علوم و تحقیقات بذر ایران
سال دوازدهم/ شماره دوم/ ۱۴۰۴ (۳۲ - ۱۷)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2025.9384

نقش زمان کاربرد و غلظت تری‌بنورون‌متیل در شکل‌دهی پاسخ‌های بذری: رمزگشایی سازوکارهای مقاومت و حساسیت در خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.) از طریق شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی

رفعت حسنی نسب فرزانه[۱]، احمد توبه[۲]، سدابه جهانبخش[۳]، رسول فخاری[۴*]، محمد احمدی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۲/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۴/۲۳

چکیده

به منظور ارزیابی بیوتیپ‌های حساس و مقاوم خردل وحشی به علف‌کش تری‌بنورون‌متیل آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در آزمایشگاه دانشگاه محقق اردبیلی و در سال ۱۴۰۲ انجام شد. عامل اول بیوتیپ خردل وحشی در ۲ سطح (مقاوم و حساس)، عامل دوم زمان اعمال علف‌کش در ۲ سطح (مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر و جوانه‌زنی بذر)، و عامل سوم غلظت‌های علف‌کش تری‌بنورون‌متیل (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم در هکتار) بودند. نتایج نشان داد که برهمکنش سه‌گانه عامل‌ها بر شاخص‌های کلروفیل a و b، مالون‌دی‌آلدهید، پروتئین و رشد گیاهچه معنی‌دار بود. در بیوتیپ مقاوم، کاربرد علف‌کش در مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر با غلظت ۱۵ گرم در هکتار موجب افزایش ۱۸۵ درصدی کلروفیل a و پروتئین نسبت به شاهد شد، درحالی‌که در مرحله جوانه‌زنی، غلظت ۳۰ گرم در هکتار کاهش ۵۳ درصدی این شاخص‌ها را نشان داد. سطح مالون دی‌آلدهید در بیوتیپ مقاوم در مرحله جوانه‌زنی بدون علف‌کش به طور غیرمنتظره‌ای افزایش یافت که احتمالاً نشانگر فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاعی است. در مقابل، بیوتیپ حساس در غلظت‌های بالا (۲۰-۳۰ گرم در هکتار) افزایش ۱۵۳ درصدی کلروفیل و پروتئین را نشان داد که احتمالاً ناشی از پاسخ تنشی ناموفق باشد. جالب این که بیوتیپ مقاوم در غیاب علف‌کش نیز رشد ریشه‌چه بهتری نسبت به بیوتیپ حساس داشت که نشان‌دهنده عدم هزینه شایستگی برای مقاومت است. این یافته‌ها نشان داد که مقاومت به علف‌کش در خردل وحشی می‌تواند با مکانیسم‌های جبرانی مؤثر همراه باشد و حتی در غیاب علف‌کش نیز مزیت رقابتی ایجاد کند. بنابراین، مدیریت تلفیقی مبتنی بر تناوب علف‌کش‌ها با مکانیسم‌های عمل متفاوت و استفاده از غلظت‌های بهینه بر اساس مرحله رشد گیاه، برای جلوگیری از گسترش جمعیت‌های مقاوم ضروری است. این مطالعه بینش جدیدی در مورد سازوکارهای مولکولی مقاومت و پیامدهای اکولوژیک آن ارائه می‌دهد که می‌تواند در طراحی راهکارهای کنترل پایدار علف‌های هرز مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: پاسخ‌های فیزیولوژیکی، مدیریت تلفیقی علف‌های هرز، مقاومت به علف‌کش، هزینه شایستگی

۱- دانشجوی دکتری علوم علف‌های‌هرز، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران r.6249_f@yahoo.com
۲- استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران ahmadtobeh1340@gmail.com
۳- استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران jahanbakhsh@uma.ac.ir
۴- بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، مغان، ایران. r.fakhari68@gmail.com
۵- دانشجوی دکتری علوم علف‌های‌هرز، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. 24155mohammad@gmail.com
*نویسنده مسئول: r.fakhari68@gmail.com

مقدمه

استفاده گسترده از علف‌کش‌ها به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین ابزارهای مدیریت علف‌های هرز، تأثیرات عمیقی بر سامانه‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مولکولی گیاهان گذاشته است (Silva *et al*., 2022). این ترکیبات شیمیایی نه‌تنها بر هدف اصلی خود یعنی علف‌های هرز اثر می‌گذارند بلکه می‌توانند با ایجاد تغییرات پیچیده در شبکه‌های متابولیکی، سازوکارهای دفاعی و حتی الگوهای بیان ژنی، بقا و سازگاری گونه‌ها را در اکوسامانه‌های زراعی دگرگون کنند. در این میان، خردل وحشی (*Sinapis arvensis*) به‌عنوان یک علف هرز مهاجم و رقابت‌طلب، به دلیل تولید بذر فراوان، سرعت رشد بالا و توانایی توسعه مقاومت به علف‌کش‌ها، به چالشی جدی در مزارع گندم تبدیل شده است (Heap, 2024). تاکنون ۵۳۳ بیوتیپ علف هرز مقاوم به علف‌کش در سطح جهانی شناسایی شده است که ۱۷۲ مورد از آن‌ها متعلق به گونه‌های مقاوم به بازدارنده‌های آنزیم استولاکتات سنتاز (ALS) هستند (Heap, 2024). این رقم هشداردهنده، لزوم درک دقیق‌تر مکانیسم‌های مقاومت و پیامدهای اکولوژیک آن را برای طراحی راهکارهای مدیریتی پایدار آشکار می‌سازد. مقاومت به علف‌کش‌ها اغلب با پدیده هزینه شایستگی[1] همراه است؛ به این معنا که گیاهان مقاوم ممکن است در غیاب علف‌کش، توانایی رقابتی خود را در جذب منابع، تولیدمثل یا مقاومت به تنش‌های محیطی از دست بدهند (Keshkar *et al*., 2019). با این حال، مطالعات اخیر نشان می‌دهند که در برخی گونه‌ها، مقاومت بدون هزینه شایستگی یا حتی با مزیت رقابتی ظاهر می‌شود (Lenhart *et al*., 2013). این مسأله به ویژه در مورد علف‌های هرز چندساله یا گونه‌هایی با تنوع ژنتیکی بالا، مانند خردل وحشی، نگرانی‌های را درباره تسلط سریع‌تر جمعیت‌های مقاوم در مزارع ایجاد می‌کند (Villa *et al*., 2009). از سوی دیگر، رقابت علف‌های هرز مقاوم با گیاهان زراعی برای جذب نیتروژن، آب و نور می‌تواند کاهش چشم‌گیری در عملکرد محصولات داشته باشد (Rodríguez *et al*., 2016). بنابراین، شناسایی نشانگرهای فیزیولوژیکی و مولکولی مرتبط با مقاومت، نه‌تنها به مدیریت هدفمندتر علف‌های هرز کمک می‌کند بلکه زمینه را برای توسعه علف‌کش‌های نسل جدید با مکانیسم‌های عمل غیرمشترک فراهم می‌سازد (Dayan and Duke, 2024). یکی از علف‌کش‌های رایج در کنترل خردل وحشی، تری‌بنورون‌متیل است که با مهار آنزیم ALS، سنتز اسیدهای آمینه شاخه‌دار را مختل می‌کند. مقاومت به این علف‌کش اغلب ناشی از جهش‌های نقطه‌ای در ژن ALS یا افزایش فعالیت آنزیم‌های سم‌زدایی مانند گلوتاتیون ترانسفرازها (GSTs) است (Powles *et al*., 2010). با این حال، تأثیر این مقاومت بر شاخص‌های فیزیولوژیکی مانند تولید کلروفیل، پرولین، پراکسیداسیون لیپیدها و رشد گیاهچه، به ویژه در مراحل اولیه رشد (ترک‌خوردگی پوسته بذر و جوانه‌زنی)، هنوز به طور کامل درک نشده است. این مراحل حساس، نقشی کلیدی در استقرار موفقیت‌آمیز علف هرز در محیط ایفا می‌کنند و هرگونه اختلال در آن‌ها می‌تواند هزینه شایستگی مقاومت را تشدید یا تعدیل کند. مطالعه حاضر با هدف بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی و مورفولوژیکی بیوتیپ‌های مقاوم و حساس خردل وحشی به غلظت‌های مختلف تری‌بنورون‌متیل در دو مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر و جوانه‌زنی طراحی شد. سؤالات اصلی این پژوهش عبارتند از این که آیا بیوتیپ مقاوم در مراحل اولیه رشد، سازوکارهای جبرانی برای حفظ فعالیت آنزیم‌های کلیدی مانند آلفا-آمیلاز و بتا-آمیلاز دارد؟ آیا مقاومت به علف‌کش با تغییراتی در محتوای کلروفیل، پرولین و پراکسیداسیون لیپیدها همراه است؟ آیا هزینه شایستگی در بیوتیپ مقاوم تحت تأثیر زمان اعمال علف‌کش (مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر در مقابل جوانه‌زنی) تغییر می‌کند؟ یافته‌های این تحقیق می‌تواند به توسعه راهکارهای مدیریت تلفیقی، مانند تناوب علف‌کش‌ها با مکانیسم‌های عمل متفاوت یا استفاده از محرک‌های رشد برای تقویت رقابت گیاه زراعی، کمک کند (Beckie *et al*., 2012). در نهایت، درک تعامل بین مقاومت به علف‌کش و هزینه شایستگی، کلید طراحی سامانه‌های کشاورزی مقاوم در برابر تغییرات اقلیمی و کاهش وابستگی به کنترل شیمیایی خواهد بود.

