مجله پژوهش علف‌های هرز
جلد ۶، شماره ۲، ۱۳۹۳
صفحات ۱۷۰- ۱۵۳

اثرات سمی عصاره بقایای *Centrosema pubescens* و *Calopogonium caeruleum* روی جوانه زنی و رشد گیاهچه علف های هرز و ماندگاری فنولیک ها در خاک

Phytotoxic effects of *Centrosema pubescens* and *Calopogonium caeruleum* litter on seed germination and seedling growth of *Asystasia gangetica* and *Pennisetum polystachion*

بتول صمدانی[1*]، شکور جورایمی[2]، محمد رافی[3]

چکیده:

شناخت کنش های اللوپتیک بین گیاهان در شرایطی شبیه مزرعه می تواند در مدیریت آن‌ها در مزرعه نقش مهمی داشته باشد. توانایی اللوپتیک بقایای گیاهان پوششی *Centrosema pubescens* و *Calopogonium caeruleum* (هر دو از Fabaceae) که در زیر درختان نخل روغنی کشت شده بودند در آزمایشگاه و گلخانه روی علف های هرز *Asystasia gangetica* و *Pennisetum polystachion* (به ترتیب از Acanthaceae و Poaceae) بررسی شد. در آزمایشگاه عصاره بقایای سنتروسیما بطور معنی داری جوانه زنی اسیستاسیا و پنی ستوم را کاهش داد ولی کالوپوگونیوم روی آن ها اثری نداشت. هرچند هر دو گیاه پوششی میانگین زمان جوانه زنی علف های هرز را افزایش دادند. هر دو گونه گیاه پوششی طول ساقه چه اسیستاسیا را کاهش دادند و اثرات جلوگیری کنندگی کالوپوگونیوم روی رشد ساقه چه اسیستاسیا بیشتر بود. بهر حال افزایش غلظت عصاره بقایای مخلوط شده با خاک در آزمایش گلخانه ای اثری روی رشد ساقه، ریشه، وزن خشک و غلظت کلروفیل گیاهچه های این دو علف هرز نداشت. مطالعه تجزیه بقایا در خاک نشان داد که ترکیبات فنولیکی در بقایای این گیاهان پوششی در خاک پایدار نمی مانند. نتایج این آزمایش نشان داد که اثرات اللوپتیک این گیاهان پوششی روی جوانه زنی و رشد گیاهچه بستگی به گونه علف هرز داشت، بقایای این گیاهان پوششی در حضور خاک تاثیری روی رشد گیاهچه علف های هرز نداشت و فعالیت اللوپتیکی برای مدت طولانی در خاک پایدار نماند.

واژه‌های کلیدی: آللوپتی، عصاره، گیاه پوششی، *Asystasia, Penisetum*.

تاریخ دریافت:۱۳۹۳/۰۴/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۹/۲۶

۱- استادیار موسسه گیاهپزشکی کشور، بخش تحقیقات علف های هرز، تهران و دانشجوی دکتری دانشکده زراعت، دانشگاه پوترا مالزی، سردانگ ، مالزی
۲- استاد دانشکده زراعت، دانشگاه پوترا مالزی، سردانگ ، مالزی
۳- دانشیار دانشکده زراعت، دانشگاه پوترا مالزی، سردانگ ، مالزی
*- نویسنده مسئول Email: bsamedani@yahoo.com

مقدمه

یک قسمت جذاب ولی ناشناخته از رقابت گیاهان با یکدیگر اللوپتی مثبت یا منفی می باشد (Rice, 1984). تعداد زیادی از گیاهان قادر به تولید و آزاد سازی اللوکیمیکال ها هستند. اللوکیمیکال ها (مانند فنولیک ها، ترپنوییدها، الکالوییدها، کومارین‌ها، تانن‌ها، استروئیدها و کوئینین ها) از طریق ترشحات ریشه‌ای، مواد فرار، شستشوی برگ‌ها و دیگر قسمت‌های هوایی و تجزیه مواد گیاهی از گیاه به داخل محیط آزاد می‌گردند (Weir *et al.,* 2004; Xuan *et al.,* 2005). ترکیبات فنولیکی در بسیاری از مطالعات اللوپتی با جلوگیری از رشد بسیاری از گیاهان در ارتباط هستند. اللوکیمیکال ها اغلب به طور غیرمستقیم به وسیله تغییر تنوع و فراوانی میکوریزا، باکتری ها و یا دیگر ارگانیسم های خاک عمل می کنند (Callaway *et al*., 2008; Inderjit & Weiner, 2001). برای مدیریت علف های هرز، اللوپتی یک روش کنترل علف های هرز به علت دوستی آن با طبیعت محسوب می گردد (Zimdahl, 2007). شواهد برای اللوپتی از مطالعات روی استفاده از مالچ های آلی و مالچ های زنده (گیاهان پوششی) برای کنترل جوانه زنی علف های هرز منتج می گردد (Olofsdotter *et al.*, 1995). این روش های بیولوژیکی می‌تواند نقش مهمی در مدیریت تلفیقی علف های هرز داشته باشد و استفاده از علف کش ها را در کشاورزی کاهش دهد (Tesio *et al.*, 2012; Xuan *et al.*, 2005).

مطالعات اللوپتیکی در ابتدا بر بررسی اثر مواد اللوپتین بر جوانه زنی و رشد گیاهچه متمرکز بود، ولی از دهه ۹۰ مطالعات اللوپتیک از صرف کار آزمایشگاهی با به کارگیری مطالعات مزرعه ای همراه شد (Dakshini *et al.,* 1999; Lottina-Hennsen *et al.,* 2006). برای اینکه اللوپتی یک روش مفید کنترل علف های هرز باشد مطالعات آن به دقت بیشتری نیازمند است. برای مثال تنها خواص سمی یک عصاره وجود توانایی اللوپتی را اثبات نمی کند. از دید اللوپتیک، ترکیبات سمی اگر به داخل محیط آزاد نگردند و سرنوشت آنها در خاک در نظر گرفته نشود سودمند محسوب نمی شوند (Tesio *et al.*, 2012). ترکیبات اللوپتیک به وسیله خاک سریع جذب و یا اکسیده می شوند (Dalton *et al.,* 1989; Makino *et al.,* 1996). برای بهره برداری کامل از خواص فیتوتوکسینی گیاهان پوششی برای کنترل علف های هرز، روشن شدن نقش خاک در اثر بخشی آن ها در مزرعه نیاز می باشد (Dalton, 1999).

در مالزی استفاده از گیاهان پوششی در نخل روغنی از دهه ۶۰ متداول شده است. هدف اصلی از به کارگیری آنها افزایش تولید و حاصلخیزی خاک و نگه داری منابع غذایی خاک می‌باشد. گیاهان پوششی *Centrosema pubescens* و *Calopogonium caeruleum* گیاهان پوششی متداول در کشت نخل روغنی می‌باشند. این گیاهان علاوه بر رقابت با علف‌های هرز برای آب، مواد غذایی و نور می‌توانند اثرات اللوپتیک نیز داشته باشند (Mathews, 1998). چندین تحقیق روی توانایی اللوپتیک گیاهان لگوم و غیر لگوم انجام گرفته است، ولی اثرات اللوپتیک این گیاهان

پوششی در چندین تحقیق پراکنده بررسی شده است (Casini & Olivero, 2001; Shahid *et al.*, 1993). به هر حال بیشتر تحقیقات روی اثرات سمی برگ و مواد سمی استخراج شده از آن‌ها متمرکز است. بعضی تحقیقات نشان داده‌اند که تعداد کمی از گیاهان با این گیاهان پوششی همراه هستند (Goh & Chiu, 2007). بنابراین فرض بر این شد که ترکیبات فنولیک در گیاهان پوششی به داخل محیط آزاد می‌گردند و باعث اثرات بازدارندگی می گردند. برای بررسی این فرضیه این آزمایش انجام گرفت تا اثرات سمی بقایا روی جوانه زنی علف های هرز تحت شرایط آزمایشگاه مشخص گردد، اثرات سمی بقایا روی گیاهچه علف های هرز در حضور خاک بررسی گردد و تغییرات سطح فنولیک‌های محلول در آب در خاک در طول زمان بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

بقایای گیاهان *Centrosema pubescens* و *Calopogonium caeruleum* از لایه بالایی بستر واقع در یک مزرعه نخل روغنی ،که یک سال از عمر این گیاهان گذشته بود، جمع آوری شد. در آزمایشگاه بقایای پوسیده نشده و یا کمی پوسیده شده این گونه ها شامل برگ‌های افتاده قابل تشخیص، دمبرگ ها و شاخه ها، از بقایای دیگر گونه ها، خاک و هوموس جدا شدند. بقایا به مدت ۱۰ روز در دمای اطاق خشک شدند. بقایا سپس به پودر تبدیل شده و در پاکت های پلاستیکی برای استفاده بعدی نگهداری شد. بذور گونه های علف هرز *Asystasia gangetica* و *Pennisetum polystachion* که گونه‌های علف هرز غالب مزارع نخل روغنی هستند از همان مزرعه نخل روغنی جمع آوری شدند.

