter frateurii*, *Pseudomonas stutzeri*, *Achromobacter aloeverae*) در برابر نماتد ریشه‌گرهی (*M. incognita*) در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای ثابت کرد که ریزجانداران آزمایش‌شده به‌طور قابل توجهی میانگین تعداد گال، ماده‌ها، تعداد لاروهای سن دو و جمعیت نهایی را کاهش دادند. علاوه‌بر این، جدایه‌های باکتریایی باعث افزایش رشد گیاه شدند (Abdel-Razek & Yaseen, 2020). باکتری *Bacillus subtilis*، لیپوپپتیدهای حلقوی سورفاکتین و ایتورین را تولید می‌کند که نقش مهمی در افزایش درصد مرگ‌ومیر لاروهای نماتد دارد (Engelbrecht et al., 2018). همچنین این باکتری با جلوگیری از تفریخ تخم موجب کاهش جمعیت لاروهای سن دو نماتد *M. incognita* می‌شود (Soliman et al., 2019). باکتری *Pseudomonas clororaphis* قادر است که از طریق تولید آنتی‌بیوتیک فنازین، به‌عنوان یک عامل مهار زیستی در برابر بیمارگرهای مختلف عمل کند (Nam et al., 2018). روش‌های اصلاح خاک ارگانیک از جمله بقایای گیاهی، کمپوست‌ها، کودهای حیوانی و مشتقات گیاهی در مدیریت نماتدهای ریشه‌گرهی مؤثر بوده‌اند (Peiris et al., 2020).

مطالعات نشان داده است که ترکیباتی مانند ورمی‌کمپوست و کودهای آلی می‌توانند جمعیت نماتد را تا ۴۵ درصد کاهش داده و همزمان شاخص‌های رشدی گیاه را بهبود بخشند (Ramezani, 2013; Wang et al., 2014)؛ همچنین باکتری‌های *P. chlororaphis* و *B. subtilis* در مهار نماتد *M. incognita*، موفقیت‌آمیز بوده‌اند (Mirghasemi et al., 2023). بااین‌حال، اطلاعات محدودی درباره تأثیر این ترکیبات بر نماتد ریشه‌گرهی کیوی وجود دارد.

هدف این پژوهش، مقایسه کارآیی ترکیبات زیستی (نماکوب، نماکوب پلاس، باکتولند و بایولپ) با نماتدکش شیمیایی کادوزفوس در مهار *M. incognita* و ارزیابی تأثیر آن‌ها بر شاخص‌های رشدی کیوی است. این تحقیق برای نخستین بار اثرات همزمان مهار نماتد و بهبود پارامترهای میوه را در شرایط باغی مورد بررسی قرار می‌دهد. با توجه به جایگاه ایران به‌عنوان چهارمین تولیدکننده کیوی جهان (FAOSTAT, 2024)، دستیابی به روش‌های مدیریتی پایدار برای کاهش خسارت نماتد، ضرورتی انکارناپذیر به شمار می‌رود.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی

این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۰ تیمار و سه تکرار در یک باغ کیوی واقع در روستای سیاهکل رود، شهرستان رودسر، استان گیلان به مرحله اجرا درآمد. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد: درختان آلوده به نماتد بدون کاربرد هیچ ترکیب شیمیایی یا زیستی، دو سطح مختلف از هر یک از کودهای زیستی و ترکیبات آلی شامل: نماکوب (ترکیب آلی با پایه گیاهی حاوی سرکه چوب، دارای خاصیت نماتدکشی سریع و تجزیه‌پذیری بالا، شرکت فصل پنجم) و نماکوب پلاس (ترکیب مشابه نماکوب با کاربرد ویژه در سیستم‌های آبیاری تحت فشار، شرکت فصل پنجم)، باکتولند (کود زیستی حاوی باکتری‌های محرک رشد *Pseudomonas putida*، *P. chlororaphis* و *Bacillus subtilis* و اسید هیومیک، شرکت ریشه گستر ویرا)، بایولپ (آفت‌کش بیولوژیک حاوی *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki*، شرکت بایوران) و یک سطح از ترکیب شیمیایی کادوزفوس (راگبی ۱۰٪ WG به‌عنوان تیمار شیمیایی، شرکت بایر) بودند. مقادیر دقیق دُز مصرفی هر ترکیب در جدول ۱ ارائه شده است. تمامی ترکیبات آلی و زیستی از شرکت‌های معتبر داخلی تهیه شدند.

انتخاب باغ‌های آلوده و نمونه‌برداری

با همکاری سازمان جهاد کشاورزی استان گیلان، از باغ‌های کیوی مشکوک به آلودگی با نماتد ریشه‌گرهی (*M. incognita*)

نمونه‌برداری از خاک و ریشه در عمق پنج تا ۳۰ سانتی‌متری انجام شد. نمونه‌ها براساس علائم ظاهری نظیر زردی و پژمردگی برگ‌ها و وجود گال روی ریشه، انتخاب شدند. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، تعداد تخم، گال و توده تخم در سیستم ریشه به‌روش هوسی و باکر (یک گرم ریشه) تعیین گردید. همچنین لارو سن دو استخراج‌شده (۱۰۰ گرم خاک) براساس روش سینی شمارش و محاسبه شد (Whitehead & Hussey & Barker, 1973 ; Hemming, 1965). این داده‌ها به‌عنوان جمعیت اولیه نماتد ثبت گردید. تشخیص برپایه ریخت‌سنجی با تهیه اسلاید میکروسکوپی از لاروهای سن دو و برش شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتدهای ماده صورت گرفت (Taylor & Netscher, 1974). شناسایی گونه نماتد براساس کلید جیپسون انجام شد (Jepson, 1987). پس از تعیین جمعیت، باغی که دارای بالاترین سطح آلودگی و بیشترین مشابهت از نظر شرایطی مانند سن درختان، فاصله ردیف‌ها، نوع خاک، شیب زمین و آب مورد استفاده بود، برای اجرای آزمون انتخاب گردید.

اجرای تیمارها و ارزیابی

این آزمون در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۰ تیمار، سه تکرار و به مدت ۹۰ روز به مرحله اجرا درآمد. تیمارها شامل افزودن ترکیبات آلی و زیستی (نماکوب، نماکوب پلاس، باکتولند و بایولپ) از طریق آبیاری دستی (حجم محلول: پنج لیتر به‌ازای هر درخت) و تیمار شیمیایی راگبی نیز به‌صورت فرمولاسیون گرانول در پای درخت و آبیاری با همان حجم انجام شد (جدول ۱). کلیه اقدامات نگهداری درختان در طول فصل شامل آبیاری دوره‌ای و سایر موارد به‌طور معمول اجرا گردید. شاخص‌های مورد ارزیابی شامل: جمعیت نماتد (لارو سن دو، تعداد گال و کیسه‌های تخم در ریشه)، خصوصیات میوه (وزن، طول و عرض با نمونه‌برداری تصادفی از پنج میوه به‌ازای هر تیمار) بود. جمعیت نهایی نماتد، از مجموع لاروهای سن دو و کیسه‌های تخم حاصل شد. درصد کاهش براساس فرمول (Pf - Pi) / Pi × 100 محاسبه شده است. که در آن، Pi: جمعیت اولیه و Pf: جمعیت نهایی می‌باشد. مقادیر منفی نشان‌دهنده کاهش و مقادیر مثبت نشان‌دهنده افزایش جمعیت نسبت به جمعیت اولیه می باشد. برای تعیین فاکتور تولیدمثل، نسبت جمعیت نهایی به جمعیت اولیه (Pf/Pi) ارزیابی گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

برای مقایسه جمعیت اولیه و نهایی نماتد در هر تیمار، از آزمون t جفتی (Paired t-test) در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد استفاده شد (جدول ۳). همچنین برای مقایسه تیمارهای مختلف با یکدیگر از نظر شاخص‌های نهایی و فاکتور تولیدمثل، آزمون توکی (Tukey's test) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی مورد استفاده قرار گرفت. داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.4 TS Level 1M6 تجزیه و تحلیل گردید. نمودارها نیز به‌وسیله نرم‌افزار Microsoft Excel 2016 ترسیم شدند.

برای مقایسه میانگین تیمارها در صفات وزن، طول و عرض میوه، از آزمون توکی (Tukey's test) در سطح احتمال پنج درصد ($P<0.05$) استفاده شد. این آزمون پس از انجام تحلیل واریانس (ANOVA) و براساس نتایج جدول تجزیه واریانس اجرا گردید (جدول ۵).

جدول ۱- تیمارهای آزمایشی همراه با مقادیر مصرفی برای هر درخت

Table 1- Experimental treatments with application rates per plant

Treatment	Compound	Dosage per plant	Formulation	Application method
Control	Water	5 L	-	Irrigation
Nemacob150	Nemacob	150 mL	EC	Irrigation
Nemacob300	Nemacob	300 mL	EC	Irrigation
NemacobPlus150	Nemacob Plus	150 mL	EC	Irrigation
NemacobPlus300	Nemacob Plus	300 mL	EC	Irrigation
Bactoland100	Bactoland	100 mL	EC	Irrigation
Bactoland200	Bactoland	200 mL	EC	Irrigation
Biolap15	Biolap	15 mL	EC	Irrigation
Biolap25	Biolap	25 mL	EC	Irrigation
Rugby	Rugby (Cadusafos)	15 g	WG (10%)	Soil drench + 5 L irrigation

نتایج

پس از نمونه‌برداری و براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی لاروهای سن دو و شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتدهای ماده، گونه مورد بررسی *Meloidogyne incognita* تشخیص داده شد (Jepson, 1987).

مقادیر جمعیت‌های اولیه و نهایی نماتد پس از اندازه‌گیری و ثبت

در جدول ۳ ارائه شده است. کلیه تیمارهای اعمال‌شده (زیستی و شیمیایی) تأثیر معنی‌داری بر کاهش شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد داشتند (P<0.01). نتایج آزمون t نشان داد که در تمامی تیمارهای زیستی و شیمیایی، اختلاف معنی‌داری بین جمعیت اولیه و نهایی نماتد در سطح احتمال یک درصد (P<0.01) وجود داشت. بیشترین کاهش مربوط به تیمار راگبی بود که جمعیت لارو سن دو در خاک را از ۲۸۰ به ۲۹/۷ کاهش داد (۸۹/۴ درصد). در تیمار باکتولند ۲۰۰، تعداد گال‌های ریشه از ۷۲ به ۲۸ (۶۱/۱ درصد) و تعداد کیسه‌های تخم از ۵۴ به ۱۲ (۷۷/۷ درصد) کاهش یافت. کمترین تأثیر مربوط به تیمار بایولپ ۱۵ بود که در آن تعداد گال‌های ریشه از ۷۸ به ۶۳/۳ (۱۸/۸ درصد) تقلیل یافت (جدول ۳).

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، باکتولند ۲۰۰ مؤثرترین تیمار در شاخص‌های بیماری‌زایی بود که موجب کاهش ۶۹/۶ درصد تخم و لاروهای ریشه، ۶۱/۱ درصد گال‌های ریشه و ۷۷/۷ درصد کیسه‌های تخم شد. در این تیمار، فاکتور تولیدمثل با مقدار کاهش ۰/۵، تحت تأثیر قرار گرفت (جدول ۴).

برای مقایسه میانگین ویژگی‌های فیزیکی میوه، از آزمون توکی در سطح احتمال یک و پنج درصد استفاده شد. براین‌اساس، اگرچه نماکوب ۳۰۰ با میانگین وزن ۱۰۴/۶ گرم و نماکوب‌پلاس ۳۰۰ با میانگین وزن ۱۰۴/۲ گرم بیشترین وزن میوه را داشتند، امّا از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها در سطح پنج درصد نشان ندادند. در مورد عرض میوه، نماکوب ۳۰۰ و راگبی با میانگین ۵/۲ سانتی‌متر، نسبت به شاهد (پنج سانتی‌متر) افزایش معنی‌داری در سطح یک درصد داشتند (جداول ۲ و ۵). تغییرات درون‌تیماری شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد براساس مقایسه جمعیت اولیه و نهایی هر تیمار و ارزیابی آن‌ها محاسبه شده است (جدول ۶).

تعداد گال در ریشه

تجزیه واریانس نشان داد که تیمارهای مختلف تأثیر معنی‌داری بر تعداد گال‌های ریشه در سطح احتمال یک درصد داشتند (P<0.01) (جدول ۲). شکل ۱، درصد تغییرات تعداد گال‌های ریشه را در هر تیمار نسبت به جمعیت اولیه همان تیمار نشان می‌دهد. براین‌اساس، باکتولند ۲۰۰ با کاهش ۶۱/۱ درصدی، مؤثرترین تیمار شناخته شد. پس از آن راگبی با کاهش ۵۰/۶ درصد و نماکوب ۳۰۰ با کاهش ۴۴/۱ درصد قرار گرفتند. بایولپ ۱۵ با کاهش ۱۸/۸ درصد کمترین تأثیر را نشان داد (شکل ۱).

تعداد تخم و لارو سن دو موجود در ریشه

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارها بر تعداد تخم و لارو موجود در ریشه در سطح آماری یک درصد معنی‌دار است (P<0.01؛ جدول ۲). بیشترین تأثیر در کاهش تعداد تخم و لارو ریشه به‌ترتیب مربوط به ترکیب زیستی باکتولند ۲۰۰ با ۶۹/۶ درصد کاهش و ترکیب شیمیایی راگبی با ۵۱ درصد کاهش بود. کمترین تأثیر مربوط به بایولپ ۱۵ با ۸/۹ درصد کاهش (غیرمعنی‌دار) بود (جدول ۳). درصد تغییرات تعداد تخم و لارو نماتد ریشه‌گرهی در یک گرم ریشه نسبت به جمعیت اولیه هر تیمار در شکل ۱ نشان داده شده است.

تعداد کیسه تخم در ریشه

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارها بر تعداد کیسه تخم در یک گرم ریشه در سطح آماری یک درصد معنی‌داری بود (P<0.01؛ جدول ۲). براساس جدول ۳ و شکل ۱، باکتولند ۲۰۰ با ۷۷/۸ کاهش، بهترین اثر را در کاهش تعداد کیسه تخم داشت. پس از آن، بایولپ ۲۵ با ۶۶/۵ درصد کاهش و راگبی با ۵۳/۲ درصد کاهش قرار گرفتند. کمترین تأثیر در کاهش کیسه تخم نیز مربوط به نماکوب ۱۵۰ با ۲۳/۸ درصد کاهش بود (جدول ۳ و شکل ۱).

جدول ۲- تجزیه واریانس شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی در درختان کیوی

Table 2- Analysis of variance of pathogenicity indices of root-knot nematode in Kiwifruit trees

S.O.V	df	Fruit width (cm)	Fruit length (cm)	Fruit weight (g)	Root galls	Root eggs and larvae (no. g)	Root egg sacs	Soil larvae (no. 100^{-1} g)	Reproduction factor
Treatment	9	0.05**	0.26 ns	256.6*	5680.3**	74309.1**	1643.9**	86998.1 **	9412.9**
Error	20	0.01	19.0	51.9	33.8	86.3	63.7	50.4	38.4
C.V (%)		46.2	55.6	90.9	82.1	26.1	60.2	98.7	99.2

ns: غیرمعنی‌دار؛ * و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد.

اثر بلوک معنی‌دار نبوده و در جدول ارائه نشده است.

ns: not significant; * and **: significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

The block effect was not significant and therefore is not presented in the table.

جدول ۳- مقایسه میانگین شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne incognita*) قبل و پس از اعمال تیمارهای آزمایش در درختان کیوی براساس آزمون T-Student

Table 3- Mean comparison of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) pathogenicity indices before and after experimental treatments in kiwifruit trees using paired T-Student

Treatment	Index	Initial population	Final population	Significant (t-test)
Control	Soil larvae (no. 100^{-1} g soil)	236	532.5	P<0.01
	Root galls (no. g^{-1} root)	79	170.5	P<0.01
	Root eggs & larvae (no. g^{-1} root)	110.5	334	P<0.01
	Egg sacs (no. g^{-1} root)	56.5	91.5	P<0.01
	Reproduction factor	-	2.5	-
Nemacob150	Soil larvae	130	85.3	P<0.01
	Root galls	130	85.3	P<0.01
	Root eggs & larvae	95	76.7	P<0.01
	Egg sacs	56	42.7	P<0.05
	Reproduction factor	-	0.9	-
Nemacob300	Soil larvae	171.3	146.7	P<0.05
	Root galls	134.6	75.3	P<0.01
	Root eggs & larvae	119.3	68.7	P<0.01
	Egg sacs	90.6	64.7	P<0.05
	Reproduction factor	-	0.7	-
NemacobPlus150	Soil larvae	53.3	110.7	P<0.05
	Root galls	84	50.7	P<0.05
	Root eggs & larvae	159.3	110.7	P<0.05
	Egg sacs	53.3	30.7	P<0.05
	Reproduction factor	-	0.8	-
NemacobPlus300	Soil larvae	263.3	451.7	P<0.05
	Root galls	120	78	P<0.05
	Root eggs & larvae	178.6	117.3	P<0.05
	Egg sacs	54	30.7	P<0.05
	Reproduction factor	-	0.8	-
Bactoland100	Soil larvae	603.3	456.7	P<0.05
	Root galls	67.3	39.3	P<0.01
	Root eggs & larvae	223.3	127.3	P<0.01
	Egg sacs	48.6	24	P<0.01
	Reproduction factor	-	0.7	-
Bactoland200	Soil larvae	246.6	145	P<0.01
	Root galls	72	28	P<0.001
	Root eggs & larvae	225	68.3	P<0.001
	Egg sacs	54	12	P<0.001
	Reproduction factor	-	0.5	-
Biolap15	Soil larvae	268.3	253.3	P<0.05
	Root galls	78	63.3	P<0.05
	Root eggs & larvae	62.6	57	P<0.05
	Egg sacs	39.3	24.7	P<0.05
	Reproduction factor	-	0.9	-
Biolap25	Soil larvae	186.6	161.7	P<0.05
	Root galls	40.6	28	P<0.05
	Root eggs & larvae	139.3	112.3	P<0.05
	Egg sacs	26	8.7	P<0.01
	Reproduction factor	-	0.8	-
Rugby	Soil larvae	280	29.7	P<0.001
	Root galls	54	26.7	P<0.001
	Root eggs & larvae	1102	540	P<0.001
	Egg sacs	40.6	19	P<0.001
	Reproduction factor	-	0.8	-

جدول ٤- مقایسه میانگین شاخص‌های نهایی بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی(*Meloidogyne incognita*) بین تیمارهای مختلف (آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد)

Table 4- Comparison of final mean values of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) pathogenicity indices among different treatments (Tukey's test at 1% probability level)

Treatment	Soil larvae (no. 100^{-1} g soil)	Root galls (no. g^{-1} root)	Root eggs & larvae (no. g^{-1} root)	Egg sacs (no. g^{-1} root)	Reproduction factor
Control	532.5 ^{a*}	170.5 ^{a}	334 ^{a}	91.5 ^{a}	2.5 ^{a}
Nemacob150	85.3 ^{cd}	85.3 ^{bc}	76.7 ^{def}	42.7 ^{bc}	0.9 ^{b}
Nemacob300	146.7 ^{d}	75.3 ^{bc}	68.7 ^{cde}	64.7 ^{ab}	0.7 ^{b}
NemacobPlus150	110.7 ^{abc}	50.7 ^{c}	110.7 ^{cde}	30.7 ^{bc}	0.8 ^{b}
NemacobPlus300	451.7 ^{b}	78.0 ^{bc}	117.3 ^{cd}	30.7 ^{bc}	0.8 ^{b}
Bactoland100	456.7 ^{b}	39.3 ^{bc}	127.3 ^{bc}	24.0 ^{bc}	0.7 ^{b}
Bactoland200	145.0 ^{cd}	28.0 ^{c}	68.3 ^{e}	12.0 ^{c}	0.5 ^{b}
Biolap15	253.3 ^{bc}	63.3 ^{bc}	57.0 ^{f}	24.7 ^{c}	0.9 ^{b}
Biolap25	161.7 ^{d}	28.0 ^{c}	112.3 ^{de}	8.7 ^{bc}	0.8 ^{b}
Rugby	29.7 ^{e}	26.7 ^{c}	540.0 ^{ab}	19.0 ^{c}	0.4 ^{b}

* حروف لاتین در هر ستون نشان‌دهنده نتایج آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد ($P<0.01$) برای مقایسه بین تیمارها است. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

* Letters in each column indicate results of Tukey's test at the 1% probability level ($P<0.01$) for comparison among treatments. Means sharing at least one common letter are not significantly different from each other.

جدول ٥- مقایسه میانگین ویژگی‌های فیزیکی میوه پس از آلودگی به نماتد ریشه‌گرهی

Table 5- Mean comparison of fruit physical characteristics following root-knot nematode infection.

Treatments	**Fruit width** (cm)	Fruit length (cm)	**Fruit weight** (g)
Control	5^{ab*}	6.5^{a}	80.9^{a}
Nemacob150	5.1^{ab}	6.8^{a}	78^{a}
Nemacob300	5.2^{a}	7.4^{a}	104.6^{a}
NemacobPlus150	4.9^{ab}	6.6^{a}	96.4^{a}
NemacobPlus300	5.1^{ab}	6.7^{a}	104.2^{a}
Bactoland100	4.8^{b}	6.4^{a}	94.5^{a}
Bactoland200	5.1^{ab}	6.7^{a}	103.7^{a}
Biolap15	4.9^{b}	6.5^{a}	88.2^{a}
Biolap25	5.1^{ab}	6.6^{a}	100.6^{a}
Rugby	5.2^{ab}	6.6^{a}	85.2^{a}

* میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، براساس آزمون توکی (Tukey's test) در سطح پنج درصد ($P<0.05$) برای صفات وزن و طول میوه و در سطح یک درصد برای صفت عرض میوه، اختلاف معنی‌داری با هم ندارند ($P<0.01$).

* Means sharing at least one common letter are not significantly different from each other based on Tukey's test at the 5% probability level for fruit weight and length traits ($P<0.05$), and at the 1% probability level for fruit width trait ($P<0.01$).

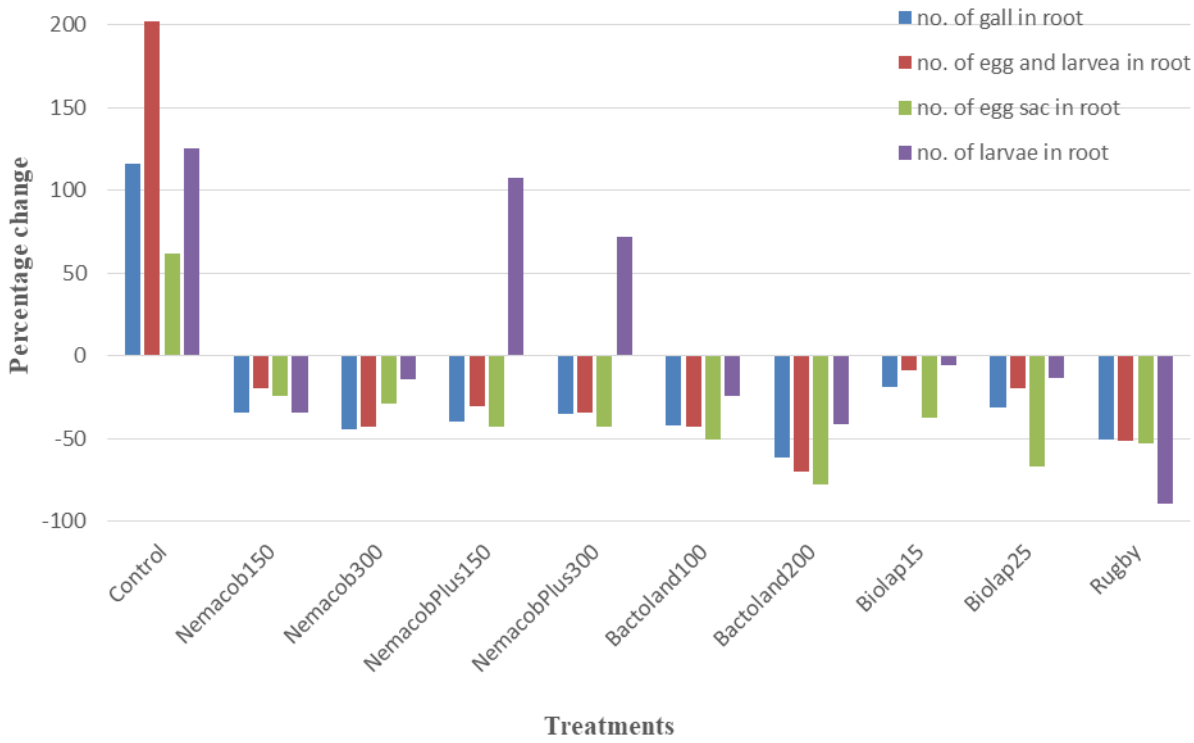
جدول ٦- خلاصه درصد تغییرات درون‌تیماری شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد (براساس مقایسه جمعیت اولیه و نهایی درون هر تیمار)

Table 6- Summary of intra-treatment percentage changes for nematode pathogenicity indices (based on comparison of initial and final populations within each treatment)

Treatment	Root galls (%)	Root eggs & larvae (%)	Egg sacs (%)	Soil larvae (%)	Overall assessment
Control	+115.8% **	+202.3% **	+61.9% **	+125.6% **	Severe increase
Nemacob150	-34.4% **	-19.3% *	-23.8% *	-34.4% **	Moderately effective
Nemacob300	-44.1% **	-42.4% **	-28.6% *	-14.4% ns	Moderately effective
NemacobPlus150	-39.6% *	-30.5% *	-42.4% *	+107.7% ns	Unsuccessful in soil
NemacobPlus300	-35.0% *	-34.3% *	-43.1% *	+71.6% ns	Unsuccessful in soil
Bactoland100	-41.6% **	-43.0% **	-50.6% **	-24.3% *	Good effectiveness
Bactoland200	-61.1% ***	-69.6% ***	-77.7% ***	-41.2% **	Best biological treatment
Biolap15	-18.8% *	-8.9% ns	-37.1% *	-5.6% ns	Least effective
Biolap25	-31.0% *	-19.4% *	-66.5% **	-13.3% ns	Moderate effectiveness
Rugby	-50.6% ***	-50.9% ***	-53.2% ***	**-89.4% ***	Best in soil larvae

مقادیر منفی نشان‌دهنده کاهش و مقادیر مثبت نشان‌دهنده افزایش مقادیر نسبت به مقادیر اولیه همان تیمار می‌باشد. سطح معنی‌داری (آزمون t جفتی): ***: $P<0.001$ (معنی‌دار در سطح ۰/۱ درصد)؛ **: $P<0.01$ (معنی‌دار در سطح یک درصد)؛ *: $P<0.05$ (معنی‌دار در سطح پنج درصد)؛ ns: (غیرمعنی‌دار).

Negative values indicate reduction, and positive values indicate increase in population compared to the initial population of the same treatment. Significance levels (paired t-test): ***: $P < 0.001$ (significant at 0.1% level); **: $P < 0.01$ (significant at 1% level); *: $P < 0.05$ (significant at 5% level); ns: (not significant).



شکل ۱- مقایسه درون تیماری درصد تغییر چهار شاخص نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne incognita*) در ریشه کیوی

Figure 1- Comparison of intra-treatment percentage changes in four pathogenicity indices of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in kiwifruit

تعداد لارو سن دو در ۱۰۰ گرم خاک

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارها بر تعداد لارو سن دوم در ۱۰۰ گرم خاک در سطح آماری یک درصد معنی‌دار بود ($P<0.01$؛ جدول ۲). بیشترین درصد کاهش لارو خاک در تیمار راگبی با ۸۹/۴ درصد کاهش مشاهده شد. پس از آن، به‌ترتیب ترکیب زیستی باکتولند ۲۰۰ با ۴۱/۲ درصد کاهش، نماکوب ۱۵۰ با ۳۴/۴ درصد کاهش و باکتولند ۱۰۰ با ۲۴/۳ درصد کاهش بیشترین تأثیر را در کاهش تعداد لارو نماتد ریشه‌گرهی داشتند. کمترین تأثیرکاهش لارو خاک مربوط به بایولپ ۱۵ با ۵/۶ درصد کاهش بود که از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۳ و شکل ۱).

فاکتور تولیدمثل

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارها بر فاکتور تولیدمثل نماتد در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ($P<0.01$؛ جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان داد که تمامی تیمارها باعث کاهش فاکتور تولیدمثل نسبت به شاهد شدند. بیشترین کاهش (پایین‌ترین فاکتور تولیدمثل) مربوط به تیمار شیمیایی راگبی با مقدار ۰/۴ بود. پس از آن، به‌ترتیب ترکیبات زیستی باکتولند ۲۰۰ (۰/۵)، باکتولند ۱۰۰ (۰/۷) و نماکوب ۳۰۰ (۰/۷) قرار گرفتند. کمترین تأثیر در کاهش فاکتور تولیدمثل مربوط به بایولپ ۱۵ با مقدار ۰/۹ (هم‌رتبه با نماکوب ۱۵۰) بود (جدول ۳).

عرض میوه

نتایج به‌دست‌آمده از جدول تجزیه واریانس نشان داد که تیمارهای اعمال‌شده بر عرض میوه در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری داشتند ($P<0.01$؛ جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها (جدول ۵) نشان داد که نماکوب ۳۰۰ و راگبی با ۵/۲ سانتی‌متر، بیشترین عرض میوه داشتند. پس از آن، تیمارهای نماکوب پلاس ۳۰۰، باکتولند ۲۰۰، بایولپ ۲۵ و نماکوب ۱۵۰ با ۵/۱ سانتی‌متر قرار گرفتند. باکتولند ۱۰۰ با ۴/۸ سانتی‌متر، کمترین عرض میوه را نشان داد (جدول ۵).

طول میوه

اگرچه جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۵) نشان داد که نماکوب ۳۰۰ بیشترین طول میوه (۷/۴ سانتی‌متر) را داشت، امّا براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثر تیمارها بر طول میوه از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P>0.05$).

وزن میوه

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارها بر وزن میوه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود و در سطح یک درصد همه تیمارها در یک سطح آماری قرار گرفتند (جدول ۲). اگرچه جدول مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داد که نماکوب ۳۰۰ و نماکوب-پلاس ۳۰۰ بیشترین وزن میوه و نماکوب ۱۵۰کمترین وزن میوه را داشتند، امّا این تفاوت‌ها از نظر آماری در سطح پنج درصد معنی‌دار نبود.

بحث

یافته‌های این پژوهش نشان داد که تمامی تیمارهای زیستی و شیمیایی به‌طور معنی‌داری شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد را کاهش دادند. اگرچه این ترکیبات تأثیر چندانی بر صفات رشدی میوه، به‌ویژه وزن و طول آن نداشتند، امّا بازه زمانی تحقیق نیز در خصوص افزایش عملکرد درختان میوه چندساله مهم است و درصورتی‌که در طول چند سال مورد ارزیابی قرار گیرد، تأثیر هر تیمار بر صفات میوه آشکارتر می‌گردد. استفاده از ترکیبات زیستی نظیر باکتولند در کاهش تراکم نماتدها بسیار مؤثر بود. برتری باکتولند را می‌توان به حضور باکتری‌های محرک رشد (PGPR) مانند *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas spp.* نسبت داد که با سازوکارهایی از قبیل تولید متابولیت‌های ثانویه، آنزیم‌های لیزکننده دیواره سلولی نماتد (مانند کیتیناز و پروتئاز)، ترشح سیدروفورها، و القای مقاومت سیستمیک، در سرکوب جمعیت نماتد نقش دارند (Mhatre et al., 2019; Forghani & Hajihassani, 2020). نتایج این پژوهش با مطالعات میرقاسمی و همکاران (Mirghasemi et al., 2023) و منظمی و همکاران (Monazam et al., 2022) کاملاً هم‌سو بوده، همچنین یافته‌های وانگ و همکاران (Wang et al., 2014) درباره نقش PGPRها را تأیید می‌کند. افزون‌بر آن، اسید هیومیک موجود در باکتولند با تغییر ساختار ریزوسفر می‌تواند شرایط را برای فعالیت نماتدهای انگل نامساعد سازد. پژوهش‌های پیشین نیز مؤید اثر ترکیبات نماتدکش گیاهی در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای بوده‌اند (Saiedi Zadeh et al., 2021). یافته‌های حاضر نشان داد که افزایش غلظت تیمارها موجب افزایش اثربخشی در کاهش شاخص‌های بیماری‌زایی می‌شود، اگرچه این افزایش بر رشد میوه به‌ویژه از نظر وزن و طول تأثیر قابل ملاحظه‌ای نداشته است. دراین میان، باکتری‌ها به عنوان یکی از فراوان‌ترین ریزجانداران خاک شناخته می‌شوند که با وجود تراکم پایین‌تر نسبت به قارچ‌ها در برخی محیط‌ها، دامنه اثر وسیع‌تری علیه عوامل بیماری‌زای گیاهی دارند (Meyer, 2003). PGPRها از طریق تثبیت نیتروژن، تولید هورمون‌های رشد، رقابت تغذیه‌ای، تولید آنزیم‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها، نقش کلیدی در مهار نماتدها ایفا می‌کنند (Sikora et al., 2007; Mhatre et al., 2019).

در این تحقیق، ترکیب شیمیایی راگبی (کادوزفوس) بیشترین کاهش فاکتور تولیدمثل نماتد را ایجاد کرد (جداول ۲ تا ۴؛ شکل‌های ۱ تا ۴)، امّا با توجه به مخاطرات شناخته‌شده آن برای محیط‌زیست، از جمله ایجاد مقاومت در نماتدها، اثرات منفی بر میکروبیوم خاک و باقی‌مانده‌های شیمیایی، استفاده بلندمدت آن توصیه نمی‌شود (Chelinho et al., 2017; Migunova & Sasanelli, 2021)؛ در مقابل، ترکیبات زیستی با خطر کمتر و پایداری بیشتر، گزینه‌ای مناسب برای مدیریت پایدار محسوب می‌شوند. نکته حائز اهمیت دیگر، رابطه دُز–پاسخ در استفاده از ترکیبات زیستی است. اگرچه افزایش دُز ممکن است از نظر اقتصادی هزینه‌بر باشد، امّا در مقایسه با تبعات زیست‌محیطی ترکیبات شیمیایی، همچنان مقرون‌به‌صرفه خواهد بود. افزون‌بر این، استمرار در کاربرد ترکیبات زیستی سبب تقویت جمعیت عوامل بازدارنده در خاک و افزایش پایداری آن‌ها در محیط می‌شود (Monazam et al., 2022). کاهش مؤثر شاخص‌های بیماری‌زایی با دو نوبت کاربرد باکتری‌ها در این مطالعه نیز مؤید نقش استمرار کاربرد، در افزایش اثربخشی است. سازوکارهای مختلفی در این پدیده نقش دارند؛ مانند تولید ترکیبات سمی مانند ویسکوزیمید (یک بیوسورفکتانت) که توسط *Bacillus* spp. تولید می شود و غشای کوتیکول نماتد را تخریب می‌کند، و اسیدهای آلی مانند اسید استیک در سرکه چوب (ماده مؤثر نماکوب) که pH محیط ریشه را تغییر داده و برای نماتد کشنده است.

آنزیم‌های تجزیه‌کننده مانند پروتئازها، کیتینازها، کلاژنازها و آنتی‌بیوتیک‌ها، نیز در اثرگذاری عوامل زیستی نقش دارند (Forghani & Hajihassani, 2020). همچنین کاربرد زودهنگام این ترکیبات به استقرار بهتر و کارآیی بیشتر آن‌ها منجر می‌شود (Migunova & Sasanelli, 2021). از دیگر نتایج مهم این پژوهش، تأثیر ترکیب نماکوب پلاس در کاهش گال‌های ریشه کیوی بود. نماکوب پلاس یک ترکیب ارگانیک برپایه اسید استیک غلیظ (سرکه چوب) و مواد تشدیدکننده است که از طریق تماسی، تدخینی و سیستمیک عمل می‌کند. احتمالاً خاصیت اسیدی و نفوذپذیری سریع این ترکیب، نه‌تنها به تأثیر مستقیم می‌انجامد، بلکه با بهبود ساختار فیزیکی و شیمیایی خاک در منطقه ریزوسفر، شرایط را برای استقرار و تغذیه نماتد نامساعد می‌سازد. تاکنون مطالعه مستقلی به بررسی کارآیی این ترکیب در مهار نماتد ریشه‌گرهی کیوی نپرداخته است. با توجه به مزایای زیست‌محیطی ترکیبات زیستی در مقایسه با ترکیبات شیمیایی، گنجاندن روش‌های مهار ایمن و کم‌خطر در برنامه مدیریت پایدار محصولاتی مانند کیوی، از اهمیتی راهبردی برخوردار است. منظور، استفاده از عوامل و ترکیباتی است که اولاً برای انسان و موجودات غیرهدف (مانند کرم‌های خاکی و ریزجانداران سودمند

خاک) و زیست‌بوم کم‌خطر بوده و دوماً به‌سرعت در محیط تجزیه شده و سبب آلودگی پایدار خاک و آب‌های زیرزمینی نشوند. مصرف ترکیباتی نظیر عوامل محرک رشد گیاه (PGPR)، قارچ‌های آنتاگونیست، عصاره‌های گیاهی و کودهای آلی، نمونه‌ای از روش‌های سازگار با محیط زیست است.

در همین راستا و برای ارتقای هرچه بیشتر این رویکرد، پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آتی، راهکارهای تلفیقی و مبتنی بر اصول مدیریت تلفیقی آفات (IPM) مورد بررسی قرار گیرد. برای مثال، می توان اثر هم‌افزایی ترکیب PGPRها را با قارچ‌های بیمارگر نماتد مانند *Purpureocillium lilacinum*یا گونه‌های *Trichoderma* ارزیابی نمود. همچنین پایش تأثیرات بلندمدت این ترکیبات بر سلامت و تنوع میکروبی خاک، از دیگر زمینه‌های پژوهشی است.

در مجموع، نتایج این پژوهش، نه‌تنها اثربخشی مطلوب ترکیبات زیستی را در مدیریت نماتد ریشه‌گرهی کیوی نشان داد، بلکه گامی در جهت عینیت بخشیدن به کاربرد روش‌های ایمن و پایدار در کشاورزی عملی بود. به نظر می‌رسد که با توجه به روند جهانی کاهش مصرف سموم شیمیایی و ضرورت حفاظت از تنوع زیستی، تکیه بر چنین روش‌هایی، تنها راهبرد منطقی برای آینده کشاورزی خواهد بود.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد که تمامی ترکیبات زیستی و شیمیایی مورد بررسی، شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita*را در شرایط باغ، به‌طور معنی‌داری کاهش دادند. در میان تیمارهای زیستی، باکتولند ۲۰۰ میلی‌لیتر در مترمربع با کاهش ۶۹/۶ درصدی تخم و لارو ریشه، ۶۱/۱ درصدی گال‌های ریشه و ۷۷/۷ درصدی کیسه‌های تخم، مؤثرترین ترکیب بود و عملکرد آن در بسیاری از شاخص‌ها با نماتدکش شیمیایی راگبی (کادوزفوس) قابل مقایسه بود. در مقابل، بایولپ ۱۵ میلی‌لیتر کمترین اثربخشی را نشان داد. همچنین نماکوب ۳۰۰ میلی‌لیتر تنها تیماری بود که موجب افزایش معنی‌دار عرض میوه نسبت به شاهد شد، در حالی که هیچ‌یک از تیمارها تأثیر معنی‌داری بر وزن و طول میوه نداشتند.

به‌طور کلی، نتایج این تحقیق گویای آن است که ترکیبات زیستی، به‌ویژه باکتولند، می‌توانند به‌عنوان جایگزینی مؤثر و سازگار با محیط‌زیست برای نماتدکش‌های شیمیایی در مدیریت نماتد ریشه‌گرهی کیوی مطرح شوند. با این حال، با توجه به این که تأثیر این ترکیبات بر صفات رشدی میوه در بازه زمانی یک‌ساله محدود بود، پیشنهاد می‌شود کارایی بلندمدت آن‌ها در قالب مطالعات چندساله و در چارچوب برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات (IPM) مورد ارزیابی قرار گیرد. همچنین، بررسی اثرات این ترکیبات بر تنوع و سلامت میکروبیوم خاک و امکان تلفیق آن‌ها با سایر عوامل مهار زیستی مانند قارچ‌های آنتاگونیست (*Trichoderma* spp. و *Purpureocillium lilacinum*)، فراهم کننده زمینه‌های پژوهشی ارزشمندی برای آینده خواهد بود.

References

1. Abd-Elgawad, M. M. (2016). Comments on the use of biocontrol agents against plant-parasitic nematodes. International Journal of PharmTech Research, 9(12), 352-359.
2. Abdel-Razek, G. M., & Yaseen, R. (2020). Effect of some rhizosphere bacteria on root-knot nematodes. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 30(1), 1-11. https://doi.org/10.1186/s41938-020-00340-y
3. Chelinho, S., Maleita, C. M. N., Francisco, R., Braga, M. E. M., da Cunha, M. J. M., Abrantes, I., de Sousa, H. C., Morais, P. V., & Sousa, J. P. (2017). Toxicity of the bionematicide 1, 4-naphthoquinone on non-target soil organisms. Chemosphere, 181, 579-588. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.092 .
4. Engelbrecht, G., Horak, I., Peet, J., van Rensburg, J., & Claassens, S. (2018). Bacillus–based bionematicides: Development, modes of action and commercialization. Biocontrol Science and Technology, 28(7), 629–653. http://dx.doi.org/10.1080/09583157.2018.1469000
5. FAOSTAT. (2024). Crops and Livestock Products. https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize
6. Ferguson, A. R. (2011). Kiwifruit: Evolution of a crop. *Acta Horticulturae*, *91*, 31-42. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.913.1
7. Forghani, F., & Hajihassani, A. (2020). Recent advances in the development of environmentally benign treatments to control root–knot nematodes. Frontiers in Plant Science, 11, 1125. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01125 .
8. Gholamian, E., & Aghajanzadeh, S. (2016). Pests of Kiwifruit Trees in Northern Iran (pp. 9-12). Tehran, Iran. Agricultural Education Publishing. (In Persian).
9. Golmohammadi, M., Ghasemi, M., Banihashemian, S. N. (2019). The study of tolerance or sensitive of kiwifruit varieties to the bacterial canker. 1st Iranian Plant pathology Congress. Karaj, Tehran. Proceedings of the 1th Iranian plant pathology Congress, Karaj, Iran, p. 342. (In Persian).
10. Hussey, R. S., & Barker, K. R. (1973). A comparison of methods of collecting inocula of Meloidogyne spp. including a new technique, *Plant Disease Reporter, 57*, 1025-1028.
11. Jepson, S. B. (1987). Identification of Root-Knot nematodes. Cambrian news Ltd.

