بررسی محتوای برخی از متابولیت‌های ثانویه و اثر آللوپاتیک اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره (*Fumaria parviflora*) بر یولاف‌وحشی (*Avena ludoviciana*)

عبدا... عطائی[۱]، ابراهیم غلامعلی‌پور علمداری[۲*]، زینب اورسجی[۲]، علی راحمی کاریزکی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۴/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۱۰

چکیده

معمولاً کاهش عملکرد در گیاهان زراعی ناشی از اثر رقابت و آللوپاتی علف‌های‌هرز است. هدف از این تحقیق، بررسی محتوای برخی از متابولیت‌های ثانویه و ارزیابی پتانسیل آللوپاتیک اندام‌های مختلف شاتره (Fumaria parviflora) بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه‌ای یولاف‌وحشی (Avena ludoviciana) بود. عصاره آبی اندام‌ها با استفاده از ۵ گرم نمونه در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه و بر گیاهچه‌های ۷ روزه یولاف‌وحشی اعمال گردید. سنجش آلکالوئیدها و فنل‌کل در اندام‌های مختلف شاتره نشان داد که برگ و گل از بیشترین میزان این ترکیبات نسبت به ریشه و ساقه برخوردار بودند. مطابق نتایج، ترکیبات آللوپاتیک اندام‌های شاتره اثر بازدارندگی متفاوتی را بر طول ریشه، طول گیاه، وزن تر و خشک بوته، سطح برگ، محتوای کلروفیل‌کل، کاروتنوئیدها و پروتئین یولاف‌وحشی داشتند. بیشترین اثر منفی بر صفات، به گل اختصاص داشت. به‌علاوه پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز یولاف‌وحشی تحت عصاره اندام‌ها نسبت به شاهد افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: ***ترکیبات آللوپاتیک ، سطح برگ، فعالیت کاتالاز، فنل‌کل، گایاکول پراکسیداز، وزن خشک بوته.***

مقدمه

۱-دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس
۲-استادیار ان گروه تولیدات گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس
* (نویسنده مسئول: eg.alamdari@gonbad.ac.ir)

معمولاً کاهش عملکرد در گیاهان زراعی ناشی از اثر رقابـت علف‌های هرز و آللوپاتی و یا هر دو است. رقابت به‌عنوان جزئی از دخالت، حاصل بر هم‌کنش افراد یک گونه گیاهی یا گونه‌های متفاوت در پاسخ به ذخیره محدود یک یا بیش از یک عامل محیطی

است.

دگرآسیبی (آللوپاتی) نتیجه تولید مولکول‌های فعال زیستی (آللوشیمیایی‌ها) توسط گیاهان در حال رشد یا بقایای آن‌ها می‌باشد که ممکن است پس از تغییر شکل و ورود به محیط بر رشد و توسعه افراد همان گونه یا گونه‌های دیگر تأثیر مستقیم یا غیرمستقیم بگذارد (Vyvyan, 2002; Machado, 2007). آللوشیمیایی‌ها به روش‌های مختلفی مانند شستشو از برگ‌ها (Leaching)، ترشح‌های ریشه‌ای (Exudation)، تجزیه توسط ریزجانداران (Decomposition) و تبخیر (Volatilization) از سطح تاج‌پوشش آزاد می‌شوند (Weir *et al*., 2004). گزارش شده است که اگرچه ممکن است تمام اندام‌های گیاه حاوی مواد دگرآسیب باشند ولی برگ‌ها و ریشه‌ها از مهمترین منابع تولیدکننده ترکیبات دگرآسیب هستند (Justin *et al*., 2012). اثر گذاری آللوشیمیایی‌ها بر رشد گیاهان می‌تواند شامل هر دو حالت تحریک کننده یا بازدارنده باشد (Ma *et al*., 2011; Makoi & Ndakidemi, 2012). با این وجود در اغلب این تحقیقات به تاثیر آللوشیمیایی‌ها توجه بیشتری شده است. این ترکیبات آزاد شده توسط گیاهان دگرآسیب بر روی جوانه‌زنی، رشد، نمو و اسقرار گیاهان پذیرنده (گیاهان هدف) اثر گذاشته و نقش مهمی در الگوی پوشش گیاهی و تولید محصولات زراعی ایفا می‌کنند (Gniazdowska & Bogatek, 2005; Elisante *et al*., 2013). کروز-ارتیگا و همکاران (Cruz- Ortega *et al*., 2007) گزارش نمودند که آللوشیمیایی‌های آزاد شده از گیاهان دگرآسیب باعث افزایش انواع اکسیژن واکنش‌گر در گیاهان پذیرنده و در نتیجه فعال شدن یا تغییر در نحوه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شوند. رویش علف‌های هرز یکی از عوامل مهم محدود کننده محصول گیاهان زراعی می‌باشد. با این وجود، استفاده از علف‌کش‌های سنتزی صدمات جبران ناپذیری بر محیط زیست و سلامت انسان‌ها وارد می‌نماید. تاکنون تحقیقات مختلفی در مورد مدیریت علف‌های هرز با منشاء گیاهی انجام شده است. یکی از روش‌های پیشنهادی استفاده از توان بالقوه علف‌های هرز دگرآسیب با توانایی حذف علف‌های هرز و عدم اثر سوء بر محصولات زراعی می‌باشد. گزارش‌ها نشان داده است که تحقیقات در مورد اثر دگرآسیب علف‌هرز شاتره بر گیاهان به‌ویژه علف هرز یولاف وحشی بسیار اندک می‌باشد. آلا و همکاران (Ullah *et al*., 2013) با بررسی اثر عصاره آبی اندام‌های ریشه، ساقه، برگ، میوه و کل اندام‌های علف‌هرز شاتره هندی (*Fumaria indica* L.) بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای گندم، نخود، عدس و کلزا گزارش نمودند که عصاره آبی اندام برگ شاتره هندی بیشترین اثر بازدارندگی را بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشدی گیاهان مورد بررسی به‌ویژه کلزا داشتند، به‌طوری‌که هیچ جوانه‌زنی در کلزا مشاهده نشد. این محققین علت این امر را به دلیل مقادیر بالای ترکیبات فنولیک اسیدها در عصاره برگ شاتره بیان نمودند.

جوبین و احمد (Jabeen & Ahmed, 2009) گزارش نمودند که بقایای علف‌هرز شاتره هندی (*Fumaria indica*) دارای پتانسیل دگرآسیبی بر ظهور و رشد گیاهچه‌ای ذرت می‌باشند. محققان گزارش نمودند که شاتره هندی حاوی آلکالوئیدهایی از نوع فومیتوری، فنلیک اسیدها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، ساپونین‌ها، آنتراکینون‌ها، گلیکوزیدها، استروئیدها و تری ترپنوئیدها در اندام‌های مختلف خود می‌باشد (Rao *et al*., 2007; Gupta *et al*., 2012). کوبایاشی (Kobayashi, 2004) اظهار داشت که مقدار مواد آللوپاتیک بسته به گونه گیاهی، اندام گیاهی و مرحله رشدی متفاوت است. علف‌هرز شاتره (*Fumaria*) گیاهی متعلق به خانواده Papaveraceae بوده که ۷ گونه آن در ایران موجود می‌باشد (مظفریان، ۱۳۷۵).

از مهمترین مواد مؤثر گیاه شاتره می‌توان از آلکالوییدهای آن (فومارین، پروتروپین، آدلومیدیسئین، پارفیومین، فوماریلین، کریپتوپین، استیلوپین، ۸- اکسوکوپتیسین، سانگوئینارین، کریپتوکاوین، اسکولرین تترا هیدرو کوپتیسین و مقدار اندکی از آلکالوییدهای دیگر)، املاح پتاسیم (سیترات پتاسیم، سولفات پتاسیم و غیره)، اسید فوماریک، فومارامیدین، فوماریسین، فوماریفلورین، پارفومین و بیکوکولین را نام برد (Suau *et al*., 2002). یولاف وحشی با نام علمی *Avena ludoviciana* Durieu که در ایران انتشار این گونه گسترده و دارای اهمیت زیادی است و در واقع گونهٔ غالب این جنس در اکثر مناطق کشور به‌ویژه در مزارع غلات می‌باشد. همزمانی مراحل رشد، نیاز غذایی مشترک، پتانسیل تولید بذر بالا و بیوتیپ‌های مقاوم به علفکش‌ها از دلایل اصلی خسارت بالای این علف هرز به محصول گندم گزارش شده است (Kazzazi *et al*., 2005). شاتره یکی از علف‌های هرز سمج و مهم مزارع استان گلستان به‌ویژه غلات و کلزا بوده که از زیست توده تولیدی بالایی برخوردار می‌باشد، با توجه به مسئله مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌های سنتزی و آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از مصرف این علف‌کش‌ها، شناسایی علف‌های هرز با خاصیت دگرآسیبی و میزان تاثیر آن بر علف‌های هرز دیگر لازم و ضروری است که این امر در توسعه علف‌کش‌ها با منشاء طبیعی با رویکرد عدم اثر سوء احتمالی بر گیاهان زراعی امری مهم به نظر می‌رسد. بررسی منابع نشان می‌دهد که تاکنون تحقیق چندانی پیرامون اثر دگرآسیبی علف‌هرز شاتره انجام نشده است، بنابراین هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی محتوای برخی از متابولیت‌های موجود در شاتره (*Fumaria parviflora*) و اثر دگرآسیبی اندام‌های مختلف آن بر مولفه‌های مورفولوژیکی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، اسمولیت سازشی پرولین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و اسکوربات پرکسیداز یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*) در مرحله شروع پنجه‌زنی (۲۱ زادوکس) بود.

