



دانشکده‌ی علوم پایه
گروه آموزشی زیست‌شناسی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد
در رشته‌ی زیست‌شناسی گرایش فیزیولوژی گیاهی

عنوان:

بررسی اثرات آللوپاتیک کومارین بروی کاهو از برخی جنبه‌های فیزیولوژیک و مولکولی
و بیوشیمیایی

استاد راهنما:

دکتر سید مهدی رضوی

استاد مشاور:

دکتر صابر زهری

پژوهشگر:

هادی حسین زاده شاه‌ماریگلو

تابستان 94

نام خانوادگی دانشجو: حسین زاده شاهماربیگلو	نام: هادی
عنوان پایان‌نامه: بررسی اثرات آللوپاتیک کومارین بر روی کاهو از برخی جنبه‌های فیزیولوژیک و مولکولی و بیوشیمیایی	
استاد راهنما: دکتر سید مهدی رضوی استاد مشاور: دکتر صابر زهری	
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد	رشته: زیست شناسی گیاهی
گرایش: فیزیولوژی گیاهی	دانشگاه: محقق اردبیلی دانشکده: علوم پایه
تاریخ دفاع: 1394/6/23	تعداد صفحات: 62
<p>چکیده:</p> <p>ترکیبات کومارینی گروهی از متابولیت‌های ثانویه گیاهان از گروه فنیل فنیل پروپانویدها بوده و عمدتاً در تیره چتریان یافت می‌شوند. کومارین ساده ترین ترکیب در این خانواده بشمار می‌رود. در این پژوهش اثر آللوپاتی کومارین بر روی کاهو (<i>Lactuca sativa</i> cv. <i>siahoo</i>) به عنوان یک گیاه مدل بررسی گردید. ابتداتاثیر غلظت های مختلف این ماده (یک میکروگرم تا یک میلی گرم بر میلی لیتر) بر برخی پارامترهای رشد از جمله جوانه زنی دانه ، رشد ریشه چه و ساقه چه بررسی شد تا غلظت بهینه برای تداوم آزمایشها تعیین گردد(غلظت های 002/ و 01/ میلی گرم بر میلی لیتر به عنوان غلظت های بهینه انتخاب شد). در مرحله بعد بذر های کاهو در گلدان های حاوی پیت کشت داده شده و با محلول غذایی هوگلند واجد کومارین(غلظت های 002/ و 01/ میلی گرم بر میلی لیتر) آبیاری شده و بعد از رشد گیاه تاثیر تیمارهای مذکور بر روی جنبه های فیزیولوژیکی ، بیوشیمیایی و مولکولی گیاه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد جوانه زنی بذور کاهو تحت تاثیر کومارین کاهش داشته و این کاهش کاملاً وابسته به غلظت می باشد. در غلظت یک میلی گرم بر میلی لیتر ، جوانه زنی کاملاً مهار می گردد. همچنین رشد ریشه چه و ساقه چه تحت تاثیر کومارین کاهش داشته، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه گیاه و همچنین مقدار کلروفیل نسبی اندام هوایی نیز کاهش معنی دار یافته ولی تغییر معناداری در فلورسانس کلروفیل صورت نگرفته است. فعالیت ویژه آنزیم های کاتالاز، پروتئاز و پلی فنل اکسیداز افزایش ولی فعالیت ویژه آنزیم آسکروبات پراکسیداز کاهش یافته است. غلظت پروتئین کل در اثر تیمار کومارین کاهش یافته و تغییرات قابل توجهی در الگوی الکتروفورز پروتئین های اندام هوایی بصورت حذف بعضی از باندها و همچنین کاهش تراکم بعضی از باندهای دیگر دیده شد. با این حال کومارین تاثیری در قطعه قطعه شدن DNA گیاه نداشته و الگوی الکتروفورز DNA گیاه تائیدی بر این مطلب می باشد. به عنوان نتیجه گیری کلی میتوان گفت، ترکیب آللوپاتیک کومارین از جنبه های مختلف فیزیولوژیک و بیوشیمیایی و مولکولی گیاه کاهو را تحت تاثیر قرار داده و نحوه پاسخ گیاه به این نوع تنش که تنش آللوپاتی است تا حدی شبیه به تنشهای غیر زیستی مثل خشکی و شوری است.</p>	

