

Monitoring the effects of bentazon, betanal progress and nicosulfuron herbicides on Kautsky curve changes

Ziba Avarseji^{*1}, Ebrahim Gholamalipour Alamdari², Abbas Biabani³

1. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavous, Iran. E-mail: avarseji@gonbad.ac.ir
2. Associate Prof., Dept. of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavous, Iran. E-mail: eg.alamdari@gmail.com
3. Professor, Dept. of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavous, Iran. E-mail: abs346@gmail.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Full Length Research Paper	Background and Objectives: A large part of the light is consumed by photosynthesis, and the rest is discharged as heat or fluorescence in plants. The more the plant's photochemical process, the lower the amount of fluorescence. For this reason, chlorophyll fluorescence acts as an internal probe of photosynthesis and is actually a common method in plant physiology. This research aims to investigate whether the changes in the shape of the kautsky curve affected by nicosulfuron, bethanal progress and bentazon herbicides have the ability to prove their site of action.
Article history: Received: 06.29.2024 Revised: 08.28.2024 Accepted: 09.03.2024	
Keywords: Benzothiadiazinone, Photosystem II, Plastoquinone pool, Sulfonylurea	Materials and Methods: This experiment was conducted based on a completely randomized design with 8 replications in 2023 in the Research Greenhouse of the Faculty of Agriculture of Gonbad Kavous University. The treatments included applying the recommended dose of bentazon (Bazagran 48% SL), desmedipham + phenmedipham + ethofumesate (bethanal progress 27.4% EC) in addition to the treatment without herbicide as a control. In the case of nicosulfuron (Cruz 4% OD), a dose of 150% of the recommended dose was also added. Herbicides were applied at the 4-5 leaf stage of <i>Amaranthus retroflexus</i> and the plants were harvested 28 days after spraying (DAS) and their dry weight was measured. Fluorescence meter that emits light with a wavelength of 650 nm and an intensity of 3000 μmol photons per square meter per second measured chlorophyll fluorescence for 10 seconds, from dark adapted leaves for 30 minutes each day at 10:00 a.m.
	Results: results showed that the control Kautsky curve had all the stages of a normal Kautsky curve, but in the bentazon treatments, it started to change from the first DAS, and these changes became more obvious in the following days, so that on the fourth and fifth DAS, all its steps disappeared and became a straight line, and the amount of fluorescence also decreased. Nicosulfuron, had no effect on the shape of the Kautsky curve. For betanal progress, the standard form of the curve was disturbed and its steps were lost. Another point is the increase in the amount of chlorophyll fluorescence, which caused a decrease in the upper area of the kautsky curve between the minimum fluorescence (F_0) and the maximum point of fluorescence (F_m), known as the Area parameter.

Conclusion: Inhibition of photosystem II is the primary effect of two herbicides, bentazon and betanal progress, which was clearly obtained from the shape of the corresponding curves, even the type of proteins involved. The disappearance of all the steps of the Kautsky curve in bentazon showed that all parts related to the reduction of quinone A and the protein pathway of electron transfer between quinone A and B were disturbed. In the betanal progress, the significant increase in chlorophyll fluorescence along with the fading of some curve steps, including J-I and I-P, caused a decrease in the value of the Area parameter, which indicates the destruction of the plastoquinone pool. While in nicosulfuron, Kautsky's curve was not able to provide enough evidence. The Katsky curve was a good indicator for early detection of the effects of PSII-inhibiting herbicides and determining their site of action, but it is not for nicosulfuron.

Cite this article: Avarseji, Ziba, Gholamalipour Alamdari, Ebrahim, Biabani, Abbas. 2025. Monitoring the effects of bentazon, betanal progress and nicosulfuron herbicides on Kautsky curve changes. *Journal of Plant Production Research*, 32 (1), 1-14.



© The Author(s).

DOI: -----

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

پایش تأثیر علف‌کش‌های بنتازون، بتانال پروگرس و نیکوسولفورن بر تغییرات منحنی کاتسکی

زیبا اورسجی^{۱*}، ابراهیم غلامعلی‌پور علمداری^۲، عباس بیابانی^۳

۱. نویسنده مسئول، دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاوس، گنبدکاوس، ایران.
رایانامه: avarseji@gonbad.ac.ir
۲. دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاوس، گنبدکاوس، ایران.
رایانامه: eg.alamdari@gmail.com
۳. استاد گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاوس، گنبدکاوس، ایران. رایانامه: abs346@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: در گیاهان بخش زیادی از نور توسط فتوسنتز مصرف می‌شود و بقیه آن به‌صورت گرما یا فلورسانس تخلیه می‌شود هرچه فرایند فتوشیمیایی گیاه بیش‌تر باشد، مقدار فلورسانس کم‌تر است. به همین دلیل، فلورسانس کلروفیل به‌عنوان کاوشگر داخلی فتوسنتز عمل می‌کند و درواقع روشی رایج در فیزیولوژی گیاهی است. این پژوهش باهدف بررسی این‌که آیا تغییرات شکل منحنی کاتسکی تحت‌تأثیر علف‌کش‌های نیکوسولفورن، بتانال پروگرس و بنتازون، توانایی اثبات محل اثر آن‌ها را دارد، انجام شد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۹	
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۷	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۳	
واژه‌های کلیدی: استخر پلاستوکوئینون، بنزوتیادایزینون، سولفونیل اوره، فتوسیستم II	مواد و روش‌ها: این آزمایش با ۸ تکرار بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۴۰۲ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبدکاوس انجام شد. تیمارها شامل دز توصیه‌شده علف‌کش‌های بنتازون (بازاگران ۴۸ درصد SL)، دسمدیفام+فن‌مدیفام+توفومازیت (بتانال پروگرس ۲۷/۴ درصد EC) به اضافه تیمار بدون علف‌کش به‌عنوان شاهد بود. در مورد نیکوسولفورن (کروز ۴ درصد OD) دز ۱۵۰ درصد دز توصیه‌شده نیز اضافه شد. کاربرد علف‌کش‌ها در مرحله ۴ تا ۵ برگگی تاج‌خروس و برداشت بوته‌های تیمار شده ۲۸ روز پس از سم‌پاشی انجام و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. دستگاه فلورسانس‌متر با تابش نوری (طول‌موج ۶۵۰ نانومتر و شدت ۳۰۰۰ میکرومول فوتون در مترمربع در ثانیه) در مدت ۱۰ ثانیه، مقدار فلورسانس کلروفیل را کمی می‌کند. این اندازه‌گیری‌ها از روز اول تا روز دهم پس از سم‌پاشی انجام شد. جهت یکنواختی نتایج فلورسانس، داده‌های فلورسانس هر روز در ساعت مشخصی از روز (۱۰ صبح) و بر برگ یکسانی که به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفته بودند؛ انجام شد.

