

بررسی اثر آللوپاتی عصاره هیدروالکلی کورم و خاک مزرعه زعفران

مهديه خيرآبادي^۱، مجيد عزيزي^{۲*}

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، مهندسی علوم باغبانی گرایش گیاهان دارویی، دانشگاه فردوسی مشهد.

^۲ استاد گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشگاه فردوسی مشهد.

*نویسنده مسئول: Azizi@um.ac.ir

چکیده

به منظور بررسی پتانسیل آللوپاتی گیاه زعفران اثر عصاره هیدروالکلی کورم و خاک مزرعه زعفران (خاک مزرعه ۹ سال و خاک مزرعه آیش) در غلظت‌های مختلف (۱۰، ۳۰، ۱۰۰ میلی‌گرم وزن خشک عصاره خاک بر میلی‌لیتر) مورد بررسی قرار گرفتند. در این پژوهش از گیاه کاهو (*Lactuca sativa L.*) به عنوان گیاه حساس استفاده گردید و درصد جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، رشد هیپوکوتیل و ریشه‌چه و نسبت این دو مورد ارزیابی قرار گرفت. این پژوهش در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با چهار تکرار در آزمایشگاه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال‌های ۱۳۹۸-۹۷ انجام شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره کورم و خاک کشت شده زعفران، درصد جوانه‌زنی و میانگین زمان جوانه‌زنی افزایش و طول ریشه‌چه و هیپوکوتیل کاهو کاهش یافت. اثر کاهش رشد ریشه‌چه و هیپوکوتیل در کورم زعفران بیشتر از خاک با سابقه کشت ۹ سال زعفران بود که این نشان از اثر آللوپاتی بالای کورم زعفران می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: آلوکمیکال‌ها، جوانه‌زنی، عصاره، علف‌کش طبیعی

مقدمه

زعفران (*Crocus sativus L.*) یک گیاه کورم دار بوده که به خاطر کلاله‌های خشک و قرمز رنگ خود که گران‌قیمت و باارزش می‌باشد بسیار مشهور است که به عنوان ادویه و چاشنی غذا، رنگ در صنایع پارچه و از گذشته در طب سنتی استفاده دارویی داشته است (گرستا و همکاران، ۲۰۱۶). یکی از مشکلات جدی برای تولید محصولات وجود علف‌های هرز می‌باشد که این مشکل حتی از سایر آفات در سرتاسر جهان مهم‌تر می‌باشد. با وجود پیشرفت‌های زیاد در کنترل علف‌های هرز، هنوز هم هر ساله علف‌های هرز منجر به تلفات جدی در محصولات می‌گردد (اسلام و کاتانگوچی، ۲۰۱۲). در این رابطه شاید استفاده از سموم شیمیایی هنوز هم جز مؤثرترین روش‌ها محسوب می‌گردد. بدون استفاده از علف‌کش‌ها امکان تولید کافی محصولات کشاورزی برای جمعیت کنونی و روند افزایشی آن وجود ندارد. طی ۵۰ سال گذشته تولیدات زراعی به شدت به کودها و آفت‌کش‌های سنتتیک وابسته شده است و این وابستگی منجر به آلودگی منابع آب‌های سطحی و تحت‌الارض شده است (راشد محصل و همکاران، ۱۳۸۸). با وجود کنترل شیمیایی نوین علف‌های هرز، حتی در کشورهای پیشرفته که وابستگی زیادی به علف‌کش‌های شیمیایی جهت کنترل علف‌های هرز دارند، کاهش عملکرد و کیفیت گیاهان زراعی و هزینه کنترل علف‌های هرز، بسیار بالاست. هم‌چنین استفاده از علف‌کش‌ها باعث افزایش مقاومت علف‌های هرز به علف‌کش‌ها می‌گردد. بنابراین در حال حاضر، وجود علف‌کش‌های ویژه و کارتر، ضروری به نظر می‌رسد (کوهلی و همکاران، ۲۰۰۱). در دهه اخیر، امکان بهره‌گیری از آللوپاتی در کشاورزی، توجه زیادی را به خود جلب نموده است. در این راستا گیاهان آللوپات از طریق تولید و ترشح متابولیت‌هایی که به محیط اطراف خود رها می‌کنند، تأثیر منفی بر جوانه‌زنی و رشد علف‌های هرز مجاور گذاشته و از این طریق رشد و تراکم آن‌ها را محدود می‌کنند. لذا استفاده از این نوع گیاهان و یا بقایای آن‌ها می‌تواند موجب کاهش مصرف علف‌کش‌ها شود (میقانی، ۱۳۸۲). زعفران به عنوان گیاه دارویی توانایی تولید متابولیت‌های ثانویه را دارد. هدف از این آزمایش بررسی اثرات بازدارندگی کورم و خاک مزرعه کشت شده زعفران (۹ سال کشت) به جهت شناسایی پتانسیل آللوپاتی آن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