12. Meyer, S. L. F. (2003). United States Department of Agriculture–agricultural research service research programs on microbes for management of plant parasitic nematodes. *Pest Management Science*, *59*, 665–670. https://doi.org/10.1002/ps.708
13. Mhatre, P. H., Karthik, C., Kadirvelu, K., Divya, K. L., Venkatasalam, E. P., Srinivasan, S., & Shanmuganathan, R. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A potential alternative tool for nematodes bio–control. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology Journal, 17, 119–128. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.11.009.
14. Migunova, V. D., & Sasanelli, N. (2021). Bacteria as biocontrol tool against phytoparasitic nematodes. *Plants*, *10*(2), 389. https://doi.org/10.3390/plants10020389
15. Mirghasemi S. N., Taheri, A., Khodaygan, P., & Jamali, S. (2023). Biological control of the root–knot nematode (Meloidogyne incognita) in kiwifruit using probiotic bacteria. *Biocontrol in Plant Protection*, *11*(1), 35-47. (In Persian).
16. Monazam, K., Jamali, S., & Alimi, M. (2022). Efficacy of *Pseudomonas* and *Streptomyces* strains on control of root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato under greenhouse conditions. *Iranian Journal of Nematology*, *1*(1), 118-127. (In Persian).
17. Nam, H. S., Anderson, A. J. & Kim, Y. C. (2018). Biocontrol efficacy of formulated pseudomonas chlororaphis O6 against plant diseases and root–knot nematodes. The Plant Pathology Journal, 34(3), 241–249. https://doi.org/10.5423/PPJ.NT.12.2017.0264 .
18. Peiris, P. U. S., Li, Y., Brown, P., & Xu, C. (2020). Efficacy of organic amendments to control Meloidogyne spp. in crops: A systematic review and meta-analysis. Journal of Soils and Sediments, 20, 1584-1598. https://doi.org/10.1007/s11368-019-02498-x
19. Ramezani, H. (2013). Management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* with some organic amendments. *Plant Protection Journal*, *6*(2), 191-197.
20. Saiedi Zadeh, A., Fotokian, M. H., & Niasti, F. (2021). Effect of plant extract on the population of second-stage juveniles of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, under laboratory conditions [Paper presentation]. 8th National Congress of Biology and Natural Sciences of Iran, Tehran, Iran. (In Persian). https://civilica.com/doc/1317099
21. Saleh, H. M., Shafeeq, A. F., & Khairi, M. A. (2023). Biological control of Meloidogyne javanica by Pasteuria penetrans and Trichoderma harzianum on tomato plants. Biodiversitas Journal of Biological Diversity, 24(2), 847-851. https://doi.org/10.13057/biodiv/d240221
22. Santoni F., Paolini, J., Barboni, T., & Cost, J. (2014). Relationships between the leaf and fruit mineral compositions of Actinidia deliciosa var. Hayward according to nitrogen and potassium fertilization. Food Chemistry, 147, 269–271. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.154
23. Shaukat, S. S., Moazzam, A. K., Ahmed, V., & Shahina, F. (2009). Effect of *Meloidogyne javanica* and moisture stress on growth and physiological response of brinjal. *Pakistan Journal of Nematology*, *27*, 281-296.
24. Sikora, R. A., Schafer, K., & Dababat, A. A. (2007). Modes of action associated with microbial induced in planta suppression of plant–parasitic nematodes. Australasian Plant Pathology, 36, 124–134. https://doi.org/10.1071/AP07008
25. Singh, S., Singh, B., & Singh, A. P. (2015). Nematodes: A threat to sustainability of agriculture. *Procedia Environmental Sciences*, *29*, 215-216. https://doi.org/10.1016/j.proenv.2015.07.270
26. Soliman, G. M., Ameen, H. H., Abdel–Aziz, S. M., & El–Sayed, G. M. (2019). *In vitro* evaluation of some isolated bacteria against the plant parasite nematode Meloidogyne incognita. Bulletin of the National Research Centre, 43, 171. https://doi.org/10.1186/s42269-019-0200-0
27. Taylor, D. P., & Netscher, C. (1974). An improved technique for preparing perennial pattern of *Meloidogyne* spp. *Nematologica*, *20*, 268-270.
28. Wang, K. H., Radovich, T., Pant, A., & Cheng, Z. (2014). Integration of cover crops and vermicompost tea for soil and plant health management in a short-term vegetable cropping system. *Applied Soil Ecology*, *82*, 26-37. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.05.003
29. Whitehead, A. G., & Hemming, J. R. (1965). A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. Annual 2016. *Vermicompost Applied Biology*, *55*, 25-38. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1965.tb07864.x

Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 40, No. 3, 2026, p. 689-703

Investigating of the Pyocyanin Effect in Controlling Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Root and Crown Rot Disease Caused by *Rhizoctonia solani*

Arefe Rahimi [1], Saeed Tarighi [1*], Parissa Taheri [1]

1- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(*- Corresponding author's Email: starighi@um.ac.ir)

Received: 30-11-2025
Revised: 17-01-2026
Accepted: 31-01-2026
Available Online: 22-06-2026

How to cite this article:
Rahimi, A., Tarighi, S., & Taheri, P. (2026). Investigating of the pyocyanin effect in controlling tomato (*Solanum lycopersicum* L.) root and crown rot disease caused by *Rhizoctonia solani*. *Iranian Plant Protection Research*, *40*(3), 689-703. (In Persian). https://doi.org/10.22067/JPP.2026/96777.1266

Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is among the most important vegetable crops worldwide due to its substantial nutritional value, economic relevance, and extensive consumption. However, tomato production is continuously challenged by numerous soil-borne pathogens, among which *Rhizoctonia solani* AG4-HG II is recognized as a major causal agent of root and crown rot. This pathogen can severely damage the root system, restrict nutrient uptake, and ultimately lead to plant collapse, resulting in significant yield loss. Conventional chemical fungicides, although widely used, present serious limitations, including environmental risks, development of resistance, and potential negative effects on beneficial soil microbiota. Consequently, biological control strategies, especially those involving plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), have emerged as sustainable alternatives. Among PGPR, *Pseudomonas aeruginosa* is known for synthesizing diverse secondary metabolites, including phenazine compounds with strong antimicrobial properties. Pyocyanin, a blue-green phenazine pigment, has been widely studied for its antibacterial and antifungal effects. Despite the growing interest in this metabolite, its specific antagonistic activity against *R. solani* AG4-HG II and its influence on tomato plant performance have not been adequately addressed. To fill this knowledge gap, the present research aimed to isolate and purify pyocyanin from *P. aeruginosa* PA14, evaluate its antifungal efficiency, and determine its potential as a biological control agent against tomato root and crown rot. This study was carried out at Ferdowsi University of Mashhad between 2023 and 2025.

Materials and Methods

Pseudomonas aeruginosa PA14 and Rhizoctonia solani AG4-HG II were cultured under standard laboratory conditions to obtain fresh and active microbial material. Pyocyanin was extracted from the bacterial supernatant using a chloroform based solvent extraction followed by acid-base purification to obtain a purified pigment. To evaluate the antifungal activity of pyocyanin, a single-sided plate culture assay was performed on potato dextrose agar (PDA). The minimum inhibitory concentration (MIC) was defined as the lowest concentration of pyocyanin that completely inhibited fungal growth. To assess morphological changes caused by pyocyanin, fungal hyphae from the treated plates were examined under a light microscope, and structural abnormalities such as swelling, fragmentation, or collapse of the cell wall were recorded. In the greenhouse experiment, tomato seedlings were treated with pyocyanin at a concentration of 83.33 µg/mL and subsequently inoculated with R. solani. Statistical analyses were conducted using analysis of variance (ANOVA), and differences among means were determined using Duncan's multiple range test at $P < 0.05$.

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

https://doi.org/10.22067/JPP.2026/96777.1266

Results and Discussion

Pyocyanin extracted from *Pseudomonas aeruginosa* PA14 demonstrated a significant inhibitory effect on the growth of *Rhizoctonia solani* AG4-HG II, with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 83.33 µg mL^{-1}. Microscopic observations revealed notable morphological alterations in fungal hyphae treated with pyocyanin, including swelling, fragmentation, and cytoplasmic degradation, indicating severe damage to the fungal structures. These findings confirm the potent antifungal properties of pyocyanin and its direct antagonistic effect on the pathogen. In greenhouse trials, treatment with pyocyanin led to a marked reduction in disease severity in tomato seedlings and leaf discs inoculated with *R. solani*. Based on these observations, it is evident that pyocyanin functions as a highly effective antifungal metabolite capable of disrupting key infection structures of the pathogen. The consistency between in vitro and greenhouse results further supports the reliability of pyocyanin as a biocontrol agent. These outcomes align with previous reports showing that phenazine compounds produced by *Pseudomonas* species suppress soil-borne pathogens through direct mycelial disruption and inhibition of fungal development. Overall, the strong antagonistic activity of pyocyanin highlights its promising potential for use in sustainable and environmentally friendly disease management strategies aimed at reducing reliance on chemical fungicides.

Conclusion

This study demonstrated that pyocyanin extracted from *Pseudomonas aeruginosa* PA14 effectively controlled tomato root and crown rot caused by *Rhizoctonia solani* AG4-HG II by inhibiting fungal growth, disrupting infection structures, and enhancing the plant's systemic resistance. In addition to its direct antifungal activity, pyocyanin contributed to improved plant health under pathogen pressure. The dual mode of action of pyocyanin as both a bioactive compound directly antagonizing the pathogen and as an inducer of plant defense mechanisms highlights its potential as a sustainable and eco-friendly alternative to conventional chemical fungicides. However, while the greenhouse results are promising, further studies under field conditions are essential to validate its practical applicability. Moreover, elucidating the molecular and biochemical pathways involved in pyocyanin-induced resistance would deepen understanding and support the development of effective biocontrol strategies. Overall, pyocyanin represents a valuable biocontrol agent with significant potential for managing soil-borne diseases in tomato and possibly other crops, contributing to sustainable agriculture and reduced reliance on chemical inputs.

Keywords: Antagonist, Biological control, Fenazines, Metabolite, Pathogen

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

مقاله پژوهشی
جلد ۴۰ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۷۰۳-۶۸۹

بررسی اثر پیوسیانین در مهار بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) ایجادشده توسط *Rhizoctonia solani*

عارفه رحیمی[۱]- سعید طریقی[۱*]- پریسا طاهری[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۱

چکیده

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی جهان به شمار می‌رود که به‌دلیل ارزش غذایی بالا و کاربرد وسیع در صنایع غذایی، جایگاه ویژه‌ای در سبد غذایی مردم دارد. یکی از بیماری‌های مهم و خسارت‌زای این گیاه، پوسیدگی ریشه و طوقه ناشی از قارچ *Rhizoctonia solani* است. این بیماری به‌ویژه در مراحل گیاهچه‌ای و بلوغ گیاه رخ داده و می‌تواند عملکرد محصول را تا حدود ۶۰ درصد کاهش دهد. امروزه مدیریت زیستی بیمارگرهای گیاهی به‌وسیله ریزجانداران آنتاگونیست به‌عنوان روشی سازگار با محیط‌زیست به‌عنوان جایگزین روش‌های شیمیایی مطرح شده است. یکی از این روش‌ها، استفاده از ترکیباتی است که توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPRs) تولید می‌شوند. در این پژوهش، پیوسیانین از باکتری *Pseudomonas aeruginosa* PA14 استخراج گردید، سپس برای بررسی فعالیت ضدقارچی آن، روش کشت یک‌طرفه به‌کار گرفته شد و کاهش قطر پرگنه و درصد بازدارندگی به‌میزان ۵۱/۲۴ درصد، نشان‌دهنده فعالیت آنتاگونیستی مؤثر پیوسیانین بود. حداقل غلظت MIC پیوسیانین نیز اندازه‌گیری و برابر ۸۳/۳۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید که باعث مهار رشد میسلیوم قارچ بیمارگر و کاهش معنی‌دار شاخص بیماری تا ۹۹/۹۴ درصد در گیاهان گوجه‌فرنگی رقم موبیل شد. پیوسیانین به‌عنوان یک ترکیب زیست‌فعال، با راهبردهای مختلف شامل تخریب ساختارهای قارچی، مهار رشد میسلیوم و اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی بیمارگر در آزمایشگاه و گلخانه، نقش مؤثری در مهار بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه ایفا کرد. علاوه‌بر این، پیوسیانین به‌دلیل ماهیت طبیعی و اثرات کم‌ضرر آن بر محیط‌زیست، به‌عنوان جایگزینی مناسب و پایدار برای قارچ‌کش‌های شیمیایی مطرح است. یافته‌های این تحقیق نشان‌داد که پیوسیانین توانست تا ۹۹ درصد موجب کاهش رشد قارچ بیمارگر و افزایش بهره‌وری در کشت گوجه‌فرنگی شود.

واژه‌های کلیدی: آنتاگونیست، بیمارگر، فنازین، متابولیت، مدیریت‌زیستی

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.)، متعلق به خانواده بادنجانیان (solanaceae) (Taylor, 1986) و یکی از سبزیجات مهم و پرمصرف در سراسر جهان است که به‌دلیل غنی بودن از ویتامین‌ها (به‌ویژه ویتامین C و A)، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند لیکوپن، نقش مهمی در رژیم غذایی انسان ایفا می‌کند (Salim et al., 2020). تولید جهانی این محصول بیش از ۱۸۰ میلیون تن می‌باشد (Wikifarmer, 2024) این گیاه به‌عنوان یک محصول مهم در بسیاری از کشورها، هم به‌صورت تازه‌خوری و هم در صنایع تبدیلی (مانند رب، سس و کنسرو) مورد استفاده قرار می‌گیرد. با وجود اهمیت اقتصادی و غذایی بالا، تولید گوجه‌فرنگی همواره با چالش‌هایی از جمله آفات و بیماری‌های مختلف مواجه است (Khokhar & Kumar, 2024).

یکی از بیماری‌های مهم پوسیدگی ریشه و طوقه در گوجه‌فرنگی، *Rhizoctonia solani* است (Solanki et al., 2012; Pourmahdi & Taheri, 2015). این قارچ دارای دامنه میزبانی وسیعی بوده و می‌تواند به انواع مختلفی از محصولات کشاورزی از جمله گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.)، ذرت (*Zea mays* L.)، پنبه (*Gossypium herbaceum* L.) و غلات ایجاد خسارت کند. قارچ *R. solani* باعث بروز بیماری‌های مختلفی از

۱- گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: starighi@um.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/JPP.2026/96777.1266

جمله پوسیدگی ریشه و پژمردگی ساقه در گیاهان می‌شود. در گوجه‌فرنگی، این قارچ سبب بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه می‌شود که می‌تواند منجر به کاهش عملکرد محصول تا ۶۰ درصد شود (Agarwal et al., 2023; Halifu et al., 2019). این قارچ با ایجاد ضایعات نکروتیک در ریشه و طوقه گیاه، مانع از جذب آب و مواد غذایی می‌شود که در نهایت موجب ضعف عمومی گیاه و مرگ آن می‌گردد (Tjamos et al., 2013).

مدیریت این بیماری به‌دلیل گستردگی دامنه میزبانی و قابلیت زنده ماندن قارچ در خاک به‌شکل میسلیوم و اسکلروت، دشوار است. استفاده مکرر از قارچ‌کش‌های شیمیایی با عوارض زیست‌محیطی و مقاومت قارچ‌ها، پژوهشگران را به سمت روش‌های مدیریت زیستی هدایت کرده است (Paulitz & Bélanger, 2001). مدیریت زیستی معمولاً شامل استفاده از ریزموجوداتی مانند باکتری‌ها (مثل *Bacillus* spp. یا *Pseudomonas* spp.)، قارچ‌ها (مثل *Trichoderma* spp.)، ویروس‌ها یا آنتاگونیست‌های طبیعی دیگر برای مقابله با بیمارگرها است (Eilenberg et al., 2001). یکی از این راهکارهای زیستی، استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)[1] می‌باشد.

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که سویه‌های مختلف *P. aeruginosa* و *P. fluorescens* با تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فنازین‌ها، ۲،۴-دی استیل فلوروگلوسینول (2,4-DAPG)[2]، پیولوتئورین، پیرول نیترین، هیدروژن سیانید (HCN)، سیدروفورها و آنزیم‌های هیدرولیتیک نظیر کیتیناز و گلوکاناز، قادر به مهار رشد بیمارگرهای قارچی و باکتریایی هستند (Islam et al., 2018).

از جمله این باکتری‌ها، *P. aeruginosa* PA14 است که توانایی بالایی در تولید ترکیبات ضدمیکروبی از جمله پیوسیانین، هیدروژن سیانید، سیدروفور و آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی قارچ‌ها دارد (Lau et al., 2004).

P. aeruginosa یک باکتری گرم منفی، متحرک و هوازی اختیاری است که به‌طور گسترده در محیط‌های مختلف از جمله خاک، آب و محیط‌های بالینی یافت می‌شود (Wu et al., 2015). این باکتری قابلیت تولید طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه زیست‌فعال را دارد که برخی از آن‌ها دارای خواص ضدمیکروبی قوی هستند. پیوسیانین (Pyocyanin)، یکی از مهم‌ترین رنگدانه‌های فنازینی تولیدشده توسط *P. aeruginosa* است که به رنگ سبز–آبی بوده و دارای سمیت، خواص ضدمیکروبی و سرکوب‌کننده سیستم ایمنی است (Feghali & Na'was, 2018; El-Fouly et al., 2015). این ترکیب با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و اختلال در فعالیت‌های سلولی بیمارگرها، اثرات ضدمیکروبی خود را اعمال می‌کند (Sudhakar et al., 2013).

گونه‌های خاک‌زی باکتری *P. aeruginosa* به‌عنوان عوامل مهار زیستی علیه *Fusarium* spp.، عامل پژمردگی نخود (*Cicer arietinum* L.) و مرگ گیاهچه‌های پیتیوم لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) معرفی‌شده‌اند (Sindhu et al., 2016). در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۱۶، گونه H40 *P. aeruginosa* را در مواجهه با قارچ‌های بیمارگر بوته‌های متعدد (برنج (*Oryza sativa* L.)، بادام‌زمینی (*Arachis hypogaea* L.)، تنباکو (*Nicotiana tabacum* L.)، فلفل (*Capsicum annuum* L.) و غیره)، مانند *Sclerotium rolfsii*، *Pythium ultimum*، *Aspergillus flavus*، *R. solani*، *F. solani*، *F. oxysporum*، *A. niger* و *Alternaria solani* بررسی کردند و فعالیت ضدقارچی مؤثر پیوسیانین را نشان دادند (Selim et al., 2016). پیوسیانین تولیدشده توسط سویه 7NSK می‌تواند مقاومت سیستمیک القایی (ISR)[3] را در برابر بیماری بلاست برگ برنج افزایش داده، امّا حساسیت به *R. solani* را بیشتر کند (De Vleesschauwer et al., 2007). دبریتو و همکاران (DeBritto et al., 2020)، استخراج پیوسیانین تحت شرایط تغذیه‌ای خاص را بررسی کرده و اثر ضدقارچی آن را علیه *Macrophomina phaseolina*، عامل پوسیدگی ذغالی سویا (*Glycine max* L.)، گزارش کردند. اودنائرت و همکاران (Audenaert et al., 2002)، نقش کلیدی پیوسیانین و پیوچلین را در القای مقاومت سیستمیک علیه *Botrytis cinerea* در گوجه‌فرنگی شناسایی نمودند. در پژوهشی دیگر، فعالیت ضدقارچی پیوسیانین در برابر *F. oxysporum* بررسی و مشخص شد که جدایه HB9 بیشترین تأثیر را در مهار هاگ‌زایی و رشد هیف داشت (Mahmoud et al., 2016). در پژوهشی دیگر در عراق، پیوسیانین استخراج‌شده از *P. aeruginosa*، اثربخشی گسترده‌ای در برابر باکتری‌ها و قارچ‌های مورد بررسی داشت (Abdul-Hussein & Atia, 2016). همان‌طور که ذکر گردید، مطالعات متعددی اثرات زیستی و القای مقاومت پیوسیانین را در برابر عوامل بیماری‌زای مختلف گیاهی گزارش کرده‌اند. بااین‌حال، در ایران، بیشتر مطالعات انجام‌شده روی پیوسیانین به حوزه‌های پزشکی، بیوتکنولوژی و کاربردهای صنعتی اختصاص داشته و بررسی اثرات این رنگدانه بر بیماری‌های گیاهی به‌ویژه مهار عوامل قارچی کمتر مورد توجه قرار گرفته است (Moayedi et al., 2017; Mohseni & Shariat, 2021). با وجود اهمیت اقتصادی گوجه‌فرنگی و خسارت بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه ناشی از *R. solani*، بررسی اثر پیوسیانین بر پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی

1- plant growth-promoting rhizobacteria
2- 2,4-Diacetylphloroglucinol
3- Induced systemic resistance

می‌تواند در توسعه راهکارهای پایدار و سازگار با محیط‌زیست برای مدیریت این بیماری در ایران و جهان مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

سویه باکتری

سویه باکتری *Pseudomonas aeruginosa* PA14 از کلکسیون باکتری‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. در این پژوهش، در تمام مراحل انجام کار به‌منظور نگهداری و تجدید کشت این سویه، از محیط کشت Pseudomonas agar P (PAP) استفاده گردید.

جدایه قارچ

جدایه قارچی *Rhizoctonia solani* AG4-HG II از کلکسیون قارچ‌شناسی گروه بیماری‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید، که از گوجه‌فرنگی‌های آلوده جداسازی شده بود (Pourmahdi & Taheri, 2015). در این پژوهش، به‌منظور نگهداری و تجدید کشت این جدایه، از محیط‌کشت Potato Dextrose Agar (PDA) در تشتک‌پتری سترون استفاده گردید که در دمای ۲۸ درجه‌سلسیوس به مدت پنج تا هفت روز نگهداری شد تا پرگنه‌های قارچی رشد کامل یابند و برای آزمایش‌های بعدی آماده شوند. برای هر آزمایش، از پلاگ‌های قارچی با قطر پنج میلی‌متر که از حاشیه پرگنه‌های فعال قارچ تهیه شده بودند، استفاده گردید (Agrios, 2005).

تولید، استخراج و خالص‌سازی پیوسیانین

برای اطمینان از خلوص کشت، سویه باکتری *P. aeruginosa* PA14در محیط‌کشت PAP در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت دو روز کشت داده شد و ریخت‌شناسی کلنی‌ها بررسی گردید. به‌منظور استخراج پیوسیانین، سویه باکتری در محیط مایع King's B (KB) به مدت دو روز کشت داده شد (Gahlout et al., 2017)، سپس سانتریفیوژ شده و مایع رویی با کلروفرم (۱:۱) استخراج گردید. پس از تغییر رنگ مایع زیرین با افزودن HCl ۰/۱ نرمال (۱:۲) و سپس NaOHیک نرمال به‌صورت قطره‌قطره قلیایی شد و بلورهای پیوسیانین استخراج شدند (Emad & Abdelaziz et al., 2023 ; Feghali & Na'was, 2018Alsalim, 2017 ;).

بررسی خاصیت بازدارندگی پیوسیانین علیه قارچ بیمارگر در آزمایشگاه

به‌منظور بررسی خاصیت بازدارندگی پیوسیانین علیه قارچ AG4-HG II *R. solani* از روش کشت یک‌طرفه استفاده شد. به این صورت که یک سمت تشتک‌پتری هشت سانتی‌متری حاوی محیط کشت PDA، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاوی ۰/۱گرم پیوسیانین حل‌شده در یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل، داخل چاهک به قطر پنج میلی‌متر اضافه گردید. در سمت دیگر یک پلاگ قارچ *R. solani* کشت شد (Sánchez-Fernández et al., 2016). به‌جای پیوسیانین در پتری شاهد، آب‌مقطر سترون داخل چاهک اضافه گردید. تشتک‌پتری‌ها در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار گرفتند. زمانی‌که قارچ بیمارگر در تشتک‌پتری شاهد به‌طور کامل رشد کرد، رشد میسلیوم‌های قارچ بیمارگر اندازه گیری گردید. این آزمایش دو مرتبه و هر مرتبه با سه تکرار انجام شد و درصد بازدارندگی طبق (Noori & Mohd Saud, 2012) محاسبه گردید.

$$n = \left(\frac{a-b}{a}\right) \times 100 \quad (۱)$$

که در آن، n: درصدبازدارنگی رشد میسلیومی قارچ بیمارگر، a: قطر پرگنه قارچ بیمارگر در شاهد و b: قطر پرگنه قارچ بیمارگر در تیمار است.

سنجش MIC[1] پیوسیانین

حداقل غلظتی از پیوسیانین که منجر به مهار رشد قابل مشاهده میسلیوم قارچ نسبت به شاهد شود به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد (Andrews, 2001). برای سنجش MIC پیوسیانین، از روش سری‌رقت و کشت در محیط حاوی سری‌های‌رقت استفاده شد. لوله‌های فالکن از قبل از 10^{-1} تا 10^{-9} علامت‌گذاری شده بودند و حاوی سه میلی‌لیتر آب مقطر سترون بودند، به‌این ترتیب، ۰/۱میلی‌گرم پودر پیوسیانین در ۱۰میلی‌لیتر آب مقطر سترون حل شد و به لوله فالکن اول (10^{-1}) اضافه و به‌خوبی مخلوط گردید، سپس از لوله‌فالکن اول یک میلی‌لیتر برداشته و به لوله فالکن دوم (10^{-2}) اضافه شد، باقی مراحل به همین صورت انجام گردید. پس از آن، محتوای هر لوله فالکن با ۱۷ میلی‌لیتر محیط کشت PDA مخلوط و داخل تشتک‌پتری سترون ریخته شد. بعد از ۲۴ ساعت، قطعه میسلیومی به قطر پنج میلی‌متر از قارچ *R. solani* AG4-HG II در مرکز تشتک‌پتری قرار داده شد و به مدت پنج تا هفت روز در دمای ۲۸ درجه‌سلسیوس انکوبه گردید. در پایان دوره، قطر رشد میسلیوم در تیمارها با شاهد منفی مقایسه گردید (Sun et al., 2015). این آزمایش با سه تکرار برای پیوسیانین انجام شد و سپس درصد بازدارندگی مطابق روش نوری محاسبه گردید (Noori & Mohd Saud, 2012).

1- Minimum Inhibitory Concentration

بررسی اثر پیوسیانین بر خصوصیات ریخت‌شناسی قارچ *R. solani*

تغییرات ریخت‌شناختی ریسه‌های قارچ بیمارگر *R. solani* در حضور پیوسیانین مورد بررسی قرار گرفت. برای مشاهده ریسه‌ها از نوارچسب استفاده شد. در این روش، نوار چسبی به‌آرامی روی ریسه‌های قارچی در محل هاله بازدارنده قرار گرفت تا نمونه‌ای از ریسه‌ها برداشته شود (Maurya et al., 2011). نمونه‌ها پس از آماده‌سازی با میکروسکوپ نوری (مدل 872E، ساخت Carl Zeiss AG) مشاهده شدند و تغییرات ریخت‌شناختی ریسه‌ها مورد بررسی قرارگرفت.

کشت بذور گوجه‌فرنگی

بذور گوجه‌فرنگی رقم موبیل (Mobil) به مدت دو دقیقه با استفاده از سدیم هیپوکلریت ۰/۱ درصد ضدعفونی و سه مرتبه با آب مقطر سترون شستشو شدند، سپس در سینی نشاء و بعد از آن به گلدان‌های حاوی خاک‌برگ، خاک مزرعه و پرلیت (۱:۲:۱) سترون منتقل گردید. گلدان‌ها در گلخانه با رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد و دمای روز و شب به‌ترتیب ۲۷/۳ و ۲۲/۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام و سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد.

تهیه مایه تلقیح *R. solani*

تلقیح قارچ بیمارگر *R. solani* AG4-HG II به‌وسیله خلال‌دندان به‌طول دو سانتی‌متر که سترون و سپس کلونیزه شده، انجام گردید. به این ترتیب که روی سطح محیط کشت PDA، ۱۵ قطعه خلال دندان در محیط قرار داده شد و سپس یک قطعه میسلیوم قارچ در مرکز تشتک‌پتری قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت یک هفته در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Taheri et al., 2007). خلال‌دندان‌ها روی ساقه گیاه در فاصله دو سانتی‌متری از سطح خاک قرار گرفتند (Daroodi et al., 2022).

تلقیح پیوسیانین به نهال‌های گوجه‌فرنگی

محلول پیوسیانین با غلظت ۸۳/۳۳ میکروگرم برمیلی‌لیتر تهیه شد و یک هفته بعد از انتقال نشاءها به گلدانها، در پای طوقه گیاهان اسپری شد. محلول پاشی دوم ۴۸ ساعت بعد از تلقیح با قارچ بیمارگر انجام شد.

اثر پیوسیانین بر شدت بیماری ایجادشده توسط *R. solani*در نهال‌های گوجه‌فرنگی

برای بررسی اثر پیوسیانین بر مدیریت بیمارگر در گلخانه، یک هفته بعد از شروع تلقیح پیوسیانین به نهال‌های گوجه‌فرنگی، گیاهان با قارچ بیمارگر به‌وسیله خلال‌دندان تلقیح شدند و بعد از آن نیز محلول‌پاشی پیوسیانین ادامه یافت. گیاهان تلقیح‌شده در گلخانه با رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد و میانگین دمای ۲۴ درجه‌سلسیوس نگهداری شدند. پس از هفت روز، گیاهان به‌دقت از خاک خارج شده و شدت بیماری با استفاده از (۲ به دست آمد.

بررسی شاخص بیماری روی قرص‌های برگی

برای اندازه‌گیری شاخص بیماری با استفاده از روش قرص‌های برگی، نمونه‌های برگی به قطر دو سانتی‌متر از برگ‌های اول گیاهان گوجه‌فرنگی در زمان‌های مختلف ۰، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار شدن با پیوسیانین و گیاه شاهد (فاقد پیوسیانین) برداشته شد. این قرص‌های برگی روی لام شیشه‌ای داخل تشتک‌پتری حاوی کاغذ صافی مرطوب قرار گرفتند. سپس هر قرص با یک پلاگ پنج میلی‌متری از میسیلیوم قارچ *R. solani* AG4 HG-II تلقیح گردید. تشتک‌پتری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از پنج روز، علائم بیماری براساس میزان پوسیدگی و تغییر رنگ برگ‌ها ارزیابی و درجه‌بندی شدند (Nikraftar et al., 2013). در ادامه، شاخص بیماری با استفاده از معادله ۲ (Nikraftar et al., 2016) محاسبه گردید.

$$DI = \left(\frac{0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4}{4N}\right) \times 100 \quad (۲)$$

که در آن، ۰: عدم آلودگی، ۱: درصد آلودگی ۲۵-۱، ۲: درصد آلودگی ۵۰-۲۶، ۳: درصد آلودگی ۷۵-۵۱ و ۴: درصد آلودگی ۱۰۰-۷۶ است.

اثر پیوسیانین روی شاخص بیماری ایجادشده توسط بیمارگر در نهال‌های گوجه‌فرنگی

تعیین شاخص بیماری *R. solani* AG4 HG-II روی نهال‌های گوجه‌فرنگی هفت روز بعد از تلقیح بیمارگر انجام شد. ارزیابی نواحی نکروزه و زخمی با مقایسه بین گیاهچه های تیمارشده با پیوسیانین، آب (شاهد منفی) و قارچ‌کش ایپرودیون کاربندازیم (یک گرم در لیتر به‌صورت محلول‌پاشی)، با استفاده از درجه‌بندی زیر صورت گرفت (Wen et al., 2005).

۱. طول نکروز ریشه کمتر از ۲/۵ میلی‌متر
۲. نکروز بین ۵-۲/۵میلی‌متر
۳. نکروز بیش از ۵ میلی‌متر
۴. پوشاندن زخم دور تا دور طوقه و ریشه
۵. مرگ گیاهچه

سپس شاخص بیماری طبق (۲ محاسبه شد.

بررسی تشکیل ساختارهای آلوده‌کننده توسط قارچ *R. solani*

برای بررسی فرآیند آلوده‌سازی توسط قارچ *R. solani* AG4 HG-II، قرص‌های برگی از گیاهان گوجه‌فرنگی تلقیح‌شده با پیوسیانین و گیاه شاهد تهیه شدند. گیاه شاهد در این آزمایش تنها با آب آبیاری شده و هیچ‌گونه پیوسیانینی دریافت نکرده بود. سپس، این قرص‌ها طبق روش قبلی با *R. solani* AG4 HG-II تلقیح گردید. پنج روز پس از تلقیح، رنگ‌آمیزی ریسه‌ها با استفاده از آنیلین‌بلو انجام شد. در این روش، قرص‌های برگی ابتدا به مدت یک شب در محلول AFE (شامل پنج درصد اسیداستیک، دو درصد فرمالدهید و ۶۳ درصد اتانول) قرار گرفتند. سپس در محلول لاکتوفنول در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. در نهایت، ساختارهای آلوده‌کننده قارچ بیمارگر با محلول لاکتوفنول حاوی آنیلین بلو یک درصد رنگ‌آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری (مدل 872E، ساخت Carl Zeiss AG) مشاهده گردید (Nikraftar et al., 2013).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار برای هر تیمار در هر آزمایش انجام شدند و هر آزمایش سه بار تکرار گردید. تجزیه و تحلیل آماری میانگین داده‌های هر آزمایش با استفاده از نرم افزار SPSS statistics 27 و آزمون دانکن در سطح پنج درصد ($P< 0.05$) انجام شد. تمامی نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel2016 رسم گردید.

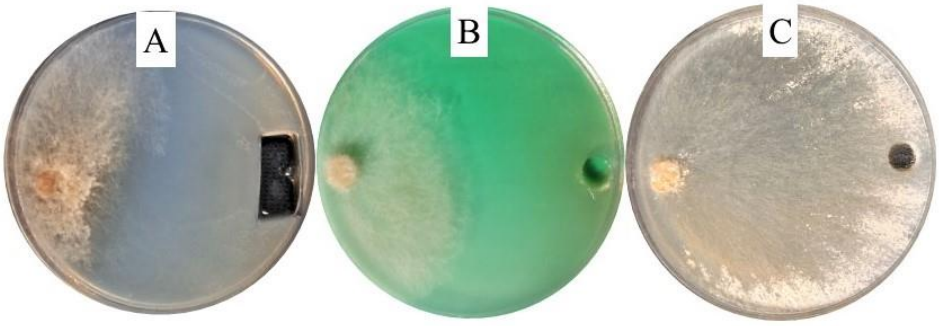
نتایج

بررسی توانایی بازدارندگی پیوسیانین در کشت یک‌طرفه با قارچ بیمارگر

در تمام پتری‌ها هاله بازدارنده مشاهده شد. پیوسیانین استخراج شده از *Pseudomonas aeruginosa* PA14 با ایجاد هاله بازدارنده به قطر ۵/۵۶ ±۴۱ سانتی‌متر از رشد قارچ بیمارگر ممانعت کرد. کاهش قطر پرگنه و درصد بازدارندگی به‌مقدار ۵۱/۲۴ درصد در حضور این ترکیب نشان می‌دهد که دارای خاصیت آنتاگونیستی مؤثر علیه عامل بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی است. تفاوت چاهک در تشتک‌های‌پتری حاوی پیوسیانین (شکل ۱ A و B) تنها برای پخش‌شوندگی بهتر پیوسیانین بود. در هر دو حالت، پیوسیانین توانست به‌خوبی جلوی پیشروی میسلیوم‌های قارچ بیمارگر را نسبت به شاهد (شکل ۱ C) بگیرد.

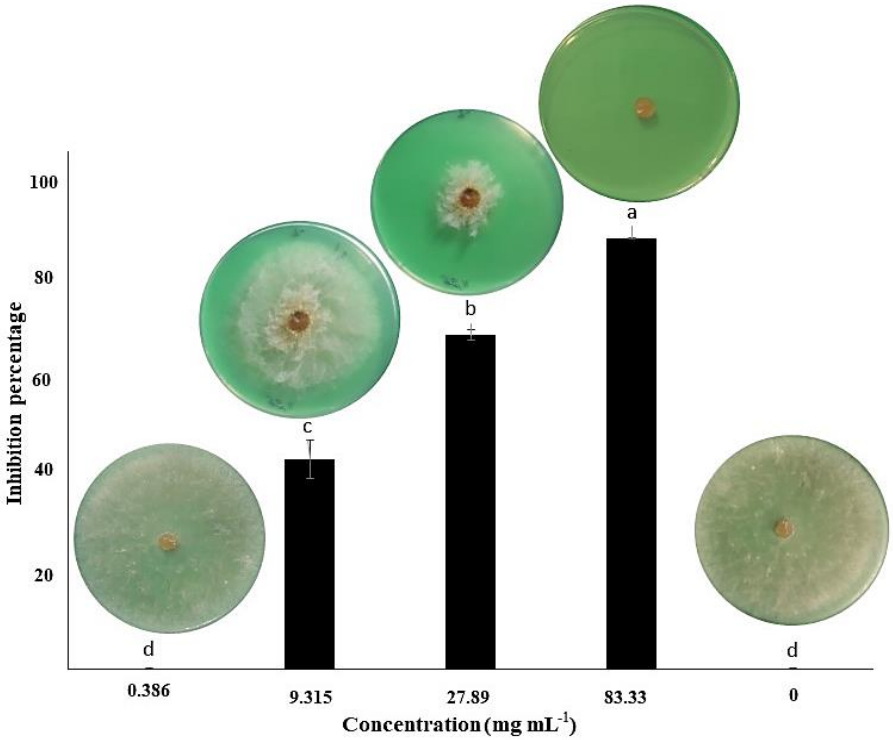
بررسی MIC پیوسیانین

طبق داده‌های به‌دست‌آمده، غلظت ۸۳/۳۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر با درصد بازدارندگی ۹۹/۹۴ درصد به‌عنوان MIC پیوسیانین در این مطالعه اندازه‌گیری شد. در غلظت‌های ۰/۳۸۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کمتر، درصد بازدارندگی مشابه تشتک‌پتری شاهد حاوی آب مقطر سترون و نزدیک به صفر بود (شکل ۲).



شکل ۱- نمونه‌های کشت یک‌طرفه برای بررسی توانایی بازدارندگی پیوسیانین تولیدشده توسط باکتری *Pseudomonas aeruginosa* PA14 علیه قارچ *Rhizoctonia solani* AG4 HG- II. تشتک‌پتری حاوی پیوسیانین (A,B) و تشتک‌پتری شاهد (C)

Figure 1- Single-sided culture samples for evaluating the inhibitory effect of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* PA14 against the fungus *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II. Petri dishes containing pyocyanin (A, B) and the control Petri dish (C)

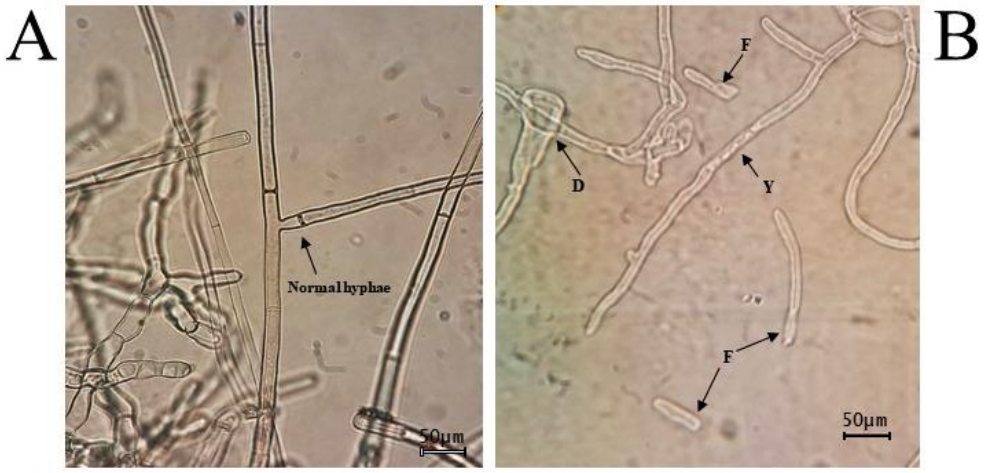


شکل ۲- فعالیت بازدارندگی رشد قارچ بیمارگر *Rhizoctonia solani* AG4 HG- II در محیط‌کشت PDA حاوی غلظت‌های مختلف پیوسیانین تولیدشده توسط *Pseudomonas aeruginosa* PA14 جهت بررسی حداقل غلظت‌بازدارنده رشد (MIC)

Figure 2- Inhibitory activity of the pathogenic fungus growth of *Rhizoctonia solani* AG4 HG- II in PDA medium containing different concentrations of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* PA14 to determine the minimum inhibitory concentration (MIC)

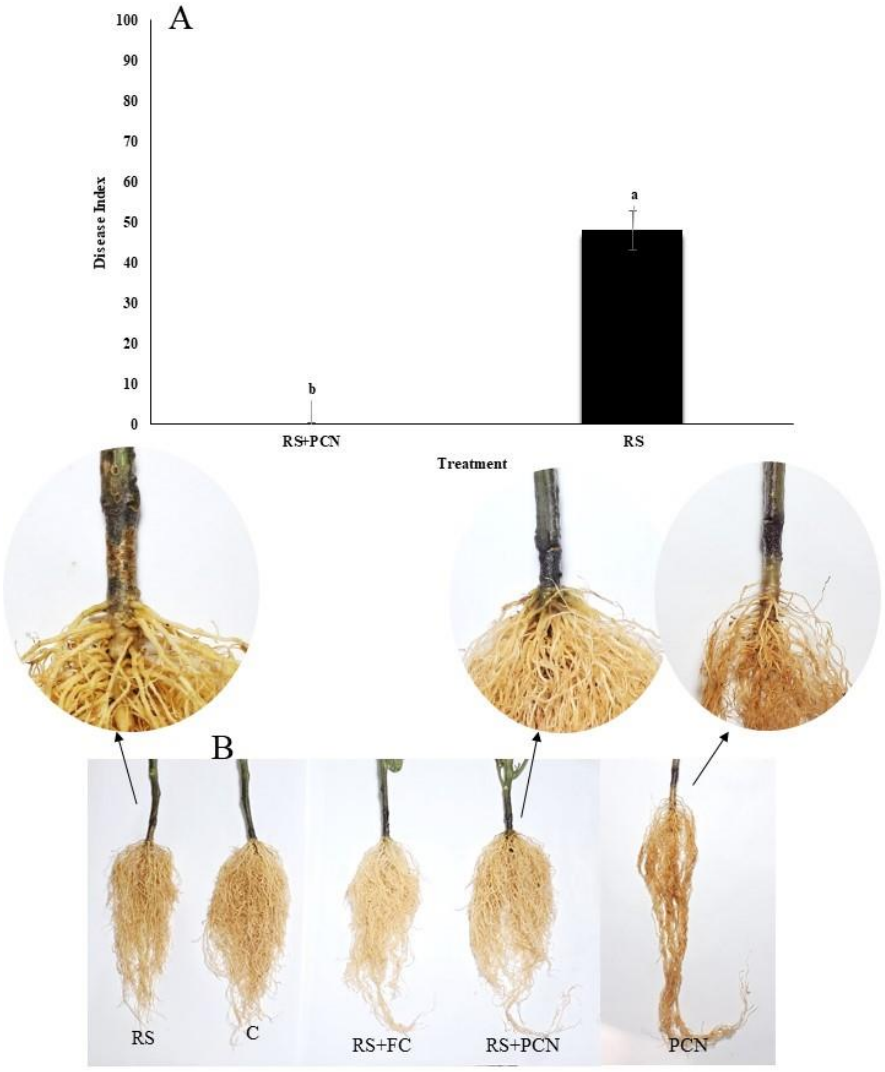
این آزمایش با سه تکرار و تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های هر آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS statistics 27 و آزمون دانکن در سطح $P< 0.05$ انجام شد.

The experiment was conducted with three replicates, and statistical analysis of the mean data from each experiment was performed using SPSS Statistics 27 software, followed by Duncan's multiple range test at $P < 0.05$.



