

## مقایسه پتانسیل دگرآسیبی عصاره آبی برگ و پودر برگ اکالیپتوس بر رشد گیاهچه‌ای ذرت (*Zea mays* L.) و علف هرز ارزن وحشی (*Panicum miliaceum* L.)

فاطمه آسیایی، منیره چنیانی\* و مهرداد لاهوتی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۵/۱۱)

### چکیده

به منظور بررسی و مقایسه اثرات دگرآسیب عصاره آبی گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus* Labill) با پودر برگ آن بر گیاه ذرت (*Zea mays*) و علف‌هرز ارزن وحشی (*Panicum miliaceum*)، آزمایشاتی انجام شد. این آزمایش بر گیاه ذرت و علف هرز رایج آن، ارزن وحشی و در مرحله گیاهچه‌ای، با تیمارهای عصاره آبی برگ گیاه اکالیپتوس (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر) و پودر برگ (۳ و ۵ درصد وزنی- وزنی نسبت به خاک باغچه) و شاهد (آبیاری با آب معمولی) صورت گرفت. براساس نتایج، تیمار با عصاره آبی (در اغلب موارد) و پودر برگ اکالیپتوس موجب کاهش ارتفاع بخش هوایی و وزن خشک بخش هوایی و ریشه‌های گیاه ذرت و ارزن وحشی شدند به طوریکه بیشترین درصد کاهش صفات مذکور نسبت به شاهد، در تیمار ۲۰ گرم در لیتر عصاره آبی بر ارزن وحشی مشاهده شد. هر چند محتوای کلروفیل‌های a، b و کل، کاروتنوئید و ضریب ثبات کلروفیل گیاهچه‌های ذرت تیمار شده با عصاره آبی روند افزایشی نسبت به شاهد از خود نشان داد ولیکن محتوای کلروفیل کل و ضریب ثبات کلروفیل ذرت تیمار شده با پودر برگ گیاه اکالیپتوس کاهش بود. افزایش ضریب پایداری غشا ذرت و کاهش این صفت در ارزن وحشی، در برابر هر دو نوع تیمار عصاره و پودر برگ اکالیپتوس، از دیگر نتایج این پژوهش بود. هر چند تجمع مالون دی‌آلدهید در گیاهچه‌های ارزن وحشی تیمار شده، دارای بیشینه افزایش بود ولیکن گیاهچه‌های ذرت توانستند به‌طور معنی‌داری از پراکسید شدن لیپیدهای غشا در برابر تنش دگرآسیبی ناشی از عصاره و پودر برگ جلوگیری کنند. تأثیر عصاره آبی و پودر برگ گیاه اکالیپتوس بر افزایش بیشتر محتوای فنل کل ذرت نسبت به ارزن وحشی، از دیگر نتایج این پژوهش بود. ارزیابی فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز نشان داد که در هر چهار نوع تیمار غلظتی عصاره آبی برگ و دو تیمار پودر برگ گیاه اکالیپتوس، موجب کاهش قابل‌توجه میزان فعالیت آنزیم در ارزن وحشی شد. براساس نتایج این پژوهش، عصاره آبی و پودر برگ دارای اثرات بازدارندگی متفاوت بر عملکردهای بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و نمو گیاه زراعی و علف هرز هستند و با در نظر گرفتن پتانسیل دگرآسیب عصاره آبی برگ و پودر برگ گیاه اکالیپتوس بر گیاه ذرت و علف هرز ارزن وحشی، عصاره گیاه به‌عنوان یک کاندید علف‌کش طبیعی (در مقایسه با پودر برگ) در جهت کنترل علف هرز ارزن وحشی در مزارع ذرت پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: ارزن وحشی، اکالیپتوس، پتانسیل دگرآسیبی، پودر برگ، ذرت، عصاره آبی برگ، علف‌کش طبیعی

### مقدمه

نظام‌های کشاورزی و بخش جدایی‌ناپذیر در سامانه‌های

کشاورزی محسوب شده و از سوی دیگر به دلیل آثار مخرب

علف‌های هرز از یک سو به‌عنوان یکی از اجزای مکمل بوم

\*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Cheniany@um.ac.ir

و بیوشیمیایی گیاه ذرت و یکی از علف‌های هرز رایج آن، ارزن وحشی می‌پردازد تا شاید بتوان جایگزینی ایده‌آل از یک علف‌کش زیستی در برابر سموم شیمیایی برای کنترل علف هرز مزارع ذرت پیشنهاد نمود.

#### مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه و مقایسه اثرات دگرآسیبی عصاره آبی و پودر برگ گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*)، برگ‌های بالغ این گیاه از درختان حوالی شهر "کردکوی" در استان گلستان با مختصات جغرافیایی ("۶۲°۴۳' ۵۴" شمالی، "۶۷°۷۹' ۳۶" غربی) جمع‌آوری شد. سپس برگ‌ها به همراه دمبرگ‌های آن، در شرایط سایه خشک و با دستگاه آسیاب (مدل MC300، شرکت Moulinex، فرانسه) پودر شدند و از آن عصاره‌های آبی ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر (وزنی - حجمی) تهیه شد. برای تعیین اثر عصاره آبی برگ اکالیپتوس بر گیاه زراعی ذرت (*Zea mays* L.) و علف هرز ارزن وحشی (*miliaceum* L.) در مرحله گیاهچه‌ای، گلدان‌های پلاستیکی یک کیلوگرمی تیره رنگ با خاک باغچه (نسبت مناسبی از رس و ماسه نرم با نسبت ۵ به ۳) پر شدند. بذره‌های ذرت هیبریدی "سینگل کراس" (تهیه شده از مرکز جهاد کشاورزی محمدآباد شهرستان آشنخانه، استان خراسان شمالی) و ارزن وحشی (تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی - سازمان جهاد کشاورزی استان گلستان)، پس از ضدعفونی در عمق ۲ سانتی‌متری خاک استریل (استریل شدن عمومی خاک با استفاده از تفت دادن بر روی حرارت به مدت ۱۰ دقیقه) کاشته شدند و بر روی آن، مجدداً خاک استریل ریخته شد. هر گلدان با تعداد ۱۰ بذر، به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. پس از جوانه‌زنی بذور (۱۰ روز پس از کاشت)، گیاهچه‌ها با استفاده از عصاره‌های آبی برگ اکالیپتوس در غلظت‌های مذکور، بین ۳ تا ۵ بار (هر ۵ روز) تیماردهی شدند و در روزهای دیگر تا مدت ۲۱ روز، با استفاده از آب معمولی آبیاری شدند. در نمونه شاهد از آبیاری با آب مقطر استفاده شد. به منظور بررسی اثر پودر برگ، گلدان‌های یک کیلوگرمی تیره رنگ پر شده با

ناشی از رقابت بر عملکرد محصولات زراعی از دیرباز به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده محصول به‌شمار می‌روند (Mohammadi, 2010)؛ به طوریکه خسارت ناشی از علف‌های هرز گاهی به ۷۰ الی ۸۰ درصد می‌رسد و مبارزه و کنترل علف‌های هرز از مهم‌ترین مراحل داشت در کشاورزی محسوب می‌گردد. کنترل علف‌های هرز می‌تواند از طریق شیمیایی و یا زیستی صورت گیرد (Kohli et al., 1998). در سال‌های اخیر، استفاده از گیاهانی که دارای خاصیت دگرآسیبی هستند و به‌طور طبیعی از جوانه‌زنی بذور و رشد علف‌های هرز جلوگیری می‌کنند به‌عنوان یک راه جایگزین شیوه‌های شیمیایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Farhoudi, 2012). دگرآسیبی شامل سازوکاری از روابط گیاه- گیاه، گیاه- میکرو ارگانیسم، گیاه- حشرات، گیاه- علف‌خواران است که در نتیجه تولید و آزادسازی ترکیبات شیمیایی به محیط اطراف صورت می‌گیرد (Inderjit, 2003). حضور ترکیبات دگرآسیب در مزرعه نوعی تنش زیستی محسوب می‌شود به طوریکه گیاهانی که در مجاورت گونه‌های دارای توانایی دگرآسیبی قرار می‌گیرند، همواره در معرض این نوع تنش قرار دارند (Lara- Eucalyptus Nunez et al., 2006). گیاه اکالیپتوس (*globulus Labill*) گیاهی پرورشی در جنوب کشور است که قسمت عمده ترکیبات موجود در عصاره برگ آن را ترکیبات فنلی با اثرات دگرآسیب تشکیل می‌دهند (Mohammadi et al., 2013). ثابت شده است که ترکیبات موجود در عصاره برگ اکالیپتوس می‌تواند سبب توقف جذب مواد معدنی، توقف تقسیم سلولی، کندشدن روند فتوسنتز و تنفس و فعالیت‌های آنزیمی شود. این مواد همچنین در روند عملکرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از جمله اکسین و جیبرلیک اسید دخالت می‌کنند (Ginazdowska and Bogatek, 2005). با این وجود، تاکنون هیچ بررسی مقایسه‌ای مابین اثرات دگرآسیبی عصاره و پودر برگ گیاه اکالیپتوس در جهت انتخاب مناسب به‌عنوان یک علف‌کش طبیعی صورت نگرفته است. از این رو، پژوهش حاضر به مطالعه و مقایسه تأثیرات دگرآسیب عصاره آبی و پودر برگ این گیاه بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و

FW  $\mu\text{Mol g}^{-1}$  هستند).

عصاره‌گیری ترکیبات فنلی بر مبنای متانول ۸۰ درصد (v/v) و اندازه‌گیری آن بر مبنای معرف فولین سیوکالچو و براساس روش Kim و همکاران (۲۰۰۸) صورت گرفت. استخراج پروتئین‌ها به کمک بافر فسفات پتاسیم (0.1 M, pH 7.4) و محتوای پروتئین کل در هر نمونه بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر نمونه محاسبه گردید (Bradford, 1976). میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز نمونه‌های برگ با انکوبه‌نمودن آنها در بافر فسفات پتاسیم (100 mM, pH 7.5) حاوی پروپانول و پتاسیم نیترات و براساس روش Stewart و همکاران (۱۹۹۲) و به‌دنبال آن، بیان میزان تغییرات جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام شد. در نهایت، میزان فعالیت بر حسب میکرومول نیتريت در گرم وزن تر نمونه در ساعت (در برابر منحنی استاندارد سدیم نیتريت) محاسبه گردید. آزمایشات به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت و در پایان آزمایش‌ها، بررسی داده‌ها با نرم‌افزار Minitab (نسخه ۱۷) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی ( $P \leq 0.05$ ) و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel (نسخه ۲۰۱۶) انجام شد.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که گونه گیاهی، نوع تیمار اعمال‌شده بر گیاهچه‌ها و بر همکنش گونه گیاهی و نوع تیمار بر کلیه صفات ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بررسی‌شده در این پژوهش معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) بود (جدول ۱ و ۲).