مواد و روش‌ها

موقعیت جغرافیایی محل جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی و آماده‌سازی آن‌ها

برای آزمایش، نمونه‌های علف‌هرز شاتره در مرحله گل‌دهی از سطح مزارع کلزا بخش مرکزی دهستان فجر روستای ایگدر سفلی شهرستان گنبدکاووس، با مختصات جغرافیایی ۵۵ درجه و ۱۵ دقیقه طول شرقی و ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه عرض

شمالی و ۴۵ متر ارتفاع از سطح دریا، متوسط بارندگی ده ساله در حدود ۴۱۰ میلی‌متر و میانگین دمای سالانه ۲۰ درجه سلسیوس، جمع‌آوری شد. در ابتدا نمونه‌های گیاهی مورد بررسی با کمک فلور رنگی ایران (قهرمان، ۱۳۷۳و ۱۳۷۵) مورد شناسایی قرار گرفت. سپس اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره شامل ریشه، ساقه، برگ و گل به‌تفکیک از یکدیگر جدا گردید. جهت برداشتن گرد و غبار، نمونه‌ها به مدت ۳۰ ثانیه با آب مقطر مورد شستشو قرار گرفتند. ابتدا نمونه‌های علف‌هرز شاتره در شرایط سایه، نیمه پژمرده و سپس تا رسیدن به وزن ثابت (Caceres, 2000)، در آون با دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک شدند (Martinov *et al*., 2007). نمونه‌ها توسط آسیاب با مش ۸ (تعداد مربع و یا ذرات الک در یک اینچ) پودر و تا قبل از استفاده در کیسه‌های پلاستیکی نگهداری شدند. ابتدا محتوای برخی از متابولیت‌های ثانویه نظیر آلکالوئیدها و فنل کل به روش استاندارد شیمیایی ذیل مورد سنجش قرار گرفت.

روش اندازه‌گیری محتوای آلکالوئیدها

مقدار ۰/۱ گرم از بافت خشک اندام‌های ریشه، ساقه، برگ و گل شاتره تهیه شد. سپس دو میلی‌لیتر محلول اتانول اسید استیک (ترکیب ۹۰ به ۱۰ از اتانول به اسید استیک) همگن شدند. مخلوط همگن به فالکون منتقل، به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و به مدت ۴ ساعت روی دستگاه لرزاننده قرار گرفت. بعد از این مدت، مخلوط را از کاغذ صافی واتمن عبور و در حمام آب جوش با دمای ۶۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا محلول تبخیر شود و به حجم ۲/۵ میلی‌لیتر برسد. سپس قطره قطره هیدروکسید آمونیوم (NH_4OH) به محلول تغلیظ شده حاصل اضافه شد. پس از مشاهده رسوب، سانتریفیوژ (با سرعت g ۱۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه) صورت گرفت. در مرحله بعدی فاز رویی دور ریخته شد و رسوب حاصل در اسید سولفوریک ۰/۱ مولار حل گردید. جذب نوری محلول در طول موج ۳۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom libera- S22 خوانده شد. در نهایت نتایج به‌صورت جذب در گرم وزن خشک نمونه ($OD.g^{-1}.DW$) گزارش گردید (Harborne, 1973).

روش اندازه‌گیری محتوای فنل کل

مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت خشک اندام‌های مورد بررسی شاتره با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول داغ ۸۰ درصد مخلوط شد. پس از سانتریفیوژ (با سرعت g ۱۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه)، مخلوط رویی در حمام آب جوش قرار گرفت تا نسبتاً غلیظ گردد. محلول غلیظ شده توسط آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر محلول حاصل به حجم ۳ میلی‌لیتر رسید و در ادامه بر روی محلول به‌دست آمده، ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو ۵۰ درصد و ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه شد. محلول حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت و پس از سرد شدن جذب نوری آن در طول موج ۶۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom libera- S22 قرائت شد. میزان فنل کل توسط منحنی

استاندارد گالیک اسید بر حسب میلی‌گرم معادل گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه محاسبه شد (Malick & Singh, 1980).

آزمایش اثر عصاره آبی اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر صفات مورفولوژیکی (ریخت شناسی) و فیزیولوژیکی علف‌هرز یولاف‌وحشی در محیط کشت هیدروپونیک در آزمایشگاه علوم علف‌های هرز دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۶ به شرح ذیل انجام شد.

تهیه سوسپانسیون علف‌هرز شاتره

علف‌هرز شاتره حاوی آلکالوئیدها، فنل کل و فلاونوئیدها فراوان می‌باشد (Harries *et al*., 2005)، لذا با توجه به حضور این آللوشیمیایی و دارا بودن عامل هیدروکسی (OH) و حلالیت آن‌ها در آب از عصاره آبی استفاده گردید. بدین منظور، ابتدا سوسپانسیون ۵ درصد آبی [۵ گرم (وزنی): ۱۰۰ میلی‌لیتر (حجمی)] از اندام‌های علف‌هرز مورد بررسی تهیه (رجایی و همکاران، ۱۳۹۷) و بر روی دستگاه لرزاننده به مدت ۱۸ ساعت قرار داده شد، سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت g ۱۰۰۰ سانتریفیوژ گردید و در نهایت عصاره به‌دست آمده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد. عصاره حاصل از سوسپانسیون بر گیاهچه‌های ۷ روزه علف‌هرز یولاف‌وحشی (*Avena ludoviciana*) در محیط کشت هیدروپونیک در چهار لیتر محلول غذایی یوشیدا (Yoshida *et al*., 1976) که شامل ۹۱/۴ گرم نیترات آمونیم، ۳۵/۶ گرم فسفات سدیم و ۷۱/۴ گرم سولفات پتاسیم، ۱۱۷/۳۵ گرم کلرید کلسیم و ۳۲۴ گرم سولفات منیزیم به‌عنوان عناصر درشت مغذی و ۱/۵ گرم کلرید منگنز، ۰/۰۷۴ گرم مولیبدات آمونیم، ۰/۰۳۵ گرم سولفات روی، ۰/۹۳۴ گرم اسید بوریک، ۰/۰۳۱ گرم سولفات مس، ۷/۷ گرم کلرید آهن و ۱۱/۹ گرم اسید سیتریک به‌عنوان عناصر ریز مغذی به محیط کشت اضافه گردید.

آماده سازی گیاهچه‌های یولاف وحشی تحت تاثیر عصاره آبی علف‌هرز شاتره در محیط کشت هیدروپونیک

ابتدا بذور گواهی شده یولاف‌وحشی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و بذور توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۱ درصد مورد شستشو قرار گرفت و سپس برای چندین مرتبه با آب مقطر شستشو گردید. بذرهای ضدعفونی شده این گیاهان در پتری جوانه‌زده و گیاهچه‌های ۷ روزه به ظروف حاوی محلول غذایی یوشیدا با pH=۵/۵ منتقل شدند. این آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. پس از اعمال تیمارها، گیاهچه‌ها به مدت دو هفته در این شرایط نگه‌داری شدند. گیاهچه‌های یولاف وحشی در دمای محیط ۳±۲۵ درجه سلسیوس، دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، اتاقک رشد با روشنایی ۱۴۰۰ لوکس و رطوبت نسبی ۷۵ درصد نگه‌داری شدند (سلیمی و قربانلی، ۱۳۸۰؛ Cadho & Rajender, 1995). محلول یوشیدا به فاصله ۷ روز یک‌بار تعویض و تیمارها مجدداً با همان غلظت قبلی اعمال گردیدند (Enteshari &

Ahrabi, 2011). میزان pH هر دو روز یک‌بار تنظیم شد. در انتهای آزمایش (شروع پنجه‌زنی: ۲۱ زادوکس)، برخی از پارامترهای رشد از قبیل طول ریشه، طول گیاه، سطح برگ (با دستگاه سطح برگ سنج Leaf area meter مدل Delta- t)، وزن تر و خشک اندام هوایی، اندازه‌گیری شد. برخی از صفات فیزیولوژیکی نظیر میزان کلروفیل a، b، کل، کارتنوئیدها، محتوای پرولین اسمولیت سازشی پرولین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و اسکوربات پرکسیداز یولاف‌وحشی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

روش اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها

مقدار ۰/۵ گرم از اندام‌های هوایی یولاف‌وحشی تازه در هاون چینی ریخته و با استفاده از نیتروژن مایع خرد گردید. سپس با ۲۰ میلی‌لیتر استون سرد ۸۰ درصد کاملاً له گردید. در نهایت در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت g ۶۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. عصاره جدا شده فوقانی حاصل از سانتریفیوژ به بالن شیشه‌ای منتقل گردید. سپس مقداری از نمونه داخل بالن را در کووت ریخته و نهایتاً به‌طور جداگانه در طول موج‌های ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها مقدار جذب توسط اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom libera- S22 قرائت شد. محتوای رنگیزه کلروفیل a، b، کل (a+ b) و کاروتنوئیدها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن نمونه تازه به روش فرمول تغییر یافته آرنون برآورد شد (حسینی، ۱۳۸۶).

