"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد ششم، شماره ۱، بهار و تابستان ۹۶
(ص ۷۷-۶۹)

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 6, No.: 1, Spring and Summer 2017
(pp: 69-77)
DOI: 10.22034/ijsst.2017.113289

تاثیر عصاره آبی برگ اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulesis*) بر جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و آلفا آمیلاز در بذر گیاه هرز قیاق (*Sorghum halapense*)

روزبه فرهودی[1*] و فاطمه پورحسن[2]

۱. دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، گروه شناسایی و مبارزه با علف هرز، شوشتر، ایران
۲. دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، گروه شناسایی و مبارزه با علف هرز، شوشتر، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۳۱- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۰)

چکیده

به منظور بررسی تاثیر عصاره آبی اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulesis*) بر جوانه‌زنی، رشد گیاهچه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و آلفا آمیلاز بذر قیاق (*Sorghum halapense*) آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی در ۵ تکرار و ۶ تیمار شامل غلظت‌های عصاره آبی برگ اکالیپتوس (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد) در سال ۱۳۹۱ انجام شد. نتایج نشان داد افزایش غلظت عصاره اکالیپتوس سبب کاهش درصد جوانه‌زنی، وزن گیاهچه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و آلفاآمیلاز در بذر قیاق شد اما غلظت مالون دی آلدهید و درصد اسید چرب بافت گیاهچه قیاق افزایش یافت. کمترین فعالیت آلفاآمیلاز (۳/۱ و ۳/۵ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)، وزن تر گیاهچه (۰/۱۰ و ۰/۰۸ میلی‌گرم) و درصد جوانه‌زنی (۵۴ و ۴۲ ٪) تحت تاثیر تیمارهای عصاره ۴۰ و ۵۰٪ اکالیپتوس مشاهده شد. بیشترین اسید چرب بافت گیاهچه قیاق نیز تحت تاثیر تیمار محلول پاشی با عصاره ۴۰ و ۵۰٪ اکالیپتوس به میزان ۲۳/۶ و ۲۳/۱٪مشاهده شد. نتایج بیانگر تاثیر منفی عصاره اکالیپتوس بر جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و پایداری غشاء سلولی گیاهچه قیاق است.

کلمات کلیدی: آللوپاتی، پراکسیداز، جوانه‌زنی، درصد اسید چرب، مالون دی آلدهید، کاتالاز.

Effects of *Eucalyptus camaldulesis* aquatic leaf extract on *Sorghum halapense* seed germination, antioxidants enzyme and α-amylase enzyme activities

Roozbeh Farhoudi[1*] and Fatemeh Pourhassan[2]

1. Associate Professor, Department of Weed Science, Islamic Azad University, Shoushtar Branch, Iran
2. Post graduated (M.Sc), Department of Weed Science, Islamic Azad University, Shoushtar Branch, Iran
(Received: 21.Sep. 2016 – Accepted: 28. Feb. 2017)

Abstract

In order to evaluate the allelopatic potential of *Eucalyptus camaldulesis* aquatic extract on antioxidant enzyme activities, cell membrane damage and α-amylase enzyme activity of *S. halapense*, this experiments was conducted in Islamic Azad University, Shoushtar branch at 2012. The experiment was laid out according to a Completely Randomized Design with five replications and six treatments were various concentration of *E. camaldulesis* aquatic extract (0, 10, 20, 30, 40, 50 and 60%). The results indicated *E. camaldulesis* aquatic extract application exhibited gradual rise inhibitory effect on seed germination, seedling fresh weight, antioxidants enzymes activities, and α-amylase enzyme activity. Contrary to the previous traits, elevated malondialdehyde concentration and seedling fatty acid in *S. halapense* seedlings were detected. The minimum α-amylase enzyme activity (3.1 and 3.5 nmol prot $^{-1}$ min^{-2}), seedling fresh weight (0.1 and 0.8 mg) and seed germination (54% and 42 %) showed in 40% and 50% *Eucalyptus camaldulesis* aquatic extract. The highest fatty acid (23.6% and 23.1%) was noted at 40% and 50% *Eucalyptus camaldulesis* aquatic extract. In conclusion, *E. camaldulesis* aquatic extract decreased seedling growth, α-amylase enzyme activity and cell membrane stability of *S. halapense* seedling.

