



تأثیر بازدارندگان فتوسیستم دو بر شکل منحنی کاتسکی و پارامترهای فلورسنس کلروفیل در سلمه تره (*Chenopodium album* L.) و خرفه (*Portulaca oleracea* L.)

علی اصغر چیت بند*¹ - رضا قربانی² - محمدحسن راشد محصل³ - رحمت عباسی⁴

تاریخ دریافت: 1392/11/09

تاریخ پذیرش: 1394/02/14

چکیده

روش اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل فرآیندی غیرتخریبی، غیرمستقیم می‌باشد که برای ارزیابی سریع تغییرات فعالیت دستگاه فتوسنتزی کاربرد دارد. به‌منظور تشخیص چگونگی تحت تأثیر قرار گرفتن منحنی‌های القاء فلورسنس (منحنی کاتسکی) و پارامترهای آن، دو آزمایش دُز-پاسخ جهت اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل توسط علف‌کش‌های دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست در دُزهای 0، 81/25، 162/5، 325، 650، 1300، 1950 و 2600 گرم ماده مؤثره در هکتار بر روی 616/5 و 822 گرم ماده مؤثره در هکتار و کلریدازون در دُزهای 0، 81/25، 162/5، 325، 650، 1300، 1950 و 2600 گرم ماده مؤثره در هکتار بر روی دو گونه مهم علف‌های هرز مزارع چغندرقتند شامل سلمه‌تره و خرفه در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال 1392 انجام شد. نتایج حاصل از آزمایشات نشان داد که پارامترهای اندازه‌گیری شده دارای حساسیت‌های متفاوتی نسبت به کاربرد علف‌کش‌ها بودند، بطوریکه در چهار ساعت پس از اعمال دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست در علف‌های هرز مذکور، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم دو (F_v/F_m)، تغییر خاصی نشان نداد در صورتیکه تغییرات نسبی فلورسنس در مرحله J (F_{vj}) و مساحت بین منحنی کاتسکی و F_m (Area) در این بازه زمانی به شدت کاهش پیدا کردند، حال آنکه کلریدازون به دلیل دارا بودن فرمولاسیون پودر و تابله که منجر به حلالیت کمتر و در نهایت نفوذ کمتر علف‌کش به درون بافت گیاه می‌شود، در این بازه زمانی، تغییری در روند منحنی کاتسکی و پارامترهای آن نداشت. علف‌هرز خرفه به دلیل داشتن برگ و ساقه اسفنجی بیشتر تحت تأثیر علف‌کش‌های دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست و کلریدازون قرار گرفت درحالیکه سلمه‌تره به جهت داشتن پوشش سفید و آرد مانند، حساسیت کمتری نسبت به کاربرد این علف‌کش‌ها داشت. در بین پارامترهای فلورسنس اندازه‌گیری شده، پارامتری مناسب و سریع‌تری جهت تشخیص زود هنگام اثرات علف‌کشی بر روی گیاهان مورد آزمایش بود. از آنجا که پارامترهای فلورسنس کلروفیل بلافاصله پس از کاربرد علف‌کش تحت تأثیر قرار گرفتند، بنابراین می‌توانند به‌عنوان ابزاری کاربردی جهت بررسی میزان کارایی علف‌کش در ساعات اولیه پس از سمپاشی در گلخانه و مزرعه مورد استفاده واقع شوند.

واژه‌های کلیدی: دُز - پاسخ، دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست، کلریدازون، کارایی کوانتومی فتوسنتز، منحنی‌های القاء فتوسنتز

مقدمه

دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست (بتانال پروگرس-اواف) و کلریدازون (پیرامین) از مهمترین پهن برگ‌کش‌های انتخابی مزارع چغندرقتند هستند. این علف‌کش‌ها از گروه بازدارندگان فتوسیستم دو که از طریق خاک و شاخ و برگ جذب شده و بصورت پس‌رویشی برای کنترل علف‌های هرز پهن‌برگ در چغندرقتند به کار می‌روند (7 و 9). نحوه عمل این علف‌کش‌ها ممانعت از انتقال الکترون کوئینون‌های اولیه و ثانویه فتوسیستم دو (Q_B و Q_A)، از طریق اتصال با جایگاه Q_B و گرفتن الکترون از Q_A در کلروپلاست است (14، 15 و 26). انتقال الکترون فتوسنتزی پس از آن قطع شده و منجر به بازدارندگی همزمان از تولید ATP و تثبیت کربن خواهد شد (15، 18 و 26). در نتیجه، تنش اکسیداتیو القاء شده منجر به تشکیل اکسیژن

چغندرقتند از محصولات استراتژیک کشورها بوده و در کشورهای جهان سوم به دلیل تأمین بخشی از انرژی مورد نیاز، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این گیاه به علت داشتن تیپ رویشی کند، شدیداً تحت تأثیر علف‌های هرز قرار می‌گیرند. حدود 70 درصد علف‌های هرز مزارع چغندرقتند پهن‌برگ و بقیه باریک‌برگ می‌باشند که در صورت عدم مبارزه با آنها، چغندرقتند از بین خواهد رفت (24).

1، 2 و 3- به ترتیب دکتری علوم علف‌هرز و استادان گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(* - نویسنده مسئول: (Email: a.a.chitband@stu.um.ac.ir)

3- استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

سه مرحله می‌شوند. این سه مرحله شامل O, J, I و P هستند که نشان‌دهنده وقایع فتوشیمیایی مرتبط با فتوسیستم دو بوده و هر کدام از آنها بصورت زیر تعریف می‌شوند: مرحله O-J باعث احیاء کامل شده و بطور طبیعی بین 50 میکروثانیه تا 2 میلی ثانیه طول می‌کشد؛ (2) مرحله J-I مرتبط با انتقال الکترون از Q_A به Q_B می‌شود و معمولاً بین 2 میلی ثانیه تا 30 میلی ثانیه طول می‌کشد؛ (3) مرحله I-P که در آن فرونشانی فلورسانس از طریق اکسیداسیون کامل پلاستوکینون، در فاصله زمانی بین 30 میلی ثانیه تا 500 میلی ثانیه اتفاق می‌افتد (12 و 27). با توجه به محل تأثیر⁴ علف‌کش‌های فنیل کاربامات و بنزوتیادیازینون که منجر به متوقف کردن انتقال الکترون از Q_A به Q_B می‌شوند؛ می‌توان دریافت که مرحله J-I به-عنوان شاخص نحوه عمل علف‌کش‌های این خانواده‌ها حائز اهمیت است (2 و 5) (شکل 1).

شناخت منحنی کاتسکی و پارامترهایی مانند F_v/F_m (حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم دو)، Area (مساحت بین منحنی کاتسکی و F_m) و F_{vj} (تغییرات نسبی فلورسانس در مرحله J) صفات سودمندی به‌منظور کمی کردن اثرات علف‌کش می‌باشند (8 و 17). سودمندی رهیافت اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل به دلیل سازگاری و امکان استفاده از یک وسیله قابل حمل با قابلیت جمع‌آوری سریع داده‌ها و نرم افزار پیشرفته قادر به آنالیز آماری آنها و تشخیص زود هنگام اثرات علف‌کش می‌باشد (17 و 22).