یافته‌ها: منحنی کاتسکی در تیمار شاهد، تمام مراحل یک منحنی نرمال کاتسکی را دارا بود اما در تیمارهای سم‌پاشی شده با بنتازون از همان روز اول پس از سم‌پاشی، شروع به تغییر کرد و این تغییرات در روزهای بعدی واضح‌تر شد به‌طوری‌که در روز چهارم و پنجم پس از سم‌پاشی تمام پله‌های آن از بین رفت و تبدیل به خط صاف شد و مقدار فلورسانس نیز در این تیمارها کاهش یافت. نیکوسولفورون تأثیری بر شکل منحنی کاتسکی نداشت. در تیمارهایی که از بتانال پروگرس استفاده شد شکل استاندارد منحنی دچار اختلال شد و پله‌های آن از بین رفت. نکته دیگر در استفاده از بتانال پروگرس، افزایش مقدار فلورسانس کلروفیل است که سبب کاهش مساحت بالای منحنی کاتسکی بین فلورسانس حداقل (F_0) تا نقطه حداکثر فلورسانس (F_m) می‌شود که به پارامتر Area معروف است.

نتیجه‌گیری: ممانعت از فتوسیسستم II محل اثر اولیه دو علف‌کش بنتازون و بتانال پروگرس است که به‌صورت واضح حتی نوع پروتئین‌های دخیل هم از شکل منحنی‌های مربوطه حاصل شد. از بین رفتن تمام پله‌های منحنی کاتسکی در بنتازون نشان داد که همه بخش‌های مربوط به احیاء کوئینون A و مسیر پروتئینی انتقال الکترون‌ها بین کوئینون A و B مختل شده است. در علف‌کش بتانال پروگرس افزایش چشمگیر فلورسانس کلروفیل به همراه محو شدن برخی از پله‌های منحنی شامل J-I و I-P، سبب کاهش مقدار پارامتر Area شد که بیانگر تخریب استخر پلاستوکوئینون می‌باشند. درحالی‌که در مورد نیکوسولفورون منحنی کاتسکی توانایی ارائه شواهد مربوط به آسیب این علف‌کش را نداشت. در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که منحنی کاتسکی برای تشخیص زودهنگام اثرات علف‌کش‌های بازدارنده PSII و تعیین محل اثر آن‌ها شاخص خوبی است اما در مورد علف‌کش‌های خانواده سولفونیل‌اوره مانند نیکوسولفورون کارایی ندارد.

استناد: اورسجی، زیبا، غلامعلی‌پور علمداری، ابراهیم، بیابانی، عباس (۱۴۰۴). پایش تأثیر علف‌کش‌های بنتازون، بتانال پروگرس و نیکوسولفورون بر تغییرات منحنی کاتسکی. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۳۲ (۱)، ۱۴-۱.

DOI: -----



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

در گیاهان بخش زیادی از نور توسط فتوستتز مصرف می‌شود و بقیه آن به‌صورت گرما یا فلورسانس تخلیه می‌شود. واکنش‌های فتوشیمیایی فتوستتز و فلورسانس کلروفیل برای کوانتوم‌های جذب‌شده با یکدیگر رقابت می‌کند - هرچه فرایند فتوشیمیایی بیش‌تر باشد، مقدار فلورسانس کم‌تر است. به همین دلیل، فلورسانس کلروفیل به‌عنوان یک کاوشگر داخلی فتوستتز عمل می‌کند؛ درواقع فلورسانس روشی رایج در فیزیولوژی گیاهی است (۱). فلورسانس کلروفیل *a* بسیار کوچک است، اما طیف فلورسانس با نور جذب‌شده متفاوت است. کلروفیل *a* نور با طول‌موج‌های ۴۳۰-۴۹۰ نانومتر (طیف آبی) و ۶۳۰-۶۷۰ نانومتر (طیف قرمز) را جذب می‌کند، درحالی‌که نور بازتابیده همیشه در طیف قرمز است (۲). نظارت و تجزیه‌وتحلیل تغییرات در فلورسانس کلروفیل، می‌تواند بینشی در مورد عملکرد و کارایی دستگاه فتوستتزی و هم‌چنین تأثیر عوامل استرس‌زا مانند خشکسالی، دمای شدید و سیگنال‌های بازتاب شده کمبود مواد مغذی از گیاهان را ارائه دهد (۱). علاوه بر این، استفاده از فلورسانس کلروفیل *a* در ارزیابی تأثیر علف‌کش‌ها بر فرآیندهای فتوستتزی ارزشمند است (۳). بنتازون از خانواده شیمیایی بنزوتیادiazول علف‌کش تماسی انتخابی است که در مولکول کلروفیل قرار می‌گیرد و با اتصال به پروتئین‌ها همانند یک مهارکننده جریان الکترون در فتوسیستم II عمل و فرآیند فتوستتز را مختل می‌کند (۴؛ ۵). کریستنسن و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که بنتازون، از کاهش فلورسانس کلروفیل، بعد از مرحله P (حداکثر فلورسانس کلروفیل) ممانعت می‌کند (۶).

نیکوسولفورون متعلق به خانواده سولفونیل اوره می‌باشد. این خانواده با مهار آنزیم استولاکتات سیتتاز از تولید اسیدآمینه‌های شاخه‌دار لوسین، ایزولوسین و

والین جلوگیری می‌کنند (۴). بررسی‌ها نشان می‌دهد که مهارکننده‌های استولاکتات سیتتاز دارای سازوکار عمل ثانویه تأثیر بر دستگاه فتوستتزی نیز می‌باشند (۷) و به‌طور مؤثری علف‌های هرز یک‌ساله و چندساله را کنترل می‌کند (۸). بررسی علف‌کش مزوسولفورون متیل+یدوسولفورون متیل از خانواده سولفونیل اوره بر تغییرات فلورسانس علف هرز خونی واش نشان داد که پارامترهای F_v/F_m که تغییرات نسبی فلورسانس را در مرحله J منحنی کاتسکی نشان می‌دهد و پارامتر Area که بیانگر مساحت بین منحنی کاتسکی و حداکثر فلورسانس کلروفیل (F_m) می‌باشد؛ واکنش سریع‌تری نسبت به پارامتر حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) نشان دادند (۹). دسمدیقام و فن‌مدیقام دو علف‌کش بازدارنده فتوسیستم II از خانواده فنیل‌کاربامات هستند. این علف‌کش‌ها به پروتئین D_1 متصل می‌شوند بنابراین انتقال الکترون بین QA (کینون‌های اولیه) و QB (کینون‌های ثانویه) و در نتیجه زنجیره انتقال الکترون فتوستتزی را مسدود می‌کنند که منجر به جلوگیری هم‌زمان از تولید ATP و تثبیت CO_2 می‌شود (۶، ۷). مرگ علف‌های هرز در نهایت در نتیجه تنش اکسیداتیو ناشی از نور است که توسط آسیب ایجادشده ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن^۱ آغاز شده و باعث پراکسیداسیون لیپیدی و پروتئولیز غشاهای تیلاکوئید می‌شود (۸، ۹). اتوفومازیت از خانواده بنزوفوران‌ها مانند تیوکاربامات‌ها، تشکیل موم اپی‌کوتیکولی را روی برگ‌ها کاهش می‌دهد که می‌تواند باعث شود برگ‌ها، به‌ویژه برگ‌های لپه‌ای تا دوبرگی چغندر قند، به‌جای باز شدن معمولی، به هم بچسبند. محل اثر این علف‌کش به‌خوبی شناخته‌نشده اما اعتقاد بر این است که بیوستتز اسیدهای چرب با زنجیره بسیار بلند را مهار می‌کند (۱۰). نتایج بررسی تأثیر دو علف‌کش متامیترون و تربوتیلازین که در کنترل علف‌های هرز چغندر قند