آماده سازی عصاره

۱۰۰ گرم بقایا در ۱ لیتر آب برای ۱۸ ساعت در دمای اطاق (حدود ۲۵ °C) خیسانده شدند و سپس از پارچه صافی و کاغذ صافی شماره ۱ واتمن رد شدند. عصاره سپس به وسیله آب مقطر رقیق شد تا غلظت های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ گرم در لیتر به دست آید. نمونه های رقیق شده در یخچال در ۴ °C تا زمان استفاده نگهداری شد. آب مقطر به عنوان شاهد (۰ گرم در لیتر) استفاده شد.

آزمایش اول بررسی اثر عصاره بقایا روی جوانه زنی

بذرهای به ظاهر سالم و یکنواخت از نظر اندازه برای ۱ دقیقه با محلول ۱/۵٪ هیپوکلرید سدیم ضد عفونی تیمار گردید و سپس ۳ بار به مدت ۳ دقیقه با آب مقطر شستشو شد. این تیمار از جوانه زنی بذر ها جلوگیری نمی کند. ۵ میلی لیتر از هر کدام از عصاره بقایا (۱۰، ۳۰ و ۵۰ گرم در لیتر) یا آب مقطر (برای شاهد) در پتری دیش های ۹ سانتی متری که کف آن‌ها دو لایه کاغذ صافی (شماره ۲ واتمن) وجود داشت ریخته شد. پتری دیش ها در دمای اطاق به مدت ۲ ساعت قرار گرفت تا دمای آن با دمای اطاق یکسان گردد. سپس ۲۵ بذر استریل شده علف‌های هرز در هر پتری دیش قرار گرفت. پتری ها با پارافیلم پوشانده شد تا از تبخیر آب و آلودگی آن‌ها جلوگیری گردد و برای ۹ روز در تاریکی در دمای اطاق (۲۵ ° C) نگهداری شد. آزمایش به صورت کاملا تصادفی با ۴ تکرار انجام

گرفت. تعداد بذرهای جوانه زده در تمام پتری ها روزانه تا ۹ روز شمارش شدند. جوانه زنی بذر وقتی که حداقل ۱ میلی متر ریشه چه از پوسته بذر خارج شده بود در نظر گرفته شد. طول ریشه چه و ساقه چه بعد از ۹ روز اندازه گیری شد.

درصد جوانه زنی کل بر اساس معادله ۱ اندازه گیری شد:

معادله ۱ $$FGP\ (\%) = \frac{Gsd \times 100}{N}$$

Gsd تعداد نهایی بذرهای جوانه زده و N تعداد بذرهای استفاده شده در آزمایش است و میانگین زمان جوانه زنی بر اساس معادله ۲ اندازه گیری شد:

معادله ۲ $$MGT\ (days) = \frac{\sum Dn}{\sum n}$$

n تعداد بذر های جوانه زده در روز D و D تعداد روزهای شمارش شده از آغاز جوانه زنی می باشد.

آزمایش دوم - اثر عصاره بقایای مخلوط شده با خاک روی رشد علف های هرز

آزمایش در گلدان های پلاستیکی ۵ × ۱۵ سانتی متری در گلخانه دانشگاه پوترا مالزی انجام شد. آزمایش در مارچ ۲۰۱۲ انجام گرفت. گلدان های پلاستیکی تحت شرایط گلخانه (دما ۲۵ °C حداقل و ۳۲ °C حداکثر، ۲٪ ± ۹۵ رطوبت نسبی، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) قرار گرفت. آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۴ تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل شش غلظت مختلف یعنی ۰ (آب مقطر)، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ گرم در لیتر بود. گونه های علف های هرز مورد آزمایش اسیستاسیا و پنی ستوم بودند.

خاک برای این آزمایش از مزرعه نخل روغنی جمع آوری شد. ۱۰ نقطه که عاری از گیاهان پوششی بود انتخاب شد و یک نمونه خاک از هر کدام از نقاط از عمق ۰-۲۰ سانتی متری جمع آوری شد. بقایای گیاهی موجود در خاک از خاک جدا شدند و سپس یک توده خاک یکنواخت به وسیله مخلوط کردن توده های خاک ساخته شد. خاک سپس خرد شد و از غربال ۲ میلی متری رد شد و در هوای آزاد خشک گردید. مشخصات خاک عبارت بود از: ۴۵/۱۹٪ = خاک رس، ۱۱/۳۵٪= لوم و ۴۳/۲۲٪ = شن ، pH= ۴/۶۹، سنتی مول بر کیلوگرم ۶/۴ = شوری، کل ازت= ۰/۱۲٪ ، پتاسیم قابل معاوضه = ۱/ ۴ پی پی ام، کلسیم قابل معاوضه = ۶۸/۳ پی پی ام، منیزیم قابل معاوضه = ۴۹/۳ پی پی ام و مواد آلی خاک = ۱/۴٪. دویست و پنجاه گرم خاک در هر گلدان قرار داده شد.

بذر علف های هرز برای ۳ روز در تاریکی نگهداشته شدند تا جوانه بزنند. سپس گیاهچه های ۳ روزه به گلدان ها منتقل شدند. به هر گلدان ۱۰ گیاهچه منتقل شد و سپس ۵۰ میلی لیتر از عصاره بقایا به هر گلدان اضافه شد. طول ریشه، ساقه و وزن خشک گیاهچه بعد از ۲ هفته یادداشت شد. طول ساقه پنی ستوم از سطح زمین تا انتهای نوک بلندترین برگ اندازه گیری شد. طول ساقه اسیستاسیا از سطح زمین تا نوک ساقه اندازه گیری شد. ساقه ها و ریشه ها از هم جدا گردیدند و پس از شستشو با آب در درجه حرارت ۷۰°C برای ۷۲ ساعت خشک شدند. وزن خشک کل عبارت از وزن خشک ساقه و ریشه بود.

برای اندازه گیری میزان کلروفیل برگ ۲۰۰ میلی گرم از برگ های هر گلدان بریده شد و در

لوله های حاوی ۲۰ میلی لیتر استون ۸۰٪ قرار داده شد. درب لوله ها سریع بسته و در تاریکی برای مدت ۷۲ ساعت قرار گرفت. میزان جذب نور در ۶۴۵ نانومتر و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از یک اسکنینگ اسپکتروفتومتر (مدل UV-3101PC, UV-VIS NIR) اندازه گیری شد. میزان کلروفیل بر حسب میلی گرم در گرم برگ از نمونه ها از معادله زیر اندازه گیری شد:

معادله۳

$$\text{میزان کلروفیل a} = \frac{12.7\,(A663) - 2.69\,(A645)}{1000} \times \frac{V}{W}$$

(میلی گرم در گرم برگ تازه)

$$\text{میزان کلروفیل b} = \frac{22.9\,(A663) - 4.86\,(A645)}{1000} \times \frac{V}{W}$$

(میلی گرم در گرم برگ تازه)

$$\text{کل میزان کلروفیل} = \frac{V}{W}\frac{20.2(A645) - 2.69\,(A663)}{1000} \times$$

که در آن

A645: جذب محلول در ۶۴۵ نانومتر

A663: جذب محلول در ۶۶۳ نانومتر

V: حجم محلول به میلی لیتر،

W: وزن برگ تازه بر حسب گرم می‌باشد. ضرایب جذب ۱۲/۷، ۲/۶۹، ۲۲/۹، ۴/۸۶، ۲۰/۲ و ۸/۰۲ بود.

