بررسی شاخص‌های رشد و تغییرات ساختاری دانه‌رست گندم در پاسخ به عصاره آبی کلزا

مریم نیاکان[۱]، محبوبه آرودی[۲]، الهه کیایی[۲]

۱. گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد گرگان

۲. عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

چکیده

در این پژوهش اثر عصاره آبی کلزا (رقم هایولا ٤٠١) بر میزان کلروفیل a و b، پارامترهای رشد و ساختار تشریحی دو بخش هوایی و زیر زمینی گیاه گندم در محیط کشت هوگلند مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور دانه رستهای ٤ روزه گندم (رقم سپیده) در محیط کشت هوگلند (شاهد) و محیط کشت هوگلند و عصاره آبی کلزا به مدت ۸ روز تیمار شدند و آنالیزهای مورد نظر در روز هشتم در مورد آنها اعمال گشت. مطابق نتایج بدست آمده طول ریشه و ساقه، وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه گندم در حضور عصاره آبی کلزا کاهش معنی داری را نشان نداد. میزان کلروفیل a و b در برگ گندم در پاسخ به ترکیبات آللوکمیکال موجود در عصاره آبی کلزا افزایش یافت. ساختار تشریحی ساقه و ریشه در گیاه گندم نیز تحت تاثیر عصاره آبی کلزا قرار گرفت که کاهش ضخامت پوست در ساقه و ریشه و کاهش تعداد و قطر دهانه آوندهای چوب (متاگزیلم) از بارزترین آنها بود.

کلمات کلیدی: اناتومی، رشد، عصاره کلزا، گندم

مقدمه

برخی از گونه های گیاهی با آزاد کردن ماده شیمیایی خاص از جوانه زنی و رشد و نمو دیگر گونه های گیاهی جلوگیری بعمل می آورند. مواد شیمیایی آزاد شده از گیاهان که اثرات آللوپاتیک دارند تحت عنوان آللوکمیکال خوانده می‌شوند. اغلب این ترکیبات شیمیایی آللوپاتیک بعنوان متابولیت ثانویه طبقه‌بندی می‌شوند و نقش دفاعی آنها در مقابل گیاهخواران و پاتوژنهای گیاهی به اثبات رسیده است (Seigler, 1996). این ترکیبات در بخش‌های مختلف گیاه مثل ریشه، ریزوم، برگ، ساقه، دانه گرده و گل می‌تواند وجود داشته باشد (Turk & Tawaha, 2003). در اکوسیستم‌های زراعی، گیاهان به جای همزیستی عمدتاً در تداخل با یکدیگر هستند. حداقل دو مکانیسم برای تداخل گیاهان با یکدیگر وجود دارد: یکی رقابت برای جذب منابع و دیگری ورود مواد سمی به محیط توسط گیاه است که اصطلاحاً آللوپاتی نامیده می‌شود (Duck et al. 2001).

ویژگی که آللوپاتی را از رقابت متمایز می سازد این است که در آللوپاتی عواملی به محیط اضافه می‌شوند، ولی در رقابت برخی از عوامل محیطی کاهش می یابند. آللوپاتی غالباً باعث شدت رقابت می شود. وابستگی زیاد اثرات آللوپاتیک با

*e.mail: mnniakan@yahoo.com

رقابت تفکیک این دو را از هم مشکل نموده است (عزیزی و همکاران, ۱۳۷۸). مشکل بیماری خاک در کشاورزی به تراوشات گیاهان زراعی مربوط است و تناوب کشت راه حلی برای این مشکل است.به عنوان مثال به اثر آللوپاتیک گیاه چاودار (*Secala cereal*) بر گندم (*Triticum aestivum* L.) اشاره شده است (Willis, 1985). گیاهان آللوپاتیک مانع استفاده گیاهان دیگر از منابع مورد نیاز شان می شوند و بدین ترتیب تکامل و پراکندگی گونه های دیگر را تحت تاثیر قرار می دهند در تناوب محصولات کشاورزی، آللوپاتی‌ها که به وسیله محصولات کشاورزی قبلی تولید می‌شوند ممکن است اثرات مخالف یا موافقی روی تولیدات کشاورزی بعدی داشته باشند. بنابراین جلوگیری از اثرات باز دارندگی یا استفاده از بر هم کنش های سازگار و مطلوب می تواند تولید محصولات کشاورزی را بیشتر کند. در این مورد می توان به تناوب کشت برنج و سویا اشاره کرد (Khalid et al. 2002). تا کنون جنبه هایی از آللوپاتی شامل اثرات بقایای کلزا روی محصول زراعی بعدی و اثر این گیاه برروی علفهای هرز بررسی شده است با این که بنظر می رسد پتانسیل آللوپاتی کلزای اهلی شده نسبت به نوع مادری وحشی آن کاهش یافته باشد (Mason & Jessop, 1989).

