

بررسی اثر ترکیبات آللوپاتیک جو خودرو (*Hordeum spontaneum*) بر میزان پروتئینها، کربوهیدراتها و فعالیت برخی از آنزیمهای گندم (*Triticum aestivum* L.)

منیر حسین زاده، خدیجه کیارستمی*، مهتاب ایلخانی زاده و عدرا صبور

تهران، دانشگاه الزهرا، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۸۵/۸/۲۷ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۲/۱۰

چکیده

ترکیبات آلوشیمیایی آزاد شده از علفهای هرز با روشهای مختلف بر رشد و فیزیولوژی گیاهان اثر می گذارند. در این پژوهش بمنظور بررسی چگونگی اثر آلوکمیکالهای جو وحشی بر ارقام گندم، مقدار کربوهیدراتها، پروتئینها و فعالیت آنزیمهای دو رقم تجن (مقاوم به اثر آللوپاتی جو خودرو) و شیرودی (حساس به اثر آللوپاتی جو خودرو) در حضور عصاره آبی ۱۰ درصد این گیاه بررسی شد. عصاره آبی این علف هرز میزان پروتئین کل را در رقم تجن کاهش ولی در رقم شیرودی افزایش داد. در گیاهان تیمار شده، فعالیت آنزیمهای اسکوریات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز کاهش و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز افزایش یافت. تغییر در فعالیت پروتئاز وابسته به اندام بوده در برگ کاهش و در ریشه افزایش یافت. در حضور آلوکمیکال های جو خودرو، پلی ساکاریدهای برگ شیرودی و قندهای احیا کننده ریشه تجن افزایش یافت. الگوی الکتروفورزی آنزیمها نیز در گیاهان شاهد و تیمار شده یکسان نبودند که نشان دهنده تأثیرپذیری متفاوت آنزیمها از آلوکمیکالها است.

واژه‌های کلیدی: آللوپاتی، جو خودرو (*Hordeum spontaneum*)، گندم (*Triticum aestivum*)، آنزیم، پروتئین، کربوهیدرات.

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۸۸۰۵۸۹۱۲، پست الکترونیک: su_kiarostami@yahoo.com

مقدمه

قادر به تغییر عملکرد آنزیمهای ویژه ای می باشند. به عنوان مثال اسیدهای فنلی فعالیت آنزیم اکسین اکسیداز را تنظیم می کنند، مشتقات سینامیک اسید از فعالیت فنیل آلانین آمونیلایز جلوگیری کرده و در متابولیسم فنیل پروپانویدها نقش تنظیمی دارند (۳).

برخی از آنزیمهای تحت تأثیر قرار گرفته در جوانه زنی و رویش دانه وارد عمل می شوند به عنوان مثال کاهش در جوانه زنی دانه کاهو با کاهش فعالیت آمیلاز در حضور آلوکمیکال ها گزارش شده است (۱۴). آنزیمهای مسیر فسفات در مراحل اولیه جوانه زنی دانه وارد عمل می شوند و ترکیبات فنلی با جلوگیری از فعالیت آنزیمهای گلیکولیز و مسیر اکسیداتیو پنتوزفسفات مانع جوانه زنی دانه می شوند (۱۹). تغییر در فعالیت نترات ردوکتاز،

علفهای هرز علاوه بر رقابت بر سر جذب آب و مواد غذایی با آزاد کردن مواد شیمیایی رشد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می دهند. این مواد که به عنوان آلوشیمیایی ها شناخته شده اند با اثر بر تقسیم سلولی، تولید هورمونهای گیاهی و تعادل آنها، روابط آب، پایداری و نفوذپذیری غشاء، جذب یون، رویش دانه گرده، جذب مواد معدنی، حرکت روزنه، سنتز رنگیزه ها، فتوسنتز، تنفس، سنتز آمینو اسیدها، تثبیت نیتروژن، پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنزیمها بر رشد و نمو گیاهان زراعی اثر می گذارند (۲، ۸، ۹، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۹ و ۴۰).

عمل آلوکمیکال ها در سطوح مختلف ملکولی، ساختمانی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، فعالیت آنزیمی، تقسیم سلولی و فراساختار شناخته شده است. بسیاری از آلوکمیکال ها

لذا در این پژوهش به منظور بررسی مکانیسم اثر آللوپاتی جو خودرو بر گندم، اثر آللوپاتیک عصاره آبی جو خودرو بر میزان پروتئینها، الگوی الکتروفورزی و فعالیت آنزیمهای آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، پروتئاز و کاتالاز دو رقم تجن و شیرودی گندم زراعی بررسی شد.

مواد و روشها

تهیه نمونه: علف هرز جو خودرو در مراحل اولیه رویش (۱۵ روزه) از مناطق زراعی اطراف تهران جمع آوری شد.

بذرهای دو رقم گندم (تجن و شیرودی) نیز از مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه شدند.

تهیه عصاره آبی علف هرز: برای تهیه عصاره آبی، ده گرم از برگ و ریشه علف هرز در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت یک هفته خیسانده و محلول صاف شده مورد استفاده قرار گرفت.

برای بررسی اثر آللوپاتی بذرهای ارقام گندم به تعداد ۱۰ عدد در داخل پتری دیشهای واجد کاغذ صافی قرار گرفته و به آنها ۵ میلی لیتر عصاره آبی علف هرز اضافه شد. پتری دیشها در شدت نور ۴۰۰۰ لوکس و در دمای $2 \pm$ ۲۵ درجه سانتی گراد با فتوپریود ۱۶ ساعت قرار گرفتند و پس از یک هفته برای آنالیز مورد استفاده واقع شدند.

در استخراج قندها به ۰/۲ گرم از نمونه پودر شده ده برابر میزان نمونه اتانول ۸۰ درصد اضافه و به مدت ۵۰ ثانیه ورتکس شد. محلول حاصل سه تا چهار بار به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و روشناورها جدا شدند. از تفاله های باقیمانده در ته لوله برای استخراج پلی ساکاریدها استفاده گردید. مجموع روشناورها تبخیر و باقیمانده ته ظرف با ۴۰ میلی لیتر آب مقطر نیمه گرم شسته و در دو لوله سانتریفوژ تقسیم شد. به هر لوله ۱۰ میلی لیتر باریم هیدروکسید ۰/۳ نرمال و ۱۰ میلی لیتر محلول سولفات روی ۵ درصد اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه با دستگاه

گلوتامین سنتتاز، فیل آلانین آمونیا لیاز، تیروزیناز نیتروژناز و سایر آنزیمها نیز گزارش شده است (۴، ۱۰، ۱۸، ۲۴، ۲۵ و ۳۵).

فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان نیز تحت تأثیر مواد آلوشیمیائی قرار می گیرد و تغییر در فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان تحت تأثیر آللوکمیکال ها توسط افراد مختلف گزارش شده است. در بین آنزیمهای مطالعه شده در مواردی آللوکمیکال ها باعث کاهش و در مواردی باعث افزایش فعالیت آنزیم شده اند و تغییر در فعالیت پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، اکسین اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در حضور عصاره آبی گیاهان مختلف و ترکیبات آلوشیمی مختلف مشاهده شده است (۱۲، ۱۸، ۲۱، ۳۲، ۳۵ و ۳۸) آللوکمیکال ها بر سنتز پروتئینها نیز اثر می گذارند و باعث افزایش یا کاهش میزان پروتئین می شوند (۳۴، ۳۸ و ۳۹).

گندم یکی از محصولات اصلی و استراتژیک کشور ما است که در سالهای اخیر توسعه سطح زیرکشت آن مورد توجه زیادی واقع شده است اما همواره کشت این گیاه با مشکلات و خطرات مربوط به حضور علفهای هرز همراه بوده است. علفهای هرز علاوه بر اثر رقابتی به دلیل ترشح آللوکمیکال ها رشد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می دهند. جو خودرو یکی از علفهای هرز شایع مزارع گندم است که با اثر آللوپاتی و رقابتی خود بر جوانه زنی و رشد گندم اثر می گذارد.

