Iranian Journal of Weed Science: 2025; 21(1): 17-35

Iranian Journal of Weed Science

https://ijws.areeo.ac.ir/

Original Article

The Evaluation of Physiological and Biochemical Reactions of Mung Bean (*Vigna radiata* L.) to Different Concentrations of the Herbicide Metsulfuron-Methyl + Sulfosulfuron, with or without Application of Organic Matter

Parviz Laali [1], Leila Alimoradi [2], Hossein Hammami [3, 4*]

1. Department of Agricultural Science, Ne. C., Islamic Azad University, Neyshabur, Iran.
2. Department of Agricultural Science, Ma.C., Islamic Azad University, Mashhad, Iran.
3. Department of Plant Production and Genetics Engineering, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.
4. Plant and Environmental Stresses Research Group, University of Birjand, Birjand, Iran.

Article Info

Received:
June 26, 2024

Accepted:
October 30, 2024

First published online:
June 22, 2025

Corresponding Author:
Hossein Hammami
Email:
hhammami@birjand.ac.ir,
homamihossein@gmail.com

Key words: Carotenoids, Organic Matter, Peroxidase, Proline.

Abstract

A factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications at the Islamic Azad University of Neyshabur to investigate the impact of varying concentrations of metsulfuron-methyl + sulfosulfuron herbicides, under conditions of both organic matter application and non-application, on the growth and biochemical characteristics of mung bean (*Vigna radiata* L.). The experimental treatments consisted of six concentrations of the metsulfuron-methyl + sulfosulfuron herbicide (0, 10, 15, 20, 25, and 30 g a.i. ha^{-1}, corresponding to 0, 20, 30, 40, 50, and 60 µg per pot containing 4.5 kg of soil, respectively) and two levels of soil organic matter (application of 4% organic matter and non-application). Physiological and biochemical characteristics, including chlorophyll a and b, carotenoids, proline, catalase, superoxide dismutase, peroxidase, and acetolactate synthase (ALS) activity, were assessed 45 days post-plant emergence (start of flowering). The findings indicated that the assessed leaf indices including chlorophyll a and b, carotenoids, proline, catalase, peroxidase, and ALS activity were significantly ($p< 0.01$) influenced by the concentration of metsulfuron-methyl + sulfosulfuron. Increasing the herbicide concentration in the soil led to a reduction in chlorophyll a and b, carotenoids, catalase, peroxidase, and ALS activity, with a significant rise in leaf proline levels. The herbicide concentration also significantly affected proline, catalase, peroxidase, and ALS activity in the roots. Increasing the herbicide concentration resulted in an increase in proline and root catalase levels, while concurrently decreasing root peroxidase and ALS activity. The results indicate that metsulfuron-methyl + sulfosulfuron induces oxidative stress in mung bean. Consequently, considering the detrimental effects of this herbicide, mung bean exhibits sensitivity to it, which must be taken into account in chemical weed control of this crop.

Cite this article: Laali, P., Alimoradi, L., & Hammami, H. (2025). The evaluation of physiological and biochemical reactions of mung bean (*Vigna radiata* L.) to different concentrations of the herbicide metsulfuron-methyl + sulfosulfuron, with or without application of organic matter. Iran. J. of Weed Sci. 21(1): 17-35. DOI: 10.22034/ijws.2025.369077.1484.

Copyright © 2025 The Authors. Published by Iranian Society of Weed Science & Iranian Research Institute of Plant Protection.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

مجله دانش علف‌های‌هرز ایران؛ ۱۴۰۴، دورهٔ ۲۱، شمارهٔ ۱ صفحات ۱۷-۳۵

مجله دانش علف‌های‌هرز ایران

https://ijws.areeo.ac.ir/

مقاله پژوهشی

ارزیابی واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه ماش (*Vigna radiata* L.) به غلظت‌های مختلف علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن (توتال®) در شرایط کاربرد و عدم کاربرد ماده آلی

پرویز لعلی[۱]، لیلا علیمرادی[۲]، حسین حمامی[۳،۴*]

۱. گروه علوم کشاورزی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران.

۲. گروه علوم کشاورزی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

۳. گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

۴. عضو گروه پژوهشی گیاه و تنش‌های محیطی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت:
۱۴۰۳/۰۴/۰۶

تاریخ پذیرش:
۱۴۰۳/۰۸/۰۹

تاریخ انتشار برخط:
۱۴۰۴/۰۴/۰۱

نویسنده مسئول:
حسین حمامی

ایمیل:
hhammami@birjand.ac.ir,
homamihossein@gmail.com

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پرولین، کاروتنوئیدها، ماده آلی.

چکیده

به‌منظور مطالعه تاثیر غلظت‌های مختلف علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن در شرایط کاربرد و عدم کاربرد ماده آلی در خاک بر ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه زراعی ماش، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دانشگاه آزاد اسلامی نیشابور انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل غلظت علف‌کش متسولفورون-متیل + سولفوسولفورن در شش سطح (صفر، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم ماده موثره در هکتار معادل به‌ترتیب صفر، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، و ۶۰ میکروگرم در هر گلدان حاوی ۴۵۰۰ گرم خاک) و ماده آلی خاک در دو سطح (عدم کاربرد ماده آلی و کاربرد چهار درصد ماده آلی) بودند. اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل مقدار کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها، پرولین، فعالیت آنزیم کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز و آنزیم استولاکتات‌سینتاز، ۴۵ روز پس از سبزشدن گیاه (شروع گلدهی) انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده برگ شامل کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها، پرولین، فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آنزیم استولاکتات‌سینتاز به‌صورت معنی‌داری ($p<0.01$) تحت‌تاثیر غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن قرار گرفتند. افزایش غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن در خاک منجر به کاهش شاخص‌های کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها، فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آنزیم استولاکتات‌سینتاز برگ و افزایش معنی‌دار پرولین برگ شد. علاوه‌براین اثر غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن بر پرولین، کاتالاز، پراکسیداز و استولاکتات‌سینتاز ریشه معنی‌دار بود. افزایش غلظت علف‌کش منجر به افزایش پرولین و کاتالاز ریشه و کاهش پراکسیداز و استولاکتات‌سینتاز ریشه شد. باتوجه‌به نتایج این آزمایش علف‌کش متسولفورون-متیل + سولفوسولفورن منجر به تنش اکسیداتیو در ماش شد. بنابراین باتوجه‌به اثرات نامطلوب علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن، گیاه ماش به این علف‌کش تا حدودی حساس بوده که این نکته باید در مدیریت شیمیایی علف‌های‌هرز در ماش مورد توجه قرار گیرد.

استناد: لعلی، پ.، علیمرادی، ل.، و حمامی، ح. (۱۴۰۴). ارزیابی واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه ماش (*Vigna radiata* L.) به غلظت‌های مختلف علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن (توتال®) در شرایط کاربرد و عدم کاربرد ماده آلی. دانش علف‌های‌هرز ایران، ۲۱(۱): ۱۷-۳۵. DOI: 10.22034/ijws.2025.369077.1484

حق انتشار این مستند، متعلق به نویسندگان است. ۱۴۰۴ ©. ناشر این مقاله، انجمن علوم علف‌های‌هرز ایران و موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور است. این مقاله تحت گواهی زیر منتشرشده و هر نوع استفاده غیرتجاری از آن مشروط بر استناد صحیح به مقاله و با رعایت شرایط مندرج در آدرس زیر مجاز است.

Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

مقدمه

امروزه تولید و تأمین مواد غذایی موردنیاز انسان از مهم‌ترین چالش‌های پیش روی جوامع است. افزایش روزافزون جمعیت، اهمیت این مسئله را بسیار شدیدتر می‌سازد. بنابراین باید هم‌زمان با افزایش جمعیت مقدار تولید مواد غذایی نیز افزایش یابد. یکی از روش‌های تأمین نیاز روزافزون غذا، کاهش اثر عوامل کاهنده تولید نظیر علف‌های‌هرز است (Carvalho, 2006; Zimdahl & Basinger, 2024). یکی از مهم‌ترین و پرکاربردترین روش‌های مدیریت علف‌های‌هرز استفاده از مواد شیمیایی است (Moberg & Cross, 1990; Zimdahl & Basinger, 2024). اگرچه استفاده از علف‌کش‌ها روشی نسبتاً سریع و ارزان برای مدیریت علف‌های‌هرز است؛ اما معایبی همچون اثر آن‌ها بر موجودات غیرهدف و پسماند آن‌ها در محیط باعث شده که نیاز به‌دقت در کاربرد آن‌ها اهمیت حیاتی یابد. در سال‌های اخیر علف‌کش‌های مختلفی از خانواده سولفونیل‌اوره‌ها به بازار آمده است. علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره از سنتز اسیدهای‌آمینه شاخه‌دار شامل والین، لوسین و ایزولوسین ممانعت می‌کنند (Brown, 1990; Moberg & Cross, 1990). به دلیل مقدار کم مصرف و همچنین خاصیت انتخابی بالا تمایل به کاربرد آن‌ها افزایش یافته است (Zhou *et al*., 2007). علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره در دامنه‌ای از یک تا هزار گرم در هکتار مصرف شده و اغلب آن‌ها به میزان پنج تا ۱۰۰ گرم در هکتار به‌کار می‌روند. هرچند که استفاده از بازدارنده‌های ALS سبب کاهش مقدار کل علف‌کش مصرفی در محصولات زراعی شده است؛ اما یکی از بزرگ‌ترین معایب این علف‌کش‌ها پسماند طولانی‌مدت آن‌ها در خاک است که باعث خسارت به محصولاتی که در تناوب زراعی مورد کشت و کار قرار می‌گیرند، می‌شود (Brown, 1990; Moberg & Cross, 1990). بنابراین گزینه‌های تناوبی را محدود می‌سازند (Zand & Baghestani, 2002; Mousavi *et al*., 2005). به‌دلیل فعال‌بودن این علف‌کش‌ها در خاک، جوانه‌زنی و استقرار اولیه برخی گونه‌های زراعی مانند کلزا [1]، آفتابگردان [2]، ذرت [3]، یونجه [4]، سیب‌زمینی [5]، عدس [6] و چغندرقند [7] که حساسیت زیادی نسبت به این علف‌کش‌ها دارند، تحت تأثیر قرار می‌گیرند و باقیمانده این علف‌کش‌ها در خاک نگران‌کننده است (Mousavi *et al*., 2005; Moyer, 1995). مت‌سولفورون‌متیل+ سولفوسولفورون با نام تجاری توتال یکی از علف‌کش‌های خانواده سولفونیل‌اوره است که دارای پسماند نسبتاً زیادی در محیط است (Brown, 1990).

[1] *Brassica napus* (L.)
[2] *Helianthus annuus* (L.)
[3] *Zea mays* (L.)
[4] *Medicago sativa* (L.)
[5] *Solanum tuberosum* (L.)
[6] *Lens culinaris* Medik.
[7] *Beta vulgaris* (L.)

نتایج بررسی‌های متعدد گواه بر اثرات منفی علف‌کش‌های مختلف بر جوانه‌زنی (Mousavi *et al*., 2005; Moyer, 1995) و خصوصیات رشدی (Alonso-Prados *et al*., 2002) گیاهان مختلف است که نشان‌دهنده آن است که باید تدابیر موثری برای کاهش اثرات منفی ناشی از حضور غلظت‌های مختلف علف‌کش‌ها به‌ویژه در خاک اندیشیده شود. یکی از رهیافت‌های اکولوژیکی و پایدار با این هدف، کاربرد مواد آلی است. کاربرد کود گاوی باعث کاهش نیمه‌عمر علفکش متری‌بوزین در خاک شد (Fakhrrad *et al*., 2013) که می‌تواند اثرات منفی ناشی از حضور متری‌بوزین در خاک را کاهش دهد. ازآنجایی‌که اطلاعات زیادی در مورد واکنش‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه ماش به غلظت‌های مختلف علف‌کش مت‌سولفورون‌متیل+ سولفوسولفورون در شرایط کاربرد مواد آلی منتشر نشده است؛ این مطالعه باهدف بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف علف‌کش مت‌سولفورون‌متیل+ سولفوسولفورون بر خصوصیات بیوشیمیایی گیاه ماش و همچنین بررسی اثر کاربرد ماده آلی در خاک بر کاهش اثرات منفی این علف‌کش انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی و بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد نیشابور به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. خاک مورداستفاده برای انجام آزمایش (تهیه‌شده از مزرعه فاقد سابقه کشت، کاربرد علف‌کش، کود شیمیایی و کود آلی به مدت پنج سال) ازنظر مقدار ماده آلی مورد بررسی قرار گرفت و پس از آنالیز مقدار ماده آلی خاک، تا رسیدن به سطح ماده آلی موردنظر، به خاک‌ها کود گاوی کاملاً پوسیده اضافه شد. خصوصیات خاک و کود گاوی مورد استفاده برای آزمایش به‌ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱. خصوصیات خاک گلدان‌های آزمایش.

Table 1. Soil characteristics of the experimental pots.

Soil depth (cm)	Absorbable potassium ($mg.kg^{-1}$)	Absorbable phosphorus ($mg.kg^{-1}$)	Organic carbon (%)	pH	EC ($dS.m^{-1}$)	Bulk density ($g.cm^{-3}$)	Soil texture	Particle size percentage		
								Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)
0-30	27.12	14.11	0.12	7.3	2.17	1.50	Loam	40.8	41.3	17.9

جدول ۲. خصوصیات کود گاوی.

Table 2. Characteristics of cattle manure.

Moisture (%)	C/N	Organic carbon (%)	pH	EC ($dS.m^{-1}$)	Total N (%)	Total P (%)	Total K (%)
24.6	8.77	15.8	7.8	2.4	1.8	0.31	0.81

مقدار علف‌کش مت‌سولفورون‌متیل+ سولفوسولفورون (توتال®، گرانوله وتابل ۸۰ درصد (متسولفورون‌متیل ۷۵٪ + سولفوسولفورون ۵٪)، شرکت آرمان سبز آدینه، ایران) برای هر واحد

آزمایشی، باتوجه‌به وزن یک هکتار خاک زراعی تا عمق ۱۵ سانتی‌متری، وزن خاک هر گلدان ۴۵۰۰ گرم و مقدار موردنظر محاسبه‌شده و با استفاده از ترازوی دقیق توزین شد (صفر، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار معادل به‌ترتیب صفر، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، و ۶۰ میکروگرم در هر گلدان حاوی ۴۵۰۰ گرم خاک). سپس به‌منظور کاهش خطای آزمایش، خاک مورد نیاز برای تکرارهای یک تیمار جدا شده و غلظت مورد نیاز برای سه تکرار به خاک‌ها اضافه شده و پس از مخلوط کردن خاک‌ها مقدار ۴۵۰۰ گرم خاک به هر گلدان منتقل شد. گلدان‌ها به آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه آزاد نیشابور با دمای ۲۵ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد به‌ترتیب در روز و شب با دامنه تغییر پنج درجه در روز و سه درجه در شب منتقل شدند. پس از ضدعفونی سطحی بذرهای ماش رقم پرتو (پنج دقیقه در هیپوکلریت‌سدیم پنج درصد)، در هر گلدان (قطر دهانه بالای گلدان ۲۲ سانتی‌متر، قطر دهانه پایین ۱۵/۵ سانتی‌متر، گلدان ۲۲ سانتی‌متر، ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر) ۲۰ عدد بذر ماش کشت شد. سپس در زیر هر گلدان یک زیرگلدانی جهت کنترل آب خروجی حاوی علف‌کش قرار گرفت که پس از هر آبیاری در صورت خروج آب زهکش از پایین گلدان، این محلول دوباره به گلدان برگردانده شد. آبیاری در طول رشد گیاه و براساس نیاز گیاه هر سه روز یک‌بار انجام می‌شد. دو هفته پس از کشت، تعداد گیاهچه‌های سبزشده به پنج عدد در هر گلدان تنک شدند.

