نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۹، شماره ۱، بهار ۱۳۹۴، ص. ۴۲-۳۲

Journal of Plant Protection
Vol. 29, No. 1, Spring 2015, P. 32-42

بررسی منحنی کاتسکی و پارامترهای فلورسانس کلروفیل تحت تأثیر دو علف کش کلودینافوپ و Dicamba+2, 4-D

زینب اورسجی[1*]- محمد حسن راشد محصل[2]- احمد نظامی[3]- مجید عباسپور[4]- مهدی نصیری محلاتی[5]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۵/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۹/۱۱

چکیده

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل، روشی غیر تخریبی، سریع و بسیار حساس است که اطلاعات مهمی، در رابطه با دستگاه فتوسنتز گیاه به‌دست می‌دهد. دو آزمایش گلخانه‌ای هر کدام با پنج تکرار، جهت بررسی پارامترهای فلورسانس کلروفیل و منحنی کاتسکی در یولاف وحشی و خردل وحشی به ترتیب تحت تاثیر علف کش کلودینافوپ و Dicamba+2, 4-D انجام شد. نتایج، کاهش معنی‌داری در روند پارامترهای F_v/F_m، F_{vj} و Area پنج روز پس از پاشش علف کش کلودینافوپ نسبت به شاهد بدون مبارزه نشان داد در حالی که این روند یک روز پس از پاشش معنی‌دار نبود. شکل منحنی کاتسکی پنج روز پس از پاشش تحت تاثیر کلودینافوپ قرار گرفت و حداکثر فلورسانس کلروفیل (F_m) کاهش معنی‌داری پیدا کرد. پارامترهای فلورسانس کلروفیل، یک هفته زودتر از عوارض ظاهری کلودینافوپ، که به صورت زردی و خشکی برگ‌ها بروز پیدا کردند، تحت تاثیر قرار گرفت. از این خصوصیت فلورسانس کلروفیل می‌توان برای بررسی سریع و آسان‌تر کارایی علف کش‌ها نسبت به روش کلاسیک (اندازه‌گیری وزن خشک یا وزن تر) استفاده کرد. در علف هرز خردل وحشی، منحنی کاتسکی یک روز پس از پاشش علف کش Dicamba+2, 4-D در دزهای بالاتر (۳۷۱/۲ و ۱۶۵/۱ گرم ماده موثره در هکتار) دچار تغییر شد. در روز دوم پس از پاشش، کاهش فلورسانس کلروفیل، پس از زمان ۱۰۰۰ میلی ثانیه در دز توصیه شده (۳۷۱/۲ گرم ماده موثره در هکتار) اتفاق نیفتاد، اما در بقیه دزها این کاهش در هر دو روز اول و دوم پس از پاشش بوجود آمد. در نهایت اگرچه این دو علف کش بازدارنده مستقیم فتوسیستم دو نیستند اما باعث تغییر شکل منحنی کاتسکی، قبل از بروز عوارض ظاهری علف کش شدند.

واژه‌های کلیدی: F_v/F_m، F_{vj}، Area، برگ‌های سازش یافته به تاریکی

مقدمه

فلورسانس کلروفیل a به دلیل پیوند پیچیده با فرآیندهای متعددی که در جریان تبدیل انرژی نورانی به شیمیایی اتفاق می‌افتد، پنجره‌ای به قلب فتوسنتز گیاه است (۱۶ و ۲۵). انرژی نورانی جذب شده توسط گیرنده‌های آنتنی، که در مسیر فتوسنتزی مصرف نمی‌شوند، به صورت گرما یا فلورسانس تخلیه می‌گردد. این سه مسیر به گونه‌ای، رقابتی عمل می‌کنند و افزایش کارآیی در یکی از آن‌ها باعث کاهش بقیه می‌شود.

طول موج طیف فلورسانس از طیف نور جذب شده توسط کلروفیل بیش‌تر است. بنابراین، عملکرد فلورسانس را می‌توان با قرار دادن یک برگ در برابر طول موج تعریف شده‌ای از نور و اندازه‌گیری میزان نور ساطع شده با طول موج بلندتر، کمّی کرد (۱۶). تابش نوری با طول موج ۶۵۰ نانومتر به برگ سالم قرار گرفته در تاریکی باعث افزایش فلورسانس کلروفیل می گردد: مراحل این فرایند را با حروف O, J, I, P می‌خوانند (شکل ۱). مرحله O-J که در آن Q_A کاملاً احیا شده است بین ۵۰ میکروثانیه تا ۲ میلی ثانیه طول می‌کشد. درمرحله J-I انتقال الکترون‌ها از Q_A به Q_B اتفاق می‌افتد که بین ۲ تا ۳۰ میلی‌ثانیه به طول می‌انجامد و مرحله I-P که در آن فرونشانی فلورسانس کلروفیل به‌وسیله اکسیداسیون کامل مخزن پلاستوکوئینون طی ۳۰ تا۵۰ میلی ثانیه اتفاق می‌افتد (۱۴ و ۳۲). طی این فرایند، تابش نور به یک برگ قرار گرفته در تاریکی، باعث افزایش فلورسانس از حالت پایه F_o در مرحله O به بالاترین میزان خودش F_m در مرحله P در طی یک ثانیه می‌شود. تحت چنین شرایطی Q_A، کاملاً احیا می‌شود که سبب تعیین F_v/F_m (حداکثر کارآیی کوانتومی فتوسیستم دو) می‌گردد و مقدار آن در برگ‌های سالم همه گیاهان (مستقل از گونه است) تقریباً ۰/۸۳ است (شکل۱) (۳ و ۳۴).

امکان استفاده از پارامترهای القای فلورسانس برای تعیین متابولیسم تعدادی از علف کش‌ها که به صورت مستقیم روی فتوسنتز موثر نیستند، توسط باراگالوا (۴) مورد آزمایش قرار گرفت. شواهد زیادی وجود دارد که بسیاری از بازدارنده‌های فعالیت متابولیسم که به

۱، ۲، ۳ و ۵- به ترتیب دانشجوی دکتری و استادان گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: zeinab.avarseji@gmail.com)
۴- استادیار پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی

صورت مستقیم روی فرایندهای فتوسنتز تاثیر ندارند، نیز می‌توانند باعث تغییر فلورسانس کلروفیل شوند (۴، ۵، ۹ و ۳۴). پارامترهایی مانند F_v/F_m، F_{vj} (تغییرات نسبی فلورسانس در مرحله J) و Area (مساحت بین منحنی کاتسکی و F_m) (شکل ۱) به عنوان پارامترهای مطلوب جهت بررسی اثرات علف کش با نحوه عمل متفاوت شناخته شده است (۷).

ریشمولار- هاک و همکاران (۲۷) با اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل، موفق به تشخیص زود هنگام اثرات علف کش در علف‌های هرز شدند. آزمایشاتی روی گونه‌های *Alopecurus myosuroides, Avena fatua, Phaseolus vulgaris, Sinapis alba, Triticum aestivum, Zea mays* نیز امکان کاربری گسترده پارامترهای فلورسانس را در تعیین تغییرات متابولیسم ناشی از علف کش‌ها، تایید کرده است (۵، ۹ و ۱۸).

