بررسی اثر دگرآسیبی عصاره آبی اکالیپتوس بر پاسخ‌های آنتی اکسیداتیو گیاه سویا و علف هرز گاوپنبه

مریم سیادتی فر، 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 آللوکمیکال‌ها 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 (*Abutilion theophrasti* Medicus) بود. بدین‌منظور اثر عصاره آبی برگ اکالیپتوس با پتانسیل دگرآسیبی بر گیاه سویا و گاوپنبه مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها شامل غلظت‌های 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، به‌طوری که غلظت‌های ۷۵٪ و ۱۰۰٪ عصاره می‌تواند به‌عنوان کاندیدای علف‌کشی طبیعی مورد تحقیق و بررسی بیشتر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اثرات دگرآسیبی، آنتی اکسیدان، سویا، گاوپنبه.

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

مقدمه

دگرآسیبی به‌عنوان یکی از عوامل مهم در مدیریت علف‌های هرز و تناوب زراعی در نظر گرفته می شود(۱۳،۳). هچنین 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 آللوکمیکال (Allelochemicals) و آزاد شدن آنها به درون محیط صورت می گیرد(۲۵). بیشتر این ترکیبات شیمیایی دگرآسیبی به عنوان متابولیت ثانویه طبقه بندی می شوند و نقش فیزیولوژیکی آنها در رشدونمو و نیز سیستم دفاعی گیاهان در مقابل گیاهخواران و پاتوژن های گیاهی به اثبات رسیده است (۳۰،۲۶،۱۸). عمل آللوکمیکال ها در سطوح مختلف مولکولی، ساختمانی و فعالیت آنزیمی شناخته شده است. بسیاری از آللوکمیکال ها قادر به تغییر عملکرد آنزیم های ویژه ای می باشند. به عنوان مثال اسیدهای فنلی فعالیت آنزیم اکسین اکسیداز را تنظیم می کنند، مشتقات سینامیک اسید از فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز جلوگیری کرده و در متابولیسم فنیل پروپانوئیدها نقش تنظیمی دارند (۱۲،۶). فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نیز تحت تأثیر مواد آللوکمیکال قرار می گیرد. در بین آنزیم های مطالعه شده در مواردی آللوکمیکال ها 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 آللوشیمی مختلف مشاهده

شده است (۱۵ ،۱۸ ،۱۹، ۲۴). آللوکمیکال ها بر سنتز پروتئین ها نیز اثر می گذارند و باعث افزایش یا کاهش میزان پروتئین می شوند(۲۰). با توجه به اینکه عصاره برگی گیاه اکالیپتوس دارای اثرات آفت کشی می باشد و از طرف دیگر استفاده از مواد شیمیایی آفت کش به صورت انواع حشره کش ها و علف کش های شیمیایی و سنتزی که در حال حاضر در مزارع گیاهان زراعی به کار برده می شود دارای اثرات مضر و گاهی خطرناک برای سلامتی انسان ها می باشد و از طریق رژیم غذایی روزانه و مواد غذایی مختلف وارد زنجیره غذایی انسان می گردد و همگی آنها دارای اثرات مهلک و بیماری زا می باشند، استفاده از عصاره های طبیعی گیاهانی مانند اکالیپتوس برای مبارزه با حشرات و علف های هرز در مزارع گیاهان اقتصادی مانند سویا دارای ارزش و اهمیت بسیار زیادی می باشد. سویا در بین دانه های روغنی از نظر تأمین پروتئین وروغن نباتی مقام اول را در جهان دارا می باشد(۲۹). عامل مهم در افزایش ارزش غذایی این گیاه ، ترکیب اسیدهای آمینه ضروری موجود درپروتئین آن به ویژه لیزین و متیونین می باشد(۳۴). تحقیقات انجام شده روی سویا بر کاهش عملکرد و تغییرات اجزای عملکرد ناشی از رقابت علف هرز متمرکز شده اند. با توجه به افزایش جمعیت و نیاز روز افزون کشور به انواع محصولات کشاورزی، از جمله دانه های روغنی برای استحصال روغن ، افزایش عملکرد در واحد سطح زمین، عملی ترین و کم هزینه ترین راه افزایش تولید دانه های روغنی بخصوص سویا می باشد (۲۱،۴،۱). برای نیل به این هدف، یکی از اقداماتی که باید انجام شود کاهش تلفاتی است که به دلایل مختلف از جمله علف های هرز رخ می دهد. چندین علف هرز مهم سویا در خانواده پنیرک قرار دارد(۱۴،۱۱). گاوپنبه یکی از اجزای این خانواده است که هر ساله خسارات قابل توجهی در مزارع سویا به بار می آورد(۲۴). در این تحقیق، مطالعه اثر عصاره آبی برگ گیاه اکالیپتوس بر ویژگی های بیوشیمیایی گیاه سویا به عنوان گیاه اصلی زراعی و گیاه گاوپنبه به عنوان یک علف هرز مورد توجه قرار گرفته است.

