



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 Laali¹, Leila Alimoradi², 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](https://doi.org/10.22034/ijws.2025.369077.1484).





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

پرویز لعلی^۱، لیلا علیمرادی^۲، حسین حمامی^{۳*}

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.

چکیده

به منظور مطالعه تاثیر غلظت‌های مختلف علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون در شرایط کاربرد و عدم کاربرد ماده آلی در خاک بر ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه زراعی ماش، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دانشگاه آزاد اسلامی نیشابور انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل غلظت علف‌کش متسولفورون-متیل + سولفوسولفورون در شش سطح (صفر، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم ماده موثره در هکتار معادل به ترتیب صفر، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، 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 استولانکات‌سینتاز، ۴۵ روز پس از سبز شدن گیاه (شروع گلدهی) انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که شاخص‌های اندازه‌گیری شده برگ شامل کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها، پرولین، فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آنزیم استولانکات‌سینتاز به صورت معنی‌داری ($p < 0.01$) تحت تاثیر غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون قرار گرفتند. افزایش غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون در خاک منجر به کاهش شاخص‌های کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها، فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آنزیم استولانکات‌سینتاز برگ و افزایش معنی‌دار پرولین برگ شد. علاوه بر این اثر غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون بر پرولین، کاتالاز، پراکسیداز و استولانکات‌سینتاز ریشه معنی‌دار بود. افزایش غلظت علف‌کش منجر به افزایش پرولین و کاتالاز ریشه و کاهش پراکسیداز و استولانکات‌سینتاز ریشه شد. باتوجه به نتایج این آزمایش علف‌کش متسولفورون-متیل + سولفوسولفورون منجر به تنش اکسیداتیو در ماش شد. بنابراین باتوجه به اثرات نامطلوب علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون، گیاه ماش به این علف‌کش تا حدودی حساس بوده که این نکته باید در مدیریت شیمیایی علف‌های هرز در ماش مورد توجه قرار گیرد.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت:

۱۴۰۳/۰۴/۰۶

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۳/۰۸/۰۹

تاریخ انتشار برخط:

۱۴۰۴/۰۴/۰۱

نویسنده مسئول:

حسین حمامی

ایمیل:

hhamami@birjand.ac.ir,
homamihossein@gmail.com

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز،

پرولین، کاروتنوئیدها، ماده آلی.

استناد: لعلی، پ.، علیمرادی، ل.، و حمامی، ح. (۱۴۰۴). ارزیابی واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه ماش (*Vigna radiata* L.) به غلظت‌های مختلف علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون (توتال®) در شرایط کاربرد و عدم کاربرد ماده آلی. دانش علف‌های هرز

ایران، ۲۱(۱): ۱۷-۳۵. DOI: [10.22034/ijws.2025.369077.1484](https://doi.org/10.22034/ijws.2025.369077.1484)

حق انتشار این مستند، متعلق به نویسندگان است. © ۱۴۰۴. ناشر این مقاله، انجمن علوم علف‌های هرز ایران و موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور است. این مقاله تحت گواهی زیر منتشر شده 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

مصرف شده و اغلب آن‌ها به میزان پنج تا ۱۰۰ گرم در هکتار به کار 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). به دلیل فعال بودن این علف‌کش‌ها در خاک، جوانه‌زنی و استقرار اولیه برخی گونه‌های زراعی مانند کلزا^۱، آفتابگردان^۲، ذرت^۳، یونجه^۴، سیب‌زمینی^۵، عدس^۶ و چغندر^۷ 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).

