

مطالعه مولکولی و بررسی عکس‌العمل کلون‌های نی به علف‌کش گلیفوسیت در ایران

Molecular characterization and sensivity of common reed
(*Phragmites australis*) clones to Glyphosate in Iran

مرجان دیانت^{۱*}، علی‌اکبر شاه نجات بوشهری^۲، حسن محمد علیزاده^۲،
محمدرضا نقوی^۲ و حمید رحیمیان مشهدی^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده کشاورزی، تهران

۲- دانشکده علوم زراعی و دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

(تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۸۷، تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۸)

چکیده

تنوع ژنتیکی ۳۹ کلون نی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران با استفاده از نشانگرهای RAPD بررسی شد. ۱۶ پرایمر مورد استفاده ۱۴۹ باند تولید کردند که ۱۲۳ باند (۸۱ درصد)، چند شکلی نشان دادند. ضریب شباهت ژنتیکی بین کلون‌ها از ۰/۴۴ تا ۰/۸۵ متغیر و متوسط شباهت ژنتیکی ۰/۶۰ بود. دندروگرام حاصل از ماتریس شباهت بر اساس داده‌های RAPD، کلون‌ها را به ۴ گروه اصلی بر اساس محل جغرافیایی آن‌ها تقسیم کرد. برای بررسی واکنش کلون‌های مختلف نی به تیمار شیمیایی و تعیین بهترین زمان برای سم‌پاشی با گلیفوسیت، آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد و بهترین زمان برای سم‌پاشی تعیین گردید. فاکتورها شامل کلون نی، غلظت گلیفوزیت و زمان سم‌پاشی بودند. کلون‌های مختلف عکس‌العمل متفاوتی به غلظت‌های مختلف گلیفوسیت نشان دادند و سم‌پاشی در مرحله گل‌دهی بهترین کنترل را فراهم کرد.

* Corresponding author: mdianat@ut.ac.ir

دیانت و همکاران: مطالعه مولکولی و بررسی عکس‌العمل کلون‌های نی به علف‌کش گلیفوسیت در ایران

واژه‌های کلیدی: RAPD تنوع، تجزیه خوشه‌ای، گلیفوسیت.

Abstract

Genetic diversity of 39 clones of common reed (*Phragmites australis*) originating from different geographical areas of Iran was evaluated using RAPD markers. Sixteen primers were used and 149 scorable bands were obtained, among which 123 were polymorphic (81%). Genetic similarity coefficients ranged from 0.44 to 0.85, with an average of 0.60. A dendrogram was prepared on the basis of a similarity matrix of RAPD data using the UPGMA algorithm and separated the 39 clones into four groups which were mainly in accordance with geographical origins. To study the responses of different clones of common reed to glyphosate and to determine the best growth stage for chemical control, a completely randomized design with three replications was conducted. Three factors including clone of common reed, the glyphosate rate and treatment time were used. Clones responded differentially to glyphosate rates and treatment at flowering stage provided the best control.

Key words: RAPD, diversity, cluster analysis, glyphosate.

مقدمه

گونه‌هایی مانند پیچک صحرائی (*Convolvulus arvensis* L.)، مرغ کنگر وحشی (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.)، پیر گیاه (*Cirsium arvense* (L.) Scop.)، خرفه (*Senecio vulgaris* L.)، قیاق (*Sorghum halepense* (L.) Pers.)، تاج خروس (*Amaranthus palmeri* (S.) Wats.)، دم روباهی (*Setaria glauca* (L.) Beauv.) و گز (*Tamarix pentandra* Pall.) که گسترش جغرافیایی وسیع دارند اغلب دارای اکوتیپ یا بیوتیپ هستند. اکوتیپ یعنی گیاهانی که به طور ژنتیکی به محیطی که در آن ساکن شده‌اند، عادت کرده‌اند و بیوتیپ، به معنای گیاهانی که تغییرات ژنتیکی تصادفی در داخل یک اکوتیپ نشان می‌دهند، می‌باشد (Ramakrishnan & Gupta, 1973; Schoner *et al.*, 1978; Hodgson, 1964; Holt & Radosevich, 1983; Gossett *et al.*, 1992; Singh, 1973; Mcwhorter, 1970; Wilkinson, 1980). نی یک گیاه چند ساله است و وسیع‌ترین پراکنش را در بین گیاهان گلدار در دنیا دارد (Clevering & Lissner, 1999). توسعه نی عمدتاً از طریق ریزوم‌های آن صورت می‌گیرد و می‌تواند کلون‌های زیادی ایجاد کند (Dong, 1996). تکنیک‌های مولکولی متفاوتی برای مطالعه

تنوع کلون‌ها در نی وجود دارد. این تکنیک‌ها شامل آللوپایم (Clevering & Lissner, 1999; Koppitz *et al.*, 1997; Saltonstall,) RFLPs، (Clevering *et al.*, 2001; Pellegrin & Hauber, 1999 Neuhaus *et al.*, 1993; Kuhl *et al.*, 1999; Keller, 2000; Koppitz & Kuhl,) RAPDs، (2003b) AFLPs، (2000; Curn *et al.* 2007) و تعیین توالی DNA کلروپلاست می‌باشد (Saltonstall, 2002, 2003a). RAPD یک روش نسبتاً ساده و کم هزینه بوده و به DNA کمی نیاز دارد (Russell *et al.*, 1997). تنوع ژنتیکی عامل مهمی در علف هرز بودن (Baker, 1965) و مهاجم بودن (Barrett, 1992) است. تحمل طیف وسیع شرایط محیطی و تفاوت در عکس‌العمل به روش‌های کنترل می‌تواند با تنوع ژنتیکی در علف‌های هرز مرتبط باشد (Burdon & Marshall, 1981). تنوع ژنتیکی همچنین عامل مهمی در ورود و تهاجم یک علف هرز به یک منطقه یا محیط جدید است (Barrett, 1992). برای مثال (Wilkinson 1980) اظهار کرد گزهای رشد کرده در نیو مکزیکو، اوکلاهما و تگزاس در میزان تحمل به کاربرد یک بار علف‌کش سیلوکس^۱ (۴/۴۸ کیلوگرم در هکتار) متفاوت هستند. ضخامت موم اپی کوتیکولی تنها دلیل عکس‌العمل متفاوت اکوتیپ‌های گز به کاربرد علف‌کش بود. بیوتیپ‌های مرغ عکس‌العمل متفاوتی به علف‌کش‌های گلیفوسیت^۲، فلوآزیفوپ بوتیل^۳ و دالاپون^۴ نشان دادند (Chandler, 1982). (Haddad & Sagar (1968) نیز پنج کلون بید گیاه که عکس‌العمل متفاوتی به دالاپون و آمیترول^۵ نشان دادند، یافتند. آن‌ها نشان دادند که این کلون‌ها در کرک‌های برگ، رنگ گیاه و ویژگی‌های رشدی نیز متفاوتند. گلیفوسیت علف‌کش مؤثری برای کنترل نی است (Monteiro *et al.*, 1999; Moreira *et al.*, 1999; Jones *et al.*, 1987; Evans, 1982; Riemer, 1976). Derr (2008a) اظهار کرد که علف‌کش گلیفوسیت به میزان ۲/۲۴ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار بهتر از علف‌کش گلیفوزینیت^۶ به میزان ۱/۱۲ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار توانست از رشد نی جلوگیری کند. در آزمایشات با گلیفوسیت غلظت‌ها، مراحل رشدی و مدت

۱- silvex, 2-(2,4,5-trichlorophenoxy)propanoic acid

۲- glyphosate, N-(phosphonomethyl)glycine

۳- fluazifop

۴- dalapon, 2-2-dichloropropanoic acid

۵- amitrole, 1H-1,2,4-triazol-3-amine

۶- gluphosinate

دیانت و همکاران: مطالعه مولکولی و بررسی عکس‌العمل کلون‌های نی به علف‌کش گلیفوسیت در ایران

زمان‌های متفاوت کنترل توسط محققان گزارش شده است (Evans 1982; Jambrino & Fernandez-Anero, 1997; Arsenovic & Konstantinovic, 1990). بیشتر مطالعات منتشر شده روی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های نی در اروپا روی جمعیت‌های اروپایی (Kuhl & Neuhaus, 1993; Neuhaus *et al.*, 1993; Koppitz *et al.*, 1997; Zeidler *et al.*, 1994) و تعدادی نیز در آمریکا و شرق آسیا (Saltonstall, 2002, 2003a, 2003b; Guo *et al.*, 2003) انجام شده است و تا کنون تحقیقی در این زمینه در ایران انجام نشده است. اهداف این مطالعه ۱- بررسی مولکولی کلون‌های نی جمع‌آوری شده با استفاده از نشانگرهای RAPD، ۲- بررسی عکس‌العمل کلون‌ها به غلظت‌های مختلف گلیفوسیت و ۳- تعیین بهترین زمان برای سم‌پاشی با گلیفوسیت بود.

روش بررسی

ریزوم‌های ۳۹ کلون از ۸ استان کشور در آذر- دی سال ۱۳۸۶ جمع‌آوری شدند (شکل ۱). حداقل فاصله بین محل‌های جمع‌آوری نمونه‌ها ۱۰ کیلومتر بود. هر محل به عنوان یک کلون در نظر گرفته شد و در هر محل ۵۰ تکه ریزوم که دارای ۲-۳ جوانه زنده بودند جمع‌آوری شدند. در جدول ۱ این کلون و کد اختصاری آن‌ها آورده شده است.

