

## بررسی تأثیر عصاره الکلی برگ آفتابگردان (*Helianthus annuus*) بر جوانه‌زنی، رشد رویشی و فعالیت‌های آنزیمی گیاهچه یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*)

### روزبه فرهودی\* و عادل مدحج

گروه شناسایی و مبارزه با علف هرز، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، شوشتر، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۱/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۸/۱۸)

#### چکیده:

علف کش‌های شیمیایی به عنوان یک روش کلیدی در کنترل علف‌های هرز محسوب می‌شوند اما آثار منفی آنها بر محیط زیست زیاد است. این تحقیق در قالب دو آزمایش به منظور بررسی تأثیر ترکیبات عصاره الکلی آفتابگردان (*Helianthus annuus*) بر رشد گیاهچه، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، فعالیت آنزیم‌های آلفا آمیلاز و ساکاروز سنتتاز گیاهچه یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*) در مراحل جوانه زنی و رشد رویشی انجام شد. هر دو آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار و غلظت های عصاره آفتابگردان ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم بر لیتر صورت گرفت. نتایج نشان داد افزایش غلظت عصاره آفتابگردان میانگین زمان جوانه زنی و غلظت مالون دی آلدئید بافت گیاهچه را افزایش و درصد جوانه زنی و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز را کاهش داد. کم‌ترین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز یولاف وحشی در تیمار ۲۰ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان به میزان ۱/۱ نانومول در بذر در دقیقه مشاهده شد. در آزمایش بررسی تأثیر محلول پاشی عصاره آفتابگردان نتایج نشان داد افزایش غلظت عصاره آفتابگردان سبب کاهش وزن گیاهچه، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و فعالیت آنزیم ساکاروز یولاف وحشی شد، اما غلظت مالون دی آلدئید بافت گیاهچه یولاف وحشی را افزایش داد. کم‌ترین فعالیت ساکاروز سنتتاز (۱/۳۶ نانومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه) و بیشترین میزان غلظت مالون دی آلدئید (۰/۹۶ نانومول بر گرم وزن تر) برگ یولاف وحشی تحت تأثیر تیمار محلول پاشی با تیمار ۲۰ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان مشاهده شد. نتایج نشان داد عصاره آفتابگردان سبب کاهش جوانه زنی، رشد گیاهچه، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و ساکاروز سنتتاز یولاف وحشی شد.

کلمات کلیدی: آنزیم آنتی اکسیدان، آلوپاتی، مالون دی آلدئید، علف کش‌های زیستی

#### مقدمه:

پیامدهای استفاده از این ترکیبات می‌باشد. برای جلوگیری از گسترش مقاومت علف‌های هرز و همچنین کاهش مشکلات زیست محیطی ایجاد شده در اثر مصرف علف کش‌ها و نیز کاهش هزینه‌های تولید باید از استراتژی‌های جایگزین مانند استفاده از روش‌های بیولوژیک و زراعی در کنار روش‌های

هرچند که کاربرد علف کش‌های شیمیایی به عنوان یک روش کلیدی در کنترل علف‌های هرز محسوب می‌شوند اما مشکلاتی مانند اثر منفی مواد شیمیایی بر محیط زیست و افزایش گونه‌های علف هرز مقاوم به سموم شیمیایی از

\*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: rfarhoudi@gmail.com

میان کاهش رشد گیاهیچه خیار تحت شرایط حضور ترکیبات دگر آسیب با تخریب و اکسیده شدن غشاهای سلولی خیار دیده شده است (Yu et al., 2003). تحقیقات نشان داده است عصاره جو با تخریب غشا سلولی سبب کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و رشد گیاهیچه سوروف وحشی و چچم شد (فرهودی و مکی زاده، ۱۳۹۰).

مطالعه میزان تخریب غشاهای سلولی (با بررسی ترکیباتی نظیر مالون دی آلدهید)، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و آنزیم‌های مهم در فرایند جوانه زنی و استقرار گیاهیچه تحت تأثیر ترکیبات دگر آسیب می‌تواند نقش ویژه‌ای در چگونگی درک نحوه خسارت ترکیبات دگر آسیب داشته باشد. این تحقیق به منظور بررسی پتانسیل دگر آسیبی عصاره الکلی آفتابگردان بر جوانه زنی، رشد گیاهیچه، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، آلفا آمیلاز و ساکاروز سنتتاز یولاف وحشی انجام شد.

