



ارزیابی توان بازدارندگی ترشحات ریشه ارقام برنج (*Oryza sativa* L.) بر خصوصیات علف هرز سوروف (*Echinochloa crus-galli*)

ایوب حیدرزاده^۱، * همت‌اله پیردشتی^۲، محمدعلی اسماعیلی^۳، امیرعباس متین^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ^۲ استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات،
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ^۳ دانشجوی دکتری، عضو هیات علمی گروه شیمی دانشگاه ارومیه

چکیده

به منظور شناسایی محتوای فنولیک اسید ترشحات ریشه سه رقم برنج (ندا، تایچانگ و سپیدرود) با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (HPLC) و ارزیابی توان دگرآسیبی آنها روی خصوصیات رشدی علف هرز سوروف آزمایشی با آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار طی سال ۱۳۸۷ در آزمایشگاه و گلخانه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان از معنی‌دار بودن همه اثرات ساده و متقابل در صفات مورد مطالعه داشت. رقم تایچانگ در بیش از نیمی از صفات اندازه‌گیری شده اثرات بازدارندگی بیشتری نسبت به رقم ندا و سپیدرود داشت به طوری که ترشحات ریشه رقم تایچانگ با ۴۰/۶۰ درصد بیشتری و رقم سپیدرود با ۰/۶۰ درصد کمترین تأثیر بازدارندگی را بر طول ریشه‌چه علف هرز سوروف داشتند. در مورد وزن خشک گیاهچه نیز رقم تایچانگ و رقم سپیدرود به ترتیب با ۲۹/۹۰ و ۲/۶۰ درصد بازدارندگی بیشترین و کمترین درصد بازدارندگی را داشتند. در مورد سرعت و درصد جوانه‌زنی بذر سوروف نیز نتایج بیانگر بازدارندگی بالای رقم تایچانگ بود (به ترتیب با ۵۰/۹۰ و ۳۱/۹۰ درصد). در مورد صفات فیزیولوژیک علف هرز سوروف نظیر محتوای کلروفیل و نیتروژن برگ رقم ندا به ترتیب با ۵۸/۲۰ و ۴۳/۸۰ درصد بازدارندگی بیشترین تأثیر بازدارندگی را داشت و در هر دو صفت رقم سپیدرود با ۱/۷۰ و ۱۱/۳۰ درصد بازدارندگی حداقل تأثیر را بر علف هرز سوروف از خود نشان داد. تجزیه ترشحات ریشه ارقام برنج با استفاده از روش HPLC نشان داد که بیشترین محتوای فنولیک

* - مسئول مکاتبه: pirdasht@yahoo.com

اسید (۶/۰۸۵ میلی گرم در لیتر عصاره) متعلق به رقم تایچانگ و کمترین آن (۰/۲۰۱ میلی گرم در لیتر عصاره) مربوط به رقم ندا بوده است.

واژه‌های کلیدی: برنج، دگرآسیبی، سوروف، HPLC

مقدمه

علف‌های هرز از عوامل محدود کننده تولیدات کشاورزی به‌خصوص برنج به شمار می‌روند. این گیاهان ناخواسته علاوه بر رقابت برای جذب آب، عناصر غذایی و نور، پناهگاه عمده آفات و بیماری‌های گیاهی هستند. استفاده از علف‌کش‌ها به‌عنوان روشی آسان و قابل دسترس در بسیاری از مناطق جهان به‌خصوص در آسیا به سرعت افزایش یافته است (ابدوسلام و کاتو ناگوچی، ۲۰۰۹). با توجه به تأثیرات منفی استفاده بیش از اندازه علف‌کش‌ها نظیر آلودگی‌های زیست‌محیطی، افزایش مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها و به خطر افتادن سلامت انسان، استفاده از روش‌های مدیریتی صحیح در مبارزه با علف‌های هرز از آن جمله مبارزه بیولوژیکی با آن ضروری به نظر می‌رسد (اولافسداتر، ۱۹۹۸).

آللوپاتی یا دگر آسیبی یکی از پدیده‌های طبیعی است که در بعضی از گیاهان وجود داشته و آنها را قادر می‌سازد که به‌صورت مستقیم یا غیر مستقیم موجب اختلال در رشد گیاهان مجاور یا مانع جوانه‌زنی و رویش آنها شوند (اولافسداتر، ۱۹۹۸). چنانچه قدرت دگر آسیبی در ارقام زراعی وجود داشته باشد ممکن است. به‌عنوان یک روش جدید و موثر در مدیریت تلفیقی علف‌های هرز مورد استفاده قرار گیرد (ریگوسا و همکاران، ۲۰۰۶). مواد بازدارنده تولید شده در گیاهان و میکروارگانسیم‌های مرتبط با آنها، شامل هزاران ترکیب شیمیایی می‌باشند که از گازهای بسیار ساده و ترکیبات چربی‌دار گرفته تا ترکیبات چند حلقه‌ای معطر را شامل می‌شوند (تامسون، ۱۹۸۵، ریزوی ۱۹۸۹؛ رایس، ۱۹۷۹). برنج از جمله گیاهانی است که دارای خاصیت دگر آسیبی می‌باشد. کاتو ناگوچی و اینو (۲۰۰۳) طی آزمایشی ترکیباتی را که در برنج توان دگر آسیبی داشتند به وسیله متانول از ساقه‌های برنج استخراج کرده و نوع ترکیبات شیمیایی را به وسیله روش‌های کروماتوگرافی مشخص کردند. جونگ و همکاران (۲۰۰۴) در آزمایشی پتانسیل دگرآسیبی قسمت‌های مختلف بقایای