در این آزمایش دو هدف دنبال شد اول بررسی تأثیر کلودینافوپ و Dicamba+2, 4-D بر منحنی کاتسکی و پارامترهای فلورسانس کلروفیل دوم امکان تشخیص زود هنگام فعالیت این علف کش‌ها توسط این پارامترها بود.

مواد و روش‌ها

دو آزمایش و هر کدام با پنج تکرار بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۰ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد.

بذرهای یولاف وحشی، پس از ۵ روز سرمادهی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و سپس انتقال به دمای ۲۵ درجه سانتی گراد خواب شکنی شدند. شکستن خواب بذرهای خردل وحشی با ۷ روز سرمادهی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و انتقال به دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲ روز انجام شد. زمانی که نوک ریشه‌چه‌ها به اندازه یک میلی‌متر از بذر خارج شده بودند به سینی‌های کشت حاوی پیت و ماس منتقل شدند، سپس گیاهچه‌هایی که یک در مرحله رشدی بودند انتخاب و در گلدان‌هایی با قطر ۱۲ سانتی‌متر (که با نسبت برابر ماسه، خاک و خاک برگ پر شده بودند)، با تراکم چهار بوته کاشته شدند. گلدان‌ها یک روز در میان بسته به نیاز گیاه آبیاری شدند و در طول آزمایش هر زمان نیاز به مبارزه با آفات و امراض بود با رعایت فاصله زمانی مناسب از تیمار علف‌کش، از آفت کش‌ها استفاده گردید.

جهت سم پاشی یولاف وحشی، شش دز (۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴ و ۰ گرم ماده موثره در هکتار) علف کش کلودینافوپ و برای سم پاشی خردل وحشی، علف کش Dicamba+2, 4-D با دزهای ۳۷۱/۲، ۱۶۵/۱، ۱۱۰، ۷۳/۴ و ۰ گرم ماده موثره در هکتار استفاده شدند. تیمار هر دو علف هرز در مرحله ۳ برگی انجام شد.

سم پاشی توسط دستگاه سمپاش پشتی شارژی (MATABI elegance plus) و با نازل بادبزنی ۸۰۰۱ تحت فشار ۳۰۰ کیلوپاسکال انجام گرفت. حجم پاشش ۲۰۰ لیتر در هکتار در نظر گرفته شد. جهت ایجاد شرایط یکنواخت در طول سم پاشی، دستگاه سم پاش با فشار پاشش مورد نظر، روی ریلی یا سرعت ثابت حرکت می‌کرد که در نهایت حجم پاشش یکسانی روی تمام علف‌های هرز ایجاد نمود.

اندازه گیری‌های فلورسانس کلروفیل، توسط دستگاه فلورسانس متر Handy-PEA, Hansatech Instruments, King's) Lynn, Norfolk, UK) که نوری با طول موج ۶۵۰ نانومتر و شدت ۳۰۰۰ میکرومول فوتون در متر مربع در ثانیه را به مدت ۱۰ ثانیه می تاباند، از یک روز پس از سم پاشی تا ۱۰ روز پس از آن در ساعت ۱۰ صبح روی برگ هایی که به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفته بودند (به‌وسیله گذاشتن کلیپس روی برگ‌ها) انجام شد. و در هر بار اندازه‌گیری از همان برگ قبلی، فلورسانس گرفته شد تا امکان بروز خطا به حداقل برسد.

منحنی‌های کاتسکی و پارامترهای مربوطه برای دزهای مختلف، توسط برنامه BIOLIZER (۲۸) به‌دست آمد. پارامترهای مشتق شده از منحنی کاتسکی که در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند شامل موارد زیر بود:

۱. $(F_m-F_o)/F_m= F_v/F_m$ ۲. $(F_m-F_j)/F_m= F_{vj}$

۳. Area (شکل ۱)

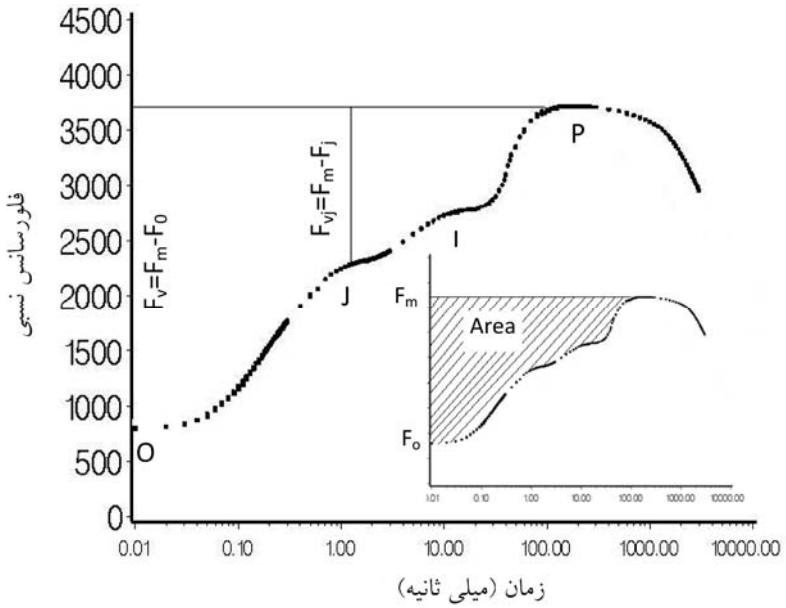
F_m: فلورسانس حداکثر F_0: فلورسانس پایه

F_j: فلورسانس در مرحله J

نتایج و بحث

علف کش کلودینافوپ-علف هرز یولاف وحشی

همان‌طور که در شکل (۲-ب) مشاهده می‌شود منحنی کاتسکی ۵ روز پس از پاشش علف کش، تحت تاثیر قرار گرفته و میزان فلورسانس، کاهش یافته است. فلورسانس حداکثر (F_m) در مقدار ۶۴ گرم ماده موثره کلودینافوپ در هکتار، نیز پنج روز پس از پاشش کاهش یافت. هم‌چنین شکل و فرم این منحنی، تحت تاثیر علف کش کلودینافوپ تغییر کرده است. در تحقیقات دیگران نیز فرم منحنی کاتسکی، تحت تاثیر عوامل تنش زا مثل علف کش‌ها، تنش خشکی و سرما قرار گرفته است (۶، ۱۰ و ۱۸).



شکل ۱- منحنی کاتسکی ثبت شده توسط دستگاه PEA در برگی که به مدت ۳۰ دقیقه به‌وسیله کلیپس در تاریکی قرار گرفته است.

