

## بررسی اثر دگرآسیبی عصاره آبی اکالیپتوس بر پاسخ‌های آنتی‌اکسیداتیو گیاه سویا و علف هرز گاوپنبه

مریم سیادت‌فر، مهرداد لاهوتی و منیره چنیانی\*

مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۵

### چکیده

برخی گیاهان به طور مفید یا مضر بر سایر گیاهان از طریق آلوکمیکیکال‌ها تأثیر می‌گذارند که ممکن است به طور مستقیم یا غیرمستقیم از بافت‌های زنده، مرده و یا میکروارگانیسم‌ها آزاد شوند. هدف از این آزمایش، بررسی اثر دگرآسیبی عصاره آبی برگ اکالیپتوس بر پروتئین کل و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی در گیاه سویا (*Glycine max L.*) و علف هرز گاوپنبه (*Abutilon theophrasti Medicus*) بود. بدین منظور اثر عصاره آبی برگ اکالیپتوس با پتانسیل دگرآسیبی بر گیاه سویا و گاوپنبه مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها شامل غلظت‌های ۰/۲۵٪، ۵۰٪، ۷۵٪، ۱۰۰٪ عصاره آبی برگ اکالیپتوس به همراه شاهد (آب مقطر) بود. نتایج حاصل از آزمایش‌های کشت گلدانی نشان داد که میزان پروتئین‌های هر دو گیاه تحت تأثیر عصاره آبی برگ اکالیپتوس کاهش یافت، در حالی که میزان پرولین، ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز برگ آنها افزایش یافت. با وجود این اثر دگرآسیبی عصاره آبی اکالیپتوس بر گیاه گاوپنبه بیشتر از گیاه سویا بود، به طوری که غلظت‌های ۷۵٪ و ۱۰۰٪ عصاره می‌تواند به‌عنوان کاندیدای علف‌کشی طبیعی مورد تحقیق و بررسی بیشتر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اثرات دگرآسیبی، آنتی‌اکسیدان، سویا، گاوپنبه.

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۱۳۸۸۰۵۵۲۲، پست الکترونیکی: Cheniany@um.ac.ir

### مقدمه

است. بسیاری از آلوکمیکیکال‌ها قادر به تغییر عملکرد آنزیم‌های ویژه ای می‌باشند. به عنوان مثال اسیدهای فنلی فعالیت آنزیم اکسین اکسیداز را تنظیم می‌کنند، مشتقات سینامیک اسید از فعالیت فنیل آلانین آمونیاپاز جلوگیری کرده و در متابولیسم فنیل پروپانوئیدها نقش تنظیمی دارند (۱۲،۶). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز تحت تأثیر مواد آلوکمیکیکال قرار می‌گیرد. در بین آنزیم‌های مطالعه شده در مواردی آلوکمیکیکال‌ها باعث کاهش و در مواردی باعث افزایش فعالیت آنزیم شده اند و تغییر در فعالیت پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، اکسین اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در حضور عصاره آبی گیاهان مختلف و ترکیبات آلوکمیکیکی مختلف مشاهده

دگرآسیبی به‌عنوان یکی از عوامل مهم در مدیریت علف‌های هرز و تناوب زراعی در نظر گرفته می‌شود (۱۳،۳). همچنین دگرآسیبی به معنای هر گونه اثر مستقیم یا غیر مستقیم، محرک یا بازدارنده توسط یک گیاه به گیاه دیگر است که از راه تولید مواد آلوکمیکیکال (Allelochemicals) و آزاد شدن آنها به درون محیط صورت می‌گیرد (۲۵). بیشتر این ترکیبات شیمیایی دگرآسیبی به عنوان متابولیت ثانویه طبقه بندی می‌شوند و نقش فیزیولوژیکی آنها در رشدونمو و نیز سیستم دفاعی گیاهان در مقابل گیاهخواران و پاتوژن‌های گیاهی به اثبات رسیده است (۳۰، ۲۶، ۱۸). عمل آلوکمیکیکال‌ها در سطوح مختلف مولکولی، ساختمانی و فعالیت آنزیمی شناخته شده

گیاه اصلی زراعی و گیاه گاوپنبه به عنوان یک علف هرز مورد توجه قرار گرفته است.

### مواد و روشها

**تهیه نمونه:** بذره‌های سویا (*Glycine max L.*) و گاوپنبه (*Abutilon theophrasti Medicus*) و برگ گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) از استان گلستان، شهرستان آزادشهر جمع‌آوری شد.

**تهیه عصاره آبی:** برای تهیه عصاره آبی ۵۰۰ گرم از برگ اکالیپتوس در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت و محلول صاف شده مورد استفاده قرار گرفت.

