نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۹، شماره ۱، بهار ۱۳۹۴، ص. ۱۴۳-۱۳۴

Journal of Plant Protection
Vol. 29, No. 1, Spring 2015, P. 134-143

بررسی مکانیزم آللوپاتیک عصاره آبی کمای‌بینالودی (*Ferula flabelliloba*) در بذور در حال جوانه‌زنی قدومه (*Alyssum szowitsianum*)

قدیر طاهری[۱]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۹/۱۹

چکیده

گزارش‌هایی از بروز تنش اکسیداتیو ناشی از مواد آللوپاتیک ترپنی بر جوانه‌زنی برخی گیاهان وجود دارد. α-پینن یکی از مونوترپن‌های مهم با اثرات آللوپاتیک است که در خانواده‌های مختلف گیاهی، به‌ویژه در کمای‌بینالودی از خانواده چتریان گزارش شده‌است. به منظور بررسی اثرات آللوپاتیک کمای‌بینالودی و زمان نمونه‌گیری بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در هنگام جوانه‌زنی بذور قدومه آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. مواد آللوپاتیک در سه سطح شامل عصاره‌آبی برگ‌های روزت مرحله رویشی گیاه کمای‌بینالودی با غلظت ۱۰ درصد، α-پینن با غلظت ۵ میلی‌گرم‌درلیتر و شاهد و زمان‌های نمونه‌گیری در پنج سطح شامل ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰ ساعت پس از آبنوشی و اعمال تیمارهای آللوپاتیک بود. نتایج بیانگر آن است که عصاره آبی کمای‌بینالودی و α-پینن باعث کاهش درصد جوانه‌زنی و قابلیت حیات بذور نسبت به تیمار شاهد شدند و سرعت زوال قابلیت حیات بذور در تیمار با عصاره گیاه بالاتر از α-پینن بود. مقدار خروج و نشر مواد، تولید پراکسیدهیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید در تیمار با مواد آللوپاتیک افزایش یافت، علاوه بر این فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسمتاز، کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز و گلوتاتیون‌ردوکتاز به طور معنی‌داری تحت تاثیر مواد آللوپاتیک و زمان نمونه‌گیری قرارگرفت. به طورکلی بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بذور تیمارشده عصاره گیاهی و نمونه‌گیری شده بعد از ۱۲۰ ساعت اندازه‌گیری شد و با بیش‌ترین مقدار تولید پراکسیدهیدروژن همراه بود. علی رغم افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بذور تیمار شده با عصاره گیاهی و α-پینن، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن باعث بروز خسارت سلولی و کاهش قابلیت حیات بذور گردید. افزایش مقدار پراکسیدهیدروژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بیانگر بروز نوعی تنش اکسیداسیونی القا شده توسط مواد آللوپاتیک در این تحقیق است.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، پراکسیداسیون لیپید، تنش اکسیداتیو، جوانه‌زنی، نشر الکترولیت

مقدمه

گیاهان با تولید ترکیبات شیمیایی در روابط گیاه- گیاه، گیاه- میکروب و گیاه- علف‌خوار تاثیر گذارند. این مواد که متابولیت‌های ثانویه نیز خوانده می‌شوند از نظر ساختار شیمیایی و طرز عمل تنوع زیادی را نشان می‌دهند (۱۷). اگرچه ابتدا تصور بر آن بود که این مواد نقش چندانی در زندگی گیاهان ندارند، ولی در حال حاضر عقیده عمومی بر آن است که این ترکیبات نقش مهمی را در مکانیسم‌های دفاعی (۹)، تسهیل تولیدمثل جنسی (۱۴)، تنفس سلولی (۳۳) و اثرات آللوپاتیکی (۲، ۳ و ۴۲) دارند. آللوپاتی پدیده‌ای است که به طور موفقیت‌آمیزی در تولید گیاهان زراعی و حفاظت از آن‌ها در برابر دشمنان طبیعی مورد استفاده قرار گرفته است (۱). استفاده صحیح از آللوپاتی به منظور بهبود تولید گیاهان، حفاظت از محیط زیست، کنترل علف‌های هرز بر اساس روش‌های سازگار با محیط‌زیست، آفات، امراض، جلوگیری از آبشویی نیتروژن و تولید ترکیبات جدید شیمیایی مناسب جهت کشاورزی بر مبنای مواد ساخته شده توسط طبیعت در سال‌های اخیر توجه تعداد زیادی از محققان را به خود مشغول کرده‌است (۶، ۹ و ۲۰). اثرات آللوپاتیک در گیاهانی از خانواده‌های مختلف گزارش شده‌است (۴، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲۸، ۴۱ و ۴۷). بسیاری از محققان اثرات آللوپاتیک در گیاهان را به دخالت آن‌ها در بازدارندگی از فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان تحت تاثیر موادشیمیایی آزاد شده به محیط اطراف ریشه‌ها، آبشویی و تصعید آن ها و یا مربوط به آزادشدن مواد از بقایای گیاهان دانسته‌اند (۱، ۳، ۱۲، ۳۲، ۴۶ و ۴۸). مواد شیمیایی با ویژگی‌های آللوپاتیک قادرند تا صفات فیزیولوژیکی گیاه نظیر تنفس (۳ و ۳۳)، فتوسنتز

۱- استادیار گروه زیست شناسی- سیستماتیک گیاهی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور
Email: Ghadirtaheri@gmail.com

(۴۸) و جذب یون‌ها (۲۰) را تحت تأثیر قرار دهند. در بین انواع مختلف ترکیبات بیوشیمیایی موجود در گیاهان، مونوترپن‌ها در تعدادی از روابط اکولوژیکی گیاهان، جذب عوامل گرده‌افشان و مکانیسم‌های دفاعی و حفاظتی آن‌ها نقش دارند (۱۲، ۱۳، ۱۸، ۲۰، ۲۱ و ۲۶). این مواد توانایی بازدارندگی از جوانه‌زنی و کاهش رشد اولیه ریشه‌های گیاهان را دارند (۸، ۲۶ و ۴۵) و هم‌چنین در جلوگیری از رشد ریشه گیاهان نیز گزارش‌هایی بیان شده است (۳۶، ۴۱ و ۴۳). α-پینن یکی از ترکیبات مهم اسانس‌های ضروری در تعدادی از گونه‌های گیاهی نظیر مریم‌گلی (*Salvia sp.*) (۲۶، ۲۸) و گیاهان خانواده چتریان از جمله جنس *Ferula* (۳۹ و ۴۰) است. α-پینن بر جوانه‌زنی بذور و رشد اولیه ریشه‌های گیاهان اثر بازدارندگی دارد. اگرچه مکانیسم عمل به طور دقیقی بیان نشده، ولی افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدئید در ریشه‌های ذرت در پاسخ به آن گزارش شده‌است (۴ و ۴۱). به نظر می‌رسد که اگر بذور گیاه در حال جوانه‌زنی در معرض α- پینن قرار گیرند باعث القای استرس‌اکسیداتیو در بافت‌های هدف شده و اثر بازدارندگی آن ظاهر می‌شود، ولی در ارتباط با تاثیر تنش-های اکسیداسیونی و القای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در حضورα-پینن اطلاعات چندانی در دسترس نمی‌باشد.