هدف از اجرای تحقیق حاضر، بررسی تأثیر علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست و کلریدازون بر منحنی کاتسکی و پارامترهای فلورسانس کلروفیل و همچنین تشخیص زود هنگام فعالیت این علف‌کش‌ها توسط پارامترهای مذکور در دو گونه غالب علف‌های هرز مزارع چغندرقد بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات علف‌کش‌های بازدارنده فتوسیستم دو بر کنترل علف‌های هرز عمده اراضی چغندرقد (*Beta vulgaris*) مانند سلمه‌تره (*Chenopodium album* L.) و خرفه (*Portulaca oleracea* L.) در مقادیر کاهش یافته، دو آزمایش دژ-پاسخ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال 1392 انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با 6 تکرار برای تیمار شاهد و سه تکرار برای هر تیمار آزمایشی به اجرا درآمد.

اکسیداتیو در نزدیکی مرکز فتوسیستم دو شده¹ و در نهایت منجر به پراکسیده شدن و پروتولیز لیپید و گسیختگی کمپلکس پیگمن‌های پروتئین فتوسیستم دو و مرگ گیاه خواهد شد (13 و 15).

فلورسانس کلروفیل در آزمایشات مربوط به علف‌کش‌ها، برای تعیین متابولیسم علف‌کش در علف‌هرز و گیاه زراعی (2)، تعیین مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها (20) و تشخیص زود هنگام فعالیت دژ کاهش یافته علف‌کش (22) استفاده می‌شود. آنالیز پارامترهای فلورسانس کلروفیل (پارامترهای منحنی کاتسکی² که اولین بار توسط کاتسکی و هیرش در سال 1931 کشف شد (16)) بعنوان ابزار مناسبی برای مشخص کردن وضعیت فیزیولوژیکی دستگاه فتوسنتز، در تحقیقات فتوسنتزی است. فتوسیستم دو یکی از ترکیبات دستگاه فتوسنتزی است که به تنش‌های محیطی و بعضی از عوامل زنده خارجی و همه عواملی که منجر به کاهش معنی‌دار در فعالیت فتوسنتزی می‌شود، حساس است (1). این کاهش می‌تواند بوسیله فلورسانس کلروفیل اندازه‌گیری شود که خود در مطالعات علف‌کش‌های بازدارنده فتوسیستم دو و همچنین علف‌کش‌هایی با نحوه عمل دیگر (ACCase) قابل استفاده است. بعلاوه، این تکنیک می‌تواند برای بررسی مطالعات جذب، انتقال، سمیت‌زدایی و تأثیر مواد افزودنی و برای ارزیابی میزان ریسک بقایای علف‌کش در آب و خاک نیز استفاده شود (8 و 21). همچنین روشی غیرمستقیم، با حساسیت بالا، سریع و با کاربرد آسان و روشی مطمئن برای بررسی میزان خسارت ایجاد شده بوسیله علف‌کش‌هاست (1، 8 و 21).

انرژی نورانی که توسط کلروفیل برگ جذب می‌شود ممکن است وارد یکی از سه مسیر زیر شود: (1) در مسیر شیمیایی فتوسنتزی مصرف شود (2) به‌صورت گرما و یا (3) بصورت نور بازتاب شود (فلورسانس کلروفیل دو). این سه مسیر به صورت رقابتی عمل می‌کنند. افزایش کارایی در یکی از آنها باعث کاهش در یک یا هر دو فرآیند دیگر می‌شود. بنابراین می‌توان با اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل، اطلاعات لازم را در مورد تغییر کارایی فتوشیمیایی و میزان اتلاف گرما بدست آورد (7 و 11). بطور کلی، راندمان فلورسانس با عملکرد فتوشیمیایی نسبت عکس دارد و زمانی که عملکرد فتوشیمیایی در حداقل میزان است، راندمان فلورسانس در بالاترین مقدار خود قرار دارد. بنابراین، تغییر در راندمان فلورسانس بازگوکننده کارایی فتوشیمیایی و میزان انتشار گرمات (11).

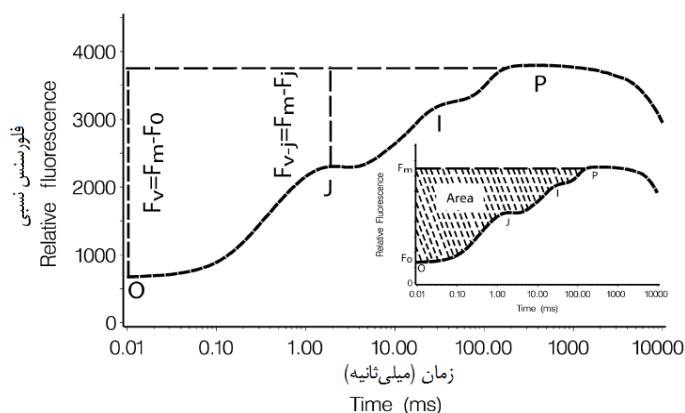
تابش نوری با طول موج 650 نانومتر بر روی برگ‌های سالم سازگار شده در تاریکی³ باعث افزایش خروج کلروفیل فلورسانس در

1- Reactive oxygen species (ROS)

2- Kautsky curve parameters

3- Dark adapted leaves

4- Site of action



شکل 1- منحنی کاتسکی ثبت شده با دستگاه Handy PEA در برگ‌هایی که به مدت 30 دقیقه در تاریکی قرار داده شده‌اند. در این حالت، منحنی کاتسکی از سطوح نقطه O تا نقطه P، بصورت مراحل OJIP مشخص شده که نشاندهنده انتقال الکترون PSII از تجزیهٔ ملکول آب بسمت مخزن PQ می‌باشد.

Figure 1- Kautsky curve recorded with Handy PEA instrument in a 30 minutes dark adapted leaf. The Kautsky curve rise from O to P levels is characterized by the OJIP steps reflecting PSII electron transport from water to PQ pool.

1950 و 2600 گرم مادهٔ مؤثره در هکتار ترکیب تجاری علف‌کش کلریدازون (پیرامین) بودند که به ترتیب بر روی علف‌های هرز سلمه‌تره و خرفه اعمال شدند.

گیاهان در مرحله 4-6 برگی با استفاده از سمپاش متحرک ریلی² مجهز به نازل بادبزی معمولی³ با خروجی 200 لیتر در هکتار با فشار اشش 200 کیلو پاسکال تحت تیمار قرار گرفتند. شرایط محیطی در هنگام پاشش علف‌کش‌ها یکنواخت بود (دما 25 ± 3 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 6 ± 45 درصد). سپس میزان بازدارندگی فتوسنتز در هر دو علف هرز، با استفاده از دستگاه فلورومتر (هندی پی ای، هن ساتچ، انگلستان؛ Handy PEA; Hansatech Instruments, King's Lynn, Norfolk, UK) در فواصل زمانی 4، 24، 48 و 72 و 168 ساعت پس از اعمال تیمارهای مذکور با اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل برگ، که برای تابانیدن نوری با طول موج 650 نانومتر و شدت 3000 میکرومول فوتون در متر مربع در ثانیه به مدت ثانیه 10 کالیبره شده بود، برآورد شد (8). لازم به ذکر است که قبل از اندازه‌گیری با دستگاه مذکور، با بستن کلیپس‌هایی بر روی یک سوم انتهای آخرین برگ تکامل یافته یک بوته در هر گلدان، شرایط سازگاری به تاریکی به مدت 30 دقیقه برای برگ‌ها ایجاد شد. پارامترهای مشتق شده از منحنی کاتسکی که در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند عبارت بودند از:

