



فهرست مقالات

- ۳۳۱ بررسی قارچ‌های عامل و همراه بیماری لکه‌برگی گیاه گل نرگس در استان خراسان جنوبی
سعیده تنولی حبیبی - مهدی جهانزاد - مهدی محمودی - محمدرضا میرزایی
- ۳۳۹ مقایسه غلایب، تعیین توانایی کامل و تحلیل فیلولزتیکی جدایه‌های ویروس نریسترای مرکبات از استان‌های مازندران و فارس
ندا روحانی - محمد زکی علی - محسن مهرورز
- ۳۶۱ تأثیر مکمل غذایی بر چند ویژگی فیزیولوژیک و زیست‌شناختی سن نواری چتریان *Graphosoma lineatum* L.
رضا فرشاد پورآباد - حابه اسپرانی اسدی - دانه محمدی
- ۳۷۷ انگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف زبسی سنگ عتاب *Monosteira alticarinata* (Hemiptera: Tingidae) در شهرستان بیرجند
سیده آسبه لطفی مقدم - حسین صادقی نامقی - سعید مودی
- ۳۹۱ ارزیابی کارایی فرمولاسیون میکروکپسول سنتز شده علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین در کنترل علف‌های هرز دهری و تاج‌خروس در شرایط گلخانه
احمد رهبری - ابراهیم ایزدی درندی - محمد حسن راشد محصل - غلامحسین ظهوری - اسکندر زند
- ۳۰۳ تأثیر مدت‌زمان تداخل بین گونه‌ای و تعیین دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز در نمناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)
امیرحسین لادمنی زاده - امیرا محمدوند - جعفر اسمعیلی
- ۳۱۷ اثر متقابل نوع مویان آرگانوسلیکونی و حجم پاشش بر کارایی دی‌کلوفوپ-متیل در کنترل یولاف وحشی زمستانه
اکبر علی‌وردی - سمیرا کریمی
- ۳۲۹ رقابت بین ماش و تاج‌خروس ریشه فرمز تحت شرایط گرد و خاک
معصومه سادات موسوی - طاهره تاب - سیمه حاجی‌بابا

نشریه پژوهش های حفاظت گیاهان ایران

(علوم و صنایع کشاورزی)

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

پاییز ۱۴۰۲

شماره ۳

جلد ۳۷

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

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد

مدیر مسئول: رضا ولی زاده

سر دبیر: عصمت مهدیخانی مقدم

اعضای هیئت تحریریه:

ایزدی دربندی، ابراهیم

استاد- علوم علف های هرز (دانشگاه فردوسی مشهد)

بقائی راوری، ساره

دانشیار- بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)

پور جم، ابراهیم

استاد- بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه تربیت مدرس تهران)

حسینی، مجتبی

دانشیار- حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)

راشد محصل، محمد حسن

استاد- علوم علف های هرز (دانشگاه فردوسی مشهد)

راشد محصل، آرش

محقق، اکولوژی حشرات، تگزاس

راضی، هومن

دانشیار- ژنتیک مولکولی (دانشگاه شیراز)

رجائی، حسین

حشره شناس، مدیر کلکسیون بالپولکداران، موزه ایالتی تاریخ طبیعی اشتوتگارت (آلمان)

صادقی نامقی، حسین

استاد- حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه فردوسی مشهد)

صبوری، علیرضا

استاد- حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه تهران)

صحراگرد، احد

استاد- حشره شناسی کشاورزی (دانشگاه گیلان)

کریم مجنی، حسن

دانشیار- تولید و ژنتیک گیاهی (دانشگاه صنعتی اصفهان)

مرعشی، سید حسن

استاد - بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)

مهدیخانی مقدم، عصمت

استاد- بیماری شناسی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)

ناشر: دانشگاه فردوسی مشهد

نشانی: مشهد- کد پستی ۹۱۷۷۵ صندوق پستی ۱۱۶۳

دانشکده کشاورزی _ دبیرخانه نشریات علمی

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

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

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

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

- ۲۳۱ بررسی قارچ‌های عامل و همراه بیماری لکه‌برگی گیاه گل نرگس در استان خراسان جنوبی
سعیده متولی حبیبی - مهدی جهانی - هادی محمودی - محمدرضا میرزائی
- ۲۳۹ مقایسه علایم، تعیین توالی کامل و تحلیل فیلوژنتیکی جدایه‌های ویروس تریستزای مرکبات از استان‌های مازندران و فارس
ندا روحانی - محمد زکی عقل - محسن مهرور
- ۲۶۱ تأثیر مکمل غذایی بر چند ویژگی فیزیولوژیک و زیست‌شناختی سن نواری چتریان، *Graphosoma lineatum* L.
رضا فرشایف پورآباد - هانیه اسپرانی اسدی - داود محمدی
- ۲۷۷ الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف زیستی سنک عناب (*Monosteira alticarinata* (Hemiptera: Tingidae) در شهرستان
بیرجند
سیده آسیه نطقی مقدم - حسین صادقی نامقی - سعید مودی
- ۲۹۱ ارزیابی کارایی فرمولاسیون میکروکپسول سنتز شده علف‌کش‌های ای پی تی سی و تریفلورالین در کنترل علف‌های هرز دم‌روباهی و
تاج‌خروس در شرایط گلخانه
احمد رهبری - ابراهیم ایزدی دربندی - محمد حسن راشد محصل - غلامحسین ظهوری - اسکندر زند
- ۳۰۳ تأثیر مدت‌زمان تداخل بین‌گونه‌ای و تعیین دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز در نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.)
امیرحسین لادمخی نژاد - المیرا محمدوند - جعفر اصغری
- ۳۱۷ اثر متقابل نوع مویان آرگانوسیلیکونی و حجم پاشش بر کارایی دیکلوفوپ-متیل در کنترل یولاف وحشی زمستانه
اکبر علی‌وردی - سمیرا کرمی
- ۳۲۹ رقابت بین ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز تحت شرایط گرد و خاک
معصومه سادات موسوی - علیرضا تاب - سمیه حاجی‌نیا



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

S. Motavalli Habibi¹, M. Jahani^{2*}, H. Mahmoudi³, M.R. Mirzaee⁴

Received: 23-05-2022

Revised: 28-08-2023

Accepted: 01-10-2023

Available Online: 01-10-2023

How to cite this article:

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

Introduction

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

Materials and Methods

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

Results and Discussion

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

1 and 2- M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: mjahani@birjand.ac.ir)

3 and 4- Researcher and Assistant Professor of Plant Protection Research Section of Agricultural and Natural Research and Education Center of South Khorasan Province, Birjand, Iran, respectively.

<https://doi.org/10.22067/jpp.2023.76784.1094>

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

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

Keywords: Narcissus, Pathogenic fungus, *Phoma narcissi*

مقاله کوتاه پژوهشی

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

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

سعیده متولی حبیبی^۱ - مهدی جهانی^۲  - هادی محمودی^۳ - محمدرضا میرزائی^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۶/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۹

چکیده

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

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

مقدمه

نرگس با نام علمی *Narcissus tazetta* از تیره Amaryllidaceae گیاهی چندساله و جزء محصولات پیازدار زینتی محسوب می‌شود. ۳۲ هکتار از اراضی استان خراسان جنوبی زیر کشت گل نرگس بوده و بیشترین سطح زیر کشت در استان به ترتیب مربوط به شهرستان خوسف با سطح ۲۱ هکتار و طبس با سطح ۱۱

هکتار است (Agricultural jihad of southern Khorasan, 2019).

یکی از عوامل مهم در کاهش کمی و کیفی گل نرگس بیماری‌های قارچی است. بیماری‌های قارچی ناشی از *Fusarium Botrytis narcissicola oxysporum* f.sp. *narcissi*، *Botryotinia polyblastis*، *Ramularia vallisumbrosae* و *Stagonospora curtisii* از جمله بیماری‌های مهم نرگس در مناطق مختلف جهان می‌باشند (Taylor Hanks and Chastagner et al., 2019). در ایران گونه

Stagonospora curtisii بر اساس خصوصیات مرفولوژیک به عنوان عامل لکه‌برگی از مزارع نرگس بهبهان گزارش شده است (Mohammadi et al., 2004). در سال ۱۳۹۷ علائم لکه‌برگی در مزارع گل نرگس در برخی از مناطق کاشت این گیاه در استان خراسان جنوبی مشاهده شد. از آنجایی که شناسایی عامل بیماری

۱ و ۲- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

(*)- نویسنده مسئول: (Email: mjahani@birjand.ac.ir)

۳ و ۴- به ترتیب پژوهشگر و استادیار بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان جنوبی بیرجند-ایران

<https://doi.org/10.22067/jpp.2023.76784.1094>

لکه‌برگی جمع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق ۲۰ جدایه قارچی از بافت‌های برگ‌های گیاهان دارای علائم لکه‌برگی جداسازی گردید. علائم بیماری لکه‌برگی گل‌نرگس در مناطق نمونه‌برداری شده شامل لکه‌های کشیده، بیضوی، دایره‌ای قرمز تا قهوه‌ای روی برگ بود که در مواردی برگ‌ها از محل لکه دچار تاخوردگی شده و کاملاً زرد شده بودند (شکل ۱).

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

خصوصیات گونه *Phoma narcissi*

مشخصات ظاهری قارچ روی محیط کشت PDA: میزان رشد این گونه روی محیط PDA نسبتاً سریع بوده و میانگین سرعت رشد بعد از ۷ روز ۶/۶ سانتی‌متر روی محیط PDA و ۸ سانتی‌متر روی محیط OA بود. پرگنه‌ها از سطح رویی محیط PDA و OA تیره و از پشت پتری‌دیش خاکستری تیره با حاشیه سیاه رنگ است. میسلیم هوایی به صورت متراکم، کرکی یا پشم مانند است و به رنگ‌های سفید، سبز مایل به خاکستری و دودی خاکستری رنگ مشاهده گردید. در این گونه بعد از ۷ روز پیکنید به فراوانی مشاهده شد. پیکنیدها (۵۰-۳۵) × (۱۷/۴۵-۱۱/۲۵)، تیره، منفرد و به تعداد زیاد در محیط کشت PDA تولید شد. پیکنیدوسپورها شفاف، اکثراً تک سلولی (۳-۴*۵-۷) در مواردی دو سلولی (۵.۸ * ۱۵-۱۱.۵)، گرد تا بیضی شکل و خمیده بودند. کلایمیدوسپورها ۸-۱۵ میکرومتر، قهوه‌ای تیره، یک و چندسلولی به صورت بین سلولی و به ندرت انتهایی مشاهده شد (شکل ۲). با توجه به صفات ریخت‌شناسی و بر اساس توصیف بورما (Borema, 1993). این جدایه‌ها به عنوان گونه *Phoma narcissi* شناسایی شد.

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

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

مواد و روش‌ها

جداسازی و شناسایی عوامل بیمارگر

نمونه‌برداری در سال‌های ۹۹-۹۷ در دو منطقه خوسف و طبس در استان خراسان جنوبی انجام گرفت. برای جداسازی عامل بیماری، از برگ‌های دارای علائم لکه‌برگی، بخش کوچک حدفاصل بخش آلوده و سالم جدا و به مدت ۵ دقیقه زیر جریان ملایم شیر آب شست و سپس از حدفاصل بافت سالم و آلوده قطعات ۱ سانتی‌متری برش داده شد. نمونه‌ها در محلول نیم درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی سطحی و پس از شستشو با آب مقطر سترون روی سیب زمینی-دکستروز-آگار کشت داده شد. برای شناسایی مولکولی ناحیه ژنی ITS^۱ با استفاده از آغازگرهای ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) و ITS5 (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) تکثیر شد و درخت فیلوژنی مبتنی بر توالی این ناحیه با استفاده از روش بیشینه درست نمایی^۲ با نرم‌افزار MEGA ver.6.0 ترسیم شد (Tamura et al., 2013).

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

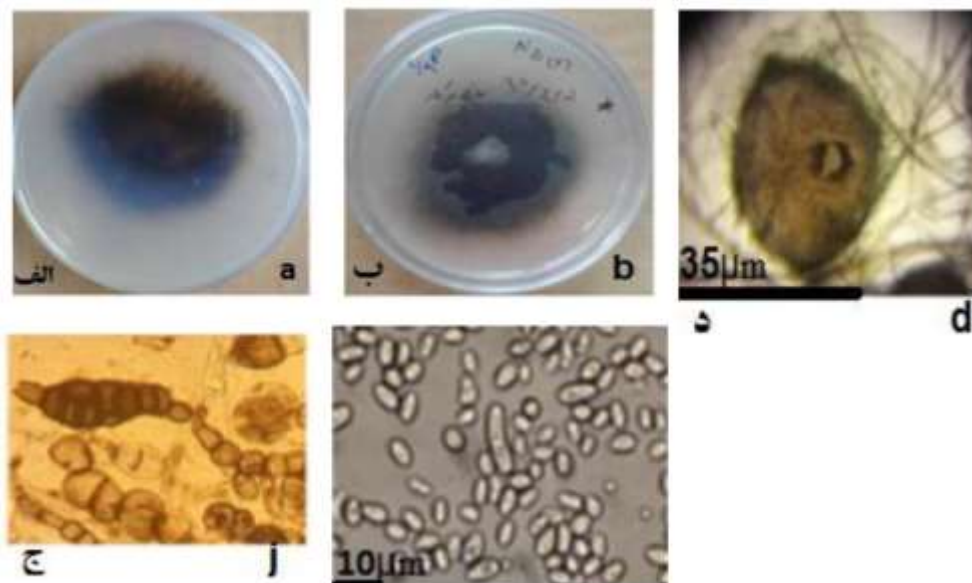
نتایج و بحث

در نمونه‌برداری از دو منطقه عمده کاشت گل‌نرگس (خوسف و طبس) در استان خراسان جنوبی، مجموعاً ۵۰ نمونه از علائم متفاوت

1- Internal transcribed spacer
2- Maximum likelihood

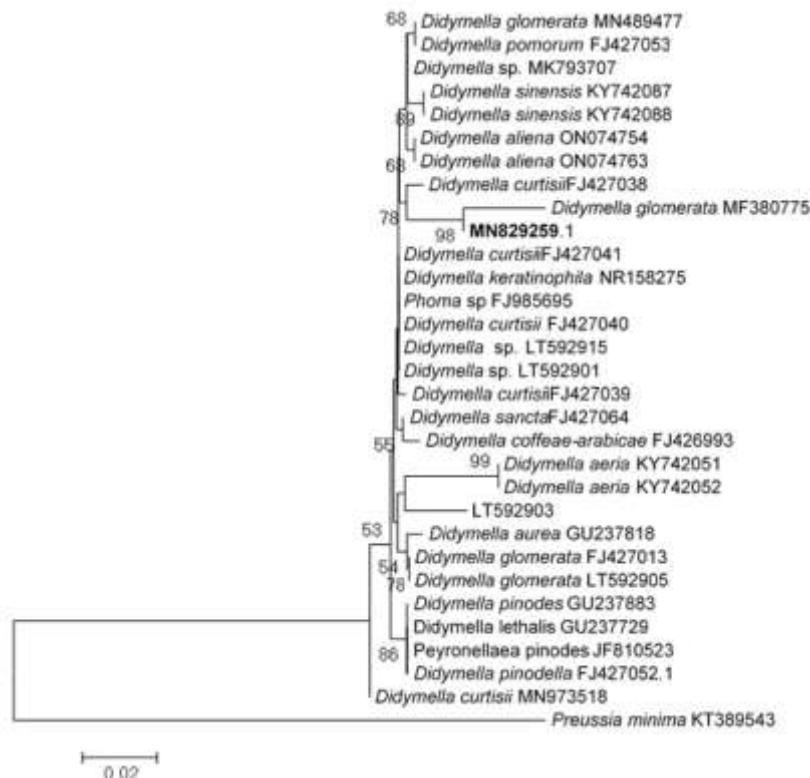


شکل ۱- علائم بیماری لکه‌برگی گل نرگس در مزارع استان خراسان جنوبی
Figure 1- Symptoms of Narcissus leaf spot disease in farms of Southern Khorasan province



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

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



شکل ۳- درخت درخت فیلوژنتیکی جدایه *Phoma narcissi* بر اساس هم‌ردیفی توالی ناحیه ITS با توالی گونه‌های موجود در بانک ژن به روش بیشینه درست‌نمایی

اعداد روی محل انشعاب شاخه‌ها نشان دهنده درصد مقادیر بوت استرپ با ۱۰۰۰ تکرار است.

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

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

جدول ۲- آرایه‌های قارچی عامل و همراه بیماری لکه برگ گل نرگس در خراسان جنوبی

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

با گذشت زمان برگ‌ها از محل لکه تاخورد و زرد شدند. علائم مشاهده شده در آزمون بیماری‌زایی، با علائم بیماری در مزرعه کاملاً مطابقت داشت (شکل ۴).

در آزمون اثبات بیماری‌زایی ۷ روز بعد از تلقیح عامل بیماری به گیاهان نرگس سالم، علائم به صورت لکه‌های گرد قهوه‌ای ظاهر شده و به تدریج از محل لکه به سمت نوک برگ نوار زرد رنگی گسترش پیدا کرد و مشابه با علائم مزرعه در آزمون‌های بیماری‌زایی



شکل ۴- مراحل انجام آزمون اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های *Phoma narcissi* از سمت چپ به ترتیب گیاه سالم- تلقیح برگ با میسلیوم قارچ و وقوع علائم ۷ روز بعد از تلقیح در پلات آزمایشی مزرعه

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

جدایه‌های بیمارگر این قارچ روی جنس‌های دیگر خانواده زنبقیان در یک خوشه واحد قرار می‌گیرد. در این بررسی آرایه‌های قارچی *Fusarium sp.* و *Cladosporium sp.* به‌عنوان عوامل همراه بیماری با فراوانی ۱۷ و ۱۸ درصد گزارش می‌شوند. بر اساس دانش ما، عامل اصلی بیماری لکه‌برگی در مزارع نرگس شرق کشور قارچ *Ph. narcissi* است و آرایه‌های *Fusarium* و *Cladosporium sp.* نیز به‌عنوان عوامل قارچی همراه با بیماری گزارش می‌شوند. از آنجایی که شناسایی عامل بیماری در انتخاب روش‌های موثر و کارآمد در مدیریت بیماری موثر است، نتایج این بررسی می‌تواند در مدیریت بیماری در منطقه مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

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

گونه‌های آنامورفیک جنس *Phoma spp.* در دامنه وسیعی از نیچ‌های اکولوژیکی یافت می‌شوند. گونه‌های این جنس قارچی به‌عنوان عامل بیمارگر در میزبان‌های مختلف گیاهی گزارش شده‌اند. در جهان گونه *Ph. narcissi* از گیاهان گل‌نرین (*Nerine sp.*)، *Ismene sp.* و گل‌آماریلیس (*Hippeastrum sp.*) که همگی از تیره Amaryllidaceae اند گزارش شده است (Aveskamp *et al.*, 2009). در ایران گونه *Stagonospora curtisii* که در منابع همنام با گونه *Phoma narcissi* است، بر اساس خصوصیات مرفولوژیک از مزارع نرگس به‌بهبان به‌عنوان عامل لکه‌برگی گزارش شده است (Mohammadi *et al.*, 2004). جدایه مورد بررسی در مطالعه محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2004) روی محیط کشت هیچ‌گونه پیکنیدیوم تولید نکرده است اما در جدایه‌های این بررسی روی محیط کشت PDA، پیکنیدیوم‌های فراوان بعد از هفت روز ظاهر شد. بررسی جدایه‌های مختلف گونه *Peyronellaea curtisii* که در منابع همنام آنامورفیک *Ph. narcissi* است نشان دادند که جدایه‌ها در تشکیل و یا عدم تشکیل پکنیدیوم روی محیط کشت با هم تفاوت دارند (Hrynkiwicz *et al.*, 2015). خصوصیات مولکولی جدایه عامل لکه‌برگی نرگس در ایران که در این مطالعه انجام گرفت، نشان داد گونه عامل لکه‌برگی نرگس در ایران با سایر

منابع

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

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



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

N. Rouhani¹, M. Zakiaghl^{ID 2*}, M. Mehrvar^{ID 3}

Received: 24-06-2023

Revised: 09-09-2023

Accepted: 13-09-2023

Available Online: 13-09-2023

How to cite this article:

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

Introduction

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

Materials and Methods

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

1, 2 and 3- Ph.D. Graduated in Plant Pathology and Associate Professors, Department of Plant Pathology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: zakiaghl@um.ac.ir)

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

Results and Discussion

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

Conclusion

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

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

مقاله پژوهشی

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

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

ندا روحانی^۱ - محمد زکی عقل^{۲*} - محسن مهرور^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۶/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۲

چکیده

ویروس تریستزای مرکبات (*Citrus tristeza virus-CTV*) یکی از بیماری‌های مهم درختان مرکبات در اغلب مرکبات کاری‌های ایران است. در این تحقیق توالی کامل ویروس تریستزای مرکبات از دو منطقه مرکبات خیز استان مازندران و استان فارس تعیین و برخی صفات بیولوژیکی و مولکولی آن‌ها با یکدیگر مقایسه شده است. ۵۶ درصد از نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان مازندران و ۳۲ درصد نمونه‌های تهیه شده از استان فارس در آزمون زنجیره‌ای پلی‌مراز آلوده به ویروس تریستزای مرکبات بودند. علایم CTV در نمونه‌های مرکبات استان مازندران کوتولگی خفیف تا شدید، سرخشکیدگی، زردی، زردی رگبرگ و زوال سریع بود در حالی که در نمونه‌های استان فارس علایم CTV، کوتولگی، سبزخشکیدگی، زردی، و سرخشکیدگی شاخه‌ها بود. سه ماه پس از مایه‌زنی نیز علائم کوتولگی شدید، رگبرگ روشنی، زردی و ریزبرگی در نهال‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های استان مازندران و علایم کوتولگی خفیف، رگبرگ روشنی، زردی و ریزبرگی در نهال‌های نارنج بذری مایه‌زنی شده با جدایه‌های استان فارس ایجاد شد. از درختان مرکبات آلوده به تریستزا از استان‌های فارس و مازندران نمونه‌برداری و از آنها کتابخانه sRNA تهیه و توالی‌یابی شدند. نتایج نشان داد که طول ژنوم کامل بازسازی شده برای جدایه‌های IR-North1، IR-North2، IR-South1 و IR-South2 به ترتیب ۱۹۳۰۲، ۱۹۳۵۲ و ۱۹۲۵۱ نوکلئوتید است و در سطح نوکلئوتیدی با سایر جدایه‌های CTV موجود در بانک ژن بین ۷۷/۵-۹۵/۲ درصد شباهت داشتند. بررسی توالی پروتئین‌ها نشان دهنده وجود ۲۸۰ جایگزینی در ۳۳ موتیف در جدایه‌های توالی‌یابی شده CTV بود. کمترین تغییرات در جدایه IR-North1 با پنج جایگزینی بود. در جدایه‌های IR-North2، IR-South1 و IR-South2 به ترتیب ۹۷، ۸۵ و ۹۳ جایگزینی اتفاق افتاده بود. بیشترین جایگزینی در چارچوب‌های ژنی ORF1a و p61 بود. تعیین سویه جدایه‌ها با همانندسازی و هضم مجازی و هم‌ردیف‌سازی ناحیه بین ژن‌های پوشش پروتئینی کوچک (Cpm) و پوشش پروتئینی نشان داد که جدایه IR-North1 مشابه نژادهای مولد زوال سریع و سویه T36 و جدایه‌های IR-South1، IR-North2 و North2 از نژادهای مولد ساقه آبله‌ای و زردی نهالچه و به ترتیب مشابه با سویه T3، SY و T318A هستند. در درخت فیلوژنی ترسیم شده بر اساس طول کامل ژنوم نیز سه جدایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2، در گروه VT و جدایه IR-North 1 در گروه T36 قرار گرفتند. همچنین بررسی وقوع نوترکیبی احتمالی در جدایه‌های ایرانی نشان داد که جدایه‌های IR-North1، IR-North2 و IR-South1 در ژن‌های رپلیکاز و P65 نوترکیب هستند. نتایج بررسی علائم و توالی کامل چهار جدایه بدست آمده نشان داد که دو جدایه بدست آمده از استان مازندران از لحاظ نوع علائم و جایگاه فیلوژنی از هم متفاوت هستند ولی دو جدایه استان فارس از نظر فیلوژنی و ژنوتیپی با یکدیگر قرابت دارند.

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

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته دکتری بیماری‌شناسی گیاهی و دانشیاران گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

* - نویسنده مسئول: (Email: zakiaghl@um.ac.ir)

مقدمه

(Cunha et al., 2021). معمولاً در طبیعت درختان مرکبات به بیش از یک سویه از CTV آلوده می‌شوند (Yokomi et al., 2019) اما اطلاعات چندانی از چگونگی ایجاد توازن در جمعیت سویه‌ها وجود ندارد. سویه غالب در یک منطقه می‌تواند تحت تاثیر شرایط آب و هوایی تغییر کند (Cowell et al., 2016).

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

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

ویروس تریستزای مرکبات (*Citrus tristeza virus*-CTV) متعلق به جنس *Closterovirus* از خانواده *Closteroviridae*. بزرگ‌ترین ویروس گیاهی شناخته شده و مخرب‌ترین و مهم‌ترین بیماری مرکبات با گسترش جهانی است. پیکره‌های CTV رشته‌ای با اندازه 11×2000 nm می‌باشد. ژنوم شامل یک مولکول RNA تک رشته مثبت و با اندازه حدود 19.3 kb حاوی ۱۲ پارچوب خوانش (ORF^۱) با تولید بالقوه ۱۷ پروتئین و دو ناحیه غیرقابل ترجمه (NTR^۲) در انتهای ۵' و ۳' می‌باشد. CTV دارای دو پروتئین پوششی با وزن متفاوت است و پروتئین پوششی کوچک (CPm) تنها انتهای ۳' ژنوم را پوشش می‌دهد (Satyanarayana et al., 2004). نرخ تنوع نوکلئوتیدی در نیمه ۵' ژنوم زیاد و بیشتر توالی‌های محافظت شده در نیمه ۳' قرار دارند (Albiach-Marti et al., 2000b). نرخ تنوع ژنتیکی هر یک از ژن‌ها در ژنوم متفاوت است ولی از CP، p23، p27، p20 برای گروه‌بندی جدایه‌های CTV استفاده می‌شود (Herrera-Isidron et al., 2009).

CTV سه سندروم آشکار بیماری همراه با تعداد بی‌شماری الگوی متفاوت ایجاد می‌کند. سه سندروم CTV شامل زوال سریع (QD^۳)، ساقه آبله‌ای (SP^۴) و سندروم زردی گیاهچه می‌باشد و زمان لازم در توسعه علائم هر سندروم متفاوت است (Ruiz-Ruiz et al., 2006). سندروم زوال در آلودگی به برخی از سویه‌های CTV و بیشتر در پایه حساس نارنج مشاهده می‌شود. سندروم ساقه آبله‌ای بیشتر در پرتقال ایجاد می‌شود در حالی که گریپ‌فروت قابلیت ایجاد این سندروم را ندارد. سندروم زردی نهالچه از لحاظ اقتصادی اهمیت زیادی ندارد و علائمی شامل کوتولگی، کلروز برگ و گاهی توقف کامل رشد را نشان می‌دهد و در گلخانه سرعت مشخص می‌شود (Dawson et al., 2015). ویروس CTV دارای سویه‌های مختلفی است که بر مبنای علائم ایجاد شده در میزبان‌های مختلف (Ramirez-Pool et al., 2022)، قابلیت انتقال توسط شته (Yokomi, 2019)، نقشه پیتیدی (Albiach-Marti et al., 2000)، واکنش سرولوژیکی با آنتی‌بادی‌های منوکلونال (Iftikhar et al., 2021) و الگوی dsRNA (Moshe and Munir, 2000) با یکدیگر تفاوت دارند. این سویه‌ها در درخت فیلوژنی جدایه‌های CTV در هفت گروه ژنوتیپی شامل B165، HA16-5، VT-Like، HA18-9، RB و T36-Like، NZ-B18 و NZ-M16 قرار می‌گیرند (Pais da

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

استخراج از ژل (یکتا تجهیز آزما، ایران) جهت تعیین توالی به شرکت ماکروژن کره جنوبی ارسال شد. نتیجه توالی‌یابی با استفاده از ابزار BLAST با ترادف‌های نوکلئوتیدی موجود در بانک ژن مقایسه شد.

مایه‌زنی به گیاه محک

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

ساخت کتابخانه از RNAهای کوچک

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

تجزیه و تحلیل داده‌ها

بررسی کیفیت خوانش در کتابخانه‌های sRNA توالی‌یابی شده با استفاده از نرم‌افزار FastQC 0.11.05 انجام شد و خوانش‌های با کیفیت پایین ($\text{Phred quality} \geq 20$) و طول کمتر از ۱۸ نوکلئوتید با نرم‌افزار Alien trimmer 0.4.0 از داده‌های توالی‌یابی حذف شدند. خوانش‌های پالایش شده با سویه‌های مرجع CTV موجود در بانک ژن با استفاده از نرم‌افزار UGene هم‌ردیف‌سازی شدند. توالی‌هایی که بیشترین پوشانندگی^۳ را داشتند انتخاب شدند و توالی توافقی آنها بدست آمد.

تعیین سویه ویروس

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

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

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

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

استخراج نوکلئیک اسید

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

شناسایی CTV با استفاده از آغازگر اختصاصی

تشخیص اولیه تریستزا در نمونه‌های جمع‌آوری شده، با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی $\text{CPF}(5' \text{AAAGAAGGCGACGATGTTGT}3')/\text{CPR}(5' \text{AGCTCCGGTCAAGAAATCTG}3')$ که قطعه‌ای از ژن پوشش پروتئینی ویروس تریستزا (رس شمار NC001661) را همانندسازی می‌کند، انجام شد (Harper and Pearson, 2015).

واکنش ترانوسومی معکوس^۱ با آنزیم رونوشت‌برداری معکوس MMuLV (پارس توس، ایران) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده آنزیم به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه‌سانتی‌گراد انجام شد. واکنش PCR با استفاده از مخلوط واکنش با غلظت ۲ برابر (آمپلیکون، دانمارک) انجام شد. پروفایل دمایی واکنش به صورت یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه در ۹۴ درجه‌سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه؛ ۳۵ چرخه شامل واسرشت‌سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و بسط در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه و یک چرخه بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. محصول واکنش PCR در ژل آگارز یک درصد حاوی DNA Green Viewer (Safe Stain Dye) (پارس توس، ایران) تحت ولتاژ ۸۰ ولت، الکتروفورز و آشکارسازی شد. محصول واکنش PCR پس از خالص‌سازی با کیت

2- smallRNA
3- coverage

1- RT-PCR

(Saponari and Yokomi, 2010) بررسی شد.

(Invitrogen) 10.3.1 انجام شد.

بررسی شباهت نوکلئوتیدی و روابط فیلوژنی

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

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

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

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

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

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

رگبرگ، ریزبرگی، ریزش برگ، کوچکی میوه، زوال شدید و سریع بود و علایم غالب بترتیب فراوانی شامل زردی، ریزبرگی و کوتولگی خفیف بود. در نمونه‌های استان فارس علایم CTV بصورت کوتولگی، سبزخشکیدگی، رنگ پریدگی، زردی، ریزبرگی، ریزش برگ، سرخشکیدگی شاخه‌ها و علایم غالب شامل ریزش برگ‌ها و سبزخشکیدگی بود.

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

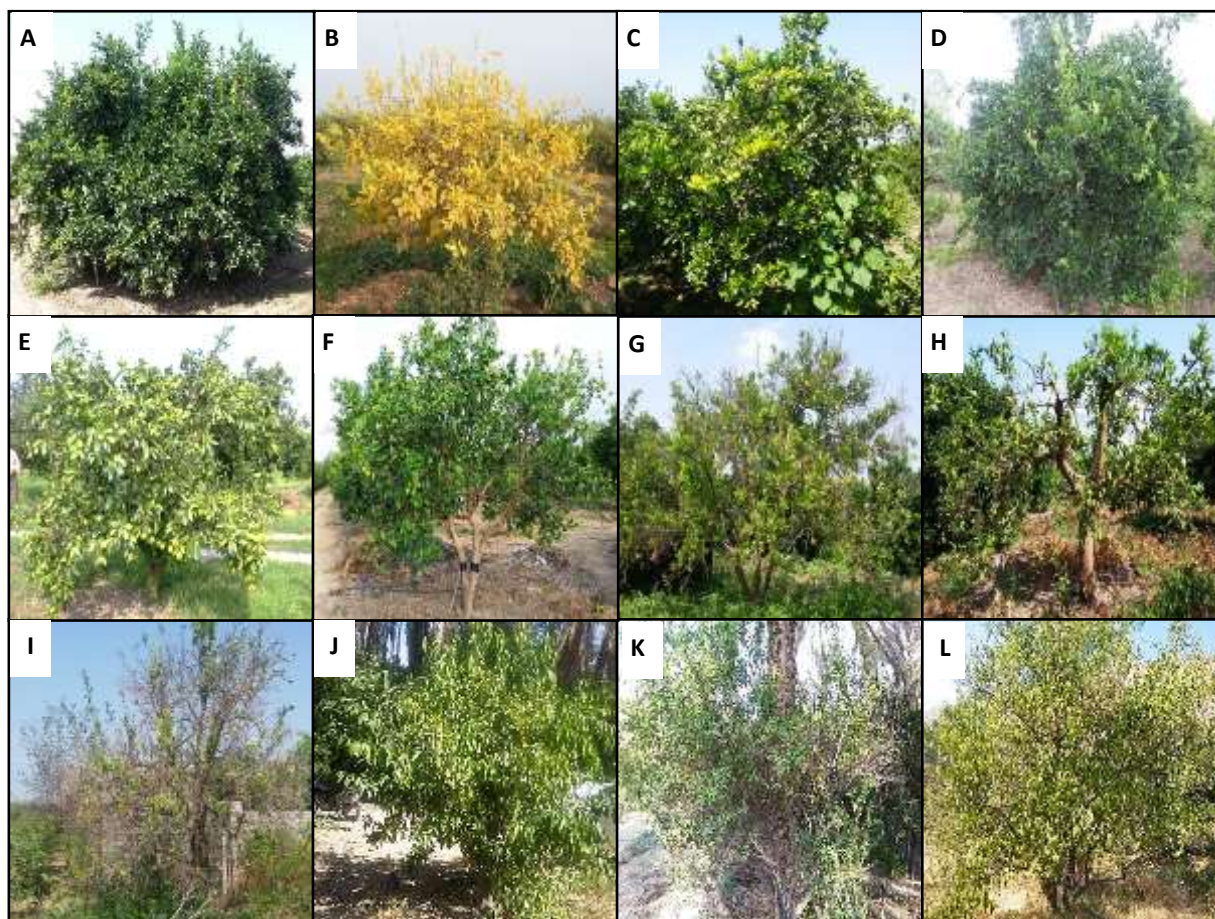
نتایج

علایم

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

سوم نمونه‌هایی از ساری با علائم کوتولگی شدید یا سرخشیدگی شاخه، زردی و ریزبریگی قرار داشتند.

چهرم، قائمشهر، ساری، نکا با علائم غالب زردی، ریزش برگ و سبزخشیدگی یا زوال سریع؛ در گروه دوم نمونه‌های ساری، چهرم، خفر، نکا و علائم شایع کوتولگی خفیف، زردی، ریزبریگی و در گروه



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

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

نمونه‌ها به ویروس تریستزای مرکبات بود. نتایج نشان داد که از ۳۰ نمونه جمع‌آوری شده از استان مازندران، ۱۷ نمونه و از ۲۵ نمونه استان فارس ۸ نمونه آلوده به ویروس تریستزای مرکبات هستند.

