اثرات جانبی برخی از مهمترین علف‌کش‌های چغندرقند بر ماکروفیت‌آبزی غیرهدف

Side effects of some of the most important sugar beet herbicides on non-target aquatic macrophyte

علی اصغر چیت‌بند* و محبوبه نبی‌زاده[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۱۷
نوع مقاله: پژوهشی
DOI: 10.22092/jsb.2020.121776.1194 ; DOR: 20.1001.1.17350670.1398.35.2.5.9

ع.ا. چیت‌بند و م. نبی‌زاده. ۱۳۹۸. اثرات جانبی برخی از مهمترین علف‌کش‌های چغندرقند بر ماکروفیت‌آبزی غیرهدف، **۳۵(۲): ۱۹۳- ۲۰۶.**

چکیده

افزایش گستردهٔ کاربرد علف‌کش‌ها در محصولات زراعی اغلب می‌تواند باعث آلودگی اکوسیستم‌های آبی شود. ماکروفیت‌های آبزی نظیر عدسک آبی (*Lemna minor* L.) به عنوان گروهی مناسب برای ارزیابی تغییرات محیطی تحت تأثیر علف‌کش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. به‌منظور بررسی سمیت شش ترکیب تجاری علف‌کش شامل دس‌مدیفام، فن‌مدیفام، دس-مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست، کلوپیرالید و کوییزالوفوپ-پی-اتیل و مادهٔ تکنیکال کلریدازون مورد استفاده در اراضی چغندرقند کشور با استفاده از آزمون سم شناسی گیاهی استاندارد عدسک آبی (Lemna Test)، آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه لُرستان در سال ۱۳۹۶ انجام شد. برای تمامی علف‌کش‌های مورد استفاده، هشت غلظت مختلف از مادهٔ مؤثره هر یک از علف‌کش‌های فوق بصورت دُز-پاسخ به‌همراه تیمار شاهد در نظر گرفته شد. ارزیابی سمیت براساس بازدارندگی سرعت رشد نسبی سطح برگ (RGR) عدسک آبی بعد از هفت روز بود. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که تمام علف‌کش‌های مورد کاربرد رشد عدسک آبی را تحت تأثیر قرار دادند. مقادیر EC_{50} حاصل از معادلات لگاریتم لُجستیک برازش داده شده بر روی سرعت رشد نسبی سطح برگ عدسک آبی نشان داد که علف‌کش دس‌مدیفام+ فن-مدیفام+ اتوفومیست سمیت بیشتری را در مقایسه با سایر علف‌کش‌های مورد استفادهٔ چغندرقند دارد (EC_{50} = ۱/۰۴ میکروگرم بر لیتر) و کاهش معنی‌داری را در سرعت رشد نسبی سطح برگ عدسک آبی در غلظت علف‌کشی بسیار کمتری از سایر علف‌کش‌ها ایجاد کرده است. کلوپیرالید کمترین سمیت را نسبت به سایر علف‌کش‌ها بر عدسک آبی از خود نشان داد (EC_{50} = ۷۱/۹۳ میکروگرم بر لیتر). ترتیب سمیت گیاهی شش علف‌کش قابل کاربرد در چغندرقند می‌تواند به‌صورت زیر باشد: دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست > کلریدازون > فن‌مدیفام > دس‌مدیفام > کوییزالوفوپ-پی-اتیل> کلوپیرالید. بنابراین درصورت به‌کارگیری این علف‌کش‌ها، باید به حد مجاز تحمل گونه‌های آبزی از جمله عدسک آبی که برای تشکیل زنجیرهٔ غذایی و عملکرد اکوسیستم‌های آبی حیاتی‌اند توجه داشت تا منجر به کاهش یا نابودی آنها نشود.

واژه‌های کلیدی: دُز-پاسخ، رشد نسبی سطح برگ، فنیل کاربامات‌ها، عدسک آبی، معادله لُگاریتم لُجستیک

۱- استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران. *- نویسنده مسئول chitband.a.a@lu.ac.ir
۲- کارشناس ارشد علوم علف‌های‌هرز، مدیریت شعب بانک کشاورزی خراسان رضوی، مشهد، ایران.

مقدمه

با افزایش جمعیت کرهٔ زمین و افزایش تقاضا برای غذای بشر، آفت‌کش‌ها از جمله ترکیباتی هستند که می‌توانند منجر به کنترل مؤثر آفات، بیماری‌ها و علف‌های‌هرز شده و افزایش تولید در بخش کشاورزی را به دنبال داشته باشند. از سوی دیگر، کاربرد این ترکیبات باعث بروز خطراتی بر سلامت انسان و محیط زیست می‌شوند (Delorenzo *et al.* 2001). از آنجاییکه کاربرد آفت‌کش‌ها از لحاظ قانونی مجاز می‌باشد (مطابق با آیین نامهٔ اتحادیهٔ اروپا، European Union Regulation No. 1107/2009)، این اتحادیه بررسی سمیت محیطی و خطرات ناشی از کاربرد آفت‌کش‌ها را در محیط‌های مختلف از جمله محیط‌های آبی پیشنهاد می‌کند. سمیت محیطی آفت‌کش‌ها به‌عنوان یک موضوع تحقیقاتی حاد و پیچیده‌ای مطرح شده که حتی در غلظت‌های بسیار پایین نیز بر جوامع موجودات آبزی تأثیرگذار هستند. از میان آفت‌کش‌ها، حشره‌کش‌ها درصد کمی از کل آفت‌کش‌های مورد استفاده در اروپا را تشکیل داده (۱۱ درصد)، درحالی‌که علف‌کش‌ها بیش از ۶۰ درصد مصرف آفت‌کش‌ها را در اروپا شامل شده و در مقادیر بسیار زیاد وارد محیط‌های آبی شده و منجر به آلودگی آب‌های سطحی و زمینی از طریق فرآیندهای بادبردگی، رواناب، زهکشی و آبشویی می‌شوند (Shaner 2004; Cedergreen and Streibig 2005; Mohammad *et al.* 2010). بَنیک (Bannink 2004) بیان کرد که ۴۰ درصد از آب شُرب مردم کشور هلند از آب‌های سطحی تأمین می‌گردد و در حال حاضر کیفیت آب قابل استفاده مشکل عمدهٔ شرکت‌های هلندی به‌علت آلوده شدن آنها توسط علف‌کش‌ها می‌باشد.

میکرارگانیسم‌های آبزی از جمله گیاهان و جلبک‌های آبزی به‌علت دارا بودن حساسیت بالا به آلودگی‌های محیطی برای ارزیابی اثرات سمیت محیطی آفت‌کش‌ها در مطالعات سم‌شناسی گیاهی، سم‌شناسی اکولوژیک، بررسی اختلاط آفت‌کش‌ها و ارزیابی میزان سمیت ترکیبات گوناگون سمی آلی و معدنی به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. این موجودات نقش اساسی را به‌عنوان تولیدکنندگان اولیه در احیاء اکوسیستم‌های آبی ایفا می‌کنند (Delorenzo *et al.* 2001). گیاهان آبزی در تثبیت رسوبات دریاچه‌ها و آب‌های جاری نقش داشته و حضور آنها بر میزان رسوب‌گذاری، سرعت جریان آب، جذب و جریان مواد مغذی تأثیر می‌گذارد. به‌علاوه، آنها پناهگاهی برای حشرات، خرچنگ‌ها و ماهی‌ها فراهم آورده و به‌عنوان بستری برای میکروارگانیسم‌های سطحی، حلزون‌ها و سایر تغذیه کنندگان گیاهی عمل می‌کنند. این گیاهان برای تشکیل زنجیرهٔ غذایی در محیط‌های آبی ضروری بوده و از اینرو برای عملکرد اکوسیستم‌های آبی حیاتی هستند (Cedergreen and Streibig 2005). گیاهان آب‌های شیرین عموماً حساسیت کمتری نسبت به مواد شیمیایی در مقایسه با گونه‌های جانوری دارند درصورتی‌که ماکروفیت‌های آبزی حساسیت بیشتری نسبت به آفت‌کش‌ها و مواد شیمیایی در مقایسه با ماهی‌ها دارند (Fekete-Kertész *et al.* 2015).