مطالعات نشان می دهد که عصاره و بقایای کلزای زراعی نیز اثرات ناسازگاری روی جوانه زنی سویا (تجری ۱۳۸٤، مازندرانی، ۱۳۸۵) و جو (انصاری، ۱۳۸٤) برجا می گذارد. همچنین گزارشاتی در مورد کاهش وزن خشک گیاه، ارتفاع گیاه، تعداد پنجه در هر بوته و عملکرد دانه گیاهان زراعی موجود می باشد (Mason & Jessop, 1986).

گزارش شده است که اختلال رشد گیاه در خاکهایی که در آن بقایای زیادی از کلزا برجای مانده است در اثر افت دمای خاک و استقرار ضعیف بذر بوجود می‌آید، ولی برخی با کار به روی عصاره های مایع استخراج شده از بقایای کلزا به نشانه‌هایی از مواد سمی دست یافتند (Horowitz & Taylorson, 1983) توان آللوپاتیکی گونه‌های جنس *Brassica* به ترکیباتی موسوم به ایزوتیوسیاناتها نسبت داده شده که فرآورده ای از تجزیه گلوکوزینولاتها می‌باشند (Oleszek, 1987).

تاکنون مطالعاتی در زمینه اثر آللوپاتیک گیاهان زراعی بر جوانه‌زنی و رشد علف های هرز صورت گرفته است ولیکن در مورد اثر آللوکمیکال‌ها بر رشد و ساختار آناتومی گیاهان تاثیرپذیر اطلاعات اندکی موجود می‌باشد. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر عصاره آبی کلزا بر شاخص‌های رشد میزان کلروفیل و تغییرات ساختاری ریشه و ساقه گیاه گندم تحت شرایط هیدروپونیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی دانه‌های گندم

ابتدا تعدادی بذر گندم (رقم سپیده) توسط آب ژاول ۳ درصد به مدت ۵ دقیقه ضد عفونی گشت سپس ۱۰ بذر گندم در پتری دیش‌های استریل در بین دو کاغذ صافی واتمن شماره ۲ قرار داده شد و به مدت ۵ روز روزانه به مقدار ۵ میلی لیتر با آب مقطر آبیاری شد. در این مدت بذور در داخل ژرمیناتور در دمای 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از پیدایش برگ‌های اصلی در بذور مورد آزمایش دانه رست‌های همگن به ظروف حاوی محلول هوگلند (شاهد) و هوگلند + عصاره آبی کلزا (تیمار) قرار داده شدند

در ظروف شاهد (هوگلند) به مقدار ۷۰ میلی‌لیتر از محلول هوگلند و در ظروف تیمار ۲۰ میلی‌لیتر محلول هوگلند و ۵۰ میلی‌لیتر از عصاره آبی کلزا (ریشه+ اندام هوایی) با غلظت ۷۰ درصد ریخته شد. سپس ٤ دانه رست گندم در هر ظرف قرار داده شد و درب ظروف با پلاستیک پوشانیده شد. پس از گذشت ۷ روز گیاهان جهت آزمایشات مربوطه مورد سنجش قرار گرفتند. میانگین دما و رطوبت در این مدت به ترتیب ۲٤/۱۸ درجه سانتی‌گراد و ٦٥/٥ درصد بود.

اندازه‌گیری طول ساقه و ریشه

طول بخش هوایی و ریشه سویاو گندم قرار داده شده در محیط کشت هیدروپونیک با غلظت ۷۰درصد عصاره آبی کلزا تیمار و شاهد در نهمین روز باخط کش اندازه گیری شد.

پس از گذشت ۷ روز دو بخش ریشه و اندام هوایی گندم از یکدیگر جداشده و توزین گردیدند..

در مرحله بعد این اندامها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت در دستگاه اون خشک گشته و مجدداً توزین شدند.