برنج را روی سوروف^۱ مقایسه کردند. آنها مشاهده کردند که به طور متوسط میزان بازدارندگی رقم دوپونجونگ^۲ روی سوروف (۷۷/۷ درصد بازدارندگی) بیشتر از سایر ارقام بود. ژوو و همکاران (۲۰۰۴) در آزمایشی مقدار فنولیک اسیدها را در پوسته بذور ۳ رقم برنج تازه و کهنه برآورد کردند. بیشترین مقدار فرولیک اسید و کوماریک اسید در برنج قهوه ای و کمترین سطح فرولیک اسید در برنج سفید دیده شد. اولافسداتر (۲۰۰۲) معتقد است که در حدود ۳/۵ درصد از کل ژرم پلاسما برنج در دنیا دارای خاصیت دگرآسیبی می‌باشند و فنولیک اسیدها از عمده‌ترین مواد دگرآسیب در برنج می‌باشد البته این خاصیت بستگی به غلظت مواد آزاد شده (مواد دگر آسیب) توسط گیاه به محیط و حدود مقاومت گیاه هدف (علف‌های هرز) به این ترکیبات دارد. بعضی از شواهد مبین اثرات دگر آسیب در ترشحات استخراج شده از ریشه برخی گیاهانی است که با استفاده از سیستم های بسته آب کشت رشد کرده‌اند (ریگوسا و همکاران، ۲۰۰۶). اصغری و موسوی (۱۳۸۱) به منظور تعیین قدرت دگرآسیبی ارقام برنج، بذور نیشدار شده ۹ رقم از برنج‌های تحت کشت مناطق شمال کشور شامل: طارم، بجار، بینام، دشت، هراز، نعمت و لاین‌های ۴۲۴ و ۷۱۶۵ را به صورت کاشت مخلوط با گیاهچه علف‌های هرز سوروف و اویارسلام بذری در گلدان‌های حاوی خاک شالیزار استریل شده مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از وجود کاهش رشد در اجزای گیاهچه این علف هرز در اکثر ارقام برنج تحت اثر ترکیبات دگرآسیب بود.

از آنجایی که تاکنون مطالعات فراوانی روی مقدار، نحوه اثر و نوع مواد دگرآسیب موجود در عصاره اندام‌های مختلف گیاه برنج روی علف‌های هرز بخصوص سوروف انجام گردید اما کمتر به طور خاص به ترشحات ریشه برنج، نحوه اثر، غلظت و نوع مواد ایجاد کننده بازدارندگی بر علف هرز پرداخته شده است، از این رو این آزمایش با هدف شناسایی مواد موجود در ترشحات ریشه برنج، تعیین غلظت و نحوه اثر آنها روی علف هرز سوروف بود.

مواد و روش‌ها

برای بررسی و پی بردن به نحوه اثر بازدارندگی ترشحات ریشه در شرایط طبیعی گیاه برنج بر

1- Echinochloa crus-galli

2- Duchungjong

علف هرز سوروف بذر ۳ رقم از ارقام شناخته شده برنج (ندا، تایچانگ^۱ و سفید رود) که اثرات آللوپاتیک یا گیاه آزاری پوسته آنها به اثبات رسیده است (اصغری و موسوی، ۲۰۰۲) از موسسه تحقیقات برنج کشور (گیلان) تهیه گردید. به منظور استخراج ترشحات ریشه این ارقام با استفاده از روش آبکشت تعداد ۳ عدد تشت (برای هر رقم یک تشت) به ابعاد ۳۶×۴۶ و عمق ۲۰ سانتی متر و گنجایش ۲۴ لیتر آب تقطیر شده تهیه و سپس بذره‌های نیش دار شده ارقام برنج به تفکیک رقم با استفاده از پلاستوفوم (شناور نگهدارنده بذر) درون این تشت‌ها قرار گرفتند. جهت جلوگیری از نفوذ نور به داخل محیط کشت، دیواره جعبه‌ها از خارج ایزوله گردیدند. به منظور تأمین مواد غذایی گیاهچه‌های نشاء شده در سیستم هیدروپونیک از محلول یوشیدا (۱۹۸۱) که به صورت استوک تهیه شده بود، استفاده گردید. پس از اضافه کردن محلول غذایی یوشیدا، pH در محدوده ۵/۵ و هدایت الکتریکی نیز در حدود ۲ دسی زیمنس بر متر تنظیم گردید. هر هفت روز یک بار تا روز سی ام بعد از جوانه زنی (مرحله برداشت) مواد غذایی برای هر تشت تجدید شد. پس از برداشت، آب محتوی هر تشت (ترشحات ریشه) جمع آوری و در بطری‌های ایزوله در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (کاتوناگوچی و اینو، ۲۰۰۱).

مجموعه‌ای از آزمون‌های زی‌سنجی و بررسی شاخص‌های رشد (درصد و سرعت جوانه‌زنی و محتوای کلروفیل) گیاهچه سوروف تیمار شده با ترشحات ریشه ارقام برنج طی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور در چهار تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۸۷ مورد ارزیابی قرار گرفتند. فاکتور اول (رقم) در ۳ سطح و فاکتور دوم (غلظت ترشحات) در ۳ سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ درصد) در نظر گرفته شد. بر این اساس مقداری از بذور سوروف که از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه جمع‌آوری شده بود، پس از خالص سازی فیزیکی با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه سترون و گندزدایی شدند. تعداد ۱۰۰ بذر درون پتريدیش‌های ۹ سانتی‌متری با دو لایه کاغذ صافی قرار داده و با استفاده از ترشحات ریشه هر رقم برنج (در سه غلظت) به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر تیمار و میزان بازدارندگی آنها روی سرعت جوانه‌زنی تعیین شد. سرعت جوانه‌زنی با استفاده از فرمول $R = \sum \frac{N}{D}$ (که در آن R سرعت جوانه زنی بر حسب تعداد بذر جوانه‌زده در روز، N تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز و D