رابطه (۱) Chlorophyll a= [(19.3×A663)- (0.86×A645)] V/ 100W

رابطه (۲) Chlorophyll b= [(19.3×A645)- (3.6× A663)] V/ 100W

رابطه (۳) Carotenoids= [100 (A470) - 3.27 (mg chl a)- 104 (mg chl b)]/ 227

V= حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)، W= وزن تر نمونه بر حسب گرم، A= جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

روش اندازه‌گیری محتوای پرولین

۵۰۰ میلی‌گرم اندام تازه گیاه با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد مخلوط و سپس مخلوط حاصل با سانتریفیوژ با سرعت g ۱۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه صاف گردید. ۲ میلی‌لیتر از محلول حاصل در لوله آزمایش ریخته شد و سپس ۲ میلی‌لیتر اسید نایِن هیدرین اضافه گردید. در ادامه ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول حاصل افزوده و به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه به‌خوبی تکان داده شد به‌طوری که لایه رویی زرد رنگ تولوئن نمایان گردید. سپس این لایه جدا و به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر با مدل Biochrom libera- S22 در طول موج ۵۲۰ نانومترخوانده شد. سپس مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین بر حسب میکرو مول بر گرم وزن تازه تعیین شد (Bates *et al.*, 1973).

اندازه‌گیری محتوای پروتئین

ابتدا سوسپانسیون ۱۰ درصد از نمونه خشک اندام‌ها با اتانول داغ ۸۰ درصد به‌طور جداگانه تهیه شد. پس از سانتریفیوژ، به فاز رسوب حاصل ۱۵ میلی‌لیتر معرف A (۴ میلی‌گرم کربنات سدیم + ۰/۸ گرم سود+ ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر) اضافه و سپس سانتریفیوژ گردید. در ادامه ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره نمونه را برداشته و با آب مقطر به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۵ میلی‌لیتر معرف C که از اختلاط معرف A و B [۱۲۵ میلی‌لیتر سولفات مس ۰/۵ درصد+ ۲۵ میلی‌لیتر پتاسیم سدیم تارتارات ۱ درصد] اضافه شد. در ادامه ۰/۵ میلی‌لیتر معرف D (۱ میلی‌لیتر فولین+ ۱ میلی‌لیتر آب مقطر) اضافه و در طول موج ۶۶۰ نانومتر قرائت شد میزان پروتئین اندام‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک نمونه با استفاده از منحنی استاندارد (سرم آلبومین گاوی) تعیین شد (Lowry *et al*., 1951).

تهیه عصاره آنزیمی

جهت رسیدن به حداکثر استخراج آنزیم در اندام‌های ریشه، ساقه، برگ و گل یولاف‌وحشی، شرایط عصاره‌گیری با توجه به مولاریته و pH بافر، استاندارد گردید. بدین منظور، ابتدا یک گرم از هر یک از اندام‌های مورد بررسی جهت برداشتن گرد و غبار به مدت ۳۰ ثانیه مورد شستشو و سپس با کاغذ صافی خشک گردید. در ادامه ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم سرد (حاوی ۰/۱ میلی‌لیتر اتیلن دی امین تترا استیک اسید (EDTA)، ۱ درصد (W/V) پلی وینیل پیرولیدون (PVP)، ۰/۵ درصد تریتون X-100 و ۲۰ درصد گلیسرول، که در pH=۷/۸ تنظیم شده است) به نمونه اندام‌ها اضافه و له گردید. مخلوط حاصل در سانتریفوژ با سرعت g ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفت تا محلول همگنی به‌دست آید. سپس محلول رویی با دقت جدا و به‌عنوان روشناور (حاوی تمام پروتئین‌ها و آنزیم‌ها) استفاده گردید. تمام مراحل عصاره‌گیری در دمای حدود ۴ درجه سانتی‌گراد (جهت جلوگیری از شکست آنزیم‌ها) انجام شد (Kala, 2015).

تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز با توجه به اصلاح روش Aebi (۱۹۸۴) توسط علی سلطانی و همکاران (۱۳۹۱) انجام شد. مخلوط واکنش کاتالاز موجود شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میکرولیتر از پراکسیدهیدروژن ۱۰ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره گیاهی می‌باشد. واکنش با افزودن H_2O_2 آغاز شد و فعالیت آنزیم به‌وسیله میزان تخریب H_2O_2 به کمک اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom libera- S22 در طول موج ۲۴۰ نانومتر به‌مدت ۲ دقیقه تعیین گردید. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی ۳۹/۴ $mM^{-1}cm^{-1}$ برای H_2O_2 محاسبه شد. یک واحد از فعالیت آنزیم به‌عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای اکسیداسیون یک میکرومول H_2O_2 در دقیقه در شرایط سنجش تعریف می‌شود.

رابطه (۴) $25A=\varepsilon\ bc$

در این معادله A: نقطه جذب، ε: ضریب خاموشی، b: طول سل (1 cm)، c: غلظت کاتالاز ، ε: ۳۹/۴ میکرومول می‌باشد.

تعیین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز، ۷۸۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH= ۶/۶، ۹۰ میکرولیتر گایاکول ۱ درصد و ۹۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/۳ درصد استفاده شد. مواد فوق را در بستر یخ در کووت ۱ میلی‌لیتری با یکدیگر مخلوط گردید و بلافاصله ۲۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی استخراج شده از اندام های مورد بررسی که حاوی آنزیم‌های مورد بررسی است به‌طور جداگانه به کووت اضافه شد (Hemeda & Kelin, 1990). تغییرات جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom libera- S22 در طول موج ۲۴۰ نانومتر تعیین گردید. در محلول بلانک بجای عصاره آنزیمی بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار استفاده شد. فعالیت آنزیم با استفاده از قانون بیر- لامبرت و ضریب خاموشی محصول کاتالیز گایاکول پراکسیداز ($۲۶/۶\ M^{-1}\ cm^{-1}$) محاسبه شد. سپس فعالیت آنزیمی بر حسب میکرو مول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در دقیقه در میلی گرم پروتئین گزارش شد.

تعیین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مول با pH=۷، آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار، H_2O_2 ۰/۱۵ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. به‌دنبال اکسیده شدن آسکوربیک اسید با آغاز واکنش آنزیمی، کاهش جذب در ۲۹۰ نانومتر، دو دقیقه پس از آغاز واکنش نسبت به زمان آغاز واکنش محاسبه شد. با استفاده از تغییرات جذب در ۲۹۰ نانومتر، ضریب خاموشی آسکوربیک اسید ($۲/۸\ mMol^{-1}cm^{-1}$) و رابطه A=εbc، میزان آسکوربیک اسید بر جای مانده پس از ۲ دقیقه انجام واکنش آنزیمی محاسبه شد. یک واحد آنزیمی آسکوربات پراکسیداز مقدار آنزیمی است که یک میلی مول آسکوربیک اسید را در یک دقیقه اکسید می‌نماید (Nakano & Asada, 1981). فعالیت ویژه آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌صورت تعداد میکرومول H_2O_2 تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش گردید.

درصد تحریک‌کنندگی یا بازدارندگی (PLI) با استفاده از رابطه ذیل محاسبه شد (Amoo *et al*., 2008).