بررسی میزان آلودگی به CTV

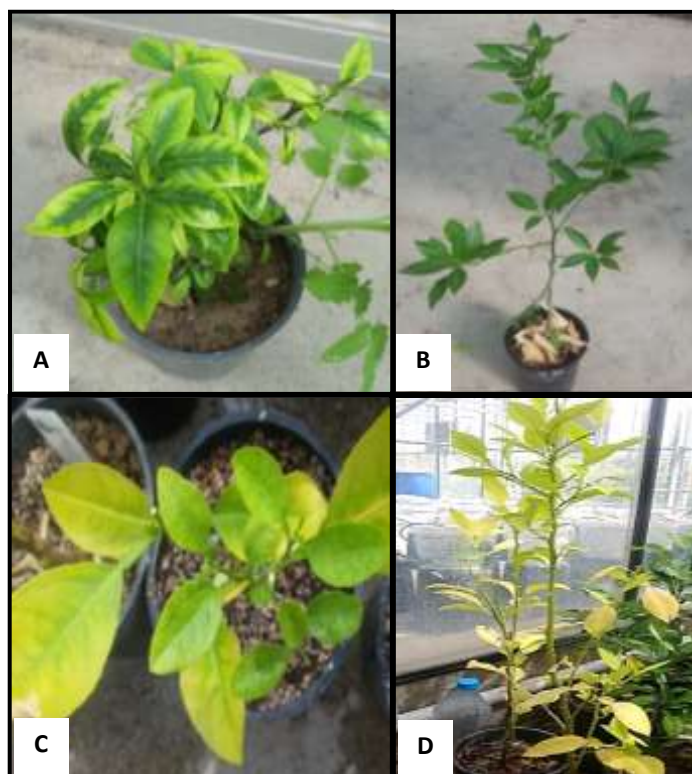
تکثیر قطعه ۵۰۰ جفت بازی از ژن پوشش پروتئینی CTV در آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگر اختصاصی بیانگر آلودگی

مایه‌زنی علائم کوتولگی شدید تا خفیف، رگبرگ روشنی، زردی و ریزبرگی در نهال‌های مایه زنی شده با جدایه‌های استان مازندران و علایم کوتولگی خفیف، رگبرگ روشنی، زردی و ریزبرگی در نهال‌های نارنج مایه‌زنی شده با جدایه‌های استان فارس ایجاد شد (شکل ۲). آلودگی نهال‌های مایه‌زنی شده به CTV در آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و پروس نیز تایید شد.

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

انتقال

نمونه‌هایی که آلودگی آنها به CTV در آزمون RT-PCR تایید شده بود بروی نهال‌های نارنج بذری پیوند زده شد. سه ماه پس از



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

Figure 2- Symptoms of CTV isolates on healthy sour orange seedlings three months after inoculation. A: Leaf chlorosis and severe stunting caused by inoculation with IR-North1 isolate, B: Growth reduction caused by inoculation with IR-North2 isolate, C: Yellowing and stunting caused by inoculation with IR-South2 isolate, D: Symptoms of yellowing and growth reduction caused by inoculation with IR-South1 isolate.

South2 به ترتیب ۳۴۴۳۸۹۵ و ۱۳۰۵۷۶۰ بود. درصد GC برای هر ۴ کتابخانه ۴۴٪ بود. طول ژنوم کامل بازسازی شده برای جدایه‌های IR-North1، IR-North2، IR-South1 و IR-South2 به ترتیب ۱۹۲۹۶، ۱۹۳۰۲، ۱۹۲۵۲ و ۱۹۲۵۱ نوکلئوتید بود. جدایه‌های توالی-یابی شده با راس شماره‌های OR192037، OR192038، OR192039 و OR192040 در بانک ژن ثبت شدند.

نتایج توالی‌یابی و داده‌های بدست آمده

تعداد خوانش خام حاصل از توالی‌یابی کتابخانه IR-North1، ۵۶۸۹۵۵۷ باز بود که تعداد خوانش نهایی حاصل پس از پالایش خوانش‌ها ۳۸۶۰۰۴۶ باز بود. از توالی‌یابی کتابخانه IR-North2 ۲۷۹۸۷۰۲ باز خوانش خام بدست آمد که پس از پالایش ۲۳۴۸۳۳ باز حاصل شد. تعداد خوانش خام حاصل توالی‌یابی کتابخانه IR-South1 و کتابخانه IR-South2 به ترتیب ۵۴۴۶۶۴۹ و ۱۹۰۶۸۳۵ باز بود. خوانش‌های نهایی پس از پالایش دو کتابخانه IR-South1 و IR-

تعیین سویه جدایه‌ها

در جدایه IR-North1 آغازگرهای DDE و SSP امکان همانندسازی قطعه مورد نظر را داشتند ولی آغازگر P27 امکان اتصال به ژنوم را نداشت. قطعات ۲۳۵ و ۸۱۶ نوکلئوتیدی بترتیب فاقد محل آنزیم‌های برشی *DdeI* و *SspI* بودند (جدول ۲، شکل ۳). نتایج هم‌ردیف‌سازی قطعه ۷۸ نوکلئوتیدی نشان داد که جدایه IR-North1 از گروه T36 است (شکل ۳). بنابراین جدایه IR-North1 مشخصات مشابهی با سویه زوال سریع (نژاد T36، رس شمار U16304) دارد. در جدایه‌های IR-North2، IR-South1، IR-South2 آغازگرهای DDE و SSP امکان همانندسازی قطعه مورد نظر را داشتند ولی آغازگر P27 امکان در هر دو جدایه دارای محل آنزیم برشی *DdeI* بود (جدول ۲، شکل ۳). بعلاوه نتایج هم‌ردیف‌سازی قطعه ۷۸ نوکلئوتیدی نشان داد که این دو جدایه مشابه با اعضای گروه VT/T3 هستند. بنابراین جدایه های IR-North2، IR-South1 از نژادهای مولد ساقه‌آبله‌ای و زردی نهالچه و مشابه با سویه SY (AB046398) و سویه T318A (DQ252548) هستند.

در جدایه IR-South2 آغازگرهای P27، DDE و SSP به ترتیب امکان همانندسازی قطعات ۷۸، ۲۳۵ و ۸۱۶ را داشتند. قطعه ۲۳۵ نوکلئوتیدی دارای محل آنزیم برشی *DdeI* و قطعه ۸۱۶ نوکلئوتیدی فاقد محل آنزیم برشی *SspI* بود (جدول ۲، شکل ۳). بعلاوه نتایج

هم‌ردیف‌سازی قطعه ۷۸ نوکلئوتیدی این جدایه نشان داد که این متعلق به گروه VT/T3 است (شکل ۳). بنابراین جدایه IR-South2 نیز از نژادهای مولد ساقه‌آبله‌ای و زردی نهالچه و مشابه با سویه T3 (EU857538) است.

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

شباهت نوکلئوتیدی

در ماتریکس شباهت نوکلئوتیدی جدایه‌های CTV در طول کامل ژنوم بین ۷۷/۵-۹۵/۲ درصد شباهت داشتند (جدول ۳). میزان شباهت نوکلئوتیدی ژن‌های RdRp، p65، و پروتئین پوششی جدایه های CTV به ترتیب در محدوده ۹۵/۷-۹۷/۷، ۸۵/۳-۹۶/۶-۹۱/۴ درصد بود و در سطح آمینواسیدی میزان شباهت به ترتیب بین ۸۰/۶-۹۴/۱، ۸۸-۹۳/۹ و ۹۲/۴-۹۶/۴ درصد بود (جدول ۳). جدایه IR-North1 در طول کامل ژنوم به ترتیب ۷۸٪، ۷۷/۹٪، و ۷۷/۵٪ با جدایه‌های IR-North2، IR-North1، IR-South1 و IR-South2 شباهت داشت.

IR-South1	16010	TATTTGTAGTTGTTTGGCGGACGGTGGTATTAC-----GCCATCCCATGAGCACTGCTTTAAGGG	16069
DQ151548-T318	16010	TATTTGTAGTTGTTTGGCGGACGGTGGTATTAC-----GCCATCCCATGAGCACTGCTTTAAGGG	16069
IR-North2	16060	TATTTGTAGTTGTTTGGCGGACGGTGGTATTAC-----GCCATCCCATGAGCACTGCTTTAAGGG	16119
AB046398-NUagA	16060	TATTTGTAGTTGTTTGGCGGACGGTGGTATTAC-----GCCATCCCATGAGCACTGCTTTAAGGG	16119
KY110738-CSL02	16005	TATTTGTAGTTGTTTGGCGGACGGTGGCATTAC-----GCCATCCCATGAGCACTGCTTTAAGGG	16064
EU937519-VT	16010	TATTTGTAGTTGTTTGGCGGACGGTGGTATTAC-----GCCATCCCATGAGCACTGCTTTAAGGG	16119
IR-South2	16009	TATTTGTAGTTGTTTGGCGGACGGTGGTATTAC-----GCCATCCCATGAGCACTGCTTTAAGGG	16068
EU857538-T3	16009	TATTTGTAGTTGTTTGGCGGACGGTGGTATTAC-----GCCATCCCATGAGCACTGCTTTAAGGG	16069
JQ798289-A18	16008	TATTTGTAGTTGTTTGGCGGACGGTGGCATTAC-----GCCATCCCATGAGCACTGCTTTAAGGG	16119
Y18420-T385	16008	TACTTGTAGTTGGTTTGGGGACGGTAATATTATTATATACCATCCCTTGAGCGCTGCCTTAAGGG	16073
AF260651-T30	16008	TACTTGTAGTTGGTTTGGGGACGGTAATATTATTATACCATCCCTTGAGCGCTGCCTTAAGGG	16073
MK033511-T68	16004	TATTTGTAGTTGTTTGGCGGACGGTGGTATTAC-----GCCATCCCATGAGCACTGCTTTAAGGG	16063
KU883267-HA16	16025	TATATATAGTTAGTTTGGGGACGGTGTATATGCG-----GCCATCCCTTGAGCACTGCTTTAAGGG	16096
KU589212-S1	16004	TACTTGTAGTTGGTTTGGGGACGGTAGTATTAT-----GCCATCCCTTGAGCGCTGCCTTAAGGG	16063
IR-North1	16053	TACTTATAGTTGGTTTGGGGACGGTAAACATTAT-----ACTATCCCATGAGCGCTGCCTTAAGGG	16112
U16304-T36	16053	TACTTATAGTTGGTTTGGGGACGGTAAACATTAT-----ACTATCCCATGAGCGCTGCCTTAAGGG	16112
AY340974-Qaha	16053	TACTTATAGTTGGTTTGGGGACGGTAAACATTAT-----ACTATCCCATGAGCGCTGCCTTAAGGG	16112
GQ454869-HA18	16010	TACGTGTAGTTGATTTTGGG-CGGTAATATCAT-----ACCATCCCATGAGCGCTGCCTTAAGGG	16086
KU883265-RB	16028	TACGTTTAGTTGATTTTGGG-CGGTAATATCAT-----ACCATCCCTTGAGCGCTGCCTTAAGGG	16086
KY110737-CSL01	16025	TACGTTTAGTTGATTTTGGG-CGGTAATATCAT-----ACCATCCCTTGAGCGCTGCCTTAAGGG	16083

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

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

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

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

سویه/جدایه Strain/Isolate	رس شمار Accession No.	محصول واکنش زنجیره ای پلی مرز مجازی Virtual PCR product			هضم آنزیمی مجازی Virtual enzymatic digestion		اسید آمینه شماره ۱۲۴ در پروتئین پوششی Amino acid at position 124 in coat protein
		P27 primer	DDE primer	SSPI primer	DdeI	SspI	
T30	AF260651	78	235	825	NF	197-628	Tyrosine
VT	EU937519	78	234	NF	80-154	NF	Phenylalanine
T3	EU857538	78	234	NF	80-154	NF	Phenylalanine
SY	AB046398	78	234	NF	80-154	NF	Phenylalanine
T36	U16304	NF	235	816	NF	NF	Phenylalanine
IR-North1	NF	NF	235	816	NF	NF	Phenylalanine
IR-North2	NF	78	234	NF	80-154	NF	Phenylalanine
IR-South1	NF	78	234	NF	80-154	NF	Phenylalanine
IR-South2	NF	78	234	816	80-154	NF	Phenylalanine

NF: not found

نوکلئوتیدی $4/8 \pm 88/3$ شباهت داشت.

تجزیه و تحلیل موتیف‌های حفاظت شده در چارچوب‌های ژنی

چهار جدایه CTV توالی‌یابی شده در این تحقیق، همانند جدایه مرجع CTV دارای ۱۲ چارچوب ژنی بودند (شکل ۵). چارچوب ژنی ORF1a بطول ۹۳۷۴ نوکلئوتید پروتئین رپلیکاز ویروس را رمزگذاری می‌کند. در این پروتئین سه ناحیه متیل ترانسفراز (MTR)، Zemlya و هلیکاز (HEL) وجود داشت (شکل ۵). از اسید آمینه‌های ۱۰۳۶ تا ۱۳۷۰ در ناحیه متیل ترانسفراز شش موتیف یافت شد که در چهار موتیف در جدایه‌های IR-North1، IR-South1 و IR-South2 نسبت به جدایه رفرنس تفاوت‌هایی وجود داشت (شکل ۵، جدول ۴). در موتیف MTR I جانشینی N1075M، در موتیف MTR IIa سه جانشینی I1157V، Y1162F و E1165D، در موتیف III جانشینی I1185V و در موتیف MTRIV جانشینی C1246Y در سه جدایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2 و جانشینی R1248C در جدایه IR-South2 مشاهده شد. در موتیف‌های MTR Ia و MTR II جدایه‌های توالی‌یابی شده با جدایه مرجع تفاوتی وجود نداشتند. اسید آمینه‌های ۱۷۰۷ تا ۱۸۱۲ ناحیه Zemlya بود که در بازسازی غشاهای شبکه آندوپلاسمی در طی آلودگی نقش دارد (Gushchin *et al.*, 2017) و دارای چهار موتیف است. در موتیف Zemlya aA جانشینی‌های L1708M و L1718S در هر چهار جدایه و جانشینی I1716M در سه جدایه IR-North1، IR-South1 و North2 مشاهده شد.

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

تجزیه و تحلیل فیلوژنی

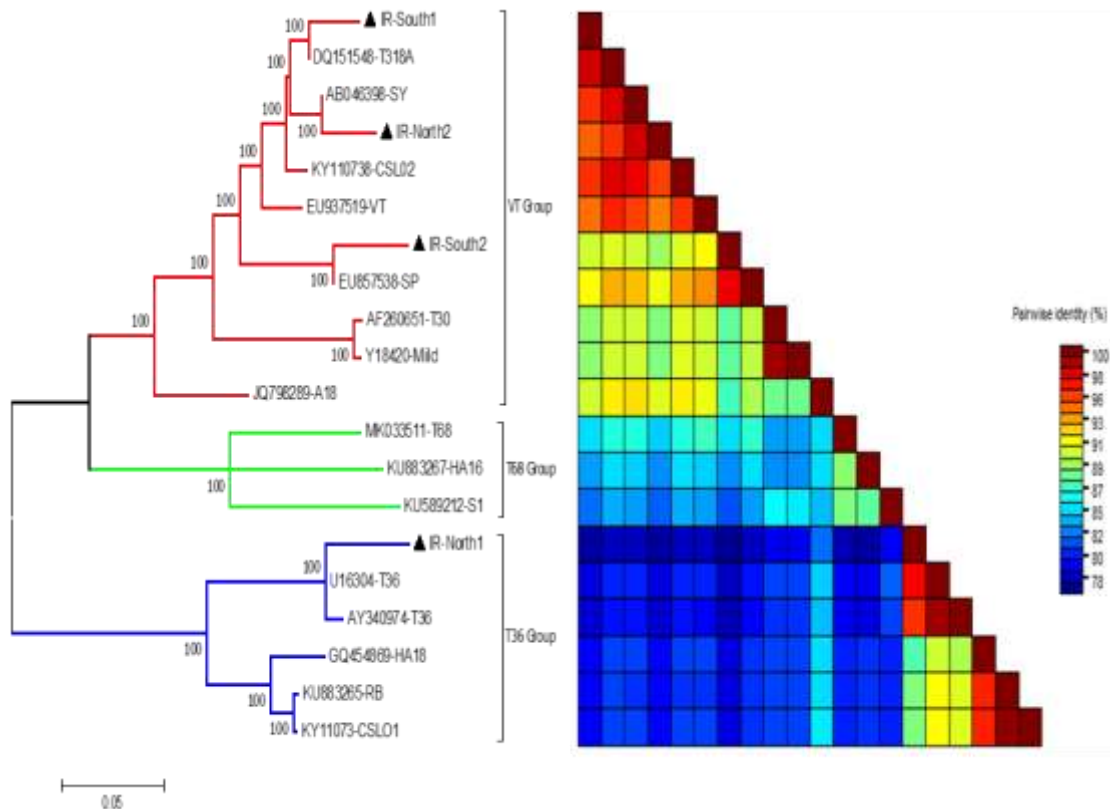
در درخت فیلوژنی ترسیم شده بر اساس طول کامل ژنوم، سه شاخه به نام‌های گروه VT، گروه T68 و گروه T36 با حمایت بوت استرپ بالا قابل شناسایی بود (شکل ۴). سه جدایه IR-North2 و IR-South1 و IR-South2 همراه با جدایه‌هایی از ژاپن، اسپانیا، برزیل، فلوریدا، نیوزیلند و تایلند در گروه VT و جدایه IR-North 1 همراه با جدایه‌هایی از فلوریدا، مصر، هاوایی، آفریقای جنوبی و برزیل در گروه T36 قرار گرفتند. در طول کامل ژنوم شباهت گروه T36 با دو گروه VT و T68 در سطح نوکلئوتیدی به ترتیب $6/5 \pm 85/5$ و $6/5 \pm 86$ درصد بود. گروه VT نیز با گروه T68 در سطح

جدول ۳- میزان شباهت آمینواسیدی پروتئین‌های رمزگذاری شده جدایه‌های ایرانی CTV با یکدیگر و نژادهای مرجع ویروس تریستزای مرکبات
Table 3- Similarity of the encoded protein amino acids of Iranian CTV strains with each other and reference strains of *Citrus tristeza virus*

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

و جانشینی V1802I در دو جدایه IR-North2 و IR-South1 و ردیابی شد. اسید آمینه ۲۹۸۴-۲۷۱۶ ناحیه هلیکاز و حاوی هفت موتیف بود که در موتیف‌های HEL I، HEL Ia، و HEL IV و HEL موتیف‌های توالی‌یابی شده با جدایه مرجع تفاوتی نداشتند. در حالی که در موتیف‌های HEL II، HEL III، HEL V، و HEL VI به ترتیب جانشینی‌های I2803V، K2825R، R2951K، و V2974T در سه جدایه IR-North2، IR-South1، و IR-South2 وجود داشت.

در سایر موتیف‌های این ناحیه در جدایه IR-North1 با توالی مرجع تفاوت نداشت. در موتیف Zemlya aB جانشینی‌های IR-1736I، R1744A، F1753Y، و L1754C در سه جدایه IR-North2، IR-South1، و IR-South2 و جانشینی‌های A1739R و A1746P در جدایه IR-North2 ردیابی شد. در موتیف Zemlya aC جانشینی T1769A، R1779E، و P1780A در هر سه جدایه IR-North2، IR-South1، و IR-South2 وجود داشت. جانشینی R1779E در جدایه IR-North2 و R1779S در جدایه‌های S1 و S2 وجود داشت. همچنین در این موتیف جایگزینی VSMVL به CKYGV در موقعیت ۱۷۷۸-۱۷۷۴ در جدایه IR-North2 وجود داشت. در موتیف Zemlya aD، جانشینی‌های A1789G، I1806V، و L1807F در سه جدایه IR-North2، IR-South1، و IR-South2

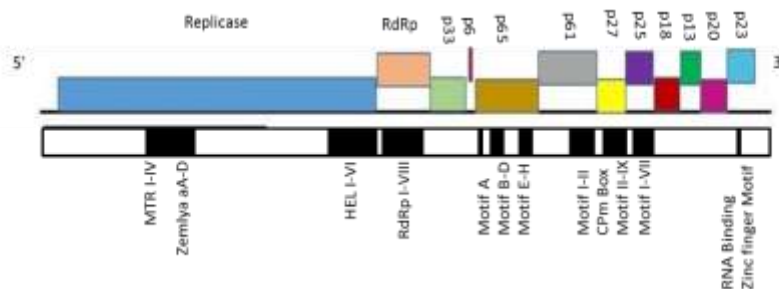


شکل ۴- درخت فیلوژنی ترسیم شده با استفاده از توالی نوکلئوتیدی ژنوم کامل جدایه‌های ایرانی توالی‌یابی شده و ژنوم کامل جدایه‌های CTV موجود در بانک ژن

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

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

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



شکل ۵- تصویر شماتیک از سازمان ژنومی و نواحی محافظت شده موجود در پروتئین‌های رمزگذاری شده بوسیله CTV مشخصات و تغییر در نواحی محافظت شده در جدایه‌های ایرانی CTV در جدول ۴ ذکر شده است.

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

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

جدول ۴- مقایسه تغییرات اسیدهای آمینه در موتیف‌های حفاظت شده در پروتئین‌های جدایه‌های ایرانی ویروس تریتستزای مرکبات در مقایسه با جدایه مرجع CTV (ارس شماره U16304). تغییرات هر موتیف با رنگ خاکستری مشخص شده است

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

Gene	Motif	Motif position	محل جایگزینی Substitution Position	توالی موتیف Sequence of the motif	جایگزینی اسید آمینه Amino acid substitution					
					U16304	IR-North1	IR-North2	IR-South1	IR-South2	
MTR	MTR I	1065-1079	1075	SDHPVAAGSKALENH	N	-	N1075M	-	N1075M	
	MTR Ia	1090-1114		SDVGGCPLFHLRAGSHGVHCRPVV	-	-	-	-	-	
	MTR II	1117-1123	1156	KDAHRRV	I	-	I1164V	I1163V	I1163V	
	MTR IIIa	1155-1165	1162	NILGECYHASE	Y	-	Y1169F	Y1168F	Y1168F	
	MTR	MTR III	1172-1186	1165	VYDVPLRELCRAMIN	E	-	E1173D	E1172D	E1172D
		MTR IV	1234-1248	1246	SAYTHIYSTICEMR	I	-	I1193V	I1192V	I1192V
		Zemlya aA	1708-1722	1248	LGLETCVSIALAIFD	C	-	C1254Y	C1253Y	C1253Y
				1708	LGLETCVSIALAIFD	R	-	-	-	R1255C
	Zemlya aB	1733-1756	1716	L1716M	L	-	L1716M	L1700M	L1700M	
			1718	L1718S	L	-	L1124M	L1708M	-	
			1736	SFPVVCARVFGRLAMEVGSNFLFK	L	-	L1126S	L1710S	L1710S	
			1739	SFPVVCARVFGRLAMEVGSNFLFK	V	-	V1744I	V1728I	V1728I	
Replicase	Zemlya Ac	1766-1780	1744	GEDTFRRTVSMVLRP	A	-	A1747R	-	-	
			1746	GEDTFRRTVSMVLRP	R	-	R1752A	R1736A	R1736A	
			1753-1754	GEDTFRRTVSMVLRP	A	-	A1754P	-	-	
			1769	GEDTFRRTVSMVLRP	FL	-	F1761Y/L1762	F1745Y/F1746	F1745Y/F1746	
			1774-1778	GEDTFRRTVSMVLRP	T	-	T1777A	T1761A	T1761A	
			1779-1780	GEDTFRRTVSMVLRP	78	-	I774CKYGV17	-	-	
Zemlya aD	1788-1809	1789	DAKGLVRCSGVPGVLRILLS	RP	-	EA	SA	SA		
		1802	DAKGLVRCSGVPGVLRILLS	A	-	A1798G	A1782G	A1782G		
		1806-1807	DAKGLVRCSGVPGVLRILLS	V	-	V1811I	V1795I	-		
		HEL I	2709-2722	2803	LIVYEAPPGGKTHIS	IL	-	I1815V/I1815F	I1799V/L1800F	I1799V/L1800F
				2737-2751	CLVVTANKNSQTEIS	-	-	-	-	-
				2792-2799	LLFDEICT	I	-	I2804V	I2803V	I2803V
				2819-2826	VFGDSKQ	K	-	K2834R	K2833R	K2833R
		HEL IV	2856-2863	2951	EVSRYCPW	R	-	R2961K	R2960K	R2960K
				2938-2955	VNTVHEVCKGETYKRVRLV	V	-	V2982I	V2981I	V2981I
		RdRp	208-219	126-173	MVKRDAKVKLDD	-	-	-	-	-
				143-159	HPAAQNMIFHKFNAL	-	-	-	-	-
				180-193	VFFTEMTNAGLAEI	V	-	I193V	I193V	I193V
208-219	EVDFSKFDKSDQ			I	-	-	-	-		
263-290	VDGRRSGGSNTWIGNSLVTLGHLSLYY			D	-	D296E	D296E	D296E		
296-310	DLLLVSGDDSLVSS			V	-	V310I	V310I	V310I		
		310		S	S310K	S310K	S310K			

RdRp VII	332-342	SPSVPYFCSKF	-	-	-	-	-	-
RdRp VIII	352-363	FVDPYKLLYKL	-	-	-	-	-	-
Motif A	3-15	LLGLDFGTFSTV	-	-	-	-	-	-
P65	Motif B	148-188	ICSVPAGYNTLQRAFTQOSISMGSYVCIINEPSAAA YST	I	I168V	I168V	I168V	I168V
	Motif C	199-214	LAVYDFGGGTFDVSIV	M	M170L	M170L	M170L	M170L
	Motif D	221-245	FAVRSDDMNLLGGRIIDKLLSDKI	S	S174T	S174T	S174T	S174T
	Motif E	325-348	L VVVVGSSYLPGLLDAL	S	S227G	S227G	S227G	S227G
	Motif F	355-374	DARTAVATGCALYSECLDGR	K	K239R	K239R	K239R	K239R
	Motif G	377-398	ALLIDCITHHLSVTTFSADSVV	A	A247T	A247T	A247T	A247T
		380		T	T362R	T362R	T362R	T362R
		384		R	R374K	R374K	R374K	R374K
		393		I	I380T	I380T	I380T	I380T
	Motif H	458-476	SVPNDEVEMTLVTK	T	T384S	T384S	T384S	T384S
		477		S	S393T	S393T	S393T	S393T
		478		S	S458R	S458R	S458R	S458R
		Motif I	251-323	LDNVRLFKSKVLPVVLTVWDISEPDDPMDERVLIPFD PTDFVLDLPKLNHIDTMVVVGNQIRQLFVVVESDAL	M	M278V	M278V	M278V
282				V	V282T	V282T	V282T	V282T
284				I	I284G	I284G	I284G	I284G
295				L	L295T	L295T	L295T	L295T
299				N	N299Q	N299Q	N299Q	N299Q
313				Q	Q313H	Q313H	Q313H	Q313H
316				Y	Y316H	Y316H	Y316H	Y316H
321				D	D321E	D321E	D321E	D321E
Motif II	329-471		HVDLRLAADNPDLRYGLRWAGMFVYVYGVYRCVVD RAVERPTLFRLPQKLLSQDDGESCSLHMGSVLEALFNL VQKYNKDNVRRQFMGRHSEVALRLYRNLGLRFPFIS SVRLPAHHGYLYVDFYKRVDPDGAVTADLESRLQL	R	R333N	R333N	R333N	R333N
	344			G	G344D	G344D	G344D	G344D
	348		A	A348E	A348E	A348E	A348E	
	350		M	M350L	M350L	M350L	M350L	
	356		V	V356I	V356I	V356I	V356I	
	360		V	V360A	V360A	V360A	V360A	
	361		V	V361A	V361A	V361A	V361A	
	362		D	D362H	D362H	D362H	D362H	
	364		A	A364V	A364V	A364V	A364V	
	369		P	P369A	P369A	P369A	P369A	
	372		R	R372N	R372N	R372N	R372N	
	375		Q	Q375R	Q375R	Q375R	Q375R	
	379		S	S379N	S379N	S379N	S379N	
	386		C	C386A	C386A	C386A	C386A	
	387		S	S387L	S387L	S387L	S387L	
	389		H	H389R	H389R	H389R	H389R	
	391		G	G391S	G391S	G391S	G391S	
395		A	A395T	A395T	A395T	A395T		
409		N	N398T	N398T	N398T	N398T		
419		V	V409I	V409I	V409I	V409I		
427-428		E	E419K	E419K	E419K	E419K		
431		NL	N427I/L428F	N427I/L428F	N427I/L428F	N427I/L428F		
		R	R431K	R431K	R431K	R431K		

حفاظت شده است (شکل ۵). جانشینی‌های H67Q در CPM box، T95A، Y102C در موتیف IV و S196T در سه جدایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2 مشابه بود. جانشینی‌های F154C در موتیف V، S198P و Y202S در موتیف VII در IR-North2 و IR-South2، و جانشینی‌های T157S در موتیف V، L190F در موتیف VII و A219T در موتیف VII و جانشینی M96V و T103S در موتیف IV تنها در جدایه IR-North2 جانشینی F154Y و T157A در موتیف V تنها در جدایه IR-South1 و جانشینی G45S در موتیف CPm Box و E146D، I139M و M165T در موتیف V فقط در IR-South2 اتفاق افتاده بود. هیچ جانشینی در موتیف‌های II، III، VI و IX مشاهده نشد. توالی آمینواسیدی CPm در جدایه IR-North1 مشابه با توالی جدایه رفرنس CTV بود.

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

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

چارچوب ژنی P23 با ۶۳۰ نوکلئوتید پروتئینی با ۲۰۹ اسید آمینه را رمزگذاری می‌کند. نقش پروتئین P23 بازدارنده خاموشی ژن،

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

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

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

چارچوب ژنی p61 به طول ۱۶۰۸ نوکلئوتید پروتئینی با ۴۸۴ اسید آمینه را رمزگذاری می‌کند. این پروتئین همولوگ پروتئین HSP90 و دارای دو موتیف طویل حفاظت شده با ۷۳ و ۱۴۳ اسید آمینه است. در موتیف I پنج جانشینی M278V، V282T، J284G، Q313H و Y316H در سه جدایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2، جانشینی N298Q در جدایه‌های IR-North2 و IR-South2، و جانشینی D321E در جدایه IR-South2 وجود داشت. در موتیف II پروتئین p61 جانشینی A348E در هر ۴ جدایه توالی‌یابی شده، ۱۲ جانشینی مشابه R333N، M350L، V356I، V360A، V455I، R431K، V409I، A395T، S387L، P369A، V364A و T461D در سه جدایه IR-North2، IR-South1 و IR-South2، دو جانشینی Q375R و S379N در IR-North2، IR-South1، جانشینی V361A در IR-South2 و جانشینی‌های C386A، N427I و L428F در IR-North2 رخ داده بود. پنج جانشینی IR-North2، G344D، R372N، H389R، G391S و E419K در دو جدایه IR-North2، IR-South1 مشابه و در IR-South2 بصورت G344N، R372H، H389G و G391T بود (جدول ۴).

چارچوب ژنی P27 بطول ۷۲۳ نوکلئوتید پوشش پروتئینی کوچک (CPm) با ۱۹۰ اسید آمینه را رمزگذاری می‌کند که دارای نه موتیف

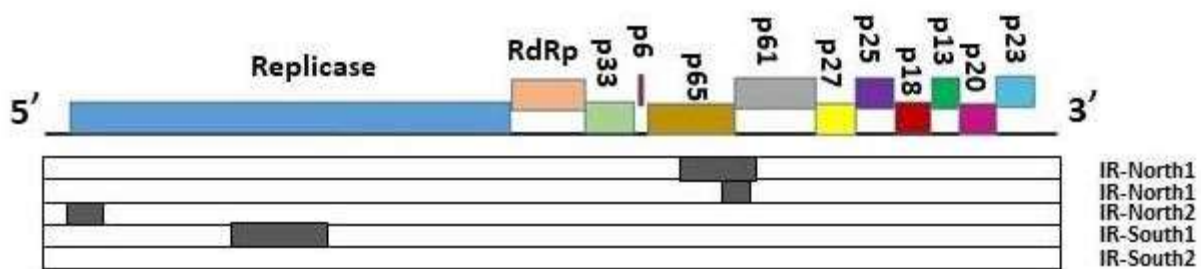
۱۲۷۱۲ تا ۱۴۱۳۸ نوترکیب بود. ناحیه نوترکیب شامل ژن‌های p65 (hsp70) و p61 در ژنوم CTV است (جدول ۵، شکل ۶). این قطعه حاصل نوترکیبی سویه مصری (Qaha، رس شمار AY340974) به عنوان والد اصلی و سویه T36 (U16304) به عنوان والد فرعی است. در جدایه IR-North2 نیز قطعه ۷۷۳ نوکلئوتیدی در موقعیت ۱۰۶ تا ۸۷۹ ژن رپلیکاز نوترکیب شناسایی شد (جدول ۵، شکل ۵). این قطعه حاصل نوترکیبی بین جدایه ژاپنی (NUagA، رس شمار AB046398) به عنوان والد اصلی و نژاد VT (رس شمار KC517494) به عنوان والد فرعی است. در جدایه IR-South1 نیز یک نوترکیبی در ژن رپلیکاز بطول ۲۴۴۴ نوکلئوتید در موقعیت ۳۹۷۴ تا ۶۴۱۸ ردیابی شد (جدول ۵، شکل ۵). این قطعه حاصل نوترکیبی بین نژاد VT (رس شمار EU937519) به عنوان والد اصلی و نژادهای SY568 (رس شمار AF001623) و VT (رس شمار EU937519) به عنوان والد فرعی است. هیچ نوترکیبی در جدایه IR-South2 شناسایی نشد.

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

تجزیه و تحلیل نوترکیبی

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

در جدایه IR-North1 قطعه ۱۴۲۶ نوکلئوتیدی در موقعیت



شکل ۶- تصویر شماتیک از محل وقوع نوترکیبی در ژنوم جدایه‌های ایرانی CTV

شاخص‌های قطعه نوترکیب در جدول ۵ ذکر شده است.

Figure 6- A schematic representation of the recombination event location in the genome of Iranian CTV strains. The breakpoints of the recombination fragment are listed in Table 5.

جدول ۵- مشخصات قطعه نوترکیب شناسایی شده در ژنوم جدایه‌های ایرانی CTV

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

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

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

بحث

در این تحقیق توالی کامل ویروس تریستزای مرکبات از دو منطقه مرکبات خیز استان مازندران و استان فارس مشخص و برخی صفات بیولوژیکی و مولکولی آنها با یکدیگر مقایسه شده است. علائم CTV در نمونه‌های آلوده جمع‌آوری شده از استان مازندران ایران شامل زردی، ریزبرگی، سرخشیدگی شاخه‌ها و کوتولگی بود و در تعداد معدودی زردی رگبرگ نیز مشاهده شد. علائم زردی و کوتولگی در مطالعه بزرگ و همکاران از مرکبات آلوده به CTV در استان مازندران کشور نیز گزارش شده است (Barzegar *et al.*, 2006). این علائم مشابه با علائم سندروم سویه‌های SP و SY تریستزا می‌باشد (Moreno *et al.*, 2008). در نمونه‌های استان فارس علائم ریزش برگ و سبزخشیدگی شایع بود که اغلب همراه با رنگ‌پریدگی، کوتولگی و ریزبرگی بود. علائم مشابه با آنها در آلودگی مرکبات به سویه NUagA از ژاپن و SY568 از کالیفرنیا نیز گزارش شده است (Suastika *et al.*, 2001). نهال‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های استان مازندران علائم کوتولگی، رگبرگ روشنی، ریزبرگی و زردی نشان دادند. علائم زردی، کوتولگی شدید، ریزبرگی همراه با رگبرگ روشنی علائم ناشی از وجود سویه SY در نهال نارنج می‌باشد (Barzegar *et al.*, 2006). علائم در نهال‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های استان فارس شامل رگبرگ روشنی، ریزبرگی، کوتولگی خفیف و زردی بود.