1- Taichung

تعداد روزهای سپری شده می‌باشد) محاسبه گردید (سرمدنی، ۱۹۹۶). جهت اندازه‌گیری درصد جوانه‌زنی و خصوصیات رشدی گیاهچه سوروف شامل، طول ریشه‌چه، طول ساقچه، طول کل دانه‌رست، وزن تر، وزن خشک، محتوای کلروفیل و محتوای نیتروژن، کلیه نمونه‌ها درون دستگاه ژرمیناتور (Iran Khodsaz, IKHRH, Iran)، در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد، طول روز ۱۲ ساعت با شدت نور ۱۴۰۰۰ لوکس قرار گرفتند. بعد از اتمام مرحله جوانه‌زنی و اندازه‌گیری سرعت و درصد جوانه‌زنی، تعداد ۱۰ گیاهچه که از نظر مورفولوژیکی یکنواخت بودند درون پتريدیش‌ها ۹ سانتی‌متری به مدت ۱ هفته نگهداری شدند (به مدت ۱۴ روز از شروع مرحله جوانه‌زنی) و جهت تغذیه آنها از محلول غذایی یوشیدا استفاده شد. پس از اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک گیاهچه‌ها (طول ریشه‌چه، طول ساقچه، طول کل گیاهچه، وزن تر، وزن خشک) برای اندازه‌گیری محتوای نیتروژن اندام هوایی گیاهچه‌های سوروف، ابتدا مقداری از اندام هوایی هر نمونه به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلیسیوس خشک گردید و بعد از توزین آسیاب شد. مقدار ۰/۲ گرم از هر نمونه پس از هضم و رقیق کردن عصاره‌ای تهیه و به دستگاه کجل تک (Kjeltac, Foss 2300) منتقل و محتوای نیتروژن محاسبه گردید (امامی، ۱۹۹۶).

برای بیان میزان تغییرات و واکنش محتوای کلروفیل گیاهچه‌های سوروف، تعداد ۶ دایره (دیسک) به قطر ۶/۲ میلی‌متر از هر نمونه برگ به صورت مجزا برداشت گردید و با استفاده از روش پورا و همکاران (۱۹۸۹) استخراج کلروفیل صورت گرفت. پس از استخراج کلروفیل غلظت هر کلروفیل بطور مجزا (a و b) و محتوای کلروفیل با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری (UV/ Vis- JENWAY- ENGLAND) و معادله ۱ محاسبه گردید (Porra et al., 1989).

$$a+b = (0.0202 \times A_{645}) + (0.00802 \times A_{663}) \quad (\text{معادله ۱})$$

در این معادله A_{645} ضریب طول موج (۶۴۵ نانومتر) جذب کلروفیل a و ضریب A_{663} طول موج (۶۶۳ نانومتر) جذب کلروفیل b می‌باشد.

همچنین مقادیر بازدارندگی برای کلیه صفات مورد نظر با استفاده از معادله ۲ محاسبه و مورد ارزیابی قرار گرفت:

$$100 \times [\text{شاهد} / (\text{شاهد} - \text{تیمار})] = \text{درصد بازدارندگی} \quad (\text{معادله ۲})$$

برای تعیین ترکیبات دگر آسیب موجود در ترشحات ریشه ارقام برنج مورد مطالعه، مقدار ۵۰ سی سی از ترشحات ریشه هر رقم، با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) در آزمایشگاه شیمی تجزیه جهاد دانشگاهی ارومیه مورد آنالیز قرار گرفت. به همین منظور برای شناسایی فنولیک اسیدهای احتمالی درون ترشحات استخراج شده از ارقام برنج از دستگاه HPLC (Agilent Technologies 1100 series, USA) استفاده شد و برای تعیین غلظت مواد فنولیکی از دستگاه اسپکتوفتومتر (Perkin-Elmer model Lambda 25, USA) که به دستگاه HPLC متصل شده بود استفاده گردید. بر همین اساس ابتدا برای شناسایی زمان جذب واقعی هر یک از فنولیک اسیدها، مقدار ۲۰ میکرو لیتر از استاندارد (Merck, Germany) آنها که از قبل با استفاده از حلال‌های متانول، استون و آب مقطر آماده شده بود درون دستگاه تزریق و با استفاده از نرم افزار Chemstation زمان جذب و غلظت فنولیک اسیدها شناسایی و برای اطمینان از زمان جذب دستگاه کلیه استانداردها در دو طول موج اندازه‌گیری شدند.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (SAS Institute, 1997) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها و کروماتوگرام‌ها از صفحه گستر Excel استفاده گردید.

نتایج

صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک: تفاوت میان ارقام و غلظت‌های مورد مطالعه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در بین ارقام مورد مطالعه باستانی رقم سپیدرود اثرات بازدارندگی در مقایسه با شاهد با افزایش غلظت (از صفر تا ۱۰۰ درصد) به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. با توجه به جدول ۲ طول ریشه‌چه گیاهچه‌های سوروف در رقم ندا و تایچانگ با افزایش غلظت ترشحات ریشه از صفر به ۱۰۰ درصد کاهش یافت اما بازدارندگی‌ها در غلظت ۱۰۰ و ۵۰ درصد رقم تایچانگ (با ۳۴/۳۰ و ۵۳/۷۰ درصد) به مراتب بیش از رقم ندا (۲۳/۴۰ و ۴۰/۶۰ درصد) بود. همچنین رقم سپیدرود در غلظت ۱۰۰ درصد تفاوت معنی‌داری با غلظت صفر درصد نداشت و کمترین تأثیر را روی طول ریشه‌چه گذاشت. اما در مورد طول ساقه‌چه (جدول ۲)، رقم ندا در غلظت ۱۰۰ و ۵۰ درصد از ترشحات ریشه به‌ترتیب با ۱۲/۸ و ۲۹/۱ درصد بازدارندگی بیشترین تأثیر را در بین ارقام مورد مطالعه داشت و کمترین مقدار بازدارندگی روی طول ساقه‌چه با ۰/۵ و ۱/۰ درصد به‌ترتیب برای غلظت ۱۰۰