مواد و روش‌ها

تیمارهای آزمایشی: به منظور ارزیابی مقاومت بیوتیپ-های حساس و مقاوم علف هرز خردل وحشی به علف‌کش

[1] Fitness Cost

تری‌بنورون‌متیل (با نام تجاری گرانستار) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۲ انجام شد. عامل اول بیوتیپ خردل وحشی در ۲ سطح (بیوتیپ مقاوم و حساس)، عامل دوم زمان اعمال علف‌کش در ۲ سطح (مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر و جوانه‌زنی بذر) و عامل سوم غلظت‌های علف‌کش تری‌بنورون‌متیل (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم در هکتار) بودند. در این آزمایش میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز، پرولین، محتوای کلروفیل کل، محتوای کارتنوئید و وزن خشک گیاهچه اندازه‌گیری شدند. ارزیابی مقاومت به علف‌کش در مراحل مختلف جوانه‌زنی (ترک‌خوردگی پوسته بذر و جوانه‌زنی بذر) در خردل وحشی حساس و مقاومی که در مرحله ۳ تا ۴ برگی در کاربرد علف‌کش تری‌بنورن‌متیل مقاوم شده‌اند انجام شد. بذر بیوتیپ مقاوم (به رنگ سیاه) از مرکز تحقیقات استان گلستان تهیه شد و بذر بیوتیپ حساس (به رنگ قهوه‌ای مایل به زرد) از محوطه دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی جمع‌آوری شد. بذر هر دو بیوتیپ برای یکسان شدن شرایط محیطی و سن بذر در محیط بیرون از گلخانه کشت شد و بذرهای گیاهان مادری از ۴۰ بوته برای هر یک از بیوتیپ‌ها جمع‌آوری شدند. اگرچه آزمایش در شرایط درون شیشه‌ای انجام شده اما واحد گرم در هکتار برای تسهیل مقایسه با مطالعات مزرعه ای و محاسبات کاربردی در شرایط واقعی انتخاب شد. ابتدا ۳۰ گرم گرانستار در ۲۰۰ لیتر آب حل شد تا مقدار کاربرد سم بر حسب ۳۰ گرم در هکتار بدست آید و از طریق رقیق سازی سایر تیمارها نیز بدست آمد و سپس از این محلول های سمی در پتری دیش‌ها استفاده شد.

آزمایش زیست‌سنجی در پتری‌دیش

ابتدا بذور با استفاده از جیبرلیک اسید با غلظت ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام تیمار شدند تا خواب بذر شکسته شود. بذور در پتری‌دیش‌های ضدعفونی شده (قطر ۹ سانتی‌متر) حاوی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ قرار گرفتند. در هر مرحله (ترک‌خوردگی پوسته و جوانه‌زنی)، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول علف‌کش با غلظت‌های مشخص به هر پتری‌دیش افزوده شد. نمونه‌ها در دمای کنترل‌شده ژرمیناتور (۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند و سنجش آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و بتا-آمیلاز ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار، شاخص‌های بیوشیمیایی (پرولین، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها) ۵ روز پس از اعمال تیمار و پارامتر رشدی (وزن خشک گیاهچه) ۱۰ روز پس از اعمال تیمار. در زمان‌های مشخص نمونه‌ها در کاغذ آلومینیومی پیچیده و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد فریز شدند تا از تخریب آنزیمی جلوگیری شود. اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه‌ها پس از خشک‌شدن در ژرمیناتور (دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت) با استفاده از ترازوی دقیق (دقت ۰/۰۰۰۰۱ گرم) انجام شد. این طرح آزمایشی جامع، امکان شناسایی مکانیسم‌های مقاومت در سطح مولکولی (فعالیت آنزیمی) و فیزیولوژیکی (تغییرات رشد) را فراهم می‌کند و نقش کلیدی در درک هزینه شایستگی مرتبط با مقاومت به علف‌کش‌ها ایفا می‌نماید. چنین داده‌هایی پایه‌ای برای طراحی راهکارهای مدیریت تلفیقی علف‌های هرز مقاوم و کاهش اتکا به کنترل شیمیایی محسوب می‌شوند.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل a و کلروفیل b

برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل، ۰/۰۵ گرم از بافت تازه برگ‌ها با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به طور کامل عصاره‌گیری شده و با سانتریفیوژ کردن در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه قسمت‌های رویی و جامد نمونه برگ جدا شد (Alizadeh and smith, 2023). محتوای کاروتنوئید با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج های ۴۷۰،۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر در مقابل بلانک خوانده شد و محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئید از رابطه ۱ و ۲ به دست آمد (Khan and Thompson, 2023).

$$chla = 12.7(A663) - 2.69(A645) \times V/1000W$$ رابطه (۱)

$$chlb = 22.9(A645) - 2.69\,(A663) \times V/1000W$$ رابطه (۲)

در رابطه ۱ و ۲، chla میزان کلروفیل a، chlb میزان کلروفیل b، A663 طول موج بهینه برای کلروفیل a،A645 طول موج بهینه برای کلروفیل b، V حجم عصاره و W وزن بافت تازه را نشان می‌دهند.

اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید: برای سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، غلظت مالون دی‌آلدهید به عنوان شاخص تخریب اکسیداتیو، با روش واکنش با تیوباربیتوریک اسید (TBA) بر اساس پروتکل اصلاح‌شده اندازه‌گیری شد (Heath and Packer, 1976). در این روش، ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی تازه در ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱ درصد هموژنیزه و به مدت

۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰× g سانتریفیوژ شد. ۵۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت با ۲ میلی‌لیتر محلول حاوی ٪۲۰ TCA و ٪۰/۵ TBA مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. پس از سردسازی سریع در یخ، نمونه‌ها مجدداً سانتریفیوژ شده و جذب نوری در طول‌موج‌های ۵۳۲ نانومتر (جذب ویژه کمپلکس MDA-TBA) و ۶۰۰ نانومتر (تصحیح تداخل) ثبت شد. غلظت MDA با استفاده از ضریب خاموشی ($۱۵۵\ mM^{-1}cm^{-1}$) محاسبه گردید، این روش در مطالعات اخیر برای ارزیابی تنش اکسیداتیو در گیاهان به‌طور گسترده مورد استفاده قرار گرفته است (Hasanuzzaman *et al*., 2020).

اندازه‌گیری محتوای پروتئین: قرائت جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر انجام شد (Bradford, 1975). برای تهیه عصاره آنزیمی ۱۰۰ میلی‌گرم بافت (بخش هوایی) توزین و به همراه یک میلی‌لیتر بافر استخراج شامل فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار با pH= ۷/۸ در هاون چینی سرد بدست آمد؛ سپس عصاره‌های حاصل به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی حاصل در به دست آمده جهت اندازه‌گیری مورد استفاده قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS ver 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها با استفاده از Excel انجام شد.

نتایج و بحث

کلروفیل a: برهمکنش سه جانبه غلظت علف‌کش، بیوتیپ خردل وحشی و زمان اعمال علف‌کش روی کلروفیل a، کلروفیل b و مالون دی‌آلدهید در سطح احتمال ۱ درصد آماری معنی‌دار شد (جدول ۱). در تیمار مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر بیوتیپ مقاوم، بیش‌ترین مقدار کلروفیل a با کاربرد ۱۵ گرم در هکتار از علف‌کش مشاهده شد که نسبت به شاهد ۱۸۵ درصد افزایش داشت و کم‌ترین افزایش در تیمار با کاربرد ۵ گرم در هکتار از علف‌کش مشاهده شد که نسبت به شاهد ۲۳/۳۳ درصد افزایش نشان داد. در تیمار مرحله جوانه‌زنی بیوتیپ مقاوم کم‌ترین مقدار کلروفیل a با کاربرد غلظت ۳۰ گرم در هکتار از علف‌کش مشاهده شد که نسبت به شاهد کاهش ۵۳ درصد داشت و کم‌ترین کاهش کلروفیل a هم در تیمار با کاربرد ۵ گرم در هکتار از علف‌کش مشاهده شد که نسبت به شاهد ۱۸/۳۱ در صد کاهش نشان داد. نسبت افزایش کلروفیل a در مرحله جوانه‌زنی در بیوتیپ مقاوم نسبت به مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر ۷۷/۵ درصد بود. در تیمار مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر در خردل وحشی حساس بیش‌ترین مقدار در کاربرد غلظت ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم در هکتار از علف‌کش مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد افزایش ۱۱۷ درصد داشت. در تیمار مرحله جوانه‌زنی در خردل وحشی حساس در شرایط بدون کاربرد علف‌کش میزان کلروفیل a، ۲۰/۶۵ درصد کاهش نسبت به کلروفیل a در مرحله ترک خوردگی پوسته بذر مشاهده شد. بیش‌ترین مقدار افزایش در کلروفیل a مرحله جوانه‌زنی بیوتیپ حساس با کاربرد غلظت‌های ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم از علف‌کش مشاهده شد که نسبت به شاهد افزایش ۱۵۳/۴۲ درصدی نشان داد (شکل ۱). در آزمایشی بر روی دو رقم گندم حساس (مریوان) و مقاوم (زاغه) مقایسه میانگین تیمارها مشخص نمود که ژنوتیپ حساس مریوان در مقایسه با ژنوتیپ مقاوم زاغه از میزان کلروفیل a و b بیش تری برخوردار بود (Beyzavi *et al*., 2020). در آزمایشی مشاهده گردید که در مقایسه کلروفیل a مربوط به ذرت حساس و مقاوم با اعمال تنش شوری ۳۰۰ و ۴۰۰ میلیمولار به ترتیب در تنش ۳۰۰ میلی‌مولار شوری کلروفیل a در ذرت حساس ۷۳/۲ و ۴۵/۲ و غلظت ذرت مقاوم ۶۴/۷ و ۳۸/۷ شد (Cha-Um and Kirdmanee, 2009).