رابطه (۵)

$$PLI = [(R_۲ - R_۱) / R_۱] \times ۱۰۰$$

که در آن، $R_۱$ شاهد و $R_۲$ تیمار می‌باشد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل از آزمایش‌های فیتوشیمیایی و کشت هیدروپونیک پس از آزمون نرمال سنجی، توسط نرم‌افزار SAS با نسخه ۹/۱ مورد تجزیه واریانس قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون کم‌ترین اختلاف معنی‌دار (Least Significant Difference) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

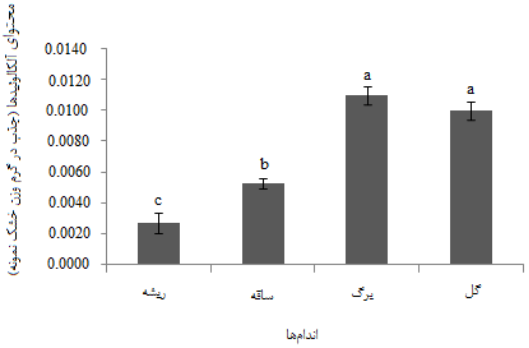
ارزیابی محتوای آلکالوئیدها و فنل کل اندام‌های مختلف شاتره

نتایج نشان داد که اندام‌های ریشه، ساقه، برگ و گل شاتره اختلاف معنی‌داری، در سطح احتمال یک درصد از لحاظ محتوای آلکالوئیدها و فنل کل داشتند (جدول ۱). بر اساس شکل‌های ۱ و ۲، بیشترین محتوای آلکالوئیدها و فنل کل به اندام برگ و گل شاتره به ترتیب به میزان ۰/۰۱۱۰ جذب در گرم وزن خشک نمونه و ۳/۲۷ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه تعلق داشت. این در حالی است که اندام ریشه شاتره از کمترین محتوای آلکالوئیدی و فنلی برخوردار بود. در تحقیقی گزارش شده است که اندام‌های مختلف شاتره به‌ویژه سرشاخه گل‌دار دارای حدود یک درصد آلکالوئیدها است که بیشتر این ترکیبات از مشتقات بنزیل ایزوکنیولین‌اند (زرگری، ۱۳۷۱). از دیگر ترکیبات شاتره می‌توان فنل‌ها، فلاونوئیدها و تانن‌ها را نام برد (McCalleu, 2002).

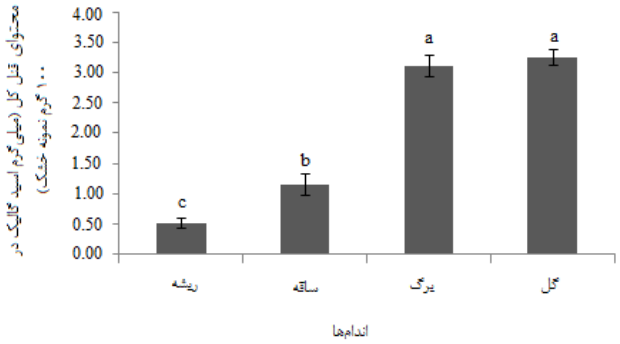
جدول ۱: تجزیه واریانس متابولیت‌های ثانویه آلکالوئیدها و فنل کل اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره (*Fumaria parvifelora*)

منبع تغییرات	درجه آزادی	محتوای آلکالوئیدها	محتوای فنل کل
تیمار	۳	۰/۰۰۰۰۵**	۵/۷۹**
خطا	۸	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۷
ضریب تغییرات	-	۱۳/۲۰	۱۲/۶۳

**: نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد



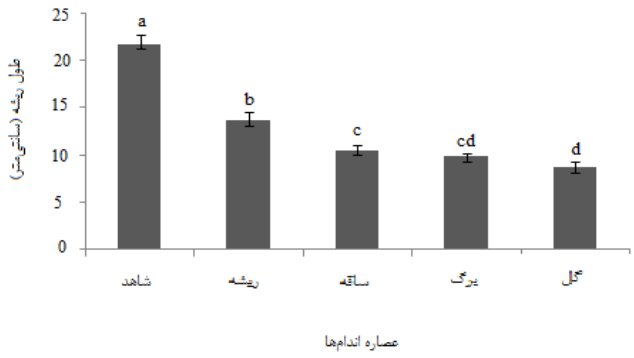
شکل ۱: مقایسه میانگین محتوای آلکالوئیدهای اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره (*Fumaria parvifelora*)



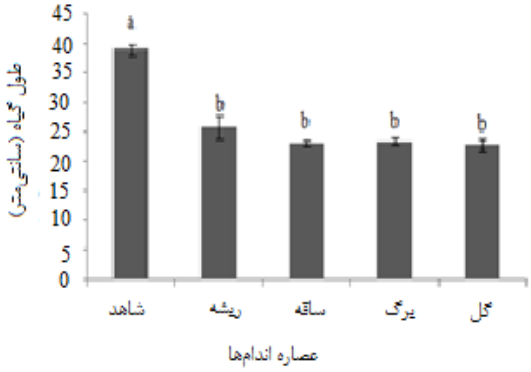
شکل ۲: مقایسه میانگین محتوای فنل کل اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره (*Fumaria parvifelora*)

اثر عصاره آبی اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر صفات مورفولوژیکی یولاف‌وحشی

نتایج تجزیه واریانس بیانگر اختلاف معنی‌دار اثر عصاره آبی اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر صفاتی نظیر طول ریشه، طول گیاه، وزن تر و خشک بوته و سطح برگ در سطح احتمال یک درصد بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره اثر دگرآسیبی متفاوتی بر طول ریشه نشان دادند. بیشترین اثر دگرآسیبی به اندام گل (۵۹/۹۹ درصد) تعلق داشت که از لحاظ آماری با اندام برگ اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. در مقابل کمترین اثر منفی معنی‌دار تحت عصاره آبی اندام ریشه معادل ۳۳/۷۲ درصد به‌دست آمد (شکل ۳). مطابق شکل ۴، عصاره آبی اندام‌های مختلف شاتره، اثر دگرآسیبی معنی‌دار یکسانی بر طول گیاه یولاف‌وحشی نشان دادند. دلیل تاثیر یکسان ترکیبات آللوپاتیک ناشی از اندام‌ها بر طول گیاه احتمالاً می‌تواند به‌واسطه برهمکنش آللوشیمیایی‌های ناشی از اندام‌ها و یا تاثیرپذیری کم طول گیاه یولاف وحشی به مواد آللوپاتیک اندام‌های مختلف شاتره باشد. مهرپور و همکاران (۱۳۹۵) اظهار داشتند یکی از عوامل تاثیرگذار بر متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، نوع اندام‌های گیاهی است به‌طوری‌که میزان متابولیت‌های ثانویه در اندام‌های مختلف با یکدیگر متفاوت است. در تحقیقی دیگر گزارش شده است که تفاوت در تأثیر بین اندام‌ها مربوط به حد آستانه غلظت آللوشیمیایی‌ها می‌باشد (Macias *et al.*, 2007). کوهلی و همکاران (*Kohli et al.*, 2001) بیان داشتند که واکنش‌های تحریکی یا بازدارندگی آللوشیمیایی‌ها به غلظت ماده شیمیایی دریافت شده توسط گیاه هدف بستگی دارد. این مطالعه هم‌چنین حاکی از تاثیرپذیری منفی بیشتر طول ریشه یولاف‌وحشی نسبت به طول اندام هوایی تحت مواد آللوپاتیک شاتره می‌باشد. چون ریشه اولین اندامی است که مواد آللوپاتیک را به‌طور مستقیم از محیط جذب می‌کند و ممکن است بیشتر تحت تأثیر ترکیبات آللوپاتیک قرار گیرند.



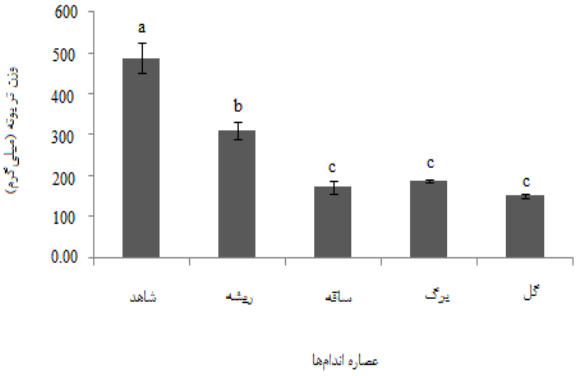
شکل ۳: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر طول ریشه گیاه یولاف‌وحشی



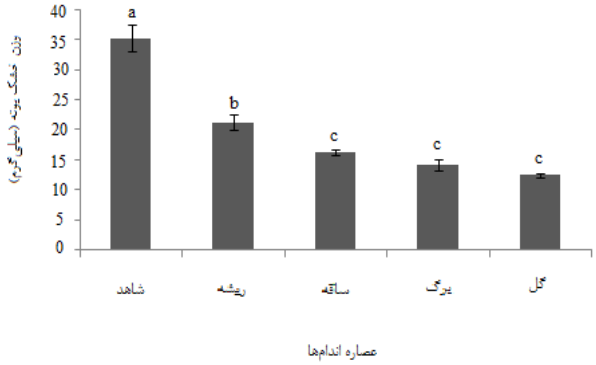
شکل ۴: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر طول گیاه یولاف‌وحشی