و ۵۰ مربوط به رقم سپیدرود بود. با توجه به جدول (۲) طول گیاهچه‌های سوروف بیشتر تحت تأثیر ترشحات ریشه رقم تایچانگ بوده است، به طوری که بالاترین درصد بازدارندگی برای طول کل گیاهچه‌ها در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ درصد (با ۲۰/۸ و ۳۸/۱ درصد) متعلق به این رقم بود. برای صفت وزن‌تر با توجه جدول ۳، تفاوت معنی‌داری بین رقم ندا و تایچانگ در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ درصد مشاهده نشد و وزن‌تر گیاهچه‌های سوروف در این دو رقم به مراتب بیش از رقم سپیدرود بود. همچنین در رقم سپیدرود در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در میان ارقام مورد بررسی از نظر میزان وزن خشک گیاهچه‌های سوروف، رقم تایچانگ با ۲۹/۹ درصد در غلظت ۱۰۰ درصد بیشترین و رقم سپیدرود در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ درصد به ترتیب با ۲/۶ و ۲/۸ درصد کمترین تأثیر بازدارندگی را داشتند. همچنین در رقم سپیدرود بین غلظت‌های مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). سرعت و درصد جوانه‌زنی، از جمله شاخص‌هایی است که در آزمون‌های زی‌سنجی مورد توجه است. لذا با توجه به جدول ۳، تفاوت معنی‌داری بین ارقام در غلظت‌های مختلف از نظر سرعت جوانه‌زنی مشاهده شد بطوری‌که حداقل سرعت جوانه‌زنی برای بذور سوروف مربوط به تیمار ترشحات ریشه رقم تایچانگ در غلظت ۱۰۰ درصد (با ۵۰/۹ درصد بازدارندگی) بود و کمترین میزان بازدارندگی در مقایسه با شاهد ۳/۳ درصد قدرت بازدارندگی مربوط به رقم ندا در غلظت ۵۰ درصد از ترشحات ریشه بود. در مورد درصد جوانه‌زنی نتایج تا حدودی مشابه سرعت جوانه‌زنی بود به طوری که کمترین درصد جوانه‌زنی متعلق به رقم تایچانگ (با ۳۱/۹ درصد بازدارندگی) در غلظت ۱۰۰ درصد و بیشترین درصد جوانه‌زنی متعلق به تیمار ترشحات ریشه رقم سپیدرود در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ درصد بود (جدول ۳). از جمله صفات موثر در تعیین میزان رشد گیاه محتوای کلروفیل آن است بر این اساس و با توجه به جدول (۳)، بیشترین کاهش (بیشترین بازدارندگی) در محتوای کلروفیل گیاهچه‌های سوروف با ۵۸/۲ درصد مربوط به رقم ندا در غلظت ۱۰۰ درصد ترشحات ریشه مربوط بود. این در حالی است که غلظت ۵۰ درصد ترشحات ریشه این رقم (با ۴۹/۶ درصد) نیز اثرات به مراتب بیشتری نسبت به دو رقم دیگر در تمامی غلظت‌های تیمار شده داشت.

جدول ۱- تجزیه واریانس درصد بازدارندگی ترشحات ریشه ارقام مختلف برنج بر خصوصیات علف هرز سوروف

میانگین مربعات											
منبع تغییرات	درجه آزادی	طول ریشه چه	طول ساقه-چه	طول کل	وزن تر دانهرست	وزن خشک	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی	محتوای کلروفیل	محتوای نیتروژن	میانگین مربعات
رقم (A)	۲	۲۵۳۰/۵۳**	۶۳۷/۲۰**	۱۲۶۷/۶۱**	۶۸۱/۰۹**	۶۲۵/۰۲**	۱۷۷۶/۹۵**	۵۸۲/۹۵**	۳۹۶۱/۰۲**	۱۰۳۸/۹۹**	
غلظت (B)	۲	۳۰۸۶/۹۰**	۱۰۱۱/۵۴**	۱۷۷۱/۸۶**	۱۴۱۴/۵۹**	۱۰۳۱/۰۵**	۲۳۰۲/۳۷**	۱۴۵۲/۶۱**	۲۱۶۰/۰۹**	۲۱۰۶/۷۲**	
A×B	۴	۷۷۳/۴۷**	۲۵۴/۲۸**	۴۳۰/۶۳**	۲۰۴/۴۰**	۱۹۴/۸۵**	۵۰۴/۶۸**	۱۷۰/۹۱**	۱۰۰۷/۷۴**	۲۸۶/۹۷**	
خطا	۲۷	۱/۷۴	۱/۸۹	۱/۳۶	۹/۳۸	۴/۴۱	۴/۴۵	۲/۷۲	۲/۲۷	۰/۷۶	
ضریب تغییرات (%)		۷/۶۳	۱۵/۷۹	۹/۳۲	۲۵/۴۸	۲۱/۲۹	۱۴/۵۰	۱۳/۹۹	۹/۸۲	۶/۰۷	

**، معنی دار در سطح احتمال یک درصد

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی اثر متقابل رقم در غلظت ترشحات ریشه ارقام برنج بر خصوصیات علف هرز سوروف