با استفاده از توالی‌یابی RNA seq و تجزیه و تحلیل داده‌ها، توالی کامل چهار جدایه CTV از مناطق مرکبات کاری استان مازندران و استان فارس بدست آمده که به عنوان اولین گزارش از توالی کامل ویروس تریستزای مرکبات از ایران است. بیشتر نیز از این رهیافت در شناسایی، سبب‌شناسی و توالی‌یابی ژنوم CTV استفاده شده است (Bester *et al.*, 2021، Ruiz Ruiz *et al.*, 2011). تا کنون تنها توالی ژن کدکننده پروتئین پوششی (Alavi *et al.*, 2005، Barzegar *et al.*, 2006، Ahmadi *et al.*, 2006) و ژن کدکننده پروتئین پوششی کوچک از جدایه‌های CTV در ایران گزارش شده است (Barzegar *et al.*, 2010). جدایه‌های IR-North2 و IR-North1 از مرکبات استان مازندران به ترتیب ۱۹۳۰۲ و ۱۹۲۹۶ نوکلئوتید و جدایه‌های IR-South1 و IR-South2 از مرکبات استان فارس ۱۹۲۵۲ و ۱۹۲۵۱ نوکلئوتید طول داشتند. این اختلاف در طول ژنوم مربوط به تفاوت در طول چارچوب‌های ژنی ORF1a، ORF1b، p33، p61 و نواحی 5'UTR و 3'UTR بود. بیشترین و کمترین شباهت بین جدایه‌های استان مازندران و استان فارس ۹۵/۲٪ و ۷۷/۵٪ و به ترتیب بین جدایه IR-North2 با IR-South1 و IR-North1 با North1 IR-South1 بود. جدایه IR-North1 با سویه زوال سریع

CTV (سویه T36، رس شمار U16304) (Pappu *et al.*, 1995)، جدایه IR-North2 با سویه کوتولگی و ساقه آبله‌ای شدید (سویه SY، رس شمار AB046398) (Suastika *et al.*, 2001)، جدایه IR-South1 با سویه ساقه آبله‌ای شدید CTV (سویه T318A، رس شمار DQ151548) (Ruiz-Ruiz *et al.*, 2006) و جدایه IR-South2 با سویه ساقه آبله‌ای ملایم CTV (سویه T3، رس شمار EU857538) (Harper *et al.*, 2009) بیشترین شباهت را داشتند. بررسی توالی ژن کدکننده پروتئین پوششی CTV از مرکبات کاری‌های استان مازندران نیز شباهت ۹۸٪-۹۷٪ جدایه‌ها را با سویه SY نشان داده بود (Barzegar *et al.*, 2006). در درخت فیلوژنی ترسیم شده جدایه‌های CTV در سه گروه VT، T68 و T36 قرار گرفتند. توپولوژی درخت فیلوژنی مشابه با نتایج یوکومی و همکاران (Yokomi *et al.*, 2018) بود. در درخت فیلوژنی جدایه IR-North1 از مرکبات استان مازندران در گروه T36 همراه با سویه مرجع CTV (رس شمار U16304) و سه جدایه IR-North1، IR-South1 و IR-South2 در گروه VT قرار داشتند. جدایه IR-North2 ارتباط نزدیکی با سویه SY (رس شمار AB046398) داشت که علائم کوتولگی شدید، ساقه آبله‌ای و زردی نهالچه تولید می‌کند (Suastika *et al.*, 2001). جدایه‌های IR-South1 و IR-South2 از مرکبات کاری‌های استان فارس به ترتیب با نژاد T318A (رس شمار DQ151548) که مولد ساقه آبله‌ای شدید (Ruiz-Ruiz *et al.*, 2006)، و نژاد T3 (رس شمار EU857538) که اغلب فاقد علائم یا با علائم ساقه آبله‌ای خفیف در پرتقال و غیرقابل انتقال با ناقل *Toxoptera citricida* بود (Harper *et al.*, 2009) رابطه نزدیکی داشتند. نتایج تعیین گروه ژنوتیپی جدایه‌ها با توجه به توالی ناحیه بین ژنی پوشش پروتئینی کوچک و بزرگ و هضم آنزیمی (Saponari *et al.*, 2010) نیز با گروه‌بندی درخت فیلوژنی جدایه‌ها تطابق داشت. اسید آمینه موقعیت ۱۲۴ در پروتئین پوششی CTV برای تعیین قدرت بیماری‌زایی سویه‌های CTV استفاده شده است (Gottwald *et al.*, 1998). جدایه‌های که در این موقعیت دارای اسید آمینه فنیل آلانین باشند در زمره سویه‌های شدید CTV قرار می‌گیرند. در سویه‌های خفیف CTV در این موقعیت هر اسید آمینه دیگر بجز فنیل آلانین قرار دارد (Lbida *et al.*, 2005). در هر چهار جدایه IR-North1، IR-North2، IR-South1 و IR-South2 در موقعیت ۱۲۴ پروتئین پوششی، اسید آمینه فنیل آلانین وجود دارد و بنابراین این چهار جدایه در گروه جدایه‌های با قدرت بیماری‌زایی زیاد قرار می‌گیرند. همچنین اسید آمینه موقعیت ۱۰۰ در پروتئین پوششی این ویروس به صورت حفاظت شده می‌باشد و در گروه فیلوژنی VT ترونین و در گروه فیلوژنی T36 آلانین است (Wu *et al.*, 2014). این موقعیت در جدایه IR-North1 شامل اسید آمینه آلانین و در سه جدایه دیگر

(Harper, 2013). فشار انتخاب منفی همراه با جریان ژن و نوترکیبی از مهم‌ترین نیروهای موثر در تکامل ویروس تریستزا هستند (Cheng et al., 2012).

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

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

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

منابع

- Ahmadi, S., Afsharifar, A., Niazi, A., Sadeghi, M., & Izadpanah, K. (2006). *Distribution and analysis of genetic diversity of Citrus tristeza virus (CTV) isolates in Kerman Province*. 17th Iranian Plant Protection Congress, 289. (In Persian with English abstract)
- Alavi, A., Khatabi, B., & Salekdeh, G.H. (2005). Comparison of biologically distinct isolates of *Citrus tristeza virus* from Iran using major coat protein sequences. *Australian Plant Pathology*, 34(4), 577-582. <https://doi.org/10.1071/AP05079>
- Albiach-Martí, M.R., Guerri, J., Cambra, M., Garnsey, S.M., & Moreno, P. (2000). Differentiation of *Citrus tristeza virus* isolates by serological analysis of p25 coat protein peptide maps. *Journal of Virological Methods*, 88(1), 25-34. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(00\)00165-8](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(00)00165-8)
- Albiach-Martí, M.R., Mawassi, M., Gowda, S., Satyanarayana, T., Hilf, M.E., Shanker, S., Almira, E.C., Vives, M.C., Lopez, C., Guerri, J., Flores, R., Moreno, P., Garnsey, S.M., & Dawson, W.O. (2000b). Sequences of *Citrus tristeza virus* separated in time and space are essentially identical. *Journal of Virology*, 74, 6856-6865.

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

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

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



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

R. Farshbaf Pourabad ^{1*}, H. Esparani Asadi ², D. Mohammadi ³

Received: 21-02-2023

Revised: 30-05-2023

Accepted: 31-05-2023

Available Online: 06-06-2023

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

Introduction

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

Material and Methods

Insects reared on parsley seeds adhered on the inner side of big plastic containers in controlled condition. Supplements including vitamins B₁₂, B₆, B₁ and Serine and Phenylalanine amino acids selected for evaluation. These supplements used for the treatment of *G. lineatum* in four different concentrations dissolved in water. For evaluating the effects of nutritional supplements on anatomy of salivary glands, both glands separate after dissection of adult's thorax, and dimension of glands including width and length of posterior and anterior lobes, measured by micrometer apparatus located on stereomicroscope. Total body protein measured by Kjeldahl apparatus after well drying the total body of insects in oven followed by fine powder of dry materials. Total protein was determined using a standard method, calculated by multiplying the nitrogen amounts by 6.38, a constant value. In distinct experiments, the impact of nutritional supplements on the duration of each nymphal stage was investigated. One-day-old eggs were employed for this purpose. Following treatment justification, the time required for the development of each instar was recorded on a daily basis. All tests were replicated three times, with distilled water used for the control treatment. The data were analyzed by One-way ANOVA

1- Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran and Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ege University, 35100 izmir, Turkiye

(*- Corresponding Author Email: rfpourabad@tabrizu.ac.ir & reza.farshbaf.pourabad@ege.edu.tr)

2- M.Sc. in Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

3- Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

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

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

Results and Discussion

The results disclosed a significant impact of all vitamins and amino acids on all studied parameters. Notably, in the case of salivary glands, the posterior lobe exhibited a more pronounced effect in insects fed with B₁, B₆, and Phenylalanine. Different concentrations of vitamin B₆, B₁ and Phenylalanine affected total protein content of male and female insect's body. Vitamin B₁₂ had non-significant effect on male and female total body protein. Nutritional supplements changed the rate of laid and hatched eggs in addition with nymph's developmental time. Vitamin B₁₂ in the concentration of 0.005 g/l, B₆ in the concentration of 0.25 g/l, B₁ in the concentration of 0.5 g/l, Serine and Phenylalanine both in the concentration of 0.5 g/l showed the highest rate of laid and hatched eggs. Vitamin B₆ and B₁ in the concentration of 1 and 1.5 g/l resulted in prolonging the nymph's life span in comparing with controls. The negative effects of high concentrations of nutritional supplements on fecundity and normal developmental period of nymphs well documented in this study. Metabolism, cell division, hormone synthesis, enzymes activity and many physiological parameters affects by supplements especially vitamins. Any disorder in utilization, absorption and inhibition of their function leads to biological and behavioral problems in insects. In some cases, the function of symbionts for compensation essential supplements documented.

Conclusion

The results of this study indicate important function of vitamins B₁₂, B₆ and B₁ on *G. lineatum* nymphal developmental period. In high concentrations, rate of growth decreased in comparison with controls. Salivary glands anatomy showed some changes in dimensions especially in posterior lobes in dose-depending manner. Number of eggs laid and hatched decreased especially in high concentrations of nutritional supplements. The results of this study will help to justify better meridic diet for rearing striped bug. In semi-artificial diets for rearing this insect, corporation of little concentrations (optimum) will improve the fitness of insects.

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

مقاله پژوهشی

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

تأثیر مکمل غذایی بر چند ویژگی فیزیولوژیک و زیست‌شناختی سن نواری چتریان،
Graphosoma lineatum L.رضا فرشایف پورآباد^{۱*} ID - هانیه اسپرانی اسدی^۲ ID - داود محمدی^۳ ID

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۳/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۰

چکیده

سن نواری چتریان *Graphosoma lineatum* L. یکی از آفات مهم گیاهان تیره چتریان است. حشرات کامل و پوره‌های این سن از بذر گیاهان میزبان خود تغذیه می‌کنند. از تخم‌های این حشره برای تولید انبوه زنبورهای پارازیتوئید نیز استفاده می‌شود. در پرورش انبوه حشرات مکمل‌های غذایی نقش بسزایی در افزایش کارایی تولید دارند. در این بررسی تأثیر برخی ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه بر ریخت‌شناسی غده بزاقی، میزان پروتئین کل بدن، طول دوره رشدی و زادآوری این حشره در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. سن‌ها بر روی بذرهای گیاه جعفری که به دیواره داخلی ظروف پرورش چسبانده شده بودند پرورش یافتند. مکمل‌های مورد مطالعه شامل ویتامین‌های B₁، B₆، B₁₂ و اسید آمینه‌های سرین و فنیل آلانین بودند. این مکمل‌ها به صورت محلول در آب مورد استفاده برای پرورش سن، در چهار غلظت مختلف مورد استفاده قرار گرفتند. برای بررسی تأثیر مکمل‌ها بر غدد بزاقی، پس از تشریح و خارج کردن این غدد ابعاد آن‌ها شامل طول و عرض لوب‌های جلویی و عقبی با استفاده از استریومیکروسکوپ و میکرومتر اندازه‌گیری شد. پروتئین کل بدن با روش کلدال پس از خشک کردن حشرات در تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد. در بررسی دیگری، طول دوره رشدی پنج سن پورگی سن نواری چتریان تحت تأثیر مکمل‌های غذایی مختلف اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که مورفولوژی غدد بزاقی تحت تأثیر مکمل‌های غذایی تغییرات معنی‌داری پیدا کرد. ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه مورد استفاده بیشتر لوب عقبی غدد بزاقی را تحت تأثیر قرار دادند و کاهش معنی‌داری در ابعاد لوب‌های غدد بزاقی در مقایسه با شاهد ثبت گردید. همچنین، غلظت‌های مختلف ویتامین‌های B₁، B₆ و اسید آمینه فنیل آلانین بیشترین تأثیر را روی میزان پروتئین کل بدن حشرات نر و ماده داشتند. ویتامین B₁₂ روی تغییر درصد پروتئین کل بدن در دو جنس نر و ماده تأثیر معنی‌داری نداشت ولی درصد پروتئین کل بدن در غلظت‌های بالا از غلظت‌های پایین بیشتر بود. نتایج بررسی‌های زیستی نیز نشان داد که افزودن مکمل‌های غذایی روی میانگین تعداد تخم‌های گذاشته شده و تفریح شده و طول دوره‌های سنین پورگی تأثیر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف مکمل‌های غذایی نشان داد که تغذیه از ویتامین‌های B₁ و B₆، B₁₂ به ترتیب با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم در لیتر و اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر بالاترین زادآوری و درصد تفریح تخم را داشتند. میزان تفریح تخم‌ها در مقایسه با تیمار شاهد در تمام تیمارها کاهش نشان داد. با مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف تیمارهای به کار رفته، غلظت بالای ویتامین‌های B₆ و B₁ (۱ و ۱/۵ گرم در لیتر) باعث افزایش طول دوره‌های پورگی گردید. در مطالعه حاضر مشخص گردید که تغذیه از برخی مکمل‌های غذایی بر درصد تفریح تخم‌ها و طول دوره رشدی سن نواری چتریان تأثیر منفی داشت.

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

۱- استاد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

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

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

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

مقدمه

مواد غذایی مورد استفاده حشرات از لحاظ کمیت و کیفیت باید نیازهای غذایی آن‌ها را تامین و رشد و تولید مثل حشره را تضمین نماید. این مواد غذایی اغلب توسط تغذیه وارد بدن می‌شوند که یا به طور مستقیم یا بر اثر واکنش‌های آنزیمی و متابولیکی تغییر می‌یابند و مورد استفاده قرار می‌گیرند. هر چند کربوهیدرات‌ها به‌عنوان منبع اصلی انرژی حشرات گیاه‌خوار شناخته شده‌اند ولی پروتئین‌ها و لیپیدها نیز در نشوونمای حشرات نقش مستقیمی دارند. در این بین برخی مواد معدنی، ویتامین‌ها و املاح هستند که، هر چند به مقدار اندک مورد نیاز هستند، اما نشوونما و تولید مثل حشرات وابسته به آن‌هاست (Kraus et al., 2019; Genc, 2006). ویتامین‌ها به‌عنوان مهم‌ترین بخش از گروه‌های مختلف مواد غذایی، هر چند به مقدار بسیار کم مورد نیاز هستند، ولی بدون دریافت آنها زیست‌شناسی و فیزیولوژی حشرات دچار اختلال خواهد شد. این گروه از مواد غذایی یا مستقیماً از طریق تغذیه، سنتز و یا با استفاده از همزیست‌های حشرات دریافت می‌شوند. ویتامین‌ها به دو گروه قابل حل در آب و قابل حل در چربی تقسیم می‌شوند. ویتامین‌های قابل حل در آب مانند ویتامین‌های گروه B نمی‌توانند در بدن ذخیره شوند و پیوسته باید تامین شوند (Kraus et al., 2019). بیشتر حشرات برای نشوونما به ویتامین‌های قابل حل در آب نیاز دارند (Genc, 2006). این ویتامین‌ها شامل تیامین (B₁)، ریوفالوین (B₂)، اسید نیکوتینیک (B₃)، پیریدوکسین (B₆)، اسید پانتوتینیک، اسید فولیک و بیوتین برای نشوونما و تولید مثل حشرات ضروری هستند و نقش‌های مختلفی مانند کوآنزیم، افزایش متابولیسم، مقابله با تنش‌های زیست‌محیطی، رفتار و دیابوز به آن‌ها نسبت داده شده است (Cohen, 2015; Douglas, Genc, 2006). مشخص شده که تیامین، ریوفالوین و نیاسین در بیوسنتز ATP نقش دارند. همچنین ویتامین‌های پانتوتات در انتقال گروه آسیل، و بیوتین و فولیک اسید به‌عنوان فاکتور رشد در حشرات نقش دارند (Kraus et al., 2019).

در بررسی‌های مختلف، ضرورت وجود ویتامین‌های گروه B برای نشوونمای عادی پشه‌ها (Kleinjan and Dadd, 1977)، و B₆ برای رشد مناسب غدد ابریشم‌ساز، توازن اسیدهای آمینه همولف و دفع عادی اسید اوریک در کرم ابریشم (Hori et al., 1966) گزارش شده است. فاروکی (Faruki, 2005) اظهار کرد که ویتامین B₆ در متابولیسم پروتئین‌ها به‌عنوان کوآنزیم نقش دارد و باعث افزایش رشد حشرات می‌شود. فقدان ویتامین B₁₂ در غذای حشرات رشد را کند و میزان طول عمر حشرات کامل را کاهش می‌دهد (Dadd, 1985; Genc, 2006). در برخی حشرات، برخی ویتامین‌های گروه B توسط همزیست‌های دستگاه گوارش سنتز می‌شوند (Salem et al., 2014).

ویتامین B در حشرات نقش دفاعی نیز دارد (Yoshii et al., 2019). ویتامین B₁ یا تیامین در سنتز ATP و تولید انرژی در حشرات نقش بسیار مهمی را بر عهده دارد (Serrato-Salas and Gendrin, 2022).

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

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

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

گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز تهیه و یک کلنی جدید شکل گرفت. قبل از انجام آزمایش‌های اصلی، حشره تا پنج نسل بر روی دانه‌های جعفری خالص‌سازی شد.

ابتدا دانه‌های جعفری جهت ایجاد یکنواختی الک شدند. سپس جهت حذف ناخالصی‌ها و دانه‌های پوک، داخل آب ریخته شده و بلافاصله پس از حذف ناخالصی‌های سطحی، دانه‌های باقیمانده در کف ظروف در شرایط آزمایشگاهی در مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. دانه‌های آماده شده جهت مصارف بعدی در ظروف سر بسته نگهداری شدند. جهت پرورش حشرات از ظروف پلاستیکی در پوش دار مات به ابعاد $8 \times 22 \times 30$ سانتی‌متر (ظروف پرورش) و $30 \times 32 \times 45$ سانتی‌متر (ظروف تخم‌گیری) استفاده شد. به‌منظور ایجاد تهویه در ظروف پرورشی، بخشی از سطح فوقانی در پوش برداشته و با پارچه توری مسدود گردید (شکل ۱). در دیواره‌های طولی و در ارتفاع ۴ سانتی‌متری از کف ظروف چهار شکاف افقی به طول ۴ سانتی‌متر و عرض یک میلی‌متر تعبیه گردید که محل قرار دادن نوارهای کاغذ صافی به طول ۱۵ و عرض ۵ سانتی‌متر بود. یک سانتی‌متر از این نوارها از طریق شکاف به داخل ظروف پرورش وارد می‌شد. نوارهای کاغذ صافی با جذب آب از ظروف پلاستیکی آب مورد نیاز سن‌ها را در اختیار آن‌ها قرار می‌دادند.

جهت تغذیه پوره‌ها و حشرات کامل از دانه‌ها جعفری، چسب طبیعی سریشم به‌صورت یک لایه یکنواخت به کف و دیواره‌های داخلی ظروف پرورش مالیده می‌شد و دانه‌های جعفری در داخل ظروف ریخته می‌شدند و طوری عمل می‌گردید تا تمام سطوح داخلی آن‌ها با دانه‌های جعفری پوشانیده شود. سپس اجازه داده می‌شد تا سریشم در مجاورت هوای آزاد خشک شود. ظروف مورد استفاده هر ۱۵ روز یک بار تعویض می‌شدند. شرایط پرورش در انسکتاریوم شامل دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 60 درصد و دوره نوری ۱۶:۸ (L:D) ساعت بود (Yazdani et al., 2011).

مکمل‌های غذایی مورد بررسی

در این پژوهش از ویتامین‌های B₁ (تیامین)، B₆ (پایریدوکسین) و B₁₂ (کوبال‌آمین) و اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین استفاده شد که همگی حالت پودری داشتند.

ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه ذکر شده هر کدام در ۴ غلظت و ۴ تکرار مورد استفاده قرار گرفتند و برای هر کدام یک تیمار شاهد (آب مقطر) در نظر گرفته شد. ویتامین B₁ در غلظت‌های ۰/۵، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر، ویتامین B₆ در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر، ویتامین B₁₂ در غلظت‌های ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۲ گرم در لیتر و اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین هر دو در غلظت‌های ۱، ۰/۵، ۱/۵ و ۲ گرم در لیتر مورد استفاده قرار گرفتند. غلظت‌های مختلف ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه در آب مقطر تهیه

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

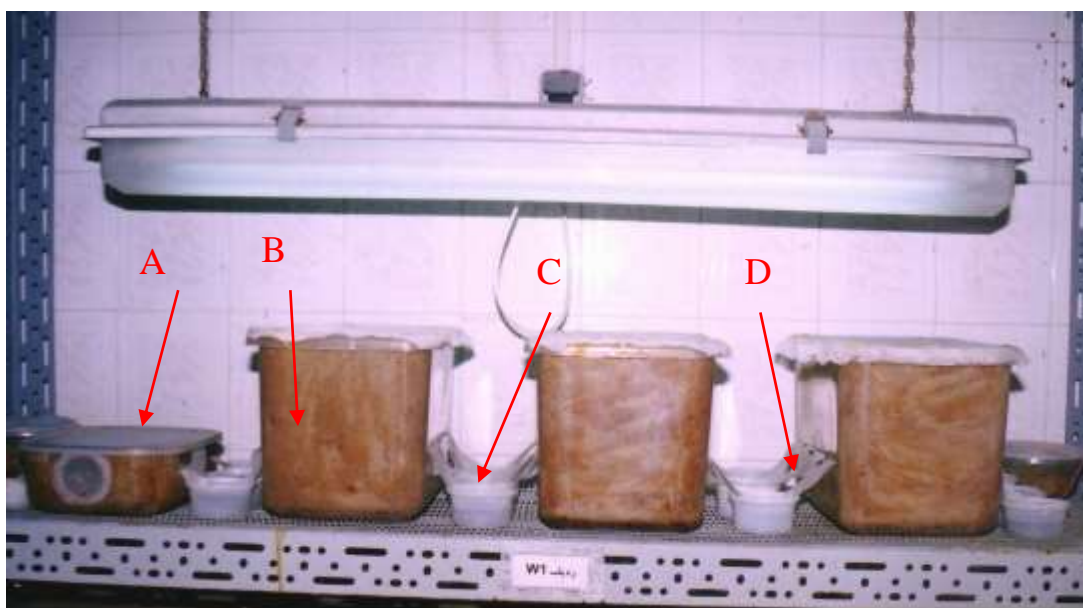
سن *Graphosoma lineatum* از آفات مهم تیره چتریان مانند جعفری، گشنیز و هویج می‌باشد که در ایران از استان‌های مختلفی گزارش شده است. همچنین از این سن در پرورش انبوه زنبورهای پارازیتوئید سایر سن‌ها مانند سن گندم به‌عنوان میزبان آزمایشگاهی استفاده می‌شود (Roversi et al., 2018). با توجه به این مطلب، در بررسی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

مواد و روش‌ها

پرورش سن نواری چتریان

حشرات کامل سن نواری چتریان از کلنی پرورشی در انسکتاریوم

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



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

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

کالیبره و نصب شده بر روی استریومیکروسکوپ بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. طول لوب‌های جلویی و عقبی از هایلوس^۱ تا انتهای هر لوب و در امتداد خط مستقیمی که هایلوس را به انتهای لوب متصل می‌کند، و عرض لوب‌های جلویی و عقبی نیز در عرض‌ترین قسمت آن دو اندازه‌گیری شد (Yazdanian *et al.*, 2006) (شکل ۲).

تعیین میزان پروتئین کل بدن حشرات کامل

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

تشریح و خارج ساختن غدد بزاقی حشرات کامل

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

بررسی ریخت‌شناسی غده بزاقی

غدد بزاقی پس از جدا شدن از بدن حشرات کامل نر و ماده به دو گروه غده اصلی سمت راست و غده اصلی سمت چپ تقسیم شدند. طول و عرض قسمت‌های مختلف غدد بزاقی با استفاده از میکرومتر

1- Hilus

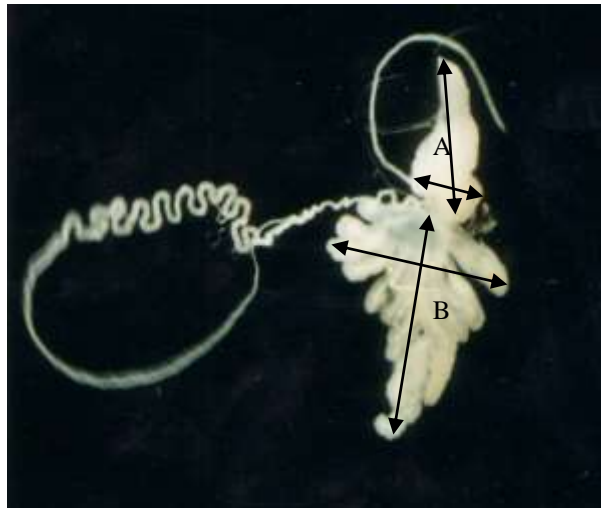
2- Kjeldahl

مورد بررسی قرار گرفتند. مدت زمان لازم برای تکمیل هر یک از مراحل پورگی به تفکیک هر سن با توجه به وجود پوسته‌های تعویض جلد از طریق نمونه‌برداری‌های روزانه تعیین شد.

بررسی ویژگی‌های زیستی

طول دوره‌های سنین مختلف پورگی

پس از تخم‌گذاری حشرات ماده تغذیه کرده از مکمل‌های غذایی و تفریخ شدن تخم‌ها، ۲۰ عدد پوره سن اول ۲۴ ساعته در هر تکرار



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

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

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

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

تجزیه واریانس (یک طرفه) شدند. مقایسه میانگین‌ها نیز به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج

تأثیر مکمل‌های غذایی بر ریخت‌شناسی غده بزاقی

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

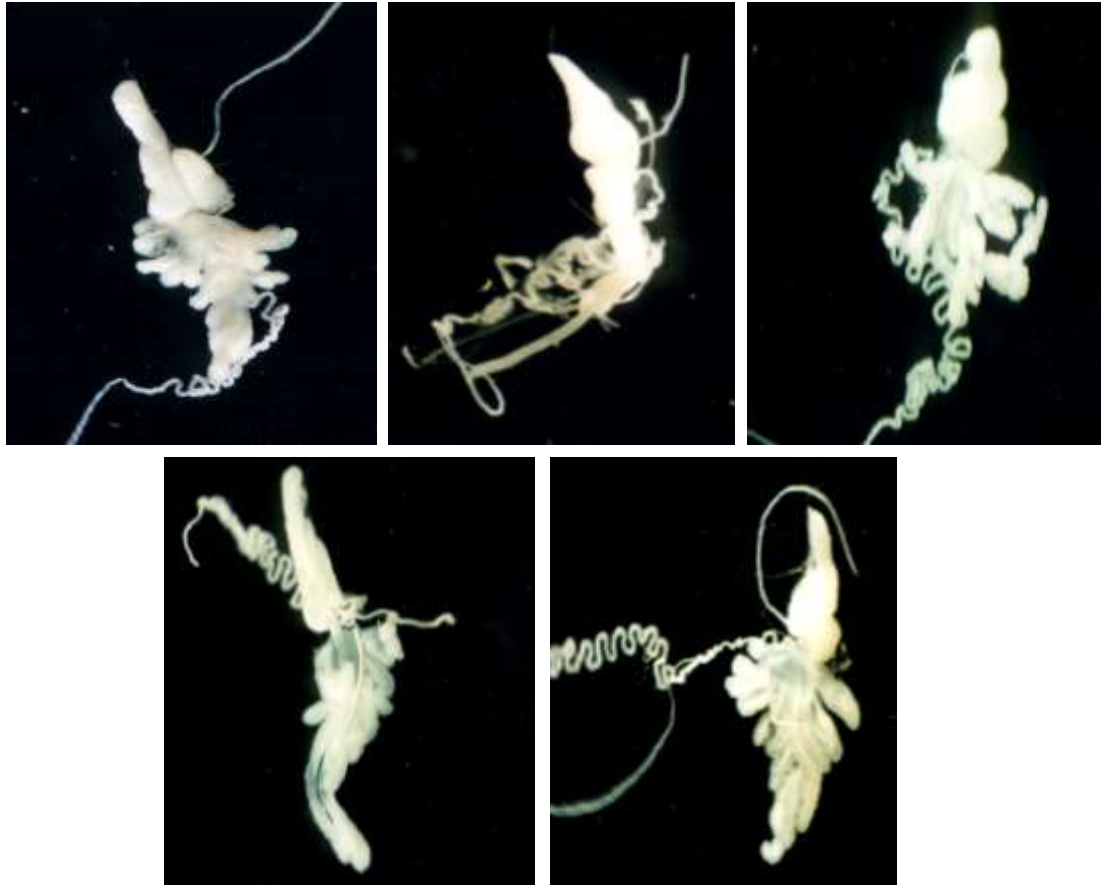
در هر دو جنس نر و ماده، اثر تیمارهای مورد بررسی بر رشد طولی و عرضی لوب‌های جلویی و عقبی غدد بزاقی سن نواری چتریان معنی‌دار بود. در حشرات ماده (جدول ۱) بیشترین اندازه ابعاد غدد در تیمار شاهد ثبت گردید و سایر تیمارها نیز بسته به غلظت مورد استفاده اثرات متفاوتی داشتند و معمولاً تغذیه از غلظت‌های بالاتر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

زادآوری و درصد تفریخ تخم‌ها

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

تجزیه آماری

پیش از تجزیه واریانس، نرمال بودن داده‌های حاصل بررسی شد و در صورت نیاز تبدیل داده مناسب انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS به صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار



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

به ترتیب A تا E: ویتامین B₁₂، ویتامین B₆، ویتامین B₁، اسید آمینه سرین و شاهد

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

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

اند. اما اثرات متفاوت این نوع رژیم‌های غذایی بر روی رشد طول و عرض لوب عقبی چه در حشرات نر و چه در حشرات ماده مشاهده شد.

درصد پروتئین کل بدن

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

تغذیه پوره‌ها از مکمل‌های غذایی موجب تغییرات مورفومتریک در غدد بزاقی حشرات کامل نر شد (**جدول ۲**). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که غلظت‌های بالای مکمل‌ها اثرات بیشتری در کاهش اندازه لوب‌های جلویی و عقبی سن‌ها داشتند. ابعاد غده بزاقی در تیمار شاهد به صورت معنی‌داری بیشتر از تیمار با مکمل‌های غذایی بود. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه (**جدول ۱ و ۲**) نشان داد که در کلیه تیمارهای به کار رفته بجز تیمار شاهد، تغذیه از پایین‌ترین سطح غلظت همیشه بیشترین اثر را بر روی رشد طول و عرض لوب جلویی در نر و ماده گذاشته است. اما غلظت‌های متفاوت و نوع رژیم‌های غذایی به کار برده شده اثرات متفاوتی را بر روی طول و عرض لوب عقبی در نر و ماده داشته است. اگر چه غلظت‌های پایین تیمارها در مجموع اثرات نسبتاً مشابهی در رشد و اندازه طول و عرض لوب عقبی در حشرات نر و ماده داشته

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

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

تیمارها Treatments	غلظت‌ها (گرم در لیتر) Concentrations (g/l)	عرض لوب عقبی Posterior lobe width (mm)		طول لوب عقبی Posterior lobe length (mm)		عرض لوب جلویی Anterior lobe width (mm)		طول لوب جلویی Anterior lobe length (mm)	
		راست Right	چپ Left	راست Right	چپ Left	راست Right	چپ Left	راست Right	چپ Left
B ₁₂	0.02	1.17e	1.16cd	1.58gh	1.58b-f	0.69c-f	0.68b-d	1.35a-d	1.22b-f
	0.015	1.31e	1.27cd	2.22b-d	2.22a	0.8a-d	0.7b-d	1.29a-d	1.31b-e
	0.01	1.38de	1.33cd	2.29a-d	2.43a	0.88ab	0.85a	1.32a-d	1.24a-f
	0.005	1.86bc	1.86b	2.50ab	2.43a	0.90a	0.78a	1.35 a-d	1.38a-e
B ₆	1	2.01ab	2.01ab	1.5gh	1.45c-f	0.49g	0.44g	1.11d-f	1.14e-f
	0.75	2.02ab	2.02ab	1.47gh	1.47b-f	0.52g	0.49g	1.20c-f	1.17c-f
	0.5	2.07ab	2.07ab	2.01c-e	1.83b	0.54g	0.49g	1.22b-e	1.22b-f
	0.25	2.31a	2.29a	2.38ab	2.41a	0.88g	0.50g	1.54 a	1.59a
B ₁	1.5	1.22e	1.06d	1.33h	1.92f	0.55e-g	0.58d-g	1.02ef	1.10ef
	1	1.37de	1.11cd	1.43gh	1.28f	0.60e-g	0.59d-g	1.20cf	1.25b-f
	0.75	1.42de	1.48c	1.48gh	1.30ef	0.62e-g	0.64c-e	1.31a-d	1.44a-c
	0.5	1.94bc	1.95ab	2.23b-d	1.78bc	0.81a-c	0.79a-c	1.47 ab	1.35a-e
Serine	2	1.26e	1.05d	1.74e-g	1.56b-f	0.47g	0.46g	0.97ef	1.01f
	1.5	1.17e	1.14cd	1.63f-h	1.56b-f	0.47g	0.46g	0.96f	0.99f
	1	1.17e	1.16cd	16.8e-h	1.67b-e	0.72b-e	0.69b-d	1.13d-f	1.14ef
	0.5	1.35de	1.29cd	2.33a-c	2.26a	0.79a-d	0.81ab	1.45 a-c	1.31b-e
Phenylalane	2	1.10e	1.07d	1.4gh	1.39b-f	0.68c-f	0.63d-f	1.27b-d	1.16d-f
	1.5	1.16e	1.16cd	1.53gh	1.45c-f	0.68c-f	0.7b-d	1.42a-c	1.42a-d
	1	1.17e	1.13cd	1.61f-h	1.59b-f	0.72b-e	0.81ab	1.47ab	1.45b
	0.5	1.66cd	1.37cd	1.96d-f	1.72b-d	0.78a-d	0.91a	1.48 ab	1.46ab
Control	-	2.30a	2.26a	2.61a	2.46a	0.93a	0.91a	1.47ab	1.46ab

در هر ستون، حروف مشابه به معنی عدم اختلاف معنی‌دار است (آزمون چنددامنه‌ای دانکن، $\alpha = 0.01$).

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

اثر تغذیه از مکمل‌های غذایی روی فراسنجه‌های زیستی

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

زادآوری و درصد تفریح تخم

با مقایسه میانگین تاثیر تغذیه از مکمل‌های غذایی مختلف بر زادآوری و درصد تفریح تخم‌های سن نواری چتریان (جدول ۴) مشاهده شد که ویتامین B₁₂ در غلظت ۰/۰۰۵ گرم بر لیتر، ویتامین B₆ در غلظت ۰/۲۵ گرم بر لیتر، ویتامین B₁ در غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر و اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین در غلظت ۰/۵ گرم بر لیتر، بالاترین تاثیر را بر میزان تخم گذاشته شده و تفریح شده داشتند. با افزایش غلظت هر یک از ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه کاهش معنی

مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه مورد استفاده در هر دو جنس نر و ماده نشان می‌دهد که تغذیه از غلظت‌های مختلف ویتامین B₆ بیشترین تأثیر را بر افزایش درصد پروتئین کل بدن سن نواری چتریان گذاشتند (جدول ۳). مکمل غذایی فنیل آلانین نیز در غلظت ۲ گرم بر لیتر اثری مشابه با ویتامین B₆ در هر دو جنس نر و ماده داشتند و موجب افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین کل بدن در سن نواری چتریان شدند (جدول ۳). هرچند با کاهش غلظت این اسید آمینه در جنس نر، کاهش معنی‌داری در درصد پروتئین کل سن‌ها مشاهده شد. ویتامین B₁₂ کمترین تأثیر را در درصد پروتئین کل در هر دو جنس نر و ماده داشت (جدول ۳). این موضوع بخصوص در حشرات نر بسیار معنی‌دار و حتی از تیمار کنترل بدون مکمل غذایی هم کمتر بود. اسید آمینه سرین و ویتامین B₁ در مقایسه با سایر تیمارها اثر متوسطی روی پروتئین کل داشتند.

داری در تعداد تخم گذاشته شده و تفریح شده توسط سن‌های تیمار اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین بوده و هیچکدام بر دیگری شده مشاهده گردید. اثر ویتامین‌های B₁، B₆ و B₁₂ مشابه اثر برتری نداشت (جدول ۴).