#### مواد و روش‌ها:

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر عصاره الکلی آفتابگردان (*Helianthus annuus*) (رقم آذر گل) بر جوانه زنی و رشد گیاهیچه یولاف وحشی (*Avena ludoviciana*) در دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر و آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شهید چمران در سال ۱۳۹۱ انجام شد. محاسبات آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح پنج درصد آماری) استفاده شد.

#### تأثیر عصاره الکلی آفتابگردان بر جوانه زنی یولاف

**وحشی:** این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام شد. تیمارهای این آزمایش عصاره متانولی برگ آفتابگردان با غلظت ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم بر لیتر بود. در تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. جهت تهیه عصاره متانولی برگ آفتابگردان، ابتدا برگ آفتابگردان در مرحله ظهور گل آذین در تاریخ ۱۰ اردیبهشت ۱۳۹۱ از

شیمیایی استفاده کرد. یکی از این روش‌های بیولوژیک، استفاده از خاصیت دگر آسیب گیاهان علیه گیاهان دیگر است (فرهودی، ۱۳۸۹؛ Kato-Noguchi and Ino, 2001). اصطلاح دگر آسیبی (آلوپاتی) می‌تواند به عنوان مداخله کننده شیمیایی بین گیاهان به وسیله رهاسازی ترکیبات شیمیایی در محیط تعریف شود. امروزه دگر آسیبی به صورت هرگونه پاسخ منفی یک گیاه نسبت به مواد شیمیایی تولید شده توسط گیاه دیگر تعریف می‌شود (Wu et al., 2000). آفتابگردان یک گیاه مطرح در زمینه مطالعات دگر آسیب است. تحقیقات نشان داده است که عصاره آفتابگردان با تخریب غشاهای سلولی و اختلال در فعالیت‌های آنزیمی، موجب کاهش رشد گیاهیچه‌های خردل وحشی می‌شود (Oracz et al., 2007).

شناسایی مکانیزم‌های عمل مواد دگر آسیب در گیاهان می‌تواند نقش مهمی در معرفی، تولید و استفاده از این مواد به صورت عملی داشته باشد. یکی از عوامل اصلی خسارت تنش‌های محیطی نظیر آلوپاتی بر گیاهان، تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و بروز تنش اکسیداتیو است (Yu et al., 2003; Maffei et al., 1999). حضور گونه‌های فعال اکسیژن در محیط سلولی سبب کاهش پایداری غشا سلولی، تخریب ماکرومولکول‌های عمده سلولی نظیر ماده وراثتی سلول و اختلال در عمل آنزیم‌های حیاتی نظیر آلفا آمیلاز می‌شود (Oracz et al., 2007). محققین کاهش رشد گیاهیچه ارزن و سورگوم تحت تأثیر عصاره آلوپاتیک آفتابگردان را ناشی از تخریب غشا‌های سلولی و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز دانسته‌اند (زلقی و همکاران، ۱۳۹۰). عصاره گلرنگ سبب کاهش معنی دار جوانه زنی و رشد گیاهیچه خردل وحشی شده و کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و تخریب غشاهای سلولی دلیل این تغییرات گزارش شده است (Farhoudi and Lee, 2012). مشاهده گردیده است که رشد گیاهیچه‌های خیار تحت تأثیر ترکیبات آلوپاتیک کاهش یافت. همبستگی مثبتی

محوطه مزارع دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر جمع آوری و به مدت یک هفته در سایه خشک شد. مقدار ۱۰۰ گرم پودر برگ خشک آفتابگردان به یک لیتر الکل متانول ۹۶ درصد اضافه شد و بعد از ۲۴ ساعت محلول توسط کاغذ صافی صاف و عصاره متانولی آفتابگردان به دست آمد. سپس غلظت‌های مورد نظر (۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم بر لیتر) از این عصاره به کمک آب مقطر ساخته شد. برای آزمایش جوانه زنی، ۲۵ عدد بذر یولاف در هر پتری دیش حاوی یک عدد کاغذ صافی واتمن قرار گرفت و هفت میلی لیتر از محلول عصاره از تیمار مربوطه یا آب مقطر (به عنوان شاهد) به محیط پتری دیش اضافه شد. در طول آزمایش، بذور در دستگاه ژرمیناتور در دمای  $1 \pm 24$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۰ درصد و تاریکی قرار گرفتند. در این آزمایش درصد جوانه زنی، میانگین زمان جوانه زنی، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و غلظت مالون دی آلدئید بافت گیاهیچه مورد بررسی قرار گرفتند. درصد جوانه‌زنی با کمک فرمول (۱) و میانگین زمان جوانه زنی بر اساس فرمول (۲) محاسبه شد (Scott *et al.*, 1984):