علی رغم مطالعات زیادی که در زمینه اثر آللوکمیکال ها صورت گرفته است در باره مکانیسم عمل و فیزیولوژی تأثیر آللوکمیکال ها اطلاعات زیادی وجود ندارد. همچنین با وجود این که جو خودرو یکی از علفهای هرز شایع مزارع گندم است در زمینه اثر آللوپاتیک این گیاه بر گندم کارهای زیادی انجام نشده است.

میلی لیتر رسانده شد. این محلول در دمای آزمایشگاه نگهداری می شود.

پ- محلول آرسینومولیدات: برای تهیه محلول فوق ابتدا محلولهای زیر به صورت جدا گانه و در ظروف تیره تهیه گردیدند:

محلول ۱: ۲۵ گرم از آمونیوم مولیدات در ۴۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل و به آن ۲۱ میلی لیتر سولفوریک اسید غلیظ اضافه شد.

محلول ۲: ۳ گرم از سدیم آرسنات در ۲۵ میلی لیتر آب مقطر حل شد.

محلول های ۱ و ۲ با هم مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. این محلول در دمای آزمایشگاه قابل نگهداری است.

ت- محلول کوئیوروسدیک: این محلول به صورت تازه هنگام مصرف با مخلوط کردن ۲۵ میلی لیتر محلول سدیک و یک میلی لیتر محلول کوئیوریک تهیه شد.

برای سنجش قندهای احیاءکننده به لوله آزمایش حاوی یک میلی لیتر عصاره یک میلی لیتر محلول کوئیوروسدیک اضافه شد و پس از ورتکس به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از سرد شدن لوله ها و رسیدن به دمای اتاق به هر لوله یک میلی لیتر محلول آرسینومولیدات اضافه و حجم آنها با آب مقطر به ۱۲/۵ میلی لیتر رسید. جذب نمونه ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر فیلیپس مدل PU 8620 در طول موج ۵۰۰ نانومتر بررسی شد. در نهایت مقدار قند های احیاءکننده به صورت درصد وزن خشک (DW %) محاسبه شد (۳۷).

سنجش پلی ساکاریدها: برای سنجش الیگو ساکارید ها و قند های پلی ساکاریدی از روش فنل سولفوریک اسید استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظتهای ۰ تا ۷۰ میکروگرم در میلی لیتر گلوکز استفاده شد. ۰/۵ میلی

سانتریفوژ Beckman مدل LE80k سانتریفوژ شدند. سپس روشنآور جدا شده و باقیمانده با ۸ میلی لیتر آب مقطر حل و دوباره سانتریفوژ گردید. مجموع روشنآورها جمع آوری و به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسید. از این عصاره برای سنجش قند های احیاءکننده استفاده شد (۲۲).

برای استخراج قندهای پلی ساکاریدی تفاله های خشک شده حاصل از عصاره گیری الکلی به ارلن انتقال یافت و به آن حدود ۴۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. ارلن به مبرد وصل و به مدت ۱۰ دقیقه در حال جوش نگه داشته شد. پس از آن محتویات درون ارلن با کاغذ صافی صاف و عصاره گیری بر روی تفاله ها با ۴۰ میلی لیتر آب مقطر در حال جوش به مدت ۱۰ دقیقه تکرار شد. محلول صاف شده به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسید و از آن برای سنجش قندهای پلی ساکاریدی استفاده شد (۲۲).

سنجش قندهای احیاءکننده: برای سنجش قند های احیاءکننده از روش Somogy (۱۹۵۲) استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظتهای صفر تا ۳۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر (صفر تا ۰/۳ میلی گرم در میلی لیتر) گلوکز استفاده شد.

برای سنجش قندهای احیاءکننده محلول های زیر تهیه گردید:

الف- محلول سدیک: برای تهیه محلول سدیک ۲۵ گرم کربنات سدیم بدون آب، ۲۵ گرم سدیم پتاسیم تارتارات، ۲۰ گرم سدیم تیروزن کربنات و ۲۰۰ گرم سولفات سدیم وزن و در حدود ۶۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد و به حجم یک لیتر رسید. این محلول را باید در دمای بالاتر از ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری کرد.

ب- محلول کوئیوریک: ۱۵ گرم سولفات مس در حدود ۸۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. به محلول فوق ۱-۲ قطره سولفوریک اسید اضافه و حجم آن با آب مقطر به ۱۰۰

لیتر عصاره آنزیمی (برگ یا ریشه) افزوده و منحنی تغییرات جذب در ۲۹۰ نانومتر بررسی گردید (۳).

ب - پراکسیداز: ۲ میلی لیتر تامپون استات ۰/۲ مولار، ۰/۲ میلی لیتر آب اکسیژنه ۱۴/۷ درصد و ۰/۲ میلی لیتر بنزیدین ۰/۰۱ مولار محلول در متانل ۵۰ درجه در دمای صفر درجه سانتی گراد مخلوط و ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه شد و جذب آن به مدت ۳ دقیقه یا بیشتر در ۵۳۰ نانومتر بررسی گردید. فعالیت آنزیم بر حسب واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین محاسبه گردید (۱۶).

ج - پروتئاز: ۰/۵ میلی لیتر کازئین هیدرولیز شده (۱ درصد با $\text{pH} = 6$) و ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی به مدت یک ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد نگهداری و سپس برای توقف واکنش ۰/۱ میلی لیتر TCA (تری کلرواستیک اسید) ۴۰ درصد به آن اضافه گردید. سپس جذب آنها در طول موج ۲۸۰ نانومتر بررسی شد (افزایش میزان جذب در پایان دوره خوابانیدن نسبت به شروع آن نشان دهنده میزان فعالیت پروتئازی می باشد که بر حسب تغییر جذب به ازای یک میلی گرم پروتئین پس از یک ساعت محاسبه می گردد) برای هر آنزیم یک نمونه کنترل در نظر گرفته شد (۲۷).

د - پلی فنل اکسیداز: ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ M با $\text{pH} = 6/8$ ، ۰/۲ میلی لیتر پیروگالال ۰/۰۲ مولار، ۰/۲ میلی لیتر عصاره آنزیمی به ترتیب به یک لوله آزمایش در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد اضافه و بلافاصله تغییرات جذب در طول موج ۴۳۰ نانومتر بررسی شد (۳۰).

ه - کاتالاز: ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با $\text{pH} = 7/3$ ، ۰/۳ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد در حمام یخ با یکدیگر مخلوط شده بلافاصله ۰/۲ میلی لیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۲ تا ۵ دقیقه بررسی شد (۱).

لیتر از عصاره ها پس از انتقال به لوله های آزمایش با آب مقطر به حجم دو میلی لیتر رسید، به هر لوله یک میلی لیتر محلول فنل ۵ درصد اضافه و کامل همزده شد. بلافاصله به هر لوله ۵ میلی لیتر سولفوریک اسید غلیظ به آرامی و در مدت ۱۵-۲۰ ثانیه آرام آرام اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه به حال خود گذاشته شدند، سپس جذب آنها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر فیلیپس مدل PU 8620 در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد و به صورت درصد وزن خشک (DW %) محاسبه گردید (۷).

استخراج پروتئین: برای استخراج پروتئین از بافر تریس گلیسین با $\text{pH} = 8/3$ به نسبت (v/w) ۱:۳ استفاده شد. نمونه های گیاهی پس از برداشت در دمای صفر درجه سانتی گراد با بافر هموزن شده سپس در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت در ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه با دستگاه سانتریفوژ Beckman مدل LE_{80k} سانتریفوژ گردید.

سنجش پروتئین: برای سنجش مقدار کمی پروتئین نمونه ها از روش Bradford استفاده شد. ۰/۱ میلی لیتر عصاره پروتئینی با ۵ میلی لیتر معرف Bradford مخلوط و پس از ورتکس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه باقی ماند و سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه گیری شد و بر اساس منحنی استاندارد رسم شده غلظت پروتئین محاسبه گردید (۵).