بیشترین میزان وزن‌تر بوته یولافوحشی در تیمار شاهد (۴۸۸/۲۲ میلی‌گرم) به‌دست آمد و کاربرد عصاره آبی همه اندام‌ها موجب کاهش وزن تر بوته شد. بیشترین و کمترین اثر منفی به ترتیب مربوط به اندام گل و ریشه معادل ۶۸/۹۱ و ۳۶/۳۹ درصد بود (شکل ۵). نتایج در مورد وزن خشک بوته مشابه وزن تر بوته بود (شکل ۶). بازدارندگی بیشتر عصاره آبی گل و برگ بر وزن تر و خشک گیاهچه یولافوحشی می‌تواند به‌دلیل مقادیر بیشتر متابولیت‌های ثانویه آلکالوئیدها و فنل کل و سمیت ناشی از آن‌ها در اندام‌های گل و برگ علف‌هرز شاتره باشد (شکل‌های ۱ و ۲) که پارامترهای وزن تر و خشک یولافوحشی را به شدت مورد حمله قرار می‌دهند. بر اساس نتایج، رابطه مثبت و معنی‌داری بین وزن خشک بوته علف‌هرز یولاف وحشی با وزن تر بوته، سطح برگ، میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها وجود داشت. اما همبستگی وزن خشک بوته با فعالیت آنزیم کاتالاز و پرولین منفی و معنی‌دار بود (جدول ۳). اصولاً گیاهان مکانیسم‌های حفاظتی مختلفی را برای دفع یا کاهش گونه‌های فعال اکسیژن ناشی از تنش را دارا می‌باشند. گونه‌های فعال اکسیژن با بیوملکول‌های فعال واکنش نشان داده و موجب اکسیداسیون آن‌ها می‌شوند. آنزیم کاتالاز یکی از مهمترین آنزیم‌ها در گیاهان است که باعث شکسته شدن مولکول H_2O_2 به آب و اکسیژن می‌گردد. محتوای پرولین به‌عنوان یک اسمولیت سازگار کننده نقش مهمی در تنظیم اسمزی درون سلولی، پایدار کردن ساختار پروتئین‌ها و غشاء سلولی، جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن، تنظیم pH سلولی و واکنش‌های اکسیداسیون و احیا، ایفا می‌نماید (Verbruggen, & Hermons, 2008; Kavi Kishori *et al*, 2005). در مورد سطح برگ، بیشترین اثر دگرآسیبی معنی‌دار به اندام گل و برگ به ترتیب ۶۴/۵۴ و ۶۳/۰۴ درصد تعلق داشت. اندام ریشه از کمترین اثر منفی معادل ۲۴/۸۷ درصد برخوردار بود (شکل ۷). بر اساس نتایج، رابطه سطح برگ با تمام صفات مورد بررسی بجزء محتوای پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز مثبت و معنی‌دار بود (جدول ۲). این امر احتمالاً به‌واسطه اثر ترکیبات آللوپاتیک بر رشته‌های دوک و در نتیجه اختلال در استقرار کروموزوم‌ها و تقسیم سلولی می‌باشد. این عمل از طریق کاهش تعداد میکروتوبول‌های دوک سطح برگ و یا فعالیت غیر طبیعی آن‌ها انجام

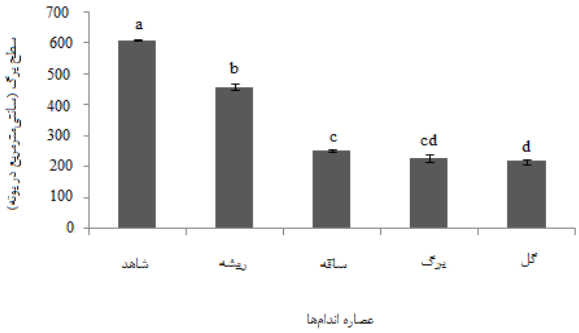
می‌شود. میقانی (۱۳۸۲) گزارش نمود برخی از آلکالوئیدهای ترپنی، تقسیم سلولی را کاهش می‌دهند و باعث افزایش قطر و کاهش طول سلول‌های ریشه و تشکیل هسته نامنظم در آن‌ها می‌گردند. بر اساس نتایج به‌دست آمده، عصاره آبی گل، برگ و ساقه شاتره، بیشترین تاثیر منفی بر سطح برگ یولاف وحشی در مقایسه با اندام ریشه نشان دادند. این نتیجه مطابق نتایج کلارک (Clarka, 2006)؛ ناروال و تورو (Narwal & Tauro, 1996) می‌باشد. آن‌ها گزارش نمودند کـه تجمـع و نوع ترکیبات دگرآسیب در اندام‌های هوایی بیشتر از اندام ریشه می‌باشد.



شکل ۵: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر وزن تر بوته گیاه یولاف‌وحشی



شکل ۶: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر وزن خشک بوته گیاه یولاف‌وحشی



شکل ۷: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر سطح برگ بوته یولاف وحشی

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی یولاف وحشی تحت عصاره آبی اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره (*Fumaria parvifelora*)

منبع تغییرات	درجه آزادی	طول ریشه	طول گیاه	وزن تر بوته	وزن خشک بوته	سطح برگ در بوته	محتوای کلروفیل a	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل کل	محتوای کارتنوئیدها
تیمار	۴	۸۴/۲۶**	۱۴۴/۱۹**	۵۹۵۹۶/۳۸**	۲۵۷/۵۸**	۹۱۹۸۱/۷۰**	۰/۰۹۱**	۰/۰۸۵**	۰/۳۴۵**	۰/۰۲۵*
خطا	۱۰	۰/۸۴	۴/۰۲	۱۲۵۹/۷۰	۴/۷۸	۲۱۷/۵۰	۰/۰۰۴	۰/۰۰۹	۰/۰۱۳	۰/۰۰۵
ضریب تغییرات(درصد)	-	۷/۰۹	۷/۴۷	۱۳/۵۵	۱۱/۰۰	۴/۱۹	۱۰/۱۴	۱۷/۸۶	۹/۶۹	۱۳/۱۳

**، *: به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

ادامه جدول ۲: تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی یولاف وحشی تحت عصاره آبی اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره (*Fumaria parvifelora*)

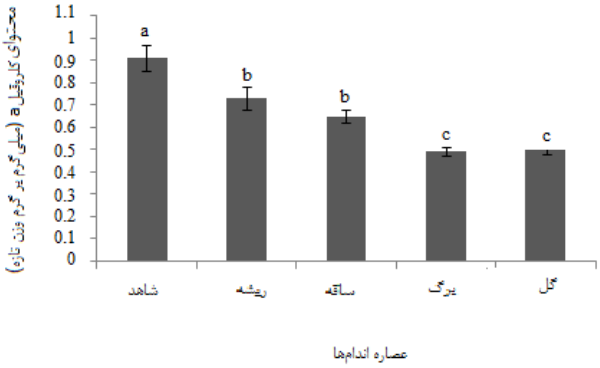
منبع تغییرات	درجه آزادی	محتوای پروتئین	محتوای پرولین	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز
تیمار	۴	۱۰۰۲۲/۷۳**	۳/۹۰*	۷/۱۰**	۰/۰۸**	۰/۱۱**
خطا	۱۰	۱۱۹/۶۵	۰/۸۲	۰/۴۰	۰/۰۱	۰/۰۱
ضریب تغییرات(درصد)	-	۱۰/۷۲	۸/۳۵	۴/۵۳	۱۳/۴۴	۷/۳۰

**،*: به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

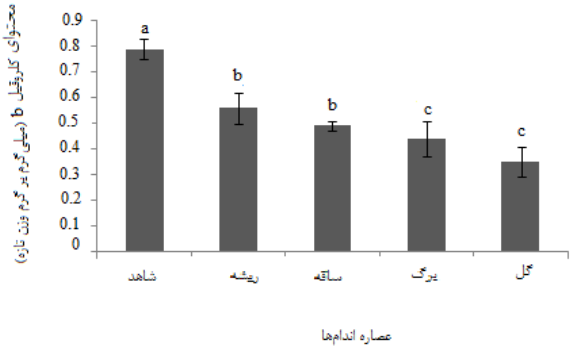
محتوای رنگیزه‌های کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها

نتایج تجزیه واریانس بیانگر اختلاف معنی‌داری تحت اثر عصاره آبی اندام‌های مختلف شاتره بر رنگیزه‌های کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها بود (جدول ۲). مطابق شکل‌های ۸، ۹ و ۱۰، محتوای کلروفیل a، b و کل یولاف‌وحشی تحت عصاره آبی اندام‌های مختلف شاتره کاهش نشان داد. بیشترین اثر منفی بر محتوای این رنگیزه‌ها به ترتیب به اندام برگ، گل و گل به میزان ۴۶/۱۵، ۵۵/۷۰ و ۵۰/۲۹ درصد اختصاص داشت. اگرچه با برخی از اندام‌ها اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. مطابق نتایج، محتوای کلروفیل b در مقایسه با کلروفیل a، بیشتر تحت تاثیر ترکیبات دگرآسیب اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره قرار گرفت. کاهش رنگیزه کلروفیل b احتمالاً به‌دلیل کاهش نقش حفاظت نوری آن که به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی مهم در اندامک کلروپلاست است. این مطالعه همسو با نتایج (Onsel *et al*., 2000) می‌باشد. آن‌ها گزارش کردند که مقدار زیادی از کلروفیل b موجود در کلروپلاست در کمپلکس‌های دریافت‌کننده نور در فتوسیستم II قرار دارد به‌طوری‌که در شرایط تنش، کمپلکس‌های دریافت کننده نور بیش‌تر آسیب می‌بینند که باعث کاهش شدید کلروفیل b در کلروپلاست و افزایش نسبت a به b خواهد شد. در اکثر گزارش‌های مربوط به دگرآسیبی، مهار رشد با کاهش در میزان کلروفیل کل همراه است که ممکن است نسبت به خسارات دیگر سلولی به‌دلیل تغییرات ایجاد شده در سطح سلولی و مولکولی یک اثر ثانویه باشد. ابو رحمان و همکاران (Abu-Romman *et al*., 2010) گزارش نمودند که کاهش سطح کلروفیل کل مربوط به کاهش بیوسنتز و یا افزایش تجزیه این رنگیزه‌ها است. ضرایب همبستگی پیرسون نشان داد که رابطه مثبت و معنی‌داری بین کلروفیل کل با میزان وزن تر و خشک بوته، سطح برگ، کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها وجود داشت. اما رابطه این صفت با میزان کاتالاز و پرولین منفی بود (جدول ۳).

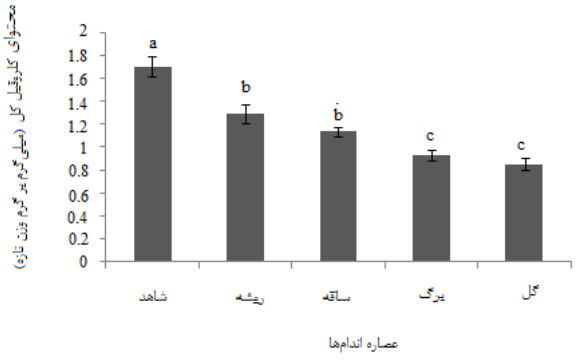
نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان رنگیزه کاروتنوئیدها تحت عصاره آبی اندام ساقه، برگ و گل کاهش نشان داد. بیشترین کاهش مربوط به اندام گل بود که اختلاف این صفت با سایر اندام‌ها معنی‌دار نبود (شکل ۱۱).



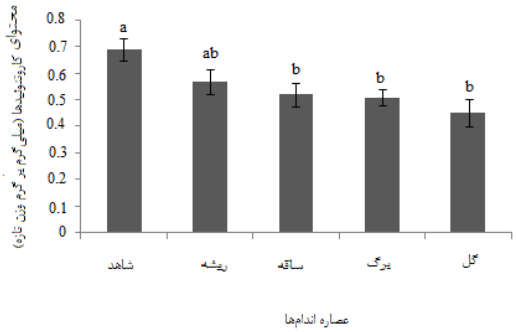
شکل ۸: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر محتوای کلروفیل a یولاف وحشی



شکل ۹: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر محتوای کلروفیل b یولاف وحشی



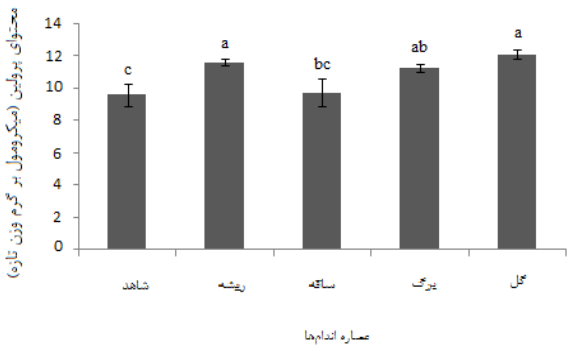
شکل ۱۱: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر محتوای رنگیزه کاروتنوئیدهای یولاف‌وحشی



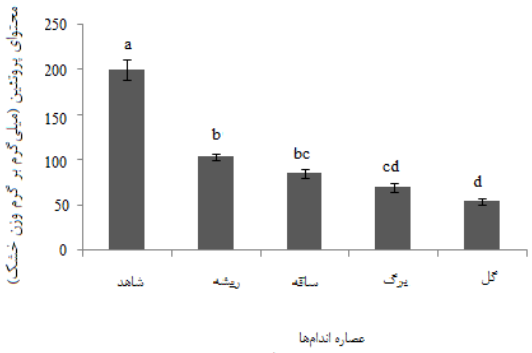
شکل ۱۰: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر محتوای کلروفیل کل یولاف‌وحشی

محتوای پروتئین و پرولین

نتایج به دست آمده نشان داد که تفاوت معنی داری بین اندام های مختلف شاتره از لحاظ تاثیر بر محتوای پروتئین و پرولین یولاف‌وحشی وجود داشت (جدول ۲). بر اساس نتایج، محتوای پروتئین یولاف وحشی تحت تیمارهای مختلف عصاره اندام‌های شاتره به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش یافت. بیشترین و کمترین کاهش به‌ترتیب به اندام گل و ریشه اختصاص داشت (شکل ۱۲). در مقابل عصاره آبی اندام‌های مختلف شاتره اثر افزایشی معنی‌دار و متفاوتی بر محتوای پرولین یولاف‌وحشی داشتند. بیشترین مقدار مربوط به اندام گل بود، اما تفاوت معنی‌داری با اندام برگ و ریشه نشان نداد (شکل ۱۳). مطابق نتایج، میزان پروتئین رابطه مثبت و معنی‌داری با وزن تر و خشک بوته، رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتنوئیدی نشان داد. بیشترین ضریب همبستگی به رنگیزه کلروفیل کل ($r=0.948^{**}$) اختصاص داشت. اما همبستگی منفی و معنی‌داری بین پروتئین با آمینواسید پرولین و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی نظیر کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز برقرار بود (جدول ۳). کو (Kao, 1981) اظهار داشت که افزایش غلظت اسید آمینه پرولین که به تنظیم اسمزی کمک می‌کند، ناشی از چند عامل گزارش شده است از جمله ممانعت از تجزیه پرولین، جلوگیری از ورود پرولین به پروتئین و یا افزایش تجزیه پروتئین که ممکن است با کاهش رشد همراه باشد. هم‌چنین بیان شد که در برگ‌های بالغ تجزیه پروتئین‌ها باعث کاهش غلظت آن‌ها و در نتیجه افزایش اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین می‌شود.



شکل ۱۳: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر محتوای پرولین یولاف‌وحشی

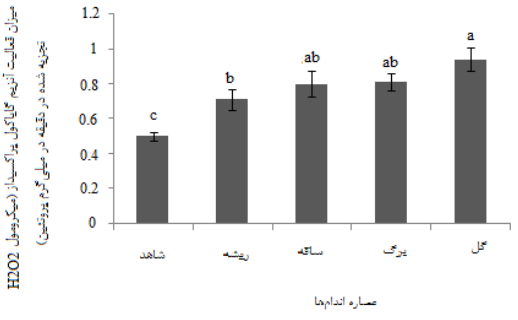


شکل ۱۲: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر محتوای پروتئین یولاف‌وحشی

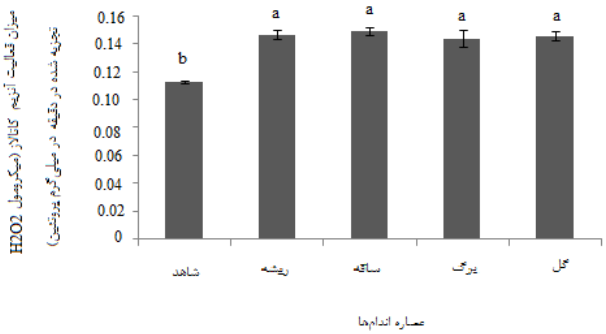
فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز

در این مطالعه، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز یولاف وحشی مربوط به اندام ساقه معادل ۱۴/۹۲ میکرومول آب اکسیژنه تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بود که از لحاظ آماری با اندام‌های ریشه، برگ و گل اختلاف معنی‌داری را نشان نداد، لذا در گروه یکسانی قرار گرفتند (شکل ۱۴). میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز یولاف‌وحشی تحت عصاره آبی اندام‌های