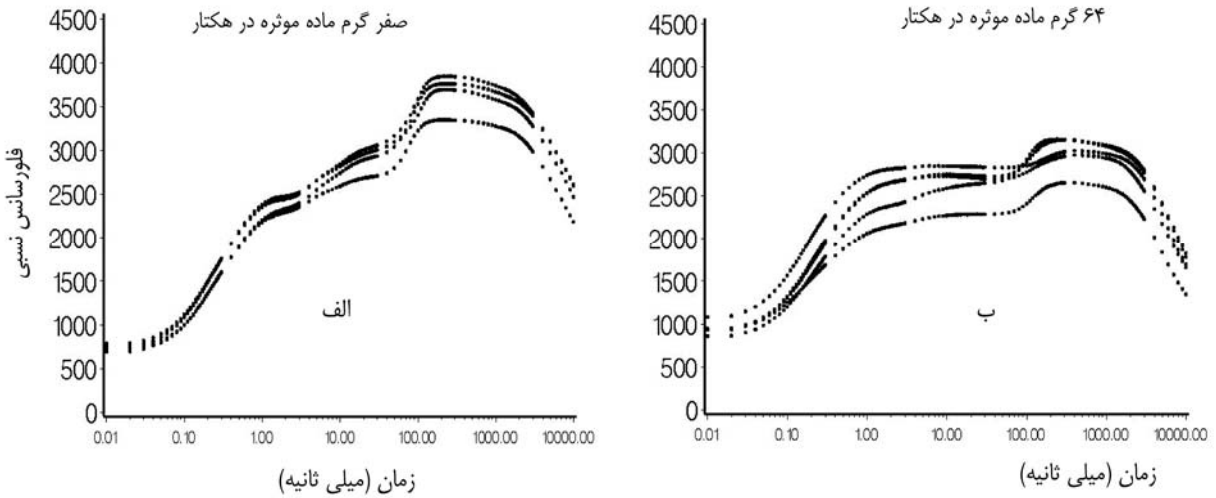
جهت توضیح تغییرات فرم منحنی کاتسکی در شکل (۲-ب) پارامترهای حداکثر بازده کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m)، مساحت بین منحنی کاتسکی و F_m (Area) و تغییرات نسبی فلورسانس در مرحله J (F_{vj}) در مقادیر مختلف علف کش کلودینافوپ، در شکل ۳ آورده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود یک روز پس از سم پاشی، روند کاهش این سه پارامتر در مقادیر مختلف علف کش معنی‌دار نبود و در بین این سه پارامتر F_v/F_m و F_{vj} نسبت به Area واکنش کم‌تری نشان دادند اما پنج روز پس از سم پاشی کاهش معنی‌دار این پارامترها آغاز شد. به گونه‌ای که روند کاهش F_v/F_m از یک هشتم دز توصیه شده کلودینافوپ، شروع شد در حالی‌که نقطه آغاز واکنش کاهشی پارامترهای Area و F_{vj} از یک شانزدهم دز توصیه شده آغاز گردید. پارامترهای Area و F_{vj} پنج روز پس از پاشش کلودینافوپ، حساسیت بیش‌تر و واکنش سریع‌تری به آن نشان دادند و همان‌طور که در شکل ۳ دیده می‌شود در مقادیر کاهش یافته علف کش نیز این دو پارامتر شاخص بهتری در ارتباط با کارایی آن می باشند. عباسپور و استریبیگ (۱) از کاهش غیر قابل بازگشت پارامترهای F_v/F_m و F_{vj} در علف هرز تاجریزی توسط علف کش دسمدیفام گزارش کردند.

علائم علف کش کلودینافوپ، ۱۲ روز پس از سم پاشی ظاهر شدند در حالی‌که خصوصیات فلورسانس یولاف وحشی، پنج روز پس از سم پاشی، تاثیر کاهشی معنی‌دار مقادیر مختلف کلودینافوپ، را نشان دادند بنابراین کارایی علف کش کلودینافوپ، توسط خصوصیات فلورسانس کلروفیل، یک هفته زودتر از علائم ظاهری یولاف وحشی تشخیص داده شد. ریشمولر هاگ و همکاران (۲۷) نیز توسط خصوصیات فتوسنتز ۲ تا ۴ روز پس از مصرف مت سولفورون متیل توانستند اطلاعات ارزشمندی را قبل از بروز علائم این علف کش که ۷ تا ۱۰ روز پس از مصرف، ظاهر شد به‌دست آورند. آن‌ها اندازه‌گیری کارایی کوانتومی فتوسیستم دو و محتوای کلروفیل را به عنوان دو راهکار عملی، جهت تشخیص زود هنگام فعالیت مت سولفورون متیل اعلام کردند.

علاوه بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل (شکل ۳)، شکل ظاهری منحنی کاتسکی (شکل ۲) نیز قبل از بروز عوارض ظاهری علف کش تحت تاثیر قرار گرفت.

علف کش کلودینافوپ بازدارنده استیل کوانزیم آ کربوکسیلاز است که این آنزیم جهت بیوسنتز لیپیدها ضروری است. در واقع این علف کش بازدارنده مستقیم فتوسیستم II نمی‌باشد اما فرایندهای مختلف ناشی از اثر این علف کش، در نهایت تولید ROS[1] می‌کند (۳، ۲۱، ۳۰ و ۳۴). ROS به‌وجود آمده در گیاه درنتیجه تعداد زیادی از فرایندهای تخریبی که در مجموع تنش اکسیداتیو نامیده می‌شود منجر به مرگ علف هرز، می‌گردد. واکنش‌های تخریبی شامل از هم گسیختگی فسفولیپیدهای موجود در غشاء تیلاکوئیدهای کلروپلاست که فرایند انتقال الکترون فتوسنتز در آن‌ها صورت می‌گیرد می‌باشد که از عوارض کاربرد علف کش‌های Accase از جمله کلودینافوپ است (۲۹) و زنجیره انتقال الکترون از فتوسیستم II به فتوسیستم I را قطع می‌کند (۱۳، ۲۶ و ۳۱) که این مسئله علاوه بر تغییر شکل منحنی کاتسکی در نهایت مرگ گیاه را نیز سبب می‌شود.