بذور سلمه‌تره به مدت 3 دقیقه در اسید سولفوریک غلیظ 98 درصد قرار گرفتند تا خواب آنها شکسته شود. سپس به مدت 72 ساعت در دستگاه ژرمیناتور¹ با شرایط دمایی 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و شرایط فتوپریود 18/6 ساعت روشنایی/ تاریکی با شدت نور 18000 لوکس قرار گرفتند. پس از ظهور ساقچه و ریشه‌چه بذور، گیاهچه‌ها در گلدان‌های یک لیتری حاوی خاک، خاکبرگ و ماسه بادی در عمق نیم سانتی‌متر کاشته شدند. درحالی‌که بذور خرفه به‌علت نداشتن خواب، به مدت یک هفته به همراه آب مقطر در دمای 4-5 درجه سانتی‌گراد یخچال نگهداری و سپس بطور مستقیم در گلدان یک لیتری حاوی خاک، خاکبرگ و ماسه بادی در عمق تقریباً نیم سانتی‌متر کاشته شدند. شرایط گلخانه در زمان کاشت بصورت 16 ساعت روشنایی با دمای 4 ± 26 درجه سانتی‌گراد و 8 ساعت تاریکی با 3 ± 18 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 8 ± 50 درصد بود. گلدان‌ها از طریق زیر گلدانی هر دو تا سه روز یکبار آبیاری شدند. در مرحله 2-3 برگی گیاهچه‌های هر گلدان، به چهار گیاهچه تُنک شدند و به میزان 30 میلی لیتر از محلول 0/3 کود (N:P:K) 20:20:20 به هر یک از گلدان‌ها اضافه شد. دمای گلخانه در طول مدت رشد، بین 7 ± 25 درجه سانتی‌گراد در طول روز و 5 ± 20 درجه سانتی‌گراد در طول شب متغیر بود. تیمارهای آزمایش شامل دُزهای 0، 102/75، 51/38، 205/5، 125/41، 308/5، 616/5 و 822 گرم مادهٔ مؤثره در هکتار ترکیب تجاری علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت (بتانال پروگرس-اواف) و 0، 81/25، 162/5، 325، 650، 1300،

2- Matabi 121030 Super Agro 20 l sprayer; Agratech Services-Crop®, Spraying Equipment, Rossendale, UK
3- 8002 flat – fan nozzle

1- Germinator (Grow Chamber, 375 L, Iran)

نمود، چون در این بازه زمانی، اندام‌های کلیه تیمارها بجز دُرهای اولیه 51/38 و 102/75 گرم ماده مؤثره در هکتار از بین رفته بودند (شکل 2، g و h).

به نظر می‌رسد که نوع گونه علف‌هرز نیز در جذب و نفوذ علف-کش‌ها به درون گیاه و نهایتاً در غلظت مؤثر به جایگاه هدف می‌تواند مهم باشد، بطوریکه به نظر می‌رسد علف‌هرز سلمه‌تره به جهت داشتن پوشش سفید و آرد مانند خود مانع از رسیدن بخشی از علف‌کش به سطح لایه کوتیکولی می‌شود. به عبارت دیگر، علف‌کش‌ها تمام سطح برگ گیاه را پوشش نمی‌دهند. از این‌رو، در این گونه از علف‌هرز نسبت به علف‌هرز خرفه برای جذب و انتقال سریع و رسیدن به دُر مؤثر در جایگاه هدف به ویژه روی دستگاه فتوسنتزی، به مقدار بیشتری از علف‌کش (با توجه به مسیرهای ورودی کمتر و عدم پوشش کامل لایه کوتیکولی برگ توسط علف‌کش) نیاز است. عباسپور و استریبیگ (2) و عباسپور و همکاران (3)؛ بیان نمودند که منحنی کاتسکی تحت تأثیر شرایط محیطی مختلف مانند تنش‌های دمایی، آب، فراهمی منابع غذایی گیاه و حتی نوع گونه علف‌هرز قرار می‌گیرد. به علاوه، اختلاف در پاسخ بین ویژگی‌های مرفولوژیکی گیاه در تفاوت نوع گونه علف‌هرز کاملاً مشهود است. علف‌کش کلریدازون چهار ساعت پس از اعمال در علف‌هرز سلمه‌تره، در کلیه دُرهای، منحنی کاتسکی نسبت به تیمار شاهد تغییر محسوس را نشان نداد و در بازه زمانی 24 ساعت پس از سمپاشی در کلیه دُرهای، تا حدودی منحنی کاتسکی را متأثر ساخته بود که این مقدار قابل اغماض بود (شکل 3، a و c). در بازه‌های زمانی 48 و 72 ساعت، تغییر منحنی کاتسکی در دُرهای اولیه اندک ولی در دُرهای حداکثر 1950 و 2600 گرم ماده مؤثره در هکتار، تغییرات شدید بود. در حالیکه در بازه زمانی 168 ساعت، کلیه دُرهای شکل و فرم منحنی مذکور را از مرحله J به بعد (I-P و J) کاملاً تغییر داده و به خطی مستقیم تبدیل کرده بودند (شکل 3، a، c، e و g). همچنین، علف‌کش کلریدازون در چهار ساعت پس از اعمال در علف‌هرز خرفه نیز تغییر خاصی را نسبت به تیمار شاهد نشان نداد و در بازه 24 ساعت در دُرهای اولیه بدون تأثیر ولی در دُرهای حداکثر به ویژه دُر 2600 گرم ماده مؤثره در هکتار، منحنی کاتسکی را متأثر ساخته بود. سایر بازه‌های زمانی 48، 72 و 168 ساعت پس از سمپاشی، مشابه علف‌هرز سلمه‌تره بود (شکل 3، d، f و h).

علیرغم بازدارندگی از فتوسیستم دو توسط علف‌کش کلریدازون، شدت اثر آن در بازه‌های زمانی و دُرهای متفاوت کاربردی کمتر از دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست بود، که علت را می‌توان در حلالیت کمتر، ته‌نشست و رسوب کردن کلریدازون در مخزن سمپاش در هنگام سمپاشی در مقایسه با علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست دانست. همچنین، به لحاظ شدت تأثیر، علف‌های هرز خرفه حساسیت بیشتری در مقایسه با سلمه‌تره نسبت به کاربرد بازدارندگان فتوسیستم دو از خود نشان داد. به نظر می‌رسد که این علف‌هرز به دلیل داشتن برگ و ساقه اسفنجی بیشتر تحت تأثیر