شکل ۳- تأثیر پیوسیانین روی ریخت‌شناسی ریسه قارچ بیمارگر در کشت متقابل. ریسه قارچ *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II در تشتک‌پتری شاهد (A) و تحت تأثیر پیوسیانین تولیدشده توسط *Pseudomonas aeruginosa* PA14 (B)، F: تخریب، قطعه قطعه شدن، Y: انعقاد سیتوپلاسمی‌شده، D: تورم ریسه‌ها

Figure 3- Effect of pyocyanin on the hyphal morphology of the pathogenic fungus in dual culture. Hyphae of *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II in the control (A) and in the presence of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* PA14 (B). F: hyphal degradation and fragmentation; Y: cytoplasmic coagulation; D: Hyphal swelling



شکل ٤- اثر پیوسیانین تولیدشده توسط *Pseudomonas aeruginosa* PA14 روی شاخص بیماری *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II (A)، توسعه علائم بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه ناشی از *R. solani* AG4 HG-II هفت روز بعد از تلقیح قارچ بیمارگر در نهال‌های گوجه‌فرنگی (B) تیمار پیوسیانین بدون قارچ بیمارگر (PCN)، تیمار با پیوسیانین و سپس قارچ بیمارگر (RS+PCN)، شاهدمثبت حاوی قارچ‌کش ایپرودیون کاربندازیم (FC)، شاهدمنفی (C) و شاهد بیمار (RS)

Figure 4– Effect of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* PA14 on the disease index of *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II (A), development of root and crown rot symptoms caused by *R. solani* AG4 HG-II seven days after inoculation in tomato seedlings (B) treatments consisted of pyocyanin alone (PCN), pyocyanin followed by pathogen inoculation (RS+PCN), positive control treated with the fungicide Iprodione–carbendazim (FC), negative control (C), and pathogen-inoculated control *R. solani* only (RS)

بررسی ریسه‌های *R. solani* AG4 HG-II تحت تأثیر پیوسیانین در کشت یک‌طرفه

بررسی با میکروسکوپ نوری در کشت یک‌طرفه قارچ بیمارگر با پیوسیانین روی محیط کشت PDA هنگامی که تشتک‌پتری شاهد کاملاً با ریسه‌های قارچ بیمارگر پوشیده شد، صورت گرفت. ظاهر ریسه‌های قارچ *R. solani* AG4 HG-II در تشتک‌پتری شاهد (شکل ۳ A) طبیعی بود، امّا ریسه‌های *R. solani* AG4 HG-II در کشت یک‌طرفه با پیوسیانین (شکل ۳ B) استخراج‌شده از باکتری *P. aeruginosa* PA14 تغییر یافت. این تغییرات شامل کاهش شفافیت، تورم، تخریب، قطعه قطعه شدن و انعقاد سیتوپلاسمی در ریسه‌ها بود.

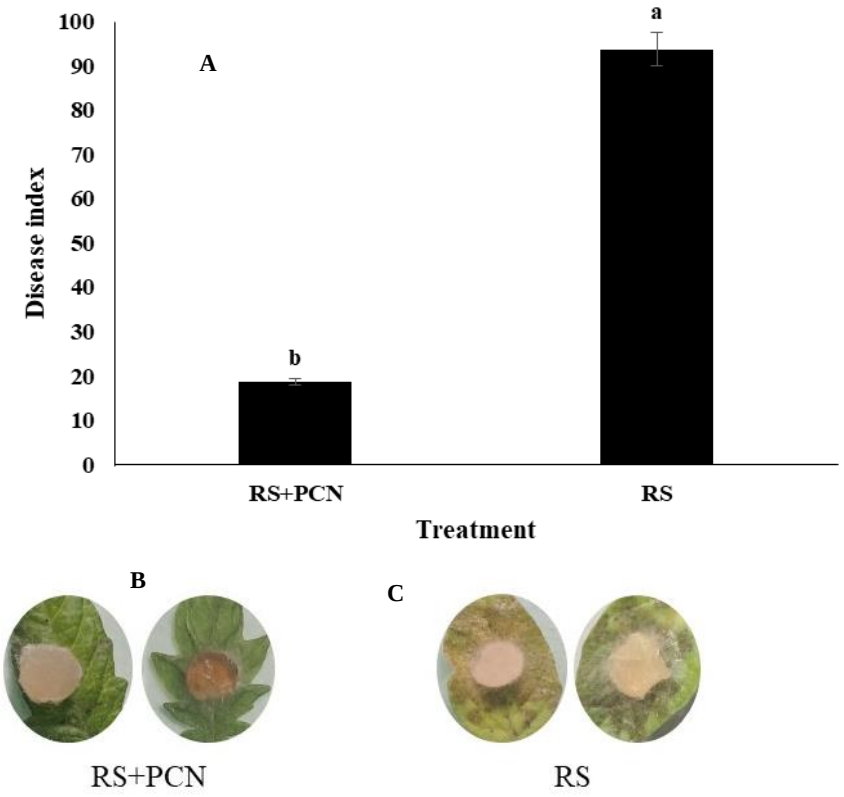
نتایج آزمون بیماری‌زایی روی نهال گوجه‌فرنگی

استفاده از پیوسیانین در نهال‌های گوجه‌فرنگی به‌طور قابل توجهی توسعه بیماری پوسیدگی ریشه ناشی از *R. solani* AG4

HG-II را در مقایسه با گیاهان شاهد و بدون پیوسیانین (شکل ۴، RS و C)، کاهش داد. پیوسیانین توانست شدت بیماری ناشی از *R. solani* را از ۴۸ درصد به کمتر از یک درصد کاهش دهد (شکل ۴، RS+PCN) که بیانگر قابلیت بالای این ترکیب در مدیریت زیستی است. به‌علاوه در شاهد مثبت که از قارچ‌کش ایپردیون کاربندازیم استفاده شد در مقایسه با تیمار پیوسیانین، علائم آلودگی مشاهده نشد، امّا اثر پیوسیانین روی توسعه ریشه مشهود است (شکل ۴، RS+FC) و اثر پیوسیانین به‌تنهایی روی طول ریشه گیاه گوجه‌فرنگی نسبت به گیاهان شاهد قابل مشاهده می‌باشد (شکل ۴، PCN).

نتایج آزمون بیماری‌زایی روی قرص‌های‌برگی

کاهش شاخص بیماری از ۹۳/۷۵ درصد در قرص‌های‌برگی شاهد به ۱۸/۷۵ درصد در قرص‌های‌برگی حاصل از نهال‌های تیمارشده با پیوسیانین نشان می‌دهد که پیوسیانین علاوه‌بر اثر مستقیم ضدقارچی، احتمالاً موجب القای مقاومت سیستمیک در نهال‌های گوجه‌فرنگی شده است. این موضوع بیانگر نقش حفاظتی پیوسیانین در افزایش مقاومت بافت‌های گیاهی در برابر *R. solani* می‌باشد (شکل ۵).



شکل ۵- اثر پیوسیانین (PCN) روی شاخص بیماری ناشی از *Rhizoctonia solani* AG4 HG- II(RS) (A) و توسعه علائم ناشی از *Rhizoctonia solani* AG4 HG- II، هفت روز بعد از تلقیح قارچ بیمارگر در قرص‌های برگی تهیه‌شده از نهال گوجه‌فرنگی تیمارشده با پیوسیانین (B) و شاهد فاقد تیمار (C)

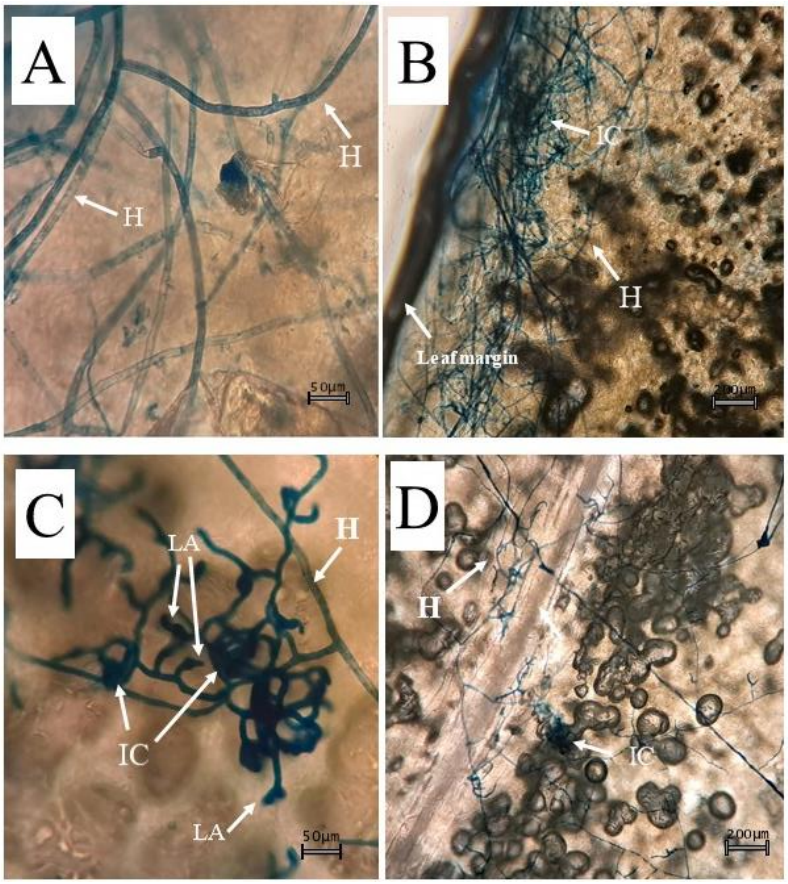
Figure 5- Effect of pyocyanin (PCN) on the disease index caused by *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II (RS) (A), and development of disease symptoms induced by *R. solani* AG4 HG-II at 7 days post-inoculation in detached leaf discs prepared from pyocyanin-treated tomato seedlings (B) and untreated control seedlings (C)

بررسی انواع ساختارهای آلوده‌کننده تشکیل‌شده توسط *R. solani* AG4 HG-II

بررسی‌های میکروسکوپی، تغییرات مورفولوژیک ریسه‌های قارچ *R. solani* AG4 HG-II را تحت تأثیر پیوسیانین استخراج‌شده از باکتری *P. aeruginosa* PA14 نشان می‌دهند. ساختارهای قارچ بیمارگر از جمله ریسه، بالشتک آلوده‌کننده[1] و آپرسوریوم‌های لوب‌دار[2]

1- Infection cushion
2- Lopat appressorium

در قرص‌های برگی شاهد که فقط با *R. solani* AG4 HG- II تلقیح شدند نسبت به قرص‌های برگی که با پیوسیانین تیمار شدند، بیش‌تر بود. ریسه‌های قارچ در سطح اپیدرم برگ گسترش یافتند و از طریق روزنه و یا از طریق کوتیکول به‌طور مستقیم وارد بافت برگ می‌شوند. در قرص‌های برگی تیمارشده فقط ریسه‌های قارچ که در حاشیه برگ قرار داشتند، مشاهده شد، درصورتی‌که در قرص‌های برگی که تیمار نشدند، علاوه‌بر ریسه، بالشتک آلوده‌کننده و آپرسوریوم لوب‌دار به‌وضوح قابل مشاهده بود (شکل ۶).



شکل ٦- بررسی میکروسکوپی میزان آلودگی توسط قارچ *Rhizoctonia solani* AG4 HG- II روی برگ‌های گوجه‌فرنگی به‌روش قرص برگی. نفوذ ریسه قارچ به برگ و تجمع ریسه‌ها در حاشیه برگ‌های تیمارشده با پیوسیانین (A, B) و وجود ساختارهای کامل ریسه‌های قارچ و پراکندگی در سطح برگ شاهد (C, D)، H: ریسه قارچ، IC: بالشتک آلوده‌کننده، LA: آپرسوریوم لوب‌دار

Figure 6 – Microscopic analysis of infection level by *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II on tomato leaves using the leaf disc method. penetration of fungal hyphae into the leaf and accumulation of hyphae at the margins of pyocyanin -treated leaves (A, B), and the presence of fully developed fungal hyphal structures and widespread distribution on the surface of untreated leaves (C, D), H: fungal hyphae, IC: infection cushion, LA: **lopat appressorium**

بحث

این مطالعه به بررسی اثر پیوسیانین استخراج‌شده از سویه *Pseudomonas aeruginosa* PA14 در مدیریت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گوجه‌فرنگی ناشی از *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II پرداخت. نتایج آزمایش‌های کشت یک‌طرفه در تشتک‌پتری نشان داد که پیوسیانین توانست رشد قارچ را به‌طور مؤثر مهار کند، به‌طوری‌که در تمام پتری‌ها، هاله‌بازدارنده ایجاد و قطر پرگنه قارچ کاهش یافت. این نتایج نشان‌دهنده خاصیت آنتاگونیستی قوی پیوسیانین علیه عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه است. مطالعات پیشین نیز به اثربخشی ضدقارچی پیوسیانین اشاره کرده‌اند. به‌عنوان مثال، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) پیوسیانین برای قارچ *Sclerotium rolfsii* برابر با ۲۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد و توانایی این ترکیب در مهار رشد قارچ‌های *Aspergillus niger*، *Fusarium oxysporum* و *Colletotrichum falcatum* نشان داده شد (Allen et al., 2005). همچنین سویه *P.*

aeruginosa WS1 با تولید پیوسیانین، فعالیت ضدقارچی نشان داد و MICاین ترکیب برای قارچ‌های *A. flavus* و *A. fumigatus* ۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای *Candida* sp. ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد (Sudhakar & Karpagam, 2011). تفاوت در MICهای گزارش‌شده می‌تواند ناشی از روش‌های متفاوت استخراج، محیط‌کشت و سویه‌های مختلف قارچ‌ها باشد (Hamad et al., 2020). بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد که حضور پیوسیانین باعث بروز تغییرات ساختاری قابل توجهی در ریسه‌های قارچ از جمله تورم، قطعه قطعه شدن ریسه‌ها و انعقاد سیتوپلاسمی شد. این یافته‌ها با گزارش‌های پیشین در مورد ترکیبات فرار تولیدشده توسط *Pseudomonas* spp. مطابقت دارد که موجب تغییرات ساختاری در ریسه‌های *R. solani* و اختلال در ساختارهای بیماری‌زای قارچ شدند (Elkahoui et al., 2015). در گزارشی دیگر، پیوسیانین حاصل از *P. aeruginosa* باعث مهار رشد قارچ *F. graminearum* شد که این مهار از طریق تضعیف مسیرهای مقاومت بیمارگر ایجاد شد و به کاهش تولید مایکوتوکسین‌ها کمک کرد (Houshaymi et al., 2019). پیوسیانین و سایر عوامل ضدقارچی حاصل از *P. aeruginosa* QY43 نشان داد ظرفیت قابل توجهی در مهار قارچ‌های *F. pseudograminearum*، *F. graminearum* و *Magnaporthe oryzae* در برنج و گندم (*Triticum aestivum* L.) داشت (Meng et al., 2024). متابولیت‌های *Pseudomonas* spp. مانند رامنولیپیدها و فنازین‌ها باعث افزایش القای مقاومت سیستمیک در گیاهان شدند (Zhang et al., 2023). علاوه‌بر این، پیوسیانین با اثرات مستقیم خود بر ساختار قارچ و مهار رشد آن، نقش مهمی در فعال‌سازی سیستم ایمنی گیاه ایفا می‌کند (Audenaert et al., 2002). مطالعات نشان‌داده‌اند که فنازین‌ها می‌توانند مسیرهای سیگنالینگ دفاعی مانند مسیر اسیدسالیسیلیک و اتیلن را تحریک کنند که این امر منجر به افزایش مقاومت سیستمیک القاشده (ISR) در گیاهان می‌شود (Pierson & Pierson, 2010). این سازوکارها از طریق افزایش تولید پروتئین‌های مرتبط با دفاع، آنزیم‌های ضد اکسیداسیون و ترکیبات فنولی، توانایی گیاه را در مقابله با بیمارگرها افزایش می‌دهند (Thomashow, 2013). به این ترتیب، اثر دوگانه پیوسیانین هم به‌صورت مستقیم روی بیمارگر و هم به‌عنوان محرک دفاع گیاهی، ارزش بالایی برای کاربردهای کشاورزی پایدار فراهم می‌کند. از سوی دیگر، استفاده از متابولیت‌های میکروبی مانند پیوسیانین می‌تواند بخشی از راهبردهای مدیریت زیستی چندجانبه باشد که هم‌زمان موجب بهبود کیفیت خاک و افزایش تنوع میکروبی می‌شود (Pieterse et al., 2014). تحقیقات نشان داده‌اند که حضور باکتری‌های تولیدکننده فنازین باعث ارتقای فعالیت آنزیمی خاک و تقویت ریزموجودات مفید می‌شود که در نهایت رشد و سلامت گیاه را بهبود می‌بخشد (Mavrodi et al., 2025). بنابراین، کاربرد پیوسیانین علاوه‌بر مدیریت بیماری، می‌تواند به‌عنوان محرکی برای افزایش پایداری بوم‌نظام‌های زراعی به شمار رود. با توجه به مشکلات زیست‌محیطی و اقتصادی ناشی از مصرف گسترده قارچ‌کش‌های شیمیایی، توسعه و به‌کارگیری عوامل مدیریت زیستی مانند پیوسیانین ضروری است. این ترکیب به‌دلیل اثرات قوی ضدقارچی، سمیت پایین برای موجودات غیرهدف و توانایی تحریک سیستم دفاعی گیاه، گزینه‌ای ایده‌آل برای کشاورزی پایدار محسوب می‌شود. بااین‌حال، برای استفاده گسترده‌تر و تضمین عملکرد در شرایط مزرعه، تحقیقات بیشتری در زمینه بهینه‌سازی فرمولاسیون، روش‌های کاربرد و تعامل با سایر ریزجانداران خاک نیاز است (Raaijmakers & Mazzola, 2012). در مجموع، نتایج این تحقیق تأکید می‌کند که پیوسیانین استخراج‌شده از *P. aeruginosa* PA14 با خاصیت ضدقارچی قوی و توانایی بهبود پارامترهای رشدی و مقاومت گیاه، گزینه‌ای مؤثر و زیست‌سازگار برای مدیریت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گوجه‌فرنگی است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که پیوسیانین استخراج‌شده از *Pseudomonas aeruginosa* PA14 سبب کاهش چشمگیر رشد قارچ بیماری‌زای *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II و کاهش معنی‌دار شاخص بیماری این بیمارگر در آزمایشگاه و گلخانه می‌شود و با ایجاد تغییرات ریخت‌شناختی در ریسه‌های قارچ، فرآیند آلودگی گیاه گوجه‌فرنگی را مختل می‌کند. این یافته‌ها، اهمیت استفاده از متابولیت‌های‌ثانویه میکروبی از جمله پیوسیانین به‌عنوان جایگزین‌های زیست‌سازگار و پایدار برای مدیریت بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی و سایر گیاهان را برجسته می‌سازد. همچنین کاربرد این ترکیب می‌تواند به کاهش مصرف قارچ‌کش‌های شیمیایی و حفاظت از محیط‌زیست کمک کند. ازاین‌رو، تحقیقات بیشتر در شرایط مزرعه و بررسی سازوکارهای دقیق اثر پیوسیانین توصیه می‌شود تا امکان استفاده گسترده‌تر و مؤثرتر آن فراهم گردد.

سپاسگزاری

این تحقیق بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول تحت حمایت دانشگاه فردوسی مشهد به شماره طرح ۶۰۹۵۳/۳ بود.

References

1. Abdelaziz, A. A., Kamer, A. M. A., Al-Monofy, K. B., & Al-Madboly, L. A. (2023). *Pseudomonas aeruginosa's* greenish-blue pigment pyocyanin: Its production and biological activities. *Microbial Cell Factories*, *22*(1), 110. https://doi.org/10.1186/s12934-023-02122-1
2. Abdul-Hussein, Z., & Atia, S. (2016). Antimicrobial effect of pyocyanin extracted from *Pseudomonas aeruginosa*. *European Journal of Experimental Biology*, *6*(3), 1-4.
3. Agarwal, H., Bajpai, S., Mishra, A., Kohli, I., Varma, A., Fouillaud, M., Dufossé, L., & Joshi, N. C. (2023). Bacterial pigments and their multifaceted roles in contemporary biotechnology and pharmacological applications. *Microorganisms*, *11*(3), 614. https://www.mdpi.com/2076-2607/11/3/614
4. Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology*. Elsevier. https://doi.org/10.1016/C2009-0-02037-6
5. Allen, L., Dockrell, D. H., Pattery, T., Lee, D. G., Cornelis, P., Hellewell, P. G., & Whyte, M. K. (2005). Pyocyanin production by *Pseudomonas aeruginosa* induces neutrophil apoptosis and impairs neutrophil-mediated host defenses *in vivo*. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *174*(6), 3643-3649. https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.6.3643
6. Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. J*ournal of Antimicrobial Chemotherapy*, *48*(suppl_1), 5-16. https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5
7. Audenaert, K., Pattery, T., Cornelis, P., & Höfte, M. (2002). Induction of systemic resistance to *Botrytis cinerea* in tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2: Role of salicylic acid, pyochelin, and pyocyanin. *Molecular Plant-Microbe Interactions : MPMI*, *15*, 1147-1156. https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.11.1147
8. Daroodi, Z., Taheri, P., & Tarighi, S. (2022). Effect of tomato seed coating with spores of the endophytic fungus *Acrophialophora jodhpurensis* on plant growth and control of crown and root rot caused by *Rhizoctonia solani*. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, *11*(2), 95-113. (in Persian) https://doi.org/10.22059/jbioc.2024.371151.329
9. De Vleesschauwer, D., Cornelis, P., & Höfte, M. (2007). Redox-active pyocyanin secreted by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 triggers systemic resistance to *Magnaporthe grisea* but enhances *Rhizoctonia solani* susceptibility in rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, *19*, 1406-1419. https://doi.org/10.1094/MPMI-19-1406
10. DeBritto, S., Gajbar, T. D., Satapute, P., Sundaram, L., Lakshmikantha, R. Y., Jogaiah, S., & Ito, S. I. (2020). Isolation and characterization of nutrient dependent pyocyanin from *Pseudomonas aeruginosa* and its dye and agrochemical properties. *Scientific Reports*, *10*(1), 1542. https://doi.org/10.1038/s41598-020-58335-6
11. Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. BioControl. *BioControl*, *46*, 387-400. https://doi.org/10.1023/A:1014193329979
12. El-Fouly, M. Z., Sharaf, A. M., Shahin, A. A. M., El-Bialy, H. A., & Omara, A. M. A. (2015). Biosynthesis of pyocyanin pigment by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, *8*(1), 36-48. https://doi.org/10.1016/j.jrras.2014.10.007
13. Elkahoui, S., Djébali, N., Yaich, N., Azaiez, S., Hammami, M., Essid, R., & Limam, F. (2015). Antifungal activity of volatile compounds-producing *Pseudomonas* P2 strain against *Rhizoctonia solani*. *World journal of microbiology & biotechnology*, *31*(1), 175-185. https://doi.org/10.1007/s11274-014-1772-3
14. Emad, S., & Alsalim, H. (2017). Assessment of pyocyanin activity produced by *Pseudomonas aeruginosa* against *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina*. *Current Research in Microbiology and Biotechnology*, *5(5), 1250-1253*.
15. Feghali, P., & Na'was, T. (2018). Extraction and purification of pyocyanin: A simpler and more reliable method. *MedCrave Online Journal of Toxicology*, *4*, 417-422. https://doi.org/10.15406/mojt.2018.04.00139
16. Gahlout, M., Prajapati, H., Chauhan, P., Patel, N., & Solanki, D. (2017). Isolation and screening of pyocyanin producing *Pseudomonas* spp. from soil. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences (IJARBS)*, *4*, 147-152. https://doi.org/10.22192/ijarbs.2017.04.04.020
17. Halifu, S., Deng, X., Song, X., & Song, R. (2019). Effects of two *Trichoderma* strains on plant growth, rhizosphere soil nutrients, and fungal community of *Pinus sylvestris* var. mongolica annual seedlings. *Forests*, *10*(9), 758. ttps://doi.org/10.3390/f10090758
18. Hamad, M. N., Marrez, D. A., & El-Sherbieny, S. M. (2020). Toxicity evaluation and antimicrobial activity of purified pyocyanin from *Pseudomonas aeruginosa*. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, *10*(6), 6974-699. https://doi.org/10.33263/BRIAC106.69746990
19. Houshaymi, B., Awada, R., Kedees, M., & Soayfane, Z. (2019). Pyocyanin, a metabolite of *Pseudomonas aeruginosa*, exhibits antifungal drug activity through inhibition of a pleiotropic drug resistance subfamily FgABC3. *Drug Research*, *69*(12), 658-664. https://doi.org/10.1055/a-0929-4380
20. Islam, M. A., Nain, Z., Alam, M. K., Banu, N. A., & Islam, M. R. (2018). *In vitro* study of biocontrol potential of rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* against *Fusarium oxysporum* f. sp. cucumerinum. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *28*(1), 90. https://doi.org/10.1186/s41938-018-0097-1

21. Khokhar, H., & Sharma, C. (2024). Safeguarding Tomato Cultivation: Challenges and Integrated Pest Management Strategies in North India. BIO Web of Conferences, 110. https://doi.org/10.1051/bioconf/202411001009
22. Lau, G. W., Ran, H., Kong, F., Hassett, D. J., & Mavrodi, D. (2004). *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin is critical for lung infection in mice. *Infection and Immunity*, *72*(7), 4275-4278. https://doi.org/10.1128/iai.72.7.4275-4278.2004
23. Mahmoud, S. Y., Ziedan, E. S. H., Farrag, E. S., Kalafalla, R. S., & Ali, A. M. (2016). Antifungal activity of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* against *Fusarium oxysporum* Schlech phytopathogenic fungi. *International Journal of PharmTech Research*, *9*, 43-50.
24. Maurya, S., Prakash, P., & Bairy, I. (2011). A simplified touch tape preparation from tube cultures for microscopic examination of filamentous fungi. *Journal of Microbiological Methods*, *86*, 128-129. https//:doi.org/10.1016/j.mimet.2011.04.015
25. Mavrodi, D. V., Blankenfeldt, W., Mavrodi, O. V., Weller, D. M., & Thomashow, L. S. (2025). Microbial phenazines: Biosynthesis, structural diversity, evolution, regulation, and biological significance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, e00147-00123. https://doi.org/10.1128/mmbr.00147-23
26. Meng, J., Zan, F., Liu, Z., Zhang, Y., Qin, C., Hao, L., Wang, Z., Wang, L., Liu, D., Liang, S., Li, H., Li, H., & Ding, S. (2024). Genomics analysis reveals the potential biocontrol mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* QY43 against *Fusarium pseudograminearum*. *Journal of Fungi*, *10*(4), 298. https://doi.org/10.3390/jof10040298
27. Moayedi, A., Nowroozi, J., & Sepahy, A. A. (2017). Effect of fetal and adult bovine serum on development of pyocyanin production in clinical and soil isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *20*(12), 1331-1338. (in Persian) https://www.magiran.com/paper/1760714
28. Mohseni, A., & Shariat, A. (2021). Evaluation of *in vitro* effect of pyocyanine pigment on interleukin-2 secretion from peripheral blood mononuclear cells in cancer patients [original research article]. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, *15*(3), 327-344. (in Persian).
29. Nikraftar, F., Taheri, P., Rastegar, M., & Tarighi, S. (2013). Tomato partial resistance to *Rhizoctonia solani* involves antioxidative defense mechanisms. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *81*, 74-83. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2012.11.004
30. Nikraftar, F. , Taheri, P., & Tarighi, S. (2016). The possibility of inducing resistance in tomato against *Rhizoctonia solani* and some of its mechanisms. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *30*(3), 441-448. (in Persian) https://doi.org/10.22067/jpp.v30i3.44805
31. Noori, M., & Mohd Saud, H. (2012). Potential plant growth-promoting activity of *Pseudomonas* sp. isolated from paddy soil in Malaysia as biocontrol agent. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, *3(2), 1-4.*
32. Paulitz, T. C., & Bélanger, R. R. (2001). Biological control in greenhouse systems. *Annual review of phytopathology*, *39*, 103-133. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.39.1.103
33. Pierson III, L. S., & Pierson, E .A. (2010). Metabolism and function of phenazines in bacteria: impacts on the behavior of bacteria in the environment and biotechnological processes. *Applied microbiology and biotechnology*, *86*(6), 1659-1670. https://doi.org/10.1007/s00253-010-2509-3
34. Pieterse, C. M., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C., & Bakker, P. A. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. Annu*al Review of Phytopathology*, *52*(1), 347-375. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340
35. Pourmahdi, A., & Taheri, P. (2015). Genetic diversity of T hanatephorus cucumeris infecting tomato in Iran. *Journal of Phytopathology*, *163*(1), 19-32. https://doi.org/10.1111/jph.12276
36. Raaijmakers, J. M., & Mazzola, M. (2012). Diversity and natural functions of antibiotics produced by beneficial and plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, *50*(1), 403-424. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172908
37. Salim, M. M. R., Rashid, M. H., Hossain, M. M., & Zakaria, M. (2020). Morphological characterization of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *19*(3), 233-240. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.11.001
38. Sánchez-Fernández, R. E., Diaz, D., Duarte, G., Lappe-Oliveras, P., Sánchez, S., & Macías-Rubalcava, M. L. (2016). Antifungal volatile organic compounds from the endophyte *Nodulisporium* sp. strain GS4d2II1a: A qualitative change in the intraspecific and interspecific interactions with *Pythium aphanidermatum*. *Microbial Ecology*, *71*(2), 347-364. https://doi.org/10.1007/s00248-015-0679-3
39. Selim, H. M., Gomaa, N. M., & Essa, A. (2016). Antagonistic effect of endophytic bacteria against some phytopathogens. *Egyptian Journal of Botany*, *1*, 74-81.
40. Sindhu, S. S., Sehrawat, A., Sharma, R., & Dahiya, A. (2016). Biopesticides: Use of rhizosphere bacteria for biological control of plant pathogens. *Strain*, *90*, 166.

41. Solanki, M. K., Robert, A .S., Singh, R. K., Kumar, S., Pandey, A. K., Srivastava, A. K., & Arora, D. K. (2012). Characterization of mycolytic enzymes of *Bacillus* strains and their bio-protection role against *Rhizoctonia solani* in tomato. *Current Microbiology*, *65*(3), 330-336. https://doi.org/10.1007/s00284-012-0160-1
42. Sudhakar, T., & Karpagam, S. (2011). Antifungal efficacy of pyocyanin produced from bioindicators of nosocomial hazards. International Conference on Green technology and environmental Conservation (GTEC-2011) (pp. 224-229). IEEE.
43. Sudhakar, T., Karpagam, S., & Sabapathy Shiyama, S. S. (2013). Analysis of pyocyanin compound and its antagonistic activity against phytopathogens. *International Journal of ChemTech Research*, *5*(3), 1101-1106.
44. Sun, Y., Dong, W., Sun, L., Ma, L., & Shang, D. (2015). Insights into the membrane interaction mechanism and antibacterial properties of chensinin-1b. *Biomaterials*, *37*, 299-311. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.10.041
45. Taheri, P., Gnanamanickam, S., & Höfte, M. (2007). Characterization, genetic structure, and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. associated with rice sheath diseases in India. *Phytopathology*, *97*(3), 373-383. https://doi.org/10.1094/phyto-97-3-0373
46. Taylor, I. (1986). Biosystematics of the tomato. In *The Tomato Crop: A Scientific Basis for Improvement*. Springer. pp. 1-34. https://doi.org/10.1007/978-94-009-3137-4_1
47. Thomashow, L. S. (2013). Phenazines in the environment: Microbes, habitats, and ecological relevance. In *Microbial Phenazines: Biosynthesis, Agriculture and Health.* Springer. pp. 199-216. https://doi.org/10.1007/978-3-642-40573-0_10
48. Tjamos, E. C., Beckman, C. H., & & Paplomatas, E. J. (2013). *Rhizoctonia* diseases of vegetables: Biology, diagnosis and management. *Agarwal, 2010*.
49. Wen, K., Seguin, P., St.-Arnaud, M., & Jabaji-Hare, S. (2005). Real-time quantitative RT-PCR of defense-associated gene transcripts of *Rhizoctonia solani*-infected bean seedlings in response to inoculation with a nonpathogenic binucleate *Rhizoctonia* isolate. *Phytopathology*, *95*(4), 345-353. https://doi.org/10.1094/phyto-95-0345
50. Wikifarmer. (2024). Deep dive in tomato prices: A comprehensive price study 2024-2025. Retrieved December 19, 2025, from https://wikifarmer.com/library/en/article/deep-dive-in-tomato-prices-a-comprehensive-price-study-2024-2025?utm_source=chatgpt.com
51. Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Medical Microbiology.* Elsevier. pp. 753-767. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00041-X
52. Zhang, L., Zuluaga, M. Y. A., Pii, Y., Barone, A., Amaducci, S., Miras-Moreno, B., Martinelli, E., Bellotti, G., Trevisan, M., & Puglisi, E. (2023). A *Pseudomonas* plant growth promoting *Rhizobacterium* and arbuscular mycorrhiza differentially modulate the growth, photosynthetic performance, nutrients allocation, and stress response mechanisms triggered by a mild Zinc and Cadmium stress in tomato. *Plant Science*, *337*, 111873. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111873

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, 2026, p. 705-722

Morphological and Molecular Study of Four Species of the Genus *Xiphinema* Cobb, 1913 (Nematoda: Longidoridae) and the Possibility of Sexual Reproduction in *X. index* Thorne & Allen 1950

Arezoo Naghavi[1*], Gholamreza Niknam[2]
1- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
2- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
(*- Corresponding author's Email: Naghavi.a@lu.ac.ir)

Received: 24-04-2026
Revised: 01-08-2026
Accepted: 08-09-2026
Available Online: 22-06-2026

How to cite this article:
Naghavi, A., & Niknam, G. (2026). Morphological and molecular study of four species of the genus *Xiphinema* Cobb, 1913 (Nematoda: Longidoridae) and the possibility of sexual reproduction in *X. index* Thorne & Allen 1950. *Iranian Plant Protection Research*, *40*(3), 705-722. (In Persian). https://doi.org/10.22067/JPP.2026.98359.1282

Introduction

The genus *Xiphinema* Cobb, 1913 belongs to the family Longidoridae Thorne, 1935 and is a highly diversified and widespread nematode taxon. *Xiphinema* non-*americanum* group comprises more than 208 known species that damage a wide range of wild and cultivated plants. For pragmatic diagnostics, *Xiphinema* non-*americanum* group has been divided into eight morphospecies groups (Loof & Luc, 1990). So far, 38 species of the genus *Xiphinema* have been reported from Iran amongst them, 19 species have been reported from East Azarbaijan province (Pedram, 2007; Vazifeh, 2017; Naghavi, 2018; Jabbari et al., 2019). In a recent survey on the genus *Xiphinema* in East Azarbaijan province, northwestern Iran, four known species were found from the rhizosphere of several fruit trees. The identified species are presented in this study.

Materials and Methods

Around 200 soil samples were collected 50 cm from the rhizosphere of orchards in East Azarbaijan provinc during the 2023-2024 spring season. Nematodes were extracted from 250 cm^3 of soil. Specimens for light microscopic studies were killed, fixed and transferred to dehydrated glycerin according to De Grisse's (1969) method. The nematodes were examined by a light CX31 microscope equipped with a Dino-Eye Eyepiece Camera, and photographs were taken by a DP50 digital camera system connected to the Olympus BX41 microscope. DNA of the nematodes were extracted from single individuals, and PCR assays were conducted as described by Archidona-Yuste et al. (2016). The LSU rDNA D2-D3 segments were amplified using the forward primer D2A and reverse primer D3B. The ITS1 region was amplified with the forward primer 18S and reverse primer rDNA1.58S in accordance with Archidona-Yuste et al. (2016). PCR products were purified and sequenced and the recently obtained sequences were deposited in GenBank database under accession numbers MK957241, MK957235, MK957238, MK909918 (*X. aceri*), MK957234, MK957239, MK909917 (*X. vuittenezi*), MK957233, MK957236 and MK920408 (*X. index*) and MK957243 (*X. castilloi*). For phylogenetic relationship reconstruction, LSU rDNA D2-D3 and ITS1 sequences from GenBank and newly obtained sequences were aligned using MEGA6. Phylogenetic analysis was performed based on Bayesian inference using

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

https://doi.org/10.22067/JPP.2026.98359.1282

MrBayes 3.1.2. The best-fitted model of DNA evolution was obtained using the MrModel test 2.3. The resulting trees were visualized using FigTree v1.4.3.

Results and Discussion

As a result of this study, four known species of the genus *Xiphinema* (*Xiphinema aceri*, *X. castilloi*, *X. index* and *X. vuittenezi*) were identified. Morphological and morphometric characters of *X. aceri* in this study were in agreement with those of the type and previously reported Iranian population of the species. Three sequences (MK957241, MK957238 and MK957235) of LSU rDNA D2-D3 gene and one sequence (MK909918) of the ITS region were obtained from the three different populations of *X. aceri*. In pairwise distance analysis, the three sequences showed 100% identity. In general, the morphology of *X. castilloi*, in the present study, is similar to that of the type population except in having slightly longer spicules (62.5-65.5 *vs* 48-60 µm), rather longer odontostyle in first stage juveniles (58-59.5 *vs* 53 µm), guiding ring distance from anterior end in first and second stage juveniles (51-53 *vs* 45 µm) and (64.5-59 *vs* 57-55 µm), respectively. Molecular analyses also confirmed the species identity. Morphological and morphometric characters of the Iranian populations of *X. index* agree with those of the original description and other descriptions of the species. The presence of sperm in the reproductive tract of some females of *X. index* in this study proves that males are functional and that copulation can occur. *Xiphinema vuittenezi* has scattered crystalloids in the uterus, which are sometimes hardly visible in mounted specimens in glycerin. Two sequences (MK957239, MK957234) of LSU rDNA D2-D3 expansion segments were obtained from two females of this species. These sequences had 99% identity.

Conclusion

In this study, four species, *X. aceri*, *X. castilloi*, *X. index*, and *X. vuittenezi*, were identified based on their morphometric, morphological, and molecular characteristics. Among these species, *X. index* was the most dominant. The presence of sperm in the genital tract of female *X. index* specimens suggests that sexual reproduction may occur in this species.

Keywords: Biodiversity, ITS, Morphometry, 28S rDNA

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

مقاله پژوهشی
جلد ۴۰ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۷۲۲-۷۰۵

مطالعه ریخت‌شناختی و مولکولی چهار گونه از جنس *Xiphinema* Cobb, 1913 (Nematoda: Longidoridae) از استان آذربایجان شرقی و گزارش احتمال وجود تولیدمثل جنسی در گونه *X. index* Thorne & Allen 1950

آرزو نقوی[1*]- غلامرضا نیکنام[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۷

چکیده

خانواده Longidoridae متعلق به راسته Dorylaimida یکی از مهم‌ترین گروه‌های نماتدهای انگل گیاهی است. جنس *Xiphinema* با داشتن بیش از ۲۰۸ گونه در گروه غیرآمریکانوم یکی از پرتعدادترین جنس‌های راسته Dorylaimida و با پراکنش جهانی است. در بررسی حاضر، تنوع زیستی نماتدهای این خانواده با جمع‌آوری بیش از ۲۰۰ نمونه خاک از فراریشه درختان میوه استان آذربایجان شرقی ارزیابی گردید. نماتدها بعد از جداسازی، تثبیت شده و به گلیسرین خالص انتقال یافتند. شناسایی گونه‌ها براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی، ریخت‌سنجی و مولکولی انجام شد و چهار گونه *Xiphinema aceri*، *X. castilloi*، *X. index* و *X. vuittenezi* تشخیص داده شد. در مطالعه مولکولی، قطعه D2-D3 از ناحیه LSU rDNA و نواحی ITS تکثیر و تعیین توالی گردید و توالی‌های حاصل در بازسازی روابط فیلوژنی به کار رفت. در مجموع، تعداد ۱۱ توالی نوکلئوتیدی از این گونه‌ها در بانک ژن به ثبت رسید. در جمعیت‌های مناطق مختلف گونه *X. index*، در تعدادی از افراد ماده در قسمت‌های مختلف لوله تولیدمثلی، اسپرم دیده شد. وجود اسپرم در اطراف شکاف تناسلی و نقاط مختلف رحم، نشان‌دهنده ورود احتمالی اسپرم‌ها از بیرون به درون بدن ماده است، به‌طوری که شکل اسپرم‌های موجود در داخل بدن افراد ماده مشابه اسپرم‌های موجود در بدن افراد نر بود. نتایج تحقیق جاری شاهدی دیگر بر این نظر است که برخی جمعیت‌های گونه *X. index* قادر به تولیدمثل جنسی‌اند.

واژه‌های کلیدی: تنوع زیستی، ریخت‌سنجی، ITS، 28S rDNA

مقدمه

گونه‌های جنس *Xiphinema* Cobb, 1913 بسیار متعدد و متنوع بوده و از پراکنش وسیعی در سطح جهانی برخوردار هستند. به‌دلیل اهمیت اقتصادی آن‌ها در کشاورزی و توانایی آن‌ها در انتقال برخی ویروس‌های بیماری‌زای گیاهی، شناسایی گونه‌های رایج این جنس در مناطق طبیعی و کشاورزی اهمیت دارد. از دید اهمیت خسارت اقتصادی، گونه *Xiphinema index* در بین ۱۰ نماتد مهم انگل گیاهی قرار می‌گیرد (Jones et al., 2013). تاکنون ۳۸ گونه از این جنس از ایران گزارش شده است (Vazifeh et al., 2019; Jahanshahi Afshar et al., 2019, Fouladvand et al., 2019; Mobasseri et al., 2019; Bazgir et al., 2020; Fadakar et al., 2021; Naghavi et al., 2022). از بین این تعداد، ۱۹گونه از استان آذربایجان شرقی معرفی شده است که از میان آن‌ها نیز گونه *X. index* (Thorne & Allen, 1950) بیشترین پراکنش را به خود اختصاص می‌دهد (Pedram, 2007; Vazifeh, 2017; Naghavi, 2018; Jabbari et al., 2019). در این مطالعه، چهار گونه از جنس *Xiphinema* که از فراریشه درختان میوه استان آذربایجان شرقی جداسازی شده بودند، براساس صفات ریخت‌شناختی و داده‌های ریخت‌سنجی و مولکولی مورد بررسی قرار گرفتند.

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Naghavi.a@lu.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/JPP.2026.98359.1282

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی نماتدها

در سال‌های ۱۴۰۲ تا ۱۴۰۳ تعداد ۲۰۰ نمونه خاک از عمق صفر تا ۵۰ سانتی‌متری باغات درختان میوه استان آذربایجان شرقی جمع‌آوری گردید. از ۲۵۰ گرم خاک برای جداسازی نماتدها به‌روش تغییریافته براون و باگ (Brown & Boag, 1988) استفاده شد. نماتدها پس از کشته شدن و تثبیت مطابق روش دگریس (De Grisse, 1969) به گلیسرین خالص انتقال یافتند. صفات ریخت-شاختی و ریخت‌سنجی جمعیت‌ها با استفاده از دوربین دیجیتال (Dino-Eye Eyepiece Camera) متصل به میکروسکوپ نوری المپیوس CX31 مورد بررسی قرار گرفتند. ملاحظه دقیق‌تر ضمائم رحمی با مطالعه اسلاید موقت افراد زنده انجام شد. برای این منظور، افراد زنده در یک قطره آب بر روی لام قرار داده شده و پس از گذاشتن لامل برای بی‌حرکت کردن نماتد ماده، از حرارت دادن لام بر روی چراغ الکلی استفاده گردید. اطلاعات ارائه‌شده در جدول داده‌ها، برای گونه *X. aceri* براساس اندازه‌های به‌دست‌آمده از سه جمعیت و در گونه‌های دیگر، متعلق به جمعیت منتخب از هر گونه بوده است.