همانند سایر عوامل تنش‌زا، موادآللوپاتیک گیاهی چندین مولکول هدف دارند و برخی از اثرات فیزیولوژیکی آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است. از اثرات مهم موادآللوپاتیک می‌توان به اختلال در نفوذپذیری غشاها (۶، ۹ و ۱۳)، جذب یون ها (۱۲)، کاهش انتقال الکترون در جریان فتوسنتز و تنفس (۳ و ۴۸)، تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (۱۸ و ۳۱) و جلوگیری از تقسیم سلولی (۲۰ و ۲۲) اشاره کرد. علاوه براین احتمالا استرس‌های آللوپاتیک موازنه بین دفاع آنتی‌اکسیدانی و مقدار تولید گونه‌های فعال اکسیژن رابه هم‌زده و آثار تنش اکسیداسیونی ظاهر می‌شود (۳۷، ۴۳ و ۴۵). حذف رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-) در جریان آبشاری از آنزیم‌ها انجام می‌شود. ابتدا سوپراکسیددیسمتاز مولکول سوپراکسید را به پراکسید-هیدروژن (H_2O_2) تبدیل می‌کند و نقشی کلی در حذف آثار سمی آن بازی می‌کند، به دنبال آن مقدار پراکسیدهیدروژن درون‌سلولی توسط تعدادی از آنزیم‌ها تنظیم می‌شود که یکی از مهم‌ترین آن‌ها کاتالاز است (۱۰، ۱۱، ۳۰). سنتز سوپراکسیددیسمتاز و کاتالاز نوعی واکنش سازگاری به تنش‌اکسیدانی می‌باشد (۱۶، ۲۴، ۲۷).گرچه نقش سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان در واکنش به تنش‌های محیطی توسط محققان مورد توجه قرار گرفته است ولی اطلاعات در باره ارتباط بین مواد آللوپاتیک و ارتباط آن‌ها با بروز تنش اکسیداسیونی کم است.

در بررسی‌های میدانی مشاهده شد که گیاه قدومه در زیستگاه‌های کمای بینالودی می‌روید ولی معمولا در اطراف گیاه کما جمعیت آن به طور کامل ناپدید می‌شود، از اینرو اثرات آللوپاتیک کما بر آن مورد توجه قرار گرفت. این تحقیق به منظور مطالعه تاثیر عصاره‌آبی حاصل از برگ‌های کمای‌بینالودی (*Ferula flabelliloba* Rech. F.& Aell.) بر جوانه‌زنی و فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه قدومه (*Alyssum szowitsianum* Fisch. & C.A. Mey.) انجام شد. از آن‌جائی‌که یکی از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه موجود در عصاره گیاه کما α-پینن است، اثر این دو به صورت مقایسه‌ای ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی مکانیسم نحوه تاثیر موادآللوپاتیک بر جوانه‌زنی بذور قدومه آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار در محل آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهی دانشگاه آزاد آسلامی واحد نیشابور اجرا شد. فاکتورهای موردبررسی شامل مواد آللوپاتیک (۷ میلی‌لیتر عصاره آبی گیاه کمای‌بینالودی با غلظت ۱۰ درصد، α-پینن با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر و شاهد) و زمان‌های نمونه‌گیری (۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰ ساعت پس از آبنوشی و اعمال تیمارهای آللوپاتیک) بود.

برای تهیه عصاره آبی، اندام هوایی کمای‌بینالودی از زیستگاه‌های طبیعی آن در منطقه بوژان نیشابور و از ارتفاعات ۱۴۵۰ تا ۱۵۰۰ متری رشته‌کوه بینالود در شیب‌های با شیب جنوب شرقی جمع‌آوری گردید. کمای‌بینالودی گیاهی چندساله و مونوکارپیک است و در این تحقیق از برگ‌های روزت گیاه مرحله‌رویشی استفاده شده است. ابتدا قسمت‌های صدمه‌دیده حذف و نمونه‌های گیاهی تمیز شدند. حداقل برگ‌های چهار گیاه تقریباً همسان برای عصاره‌گیری در سایه و دور از نور خورشید خشک شدند. ابتدا برگ‌ها در هاون چینی ساییده شدند. از برگ‌های پودرشده (۱۰ گرم وزن خشک) توسط ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بر روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور دردقیقه در طی ۲۴ ساعت عصاره‌گیری شد. عصاره ۱۰ درصد (وزنی/حجمی) از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد و از آن به عنوان عصاره گیاهی حاوی مواد آللوپات استفاده شد. مقدار α-پینن بر اساس آنالیز بیوشیمیایی نمونه‌ای از همین عصاره و به روش GC/MS تعیین گردید. بذور گیاه قدومه با هیپوکلریت سدیم ۵ در هزار به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی شدند. برای هر تیمار آزمایش تعداد ۱۰۰ عدد بذر در ۴ تکرار در نظر گرفته شد. تعداد ۲۵ بذر در پتری-دیش‌هایی به قطر تقریبی ۹ و ارتفاع ۳ سانتی‌متر (۴ پتری‌دیش برای هر تیمار)، بر روی کاغذ صافی چیده شدند و به هر پتری‌دیش مقدار ۷ میلی‌لیتر از محلول مورد نظر اضافه شد. پتری‌دیش‌ها درون پلاستیک در بسته قرار گرفتند تا تبخیر از آن ها به حداقل برسد و سپس به ژرمیناتور با دوره نوری ۸/۱۶ ساعت و دمای ۱۶/۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند (۲۸). شمارش بذور جوانه‌زده در فواصل ۲۴ ساعت انجام شد. بذور وقتی جوانه‌زده تلقی شدند که ریشچه غلاف پوسته بذر را

پاره کرده و طول آن به حدود ۲ میلی‌متر رسیده باشد.

غلظت پراکسیدهیدروژن موجود در نمونه‌ها به روش اکان و همکاران (۳۰) اندازه‌گیری شد. ابتدا نمونه‌ای از بذور آزمون جوانه‌زنی در حضور نیتروژن مایع ساییده شدند تا کلیه فعالیت‌های حیاتی و بیوشیمیایی آن‌ها متوقف شود. ۰/۵ گرم از پودر حاصل با ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۰/۲ مولار مخلوط شده و به خوبی هم زده شد تا هموژن گردد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ شدند. pH ماده‌رویی با کمک پتاسیم‌هیدروکسید (KOH) با غلظت ۴ مولار تنظیم شد (pH=۷/۵). به منظور حذف مواد رسوب یافته مجددا نمونه‌ها به مدت ۳ دقیقه در دمای ۴ درجه‌سانتی گراد در ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. از ماده رویی برای تعیین غلظت H_2O_2 استفاده شد. مخلوط واکنش برای اسپکتروفتومتری در حجم نهایی ۱/۵ میلی‌لیتر (شامل ۵۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده مرحله قبلی، دی متیل‌آمینوبنزوئیک اسید ۲/۵میلی مولار، ۳-متیل-۲- نیتروتیازولیدون هیدرازون ۱/۲۵ میلی‌مولار، پراکسیداز ۲۰ میکرولیتر) تهیه شد. واکنش با اضافه کردن پراکسیداز آغاز شد و باافزایش مقدار جذب H_2O_2 در طول موج ۵۹۰ نانومتر و بعد از ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد سنجیده شد. برای تهیه منحنی کالیبراسیون، مقدار جذب H_2O_2 درغلظت‌های ۰/۵ تا ۲۰ میکرومول در گرم اندازه‌گیری شد. نتایج بر مبنای میکرومول در گرم وزن‌تر نمونه گزارش گردید.

برای تعیین پایداری غشاها شاخص انتشار الکترولیت‌ها اندازه-گیری شد. بدین منظور تعداد ۲۵ بذر از هر تیمار در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی قرار گرفت. هدایت-الکتریکی محلول بعد از ۲ ساعت اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب نانوزیمنس بر متر گزارش گردید (۱۰).

برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ابتدا عصاره آنزیمی به روش ساین و همکاران (۴۳) استخراج شد. همه مراحل استخراج بر روی یخ و دمای حدود ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. مقدار فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسمتاز (SOD) بر مبنای جلوگیری از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلراید و به روش بااچمپ و فریدویچ (۷) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش در حجم نهایی ۴ میلی‌لیتر تهیه شد و محتوی ۶۳ میکرومولار نیتروبلوتترازولیوم (NBT)، ۱۳ میلی‌مولار متیونین، ۰/۱میلی‌مولار EDTA، ۱۳ میکرومولار ریبوفلاوین، ۰/۵ مولار کربنات‌سدیم و ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره‌آنزیمی (در تیمار شاهد همان مقدار آب مقطر) بود. لوله‌های آزمایش در زیر ۲ لامپ لوله‌ای فلوئورسنت ۱۵ وات به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت و پس از آن به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند. مقدار جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیم بر مبنای واحد آنزیمی بر میلی‌گرم وزن‌تر گزارش شد. هر واحد فعالیت‌آنزیمی مقدار مورد نیاز آنزیم برای جلوگیری از احیای ۵۰ درصد NBT در مقایسه با لوله‌های فاقد عصاره‌آنزیمی تعریف شده‌است.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش کک‌مک و مارشنر (۱۱) انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۲۵ میلی‌مولار بافر فسفات (pH=۷)، ۱۰ میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن و ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آنزیم با اندازه‌گیری مقدار حذف پراکسیدهیدروژن در طی ۱ دقیقه در ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری‌شد و بر مبنای ضریب‌خاموشی ۳۹/۴ میلی‌مولار بر سانتی متر محاسبه شد. هر واحد آنزیمی مقدار آنزیم مورد نیاز برای اکسیداسیون ۱ میکرومول پراکسیدهیدروژن در دقیقه تعریف شده‌است.

مقدار فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (APX) به روش ناکانو و آسادا (۲۷) اندازه گیری‌شد. مخلوط واکنش محتوی ۲۵ میلی‌مولار بافر فسفات (pH=۷)، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۰/۲۵ میلی‌مولار آسکوربات، ۱ میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن و ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره-آنزیمی بود. فعالیت آنزیم بر اساس ضریب‌خاموشی ۲/۸ میلی‌مولار بر سانتی‌متر و با اندازه‌گیری کاهش جذب در ۲۹۰ نانومتر بر دقیقه اندازه‌گیری شد و به عنوان واحدآنزیمی بر گرم وزن‌تر گزارش گردید. هر واحد آنزیمی بر اساس مقدار آنزیم مورد نیاز برای اکسیداسیون ۱ میکرومول آسکوربات در دقیقه تعریف شده است.

مقدار فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌ردوکتاز (GR) به روش فویر و هالیول (۱۵) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش محتوی ۲۵ میلی‌مولار بافر فسفات (pH=۷)، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۰/۵ میلی‌مولار GSSG، ۰/۱۲ میلی‌مولار NADPH و ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره‌آنزیمی بود. مقدار جذب در ۳۴۰ نانومتر و بلافاصله پس از اضافه‌کردن عصاره‌آنزیمی و به فاصله ۵ دقیقه بعد از آن اندازه‌گیری شد. مقدار فعالیت آنزیم بر اساس مقدار NADPH اکسیده نشده و با استفاده از ضریب خاموشی ۶/۲۲۴ میلی‌مولار بر سانتی‌متر اندازه‌گیری شد و بر مبنای واحد آنزیمی بر گرم وزن‌تر گزارش شد. هر واحد آنزیمی معادل مقدار آنزیم مورد نیاز برای اکسیده‌کردن ۱ میکرومول NADPH در دقیقه تعریف شده‌است.

غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MAD) از روش هس و پارکر (۱۹) اندازه‌گیری شد. تعدادی بذر (۱۰۰ میلی گرم) از هر تیمار در ۵ میلی-لیتر آب‌مقطر ساییده شد و با ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد (وزنی/حجمی) ۲-تیوباربیتوریک اسید در ۲۰٪ (وزنی/حجمی) تری-کلرواستیک‌اسید هموژنیزه شد. مواد به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از آن به سرعت و بر روی یخ سرد شدند، در نهایت به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۲۵۰۰ دور سانتریفوژ شدند. از ماده رویی برای تعیین غلظت مالون‌دی‌آلدئید استفاده شد. مقدار این ماده از تغییر مقدار جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب‌خاموشی ۱۵۵ میلی‌مولار بر سانتی‌متر محاسبه شد. نتایج بر مبنای نانومول در گرم وزن‌تر گزارش گردید.

برای تعیین قابلیت‌حیات بذور از آزمون تترازولیوم استفاده شد.

بدین منظور پوسته بذور شکسته‌شد و به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی در محلول ۵،۳،۲- تری‌فنیل‌تترازولیوم- کلرید قرارگرفتند (۲۵). بذوری که جنین رنگ‌پذیری نشان نداد و به رنگ مایل به قرمز دیده نشد به عنوان دانه‌های غیرزنده تلقی شدند.

داده‌های تحقیق با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C تجزیه آماری شد و میانگین‌ها به وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

جوانه‌زنی و قابلیت‌حیات

بیش‌ترین مقدار جوانه‌زنی در بذور تیمار شاهد (۸۳/۵ درصد) و کمترین آن در بذور تیمار شده با عصاره گیاهی مشاهده شد. جوانه‌زنی گیاهان تیمار شده با عصاره گیاهی به شدت کاهش یافت و مقدار آن حدود ۷/۵ درصد بود. در این تیمار تعداد زیادی از بذور قادر به شکافتن پوسته و خروج ریشه‌چه نبودند. این گروه از نظر شکل ظاهری شبیه بذور قرار گرفته در آب مقطر (تیمار شاهد) در ۲۴ ساعت اول آزمایش بودند. جوانه‌زنی دانه‌های تیمار شده با α-پینن نیز کاهش یافت و پس از ۸ روز دارای ۲۲/۵ درصد جوانه‌زنی بودند. اثر کاهش جوانه‌زنی عصاره گیاهی و α-پینن در این تحقیق تفاوت‌هایی را نشان داد و به نظر می‌رسد که بالاتر بودن شدت بازدارندگی عصاره گیاهی علاوه بر دخالت α-پینن به حضور سایر متابولیت‌های ثانویه در این گیاه نیز بستگی دارد.

بیش‌ترین اندازه گیری‌های انجام شده برای تعیین اثرات دگرآسیبی عصاره‌های گیاهان آزمون جوانه‌زنی و مطالعه تاثیر آن‌ها در مراحل اولیه رشد رویشی گیاهچه‌های بذری است (۳۱). کاهش یا تاخیر در جوانه‌زنی بذور اولین نشانه‌های قابل مشاهده در اثر فیتوتوکسین‌هاست (۱۲). کاهش درصد جوانه‌زنی در بذور ذرت تیمار شده با α-پینن گزارش شده است (۴۳). مواد آللوپاتیک گیاهی و مونوترپن‌های فرار توانایی بازدارندگی جوانه‌زنی و کاهش رشد طولی ریشچه در گیاهان مختلف را دارا هستند. برای مثال گزارش شده که انواع اکسیژن‌دار مونوترپن‌ها در غلظت‌های ۳۵۰- ۲۰ میکرومول باعث کاهش مقدار جوانه‌زنی در چچم (*Lolium multiflorum* Lam.)، تاج خروس (*Amaranthus retroflexus* L.)، گاوپنبه (*Abotilon theophrasti* Medik.) و علف خرچنگ (*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop.) شده‌است (۴۵). گزارش‌های دیگری مبنی بر اثر بازدارندگی سینئول و سیترنلال (به ترتیب در غلظت‌های ۱۰۰۰- ۱۰ و ۱۰۰-۵ میکروگرم بر گرم در شرایط کشت در شن) بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهان در دسترس است (۳۶).اگرچه مکانیسم عمل دقیق اثر بازدارندگی ترپن‌ها بر ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاهان شناخته شده نیست ولی گزارشات بیانگر آن است که ترپن‌های فرار بر تقسیمات میتوزی نوک ریشه‌های جوان اثر بازدارندگی داشته‌اند (۱۸ و ۴۳). اثر بازدارندگی α و β- پینن بر تقسیم سلولی نوک‌ریشه *Brassica campestris* L. در غلظت‌های ۱۲۸۰-۲۰۰ میکرومول گزارش شده‌است (۲۸).