در آزمایش حاضر در بیوتیپ مقاوم و مرحله ترک خوردگی در غلظت‌های پایین علف‌کش مقدار کلروفیل a زیاد شده است که احتمالاً ناشی از فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی باشد؛ برخی از علفکش‌ها مانند گلیفوسیت با ایجاد استرس اکسیداتیو، می‌توانند باعث افزایش موقت غلظت کلروفیل در برگ‌ها شوند که ممکن است ناشی از تجمع پیش سازهای کلروفیل یا اختلال در تجزیه آن باشد (Dewez *et al*., 2005). در غلظت‌های بالا مجدداً میزان کلروفیل a کم شد که می‌تواند ناشی از افزایش زیاد گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه تخریب کلروفیل باشد. همچنین در بیوتیپ مقاوم و در مرحله جوانه‌زنی با افزایش غلظت علف‌کش میزان کلروفیل a کم شد که ناشی از تخریب کلروفیل است؛ بنابراین می‌توان گفت زمان کاربرد علف‌کش تری‌بنورون متیل در مزارع

آلوده به خردل وحشی مقاوم می‌تواند از حساسیت بالایی برخوردار بوده و در فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی اثرگزار است. احتمال دارد بیوتیپ مقاوم خردل وحشی به جای افزایش کلروفیل از مسیرهای متابولیکی جایگزین برای تحمل علف‌کش استفاده کند. در بیوتیپ حساس در هر دو مرحله ترک‌خوردن و جوانه‌زنی با افزایش غلظت علف‌کش میزان کلروفیل a زیاد شد که می‌تواند ناشی فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی باشد. تحریک سنتز کلروفیل تحت تأثیر علفکش‌های هورمونی در برخی مطالعات گزارش شده است (Yuan *et al*., 2010). افزایش غلظت کلروفیل در برگ‌های گیاهان تیمار شده با علفکش‌های بازدارنده فتوسیستم II (مثل آترازین) ممکن است نشان‌دهنده پاسخ جبرانی برای حفظ فتوسنتز تحت شرایط استرس باشد (Jursík *et al*., 2015). همچنین کاربرد علفکش‌های سولفونیل‌اوره (مثل نیکوسولفورون) در دوزهای زیرکشنده، می‌تواند نسبت کلروفیل a به b را تغییر دهد، که نشان‌دهنده اختلال در ساختار کلروپلاست است. با توجه با نتایج آزمایش می‌توان گفت در بیوتیپ مقاوم نوعی شایستگی منفی ناشی از مقاومت به تری‌بنورون متیل ایجاد شده است که در بذور حساس وجود نداشته است که می‌تواند نقطه ضعفی برای این نوع بیوتیپ باشد و در تکامل روش‌های مدیریت این علف هرز در آینده کمک کند.

کلروفیل b: در تیمار مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر بیوتیپ مقاوم، بیش‌ترین مقدار کلروفیل b در کاربرد با غلظت ۱۵ گرم در هکتار از علف‌کش مشاهده شد که نسبت به کم‌ترین مقدار آن در شرایط بدون کاربرد علف‌کش ۱۸۵/۵۲ درصد افزایش نشان داد. کم‌ترین مقدارافزایش در کاربرد با غلظت ۵ گرم در هکتار مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد ۵۹/۲۱ درصد افزایش نشان داد. در تیمار شاهد مرحله جوانه‌زنی خردل وحشی مقاوم مقدار کلروفیل b افزایش ۷۷/۶۳ درصد نسبت به تیمار شاهد مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر خردل وحشی مقاوم مشاهده شد. بیش‌ترین کاهش مقدار کلروفیل b در خردل وحشی مقاوم مرحله جوانه‌زنی در کاربرد با غلظت ۳۰ گرم در هکتار از علف‌کش مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد کاهش ۵۳/۳۳ درصد مشاهده شد و کم‌ترین مقدار کاهش در کاربرد با غلظت ۵ گرم در هکتار از علف‌کش مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد که بیش‌ترین مقدار کلروفیل b را داشت، ۱۸/۵۰ درصد کاهش مشاهده شد. این روند نشان می‌دهد که مقاومت گیاه در مراحل اولیه رشد ممکن است با افزایش تولید کلروفیل به عنوان مکانیسم دفاعی در برابر تنش علف‌کش همراه باشد اما در مراحل بعدی

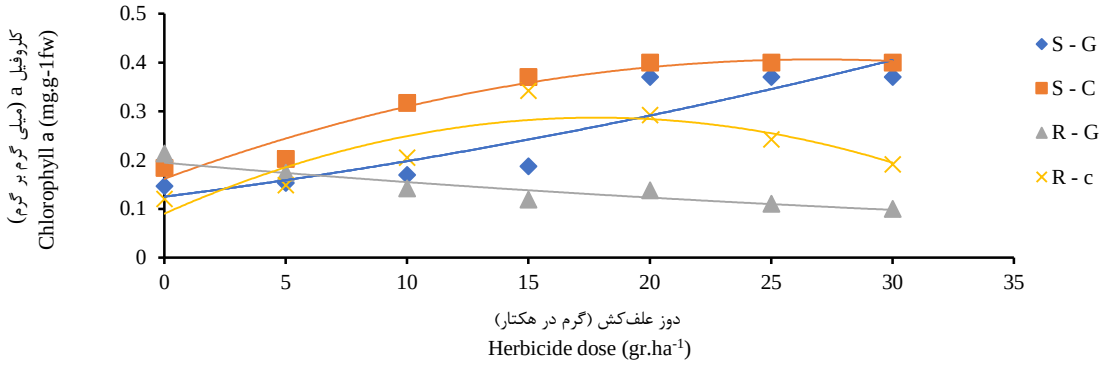
جدول ۱- میانگین مربعات اثر غلظت علف‌کش، بیوتیپ خردل وحشی و زمان اعمال علف‌کش روی کلروفیل a، کلروفیل b و مالون دی‌آلدهید

Table 1. Mean square effect of herbicide dose, wild mustard biotype, and herbicide application time on chlorophyll a, chlorophyll b, and malondialdehyde

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	مالون دی‌آدهید Malonodialdehyde
غلظت علف‌کش(A) Herbicide dose	6	0.073**	0.951**	3.730**
بیوتیپ خردل وحشی(B) Wild mustard biotype	1	0.019**	0.087**	0.025**
زمان اعمال علف‌کش (C) Herbicide application time	1	0.034**	1.22**	4.532**
A × B	6	0.008**	0.121**	1.293**
A × C	6	0.022**	0.315**	2.435**
B × C	1	0.013**	0.242**	3.325**
A × B × C	6	0.006**	0.113**	0.392**
خطا (Error)	56	0.0016	0.015	0.331
درصد ضریب تغییرات (CV٪)	-	23.12	24.21	19.90

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

* and ** are significant at the five and one percent probability levels, respectively.

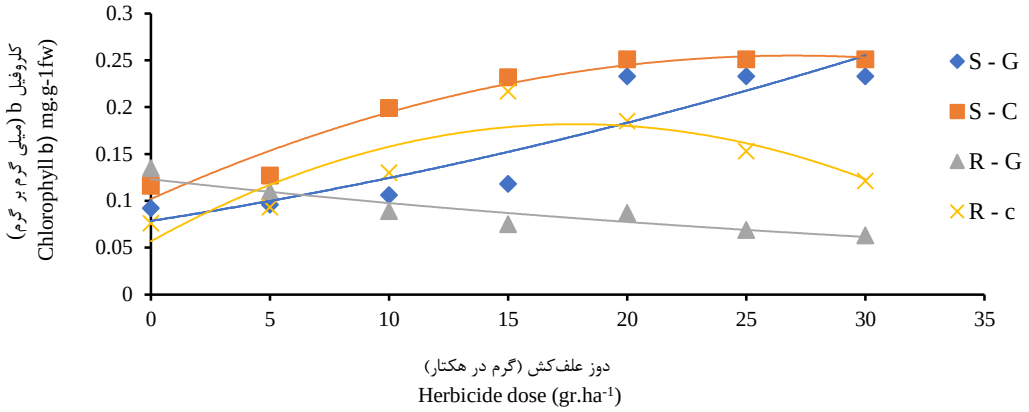


شکل ۱- برهمکنش سه‌جانبه بیوتیپ خردل وحشی، غلظت علف‌کش و زمان اعمال علف‌کش روی کلروفیل a. (S: بیوتیپ حساس، R: بیوتیپ مقاوم، G: کاربرد علف‌کش در مرحله جوانه‌زنی و C: کاربرد علف‌کش در مرحله ترک‌خوردن).

Figure 1. Trilateral interaction effect of wild mustard biotype, herbicide dose, and herbicide application time on the chlorophyll a. (S: Sensitive biotype, R: Resistant biotype, G: Herbicide application at germination stage, C: Herbicide application at cracking stage)