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

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

تیمارها Treatments	غلظت‌ها (گرم در لیتر) Concentrations (g/l)	عرض لوب عقبی Rear lobe width (mm)		طول لوب عقبی Rear lobe length (mm)		عرض لوب جلویی Front lobe width (mm)		طول لوب جلویی Front lobe length (mm)	
		راست Right	چپ Left	راست Right	چپ Left	راست Right	چپ Left	راست Right	چپ Left
		B ₁₂	0.02	1.3d-f	1.22c-e	1.92ef	1.46g-j	0.73ab	0.69ab
	0.015	1.45b-d	1.45a-d	1.59ef	1.51g-i	0.73ab	0.69a-c	1.12b-e	1.14a-d
	0.01	1.46b-d	1.47a-c	1.6ef	1.82c-f	0.69ab	0.67a-d	1.26b-e	1.34ab
	0.005	1.52b	1.5ab	2.08b	1.91b-d	0.73ab	0.73a	1.53a	1.37a
B ₆	1	1.17fg	1.18e	1.49fg	1.44h-j	0.41f	0.4i	1.18b-e	1.18a-d
	0.75	1.23e-g	1.27b-e	1.51fg	1.5g-j	0.44f	0.42hi	1.19b-e	1.2a-d
	0.5	1.34c-f	1.39b-e	1.56fg	1.55g-j	0.55f-h	0.51f-h	1.34a-c	1.31a-c
	0.25	1.48 bc	1.43b-e	1.69c-f	1.7d-g	0.8a	0.71a	1.36ab	1.32a-c
B ₁	1.5	1.2e-g	1.42b-e	1.43fg	1.6f-h	0.56d-g	0.56d-g	1.09b-e	1.06b-d
	1	1.2e-g	1.45a-d	1.67d-f	1.56g-i	0.61b-g	0.59b-g	1.09b-e	1.09a-d
	0.75	1.3d-f	1.48ab	1.72c-f	1.66e-h	0.67a-f	0.61a-f	1.11b-e	1.15a-d
	0.5	1.44 b-d	1.5ab	1.96bc	1.72d-g	0.69a-e	0.65a-e	1.18b-e	1.18a-d
Serine	2	1.21e-g	1.17e	1.28g	1.26j	0.45g-i	0.48g-i	1.04d-e	1.02cd
	1.5	1.22e-g	1.2de	1.87b-e	1.87b-e	0.52f-h	0.52f-h	1.02e	1.05b-d
	1	1.21e-g	1.22c-e	1.91b-d	1.9b-e	0.57e-g	0.55eg	1.07cd	1.06b-d
	0.5	1.25e-g	1.25b-e	2.11ab	2.1b	0.57c-g	0.57c-g	1.20b-e	1.15a-d
Phenylalane	2	0.96h	0.91f	1.31g	1.33i-j	0.67a-e	0.64a-e	1.16b-e	1.18a-d
	1.5	1.10gh	0.92f	1.5fg	1.46g-j	0.71ab	0.69ab	1.17b-e	1.16a-d
	1	1.26e-g	1.18e	1.91b-d	1.94b-d	0.7ab	0.69ab	1.26b-e	1.25a-c
	0.5	1.38b-e	1.38b-e	1.96bc	2.03bc	0.72ab	0.69ab	1.35ab	1.33ab
Control	-	1.71a	1.69a	2.35a	2.34a	0.71ab	0.71ab	1.3a-d	1.3a-d

در هر ستون، حروف مشابه به معنی عدم اختلاف معنی‌دار است (آزمون چنددامنه‌ای دانکن، $\alpha = 0.01$).

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

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

طول دوره سنین مختلف پورگی

سن نواری چتریان در پرورش با کلیه مکمل‌ها، دارای پنج سن پورگی بود. با مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف تیمارهای به‌کار رفته طبق جدول ۴ مشاهده می‌شود، غلظت بالای ویتامین B₁ و B₆ (۱ و ۱/۵ گرم بر لیتر) باعث افزایش طول دوره‌های پورگی شده است. اما اختلاف ما بین نوع تیمارهای به‌کار رفته (ویتامین‌ها در مقابل اسیدهای آمینه) مشاهده نشد. به‌طوری که اثر هر یک از مکمل‌های غذایی به‌کار رفته بر طول سنین مختلف پورگی یکسان می‌باشد.

بحث

در بررسی حاضر افزودن مکمل‌های غذایی به رژیم غذایی سن

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

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

تیمارها Treatments	درصد پروتئین کل بدن در حشرات کامل نر	درصد پروتئین کل بدن در حشرات کامل ماده
	Male total protein percent	Female total protein percent
B ₁₂	46.5±4.2 ij	48.92±3.2h
	45.14±3.5j	46.69±2.4i
	45.47±3.5j	45.96±2.5i
	45.74±4.2j	46.19±2.5i
B ₆	59.63±5.4a	60.42±3.1a
	59.99±5.4a	59.87±2.6ab
	59.25±2.4b	59.58±2.4ab
	58.77±3.2ab	59.65±3.6ab
B ₁	57.62±3.4bc	58.32±3.6bc
	53.73±3.1ef	55.23±2.4d
	51.18±3.2g	52.95±2.5eg
	49.02±2.6h	51.4±2.4g
Serine	52.71±3.2fg	54.67±3.1ed
	52.49±3.2fg	54.91±4.2ed
	51.59±4.2g	53.7±4.6ed
	51.08±2.4g	52.65±4.2ed
Phenylalanine	59.51±2.4a	60.33±2.3a
	57.75±3.4bc	59.11±3.2ab
	56.58±2.5cd	58.94±3.4ab
	55.13±3.2de	56.94±2.6c
Control	48.74±3.4hi	48.86±4.2h

در هر ستون، حروف مشابه به معنی عدم اختلاف معنی‌دار است (آزمون چنددامنه‌ای دانکن، $\alpha = 0.01$).

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

غذایی قرار گرفته است. پروتئین نقش بسیار مهمی در ساختمان، نشو و نما، متابولیسم، دگرذیسی و تقریباً در تمام ویژگی‌های زیستی و فیزیولوژیکی حشرات ایفا می‌کند (Le gall and Behmer, 2014). بیشترین میزان پروتئین کل با کاربرد ویتامین B₆ و فنیل آلانین مشاهده گردید و با افزایش غلظت‌های اسیدآمین سرین و ویتامین B₁ بر مقدار پروتئین کل بدن افزوده شد. ویتامین B₁₂ تأثیری در مقدار پروتئین ایجاد نکرد. سولانس و امر (Sulanc and Emre, 2000) در بررسی تأثیر ویتامین B₆ بر درصد پروتئین کل زنبور *Pimpla turionella* نتیجه گرفتند، با کاهش غلظت‌های به‌کار رفته ویتامین، از میزان پروتئین کل بدن کاسته می‌شود. در بررسی حاضر نیز با کاهش غلظت‌های به‌کار رفته ویتامین B₆ از میزان پروتئین کل بدن سن نواری چتریان کاسته شد.

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

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

در بررسی حاضر که سطوح مختلفی از مکمل‌های غذایی مورد بررسی قرار گرفته است دوزهای پایین اثرات مثبت و دوزهای بالاتر اثرات منفی بر برخی ویژگی‌های زیستی سن نواری چتریان نشان داد. درصد پروتئین کل بدن به‌عنوان فاکتور مهم تحت تأثیر مکمل‌های

شدن اسید آسکوربیک به ماده غذایی، باعث افزایش طول دوره‌های پورگی در سن *G. lineatum* می‌شود. در بررسی حاضر در غلظت های بالای ویتامین‌های B₆ و B₁ در مقایسه با شاهد و سایر تیمارها طول دوره‌های پورگی افزایش نشان داد.

که پیریدوکسین (B₆) تاثیر معنی‌داری بر کاهش زادآوری در کرم ابریشم داشت و با افزایش غلظت زادآوری به میزان بیشتری کاهش یافت (Faruki, 2005). همچنین خلیستوسکی و آلفیمو (Khlisyovskii and Alfimov, 1979) اظهار داشتند که اضافه

جدول ۴- تأثیر تغذیه پوره‌های سن نواری چتریان از مکمل‌های غذایی روی برخی فراسنجه‌های زیستی پوره‌ها و حشرات کامل

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

تیمار Treatments	غلظت Concentration (g/l)	تعداد تخم گذاشته شده Produced eggs	تعداد تخم تفریخ شده Hatched eggs	طول دوره پوره سن ۲ 2 nd instar life span	طول دوره پوره سن ۳ 3 rd instar life span	طول دوره پوره سن ۴ 4 th instar life span	طول دوره پوره سن ۵ 5 th instar life span
B ₁₂	0.02	37hi**	20g	5c	6c	7.25b	8c
	0.015	56f	36e	5c	6c	7b	8c
	0.01	78c	56.2bc	5c	6c	7b	8c
	0.005	84a	62.8a	5c	6c	7b	8c
B ₆	1	28.25j	11.8h	6a	7a	8a	9a
	0.75	39.5h	19g	5.5b	6c	7.8a	9a
	0.5	74.2d	54c	5c	6c	7.2b	8c
	0.25	82.7ab	61.5a	5c	6c	7b	8c
B ₁	1.5	25.3 i	15.2gh	6a	7a	8a	8a
	1	25.5 g	29.8f	5.2bc	6c	7b	8.25b
	0.75	75.7 de	49d	5c	6c	7b	8c
	0.5	84.2a	62.5a	5c	6c	7b	8c
Serine	2	50g	28.2f	5c	6c	7b	8c
	1.5	58.2f	37e	5c	6c	7b	8c
	1	71.5de	49.2d	5c	6c	7b	8c
	0.5	79.7 bc	58.5abc	5c	6c	7b	8c
phenylalanine	2	50.5g	29f	5c	6c	7b	8c
	1.5	59.2f	37.7e	5c	6c	7b	8c
	1	70e	47.5d	5c	6c	7b	8c
	0.5	80.5abc	59.2ab	5c	6c	7b	8c
control	-	71e	65a	5c	6c	7b	8c

*واحد طول دوره رشدی به روز محاسبه شده است.

** در هر ستون، حروف مشابه به معنی عدم اختلاف معنی‌دار است (آزمون چنددامنه‌ای دانکن، $\alpha = 0.01$)

*life span unit calculated as days

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

افزایش باروری و طول دوره رشدی شده است. وزن لاروهای تغذیه کرده از مکمل بیوتین در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نشان داده ولی این تاثیر در حشرات نر و ماده یکسان نبوده و ماده‌ها به میزان ۱۳ درصد کمتر از حشرات نر، محتوای چربی بدن افزایش یافته است. ولی در حشرات ماده میزان پروتئین همولنف در اثر تغذیه از بیوتین بیشتر از حشرات نر افزایش یافته است. تفاوت در محتوای پروتئین در حشرات نر و ماده در بررسی حاضر نیز مشاهده شد. متیوز و همکاران (Matthews et al., 2020)، نقش بسیار مهم ویتامین B₆ را در مقایسه با متیونین در طول دوره رشدی مگس سرکه نشان دادند. همچنین لندن‌برگر و همکاران (Landenberger et al., 2004)، در بررسی خود نشان دادند که در مگس میوه، اضافه کردن

در مطالعات مختلف تاثیر ریوفالوین و بیوتین در زاد و ولد حشرات مختلف گزارش شده است. در مگس سرکه، مگس میوه، ملخ‌ها و برخی حشرات دیگر مشخص شده است که حذف همزیست های تولید کننده ویتامین موجب کاهش معنی‌داری در تعداد تخم حشرات مذکور می‌شود. علاوه بر کاهش زادآوری، باروری نیز تحت تاثیر قرار گرفته و درصد تفریخ تخم‌ها کاهش یافته است (Serrato-Salas and Gendrin, 2022). همچنین گزارش شده است که، اضافه کردن ریوفالوین و بیوتین به جیره غذایی ساس موجب بهبود نشو و نما و تولید مثل آن شده است (Moriyama et al., 2015). در بررسی مشابهی اسمیت و همکاران (Smith et al., 2007) نشان دادند که اضافه کردن بیوتین در رژیم غذایی مگس سرکه موجب

مثل حشرات ضروری است.

با توجه به مجموع اثرات بیولوژیک و فیزیولوژیک مشاهده شده در بررسی حاضر مشخص می‌گردد که مکمل‌های غذایی در غلظت مشخصی می‌توانند ویژگی‌های زیستی سن نواری چتریان را بهبود بخشند و غلظت‌های بالا در مواردی تأثیر عکس داشته و بیولوژی حشره به صورت منفی تحت تأثیر قرار خواهد گرفت. زادآوری و درصد تفریح تخم‌ها به شدت تحت تأثیر مکمل‌های غذایی قرار دارد. اسیدهای آمینه سرین و فنیل آلانین در غلظت‌های پایین موجب افزایش باروری شده ولی غلظت‌های بالای این مکمل نیز تأثیر سوء بر باروری سن نواری چتریان گذاشته است. هر چند در منابع مختلف اثرات مکمل‌های غذایی در تغییر طول دوره رشدی حشرات گزارش شده است ولی در بررسی حاضر مشخص شد که طول دوره رشدی پوره‌های سنین مختلف سن نواری چتریان در سنین مختلف پورگی بجز غلظت‌های بالای ویتامین‌های B₁، B₆ و B₁₂ تحت تأثیر مکمل‌های غذایی قرار نگرفتند. از مهم‌ترین نتایج تحقیق حاضر این بود که پروتئین کل بدن در استفاده از مکمل‌های غذایی افزایش معنی‌داری نشان داده و در غلظت‌های بالا میزان ذخیره پروتئین بیشتر از غلظت‌های پایین و بخصوص تیمار شاهد بود.

سپاسگزاری

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

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

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

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

منابع

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

- biochemistry and pharmacology*, 4, 313-390. Pergamon, Oxford.
9. Emiliano, C.P., & Bonning, B.C. (2020). Extraoral digestion: outsourcing the role of the hemipteran midgut. *Current Opinion in Insect Science*, 41, 86-91. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.07.006>
 10. Faruki, S.I. (2005). Effect of pyridoxine on the reproduction of the mulberry silkworm, *Bombyx mori* (Lep., Bombycidae), *International Studies Journal*, 2, 28-31.
 11. Genç, H. (2006). General principals of insects nutritional ecology. *Trakya Univercity Journal of Science*, 7(1), 53-57.
 12. Hori, K. (1967). Preliminary observations on the salivary glands of cabbage stink bug, *Eurydema rugosa* Motschulsky (Hem., Pentatomidae). *Applied Entomology and Zoology*, 2, 187-194.
 13. Hori, Y., Watanabe, K., & Ito, T. (1966). Nutrition of silkworm *Bombyx mori*. XIV. Further studies on the requirements for B vitamin. *Bulletin of Sericult Experimental Station*, 20, 393-409.
 14. Kamizake, N.K.K., Gonçalves, M.M., Zaia, C.T.B.V., & Zaia, D.A.M. (2003) Determination of total proteins in cow milk powder samples: a comparative study between the Kjeldahl method and spectrophotometric methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16, 507-16. [https://doi.org/10.1016/S0889-1575\(03\)00004-8](https://doi.org/10.1016/S0889-1575(03)00004-8)
 15. Khlstovskii, E.D., & Alfimov, V.A. (1979). The role of ascorbic acid in the feeding of the noxious pentatomid *Eurygaster integriceps* and the striped bug *Graphosoma lineatum* (L.) reared on artificial media. *Entomologicheskoe Obozrenie*, 58, 233-239.
 16. Kleinjan, J.E., & Dadd, R.H. (1977). Vitamin requirements of the larval mosquito, *Culex pipiens*. *Annals of Entomological Society of America*, 70, 541-543.
 17. Koçakoğlu, O., & Candan, S. (2022). Ultrastructural characterization of salivary glands, alimentary canal and malpighian tubules of the red shield bug *Carpocoris mediterraneus Tamanini*, 1958 (Heteroptera, Pentatomidae). *Microscopy and Microanalysis*, 28(3), 824-836. <https://doi.org/10.1017/S1431927622000307>
 18. Kraus, S., Tamara, G-M., Mathieu, L., & Coline, M. (2019). Insect Diet. Vonk J., Shackelford T. *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*, Springer, 1-9.
 19. Landenberger, A., Kabil, H., Harshman, L.G., & Zempleni, J. (2004). Biotin deficiency decreases life span and fertility but increases stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15, 591-600.
 20. Le Gall, D., & Behmer S.T. (2014). Effects of protein and carbohydrate on an insect herbivore: The vista from a fitness landscape. *Integrative and Comparative Biology*, 54(5), 942-954. [https://doi.org/10.1093/icb/ICU102](https://doi.org/10.1093/icb/ ICU102)
 21. Li, Y., Wang, S., Liu, Y., Lu, Y., & Wang, S. (2020). The effect of different dietary sugars on the development and fecundity of *Harmonia axyridis*. *Frontiers in Physiology*, 11, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.574851>
 22. Liu, C., Du, B., Hao, F., Lei, H., Wan, Q., & He, G. (2017). Dynamic metabolic responses of brown planthoppers towards susceptible and resistant rice plants. *Plant Biotechnology Journal*, 15, 1346-1357. <https://doi.org/10.1111/pbi.12721>
 23. Martínez, L.C., Fialho, M.C.Q., Zanuncio, J.C., & Serrão, J.E. (2014). Ultrastructure and cytochemistry of salivary glands of the predator *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Protoplasma*, 251, 535-543. <https://doi.org/10.1007/s00709-013-0549-0>
 24. Matthews, M.K., Wilcox, H., Hughes, R., Veloz, M., Hammer, A., Banks, B., Walters, A., Schneider, K.J., Sexton, C.E., & Chaston, J.M. (2020). Genetic influences of the microbiota on the lifespan of *Drosophila melanogaster*. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(10), 1-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00305-20>
 25. Merzendorfer, H., & Zimoch, L. (2003). Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. *Journal of Experimental Biology*, 206, 4393-412.
 26. Miankeba, P., Taofic, A., Kiatoko, N., Mutiaka, K., Francis, F., Megido, C., & Protein, R. (2022). Content and amino acid profiles of selected edible insect species from the Democratic Republic of Congo Relevant for Transboundary Trade across Africa. *Insects*, 13, 994. <https://doi.org/10.3390/insects13110994>
 27. Mirth, C.K., Hall, M.D., & Piper, M.D.W. (2020). Amino acid quality modifies the quantitative availability of protein for reproduction in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2020.104050>
 28. Moriyama, M., Nikoh, N., Hosokawa, T., & Fukatsu, T. (2015). Riboflavin provisioning underlies Wolbachia's fitness contribution to its insect host. *mBio*, 10(6), 1-8. <https://doi.org/10.1128/mBio.01732-15>
 29. Neophytou, C., & Pitsouli, C. (2022). Biotin controls intestinal stem cell mitosis and host-microbiome interactions. *Cell Reports*, 38, 1-36. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110505>
 30. Ofor, E. (2010). The nutritional requirements of phytophagous insects: Why do insects feed on plants? *SSRN Electronic Journal*, 1-17.
 31. Ramm, C., Wayadande, A., Baird, L., Nandakumar, R., Madayiputhiya, N., Amundsen, K., Donze-Reiner, T., Baxendale, F., Sarath, G., & Heng-Moss, T. (2015). Morphology and proteome characterization of the salivary glands of the western chinch bug (Hemiptera: Blissidae), *Journal of Economic Entomology*, 108(4), 2055-2064.
 32. Reis, M.M., Meirelles, R.M.S., & Soares, M.J. (2003). Fine structure of the salivary glands of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Tissue & Cell*, 35, 393-400.

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



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

S.A. Notghi Moghadam¹, H. Sadeghi-Namaghi^{2*}, S. Moodi³

Received: 19-06-2023

Revised: 01-09-2023

Accepted: 05-09-2023

Available Online: 05-09-2023

How to cite this article:

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

Introduction

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

Materials and Methods

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

1 and 2- Ph.D. and Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: sadeghin@um.ac.ir)

3- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Birjand University, Birjand, Iran
<https://doi.org/10.22067/jpp.2023.83016.1149>

patchiness regression model.

Results and Discussion

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

Conclusion

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

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

مقاله پژوهشی

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

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

سیده آسیه نطقی مقدم^۱ - حسین صادقی نامقی^{۲*} - سعید مودی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۲۹

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۶/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۴

چکیده

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

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

مقدمه

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

عناب با نام علمی *Ziziphus jujuba* Mill متعلق به خانواده‌ی Rhamnaceae و یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس *Ziziphus* است (Tahergerabi et al., 2015). گیاه عناب دارای کاربردهای دارویی

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته دکتری تخصصی و استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*) نویسنده مسئول:
(Email: sadeghin@um.ac.ir)

۳- استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
<https://doi.org/10.22067/jpp.2023.83016.1149>

می‌توانند در شکل و نوع پراکنش فضایی حشرات گیاه‌خوار موثر باشند. بنابراین، آگاهی از الگوی توزیع فضایی جمعیت حشرات می‌تواند اطلاعات مهمی را در مورد ویژگی‌های رفتاری گونه‌ها و نیز تاثیر عوامل محیطی بر جمعیت آن‌ها ارائه کند (Shanower and Romeis, 1999). روش‌های مختلفی از جمله: شاخص تجمع^۴، نسبت واریانس به میانگین^۵، شاخص میانگین ازدحام لوید^۶، شاخص مورسیتا^۷، شاخص گرین^۸ و روش‌های رگرسیونی تیلور و آیواتو^۹ برای تعیین نوع الگوی توزیع فضایی وجود دارد (Sedaratian et al., 2010; Darbemamieh et al., 2011).

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

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

مطالعه‌ی بسیاری از ویژگی‌های جمعیتی آفات و دشمنان طبیعی آن‌ها در شرایط صحرایی مستلزم نمونه‌برداری از جمعیت آن‌ها است. در نمونه‌برداری از جمعیت حشرات، علاوه بر انتخاب تکنیک مناسب، بایستی برنامه‌ی مناسب نمونه‌برداری را نیز طراحی کرد (Southwood and Henderson, 2000). آن‌چه در یک برنامه‌ی مناسب نمونه‌برداری دنبال می‌شود شامل انتخاب واحد نمونه‌برداری، تعیین تعداد مناسب نمونه، تعیین توزیع مکانی واحد نمونه‌برداری و انتخاب زمان مناسب نمونه‌برداری است (Pedigo and Buntin, 1994). برنامه‌ی نمونه‌برداری به‌عنوان یک ابزار تصمیم‌گیری در مدیریت مبارزه با آفات مورد استفاده قرار می‌گیرد و در این میان تعیین الگوی توزیع فضایی آفت نقش موثری را در طراحی یک برنامه‌ی مناسب نمونه‌برداری ایفا می‌کند (Boeve and Weiss, 1998; Liu et al., 2002; Cho et al., 2005). الگوی توزیع فضایی حشرات نه تنها در تنظیم برنامه‌ی نمونه‌برداری مفید است بلکه ابزاری برای استفاده در مدل‌های ارزیابی خسارت آفات (Hughes, 1996)، بررسی ویژگی‌های رفتاری و اکولوژیک گونه‌ها (Faleiro et al., 2002; Southwood and Henderson, 2000)، مطالعه‌ی روابط میزبان-دشمن طبیعی (Southwood, 1995; Winder et al., 1999; Bakshizadeh et al., 2011) و تعیین میزان رشد جمعیت گونه‌ها (Jarosik et al., 2003) محسوب می‌شود. پراکنش جمعیت یک گونه حشره ممکن است به یکی از سه نوع تصادفی^۱، تجمعی^۲ یا یکنواخت^۳ باشد (Southwood and Henderson, 2000). دما، رطوبت، الگوی تخم‌گذاری، محل تخم‌گذاری، کارایی دشمنان طبیعی، انبوهی گونه‌ی میزبان، کیفیت گیاه میزبان، کایرومون‌های میزبان، فرومون‌های تجمعی، ویژگی‌های رفتاری مراحل نابالغ، نحوه‌ی توزیع منابع غذایی (Nestel et al., 1995)، شکل و شیوه‌ی کاشت زراعت‌ها، میزان یکنواختی محصول، نوع خاک (Rajabi, 1999)، رقم‌های (وارته‌های) مختلف گیاه میزبان (Sedaratian et al., 2010) و شدت نور (Gossner, 2009)

4- Index of dispersion

5- Variance to the mean

6- Lloyd's mean crowding index

7- Morisita's index

8- Green index

9- Iwao's patchiness regression and Taylor's power law methods

1- Random

2- Clumped

3- Uniform

$$RV = \frac{SE}{m} \quad (1)$$

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

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

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

تعیین الگوی پراکنش فضایی

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

روش نسبت واریانس به میانگین

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

$$I_D = \frac{(n-1)S^2}{m} \quad (3)$$

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

$$Z = \sqrt{2I_D} - \sqrt{(2v-1)} \quad (4)$$

در این معادله v درجه آزادی ($n-1$) و n تعداد نمونه است. هرگاه مقدار Z به دست آمده بین $1/96$ و $-1/96$ باشد، توزیع از نوع تصادفی بوده و مقدار S^2/m اختلاف معنی‌داری با یک ندارد. هرگاه مقدار Z بیش‌تر از $1/96$ باشد، توزیع از نوع تجمعی و اگر کوچک‌تر از $-1/96$ باشد، توزیع از نوع یکنواخت خواهد بود (Patil and Stiteler, 1974; Southwood and Henderson, 2000):

شاخص میانگین ازدحام لوید (x^*)

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

استفاده از اغلب روش‌های یاد شده، تجمعی به دست آمد. زارعی احمدآبادی و همکاران (Zareii Ahmad-Abadi et al., 2022) الگوی توزیع فضایی مراحل مختلف زندگی شپشک *Eulecanium tiliae* L. روی گیلاس در غرب ایران را با استفاده از روش‌های رگرسیونی تیلور و آیواتو از نوع تجمعی به دست آوردند. اطلاع از نوع پراکنش فضایی مراحل مختلف سنک عناب *M. alticarinata* می‌تواند در طراحی و اجرای برنامه‌های کنترلی این آفت مفید واقع شود. هدف از انجام این پژوهش تعیین نوع پراکنش فضایی مراحل مختلف سنک عناب روی درختان عناب در منطقه‌ی بیرجند و تکمیل اطلاعات برای ارایه‌ی یک برنامه جامع مدیریت این آفت بود.

مواد و روش‌ها

واحد نمونه برداری

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

زمان نمونه برداری

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

تعیین اندازه‌ی نمونه

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

آمد.

به عدد یک از معادله‌ی (۷) استفاده شد.

$$x^* = m + \left(\frac{S^2}{m}\right) - 1 \quad (5)$$

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

روش رگرسیونی تیلور

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

$$\log s^2 = \log a + b \log m \quad (6)$$

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

$$t = (b - 1) / SE_b \quad (7)$$

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

شاخص β آیوانو

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

$$m^* = \alpha + \beta m \quad (8)$$

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

نتایج

تعیین تعداد نمونه

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

جدول ۱- خطای نسبی و اندازه‌ی نمونه‌ی مورد نیاز برای تعیین الگوی پراکنش فضایی سنک عناب (*Monosteira alticarinata*) در

سه ارتفاع (۱/۵، ۲ و ۳ متر) درخت عناب

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

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

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

مختلف درختان میزبان

میانگین، واریانس، نسبت واریانس به میانگین (S^2/m)، ضریب پراکنندگی (ID) و مقدار عددی Z مربوط به نمونه‌برداری از مراحل مختلف زندگی سنک عناب در ارتفاع‌های مورد بررسی به شرح جدول ۲ به دست آمد. بر اساس این نتایج، توزیع فضایی کلیه‌ی مراحل زندگی سنک عناب در هر سه ارتفاع مورد بررسی از نوع تجمعی (مقدار عددی Z بزرگ‌تر از $+1/96$) تعیین شد. فقط توزیع فضایی حشره‌ی کامل در ارتفاع ۳ متر از نوع تصادفی (مقدار عددی Z بین $-1/96$ و $+1/96$) به دست آمد.

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

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

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

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

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

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

استفاده از روش رگرسیونی تیلور در ارتفاع‌های مختلف درختان میزبان

آماره‌های رگرسیونی قانون توان تیلور برای مراحل مختلف زندگی *M. alticarinata* در سه ارتفاع مختلف درختان میزبان مطابق جدول ۴ به دست آمد. نتایج نشان داد که بر اساس روش تیلور، رگرسیون بین $\log m$ و $\log S^2$ برای همه‌ی مراحل مورد بررسی در ارتفاعات مختلف معنی‌دار بود ($P < 0.05$). از آن جا که t محاسبه شده، بزرگ‌تر از t جدول ($t_{table} = 2/0.64$) بود، فرض صفر مبنی بر تصادفی بودن الگوی توزیع فضایی رد شد و چون مقدار شیب خط برای کلیه‌ی مراحل با یک اختلاف معنی‌دار داشت و بزرگ‌تر از ۱ بود ($b > 1$)، پراکنش فضایی از نوع تجمعی به دست آمد.

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

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

تعیین الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف سنک عناب با

جدول ۴- پارامترهای به دست آمده از روش رگرسیونی تیلور مربوط به الگوی پراکنش فضایی مراحل مختلف زندگی سنک عناب (*Monsteira alticarinata*) در سه ارتفاع مختلف درخت عناب.

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

مرحله زندگی Life stage	ارتفاع نمونه‌برداری Sampling height	a±SE CI	b±SE CI	r ²	t _{calculated}	P _{value}	توزیع فضایی Spatial distribution
تخم Egg	1.5 m	0.063±0.104 (-0.152_0.278)	1.582±0.135 (1.304_1.860)	0.852	11.742	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.292±0.092 (0.102_0.482)	1.407±0.115 (1.170_1.643)	0.862	12.267	0.000 **	Aggregated
	3 m	0.221±0.095 (0.026_0.417)	1.452±0.133 (1.177_1.728)	0.831	10.881	0.000 **	Aggregated
پوره Nymph	1.5 m	0.198±0.039 (0.118_0.279)	1.560±0.099 (1.357_1.764)	0.912	15.802	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.234±0.023 (0.187_0.282)	1.209±0.050 (1.107_1.312)	0.961	24.402	0.000 **	Aggregated
	3 m	0.208±0.067 (0.069_0.347)	1.263±0.148 (0.958_1.568)	0.753	8.544	0.000 **	Aggregated
حشره کامل Adult	1.5 m	0.247±0.031 (0.182_0.312)	1.353±0.069 (1.210_1.496)	0.941	19.526	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.195±0.025 (0.142_0.247)	1.115±0.040 (1.032_1.198)	0.970	27.833	0.000 **	Aggregated
	3 m	0.084±0.020 (0.043_0.124)	1.060±0.024 (1.011_1.109)	0.988	44.843	0.000 **	Aggregated
پوره+حشره کامل Nymph+Adult	1.5 m	0.160±0.046 (0.065_0.255)	1.677±0.093 (1.484_1.870)	0.931	17.965	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.258±0.028 (0.201_0.315)	1.223±0.059 (1.102_1.344)	0.947	20.789	0.000 **	Aggregated
	3 m	0.215±0.028 (0.158_0.272)	1.355±0.060 (1.231_1.479)	0.۹۵۵	22.498	0.000 **	Aggregated
تخم+پوره+حشره کامل Egg+Nymph+Adult	1.5 m	-0.152±0.119 (0.398_0.094)	1.778±0.127 (1.515_2.041)	0.890	13.966	0.000 **	Aggregated
	2 m	0.195±0.122 (-0.056_0.447)	1.453±0.131 (91.182_1.723)	0.837	11.085	0.000 **	Aggregated
	3 m	0.60±0.139 (-0.226_0.347)	1.561±0.166 (1.218_1.903)	0.787	9.406	0.000 **	Aggregated

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

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

شد.

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

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

آماره‌های رگرسیونی روش آیوائو برای مراحل مختلف زندگی *M. alticarinata* در سه ارتفاع مختلف درختان میزبان مطابق جدول ۵ به دست آمد. نتایج نشان داد که بر اساس روش آیوائو، رگرسیون بین m (میانگین جمعیت) و m^* (شاخص میانگین ازدحام لوید) برای همه‌ی مراحل مورد بررسی در ارتفاعات مختلف معنی‌دار بود ($P < 0.05$). از آن جا که t محاسبه شده، بزرگ‌تر از t جدول ($t_{table}= ۲/۰۶۴$) بود، فرض صفر مبنی بر تصادفی بودن الگوی توزیع فضایی رد شد و چون مقدار ضریب آیوائو برای کلیه‌ی مراحل با یک اختلاف معنی‌دار داشت و بزرگ‌تر از ۱ بود ($\beta > 1$)، پراکنش فضایی از نوع تجمعی محاسبه

بحث

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

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

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

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

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

دست آمد که بالاتر بودن مقدار r^2 در روش آیوائو نشان دهنده کارایی بهتر این مدل در توجیه رابطه میان واریانس و میانگین انبوهی تخم حشره بود. در ارتفاع ۲ متر نیز مقدار r^2 در روش آیوائو ($r^2 = ۰/۹۴۵$) به طور مشابه بیش تر از r^2 در روش تیلور ($r^2 = ۰/۸۶۴$) بود اما در ارتفاع ۳ متر مقدار r^2 در روش آیوائو ($r^2 = ۰/۷۵۸$) کم تر از r^2 در روش تیلور ($r^2 = ۰/۸۳۱$) بود و در این ارتفاع، کارایی روش تیلور بهتر از آیوائو بود. اما در مورد مرحله‌ی پورگی در سه ارتفاع ۱/۵، ۲ و ۳ متری درختان عناب، مقدار r^2 در روش رگرسیونی تیلور به ترتیب ۰/۹۶۳، ۰/۹۱۲ و ۰/۷۵۳ و در روش آیوائو به ترتیب ۰/۸۰۶، ۰/۹۴۹ و ۰/۹۱۴ به دست آمد که بر عکس مرحله‌ی تخم نشان دهنده کارایی بهتر مدل تیلور در ارتفاع ۱/۵ و ۲ متری و روش آیوائو در ارتفاع ۳ متری در مرحله‌ی پورگی آفت است. در مورد مرحله‌ی حشره‌ی کامل و پوره+حشره‌ی کامل مقادیر r^2 در هر سه ارتفاع در روش تیلور بالاتر از آیوائو بود.

این بدان معناست که ارتفاع درخت عناب نقش چندانی در نوع پراکنش فضایی این آفت نداشت. پراکنش تجمعی، برای اکثر مراحل زندگی این آفت با روش‌های استفاده شده دلالت بر این دارد که حضور یک فرد در یک نقطه باعث افزایش احتمال حضور فرد دیگر در نزدیکی آن می‌شود و به عبارت دیگر احتمال اشغال هر یک از نقاط زیستگاه توسط افراد این آفت برابر نیست. از آن جایی که در روش‌های رگرسیونی، میانگین و واریانس هر زمان نمونه‌برداری به طور جداگانه مورد استفاده قرار می‌گرفت، بنابراین روش‌های تیلور و آیوائو دقیق تر از روش نسبت واریانس به میانگین بود. در روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو مقدار ضریب تبیین (r^2) در ارتفاع‌های مختلف و مراحل مختلف زندگی متفاوت به دست آمد. به عنوان مثال در مورد مرحله‌ی تخم در روش رگرسیونی تیلور مقدار r^2 در ارتفاع ۱/۵ متر ۰/۸۵۲ و در روش آیوائو ۰/۹۳۸ به

مرکبات *D. citri*، روی لیموترش و پرتقال، با استفاده از روش‌های مختلف نسبت واریانس به میانگین، شاخص ازدحام لوید و روش‌های رگرسیونی تیلور و آیوائو از نوع تجمعی گزارش شد (Lashkari and Shahbazvar, 2016).

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

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

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

تجمعی در آن‌ها عنوان شده‌اند (Nehrangi and Vahedi, 2018; Zareii Ahmad-Abadi et al., 2022) که می‌تواند در مورد سنک عناب در این پژوهش نیز صادق باشد. ژنتیک، الگوهای رفتاری و محیط می‌تواند تعیین کننده‌ی توزیع فضایی افراد جمعیت در یک اکوسیستم باشد. به‌عنوان مثال دلیل تجمع برخی از حشرات مانند پسپیل‌ها واکنش رفتاری تجمعی فعال ذاتی آن‌ها ذکر شده است مانند شرایطی که حضور یک نفر سایر افراد را به منظور تغذیه، تولیدمثل و نیز به دلیل برخی ناهمگنی‌های زیستگاه و محیط مانند ریزاقلیم و بخش ترجیحی گیاه جذب می‌کند (Jamshidi et al., 2017; Lashkari and Shahbazvar, 2016). عوامل مختلفی از جمله شکل و شیوه‌ی کاشت زراعت‌ها، میزان یکنواختی محصول، نوع خاک (Rajabi, 1999) ارقام مختلف گیاهی (Gholam Moghaddam et al., Sedaratian et al., 2010)؛ توانایی پراکنش گونه‌ها، تعاملات بین افراد و انتخاب زیستگاه (Vinatier et al., 2011) می‌تواند در شکل و نوع پراکنش فضایی حشره تأثیرگذار باشند. اطلاعات به‌دست آمده در این بررسی، می‌تواند در طراحی و توسعه‌ی برنامه‌های نمونه‌برداری و به دنبال آن راهبردهای مدیریتی مناسب برای کنترل سنک عناب استفاده شود.