سنجش مقدار کلروفیل (a,b): (Bruinsma, 1963)

پس از جدا برگهای اولیه در گیاه گندم، جهت سنجش میزان کلروفیل a و b مراحل زیر به اجرادر آمد:

– تعیین وزن تر نمونه گیاهی (W)

– سائیدن نمونه‌ها در ۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد و همگن نمودن آن.

– سانتریفوژ نمودن نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰ گرم

– جدا کردن محلول رویی و رسانیدن حجم آن به ۵ میلی‌لیتر توسط استن ۸۰ درصد.

– خواندن جذب در طول موج‌های ٦٤٥ ، ٦٥٢، ٦٦٣ نانومتر در مقابل شاهد دستگاه (استن) و تعیین مقدار کلروفیل a و b بر حسب $mg\ g^{-1}\ FW$.

آماده‌سازی نمونه های گیاهی جهت بررسی بافت‌ها

در ابتدا برش های نازکی از اندام ریشه و ساقه گیاهان شاهد (هوگلند) و تیمار (هوگلند+ عصاره آبی کلزا) آماده گردید. جهت مقایسه بهینه نمونه های شاهد و تیمار برشهای مربوط به ریشه از ۱ سانتی‌متری زیر یقه و نمونه های مربوط به ساقه از ۱ سانتی‌متری بالای یقه تهیه شد. برش‌گیری به روش دستی و قرار دادن اندام مورد نظر در بین دو قطعه یونی لیت (پنبه مصنوعی) انجام شد. پس از تهیه ۱۰ برش نازک از هر یک از اندام های ریشه و ساقه گندم، نمونه‌ها در آب ژاول به مدت ۲۰ دقیقه غوطه ور گردید. با این عمل رنگ طبیعی سلول و اجزای درونی آن حذف می‌گردد. سپس نمونه‌ها ٤-۳ بار با آب مقطر شسته و به دنبال آن در اسید استیک رقیق (۲۰ درصد) به مدت ۵-۳ دقیقه قرار گرفت. این عمل سبب اسیدی شدن محیط گشته و نمونه ها را جهت پذیرفتن رنگ بازی آماده می کند. نمونه ها بار دیگر با آب مقطر شستشو و در مخلوط کارمن زاجی و سبز متیل به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت. در پایان کار رنگ‌های اضافی توسط آب مقطر شسته و زیر میکروسکوپ مشاهده شد. توسط این رنگ‌آمیزی سلول‌هایی که دارای دیواره ثانویه می باشند. به رنگ سبز و سلول‌هایی که دارای دیواره اولیه می باشند توسط کارمن زاجی به رنگ صورتی مشاهده می شوند.

روش‌های محاسبه آماری

تجزیه و تحلیل داده ها از طریق واریانس دو عاملی و میانگین انجام گرفت. همچنین مقایسه بین تیمارها و شاهد بر اساس آزمون دانکن در سطح $P \le 0/01$ توسط برنامه آماری Mstat C برای تکرار صورت گرفت و رسم نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

در گیاه گندم طول ریشه و ساقه وزن خشک و تر ریشه وزن تر و خشک اندام هوایی در حضور عصاره آبی کلزا نسبت به شاهد کاهش یافت ولیکن این کاهش معنی دار نبود. از سوی دیگر میزان کلروفیل a و b در حضور عصاره آبی کلزا افزایش یافت (جدول۱).

طول ریشه چه نسبت به طول اپی‌کوتیل تا اندازه‌ای بیشتر به آللوکمیکال‌ها و ترکیبات سمی حساس است. در این زمینه گزارشات متعددی وجود دارد. Miller (2002) و Turk & Tawaha (2002) بیان داشتند، نتایج بدست آمده ممکن است به این دلیل باشد که ریشه‌ها ابتدا آللوکمیکال‌ها یا ترکیبات سمی را از محیط جذب می‌کنند. در این تحقیق نیز طول ریشه بیش از ساقه در حضور عصاره آبی کلزا کاهش یافت.

جدول ۱: اثر عصاره آبی کلزا بر طول ریشه و ساقه (cm)، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی (g) گیاه گندم و میزان کلروفیل a و b ($mg.g^{-1}fw$) در محیط کشت هوگلند (x±Std).