بر اساس آزمون LSD

تیمار	طول ریشه چه	طول ساقه چه	طول کل	وزن تر خشک	وزن جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی	محتوای کلروفیل	محتوای نیتروژن	درصد بازدارندگی
	۰f	۰e	۰f	۰d	۰e	۰g	۰f	۰e	۰g	غلظت ۰٪ (شاهد)
	۲۳/۴۰d	۱۲/۸۰c	۱۷/۵۰d	۲۰/۹۰b	۱۳/۶۰d	۱۳/۲۰d	۱۶/۶۰d	۴۹/۶۰b	۲۸/۹۰b	غلظت ۵۰٪ رقم ندا
	۴۰/۶۰b	۲۹/۱۰a	۳۴/۲۰b	۲۸/۹۰a	۲۲/۷۰b	۲۴/۷۰c	۲۶/۸۰b	۵۸/۲۰a	۴۳/۸۰a	غلظت ۱۰۰٪ رقم ندا
	۳۴/۳۰c	۹/۸۰d	۲۰/۸۰c	۱۸/۷۰b	۱۷/۶۰c	۳۱/۷۰b	۲۰/۷۰c	۱۱/۹۰c	۱۶/۲۰d	غلظت ۵۰٪ رقم تایچانگ
	۵۳/۷۰a	۲۵/۶۰b	۳۸/۱۰a	۲۹/۶۰a	۲۹/۹۰a	۵۰/۹۰a	۳۱/۹۰a	۱۲/۹۰c	۲۳/۵۰c	غلظت ۱۰۰٪ رقم تایچانگ
	۲/۸۰e	۱/۰۰e	۱/۸۰e	۵/۱۰c	۲/۶۰e	۳/۳۰f	۵/۵۰e	۱/۷۰de	۶/۰۰f	غلظت ۵۰٪ رقم سپیدرود
	۰/۶۰f	۰/۵۰e	۰/۴۰ef	۴/۸۰c	۲/۸۰e	۷/۱۰e	۶/۵۰e	۳/۵۰d	۱۱/۳۰e	غلظت ۱۰۰٪ رقم سپیدرود
LSD	۱/۹۴	۱/۹۹	۱/۶۹	۴/۴۴	۳/۰۴	۳/۰۶	۲/۳۹	۲/۱۸	۱/۲۶	مقادیر LSD

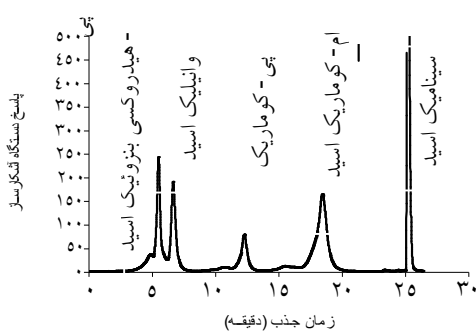
حروف مشابه درون هر ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها می باشد.

بین غلظت ۵۰ و ۱۰۰ در رقم تایچانگ از نظر محتوای کلروفیل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بر اساس نتایج جدول ۲ بیشترین میزان کاهش در محتوای نیتروژن در غلظت ۱۰۰ درصد از ترشحات ریشه رقم ندا (در حدود ۴۳/۸ درصد) و کمترین مقدار متعلق به رقم سپیدرود با ۱۱/۳ درصد متعلق به غلظت ۱۰۰ ترشحات ریشه رقم سپیدرود داشت.

کروماتوگرافی: بعد از بهینه‌سازی و تعیین بهترین وضعیت و حالت برای کروماتوگرافی، مقادیر مختلفی از استانداردهای تهیه شده از هر فنولیک اسید برای کالیبره کردن منحنی‌های خروجی، به‌دستگاه تزریق گردید. شناسایی فنولیک اسیدها بر اساس زمان جذب در ستون‌ها انجام شد (جدول ۳). همچنین کروماتوگرام فنولیک اسیدهای استاندارد به‌صورت مجزا در دو طول موج ۳۱۴ نانومتر و ۲۷۴ نانومتر بر اساس زمان جذب هر یک از آنها رسم گردید (شکل ۱ و ۲).

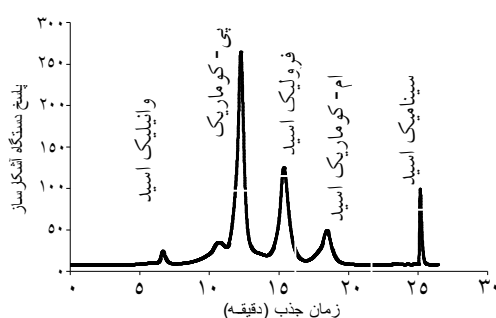
جدول ۳- زمان جذب فنولیک اسیدهای استاندارد در دستگاه کروماتوگرافی

مواد مورد تجزیه	زمان جذب (دقیقه)
پی - هیدروکسی بنزوئیک اسید (p-hydroxybenzoic acid)	۵/۴۷
وانیلیک اسید (Vanilic acid)	۶/۵۱
پی - کوماریک اسید (p-coumaric acid)	۱۲/۲۰
فرولیک اسید (Ferulic acid)	۱۵/۱۷
ام - کوماریک اسید (m-coumaric acid)	۱۸/۴۰
سینامیک اسید (Cinnamic acid)	۲۵/۱۳



شکل ۲- کروماتوگرافی فنولیک اسیدهای استاندارد در طول

موج ۲۷۴ نانومتر.



شکل ۱- کروماتوگرافی فنولیک اسیدهای استاندارد در طول

موج ۳۱۴ نانومتر.

جدول ۴- غلظت هر یک از فنولیک اسیدهای ترشحات ریشه ارقام برنج (میلی گرم در لیتر).

رقم	فنولیک اسید پی- هیدروکسی بنزونیك اسید	وانیلیك اسید	پی- کوماریك اسید	فرولیک اسید	ام- کوماریك اسید	سینامیک اسید	جمع
ندا	ND	ND	ND	ND	۰/۱۱۰	۰/۰۹۱	۰/۲۰۱
تایچانگ	۰/۱۴۰	۵/۵۸۰	۰/۱۶۰	ND	۰/۱۸۰	۰/۰۲۵	۶/۰۸۵
سپیدرود	۰/۲۵۰	ND	ND	ND	۰۰/۰۷	۰/۰۰۲	۰/۳۲۲