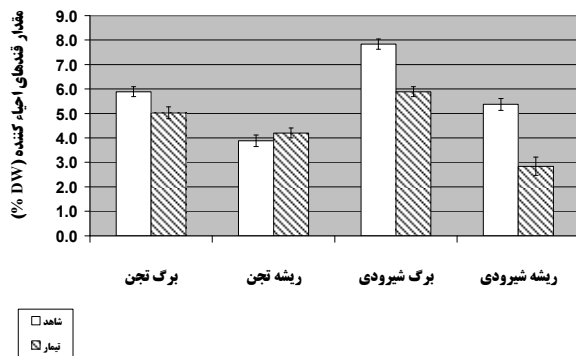
رسم منحنی استاندارد: منحنی استاندارد سنجش پروتئین با استفاده از غلظتهای مختلف صفر تا ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر سرم آلبومین گاوی به عنوان پروتئین استاندارد رسم گردید.

بررسی فعالیت آنزیمها: الف - آسکوربات پراکسیداز: ۲ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ M با $\text{pH} = 6/5$ ، ۰/۲ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد، ۰/۲ میلی لیتر آسکوربات ۵ میکرومول را در حمام یخ مخلوط کرده بلافاصله ۰/۱ میلی

لیترکلسیم کلراید ۷۳/۵ درصد برای آشکار سازی نوارهای آنزیمی مربوط به پلی فنل اکسیداز بر روی ژل ۱۰ درصد مورد استفاده قرار گرفت. ژلها تا زمان آشکار شدن نوارهای آنزیمی خاکستری رنگ در دمای اتاق و تاریکی قرار داده شده، سپس شسته و در آب مقطر نگهداری گردید (۳۹).

نتایج

نتایج حاصل از بررسی اثر آللوپاتی عصاره آبی *H. spontaneum* بر روی تغییرات مقدار قندهای احیاءکننده: در ارقام گندم تحت تأثیر تیمار با عصاره آبی *H. spontaneum* مقدار قندهای احیاءکننده برگ رقم تجن و برگ و ریشه رقم شیرودی کاهش یافت ولی مقدار قندهای احیاءکننده ریشه رقم تجن افزایش یافت (شکل ۱ و جدول ۱).



شکل ۱- نمودار تغییرات مقدار قندهای احیاءکننده در ارقام گندم تحت تأثیر عصاره آبی *H. spontaneum*

نتایج حاصل از بررسی اثر آللوپاتی عصاره آبی *H. spontaneum* بر روی تغییرات مقدار پلی ساکاریدها: بر اساس نتایج حاصل تیمار با عصاره آبی *H. spontaneum* موجب کاهش میزان پلی ساکاریدهای برگ و ریشه شد ولی مقدار پلی ساکاریدهای برگ رقم شیرودی افزایش یافت (شکل ۲ و جدول ۲).

ظهور آسکوربات پراکسیداز بر روی ژل: ژلهای پلی اکریل آمیدی ۱۰ درصد پس از خارج شدن از دستگاه به محلولهای زیر در چند مرحله انتقال یافتند:

در مرحله اول محلول بافر فسفات، pH=7، ۱۵۰ میلی لیتر و آسکوربات ۰/۰۵۹۴۳ گرم آماده و به مدت ۳۰ دقیقه ژلها در محلول قرار گرفتند هر ۱۰ دقیقه یک بار محلول عوض شد (این عمل در تاریکی و روی شیکر انجام شد). در مرحله دوم از ۵۰ میلی لیتر بافر فسفات با pH=7 همراه با ۰/۰۳۹۶۲ گرم آسکوربات و ۱۱/۳۶ میکرولیتر آب اکسیژنه استفاده شده و ژلها ۲۰ دقیقه در این محلول و در تاریکی و روی شیکر قرار گرفتند. سپس با بافر فسفات pH=7 در مدت یک دقیقه شسته شده و به محلول زیر منتقل گردید.

۵۰ میلی لیتر بافر فسفات با pH=7/۸، ۲۱۱ میکرولیتر TEMED و ۵۰ میلی گرم NBT (Nitro Blue Tetrazolium)

ژلها تا ظهور باندهای بی رنگ در زمینه بنفش تیره در محلول فوق قرار گرفتند. برای غیر فعال کردن آنزیم، ژلها با آب مقطر شسته و در استیک اسید ۱۰ درصد برای چندین ماه نگهداری می شود (۴۳).

ظهور پراکسیداز بر روی ژل: برای ظهور نوارهای آنزیمی با فعالیت پراکسیدازی بر روی ژلهای پلی آکریل آمیدی ۱۰ درصد محلول زیر آماده ۸۰ میلی لیتر بافر سدیم استات ۰/۲ مولار با pH=5، ۸ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۴ میلی لیتر بنزیدین ۰/۰۴ مولار در متانول ۵۰ درصد شده و ژلها حداقل به مدت ۲ تا ۳ ساعت و یا بیشتر تا زمان آشکار شدن نوارهای قرمز مایل به قهوه ای در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتی گراد در محلول نگهداری شد، سپس شسته و در آب مقطر ذخیره گردید (۳۹).

- **ظهور پلی فنل اکسیداز بر روی ژل:** محلول ۵۰ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH=6/۸، ۲۰ میلی لیتر ۳-و-۴ دی هیدروکسی فنیل آلانین (L-DOPA) ۰/۷ میلی

جدول ۱- تجزیه و تحلیل واریانس داده های مربوط به مقدار قندهای احیاء کننده ارقام گندم تحت تأثیر تیمار با *Hordeum spontaneum*

رقم	اندام	مقدار قندهای احیاء کننده بر حسب درصد وزن خشک (% DW)			شاهد	تیمار	نوع آزمون T-Test
		میانگین	انحراف معیار	P-Val			
تجن	برگ	۵/۸۸۳	۰/۲۰۲۰۷	۵/۰۲۵	۰/۲۳۸۴۸	۰/۰۰۲**	
	ریشه	۳/۸۸	۰/۲۳۷۸۵	۴/۲۰۱	۰/۲۰۲۵۱	۰/۳۰۵	
شیرودی	برگ	۷/۸۳	۰/۲۰۸۱۷	۵/۸۸	۰/۲۰۲۰۷	۰/۰۰۳**	
	ریشه	۵/۳۶۶	۰/۲۴۶۶۴	۲/۸۴	۰/۳۷۶۶	۰/۰۱۰*	

*، ** : به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

جدول ۲- تجزیه و تحلیل واریانس داده های مربوط به مقدار پلی ساکاریدهای ارقام گندم تحت تأثیر شاهد و تیمار با *Hordeum spontaneum*

رقم	اندام	مقدار پلی ساکاریدها بر حسب درصد وزن خشک (% DW)			شاهد	تیمار	نوع آزمون T-Test
		میانگین	انحراف معیار	P-Val			
تجن	برگ	۴/۶	۰/۴۹۲۴۴	۳/۱۵	۰/۰۰۰۰	۰/۰۳۶*	
	ریشه	۵/۱	۰/۳۵۰۰۰	۴/۸	۰/۱۰۴۰۸	۰/۴۱۳	
شیرودی	برگ	۳/۳۵	۰/۱۰۰۰۰	۴/۵۱۶	۰/۸۴۶۰۷	۰/۱۲۳	
	ریشه	۷/۴۳	۰/۰۷۶۳۸	۵/۳۶	۰/۲۰۸۱۷	۰/۰۰۶**	