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

منابع

- 1- Alipour, M. (2011). *Population dynamics of the most common species of grasshoppers in Khodaafarin*. M.Sc. thesis on Agricultural Entomology, Islamic Azad University, Tabriz branch, 69 p. (In Persian)
- 2- Afshari, A., & Dastranj, M. (2009). Density, spatial distribution and sequential sampling plans for cereal aphids infesting wheat spike in Gorgan, northern Iran. *The Journal of Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 32(2), 89-102. (In Persian)
- 3- Ahmadi, M., Fathipour, Y., & Kamali, K. (2005). Population density and spatial distribution pattern of *Tetranychus urticae* Koch on different bean cultivars in Tehran region. *Iranian Journal of Agriculture Science*, 36(5), 1087-1092. (In Persian)
- 4- Akhtar, M.S., Dey, D., & Usmani, M.K. (2010). Spatial distribution of mustard aphid *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) vis-à-vis its parasitoid, *Diaeretiella rapae* (M'intosh). *World Applied Sciences Journal*, 11(3), 284-288.
- 5- Amini, B., & Madadi, H. (2014). Spatial distribution of *Brevicoryne brassicae* and *Diaeretiella rapae* and development a fixed precision sampling plan. *Plant Pests Research*, 4(1), 1-10. (In Persian with English abstract)
- 6- Arbab, A. (2006). Spatial distribution pattern of immature stages of alfalfa seed weevil, *Tychius aureolus* (Keiswetter) (Col.Curculionidae), and alfalfa seed wasp, *Brochophagus roddi*, (Hym. Eurytomidae) (Gussakovski) in alfalfa seed fields. *Journal of Agricultural Sciences*, 12(2), 263-268. (In Persian with English abstract)
- 7- Bakhshizadeh, N., Mohiseni, A., & Fathi, S.A.A. (2011). Spatial distribution patterns and fixed-precision sequential sampling plans for estimating population overwintered adult sunn pest, *Eurygaster integriceps* Put. in rainfed wheat fields in Ardabil province. *The Journal of Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 33(2), 63-75. (In Persian)
- 8- Boeve, P.J., & Weiss, M. (1998). Spatial distribution and sampling plans with fixed levels of precision for cereal aphids (Homoptera: Aphididae) infesting spring wheat. *The Canadian Entomologist*, 130(1), 67-77. <https://doi.org/10.4039/Ent13067-1>
- 9- Cho, K., Eckel, C.S., Walgenbach, J.F., & Kennedy, G.G. (2005). Spatial distribution and sampling procedures for *Frenkliniella spp.* in stanked tomato. *Journal of Economic Entomology*, 88(6), 1658-1665.
- 10- Croft, B.A., Welch, S.M., & Dover, M.J. (1976). Dispersion statistics and sample size estimates for populations of the mite's species *Panonychus ulmi* and *Amblyseius fallacis* on apple. *Environmental Entomology*, 5(2), 227-233. <https://doi.org/10.1093/ee/5.2.227>
- 11- Darbemamieh, M., Fathipour, Y., & Kamali, K. (2011). Population abundance and seasonal activity of *Zetzellia*

- pourmirzai* (Acari: Stigmaeidae) and its preys *Cenopalpus irani* and *Bryobia rubrioculus* (Acari: Tetranychidae) in sprayed apple orchards of Kermanshah, Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13(2), 143–154.
- 12- Deh-Pahni, S., Vahedi, H., & Darbemamieh, M. (2020). Spatial distribution of grape leafhopper, *Arboridia kermanshah* (Hemiptera: Cicadellidae) immature stages, in vineyards of Kermanshah County. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, 9(4), 49-60. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22034/ARPP.2021.12239>.
- 13- Faleiro, J.R., Kumar, J.A., & Rangnekar, P.A. (2002). Spatial distribution of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. (Coleoptera: Curculionidae) in coconut plantations. *Crop Protection*, 21(2), 171-176. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(01\)00083-7](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(01)00083-7).
- 14- Farrar, N., & Haghani, M. (2012). Spatial distribution of *Thiacidas postica* Walker (Lepidoptera: Noctuidae) larvae on *Ziziphus spina-christi* in Bushehr region. *Plant Pests Research*, 2(1), 21-28. (In Persian with English abstract)
- 15- Feng, M.G., & Nowierski, R.M. (1992). Spatial distribution and sampling plans for four species of cereal aphids (Homoptera: Aphididae) infesting spring wheat in southwestern Idaho. *Journal of Economic Entomology*, 85(3), 830-837. <https://doi.org/10.1093/jee/85.3.830>
- 16- Gholam Moghaddam, S., Moeini-Naghadeh, N., & Naderloo, L. (2018). Population density of *Agonoscena pistaciae* (Hemiptera: Psyllidae) and spatial distribution pattern of its nymphs on three pistachio varieties in Khorasan Razavi province. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 49(1), 57-67. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22059/ijpps.2018.229355.1006769>
- 17- Ghouth, K. (2009). *Ziziphus jujube, the neglected fruit*. Saedimanesh Press. 351 p. (In Persian)
- 18- Gossner, M.M. (2009). Light intensity affects spatial distribution of Heteroptera in deciduous forests. *European Journal of Entomology*, 106(2), 241–252. <https://doi.org/10.14411/eje.2009.032>
- 19- Goze, E., Nibouche, S., & Deguine, J.P. (2003). Spatial and probability distribution of *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton: Systematic sampling, exact confidence intervals and sequential test. *Biological Sciences*, 32(5), 1203-1210. <https://doi.org/10.1093/ee/32.5.1203>
- 20- Haddadi, A., Iranipour, S., Kazemi, M.H., & Alizadeh, E. (2016). Spatial distribution of alfalfa leaf weevil, *Hypera postica* (Col.: Curculionidae) in Urmia. *Journal of Field Crop Entomology*, 6(1), 35-51. (In Persian with English abstract)
- 21- Haghani, M., Fathipour, Y., Hosseini, A., Talebi, A., Moharrampour, S., & Bahrami, F. (2004). *Spatial distribution pattern of Brevicoryne brassicae* (Hem.: Aphididae) and its parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hym.: Aphidiidae). In the Sixteenth Iranian Plant Protection Congress Proceedings. University of Tabriz, Iran (Vol 1, P. 11).
- 22- Hughes, G. (1996). Incorporating spatial pattern of harmful organisms into crop loss models. *Crop Protection*, 15(5), 407-421. [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(96\)00003-8](https://doi.org/10.1016/0261-2194(96)00003-8)
- 23- Iwao, S., & Kuno, E. (1968). Use of the regression of mean crowding on mean density for estimating sample size and the transformation of data for the analysis of variance. *Researches on Population Ecology*, 10(2), 210-214. <https://doi.org/10.1007/BF02510873>
- 24- Jamshidi, A., Vahedi, H.A & Zamani, A.A. (2017). Population dynamic, the spatial distribution pattern and management of ash tree, *Fraxinus rotundifolia* psyllid *Psyllopsis discrepans* Flor (Hem., Psyllidae) in Kermanshah Province, Iran. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 30(4), 727-743. (In Persian). <https://doi.org/10.22067/JPP.V30I4.55216>
- 25- Jarosik, V., Honek, A., & Dixon, A.F.G. (2003). Natural enemy ravine revisited: the importance of sample size for determining population growth. *Ecological Entomology*, 28(1), 85-91. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2003.00485.x>.
- 26- Khodayari, S., Fathipour, Y., Kamali, K., & Naseri, B. (2010). Seasonal activity of *Zetzellia mali* (Stigmaeidae) and Its preys *Eotetranychus frosti* (Tetranychidae) and *Tydeu longisetosus* (Tydeidae) in unsprayed apple orchards of Maragheh, Northwestern of Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12, 549–558.
- 27- Kianpur, R., Fathipour, Y., & Kamali, K. (2010). Population fluctuation and spatial distribution patterns of *Bemisia tabaci* and *Bemisia argentifolii* and *Empoasca decipiens* on eggplants in Varamin. *Plant Pests and Diseases*, 77(2), 71-94. (In Persian with English abstract)
- 28- Lashkari, M.R., & Shahbazvar, N. (2016). Spatial distribution pattern of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hem: Liviidae) on lime (*Citrus aurantifolia*) and orange (*Citrus sinensis*) in citrus orchards of Iran. *Entomology and Applied Science Letters*, 3(2), 81-87.
- 29- Liu, C., Wang, G., Wang, W., & Zhou, S. (2002). Spatial pattern of *Tetranychus urticae* population in apple tree garden. *Journal of Applied Ecology*, 13(8), 993-996. PMID: 12418263.
- 30- Lloyd, M. (1967). Mean crowding. *Journal of Animal Ecology*, 36(1), 1-30. <https://doi.org/10.2307/3012>
- 31- Mahdavi, H., Iranipour, S., Mehrvar, A., & Karimzadeh, R. (2015). Spatial distribution of *Chromaphis juglandicola* (Kaltenbach) (Hem.: Aphididae) in east Azerbaijan Walnut Orchards. *Journal of Applied Research in Plant*

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

- 53- Tavakoli Zadeh, A., Hassani, M.R., & Sheibani Tezerji, Z. (2019). Spatial distribution of immature stages of *Agonoscena pistaciae* (Hemiptera: Aphalaridae) in Rafsanjan region. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 49(2), 289-298. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22059/ijpps.2018.244929.1006810>
- 54- Tawizi, H. (2018). *Jujube: plant, grow and harvest*. Agricultural Education affiliated to the Office of Educational Technology Services of the Ministry of Agricultural Jihad. First edition. 84 p. (In Persian)
- 55- Taylor, L.R. (1961). Aggregation, variance to the mean. *Nature*, 189, 732-735.
- 56- Taylor, L.R. (1984). Assessing and interpreting the spatial distribution of insect population. *Annals Review of Entomology*, 29, 321-358. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.29.010184.001541>
- 57- Vinatier, F., Tixier, P., Duyck, P.F., & Lescourret, F. (2011). Factors and mechanisms explaining spatial heterogeneity: a review of methods for insect populations. *Methods in Ecology and Evolution*, 2, 11-22. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2010.00059.x>
- 58- Winder, L., Perry, J.N., & Holland, J.M. (1999). The spatial and temporal distribution of the grain aphid *Sitobion avenae* in winter wheat. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 93(3), 277-290. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1999.00588.x>
- 59- Zareii Ahmad-Abadi, Z., Darbemamieh, M., & Vahedi, H.A. (2022). Population fluctuation and spatial distribution pattern of the nut scale, *Eulecanium tiliae* (L.) (Hem.: Coccidae) on Cherries of the West of Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 24(3), 649-663.
- 60- Zargari, A. (1997). *Medicinal plants (volume 1)*. University of Tehran Printing and Publishing Institute. 976 p. (In Persian)



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

A. Rahbari¹, E. Izadi Darbandi^{2*}, M.H. Rashed Mohassel³, G. Zohuri⁴, E. Zand⁵

Received: 01-06-2019

Revised: 14-02-2021

Accepted: 10-03-2021

Available Online: 10-03-2021

How to cite this article:

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

Introduction

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

Materials and Methods

Two separated greenhouse experiments were conducted in Tirtash Research and Education Center (Mazandaran-Iran) in 2014. The experiments were carried out in a factorial arrangement based on a randomized complete block design with three replications. The Microencapsulated formulation of EPTC and trifluralin herbicides were compared with emulsifiable concentrate formulation (Eradicane 82% and Treflan 48%) in 0 (control), 25, 50, 75 and 100 percent of active ingredient (a.i.) (4.92 and 1.2 kg a.i./ha, recommended doses for EPTC and trifluralin, respectively). For this purpose, the soil of pots were infested with the seed of Green foxtail (*Setaria viridis*) and Redroot pigweed (*Amaranthus retroflaxus*). The responses of weeds to treatments, specifically seedling number, were analyzed using ANOVA tests, non-linear regression, and fitting to three parameters of Weibull and log-logistic equations. This analysis was based on Akaike's Information Criterion, Residual Standard Error, and Lack-of-Fit Test indices in the R3.4.1 program. The effective dose were determined for 10, 50 and 90 percent of weed control (ED₁₀, ED₅₀ and ED₉₀, respectively). Relative potency index (R) of formulation types were determined by divided ED₅₀ of EC into MC formulations.

Results and Discussion

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

1, 2 and 3- Ph.D. Student and Professors of Weed Sciences, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author. Email: e-izadi@um.ac.ir)

4- Professor of Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad

5- Professor of Weed Science, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran

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

ED₁₀, ED₅₀ and ED₉₀ decreased from 0.72, 2.94 and 7.18 kg a.i.ha⁻¹ in the EC to 0.41, 1.87 and 4.89 kg a.i.ha⁻¹ in the MC formulation for Green foxtail and 1.08, 3.29 and 10.02 kg a.i.ha⁻¹ in the EC to 0.57, 2.36 and 9.67 kg a.i.ha⁻¹ in the MC formulation for Redroot pigweed. The R index of EPTC in Green foxtail and Redroot pigweed control were 1.57 and 1.39, respectively. Weed control increased as trifluralin dosage increased in both of the formulation types, although in higher doses of the MC, weed control efficiency increased more than the EC formulation. So the efficiency of the MC formulations depended on application dosages. The ED₁₀, ED₅₀ and ED₉₀ of Green foxtail were 0.14, 0.55 and 1.27 kg a.i.ha⁻¹ in the EC and 0.19, 0.52 and 0.98 kg a.i.ha⁻¹ in the MC formulation. The ED₁₀, ED₅₀ and ED₉₀ of Redroot pigweed were 0.20, 0.64 and 2.02 kg a.i.ha⁻¹ in the EC and 0.26, 0.56 and 1.19 kg a.i.ha⁻¹ in the MC formulation. So that the R index of trifluralin in Green foxtail and Redroot pigweed control were 1.05 and 1.14, respectively. The dependency of trifluralin behavior to applied microcapsule dose may be connected to capture of herbicide in microcapsule particles which it causes reduction of bioavailability of herbicide in soil lower than the threshold doses of injury level. While under this experimental conditions, the herbicides are less affected by degrading agents and therefore have less opportunity to express the advantages of MC formulation. Whereas the field studies results showed that the 50% of the recommended dosage of MC formulation had same efficiency as 75% of the recommended dosage of EC formulations (results were not published).

Conclusion

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

Keywords: Controlled release, Dose-response, Relative potential

مقاله پژوهشی

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

ارزیابی کارایی فرمولاسیون میکروکپسول سنتز شده علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین در کنترل علف‌های هرز دم‌روبه‌ای و تاج‌خروس در شرایط گلخانه

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

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۱۱

تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۱۱/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۰

چکیده

به منظور بررسی کارایی فرمولاسیون میکروکپسول در مقایسه با فرمولاسیون امولسیون علف‌کش‌های ارادیکان و ترفلان (ای‌پی‌تی‌سی ۸۲ درصد و تریفلورالین ۴۸ درصد) در کنترل علف‌های هرز دم‌روبه‌ای سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز دو آزمایش مجزا به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۳ در گلخانه تحقیقاتی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش استان مازندران اجرا گردید. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از مقادیر صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ماده مؤثره توصیه شده در هکتار از فرمولاسیون‌های میکروکپسول و امولسیون علف‌کش‌های ارادیکان و ترفلان (مقادیر توصیه شده ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین به ترتیب ۴/۹۲ و ۱/۲ کیلوگرم در هکتار). پاسخ دم‌روبه‌ای سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز با استفاده از آزمون‌های تجزیه واریانس و تجزیه رگرسیون غیرخطی مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر ED₁₀، ED₅₀ و ED₉₀ با استفاده از روابط ویبول و لگاریتم لجستیک برآورد گردید. ED₅₀ در فرمولاسیون امولسیون ای‌پی‌تی‌سی در کنترل دم‌روبه‌ای سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز به ترتیب ۲/۹۴ و ۳/۲۹ و در فرمولاسیون میکروکپسول به ترتیب ۱/۸۷ و ۲/۳۷ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار تعیین گردید. همچنین این پارامتر در فرمولاسیون امولسیون تریفلورالین در کنترل دم‌روبه‌ای سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز به ترتیب ۰/۵۵ و ۰/۶۴ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار و در فرمولاسیون میکروکپسول به ترتیب ۰/۵۲ و ۰/۵۶ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار برآورد شد. شاخص پتانسیل نسبی ای‌پی‌تی‌سی در کنترل دم‌روبه‌ای سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز به ترتیب ۱/۵۷ و ۱/۳۹ و در علف‌کش تریفلورالین به ترتیب ۱/۰۵ و ۱/۱۴ تعیین گردید. بدین لحاظ می‌توان با استفاده از پوشش پلیمری ضمن افزایش کارایی علف‌کش‌ها تا حدود زیادی از مقادیر مصرفی کاست.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل نسبی، دُز پاسخ، رهاسازی کنترل شده

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری علوم علف‌های هرز و استادان گروه اگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

* - نویسنده مسئول: (Email: e-izadi@um.ac.ir)

۴- استاد گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

۵- استاد بخش تحقیقات علف‌های هرز، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران، ایران

مقدمه

میکروکپسول تریفلورالین در مقادیر ۱/۱ و ۲/۲ کیلوگرم در هکتار در هفته دوم پس از کاربرد دارای فعالیت مساوی یا بیشتر از فرمولاسیون امولسیون به ترتیب در مقادیر ۲/۲ و ۴/۴ کیلوگرم در هکتار بوده است (Coffman and Gentner, 1980). فرمولاسیون میکروکپسول تریفلورالین موجب کنترل طولانی‌تر علف‌های هرز گرامینه یکساله شده و تبخیر کمتری نسبت به فرمولاسیون امولسیون داشته است.

فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش آلاکلر نسبت به فرمولاسیون امولسیون کنترل بهتری بر روی علف‌های هرز سوروف^۱، علف‌انگشتی^۲ و ارزن در گیاهان زراعی ذرت^۳ و سویا^۴ نشان داده است (Doub et al., 1988). فرمولاسیون میکروکپسول استوکلر می‌تواند به طور ایمن و موثری علف‌های هرز پنبه^۵ را تحت کنترل قرار دهد به طوری که موجب کنترل علف‌های هرز مرغ خوشه سرخ^۶ و علف‌انگشتی به ترتیب ۹۱ و ۱۰۰ درصد گردید (Cahoon et al., 2015). در بررسی انجام شده توسط وسیلاکوگلو و همکاران (Vasilakoglou et al., 2001) از نظر بیولوژیکی کاربرد فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش‌های آلاکلر و استوکلر در مقایسه با فرمولاسیون امولسیون باقیمانده کمتری در محلول خاک و نیز آشوبی کمتری داشت. همچنین فرمولاسیون میکروکپسول علف‌کش کلومازون با هدف کاهش تبخیر و جابجایی به محل غیر هدف در بازار مصرف توسعه یافته است (Monaco et al., 2002).

در تحقیق انجام شده توسط داب و همکاران (Doub et al., 1988) به نقش رطوبت بر نفوذپذیری یا تخریب دیواره میکروکپسول علف‌کش آلاکلر اشاره شده است. به طوری که کاربرد فرمولاسیون میکروکپسول آلاکلر در خاک خشک کارایی بیشتری در کنترل علف‌های هرز پاییزه^۷ نسبت به کاربرد در خاک مرطوب داشت. همچنین در بررسی انجام شده توسط پترسن و شای (Petersen and Shea, 1989) بر روی میکروکپسول پلی‌آمیدی آلاکلر نشان داده شد که اولین شکل آزادسازی این علف‌کش از طریق انتشار است، نرخ انتشار به شیب غلظت علف‌کش، میزان املاح موجود در میکروکپسول و محلول آبی اطراف بستگی داشت.

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

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

برخی از مصرف‌کنندگان به فقدان دوام و پایداری برخی از علف‌کش‌های خانواده دی‌نیتروآنیلین با فرمولاسیون رایج امولسیون اشاره داشته‌اند (Parochetti and Kennedy and Talbert, 1977; Dec, 1978 and Savage, 1978) در حالی که مطالعات نشان داده است که فرمولاسیون رهاسازی کنترل شده علف‌کش تریفلورالین دارای فعالیت علف‌کشی هم‌تراز و یا بیشتر از مصرف دو برابر فرمولاسیون امولسیون بوده است. بطور مثال کاربرد فرمولاسیون‌های

1- *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.

2- *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.

3- *Zea mays* L.

4- *Glycine max* L.

5- *Gossypium herbaceum* L.

6- *Eleusine indica* (L.) Gaertn.

7- *Panicum dichotomiflorum* Michx.

هفت تا ده سانتی‌متری خاک مخلوط گردید. شرایط دمایی گلخانه 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد با طول روز ۱۴ ساعت تنظیم گردید. آبیاری گلخانه‌ها به طور یکنواخت از سطح گلخانه انجام شد. میزان آبیاری به حدی نبود که آب از انتهای گلخانه خارج شود. ۱۸ روز پس از کاربرد علف‌کش، تعداد دانها و وزن تر علف‌های هرز ثبت گردید. در این آزمایش به دلیل وزن ناچیز علف‌های هرز، تأثیر تیمارها تنها بر تغییرات درصد بقاء آنها مورد بررسی قرار گرفت.

پاسخ علف‌های هرز دم‌روباهی سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز به تیمارها پس از انجام آزمون نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس توسط نرم‌افزار SAS 9.1 (Institute, SAS, 2002) و تجزیه رگرسیون غیرخطی در محیط نرم‌افزار R_{3.4.1} (Team, 2017) و با استفاده از بسته نرم‌افزاری DRC (Ritz et al., 2015) مورد سنجش قرار گرفت. داده‌ها بر اساس شاخص‌های آماری آکیاک^۵، خطای استاندارد باقیمانده^۶ و آزمون فقدان برازش^۷، با استفاده از روابط سه پارامتری ویبول^۸ (معادله ۱) و لگاریتم لجستیک^۹ (معادله ۲) برازش داده شد.

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

$$y = \frac{d}{1 + \exp(b(\log(x) - \log(ED_{50})))} \quad (2) \text{ معادله}$$

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

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

$$R = \frac{ED_{50}(EC)}{ED_{50}(MC)} \quad (3) \text{ معادله}$$

۵۰ میکرومتر تبدیل گردیدند. فرمولاسیون میکروکپسول ساخته شده دارای پوشش یا ماتریکس حفاظتی از جنس متیل متاکریلات^۱ بوده و با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی ذرات میکروکپسول به صورت تک و یا چند هسته‌ای دیده شدند (نتایج منتشر نشده است). با توجه به موارد اشاره شده این پژوهش با هدف بررسی نقش فرمولاسیون‌هایی با رهاسازی کنترل شده بر کارایی علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین در کنترل علف‌های هرز دم‌روباهی سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز در شرایط گلخانه به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

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

مقادیر کاربرد علف‌کش‌ها بر اساس سطح گلخانه محاسبه شد. محلول علف‌کش بر روی سطح خاک پخش شده و کاملاً با عمق

5- Akaike's information criterion
6- Residual standard error
7- Lack-of-fit test
8- Weibull
9- Log logistic

1- Methyl methacrylate
2- Eradicane (EPTC EC 82%) and Treflan (Trifluralin EC 48%)
3- *Setaria viridis* L.
4- *Amaranthus retroflexus* L.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی

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

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

نتایج و بحث

علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی بر درصد بقاء علف‌های هرز دمروباهی سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز در سطح یک درصد معنی‌دار شد. نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش تریفلورالین اثر معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بر درصد بقاء علف‌های هرز دمروباهی سبز داشت. همچنین اثر متقابل نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش تریفلورالین بر درصد بقاء علف‌های هرز تاج‌خروس در سطح آماری پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۲).

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

۱/۳۹ گرم ماده مؤثره این علف‌کش در فرم امولسیون به ترتیب برای کاهش درصد بقاء علف‌های هرز دمروباهی سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز می‌باشد (جدول ۳).

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

نتایج پاسخ درصد بقاء علف‌های هرز دمروباهی سبز و تاج‌خروس‌ریشه‌قرمز به کاربرد فرمولاسیون‌های مختلف علف‌کش تریفلورالین در منحنی‌های شکل ۲، بیانگر آن است که با افزایش مقدار کاربرد علف‌کش در هر دو فرمولاسیون درصد بقاء این علف‌های هرز به طور معنی‌دار کاهش می‌یابد. هر چند که فرمولاسیون میکروکپسول بسته به مقدار کاربرد اثرات متفاوتی بر علف‌های هرز داشت به طوری که در مقادیر کمتر کاربرد این علف‌کش اثر آن کاسته شده و در مقادیر بالاتر به کارایی این علف‌کش افزوده شد. به نحوی که برای کاهش ۱۰، ۵۰ و ۹۰ درصدی تعداد علف‌های هرز دمروباهی سبز به ترتیب به ۰/۱۴، ۰/۵۵ و ۱/۲۷ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار از

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

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین بر درصد بقاء دمروباهی سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز

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

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

n.s, * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

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

جدول ۳- پارامترهای برآورد شده حاصل از تجزیه رگرسیونی غیرخطی داده‌های درصد بقاء علف‌های هرز دمروباهی سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز در پاسخ به نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی به ترتیب با استفاده از رابطه‌های ویبول و لجستیک

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

علف‌های هرز Weed	فرمولاسیون Formulation	پارامتر Parameter			کیلوگرم ماده موثره در هکتار Kg a.i.ha ⁻¹			R ² ($\frac{EC}{MC}$)
		n	b	d	ED10	ED50	ED90	
دم‌روباهی سبز Green foxtail	EC	1.34 (0.17)	100.96 (3.75)	3.86 (0.22)	0.72 (0.16)	2.94 (0.19)	7.18 (0.72)	1.57
	MC	1.25 (0.15)	99.90 (3.89)	2.51 (0.16)	0.41 (0.10)	1.87 (0.15)	4.89 (0.42)	
تاج‌خروس ریشه‌قرمز Redroot pigweed	EC	1.97 (0.37)	100.08 (4.85)	-	1.08 (0.27)	3.29 (0.28)	10.02 (2.01)	1.39
	MC	1.56 (0.26)	100.09 (5.03)	-	0.57 (0.17)	2.37 (0.26)	9.67 (2.12)	

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

اعداد داخل پرانتز خطای استاندارد می‌باشد.

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

جدول ۴- پارامترهای برآورد شده حاصل از تجزیه رگرسیونی غیرخطی داده‌های درصد بقاء علف‌های هرز دم‌روباهی سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز در پاسخ به نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش تریفلورالین به ترتیب با استفاده از رابطه‌های ویبول و لگاریتم لجستیک

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

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

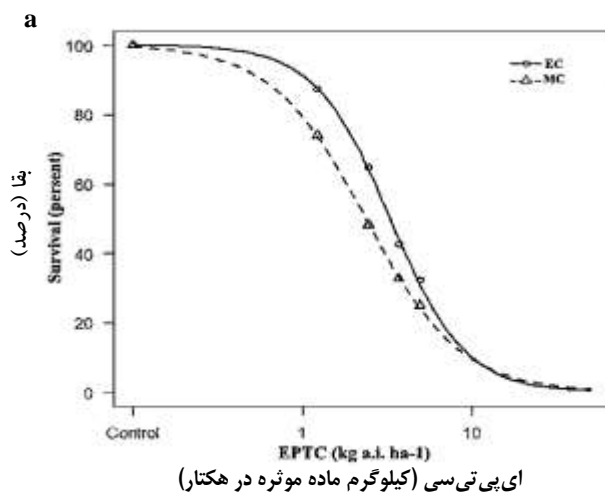
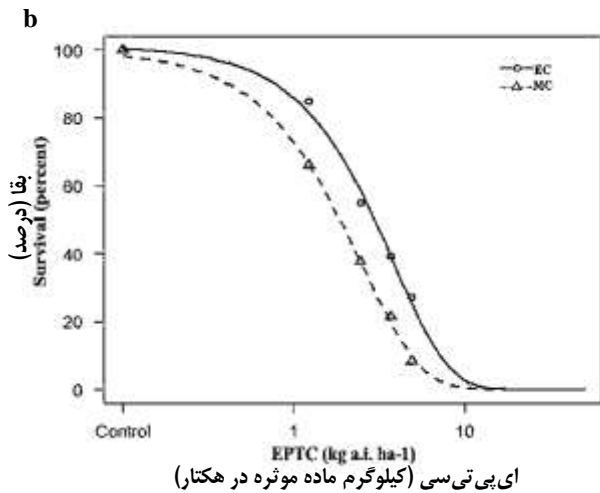
d حداکثر درصد بقاء در مقدار صفر علف‌کش، e نقطه عطف، b شیب منحنی در نقطه عطف، EC و MC به ترتیب فرمولاسیون‌های امولسیون و میکروکپسول

اعداد داخل پرانتز خطای استاندارد می‌باشد.

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

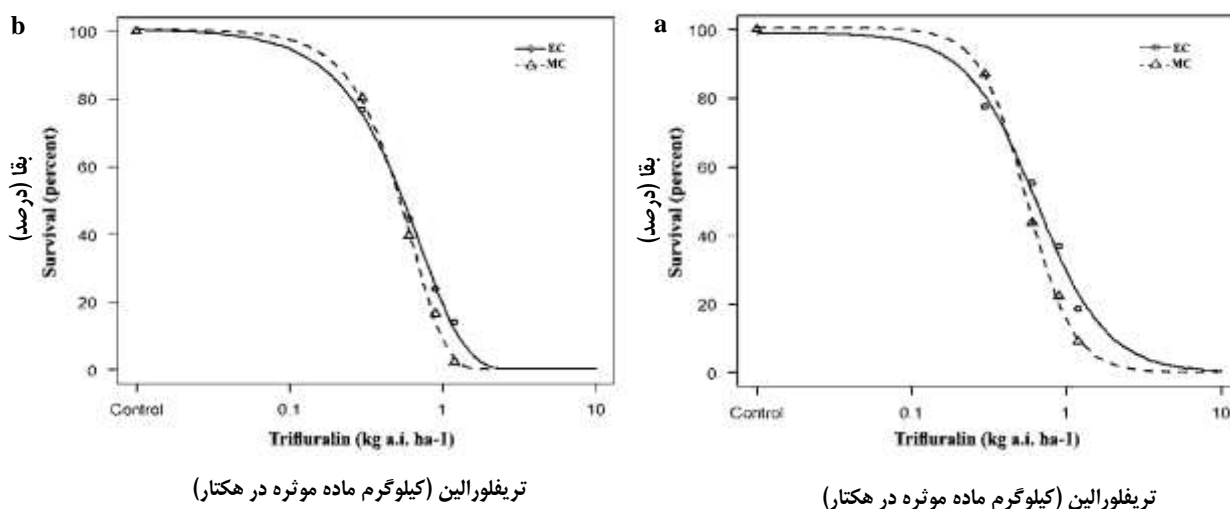
پایین به نظر می‌رسد به دلیل حبس علف‌کش در ذرات میکروکپسول و عدم تأمین آستانه حداقل غلظت برای کنترل علف‌های هرز باشد. از سوی دیگر با توجه به کاهش برخی از عوامل مؤثر بر هدر رفت علف‌کش تریفلورالین در شرایط گلخانه همچون تجزیه نوری بدلیل تأمین نور مصنوعی، ممکن است نقش فرمولاسیون میکروکپسول در کاهش تلفات علف‌کش کم رنگ شده باشد. در صورتی که در مقادیر بالاتر، بدلیل آزاد سازی تدریجی و تأمین آستانه حداقل غلظت علف‌کش در خاک کارایی این فرمولاسیون بیش از امولسیون بود.

بر اساس نتایج شاخص پتانسیل نسبی، کاربرد فرمولاسیون میکروکپسول تریفلورالین کارایی این علف‌کش را در کنترل علف‌های هرز دم‌روباهی سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز در مقایسه با فرمولاسیون امولسیون به ترتیب ۱/۰۵ و ۱/۱۴ برابر بهبود داد. به بیان ساده‌تر کاربرد یک گرم ماده مؤثره فرمولاسیون میکروکپسول معادل ۱/۰۵ و ۱/۱۴ گرم ماده مؤثره این علف‌کش در فرم امولسیون به ترتیب برای کاهش درصد بقاء علف‌های هرز دم‌روباهی سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز می‌باشد (جدول ۴). کاهش کارایی در مقادیر



شکل ۱- منحنی‌های پاسخ به نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف‌کش ای بی تی سی مربوط به درصد بقاء علف‌های هرز دم‌روباهی سبز (a) و علف‌هرز تاج‌خروس ریشه‌قرمز (b)

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



شکل ۲- منحنی های پاسخ به نوع فرمولاسیون و مقدار کاربرد علف کش تریفلورالین مربوط به درصد بقاء علف هرز دمرو باهی سبز (a) و علف هرز تاج خروسی ریشه قرمز (b)

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

فرمولاسیون میکروکپسول علف کش تریفلورالین گیاهسوزی بیشتری بر روی گیاه چچم^۱ مشاهده شد (Coffman and Gentner, 1984). همان طور که در بالا به طور مبسوط ذکر گردید به نظر می رسد این روند را بتوان به تعامل فرمولاسیون میکروکپسول، نوع علف کش و شرایط محیطی تأثیرگذار بر رفتار علف کش مرتبط دانست. در مجموع نتایج نشان داد که کاربرد فرمولاسیون میکروکپسول موجب افزایش کارایی این علف کش گردیده است. افزایش و بهبود کارایی فرمولاسیون میکروکپسول در مطالعات قبل نیز در این راستا است. به طور مثال بررسی ها نشان داده است که فرمولاسیون رهاسازی کنترل شده علف کش تریفلورالین دارای فعالیت علف کشی هم تراز و یا بیشتر از مصرف دو برابر فرمولاسیون امولسیون بوده است (Coffman and Gentner, 1984). فرمولاسیون میکروکپسول تریفلورالین موجب کنترل طولانی تر علف های هرز گرامینه یکساله شده و تخییر کمتری نسبت به فرمولاسیون امولسیون داشته است (Doub et al., 1988). در ادامه این آزمایش، نتایج بررسی های مزرعه ای نشان داد که از نظر آماری کاربرد ۵۰ درصد دُز توصیه شده فرمولاسیون میکروکپسول علف کش تریفلورالین از اثر کنترل کننده مشابه کاربرد ۷۵ درصد و افزایش عملکرد هم سطح کاربرد ۱۰۰ درصد فرمولاسیون امولسیون برخوردار بوده است (نتایج منتشر نشده است).

با توجه به مطالب ارایه شده، همانطور که محققانی همچون پترسن و شی (Petersen and Shea, 1989)، کارتر (Carter, 2000)، داریسانک و همکاران (Dhareesank et al., 2006)، ژرسیک و همکاران (Jursik et al., 2015) و فوگلمن و همکاران (Fogleman et al., 2018) در مطالعات خود اشاره نمودند به نظر می رسد بتوان این روند را به تعامل فرمولاسیون میکروکپسول، نوع علف کش و شرایط محیطی تأثیرگذار بر رفتار علف کش مرتبط دانست. مطالعات قبلی نشان داده است که در فرمولاسیون های متداول برخلاف فرمولاسیون میکروکپسول، ماده موثره در یک زمان و به طور کامل در محیط قرار گرفته می شود (Sopena et al., 2009) and (Wilkins, 2003). ویلسون (Wilson, 2003) در بررسی های خود نشان داد که فرمولاسیون میکروکپسول موجب افزایش کارایی علف کش دایکامبا گردید اما در مقایسه با فرمولاسیون انحلال در آب اثرات علف کشی دیرتر ظاهر شد. در فرمولاسیون میکروکپسول افزایش انتشار علف کش از غشای پلیمری موجب جبران تلفات ناشی از تجزیه علف کش در اثر افزایش دما خواهد شد. در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد و رطوبت ۱۵ درصد، نیمه عمر فرمولاسیون امولسیون علف کش های آلاکلر و استوکلر در حدود ۳۵ روز بود در حالی که نیمه عمر فرمولاسیون میکروکپسول علف کش های آلاکلر و استوکلر به ۵۶ روز افزایش یافت. عبارتی دما و رطوبت اثرات کمتری بر تجزیه علف کش هایی با فرمولاسیون میکروکپسول نسبت به فرمولاسیون امولسیون داشتند (Petersen et al., 1988). در سری های زمانی ابتدایی آزمایش زیست سنجی، فرمولاسیون امولسیون نسبت به

1- *Lolium multiflorum* Lam.