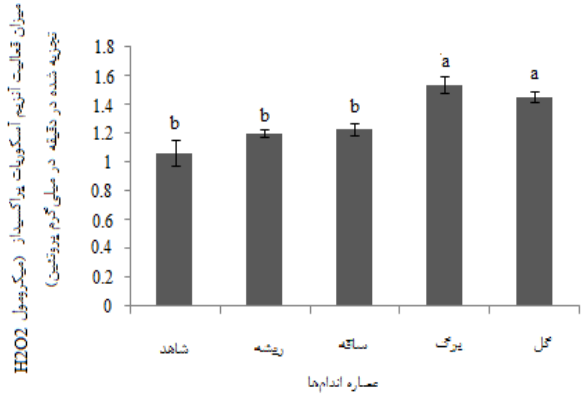
مختلف شاتره نیز از روند افزایشی در مقایسه با شاهد برخوردار بود. به‌طوری‌که بیشترین فعالیت این آنزیم تحت عصاره اندام گل با مقدار ۰/۹۴ میکرومول آب اکسیژنه تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین به‌دست آمد، اما اختلاف آن با اندام برگ و ساقه معنی‌دار نبود (شکل ۱۵). مطابق نتایج، عصاره آبی اندام‌های گل و برگ شاتره اثر افزایشی معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز یولاف‌وحشی نشان دادند. در مقابل اثر اندام‌های ریشه و ساقه بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد معنی‌دار نبود (شکل ۱۶). روی‌هم رفته افزایش در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در یولاف‌وحشی احتمالاً بیانگر افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن تحت تنش ناشی از عصاره آبی اندام‌های مختلف شاتره می‌باشد. اورچ و همکاران (Oracz *et al*., 2007) گزارش نمودند که تغییر در مقدار فعالیت آنزیم‌ها به نوع و غلظت مواد دگرآسیب بستگی دارد. ضرایب همبستگی داده‌ها نشان داد که رابطه منفی و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم کاتالاز و وزن تر و خشک، سطح برگ، میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدهای یولاف‌وحشی وجود داشت. رابطه این صفت با میزان پرولین، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، مثبت ولی غیر معنی‌دار بود (جدول ۳). به‌طورکلی کاهش مولفه‌های مورفولوژیکی، محتوای رنگیزه کلروفیل کل و پروتئین یولاف وحشی تحت تاثیر عصاره آبی اندام‌های علف‌هرز شاتره علی‌رغم افزایش اسمولیت سازشی پرولین و آنتی‌اکسیدان‌های مورد بررسی می‌تواند به‌دلیل عدم کفایت این متابولیت‌ها باشد که منجر به پاسخ ناقص آن‌ها در برابر تنش آللوپاتیک می‌گردد.



شکل ۱۴: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز یولاف‌وحشی



شکل ۱۵: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز یولاف‌وحشی



شکل ۱۶: مقایسه میانگین اثر عصاره اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز یولاف‌وحشی

جدول ۳: ضرایب همبستگی صفات مورد بررسی یولاف‌وحشی تحت عصاره آبی اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره

صفات	وزن تر بوته	وزن خشک بوته	سطح برگ در بوته	محتوای کلروفیل a	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل کل	محتوای کارتنوئیدها	محتوای پرولین	محتوای پروتئین	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز
وزن تر بوته	۱											
وزن خشک بوته	۰/۹۷۴**	۱										
سطح برگ در بوته	۰/۹۶۲**	۰/۹۴۴**	۱									
محتوای کلروفیل a	۰/۸۵۳**	۰/۸۷۱**	۰/۸۹۴**	۱								
محتوای کلروفیل b	۰/۸۴۵**	۰/۸۴۵**	۰/۸۴۲**	۰/۸۱۰**	۱							
محتوای کلروفیل کل	۰/۸۹۲**	۰/۹۰۱**	۰/۹۱۱**	۰/۹۵۱**	۰/۹۵۱**	۱						
محتوای کارتنوئیدها	۰/۷۸۲**	۰/۷۳۵**	۰/۷۷۱**	۰/۷۷۴**	۰/۹۰۳**	۰/۸۸۱**	۱					
محتوای پرولین	-۰/۳۳۹ns	-۰/۴۳۱ns	-۰/۳۴۹ns	-۰/۳۹۴ns	-۰/۴۵۵ns	-۰/۴۴۷ns	-۰/۴۶۲ns	۱				
محتوای پروتئین	۰/۹۴۰**	۰/۹۴۷**	۰/۹۱۷**	۰/۹۲۰**	۰/۸۸۳**	۰/۹۴۸**	۰/۸۸۴**	-۰/۵۱۷*	۱			
فعالیت آنزیم کاتالاز	-۰/۷۸۵**	-۰/۸۳۷**	-۰/۷۶۴**	-۰/۶۶۸**	-۰/۷۵۴**	-۰/۷۴۴**	-۰/۶۱۸**	۰/۴۲۱ns	-۰/۸۲۵**	۱		
فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز	-۰/۸۰۵**	-۰/۷۹۴**	-۰/۷۸۹**	-۰/۷۶۸**	-۰/۷۹۸**	-۰/۸۲۷**	-۰/۷۸۰**	۰/۴۹۲ns	-۰/۸۷۲**	۰/۶۳۱*	۱	
فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز	-۰/۶۳۲*	-۰/۷۰۹**	-۰/۷۷۸**	-۰/۸۲۴**	-۰/۶۳۴*	-۰/۷۶۶**	-۰/۵۵۴*	۰/۵۶۵*	-۰/۷۲۵**	۰/۵۷۵*	۰/۵۹۶*	۱

**، *: به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد. ns: بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع با توجه به مقادیر نسبتاً مناسبی از ترکیبات آلکالوئیدی و فنلی در اندام‌های مختلف علف‌هرز شاتره به‌ویژه برگ و گل و اثر دگرآسیبی آن‌ها بر مولفه‌های رشدی و رنگیزه‌های فتوسنتزی یولاف‌وحشی می‌توانند کاندیدهایی قابل بررسی برای تولید علفکش‌های طبیعی باشند. علاوه بر این به‌منظور استفاده از علف‌هرز شاتره به‌عنوان علفکش زیستی می‌بایست استخراج و شناسایی سایر آللوشیمیایی‌ها در اندام‌های این گیاه مورد بررسی قرار گیرد. هم‌چنین با توجه به اثر دگرآسیبی علف‌هرز شاتره بر یولاف‌وحشی به‌عنوان یک نتیجه‌گیری جانبی پیشنهاد به کاشت ارقام مقاوم گیاهان زراعی به علف‌هرز شاتره می‌شود، درجایی که این علف هرز غالب است.

منابع

حسینی، پ. (۱۳۸۶) بررسی فیزیولوژیکی اثر تنش سرما در مرحله گیاهچه‌ای ژنوتیپ‌های مختلف برنج. رساله دکتری تخصصی. دانشگاه شهید چمران اهواز ۱۴۵ صفحه.

رجایی، و.، غلامعلی‌پور علمداری، ا.، اورسجی، ز. و نعیمی، م. (۱۳۹۷) ارزیابی پتانسیل دگرآسیبی عصاره آبی اندام‌های هوایی علف‌هرز تاتوره (Datura stramonium) بر صفات جوانه‌زنی و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی ارقام گندم. نشریه پژوهش‌های بذر ایران ۵(۲): ۲۹-۴۱.

زرگری، ع. (۱۳۷۱) گیاهان داروئی (جلد سوم)، چاپ پنجم، انتشارات دانشگاه تهران.

سلیمی، ح. و قربانلی، م. (۱۳۸۰) بررسی جوانه زنی بذور یولاف‌وحشی درشرایط متفاوت و تاثیر برخی عوامل موثر در شکست خفتگی بذر. رستنی‌ها جلد ۲.

علی سلطانی، ا.، علیزاده، ه.، محفوظی، س. و خیال‌پرست، ف. (۱۳۹۱) اثر دوره‌های کوتاه و طولانی مدت سرماسازگاری بر خصوصیات بیوشیمیایی دو رقم بهاره و زمستانه گندم نان (Triricum aestivum L.). مجله علوم زراعی ایران ۱۴(۲): ۱۲۰- ۱۰۸.

قهرمان، ا. (۱۳۷۳) کورموفیت‌های ایران. جلد چهارم، مرکز نشر دانشگاه تهران. ۶۱۸ صفحه.

قهرمان، ا. (۱۳۷۵) کد خانواده‌ها و جنس‌های گیاهی ایران. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور ۲۲۲ صفحه.

مظفریان، و. (۱۳۷۵) فرهنگ نام‌های گیاهان ایران: لاتینی، انگلیسی، فارسی. فرهنگ معاصر ۲۳۸ صفحه.

مهرپور، م.، کاشفی، ب. و مقدم، م. (۱۳۹۵) بررسی ترکیبات فیتوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه دارویی Ferula assafoetida L. در دو رویشگاه طبیعی استان‌های سمنان و خراسان. فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی ۱۳(۱): ۵۶-۶۸.

میقانی، ف. (۱۳۸۲) آللوپاتی (دگرآسیبی) از مفهوم تا کاربرد. انتشارات پرتو واقعه، تهران ۲۵۶ صفحه.

Abu-Romman, S., Shatnawi, M. and Shibli, R (2010) Allelopathic effects of spurge (Euphorbia hierosolymitana) on wheat (Triticum durum). American- Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science 7(3): 298-302.

Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods Enzymology 105: 121–126.

