

بررسی پتانسیل آلوپاتیک گیاه دارویی مورخوش (*Zhumeria majdae* Rech.) بر دو رقم گندم (*Triticum sativum* Lam.)

نفسه امیدپناه^{۱*}، علی مرادشاهی^۲ و زهرا اسرار^۳

*- نویسنده مسئول، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

پست الکترونیک: omidpanah@yahoo.com

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شیراز

۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۰

تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۸۹

چکیده

گیاه دارویی مورخوش (*Zhumeria majdae* Rech.) از گذشته در طب سنتی جنوب ایران استفاده‌های بسیاری داشته‌است. اسانس‌های روغنی و عصاره‌های استخراج شده از اندام‌های مختلف گیاهان دارای اثرهای آلوپاتیک می‌باشند. در پژوهش حاضر، اثر آلوپاتیک غلظت‌های مختلف اسانس برگ گیاه مورخوش بر جوانه‌زنی، محتوای رنگدانه‌ای، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و گویاکول پراکسیداز در ارقام زمستانه آذر ۲ و سرداری گندم (*Triticum sativum* Lam.) بررسی گردید. رشد گیاهان در محیط کشت حاوی پرلیت و در گلخانه انجام شد. برای انجام تیمارها و آزمایشها از برگ گیاهچه‌های ۱۰ روزه گندم استفاده گردید. غلظت‌های مختلف اسانس به کمک محلول ۲/۵٪ صمغ عربی تهیه گردید. از دو تیمار آب مقطر و صمغ عربی به‌عنوان تیمارهای شاهد استفاده شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادند که درصد جوانه‌زنی، محتوای رنگدانه‌ای و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاهانی که با محلول صمغ عربی تیمار شده بودند برابر با درصد جوانه‌زنی، محتوای رنگدانه‌ای و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهانی بود که با آب مقطر تیمار گردیده بودند. با افزایش غلظت اسانس، درصد جوانه‌زنی و محتوای کلروفیل در برگ گندم در هر دو رقم کاهش و میزان کاروتنوئید افزایش یافت. همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و گویاکول پراکسیداز در حضور اسانس دستخوش روند افزایشی گردید. در نتیجه می‌توان بیان کرد که افزایش محتوا و فعالیت رنگدانه‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با پایین آوردن غلظت گونه‌های فعال اکسیژن از اثر آنها بر رشد و تکوین گیاه جلوگیری می‌نمایند.

واژه‌های کلیدی: مورخوش (*Zhumeria majdae* Rech.)، جوانه‌زنی، کاتالاز، گویاکول پراکسیداز.

مقدمه

گیاهان دارویی گونه‌های موجود در گیاهان تیره نعناع از اهمیت بالایی برخوردارند. بسیاری از گیاهان این تیره به دلیل داشتن اسانس‌های روغنی و انواع ترپنوئیدها مورد توجه هستند. بسیاری نیز دارای مصارف خوراکی و

از روزگاران قدیم، استفاده از گیاهان برای درمان و پیشگیری از انواع بیماریها بسیار رایج بوده‌است و گیاهان دارویی جایگاه خاصی در طب سنتی داشته‌اند. در بین

بین گیاهان دارویی، بومی و بکر بودن گیاه مورخوش که عضوی از این تیره است و استفاده فراوان افراد بومی از این گیاه جهت مصارف درمانی، پژوهش حاضر در مورد خواص آللوپاتیک اسانس برگ گیاه مورخوش بر برخی ارقام گندم و با هدف تعیین تغییرات درصد جوانه‌زنی، محتوای رنگدانه‌ای و فعالیت دو آنزیم کاتالاز و گویاکول پراکسیداز در گندم‌های تیمار شده با اسانس، انجام شد.

مواد و روشها

تهیه اسانس

ابتدا نمونه‌های گیاه مورخوش از منطقه لارستان جمع‌آوری گردید. آنگاه برگ نمونه‌های تهیه شده در سایه و دور از نور خورشید برای چند روز قرار داده شد تا خشک شوند. سپس به قطعات کوچکتری خرد شده و جهت تهیه اسانس مورد استفاده قرار گرفتند. اسانس‌گیری توسط دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب صورت گرفت. به این ترتیب که میزان ۶۰ گرم از برگ گیاه در بالن دستگاه ریخته شده و ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. اسانس‌گیری هر بار به مدت ۲ ساعت ادامه یافت.

تهیه غلظت‌های مختلف اسانس برگ گیاه مورخوش

در آزمایشهای زیست‌سنجی، به دلیل غیرقابل حل بودن اسانس در آب، یافتن ماده مناسبی که در زیست‌سنجی‌های مختلف اثرگذار نبوده و در عین حال حلال خوبی برای اسانس باشد، ضروری به نظر می‌رسد. برای این منظور از صمغ عربی استفاده شد. صمغ عربی یکی از صمغ‌های گیاهیست که در آب حل می‌شود. این ترکیب حاوی پلی‌ساکاریدهای پیچیده‌ای بوده که از چندین مولکول قند متفاوت و گروه‌های یورونیک اسید تشکیل شده‌است.

دارویی هستند و در طب سنتی و مدرن کاربرد دارند (Naghibi et al., 2005). گیاه دارویی مورخوش که متعلق به تیره نعنائیان می‌باشد، از زمانهای قدیم در طب سنتی منطقه هرمزگان و جنوب فارس مورد استفاده افراد بومی قرار می‌گرفته است. این گیاه در پایه و بُن چوبی و سخت است و به رنگ سفید یا خاکستری می‌باشد. مورخوش بسیار معطر بوده و در سال ۱۹۶۷ توسط محقق نروژی به نام Majdae Zhumer از منطقه قطب‌آباد استان هرمزگان جمع‌آوری و به اسلو نروژ برده شد. Richinger و Wenelbo (۱۹۶۷) این گیاه را جنس جدیدی از خانواده نعنائیان شناسایی کرده و به نام جمع‌آوری‌کننده‌اش *Zhumeria majdae* نامیدند (سلطانی‌پور، ۱۳۸۱).