Key words: allelopathy, catalase, fatty acid, germination, malondialdehyde, peroxidase

* Email: rfarhoudi@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

علف‌های هرز بخشی از نظام‌های کشاورزی هستند که ضمن رقابت با گیاهان زراعی موجب افت کمی و کیفی محصولات زراعی می‌گردند. اگر چه استفاده از علفکش‌ها راه حل سریع کنترل علف‌های هرز محسوب می‌شود اما امروزه خطرات مصرف بی رویه سموم کشاورزی موجب گردیده است که محققین در جستجوی راهکارهای دیگری برای کنترل علف‌های هرز باشند (Farooq *et al.*, 2008). استفاده از خاصیت آللوپاتی یا دگر آسیبی گیاهان یکی از راه‌های جایگزین سموم شیمیایی است که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. اصطلاح دگرآسیبی به عنوان تداخل شیمیایی بین گیاهان به وسیله رهاسازی ترکیبات شیمیایی در محیط تعریف می شود. اگر چه آللوپاتی سال‌ها است که شناخته شده است اما تنها در طی سالیان اخیر توانسته به عنوان یک زمینه علمی مناسب برای تحقیقات علوم علف هرز و فیزیولوژی گیاهی مطرح شود. یکی از دلایل تردید درباره اهمیت آللوپاتی فقدان شناخت مواد شیمیایی ایجاد کننده آللوپاتی و زیست سنجی نامناسب در زمینه آللوپاتی است (Lorenzo *et al.*, 2011).

شناسایی مکانیزم‌های عمل مواد دگرآسیب در گیاهان می تواند نقش مهمی در معرفی، تولید و استفاده از این مواد به صورت عملی داشته باشد. یکی از اثرات ترکیبات آللوپاتیک اختلال در فرآیند جوانه‌زنی سایر گیاهان است و این اختلال در فرایند جوانه‌زنی و رشد گیاهچه به دلیل ایجاد تنش اکسیداتیو و تخریب غشاهای سلولی، اختلال در عمل هورمون‌های گیاهی و اختلال در عمل آنزیم‌های حیاتی نظیر آلفا آمیلاز می‌باشد (Oracz *et al.*, 2007; Maffei *et al.*, 1999). فرهودی و لی (Farhoudi and Lee, 2012) گزارش نمودند عصاره آللوپاتیک گلرنگ زراعی موجب تخریب غشاهای سلولی گیاهچه خردل وحشی و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر خردل وحشی شد. بوهم و همکاران (Bohm *et al.*, 2006) نیز کاهش تقسیم میتوز واختلال در رشد گیاهچه سویا تحت تاثیر ترکیبات آللوپاتیک را گزارش نمودند. یکی از اثرات بارز ترکیبات دگرآسیب ایجاد تنش اکسیداتیو، تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تخریب غشاهای سلولی در گیاهان دیگر می‌باشد. حضور رادیکال‌های آزاد اکسیژن در محیط سلولی، سبب تخریب ماکرو ملکول‌های عمده سلولی نظیر ماده وراثتی سلول و آنزیم‌های حیاتی نظیر آلفا آمیلاز و رابیسکو می‌شود (Kato-Noguchi and Macias, 2008; Wu *et* al, 2000). یو و همکاران (Yu *et al.*, 2003) و اورزاک و همکاران (Oracz *et al.*, 2007) مشاهده نمودند حضور ترکیبات آللوپاتیک سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسمیوتاز در گیاهچه‌های هدف می‌شود زیرا این آنزیم‌ها با حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن محیط سلول را از اثرات زیانبار این رادیکال‌ها حفظ می کنند اما در نهایت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نیز مانند سایر ترکیبات پروتینی تحت تاثیر غلظت بالای ترکیبات آللوپاتیک قرار گرفته و فعالیت آن‌ها کاهش می‌یابد. مافی و همکاران (Maffei *et al.*, 1999) مشاهده نمودند ترکیبات آللوپاتیک سبب القای تنش اکسیداتیو و تخریب غشای سلولی در گیاهچه خیار شد. وو و همکاران (Wu *et al*, 2000) کاهش رشد گیاهچه *Luliom rigidum* تحت تاثیر ترکیبات آللوپاتیک گندم را ناشی از کاهش فعالیت آنزیم ساکاروز سنتتاز و اختلال در فتوسنتز بیان نمودند. ایشان مشاهده نمودند کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهچه *Luliom rigidum* نقش زیادی در آسیب پذیری آن داشت.

اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulesis*) بیش از یکصد سال پیش به ایران وارد گردید و در جنوب کشور که محیط مناسبی برای رشد آن بود کشت شد. ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره برگ اکالیپتوس که عمدتا ترپن‌های فرار می‌باشند سبب توقف تقسیم سلولی، کند شدن روند فتوسنتز و تنفس، اختلال در عمل

Archive of SID

www.SID.ir

تنظیم‌کننده‌های رشد و فعالیت‌های آنزیمی در سایر گیاهان می‌شوند که در نهایت به کاهش رشد گیاه منجر می‌شود. مقدار این ترکیبات که بیشتر در برگ‌ها هستند، به گونه گیاهی و شرایط اقلیمی وابسته است. براساس ساختمان شیمیایی سینئول که جزو متابولیت‌های ثانویه اصلی اکالیپتوس می‌باشد علف کش تجاری سین متیل تهیه گردیده است. ایاز خان و حسین (Ayyaz khan and Hussain, 2008) مشاهده نمودند عصاره برگ اکالیپتوس سبب کاهش رشد گیاهچه گونه‌های علف هرز گردید که نشان دهنده توانایی دگرآسیبی اکالیپتوس است. با توجه به پتانسیل دگر آسیبی گیاه اکالیپتوس این تحقیق به منظور بررسی اثرات دگرآسیب عصاره آبی برگ اکالیپتوس بر رشد و فرایندهای فیزیولوژیک گیاهچه علف هرز قیاق (*Sorghum halapense*) جهت بهره‌گیری از این عصاره در تولید علف کش‌های زیستی در آینده انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر و آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شهید چمران در سال ۱۳۹۱ در شش تیمار و پنج تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد.

روش تهیه عصاره و اندازه‌گیری صفات مورد آزمایش

تیمارهای این آزمایش عصاره آبی برگ اکالیپتوس (*E. camaldulesis*) با غلظت صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰٪ بود. در تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. جهت تهیه عصاره آبی برگ اکالیپتوس، ابتدا برگ اکالیپتوس در خرداد ماه ۱۳۹۱ از محوطه باغ گیاهشناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر جمع آوری و به مدت یک هفته در سایه خشک شد. ۱۰۰ گرم پودر برگ خشک اکالیپتوس به یک لیتر آب مقطر در یک بشر دو لیتری اضافه شد و بعد از ۴۸ ساعت محلول توسط کاغذ صافی صاف و عصاره اکالیپتوس ۱۰۰٪ به دست آمد. سپس غلظت‌های مورد نظر از این عصاره ساخته شد (Oracz *et al.*, 2007).

جهت بررسی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه قیاق، ۲۵ عدد بذر این گیاه در پتری دیش‌هایی به قطر نه سانتی متر روی یک لایه کاغذ صافی قرار داده شد. به محیط پتری دیش هشت میلی‌لیتر از عصاره مورد نظر اضافه شد. عصاره موجود در پتری دیش یک روز در میان عوض می‌شد و جهت جلوگیری از تجمع ترکیبات دگرآسیب، کاغذ صافی هر پتری دیش عوض شد و محیط پتری دیش با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر شسته شد. پس از اعمال تیمارها، پتری‌دیش‌ها به مدت ۱۴ روز به دستگاه جوانه‌زنی با شرایط رطوبت ۶۰ ٪، تناوب دمای ۱۸/۲۵ درجه سانتیگراد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند (Farhoudi and Lee, 2012).

میانگین زمان جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی بر اساس روابط زیر محاسبه گردید (Scott *et al.*, 1984):

رابطه ۱
$$GP = \frac{\sum n_i}{N} \times 100$$

GP: درصد جوانه زنی بذر

ni: تعداد بذرهای جوانه زده در طول دوره آزمایش

N: تعداد کل بذرهای کاشته شده

رابطه ۲
$$MGT = \frac{\sum f_i x_i}{N}$$

fi: روز شمارش

xi: تعداد بذر جوانه زده در روز f

N: کل بذرها جوانه زده

یک بذر وقتی جوانه زده محسوب می‌شد که طول ریشه چه آن به حدود سه میلی‌متر رسید. طول گیاهچه بر اساس واحد میلی‌متر اندازه‌گیری شد. به این منظور خمیدگی گیاهچه باز شده و طول ریشه چه و طول ساقه

Archive of SID

www.SID.ir

چه از انتها تا محل اتصال به بذر اندازه‌گیری شد.

یک گرم بافت بذری جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز استفاده شد. برای تهیه عصاره ابتدا پنج میلی‌لیتر محلول ۶۰ میلی‌مولار بافر فسفات (pH 6.8) به بذر اضافه شد و سپس این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه سانترفیوژ شد (با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه). جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته به داخل لوله آزمایش منتقل شد سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده در بالا به آن اضافه شده و بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد بوسیله ۱ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریدریک ۰/۱ نرمال واکنش را متوقف کرده و در ادامه یک میلی‌لیتر از معرف ید به آن اضافه شد. پس از آن حجم محتوی لوله را با آب مقطر به حدود ۱۰ میلی‌لیتر رسانده و میزان جذب رنگ را با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده و با نمونه شاهد مقایسه شد (Xiao *et al*., 2006).