Amoo, S.O., Ojo, A.U. and Van Staden, J. (2008) Allelopathic potential of Tetrapleura tetraptera leaf extracts on early seedling growth of five agricultural crops. South African Journal of Botany 74: 149-152.

Bates, L.S., Walderen, R.D. and Taere, I.D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.

Caceres, A. (2000) Calidad de la material prima para la elaboracion de productos fitofarma ceuticas. Primer Congreso International FITO 2000 Por la investigacion, conservacion y diffusion del conocimiento de las plantas medicinals 27-30 de septiembre, Lima, Peru.

Cadho, K.L. and Rajender, G. (1995) Advances in horticulture medicinal and aromatic plants. Vol. 11, Maldorta Publication. New Delhi.

Clarka, D. (2006) The role of allelopathy in agricultural ecosystems. Department of Pomology and Basic Natural Sciences in Horticulture, Warsaw Agricultural University.

Cruz-Ortega, R., Lara-Núñez, A. and Anaya, A. L. (2007) Allelochemical stress can trigger oxidative damage in receptor plants. Plant Signaling and Behavior 2: 269-270.

Elisante, F., Tarimo, M.T. and Ndakidemi, P.A. (2013) Allelopathic effect of seed and leaf aqueous extracts of Datura stramonium on leaf chlorophyll content, shoot and root elongation of Cenchrus ciliaris and Neonotonia wightii. American Journal of Plant Sciences 4: 2332-2339.

Enteshari, Sh. and Ahrabi, F. (2011) Effect of the coumarin on some physiological and biochemical indexes of Conola- Hiola variety. Journal of Plant Biology 3(10): 26-23.

Gniazdowska, A. and Bogatek, R. (2005) Allelopathic interactions between plants, Multi site action of allelochemicals. Acta Physiologiae Plantarum 27: 395-407.

Gupta, P.C., Sharma, N. and Rao, C.V. (2012) A review on ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of Fumaria indica (Fumitory). Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2(8): 665-669.

Harborne, J.B. (1973) Phytochemical methods, London. Phytochemistry 51: 187189.

Harries, M.J., Chalmers, R.J.G. and Griffiths, C.E.M. (2005) Fumaric acid esters for severe psoriasis: a retrospective review of 58 cases. British Journal of Dermatology 153(3): 549-551.

Hemeda, H.M. and Kelin, B.P. (1990) Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetables extracts. Journal of Food Science 55(1), 184-185.

Jabeen, N. and Ahmed, M. (2009) Possible allelopathic effects of three different weeds germination and growth of maize (Zea mays) cultivars. Pakistan Journal of Botany 41(4): 1677-1683.

Justin, A.C., Ingrid, M.P. and Gregory, S.G. (2012) Allelopathy: Allelopathy: a tool for weed management in forest restoration 213(12):1975- 1989.

Kala, S. (2015) Effect of Nacl salt stress on antioxidant enzymes of isabgol (Plantago ovata forsk.) genotypes. International Journal of Scientific and Technology Research 4(02): 2277-8616.

Kao, C.H. (1981) Senescence of rice leaves. VI. Comparative study of the metabolic changes of senescing turgid and water–stressed excised leaves. Plant and Cell Physiology 22: 683–685.

Kavi Kishori, P.B., Sangam, S., Amrutha, R.N., Sri Laxmi, P., Naidu, K.R., Rao, K.R.S.S., Rao, S., Reddy, K.J., Theriappan, P. and Sreenivasulu, N. (2005) Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plant: its implication in plant growth and abiotic stress tolerance. Current Science 88 (3): 424– 438.

Kazzazi, M., Bandani, A.R. and Hosseinkhani, S. (2005) Biochemical characterization of α-amylase of the Sunn pest, Eurgaster intergriceps. Entomological sciences 8: 371-377.

Kobayashi, K.(2004) Factors affecting phytotoxic activity of allelochemicals in soil. Weed Biology and Management 4: 1-7.

Kohli, R.K., Singh, H.P. and Batish, D.R. (2001) Allelopathy in agro ecosystems. Food Products Press, New York.

Lowry, O.H., Rosebrough, N. J. and Rand, R. J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry 193: 265-273.

Ma, L., Wu, H., Bai, R., Zhou, L., Yuan, X. and Hou, D. (2011) Phytotoxic effects of Stellera chamaejasme L. root extract. African Journal of Agricultural Research 6: 1170-1176.

Machado, S. (2007) Allelopathic potential of various plant species on downy brome: Implications for weed control in wheat production. Agronomy Journal 99: 127–132.

Macias, F.A., Molinillo, J., Varela, R.M. and Galindo, J.C.G. (2007) Allelopathy a natural alternative for weed control. Pest Management Science 63:327-348.

Makoi, J.H. and Ndakidemi, P.A. (2012) Allelopathy as protectant, defense and growth stimulants in legume cereal mixed culture systems. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 40: 161-186.

Malick, C.P. and Singh, M.B. (1980) In plant enzymology and histo enzymologhy. Kalyani Publishers, New Dehli.

Martinov, M., Oztekin, S. and Muller, J. (2007) Drying. In: Oztekin, S. and Martinov, M. (Eds.). Medicinal and Aromatic Crops. CRC Press, United States of America 320p.

McCalley D.V. (2002) Analysis of the Cinchona alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques. Journal of Chromatogr A 967: 1: 1- 19.

Narwal, S.S. and Tauro, P. (1996). Allelopathy in pest's management for sustainable agriculture. Proceeding of the International Conference on Allelopathy, Volume I, New Delhi, India, 5th September Pp 67-76.

Nakano, Y. and Asado, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22(5): 867-880.

Onsel, Y., Keles, Y. and Ustum, A.S. (2000) Interactive effect of temperature and heavy stress on the growth and biochemical compounds in wheat. Environmental Pollution Journal 107: 315-320.

Oracz, K., Bailly, C., Gniazdowska, A., Côme, D., Corbineau, D. and Bogatek, R. (2007) Induction of oxidative stress by sunflower phytotoxins in germinating mustard seeds. Journal of Chemical Ecology 33:251-264.

Rao, C.V., Verma, A.R., Gupta, P.K. and Kumar, M.V. (2007) Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of Fumaria indica whole plant extract in experimental animals. Acta Pharmaceutica 57(4): 491- 498.

Suau, R., Cabezudo, B., Rico, R., Najera, F. and Lopez-Romero, J.M. (2002). Direct determination of alkaloid content in Fumeria species by GC-MS. Phytochemical Analysis 13: 363-367.

Ullah, R., Tanveer, A., Khaliq, A. and Hussain, S. (2013) Comparative allelopathic potential of Fumaria indica L. and Polygonum plebejum L. against field crops. Weed Science Research 19(1): 15-29.

Verbruggen, N. and Hermons, C. (2008) Proline accumulation in plants: a review. Amino Acids 35(4): 753– 759.

Vyvyan, J.R. (2002) Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. Tetrahedron 58:1631-1646.

Weir, T.L., Park, S.W. and Vivanco, J.M. (2004) Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. Current Opinion in Plant Biology 1: 113-119.

Yoshida, S., Forno, D.A., Cock, J.H. and Gomez, K.A.(1976) Laboratory manual for physiological studies of rice. 3rd Edition. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines.

Study of contents of some secondary metabolites and allelopathic effects of various organs of *Fumaria parviflora* weed on *Avena ludoviciana*

A. Ataei[1], E. Gholamalipour Alamdari[2*], Z. Avarseji[2], A. Rahemi Karizaki[2]

Received: 2018.7.7
Accepted: 2019.7.1

Abstract

Basically, the reduction in crop yield is due to the competition and allelopathy of weeds. This study was aimed at assessing content of some secondary metabolites and evaluating allelopathic potential of various organs of *Fumaria parviflora* on morpho-physiological and biochemical characteristics of *Avena ludoviciana* seedling. Aqueous solution of organs was prepared using 5g plant material/ 100 ml D.W and applying it on 7- day old seedlings of *Avena ludoviciana*. The quantification assay of alkaloids and total phenols in various organs of *Fumaria parviflora* indicated that leaves and flowers had the highest content of these compounds, compared to the roots and stems. According to the results, the allelopathic compounds of various organs of *Fumaria parviflora* had a different inhibitory effect on root length, seedling length, fresh and dry plant weight, leaf area, and the content of total chlorophyll, carotenoids and proteins of *Avena ludoviciana*. The most negative effect on the traits of *Avena ludoviciana* was obtained in the leaves of *Fumaria parviflora*. In addition, the content of prolin and enzymes activity of catalase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase were increased under aqueous extract of *Fumaria parviflora* organs compared to the control.

Keywords: Allelopathic compounds, Catalase activity, Hydroponic culture, Leaf area, Suspension, Total phenols.

1- MSc. student of Identification and Weeds Control, College of Agriculture and Natural Resources of Gonbad Kavous University.

2-Assistants Professor of Plant Production Department, College of Agriculture and Natural Resources of Gonbad Kavous University. *(Corresponding author: eg.alamdari@gonbad.ac.ir)