

کاربرد نانو امولسیون‌های بیولوژیک در کنترل علف‌هرز قیاق (*Sorghum halepense* L.)نقیسه الماسیان^۱، مرجان دیانت^{۲*}، آسا ابراهیمی^۱، رضا عزیزی‌نژاد^۱ و محمود خسروشاهلی^۱^۱گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران^۲گروه علوم زراعی و باغی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۱۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۵/۰۹/۰۲)

چکیده

در مطالعات مختلف اثبات شده که عصاره‌های گیاهان تا حد زیادی می‌توانند علف‌های هرز را کنترل و خسارات ناشی از علف‌کش‌های شیمیایی را به حداقل برسانند. این تحقیق با هدف بررسی اثر آللوپاتیک عصاره و نانوامولسیون اسپند (*Peganum harmala*) و آیلان اکسیداز و فنیل آلانین آمونیا لایز (علف‌هرز باریک برگ قیاق (*Sorghum halepense*)) در گلخانه در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل عصاره هیدروالکلی اسپند و آیلان در پنج سطح (۲، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد) و نانوامولسیون در دو سطح (۵ و ۲۰ درصد)، آب‌مقطر (شاهد منفی) و پاراکوات (شاهد مثبت) بودند. برای تهیه نانوامولسیون از روش پراورزی استفاده شد. DLS /Zeta، تصاویر TEM و FTIR برای توصیف نانوذرات به کار برده شد. هارمین و کوئرستین بیشترین ترکیبات موجود در عصاره‌های مورد مطالعه بودند. تصویر TEM نشان داد که نانوامولسیون‌های عصاره کروی و با پراکندگی مناسب دیده شدند. تجزیه و تحلیل DLS، ۲۲۹/۶ و ۱۴۶/۳ نانومتر را برای نانوامولسیون نشان داد. هر دو نوع عصاره و نانوامولسیون، کلروفیل و کاروتنوئید علف‌هرز را کاهش دادند به طوریکه بیشترین کاهش معنی‌دار در محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در فاکتورهای نانوامولسیون عرعر ۲۰ درصد به ترتیب ۱۲/۱۶ و ۶/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، عصاره عرعر با غلظت ۳۰ درصد به ترتیب ۱۳/۴۳ و ۱۵/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، تیمار نانوامولسیون اسپند به ترتیب ۱۷/۵۲ و ۱۰/۴۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد و با افزایش غلظت، نشت الکترولیتی غشا افزایش یافت. نانو کپسوله کردن باعث افزایش اثر دگرآسیبی عصاره آیلان شد به گونه‌ای که نانوامولسیون عرعر ۲۰ درصد سبب کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز و افزایش خسارت چشمی به قیاق گردید. کمترین فعالیت پراکسیداز در تیمار نانوامولسیون عرعر ۲۰ درصد با ($\Delta OD / Min / mg \text{ protein}$) ۷/۸۵ بود. ۶/۶۶ و عصاره عرعر ۳۰ درصد با ($\Delta OD / Min / mg \text{ protein}$) ۷/۸۵ بود.

واژه‌های کلیدی: اسپند، پراکسیداز، عرعر، نانوبیولوژیک، نشت الکترولیتی

مقدمه

اقتصادی و در بعضی مواقع موجب خسارت ۱۰۰ درصدی به گیاهان زراعی می‌گردند (Jadidi et al., 2021). از ۲۵۰۰۰۰ گونه گیاهی شناخته‌شده حدود ۲۵۰ گونه (۰/۱ درصد) آن

علف‌های هرز با وجود اینکه تنها یک درصد گیاهان جهان را تشکیل می‌دهند اما به طور متوسط باعث خسارت ۳۵ درصدی

آلوپاتیک و فیتوتوکسینی به نام آیلانتون (*Ailanthone*) در پوست و ریشه و برگ است که می‌تواند به عنوان علف‌کش مورد استفاده قرار بگیرد (*Motmainna et al., 2021*). ترکیبات اصلی شناسایی‌شده در قسمت‌های مختلف عرعر شامل آلکالوئیدها (*Alkaloids*)، استروئیدها (*Steroids*) و فلاونوئیدها (*Flavonoids*) است (*Caser et al., 2021; Caramelo et al., 2020*).

نانوذرات (NPs) به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد خود به عنوان ابزاری امیدوارکننده برای کشاورزی پایدار ظاهر شده‌اند. آن‌ها با افزایش پتانسیل جذب مواد مغذی خاک، کاهش نیاز به مواد شیمیایی سستی کشاورزی و کاهش اثرات محیطی بر محصولات کشاورزی اثر دارند (*Hafez and Khalil, 2024*). نانوکپسوله‌سازی تکنیکی برای کپسوله‌سازی مواد فعال مانند آفت‌کش‌ها و کودها در ذرات نانومقیاس برای بهبود انتقال و کارایی آن‌هاست. با نانوکپسوله کردن مواد زیست‌فعال، پایداری فیزیکی آن‌ها افزایش می‌یابد، از اکسیداسیون محافظت می‌شود، آزادسازی کنترل می‌شود، پراکندگی آب ترکیبات آبریز به‌یود می‌یابد و کارایی زیست‌فعالیت آن‌ها افزایش می‌یابد (*Izadi et al., 2021*). نانوکپسوله‌سازی علف‌کش باعث کاهش جذب آن توسط کلوئیدهای خاک و افزایش دسترسی آن به گیاه موردنظر می‌شود که در کنترل علف‌های هرز مطلوب است (*Diyanat et al., 2019*).

جابجایی و تجمع نانوذرات در گیاهان باعث ایجاد سمیت گیاهی می‌شود و برهم‌کنش بین نانوذرات و گیاهان منجر به افزایش تولید ROS گیاهی می‌شود که در نتیجه آسیب اکسیداتیو و سمیت ژنتیکی ایجاد می‌شود (*Marslin et al., 2017*). هنگامی که سطوح ROS از مکانیسم‌های دفاعی فراتر می‌رود، سلول‌ها در حالت تنش اکسیداتیو قرار می‌گیرند که باعث آسیب نامحدود به پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها در غشای سلولی می‌شود و استرس اکسیداتیو را القا می‌کند (*Biczak et al., 2017*).

Kandi و همکاران (۲۰۲۳) تأثیر نانومولسیون اسانس

علف‌هرز هستند که ۷۶ گونه از آن‌ها جز مضرترین علف‌های هرز دنیا به شمار می‌روند (*Jadidi et al., 2021*). علف‌هرز قیاق (*Sorghum halepense*) گیاهی علفی، تک‌لپه و باریک برگ چندساله است که از طریق بذر و ریزوم تکثیر می‌شود. به علت دارا بودن تیپ فتوسنتزی C_4 ، رشد سریع، سایه‌اندازی و دگر آسیمی یکی از مهم‌ترین علف‌های هرز و سمج دنیا است (*Uludag et al., 2007*). مدیریت و کنترل علف‌های هرز ذرت از برنامه‌های به‌زراعی است که در افزایش عملکرد گیاهان زراعی نقش بسزایی دارد. اگر چه در بیشتر کشورها، کنترل شیمیایی علف‌های هرز در حال انجام است، ولی کاهش کیفیت گیاهان زراعی، هزینه بالای کنترل علف‌های هرز، افزایش خطرات زیست‌محیطی و از طرفی افزایش مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها بیانگر ضرورت تجدیدنظر در روش‌های کنترل علف‌های هرز است. بنابراین در حال حاضر به علف‌کش‌های جدیدی نیاز است که فرآیندهای سوخت‌وساز گیاه را هدف‌گیری نمایند، برای محیط‌زیست بی‌خطر بوده و کارایی بیشتری هم داشته باشند، همچنین در غلظت‌های پایین فعال بوده و گستره فعالیت وسیعی داشته باشند (*Glab et al., 2017; Valikhanzadi et al., 2023*).