**صفات ریخت‌شناسی:** نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در گیاه ذرت و علف هرز ارزن وحشی، با افزایش غلظت عصاره آبی برگ گیاه اکالیپتوس، صفات ریخت‌شناسی ارتفاع بخش هوایی و مجموع طول ریشه‌ها، نسبت به شاهد کاهش یافتند. به طوری‌که بیشترین درصد کاهش این صفات در تیمار ۲۰ گرم در لیتر عصاره آبی برگ گیاه اکالیپتوس این گیاهان مشاهده شد ( $P \leq 0.05$ ). با این وجود، میزان تأثیر

نسبت مناسبی از رس و ماسه نرم (نسبت ۵ به ۳)، با پودر برگ ۳ و ۵ درصد وزنی- وزنی (۳۰ و ۵۰ گرم به ازای هر کیلوگرم خاک تا عمق ۵ سانتی‌متری) مخلوط شدند. جهت پوسیدگی پودرهای برگ اضافه‌شده به گلدان‌ها، عمل آبیاری گلدان‌های کاشته‌نشده با آب معمولی به‌مدت ۱۰ روز و به‌صورت روزانه انجام شد. نمونه شاهد در این بخش آزمایش، گلدان‌های حاوی خاک باغچه بدون پودر برگ بودند. گیاهچه‌های نورست ۸ روزه، با احتیاط به گلدان‌های مورد نظر منتقل گردیدند و ۲ روز پس از کاشت، گلدان‌ها هر ۵ روز تا مدت ۲۱ روز، با آب معمولی آبیاری شدند. کلیه گلدان‌ها در شرایط فیتوترون با دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. در نهایت، ریشه و ساقه گیاهچه‌های ۲۱ روزه جهت بررسی برخی خصوصیات ریخت‌شناسی از جمله ارتفاع بخش هوایی و ریشه، وزن خشک بخش هوایی و ریشه از هم جدا شدند. از برگ گیاهان برای سایر ارزیابی‌های صفات استفاده شد. میزان پایداری غشا (MSI) بر پایه معادله  $MSI = 1 - EC_{40} / EC_{100}$  و با دستورالعمل Azizpour و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد. در این معادله،  $EC_{40}$  هدایت الکتریکی نمونه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و  $EC_{100}$  هدایت الکتریکی نمونه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد است. عصاره‌گیری و اندازه‌گیری محتوای رنگدانه‌های کلروفیلی a، b و کل (Lichtenthaler, 1987) و کاروتنوئیدها (Arnon, 1967) نیز بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه گیاهی صورت گرفت. ضریب ثبات کلروفیل براساس روش توصیفی ۴۸ Murthy و Majumdar (۱۹۶۲) اندازه‌گیری شد. برای استخراج و اندازه‌گیری محتوای پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳)، برای اندازه‌گیری محتوای کربوهیدرات‌های محلول از روش Dubois و همکاران (۱۹۵۶) و برای اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدهید برگ براساس معادله  $A = \epsilon bc$ ، از روش Health و Packer (۱۹۶۹) استفاده شد (در این معادله، A جذب نمونه مورد نظر،  $\epsilon$  ضریب خاموشی مالون دی‌آلدهید  $= 155 \text{ Mm}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ، b عرض کووت = ۱ سانتی‌متر، c غلظت مالون دی‌آلدهید بر حسب

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای برگ گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ذرت (*Zea mays*) و علف هرز ارزن وحشی (*Panicum miliaceum*) در مرحله گیاهچه‌ای

منبع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بخش هوایی	مجموع طول ریشه‌ها	وزن خشک بخش هوایی	وزن خشک ریشه
گونه گیاهی	۱	۴۱۱۲/۰۲ *	۵۴۰۶/۶۶ *	۹۱۳۱/۰۸ *	۵۶۹۷/۴۸ *
نوع تیمار	۵	۱۱۳۳۳/۰۳ *	۱۵۵۹۱/۶۳ *	۲۹۱۰/۴۹ *	۹۶۴۶/۹۰ *
گونه گیاهی × تیمار	۵	۲۵۴۷/۰۸ *	۱۴۴۱/۰۷ *	۷۴۱۲/۵۵ *	۲۲۰۶/۸۴ *
خطا	۲۴	۲۰۹۴/۳۴	۱۱۱۰/۵۶	۱۴۹۵/۸۴	۱۷۸۴/۸۰
کل	۳۶				

ns و \* به ترتیب بیانگر عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال خطای ۵ درصد است.

ادامه جدول ۱-۱

منبع تغییر	درجه آزادی	محتوای کلروفیل a	محتوای کلروفیل b	محتوای کلروفیل کل	محتوای کاروتنوئید
گونه گیاهی	۱	۱۱۴۶۵/۵۲ *	۶۵۱۸/۶۸ *	۱۸۴۴/۶۵ *	۵۲۷۲/۵۲ *
نوع تیمار	۵	۴۸۳/۷۳ ns	۲۲۹۰/۵۰ *	۱۰۰۷۸/۱۹ *	۱۶۵۷/۴ ns
گونه گیاهی × تیمار	۵	۴۸۹۰/۱۲ *	۶۴۸۰/۱۳ *	۷۱۱۶/۲۸ *	۹۲۲۳/۶۶ *
خطا	۲۴	۶۴۰/۰۹	۱۱۸۹/۱۹	۳۰۳۶/۰۵	۳۵۴۷/۳۷
کل	۳۶				

ns و \* به ترتیب بیانگر عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال خطای ۵ درصد است.

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای برگ گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) بر برخی خصوصیات ساختاری و بیوشیمیایی ذرت (*Zea mays*) و علف هرز ارزن وحشی (*Panicum miliaceum*) در مرحله گیاهچه‌ای.

منبع تغییر	درجه آزادی	شاخص	محتوای پرولین	محتوای مالون دی‌آلدئید	محتوای فنل کل	محتوای پروتئین کل	فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز
گونه گیاهی	۱	۸۷۷۸/۹۹ *	۶۷۲/۷۱ ns	۲۱۳۵/۳۸ *	۵۶۳۸/۵۱ ns	۳۳۵/۹۹ ns	۹۳۵۷/۳۳ *
نوع تیمار	۵	۱۶۵۷/۴۴ *	۲۹۳۲/۴۹ *	۸۲/۰۲ ns	۴۵۸۸/۱۷ *	۲۱۳۶۵/۹۶ *	۱۰۳۰۲/۱۸ *
گونه گیاهی × تیمار	۵	۹۲۲۳/۶۶ *	۶۹۷۹/۱۱ *	۲۴۲۹/۹۸ *	۳۲۴۳۹/۹ *	۳۱۴۰/۴۰ *	۸۶۶۷/۹۶ *
خطا	۲۴	۳۵۴۷/۳۷	۱۱۳۱/۵۹	۱۰۴۵/۸۶	۲۳۳۲۵/۴	۲۹۹۰/۳۵	۳۹۷/۸۶
کل	۳۶						

ns و \* به ترتیب بیانگر عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال خطای ۵ درصد است.

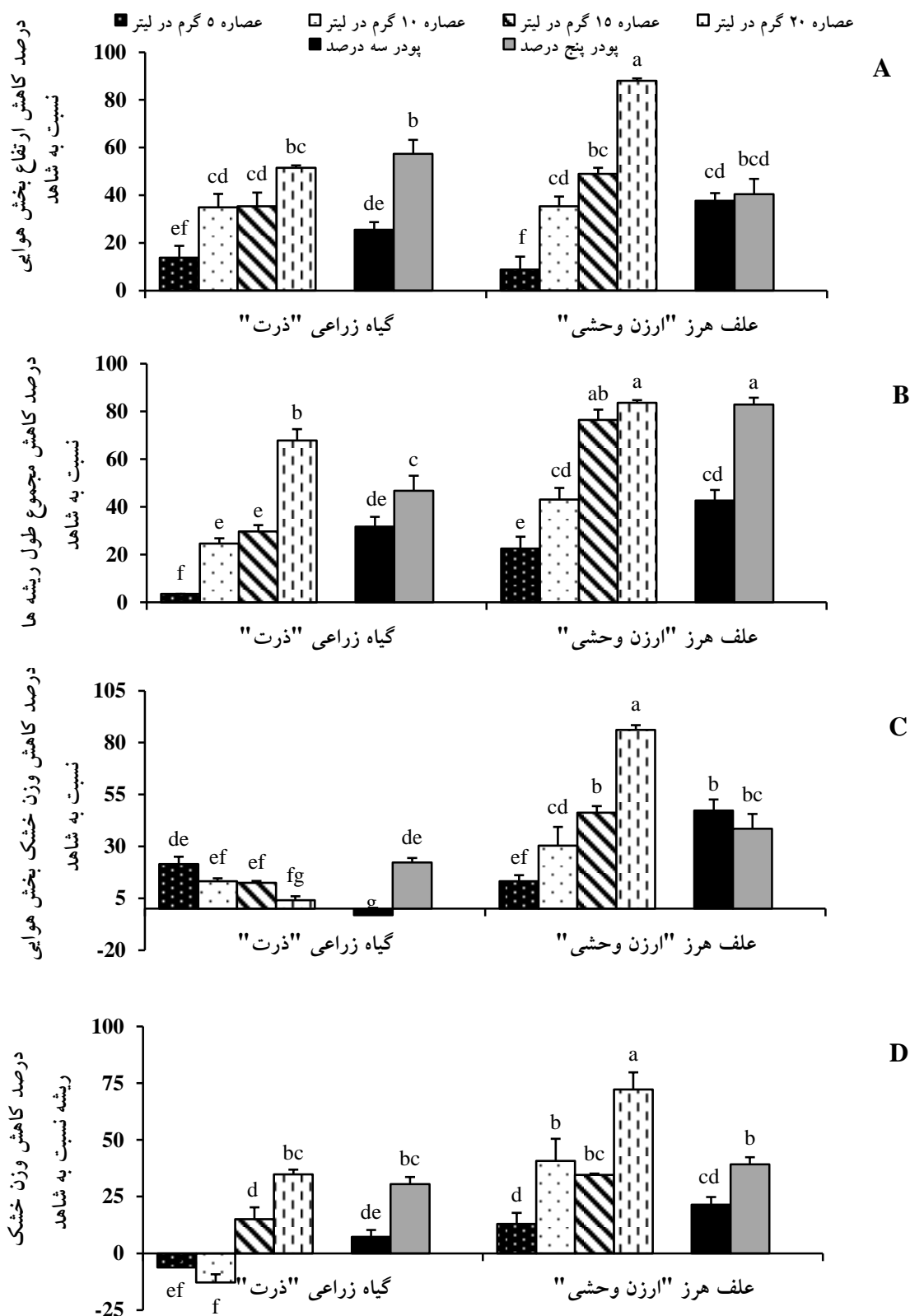
یافت اما این روند کاهش در تیمارهای غلظتی کمتر، بیشتر بود و هر چه به سمت تیمار با غلظت‌های بالاتر سوق پیدا نمود، کاهش مشاهده شده در وزن خشک بخش هوایی کمتر بود. این درحالی بود که تیمارهای پیش‌رونده عصاره‌های آبی