نتیجه گیری

میکروکپسول علف‌کش‌های ای‌پی‌تی‌سی و تریفلورالین موجب افزایش کارایی و کاهش مقدار مصرف گردید هر چند که در شرایط اجرای آزمایش، تأثیر فرمولاسیون میکروکپسول بر افزایش کارایی علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی مشهودتر بود. به طوری که کارایی نسبی فرمولاسیون‌ها در کنترل علف‌های هرز دم‌روباهی سبز و تاج‌خروس ریشه‌قرمز در علف‌کش ای‌پی‌تی‌سی به ترتیب ۱/۵۷ و ۱/۳۹ و در علف‌کش تریفلورالین به ترتیب ۱/۰۵ و ۱/۱۴ برآورد گردید.

هدف از کاربرد فرمولاسیون‌هایی با رهاسازی کنترل‌شده، آزادسازی تدریجی علف‌کش‌ها در مقدار مناسب و با حفظ کارایی در شرایط زراعی است. این نوع فرمولاسیون‌ها ترکیبی از ماده مؤثره علف‌کش و مواد همراه است که با توجه به مقدار لازم برای کنترل علف‌های هرز، ماده مؤثره را در یک دوره زمانی مشخص رهاسازی می‌کنند. نتایج این بررسی گویای آن است که فرمولاسیون

منابع

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

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



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

A.H. Ladmakhi-nezhad¹, E. Mohammadvand¹^{2*}, J. Asghari¹³

Received: 17-07-2021

Revised: 02-09-2023

Accepted: 05-09-2023

Available Online: 05-09-2023

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

Introduction

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

Materials and Methods

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

Results and Discussion

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

1, 2 and 3- M.Sc. Graduate, Assistant Professor and Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: mohammadvand@guilan.ac.ir

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

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

Conclusion

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

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

مقاله پژوهشی

جلد ۳۷ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲، ص. ۳۱۴-۳۰۱

تأثیر مدت زمان تداخل بین گونه‌ای و تعیین دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز در نعنای فلفلی
(*Mentha piperita* L.)امیرحسین لادمخی نژاد^۱ - المیرا محمدوند^{۲*} - جعفر اصغری^۳ 

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۶/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۴

چکیده

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

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

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار و استاد گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

* نویسنده مسئول: (Email: mohammadvand@guilan.ac.ir)

مقدمه

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

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

یکی از عوامل مهم تاثیرگذار بر رشد و تولید گیاهان در سیستم‌های تولید، رقابت علف‌های هرز است. رقابت علف‌های هرز با گیاهان زراعی در جذب منابع می‌تواند منجر به از دست رفتن بخش قابل توجهی از عملکرد محصول شود. میزان خسارت وارد شده به گیاه

زراعی بر اثر تداخل علف‌های هرز، بسته به مرحله و طول دوره رقابت گیاه زراعی و علف‌هرز متغیر است (Gibson and Liebman, 2003). رشد زودتر گیاه زراعی نسبت به علف‌های هرز می‌تواند تا حد زیادی توازن رقابتی را به نفع گیاه زراعی در برابر علف‌های هرز تغییر دهد (Mohler, 2001). آگاهی از اثرات دوره حضور و رقابت علف‌های هرز با گیاهان زراعی، در طراحی برنامه‌های مدیریت تلفیقی علف‌های هرز موثر خواهد بود.

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

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

مواد و روش‌ها

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

پس از آن تا زمان برداشت وجین دستی علف‌های هرز انجام گرفت. طولانی‌ترین دوره کنترل و تداخل به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. عملیات خاک‌ورزی و آماده‌سازی زمین زراعی، پس از گاورو شدن زمین و قبل از پیاده‌سازی طرح آزمایش با انجام شخم برگردان‌دار، یکبار دیسک و سپس تسطیح زمین صورت گرفت. آنالیز بافت خاک با تهیه نمونه مرکبی از عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک مزرعه و انتقال آن به آزمایشگاه خاک و آب دانشکده کشاورزی انجام شده و برای توصیه کودی مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). کوددهی به میزان ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار اوره (۴۶٪ نیترژن)، ۷۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل (۴۶٪ اکسید فسفر) و ۹۰ کیلوگرم در هکتار سولفات پتاسیم (۵۰٪ درصد اکسید پتاسیم) قبل از کشت به‌صورت شباری انجام گرفت.

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

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

جدول ۱- مشخصات فیزیکی شیمیایی خاک محل آزمایش

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

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

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

استخراج اسانس

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

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

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

نمونه‌برداری از نعنای فلفلی در شش مرحله طی فصل رشد صورت گرفت، به‌طوری‌که هر نمونه‌برداری بلافاصله قبل از هر وجین و آخرین نمونه‌برداری در هنگام برداشت انجام شد. در نمونه‌برداری‌های

نتایج و بحث

بررسی جامعه علف‌های هرز

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

صفات گیاه زراعی

ارتفاع بوته

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

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

تعیین دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز

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

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

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

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

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

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

محاسبات آماری

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

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

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

درجه سمجیت	مسیر فتوسنتزی	شکل رویشی	چرخه زندگی	نام تیره	نام علمی	نام عمومی
Degree of noxiousness	Photosynthetic pathway	Vegetative form	Life cycle	Family name	Scientific name	Common name
سمج	چهار کرینه	باریک برگ	یک‌ساله	گندمیان	<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) Beauv.	سوروف Barnyardgrass
سمج	چهار کرینه	باریک برگ	یک‌ساله	گندمیان	<i>Setaria glauca</i> (L.) Beauv.	دم‌روپاهی زرد Yellow foxtail
سمج	چهار کرینه	جگن	یک‌ساله	جگنیان	<i>Cyperus difformis</i> L.	اوبارسلام یک‌ساله Smallflower nutsedge
سمج	چهار کرینه	باریک برگ	یک‌ساله	گندمیان	<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.	علف‌خرچنگ Crabgrass
سمج	چهار کرینه	باریک برگ	چندساله	گندمیان	<i>Paspalum distichum</i> L.	بندواش Knotgrass
سمج	سه کرینه	پهن برگ	یک‌ساله	کاسنی	<i>Xanthium strumarium</i> L.	توق Common cocklebur
غیر سمج	سه کرینه	پهن برگ	یک‌ساله	فرفیون	<i>Euphorbia indica</i> Lam.	فرفیون Spurge
سمج	چهار کرینه	پهن برگ	یک‌ساله	تاج‌خروس	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	تاج‌خروس ریشه قرمز Redroot pigweed

۳۲ روز در ابتدای فصل رشد در شرایط آلوده به علف‌هرز قرار داشتند. سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (طول ساقه ۶۴/۷ سانتی‌متر). به طور کلی طول نهایی ساقه در بوته‌های نعنای فلفلی در نتیجه رقابت با علف‌های هرز ۹/۱ درصد کاهش یافت. طول ساقه نعنای فلفلی در تیمارهایی با دوره کنترل طولانی‌تر، بیشتر از تیمارهایی با دوره رقابت طولانی‌تر بود (جدول ۳). علف‌های هرز با داشتن توانایی رقابتی بالاتر در استفاده از منابع، رشد بهتری داشته و قادر به توسعه ارتفاع خود در بالای کانوپی نعنای فلفلی شده‌اند. ارتفاع بوته از عوامل مؤثر بر عملکرد گیاه است. کاهش ارتفاع گیاه زراعی در اثر افزایش طول دوره رقابت علف‌های هرز گزارش شده است (Hussain et al., 2019; Kavurmaci et al., 2010). اگرچه در برخی مطالعات رقابت با علف‌هرز سبب افزایش ارتفاع گیاه زراعی شده است؛ دلیل این امر را می‌توان به نوع و تراکم علف‌های هرز و نیز به نوع و گونه گیاه زراعی نسبت داد که شدت و نتیجه رقابت را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Amador-Ramirez, 2002). رقابت تمام‌فصل علف‌های هرز با نعنای ژاپنی (*Mentha arvensis* L.) ارتفاع نهایی بوته را در مقایسه با تیمار دوبار وجین دستی ۲۱ درصد کاهش داد (Walia et al., 2007).

در این مرحله طول ساقه در تیماری که تنها ۱۶ روز ابتدای فصل رشد آلوده به علف‌هرز بود و سپس وجین شد، فاقد تفاوت معنی‌دار با سری عاری از علف‌هرز بود و تیمارهایی که از ابتدای فصل رشد تا روز نمونه‌برداری آلوده به علف‌هرز باقی مانده بودند (تیمارهای ۴۸، ۶۴، ۸۰ و ۹۶ روز آلوده به علف‌هرز)، بیشترین طول ساقه (۴۷/۳۳ سانتی‌متر) را داشتند. به نظر می‌رسد در این مرحله رقابت بین گیاه زراعی و علف‌های هرز شروع شده و در پاسخ به شروع رقابت طول بوته‌های نعنای فلفلی افزایش یافت. ۶۴ روز پس از کاشت (نمونه‌برداری چهارم) تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت. به نظر می‌رسد افزایش رشد شاخساره نعنای فلفلی در شرایط بدون علف‌هرز با افزایش طول ساقه همراه بوده؛ درحالی‌که در تیمارهای آلوده به علف‌هرز که در مرحله قبل طول ساقه بیشتری داشتند، رقابت شدیدتر شده و افزایش طول ساقه کمتر بوده است. ۸۰ روز پس از کاشت (نمونه‌برداری پنجم) بیشترین طول ساقه در تیمارهایی که از ابتدای فصل رشد تا زمان نمونه‌برداری عاری از علف‌هرز بودند (۸۰ و ۹۶ روز عاری از علف‌هرز) به میزان ۶۲/۶ سانتی‌متر مشاهده شد. سایر تیمارها (۵۵/۴ سانتی‌متر) تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. ۹۶ روز پس از کاشت (نمونه‌برداری ششم، هنگام برداشت) بیشترین طول ساقه نعنای فلفلی (۷۱/۲ سانتی‌متر) در تیمارهایی مشاهده شد که ۳۲ تا ۹۶ روز در ابتدای فصل رشد عاری از علف‌هرز بودند (تیمارهای ۳۲، ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز عاری از علف‌هرز) و یا تنها ۱۶ و

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

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

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

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

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

از علف‌هرز و نیز در تیماری که فقط ۱۶ روز ابتدای فصل رشد آلوده به علف‌هرز بود (۱۴/۲ شاخه فرعی در بوته)، بیشتر از تیمارهایی بود که تا این مرحله نمونه‌برداری در شرایط آلوده به علف‌هرز بودند (تیمارهای ۳۲، ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز آلوده به علف‌هرز). ۴۸ روز بعد از

تعداد شاخه فرعی در بوته

تفاوت تعداد شاخه فرعی در بوته بجز در نمونه‌برداری اول (۴/۷ شاخه فرعی در بوته)، در سایر نمونه‌برداری‌ها بین تیمارها معنی‌دار بود. ۳۲ روز بعد از کاشت، تعداد شاخه فرعی در تیمارهای سری عاری

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

زیست‌توده طی فصل رشد

زیست‌توده بوته‌های نعنای فلفلی ۱۶ روز بعد از کاشت ۳/۸۸ گرم در مترمربع در همه تیمارها بود و ۳۲ روز بعد از کاشت بیشترین زیست‌توده (۱۵/۴۶ گرم در متر مربع) در سری تیمارهای عاری از علف‌هرز و نیز تیماری که فقط ۱۶ روز ابتدای فصل رشد آلوده به علف‌هرز بود، مشاهده شد. سایر تیمارها که پس از کاشت تا روز نمونه‌برداری (۳۲ روز) آلوده به علف‌هرز باقی مانده بودند، با ۳۵ درصد کاهش دارای زیست‌توده ۱۰/۰۵ گرم در متر مربع بودند. ۴۸ روز بعد از کاشت، بیشترین زیست‌توده (۷۶/۸۹ گرم در متر مربع) در تیمارهایی که بیشتر از ۳۲ روز عاری از علف‌هرز بودند (تیمارهای ۳۲، ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز عاری از علف‌هرز) و نیز تیماری که فقط ۱۶ روز ابتدای فصل رشد آلوده به علف‌هرز بود، مشاهده شد و کمترین زیست‌توده (۲۸/۲۱ گرم در متر مربع، ۶۳ درصد کاهش) در تیمارهایی که بیشتر از ۳۲ روز آلوده به علف‌هرز بودند (تیمارهای ۳۲، ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز آلوده به علف‌هرز) و نیز تیماری که فقط ۱۶ روز ابتدای فصل وچین شده و سپس بدون کنترل رها شده بود، مشاهده شد. ۶۴ روز بعد از کاشت در نمونه‌برداری چهارم، بیشترین زیست‌توده (۱۱۸/۸۶ گرم در متر مربع) در تیمارهایی که بیشتر از ۴۸ روز عاری از علف‌هرز بودند (تیمارهای ۴۸، ۸۰، ۹۶ و ۱۲۰ روز عاری از علف‌هرز) و نیز تیماری که فقط ۱۶ روز ابتدای فصل رشد آلوده به علف‌هرز بود، مشاهده شد. تیماری که فقط ۳۲ روز ابتدای فصل رشد وچین شده و سپس بدون کنترل رها شد، زیست‌توده ۸۵/۰۸ گرم در واحد سطح (۲۸ درصد کاهش) بود. کمترین زیست‌توده در شرایطی که علف‌های هرز بیشتر از ۴۸ روز با نعنای فلفلی رقابت کردند (تیمارهای ۴۸، ۶۴ و ۹۶ روز آلوده به علف‌هرز) (۲۴/۰۴ گرم در متر مربع، ۸۰ درصد کاهش) ثبت شد. ۸۰ روز بعد از کاشت در نمونه‌برداری پنجم، بیشترین زیست‌توده مربوط به تیمارهایی بود که تا روز نمونه‌برداری وچین شده بودند (۱۸۶/۷۶ گرم در مترمربع) و کمترین مقدار زیست‌توده (۲۴/۶۸ گرم در متر مربع) مربوط به تیمارهایی بود که از ابتدای فصل رشد به مدت بیش از ۴۸ روز در شرایط آلوده به علف‌هرز قرار گرفته بودند و نیز تیماری که از ۱۶ روز پس از کاشت تا روز نمونه‌برداری در شرایط آلوده به علف‌هرز قرار گرفته بود.

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

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

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

تعداد گره در ساقه

تعداد نهایی گره در بلندترین ساقه بوته نعنای فلفلی در هنگام

به‌ترتیب موجب ۴/۸، ۱۵/۶، ۴۱/۵، ۷۵/۱ و ۸۷/۷ درصد کاهش عملکرد بیولوژیک نعنای فلفلی شد (جدول ۴).

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

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

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

دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز

با برآزش توابع گامپرز و لجستیک (جدول ۵ و شکل ۱)، دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز نعنای فلفلی با پذیرش ۵، ۷/۵ و ۱۰ درصد کاهش عملکرد بیولوژیک به‌ترتیب از ۲۲ تا ۴۹، ۲۷ تا ۴۵ و ۲۹ تا ۴۲ روز پس از کاشت گیاهچه‌های نعنای فلفلی بود (جدول ۶). در رازیانه ضمن مشاهده افزایش تلفات عملکرد دانه با افزایش دوره رقابت علف‌های هرز، کنترل تا ۵۰ روز پس از سبز شدن رازیانه جهت جلوگیری از تلفات شدید عملکرد ضرورت داشت (Mubeen et al., 2009).

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

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

عملکرد بیولوژیک، درصد و عملکرد اسانس نعنای فلفلی

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

جدول ۴- اثر دوره حضور علف‌های هرز بر صفات نعنای فلفلی (*Mentha piperita L.*) در هنگام برداشت
 Table 4- The effect of weed presence duration on peppermint (*Mentha piperita L.*) traits at harvest

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

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

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

کاهش عملکرد به ترتیب ۲۱ تا ۵۲ روز و ۲۶ تا ۳۸ روز پس از کاشت بود (Sharifi noori and Ebadi, 2009).

نتیجه‌گیری

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

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

در سیاه‌دانه شروع دوره بحرانی در سه سطح ۲/۵، ۵ و ۱۰ درصد اُفت عملکرد قابل قبول به ترتیب ۱۱، ۱۳ و ۱۷ روز و پایان دوره بحرانی ۷۷، ۷۵ و ۷۱ پس از سبزشدن سیاه‌دانه تعیین شد (Seyedi et al., 2011). در آویشن دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز براساس کاهش عملکرد وزن تر پیکر رویشی به میزان ۵ درصد بین ۴۱ تا ۹۰ روز و به میزان ۱۰ درصد بین ۵۴ تا ۷۶ روز و براساس کاهش عملکرد وزن خشک پیکر رویشی به میزان ۵ درصد بین ۱۲ تا ۹۴ روز و به میزان ۱۰ درصد بین ۲۹ تا ۷۸ روز پس از آغاز فصل رشد محاسبه شد (Khazaie et al., 2012). در مریم‌گلی دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز بر اساس ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد کاهش عملکرد قابل قبول، به ترتیب ۶۰، ۵۳ و ۶۰ روز بود (Setvati nayyeri et al., 2014). در اسفرزه دوره بحرانی کنترل علف‌های هرز با پذیرش ۱۰ و ۵ درصد

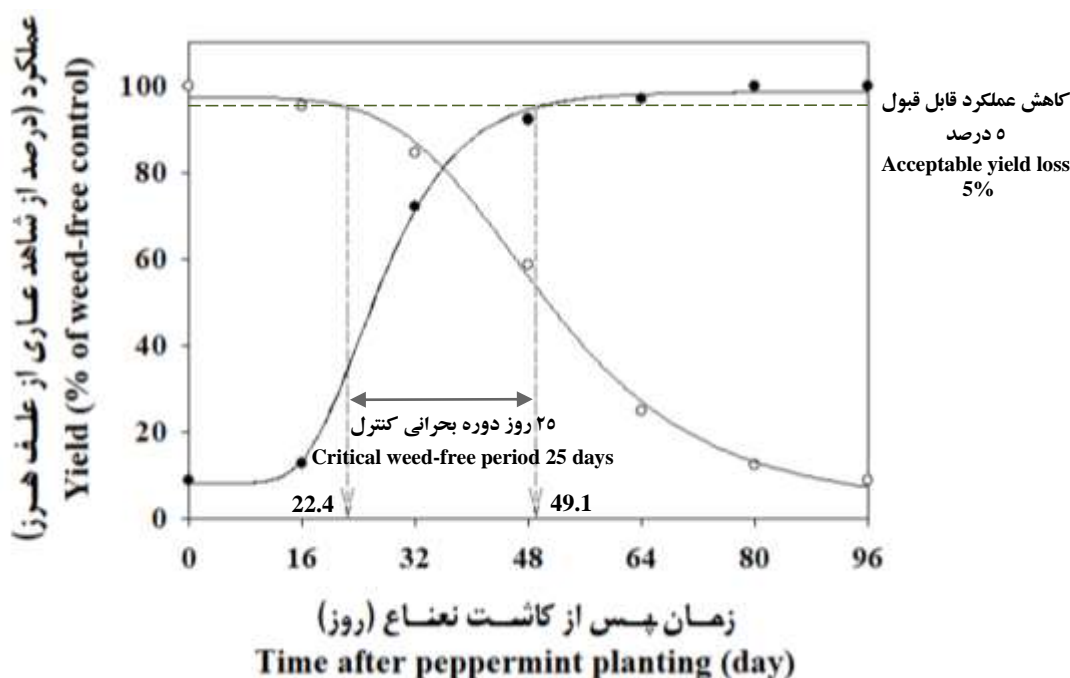
جدول ۵- برآورد ضرایب برازش توابع گامپرتز و لجستیک به عملکرد بیولوژیک نسبی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

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

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

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

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



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

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

جدول ۶- تعداد روز آلوده به و عاری از علف‌های هرز در سطوح ۱۰، ۷/۵ و ۵ درصد کاهش عملکرد بیولوژیک نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

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

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

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

24. Mahmoudzadeh, M., Rasouli-Sadaghiani, M.H., Hassani, A., & Barin, M. (2015). The role of mycorrhizal inoculation on growth and essential oil of peppermint (*Mentha piperita*). *Journal of Horticulture Science*, 29(3), 342-348. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/JHORTS4.V010.23756>
25. Martin, S.G., Van-Acker, R.C., & Friesen, L.F. (2001). Critical period of weed control in spring canola. *Weed Science*, 49, 326-333. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2001\)049\[0326:CPOWCI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2001)049[0326:CPOWCI]2.0.CO;2)
26. Mehta, B.K., Pandit, V., & Gupta, M. (2009). New principle from seeds of *Nigella sativa*. *Natural Product Research*, 23, 138-148. <https://doi.org/10.1080/14786410801892078>
27. Mohler, C.L. (2001). Enhancing the competitive ability of crops. In M. Liebman, C. Mohler, and C. staver, (eds). *Ecological Management of Agricultural weeds*. Cambridge: Cambridge University Press. p.269 – 321.
28. Mubeen, K., Tanveer, A., Nadeem, M.A., Sarwar, N., & Shahzad, M. (2009). Critical period of weed-crop competition in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Pakistan Journal of Weed Science Research*, 15(2-3), 171-181.
29. Niakan, M., Khavarinejad, R.A., & Rezaei, M.B. (2004). The effect of three fertilizer systems K.P.N on fresh and dry weight, leaf area and essential oil content of *Mentha piperita*. *Journal of Medicinal Plants*, 2, 131-148. (In Persian with English abstract)
30. Omafra, S. (2006). *Principles of integrated weed management: Critical period for weed control*. Publication 75, guide to weed control. Minister of Agriculture, Food and Rural Affairs.
31. Ratkowsky, D.A. (1990). *Handbook of Nonlinear Regression Models*. New York: Marcel Dekker. p. 123–147.
32. Russo, A., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Delfine, S., Cardile, V., Rosselli, S., & Bruno, M. (2013). Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 42-47. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.12.036>
33. Sabra, F.S., & Mahmoud, M.S. (2015). Utilization of herbicidal treatments to overcome weed problems in peppermint (*Mentha piperita* L.) cultivation under Egyptian conditions. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, 3(1), 103-108.
34. Setvati-nayyeri, S., Gholipoori, A., Tobeh, A., & Jamaati, Sh. (2014). *Determination of critical period of weed control in medicinal plant of salvia (Salvia officinalis L.)*. Proceeding of 2nd Nation Sampusiom Basic Research of Agriculturic Since, Tehran, p. 2923.
35. Seyedi, S.M., Ghorbani, R., Rezvani-Moghaddam, P., & Nasiri-Mahalati, M. (2011). The critical period of weed control in black seed (*Nigella sativa* L.) at Mashhad. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 42(4), 809-819. [DOR: 20.1001.1.20084811.1390.42.4.16.8](https://doi.org/10.1001.1.20084811.1390.42.4.16.8)
36. Shah, P.P., & D'Mello, P.M. (2004). A review of medicinal uses and pharmacological effects of *Mentha piperita*. *Natural Product Radiance*, 3(4), 214-221.
37. Sharifi Noori, M.S., & Ebadi, A.M. (2009). Determination of critical period of weed control in *Plantago ovata*. *Journal of Applied Crop Research*, 22, 56-67. (In Persian with English abstract)
38. Smitchger, J.A., Burk,e I.C., & Yenish, J.P. (2012). The critical period of weed control in lentil (*Lens culinaris*) in the pacific northwest, *Weed Science*, 60(1), 81-85. <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00069.1>
39. Verdeguer, M., Castañeda, L.G., Torres-Pagan, N., Llorens-Molina, J.A., & Carrubba, A. (2020). Control of *Erigeron bonariensis* with *Thymbra capitata*, *Mentha piperita*, *Eucalyptus camaldulensis*, and *Santolina chamaecyparissus* essential oils. *Molecules*, 25(1), 562. <https://doi.org/10.3390/molecules25030562>
40. Verma, R.S., Rahman, L., Verma, R.K., Chauhan, A., Yadav, A.K., & Singh, A. (2010). Essential oil composition of menthol mint (*Mentha arvensis*) and peppermint (*Mentha piperita*) cultivars at different stages of plant growth from Kumauni region of Western Himalaya. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 1, 1-13.
41. Walia, U.S., Singh, S., & Singh, B. (2007). Performance of oxyfluorfen for weed control in *Mentha arvensis*. *Indian Journal of Weed Science*, 39(3-4), 211-213.
42. Yadav, Y., Kumar, R., Kumari, A., Nand, V., & Verma, S. (2019). Effect of herbicides on dry matter accumulation, fresh herbage yield, oil yield and profitability of Japanese mint (*Mentha arvensis* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(2), 49-53.



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

A. Aliverdi^{1*}, S. Karami²

Received: 03-10-2022

Revised: 31-03-2023

Accepted: 09-04-2023

Available Online: 26-04-2023

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

Introduction

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

Materials and Methods

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

1 and 2– Associate Professor and Ph.D. Student in Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: a.aliverdi@basu.ac.ir)

<https://doi.org/10.22067/jpp.2023.79032.1108>

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

Results and Discussion

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

Conclusion

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

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

مقاله پژوهشی

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

اثر متقابل نوع مویان ارگانوسیلیکونی و حجم پاشش بر کارایی دیکلوفوپ-متیل در کنترل
یولاف وحشی زمستانهاکبر علی وردی^{۱*} - سمیرا کرمی^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۱۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۱/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۰

چکیده

در تحقیق گلخانه‌ای حاضر، اثر نوع مویان تری‌سیلوکسانی و حجم پاشش بر فعالیت علف‌کش دیکلوفوپ-متیل علیه یولاف وحشی زمستانه ارزیابی شد. تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت که فاکتورها شامل مقدار علف‌کش (صفر، ۱۱۲/۵، ۲۲۵، ۴۵۰، ۹۰۰ و ۱۳۵۰ گرم در هکتار)، حجم پاشش (۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار)، نوع مویان (پریک-ترو اس ۲۳۳ و پریک-ترو اس ۲۴۰) و غلظت مویان (صفر، ۰/۱۲۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۸ درصد حجمی) بودند. ماده خشک یولاف وحشی زمستانه روی مقادیر دیکلوفوپ-متیل برازش داده شد تا مقدار علف‌کش لازم جهت کنترل ۵۰ و ۹۰ درصدی (ED₅₀ و ED₉₀) بدست آید. در شرایط بدون مویان، با افزایش حجم پاشش از ۶۰ به ۴۸۰ لیتر در هکتار مقادیر ED₅₀ به ترتیب از ۵۳۶/۴ به ۸۶۵/۱ گرم در هکتار و مقادیر ED₉₀ به ترتیب از ۸۱۵/۳ به ۱۳۶۶/۸ گرم در هکتار افزایش یافت. رابطه‌ای منفی بین کارایی دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش مشاهده شد. این مشاهده با کاربرد هر دو مویان در غلظت‌های ۰/۱۲۵ تا ۰/۱ درصد حجمی نیز مشاهده شد. در غلظت‌های بالاتر، حالت رابطه از منفی به خنثی برای پریک-ترو اس ۲۳۳ تغییر کرد؛ ولی برای پریک-ترو اس ۲۴۰ این حالت تغییری نکرد. ضرورت قطرات پاشش کوچک‌تر و غلیظ‌تر برای عملکرد بهتر دیکلوفوپ-متیل محرز گردید. در حجم پاشش کم (۶۰ لیتر در هکتار)، پریک-ترو اس ۲۳۳ در غلظت کم (بین ۰/۱ تا ۰/۲ درصد حجمی) ولی پریک-ترو اس ۲۴۰ در غلظت بالا (بین ۰/۲ تا ۰/۸ درصد حجمی) کارآمدتر بودند.

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

مقدمه

توسط علف‌کش‌های گروه آریلوکسی فنوکسی پروپیونات مهار می‌شود. این عمل تقسیم سلولی و رشد سلولی را مختل کرده و منجر به مرگ علف‌های هرز می‌شود (Zhang et al., 2017). در گیاه زراعی و خاک، پیوند استری علف‌کش دیکلوفوپ-متیل می‌تواند به ترتیب با و بدون دخالت آنزیمی به اسید مربوطه خود (دیکلوفوپ) هیدرولیز شود. سپس دیکلوفوپ اسید مجدداً هیدرولیز می‌شود تا برخی از مواد تجزیه‌ای را تشکیل دهد. در نتیجه، هیچ باقیمانده‌ای از علف‌کش مادری و اسید مربوط به آن در هنگام برداشت گیاه زراعی قابل تشخیص نیست (Tandon, 2019). با این حال بدوای و همکاران (Badawi et al., 2015) گزارش کردند که مواد تجزیه‌ای مشتق شده از علف‌کش فلوآزیفوپ-بوتیل می‌توانند سریع‌تر از خود

علف‌کش دیکلوفوپ-متیل (بازدارنده بیوستنز اسیدهای چرب) از خانواده شیمیایی آریلوکسی فنوکسی پروپیونات‌ها است که برای استفاده در گندم و جو جهت کنترل بسیاری از گونه‌های باریک‌برگ نظیر جنس یولاف برچسب شده است. در چنین گونه‌های حساسی، آنزیم استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز در مسیر بیوستنز اسیدهای چرب

۱ و ۲- به ترتیب دانشیار و دانشجوی دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، ایران

(Email: a.aliverdi@basu.ac.ir)

(*- نویسنده مسئول)

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

مولکول مویان دو بخش قطبی و غیر قطبی دارد به این صورت که سر مولکول مویان آب‌دوست و دم مولکول مویان چربی‌دوست است. مویان‌ها انواع مختلفی دارند. در یک مویان تری‌سیلوکسانی، سر آب‌دوست شامل سه سیلوکسان (سه اتم سیلیکون) است که به طور متناوب توسط دو اتم اکسیژن (-Si-O-Si-O-Si-) به هم مرتبط شده‌اند. ساختار تری‌سیلوکسانی به آن‌ها انعطاف پذیری بیشتر و توانایی بهتری برای کاهش کشش سطحی آب به حدود ۲۲ میلی‌نیوتون بر متر می‌دهد، در حالی که مویان‌های غیرسیلیکونی کشش سطحی آب را تا حدود ۳۴ میلی‌نیوتون بر متر کاهش می‌دهند (Gao et al., 2022). چنین توانایی از مویان‌های تری‌سیلوکسانی باعث می‌شود که آن‌ها پدیده منحصر به فردی به نام خیس کنندگی عالی^۳ را نشان دهند. هنگامی که آن‌ها به محلول پاشش اضافه می‌شوند، قطرات پاشش می‌توانند زاویه قطره تقریباً صفر درجه را با سطح برگ تشکیل دهند. در مقایسه با قطره‌ای که حاوی مویان‌های غیرسیلیکونی هستند، این عمل باعث گسترش تقریباً ۵۰ برابری قطرات پاشش بر روی سطح برگ می‌شود (Saynal et al., 2008).

فلوآزیفوپ-بوتیل شسته شوند. از نظر سمیت شناسی، مواد تجزیه‌ای مشتق شده از علف‌کش فنوکسپروپ-پی-اتیل سمیت بالایی برای کک آبی مزین^۱ نسبت به خود فنوکسپروپ-پی-اتیل دارند (Lin et al., 2016; Jing et al., 2007; al., 2007). به طور مشابه، کای و همکاران (Cai et al., 2007) گزارش کردند که مواد تجزیه‌ای مشتق شده از علف‌کش دیکلوفوپ-متیل نسبت به خود دیکلوفوپ-متیل سمیت بالایی برای ریزجلیک آب شیرین^۲ دارند. بنابراین، باید تلاش‌های بیشتری برای استفاده صحیح از دیکلوفوپ-متیل و سایر علف‌کش‌های خانواده شیمیایی آریلوکسی فنوکسی پروپیونات صورت گیرد تا امکان اعمال مقادیر کاهش یافته آن‌ها فراهم شود.

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

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

3- Super wetting

سانتی گراد با دوره ۱۶/۸ ساعت منتقل و به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند. سپس، پتری دیش‌ها به مدت ۴۸ ساعت در محیط آزمایشگاه در دمای حدوداً ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تمام مراحل نگهداری بذرها (در یخچال، ژرمیناتور و آزمایشگاه) در تاریکی انجام شد. پنج بذر جوانه زده با طول ریشه‌چه یک سانتی متر در عمق یک سانتی‌متری خاک در گلدان‌های پلاستیکی پر شده با ۱/۷ کیلوگرم خاک لومی-رسی حاوی ۰/۷ درصد ماده آلی کاشته شدند. سطح خاک گلدان‌ها حداقل یک بار در روز مرطوب می‌شد تا زمانی که گیاهچه‌ها شروع به ظهور کنند. سپس بوته‌ها در صورت نیاز هر چهار یا پنج روز یکبار به طور یکنواخت آبیاری و در مرحله سه برگی تیمار شدند. شرایط محیطی گلخانه دارای دمای هوا 20 ± 6 درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی 40 ± 12 درصد بود.

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. اولین فاکتور مقدار دیکلوفوپ-متیل شامل صفر، ۱۱۲/۵، ۲۲۵، ۴۵۰، ۹۰۰ (مقدار توصیه شده) و ۱۳۵۰ گرم در هکتار بود. از فرمولاسیون ایلوکسان^۲ ۳۶ درصد EC استفاده شد. فاکتور دوم حجم پاشش شامل ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار بود که به ترتیب با استفاده از نازل بادبزی لبه یکنواخت ۱۱۰۰۰۷۵، ۱۱۰۰۱۵، ۱۱۰۰۳ و ۱۱۰۰۶ تنظیم شد. بر اساس کاتالوگ، قطرات ۶۱ تا ۱۰۵ میکرون با نازل بادبزی لبه یکنواخت ۱۱۰۰۰۷۵ (Hardi, 2022)، قطرات ۱۰۶ تا ۲۳۵ میکرون با نازل‌های بادبزی لبه یکنواخت ۱۱۰۰۱۵ و ۱۱۰۰۳، و قطرات ۲۳۶ تا ۳۴۰ میکرون با نازل بادبزی لبه یکنواخت ۱۱۰۰۶ (Agrotop, 2022) را می‌توان در فشار پاشش ۳۰۰ کیلو پاسکال ایجاد کرد. عامل سوم دو نوع مویان تری سیلوکسان بود: پریک-ترو اس^۳ ۲۳۳ که خاصیت خیس‌کنندگی غیر عالی و پریک-ترو اس^۴ ۲۴۰ دارای خاصیت خیس‌کنندگی عالی بود. هر دو مویان غیر یونی بوده و توسط شرکت ایونیک^۵ در آلمان تولید می‌شوند. آن‌ها غلظت میسل بحرانی خود را در ۰/۱ درصد حجمی تشکیل دادند که در این غلظت کشش سطحی آب مقطر (۷۲/۱ میلی نیوتون بر متر) حاوی پریک-ترو اس^۳ ۲۳۳ و پریک-ترو اس^۴ ۲۴۰ با استفاده از یک دستگاه کشش سطحی سنج مدل تی‌ام-تی‌ان-۵۵۵^۶ به ترتیب برابر ۲۴/۱ و ۲۲/۶ اندازه‌گیری شد. فاکتور چهارم غلظت مویان بود که شامل صفر، ۰/۰۱۲۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، و ۰/۸ درصد حجمی بود (به ترتیب محدوده‌ای از یک هشتم تا هشت برابر غلظت میسل بحرانی). برای اعمال تیمارها در فشار پاشش ۳۰۰

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

دو مشکل می‌تواند توانایی خیس‌کنندگی عالی مویان‌های تری سیلوکسان را تحت تاثیر قرار دهد که نهایتاً این امر می‌تواند دستیابی به کارایی بهینه علف‌کش را مختل کند. اول، افزایش سطح پخش قطرات پاشش روی سطح برگ، زمان خشک شدن آن را کوتاه می‌کند (Zhou et al., 2018) و در نتیجه علف‌کش سریع‌تر تبلیور و دسترسی آن برای جذب کوتاه می‌شود. برای حل این مشکل، همیشه یک خیس‌کننده به فرمولاسیون مویان‌های تری سیلوکسان اضافه می‌شود (Knoche, 1994). دوم، آن‌ها علف‌کش را از سطوح برگ، به ویژه در حجم‌های پاشش بالا، حرکت می‌دهند. به عبارتی، علف‌کش از روی برگ شسته می‌شود. برای حل این مشکل باید حجم پاشش کمتری انتخاب شود (Roehrig et al., 2018). علاوه بر این، تولیدکنندگان سعی کرده‌اند مویان‌های تری سیلوکسانی را توسعه دهند که علی‌رغم داشتن توانایی بالا در کاهش کشش سطحی، خاصیت خیس‌کنندگی عالی نداشته باشند؛ که یک نمونه از این نوع مویان‌ها پریک-ترو اس^۳ ۲۳۳ است (Sieverding et al., 2006). این مطالعه با هدف بررسی اثر متقابل بین نوع مویان آرگانوسیلیکونی (یکی با خاصیت خیس‌کنندگی عالی و دیگری با خاصیت خیس‌کنندگی غیر عالی) و حجم پاشش بر کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایشی گلخانه‌ای به صورت دز-پاسخ در دانشگاه بوعلی سینا همدان در سال ۱۴۰۰ انجام شد. بدین منظور، بذره‌های یولاف وحشی زمستانه^۱ در داخل ظروف پتری دیش قرار داده شدند و به آن‌ها محلول نیترات پتاسیم ۰/۲ درصد اضافه شد. این بذور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد درون یخچال به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. سپس، پتری دیش‌ها به دستگاه ژرمیناتور با دمای تنظیمی ۲۰/۱۰ درجه

2- Illoxan®

3- Break-Thru® S233

4- Break-Thru® S240

5- Evonik

6- TM-TN-555

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

کیلو پاسکال از سمپاش فشاری مدل سولو ۴۶۱ آلمان استفاده شد. دمای هوا در زمان سمپاشی 3 ± 24 درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی 4 ± 32 درصد بود.