از میان گیاهان آبزی بزرگ (ماکروفیت‌های آبزی)، گونه‌های عدسک آبی (Duckweed) از خانواده Lemnaceae و با نام علمی *Lemna minor* L. از مهم‌ترین گونه مورد استفاده در آزمایش‌های سم‌شناسی است که برای ارزیابی ترکیبات گوناگون سمی در محیط‌های آبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. گیاهی بسیار کوچک که می‌تواند در محیط‌های ایزوله طبیعی

تحت شرایط استریل رشد کند و این ویژگی آن را برای ارزیابی سمیت‌های گیاهی در آزمایشات زیست‌سنجی ممتاز می‌سازد. کایولا و همکاران (Cayuela *et al*. 2007)؛ لویس (Lewis 1995) و هیلمَن (Hillman 1961) بیان نمودند که آزمایش‌های عدسک آبی به‌عنوان یک روش استاندارد برای ارزیابی سمیت‌های گیاهی است. عدسک آبی از گیاهان آوندی، آبزی شناور، با ساقه‌ای برگ‌دار به شکل کروی کوچک یا مستطیلی شکل و ممکن است به‌صورت مسطح یا ندرتاً به شکل محدّب باشد که به‌طور غالب در آب‌های تازه، استخرها و جوی‌ها رشد می‌کند. این گیاه اغلب بدون برگ و یا دارای برگ‌های فلس مانندکوچکی است که شفاف بوده و در انتهای ساقه برگی شکل دیده می‌شود. گیاهان تیره عدسک آبی اصولاً بدون ریشه و یا دارای ریشه‌های نخی شکل و باریکی هستند که بدون تار کشنده و حتی دستگاه آوندی هستند ولی دارای کلاهکی مشخص می‌باشند. این گیاهان غالباً کم‌گل، گل‌ها یک‌جنسی، یک پایه، عاری از پوشش و واقع در یک براکته کوچک (اسپات) که کاملاً رشد نیافته استقرار دارند. گل‌های نر دارای یک پرچم (به‌ندرت دو عدد) و گل‌های ماده شامل مادگی بطری شکل، با خامه‌ای کوتـاه و کلالـه‌ای منفرد، تخمدان یک‌خانه‌ای، شامل یک تا شش تخمک راست، نیمه واژگون (در جنس *Lemna*) و یا واژگون (در جنس *Spirodela*) می‌باشند. میوه این گیاهان فندقه از نوع اتریکول، ناشکوفا و دارای یک تا شش بذر است (Wuncheng 1990; Ziegler *et al*. 2016).

در شرایط آزمایشگاهی دو برابر شدن تعداد و سطح برگ عدسک آبی در هر روز اتفاق می‌افتد و بنابراین می‌تواند به سرعت تکثیر شده و سطح آب را بپوشاند. این خصوصیت به همراه توانایی این گیاه در جذب و ذخیره‌سازی یون‌های معدنی، آن را به گیاه ایده‌آل جهت آزمایش‌های مربوط به متابولیسم مواد آلاینده ماکروفیت‌های گیاهی و مطالعات سم شناسی تبدیل کرده است (Ensley *et al*. 1994; Pascal-Lorber *et al*. 2004). ابوالخیر و همکاران (Abouel-Kheir *et al*. 2007) گزارش کردند که گیاه عدسک آبی کارایی بسیار خوبی در تصفیه فاضلاب و حذف آلاینده‌هایی چون فیتوپلانتون‌ها، اکسیژن محلول بیوشیمیایی، اکسیژن محلول شیمیایی، نیترات، آمونیاک، ارتوفسفات، مس، سرب، قلع و کادمیوم پس از هشت روز دارد. این محققین همچنین خاطرنشان کردند که عدسک آبی در آب‌های حاوی عناصر غذایی، قادر است این مواد را به پروتئین تبدیل کرده که در نهایت این مواد پروتئینی تولید شده در گیاه را می‌توان به مصرف غذایی حیوانات رساند و یا به صورت کود جامد مورد استفاده قرار داد. این گیاه قادر است در بازۀ وسیعی از pH (۵/۵–۱۰/۳) رشد کند. عدسک آبی به بسیاری از مواد شیمیایی شامل موادشیمیایی صنعتی، علف‌کش‌ها، مواد افزودنی و فلزات سنگین حساسیت نشان می‌دهد (Wang 1990; Pascal-Lorber *et al*. 2004). مهم‌ترین شاخص رشد مورد بررسی در این گیاه میزان رشد نسبی (RGR) برای مؤلفه‌های تراکم، وزن‌تر و وزن خشک، سطح برگ و میزان رنگدانه (کلروفیل و کاروتنویید) است (Cedergreen *et al*. 2007).

تعداد کمی علف‌کش برای کنترل علف‌های‌هرز پهن‌برگ و باریک برگ چغندرقند در ایران قابل دسترس هستند. علف‌کش‌های فن‌مدیفام، دس‌مدیفام، کلریدازون و دس‌مدیفام + فن‌مدیفام از بازدارندگان فتوسنتزی هستند که پس از نفوذ کوتیکول و ورود به‌درون سلول و کلروپلاست، از طریق اتصال با جایگاه Q_B و گرفتن الکترون از Q_A در کلروپلاست، از انتقال الکترون بین کوئینون‌های اولیه و ثانویه فتوسیسم۲ (Q_A و Q_B)

ممانعت به‌عمل می‌آورند،سپس انتقال الکترون فتوسنتزی قطع شده و منجر به بازدارندگی همزمان از تولید ATP و تثبیت کربن خواهد شد. درنتیجه، استرس اکسیداتیو اِلقاء شده نوری منجر به تشکیل اکسیژن اکسیداتیو در نزدیکی مرکز فتوسیستم۲ شده (Reactive Oxygen Species, ROS) و در نهایت منجربه پراکسیده شدن و پروتئولیز چربی‌ها و گسیختگی کمپلکس رنگـدانه‌های پـروتئین فتوسیستم۲ و مرگ گیاه خواهد شد(Hess 2000; Strasser and Stirbet 2001). همچنین، اتوفومیست از گروه بنزوفورانیل آلکان سولفونیت است. علف‌کشی سیستمیک که از طریق ریشه و اندام هوایی جذب شده و منجر به بازدارندگی رشد مریستم‌ها، تأخیر در تقسیم سلولی و محدود شدن تشکیل کوتیکول مومی می‌شود (Shaner 2004; Markovska *et al*. 2012). اضافه شدن اتوفومیست به ترکیب دس‌مدیفام + فن‌مدیفام موجب افزایش کارایی آن بر گیاهان هدف شده و از طرفی میزان سمیت آن‌را بر گونه‌های غیرهدف افزایش می‌دهد. کلوپیرالید با نام تجاری لونترل، یکی از علف‌کش‌های انتخابی گروه اکسین‌ها و متعلق به گروه پیکولینیک اسید (Picolinic acid Group) است که به‌صورت آپوسیمپلاستیک درون گیاه انتقال یافته و برای کنترل طیف وسیعی از پهن‌برگ‌های یکساله و چندساله در اراضی چغندرقند مورد استفاده قرار می‌گیرند (Fairchild *et al*. 2009). براساس گزارش ایی پی ای (EPA 2002)، علف‌کش کلوپیرالید در ردهٔ سموم کم خطر و غیرسرطانزا برای انسان معرفی شده است.