جهت عکس‌برداری از دوربین دیجیتال DP50 متصل به میکروسکوپ نوری Olympus BX41 و برای تهیه فتوپلیت از نرم-افزار کورل نسخه ۱۲ (Corel DRAW® software version 12) استفاده گردید.

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

استخراج DNA مطابق روش آرشیدونا–یاست و همکاران (Archidona-Yuste et al., 2016) و از تک فرد نماتد صورت گرفت. برای تکثیر ناحیه ژنی LSU D2-D3 rDNA از آغازگر مستقیم D2A (5′-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGT-3′) و آغازگر معکوس D3B (5′-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3′) (Nunn, 1992) و برای تکثیر ناحیه ژنی ITS از آغازگر مستقیم 18S (5´-TTGATTACGTCCCTGCCCTTT-3´) (Vrain et al., 1992) و آغازگر معکوس rDNA1.58S (5´-ACGAGCCGAGTGATCCACCG-3´) (Cherry et al., 1997) استفاده گردید. برای انجام PCR، واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت دو دقیقه، واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای ۶۰ درجه سلسیوس و به مدت ۴۵ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه به تعداد ۳۵ چرخه انجام شد و در نهایت گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه صورت گرفت (Archidona-Yuste et al., 2016). جهت توالی‌یابی، محصول PCR به شرکت بیونیر (Bioneer Corporation) کشور کره جنوبی ارسال گردید. توالی‌های به‌دست‌آمده با کدهای دسترسی MK957243 (ناحیه D3–D2) برای گونه *X. castilloi* Roshan-Bakhsh Pourjam, et al., 2014)، MK957241، MK957238، MK957235 (ناحیه D2-D3) و MK909918 (ناحیه ITS) برای گونه *X. aceri* Chizhov, Tujev &Turkina 1986، MK957233، MK957236 (ناحیه D2-D3) و MK920408 (ناحیه ITS) برای گونه *X. index* و MK957234، MK957239 (ناحیه D2-D3) و MK909917 (ناحیه ITS) برای گونه Luc, et al.) *X. vuittenezi* al., 1964) در بانک ژن به ثبت رسید.

بازسازی روابط خویشاوندی

ابتدا توالی‌های لازم برای رسم درخت فیلوژنی از NCBI به دست آمد. زیرهم‌چینی توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار MUSCLE تعبیه‌شده در نرم‌افزار MEGA6 (Tamura et al., 2013) انجام گردید. سپس بازسازی روابط فیلوژنی به‌روش بیس (Bayes) با استفاده از بهترین مدل تکاملی (GTR+G+I) با کمک نرم‌افزار MrModeltest 2.3 (Nylander, 2004) صورت گرفت. مشاهده درخت فیلوژنی با استفاده از نرم‌افزار FigTree v1.4.3 انجام شد.

نتایج و بحث

جمعیت‌های استان آذربایجان شرقی *Xiphinema aceri* Chizhov, Tiev & Turkina, 1986

این گونه توسط شیژوف و همکاران (Chizhov et al., 1986)، از فراریشه افرا در روسیه توصیف شد. در این بررسی نیز از فراریشه گیاهان مختلف در مناطق شللو (N 37°55′35.7′′, E 45°56′50.3′′)، سردرود (N 37°01′32.2′′, E 45°07′16.6′′) و کردلر (N 37°58′04.1′′, E 46°00′06.3′′) در استان آذربایجان شرقی جداسازی و شناسایی گردید. در ایران، این گونه اولین‌بار از فراریشه بوته‌های رز جداسازی شده است (Pedram et al., 2009a) سپس توسط پدرام و همکاران (Pedram et al., 2009b) توالی نواحی ژنی 18S rDNA و ITS برای این گونه در بانک ژن به ثبت رسید. کدهای الفبایی–عددی (alph-numerical) براساس کلید شناسایی چندگانه گونه‌های گروه غیرامریکانوم *Xiphinema* ارائه‌شده توسط لوف و لوک (Loof & Luc, 1990) برای این سه جمعیت عبارت‌اند از: A4، B3، C6a، D56، E56، F34، G23، H2، I23، J5، K23 و l2. جمعیت‌های مورد مطالعه با استفاده از کلیدها و منابع ارائه‌شده توسط لوف و لوک (Loof & Luc, 1990)، روکا و لامبرتی (Roca & Lamberti, 1988)، شیژوف و همکاران (Chizhov et

al., 1986)، آریاس و همکاران (Arias et al., 2005)، گوتیرز-گوتیرز و همکاران (Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2010, 2013) به‌عنوان گونه *Xiphinema aceri* تشخیص داده شدند (جدول ۱، شکل ۱). این سه جمعیت از فرا ریشه گیاهان زردآلو(*Prunus armeniaca* L)، بادام (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb) و گردو (*Juglans regia* L.) جداسازی شده‌اند و در مقایسه با ویژگی های ذکرشده برای گونه در منبع اصلی (Chizhov et al., 1986)، مطابقت کامل دارند. همچنین در مقایسه با جمعیت ایرانی جمع‌آوری-شده از استان آذربایجان شرقی و تهران توسط پدرام (Pedram, 2014) مشابهت کامل نشان دادند.

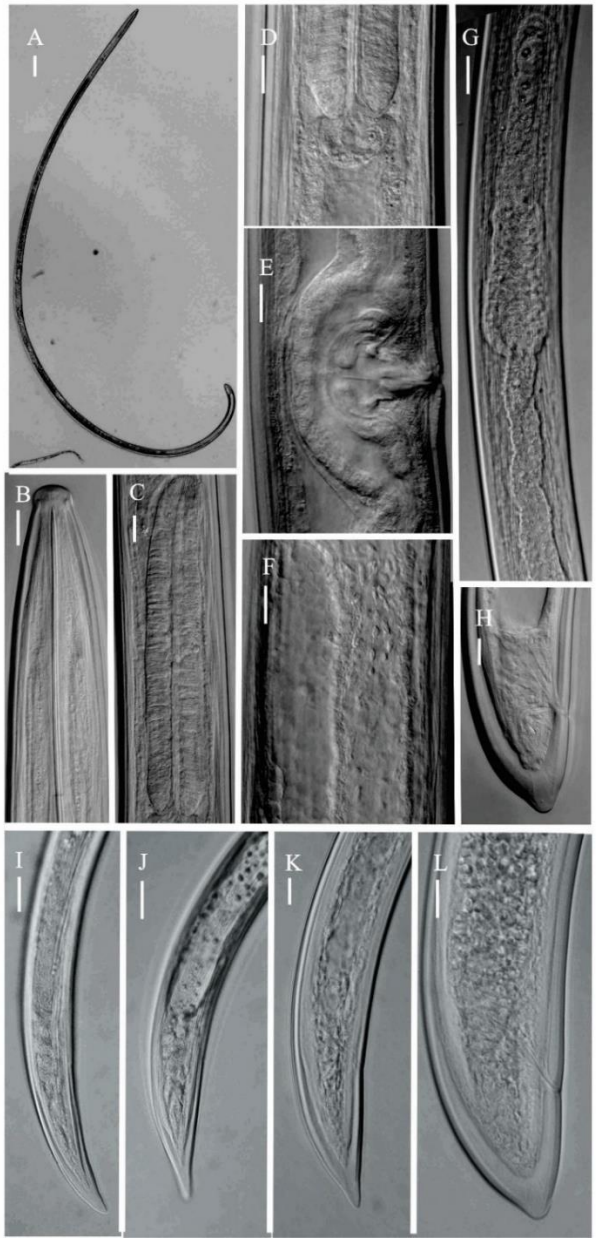
مطالعه مولکولی

برای این گونه از ناحیه ژنی LSU rDNA D2-D3 سه توالی با کدهای دسترسی MK957241، MK957238 و MK957235 به‌ترتیب از جمعیت‌های سردرود، شللو وکردلر برای اولین‌بار به ثبت رسید. مقایسه دوتایی آن‌ها تفاوت نوکلئوتیدی نشان نداد و این توالی-ها با بالاترین احتمال پسین در درخت تبارزایی بازسازی‌شده (شکل ۲) در یک کلاد قرار گرفتند. رابطه فیلوژنی این توالی‌ها با سایر توالی-های مرتبط در شکل ۲ دیده می‌شود. در درخت رسم‌شده با استفاده از توالی‌های ناحیه LSU rDNA D2-D3، توالی این گونه با توالی گونه *X. granatum* (JQ240273) نزدیک‌ترین رابطه تبارزایی را داشته و رابطه خویشاوندی آن‌ها با استناد به اطلاعات موجود، با احتمال پسین ۱ حمایت شده است. مقایسه دوتایی توالی این دو گونه، اختلاف نوکلئوتیدی ۱۹ جفت باز را نشان می دهد و فاقد گپ هستند.

جدول ۱- داده‌های ریخت‌سنجی سه جمعیت از *Xiphinema aceri* Chizhov, Tiev & Turkina, 1986 از استان آذربایجان شرقی: اندازه‌ها برحسب میکرومتر هستند (L برحسب میلی‌متر) و به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (بازه حداقل و حداکثر) ارائه شده‌اند

Table 1- Morphometric data of three populations of *Xiphinema aceri* Chizhov, Tiev & Turkina, 1986 from East Azarbaijan province: All measurements are in µm (except L in mm) and in the form mean ± SD (range)

Populations					Sardrud	Shellalu	Kordlar
Characters	J1	J2	J3	J4	Females	Females	Females
n	1	3	3	4	6	3	3
L	0.9	1.2	(1.6-1.8) 1.7 ± 0.01	(2.6-2.9) 2.7 ± 0.01	(3.2-3.9) 3.4 ± 0.2	(3.3-3.6) 3.4 ± 0.1	(3.3-3.4) 3.3 ± 0.04
a	54.5	(55.0-58.5) 57.0 ± 1.1	(53.5-63.0) 59.0 ± 1.8	(69-76) 72.3 ± 0.5	(60-79) 67.3 ± 2.2	(65.5-78.0) 71.7 ± 5.6	(62-64) 62.6 ± 1.1
b	3.6	(4.0-4.5) 4.2 ± 0.1	(3.0-4.5) 4.2 ± 1.0	(6.0-6.5) 6.2 ± 0.8	(6.5-7.5) 7.2 ± 0.1	(8-9) 8.4 ± 0.5	(8. 0-8.5) 8.1 ± 0.3
c	19.5	26.0	(34.5-37.5) 36.0 ± 0.4	(61.5-75.0) 69.0 ± 1.8	(91-102) 93.2 ± 2.3	(78-101) 92.0 ± 12	(87-88) 87.5 ± 0.4
c´	3.7	3.0	2.0	(1.2-1.3) 1.25 ± 0.01	0.9-1.1 1.0 ± 0.01	0.94-1.2 1.0 ± 0.13	1.0
V	-	-	-	-	(47-50) 49.0 ± 0.1	(47-58) 52.3 ± 5.5	(48-55) 50.3 ± 3.5
Odontostyle	52.5	65.5	(86.0-87.5) 87.0 ± 0.05	(103-123) 113.0 ± 3.3	(117.0-134.5) 128.5 ± 1.2	(125-128) 126.0 ± 1.7	(128-129) 128.5 ± 0.9
Odontophore	36.0	47.0	(54.5-57.5) 56.0 ± 1.5	(62.5-67.0) 64.0 ± 0.2	(70.5-74.0) 73.0 ± 0.6	(70-75) 71.7 ± 2.8	(70.5-75.0) 73.4 ± 2.7
Replacement odontostyle	65.0	(92.0-92.5) 92.2 ± 0.1	(110-114) 112.5 ± 1.2	(125-133) 129.5 ± 1.2	-	-	-
Oral aperture to guiding ring	43.5	(56-57) 56.5 ± 0.1	(74.5-75.0) 74.8 ± 0.05	(90.5-98.5) 95.5 ± 0.8	(114-128) 120.2 ± 1.7	(93-114) 104.0 ± 10.5	(114-118) 117.0 ± 2.7
Neck length	250	(281-303) 292.0 ± 3.5	(353-390) 377.0 ± 3.8	(425-478) 447.0 ± 10.7	(444.5-635.0) 486.6 ± 20.9	(381-422) 408.3 ± 23.6	(391-425) 412.5 ± 18.7
Body diam. at neck base	16.5	(20.5-22.0) 21.2 ± 0.5	(25.0-29.5) 27.5 ± 0.1	(36.0-37.5) 37.0 ± 0.06	(42.5-46.0) 44.7 ± 0.5	(43.5-47.0) 45.0 ± 1.5	(46.5-50.0) 48.9 ± 0.9
Body diam. at mide body	17.0	(21.0-22.5) 21.7 ± 0.5	(28-31) 29.6 ± 0.1	(36.0-40.5) 38.5 ± 0.3	(49.0-56.5) 51.8 ± 0.7	(47.0-51.5) 48.6 ± 2.5	(53-55) 54.0 ± 0.9
Body diam. at anus	12.5	15.5	(22.5-23.5) 23.0 ± 0.05	(31-33) 31.6 ± 0.1	(34.5-37.5) 36.0 ± 1.2	(35-36) 35.3 ± 0.57	(35-37) 36.5 ± 0.3
Tail length	47.0	(45.5-47.0) 46.2 ± 0.2	(48-50) 48.5 ± 0.1	(39-44) 40.6 ± 2.8	(33-39) 37.5 ± 1.5	(33.0-43.5) 37.8 ± 5.3	(38-39) 38.5 ± 0.5



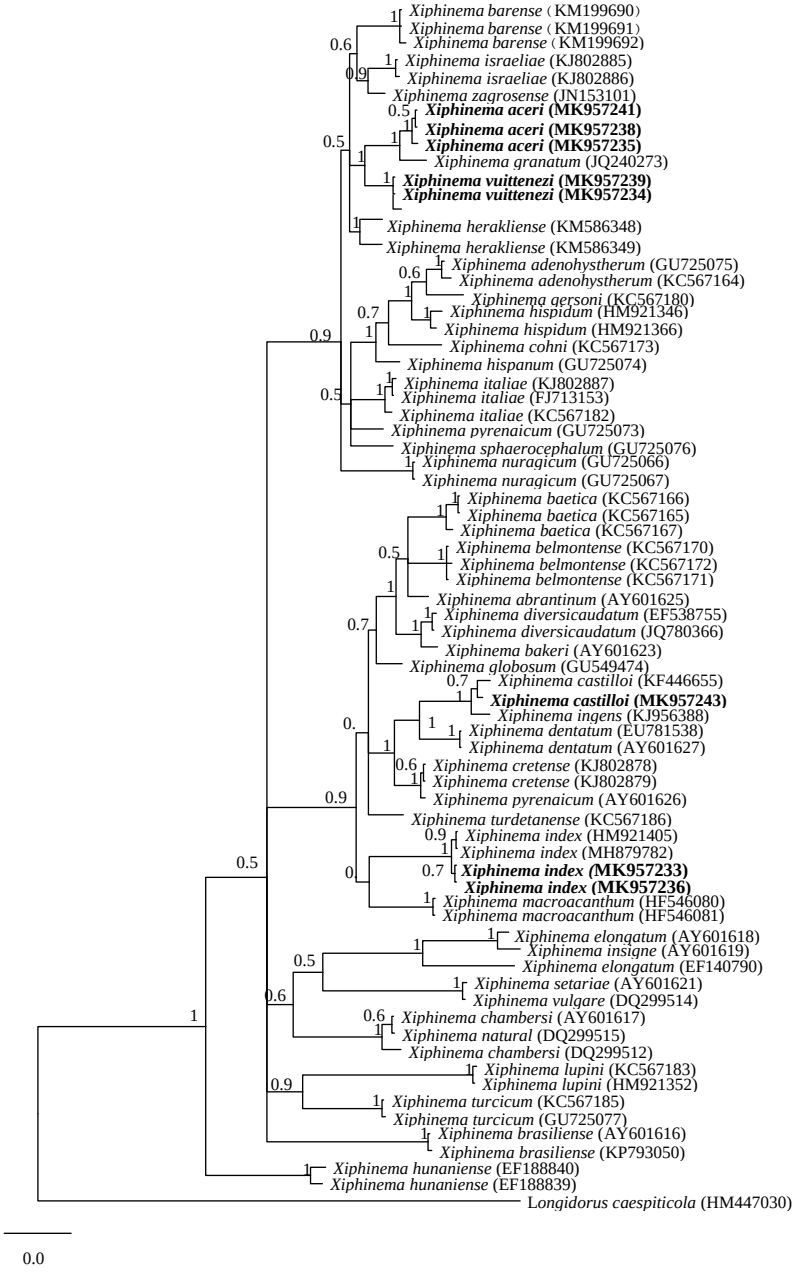
شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ نوری جمعیت شللو از استان آذربایجان شرقی گونه *Xiphinema aceri* Chizhov, Tiev & Turkina, 1986

Figure 1- Light microscope images of the Shellalu population of the species *Xiphinema aceri* Chizhov, Tiev & Turkina, 1986 from East Azarbaijan province

A: نمای کلی بدن ماده، B: بخش جلویی بدن، C: بخش فراخ مری، D: کاردیا، E: واژن و شکاف تناسلی، F: ضمائم خارمانند (کریستال) در رحم، G: لوله جنسی جلویی، H: دم ماده، I-L: دم به‌ترتیب در مراحل لاروی سن یک تا چهار. خطوط مقیاس در B-L: ۱۰ میکرومتر و در A: ۱۰۰ میکرومتر.

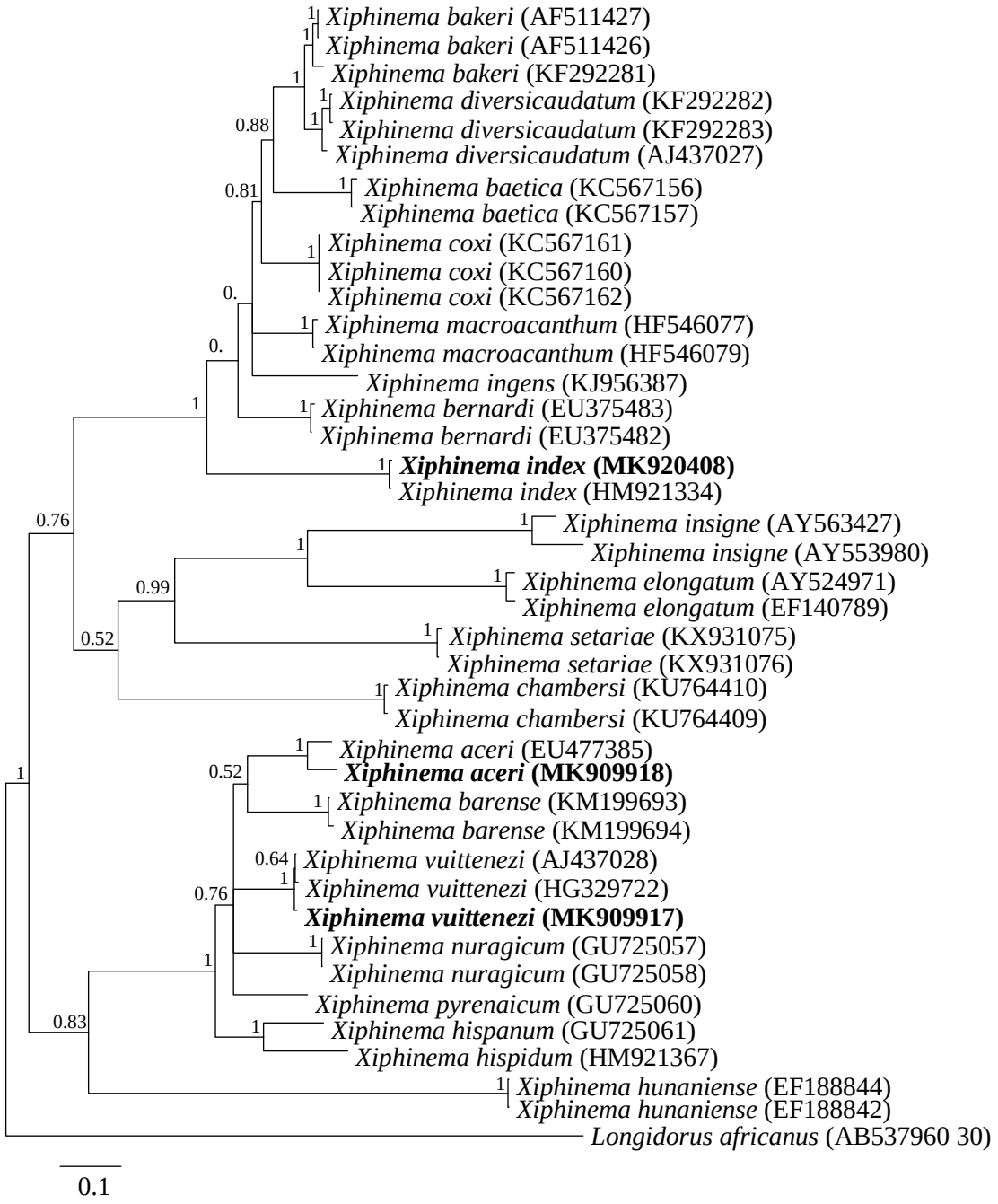
A: Female entire body, B: anterior body region, C: expanded part of pharynx, D: cardia, E: vagina and vulva, F: uterine differentiation spines (crystalloids), G: anterior genital branch, H: female tail, I-L: tail of juveniles from J1-J4, respectively. Scale bars: B-L: 10 µm, A: 100 µm.

همچنین برای ناحیه ژنی ITS، یک توالی (MK909918) از جمعیت شللو به ثبت رسید که با توالی دیگر این گونه (EU477385) با بالاترین احتمال پسین در یک کلاد قرار داشتند، درحالی‌که ۷۴ اختلاف نوکلئوتیدی بین آن‌ها وجود داشت (شکل ۳)؛ مشابه این تعداد اختلاف نوکلئوتیدی در ناحیه ITS جمعیت‌های برخی گونه‌های دیگر نظیر *X. georgianum* (DQ299527 و DQ299526) با اختلاف ۵۰ نوکلئوتید و *X. santos* (JQ990048 و JQ990047) با اختلاف ۴۵ نوکلئوتید نیز وجود داشت (Archidona-Yuste et al., 2016).



شکل ۲- درخت فیلوژنی بیس (Bayes) بازسازی‌شده با استفاده از مدل تکاملی GTR + I + G با استفاده از توالی‌های ناحیه 28S rDNA D2–D3 چهار گونه به‌دست‌آمده متعلق به جنس *Xiphinema* در این مطالعه. احتمال پسین بیش از ۵۰ درصد برای کلادها ارائه شده است. توالی‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه پررنگ نشان داده شده‌اند.

Figure 2- Bayesian tree reconstructed under the GTR+I+G model from LSU rDNA D2–D3 expansion domains of four known species of the genus *Xiphinema* recovered herein. Posterior probabilities more than 50% are given for appropriate clades. The new sequences obtained in the present study are shown in bold.



شکل ۳- درخت فیلوژنی بیس (Bayes) بازسازی‌شده با استفاده از مدل تکاملی GTR + I + G از ناحیه ITS1 از سه گونه متعلق به جنس *Xiphinema* به‌دست‌آمده در این مطالعه. احتمال پسین بیش از ۵۰ درصد برای کلادها ارائه شده است. توالی‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه پررنگ نشان داده شده‌اند.

Figure 3- Bayesian tree inferred under the GTR+I+G model from ITS1 sequences of three known species of the genus *Xiphinema* recovered herein. Posterior probabilities more than 50% are given for appropriate clades. The new sequences obtained in the present study are shown in bold.

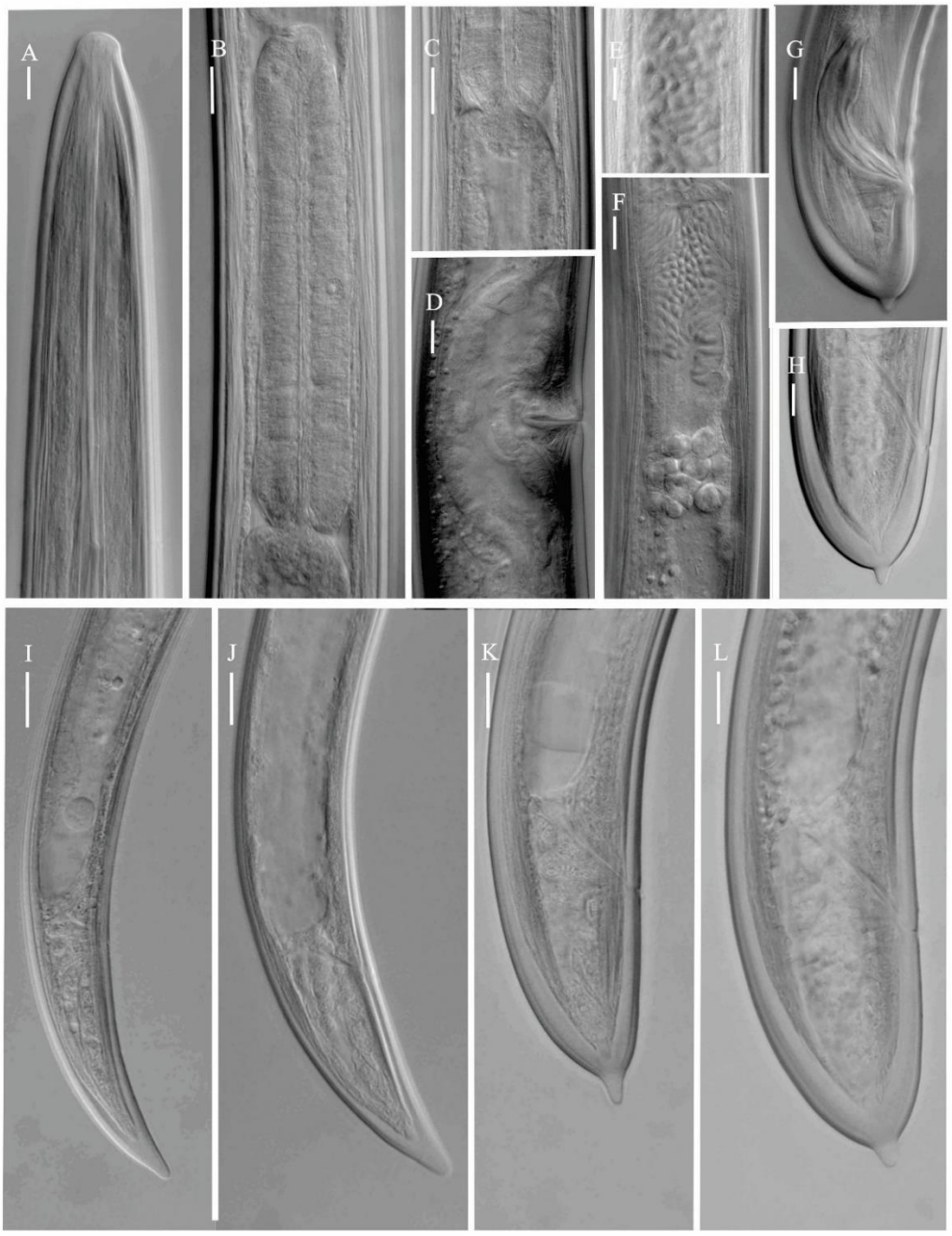
جمعیت استان آذربایجان شرقی *Xiphinema castilloi* Roshan-Bakhsh, Pourjam, Pedram, Robbins & Decraemer, 2014

مقایسه جمعیت به‌دست‌آمده با تمام گونه‌ها و با مراجعه به روشن-بخش و همکاران (Roshan-Bakhsh et al., 2014) به‌عنوان گونه *Xiphinema castilloi* تشخیص داده شد. کدهای الفبایی-عددی جمعیت مورد مطالعه براساس کلید شناسایی چندشاخه گونه‌های گروه غیرامریکانوم *Xiphinema* ارائه‌شده توسط لوف و لوک (۱۹۹۰) عبارت‌اند از: A4، B2، C5a، D5، E56، F45، G3، H2، I3، J4، K2 و L2. از لحاظ ویژگی‌های ریخت‌سنجی و ریخت‌شناختی، این جمعیت با جمعیت توصیف‌شده توسط روشن‌بخش و همکاران (Roshan-Bakhsh et al., 2014) مشابهت داشته و تفاوت‌های جزئی در طول آلت نرینه (۶۲/۵ تا ۶۵/۵ در برابر ۴۸ تا ۶۰ میکرومتر)، طول ادونتواستایل لارو سن یک (۵۸ تا ۵۹/۵ در برابر ۵۳ میکرومتر) و موقعیت حلقه هادی در لارو سن یک (۵۱ تا ۵۳ در برابر ۴۵ میکرومتر) و لارو سن دو (۵۹/۵ تا ۶۴/۵ در برابر ۵۷ تا ۵۵ میکرومتر) مشاهده گردید (شکل ۴، جدول ۲). این گونه اولین‌بار توسط روشن‌بخش و همکاران (Roshan-Bakhsh et al., 2014) از شهرستان رشت و فراریشه درخت زبان گنجشک (*Fraxinus excelsior* L) جداسازی و گزارش گردید. در این مطالعه نیز جمعیت مربوط به این گونه از فراریشه درخت بادام در شهرستان ایلخچی (N 37°55´37.5´´, E 45°51´59.1´´) در استان آذربایجان شرقی جمع‌آوری و تشخیص داده شد.

جدول ۲- داده‌های ریخت‌سنجی *Xiphinema castilloi* Roshan-Bakhsh, Pourjam, Pedram, Robbins & Decraemer, 2014 از استان آذربایجان شرقی: اندازه‌ها برحسب میکرومتر هستند (L برحسب میلی‌متر) و به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (بازه حداقل و حداکثر) ارائه شده‌اند

Table 2- Morphometric data of *Xiphinema castilloi* Roshan-Bakhsh Pourjam, Pedram, Robbins & Decraemer, 2014 from East Azarbaijan province: All measurements are in µm (except L in mm) and in the form mean ± SD (range)

Characters	J1	J2	J3	J4	Females	Males
n	3	3	3	6	4	4
L	(1.1-1.2) 1.1 ± 0.07	(1.5-1.7) 1.6 ± 0.1	(2.1-2.3) 2.2 ± 0.06	(3.1-3.4) 3.3 ± 0.01	(4.0-4.8) 4.4 ± 0.05	(4.3-4.6) 4.5 ± 0.04
a	(52.0-60.5) 57.5 ± 0.6	(63.5-65.0) 64.2 ± 0.2	(74.5-79.5) 77.0 ± 1.1	(67.5-80.5) 74.0 ± 1.3	(84.0-86.5) 85.4 ± 0.5	(90-100) 93.3 ± 2.7
b	(3.0-4.5) 3.8 ± 0.4	(2.5-3.5) 3.1 ± 0.1	(5.5-6.0) 5.8 ± 0.1	(7.0-7.5) 7 ± 0.1	(7.5-8.5) 8.0 ± 0.1	(8.5-9.5) 8.8 ± 0.1
c	(23.5-24.5) 23.7 ± 0.08	(31.5-33.5) 32.6 ± 0.2	(46-51) 48.0 ± 1.8	(62.0-78.5) 71 ± 1.8	(84.0-111.5) 96.9 ± 2.8	(91.5-97.5) 94.8 ± 0.2
c´	(3.0-3.5) 3.2 ± 0.1	(2.5-2.6) 2.5 ± 0.1	(1.5-2.0) 1.72 ± 0.01	(1.1-1.6) 1.3 ± 0.1	1.0	(1.1-1.2) 1.13 ± 0.05
V	-	-	-	-	(46-51) 48.2 ± 2.0	-
Odontostyle	(58.0-59.5) 58.8 ± 0.1	(64.5-70.0) 67.0 ± 3.0	(86.0-90.5) 88.5 ± 0.5	(101.5-112.5) 109.5 ± 2.7	(120.5-154.0) 132.5 ± 6.2	(126-134) 130.0 ± 1.9
Odontophore	(39.0-42.5) 40.5 ± 0.2	(45.5-47.0) 46.0 ± 1.0	(53-58) 55.5 ± 0.2	(62.5-68.5) 65.0 ± 0.1	(70.5-78.0) 74.2 ± 0.2	(73.5-78.0) 74.5 ± 0.3
Replacement odontostyle	(71-75) 72.5 ± 2.0	(84.5-85.5) 85.0 ± 0.5	(106.5-111.0) 109.0 ± 0.5	(126.0-137.5) 131.5 ± 0.3	-	--
Oral aperture to guiding ring	(51-53) 52.0 ± 1.0	(59.5-64.5) 62.0 ± 0.9	(79.5-84.5) 82.2 ± 1.2	(86-110) 102.0 ± 3.7	(119-122) 120.7 ± 0.5	(122-131) 125.0 ± 2.3
Neck length	(200-272) 247 ± 20	(317-322) 320 ± 1.2	(365.5-394.0) 378 ± 4.5	(443.5-468.5) 458.0 ± 1.5	(480-666) 547 ± 50	(500-524) 510 ± 5.3
Body diam. at neck base	(20-21) 20.5 ± 0.01	(24.5-25.0) 24.7 ± 0.1	28	(37.5-43.0) 39.5 ± 0.5	(37.5-44.0) 40.6 ± 1.6	(39-43) 40.8 ± 2.0
Body diam. at mid body	(20.0-22.5) 20.5 ± 0.5	(24.5-27.0) 25.7 ± 0.8	(28-31) 29.0 ± 0.7	(36-500) 44.5 ± 2.5	(46.5-56.5) 51.5 ± 1.3	(46.5-50.0) 48.5 ± 1.5
Body diam. at anus	(14.5-15.5) 15.0 ± 0.1	(19-20) 19.5 ± 0.2	(25.0-26.5) 25.5 ± 0.1	(33.0-40.5) 36.0 ± 1.5	(35-47) 42.3 ± 2.5	(37.5-40.0) 38.8 ± 0.2
Tail length	(49-51) 50.0 ± 1.0	(50.0-50.5) 50.2 ± 0.2	(44-50) 47.0 ± 0.8	(44-50) 46.0 ± 0.7	(36.5-47.0) 43.0 ± 1.6	(45.0-51.5) 47.7 ± 1.2
Spicules	-	-	-	-	-	(62.5-65.5) 63.7 ± 0.6



شکل ٤- تصاویر میکروسکوپ نوری جمعیت ایلخچی از استان آذربایجان شرقی گونه *Xiphinema castilloi* Roshan-Bakhsh, Pourjam, Pedram, Robbins & Decraemer, 2014

Figure 4- Light microscope images of the Ilkhchi population of the species *Xiphinema castilloi* Roshan-Bakhsh, Pourjam, Pedram, Robbins & Decraemer, 2014 from East Azarbaijan province

A: بخش جلویی بدن ماده، B: بخش فراخ مری، C: کاردیا، D: واژن و شکاف تناسلی، E: تجمع اسپرم‌ها در لوله جنسی ماده، F: اندام‌های Z کاذب، G: بخش انتهایی بدن نر، H: دم ماده، I-L: دم مراحل لاروی سن یک تا چهار، به‌ترتیب. خطوط مقیاس در A-L: ۱۰ میکرومتر).

A: Female anterior body region; B: expanded part of pharynx, C: cardia, D: vagina and vulva, E: accumulation of sperm in female genital branch, F: pseudo-Z-organs; G: male posterior body region, H: female posterior body region, I-L: tail of juveniles from J1-J4, respectively. Scale bars: A-L: 10 µm,

مطالعه مولکولی

در مطالعه مولکولی، یک توالی نوکلئوتیدی (MK957243) از ناحیه LSU D2-D3 rDNA برای این جمعیت به دست آمد. از مقایسه دوتایی این توالی با توالی جمعیت اصلی موجود در بانک ژن (KF446655) مشخص شد که این دو توالی به تعداد هشت نوکلئوتید با هم تفاوت دارند. دو توالی ذکرشده، در درخت تبارزایی (شکل ۲) در یک کلاد قرار دارند. در بین جمعیت‌های برخی گونه‌های دیگر هم، چنین اختلاف نوکلئوتیدی مشاهده می‌شود مثلاً اختلاف نوکلئوتیدی دو جمعیت از *X. setariae* (MF510428 و MF510429) و دو جمعیت از *X. hunariense* (EF188841 و EF188839) به‌ترتیب شش و هفت نوکلئوتید است (Ghaemi et al., 2012; Ruihang et al., 2018).

جمعیت‌های استان آذربایجان شرقی *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950

جمعیت‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه با استفاده از کلیدها و منابع ارائه‌شده توسط هینز و کومنس (Heyns & Coomans, 1983)، لوف و لوک (Loof & Luc, 1990)، بارسی و لامبرتی (Barsi & Lamberti, 2000)، تزورتزاکاکیس و همکاران (Tzortzakakis et al., 2001) و گوتیرز-گوتیرز و همکاران (Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2011) شناسایی شدند و ویژگی‌های آن‌ها در مقایسه با ویژگی‌های ذکرشده در برخی منابع (Thorne & Allen, 1950; Mojtahedi et al., 1980;) مطابقت نشان داد. کدهای الفبایی-عددی جمعیت‌های مورد مطالعه براساس کلید شناسایی چندگانه گونه‌های گروه غیرامریکانوم جنس *Xiphinema* ارائه‌شده توسط لوف و لوک (Loof & Luc, 1990) عبارتند از: A4، B4، C5a6a، D56، E34، F34، G23، H2، I3، J4، k2 و L2. این گونه اولین‌بار توسط تورن و آلن (Thorne & Alen, 1950) از فراریشه درخت انجیر (*Ficus carica*) از آمریکا گزارش شد و در ایران نیز اولین‌بار توسط مجتهدی و همکاران (Mojtahedi et al., 1980) از زمین‌های کشاورزی و جنگل‌های طبیعی شناسایی و گزارش گردید. این گونه در بررسی کنونی در میان سایر گونه‌های جنس *Xiphinema* از پراکنش بالایی برخوردار بوده، از مناطق شللو (N 37°55′36.4″, E 45°56′51.1″)، ینگجه (N 37°43′10.4″, E 46° 01′45.3″)، خسروشاه (N 37°57′18.4″, E 46°03′35″)، کردلر (N 37°57′31.7″, E 46°00′31.8″)، اسکو (N 37°55′10.6″, E 46°06′02.8″)، فیروزسالار (N 37°47′39.4″, E 45°56′06.7″)، گوگان (N 37°47′42.7″, E 45°57′34.9″)، دستجرد (N 37°45′13.0″, E 45°52′45.5″)، گواهیر (N 37°42′56.1″, E 46°02′45.5″)، گمیچی (N 37°46′02.0″, E 45°29′49.0″)، سرای (N 37°51′13.0″, E 45°32′58.0″)، جراغیل (N 37°44′03.1″, E 46°07′09.4″)، ینگجه (N 37°44′04.3″, E 46°00′02.3″) و بایرام (N 37°56′10.9″, E 46°04′32.1″) و از میزبان‌های گردو، سنجد (*Elaeagnus angustifolia* L)، بادام، انگور (*Vitis vinifera L*)، زردآلو، سپیدار (*Populus alba* L)، گلابی (*Pyrus communed* L)، آلو (*Prunus domestica* L) و سرو (*Cupressus sempervirens* L) جمع‌آوری و مورد شناسایی قرار گرفت.

در جمعیت‌های برخی مناطق (از جمله شللو، خسروشاه و کردلر) در قسمت‌های مختلف لوله تولیدمثلی افراد ماده اسپرم دیده شد. وجود اسپرم در اطراف شکاف تناسلی در داخل بدن و نقاط مختلف رحم، نشان‌دهنده ورود احتمالی اسپرم‌ها از بیرون به درون بدن ماده است. مطالعه انجام‌شده توسط میکروسکوپ نوری نشان داد که شکل اسپرم‌های بدن ماده مشابه اسپرم‌های موجود در بدن افراد نر است. لوک و کوهن (Luc & Cohn, 1982)، وجود اسپرماتوزوئیدهای غیرمجتمع در تعداد بسیار کمی از افراد ماده در گونه *X. index* را دلیل تولیدمثل به‌روش جنسی دانسته‌اند، ولی به شرح ویژگی‌های افراد نر در جمعیت‌هایی با ماده‌های دارای اسپرم در لوله جنسی پرداخته نشده و یا به وجود اسپرم در بدن نر اشاره نکرده‌اند. درحالی‌که در این مطالعه، تجمعی از اسپرم‌ها در داخل لوله تناسلی در افراد ماده مشاهده شد (شکل‌های ۵ و ۶، جدول ۳). همچنین گوتیرز-گوتیرز و همکاران (Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2011)، کمیاب بودن افراد نر را دلیلی بر تولیدمثل به طریق بکرزایی در این گونه دانسته‌اند. در مطالعه انجام‌شده توسط وظیفه و همکاران (Vavifeh et al., 2019)، افراد نر مشاهده نشد، درحالی‌که در برخی افراد ماده تعدادی اسپرم در قسمت تخم‌انداز (ovejector) و *pars dilatata uterus* مجرای عبور تخمک ملاحظه گردید. در مقایسه ویژگی‌های جمعیت مورد مطالعه در این پژوهش از منطقه شللو با این جمعیت، تفاوت جزئی در شاخص V (۳۸ تا ۴۲ در برابر ۳۶ تا ۳۸) و طول دم (۳۱ تا ۳۹ در برابر ۳۶ تا ۴۱ میکرومتر) ملاحظه گردید. در *X. index* تولیدمثل به‌روش بکرزایی معمول بوده و در این روش یک لارو منفرد قادر به تولید یک جمعیت است (Dalmasso & Younes, 1969). تولیدمثل جنسی نیز در این گونه اگرچه یک پدیده نادر است، ولی مشاهده شده است (Villate et al., 2010). این نوع تولیدمثل سبب افزایش تنوع ژنتیکی از طریق نوترکیبی جنسی می‌گردد (Van Zyl et al., 2016)، همچنین باعث افزایش سرعت سازگاری با محیط و شرایط جدید می‌شود (Thomas et al., 2012).