فرمول ۱

درصد جوانه‌زنی =  $100 \times (\text{کل بذر های هر پتری دیش} / \text{تعداد بذر های جوانه زده در هر پتری دیش})$

فرمول ۲

$MGT = \sum (f_i x_i / N)$

روز شمارش،  $x_i$ : تعداد بذر جوانه زده در روز  $f_i$ ،  $N$ : کل بذرها جوانه زده، MGT: میانگین زمان جوانه زنی

جهت بررسی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز ابتدا پروتئین بافت ساقه چه استخراج شد (Agrawal *et al.*, 2005). برای بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۱۰ میلی مولار، ۸ میلی مولار گایاکول، ۲/۷۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن و ۵۰ میکرو لیتر محلول پروتئینی استخراج شده در بالا بود. پس از اضافه کردن پراکسید هیدروژن بلافاصله میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه قرائت شد. فعالیت

ویژه آنزیم به صورت مایکرومول ترا گایاکول تشکیل شده در دقیقه در میلی گرم پروتئین بیان شد. برای بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز ۵۰ میکرو مول از محلول پروتئینی استخراج شده از ساقه چه به ۱۰۰ میلی مول بافر فسفات اضافه و سپس ۳۰ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن نیز به مخلوط افزوده شد. در نهایت این مخلوط در کووت اسپکتو فتومتر ریخته شد و در طول موج ۲۴۰ نانومتر فعالیت آنزیمی بر اساس تغییرات جذب در ۶۰ ثانیه به ازای هر میلی گرم پروتئین قرائت شد (Chance and Maehly, 1995).

به منظور تعیین غلظت مالون دی آلدئید گیاهیچه یولاف وحشی، ابتدا ۰/۱ گرم بافت ساقه چه را در محلول ۲۰ درصد تری کلرو استیک اسید (Trichloro Acetic Acid) (TCA) که حاوی ۰/۵ درصد تیو باربیتوریک اسید (Barbituric Acid) بود کاملاً له کرده و آنگاه این مخلوط به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام بن ماری حرارت داده شد. سپس در حمام یخ سرد شد و غلظت مالون دی آلدئید در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه گیری گردید (Valentovic *et al.*, 2006).

یک گرم بافت بذر جهت اندازه گیری فعالیت آلفا آمیلاز استفاده شد. چهار روز پس از اضافه کردن عصاره‌ها نمونه های لازم برای سنجش فعالیت آلفا آمیلاز جدا شد. برای تهیه عصاره ابتدا پنج میلی لیتر محلول ۶۰ میلی مولار بافر فسفات (pH 6.8) به بذرها در حال جوانه زنی اضافه شد و سپس گیاهیچه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند (با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه). جهت اندازه گیری آنزیم  $\alpha$ -آمیلاز ابتدا ۰/۵ میلی لیتر محلول نشاسته به داخل لوله آزمایش منتقل شد سپس ۰/۵ میلی لیتر از عصاره تهیه شده در بالا به آن اضافه شده و بعد از ۳۰ دقیقه آنکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به وسیله ۱ میلی لیتر اسید هیدروکلریک ۰/۱ نرمال واکنش را متوقف کرده و در ادامه یک میلی لیتر معرف ید به آن اضافه شد. پس از آن حجم محتوی لوله را با آب مقطر به حدود ۱۰ میلی لیتر رسانده و میزان جذب رنگ را با

استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده و با نمونه شاهد مقایسه شد (Xiao et al., 2006).

**تأثیر محلول پاشی عصاره الکلی آفتابگردان بر رشد گیاهچه یولاف وحشی:** این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام شد. تیمارهای این آزمایش چهار عصاره الکلی برگ آفتابگردان با غلظت ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم بر لیتر بود که مشابه آزمایش قبل تهیه شد. در شرایط شاهد گیاهچه یولاف وحشی محلول پاشی نشد. جهت رشد یولاف وحشی ۵ عدد بذر این گیاه در گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۲۰ سانتی متر و ارتفاع ۲۵ سانتی متر حاوی ترکیب خاک رس و کود پوسیده حیوانی به نسبت سه به یک کاشته شدند. پس از استقرار گیاهچه‌ها تعداد آنها به سه عدد در هر گلدان رسید. دو هفته پس از سبز شدن بذر یولاف وحشی محلول پاشی آنها توسط عصاره‌های آفتابگردان طی سه نوبت به صورت یک روز در میان انجام شد. یک هفته پس از پایان محلول پاشی عصاره آفتابگردان، برداشت گیاهچه‌های یولاف وحشی جهت بررسی صفات انجام شد. در این آزمایش وزن خشک گیاهچه، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، غلظت مالون دی آلدئید گیاهچه و فعالیت آنزیم ساکاروز سنتتاز مورد بررسی قرار گرفتند. برای بررسی فعالیت آنزیم ساکاروز سنتتاز از روش Gravois و Counce (۲۰۰۶) استفاده شد.