برای بررسی اثر دگرآسیبی تعداد ۲۰ عدد از بذره‌های سویا رقم ویلیامز و علف هرز گاوپنبه (پس از مرحله شکستن خواب بذر) در گلدان‌های ۲ کیلویی حاوی خاک زراعی کشت شد. سپس غلظت‌های مختلف (۰٪، ۲۵٪، ۵۰٪، ۷۵٪، ۱۰۰٪) عصاره اکالیپتوس به خاک گلدان‌ها اضافه شد. آزمایش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در شرایط کنترل شده (دما بین ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) انجام شد. گلدان‌ها به فواصل زمانی ۴۸ ساعت آبیاری شدند و پس از ۳ هفته برداشت نمونه انجام شد.

**استخراج پروتئین کل:** ۰/۵ گرم از نمونه‌های گیاهی پس از برداشت در دمای ۰-۴ درجه سانتی‌گراد با بافر فسفات پتاسیم (۰/۱M، pH=۷/۵) ساییده شد و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه با دستگاه سانتریفوژ Beckman مدل LE80K سانتریفوژ شد.

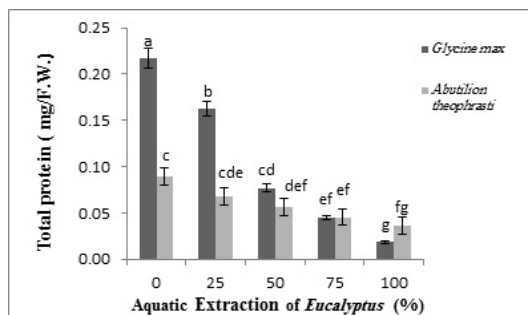
**سنجش پروتئین کل:** برای سنجش مقدار کمی پروتئین کل نمونه‌ها، از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد. سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV/vis78 Jasco در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و بر اساس

شده است (۱۵، ۱۸، ۱۹، ۲۴). آللوکمی‌کال‌ها بر سنتز پروتئین‌ها نیز اثر می‌گذارند و باعث افزایش یا کاهش میزان پروتئین می‌شوند (۲۰). با توجه به اینکه عصاره برگ گیاه اکالیپتوس دارای اثرات آفت‌کشی می‌باشد و از طرف دیگر استفاده از مواد شیمیایی آفت‌کش به صورت انواع حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌های شیمیایی و سنتزی که در حال حاضر در مزارع گیاهان زراعی به کار برده می‌شود دارای اثرات مضر و گاهی خطرناک برای سلامتی انسان‌ها می‌باشد و از طریق رژیم غذایی روزانه و مواد غذایی مختلف وارد زنجیره غذایی انسان می‌گردد و همگی آنها دارای اثرات مہلک و بیماری‌زا می‌باشند، استفاده از عصاره‌های طبیعی گیاهانی مانند اکالیپتوس برای مبارزه با حشرات و علف‌های هرز در مزارع گیاهان اقتصادی مانند سویا دارای ارزش و اهمیت بسیار زیادی می‌باشد. سویا در بین دانه‌های روغنی از نظر تأمین پروتئین و روغن نباتی مقام اول را در جهان دارا می‌باشد (۲۹). عامل مهم در افزایش ارزش غذایی این گیاه، ترکیب اسیدهای آمینه ضروری موجود در پروتئین آن به ویژه لیزین و متیونین می‌باشد (۳۴). تحقیقات انجام شده روی سویا بر کاهش عملکرد و تغییرات اجزای عملکرد ناشی از رقابت علف هرز متمرکز شده‌اند. با توجه به افزایش جمعیت و نیاز روز افزون کشور به انواع محصولات کشاورزی، از جمله دانه‌های روغنی برای استحصال روغن، افزایش عملکرد در واحد سطح زمین، عملی‌ترین و کم‌هزینه‌ترین راه افزایش تولید دانه‌های روغنی بخصوص سویا می‌باشد (۲۱، ۴۱). برای نیل به این هدف، یکی از اقداماتی که باید انجام شود کاهش تلفاتی است که به دلایل مختلف از جمله علف‌های هرز رخ می‌دهد. چندین علف هرز مهم سویا در خانواده پنیرک قرار دارد (۱۱، ۱۴). گاوپنبه یکی از اجزای این خانواده است که هر ساله خسارات قابل توجهی در مزارع سویا به بار می‌آورد (۲۴). در این تحقیق، مطالعه اثر عصاره آبی برگ گیاه اکالیپتوس بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه سویا به عنوان

تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح  $(p < 0.05)$  و ترسیم نمودارها با استفاده از نمودار Excel انجام شد.