جهت بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز و پراکسیداز، ابتدا پروتیین گیاهچه استخراج شد (Agrawal *et al*., 2005). برای بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز مخلوط واکنش شامل بافرفسفات ۱۰میلی مولار، ۸ میلی مولار گویاکول، ۲/۷۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن و ۵۰ میکرو لیتر محلول پروتئینی استخراج شده در ابتدای آزمایش بود. پس از اضافه کردن پراکسید هیدروژن بلافاصله افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه قرائت شد. برای بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز ۵۰ میکرو مول از محلول پروتئینی استخراج شده از گیاهچه به ۱۰۰ میلی‌مول بافر فسفات اضافه و سپس ۳۰ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن نیز به مخلوط افزوده شد. در نهایت این مخلوط در کووت اسپکتو فتومتر ریخته شد و در طول موج ۲۴۰ نانومتر فعالیت آنزیمی بر اساس تغییرات جذب در ۶۰ ثانیه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین قرائت شد (Chance and Maehly, 1995). به منظور تعیین غلظت مالون دی آلدهید گیاهچه، ابتدا نیم گرم بافت گیاهچه را در محلول ۲۰ ٪ تیوکلرو استیک اسید که حاوی ۰/۵ ٪ تیو باربیتوریک اسید بود کاملا پودر کرده و آنگاه این مخلوط به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد در حمام بن ماری حرارت داده شد. سپس این مخلوط در حمام یخ سرد شد غلظت مالون دی آلدئید در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Valentovic *et al*., 2006).

جهت بررسی درصد اسید چرب آزاد بافت گیاهچه قیاق نیز یک گرم نمونه گیاهچه تازه درون ارلن مایر قرار داده شد و ۲۰ میلی‌لیتر الکل اتانول به آن اضافه شد و با افزودن ۵ قطره فنل فتالئین آن را با سود ۰/۱ ٪ تیتر کرده تا رنگ صورتی کم رنگ حاصل شود واین رنگ حداقل ۳۰ ثانیه پایدار بود و درصد اسید چرب آزاد محاسبه شد (Valentovic *et al*., 2006).

محاسبات آماری

محاسبات آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام شد. برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح یک درصد آماری استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی اکالیپتوس بر تمامی صفات مورد بررسی از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱).

درصد جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی و طول گیاهچه

درصد جوانه‌زنی، وزن گیاهچه و طول گیاهچه بذر قیاق تحت تاثیر غلظت‌های عصاره آبی اکالیپتوس قرار گرفت و کاهش یافت در حالی که میانگین زمان جوانه‌زنی بذر قیاق در این شرایط افزایش یافت (جدول ۲). کمترین درصد جوانه‌زنی بذر قیاق تحت تاثیر عصاره‌های ۴۰ و ۵۰ ٪ به میزان ۵۴/۶ و ۴۲/۹ ٪ مشاهده شد که در مقایسه با جوانه‌زنی در شرایط شاهد کاهش شدیدی را نشان داد. عصاره ۱۰٪ اکالیپتوس در مقایسه با

Archive of SID

www.SID.ir

شرایط شاهد تاثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی بذر قیاق نداشت. افزایش غلظت عصاره اکالیپتوس سبب افزایش معنی‌دار میانگین زمان جوانه‌زنی و تاخیر در ظهور گیاهچه قیاق شد. بیشترین میانگین زمان جوانه‌زنی بذر قیاق به میزان ۴/۵ و ۴/۲ روز تحت تاثیر عصاره‌های ۴۰ و ۵۰٪ اکالیپتوس مشاهده شد. بررسی تاثیر عصاره الکلی اکالیپتوس بر رشد گیاهچه لوبیا و سورگوم نشان داد افزایش غلظت عصاره اکالیپتوس سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه این گیاهان شد. ترکیبات آللوپاتیک با اختلال در فرایند تقسیم میتوز، آسیب به جوانه انتهایی و کاهش فعالیت آنزیم‌های حیاتی گیاهان سبب کاهش رشد گیاهچه گیاهان هدف می‌گردند (Oracz *et al.*, 2007).