*، ** : به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

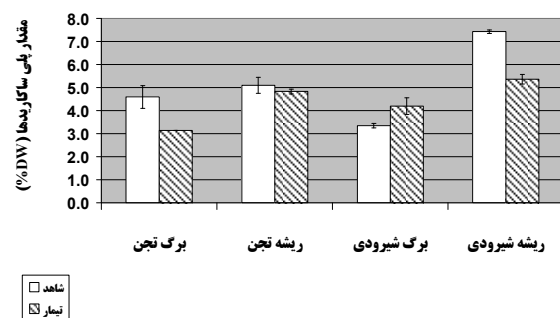
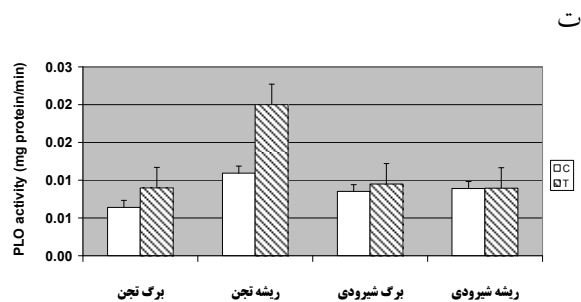
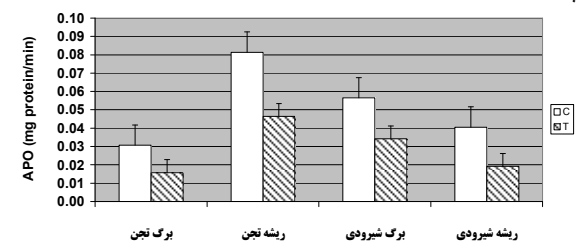
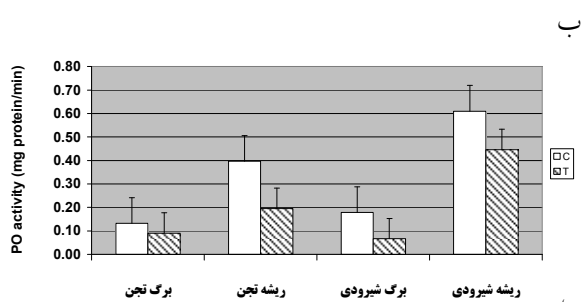
جدول ۳- تجزیه و تحلیل واریانس داده های مربوط به میزان پروتئین ارقام گندم تحت تأثیر تیمار با *Hordeum spontaneum*

رقم	اندام	مقدار پروتئین (میلی گرم پروتئین در هر گرم وزن تر)			شاهد	تیمار	نوع آزمون T-test
		میانگین	انحراف معیار	p-val			
تجن	برگ	۱/۴۸۳	$1/16 \times 10^{-2}$	۱/۰۲۷۸	$5/11 \times 10^{-2}$	۰/۰۰۶	
	ریشه	۱/۰۱۳	۰/۱۰۹۳	۰/۷۰۰۴	$2/07 \times 10^{-2}$	۰/۰۴۴	
شیرودی	برگ	۰/۸۴۹	$5/55 \times 10^{-2}$	۰/۹۲۲۷	$4/38 \times 10^{-2}$	۰/۰۶۳	
	ریشه	۱/۰۳۷	$1/67 \times 10^{-2}$	۱/۳۲۹	$5/32 \times 10^{-2}$	۰/۰۱۵	

*، ** : به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

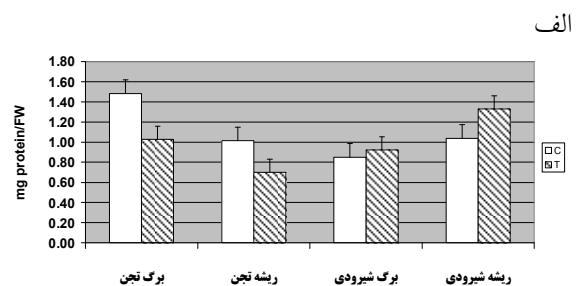
جدول ۴- تجزیه و تحلیل واریانس داده‌های مربوط به میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ارقام گندم تحت تأثیر تیمار با عصاره آبی *Hordeum spontaneum* * * * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

نوع آزمون T-test	تیمار	شاهد	فعالیت پراکسیداز (بر حسب میلی گرم پروتئین در دقیقه)	آسکوربات
p-val	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین
۰/۱۸۸	$7/90 \times 10^{-3}$	$1/57 \times 10^{-2}$	$8/60 \times 10^{-3}$	$3/07 \times 10^{-2}$
۰/۰۴۱	$3/27 \times 10^{-3}$	$4/64 \times 10^{-2}$	$1/04 \times 10^{-2}$	$8/14 \times 10^{-2}$
۰/۴۲۰	$1/69 \times 10^{-2}$	$3/41 \times 10^{-2}$	$2/61 \times 10^{-2}$	$5/65 \times 10^{-2}$
۰/۱۲۹	$1/48 \times 10^{-2}$	$1/92 \times 10^{-2}$	۰/۰۰۰	$4/05 \times 10^{-2}$



شکل ۲- نمودار تغییرات مقدار پلی ساکاریدها در ارقام گندم تحت تأثیر آللوپاتی *Hordeum spontaneum*

- نتایج حاصل از بررسی اثر آللوپاتی عصاره آبی جو خودرو بر روی تغییرات مقدار پروتئین: نتایج حاصل از اندازه گیری میزان پروتئین ارقام گندم نشان داد که میزان پروتئین برگ و ریشه در رقم تجن (بر حسب میلی گرم پروتئین در هر گرم وزن تر) تحت تأثیر تیمار کاهش و در رقم شیرودی افزایش یافت (شکل ۳ الف و جدول ۳).

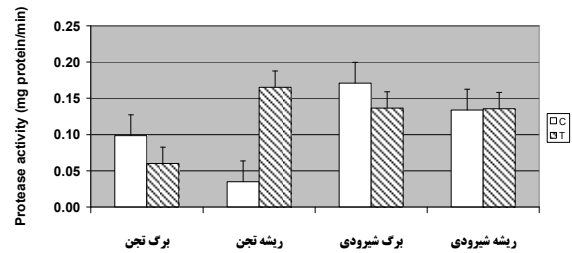


ج

آنزیمهای آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز (بر حسب میلی گرم پروتئین در دقیقه) کاهش یافت (شکل ۳ ب، پ، ت و جداول ۴، ۵ و ۷).

میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در برگ و ریشه ارقام تجن و شیرودی تیمار شده با عصاره جو خودرو افزایش یافت (شکل ۳ ت و جدول ۶).

میزان فعالیت آنزیم (بر حسب میلی گرم پروتئین در دقیقه) در برگ ارقام تجن و شیرودی تحت تأثیر تیمار کاهش و در ریشه ارقام فوق افزایش یافت (شکل ۳ ج و جدول ۸).



شکل ۳- نمودار تغییرات میزان پروتئین(الف) و فعالیت آنزیمهای آسکوربات پراکسیداز(ب)، پراکسیداز(پ)، پلی فنل اکسیداز(ت)، کاتالاز(ث) و پروتئاز(ج) در ارقام گندم تحت تأثیر عصاره آبی *Hordeum spontaneum* (شاهد □ تیمار ▨) نتایج حاصل از بررسی اثر آللوپاتی عصاره آبی جو خودرو بر روی میزان فعالیت آنزیمها: در برگ و ریشه گیاهان تیمار شده با عصاره آبی جو خودرو فعالیت

جدول ۵- تجزیه و تحلیل واریانس داده‌های مربوط به میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ارقام گندم تحت تأثیر شاهد و تیمار با *Hordeum spontaneum* *، ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

نوع آزمون T-test	تیمار	شاهد		فعالیت پراکسیداز (بر حسب میلی گرم پروتئین در دقیقه)	
		میانگین	انحراف معیار	میانگین	اندام
p-val	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	رقم
۰/۰۸۱	$8/055 \times 10^{-3}$	$9/00 \times 10^{-2}$	$2/78 \times 10^{-2}$	۰/۱۳۱۸	برگ
۰/۰۵۹	$2/97 \times 10^{-2}$	۰/۱۹۴۸	$5/90 \times 10^{-2}$	۰/۳۹۶۲	تجن ریشه
۰/۰۱۲	$7/33 \times 10^{-3}$	$6/61 \times 10^{-2}$	$2/80 \times 10^{-2}$	۰/۱۷۸۴	برگ
۰/۴۷۹	۰/۱۷۹۲	۰/۴۴۵۹	۰/۱۵۳۵	۰/۶۰۹۴	شیرودی ریشه

جدول ۶- تجزیه و تحلیل واریانس داده‌های مربوط به میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز ارقام گندم تحت تأثیر شاهد و تیمار با *Hordeum spontaneum* *، ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