نتایج بررسی‌های متعدد گواه بر اثرات منفی علف‌کش‌های مختلف بر جوانه‌زنی (Mousavi *et*

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 علف‌های هرز است (Carvalho, 2006; Zimdahl & Basinger, 2024). یکی از مهم‌ترین و پرکاربردترین روش‌های مدیریت علف‌های هرز استفاده از مواد شیمیایی است (Moberg & Cross, 1990; Zimdahl & Basinger, 2024). اگرچه استفاده از علف‌کش‌ها روشی نسبتاً سریع و ارزان برای مدیریت علف‌های هرز است؛ اما معایبی همچون اثر آن‌ها بر موجودات غیرهدف و پسماند آن‌ها در محیط باعث شده که نیاز به دقت در کاربرد آن‌ها اهمیت حیاتی یابد. در سال‌های اخیر علف‌کش‌های مختلفی از خانواده سولفونیل‌اوره‌ها به بازار آمده است. علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره از سنتز اسیدهای آمینه 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

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.)

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 به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. خاک مورد استفاده برای انجام آزمایش (تهیه شده از مزرعه فاقد سابقه کشت، کاربرد علف‌کش، کود شیمیایی و کود آلی به مدت پنج سال) از نظر مقدار ماده آلی مورد بررسی قرار گرفت و پس از آنالیز مقدار ماده آلی خاک، تا رسیدن به سطح ماده آلی مورد نظر، به خاک‌ها کود گاوی کاملاً پوسیده اضافه شد. خصوصیات خاک و کود گاوی مورد استفاده برای آزمایش به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

(al., 2005; Moyer, 1995) و خصوصیات رشدی گیاهان مختلف (Alonso-Prados et al., 2002) است که نشان‌دهنده آن است که باید تدابیر موثری برای کاهش اثرات منفی ناشی از حضور غلظت‌های مختلف علف‌کش‌ها به ویژه در خاک اندیشیده شود. یکی از رهیافت‌های اکولوژیکی و پایدار با این هدف، کاربرد مواد آلی است. کاربرد کود گاوی باعث کاهش نیمه عمر علف‌کش متری بوزین در خاک شد (Fakhrrad et al., 2013) که می‌تواند اثرات منفی ناشی از حضور متری بوزین در خاک را کاهش دهد. از آنجایی که 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

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

آزمایشی، با توجه به وزن یک هکتار خاک زراعی تا عمق ۱۵ سانتی متری، وزن خاک هر گلدان ۴۵۰۰ گرم و مقدار مورد نظر محاسبه شده و با استفاده از ترازوی دقیق توزین شد (صفر، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و

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

کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و آنزیم استولاکتات سینتاز از برگ و ریشه در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی و بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد نیشابور انجام شد.

اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید به روش لیچنتنالر (Lichtenthaler, 1987) صورت گرفت. بدین منظور ۰/۵ گرم از بافت برگ (جوان‌ترین برگ کاملاً توسعه یافته) توزین شد و با چهار میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد (سیگما آلدریج با کد ۶۵۰۵۰۱) در هاون چینی با دقت سائیده شد. جهت صاف کردن این مخلوط و جداسازی بخش‌های اضافی گیاه، مخلوط حاضر توسط دستگاه سانتریفیوژ^۱ 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 تهیه شده در این طول موج‌ها قرائت و با استفاده از فرمول‌های زیر غلظت کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئیدها محاسبه شد.

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

میلی‌گرم بر گرم وزن تر

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

میلی‌گرم بر گرم وزن تر

۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار معادل به ترتیب صفر، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، و ۶۰ میکروگرم در هر گلدان حاوی ۴۵۰۰ گرم خاک). سپس به منظور 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 به ترتیب در روز و شب با دامنه تغییر پنج درجه در روز و سه درجه در شب منتقل شدند. پس از ضد عفونی سطحی بذرهای ماش رقم پرتو (پنج دقیقه در هیپوکلریت سدیم 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 سبز شده به پنج عدد در هر گلدان تنک شدند.

شش هفته پس از سبز شدن گیاه (شروع گلدهی)، اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل مقدار کلروفیل a و b، کاروتنوئیدها از برگ و پرولین، فعالیت آنزیم

¹ ALC Multispeed Refrigerated Centrifuge PK 121R, Wales

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

میلی گرم بر گرم وزن تر

که در آنها V: حجم کلروفیل استخراج شده بر حسب میلی لیتر، W: وزن تر بافت مورد استفاده بر حسب گرم است.