نتایج حاصل از آزمون تترازولیوم نشان‌دهنده آن است که حدود ۹۱ درصد دانه‌های قرار گرفته در آب مقطر قابلیت‌حیات داشتند و این ویژگی را در تمام طول دوره آزمایش حفظ نمودند. قابلیت حیات بذور تیمار شده با α- پینن تا روز دوم آزمایش ۹۱ درصد بود ولی بعد از آن شروع به کاهش نمود. قابلیت حیات در بذور تیمار شده با عصاره گیاهی نیز در پایان روز اول ۹۱ درصد اندازه‌گیری شد ولی این ویژگی در نمونه‌گیری‌های بعدی با سرعت بیش‌تری نسبت به تیمارα- پینن کاهش یافت به نوعی که در روز پنجم آزمایش تقریباً ۸۵ درصد بذور قابلیت حیات خود را از دست داده بودند (شکل ۱). در مطالعات قبلی گزارش شده که عصاره‌آبی و متانولی گیاهان خانواده چتریان حاوی مواد با توانایی آللوپاتیکی نظیر کومارین‌ها، فلاون‌ها، ترکیبات ترپنی و استیلنی هستند که به دلیل تاثیر بازدارندگی بر فعالیت‌های آنزیمی گیاهان قادرند تا جوانه‌زنی یا رشد اولیه برخی از گیاهان را تحت تاثیر قرار دهند (۳۵ و ۴۳).

غلظت پراکسیدهیدروژن

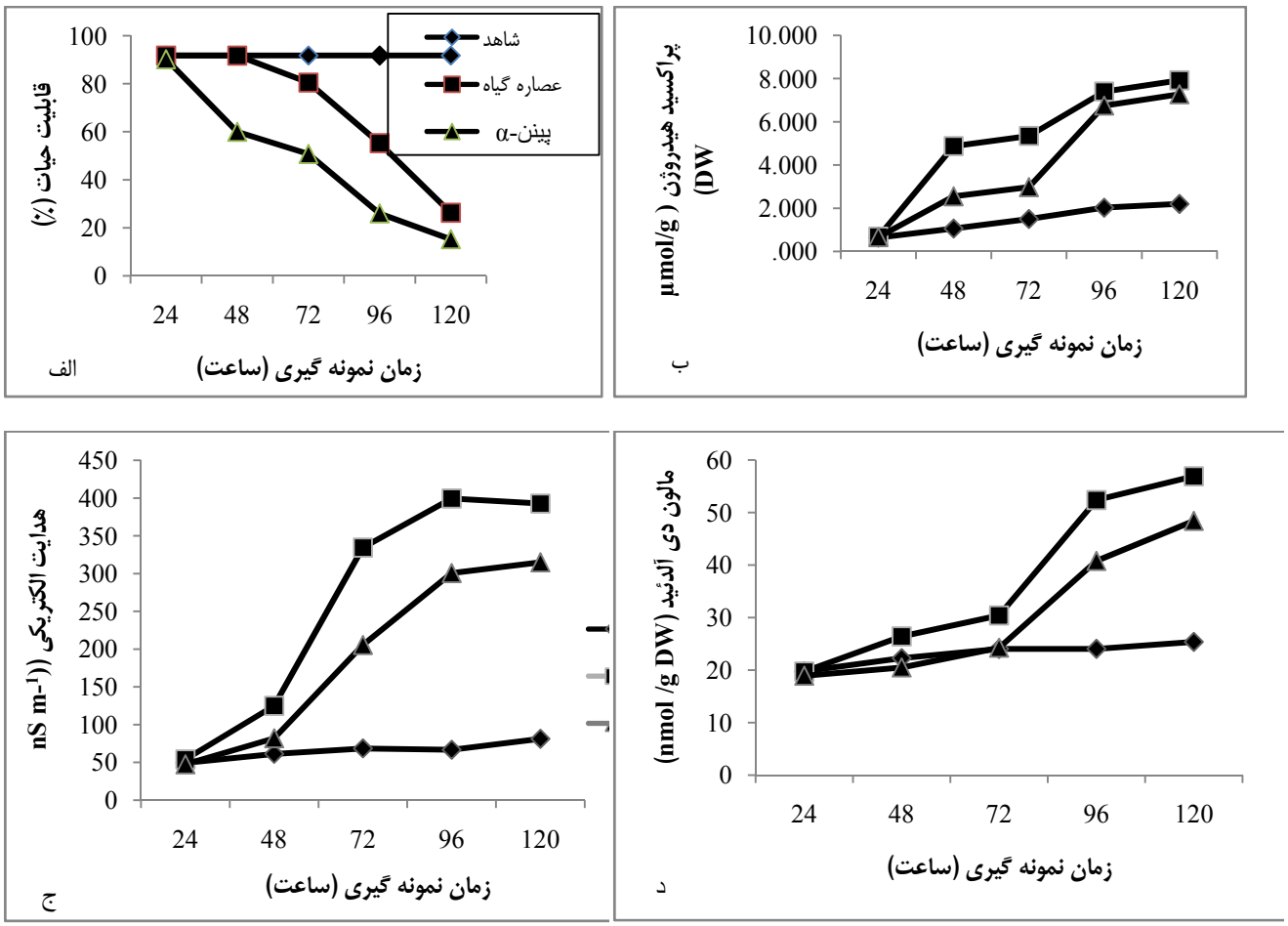
اثر تیمارهای آزمایش (زمان نمونه‌گیری، مواد آللوپاتیک و اثر متقابل آن‌ها) بر غلظت پراکسیدهیدروژن معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان‌دهنده آن است که غلظت این ماده در دانه‌های آبنوشی کرده بعد از ۲۴ ساعت ۰/۶۵۹ میکرومول بر گرم وزن‌تر بود در حالی‌که با افزایش طول مدت زمان نمونه‌گیری مقدار آن نیز رو به فزونی گذاشت. بیش‌ترین مقدار H_2O_2 در بذور بعد از ۱۲۰ ساعت (۵/۷ میکرومول بر گرم وزن‌تر) به‌دست آمد. بررسی داده‌ها نشان دهنده آن‌است که کم‌ترین و بیش‌ترین مقدار H_2O_2 به ترتیب در گیاهان تیمارشده با آب مقطر و عصاره گیاه اندازه‌گیری شده است (جدول۲). بیش‌ترین مقدار پراکسیدهیدروژن در گیاهان تیمار شده با عصاره گیاهی در ۱۲۰ ساعت پس از شروع آزمایش (۷/۹۲ میکرومول بر گرم وزن تر) و کم‌ترین مقدار آن در بذور تیمار شده با آب مقطر و در ۲۴ ساعت اول آزمایش اندازه‌گیری شد. اثر α-پینن بر مقدار تولید پراکسیدهیدروژن در زمان‌های مورد بررسی کم‌تر از تیمار بذور با عصاره‌گیاهی بود (جدول ۳).