عصاره هیدروالکلی کورم، خاک مزرعه زعفران و خاک کشت نشده

این تحقیق با هدف بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی کورم زعفران، خاک مزرعه ۹ ساله زعفران و خاک مزرعه کشت نشده در غلظت‌های مختلف بر جوانه‌زنی و رشد بذر کاهو (*Lactuca sativa* L.) به صورت آزمایشگاهی در آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. در این آزمایش از عصاره هیدروالکلی متانول ۷۰ درصد استفاده شد، زیرا مهم‌ترین و اساسی‌ترین عاملی که باید در استخراج مواد متشکله گیاهان مورد توجه قرار گیرد، حلال است.

برای تهیه عصاره هیدروالکلی، کورم زعفران با توجه به روش کاتو-نوگچی به میزان (۳۰ گرم) با ۳۰۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد (v/v) و آب مقطر برای ۴۸ ساعت مخلوط گردید. با استفاده از کاغذ صافی عصاره فیلتر شد. بعد از فیلتر کردن عصاره، باقیمانده کورم دوباره توسط ۳۰۰ میلی‌لیتر متانول ۱۰۰ درصد برای ۴۸ ساعت عصاره‌گیری شد و توسط کاغذ صافی فیلتر گردید. دو عصاره فیلتر شده با هم مخلوط گردید و سپس توسط دستگاه روتاری Heidolph – Laborota 4000 efficient در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد حذف حلال صورت گرفت. عصاره الکلی خشک شده برای به دست آوردن غلظت‌های مختلف (۱۰، ۳۰ و ۱۰۰ mg DW equivalent extract/mL) در ۰/۳ میلی‌لیتر متانول حل شد و جهت آزمایش بر روی بذر کاهو به کاغذ صافی درون پتری‌دیش‌هایی به قطر ۳ سانتی‌متر افزوده گردید. پتری‌دیش‌ها در زیر هود بخار قرار گرفت تا متانول آن تبخیر شود و سپس کاغذ صافی درون پتری‌دیش‌ها با ۰/۸ میلی‌لیتر محلول آبی توپین ۲۰^۱ (v/v) ۰/۰۵ درصد مرطوب شد. توپین ۲۰ در این آزمایش به عنوان یک سورفاکتانت^۲ عمل کرد و هیچ اثر سمی از خود در آزمایش به جای نمی‌گذاشت (اسلام و کاتانوگچی، ۲۰۱۳؛ کاتو-نوگچی و همکاران، ۲۰۱۴).

