



## تعیین مناسبترین زمان کاربرد علف‌کشهای 2,4-D و گلایفوسیت<sup>(۱)</sup> نشاندار شده با کربن ۱۴ برای انتقال به ریشه گیاه شیرین بیان<sup>(۲)</sup> طی مراحل رویش و رشد آن

حسین اهری مصطفوی\*، هادی فتح‌اللهی، بهنام ناصریان خیابانی، فرامرز مجد<sup>۱</sup>، علی قنبری، حمید رحیمیان، مهدی مین‌باشی<sup>۲</sup>  
۱- مرکز تحقیقات کشاورزی و پزشکی هسته‌ای کرج، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۲۳۱۴۸۵-۴۹۸، ۲- مؤسسه اصلاح بذر و نهال کرج و دانشگاه فردوسی مشهد

**چکیده:** در این کار پژوهشی ۴ مرحله مختلف رشد علف هرز شیرین بیان جداگانه و در شرایط گلخانه‌ای بررسی شده و در همه این مراحل، گیاهان از سطح روئی برگها مورد تلقیح علف‌کشهای نشاندار <sup>14</sup>C-2,4-D و <sup>14</sup>C-Glyphosate با آکتیویته‌هایی از ۰/۰۶۰ تا ۰/۱۰۱۸ میکروکوری (در هر ۱۰ میکرولیتر از محلول) قرار گرفتند. این گیاهان پس از گذشت ۷۲ ساعت برداشت و به قطعه‌هایی متشکل از برگ تلقیح شده، برگ و ساقه بالای برگ تلقیحی، برگ و ساقه پایین برگ تلقیحی و ریشه تقسیم شدند. مقدار علف‌کش نشاندار شده در هر محلول همگن (حاصل از استخراج علف‌کش از نمونه گیاهی) به وسیله دستگاه شمارنده  $\beta$  مشخص شد و قابلیت تحرک و میزان انتقال علف‌کش به قسمت‌های مختلف گیاه شیرین بیان در هر مرحله رشد تعیین گردید. این تحقیق نشان می‌دهد که بهترین زمان کاربرد 2,4-D برای انتقال به سیستم ریشه گیاه، متعلق به مرحله شش برگی بوده و این علف‌کش، در مقایسه با گلایفوسیت، طی مراحل رشد گیاه مورد آزمایش از قابلیت انتقال بالاتری برخوردار بوده است.

واژه‌های کلیدی: علف‌کش، شیرین بیان، قابلیت انتقال، نشان‌دار شده

## Determination of the Best Application Time of 2,4-D <sup>14</sup>C-Labelled Herbicides and <sup>14</sup>C-Labelled Glyphosate for Translocation to the Root System of Glycyrrhiza Glabra at Vegetative Growth Stage

H. Ahari Mostafavi\*, H. Fathollahi, B. Naserian, F. Majd<sup>1</sup>, H. Rahimian, A. Ghanbari, M. Minbashi<sup>2</sup>

1- Nuclear Research Center for Agriculture and Medicine, AEOL, P.O. Box: 31485-498, Karaj - Iran

2- Seed and Plant Improvement Institute Karaj, and Ferdowsi University of Meshad

**Abstract:** In this research work, four different growth stages of Glycyrrhiza glabra were studied separately and under green house conditions, and in all of these stages the plants were treated by labelled herbicides <sup>14</sup>C-2,4-D and <sup>14</sup>C-Glyphosate through the adaxial surface With activity of 0.60  $\mu$ ci upto 0.1018  $\mu$ ci (in each 10  $\mu$ li of solution). The plants were harvested 72 hours after

\*- e-mail: [hahari@nrcom.org](mailto:hahari@nrcom.org)

treatment. They were divided into treated leaf, leaves and stem above the treated leaf and leaves and stem below the treated leaf and root. The amount of radio labelled herbicides in each homogenous solution (Produced from extraction of herbicides from plant samples) was quantified using liquid scintillation counter. The amount of herbicide mobility and transfer to different parts of *Glycyrrhiza glabra* in each growth stage were determined.