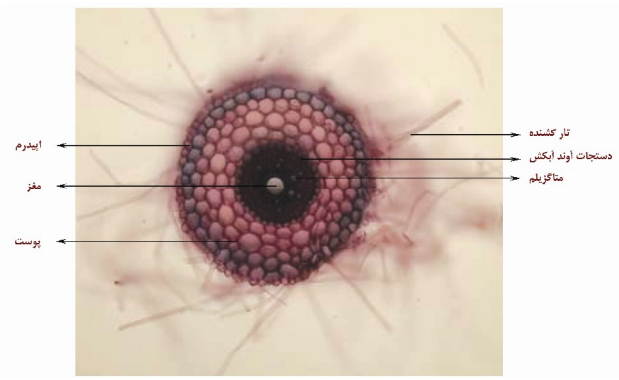
تیمار	طول ریشه	طول ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	کلروفیل a	کلروفیل b
هوگلند (شاهد)	۰/۵۳۸±/۶۷۵ a	۱٤/٥٤٧ ±/٦۰۹ a	۰/۰۷۷ ± /۰۱٥ a	۰/۰۰۸ ±۰/۰۰٤ a	۰/۱۳۰±۰/۳٥ a	۰/۰۲۲±۰/۰۰٤ a	۰/۰۸۰±۰/۰۱۱ b	۰/۰٥٤±۰/۰۰٤ b
هوگلند + عصاره آبی کلزا	۰/۳۲٥ ±۰/۳۸٦ a	۱۳/۱۲٥±۰/٤۳٥ a	۰/۰۳٤± ۰/۰۱۸ a	۰/۰۰٥± ۰/۰۰۲ a	۰/۰۸۱±۰/۰۲٥ a	۰/۰۱۲±۰/۰۰٤ a	۰/٦۲٥±۰/۰۸۱ a	۰/٦۹٥±۰/۰۳٦ a

از سوی دیگر گزارشات متعددی در مورد کاهش فتوسنتز در حضور ترکیبات آللوکیمیکال ذکر شده است (Zeng et al. 2001؛ Ervin & Wetzel. 2001). در این راستا عنوان شده است که کاهش در میزان فتوسنتز کاهش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و زیر زمینی را به دنبال دارد که این کاهش در گیاهان تحت تیمار این پژوهش نیزدیده شد.

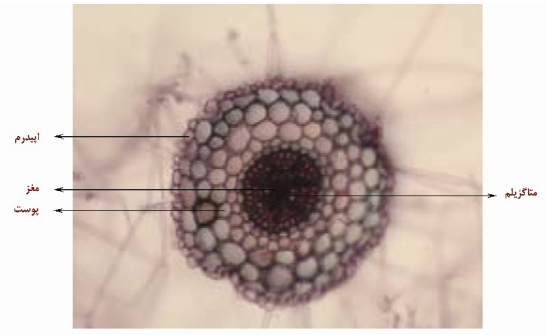
در پژوهش حاضر، افزودن عصاره آبی کلزا در محیط کشت هوگلند، سبب افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل a و b نسبت به شاهد در گیاهان تحت تیمار شد. ترکیبات آللوشیمیایی می‌توانند فتوسنتز را از طرق مختلف تحت تاثیر قرار دهند که از آن جمله می‌توان به مقاومت روزنه‌ای، اندازه منفذ روزنه و پراکندگی آن در سطح برگ، تغییر در ساختمان کلروپلاست، اثر بر زنجیره انتقال الکترون در کلروپلاست، میزان کلروفیل، گستردگی سطح برگ و پتانسیل آبی برگ اشاره کرد (Kohli et al. 1998). موارد نامبرده در گیاهان حساس به آللوکمیکال‌ها مشاهده شده است ولیکن در تحقیق حاضر ترکیبات آللوکمیکالی موجود در عصاره آبی کلزا موجب افزایش کلروفیل a و b گشت که این امر و عدم کاهش معنی دار شاخص های رشد گندم را می‌توان به مقاومت گیاه گندم نسبت به اثر آللوپاتیکی کلزانسبت داد. موارد یاد شده در مقایسه با کاهش پارامترهای رشد در برخی از گیاهان زراعی نظیر سویا قابل توجه می باشد (نیاکان، ۱۳۸٦).

چنان که در شکل (۱) (نمونه شاهد) و شکل (۲) (نمونه تیمار) مشاهده می‌شود، افزودن عصاره آبی کلزا به محیط کشت هوگلند سبب کاهش عرض (قطر) ریشه گشته و اندازه سلول‌های پارانشیمی پوست (کورتکس) کاهش می‌یابد.