هرچند که مواد آللوپاتیک از جوانه‌زنی بذور گیاهان ممانعت به عمل می‌آورند ولی مکانیسم اثر آن‌ها به خوبی شناسایی نشده‌است. در مطالعات اخیر به نقش آن‌ها به عنوان عوامل ایجادکننده استرس‌های اکسیداتیو اشاره شده‌است (۳۱ و ۴۳). طبق گزارش پلیتیکا (۳۴) تماس ریشه‌های خیار با اسیدفرولیک و اسیدکوماریک باعث افزایش غلظت

پراکسیدهیدروژن در آن‌ها شده‌است. گزارشات دیگری نیز دردسترس است که به تولید انواع اکسیژن‌فعال تحت تاثیر موادآللوپاتیک اشاره دارند (۴۶). نتایج این تحقیق نشان‌دهنده آن است که مقدار تولید H_2O_2 در بذور تیمار شده با عصاره گیاه بیش‌تر از سایر تیمارهاست. با توجه به شکل ۱–ب و جداول ۲ و ۳ به نظر می‌رسد اثرات مشاهده شده فقط مربوط به حضور α–پینن در محیط جوانه‌زنی نمی‌باشد و احتمالاً ترکیبات آللوپاتیک دیگری در بروز این اثر دخیل می‌باشند.

نشر الکترولیت‌ها و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی

مقدار خروج الکترولیت‌ها از سلول‌های گیاهی بر مبنای تغییر هدایت‌الکتریکی محیط گزارش شده است. نتایج بیانگر آن است که تیمار دانه‌های قدومه با عصاره گیاهی و α–پینن باعث افزایش مقدار خروج الکترولیت‌ها از سلول‌ها نسبت به شاهد شده است (جدول ۲). با افزایش زمان نمونه‌گیری، هدایت الکتریکی محیط افزایش یافت که بیانگر نشر بیش‌تر الکترولیت‌های محلول می‌باشد به طوری که در نمونه‌های تهیه شده پس از ۹۶ و ۱۲۰ ساعت از شروع آزمایش، بیش‌ترین مقدار هدایت الکتریکی محیط اندازه‌گیری شد (جدول ۲). به طورکلی بیش‌ترین هدایت الکتریکی در محیط اطراف دانه‌های تیمار شده با عصاره گیاه و نمونه‌گیری شده در روز ۶ و ۸ پس از شروع آزمایش اندازه‌گیری شد (جدول۳ و شکل۱–ج). تجزیه واریانس داده‌ها نشان‌دهنده آن است که اثر مواد آللوپاتیک، زمان نمونه‌گیری و اثر متقابل آن‌ها بر مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی (اندازه‌گیری شده بر اساس مقدار مالون‌دی‌آلدئید) معنی‌دار بود (جدول ۱). بیش‌ترین مقدار مالون‌دی‌آلدئید در بذور تیمارشده با عصاره‌گیاهی و کم‌ترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد، علاوه‌براین با افزایش زمان از شروع آزمایش، مقدار این ماده نیز افزایش یافت (جدول ۲) ولی به طور کلی مقدار مالون‌دی‌آلدئید در گیاهان تیمار شده با عصاره گیاهی و نمونه‌گیری‌شده پس از ۱۲۰ ساعت بیش‌تر از سایر تیمارهای بررسی‌شده در این تحقیق بود (جدول۳ و شکل۱–د).



شکل ۱- تاثیر مواد آللوپاتیک و زمان نمونه‌گیری بر: قابلیت‌حیات (الف)، مقدار تولید پراکسیدهیدروژن (ب)، هدایت‌الکتریکی (ج) و مالون‌دی‌آلدئید (د) بذور در حال جوانه‌زنی قدومه

یکی از شناخته‌شده‌ترین آثار تنش‌های اکسیداتیو افزایش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهاست. اکسیژن‌های فعال تولید شده در این نوع تنش‌ها قادرند تا به بخش‌هایی از مولکول اسیدچرب با کربن غیر-اشباع پیوند برقرار نموده و باعث تخریب ساختمان آن شوند. به طور کلی تنش‌های غیرزیستی (سرما، گرما، علف‌کش‌ها) از طریق ایجاد انواع اکسیژن‌های واکنشگر باعث بروز صدمه به سلول‌های گیاهی می‌شوند (۱۰ و ۴۴) و از علائم قابل اندازه‌گیری مربوط به تخریب غشاهای سلولی مقدار مالون‌دی‌آلدئید در سلول‌ها است. افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و خروج الکترولیت‌ها به دلیل کاهش پایداری غشاها از فاکتورهای کلیدی تعیین صدمه به سلول‌هاست. محققان دیگری نظیر ساین و همکاران (۴۳)کاهش رشد و مرگ سلول‌های گیاهی در اثر مواجهه با مواد آللوپاتیک و بروز تنش‌اکسیداتیو تحت تاثیر α–پینن در ریشه‌های گیاهان را گزارش کرده‌اند. افزایش هدایت‌الکتریکی تحت تاثیر عصاره گیاهی و α–پینن نسبت به شاهد بیانگر افزایش نفوذپذیری غشاها، خروج الکترولیت‌ها و صدمه به سلول‌هاست (جدول ۲)، به عبارت دیگر افزایش هدایت‌الکتریکی به دلیل بروز تنش و تخریب غشاهای سلولی است. تخریب غشاها توسط ترکیبات گیاهی حاوی مواد ترپنی به عنوان مکانیسمی دفاعی برای تخریب غشای پلاسمایی قارچ‌ها و باکتری‌هانیز بیان شده‌است (۱۸). صدمه به غشاهای سلولی باعث تشکیل مقدار بیش‌تری مالون‌دی-آلدئید می شود (۸، ۳۷، ۴۶) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

اثر تیمارهای آللوپاتیک، زمان نمونه‌گیری و اثر متقابل آن‌ها بر مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسمتاز، کاتالاز، گلوتاتیون‌ردوکتاز و آسکوربات‌پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۱). بیش‌ترین مقدار فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسمتاز در گیاهان تیمارشده با عصاره گیاهی (۶/۷۴ واحد بر میلی‌گرم وزن‌تر) و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (۲/۴۲ واحد بر میلی‌گرم وزن‌تر) اندازه‌گیری شد، در زمان-های مختلف نمونه‌گیری پس از آبنوشی بذور نیز بیش‌ترین مقدار فعالیت این آنزیم در نمونه‌های تهیه‌شده پس از ۱۲۰ ساعت اندازه-گیری شد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای آزمایش نشان دهنده آن است که بیش‌ترین مقدار فعالیت آنزیم در بذور تیمار-شده با عصاره گیاهی نمونه‌گیری شده پس از ۱۲۰ ساعت از شروع آزمایش (۱۲/۸ واحد بر میلی‌گرم وزن‌تر) و کم‌ترین آن در بذور تیمار شده با α–پینن و نمونه‌گیری شده پس از ۲۴ ساعت (۱/۰۵ واحد بر میلی‌گرم وزن‌تر) بدست آمد (جدول ۳ و شکل ۱).