This study shows that the best application time of 2,4-D for translocation to the root system of the plant is at 6- leaf stage, and 2,4-D indicates more translocability as compared with Glyphosate.

**Keywords:** herbicide, glycyrrhiza glabra, translocability, labelled

## ۱- مقدمه

در کشور ما هر سال خسارت‌های قابل توجهی (حدود ۲۰ درصد) به سبب وجود علفهای هرز دائمی به محصولات کشاورزی وارد می‌شود [۱ و ۴]. گیاه شیرین بیان علف هرز دائمی و پهن برگ است که به سبب دارا بودن سیستم ریشه‌ای قوی کنترل آن دشوار است و همه ساله به محصولات کشاورزی ما خسارت وارد می‌سازد؛ حتی در صورت نابودی اندامهای هوایی از نو جوانه زده و گیاه جدیدی تولید می‌کند. به همین جهت مبارزه شیمیایی را با مشکل مواجه ساخته است. چون شیرین بیان در زمره علفهای هرز بومی ایران محسوب می‌شود، بررسی و پژوهش علمی جدی در زمینه نحوه مبارزه شیمیایی با آن در سایر کشورها به عمل نیامده و در نتیجه، مراجعه به منابع و استفاده از تحقیقات دیگران را محدود ساخته است. مهمترین مسأله مبارزه با علفهای هرز دائمی، چگونگی تخریب سیستم ریشه آنها به منظور جلوگیری از جوانه زنی و رشد مجددشان می‌باشد [۲]. در ایران دو علف کش نفوذی 2,4-D، و گلایفوسیت به طور گسترده در مبارزه با علفهای هرز چند ساله بکار می‌روند و چون تأثیر آنها بر گیاه در مراحل رشد آن ممکن است تغییر کند، مشخص کردن مناسبترین زمان کاربرد این سموم، نیاز به پژوهشهای گسترده تری دارد. امروزه استفاده از فن ردیابی سموم نشاندار شده با یک ایزوتوپ رادیو آکتیو، امکان ردیابی مقادیر بسیار اندک علف کشها را، حتی در مواضع درون سلولی، میسر می‌سازد.

## ۲- روش کار

در این پژوهش به منظور پی بردن به انتقال و تجمع مولکولهای سم 2,4-D و گلایفوسیت، به ویژه میزان جذب آنها در سیستم ریشه گیاه شیرین بیان در مراحل مختلف رشد آن، از علف کشهای نشاندار  $^{14}C$ -2,4-D و  $^{14}C$ -Glyphosate استفاده شد.

مراحل کار در این بررسی عبارتند از:

- ایجاد مراحل مختلف رویش شیرین بیان
- آماده سازی سم و تلقیح آن
- جداسازی، تهیه نمونه و شمارش

### ۲-۱- ایجاد مراحل مختلف رویش شیرین بیان

بذرهای تهیه شده را ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه در دمای  $25^{\circ}C$  درون محلول غلیظ اسید سولفوریک قرار داده، سپس آنها را به مدت ۱۰ دقیقه با آب شسته ایم. این کار برای از بین بردن حالت خواب در بذر شیرین بیان ضروری است.

برای آماده سازی بستر بذر، گلدانهایی به قطر ۲۰ سانتی متر و ارتفاع ۵۰ سانتی متر حاوی خاک الک شده مزرعه تهیه و یک روز بعد از رساندن رطوبت خاک به حد اشباع اقدام به کاشت بذر شیرین بیان، در هر گلدان تنها یک بذر، شد. پس از گذشت حدود ۴۵ روز در شرایط گلخانه ای ( $25^{\circ}C$ ) و  $5 \pm 7\% RH$ )، نخستین مرحله رشد آزمایشی گیاه (مرحله ۳ برگگی) آماده و برای هر مرحله ۳ تکرار در نظر گرفته شد (جمعاً ۶ گلدان برای دو سم فعال و ۲ گلدان به عنوان شاهد).