آزمایش RAPD: ریزوم‌ها داخل گلدان‌های ۴ لیتری حاوی ترکیب ۲: ۱: ۱: ۰/۵ شن، ماسه، کود دامی و پیت کاشته شده و در گلخانه گرم (با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. عملیات آبیاری گلدان‌ها هر روز انجام شد. بعد از سبز شدن ساقه و برگ، ۲ سانتی‌متر مربع از برگ‌های جوان تولید شده توسط ریزوم‌های هر کلون برداشته شده در نیتروژن مایع سریعاً منجمد شدند و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA با روش CTAB (Rogers & Bendrich, 1985) انجام شد. واکنش PCR با استفاده از ۱۶ پرایمر (جدول ۲) انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در تیوب‌های ۲۵ میکرولیتری حاوی ۲ میکرولیتر پرایمر (۱۰ میکرومولار)، ۱/۱۴ میکرولیتر کلرید منیزیم (۵۰ میلی‌مولار)، ۱ میکرولیتر مخلوط نوکلئوتیدی (۱۰ میلی‌مولار)، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (۱۰ برابر)، ۰/۲ میکرولیتر *Taq* پلیمرز (۵۰ واحد در میکرولیتر)، ۵ میکرولیتر DNA (۵ نانوگرم در میکرولیتر)

و ۱۳/۱۶ میکرولیتر آب دوبار تقطیر انجام شد. تیوب‌های PCR داخل دستگاه ترموسایکلر طبق برنامه زیر قرار داده شدند: ۱ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ چرخه شامل ۱ دقیقه در ۹۲ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه در ۳۵ درجه سانتی‌گراد، ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد، ۴ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و سرد کردن در ۵ درجه سانتی‌گراد. سپس فرآورده‌های تکثیر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد برده شدند. آزمایش دو بار تکرار شد و الگوی باندهای واضح و مشخص نشان داد که این روش برای مطالعه نی، مناسب بوده است (شکل ۲).

الگوی باند دهی به دست آمده به صورت یک (وجود باند) و صفر (عدم وجود باند) برای هر فرد نمره دهی گردید. بعد از تشکیل رتبه‌های صفر و یک، ماتریس تشابه بر اساس روش نی و لی (۱۹۷۹) برای جفت کلون‌ها تشکیل و سپس تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA با استفاده از نرم افزار NTSYS انجام شد (Rohlf, 1993).

آزمایش حساسیت به علف‌کش: برای بررسی واکنش کلون‌های مختلف نی به تیمار شیمیایی (علف‌کش گلیفوزیت) و تعیین بهترین زمان برای سم پاشی، آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار در گلخانه‌ای با رطوبت نسبی ۶۵ درصد و دمای روز و شب به ترتیب ۳۰ و ۱۹ درجه سانتی‌گراد در سال ۱۳۸۷-۱۳۸۶ انجام شد.

فاکتور اول کلون نی در ۱۰ سطح (KE-S1.G-GR3, T-VGO, KZ-D1, KO-MA) و فاکتور دوم علف‌کش گلیفوسیت در سه غلظت (۱، ۱/۸، ۳ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار) و فاکتور سوم زمان سم پاشی در سه زمان (۲-۵ برگی، ۵-۷ برگی و ابتدای گل دهی) بود. قطعات ریزوم‌های کلون‌های مختلف نی با وزن و تعداد جوانه یکسان، در دی ماه ۱۳۸۶ در گلدان‌های ۷ لیتری حاوی ترکیب ۲: ۱: ۱: ۰/۵ شن، ماسه، کود دامی و پیت کاشته شدند. سم پاشی با سم پاش پستی ماتابی مدل الگانس ۱۸ در فشار ۳ بار و با نازل شره‌ای انجام شد. برای تأثیر بهتر گلیفوسیت از مویان سیتوگیت استفاده شد (Abbaspoor *et al.*, 2008) که به میزان ۲ درصد حجمی به محلول داخل سم پاش اضافه شد. برای تعیین میزان خسارت گلیفوزیت در ۴۰ روز بعد از سم پاشی از نمره دهی چشمی بر اساس مقیاس ۰ (عدم مشاهده علائم خسارت) تا ۱۰۰ (نکروز کامل شاخه و برگ) استفاده شد (Sullivan & Bouw, 1997) و رشد مجدد ساقه‌ها از ریزوم‌ها نیز در ۵۶ روز بعد

دیانت و همکاران: مطالعه مولکولی و بررسی عکس‌العمل کلون‌های نی به علف‌کش گلیفوسیت در ایران

از برداشت اندام‌های هوایی، مورد بررسی قرار گرفت (League *et al.*, 2007). برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار MSTAT استفاده و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD انجام شد. توزیع نرمال بودن داده‌ها نیز با استفاده از نرم افزار MINITAB بررسی شد.

جدول ۱- شناسایی و طول و عرض جغرافیایی کلون‌های نی نمونه برداری شده

Table 1- Collection codes and localities of sampled clones of common reed

| شماره | استان محل نمونه برداری | منطقه محل نمونه برداری | کد اختصاری | عرض جغرافیایی | طول جغرافیایی |
|-------|------------------------|------------------------|------------|---------------|---------------|
| No. | Province | Origin site | Codes | Latitude N° | Longitude E ° |
| 1 | Ardebil | Moghan | KO-ME | 39° 33' | 47° 46' |
| 2 | Ardebil | Moghan | KO-MA | 39° 30' | 47° 44' |
| 3 | Ardebil | Moghan | KO-NA | 39° 31' | 48° 01' |
| 4 | Ardebil | Moghan | KZ-D1 | 39° 33' | 48° 03' |
| 5 | Ardebil | Moghan | KZ-D2 | 38° 15' | 47° 54' |
| 6 | Ardebil | Moghan | KZ-OJ | 38° 50' | 47° 04' |
| 7 | Khorasan | Mesgaran | KZ-MO | 36° 47' | 55° 43' |
| 8 | Khorasan | Mashhad | KZ-S1 | 36° 20' | 55° 06' |
| 9 | Khorasan | Nazarie | KZ-S2 | 36° 08' | 55° 25' |
| 10 | Khuzestan | Dezful | KE-S1 | 32° 15' | 48° 26' |
| 11 | Khuzestan | Dezful | KE-S2 | 32° 14' | 48° 27' |
| 12 | Khuzestan | Ojiro | KE-BI | 32° 12' | 48° 29' |
| 13 | Khuzestan | Motahhari-shahrak | KE-MA | 32° 16' | 48° 22' |
| 14 | Khuzestan | Shoosh | Q-BE1 | 31° 54' | 47° 26' |
| 15 | Khuzestan | Shoosh | Q-BE2 | 31° 45' | 46° 35' |
| 16 | Kermanshah | Sarabeyavari | Q-BE3 | 34° 29' | 46° 56' |
| 17 | Kermanshah | Sarabeyavari | MA-S1 | 34° 39' | 46° 19' |
| 18 | Kermanshah | Bisotoon | MA-S2 | 34° 22' | 47° 26' |
| 19 | Kermanshah | Mahidasht | T-SHR | 34° 19' | 47° 52' |
| 20 | Tehran | Shahre-Ray | T-SHS | 35° 33' | 51° 22' |
| 21 | Tehran | Shahrake-Sinamayi | T-VGO | 35° 27' | 51° 13' |
| 22 | Tehran | Varamin-Goltape | T-VG1 | 35° 03' | 51° 30' |
| 23 | Tehran | Varamin-Gharchek | T-VG2 | 35° 09' | 51° 36' |
| 24 | Tehran | Varamin-Gharchek | T-VG3 | 35° 13' | 51° 40' |
| 25 | Tehran | Varamin-Gharchek | T-DO1 | 35° 20' | 51° 47' |
| 26 | Tehran | Dolat abad | T-DO2 | 35° 46' | 51° 10' |
| 27 | Tehran | Dolat abad | T-MO1 | 35° 40' | 51° 02' |
| 28 | Tehran | Mohammad Shahr | T-MO2 | 35° 50' | 51° 06' |
| 29 | Tehran | Mohammad Shahr | G-GR1 | 35° 57' | 51° 14' |
| 30 | Qom | Beheshtmasoome | G-GO1 | 34° 30' | 51° 16' |
| 31 | Qom | Beheshtmasoome | G-GO2 | 34° 39' | 51° 18' |
| 32 | Qom | Beheshtmasoome | G-GR2 | 34° 59' | 51° 30' |
| 33 | Mazandaran | Sari | G-GR3 | 36° 37' | 52° 56' |
| 34 | Mazandaran | Sari | A-MO1 | 36° 29' | 53° 04' |
| 35 | Golestan | Gorgan | A-MO2 | 36° 07' | 54° 16' |
| 36 | Golestan | Gonbad | A-MO3 | 37° 10' | 54° 43' |
| 37 | Golestan | Gonbad | A-MO4 | 37° 47' | 54° 51' |
| 38 | Golestan | Gorgan | A-MO5 | 36° 30' | 54° 05' |
| 39 | Golestan | Gorgan | A-MO6 | 36° 51' | 54° 28' |

جدول ۲- پرایمرهای مورد استفاده در آزمایش، توالی نوکلئوتیدها و درصد باندهای چند شکلی تولید شده توسط هر پرایمر