آزمایش سوم - سرنوشت فنولیک ها در خاک

آزمایش در گلدان های با حجم ۱۰۰ سانتی متر مکعب در گلخانه (همانند شرایط آزمایش دوم) انجام شد. ۵ گرم از بقایای گیاهان پوششی با ۲۵۰ گرم خاک (جمع آوری شده از مزرعه نخل روغنی) به طور یکنواخت مخلوط شد و در گلدان ها قرار داده شد. برای تجزیه زودتر بقایا ۱۵ میلی لیتر از یک مایع میکروبی به هر گلدان اضافه شد. این مایع میکروبی با مخلوط کردن ۱۵۰ گرم خاک تازه که از یک مزرعه زراعی جمع آوری شده بود با ۱۰ میلی لیتر محلول هوگلند و ۱۵ میلی لیتر آب در تاریکی برای ۴ روز به دست آمد. سپس ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و سوسپانسیون حاصله از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شد (Ohno & Doolan, 2001). گلدان ها با کاغذ آلومینیوم سوراخ شده پوشیده شد و در تاریکی در گلخانه نگهداری شد. گلدان ها به صورت هفتگی وزن شد تا میزان آب اولیه آن حفظ گردد. میزان فنولیک در ۰، ۱، ۲، ۳، ۴، و ۵ هفته بعد از شروع آزمایش در یک سری ۳ تایی از هر گونه علف هرز اندازه گیری شد.

تمام ۲۵۰ گرم خاک هر گلدان به وسیله ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر فیلتر شد و برای ۱ ساعت در درجه حرارت اطاق به وسیله شیکر به هم زده شد و سپس از طریق فیلتر واتمن شماره ۱ فیلتر شد. عصاره حاصل در درجه حرارت ۴ °C نگهداشته شد. میزان فنولیک در این عصاره به وسیله روش فولین سیوکلتو[1] اندازه گیری شد. برای اندازه گیری ۱ میلی لیتر از عصاره خاک در یک لوله آزمایش قرار داده شد و ۵ میلی لیتر از محلول ۲٪ کلرید سدیم در محلول هیدروکسید سدیم با نرمالیته ۰/۱ اضافه شد و مخلوط شدند. ۵ دقیقه بعد ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکلتو اضافه شد و محلول دوباره مخلوط گردید. جذب با استفاده از اسپکترفوتومتر (مدل UV-3101PC, UV-VIS NIR) در ۷۶۰ نانومتر بعد از دو ساعت خوانده شد.

[1] Folin- Ciocalteu

یک نمودار استاندارد، ۲۵ تا ۵۰۰ پی پی ام بستگی به غلظت فنولیک در آزمایش، با استفاده از محلول گالیک اسید در آب به روش مشابه آماده شد و سپس غلظت فنولیک در عصاره خاک براساس منحنی استاندارد اندازه گیری شد. برای اندازه گیری ترکیبات فنولیک در بافت گیاهی ۵ گرم بافت گیاهی با ۵۰ میلی لیتر آب مقطر عصاره گیری شد. برای اندازه گیری ترکیبات فنولیک قابل حل در استون در بافت گیاهی یا نمونه خاک از همین روش استفاده شد، ولی عصاره ها با محلول استون ۷۰٪ استخراج شدند.

آنالیز آماری

آنالیز رگرسیون برای تعیین ارتباط میان متغیرها و تیمارها با استفاده از نرم افزار سیگماپلات (نسخه ۱۱) انجام گرفت.

نتایج

میزان جوانه زنی اسیستاسیا به طور خطی با افزایش غلظت عصاره سنتروسیما ($P= 0.008$) کاهش پیدا کرد، ولی تحت تاثیر عصاره کالو پوگونیوم ($P= 0.455$) قرار نگرفت (شکل ۱). میزان جوانه زنی پنی ستوم تنها بوسیله تیمار سنتروسیما ($P= 0.011$) کاهش پیدا کرد. روند کاهش جوانه زنی پنی ستوم همزمان با افزایش غلظت عصاره سنتروسیما به صورت خطی بود. اثر عصاره کالو پوگونیوم روی جوانه زنی پنی ستوم بی معنی ($P= 0.473$) بود (شکل ۲). غلظت های مختلف عصاره گیاهان پوششی میانگین زمان جوانه زنی اسیستاسیا را تحت تاثیر قرار داد. میانگین زمان جوانه زنی اسیستاسیا به طور خطی همچنان که غلظت بقایا افزایش پیدا کرد، افزایش یافت (شکل ۳). به طور مثال در تیمار سنتروسیما بیشترین میزان میانگین زمان جوانه زنی اسیستاسیا (۶/۵۰ روز) در بیشترین غلظت عصاره (۵۰ گرم در لیتر) دیده شد و در غلظت های ۳۰ (۶/۲۸ روز)، ۱۰ (۶/۰۴ روز) و ۰ (۵/۹۳ روز) روند کاهشی ادامه یافت. در گونه علف هرز پنی ستوم نیز میانگین زمان جوانه زنی به طور معنی دار و خطی با افزایش غلظت عصاره سنتروسیما و کالوپوگونیوم کاهش پیدا کرد (شکل ۴).

طول ساقه چه اسیستاسیا به طور خطی و معنی دار به وسیله تیمار سنتروسیما ($P= 0.017$) کاهش پیدا کرد (شکل ۵) و به طور کامل مقاوم به کالوپوگونیوم ($P= 0.052$) بود. طول ساقه چه پنی ستوم با هر دو تیمار گیاه پوششی کاهش یافت، ولی این کاهش معنی دار نبود (شکل ۷). طول ریشه چه اسیستاسیا و پنی ستوم با افزایش غلظت عصاره بقایای دو گیاه پوششی در محیط کاهش یافت، ولی این کاهش معنی دار نبود (اشکال ۶ و ۸).

اختلاط عصاره بقایای سنتروسیما و کالوپوگونیوم با خاک اثر تحریک کنندگی روی طول ساقه اسیستاسیا و پنی ستوم داشت و این اثر تحریک کنندگی با افزایش غلظت عصاره بقایای مخلوط شده با خاک سنتروسیما و کالوپوگونیوم افزایش یافت، ولی میزان همبستگی بین غلظت عصاره و طول ساقه اسیستاسیا ($R= 0.722, R= 0.045$) و پنی ستوم ($R= 0.534, R= 0.622$) زیاد نبود. تغییرات افزایشی در طول ریشه اسیستاسیا و کاهشی در طول ریشه پنی ستوم در غلظت های مختلف این گیاهان پوششی ناچیز بود. وزن خشک گیاهچه های اسیستاسیا و پنی ستوم با افزایش

غلظت عصاره بقایای سنتروسیما و کالوپوگونیوم مخلوط شده با خاک یک افزایش خطی نشان داد، ولی این افزایش برای اسیستاسیا (R= 0.072, R= 0.650) و پنی ستوم (R= 0.033, R= 0.790) معنی دار نبود. اختلاط عصاره بقایای سنتروسیما و کالوپوگونیوم با خاک بر میزان کل کلروفیل در برگ های اسیستاسیا و پنی ستوم اثر نداشت.

اثر مدت زمان آزاد سازی ترکیبات فنولیکی قابل حل از بقایا به داخل خاک به وسیله گیاهان پوششی سنتروسیما و کالوپوگونیوم در اشکال ۹ و ۱۰ نشان داده شده است. ترکیبات فنولیکی به طور معنی داری در طول ۶ هفته زمان تجزیه کاهش پیدا کردند. به هرحال مشهود بود که در طول فاز ابتدایی (هفته ۰) غلظت ترکیبات فنولیکی بالا بود، اما به طور ناگهانی ۱ هفته بعد از نگهداری کاهش پیدا کرد و سطح آن کم و بیش تا آخر زمان آزمایش ثابت ماند. در یک هفته بعد از آزمایش میزان ترکیبات فنولیکی در سنتروسیما ۷۹٪ و در کالوپوگونیوم ۷۳٪ بود و در هفته دوم این میزان به ۴۰ ٪ در سنتروسیما و ۵۳ ٪ در کالوپوگونیوم رسید. به هر حال بعد از سه هفته بقایای هر دو گیاه پوششی یک میزان مشابه ترکیبات فنولیکی یعنی حدود ۳۰٪ را تا آخر آزمایش نشان دادند (اشکال ۹ و ۱۰).