استفاده از آلوپاتی (*Allelopathy*) برای کنترل علف‌های هرز با استفاده از اثرات آلوپاتیک طبیعی گیاهان به عنوان علف‌کش‌های طبیعی صورت گیرد (*Cheema et al., 2020; Motmainna et al., 2021*). برخی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی به عنوان ترکیبات آلوپاتیک بر اعمال متعدد از جمله جوانه‌زنی بذر، جذب مواد غذایی، تقسیم سلولی، طویل شدن سلول، نفوذپذیری غشا، جذب یون و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اثر گذارند (*kandi et al., 2023*). گیاه اسپند با نام علمی *Peganum harmala L.* حاوی متابولیت‌های ثانویه مختلفی شامل آلکالوئیدهای β -carboline مانند Harmaline, Harmine, Harmol, Harmane و Harmalol است که می‌توانند بر رشد گیاه تأثیر بگذارند (*Ehtaiwesh and Yarboa, 2021*). گیاه آیلان (عرعر) با نام علمی *Ailanthus altissima L.* درختی است که به عنوان مهاجم شناخته شده و دارای ترکیبات

شد. ریزوم قیاق از مزرعه آموزشی و پژوهشی کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در مهر شهر کرج (استان البرز) تهیه گردید.

عصاره‌گیری: به منظور عصاره‌گیری از دانه اسپند و برگ گیاه آیلان؛ پس از جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی و حذف مواد زائد، دانه و برگ‌ها با آب شسته و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد آون خشک شدند. سپس دانه و برگ‌های خشک‌شده با آسیاب برقی پودر؛ و ۵۰ گرم از پودر به یک بالن یک لیتری منتقل شد. پس از اضافه‌نمودن ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪، استخراج عصاره به روش هیدروالکلی به کمک دستگاه سوکسله به مدت چهار ساعت انجام شد (Caramelo et al., 2021) برای جداسازی بقایای گیاه، محلول از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (Whatman NO. 1) عبور داده شد تا هرگونه ناخالصی فیلتر شود. به منظور حذف حلال‌های آلی از دستگاه روتاری چرخشی (Heidolph Laborota 4002 controls، آلمان) استفاده شد. در نهایت عصاره تغلیظ‌شده برای سایر مراحل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای تفکیک و شناسایی ترکیبات موجود در عصاره‌های اسپند و آیلان از دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) (Agilent 6890، آلمان) در پژوهشگاه شیمی و مهندسی شیمی ایران (<https://ccerci.ac.ir>) استفاده شد. شرایط دستگاه به شرح زیر بود: آشکارساز شبکه Agilent 5973 بود. ستون: VARIAN, cp-sil 8cb-ms (50 m length, 0.25 mm (ID), 0.25 µm film thickness)، انژکتور: نسبت تقسیم ۱:۳۰ و دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، زمان نگهداری ۲۰ دقیقه، گاز حامل: هلیوم ۹۹/۹۹٪، جریان ثابت ستون: ۱ میلی‌لیتر در دقیقه. طیف جرمی GC-MS با استفاده از مؤسسه ملی استاندارد و فناوری (National Institute of Standards and Technology= NIST) و پایگاه داده Wiley تجزیه و تحلیل شد (Caramelo et al., 2021).

ساخت نانوامولسیون و خصوصیات مورد بررسی: برای ساخت نانوامولسیون اسپند با نام تجاری نانوپگان به شماره

بومادران (*Achillea wilhelmsii*) بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی علف‌های هرز چاودار (*Secale cereal*) و خرفه (*Portulaca oleracea*) بررسی کردند. نانوامولسیون در غلظت ۸۰۰ میکرولیتر در لیتر از رشد خرفه و غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر از جوانه زنی چاودار جلوگیری کرد. Waleed و همکاران (۲۰۱۶) نانوامولسیون اسانس‌های مرزنجوش (*Majorana hortensis*) و آویشن (*Thymus capitatus*) را بر روی علف‌های هرز پیچک (*Convolvulus arvensis*) و ارزن وحشی (*Setaria viridis*) بررسی کردند. نتایج نشان داد نانو اسانس مرزنجوش به صورت پس‌رویشی تأثیر بیشتری بر روی پیچک داشت. Hazrati و همکاران (۲۰۱۷) نانوامولسیون اسانس مرزه (*Satureja hortensis* L.) را بر جوانه‌زنی و ویژگی‌های فیزیولوژیکی علف‌های هرز سلمه‌تره (*Amaranthus retroflexus* L.) و تاج‌خروس (*Chenopodium album* L.) آزمایش کردند. نتایج نشان داد شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست در غلظت‌های مختلف نانوامولسیون مرزه کاهش و بیشترین غلظت بازدارندگی در ۸۰۰ میکرولیتر در لیتر امولسیون مشاهده شد. Taban و همکاران (۲۰۲۰) فعالیت علف‌کشی نانو کپسوله اسانس مرزه (*Satureja hortensis* L.) را در برابر تاج‌خروس (*Amaranthus retroflexus*) ارزیابی کردند. علف‌کش‌های کپسوله‌شده نانو فعالیت علف‌کشی قابل‌توجهی را در برابر گل تاج‌خروس نشان دادند. اهداف این تحقیق ساخت نانوامولسیون‌های بیولوژیک با کمک متابولیت‌های ثانویه گیاهی و بررسی تأثیر عصاره و نانوامولسیون‌های اسپند و آیلان بر صفات فیزیولوژیکی (کلروفیل، کاروتنوئید و نشت الکترولیتی) و بیوشیمیایی (آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و فنیل آلانین آمونیالاز) و خسارت چشمی علف‌هرز قیاق بود.

مواد و روش‌ها

دانه اسپند (*Peganum harmala*) و برگ گیاه آیلان (*Ailanthus altissima*) از هرباریوم "پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج" (<https://imp.acecr.ac.ir>) تهیه

پتنت ۱۴۰۵۰۱۴۰۰۳۰۰۴۱۵۱ و نانومولسیون آیلان از روش پر انرژی استفاده گردید (Almasian et al., 2024). فاز روغنی شامل توئین ۸۰ (Tween 80)، اسپن ۶۰ (Span 60) (Sigma، ایالت متحده آمریکا) و عصاره گیاهی بود که به آب مقطر اضافه شد. امولسیون اولتراسوند (-Ultrasonic Cleaner WUC، A06H، چین) و با دستگاه هموژنایزر همگن (Heidolph، آلمان) SilentCrusher M شد.

مورفولوژی نانومولسیون‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (CM120، هلند) در دانشگاه خواجه‌نصیرالدین طوسی (<https://kntu.ac.ir>) آنالیز شد. میانگین اندازه ذرات و پتانسیل زتا نانومولسیون‌ها با پراکندگی نور دینامیکی (DLS) (Horiba SZ100، ژاپن؛ سری Malvern ZN، انگلستان) در مرکز خدمات آزمایشگاهی دانشگاه صنعتی شریف (<https://centrallab.sharif.ir>) و (<https://beamgostar.ir>) اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل FTIR از تکنیک طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) (NEXUS 870) در آزمایشگاه علوم و تحقیقات استفاده شد. تجزیه و تحلیل در محدوده (cm^{-1}) ۴۰۰۰ تا ۴۰۰ انجام شد. برای محاسبه راندمان کپسولاسیون (EE) اسپند و آیلان با استفاده از جذب UV (Agilent 100، آلمان) از بیشترین میزان متابولیت ثانویه در هر عصاره به عنوان مرجع اندازه‌گیری استفاده شد. کوئرستین، جز اصلی برگ آیلان، دارای حداکثر جذب UV (λ_{max}) در ۲۵۷ یا ۳۵۳ نانومتر در طیف‌سنجی GC-MS بود (Albouchi et al., 2013). هارمالین و هارمین آلکالوئیدهای بتا-کربولین اصلی اسپند با حداکثر جذب (λ_{max}) ۳۵۰ نانومتر بودند (Izadi et al., 2021). از غلظت‌های متفاوت عصاره و نانومولسیون اسپند و آیلان به منظور رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. راندمان کپسولاسیون با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$EE\% = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

در این رابطه EE: درصد کارایی انکپسولاسیون، A_{control} : جذب نمونه شاهد و A_{sample} : جذب نمونه مورد آزمایش بود.