مواد و روشها

تهیه نمونه: بذرهای سویا (*Glycine max* L.) و گاوپنبه (*Abutilion theophrasti* Medicus) و برگ گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) از استان گلستان، شهرستان آزادشهر جمع آوری 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 بذرهای سویا رقم ویلیامز و علف هرز گاوپنبه (پس از مرحله شکستن خواب بذر) در گلدان های ۲ کیلویی حاوی خاک زراعی کشت شد. سپس غلظت های مختلف (۰٪ ۲۵٪، ۵۰٪، ۷۵٪، ۱۰۰٪) عصاره اکالیپتوس به خاک گلدان ها اضافه شد. آزمایش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در شرایط کنترل شده (دما بین ۳۰-۲۵ درجه سانتی گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) انجام شد. گلدان ها به فواصل زمانی ۴۸ ساعت آبیاری شدند و پس از ۳ هفته برداشت نمونه انجام شد.

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

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

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

سنجش پرولین: مقدار پرولین براساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه گیری شد(۷). در این روش از معرف نین هیدرین و اسید استیک گلاسیال برای اندازه گیری پرولین 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 Singleton و Rossi (۱۹۶۵) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل UV/vis78 Jasco در طول موج ۷۶۵ nm اندازه گیری شد (۳۳). برای محاسبه غلظت فنل کل از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده گردید و نتایج بر حسب میلی گرم در گرم وزن تر نمونه ارائه شد.

بررسی فعالیت آنزیم‌ها

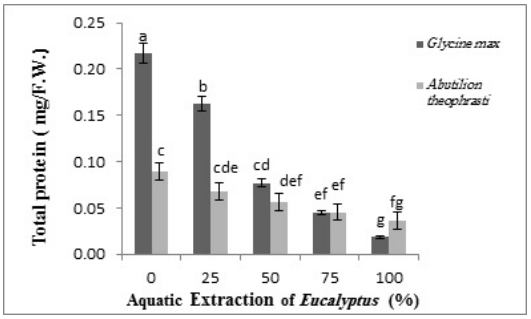
الف- پلی فنل اکسیداز: فعالیت آنزیمی نمونه بر مبنای روش Raymond و همکاران (۱۹۹۳) با حضور ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات (pH= ۶/۸)، ۰/۲ میلی لیتر پیروگالل بررسی و تغییرات جذب در طول موج ۴۳۰ نانومتر در فاصله زمانی ۴ دقیقه ثبت شد. میزان فعالیت آنزیم بر اساس تغییرات جذب در ۴۳۰ نانومتر در دقیقه در میلی گرم پروتئین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

ب – گایاکول پراکسیداز: فعالیت آنزیمی نمونه بر مبنای روش Plewa و همکاران(۱۹۹۱) با حضور مخلوط واکنش شامل بافرفسفات ۵۰ میلی مولار با pH=۷، پراکسیدهیدروژن و گایاکول بررسی و تغییرات جذب در طی مدت ۳ دقیقه در ۴۷۰ نانومتر ارزیابی شد. فعالیت آنزیم برحسب واحد فعالیت آنزیم بر مقدار پروتئین کل (میلی گرم) گزارش شد(۲۲).

تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین ها بر اساس آزمون دانکن در سطح (p<۰/۰۵) 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 معنی داری بر مقدار پروتئین کل داشت (جدول۱). گرچه در هر دو گونه سویا و گاوپنبه تحت تأثیر تیمار عصاره آبی اکالیپتوس، مقدار پروتئین کل بافت برگ کاهش یافت، اما مقایسه میانگین داده ها نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین کل به گیاه سویای شاهد و کمترین مقدار آن به گیاه سویا در تیمار ۱۰۰٪ عصاره آبی اکالیپتوس تعلق داشت. با وجود این همواره سطح پروتئین کل بافت برگ گیاه گاوپنبه پایین تر از این محتوا در گیاه سویا بوده است (شکل۱).



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

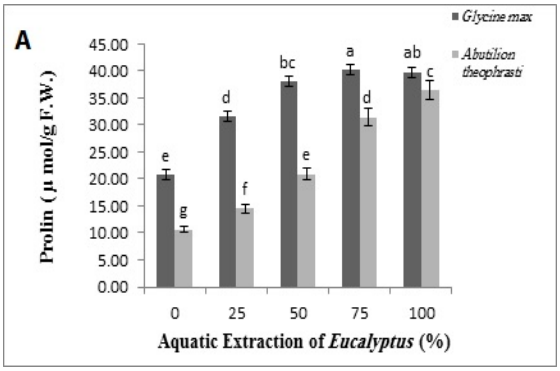
نتایج حاصل از بررسی اثر دگرآسیبی عصاره آبی برگ *E. globulus* بر محتوای پرولین: نتایج تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که در تغییرات مربوط به محتوای پرولین کل، گونه و عصاره آبی اکالیپتوس اثر معنی داری داشتند، اما برهم‌کنش گونه با عصاره آبی اکالیپتوس بر مقدار صفت اندازه گیری شده معنی‌دار نبود (جدول۱).

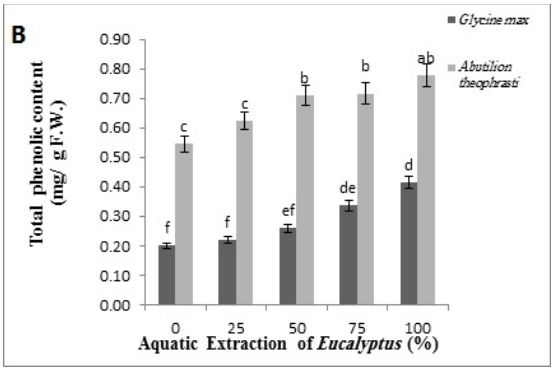
جدول ۱- میانگین مربعات منابع تغییر پروتئین و آنتی‌اکسیدانهای آنزیمی و غیر آنزیمی در گیاه سویا و علف هرز گاوپنبه

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^{ns}	۰/۰۶۴*	۰/ ۵۴^{ns}
عصاره	۴	۰/۰۱۶*	۵۴/۷۴۳*	۱/۴۹۱*	۰/۶۴۶*	۱/۴۹۱*
گونه × عصاره	۴	۰/۰۰۶*	۳۹/۱۲۱^{ns}	۰/۰۱۰^{ns}	۰/۰۰۱ *	۰/۰۱۰^{ns}
خطا	۲۰	۰/۰۰۰	۲۶/۸۴۵	۰/۰۴۰	۰/۰۰۲	۰/۰۴۰

ns و *: به‌ترتیب بیانگر عدم معنی‌داری و معنی‌داری با استفاده از آزمون دانکن ($P \leq ۰/۰۵$) است.

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 بیشترین مقدار آن به گونه سویا در تیمار ۱۰۰٪ عصاره آبی اکالیپتوس تعلق داشت (شکل۲،A). نکته قابل توجه در مشاهدات، بالاتر بودن سطح پرولین در گیاه سویا نسبت به گیاه گاوپنبه در تمام تیمارها بود.