کاهشی عصاره‌های آبی بر صفات مذکور، در علف هرز ارزن وحشی بیشتر از گیاه زراعی ذرت بود (شکل‌های A, B). نتایج در بخش وزن خشک بخش هوایی نشان داد که در گیاه زراعی ذرت، هر چند صفت مذکور نسبت به شاهد کاهش

در گیاهان متأثر از عصاره آبی برگ گیاه اکالیپتوس گزارش‌های وجود دارد که از جمله آن می‌توان به انواع گیاهان حساس علف هرز دائمی (*Cynodon dactylon* L.) (Daneshmandi and Azizi, 2009)، برنج (*Oryza sativa* L.) و ذرت خوشه‌ای (*Sorghum bicolor* L.) (Djanaguiraman, 2005)، جو (*Hordeum vulgare* L.) و خاکشیر (*Descurainia sophia* L.) (Saraei et al., 2012) ... اشاره داشت. همچنین پسماندهای گیاهی جمع‌آوری شده از زیر اشکوب درخت اکالیپتوس، اثرات بازدارندگی زیادی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.) داشتند و بر این اساس، ترکیب و ساختار گیاهان علفی در زیر اشکوب این درختان به اثر مواد آلویشیمیایی وارد شده به خاک نسبت داده شد (Molina et al., 1991). بر طبق گزارشات، کاهش رشد سلولی و به‌دنبال آن کاهش طول و وزن بخش هوایی و ریشه از پیامدهای رایج تأثیرات دگرآسیبی (در اغلب موارد) است. ترکیبات دگرآسیب، با تقلیل تارهای کشنده و به‌دنبال آن کاهش جذب آب و مواد معدنی، می‌توانند موجب کاهش طول گیاه شوند (Chon et al., 2005). فعالیت بازدارندگی ترکیبات دگرآسیب بر رشد گیاهان به اثرگذاری بر فرآیندهای مهمی مانند فتوسنتز نیز نسبت داده شده است (Daneshmandi and Azizi, 2009). پیشنهاد شده است که کاهش فتوسنتز در اثر ترکیبات دگرآسیب ممکن است ناشی از کم‌شدن فراهمی نیتروژن و به‌طبع آن کاهش سطح برگ (Adair, 1999)، ممانعت در مسیر بیوسنتز کلروفیل و یا ترغیب مسیر تجزیه و تخریب کلروفیل (Yang et al., 2002)، اختلال در جفت‌شدن انتقال جفت الکترون‌ها و فتو فسفریلاسیون چرخه‌ای و غیرچرخه‌ای (Katib et al., 2004-EI) و ... باشد که ماحصل همه آنها، کاهش تولید کربوهیدرات‌ها و در نهایت کاهش تجمع ماده خشک در اندام‌های گیاهی است (Neergaard et al., 2002). از دیگر موارد پیشنهادی برای اثرات کاهشی ترکیبات دگرآسیب بر فرایند رشد، به دخالت این ترکیبات بر منع سنتز (Chon et al., 2005)، بازدارندگی انتقال (Turk and Tawaha, 2003)، مهار عملکرد

موجب کاهش بیشتر وزن خشک بخش هوایی ارزن وحشی (نسبت به شاهد) شد به نحویکه بیشترین کاهش وزن خشک بخش هوایی (نسبت به شاهد) مربوط به تیمار ۲۰ گرم در لیتر عصاره آبی (۸۶/۰۸ درصد) بر این گیاه بود ( $P \leq 0.05$ ) (شکل C ۱). وزن خشک ریشه گیاه زراعی ذرت در زمان تیمار با عصاره‌های آبی ۵ و ۱۰ گرم در لیتر افزایش و در زمان تیمار با عصاره‌های آبی ۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر کاهش یافت (شکل D ۱). صفت مذکور در علف هرز ارزن وحشی تیمار شده با همه غلظت‌های عصاره آبی برگ اکالیپتوس (نسبت به شاهد) کاهش معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) یافت. ارزیابی جامع صفات ریخت‌شناسی متأثر شده با تیمارهای عصاره‌های آبی، بیانگر حساسیت بیشتر علف هرز ارزن وحشی نسبت به گیاه زراعی ذرت بود. در بخش تأثیر تیمار با دو نسبت پودر برگ گیاه اکالیپتوس بر صفات ریخت‌شناسی گیاهان بررسی شده، مشخص گردید که تغییرات مشاهده شده برای مجموع طول ریشه‌ها، وزن خشک بخش هوایی و ریشه ذرت و ارزن وحشی مشابه هم بود به طوریکه همه صفات مذکور با هر دو نوع تیمار پودر برگ کاهش یافتند. با این وجود، اثر کاهشی پودر برگ ۵ درصد بیشتر از اثر کاهشی پودر برگ ۳ درصد بود و از سوی دیگر، این اثرات کاهشی بر صفات متعلق به ارزن وحشی بیشتر از ذرت بود (شکل‌های B, D, C ۱). تنها در مورد ارتفاع بخش هوایی، کاهش‌های مشاهده شده در ارزن وحشی تیمار شده با پودر برگ کمتر از آنچه بود که در گیاه ذرت مشاهده شد (شکل A ۱).

نکته قابل توجه آن بود که هر چند همه صفات رویشی ارزیابی شده گیاهان ذرت و ارزن وحشی، تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی و پودر برگ گیاه اکالیپتوس نسبت به شاهد کاهش یافتند ولیکن میزان تغییرات صفات مذکور در برابر تیمارهای مورد بررسی، از یک سو بیانگر حساسیت بیشتر علف هرز ارزن وحشی نسبت به گیاه زراعی ذرت بود. از سوی دیگر تأثیرات منفی حاصل از تیمارهای عصاره‌های آبی برگ اکالیپتوس شدیدتر از تیمار با پودرهای برگی آن بود. در زمینه کاهش صفات رویشی و ریخت‌شناسی



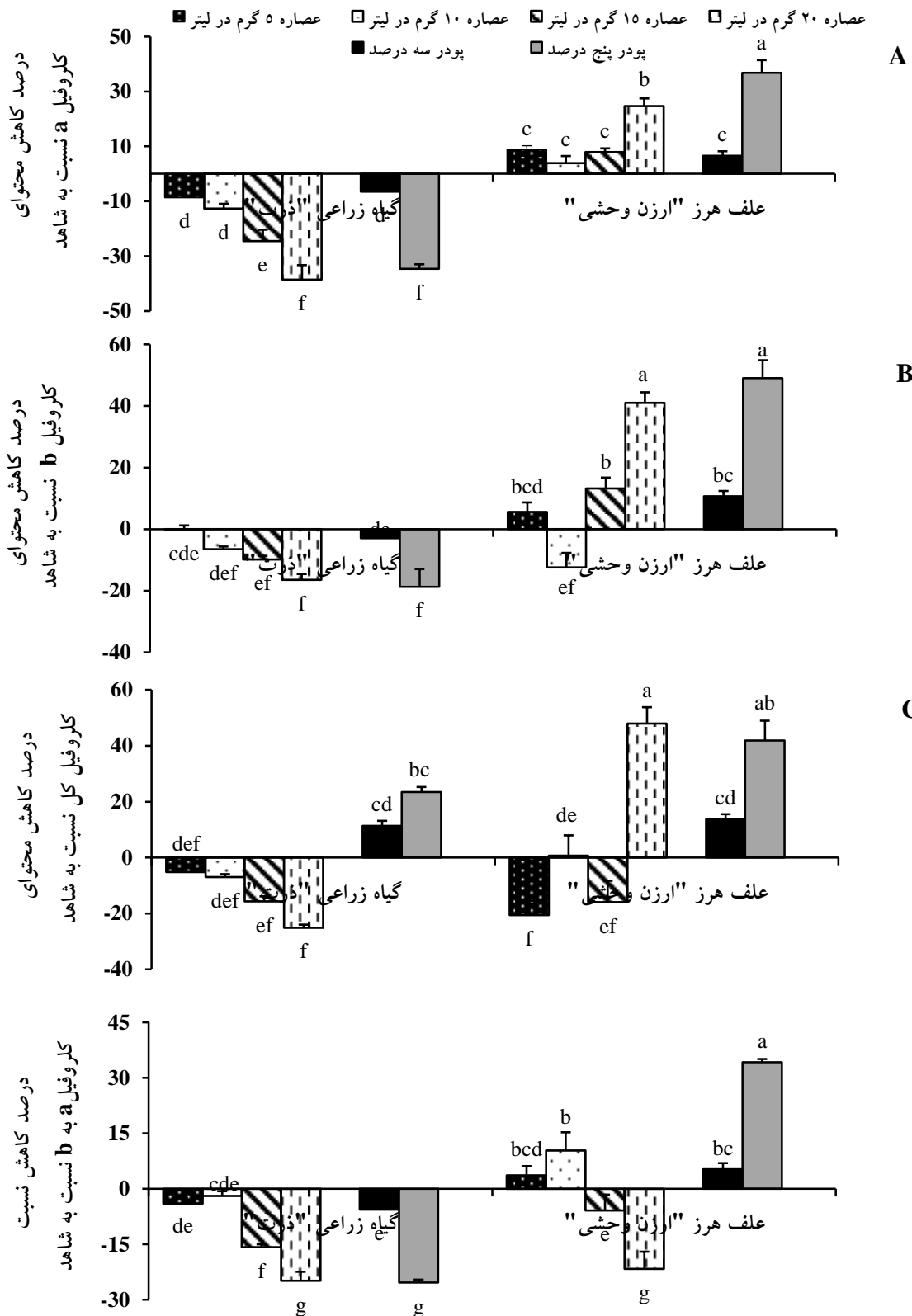
شکل ۱- مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی و پودر برگ گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) بر درصد کاهش صفات ارتفاع بخش هوایی (A)، مجموع طول ریشه‌ها (B)، وزن خشک بخش هوایی (C) و وزن خشک ریشه (D) نسبت به شاهد در گیاهچه‌های ذرت (*Zea mays*) و علف هرز ارزن وحشی (*Panicum miliaceum*). مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm$  SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر مبنای آزمون توکی در سطح  $P \leq 0.05$  است.