### نتایج و بحث:

**تأثیر عصاره آبی آفتابگردان بر جوانه زنی یولاف وحشی:** جدول ۱ نتایج مرتبط با درصد جوانه زنی بذر یولاف وحشی تحت تأثیر افزایش غلظت عصاره آفتابگردان را نشان می‌دهد. کم‌ترین درصد جوانه زنی بذر یولاف وحشی تحت تأثیر ۲۰ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان و به میزان ۱۹/۷ درصد مشاهده شد. افزایش غلظت عصاره آفتابگردان سبب افزایش معنی‌دار میانگین زمان جوانه زنی یولاف وحشی شد به طوری که بیشترین

میانگین زمان جوانه زنی یولاف وحشی تحت تأثیر تیمار ۲۰ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان دیده شد (۴/۸۷ روز) اما میانگین زمان جوانه زنی بذر یولاف وحشی تحت تأثیر ۱۰ و ۱۵ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان با وجود افزایش در مقایسه با شاهد تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. کاربرد عصاره آفتابگردان سبب کاهش درصد جوانه زنی و تأخیر در زمان جوانه زنی گیاهچه های خردل وحشی شد (Oracz et al., 2007). تحقیقات نشان داده است که عصاره ریشه برنج با اختلال در فرآیندهای متابولسمی سبب کاهش درصد جوانه زنی گیاهچه‌های هدف می‌شود (Kato-Noguchi and Ino, 2001)

بر اساس نتایج جدول ۱ فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به شدت تحت تأثیر افزایش غلظت عصاره آفتابگردان قرار گرفت و کاهش یافت. بیشترین و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به ترتیب در تیمار شاهد (۷/۲ نانومول در بذر در دقیقه) و عصاره ۲۰ گرم بر لیتر آفتابگردان (۱/۱ نانومول در بذر در دقیقه) مشاهده شد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد میانگین زمان جوانه زنی بذر یولاف وحشی تحت تأثیر عصاره آفتابگردان افزایش و فعالیت آلفا آمیلاز و درصد جوانه زنی آن کاهش یافت که بیانگر اثرات منفی عصاره الکلی آفتابگردان بر جوانه زنی یولاف وحشی است. عصاره برنج هر چند سبب افزایش درصد جوانه زنی جو و یولاف وحشی شد اما سبب کاهش شدید رشد گیاهچه و سرعت جوانه زنی بذر جو و یولاف وحشی شد. قبلاً نشان داده شده است که احتمالاً ترکیبات آللوپاتیک برنج سبب تحریک جوانه زنی جو و یولاف وحشی می‌گردد اما درصد جوانه زنی نمی‌تواند معیار مناسبی در این زمینه باشد و بهتر است از صفاتی مانند وزن گیاهچه و طول گیاهچه برای بررسی اثر ترکیبات آللوپاتی استفاده شود (Farooq et al., 2008).

افزایش غلظت عصاره آفتابگردان سبب کاهش وزن تر گیاهچه یولاف وحشی شد. کم‌ترین وزن تر گیاهچه یولاف وحشی تحت تأثیر ۲۰ گرم بر لیتر عصاره

جدول ۱- تاثیر عصاره الکلی آفتابگردان بر جوانه زنی و وبرخی صفات فیزیولوژیک گیاهچه یولاف وحشی\*