به منظور جلوگیری از بروز صدمه به سلول‌ها توسط انواع اکسیژن‌های فعال، گیاهان برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تولید می-کنند که باعث افزایش مقاومت آن‌ها نسبت به تنش‌های اکسیداسیونی می‌شود (۲۴). افزایش مقدار تولید اکسیژن‌های فعال در واکنش به عصاره گیاه کمای‌بینالودی و α–پینن با افزایش مقدار تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسیددیسمتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد در این تحقیق مشاهده شد (جدول۲). سوپراکسیددیسمتاز آنزیم کلیدی و مهمی در حذف رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-) است و آن را در سلول‌های گیاهی به H_2O و O_2 تبدیل می کند، بنابراین نقش مهمی را در مکانیسم‌های دفاعی گیاهان و جلوگیری از بروز صدمه به آن‌ها در پاسخ به استرس‌های محیطی بازی می‌کند (۴۳). افزایش مقدار فعالیت آنزیم سوپراکسید-دیسمتاز در این تحقیق بیانگر القای نوعی تنش اکسیدانی است که توسط سوپراکسید تولید شده در اثر عصاره‌گیاهی و α– پینن بوجود آمده‌است. افزایش مقدار فعالیت این آنزیم در پاسخ به مواد آللوپاتیک فنلی خیار نیز گزارش شده‌است (۴۸).

مقدار فعالیت کاتالاز تحت تأثیر موادآللوپاتیک افزایش یافت و به طور همزمان مقدار تولید H_2O_2 و مالون‌دی‌آلدئید نیز افزایش نشان داد، علاوه‌براین مقدار فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در اثر تیمارهای آزمایش افزایش نشان داد به نوعی که بیش‌ترین مقدار آن در بذور تیمار شده با عصاره گیاه اندازه‌گیری شد.

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های مختلف گیاه قدومه تحت تاثیر مواد آللوپاتیک و زمان‌های نمونه‌گیری

منابع تغییر	درجه آزادی	قابلیت‌حیات	پراکسید هیدروژن	هدایت‌الکتریکی	سوپراکسید-دیسمتاز	کاتالاز	گلوتاتیون‌ردوکتاز	آسکوربات-پراکسیداز
زمان نمونه‌گیری(d)	۴	۴۲۰۴*	۵۲/۱۸**	۱۱۳۵۰۲**	۱۳۵/۴*	۷۴/۹۹**	۴/۱۳**	۹۴۳۳**
مواد آللوپاتیک (a)	۲	۹۳۸۱**	۷۳/۶۹**	۱۹۶۲۹۸*	۱۰۹/۴*	۱۱۷/۹*	۷/۹۸**	۳۷.۳۴**
a*d	۸	۱۲۳۵**	۷/۴۶**	۲۵۱۷۹*	۲۰/۲۹**	۱۱/۶۷**	۰/۵۵۷**	۷۴۴/۴**
خطا	۴۵	۲۵۶۸۹	۰/۱۷۴	۳۲۴/۹	۱/۳۱	۱/۰۵۴	۰/۰۷۵	۵۰/۵۶

*و**- به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول۲- مقایسه میانگین تاثیر مواد آللوپاتیک و زمان نمونه‌گیری بر قابلیت‌حیات و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه قدومه

تیمارها	قابلیت حیات (درصد)	پراکسیدهیدروژن (میکرومول بر گرم وزن تر)	مالون‌دی‌آلدئید(نانومول بر گرم وزن تر	هدایت‌الکتریکی (نانوزیمنس بر متر)	سوپراکسید دیسمتاز (واحد بر میلی-گرم وزن تر)	کاتالاز (واحد بر میلی‌گرم وزن تر)	گلوتاتیون ردوکتاز (واحد بر میلی-گرم وزن تر)	آسکوربات پراکسیداز (واحد بر میلی-گرم وزن تر)
مواد	آللوپاتیک							
آب	۹۱/۸^{a}	۱/۴۹^{c}	۲۳/۱^{c}	۶۵/۵^{c}	۲/۴۲^{b}	۱/۰۷^{c}	۰/۴۴۴^{c}	۴۵/۹^{c}
عصاره	۴۸/۵^{c}	۵/۲۴^{a}	۳۷/۲^{a}	۲۶۱^{a}	۶/۷۴^{a}	۵/۹۳^{a}	۱/۶۹^{a}	۷۲/۸^{a}
α- پینن	۶۹/۱^{b}	۴/۰۴^{b}	۳۰/۶^{b}	۱۹۰^{b}	۶/۱۳^{a}	۳/۴۷^{b}	۱/۲۵^{b}	۶۳/۳^{b}
زمان	نمونه‌گیری							
۲۴	۹۱/۳^{a}	۰/۶۵۹^{e}	۲۰^{d}	۵۰/۳^{d}	۱/۱۶^{e}	۰/۱۳^{d}	۰/۳۷^{d}	۳۷/۴^{d}
۴۸	۸۱/۲^{b}	۲/۸۳^{d}	۲۴/۳^{c}	۸۹/۴^{c}	۲/۵۱^{d}	۱/۹۹^{c}	۰/۷۱۹^{c}	۳۹/۲^{d}
۷۲	۷۴/۳^{c}	۳/۲۷^{c}	۲۴/۵^{c}	۲۰۲^{b}	۵/۰۷^{c}	۳/۵۶^{b}	۱/۳۷^{b}	۴۵/۸^{c}
۹۶	۵۷/۷^{d}	۵/۳۹^{b}	۳۹/۱^{b}	۲۵۵^{a}	۷/۴۵^{b}	۵/۷۵^{a}	۱/۳۳^{b}	۸۲/۱^{b}
۱۲۰	۴۴/۴^{e}	۵/۸^{a}	۴۳/۶^{a}	۲۶۳^{a}	۹/۲۷^{a}	۶/۰۲^{a}	۱/۸۶^{a}	۹۹/۹^{a}

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشد

مقدار فعالیت این آنزیم در گیاهان تیمار شده با α-پینن بیش‌تر از بذور تیمار شاهد بود ولی نسبت به دانه‌های تیمار شده با عصاره‌گیاهی کم‌تر بود (جدول ۲). در بین انواع اکسیژن‌های فعال تولیدشده در پاسخ به تنش‌های محیطی، پراکسیدهیدروژن به عنوان یک مولکول علامت‌دهنده تلقی می‌شود و نقش موثری را در واکنش‌های دفاعی گیاهان دارد (۳۱). این ماده در پراکسیزوم‌های سلولی توسط آنزیم کاتالاز و در کلروپلاست و سیتوزول توسط آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز به H_2O تبدیل می‌شود (۱۵). گزارشات بیانگر آن است که آسکوربات‌پراکسیداز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌هایی است که در حذف پراکسیدهیدروژن از محیط داخلی سلول‌ها نقش بازی می‌کند (۱۶).

جدول۳- مقایسه میانگین اثرات‌متقابل موادآللوپاتیک و زمان نمونه‌گیری بر قابلیت‌حیات و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی قدومه