Table 2- RAPD primers used, their sequence of nucleotides and the percent of polymorphic bands produced by each primer

| درصد باندهای پلی مورفیک | تعداد باندهای پلی مورفیک | توالی نوکلئوتیدها 5' → 3' | پرایمر | شماره |
|------------------------------|--------------------------|------------------------------|-------------|----------------|
| Percent of polymorphic bands | Number of total bands | Nucleotide sequence | Primer name | Marker no. |
| 92 | 15 | CCT GGG CTT C | UBC 1 | 1 |
| 87.5 | 8 | CCT GGG CTT A | UBC 3 | 2 |
| 80 | 9 | CCT GGG TTC C | UBC5 | 3 |
| 80 | 9 | CCT GCG CTT A | UBC9 | 4 |
| 73.3 | 9 | CCT GGG TGG A | UBC 13 | 5 |
| 88 | 8 | GGT GGC GGG A | UBC16 | 6 |
| 85 | 9 | GAG GGC GGGA | UBC64 | 7 |
| 75.6 | 10 | GAG GGC GTG A | UBC 66 | 8 |
| 90 | 8 | GAG CAC CAG T | UBC76 | 9 |
| 80 | 9 | GAG CAC CAG G | UBC77 | 10 |
| 75 | 8 | GGG CCC GAG G | UBC82 | 11 |
| 90 | 10 | GGG CGC GAG T | UBC 84 | 12 |
| 83.3 | 8 | GGG GGC TTG G | UBC89 | 13 |
| 80.9 | 10 | GGG GGG TTG G | UBC95 | 14 |
| 86.9 | 10 | GGC GGC ATG G | UBC96 | 15 |
| 83.3 | 9 | ATC GGG TCC G | UBC100 | 16 |
| | 149 | | | Total |
| 80.98 | 9.31 | | | Average |

نتیجه و بحث

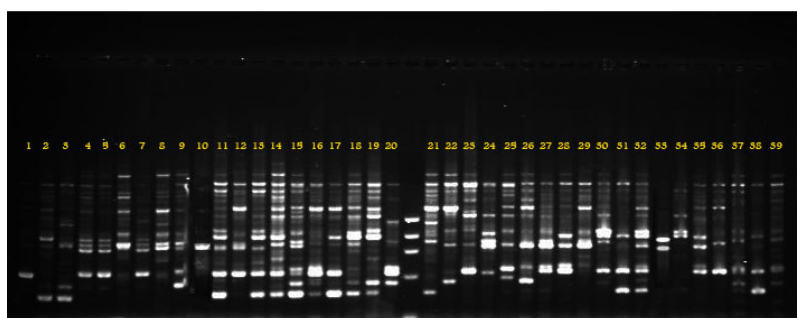
آزمایش RAPD: ۱۶ پرایمر مورد استفاده ۱۴۹ باند تولید کردند. به طور متوسط هر پرایمر ۹/۳۱ باند تولید کرد که در این بین ۱۲۳ باند چند شکلی نشان دادند. تعداد باندها از ۸ تا ۱۵ در هر پرایمر متغیر بود. متوسط نشانگرهای چند شکلی در پرایمرها ۸۳/۱ درصد بود که این میزان از ۷۳/۳ درصد در پرایمر UBC13 تا ۹۲ درصد در پرایمر UBC1 متغیر بود (جدول ۲). RAPD شباهت ژنتیکی را بر اساس ۱۲۳ نشانگر چند شکلی بین ۳۹ کلون‌نی، ۰/۴۴ تا ۰/۸۵ تخمین زد (جدول ۳).

دیانت و همکاران: مطالعه مولکولی و بررسی عکس‌العمل کلون‌های نی به علف‌کش گلیفوسیت در ایران



شکل ۱- پراکنش جغرافیایی محل‌های جمع‌آوری کلون‌های نی

Fig. 1- Geographic origin of the 39 clones of common reed used in this study



شکل ۲- الگوی باندهای کلون‌های نی در RAPD با استفاده از آغازگر UBC1

Fig. 2- RAPD gel of fragments amplified from clones used UBC1 primer

تجزیه خوشه‌ای ۳۹ کلون نی را به چهار خوشه (گروه) اصلی تقسیم بندی کرد که فاصله بین خوشه‌ها ۰/۶۰ بود (شکل ۳). اولین خوشه دارای دو زیرگروه بود. زیرگروه اول شامل شش کلون از استان اردبیل (A-MO1, A-MO2, A-MO3, A-MO4, A-MO5 و A-MO6)، سه کلون از استان خراسان رضوی (KO-MA, KO-NA و KO-ME) و چهار کلون از استان کرمانشاه (KE-S1, KE-S2, KE-BI و KE-MA) بود. زیرگروه دوم شامل شش کلون از خوزستان (KZ-SH, KZ-D1, KZ-D2, KZ-OJ, KZ-A1 و KZ-A2) و ده کلون از تهران (T-SHR, T-MO1, T-SHS, T-VGO, T-VG1, T-VG2, T-VG3, T-DO1, T-DO2 و T-MO2) و یک کلون از مازندران (MA-S2) بود. سه کلون از قم (Q-BE1, Q-BE2 و Q-BE3) دومین خوشه را تشکیل دادند. پنج کلون از گلستان (G-GO1, G-GO2, G-GR1 و G-GR2) در خوشه سوم قرار گرفتند. چهارمین خوشه فقط شامل یک کلون از مازندران (MA-S1) بود.

فاصله جغرافیایی دو کلون T-DO1 و T-DO2 که از دولت آباد کرج جمع‌آوری شده بودند کمتر از ۱۲ کیلومتر بود. شباهت ژنتیکی بین این دو کلون بالاترین میزان یعنی ۰/۸۵ بود. تمام کلون‌های جمع‌آوری شده از استان قم نیز در یک خوشه قرار گرفتند. فاصله ژنتیکی بین این کلون کم بود. استان قم، استانی کوچک بوده و تغییرپذیری بسیار کمی در شرایط آب و هوایی این استان وجود دارد. به عبارت دیگر مناطق نمونه برداری این کلون‌ها دارای حداقل تفاوت جغرافیایی بودند. همچنین فاصله ژنتیکی بین کلون‌های نمونه‌برداری شده از دشت مغان در استان اردبیل نیز کم بود. فاصله ژنتیکی بین کلون‌های استان تهران بیشتر بود، که این شاید به دلیل تفاوت زیاد در شرایط اقلیمی در این استان باشد. کلون‌های T-SHR و T-SHS از جنوب این استان (شهر ری) که دارای آب و هوای گرمتری بود اما کلون‌های T-MO1, T-MO2, T-DO1 و T-DO2 از غرب و شمال غرب برداشت شده بودند که دارای آب و هوای سردتری است. کلون‌های T-VG1, T-VG2, T-VG3 و T-VGO از جنوب شرقی این استان (ورامین) بودند. مطالعات اروپایی انجام شده روی تنوع ژنتیکی و ساختار ژنتیکی جمعیت در نی به نظر می‌رسد که نتایج تحقیق (Loveless & Hamrick, 1984) را تأیید می‌کند که تنوع ژنتیکی زیادی در بین جمعیت‌های نی (Kuhl & Neahaus, 1993; Zeidler *et al.*, 1994; Koppitz *et al.*, 1997) هم جمعیت‌های همگن (Koppitz *et al.*, 1997) و هم جمعیت‌های غیرهمگن

جدول ۳- ماتریس شباهت ژنتیکی بین کلون‌های نی بر اساس ضریب شباهت نی و لی

Table 3- Similarity matrix among common reed clones by Nei and Li's coefficient based on RAPD bands