مطالعه مولکولی

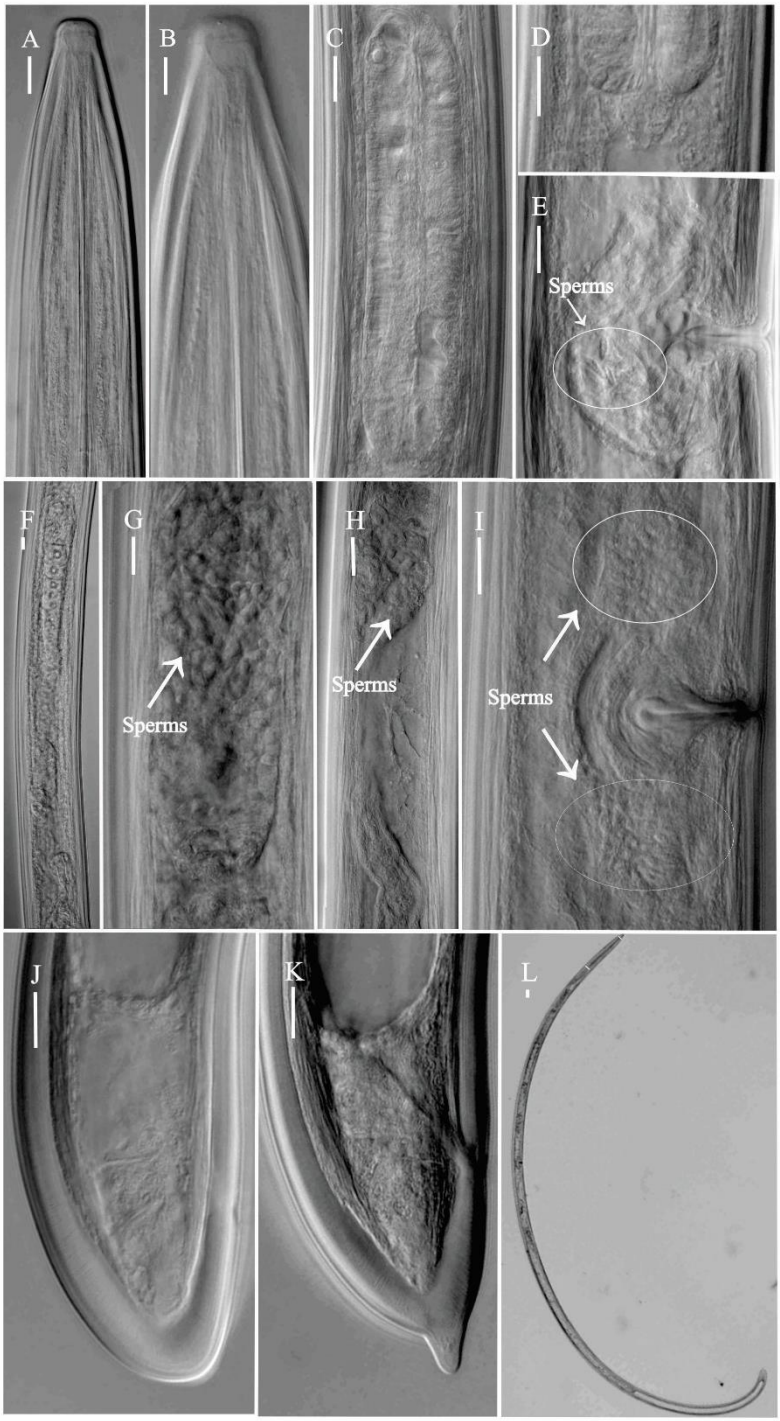
توالی‌های نوکلئوتیدی با کدهای دسترسی MK957233 و

MK957236 (جمعیت‌های خسروشاه و شللو) برای ناحیه ژنی D2-D3 و کد MK920408 متعلق به ناحیه ITS1 جمعیت شللو برای افراد ماده با لوله جنسی حاوی اسپرم به دست آمد. دو توالی D2-D3 فاقد اختلاف نوکلئوتیدی با یکدیگر هستند و با سایر توالی‌های ناحیه D2-D3 این گونه در بانک ژن اختلاف چهار نوکلئوتیدی نشان دادند. توالی جدید ناحیه ITS1 در مقایسه با توالی‌های موجود در بانک ژن، تعداد هفت جفت باز (۹۹ درصد همسانی) داشتند. مقایسه دوتایی دو توالی موجود در بانک ژن از گونه *X. elongatum* (KF430803 و KF430802) نیز نتیجه مشابهی داشته و تفاوت شش نوکلئوتید را نشان داد (Ruihang et al., 2018).

جدول ۳- داده‌های ریخت‌سنجی به‌ترتیب جمعیت شللو و سردرود برای *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 و *Xiphinema vuittenezi* Luc, Lima, Weischer & Flegg, 1964 از استان آذربایجان شرقی: اندازه‌ها برحسب میکرومتر هستند (L برحسب میلی‌متر) و به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (بازه حداقل و حداکثر) ارائه شده‌اند.

Table 3- Morphometric data for populations of Shellalu and Sardrud, respectively, for *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 and *Xiphinema vuittenezi* Luc, Lima, Weischer & Flegg, 1964, 1964 from East Azarbaijan province. All measurements are in µm (except L in mm) and in the form mean ± SD

Characters	*Xiphinema index*		*Xiphinema vuittenezi*	
	Female	Male	Female	Male
	n= 6	n= 6	n= 6	n= 3
L	2.8–3.1 3 ± 0.01	2.8–3 2.9 ± 0.05	3.0–3.6 3.3 ± 0.2	3.1–2.9 3.1 ± 0.1
a	56.5–62.0 59.5 ± 0.2	55.5–60.0 57.4 ± 0.3	51.5–56.0 53.3 ± 1.2	55–50 52 ± 0.2
b	6.5–7.0 6.7 ± 0. 1	6.0–8.5 7.7 ± 0.3	6.5–7.5 6.9 ± 0.4	7.0–6.5 6.7 ± 0.1
c	74–98 84.8 ± 1.6	63.5–73.0 67 ± 2.3	74.5–100.0 83 ± 2.5	84.0–78.5 80.5 ± 0.5
c´	0.9–1.0 0.95 ± 0.01	0.9–1.0 0.9 ± 0.01	0.8–1.0 0.9 ± 0.02	0.7- 1.0 0.8 ± 0.1
V	38–42 38.4 ± 0.1	–	46–49 47.5 ± 0.1	–
Odontostyle	120–132 126.8 ± 0.2	121–134 128.5 ± 2.4	112–130 121.5 ± 1.6	118–125 120 ± 2.8
Odontophore	72–84 74.6 ± 2.4	60–72 68 ± 2.8	75–78 76.5 ± 0.8	74 –76 75 ± 1.3
Guiding ring from ant. end	115–134 125.5 ± 1.6	100–115 109 ± 2.9	115–122 118 ± 1.7	113 – 117 115 ± 1.2
Neck length	444–476 456 ± 2.2	349–462 391 ± 22	456–507 475 ± 21	420–460 440 ± 15.6
Pharyngeal expansion	112–125 117.7 ± 1.8	109–117 113.5 ± 0.7	112–131 123±2.6	110–122 118 ± 2.1
Body diam. at neck base	37.2–47 43.7 ± 1.8	45–47 46.7 ± 0.01	50–59 55 ± 1.3	45– 51 48 ± 2.6
Body diam.at mid body	47.0–56.5 52 ± 1.2	45.5–54.5 52 ± 0.8	59.0–65.5 61.5 ± 1.2	57–59 58 ±1.2
Body diam.at anus	34.5–39.0 37.2 ± 2	43–44 43.5 ± 0.6	39.0–42.5 41 ± 0.2	35–37 36.0 ± 0.4
Tail length	31.5–39.0 36.5 ± 1.8	41–47.5 43.5 ± 1.3	34–42 39.5 ± 0.9	36–38 37.3 ± 0.2
Spicules	–	62.5–67.0 65 ± 0.6	–	56–59 57 ± 1.1

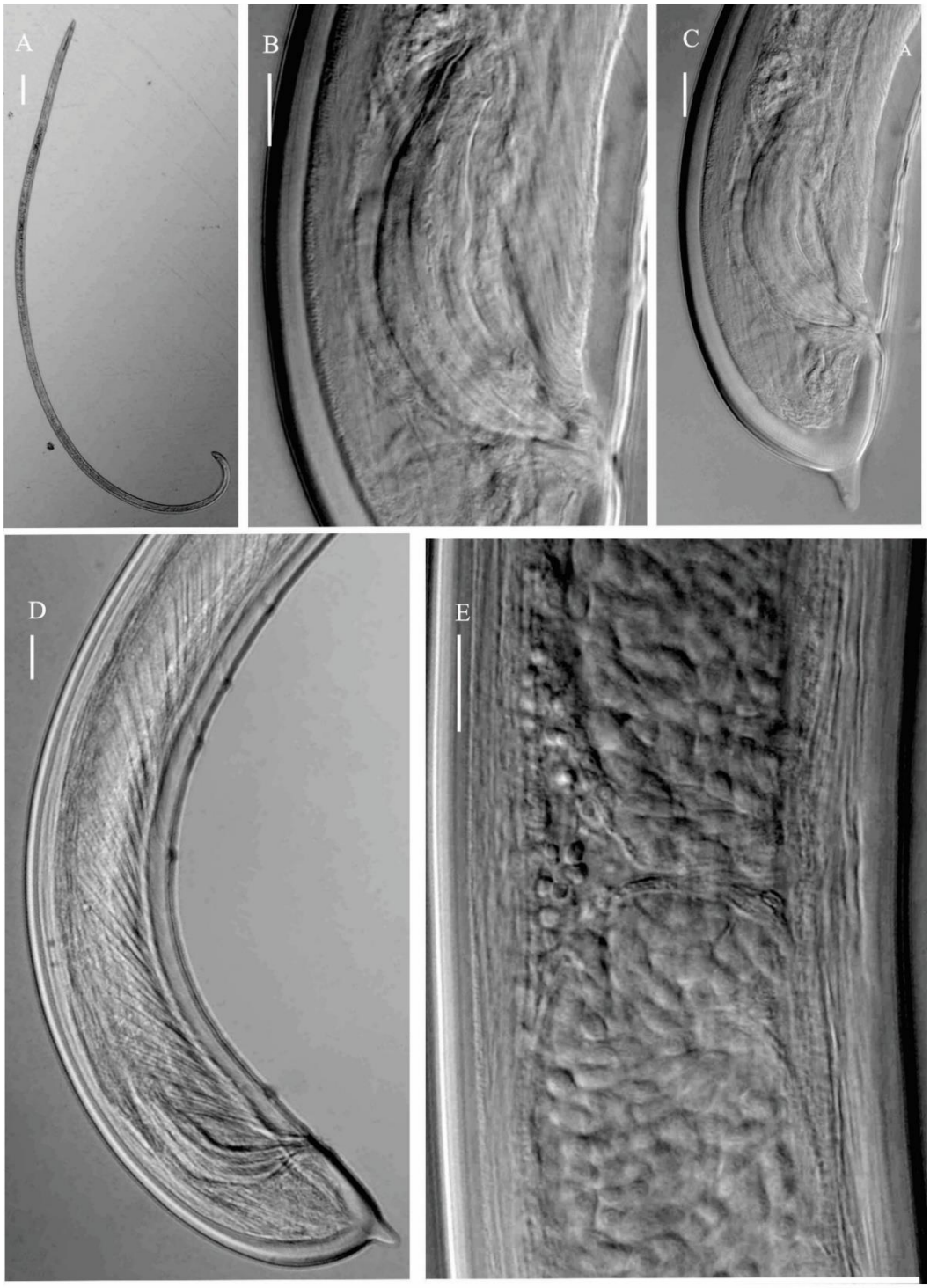


شکل ۵- تصاویر میکروسکوپ نوری جمعیت شللو گونه *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 از استان آذربایجان شرقی

Figure 5- Light microscope images of the Shellalu population of the species *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 from East Azarbaijan province

A و B: بخش جلویی بدن ماده، C: بخش فراخ مری، D: کاردیا، E: واژن و تجمع اسپرم، F: لوله جنسی جلویی، G-I: تجمع اسپرم‌ها در لوله جنسی، J و K: بخش انتهایی بدن، L: نمای کلی بدن ماده. خطوط مقیاس در A-K: ۱۰ میکرومتر و در L: ۶۲ میکرومتر.

A & B: Female anterior body region, C: expanded part of pharynx, D: cardia, E: vagina and sperm accumulation in ovejector, F: female anterior genital branch, G-I: accumulation of sperm in female genital branch, J & K: posterior body region, L: female entire body. Scale bars: A-K: 10 µm, L: 62 µm.

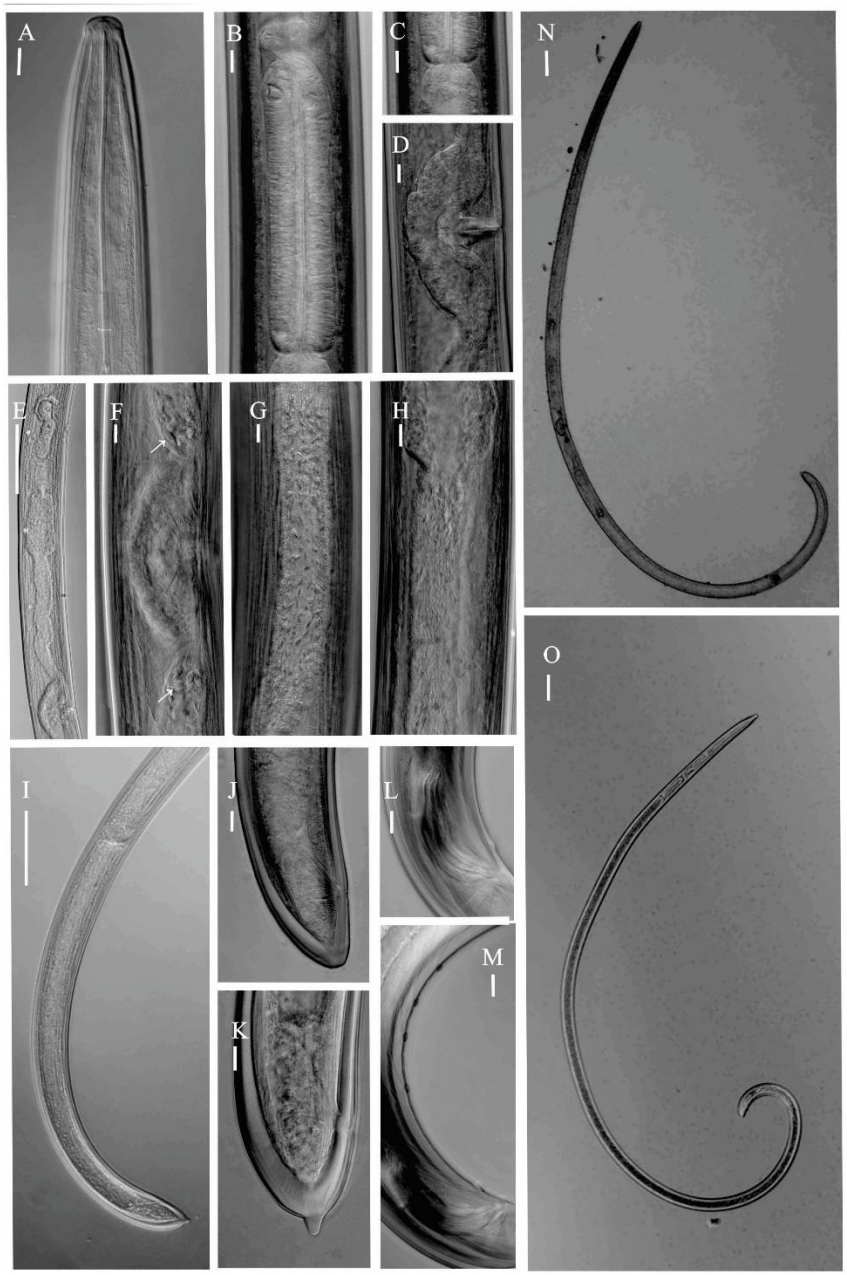


شکل ٦- تصاویر میکروسکوپ نوری جمعیت شللو گونه *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 از استان آذربایجان شرقی

Figure 6- Light microscope images of the Shellalu population of East Azarbaijan province of the species *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950

A: نمای کلی بدن نر، B-D: آلت نرینه و بخش انتهای بدن نر، E: تجمع اسپرم در لوله جنسی نر. خطوط مقیاس در B-E: ۱۰ میکرومتر و در A: ۱۰۰ میکرومتر

A: Male entire body, B-D: spicules and male posterior body region, E: accumulation of sperm in male genital branch. Scale bars: B-E: 10 µm, A: 100 µm.



شکل ۷- تصاویر میکروسکوپ نوری جمعیت سردرود گونه *Xiphinema vuittenezi* Luc, Lima, Weischer & Flegg,1964 از استان آذربایجان شرقی

Figure 7- Light microscope images of the Sardrud population of East Azarbaijan province population of the species *Xiphinema vuittenezi* Luc, Lima, Weischer & Flegg, 1964

A: بخش جلویی بدن ماده، B: بخش فراخ مری،C: کاردیا، D: واژن و شکاف تناسلی، E: لوله‌های جنسی ماده، F: ضمائم کریستالی ابتدای لوله تولیدمثلی، G و H: کریستال‌ها در بخش لوله‌ای رحم، I-K: بخش انتهایی بدن ماده، L: آلت نرینه، M: پاپیل‌های جنسی در نر، N: نمای کلی بدن ماده، O: نمای کلی بدن نر. مقیاس در A-D، F- H و J-M: ۱۰ میکرومتر و در E، I، N و O: ۱۰۰ میکرومتر.

A: Female anterior body region, B: expanded part of pharynx, C: cardia, D: vagina and vulva, E: female genital branches, F: crystalloids at beginning of genital branches, G & H: crystalloids in tubular part of uterus, I-K: female posterior end, L: spicule, M: Male supplements, N: female entire body, O: male entire body. Scale bars: A-D, F-H and J-M: 10 µm, E, I, N and O: 100 µm.

جمعیت‌های استان آذربایجان شرقی *Xiphinema vuittenezi* Luc, Lima, Weischer & Flegg, 1964

این جمعیت با استفاده از کلیدها و منابع ارائه‌شده توسط شیژوف و همکاران (Chizhov et al., 1986)، روکا و لامبرتی (Roca & Lamberti, 1988)، لوف و لوک (Loof & Luc, 1990) و بارسی و لامبرتی (Barsi & Lamberti, 2000) به‌عنوان گونه *X. vuittenezi* تشخیص داده شد. ویژگی‌های این جمعیت در مقایسه با ویژگی‌های ذکرشده در منابع کاملاً مطابقت دارد. کدهای الفبایی-عددی جمعیت‌های مورد مطالعه براساس کلید شناسایی چندگانه گونه‌های گروه غیرامریکانوم جنس *Xiphinema* ارائه‌شده توسط لوف و لوک (Loof & Luc, 1990) عبارت‌اند از: A4، B3، C5a6، D56، E56، F34، G23، H2، I3، J?، K? و L2.

یکی از ویژگی‌های این گونه وجود کریستال‌ها (تزئینات خارمانند) پراکنده در سراسر بخش لوله‌ای رحم است که در ابتدا و انتهای این بخش متراکم‌تر هستند. در این مطالعه نیز اجسام کریستالی در ابتدا و گاهی در هر دو انتهای لوله رحم مشاهده گردید (شکل ۷، جدول ۳). این گونه اولین‌بار توسط لوک و همکاران (Luc et al., 1964)، از فراریشه انگور، چغندرقند (*Beta vulgaris* L)، بلوط (*Quercus brantii* Lindl)، زردآلو، انگورفرنگی (*Ribes rubrum* L)، کاج (*Pinus pinea* L) و سیب (*Malus domestica* (Suckow) Borkh) و از کشورهای فرانسه، پرتغال، آلمان و انگلستان گزارش شد. در این بررسی، این گونه از مناطق شللو (N 37°55′36.1″, E 45°56′54.0″)، سردرود (N 37°01′32.5″, E 46°07′18.0″)، ینجی‌کند (N 37°59′54.8″, E 46°55′19.5″)، اسکو (N 37°02′23.7″, E 46°06′01.5″)، کجاآباد (37°55′11.9″, E 46°08′00.0″)، شیخ حسن (N 37°01′32.6″, E 46°06′23.2″)، باران‌لو (N 37°59′23.9″, E 46°02′41.4″)، خاص‌لو (N 37°56′21.1″, E 45°56′46.9″)، ایلخچی (37°55′16.2″, E 45°57′35.9″)، باغ مرکز تحقیقات باغبانی جهاد کشاورزی استان آذربایجان شرقی (N 37°55′33.5″, E 45°57′22.5″) و دیزج (N 37°56′24.9″, E 46°03′24.0″) و از فراریشه میزبان‌های بادام، پسته (*Pistacia vera* L)، سنجد، سیب، آلو، زردآلو، سنجد، انگور، چنار (*Platanus orientalis* L)، هلو (*Prunus persica* (L.) Batsch)، گردو، سنجد، سیب، سرو و سپیدار جداسازی و شناسایی شد.

مطالعه مولکولی

در این مطالعه، دو فرد ماده از دو جمعیت با کریستال‌های واضح و ناواضح در بخش لوله‌ای رحم مورد بررسی قرار گرفت. توالی MK957239 مربوط به افراد با لوله جنسی با اجسام کریستالی ناواضح در نمونه‌های تثبیت‌شده و توالی MK957234 مربوط به ناحیه D2-D3 و توالی MK309917 مربوط به ناحیه ITS مربوط به جمعیت اخیر در بانک ژن به ثبت رسیدند.

مقایسه دوتایی دو توالی MK957239 و MK957234 تفاوتی نشان نداد و آن‌ها کاملاً همسان بودند. همچنین توالی MK309917 در مقایسه با توالی‌های این گونه در بانک ژن، با هفت نوکلئوتید اختلاف، ۹۹ درصد همسانی داشت و این دو توالی در درخت تبارزایی با بالاترین احتمال در یک کلاد قرار گرفتند (شکل ۳). مقایسه توالی‌های گونه *X. hunaniense* (EF188841 و EF188839) که قبلاً در بانک ژن به ثبت رسیده‌اند نیز نتیجه مشابه و اختلاف به تعداد هفت نوکلئوتید را نشان داد (Ruihang et al., 2018).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌سنجی، ریخت‌شناختی و مولکولی، چهار گونه *X. aceri*، *X. castilloi*، *X. index* و *X. vuittenezi* شناسایی شده و ماهیت آن‌ها تأیید گردید. در این بین، *X. index* گونه غالب بود و در این مطالعه مجدداً امکان تولیدمثل جنسی در گونه *X. index* با توجه به داده‌های ریخت‌شناختی و مولکولی مشاهده شد. همچنین نشان داده شد که در گونه *X. vuittenezi* دو فرد ماده از دو جمعیت با کریستال‌های واضح و ناواضح پس از تثبیت نمونه‌ها، در بخش لوله‌ای رحم تفاوتی از لحاظ ویژگی‌های مولکولی و سایر مشخصات ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی نداشتند و ماهیت آن‌ها یکسان بود.

References

1. Archidona-Yuste, A., Navas-Cortés, J. A., Cantalapiedra-Navarrete, C., Palomares-Rius, J. E., & Castillo, P. (2016). Cryptic diversity and species delimitation in the *Xiphinema americanum*-group complex (Nematoda: Longidoridae) as inferred from morphometric and molecular markers. *Zoological Journal of the Linnean Society, 176*, 231-265. https://doi.org/10.1111/zoj.12316
2. Arias, M., Escuer, M., Arcos, S. C., & Bello, A. (2005). Distribution of *Xiphinema pyrenaicum* Dalmasso, 1969 with notes on *X. aceri* Chizhov, Tiev & Turkina, 1986 (Nematoda: Longidoridae). *Nematology*, *7*(1), 45-51. https://doi.org /10.1163/1568541054192144

3. Barsi, L., & Lamberti, F. (2000). Morphometric variation and juvenile stages of *Xiphinema vuittenezi* (Nematoda: Dorylaimida) in Serbia. *Nematologia Mediterranea, 28*, 3-12.
4. Bazgir, E., Naghavi, A., & Zolfaghari, Z. (2020). Three species of *Xiphinema americanum*-group complex (Nematoda: Longidoridae), from Lorestan province, Iran. *Helminthologia, 57*(4), 394-401. https://doi.org/10.2478/helm-2020-0036
5. Brown, D. J. F., & Boag, B. (1988). An examination of methods used to extract virus-vector nematodes (Nematoda: Longidoridae and Trichodoridae) from soil samples. *Nematologia Mediterranea, 16*, 93-99.
6. Cherry, T., Szalanski, A. L., Todd, T. C., & Powers, T. O. (1997). The internal transcribed spacer region of *Belonolaimus* (Nemata: Belonolaimidae). *Journal of Nematology, 29*, 23–29.
7. Chizhov, V. N., Tiev, R. A., & Turkina, A. Y. (1986). Two new nematode species of the genus *Xiphinema* (Nematoda, Longidoridae) from northern Caucasus. *Zoologicheskii Zhurnal, 65*, 932-935.
8. Dalmasso, A., & Younes, T. (1969). Ovogenese et embryogenese chez *Xiphinema index* (Nematoda: Dorylaimida). *Annales de Zoologie et Ecologie Animale, 1*, 265–279.
9. De Grisse, A. T. (1969). Redescription ou modification de quelqutes techniques utilissisedans L; etude des Nematode phytoparasutaires. *Meded, Rijksfaculteti der Landbouveten, Gent, 34*, 351-369.
10. Fadakar, S., Pourjam, E., Barsi, L., & Pedram, M. (2021). A new species of the genus *Xiphinema* Cobb 1913 (Nematoda: Longidoridae) from north and northwest Iran. *European Journal of Plant Pathology, 160*, 557-574. https://doi.org /10.1007/s10658-021-02264-1
11. Fouladvand, Z. M., Pourjam, E., Castillo, P., & Pedram, M. (2019). Genetic diversity, and description of a new dagger nematode, *Xiphinema afratakhtehnsis* sp. nov., (Dorylaimida: Longidoridae) in natural forests of southeastern Gorgan, northern Iran. *Plos One, 14*(5), e0214147. https://doi.org /10.1371/journal.pone.0214147
12. Ghaemi, R., Pourjam, E., Pedram, M., Robbins, R. T., Ye, W., & Decraemer, W. (2012). Morphological and molecular characterisation of *Xiphinema zagrosense* sp. n. (Dorylaimida: Longidoridae) from the Zagros Mountains, Iran. *Nematology, 14*(4), 445-455. https://doi.org /10.1163/156854111X612171
13. Gutiérrez-Gutiérrez, C., Palomares Rius, J. E., Cantalapiedra-Navarrete, C., Landa, B. B. & Castillo, P. (2011). Prevalence, polyphasic identification, and molecular phylogeny of dagger and needle nematodes infesting vineyards in southern Spain. *European Journal of Plant Pathology, 129*(3), 427-453. https://doi.org/10.1007/s10658-010-9705-y
14. Gutiérrez-Gutiérrez, C., Cantalapiedra-Navarrete, C., Montes-Borrego, M., Palomares-Rius, J. E., & Castillo, P. (2013). Molecular phylogeny of the nematode genus *Longidorus* (Nematoda: Longidoridae) with description of three new species. *Zoological Journal of the Linnean Society, 167*(4), 473-500. https://doi.org/10.1111/zoj.12019
15. Heyns, J., & Coomans, A. (1983). Three *Xiphinema* species from Papua New Guinea and the Solomon Islands (Nematoda: Longidoridae). *Nematologica, 29*(1), 1-10. https://doi.org/10.1163/187529283x00131
16. Jabbari, H., Niknam, G., Fallahi, A., Zahedi, E., & Nikdel, M. (2019). Report of six dorylaim nematodes from Arasbaran forests. *Journal of Plant Protection, 33*(2), 143-157. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jpp.v33i2.76301
17. Jahanshahi Afshar, F., Shahryari, F., Gharibzadeh, F., Pourjam, E., & Pedram, M. (2019). Description of *Xiphinema azarbaijanense* n. sp. (Nematoda; Longidoridae) from West Azarbaijan province, northwestern Iran. *European Journal of Plant Pathology, 155*(2), 417-434. https://doi.org/10.1007/s10658-019-01776-1
18. Jones, J. T., Haegeman, A., Danchin, E. G., Gaur, H. S., Helder, J., Jones, M. G., Kikuchi, T., Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J. E., Wesemael, W. M., & Perry, R. N. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology, 14*(9), 946-961. https://doi.org/10.1111/mpp.12057
19. Loof, P. A. A., & Luc, M. (1990). A revised polytomous key for the identification of species of the genus *Xiphinema* Cobb, 1913 (Nematoda: Longidoridae) with exclusion of the *X. americanum*-group. *Systematic Parasitology, 16*, 36-66. https://doi.org/10.1007/BF00009717
20. Luc, M., & Cohn, E. (1982). The male of *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 (Nematoda: Longidoridae). *Revue de Nématologie, 5*(2), 211–215.
21. Luc, M., Lima, M. B., Weischer, B., & Flegg, J. J. M. (1964). *Xiphinema vuittenezi* n. sp. (Nematoda: Dorylaimidae). *Nematologica, 10*(1), 151-163.
22. Mobasseri, M., Hutchinson, M. C., Afshar, F. J., & Pedram, M. (2019). New evidence of nematode-endosymbiont bacteria coevolution based on one new and one known dagger nematode species of *Xiphinema americanum*-group (Nematoda, Longidoridae). *Plos One. 14*(6), e0217506. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217506
23. Mojtahedi, H., Sturhan, D., Akhiani, A., & Barooti, S. (1980). *Xiphinema* species in Iranian vineyards. *Nematologia Mediterranea, 8*, 165-170.
24. Naghavi, A. (2018). Species diversity of Longidoridae Thorne, 1935 and Aporcelaimidae Heyns, 1965 in soils of western region of East Azarbaijan province based on morphological and molecular characteristics. Ph.D. Dissertation in Plant Pathology, University of Tabriz, Tabriz, Iran, 271 pp. (In Persian)
25. Naghavi, A., Niknam, G., & Vazifeh, N. (2022). A new species of *Xiphinema americanum* group (Nematoda: Longidoridae) from Iran, with additional data on three known species. *Systematic Parasitology, 99*, 545-555.

https://doi.org/10.1007/s11230-022-10044-6
26. Nunn, G. B. (1992). Nematode molecular evolution. Ph.D. Dissertation, University of Nottingham, Nottingham, UK.
27. Nylander, J. A. A. (2004). MrModeltest v2. Program distributed by the author. Uppsala University, Sweden, Evolutionary Biology Centre.
28. Pedram, M. (2007). Study on the biodiversity of species of two genera *Longidorus* Mikoletzky, 1922 and *Xiphinema* Cobb, 1913 in eastern Azarbaijan. M. Sc. Thesis in Plant Pathology, University of Tabriz, Tabriz, Iran, 122 pp. (In Persian)
29. Pedram, M., Niknam, G., Robins, R. T., Ye, W., & Karegar, A. (2009a). New report of five *Xiphinema* Cobb, 1913 species in Iran based on morphological and molecular characters. Proceedings of 18th Iranian Plant Protection Congress, Volume II, Plant Disease, (p. 588). Hamedan, Iran. (In Persian)
30. Pedram, M., Niknam, G., Robins, R. T., Ye, W., & Karegar, A. (2009b). *Xiphinema iranicum* n. sp. (Nematoda: Longidoridae) from north-western Iran. *Nematology*, *11*(1), 11-21. https://doi.org /10.1163/156854108X398363
31. Pedram, M. (2014). Taxonomic study of two nematode families, Nordiidae and Longidoridae in northern Iran. Ph.D. Dissertation in Plant Pathology, University of Tarbiat Modares, Tehran, Iran, 314 pp. (In Persian)
32. Roca, F., & Lamberti, F. (1988). *Xiphinema aequum* sp. n. (Nematoda: Dorylaimida) from Italy, with description of the male of *Longidorus eridanicus*. *Nematologia Mediterranea*, *16*(1), 87-91.
33. Roshan-Bakhsh, A., Pourjam, E., Pedram, M., Robbins, R. T., & Decraemer, W. (2014). Description of *Xiphinema castilloi* sp n. (Dorylaimida: Longidoridae) from Iran and its phylogenetic relationships. *Nematology*, *16*(3), 359-368. https://doi.org /10.1163/15685411-00002770
34. Ruihang, C. A. I., Maria, M., Barsalote, E. M., Subbotin, S. A., & Zheng, J. (2018). Description of *Xiphinema hangzhouense* sp. n. (Nematoda: Longidoridae) from the rhizosphere of *Magnolia grandiflora* in Hangzhou, Zhejiang province, China. *Nematology*, *20*, 67-80. https://doi.org/10.1163/15685411-00003125
35. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution, 30:* 2725-2729. https://doi.org/10.1093/molbev/mst197
36. Thomas, C. G., Woodruff, G. C., & Haag E. S. (2012). Causes and consequences of the evolution of reproductive mode in *Caenorhabditis* nematodes. *Tends in Genetics*, *28*(5), 213–20. https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.02.007
37. Thorne, G., & Allen, W. (1950). *Paratylenchus hamatus* n. sp. and *Xiphinema index* n. sp., two nematodes associated with fig roots, with a note on *Paratylenchus anceps* Cobb. *Helminthological Society of Washington*, *17*, 27–35.
38. Tzortzakakis, E. A., Peneva, V., Terzakis, M., Neilson, R., & Brown, D. J. F. (2001). *Longidorus cretensis* n. sp. (Nematoda: Longidoridae) from a vineyard infected with a foliar yellow mosaic on Crete, Greece. *Systematic Parasitology*, *48*(2), 131-139. https://doi.org/10.1023/A:1006436718672
39. Van Zyl, S., Vivier, M., & Walker, M. (2016). *Xiphinema index* and its relationship to grapevines: A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *33*, 21–32. https://doi.org/10.21548/33-1-1302
40. Vazifeh, N. (2017). Identification of nematode fauna in soils of Roodghat area of Sufiyan, East Azarbaijan province, Iran. M. Sc. Thesis in Plant Pathology, University of Tabriz, Tabriz, Iran, 226 pp. (In Persian)
41. Vazifeh, N., Niknam, G., Jabbari, H., & Naghavi, A. (2019). Description of a new dagger nematode, *Xiphinema barooghii* n. sp. (Nematoda: Longidoridae) and additional data on the three known species of the genus from northwest of Iran. *Journal of Nematology*, *51*, 1-17. https://doi.org/10.21307/jofnem-2019-007
42. Villate, L., Esmenjaud, D., Van Helden, M., Stoeckel, S., & Plantard, O. (2010). Genetic signature of amphimixis allows for the detection and fine scale localization of sexual reproduction events in a mainly parthenogenetic nematode. *Molecular Ecology*, *19*(5), 856–873. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04511.x
43. Vrain, T. C., Wakarchuk, D. A., Levesque, A. C., & Hamilton, R. I. (1992). Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group. *Fundamental and Applied Nematology, 15*, 563–573.

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, 2026, p. 723-736

Comparison of Wild Mustard (*Sinapis arvensis* L.) Seedling Establishment Success in Two Populations with Different Management Backgrounds: Soil Texture and Seed Burial Depth

Rafat Hassani Nasab Farzaneh[1], Ahmad Tobeh[1], Rasoul Fakhari[2*], Mohammad Ahmadi[1]

1- Department of Genetic and Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2- Plant Protection Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Centre, AREEO, Moghan, Iran
(*- Corresponding author's Email: r.fakhari68@gmail.com)

Received: 07-09-2025
Revised: 17-08-2026
Accepted: 19-08-2026
Available Online: 22-06-2026

How to cite this article:
Hassani Nasab Farzaneh, R., Tobeh, A., Fakhari, R., & Ahmadi, M. (2026). Comparison of wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) seedling establishment success in two populations with different management backgrounds: soil texture and seed burial depth. *Iranian Plant Protection Research*, *40*(3), 723-736. (In Persian). https://doi.org/10.22067/JPP.2026.95300.1250

Introduction

Wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) is a highly competitive and widespread weed in global agricultural systems. Its high ecophysiological adaptability and ability to form a persistent seed bank consistently pose a serious threat to crop production. The ecological success of this plant is largely attributed to its complex adaptive mechanisms in response to environmental factors such as sowing depth and soil texture. Understanding these mechanisms is fundamental for developing effective and sustainable management strategies. Previous studies have well-established that sowing depth is a critical factor determining seedling emergence. Generally, smaller seeds, like those of wild mustard, are dependent on being placed at shallow depths for germination due to their limited seed reserves. This study specifically addresses the question of whether a critical depth can be identified for managing any population in any soil type, beyond which the potential for seedling establishment approaches zero.

Materials and Methods

In the autumn of 2023, a factorial experiment arranged in a completely randomized design (CRD) with three replications was conducted to investigate the emergence and establishment indices of wild mustard seedlings. The factors included wild mustard population at 2 levels (A and B to tribenuron-methyl herbicide), soil type at 2 levels (clay and silt textures), and sowing depth at 8 levels (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7 cm). Seeds of both A and B populations were collected in the spring of 2023 from fields around the University of Mohaghegh Ardabili greenhouse, where they had been cultivated. To break physiological dormancy, seeds were pre-treated with Gibberellic acid (GA_3) at a concentration of 1500 parts per million (ppm).

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

https://doi.org/10.22067/JPP.2026.95300.1250

Results and Discussion

Findings revealed that although the population of B demonstrated superiority under optimal conditions (shallow depths and clay soil) with a high emergence index (24.5), this genetic advantage is entirely fragile in the face of the determining factor of seed placement depth. Identifying a critical physiological threshold at 4-5 cm depth is considered key to controlling this weed; this is the depth at which even the most population of B, in an unequal battle against darkness and soil mechanical pressure, exhausts its energy reserves before reaching the light and fails to emerge. The population of B achieved the highest survival percentage (98.61%) and the highest emergence rate (emergence index 16.50) at 1 cm depth in clay soil. At 1 cm depth, the mean emergence percentage in clay soil was 98.66% for both populations, while in silt soil it reached 84% for The population of B. At a 6 cm depth in silt soil, the survival percentage of the population of A was 0%, highlighting the detrimental interaction of depth and unfavorable soil texture.

Conclusion

In response to increasing depth, the plant allocates its resources primarily to the rapid elongation of the hypocotyl to escape darkness, rather than to radicle development and biomass production. Furthermore, a strong positive correlation between germination speed and final emergence percentage/seedling survival clearly demonstrated the decisive role of speed in the ultimate success of establishment. Considering the advantage of The population of A at shallow depths, particularly in clay soils, it is recommended to use competitive crops with high shading ability to neutralize this population's germination speed advantage. Additionally, careful monitoring of fields for the presence of resistant populations and selecting seedbeds with appropriate texture can be effective in designing integrated weed management programs. Ultimately, integrating these ecology-based strategies, founded on the findings of this research, can significantly contribute to reducing reliance on herbicides and achieving a more sustainable agricultural system.

Keywords: Acetolactate synthase inhibitor, emergence index, soil characteristics, weeds, herbicide resistance

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

مقاله پژوهشی
جلد ۴۰ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۷۳۶-۷۲۳

مقایسه موفقیت استقرار گیاهچه خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.) در دو جمعیت با پیشینه مدیریتی متفاوت: اثرات بافت خاک و عمق دفن بذر

رفعت حسنی نسب فرزانه[۱]- احمد توبه[۱]- رسول فخاری[۲*]- محمد احمدی[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۲۸

چکیده

خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.) از علف‌های هرز رقابتی و شایع در کشاورزی جهان است که به‌دلیل سازگاری بالای اکوفیزیولوژیک و ایجاد بانک بذر پایدار، تهدیدی جدی برای محصولات زراعی محسوب می‌شود. برای بررسی شاخص‌های ظهور و استقرار گیاهچه خردل وحشی، در پاییز سال ۱۴۰۲ آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عامل‌ها شامل جمعیت خردل وحشی در دو سطح (A و B)، نوع خاک در دو سطح (بافت رسی و سیلتی) و عمق کاشت در هشت سطح (صفر، یک، دو، سه، چهار، پنج، شش و هفت سانتی‌متر) بودند. طبق یافته‌ها، اگرچه جمعیت B در شرایط بهینه (عمق‌های کم و خاک رسی) با شاخص ظهور بالا (۲۴/۵ درصد در روز) برتری خود را نشان داد، امّا این شاخص ظهور بالا در برابر یک عامل تعیین‌کننده به‌نام عمق قرارگیری بذر کاملاً شکننده است. شناسایی یک آستانه بحرانی فیزیولوژیک در عمق ۴-۵ سانتی‌متر، روش کلیدی مهار این علف هرز محسوب می‌شود؛ جایی‌که حتی مقاوم‌ترین جمعیت نیز در تاریکی و فشار مکانیکی خاک، ذخایر غذایی خود را پیش از رسیدن به نور از دست داده و سبز نشد. جمعیت مقاوم در عمق یک سانتی‌متری و بافت خاک رسی به بیش‌ترین درصد بقاء (۹۸/۶۱ درصد) و بالاترین سرعت ظهور (شاخص ظهور ۱۶/۵۰ درصد در روز) دست یافت. در عمق یک سانتی‌متر، میانگین درصد سبز شدن از خاک رسی برای هر دو جمعیت ۹۸/۶۶ درصد بود، درحالی‌که در خاک سیلتی در عمق یک سانتی‌متری برای جمعیت B به ۸۴ درصد رسید. در عمق شش سانتی‌متری و خاک سیلتی، درصد بقای جمعیت A صفر درصد بود که نشان‌دهنده تعامل مخرب عمق و بافت نامناسب خاک است. کاهش درصد سبز شدن از مقدار بیش از ۹۰ درصد در عمق سطحی به مقدار کمتر از ۲۰ درصد در عمق‌های بیش از چهار سانتی‌متر، به‌وضوح نشان‌دهنده اتلاف ذخایر غذایی بذر قبل از رسیدن به سطح خاک است. می‌توان با اجرای عملیات خاک‌ورزی هدفمند (مانند شخم) برای دفن بذرهای علف هرز در اعماق بحرانی، جمعیت آن را بدون وابستگی به علف‌کش‌ها و بدون نگرانی از مسئله مقاومت، به‌طور اساسی مهار کرد.

واژه‌های کلیدی: بازدارنده استولاکتات سینتاز، شاخص ظهور، علف هرز، مقاومت به علف‌کش، ویژگی‌های خاک

مقدمه

خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.) به‌عنوان یکی از علف‌های هرز رقابتی و شایع در نظام‌های کشاورزی جهان، به‌دلیل توانایی بالای سازگاری اکوفیزیولوژیک و ایجاد بانک بذر پایدار، همواره تهدیدی جدی برای تولید محصولات زراعی محسوب می‌شود (Heap, 2024). موفقیت اکولوژیک این گیاه تا حد زیادی مرهون سازوکارهای سازگاری پیچیده آن در پاسخ به عوامل محیطی مانند عمق کاشت و بافت خاک است (Benech-Arnold & Sánchez, 2023). درک این سازوکارها، پایه و اساس توسعه راهکارهای مدیریتی مؤثر و پایدار می‌باشد. مطالعات پیشین به‌خوبی نشان داده‌اند که عمق کاشت به‌عنوان یک عامل تعیین‌کننده در خروج گیاهچه از

۱- گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، مغان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: r.fakhari68@gmail.com)
https://doi.org/10.22067/JPP.2026.95300.1250

خاک عمل می‌کند. به‌طورکلی، بذرهای کوچک‌تر، مانند خردل وحشی، به‌دلیل محدودیت ذخایر غذایی، برای سبز شدن به قرارگیری در عمق‌های کم وابسته هستند (Benvenuti, 2022). همچنین بافت خاک بر رطوبت قابل دسترس، مقاومت مکانیکی در برابر جوانه‌زنی و میزان نور رسیده به بذر تأثیر می‌گذارد که همه این عوامل می‌توانند الگوی سبز شدن را تغییر دهند (Guillemin et al., 2023). بااین‌حال، آنچه که در تحقیقات گذشته کم‌تر به آن پرداخته شده، بررسی واکنش جمعیت‌های مختلف یک گونه علف هرز به تعامل هم‌زمان عمق کاشت و نوع خاک است. گزارش‌ها حاکی از آن است که جمعیت‌های مختلف یک گونه می‌توانند سازگاری‌های اکوفیزیولوژیکی متمایزی را در پاسخ به فشارهای انتخابی محیطی توسعه دهند (Vidotto et al., 2024). برای مثال، ممکن است یک جمعیت «مقاوم» در یک محیط خاص، سازوکارهای جبرانی داشته باشد که به آن اجازه دهد از عمق‌های بیش‌تر یا در بافت‌های سنگین‌تر نیز با موفقیت سبز شود (Nguyen & Smith, 2023). مطالعات متعددی به‌طور جداگانه نقش عمق کاشت و بافت خاک را بر جوانه‌زنی و استقرار علف‌های هرز بررسی کرده‌اند. برای نمونه، تحقیقات روی گونه‌های مختلف از جمله خردل وحشی نشان داده است که افزایش عمق کاشت می‌تواند درصد و سرعت ظهور گیاهچه را کاهش دهد، امّا آستانه این کاهش در گونه‌ها و حتی جمعیت‌های مختلف، متفاوت است (Chauhan et al., 2022). از سوی دیگر، تأثیر بافت خاک بر رطوبت و مقاومت مکانیکی بستر بذر به‌عنوان عاملی کلیدی در تعیین موفقیت استقرار شناخته شده است (Colbach et al., 2023). بااین‌حال، کمبود مطالعات سیستماتیکی که به‌طور هم‌زمان اثر متقابل این دو عامل را روی جمعیت‌های مختلف یک گونه علف هرز بررسی کنند، مشهود است. این کمبود، مانع درک جامع پویایی جمعیت علف‌های هرز و توسعه راهکارهای مدیریتی دقیق شده است.