### نتایج

**نتایج حاصل از بررسی اثر دگرآسیبی عصاره آبی برگ *E. globulus* بر محتوای پروتئین کل:** نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که گونه، عصاره آبی اکالیپتوس و برهم‌کنش گیاه با عصاره آبی اکالیپتوس اثر معنی‌داری بر مقدار پروتئین کل داشت (جدول ۱). گرچه در هر دو گونه سویا و گاوپنبه تحت تأثیر تیمار عصاره آبی اکالیپتوس، مقدار پروتئین کل بافت برگ کاهش یافت، اما مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین کل به گیاه سویای شاهد و کمترین مقدار آن به گیاه سویا در تیمار ۱۰٪ عصاره آبی اکالیپتوس تعلق داشت. با وجود این همواره سطح پروتئین کل بافت برگ گیاه گاوپنبه پایین‌تر از این محتوا در گیاه سویا بوده است (شکل ۱).



شکل ۱- نتایج مقایسه میانگین محتوای پروتئین کل در دو گیاه سویا و علف‌هرز گاوپنبه تحت تأثیر عصاره آبی برگ *E. globulus*

**نتایج حاصل از بررسی اثر دگرآسیبی عصاره آبی برگ *E. globulus* بر محتوای پروتئین:** نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که در تغییرات مربوط به محتوای پروتئین کل، گونه و عصاره آبی اکالیپتوس اثر معنی‌داری داشتند، اما برهم‌کنش گونه با عصاره آبی اکالیپتوس بر مقدار صفت اندازه‌گیری شده معنی‌دار نبود (جدول ۱).

منحنی استاندارد، غلظت پروتئین بر حسب میلی‌گرم پروتئین در گرم وزن تر نمونه محاسبه گردید (۹).

**سنجش پروتئین:** مقدار پروتئین براساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد (۷). در این روش از معرف نین هیدرین و اسید استیک گلاسیال برای اندازه‌گیری پروتئین استفاده شد و نتایج بر مبنای منحنی استاندارد و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر نمونه گزارش گردید.

**سنجش ترکیبات فنلی:** محتوای فنل کل با استفاده از معرف فولین به روش Rossi و Singleton (۱۹۶۵) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV/vis78 Jasco در طول موج ۷۶۵ nm اندازه‌گیری شد (۳۳). برای محاسبه غلظت فنل کل از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده گردید و نتایج بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر نمونه ارائه شد.

### بررسی فعالیت آنزیم‌ها

**الف- پلی‌فنل اکسیداز:** فعالیت آنزیمی نمونه بر مبنای روش Raymond و همکاران (۱۹۹۳) با حضور ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH=۶/۸)، ۰/۲ میلی‌لیتر پیروگالل بررسی و تغییرات جذب در طول موج ۴۳۰ نانومتر در فاصله زمانی ۴ دقیقه ثبت شد. میزان فعالیت آنزیم بر اساس تغییرات جذب در ۴۳۰ نانومتر در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین نمونه بیان گردید (۲۳).

**ب- گایاکول پراکسیداز:** فعالیت آنزیمی نمونه بر مبنای روش Plewa و همکاران (۱۹۹۱) با حضور مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷، پراکسید هیدروژن و گایاکول بررسی و تغییرات جذب در طی مدت ۳ دقیقه در ۴۷۰ نانومتر ارزیابی شد. فعالیت آنزیم بر حسب واحد فعالیت آنزیم بر مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) گزارش شد (۲۲).

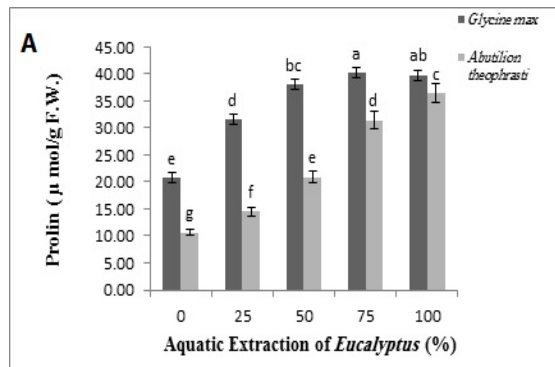
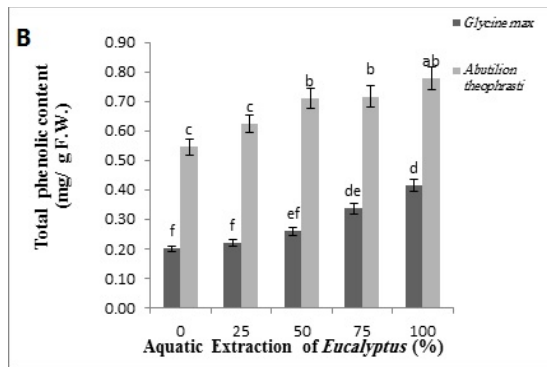
جدول ۱- میانگین مربعات منابع تغییر پروتئین و آنتی‌اکسیدانهای آنزیمی و غیر آنزیمی در گیاه سویا و علف هرز گاوپنبه