نوع آزمون T-test	تیمار	شاهد		فعالیت پلی فنل اکسیداز (بر حسب میلی گرم پروتئین در دقیقه)	
		میانگین	انحراف معیار	میانگین	اندام
p-val	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	رقم
۰/۱۶۷	$1/11 \times 10^{-3}$	$9/00 \times 10^{-3}$	$1/05 \times 10^{-3}$	$6/40 \times 10^{-3}$	برگ
۰/۰۷۳	$4/32 \times 10^{-3}$	$2/00 \times 10^{-2}$	$5/05 \times 10^{-4}$	$1/09 \times 10^{-2}$	تجن ریشه
۰/۲۷۶	$4/69 \times 10^{-4}$	$9/48 \times 10^{-3}$	$9/88 \times 10^{-4}$	$8/51 \times 10^{-3}$	برگ
۰/۹۸۳	$1/30 \times 10^{-4}$	$8/95 \times 10^{-3}$	$2/09 \times 10^{-3}$	$8/92 \times 10^{-3}$	شیرودی ریشه

جدول ۷- تجزیه و تحلیل واریانس داده‌های مربوط به میزان فعالیت آنزیم کاتالاز ارقام گندم تحت تأثیر شاهد و تیمار با *Hordeum spontaneum*

رقم	اندام	میانگین	فعالیت کاتالاز		نوع آزمون T-test
			شاهد	تیمار	
تجن	برگ	۰/۱۵۹۷	$2/83 \times 10^{-2}$	$4/28 \times 10^{-3}$	p-val
	ریشه	$3/38 \times 10^{-2}$	$7/04 \times 10^{-3}$	$7/29 \times 10^{-3}$	۰/۰۷۲
شیرودی	برگ	$7/83 \times 10^{-2}$	$1/18 \times 10^{-2}$	$2/24 \times 10^{-2}$	۰/۹۱۶
	ریشه	۰/۱۹۲۸	$7/52 \times 10^{-3}$	۰/۱۱۸۰	۰/۹۷۱

*، **، *** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

بررسی الگوی الکتروفورزی آنزیمها:

شیرودی تیمار شده تعداد ایزوفرما کاهش یافت و ایزوفرماهای ۲، ۶ و ۷ وجود نداشتند. در ریشه نمونه های شاهد و تحت تیمار رقم تجن تفاوتی از نظر الگوی ایزوفرمی مشاهده نشد. در رقم شیرودی ایزوفرماهای ۴، ۷، ۱۱ و ۱۲ در ریشه گیاهان شاهد و تحت تیمار یکسان بودند ولی نوارهای شماره ۱، ۲، ۹ و ۱۰ در گیاهان تحت تیمار کم رنگ تر بودند. همچنین ایزوفرم شماره ۶ در ریشه تیمار شده دیده نشد و ایزوفرم شماره ۳ در ریشه شاهد کم رنگ تر بود. ایزوفرم شماره ۵ در ریشه نمونه های شاهد دیده نشد (شکل ۴ الف).

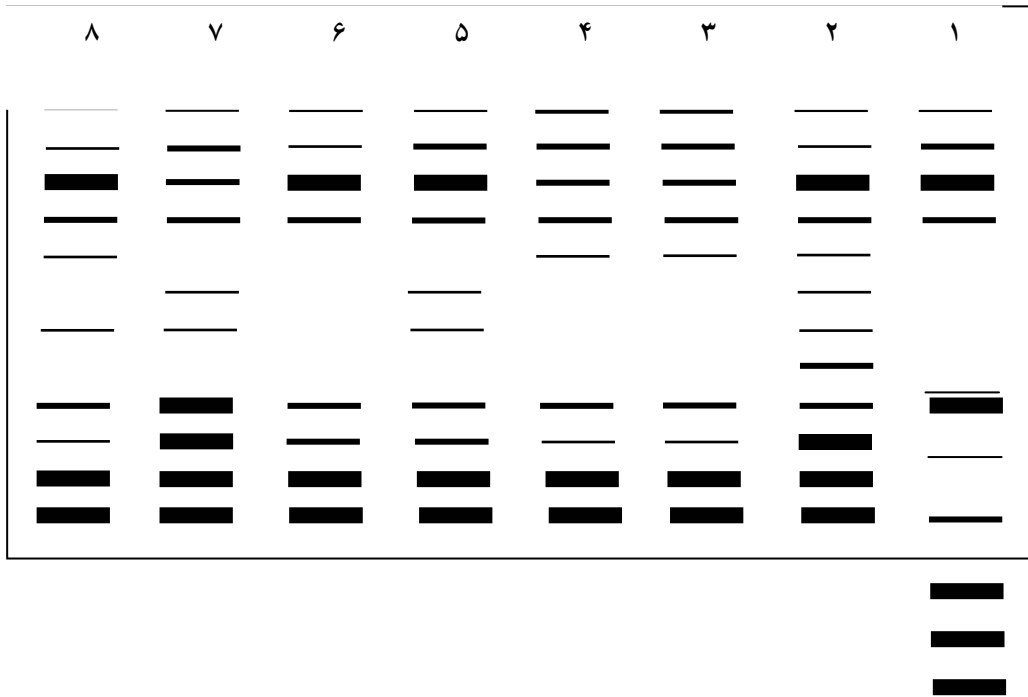
الف- آسکوربات پراکسیداز: مقایسه نیمرخ الکتروفورزی آسکوربات پراکسیدازهای دو رقم گندم حضور ۱۲ ایزوفرم را نشان داد که از شماره ۱ تا ۱۲ شماره گذاری شدند. این ایزوفرماها به ترتیب Rm برابر ۰/۰۱۳۶۳، ۰/۰۲۷۲۷، ۰/۰۴۵۴۵، ۰/۰۷۲۷۲، ۰/۱، ۰/۱۲۷۲، ۰/۱۴۵۴، ۰/۲۶۳۶، ۰/۴۴۵۴، ۰/۴۹۰۹، ۰/۶۴۵۴ و ۰/۶۸۱۸ داشتند. ایزوفرماهای شماره ۲ و ۹ در برگ تجن تیمار شده کم رنگ تر بودند که نشان دهنده فعالیت کمتر آنها است. یک ایزوفرم اضافی (شماره ۵) در برگ تجن تحت تیمار مشاهده شد. در برگ

جدول ۸- تجزیه و تحلیل واریانس داده‌های مربوط به میزان فعالیت آنزیم پروتئاز ارقام گندم تحت تأثیر شاهد و تیمار با *Hordeum spontaneum*

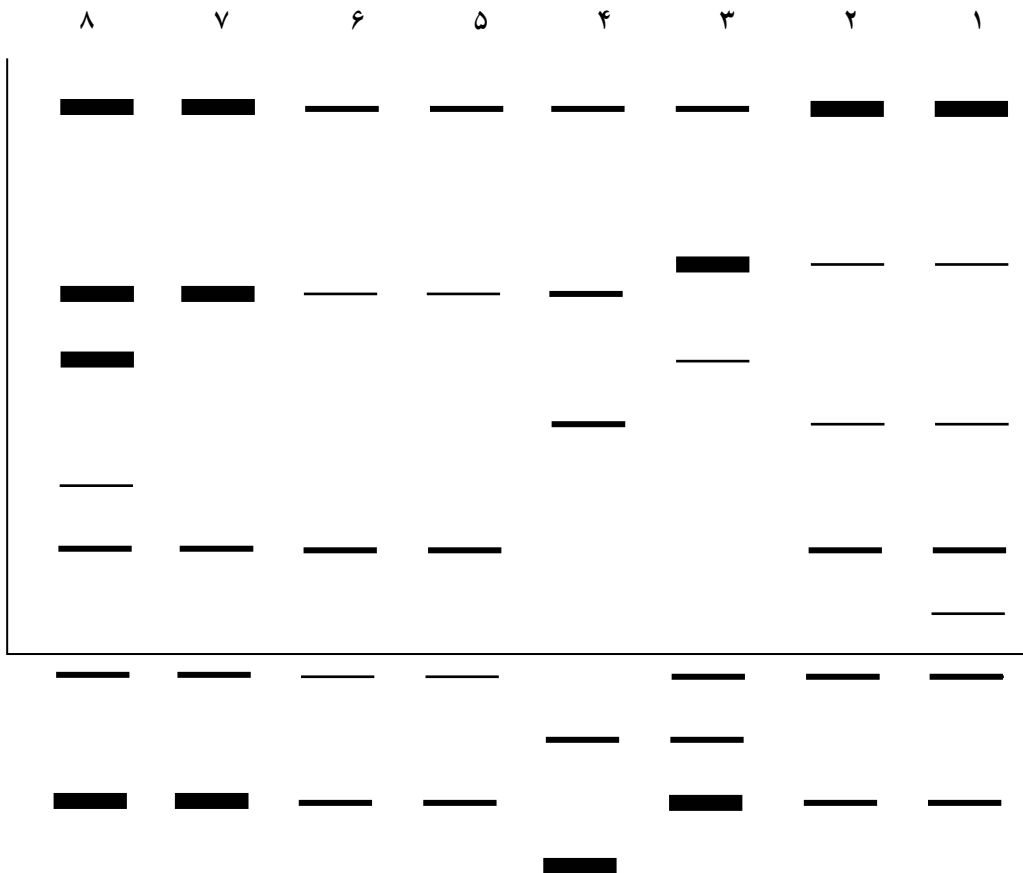
رقم	اندام	میانگین	فعالیت پروتئاز		نوع آزمون T-test
			شاهد	تیمار	
تجن	برگ	$9/84 \times 10^{-2}$	$2/11 \times 10^{-2}$	$1/56 \times 10^{-2}$	p-val
	ریشه	$3/49 \times 10^{-2}$	$1/82 \times 10^{-3}$	$5/100 \times 10^{-4}$	۰/۰۰۰
شیرودی	برگ	۰/۱۷۰۸	$2/98 \times 10^{-2}$	$1/01 \times 10^{-2}$	۰/۱۵۲
	ریشه	۰/۱۳۳۶	$3/88 \times 10^{-2}$	$6/02 \times 10^{-3}$	۰/۹۳۳