افراد بومی مناطق هرمزگان و جنوب فارس از برگ این گیاه دارویی به صورت دم کرده و برای درمان ناراحتی‌های گوارشی، سرماخوردگی، رفع سردرد و التیام زخم‌ها و به عنوان خنکی برای رفع گرمای بدن استفاده می‌کنند. از مواد مؤثر موجود در اسانس این گیاه می‌توان به لینالول، کامفور، کامفن، لیمونن، اسیمن، ترپینولن، آلفاپینن، میرسن و ژرانیول اشاره کرد که همگی جزو ترپنوئیدها می‌باشند (Majrouhi, 2009). تحقیقات نشان داده‌است که اسانس‌های روغنی و عصاره‌های استخراج شده از اندام‌های مختلف گیاهان دارای اثر آللوپاتیک می‌باشند. مواد آلوشیمیایی می‌توانند در تمام بافت‌ها و اندام‌های گیاهان همانند ریشه، ساقه و برگ موجود بوده و به روشهای مختلفی نظیر تراوش از ریشه، نشست کردن و تجزیه بقایای گیاه از بافت‌های گیاهی آزاد شوند (Duke, 1985). همچنین مواد شیمیایی متنوعی می‌توانند از بخش‌های هوایی گیاه به وسیله باران یا قطرات شبنم نشست کنند (Cook, 1921). با توجه به اهمیت تیره نعنائیان در

تیمارها به صورت روزانه ادامه یافتند. پس از سه روز، انتقال ظروف پتری به روشنایی انجام شده و درصد جوانه زنی بررسی گردید. طرح آزمایشها کاملاً تصادفی بوده و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

اندازه گیری رنگدانه های کلروفیل و کاروتنوئید

برای اندازه گیری رنگدانه های کلروفیل و کاروتنوئید قطعاتی از برگ گیاهچه های تیمار شده گندم به طور تصادفی جدا شد. پس از شستشو با آب مقطر، ۲۰۰ میلی گرم از بافت برگ با استون ۸۰٪، کاملاً ساییده شد و حجم آن با استون به ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. محلول حاصل با سرعت ۴۸۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. از محلول فوقانی برای اندازه گیری رنگدانه ها استفاده گردید. بدین منظور جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر که قبلاً با استون ۸۰٪ تنظیم شده بود، در طول موج های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل (Arnon, 1959) و در طول موج های ۴۱۲، ۴۳۱، ۴۶۰ و ۴۸۰ نانومتر برای کاروتنوئید (Eijcklehoff & Dekker, 1997) اندازه گیری گردید و از فرمول های زیر برای محاسبه مقدار کلروفیل و کاروتنوئید برگ استفاده شد:

$$mgchl / g.f.w = \frac{\{20.2(OD645nm) + 8.02(OD663nm)\} \times v}{F.W \times 1000}$$

$$\beta - caroten \quad (mg / ml) = (-0 / 430 \times A_{412}) + (0 / 215 \times A_{431}) + (-4 / 376 \times A_{460}) + (13 / 246 \times A_{480})$$

PH=۶ اضافه می شود). سپس یک گرم از بافت برگ پس از شستشو با آب مقطر به وسیله نیتروژن مایع منجمد و خشک شده و به محلول فوق اضافه و هموزنه گردید (Lee & Shiamoto, 2001). فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز به

صمغ عربی واسطه مناسبی برای مخلوط کردن کامل اسانس روغنی با آب می باشد. ابتدا ۱۲۵ میلی گرم از صمغ عربی توزین و در مقداری آب مقطر حل گردید. سپس یک میلی لیتر اسانس به آن افزوده شده و توسط دستگاه Sonicator به شدت بهم زده شد تا جایی که مخلوطی شیری رنگ و یکنواخت بدست آمد. پس از آن حجم مخلوط با افزودن آب مقطر به ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. امولسیون بدست آمده به عنوان غلظت ۱۰۰٪ اسانس در نظر گرفته شد و غلظت های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد از آن تهیه گردیده و جهت انجام مراحل بعدی آزمایش استفاده شد. همچنین از آب مقطر و محلول صمغ عربی به عنوان تیمارهای شاهد استفاده گردید.

آزمایشهای جوانه زنی

جهت انجام این آزمایشها بذره های ارقام زمستانه گندم (آذر ۲ و سرداری) تهیه گردیده و پس از ضدعفونی شدن، در ظروف پتری قرار داده شدند. سپس بذره های قرار گرفته در ظروف مختلف پتری با استفاده از آب مقطر، صمغ عربی و غلظت های مختلف اسانس تیمار شدند. بذره های تیمار شده برای سه روز در تاریکی قرار گرفته و

اندازه گیری فعالیت آنزیمی

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز در گیاهچه های تیمار شده، ابتدا محلول ۰/۸ مولار KCl تهیه شد (۰/۶ گرم KCl به ۱۰ ml محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار با

آزمایشها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شده و در نهایت کلیه داده‌ها با استفاده از برنامه آماری SPSS ورژن ۱۳ و توسط آزمون‌های Anova و Duncan و در سطح $\alpha = 0/05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

همان گونه که مشاهده می‌شود، در جدول ۱، درصد جوانه‌زنی بذرهای گندم در حضور آب مقطر، محلول صمغ عربی و غلظت‌های مختلف اسانس، نشان داده شده‌است. تفاوت درصد جوانه‌زنی در حضور آب مقطر و محلول صمغ عربی در سطح $\alpha = 0/05$ معنی‌دار نمی‌باشد. در حضور اسانس جوانه‌زنی هر دو رقم آذر ۲ و سرداری کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد. البته با افزایش غلظت اسانس درصد جوانه‌زنی کاهش بیشتری می‌یابد و همان‌طور که مشاهده می‌شود کاهش جوانه‌زنی رقم سرداری کمی بیشتر از رقم آذر ۲ بوده‌است. در نهایت در غلظت‌های ۸۰ و ۱۰۰ درصد اسانس، جوانه‌زنی بذرهای هر دو رقم به صفر رسیده‌است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در دو رقم آذر ۲ و سرداری، صمغ عربی بر جوانه‌زنی بذرهای تأثیر معنی‌دار نداشته ولی اسانس جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