ND، شناسایی نشد

با توجه به نتایج جدول ۴، رقم سپیدرود از نظر غلظت پی- هیدروکسی بنزونیك اسید (۰/۲۵) میلی گرم) در ترشحات ریشه بالاتر از بقیه ارقام بود و رقم ندا از نظر غلظت سینامیک اسید بیشتر از دو رقم دیگر بود در حالی که رقم تایچانگ از نظر میزان وانیلیك اسید، پی کوماریك و ام کوماریك اسید غلظت‌های به مراتب بالاتری از دو رقم دیگر داشت. همچنین در ترشحات ریشه رقم ندا پی- هیدروکسی بنزونیك اسید، وانیلیك اسید، پی کوماریك و فرولیک اسید مشاهده نشد. علاوه بر این در رقم سپیدرود نیز وانیلیك اسید، پی کوماریك و فرولیک اسید یافت نشد. در مجموع رقم تایچانگ با ۶/۰۸۵ میکروگرم محتوای فنولیک اسید بیشترین غلظت فنولیک اسید را داشت که این مقدار تقریباً ۳۰ برابر رقم ندا و ۱۹ برابر رقم سپیدرود بود.

همبستگی صفات: بر اساس نتایج حاصل از جدول ضریب همبستگی صفات (جدول ۵)، به استثنای محتوای فنولیک اسید، کلیه صفات مورد بررسی در این مطالعه همبستگی مثبت و معنی داری با هم داشتند. از میان صفات بیشترین ضریب همبستگی ($r=0/989^{**}$) متعلق به طول ساقچه و طول گیاهچه بود.

ایوب حیدرزاده و همکاران

جدول ۵- مقادیر ضریب همبستگی خصوصیات علف هرز سوروف با محتوای فنولیک اسید ترشحات ریشه ارقام برنج (n=۳۶).

محتوای فنولیک اسید	محتوای کلروفیل	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	محتوای نیتروژن	وزن خشک	وزن تر	طول کل گیاهچه	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	صفات
									۱	طول ریشه‌چه
								۱	۰/۹۳**	طول ساقه‌چه
							۱	۰/۹۷**	۰/۹۸**	طول کل گیاهچه
						۱	۰/۹۵**	۰/۹۲**	۰/۹۵**	وزن تر
					۱	۰/۹۴**	۰/۹۳**	۰/۸۷**	۰/۹۵**	وزن خشک
				۱	۰/۷۵**	۰/۸۸**	۰/۸۴**	۰/۸۹**	۰/۷۹**	محتوای نیتروژن
			۱	۰/۶۱**	۰/۹۲**	۰/۸۴**	۰/۹۱**	۰/۸۲**	۰/۹۴**	سرعت جوانه‌زنی
		۱	۰/۹۴**	۰/۸۱**	۰/۹۵**	۰/۹۴**	۰/۹۷**	۰/۹۱**	۰/۹۸**	درصد جوانه‌زنی
	۱	۰/۵۷**	۰/۳۶*	۰/۹۱**	۰/۵۱**	۰/۷۳**	۰/۶۷**	۰/۹۵**	۰/۵۹**	محتوای کلروفیل
۱	۰/۰۴ ^{NS}	-۰/۷۵**	-۰/۸۹*	-۰/۲۵ ^{NS}	-۰/۷۷**	-۰/۶۰**	-۰/۶۸**	-۰/۵۴**	-۰/۷۵**	محتوای فنولیک اسید

NS، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

برای محتوای کلروفیل بالاترین ضریب همبستگی ($r=۰/۹۱۷^{**}$) مربوط به محتوای نیتروژن گیاهچه‌ها بود. محتوای فنولیک اسید با کلیه صفات مورد بررسی به استثنای محتوای نیتروژن ($r=-۰/۲۵۰^{NS}$) و محتوای کلروفیل ($r=۰/۰۴^{NS}$) همبستگی منفی معنی‌داری داشت. به عبارت دیگر هرچه قدر محتوای فنولیک اسید درون تیمارها افزایش پیدا می‌کرد به همان اندازه از صفات مورد بررسی به طور معنی‌داری کاسته شد. همچنین محتوای فنولیک اسید بالاترین ضریب همبستگی منفی معنی‌دار ($r=-۰/۷۵۳^{NS}$) را با سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور سوروف تیمار شده با ترشحات ریشه ارقام داشت. به طوری که با افزایش محتوای فنولیک اسید در ترشحات به همان اندازه از سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور سوروف کاسته شد.