1- Reactive Oxygen Species



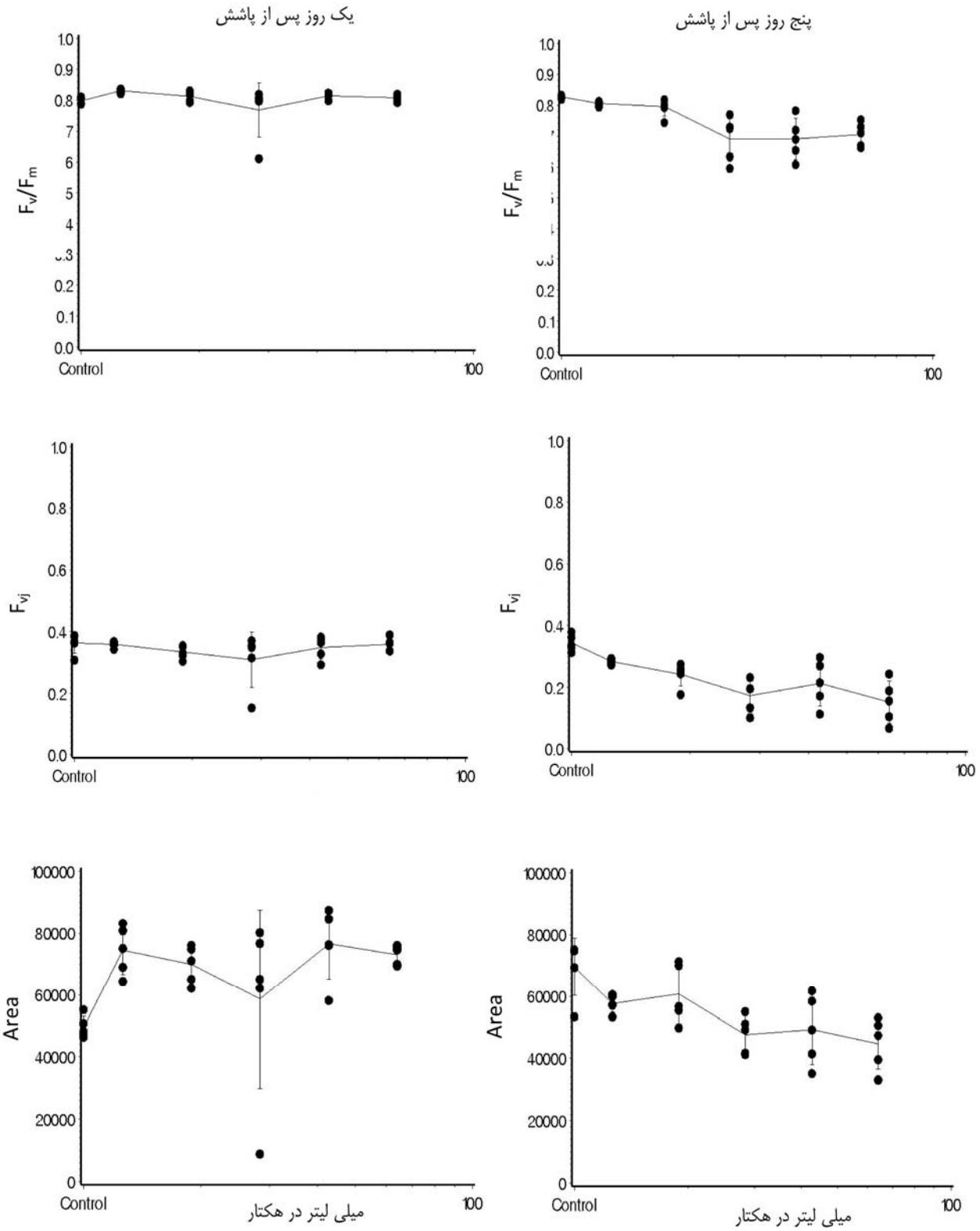
شکل ۲- تاثیر علف کش کلودینافوپ، پنج روز پس از پاشش بر شکل منحنی کاتسکی در یولاف وحشی. (الف) تیمار شاهد بدون علف کش، (ب) تیمار ٦٤ گرم ماده موثره. هر منحنی نمایانگر یک تکرار است. پالس اشباع ۳۰۰۰ میکرومول فوتون در متر مربع در ثانیه با طول موج ٦٥٠ نانومتر به مدت ۱۰ ثانیه به برگ قرار گرفته در تاریکی. محور x لگاریتمی مقیاس‌بندی شده است.

در شکل۲ ب مشخص است منحنی کاتسکی، از مرحله J به بعد (J-I و I-P) تغییر شکل داده است در حالی که این مراحل در شاهد به خوبی قابل رویت است و شکل استاندارد منحنی کاتسکی، به تفکیک تمام مراحلی که در یک گیاه سالم وجود دارد، در آن دیده می‌شود. کلودینافوپ در مرحله J-I که انتقال الکترون از کوئینون A (Q_A) به کوئینون B (Q_B) صورت می‌گیرد ایجاد اشکال کرده است. به نظر می‌رسد بازدارندگی این علف کش در چرخه انتقال الکترون، منجر به تاثیر آن در مرحله J-I گردیده است. انتقال الکترون از کوئینون A به B در مرحله J-I تحت تاثیر بخش دهنده فتوسیستم II[1] (فعالیت تجزیه آب) قرار می‌گیرد (۳۲) بنابراین تابش پالس اشباع به فتوسیستم II در برگ‌های قرار گرفته در تاریکی باعث روانه ساختن تعداد زیادی الکترون، به مرکز واکنش فتوسیتم II می‌شود و از آنجایی که کلودینافوپ به زنجیره انتقال الکترون آسیب رسانده است، به نظر می‌رسد که فتوسیستم II سعی دارد ترافیک بار الکترونی حاصل از پالس اشباع در زنجیره انتقال الکترون معیوب را با افزایش میزان فلورسانس کلروفیل تخلیه کند.

کاهش فلورسانس نسبی پس از مرحله P (۱۰۰۰ میلی ثانیه) نشان می‌دهد که حداقل تعدادی از مراکز واکنش فتوسیستم دو هنوز سالم باقی مانده‌اند و ممانعت نوری فتوسیستم دو به طور کامل انجام نگرفته است (شکل ۲). میزان فلورسانس نسبی در مرحله P منحنی کاتسکی (فلورسانس حداکثر یا F_m) در شکل ۲- ب نسبت به مقدار آن در شاهد کاهش یافته است. در برگ‌های گیاه شاهد قرار گرفته در تاریکی، تمام قسمت‌های مرکز واکنش فتوسیستم دو در حالت اکسید قرار دارند و به هنگام برخورد پالس اشباع، تمام ظرفیت این مرکز واکنش احیا می‌شود و فلورسانس حداکثر آن در مرحله P (F_m) با احیا شدن تمام استخر پلاستوکوئینون ساطع می شود در حالی‌که در یولاف وحشی که پنج روز پس از پاشش علف کش کلودینافوپ مورد اندازه‌گیری میزان فلورسانس حداکثر قرار گرفتند، فرایندهای تخریب فتوسیستم دو آغاز شده و تنش اکسیداتیو حاصل از علف کش کلودینافوپ به قسمت‌های مختلف مرکز واکنش فتوسیستم دو حمله کرده و ممکن است بخش‌هایی از استخر پلاستوکوئینون در این فرایند آسیب دیده باشند، در نتیجه انتظار می‌رود که مرکز واکنش فتوسیستم دو با ظرفیت پلاستوکوئینون کم‌تری در تولید فلورسانس نقش داشته باشد که به دنبال آن میزان فلورسانس حداکثر نسبت به مقدار متناظر آن در شاهد کم‌تر می‌شود. فلوروکلریدون و گلایفوسیت نیز به ترتیب ۴ ساعت پس از پاشش، فلورسانس حداکثر علف هرز خردل سفید (*Sinapis arvensis*) را کاهش دادند (۷).

در پی تاثیر علف کش بر منحنی کاتسکی مقدار فلورسانس کلروفیل در مرحله O (F_o) نسبت به شاهد افزایش یافته ولی مقدار فلورسانس حداکثر کاهش یافته است و به تبع آن مقدار مساحت بالای منحنی کاتسکی (Area) نسبت به شاهد کم شده است. پارامتر Area بیانگر حداکثر ظرفیت کوئینونی فتوسیستم II می‌باشد و کاهش آن در یولاف‌های وحشی تیمار شده با کلودینافوپ نشان از تاثیر این علف کش بر مولکول‌های کوئینون موجود در زنجیره انتقال الکترون دارد و با این که این علف کش مستقیماً بازدارنده فتوسنتز نیست ولی طی فرآیندهای مختلفی که منجر به تولید ROS و تنش اکسیداتیو در علف هرز می‌شود زنجیره انتقال الکترون و شکل منحنی کاتسکی را تحت تاثیر قرار داده است (۱۵).