کلروفیل کل و ضریب ثبات کلروفیل ارزن وحشی بیشتر از ذرت بود (شکل ۲ C, E). در مقایسه اثرات تیمار عصاره و پودر برگ اکالیپتوس بر رنگدانه‌های فتوستتزی دو گیاه بررسی شده می‌توان گفت که تیمار عصاره بهتر توانسته است در کنار صرفاً اثرات مثبت بر گیاه زراعی ذرت، بر گیاه ارزن وحشی اثر کاهنده داشته باشد.

کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان حساس به‌عنوان یک اثر ثانوی ناشی از عملکرد ترکیبات دگرآسیب معرفی می‌گردد (Babu and Kandasamy, 1997). پیشنهاد شده است که آسیب‌هایی تحمیل‌شده بر عوامل فتوستتزی فعال در سیستم‌های غشایی- تیلاکوئیدی یکی از دلایل این کاهش است (Al-Juboory and Ahmad, 1994). کاهش کلروفیل‌ها می‌تواند بر اثر کاهش بیوستتزر رنگدانه‌های فتوستتزی جدید در شرایط تنش دگرآسیب نیز باشد. گزارش شده است که ترکیبات فنلی می‌توانند سبب مهار آنزیم منیزیم کلاتاز و تجمع پروتوپورفرین IX در فرایند دگرآسیبی شوند (Chi-Ming *et al.*, 2002). علاوه بر این، افزایش غلظت هورمون‌های آبسزیک اسید و اتیلن در هنگام حضور ترکیبات دگرآسیب، به‌دنبال آن تحریک و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و منیزیم دکلاتاز در شرایط تنش که ماحصل آن شدت‌گرفتن تجزیه کلروفیل‌ها است، می‌تواند دلیلی دیگر بر این اتفاق باشد (Mighty, 2003; Macias, 1994). گونه‌های کنشگر اکسیژن (ROS) نیز از تولید رنگیزه‌های فتوستتزی ممانعت و یا تخریب آن‌ها را تحریک می‌کنند (Singh *et al.*, 2009) و از آنجا که یکی از پیامدهای ثانوی تنش دگرآسیبی، بالارفتن سطح ROS است، بروز این نوع تغییرات ناشی از آن، مسلم به‌نظر می‌رسد. در تحقیق پیش‌رو، کاهش محتوای کلروفیل‌ها در ارزن وحشی نشأت‌گرفته از یکی از عوامل مطرح‌شده، بیانگر حساسیت بیشتر این علف هرز نسبت به ترکیبات دگرآسیب برگ گیاه اکالیپتوس است. در حالی که افزایش محتوای کلروفیل‌ها، بر گیاه ذرت می‌تواند این‌گونه توجیه گردد که غلظت‌های اعمال‌شده، به جای اثر مهاری، دارای اثر تحریک‌کنندگی بر افزایش محتوای این رنگدانه‌ها بوده است.

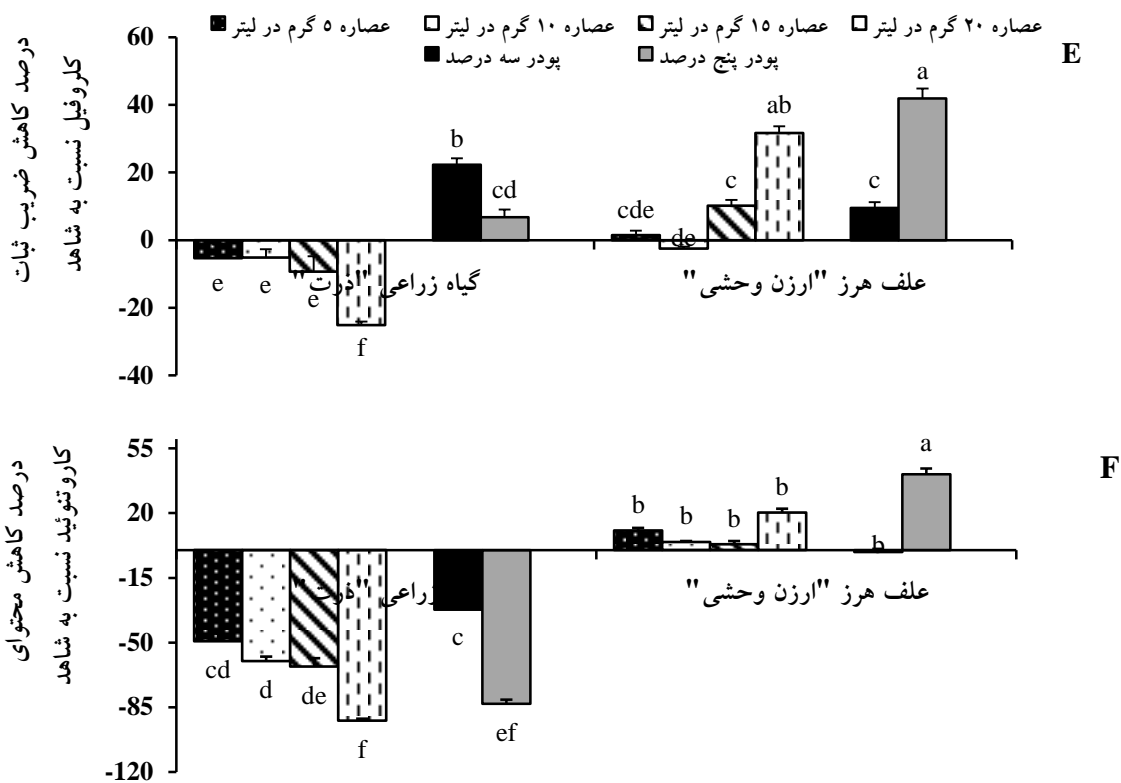
(Hassanpour and Farhodi., 2013) و یا افزایش تجزیه (Zeng *et al.*, 2001) هورمون‌های مهم رشد از جمله اکسین و جیبرلین نسبت داده می‌شود. حضور فنل‌هایی از قبیل الازیک، کلروژنیک، P- کومارین کوئینیک، جتتسیک اسید و گالیک اسید در عصاره گیاه اکالیپتوس و ارتباط آن با سیستم‌های آنزیمی مانند پراکسیداز و اکسین اکسیداز دال بر این مسأله است (Lee, 1972).

**صفات رنگدانه‌های فتوستتزی:** مقایسه میانگین داده‌ها گویای این مطلب بود که محتوای کلروفیل a, b و کاروتنوئیدهای گیاه ذرت، تحت تیمار با عصاره‌های آبی (نسبت به شاهد) افزایش یافت اما محتوای آنها در همه تیمارهای عصاره‌ای بر علف هرز ارزن وحشی (بجز تیمار ۱۰ گرم در لیتر عصاره) با روند کاهشی همراه بود به طوری که بیشترین کاهش مشاهده شده متعلق به ارزن وحشی متأثر از تیمار ۲۰ گرم در لیتر عصاره بود (شکل‌های ۲ A, B, F). محتوای کلروفیل کل گیاه ذرت تیمارشده با عصاره‌های آبی، با روند افزایشی تدریجی غیرمعنی‌دار (نسبت به شاهد) برخوردار بود در حالی که تیمار با عصاره‌ها، به‌ویژه در بالاترین غلظت (۲۰ گرم در لیتر) موجب کاهش محتوای کلروفیل کل ارزن وحشی گردید (شکل ۲ C). روند تغییرات نسبت کلروفیل a به b متأثر از تیمارهای عصاره‌ای، در گیاه ذرت افزایشی و در گیاه ارزن وحشی، در ابتدا کاهشی و سپس افزایشی بود (شکل ۲ D). بر طبق نتایج به‌دست آمده، ضریب ثبات کلروفیل گیاه ذرت تیمارشده با عصاره، نسبت به شاهد افزایش یافت اما در علف هرز ارزن وحشی، این صفت در تمام تیمارهای عصاره‌ای، به‌غیر از تیمار ۱۰ گرم در لیتر آن، در مقایسه با شاهد کاهش یافت ( $P \leq 0.05$ ) (شکل ۲ E). در بخش تأثیر تیمار دو نسبت پودر برگ گیاه اکالیپتوس بر محتوای رنگدانه‌های فتوستتزی گیاهان بررسی‌شده مشخص گردید که تغییرات مشاهده‌شده برای محتوای کلروفیل a, کلروفیل b, کاروتنوئید و نسبت کلروفیل a به b گیاه ذرت، افزایشی و گیاه ارزن وحشی کاهشی بوده است (شکل‌های ۲ A, B, C, D). از سوی دیگر، اثر کاهشی تیمارهای پودر برگ بر محتوای



شکل ۲- مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی و پودر برگ گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) بر درصد کاهش محتوای کلروفیل a (A)، محتوای کلروفیل b (B)، محتوای کلروفیل کل (C) و نسبت کلروفیل a به b (D) نسبت به شاهد در گیاهچه‌های ذرت (*Zea mays*) و علف هرز ارزن وحشی (*Panicum miliaceum*). مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm$  SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر مبنای آزمون توکی در سطح  $P \leq 0.05$  است.