ترکیبات آللوپاتیک سبب کاهش رشد و وزن گیاهچه قیاق شد (جدول ۲). کمترین وزن گیاهچه قیاق به میزان ۰/۰۸ گرم در تیماره عصاره ۵۰ ٪ اکالیپتوس مشاهده شد در حالی که در شرایط شاهد و عصاره ۱۰ ٪ اکالیپتوس بیشترین وزن گیاهچه به مقدار ۰/۱۹ و ۰/۱۸ گرم مشاهده شد. طول گیاهچه قیاق نیز تحت تاثیر ترکیبات آللوپاتیک عصاره ۵۰ ٪ اکالیپتوس کاهش یافت و به حدود ۳۱/۹ میلی‌متر رسید (جدول ۲). در این سطح عصاره ساقه چه ظاهر نشد و تمام طول گیاهچه مربوط به ریشه چه بود. ترکیبات آللوپاتیک با اختلال در تقسیم میتوز در قسمت جوانه انتهایی گیاهان سبب کاهش شدید رشد و ظهور گیاهچه می‌شوند (Lorenzo *et al.*, 2011). در تحقیق حاضر نیز افزایش غلظت عصاره اکالیپتوس موجب کاهش شدید طول و وزن گیاهچه قیاق شد که بیانگر تاثیر منفی ترکیبات این عصاره بر رشد گیاهچه قیاق است. ترکیبات آللوپاتیک با کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در جوانه‌زنی بذر خردل وحشی ایجاد اختلال می‌نمایند (Farhoudi and Lee, 2012). بر اساس نتایج پژوهش حاضر ترکیبات آللوپاتیک اکالیپتوس موجب تاخیر در جوانه‌زنی و کاهش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه قیاق شد که دلایل متعددی چون کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر قیاق را از دلایل این اختلال در رشد گیاهچه عنوان نمود.

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر آللوپاتیک عصاره اکالیپتوس بر جوانه‌زنی بذر، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت، تخریب غشا سلولی و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر قیاق

Table 1- Analysis of variance of allelopathical effect of *Eucalyptus camaldulesis* aquatic extract on seed germination, antioxidants enzyme activities, cell membrane damage and α-amylase activity of *Sorghum halapense* seedling.

منبع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	درصد اسید چرب آزاد Fatty acid percentage	فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز α-amylase activity	غلظت مالون دی آلدهید MDA concentration	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase activity	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase activity	طول گیاهچه seedling length	میانگین زمان جوانه زنی MGT	وزن تر گیاهچه seedling fresh weight	درصد جوانه زنی seed germination
تیمار Treatment	5	11.8**	3.18**	0.0001**	3.64**	1.09*	156.9**	3.9**	0.18*	986.5**
خطای آزمایشی Error	24	0.09	0.18	0.00001	0.39	0.85	25.6	0.56	0.11	128.4
Cv% ضریب تغییرات		7.3	11.6	5.8	3.0	10.8	6.2	10.3	5.8	11.7

**، * و ns : به ترتیب معنی دار در سطح یک درصد آماری ، ۵٪ آماری و عدم معنی‌دار

** and * :Significant at P=0.01 and p=0.05

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر آللوپاتیک عصاره اکالیپتوس بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بذر قیاق

Table 2- Means comparison of allelopathical effect of *Eucalyptus camaldulesis* aquatic extract on seed germination and seedling growth of *Sorghum halapense seedling*

غلظت عصاره (٪) Extract Concentration (%)	درصد جوانه زنی Seed germination (%)	میانگین زمان جوانه زنی (روز) MGT (day)	طول گیاهچه (میلی متر) Seedling length (mm)	وزن تر گیاهچه (گرم) Seedling fresh weight (g)
control	91.2 a	1.05 d	98.2 a	0.19 a
10	89.6 a	2.09 c	95.6 a	0.18 a
20	71.6 b	3.3 b	74.6 b	0.14 b
30	72.9 b	4.1 ab	67.0 bc	0.12 c
40	54.6 c	4.5 a	59.5 c	0.10 cd
50	42.9 d	4.2 a	31.9 d	0.08 d

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه در هر ستون هستند از نظر آماری بر حسب آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ ٪ آماری ندارند

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at P = 0.01 according to Duncan's test