غلظت عصاره آفتابگردان (گرم بر لیتر)	میانگین زمان جوانه زنی (روز)	وزن تر گیاهچه (میلی گرم)	درصد جوانه زنی <sup>۱</sup>	فعالیت آلفا (نانومول بر بذر در دقیقه)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (میلی گرم جذب در دقیقه)	فعالیت آنزیم کاتالاز (نانومول آب اکسیژنه بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه)	غلظت مالون دی آلدهید (نانومول بر گرم وزن تر)
شاهد	۲/۸۳ <sup>c</sup>	۱/۰۲ <sup>a</sup>	۷۱/۰ <sup>a</sup>	۷/۲ <sup>a</sup>	۱۱/۹ <sup>d</sup>	۲/۴۳ <sup>c</sup>	۰/۰۳۸ <sup>c</sup>
۵	۲/۷۷ <sup>c</sup>	۰/۹۸ <sup>a</sup>	۷۲/۶ <sup>a</sup>	۶/۶ <sup>a</sup>	۱۵/۳ <sup>c</sup>	۳/۴۳ <sup>a</sup>	۰/۱۲ <sup>c</sup>
۱۰	۳/۹۳ <sup>b</sup>	۰/۷۲ <sup>b</sup>	۶۸/۱ <sup>a</sup>	۵/۴ <sup>b</sup>	۲۲/۸ <sup>b</sup>	۳/۵۱ <sup>a</sup>	۰/۵۷ <sup>b</sup>
۱۵	۴/۱۱ <sup>b</sup>	۰/۵۲ <sup>c</sup>	۳۳/۲ <sup>b</sup>	۲/۷ <sup>c</sup>	۲۳/۱ <sup>a</sup>	۲/۷۶ <sup>b</sup>	۰/۸۶ <sup>a</sup>
۲۰	۴/۸۷ <sup>a</sup>	۰/۲۹ <sup>d</sup>	۱۹/۷ <sup>c</sup>	۱/۱ <sup>d</sup>	۱۴/۱ <sup>c</sup>	۲/۰۹ <sup>d</sup>	۰/۸۵ <sup>a</sup>

\*: در هر ستون میانگین هایی که دارای حرف مشترک هستند دارای تفاوت آماری در سطح پنج درصد نمی باشند.

۱- داده های درصد جوانه زنی ابتدا به روش  $\arcsin$  تبدیل داده شد و سپس تجزیه واریانس گردید.

لیتر سبب افزایش شدید فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با شاهد شد اما غلظت های ۱۵ و ۲۰ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان سبب کاهش شدید فعالیت کاتالاز شد. کمترین فعالیت این آنزیم به میزان ۲/۰۹ نانومول آب اکسیژنه بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه تحت تاثیر عصاره ۲۰ درصد آفتابگردان دیده شد. با توجه به نتایج حاضر می توان گفت کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان تحت تاثیر غلظت های بالای عصاره آفتابگردان منجر به تخریب غشاهای سلولی، افزایش غلظت مالون دی آلدهید و کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز شد (جدول ۱). محققین با بررسی تاثیر افزایش غلظت ترکیبات آللوپاتیک بر رشد گیاهچه خیار بیان نموده اند این ترکیبات با تاثیر منفی بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان گیاهچه خیار سبب القای تنش اکسیداتیو و کاهش رشد گیاهچه خیار می شود (Maffei et al., 1999). حضور ترکیبات آللوپاتیک سبب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاهچه های هدف می شود زیرا این آنزیم ها با حذف رادیکال های آزاد اکسیژن محیط سلول را از اثرات زیان بار این رادیکال ها حفظ می کنند اما آنزیم های آنتی اکسیدان نیز مانند سایر ترکیبات پروتئینی تحت تاثیر غلظت بالای ترکیبات آللوپاتیک قرار گرفته و فعالیت آنها کاهش می یابد (Lorenzo et al., 2011; Yu et al., 2003; Oracz et al., 2007).

آفتابگردان دیده شد (۰/۲۹ میلی گرم) (جدول ۱). بررسی جوانه زنی یولاف وحشی، گندم و کاهو (Kato-Noguchi and Macias, 2008) و یولاف وحشی و چچم (فرهودی و مکی زاده، ۱۳۹۰) تحت تاثیر ترکیبات آللوپاتیک نشان داده است که ترکیبات آللوپاتیک با تاثیر منفی بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز سبب کاهش درصد جوانه زنی و رشد گیاهچه های هدف می شود.