ادامه شکل ۲- مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی و پودر برگ گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) بر درصد ضریب ثبات کلروفیل (E) و محتوای کاروتنوئیدها (F) نسبت به شاهد در گیاهچه‌های ذرت (*Zea mays*) و علف هرز ارزن وحشی (*Panicum miliaceum*). مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm$  SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر مبنای آزمون توکی در سطح  $P \leq 0.05$  است.

گفت کاروتنوئیدها به‌عنوان یک پاسخ دفاعی برای این گیاه در برابر اثرات دگرآسیبی برگ گیاه اکالیپتوس به‌ویژه در زمان تیماردهی به‌صورت عصاره عمل می‌کنند.

#### صفات ساختاری: براساس نتایج ضریب پایداری غشا، این

صفت در گیاه زراعی ذرت متأثر از کلیه غلظت‌های عصاره آبی و تنها تیمار ۵ درصد پودر برگ اکالیپتوس افزایش یافت ولی در علف هرز ارزن وحشی متأثر از همه تیمارها کاهش یافت به طوری که بیشترین کاهش مشاهده شده مربوط به ارزن وحشی تیمار شده با عصاره آبی ۲۰ گرم در لیتر بود (شکل A ۳). ترکیبات دگرآسیب می‌توانند با آسیب‌رساندن به ساختارهای غشایی سلول‌ها، سبب کاهش میزان ضریب پایداری غشا سلولی شوند (Makkeizadeh Tafti *et al.*, 2009). یکی از دلایل مهم این امر، تولید انواع ROSها [مثل اکسیژن یکتایی ( $^1O_2$ )، رادیکال‌های سوپراکسید ( $O_2^{\cdot-}$ )، رادیکال‌های هیدروکسیل ( $OH^{\cdot}$ ) و هیدروژن پراکسید ( $H_2O_2$ )]

کاروتنوئیدها به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان و از دسته ترکیبات ضروری در دستگاه فتوسنتزی عمل می‌کنند. این ترکیبات آنتی‌اکسیدان در غیرفعال کردن ROS در کمپلکس فتوسنتزی، حفاظت از کلروفیل‌ها در مقابل فتواکسیداسیون و پایداری نمودن غشاهای کلروپلاستی در مقابل تنش اکسیداتیو شرکت دارند (Howlett and Pogson, 2006; Malekhamadi *et al.*, 2005). هر چند گزارشات Yu و همکاران (۲۰۰۳) بر تخریب شدید رنگدانه‌های گیاهی کلروفیل و کاروتنوئید گیاه خیار (*Cucumis sativus*) در برابر ترکیبات دگرآسیب اشاره داشت، با این حال گزارشی نیز وجود دارد که ترکیبات دگرآسیب با تحریک و تخریب اندامک‌هایی مانند هسته و میتوکندری و آسیب‌رساندن به آنها، سبب تحریک سنتز و فعالیت رنگدانه‌هایی مانند کاروتنوئیدها می‌شوند (Omidpanah *et al.*, 2011). با توجه به نقش حفاظتی کاروتنوئیدها و بالابودن محتوای آن در گیاه ذرت تحت تیمار، شاید بتوان

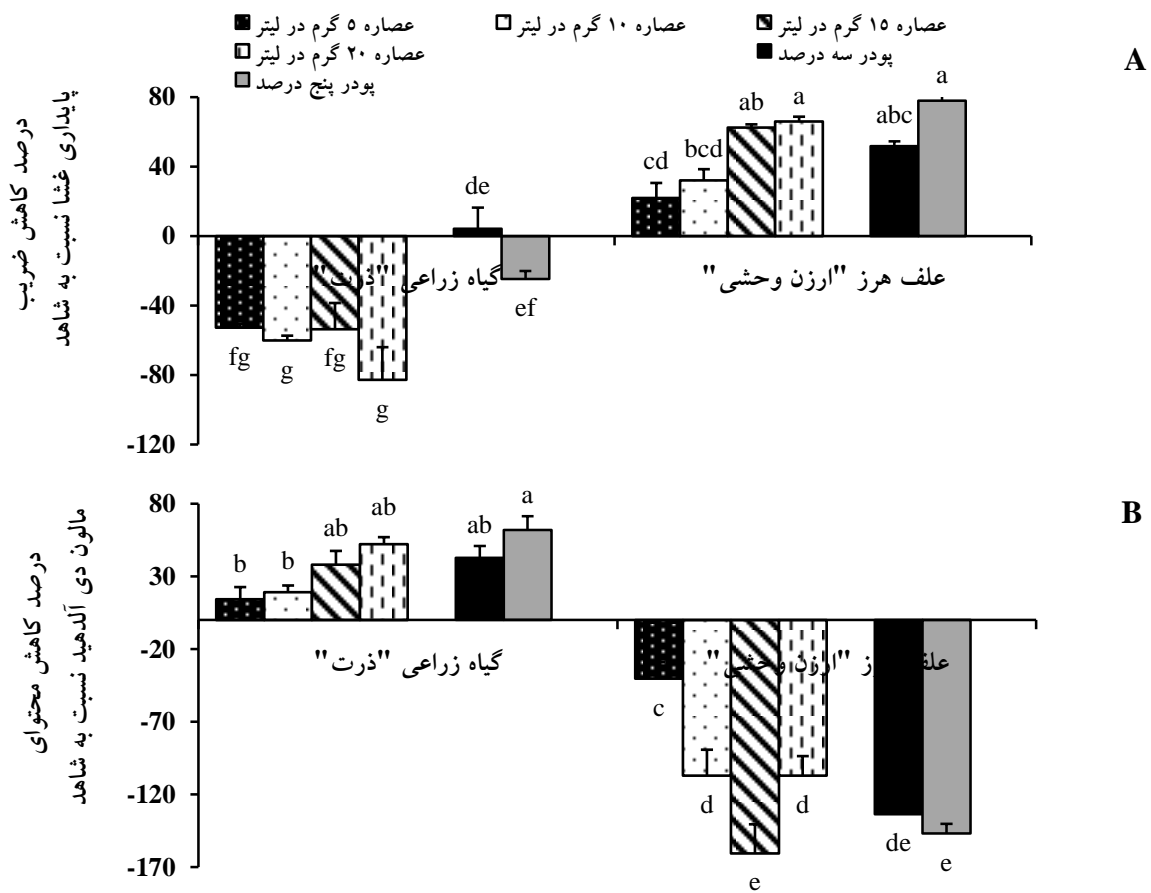
است که به‌عنوان مولکول‌های بسیار واکنش‌پذیر و سمی، باعث آسیب اکسیداتیو به غشا سلولی و به‌دنبال آن تخریب ماکرومولکول‌های عمده سلولی مانند DNA و RNA و آنزیم‌های حیاتی مانند آلفا آمیلاز، ساکاروز سنتتاز و روبیسکو، پروتئین‌ها، رنگدانه‌های فتوسنتزی و لیپیدها می‌شوند که تجمع آسیب‌های وارده در نهایت، مرگ را به‌همراه خواهد داشت (Apel and Hirt, 2004; Oracz et al., 2007; Yu et al., 1994). مسلم است که هر چه گیاهی (ارزن وحشی) حساس‌تر باشد، میزان آسیب اعمال‌شده بر سیستم‌های غشایی آن نیز بیشتر خواهد بود.

در مقابل، محتوای مالون دی‌آلدئید برگ گیاه ذرت تحت تیمار با عصاره‌های آبی اکالیپتوس نسبت به شاهد کاهش یافتند اما صفت مذکور در علف هرز ارزن وحشی نسبت به شاهد افزایش یافت به طوری که بیشترین افزایش معنی‌دار محتوای مالون دی‌آلدئید برگ در تیمار ۱۵ گرم در لیتر ارزن وحشی (۱۶۰/۴۵ درصد نسبت به شاهد) مشاهده شد ( $P \leq 0.05$ ) (شکل B ۳). هر چند اثرات ناشی از تیمار با پودر برگی گیاه اکالیپتوس بر محتوای مالون دی‌آلدئید برگ هر یک از گیاهان ذرت و ارزن وحشی، مشابه با اثرات تیمار با عصاره‌های آبی برگ بود ولیکن مقایسه دو گیاه در برابر تیمارهای اعمال‌شده، نشان از موفقیت بیشتر عصاره آبی نسبت به پودر برگی با توجه به اهداف این پژوهش داشت (شکل B ۳). لیپیدها جز ترکیبات مهم سلولی هستند که علاوه بر دارابودن نقش تولید انرژی در ساختار غشاهای سلولی حضور دارند. به طوری که هر گونه تغییر در ساختار لیپیدها، بر نفوذپذیری و تمامیت غشا اثر می‌گذارند (Ashraf and Hariss, 2004). مالون دی‌آلدئید، محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع‌نشده فسفو لیپیدهای غشایی است. به طوری که از سطح پراکسیداسیون لیپیدها به‌عنوان یک نشانه رادیکال آزاد مضر برای غشایی سلولی تحت شرایط تنش استفاده شده است. بنابراین مالون دی‌آلدئید به‌عنوان یک معرف برای اندازه‌گیری میزان و شدت صدمات غشا در شرایط تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد (Katsuhara et al., 2005; Jaleel et al., 2007). مشخص شده

است که برخی از ترکیبات دگرآسیب، به‌سرعت غشا سلول را غیرقطبی می‌کنند و با القا پراکسیداسیون لیپیدها، میزان نفوذپذیری غشا را افزایش می‌دهند و در نهایت، باعث ایجاد اختلال سلولی و نهایتاً منجر به مرگ سلول می‌شوند (Zeng et al., 2001; Yu et al., 2003; Geng et al., 2009). به این ترتیب، سطح قابل‌اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش می‌تواند گویای حجم آسیب واردشده به سیستم غشایی سلولی و درون سلولی ناشی از تنش ثانوی ROSها باشد و از میزان حساسیت گیاهان مورد بررسی در برابر تنش مورد مطالعه، پرده بردارد. لذا روند کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید در گیاه ذرت متأثر از هر دو نوع تیمار (به‌ویژه در غلظت‌های پایین عصاره آبی)، می‌تواند بیانگر حساسیت کم آن در برابر اثرات دگرآسیبی برگ گیاه اکالیپتوس باشد.