کشت گلخانه (In-vivo) و متغیرهای مورد بررسی:

مطالعات تأثیر فاکتورهای نانومولسیون اسپند و آیلان روی علف‌های هرز ذرت در سال ۱۴۰۳ در گلخانه پژوهشی واحد علوم و تحقیقات انجام شد. تیمارهای مورد بررسی شامل عصاره‌های اسپند و آیلان در پنج سطح (۲، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد v/v)، نانومولسیون اسپند و آیلان در دو سطوح (۵ و ۲۰ درصد v/v) به عنوان غلظت‌های مینیمم و ماکسیمم، آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی (شاهد) و علف‌کش پاراکوات (Gramaxon SL 20%) به عنوان کنترل مثبت بودند. ریزوم قیاق در گلدان‌های پلاستیکی (قطر ۱۵ سانتی‌متر) کاشته شدند. تعداد تکرار گلدان‌ها برای هر تیمار چهار عدد بود. هر گلدان حاوی ۷۵۰ گرم خاک باغچه، شن (۱:۱) بود. گلدان‌ها در گلخانه کاملاً کنترل‌شده در دمای ۳۵/۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط نور/تاریکی (۸/۱۶ ساعت) قرار داده شدند. در مرحله ۴-۶ برگ علف هرز قیاق، نانومولسیون اسپند و آیلان و علف‌کش پاراکوات و آب مقطر استریل با سمپاش دستی کالیبره شده عصر زمانی که نور خورشید کمتر بود، به میزان ۳۵۰ لیتر در هکتار به صورت پس‌رویشی سه بار به فواصل هفت روزه، روی گیاهان پاشیده شد. ۱۴ روز پس از تیمار، خسارت چشمی با توجه به مناطق کلروز و نکروز شده مورد بررسی قرار گرفت.

فعالیت علف‌کشی نانومولسیون‌های اسپند، آیلان و علف‌کش شیمیایی پاراکوات در روز چهاردهم پس از تیمار بررسی شد. گیاهان از نظر مقیاس ارزیابی چشمی (Visible injury%) براساس روش شورای تحقیقات علف‌های هرز اروپا (European Weed Research Council= EWRC) در مقیاس ۱-۹ مورد ارزیابی قرار گرفتند که در آن "۱" به معنی عدم خسارت یا کاهش عملکرد و "۹" به معنی ۱۰۰٪ نابودی کامل گیاه زراعی است. در مورد پاسخ علف‌های هرز "۱" به معنی ۱۰۰٪ نابودی کامل و "۹" به معنی کاملاً بی‌تأثیر است.

در مرحله سوم برگ (DPS = ۱۴) محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی براساس Venkatachalam و همکاران (۲۰۱۷) ارزیابی شد. در این راستا، ۱۰۰ میلی‌گرم از برگ‌های تازه گیاه جمع‌آوری و با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد (v/v) یخ سرد با

استفاده از هاون آسیاب شد و هموزنه در لوله‌های سانتریفیوژ استریل ریخته شد و با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۶ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی به لوله‌های سانتریفیوژ تازه منتقل و گلوله با ۲/۵ میلی‌لیتر استون سرد ۸۰ درصد (v/v) مجدداً استخراج و دو بار تکرار شد. میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید با استفاده از یک اسپکتروفتومتر مرئی UV دو پرتو (Agilent 100، آلمان) به ترتیب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. تعیین سطح محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئید با استفاده از معادلات پیشنهادشده توسط Lichtenthaler (۱۹۸۷) و بیان‌شده به صورت $\text{mg g}^{-1} \text{FW}$ انجام شد (Hazrati et al., 2017).

فعالیت پلی‌فنل اکسیداز (PPO) با توجه به روش توصیف شده توسط Ngadze و همکاران (۲۰۱۲) با تغییرات جزئی مورد سنجش قرار گرفت. از گیاهچه‌های آسیاب‌شده، ۰/۲۵ گرم از هموزنه با ۰/۰۵ مولار بافر فسفات سدیم (pH = ۶) که حاوی ۵ درصد پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدون (Polyvinylpolypyrrolidone) (w/v) بود مخلوط شد. هموزنه از طریق چهار لایه پارچه فیلتر شد و پس از آن فیلتر حاصل با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. محلول واردشده به اسپکتروفتومتر از ۰/۵ میلی‌لیتر مایع رویی، ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر کاتکول (Catechol) ۰/۱ مولار تشکیل شده است. فعالیت آنزیم در جذب ۵۴۶ نانومتر در فواصل ۲۰ ثانیه‌ای به مدت چهار دقیقه اندازه‌گیری شد و مقادیر در دقیقه محاسبه شد. تغییر در این روش این بود که قرائت‌های فعالیت آنزیم سه بار با ساخت محلول‌های رویی جدید قبل از خواندن با همان مایع رویی اندازه‌گیری شد (Ngadze et al., 2012).

فنیل آلانین آمونیاپالاز (PAL) با استفاده از روش توصیف شده توسط Ngadze و همکاران (۲۰۱۲) مورد سنجش قرار گرفت. مقدار ۰/۲۵ گرم از گیاهچه‌های آسیاب‌شده در بافر ۵ میلی‌لیتری متشکل از ۵۰ میلی‌مولار ۲ مرکاپتواتانول (mercaptoethanol) و ۵ درصد پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدون (w/v) مخلوط شد. هموزنه از طریق چهار لایه پارچه پنبه فیلتر شده و با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۴ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. از مایع رویی، ۱ میلی‌لیتر به محلولی حاوی ۲ میلی‌لیتر بافر بورات ۰/۰۵ مولار (pH = ۸/۸) و ۱ میلی‌لیتر فنیل آلانین ۰/۰۲ میلی‌لیتر اضافه شد و نمونه به مدت یک ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد

$$\text{Chl } a = 12.25 \times A663 - 2.79 \times A645$$

$$\text{Chl } b = 21.50 \times A645 - 5.10 \times A663$$

$$\text{Car} = (1.000 \times A470 - 1.82 \times \text{Chl } a - 85.02 \times \text{Chl } b) / 198$$

که در این رابطه Chl a: کلروفیل a، Chl b: کلروفیل b، Chl t کلروفیل کل، Car: کاروتنوئید و A: جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر است.

نشت الکترولیتی غشا (REL) در برگ‌های تازه علف‌های هرز تیمار شده با روش Singh و همکاران (۲۰۱۵) با تغییراتی ارزیابی شد. بافت برگ (۱۰۰ میلی‌گرم) به مدت ۳۰ دقیقه در آب مقطر فرو رفت و هدایت الکتریکی آن‌ها توسط دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد. سپس لوله‌های آزمایش حاوی بافت برگ به مدت ۲۰ دقیقه جوشانده و سرد شدند و هدایت الکتریکی مجدد اندازه‌گیری شد. REL با استفاده از فرمول زیر ارزیابی شد و بر حسب درصد بیان شد (Hazrati et al., 2017).

$$\text{REL\%} = \frac{\text{EC1}}{\text{EC2}} \times 100$$

که در این رابطه EC1: نشت اولیه و EC2: نشت ثانویه است.