در این آزمایش بر اساس روش کاتو-نوگچی (۲۰۱۸) جهت عصاره‌گیری خاک مزرعه با سابقه کشت ۹ سال زعفران، نمونه خاک به میزان (۵۰۰ گرم وزن خشک) با ۱ لیتر متانول ۷۰ درصد (v/v) به مدت ۴۸ ساعت عصاره‌گیری گردید و توسط کاغذ صافی فیلتر شد. عصاره الکلی خشک شده توسط دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد جهت به دست آوردن غلظت‌های مختلف (۱۰، ۳۰، ۱۰۰ میلی‌گرم وزن خشک عصاره خاک بر میلی‌لیتر) در ۰/۳ میلی‌لیتر متانول حل شد و به کاغذ صافی درون پتری‌دیش‌های ۳ سانتی‌متر افزوده گردید. پتری‌دیش‌ها در زیر هود بخار قرار گرفت تا متانول عصاره تبخیر گردد و سپس کاغذ صافی با ۰/۸ میلی‌لیتر محلول آبی توپین ۲۰^۱ (v/v) ۰/۰۵ درصد مرطوب شد (اسلام و کاتانوگچی، ۲۰۱۳؛ کاتو-نوگچی و همکاران، ۲۰۱۴). سپس ۱۰ عدد بذر کاهو به عنوان گیاه تست بر روی کاغذ صافی پتری‌دیش‌ها قرار گرفت. بذرهای تیمار شاهد در پتری‌دیش‌هایی که تنها با محلول توپین ۲۰^۱ (v/v) ۰/۰۵ درصد مرطوب شده بود (بدون عصاره)، قرار گرفت. سپس پتری‌دیش‌ها در انکوباتور در شرایط تاریکی با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز باقی ماند و بعد از پایان ۳ روز بذرهای دارای حداقل ریشه‌چه با طول ۲ میلی‌متر به عنوان بذر جوانه زده در نظر گرفته شدند. در روز پایانی آزمایش از ریشه‌چه و هیپوکوتیل جهت اندازه‌گیری رشد آن‌ها عکس گرفته شد و در نرم افزار Image J اندازه‌گیری گردید. صفات درصد جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول هیپوکوتیل و نسبت ایندو محاسبه گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. آنالیز آماری

¹ Polyoxyethylene sorbitan monolaurate

² Surfactant

داده‌های مربوط به کمک نرم‌افزار آماری SPSS Statistics 23 و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون Tukey HSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای انجام محاسبات و رسم نمودارها، از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

عصاره هیدروالکلی کورم زعفران، خاک مزرعه زعفران و خاک کشت نشده

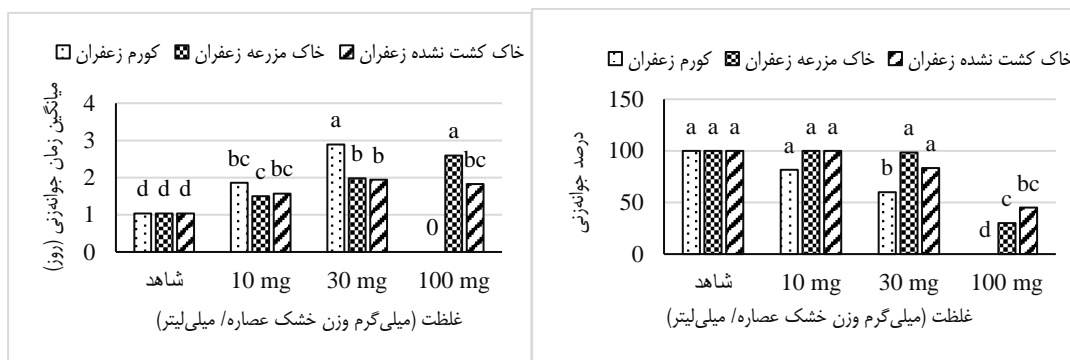
نتایج تجزیه واریانس در جدول ۱ نشان داده شده است.