#### صفات بیوشیمیایی: ارزیابی محتوای فنل کل برگ گویای

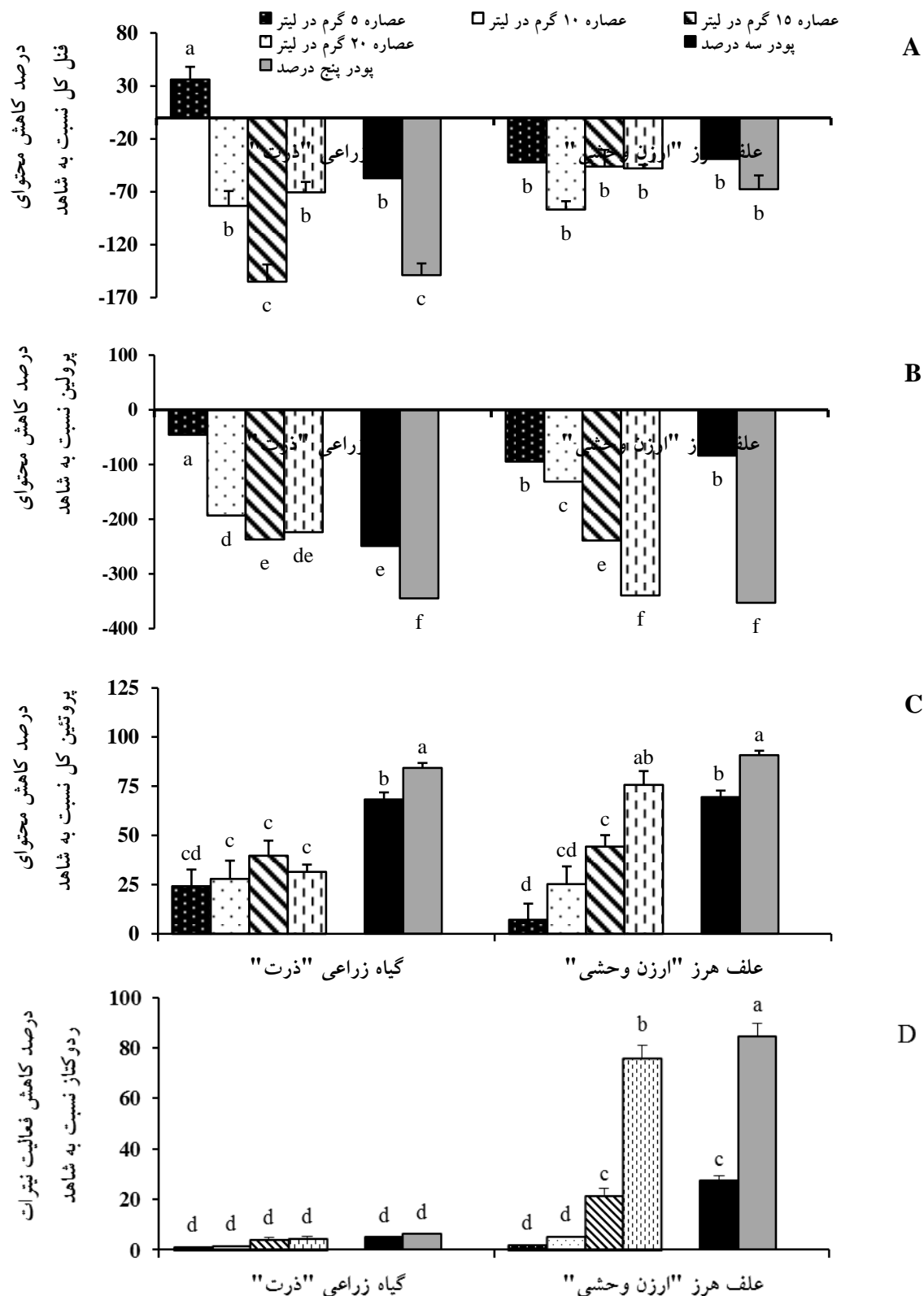
تشابه تغییرات مابین گیاه زراعی ذرت و علف هرز ارزن وحشی (روند افزایش نسبت به شاهد) در شرایط تیمار با عصاره‌های آبی و پودر برگ گیاه اکالیپتوس بود، هر چند افزایش‌های مشاهده‌شده در گیاه زراعی ذرت به‌طور معنی‌داری بیشتر از علف هرز آن، ارزن وحشی ( $P \leq 0.05$ ) بود. تنها مورد استثنا، متعلق به تیمار ۵ گرم در لیتر عصاره آبی برگ گیاه اکالیپتوس بر گیاه ذرت، با ۳۵/۹۴ درصد کاهش غیر معنی‌دار محتوای فنل کل نسبت به شاهد بود ( $P \leq 0.05$ ) (شکل A ۴). افزایش محتوای فنل کل در گیاهان زراعی مقاوم سویا (*Glycine max*)، گاو پنبه (*Abutilon theophrasti*)، برنج (*O. sativa*) و ذرت (*Z. mays*) تیمار شده با عصاره آبی برگ گیاه اکالیپتوس، حکایت از تغییرات مؤثر این ترکیبات در حین تنش دگرآسیبی دارد (Saraei et al., 2012; Djanaguiraman, 2005). ترکیبات فنلی به‌عنوان متابولیت‌های ثانوی می‌توانند رشد و نمو و تکثیر گیاهان را تحت تأثیر خود قرار دهند (Inderjit, 1996) و از سوی دیگر، بخشی از سیستم دفاع شیمیایی گیاه را تحت کنترل خود داشته باشند. از این رو، افزایش محتوای فنل کل گیاهان مقاوم به‌شدت یافتن تنش منطقی است (Behdad et al., 2014). می‌توان گفت افزایش



شکل ۳- مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی و پودر برگ گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) بر درصد کاهش ضریب پایداری غشا (A) و محتوای مالون دی‌آلدئید (B) نسبت به شاهد در گیاهچه‌های ذرت (*Zea mays*) و علف هرز ارزن وحشی (*Panicum miliaceum*). مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm$  SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر مبنای آزمون توکی در سطح  $P \leq 0.05$  است.

است که تجمع آن در گیاهان دارای دو وجه است: از یک سو نشانه ارزش سازشی- دفاعی گیاه در برابر شرایط تنش است و از سوی دیگر نشانه آسیب ناشی از تنش در گیاه است که به دنبال آن، سایر پاسخ‌های گیاه به تنش آغاز می‌گردد (Ghoulam et al., 2002; Su and Wu, 2004). این اختلاف نظر درباره عملکرد پرولین در شرایط تنش، تنها محدود به موارد بین‌گونه‌ای نمی‌شود و حتی در یک گونه هم دیده می‌شود. برای مثال مجموعه برخی مطالعات بر گیاه برنج در شرایط تنش شوری نشان داد که در ارقام برنج حساس به شوری، انباشتگی بیشتر وجود دارد و این دلیلی بر ماهیت پرولین به‌عنوان آسیب ناشی تنش است (Lin et al., 2002; Shobbar, 2008). براساس ازریابی‌ها، تنش دگرآسیبی ممکن است با تغییر بر فعالیت آنزیم‌ها، گلوتامات در نقش یک پیش‌ساز

محتوای فنل کل در شرایط تنش در جهت کمک به سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه برای مهار پراکسیداسیون لیپیدها و حذف رادیکال‌های آزاد صورت می‌گیرد (Baleroni et al., 2000) که این مسأله در مورد گیاه ذرت این پژوهش، نمود واضح‌تری داشت. میانگین داده‌ها همچنین بیانگر روند افزایشی محتوای پرولین (نسبت به شاهد) در هر دو گیاه تیمار شده با عصاره‌های آبی و پودر برگ اکالیپتوس بود به طوری که بیشترین افزایش محتوای پرولین، متعلق به تیمار ۲۰ گرم در لیتر عصاره بر ارزن وحشی و تیمارهای ۵ درصد پودر برگ بر هر دو گیاه بود (شکل ۳B). مطالعات Saraei و همکاران (۲۰۱۲) نیز مشخص نمود که ترکیبات دگرآسیب دانه و برگ گیاه اکالیپتوس، تأثیر افزایشی قابل توجهی بر محتوای پرولین بخش هوایی و ریشه گیاهان جو و خاکشیر داشتند. پرولین یک ترکیب سازگار آلی



شکل ۴- مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی و پودر برگ گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) بر درصد کاهش محتوای فنل کل (A)، محتوای پروتئین (B)، محتوای پروتئین کل (C) و فعالیت نترات ردوکتاز نسبت به شاهد در گیاهچه‌های ذرت (*Zea mays*) و علف هرز ارزن وحشی (*Panicum miliaceum*). مقادیر میانگین سه تکرار  $\pm$  SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر مبنای آزمون توکی در سطح  $P \leq 0/05$  است.