ترکیبات فنولیکی قابل حل در آب و استون ساقه و بقایای مخلوط کشت شده سنتروسیما و کالوپوگونیوم در مزرعه نشان داد که سطح ترکیبات فنولیکی در خاک با افزایش زمان کشت افزایش یافت و ترکیبات فنولیکی قابل حل در استون بیش از ترکیبات فنولیکی قابل حل در آب بود (جدول ۱). سطح ترکیبات فنولیکی در ساقه مخلوط این گیاهان پوششی بیشتر از بقایای آن ها بود. ترکیبات فنولیکی قابل حل در آب در ساقه ۶۴۱ پی پی ام و در بقایا ۱۷۲ پی پی ام بود. ترکیبات فنولیکی قابل حل در استون در ساقه ۶۲۰ پی پی ام و در بقایا ۱۵۶ پی پی ام بود (جدول ۱).

بحث

خاصیت سمی بقایای سنتروسیما و کالوپوگونیوم با استفاده از بررسی عصاره آبی آن‌ها بررسی شد و این اثرات روی میزان جوانه زنی بذرها و رشد گیاهچه علف های هرز مطالعه شد. علت اهمیت مطالعه جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه محوری بودن این مرحله برای استقرار گیاهچه و پویایی جمعیت گونه های گیاهی می باشد (Xing *et al.*, 2003). به علاوه، محل فعالیت اللوکیمکال ها تقسیم سلولی، جوانه زنی گرده، جذب مواد غذایی، فتوسنتز و فعالیت آنزیم های به خصوص می باشد، ولی جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه محل اثری است که همه محققان بر آن اتفاق نظر دارند (Ferguson & Rathinasabapathi, 2009).

عصاره بقایای سنتروسیما از جوانه زنی اسیستاسیا و پنی ستوم جلوگیری کرد، ولی عصاره بقایای کالوپوگونیوم اثری بر جوانه زنی آن ها نداشت. به هر حال سنتروسیما و کالوپوگونیوم زمان جوانه زنی هر دو بذر علف هرز اسیستاسیا و پنی ستوم، را افزایش دادند. این نتایج شبیه نتایجی است که تسیو و همکاران (Tesio *et al.*, 2012) به دست آوردند. آن‌ها نشان دادند که *Helianthus tuberosus* جوانه زنی کاهو را به تعویق انداخت

بدون این که اثری روی میزان جوانه زنی آن داشته باشد. این یافته ها بیانگر این است که تنها تاکید روی کل میزان جوانه زنی در طول بررسی اثرات اللوکیمیکال ها، در بعضی شرایط ممکن نیست یک تصویر از چگونگی جوانه زنی به دست بدهد. حتی اگر چه میزان جوانه زنی در نهایت شبیه میزان جوانه زنی در شاهد باشد، ممکن است روند جوانه زنی متفاوت باشد. در محیط هایی که که رقابت شدید با علف‌های هرز برای مواد غذایی وجود دارد، حتی یک مقدار جزیی تاخیر در جوانه زنی علف هرز ممکن است باعث برتری گونه گیاهی در مقابله با یک علف هرز مهاجم گردد (Callaway & Walker, 1997).

رشد گیاهچه دو گونه علف هرز در حساسیت به واکنش های اللوپتیکی متفاوت بود. هر دو گونه گیاه پوششی سنتروسیما و کالوپوگونیوم در جلوگیری از رشد ساقه چه اسیستاسیا (علف هرز پهن برگ) موثرتر از پنی ستوم (علف هرز باریک برگ) بودند و اسیستاسیا حساسیت بیشتری به تیمار کالوپوگونیوم نشان داد. به طوری که کاهش رشد ساقه چه آن در تیمارهای سنتروسیما و کالوپوگونیوم در بیشترین میزان غلظت عصاره، یعنی ۵۰ گرم در لیتر به ترتیب ۲۹٪ و ۴۴٪ بود. اختلاف در واکنش گونه های علف هرز به عصاره بقایای گونه های گیاه پوششی ممکن است به علت اختلافات تکاملی در مقاومت به ترکیبات اللوپتیکی در میان گونه های مختلف باشد (Hunter & Mengers, 2002; Qasem, 2001). اختلاف در اثرات اللوپتیک عصاره گیاهان پوششی ممکن است از اختلاف در غلظت اللوکیمکال های قابل پخش، اختلاف در ترکیب مواد شیمیایی یا تفاوت قلیایی بین عصاره بقایای گیاهان پوششی ناشی شده باشد (Batish *et al*., 2007; Dorning & Cipollini, 2006). جوانه زنی اسیستاسیا به وسیله عصاره بقایای کالوپوگونیوم تحت تاثیر قرار نگرفت. هر چند طول ساقه چه آن به طور معنی داری کاهش یافت. در تحقیقی مشابه، کازینی و اولیورو (Casini & Olivero, 2001) عصاره بذر، عصاره آبی بقایا و عصاره ریشه سه گونه گیاهان پوششی لگوم را روی جوانه زنی و رشد رویشی *Imperata brasiliensis* آزمایش کردند. عصاره بقایای ساقه تمام گیاهان پوششی باعث افزایش جوانه زنی شد در حالی که ایندکس جوانه زنی (میزان جوانه زنی × طول ساقه چه) به طور معنی داری کاهش یافت. همچنین اویرینده و همکاران (Oyerinde *et al*., 2009) مشاهده کردند که عصاره آبی ساقه تازه *Tithonia diversifolia* اثرات اللوپتیک روی جوانه زنی ذرت نشان ندادند، به هر حال طول ریشه چه و ساقه چه آن به طور معنی داری به وسیله این عصاره کاهش یافت. این نتایج نشان می دهد که حتی اگر بذرها تحت تاثیر مواد اللوپتیک قادر به جوانه زنی باشند، نشاهایی ایجاد می کنند که قادر به رشد نیستند.

در این آزمایش طول ریشه، طول ساقه، وزن خشک و کل میزان کلروفیل جمع آوری شده نشاهای علف های هرز شبیه با گیاهچه های شاهد بود و حتی در بعضی غلظت ها این متغیر ها را افزایش داد. به علاوه آزمایش حاضر نشان داد که برگ نشاهایی که با عصاره ها تیمار شدند به نظر سالم تر و شاداب تر از برگ های تیمار شاهد