روش Mac Adam و همکاران (۱۹۹۲) و در دو گروه شاهد و تیمار شده براساس تغییرات جذب نور در طول موج‌های ۴۳۶ نانومتر در فواصل زمانی ۱۵ ثانیه‌ای برای مدت ۵ دقیقه ثبت و با یکدیگر مقایسه گردید. در مورد آنزیم کاتالاز، یک گرم از بافت برگ‌های آماده شده با ۱۰ ml بافر فسفات پتاسیم ۲۰۰ میلی‌مولار با $\text{PH}=7$ هم‌وزنه گردیده و بعد با ۱۰۰ میکرولیتر تریتون ایکس-۱۰۰ با غلظت ۰/۱٪ مخلوط شد. محلول فوق صاف گردیده و برای تعیین فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Aebi (۱۹۸۴) استفاده شد و کاهش جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر در فواصل زمانی ۵ ثانیه و به مدت یک و نیم دقیقه اندازه‌گیری گردید. در این بررسی‌ها، طرح آزمایشی کامل تصادفی و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

لازم به ذکر است در آزمایشهای مربوط به اندازه‌گیری رنگدانه‌ها و فعالیت آنزیمی، بذرهای جوانه‌زده گندم درون ظروف محتوی پرلیت کشت داده شده و با محلول غذایی هوگلند ۱/۲ قدرت تغذیه گردیدند. کلیه تیمارهای پس‌رویشی (تیمارهای پس از جوانه‌زنی بذرهای رویش گیاهچه‌ها) بر روی گیاهان ۸ روزه به مدت ۲ تا ۳ روز انجام شد. به دلیل انجام تیمارهای پس‌رویشی محلول‌ها و آب مقطر بر روی برگ‌ها و پرلیت اسپری گردیدند.

جدول ۱- اثر اسانس برگ گیاه مورخوش بر درصد جوانه‌زنی دو رقم آذر ۲ و سرداری گندم در ظروف پتری

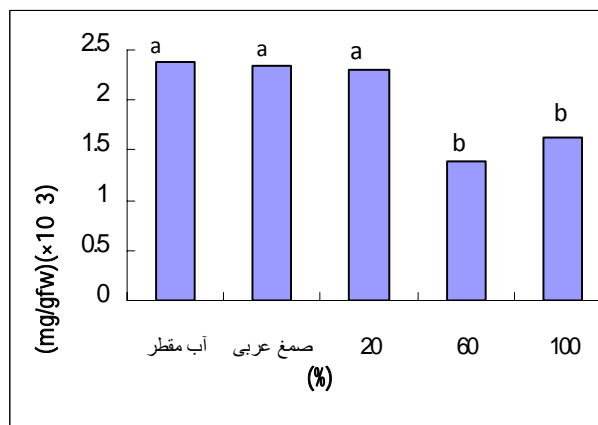
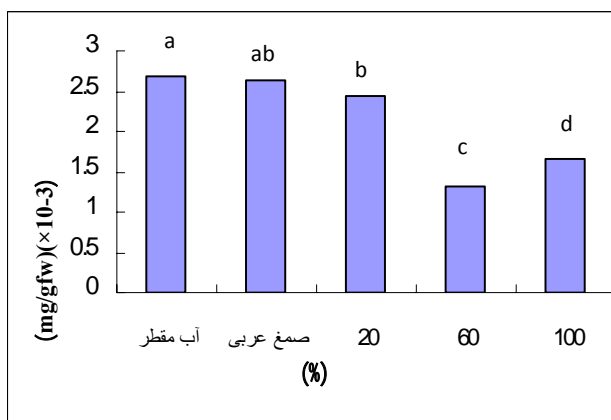
ارقام	آب مقطر	صمغ عربی	غلظت اسانس (%)			
			۱۰٪	۲۰٪	۴۰٪	۸۰٪
درصد جوانه‌زنی گندم سرداری	۱۰۰ a	۹۸ a	۹۰ b	۸۴ c	۷۸ d	۰ e
درصد جوانه‌زنی گندم آذر ۲	۹۸ a	۹۸ a	۹۴ a	۸۶ b	۷۸ c	۰ d

حروف متفاوت در هر ردیف براساس آزمون دانکن ($\alpha = 0/05$) دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

هر عدد نشان‌دهنده درصد جوانه‌زنی و میانگین سه تکرار می‌باشد.

شکل های ۱ و ۲، به ترتیب نشان دهنده اثر اسانس بر میزان کلروفیل گیاهچه های گندم آذر ۲ و سرداری می باشند. همان طور که مشاهده می شود، میزان کلروفیل در حضور آب مقطر و محلول صمغ عربی در هر دو رقم تفاوت معنی داری ندارد. در رقم آذر ۲، در حضور غلظت ۲۰٪ اسانس نیز میزان تغییر کلروفیل نسبت به گیاهان تیمار شده با آب مقطر و صمغ عربی معنی دار نمی باشد. با افزایش غلظت اسانس، کاهش بیشتری در میزان کلروفیل مشاهده می گردد، به طوری که در غلظت های ۶۰٪ و ۱۰۰٪ اسانس میزان کلروفیل نسبت به تیمارهای شاهد و ۲۰٪ کاهش معنی داری پیدا نموده است. مجدداً ملاحظه می گردد که در غلظت ۶۰٪ اسانس نسبت به غلظت ۱۰۰٪ اسانس میزان کلروفیل کاهش معنی داری را نشان می دهد. در مجموع، نتایج نشان می دهد که غلظت های زیاد اسانس می تواند میزان کلروفیل را کاهش دهد که این کاهش می تواند به علت اثر بر سنتز و یا شکستن کلروفیل و یا اثر بر هر دو پروسه باشد.