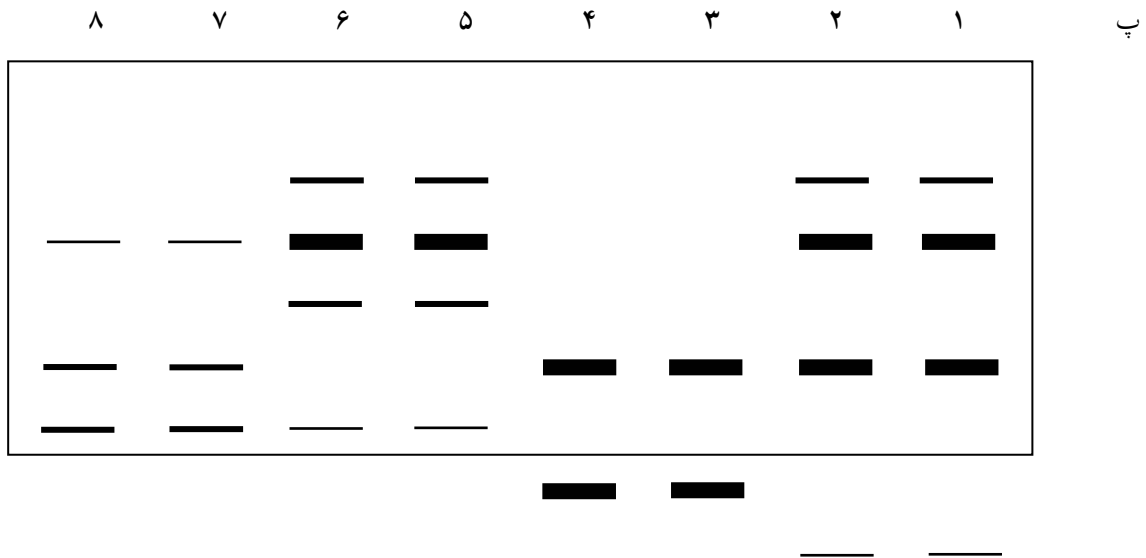
*، **، *** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

الف



ب





شکل ۴- الگوی الکتروفورزی آنزیمهای آسکوربات پراکسیداز (الف)، پراکسیداز(ب)، پلی فنل اکسیداز (پ) در ارقام گندم تحت تأثیر عصاره آبی *Hordeum spontaneum* او ۲ برگ تجن شاهد و تیمار، ۳ و ۴ ریشه تجن شاهد و تیمار، ۵ و ۶- برگ شیرودی شاهد و تیمار، ۷ و ۸- ریشه شیرودی شاهد و تیمار

۰/۱۴۵۴، ۰/۲۰۹۰، ۰/۲۴۵۴ و ۰/۶۱۸۱ داشتند. تفاوتی بین این ایزوفرمها در برگ و ریشه نمونه های شاهد و تحت تیمار دو رقم مشاهده نشد اما الگوی ایزوفرمی در دو رقم و در برگ و ریشه متفاوت بود. (شکل ۴پ).

بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش اثر آللوپاتی جو خودرو بر فعالیت آنزیمها و پروتئینهای گندم بررسی شد و بر اساس نتایج حاصل فعالیت آنزیمهای مختلف در ریشه و برگ و ارقام مختلف به میزان یکسان تحت تأثیر قرار نگرفت. همچنین تغییرات میزان پروتئین در ریشه و برگ متفاوت بود.

ترکیبات آللوپاتیک عصاره آبی جو وحشی موجب تغییر مقدار پروتئینهای گندم می شود و این تغییر در ارقام حساس و مقاوم یکسان نیست، به طوری که در رقم تجن (رقم مقاوم) میزان پروتئین برگ و ریشه تحت اثر عصاره آبی جو وحشی کاهش یافت و این کاهش در ریشه محسوس تر بود. در رقم شیرودی (رقم حساس به اثر

ب- پراکسیداز: مقایسه الگوی الکتروفورزی پراکسیدازهای دو رقم گندم حضور ۱۲ ایزوفرم را نشان داد. این ایزوفرمها به ترتیب Rm برابر ۰/۰۲، ۰/۰۵، ۰/۰۷، ۰/۱۴، ۰/۱۶، ۰/۳۲، ۰/۴۲، ۰/۴۵، ۰/۴۷، ۰/۴۹، ۰/۵۷ و ۰/۵۹ داشتند. ایزوفرم شماره ۸ تنها در برگ تجن و ایزوفرمهای ۲، ۴، ۹ و ۱۱ فقط در ریشه تجن نمونه های شاهد ظاهر می شد. همچنین ایزوفرمهای شماره ۳، ۵ و ۱۲ فقط در ریشه تجن تیمار شده وجود داشت. پراکسیدازهای برگ رقم شیرودی در گیاهان تیمار شده و شاهد تفاوتی نداشت. ایزوفرمهای ۴ و ۶ در ریشه شیرودی تحت تأثیر تیمار بیان می شدند درحالی که در نمونه های شاهد ریشه شیرودی مشاهده نگردید (شکل ۴-ب).

ج - پلی فنل اکسیداز: مقایسه نیمرخ الکتروفورزی پلی فنل اکسیدازهای دو رقم گندم تحت تأثیر تیمار با جو خودرو و آب مقطر حضور ۷ ایزوفرم را نشان داد. این ایزوفرمها به ترتیب Rm برابر ۰/۰۳۱۸، ۰/۰۸۱۸، ۰/۱۲۷۲،

متصل به دیواره ریشه دانه رسته‌های ۷ روزه *Cucumber* در تیمار با فرولیک و P-کوماریک اسید افزایش یافت (۳۳).

کاهش در فعالیت کاتالاز نیز توسط محققین مختلف مشاهده شده است. بنزوئیک اسیدهای هیدروکسیلی در اثر شستشو از برگ خارج می‌شوند و فعالیت کاتالاز را افزایش می‌دهند (۱۸) عصاره آبی *Wedelia trilobata* از فعالیت کاتالاز در گیاه کلم جلوگیری کرد (۲۳)

آلوکمیخال‌ها تنش اکسیداتیو ثانوی ایجاد می‌کنند و تولید انواع کنش در اکسیژن و رادیکالهای آزاد را افزایش می‌دهند و موجب کاهش سیستم آنتی‌اکسیدان سلولی می‌شوند. بقای گیاه در شرایط تنش آلوپاتی به سیستم دفاعی گیاه بستگی دارد که به سم زدائی آلوکمیخال‌ها منجر می‌شود (۱۱) کاهش در فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدان را می‌توان به سمیت بالای آلوکمیخال‌ها و کاهش سیستم دفاعی سلول نسبت داد.