$$(F_m - F_o) / F_m = F_v / F_m \quad (1)$$

$$(F_m - F_j) / F_m = F_{vj} \quad (2)$$

$$\text{Area} \quad (3)$$

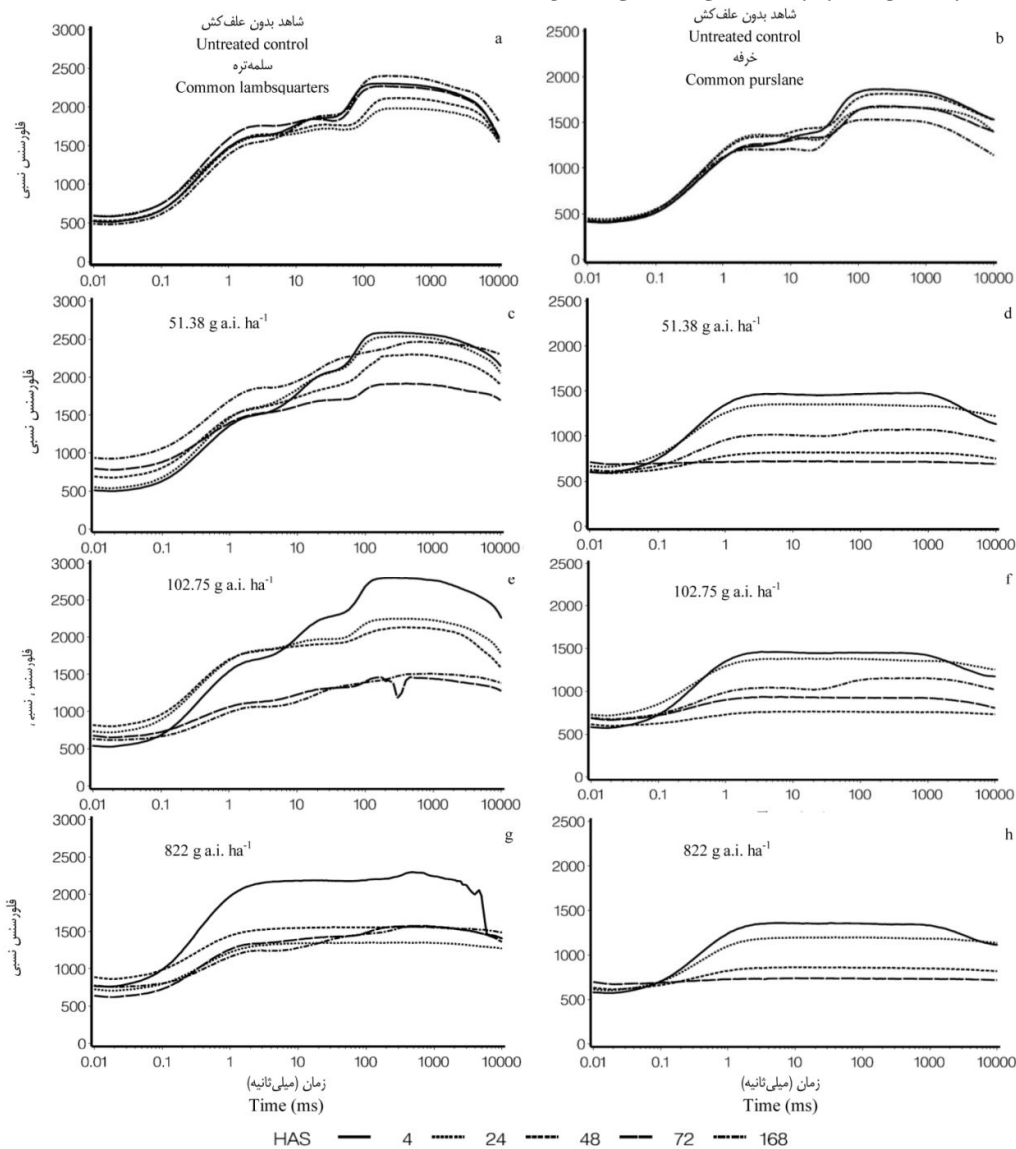
در معادلات فوق، F_m : فلورسنس حداکثر، F_o : فلورسنس پایه، F_j : فلورسنس در مرحله J، Area: مساحت بین منحنی کاتسکی و F_m می‌باشد (شکل 1). به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها و ترسیم شکل‌ها از نرم افزار PEA Plus استفاده شد. همچنین برای بررسی اثرات زمان و دُر در منحنی کاتسکی، داده‌های برداشت شده توسط دستگاه فلورومتر، از برنامه بایولایزر¹ و نرم افزار SAS 9.1 (23) استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که چهار ساعت پس از اعمال علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست در علف‌های هرز سلمه‌تره در دُر مصرفی 51/38 گرم ماده مؤثره در هکتار، تغییر محسوسی نسبت به تیمار شاهد مشاهده نشد ولی در دُرهای حداکثر 616/5 و 822 گرم ماده مؤثره در هکتار منحنی کاتسکی را خطی کرده بود. در 24، 48 و 72 ساعت پس از اعمال تیمار، منحنی کاتسکی در کلیه دُرهای نسبت به تیمار شاهد صاف و مستقیم شده بود (شکل 2، a و c). در صورتیکه چهار ساعت پس از اعمال علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست در علف‌هرز خرفه از همان اولین دُر مصرفی (51/38 گرم ماده مؤثره در هکتار) تا حداکثر دُر 822 گرم ماده مؤثره در هکتار، منحنی کاتسکی تحت تأثیر قرار گرفته بود و در بازه‌های زمانی 24، 48 و 72 ساعت پس از سمپاشی در کلیه دُرهای، منحنی کاتسکی به شدت متأثر شده و میزان فلورسنس کاهش یافته بود بطوریکه شکل و فرم منحنی مذکور از مرحله J به بعد (I-P و I-J) کاملاً تغییر شکل داده و خطی شد (شکل 2، b و d). این امر به دلیل تأثیر زیاد این علف‌کش بر روی دستگاه فتوسنتزی بود که حتی در دُرهای کمتر از نصف ماده مؤثره توصیه شده هم بر روند بازتاب فلورسنس کلروفیل تأثیر داشت. کریستین و همکاران (8) نیز بیان نمودند که در کاربرد علف‌کش بنتازون (بازدارنده فتوسیستم دو و گروه بنزوتیادبازینون) بر روی علف‌هرز خردل وحشی (*Sinapis alba*)، این علف‌کش بطور مؤثری روند منحنی کاتسکی تحت تأثیر قرار داد. همچنین، عباسپور و همکاران (3) مشاهده کردند که کاربرد دو علف‌کش تمامیترون و تربوتیلازین (بازدارندگان فتوسیستم دو) تحت تأثیر دُرهای بالا (1-10 میلی‌گرم ماده مؤثره در هکتار)، منحنی کاتسکی را بطور تغییر ناپذیری در گیاه چغندرقد در 2 ساعت پس از اعمال علف‌کش‌های مذکور کاهش داد و در نهایت منجر به مرگ گیاه شد. بازه زمانی 168 ساعت پس از اعمال علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست مناسب برای اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل

علف‌های هرز با شدت کمتری اُفت پیدا نمود.

علف‌کش‌های دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست و کلریدازون قرار گرفت، در صورتیکه علف‌هرز سلمه‌تره به علت داشتن پوشش سفید آرد مانند کمتر متأثر شده و مقاومت بیشتری نسبت به کاربرد این علف‌کش‌ها از خود نشان داده و روند منحنی کاتسکی در این



شکل 2- تأثیر علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست در طی بازه‌های زمانی متفاوت بر روند منحنی کاتسکی در دو علف‌هرز سلمه‌تره (سمت چپ) و خرغه (سمت راست)، تیمار شاهد، (a-b) دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست در دزهای 51/38، (c-d) دز 102/75 و (e-f) دز 822 گرم ماده مؤثره در هکتار؛ HAS: ساعات پس از سمپاشی

Figure 2- Effect of different doses of desmedipham + phenmedipham + ethofumesate on the shape of the Kautsky curves at common lambsquarters (left) and common purslane (right), untreated control (a-b), desmedipham + phenmedipham + ethofumesate at 51.38 g a.i. ha⁻¹ (c-d), 102.75 g a.i. ha⁻¹ (e-f) and 822 g a.i. ha⁻¹ (g-h), HAS: hours after spraying.

تاریکی، فلورسانس از حالت پایه F_0 در مرحله O به بالاترین میزان

در توضیح روند تغییرات منحنی کاتسکی در تیمار با علف‌کش می‌توان بیان کرد که طی تابش نور به یک برگ سازش یافته به

همانند خرفه تغییر محسوس را نسبت به سایر بازه‌ها نشان نداد در حالیکه دُزهای مختلف این علف‌کش در سایر بازه‌های زمانی، بطور معنی‌داری کاهش پیدا کردند. دو پارامتر دیگر منحنی کاتسکی، یعنی F_{vj} و Area روند نزولی معنی‌داری را در کلیه دُزها و بازه‌های زمانی نشان داده و به صفر نزدیک شدند (شکل 4، a، c، e). الهی فرد و همکاران (10) نیز در چهار ساعت پس از کاربرد علف‌کش متری-بیوزین بر روی بیوتیپ‌های حساس علف‌هرز ذُرته (*Echinochloa colona*) مشاهده نمودند که حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم دو (F_v/F_m)، تغییرات نسبی فلورسنس در مرحله J (F_{vj}) و مساحت بین منحنی کاتسکی و F_m (Area) بشدت کاهش پیدا نمود.