| | A-MO1 | A-MO2 | A-MO3 | A-MO4 | A-MO5 | A-MO6 | KZ-D1 | KZ-D2 | KZ-OJ | KZ-MO | KZ-S1 | KZ-S2 | MA-S1 | MA-S2 | KE-S1 | KE-S2 | KE-BI | KE-MA | Q-BE1 | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| A-MO1 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A-MO2 | 0.78 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A-MO3 | 0.76 | 0.81 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A-MO4 | 0.72 | 0.69 | 0.67 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A-MO5 | 0.73 | 0.69 | 0.64 | 0.74 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | |
| A-MO6 | 0.73 | 0.74 | 0.67 | 0.76 | 0.75 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | |
| KZ-D1 | 0.61 | 0.56 | 0.61 | 0.68 | 0.60 | 0.56 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | |
| KZ-D2 | 0.62 | 0.55 | 0.61 | 0.68 | 0.61 | 0.60 | 0.84 | 1.00 | | | | | | | | | | | | |
| KZ-OJ | 0.62 | 0.61 | 0.55 | 0.67 | 0.65 | 0.62 | 0.70 | 0.72 | 1.00 | | | | | | | | | | | |
| KZ-MO | 0.70 | 0.65 | 0.58 | 0.74 | 0.71 | 0.68 | 0.72 | 0.71 | 0.83 | 1.00 | | | | | | | | | | |
| KZ-S1 | 0.62 | 0.61 | 0.61 | 0.56 | 0.55 | 0.55 | 0.72 | 0.71 | 0.69 | 0.66 | 1.00 | | | | | | | | | |
| KZ-S2 | 0.65 | 0.64 | 0.59 | 0.66 | 0.64 | 0.60 | 0.69 | 0.72 | 0.70 | 0.75 | 0.71 | 1.00 | | | | | | | | |
| MA-S1 | 0.49 | 0.48 | 0.52 | 0.58 | 0.50 | 0.47 | 0.66 | 0.57 | 0.59 | 0.55 | 0.59 | 0.62 | 1.00 | | | | | | | |
| MA-S2 | 0.57 | 0.55 | 0.51 | 0.63 | 0.52 | 0.61 | 0.59 | 0.62 | 0.60 | 0.64 | 0.58 | 0.63 | 0.45 | 1.00 | | | | | | |
| KE-S1 | 0.64 | 0.69 | 0.57 | 0.62 | 0.61 | 0.62 | 0.56 | 0.53 | 0.68 | 0.72 | 0.66 | 0.62 | 0.55 | 0.62 | 1.00 | | | | | |
| KE-S2 | 0.69 | 0.68 | 0.61 | 0.67 | 0.65 | 0.69 | 0.62 | 0.62 | 0.69 | 0.68 | 0.59 | 0.63 | 0.57 | 0.55 | 0.66 | 1.00 | | | | |
| KE-BI | 0.59 | 0.64 | 0.57 | 0.61 | 0.58 | 0.53 | 0.63 | 0.64 | 0.62 | 0.64 | 0.71 | 0.68 | 0.54 | 0.61 | 0.58 | 0.56 | 1.00 | | | |
| KE-MA | 0.66 | 0.70 | 0.58 | 0.69 | 0.63 | 0.62 | 0.62 | 0.57 | 0.63 | 0.67 | 0.66 | 0.67 | 0.53 | 0.60 | 0.65 | 0.68 | 0.83 | 1.00 | | |
| Q-BE1 | 0.64 | 0.60 | 0.56 | 0.53 | 0.63 | 0.59 | 0.55 | 0.58 | 0.60 | 0.63 | 0.58 | 0.58 | 0.49 | 0.48 | 0.65 | 0.66 | 0.53 | 0.51 | 1.00 | |
| Q-BE2 | 0.67 | 0.64 | 0.58 | 0.63 | 0.58 | 0.61 | 0.59 | 0.63 | 0.65 | 0.65 | 0.63 | 0.63 | 0.56 | 0.54 | 0.65 | 0.65 | 0.59 | 0.60 | 0.76 | 1.00 |
| Q-BE3 | 0.67 | 0.62 | 0.63 | 0.55 | 0.64 | 0.59 | 0.65 | 0.61 | 0.65 | 0.66 | 0.63 | 0.65 | 0.57 | 0.51 | 0.64 | 0.65 | 0.63 | 0.60 | 0.80 | 0.80 |
| T-SHR | 0.62 | 0.57 | 0.60 | 0.64 | 0.59 | 0.57 | 0.69 | 0.71 | 0.68 | 0.67 | 0.71 | 0.72 | 0.63 | 0.62 | 0.59 | 0.63 | 0.61 | 0.61 | 0.57 | 0.57 |
| T-SHS | 0.59 | 0.54 | 0.54 | 0.66 | 0.64 | 0.57 | 0.68 | 0.70 | 0.67 | 0.69 | 0.61 | 0.66 | 0.54 | 0.64 | 0.62 | 0.59 | 0.55 | 0.58 | 0.53 | 0.53 |
| T-VGO | 0.57 | 0.54 | 0.54 | 0.66 | 0.58 | 0.57 | 0.70 | 0.68 | 0.68 | 0.65 | 0.65 | 0.68 | 0.54 | 0.61 | 0.60 | 0.65 | 0.55 | 0.58 | 0.59 | 0.59 |
| T-VG1 | 0.61 | 0.62 | 0.56 | 0.59 | 0.56 | 0.59 | 0.59 | 0.59 | 0.61 | 0.64 | 0.70 | 0.71 | 0.58 | 0.61 | 0.56 | 0.61 | 0.67 | 0.65 | 0.55 | 0.55 |
| T-VG2 | 0.61 | 0.60 | 0.58 | 0.64 | 0.54 | 0.61 | 0.63 | 0.65 | 0.58 | 0.64 | 0.67 | 0.69 | 0.56 | 0.61 | 0.60 | 0.61 | 0.59 | 0.58 | 0.55 | 0.55 |
| T-VG3 | 0.54 | 0.53 | 0.48 | 0.61 | 0.57 | 0.56 | 0.58 | 0.53 | 0.55 | 0.59 | 0.66 | 0.67 | 0.53 | 0.63 | 0.58 | 0.65 | 0.67 | 0.68 | 0.56 | 0.56 |
| T-DO1 | 0.66 | 0.71 | 0.64 | 0.59 | 0.70 | 0.62 | 0.60 | 0.56 | 0.68 | 0.75 | 0.60 | 0.65 | 0.54 | 0.56 | 0.69 | 0.64 | 0.58 | 0.61 | 0.64 | 0.64 |
| T-DO2 | 0.63 | 0.60 | 0.61 | 0.67 | 0.63 | 0.65 | 0.67 | 0.64 | 0.73 | 0.72 | 0.65 | 0.63 | 0.60 | 0.65 | 0.62 | 0.60 | 0.60 | 0.64 | 0.57 | 0.57 |
| T-MO1 | 0.64 | 0.61 | 0.58 | 0.64 | 0.60 | 0.62 | 0.61 | 0.63 | 0.66 | 0.70 | 0.63 | 0.70 | 0.52 | 0.69 | 0.59 | 0.58 | 0.66 | 0.63 | 0.59 | 0.59 |
| T-MO2 | 0.66 | 0.63 | 0.58 | 0.66 | 0.60 | 0.64 | 0.66 | 0.64 | 0.69 | 0.75 | 0.69 | 0.70 | 0.54 | 0.69 | 0.61 | 0.64 | 0.68 | 0.68 | 0.63 | 0.63 |
| KO-ME | 0.65 | 0.63 | 0.54 | 0.64 | 0.62 | 0.59 | 0.63 | 0.58 | 0.63 | 0.67 | 0.56 | 0.64 | 0.56 | 0.61 | 0.69 | 0.77 | 0.63 | 0.69 | 0.57 | 0.57 |
| KO-MA | 0.64 | 0.59 | 0.52 | 0.64 | 0.59 | 0.60 | 0.62 | 0.56 | 0.61 | 0.68 | 0.63 | 0.69 | 0.57 | 0.60 | 0.67 | 0.68 | 0.70 | 0.70 | 0.61 | 0.61 |
| KO-NA | 0.65 | 0.64 | 0.57 | 0.69 | 0.59 | 0.63 | 0.58 | 0.55 | 0.62 | 0.66 | 0.57 | 0.69 | 0.53 | 0.65 | 0.66 | 0.70 | 0.65 | 0.69 | 0.52 | 0.52 |
| G-GR1 | 0.64 | 0.61 | 0.61 | 0.65 | 0.57 | 0.60 | 0.67 | 0.70 | 0.68 | 0.70 | 0.66 | 0.65 | 0.43 | 0.58 | 0.57 | 0.58 | 0.58 | 0.59 | 0.51 | 0.51 |
| G-GO1 | 0.59 | 0.61 | 0.58 | 0.66 | 0.55 | 0.67 | 0.62 | 0.65 | 0.72 | 0.69 | 0.58 | 0.61 | 0.47 | 0.64 | 0.67 | 0.65 | 0.51 | 0.58 | 0.57 | 0.57 |

ادامه جدول ۳- ماتریس شباهت ژنتیکی بین کلون‌های نی بر اساس ضریب شباهت نی و لی

Table 3 continued- Similarity matrix among common reed clones by Nei and Li's coefficient based on RAPD bands

| | Q-BE2 | Q-BE3 | T-SHR | T-SHS | T-VGO | T-VG1 | T-VG2 | T-VG3 | T-DO1 | T-DO2 | T-MO1 | T-MO2 | KO-ME | KO-MA | KO-NA | G-GR1 | G-GO1 | G-GO2 | G-GR2 | G-GR3 | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| Q-BE2 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Q-BE3 | 0.71 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T-SHR | 0.60 | 0.68 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T-SHS | 0.55 | 0.63 | 0.80 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T-VGO | 0.62 | 0.54 | 0.64 | 0.60 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T-VG1 | 0.62 | 0.60 | 0.64 | 0.64 | 0.64 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | | |
| T-VG2 | 0.63 | 0.53 | 0.65 | 0.66 | 0.64 | 0.79 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | | |
| T-VG3 | 0.59 | 0.59 | 0.61 | 0.61 | 0.63 | 0.76 | 0.70 | 1.00 | | | | | | | | | | | | | |
| T-DO1 | 0.67 | 0.70 | 0.57 | 0.61 | 0.65 | 0.65 | 0.59 | 0.56 | 1.00 | | | | | | | | | | | | |
| T-DO2 | 0.63 | 0.63 | 0.66 | 0.65 | 0.74 | 0.65 | 0.67 | 0.62 | 0.78 | 1.00 | | | | | | | | | | | |
| T-MO1 | 0.67 | 0.62 | 0.58 | 0.58 | 0.65 | 0.64 | 0.64 | 0.61 | 0.72 | 0.73 | 1.00 | | | | | | | | | | |
| T-MO2 | 0.69 | 0.64 | 0.65 | 0.62 | 0.69 | 0.71 | 0.67 | 0.66 | 0.70 | 0.73 | 0.85 | 1.00 | | | | | | | | | |
| KO-ME | 0.61 | 0.60 | 0.62 | 0.58 | 0.57 | 0.62 | 0.62 | 0.69 | 0.59 | 0.57 | 0.55 | 0.62 | 1.00 | | | | | | | | |
| KO-MA | 0.62 | 0.66 | 0.63 | 0.62 | 0.53 | 0.65 | 0.64 | 0.68 | 0.59 | 0.62 | 0.60 | 0.68 | 0.84 | 1.00 | | | | | | | |
| KO-NA | 0.64 | 0.57 | 0.59 | 0.51 | 0.59 | 0.64 | 0.60 | 0.62 | 0.60 | 0.56 | 0.64 | 0.64 | 0.76 | 0.70 | 1.00 | | | | | | |
| G-GR1 | 0.58 | 0.62 | 0.61 | 0.55 | 0.55 | 0.53 | 0.50 | 0.47 | 0.58 | 0.58 | 0.59 | 0.55 | 0.59 | 0.62 | 1.00 | | | | | | |
| G-GO1 | 0.58 | 0.58 | 0.64 | 0.56 | 0.56 | 0.52 | 0.51 | 0.51 | 0.57 | 0.57 | 0.55 | 0.60 | 0.60 | 0.58 | 0.66 | 0.71 | 1.00 | | | | |
| G-GO2 | 0.55 | 0.60 | 0.56 | 0.56 | 0.58 | 0.54 | 0.53 | 0.55 | 0.59 | 0.59 | 0.58 | 0.62 | 0.58 | 0.60 | 0.65 | 0.57 | 0.62 | 1.00 | | | |
| G-GR2 | 0.62 | 0.58 | 0.64 | 0.58 | 0.68 | 0.57 | 0.59 | 0.56 | 0.65 | 0.65 | 0.62 | 0.64 | 0.58 | 0.56 | 0.63 | 0.59 | 0.68 | 0.73 | 1.00 | | |
| G-GR3 | 0.64 | 0.64 | 0.52 | 0.52 | 0.60 | 0.62 | 0.58 | 0.60 | 0.67 | 0.64 | 0.67 | 0.63 | 0.58 | 0.57 | 0.59 | 0.55 | 0.59 | 0.70 | 0.75 | 1.00 | |