منابع تغییر	درجه آزادی	مقدار پروتئین (mg /g F.W.)	مقدار پرولین (μmol/g F.W.)	فنل کل (mg /g F.W.)	فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (Unit/ mg protein)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (Unit/ mg protein)
گونه	۱	۰/۰۱۵*	۷۵/۱۱۱*	۰/۰۵۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۶۴*	۰/۰۵۴ <sup>ns</sup>
عصاره	۴	۰/۰۱۶*	۵۴/۷۴۳*	۱/۴۹۱*	۰/۰۶۴*	۱/۴۹۱*
گونه × عصاره	۴	۰/۰۰۶*	۳۹/۱۲۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱*	۰/۰۱۰ <sup>ns</sup>
خطا	۲۰	۰/۰۰۰	۲۶/۸۴۵	۰/۰۴۰	۰/۰۰۲	۰/۰۴۰

ns و \* : به ترتیب بیانگر عدم معنی‌داری و معنی‌داری با استفاده از آزمون دانکن ( $P \leq 0.05$ ) است.

بیشترین مقدار آن به گونه سویا در تیمار ۱۰۰٪ عصاره آبی اکالیپتوس تعلق داشت (شکل ۲، A). نکته قابل توجه در مشاهدات، بالاتر بودن سطح پرولین در گیاه سویا نسبت به گیاه گاوپنبه در تمام تیمارها بود.

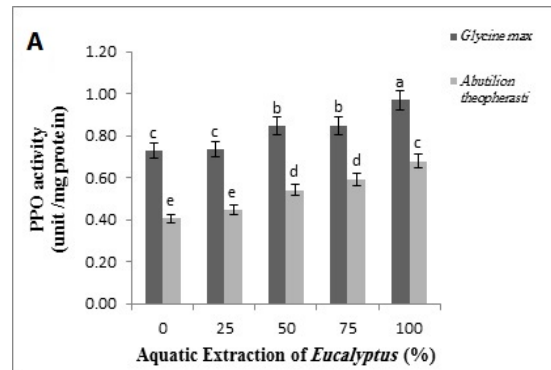
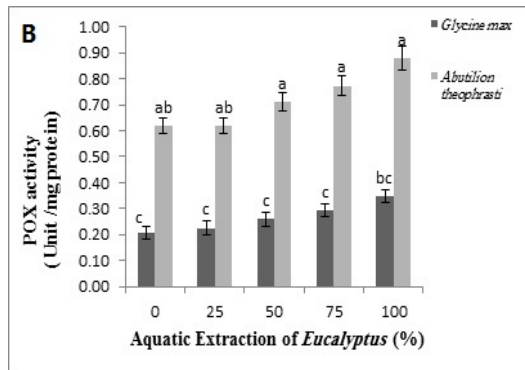
گرچه در هر دو گیاه سویا و گاوپنبه تحت تیمار با غلظت های افزایشی عصاره آبی اکالیپتوس، مقدار پرولین بافت برگ افزایش یافت ولی نتایج مقایسه میانگین مشاهدات نشان داد که کمترین مقدار پرولین به گونه گاوپنبه شاهد و



شکل ۲- نتایج مقایسه میانگین محتوای پرولین (A) و فنل کل (B) در دو گیاه سویا و علف هرز گاوپنبه تحت تأثیر عصاره آبی برگ *E. globulus*. نتایج حاصل از بررسی اثر دگرآسیبی عصاره آبی برگ *E. globulus* بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز: نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که در تغییرات مربوط به فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز، سه عامل گونه، عصاره آبی اکالیپتوس و برهم‌کنش گونه با عصاره آبی اکالیپتوس بر فعالیت پلی فنل اکسیداز، اثر معنی دار داشت (جدول ۱). در هر دو گونه سویا و گاوپنبه تحت تأثیر غلظت های مختلف عصاره آبی اکالیپتوس میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نمونه ها افزایش یافت، به طوری که کمترین فعالیت آنزیم به گونه گاوپنبه شاهد و بیشترین فعالیت آن به گونه گاوپنبه در تیمار ۱۰۰٪ عصاره آبی اکالیپتوس تعلق داشت (شکل ۳، A).

نتایج حاصل از بررسی اثر دگرآسیبی عصاره آبی برگ *E. globulus* بر محتوای فنل کل: نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که عصاره آبی اکالیپتوس اثر معنی داری بر محتوای ترکیبات فنلی کل نشان داد، درحالی که گونه و برهم‌کنش گونه با عصاره آبی اکالیپتوس فاقد اثر معنی دار بود (جدول ۱). گرچه در هر دو گونه سویا و گاوپنبه تحت تأثیر غلظت های مختلف عصاره آبی اکالیپتوس، مقدار ترکیبات فنلی کل روند افزایشی داشت، اما مقایسه میانگین ها نشان داد که سطح این ترکیبات در گیاه گاوپنبه همواره بالاتر از گیاه سویا بوده است. نتایج نشان داد که کمترین مقدار ترکیبات فنلی به گونه گاوپنبه شاهد و بیشترین مقدار آن به همین گونه در تیمار ۱۰۰٪ عصاره آبی اکالیپتوس تعلق داشت (شکل ۲، B).