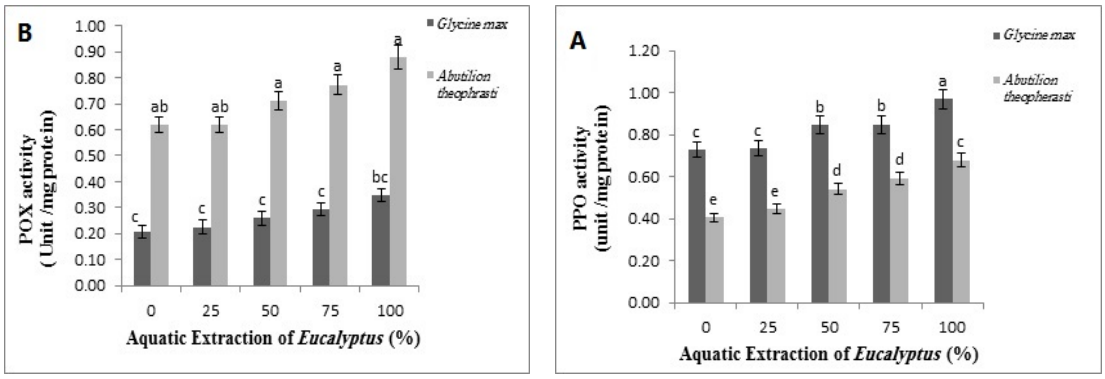


شکل ۲- نتایج مقایسه میانگین محتوای پرولین (A) و فنل کل (B) در دو گیاه سویا و علف هرز گاوپنبه تحت تأثیر عصاره آبی برگ *E . globulus*

نتایج حاصل از بررسی اثر دگرآسیبی عصاره آبی برگ *E. globulus* بر 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 (شکل۲،B).

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 (جدول۱). 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 (شکل۳،A).

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 معنی داری بر تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز داشت، اما برهم‌کنش گونه با عصاره آبی اکالیپتوس بر فعالیت این آنزیم، اثر معنی داری نشان نداد (جدول۱). تحت تأثیر تیمار غلظت های مختلف عصاره آبی اکالیپتوس، مقدار فعالیت پراکسیداز برگ هر دو گیاه افزایش یافت ولی مقایسه میانگین مشاهدات نشان داد که کمترین مقدارآن به گونه سویا شاهد و بیشترین مقدار آن به گونه گاوپنبه در تیمار ۱۰۰٪ عصاره آبی اکالیپتوس تعلق داشت (شکل۳،B).



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*

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده از این پژوهش، عصاره آبی برگ گیاه اکالیپتوس موجب تغییر مقدار پروتئین های 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 آللوکمیکال موجود در برگ گیاه اکالیپتوس از جمله ترکیبات فنلی باشد که می توانند سنتز پروتئین‌ها را مهار کنند. پیشنهاد شده است که برخی از ترکیبات فنلی می توانند ورود آمینواسیدها را به ساختار ماکرومولکول پروتئین کاهش داده، در نتیجه موجب کاهش سرعت سنتز این مولکول ها شوند(۸). مطابق این نتایج پژوهشگران دریافتند که فرولیک اسید یکی از اجزای آللوکمیکال ها می باشد که سنتز پروتئین ها را مهار می کند، به طوری که ورود اسید آمینه لوسین نشان دار به داخل ساختار پروتئین، در گیاه تحت تیمار با فرولیک اسید کاهش پیدا کرد (۳۱،۸). در پژوهش دیگر ثابت شد که آللوکمیکال های فنلی به دست آمده از گیاه برنج(*Oryza sativa*) توانستند انتقال آمینواسید به داخل ساختارهای پروتئینی و در نتیجه سنتز پروتئین ها را مهار کنند و بدین ترتیب باعث کاهش رشد گیاهان تحت تیمار شوند(۳۷). گرچه کاهش محتوای پروتئین ها در غلظت های بالای آللوکمیکال ها حکایت از مهار فرایندهای سنتزی دارد، اما میزان حساسیت گیاهان نسبت به این غلظت ها متفاوت است (۱۸، ۳۶) که این مسئله در این پژوهش نیز تأیید شده است. کاهش بیشتر محتوای پروتئین در گیاه سویا را می توان به تلاش در جهت فعال‌سازی سایر مکانیسم های حفاظتی در برابر تنش ترکیبات آللوکمیکال نسبت داد. یکی از این مکانیسم های حفاظتی، افزایش محتوای پرولین است که می تواند ناشی از افزایش تجزیه پروتئین ها 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