دیانت و همکاران: مطالعه مولکولی و بررسی عکس‌العمل کلون‌های نی به علف‌کش گلیفوسیت در ایران

(McKee & Richards, 1996) و یا ترکیبی از هر دو (Kuhl & Neuhaus, 1993; Zeidler *et al.*, 1994) وجود دارد. در مطالعه حاضر نیز سطح بالای تنوع ژنتیکی بین کلون‌های نی مشاهده شد. Parker (1979) نشان داد که تنوع ژنوتیپی در گیاهانی که تکثیر غیر جنسی دارند با گذشت زمان کاهش می‌یابد، اما عوامل دیگری نیز وجود دارند که کاهش تنوع را به تأخیر می‌اندازند (Widen *et al.*, 1994). این عوامل شامل استقرار ژنوتیپ‌های جدید با تکثیر جنسی، موتاسیون سوماتیکی، جریان ژن، ورود همزمان چند ژنوتیپ و محیط‌های غیر همگن هستند. استقرار ژنوتیپ‌های جدید توسط تکثیر جنسی در تعدادی از گیاهان تشکیل دهنده کلون دیده شده است (McLellan *et al.*, 1997).

جدول ۴- مقایسه میانگین درصد خسارت کلون‌های نی به صورت چشمی

در غلظت‌های مختلف گلیفوسیت در ۴۰ روز بعد از سم پاشی

Table 4- Comparison of percent injury of commn reed clones at three glyphosate rates in the greenhouse at 40 DAT

| در هکتار | کیلوگرم ماده مؤثره Glyphosate rate (kg ai/ha) | غلظت گلیفوسیت | کلون نی Clone |
|-------------|--|---------------|------------------|
| 3 | 1.8 | 1 | |
| 86.00 ab | 79.44 defgh | 58.33 kl | G-GR3 |
| 75.00 ghi | 73.11 i | 43.11 m | T-VGO |
| 84.75 abcd | 64.00 j | 42.00 m | A-MO1 |
| 88.33 a | 73.00 i | 52.78 l | Q-BE2 |
| 75.11 ghi | 76.22 fghi | 54.56 kl | KZ-D1 |
| 81.56 bcdef | 73.89 hi | 53.56 kl | KE-S1 |
| 85.89 ab | 74.00 hi | 57.78 jk | KO-MA |
| 80.11 cdefg | 77.33 efghi | 40.00 m | T-MO1 |
| 82.64 bcde | 75.00 ghi | 57.00 kl | MA-S1 |
| 88.67 a | 85.44 abc | 59.00 jk | MA-S2 |

اعداد دارای حروف مشترک اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.

جدول ۵- مقایسه میانگین وزن خشک اندام‌های هوایی تولید شده کلون‌های نی بعد از تیمار با گلیفوسیت در زمان‌های مختلف سم پاشی ۵۶ روز بعد از برداشت

Table 5- Comparison of regrowth shoot dry weight (g) of common reed clones at three treatment times at 56 DAH

| کلون نی Clone | زمان سم پاشی Growth stage | |
|------------------|------------------------------|-----------------------|
| | ۵-۷ برگگی 5-7 leaf | ۲-۵ برگگی 2-5 leaf |
| A-MO1 | 7.56 a | 6.11 ac |
| G-GR3 | 3.33 ijkl | 4.00 fghij |
| KE-S1 | 7.00 ab | 4.56 cdefgh |
| KO-MA | 2.89 jklm | 3.42 ghijk |
| MA-S1 | 3.42 hijk | 3.44 hijk |
| MA-S2 | 3.56 hijk | 4.11defghi |
| Q-BE2 | 5.67 bcd | 4.22 defghi |
| T-MO1 | 4.78 cdefg | 5.11 cde |
| T-VGO | 7.67 a | 7.33 a |
| KZ-D1 | 5.89 abc | 5.11 cdef |

اعداد دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

جدول ۶- مقایسه میانگین تعداد اندام‌های هوایی تولید شده بعد از تیمار با گلیفوسیت در زمان‌های مختلف سم پاشی ۵۶ روز بعد از برداشت

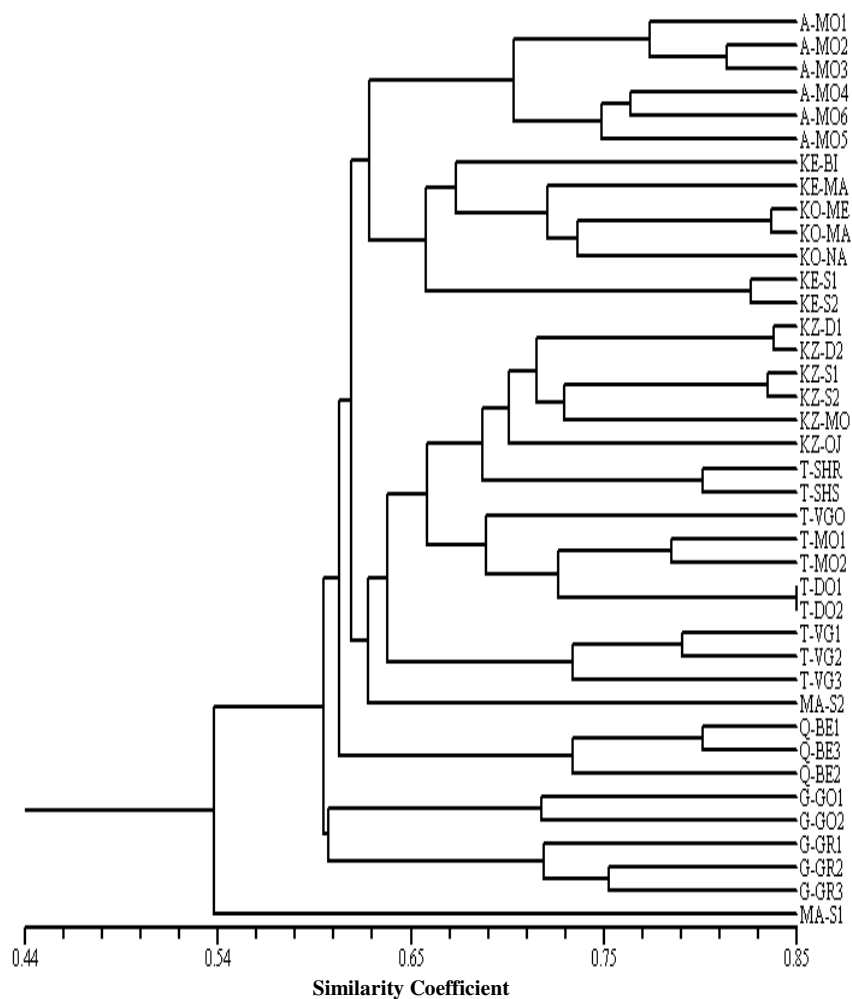
Table 6- Comparison of regrowth shoot dry weight (g) of common reed clones at three glyphosate rates and three treatment times in the greenhouse at 56 DAH

| کلون نی Panicle formation | زمان سم پاشی Treatment time | | غلظت گلیفوسیت (کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار) Glyphosate rate (kg ai/ha) |
|------------------------------|--------------------------------|-----------------------|--|
| | ۵-۷ برگگی 5-7 leaf | ۲-۵ برگگی 2-5 leaf | |
| 6.27 a | 7.17 a | 6.47 a | 1 |
| 4.77 bc | 4.27 b | 4.20 b | 1.8 |
| 0.10 d | 3.60 c | 3.57 c | 3 |

اعداد دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

بیشتر مطالعات در مورد ساختار و تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های نی با استفاده از تکنیک RAPD انجام شده است. روشی مؤثر برای مشخص کردن تفاوت‌های بین و درون جمعیتی بوده و هنوز در حد وسیعی در تعداد زیادی از گیاهان استفاده می‌شود (Koppitz *et al.*, 1997; Koppitz, 1999; Keller, 2000; Kuhl *et al.*, 1999; Bussell *et al.*, 2005; Curn *et al.*, 2007). نتایج این آزمایش نیز نشان داد که RAPD برای بررسی تنوع ژنتیکی کلون‌های نی در ایران مناسب بوده است اما بررسی سایر مارکرهای مولکولی نیز توصیه می‌شود.