1- PSII donor side



شکل ۳- تاثیر علف کش کلودینافوپ بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در یک و پنج روز پس از سم پاشی (پنج دز به همراه شاهد). هر نقطه نمایانگر یک تکرار است. خطوط عمودی خطای استاندارد را نشان می دهند. مقیاس محور x لگاریتمی است.

علف کش Dicamba+2, 4-D و علف هرز خردل وحشی

شکل ۴ تغییرات منحنی کاتسکی را ۱ و ۲ روز پس از پاشش علف کش Dicamba+2, 4-D و در دزهای مختلف نشان می دهد. شکل استاندارد منحنی کاتسکی در تیمار شاهد (صفر گرم ماده موثره در هکتار) مشاهده می‌شود اما در دزهای دیگر، فرم آن تحت تاثیر قرار گرفته است. همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌شود ۲۴ ساعت پس از کاربرد علف کش تغییرات شکل منحنی کاتسکی شروع شده است اگرچه تغییرات این منحنی یک روز پس از پاشش، در دزهای کم‌تر علف کش (۷۳/۴، ۱۱۰ گرم ماده موثره در هکتار) زیاد نبود اما در دزهای بالاتر آن کاملا مشخص بود. با گذشت ۲ روز از پاشش علف کش Dicamba+2, 4-D ، تغییرات منحنی در دزهای کاهش یافته این علف کش نیز، شدت پیدا کرد و به طور مشخصی مراحل O, J, I, P در حال از بین رفت بودند. عباسپور و استریبیگ (۲) گزارش کردند علف کش کلودینافوپ، که یک بازدارنده استیل کو آنزیم آ کربوکسیلاز می‌باشد نیز شکل منحنی القای فلورسانس کلروفیل را در جو و یولاف تغییر داده است.

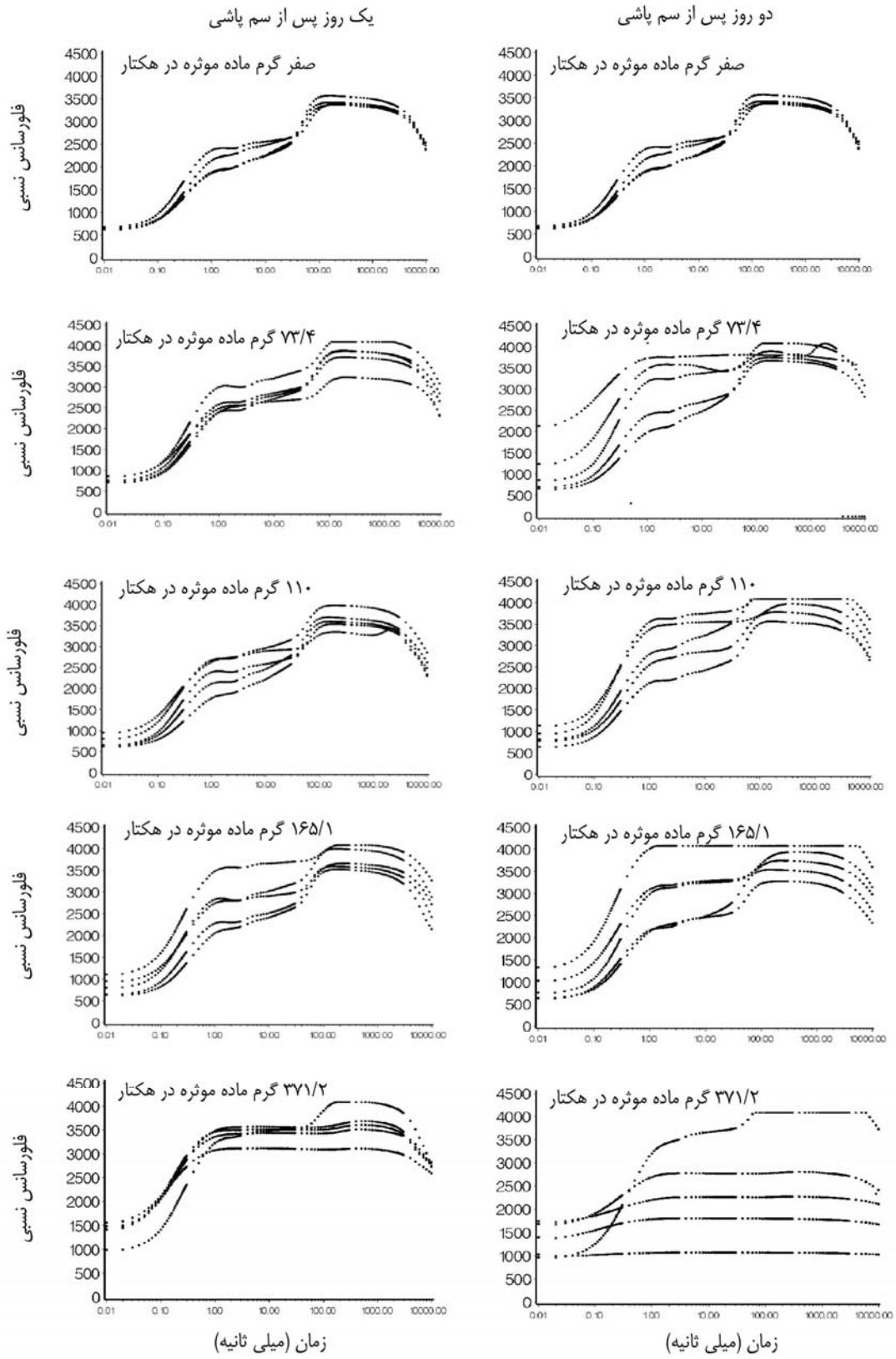
دزهای بالاتر این علف کش (۳۷۱/۲، ۱۶۵/۱ گرم ماده موثره در هکتار) حتی ۱ روز پس از سمپاشی نیز شکل منحنی کاتسکی را تغییر داده و روند از بین رفتن مراحل مختلف آن آغاز گردیده است (شکل۴). منحنی القای فلورسانس کلروفیل در دز توصیه شده (۳۷۱/۲ گرم ماده موثره در هکتار) یک روز پس از پاشش در مقایسه با همین منحنی در روز دوم پس از پاشش نشان می دهد که مراحل O, J, I, P از بین رفته است به گونه‌ای که در دز توصیه شده، این مراحل به طور کامل حذف شده و منحنی، تقریبا به یک خط صاف افقی تبدیل شده است. هرکدام از این مراحل (O, J, I, P) بیانگر وقایع فتوشیمیایی خاصی در ارتباط با فتوسیستم دو است و از بین رفتن آن‌ها نشان آسیب جدی به فتوسنتز می‌باشد (۳۲).