شکل های ۱ و ۲، به ترتیب نشان دهنده اثر اسانس بر میزان کلروفیل گیاهچه های گندم آذر ۲ و سرداری می باشند. همان طور که مشاهده می شود، میزان کلروفیل در حضور آب مقطر و محلول صمغ عربی در هر دو رقم تفاوت معنی داری ندارد. در رقم آذر ۲، در حضور غلظت ۲۰٪ اسانس نیز میزان تغییر کلروفیل نسبت به گیاهان تیمار شده با آب مقطر و صمغ عربی معنی دار نمی باشد. با افزایش غلظت اسانس، کاهش بیشتری در میزان کلروفیل مشاهده می گردد، به طوری که در غلظت های ۶۰٪ و ۱۰۰٪ اسانس میزان کلروفیل به طور معنی داری کاهش یافته و به ترتیب به حدود ۱/۴۵ و ۱/۶۵ میلی گرم به ازاء گرم وزن تر برگ می رسد. لازم به ذکر است که در حضور غلظت های ۶۰٪ و ۱۰۰٪ اسانس دامنه تغییرات میزان کلروفیل از لحاظ آماری در سطح $\alpha=0/05$ معنی دار نمی باشد. بنابراین همان طور که مشاهده می شود، در رقم



شکل ۱ و ۲- اثر پس رویشی اسانس برگ گیاه مورخوش بر میزان کلروفیل در ارقام آذر ۲ و سرداری گندم

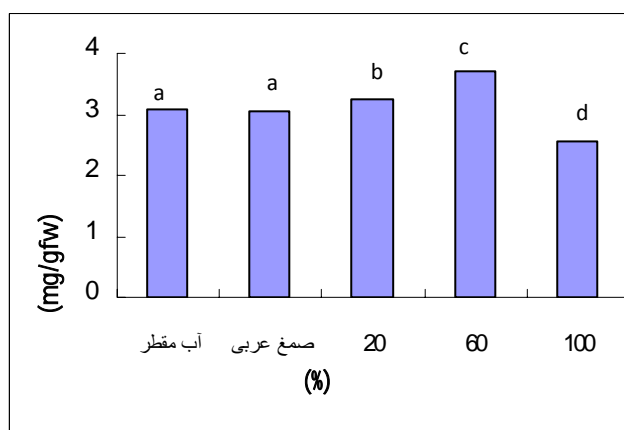
(گیاهان هشت روزه به مدت ۲ تا ۳ روز در معرض تیمارهای مختلف قرار گرفتند. هر عدد میانگین سه تکرار \pm SE می باشد.)

که در رقم آذر ۲، در گروههای شاهد (آب مقطر و صمغ عربی) میزان کاروتنوئیدها حدود ۲/۸ میلی گرم به ازاء گرم

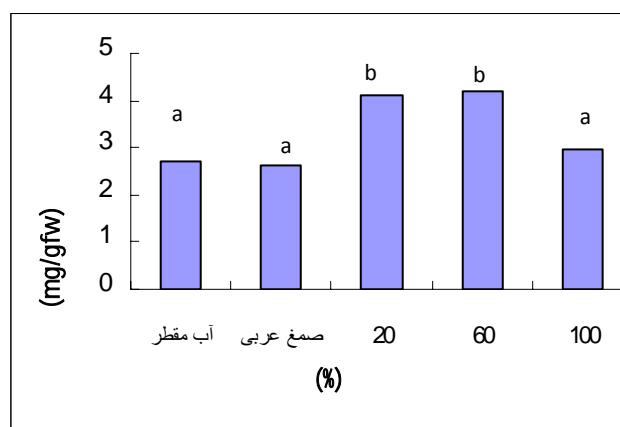
هنگامی که اثر اسانس بر میزان کاروتنوئیدها در دو رقم گندم بررسی گردید (شکل های ۳ و ۴)، مشاهده شد

در رقم سرداری میزان کاروتنوئیدها در گروههای شاهد اندکی بیشتر از رقم آذر ۲ و حدود ۳ میلی‌گرم به‌ازاء گرم وزن تر برگ بوده‌است. غلظت ۲۰٪ و ۶۰٪ اسانس سبب افزایش در کاروتنوئیدها گردیده، به‌طوری که این میزان به حدود ۳/۲ و ۳/۷ میلی‌گرم به‌ازاء گرم وزن تر برگ رسیده‌است. غلظت ۱۰۰٪ اسانس همانند رقم آذر ۲ سبب کاهش در میزان کاروتنوئیدها گردیده‌است که به حدود ۲/۶ میلی‌گرم به‌ازاء گرم وزن تر برگ رسیده‌است.

وزن تر برگ بوده‌است. در حضور غلظت‌های ۲۰٪ و ۶۰٪ اسانس میزان کاروتنوئیدها افزایش چشم‌گیری پیدا نموده و به حدود ۴/۲ و ۴/۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ رسیده‌است. در حضور غلظت ۱۰۰٪ اسانس نیز مجدداً میزان کاروتنوئیدها کاهش نشان داده‌است که به نظر می‌رسد به دلیل آسیب‌دیدگی شدید سیستم‌های دفاعی گیاه در حضور اسانس باشد. با توجه به نتایج حاصل، مشخص می‌گردد که صمغ عربی اثری بر میزان کاروتنوئیدها نداشته بلکه اسانس برگ مورخوش سبب افزایش کلی در محتوای کاروتنوئیدی برگ گیاهان گندم گردیده‌است.



شکل ۴- سرداری



شکل ۳- آذر ۲

شکل ۳ و ۴- اثر پس‌رویشی اسانس برگ گیاه مورخوش بر میزان کاروتنوئید در ارقام آذر ۲ و سرداری گندم

(گیاهان هشت روزه به مدت ۲ تا ۳ روز در معرض تیمارهای مختلف قرار گرفتند. هر عدد میانگین سه تکرار \pm SE می‌باشد).