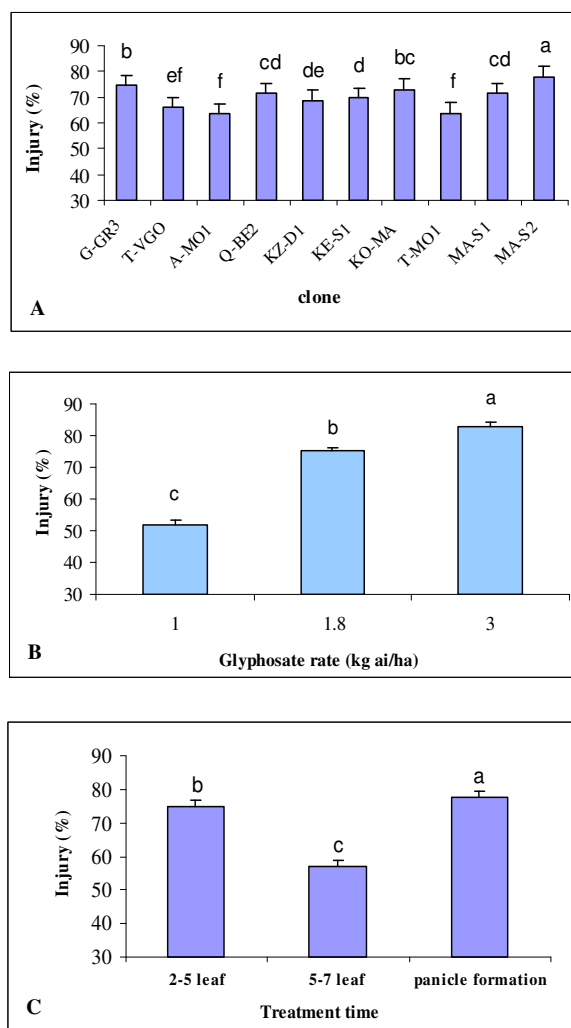
آزمایش حساسیت به علف‌کش: نتایج تجزیه واریانس نمره دهی چشمی میزان خسارت نشان داد که اثر فاکتورهای مورد بررسی (کلون، غلظت علف‌کش و زمان سم‌پاشی) (شکل A ۵) و همچنین اثرات متقابل کلون \times غلظت معنی‌دار (جدول ۴) بودند ($p \leq 0.001$). مقایسه میانگین غلظت‌های مورد آزمایش با آزمون LSD نشان داد که در بیشترین غلظت (۳ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار) ۸۲/۷۸ درصد خسارت چشمی حاصل شد. این در حالی بود که غلظت‌های ۱/۸ و ۱ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار به ترتیب ۷۵/۱۴ و ۵۱/۹۵ درصد خسارت ایجاد کردند (شکل ۴A). در این مطالعه گلیفوسیت به میزان ۳ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار به صورت اسپلیت (۱/۵ + ۱/۵) استفاده شده بود که نشان داد کنترل علف‌های هرز چند ساله با کاربرد اسپلیت علف‌کش‌ها بهتر انجام می‌شود. (Dinelli (2000) در کنترل جمعیت‌های علف‌هرز مرغ با استفاده از گلیفوسیت نتایج مشابهی به دست آورد. (Riemer (1973, 1976) نیز نشان داد که گلیفوسیت به میزان ۲/۲۴ و ۶/۷۰ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار همراه با مویان به ترتیب ۶۵ و ۹۰ درصد رشد نی را کاهش داد و با افزایش غلظت علف‌کش درصد کنترل افزایش یافت. بیشترین درصد خسارت کلون‌های مختلف نی در مرحله گل‌دهی بود (۷۷/۷۳ درصد). اما سم‌پاشی با گلیفوسیت در مرحله ۵-۲ برگی نیز کنترل قابل‌قبولی ایجاد کرد (۷۴/۹۲ درصد) (شکل ۴B). کلون MA-S2 بالاترین درصد خسارت چشمی (۷۷/۷۰ درصد) را ۴۰ روز بعد از سم‌پاشی با گلیفوسیت نشان داد (شکل ۴C). تفاوت در عکس‌العمل به علف‌کش‌ها در داخل یک گونه در تعداد زیادی از علف‌های هرز دیگر نیز مشاهده شده است. برای مثال اکوتیپ‌های نیلوفر وحشی حساسیت متفاوتی به علف‌کش اسیفلورفن نشان دادند (Klingman & Oliver, 1996).



شکل ۳- دندروگرام کلون‌های نی بر اساس داده‌های RAPD با استفاده از روش UPGMA که از ماتریس شباهت نی و لی حاصل شده است

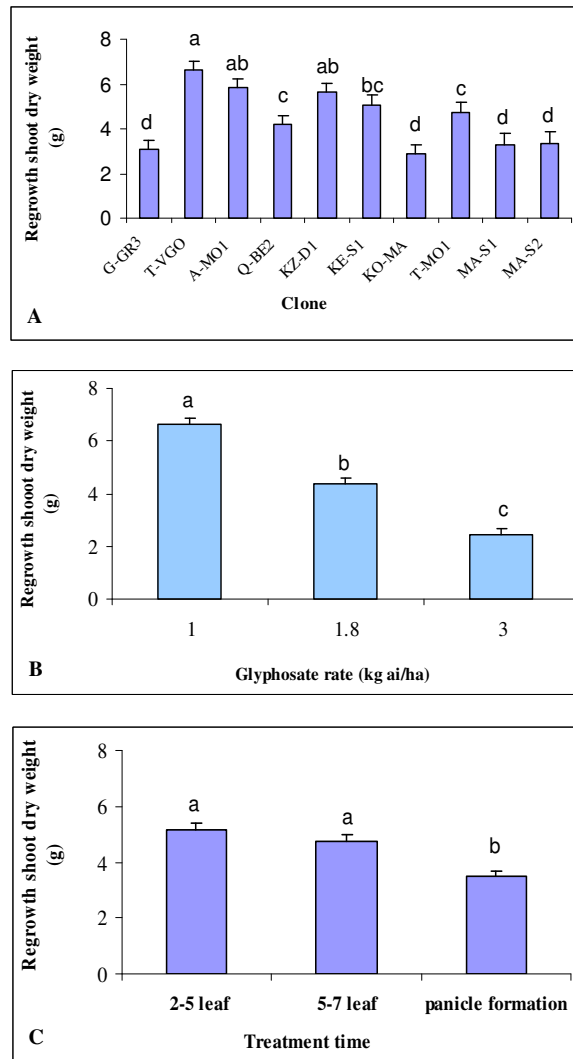
Fig. 3- Dendrogram of individual clones of common reed obtained based on RAPD data, by UPGMA method, resulting from similarity matrix calculated with the metric of Nei & Li

دیانت و همکاران: مطالعه مولکولی و بررسی عکس‌العمل کلون‌های نی به علف‌کش گلیفوسیت در ایران



شکل ۴- اثر کلون (A)، غلظت گلیفوسیت (B) و زمان سم پاشی (C) بر درصد خسارت کلون‌های نی در ۴۰ روز بعد از سم پاشی بر اساس مقیاس، (عدم خسارت) و ۱۰۰ (خسارت کامل اندام هوایی)، ستون‌های دارای حروف متفاوت متفاوت معنی داری با یکدیگر دارند.

Fig. 4- Effect of clone (A), glyphosate rate (B), and treatment time (C) on common reed clones 40 DAT based on 0 (no injury) to 100 (complete foliar necrosis) percent injury. Bars topped by different letters are significantly different according to Least Significant Difference (LSD) test ($p \leq 0.001$).



شکل ۵- اثر کلون (A)، غلظت گلیفوسیت (B) و زمان سم پاشی (C) بر رشد مجدد ساقه‌های هوایی کلون‌های

نی در ۵۶ روز بعد از برداشت. ستون‌های دارای حروف متفاوت اختلاف معنی داری با یکدیگر دارند

Fig. 5- Effect of clone (A), glyphosate rate (B), and treatment time (C) on regrowth shoot dry weight of common reed clones 56 DAH. Bars topped by different letters are significantly different according to Least Significant Difference (LSD) test ($p \leq 0.001$)

مقایسه میانگین اثرات متقابل کلون × غلظت در جدول ۴ آمده است. درصد خسارت چشمی بین کلون‌های نی در بیشترین غلظت (۳ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار) از ۷۵/۱۱ تا ۸۶ متغیر بود و در کمترین غلظت (۱ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار) از ۴۰ تا ۵۸/۳۳ متغیر بود. به نظر می‌رسد در غلظت‌های کمتر از حد کشندگی تفاوت بین کلون‌های نی بیشتر است. (Dinelli, 2000) نیز نشان داد که هیچ تفاوتی بین جمعیت‌های مرغ در عکس‌العمل به گلیفوسیت در غلظت‌های توصیه شده (۳۶۰۰ گرم در هکتار) وجود نداشت. اما در غلظت‌های کمتر از میزان کشندگی (۱۸۰۰، ۹۰۰+۹۰۰ و ۴۵۰+۴۵۰ گرم در هکتار) بعضی جمعیت‌ها متحمل‌تر از سایر جمعیت‌ها بودند.

حساسیت مختلف گیاهان به علف‌کش‌ها توسط ویژگی‌های گیاه (ژنتیک، سن، تراکم، مرفولوژی، فیزیولوژی و بیوشیمی) محیط (نور، دما، رطوبت نسبی، رطوبت خاک) و ویژگی‌های علف‌کش (غلظت، فرمولاسیون و روش کاربرد) کنترل می‌شود. یک یا ترکیبی از این عوامل می‌تواند باعث بروز حساسیت متفاوت داخل گونه‌ای به علف‌کش‌ها شود (Baker, 1980). از آنجایی که کلون‌های مورد بررسی دارای تفاوت‌های ژنتیکی با یکدیگر بودند تفاوت‌های مشاهده شده در عکس‌العمل به علف‌کش گلیفوسیت می‌تواند به دلیل تفاوت‌های ژنتیکی بین آن‌ها باشد.