مطالعات اندکی دربارهٔ سمیت دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست، کلریدازون و کلوپیرالید بر گونه‌های آبزی غیرهدف وجود دارد (Fairchild *et al*. 2009; Bisewska *et al*. 2012). از آنجایی‌که ماکروفیت‌هایی چون عدسک آبی از ترکیبات مهم اکوسیستم‌های آبی محسوب می‌شوند، بنابراین شناخت اثرات مضر ترکیبات سمی بر روی آنها بسیار حائز اهمیت است و با توجه با این‌که تحقیقات قابل دسترسی در مورد سمیت علف‌کش‌های دس‌مدیفام، فن‌مدیفام، دس‌مدیفام + فن‌مدیفام + اتوفومیست، کلریدازون، کلوپیرالید و کوییزالوفوپ–پی–اتیل بر گیاهان آبزی غیرهدف در کشور وجود ندارد. این تحقیق با هدف بررسی میزان سمیت محیطی شش علف‌کش مورد کاربرد در اراضی چغندرقند کشور بر روی عدسک آبی بعنوان گیاه آبزی غیرهدف انجام شد.

مواد و روش‌ها

یک کلون عدسک آبی (*Lemna minor* L.) از دانشگاه واترلو (Waterloo University) کانادا خریداری گردید. در ابتدا کلونی عدسک آبی با هیپرکلراید ۰/۱ مولار به مدت یک دقیقه استریل شده و سپس دو هفته قبل از انجام آزمایش به محیط کشت حاوی منابع غذایی (محلول غذایی هوگلند تغییر یافته) مورد نیاز عدسک آبی (KH_2PO_4، KNO_3، $Ca(NO_3)_2$، $MgSO_4$ و EDTA به میزان ۵۰ گرم در لیتر) منتقل شد(Maeng and Khudairi 1973; Gatidou *et al*. 2015). در شروع آزمایش، یک لیتر از محلول رشد عدسک آبی تهیه شد. سپس هشت غلظت مختلف از هر علف‌کش بسته به مقادیر EC_{50} (Effective Concentration) هریک از علف‌کش‌ها که در پیش آزمایش انجام شده تعیین شده بود، (بصورت محلول رقیق شده (Dilution) از محلول با بالاترین غلظت) تهیه شد. غلظت مورد استفاده از ترکیب تجاری علف‌کش دس-مدیفام (Ethyl 3-phenylcarbamoyloxycarbanilate, (IUPAC)) و (بِتانال اَام، EC ۱۵/۷ درصد، غزال شیمی

(Qhazal Shimi, Iran)) در مقادیر ۱/۵۶، ۳/۱۳، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در لیتر، ترکیب تجاری فن‌مدیفام (Methyl 3-(3-methylcarbaniloyloxy) carbanilate) (IUPAC) و (بِتانال، ۱۵/۷ EC درصد، غزال شیمی (Qhazal Shimi, Iran)) در مقادیر ۰/۷۸، ۱/۵۶، ۳/۱۳، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میکروگرم در لیتر، ترکیب تجاری دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست (Desmedipham (ethyl 3-phenyl carbamoyloxy phenylcarbamate) + Phenmedipham (methyl 3-(3-methyl carbaniloyloxy) carbanilate) + Ethofumesate , (±)-2-ethoxy-2,3-dihydro-3,3-dimethyl benzofuran-5-yl methane sulfonate) ((IUPAC) و (بِتانال پُروگرس- اُواِف، ۲۷/۴ EC درصد، تراگوسا اسپانیا (Tragusa Spain)) در مقادیر ۰/۰۸، ۰/۱۶، ۰/۳۱، ۰/۶۳، ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ میکروگرم در لیتر، مادهٔ تکنیکال کلریدازون- 4 -amino -5 =Pyrazone =Chloridazon) (IUPAC)) chloro-2-phenylpyridazin-3(2H)-one و (پیرامین، ۶۵ WP درصد، بایر آلمان (Bayer Crop Science, Germany)) در مقادیر ۰/۵۰، ۱/۰۳، ۲/۰۱، ۴/۰۱، ۸/۰۳، ۱۶/۰۵ و ۳۲/۱ میکروگرم در لیتر، ترکیب تجاری کلوپیرالید (Clopyralid= 3,6-dichloropyridine-2-carboxylic acid (IUPAC)) و (لونترل، ۳۰ SL درصد، گل‌سم گرگان (Golsam, Gorgan, Iran)) در مقادیر ۲۱/۸۸، ۴۳/۷۵، ۸۷/۵، ۱۷۵، ۳۵۰، ۷۰۰ و ۱۴۰۰ میکروگرم در لیتر و ترکیب تجاری کوییزالوفوپ-پی-اتیل (Ethyl (*R*)-2 -[4- (6- chloroquinoxalin-2 -yloxy) phenoxy] propionate) و (تارگاسوپر، ۵ EC درصد، غزال شیمی (Qhazal Shimi, Iran) در مقادیر ۱/۵۶، ۳/۱۳، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم در لیتر بود.

جدول ۱ نام و ویژگی‌های علف‌کش‌های مورد استفاده در این آزمایش

نام عمومی (نام تجاری)	محل عمل	فرمولاسیون	ضریب اُکتانول-آب ($\log K_{ow}$)	دُز توصیه شده	LD_{50} (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	سال ثبت در ایران
دس‌مدیفام (بتانال- اَام)	بازدارندهٔ PSII	٪ ۱۵/۷ EC	۳/۳۹	۷-۵ $L.ha^{-1}$	۱۰۲۵۰	۱۳۶۵
فن‌مدیفام (بتانال)	بازدارندهٔ PSII	٪ ۱۵/۷ EC	۳/۵۹	۶-۵ $L.ha^{-1}$	۸۰۰۰	۱۳۵۰
دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست (بتانال پروگرس- اُواف)	بازدارندهٔ PSII + بازدارندهٔ سنتز چربی	٪ ۲۷/۴ EC	۹/۶۸	۳ $L.ha^{-1}$	۱۸۲۹	۱۳۷۳
کلریدازون (پیرامین)	بازدارندهٔ PSII	٪ ۶۵ WP	۱/۱۹	۶-۵ $L.ha^{-1}$	۲۱۴۰	۱۳۴۷
کلوپیرالید (لونترل)	اکسین مصنوعی	٪ ۳۰ SL	-۲/۶۳	۰/۰-۵/۸ $L.ha^{-1}$	۵۰۰۰	۱۳۸۰
کوییزالوفوپ-پی-اتیل (تارگا سوپر)	بازدارندهٔ ACCase	٪ ۱۰ EC	۴/۲۸	۱/۲-۵ $L.ha^{-1}$	۱۶۷۰	۱۳۶۷

ظروف کشت بافت دارای شش چاهک با گنجایش ۱۰ میلی‌لیتر در هر محفظه بطور خوانا شماره‌گذاری شد، به‌طوری‌که در هنگام عکس‌برداری خوانا باشد. ۱۰ میلی‌لیتر از محلول رشد حاوی غلظت‌های مختلف و نیز محلول رشد به تنهایی (شاهد) به چاهک‌ها افزوده شد. یک گیاه (جوانه) عدسک آبی به هر یک از چاهک‌ها انتقال یافته و سپس ظروف کشت به اتاقک رشد در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد با شدت نوری مداوم ۸۵-۱۲۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه منتقل شدند. در ابتدای آزمایش پس از انتقال

عدسک آبی به چاهک‌ها از ظروف کشت در تیمارهای مختلف با یک دوربین دیجیتال از زاویهٔ عمودی (بالا) عکس‌برداری شد. یک سطح استاندارد (سطح مقوایی به ابعاد یک سانتی‌متر × یک سانتی‌متر) در هر ظرف کشت در سطح محلول رشد قرار داده شد تا برای تبدیل سطح دیجیتال به سطح واقعی به‌عنوان یک شاخص استفاده شود. پس از هفت روز گیاهان دوباره عکس‌برداری شدند و تعداد پیکسل تصاویر آنها در برنامه پردازشگر تصویری فتوشاپ نسبت به سطح استاندارد مقایسه و به سطح واقعی تبدیل شدند. مقادیر رشد نسبی سطح برگ مخصوص گیاهان نیز با استفاده از رابطه (۱) محاسبه گردید.