افزایش فعالیت پلی‌فنل اکسیداز مشاهده شده در پژوهش حاضر با افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی مطابقت دارد. مطالعه جوانه زنی دانه‌های خردل در عصاره آبی ۱۰ درصد آفتابگردان نشان داد که فعالیت آنزیمهای سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون ردوکتاز افزایش یافته و علی‌رغم فعال شدن آنزیمها میزان اکسیژن واکنشگر افزایش یافت (۲۷). به نظر می‌رسد این آنزیم در مقابل تنش آلوپاتی مقاوم بوده و با افزایش فعالیت در برگ سم زدائی بیشتری را در این بافت موجب می‌شود.

آلوکمیخال‌ها به گروههای مختلفی از ترکیبات شیمیایی تعلق دارند. ترکیبات فنلی گروهی از ترکیبات شیمیایی با فعالیت آلوپاتی هستند که بر مراحل مختلف رویش دانه و رشد و نمو گیاهان زراعی اثر می‌گذارند. گزارشهایی از تأثیر اسیدها و سایر ترکیبات فنلی بر فعالیت آنزیمها وجود دارد. به عنوان مثال فعالیت آمیلاز، اکسین اکسیداز، فنیل آلانین آمونیاپاز، سلولاز، پلی‌گالاکتوروناز، دهیدروژنازها و دکربوکسیلازها تحت تأثیر این ترکیبات قرار می‌گیرد.

آلوپاتی) میزان پروتئین برگ در حضور عصاره آبی گیاه مذکور تغییر زیادی نشان نداد اما میزان پروتئین در ریشه افزایش یافت. بنا بر این تغییرات میزان پروتئین در ارقام حساس و مقاوم یکسان نیست. تغییر در میزان پروتئین تحت تأثیر عصاره آبی گیاهان توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است. عصاره *Potamogeton* موجب افزایش سنتز پروتئین و فعالیت آنزیمهای اکسیداتیو *Scenedesmus* شد (۴۱) کاهش میزان پروتئین در حضور مواد شسته شده از برگ شاهدانه (۳۶) و عصاره الکی *Peganum multisectum* گزارش شده است (۱۵) آلوکمیخال‌ها متابولیسم نیتروژن و لذا میزان پروتئین را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۲۵) تغییر در میزان نیتروژن به نوع آلوکمیخال و گونه گیاهی بستگی دارد و به دلیل تفاوت ژنتیکی ارقام حساس و مقاوم به اثر آلوپاتی، تغییر میزان پروتئین در این ارقام متفاوت بود.

بررسی اثر آلوپاتی جو وحشی بر فعالیت آنزیمهای گندم نشان داد که فعالیت اسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز برگ و ریشه دو رقم در حضور عصاره آبی علف هرز کاهش می‌یابد در حالی که فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در برگ این گیاهان افزایش یافته در ریشه چندان تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد.

کاهش در فعالیت پراکسیداز در حضور آلوکمیخال‌ها توسط افراد دیگر هم گزارش شده است به عنوان مثال میموزین از فعالیت پراکسیداز در برنج جلوگیری کرد (۲۸). فعالیت پراکسیداز تحت تأثیر عصاره آبی *Wedelia trilobata* در گیاه برنج و کلم کاهش یافت (۲۵). عصاره آبی اکالیپتوس از فعالیت پراکسیداز در *Lepidium sativa* جلوگیری کرد (۲۰). گزارشهایی هم از افزایش فعالیت پراکسیداز وجود دارد به عنوان مثال عصاره آبی اکالیپتوس باعث افزایش فعالیت پراکسیداز در سه رقم گندم شد و در ریشه فعالیت بیشتر از برگ بود (۴۲). فعالیت پراکسیدازهای

اثر آللوپاتی جو به وجود آلوشیمیایی نظیر ترکیبات فنلی از جمله *p*-هیدروکسی بنزوئیک اسید، وانیلیک اسید، سیرنژیک اسید، *p*-کوماریک اسید، فرولیک اسید، *p*-کلروبنزوئیک اسید و الکلونید های گرامین و هوردئین بستگی دارد. ۲ و ۴ دی هیدروکسی-۷ متوکسی-۱-او-۴-بنزوکسازین-۳-وان (DIMBOA) نیز در گونه های جو وحشی پیدا شده است (۱۷، ۲۶). گرامین بر انتقال الکترون در غشای تیلاکوئیدها اثر مهارکنندگی دارد و فعالیت آللوپاتیک آن را می توان به اثر مهارکنندگی آن بر متابولیسم انرژی مثل فسفریلاسیون نوری و شیب پروتون نسبت داد (۶).

تنوع آللوکمیکال های جو و حضور اسیدهای فنلی که اجزای اصلی دخیل در فرایند آللوپاتی هستند می تواند عامل اثر آللوپاتی شدید عصاره آبی جو در مقابل گندم باشد. بنابر این ترکیبات آللوپاتیک مختلف اثرات متفاوتی بر فعالیت آنزیمها دارند که شناخت مکانیسم عمل آنها به بررسی بیشتری نیاز دارد.

بررسی اثر این ترکیبات بر فعالیت آنزیمهای اکسیداتیو ذرت نشان داد که فعالیت پلی فنل اکسیداز، پراکسیداز، کاتالاز و اکسین اکسیداز تحت تأثیر فرولیک اسید افزایش یافت (۳۱).

در این پژوهش افزایش فعالیت پروتئاز با کاهش میزان پروتئین همراه بود. اما آللوکمیکال ها اثرات متفاوتی بر فعالیت این آنزیم دارند به عنوان مثال در ذرت حضور ترکیبات فنلی باعث کاهش فعالیت این آنزیم شد (۳۱).

کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز با کاهش تعداد ایزوزیم ها در برگ همراه بود. در مورد سایر آنزیمها و سایر بافتها ارتباط مشخصی بین تعداد ایزوزیمها و فعالیت آنها مشاهده نشد.

تغییرات کربوهیدراتها تحت اثر آللوکمیکال ها کمتر مورد توجه بوده است. گزارشهایی از کاهش کربوهیدرات ها در حضور عصاره آبی گیاهان مختلف وجود دارد (۱۹، ۳۴). اما عصاره ریشه *Wedelia* موجب افزایش میزان کربوهیدراتهای برگ پنبه شد.

منابع

- 1-Aebi, H.E., (1983). Catalase methods of enzymatic analysis(Bergmeyer,H.U.,ed),pp. 273-286.Verlag chem. le, Deer field Beach,Fl.
- 2-Apple, H.M., (1993). Phenolics in Ecological interactions: the importance of oxidation. *Journal of Chemical Ecology*, 19:1521-1552.
- 3-Arrigoni, O., Gara, L., Tommasi, F. and Liso, R., (1992). Changes in Ascorbate system during seed development of *Vicia faba*. *Plant Physiology*, 99:235-238.
- 4-Belz, R.G and Hurlle,K. 2004. A novel laboratory screening bioassay for crop seedling allelopathy. *Journal of Chemical Ecology* , 30(1):175-198.
- 5-Bradford M., (1976) . A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities in utilizing the principle of protein dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72:254-284.
- 6-Curcua, L.J., (1999). Biochemical basis for the resistance of barley to aphids . *Phytochemistry*, 33:741-747.
- 7- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Reberts, P. A., and F. Smith, 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substrates. *Anal. Chem.*, 28: 350-356.
- 8-Einhelling, F.A., (1995a). Allelopathy –current status and future goals in allelopathy: organisms , processes, and applications. American Chemical Society Washington DC. pp. 1-24.
- 9-Einhelling, F.A., (1995b). Mechanisms of action of allelochemicals in allelopathy, organisms, processes and applications. ACS Symposium, Series 582, American Chemical Society, Washington DC. pp 96-116.
- 10- Frriebe,A., Poth,U., Kuck,p., Schnabal,H and Schlz,M. 1997. Effect of 2,4- dihydroxy-1,4-benzoxazin -3 – ones on the activity of plasma membrane H- Atpase. *Phytochemistry*, 44(6): 979-983.
- 11- Gniazdowska,A and Bogatekm,R.2005. Allelopathic interactions between plants, Multi site action of allelochemicals. *Acta physiologia plantarum*,27(3):395-407.