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با هشت تکرار در سال ۱۴۰۲ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس انجام شد. بذور تاج خروس ریشه قرمز (*Amaranthus retroflexus* L.) به سینی‌های کشت حاوی پیت و ماس منتقل و سپس گیاهچه‌هایی که در یک مرحله رشدی بودند انتخاب و در گلدان‌هایی با قطر ۱۲ سانتی‌متر که از خاکی با نسبت ۱:۱:۱ (ماسه، خاک و خاک‌برگ) تهیه شدند، با تراکم چهار بوته کاشته شدند.

تیمارها شامل دز توصیه شده علف‌کش‌های بنتازون (Bazagran ۴۸ درصد SL) به میزان ۱۴۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار، دسمدیفام+فن‌مدیفام+توفومازیت (Bethanal progress ۲۷/۴ درصد EC) به میزان ۸۲۲ گرم ماده مؤثره در هکتار به اضافه تیمار بدون علف‌کش به عنوان شاهد بود. در مورد علف‌کش نیکوسولفورن (Cruz ۴ درصد OD) علاوه بر دز توصیه شده (۸۰ گرم ماده مؤثره در هکتار) و شاهد بدون علف‌کش، ۱۵۰ درصد دز توصیه شده (۱۲۰ گرم ماده مؤثره در هکتار) نیز اضافه شد. کاربرد علف‌کش‌ها در مرحله ۳ تا ۴ برگگی تاج خروس و برداشت گیاهان ۲۸ روز پس از سم‌پاشی انجام و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. سم‌پاشی توسط دستگاه سم‌پاش پشتی شارژی فشار ثابت (Solo) و با نازل بادبزنی ۸۰۰۲ و حجم پاشش ۲۰۰ لیتر در هکتار اجرا شد.

اندازه‌گیری‌های فلورسانس کلروفیل، توسط دستگاه فلورسانس‌متر^۱ که نوری با طول‌موج ۶۵۰ nm و شدت ۳۰۰۰ میکرومول فوتون در مترمربع در ثانیه را به مدت ۱۰ ثانیه می‌تاباند، از یک روز پس از سم‌پاشی تا ۱۰ روز پس از آن در ساعت ۱۰ صبح روی برگ‌هایی که به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفته بودند (به وسیله گذاشتن کلیپس روی برگ‌ها) انجام شد (۱۶). در هر بار اندازه‌گیری از همان برگ قبلی،

به کار برده می‌شوند نشان داد که پارامترهای F_v/F_m و Area تحت تأثیر قرار گرفته‌اند (۱۱).

روش تجزیه و تحلیل فلورسانس کلروفیل در تحقیقات فتوسنتز، پتانسیل آن را دارد که جهت سنجش علف‌کش‌ها استفاده شود. به عبارت دیگر می‌توان از آن در مطالعه اثر علف‌کش‌های بازدارنده PSI و PSII و همچنین علف‌کش‌هایی با سایر محل اثر، استفاده کرد (۱۲). در تأثیر مستقیم علف‌کش‌های بازدارنده PSI و PSII، زنجیره انتقال الکترون و کوئینون A، کوئینون B، پروتئین D_1 و بقیه جایگاه‌های این دو فتوسیستم ممکن است تخریب شود اما در علف‌کش‌هایی با تأثیر غیرمستقیم بر فتوسنتز، سنتز توکوفرل‌ها و پلاستوکوئینون دچار اختلال می‌شود یا از طریق افزایش تولید رادیکال‌های آزاد سبب تجزیه غشای سلولی می‌گردند. نتیجه این عمل تغییر عملکرد فتوسنتز و شکل منحنی کاتسکی می‌باشد (۱۳). آزمایش‌های متعددی، در ارتباط با تأثیر علف‌کش‌ها بر فلورسانس انجام شده است؛ به عنوان مثال، اورسچی و همکاران (۱۳۹۴) (۱۴) از فلورسانس، جهت پایش سریع کارایی دز کاهش یافته علف‌کش‌ها، کیسر و همکاران (۲۰۱۳) (۱۵) برای تعیین مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها و عباسپور و استریبیگ (۲۰۰۷) (۱۶) جهت تشخیص سوخت و ساز علف‌کش در علف‌هرز و گیاه زراعی استفاده کردند. در حقیقت فلورسانس کلروفیل روشی مؤثر برای تعیین پتانسیل علف‌کش‌ها در زمان کوتاهی پس از کاربرد آن‌هاست و جهت بررسی آن، توصیف واکنش‌های فتوسنتزی مرتبط مورد بررسی قرار می‌گیرد.

این پژوهش برای پاسخ به این سؤال که آیا تغییرات شکل منحنی کاتسکی تحت تأثیر علف‌کش‌های نیکوسولفورن، بتانال پروگرس و بنتازون توانایی اثبات محل اثر این علف‌کش‌ها را دارد یا نه انجام شد.