## ۲-۲- آماده سازی سم و تلقیح آن

با استفاده از محلول علف‌کشهای غیرآکتیو 2,4-D و گلایفوسیت اقدام به رقیق‌سازی سموم اولیه شد به نحوی که علف‌کشهای نشاندار  $^{14}\text{C}$ -2,4-D و  $^{14}\text{C}$ -Glyphosate با آکتیویته‌های ۰/۰۶ تا ۰/۱۰۱۸ میکروکوری (برای هر ۱۰/۱۱) با غلظت ۱/۲۵g/l<sup>(۳)</sup> آماده تلقیح گردید.

نکته مهم در تلقیح سم به اندام هوایی گیاه، انتخاب برگ یا برگهایی است که در حالت طبیعی بهترین انتقال را به سیستم آوند آبکش انجام دهد و امکان بیشترین تحرک و جابجایی علف‌کش را ایجاد نماید. برگهای جوان و در حال شکل‌گیری نوک ساقه و همچنین برگهای پیر و مسن پایین ساقه، به این سبب که مصرف مواد غذایی در آنها نسبت به تولید بیشتر است، جهت حرکت این مواد، از آوند به سوی این برگها بوده و در نتیجه، هنگام ورود یک ترکیب شیمیایی، آن را در خود نگاه می‌دارند و امکان انتقال آن به آوند آبکش را میسر نمی‌سازند [۳ و ۴]. به همین جهت زمینه مقایسه مناسب بین تیمارها، به لحاظ میزان جذب و انتقال علف‌کش در اندامهای گیاه، به خوبی فراهم نمی‌شود. بنابراین، با ترتیب دادن آزمایشی به صورت پیش طرح (مشمول بر همه مراحل تلقیح، جداسازی و شمارش) مشخص شد که مناسبترین برگ در طول ساقه شیرین‌بیان، سومین برگ (از بالا) است.

عمل تلقیح به وسیله میکروپیت، بر سطح رویی برگ سوم هر یک از تیمارها و براساس روش L. Jerry و همکاران [۱۲] انجام گرفت، به نحوی که یک قطره سم آکتیو شده در هر دو سوی رگبرگ اصلی قرار داده شد. سپس گلدانها به مدت ۷۲ ساعت در شرایط کنترل شده گلخانه (در دمای متوسط  $25^{\circ}\text{C}$  و رطوبت نسبی  $70 \pm 5\%$ ) نگهداری شدند.

## ۲-۳- جداسازی، تهیه نمونه و شمارش

این مرحله، به منظور بازیافت علف‌کشهای  $^{14}\text{C}$ -2,4-D و  $^{14}\text{C}$ -Glyphosate جذب شده در بافت گیاه انجام گرفت. در این مرحله نمونه‌های گیاهی را از خاک بیرون آورده و هر یک را به ۴ قسمت: برگ تلقیح شده، ساقه بالای برگ تلقیح شده، ساقه پایین برگ تلقیح شده و ریشه تقسیم کرده‌ایم، سپس مراحل بعدی کار را بدین ترتیب انجام داده‌ایم:

- سطح برگ سوم با ۵cc محلول اتانول شسته شد تا سمومی که هنوز جذب نشده‌اند از سطح برگ جدا شده و جداگانه مورد شمارش قرار گیرند [۵، ۶، ۷، ۸، ۱۰، ۱۱ و ۱۲].  
- هر یک از اجزای چهارگانه گیاه، جداگانه در بوتله چینی با ۱۰cc اتانول به صورت محلولی تقریباً یکنواخت درآمد.  
- محلول یکنواخت شده مربوط به هر جزء از صافی خلاء<sup>(۴)</sup> گذرانده شد و بقایای حاصل نیز پس از افزودن ۱۰cc اتانول تصفیه گردید [۷، ۸، ۱۰، ۱۱ و ۱۲].