فعالیت پراکسیداز (POD) با مشاهده افزایش در ۴۷۰ نانومتر با استفاده از جذب UV (Agilent 100، آلمان) که ناشی از واکنش‌های اکسیداسیون گایاکول (Guaiacol) و H_2O_2 است اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری هر ۲۰ ثانیه به مدت ۲ دقیقه، با روش Rahmani و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد. مخلوط واکنشی ۳ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات با

همکاران در (۲۰۱۶) اعلام کردند که بیشترین مقدار اسید بوتانوئیک ۲۰۲- دی‌متیل در عصاره برگ *A. excelsa* ۲۵/۷۶ درصد است. تفاوت ترکیبات موجود در عصاره‌ها به دلیل شرایط محیطی است که در آن رشد می‌کنند.

نتایج خصوصیات نانوذرات: نتایج به دست آمده از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) مورفولوژی سطح نانومولسیون اسپند و آیلان را تعیین کرد. پراکندگی ذرات یکنواخت و مورفولوژی ذرات کروی (شکل ۱A) و بیضی (شکل ۱B) بودند. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود مقیاس درشت‌نمایی ذرات ۱۰۰ نانومتر است و مورفولوژی اغلب ذرات کروی و ذرات به دست آمده در مطالعه میکروسکوپی TEM همه کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر را نشان می‌دهند.

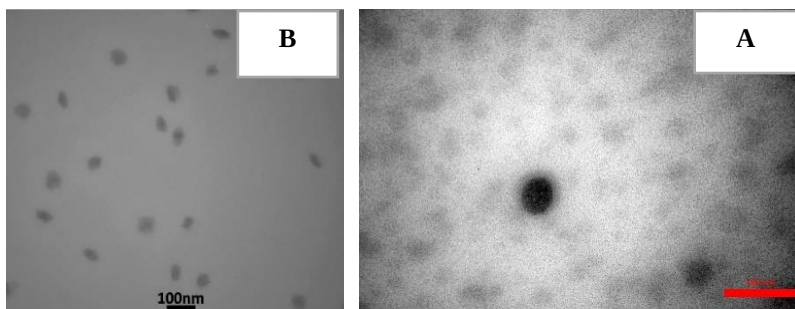
Z-Average، شاخص پراکندگی ذرات (PDI) و پتانسیل زتا نانومولسیون اسپند به ترتیب ۲۲۹/۶، ۰/۵۱ و ۱/۳۱- میلی‌ولت بود. اندازه ذرات نانومولسیون آیلان ۱۴۶/۳، ۰/۵۳ و ۳۷/۴- میلی‌ولت بود. درصد راندمان کپسولاسیون (EE) محاسبه شده در نانومولسیون اسپند و آیلان به ترتیب ۸۹ و ۹۸ درصد بود. تجزیه و تحلیل طیف‌سنج FTIR عصاره‌های اسپند، آیلان و نانومولسیون‌های آن‌ها تغییراتی را در شکل و موقعیت‌های قله IR نشان داد که نشان‌دهنده ساخت موفق نانوذرات با عصاره‌های گیاهی است. تجزیه و تحلیل نشان داد که به دلیل مواد شیمیایی گیاهی که به عنوان عوامل کاهش‌دهنده، تثبیت‌کننده و پوشش‌دهنده عمل می‌کنند؛ گروه‌های عاملی از غیر آلی به ترکیبات عنصری تبدیل شدند. پیک‌هایی از عصاره گیاه نیز در نانومولسیون مشاهده شد که نشان‌دهنده کپسوله شدن مواد آلی است (Almasian et al., 2024).

بررسی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی علف هرز قیاق: اثر عصاره و نانومولسیون‌های اسپند و آیلان بر میزان کلروفیل و کاروتنوئید علف هرز قیاق در شکل ۲ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری بین نوع عصاره و نانومولسیون و غلظت‌های مختلف وجود داشت. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها

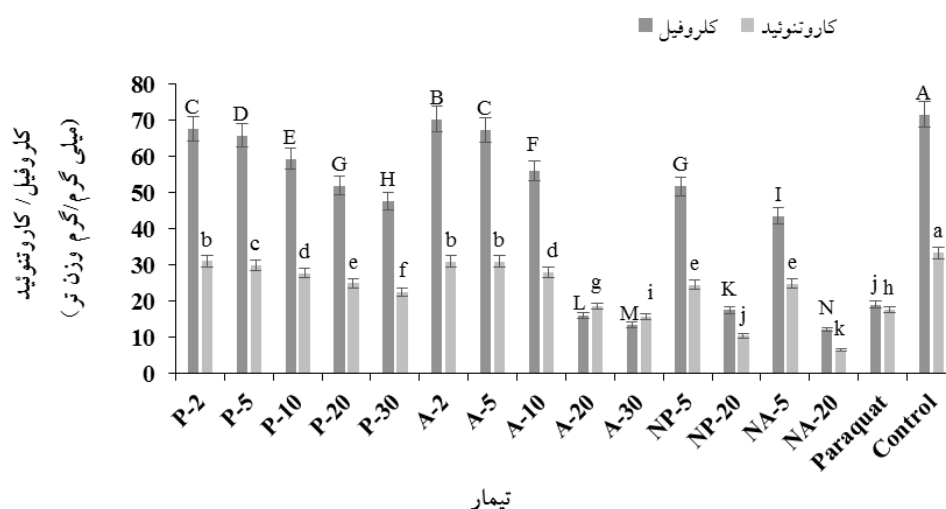
انکوبه شد. برای توقف واکنش، ۰/۲ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (trichloroacetic acid) ۶ مولار به لوله آزمایش اضافه شد. این محلول برای قرائت اسپکتروفتومتر در جذب ۲۹۰ نانومتر به سه قسمت تقسیم شد (Ngadze et al., 2012).
طرح آزمایشی مورد استفاده در آزمایشات گلخانه، طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی (RCBD) بود و برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۳ تکمیل شد. اطلاعات در قالب مقدار میانگین با انحراف استاندارد مربوطه (SD) ارائه شد. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) در سطح احتمال ۰/۰۵ مقایسه شد. نمودارها با استفاده از Excel (Office 2016) رسم شدند.

نتایج و بحث

ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره: گاز کروماتوگرافی طیف‌سنج جرمی (GC-MS) برای آنالیز عصاره دانه اسپند اعمال شد. ترکیبات به دست آمده از عصاره اسپند شامل هفت ماده بیوشیمیایی بود که فراوان‌ترین متابولیت شناسایی شده، هارمین با ۵۴/۹۸٪ بود. براساس نتایج به دست آمده ۱۲ ماده بیوشیمیایی در عصاره برگ آیلان شناسایی شدند. فراوان‌ترین متابولیت شناسایی شده quercetin-3-O-(6'-O-galloyl)-β-D-glucopyranoside (۴۴/۰۳٪) بود. نتایج به دست آمده از تجزیه و تحلیل GC-MS، Sassoui و همکاران (۲۰۱۵) نیز نشان داد که بیشترین ترکیبات موجود در عصاره اسپند عبارت‌اند از هارمالین (۴۸ درصد) و هارمین (۳۸/۴۴ درصد). همچنین، Wang و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که هارمالین و هارمین بیشترین ترکیبات را در دانه‌های اسپند، $472/23 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ و $88/05 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ و $650/12 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ و $136/41 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ توسط HPLC داشتند. مطالعات انجام‌شده نشان داد که عصاره برگ آیلان حاوی ترکیبات خاصی مانند کوئرستین (Quercetin) (۴۴/۰۳ درصد) و بتا-سیتوسترول (β-sitosterol) است. این یافته با مطالعه Udasi و همکاران (۲۰۲۳) بر روی عصاره برگ *Ailanthus excelsa* همخوانی داشت. Lungu و