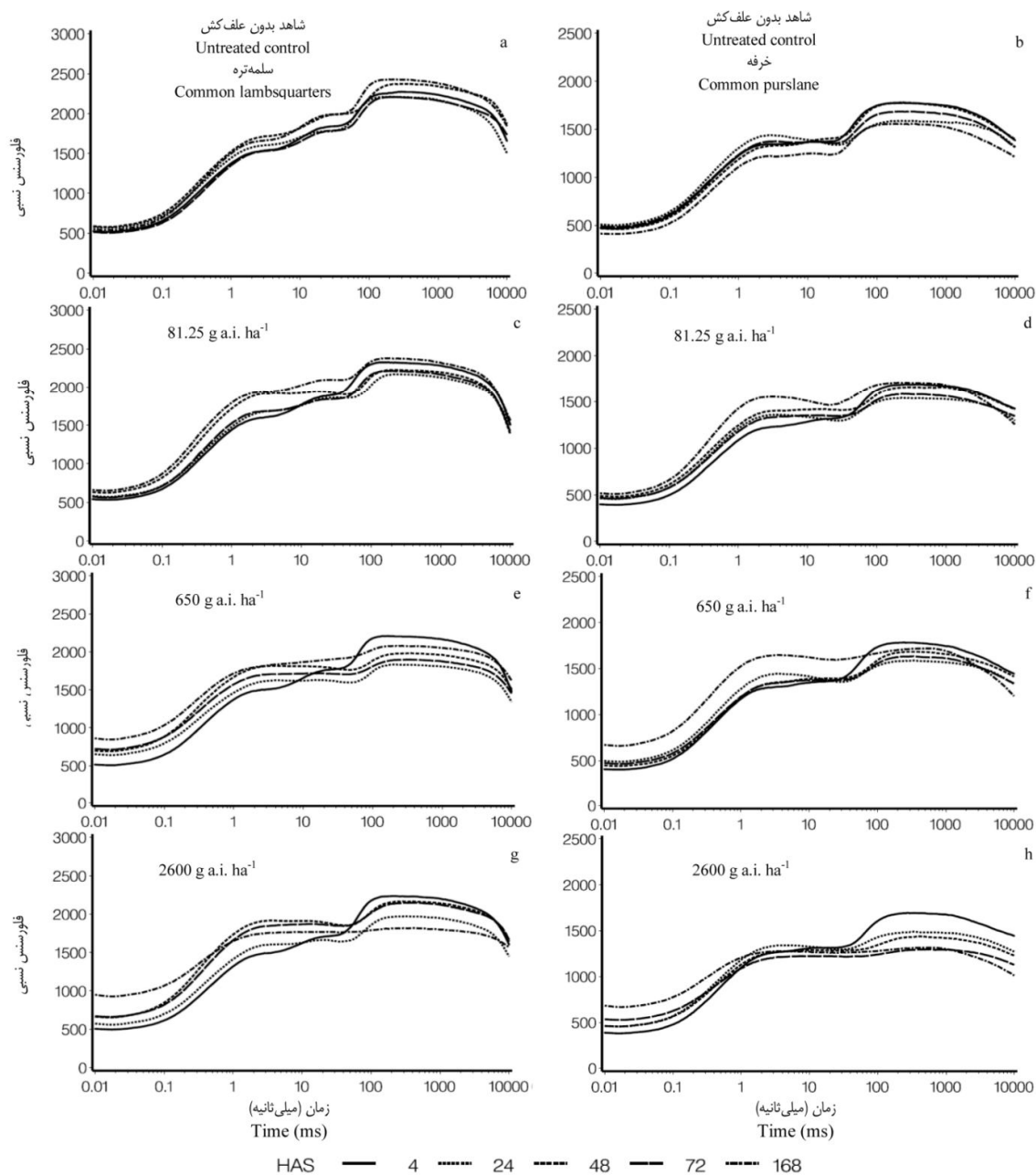
شکل 5 روند تغییرات پارامترهای F_v/F_m ، Area و F_{vj} در مقادیر مختلف علف‌کش کلریدازون در علف‌های هرز خرفه و سلمه‌تره نشان می‌دهد. همانطور که در شکل 5 (a، b) مشاهده می‌شود در چهار ساعت پس از پاشش در علف‌های هرز خرفه و سلمه‌تره، روند پارامتر F_v/F_m طی دُزهای متفاوت، ثابت بود در حالیکه روند این پارامتر در سایر بازه‌های زمانی رو به کاهش بود ولی این کاهش معنی‌دار نبود. در علف‌هرز سلمه‌تره چهار ساعت پس از اعمال علف‌کش کلریدازون، هر سه پارامترهای F_v/F_m ، Area و F_{vj} روند ثابت و یکنواختی را داشتند. در 24 ساعت پارامتر F_v/F_m ثابت در حالیکه دو پارامتر Area و F_{vj} سیر نزولی پیدا نمودند. در بازه‌های زمانی 48 و 72 ساعت هر سه پارامتر کاهش پیدا کردند و در 168 ساعت هر سه پارامتر کاهش معنی‌داری در تمام دُزها بخصوص در دُزهای حداکثر (1300، 1950 و 2600 گرم ماده مؤثره در هکتار) این علف‌کش نشان دادند که سیر نزولی در پارامتر F_{vj} شدیدتر بود (شکل 5، a، c و e). در علف‌هرز خرفه پارامتر Area دارای فرم ثابتی بوده و فقط در دُزهای بالاتر از 1000 گرم ماده مؤثره در هکتار و بازه‌های زمانی 72 و 168 ساعت کاهش یافته بودند ولی پارامتر F_{vj} در کلیه بازه‌های زمانی و دُزهای بکار رفته این علف‌کش، کاهش شدیدی را نشان داد (شکل 5، d و f). کورس و همکاران (19) تحقیقی به منظور بررسی میزان حساسیت وارپته‌های گندم به علف‌کش کلروتولورون (گروه اوره‌ها و بازدارنده فتوسیستم دو) اظهار داشتند که مساحت بالای منحنی فلورسنس کلروفیل (Area) و نسبت F_v/F_m پارامترهای مناسبی به منظور تشخیص تفاوت پاسخ به علف‌کش در میان ارقام گندم زمستانه بود. کریستین و همکاران (8) گزارش دادند که از بین سه پارامتر F_v/F_m ، Area و F_{vj} منحنی کاتسکی، F_{vj} حساسیت بیشتری در کاربرد به علف‌کش بنتازون (بازدارنده فتوسیستم دو و از گروه بنزوتیادیازینون) بر روی علف‌هرز خردل وحشی (*Sinapis alba* L.) نشان داد. هر سه پارامتر از بازه زمانی 24 ساعت به بعد روند کاهش معنی‌داری را داشتند و در 168 ساعت پس از سمپاشی به حداکثر مقدار کاهش خود رسیدند و پارامترهای Area و F_{vj} به صفر رسیدند. عباسپور و همکاران (3) نیز گزارش نمودند که در 2 ساعت