به شاهد افزایش قابل توجهی داشت. مطابق این نتایج، در پژوهشی دیگر عصاره چند گونه درختی با نام های اقاقیا (*Acacia auriculiformis*)، بادام هندی (*Anacardium occidentale*) و گل ابریشم (*Albizia lebbeck*) 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 عصاره ها افزایش یافت (۱۰). چنین گزارشهایی مبتنی بر افزایش محتوای پرولین در نتیجه کنش با مواد آللوکمیکال بسیار زیاد است (۲۰،۱۹،۱۵).

یکی از علل افزایش اسید آمینه پرولین این است که تحت شرایط تنشی مانند تنش ترکیبات آللوکمیکال ناشی از برگ گیاه اکالیپتوس، پرولین در سلول های گیاهی تجمع می یابد و به عنوان یک آنتی اکسیدان غیرآنزیمی عمل کرده و پاکسازی رادیکال های آزاد را انجام می دهد. در حقیقت پرولین به عنوان یک اسمولیت سازگار به دلیل نقش های حفاظتی که در سلول ایفا می کند، در شرایط تنش های محیطی می تواند گیاه را از آسیب های احتمالی حفظ کند (۵، ۳۵). ثابت شده است که پرولین در ثبات پروتئین ها نیز نقش دارد. در حقیقت پرولین با حفظ سطح هیدراتاسیون، پروتئین ها ضروری را از خطر واسرشت شدن محافظت کرده و به عنوان حامی آنزیم های متابولیسمی گیاه ایفای نقش می کند (۳۵). پرولین همچنین می تواند 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 می تواند 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 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 می گردد که پیامد آن، تخریب ماکرومولکول ها و صدمه دیدن سیستم های 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 غلظت های تیماری می تواند احتمالی بر وجود اثرات نامناسب حاصل از این ترکیبات در نتیجه اعمال تنش دگرآسیبی عصاره اکالیپتوس در علف هرز مذکور باشد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز گیاهان سویا و گاوپنبه تحت اثر عصاره اکالیپتوس نشان داد که فعالیت آنزیم های مذکور با افزایش عصاره اکالیپتوس افزایش یافت. پراکسیداز جزء آنزیم های اکسیدوردوکتاز محسوب می شود که یکی از وظایف اصلی آن مربوط به دفاع گیاه در برابر عوامل و تنش های خارجی و سم زدایی شکل های مختلف اکسیژن فعال در سلول است. از وظایف مهم دیگر آن انعکاس پاسخ متابولیک گیاه به اغلب عوامل تنش زا است (۲۷،۹). در بررسی اثرات دگرآسیبی مشخص شده است که یک مکانیسم مقاومتی گیاه در برابر تنش افزایش میزان فعالیت آنتی اکسیدانی پراکسیداز است (۳۲،۱۱). در پژوهشی مشخص شد در برگ های اکالیپتوس یک ترکیب مونوترپنی به نام آلفا پینن (α-pinene) وجود دارد که باعث کاهش رشد و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در بیشتر گونه ها از جمله گندم می شود (۳۵). یکی دیگر از آنزیم های اکسیدوردوکتاز، پلی فنل اکسیداز است که نقش آن در رشدونمو، تنظیم ساخت ترکیبات فنلی و پیام های

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 مونوفنل ها به عنوان پیش برندگان پراکسیداز کاسته شده و سطح فعالیت آنزیم دوم افزایش می‌یابد (۲۸). این یافته پژوهشی می تواند 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 آنزیم های مذکور، احتمال مهمتر بودن فعالیت پلی فنل اکسیداز نسبت به فعالیت پراکسیداز در شرایط تنش دگرآسیبی مطرح می‌گردد.