(جدول ۱). تحت تأثیر تیمار غلظت‌های مختلف عصاره آبی اکالیپتوس، مقدار فعالیت پراکسیداز برگ هر دو گیاه افزایش یافت ولی مقایسه میانگین مشاهدات نشان داد که کمترین مقدار آن به گونه سویا شاهد و بیشترین مقدار آن به گونه گاوپنبه در تیمار ۱۰۰٪ عصاره آبی اکالیپتوس تعلق داشت (شکل ۳B).



شکل ۳- نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (A) و پراکسیداز (B) در گیاه سویا و علف هرز گاوپنبه تحت تأثیر عصاره آبی برگ

### *E. globulus*

*(sativa)* توانستند انتقال آمینواسید به داخل ساختارهای پروتئینی و در نتیجه سنتز پروتئین‌ها را مهار کنند و بدین ترتیب باعث کاهش رشد گیاهان تحت تیمار شوند (۳۷). گرچه کاهش محتوای پروتئین‌ها در غلظت‌های بالای آللوکمیkal‌ها حکایت از مهار فرایندهای سنتزی دارد، اما میزان حساسیت گیاهان نسبت به این غلظت‌ها متفاوت است (۱۸، ۳۶) که این مسئله در این پژوهش نیز تأیید شده است. کاهش بیشتر محتوای پروتئین در گیاه سویا را می‌توان به تلاش در جهت فعال‌سازی سایر مکانیسم‌های حفاظتی در برابر تنش ترکیبات آللوکمیkal نسبت داد. یکی از این مکانیسم‌های حفاظتی، افزایش محتوای پرولین است که می‌تواند ناشی از افزایش تجزیه پروتئین‌ها در جهت بالا بردن سطح گلوتامات برای آغاز مسیر سنتز پرولین و یا افزایش مستقیم محتوای پرولین باشد (۱۷).

نتایج حاصل از تأثیر عصاره آبی برگ گیاه اکالیپتوس بر میزان پرولین بخش هوایی گیاه سویا و علف هرز گاوپنبه نشان داد که محتوای پرولین در گیاهان تحت تیمار نسبت

نتایج حاصل از بررسی اثر دگرآسیبی عصاره آبی برگ *E. globulus* بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز: نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که گرچه عصاره آبی اکالیپتوس اثر معنی‌داری بر تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز داشت، اما برهم‌کنش گونه با عصاره آبی اکالیپتوس بر فعالیت این آنزیم، اثر معنی‌داری نشان نداد

### بحث

بر اساس نتایج به دست آمده از این پژوهش، عصاره آبی برگ گیاه اکالیپتوس موجب تغییر مقدار پروتئین‌های گیاه سویا و گاوپنبه شده و با افزایش غلظت عصاره، میزان پروتئین این دو گیاه کاهش بیشتری یافت. علت این کاهش می‌تواند ناشی از ترکیبات آللوکمیkal موجود در برگ گیاه اکالیپتوس از جمله ترکیبات فنلی باشد که می‌توانند سنتز پروتئین‌ها را مهار کنند. پیشنهاد شده است که برخی از ترکیبات فنلی می‌توانند ورود آمینواسیدها را به ساختار ماکرومولکول پروتئین کاهش داده، در نتیجه موجب کاهش سرعت سنتز این مولکول‌ها شوند (۸). مطابق این نتایج پژوهشگران دریافته‌اند که فرولیک اسید یکی از اجزای آللوکمیkal‌ها می‌باشد که سنتز پروتئین‌ها را مهار می‌کند، به طوری که ورود اسید آمینه لوسین نشان داد به داخل ساختار پروتئین، در گیاه تحت تیمار با فرولیک اسید کاهش پیدا کرد (۳۱، ۸). در پژوهش دیگر ثابت شد که آللوکمیkal‌های فنلی به دست آمده از گیاه برنج (*Oryza*