تخریب غشا سلولی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

فعالیت دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز گیاهچه قیاق در واکنش به محلول پاشی عصاره آبی اکالیپتوس ابتدا افزایش یافت اما با افزایش غلظت عصاره آبی اکالیپتوس فعالیت این دو آنزیم کاهش یافت (جدول۳). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای ۲۰ و ۳۰ ٪ عصاره آبی اکالیپتوس به میزان ۲۱/۶ و ۲۲/۵ میلی‌گرم جذب در دقیقه در مقایسه با شاهد (۹/۸ میلی‌گرم جذب در دقیقه) ثبت شد. افزایش غلظت عصاره اکالیپتوس به ۴۰ و ۵۰ ٪ سبب کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز به ۱۲/۲ و ۹/۱ میلی‌گرم جذب در دقیقه شد. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه قیاق در عصاره‌های ۱۰ و ۲۰ ٪ اکالیپتوس (۱/۸ و ۲/۲ نانومول H_2O_2 بر میلی‌گرم پروتیین بر دقیقه) مشاهده شد در حالی که عصاره‌های ۴۰ و ۵۰ ٪ اکالیپتوس سبب کاهش فعالیت کاتالاز به ۰/۶۱ و ۰/۴۵ نانومول H_2O_2 بر میلی‌گرم پروتیین بر دقیقه شد. ترکیبات آللوپاتیک با تخریب غشاهای سلولی، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ایجاد تنش اکسیداتیو سبب فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت جهت حذف اثرات زیانبار رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند (Yu *et al*., 2003) اما آنزیم‌های آنتی اکسیدانت نیز مانند سایر ترکیبات پروتینی تحت تاثیر غلظت بالای ترکیبات آللوپاتیک قرار گرفته و فعالیت آنها در اثر تخریب آنزیم کاهش می‌یابد (Farhoudi and Lee, 2012). مافی و همکاران (Maffei *et al*., 1999) نیز با بررسی تاثیر ترکیبات آللوپاتیک بر رشد گیاهچه خیار بیان نمودند این ترکیبات با تاثیر منفی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت گیاهچه خیار سبب القای تنش اکسیداتیو و کاهش رشد گیاهچه خیار شدند. در این پژوهش در علظت‌های پایین عصاره اکالیپتوس، فعالیت مناسب آنزیم‌های آنتی اکسیدانت در کاهش اثرات اکسیداتیو ناشی از ترکیباب آللوپاتیک بارز بود زیرا در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ ٪ عصاره اکالیپتوس میزان مالون دی آلدهید و درصد اسیدهای چرب آزاد که نشانگر میزان تخریب غشاهای سلولی است نسبت به غلظت‌های بالاتر عصاره کمتر بود.

نتایج جدول ۳ بیانگر تخریب غشای سلولی و افزایش درصد اسیدهای چرب آزاد بافت گیاهچه قیاق تحت تاثیر محلول پاشی عصاره آبی اکالیپتوس است. بیشترین درصد اسید چرب آزاد بافت گیاهچه قیاق تحت تاثیر عصاره ۴۰ و۵۰٪ اکالیپتوس به میزان ۲۳/۶٪ و ۲۳/۱٪ مشاهده گردید که در مقایسه با درصد اسید چرب آزاد بافت گیاهچه قیاق در شرایط شاهد (۳/۵ ٪) افزایش معنی‌داری داشت. بررسی غلظت مالون دی آلدهید و درصد اسید چرب آزاد بافت گیاهچه می‌تواند بیانگر میزان تخریب غشا سلولی باشد زیرا این ترکیبات تحت تاثیر تخریب و اکسیده شدن

Archive of SID

www.SID.ir

غشا سلولی آزاد می‌شود (Valentovic *et al.*,2006). نتایج نشان داد بیشترین غلظت مالون دی آلدهید بافت گیاهچه قیاق به میزان ۰/۷۵ نانومول بر گرم وزن تر تحت تاثیر عصاره ۵۰ ٪ اکالیپتوس مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با میزان مالون دی آلدهید بافت گیاهچه قیاق تحت تاثیر عصاره ۴۰ ٪ اکالیپتوس نداشت. تحقیقات یو و همکاران (Yu *et al.*,2003) نشان داد که رشد گیاهچه‌های خیار تحت تاثیر ترکیبات آللوپاتیک کاهش یافت. ایشان همبستگی مثبتی میان کاهش رشد گیاهچه خیار تحت شرایط حضور ترکیبات دگرآسیب با تخریب و اکسیده شدن غشاهای سلولی خیار مشاهده کردند. کاهش پایداری غشا سلولی و تخریب سلول‌ها بر فعالیت و نحوه عمل آنزیم‌های حیاتی گیاهان نظیر آلفا امیلاز تاثیر منفی دارد (Lorenzo *et al.*,2011; Bohm *et al.*, 2006). در تحقیق حاضر نیز افزایش غلظت عصاره ترکیبات آللوپاتیک اکالیپتوس، علی رغم افزایش اولیه در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز که عدم افزایش شدید تخریب غشاهای سلولی را در پی داشت در نهایت منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت و در نتیجه تشدید تخریب غشاهای سلولی و کاهش رشد گیاهچه قیاق شد.