نتایج جدول ۱ نشان داد افزایش غلظت عصاره آفتابگردان سبب افزایش تخریب غشاهای سلولی و افزایش غلظت مالون دی آلدهید بافت گیاهچه یولاف وحشی شد. بیشترین غلظت مالون دی آلدهید بافت گیاهچه یولاف وحشی در عصاره ۲۰ گرم بر لیتر آفتابگردان به میزان ۰/۸۵ نانومول بر گرم بافت تر گیاهچه مشاهده شد. نتایج جدول ۱ بیانگر افزایش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان پراکسیداز تحت تاثیر افزایش غلظت عصاره آفتابگردان است. بیشترین فعالیت این آنزیم تحت تاثیر ۱۰ و ۱۵ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان به میزان ۲۲/۸ و ۲۳/۱ میلی گرم جذب در دقیقه دیده شد اما کاربرد ۲۰ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان سبب کاهش شدید فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه با سطوح ۱۰ و ۱۵ گرم بر لیتر شد (۱۴/۱ میلی گرم جذب در دقیقه). نتایج جدول ۱ نشان داد افزایش غلظت عصاره آفتابگردان به ۵ و ۱۰ گرم بر

جدول ۲- تاثیر عصاره تاثیر عصاره الکلی آفتابگردان بر رشد رویشی و برخی صفات فیزیولوژیک گیاهچه یولاف وحشی \*

غلظت عصاره آفتابگردان (گرم بر لیتر)	وزن تر گیاهچه (میلی گرم)	فعالیت ساکاروز سنتتاز (نانومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (میلی گرم جذب در دقیقه)	فعالیت آنزیم کاتالاز (نانومول H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه)	غلظت مالون دی آلدئید (نانومول بر گرم وزن تر)
شاهد	۶/۸۳ <sup>a</sup>	۴/۱۵ <sup>a</sup>	۱۴/۵ <sup>d</sup>	۲/۸۱ <sup>b</sup>	۰/۰۵۵ <sup>d</sup>
۵	۶/۷۵ <sup>a</sup>	۳/۸۸ <sup>b</sup>	۲۲/۱ <sup>a</sup>	۴/۹۳ <sup>a</sup>	۰/۱۹ <sup>c</sup>
۱۰	۵/۵۲ <sup>b</sup>	۲/۳۳ <sup>c</sup>	۲۴/۳ <sup>a</sup>	۵/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۸۱ <sup>b</sup>
۱۵	۴/۱۵ <sup>c</sup>	۱/۴۲ <sup>d</sup>	۲۱/۵ <sup>bc</sup>	۲/۳۳ <sup>c</sup>	۰/۷۹ <sup>b</sup>
۲۰	۴/۰۷ <sup>c</sup>	۱/۳۶ <sup>d</sup>	۱۹/۶ <sup>c</sup>	۱/۵۵ <sup>d</sup>	۰/۹۶ <sup>a</sup>

\*: در هر ستون میانگین هایی که دارای حرف مشترک هستند دارای تفاوت آماری در سطح پنج درصد نمی باشند.

**تأثیر محلول پاشی عصاره آبی آفتابگردان بر رشد گیاهچه یولاف وحشی:** نتایج جدول ۲ نشان داد محلول پاشی عصاره آفتابگردان سبب کاهش وزن تر گیاهچه یولاف وحشی شد و کمترین وزن گیاهچه یولاف وحشی در ۱۵ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان (۴/۱۵ میلی گرم) و ۲۰ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان (۴/۰۷ میلی گرم) دیده شد. محققین کاهش رشد گیاهچه سویا تحت تأثیر ترکیبات آللوپاتیک را ناشی از کاهش فتوسنتز، تخریب غشای کلروپلاست و سلول و کاهش تقسیم میتوز تحت تأثیر این ترکیبات سمی بیان نموده اند. کاهش رشد گیاه در حضور ترکیبات آللوپاتیک با توقف شدید میتوز در سلولهای مرستمی ریشه چه و ساقه چه همراه می شود و در نتیجه وزن ریشه و ساقه کاهش می یابد (Bohm et al., 2006).

فعالیت آنزیم ساکاروز سنتتاز تحت تأثیر محلول پاشی عصاره آفتابگردان کاهش یافت (جدول ۲). کمترین فعالیت آنزیم ساکاروز سنتتاز تحت تأثیر محلول پاشی عصاره های ۱۵ و ۲۰ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان به میزان ۱/۴۲ و ۱/۳۶ نانومول بر میلی گرم پروتئین در دقیقه مشاهده شد. کاهش فعالیت آنزیم های دخیل در سنتز ساکاروز در برگ برنج تحت تأثیر ترکیبات آللوپاتی آکاسیا عامل اصلی کاهش رشد گیاهچه برنج بیان شده است (Glenn, 2008). کاهش فتوسنتز، تخریب غشاهای سلولی، افزایش تنفس و کاهش فعالیت آنزیم های مهم مانند روبسکو و ساکاروز سنتتاز

از دلایل کاهش رشد گیاهان تحت تأثیر ترکیبات آللوپاتیک می باشد (زنگنه و فرهودی، ۱۳۹۰؛ Lorenzo et al., 2011). با توجه به کاهش فعالیت آنزیم ساکاروز سنتتاز و افزایش تخریب غشاهای سلولی برگ یولاف وحشی (جدول ۲) کاهش وزن گیاهچه یولاف منطقی است.