(جوانه‌زنی)، این مکانیسم کاهش می‌یابد. در تیمار مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر روند تغییرات کلروفیل b به صورت صعودی مشاهده شد که بیشترن مقدار کلروفیل b با کاربرد غلظت‌های ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم در هکتار مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد ۱۱۶/۳۷ درصد افزایش نشان داد. در تیمار شاهد مرحله جوانه‌زنی در خردل وحشی حساس کاهش ۲۰/۶۹ درصد نسبت به شاهد مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر مشاهده شد. بیش‌ترین مقدار کلروفیل b در شرایط کاربرد علف‌کش با غلظت‌های ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم در هکتار مشاهده شد که نسبت به شاهد افزایش ۱۵۳/۲۶ درصد مشاهده شد. این افزایش غیرمنتظره در گیاه حساس ممکن است ناشی از فعال‌سازی مسیرهای جبرانی یا اختلال در سامانه دفاعی گیاه تحت تأثیر علف‌کش باشد (شکل ۲). در آزمایشی مشاهده گردید که در شرایط تنش شدید (مانند شوری ۴۰۰ میلی‌مولار)، گیاهان حساس ممکن است کلروفیل بیشتری نسبت به گیاهان مقاوم تولید کنند (Cha-Um and Kirdmanee, 2009) که مشابه واکنش بیوتیپ حساس خردل وحشی در این پژوهش است. این الگو احتمالاً به دلیل تلاش گیاه حساس برای جبران آسیب ناشی از تنش از طریق افزایش سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی است. افزایش کلروفیل b در مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر ممکن است نشان‌دهنده فعال‌سازی سامانه آنتی‌اکسیدانی یا تجمع متابولیت‌های محافظتی (مانند پرولین) برای مقابله با علف‌کش باشد. کاهش کلروفیل در مرحله جوانه‌زنی تحت تأثیر غلظت‌های بالا (۳۰ گرم در هکتار) احتمالاً به دلیل اختلال در ساخت کلروفیل یا تخریب آن تحت تنش اکسیداتیو است. همچنین افزایش شدید کلروفیل b در بیوتیپ حساس با غلظت‌های بالای علف‌کش ممکن است ناشی از اختلال در سامانه انتقال الکترون فتوسامانه II یا تجمع پیش‌سازهای کلروفیل به دلیل مهار آنزیم‌های تجزیه‌کننده باشد. تفاوت واکنش گیاه در مراحل ترک‌خوردگی و جوانه‌زنی نشان می‌دهد که حساسیت به علف‌کش به بلوغ فیزیولوژیکی گیاه وابسته است. با توجه به افزایش کلروفیل در بیوتیپ حساس با غلظت‌های بالا، استفاده از غلظت‌های بهینه (مانند ۱۵ گرم در هکتار برای بیوتیپ مقاوم) برای جلوگیری از سازگاری علف‌های هرز ضروری است. افزایش کلروفیل در گیاهان حساس ممکن است یک پاسخ جبرانی کوتاه‌مدت برای حفظ فتوسنتز تحت تنش باشد اما در بلندمدت منجر به تخریب سلولی و مرگ گیاه می‌شود.

مالون دی‌آلدهید: این پژوهش نشان می‌دهد که سطح مالون دی‌آلدهید (MAD) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، در بیوتیپ مقاوم و حساس خردل وحشی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف علف‌کش و مراحل رشد، رفتار متفاوتی دارد. بیش‌ترین مقدار مالون دی‌آلدهید در تیمار مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر خردل وحشی مقاوم، در شرایط کاربرد علف‌کش به میزان ۱۵ گرم در هکتار مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد ۶۴/۷۵ درصد افزایش نشان داد و کم‌ترین میزان در مقدار مالون دی‌آلدهید در کاربرد ۵ گرم از علف‌کش در هکتار مشاهده شد. میزان مالون دی‌آلدهید در تیمار شاهد خردل وحشی مقاوم در مرحله جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد در مرحله



شکل ۲- برهمکنش سه‌جانبه بیوتیپ خردل وحشی، غلظت علف‌کش و زمان اعمال علف‌کش روی کلروفیل b. (S: بیوتیپ حساس، R: بیوتیپ مقاوم، G: کاربرد علف‌کش در مرحله جوانه‌زنی و C: کاربرد علف‌کش در مرحله ترک‌خوردن).

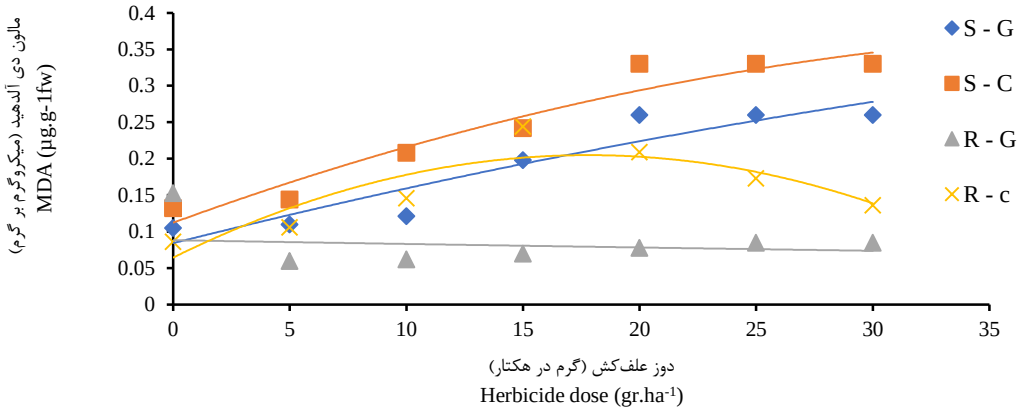
Figure 2. Three-way interaction effect of wild mustard biotype, herbicide dose, and herbicide application time on the chlorophyll b. (S: Sensitive biotype, R: Resistant biotype, G: Herbicide application at germination stage, C: Herbicide application at cracking stage)

ترک‌خوردگی پوسته بذر ۷/۹۰ درصد بیشتر بود. در تیمار مرحله جوانه‌زنی خردل وحشی مقاوم، بیش‌ترین مقدار مالون دی‌آلدهید در شرایط بدون کاربرد علف‌کش مشاهده شد که نسبت به سایر غلظت‌های علف‌کش (۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰) به ترتیب افزایش ۶۰/۷۸، ۷۵/۴۷، ۳۵/۵۹، ۴۹، ۴۴، ۴۴ درصدی نشان داد. این الگو احتمالاً نشان‌دهنده فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی در مرحله جوانه‌زنی تحت تنش است که با کاهش نسبی MDA در حضور علف‌کش همراه است. در خردل وحشی حساس در مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر کاربرد غلظت ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم علف‌کش در هکتار موجب افزایش در مقدار مالون دی‌آلدهید به میزان ۱۵۰ درصد نسبت به شاهد شد و کم‌ترین مقدار افزایش در میزان مالون دی‌آلدهید با کاربرد ۵ گرم از علف‌کش محاسبه شد که نسبت به شاهد ۱۰ درصد افزایش نشان داد. مقدار مالون دی‌آلدهید در تیمار شاهد خردل وحشی حساس در مرحله جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد در مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر ۲۰/۴۵ درصد کمتر بود. کم‌ترین افزایش در مقدار مالون دی‌آلدهید با کاربرد غلظت ۵ گرم علف‌کش در هکتار مشاهده شد که نسبت به شاهد افزایش ۱۵/۲۳ درصد افزایش نشان داد. بیش‌ترین مقدار افزایش با کاربرد ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم علف‌کش در هکتار مشاهده شد که نسبت به شاهد افزایش ۱۴۷ درصد نشان داد (شکل ۳).

تولید گونه‌های فعال اکسیژن[1] بخشی از زندگی هوازی است و نقش اساسی در سازگای با تنش و تنظیم رشد گیاه از جوانه‌زنی تا پیری دارد، ROS ها بسیار واکنش پذیر هستند و به سرعت مولکول‌های هدف را اکسید می‌کنند که منجر به پراکسیداسیون لیپیدی در میان بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی دیگر می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدی نه‌تنها توسط ROS ایجاد می‌شود بلکه می‌تواند از افزایش فعالیت لیپواکسیژناز (به عنوان مثال در نتیجه تهاجم پاتوژن) ناشی شود. بنابراین هر دو فرایند پراکسیداسیون لیپیدی آنزیمی و غیرآنزیمی ممکن است منجر به تشکیل MAD و سایر محصولات پراکسیداسیون لیپیدی در گیاهان، مانند جاسمونات‌ها که جزء ضروری تحمل تنش‌اند شود (Farmer and Mueller, 2013). جالب‌توجه است که MAD آزاد و محدود در نمونه‌های گیاهی وجود دارد و افزایش قابل توجهی در MAD آزاد در برگ‌های آرابیدوپسیس تحت شرایط تنش اکسیداتیو مشاهده شد (Weber *et al.*, 2004). اگر سطح MAD بالا بماند و پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلیئک را به‌طور غیرقابل جبرانی تغییر دهد به عنوان شاخص آسیب در غشاء گیاهان محسوب می شود ولی اگر حذف MAD به درستی انجام شود افزایش MAD ممکن است نشان دهنده فرآیندهای سازگاری باشد نه آسیب؛ به عنوان مثال، در مشاهدات گیاهان رزماری تحت تنش شوری، MAD به

[1] Reactive oxygen species (ROS)

طور موقت در برگ‌ها افزایش یافت، سامانه آنتی اکسیدانی برای از بین بردن ROS به طور مؤثر فعال شد و هیچ نشانه از آسیب اکسیداتیو مشاهده نشد (Tounekti *et al.*, 2011). شواهد ژنتیکی نشان می‌دهد که غشاهای غنی از PUFA به عنوان آنتی اکسیدان‌های فوق مولکولی عمل می‌کنند که ROS را جذب می‌کنند و در نتیجه آسیب به پروتئین‌ها را محدود می‌کنند. این فرآیند به طور مداوم مواد تکه‌تکه‌کننده لیپید ازجمله MAD را تولید می‌کند (Schmid-Siegert *et al.*, 2016). در آزمایشی بر روی ارقام کلزا به این نتیجه رسیدند که غلظت مالون دی‌آلدهید تحت تأثیر شوری افزایش می‌یابد. همبستگی منفی و معنی‌داری میان شاخص بنیه گیاهچه با غلظت مالون دی‌آلدهید وجود دارد که بیانگر اثر مخرب تخریب غشاء سلولی بر رشد گیاهچه کلزا است و بین غلظت مالون دی‌آلدهید با صفات وزن تر گیاهچه، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، شاخص بنیه گیاهچه و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز اختلاف منفی و معنی‌داری وجود دارد (Farhodi, 2012). گیاهان مقاوم با تنظیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز) از تجمع MDA جلوگیری می‌کنند، درحالی‌که گیاهان حساس به دلیل نقص در سامانه دفاعی، آسیب غشایی بیشتری تجربه می‌کنند (Hasanuzzaman *et al.*, 2023). همچنین افزایش موقت MDA در بیوتیپ مقاوم (مانند مشاهده شده در مرحله جوانه‌زنی بدون علف‌کش) ممکن است نشانه فرآیندهای سازگاری باشد که با فعال‌سازی جاسمونات‌ها و مسیرهای پیام‌دهی تنش همراه است (Farmer and Mueller, 2013). این یافته‌ها تأکید می‌کنند که MDA نه‌تنها یک نشانگر آسیب بلکه ممکن است بازتابی از پاسخ‌های انطباقی گیاه تحت تنش باشد. برای مدیریت علف‌کش‌ها، استفاده از غلظت‌های بهینه (مانند ۵ - ۱۵ گرم برای بیوتیپ مقاوم) جهت کاهش تنش اکسیداتیو و جلوگیری از مقاومت ثانویه علف‌های هرز ضروری است. مطالعه اخیر نشان می‌دهد که تعادل بین تولید ROS و سامانه آنتی‌اکسیدانی، نقش کلیدی در تعیین سرنوشت گیاه (سازگاری یا آسیب) تحت تنش علف‌کش دارد و از یافته‌های این پژوهش در مورد تفاوت واکنش بیوتیپ‌های مقاوم و حساس پشتیبانی می‌کند.