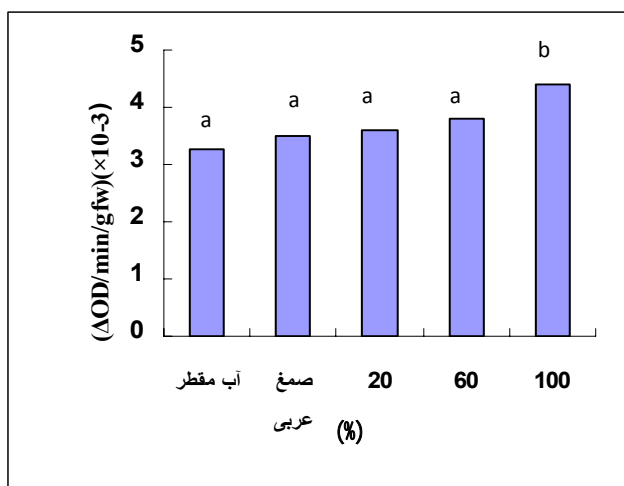
حضور اسانس و با افزایش غلظت آن فعالیت آنزیم بیشتر گردیده، به‌طوری که در حضور غلظت ۱۰۰٪ اسانس فعالیت آنزیم به حدود ۵ برابر گروههای شاهد رسیده‌است.

در رقم سرداری، فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز در گروههای شاهد حدود سه برابر رقم آذر ۲ بوده‌است. در حضور اسانس افزایش اندکی در فعالیت آنزیم مشاهده

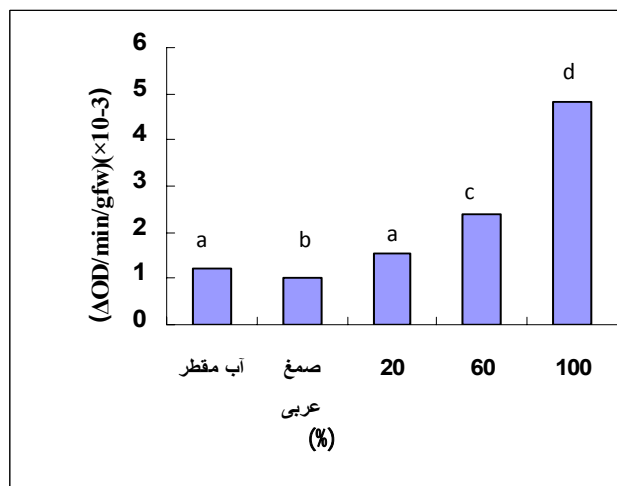
شکل‌های ۵ و ۶ نشان‌دهنده فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز (GP) در حضور اسانس می‌باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در رقم آذر ۲، میزان فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز در گروههای شاهد (تیمار با آب مقطر و صمغ عربی) کمتر از سایر تیمارها بوده‌است و صمغ عربی نیز باعث کاهش اندکی در فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز گردیده‌است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در

گرفت که فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز در ارقام مختلف گندم می‌تواند متفاوت باشد و در نتیجه پاسخ‌های متفاوتی نسبت به عوامل تنش را از خود نشان دهند.

می‌گردد، ولی از آنجایی که فعالیت اولیه آنزیم در این رقم بیشتر از رقم آذر ۲ بوده‌است، در حضور غلظت ۱۰۰٪ اسانس فعالیت آنزیم در هر دو رقم سرداری و آذر ۲ حدوداً برابر یکدیگر گردیده‌است. بنابراین می‌توان نتیجه



شکل ۶- سرداری



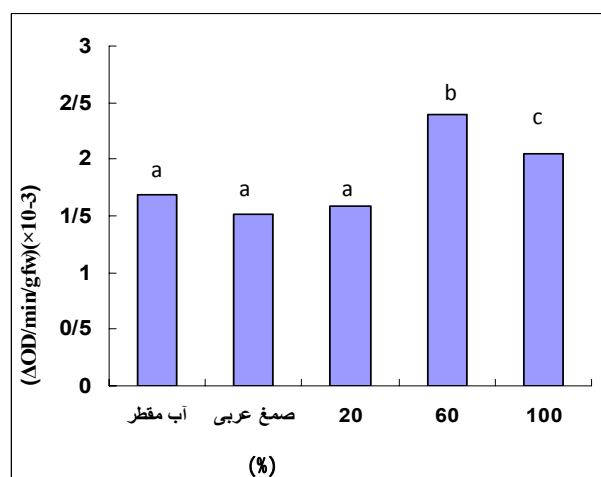
شکل ۵- آذر ۲

شکل ۵ و ۶- اثر تیمار پس‌رویشی اسانس برگ گیاه مورخوش بر فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز استخراج شده از برگ ارقام آذر ۲ و سرداری گندم

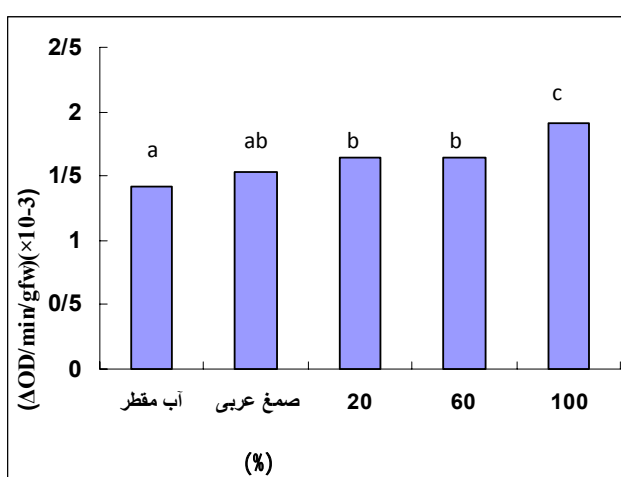
(گیاهان هشت روزه به مدت ۲ تا ۳ روز در معرض تیمارهای مختلف قرار گرفتند. هر عدد میانگین سه تکرار \pm SE می‌باشد).

در رقم سرداری، فعالیت آنزیم کاتالاز در گروه‌های شاهد و غلظت ۲۰٪ اسانس حدوداً برابر بوده و غلظت ۲۰٪ بر فعالیت آنزیم بی‌تأثیر بوده‌است، اما افزایش فعالیت آنزیم در حضور غلظت ۶۰٪ اسانس مشاهده می‌گردد. البته در غلظت ۱۰۰٪ اسانس، نسبت به ۶۰٪، کاهش در فعالیت آنزیم مشاهده می‌گردد، اما باز هم میزان فعالیت از گیاهان شاهد بیشتر می‌باشد. به‌طور کلی، فعالیت آنزیم کاتالاز به‌عنوان یک آنزیم آنتی‌اکسیدان در حضور اسانس تا اندازه‌ای افزایش نشان می‌دهد تا تنش اکسیداتیو گیاه کاهش دهد.