این خلأ دانش، سؤال پژوهش اصلی حاضر را شکل می‌دهد که آیا پاسخ‌های جوانه‌زنی و استقرار دو جمعیت حساس و مقاوم خردل وحشی در برابر عوامل مختلفی مانند عمق کاشت و بافت خاک، یکسان است یا خیر؟ فرضیه این تحقیق آن است که بین این جمعیت‌ها از نظر راهبردهای اکوفیزیولوژیکی سازگاری با محیط‌های زیرسطحی مختلف، تفاوت معناداری وجود دارد. هدف اصلی این مطالعه، ارزیابی کمّی اثرات متقابل سه‌گانه جمعیت، عمق کاشت (عامل مدیریتی) و نوع خاک (عامل محیطی) بر شاخص‌های کلیدی ظهور و استقرار خردل وحشی است. در این پژوهش به‌طور خاص به این پرسش پرداخته می‌شود که آیا می‌توان یک عمق بحرانی را برای مدیریت هر جمعیت در هر نوع خاک شناسایی کرد که در پایین‌تر از آن، امکان استقرار گیاهچه به صفر نزدیک شود. یافته‌های این تحقیق نه‌تنها بینش‌های بنیادینی در مورد انعطاف فیزیولوژیکی و سازگاری اکولوژیک یک علف هرز مهم ارائه می‌دهد، بلکه از نظر کاربردی، پایه‌ای علمی برای طراحی برنامه‌های مدیریت تلفیقی علف‌های هرز (IWM) مبتنی بر بوم‌شناسی و منطبق با شرایط خاص هر مزرعه فراهم خواهد کرد (Zhang et al., 2024).

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی پاییز سال ۱۴۰۲ برای بررسی اثرات متقابل سه جانبه جمعیت خردل وحشی، نوع خاک و عمق دفن بذر بر شاخص‌های ظهور و استقرار گیاهچه خردل وحشی در دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد.

آزمایش زیست‌سنجی

به‌منظور اطمینان از مقاوم یا حساس بودن بذرهای خردل وحشی، یک آزمایش زیست‌سنجی در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. بذور جمعیت‌های مشکوک به مقاومت از مزارع با سابقه شکست کنترل و بذرهای یک جمعیت استاندارد حساس در گلدان‌های حاوی خاک استریل کشت گردیدند. تیمارهای علف‌کش تری‌بنورون‌متیل (DF%75) ساخت شرکت مهان در دُز توصیه‌شده در مرحله رشدی ۲-۴ برگی با استفاده از سم‌پاش مجهز به نازل فلت فَن XR8004 اعمال گردید. یک تیمار شاهد (بدون علف‌کش) نیز برای هر جمعیت در نظر گرفته شد. ارزیابی درصد مهار علف‌هرز و اندازه‌گیری وزن خشک بوته‌ها ۲۸ روز پس از سم‌پاشی انجام گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد آماری مقایسه شدند. جمعیتی که درصد مهار آن در دُز توصیه‌شده به‌طور معنی‌داری کمتر از جمعیت حساس بود، به‌عنوان جمعیت مقاوم شناسایی گردید.

تهیه و پیش‌تیمار بذر

بذرها از مزارع پیرامون گلخانه دانشگاه محقق اردبیلی طی بهار سال ۱۴۰۲ جمع‌آوری گردید. برای شکستن خواب فیزیولوژیکی بذرها از پیش‌تیمار جیبرلیک اسید با غلظت ۱۵۰۰ قسمت در میلیون (ppm) برای استانداردسازی قبل از شروع تیمارهای اصلی استفاده شد. بدین منظور، بذرها به مدت ۲۴ ساعت در محلول مذکور قرار داده شدند (Baskin & Baskin, 2014). پس از تیمار با جیبرلیک اسید، درصد جوانه‌زنی هر دو جمعیت (A و مقاوم) بالای ۹۰ درصد بود و بین درصد جوانه‌زنی پایه دو جمعیت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین بذرهای سالم و یکنواخت انتخاب شده و با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۲-۱ دقیقه و سپس سدیم هیپوکلریت ۲-۱ درصد به مدت ۵-۳ دقیقه ضدعفونی گردید. پس از شست‌وشوی کامل با آب مقطر

استریل، بذرها روی کاغذ صافی استریل در دمای محیط (25 درجه سانتی‌گراد) خشک شده و بلافاصله کشت گردید.

طرح آزمایشی و تیمارها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. عوامل مورد بررسی شامل جمعیت خردل وحشی در دو سطح (A (با سابقه حساسیت به علفکش تری‌بنورون‌متیل) و B (با سابقه مقاومت به علفکش تری‌بنورون‌متیل))، نوع خاک در دو سطح (بافت رسی و سیلتی) و عمق کاشت در هشت سطح (صفر، یک، دو، سه، چهار، پنج، شش و هفت سانتی‌متر) بودند.

اجرای آزمایش

گلدان‌های پلاستیکی (۹۶ عدد) با قطر ۲۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر با خاک‌های از پیش آماده‌شده رسی و سیلتی پُر شدند. در هر گلدان، ۲۰ بذر در عمق‌های تعیین‌شده کشت گردید. گلدان‌ها در شرایط کنترل‌شده گلخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب و رطوبت نسبی ۶۰-۷۰ درصد قرار داده شدند (Guillemin et al., 2023). آبیاری به‌صورت روزانه و به‌منظور حفظ رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی انجام گردید.

برداشت و اندازه‌گیری صفات

گلدان‌ها به‌صورت روزانه بازدید شدند و تعداد بذرهای سبزشده ثبت گردید. بذر زمانی به‌عنوان سبزشده در نظر گرفته می‌شد که برگ‌های لپه‌ای در سطح خاک ظاهر می‌شدند (Benech-Arnold & Sánchez, 2022). پس از دو هفته، همه گیاهچه‌ها به‌دقت از گلدان خارج شده و صفات درصد و سرعت سبز شدن، زمان رسیدن به ۵۰ درصد سبز شدن، درصد بقای گیاهچه، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه (برحسب سانتی‌متر) و وزن خشک کل گیاهچه (برحسب میلی‌گرم) اندازه‌گیری شد. تعداد بذرهای سبزشده به‌صورت روزانه ثبت گردید. داده‌های حاصل از شمارش تجمعی سبز شدن، وارد نرم‌افزار Germination Time شد و زمان رسیدن به ۵۰ درصد سبز شدن (T_{50}) برای هر تکرار با استفاده از ابزار درون‌یابی خطی (Linear Interpolation) موجود در این نرم‌افزار محاسبه شد. برای محاسبه درصد بقای گیاهچه، گیاهانی که خشک شده بودند، جدا شده و محاسبات درصدی انجام گردید. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها پس از جداسازی اجزای گیاه، به مدت ۴۸ ساعت درون پاکت کاغذی و در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس به‌وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ میلی‌گرم توزین شدند. برای اندازه‌گیری طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، گیاهچه‌ها به‌آرامی از خاک خارج شده و با آب به‌آرامی شسته شدند تا خاک چسبیده به ریشه‌چه پاک شود. سپس روی یک سطح صاف قرار گرفتند و با استفاده از خط‌کش با دقت میلی‌متری، طول نوک ریشه‌چه تا محل اتصال ریشه‌چه و ساقه‌چه (یقه) و طول یقه تا نوک ساقه (یا تا انتهای برگ‌های لپه‌ای) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ تجزیه واریانس (Anova) شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد آماری انجام گردید.

جدول ۱- میانگین مربعات اثر جمعیت، نوع خاک و عمق قرارگیری بذر بر زمان ۵۰ درصد سبز شدن، درصد سبز شدن، درصد بقاء، سرعت ظهور تجمعی گیاهچه، طول ریشه‌چه، وزن خشک کل گیاهچه و طول ساقه‌چه خردل وحشی

Table 1- Mean square effect of population, soil type and seed depth on 50% germination time, germination percentage, survival percentage, cumulative seedling emergence rate, radicle length, total seedling dry weight and shoot length of wild mustard

S.O.V	df	50% Emergence time	Emergence percentage	Survival percentage	Cumulative seedling emergence rate
Soil depth (A)	7	19.61**	73.66.07**	9175.09**	254.56**
Soil type (B)	1	7.59*	541.50**	7451.67**	7.13*
population (C)	1	23.01**	12240.17**	2.49	838.69**
A × B	7	6.52**	664.93**	808.35	118.71**
A × C	7	33.84**	1350.26**	1004.42**	51.50**
B × C	1	41.34**	8.17ns	1932.23**	71.50**
A × B × C	7	6.70**	699.21**	2138.28**	27.63**
Error	64	2.13	29.33	28.74	1.06
C.V (%)	-	16.76	7.51	8.06	8.44

* و **: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

* and **: are significant at the five and one percent probability levels, respectively.

ادامه جدول ۱- میانگین مربعات اثر جمعیت، نوع خاک و عمق قرارگیری بذر روی زمان ۵۰ درصد سبز شدن، درصد سبز شدن، درصد بقاء، سرعت ظهور تجمعی گیاهچه، طول ریشه‌چه، وزن خشک کل گیاهچه و طول ساقه‌چه خردل وحشی

Table 1 continued- Mean square effect of population, soil type and seed depth on 50% germination time, germination percentage, survival percentage, cumulative seedling emergence rate, radicle length, total seedling dry weight and shoot length of wild mustard

S.O.V	df	Radicle length (cm)	Total seedling dry weight (mg)	Epicotyle length (cm)
Soil depth (A)	7	57.26**	12.90**	69.60*
Soil type (B)	1	306.38**	2.73*	17.85^{ns}
Population (C)	1	28.71**	0.0004^{ns}	96.80^{ns}
A × B	7	7.78**	1.34*	35.68^{ns}
A × C	7	4.65*	1.17^{ns}	24.51^{ns}
B × C	1	46.07**	12.33**	83.25^{ns}
A × B × C	7	18.35**	1.71*	37.45^{ns}
Error	64	2.15	0.59	26.94
C.V (%)	-	11.20	12.74	13.14

* و **: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

* and **: are significant at the five and one percent probability levels, respectively

نتایج و بحث

اثرات سه‌جانبه جمعیت، نوع خاک و عمق دفن بذر بر زمان ۵۰ درصد سبز شدن، درصد سبز شدن، درصد بقاء، سرعت ظهور تجمعی گیاهچه، طول ریشه‌چه، خردل وحشی در سطح احتمال یک درصد آماری و بر وزن خشک کل گیاهچه در سطح احتمال پنج درصد آماری معنی‌دار شد. همچنین اثر اصلی عمق دفن بذر بر طول ساقه‌چه در سطح احتمال پنج درصد آماری معنی‌دار بود (جدول ۱).

زمان ۵۰ درصد سبز شدن

نتایج این مطالعه به‌وضوح نشان داد که زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد سبز شدن (T50) یک شاخص بسیار حساس و کلیدی در ارزیابی پاسخ بذرهای خردل وحشی به شرایط محیطی است. میانگین این شاخص در کل آزمایش حدود ۹/۲ روز بود، امّا دامنه تغییرات آن از ۱۳/۳ روز (عمق هفت سانتی‌متر، خاک رسی، جمعیت مقاوم) تا هشت روز (عمق‌های سطحی) متغیر بود (جدول ۲). این تغییرات گسترده، گویای تأثیر معنی‌دار تیمارهای اعمال‌شده بر جوانه‌زنی است و تأثیر عوامل مورد مطالعه بر این شاخص کاملاً مشهود بود. با افزایش عمق کاشت از سطح خاک به سمت عمق هفت سانتی‌متر، مقدار T50 به‌طورکلی روندی افزایشی نشان داد که حاکی از تأخیر در آغاز و پیشرفت فرآیند جوانه‌زنی تحت تنش است. علاوه‌بر این، جمعیت B در مقایسه با جمعیت A، در اکثر شرایط به‌ویژه عمق‌های کم و متوسط، برتری خود را با نمایش مقادیر پایین‌تر T50 (یعنی سرعت جوانه‌زنی بالاتر) به اثبات رساند. مقایسه نوع خاک نیز نشان داد که بافت رسی در مقایسه با بافت سیلتی، بستر مطلوب‌تری برای تسریع جوانه‌زنی فراهم می‌کند. این مشاهده را می‌توان عمدتاً با میزان بالاتر و پایداری بیشتر رطوبت در خاک‌های رسی توضیح داد. اگرچه خاک‌های رسی معمولاً با مشکل زهکشی و تهویه ضعیف برای رشد ریشه در مراحل بعدی مرتبط هستند، امّا برای فرآیند اولیه جوانه‌زنی که به جذب آب و تورم بذر وابسته است، می‌توانند مزیت قابل توجهی داشته باشند. مطالعات روی علف‌های هرز دیگر نیز نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند. برای مثال، تحقیقات روی جوانه‌زنی پیچک (*Convolvulus arvensis*) نشان داد که ظهور گیاهچه در خاک‌های رسی–لومی با سرعت و درصد بیشتری نسبت به خاک‌های لومی–شنی رخ می‌دهد، که این امر به ظرفیت بالای نگهداری آب این خاک‌ها نسبت داده شده است (Kaya & Çıkıkçı, 2020). تحلیل روابط بین T50 و سایر صفات، نتایج بسیار جالب توجهی را آشکار کرد. مهم‌ترین رابطه، همبستگی منفی بسیار قوی (۰/۹۲-) بین T50و شاخص ظهور (EI) بود. این نتیجه کاملاً منطقی است، چرا که هر دو شاخص در حال سنجش مفهوم سرعت جوانه‌زنی هستند، امّا با روشی متفاوت. رابطه دیگر، همبستگی منفی قوی (۰/۶۵-) بین T50و درصد سبز شدن نهایی بود. این یافته به‌وضوح نشان می‌دهد که تأخیر در شروع جوانه‌زنی، نه‌تنها بر سرعت، بلکه بر نتیجه نهایی و تعداد کل گیاهچه‌های سبزشده نیز تأثیر منفی می‌گذارد. به‌طور مشابه، یک همبستگی منفی متوسط (۰/۵۵-) بین T50 و درصد بقای گیاهچه مشاهده شد که مؤید این اصل حیاتی است که گیاهچه‌های دیرتر سبزشده، شانس کم‌تری برای بقاء و استقرار موفق دارند. یک رابطه قابل تأمل، همبستگی مثبت متوسط (≈ ۰/۴۵+) بین T50 و طول ساقه‌چه بود (جدول ۲). این پدیده نشان‌دهنده یک پاسخ تطبیقی به تنش عمق است؛ به این صورت که در عمق‌های بیش‌تر، بذر انرژی ذخیره‌شده خود را عمدتاً صرف طویل شدن سریع ساقه‌چه برای رسیدن به سطح خاک می‌کند، فرآیندی که زمان‌بر بوده و منجر به افزایش T50 و هم‌زمان افزایش طول ساقه‌چه می‌شود (Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2022). می‌توان عنوان کرد که سرعت جوانه‌زنی که توسط شاخص‌های T50 و EI سنجیده

می‌شود، یک عامل پیش‌بینی‌کننده قوی و تعیین‌کننده در موفقیت استقرار گیاهچه خردل وحشی است. شانس بقاء و موفقیت در مراحل اولیه رشد به‌میزان قابل توجهی در جمعیت B در عمق سطحی در خاک رسی زیاد بود. خاک رسی در عمق سطحی، یک میکروکلیمای با نوسان دمایی کمتر و رطوبت نسبتاً پایدار ایجاد می‌کند. این پایداری برای جمعیت‌های مقاوم که احتمالاً دارای آستانه‌های باریک‌تری برای پاسخ به عوامل محیطی هستند، حیاتی است. این شرایط همچنین از تنش‌های ناگهانی رطوبتی و دمایی که در خاک‌های درشت‌بافت با نفوذپذیری بالا رخ می‌دهد، جلوگیری می‌کند (Forcella et al., 2000). مطالعه تأثیر عامل‌های محیطی و ژنتیکی بر جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌ها از دیرباز مورد توجه پژوهشگران علوم زراعی و بوم‌شناسی بوده است. در این زمینه، عمق کاشت به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عامل‌های مؤثر بر جوانه‌زنی شناخته می‌شود. به‌طورکلی، افزایش عمق کاشت می‌تواند از طریق محدودیت دسترسی به نور، ایجاد موانع فیزیکی برای خروج کوتیلدون‌ها به سطح خاک و اتلاف ذخایر آندوسپرم قبل از دستیابی به استقلال فتوسنتزی منجر به کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی شود (Grundy et al., 2003).

درصد سبز شدن

سبز شدن در عمق دفن یک سانتی‌متر + خاک رسی + جمعیت A به‌مقدار ۹۸/۶۶ درصد، در عمق یک سانتی‌متر + خاک رسی + جمعیت B به‌میزان ۹۸/۶۶ درصد، در عمق دو سانتی‌متر + خاک رسی + جمعیت A به‌مقدار ۹۸/۶۶ درصد و در عمق صفر سانتی‌متر (سطح خاک) + خاک رسی + جمعیت A به‌میزان ۹۲ درصد ثبت شد. در عمق هفت سانتی‌متر تقریباً در تمام تیمارها با درصد سبز شدن بسیار پایین (زیر ۲۰ درصد) یا حتی صفر همراه بود که نشان‌دهنده اثر مخرب عمق زیاد بر جوانه‌زنی است. کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار عمق هفت سانتی‌متر + خاک رسی + جمعیت B با میانگین ۲/۶۷ درصد بود. نتایج این مطالعه به‌وضوح نشان می‌دهد که عمق کاشت تأثیر چشم‌گیری بر درصد سبز شدن بذر دارد. به‌طورکلی با افزایش عمق از صفر به هفت سانتی‌متر، روند نزولی واضحی از درصد جوانه‌زنی مشاهده شد. بیش‌ترین میانگین درصد سبز شدن (بالای ۹۰ درصد) در عمق‌های سطحی (صفر، یک و دو سانتی‌متر) ثبت گردید. این پدیده را می‌توان به دسترسی آسان‌تر به نور، اکسیژن و کاهش موانع فیزیکی خروج از خاک نسبت داد. در عمق‌های بیش از چهار سانتی‌متر، به‌دلیل محدودیت‌های فیزیکی و انرژی زیاد مورد نیاز برای جوانه‌زنی و خروج از خاک، درصد سبز شدن به‌شدت کاهش یافت. اگرچه خاک سیلتی در عمق سطحی بهترین نتیجه را داد، امّا در عمق‌های یک و دو سانتی‌متر، خاک رسی با حفظ رطوبت بهتر، شرایط مطلوب‌تری برای جوانه‌زنی فراهم کرد و میانگین‌های بسیار بالایی (۹۸/۶۶ درصد) را به ثبت رساند. این نشان می‌دهد که برهم‌کنش عمق و نوع خاک بسیار قابل توجه است. جمعیت A در عمق‌های سطحی جوانه‌زنی بهتری داشت. بااین‌حال، داده‌ها نشان می دهند که جمعیت B در برخی از عمق‌های میانی (مانند سه سانتی‌متر) بهتر با شرایط سازگار شده است. پدیده مشاهده‌شده تصادفی نیست؛ بلکه نتیجه مستقیم فشار انتخاب است. در جمعیت‌های علف هرز، دفن مکرر بذرها توسط عملیات خاک‌ورزی، به‌عنوان یک فیلتر انتخابی قدرتمند عمل می‌کند. تنها بذرهایی که بتوانند از طریق سازوکارهای ذخیره انرژی بیشتر، قدرت رشد بهتر و متابولیسم کارآمد در شرایط تنش از عمق بیشتر سبز شوند، شانس بقاء و تولیدمثل خواهند داشت. بنابراین، طی نسل‌های متمادی، این آلل‌های مقاوم به دفن عمیق در جمعیت غالب شده و یک بیوتیپ مقاوم را شکل می دهند. این یک نمونه کلاسیک از تکامل تطبیقی (Adaptive Evolution) در پاسخ به یک عامل مدیریتی (خاک‌ورزی) است (Benech & Sánchez, 2017). همچنین این برتری به اندازه‌ای نبود که از برتری کلی جمعیت A در شرایط ایده‌آل بکاهد. این موضوع ظرفیت سازگاری اکوفیزیولوژیک بالاتر جمعیت B را تحت تنش نشان می‌دهد. همبستگی مثبت قوی با نرخ بقاء (+۰/۸۵) گویای این واقعیت است که گیاهانی که موفقیت بالایی در مرحله جوانه‌زنی دارند، با احتمال بسیار بیش‌تری به حیات خود ادامه می‌دهند. همچنین همبستگی منفی با T50 تأیید می‌کند که سرعت در جوانه‌زنی یکی از کلیدی‌ترین عوامل تعیین‌کننده درصد نهایی است.

درصد بقای گیاهچه

طبق نتایج جدول ۲، میانگین درصد بقای بذرهای خردل وحشی حدود ۷۴/۵ درصد بود. این شاخص در دامنه وسیعی از صفر (در موارد عدم جوانه‌زنی) تا ۱۰۰ درصد متغیر بود. به‌طورکلی با افزایش عمق کاشت از سطح خاک تا هفت سانتی‌متر، درصد بقاء به‌شکل محسوسی کاهش یافت، به‌طوری که در عمق‌های پنج تا هفت سانتی‌متر، مقادیر بقاء نزدیک به صفر بود که نشان‌دهنده ایجاد تنش بسیار شدید برای جوانه‌زنی و بقای گیاهچه در این اعماق است. علاوه‌بر عمق کاشت، اثر متقابل نوع خاک و جمعیت نیز مورد بررسی قرار گرفت. به نظر می‌رسد که خاک رسی در مقایسه با خاک سیلتی در عمق‌های کم (صفر تا دو سانتی‌متر) شرایط بهتری برای بقاء فراهم می‌کند، چرا که بیشترین درصد بقاء (۱۰۰ درصد) در تیمارهای مربوط به اثرات متقابل عمق صفر و یک سانتی‌متر خاک با خاک بافت رسی و جمعیت B و همچنین عمق دو سانتی‌متر با خاک رسی و جمعیت A مشاهده شد. این امر احتمالاً به‌دلیل تأثیر بافت خاک بر مقاومت مکانیکی در برابر خروج جوانه است. از سوی دیگر، جمعیت B در عمق‌های کم (صفر تا دو سانتی‌متر) با میانگین بقای حدود ۹۰ درصد، عملکرد بهتری نسبت به جمعیت A (حدود ۸۵ درصد) نشان داد.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر سه‌جانبه جمعیت، نوع خاک و عمق کاشت یا دفن بذر روی زمان تا ۵۰ درصد سبز شدن، درصد سبز شدن، درصد بقاء، سرعت ظهور تجمعی گیاهچه، طول ریشه‌چه و وزن خشک کل گیاهچه خردل وحشی

Table 2- Comparison of the three-way effect of population, soil texture, and seed burial depth on time to 50% emergence, emergence percentage, survival percentage, cumulative seedling emergence rate, radicle length, and total dry weight of wild mustard seedlings

Wild mustard population	Soil texture	Burial depth (cm)	50% Time to emergence (Day)	Emergence percentage (%)	Survival percentage (%)
A	Clay soil	0	9.00^{bc*}	92.00^{ab}	77.86^{ef}
		1	9.00^{bc}	98.66^{a}	91.83^{abc}
		2	9.00^{bc}	98.66^{a}	93.05^{ab}
		3	9.00^{bc}	98.66^{a}	100.00^{a}
		4	9.00^{bc}	82.66^{cd}	73.52^{f}
		5	9.66^{bc}	88.00^{bc}	95.37^{ab}
		6	11.00^{ab}	60.00^{gh}	50.81^{ij}
		7	11.00^{ab}	32.00^{k}	57.31^{hi}
	Silty soil	0	8.00^{c}	97.33^{a}	98.66^{a}
		1	9.00^{bc}	100.00^{a}	47.20^{j}
		2	8.66^{bc}	100.00^{a}	89.33^{bcd}
		3	9.00^{bc}	72.00^{ef}	70.20^{fg}
		4	9.00^{bc}	80.00^{cde}	58.17^{hi}
		5	9.00^{bc}	98.66^{a}	63.44^{gh}
		6	9.00^{bc}	68.00^{fg}	0.00^{k}
		7	9.00^{bc}	68.00^{fg}	0.00^{k}
B	Clay soil	0	8.66^{bc}	62.66^{gh}	95.23^{ab}
		1	8.00^{c}	98.66^{a}	98.61^{a}
		2	8.00^{c}	98.66^{a}	91.83^{abc}
		3	9.00^{bc}	84.00^{bcd}	92.13^{abc}
		4	9.00^{bc}	76.00^{def}	87.60^{bcd}
		5	9.00^{bc}	40.00^{jk}	100.00^{a}
		6	13.30^{d}	2.66^{l}	0.00^{k}
		7	13.30^{d}	2.66^{l}	0.00^{k}
	Silty soil	0	11.00^{ab}	60.00^{gh}	77.14^{ef}
		1	10.66^{ab}	84^{bcd}	83.80^{cde}
		2	10.00^{bc}	98.66^{a}	49.94^{ij}
		3	10.00^{bc}	98.66^{a}	58.05^{hi}
		4	9.00^{ab}	56^{hi}	82.78^{de}
		5	13.00^{a}	48^{ij}	71.84^{fg}
		6	9.66^{bc}	62.66^{gh}	72.66^{f}
		7	0.00^{e}	0.00^{l}	0.00^{k}
LSD			2.38	8.83	8.74

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم در سطح پنج درصد ندارند.

* The averages with common letters in each column do not have a significant difference at the 5% level.

بااین‌حال، یک یافته کلیدی این مطالعه آن بود که تحت شرایط تنش شدید (عمق کاشت بیش از چهار سانتی‌متر)، اثرات مثبت خاک رسی و برتری جمعیت B تقریباً کم‌رنگ شده و هر دو جمعیت در این اعماق عملکرد مشابه و بسیار پایینی داشتند. این مشاهده تأیید می‌کند که تنش ناشی از عمق زیاد کاشت آنقدر شدید است که حتی ژنوتیپ‌های مقاوم نیز قادر به غلبه بر آن نیستند. به نظر می‌رسد که این محدودیت عمدتاً فیزیولوژیک است و عمق بیش از حد باعث اتلاف ذخایر انرژی بذر قبل از رسیدن به سطح خاک می‌شود. همچنین رابطه مثبت و قوی بین سرعت سبز شدن و درصد بقاء مشاهده شد؛ به این معنی که جوانه‌هایی که سریع‌تر سبز شدند، شانس بقای بالاتری داشتند. در نهایت، می‌توان نتیجه گرفت که بهینه‌ترین شرایط برای حداکثر بقای گیاهچه خردل وحشی، عمق کم (صفر تا دو سانتی‌متر) و در بستر خاک رسی است.

تأثیر عمق قرارگیری به‌عنوان یک عامل محیطی کلیدی بر جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه در گونه‌های مختلف به‌طور گسترده‌ای مطالعه شده است. به‌طورکلی افزایش عمق کاشت می‌تواند از طریق محدودیت دسترسی به نور، ایجاد موانع فیزیکی برای خروج کوتیلدون‌ها به سطح خاک و اتلاف ذخایر آندوسپرم قبل از استقلال فتوسنتزی منجر به کاهش بقای گیاهچه شود (Grundy et al., 2003). مطالعات نشان داده‌اند که پاسخ به عمق کاشت می‌تواند تا

حد زیادی به بافت خاک وابسته باشد. خاک‌های با بافت سنگین‌تر (مانند رس) در مقایسه با خاک‌های سبک‌تر (مانند لومی سیلتی) می‌توانند در عمق‌های کم، رطوبت را بهتر حفظ کرده و یک محیط مرطوب و یکنواخت برای جوانه‌زنی فراهم کنند (Baskin & Baskin, 2014). در عمق‌های بیش‌تر، همین خاک‌ها می‌توانند با تشکیل سله یا ایجاد مقاومت مکانیکی شدید، به مانعی غیرقابل عبور برای جوانه‌زنی تبدیل شوند (Guerresi et al., 2021). همچنین وجود تفاوت بین جمعیت‌ها یا اکوتیپ‌های یک گونه در تحمل به عمق کاشت عمیق‌تر به‌خوبی ثبت شده است. این تغییرات داخل‌گونه‌ای اغلب به ویژگی‌های ریخت‌شناختی مانند اندازه بذر و قدرت بنیه آن نسبت داده می‌شود، به‌طوری که جمعیت‌های دارای بذر بزرگ‌تر و نیروی ریشه‌زایی بیش‌تر معمولاً توانایی بهتری برای خروج از اعماق بیش‌تر دارند (Colbach et al., 2020).

ادامه جدول ۲ـ مقایسه میانگین اثر سه‌جانبه جمعیت، نوع خاک و عمق کاشت یا دفن بذر روی زمان تا ۵۰ درصد سبز شدن، درصد سبز شدن، درصد بقاء، سرعت ظهور تجمعی گیاهچه، طول ریشه‌چه و وزن خشک کل گیاهچه خردل وحشی

Table 2 continued- Comparison of the three-way effect of population, soil texture, and seed burial depth on time to 50% emergence, emergence percentage, survival percentage, cumulative seedling emergence rate, radicle length, and total dry weight of wild mustard seedling

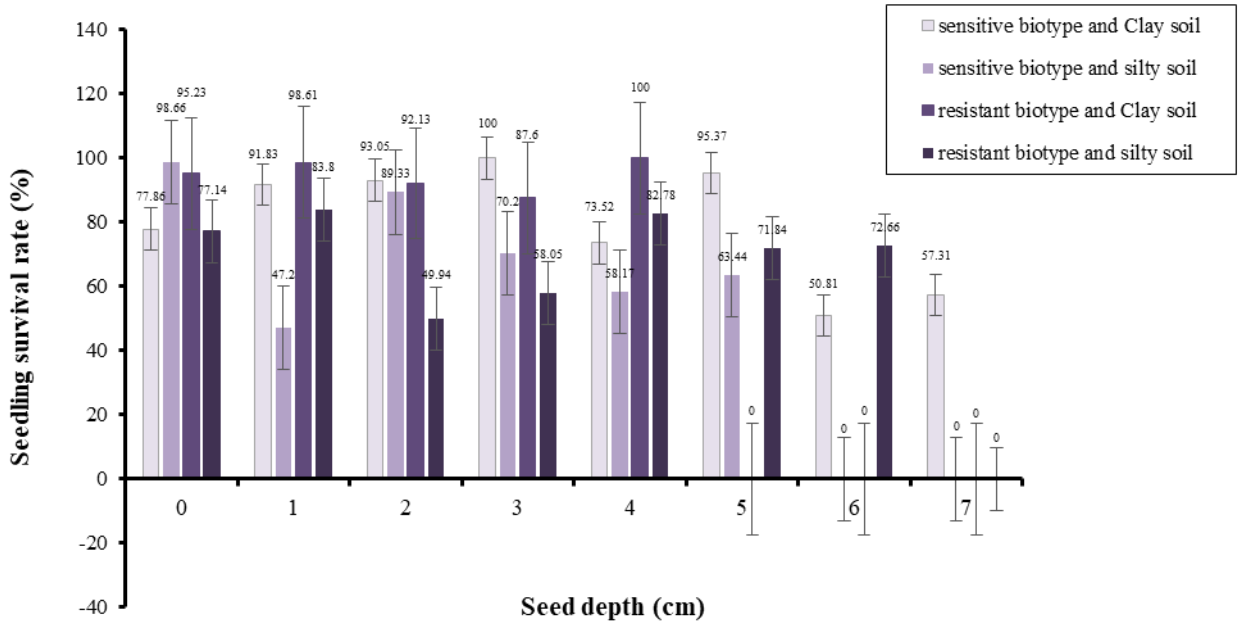
Wild mustard population	Soil texture	Seed burial depth (cm)	Cumulative seedling emergence rate (days)	Radicle length (cm)	Total seedling dry weight (mg)
A	Clay soil	0	11.00^{jkl*}	13.33^{a}	3.43^{b-e}
		1	23.33^{ab}	7.50^{b}	3.43^{b-e}
		2	20.33^{d}	7.33^{bc}	3.60^{abc}
		3	20.72^{cd}	6.50^{b-f}	3.30^{b-f}
		4	17.41^{e}	5.00^{c-g}	2.13^{ghi}
		5	12.53^{i}	6.16^{b-f}	3.43^{b-e}
		6	6.88^{mn}	7.50^{b}	2.93^{b-h}
		7	4.31^{op}	3.16^{gh}	2.20^{e-h}
	Silty soil	0	10.87^{jkl}	2.83^{ghi}	1.73^{hi}
		1	16.18e^{fg}	4.50^{e-h}	2.73^{c-h}
		2	24.50^{a}	2.50^{h}	3.00^{b-g}
		3	12.08^{i}	2.66^{gh}	2.90^{b-h}
		4	14.25^{h}	2.50^{h}	2.80^{b-h}
		5	22.16^{bc}	1.50^{ij}	2.86^{b-h}
		6	11.41^{ij}	0.00^{j}	0.00^{j}
		7	14.50^{h}	0.00^{j}	0.00^{j}
B	Clay soil	0	8.33^{lm}	6.66^{b-f}	2.30^{d-h}
		1	16.50^{ef}	11.00^{a}	4.03^{ab}
		2	14.66^{gh}	7.16^{bcd}	2.63^{c-h}
		3	21.00^{cd}	4.33^{fgh}	3.13^{b-f}
		4	15.68^{fgh}	2.66^{gh}	2.26^{d-h}
		5	5.86^{no}	4.83^{d-h}	3.46^{bcd}
		6	0.50^{q}	0.00^{j}	0.93^{ij}
		7	0.50^{q}	0.00^{j}	0.00^{j}
	Silty soil	0	9.35^{kl}	6.83^{b-e}	3.33^{b-f}
		1	8.10^{lm}	3.00^{gh}	3.00^{b-g}
		2	12.50^{i}	3.00^{gh}	2.66^{c-h}
		3	9.55^{kl}	1.66^{ij}	4.83^{a}
		4	10.15^{jk}	3.00^{gh}	2.76^{c-h}
		5	3.67^{p}	0.83^{ij}	3.33^{b-f}
		6	11.55^{ij}	1.00^{ij}	1.86^{ghi}
		7	0.00^{q}	0.00^{j}	0.00^{j}
LSD		-	1.67	2.39	1.25

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم در سطح پنج درصد ندارند.

* The averages of common letters in each column do not have a significant difference at the 5% level.

یافته‌های این مطالعه به‌خوبی با پژوهش‌های پیشین در این زمینه هم‌خوانی دارد و همچنین بینش‌های جدیدی را در مورد تعامل بین عمق کاشت، بافت خاک و ژنوتیپ ارائه می‌دهد. کاهش شدید بقاء در عمق‌های بیش از چهار سانتی‌متر کاملاً مطابق با تئوری اتلاف ذخایر غذایی است (Benvenuti, 2003). در این مرحله، بذر باید بخش عمده‌ای از ذخایر کربوهیدرات خود را صرف رشد ساقه‌چه برای

رسیدن به سطح خاک کند و انرژی کافی برای ادامه فرآیند فتوسنتز و استقرار باقی نمی‌ماند. این یافته تأیید می‌کند که چهار سانتی‌متر یک آستانه بحرانی برای بقای گیاهچه خردل وحشی تحت شرایط این آزمایش است. برتری خاک رسی در عمق‌های کم را می‌توان به توانایی بالاتر آن در حفظ رطوبت یکنواخت بذر نسبت داد (Baskin & Baskin, 2014). این شرایط از نوسانات رطوبتی که می‌تواند جوانه‌زنی را مختل کند، جلوگیری می‌نماید. از سوی دیگر، عملکرد نسبتاً بهتر خاک سیلتی در عمق‌های متوسط (۳-۴ سانتی‌متر) احتمالاً به‌دلیل مقاومت مکانیکی کم‌تر آن است که به گیاهچه اجازه می‌دهد با انرژی کم‌تری به سطح خاک برسد (Guerresi et al., 2021). وجود تفاوت معنی‌دار بین جمعیت‌ها تنها در عمق‌های کم، یک یافته کلیدی است. این مشاهده نشان می‌دهد که برتری ژنتیکی جمعیت B احتمالاً ناشی از عواملی مانند سرعت بیش‌تر جوانه‌زنی یا قدرت رشد اولیه بالاتر است که در شرایط بدون تنش (عمق کم) خود را نشان می‌دهد (Colbach et al., 2020). بااین‌حال، زمانی که تنش محیطی (عمق زیاد) از یک آستانه خاص فراتر رود، این مزیت ژنتیکی تحت الشعاع قرار گرفته و بقاء برای تمام ژنوتیپ‌ها به نزدیک صفر می‌رسد. این پدیده به‌عنوان اثر غالبیت محیط بر ژنوتیپ شناخته می‌شود (Huang & Liu, 2024). در نتیجه، این مطالعه نشان می‌دهد که اگرچه ژنوتیپ برتر و بافت خاک مناسب می‌توانند بقای گیاهچه را در شرایط بهینه بهبود بخشند، امّا مدیریت عمق دفن بذر علف‌های هرز همچنان مهم‌ترین عامل قابل کنترل برای دستیابی به استقرار ناموفق در خردل وحشی است. در شکل ۱، اثر سه‌جانبه جمعیت، نوع خاک و عمق کشت بذر بر درصد بقاء گیاهچه خردل وحشی آمده است.



شکل ۱ - اثر سه‌جانبه جمعیت، نوع خاک و عمق قرارگیری بذر بر درصد بقای گیاهچه خردل وحشی

Figure 1- The three-way effect of population, soil type, and seed bank depth on wild mustard seedling survival rate

شاخص ظهور تجمعی گیاهچه

شاخص ظهور تجمعی (EI)[1] معیاری کلیدی برای سنجش سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی محسوب می‌شود (ISTA, 2023). داده‌ها نشان می‌دهند که این شاخص به‌شدت تحت تأثیر عمق قرارگیری بذر قرار گرفته است. بیش‌ترین مقادیر شاخص ظهور تجمعی (تا ۲۴/۵ درصد در روز) در عمق‌های کم (صفر تا دو سانتی‌متر) مشاهده شده است. برای مثال، در عمق یک سانتی‌متر و خاک رسی، مقدار شاخص ظهور تجمعی برای جمعیت A به ۲۳/۳۳ درصد در روز رسیده که نشان‌دهنده سرعت و یکنواختی بسیار بالای جوانه‌زنی در این شرایط است (جدول ۲). این امر احتمالاً به‌دلیل وجود مقاومت مکانیکی کم‌تر خاک، دسترسی بهتر به نور و اکسیژن و عدم اتلاف ذخایر بذر پیش از رسیدن به سطح خاک است. با افزایش تدریجی عمق قرارگیری بذر از سه به هفت سانتی‌متر، مقادیر شاخص ظهور تجمعی به‌شکل محسوسی کاهش یافته و در بسیاری از تیمارهای عمق شش و هفت سانتی‌متر به صفر رسیده است. این کاهش چشمگیر نشان می‌دهد که عمق‌های بیش از چهار سانتی‌متر نه‌تنها درصد نهایی جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد، بلکه به‌طور جدی سرعت و یکنواختی این فرآیند حیاتی را نیز به تأخیر می‌اندازد. تأثیر متقابل عمق و نوع خاک نیز

1- Cumulative emergence index

قابل توجه است؛ به‌طوری که در عمق‌های یکسان، خاک رسی عموماً مقادیر شاخص ظهور تجمعی بالاتری را در مقایسه با خاک سیلتی ثبت کرده است که برتری واضح خاک رسی را در تسهیل و تسریع خروج گیاهچه در عمق سطحی خاک نشان می‌دهد. همچنین برتری جمعیت B نسبت به جمعیت A در اغلب تیمارها به‌وضوح در مقادیر بالاتر شاخص ظهور تجمعی مشهود است. این الگو به‌ویژه در عمق‌های کم تا متوسط (صفر تا چهار سانتی‌متر) پُررنگ‌تر است و نشان می‌دهد که سرعت جوانه‌زنی بالاتر، یکی از ویژگی‌های کلیدی مرتبط با مقاومت در این گیاه محسوب می‌شود. رابطه قوی و معکوس بین شاخص ظهور تجمعی و زمان T50 به‌خوبی گویای این است که این دو شاخص در واقع دو روی یک سکه برای اندازه‌گیری سرعت جوانه‌زنی هستند. در نهایت، همبستگی مثبت و معنادار شاخص ظهور تجمعی با درصد سبز شدن نهایی و درصد بقای گیاهچه، نقش تعیین‌کننده سرعت جوانه‌زنی را در تعیین موفقیت نهایی استقرار گیاهچه تأیید می‌کند. به‌طور خلاصه، هرچه سرعت و یکنواختی ظهور گیاهچه بیش‌تر باشد، شانس بقاء و استقرار موفقیت‌آمیز آن به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. مطالعات متعددی به بررسی عوامل مؤثر بر شاخص ظهور تجمعی گیاهچه پرداخته‌اند. یافته‌های پژوهشی نشان داده است که این شاخص، معیاری A برای ارزیابی بنیه بذر و قابلیت استقرار گیاهچه محسوب می‌شود (Finch-Savage & Bassel, 2016).

طول ریشه‌چه

طول ریشه‌چه تغییرات قابل توجهی را در پاسخ به تیمارهای مختلف نشان داد. برخلاف انتظار، الگوی واضح و یکنواختی در پاسخ طول ریشه‌چه به افزایش عمق کاشت مشاهده نشد. بیش‌ترین طول ریشه‌چه عمدتاً در عمق‌های کم (صفر تا دو سانتی‌متر) متمرکز شدند. این موضوع نشان می‌دهد که فقدان مانع فیزیکی (عمق کم) به ریشه‌چه اجازه می‌دهد که بدون اتلاف انرژی برای غلبه بر مقاومت خاک، به حداکثر رشد اولیه خود دست یابد. بهترین تیمار عمق صفر سانتی‌متر + خاک رسی + جمعیت A با ثبت حداکثر طول ۱۳/۳۳ سانتی‌متر بود. همچنین در عمق صفر سانتی‌متر + خاک رسی + جمعیت B با میانگین طول ۸/۳۳ سانتی‌متر، عمق یک سانتی‌متر + خاک رسی + جمعیت B با حداکثر طول ۱۶/۵۰ سانتی‌متر مشاهده شد (جدول ۲). نکته جالب توجه، برتری خاک رسی بر خاک سیلتی در اغلب عمق‌ها برای تحریک رشد طولی بیش‌تر ریشه‌چه است. این امر احتمالاً به‌دلیل ظرفیت بالاتر نگهداری رطوبت در بافت خاک رسی است که توسعه ریشه را در مراحل اولیه تسهیل می‌کند. از سوی دیگر، برخلاف سایر صفات، برتری واضح برای جمعیت B در رشد ریشه‌چه مشاهده نمی‌شود. در برخی تیمارها جمعیت A و در برخی دیگر جمعیت B عملکرد بهتری داشته‌اند که نشان می‌دهد صفت طول ریشه‌چه ممکن است به‌طور مستقل از سازوکارهای مقاومت دیگر عمل کند. الگوی نامنظم رشد ریشه‌چه در اعماق مختلف را می‌توان با تئوری تخصیص منابع توجیه کرد (Larcher, 2003). در عمق‌های زیاد، بذر با یک معضل مواجه است که باید منابع محدود خود را بین طویل کردن ساقه‌چه (برای رسیدن به نور) و طویل کردن ریشه‌چه (برای جذب آب و مواد معدنی) تخصیص دهد.