گیاه مورد تیمار شد، اما سطح این ترکیبات در گیاه گاوپنبه بالاتر از سویا بود. از یکسو مشخص شده است که ترکیبات فنلی در گیاهان بخشی از دفاع شیمیایی گیاه است که خود تحت کنترل عوامل محیطی و ژنتیکی قرار دارد (۲). از سوی دیگر ترکیبات فنلی می‌توانند ضمن اثر بر فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، رشدونمو گیاهان را تحت تأثیر قرار دهند (۱۶) اما افزایش بیش از اندازه آنها باعث تنش اکسیداتیو و بالارفتن سطح ROSها می‌گردد که پیامد آن، تخریب ماکرومولکول‌ها و صدمه دیدن سیستم‌های غشایی و اثر منفی بر رشد است (۱۶، ۲۴). البته بالا بودن قابل توجه میزان داخلی ترکیبات فنلی علف هرز گاوپنبه در برابر گیاه سویا در همه غلظت‌های تیماری می‌تواند احتمالی بر وجود اثرات نامناسب حاصل از این ترکیبات در نتیجه اعمال تنش دگرآسیبی عصاره اکالیپتوس در علف هرز مذکور باشد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز گیاهان سویا و گاوپنبه تحت اثر عصاره اکالیپتوس نشان داد که فعالیت آنزیم‌های مذکور با افزایش عصاره اکالیپتوس افزایش یافت. پراکسیداز جزء آنزیم‌های اکسیدوردوکتاز محسوب می‌شود که یکی از وظایف اصلی آن مربوط به دفاع گیاه در برابر عوامل و تنش‌های خارجی و سم‌زدایی شکل‌های مختلف اکسیژن فعال در سلول است. از وظایف مهم دیگر آن انعکاس پاسخ متابولیک گیاه به اغلب عوامل تنش‌زا است (۲۷، ۹). در بررسی اثرات دگرآسیبی مشخص شده است که یک مکانیسم مقاومتی گیاه در برابر تنش افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز است (۳۲، ۱۱). در پژوهشی مشخص شد در برگ‌های اکالیپتوس یک ترکیب مونوترپنی به نام آلفا پینن ( $\alpha$ -pinene) وجود دارد که باعث کاهش رشد و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بیشتر گونه‌ها از جمله گندم می‌شود (۳۵). یکی دیگر از آنزیم‌های اکسیدوردوکتاز، پلی‌فنل اکسیداز است که نقش آن در رشدونمو، تنظیم ساخت ترکیبات فنلی و پیام‌های

به شاهد افزایش قابل توجهی داشت. مطابق این نتایج، در پژوهشی دیگر عصاره چند گونه درختی با نام‌های افاقیا (*Anacardium*)، بادام هندی (*Acacia auriculiformis*) و گل‌ابریشم (*Albizia lebbek*) بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در گیاه تحت تیمار، میزان اسید آمینه پرولین همراه با افزایش غلظت عصاره‌ها افزایش یافت (۱۰). چنین گزارش‌هایی مبتنی بر افزایش محتوای پرولین در نتیجه کنش با مواد آلوکمیkal بسیار زیاد است (۱۵، ۱۹، ۲۰).

یکی از علل افزایش اسید آمینه پرولین این است که تحت شرایط تنشی مانند تنش ترکیبات آلوکمیkal ناشی از برگ گیاه اکالیپتوس، پرولین در سلول‌های گیاهی تجمع می‌یابد و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی عمل کرده و پاکسازی رادیکال‌های آزاد را انجام می‌دهد. در حقیقت پرولین به عنوان یک اسمولیت سازگار به دلیل نقش‌های حفاظتی که در سلول ایفا می‌کند، در شرایط تنش‌های محیطی می‌تواند گیاه را از آسیب‌های احتمالی حفظ کند (۵، ۳۵). ثابت شده است که پرولین در ثبات پروتئین‌ها نیز نقش دارد. در حقیقت پرولین با حفظ سطح هیدراتاسیون، پروتئین‌ها را از خطر واسرشت شدن محافظت کرده و به عنوان حامی آنزیم‌های متابولیسمی گیاه ایفای نقش می‌کند (۳۵). پرولین همچنین می‌تواند به عنوان مخزن انرژی برای تنظیم پتانسیل احیای سلول، تنظیم و توازن  $NADH/NAD^+$ ، تنظیم اسیدیته سیتوپلاسمی، تثبیت فسفولیپیدهای غشاء، ذخیره مواد کربنی و ازت دار برای دوره رفع تنش ایفای نقش کند (۳۵). چنین تأثیرات مثبت پرولین در شرایط تنش می‌تواند بر عملکرد بهتر گیاه سویا با سطح پرولین بالاتر نسبت به علف هرز گاوپنبه مؤثر باشد.

در ادامه نتایج این پژوهش مشخص شد که عصاره آبی اکالیپتوس موجب افزایش محتوای ترکیبات فنلی در هر دو

### جمع‌بندی

در این پژوهش اثر دگرآسیبی عصاره آبی برگ *globulus E.* بر صفات بیوشیمیایی سویا و علف هرز گاوپنبه بررسی شد و مشخص گردید که شاخص‌های اندازه‌گیری شده در این دو گیاه به شکل یکسان تحت تأثیر قرار نگرفت. با بررسی روند تغییرات انجام شده در هر دو گیاه و میزان حساسیت آنها به عصاره اکالیپتوس، عصاره آبی با غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ درصد به عنوان غلظت‌های قابل توصیه در جهت کنترل علف هرز گاوپنبه به منظور بررسی بیشتر به عنوان یک علف کش طبیعی معرفی می‌گردد.