$$(\ln A_T - \ln A_0)/T \qquad (۱)$$

که در این فرمول A_T: سطح برگ در پایان آزمایش (بعد از هفت روز)، A_0: سطح برگ در شروع آزمایش و T: زمان انجام آزمایش (روز) است. سرعت رشد نسبی عدسک آبی نسبت به غلظت‌های هر علف‌کش (تیمارها) با معادلهٔ غیرخطی لُگاریتم لُجستیک سه پارامتره (Log-logistic dose- response curve) با استفاده از نرم افزار R و محیط گرافیکی آن (R Core Team (RStudio 2014) و افزوده شدن بستهٔ drc (Ritz and Streibig 2005) (رابطه ۲) برازش داده شدند و مقادیر هر یک از پارامترهای سمیت EC_{10}، EC_{50} (غلظتی از ماده سمی که باعث ۵۰ درصد کاهش سطح برگ عدسک آبی شود) و EC_{90} تعیین شدند:

$$U = \frac{d}{1+\exp[b(\log(z)-\log(EC50))]} \qquad (۲)$$

در رابطه (۲) پارامترها به قرار زیر هستند: U- سرعت رشد نسبی سطح برگ عدسک آبی، d- حد بالایی منحنی (پاسخ وقتی که میزان علف‌کش صفر است)، b- شیب منحنی در محدودهٔ EC_{50}، z- غلظت علف‌کش (Dose)، حد بالای وزن خشک در مقادیر صفر از علف‌کش مورد نظر، EC_{50} غلظتی از علف‌کش که سبب ۵۰ درصد کاهش در مقدار پاسخ می‌شود (Seefeldt *et al*. 1995; Chitband *et al*. 2012; Ritz *et al*. 2015).

نتایج و بحث

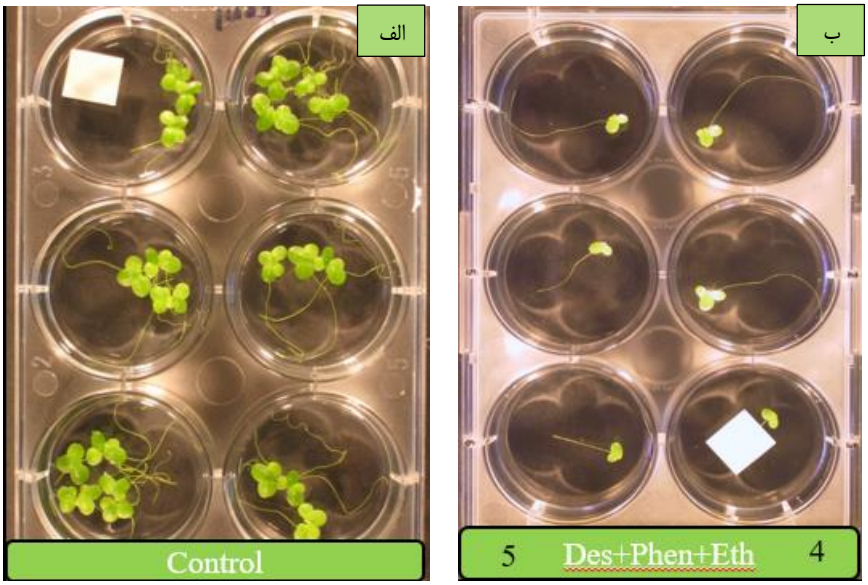
ارزیابی علائم سمیت علف‌کش‌ها

هر یک از علف‌کش‌های مورد آزمون دس‌مدیفام، فن‌مدیفام، دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست، کلوپیرالید و کوییزالوفوپ-پی-اتیل و کلریدازون منجر به بروز خسارت‌های قابل مشاهده‌ای در غلظت‌های به‌کار رفته بر روی عدسک آبی شدند. کلروز (پیشرفت زوال رنگ سبز جوانه‌های عدسک آبی و ظهور رنگ زرد) و گسیختگی جوانه‌ها (جدا شدن جوانه‌ها از کلونی‌ها) از علائم سمیت مشاهده شده در عدسک آبی در زمان شروع آزمایش در گروه‌های مختلف علف‌کشی بود. استفاده از ترکیب تجاری علف‌کش کلریدازون هیچ تأثیری بر عدسک آبی حتی در بالاترین دُز کاربردی نداشت (۳/۲ گرم در لیتر)، بنابراین از مادهٔ تکنیکال آن استفاده شد. در انتهای زمان تیمار با تمامی علف‌کش‌های به‌کار رفته جوانه‌ها علائم نکروز شدن را نشان دادند. علف‌کش فن‌مدیفام، دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست و کلریدازون سمیت بسیار زیادی بر عدسک آبی داشتند به‌طوری‌که پس از ۲۴ ساعت علائم زرد شدن را در گیاه عدسک حتی در دُزهای اولیه ایجاد کرده و منجر به گسیختگی جوانه‌های عدسک آبی شدند (شکل ۱). علف‌کش‌های دس‌مدیفام، کوییزالوفوپ-پی-اتیل نیز دارای سمیت بالایی بر گیاه عدسک آبی بودند و خسارت آنها در یک روز پس از تیمار مشاهده شد. کلوپیرالید سمیت کمتری بر عدسک آبی داشت به‌طوری‌که علائم سمیت آن (رنگ زرد روشن و گسیختگی جوانه‌ها) در بالاترین دُزهای کاربردی آن ایجاد شده بود. گزارش‌های بیسیوسکا و همکاران (Bisewska *et al*. 2012) و

توکاج و همکاران (Tukaj *et al.* 2011) نیز حاکی از ایجاد علائم کلروز و نکروز شدید علف‌کش کلریدازون بر گیاه عدسک آبی در دُزهای اولیه بود.

ارزیابی ارتباط زیست‌سنجی غلظت- رشد

برازش مدل لُگاریتم لُجستیک با چهار و سه پارامتر بر داده‌های مربوط به میزان رشد عدسک آبی در غلظت‌های مختلف کاربرد گروه‌های مختلف علف‌کشی نشان داد که آزمون عدم برازش در سطح احتمال پنج درصد بین این دو مدل برای تمامی علف‌کش‌ها معنی‌دار نشد (جدول ۲)، بنابراین داده‌های حاصل از میزان رشد عدسک آبی تحت تأثیر علف‌کش‌های مختلف با مدل لُگاریتم لُجستیک سه پارامتره برازش داده شد. همچنین آزمون عدم‌برازش در سطح پنج درصد برای این مدل (لُگاریتمی لُجستیک سه پارامتره) در این آزمایش معنی‌دار نبود (جدول ۲)، این امر حاکی از یکسان بودن آنالیز رگرسیون غیرخطی بر تجزیه واریانس و نشان‌دهندهٔ برازش خوب مدل لُجستیک سه پارامتره به داده‌ها بوده است. شکل ۱ نمایی از میزان تأثیر علف‌کش دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست را در دو غلظت مورد بررسی بر روی میزان رشد عدسک آبی نشان می‌دهد. منحنی‌های دز-پاسخ (لُگاریتم لُجستیک) مربوط به سرعت رشد نسبی سطح برگ عدسک آبی در شکل ۲ و مقادیر پارامترهای حاصل از برازش مدل لگاریتمی لُجستیک سه پارامتره شامل میانگین و خطای استاندارد در جدول ۲ آورده شده است.



شکل ۱ نمای وضعیت رشد عدسک آبی در محلول رشد بدون علف‌کش (الف)، غلظت‌های ۰/۶۳ و ۱/۲۵ میکروگرم در لیتر از دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست (ب) هفت روز پس از تیمار. غلظت بالاتر به‌کار رفتهٔ علف‌کش دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست در سه چاهک سمت راست و غلظت پایین‌تر آن در سه چاهک سمت چپ نشان داده شده است.