به منظور سنجش مقدار پرولین از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) با استفاده از معرف ناین هیدرین استفاده شد. برای تهیه معرف ناین-هیدرین، مقدار ۱/۲۵ گرم ناین هیدرین (مرکب با کد ۱۰۶۷۶۲) را با ۳۰ میلی لیتر اسیداستیک خالص (مرکب با کد ۸۱۸۷۵۵) و ۲۰ میلی لیتر اسیدفسفریک شش مولار (مرکب ۸۵٪ با کد ۱۰۰۵۷۳) مخلوط کرده و مخلوط حاصل را با بن ماری گرم کرده تا کاملاً محلول یکنواخت و همگنی به دست آید. محلول حاصل سپس به یک بطری قهوه‌ای رنگ منتقل شد. این محلول در یخچال تا ۲۴ ساعت قابل نگهداری است. برای تهیه منحنی استاندارد، از پرولین خالص (L-Prolin) (مرکب با کد ۱۰۷۴۳۴) استفاده شد. بدین منظور از محلول پایه ۱۰۰ میلی لیتر پرولین به ترتیب حجم‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵، ۴، ۴/۵ و ۵ میلی لیتر به یازده لوله آزمایش دارای حجم ۵۰ میلی لیتر منتقل شد و حجم نهایی با آب مقطر در هر لوله به ۲۵ میلی لیتر رسید. به این ترتیب محلول‌هایی با غلظت ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۱۸ و ۲۰ میکروگرم در میلی لیتر به دست آمد. دو میلی لیتر از هر یک از محلول‌های فوق را با دو میلی لیتر اسیداستیک و دو میلی لیتر معرف ناین هیدرین در یک لوله آزمایش ریخته و به مدت یک ساعت در بن ماری ۱۰۰ درجه

سانتی گراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به ظرف حاوی یخ منتقل و سپس در دمای اتاق به محتوی هر لوله مقدار چهار میلی لیتر تولون (مرکب 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 تولون حل شود. سپس ۲۰ دقیقه نمونه‌ها در دمای اتاق به صورت ثابت قرار گرفتند بدین ترتیب، مخلوط به دست آمده دارای دو فاز شد که فاز بالایی حاوی تولون و پرولین محلول در آن بود که بر اساس منحنی استاندارد معادله زیر مقدار پرولین به دست آمد.

$$Y = 0.0029 X + 0.0075$$

Y = عدد قرائت شده با دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Vis spectrophotometer, model T80, (China) و X = غلظت پرولین بر حسب میلی لیتر بر لیتر بود.

به منظور سنجش پرولین ۰/۲ گرم از بافت گیاهی به تفکیک ریشه‌ها و برگ‌ها به ترتیب از تمامی واحدهای آزمایشی با چهار میلی لیتر اسیدسولفوسالسیلیک (مرکب 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 میلی لیتر از عصاره صاف شده، دو میلی لیتر معرف ناین هیدرین و دو میلی لیتر اسیداستیک ریخته شد. محلول حاصل به مدت یک ساعت در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به ظرف حاوی یخ منتقل شدند تا واکنش‌ها خاتمه یابد. پس از آن نمونه‌ها در

فعالیت آنزیم سوپرااکسید دیسموتاز 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 طول موج ۵۶۰ نانومتر و براساس تغییرات جذب بیان شد. بدین منظور از سه و چهار گرم دی‌پتاسیم هیدروژن فسفات و ۳/۴۵ گرم پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات در حجم نهایی ۱۰۰ میلی‌لیتر با pH=7.8 استفاده شد. همچنین به صورت جداگانه ۰/۰۰۴۵ گرم ربیوفلاوین (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 دی‌نیتروتراسیتیک-اسید (مرک با کد ۱۰۸۴۵۲) (توزین شده با ترازوی آزمایشگاهی مدل CA) هر کدام 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 فالكون منتقل شد. سپس به هر فالكون مقدار ۴۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده آنزیمی منتقل شد و در یک مکان کاملاً تاریک به هر فالكون مقدار ۵۰۰ میکرولیتر محلول ربیوفلاوین اضافه شد. پس از آن تمام فالكون‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در معرض نور لامپ فلورسنت قرار گرفتند. در نهایت مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر ثبت شد.