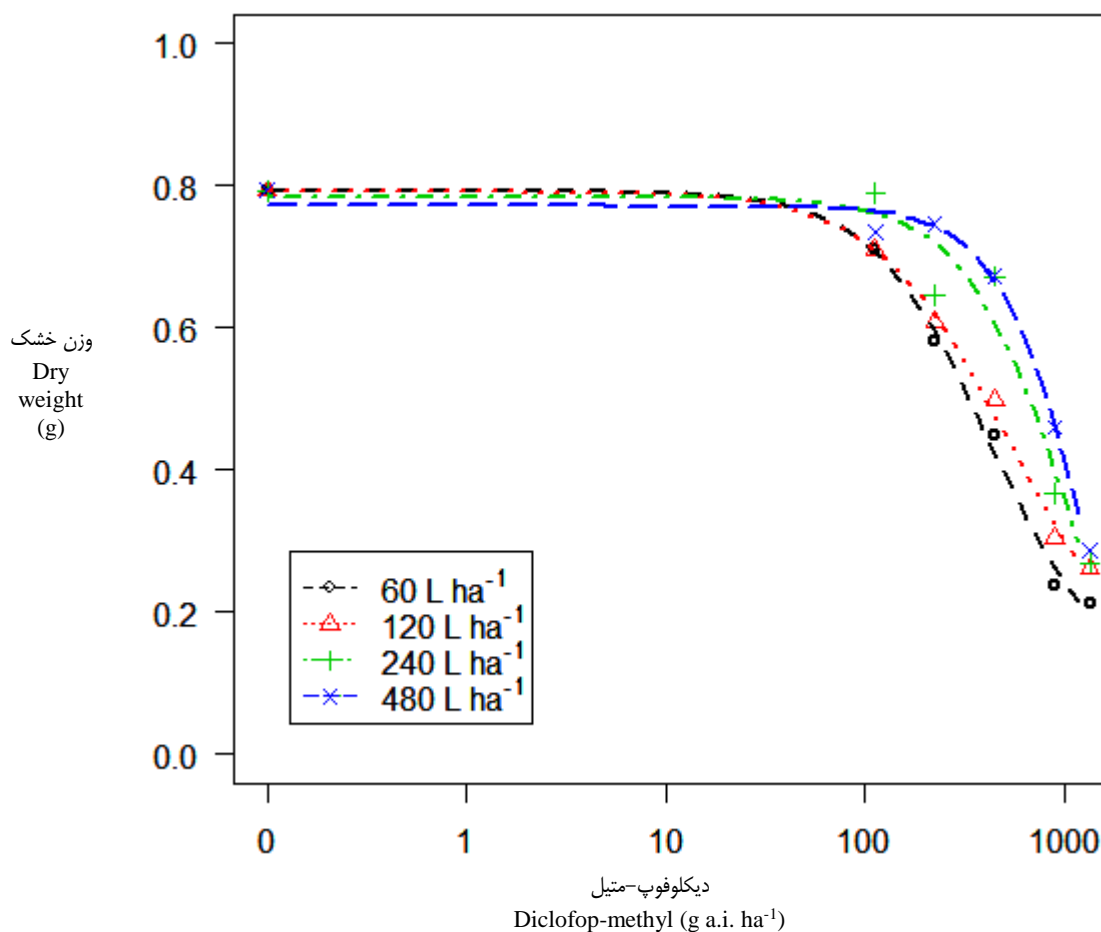
اندام‌های هوایی گیاهان ۴ هفته پس از تیمار برداشت و به مدت ۴۸ ساعت در داخل آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس برای بدست آوردن ماده خشک وزن شدند. تجزیه و تحلیل رگرسیون غیرخطی در محیط نرم‌افزار R پس از نصب بسته نرم افزاری 'drc' نسخه ۳،۵،۱ انجام شد. با استفاده از مدل چهار پارامتری لُجستیک، $Y =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

نتایج و بحث

خطوط رگرسیون غیرخطی برازش داده شده برای ماده خشک یولاف وحشی روی مقادیر علف‌کش دیکلوفوپ-متیل پاشیده شده با چهار حجم پاشش بدون مویان در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، خطوط رگرسیون با افزایش حجم پاشش به سمت راست تغییر مکان داده‌اند. هنگامی که پارامتر ED_{50} برای هر خط به طور جداگانه برآورد شد، مشخص شد که افزایش در حجم پاشش باعث افزایش مقدار ED_{50} می‌شود (جدول ۱). تفاوت معنی‌داری بین مقادیر ED_{50} دیکلوفوپ متیل پاشیده شده با ۶۰ و ۱۲۰ لیتر در هکتار مشاهده نشد. اما، تفاوت معنی‌داری بین مقادیر ED_{50} دیکلوفوپ-متیل پاشیده شده با سایر حجم‌های پاشش مشاهده شد. یک افزایش ۴۰ درصدی در مقدار ED_{50} با افزایش حجم پاشش از ۶۰ به ۴۸۰ لیتر در هکتار (به ترتیب $536/4$ و $865/1$ گرم در هکتار) رخ داد که نشان دهنده وجود رابطه منفی بین کارایی علف‌کش

دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش است. این رابطه منفی را می‌توان به دو دلیل نسبت داد: اول اینکه، حجم پاشش با شماره نازل در مطالعه فعلی تنظیم شد (1100075 ، 110015 ، 11003 ، و 11006 ؛ همه نازل‌های بادبزن لبه یکنواخت). همانطور که در بالا ذکر شد، کیفیت قطرک‌سازی نازل تحت تأثیر اندازه آن است. با افزایش شماره نازل، اندازه قطرات تولید شده نیز افزایش می‌یابد (Hardi, 2022; Agrotop, 2022). بیشتر، به خوبی ثابت شده است که قطرات درشت‌تر نسبت به قطرات کوچک‌تر آسان‌تر از سطح برگ پرش می‌کنند (Butts et al., 2018) لذا، این امر منجر به کاهش کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل در کنترل علف‌هرز یولاف وحشی زمستانه می‌شود. دوم، اینکه با کاهش حجم پاشش، غلظت قطرات پاشش افزایش می‌یابد. به همین دلیل یک گرادایان غلظتی برای علف‌کش دیکلوفوپ-متیل ایجاد می‌شود تا جریان بهتری از قطره پاشش به بافت برگ انتشار یابد (Aliverdi and Borghei, 2021) و در نتیجه کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل در کنترل علف‌هرز یولاف وحشی زمستانه افزایش می‌یابد. با ترکیب دو استدلال بالا، قطرات پاشش کوچک‌تر و غلیظ‌تر برای عملکرد بهتر علف‌کش دیکلوفوپ-متیل مورد نیاز است. با این حال، نوچی (Knoche, 1994) دریافت که اگر حجم پاشش برای دیکلوفوپ-متیل با تغییر سرعت کاربرد (نه با تغییر شماره نازل) تنظیم شده باشد، نمی‌تواند بر کارایی آن تأثیر بگذارد. اگرچه یافته‌های مطالعات نوچی (Knoche, 1994) و ما متفاوت است، اما نشان از آن دارد که اثر حجم پاشش بر کارایی علف‌کش نه تنها به علف‌کش، بلکه به چگونگی تنظیم حجم پاشش نیز بستگی دارد.

در هر یک از چهار حجم پاشش، افزودن هر دو مویان در $0/125$ درصد حجمی (یک هشتم غلظت میسل بحرانی) نتوانست بر مقدار ED_{50} علف‌کش دیکلوفوپ-متیل تأثیر بگذارد (جدول ۱). پیش از این، ناکارآمدی مویان‌ها در غلظت یک بیست و پنجم تا یک پنجم غلظت میسل بحرانی بر کارایی علف‌کش‌ها مشاهده شده بود (Green, 1996). در هر یک از چهار حجم پاشش، به جز در ۶۰ لیتر در هکتار با پریک-ترو اس 233 (ED_{50} برابر $459/6$ گرم در هکتار)، زمانی که مویان‌ها در $0/25$ درصد حجمی (یک چهارم غلظت میسل بحرانی) به محلول پاشش افزوده شدند، مقدار ED_{50} به طور قابل توجهی کاهش یافت. افزودن پریک-ترو اس 233 در غلظت $0/25$ درصد حجمی به حجم‌های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار موجب کاهش $1/16$ ، $3/31$ ، $2/04$ و $2/13$ برابری در مقادیر ED_{50} به ترتیب در حجم پاشش مربوطه خود در مقایسه با بدون مویان شد.



شکل ۱- خطوط رگرسیون غیرخطی برازش داده شده برای ماده خشک یولاف وحشی زمستانه (گرم) روی مقادیر مختلف دیکلوفوپ-متیل (گرم) ماده موثره در هکتار) که با حجم‌های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار و بدون مویان پاشیده شده است.

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

غلظت میسل بحرانی) به حجم‌های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار باعث کاهش ۲/۰۳، ۴/۲۶، ۴/۷۳ و ۴/۱۴ برابری در ED₅₀ به ترتیب در حجم پاشش مربوطه خود در مقایسه با بدون مویان شد. در حالی که، افزودن پریک-ترو اس ۲۴۰ در غلظت ۰/۱ درصد حجمی به حجم‌های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار باعث کاهش ۳/۵۷، ۲/۲۲، ۱/۷۲ و ۱/۲۱ برابری در مقدار ED₅₀ به ترتیب در حجم پاشش مربوطه خود در مقایسه با بدون مویان شد. کاهش ED₅₀ با افزودن مویان‌ها نشان‌دهنده بهبود کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل علیه یولاف وحشی زمستانه است که می‌تواند به دلیل کاهش کشش سطحی محلول پاشش باشد که منجر به افزایش نشست پاشش (Jensen, 2012) و یا سطح پخش قطره بر روی برگ (Schönherr et al., 2000) می‌شود. پخش شدن قطرات پاشش روی سطح برگ منجر به افزایش نفوذ علف‌کش به بافت برگ

در حالی که، افزودن پریک-ترو اس ۲۴۰ در غلظت ۰/۰۲۵ درصد حجمی به حجم‌های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار موجب کاهش ۱/۳۹، ۱/۳۲، ۱/۳۴ و ۱/۱۹ برابری در مقادیر ED₅₀ به ترتیب در حجم پاشش مربوطه خود در مقایسه با بدون مویان شد. افزودن پریک-ترو اس ۲۳۳ در غلظت ۰/۰۵ درصد حجمی (یک دوم غلظت میسل بحرانی) به حجم‌های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار موجب کاهش ۱/۴۱، ۳/۹۳، ۲/۵۹ و ۲/۱۲ برابری در مقادیر ED₅₀ به ترتیب در حجم پاشش مربوطه خود در مقایسه با بدون مویان شد. در حالی که، افزودن پریک-ترو اس ۲۴۰ در غلظت ۰/۰۵ درصد حجمی به حجم‌های پاشش ۶۰، ۱۲۰، ۲۴۰ و ۴۸۰ لیتر در هکتار باعث کاهش ۲/۹۰، ۱/۵۰، ۱/۵۹ و ۱/۲۳ برابری در مقدار ED₅₀ به ترتیب در حجم پاشش مربوطه خود در مقایسه با بدون مویان شد. افزودن پریک-ترو اس ۲۳۳ در غلظت ۰/۱ درصد حجمی

خوبی ثابت کرده‌اند که در هر غلظت از مویان تری سیلوکسان^۱ با خاصیت خیس کنندگی عالی، با افزایش حجم پاشش، نشست قطرات روی سطح برگ گندم افزایش می‌یابد. اما راندمان جذب قطرات به دلیل پرش قطرات کاهش می‌یابد. علاوه بر این، آن‌ها گزارش کردند که در حجم پاشش کمتر از ۲۸۰ لیتر در هکتار، پرش قطرات رخ نمی‌دهد. در نتیجه، راندمان جذب قطرات در حجم پاشش کمتر و غلظت بالاتر مویان تری سیلوکسان با خاصیت خیس کنندگی عالی بیشتر است (Gaskin et al., 2000). در حالی که با یک مویان تری سیلوکسان با خاصیت خیس کنندگی غیر عالی، هنوز ظرفیت افزایش جذب روزه‌های با افزایش حجم پاشش بدون خطر پرش قطرات وجود دارد. با این حال، به نظر می‌رسد که این ظرفیت تا حدی به دلیل اثر نامطلوب حجم پاشش بر کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل محدود شده است. در غلظت‌های یک هشتم تا غلظت میسل بحرانی هر دو مویان، رابطه‌ای منفی بین کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش مشاهده شد. البته، اگر حجم پاشش ۶۰ لیتر در هکتار برای پریک-ترو اس ۲۳۳ در غلظت ۰/۱ درصد حجمی در نظر گرفته نشود. اما، در غلظت‌های ۲ تا ۸ برابر غلظت میسل بحرانی، حالت رابطه از حالت منفی به حالت خنثی برای پریک-ترو اس ۲۳۳ تغییر کرده است. در حالی که هنوز برای پریک-ترو اس ۲۴۰ حالت رابطه به صورت منفی بود. رابطه خنثی بین کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش در غلظت‌های بالای پریک-ترو اس ۲۳۳ ممکن است با اثر سمی آن مرتبط باشد که منجر به یک اثر تضاد بر کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل در کنترل یولاف وحشی زمستانه شده است (جدول ۱). به طور مشابه، تضاد کارایی علف‌کش‌های ریم سولفورون بر روی دمروباهی سبز^۲ (Green, 1996) و گلایفوسیت بر روی گندم و باقلا^۳ (Liu, 2004) قبلاً با افزایش غلظت مویان‌های غیرسیلیکونی گزارش شده است. علاوه بر این، یک مویان تری-سیلوکسانی (Silwet® L-77) با خاصیت خیس کنندگی عالی در غلظت بالا دارای اثر تضاد بر کارایی علف‌کش گلایفوسیت در کنترل گندم است (Gaskin and Stevens, 1993). هنگامی که از مویان در غلظت‌های بالا استفاده می‌شود، سلول‌های قرار گرفته در زیر قطرات پاشش ممکن است آسیب ببینند و در نتیجه جذب، انتقال و کارایی علف‌کش‌ها کاهش یابد. با این حال، اعتقاد بر این است که مویان در غلظت‌های بالا می‌تواند یک محیط ژلاتینی برای قطرات پاشش ایجاد کند و جذب، انتقال و کارایی علف‌کش‌ها را کاهش دهد (Green, 1996). در مورد پریک-ترو اس ۲۴۰، ارتباط بین کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش تحت تأثیر غلظت مویان

می‌شود. با اندازه‌گیری نفوذ کوتیکولی و روزه‌های حشره‌کش کلرانتراپیل‌پروپیل به برگ سیب ثابت شده است که نسبت نفوذ کوتیکولی به نفوذ روزه‌های با افزودن پریک-ترو اس ۲۳۳ بیشتر از پریک-ترو اس ۲۴۰ است (Melo et al., 2019).

نتایج در محدوده غلظت‌های یک چهارم تا یک غلظت میسل بحرانی نشان داد که افزودن پریک-ترو اس ۲۴۰ به حجم پاشش ۶۰ لیتر در هکتار باعث پتانسیل نسبی بیشتر (که از نسبت ED₅₀ بدون مویان به ED₅₀ با مویان بدست می‌آید) نسبت به افزودن پریک-ترو اس ۲۳۳ شد (به ترتیب ۱/۳۹ در مقابل ۱/۱۶ در غلظت یک چهارم غلظت میسل بحرانی، ۲/۹ در مقابل ۱/۴۱ در یک غلظت دوم غلظت میسل بحرانی و ۳/۵۷ در مقابل ۲/۰۳ در غلظت میسل بحرانی). در حالی که در حجم‌های پاشش ۱۲۰ تا ۴۸۰ لیتر در هکتار، مقدار پتانسیل نسبی به نفع پریک-ترو اس ۲۳۳ تغییر کرد. از سوی دیگر، کمترین مقدار ED₅₀ با افزودن پریک-ترو اس ۲۳۳ در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، و ۰/۲ درصد حجمی به حجم پاشش ۱۲۰ لیتر در هکتار (به ترتیب ۱۵۷/۲، ۱۴۵/۱، و ۱۵۰/۰ گرم در هکتار) یا با افزودن پریک-ترو اس ۲۴۰ در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، و ۰/۸ درصد حجمی به حجم پاشش ۶۰ لیتر در هکتار (به ترتیب ۱۴۹/۹، ۱۴۸/۸، ۱۵۷/۲ و ۱۴۲/۸ گرم در هکتار) بدست آمد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که پریک-ترو اس ۲۳۳ زمانی که در غلظت کم به محلول پاشش کم حجم اضافه شود، بهتر عمل می‌کند؛ در حالی که پریک-ترو اس ۲۴۰ زمانی که در غلظت بالا به محلول پاشش کم اضافه شود، بهتر عمل می‌کند. دلیل این مشاهده را می‌توان به تفاوت در خاصیت مرطوب کنندگی مویان‌ها نسبت داد. اگرچه تفاوت قابل توجهی بین کشش سطحی آب مقطر حاوی هر یک از مویان‌ها در غلظت میسل بحرانی (۲۴/۱ در مقابل ۲۲/۶ میلی‌نیوتون بر متر) مشاهده نشد که این نتیجه نیز مشابه مطالعات قبلی بود (Sieverding et al., 2006; Melo et al., 2019)، با این حال گزارش شده است که زاویه خیس شدن و سطح پخش است که قطرات حاوی آن‌ها در غلظت میسل بحرانی روی سطوح مختلف با جنس‌های کاملاً متفاوت از یکدیگر هستند. ملو و همکاران (Melo et al., 2019) یک زاویه خیس شدن ۶۸/۶ در مقابل ۳۹/۳ درجه را برای قطرات ۵ میکرولیتری حاوی به ترتیب پریک-ترو اس ۲۳۳ و پریک-ترو اس ۲۴۰ با سطح برگ گندم گزارش کردند. کوالچاک و همکاران (Kovalchuk et al., 2019) نیز یک سطح پخش ۹۰ در مقابل ۴۰۰ میلی متر مربعی برای قطرات ۵ میکرولیتری حاوی به ترتیب پریک-ترو اس ۲۳۳ و پریک-ترو اس ۲۴۰ را بر روی سطح پلی اتیلن گزارش کردند. سیوردینگ و همکاران (Sieverding et al., 2006) سطح پخش ۱/۶ در مقابل ۵۳/۳ سانتی‌متر مربعی را برای قطرات ۵۰ میکرولیتری حاوی به ترتیب پریک-ترو اس ۲۳۳ و پریک-ترو اس ۲۴۰ روی سطح پلی پروپیلن گزارش کردند. گسکین و موری (Gaskin and Murray, 1997) به

1- Silwet® 408

2- *Setaria faberi*3- *Vicia faba*

قرار نگرفت که نشان دهنده غیر سمی بودن این مویان است. بنابراین، افزایش ED₅₀ به سبب افزودن بَریک-ترو اس ۲۴۰ در غلظت‌های بالا به محلول پاشش با حجم بالا، می‌تواند به ترکیبی از اثر نامطلوب حجم پاشش بر کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل و شستشوی قطرات پاشش مربوط باشد.

جدول ۱- مقادیر علف‌کش موثر (ED₅₀ و ED₉₀ برحسب گرم در هکتار ± خطای استاندارد) دیکلوفوپ-متیل برای کنترل یولاف وحشی زمستانه هنگامی که در حجم‌های پاشش و با انواع مویان‌ها در غلظت‌های مختلف استفاده شد.

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

Surfactant مویان	Concentration (% v v ⁻¹) غلظت مویان	Spray volume (L ha ⁻¹) حجم پاشش			
		60	120	240	480
(ED ₅₀ برحسب گرم در هکتار ± خطای استاندارد)					
No surfactant بدون مویان	0	536.4 ± 52.8	619.2 ± 31.2	801.6 ± 49.2	865.1 ± 44.4
Break-Thru [®] S 233	0.0125	546.6 ± 19.2	624.0 ± 38.4	734.4 ± 46.8	828.0 ± 49.2
	0.025	459.6 ± 27.6	187.2 ± 9.6	392.5 ± 22.9	405.6 ± 15.6
	0.05	378.0 ± 25.2	157.2 ± 10.8	308.3 ± 44.5	408.0 ± 34.9
	0.1 (CMC)	264.1 ± 9.6	145.1 ± 4.8	169.2 ± 14.4	208.7 ± 12.0
	0.2	280.8 ± 45.6	150.0 ± 19.2	180.0 ± 18.1	225.5 ± 26.4
	0.4	466.8 ± 44.4	448.8 ± 33.6	456.1 ± 50.4	387.6 ± 28.4
Break-Thru [®] S 240	0.8	565.2 ± 30.1	586.9 ± 46.7	591.3 ± 61.2	662.4 ± 46.9
	0.0125	567.6 ± 32.4	580.8 ± 26.4	670.9 ± 40.7	885.6 ± 22.8
	0.025	383.9 ± 43.2	466.9 ± 58.7	597.6 ± 30.0	722.4 ± 69.5
	0.05	184.8 ± 10.8	412.7 ± 36.0	495.3 ± 45.6	703.2 ± 74.4
	0.1 (CMC)	149.9 ± 6.0	278.4 ± 25.2	464.4 ± 16.8	711.5 ± 44.0
	0.2	148.8 ± 7.1	236.4 ± 16.8	457.2 ± 39.5	968.7 ± 60.1
	0.4	157.2 ± 8.4	292.6 ± 18.1	660.0 ± 57.6	976.8 ± 85.2
	0.8	142.8 ± 8.8	307.2 ± 27.6	706.8 ± 82.7	1120.4 ± 71.3
(ED ₉₀ برحسب گرم در هکتار ± خطای استاندارد)					
No surfactant بدون مویان	0	815.3 ± 69.2	873.7 ± 49.9	1378.7 ± 68.8	1366.8 ± 59.4
Break-Thru [®] S 233	0.0125	792.5 ± 23.6	829.2 ± 21.0	1211.7 ± 55.3	1217.1 ± 36.9
	0.025	611.2 ± 35.1	303.4 ± 25.8	608.3 ± 24.7	697.6 ± 26.0
	0.05	642.6 ± 43.5	264.1 ± 23.3	566.7 ± 61.0	738.4 ± 49.1
	0.1 (CMC)	390.8 ± 12.5	195.6 ± 15.1	321.4 ± 32.9	378.5 ± 34.1
	0.2	476.0 ± 35.5	207.0 ± 23.7	349.2 ± 45.0	416.2 ± 34.3
	0.4	605.0 ± 52.1	631.6 ± 25.3	570.0 ± 43.9	526.3 ± 43.1
Break-Thru [®] S 240	0.8	910.1 ± 50.2	843.5 ± 65.0	868.7 ± 43.1	840.7 ± 60.3
	0.0125	839.1 ± 39.7	788.8 ± 41.2	1078.7 ± 60.1	1327.5 ± 31.5
	0.025	486.4 ± 50.4	731.6 ± 51.9	865.5 ± 43.7	1162.4 ± 83.1
	0.05	303.6 ± 12.3	663.3 ± 38.5	866.5 ± 37.2	1230.3 ± 83.1
	0.1 (CMC)	216.0 ± 14.6	397.5 ± 31.9	812.1 ± 41.0	1237.4 ± 71.2
	0.2	259.0 ± 18.3	306.5 ± 21.0	827.1 ± 62.6	1655.2 ± 81.5
	0.4	204.1 ± 12.5	411.7 ± 34.5	818.4 ± 49.0	1278.6 ± 76.4
	0.8	218.6 ± 15.0	426.7 ± 30.1	995.0 ± 70.5	1332.2 ± 78.0

ED₅₀ و ED₉₀ به ترتیب نشان دهنده مقدار دیکلوفوپ-متیل (گرم در هکتار) است که باعث کنترل ۵۰ و ۹۰ درصد یولاف وحشی زمستانه می‌شود. غلظت بحرانی میسل به CMC مخفف شده است. حجم پاشش به ترتیب با استفاده از نازل‌های بادبزی مسطح ۱۱۰۰۷۵، ۱۱۰۰۱۵، ۱۱۰۰۰۳ و ۱۱۰۰۰۶ تنظیم شده است.

The ED₅₀ and ED₉₀ is a dose of diclofop-methyl (g h⁻¹) causing 50 and 90% sterile oat control, respectively. The critical micelle concentration is abbreviated to CMC. The spray volumes were adjusted using 1100075, 110015, 11003, and 11006 flat-fan nozzles, respectively.

پاشش را نشان داد که با شماره نازل تنظیم شده بود. اگرچه این یافته با مطالعه قبلی که در آن حجم پاشش با سرعت کاربرد تنظیم شده

نتیجه گیری

مطالعه حاضر رابطه منفی بین کارایی دیکلوفوپ-متیل و حجم

در هکتار)، پریک-ترو-اس ۲۳۳ در غلظت کم (بین ۰/۱ تا ۰/۲ درصد حجمی) ولی پریک-ترو-اس ۲۴۰ در غلظت بالا (بین ۰/۲ تا ۰/۸ درصد حجمی) کارآمدتر بودند. در کشورمان، مقاومت یولاف وحشی زمستانه به علف‌کش دیکلوفوپ-متیل با مکانسیم مبتنی بر تغییر در محل هدف گزارش شده است که حاکی از کاربرد متوالی این علف‌کش در مقادیر مصرف بالاست. اگرچه با استفاده از مویان‌ها می‌توان مقادیر مصرف علف‌کش را کاهش داد، ولی اگر تناوب علف‌کشی صحیح اجرا نگردد، کاربرد مقادیر کاهش یافته دیکلوفوپ-متیل (یا حتی سایر علف‌کش‌ها) می‌تواند مقاومتی مبتنی بر متابولسیم علف-کش در علف‌های هرز را توسعه دهد.

است متفاوت است، اما نشان می‌دهد که اثر حجم پاشش بر فعالیت علف‌کش نه تنها به علف‌کش، بلکه به نحوه تنظیم آن نیز بستگی دارد. بنابراین، به نظر می‌رسد که قطرات پاشش کوچکتر و غلیظ‌تر برای عملکرد بهتر علف‌کش دیکلوفوپ-متیل در کنترل یولاف وحشی زمستانه ضروری است. با این حال، رابطه منفی مشاهده شده بین کارایی علف‌کش دیکلوفوپ-متیل و حجم پاشش زمانی که از دو نوع مویان تری سیلوکسان که خاصیت خیس‌کنندگی متفاوتی داشتند در غلظت‌های ۰/۱ تا ۰/۱۲۵ درصد حجمی قابل مشاهده بود. در حالی که، کاربرد آن‌ها در غلظت‌های ۰/۲ تا ۰/۸ درصد حجمی، حالت رابطه را از منفی به خنثی برای پریک-ترو-اس ۲۳۳ تغییر داد، اما برای پریک-ترو-اس ۲۴۰ تغییری نکرد. در حجم پاشش کم (۶۰ لیتر

منابع

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

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



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

M.S. Mousavi¹, A. Taab ^{2*}, S. Hajinia³

Received: 10-04-2023

Revised: 26-06-2023

Accepted: 29-06-2023

Available Online: 01-07-2023

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

Introduction

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

Materials and Methods

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

Results and Discussion

The results showed that the dust causes symptoms of necrosis and leaf burn in mung bean and pigweed. The highest amount of carotenoids (3.59 mg g⁻¹ fresh weight of leaf) was observed in the planting pattern of 75% mung bean + 25% pigweed under no dust conditions. The monoculture of pigweed under dust conditions had the lowest amount of carotenoids. Dust reduced the amount of total chlorophyll, leaf relative water content, plant height and length of inflorescence in Pigweed plant by 23.4, 12, 14.7 and 12%, respectively. Dust caused a decrease in the leaf area in pigweed in different patterns of intercropping. Photosynthesis rate, transpiration rate, leaf area, plant height, number of pods per plant and number of seed per plant in mung bean were respectively decreased by 31.2, 24.9, 28.8, 17.7, 29.7 and 36.7% due to dust application. The highest photosynthesis rate in mungbean (5.28 μmol of CO₂ m⁻² s⁻¹), leaf area (129.1 cm²) and the number of seeds per plant (13 seed plant⁻¹) were obtained from monoculture of mungbean. However, they were decreased under competition with pigweed. The biological yield in mungbean and pigweed under dust condition were, respectively, 42.6 and 16.8 % lower than that of no dust condition. Under dust conditions, the grain yield of mung bean and pigweed were, respectively, 32.8% and 42.6% lower than that of no dust condition. The actual yield of mung bean under competition with pigweed was lower than the predicted yield indicating the higher competitive effects of pigweed. In all planting patterns with and without dust, the total actual yields were higher than the predicted

1, 2 and 3- Graduated M.Sc., Assistant Professor and Visiting Teacher at Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: a.taab@ilam.ac.ir)

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

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

Conclusion


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

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

مقاله پژوهشی

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

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

معصومه سادات موسوی^۱ - علیرضا تاب^{۲*}  - سمیه حاجی‌نیا^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۴/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۸

چکیده

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

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

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اکولوژی گیاهان زراعی، استادیار و مدرس مدعو گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

* - نویسنده مسئول: (Email: a.taab@ilam.ac.ir)

مقدمه

امروزه گرد و خاک به‌عنوان یکی از چالش‌های مهم زیست‌محیطی مطرح بوده و در غرب و جنوب‌غرب ایران به‌ویژه استان‌های خوزستان، کرمانشاه، کردستان و ایلام مشکلات بسیاری به بار آورده و منجر به کاهش عملکرد در گیاهان زراعی نیز شده است. ذرات گرد و غبار با قطر بین ۰/۰۲ تا ۰/۱ میلی‌متر در هوا پدیده گرد و غبار را تشکیل می‌دهند که می‌توانند بیشتر در اثر وزش بادها در فصول بهار و تابستان به مناطق مختلف منتقل شوند (Wang et al., 2006). انسان با استفاده ناصحیح از منابع آب سطحی و زیرزمینی، تخریب پوشش گیاهی، ضعف شدن خاک به‌علت فعالیت‌های کشاورزی و استفاده ناصحیح از زمین، شرایط را برای وقوع پدیده گرد و غبار را فراهم می‌کند (Soltani-Gerdefaramarzi et al., 2021). یانگ و همکاران (Yang et al., 2007) تغییر اقلیم و خشک‌سالی را عامل مؤثر در طوفان‌های گرد و خاک دانسته‌اند. از آثار مخرب ریزگردها می‌توان به کاهش نور رسیده به گیاه، کاهش عملکرد محصولات کشاورزی، کاهش حاصلخیزی خاک، اختلال در سامانه‌های مکانیکی و ارتباطات و بروز مشکلات تنفسی اشاره کرد (Akbari, 2011). ذرات ریزگرد با قطر کمتر از پنج میکرومتر بیشترین اثر را در مسدود کردن روزنه‌ها و کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه دارند (Takashi, 1995). این ذرات با نشست بر اندام‌های گیاهان باعث تغییرات فیزیکی و شیمیایی مختلفی همچون مسدود کردن روزنه‌ها، کاهش فعالیت فتوسنتزی، ریزش برگ‌ها و مرگ بافت‌های گیاهی، افزایش دما و تغییر رنگدانه‌های برگ، تغییر در مقدار رطوبت نسبی برگ و مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ و همچنین کاهش دریافت تابش فعال فتوسنتزی و در نهایت کاهش عملکرد محصولات زراعی می‌شوند (Chaturvedi et al., 2013). در بعضی منابع به‌طور متوسط درصد کاهش محصول در اثر ریزگردها در محیط تا ۵ درصد برآورد شده است (Chauhan and Joshi, 2010). مطالعه آدو و همکاران (Addo et al., 2013) نشان داد که ریزگردها با نشست بر سطح برگ‌ها، از طریق کاهش محتوای کلروفیل، کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی و کاهش رشد گیاه منجر به کاهش عملکرد لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) شده‌اند. رنجبر و همکاران (Ranjbar et al., 2021) در بررسی اثرات ریزگردها بر نخود (*Cicer arietinum* L.) رقم بیونییچ گزارش دادند رسوب ریزگردها در مرحله شروع گلدهی عملکرد زیستی، عملکرد دانه، تعداد دانه در بوته، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئیدها و کارایی مصرف آب را نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ۲۴/۵، ۱۶/۸، ۱۵/۴، ۱۳/۵، ۲۱/۷ و ۱۰/۷ درصد کاهش می‌دهند.

ماش (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) یکی از مهمترین منابع

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

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

الگوهای مختلف کاشت بر اساس سری‌های جایگزینی طراحی گردید. در الگوی کاشت (۷۵ درصد ماش + ۲۵ درصد تاج‌خروس) سه بوته ماش و یک بوته تاج‌خروس، در الگوی کاشت (۵۰ درصد ماش + ۵۰ درصد تاج‌خروس) دو بوته ماش و دو بوته تاج‌خروس و در الگوی کاشت (۲۵ درصد ماش + ۷۵ درصد تاج‌خروس) یک بوته ماش و سه بوته تاج‌خروس در گلدان بود. در کشت خالص ماش و تاج‌خروس نیز چهار بوته به کشت خالص هر کدام از آن‌ها اختصاص یافت. آبیاری بر اساس نیاز گیاه به صورت منظم انجام شد.

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

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

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

مواد و روش‌ها

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

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



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

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

به توزین آن‌ها گردید. بعد از توزین وزن خشک بوته برای ماش اقدام به جدا کردن دانه‌ها و برای تاج‌خروس گل‌آذین‌ها جدا و توزین گردیدند. شاخص برداشت ماش با استفاده از تقسیم عملکرد دانه به عملکرد بیولوژیکی ضربدر ۱۰۰ محاسبه گردید. به‌منظور سنجش میزان رقابت ماش و تاج‌خروس در الگوهای کاشت، از معیارهای مختلف سنجش رقابت به شرح زیر استفاده گردید (Dhima et al., 2007; Willey, 1979).

قطر ساقه در هر گیاه توسط کولیس دیجیتالی، ارتفاع بوته در هر گیاه و طول گل‌آذین تاج‌خروس با استفاده از خط‌کش، تعداد ساقه فرعی، تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در غلاف ماش، وزن خشک اندام‌های هوایی برای هر دو گیاه به‌عنوان عملکرد بیولوژیکی و عملکرد دانه ماش و عملکرد گل‌آذین تاج‌خروس اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام‌های هوایی پس از خشک کردن بوته‌ها در آن در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت اقدام

$$\begin{aligned}
 & \text{معادله (۱) عملکرد نسبی} \\
 & RY_{\text{(Pigweed)}} = \frac{Y_{PM}}{Y_{PP}} \quad RY_{\text{(Mungbean)}} = \frac{Y_{MP}}{Y_{MM}} \\
 & RY_{\text{total}} = RY_{\text{Pigweed}} + RY_{\text{Mungbean}} \\
 & \text{معادله (۲) ضرایب ازدحام نسبی} \\
 & RCC_{\text{(Pigweed)}} = \frac{Y_{PM} \times Z_{MP}}{(Y_{PP} - Y_{PM}) \times Z_{PM}} \quad RCC_{\text{(Mungbean)}} = \frac{Y_{MP} \times Z_{PM}}{(Y_{MM} - Y_{MP}) \times Z_{MP}} \\
 & \text{معادله (۳) شاخص غالبیت} \\
 & A_{\text{Pigweed}} = \frac{Y_{PM}}{Y_{PP} \times Z_{PM}} - \frac{Y_{MP}}{Y_{MM} \times Z_{MP}} \quad A_{\text{Mungbean}} = \frac{Y_{MP}}{Y_{MM} \times Z_{MP}} - \frac{Y_{PM}}{Y_{PP} \times Z_{PM}} \\
 & \text{معادله (۴) شاخص رقابت} \\
 & CI = \frac{(Y_{PP} - Y_{PM}) \times (Y_{MM} - Y_{MP})}{Y_{PM} \times Y_{MP}} \\
 & \text{معادله (۵) نسبت رقابت} \\
 & CR_{\text{(Pigweed)}} = \frac{RY_{\text{Pigweed}}}{RY_{\text{Mungbean}}} \times \frac{Z_{MP}}{Z_{PM}} \quad CR_{\text{(Mungbean)}} = \frac{RY_{\text{Mungbean}}}{RY_{\text{Pigweed}}} \times \frac{Z_{PM}}{Z_{MP}}
 \end{aligned}$$

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

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

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

^{ns}, ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.
^{ns}, ** and *: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively.