این علف کش مخلوطی از تو فور دی و دایکمبا متعلق به خانواده اکسین‌ها می‌باشد. تحقیقات زیادی اثرات اکسین خارجی روی رشد گیاهان را بررسی کرده است و نتایج کلی حاصل از بررسی آن‌ها نشان می‌دهد الف: اکسین بسته به میزان غلظت آن هم می‌تواند تحریک کننده رشد باشد و هم ممانعت کننده ب: حساسیت بافت‌های مختلف نسبت به میزان اکسین استفاده شده متفاوت است (۸). در واقع تا اندازه زیادی، تولید اتیلن ناشی از مصرف اکسین خارجی، سبب ممانعت از رشد گیاهان هدف می‌شود (۸). تولید اتیلن به همراه افزایش بیوسنتز هورمون اسید آبسیزیک از پی آمدهای تیمار علف کش‌های خانواده اکسین می‌باشد. اتیلن عامل پیری و بسته شدن روزنه‌های هوایی از عوارض هورمون اسید آبسیزیک می‌باشد که درنتیجه، اسیمیلاسیون کربن توسط فتوسنتز متوقف می‌شود. کاهش دی اکسید کربن تثبیت شده منجر به تجمع ROS مانند پراکسید هیدروژنی (H_2O_2) می‌شود که از نشت الکترون از غشای تیلاکوئیدی و اتصال آن به اکسیژن سرچشمه گرفته است (۱۱). پراکسید هیدروژن در واکنش با رادیکال‌های سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسی را تولید می‌کند که با پراکسیداسیون لیپیدها، به سلول‌ها آسیب می‌زنند. نشت الکترون غشای تیلاکوئیدی و آسیب رسیدن به غشاهای فسفولیپیدی تیلاکوئیدهای کلروپلاست (۱۷) می‌تواند بر فرایند انتقال الکترون فتوسنتز تاثیر گذارد و به نظر می‌رسد که این سلسله فرایندها منتهی به تغییر شکل منحنی کاتسکی می‌گردد. دایان و ذاکارو (۱۲) بیان کردند علف کش‌هایی که باعث پراکسیداسیون غشاهای لیپیدی می‌شوند ممکن است که ثبات دستگاه فتوسنتز را از بین ببرند و به طور غیر مستقیم، باعث تغییرات منحنی القای فلورسانس کلروفیل گردند.

به نظر می‌رسد که شدت تغییرات ایجاد شده در روز دوم و در دز حداکثر (۳۷۱/۲ گرم ماده موثره در هکتار) (شکل ۴)، ناشی از اثرات منفی پراکسیداسیون غشاهای فسفولیپیدی تیلاکوئیدهای کلروپلاست و تاثیر آن بر کاهش انسجام غشا و به‌دنبال آن اختلال در انتقال الکترون در مراکز واکنش فتوسیستم دو باشد. که این تخریب‌ها در دزهای کاهش یافته این علف کش نیز با گذشت زمان بوجود آمد به طوری‌که منحنی القای فلورسانس کلروفیل در روزهای ۳، ۴، ۵ و ۶ روز پس از پاشش و تقریباً در برخی تکرارهای همه دزها به خطی صاف تبدیل شد.

از آنجایی که واکنش‌های وابسته به نور انتقال الکترون، با حد واسطهایی[1] که بالقوه مضر و واکنش زا[2] هستند همراه می‌باشند بنابراین جهت مقابله با تماس مستقیم این مواد با آب و اکسیژن، در غشاهای دو لایه لیپیدی جاسازی شده‌اند و توسط تعداد متعددی مکانیسم‌های محافظتی آنتی اکسیداتیو احاطه گردیده‌اند تا ROS های تولید شده را فرو نشانند (۲۳). از سوی دیگر پلاستیدها، سیستم های غشایی پیچیده‌ای با دو لایه داخلی و خارجی هستند که جایگاه فرایندهای مهمی مانند سنتز گلیسرولیپیدها، رنگدانه‌ها (کلروفیل و کارتنوئیدها، پرینیل کوئینون‌هایی مانند پلاستوکوئینون و آلفاتوکفرل) می‌باشند (۲۰) و وجود حداقل ۷۰۰ پروتئین مختلف، بازتابی از سطوح بالای فعالیت‌های فیزیولوژیکی است که در پلاستیدها به وقوع می‌پیوندد (۲۴). با توجه به اهمیتی که غشاهای فسفولیپیدی در انجام و کمک به فرایندهای مختلف فیزیولوژیک دارند و مخصوصاً نقش غشاهای فسفولیپیدی تیلاکوئیدها در انتقال الکترون، بدیهی است که هر گونه آسیب به این غشاها منتهی به اختلال در سامانه انتقال الکترون و فتوسنتز می‌شود.

1- Intermediates
2- Reactive



شکل٤- تاثیر علف کش Dicamba+2, 4-D بر شکل منحنی کاتسکی (۱۰ ثانیه) در خردل وحشی، یک و دو روز پس از پاشش علف کش. هر منحنی نمایانگر یک تکرار است.

تولید بیش از حد پراکسید هیدروژن از عوارض مصرف علف‌کش‌های خانواده اکسین است که باعث تخریب غشاهای لیپیدی (۱۷) و از بین رفتن مراحل مختلف منحنی اندازه‌گیری شده کاتسکی حاصل از آن‌ها شد.

کاهش فلورسانس نسبی پس از مرحله P (۱۰۰۰ میلی ثانیه) نشان می‌دهد که تعدادی از مراکز واکنش فتوسیستم دو هنوز سالم باقی مانده‌اند و ممانعت نوری فتوسیستم دو به طور کامل انجام نگرفته است. به عبارت دیگر تغییرات دستگاه فتوسنتزی و فرایندهای مربوط به اسیمیلاسیون دی‌اکسید کربن، باعث کاهش فلورسانس[1] بعد از مرحله P و رسیدن به حالت پایه می‌شود. اما در دز توصیه شده (۳۷۱/۲ گرم ماده موثره در دو روز پس از پاشش) این کاهش مشاهده نمی‌شود و منحنی فلورسانس به خط راست تبدیل شده است که بیان می‌کند مراکز واکنش فتوسیستم دو کارایی خود را از دست داده‌اند. و همین طور مقدار فلورسانس نسبی آن در دو روز پس از پاشش علف کش کاهش چشمگیری داشته است. در نتیجه‌ای مشابه کریستنسن و همکاران (۷) گزارش کردند در علف کش بنتازون که بازدارنده فتوسیستم دو است نیز کاهش منحنی کاتسکی پس از ۱۰۰۰ میلی ثانیه صورت نگرفته بود.

به غیر از دز توصیه شده –که تقریباً تمام مراحل منحنی القای فلورسانس در ۱ و ۲ روز پس از پاشش از بین رفته اند– در بقیه دزها، Dicamba+2, 4-D مراحل JI, IP را نشانه گرفته است در حالی که این مراحل در تیمار شاهد (صفر گرم ماده موثره در هکتار) به طور مشخص و منفک وجود دارند. مرحله JI متناظر با انتقال الکترون از Q_A به Q_B می‌باشد و فرو نشانی فلورسانس در این مرحله توسط بخش الکترون دهنده فتوسیستم دو کنترل می‌شود. بنابراین می‌تواند به عنوان شاخص مفیدی برای فعالیت تجزیه آب مد نظر قرار بگیرد، اگرچه مکانیسم آن به طور دقیق شناخته نشده است و مرحله IP شاخصی از میزان فلورسانس کلروفیل توسط مخزن پلاستوکوئینون می‌باشد (۱۹، ۲۲ و ۳۳).