- مقدار ۵cc از محلول شوینده سطح برگ سوم و محلولهای تصفیه شده، در ظرفهای کوچک (ویالهای) شمارش<sup>(۵)</sup> حاوی ۲cc مایع سنتیلاتور<sup>(۶)</sup> ریخته و به مدت دو ساعت در تاریکی قرار داده شد تا شمارشهای حاصل از پدیده فلوروسانس و زمینه کاهش یابد [۷ و ۸]. در آخر، عمل شمارش به وسیله دستگاه شمارنده بتا<sup>(۷)</sup> انجام گرفت.

این آزمایش در قالب طرح بلوکهای دو عاملی که به طور کاملاً تصادفی برگزیده می‌شدند اجرا شد و تجزیه و تحلیل تغییرپذیری (واریانس) و مقایسه میانگینها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC صورت گرفت. مقایسه میانگینهای درصد جذب در اندامهای مختلف شیرین‌بیان طی مراحل چهارگانه رشد، با استفاده از «آزمون چند دامنه‌ای دانکن» به عمل آمد. لازم به ذکر است که تبدیل جذری  $\sqrt{x + 0.5}$  برای همه مقادیر بدست آمده منظور شده است.

## ۳- بحث و نتیجه‌گیری

۱- در تمام مراحل رشد ۳ تا ۱۲ برگی گیاه شیرین‌بیان، مقدار درصد جذب علف‌کش گلایفوسیت در سطح برگ بیشتر از درصد جذب 2,4-D مشاهده شد؛ این مقدار در مراحل ۳ و ۶ برگی حداکثر و در مراحل ۹ و ۱۲ برگی حداقل بوده است. (شکل ۱). نکته قابل توجه، درصد بیشتر انتقال علف‌کش 2,4-D به سیستم درونی گیاه است (شکلهای ۳، ۴ و ۵). به عبارت دیگر این علف‌کش با وجود درصد جذب کمتر در سطح برگ نسبت به گلایفوسیت قابلیت تحرک و نفوذ بالاتری در آوند آبکش گیاه شیرین‌بیان داشته و در نتیجه مقادیر بیشتری از آن به بخشهای مختلف



درصد بدست آمده در مورد علف‌کش 2,4-D طبیعی بوده و با نتایج گزارش شده از تحقیقات پژوهشگران مختلف بر روی علفهای هرز دائمی، مانند پیچک و قیاق، مطابقت دارد [۵، ۸، ۱۰ و ۱۲]. درصد بازیافت گلايفوسیت در مقایسه با گزارشهای دیگران [۷ و ۱۲] بسیار کمتر می‌باشد. و محتمل است که مقدار نسبتاً قابل توجهی از این علف‌کش در سطح برگ شیرین بیان تبخیر شده باشد. چون این علف هرز در کشور ایران و چند همسایه همجوار می‌روید، تحقیقات گسترده‌ای درباره آن در نقاط دیگر جهان صورت نگرفته و اطلاعات جانبی ما بسیار ناقص است. اما عامل مهمی که درباره این گیاه مؤثر است، اثر فیزیولوژیکی آن در ممانعت از نگهداری علف‌کش در سطح برگ و در نتیجه افزایش میزان تبخیر مولکولهای ترکیب شیمیایی گلايفوسیت می‌باشد که نیاز به بررسی‌های گسترده‌تری دارد. با توجه به اینکه در این کار پژوهشی تحقیق از گیاه شیرین بیان با منشأ بذری استفاده شده لازم است برای دستیابی به نتایج کاملتر، طرحی با بکارگیری گیاهانی با منشأ ریزومی به همین شیوه اجرا گردد.