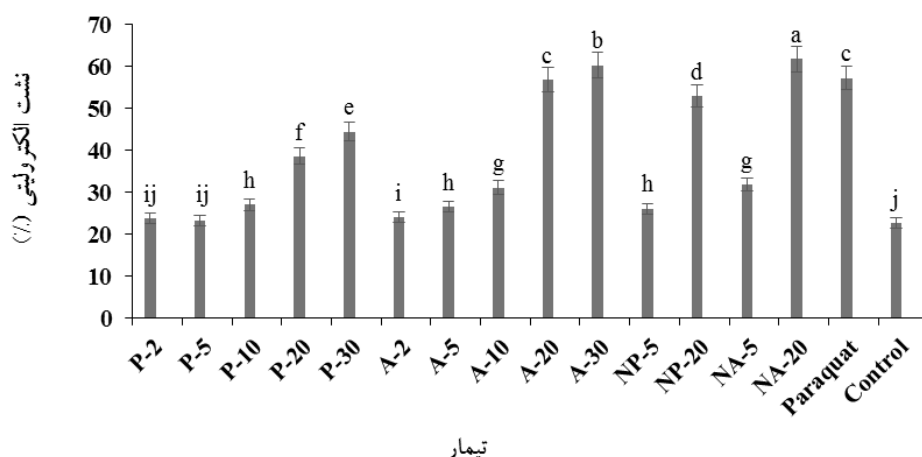
شکل ۱- میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM). A: نانوامولسیون اسپند، B: نانوامولسیون آیلان. مقیاس نوار ۱۰۰ نانومتر است.



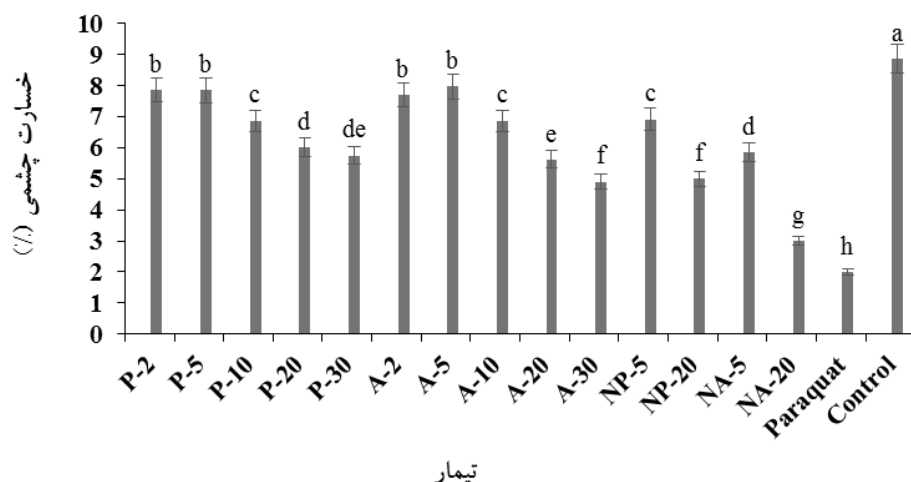
شکل ۲- تأثیر عصاره و نانوامولسیون‌های اسپند و آیلان بر میزان کلروفیل و کاروتنوئید قیاق. P- 2: عصاره اسپند ۲ درصد، P- 5: عصاره اسپند ۵ درصد، P- 10: عصاره اسپند ۱۰ درصد، P- 20: عصاره اسپند ۲۰ درصد، P- 30: عصاره اسپند ۳۰ درصد، A-2: عصاره آیلان ۲ درصد، A-5: عصاره آیلان ۵ درصد، A-10: عصاره آیلان ۱۰ درصد، A-20: عصاره آیلان ۲۰ درصد، A-30: عصاره آیلان ۳۰ درصد، NP-5: نانوامولسیون اسپند ۵ درصد، NP-20: نانوامولسیون اسپند ۲۰ درصد، NA-5: نانوامولسیون آیلان ۵ درصد، NA-20: نانوامولسیون آیلان ۲۰ درصد، Paraquat: علف‌کش پاراکوات و Control: آب به عنوان کنترل منفی.

یا غیرمستقیم بر محتوای کلروفیل تأثیر می‌گذارند. عصاره‌های گیاهی آنزیم‌های خاص مرتبط با کلروفیل را مهار می‌کنند و در نهایت بر یکپارچگی کلروپلاست‌ها و غشاهای تیلاکوئید تأثیر می‌گذارند. عصاره‌های گیاهی بر متابولیسم پروتئین در گیاهان تأثیر می‌گذارند، در نتیجه اتصال پروتئین در کلروفیل a/b دو برابر کاهش می‌یابد. آن‌ها همچنین با سرکوب سنتز کلروفیل بر فتوسنتز تأثیر می‌گذارند. منیزیم (Mg) بخشی ضروری از کلروفیل است که در تثبیت کربن و انواع فرایندهای بیوشیمیایی نقش دارد. علف‌کش‌های گیاهی می‌توانند غلظت منیزیم را در گونه‌های علف هرز کاهش دهند که تأثیر عمده‌ای

نشان داد که بیشترین کاهش معنی‌دار در محتوای کلروفیل و کاروتنوئید در فاکتورهای نانوامولسیون آیلان ۲۰ درصد به ترتیب ۱۲/۱۶ و ۶/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، عصاره آیلان با غلظت ۳۰ درصد به ترتیب ۱۳/۴۳ و ۱۵/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، فاکتور نانوامولسیون اسپند به ترتیب ۱۷/۵۲ و ۱۰/۴۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر (mg/g fw) مشاهده گردید (شکل ۲). مولکول‌های کلروفیل نقش مهمی در فتوسنتز دارند و به عنوان یک رنگدانه سبز در غشاهای فتوسنتزی قرار می‌گیرند، به همین دلیل است که کاهش کلروفیل معمولاً منجر به کاهش فتوسنتز می‌شود. بسیاری از عصاره‌های گیاهی به طور مستقیم



شکل ۳- تأثیر عصاره و نانوامولسیون‌های اسپند و آیلان بر میزان نشت الكلروئیتی قیاق. P- 2: عصاره اسپند ۲ درصد، P- 5: عصاره اسپند ۵ درصد، P- 10: عصاره اسپند ۱۰ درصد، P- 20: عصاره اسپند ۲۰ درصد، P- 30: عصاره اسپند ۳۰ درصد، A-2: عصاره آیلان ۲ درصد، A-5: عصاره آیلان ۵ درصد، A-10: عصاره آیلان ۱۰ درصد، A-20: عصاره آیلان ۲۰ درصد، A-30: عصاره آیلان ۳۰ درصد، NP-5: نانوامولسیون اسپند ۵ درصد، NP-20: نانوامولسیون اسپند ۲۰ درصد، NA-5: نانوامولسیون آیلان ۵ درصد، NA-20: نانوامولسیون آیلان ۲۰ درصد، Paraquat: علف‌کش پاراکوات و Control: آب به عنوان کنترل منفی.



شکل ۴- تأثیر عصاره و نانوامولسیون‌های اسپند و آیلان بر میزان خسارت چشمی قیاق. P- 2: عصاره اسپند ۲ درصد، P- 5: عصاره اسپند ۵ درصد، P- 10: عصاره اسپند ۱۰ درصد، P- 20: عصاره اسپند ۲۰ درصد، P- 30: عصاره اسپند ۳۰ درصد، A-2: عصاره آیلان ۲ درصد، A-5: عصاره آیلان ۵ درصد، A-10: عصاره آیلان ۱۰ درصد، A-20: عصاره آیلان ۲۰ درصد، A-30: عصاره آیلان ۳۰ درصد، NP-5: نانوامولسیون اسپند ۵ درصد، NP-20: نانوامولسیون اسپند ۲۰ درصد، NA-5: نانوامولسیون آیلان ۵ درصد، NA-20: نانوامولسیون آیلان ۲۰ درصد، Paraquat: علف‌کش پاراکوات و Control: آب به عنوان کنترل منفی.