شش هفته پس از سبزشدن گیاه (شروع گلدهی)، اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل مقدار کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها از برگ و پرولین، فعالیت آنزیم کاتالاز،سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز و آنزیم استولاکتات‌سینتاز از برگ و ریشه در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی و بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد نیشابور انجام شد.

اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید به روش لیچتنتالر (Lichtenthaler, 1987) صورت گرفت. بدین‌منظور ۰/۵ گرم از بافت برگ (جوان‌ترین برگ کاملا توسعه‌یافته) توزین شد و با چهار میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد (سیگماآلدریچ با کد ۶۵۰۵۰۱) در هاون چینی با دقت سائیده شد. جهت صاف‌کردن این مخلوط و جداسازی بخش‌های اضافی گیاه، مخلوط حاضر توسط دستگاه سانتریفیوژ[۲۱] در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه قرار گرفت. سپس محلول بالایی به لوله آزمایش دیگری منتقل و به آن ۱۴ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد اضافه شد. جهت اندازه‌گیری غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئید، ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر (UV–Vis spectrophotometer, model T80, China) با استون ۸۰ درصد در طول موج‌های ۶۶۴، ۶۴۷ و ۴۷۰ نانومتر کالیبره و صفر شد. سپس جذب محلول‌های تهیه‌شده در این طول

[1] ALC Multispeed Refrigerated Centrifuge PK 121R, Wales

موج‌ها قرائت و با استفاده از فرمول‌های زیر غلظت کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئیدها محاسبه شد.

$$\text{کلروفیل a} = [12.25(A_{664}) - 2.79(A_{647})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

میلی‌گرم بر گرم وزن تر

$$\text{کلروفیل b} = [21.51(A_{647}) - 5.1(A_{664})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

میلی‌گرم بر گرم وزن تر

$$\text{کاروتنوئید} = \frac{[1000(A_{470}) - 1.8Cha - 85.02Chb]}{198} \times \frac{V}{1000 \times W}$$

میلی‌گرم بر گرم وزن تر

که در آنها V: حجم کلروفیل استخراج‌شده برحسب میلی‌لیتر، W: وزن تر بافت مورد استفاده برحسب گرم است.

به‌منظور سنجش مقدار پرولین از روش بیتس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) با استفاده از معرف نین‌هیدرین استفاده شد. برای تهیه معرف نین‌هیدرین، مقدار ۱/۲۵ گرم نین‌هیدرین (مرک با کد ۱۰۶۷۶۲) را با ۳۰ میلی‌لیتر اسیداستیک خالص (مرک با کد ۸۱۸۷۵۵) و ۲۰ میلی‌لیتر اسیدفسفریک شش مولار (مرک ۸۵٪ با کد ۱۰۰۵۷۳) مخلوط کرده و مخلوط حاصل را با بن‌ماری گرم کرده تا کاملاً محلول یکنواخت و همگنی به‌دست آید. محلول حاصل سپس به یک بطری قهوه‌ای‌رنگ منتقل شد. این محلول در یخچال تا ۲۴ ساعت قابل نگهداری است. برای تهیه منحنی استاندارد، از پرولین خالص (L-Prolin) (مرک با کد ۱۰۷۴۳۴) استفاده شد. بدین‌منظور از محلول پایه ۱۰۰ میلی‌لیتر پرولین به‌ترتیب حجم‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵، ۴، ۴/۵ و ۵ میلی‌لیتر به یازده لوله آزمایش دارای حجم ۵۰ میلی‌لیتر منتقل شد و حجم نهایی با آب مقطر در هر لوله به ۲۵ میلی‌لیتر رسید. به‌این‌ترتیب محلول‌هایی با غلظت ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۱۸، و ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد. دو میلی‌لیتر از هر یک از محلول‌های فوق را با دو میلی‌لیتر اسیداستیک و دو میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین در یک لوله آزمایش ریخته و به‌مدت یک ساعت در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به ظرف حاوی یخ منتقل و سپس در دمای اتاق به محتوی هر لوله مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن (مرک با کد ۱۰۸۳۲۳) اضافه شد. در ادامه لوله‌ها به مدت ۳۰ ثانیه داخل شیکر قرار گرفته و با دور تند (۵۰۰ دور در دقیقه) تکان داده شدند تا پرولین در تولوئن حل شود. سپس ۲۰ دقیقه نمونه‌ها در دمای اتاق به‌صورت ثابت قرار گرفتند بدین‌ترتیب، مخلوط به‌دست‌آمده دارای دو فاز شد که فاز بالایی حاوی تولوئن و پرولین محلول در آن بود که بر اساس منحنی استاندارد معادله زیر مقدار پرولین به‌دست آمد.

$$Y=0.0029\ X + 0.0075$$

Y= عدد قرائت‌شده با دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV–Vis spectrophotometer, model T80, China) و X= غلظت پرولین برحسب میلی‌لیتر بر لیتر بود.

به‌منظور سنجش پرولین ۰/۲ گرم از بافت گیاهی به تفکیک ریشه‌ها و برگ‌ها به‌ترتیب از تمامی واحدهای آزمایشی با چهار میلی‌لیتر اسیدسولفوسالسیلیک (مرک با کد ۸۰۰۶۹۱) آبدار سه درصد در هاون چینی ساییده شد. سپس نمونه‌ها با دستگاه سانتریفیوژ صاف شدند و در هر لوله آزمایش مقدار دو میلی‌لیتر از عصاره صاف‌شده، دو

میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسیداستیک ریخته شد. محلول حاصل به مدت یک ساعت در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به ظرف حاوی یخ منتقل شدند تا واکنش‌ها خاتمه یابد. پس‌ازآن نمونه‌ها در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس به محتوی هر لوله، مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد و به‌مدت ۳۰ ثانیه داخل شیکر با سرعت زیاد قرار گرفتند. بدین‌ترتیب پرولین موجود در نمونه‌ها در تولوئن حل شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق به‌صورت ثابت قرار گرفت تا مخلوط حاصل دو فاز شد. جذب نوری محلول فاز بالایی که حاوی تولوئن و پرولین است با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد و فرمول ذیل غلظت پرولین براساس میکرومول پرولین در گرم وزن تر بافت گیاه ماش محاسبه شد.

$$\text{پرولین میکرومول} = \left(\frac{\mu g\ prolin}{ml} \times \frac{ml\ toloen}{115.5\left(\frac{\mu g}{\mu mol}\right)}\right) / \frac{gr\ sample}{5}$$

در گرم وزن تر.

فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش پریرا و همکاران (Pereira *et al.*, 2002)، با بررسی مقدار کاهش مقدار پراکسیدهیدروژن در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر سنجیده شد. محلول مورداستفاده شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=7 و پراکسیدهیدروژن ۳۰ میلی‌مولار می‌باشد. سنجش با افزودن مقدار ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در حجم نهایی سه میلی‌لیتر بافر سنجش و پراکسیدهیدروژن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV–Vis spectrophotometer, model T70, China) در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر هر ۶۰ ثانیه یک‌بار به تعداد سه مرتبه انجام شد.

$$\text{فعالیت آنزیم کاتالاز برحسب مول درگرم وزن‌تر بافت گیاهی.} = \frac{Absorb\ in\ 0sec - Absorb\ in\ 60\ sec}{18}$$

فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با استفاده از روش بیچمپ و فریودویچ (Beauchamp & Fridovich, 1971) سنجیده شد. فعالیت این آنزیم با استفاده از سنجش مهار احیای نوری نیتروبلو-تترازولیوم (N.B.T) در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر و براساس تغییرات جذب بیان شد. بدین‌منظور از سه و چهار گرم دی‌پتاسیم‌هیدروژن‌فسفات و ۳/۴۵ گرم پتاسیم‌دی‌هیدروژن‌فسفات در حجم نهایی ۱۰۰ میلی‌لیتر با pH=7.8 استفاده شد. همچنین به‌صورت جداگانه ۰/۰۰۴۵ گرم ریبوفلاوین (مرک با کد ۷۶۰۹)، ۱/۴۴۷ گرم متیونین (مرک با کد ۱۰۵۷۰۷)، ۰/۱۶۳ گرم نیتروبلوتترازولیوم (مرک با کد ۱۲۴۸۲۳) و ۰/۱۱۱ گرم اتیلن دی‌نیتروتترااستیک-اسید (مرک با کد ۱۰۸۴۵۲) (توزین‌شده با ترازوی آزمایشگاهی مدل CA) هرکدام با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید. برای سنجش این آنزیم مقادیر ۱۰۹۶ میکرولیتر آب مقطر، ۱۱۲ میکرولیتر محلول نیتروبلوتترازولیوم، ۴۰۲ میکرولیتر محلول متیونین، ۱۰۰ میکرولیتر محلول EDTA (مرک با کد ۱۰۸۴۵۴) و ۷۵۰ میکرولیتر بافر سنجش به هر فالکون منتقل شد. سپس به هر فالکون مقدار ۴۰ میکرولیتر عصاره استخراج‌شده آنزیمی منتقل شد و در یک مکان کاملاً تاریک به هر فالکون مقدار ۵۰۰ میکرولیتر محلول ریبو فلاوین اضافه شد. پس از آن