وزن خشک کل گیاهچه

داده‌های وزن خشک کل گیاهچه، الگوی پیچیده‌ای را نشان می‌دهند که اثر متقابل عمق کاشت، نوع خاک و ژنوتیپ بر این صفت معنی‌دار بود. برخلاف انتظار، افزایش عمق کاشت لزوماً منجر به کاهش وزن خشک نشده است. بیش‌ترین مقادیر وزن خشک در جمعیت A، خاک سیلتی و عمق دو سانتی‌متر به‌میزان ۳/۶ میلی‌گرم بود (جدول ۲). الگوها نشان می‌دهد که یک عمق بهینه برای تجمع ماده خشک وجود دارد که احتمالاً بین دو تا پنج سانتی‌متر قرار دارد. در این عمق، گیاهچه ممکن است به اندازه کافی در خاک قرار گرفته باشد تا از مزایای حفظ رطوبت بهره‌مند شود، امّا هنوز با محدودیت‌های شدید نوری و فیزیکی مواجه نشده است. نکته قابل توجه، عملکرد نسبتاً خوب خاک سیلتی در عمق‌های متوسط است که در برخی تیمارها حتی از خاک رسی نیز پیشی گرفته است. این امر ممکن است به‌دلیل تهویه بهتر و مقاومت مکانیکی کم‌تر خاک سیلتی در این عمق‌ها باشد که توسعه ریشه و در نهایت جذب مواد مغذی را تسهیل می‌کند. همچنین برخلاف انتظار، برتری واضح و ثابتی برای هیچ یک از جمعیت‌ها مشاهده نمی‌شود که نشان می‌دهد تجمع ماده خشک در مرحله گیاهچه‌ای ممکن است تحت کنترل ژنتیکی قوی نباشد و بیش‌تر تحت تأثیر عوامل محیطی قرار گیرد. الگوی مشاهده شده برای وزن خشک با تئوری‌های کلاسیک تخصیص منابع و تنظیمات رشد در پاسخ به تنش مطابقت دارد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که گیاهان در پاسخ به تنش‌های محیطی، الگوهای تخصیص منابع خود را تغییر می‌دهند (Poorter et al., 2012). در عمق‌های زیاد، گیاهان ممکن است منابع را به‌جای تولید زیست‌توده، به طویل شدن ساقه (برای خروج از خاک) اختصاص دهند که منجر به کاهش وزن خشک می‌شود. از سوی دیگر، در عمق‌های خیلی کم، گیاهان ممکن است با تنش رطوبتی مواجه شوند که این نیز می‌تواند بر تجمع ماده خشک تأثیر منفی بگذارد. در پژوهشی مشخص شد که گیاهان در شرایط بهینه (عمق متوسط) قادر به حداکثر کردن تجمع ماده خشک بودند (Poorter et al., 2012). همچنین مطالعه‌ای نشان داد که بافت خاک می‌تواند بر الگوهای تخصیص منابع در گیاهچه تأثیر بگذارد (Baskin & Baskin, 2014).

طول ساقه‌چه

براساس جدول ۳، با افزایش عمق قرارگیری بذر از صفر به پنج سانتی‌متر، میانگین طول ساقه‌چه به‌طور پیوسته افزایش یافت (از ۵/۲ به ۷/۳ سانتی‌متر). این پدیده یک پاسخ فیزیولوژیک تطبیقی کلاسیک است که در آن گیاه، منابع خود را به طویل‌شدن ساقه‌چه اختصاص می‌دهد تا هرچه سریع‌تر از تاریکی خاک خارج شده و به نور دسترسی پیدا کند. این سازوکار تحت کنترل هورمون‌هایی مانند اتیلن و اکسین قرار دارد (Poorter et al., 2012). در عمق‌های شش و هفت سانتی‌متر، میانگین طول ساقه‌چه مجدداً کاهش می‌یابد. این موضوع نشان‌دهنده آن است که تنش ناشی از عمق بیش از حد به حدی شدید است که حتی سازوکارهای تطبیقی گیاه نیز قادر به جبران آن نیستند. در این شرایط، ذخایر انرژی بذر پیش از رسیدن به سطح خاک به پایان می‌رسد. در عمق‌های یکسان، میانگین طول ساقه‌چه در خاک سیلتی معمولاً کمی بیش‌تر از خاک رسی است که احتمالاً به‌دلیل مقاومت مکانیکی کم‌تر خاک سیلتی و سهولت در طویل شدن ساقه‌چه است. تفاوت معناداری بین میانگین طول ساقه‌چه دو جمعیت مشاهده نشد که نشان می‌دهد این پاسخ تطبیقی در هر دو ژنوتیپ به‌صورت مشابه عمل می‌کند. این الگو کاملاً با تئوری اجتناب از سایه مطابقت دارد. در شرایطی که گیاه در تاریکی یا سایه قرار می‌گیرد (مانند عمق زیاد خاک)، با تولید هورمون‌های خاصی سعی می‌کند با طویل کردن ساقه به سمت منبع نور حرکت کند. این پاسخ در عمق‌های دو تا پنج سانتی‌متر به‌وضوح مشاهده می شود. بااین‌حال، زمانی که عمق کاشت از یک آستانه بحرانی (۶–۵ سانتی‌متر) فراتر رود، منابع انرژی بذر برای این رشد سریع کافی نبوده و گیاه قادر به ادامه این راهبرد نیست (Bewley et al., 2013). این یافته از اهمیت اکولوژیک برخوردار است چرا که نشان می‌دهد، گیاهان تنها در یک محدوده بهینه قادر به استفاده از سازوکارهای تطبیقی خود هستند و فراتر از یک آستانه مشخص، این سازوکارها کارآیی خود را از دست می‌دهند. داده‌های این آزمایش (مانند افزایش طول ساقه‌چه در عمق زیاد) نشان می‌دهد که اولویت با طویل شدن ساقه‌چه است تا هرچه سریع‌تر از تاریکی خاک خارج شود. این راهبرد بقاء، رشد ریشه‌چه را در مرحله اولیه قربانی می‌کند. در مقابل، در عمق‌های کم که فوراً دسترسی به نور وجود دارد، گیاه می‌تواند منابع را به‌طور متعادل‌تری بین توسعه بخش هوایی و ریشه تخصیص دهد که منجر به رشد بهینه‌تر هر دو بخش می‌شود.

جدول ۳- اثر اصلی عمق دفن بذر روی طول ساقه‌چه خردل وحشی

Table 3- Main effect of seed burial depth on wild mustard epicotyl length

Seed bank depth	Epicotyle length (cm)
0	5.2^{c*}
1	5.2^{c}
2	7.8^{a}
3	6.5^{ab}
4	6.8^{ab}
5	7.3^{a}
6	6.5^{ab}
7	5.8^{bc}
LSD (%)	1.2

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم در سطح پنج درصد ندارند.

* The averages of common letters in each column do not have a significant difference at the 5% level.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که موفقیت در استقرار گیاهچه خردل وحشی حاصل تعامل پیچیده‌ای بین ژنوتیپ، عمق کاشت و بافت خاک است. اگرچه جمعیت B در عمق‌های کم (صفر تا چهار سانتی‌متر) و در خاک رسی که با حفظ رطوبت بهتر، بستر مطلوب‌تری فراهم می‌کند، با نشان دادن سرعت جوانه‌زنی بالاتر، شاخص ظهور تجمعی تا ۲۴/۵ درصد در روز و T_{50} حدود سه روز برتری خود را نشان داد، امّا این برتری ژنتیکی مشروط و محدود بود. عامل تعیین‌کننده نهایی، عمق قرارگیری بذر در خاک بود؛ به‌طوری‌که یک آستانه بحرانی حدود چهار تا پنج سانتی‌متر وجود دارد که فراتر از آن، امکان بقای گیاهچه به‌طور چشمگیری کاهش یافته و حتی به صفر رسید. این پدیده نشان‌دهنده غلبه کامل بر محدودیت فیزیولوژیک (اتلاف ذخایر غذایی بذر پیش از رسیدن به سطح خاک) بر هرگونه مزیت ژنتیکی بود. یافته‌های کلیدی دیگر حاکی از آن بود که گیاه در پاسخ به افزایش عمق، منابع خود را به‌جای توسعه ریشه‌چه و تولید زیست‌توده، عمدتاً به طویل شدن سریع ساقه‌چه برای فرار از تاریکی اختصاص می‌دهد. همچنین همبستگی قوی مثبت بین سرعت جوانه‌زنی با درصد سبز شدن نهایی و بقای گیاهچه به‌وضوح نقش تعیین‌کننده سرعت را در موفقیت نهایی استقرار نشان داد. همچنین با در نظر گرفتن برتری جمعیت B در عمق‌های کم به‌ویژه در خاک‌های رسی، توصیه می‌شود که از کشت محصولات رقابتی با قدرت

سایه‌اندازی بالا استفاده شود تا مزیت سرعت جوانه‌زنی این جمعیت خنثی گردد. علاوه‌بر این، پایش دقیق مزارع از نظر حضور جمعیت‌های B و انتخاب بسترهای کشت با بافت مناسب می‌تواند در طراحی برنامه‌های مدیریت تلفیقی علف‌های هرز مؤثر واقع شود. در نهایت، ادغام این راهکارهای اکولوژیک مبتنی بر یافته‌های پژوهش حاضر، می‌تواند به کاهش وابستگی به علف‌کش‌ها و دستیابی به یک نظام کشاورزی پایدارتر کمک شایانی کند.

References

1. Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2014). Seeds: Ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination (2nd ed.). Academic Press. https://doi.org/10.1016/C2013-0-00597-X
2. Benech-Arnold, R. L., & Sánchez, R. A. (2022). Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture. CRC Press, p. 45-68.
3. Benech-Arnold, R. L., & Sánchez, R. A. (2023). Modelling the effect of soil depth on weed seed germination and emergence. *Agricultural Systems*, *205*, 103558.
4. Benech-Arnold, R. L., & Sánchez, R. A. (Eds.). (2017). Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture. CRC Press
5. Benvenuti, S. (2003). Soil texture involvement in germination and emergence of buried weed seeds. *Agronomy Journal*, *95*(1), 191-198. https://doi.org/10.2134/agronj2003.1910
6. Benvenuti, S. (2022). Soil burial and seed size effects on weed seed germination. *Weed Research*, *62*(4), 245-254.
7. Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. M., & Nonogaki, H. (2013). Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy (3rd ed.). Springer Science & Business Media. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4
8. Chauhan, B. S., Matloob, A., Mahajan, G., Aslam, F., Florentine, S. K., & Jha, P. (2022). Emerging challenges and opportunities for education and research in weed science. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 793703. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01537
9. Colbach, N., Busset, H., Yamada, O., Dürr, C., & Caneill, J. (2023). Modelling the effects of cropping systems on the seed bank dynamics and the emergence of weed seeds. *Field Crops Research*, *291*, 108788.
10. Colbach, N., Durr, C., Roger-Estrade, J., & Canelli, J. (2020). How to model the effects of farming practices on weed emergence. *Weed Research*, *60*(2), 121-136. https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2004.00428.x
11. Finch-Savage, W. E., & Leubner-Metzger, G. (2022). Seed germination in soil: Dormancy cycling, sensing and exploitation of seasonal temperature changes. *New Phytologist*, *234*(5), 1591–1600.
12. Finch-Savage, W. E., & Bassel, G. W. (2016). Seed vigour and crop establishment: Extending performance beyond adaptation. *Journal of Experimental Botany*, *67*(3), 567–591. https://doi.org/10.1093/jxb/erv490
13. Forcella, F., Benech-Arnold, R. L., Sanchez, R., & Ghersa, C. M. (2000). Modeling seedling emergence. *Field Crops Research*, *67*(2), 123–139. https://doi.org/10.1016/S0378-4290(00)00088-5
14. Grundy, A. C., Mead, A., & Burston, S. (2003). Modeling the emergence response of weed seeds to burial depth: implications for weed management. *Weed Science*, *51*(5), 754-761. https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.2003.00836.x
15. Guerresi, M., Bacenetti, J., & Lencioni, G. (2021). Soil physical properties and seedbed preparation: A review. *Agronomy*, *11*(4), 767.
16. Guillemin, J. P., Gardarin, A., Granger, S., Reibel, C., Munier-Jolain, N., & Colbach, N. (2023). Soil texture effects on weed seed germination and seedling establishment. *Soil & Tillage Research*, *225*, 105543.
17. Heap, I. (2024). The international survey of herbicide-resistant weeds. *Weed Science*, *72*(1), 1-15.
18. Huang, M., & Liu, X. (2024). Environmental dominance over genetic effects in extreme soil conditions: Evidence from root elongation depth thresholds. *Plant Physiology*, *195*(2), 801-815.
19. International Seed Testing Association. (2023). International Rules for Seed Testing. Chapter 5: Seed Vigour Testing Methods, pp. 501–525. Bassersdorf, Switzerland.
20. Kaya, I., & Çıkılı, Y. (2020). Influence of soil texture and salinity on seed germination and seedling growth of *Convolvulus arvensis*. *Weed Biology and Management*, *20*(1), 45–53.
21. Larcher, W. (2003). Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups. 4th Edition. Springer-Verlag, Berlin. pp. 213-215.
22. Nguyen, T. H., & Smith, D. L. (2023). Compensatory mechanisms in herbicide-resistant weed biotypes. *Weed Science*, *71*(3), 234-245.
23. Poorter, H., Niklas, K. J., Reich, P. B., Oleksyn, J., Poot, P., & Mommer, L. (2012). Biomass allocation to leaves, stems and roots: Meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist*, *193*(1), 30–50. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03952.x
24. Vidotto, F., Fogliatto, S., Milan, M., & De Palo, F. (2024). Biotype-specific responses to environmental factors in *Sinapis arvensis* L. *Pest Management Science*, *80*(2), 456-468.

25. Zhang, H., Huang, Y., Li, Y., Wang, H., & Li, J. (2024). Ecological-based integrated weed management: Current status and future perspectives. *Agronomy for Sustainable Development*, *44*(1), 12.

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

Research Article
Vol. 40, No. 3, 2026, p. 737- 749

Comparative Study of the Effect of Some Pre-emergence Herbicides with Mesosulfuron + Iodosulfuron + Diflufenican (Othello) in Ryegrass (*Lolium rigidum* Gaudin.) Control and Wheat (*Triticum aestivum* L.) Yield

Narges Keshavarz Mollae[1], Mohammad Rezvani[1*], Hamid Salehian[1], Morteza Noralizadeh Otaqsara[2]

1- Department of Agronomy and Plant Breeding, QaS.C., Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran
2- Departement of Plant Pathology Research, Agricultural and Natural Resources Research and Education of Mazandaran, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Sari, Iran
(*- Corresponding author's Email: m_rezvani52@iau.ac.ir)

Received: 30-12-2025
Revised: 04-03-2026
Accepted: 15-03-2026
Available Online: 22-06-2026

How to cite this article:
Keshavarz Mollae, N., Rezvani, M., Salehian, H., & Noralizadeh Otaqsara, M. (2026). Comparative study of the effect of some pre-emergence herbicides with Mesosulfuron + Iodosulfuron + Diflufenican (Othello) in ryegrass (*Lolium rigidum* Gaudin.) control and wheat (*Triticum aestivum* L.) yield. *Iranian Plant Protection Research*, *40*(3), 737-749. (In Persian).
http://doi.org/10.22067/JPP.2026.97265.1273

Introduction

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is the most important winter cereal grown in Iran. Narrow-leaved, and broad-leaved Weeds are the main factors reducing wheat production due to the competition for resources such as light, nutrients, and soil moisture. Control of ryegrass (*Lolium rigidum* Gaudin.) faces many difficulties due to the morphological and phylogeographic similarities In wheat fields. Selection of suitable herbicide is essential for successful control of this weed. Currently, conventional herbicides that are applied post-emergence at tillering stage of wheat are often unable to control ryegrass. Therefore, we studied the effect of pre-emergence herbicides hncluding pyroxasulfone (WG 85%), metribuzin (WP 70%), and flumioxazin (WP 50%) were selected to compare with Diflufenican 5% + Mesosulfuron methyl 0.75% + Iodosulfuron methyl sodium 0.25% (Othello (6% OD)) on ryegrass control in wheat yield.

Materials and Methods

In order to compare the efficacy of some pre-emergence herbicides with the Othello in control of ryegrass in wheat, experiments with 10 treatments and 4 replications per treatment in a randomized complete block design were conducted at two agricultural research fields including Gavdasht (Babol county) and Bayakola (Neka County), at Mazandaran province of Iran in 2022-.2023 growing season The treatments were included application of Pyroxasulfone 150 g ha^{-1}, Pyroxasulfone 200 g ha^{-1}, metribuzin 300 g ha^{-1}, metribuzin 400 g ha^{-1}, metribuzin 500 g ha^{-1}, flumioxazin 100 g ha^{-1}, and flumioxazin 150 g ha^{-1}, Pyroxasulfone 150 g ha^{-1} + metribuzin 300 g ha^{-1}, Othello 1.6 L ha^{-1}, and weeding as control treatment. Density and biomass of ryegrass were determined. Wheat density, grain yield, and biological yield were determined in both unsprayed and sprayed sub-plots on the 9th (Gavdasht) and 11th (Baykola) of June 2023 which once grains were fully ripped. Before analysis of variance, a test of normality on collected data using PROC UNIVARIATE in SAS software was performed. To test the homogeneity of the data for both experimental sites, all data were subjected to the Bartlett

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

http://doi.org/10.22067/JPP.2026.97265.1273

test. Due to the none-uniformity between the data of two experimental sites and analysis of variance were performed separately. Analysis of variance was performed using the PROC GLM procedure. Mean comparisons were done using the LSD test at 1% probability levels.

Results and Discussion

The application of metribuzin 500 g ha^{-1}, metribuzin 400 g ha^{-1}, and Flumioxazine 400 g ha^{-1} had the lowest wheat density at both Bayakola and Gavdasht stations. Application of this pre-emergence herbicide damaged to wheat seed germination that caused reduction in wheat density. Treatment of pyroxasulfone 150 g ha^{-1} + metribuzin 300 g ha^{-1} at both Baykola and Gavdasht stations, caused a 71.5 % and 78.8 % reduction in ryegrass density, respectively, while having the highest wheat density. Moreover, a 76.9 and 80.2 percent reduction in ryegrass biomass compared to the control, was observed by application of Pyroxasulfone 150 g ha^{-1} + metribuzin 300 g ha^{-1}. Wheat grain yield and change in grain yield both at Baykola and Gavdasht stations significantly affected by treatments. Wheat grain yield at both Bayakola and Gavdasht at combined application of Pyroxasulfone 150 g ha^{-1} + metribuzin 300 g ha^{-1} was maximum, which resulted in 40.4% and 38.3% compared to the control sub-plot, respectively. Generally, both biological and grain yield at Gavdasht was lower than Bayakola field due to the heavy rainfalls in October and November 2022 and also lower temperature. Heavy rainfalls that followed the pre-emergence herbicide and cold temperature resulted in wheat seedling injuries and decreased yield at Gavdasht station compared to the Baykola field.

Conclusion

Combined application of Pyroxasulfone 150 g ha^{-1} + metribuzin 300 g ha^{-1} increased wheat grain yield and controlled rygrass successfully at both Baykola and Gavdasht stations without causing stress or adverse effects on wheat seed germination and density. According to our results, application of pre-emergence herbicides with proper combination of some other pre-emergence and/or post-emergence herbicides could appropriately declined ryegrass density in wheat and reduces the likelihood of resistance to herbicides in the long run. Weather conditions such as heavy rainfall and low temperature may occur during and after application of post-emergence herbicide treatments should be considered to avoid injuries and increase crop safety. Further research is needed to explore ways to avoid wheat injury occasionally caused by heavy rainfall and/or irrigation, also low temperature, after pre-emergence herbicide application.

Keywords: Competition, Flumioxazin, Metribuzin, Pre-emergence herbicide, Pyroxasulfone

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

مقاله پژوهشی
جلد ۴۰ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۷۴۹-۷۳۷

بررسی مقایسه‌ای تأثیر برخی علف‌کش‌های پیش‌رویشی با مزوسولفورون + یدوسولفورون + دیفلوفنیکان+ مفن‌پایر دی‌اتیل (اوتللو) بر مهار چچم (*Lolium rigidum* Gaudin.) و عملکرد گندم (*Triticum aestivum* L.)

نرگس کشاورز ملایی[۱]- محمد رضوانی[۱*]- حمید صالحیان[۱]- مرتضی نورعلی‌زاده اطاقسرا[۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۲۳

چکیده

در مزارع گندم (*Triticum aestivum* L.)، مهار علف هرز چچم (*Lolium rigidum* Gaudin.) به‌دلیل تشابهات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی با دشواری‌های زیادی روبه‌رو است بنابراین، انتخاب علف‌کش مناسب برای موفقیت در مهار این علف هرز و افزایش عملکرد گندم ضروری است. این پژوهش با هدف مقایسه کارآیی برخی علف‌کش‌های پیش‌رویشی با علف‌کش مزوسولفورون متیل ۰/۷۵ درصد + یدوسولفورون متیل سدیم ۰/۲۵ درصد + دیفلوفنیکان ۵ درصد (اوتللو (OD 6%)) و به‌صورت آزمایشی با ۱۰ تیمار و چهار تکرار در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دو ایستگاه تحقیقاتی گاودشت شهرستان بابل و بایعکلا شهرستان نکا در سال زراعی ۱۴۰۲-۱۴۰۱ انجام شد. تیمارها شامل استفاده از علف‌کش‌های پیش‌رویشی پیروکساسولفون (WG 85%) به‌میزان ۱۵۰ و ۲۰۰ گرم در هکتار، متری‌بیوزین (WP 70%) به‌میزان ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ گرم در هکتار، فلومیوکسازین (WP 50%) به‌میزان ۱۰۰ و ۱۵۰ گرم در هکتار، پیروکساسولفون به‌میزان ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین به‌میزان ۳۰۰ گرم در هکتار، اوتللو به‌میزان ۱/۶ لیتر در هکتار در مرحله پنجه‌زنی گندم بودند. نتایج نشان داد که در هر دو مکان، تیمار متری‌بیوزین به‌میزان ۴۰۰ گرم در هکتار و ۵۰۰ گرم در هکتار علی‌رغم مهار مناسب علف هرز چچم، بر تراکم گندم اثر منفی داشتند که ناشی از خسارت استفاده از مقادیر بالای علف‌کش متری‌بیوزین بر جوانه‌زنی بذر گندم بود. پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار در هر دو ایستگاه بایعکلا و گاودشت ضمن داشتن بیشترین تراکم گندم، موجب کاهش ۷۱/۵ و ۷۸/۸ درصدی تراکم علف هرز چچم و کاهش ۷۶/۹ و ۸۰/۲ درصدی زیست‌توده علف هرز چچم نسبت به شاهد شد. علاوه‌بر این، کاربرد ترکیبی دو علف‌کش پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار توانست عملکرد دانه گندم را بیش از ۴۰ و ۴۲ درصد به ترتیب در ایستگاه‌های بایعکلا و گاودشت نسبت به شاهد افزایش دهد، بدون این‌که اثر سوئی بر گندم وارد کند. با توجه به این نتایج توصیه می‌شود که با معرفی علف‌کش‌های پیش‌رویشی ضمن استفاده از مقادیر مناسب آن‌ها، می‌توان بدون ایجاد خسارت روی گندم، به‌طور مناسبی چچم را مهار و عملکرد گندم را بهبود بخشید.

واژه‌های کلیدی: پیروکساسولفون، رقابت، علف‌کش پیش‌رویشی، فلومیوکسازین، متریبوزین

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) یک گیاه زراعی مهم در ایران و بسیاری از کشورهای جهان است و نزدیک به ۲۵ درصد سطح کشت اراضی زراعی دنیا را در بر می‌گیرد (FAO, 2022). علف‌های هرز به‌دلیل رقابت مستقیم با گندم برای دستیابی به منابعی از قبیل نور، عناصر غذایی و رطوبت خاک، یکی از عوامل مهم و اصلی کاهش تولید و عملکرد در گندم هستند (Colbach et al., 2017). گونه‌های زیادی از علف‌های هرز در مزارع گندم مازندران و کشور شناسایی شدند که در دو گروه کلی پهن‌برگ‌ها و باریک‌برگ‌ها تقسیم می‌شوند. در میان علف‌های هرز باریک‌برگ، چچم به‌عنوان مهم‌ترین

۱- گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران
۲- بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: m_rezvani52@iau.ac.ir)
http://doi.org/10.22067/JPP.2026.97265.1273

گونه علف‌های هرز باریک‌برگ در مزارع گندم می‌باشد که مهار آن به‌دلیل تشابهات مورفولوژیک با دشواری‌های زیادی روبه‌رو است و در سال‌های اخیر مدیریت شیمیایی آن برای کشاورزان به چالشی بزرگ تبدیل شده است (Nooralizadeh Otaqsara & Fallahi, 2021).

چچم (*Lolium rigidum* Gaudin.) گیاهی دیپلوئید و دگرگشن می‌باشد که با توجه به تنوع ژنتیکی بالا، تمایل به بروز مقاومت به علف‌کش‌ها را دارد. بروز مقاومت در گونه‌های مختلف از جمله *Lolium rigidum* در منابع مختلف گزارش شده است (Heap, 2023) و به‌عنوان مهم‌ترین گونه چالش‌برانگیز مقاوم به علف‌کش‌ها در نقاط مختلف دنیا معرفی شده است (Beckie & Jasieniuk, 2021). علف هرز چچم قادر است در هر مترمربع حدود ۴۵ هزار بذر تولید نماید (Goggin et al., 2022) که با توجه به داشتن خواب بذر، قوه نامیه طولانی و طول عمر زیاد می‌توانند سالیان متمادی منجر به آلودگی اراضی زراعی شود. مقدار خسارت این علف هرز در دنیا بسته به شدت تراکم ۵۵ درصد (Lemerle et al., 2013) و حتی تا ۷۰ درصد (Ramesh et al., 2017) نیز گزارش شده است. این گونه رقابت شدید با گندم داشته و موجب کاهش تعداد پنجه‌های بارور و در نتیجه کاهش عملکرد گندم دانه تا ۶۸ درصد می‌شود (Mamnoie et al., 2023). در تحقیق دیگری، پوررضا (Pourreza, 2017) نشان داد که چچم در رقابت با گندم توانست موجب کاهش شدید عملکرد شود.

در بین روش‌های مختلف مهار علف‌های هرز، روش کنترل شیمیایی علف‌های هرز مهم‌ترین راه مبارزه با این گیاهان در کشاورزی امروزی است، زیرا این روش اغلب مهار مؤثر و اقتصادی علف‌های هرز را زمانی که علف‌کش به‌میزان توصیه‌شده و مرحله رشدی مناسب به کار می‌رود، امکان‌پذیر می‌کند (Kumar et al., 2021). از طرفی، ممنوعی و همکاران(Mamnoie et al., 2023) عواملی مانند ضعف علف‌کش‌ها و در دسترس نبودن علف‌کش کارآمد و مؤثر و کاربرد متوالی علف‌کش‌ها با نحوه عمل مشابه را از مهم‌ترین عوامل طغیان علف هرز در مزارع گندم ذکر کرده اند. بنابراین برای رهایی از این چالش، معرفی علف‌کش‌هایی با نحوه عمل متفاوت که توانایی مهار این علف هرز را داشته باشند و برای گندم انتخابی عمل کنند، یکی از راه‌های مهم در مدیریت علف هرز و جلوگیری از روند مقاومت به علف‌کش‌ها می‌باشد.

علف‌کش فلومیوکسازین (کلین شیت) از جمله علف‌کش‌های پیش‌رویشی خانواده ان‌ـفنیل‌فتالیمید است که بازدارنده آنزیم پروتکس (از جمله آنزیم‌های مهم در فرآیند سنتز کلروفیل است) محسوب می‌شود. تیمار خاک با علف‌کش فلومیوکسازین سبب بروز علائم نکروز و مرگ سریع متعاقب قرارگیری گیاهان حساس رویش‌یافته در معرض نور خورشید می‌شود. فلومیوکسازین علف‌کشی با نحوه عمل متفاوت با بسیاری از علف‌کش‌های رایج است و از آن می‌توان در برنامه مدیریت مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها بهره گرفت (Nooralizadeh Otaqsara, 2021).

علف‌کش پیروکساسولفون (ساکورا) از طریق بازدارندگی سنتز اسیدهای چرب با زنجیره خیلی بلند عمل می‌کند. این علف‌کش بازدارنده رشد ریشه و شاخساره است که دانه‌رست‌های گونه‌های حساس را قبل یا بلافاصله بعد از خروج از خاک از بین می‌برد (Anonymous, 2017). علف‌کش پیروکساسولفون برای مهار پیش‌رویشی علف‌های هرز یک‌ساله باریک‌برگ و پهن‌برگ در گندم و برخی گیاهان‌زراعی خانواده باقلاییان نظیر سویا (*Glycine max* (L.) Merr.) معرفی شده است. رطوبت مناسب خاک برای اثرگذاری این علف‌کش ضروری است. پیروکساسولفون قادر به مهار علف‌های هرز رویش‌یافته نیست Mousavi et al., 2020()).

متری‌بیوزین (سنکور) علف‌کش انتخابی از گروه تریازینون‌ها و بازدارنده انتقال الکترون در فتوسیستم II می‌باشد. این علف‌کش برای مهار علف‌های هرز پهن‌برگ و برخی از باریک‌برگ‌ها در مزارع سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.)، خیار (*Cucumis sativus* L.)، سویا، گندم و جو (*Hordeum vulgare* L.) به‌صورت پیش و پس‌رویشی کاربرد دارد (Mamnoie et al., 2024). متری‌بیوزین با اتصال به پروتئین D1 در فتوسیستم II باعث بازدارندگی در فتوسیستم II در گیاهان حساس می‌شود. در فتوسیستم II الکترون برانگیخته‌شده توسط یک مولکول آب جایگزین می‌شود، در نتیجه اکسیژن تولید می‌شود و سپس الکترون برانگیخته‌شده به‌وسیله پلاستوکوئینون به فتوسیستم I منتقل می‌شود. این علف‌کش انتخابی و سیستمیک است که اساساً جذب ریشه‌ای داشته، ولی از طریق برگ هم جذب می‌شود و از طریق آوند آبکشی انتقال می‌یابد (Pesticide Manual Book, 2021).

علف‌کش اوتللو نام تجاری یک آمیخته علف‌کشی از سه علف‌کش مزوسولفورون متیل + یدوسولفورون متیل سدیم + دیفلوفنیکان + ایمن کننده مفن‌پایر دی‌اتیل می‌باشد. این علف‌کش از طریق ریشه و برگ جذب گیاه می‌شود و لذا از طریق آوندهای چوبی و آبکشی در گیاه حرکت می‌کند. این علف‌کش قادر به مهار علف‌های هرز باریک‌برگ یولاف وحشی (*Avena fatua* L.)، دم روباهی (Alopecurus myosuroides)و برخی از علف‌های هرز پهن‌برگ در گندم می‌باشد (Tomilin, 2004).

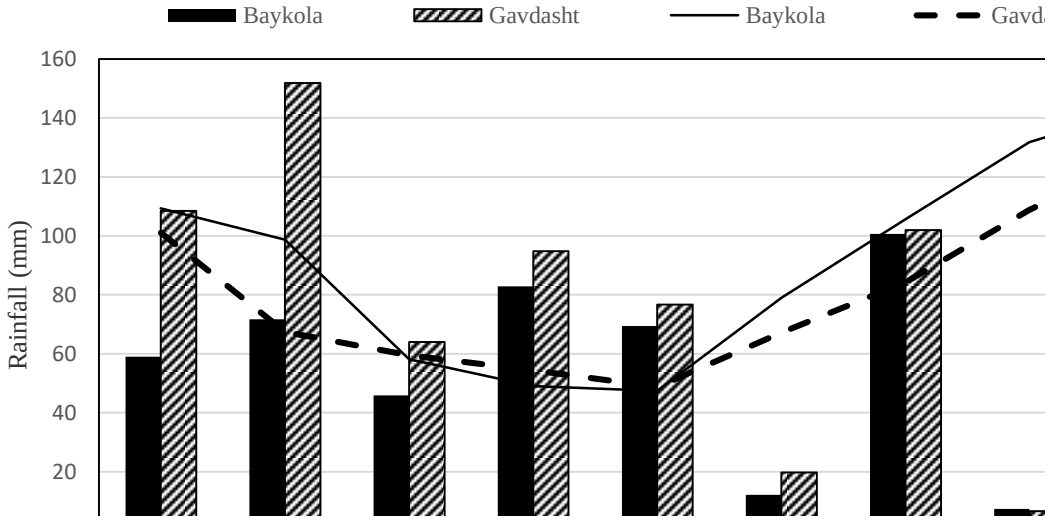
عدم اجرای تناوب صحیح زراعی در مناطق شمالی کشور و کشت متوالی گندم از یک طرف و مصرف علف‌کش‌ها با مقدار نامناسب و گاهی در زمان نامناسب و همچنین مصرف علف‌کش‌ها با محل عمل و کارکرد مشابه موجب گسترش علف هرز چچم در مزارع گندم در مازندران و عدم توفیق کشاورزان در مهار آن شده است. با توجه به

اینکه افزایش تراکم، پراکنش و توسعه علف هرز چچم در اغلب محصولات پاییزه از جمله گندم در اکثر نقاط کشور و در دسترس نبودن علف‌کش با کارآیی مناسب و ثبت‌شده موجب نارضایتی کشاورزان شده است. بنابراین معرفی راهکارهای مناسب مدیریتی و علف‌کش جدید از نیازهای فوری در جهت مهار چچم در کشت گندم می‌باشد. بر این اساس، آزمایش حاضر با هدف مهار علف هرز چچم با استفاده از علف‌کش‌های ثبت‌شده پیش‌رویشی و مقایسه کارآیی آن‌ها با علف‌کش اوتللو در ایستگاه‌های تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی استان مازندران در گاودشت واقع در شهرستان بابل و بایعکلا در شهرستان نکا اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۴۰۲-۱۴۰۱ در دو ایستگاه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی استان مازندران شامل ایستگاه گاودشت در شهرستان بابل و ایستگاه بایعکلا در شهرستان نکا به اجرا درآمد. مختصات جغرافیایی ایستگاه تحقیقاتی گاودشت شامل طول جغرافیایی '۱۵ °۵۲ شرقی، عرض جغرافیایی'۴۳ °۳۶ شمالی و ارتفاع ۶۹ متر از سطح دریاهای آزاد می‌باشد. طول جغرافیایی ایستگاه بایع کلا '۱۳ °۵۳ شرقی و عرض جغرافیایی آن '۴۴ °۳۶ شمالی با ارتفاع ۱۵ متر از سطح دریا می‌باشد. تغییرات دمایی و میزان بارش در دو ایستگاه تحقیقاتی طی سال زراعی ۱۴۰۲-۱۴۰۱ در شکل ۱ نشان داده شده است. قبل از انجام آزمایش‌ها، آزمون خاک از هر دو ایستگاه انجام شد که در جدول ۱ ارائه شده است.

آزمایش‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار و ۱۰ تیمار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل مصرف پیروکساسولفون ۱۵۰ و ۲۰۰ گرم در هکتار بعد از کاشت و قبل از سبز شدن گندم و علف هرز، متری‌بیوزین ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ گرم در هکتار بعد از کاشت و قبل از سبز شدن گندم و علف‌های هرز، فلومیوکسازین ۱۰۰ و ۱۵۰ گرم در هکتار بعد از کاشت و قبل از سبز شدن گندم و علف‌های هرز، پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم بعد از کاشت و قبل از سبز شدن گندم و علف‌های هرز، مزوسولفورون متیل+ یدوسولفورون متیل سدیم+ دیفلوفنیکان (اوتللو) ۱/۶ لیتر در هکتار در مرحله پنجه‌زنی گندم و چهاربرگی چچم و شاهد وجین دستی بودند. علف‌کش پیروکساسولفون WG 85% با نام تجاری کلت علف‌کشی پیش‌رویشی و از خانواده شیمیایی ایزوکسازولین می‌باشد. علف‌کش متری‌بیوزین با نام تجاری سنکور و فرمولاسیون WP 70% می‌باشد و این علف‌کش انتخابی و سیستمیک است و در گروه شیمیایی تریازینون قرار دارد. علف‌کش فلومیوکسازین با فرمولاسیون WP 50% نیز از علف‌کش‌های بازدارنده پروتوپورفیرینوژن‌اکسیداز (PPO) و از خانواده N–فنیل فتالیمید می‌باشد؛ و در نهایت علف‌کش اتللو با فرمولاسیون OD 6% (روغن قابل انتشار) ترکیبی از مزوسولفورون متیل ۰/۷۵ درصد + یدوسولفورون متیل سدیم ۰/۲۵ درصد + دیفلوفنیکان ۵ درصد است.



شکل ۱- میانگین بارندگی و درجه حرارت طی سال زراعی ۱۴۰۲-۱۴۰۱ در ایستگاه‌های تحقیقاتی بایعکلا و گاودشت

Figure 1- Rainfal and temprature means in 2022 and 2023 at Baykola and Gavdasht research stations

هر کرت آزمایشی شامل هشت خط کاشت با فاصله بین ردیف های کاشت ۲۰ سانتی‌متر بود. طول هر کرت ۱۰ متر در نظر گرفته شد. بین هر دو کرت مجاور ۱/۵ متر و بین تکرارها دو متر فاصله منظور شد. در هر دو ایستگاه، انتخاب مزرعه جهت کاشت، براساس سابقه کاشت و آلودگی به علف هرز چچم در سال‌های قبل انجام شد. سایر علف‌های هرز در طول فصل در صورت مشاهده، با وجین دستی حذف شدند. در ایستگاه گاودشت، کودهای شیمیایی براساس آزمون خاک و به‌صورت کود اوره به‌میزان ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار در سه مرحله (۵۰ کیلوگرم در هکتار پایه، ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار در مراحل پنجه‌زنی و خوشه‌دهی)، پتاسیم سولفات و سوپر فسفات تریپل به‌ترتیب۱۰۰ و ۷۵ کیلوگرم در هکتار به‌صورت قبل از کاشت مصرف شدند.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 1- Soil physical and chemical properties at Baykola and Gavdasht research stations

Soil properties	Bayakola	Gavdasht
Soil texture	Silty-loam	Silty-loam
Total nitrogen (%)	0.22	0.104
Available phosphorus (mg kg^{-1})	12.6	25.4
Available potassium (mg kg^{-1})	256	203
Organic carbon (%)	1.02	1.46
Electrical conductivity (dS m^{-1})	0.74	0.72
pH	7.8	7.4

در ایستگاه بایکلا نیز کود اوره به‌میزان ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار در سه مرحله مانند ایستگاه گاودشت، کود پتاسیم سولفات و سوپر فسفات تریپل به‌ترتیب ۷۵ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به‌صورت قبل از کاشت مصرف شدند. عملیات کاشت گندم رقم احسان توسط خطی‌کار گندم با میزان بذر ۱۶۰ کیلوگرم در هکتار در تاریخ ۲۵ آبان در بایکلا و ۲۶ آبان در گاودشت انجام شد.

جهت اعمال تیمارهای علف‌کشی، هرکرت آزمایشی به دو بخش تقسیم شد که قسمت بالایی سم‌پاشی نشده (به‌عنوان شاهد) و بخش پایین هر کرت سم‌پاشی‌شده (به‌عنوان تیمار) در نظر گرفته شد. سم‌پاشی با سم‌پاش پشتی با نازل بادبزنی با فشار ۲۰۰ کیلوپاسکال و با حجم پاشش آب مصرفی ۳۰۰ لیتر در هکتار انجام گردید.

۳۰ روز بعد از آخرین سم‌پاشی، نمونه‌گیری از علف‌های هرز در دو سطح معادل ۰/۵ مترمربع در هر قسمت سم‌پاشی‌شده و سم‌پاشی نشده از هر کرت جهت تعیین تراکم و نوع و وزن خشک علف هرز انجام شد. در این مرحله، علف‌های هرز در هر کادر کفبر و به تفکیک نوع آن‌ها درون پاکت قرار گرفته و در داخل آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس به‌وسیله ترازوی دیجیتال وزن شدند. کارآیی برنامه‌های مهار علف هرز (WCE[1]) از طریق محاسبه درصد کاهش تراکم و وزن خشک علف هرز نسبت به تیمار آلوده به علف هرز (معادله ۱) محاسبه شد (Idziak et al., 2024).

$$WCE = (A-B)/A \times 100 \quad (۱)$$

که در آن، WCE: درصد کنترل تراکم یا زیست‌توده علف هرز، A و B: به‌ترتیب تراکم یا زیست‌توده علف هرز در کادر سم‌پاشی نشده و سم‌پاشی‌شده می‌باشد. برای تعیین تراکم بوته گندم، در هر کادر بوته‌های گندم موجود شمارش و ثبت شدند. عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک گندم از خطوط وسط هر کرت در ابعاد دو مترمربع در هر نیم کرت شاهد و تیمار در زمان رسیدگی برداشت انجام شد. شاخص برداشت نیز از تقسیم عملکرد دانه بر عملکرد بیولوژیک به دست آمد. همچنین برای تعیین تغییرات عملکرد دانه و بیولوژیک از معادله ۲ استفاده شد.

$$Yi= (Yf/ Yw)\times 100 \quad (۲)$$

که در آن، Yi: درصد تغییرات عملکرد دانه یا بیولوژیک، Yf و Yw: به‌ترتیب عملکرد در دو نیم کرت‌های سم‌پاشی‌شده و نشده است.

تجزیه و تحلیل آماری

قبل از تجزیه واریانس، آزمون نرمال بودن داده‌ها انجام شد. جهت بررسی همژنیتی داده‌های دو مکان آزمایش، کلیه داده‌ها تجزیه بارتلت گردید. با توجه به وجود غیریکنواختی در داده‌های مربوط به دو مکان، تجزیه واریانس هر مکان آزمایشی به‌صورت جداگانه انجام شد. تجزیه واریانس با استفاده از رویه PROC GLM در نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۳ صورت گرفت. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح یک درصد مقایسه شدند.

1- Weed Control Efficacy

نتایج و بحث

تأثیر علف‌کش‌ها بر تراکم گندم

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها تأثیر معنی‌داری بر تراکم گندم داشت (جدول ۲). علف‌کش متری‌بیوزین با مقادیر ۵۰۰ گرم در هکتار و ۴۰۰ گرم در هکتار و فلومیوکسازین به‌میزان ۱۵۰ گرم در هکتار به‌ترتیب با ۱۶۰/۲، ۱۸۱/۲ و ۲۱۴/۵ بوته در هر مترمربع، کمترین تراکم گندم در مترمربع را در ایستگاه بایعکلا داشتند و موجب خسارت به گندم شدند (جدول ۳). در ایستگاه گاودشت نیز روند به همین شکل بود و جوانه‌زنی بذر و ظهور گیاهچه گندم با تنش آب‌ماندگی در اثر بارندگی زیاد در ماه‌های آبان و آذر و دمای کم در ماه آذر روبه‌رو شده بود و این امر موجب تشدید تنش وارده از سوی این علف‌کش‌ها بر گندم شد که در نهایت منجر به کاهش تراکم گندم شد، به‌طوری‌که تراکم بوته گندم در این ایستگاه کمتر از ایستگاه بایعکلا بود. نتایج آزمایش‌های پورحیدر و همکاران (Pour Heydar Ghaffari et al., 2024) نیز نشان داد که استفاده از علف‌کش متری‌بیوزین در زمان کاشت موجب آسیب‌دیدگی بذور جوانه‌زده و کاهش تراکم و عملکرد گندم شد. در برخی موارد، مصرف متری‌بیوزین به‌ویژه در دُزهای بالا یا در شرایط نامساعد محیطی مانند بارندگی زیاد و دمای کم می‌تواند منجر به کاهش عملکرد گندم شود. این امر به‌دلیل اثرات سمی علف‌کش بر گیاه گندم و اختلال در فرآیندهای رشدی آن می‌باشد. نتایج منصوریان و همکاران (Mansourian et al., 2008) نشان داد که استفاده از دُزهای بالای متری‌بیوزین ممکن است موجب کاهش تراکم گندم شود. این امر به‌دلیل اثرات سمی علف‌کش بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه گندم است. کاهش تراکم گندم همچنین در آزمایش‌های دیگر که با علف‌کش‌های خاک مصرف دیگر انجام شد مشاهده گردید. در آزمایش جیتسوپولوس و همکاران (Gitsopoulos et al., 2024) نیز استفاده از علف‌کش پرو سولفو کارب به‌صورت خاک مصرف منجر به کاهش تراکم و ایجاد خسارت در گندم شد. همچنین کاهش جوانه‌زنی بذر گندم دوروم پس از کاربرد پیش‌کاشت علف‌کش تولورکس در مقایسه با شاهد وجین دستی به‌وسیله دلچو (Delchev, 2022) مشاهده شد.