ناشی از ایجاد زخم و شرایط تنش‌ی اثبات شده است (۲۸). برخی گزارش‌ها به عملکرد معکوس دو آنزیم پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز اشاره دارد، به این نحو که با فعالیت پلی فنل اکسیداز از سطح مونوفنل‌ها به عنوان پیش‌برندگان پراکسیداز کاسته شده و سطح فعالیت آنزیم دوم افزایش می‌یابد (۲۸). این یافته پژوهشی می‌تواند دلیل احتمالی بر معکوس بودن میزان بیشینه فعالیت این دو آنزیم در گیاهان این پژوهش باشد. بنابراین با توجه به عملکرد رویشی بهتر گیاه سویا و نوع تغییرات در فعالیت آنزیم‌های مذکور، احتمال مهمتر بودن فعالیت پلی فنل اکسیداز نسبت به فعالیت پراکسیداز در شرایط تنش دگرآسیبی مطرح می‌گردد.

### منابع

- ۱- انوشیروانی، ا. ۱۳۷۷. طبقه بندی ژنوتیپ‌های ملج در رویشگاه‌های شمال کشور، پایان‌نامه کارشناسی ارشد جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، صفحه ۱۴۰.
- ۲- بهداد، آ، ابریشم چی، پ.، جنگجو، م. ۱۳۹۴. ارتباط فنولوژی، محتوای ترکیبات فنلی و خاصیت آلوپاتی در گیاه درمنه خراسانی (*Krasch khorassanica Artemisia*) و تاثیر آن بر رشد و فیزیولوژی گیاهچه بروموس کپه داغی (*Drobov Bromus kopetdaghensis*) (زیست‌شناسی ایران)، جلد ۳، شماره ۲، ۲۴۳-۲۵۶.
- ۳- شیرخانی، ع.، زاجی، ب.، کهرباییان، ب. ۱۳۸۵. بررسی اثرات دگرآسیبی عصاره آبی بقایای آفتابگردان بر جوانه زنی و رشد
- 6- Arrigoni, O., Gara, L., Tommasi, F., and Liso, R. 1992. Changes in Ascorbate system during seed development of *Vicia faba*. *Plant Physiology*. 99: 235.
- 7- Bates, L., Waldren, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39-250.
- 8- Baziramakenga, R., and Ierox, G.D. 1997. Allelopathic effects of phenolic acids on nucleic acids and proteins levels in soybean seedling. *Journal of Botany*. 75: 445.
- 9- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram
- quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Review Biochemistry*. 72: 254.
- 10- Das, C.R., Mondal N.K., Aditya, P., Datta, J.K., Banerjee, A., and Das, K. 2012. Allelopathic potentialities of leachates of leaf litter of some selected tree species on gram seeds under laboratory conditions. *Journal of Botany*. 3: 59.
- 11- Dzyubenko, N.N., and Petrenko, N.I. 1971. On biochemical interaction of cultivated plants and weeds. *Physiological-Biochemical Basis of plant Interaction in Phytocenoses*. 2: 60.
- ۴- وطن پور، ع. ۱۳۷۲. بررسی اثر کشت مخلوط ذرت دانه ای و لوییا در تراکم‌های مختلف بر عملکرد و اجزای عملکرد. پایان‌نامه کارشناسی ارشد زراعت. دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۵- وفایی، م.، سیدنژاد، س. م.، گیلانی، ع.، صبورا، ع. ۱۳۹۴. بررسی اثر آلوپاتی تفاله حاصل از روغن کشتی زیتون (*Olea europaea L.*) بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه سه رقم گندم (*Triticum aestivum L.*)، مجله پژوهش‌های گیاهی (زیست‌شناسی ایران)، جلد ۲۸، شماره ۲، ۴۴۵-۴۵۸.