نتایج جدول ۲ بیانگر افزایش تخریب غشا سلولی در برگ های یولاف وحشی تحت تأثیر محلول پاشی عصاره آفتابگردان است. نتایج نشان داد عصاره ۱۰ و ۱۵ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان سبب افزایش غلظت مالون دی آلدئید بافت گیاهچه در مقایسه با شاهد و تیمار ۵ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان شد اما میان این دو سطح تفاوتی دیده نشد. بیشترین غلظت مالون دی آلدئید بافت گیاهچه تحت تأثیر تیمار ۲۰ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان به میزان ۰/۹۶ نانومول بر گرم وزن تر دیده شد. بررسی غلظت مالون دی آلدئید بافت گیاهچه می تواند بیانگر میزان تخریب غشا سلولی باشد زیرا این ترکیب تحت تأثیر تخریب و اکسید شدن غشا سلولی آزاد می شود. آفتابگردان یکی از گیاهان آللوپاتیک مهم است که توانایی محدود کردن رشد سایر گیاهان را دارد. افزایش غلظت عصاره آفتابگردان سبب تخریب غشاهای سلولی، افزایش غلظت مالون دی آلدئید و کاهش رشد گیاهچه خردل وحشی شد (Oracz et al., 2007).

محلول پاشی عصاره آفتابگردان در ابتدا سبب افزایش

محققین کاهش رشد، کاهش فتوستتزر و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گیاهیچه های خیار تحت تاثیر ترکیبات آللوپاتیک را مشاهده نموده‌اند (Yu et al., 2003). کاهش وزن گیاهیچه، تاخیر در زمان جوانه زنی، اختلال در عمل آنزیم‌های حیاتی مانند آلفا آمیلاز و ساکاروز سنتتاز و افزایش غلظت مالون دی آلدئید بافت گیاهیچه یولاف وحشی بیانگر آسیب پذیری گیاهیچه یولاف وحشی از ترکیبات آللوپاتیک آفتابگردان است. کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و تخریب غشاهای سلولی تحت تاثیر ترکیبات آللوپاتیک می‌تواند یکی از دلایل عمده کاهش رشد گیاهیچه یولاف وحشی تحت تاثیر حضور مواد آللوپاتیک عصاره آفتابگردان باشد. با توجه به نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌گردد تحقیقات بیشتری پیرامون شناسایی و چگونگی عمل ترکیبات آللوپاتیک گیاه آفتابگردان علیه رشد گیاهیچه یولاف وحشی انجام شود تا بتواند راه گشای استفاده از عصاره آفتابگردان به عنوان یک علف‌کش زیستی باشد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز شد اما افزایش غلظت عصاره آفتابگردان به ۱۵ و ۲۰ گرم بر لیتر عصاره آفتابگردان سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان مورد بررسی شد (جدول ۲). کم‌ترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (۱/۵۵) نانومول آب اکسیژنه میلی گرم پروتئین بر دقیقه) و پراکسیداز (۱۹/۶ میلی گرم جذب در دقیقه) گیاهیچه یولاف وحشی تحت تاثیر تیمار محلول پاشی عصاره ۲۰ گرم بر لیتر آفتابگردان مشاهده شد. با توجه به نتایج می‌توان گفت کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در برگ یولاف وحشی منجر به تشدید تخریب غشاهای سلولی و افزایش غلظت مالون دی آلدئید برگ یولاف وحشی شد. فرهودی (۱۳۸۹) مشاهده نموده است که کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تاثیر ترکیبات آللوپاتیک آفتابگردان سبب کاهش رشد گیاهیچه و افزایش تخریب غشاهای سلولی پنیرک و کلزا می‌شود. محلول پاشی عصاره آکاسیا سبب کاهش شدید رشد گیاهیچه و تخریب غشاهای سلولی گیاهیچه های چچم، خردل وحشی و کاهو وحشی می‌شود (Lorenzo et al., 2011).