در نمونه شاهد تنها یک ردیف سلول زیر اپیدرم (هیپودرم) سبز رنگ گشته نشان دهنده وجود لیگنین در دیواره و تشکیل دیواره ثانویه می‌باشد، در حالی که تعداد لایه‌های سبز رنگ در نمونه تیمار افزایش یافته که نشان دهنده پاسخ ریشه به آللوکمیکال‌های موجود در عصاره کلزا می‌باشد. از دیگر پاسخ‌های ریشه گندم به عصاره آبی کلزا کوچکتر شدن دهانه آوندهای چوب متاگزیلمی در نمونه تیمار در مقایسه با شاهد است.

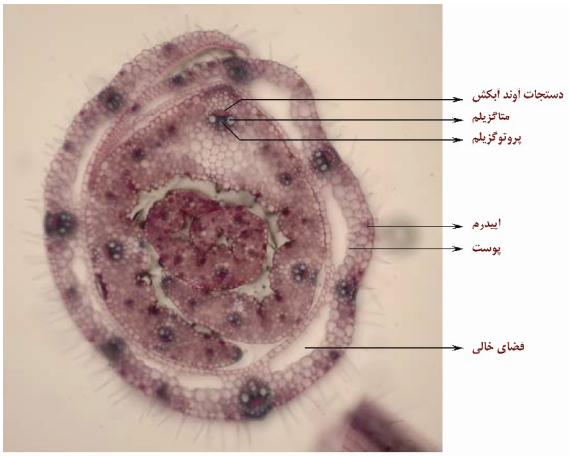


شکل ۱: برش عرضی از ریشه گندم (شاهد= هوگلند)

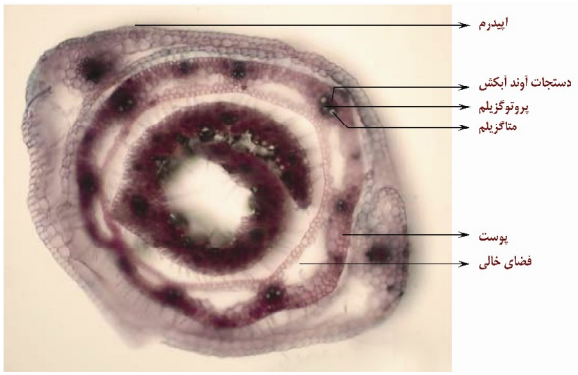


شکل ۲: برش عرضی از ریشه گندم
(تیمار=هوگلند+ عصاره)

ساقه گیاه تک لپه گندم به حالت ماشوره ای است که دارای فضاهای خالی می‌باشد. مقایسه برش‌های عرضی ساقه گندم شاهد و تحت تیمار نشان می‌دهد که افزودن عصاره آبی کلزا به محیط کشت هوگلند سبب افزایش فضای خالی (حالت ماشوره‌ای)، کاهش تعداد و نظم سلول‌های پارانشیمی موجود در پوست (کورتکس ساقه) و نیز کوچک شدن قطر دهانه آوندهای چوبی متاگزیلم می‌گردد (شکل۳ و ٤).



شکل ۳: برش عرضی ازساقه گندم (شاهد=هوگلند)



شکل۴: برش عرضی از ساقه گندم
(تیمار=هوگلند+ عصاره)

رشد گیاهچه و ساختار آن می‌تواند تحت تاثیر عوامل هورمونی قرار گیرد. جیبرلیک اسید (GA) و ایندول استیک اسید (IAA) هر دو در تمایز بافت های آوندهای و رشد آنها نقش دارند. جلوگیری از عمل این دو هورمون می‌تواند سبب تغییر در ساختار ساقه و ریشه دانه رست ها گردد.به عنوان مثال ذکر شده است بعضی فلاونوئیدهای آگلیکون، با باز دارندگی انتقال قطبی اکسین، در سطوح طبیعی اکسین اختلال ایجاد کرده و منجر به سرکوب رشد و تغییر ساختار ریشه می‌شوند (Brunn و همکاران، ۱۹۹۲).