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

در ۴۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی.

دمای اتاق قرار گرفتند. سپس به محتوی هر لوله، مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه داخل شیکر با سرعت زیاد قرار گرفتند. بدین ترتیب پرولین موجود در نمونه‌ها در تولوئن حل شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق به صورت ثابت قرار گرفت تا مخلوط حاصل دو فاز شد. جذب نوری محلول فاز بالایی که حاوی تولوئن و پرولین است با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج 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.

$$\text{پرولین میکرومول در گرم وزن تر} = \frac{(\frac{\mu\text{g prolin}}{\text{ml}} \times \frac{\text{ml toloen}}{115.5(\frac{\mu\text{g}}{\mu\text{mol}})})}{5} \text{ gr sample}$$

در گرم وزن تر.

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

$$\text{فعالیت آنزیم کاتالاز بر حسب مول در گرم وزن تر بافت گیاهی} = \frac{\text{Absorb in 0sec} - \text{Absorb in 60 sec}}{18}$$

وزن تر بافت گیاهی.

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 به مدت 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 متسولفورون متیل + سولفوسولفورون 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 گزارش شده 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^۱ اثر کاهشی داشتند.

جهت اندازه‌گیری کمی 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 تنظیم شده 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. در نهایت داده‌های به‌دست‌آمده به صورت 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 از آن مقدار سه میلی‌لیتر بافر استخراج عصاره آنزیمی به محتویات هاون اضافه و مجدداً بافت‌های گیاهی به‌خوبی در مجاورت بافر استخراج ساییده شد.

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

افزودن یک میکرولیتر از علف‌کش‌های بازدارنده سنتز رنگ‌دانه از جمله فلوریدون به محیط آبی دارای جلبک^۱، ۲۴ ساعت پس از کاربرد به شدت 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-سینتتاز 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). سوی دیگر، باتوجه به جذب سریع علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره توسط ماده آلی خاک، اثر این علف‌کش‌ها بر گیاه وابسته به مقدار و نوع ماده آلی خاک است (Mendes, 2022). باتوجه به اینکه در شرایط pH بالای خاک مولکول‌های علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره به صورت یونی و با قابلیت تحرک بالا در خاک هستند افزودن ماده آلی به خاک منجر به 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).

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 فنوکساپروپیل‌اتیل باعث کاهش مقدار کلروفیل a و b و همچنین کاروتنوئیدها در جلبک آناپنا شد (Okmen et al., 2013). البته این اثرگذاری به شدت وابسته به غلظت فنوکساپروپیل‌اتیل بود؛ به طوری که 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 به شدت کاهش یافت و در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت 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؛ در حالی که در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر این اثر به شدت کاهشی بود و در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلروفیل و کاروتنوئیدها به صورت کامل از بین رفتند (Okmen et al., 2013). نتایج مطالعات دیگر نیز نشان‌دهنده حساسیت بسیار زیاد محتوی کلروفیل و کاروتنوئیدها به علف‌کش‌ها به-ویژه علف‌کش‌های بازدارنده سنتز رنگ‌دانه است.