شکل ۳- برهمکنش سه‌جانبه بیوتیپ خردل وحشی، غلظت علف‌کش و زمان اعمال علف‌کش روی مالون در آلدهید (S: بیوتیپ حساس، R: بیوتیپ مقاوم، G: کاربرد علف‌کش در مرحله جوانه‌زنی و C: کاربرد علف‌کش در مرحله ترک‌خوردن).

Figure 3. Three-way interaction effect of wild mustard biotype, herbicide dose, and herbicide application time on the Malondialdehyde. (S: Sensitive biotype, R: Resistant biotype, G: Herbicide application at germination stage, C: Herbicide application at cracking stage)

پروتئین: برهمکنش سه‌جانبه غلظت علف‌کش، بیوتیپ خردل وحشی و زمان اعمال علف‌کش روی کلروفیل a، کلروفیل b و مالون دی‌آلدهید در سطح احتمال ۱ درصد آماری معنی‌دار شد (جدول ۱). میزان پروتئین در تیمار مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر خردل وحشی مقاوم، با کاربرد غلظت ۱۵ گرم در هکتار بیشترین مقدار را نشان داد، که نسبت به تیمار بدون علف‌کش ۱۸۵ درصد افزایش داشت و کم‌ترین افزایش مقدار پروتئین در خردل وحشی مقاوم با اعمال غلظت ۵ گرم در هکتار از علف‌کش مشاهده شد که نسبت به شاهد (بدون علف‌کش) ۲۳/۱۲ درصد

افزایش نشان داد. مقدار پروتئین در شرایط بدون اعمال علف‌کش در مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر نسبت به مرحله جوانه‌زنی در شرایط بدون اعمال علف‌کش ۷۷ درصد کمتر بود. طبق مقایسه میانگین داده‌ها کم‌ترین کاهش پروتئین در تیمار مرحله جوانه‌زنی خردل وحشی مقاوم با کاربرد غلظت ۵ گرم در هکتار از علف‌کش مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد ۱۷/۵۷ درصد کمتر بود. کم‌ترین مقدار پروتئین هم با کاربرد غلظت ۳۰ گرم علف‌کش در هکتار مشاهده شد که کاهش ۵۲/۷۲ درصد نسبت به شاهد داشت. مقدار پروتئین در تیمار مرحله ترک‌خوردگی خردل وحشی حساس با کاربرد غلظت ۲۰، ۲۵ و ۳۰ گرم در هکتار از علف‌کش به بیش‌ترین مقدار نسبت به سایر غلظت‌ها مشاهد شد که نسبت به تیمار شاهد، افزایش ۱/۹۲ برابری نسبت به شاهد مشاهده شد. میزان پروتئین در تیمار مرحله جوانه‌زنی خردل وحشی حساس روند نمودار به صورت صعودی مشاهده شد و در کاربرد غلظت ۲۰، ۲۵، ۳۰ گرم در هکتار به بیش‌ترین مقدار رسید که نسبت به تیمار شاهد ۱۰۶/۱۴ درصد افزایش نشان داد (شکل ۴). پروتئین‌هایی که در عملکردهای پروتئینی متعددی مانند بیوسنتز ترکیبات محافظ اسمز، سامانه‌های آنزیمی سم‌زدایی، پروتئازها، ناقل‌ها و شاپرون‌ها نقش دارند، علاوه بر این، پروتئین‌های تنظیم‌کننده، به‌عنوان مثال، فاکتورهای رونویسی، پروتئین فسفاتازها و کینازها و فعال‌سازی مولکول‌های سیگنال دهنده در تنظیم انتقال سیگنال و بیان ژن پاسخ‌دهنده به تنش ضروری هستند، به عنوان اولین خط محافظت مستقیم در برابر تنش عمل می‌کنند (Nanjo *et al*., 2012). به طور کلی، پاسخ‌های تحمل مشاهده‌شده نسبت به تنش غیرزیستی در گیاهان از مکانیسم‌های پاسخ خاص تنش و پاسخ‌های تطبیقی‌تشکیل شده‌اند که مزایای استراتژیک را در شرایط نامطلوب به ارمغان می‌آورند؛ پروتئین کیناز (SnRK1)، علیرغم اینکه تنظیم‌کننده بیان ژن‌های مربوط به شرایط کاهش انرژی است، همچنین زمانی فعال می‌شود که گیاهان با انواع مختلف تنش‌های غیرزنده مانند خشکی، نمک و تخریب مواد مغذی مواجه شوند (Feder ME, 2006). کینازهایSnRk1 بیان بیش از ۱۰۰۰ ژن پاسخ‌دهنده به تنش را تغییر می‌دهند و با سرکوب فرآیندهای مصرف انرژی، امکان برقراری مجدد هموستاز را فراهم می‌کنند، بنابراین تحمل تنش را ارتقا می‌دهند (Baena and Sheen, 2008). بهینه سازی منابع انرژی سلولی در طول تنش برای سازگاری گیاه ضروری است و گیاه تا حدی فرآیندهای پر انرژی مانند فعالیت‌های تولیدمثل، ترجمه و برخی مسیرهای بیوسنتزی را متوقف می‌کند (Bailey and Voesenek, 2008)؛ به عنوان مثال، در ذرت، در هنگام تنش شوری و کمبود پتاسیم، جذب نیتروژن و کربن مختل می‌شود. همچنین سنتز اسیدهای آمینه آزاد، کلروفیل و پروتئین نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Jueneman and Guimaraes, 2008). پس از توقف فرآیند پرهزینه انرژی، منابع انرژی را می‌توان برای فعال کردن مکانیسم‌های حفاظتی هدایت کرد (Cho *et al*., 2012). در منابع دیگری استناد شده است بیش‌ترین میزان (۲۰۰ میلی‌گرم) پروتئین مربوط به ژنوتیپ حساس در شرایط نرمال و کم‌ترین مقدار (۲۷/۷ میلی‌گرم) به همین ژنوتیپ در شرایط تنش شوری اختصاص داشت برعکس ژنوتیپ مقاوم در شرایط نرمال پروتئینی برابر با ۴۵/۵ برابر داشت. که بیش از ۴ برابر از ژنوتیپ مقاوم بیشتر بوده است. گزارش شده است که تنش شوری موجب کاهش میزان پروتئین می‌گردد (Demiral and Turkan, 2005). در نهایت می‌توان گفت که در بیوتیپ مقاوم، افزایش پروتئین در مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر با غلظت متوسط علف‌کش احتمالاً ناشی از فعال‌سازی مسیرهای دفاعی مانند سنتز پروتئین‌های شاپرونی، آنزیم‌های سم‌زدایی و فاکتورهای رونویسی است که به حفظ هموستاز سلولی کمک می‌کنند. در مقابل، کاهش پروتئین در مرحله جوانه‌زنی با غلظت‌های بالا، نشانگر اختلال در سنتز پروتئین یا تخریب آن تحت تنش اکسیداتیو است. در بیوتیپ حساس، افزایش پروتئین با غلظت‌های بالای علف‌کش ممکن است بازتابی از تلاش ناموفق گیاه برای جبران آسیب‌های ناشی از تنش از طریق فعال‌سازی غیرهدفمند مسیرهای پیام‌دهی باشد. مطالعات پیشین نیز تأیید می‌کنند که گیاهان مقاوم با بهینه‌سازی مصرف انرژی از طریق مسیرهای حسگر انرژی مانند SnRK1، فرآیندهای پرهزینه مانند سنتز پروتئین را مهار کرده و منابع را به سمت مکانیسم‌های دفاعی هدایت می‌کنند

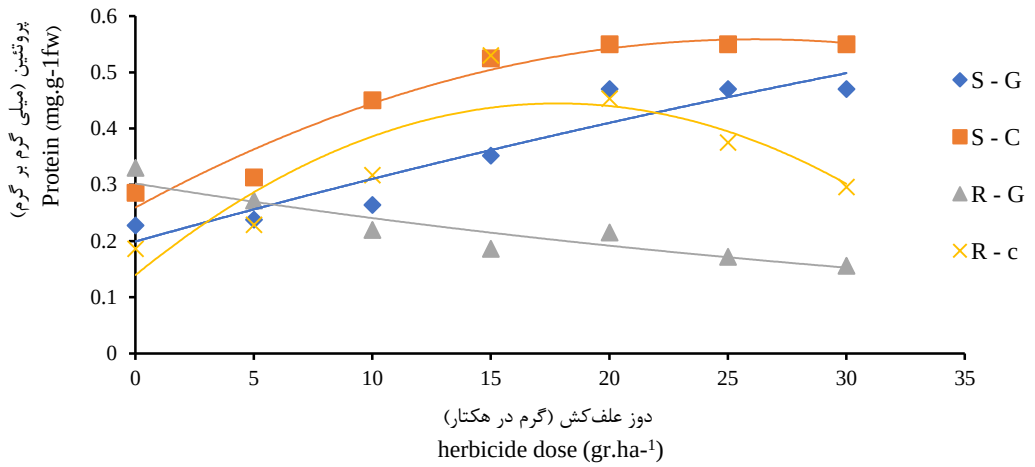
جدول ۲- میانگین مربعات اثر غلظت علف‌کش، بیوتیپ خردل وحشی و زمان اعمال علف‌کش روی طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و میزان پروتئین