جدول ۲ پارامترهای حاصل از برازش مدل لجستیک سه پارامتره به داده‌های سرعت رشد نسبی (RGR) سطح برگ ($cm^2\ cm^{-2}\ d^{-1}$) (افزایش سانتی‌مترمربع سطح برگ به ازاء هر سانتی‌متر مربع سطح برگ اولیه در هر روز) عدسک آبی (*Lemna minor* L.) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف علف‌کش‌های مورد استفاده در اراضی چغندرقند

علف‌کش	حد بالا (D[1])	شیب (b[2])	غلظت‌های مؤثر هر علف‌کش (میکروگرم در لیتر)				تست عدم برازش[7]
			حد مجاز (NOEC[3])	EC_{10} (LOEC[4])	[5]EC_{50}	EC_{90} (HOEC[6])	
دس مدیفام	**(۶۰۰/۱۱) ۹۶۰۹/۱	**(۰/۲۱) ۱/۲۸	*(۰/۰۶) ۰/۳۳	**(۰/۲۳) ۰/۵۹	**(۰/۵۶) ۳/۲۷	**(۴/۵۵) ۱۸/۲۳	$۰/۲۷^{ns}$
فن مدیفام	**(۴۳۷/۴۷) ۸۱۳۴/۲۹	**(۰/۱۱) ۰/۸۱	* (۰/۰۴) ۰/۱۷	*(۰/۰۶) ۰/۱۱	**(۰/۳۶) ۱/۷۲	**(۸/۵۷) ۲۶/۴۳	$۰/۳۸^{ns}$
دس مدیفام+ فن مدیفام+ اتوفومیست	**(۳۹۰/۱۲) ۶۹۱۵/۷۶	**(۰/۲۳) ۱/۲۵	* (۰/۰۲) ۰/۱۱	**(۰/۰۸) ۰/۱۸	**(۰/۲۰) ۱/۰۴	**(۱/۶۵) ۶/۰۱	$۰/۲۲^{ns}$
کلریدازون	**(۴۸۶/۶۳) ۸۲۰۸/۱۴	**(۰/۱۲) ۰/۸۵	* (۰/۰۳) ۰/۱۲	*(۰/۰۵) ۰/۰۹	**(۰/۲۶) ۱/۱۸	**(۵/۳۱) ۱۵/۸۴	$۰/۵۴^{ns}$
کلوپیرالید	**(۲۹۱/۲۱) ۸۱۵۶/۶۲	**(۰/۳۷) ۲/۷۷	**(۰/۵۰) ۷/۱۹	*(۴/۹۴) ۳۲/۵۲	**(۴/۹۶) ۷۱/۹۳	**(۱۵/۴۸) ۱۵۹/۰۸	$۰/۱۶^{ns}$
کوییزالوفوپ-پی-اتیل	**(۴۵۳/۰۷) ۸۰۳۹/۲۸	**(۰/۱۱) ۰/۸۱	*(۰/۱۱) ۰/۴۸	**(۰/۱۶) ۰/۳۲	**(۱/۰۵) ۴/۸۱	**(۲۲/۵۱) ۷۲/۲۲	$۰/۴۶^{ns}$

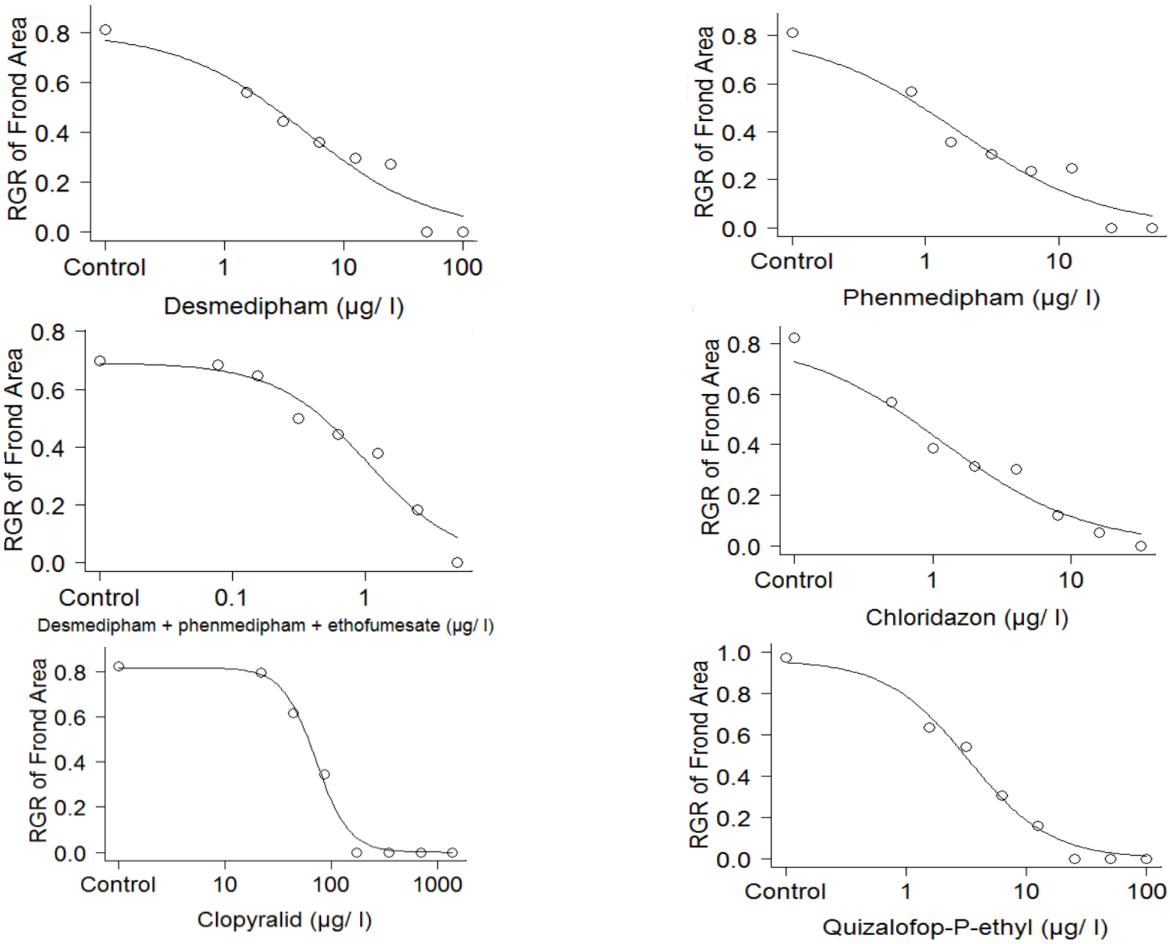
مقادیر داخل پرانتز، خطای استاندارد هر پارامتر هستند. [۱]حد بالای منحنی وقتی غلظت علف‌کش صفر است، [۲] شیب منحنی، [۳] No Observable Effect Concentration = غلظتی (میکروگرم در لیتر) که منجر به کاهش یا نابودی (کاهش یا نابودی سرعت رشد نسبی سطح برگ) پاسخ نمی‌شود. [۴] Lowest Observable Effect Concentration = غلظتی (میکروگرم در لیتر) که منجر به کاهش ۱۰درصد (حداقل سرعت رشد نسبی سطح برگ) پاسخ می‌شود. [۵] غلظتی (میکروگرم در لیتر) که منجر به کاهش ۵۰ درصد (سرعت رشد نسبی سطح برگ) پاسخ می‌شود. [۶] Highest Observable Effect Concentration = غلظتی (میکروگرم در لیتر) که منجر به کاهش ۹۰درصد(حداکثر سرعت رشد نسبی سطح برگ) پاسخ می‌شود.