(Maurya et al., 2022).

نتایج آماری نشت الكلروئیتی غشا نشان داد بیشترین درصد نشت الكلروئیتی با ۶۱/۸ درصد مربوط به نانوامولسیون آیلان

بر سنتز کلروفیل دارد. آلوشیمیایی‌ها با تأثیر بر عملکرد PSII بر فتوسنتز تأثیر گذاشتند. با کاهش فعالیت آنزیم، سنتز ATP را مهار و بر هدایت روزنه و سرعت تعرق تأثیر گذاشت

کاهشی را نشان داد (جدول ۱). عصاره‌های گیاهی ممکن است به عنوان محرک‌های زیستی عمل کنند و باعث افزایش فعالیت آنزیم‌ها شوند. افزایش غلظت مواد آللوپاتیک در ابتدا سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد اما با افزایش غلظت این ترکیبات، فعالیت آنزیم‌ها کاهش می‌یابد. در برخی موارد این عصاره‌ها می‌توانند منجر به استرس اکسیداتیو در گیاهان شوند که ممکن است باعث افزایش سطح پراکسیداز به عنوان یک پاسخ دفاعی شود.

برخی از عصاره‌های گیاهی ممکن است حاوی ترکیباتی باشند که فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز را افزایش دهند در حالی‌که دیگر عصاره‌ها ممکن است اثر مهاري داشته باشند. غلظت‌های بالا ممکن است منجر به استرس اکسیداتیو و افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز شوند درحالی‌که غلظت‌های پایین ممکن است تأثیر کمتری داشته باشند. نتایج نشان داد نانوامولسیون آیلان ۲۰ درصد به میزان ۳/۴ ($\text{mg protein}^{-1} \text{ min}^{-1}$) و عصاره آیلان ۳۰ درصد به میزان ۲/۸ ($\text{mg protein}^{-1} \text{ min}^{-1}$) را افزایش داد (جدول ۱). نتایج آماری آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) نشان داد نانوامولسیون آیلان ۲۰ درصد به میزان $1/05 (\text{mg protein}^{-1} \text{ min}^{-1})$ را نسبت به شاهد $1/14 (\text{mg protein}^{-1} \text{ min}^{-1})$ کاهش داد. برخی از عصاره‌ها ممکن است حاوی ترکیباتی همچون هورمون‌های گیاهی یا ترکیبات فعال دیگر باشند که به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) را تحریک کنند.

مسیر جذب کوتیکولی مسیری بالقوه برای ورود نانو آفت‌کش‌ها به برگ‌ها است. نانو علف‌کش‌ها چسبندگی بهتری به شاخ و برگ گیاهان دارند. بسته به نوع و ترکیب نانو علف‌کش، چسبندگی برگ را تعدیل و جذب علف‌کش را بهینه می‌کند. همچنین بار سطحی نانو آفت‌کش‌ها مستقیماً بر تعاملات نانو آفت‌کش‌ها با اجزای مختلف بیولوژیکی مانند پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها تأثیر می‌گذارد (Forini et al., 2022). در تحقیق حاضر، نانوامولسیون آیلان ۲۰ درصد سبب کاهش کلروفیل و کاروتنوئید، افزایش نشت الکترولیتی غشاء و

۲۰ درصد و پس از آن عصاره آیلان ۳۰ درصد باعث افزایش نشت به میزان ۶۰/۳ درصد گردید (شکل ۳). برخی از عصاره‌های گیاهی ممکن است حاوی ترکیبات سمی یا مواد شیمیایی باشند که می‌توانند غشا سلولی را آسیب بزنند. این آسیب می‌تواند منجر به افزایش نشت الکترولیتی شود. وجود ترکیباتی مانند فنل‌ها و سایر متابولیت‌های ثانویه ممکن است باعث اختلال در عملکرد غشا شود. دوزهای بالا منجر به آسیب و نشت بیشتر می‌شوند. از دست دادن عملکرد غشا بر شکل اجزای سلولی و فرایندهای متابولیسم تأثیر می‌گذارد و در نهایت منجر به کندی رشد گیاه و در نهایت مرگ سلولی می‌شود. قطرات نانوامولسیون‌ها می‌توانند به داخل سلول‌ها نفوذ می‌کنند و در نتیجه فضاها بین آن‌ها از بین می‌رود و اتصال سلولی را مختل می‌کند. علاوه‌براین، اختلال در غشای سلولی منجر به انعقاد سلولی می‌شود که در آن اجزای سلولی به خارج سلول‌ها رها می‌شوند و در نهایت بافت‌ها از بین می‌روند (Kandi et al., 2023).

مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها با غلظت‌های مختلف بر آنزیم‌های مورد بررسی قیاق در جدول ۱ آمده است. گیاهان در تماس با آلوشیمیایی‌ها به سرعت گونه‌های اکسیژن فعال تولید می‌کنند و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و اسید آسکوربیک پراکسیداز را تغییر می‌دهند و سطح رادیکال‌های آزاد را افزایش می‌دهند که باعث عدم تعادل در سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌شود (Maurya et al., 2022). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دفاعی هستند و در غلظت کم مواد آلوکمیکال، فعالیت آن‌ها زیاد و در غلظت بالا فعالیت کاهش می‌یابد. غشای سلولی تخریب و فعالیت آنزیم‌های حیاتی کم می‌شود. به‌طورکلی غلظت پایین عصاره‌ها موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز شد. بیشترین افزایش در فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار اسپند ۲ درصد با $18/47 (\text{mg protein}^{-1} \text{ min}^{-1} \Delta\text{OD})$ و کمترین فعالیت در فاکتور نانوامولسیون آیلان ۲۰ درصد با $6/66 (\text{mg protein}^{-1} \text{ min}^{-1} \Delta\text{OD})$ و عصاره آیلان ۳۰ درصد با $7/85 (\text{mg protein}^{-1} \text{ min}^{-1} \Delta\text{OD})$ بود. فعالیت آنزیم پراکسیداز در تمامی غلظت‌ها روند

جدول ۱- تأثیر عصاره و نانوامولسیون‌های اسپند و آیلان بر آنزیم‌های پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، فنیل آلانین آمونیا لایاز علف‌هرز قیاق در شرایط *In-vivo*

مقایسه میانگین			
تیمار	پراکسیداز ($\Delta OD / \text{Min} / \text{mg protein}$)	پلی فنل اکسیداز ($\text{U mg protein}^{-1} \text{ min}^{-1}$)	فنیل آلانین آمونیا لایاز ($\text{U mg protein}^{-1} \text{ min}^{-1}$)
عصاره اسپند ۲٪	۱۸/۴۷ ^b	۱/۱۰ ⁱ	۲/۱۷ ^b
عصاره اسپند ۵٪	۱۷/۸۹ ^{bc}	۱/۱۲ ⁱ	۲/۲۱ ^b
عصاره اسپند ۱۰٪	۱۷/۴۲ ^{cd}	۱/۱۵ ^{hi}	۲/۶۶ ^a
عصاره اسپند ۲۰٪	۱۳/۳۷ ^h	۱/۵۲ ^g	۱/۳۶ ^d
عصاره اسپند ۳۰٪	۱۳/۸۴ ^h	۱/۶۱ ^{fg}	۱/۱۹ ^e
عصاره آیلان ۲٪	۱۶/۳۲ ^e	۱/۱۲ ⁱ	۱/۹۷ ^c
عصاره آیلان ۵٪	۱۶/۳۶ ^e	۱/۱۷ ^{hi}	۲/۱۸ ^b
عصاره آیلان ۱۰٪	۱۵/۰۶ ^f	۱/۲۷ ^h	۲/۱۹ ^b
عصاره آیلان ۲۰٪	۹/۳۹ ^j	۲/۵۸ ^c	۱/۳۶ ^d
عصاره آیلان ۳۰٪	۷/۸۵ ^k	۲/۸۱ ^b	۱/۱۸ ^e
نانوامولسیون اسپند ۵٪	۱۶/۷۹ ^e	۱/۶۷ ^{ef}	۲/۵۹ ^a
نانوامولسیون اسپند ۲۰٪	۱۳/۴۷ ^h	۲/۲۳ ^d	۱/۲۰ ^e
نانوامولسیون آیلان ۵٪	۱۴/۳۳ ^g	۱/۷۵ ^e	۲/۲۰ ^b
نانوامولسیون آیلان ۲۰٪	۶/۶۶ ^l	۳/۳۹ ^a	۱/۰۵ ^f
پاراکوات (کنترل مثبت)	۱۰/۴۵ ⁱ	۲/۱۹ ^d	۰/۱۳ ^g
آب (کنترل منفی)	۱۹/۳۴ ^a	۱/۱۵ ^{hi}	۱/۱۴ ^{ef}

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد براساس آزمون دانکن ندارند.