تمام فالکون‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در معرض نور لامپ فلورسنت قرار گرفتند. درنهایت مقدار جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر ثبت شد.

$$\text{آنزیمی واحد} = \frac{Blank\ absorbance - Sample\ absorbance}{Blank\ absorbance}$$

در ۴۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی.

جهت اندازه‌گیری کمی آنزیم پراکسیداز از روش چانس و ماهلی (Chance & Maehly, 1995) استفاده شد. بدین‌منظور محلول‌ها و عصاره‌های آنزیمی از یخچال و فریزر خارج شدند. طول‌موج دستگاه اسپکتروفتومتر بر ۴۲۰ نانومتر تنظیم‌شده و هر ۲۰ ثانیه یک‌بار به مدت دو دقیقه نمونه‌ها طول‌موج‌سنجی شد. بیشترین میزان اختلاف یعنی تفاوت اولین طول‌موجی که رو به کاهش یافت وارد فرمول کمیت‌سنجی شد و با واحد فعالیت بر میلی‌گرم وزن‌تر گزارش شد.

به‌منظور تعیین مقدار آنزیم استولاکتات‌سینتاز از روش وسترفلدز (Westerfeld, 1945) استفاده شد. در این روش ۲-استولاکتات به ۳-هیدروکسی ۲-بوتان و محصول نهایی به دی‌استیل تبدیل می‌شود. اشکال دی‌استیل در محدوده طول‌موج‌های ۴۲۰ تا ۶۲۰ نانومتر جذب دارند. ولی بیشترین جذب آن‌ها در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر است. درنهایت داده‌های به‌دست‌آمده به‌صورت ۲ و ۳ دی‌کتون در نانومول در هر گرم وزن‌تر بیان شد.

به‌منظور تهیه عصاره گیاهی برای سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از روش دیندسا و همکاران (Dhindsa *et al.*, 1981) استفاده شد. به این منظور به‌ترتیب از هر پلات آزمایشی مقدار ۰/۵ گرم بافت تر توزین شد. سپس با استفاده از نیتروژن مایع به‌خوبی در هاون چینی ساییده شد. پس ازآن مقدار سه میلی‌لیتر بافر استخراج عصاره آنزیمی به محتویات هاون اضافه و مجدداً بافت‌های گیاهی به‌خوبی در مجاورت بافر استخراج ساییده شد.

مخلوط حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد. محلول صاف‌شده در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار (مدل Hettich) در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول بالایی که حاوی عصاره آنزیم‌ها بود جهت نگهداری در فریزر تحقیقاتی (مدل Selecta) قرار گرفت.

نرمال‌بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو ویلکاکسون و با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 تایید شد. سپس داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS 9.4 آنالیز شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD محافظت‌شده در سطح پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ ماش نشان داد که اثر غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن بر صفاتی همچون کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئیدها، پرولین، کاتالاز، پراکسیداز و آنزیم استولاکتات‌سینتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. درحالی‌که تاثیر این علف‌کش بر سوپراکسیددیسموتاز معنی‌دار نبود (جدول ۲).

اثرگذاری علف‌کش‌ها بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان مختلف توسط محققان بسیار زیادی گزارش‌شده است. به‌عنوان مثال دوسانتوس و همکاران (Dos santos *et al.*, 1999) گزارش

کردند که علف‌کش‌های بوتاکلر، گلایفوسیت و پروپانیل بر محتوی کلروفیل نوعی عدسک آبی [1] اثر کاهشی داشتند.

نتایج بررسی اثر علف‌کش‌های بوتاکلر، گلایفوسیت و پروپانیل بر رنگدانه‌ها در عدسک آبی نشان داد که بوتاکلر بر محتوی کلروفیل b، گلایفوسیت بر محتوی کلروفیل a و پروپانیل بر کلروفیل a و b و همچنین نسبت آن‌ها اثرگذار بودند (Dos santos *et al*., 1999). در مطالعه‌ای دیگر فنوکساپروپ‌پی‌اتیل باعث کاهش مقدار کلروفیل a و b و همچنین کاروتنوئیدها در جلبک آنابنا شد (Okmen *et al*., 2013). البته این اثرگذاری به‌شدت وابسته به غلظت فنوکساپروپ‌پی‌اتیل بود؛ به‌طوری‌که در غلظت ۶/۲۵ میلی‌گرم در لیتر اثر افزایشی بر مقدار کلروفیل‌ها و همچنین کاروتنوئیدها مشاهده شد.

مقدار کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها در غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به‌شدت کاهش یافت و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌صورت کامل از بین رفتند (Okmen *et al*., 2013). در مورد سی‌هالوفوپ‌بوتیل نیز روند تقریباً مشابهی مشاهده شد. در غلظت‌های پایین حدود ۲۵ میلی‌گرم در لیتر اثر افزایشی بر محتوی کلروفیل و کاروتنوئیدها مشاهده شد؛ درحالی‌که در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر این اثر به‌شدت کاهشی بود و در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلروفیل و کاروتنوئیدها به‌صورت کامل از بین رفتند (Okmen *et al*., 2013). نتایج مطالعات دیگر نیز نشان‌دهنده حساسیت بسیار زیاد محتوی کلروفیل و کاروتنوئیدها به علف‌کش‌ها به‌ویژه علف‌کش‌های بازدارنده سنتز رنگ‌دانه است. افزودن یک میکرولیتر از علف‌کش‌های بازدارنده سنتز رنگ‌دانه از جمله فلوریدون به محیط آبی دارای جلبک [2]، ۲۴ ساعت پس از کاربرد به‌شدت سبب کاهش کلروفیل و کاروتنوئیدهای مختلف شد (Kunert & Böger, 1979).

یافته‌های بررسی حاضر نشان می‌دهد که علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره مانند متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن، از طریق اختلال در سنتز رنگدانه‌ها و یا تخریب رنگدانه‌های تولیدشده منجر به کاهش فتوسنتز و رشد گیاه می‌شوند. گزارش‌ها نشان می‌دهند که مهار فعالیت آنزیم استولاکتات-سینتاز منجر به کاهش و یا حتی توقف رشد گیاه و بروز تنش‌های فیزیولوژیک شده که منجر به کاهش رنگدانه‌های برگ می‌شود (Royuela *et al*., 2000; Rose *et al*., 2016; Mendes, 2022). از سوی دیگر، باتوجه‌به جذب سریع علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره توسط ماده آلی خاک، اثر این علف‌کش‌ها بر گیاه وابسته به مقدار و نوع ماده آلی خاک است (Mendes, 2022). باتوجه‌به اینکه در شرایط pH بالای خاک مولکول‌های علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره به‌صورت یونی و با قابلیت تحرک بالا در خاک هستند افزودن ماده آلی به خاک منجر به

[1] *Spirodela punctata* (G. Meyer) D.H. Les & D.J. Crawford, synonym: *Landoltia punctata*

[2] *Scenedesmus acutus* Meyen

تحرک کمتر آن‌ها در خاک و جذب بیشتر به ماده آلی شده و کمتر در دسترس گیاهان قرار گرفته و توسط آن‌ها جذب می‌شوند (Mousavi *et al.*, 2005).