² *Scenedesmus acutus* Meyen

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 متری بیوزین شد (Fakhr rad et al., 2013). علاوه بر این با افزایش دوره زمانی انکوباسیون، مقدار تجزیه علف‌کش متری بیوزین افزایش یافت. بنابراین افزایش محتوی ماده آلی خاک می‌تواند منجر به کاهش اثر غلظت-های مختلف علف‌کش متسولفورون متیل + سولفوسولفورون در خاک بر گیاه ماش شود. اثرات متقابل صفات برگ در مورد صفت‌های پراکسیداز و آنزیم استولاکتات‌سینتاز در سطح یک درصد معنی‌دار بود؛ در حالی که در بقیه صفات اثرات متقابل معنی‌دار نبود. در میان صفت‌های اندازه‌گیری شده 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^۱، آمینوسیکلوپیراکلر^۲ و پیکلورام^۳ بر

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 تحت تأثیر غلظت علف‌کش متسولفورون متیل + سولفوسولفورون قرار گرفت (جدول ۳). از آنجایی که علف‌کش متسولفورون-متیل + سولفوسولفورون 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 در نتیجه رشد در محیط آلوده به علف‌کش متسولفورون متیل + سولفوسولفورون کاهش یابد. مقدار ماده آلی خاک بر صفت‌های

¹ Aminopyralid

² Aminocyclopyrachlor

³ Picloram

نتایج مقایسه میانگین‌های صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برگ ماش در حضور غلظت‌های مختلف علف‌کش متسولفورون-متیل+سولفوسولفورون در جدول ۴ نشان داده شده است. مقدار کلروفیل a به شدت تحت تأثیر حضور علف‌کش متسولفورون+متیل + سولفوسولفورون قرار گرفت؛ به طوری که 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 متسولفورون+متیل + سولفوسولفورون نشان داد. حساسیت کلروفیل b به حضور علف‌کش متسولفورون+متیل + سولفوسولفورون کمتر از کلروفیل a بود؛ به طوری که کاهش ۵۲ درصدی در تیمار ۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار مشاهده شد. کاهش مقدار کلروفیل با افزایش غلظت علف‌کش‌های فنوکساپروپیل‌اتیل و سی-هالوفوپ‌بوتیل در جلبک آنابنا مشاهده شد (Okmen et al., 2013).

گیاهان گوجه‌فرنگی^۱، بامیه^۲ و طالبی^۳ می‌شود (Sing et al., 2019). علاوه بر این، نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد زغال فعال به تنهایی 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؛ در حالی که 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 تأثیرگذار است. نتایج یک بررسی نشان داد که علف‌کش‌های کلروسولفورون و تری‌بنورون‌متیل تحت تأثیر نوع ماده آلی قرار گرفته؛ به طوری که 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). علاوه بر این مقدار و نوع مواد افزودنی مورد استفاده در فرمولاسیون تجاری این علف‌کش‌ها بر میزان جذب آن‌ها توسط مواد آلی موثر است.

¹ *Solanum lycopersicum*

² *Abelmoschus esculentus*

³ *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}	7.41×10 ⁻⁹ ^{ns}	0.0303 ^{ns}	2.28×10 ⁻⁹ ^{ns}	2.17×10 ⁻¹³ ^{ns}
Herbicide concentration	5	2.654 ^{**}	0.6108 ^{**}	0.1507 ^{**}	318.18 ^{**}	6.67×10 ⁻⁸ ^{**}	0.0214 ^{ns}	1.64×10 ⁻⁸ ^{**}	2.17×10 ⁻¹² ^{**}
Organic matter	1	0.0001 ^{ns}	0.0559 ^{ns}	0.0076 ^{ns}	66.98 ^{ns}	4.71×10 ⁻¹⁰ ^{ns}	0.0248 ^{ns}	1.11×10 ⁻⁸ ^{**}	5.64×10 ⁻¹¹ ^{**}
HC × OM	5	0.0860 ^{ns}	0.0498 ^{ns}	0.0075 ^{ns}	39.00 ^{ns}	×10 ⁻⁹ 8.77 ^{ns}	0.0238 ^{ns}	1.20×10 ⁻⁸ ^{**}	3.69×10 ⁻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 **: به ترتیب 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.

به‌عنوان مثال توتون که حساسیت زیادی به علف‌کش کلروسولفورون دارد در صورتی که 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 علاوه بر اینکه به نوع و غلظت علف‌کش وابسته بوده به نوع گیاه نیز وابسته است. کاتالاز برگ روند واضحی را با افزایش غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون نشان نداد؛ ولی به‌طور کلی کاتالاز در حضور علف‌کش کاهش نشان داد.