تأثیر علف‌کش‌ها بر تراکم و تغییرات تراکم چچم

تیمارها تأثیر معنی‌داری بر تراکم و درصد تغییرات تراکم چچم داشتند (جدول ۲). نتایج نشان داد که تراکم علف هرز چچم در ایستگاه بایعکلا با کاربرد ترکیبی علف‌کش‌های پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار حداقل (پنج بوته در مترمربع) بود و استفاده از این علف‌کش‌ها تراکم چچم را ۷۱/۵ درصد نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۳). همچنین در تیمارها با افزایش مقدار کاربرد علف‌کش متری‌بیوزین (از ۳۰۰ تا ۵۰۰ گرم در هکتار) تراکم چچم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، به‌طوری‌که در تیمار ۵۰۰ گرم در هکتار متری‌بیوزین، تراکم چچم نسبت به شاهد ۶۵/۱ درصد کاهش یافت که با تیمار کاربرد ترکیبی پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (جدول ۳). در بین تیمارهای علف‌کشی، علف‌کش اوتللو با ۲۶/۹ درصد کاهش تراکم چچم نسبت به نیمه شاهد، کمترین میزان مهار این علف هرز را از خود نشان داد. مطالعه انجام‌شده در خوزستان به‌وسیله ثابت زنگانه و همکاران (Sabet Zanganeh et al., 2015) نیز حاکی از این بود که علف‌کش اوتللو تراکم علف هرز چچم را تنها ۴۴ درصد کاهش داد.

نتایج ایستگاه گاودشت با توجه به شرایط بارندگی و درجه حرارت در ماه‌های آبان و آذر متفاوت بود. در این ایستگاه نیز کاربرد ترکیبی علف‌کش‌های پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار با تراکم هشت بوته چچم در مترمربع بهتر از سایر تیمارها بود و نسبت به نیمه شاهد بدون مهار علف هرز، تراکم این علف هرز را ۷۰/۶ درصد کاهش داد. تیمار کاربرد متری‌بیوزین ۵۰۰ گرم در هکتار نیز با تراکم ۱۱/۳ ساقه در مترمربع و کاهش ۶۵/۱ درصدی تراکم تفاوت معنی‌داری با تیمار فوق نداشت. بیشترین تراکم چچم نیز مربوط به تیمار کاربرد علف‌کش اوتللو با ۲۴/۷ ساقه در مترمربع بود که توانست تنها ۲۵/۹ درصد تراکم چچم را نسبت به نیم کرت شاهد کاهش دهد (جدول ۳). در هر دو مکان، تیمار متری‌بیوزین به‌میزان ۴۰۰ گرم در هکتار و ۵۰۰ گرم در هکتار علی‌رغم مهار مناسب علف هرز چچم، بر تراکم گندم اثر منفی گذاشته بودند و کمترین تراکم بوته گندم را در این تیمارها شاهد بودیم که ناشی از خسارت علف‌کش بر گندم بود. نتایج شارما و همکاران (Sharma et al., 2024) نشان داد که همه تیمارهای علف‌کشی به‌طور قابل توجهی جمعیت علف‌های هرز را کاهش دادند، ولی متری‌بیوزین ۵۰ گرم در هکتار به‌عنوان مؤثرترین تیمار علف‌کش با بالاترین راندمان مهار علف‌های هرز شناخته شد.

تأثیر علف‌کش‌ها بر زیست‌توده چچم

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمارها بر زیست‌توده و درصد تغییرات زیست‌توده چچم تأثیر داشتند (جدول ۲). اثر علف‌کش‌ها بر زیست‌توده علف هرز چچم در ایستگاه بایعکلا نشان داد که با کاربرد تیمار ترکیبی علف‌کش‌های پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار، کمترین میزان زیست‌توده چچم (۷/۸ گرم در مترمربع) به دست آمد که توانست ۷۶/۹ درصد وزن زیست‌توده چچم را نسبت به شاهد کاهش دهد. در تیمار کاربرد علف‌کش متری‌بیوزین ۵۰۰ گرم در هکتار نیز زیست‌توده چچم به‌طور

معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها کاهش یافت، به‌طوری‌که زیست‌توده چچم نسبت در این تیمار به ۱۱/۳ گرم در مترمربع رسید که با تیمار کاربرد ترکیبی پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار تفاوت آماری معنی‌داری نداشت، امّا درصد کاهش آن نسبت به نیم کرت شاهد کمتر بوده (۶۵/۷ درصد) که نشان از برتری تیمار ترکیبی متری‌بیوزین و پیروکساسولفون (۷۵/۹ درصد) دارد (جدول ۳). همچنین در بین تیمارها، علف‌کش اوتللو با ۲۵/۴ درصد کاهش زیست‌توده چچم نسبت به نیم کرت شاهد، کمترین میزان مهار این علف هرز را از خود نشان داد.

در ایستگاه گاودشت نیز در تیمار کاربرد ترکیبی علف‌کش‌های پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار شاهد کمترین زیست‌توده چچم (۱۳/۳ گرم در مترمربع) نسبت به سایر تیمارها بودیم که توانست ۸۰/۲ درصد وزن این علف هرز را نسبت به نیم کرت شاهد کاهش دهد. تیمار کاربرد متری‌بیوزین ۵۰۰ گرم در هکتار در این ایستگاه نیز با تولید ۱۵/۷ گرم در مترمربع زیست‌توده چچم تفاوت معنی‌داری با تیمار فوق نداشت، امّا در میزان کاهش زیست‌توده نسبت به نیم کرت شاهد کاربرد ترکیبی دو علف‌کش پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار برتر از این تیمار بود. کاربرد علف‌کش پیروکساسولفون ۲۰۰ گرم در هکتار نیز توانست زیست‌توده علف هرز چچم را در ایستگاه‌های بایعکلا و گاودشت به‌ترتیب ۵۴/۳ و ۵۶/۴ درصد نسبت به نیم کرت شاهد کاهش دهد (جدول ۳) و برخلاف علف‌کش متری‌بیوزین در مقادیر ۴۰۰ گرم در هکتار و ۵۰۰ گرم در هکتار که اثر سوء بر گندم دارند، می‌تواند گزینه مناسبی برای مهار این علف هرز باشد.

علف‌کش اوتللو برای مهار علف‌های هرز باریک و پهن‌برگ در گندم ثبت شده است و گزارش‌های زیادی مبنی بر مهار علف‌های هرز مختلف در زراعت گندم توسط این علف‌کش وجود دارد (Lotfi Sharifi Ziveh, 2014; Mavi et al., 2015) در آزمایش حاضر، علف‌کش اوتللو برای مهار علف هرز چچم کارآیی مناسبی را از خود نشان نداد و در این ایستگاه‌ها تنها توانست ۲۵/۴ و ۳۲/۸ درصد زیست‌توده این علف هرز را نسبت به نیم کرت شاهد کاهش دهد.

تأثیر علف‌کش بر عملکرد بیولوژیک، دانه و شاخص برداشت گندم

نتایج جدول تجزیه واریانس اثر علف‌کش بر عملکرد بیولوژیک، دانه و شاخص برداشت گندم نشان داد که تیمارهای کاربرد علف‌کش ها تأثیر معنی‌داری بر این صفات و درصد تغییرات آن داشتند (جدول ۳).

اثر علف‌کش‌ها بر عملکرد بیولوژیک در ایستگاه بایعکلا نشان داد که با کاربرد ترکیبی علف‌کش‌های پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار، بیشترین میزان عملکرد بیولوژیک (۱۱۸۴۷/۷ کیلوگرم در هکتار) به دست آمد که توانست ۲۵/۹ درصد وزن عملکرد بیولوژیک گندم را نسبت به نیم کرت شاهد افزایش دهد. تیمار کاربرد علف‌کش پیروکساسولفون ۲۰۰ گرم در هکتار نیز با عملکرد بیولوژیک ۱۱۶۵۹/۶ کیلوگرم در هکتار و با افزایش ۲۵/۰۲ درصدی نسبت به نیم کرت شاهد اختلاف معنی‌داری با تیمار فوق نداشت. این دو تیمار برتر از سایر تیمارها بودند و با شاهد وجین اختلاف آماری نداشتند (جدول ۴). تیمارهای استفاده از علف‌کش متری‌بیوزین با میزان ۴۰۰ گرم در هکتار و ۵۰۰ گرم در هکتار کمترین عملکرد بیولوژیک را داشتند، به‌طوری‌که نسبت به شاهد دارای عملکرد کمتری بوده و درصد تغییرات در آن‌ها منفی شد. این کاهش عملکرد ناشی از اثرات سوء این علف‌کش بر گندم بود که موجب کاهش تراکم گندم شده بود (جدول ۲)، به همین دلیل این تیمارها علی‌رغم مهار چچم نمی‌توانند گزینه مناسبی برای افزایش عملکرد بیولوژیک که نقش مهمی در افزایش عملکرد گندم دارند، باشد.

در ایستگاه گاودشت نیز روند مشابه ایستگاه بایعکلا بود، به‌طوری‌که تیمارهای ترکیبی پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار و تیمار پیروکساسولفون ۲۰۰ گرم در هکتار بیشترین میزان افزایش عملکرد بیولوژیک را داشت که با شاهد وجین اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند (جدول ۴). در این ایستگاه به‌دلیل شرایط محیطی و جوی نامناسب طی فصل رشد (شکل ۱ و ۲)، پنجه‌زنی و رشد گندم کمتر بود که در عملکرد بیولوژیک اثرگذار بود. به همین دلیل، عملکرد بیولوژیک گندم ایستگاه گاودشت در تمامی تیمارها نسبت به ایستگاه بایعکلا کمتر بود.

مقایسه میانگین اثر علف‌کش‌ها بر عملکرد دانه گندم در ایستگاه بایعکلا نشان داد که پس از شاهد وجین با عملکرد ۵۲۴۳ کیلوگرم در هکتار که موجب افزایش ۴۵/۱ درصدی عملکرد نسبت به نیم کرت شاهد شد، تیمار کاربرد ترکیبی علف‌کش‌های پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار بیشترین میزان عملکرد دانه (۴۵۹۴/۵ کیلوگرم در هکتار) را داشت که توانست ۴۰/۴ درصد عملکرد دانه گندم را نسبت به نیم کرت شاهد افزایش دهد. در تیمار کاربرد علف‌کش پیروکساسولفون ۲۰۰ گرم در هکتار نیز عملکرد دانه گندم ۴۴۷۶/۳ کیلوگرم در هکتار بود که نسبت به نیم کرت شاهد ۳۸/۳ درصد افزایش داشت (جدول ۵).

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای علف‌کش‌ها بر تراکم گندم، تراکم چچم، درصد کاهش تراکم و زیست‌توده چچم

Table 2- Analysis of variance of the effect of herbicides on wheat density, ryegrass density and density reduction, and ryegrass biomass and biomass reduction at Baykola and Gavdasht research stations

S.O.V	df	Wheat density		Ryegrass density		Ryegrass density reduction		Ryegrass biomass		Ryegrass biomass reduction	
		Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht
Block	3	140.4	17.26	17.1	6.46	133.6	84.9	22.6	181.1	15.8	39.27
Treatment	9	6165.1**	2037.4**	96.4**	291.3**	2523**	2395.5**	358.5**	897.8**	2453.7**	2114.4**
Error	27	171.2	95.1	2.8	5.28	22.74	20.17	15.1	20.25	38.8	19.04
CV (%)		5.5	5.5	16.7	14.1	10.1	8.2	22.2	16.6	20.1	7.8

**: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

**: significant difference at 1%

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها بر تراکم گندم، چچم و درصد کاهش تراکم و زیست‌توده چچم

Table 3- Mean comparison of the effect of herbicides on wheat density, ryegrass density and density reduction, and ryegrass biomass and biomass reduction at Baykola and Gavdasht research stations

Treatments	Wheat density (plant m^{-2})		Wheat density (plant m^{-2})		Ryegrass density reduction (%)		Ryegrass biomass (g m^{-2})		Ryegrass biomass reduction (%)	
	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht
Pyroxasulfone (150 g ha^{-1})	254 ^{bc*}	187 ^{bc}	13.5 ^{ab}	18.8 ^{c}	28.9 ^{e}	44.9 ^{e}	21.1 ^{b}	30.1 ^{bc}	37.2 ^{e}	49.3 ^{e}
Pyroxasulfone (200 g ha^{-1})	264.2 ^{ab}	190.2 ^{ab}	12 ^{b}	12.5 ^{d}	58.4 ^{c}	63.1 ^{d}	14.0 ^{c}	26.3 ^{cd}	53.3 ^{d}	56.4 ^{d}
Metribuzin (300 g ha^{-1})	262.2 ^{ab}	197.7 ^{ab}	14 ^{ab}	23 ^{b}	29.1 ^{e}	32.6 ^{f}	25.6 ^{ab}	33 ^{b}	27.9 ^{ef}	37.9 ^{fg}
Flumioxazin (150 g ha^{-1})	214.5 ^{d}	156.2 ^{ef}	12 ^{b}	21.5 ^{bc}	30.6 ^{e}	40.9 ^{e}	23.8 ^{b}	34.5 ^{b}	25.9 ^{f}	41.7 ^{f}
Metribuzin (400 g ha^{-1})	181.2 ^{e}	143.2 ^{fg}	7.7 ^{c}	13.8 ^{d}	56.7 ^{c}	63.7 ^{d}	14.6 ^{c}	22.3 ^{de}	54.7 ^{d}	62.4 ^{d}
Flumioxazin (100 g ha^{-1})	240.7 ^{c}	168.2 ^{de}	13.7 ^{ab}	27.5 ^{a}	25.6 ^{e}	27.4 ^{g}	30.1 ^{a}	49.3 ^{a}	19.5 ^{f}	27.33 ^{h}
Metribuzin (500 g ha^{-1})	160.2 ^{f}	137.5 ^{g}	7 ^{cd}	11.3 ^{de}	65.1 ^{b}	70.6 ^{c}	11.3 ^{cd}	15.7 ^{ef}	65.7 ^{c}	72.3 ^{c}
Pyroxasulfone (150 g ha^{-1}) + Metribuzin (300 g ha^{-1})	270.5 ^{ab}	198 ^{ab}	5 ^{d}	8.0 ^{e}	71.5 ^{b}	78.8 ^{b}	7.8 ^{d}	13.3 ^{f}	76.9 ^{b}	80.2 ^{b}
Othello (1.6 L ha^{-1})	238.2 ^{c}	175.7 ^{cd}	15.2 ^{a}	24.7 ^{ab}	26.9 ^{e}	25.9 ^{g}	25.9 ^{ab}	45.8 ^{a}	25.4 ^{f}	32.8 ^{gh}
Control (weeding)	281.5 ^{a}	204 ^{a}	0 ^{e}	0 ^{f}	100 ^{a}	100 ^{a}	0 ^{e}	0 ^{g}	100 ^{a}	100 ^{a}

* در هر ستون، میانگین‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند (LSD P≥ 0.01).

* In each column, means with the same letters are not significantly different at LSD P≥ 0.01.

جدول ٤- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تیمارهای علف‌کشی بر عملکرد بیولوژیک، عملکرد دانه و شاخص برداشت گندم در دو ایستگاه بایع‌کلا و گاودش‌ت

Table 4- Analysis of variance of the effect of herbicides on biological and grain yield, harvest index and biological and grain yield changes at Baykola and Gavdasht research station

S.O.V	df	Biological yield		Biological yield changes		Grain yield		Grain yield changes		Haivest index	
		Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht
Replication	3	228482.6	116635.0	0.6	45.4	115995.1	29115.8	17.4	72.1	2.4	13.9
Treatment	9	10365599.4**	2255154**	3.8**	333.5**	3770554.1**	892073.1**	313.5**	454.8**	68.2**	88.4**
Error	27	267118.3	80105.2	0.6	11.3	56490.8	36035.1	9.59	34.9	7.8	20.7
CV (%)		4.9	5.5	18.4	20.9	6.2	9. 8	13.5	20.5	7.8	12.2

**: significant difference at 1%

#: data exposed to radical transformation.

**: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

#: تبدیل داده جذری انجام شد.

جدول ٥- مقایسه میانگین اثر تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها بر عملکرد بیولوژیک، عماکرد دانه و شاخص برداشت گندم، و درصد تغییرات عملکرد بیولوژیک و دانه گندم در دو ایستگاه بایع‌کلا و گاودشت

Table 4- Mean comparison of the effect of herbicides on biological and grain yield, harvest index and biological and grain yield changes at Baykola and Gavdasht research station

Treatments	Biological yield (kg ha^{-1})		Biological yield changes (%)		Grain yield (kg ha^{-1})		Grain yield changes (%)		Harvest index (%)	
	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht	Baykola	Gavdasht
Pyroxasulfone (150 g ha^{-1})	11373 ^{b}	5411.5 ^{bc}	22.61 ^{abc}	12.35 ^{c}	4079.5 ^{c}	2027 ^{cd}	22.4 ^{d}	23.6 ^{cd}	35.9 ^{bc}	37.49 ^{bc}
Pyroxasulfone (200 g ha^{-1})	11659.6 ^{ab}	5754.8 ^{ab}	25.02 ^{ab}	20.54 ^{b}	4476.3 ^{b}	2211.3 ^{bc}	28.3 ^{c}	32.4 ^{b}	38.51 ^{ab}	38.65 ^{abc}
Metribuzin (300 g ha^{-1})	11373.5 ^{b}	5686.8 ^{ab}	23.68 ^{abc}	18.47 ^{b}	4110.3 ^{c}	2141.8 ^{bcd}	23.5 ^{d}	30 ^{bc}	36.13 ^{bc}	37.93 ^{abc}
Flumioxazin (150 g ha^{-1})	10043.9 ^{c}	4897 ^{d}	11.99 ^{d}	0.87 ^{d}	3345 ^{e}	1672.5 ^{ef}	9.6 ^{f}	13.1 ^{e}	33.27 ^{c}	34.21 ^{c}
Metribuzin (400 g ha^{-1})	8240 ^{d}	4120 ^{e}	-4.42 ^{e}	-13.68 ^{e}	2788.3 ^{f}	1555.8 ^{f}	-13.8 ^{g}	-9.9 ^{f}	33.88 ^{c}	37.84 ^{abc}
Flumioxazin (100 g ha^{-1})	10287.4 ^{c}	5018.7 ^{cd}	14.71 ^{cd}	4.19 ^{d}	3680.8 ^{de}	1901.8 ^{de}	14.5 ^{e}	18.7 ^{de}	35.9 ^{bc}	37.88 ^{abc}
Metribuzin (500 g ha^{-1})	7414.9 ^{e}	3707.4 ^{f}	-17.98 ^{f}	-28.56 ^{f}	1944.5 ^{g}	959.8 ^{g}	-33.1 ^{h}	-37.1 ^{g}	26.45 ^{d}	36.13 ^{d}
Pyroxasulfone (150 g ha^{-1}) + Metribuzin (300 gha^{-1})	11847.7 ^{ab}	5636.4 ^{b}	25.94 ^{ab}	22.22 ^{ab}	4594.5 ^{b}	2307.3 ^{b}	40.4 ^{b}	42.8 ^{a}	38.77 ^{ab}	41.03 ^{ab}
Othello (1.6 L ha^{-1})	10555.7 ^{c}	5152.8 ^{cd}	17.6 ^{bcd}	12.25 ^{c}	3769.8 ^{cd}	1938.5 ^{cde}	17.7 ^{e}	24.2 ^{cd}	35.76 ^{bc}	37.5 ^{abc}
Control (weeding)	12439.1 ^{a}	6094.6 ^{a}	29.23 ^{a}	27.23 ^{a}	5243 ^{a}	2694.3 ^{a}	45.1 ^{a}	48.4 ^{a}	42.13 ^{a}	44.21 ^{a}

* در هر ستون، میانگین‌های مربوط به هر تیمار با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند (LSD P≥ 0.01).

* In each column, means with the same letters are not significantly different at LSD P≥ 0.01.

نتایج ماهاجان و چوهان (Mahajan & Chauhan, 2024) نیز نشان دادند که کاربرد علف‌کش پندیمتالین، زیست‌توده *L. rigidum* را کاهش داد و در نتیجه به افزایش عملکرد گندم و جو در مقایسه با برخی علف‌کش‌های برگ مصرف کمک کرد. مهار مؤثر علف‌های هرز، به‌ویژه در مراحل اولیه رشد به‌وسیله علف‌کش‌های پیش‌رویشی، به گندم اجازه می‌دهد تا با دسترسی بهتر به نور خورشید، مواد مغذی و آب رشد کنند و منجر به افزایش عملکرد دانه شوند.

نتایج این آزمایش نشان داد که با افزایش میزان علف‌کش متری‌بیوزین از ۳۰۰ گرم در هکتار به ۴۰۰ و ۵۰۰ گرم در هکتار، میزان عملکرد دانه روند کاهشی داشت، زیرا میزان ۴۰۰ گرم در هکتار و ۵۰۰ گرم در هکتار این علف‌کش روی گندم ایجاد خسارت نمود و باعث کاهش تراکم گندم در واحد سطح شد. به همین خاطر این دو تیمار نسبت به نیم کرت شاهد هم که در آن‌ها مهار علف هرز صورت نگرفت، عملکرد کمتری را داشتند و به‌ترتیب موجب کاهش ۱۳/۸ و ۳۳/۱ درصدی عملکرد دانه نسبت به نیم کرت شاهد شدند.

نتایج مقایسه میانگین ایستگاه گاودشت نشان داد که پس از تیمار شاهد وجین، تیمار ترکیبی استفاده از علف‌کش‌های پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار با ۴۲/۸ درصد افزایش عملکرد نسبت به نیم کرت شاهد برتر از سایر تیمارها بود و با تیمار شاهد وجین نیز اختلاف معنی‌داری نداشت. تیمار پیروکساسولفون ۲۰۰ گرم در هکتار نیز عملکرد دانه گندم را ۳۲/۴ درصد نسبت به نیم کرت شاهد افزایش داد. تیمارهای متری‌بیوزین ۴۰۰ گرم در هکتار و ۵۰۰ گرم در هکتار در این ایستگاه نیز علی‌رغم مهار مناسب علف هرز چچم موجب افت ۹/۹ و ۳۷/۱ درصدی عملکرد دانه گندم نسبت به نیم کرت شاهد شدند (جدول ۵). تأثیر استفاده از علف‌کش‌های خاک‌مصرف و پیش‌رویشی روی عملکرد گندم تحت تأثیر میزان موفقیت این نوع علف‌کش‌ها در مهار علف‌های هرز و همچنین نوع علف هرز قرار دارد (Pacanoski & Mehmeti, 2018). علاوه‌بر این در پژوهش‌های مختلف نشان داده شده است که تأثیر علف‌کش‌های خاک‌مصرف و پیش‌رویشی روی عملکرد گندم تحت تأثیر میزان خسارت و آسیب‌دیدگی گندم به‌وسیله این علف‌کش‌ها نیز قرار دارد (Gitsopoulos et al., 2024). همچنین عبداله و همکاران (Abdallah et al., 2021) گزارش کردند که اثربخشی علف‌کش‌های قبل از سبز شدن می‌تواند بسته به نوع و بافت خاک متفاوت باشد. نتایج جیتسوپولوس و همکاران (Gitsopoulos et al., 2024) نشان داد که مصرف علف‌کش‌های پروسولفوکارب، دیفلوفنیکان و کلروتولورون در مقایسه با شرایط عاری از علف هرز و شاهد بدون علف هرز سبب کاهش عملکرد گندم شد. این کاهش عملکرد بیشتر از طریق آسیب به گیاهچه گندم توسط این علف‌کش‌ها و در نتیجه کاهش تراکم حاصل شد.

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که در هر دو ایستگاه، تیمارهای کاربرد علف‌کش‌ها بر شاخص برداشت گندم نیز تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۴). مقایسه میانگین اثر علف‌کش‌ها بر شاخص برداشت گندم در هر دو ایستگاه نشان داد که شاهد وجین بیشترین و تیمار علف‌کش متری‌بیوزین ۵۰۰ گرم در هکتار با ۲۶/۴ درصد کمترین میزان شاخص برداشت را داشتند. شاخص برداشت نسبت عملکرد دانه به بیولوژیک می‌باشد، به همین دلیل حتی در تیمارهایی که در اثر مصرف علف‌کش خسارت دیدند، شاخص برداشت بالا بود. زیرا علاوه‌بر کاهش عملکرد دانه، کاهش عملکرد بیولوژیک را هم در آن‌ها شاهد بودیم که در نتیجه شاخص برداشت مانند سایر صفات بررسی‌شده اثرات منفی علف‌کش‌ها را نشان نداد (جدول ۵). نتایج خیرکار (Khairkar et al., 2020) نشان داد که در تیمارهایی که از علف‌کش پندیمتالین به‌صورت پیش‌رویشی استفاده شده بود، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت گندم در مقایسه با بقیه تیمارها بیشتر بود. نتایج خوز (Khose, 2020) نیز نشان داد که کاربرد علف‌کش‌های متری‌بیوزین و پندیمتالین کارآیی بیشتری در مهار علف‌های هرز داشتند و توانستند عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک گندم را در مقایسه با دیگر علف‌کش‌های پس-رویشی مورد استفاده به‌میزان بیشتری افزایش دهند.

نتیجه‌گیری

علف‌کش پیروکساسولفون به‌میزان ۲۰۰ گرم در هکتار توانست ۶۰ درصد علف هرز چچم را مهار کند و موجب افزایش ۲۸ تا ۳۲ درصدی عملکرد دانه گندم در دو ایستگاه مورد آزمایش شود. علف‌کش متری‌بیوزین با میزان ۳۰۰ گرم در هکتار نیز بدون ایجاد اثر سوء بر گندم توانست با کاهش حدود ۳۰ درصدی تراکم چچم عملکرد دانه را در این دو ایستگاه ۲۳ و ۳۰ درصد افزایش دهد. افزایش میزان علف‌کش متری‌بیوزین در هر دو ایستگاه موجب خسارت به گندم شد. بهترین تیمار برای مهار علف هرز چچم، کاربرد ترکیبی دو علف‌کش پیروکساسولفون ۱۵۰ گرم در هکتار + متری‌بیوزین ۳۰۰ گرم در هکتار بود که علاوه‌بر مهار مناسب علف هرز چچم، توانست عملکرد دانه گندم را بیش از ۴۰ و ۴۲ درصد در ایستگاه‌های بایعکلا و گاودشت افزایش دهد، بدون اینکه تنش و اثر سوئی بر گندم وارد کند. استفاده از علف‌کش‌های پیش‌رویشی و تناوب در استفاده از آن‌ها با علف‌کش‌های پس‌رویشی می‌تواند برای مهار چچم در مزارع گندم و همچنین کاهش احتمال مقاومت به علف‌کش در آینده مناسب باشد. بارندگی‌های شدید پس از علف‌کش قبل از رویش و دمای پایین منجر به آسیب به گیاهچه‌های گندم و کاهش عملکرد در ایستگاه گاودشت شد. بنابراین، تحقیقات بیشتری برای بررسی راه‌های جلوگیری از آسیب به گندم در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای، که می‌تواند گاهی اوقات در اثر باران شدید یا آبیاری و

درجه حرارت کم ایجاد شود، مورد نیاز است.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کلیه کارشناسان و تکنسین‌های ایستگاه‌های تحقیقات کشاورزی مرکز تحقیقات کشاورزی مازندران واقع در گاودشت و بایعکلا که در مراحل مختلف این تحقیق همکاری نمودند، کمال تشکر را داریم.

References

1. Abdallah, I. S., Atia, M. A. M., Nasrallah, A. K., El-Beltagi, H. S., Kabil, F. F., El-Mogy, M. M., & Abdeldaym, E. A. (2021). Effect of new pre-emergence herbicides on quality and yield of potato and its associated weeds. *Sustainability*, *13*(17), 9796. https://doi.org/10.3390/su13179796
2. Anonymous. (2017). Zidua Herbicide Supplemental Label. Research Triangle Park, NC, BASF Corporation.
3. Beckie, H. J., & Jasieniuk, M. (2021). Biology and Management of Problematic Crop Weed Species. Chapter 12 - *Lolium rigidum* and *Lolium multiflorum*. p. 261-283. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822917-0.00017-3
4. Delchev, G. (2022). Sowing characteristics of the durum wheat seeds (*Triticum durum* Desf.) by use of some antigraminaceous and combined herbicides. *Agricultural Science and Technology*, *14*, 54–59. https://doi.org/10.15547/ast.2022.01.008
5. Colbach, N., Darmency, H., Fernier, A., Granger, S., Le Corre, V., & Messéan, A. (2017). Simulating changes in cropping practices in conventional and glyphosate-resistant maize. II. Weed impacts on crop production and biodiversity. *Environmental Science and Pollution Research*, *24*(14), 13121-13135. https://doi.org/10.1007/s11356-017-8796-9
6. FAO. (2022). FAOSTAT. Statistical Databases. Food and Agriculture Organization of the United Nations. http:/www.fao.org
7. Gitsopoulos, T., Georgoulas, I., Botsoglou, D., & Vazanelli, E. (2024). Response of wheat to pre-emergence and early post-emergence herbicides. *Agronomy*, *14*(8), 1875. https://doi.org/10.3390/agronomy14081875
8. Goggin, D. E., Powles, S. B., & Steadman, K. J. (2022). Understanding *Lolium rigidum* seeds: The key to managing a problem weed. *Agronomy*, *2*, 222-239. https://doi.org/10.3390/agronomy2030222
9. Heap, I. M. (2023). International Herbicide-Resistant Weed Database. http://www.weedscience. Org.
10. Idziak, R., Waligóra, H., Majchrzak, L. M., & Szulc, P. (2024). Multifunctional adjuvants affect sulfonylureas with synthetic auxin mixture in weed and maize grain yield. *Plants*, *13*, 1480 https://doi.org/10.3390/plants13111480
11. Khairkar, A. K., Kumar, S., Gawali, K., Kalmegh, J., Sarda, A., & Nagmote, A. (2020). Effect of pre and post emergence herbicides on growth, yield and economics of wheat. *International Journal of Chemical Studies*, *8*, 2649-2652. https://doi.org/10.22271/chemi.2020.V8.I5AJ.10731
12. Khose, P., (2020). Efficacy of pre and post-emergence herbicides on growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under Doon Valley of Uttarakhand. *International Journal of Agricultural and Applied Sciences*, *2*, 109-114.
13. Kumar, L., Singh, P. K., Alam, M. S., & Ujjwal, A. (2021). Herbicides combinations for sustainable weed management on complex weed flora in dry and irrigated direct seeded rice: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *10*(1), 2539-2544.
14. Lemerle, D., Lockley, P., Koetz, E., & Diffey, S. (2013). Herbicide efficacy for control of annual ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud.) is influenced more by wheat seeding rate than row spacing. *Crop and Pasture Science*, *64*, 708715. https://doi.org/10.1071/CP13211
15. Lotfi Mavi, F., Baghestani, M. A., Zand, A., & Khalaj, A. (2015). Evaluation of the efficacy of the new herbicide Othello (Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium + Diflufenican + Mefenpyrdiathyl) on weed control in wheat fields. The 6th Iranian Weed Science Conference, Birjand, September 10-12, pp. 1153-1157. (in Persian).
16. Mahajan, G., & Chauhan, B. S. (2024). Novel use pattern of pendimethalin for annual ryegrass (*Lolium rigidum* Gaudin) control in wheat and barley. *Frontier Agronomy*, *5*, 1341880. https://doi.org/10.3389/fagro.2023.1341880
17. Mamnoie, E., Karminijad, M. R., Barjasteh, A., Haghighi, A., Minbashi Moeini, M., & Askari Golestani, A. (2023). Efficacy of dual-purpose herbicides Axial One (Pinoxaden + Flurosulamide) and Kasik (Diflufenican + Iodosulfuron methyl sodium + Flurosulamide) compared to common herbicides in controlling wheat weeds (*Triticum aestivum*). *Iranian Plant Protection Research*, *37*, 455-469. (in Persian).
18. Mamnoie, E., Minbashi, M., Mojab, M., Karaminejad, M., Ariyafar, A., Esmaeili, A., & Din-Ghazli, F. (2024). Management of Hard Rye Weeds in Wheat Fields. Technical Publication, Agricultural Research, Education and Extension Organization, 33 p. (in Persian).
19. Mansourian, S., Mohammad Alizadeh, H., & Zand, E. (2008). Effect of dose and application time of metribuzin on grain yield of different wheat varieties. *Iranian Journal of Weed Science*, *4*, 65-75. (in Persian).
20. Mousavi, S. K., Nooralizadeh Otaqsara, M., Younesabadi, M., & Sharifi Ziveh, P. (2020). Efficacy of the herbicides Pyroxasulfone and Flumioxazine in controlling soybean weeds. Final Report of the Research Project, Agricultural Research, Education and Extension Organization Publications, 26 p. (In Persian).

21. Nooralizadeh Otaqsara, M. (2021). Investigating the efficacy of Flumioxazine herbicide in controlling soybean weeds. Final Report of the Research Project, Agricultural Research, Education and Extension Organization Publications, 28 p. (In Persian).
22. Nooralizadeh Otaqsara, M., & Fallahi, H. (2021). Factors affecting the increase of wheat production by weed management. *Moravej Mazandaran Journal*, *105*, 1-4. (in Persian).
23. Pacanoski, Z., & Mehmeti, A. (2018). Post herbicide programme for effective weed control in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agronomy Research*, *16*, 1796-1808. https://doi.org/10.15159/AR.18.177
24. Pesticide Manual Book. (2021). Nineteenth Edition. British Crop Production Council. UK.
25. Pour Heydar Ghaffari, S., Najafi, H., & Ghahremanian, G. (2024). The effect of soil-applied herbicides on weeds and grain yield of rainfed wheat in cold regions. 25th Iranian Plant Protection Conference (2024), Tehran, Iran. (in Persian).
26. Pourreza, J. (2017). Evaluating the wheat (*Triticum aestivum*) yield loss caused by wild oat (*Avena fatua*) interference at nitrogen different levels. *Iranian Journal of Plant Production*, *40*, 41-52. (in Persian). https://doi.org/10.22055/ppd.2017.18933.1372
27. Ramesh, K., Matloob, A., Aslam, F., Florentine, S. K., & Chauhan, B. S. (2017). Weeds in a changing climate: Vulnerabilities, consequences, and implications for future weed management. *Frontier in Plant Science*, *8*, 95. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00095
28. Sabet Zanganeh, H., Mohammad Dost Chamanabad, H. R., Zand, E., Asghar, A., & Alemi Saeed, K. (2015). Study of resistance of ryegrass (*Lolium rigidum*) to herbicides clodinafop propargyl and pinoxaden. The 6th Iranian Weed Science Conference, Birjand, September 10-12, p. 1164-1167. (in Persian).
29. Sharma, S., Tomar, V., Tiwari, N. K., Behl, R. K., Sharma, P. K., Singh, J., & Kamboj, M. (2024). The effect of pre and post-emergence herbicide application on the growth and yield of late-sown wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Research in Agronomy*, *7*(6), 711-714. https://doi.org/10.33545/2618060X.2024.v7.i6j.953
30. Sharifi Ziveh, P. (2014). Evaluating the efficacy of the new herbicide Othello (Mesosulfuron-methyl + Iodosulfuron-methyl sodium + Diflufenican + Mefenpyrdiathyl) on weed control in wheat fields. Final Report of the Research Project, Agricultural Research, Education and Extension Organization Publications, 25 p. (In Persian).
31. Tomilin, C. D. .(2004) . The pesticide manual. Bcpc (British crop protection council) .1399 p.

Contents

The Effect of Methoxyfenozide 30% + Indoxacarb 10% (Metin SC 48%) Against Codling Moth, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) 637
Ali Mohammadipour, Farnaz Seyyedi Sahebari, Zarir Saeidi

Study of the Production of Spores of the Pathogenic Fungus *Beauveria bassiana* in Liquid and Solid Culture Media and Evaluation of Its Pathogenicity to the Rice Stem Borer (*Chilo suppressalis*) *in vitro* 649
Farzad Majidi-Shilsar

Evaluation of the Fumigant Toxicity of Pennyroyal (*Mentha longifolia*) Essential Oil against Adults of the Dried-Fruit Beetle *Carpophilus hemipterus* (Coleoptera: Nitidulidae) 665
Rezvan Niknafs, Kamal Ahmadi

The Effect of Several Commercial Biological and Chemical Compounds on Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) and Growth Indices of Kiwifruit Trees (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson) 677
Reza Ahmadpanah, Salar Jamali, Seyed Mohsen Nassaj Hosseini, Seyade Negin Mirghasemi

Investigating of the Pyocyanin Effect in Controlling Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Root and Crown Rot Disease Caused by *Rhizoctonia solani* 689
Arefe Rahimi, Saeed Tarighi, Parisa Taheri

Morphological and Molecular Study of Four Species of the Genus *Xiphinema* Cobb, 1913 (Nematoda: Longidoridae) and the Possibility of Sexual Reproduction in *X. index* Thorne & Allen 1950 705
Arezoo Naghavi, Gholamreza Niknam

Comparison of Wild Mustard (*Sinapis arvensis* L.) Seedling Establishment Success in Two Populations with Different Management Backgrounds: Soil Texture and Seed Burial Depth 723
Rafat Hassani Nasab Farzaneh, Ahmad Tobeh, Rasoul Fakhari, Mohammad Ahmadi

Comparative Study of the Effect of Some Pre-emergence Herbicides with Mesosulfuron + Iodosulfuron + Diflufenican (Othello) in Ryegrass (*Lolium rigidum* Gaudin.) Control and Wheat (*Triticum aestivum* L.) Yield 737
Narges Keshavarz Mollae, Mohammad Rezvani, Hamid Salehian, Morteza Noralizadeh Otaqsara

Iranian Plant Protection Research

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol . 40 **No. 3** **2026**

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

Editor in charge: Valizadeh, R. (Ruminant Nutrition) Prof. Ferdowsi University of Mashhad

General Chief Editor: Sadeghi Nameghi, H. (Entomology) Prof. Ferdowsi University of Mashhad

Editorial Board:

Izadi Darbandi, E.	Weed Science	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Etesami, H	Soil biology and biotechnology	Asso. Prof. University of Tehran.
Baghaee Ravari ,S	Plant Pathology	Prof. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Pourjam, E.	Plant Pathology	Prof. Tarbiat Modarres University.
Hosseini, M.	Agricultural Entomology	Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Hajiboland, R	Plant physiology	Prof. University of Tabriz
Khodaparast, S. A.	Mycology	Prof. University of Guilan
Rastgoo, M.	Weed Science	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Rashed- Mohassel, M.H.	Weed Science	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Sharifnabi, B	Plant Pathology	Prof. Isfahan University of Technology
Saberi riseh, R	Plant Pathology	Prof. Vali Asr University of Rafsanjan
Sadeghi Namaghi, H.	Agricultural Entomology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Saboori, A.	Agricultural Entomology	Prof.Tehran University
Karim Mojeni ,H	Production and Plant Genetics	Asso. Prof. Isfahan University of Technology
Karimi, J	Agricultural Entomology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Marashi, S.H.	Biotechnology & Plant Breeding	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Mosallanejad, H	Entomolog	Asso. Prof. of Research. Iranian Research Institute of Plant Protection (IRIPP)
Masumi, H	Plant Virology	Prof. Shahid Bahonar University of Kerman
Mahdikhani Moghadam, E	Plant Pathology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Mehrvar, M	Plant Virology	Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Tarasco, Estacu	Entomology	Asso. Prof. University of Bari Aldo Moro - Italia Assistant prof. Erzurum Teknik University
Rashed- Mohassel, A.	Insect Ecology	Post-Doctoral Research Associate ,Texas A&M AgriLife Extension Service
Derviş, Sibel	Plant Pathology	Prof. Artoklomardin University, Türkiye
Lahlali, Rachid	Phytopathology & Microbiology	Asso. Prof. National School of Agriculture of Meknes (ENAM), Morocco
Vera Cruz, Casiana	Plant Pathology	Prof. International Rice Research InstituteThis link is disabled., Makati, Philippines

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

Iranian Plant Protection Research

Vol.40 No.3

2026

Contents

The Effect of Methoxyfenozide 30% + Indoxacarb 10% (Metin SC 48%) Against Codling Moth, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) 637
Ali Mohammadipour, Farnaz Seyyedi Sahebari, Zarir Saeidi

Study of the Production of Spores of the Pathogenic Fungus *Beauveria bassiana* in Liquid and Solid Culture Media and Evaluation of Its Pathogenicity to the Rice Stem Borer (*Chilo suppressalis*) *in vitro* 649
Farzad Majidi-Shilsar

Evaluation of the Fumigant Toxicity of Pennyroyal (*Mentha longifolia*) Essential Oil against Adults of the Dried-Fruit Beetle *Carpophilus hemipterus* (Coleoptera: Nitidulidae) 665
Rezvan Niknafs, Kamal Ahmadi

The Effect of Several Commercial Biological and Chemical Compounds on Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) and Growth Indices of Kiwifruit Trees (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F.Liang & A.R.Ferguson) 677
Reza Ahmadpanah, Salar Jamali, Seyed Mohsen Nassaj Hosseini, Seyade Negin Mirghasemi

Investigating of the Pyocyanin Effect in Controlling Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Root and Crown Rot Disease Caused by *Rhizoctonia solani* 689
Arefe Rahimi, Saeed Tarighi, Parisa Taheri

Morphological and Molecular Study of Four Species of the Genus *Xiphinema* Cobb, 1913 (Nematoda: Longidoridae) and the Possibility of Sexual Reproduction in *X. index* Thorne & Allen 1950 705
Arezoo Naghavi, Gholamreza Niknam

Comparison of Wild Mustard (*Sinapis arvensis* L.) Seedling Establishment Success in Two Populations with Different Management Backgrounds: Soil Texture and Seed Burial Depth 723
Rafat Hassani Nasab Farzaneh, Ahmad Tobeh, Rasoul Fakhari, Mohammad Ahmadi

Comparative Study of the Effect of Some Pre-emergence Herbicides with Mesosulfuron + Iodosulfuron + Diflufenican (Othello) in Ryegrass (*Lolium rigidum* Gaudin.) Control and Wheat (*Triticum aestivum* L.) Yield 737
Narges Keshavarz Mollae, Mohammad Rezvani, Hamid Salehian, Morteza Noralizadeh Otaqsara