درصد جوانه‌زنی: با توجه به شکل (۱)، بیشترین درصد جوانه‌زنی مربوط به تیمارهای شاهد، عصاره خاک مزرعه ۹ ساله زعفران و خاک مزرعه کشت نشده با غلظت ۱۰ میلی‌گرم با ۱۰۰ درصد جوانه‌زنی بود که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر و با تیمارهای غلظت ۳۰ میلی‌گرم عصاره خشک خاک مزرعه ۹ ساله زعفران و خاک مزرعه کشت نشده (به ترتیب با ۹۸ درصد و ۸۳ درصد جوانه‌زنی) و غلظت ۱۰ میلی‌گرم کورم زعفران (۸۱ درصد جوانه‌زنی) نداشت. کمترین میزان درصد جوانه‌زنی مربوط به عصاره ۱۰۰ میلی‌گرم کورم زعفران بود که جوانه‌زنی در آن مشاهده نشد. نتایج نشان می‌دهد که بیشترین بازدارندگی درصد جوانه‌زنی مربوط به عصاره هیدروالکلی کورم زعفران بود.

جدول ۱. تجزیه واریانس عصاره هیدروالکلی کورم، خاک مزرعه زعفران و خاک مزرعه کشت نشده.

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	میانگین زمان جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول هیپوکوتیل	نسبت طول ریشه‌چه به هیپوکوتیل
نوع نمونه	۲	۰/۵۴۳ **	۰/۳۳۱ **	۰/۰۶*	ns. ۰/۰۰۱	ns. ۰/۲۹۴
غلظت	۳	۲/۲۳۱ **	۲/۳۷ **	۱۱/۵۲۵ **	۵/۵۶۲ **	۲/۰۷۲ **
نوع نمونه* غلظت	۶	۰/۱۰۷ **	۱/۹۸۸ **	۰/۴۵۵ **	۰/۰۱۲ **	۱/۰۷۶ **
اشتباه آزمایشی	۲۴	۰/۰۱۳	۰/۰۲۳	۰/۰۱۳	۰/۰۰۲	۰/۱۸۴
کل	۳۵					

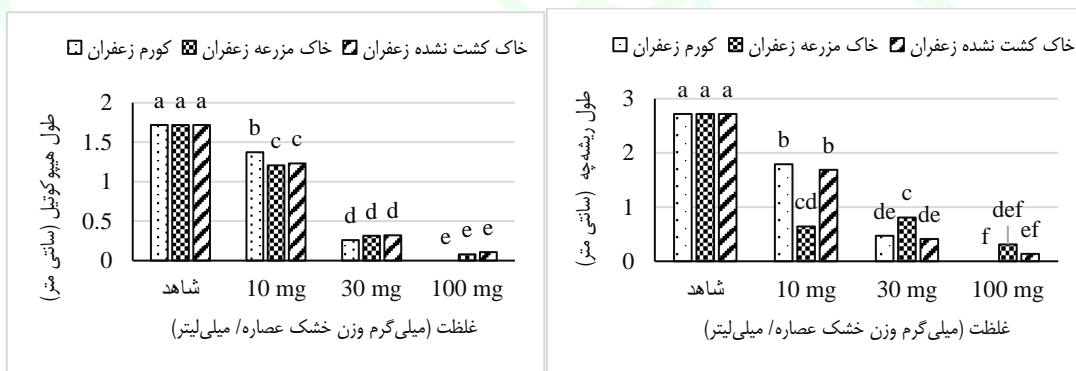
نشانه‌گر عدم وجود اختلاف معنی‌دار. ns. * و ** به ترتیب نشانگر معنی‌دار بودن اثر عامل آزمایشی در سطوح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد،



شکل ۱- اثر متقابل نوع نمونه (کرم زعفران، خاک مزرعه ۹ ساله زعفران و خاک مزرعه کشت نشده) در غلظت‌های مختلف بر درصد جوانه‌زنی و میانگین زمان جوانه‌زنی (روز) کاشت نهاده‌ها.