خودش F_m در مرحله P در طی یک ثانیه می‌رسد و در این مرحله Q_A (اولین پذیرنده الکترون از PSII) کاملاً احیا شده است. افزایش F_0 نشان‌دهنده گسیل فلورسنس در زمانیکه پذیرنده‌های الکترون فتوسیستم دو کاملاً اکسید شده، می‌باشد. افزایش در فلورسنس از F_0 تا F_m (ماکزیمم یا پیک) به علت کاهش Q_B مخزن بزرگی از پلاستوکوئینون می‌باشد (20). در گیاهان تیمار نشده، سطح فلورسنس در بازه زمانی 5 تا 10 ثانیه پس از پاشش به F_m افزایش می‌یابد و سپس به مرحله حالت ثابت F_t (فلورسانس نهایی)، کاهش می‌یابد. در گیاهان تیمار نشده یا گیاهان قادر به متابولیسم علف‌کش‌های بازدارنده فتوسیستم دو، بازگشت فلورسنس (اکسیداسیون پذیرنده‌های الکترون فتوسیستم دو) چند ثانیه پس از F_m شروع می‌شود (6 و 16). در صورتیکه در گیاهان تیمار شده با علف‌کش‌های بازدارنده فتوسیستم دو، بمحض رسیدن تشعشع به نمونه‌های برگی قرار گرفته شده در شرایط تاریکی، Q_A (پروتئین D_2) احیاء شده و فلورسنس افزایش پیدا می‌کند، از طرفی این علف‌کش‌ها با پلاستوکوئینون روی کمپلکس پذیرنده کوئینون (پروتئین D_1)، برای جایگاه پیوندی Q_B رقابت می‌کنند (5). بنابراین، پیوند این علف‌کش‌ها با Q_B مانع اکسیداسیون مجدد Q_A توسط Q_B شده و به موجب آن مانع جریان الکترون از طریق فتوسیستم دو و در نهایت توقف فتوستنز می‌شوند (20). در این گیاهان، فلورسنس پس از رسیدن به مرحله F_m بطور جزئی کاهش پیدا می‌کند (15) (شکل 2).

برای توضیح روند تغییرات منحنی کاتسکی، پارامترهای F_v/F_m ، Area و F_{vj} در مقادیر مختلف دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت در شکل 4 در علف‌های هرز خرفه و سلمه‌تره آورده شده است. همانطور که در شکل 4 (a، b، d، f) مشاهده می‌شود در چهار ساعت پس از پاشش در علف‌هرز خرفه، روند پارامتر F_v/F_m در طی دُزهای متفاوت کاهش اندکی را نشان داد بطوریکه این کاهش در مقایسه با سایر دُزها و بازه‌های زمانی محسوس نبود، در حالیکه دُزهای مختلف این علف‌کش در سایر بازه‌های زمانی، بطور معنی‌داری کاهش پیدا کردند. دو پارامتر دیگر منحنی کاتسکی، یعنی F_{vj} و Area روند نزولی معنی‌داری را در کلیه دُزها و بازه‌های زمانی داشتند (شکل 4، b، d، f). در گیاه خرفه در بازه زمانی 168 ساعت پس از سمپاشی، پارامتر F_v/F_m نیز روند کاهش معنی‌داری را نشان داد بطوریکه از دُز کاربردی 205/5 تا 822 گرم ماده مؤثره در هکتار، روند این بازه زمانی به علت از بین رفتن دستگاه فتوستنزی گیاه قطع شده بود و دو پارامتر دیگر منحنی کاتسکی Area و F_{vj} به صفر رسیدند (شکل 4، b، d، f). تأثیر علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت بر علف‌هرز سلمه‌تره تقریباً مشابه با علف‌هرز خرفه بوده ولی شدت اثر آن کمتر بود (شکل 4، a، c، e). در چهار ساعت پس از پاشش در علف‌هرز سلمه‌تره، روند پارامتر F_v/F_m در طی دُزهای متفاوت نیز

این علف کش در دُزهای کمتر از نصف ماده مؤثره در لیتر قرار گرفتند.

پس از اعمال علف کش متامیترون (بازدارنده فتوسیسستم دو و از پهن برگ کش های مهم ارضی چغندر قند) بر روی گیاه زراعی چغندر قند در مرحله 4 تا 6 برگی، هر سه پارامتر F_v/F_m ، Area و F_{vj} تحت تأثیر

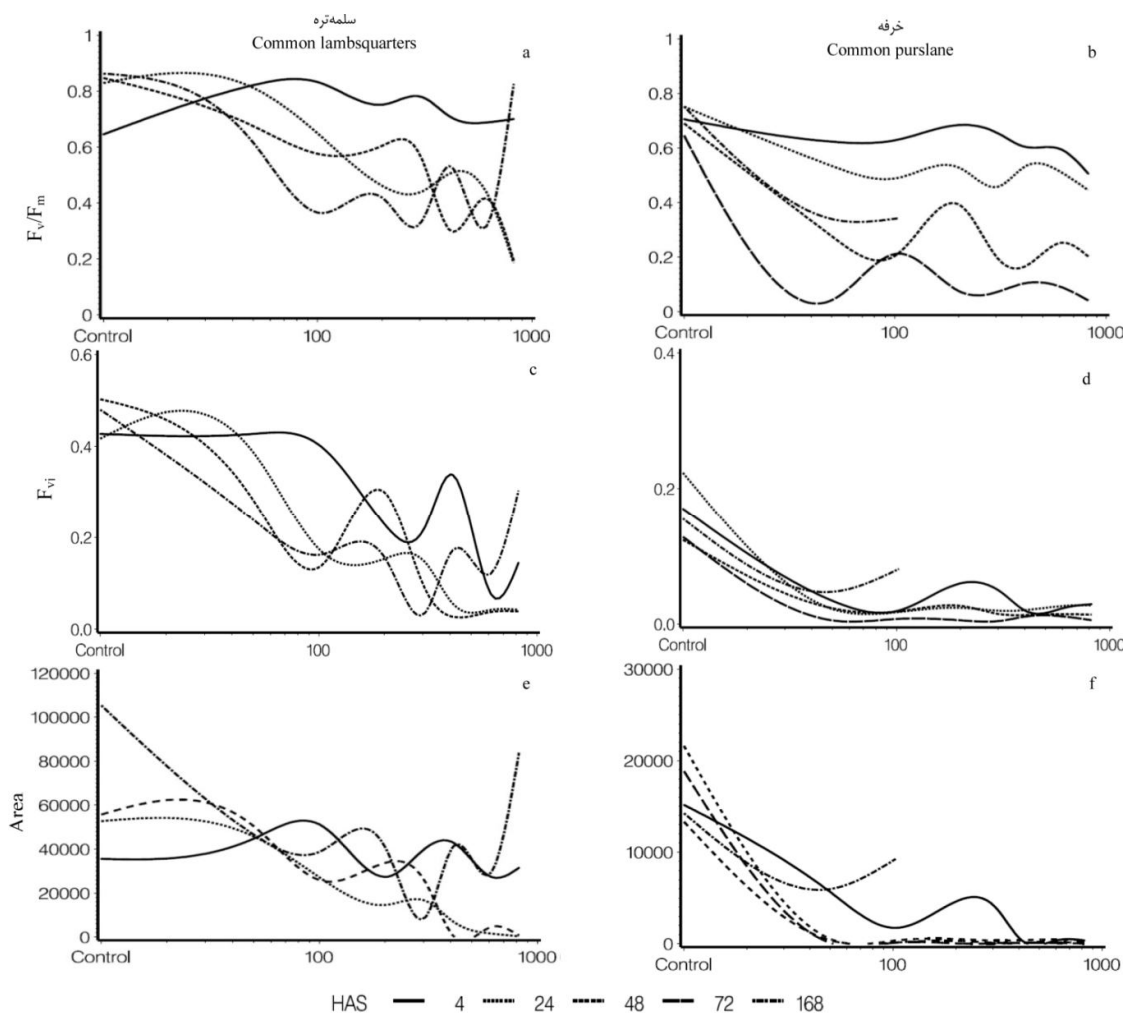


شکل 3- تأثیر علف کش کلریدازون در طی بازه های زمانی متفاوت بر روند منحنی کاتسکی در دو علف هرز سلمه تره (سمت چپ) و خرفه (سمت راست)، تیمار شاهد، (a-b)، کلریدازون در دُزهای 81/25، (c-d)، 650 و 2600 دُز 2600 گرم ماده مؤثره در هکتار؛ HAS: ساعات پس از سمپاشی