در بخش ارزیابی نیترات ردوکتاز، فعالیت آنزیم در هر دو گیاه بررسی شده، روند کاهش در برابر تیمارهای پیش‌رونده عصاره آبی و پودر برگ گیاه اکالیپتوس نشان داد ولیکن میزان این کاهش در علف هرز ارزن وحشی بسیار شاخص‌تر از گیاه زراعی ذرت بود (شکل D ۴). براساس داده‌ها، بیشترین کاهش در تیمار ۲۰ گرم در لیتر عصاره آبی و ۵ درصد پودر برگ بر گیاه ارزن وحشی مشاهده شد. هر چند اثر کاهنده تیمار پودر برگی بر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز کمی بیشتر از اثر کاهنده عصاره آبی بود. براساس یک پژوهش، تیمار با عصاره آبی *Hyptis suaveolens* L. سبب کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاه نخودفرنگی شد، به طوری که با افزایش غلظت عصاره آبی میزان فعالیت آنزیم کاهش بیشتری از خود نشان داد (Sunita and Singh, 2015). نیترات ردوکتاز، یکی از آنزیم‌های کلیدی در متابولیسم نیترات بوده و سبب احیای آن به نیتريت می‌شود. این آنزیم بیش‌تر همراه با نیترات و به شکل القایی در سلول ساخته می‌شود و عوامل زیادی از جمله هورمون‌ها و عوامل مختلف محیطی بر بیان ژن‌های مربوط به بیوسنتز آن اثر می‌گذارند. ترکیبات دگرآسیب در اثرگذاری مؤثر، سبب کاهش جذب نیترات از خاک به‌وسیله ریشه‌ها و به‌طبع کاهش انتقال نیترات از ریشه‌ها به برگ‌ها می‌شود و در نتیجه با کمبود محتوای نیترات، فعالیت نیترات ردوکتاز نیز کاهش می‌یابد (Abd-El Baki et al., 2000). این مسأله توسط Li و همکاران (۲۰۱۰) نیز مطرح گردید که ترکیبات دگر آسیب فنلی در گیاهان می‌توانند مانع از جذب عناصر غذایی از جمله نیترات از محیط اطراف گیاه شوند و بر رشد طبیعی گیاهان اثر بگذارند. با توجه به کاهش بسیار جزئی فعالیت نیترات ردوکتاز در گیاه زراعی ذرت (در برابر هر دو نوع تیمار) می‌توان بیان داشت که گیاه مذکور توانسته است به نحوه شایسته‌ای بر مدیریت سیستم ریشه‌ای، جذب عناصر، فراهم‌آوری نیتروژن و مسیر اسیمیلاسیون آن اقدام کند.

#### نتیجه‌گیری

براساس نتایج این پژوهش، عصاره آبی و یا پودر برگ دارای

مشترک بیوسنتز پرولین و کلروفیل، را به سمت مسیر تولید پرولین سوق دهد (Bates et al., 1973). از این‌رو، پیشنهاد می‌گردد که انباشتگی و تولید بیش‌اندازه پرولین در نمونه‌های این پژوهش (به‌ویژه در زمان تیمار با عصاره آبی بر گیاه ارزن وحشی و تیمار با پودر برگ بر هر دو گیاه) می‌تواند نشانی از آسیب‌های متأثر از تنش دگرآسیبی تیمارها باشد.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که هر چهار نوع تیمار غلظتی عصاره آبی برگ گیاه اکالیپتوس و پودر برگی آن، تأثیرات مشابهی بر کاهش محتوای پروتئین کل گیاهان مورد بررسی داشتند. هر چند در شرایط تیمار با عصاره‌ها به‌طور خاص در غلظت‌های بیشینه، میزان کاهش محتوای پروتئین کل علف هرز ارزن وحشی بیشتر از گیاه زراعی ذرت بود اما در شرایط تیمار با پودر برگی، میزان کاهش برابر و قابل‌توجهی در محتوای پروتئین کل دو گیاه مشاهده شد (شکل C ۴).

مشخص شده است که تنش‌های غیرزیستی از جمله تنش دگرآسیبی می‌توانند سنتز برخی از پروتئین‌ها را مهار کنند و یا تولید برخی دیگر را تحریک کنند. هر چند روند کلی در جهت کاهش محتوای پروتئین کل است (Ericson and Alfinito, 1984). کاهش محتوای پروتئین کل تحت ترکیبات دگرآسیب می‌تواند ناشی از ممانعت از انتقال آمینواسیدها به داخل ساختار پروتئین‌ها (Baziramakenga et al., 1997) و یا افزایش تجزیه آن (از طریق شیب بیانی ژن‌های کدکننده پروتئین‌های درون سلولی) صورت گیرد (Abu-Romman, 2011). هم‌چنین افزایش تولید ROSها تحت تأثیر ترکیبات دگرآسیب سبب اکسیداسیون اسیدهای آمینه می‌شود و به ساختار و عملکرد پروتئین‌ها آسیب جدی وارد کنند و درنهایت سبب کاهش محتوای پروتئین کل می‌شود (Amini et al., 2008). لذا کاهش بیشتر محتوای این گروه از متابولیت‌های اولیه در پژوهش پیش‌رو، نشان از حساسیت بیشتر در آن موارد دارد. براساس نتایج می‌توان گفت که تیمار پودر برگ تأثیرات منفی برابری بر محتوای پروتئین کل دو گیاه اعمال نموده است ولیکن تیمار با عصاره‌های آبی توانسته است مرز بهتری از باب این صفت بین گیاه حساس (ارزن وحشی) و گیاه مقاوم (ذرت) ایجاد نماید.

ذرت مورد تحقیقات بیشتر قرار گیرد.

### سیاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد بابت تأمین هزینه‌های پژوهش حاضر از محل اعتبارات متمرکز این معاونت (با شماره کد طرح به شماره ۳/۴۰۹۰۷) سپاس‌گزاری می‌کنند.

اثرات بازدارندگی متفاوت بر عملکردهای نموی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیای گیاه زراعی و علف هرز هستند. با در نظرگرفتن پتانسیل دگرآسیب عصاره آبی و پودر برگ گیاه اکالیپتوس بر گیاه زراعی ذرت و علف هرز ارزن وحشی، پیشنهاد می‌گردد که عصاره گیاه به‌عنوان یک کاندید و البته کاندید بهتری در مقایسه با پودر برگ، در جهت معرفی به‌عنوان یک علف‌کش طبیعی برای کنترل و مدیریت علف هرز ارزن وحشی در مزارع

### منابع

- Abd-El Baki, G. K., Siefritz, F., Man, H. M., Weiner, H., Kaldenhoff, R. and Kaiser, W. M. (2000) Nitrate reductase in *Zea mays* L. under salinity. *Plant, Cell and Environment* 23: 515-521.
- Abu-Romman, S. (2011) Allelopathic potential of *Achilla biebersteini* Afan. *World Applied Sciences Journal* 15: 947-952.
- Adair, E. C. (1999) Allelopathic inhibition of the nitrogen cycle by monoterpenes. Colorado State University. Fort Collins, Colorado.
- Al-Juboory, B. A. and Ahmad, M. M. (1994) The allelopathic effects of plant residues on some weed plants. *Arab Journal of Plant Protection* 12: 3-10.
- Amini, G., Haddad, B. and Moradi, F. (2008) effect of water deficit on the anti-oxidizing enzyme activity in the reproductive growth stages of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Agricultural Sciences and Natural Resources* 20: 10-21.
- Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55: 372-399.
- Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in plants. *Agronomy Journal* 23: 112-121.
- Ashraf, M. and Hariss, P. J. C. (2004) Potential biochemical indicator of salinity tolerance in plants. *Plant Science* 166: 3-16.
- Azizpour, K., Shakiba, M. R., Kholg Sima, N. A., Alyari, H., Moghaddam, M., Esfandiari, E. and Pessarakli, M. (2010) Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. *Journal of Plant Nutrition* 33: 859-873.
- Babu, R. C. and Kandasamy, O. S. (1997) Allelopathic effect of *Eucalyptus globulus* Labill. on *Cyperus rotundus* L. and *Cynodon dactylon* L. *Journal of Agronomy and Crop Science* 179: 123-126.
- Baleroni, C. R. S., Ferrarese, M. L. L., Braccini, A. L., Scapim, C. A. and Ferrarese-filho, O. (2000) Effects of ferulic and p-coumaric acids on canola (*Brassica napus* L. cv. Hayola 401) seed germination. *Seed Science and Technology* 28: 333-340.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Baziramakenga, R., Leroux, G. D., Simard, R. R. and Nadeau, P. (1997) Allelopathic effects of phenolic acids on nucleic and protein levels in soybean seedling. *Canadian Journal of Botany* 75: 445-450.
- Behdad, A., Abrishamchi, P. and Jankju, M. (2014) Relation to phenology, phenolics content and allelopathic effect of *Artemisia khorassanica* Krasch. on growth and physiology of *Bromus kopetaghensis* Drobov. *Journal of Plant Researches* (Iranian Journal of Biology) 28: 243-256 (In Persian).
- Bradford, M. M. (1976) A rapid sensitive method for the quantitation of microprogram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Chi-Ming, Y., Chyoung-Ni, L. and Chang-Hung, Ch. (2002) Effect of three allelopathic phenolics on chlorophyll accumulation of rice (*Oryza sativa*) seedling: I. Inhibition of supply-orientation. *Botanical Bulletin-Academia Sinica Taipei* 43: 299-304.
- Chon, S. U., Jang, H. G., Kim, D. K., Kim, Y. M., Boo, H. O. and Kim, Y. J. (2005) Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa*) plants. *Scientia Horticulture* 106: 309-317.
- Daneshmandi, Sh. and Azizi, M. (2009) Allelopathic effect of *Eucalyptus globulus* Labill. on Bermuda grass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) germination and rhizome growth. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 25: 333-346.
- Djanaguiraman, M. (2005) Physiological responses of *Eucalyptus globulus* leaf leachate on seedling physiology of rice, sorghum and blackgran. *International Journal of Agriculture and Biology* 7: 35-38.
- Dubois, M. K., Gilles, A., Hailton, J. K., Robertt, P. A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugar and related substrate. *Annual Chemistry* 28: 350-356.