گیاه انتقال یافته است.  
۲- بیشینه مقدار تجمع دو علف‌کش در برگهای تلقیح شده، مربوط به مرحله ۳ برگی بودن شیرین بیان است که در مورد گلايفوسیت بیشتر است (شکل ۲ و جدول ۲).  
۳- بیشینه انتقال سم به اندام علف هرز شیرین بیان در قسمت بالای برگ تلقیح شده، در مرحله ۱۲ برگی آن به علف‌کش 2,4-D اختصاص دارد (شکل ۳ و جدول ۲).  
۴- بیشینه انتقال سم به اندام شیرین بیان در قسمت پایین برگ تلقیح شده، در مرحله ۶ برگی آن است و مربوط به علف‌کش 2,4-D می‌باشد (شکل ۴ و جدول ۲).  
۵- چون میانگین مقادیر جذب ریشه‌ای مراحل مختلف رشد، در سطح احتمال نزدیک به ۵٪ معنی دار بود (در واقع ۸٪)، مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن به عمل آمد؛ بر این اساس، بیشینه مقدار انتقال علف‌کش به ریشه شیرین بیان مربوط به مرحله ۶ برگی است و به 2,4-D تعلق دارد (شکل ۵ و جدول‌های ۱ و ۲).  
۶- میانگین درصد بازیافت علف‌کشی‌های نشاندار شده 2,4-D و گلايفوسیت از کل مقدار تلقیح شده در ۴ مرحله، به ترتیب ۸۷/۷٪ و ۳۹/۳٪ (میانگین چهار مرحله) است.

جدول ۱- خلاصه تجزیه و تحلیل واریانس برای تعیین درصد جذب دو علف‌کش در بخشهای مختلف علف هرز شیرین بیان طی ۴ مرحله رشد

منابع تغییر	درجه آزادی	جذب	برگ تلقیح شده	بالای برگ تلقیح شده	پایین برگ تلقیح شده	ریشه
مراحل رشد	۳	۵/۵۵۷**	۶/۴۵۹**	۰/۰۸۸**	۰/۱۸۵**	۰/۰۲۲* <sup>۱</sup>
علف‌کش	۱	۷/۵**	۱۷/۴۹۶**	۰/۱۶۱**	۱/۳۳۶**	۰/۵۲**
علف‌کش در مراحل رشد	۳	۰/۸۴۸**	۱/۳۹۴**	۰/۲۵۵ <sup>ns</sup>	۰/۲۲۱**	۰/۰۱۶ <sup>ns</sup>