- 12-Hu,Q.H. 1985. Effects of coumarin on some physiological processes in boron – deficient plants. *Plant Physiology communications*, 6:25-26.
- 13-Inderjit.,Keating, K.I. (1999). Allelopathy: Principles, procedures, processes and promises for biological control, *Advance in Agronomy*, 67: 141-231.
- 14- Kato Noguchi,H and .Macias,F.A. 2005. Effects of 6- methoxy-2 benzoxazolinone on germination and amylase activity in lettuce seeds. *Journal of plant physiology*, 162(12):1304-1307
- 15-Lio,J and Zhao,G.2007.Allelopathy of *Peganum multisectum* on edible podded pea. *Chines journal of Eco-Agriculture* ,15(1):12-15.
- 16-Liu, W., Fang , J., Zhu , W. M., Gao ,P.J. 1999. Isolation, Purification and properties of peroxidase from the hull of *Glycine max* var HH2. *J. Sci. Food Agri*, 79: 779-785.
- 17-Lovett, J.V. and Hoylt, A.H.C., (1995). Allelopathy and self –defence in barley. In: *Allelopathy ,organisms, process applications*. American Chemical society, Washington DC, pp.170-183
- 18- Maffei,M., Berteau,C.M.,Garneri,F and Scannerrini,S. 1999. Effect of Benzoic acid hydroxy and methoxy- ring substituents during *Cucumis sativus* germination. *Plant Science* ,141(2):139-147.
- 19- Manikandam,R., Mobarack,H.M., Dhumal,K.N and Murugesan,K. 2007. Influence of stanozolol and wedelia extracts on physiology of cotton var.Anjali. *Journal of Maharashtra Agricultural Universities*. 32(1):76 79.
- 20-Moradshahi,A., Ghadiri,H and Ebrahimikia,F. 2003. Allelopathic effects of crude volatile oil and aqueous extracts of *Eucalyptus camaldulensis* leaves on crops and weeds. *Allelopathy journal*, 12(2):189-195.
- 21-Naumov,G.F. 1989. Biochemical characteristics of allelopathic activity of germinating seeds. *Biologia plantarum*, 31(6):496-502.
- 22-Nelson,N.,1994, Photometric adaptation of Somyogi's method for the determination of glucose. *Journal of Biochemical chemistry*,153:374-380.
- 23- Nie, C., Luo, Sh., Zeng, R.,Li, Huashou and Lin ,M.2003.Inhibition of *Wedelia trilobata* on growth of *Brassica Parachinensis*. *Acta Horticulturae Sinica*, 30(4):451.
- 24- Nie, C.,Zeng , R., Li., Huashou and Li ,M. 2003. Allelopathic potentials of *Wedelia trilobata* on *Brassica parachinensis* and its physiological mechanism of action. *Journal of south China Agricultural University*, 24(4):106-107
- 25- Nie, C.,Zeng R., Luo, Sh ., Hong, M and Cheng, L. 2004. Allelopathic potentials of *wedelia trilobata* on rice. *Acta Agronomica Sinica*.30(9):942-946.
- 26-Overland, L. (1966). The role of allelopathic substance in the smother crop barley. *American Journal of Botany*, 53(5): 423-432.
- 27-Penner, D. and Ashton FM., (1969). Hormonal control of proteinase activity in squash cotyledons. *Plant Physiology*,42:791-796.
- 28-Prasad, M,N,V and Subhashini,P. 1994 , Mimosine inhibited seed germination ,seedling growth and enzymes of *Oryza sativa*. *Journal of Chemical Ecology*.20 (7):1689 1969.
- 29-Putnam, A.R., (1985). Weed allelopathy in weed physiology, vol(1), pp. 131-155.CRC press, Inc
- 30-Raymond J., N. Rakariyathem and J,L. Azanza, 1993. Purification and some properties of polyphenol oxidase from sunflower seed. *Phytochemistry*,34: 927-931.
- 31-Reigosa, M and Pedrol, N. (2002). Allelopathy from molecules to ecosystems. Science publishers, Inc.
- 32- RenSen,Z.,Luo Ming,S., Yuehong,Sh., MuBiao,Sh and CongYong,T. 2001.Physiological and biochemical mechanism of allelopathy of secalonic acid F on higher plants. *Agronomy Journal*,93(1):72-79.
- 33-Rizivi, S.J.H., Haque, H., Singh, V.K. and Rizvi, V., (1992). A discipline called allelopathy In *Allelopathy, Basic and applied aspects*. pp. 1-8. Chaoman and hall, London.
- 34-Sadhena,T.,Ashutosh,T and Kori,D.C. 1999. Allelopathic evaluation of *Tectona Grandis* leaf, root and soil aqueous extracts of soybean. *Indian Journal of Forestry*.22(4):366-374
- 35- Sasikumar,K., Vijayalashmi,C and Parthiban,K.T.2002. Allopathic effect of *Eucalyptus* on *Phaseolus mungo*. *Allelopathy journal*. 9(2):205-214.
- 36- Singh,N.B and Riti,T.2003. Allelopathic influence of *cannabis sativa* on growth and metabolism of *Parthenium hysterophorus*. *Allelopathy Journal* ,12(1):64 70.

- 37-Somogy,M.,1952. Notes on sugar determination. Journal of Biochemical chemistry ,195:19-29.
- 38-Tao,X ., ChuiHua,K., Fei,H. 1999. Allelopathy of *Ageratum Conyzoides* . Allelopathic effect of volatile oil from Agerum plants under different nutrient levels. Chinese journal of Applied Ecology, 10(6):748-750.
- 39-Van Loon, LC (1971). Tobacco polyphenol oxidase .A specific staining method identifying with peroxidase. phytochemistry,10: 503-507.
- 40-Wink, M., Schmeller, T., and Latz–Burning, B., (1998). Modes of action of allelochemical alkaloids: Interaction with nuroreceptors, DNA and other molecular targets. Journal of Chemical Ecology, 24: 1881-1937.
- 41-Wu ,Z., Deng, P., Wu ,X., Luo, Sh and Gao, Y. 2007. Allelopathic effects of the submerged macrophyte *potamogeton malaianus* on *scenedesmus obliquus*. Hydrobiologia. 592:465-474.
- 42- Ziaebrahimi,L., Khavari- Nejad,R.A., Fahimi,H.,Nejadsatari.T.2007 Effect of aqueous eucalyptus extracts on seed germination, seedling growth and activities of peroxidase and polyphenoloxidase in three wheat cultivar seedlings. Pakistan journal of Biological sciences. 2007.10(19) 3415-3419.
- 43-Zilinskas,B and Mittler,R.(1993).Ascorbat peroxidase native gel assay. Analytical Biochemistry,212:540-546.

A study on allelopathic compounds derived from *Hordeum spontaneum* on carbohydrates, proteins and some enzymes of wheat (*Triticum aestivum* L.)

Hosein Zadeh M., Kiarostami Kh., Ilkhani Zadeh M., and Saboora A.

Biology Dept., Faculty of Science, Alzahra University, Tehran, I.R. of IRAN

Abstract

Growth and physiology of plants influence by allelochemicals released from weeds by various methods. In this investigation, the effects of *Hordeum spontaneum* 10% w/v aqueous extracts on carbohydrates and proteins content and some oxidative enzymes activity of two wheat cultivars (Tajan and Shirodi) were studied. In the presence of allelopathic derived from *Hordeum spontaneum*, total proteins reduced in Tajan but increased in Shirodi cv. Polysaccharid content increased in Shirodi leaves by *Hordeum spontaneum* allelochemicala while the highest amount of reduced sugar observed in Tajan roots. We observed an decrease in ascorbate peroxidase, peroxidase and catalase activities, however polyphenoloxidase activity were increased. Protease activity decreased in the leaves while it increased in roots. The electrophoretic patterns of enzymes were differ with compared to control. Thus allelochemicals effect on different enzymes by various methods.

Keywords: Allelopathy, Hordeum, Wheat, Enzyme, Protein, Carbohydrate.