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد هستند. [۷] Lack of Fit test

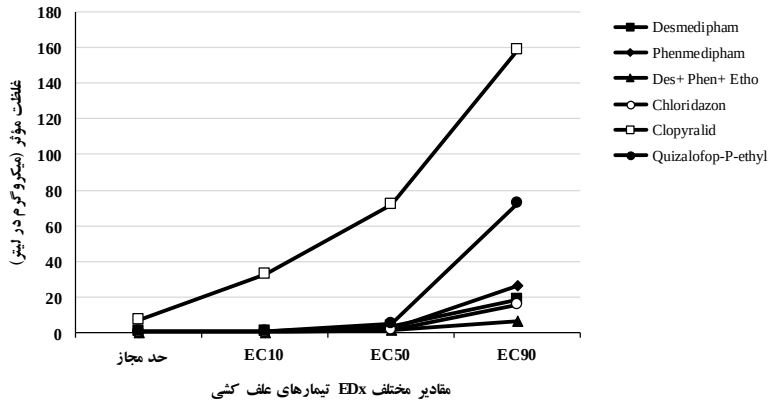
براساس نتایج آزمایش، سرعت رشد نسبی سطح برگ عدسک آبی تحت تأثیر غلظت‌های کاربرد علف‌کش‌های مورد آزمایش قرار گرفت و با افزایش غلظت کاربرد علف‌کش‌ها، مقدار رشد نسبی سطح برگ عدسک آبی در هر چاهک ظروف کشت کاهش یافت. هریک از مقادیر حد مجاز (No Observable Effect Concentration, NOEC)، EC_{10} (Lowest Observable Effect Concentration, LOEC)، EC_{50} و EC_{90} (Highest Observable Effect Concentration, HOEC) برای تمامی علف‌کش‌ها در جدول ۲ و شکل ۳ آمده است. همچنین شکل ۳ مقایسه مقادیر شاخص‌های EC برای کاهش یا نابودی سرعت رشد نسبی سطح برگ عدسک آبی را نشان می‌دهد.

نتایج حاصل از کاربرد هر یک از علف‌کش‌های دس‌مدیفام، فن‌مدیفام و دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست، کلوپیرالید، کلریدازون و کوییزالوفوپ–پی–اتیل نشان داد که مقادیر EC_{50} علف‌کش‌ها دارای روندی متفاوت (از ۱/۰۴ تا ۷۱/۹۳) هستند که نشان‌دهندهٔ میزان تأثیر متفاوت هر یک از آنها است. کمترین EC_{50} مربوط به علف‌کش دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست با مقدار EC_{50} = ۱/۰±۰۴/۲۰ بود و بالاترین آن در علف‌کش کلوپیرالید با مقدار EC_{50} = ۷۱/۹۳±۴/۹۶ مشاهده شد.

در واقع علف‌کش دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست سمیت بیشتری از سایر علف‌کش‌ها دارد و کاهش معنی‌داری را در میزان سرعت رشد نسبی عدسک آبی در مقادیر بسیار کمتری از دیگر علف‌کش‌ها ایجاد کرده است. ویدال و همکاران (Vidal *et al.* 2009) نشان دادند که علف‌کش دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست سمیت بسیار بالایی بر ریزجلبک‌های سبز آب‌های شیرین مانند *Pseudokirchneriella subcapitata*، *Chlorella vulgaris* و *Chlamydomonas pseudocostata* دارد..



شکل ۲ منحنی‌های لگاریتم لُجستیک دُز–پاسخ (Dose-response) برای سرعت رشد نسبی (RGR) سطح برگ عدسک آبی ($cm^2\ cm^{-2}\ d^{-1}$) (افزایش سانتی‌متر مربع سطح برگ به ازاء هر سانتی‌متر مربع سطح برگ اولیه در هر روز) در مقادیر مختلف شش علف‌کش دس‌مدیفام، فن‌مدیفام، دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست، کلریدازون، کلوپیرالید و کوییزالوفوپ–پی–اتیل مورد استفاده در اراضی چغندرقند



شکل ۳ مقایسه مقادیر به‌دست آمده شاخص‌های EC برای کاهش یا نابودی سرعت رشد نسبی سطح برگ عدسک آبی در حضور علف‌کش‌های اراضی چغندرقند

همچنین، آنها بیان کردند که اضافه شدن اتوفومیست به ترکیب دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام نه تنها منجر به افزایش کارایی این ترکیب در کنترل علف‌های‌هرز می‌شود بلکه سمیت ترکیب دس-مدیفام+ فن‌مدیفام را بر روی گونه‌های غیرهدف از طریق افزایش فعالیت سمیت خود ترکیب یا داشتن اثرات متقابل با یک ترکیب فعال افزایش می‌دهد (Cedergreen and Streibig 2005; Pereira *et al.* 2007, 2009; Vidal *et al.* 2009) مقادیر EC_{50} به‌دست آمده از کاربرد علف‌کش دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست بر ریزجانداران آبی بنام گونه‌های کک آب‌های شیرین مانند *Daphnia magna* و *Daphnia longispina* حاکی از سمیت این علف‌کش بر این موجودات آبزی است (Vidal *et al.* 2016). مقدار EC_{50} علف‌کش کلریدازون پس از دس‌مدیفام+ فن-مدیفام+ اتوفومیست بیشتر از سایر علف‌کش‌ها بود (۱۸/۲۶±۱/۰ = EC_{50}) که حاکی از سمیت کمتر و بیشتر آن به ترتیب در مقایسه با دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست و سایر علف‌کش‌ها بوده است. بیسیوسکا و همکاران (Bisewska *et al.* 2012) گزارش کردند که علف‌کش کلریدازون سیمت زیادی در ریزجلبک سبز *Desmodesmus subspicatus* و عدسک آبی داشته، به‌طوری‌که براساس مقادیر EC_{50} به‌دست آمده این مقدار سمیت در ریزجلبک سبز دو برابر عدسک آبی بوده است. توکاج و همکاران (Tukaj *et al.* 2011) بیان کردند که کاربرد علف‌کش کلریدازون در غلظت ۰/۵–۵ میکرومولار به‌طور معنی‌داری منجر به کاهش رشد عدسک آبی و تولید ۲/۴ برابری پروتئین HSP70 (گروهی از پروتئین‌های تکاملی سلول که نقش بسیار مهمی در وضعیت فیزیولوژیکی سلول و تحمل به تنش‌های محیطی در شرایط استرس‌زا ایفا می‌کنند) شد. پوکورا و توکاج (Pokora and Tukaj 2013) گزارش کردند که دو استرین جلبک سبز *Desmodesmus armatus* پس از ۲۴ ساعت به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر علف‌کش کلریدازون قرار گرفته و بیش از ۳۰ درصد کاهش رشد را نشان دادند. سمیت هر یک از علف‌کش‌های فن‌مدیفام و دس‌مدیفام به ترتیب با ۷۲/۳۶±۱/۰ = EC_{50} و ۳/۲۷±۰/۵۶ = EC_{50} در رتبهٔ بعدی قرار داشتند، ولی با این حال بیشتر از سمیت علف‌کش‌های کوییزالوفوپ–پی–اتیل و کلوپیرالید بودند. ویدال و همکاران (Vidal *et al.* 2012) گزارش کردند که علف‌کش فن‌مدیفام دارای سمیت بیشتری نسبت به علف‌کش دس‌مدیفام بر ماکروفیت عدسک آبی و گونه‌ای از باکتری بنام *Vibrio fischeri* بود. فریتز و براون (Fritz and Braun 2006) بیان کردند که کاربرد علف‌کش فن‌مدیفام سمیت بالایی بر میکروارگانیسم‌های آبی نظیر *Daphnia magna*، *Chlorella pyrenoidosa*، *Vibrio fischeri* و *Pseudokirchneriella subcapitata* دارد. فرچیلد و همکاران (Fairchild *et al.* 1997) تشریح کردند که گونه‌های عدسک آبی به‌عنوان یک اُرگانیسم تک لپه‌ای فتوسنتز کننده می‌تواند خیلی زیاد تحت تأثیر علف‌کش‌های بازدارندهٔ فتوسنتز قرار گیرد. ویدال و همکاران (Vidal *et al.* 2009) گزارش کردند علف‌کش‌هایی که فرآیندهای حیاتی گیاه مانند فسفریلاسیون نوری را تغییر می‌دهند ممکن است برحساسیت گونه‌های گیاهی تأثیر داشته باشند. آنها همچنین بیان کردند که علف‌کش‌های بازدارندهٔ فرآیند انتقال الکترون فتوسنتزی نظیر دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست پتانسیل کشندگی بیشتری بر طیف گسترده‌ای از گونه‌های غیرهدف ماکروفیت‌ها و ریزجلبک‌ها به‌عنوان تولیدکنندگان اولیه دارند.