جدول ۳- تاثیر عصاره آبی اکالیپتوس بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، تخریب غشا سلولی و فعالیت آلفا آمیلاز گیاهچه قیاق

Table 3- Means comparison of allelopathical effect of *Eucalyptus camaldulesis* aquatic extract on antioxidants enzyme activities, cell membrane damage and α-amylase activity of *Sorghum halapense* seedling

غلظت عصاره (٪) Extract Concentration (%)	فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (نانومول بر میلی گرم پروتیین در دقیقه) α amylase activity (nmol mg pro^{-1} min^{-2})	درصد اسید چرب آزاد Fatty acid percentage	غلظت مالون دی آلدهید (نانومول بر گرم وزن تر) MDA concentration (nmol g^{-1}FW)	فعالیت آنزیم کاتالاز (نانومول آب اکسیژنه بر میلی گرم پروتیین بر دقیقه) Catalase activity (nmol H_2O_2 mg^{-1} protein min^{-2})	فعالیت آنزیم پراکسیداز (میلی گرم جذب در دقیقه) Peroxidase activity (mg pro m^{-1})
control	11.3 a	3.5 e	0.028 e	1.2 b	9.8 c
10	12.0 a	7.5 d	0.12 d	1.8 a	15.3 b
20	8.6 b	10.1 c	0.35 c	2.2 a	21.6 a
30	6.5 c	15.6 b	0.55 b	0.79 c	22.5 a
40	3.5 d	23.6 a	0.71 a	0.61 cd	12.2 cb
50	3.1 d	23.1 a	0.75 a	0.45 d	9.1 c

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه در هر ستون هستند از نظر آماری بر حسب آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ ٪ آماری ندارند

Means followed by the same letter(s) are not significantly different at P = 0.01 according to Duncan's test

فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز

نتایج جدول ۳ بیانگر کاهش شدید فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر قیاق تحت تاثیر افزایش غلظت عصاره اکالیپتوس است. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در بذر قیاق تحت تاثیر تیمار شاهد (۱۱/۳ نانومول بر میلی‌گرم پروتیین در دقیقه) و غلظت عصاره ۱۰ ٪ اکالیپتوس (۱۲/۰ نانومول بر میلی‌گرم پروتیین در دقیقه) به دست آمد در حالی که افزایش غلظت عصاره اکالیپتوس به ۴۰ و ۵۰ ٪ میزان فعالیت این آنزیم را به ۳/۵ و ۳/۱ نانومول بر میلی‌گرم پروتیین در دقیقه کاهش داد. آلفا امیلاز یک آنزیم کلیدی

Archive of SID

www.SID.ir

در بافت‌های گیاهی است که در تبدیل نشاسته به قندهای ساده مانند گلوکز نقش دارد. این آنزیم در تامین انرژی مورد نیاز برای مرحله جوانه‌زنی بذر و ریزوم گیاهان نقش اساسی دارد (Kato-Noguchi and Macias, 2008). ترکیبات اللوپاتیک با تاثیر منفی بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز سبب کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه لوبیا، ذرت و گوجه فرنگی شد (Cruz-Ortega *et al*., 2002). تخریب غشاهای سلولی، افزایش تنفس و کاهش فعالیت آنزیم‌های حیاتی مانند آلفا آمیلاز و ساکاروز سنتتاز از دلایل کاهش رشد گیاهان تحت تاثیر ترکیبات آللوپاتیک می‌باشد (Kato-Noguchi and Ino, 2001; Glenn *et al*., 2008; Lorenzo *et al*., 2011). با توجه به کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و افزایش تخریب غشاهای سلولی گیاهچه قیاق، کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه قیاق تحت تاثیر عصاره اکالیپتوس منطقی است زیرا کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز منجر به کاهش انتقال مواد ذخیره بذر به جوانه در حال رشد می‌شود.

کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت و تخریب غشاهای سلولی تحت تاثیر ترکیبات آللوپاتیک می‌تواند یکی از دلایل عمده کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه قیاق تحت تاثیر حضور مواد آللوپاتیک اکالیپتوس باشد. با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان گفت ترکیبات آللوپاتیک موجود در عصاره اکالیپتوس با تاثیر منفی بر سلامت غشاهای سلولی سبب کاهش وزن گیاهچه، کاهش فعالیت آلفا آمیلاز و افزایش تخریب غشا سلولی بافت گیاهچه قیاق شد. پیشنهاد می‌گردد جهت تکمیل این بررسی تحقیقات بیشتری پیرامون شناسایی و چگونگی عمل ترکیبات آللوپاتیک گیاه اکالیپتوس انجام شود تا بتواند راهگشای استفاده از ترکیبات این گیاه به عنوان یک علف کش زیستی باشد.

منابع

References

Agrawal, S., R. K. Sairam, G. C. Srivastavea, and A. Tyagi. **2005**. Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedling. Plant Sci. 169:559-570.

Ayyaz khan, M., and I. Hussain. 2008. Suppressing effect of Eucalyptus camaldulensis L. on germination and seedling growth of six weeds. Pak. J. Weed Sci. 14: 201-207.

Bazrafshan, F., A.R. Safahani langroudi, and H. Mosavinya. 2010. Study of allelopathic effects of different weeds on germination and seedling growth of wheat. J. Weed Res. 2(2):59-70.

Bohm, P. A. F., F. M. L. Zanardo, and O. Ferrarese. 2006. Peroxidase activity and lignification in soybean root growth-inhibition by juglone. Biol. Plant. 50 (2):315-317.

Chance, B., and A. C. Maehly. 1995. Assay of catalase and peroxidases. Method Enzymolo. 2:764-775.

Counce, P. A., and K. A. Gravois. 2006. Sucrose Synthase Activity as a Potential Indicator of High Rice Grain Yield. Crop Sci. 46:1501-1508.

Cruz-Ortega, R., G. Ayala-Cordero, and A. L. Anaya. 2002. Allelochemical stress produced by the aqueous leachate of *Callicarpa acuminata*: effects on roots of bean, maize and tomato. Physiology Plant. 116: 20-27.

Farhoudi, R., and D.J. Lee. 2012. Evaluation of safflower *(Carthamus tinctorius* L. cv. Koseh) extract on germination and induction of α-amylase activity of wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) seeds. Seed Sci and Technol. 40:2-6.

Farooq, M., K. Jabran, H. Rehman, and M. Hussain. 2008. Allelopathic effects of rice on seedling development in wheat, oat, barley and berseem. Allelopathy J. 22: 385-390.

Glenn, A. 2008. Allelopathic interference of invasive *Acacia dealbata* on the rice seedling growth, 5th World Congress on Allelopathy, New York, USA.

Archive of SID

www.SID.ir

Kato-Noguchi, H., and F. A Macias. 2008. Inhibition of germination and α-amylase induction by 6-methoxy-2-benzoxazolinone in twelve plant species. Biol. Plant. 52 (2): 351-354

Kato-Noguchi, H., and T. Ino. 2001. Assesment of allelopatic potential of root exudates of rice seedling. Biol. Plant. 44 (4):635-638.

Lorenzo, P., A. Palomera-Pe´rez, M. J. Reigosa, and L. Gonza´l. 2011. Allelopathic interference of invasive Acacia dealbata Link on the physiological parameters of native understory species. Plant Ecol. 212: 403-411.

Maffei, M., C. M. Bertea, F. Garneri, and S. Scanneri. 1999. Effect of benzoic acid hydroxy- and methoxy-ring substituents during cucumber (*Cucumis sativus* L.) germination. I. Isocitrate lyase and catalase activity. Plant Sci. 141:139-147.

Oracz, K., C. Bailly, A. Gniazdowska, D. Côme, D. Corbineau, and R. Bogatek. 2007. Induction of oxidative stress by sunflower phytotoxins in germinating mustard seeds. J. Chem. Ecol. 33:251-264.

Scott, S.J., R.A. Jones, and W.A. Williams. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. Crop Sci. 24:1192-1199.

Valentovic, P., M. Luxova, L.Kolarovi, and O. Gasparikora. 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relation in two maize. Plant, Soil and Environment. 52 (4):186-191.

Wu, H., J. Pratley, and T. Haig. 2000. Laboratory screening for allelopatic potential of wheat accessions against annual raygrass (*Luliom rigidum*). Aust. J. Agri. Res. 51:259-266.

Xiao. Z., R. Storms, and A.Tsang.2006. A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. Anal. Biochem. 351: 146-148.

Yu, J. Q., S. Fye, M .F. Zhang, and W.H. Hu. 2003. Effects of root exudates and aqueous root extract of cucumber and allelochemicals on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. Biolog. Syst. Ecol. 31:129-139.

Archive of SID

www.SID.ir