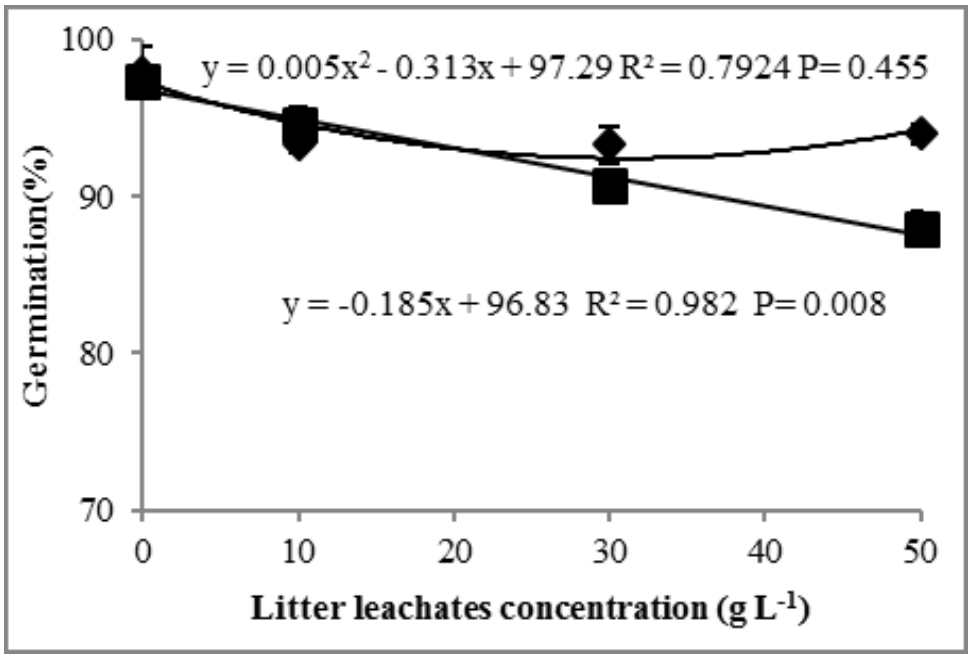
بودند. این نتایج مشخص کرد که عصاره آبی بقایای گیاهان پوششی می تواند اثرات متفاوت روی رشد نشا، بسته به نوع محیط کشت (با یا بدون خاک)، داشته باشد. نشان داده شده است (Oyerinde *et al.*, 2009) که ذرتی که با عصاره آبی *T. diversifolia* تیمار شده بود در طی نمو میزان مواد بیشتری انباشت کرده بود، به طوری که در طول ساقه و وزن خشک و تر نسبت به شاهد بیشتر نمودار شد. شبیه به چنین اثری برای نشاهای گندم که از مالچ سنا به عنوان منبع اللوپتیک استفاده شده بود، گزارش شده است (Hussain *et al.*, 2007). همچنین اوهنو و همکاران (Ohno *et al.*, 2000) نشان دادند که بقایای شبدر به طور معنی داری رشد ریشه چه خردل وحشی را ۸ روز بعد از اختلاط بقایا با خاک به میزان ۲۰٪ کاهش داد. آنها معتقدند که ترکیبات فنولیکی که از طریق پوسیدن بقایای شبدر آزاد می گردند به وسیله خاک جذب و یا اکسیده می شوند و بنابر این فنولیک های جذب شده خیلی بیشتر از فنولیک های قابل حل مهیا بودند. در مطالعه دیگری اوهنو و دولان (Ohno & Doolan, 2001) نشان دادند که در در طول ۵ هفته نگهداری بقایای شبدر قرمز در غیاب خاک ترکیبات فنولیکی حاصل از تجزیه شبدر قرمز، در مقایسه با زمان کوتاه سمیت این بقایا در خاک مزرعه، پایدار باقی ماندند. این نتایج نشان می دهد که واکنش جذب یک فاکتور کلیدی در میزان سمیت می‌باشد که بعد از مخلوط کردن بقایا با خاک مشاهده می‌شود.

مطالعات محدودی در زمینه اثرات اللوپتیک سنتروزما و کالوپوگونیوم انجام گرفته است از جمله شهید و همکاران (Shahid *et al.*, 1993) نشان دادند که جوانه زنی، طول ریشه چه و وزن خشک اسیستاسیا وقتی در معرض غلظت ۶۶/۶ گرم در لیتر کالوپوگونیوم قرار گرفت کاهش پیدا کرد، اما این خصوصیات تحت تاثیر سنتروزما قرار نگرفت. تحقیقات نشان دادند که غلظت ترکیبات فنولیکی ۱۰۰۰-۱۰۰ پی پی ام از نظر اللوپتیکی فعال هستند و برای گیاهچه ها سمی می باشند (Guenzi & McCalla, 1962; Ohno *et al.*, 2000; Whitehead *et al.*, 1981). در این تحقیق غلظت فنولیک ها در ساقه، بقایا و نمونه‌های خاک مزرعه بیش از ۱۰۰ پی پی ام بود که تایید می کند گیاهان پوششی مطالعه شده دارای توانایی اللوپتیکی هستند.

مطالعه نگهداری بقایای گیاهان پوششی در خاک برای به دست آوردن آگاهی از سرانجام اللوکیمکال های بقایا در خاک برای چندین هفته تحت شرایط شبیه شرایط طبیعی انجام شد. ترکیبات فنولیکی استخراج شده با آب از نظر اکولوژیکی خیلی مهم هستند (Whitehead *et al.*, 1981). بنابر این در مطالعه حاضر تنها فنولیک های قابل حل در آب موجود در خاک بررسی شدند. نتایج نشان داد که فنولیک های حل شده در طول ۶ هفته تجزیه کاهش پیدا کردند. میزان فنولیک خاک که نتیجه تجزیه بقایا بود در زمان آغاز بالا بود (۰ هفته)، اما یک هفته پس از نگه داری میزان آنها به طور محسوسی کاهش پیدا کرد و سپس در طول بقیه هفته ها ثابت باقی ماند. میزان فنولیک ها در خاک بعد از هفته اول حدود ۷۵٪ بود و پس از هفته ششم ۳۰٪ بود. ناپدید شدن سریع فنولیک ها

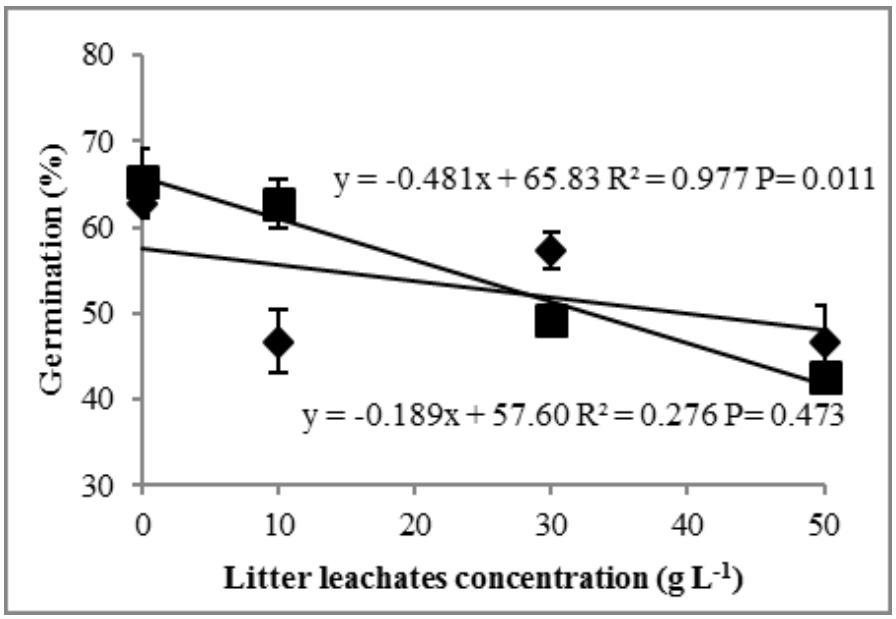
در طی هفته اول و یا ماه اول گزارش شده است. شوفیلد و همکاران (Shofield *et al.*, 1998) ناپدید شدن بیش از ۵۰٪ فنولیک ها از برگ های بید در طول دو هفته نگهدای را گزارش کردند. رشید و همکاران (Rashid *et al.*, 2010) گزارش کردند که ۶۹٪ از فنولیک های قابل حل در خاک در طول هفته اول نگهداری بقایای Pueraria montana باقی مانند و میزان فنولیک ها بعد از ششمین هفته ۶۲٪ بود. کاهش میزان فنولیک ها در طول شش هفته نشان می دهد که میکروارگانیسم ها در طول زمان نگهداری بقایا فنولیک ها را استفاده می کنند (Ohno & Doolan, 2001). هر چند، این آزمایش نشان داد که خاک و شرایط محیطی مسئول تجزیه سریع مواد آلی و تغییرات فنولیک ها هستند.

به طور کلی نتایج این آزمایش مشخص ساخت که بقایای گیاهان پوششی اثرات اللوپتیک بر گونه های مجاور خود دارند. هر چند، اثرات اللوپتیکی بقایا روی جوانه زنی بستگی به گونه علف هرز دارد. واکنش های بین خاک و گیاهان فاکتورهایی هستند که به نظر می رسد بر اثرات سمیت اللوپتین ها روی رشد نشا اثر می گذارد و این فاکتور باید در مطالعات اللوپتیکی مد نظر قرار گیرد. همچنین مشخص شد که اثرات اللوپتیکی برای یک دوره ممتد باقی نمی مانند.