بحث

چانگ و همکاران (۲۰۰۱، ۲۰۰۲ و ۲۰۰۶)، اولافسداتر (۲۰۰۱)، کاتو ناگوچی (۲۰۰۴)، اصغری و همکاران (۲۰۰۲) و برنجی و همکاران (۲۰۰۸) مطالعات بسیاری در مورد شناسایی ارقام دگر آسیب برنج از طریق پوسته آنها انجام داده‌اند ولی تا کنون مطالعه بسیار اندکی در مورد تعیین میزان بازدارندگی ترشحات ریشه ارقام برنج بر خصوصیات فیزیولوژیکی به‌خصوص محتوای نیتروژن و محتوای کلروفیل گیاه سوروف انجام گرفته است. در این آزمایش تفاوت‌های بسیاری از نظر قدرت بازدارندگی ارقام مختلف برنج مشاهده گردید. در میان ارقام مورد مطالعه در مجموع صفات، رقم تایچانگ بالاترین میزان بازدارندگی را موجب شد. همچنین بیشترین محتوای فنولیک‌اسید نیز به این رقم تعلق داشت. از نظر قدرت بازدارندگی، رقم سپیدرود به‌علت اثرات اندکی که بر صفات مورد بررسی داشت، به‌عنوان یک رقم فاقد اثر بازدارندگی و یا غیر بازدارنده معرفی می‌شود. احتمالاً رقم تایچانگ در طبیعت نیز مقادیر زیادی از مواد شیمیایی دگرآسیب را به محیط منتشر می‌کند (برنجی و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج به‌دست آمده در مورد تأثیر مواد دگرآسیب (از جمله فنولیک‌اسیدها) بر خصوصیاتی نظیر طول ریشه چه، طول ساقه‌چه، وزن تر و خشک گیاه برنج و درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر این گیاه توسط بسیاری از محققان (چانگ و همکاران، ۲۰۰۰، ۲۰۰۲ و ۲۰۰۶؛ کاتو ناگوچی، ۲۰۰۴؛ ماتیس و همکاران، ۱۹۹۸؛ اصغری و موسوی، ۲۰۰۲ و برنجی و همکاران، ۲۰۰۸) نشان‌دهنده اثرات بازدارنده این ترکیبات می‌باشد. نتایج بدست آمده در مورد محتوای نیتروژن و کلروفیل تاکنون در تایید یا رد نتایج این آزمایش نبوده است. با توجه به این که هر یک از فنولیک‌اسیدهای شناخته شده دارای اثرات متفاوتی روی گیاه هدف دارند و در اصطلاح دارای نحوه اثر متفاوتی هستند. به نظر می‌رسد دلیل اینکه رقم تایچانگ تأثیر بازدارندگی زیادی بر صفات فیزیولوژیکی نظیر محتوای نیتروژن و کلروفیل همانند صفات مورفولوژیک نداشته است، خاصیت اختصاصی عمل کردن برخی از فنولیک‌اسیدهای شناخته شده می‌باشد (کاتو ناگوچی و اینو، ۲۰۰۱). همچنین محتوای فنولیک‌اسیدهای موجود در ترشحات ریشه ارقام برنج با بیشتر صفات مورد بررسی به استثنای محتوای نیتروژن و محتوای کلروفیل گیاهچه‌های سوروف همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت، لذا همین امر را می‌توان دلیلی بر بازدارنده بودن فنولیک‌اسیدها دانست. گیاه برنج می‌تواند بسیاری از انواع متابولیت‌های ثانویه را به طرق مختلف از اندام‌های خود خارج کند. این متابولیت‌های ثانویه اثرات بسیاری بر واکنش‌های شیمیایی هر موجود زنده پیرامون گیاه خواهند داشت (باسیلیو

خیمنز و همکاران، ۲۰۰۳). دگر آسیمی یکی از خواص متابولیت‌های ثانویه است. یکی از روش‌های بروز علائم دگرآسیب می‌تواند به صورت خروج این مواد از طریق ریشه گیاه باشد (کاتوناگوچی، ۲۰۰۱). اما سوالی که در اینجا مطرح است این که چه مقدار از این مواد برای ایجاد بازدارندگی روی گیاه یا موجود زنده هدف کافی است. بر اساس مطالعات انجام شده توسط ایندرجیت (۲۰۰۱ و ۲۰۰۶) مقادیر فنولیک اسید موجود در پیرامون گیاه هدف (علف هرز) به دلایل بسیاری از جمله موانع زنده، موانع فیزیکی و غیر زنده، واکنش‌های شیمیایی مواد آلی و معدنی موجود در خاک و تبادلات یونی خاک در حدی نیست که برای گیاه هدف بازدارندگی معنی‌داری ایجاد کند. به نظر می‌رسد فنولیک اسیدها در مقادیر کم، تنها قادرند خصوصیات مورفولوژیک را تحت تأثیر قرار دهند. بر این اساس برای ایجاد بازدارندگی در صفات فیزیولوژیک نیاز به غلظت‌های بیشتری از این مواد است یا اینکه اصولاً بازدارندگی توسط برخی دیگر از متابولیت‌های ثانویه دیگر اتفاق افتاده است. ترشحات ریشه رقم ندا از نظر محتوای فنولیک اسید در سطح پایین‌تری نسبت به رقم تایچانگ قرار داشت، ولی اثر بازدارندگی به مراتب بالاتری بر محتوای کلروفیل گیاهچه‌های سوروف نشان داد. کاتوناگوچی و اینو (۲۰۰۴) نیز دریافتند که در بین متابولیت‌های ثانویه خارج شده از گیاه علاوه بر فنولیک اسیدها که بازدارندگی آنها به اثبات رسیده است، مواد دیگری با خاصیت دگرآسیب وجود دارند که در مقادیر کم قدرت بازدارندگی بالایی نشان داده‌اند. بنابراین احتمال دارد در شرایط مزرعه و محیط طبیعی نیز با وجود موانع زنده و غیره زنده پیرامون گیاه که باعث کاهش بازدارندگی می‌شوند، بازدارندگی به دلایل دیگری نیز اتفاق افتد. در مجموع صفات مورد بررسی بالاترین میزان بازدارندگی مربوط به رقم تایچانگ و کمترین نیز مربوط به رقم سپیدرود بود. با توجه به بازدارندگی بالای رقم ندا بر محتوای کلروفیل و محتوای نیتروژن می‌توان از این رقم در مطالعات بعدی برای شناسایی عوامل اصلی ایجاد بازدارندگی استفاده نمود.

منابع

- Abdus-Salam, M.D., and Kato-Noguchi, H. 2009. Screening of allelopathy potential bangladesh rice cultivars by donor- receiver bioassay. *Asian J. Plant Sci.* 8: 20-27.
- Asghari, J., and Musavi, S.Y. 2002. Allelopathic effects of rice varieties on barnyardgrass and umbrella sedge. *Iran. J. Plant. Dis.* 38: 133-143.