1- Handy-PEA, Hansatech Instruments, King's (Lynn, Norfolk, UK)

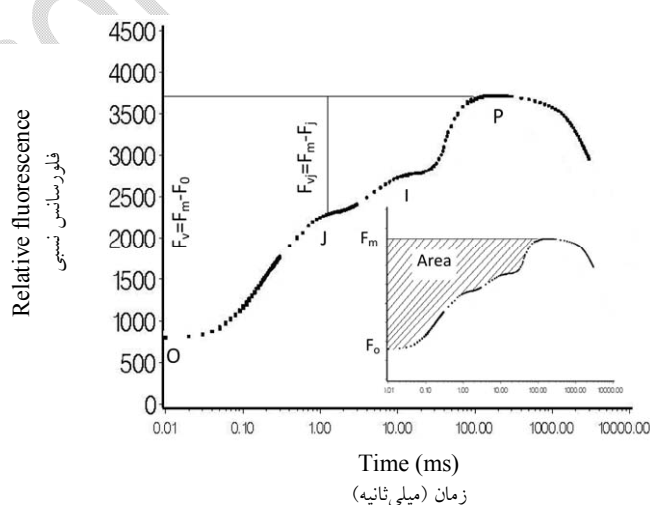
شکل منحنی کاتسکی اطلاعات زیادی درباره کارکرد فتوسیستم در اختیار قرار می‌دهد. هرکدام از پله‌های این منحنی بیانگر بخشی از فعالیت فتوسیستم گیاه است و از بین رفتن این پله‌ها نشانگر تخریب بخش‌های فتوشیمیایی متناظر آن در گیاه است. به‌عنوان مثال پله اول منحنی کاتسکی به O-J معروف است و معادل فعالیت‌های احیای کامل کوئینون A می‌باشد. مرحله J-I بیانگر انتقال الکترون‌ها از کوئینون A به کوئینون B می‌باشد. پله I-P هم معرف اکسیداسیون کامل استخر پلاستوکوئینون و فرونشاندن فلورسانس کلروفیل است (۱۸). در منحنی کاتسکی گیاهان شاهد، تمام این مراحل به‌وضوح قابل مشاهده است که پیام از سلامت گیاه دارد؛ اما این پله‌ها در گیاهان تیمارشده با بنتازون از بین رفته‌اند. به‌عبارت دیگر سیستم‌های فتوستتزی مربوطه توسط بنتازون تخریب شده است. تمام بخش‌های مربوط به احیاء کوئینون A و مسیر پروتئینی انتقال الکترون‌ها بین کوئینون A و B همگی دچار اختلال شده‌اند که خود را به‌صورت منحنی کاتسکی کاملاً صاف و بدون پله نشان داد (شکل ۱- الف تا ج).

مقادیر فلورسانس ثبت شد تا امکان بروز خطا به حداقل برسد. داده‌های به‌دست آمده توسط نرم‌افزار Biolizer و Excel تجزیه تحلیل و به شکل گراف درآمدند.

نتایج و بحث

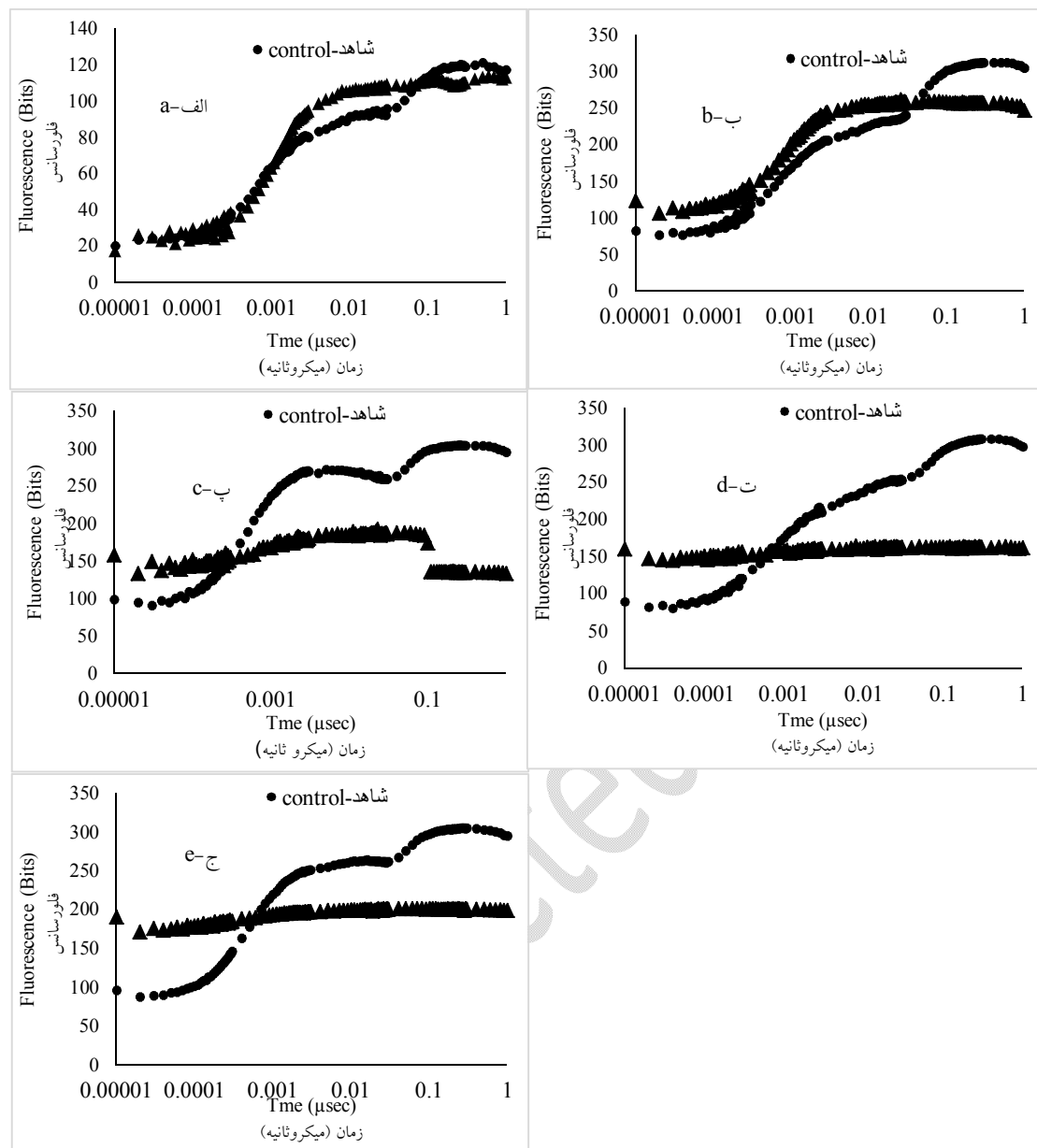
پس از بررسی نتایج داده‌های فلورسانس با توجه به این‌که واکنش منحنی کاتسکی از روز پنجم به بعد ثابت ماند و تغییری نشان نداد، در این بخش نتایج ۵ روز اول موردبررسی قرار گرفتند.

تغییرات شکل منحنی کاتسکی تحت تأثیر علف‌کش بنتازون در شکل ۲ مشاهده می‌شود. شکل منحنی کاتسکی در تیمارهای سم‌پاشی شده، از همان روز اول پس از سم‌پاشی، شروع به تغییر کرد (شکل ۱- الف) و این تغییرات در روزهای بعدی واضح‌تر شد به‌طوری‌که در روز چهارم و پنجم پس از سم‌پاشی (شکل ۱- ت، ج) تمام پله‌های مربوط به این منحنی از بین رفته و تبدیل به خط صاف شد و مقدار فلورسانس نیز در این تیمارها کاهش یافت. تغییرات شکل منحنی کاتسکی توسط علف‌کش‌ها، تنش‌های گیاهی و بیماری‌ها توسط پژوهش‌گران دیگر نیز گزارش شده است (۹، ۱، ۱۷، ۱۴).