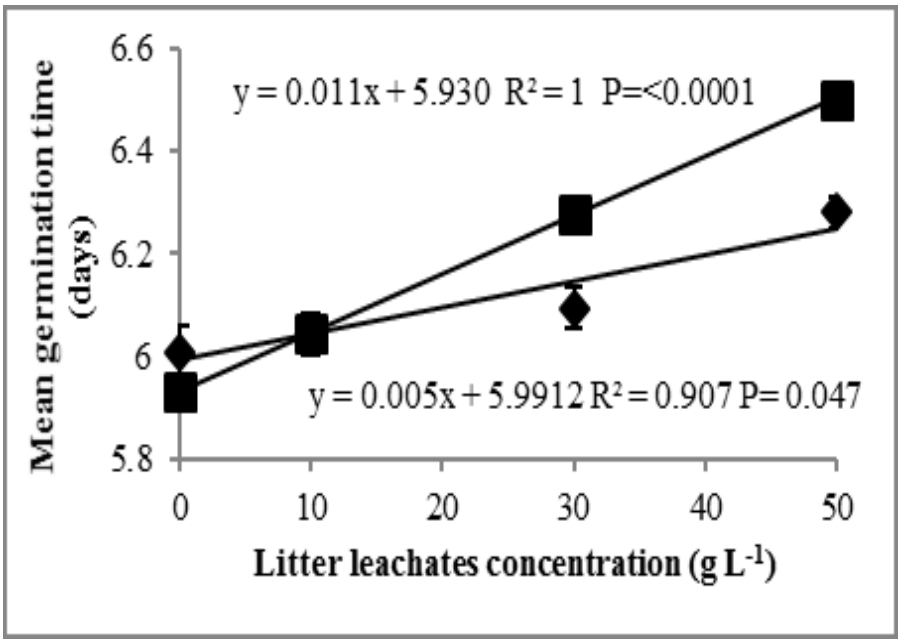
شکل ۱- ارتباط بین غلظت های مختلف عصاره سنتروسیما (□) و کالوپوگونیوم (♦) و درصد جوانه زنی اسیستاسیا

Figure 1: Relationship between different litter leachate concentrations of *C. pubescens* (□) and *C. caeruleum* (♦) and final germination percent of *A. gangetica*



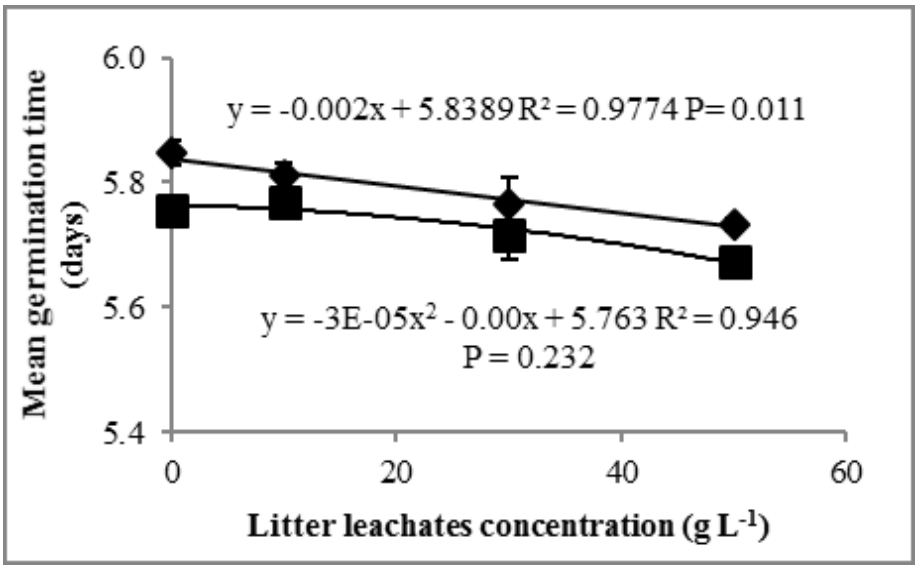
شکل ۲- ارتباط بین غلظت های مختلف عصاره سنتروسیما (▌) و کالوپوگونیوم (♦) و درصد جوانه زنی پنی ستوم

Figure 2: Relationship between different litter leachate concentrations of C. pubescens (▌) and C. caeruleum (♦) and final germination percent of P. polystachion.



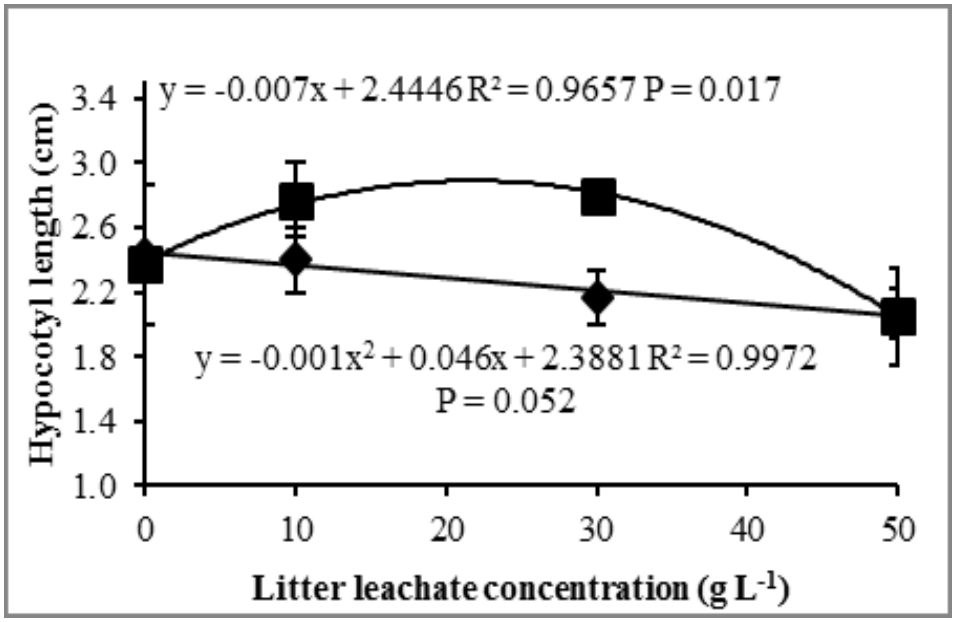
شکل ۳- ارتباط بین غلظت های مختلف عصاره سنتروسیما (▌) و کالوپوگونیوم (♦) و میانگین زمان جوانه زنی اسیستاسیا

Figure 3: Relationship between different litter leachate concentrations of C. pubescens (▌) and C. caeruleum (♦) and mean germination time of A. gangetica



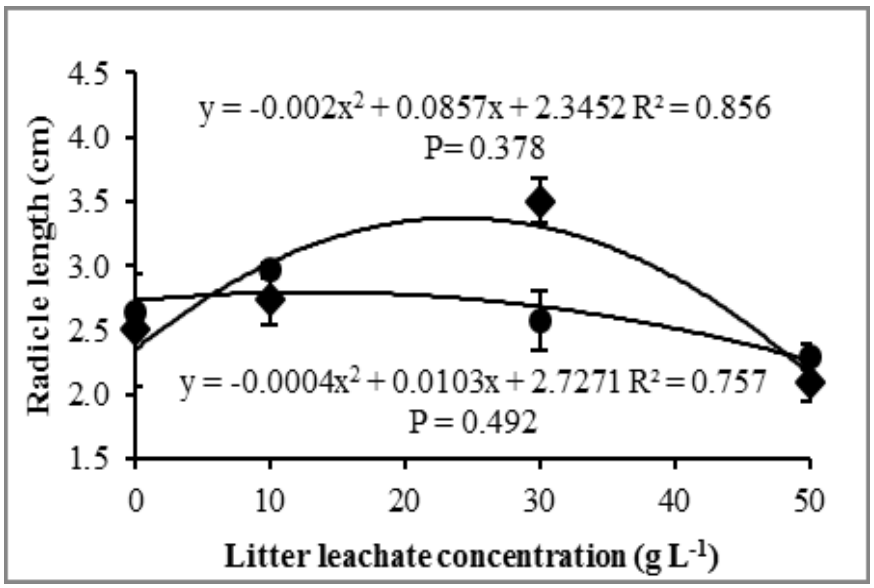
شکل ۴- ارتباط بین غلظت های مختلف عصاره سنتروسیما (▌) و کالوپوگونیوم (♦) و میانگین زمان جوانه زنی پنی ستوم