ارزیابی اثر علف‌کش‌های خاک مصرف استوکلر (هارنس®)، دای‌متان‌امید (فرانتیر®) و ایزوکسافلوتول (مرلین®) بر محتوی کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در ذرت نشان داد که کاربرد علف‌کش‌ها در مراحل مختلف رشدی ذرت (سبزشدن، سه تا پنج برگی و گلدهی) به‌صورت معنی‌داری سبب افزایش محتوی کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در برگ‌ها شد (Grigoryuk *et al.*, 2016).

محتوی آنزیم استولاکتات‌سینتاز به‌صورت معنی‌داری تحت‌تأثیر غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن قرار گرفت (جدول ۳). ازآنجایی‌که علف‌کش متسولفورون-متیل + سولفوسولفورن بازدارنده سنتز استولاکتات-سینتاز است؛ بنابراین کاهش فعالیت این آنزیم در گیاهان در نتیجه کاربرد علفکش‌های بازدارنده استولاکتات‌سینتاز دور از انتظار نیست (Zand & Baghestani, 2002; Mousavi *et al.*, 2005; Toteva *et al.*, 2004). گزارش‌هایی مبنی بر افزایش محتوی آنزیم استولاکتات‌سینتاز که ناشی از تغییر ساختار آنزیم است در گونه‌های مقاوم به علف‌کش‌های بازدارنده این آنزیم وجود دارد (Toteva *et al.*, 2004). بنابراین در گیاهان حساسی مانند ماش قابل‌انتظار است که محتوی آنزیم استولاکتات‌سینتاز درنتیجه رشد در محیط آلوده به علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن کاهش یابد. مقدار ماده آلی خاک بر صفت‌های پراکسیداز و آنزیم استولاکتات‌سینتاز برگ اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۳) و بر سایر صفات شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئیدها، پرولین، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۳). کاربرد کود گاوی منجر به افزایش تجزیه و در نتیجه کاهش نیمه‌عمر علف‌کش متری‌بیوزین شد (Fakhr rad *et al.*, 2013). علاوه‌براین با افزایش دوره زمانی انکوباسیون، مقدار تجزیه علف‌کش متری‌بیوزین افزایش یافت. بنابراین افزایش محتوی ماده آلی خاک می‌تواند منجر به کاهش اثر غلظت-های مختلف علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن در خاک بر گیاه ماش شود. اثرات متقابل صفات برگ در مورد صفت‌های پراکسیداز و آنزیم استولاکتات‌سینتاز در سطح یک درصد معنی‌دار بود؛ درحالی‌که در بقیه صفات اثرات متقابل معنی‌دار نبود. در میان صفت‌های اندازه‌گیری‌شده بهترین صفت که بیش‌ترین واکنش را نشان داد میزان آنزیم استولاکتات‌سینتاز بود. بنابراین می‌توان بیان داشت که بررسی تغییرات این آنزیم می‌تواند یکی از روش‌های مطلوب برای ارزیابی تشخیص حضور علف‌کش‌های بازدارنده آنزیم استولاکتات‌سینتاز در خاک باشد.

نتایج یک بررسی نشان داده که کاربرد زغال فعال منجر به کاهش خسارت علف‌کش‌های

آمینوپیرالید[1]، آمینوسیکلوپیراکلر[2] و پیکلورام[3] بر گیاهان گوجه‌فرنگی[4]، بامیه[5] و طالبی[6] می‌شود (Sing *et al*., 2019). علاوه‌براین، نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد زغال فعال به‌تنهایی هیچ‌گونه اثر منفی بر رشد گیاهان مورد آزمایش نداشت. کاربرد زغال فعال منجر به کاهش بیش از ۹۴ درصدی خسارت در بامیه شد. همچنین آمینوسیکلوپیراکلر و پیکلورام بسیار سریع توسط زغال فعال جذب و غیرفعال شدند؛ درحالی‌که برای کاهش اثر آمینوپیرالید بر گیاهان گوجه‌فرنگی، بامیه و طالبی نیاز به کاربرد مقادیر بیشتری از زغال فعال بود (Sing *et al*., 2019). ماده آلی خاک می‌تواند با افزایش فعالیت عوامل بیولوژیکی در خاک منجر به افزایش تجزیه بیولوژیکی علف‌کش‌ها شود. البته افزایش جذب علف‌کش‌ها در سطح مواد آلی خاک می‌تواند آن‌ها را از دسترس عوامل تجزیه‌کننده خارج کرده و بر پایداری آن‌ها در خاک بیفزاید (Shin *et al*.,1998).

نوع ماده آلی بر میزان جذب علف‌کش‌ها تاثیرگذار است. نتایج یک بررسی نشان داد که علف‌کش‌های کلروسولفورون و تری‌بنورون‌متیل تحت تاثیر نوع ماده آلی قرار گرفته؛ به‌طوری‌که هر چه میزان اسیدهیومیک در ماده آلی خاک بیشتر بود میزان جذب این علف‌کش‌ها در سطح ماده آلی نیز بیشتر بود (Mielnik *et al*., 2025). علاوه‌براین مقدار و نوع مواد افزودنی مورداستفاده در فرمولاسیون تجاری این علف‌کش‌ها بر میزان جذب آن‌ها توسط مواد آلی موثر است.

نتایج مقایسه میانگین‌های صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ ماش در حضور غلظت‌های مختلف علف‌کش متسولفورون-متیل+سولفوسولفورن در جدول ۴ نشان داده شده است. مقدار کلروفیل a به‌شدت تحت تأثیر حضور علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن قرار گرفت؛ به‌طوری‌که در کمترین غلظت در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌دار ۱۱/۳ درصدی را نشان می‌دهد. بیشترین مقدار کاهش کلروفیل a (۵۹ درصد) در بالاترین غلظت علف‌کش (۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار) نسبت به شاهد بدون علف‌کش مشاهده شد (جدول ۴). مقدار کلروفیل b نیز واکنش کاهشی را به حضور علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن نشان داد. حساسیت کلروفیل b به حضور علف‌کش متسولفورون‌متیل+ سولفوسولفورن کمتر از کلروفیل a بود؛ به‌طوری‌که کاهش ۵۲ درصدی در تیمار ۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار مشاهده شد. کاهش مقدار کلروفیل با افزایش غلظت علف‌کش‌های فنوکساپروپ‌پی‌اتیل و سی-هالوفوپ‌بوتیل در جلبک آنابنا مشاهده شد (Okmen *et al*., 2013).

[1] Aminopyralid
[2] Aminocyclopyrachlor
[3] Picloram
[4] *Solanum lycopersicum*
[5] *Abelmoschus esculentus*
[6] *Cucumis melo*

جدول ۳. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ ماش (*Vigna radiata* L.).

Table 3. Analysis of variance results (mean squares) for the effect of treatments on leaf physiological and biochemical traits of mung bean (*Vigna radiata* L.).

S.O.V	DF	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotenoids	Leaf proline	Leaf catalase	Leaf SOD	Leaf peroxidase	Leaf ALS
Block	2	0.0376^{ns}	0.0045^{ns}	0.0203^{ns}	77.076^{ns}	$7.41\times10^{-9\,ns}$	0.0303^{ns}	$2.28\times10^{-9\,ns}$	$2.17\times10^{-13\,ns}$
Herbicide concentration	5	2.654^{**}	0.6108^{**}	0.1507^{**}	318.18^{**}	$6.67\times10^{-8**}$	0.0214^{ns}	$1.64\times10^{-8-**}$	$2.17\times10^{-12**}$
Organic matter	1	0.0001^{ns}	0.0559^{ns}	0.0076^{ns}	66.98^{ns}	$4.71\times10^{-10\,ns}$	0.0248^{ns}	$1.11\times10^{-8**}$	$5.64\times10^{-11**}$
HC × OM	5	0.0860^{ns}	0.0498^{ns}	0.0075^{ns}	39.00^{ns}	$\times10^{-9}\,8.77^{ns}$	0.0238^{ns}	$1.20\times10^{-8**}$	$3.69\times10^{-12\,**}$
Error	22	0.0586	0.0404	0.0119	44.053	1.12×10^{-8}	0.0532	6.77×10^{-10}	9.27×10^{-14}
C.V (%)		9.76	16.24	13.08	32.06	41.48	18.66	26.17	3.50

^{ns}، * و ** : به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد هستند.