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

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

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

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

تجزیه آماری داده‌ها و بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS Var 9.4 با رویه proc univariate normal و آزمون‌های شاپیرو-والک^۱، کولموگروف-اسمیرنوف^۲، کرامر-ون-میزس^۳ و اندرسون دارلینگ^۴ مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها با در نظر گرفتن اثرات گرد و خاک و الگوی کاشت به‌عنوان متغیرهای مستقل بر روی صفات اندازه‌گیری شده به‌عنوان متغیرهای وابسته با رویه Proc glm و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد توسط نرم‌افزار SAS Var 9.4 صورت گرفت. نمودارها در نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیولوژیکی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد گرد و خاک در سطح احتمال پنج درصد تأثیر معنی‌داری بر مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ تاج‌خروس، سرعت فتوسنتز و سرعت تعرق ماش داشت. تأثیر الگوی کاشت در سطح یک درصد بر سرعت فتوسنتز ماش و در سطح احتمال پنج درصد بر مقدار کاروتنوئیدهای برگ تاج‌خروس معنی‌دار بود. همچنین اثرات متقابل تیمارها بر مقدار کاروتنوئیدهای برگ تاج‌خروس در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). گرد و خاک میزان کلروفیل برگ تاج‌خروس را به‌میزان ۲۳/۵ درصد در مقایسه با شرایط بدون گرد و خاک کاهش داد (جدول ۲). بیشترین مقدار کاروتنوئیدهای برگ تاج‌خروس (۳/۵۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در الگوی کاشت ۷۵ درصد ماش + ۲۵ درصد تاج‌خروس تحت شرایط بدون گرد و خاک مشاهده شد و کشت خالص تاج‌خروس تحت شرایط گرد و خاک کمترین میزان (۱/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) این صفت را به خود اختصاص داد (جدول ۴).

نتایج این پژوهش نشان داد گرد و خاک بر مقدار کلروفیل برگ ماش تأثیر معنی‌داری ندارد؛ که احتمالاً به‌عنوان پاسخ سازشی گیاه جهت افزایش سرعت فتوسنتز استفاده می‌شود که در نتیجه کاهش سطح برگ را جبران می‌کند. حفظ و افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی

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

جدول ۲- اثرات الگوهای مختلف کاشت و گرد و خاک بر خصوصیات فیزیولوژیک ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز
Table 2- Effect of different planting patterns and dust on physiological traits in mungbean and redroot pigweed

گرد و خاک Dust	ماش Mungbean			تاج‌خروس ریشه قرمز Redroot pigweed	
	سرعت فتوسنتز Photosynthetic rate ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	سرعت تعرق Transpiration rate ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای Intercellular CO_2 concentration ($\text{mmol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	کلروفیل Chlorophyll ($\text{mg g}^{-1} \text{fw}^{-1}$)	مقدار رطوبت نسبی برگ RWC* (\square)
بدون گرد و خاک Without dust	4.26 ^a	3.41 ^a	437.3 ^b	1.795 ^a	74.76 ^a
با گرد و خاک With dust	3.24 ^b	2.56 ^b	530.6 ^a	1.373 ^b	65.77 ^b
الگوی کاشت Planting pattern					
۱۰۰ درصد ماش + ۰ درصد تاج‌خروس 100 \square Mungbean+ 0 \square Pigweed	5.28 ^a	-	478.5 ^{ab}	-	-
۷۵ درصد ماش + ۲۵ درصد تاج‌خروس 75 \square Mungbean+ 25 \square Pigweed	3.44 ^b	-	453.3 ^b	-	-
۵۰ درصد ماش + ۵۰ درصد تاج‌خروس 50 \square Mungbean+ 50 \square Pigweed	3.54 ^b	-	482.9 ^{ab}	-	-
۲۵ درصد ماش + ۷۵ درصد تاج‌خروس 25 \square Mungbean+ 75 \square Pigweed	2.75 ^b	-	521.1 ^a	-	-

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

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

* Relative water content

فتوسنتزی در گیاه هستند (Zia-khan et al., 2015). اسدی‌سبزی و همکاران (Asadi-Sabzi et al., 2019) گزارش دادند که با افزایش میزان ریزگرد وزن تر و خشک روند کاهشی نشان دادند به طوری که تیمارهای ۷۵۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم ریزگرد بر مترمکعب در زمان شروع بذردهی، به ترتیب باعث کاهش وزن خشک علف‌های هرز به میزان ۱۷ و ۳۳ درصد شد. با افزایش میزان ریزگرد از صفر به ۱۵۰۰ میکروگرم بر مترمکعب، سرعت فتوسنتز و سرعت تعرق نیز به حدود نصف کاهش یافت. با توجه به روند متفاوت تغییر در سرعت فتوسنتزی دو گونه ماش و تاج‌خروس تحت شرایط گرد و خاک، می‌توان نتیجه گرفت که نوع محدودیت فتوسنتزی به وجود آمده در دو گونه متفاوت است. رقابت تاج‌خروس باعث کاهش سرعت فتوسنتز ماش گردید. علت این امر احتمالاً به دلیل افزایش رقابت بین گونه‌ای ماش و تاج‌خروس برای جذب مواد غذایی و نور، افزایش سایه‌اندازی تاج‌خروس روی ماش و در نهایت افزایش تنفس و کاهش سرعت فتوسنتز ماش است؛ بنابراین اثرات گرد و خاک توأم با رقابت

گرد و خاک تأثیری بر سرعت فتوسنتز تاج‌خروس نداشت؛ با توجه به اینکه تاج‌خروس ریشه قرمز جزء گیاهان C4 است احتمالاً بتواند از مقدار دی‌اکسید کربن کم به خوبی استفاده نماید و سرعت فتوسنتزی آن تحت تأثیر گرد و خاک قرار نگیرد. اما این احتمال می‌رود که در ماش گرد و خاک موجب بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تبادلات گازی گردیده است. ذرات گرد و خاک قادر به نفوذ بین کرک‌های برگ بوده و باعث مسدود شدن روزنه‌ها می‌شوند و می‌توانند از طریق کاهش روند تبادلات گازی، دریافت نور و آسیب به سیستم فتوسنتزی گیاه سبب کاهش سرعت فتوسنتز و در نتیجه تولید ماده خشک شوند. این نتایج با مطالعات علوی و کریمی (Alavi and Karimi, 2015) مبنی بر کاهش سرعت فتوسنتز در گیاه آویشن تحت شرایط گرد و خاک مطابقت دارد. رسوب گرد و خاک بر روی برگ‌ها سبب دریافت جذب نور کمتر برای فتوسنتز و در نتیجه کاهش هدایت روزنه‌ای و عملکرد گیاه می‌شوند. ذرات گرد و خاک باعث انسداد روزنه‌ها و نیز کاهش تبادل گازها شده که عامل دیگری برای کاهش سرعت

زیاخان و همکاران (Zia-Khan et al., 2015) گزارش کردند گرد و خاک در گیاه پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) در همه مراحل رشد سرعت تعرق را کاهش می‌دهد. گرد و خاک و الگوی کاشت تأثیر معنی‌داری بر غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای هر دو گیاه داشت. اثرات متقابل آنها بر غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای تاج‌خروس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. دمای برگ هر دو گیاه تحت تأثیر گرد و خاک و الگوی کاشت قرار نگرفتند. همچنین مقدار رطوبت نسبی برگ ماش تحت تأثیر تیمارهای گرد و خاک و الگوی کاشت قرار نگرفتند؛ اما مقدار رطوبت نسبی برگ تاج‌خروس در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر گرد و خاک قرار گرفت (جدول ۳).

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

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات الگوهای مختلف کاشت و گرد و خاک بر صفات فیزیولوژیک ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز
Table 3- Analysis of variance (mean squares) of the effect of different planting patterns and dust on physiological traits in mungbean and redroot pigweed

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	ماش Mungbean			تاج‌خروس ریشه قرمز Redroot pigweed		
		غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای Intercellular CO ₂ concentration	دمای برگ Leaf temperature	مقدار رطوبت نسبی برگ Relative water content	غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای Intercellular CO ₂ concentration	دمای برگ Leaf temperature	مقدار رطوبت نسبی برگ Relative water content
گرد و خاک Dust	1	69573.8**	0.00031 ^{ns}	63.901 ^{ns}	42884.9**	0.02311 ^{ns}	647.91*
الگوی کاشت Planting pattern	3	6270.3*	0.03081 ^{ns}	10.872 ^{ns}	10831.8**	0.03571 ^{ns}	5.85 ^{ns}
گرد و خاک × الگوی کاشت Dust × Planting pattern	3	2405.4 ^{ns}	0.02064 ^{ns}	20.677 ^{ns}	4304.3**	0.00954 ^{ns}	10.76 ^{ns}
خطای آزمایشی Error	24	1817.7	0.5202	137.122	323.1	1.1108	135.52
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)	-	8.81	2.15	15.71	3.52	3.14	16.57

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

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

در الگوی ۷۵ درصد ماش + ۲۵ درصد تاج‌خروس مشاهده گردید (جدول ۲). گرد و خاک باعث افزایش غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای تاج‌خروس گردید؛ به طوری که بیشترین غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای (۵۶۴/۹ میلی‌مول دی‌اکسید کربن بر مترمربع در ثانیه) در الگوی ۲۵ درصد ماش + ۷۵ درصد تاج‌خروس تحت شرایط گرد و خاک مشاهده شد که با کشت خالص تاج‌خروس تفاوت معنی‌داری نداشت و کمترین مقدار (۳۹۱/۵ میلی‌مول دی‌اکسید کربن بر متر مربع در ثانیه) در الگوی کاشت ۷۵ درصد ماش + ۲۵ درصد تاج‌خروس تحت شرایط بدون گرد و خاک به دست آمد (جدول ۴).

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

جدول ۴- تأثیر گرد و خاک بر مقدار کاروتنوئیدهای برگ، غلظت دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای و سطح برگ تاج‌خروس ریشه قرمز در الگوهای مختلف کشت

Table 4- The effect of dust on the amount of leaf carotenoids, the intercellular CO₂ concentration and the leaf area in redroot pigweed in different planting patterns

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

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

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

توانایی جذب آب در گیاه کاهش یافته و گیاه نتوانسته به مقدار کافی آب جذب نماید و از این طریق بر مقدار رطوبت نسبی برگ تأثیر منفی گذاشته است. کاهش رطوبت نسبی برگ در اثر گرد و غبار در *Anthocephalus* و *Syzygium cumini*, *Tectona grandis* *cadamba* توسط چاتوردی و همکاران (*Chaturvedi et al., 2013*) گزارش شده است.

خصوصیات مورفولوژیکی

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

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

تحت شرایط گرد و خاک مقدار رطوبت نسبی برگ تاج‌خروس ۱۲ درصد کاهش یافت (جدول ۲). این مسئله در بلندمدت سبب شده که

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

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

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	ماش				تاج خروس ریشه قرمز			
		Mungbean				Redroot pigweed			
		ارتفاع بوته	تعداد ساقه فرعی	سطح برگ	قطر ساقه	ارتفاع بوته	سطح برگ	قطر ساقه	طول گل‌آذین
	Plant height	Number of branches	Leaf area	Stem diameter	Plant height	Leaf area	Stem diameter	Inflorescence length	
گرد و خاک Dust	1	26.357*	0.0156 ^{ns}	3.0258*	0.01386 ^{ns}	0.22339*	0.67396*	0.03649 ^{ns}	1.7095*
الگوی کاشت Planting pattern	3	5.418 ^{ns}	0.5915**	2.4843*	0.10314 ^{ns}	0.104661*	0.35225*	0.00126 ^{ns}	0.3731 ^{ns}
گرد و خاک × الگوی کاشت Dust × Planting pattern	3	5.369 ^{ns}	0.0074 ^{ns}	0.1975 ^{ns}	0.06850 ^{ns}	0.04391 ^{ns}	0.35137*	0.03933 ^{ns}	0.5353 ^{ns}
خطای آزمایشی Error	24	5.654	0.0129	0.6443	0.19382	0.03303	0.09812	0.04036	0.3029
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)	-	25.50	13.18	20.08	24.63	6.56	6.29	16.40	33.43

^{ns}, ^{**} و ^{*} به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.
^{ns}, ^{**} and ^{*}: non-significant, significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively

جدول ۶- اثرات الگوهای مختلف کاشت و گرد و خاک بر صفات مورفولوژیک ماش و تاج خروس ریشه قرمز

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

بیشترین تعداد ساقه فرعی ماش در کشت خالص آن مشاهده شد و الگوهای مختلف کشت مخلوط کمترین تعداد ساقه فرعی را به خود

باشد. در واقع می‌توان نتیجه گرفت که رقابت شدید برای نور، سایه‌اندازی و احتمالاً رقابت از نظر جذب عناصر غذایی و آب بین دو جزء مخلوط باعث کاهش سطح برگ ماش شده است.

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

عملکرد ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز

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

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

در کشت مخلوط تاج‌خروس با ماش، به نظر می‌رسد به دلیل وجود رقابت بین گونه‌ای کمتر و دریافت بیشتر تشعشع فعال فتوسنتزی، تاج‌خروس توانسته از فضای موجود به نحو مناسب‌تری استفاده و در نتیجه، سطح برگ بالایی تولید کند؛ و از سطح سبز تولید شده در جهت تولید بیشتر ماده خشک استفاده گردد و در رقابت با ماش بهتر عمل نموده است. همچنین با توجه به ارتفاع کمتر ماش و تاج‌پوشش کوچک‌تر ماش در مقایسه با تاج‌خروس چنین به نظر می‌رسد که رشد بوته‌های تاج‌خروس عمدتاً تحت تأثیر رقابت درون گونه‌ای است، به طوری که کاهش رقابت درون گونه‌ای در الگوهای کشت مخلوط باعث بهبود شرایط برای رشد و در نتیجه افزایش سطح برگ تاج‌خروس شده است. در نتیجه رقابت درون گونه‌ای موجود در کشت خالص تاج‌خروس بر سر منابع موجود و سایه‌اندازی بوته‌ها روی همدیگر، سبب کاهش سطح برگ آن در تک‌کشتی شده است. افزایش سطح برگ ماش در کشت خالص می‌تواند به دلیل برخورداری ماش از فضای بیشتر رشد در مقایسه با کشت مخلوط با تاج‌خروس

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

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

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

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

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

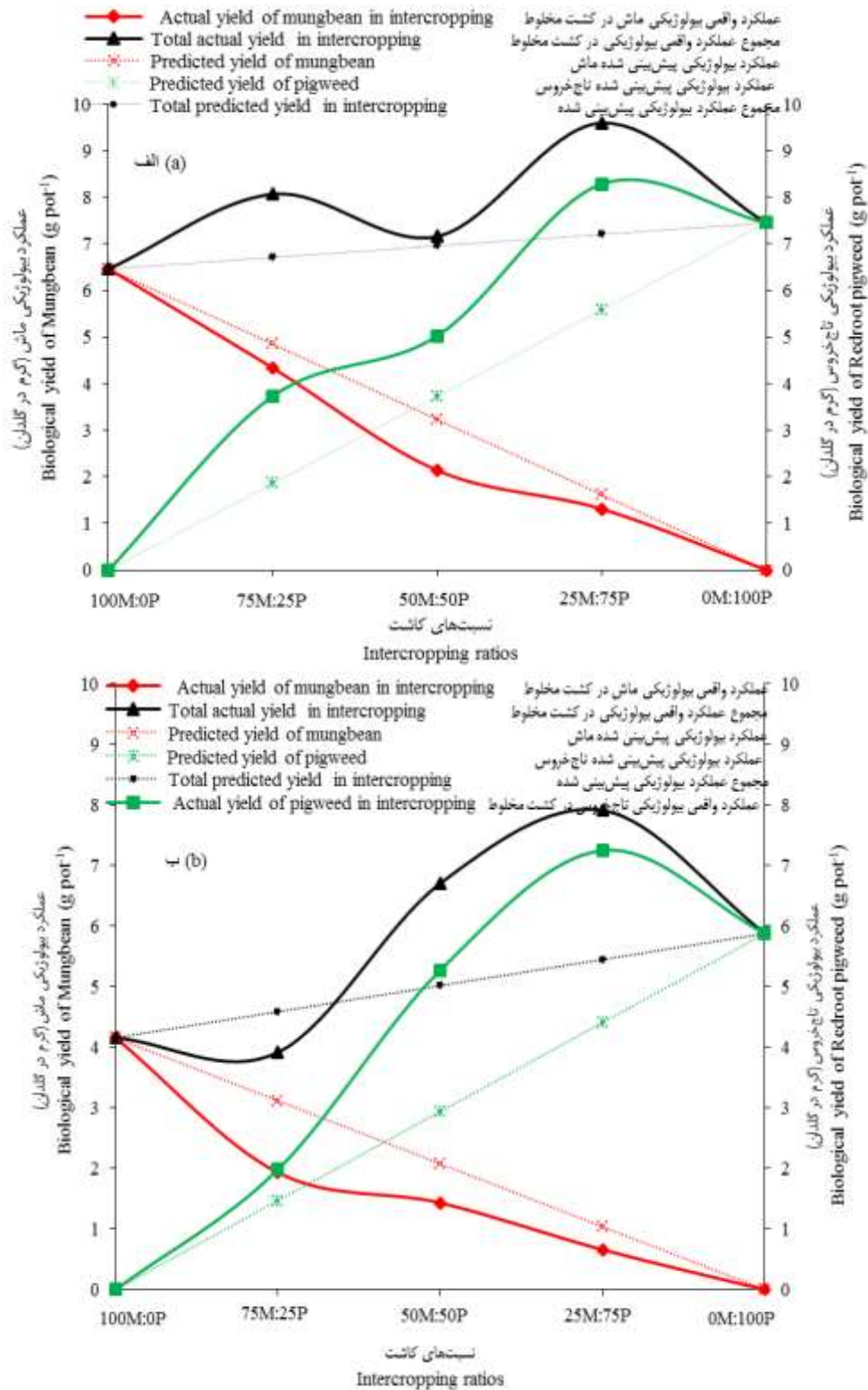
شد. گرد و خاک باعث کاهش عملکرد بیولوژیکی ماش و تاج‌خروس به‌ترتیب به‌میزان ۴۲/۶ و ۱۶/۸ درصد در مقایسه با عدم گرد و خاک شد (شکل ۲ الف و ب). بیشترین عملکرد بیولوژیکی ماش از کشت خالص ماش به‌دست آمد و در حضور تراکم‌های مختلف تاج‌خروس عملکرد بیولوژیکی ماش کاهش یافت و عملکرد بیولوژیکی واقعی ماش کمتر از عملکرد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

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

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

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

بیشترین عملکرد بیولوژیکی و دانه برای هر دو گونه ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز تحت شرایط عدم اعمال گرد و خاک مشاهده



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

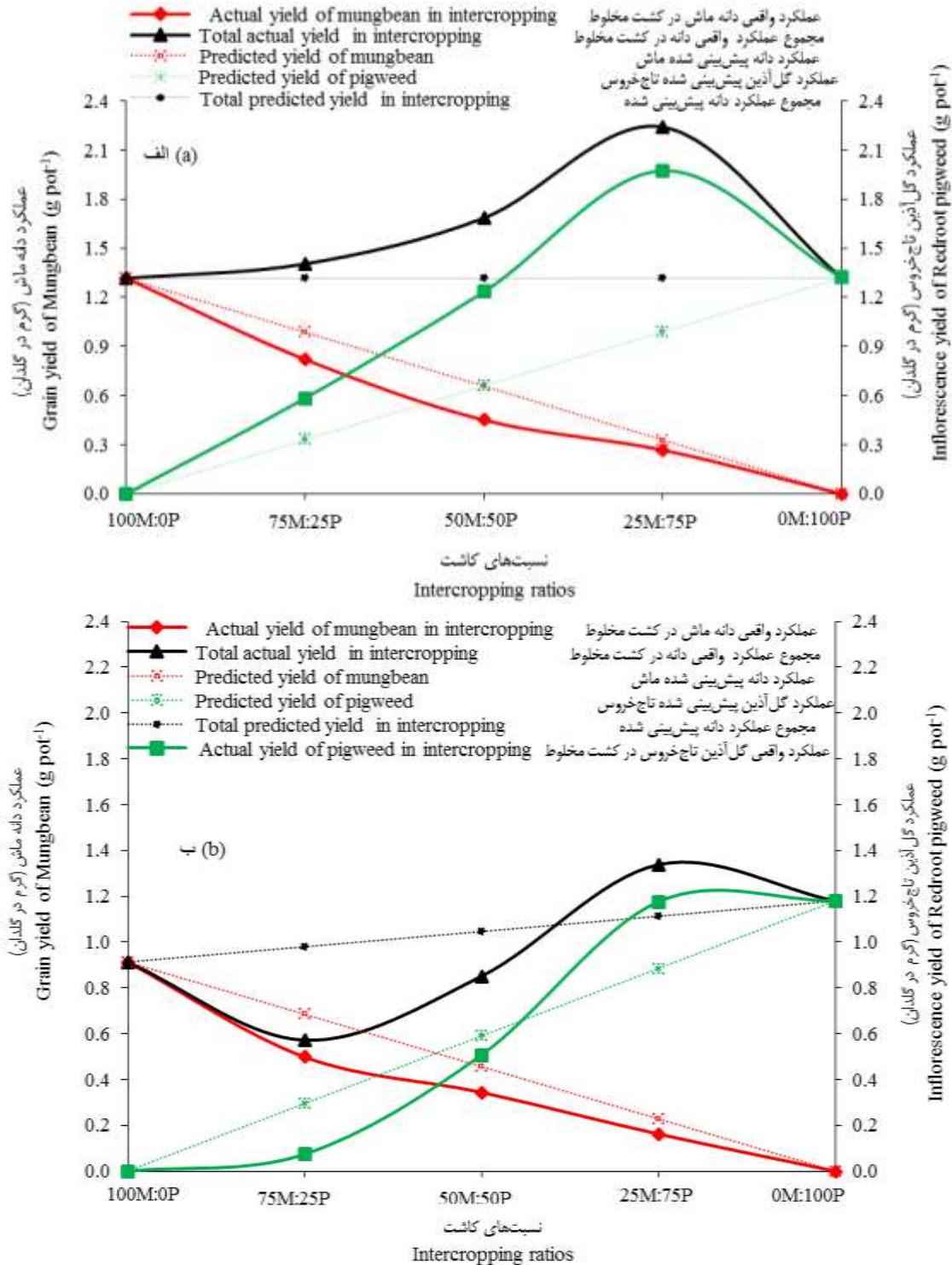
Figure 2- Actual and predicted biological yield of mung bean and redroot pigweed in different replacement planting patterns under conditions of without dust (a) and with dust (b)

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

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

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

عملکرد ماش و تاج خروس تحت شرایط گرد و خاک کاهش یافته است. گرد و خاک باعث کاهش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ تاج خروس شد. کاهش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی سبب ماده‌سازی کمتر در گیاه و در نتیجه کاهش عملکرد بیولوژیکی می‌شود. رسوب گرد و خاک همچنین از طریق کاهش ارتفاع بوته، سطح برگ، کاهش غلاف و تعداد غلاف در بوته ماش عملکرد بیولوژیکی ماش را تحت تأثیر قرار داد. بعضی از مطالعات به‌طور متوسط درصد کاهش عملکرد



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

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

کاهش عملکرد گیاهان در کشت مخلوط را به دلیل رقابت برای جذب منابع مانند مواد غذایی، آب و نور و فضا

سایه‌اندازی گسترده آن طی فصل رشد از عوامل کاهش فتوسنتز ماش و کاهش عملکرد بیولوژیکی آن است. زانگ و همکاران

برای هر دو گونه در کشت مخلوط می‌دانند.

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

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

عملکرد نسبی

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

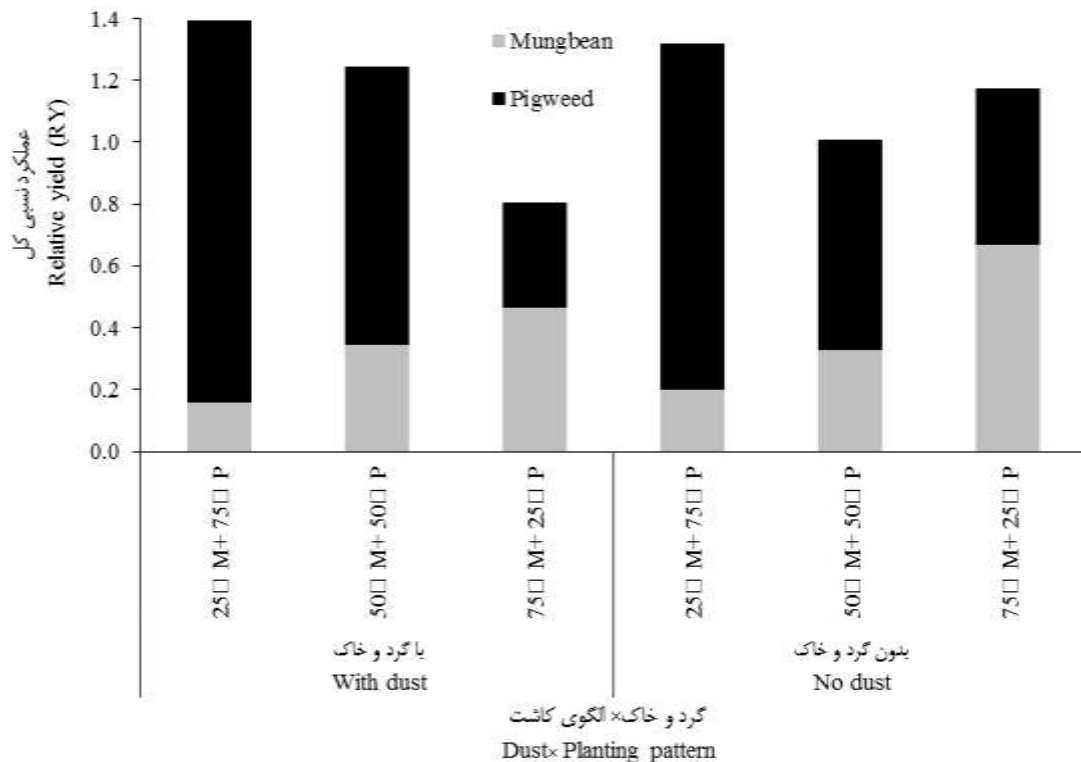
خاک کمترین عملکرد نسبی کل (۰/۸۰۲) را به خود اختصاص داد (شکل ۴).

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

شاخص‌های رقابتی

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

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



شکل ۴- عملکرد نسبی در الگوهای مختلف کاشت جایگزینی ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز تحت تأثیر گرد و خاک
Figure 4- The Relative yield of mungbean and redroot pigweed in different replacement planting patterns under dust conditions

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

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

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

یکی دیگر از مؤلفه‌هایی که در آزمایش‌های سری‌های جانمایی محاسبه می‌شود شاخص غالبیت است. اگر مقدار عددی این شاخص

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

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

محاسبه نسبت رقابت نشان داد در همه الگوهای کاشت تحت هر دو شرایط با و بدون گرد و خاک نسبت رقابت برای جزء علف‌هرز تاج خروس بیشتر از یک و برای ماش کمتر از یک که نشان‌دهنده قدرت رقابتی بیشتر آن در برابر ماش است (جدول ۸). زمانی که مقدار

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

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

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

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

نتیجه‌گیری

با افزایش گرمایش جهانی و خشکسالی‌های اخیر طوفان ریزگردها یکی از پدیده‌هایی است که با به‌طور فزاینده‌ای روی می‌دهد. جهت مدیریت خسارت‌های ناشی از این پدیده بر تولید گیاهان زراعی، با شناخت مکانیسم‌های فیزیولوژیک گیاهان در برابر این پدیده، می‌توان برای کاهش آسیب‌های آن راهکاری اندیشید. بر اساس نتایج این پژوهش، رسوب ۶۰ گرم گرد و خاک بر مترمکعب روی اندام‌های هوایی ماش و تاج‌خروس ریشه قرمز باعث کاهش در صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی هر دو گیاه شد. با ارزیابی روند تغییرات عملکرد بر اساس آزمایش سری‌های جایگزینی مشخص

منابع

گردید رقابت تاج‌خروس ریشه قرمز باعث کاهش عملکرد واقعی ماش به کمتر از حد مورد انتظار می‌شود که عملکرد تاج‌خروس بیشتر از عملکرد پیش‌بینی شده بود؛ که نشان‌دهنده رقابت برون گونه‌ای در ماش و رقابت درون گونه‌ای در تاج‌خروس بوده است و نوع زیان‌بری یک‌جانبه برای ماش می‌باشد. همچنین نتایج نشان می‌دهد که ماش به رقابت بین گونه‌ای حساس است و تاج‌خروس بیشتر به‌وسیله رقابت درون گونه‌ای رشد آن‌ها محدود می‌شود. ضریب نسبی تراکم کل در همه الگوهای کاشت برای تاج‌خروس بیش از یک بود که نشان‌دهنده غالب بودن تاج‌خروس است. همچنین شاخص غالبیت نشان از مغلوب بودن ماش در بیشتر نسبت‌های کاشت داشت و توانایی کمتر آن در رقابت را نشان می‌دهد و تاج‌خروس می‌تواند بر آن چیره شود؛ هر چند در نسبت ۷۵ درصد ماش + ۲۵ درصد تاج‌خروس هنگامی که تراکم تاج‌خروس کمتر شود این گیاه قدرت تهاجمی بالایی نخواهد داشت. کاهش عملکرد ماش در تراکم‌های مختلف تاج‌خروس و تحت شرایط گرد و خاک بیانگر ضرورت بالایی کنترل تاج‌خروس در ماش است. نتایج این پژوهش می‌تواند جهت پیش‌بینی اثرهای زیان‌بار پدیده گرد و خاک بر رشد و عملکرد گیاهان زراعی تحت شرایط رقابت با علف‌های هرز مؤثر باشد. اجرای این پژوهش در شرایط تداخل با سایر علف‌های هرز می‌تواند در افزایش درک هر چه بهتر تأثیرپذیری شاخص‌های رشد از رقابت و توجیه تغییرات عملکرد در شرایط رقابت بسیار مؤثر باشد.

سپاسگزاری

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

1. Abbasnasab, Z., Abedi, M., & Sadati, S.A. (2019). Effects of dust on some morphological and physiological parameters in *Bromus tomentellus* and *Medicago sativa*. *Iranian Journal of Range and Desert Research*, 26(1), 214-225. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22092/ijrdr.2019.119338>
2. Abu-Romman, S., & Alzubi, J. (2015). Effects of cement dust on the physiological activities of *Arabidopsis thaliana*. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 10(4), 157-164. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2015.157.164>
3. Addo, M.A., Darko, E.O., Gordon, C., & Nyarko, B.J.B. (2013). Contamination of soils and loss of productivity of Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) caused by cement dust pollution. *International Journal of Research in Chemistry and Environment (IJRCE)*, 3(1), 272-282. <https://doi.org/10.25568/203/handle/123456789/6265>
4. Agegnehu, G., Ghizaw, A., & Sinebo, W. (2006). Yield performance and land-use efficiency of barley and faba bean mixed cropping in Ethiopian highlands. *European Journal of Agronomy*, 25(3), 202-207. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2006.05.002>
5. Aguyoh, J.N., & Masiunas, J.B. (2003). Interference dust of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) with snap beans. *Weed Science*, 51(2), 202-207. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2003\)051\[0171:IOLCDS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2003)051[0171:IOLCDS]2.0.CO;2)
6. Akbari, S. (2011). Dust storms, sources in the Middle East and economic model for survey its impacts. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(12), 227-233.
7. Alavi, M., & Karimi, N. (2015). Effect of the simulated dust storm stress on the chlorophyll a fluorescence,

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

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

Contents

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

Iranian Plant Protection Research

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol . 37

No. 3

2023

Published by: College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
Editor in charge: Valizadeh, R. (Ruminant Nutrition) Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
General Chief Editor: Mahdikhani Moghadam, E (Plant Pathology) Prof. Ferdowsi University of Mashhad.

Editorial Board:

Izadi Darbandi, E.	Weed Science	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Baghaee Ravari ,S	Plant Pathology	Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Karim Mojeni ,H	Production and Plant Genetics	Asso. Prof. Isfahan University of Technology
Pourjam, E.	Plant Pathology	Prof. Tarbiat Modarres University.
Hosseini, M.	Agricultural Entomology	Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Rashed- Mohassel, M.H.	Weed Science	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Rashed- Mohassel, A.	Insect Ecology	Post-Doctoral Research Associate ,Texas A&M AgriLife Extension Service
Razi, H.	Crop Production & Plant Breeding	Asso. Prof. Shiraz University
Rajaei, H.	Entomologist	Researcher and Curator of Lepidoptera collection, Department Entomology State Museum of Natural History Stuttgart, Germany
Saboori, A.	Agricultural Entomology	Prof. Tehran University
Sadeghi Namaghi, H.	Agricultural Entomology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Sahragard, A.	Agricultural Entomology	Prof. Guilan University.
Mahdikhani Moghadam, E	Plant Pathology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Marashi, S.H.	Biotechnology & Plant Breeding	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.

Publisher: Ferdowsi University of Mashhad.
Address: College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
P.O.BOX: 91775- 1163
Fax: +98 -0511- 8787430
E-Mail: Jpp1@um.ac.ir
Web Site: <https://jpp.um.ac.ir/>



Ferdowsi University
of Mashhad

Vol.37 No.3

2023

Iranian Plant Protection Research

Contents

Investigation of Fungi Causing and Associated with Narcissus Leaf Spot Disease in Southern Khorasan Province.....	229
S. Motavalli Habibi, M. Jahani, H. Mahmoudi, M.R. Mirzaee	
Comparison of Symptoms, Whole Genome Sequencing, and Phylogenetic Analysis of Isolates of <i>Citrus tristeza virus</i> from Mazandaran and Fars Provinces in Iran.....	237
N. Roushani, M. Zakiaghi, M. Mehrvar	
Effect of Nutritional Supplements on Some Biological and Physiological Parameters of <i>Graphosoma lineatum</i> L.....	259
R. Farsihaei Pourabadi, H. Esparani Asadi, D. Mohammadi	
Spatial Distribution of Different Life Stages of <i>Monosteira allicarinata</i> (Hemiptera: Tingidae) in Birjand Region.....	275
S.A. Notghi Moghadam, H. Sadeghi-Namaghi, S. Moodi	
Evaluating Weed Control Efficacy of Microencapsulated EPTC and Trifluralin Herbicides under Greenhouse Condition.....	289
A. Rahbari, E. Izadi Darbandi ¹ , M.H. Rashed Mohassefi, G. Zohuri, E. Zand	
Influence of Duration of Inter-species Interference and Determination of the Critical Period for Weed Control in Peppermint (<i>Mentha piperita</i> L.).....	301
A.H. Ladmakhli-nezhad, E. Mohammadvand, J. Asghari	
The Interaction of Organosilicon Surfactant Type and Spray Volume on Diclofop-methyl Efficacy in Control of Winter Wild Oat.....	301
A. Aliverdi, S. Karami	
Competition between Mungbean (<i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek) and Redroot Pigweed (<i>Amaranthus retroflexus</i> L.) under Dust Conditions.....	301
M.S. Mousavi, A. Taab ¹ , S. Hajimia	