\* معنی دار در سطح ۱٪

\*\* معنی دار در سطح ۵٪

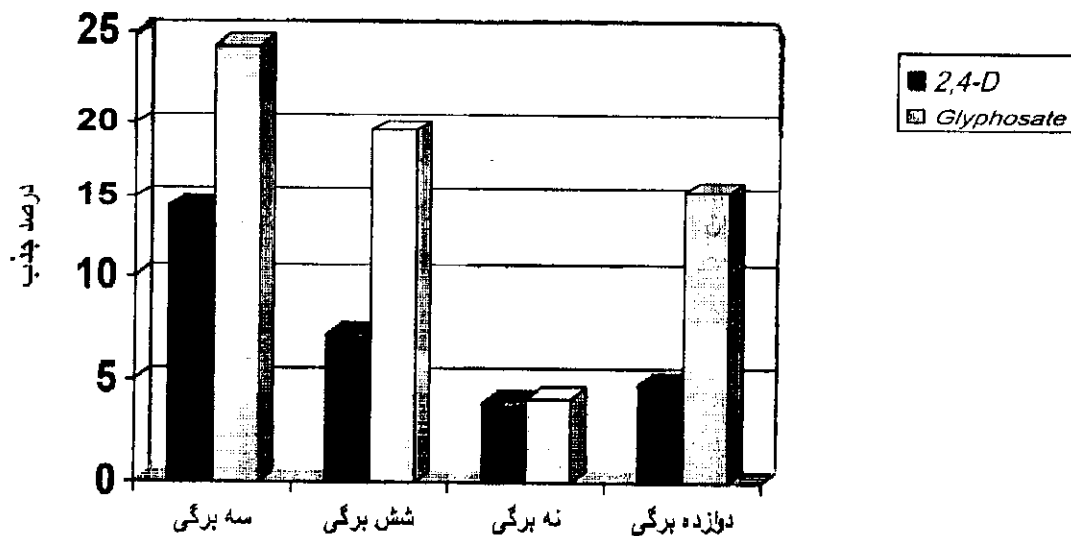
<sup>۱</sup> معنی دار در سطح ۸٪

<sup>ns</sup> غیر معنی دار

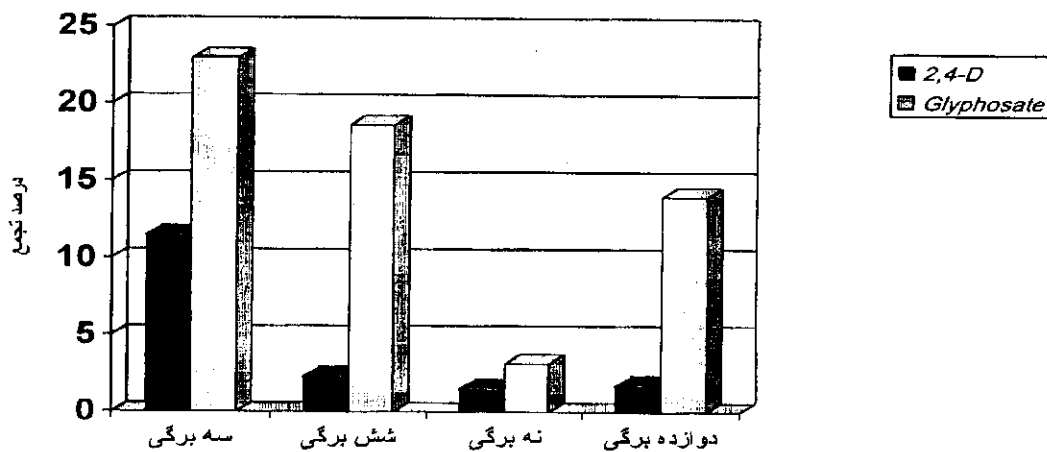
جدول ۲- مقایسه میانگین درصد جذب دو علف‌کش در اندامهای مختلف طی مراحل ۴ گانه رشد

مراحل رشد	جذب کلی	برگ تلقیح شده	بالای برگ تلقیح شده	پایین برگ تلقیح شده	ریشه
سه برگی	۴/۴۲۲(A)	۴/۱۵۴(A)	۰/۹۶۳(B)	۱/۱۸(AB)	۱/۰۷۶(B)
شش برگی	۳/۵۸۴(AB)	۲/۹۶۷(B)	۰/۹۷۹(B)	۱/۳۷۱(A)	۱/۳۲۲(A)
نه برگی	۲/۱۱۲(C)	۱/۶۴۲(C)	۱/۱۰۴(AB)	۰/۹۵۸(C)	۰/۹۸۴(B)
دوازده برگی	۳/۱۲۹(B)	۲/۶۱۵(BC)	۱/۲۲۱(A)	۱/۰۷۲(BC)	۱/۰۲۵(B)