Figure 3- Effect of different doses of chloridazon on the shape of the Kautsky curves at common lambsquarters (left) and common purslane (right), untreated control (a-b), chloridazon at 81.25 g a.i. ha⁻¹ (c-d), 650 g a.i. ha⁻¹ (e-f) and 2600 g a.i. ha⁻¹ (g-h), HAS: hours after spraying

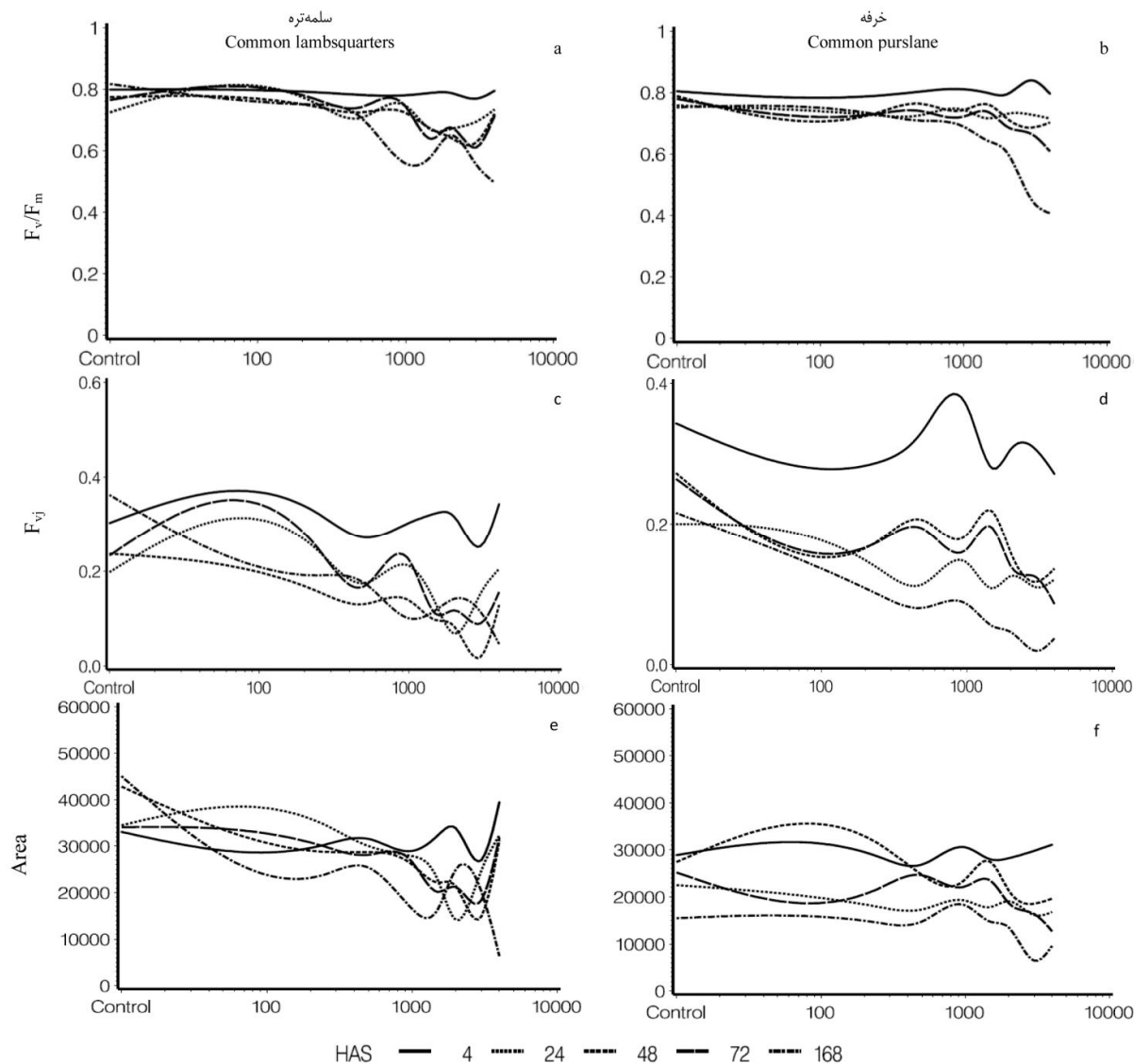
همچنین، محققین دیگری نیز با بررسی پارامترهای مربوط به منحنی کاتسکی (F_v/F_m , Area, F_{vj}) بر روی علف‌های هرزی مانند تاج‌ریزی سیاه (*Solanum nigrum* L.) (2 و 22)، یولاف وحشی (*Avena ludoviciana* Durieu.) (1) خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.) (4) توانستند اطلاعات مفیدی را قبل از بروز علائم مربوط به تأثیر علف‌کش‌های به کار برده شده بدست آورند.

علف‌کش کلریدازون در علف‌هز سلمه‌تره واکنش کمتری را در مقایسه با علف‌هز خرفه نشان داد بطوریکه پارامترهای F_v/F_m , Area و F_{vj} مربوط به منحنی کاتسکی این علف‌کش در 4، 24 و 48 ساعت پس از اعمال، روند تقریباً ثابت و یکنواختی را از خود نشان دادند. در بازه زمانی 72 ساعت، فقط در دُزهای حداکثر روند نزولی مشهودی در این علف‌هز رخ داد و در بازه 168 ساعت، تقریباً در تمام دُزها کاهش معنی‌داری را در روند هر سه پارامتر F_v/F_m , Area و F_{vj} مشاهده شد (شکل 5 a, c و e).



شکل 4- تأثیر علف‌کش دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیسیت بر پارامترهای F_v/F_m , F_{vj} و Area در علف‌هز سلمه‌تره (سمت چپ) و خرفه (سمت راست) در طی بازه‌های زمانی متفاوت؛ HAS: ساعات پس از سمپاشی

Figure 4- Effect of desmedipham + phenmedipham + ethofumesate on F_v/F_m , F_{vj} and Area parameters in common lambsquarters (left) and common purslane (right) at different time periods, HAS: hours after spraying



شکل 5- تأثیر علف کش کلریدازون بر پارامترهای F_v/F_m ، F_{vj} و Area در علف‌هرز سلمه‌تره (سمت چپ) و خرفه (سمت راست) در طی بازه‌های زمانی متفاوت؛ HAS: ساعات پس از سمپاشی

Figure 5- Effect of chloridazon on F_v/F_m , F_{vj} and Area parameters in common lambsquarters (left) and common purslane (right) at different time periods, HAS: hours after spraying

آزمایشات دژ - پاسخ، بویژه برای علف‌کش‌های بازدارنده فتوسنتز دو است. چالش‌های واقعی آزمایشات آینده، آنالیز اثرات متقابل بین محیط (یعنی نور، دما، مرحله رشد گیاه زراعی و نوع گونه مورد مطالعه) و پارامترهای فلورسنس در زمان تیمار با علف‌کش خواهد بود. بنابراین، منحنی کاتسکی می‌تواند برای کوتاه کردن طول دوره غربالگری خصوصا در تحقیقات جدید، بهبود فرمولاسیون و مواد افزودنی، به‌علت درجه ارتباط و همبستگی بین پارامترهای منحنی کاتسکی و مقادیر ماده خشک در یک تا دو هفته بعد از تیمار مورد