Figure 4: Relationship between different litter leachate concentrations of C. pubescens (▌) and C. caeruleum (♦) and mean germination time of P. polystachion



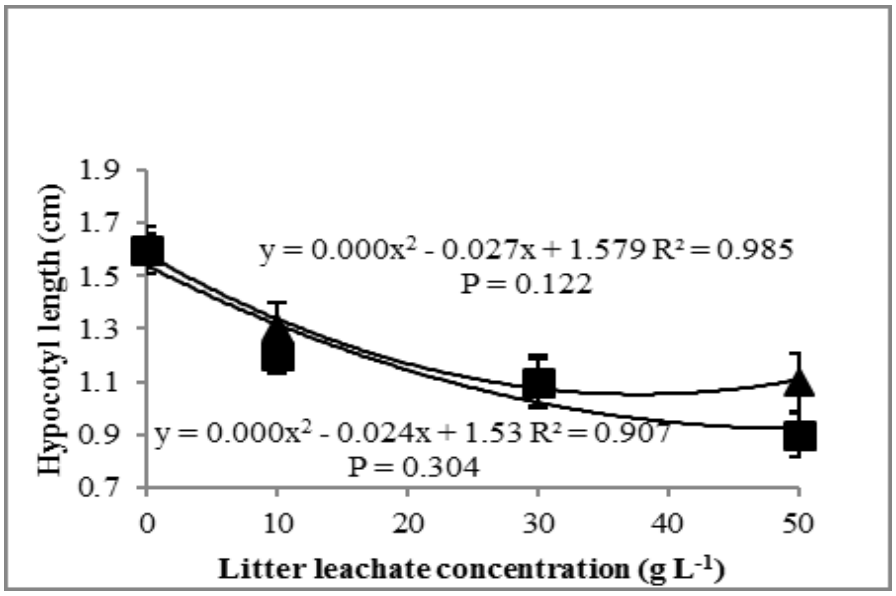
شکل ۵- ارتباط بین غلظت های مختلف عصاره سنتروسیما (▌) و کالوپوگونیوم (♦) و طول ساقه چه اسیستاسیا

Figure 5: Relationship between different litter leachate concentrations of C. pubescens (▌) and C. caeruleum (♦) and hypocotyl length of A. gangetica



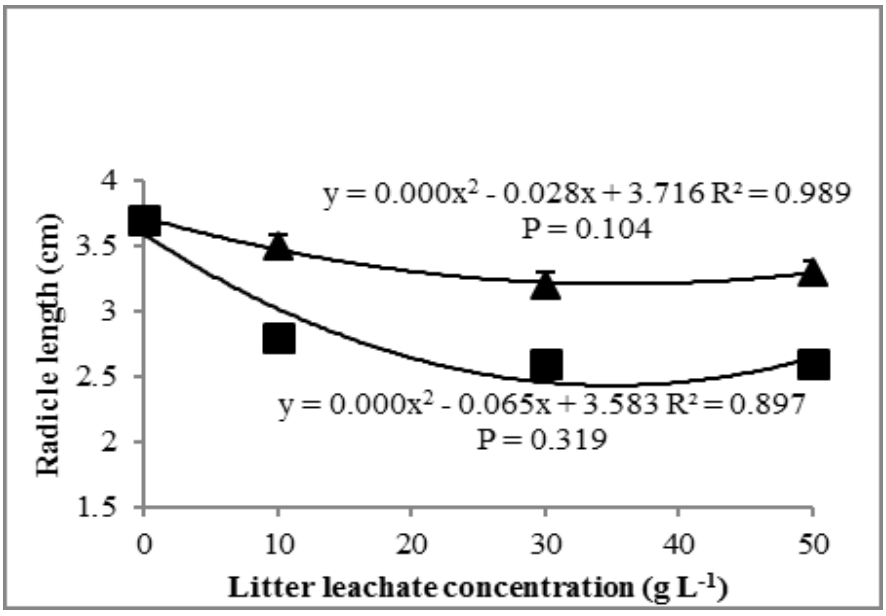
شکل ۶- ارتباط بین غلظت های مختلف عصاره سنتروسیما (▌) و کالوپوگونیوم (♦) و طول ریشچه اسیستاسیا

Figure 6: Relationship between different litter leachate concentrations of C. pubescens (▌) and C. caeruleum (♦) and radicle length of A. gangetica



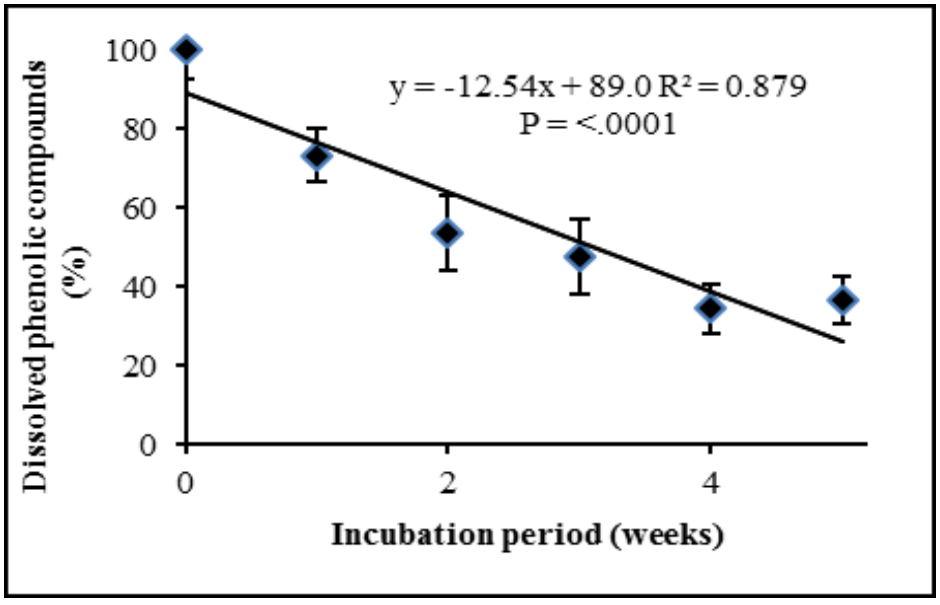
شکل ۷- ارتباط بین غلظت های مختلف عصاره سنتروسیما (▌) و کالوپوگونیوم (♦) و طول ساقه چه پنی ستوم

Figure 7: Relationship between different litter leachate concentrations of C. pubescens (▌) and C. caeruleum (♦) and hypocotyl length of P. polystachion



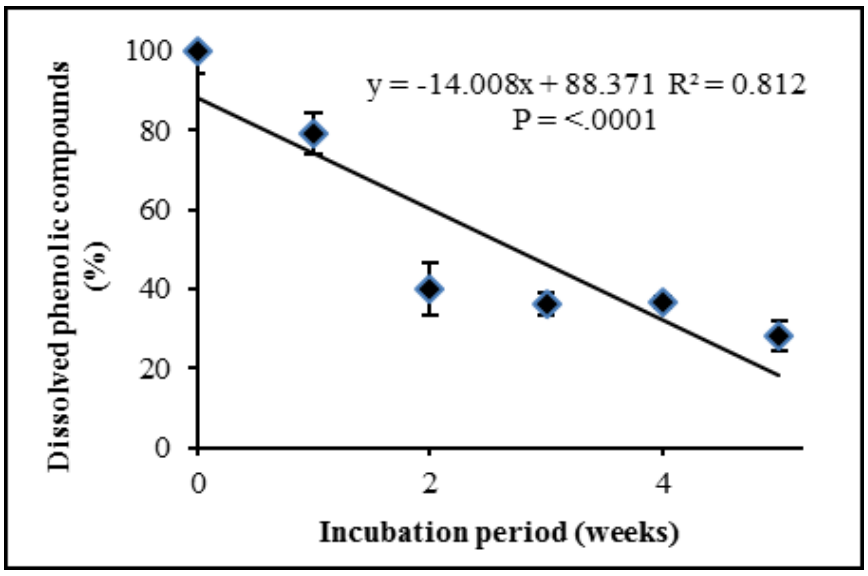
شکل ۸- ارتباط بین غلظت های مختلف عصاره سنتروسیما (▌) و کالوپوگونیوم (♦) و طول ریشه چه پنی ستوم