تیمار	قابلیت حیات بذور (درصد)	پراکسیدهیدروژن (میکرومول بر گرم وزن تر)	هدایت الکتریکی (نانوزیمنس بر متر)	مالون‌دی-آلدئید(نانومول بر گرم وزن تر))	سوپراکسید دیسمتاز (واحد بر میلی‌گرم وزن تر))	کاتالاز -(واحد بر میلی‌گرم وزن تر)	گلوتاتیون ردوکتاز (واحد بر میلی‌گرم وزن تر)	آسکوربات پراکسیداز (واحد بر میلی-گرم وزن تر)
A1B1	۹۱/۸^{a}	۰/۶۴^{i}	۴۹/۵^{g}	۱۹/۸^{fg}	۱/۲۵^{ef}	۰/۱۲^{f}	۰/۲۶۵^{efg}	۳۵/۳۵^{f}
A1B2	۹۱/۸^{a}	۰/۶۸^{i}	۵۴^{fg}	۱۹/۸^{fg}	۱/۱۹^{ef}	۰/۱۳^{f}	۰/۳۷۴^{defg}	۳۷/۳۷^{f}
A1B3	۹۰/۳^{a}	۰/۶۶^{i}	۴۷/۵^{g}	۲۰/۵^{fg}	۱/۰۵^{f}	۰/۱۵^{f}	۰/۴۶۷^{def}	۳۹/۴۷^{f}
A2B1	۹۱/۸^{a}	۱/۰۶^{hi}	۶۱/۳^{fg}	۲۲/۳^{efg}	۱/۸۴^{def}	۰/۴۵^{f}	۰/۱۸۸^{efg}	۳۶/۰۶^{f}
A2B2	۹۱/۸^{a}	۴/۸۸^{d}	۱۲۵^{e}	۲۶/۴^{de}	۳/۱۶^{d}	۳/۴۱^{c}	۱/۲۳^{c}	۴۴/۴۶^{ef}
A2B3	۶۰^{c}	۲/۵۵^{ef}	۸۲^{f}	۲۴/۳^{efg}	۲/۵۴^{def}	۲/۱۱^{cde}	۰/۷۴^{d}	۳۶/۹۲^{f}
A3B1	۹۱/۸^{a}	۱/۵^{gh}	۶۸/۵^{fg}	۲۴/۱^{efg}	۲/۷^{def}	۰/۹۹^{ef}	۰/۵۵^{de}	۳۷/۷۷^{f}
A3B2	۸۰/۵^{b}	۵/۳۵^{d}	۳۳۴^{b}	۳۰/۴^{d}	۶/۶۸^{c}	۶/۵۶^{b}	۲/۲۴^{efg}	۵۳/۹۵^{de}
A3B3	۵۰/۸^{c}	۲/۹۸^{e}	۲۰۵^{d}	۱۸/۹^{g}	۵/۸۳^{c}	۳/۱۴^{cd}	۱/۳۲^{fg}	۴۵/۷۳^{ef}
A4B1	۹۱/۸^{a}	۲/۰۳^{fg}	۶۶/۸^{fg}	۲۴/۱^{efg}	۳/۳۱^{d}	۱/۵۷^{def}	۰/۴۵^{dg}	۵۷/۷۴^{de}
A4B2	۵۵/۳^{c}	۷/۴^{ab}	۳۹۹/۵^{a}	۵۲/۴^{ab}	۹/۸۷^{b}	۹/۸۶^{a}	۲/۰۳^{b}	۱۰۴^{b}
A4B3	۲۶^{d}	۶/۷۵^{c}	۳۰۰/۸^{c}	۴۰/۸^{c}	۹/۱۹^{b}	۵/۸۲^{b}	۱/۵۳^{c}	۸۴/۶۴^{c}
A5B1	۹۱/۸^{a}	۲/۲^{f}	۸۱/۳^{f}	۲۵/۴^{def}	۲/۹۹^{de}	۲/۲۴^{cde}	۰/۷۷۵^{d}	۶۲/۴۳^{d}
A5B2	۲۶/۳^{d}	۷/۹۲^{a}	۳۹۲^{a}	۵۶/۹^{a}	۱۲/۸^{a}	۹/۶۹^{a}	۲/۵۸^{a}	۱۲۴/۳^{a}
A5B3	۱۵/۳^{e}	۷/۲۸^{bc}	۳۱۵^{bc}	۴۸/۴^{b}	۱۲/۰۳^{a}	۶/۱۲^{b}	۲/۲۲^{ab}	۱۱۰^{b}

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد می‌باشد. A1: نمونه گیری بعداز ۲۴ ساعت، A2: نمونه گیری بعداز ۴۸ ساعت،A3: نمونه گیری بعداز ۷۲ ساعت،A4: نمونه گیری بعداز ۹۶ ساعت،A5: نمونه گیری بعداز ۱۲۰ ساعت؛ B1: کنترل، B2: عصاره آبی کمای بینالودی، B3: آلفا پینن

گلوتاتیون ردوکتاز آنریمی کلیدی برای مقابله با تنش‌های محیطی در گیاهان است (۱۶، ۲۹ و ۳۸) و نقشی کلیدی در کنترل H_2O_2 درون‌زاد از طریق کنترل چرخه گلوتاتیون- آسکوربات و تولید گلوتاتیون احیاشده دارد، ماده اخیر قادر به تخریب و از بین‌بردن انواع اکسیژن‌های‌فعال می‌باشد (۱۵). افزایش فعالیت این آنزیم و تولید گلوتاتیون‌های احیاشده در شرایط بروز تنش‌های غیرزیستی و محیطی گزارش شده‌است (۵). نتایج این تحقیق (جدول‌های ۲ و ۳) بیانگر بروز تنش اکسیدانی در سلول‌های‌گیاهی در معرض تیمارهای آزمایش است، و با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنشی گزارش شده توسط محققان مطابقت دارد (۴، ۱۸ و ۲۲).

نتایج این تحقیق با یافته‌های یو و همکاران (۴۸) مطابقت دارد. آن‌ها گزارش کرده‌اند که حضور مواد آللوپاتیک در محیط جوانه‌زنی دانه‌های گیاهان باعث افزایش مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده‌است. افزایش مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و آسکوربات‌پراکسیداز در واکنش به مواد آللوپاتیک در بذور در حال جوانه‌زنی گوجه‌فرنگی (۳۷)، خیار (۴۸) و آکاسیا (۲۳) گزارش شده‌است.

به طور کلی نتایج این تحقیق بیانگر آن است که فیتوتوکسین سنتزی و عصاره گیاه کمای‌بینالودی اثر مستقیمی بر جوانه‌زنی گیاه قدومه نداشته‌است بلکه آن‌ها با تغییر مقدار تولید انواعی از اکسیژن-های‌فعال در بذور در حال جوانه‌زنی باعث بروز صدمه شده‌اند، هرچند که تحریک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه برای جلوگیری از تجمع H_2O_2 یا جلوگیری از تخریب غشاها و پراکسیداسیون لیپیدها کافی به نظر نیامده و نهایتاً سبب بروز خسارت و یا مرگ سلولی شده است. علاوه‌براین به نظر می‌رسد اثر آللوپاتی کمای‌بینالودی علاوه بر آلفا-پینن به ترکیبات دیگری هم مربوط می‌باشد.

منابع

۱- الهی فرد ا. و راشدمحصل م.ح. ۱۳۸۹. بررسی پتانسیل دگرآسیبی اندام‌های هوایی سویا (*Glysine max*) بر جوانه‌زنی و رشد اولیه چند گونه علف‌هرز. نشریه پژوهشهای زراعی ایران، جلد ۸، شماره ۲: ۳۶۷-۳۵۹.

۲- اروجی ک.، خزاعی ح.ر.، راشدمحصل م.ح.، قربانی ر.، و عزیزی ارانی م. ۱۳۷۸. بررسی اثرات آللوپاتی آفتابگردان (*Helianthus annus*) بر جوانه‌زنی و رشد علفهای هرز تاج خروس ریشه قرمز (*Amaranthus retroflexus*) و سلمه تره (*Chenopodium album*). مجله حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)،۱۲۸:۲۲-۱۱۹.

3- Abrahim D., Braguini W.L., Kelmer-Bracht A.M.,and Ishii-Iwamoto E.L. 2000. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. Journal of Chemical Ecology, 26:611–624.

4- Angelini L.G., Carpanese G., Cioni P.L., Morelli I., Macchia M., and Flamni G. 2003. Essential oils from Mediterranean Lamiaceae as weed germination inhibitors. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 6158–6164.

5- Aono M., Saji H., Fujiyama K., Sugita M., Kondo N., and Tanaka K. 1995. Decrease in activity of glutathione reductase enhances paraquat sensitivity in transgenic *Nicotina tabacum*. Plant Physiology, 107: 645–648.