علائم ظاهری علف کش Dicamba+2, 4-D در علف‌هرز خردل وحشی، دو روز پس از سمپاشی مشخص شد در حالی‌که ۲۴ ساعت پس از تیمار علف کش، پایش فلورسانس کلروفیل، آغاز واکنش‌های تخریبی اکسیداتیو را به‌وسیله تغییرات واضحی در منحنی القای فلورسانس نشان داد.

در شکل (۵) واکنش پارامتر حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیتم دو (F_v/F_m) در دزهای مختلف علف کش Dicamba+2, 4-D طی ۶ روز پس از پاشش، مشاهده می‌شود. همان طور که در شکل دیده می‌شود مقدار این پارامتر در تیمار شاهد در هر ۶ روز پس از پاشش تقریباً ۰/۸ بوده که نشان از سلامت و عدم وجود هر گونه تنش در تیمار شاهد بدون علف کش دارد. یک روز پس از پاشش علف کش، به غیر از دز حداکثر، تغییر زیادی در مقدار پارامتر (F_v/F_m) مشاهده نشد، اما در روزهای بعدی، کاهش مقدار این پارامتر تقریباً در تمام دزها مشخص است. تا روز چهارم پس از پاشش مقدار این پارامتر کاهش یافت اما در روز پنجم و ششم این پارامتر در دز حداکثر افزایش نشان داد. این حالت معمولاً زمانی اتفاق می‌افتد که علف هرز چند روز پس از پاشش علف کش در حال بهبود و بازیابی خود از عوارض سم می‌باشد، با توجه به این که به موازات اندازه‌گیری های فلورسانس، عوارض ظاهری ناشی از مصرف سم هم در این آزمایش ثبت می‌شد، فرضیه بهبود علف هرز رد می‌شود زیرا عوارض ظاهری ناشی از مصرف سم به طور گسترده در گیاه دیده می‌شد.

نتیجه‌گیری

امروزه استفاده از دزهای کاهش یافته به خاطر تبعات زیست محیطی و انسانی که مصرف علف کش‌ها دارد، مورد توجه قرار گرفته است و همان‌طور که ژنگ و همکاران (۳۵) نیز گزارش کردند مقادیر توصیه شده علف‌کش‌ها توسط کمپانی‌های آن‌ها به گونه‌ای تعیین شده که علف کش در تمام شرایط استفاده از آن بتواند کارایی کنترل مناسبی داشته باشد، بنابراین به نظر می‌رسد که همیشه لازم نیست از دز توصیه شده استفاده کرد. استفاده از فلورسانس کلروفیل در کنار مصرف دزهای کاهش یافته علف کش‌ها شاید بتواند در مدت زمان کوتاهی پس از پاشش، کارا و یا ناکارا بودن دز مصرف شده در کنترل علف‌های هرز را مشخص کند. اگر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در پاسخ به مقادیر کاهش یافته علف کش مورد نظر،کاهش نشان داد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که دز کاهش یافته توانایی کنترل علف هرز را داراست. اما نکته مهمی که در این‌جا مطرح است مسئله نحوه عمل علف کش‌ها می‌باشد زیرا علف کش‌هایی وجود دارند که توانایی کنترل علف‌های هرز را دارا هستند ولی با این وجود خصوصیات فلورسانس کلروفیل را تغییر نمی‌دهند.

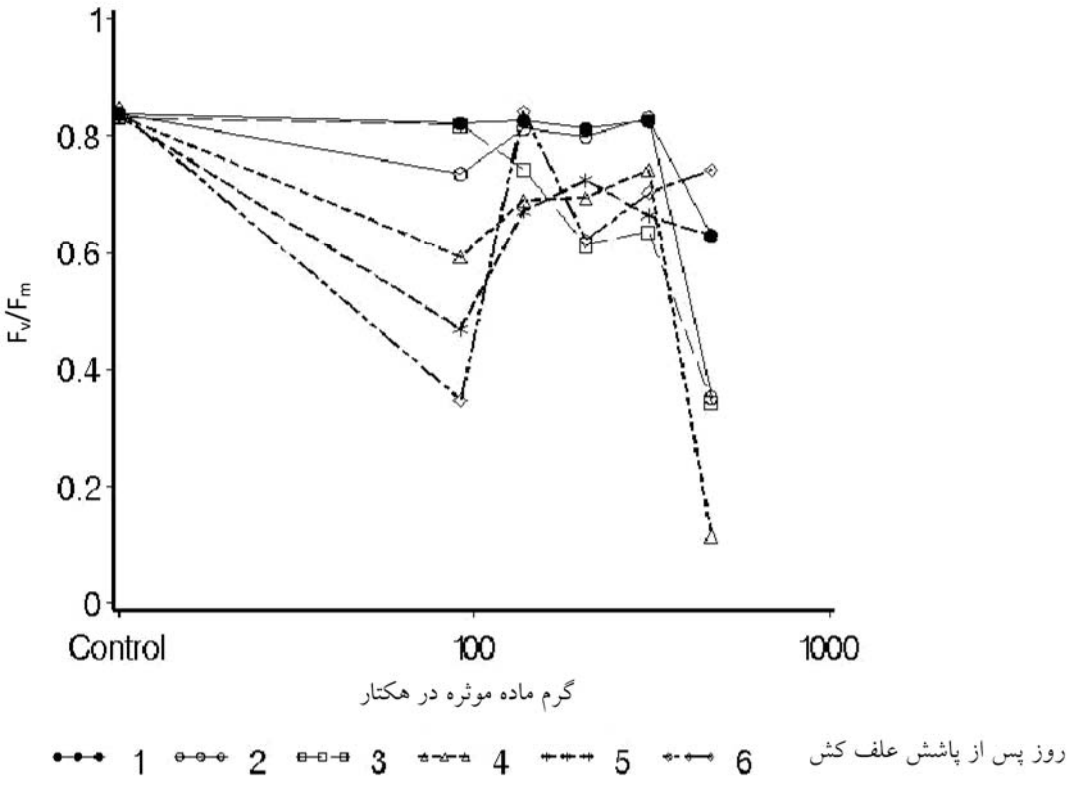
اگرچه علف کش‌های کلودینافوپ و Dicamba+2, 4-D بازدارنده مستقیم فتوسنتز نیستند اما از طریق دخالت در فرایندهای مختلف متابولیکی و افزایش تولید مواد حد واسط مضر و واکنش‌زا مانند پراکسید هیدروژن، منحنی القای فلورسانس را تغییر دادند که پایش این تغییرات در منحنی کاتسکی، یک روز پس از پاشش کلودینافوپ و ۲۴ ساعت پس از تیمار علف کش Dicamba+2, 4-D امکان پذیر بود.