کلید واژه‌ها: آللوپاتی، کاهو، الکتروفورز پروتئین، کومارین

فصل اول: مقدمه و کلیات پژوهش

1-1-1-مقدمه و تاریخچه آلوپاتی.....	2
1-2-گیاه شناسی کاهو (<i>Lactuca sativa L.</i>).....	3
1-3-متابولیت های ثانویه.....	3
1-4-آلوکمیکال ها.....	4
1-5-1-طبقه بندی آلوکمیکال ها.....	4
1-5-2-آزادسازی آلوکمیکال ها.....	5
1-5-3-اثرات آلوکمیکال ها.....	6
1-5-4-اثر آلوکمیکال ها بر جوانه زنی.....	6
1-5-5-اثر آلوکمیکال ها بر فتوسنتز.....	7
1-5-6-اثر آلوکمیکال ها بر میزان کلروفیل.....	7
1-5-7-اثر آلوکمیکال ها بر عملکرد روزنه.....	8
1-5-8-اثر آلوکمیکال ها بر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان.....	Error! Bookmark not defined.
1-5-9-اثر آلوکمیکال ها بر پروتئین.....	Error! Bookmark not defined.
1-6-فلورسانس کلروفیل.....	Error! Bookmark not defined.
1-7-الکتروفورز.....	Error! Bookmark not defined.
1-7-1-مبانی الکتروفورز.....	Error! Bookmark not defined.
1-7-2-ژل الکتروفورز.....	Error! Bookmark not defined.
1-8-کومارین.....	Error! Bookmark not defined.
1-8-1-بیوسنتز کومارین.....	12
1-9-هدف پژوهش.....	13
1-10-ضرورت و اهمیت پژوهش:.....	14
1-11-پیشینه پژوهش.....	Error! Bookmark not defined.

فصل دوم: مواد و روش پژوهش

- 18-2-1- تهیه بذر و مواد شیمیایی.....18
- 18-2-2- مکان اجرای پژوهش.....18
- 18-2-3- طرح آزمایشی مورد استفاده.....18
- 18-2-4- تهیه ی غلظتها.....18
- 19-2-5- کاشت بذر جهت بررسی جوانه زنی و تعیین غلظت اپتیمم.....19
- 20-2-6- کاشت گیاهچه های کاهو در گلدان ها.....20
- 20-2-7-1- آبیاری با محلول هوگلند.....20
- 21-2-7-2- روش تهیه ی محلول هوگلند.....21
- 22-2-8- اندازه گیری صفات فیزیولوژیک.....22
- 22-2-8-1- اندازه گیری فلورسانس کلروفیل.....22
- 23-2-8-2- اندازه گیری محتوی کلروفیل.....23
- 25-2-8-3- اندازه گیری وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی.....25
- Error! Bookmark not defined.**.....2-9- استخراج پروتئین کل محلول.....
- 25-2-9-1- ترکیبات بافر استخراج.....25
- Error! Bookmark not defined.**.....2-9-2- روش تهیه بافر استخراج پروتئین.....
- Error! Bookmark not defined.**.....2-9-3- روش استخراج عصاره ی پروتئینی برای انجام الکتروفورز.....
- defined.**
- Error! Bookmark not defined.**.....2-10-1- روش استخراج عصاره ی آنزیمی جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم.....
- defined.**
- 26-2-10-2- تهیه بافر پتاسیم فسفات.....26
- 27-2-11- تعیین مقدار کمی پروتئین به روش برادفورد با استفاده از اسپکتروفوتومتر.....27
- 27-2-11-1- روش تهیه ی محلول برادفورد.....27
- 27-2-11-2- تهیه ی غلظتهای از پروتئین استاندارد جهت رسم منحنی استاندارد.....27
- 28-2-11-3- سنجش مقدار کمی پروتئین.....28
- 29-2-12- ارزیابی تغییرات آنزیمهای آنتی اکسیدانت.....29