کمترین سمیت گیاهی در جایگاه قبل از کلوپیرالید مربوط به علف‌کش کوییزالوفوپ–پی–اتیل با ۱/۰۵±۴/۸۱ = EC_{50} بود. دوگانلار (Doganlar 2012) نشان داد که علف‌کش کوییزالوفوپ–پی–اتیل به‌طور معنی‌داری منجربه ایجاد اثرات سمیت گیاهی و ژنتیکی در دو گونهٔ عدسک آبی *L. minor* و *L. gibba* در ۲۴ ساعت پس از کاربرد آنها شد. کمترین سمیت

گیاهی در کاربرد علف‌کش کلوپیرالید با EC_{50} = ۷۱/۹۳±۴/۹۶ مشاهده شد. فرچیلد و همکاران (Fairchild *et al.* 2009) در طی کاربرد ۳۰ روزهٔ علف‌کش کلوپیرالید بر مرگ و میر ماهی قزل‌آلا گزارش کردند که کلوپیرالید سمیت بسیار کمی بر دو گونهٔ ماهی قزل‌آلا *Oncorhynchus mykiss* و *Salvelinus confluentus* حتی در بالاترین غلظت کاربردی (۲۵۶ میلی‌گرم بر لیتر) دارد. سیدرگرین و استریبیگ (Cedergreen and Streibig 2005) گزارش کردند که کاربرد فنوکسی‌هایی نظیر MCPA بر دو گونهٔ ماکروفیت آبزی *Lemna minor* و جلبک سبز *Pseudokirchneriella subcapitata* حاکی از سمیت ضعیف این علف‌کش بر عدسک آبی و عدم‌سمیت بر جلبک سبز بود. غیرحساس بودن جلبک سبز نسبت به بازدارندگان سنتز اُکسین را می‌توان به عدم تحت تأثیر قرار گرفتن رشد و نمو موجودات تک سلولی بوسیلهٔ هورمون‌های گیاهی نظیر اُکسین نسبت داد (Cedergreen and Streibig 2005).

ویژگی‌های متفاوت ترکیبات علف‌کشی نیز می‌تواند در شدت اثر هریک از آنها تأثیرگذار باشد، به‌طوری‌که علف‌کش دس‌مدیفام، فن‌مدیفام و دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست، کلریدازون و کوییزالوفوپ-پی-اتیل با داشتن ضریب نسبی اُکتانول-آب ($\log (K_{ow})$ = Logarithm K Oil-Water partition coefficient) مثبت (جدول ۱) دارای شدت اثری مستقیم بر فرآیند فتوسنتزی بودند، درحالی‌که علف‌کش کلوپیرالید با داشتن ضریب نسبی اُکتانول-آب $\log (K_{ow}) = ۲/۶۳ \times ۱۰^{-۲}$ و به دلیل حلالیت در حلال‌های آبی (حلال قطبی) دارای چنین اثر مستقیمی نمی‌شد (Cedergreen *et al.* 2005; Gatidou *et al.* 2015). هورگان و زابکیویکس (2008) نشان دادند که ضریب نسبی اُکتانول-آب علف‌کش‌ها می‌تواند بازتابی از کارایی فتوسنتز گیاهانی باشد که در معرض علف‌کش قرار می‌گیرند. به‌عبارت دیگر، سرعت جذب و انتشار ترکیبات لیپوفیلیک ملکول علف‌کش به درون سلول گیاهی خیلی بیشتر از ترکیبات هیدروفیلیک است. همچنین علف‌کش‌های بازدارندهٔ فتوسنتز به‌علت قطع انتقال الکترون فتوسنتزی و تولید اکسیژن اکسیداتیو در نزدیکی مرکز فتوسیستم دو (ROS) منجربه افزایش سمیت علف‌کشی شده و نهایتاً مرگ سریع گیاه خواهند شد (Cedergreen *et al.* 2005). براساس گزارش ای‌پی‌ای (2002) علف‌کش کلوپیرالید در ردهٔ سموم کم خطر و غیرسرطانزا برای انسان معرفی شده است. مقدار EC_{50} گزارش شده برای این علف‌کش جهت بازدارندگی از رشد ماکروفیت آبی عدسک آبزی ۸۹ میلی‌گرم بر لیتر بوده است و کمترین آن ۶/۹ میلی‌گرم بر لیتر گزارش شده است. غلظت‌های بسیار پایین در دامنهٔ ۰/۰۱ تا ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر موجب تحریک رشد سایر ماکروفیت‌های آبزی می‌شود (USFS 2004).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که علف‌کش دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست سمیت بالایی بر ماکروفیت غیرهدف عدسک آبی دارد و کاربرد آن منجربه ایجاد خطراتی در اکوسیستم‌های آبی مجاور اراضی زراعی خواهد شد، به‌طوری‌که هر گونه اختلال در کاربرد علف‌کش دس‌مدیفام+ فن‌مدیفام+ اتوفومیست منجربه بروز پیامدهای شدیدی بر روی گونه‌های فیتوپلانکتون در سطوح غذایی بالاتر خواهد شد. بنابراین، استفاده از آن باید با دقت بالایی در عملیات کشاورزی انجام شود. از آنجائی‌که گونه‌های آبزی تحت تأثیر آفت‌کش‌ها قرار می‌گیرند (Pereira *et al.* 2007)، این گونه‌ها ممکن است پاسخ‌های متفاوتی به تنش‌های ناشی از سموم داشته و منجربه تغییراتی در گونه‌ها و نهایتاً اثرات کشندگی را بر رشد جمعیت‌ها ایجاد کنند. بنابراین، تخلیه شدن علف‌کش‌ها در سیستم‌های آبی درصورتی‌که غلظت‌های مواد سمی در سطوحی بالاتر از حد تحمل گونه‌ها باقی

بماند (حد مجاز)، می‌تواند پیامدهای زیادی بر تنوع زیستی، زنده مانی، رشد و تکثیر گونه‌های آبزی و حتی حذف آنها از اکوسیستم‌های آبی داشته باشد. از این‌رو، لازم است که در کاربرد علف‌کش‌ها روش‌های مدیریتی صحیح مانند کاربرد علف‌کش‌ها به‌صورت تلفیقی و نواری در اراضی زراعی، به‌کارگیری دُزهای خُرد شدهٔ علف‌کش‌ها، استفاده از ترکیبات مویان‌ها و اختلاط علف‌کش‌های دارای ماندگاری کم مدنظر قرار گیرد تا در نهایت ورود علف‌کش‌ها به منابع آبی به حداقل مقدار کاهش یابد.

منابع مورد استفاده: References

Abouel-Kheir W, Ismail G, Abouel-Nour F, Tawfik T, Hammad D. Assessment of the efficiency of duckweed (*Lemna gibba*) in wastewater treatment. International Journal of Agriculture and Biology. 2007; 9(5): 681-687.

Bannink AD. How Dutch drinking water production is affected by the use of herbicides on pavements. Water Science Technology. 2004; 49(3):173-181.