#### منابع:

- فرهودی ر. و مکی زاده م. ۱۳۹۰. بررسی تاثیر دگرآسیبی عصاره آبی جو بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و جوانه زنی یولاف وحشی و چچم. دومین همایش ملی علوم و تکنولوژی بذر، مشهد، ایران.
- Agrawal, S., Sairam, R. K., Srivastavea, G. C. and Tyagi, A. 2005. Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedling. *Plant Science*, 169: 559-570.
- Bohm, P. A. F., Zanardo, F. M. L. and Ferrarese, O. 2006. Peroxidase activity and lignification in soybean root growth-inhibition by juglone. *Biologia Plantarum*, 50 (2): 315-317.
- Chance, B. and Maehly, A. C. 1955. Assay of catalase and peroxidases. *Methods of Enzymology*, 2: 764-775.
- Counce, P. A. and Gravois, K. A. 2006. Sucrose synthase activity as a potential indicator of high rice grain yield. *Crop Science*, 46: 1501-1508.
- Farhoudi, R. and Lee, D. 2012. Evaluation of safflower (*Carthamus tinctorius* L. cv. Koseh) extract on germination and induction of  $\alpha$ -

- زلفی س. فرهودی ر. و آریان نیان ن. ۱۳۹۰. بررسی تاثیر عصاره آللوپاتیک آفتابگردان بر جوانه زنی، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و آنتی اکسیدانت های گیاهیچه های ارزن و سورگوم. دومین همایش ملی علوم و تکنولوژی بذر، مشهد، ایران.
- زنگنه ح. و فرهودی ر. ۱۳۹۰. بررسی دگرآسیبی عصاره جو بر جوانه زنی، رشد گیاهیچه و فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز جو رقم کارون. دومین همایش ملی علوم و تکنولوژی بذر، مشهد، ایران.
- فرهودی ر. ۱۳۸۹. بررسی اثرات دگرآسیبی عصاره آبی آفتابگردان بر جوانه زنی و فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهیچه کلزا، پنیرک و خردل وحشی. مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۸۷: ۷۲-۶۶.

- Corbineau, D. and Bogatek, R. 2007. Induction of oxidative stress by sunflower phytotoxins in germinating mustard seeds. *Journal of Chemical Ecology*, 33: 251-264.
- Scott, S. J., Jones, R. A. and Williams, W. A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science*, 24: 1192-1199.
- Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L. and Gasparikova, O. 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relation in two maize cultivars. *Plant, Soil and Environment*, 52 (4):186-191.
- Wu, H., Pratley, J., Lemerle D. and Haig, T. 2000. Laboratory screening for allelopathic potential of wheat accessions against annual ryegrass (*Lolium rigidum*). *Australian Journal of Agricultural Research*, 51:259-266.
- Xiao, Z., Storms, R. and Tsang, A. 2006. A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. *Analytical Biochemistry*, 351: 146-148.
- Yu, J. Q., Ye, S.F., Zhang, M.F. and Hu, W.H. 2003. Effects of root exudates and aqueous root extract of cucumber and allelochemicals on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. *Biological Systems and Ecology*, 31: 129-139.
- amylase activity of wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) seeds. *Seed science and technology*, 40: 2-6.
- Farooq, M., Jabran, K., Rehman, H. and Hussain, M. 2008. Allelopathic effects of rice on seedling development in wheat, oat, barley and berseem. *Allelopathy Journal*, 22: 385-390.
- Glenn, A. 2008. Allelopathic interference of invasive *Acacia dealbata* on the rice seedling growth, 5th World Congress on Allelopathy, New York, USA.
- Kato-Noguchi, H. and Ino, T. 2001. Assessment of allelopathic potential of root exudates of rice seedling. *Biologia Plantarum*, 44 (4): 635-638.
- Kato-Noguchi, H. and Macias, F. A. 2008. Inhibition of germination and  $\alpha$ -amylase induction by 6-methoxy-2-benzoxazolinone in twelve plant species. *Biologia Plantarum*, 52 (2): 351-354
- Lorenzo, P., Palomera-Pérez, A., Reigosa, M. J. and González, L. 2011. Allelopathic interference of invasive *Acacia dealbata* Link on the physiological parameters of native understory species. *Plant Ecology*. 212: 403-412.
- Maffei, M., Berthele, C. M., Garneri, F. and Scanneri, S. 1999. Effect of benzoic acid hydroxy- and methoxy-ring substituents during cucumber (*Cucumis sativus* L.) germination. I. Isocitrate lyase and catalase activity. *Plant Science*, 141: 139-147.
- Oracz, K., Bailly, C., Gniazdowska, A., Côme, D.,