نتیجه گیری کلی

پارامترهای گوناگون فلورسنس می‌تواند برای تشریح اثرات بازدارندگان فتوسنتز دو در گونه‌های مختلف گیاهی مورد استفاده قرار گیرد. به‌نظر می‌رسد که پارامتر کلاسیک F_v/F_m حساسیت کمتری نسبت به پارامتر F_{vj} برای شناسایی تغییرات ایجاد شده در دستگاه فتوسنتز داشته باشد. فلورسنس کلروفیل به‌عنوان ابزاری بسیار حساس و قادر به تشخیص تأثیر زود هنگام علف‌کش تنها چند ساعت پس از کاربرد نسبت به روش‌های کلاسیک غربالگری علف‌کش‌ها و

مهندس محبوبه نبی‌زاده بخاطر مساعدت و همکاری ارزنده‌ای که در طی انجام این پژوهش داشته‌اند، کمال تشکر و قدردانی را داشته باشیم.

استفاده قرار گیرد.

سیاسگزاری

لازم است که از آقای دکتر مهدی نصیری محلاتی و خانم

منابع

- 1-Abbaspoor M., and Streibig J.C. 2005. Clodinafop changes the chlorophyll fluorescence induction curve. *Weed Science*. 53: 1-9.
- 2-Abbaspoor M., and Streibig J.C. 2007. Monitoring the efficacy and metabolism of phenylcarbamates in sugar beet and black nightshade by chlorophyll fluorescence parameters. *Pest Management Science*. 63: 576-585.
- 3-Abbaspoor M., Teicher H.B. and Streibig J.C. 2006. The effect of root-absorbed PSII inhibitors on Kautsky curve parameters in sugar beet. *Weed Research*. 46: 226-235.
- 4-Avareseji Z., Rashed Mohassel M.H., Nezami A., Abbaspoor M. and Nassiri Mahallati M. 2012. Dicamba + 2, 4-D affects the shape of the Kautsky curves in wild mustard (*Sinapis arvensis*). *Plant Knowledge Journal*. 1(2): 41-45.
- 5-Baker N.R., and Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Experimental Botany*. 55: 1607-1621.
- 6-Barbagallo R.P., Oxborough K., Pallett K.E. and Baker N.R. 2003. Rapid, non-invasive screening for perturbations of metabolism and plant growth using chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiology*. 132: 485-493.
- 7-Chitband A.A., Ghorbani R., Rashed Mohassel M.H., Abbaspoor M. and Abbasi R. 2014. The effect of PSII inhibitors on Kautsky curve and chlorophyll fluorescence in common lambsquarters (*Chenopodium album* L.) and common purslane (*Portulaca oleracea* L.). p. 1-5. In Proceeding of the 1st International and 13th Iranian Crop Science Congress, 3rd Iranian Seed Science and Technology Conference, 24-26 Aug. 2014. Seed and Plant Improvement Institute Karaj, Iran. (in Persian with English abstract)
- 8-Christensen M.G., Teicher H.B. and Streibig J.C. 2003. Linking fluorescence induction curve and biomass in herbicide screening. *Pest Management Science*. 59:1303-1310.
- 9-Deveikyte I., and Seibutis V. 2008. Effects of the phenmedipham, desmedipham, ethofumesate, metamitron and triflusulfuron-methyl on weeds and sugar beet. *Lucrari stiintifice Universitatea de stiinta agricole si medicina veterinara Ion Ionescu de la Brad. Seria Agronomia*. 5: 278-286p.
- 10-Elahifard E., Ghanbari A., Rashed Mohassel M.H., Zand E. and Mirshamsi A. 2013. Effect of metribuzin on Kautsky curve and chlorophyll fluorescence parameters in *Echinochloa colona* sensitive and tolerance biotypes in greenhouse condition. *Journal of Plant Protection*. 27(2): 246-254. (in Persian with English abstract)
- 11-Fai P.B., Grant A., and Reid B. 2007. Chlorophyll a fluorescence as a biomarker for rapid toxicity assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 26: 1520-1531.
- 12-Force L., Critchey C. and Rensen J.V. 2003. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. *Photosynthesis Research*. 78: 17-33.
- 13-Fufezan C., Rutherford A.W. and Liszkaya A.K. 2002. Singlet oxygen production in herbicide-treated photosystem II. *FEBS Letters*. 532: 407-410.
- 14-Govindjee A., Xu C., Schansker G. and Rensen J.V. 1997. Chloroacetates as inhibitors of photosystem II: effects on electron acceptor side. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 37: 107-117.
- 15-Hess F.D. 2000. Light-dependent herbicides: an overview. *Weed Science*. 48: 160-170.
- 16-Kautsky H., and Hirsch A. 1931. New experiments on carbon dioxide assimilation. *Naturewissenschaften*. 19: 964.
- 17-Klem K., Spundova M., Hrabalova H., Naus J., Vanova M., Masojidek J. and Tomek P. 2002. Comparison of chlorophyll fluorescence and whole-plant bioassays of isoproturon. *Weed Research*. 42(5): 335-341.
- 18-Kohno H., Ohki A. and Ohki S. 2000. Low resistance against novel 2-benzylamino-1,3,5- triazine herbicides in atrazine resistant *Chenopodium album* plants. *Photosynthesis Research*. 65: 115-120.
- 19-Korres N.E., Froud-Williams R.J. and Moss S.R. 2003. Chlorophyll fluorescence technique as a rapid diagnostic test of the effects of the photosynthetic inhibitor chlorotoluron on two winter wheat cultivars. *Annual Applied Biology*. 143(1): 53-56.
- 20-Norsworthy J.K., Talbert R.E. and Hoagland R.E. 1998. Chlorophyll fluorescence for rapid detection of propanil-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). *Weed Science*. 46:163-169.
- 21-Percival M.P., and Baker N.R. 1991. Herbicides and photosynthesis. p. 1-26. In Baker N.R., and Percival M.P. (ed.) *Herbicides*. London, Elsevier.
- 22-Riethmuller-Haage I., Lammert B., Kropff M.J., Harbinson J. and Kempenaar C. 2006. Can photosynthesis-related parameters be used to establish the activity of acetolactate synthase-inhibiting herbicides on weeds? *Weed Science*. 54: 974-982.

- 23-[SAS] Statistical Analysis Systems. 2003. The SAS System for Windows. Release 9.1. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- 24-Sester M., Darmency H. and Colbach N. 2012. Contribution of ground keepers vs. weed beet to gene escape from sugar beet (*Beta vulgaris* spp.). Consequences for growing genetically-modified sugar beet – A modelling approach. Field Crops Research. 135: 46–57.
- 25-Strasser R.J., and Stirbet A.D. 2001. Estimation of the energetic connectivity of PSII centres in plants using the fluorescence rise O-J-I-P. fitting of experimental data to three different ps ii models. Mathematics and Computers in Simulation. 56: 451–461.
- 26-Van Rensen J.J.S., Xu C. and Govindjee A. 1999. Role of bicarbonate in photosystem II, the water-plastoquinone oxido-reductase of plant photosynthesis. Physiologia Plantarum. 105: 585–592.
- 27-Vredenberg W. 2008. Analysis of initial chlorophyll fluorescence induction kinetics in chloroplasts in terms of rate constants of donor side quenching release and electron trapping in photosystem II. Photosynthesis Research. 96: 83–97.