پراکسیداز برگ با افزایش غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون افزایش یافت و بیشترین محتوی پراکسیداز در شرایط تیماری ۳۰ گرم ماده مؤثره در هکتار مشاهده شد. بر اساس نتایج آزمایش، آنزیم استولاکتات‌سینتاز برگ با افزایش غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون کاهش یافت. مقدار کاهش آنزیم استولاکتات‌سینتاز بسیار زیاد بود؛ به‌طوری که با کم‌ترین غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون 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 تحت تأثیر غلظت علف‌کش متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون، مقدار ماده آلی و همچنین اثر متقابل آن‌ها را نشان می‌دهد. غلظت

غلظت کاروتنوئیدها نیز با حضور و همچنین افزایش غلظت متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون کاهش یافت. به‌طور کلی، سنتز رنگ‌دانه‌ها با افزایش غلظت، روند کاهشی را نشان داد. مطابق با نتایج این مطالعه و نتایج گزارش شده 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 فنوکسپروپ‌پیتیل (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 + سولفوسولفورون افزایش نشان داد؛ به‌طوری که 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؛ درحالی که 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.

نورفلورازون در محیط رشد نخودفرنگی^۱، مقدار پرولین ریشه به مقدار زیادی افزایش یافت. البته بیشترین افزایش مربوط به علف کش کلروسولفورون بود. مقادیر کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و همچنین پراکسیداز در ریشه ذرت با کاربرد علف کش‌ها ارتباط داشت به طوری که در حضور علف کش‌ها مقادیر این آنزیم‌ها به شدت افزایش یافت (Grigoryuk *et al.*, 2016).

علف کش متسولفورون متیل + سولفوسولفورون بر مقدار پرولین، پراکسیداز ریشه و استولاکتات سینتاز ریشه در سطح احتمال یک درصد و بر کاتالاز در سطح پنج درصد اثر معنی دار نشان داد. درحالی که بر محتوی سوپراکسیددیسموتاز ریشه اثری نداشت (جدول ۵). نتایج مطالعه فایز و کریستن (Fayez & Kristen, 1996) نشان داد که با کاربرد علف کش‌های کلروسولفورون، تریالات و

جدول ۴. مقایسه میانگین اثرات غلظت علف کش 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 ($\mu\text{g a.i. ha}^{-1}$)	Chlorophyll a mg g^{-1} FW	Chlorophyll b mg g^{-1} FW	Carotenoids mg g^{-1} FW	Leaf proline g g^{-1} FW μ	Leaf catalase U g^{-1} FW	Leaf peroxidase U g^{-1} FW	Leaf ALS $0.00001 \text{nmol 2,3diketon g}^{-1}$ 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 معنی داری در سطح احتمال پنج درصد با توجه به آزمون حداقل اختلاف معنی دار 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.

است، بنابراین افزایش مواد آلی خاک می تواند خطر آسیب ناشی از این علف کش‌ها را به گیاهان زراعی کاهش دهد (Senseman, 2007). ماده آلی خاک بر محتوی کاتالاز ریشه در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی داری داشت و بر بقیه صفات بیوشیمیایی ریشه اثری نداشت (جدول ۵). نتایج همچنین نشان داد که نتیجه اثر متقابل غلظت علف کش و ماده آلی بر محتوی پرولین ریشه، پراکسیداز ریشه و استولاکتات ریشه در سطح احتمال یک درصد

تغییر مقدار آنزیم استولاکتات سینتاز در نتیجه حضور کلروسولفورون در ارقام مختلف گندم^۲ گزارش شده است. از آنجایی که ریشه در معرض علف کش‌های موجود در خاک قرار می گیرد (Grigoryuk *et al.*, 2016)؛ بنابراین هر ترکیبی که منجر به کاهش در دسترس قرار گرفتن علف کش شود، می تواند منجر به واکنش کمتر گیاهان به علف کش موجود در خاک شود. از آنجایی که میزان جذب سطحی مواد آلی خاک (Koc) در علف کش‌های بازدارنده استولاکتات سینتاز زیاد

¹ *Pisum sativum* (L.)