Figure 8: Relationship between different litter leachate concentrations of C. pubescens (▌) and C. caeruleum (♦) and radicle length of P. polystachion



شکل ۹- اثر مدت زمان پوسیدگی بقایای سنتروسیما روی درصد فنولیک کربن محلول

Figure 9: Effect of the decomposition period of C. pubescens litter on percent dissolved phenolic carbon



شکل ۱۰- اثر مدت زمان پوسیدگی بقایای کالوپوگونیوم روی درصد فنولیک کربن محلول

Figure 10: Effect of the decomposition period of C. caeruleum litter on percent dissolved phenolic carbon

جدول ۱- فنولیک های استخراج شده با آب و استون از خاک، بقایا و ساقه گیاهان پوششی

Table 1- Water and acetone extractable phenolics in soil, litter and shoot at different sampling dates

Treatments	Phenolic compounds (ppm)			
	12MAP		24MAP	
	Water extractable	Acetone extractable	Water extractable	Acetone extractable
***C. caeruleum* + *C. pubescens* soil**	0.1	78.7	3.4	354.2
***C. caeruleum* + *C. pubescens* litter**	-	-	172	156
***C. caeruleum* + *C. pubescens* shoot**	-	-	641	620

MAP= months after planting, Data are average of 3 replicates

Reference فهرست منابع

Batish, D., Lavanya, K., Singh, H., Kohli, R., 2007. Phenolic allelochemicals released by *Chenopodium murale* affect the growth, nodulation and macromolecule content in chickpea and pea. Plant Growth Regul 51, 119–128.

Callaway, R. M., Cipollini, D ,.Barto, K., Thelen, G. C., Hallett, S. G., Prati, D., Stinson, K., Klironomos, J., 2008. Novel weapons: invasive plant suppresses fungal mutualists in America but not in its native Europe. Ecology 89, 1043–1055.

Callaway, R. M., Walker, L. R., 1997. Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. Ecology 78, 1958–1965.

Casini, P., and Olivero, L., 2001. Allelopathic effects of legume cover crops on cogon grass (*Imperata brasiliensis* Trin.). Allelopathy Journal 8, 189-200.

Dakshini, Foy, K. M. M., Inderjit, C. L., 1999. Allelopathy: One component in a multifaceted approach to ecology. *In* "Principles and Practices in Plant Ecology, Allelochemical Interactions" (C. L. Inderjit, K. M. M. Foy and Dakshini ,eds.), pp. 3-14. CRC Press.

Dalton, B. R., 1999. The occurrence of behavior of plant phenolic acids in soil environments and their potential involvement in allelochemical interference interactions: methodological limitations in establishing conclusive proof of allelopathy. *In* "Principles and Practices in Plant Ecology: Allelochemical Interactions" (S. Inderjit, K. M. M. Dakshini and C. L. Foy, eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

Dalton, B. R., Blum, U., Weed, S. B., 1989. Differential sorption of exogenously applied ferulic p-courmaric p-hydroxybenzoic and vanillic acids in soil. *Soil Sci. Soc.* Am. J. 53, 757–762.

Dorning, M., Cipollini, D., 2006. Leaf and root extracts of the invasive shrub, Lonicera maackii, inhibit seed germination of three herbs with no autotoxic effects. Plant Ecol 184, 287–296.

Ferguson, J. J., Rathinasabapathi, B., 2009. Allelopathy: How plants suppress other plants. *In* "University of Florida IFAS Extension, HS 944."

Goh, K. J., Chiu, S. B., 2007. "*Mucuna bracteata*. A cover crop living green manure.," Agricultural Crop Trust (ACT), Petaling Jaya.

Guenzi, W. D., McCalla, T. M., 1962. Inhibition of germination and seedling development by crop residues. *Soil Sci. Soc. Am. Proc* **26**, 456–458.

Hunter, M .E., Mengers, E. S., 2002. Allelopathic effects and root distribution of *Ceratiola ericoldes* (*Empetraceae*) on seven rosemary scrub species. Am. J. Bot. 89, 1113–1118.

Hussain, S., Siddiqui, S. U., Khalid, S., Jamal, A., Qayyum, A., Ahmad, Z., 2007 . Allelopathic potential of Senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) on germination and seedling characters of some major cereal crops and their associated grassy weeds. P. J. Bot. 39, 1145-1153.

Inderjit, K., Weiner, J., 2001. Plant allelochemical interference or soil chemical ecology? Perspect. Plant Ecology Evolution and Systematics 4, 3–12.

Lottina-Hennsen, B., King-Diaz, B., Aguilar, M. I., Fernandez-Terrones, M. G., 2006. Plant secondary metabolities, targets and mechanisms of allelopathy. *In*" Allelopathy: A Physiological Process with Ecological Implications" (M. J. Reigosa, N. Pedrol and L. González, eds.). Springer, Dordrecht, the Netherlands.

Makino, T., Takahashi, Y., Sakurai, Y., Nanzyo, M., 1996. Influence of soil chemical properties on adsorption and oxidation phenolic acids in soil suspension. Soil Sci. Plant Nutr. 42, 867–879.

Mathews, C., 1998. The introduction and establishment of a new leguminous cover crop, *Mucuna bracteata* under oil palm in Malaysia. The Planter 74, 359- 368.

Ohno, T., Doolan, K., Zibilske, L. M., Liebman, M., Gallandt, E. R., Berube, C., 2000. Phytotoxic effects of red clover amended soils on wild mustard seedling growth. Agric. Ecosyst. Environ. 78, 187–192.

Ohno, T., Doolan, K. L., 2001. Effects of red clover decomposition on phytotoxicity to wild mustard seedling growth. Applied Soil Ecology 16, 187–192.

Olofsdotter, M., Navarez, D., Moody, K., 1995. Allelopathic potential in rice (*Oryza sativa* L.) germplasm. Ann. Applied Biol. 127, 543- 560.

Oyerinde, R. O., Otusanya, O. O., Akpor, O. B., 2009. Allelopathic effect of *Tithonia diversifolia* on the germination, growth and chlorophyll contents of maize (*Zea mays* L.). Scientific Research and Essays 4, 1553–1558.

Qasem, J. R., 2001. Allelopathic potential of white top and syrian sage on vegetable crops. Agron J 93, 64–71.

Rashid, M. H., Asaeda, T., Uddin, M. N., 2010. The Allelopathic Potential of Kudzu (*Pueraria montana*). Weed Science 58, 47-55.

Rice, E. L., 1984. "Allelopathy," Academic, Orlando, FL.

Shahid, I., Tasrif, A., Latiff, A., 1993. Allelopathic potential of legume cover crops on selected weed species. Plant Protection Quarterly 8, 49-53.

Shofield, J. A., Hagerman, A. E., Harold, A., 1998. Loss of tannin and other phenolics from willow leaf litter. J. Chem. Ecol. 24, 1409–1421.

Tesio, F., Vidotto, F., Ferrero, A., 2012. Allelopathic persistence of *Helianthus tuberosus* L. residues in the soil. Scientia Horticulturae 135, 98–105.

Weir, T. L., Park, S. W., Vivanco, J. M., 2004. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. Current Opinion in Plant Biology 7, 472–479.

Whitehead, D. C., Dibb, H., Hartley, R. D., 1981. Extractant pH and the release of phenolic compounds from soils, plant roots, and leaf litter. Soil Biol. Biochem 13, 343–348.

Xing, F., Guo, J. X., Wang, Y. H., 2003. Seed germination characteristics and regeneration mechanism of *Stellera chamaejasme* population. Chin. J. Appl. Ecol. 14, 1851–1854.

Xuan, T. D ,.Shinkichi, T., Khanh, T. D., Min, C. I., 2005. Biological control of weeds and plant pathogens in paddy rice by exploiting plant allelopathy: An overview. Crop Protection 24, 197–206.

Zimdahl, R. L., 2007. "Fundamentals of weed science," Elsevier Inc.