^{nS}, * and **: non-significant and significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

غلظت کاروتنوئیدها نیز با حضور و همچنین افزایش غلظت متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن کاهش یافت. به‌طورکلی، سنتز رنگ‌دانه‌ها با افزایش غلظت، روند کاهشی را نشان داد. مطابق با نتایج این مطالعه و نتایج گزارش‌شده دیگر نشان‌دهنده اثر کاهنده علف‌کش‌های بازدارنده سنتز رنگدانه‌ها بر محتوی کلروفیل و کاروتنوئیدها با افزایش غلظت بود (Kunert & Böger, 1979). البته در غلظت‌های پایین علف‌کش‌های فنوکساپروپ‌پی‌اتیل (۶/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) و سی‌هالوفوپ‌بوتیل (۲۰ میلی‌گرم در لیتر) افزایش محتوی کلروفیل و کاروتنوئیدها مشاهده شد. مقدار پرولین نیز با افزایش غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن افزایش نشان داد؛ به‌طوری‌که بیشترین مقدار پرولین در شرایط تیماری ۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار مشاهده شد (جدول ۳). افزایش پرولین وابسته به غلظت علف‌کش در مطالعه انجام‌شده توسط مرادبیگی و خارا (Moradbeigi & Khara, 2011) روی آفتابگردان رشدیافته در حضور علف‌کش تریفلورالین گزارش شده است. البته واکنش افزایش محتوی پرولین در برخی از علف‌کش‌ها نظیر کلروسولفورون در نخودفرنگی و باقلا مشاهده شده است؛ درحالی‌که علف‌کش‌های تریالات و نورفلورازون اثری بر محتوی پرولین نخودفرنگی و باقلا نداشتند (Fayez & Kristen, 1996). حساسیت گیاه به علف‌کش، عامل مهمی است که افزایش یا عدم تغییر مقدار پرولین را کنترل می‌کند و هر چه گیاهی حساس‌تر باشد، به‌منظور حفظ وضعیت آبی گیاه سریع‌تر و به مقدار بیشتری پرولین تولید می‌کند.

به‌عنوان‌مثال توتون که حساسیت زیادی به علف‌کش کلروسولفورون دارد درصورتی‌که در معرض این علف‌کش قرار گیرد پس از ۲۴ ساعت به مقدار زیادی محتوی پرولین خود را افزایش می‌دهد (Toteva *et al.*, 2004). بنابراین افزایش پرولین علاوه‌براینکه به نوع و غلظت علف‌کش وابسته بوده به نوع گیاه نیز وابسته است. کاتالاز برگ روند واضحی را با افزایش غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن نشان نداد؛ ولی به‌طورکلی کاتالاز در حضور علف‌کش کاهش نشان داد.

پراکسیداز برگ با افزایش غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن افزایش یافت و بیشترین محتوی پراکسیداز در شرایط تیماری ۳۰ گرم ماده موثره در هکتار مشاهده شد. بر اساس نتایج آزمایش، آنزیم استولاکتات‌سینتاز برگ با افزایش غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن کاهش یافت. مقدار کاهش آنزیم استولاکتات‌سینتاز بسیار زیاد بود؛ به‌طوری‌که با کم‌ترین غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد بدون علف‌کش کاهش یافت. در بسیاری از گیاهان هرز و گیاهان زراعی حساس به علف‌کش‌های بازدارنده آنزیم استولاکتات‌سینتاز، کاهش محتوی این آنزیم مشاهده شده است (Toteva *et al.*, 2004). جدول ۵ نتایج تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی ریشه تحت‌تأثیر غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن، مقدار ماده آلی و همچنین اثر متقابل آن‌ها را نشان می‌دهد. غلظت

علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن بر مقدار پرولین، پراکسیداز ریشه و استولاکتات‌سینتاز ریشه در سطح احتمال یک درصد و بر کاتالاز در سطح پنج درصد اثر معنی‌دار نشان داد. درحالی‌که بر محتوی سوپراکسیددیسموتاز ریشه اثری نداشت (جدول ۵). نتایج مطالعه فایز و کریستن (Fayez & Kristen, 1996) نشان داد که با کاربرد علف‌کش‌های کلروسولفورون، تریالات و نورفلورازون در محیط رشد نخودفرنگی[1]، مقدار پرولین ریشه به مقدار زیادی افزایش یافت. البته بیشترین افزایش مربوط به علف‌کش کلروسولفورون بود. مقادیر کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و همچنین پراکسیداز در ریشه ذرت با کاربرد علف‌کش‌ها ارتباط داشت به‌طوری‌که در حضور علف‌کش‌ها مقادیر این آنزیم‌ها به‌شدت افزایش یافت (Grigoryuk *et al*., 2016).

جدول ٤. مقایسه میانگین اثرات غلظت علف‌کش بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ ماش (*Vigna radiata* L.)

Table 4. Comparison of the means for the effect of herbicide concentration on leaf physiological and biochemical traits of mung bean (*Vigna radiata* L.).

Herbicide concentration in soil (µg a.i. ha^{-1})	Chlorophyll a mg g^{-1} FW	Chlorophyll b mg g^{-1} FW	Carotenoids mg g^{-1} FW	Leaf proline g g^{-1}FWµ	Leaf catalase U g^{-1} FW	Leaf peroxidase U g^{-1} FW	Leaf ALS 0.00001nmol 2,3diketon g^{-1} FW
0	3.313 ^{a}	1.624 ^{a}	1.076 ^{a}	8.040 ^{c}	0.00041 ^{a}	0.00003 ^{c}	9.76×10 $^{-6}$ ^{a}
20	2.938 ^{b}	1.560 ^{a}	0.832 ^{b}	18.550 ^{b}	0.00012 ^{c}	0.00007 ^{b}	8.64×10 $^{-6}$ ^{b}
30	2.531 ^{c}	1.261 ^{b}	0.897 ^{b}	19.522 ^{b}	0.00032 ^{ab}	0.00009 ^{b}	8.96×10 $^{-6}$ ^{b}
40	2.286 ^{c}	1.138 ^{b}	0.847 ^{b}	24.096 ^{ab}	0.00015 ^{c}	0.00010 ^{b}	8.98×10 $^{-6}$ ^{b}
50	2.453 ^{c}	1.072 ^{b}	0.770 ^{b}	25.022 ^{ab}	0.00030 ^{ab}	0.00010 ^{b}	8.18×10 $^{-6}$ ^{c}
60	1.354 ^{d}	0.771 ^{c}	0.592 ^{c}	28.987 ^{a}	0.00023 ^{bc}	0. 00019 ^{a}	8.14×10 $^{-6}$ ^{c}

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد باتوجه‌به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند.

The means with the same letter in each column are not significantly different at the 0.05 probability level according to the LSD test.

تغییر مقدار آنزیم استولاکتات‌سینتاز درنتیجه حضور کلروسولفورون در ارقام مختلف گندم[2] گزارش شده است. ازآنجایی‌که ریشه در معرض علف‌کش‌های موجود در خاک قرار می‌گیرد (Grigoryuk *et al*., 2016)؛ بنابراین هر ترکیبی که منجر به کاهش در دسترس‌قرارگرفتن علف‌کش شود، می‌تواند منجر به واکنش کمتر گیاهان به علف‌کش موجود در خاک شود. ازآنجایی‌که میزان جذب سطحی مواد آلی خاک (K_{OC}) در علف‌کش‌های بازدارنده استولاکتات‌سینتاز زیاد است، بنابراین افزایش مواد آلی خاک می‌تواند خطر آسیب ناشی از این علف‌کش‌ها را به گیاهان زراعی کاهش دهد (Senseman, 2007). ماده آلی خاک بر محتوی کاتالاز ریشه در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی‌داری داشت و بر بقیه صفات بیوشیمیایی ریشه اثری نداشت (جدول ۵). نتایج همچنین نشان داد که نتیجه اثر متقابل غلظت علف‌کش و ماده آلی بر محتوی پرولین ریشه، پراکسیداز ریشه و استولاکتات ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی ریشه در جدول ۶ نشان داده شده است.