میانگین زمان جوانه‌زنی: بر اساس شکل ۱، بیشترین میانگین زمان جوانه‌زنی مربوط به تیمارهای ۳۰ میلی‌گرم عصاره کرم زعفران (۲/۸۹ روز) و ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره خاک مزرعه ۹ ساله زعفران (۲/۵۹ روز) بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم کرم زعفران جوانه‌زنی مشاهده نشد. نتایج نشان می‌دهد که عصاره هیدروآلکلی کرم و خاک مزرعه ۹ ساله زعفران تفاوت معنی‌داری بر صفت میانگین زمان جوانه‌زنی نسبت به شاهد و خاک مزرعه کشت نشده داشتند و باعث افزایش میانگین زمان جوانه‌زنی شدند.

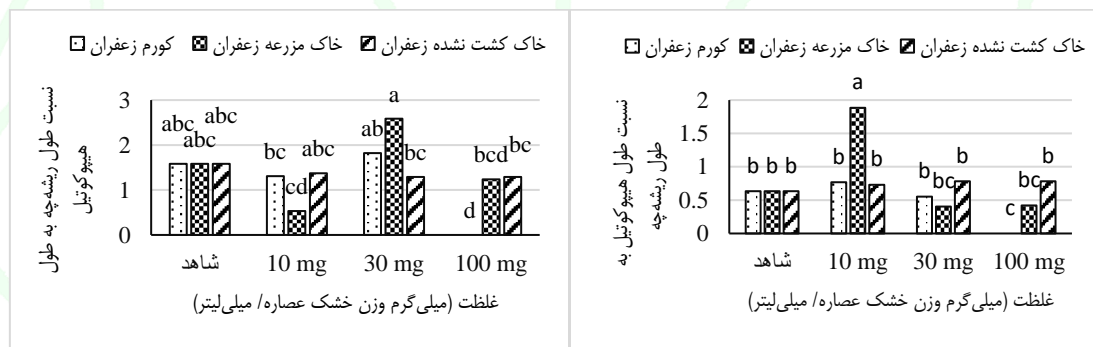
طول ریشه‌چه: با توجه به اطلاعات شکل ۲، بیشترین طول ریشه‌چه مربوط به شاهد بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. بعد از شاهد، عصاره کرم زعفران با غلظت ۱۰ میلی‌گرم (۳۴/۰۶ درصد کاهش نسبت به شاهد) و عصاره خاک مزرعه کشت نشده با غلظت ۱۰ میلی‌گرم (۳۷/۸۷ درصد کاهش نسبت به شاهد) بیشترین طول ریشه‌چه را داشتند. کمترین طول ریشه‌چه مربوط به تیمارهای ۱۰۰ میلی‌گرم کرم زعفران (بذر جوانه زده مشاهده نشد) و تیمارهای ۱۰۰ میلی‌گرم خاک مزرعه ۹ ساله زعفران و خاک مزرعه کشت نشده بود. نتایج نشان می‌دهد که بازدارندگی طول ریشه‌چه در غلظت‌های بالاتر عصاره هیدروآلکلی کرم زعفران بیشتر بود. خاک مزرعه ۹ ساله زعفران در غلظت‌های پایین هم بازدارنده رشد ریشه‌چه بود.



شکل ۲- اثر متقابل نوع نمونه (کرم زعفران، خاک مزرعه ۹ ساله زعفران و خاک مزرعه کشت نشده) در غلظت‌های مختلف بر طول ریشه‌چه و طول هیپوکوتیل گیاهچه کاهو.