شکل ۱- منحنی استاندارد کاتسکی و برخی پارامترهای فلورسانس کلروفیل.

Fig. 1. Kautsky standard curve and some chlorophyll fluorescence parameters.



شکل ۲- تأثیر علف‌کش بتنازون بر شکل منحنی کاتسکی (الف) یک روز پس از پاشش (ب) دو روز پس از پاشش (پ) سه روز پس از پاشش (ت) چهار روز پس از پاشش (ج) پنج روز پس از پاشش (هر نقطه میانگین ۸ تکرار می‌باشد. محور X لگاریتمیک می‌باشد).
Fig. 2. Bentazone impact on Kautsky curve (a) 1 day after spray (b) 2 days after spray (c) 3 days after spray (d) 4 days after spray (e) 5 days after spray (Each point represent means of 8 replications. X axis is logarithmic).

باعث تغییر در فراساختار کلروپلاست‌ها، نسبت رنگ‌دانه‌ها و سطوح کلروفیل پروتئین‌ها در دستگاه فتوستزی می‌شود. فتوسیستم II یک مجموعه آنزیمی چند زیرواحدی است که در غشاهای تیلاکوئید مسئول واکنش‌های اولیه فتوستزی حیاتی برای گیاهان است (۱۹). بسیاری از علف‌کش‌هایی که برای

بررسی سازوکار بتنازون نیز بیانگر این موضوع است. این علف‌کش، از خانواده شیمیایی بنزوتیادiazول است که با اتصال به پروتئین‌ها همانند یک مهارکننده جریان الکترون در فتوسیستم II عمل می‌کند. همان‌طور که کوب و رید (۲۰۱۱) اشاره کردند، بتنازون به‌عنوان بازدارنده فتوستز، معمولاً

تغییری در عامل‌های فلورسانس اتفاق نیفتاد، نتایج پنج روز اول ارائه شد. استولاکتات سینتاز اولین آنزیمی است که دو واکنش را در مسیر بیوستتاز اسید آمینوهای شاخه‌دار کاتالیز می‌کند: مسیر اول برای بیوستتاز والین و لوسین، دو مولکول پیرووات متراکم می‌شوند تا ۲-استولاکتات را تشکیل دهند، درحالی‌که برای تولید ایزولوسین، ۲-استوهیدروکسی بوتیرات از پیرووات و ۲-کتوبوتیرات سنتز می‌شود (۴). کمبود اسید آمینه‌های شاخه‌دار باعث کاهش سنتز پروتئین می‌شود که به‌نوبه خود می‌تواند سرعت تقسیم سلولی را کاهش دهد و درنهایت باعث مرگ سلول شود (۲۳) و در هر اندام گیاه، به‌نظر می‌رسد که بیوستتاز این اسیدهای آمینه عمدتاً در بافت‌های جوان صورت می‌گیرد (۲۴). به همین دلیل است که این علف‌کش‌ها گیاهان را خیلی آهسته از بین می‌برند و اولین علائم در بافت‌های مرستمی ظاهر می‌شود. بافت‌های بالغ دارای استخرهای بزرگ‌تری از اسیدهای آمینه و هم‌چنین ذخایر پروتئینی هستند که می‌توانند برای تولید اسیدهای آمینه کاتابولیز شوند (۲۵).

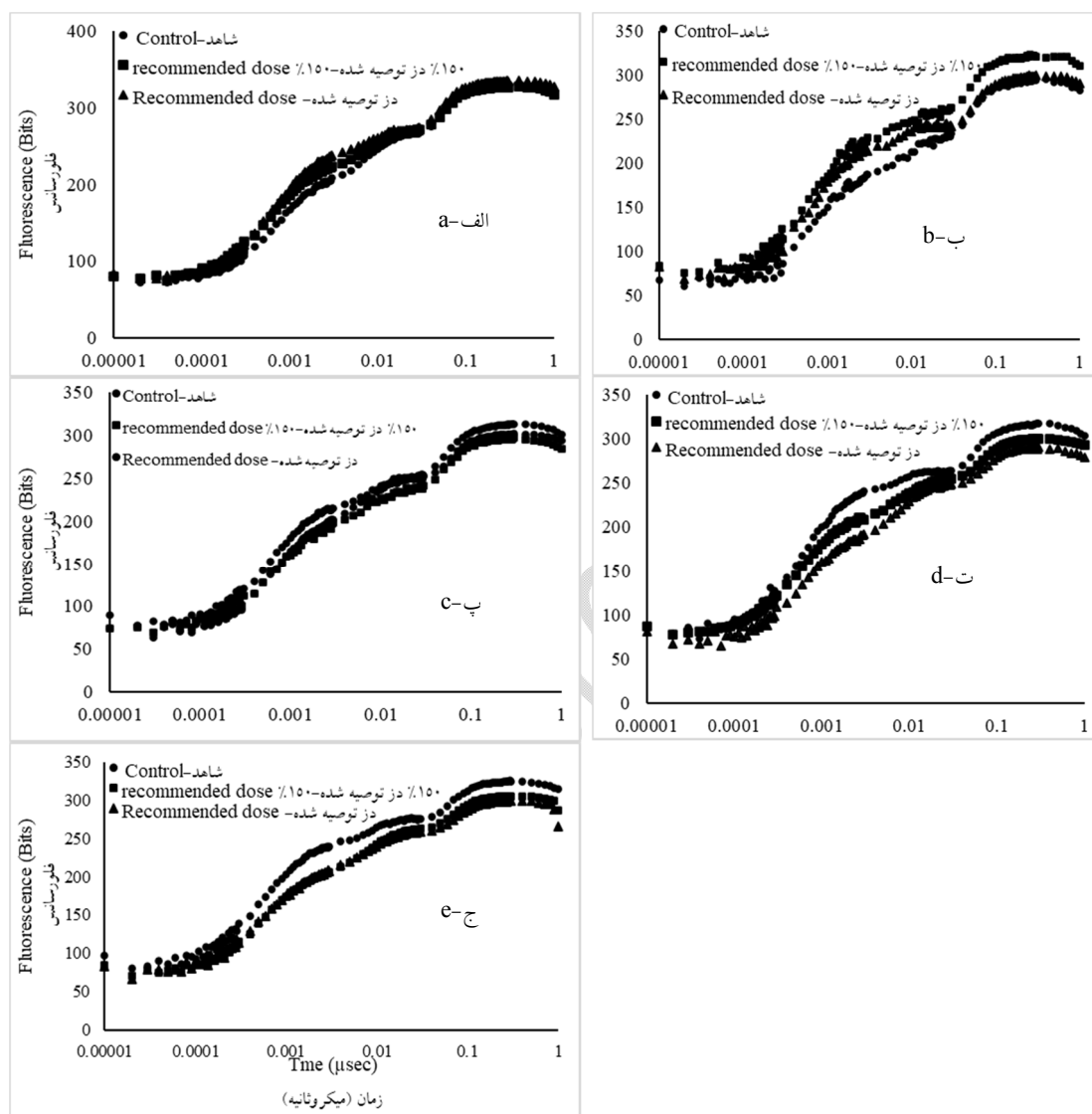
با این‌که سایر اثرات ثانویه مهار استولاکتات سینتاز، مانند تجمع ۲-کتوبوتیرات یا ۲-آمینوبوتیرات، کاهش واسطه‌های مسیر برای برخی فرآیندهای حیاتی، اختلال در انتقال فتوستتاز و غیره نیز در سازوکار مرگ گیاه دخیل است (۲۶) و بنابراین انتظار ما این است که اختلال در فرایند فتوستتاز چه به‌صورت مستقیم مانند آنچه که در علف‌کش‌های بازدارنده فتوستتاز مانند بنتازون اتفاق می‌افتد چه مانند علف‌کش‌هایی که به‌صورت غیرمستقیم بر فتوستتاز مؤثر هستند مانند نیکوسولفورون سبب تغییرات منحنی کاتسکی شود که این انتظار در مورد علف‌کش نیکوسولفورون محقق نشد. اگرچه تاکنون گزارشی مبنی بر عدم‌تغییر شکل منحنی توسط علف‌کش‌های سولفونیل اوره منتشر نشده است اما در پژوهش