شکل‌های ۷ و ۸ منعکس‌کننده اثر تیمارهای شاهد و غلظت‌های ۲۰، ۶۰ و ۱۰۰ درصد اسانس بر فعالیت آنزیم کاتالاز دو رقم گندم می‌باشد. فعالیت آنزیم گیاهیچه‌های شاهد آذر ۲ تحت تیمار صمغ عربی اندکی بیشتر از فعالیت آنزیم در گیاهان شاهد تحت تیمار با آب مقطر بود، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد. غلظت‌های ۲۰٪ و ۶۰٪ اسانس نیز باعث افزایش جزئی در فعالیت آنزیم گردیده که این افزایش نسبت به گروه شاهد صمغ عربی از لحاظ آماری معنی‌دار نمی‌باشد. بیشترین افزایش در فعالیت آنزیم در غلظت ۱۰۰٪ اسانس حاصل گردیده‌است.



شکل ۸- سرداری



شکل ۷- آذر ۲

شکل ۷ و ۸- اثر تیمار پس‌رویشی اسانس برگ گیاه مورخوش بر فعالیت آنزیم کاتالاز استخراج شده از برگ ارقام آذر ۲ و سرداری گندم

(گیاهان هشت روزه به مدت ۲ تا ۳ روز در معرض تیمارهای مختلف قرار گرفتند. هر عدد میانگین سه تکرار \pm SE می‌باشد).

بحث

آنزیم‌هایی نظیر آلفا-آمیلاز است که در جوانه‌زنی نقش دارند. (Alam & Islam, 2002). اسانس استخراج شده از *Eucalyptus* و *E. globulus* سبب مهار جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های لویا (*Phaseolus aureus*) گردیده‌است. این اثرها به سینثول و لیمونن که از ترکیب‌های اصلی اسانس مذکور می‌باشند، نسبت داده شده‌است (ابراهیمی‌کیا، ۱۳۷۹). Asplund (۱۹۶۸) در مطالعه‌اش از مونوترپن‌بویدهای ۸،۱-سینثول و آلفا و بتا-پینن که از ترکیب‌هایی هستند که در اسانس برگ گیاه مورخوش نیز یافت می‌شوند (سلطانی‌پور، ۱۳۸۱)، استفاده کرد. وی در تیمار با این ترکیب‌ها اثر بازدارندگی شدیدی بر جوانه‌زنی بذر ترب (*radish*) مشاهده کرد. اسانس برگ *Eucalyptus camaldulensis* با داشتن پنج ماده اصلی آلفا-پینن، لیمونن، ۸،۱-سینثول، سیس‌اسیمن و آلفا-تریپینول اثر بازدارندگی چشمگیری بر جوانه‌زنی دارد، به طوری که در بسیاری از موارد درصد جوانه‌زنی

Alam و Islam (۲۰۰۲) گزارش کردند که محصولات شیمیایی برخی گیاهان در فعالیت‌های فیزیولوژیک سایر گیاهان مداخله نموده، به طوری که بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها اثر می‌گذارند. به نظر می‌رسد که بازدارندگی رشد دانه‌رست‌ها و مهار جوانه‌زنی به علت وجود ترکیب‌هایی نظیر آلفا-پینن (Schuler, 1990) باشد. در واقع در زمان جوانه‌زنی، تغییرات متابولیکی اولیه که پس از جذب آب رخ می‌دهد، آنزیم‌های هیدرولیتیک مثل آلفا-آمیلاز و پروتئاز را افزایش می‌دهند (Ayyaz khan et al., 2008). آلفا-آمیلاز یک آنزیم مهم تجزیه‌کننده نشاسته است که در اندوسپرم دانه‌های غلات وجود دارد. محصولات واکنش این آنزیم، سوبسترا و منبع انرژی را برای جنین در زمان جوانه‌زنی ایجاد می‌کنند (Ayyaz khan et al., 2008). به نظر می‌رسد که جلوگیری از جوانه‌زنی دانه گیاهان به علت تخریب در فعالیت

اندامک‌هایی نظیر میتوکندری و هسته (Fischer, 1991) و آسیب‌هایی از این دست سبب تحریک سنتز و فعالیت رنگدانه‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاروتنوئیدها می‌شود. موادی همانند آلفا-پینن که در اسانس گیاه مورخوش نیز یافت می‌شود سبب ایجاد اختلال در فسفریلاسیون اکسیداتیو و ممانعت از زنجیره انتقال الکترون می‌شود (Abraham *et al.*, 2000). ظاهراً افزایش محتوای رنگدانه‌های کاروتنوئیدی می‌تواند از واکنش‌های گیاه برای غلبه بر تنش‌های آللوپاتیکی نظیر اسانس بکار رفته در این پژوهش باشد.

در پژوهشی نشان داده شده که موادی نظیر آلفا-پینن که در اسانس برگ گیاه مورخوش نیز یافت می‌شود، سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو نظیر گویاکول پراکسیداز به میزان ۲ تا ۳ برابر نسبت به گروه شاهد می‌شود (Singh *et al.*, 2006). در میان بسیاری از گونه‌های فعال اکسیژن که در پاسخ به تنش‌های محیطی ایجاد می‌شوند، H_2O_2 به‌عنوان بزرگترین مولکول رادیکالی و روش مؤثر دفاعی عمل می‌کند (Foyer *et al.*, 1997). افزایش گویاکول پراکسیداز در شرایط استرس، همراه با افزایش آنزیم‌هایی نظیر کاتالاز می‌باشد. گزارش‌های مختلفی بیان می‌دارند که تنش اکسیداتیو افزایشی را در پاسخ سیستم‌های آنزیمی مربوط به فرایندهای جاروب کردن (scavenging) گونه‌های فعال اکسیژن تحریک می‌کند (Apel & Hirt, 2004; Joans & Smirnoff, 2005). قرار دادن گیاهان در معرض آلفا-پینن که در اسانس برگ گیاه مورخوش هم وجود دارد (سلطانی‌پور و همکاران، ۱۳۸۵)، سبب تحریک تنش اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن شده و نتایجی از قبیل آسیب به غشاء، افزایش لیپید پراکسیداسیون، تجمع پرولین و در