Bisewska J, Sarnowska EI, Tukaj ZH. Phytotoxicity and antioxidative enzymes of green microalga (*Desmodesmus subspicatus*) and duckweed (*Lemna minor*) exposed to herbicides MCPA, chloridazon and their mixtures. Journal of Environment Science Health B. 2012; 47(8): 814-22.

Cayuela ML, Millner P, Slovin J, Roig A. Duck weed (*Lemna gibba*) growth inhibition bioassay for evaluating the toxicity of olive mill wastes before and during composting. ChemOs. 2007; 68: 1985-1991.

Cedergreen N, Abbaspoor M, Sørensen H, Streibig JC. Is mixture toxicity measured on a biomarker indicative of what happens on a population level? A study with *Lemna minor*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2007; 67: 323-332.

Cedergreen N, Andersen L, Olesen CF, Spliid HH, Streibig JC. Does the effect of herbicide pulse exposure on aquatic plants depend on *K*ow or mode of action? Aquatic Toxicology. 2005; 71: 261-271.

Cedergreen N, Streibig JC. The toxicity of herbicides to non-target aquatic plants and algae: assessment of predictive factors and hazard. Pest Management Science. 2005; 61: 1152-1160.

Chitband AA, Abbaspoor M, Nabizade M. Utilizing drc package in R software for dose-response studies: The concept and data analysis. Proceeding of the 12th Iranian Crop Sciences Congress; 2012 September 4-6; Islamic Azad University, Karaj. Iran. (in Persian, abstract in English)

Delorenzo ME, Scott GI, Ross PE. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: A review. Environmental Toxicology and Chemistry. 2001; 20(1): 84-98.

Doganlar ZB. Quizalofop-*p*-ethyl-induced phytotoxicity and genotoxicity in *Lemna minor* and *Lemna gibba*. Journal of Environment Science Health A Tox Hazard Subst Environ Eng. 2012; 47: 1631-1643.

Ensley HE, Barber JT, Polite MA, Oliver H. Toxicity and metabolism of 2,4-Dichlorophenol by the aquatic angiosperm *Lemna* sp. Environmental Toxicology and Chemistry. 1994; 13: 325-331.

EPA US. Clopyralid; Pesticide Tolerance. 40 CFR Part 180. 2002; Office of Pesticide Programs. Washington DC.

Fairchild JF, Ruessler DS, Haverland PS, Carlson AR. Comparative sensitivity of *Selenastrum capricornutum* and *Lemna minor* to sixteen herbicides. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 1997; 32: 353-357.

Fairchild JF, Allert AL, Feltz KP, Nelson KJ, Valle JA. An ecological risk assessment of the acute and chronic effects of the herbicide clopyralid to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 2009; 57: 725-731.

Fekete-Kertész I, Kunglné-Nagy Z, Gruiz K, Magyar A, Farkas E, Molnár M. Assessing toxicity of organic aquatic micropollutants based on the total chlorophyll content of *Lemna minor* as a sensitive endpoint. Periodica Polytechnica Chemical Engineering. 2015; 59(4): 262-271.

Fritz JI, Braun R. Ecotoxicological Effects of benzoxazinone allelochemicals and their metabolites on aquatic non-target organisms. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2006; 54:1105-1110.

Gatidou G, Stasinakis AS, Iatrou EI. Assessing single and joint toxicity of three phenylurea herbicides using *Lemna minor* and *Vibrio fischeri* bioassays. ChemOs. 2015; 119: 69-74.

Hess FD. Light-dependent herbicides: an overview. Weed Science. 2000; 48: 160-170.

Hillman WS. The Lemnaceae, or Duckweeds: A review of the descriptive and experimental literature. The Botanical Review. 1961; 27: 221-289.

Horgan DB, Zabkiewicz JA. Fluorescence decline ratio: comparison with quantum yield ratio for plant physiological status and herbicide treatment response. New Zealand Plant Protection. 2008; 61:169-173.

Lewis MA. Use freshwater plants for phytotoxicity testing: A review. Environ. Pollut. 1995; 87: 319-336.

Maeng J, Khudairi AK. Studies on the flowering mechanism of *Lemna*, I: amino acid changes during flower induction. Physiologiae Plantarum. 1973; 28: 264-270.

Markovska LV, Ilievska BP, Vodeb L. RP-HPLC-DAD method for simultaneous determination of desmedipham, phenmedipham and ethofumesate in a pesticide formulation. Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering. 2012; 3: 39-46.

Mohammad M, Itoh K, Suyama K. Effects of herbicides on *Lemna gibba* and recovery from damage after prolonged exposure. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 2010; 58: 605-612.

OECD. Environmental Performance of Agriculture in OECD countries since 1990. Paris, France: Organization for the Economic Cooperation and Development. 2008.

Pascal-Lorber S, Rathahao E, Cravedi JP, Laurent F. Metabolic fate of [^{14}C]-2,4-dichlorophenol in macrophytes. ChemOs. 2004; 56(3): 275-284.

Pereira JL, Mendes CD, Goncalves F. Short- and long-term responses of *Daphnia* spp. to propanil exposures in distint food supply scenarios. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2007; 68: 386-396.

Pokora W, Tukaj Z. Induction time of Fe-SOD synthesis and activity determine different tolerance of two *Desmodesmus* (green algae) strains to chloridazon: A study with synchronized cultures. Pesticide Biochemistry and Physiology. 2013; 107(1): 68-77.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2014; https://www.R-project.org/

Ritz C, Streibig JC. Bioassay analysis using R. Journal of Statistical Software. 2005; 12: 1-22.

Ritz C, Kniss AR, Streibig JC. Research Methods in Weed Science: Statistics. Weed Science. 2015; 166–187.

Seefeldt SS, Jensen JE, Fuerst E. Log-logistic analysis of herbicide dose–response relationships. Weed Technology. 1995; 9(2): 218-227.

Shaner DL. Herbicide safety relative to common targets in plants and mammals. Pest Management Science. 2004; 60: 17-24.

Strasser RJ, Stirbet AD. Estimation of the energetic connectivity of PSII centres in plants using the fluorescence rise O-J-I-P; fitting of experimental data to three different PSII models. Mathematics and Computers in Simulation. 2001; 56: 451- 461.

Tukaj S, Bisewska J, Roeske K, Tukaj Z. Time- and dose-dependent induction of HSP70 in *Lemna minor* exposed to different environmental stressors. The Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2011; 87: 226-230.

USFS. Clopyralid Human Health and Ecological Risk Assessment Final Report. Prepared for the US Forest Service by Syracuse Environmental Research Associates, Inc. Report No. SERA TR 04-43-17-03c. December 4, 2004. http://www.fs.fed.us/foresthealth/pesticide/risk.shtml.

Vidal T, Abrantes N, Gonçalves AMM, Gonçalves F. Acute and chronic toxicity of Betanal Expert and its active ingredients on non-target aquatic organisms from different trophic levels. Environmental Toxicology. 2012; 27: 537-548.

Vidal T, Goncalves A, Pardal M, Azeiteiro U, Goncalves F. Assessing the toxicity of Betanal on growth and sensitiveness of five freshwater planktonic species. Fresenius Environmental Bulletin. 2009; 18: 585-589.

Vidal T, Pereira JL, Abrantes N, Soares AMVM, Gonçalves F. 2016. Reproductive and developmental toxicity of the herbicide Betanal® Expert and corresponding active ingredients to Daphnia spp. Environmental Science and Pollution Research. 2016; 23: 13276-13287.

Wang W. Literature Review on Duckweed Toxicity Testing (Rev.). Environment Research. 1990; 52: 7-22.

Wuncheng W. Literature review on duckweed toxicity testing. Environment Research. 1990; 52: 7-22.

Ziegler P, Sree KS, Appenroth KJ. Duckweeds for water remediation and toxicity testing. Toxicological and Environmental Chemistry. 2016; 9(10): 1127-1154.