منابع

انصاری ص. (۱۳۸۴). اثر عصاره آبی و پوسانده دو رقم کلزا برجوانه‌زنی و رشد گندم جو و سویا.پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

تجری م. (۱۳۸۴). بررسی اثر شوری بر توان آللوپاتیک کلزا از طریق مطالعه بر پارامترهای رشد، برخی از ترکیبات آلی و آنزیمی و نیز درصد جوانه زنی سویا و علف هرز گاو پنبه. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

عزیزی م ، سلطانی، ا. و خاوران خراسانی، س. (۱۳۷۸). کلزا (فیزیولوژی، زراعت، به نژادی، تکنولوژی زیستی). ترجمه. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۲۳۰ صفحه.

مازندرانی م. (۱۳۸۵).بررسی اثر آسکوربات بر توان آللوپاتیکی کلزا پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

Bruisma, J.1963. The quantitative analysis of chlorophyll a &b in plant extract Photochem.Photobiol. 12: 241.249

Brunn, S. A., muday, G. K. and Haworth, P. 1992. Auxin Transport and the interaction of phytotropins. plant physiol. 98: 101–107.

Duck, S. O., Scheffler, B. E. Dayan, F. E., Weston, L. A. and Ota, E. 2001. Strategies for using transgenes to produce allelopathic crops. Weed Tech. 15: 826-834

Ervin, G.N. and Wetzel, R.G. 2000. Allelochemical autotoxicity in the emergent wetland macrophyte *Juncus effusus* (Juncaceae) Am. J. Bot. 87: 853-860.

Horowitz, M. and Taylorson, R. B. 1984. Hard seedness and germinability of velvet leaf (*Abutilon theophrasti*) as affected by temperature and moisture. Weed Sci. 32: 111-115.

Khalid, Sh., Ahmad, T. and Shad, R. A. 2002. Use of Allelopathy in Agriculture. Asian Journal of Sciences. Volume 1 Number 3 : 292-297

Khohi, R.K. 1998. Allelopathy and its implications in Agroecosystems. Crop Sciences and Recent Advance editor, A. S. Basra. Haworth press Inc.

Mason – sedup, W., Jessop, R. S and Lavett. J. V. 1986. Differential phytotoxicity among species and cultivars of the genus Brassica and wheat. I. Laboratory and field screening of species. Plant and Soil. 93: 3-16.

.

Mason–sedup, W. Jessop, R. S. 1989. Differential phytotoxicity among species and cultivars of the genus Brassica to wheat. III Effects of environmental factors during growth on the phytotoxicity of residue extracts. Plant and Soil. 102: 93-101

Miller, D. A. 2002. Allelopathic effects of alfalfa. Journal of chemical ecology g. p: 1059-1072

Oleszek, W., 1987. Allelopathy effects of Volatiles from some cruciferae species on Lettuce, barnyard grass and wheat growth. Plant and Soil. 102: 271-273

Turk, M.A. and Tawaha, A. M. 2002. Inhibitory effects of aqueous extracts of black mustard on germination and growth of lentil. Pak. J. Agronom.1 (1): 28-30

Turk, M.A. and Tawaha, A. M. 2003. Allelopathic effects of black Mustard (*Brassica nigra* L.) on germination and growth of wild oat (*Avena fatua* L.) crop protection. 22: 673-677.

Willis, R, J. 1985. The historical bases of the concept of allelopathy. Journal of History of Biology. 18 : 71-102.

Zeng, R.S., Luo, S. M., Shi, Y. H., Shi, M. B and Tu, C. Y. 2001. Physiological and biochemical mechanism of allelopathy of Secalonic acid F of higher plants. Agronomy Journal. 93: 72-79

Journal on Plant Science Researches, Vol.1, No.4, Winter 2007

Study of growth factors and anatomy of wheat seedling in response to aqueous extract of canola

Niakan, M., Arodi, M., Kiaee, A

Department of biology,Islamic Azad University,Gorgan branch,Iran

Abstract

In this research, effect of aqueous extract of canola(*Brassica napus* L. *cv* Hyola 401) on amount of chl a and b,growth parameters and anatomy of shoot and root of wheat was evaluated. 4-day-old wheat seedlings were treated in Hoagland culture (control) and Hoagland culture with aqueous extract of canola during 8 day.According to our results length of root and stem, dry and fresh weight of shoot and dry weight of root in wheat in presence of aqueous extract of canola did not decreased significantly.Amount of chl a and b in leaf of wheat in response to aqueous extract increased. Anatomy of stem and root of wheat also was affected in canola aqueous extract and cortex thickness in stem and root and number of metaxylem decreased.

Key words: Anatomy, Growth, Canola extract, Wheat.