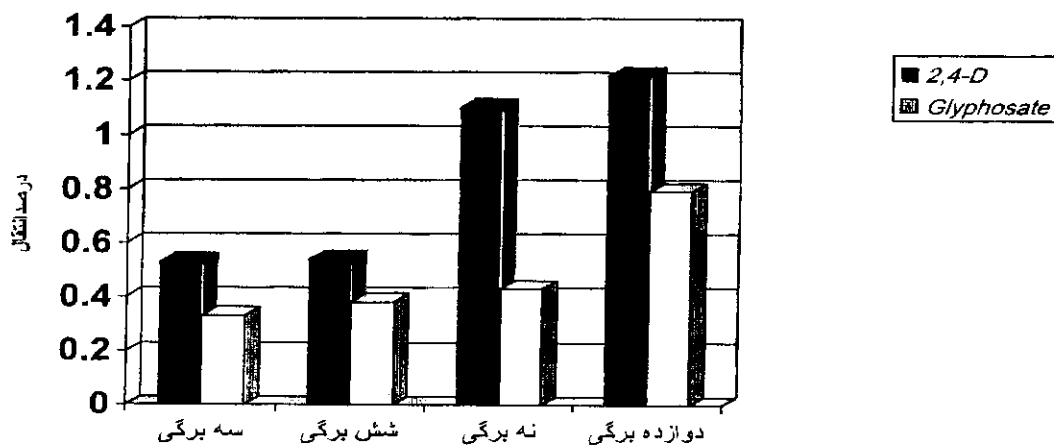
- میانگین‌هایی که دست کم یک حرف مشترک دارند در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی داری ندارند.



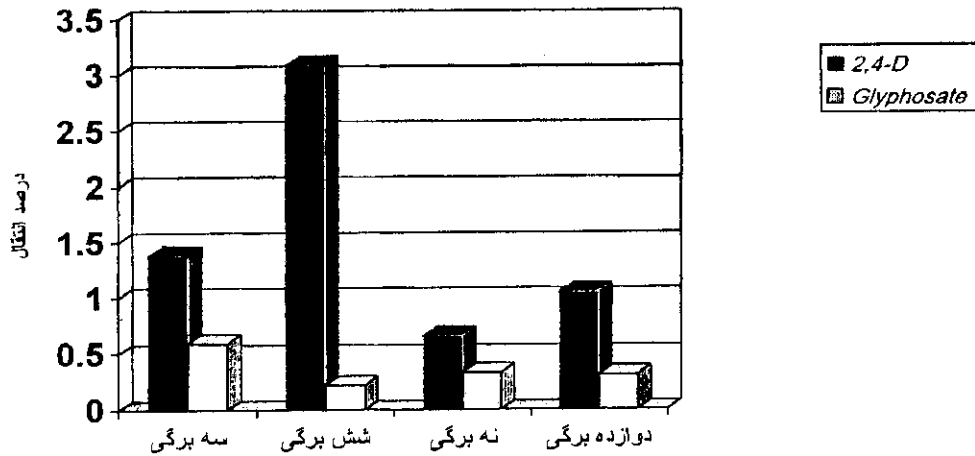
شکل ۱- مقایسه درصد جذب علف‌کشهای 2,4-D و گلايفوسیت طی مراحل رشد و با گذشت ۷۲ ساعت از زمان تلقیح



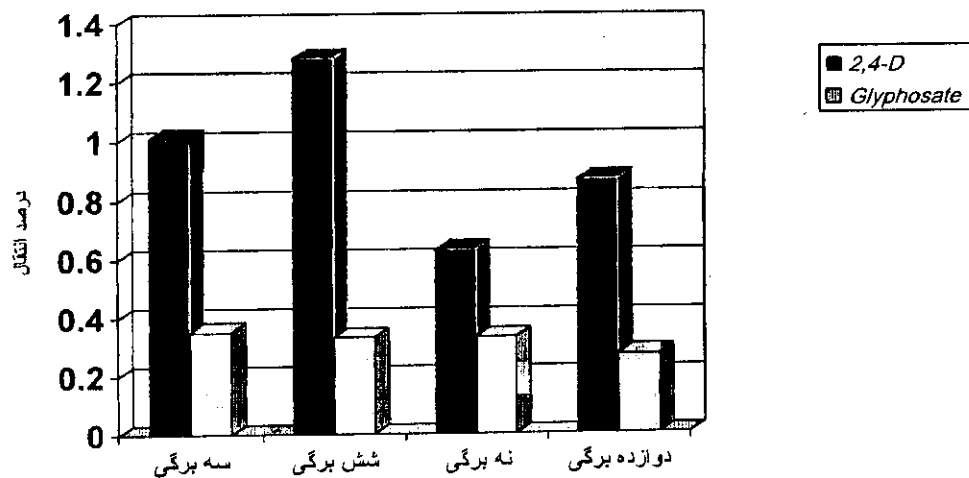
شکل ۲- مقایسه درصد تجمع علف‌کشهای 2,4-D و گلايفوسیت در برگهای تلقیح شده طی مراحل مختلف رشد و با گذشت ۷۲ ساعت از زمان تلقیح