- Bacilio-Jimenez, M., Aguilar-Flores, S., Ventura-Zapata, E., Perez-Campos, E., Bouquelet, S., and Zenteno, E. 2003. Chemical characterization of root exudates from rice (*Oryza sativa* L.) and their effects on the chemotactic response of endophytic bacteria. *Plant Soil*. 249: 271-277.
- Berenji, S., Asghari, B.J., and Matin, A.A. 2008. Allelopathic potential of rice (*Oryza sativa*) varieties on seedling growth of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). *J. Plant Interaction*. 3: 175-180.
- Chung, I.M., Ahn, J.K., and Yun, S.J. 2001. Assessment of allelopathic potential of barnyardgrass on rice cultivars. *Crop Prot.* 20: 921-928.
- Chung, I. M., Kim, K.H., Ahn, J.K., Chun, S.C. and Kim, C.S. 2002. Screening of allelochemicals on barnyardgrass and identification of potentially allelopathic compounds from rice variety hull extracts. *Crop Prot.* 21: 913-920.
- Chung, I.M., Kim, J., and Kim, S. 2006. Evaluation of allelopathic potential and quantification of momilactone A, B from rice hull extracts and assessment of inhibitory bioactivity on paddy field weeds. *J. Agric. Food Chem.* 54: 2527-2536.
- Emami, A. 1996. Methods of plant analysis (In Farsi). *Soil. Water Res Ins.* p.128
- Fujii, Y., 1993. The Allelopathic effect of some rice varieties. *Technical Bulletin Food. Fertilizer Technol Center.* 134: 1-6.
- Inderjit. 2001. Soil: environmental effects on allelochemical activity. *Agron J.* 93:79-84.
- Inderjit. 2006. Experimental complexities in evaluating the allelopathic activities in laboratory bioassays: A case study. *Soil Biol. Biochem.* 38: 256-262.
- Jung, W.S., Kim, K.H., Ahn, J.K., Hahn, S.J. and Chung, I.M. 2004. Allelopathic potential of rice residues against *Echinochloa crus-galli*. *Crop Prot.* 23: 211-218.
- Kato-Noguchi, H., and Ino, T. 2001. Assessment of allelopathic potential of root exudates of rice seedlings. *Biol. Plant.* 44: 635-638.
- Kato-Noguchi, H., and Ino, T. 2003. Rice seedlings release momilactone B into the environment. *Phytochem.* 63: 551-554.
- Kato-Noguchi, H. 2004. Allelopathic substance in rice root exudates: Rediscovery of momilactone B as an allelochemical. *J. Plant Physiol.* 161: 271-276.
- Mattice, J., Lavy, T., Skulman, B., and Dilday, R.H. 1998. Searching for allelochemicals in rice that control ducksalad. In: Olofsdotter, M. (ed). *Allelopathy in rice*. IRRI, Manila, pp 81-98.
- Olofsdotter, M., and Navarez, D. 1998. *Allelopathy in rice*. International rice Res Inst, Manila, Philippines, 154 p.
- Olofsdotter, M., Rebulanan, M., Madrid, A., Dali, W., Navarez, D. and Olk, D.C. 2002. Why phenolic acids are unlikely primary allelochemicals in rice. *J. Chem Ecol.* 28: 229-242.

- Porra, R. J., Thompson, A., and Friedelman, P. E., 1989. Determination of accurate extraction and simultaneously equation for assaying chlorophyll a and b extracted with different solvents: verification of concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopic. *Biochem. Biophys Acta.* 975: 384-394
- Reigosa, M. J., Pedrol, N., and Gonzalez, L. 2006. Allelopathy: A physiological process with ecological implications, 650p.
- Rizvi, S.J.H. and Mishra, G.P. 1989. Allelopathic effects of nicotine on maize. Some aspects of its mechanism of action. *Plant. Soil*, 116: 292-294.
- Sarmadniya, Gh. 1996. *Seed Technology*, Mashhad University Press, 288p.
- SAS Institute, Inc. 1997. *SAS/STAT user's guide*, version 6.12. SAS Institute, Inc., Cary, NC. 1162 p.
- Thompson, A.C. 1985. The chemistry of allelopathy biochemical interactions among plants. *Acad Sci Sym. Serr 330*, Am J. Chem Soc. Washington, DC.
- Yoshida, S., 1981. *Fundamentals of rice crop science*. IRRI, Los Banos, Philippines, 340p.
- Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S. and Blanchard, C. 2004. The distribution of phenolic acids in rice. *Food Chem.* 87: 401-406.



Evaluating inhibitory potential of rice cultivars (*Oryza sativa* L.) root exudates on characteristics of Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) weed

A. Heidarzade¹, *H. Pirdashti², M.A. Esmaeili³ and A.A. Matine⁴
^{1, 2, 3}Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran, ⁴Food and Chemical Analysis Research Lab, Jahad-Daneshgahi, Urmia, Iran

Abstract

This experiment was conducted to screening phenolic acids in root exudates of three rice cultivars (Neda, Taichung and Sepidrood) by high performance liquid chromatography (HPLC) method and to evaluate allelopathic potential of these cultivars on growth characteristics of barnyardgrass weed. The experiment was arranged in factorial based on completely randomized design with four replications in greenhouse and laboratory conditions at Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University during 2007. The results of ANOVA indicated that all treatments and interactions had significant effect at 0.01 levels on all studied traits. In terms of more studied traits, Taichung (root exudates) had the highest amounts compared to other cultivars. Accordingly, Taichung by 40.60% and Sepidrood by 0.60% had the highest and lowest inhibitory on root lengths of barnyardgrass, respectively. In terms of dry weights, Taichung and Sepidrood had the highest and minimum effect with 29.60 and 2.60 inhibitory percentages, respectively. Root exudates of Taichung with 50.90% and 31.90% had the highest inhibitory effects on germination rate and percentage of barnyardgrass seeds, respectively. In terms of physiological traits such as chlorophyll and nitrogen contents the highest amount of inhibition were related to Neda (with 58.20% and 43.80%, respectively) and the lowest amounts were recorded for Sepidrood (with 1.70% and 11.30%, respectively). Root exudates of all cultivars were also analyzed by HPLC method. The results showed that the highest phenolic contents (6.085 mg/l) were related to root exudates of Taichung and the lowest amounts (0.201) were belonged to Neda.

Keywords: Rice; Allelopathy; Barnyardgrass; HPLC

*-Corresponding Author; Email: pirdasht@yahoo.com