جمع‌بندی

در این پژوهش اثر دگرآسیبی عصاره آبی برگ *E. globulus* بر صفات بیوشیمیایی سویا و علف هرز گاوپنبه بررسی شد و مشخص گردید که شاخص های اندازه گیری 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 غلظت های ۷۵ و ۱۰۰ درصد به عنوان غلظت های قابل توصیه در جهت کنترل علف هرز گاوپنبه به منظور بررسی بیشتر به عنوان یک علف کش طبیعی معرفی می گردد.

منابع

۱- انوشیروانی، ا. ۱۳۷۷. طبقه بندی ژنوتیپ های ملج در رویشگاههای شمال کشور، پایان نامه 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 آللوپاتی در گیاه درمنه خراسانی (*Krasch khorassanica* Artemisia) و تاثیر آن بر رشد و فیزیولوژی گیاهچه بروموس کپه داغی (*Drobov Bromus* kopetdaghensis)، مجله پژوهش های گیاهی (زیست شناسی ایران)، جلد ۳، شماره ۲، ۲۴۳-۲۵۶.

۳- شیرخانی، ع.، زاجی، ب.، کهربابیان، ب. ۱۳۸۵. بررسی اثرات دگرآسیبی عصاره آبی بقایای آفتابگردان بر جوانه زنی و رشد گیاهچه بذر گیاهان زراعی، چهاردهمین کنفرانس سراسری و دومین کنفرانس بین المللی زیست شناسی ایران، دانشگاه تربیت مدرس تهران، صفحه ۴۶.

۴- وطن پور، ع. ۱۳۷۲.بررسی اثر کشت مخلوط ذرت دانه ای و لوبیا در تراکم های مختلف بر عملکرد و اجزای عملکرد. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت. دانشگاه فردوسی مشهد.

۵- وفایی، م.، سیدنژاد، س. م.، گیلانی، ع.، صبورا، ع. ۱۳۹۴. بررسی اثر آللوپاتی تفاله حاصل از روغن کشی زیتون (*Olea europaea* L.) بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه سه رقم گندم (*Triticum aestivum* L.)، مجله پژوهش های گیاهی (زیست شناسی ایران)، جلد ۲۸، شماره ۲، ۴۴۵-۴۵۸.

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 lerox, 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 cultived plants and weeds. Physiological–Biochemical Basis of plant Interaction in Phytocenoses. 2: 60.

12- Einhellig, F. 1994. Mechanism of action of allelochemicals in allelopathy. ASC publications. Chapter. 7. pp: 96-116.

13- Einhelling, 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 No strand 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 allelophatic 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 *Dature stramonum (thornapples*). Weed Research. 21: 165.

19- Maffei, M., Bertea, C.M., Garneri, F., and Scannerrini, S. 1999. Effect of Benzoic acidhydroxy 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 Botanic Scinica. 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.

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. Expoitation of allelochemicals in improving crop productivity Chapman and Hall, London. 443-473.

28- Sanchez, M., Revilla, G., and Zarra, I. 1995. Changes in proxidase activity associated with cell wall during pinehypocotyls growth. Annals of Botany.75: 415-419.

29- Sasikumar, K., Vijayalashmi, C., and Parthiban, K.T. 2002. Allopathic effect of *Eucalyptus* on *Phaseolus mumgo*. 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. Colorometry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Amirican Journal Enology Viticul. 16: 144.

34- Tao, X., Chuihua, K., and Fei, H. 1999. Allelopathic of Ageratum conyzoides. Allelopathic effect of vbatile 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. Chemeistry 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.

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

Siadati far M., Lahouti M. and Cheniany M.[1]

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 (*Abutilion 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.