- El-Katib, A. A., Hegazy, A. K. and Gala, H. K. (2004) Does allelopathy have a role in the ecology of *Chenopodium murale*. Annual Botany Fennici 41: 37-45.
- Ericson, M. C. and Alfinito, S. H. (1984) Proteins produced during salt stress in tobacco cell culture. Plant Physiology 74: 506-509.
- Farhoudi, R. (2012) Effect of safflower aqueous extracts foliar application on peroxidase enzyme activity and cell membrane leakage of hairy vetch. Agronomy Journal (Pajouhesh and Sazandegi) 102: 45-53 (In Persian).
- Geng, X. M., Liu, J., Lu, J. G., Hu, F. K. and Okubo, H. (2009) Effect of cold storage and different pulsing treatments on postharvest quality of cut OT Lily "Mantissa" flowers. Journal of the Faculty of Agriculture 54: 41-45.
- Ghoulam, Ch., Foursy, A., Foursy, A. and Fares, Kh. (2002) Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. Environmental and Experimental Botany 47: 39-50.
- Ginazdowska, A. and Bogatek, R. (2005) Allelopathic interactions between plants. Multi site action of allelochemicals. Acta Physiologiae Plantarum 27: 395-407.
- Hassanpour, F. and Farhodi, R. (2013) Certified paper is to investigate allelopathic potential of aqueous extract of Eucalyptus indexing (*Eucalyptus globulus* Labill) on Sorghum (*Sorghum halapense*). The first Global Conference on Sustainable Agriculture and Natural Resources.
- Health, R. L. and Packer, L. (1969) Photoperoxidation in isolated chloroplast, Kinetics and stoic- hiometry of fatty acid peroxidation. Archives Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.
- Howlett, A. C. and Pogson, B. J. (2006) Carotenoid accumulation and function in seeds and non-green tissues. Plant, Cell and Environment 29: 435-445.
- Inderjit, S. Gd. (1996) Plant phenolics in allelopathy. Botanical Review 62: 186-202.
- Inderjit, S. Gd. (2003) Eco Physiological aspect of allelopathy. Planta. 217: 529-539.
- Jaleel, C. A., Gopi, R., Sankar, B., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Sridharan, R. and Panneersel Vam, R. (2007) Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and proline metabolism inn *Catharanthus roseus* seedlings under salt stress. South African Journal of Botany 73: 190-195.
- Katsuhara, M., Otsuka, T. and Ezaki, B. (2005) Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in Arabidopsis. Plant Science 169: 369-730.
- Kim, Y. H., Kim, C. Y., Song, W. K., Park D. S., Kwon, S. Y., Lee, H. S., Bang, J. V. and Kwak, S. S. (2008) Overexpression of sweet potato swpa4 peroxidase results in increased hydrogen peroxide production and enhances stress tolerance in tobacco. Planta 227: 867-881.
- Kohli, R. K., Batish, D. R. and Singh, H. P. (1998) Eucalyptus oil for the control of parthenium (*Parthenium hysterophorus* L.). Crop Protection 17: 119-122.
- Lara-Nunez, A., Romero-Roero, T., Ventura, J. L., Blancas, V., Anaya, A. L. and Cruz-Ortega, R. (2006) Allelochemical stress causes inhibition of growth and oxidative damage in *Lycopersicon esculentum* Mill. Plant Cell Environment 29: 2009-2016.
- Lee, T. T. (1972) Changes in indoleacetic acid oxidase isoenzymes in tobacco tissues after treatment with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Plant Physiology 49: 957-960.
- Li, Z. H., Wang, Q., Ruan, X., Pan, C. D. and Jiang, D. A. (2010) Phenolics and plant allelopathy. Molecules 15: 8933-8952.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.
- Lin, C. C., Hsu, Y. T. and Kao, C. H. (2002) The effect of NaCl on proline accumulation in rice leaves. Plant Growth Regulation 36: 275-285.
- Macias, F. A. (1994) Allelopathy in search for natural herbicide models. Allelopathy. American Chemical Society Publication.
- Makkeizadeh Tafti, M., Salimi, M. and Farhoudi, R. (2009) Allelopathic effect of rue (*Ruta graveolens* L.) on germination and growth of three weeds. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 27: 135-146.
- Malekhamadi, F., Kalantari, Kh. M. and Torkzadeh, M. (2005) The effects of flooding stress on induction of oxidative stress and concentration of mineral element in pepper (*Capsicum annum* L.) plants. Journal of Biology 18: 110-119 (In Persian).
- Mightay, F. (2003) Allelopathy (Allelopathic) from Concept to Application. Partovagheh Publication (In Persian).
- Mohammadi, F., Alirezaneghad, A., Mohammadi, S., Elyasi, T. and Afaridegan, A. (2013) Allelopathic effect of Eucalyptus leaf extract (*Eucalyptus globules* Labill) on purslane weed germination and seedling growth (*Portulaca oleracea* L.). Journal of Science and Seed Technology 1: 193-202.
- Mohammadi, G. R. (2010) Weed control in irrigated corn by hairy vetch interseeded at different rates and times. Weed Biology and Management 10: 25-32.

- Molina, A., Reigosa, M. J. and Carballeira, A. (1991) Release of allelopathical agents from litter, throughfall, and topsoil in plantations of *Eucalyptus globulus* Labill. in Spain. *Journal Chemical Ecology* 17: 147-160.
- Murthy, K. S. and Majumdar, S. K. (1962) Modification of the technique for determination of chlorophyll stability index in relation to studies of drought resistance in rice. *Current Science* 32: 470-471.
- Neergaard, A. D., Porter, J. R. and Gorissen, A. (2002) Distribution of assimilated carbon in plants and rhizosphere soil of basket willow (*Salix viminalis* L.). *Plant and Soil* 245: 307-314.
- Omidpanah, N., Asrar, Z. and Moradshahi, A. (2011) Allelopathic potential of *Zhumeria majdae* essential oil on *Brassica napus* (talaye cultivar). *Journal of Plant Biology* 3: 1-10.
- Oracz, K., Bailly, C., Gniazdowska, A., Come, D., Corbineau, D. and Boqatek, R. (2007) Induction of oxidative stress by sunflower phytotoxins in germinating mustard seeds. *Journal of Chemical Ecology* 33: 251-264.
- Saraei, R., Lahouti, M. and Ganjeali, A. (2012) Evaluation of allelopathic effects of Eucalyptus (*Eucalyptus globulus* L.) on germination, morphological and biochemical criteria of barely (*Hordeum vulgare* L.) and Flixweed (*Descurainia sophia* L.). *Agroecology* 4: 215-222.
- Shobbar, M. (2008) Comparative analysis of some physiological responses of rice seedlings to cold, salt, and drought stresses. Master's thesis. Faculty of Biological Science, College of Science, University of Tehran (In Persian).
- Singh, N. B., Singh, D. and Singh, A. S. (2009) Modification of physiological responses of water stressed *Zea mays* seedling by leachate of *Nicotiana plumbaginifolia*. *General and Applied Plant Physiology* 35: 51-63.
- Stewart, G. R., Joly, C. A. and Smirnov, N. (1992) Partitioning of inorganic nitrogen assimilation between the roots and shoots of cerrado and forest trees of contrasting plant communities of South East Brazil. *Oecologia* 91: 511-517.
- Su, J. and Wu, R. (2004) Stress-inducible synthesis of proline in transgenic rice confers faster growth under stress conditions than that with constitutive synthesis. *Plant Science* 166: 941-948.
- Sunita Rao, N. B. and Singh, S. (2015) Allelopathic effects of *Hyptis suaveolens* L. on growth and metabolism of pea seedlings. *Scientia Agriculturae* 12: 171-176.
- Turk, M. A. and Tawaha, A. M. (2003) Allelopathic effect of black mustard (*Brassica nigra* L.) on germination and growth of wild oat (*Avena fatua* L.). *Crop Protection* 22: 673-677.
- Yang, C. M., Lee, Ch. N. and Chou, Ch. H. (2002) Effects of three allelopathic phenolics on chlorophyll accumulation of rice (*Oryza sativa*) seedling: Institute of supply-orientation. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 43: 299-304.
- Yu, J. Q., Ye, S. M., Zhang, M. F. and Hu, W. H. (2003) Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals, on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. *Biochemical Systematics and Ecology* 31: 129-139.
- Zeng, R. S., Luo, S. M., Shi, Y. H., Shi, M. B. and Tu, C. Y. (2001) Physiological biochemical mechanism of allelopathy of Secalonic acid F on higher plants. *Agronomy Journal* 93: 72-79.
- Zhao, H. L., Qiang, W., Xiao, R., Cun-De, P. and De-An, J. (2010) Phenolics and plant allelopathy. *Molecules* 15: 8933-8952.



## Comparative allelopathic potential of *Eucalyptus globulus* leaf aqueous extract and leaf mulch on seedling growth of corn (*Zea mays* L.) and prosomillet (*Panicum miliaceum* L.)

Fatemeh Asiaee, Monireh Cheniany\* and Mehrdad Lahouti

Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(Received: 01/01/2019, Accepted: 02/08/2019)

### Abstract

In order to investigate and compare the allelopathic effects of *Eucalyptus* (*E. globulus* Labill) leaf aqueous extract and leaf mulch on corn (*Zea mays*) and prosomillet (*Panicum miliaceum*), a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications at Ferdowsi University of Mashhad. The experiment was carried out to evaluate the allelopathic effects of leaf aqueous extract (5, 10, 15 and 20 g L<sup>-1</sup>) and leaf mulch (3 and 5% v/v) on some morphological, physiological and biochemical characteristics of the examined seedlings. *Eucalyptus* leaf extract (in most cases) and leaf mulch reduced the height of shoot, the total length of root as well as the dry weight of shoot and root. Also, the highest reduction percentage of these traits was observed under the application of 20 g L<sup>-1</sup> aqueous extract on prosomillet. When treated with aqueous extracts, the Chl a, Chl b and total Chl, carotenoid contents and chlorophyll stability coefficient of corn seedling showed an incremental increase (in comparison to the control). Whereas, all photosynthetic traits of prosomillet decreased following the application of aqueous extracts and leaf mulch. Under both type of treatments, an increase and decrease of membrane stability coefficient were observed in corn and prosomillet, respectively. Although the highest accumulation of malondialdehyde was obtained in treated prosomillet seedling, the seedling of corn could significantly prevent the peroxidation of membrane lipids against the stress caused by leaf extract and mulch. Another result of this study was more increase effect of aqueous extract and mulch on total phenolic content of corn than prosomillet. Although both type of treatments decreased total protein content of corn and weed, the application of extract could have a better boundary between the sensitivity of species against the allelopathic stress. A significant reduction of nitrate reductase activity in prosomillet was recorded following the application of extracts and mulch. According to the results, leaf aqueous extract or mulch had different effects on biochemical, physiological and developmental traits of crop and weed. Considering the allelopathic potential of *Eucalyptus* leaf extract and leaf mulch on corn and prosomillet; it is recommended that aqueous extract can be an ideal candidate (compared to leaf mulch) as a natural herbicide to control prosomillet in corn fields.

**Keywords:** Prosomillet, *Eucalyptus*, Allelopathy, Leaf mulch, Corn, Aqueous extract, Natural herbicide.

Corresponding author, Email: Cheniany@um.ac.ir