6- Bais H.P., Vepachedu R., Gilroy S., Callaway R.M., and Vivanco J.M. 2003. Allelopathy and exotic plant invasion: from molecules and genes to species interactions. Science, 301: 1377–1380.

7- Beauchamp C., and Fridovich I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry, 44: 276–286.

8- Becana M., Dalton D.A., Moran J.F., Iturbe-Ormaetxe I., Matamoros M.A., and Rubio M.C. 2000. Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules. Physiologia Plantarum, 109: 372–381.

9- Berenbaum M.R. 1995. The chemistry of defense: the theory and practice. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 92: 2–8.

10- Blokhina O., Virolainen E., and Fagerstedt K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany, 91: 179–194.

11- Cakmak I., and Marschner H. 1992. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. Plant Physiology, 98: 1222–1227.

12- Dayan F.E., Romagni J.G., and Duke S.O. 2000. Investigating the mode of action of natural phytotoxins. Journal of Chemical Ecology, 20: 2079–2093.

13- Duke S.O., Dayan F.E., Romagni J.G., and Rimando A.M. 2000. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. Weed Research (Oxford), 40: 99–111.

14- Facchini P.J. 1999. Plant secondary metabolism out of evolutionary abyss. Trends in Plant Science, 4: 381–418.

15- Foyer C.H., and Halliwell B. 1976. Presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: A proposed role in ascorbic acid metabolism. Planta, 133: 21–25.

16- Foyer C.H., Lopez-Delgado H., Dat J.F., and Scott I.M. 1997. Hydrogen peroxide- and glutathione-associated

mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling. Physiologia Plantarum, 100: 241–254.
17- Hadacek F. 2002. Secondary metabolites as plant traits: current assessment and future perspectives. Critical Reviews in Plant Sciences, 21: 273–322.
18- Harrewijn P., Van Oosten A.M., and Piron P.M. 2001. Natural terpenoids as messengers: A multidisciplinary study of their production, biological functions and practical applications. Dordrecht: Kluwer.
19- Heath R.L., and Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125: 189–198.
20- Khalaj Amiri M., and Azimi M.H. 2013. Allelopathy: physiological and Sustainable Agriculture Important Aspects, International journal of Agronomy and Plant Production. 4 (5): 950-962.
21- Langenheim J.H. 1994. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. Journal of Chemical Ecology, 20: 1223–1280.
22- Lara-nuñez A., Romero-Romero T., Ventura J., Blancas V., Anaya A., and Cruz-Ortega R. 2006. Allelochemical stress causes inhibition of growth and oxidative damage in *Lycopersicon esculentum* Mill., Plant, Cell and Environment,29: 2009–2016.
23- Lorenzo P., Pazos- Malvido E., Gonzales L., and Reigosa M. G. 2008. Allelopatic interference of invasive *Acacia dealbata*: Physiological effects. Allelopathy Journal, 22 (2): 452-462.
24- Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., and Van Breusegem F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Trends in Plant Science, 9: 490–498.
25- Moore R.R. 1973. Tetrazolium staining for assessing seed quality, pp. 347- 367, in W. Heydecker (ed.) seed Ecology, Butter Worths, London.
26- Muller W.H., and Muller C.H. 1964. Volatile growth inhibitors produced by *Salvia* species. Bulletin of the Torrey Botanical Club, 91: 327–330.
27- Nakano Y., and Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology, 22: 867–880.
28- Nishida N., Tamotsu S., Nagata N., Saito C., and Sakai A. 2005. Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: Inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. Journal of Chemical Ecology, 31: 1187–1203.
29- Noctor G., and Foyer C.H. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 49: 249–279.
30- O'Kane D., Gill V., Boyd P., and Burdon R. 1996. Chilling, oxidative stress and antioxidant responses in *Arabidopsis thaliana* callus. Planta, 198:371–377.
31- Oracz K., Bailly C.H., Gniazdowska A., Come D., Corbineau F., and Bogatek R. 2007. Induction of oxidative stress by sunflower phytotoxins in germinating mustard seeds, Journal of Chemical Ecology, 33:251–264
32- Paavolainen L., Kitunen V., and Smolander A. 1998. Inhibition of nitrification in forest soils by monoterpenes. Plant and Soil, 205: 147–154.
33- Peñuelas J., Ribas-Carbo M., and Giles L. 1996. Effect of allelochemicals on plant respiration and oxygen isotope fractionation by alternative oxidase. Journal of Chemical Ecology, 22:801–805.
34- Plitycka B. 1998. Phenolic and the activities of phenylalanine ammonia Lyase, phenol- β glucosyl- transferase and β- glucosidase in cucumber roots as affected by phenolics allelochemicals. Acta Physiolia Plantarum, 20: 405-410.
35- Razavi S.M. 2011. Plants coumarin as allelochemical agents, international journal of biological chemistry, 5 (1): 86-90.
36- Romagni J.G., Allen S.N., and Dayan F.E. 2000. Allelopathic effects of volatile Cineoles on two weedy plant species. Journal of Chemical Ecology, 26: 303–313.
37- Romero- Romero T., Sanchez-Nieto S., San Juan-Badillo A., Anaya A.L., and Cruz- Ortega R. 2005. Comparative effects of allelochemical and water stress in roots of *Lycopersicon esculentum* Mill. (Solanaceae). Plant Science, 168: 1059-1066.
38- Romero-Puertas M.C., Corpas F.J., Sandalio L.M., Leterrier M., Rodriguez-Serrano M., Del Rio L.A., and Palma JM. 2006. Glutathione reductase from pea leaves: response to abiotic stress and characterization of the peroxisomal isozyme. New Phytologist, 170: 43–52.
39- Rustaiyan A., Monfared A., and Masoudi Sh. 2001. The essential oil of *Ferula flabelliloba* Rech. f. et Aell., Journal of Essential Oil Research, 13 (6): 403-404.
40- Sahebkar A., and Iranshahi M. 2010. Biological activities of essential oils from the genus *Ferula* (Apiaceae). Asian Biomedicine, 4 (6): 835-847.
41- Scrivanti L.R., Zunino M., Zygadlo. 2003. *Tagetes minuta* and *Schinus areira* essential oils as allelopathic agents. Biochemical, Systematics and Ecology, 31: 563–572.
42- Seigler D.S. 1996. Chemistry and mechanism of allelopathic interactions. Agronomy Journal, 88: 876–885.
43- Singh H.P., Batish D.R., Kaur S., Arora K., and Kohli R.K. 2006. *a*-pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots, Annals of Botany, 98: 1261–1269.
44- Smirnoff N. 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. Annals of Botany, 78: 661–669.

45- Vaughn S.F., and Spencer G.F. 1993. Volatile monoterpenes as potential parent structures for new herbicides. Weed Science, 41: 114–119.
46- Weir T.L., Park S.W., and Vivanco J.M. 2004. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. Current Opinion in Plant Biology, 7: 472–479.
47- Wilt F.M., Miller G.C., Everett R.L., and Hackett M. 1993. Monoterpene concentrations in fresh, senescent, and decaying foliage of single- leaf pinyon (*Pinus monophylla* Torr. & Frem.: Pinaceae) from the western Great Basin. Journal of Chemical Ecology, 19: 185–194.
48- Yu J.Q., Ye S.F., Zhang M.F., and Hu W.H. 2003. Effects of root exudates and aqueous root extracts of cucumber (*Cucumis sativus*), and allelochemicals on photosynthesis and antioxidant enzymes in cucumber. Biochemical, Systematics and Ecology, 31: 129–139.