- 25- RenSen, Z., LuoMing, S., Yuehong, Sh., MuBiao, Sh., and CongYong, T. 2001. Physiological and biochemical mechanism of allelopathy of secalonic acid on higher plants. *Agronomy Journal*. 93(1): 72.
- 26- Rice, E.L. 1984. Academic Press, Orland. pp: 226-291.
- 27- Rizivi, S.J.H., and Rizivi, V. 1992. Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity Chapman and Hall, London. 443-473.
- 28- Sanchez, M., Revilla, G., and Zarra, I. 1995. Changes in peroxidase activity associated with cell wall during pine hypocotyls growth. *Annals of Botany*. 75: 415-419.
- 29- Sasikumar, K., Vijayalashmi, C., and Parthiban, K.T. 2002. Allelopathic effect of *Eucalyptus* on *Phaseolus mungo*. *Allelopathy Journal*. 9(2): 205.
- 30- Seigler, D.S. 1996. Chemistry and mechanisms of allelopathic interaction. *Agron Journal*. 88: 867.
- 31- Singer, S.R., and Daniel C.N. 1985. Selection of glyphosate-tolerant calli and expression of this tolerance in regenerated plants. *Plant Physiology*. pp: 169.
- 32- Singh, N. B., Singh, D., and Singh, A. 2009. Allelochemical stressed produced by aqueous leachate of *Nicotiana plumbaginifolia*. *General and Applied Plant Physiology*. 58: 163-171.
- 33- Singleton, V.L., and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology Viticul*. 16: 144.
- 34- Tao, X., Chuihua, K., and Fei, H. 1999. Allelopathic of *Ageratum conyzoides*. Allelopathic effect of volatile oil from *Agerum* plants under different nutrient levels. *Chinese Journal of Applied Ecology*. 10(6): 748.
- 35- Williams, D., and Hogland, R.E. 2003. Chemistry and mode of action of allelochemicals. CRC Press.
- 36- Wolf, W.J. 1971. Soybean as a Feed Source. *Chemistry Rubber*. Cleveland, Ohio, USA.
- 37- Zhao- Hui, L., Qiang, W., Xiao, R., and Cun, De, P. and De-An, J. 2010. Phenolics and Plant Allelopathy *Molecules*. 15: 8933-8952.
- 12- Einhellig, F. 1994. Mechanism of action of allelochemicals in allelopathy. ASC publications. Chapter. 7. pp: 96-116.
- 13- Einhellig, F.A., and Leather, G.R. 1988. Potentials for exploiting. Allelopathy to enhance crop production. *Journal of Chemical Ecology*. 14: 10.
- 14- Fernald, M.L. 1970. *Grays Manual of Botany*. Van Nostrand Reinhold Co, New York. pp: 1000.
- 15- Hu, Q.H. 1985. Effect of coumarin on some physiological processes in boron deficient plants. *Plant Physiology Communication*. 6: 25.
- 16- Inderjit, K. 1996. Plant phenolics in allelopathy. *Botanical Journal*. 62: 168.
- 17- Knox, J., Jaggi, D., and Paul, M. 2010. Evaluation of allelopathic potential of selected plant species on *Parrhenium hysterophorus*. *Ecosystem Journal*. 12: 57-62.
- 18- Lovett, J.V., Levitt, J., Duffield, A.M., and Smith, N.G. 1990. Allelopathic potential of *Datura stramonium* (thornapples). *Weed Research*. 21: 165.
- 19- Maffei, M., Berteà, C.M., Garneri, F., and Scannerrini, S. 1999. Effect of Benzoic acid hydroxy and methoxy-ring substituents during *Cucumis sativus* germination. *Plant Science*. 141(2): 139.
- 20- Naumov, G.F. 1989. Biochemical characteristics of allelopathic activity of germination seeds. *Biologia Plantarum*. 31(6): 496.
- 21- Peng, S.L., Wen, J. 2004. Mechanism and active variety of allelochemical. *Acta Botanica Sinica*. 46(7): 757.
- 22- Plewa, M.J, Smith S.R., and Wanger E.D. 1991. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research /Fundamental and Mechanisms of Mutagenesis*. 247: 57.
- 23- Raymond, J., Rakariyatham, J.L., and Azanza, N. 1993. Purification and some properties of poly phenoloxidase from sunflower seeds. *Phytochemistry Journal*. 34: 927.
- 24- Regnier, E.E., Salvucci, M.E., and Stoller E.W. 1988. Photosynthesis and growth responses to irradiance in soybean and three broadleaf weeds. *Weed Science*. 36-487.



## Allelopathic Effect of *Eucalyptus* Extract on Antioxidative Responses of Soybean and Velvetleaf

Siadati far M., Lahouti M. and Cheniany M.<sup>1</sup>

Biology Dept., Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R.of Iran

### Abstract

Plants are beneficial or harmful on other plants through allelochemicals which may be directly or indirectly released from alive, dead plants and or microorganisms. The aim of this study was to investigate the allelopathic effect of leaf extract from *Eucalyptus* on total protein content, enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities of soybean (*Glycine max* L.) and velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medicus). Treatments were leaf extracts of *Eucalyptus* (25%, 50%, 75%, 100% w/v) and distilled water as a control. The results of pot culture experiments showed that the extracts decreased total protein content of both plants. In spite it was increased the proline content, phenolic compounds and activities of polyphenol oxidase and peroxidase of leaves. However the level of changes was different for examined plants. Sum of data showed that the allelopathic effect of *Eucalyptus* extract on velvetleaf was more than soybean and the concentration 75% and 100% of extract could be more analyzed as natural herbicide.

**Key words:** Allelopathic effects, Antioxidants, Soybean, Velvetleaf.