بذر گیاهان در غلظت ۰.۵٪ اسانس به صفر تنزل کرده‌است (ابراهیمی‌کیا، ۱۳۷۹). آلفا-پینن، لیمونن، سیس‌اسیمن و آلفا-تریپینول چهار ترکیبی هستند که در اسانس برگ گیاه مورخوش یافت می‌شوند و به نظر می‌رسد مهار جوانه‌زنی به علت وجود این ترکیب‌ها باشد (Soltani poor *et al.*, 2004). با توجه به این که در غلظت‌های بالای اسانس برگ مورخوش، درصد جوانه‌زنی به صفر کاهش می‌یابد، به نظر می‌رسد که مواد شیمیایی موجود در اسانس، قبل از سایر مکانیسم‌ها، سبب مهار آنزیم‌های مورد نیاز در جوانه‌زنی بذر می‌گردند (سلطانی‌پور و همکاران، ۱۳۸۵).

طیف وسیعی از مواد آلوشیمیایی قادرند با تغییر در مقدار کلروفیل در فرایند فتوسنتز گیاهان تحت تیمار اثر بگذارند. در بیشتر گزارش‌های مربوط به دگرآسیبی، مهار رشد با کاهش کلروفیل همراه است که ممکن است نسبت به خسارتهای دیگر سلولی یک اثر ثانویه ناشی از عملکرد مواد آلوشیمیایی ویژه‌ای باشد (Juboory & Ahmad, 1994). کاهش در مقدار کلروفیل می‌تواند در اثر افزایش فرایندهای متابولیسمی مربوط به سنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی جدید باشد. علاوه بر این، کاهش کلروفیل ممکن است مربوط به آسیب‌هایی باشد که به سیستم‌های فتوسنتزی وارد آمده‌است (Babu & Kandasamy, 1997).

Grassmann (۲۰۰۵) بیان می‌دارد که مواد مؤثره موجود در اسانس‌های روغنی به‌عنوان عوامل آللوپاتیک، سبب افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها نظیر رنگدانه‌ها کاروتنوئیدی می‌شوند. همچنین El-Rokiek و Eid (۲۰۰۹) اثر افزایشی اسانس *Eukalyptus citriodora* بر کاروتنوئید برگ‌های تازه آماریلیس را گزارش کردند. به نظر می‌رسد اسانس برگ گیاه مورخوش با افزایش تخریب در غشاهای زیستی

- سلطانی پور، م.، ۱۳۸۱. مقایسه ترکیبات اسانس برگ گیاه مورخوش *Zhumeria majdae* جمع آوری شده از مناطق مختلف استان هرمزگان در مراحل مختلف رشد و بررسی پتانسیل آللوپاتیک و خواص ضد میکروبی اسانس استخراج شده. پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد، رشته فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز.

- سلطانی پور، م.، مرادشاهی، ع.، رضایی، م.ب.، خلدبرین، ب. و برازنده، م.م.، ۱۳۸۵. اثرات دگرآسیبی اسانس گیاه مورخوش بر جوانه زنی بذور و رشد دانه گیاهان زراعی گوجه فرنگی و گندم. زیست شناسی ایران، ۱۹: ۲۸-۱۹.

- Abraham, D., Bragunini, 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 mize. *Journal of Chemical Ecology*, 26: 611-624.
- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126.
- Alam, S.M. and Islam, E.U., 2002. Effect of aqueous extract of leaf stem and root of nettleleaf goosefoot and NaCl on germination and seedling growth of rice. *Pakistan Journal of Science Technology*, 1(2): 47-52.
- Apel, K. and Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. *Annals Review of Plant Biology*, 55: 373-399.
- Arnon, D.I., 1959. Photosynthesis by isolated chloroplast IV. Central concept and comparison of three photochemical reactions. *Journal of Biochemistry, Biophysics Acta*, 20: 440-446.
- Asplund, R.O., 1968. Monoterpenes, relationship between structure and inhibition of germination. *Phytochemistry Journal*, 7(11): 1995-1997.
- Ayyaz Khan, M., Hussain, I. and Ahmad Khan, E., 2008. Allelopathic effect of *Eucalyptus camaldulensis* L. on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal of Weed Science Research*, 14(1-2): 9-18.
- Babu, R.C. and Kandasamy, O.S., 1997. Allelopathic effect of *Eucalyptus globules* labill on *Cyperus rotundus* L. & *Cynodon dactylon* L. *Pers. Journal of Agronomy and Crop Science*, 179(2): 123-126.
- Cook, M.T., 1921. Wilting caused by walnut trees. *Phytopathology*, 11: 217.
- Duke, S.O., 1985. *Weed Physiology*. Vol. 1, CRC Press, Inc. Florida, 272p.
- Eijcklehoff, C. and Dekker, J.P., 1997. A routine method to determine the chlorophyll alpha, pheophytin alpha and beta-carotene contents of isolated Photosystem II reaction center complexes. *Photosynthesis Research*, 52: 69-73.