Table 2. Mean square effect of herbicide dose, wild mustard biotype, and herbicide application time on root length, shoot length, and protein content

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	طول ریشه‌چه Radicle length	طول ساقه‌چه Epicotyl length	پروتئین Protein
غلظت علف‌کش(A) Herbicide dose	6	752.712**	615.437**	1.171**
بیوتیپ خردل وحشی(B) Wild mustard biotype	1	191.773**	181.223**	0.292**
زمان اعمال علف‌کش (C) Herbicide application time	1	467.190**	315.145**	0.661**
A × B	6	17.642**	14.436**	0.033**
A × C	6	21.370**	18.543**	0.065**
B × C	1	1.382**	1.212**	0.015**
A × B × C	6	1.064**	1.046**	0.004**
خطا (Error)	56	0.087	0.067	0.00007
درصد ضریب تغییرات (CV٪)	-	8.27	7.12	4.85

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

* and ** are significant at the five and one percent probability levels, respectively



شکل ۴- برهمکنش سه‌جانبه بیوتیپ خردل وحشی، غلظت علف‌کش و زمان کاربرد علف‌کش بر میزان پروتئین. (S: بیوتیپ حساس، R: بیوتیپ مقاوم، G: کاربرد علف‌کش در مرحله جوانه‌زنی و C: کاربرد علف‌کش در مرحله ترک‌خوردن).

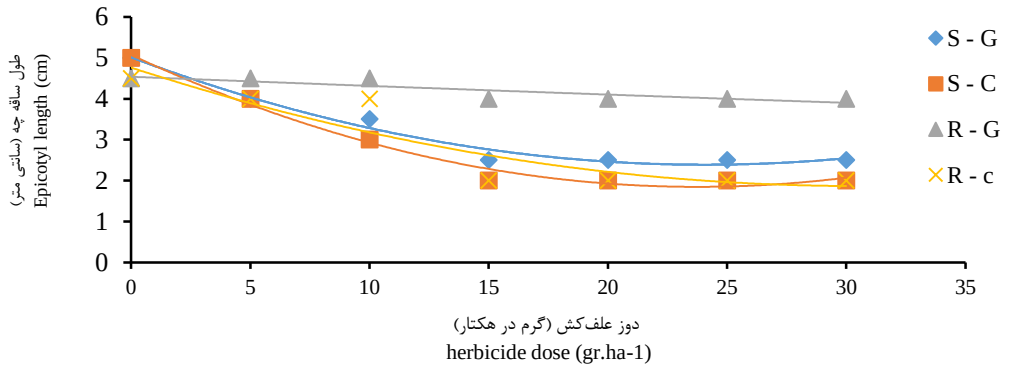
Figure 4. Three-way interaction effect of wild mustard biotype, herbicide doses, and herbicide (S: Sensitive biotype, R: Resistant biotype, G: Herbicide application time on the amount of Protein. application at germination stage, C: Herbicide application at cracking stage)

(Hasanuzzaman *et al.*, 2023)؛ این سازگاری، امکان بقا در شرایط تنش را فراهم می‌کند. در مقابل، گیاهان حساس فاقد این تنظیم دقیق هستند و افزایش غیرطبیعی پروتئین ممکن است منجر به اتلاف منابع و تشدید آسیب شود. یافته‌های این پژوهش بر دو نکته کلیدی تأکید دارند؛ نخست تنظیم پروتئین‌های تنشی نه‌تنها به عنوان شاخص مقاومت بلکه به عنوان ابزاری برای مدیریت تنش در گیاهان مقاوم عمل می‌کند و دوم اینکه غلظت علف‌کش باید متناسب با مرحله رشد گیاه و ویژگی‌های بیوتیپ انتخاب شود تا از ایجاد مقاومت ثانویه یا آسیب به گونه‌های غیرهدف جلوگیری گردد. این نتایج، پایه‌ای برای توسعه راهبرد های هوشمندانه در مدیریت علف های هرز و بهینه‌سازی کاربرد علف‌کش‌ها با درنظرگرفتن تعاملات

پیچیده بین تنش، رشد و پاسخ‌های مولکولی گیاهان است.

طول ساقه‌چه: در تیمار مرحله ترک‌خوردگی پو سته بذر کم‌ترین طول ســـاقه‌چه با کاربرد ۱۵-۳۰ گرم در هکتار از علف‌کش مشـاهده شـد که نسـبت به تیمار شـاهد کاهش ۶۰/۵ در صدی نشان داد. در تیمار مرحله جوانه‌زنی خردل وحشـی مقاوم کم‌ترین طول سـاقه‌چه با کاربرد غلظت‌های ۱۵-۳۰ گرم در هکتار مشـاهده شـد که نسـبت به تیمار شاهد ۱۱/۱۱ در صد کاهش نشان دادند. در تیمار مرحله ترک‌خوردگی پو سته بذر خردل وحشی حساس بیش‌ترین طول ساقه‌چه در تیمار شاهد مشاهده شد و کم‌ترین طول ســـاقه چه با کاربرد غلظت های ۱۵-۳۰ گرم در هکتار مشاهده شد که نسبت به تیمار شده کاهش ۶۰ در صدی داشـــتند. در تیمار مرحله جوانه‌زنی نیز خردل وحشـــی حســـاس کم‌ترین طول ســـاقه‌چه با کاربرد غلظت‌های ۱۵-۳۰ گرم در هکتار از علف‌کش مشـاهده شـد که نسـبت به تیمار شاهد کاهش ۵۰ در صد داشتند (شکل ۵). محققان اغلب مقاومت به تنش را به عنوان میزان رشد یا بقای گیاه در شـــرایط تنش نســـبت به شـــرایط کنترل اندازه‌گیری می‌کنند. دو معیار مقاومت در برابر تنش (رشـد نسـبی در مقابل بقا) ممکن اســـت متناقض باشـــند (Skirycz *et al.*, 2011)؛ زیرا بقا را می توان با ســـرکوب کردن رشـــد و بالعکس به دست آورد. اثر تنش بر رشد گیاه را می توان به صورت کاهش سرعت رشد گیاه یا کاهش تجمع زیست‌توده اندازه‌گیری کرد؛ به عنوان مثال، سرعت افزایش طول برگ غلات به تنش هایپراســـموتیک در عرض چند ثانیه پاســـخ می‌دهد و یکی از حســـاس‌ترین پاســـخ‌های گیاه به تنش اســـت (Shabala and Bose, 2021). برخی از گیاهان می‌توانند رشـد برخی از قسـمت‌های گیاه را در پاسـخ به تنش‌های خاص افزایش دهند، آن‌ها می‌توانند برای مثال، رشد ریشه را در پاسخ به خشک‌سالی ملایم افزایش دهند یا رشد ساقه را در پاسخ به شرایط نور کم یا سیل افزایش دهند (Zhao *et al.*, 2014)؛ این نوع رشد ناشی از تنش یک اندام خاص معمولاً با ســـرکوب کردن رشـــد ســـایر قســـمت‌های گیاه حاصـــل می‌شـــود. در این موارد، تجمع زیست‌توده کل گیاه، اثر کلی تنش را بهتر منعکس می‌کند. معاوضـــه ظاهراً اجتناب‌ناپذیر بین رشـــد و مقاومت در برابر تنش معمولاً با محدودیت انرژی و منابع توضـــیح داده می‌شـود. گیاهان تحت تنش باید انرژی و منابع را از رشـد دور کرده و به سمت پاسخ تنش منحرف کنند؛ با این حال، شـــواهد فزاینده نشـــان می‌دهد که گیاهان به‌عنوان یک راهکار تطبیقی برای به حداکثر رساندن بقا، رشد را تحت شـــرایط تنش ســـرکوب می‌کنند. در اکثر گیاهان، برنامه پاسخ به تنش‌های خفیف حساس است که گیاهان را برای احتمال تنش شـــدیدتر در آینده آماده می‌کند. شـــبکه سیگنال دهی تنش فعالانه فعالیت‌های آنابولیک سلولی و رشـد گیاه را در اوایل پاسـخ تنش سـرکوب می‌کند، حتی زمانی که وضـــعیت انرژی ســـلولی تحت تأثیر قرار نگیرد. به‌طورکلی نتایج نشان می‌دهد که بیوتیپ مقاوم و حساس خردل وحشـی در مواجهه با علف‌کش، راهکارهای متفاوتی برای مدیریت تنش به کار می‌گیرند. در بیوتیپ مقاوم، کاهش طول ساقه‌چه در غلظت‌های بالای علف‌کش احتمالاً ناشـی از تخصـیص منابع به مکانیسـم‌های دفاعی (مانند فعال‌سازی پروتئین‌های تنشی و سامانه‌های آنتی‌اکسیدانی) اســـت که بقای گیاه را در بلندمدت تضـــمین می‌کند. در مقابل، بیوتیپ حســـاس با کاهش شـــدیدتر رشـــد، آسیب‌پذیری بیشتری نشان می‌دهد که نشانگر ناتوانی در هماهنگی بین پاســـخ به تنش و حفظ رشـــد اســـت. این تفاوت‌ها با نظریه مبادله رشد-مقاومت هم‌سو است که بر اســـاس آن، گیاهان تحت تنش، رشـــد را برای اختصـــاص انرژی به فرآیندهای سازگاری سرکوب می‌کنند (Skirycz *et al.*, 2011). همچنین فعال‌سازی مسـیرهای پیام‌دهی مانند (SnRK1) و تنظیم پروتئین های مرتبط با تنش، نقش کلیدی در اولویت‌بندی پاســـخ های انطباقی دارد (Baena-González and Sheen, 2008) این یافته ها اهمیـت انتخـاب غلظـت منـاســـب علف‌کش و درک مکانیسـم‌های ذاتی مقاومت گیاهان را برای مدیریت پایدار علف‌های هرز و کاهش فشـــار انتخابی ناشـــی از کاربرد علف‌کش‌ها برجسته می‌کند.