نتایج تجزیه واریانس وزن خشک اندام‌های هوایی تولید شده ۵۶ روز بعد از برداشت اندام‌های هوایی قبلی نشان داد که اثر فاکتورهای مورد بررسی (کلون، غلظت علف‌کش و زمان سم‌پاشی) (شکل ۵) و همچنین اثرات متقابل کلون × زمان سم‌پاشی (جدول ۵) و غلظت علف‌کش × زمان سم‌پاشی (جدول ۶) معنی‌دار بودند ($p \leq 0.001$).

در سم‌پاشی با گلیفوسیت به میزان ۳ کیلوگرم ماده مؤثره در هکتار کمترین رشد مجدد اندام‌های هوایی (۲/۴۲ گرم) در مقایسه با دو غلظت دیگر (۴/۳۵ و ۶/۶۳ گرم) مشاهده شد (شکل ۵ A). تفاوت معنی‌داری بین میانگین وزن خشک اندام‌های هوایی در مرحله گل‌دهی (۳/۴۰ گرم) با دو مرحله دیگر وجود داشت (۴/۷۴ و ۵/۱۷ گرم) که بر مناسب‌تر بودن سم‌پاشی در این مرحله تأکید می‌کرد (شکل ۵ B). کلون‌های نی بعد از سم‌پاشی با گلیفوسیت توان متفاوتی برای رشد مجدد و تولید اندام‌های هوایی نشان دادند. مقایسه میانگین وزن

خشک اندام‌های هوایی تولید شده توسط ریزوم‌ها نشان داد T-VGO قوی‌ترین کلون (۶/۶۲ گرم) بوده و تفاوت معنی‌داری با کلون‌های A-MO1 (۵/۸۱ گرم) و KZ-D1 (۵/۶۲ گرم) نداشت. در حالیکه KO-MA (۲/۸۸ گرم)، G-GR3 (۳/۰۷ گرم)، MA-S1 (۳/۲۹ گرم) و MA-S2 (۳/۳۳ گرم) ضعیف‌ترین کلون‌ها بودند (شکل ۵C).

بعضی محققان کنترل قابل قبولی را با گلیفوسیت در میزان‌های بالاتر از ۱/۸ کیلوگرم در هکتار در پاییز گزارش کردند. (Fernandes *et al.* (1980). میزان کنترل متفاوتی با این غلظت علف کش مشاهده کردند و تعدادی نیز فقط ۷۰ درصد کنترل در ۳۰ روز بعد از سم پاشی و رشد مجددی را در فصل رشد بعد مشاهده کردند (Arsenovic & Konstantinovic, 1990).

مقایسه کلون‌ها در زمان‌های مختلف سم پاشی نشان داد که تیمار در زمان گل‌دهی در همه کلون‌ها به جز کلون KZ-D1 بهترین نتایج را ایجاد کرد (جدول ۵). همچنین مقایسه غلظت‌های مختلف گلیفوسیت در مراحل مختلف سم پاشی نشان داد که در کمترین غلظت هیچ تفاوتی بین مراحل سم پاشی وجود نداشت (جدول ۶). نتایج نشان دادند که بهترین زمان برای سم پاشی با گلیفوسیت، مرحله گل‌دهی است (درصد خسارت ۷۷/۷۳) اما کاربرد گلیفوسیت در مرحله ۲-۵ برگگی نیز نتایج قابل قبولی ایجاد کرد (درصد خسارت ۷۴/۹۲).

Derr (2008b) بیان کرد که علف‌کش‌های گلیفوسیت و ایمازاپیر نسبت به فوزامین مؤثرتر بوده و رشدی را به ترتیب به میزان ۸۲ و ۹۳ درصد در آوریل (فروردین) و به دنبال آن در ژوئن (خرداد) یا سپتامبر (شهریور) کاهش دادند. بنابراین بهترین زمان برای کاربرد علف‌کش گلیفوسیت، اوایل تابستان و اوایل پاییز است. (Rosales-Robres *et al.* (1999). نیز در بررسی اثر مرحله رشدی و غلظت علف‌کش بر میزان کنترل علف هرز قیاق در مرحله پس از سبز شدن، کنترل عالی قیاق را با غلظت‌های کاهش یافته علف‌کش‌ها در مرحله ۳-۵ برگگی گزارش و کنترل قیاق را در این مرحله به دلیل کاربرد کمتر علف‌کش توصیه نمودند. (Evans (1978) اظهار کرد که مناسب‌ترین زمان برای سم پاشی با گلیفوسیت در مرحله گل‌دهی یا درست پس از آن است. اما میزان‌های قابل قبول کنترل نیز با تیمار در اوایل فصل به دست می‌آید.

در بیشتر آزمایش‌های مطالعه کنترل‌نی، تنها اندام‌های هوایی مورد توجه قرار گرفته‌اند در

دیانت و همکاران: مطالعه مولکولی و بررسی عکس‌العمل کلون‌های نی به علف‌کش گلیفوسیت در ایران

صورتی که نی از طریق اندام‌های زیرزمینی (ریزوم‌ها) توسعه می‌یابد (Chambers *et al.*, 1999). بنابراین در این آزمایش ریزوم‌ها مورد زیست‌سنجی قرار گرفتند. نتایج این آزمایش در تأیید نتایج League *et al.* (2006) نشان داد که بررسی رشد مجدد ریزوم‌ها در ۵۶ روز بعد از برداشت اندام‌های هوایی جهت بررسی توان رشد مجدد ریزوم‌ها کافی است. رشد مجدد ساقه‌ها از ریزوم‌ها نشان داد که کنترل مؤثر این علف هرز نیازمند تکرار سم‌پاشی است*.

منابع

- ABBASPOOR, M., H. TAVAKOLI, S. NOROZZADEH, E. KHOSROJERDI and H. ARIANA, 2008. Using glyphosate plus adjuvants to control *Hultemia persica* in range lands. Proceeding of the 2nd National Weed Science Congress. 29 & 30 January 2008, Mashhad.
- ARSENOVIC, M. and B. KONSTANTINOVIC, 1990. Aquatic weeds control with herbicides in drainage system "DUNAV-TISA-DUNAV" in Yugoslavia. Proc. EWRS/AAB 8th Int. Symp. Aquat. Weeds. 13-17.
- BAKER, E. A. 1980. Effect of cultivar components on foliar penetration. Pest. Sci. 11: 367-370.
- BARRETT, S. C. B. 1992. Genetics of weed invasions. p. 91-120. S.K. Jain and L.W. Botsford, eds. Applied population biology. Dordrecht, Kluwer.
- BURDON, J. J. and D. B. MARSHALL, 1981. Biological control and the reproductive mode of weeds. J. Appl. Ecol. 18: 951-966.
- BUSSELL, G. D., J. WAYCOTT and A. CHAPPILL, 2005. Arbitrarily amplified DNA markers as characters for phylogenetic interference. Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst. 7: 3-26.
- CHAMBERS, R. M., L. A. MEYERSON and K. SALTONSTALL, 1999. Expansion of *Phragmites australis* into tidal wetlands of north America. Aquat. Bot. 64: 261-273.

* نشانی نگارندگان: دکتر مرجان دیانت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده کشاورزی، تهران، ایران؛ دکتر علی اکبر شاه نجات بوشهری، دکتر حسن محمد علیزاده، دکتر محمد رضا نقوی و دکتر حمید رحیمیان مشهدی، گروه زراعت، دانشکده علوم زراعی و دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

- CHANDLER, J. M. 1982. Susceptibility of nine bermudagrass biotypes to postemergence herbicides. Proc. South. Weed Sci. Soc. 5: 93.
- CLEVERING, O. A. 1999. Between-and within-population differences in *Phragmites australis*. The effects of nutrient on seedling growth. Oecologia. 121: 447-457.
- CLEVERING, O. A. and J. LISSNER, 1999. Taxonomy, chromosome numbers, clonal diversity and population dynamics of *Phragmites australis*. Aquat. Bot. 64: 185-208.
- CURN, V., B. KUBATOVA, P. VAVROVA, O. KRIVACKOVA-SUCHA and H. CIZKOVA, 2007. Phenotypic and genotypic variation of *Phragmites australis*. Comparison of populations in two human-made lakes of different age and history. Aquat. Bot. 86: 321-330.
- DEGNNARO, F. P. and S. C. WELLER, 1984. Growth and reproductive characteristic of field bindweed (*Convolvulus arvensis*) biotypes. Weed Sci. 32, 525-528.
- DERR, J. F. 2008a. Common reed (*Phragmites australis*) response to mowing and herbicide application. Inva. Pl. Sci. Manag. 1: 12-16.
- DERR, J. F. 2008b. Common reed (*Phragmites australis*) response to postemergence herbicides. Inva. Pl. Sci. Manag. 1:153-157.
- DINELLI, G. 2000. Response to glyphosate and electrophoretic variation of *Cynodon dactylon* (L) Pers populations. Pest Manag Sci. 56: 327-335.
- DONG, M. 1996. Clonal growth in plants in relation to resource heterogeneity: foraging behavior. Acta Bot. Sinica. 30: 828-835.
- EVANS, D. M. 1982. *Phragmites* control with glyphosate through selective equipment. Proc. EWRS 6th Symp. Aquat. Weeds. 209-211.
- FERNANDES, J. D., T. VASCONCELOS and J. M. MARTINES, 1980. Luta química contra o conico (*Phragmites australis*). I. Congress Portugues de Fitatria e Fitofarmacologia. 4: 173-180.
- GOSSETT, B. J., E. C. MURDOCK and J. E. TOLER, 1992. Resistance of palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) to the dinitroaniline herbicides. Weed Technol. 6: 587-591.
- GUO, W., R. WANG, S. ZHOU, S. ZHANG and Z. ZHANG, 2003. Genetic diversity and clonal structure of *Phragmites australis* in the Yellow River Delta of China. Bio. Sys. Ecol. 31: 093-1109
- HADDAD, S. Y. and G. R. A. SAGAR, 1968. A study of the response of four Clones of (*Agropyron repens* (L.) Beauv.) to root and shoot application of aminotriazole and