[1] *Pisum sativum* (L.)

[2] *Triticum aestivum* (L.)

پرولین ریشه با افزایش غلظت علف‌کش در خاک افزایش یافته است. بیشترین میزان تجمع پرولین در ریشه ماش در تیمار ۳۰ گرم ماده موثره مشاهده شد. هم‌راستا با نتایج آزمایش، فایز و کریستن (Fayez & Kristen, 1996) افزایش تجمع پرولین را با کاربرد علف‌کش‌های مختلف در ریشه نخودفرنگی نشان دادند. کاتالاز ریشه فقط در تیمار ۳۰ گرم ماده موثره علف‌کش افزایش معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان داد و بین سایر غلظت‌های علف‌کش و تغییر آنزیم کاتالاز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بنابراین کاتالاز ریشه حساسیت کمتری به حضور علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن نشان داد. پراکسیداز ریشه نوسان زیادی را نشان داد ولی باز هم بیشترین اثر مربوط به تیمار ۳۰ گرم ماده موثره علف‌کش بود که کاهش معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان داد. استولاکتات‌سینتاز ریشه با افزایش غلظت علف‌کش کاهش یافت و از غلظت ۱۵ گرم ماده موثره به بالاتر کاهش معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان داد.

جدول ۵. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات بیوشیمیایی ریشه ماش (*Vigna radiata* L.)

Table 5. Analysis of variance results (mean squares) for the effect of treatments on root biochemical traits of mung bean (*Vigna radiata* L.).

S.O.V	DF	Root proline	Root catalase	Root S.O.D	Root peroxidase	Root ALS
Block	2	2.974^{ns}	$1.30\times10^{-9\ ns}$	0.0207^{ns}	$2.86\times10^{-9\ ns}$	$4.01\times10^{-4\ ns}$
Herbicide concentration	5	133.454^{**}	$1.69\times10^{-8\ *}$	0.0283^{ns}	$1.92\times10^{-8\ **}$	$4.20\times10^{-13\ **}$
Organic matter	1	19.703^{ns}	$2.01\times10^{-8\ *}$	0.0071^{ns}	$7.80\times10^{-9\ ns}$	$2.07\times10^{-13\ ns}$
HC × OM	5	19.675^{**}	$7.10\times10^{-9\ ns}$	0.0262^{ns}	$2.09\times10^{-8\ **}$	$2.33\times10^{-13\ **}$
Error	22	1.199	4.36×10^{-9}	0.0223	3.82×10^{-9}	5.21×10^{-14}
C.V (%)		24.92	47.66	18.14	28.16	1.84

ns، * و ** : به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد هستند.

ns, * and **: non-significant and significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ٦. مقایسه میانگین اثر غلظت علف‌کش بر صفات بیوشیمیایی ریشه ماش (*Vigna radiata* L.)

Table 6. Comparison of the means for the effect of herbicide concentration on root biochemical traits of mung bean (*Vigna radiata* L.).

Herbicide concentration in soil (µg a.i. ha^{-1})	Root proline µg g^{-1} FW	Root catalase U g^{-1} FW	Root peroxidase U g^{-1} FW	Root ALS 0.00001nmol 2,3diketon g^{-1} FW
0	4.771 ^{d}	0.00001 ^{b}	0.00028 ^{a}	0.00001269 ^{a}
20	5.510 ^{cd}	0.00015 ^{b}	0.00019 ^{bc}	0.00001268 ^{a}
30	6.283 ^{cd}	0.00013 ^{b}	0.00027 ^{a}	0.00001226 ^{bc}
40	7.638 ^{c}	0.00008 ^{b}	0.00025 ^{ab}	0.00001234 ^{b}
50	11.338 ^{b}	0.00014 ^{b}	0.00021 ^{ab}	0.00001231 ^{b}
60	17.168 ^{a}	0.00023 ^{a}	0.00013 ^{c}	0.00001200 ^{c}

میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد باتوجه‌به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند.

The means with the same letter are not significantly different at the 0.05 probability level according to the LSD test.

نتایج مقایسه میانگین اثر ماده آلی بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ و ریشه ماش در جدول ۷ نشان داده شده است. این نتایج نشان‌دهنده افزایش پراکسیداز برگ و کاهش آنزیم‌های استولاکتات‌سینتاز برگ و کاتالاز ریشه است. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت علف‌کش در ماده آلی بر صفات بیوشیمیایی برگ و ریشه ماش در جدول ۸ نشان داده شده است.

جدول ۷. مقایسه میانگین اثر ماده آلی بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ و ریشه ماش (*Vigna radiata* L.).

Table 7. Comparison of the means for the effect of organic matter on shoot physiological and biochemical traits of mung bean (*Vigna radiata* L.).

Herbicide concentration (g a.i. ha^{-1})	Leaf peroxidase U g^{-1} FW	Leaf ALS 0.00001nmol 2,3diketon g^{-1}FW	Root catalase U g^{-1} FW
0	0.00008 ^{b}	7.52×10^{-6} ^{b}	0.00016 ^{a}
4	0.00012 ^{a}	1.00×10^{-5} ^{a}	0.00011 ^{b}

میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد باتوجه‌به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند.

The means with the same letter are not significantly different at the 0.05 probability level according to the LSD test.

جدول ۸. مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت علف‌کش در ماده آلی بر صفات بیوشیمیایی برگ و ریشه ماش (*Vigna radiata* L.).

Table 8. Comparison of means for the effect of herbicide concentration on growth traits of mung bean (*Vigna radiata* L.).

Organic matter	Herbicide concentration in soil (µg a.i. ha^{-1})	Leaf peroxidase U g^{-1} FW	Leaf ALS 0.00001nmol 2,3-diketon g^{-1} FW	Root peroxidase U g^{-1} FW	Root ALS 0.00001nmol 2,3-diketon g^{-1} FW
0	0	2.95×10^{-5} ^{cd}	9.62×10^{-6} ^{b}	2.70×10^{-4} ^{a}	1.27×10^{-5} ^{a}
	20	9.47×10^{-5} ^{bc}	7.62×10^{-6} ^{b}	2.84×10^{-4} ^{a}	1.28×10^{-5} ^{a}
	30	1.17×10^{-4} ^{b}	7.28×10^{-6} ^{b}	0.81×10^{-5} ^{e}	1.21×10^{-5} ^{e}
	40	7.11×10^{-5} $^{b-d}$	7.08×10^{-6} ^{b}	2.14×10^{-4} $^{a-c}$	1.20×10^{-5} ^{ef}
	50	7.14×10^{-5} $^{b-d}$	7.01×10^{-6} ^{b}	1.50×10^{-4} ^{cd}	1.24×10^{-5} $^{b-d}$
	60	1.00×10^{-5} ^{d}	6.55×10^{-6} ^{b}	8.32×10^{-5} ^{de}	1.17×10^{-5} ^{f}
4	0	3.33×10^{-5} ^{cd}	3.87×10^{-5} ^{a}	2.80×10^{-4} ^{a}	1.27×10^{-5} ^{ab}
	20	5.42×10^{-5} $^{b-d}$	8.67×10^{-6} ^{b}	8.36×10^{-5} ^{de}	1.25×10^{-5} $^{a-d}$
	30	8.02×10^{-5} $^{b-d}$	1.06×10^{-5} ^{b}	3.11×10^{-4} ^{a}	1.24×10^{-5} $^{b-d}$
	40	1.14×10^{-4} ^{b}	1.09×10^{-5} ^{b}	2.86×10^{-4} ^{a}	1.26×10^{-5} $^{a-c}$
	50	2.2×10^{-4} ^{a}	9.36×10^{-6} ^{b}	2.69×10^{-4} ^{ab}	1.22×10^{-5} ^{de}
	60	1.14×10^{-4} ^{b}	1.07×10^{-5} ^{b}	1.64×10^{-4} $^{b-d}$	1.23×10^{-5} $^{c-e}$

میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد باتوجه‌به آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار ندارند.

The means with the same letter are not significantly different at the 0.05 probability level according to the LSD test.