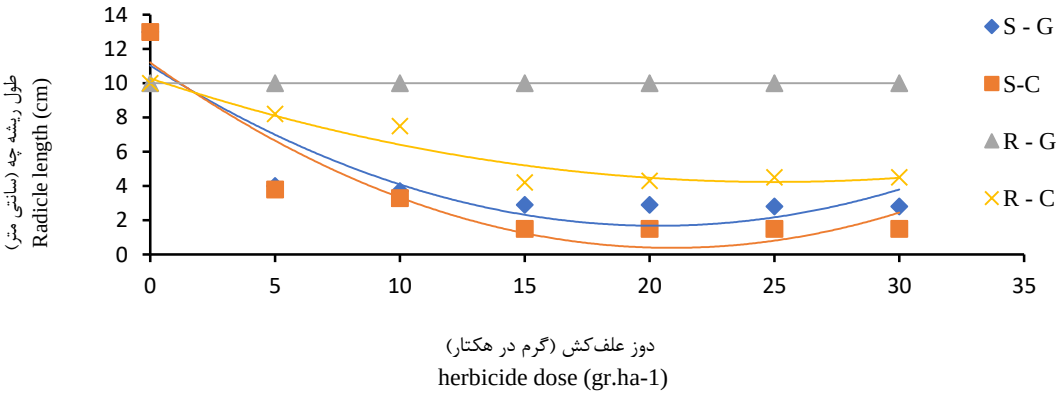
طول ریشـــه‌چه: طبق مقایســـه میانگین داده‌ها در تیمار مرحله‌ی ترک‌خوردگی پوســـته بذرخردل وحشـــی مقاوم بیش‌ترین طول ریشه‌چه در شرایط بدون کاربرد علف‌کش مشـاهده شـد و کم‌ترین طول ریشـه‌چه در تیمار با غلظت ۱۵ گرم در هکتار از علف‌کش مشـاهده شـد که نسـبت به تیمار شاهد کاهش ۶۹/۲۳ در صد مشاهده شد. در تیمار مرحله جوانه‌زنی خردل وحشی مقاوم کاهش طول ریشه‌چه رخ نداد و برابر با طول ریشه‌چه شاهد بود.



شکل ۵- برهمکنش سه‌جانبه بیوتیپ خردل وحشی، غلظت علف‌کش و زمان کاربرد علف‌کش بر طول ساقه‌چه. (S: بیوتیپ حساس، R: بیوتیپ مقاوم، G: کاربرد علف‌کش در مرحله جوانه‌زنی و C: کاربرد علف‌کش در مرحله ترک‌خوردن).

Figure 5. Three-way interaction effect of wild mustard biotype, herbicide doses, and herbicide application time on epicotyl length. (S: Sensitive biotype, R: Resistant biotype, G: Herbicide application at germination stage, C: Herbicide application at cracking stage)

در تیمار مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر خردل وحشی حساس بیش‌ترین طول ریشه‌چه در تیمار شاهد مشاهده شد و کم‌ترین طول ریشه‌چه با کاربرد غلظت‌های ۲۰-۳۰ گرم در هکتار مشاهده شد که کاهش ۸۱/۱۳ درصد نسبت به شاهد داشتند. طول ریشه‌چه در تیمار مرحله جوانه‌زنی خردل وحشی حساس با کاربرد غلظت‌های علف‌کش کاهش پیدا کرد بطوریکه بیش‌ترین طول ریشه‌چه در تیمار شاهد و کم‌ترین آن در کاربرد با غلظت ۲۰-۳۰ گرم در هکتار مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد ۵۲/۸۳ درصد کاهش نشان دادند. (شکل ۶). در بیوتیپ مقاوم، کاهش طول ریشه‌چه در مرحله ترک‌خوردگی پوسته بذر تحت تأثیر علف‌کش، احتمالاً ناشی از تخصیص منابع به مکانیسم‌های دفاعی (مانند فعال‌سازی سامانه آنتی‌اکسیدانی یا تجمع متابولیت‌های محافظتی) است، اما در مرحله جوانه‌زنی، این بیوتیپ توانست رشد ریشه‌چه را به سطح شاهد بازگرداند، که نشانگر فعال‌سازی راهکارهای جبرانی برای حفظ بقا است. در مقابل، بیوتیپ حساس در هر دو مرحله رشد، کاهش شدید طول ریشه‌چه را تجربه کرد، به ویژه در غلظت‌های بالای علف‌کش که نشان‌دهنده آسیب‌پذیری ذاتی این بیوتیپ به تنش ناشی از علف‌کش و ناتوانی در فعال‌سازی پاسخ‌های انطباقی است. این نتایج با نظریه بهینه‌سازی سامانه ریشه‌ای برای تحمل تنش همسو است که بر اساس آن، گیاهان مقاوم با توسعه سامانه ریشه‌ای عمیق و گسترده، جذب آب و مواد مغذی را در



شکل ۶- برهمکنش سه‌جانبه بیوتیپ خردل وحشی، غلظت علف‌کش و زمان کاربرد علف‌کش بر طول ریشه‌چه. (S: بیوتیپ حساس، R: بیوتیپ مقاوم، G: کاربرد علف‌کش در مرحله جوانه‌زنی و C: کاربرد علف‌کش در مرحله ترک‌خوردن).

Figure 6. Three-way interaction effect of wild mustard biotype, herbicide dose, and germination stages on radicle length. (S: Sensitive biotype, R: Resistant biotype, G: Herbicide application at germination stage, C: Herbicide application at cracking stage)

شرایط تنش بهبود می‌بخشند (Tuberosa, 2011). در بیوتیپ مقاوم، حفظ رشد ریشه‌چه در مرحله جوانه‌زنی، حتی تحت تأثیر علف‌کش، احتمالاً بازتابی از این استراتژی است. درحالی که بیوتیپ حساس، به دلیل ناتوانی در تنظیم رشد ریشه و تخصیص منابع، آسیب بیشتری متحمل می‌شود. این تفاوت‌ها بر اهمیت انتخاب غلظت مناسب علف‌کش و شناسایی مکانیسم‌های ذاتی مقاومت گیاهان برای مدیریت پایدار علف‌های هرز تأکید می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مقاومت به علف‌کش در خردل وحشی نه‌تنها یک چالش کشاورزی بلکه نمایشی پیچیده از سازگاری مولکولی و فیزیولوژیکی است. بیوتیپ مقاوم با افزایش کلروفیل و پروتئین در غلظت‌های متوسط علف‌کش، مکانیسمی جبرانی برای حفظ فتوسنتز و سم‌زدایی را فعال می‌کند، درحالی‌که بیوتیپ حساس با تجمع مالون دی‌آلدهید و اختلال رشد، آسیب‌پذیری خود را آشکار می‌سازد. جالب‌تر آن که مقاومت در این گونه، فاقد هزینه شایستگی کلاسیک است و حتی در غیاب علف‌کش، مزیت رقابتی از طریق رشد مطلوب ریشه‌چه را نشان می‌دهد. این یافته‌ها هشدار می‌دهند که گسترش جمعیت های مقاوم می‌تواند اکوسامانه های زراعی را به‌سرعت تحت سلطه قرار دهد. بنابراین مدیریت تلفیقی مبتنی بر تناوب علف‌کش ها، کنترل مکانیکی و پایش ژنتیکی، نه یک انتخاب بلکه ضرورتی اجتناب‌ناپذیر برای حفظ تعادل در کشاورزی پایدار است. چنین رویکردی، چرخه معیوب مقاومت را می‌شکند و راه را برای همزیستی هوشمندانه با طبیعت هموار می‌سازد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمامی عزیزانی که در طول انجام این پروژه مرا یاری کرده‌اند، به‌ویژه همکاران ارجمند در بخش های مختلف آزمایشگاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی کمال تشکر و قدردانی را دارم.

منابع

Alizadeh, M. R., Smith, J. A., Johnson, B. K. and Williams, C. D. 2023. Spectrophotometric determination of chlorophyll content in weed species: A standardized protocol. Journal of Plant Physiology, 285, pp.153-162. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2023.153762 **(Journal)**

Baena-González, E. and Sheen, J. 2008. Convergent energy and stress signaling. Trends in Plant Science, 13(9), 474-482. DOI: 10.1016/j.tplants.2008.06.006 **(Journal)**

Bailey-Serres, J. and Voesenek, L. A. C. J. 2008. Flooding stress: acclimations and genetic diversity. Annual Review of Plant Biology, 59, 313-339. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092752. **(Journal)**

Beckie, H. J., Heap, I. M., Smeda, R. J. and Hall, L. M. 2012. Herbicide Resistance in Plants: Biology and Mechanisms. CRC Press.