کنترل علف‌های هرز استفاده می‌شوند، با تداخل در انتقال الکترون فتوستتازی در سطح پروتئین D_1 ، از طریق رقابت با پلاستوکینون بومی برای محل Q_B ، PSII را مهار می‌کنند (۲۰). منحنی OJIP حاصل از فلورسانس کلروفیل a با واکنش فتوشیمیایی اولیه PSII در ارتباط است و مطالعه آن ارزیابی اثر علف‌کش‌ها را بر زنجیره انتقال الکترون PSII ممکن می‌سازد (۱۸).

فلورسانس متغیر نسبی (V_j) در مرحله J، نشان‌دهنده مقدار نسبی Q_A کاهش‌یافته در ۲ میلی‌ثانیه است. این پارامتر، به همراه پارامتر مشتق شده $1-V_j$ برای شناسایی و تخمین قدرت بازدارنده‌های PSII استفاده می‌شود که گیرنده Q_B را از محل اتصال آن در پروتئین D_1 جابجا می‌کند (۲). همان‌طور که در شکل (۲-الف تا ج) ملاحظه می‌شود پیک مرحله J نسبت به شاهد همواره کاهش نشان داده و درنهایت این پیک کاملاً از بین رفته است. درواقع، هنگامی که یک مهارکننده علف‌کش با زنجیره انتقال الکترون PSII تداخل می‌کند، تغییرات در شیب و شکل منحنی انتشار فلورسانس، مانند تغییر پیک J (۲۱) ثبت می‌شود. علاوه بر این، پارامتر مشتق شده $1-V_j$ که نرخ اکسیداسیون مجدد Q_A^- را با توجه به کاهش آن تخمین می‌زند، متناسب با غلظت علف‌کش (۲۲) تغییر می‌کند و بنابراین می‌توان برای ارزیابی این‌که آیا علف‌کش بین Q_A و سایت Q_B بازدارندگی اعمال می‌کند یا خیر، استفاده کرد در شکل ۳ تأثیر علف‌کش نیکوسولفورون بر منحنی کاتسکی مشاهده می‌شود. همان‌طور که ملاحظه می‌شود این علف‌کش تأثیری بر شکل منحنی کاتسکی نداشت؛ به همین سبب دزی بالاتر از دز توصیه‌شده (۱۵۰ درصد دز توصیه‌شده) هم مورد آزمایش قرار گرفت تا از عدم تأثیر این علف‌کش در دزهای بالاتر اطمینان حاصل شود. ذکر این نکته لازم است که پایش فلورسانس تا ۱۰ روز پس از پاشش علف‌کش ادامه یافت اما به دلیل این‌که

پارامترهای F_v/F_m و Area (مساحت بالای منحنی کاتسکی تا حداکثر فلورسانس) که به مدت هفت روز پس از سم‌پاشی پایش شده بودند تحت تأثیر قرار نگرفتند (۲۷) که با نتایج این آزمایش همخوانی دارد.

اورسجی و محمدوند (۱۳۹۷) که پارامترهای فلورسانس کلروفیل را در فالاریس تحت تأثیر علف‌کش مزوسولفورون متیل + یدوسولفورون متیل از خانواده سولفونیل اوره بررسی کردند گزارش شده که



شکل ۳- تأثیر علف‌کش نیکوسولفورون بر شکل منحنی کاتسکی (الف) یک روز پس از پاشش (ب) دو روز پس از پاشش (پ) سه روز پس از پاشش (ت) چهار روز پس از پاشش (ج) پنج روز پس از پاشش (هر نقطه میانگین ۸ تکرار می‌باشد. محور X لگاریتمیک می‌باشد).