طول هیپوکوتیل: با توجه به اطلاعات شکل ۲، بیشترین طول هیپوکوتیل مربوط به شاهد بود که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. با افزایش غلظت در هر کدام از تیمارها رشد هیپوکوتیل هم کاهش یافت. کمترین میزان طول هیپوکوتیل مربوط به

غلظت ۱۰۰ میلی گرم کورم زعفران (بذر جوانه زده مشاهده نشد) بود که با غلظت ۱۰۰ میلی گرم خاک مزرعه ۹ ساله زعفران (۹۵/۳۴ درصد کاهش نسبت به شاهد) و خاک مزرعه کشت نشده (۹۳/۷۷ درصد کاهش نسبت به شاهد) تفاوت معنی داری نداشت. نسبت طول ریشه چه به طول هیپوکوتیل: بر اساس اطلاعات شکل ۳، بیشترین نسبت طول ریشه چه به هیپوکوتیل مربوط به تیمار غلظت ۳۰ میلی گرم خاک مزرعه ۹ ساله زعفران بود که تفاوت معنی داری با غلظت ۳۰ میلی گرم کورم زعفران، شاهد و ۱۰ میلی گرم خاک مزرعه کشت نشده نداشت. کمترین میزان نسبت طول ریشه چه به هیپوکوتیل مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی گرم کورم زعفران (بذر جوانه زده مشاهده نشد) بود. نتایج نشان می دهد که در خاک مزرعه ۹ ساله زعفران در غلظت ۱۰ میلی گرم نسبت طول ریشه چه به هیپوکوتیل بیشترین کاهش را داشته و ناگهان با افزایش غلظت تا ۳۰ میلی گرم نسبت طول ریشه چه به هیپوکوتیل افزایش یافته است. در نتیجه افزایش غلظت عصاره خاک مزرعه زعفران عدم تعادل در رشد گیاهچه کاهو را منجر شده است. بسیاری از مالعام نشان داده است که آلوکمی کال ها در غلظت های پایین می توانند رشد گیاه را تحریک کنند اما در غلظت های بالا بازدارنده رشد باشند (رایس، ۱۹۸۴).



شکل ۳. اثر متقابل نوع نمونه (کورم زعفران، خاک مزرعه ۹ ساله زعفران و خاک مزرعه کشت نشده) در غلظت های مختلف بر نسبت طول ریشه چه به طول هیپوکوتیل و نسبت طول هیپوکوتیل به طول ریشه چه گیاهچه کاهو.

نسبت طول هیپوکوتیل به طول ریشه چه: بر اساس اطلاعات شکل ۳، بیشترین نسبت طول هیپوکوتیل به طول ریشه چه مربوط به غلظت ۱۰ میلی گرم خاک مزرعه ۹ ساله زعفران بود که اختلاف معنی داری با سایر غلظت های عصاره خاک مزرعه ۹ ساله زعفران، خاک مزرعه کشت نشده و کورم زعفران داشت و کمترین میزان نسبت طول هیپوکوتیل به ریشه چه مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی گرم کورم زعفران بود که تفاوت معنی داری با غلظت ۳۰ و ۱۰۰ میلی گرم خاک مزرعه ۹ ساله زعفران نداشت. نتایج نشان می دهد که خاک مزرعه ۹ ساله زعفران باعث ایجاد عدم تعادل رشد در نسبت طول هیپوکوتیل به ریشه چه شدند که این نتیجه نشان از اثر آلوپاتی در خاک با سابقه کشت زعفران می دهد. در غلظت های مختلف خاک مزرعه کشت نشده نسبت طول هیپوکوتیل به ریشه چه تفاوت معنی داری نداشته است. چنین بازدارندگی رشد ریشه چه و هیپوکوتیل گیاه تست و ارتباط روند افزایشی درصد بازدارندگی با افزایش غلظت عصاره ممکن است به دلیل حضور آلوکمی کال ها در عصاره گیاه زعفران باشد. بازدارندگی رشد گیاه تست در آزمایشات آلوپاتی در حضور مواد آلوپاتیک می تواند به علت سرعت تقسیم، طویل شدن و گسترش پایین سلول که پیش نیازهای رشد هستند، باشد (رایس، ۱۹۸۴؛ اینهلینگ، ۱۹۹۶).