نتیجه فعال شدن سیستم آنزیمی آنتی اکسیدانی را در پی دارد (Sekher Pannala et al., 2001). افزایش سیستم های آنزیمی جاروب کردن بیان کننده القای آنها توسط آلفا-پینن به عنوان مکانیسم دفاعی می باشد (Singh et al., 2006). به هر حال سیستم های ژنتیکی که در چنین پاسخ هایی درگیر هستند هنوز ناشناخته می باشند (Singh et al., 2006). البته به نظر می رسد در مواردی که آسیب اسانس به سیستم های آنزیمی و آنتی اکسیدانی گیاه بسیار بالاست (نظیر غلظت ۱۰۰٪ اسانس در شکل ۳ و ۴)، این سیستم ها قادر به واکنش مناسب نبوده و فعالیت آنها کاهش می یابد. در نهایت می توان نتیجه گرفت که متابولیت های ثانویه گیاهی به عنوان آللوکمیکال ها، فقط بر یک عمل فیزیولوژیکی مؤثر نبوده و بر اعمال متعددی از جمله جوانه زنی دانه، تقسیم سلولی، طویل شدن سلولی، نفوذپذیری غشاء، جذب یون و فعالیت سیستم های آنتی اکسیدان اثرگذار می باشند (Mutlu & Atici, 2009). افزایش محتوای رنگدانه های کاروتنوئیدی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان می تواند از واکنش های گیاه برای غلبه بر تنش های آللوپاتیک نظیر اسانس بکار رفته در این پژوهش باشد. حتی تغییر ژنتیکی در گیاهان (Patel et al., 2002) نیز می تواند تحت تأثیر این مواد باشد. اسانس برگ گیاه مورخوش نیز با توجه به دارا بودن موادی نظیر آلفا-پینن، دارای خواص آللوپاتیک قوی بوده و می تواند در مصارف دارویی و کشاورزی مورد استفاده قرار گیرد.

منابع مورد استفاده

- ابراهیمی کیا، ف.، ۱۳۷۹. اثرات دگرآسیبی عصاره آبی و اسانس برگ دو گونه اکالیپتوس بر برخی از علف های هرز و گیاهان زراعی. پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد، رشته علوم گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز.

- Mutlu, S. and Atici, O., 2009. Allelopathic effect of *Nepeta meyeri* Benth. Extracts on seed germination and seedling growth of some crop plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31: 89-93.
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed, S. and Ghorbani, A., 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2): 63-79.
- Patel, B., Achariya, B. and Bupripata, N.P., 2002. Allelopathic effects of Eucalyptus leaves on seed germination and seedling growth of winter wheat. *Proceeding of Indian Society of Allelopathy*. India, February, 12-14: 115-119.
- Rechinger, K.H. and Wendelbo, P., 1967. *Zhumeria majdae* Nytt. *Magazine Botanic*. 14(1): 39-34.
- Schuler, P., 1990. Natural antioxidants exploited commercially: 113-127. In: Hudson, B.J.F. (Ed.). *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science, London, 317p.
- Sekher Pannala, A., Chan, T.S., O'Brien, P.J. and Rice-Evans, C.A., 2001. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, 282(5): 1161-1168.
- Singh, H.P., Batish, D.R., Kaur, S., Arora, K. and Kohli, R.K., 2006. α -Pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots. *Annals of Botany*, 98(6): 1261-1269.
- Soltani poor, M., Rezaee, M.B. and Moradshahi, A., 2004. Study on antimicrobial effects of essential oil of *Zhumeria majdae* Rech. f. & Wendelbo. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 20(3): 277-289.
- El-Rokiek, K.G.I. and Eid, R.A., 2009. Allelopathic effect of *Eucalyptus citriodora* on amaryllis and associated grassy weed. *Planta Daninha*, 27: 887-899.
- Fischer, N.H., 1991. Plant terpenoid as allelopathic agents: 377-398. In: Harborne, J.B. and Tomas-Barberan, F.A., (Eds.). *Ecological Chemistry and Biochemistry of Plant Terpenoid*. Clarendon press, Oxford, London, 466p.
- Foyer, C.H., Lopez-Delgado, H., Dat, J.F. and Scott, I.M., 1997. Hydrogen peroxide -and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiologia Plantarum*, 100(2): 241-254.
- Grassmann, J., 2005. Terpenoids as plant antioxidants. *Vitamins and hormones Journal*, 72: 505-535.
- Joans, M.A. and Smirnoff, N., 2005. Reactive oxygen species in plant development and pathogen defence: 197-214. In: Smirnoff, N., (Ed.). *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*. Wiley-Blackwell, 320p.
- Juboory-BA, A. and Ahmad, M., 1994. The allelopathic effects of plant residues in some weed plants. *Arab Journal of Plant Protection*, 12(1): 3-10.
- Lee, K.G. and Shiamoto, T., 2001. Inhibition of malonaldehyde formation from blood plasma oxidation by aroma components isolated from clove and Eucalyptus. *Food and Chemical Toxicology*, 39: 1119-1204.
- MacAdam, J.W., Nelson, C.J. and Sharp, R.E., 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Journal of Plant Physiology*, 99(3): 872-878.
- Majrouhi, A.A., 2009. Chemical composition of the leaf essential oil of *Zhumeria majdae* growing in south Iran. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(3): 429-430.

Investigation on allelopathic potential of *Zhumeria majdae* Rech. essential oil on two wheat cultivars

N. Omidpanah^{1*}, A. Moradshahi² and Z. Asrar³

1*- Corresponding author, Department of Biology, College of Science, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

E-mail: omidpanah@yahoo.com

2- Department of Biology, College of Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

3- Department of Biology, College of Science, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

Received: August 2010

Revised: March 2011

Accepted: May 2011

Abstract

Zhumeria majdae Rech. has been used as traditional medicine in southern part of Iran. Essential oils and extracts from different parts of the plant have allelopathic effects. Present study investigated allelopathic effects of *Zhumeria majdae* Rech. essential oil on germination percentage, pigment content (chlorophyll and carotenoid) and antioxidant enzymes (catalase and Guaiacol Peroxidase) activities on two wheat cultivars, Azar2 and Sardari. Plants were grown in perlite and the 10- days treated plants were used for the measurements. Different concentrations of the essential oil were obtained by 2.5% Arabic Gum solution. Distilled water and 2.5% Arabic Gum solution were used as control. Results indicated that germination percentage, pigment content, and the two antioxidant enzymes activities of the species treated with Arabic Gum were equal to those of the species treated with distilled water. With increasing essential oil concentration, in both cultivars, the germination percentage and chlorophyll content decreased and the carotenoid content increased. In the presence of essential oil, catalase activity increased slightly in both cultivars. In conclusion, it could be stated that increment of pigment content and antioxidant enzymes activities reduce their harmful effects on growth and development of the species through lowering the Reactive Oxygen Species (ROS) concentration.

Key words: *Zhumeria majdae* Rech., germination, catalase, guaiacolperoxidase.