نتیجه‌گیری

خواص عصاره‌های گیاهی به خوبی شناخته شده است، اما ناپایداری آن‌ها در شرایط محیطی اثربخشی آن‌ها را محدود می‌کند. نانو فرمولاسیون کردن عصاره‌های گیاهی، گزینه‌ای مناسب برای مدیریت و کنترل بیماری‌های گیاهی و رشد علف‌های هرز هستند. در مرحله پس رویشی، نانوامولسیون عرعر ۲۰ درصد سبب کاهش فعالیت رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش نشت الکترولیتی و فعالیت آنزیمی علف‌هرز قیاق گردید. به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت عصاره و نانوامولسیون آیلان، درصد نشت الکترولیتی و خسارت چشمی علف‌هرز قیاق افزایش یافت. اثرات بیوشیمیایی عصاره نانو شده آیلان بر علف‌هرز قیاق شدیدتر از

افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و فنیل آلانین آمونیا لایاز در قیاق شد.

Somala و همکاران (۲۰۲۳) اثرات نانوامولسیون علف لیمو بر محتویات رنگدانه فتوسنتز *Amaranthus tricolor* و *Echinochloa crus-galli*، پس از محلول‌پاشی در گیاهان مورد آزمایش بررسی کردند. برگ‌های تیمار شده زرد کم‌رنگ شدند و محتویات رنگدانه فتوسنتزی با افزایش دوز کاهش یافت. Ootani و همکاران (۲۰۱۷) مشاهده کردند که اسانس‌های *C. nardus* و *Eucalyptus citriodora* سبب کاهش کلروفیل در علف‌هرز خرچنگ (*Digitaria horizontalis*) و چمن تنشی (*Cenchrus echinatus*) تیمار شده تا ۵۰ درصد شد.

عصاره و نانوامولسیون اسپند بود. نانو کپسوله کردن باعث افزایش اثر دگرآسیبی عصاره آیلان شد به گونه‌ای که نانوامولسیون آیلان ۲۰ درصد سبب کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز و افزایش خسارت چشمی به قیاق گردید.

منابع

- Albouchi, F., Hassen, I., Casabianca, H., & Hosni, K. (2013). Phytochemicals, antioxidant, antimicrobial and phytotoxic activities of *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle leaves. *South African Journal of Botany*, 87, 164-174.
- Almasian, N., Ebrahimi, A., Diyanat, M., Nezhad, R. A., & Khosrowshahli, M. (2024). Synthesis and investigation of nano-biologic structures' effect on soil pathogenic fungi in maize. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 133, 102336. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2024.102336>
- Biczak, R., Pawłowska, B., Telesinski, A., & Kapusniak, J. (2017). Role of cation structure in the phytotoxicity of ionic liquids: Growth inhibition and oxidative stress in spring barley and common radish. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 18444-18457. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9439-x>
- Caramelo, D., Pedro, S. I., Marques, H., Simao, A. Y., Rosado, T., Barroca, C., ... & Gallardo, E. (2021). Insights into the bioactivities and chemical analysis of *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle. *Applied Sciences*, 11(23), 11331. <https://doi.org/10.3390/app112311331>
- Caser, M., Demasi, S., Caldera, F., Dhakar, N. K., Trotta, F., & Scariot, V. (2020). Activity of *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle extract as a potential bioherbicide for sustainable weed management in horticulture. *Agronomy*, 10(7), 965. <https://doi.org/10.3390/agronomy10070965>
- Cheema, M. W. A., Rasool, T., Munir, H., Iqbal, M. M., Naz, T., Ikram-ul-Haq, M., ... & Ullah, S. (2020). Weed control in wheat through different sorghum formulations as an organic herbicide. *Asian Journal of Agriculture and Biology*, 8(2), 129-137. <https://doi.org/10.35495/ajab.2018.09.285>
- Diyanat, M., Saeidian, H., Baziar, S., & Mirjafary, Z. (2019). Preparation and characterization of polycaprolactone nanocapsules containing pretilachlor as a herbicide nanocarrier. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 21579-21588. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05257-0>
- Ehtaiwesh, A., & Yarboa, L. (2021). Assessment of allelochemicals potential of *Peganum harmala* L. for biological control of *Cynodon dactylon* L. *Scientific Journal for Faculty of Science-Sirte University*, 1(2), 1-6. <https://doi.org/10.37375/sjfsu.v1i2.146>
- Forini, M. M., Pontes, M. S., Antunes, D. R., de Lima, P. H., Santos, J. S., Santiago, E. F., & Grillo, R. (2022). Nano-enabled weed management in agriculture: From strategic design to enhanced herbicidal activity. *Plant Nano Biology*, 1, 100008. <https://doi.org/10.1016/j.plana.2022.100008>
- Glab, L., Sowinski, J., Bough, R., & Dayan, F. E. (2017). Allelopathic potential of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) in weed control: A comprehensive review. *Advances in Agronomy*, 145, 43-95. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2017.05.001>
- Hafez, M., & Khalil, H. F. (2024). Nanoparticles in sustainable agriculture: Recent advances, challenges, and future prospects. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 55(14), 2181-2196. <https://doi.org/10.1080/00103624.2024.2339950>
- Hazrati, H., Saharkhiz, M. J., Niakousari, M., & Moein, M. (2017). Natural herbicide activity of *Satureja hortensis* L. essential oil nanoemulsion on the seed germination and morphophysiological features of two important weed species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 142, 423-430. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.041>
- Izadi, M., Jorf, S. A. M., Nikkhah, M., & Moradi, S. (2021). Antifungal activity of hydrocolloid nano encapsulated *Carum copticum* essential oil and *Peganum harmala* extract on the pathogenic fungi *Alternaria alternata*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 116, 101714. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101714>
- Jadidi, M., Diyanat, M., & Ebrahimi, A. (2021). Effect of nanocapsulated of rye (*Secale cereale* L.) extractions on germination components of two weeds, dodder (*Cuscuta campestris* Y.(dodder)) and purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 10, 1-15. <https://doi.org/10.22092/ijss.2019.127613.1291>
- Kandi, M., Ebrahimi, A., Diyanat, M., & Saeidian, H. (2023). Evaluating the application of yarrow (*Achillea wilhelmsii*) essential oil nanoemulsion on germination indices of purslane (*Portulaca oleracea*) and rye (*Secale cereale*). *Iranian Journal of Seed Research*, 10(1), 159-174. <https://doi.org/10.61186/yujs.10.1.159>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. In: *Methods Enzymol* (eds. Douce, R. and Packer, L.) Pp. 350-382. Academic Press Inc., New York.
- Lungu, L., Savoiu, M. R., Manolescu, B. N., Farcasanu, I. C., Popa, C. V. (2016). Phytotoxic and antioxidant activities of leaf extracts of *Ailanthus altissima* Swingle. *Review Chimistry*, 67, 1928-1931.