به‌طورکلی پراکسیداز برگ در تیمارهای حاوی ماده آلی بالاتر بیشتر بود. استولاکتات‌سینتاز برگ در تیمار افزایش ماده آلی به‌صورت معنی‌داری بهبود یافت. میزان پرولین ریشه با افزایش غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن افزایش یافت. افزایش پرولین ریشه در تیمارهای ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میکروگرم ماده موثره در گلدان در تیمارهای بدون ماده آلی بیشتر بود؛ ولی در تیمار ۶۰ میکروگرم ماده موثره در گلدان پرولین ریشه در شرایط کاربرد ماده آلی بیشتر بود. پراکسیداز ریشه با افزایش غلظت

علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن در شرایط عدم افزودن ماده آلی کاهش نشان داد که افزودن ماده آلی به خاک منجر به کاهش بسیار کمتر پراکسیداز ریشه شد. استولاکتات‌سینتاز ریشه با افزایش غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن کاهش یافت. نتایج همچنین نشان داد که افزودن ماده آلی می‌تواند منجر به کاهش واکنش استولاکتات‌سینتاز ریشه به علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن شود.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی استفاده زیاد از علف‌کش‌های بازدارنده استولاکتات‌سینتاز به دلیل خاصیت انتخابی بالا و فعال‌بودن این علف‌کش‌ها در غلظت‌های بسیار کم در خاک می‌تواند باعث ایجاد خسارت به گیاهان مورد استفاده در تناوب زراعی شود. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده تنش زیاد وارده به ماش درنتیجه غلظت‌های مختلف علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن در خاک بود. ازاین‌رو به نظر می‌رسد برای کشت ماش رعایت فاصله زمانی مناسب از کاربرد علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورن ضروری است. باتوجه‌به افزایش بقایای علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره در خاک‌های دارای ماده آلی کم به نظر می‌رسد افزایش ماده آلی خاک می‌تواند منجر به کاهش بقایای این علف‌کش در خاک و درنتیجه خسارت به محصولات دیگر مورد کشت در تناوب زراعی مانند ماش شود.

منابع

Alonso-Prados, J.L., Hernández-Sevillano, E., Llanos, S., Villarroya, M., García-Baudín, J.M. 2002. Effects of sulfosulfuron soil residues on barley (*Hordeum vulgare*), sunflower (*Helianthus annuus*) and common vetch (*Vicia sativa*). Crop Prot. 21(10): 1061-1066.

Bates, L.S., Waldren, S.P., Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free prolinefor water–stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.

Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal. Biochem. 44: 276-287.

Brown, H.M. 1990. Mode of action, crop selectivity and soil relations of the sulfonylurea herbicides. J. Pestic. Sci. 29: 263-281.

Carvalho, F.P. 2006. Agriculture, pesticides, food security and food safety. Environ. Sci. Policy. 9: 685-692.

Chance, B. and Maehly, A.C. 1995. Assay of catalase and peroxidase. In: Colowick S.P., and N.D. Kaplan. (eds). Methods in Enzymology. Academic Press. New York. 2: 764-791.

Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P., Thorpe, T.A. 1981. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. J. Exp. Bot. 32: 93-101.

Dos Santos, D.M., Pitelli, R.A., Banzatto, D.A. 1999. Effect of the herbicides on the chlorophyll content of *Spirodela punctate*. Planta Daninha. 17: 175-182.

Fakhr Rad, F., Izadi Darbandi, E., Rashed, M.H., Hassanzade Khayat, M., Nassirli, H. 2013. Investigation of metribuzin degradation in soil and the effect of organic manure on its degradation and half life. J. Iran. Plant Prot. Res. 26(4): 467-476.

Fayez, K.A. and Kristen, U. 1996. The influence of herbicides on the growth and proline content of primary roots and on the ultrastructure of root caps. Environ. Exp. Bot. 36: 71-81.

Grigoryuk, I.P., Lykholat, U.V., Rossykhina-Galycha, G.S., Khromykh, N.O., Serga, O.I. 2016. Effect of soil herbicides on the antioxidant system of maize vegetative organs during ontogenesis. Ann. Agr. Sci. 14: 95-98.

Hammami, H. and Eslami, S.V. 2024. Physiological and growth responses of milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) to soil-applied herbicides. J. Environ. Manag. 365: 121420.

Kunert, K.J. and Böger, P. 1979. Influence of bleaching herbicides on chlorophyll and carotenoids. Zeitschrift für Naturforschung, 34: 1047-1051.

Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembrane. Meth. Enzymol. 148: 350-381.

Lubin, M. and Westerfeld, W.W. 1945. The metabolism of acetaldehyde. J. Biol. Chem. 161: 503-512.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.H., Farr. S.L., Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Biol. Chem. 193: 265–275.

Mielnik, L., Bernacki, B., Weber, J. 2025. The influence of selected herbicides on soil organic matter: Determining the sustainable development of agroecosystems. Sustainability, 17(4): 1376.

Mendes, K.F. (Ed.). 2022. Interactions of biochar and herbicides in the environment. CRC Press.

Moberg, W.K. and Cross, B. 1990. Herbicides inhibiting branched-chain amino acid bio-synthesis. J. Pest. Sci. 29: 241-246.

Moradbeigi, H. and Khara, J. 2011. An evaluation of some physiological and biochemical parameters resulting from interaction of herbicide trifluralin and mychorrizal colonization by *Glomus versiforme* in sunflower plants (cv. Lakomka). Plant Boil. 3: 59-70.

Mousavi, S.K., Zand, E., Saremi, H. 2005. Physiological function and application of herbicides. Plant Pest and Diseases Research Institute Publication and Zanjan University Press.

Moyer, J.R. 1995. Sulfonylurea herbicide effects on following crops. Weed Tech. 373–379.

Okmen, G., Turkcan, O., Erdal, P. 2013. Effect of herbicides on chlorophyll-a, β-caroten, phycocyanin and allophycocyanin content of *Anabaena* sp. J. Appl. Biol. Sci. 2: 20-27.

Pereira, G.J.G., Molina, S.M.G., Lea, P.J., Azevedo, R.A. 2002. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria juncea*. Plant Soil. 239: 123-132.

Rose, M.T., Cavagnaro, T.R., Scanlan, C.A., Terry, J., Rose, Vancov, T., Kimber, S.I.R., Kennedy, R.S., Kookana, Zwieten. L.V. 2016. Impact of herbicides on soil biology and function. Advances in Agron. 136: 133-220.

Royuela, M., Gonzalez, A., Gonzalez, E.M., Arrese-Igor, C., Aparicio-Tejo, P.M., Gonzalez-Murua, C. 2000. Physiological consequences of continuous, sublethal imazethapyr supply to pea plants. J.of Plant Physiol. 157(3): 345-354.

Senseman, S.A. 2007. Herbicide Handbook. Ninth Edition. Weed Science Society of American.

Shinn, S.L. Thill, D.C. Price, W.J., Ball, D.A. 1998. Response of downy brome (*Bromus tectorum*) and rotational crops to MON-37500. Weed Technol. 12: 690- 698.

Singh, V., Masabni, J., Baumann, P., Isakeit, T., Matocha, M., Provin, T., Liu, R., Carson, K., Bagavathiannan, M. 2019. Activated charcoal reduces pasture herbicide injury in vegetable crops. Crop Prot. 117: 1-6.

Toteva, T., Slavov, V.S., Batchvarova, R., Batchvarova, A., Stefanov, D. 2004. Stress markersn in chlorsulphron tolerant transgenic tobacco plants. Plant Physiol. 30: 103-111.

Zand, E. and Baghestani, M.A. 2002. Weed resistance to herbicides. Jahade Daneshgahi of Mashhad Press. (In Persian).

Zhou, Q. Liu, W. Zhang, Y., Liu, K.K. 2007. Action mechanisms of acetolactate synthase-inhibiting herbicides. Pest. Biochem. Physiol. 89(2): 89-96.

Zimdahl, R.L. and Basinger, N.T. 2024. Fundamentals of Weed Science. Elsevier.

Westerfeld, W.W. 1945. A colorimetric determination of blood acetoin. J. Biol. Chem. 161: 495-502.