شکل منحنی کاتسکی اطلاعات خوبی راجع به علف کش می‌دهد. تاثیر کلودینافوپ و Dicamba+2, 4-D بر فلورسانس نسبی

1- Fluorescence quenching

در مرحله J کمک می‌کند که به طور غیر مستقیم بتوان در مورد بخش‌هایی از فتو سیستم II که این علف کش‌ها در طی فرایندهای مختلف آسیب می‌زند حدس‌هایی زد. حتی شکل منحنی پس از ۱۰۰۰ میکرو ثانیه (زمانی‌که فاز سریع فلورسانس (OJIP) تمام و فاز کند آن (SMT) آغاز می‌شود) نیز می‌تواند از قدرت علف کش مورد نظر در تخریب فتوسیستم دو خبر دهد.

پیشنهاد می شود که آزمایشات متعددی جهت تعیین تاثیر خانواده‌های مختلف علف کش با نحوه عمل متفاوت، بر فلورسانس کلروفیل علف‌های هرز مساله ساز انجام شود تا به صورت مجزا اثرات آن‌ها بر منحنی کاتسکی و خصوصیات فلورسانس کلروفیل و این که کدام یک از پارامترهای فلورسانس در توضیح اثرات علفکشی آن خانواده بهتر پاسخ می‌دهد، تعیین گردد.



شکل ۵- حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم دو (F_v/F_m) در ۱، ۲، ۳، ٤، ٥ و ٦ روز پس از پاشش علف کش Dicamba+2, 4-D. هر منحنی میانگین سه تکرار برای هر دز می‌باشد.

منابع

1- 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.

2- Abbaspoor M., and Streibig J.C. 2005. Clodinafop changes the chlorophyll fluorescence induction curve. Weed Science, 53:1-9.

3- Appenroth K.J., Stockel J., Srivastava A., and Strasser R.J. 2000. Multiple effects of chromate on the photosynthesis apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll A fluorescence measurements. Environmental Pollution, 115:49-64.

4- 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.

5- Blowers M.H. 1989. Applications of chlorophyll fluorescence to study the penetration of herbicides into leaves, University of Essex, Colchester, UK.

6- Bolhar-Nordenkampf H.R., and Oquist G. 1993. Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research, in Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual, ed by Hall D.O, Scurlock

J.M.O., Bolhar-Nordenkampf H.R., Leegood R.C., Long S.P., Chapman and Hall, London, pp 193–206.
7- 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.
8- Cobb A.H., and Reade J.P.H. 2010. Herbicides and Plant Physiology. Wiley-Blackwell; 2nd edition.United Kingdom, West Sussex.
9- Crudace A.J. 2000. The investigation of the in vivo behavior of a maize herbicide-Isoxaflutole. PhD thesis. University of Essex. Colchester, UK.
10- Daley P.F. 1995. Chlorophyll fluorescence analysis and imaging in plant stress and disease. Canadian Journal Plant Pathology -Rev Canadienne de Phytopathol 17:167–173.
11- Dat J., Vandenabeele S., Vranova E., Van Montagu M., Inze D., and Van Breusegem F. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress celluar and molecular. life science, 57:779-95.
12- Dayan F.E., and Zaccaro M.L. de M. 2012. Chlorophyll fluorescence as a marker for herbicide mechanisms of action. Pesticide Biochemistry and Physiology, 102: 189–197.
13- Fayez K.A. 2000. Action of photosynthetic diuron herbicide on cell organelles and biochemical constituents of the leaves of two soybean cultivars. *Pesticide Biochemistry* and Physiology 66:105-115.
14- Force L., Critchey C., and Rensen J.V. 2003. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. Photosynthesis Research 78:17-33.
15- Fufezan C., Rutherford A.W., and Liszkaya A.K. 2002. Singlet oxygen production in herbicide-treated photosystem II. FEBS Lett. 532:407- 410.
16- Govindjee Amesz J., and Fork D.C. (Eds.), Light Emission by Plants and Bacteria, Academic Press, Orlando, 1986, 638pp.
17- Grossmann K., Kwiatkowski A., and Tresch S. 2001. Auxin herbicides induce H_2O_2 overproduction and tissue damage in cleavers (*Galium aparine* L.). Journal of experimental botany, 52: 1811-1816.
18- Habbash D., Percival M.P., and Baker N.R. 1985. Rapid chlorophyll fluorescence technique for the study of penetration of photo synthetically active herbicides into leaf tissue. Weed Research, 25:389-395.
19- Hiraki M., Rensen J.J.S.V., Vredenberg W.J., and Wakabayashi K. 2003. Characterization of the alterations of the chlorophyll a fluorescence induction curve after addition of photosystem II inhibiting herbicides. Photosynthesis Research, 78:35-46.
20- Joyard J., Teyssier E., Miege C., Berny-Seigneurin D., Marechal E., Block M.A., Dorne A.J., Rolland N., Ajlani G., and Douce R. 1998. The biochemical machinery of plastid envelope membranes, Plant Physiology, 118: 715–723.
21- Luo X.Y., Sunohara Y., and Matsumoto H. 2004. Fluazifop-butyl causes membrane peroxidation in the herbicide-susceptible broad leaf weed bristly starbur (*Acanthospermum hispidum).* Pesticide Biochemistry and Physiology, 78:93-102.
22- Matouskova M., Naus J., and Flasarova M. 1999. A long-term response of chlorophyll fluorescence induction to one-shot application of cyan- azine on barley plants and its relation to crop yield. Photosynthetica, 37:281-294.
23- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, Trends in Plant Science, 7: 405–410.
24- Newmeyer D.D., and Ferguson-Miller S. 2003. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death. Cell, 112: 481–490.
25- Papageorgiou G.C., Govindjee (Eds.), Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis, Advances in Photosynthesis and Respiration, vol. 19, Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2004, 818pp.
26- Peltzer D., Dreyer E., and Polle A. 2002. Differential temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species: Fagussylvatica and Coleus blumei. Plant Physiology and Biochemistry, 40:141-150.
27- 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.
28- Rodriguez R. and Strasser R. 2002. The laboratory of bioenergetics. http://www.unige.ch/sciences/biologie/bioen/bioindex.html.
29- Rutherford A.W., and Krieger-Liszakay A. 2001. Herbicide-induced oxidative stress in photosystem II. Trends Biochemical Science, 26:648-653.
30- Shimabukuro R.H., Davis D.G., and Hoffer B.L. 2001. The effect of diclofop-methyl and its antagonist, vitamin E, on membrane lipids in oat (*Avena sativa* L.) and leafy spurge (*Euphorbia esula* L.). Pesticide Biochemistry and Physiology, 69:13-26.
31- Sofo A., Dichio B., Xiloyannis C., and Masia A. 2004. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialde- hyde content during rewatering in olive tree. Plant Science, 166:293-302.
32- Stirbet A., Govindjee. 2011. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient, Photochemistry and Photobiology B Biology, 104:236-257.
33- Strasser R.J., and Stirbet A.D. 2001. Estimation of the energetic connectivity of PS II centers 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.

34- Theodoulou F.L., Clark I.M., He X.L., Pallett K.E., Cole D.J., and Hallahan D.L. 2003. Co-induction of glutathione-S-transferases and multidrug resistance associated protein by xenobiotics in wheat. Pest Management Science, 59:202-214.

35- Zhang J., Weaver S.E., and Hamill A.S. 2000. Risks and reliability of using herbicides at below-labeled rates. Weed Technology 14:106-115.