نتیجه گیری

با افزایش غلظت ها عصاره کورم زعفران، میانگین زمان جوانه زنی افزایش و طول ریشه چه و هیپوکوتیل کاهش یافت. اثر کاهش رشد ریشه چه و هیپوکوتیل در کورم زعفران بیشتر از خاک با سابقه کشت ۹ سال زعفران بود که این نشان از اثر آلوپاتی بالای کورم زعفران می دهد. غلظت های بالای مواد آلوپاتیک موجود در کورم زعفران با کاهش رشد گیاهچه، می تواند مانع استقرار

موفق گیاه تست گردد. عصاره خاک با سابقه کشت ۹ سال زعفران باعث ایجاد عدم تعادل در رشد رویشی گیاهچه کاهو گردید. عصاره هیدروالکلی کورم و خاک مزرعه زعفران و خاک کشت نشده به دلیل حلالیت مواد در حلال‌های الکلی اثر بیشتری بر درصد جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی و طول ریشه و هیپوکوتیل داشتند.

منابع

- راشد محصل، م. ح. قرخلو، ج. و راستگو، م. ۱۳۸۸. اثرات آلوپاتیک عصاره برگ و بنه زعفران (*Crocus sativus*) بر رشد گیاهچه تاج خروس (*Amaranthus retroflexus*) و سلمه تره (*Chenopodium album*) مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۷ (۱): ۵۳-۶۱.
- میقانی، ف. ۱۳۸۲. آلوپاتی (دگرآسیبی): از مفهوم تا کاربرد. چاپ اول انتشارات پرتو واقعه، تهران.
- Gresta, F., Santonoceto, C. and Avola, G., 2016. Crop rotation as an effective strategy for saffron (*Crocus sativus* L.) cultivation. *Scientia Horticulturae*, 211: 34-39.
- Islam, A.K.M.M. and Kato-Noguchi, H. 2012. Allelopathic potentiality of medicinal plant *Leucas aspera*. *International Journal of Sustainable Agriculture*, 4(1): 01-07.
- Islam, A.M. and Kato-Noguchi, H. 2013. Plant growth inhibitory activity of medicinal plant *Hyptis suaveolens*: could allelopathy be a cause. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 692-701
- Kato-Noguchi, H., Kobayashi, A., Ohno, O., Kimura, F., Fujii, Y. and Suenaga, K. 2014. Phytotoxic substances with allelopathic activity may be central to the strong invasive potential of *Brachiaria brizantha*. *Journal of plant physiology*, 171(7):525-530.
- Kato-Noguchi, H., Nakamura, K. and Okuda, N., 2018. Involvement of an autotoxic compound in asparagus decline. *Journal of plant physiology*, 224: 49-55.
- Kohli, R.K., Singh, H.P. and Batish, D.R. 2001. Allelopathy in agroecosystems (Vol. 4, No. 2). CRC Press.

Investigation of allelopathic activity of aqueous methanol extract of saffron corm and saffron field soilsMahdieh Kheirabadi¹, Majid Azizi^{2*}¹MSc graduate of medicinal plants, Department of Horticultural Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.²Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.*Corresponding Author: Azizi@um.ac.ir**Abstract**

The allelopathic potential of saffron (*Crocus sativus* L.) were investigated. We experimented various concentrations (10, 30, and 100 mg dry weight (DW) equivalent extract/mL) of aqueous methanol extract of saffron corm, 9-year-old saffron field soils and non-saffron field soils. Lettuce (*Lactuca sativa* L.) was used as a sensitive plant. The germination percentage, mean germination time and seedling growth were evaluated. This research was carried out in a completely randomized experimental design with four replications in the Horticultural Sciences Laboratory of the Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad in 2018-2019. The results showed that with increasing the concentration of saffron corms, 9-year-old saffron field soils extract, germination percentage and mean germination time increased and radicle and hypocotyl lettuce decreased. The inhibition radicle and hypocotyl growth in saffron corm was greater than 9-year-old saffron field soils, which indicates the allelopathic activity of on saffron corm.

Keywords: Allelochemicals, Extract, Germination, Natural herbicide,