² *Triticum aestivum* (L.)

علف کش و تغییر آنزیم کاتالاز اختلاف معنی داری مشاهده نشد. بنابراین کاتالاز ریشه حساسیت کمتری به حضور علف کش متسولفورون متیل + سولفوسولفورون نشان داد. پراکسیداز ریشه نوسان زیادی را نشان داد ولی باز هم بیشترین اثر مربوط به تیمار ۳۰ گرم ماده موثره علف کش بود که کاهش معنی داری را در مقایسه با شاهد نشان داد. استولاکتات سینتاز ریشه با افزایش غلظت علف کش کاهش یافت و از غلظت ۱۵ گرم ماده موثره به بالاتر کاهش معنی داری را در مقایسه با شاهد نشان داد.

معنی دار بود (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی ریشه در جدول ۶ نشان داده شده است. پرولین ریشه با افزایش غلظت علف کش 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 علف کش‌های مختلف در ریشه نخودفرنگی نشان دادند. کاتالاز ریشه فقط در تیمار ۳۰ گرم ماده موثره علف کش افزایش معنی داری را در مقایسه با شاهد نشان داد و بین سایر غلظت‌های

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}	1.30×10 ⁻⁹ ^{ns}	0.0207 ^{ns}	2.86×10 ⁻⁹ ^{ns}	4.01×10 ⁻⁴ ^{ns}
Herbicide concentration	5	133.454 ^{**}	1.69×10 ⁻⁸ [*]	0.0283 ^{ns}	1.92×10 ⁻⁸ ^{**}	4.20×10 ⁻¹³ ^{**}
Organic matter	1	19.703 ^{ns}	2.01×10 ⁻⁸ [*]	0.0071 ^{ns}	7.80×10 ⁻⁹ ^{ns}	2.07×10 ⁻¹³ ^{ns}
HC × OM	5	19.675 ^{**}	7.10×10 ⁻⁹ ^{ns}	0.0262 ^{ns}	2.09×10 ⁻⁸ ^{**}	2.33×10 ⁻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 **: به ترتیب عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد هستند.

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

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر غلظت علف کش 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 0.0001nmol 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 معنی داری در سطح احتمال پنج درصد باتوجه به آزمون حداقل اختلاف معنی دار ندارند.

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

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.

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

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.

متسولفورون‌متیل + سولفوسولفورون 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

به‌طور کلی 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

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 در نتیجه غلظت‌های مختلف علف‌کش متسولفورون متیل + سولفوسولفورون در خاک بود. از این رو به نظر می‌رسد برای کشت ماش رعایت فاصله زمانی مناسب از کاربرد علف‌کش متسولفورون متیل + سولفوسولفورون ضروری است. با توجه به 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 در نتیجه خسارت به محصولات دیگر مورد کشت در تناوب زراعی مانند ماش شود.

موثره در گلدان پرولین ریشه در شرایط کاربرد ماده آلی بیشتر بود. پراکسیداز ریشه با افزایش غلظت علف‌کش متسولفورون متیل + سولفوسولفورون 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 متسولفورون متیل + سولفوسولفورون کاهش یافت. نتایج همچنین نشان داد که افزودن ماده آلی می‌تواند منجر به کاهش واکنش استولاکتات‌سینتاز ریشه به علف‌کش متسولفورون متیل + سولفوسولفورون شود.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی استفاده زیاد از علف‌کش‌های بازدارنده استولاکتات‌سینتاز به دلیل خاصیت انتخابی بالا و

منابع

- Alonso-Prados, J.L., Hernández-Sevillano, E., Llanos, S., Villarroja, 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 proline for 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 sulfonyleurea 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 punctata*. *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 mycorrhizal 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, phycoyanin and allophycoyanin 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 markers 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.