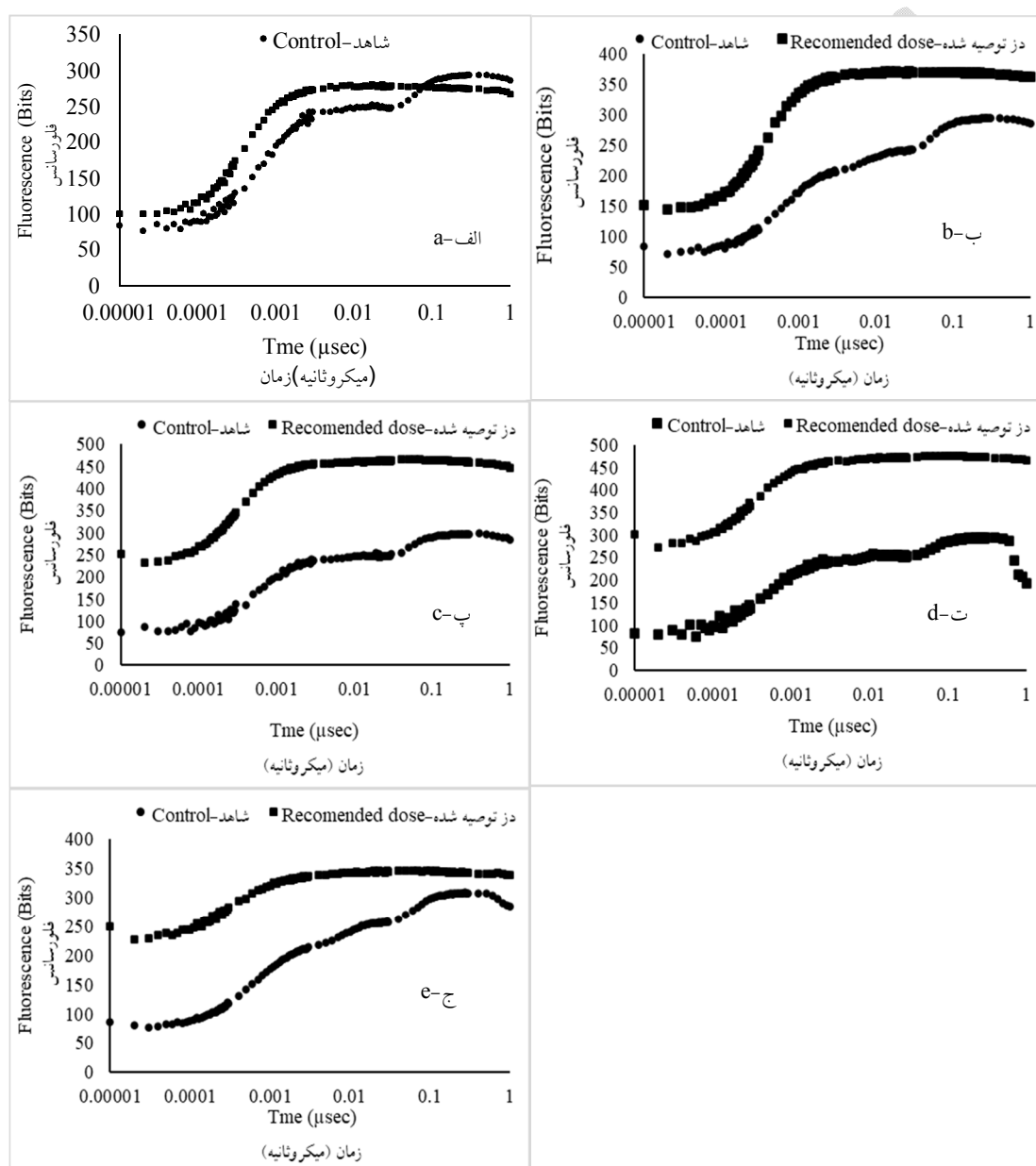
Fig. 3. Nicosulfuron impact on Kautsky curve (a) 1 day after spray (b) 2 days after spray (c) 3 days after spray (d) 4 days after spray (e) 5 days after spray (Each point represent means of 8 replications. X axis is logarithmic).

می‌رود از شکل استاندارد منحنی کاتسکی به همراه تمام پله‌های آن پیروی می‌کند؛ اما در تیمارهایی که از علف‌کش بتانال پروگرس استفاده شده شکل استاندارد منحنی دچار اختلال شده و همان‌طور که مشاهده

در شکل (۴ الف تا ج) تأثیر علف‌کش بتانال پروگرس (دسمدیفام+فن‌مدیفام+توفومازیت) بر شکل منحنی کاتسکی مشاهده می‌شود. منحنی کاتسکی مربوط به تیمار شاهد همان‌گونه که انتظار

ظرفیت استخر پلاستوکوئینون و کاهش این پارامتر نشان‌گر تخریب پلاستوکوئینون‌ها است. اختلاف مقدار فلورسانس کلروفیل تیمار شاهد و تیمار علف‌کش بتانال پروگرس در روز اول پس از سم‌پاشی کم و باگذشت زمان این دو منحنی از هم فاصله بیش‌تری گرفتند.

می‌شود پله‌های آن از بین رفته است. نکته دیگری که به‌صورت واضحی در شکل‌های (۴ الف-ج) ملاحظه می‌شود افزایش مقدار فلورسانس کلروفیل نسبت به شاهد است که سبب کاهش مساحت بالای منحنی کاتسکی بین فلورسانس حداقل (F_0) تا نقطه حداکثر فلورسانس (F_m) که به پارامتر Area (شکل ۱) معروف است شد. پارامتر Area درواقع معیار است از



شکل ۴- تأثیر علف‌کش بتانال پروگرس بر شکل منحنی کاتسکی (الف) یک روز پس از پاشش (ب) دو روز پس از پاشش (پ) سه روز پس از پاشش (ت) چهار روز پس از پاشش (ج) پنج روز پس از پاشش (هر نقطه میانگین ۸ تکرار می‌باشد. محور X لگاریتمیک می‌باشد).

Fig. 4. Betanal progress impact on Kautsky curve (a) 1 day after spray (b) 2 days after spray (c) 3 days after spray (d) 4 days after spray (e) 5 days after spray (Each point represent means of 8 replications. X axis is logarithmic).

نتیجه‌گیری کلی

منحنی کاتسکی به‌عنوان شاخصی برای تعیین وجود تنش در گیاهان می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. هر پله از این منحنی متناظر با اتفاقات زیست‌شیمیایی است که در فتوسنتز گیاه اتفاق می‌افتد؛ به عبارت دیگر با دنبال کردن تغییرات آن می‌توان نقاط آسیب‌دیده در گیاه را به صورت غیرمستقیم، با دقت بالا، هزینه کم و در بیش‌تر مواقع با سرعت زیاد شناسایی کرد. در پژوهش حاضر دو علف‌کش بنتازون و بتانال پروگرس با تغییرات سریعی که در ساختار منحنی کاتسکی ایجاد کردند درباره محل اثر این علف‌کش‌ها اطلاعات مفیدی بدست دادند. مهار فتوسیستم II محل اثر اولیه دو علف‌کش مذکور می‌باشد که به صورت واضح حتی نوع پروتئین‌های دخیل هم از شکل منحنی‌های مربوطه حاصل شد. از بین رفتن تمام پله‌های منحنی کاتسکی در بنتازون نشان داد که همه بخش‌های مربوط به احیاء کوئینون A و مسیر پروتئینی انتقال

الکترون‌ها بین کوئینون A و B مختل شده است. افزایش چشمگیر فلورسانس کلروفیل به همراه محو شدن برخی از پله‌های منحنی شامل J-I و I-P در علف‌کش بتانال پروگرس سبب کاهش مقدار پارامتر Area شد که بیانگر تخریب استخر پلاستوکوئینون می‌باشند. درحالی‌که در مورد علف‌کش نیکوسولفورن منحنی کاتسکی توانایی ارائه شواهد مربوط به آسیب این علف‌کش را نداشت و تغییری از خود نشان نداد به عبارت دیگر شاخص مناسبی برای تعیین سمیت ناشی از این علف‌کش در گیاه نیست. در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که منحنی کاتسکی برای تشخیص زودهنگام اثرات علف‌کش‌های بازدارنده PSII و تعیین محل اثر آن‌ها شاخص خوبی است اما در مورد علف‌کش‌های خانواده سولفونیل‌اوره مانند نیکوسولفورن کارایی ندارد.