- Marslin, G., Sarmento, B. F. C. C., Franklin, G., Martins, J. A. R., Silva, C. J. R., Gomes, A. F. C., ... & Dias, A. C. P. (2017). Curcumin encapsulated into methoxy poly (ethylene glycol) poly (ε-caprolactone) nanoparticles increases cellular uptake and neuroprotective effect in glioma cells. *Planta Medica*, 83(05), 434-444. <https://doi.org/10.1055/s-0042-112030>
- Maurya, P., Dwivedi, N., Mazeed, A., Kumar, D., Kumar, B., Chantotiya, C. S., ... & Suryavanshi, P. (2022). Allelopathic weed management in wheat (*Triticum aestivum* L.) through essential oil emulsions and aqueous botanical extracts-based novel bioherbicides. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 131(2), 445-458. <https://doi.org/10.1007/s41348-024-00870-9>
- Motmainna, M., Juraimi, A. S., Uddin, M. K., Asib, N. B., Islam, A. K. M. M., & Hasan, M. (2021). Assessment of allelopathic compounds to develop new natural herbicides: A review. *Allelopathy Journal*, 52(1), 21-40. <https://doi.org/10.26651/allelo.j/2021-53-1-1327>
- Ngadze, E., Icishahayo, D., Coutinho, T. A., & Van der Waals, J. E. (2012). Role of polyphenol oxidase, peroxidase, phenylalanine ammonia lyase, chlorogenic acid, and total soluble phenols in resistance of potatoes to soft rot. *Plant Disease*, 96(2), 186-192. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-11-0149>
- Ootani, M. A., dos Reis, M. R., Cangussu, A. S. R., Capone, A., Fidelis, R. R., Oliveira, W., ... & dos Santos, W. F. (2017). Phytotoxic effects of essential oils in controlling weed species *Digitaria horizontalis* and *Cenchrus echinatus*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 12, 59-65. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.08.016>
- Rahmani, A., Seyghali, N., & Ebrahimzadeh, H. (2012.) Kinetic study of peroxidase activity in different concentrations of guaiacol in saffron crops. *Journal of Cellular-Molecular Biotechnology*, 3, 77-81.
- Sassoui, D., Seridi, R., Azin, K., & Usai, M. (2015). Evaluation of phytochemical constituents by GC-MS and antidepressant activity of *Peganum harmala* L. seeds extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(12), 971-974. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)60967-7](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(15)60967-7)
- Singh, R., Shedbalkar, U. U., Wadhwani, S. A., & Chopade, B. A. (2015). Bacteriogenic silver nanoparticles: Synthesis, mechanism, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 4579-4593. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6622-1>
- Somala, N., Laosinwattana, C., Chotsaeng, N., & Teerarak, M. (2023). Citronella essential oil-based nanoemulsion as a post-emergence natural herbicide. *Scientific Reports*, 13(1), 20851.
- Taban, A., Saharkhiz, M. J., & Khorram, M. (2020). Formulation and assessment of nano-encapsulated bioherbicides based on biopolymers and essential oil. *Industrial Crops and Products*, 149, 112348. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112348>
- Udasi, V., Shaikh, A., Urdukhe, Y., & Mogle, U. (2023). GCMS analysis and antifungal activity of leaf extracts of *Ailanthus excelsa* (Roxb), against *Fusarium oxysporum* causal agent of *Fusarium wilt* disease in tomato. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 12(5), 428-432. <https://doi.org/10.22271/phyto.2023.v12.i5e.14753>
- Uludag, A., Gozcu, D., Rusen, M., Guvercin, R. S., & Demir, A. (2007). The effect of Johnsongrass densities (*Sorghum halepense* L. Pers.) on cotton yield. *Pakistan Journal of Biological Science*, 10, 523-525.
- Valikhanzadi, M., Diyanat, M., & Oveisi, M. (2023). The pattern of Johnson grass (*Sorghum halepense* (Pers.) L.) emergence in corn field under the influence of management operations. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 37(2), 215-228. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jpp.2023.80440.1122>
- Venkatachalam, P., Jayaraj, M., Manikandan, R., Geetha, N., Rene, E. R., Sharma, N. C., & Sahi, S. V. (2017). Zinc oxide nanoparticles (ZnONPs) alleviate heavy metal-induced toxicity in *Leucaena leucocephala* seedlings: A physiochemical analysis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 59-69. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.08.022>
- Waleed, M., Azim, A. E., & Balah, M. A. (2016). Nanoemulsions formation from essential oil of *Thymus capitatus* and *Majorana hortensis* and their use in weed control. *Indian Journal of Weed Science*, 48(4), 421-427. <https://doi.org/10.5958/0974-8164.2016.00108.8>
- Wang, N., An, J., Zhang, Z., Liu, Y., Fang, J., & Yang, Z. (2022). The antimicrobial activity and characterization of bioactive compounds in *Peganum harmala* L. based on HPLC and HS-SPME-GC-MS. *Frontiers in Microbiology*, 13, 916371. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.916371>

Application of biologic nanoemulsions on the control of Johnson grass (*Sorghum halepense* L.)

Nafiseh Almasian¹, Marjan Diyanat^{2*}, Asa Ebrahimi¹, Reza Azizi-Nezhad¹ and
Mahmood Khosrowshahli¹

¹ Department of Biotechnology and Plant Breeding, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Department of Agriculture and Horticultural Sciences, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received: 2025/06/08, Accepted: 2025/09/02)

Abstract

Various studies have shown that plant extracts can greatly control weeds and minimize the damage caused by chemical herbicides. This study aimed to investigate the allelopathic effect of harmel (*Peganum harmala*) and ailanthus tree (*Ailanthus altissima*) extract and nanoemulsion on physiological and biochemical traits of Johnson grass in a greenhouse (in vivo) in a randomized complete block design with four replications was conducted. The experimental treatments included hydroalcoholic extract of harmel and ailanthus tree at five levels (2, 5, 10, 20, and 30%) and nanoemulsions of harmel and ailanthus tree at two levels (5 and 20%), distilled water (negative control), and paraquat (positive control). GC-MS analysis was used to identify the biochemical components of the plant extracts. The high-energy method was used to prepare a nanoemulsion. Zeta/DLS, TEM, and FTIR imaging were used to characterize the nanoparticles. Harmine and quercetin were the most abundant compounds in the studied extracts. TEM imaging showed that the nanoemulsions of the extract were spherical and well dispersed. DLS analysis showed 229.6 and 146.3 nm for the nanoemulsion. Both types of extract and nanoemulsion reduced the chlorophyll and carotenoid of the weed, so that the most significant decrease in the content of chlorophyll and carotenoid was in the 20% juniper nanoemulsion factors 12.16 and 6.48 mg/g fresh weight, respectively; juniper extract with 30% concentration was 13.43 and 15.71 mg/g fresh weight, respectively; the nanoemulsion treatment *P. harmala* was observed as 17.52 and 10.40 mg per gram of fresh weight, respectively; and with increasing concentration, membrane electrolyte leakage increased. Nanoencapsulation increased the anti-injury effect of *A. altissima* extract in such a way that 20% *A. altissima* nanoemulsion decreased the activity of the peroxidase enzyme and increased visible injury. The lowest peroxidase activity was in the treatment of *A. altissima* nanoemulsion 20% with ($\Delta OD/\text{min}/\text{mg}$ protein) 6.66 and *A. altissima* extract 30% with ($\Delta OD/\text{Min}/\text{mg}$ protein) 7.85.

Keywords: Ailanthus, Electrolyte Leakage, Harmel, Nanobiological, Peroxidase

Corresponding author, Email: ma_dyanat@yahoo.com