- dalapon. Proc. 9th weed control Conf. 9: 142-148.
- HANSEN, D. L., C. LAMBERTINI, A. JAMPEETONG and H. BRIX, 2007. Clone-specific differences in *Phragmites australis*: effects of ploidy level and geographic origin. Aquat. Bot. 86: 269-279.
- HODGSON, J. M. 1964. Variation in ecotypes of Canada thistle. Weeds. 12: 167-171.
- HOLT, J. S. and S. R. RADOSEVICH, 1983. Differential growth of two common groundsel (*Senecio vulgaris*). Weed Sci. 31: 112-120.
- JAMBRINO, I. D. and F. J. FERNANDEZ-ANERO, 1997. Result a dos en la recuperation de la biodiversidade en el Raco de l'olla (l'Albufera de Valencia) tras la application selective de um herbicida de baja peligrosidad. Bol. San. Veg. Playas. 23: 17-37.
- JONES, W. L. and W. C. LEHMAN, 1987. *Phragmites* control and revegetation following aerial applications of glyphosate in Delaware. pp. 184-199. In: Water fowl and Wetlands in the Coastal Zone. Whitman, W. R., and Meredith, W. H. (Eds), Delaware Department of Natural Resources and Environmental Control, Dever, Delaware.
- KELLER, B. E. M. 2000. Genetic variation among and within populations of *Phragmites australis* in the Charles River watershed. Aquat. Bot. 66: 195-208.
- KLINGMAN, T. E. and L. R. OLIVER, 1996. Existence of ecotypes among population of entireleaf morningglory (*Ipomea hederacea*). Weed Sci. 44: 540-544.
- KOPPITZ, H. 1999. Analysis of genetic diversity among selected populations of *Phragmites australis* world-wide. Aquat. Bot. 64: 209-221.
- KOPPITZ, H. and H. KUHL, 2000. To the importance of genetic diversity of *Phragmites australis* in the development of reed stands. Wetland. Ecol. Manag. 8: 403-414.
- KOPPITZ, H., H. KUHL, K. HESSE and J. G. KOHL, 1997. Some aspects of the importance of genetic diversity in *Phragmites australis* (Cav.). Trin ex Steudel for the development of reed stands. Bot. Acta. 110: 217-223.
- KUHL, H., H. KOPPITZ, H. ROLLETSCHEK and J. G. KOHL, 1999. Clone specific differences in a *Phragmites australis* stands .I. Morphology, genetic and site description. Aquat. Bot. 64: 235-246.
- LAMBERTINI, C., M. H. G. GUSTAFSSON, J. FRYDENBERG, J. LISSNER, M. SPERANZA and H. BRIX, 2006. A polymorphic study of the cosmopolitan genus *Phragmites* (Poaceae) based on AFLP. Pl. Syst. Evol. 258: 161-182.
- LEAGUE M. T., D. M. SELISKER and J. L. GALLAGHER, 2007. Predicting the

- effectiveness of *Phragmites* control measures using a rhizome growth potential bioassay. *Wetlands Ecol Manage.* 15: 27-41.
- LOVELESS, M. D. and J. L. HAMRICK, 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. *Am. Rev. Ecol. Syst.* 15: 65-95.
- MCKEE, J. and A. J. RICHARDS, 1996. Variation in seed production and germinability in common reed (*Phragmites australis*) in Britain and France with respect to climate. *New Phyt.* 133: 233-24.
- MCLELLAN, A. J., D. PRATI, O. KALTZ and B. SCHIMD, 1997. Structure and analysis of phenotypic and genetic variation in clonal plants. pp. 185-210. In: *The Ecology and Evolution of Clonal Plants*. Dekroon, H., and van Groenendael, J. (Eds), Leiden, the Netherlands, Backuys.
- MCWHORTER, C. G. 1970. Growth and development of johnsongrass ecotypes. *Weed Sci.* 18: 141-147.
- MCWHORTER, C. G. 1971. Anatomy of johnsongrass. *Weed Sci.* 19: 385-393.
- MONTEIRO, A., I. MOREIRA and E. SOUSA, 1999. Effect of prior common reed (*Phragmites australis*) cutting on herbicide efficiency. *Hydrobiology.* 66: 305-308.
- MOREIRA, I., A. MONTEIRO and E. SOUSA, 1999. Chemical control of common reed (*Phragmites australis*) by foliar herbicides under different spray conditions. *Hydrobiology.* 66: 299-304.
- NEI, M. and W. H. LI., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 79: 5269-5273.
- NEUHAUS, D., J. G. KOHL, P. DORFEL and T. BORNER, 1993. Investigation of genetic diversity of reed stands using genetic fingerprint and random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Aquat. Bot.* 45: 357-364.
- PARKER, E. D. Jr. 1979. Ecological implications of clonal diversity in parthenogenetic morphospecies. *Am. Zool.* 19: 153-162.
- PELLEGRIN, D. and D. P. HAUBER, 1999. Isozyme variation among populations of the clonal species, *Phragmites australis* (Cav). Trin. ex Steudel. *Aquat. Bot.* 63: 241-259.
- RAMAKRISHNAN, P. S. and U. GUPTA, 1973. Ecotypic differences in *Cynodon dactylon* (L.) Pers. related to weed-crop interference. *J. Appl. Ecol.* 9: 333-339.
- RIEMER, D. N. 1973. Effects of rate, spray volume and surfactant on the control of *Phragmites* with glyphosate. *Proc. Northeast. Weed Sci. Soc.* 27: 101-104.

- RIEMER, D. N. 1976. Long-term effects of glyphosate applications to *Phragmites*. J. Aquat. Pl. Manag. 14: 39-43.
- ROGERS, S. O. and A. J. BENDRICH, 1985. Extraction of DNA Form milligram amounts of fresh, herbarium, herbarium and mummified plant tissues. Plant Mol. Biol. 5: 9-76.
- ROHLF, H. J. 1998. NTSYS-PC. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.00, Extere Software, Setauket, NY.
- ROSALES-ROBLES, E., J. M. CHANDLER, S. A. SENSEMAN and E. P. PROSTKO, 1999. Influence of growth stage and herbicide rate on postemergence johnsongrass (*Sorghum halepense*) control. Weed Technol. 13: 525-529.
- SALTONSTALL, K. 2002. Cryptic invasion by a non-native genotype of the common reed, *Phragmites australis* in north American. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 99: 2445-2449.
- SALTONSTALL, K. 2003a. Microsatellite variation within and among north American lineages of *Phragmites australis*. Mol. Ecol. 12: 1689-1702. SALTONSTALL, K. 2003b. A rapid method for identifying origin of north American *Phragmites* population using RFLP analysis. Wetlands. 23: 1043-1047.
- SCHONER, C. A., R. F. NORRIS and W. CHILCOTE, 1978. Yellow foxtail (*Setaria lutescens*) biotype studies: Growth and morphological characteristic. Weed Sci. 26: 632-636.
- SINGH, K. P. 1973. Effect of temperature and light on seed germination of two ecotypes of *Portulaca oleracea*. New Phytol. 72: 289-295.
- SOUZA, M. V., C. J. ARNTZEN., J. D. BANDEEN and G. R. STEPHENSON, 1978. Comparative triazine effects upon system II photochemistry in chloroplasts of two common lambsquarters (*Chenopodium album*) biotypes. Weed Sci. 26: 318-322.
- SULLIVAN, J. and W. J. BOUW, 1997. Effect of timing and adjuvants on the efficacy of reduced herbicide rates for sweet corn (*Zea mays*). Weed Technol. 11: 720-724.
- WIDEN, B., N. CRONBERG and M. Widen, 1994. Genotypic diversity, molecular markers and spatial distribution of genetic in clonal plants, a literature survey. Folia Geobot. Phytotaxon. Praha. 29: 254-263.
- WILKINSON, R. E. 1980. Ecotypic variation of *Tamarix pentandra* epicuticular wax and possible relationship with herbicide sensitivity. Weed. Sci. 28: 110-113.
- ZEIDLER, A., S. SCHENEIDERS, C. JUNG, A. E. MELSHINGER and P. DITTRICH, 1994. The use of DNA fingerprint in ecological studies of *Phragmites australis*

آفات و بیماری‌های گیاهی: جلد ۷۷، شماره ۲، اسفند ۱۳۸۸

(Cav.).Trin ex Steudel. Bot. Acta. 107: 237-242.

Address of the authors: Dr. M. Diyanat, Islamic Azad University, Faculty of Agriculture, Tehran, Iran; Dr. A. A. S. Booshehri, Dr. H. M. Alizadeh, Dr. M. R. Naghavi and Dr. H. R. Mashhadi, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Tehran, Karaj, Iran.

دیانت و همکاران: مطالعه مولکولی و بررسی عکس‌العمل کلون‌های نی به علف‌کش گلیفوسیت در ایران