Beyzavi, Z., Ebrahimie, E. and Niazi, A. 2020. Comparative analysis of chlorophyll content and photosynthetic efficiency in sensitive (Marivan) and resistant (Zaghe) wheat genotypes under stress conditions. Journal of Plant Physiology, 245, 153-294. DOI: 10.1016/j.jplph.2020.153294 **(Journal)**

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2), pp.248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3 **(Journal)**

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2), 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3 **(Journal)**

Cha-Um, S. and Kirdmanee, C. 2009. Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability, and growth characters in two maize cultivars. Pakistan Journal of Botany, 41(1), 87-98. **(Journal)**

Cho, Y. H., Hong, J. W., Kim, E. C. and Yoo, S. D. 2012. Energy signaling in the regulation of plant responses to stress. Journal of Plant Biology, 55(5), 341-349. DOI: 10.1007/s12374-012-0046-5 **(Journal)**

Dayan, F. E. and Duke, S. O. 2024. Advances in Herbicide Resistance Research. Springer. **(Book)**

Demiral, T., and Türkan, İ. 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environmental and Experimental Botany, 53(3), 247-257. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2004.03.017 **(Journal)**

Dewez, D., Geoffroy, L., Vernet, G. and Popovic, R. 2005. Hydrogen peroxide production by the photosystem II light-induced reactions in the presence of herbicides. Pesticide Biochemistry and Physiology, 81(1), 44-54. DOI:10.1016/j.pestbp.2004.09.002 **(Journal)**

Farhodi, M. 2012. The effect of salinity stress on some physiological and biochemical characteristics of rapeseed cultivars. Iranian Journal of Agricultural Research, 10(2), 245-256. **(Journal)**

Farmer, E. E. and Mueller, M. J. 2013. ROS-mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling. Annual Review of Plant Biology, 64, 429-450. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120132 **(Journal)**

Feder, M. E. 2006. Integrative biology of stress in molecular, cellular, and organismal function. In: D.L. Denlinger (Ed.), Stress Physiology in Animals. Taylor and Francis, 1-21.

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Parvin, K., Bhuiyan, T. F., Anee, T. I., Nahar, K. and Fujita, M. 2023. Antioxidant Regulation in Plants Under Herbicide Stress: Mechanisms and Implications. Plant Physiology and Biochemistry, 192, 1-12. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.05.014 **(Journal)**

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M. and Fotopoulos, V. 2020. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. Antioxidants, 9(8), 681. https://doi.org/10.3390/antiox9080681 **(Journal)**

Heap, I. 2024. The International Survey of Herbicide-Resistant Weeds. Available online: www.weedscience.org. **(Journal)**

Heath, R. L. and Packer, L. 1976. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125(1), 189-198. https://doi.org/10.1016/0003-9861(76)90254-1 **(Journal)**

Juenemann, K. and Guimarães, C. T. 2008. Nitrogen and carbon metabolism under salinity stress in maize genotypes. Brazilian Journal of Plant Physiology, 20(3), 213-222. **(Journal)**

Jursík, M., Soukup, J., Holec, J. and Andr, J. 2015. Herbicide mode of action and its role in resistance management. Plant Physiology and Biochemistry, 96, 1-10. DOI:10.1016/j.plaphy.2015.07.013 **(Journal)**

Keshkar, A., Sasanfar, H., Zand, E., Baghestani, M. A. and Mirhadi, M. J. 2019. Fitness costs associated with herbicide resistance in wild oat (*Avena ludoviciana*). Weed Research, 59(4), 343-352. **(Journal)**

Khan, S. R., Thompson, L. M., Garcia, E. F. and Martinez, P. 2023. Carotenoid and chlorophyll quantification in herbicide-stressed plants: Modified equations for improved accuracy. Photosynthesis Research, 156(2), 89-101. https://doi.org/10.1007/s11120-023-01023-z **(Journal)**

Lenhart, K., Preston, C. and McCullough, P. 2013. No fitness cost of glyphosate resistance conferred by massive EPSPS gene amplification in Amaranthus palmeri. Pest Management Science, 69(9), 1055-1060. **(Journal)**

Nanjo, T., Fujita, M., Seki, M., Kato, T., Tabata, S. and Shinozaki, K. 2012. Toxicity of free proline revealed in an Arabidopsis T-DNA-tagged mutant deficient in proline dehydrogenase. Plant and Cell Physiology, 53(2), 271-281. DOI: 10.1093/pcp/pcr186 **(Journal)**

Powles, S. B., Lorraine-Colwill, D. F., Dellow, J. J. and Preston, C. 2010. Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (Lolium rigidum) in Australia. Weed Science, 48(3), 405-411 . **(Journal)**

Schmid-Siegert, E., Stepushenko, O., Glauser, G. and Farmer, E. E. 2016. Membranes as structural antioxidants: Recycling of malondialdehyde to its source in oxidation-sensitive chloroplast fatty acids. Journal of Biological Chemistry, 291(25), 13005-13013. https://doi.org/10.1074/jbc.M116.729921 **(Journal)**

Shabala, S. and Bose, J. 2021. Rapid plant responses to abiotic stresses: Role of membrane transport in osmotic and ionic stress signaling. Plant, Cell & Environment, 44(3), 619-621. https://doi.org/10.1111/pce.13976 **(Journal)**

Shabala, S. and Bose, J. 2021. Rapid plant responses to abiotic stresses: Role of membrane transport in osmotic and ionic stress signaling. Plant, Cell & Environment, 44(3), 619-621. https://doi.org/10.1111/pce.13976 **(Journal)**

Silva, J. V., Oliveira, R. S., Constantin, J. and Takano, H. K. 2022. Biochemical and physiological impacts of herbicides on non-target plants: A review. Environmental Pollution, 301, 119034. **(Journal)**

Skirycz, A., Vandenbroucke, K., Clauw, P., Maleux, K., De Meyer, B., Dhondt, S., Pucci, A., Gonzalez, N., Hoeberichts, F., Tognetti, V. B., Galbiati, M., Tonelli, C., Van Breusegem, F., Vuylsteke, M. and Inzé, D. 2011. Survival and growth of Arabidopsis plants given limited water are not equal. Nature Biotechnology, 29(3), 212-214. https://doi.org/10.1038/nbt.1800 **(Journal)**

Tounekti, T., Vadel, A. M., Oñate, M., Khemira, H. and Munné-Bosch, S. 2011. Salt-induced oxidative stress in rosemary plants: Damage or protection? Environmental and Experimental Botany, 71(2), pp.298-305. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.12.016 **(Journal)**

Tuberosa, R. 2011. Phenotyping for drought tolerance of crops in the genomics era. Frontiers in Physiology, 3, 347. https://doi.org/10.3389/fphys **(Journal)**

Villa, S. C., Marchesan, E., Grohs, M. and Avila, L. A. 2009. Fitness cost associated with resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in Echinochloa crus-galli. Weed Research, 49(5), 463-472. **(Journal)**

Weber, H., Chételat, A., Reymond, P. and Farmer, E. E. 2004. Selective and powerful stress gene expression in Arabidopsis in response to malondialdehyde. The Plant Journal, 37(6), 877-888. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2004.02013.x **(Journal)**

Yuan, J. S., Abercrombie, L. L., Cao, Y., Halfhill, M. D., Zhou, X., Peng, Y. and Stewart, C. N. 2010. Functional genomics analysis of horseweed (*Conyza canadensis*) with special reference to the evolution of non-target-site herbicide resistance. Weed Science, 58(2), 109-117. DOI:10.1614/WS-D-09-00049.1 **(Journal)**

Zhao, Y., Dong, W., Zhang, N., Ai, X., Wang, M., Huang, Z. and Xiao, L. 2014. A wheat allene oxide cyclase gene enhances salinity tolerance via jasmonate signaling. Plant Physiology, 164(2), 1068-1076. DOI: 10.1104/pp.113.227595 **(Journal)**

The role of application time and concentration of tribenuron-methyl in seed responses shaping: Decoding resistance and sensitivity mechanisms in wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) through biochemical and physiological indicators

Rafat Hasani Nasab Farzaneh[1], Ahmad Towbeh[2], Sodabeh Jahanbakhsh[3], Rasoul Fakhari[4]*, Mohammad Ahmadi[5]

Received: May 4, 2025 Accepted: July 14, 2025

Abstract

In order to evaluate the sensitive and resistant biotypes of wild mustard weed to the herbicide tribenuron-methyl, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design in the laboratory of the University of Mohaghegh Ardabili in 2013. The first factor was the wild mustard biotype at 2 levels (resistant and sensitive), the second factor was the time of herbicide application at 2 levels (seed coat cracking and seed germination stage), and the third factor was the herbicide tribenuron-methyl (0, 5, 10, 15, 20, 25 and 3 g.ha^{-1}). The results showed that the triple interaction of the factors on the indices of chlorophyll a and b, malondialdehyde, seedling growth, and development was significant ($p<0.01$). In the resistant biotype, herbicide application at the seed coat cracking stage with 15 g in growth resulted in a 185% increase in chlorophyll and growth ratio, whereas at the tillering stage, 30 g showed a 53% reduction in these indices. Malondialdehyde levels in the resistant biotype at the germination stage without herbicide increased unexpectedly, probably indicating the activation of defense mechanisms. In contrast, the sensitive biotype at high levels (20-30 g.ha^{-1}) showed a 153% increase in chlorophyll and growth, probably due to a failed stress response. Interestingly, the resistant biotype also produced better root growth than the sensitive biotype in the absence of herbicide, indicating that there was no cost to resistance. These findings support the idea that in wild mustard, they can be accompanied by compensatory mechanisms and provide a competitive advantage even in the absence of herbicides. Therefore, integrated management based on the rotation of herbicides with different mechanisms of action and their use according to the plant growth stage is necessary to prevent the spread of resistant populations. This study provides insights into the molecular mechanisms of resistance and ecological consequences that can be used in the design of sustainable weed control strategies.

Keywords: Fitness cost; Herbicide resistance; Integrated weed management; Physiological responses

How to cite this article

Hasani Nasab Farzaneh, R., Towbeh, A., Jahanbakhsh, S., Fakhari, R. and Ahmadi. M. 2025. The role of application time and concentration of tribenuron-methyl in seed responses shaping: Decoding resistance and sensitivity mechanisms in wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) through biochemical and physiological indicators. Iranian Journal of Seed Science and Research, 12(2): 17-32. (In Persian)**(Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2025.9384

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Ph.D. Student, Weed Science, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. r.6249_f@yahoo.com
2. Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. ahmadtobeh1340@gmail.com
3. Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. jahanbakhsh@uma.ac.ir
4. Plant Protection Research Department, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Ardabil Province (Moghan), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Moghan, Iran. r.fakhari68@gmail.com
5. Ph.D. Student, Weed Science, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. 24155mohammad@gmail.com

*Corresponding author: r.fakhari68@gmail.com