شکل ۳- مقایسه درصد انتقال جذب علف‌کشهای 2,4-D و گلايفوسیت به اندام هوایی در قسمت بالای برگهای تلقیح شده طی مراحل مختلف رشد و با گذشت ۷۲ ساعت از زمان تلقیح



شکل ۴- مقایسه درصد انتقال علف‌کشهای 2,4-D و گلایفوسیت به اندام هوایی در قسمت پایین برگهای تلقیح شده طی مراحل مختلف رشد و با گذشت ۷۲ ساعت از زمان تلقیح



شکل ۵- مقایسه درصد انتقال علف‌کشهای 2,4-D و گلایفوسیت به ریشه طی مراحل مختلف رشد و با گذشت ۷۲ ساعت از زمان تلقیح

پی‌نوشت‌ها:

تشکر و قدردانی:

۱- glyphosate

۲- glycyrrhiza glabra

۳- ۱/۲۵ گرم بر لیتر معادل ۵۰۰ گرم در هکتار است

۴- filter paper watman

۵- plastic vial 10ml

۶- optiphase hisafe 2,3

۷- liquid scintillation counter wallac 1409

بدینوسیله از زحمات سرکار خانم لیلا محرمی نژاد در تایپ این مقاله قدردانی می‌شود.



## References

۱. ه. کریمی، "گیاهان هرز ایران"، مرکز نشر دانشگاهی تهران (۱۳۷۴).
۲. س.ا. ساداتی، "مطالعات حیاتی علفهای هرز"، دانشگاه علم و صنعت ایران (۱۳۷۲).
۳. م.ح. راشد محصل، م. نصیری محلاتی، "ترجمه فیزیولوژی علف‌کشها"، انتشارات جهاد دانشگاه مشهد (۱۳۷۲).
۴. م.ع. رستگاری، "علفهای هرز و روشهای کنترل آنها" (۱۳۷۵).
5. C.S.O. Agbakoba and J.Rgoodin, "Absorption and translocation of C-labelled 2,4-D and picloram in field bind weed," *Weed Sci.* **18**, 168-170 (1970).
6. F.Y. Chang and W.H. Vanden Born, "Dicamba uptake, translocation, metabolism and selectivity," *Seed Sci.* **19**, 113-117 (1971).
7. S.H. Sherrick, H. A. Hoit and of F.D. Hess, "Effects of adjuvants and environment during plant development on glyphosate absorption and translocation in field bind weed," *Weed Sci.* **34**, 811-816 (1986).
8. R.E. White sides, "Field bind weed control with 2,4-D, dicamba and glyphosate," *Proc. West. Weed Sci. Soc.* Page 11 (1980).
9. M. D. Devine, H.D. Best man, C. Hall and W. H. Vanden born, "Leaf wash techniques for estimation of foliar absorption of herbicides," *Weed Sci.* **32**: 418-425 (1984).
10. L. Jerry, Flint and Mickaeal Barrett, "Antagonism of glyphosate toxicity to johnsongrass by 2,4-D and dicamba," *Weed Sci.* **37**, 700-705 (1989).
11. W. Mack Thompason, J. Scott. Nissen, and A. Robert Masters, "Adjuvant effects on imazethapyr, 2,4-D and picloram absorption by leafy spurge," *Weed Sci.* **44**, 469-475 (1996).
12. L. Jerry, Flint and Michael Barrett, "Effects of glyphosate combinations with 2,4-D or Dicamba on field bind weed," *Weed Sci.* **37**, 12-18 (1980).