منابع

1. Moustaka, J., & Moustakas, M. (2023). Early-stage detection of biotic and abiotic stress on plants by chlorophyll fluorescence imaging analysis. *Biosensors*, 13 (8), 796.
2. Markulj Kulundžić, A., Sudarić, A., Matoša Kočar, M., Duvnjak, T., Liović, I., Mijić, A., Varga, I., & Viljevac Vuletić, M. (2024). Detailed insight into the behaviour of chlorophyll a fluorescence transient curves and parameters during different times of dark adaptation in sunflower leaves. *Agronomy*, 14 (5), 954.
3. Hassannejad, S., Lotfi, R., Ghafarbi, S. P., Oukarroum, A., Abbasi, A., Kalaji, H. M., & Rastogi, A. (2020). Early identification of herbicide modes of action by the use of chlorophyll fluorescence measurements. *Plants*, 9 (4), 529.
4. Tranel, P. J., & Wright, T. R. (2002). Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned?. *Weed science*, 50 (6), 700-712.
5. Ali, L., Jo, H., Song, J. T., & Lee, J. D. (2020). The prospect of bentazone-tolerant soybean for conventional cultivation. *Agronomy*, 10 (11), 1650.
6. Roberts, A. G., Gregor, W., Britt, R. D., & Kramer, D. M. (2003). Acceptor and donor-side interactions of phenolic inhibitors in photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1604 (1), 23-32.
7. Fayez, K. A. (2000). Action of photosynthetic diuron herbicide on cell organelles and biochemical constituents of the leaves of two soybean cultivars. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 66 (2), 105-115.

8. Fufezan, C., Rutherford, A. W., & Krieger-Liszkay, A. (2002). Singlet oxygen production in herbicide-treated photosystem II. *FEBS letters*, 532 (3), 407-410.
9. Rutherford, A. W., & Krieger-Liszkay, A. (2001). Herbicide-induced oxidative stress in photosystem II. *Trends in biochemical sciences*, 26 (11), 648-653.
10. Abulnaja, K. O., Tighe, C. R., & Harwood, J. L. (1992). Inhibition of fatty acid elongation provides a basis for the action of the herbicide, ethofumesate, on surface wax formation. *Phytochemistry*, 31 (4), 1155-1159.
11. Abbaspoor, M., Teicher, H. B., & Streibig, J. C. (2006). The effect of root-absorbed PSII inhibitors on Kautsky curve parameters in sugar beet. *Weed Research*, 46 (3), 226-235.
12. Zhang, C. J., Lim, S. H., Kim, J. W., Nah, G., Fischer, A., & Kim, D. S. (2016). Leaf chlorophyll fluorescence discriminates herbicide resistance in *Echinochloa* species. *Weed Research*, 56 (6), 424-433.
13. Søbye, K. W., Streibig, J. C., & Cedergreen, N. (2011). Prediction of joint herbicide action by biomass and chlorophyll a fluorescence. *Weed Research*, 51 (1), 23-32.
14. Avarseji, Z., Rashed Mohassel, M. H., Nezami, A., Abbaspoor, M., & Nasiri Mahallati, M. (2015). The effect of clodinafop on chlorophyll fluorescence parameters and Kautsky curve of wild oat (*Avena ludoviciana*). *Journal of Plant Protection*, 29 (1), 32-42.
15. Kaiser, Y. I., Menegat, A., & Gerhards, R. (2013). Chlorophyll fluorescence imaging: a new method for rapid detection of herbicide resistance in *Alopecurus myosuroides*. *Weed Research*, 53 (6), 399-406.
16. Abbaspoor, M., & Streibig, J. C. (2007). Monitoring the efficacy and metabolism of phenylcarbamates in sugar beet and black nightshade by chlorophyll fluorescence parameters. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 63 (6), 576-585.
17. Park, B., Wi, S., Chung, H., & Lee, H. (2024). Chlorophyll fluorescence imaging for environmental stress diagnosis in crops. *Sensors*, 24 (5), 1442.
18. Stirbet, A. (2011). On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 104 (1-2), 236-257.
19. Cobb A. H., & Reade J. P. H. (2011). *Herbicides and Plant Physiology*. Wiley-Blackwell; 2nd edition. United Kingdom, West Sussex.
20. Battaglini, B., Grinzato, A., & Pagliano, C. (2021). Binding properties of photosynthetic herbicides with the QB site of the D1 protein in plant photosystem II: a combined functional and molecular docking study. *Plants*, 10 (8), 1501.
21. Hiraki, M., van Rensen, J. J., Vredenberg, W. J., & Wakabayashi, K. (2003). Characterization of the alterations of the chlorophyll a fluorescence induction curve after addition of photosystem II inhibiting herbicides. *Photosynthesis research*, 78, 35-46.
22. Rea, G., Polticelli, F., Antonacci, A., Scognamiglio, V., Katiyar, P., Kulkarni, S. A., & Giardi, M. T. (2009). Structure-based design of novel *Chlamydomonas reinhardtii* D1-D2 photosynthetic proteins for herbicide monitoring. *Protein Science*, 18 (10), 2139-2151.
23. Takano, H. K., Benko, Z. L., Zielinski, M. M., Hamza, A., Kalnmals, C. A., Roth, J. J., Bravo-Altamirano, K., Siddall, T., Satchivi, N., Church, J. B., & Riar, D. S. (2023). Discovery and Mode-of-Action Characterization of a New Class of Acetolactate Synthase-Inhibiting Herbicides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71 (47), 18227-18238.

24. Aguiar, A. S., Costa, R. F., Borges, L. L., Dias, L. D., Camargo, A. J., & Napolitano, H. B. (2023). Molecular basis of two pyrimidine-sulfonylurea herbicides: from supramolecular arrangement to acetolactate synthase inhibition. *Journal of Molecular Modeling*, 29 (8), 241.
25. Zhao, X., Xie, Q., Song, B., Riaz, M., Lal, M. K., Wang, L., Lin, X., & Huo, J. (2024). Research on phytotoxicity assessment and photosynthetic characteristics of nicosulfuron residues on *Beta vulgaris* L. *Journal of Environmental Management*, 353, 120159.
26. Zhou, Q., Liu, W., Zhang, Y., & Liu, K. K. (2007). Action mechanisms of acetolactate synthase-inhibiting herbicides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 89 (2), 89-96.
27. Avarseji, Z., & Mohammadvand, E. (2018). Studying the effect of mesosulfuron methyl+ iodosulfuron methyl on chlorophyll fluorescence parameters of *Phalaris minor*. *Plant Productions*, 41 (3), 63-72.