29	1-12-2-سنجش فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز و تخمین زمان واکنش و سرعت ماکزیمم واکنش
30	2-12-2-سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز
30	3-12-2-سنجش فعالیت آنزیم پلی فنلاکسیداز
31	4-12-2-سنجش فعالیت آنزیم پروتئاز
	Error! Bookmark not defined.2-13-الکتروفورز
31	1-13-2-مواد مورد نیاز برای الکتروفورز پروتئین
32	2-13-2-آماده سازی نمونه
	Error! Bookmark not defined.2-13-3-روش آزمایش الکتروفورز
	Error! Bookmark not defined.2-13-4-مواد رنگ آمیزی
35	2-14-الکتروفورز DNA
35	1-14-2-مراحل استخراج DNA
37	2-14-2-نحوه تهیه ژل و بافر تانک و بافر نمونه جهت الکتروفورز DNA
38	4-14-2-رنگ آمیزی
38	5-14-2-آنالیز آماری

فصل سوم:نتایج و یافته های پژوهش

40	1-3-نتایج حاصل از مرحله ی تعیین غلظت بهینه ی ماده کومارین
42	2-3-نتایج بررسی صفات فیزیولوژیک
42	1-2-3-نتایج حاصل از اندازه گیری وزن تر و خشک
44	2-2-3-نتایج بررسی فلورسانس کلروفیل
	Error! Bookmark not defined.3-2-3-نتایج بررسی محتوی کلروفیل
45	3-3-سنجش مقدار کمی پروتئین
47	4-3-نتایج بررسی فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان و آنزیم پروتئاز
49	5-3-نتایج حاصل از الکتروفورز پروتئین
50	6-3-نتایج حاصل از الکتروفورز DNA

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

52 بحث
54 نتیجه گیری کلی
54 پیشنهادها:
55 فهرست منابع و مآخذ:

فهرست جدول‌ها

شماره و عنوان جدول	صفحه
جدول 2-1- تهیه ی 12 میلی لیتر از ژل پایین در غلظت‌های مختلف.....	33
جدول 2-2- تهیه ی 5 میلی لیتر محلول ژل بالا در غلظت‌های مختلف.....	34

فهرست اشکال

شماره و عنوان شکل	صفحه
شکل 1-1- روش آزادسازی ترکیبات آلوکمیکال.....	5
شکل 1-2- فرمول ساختاری کومارین.....	12
شکل 1-3- مسیر شیکمات.....	13
شکل 1-2- تست جوانه زنی برای بررسی غلظت بهینه از ماده ی کومارین.....	19
شکل 2-2- نمونه ی گیاهی کشت داده شده در گلدان درون ژرمیناتور.....	20
شکل 2-3- گیاهچه های کاهوی گروه تیمار شده و گروه کنترل در مرحله ی هفت برگی.....	22
شکل 2-4- فلورسانس متر.....	23
شکل 2-5- کلروفیل متر.....	24
شکل 2-6- غلظتهای متفاوت از سرم البومین گاوی.....	28
شکل 2-7- منحنی استاندارد برادفورد.....	28
شکل 2-8- تهیه ی محلول پروتئین نمونه.....	29
شکل 2-9- شکل دستگاه الکتروفورز.....	35
شکل 2-10- دستگاه الکتروفورز DNA.....	37
شکل 2-11- دستگاه ژل داک.....	38
شکل 1-3- نتایج حاصل از الکتروفورز پروتئین.....	49
شکل 2-3- نتایج حاصل از الکتروفورز DNA.....	50

فهرست نمودار ها

شماره و عنوان نمودار	صفحه
نمودار 3-1- بررسی رشد ساقه چه	41
نمودار 3-2- بررسی رشد ریشه چه	41
نمودار 3-3- بررسی جوانه زنی	42
نمودار 3-4- بررسی وزن تر اندام هوایی	43
نمودار 3-5- بررسی وزن تر ریشه چه	43
نمودار 3-6- بررسی وزن خشک اندام هوایی	43
نمودار 3-7- بررسی وزن خشک ریشه چه	43
نمودار 3-8- بررسی محتوی کلروفیل	44
نمودار 3-9- بررسی پروتئین کل اندام هوایی	46
نمودار 3-10- بررسی پروتئین کل ریشه	47
نمودار 3-11- بررسی فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز	47
نمودار 3-12- بررسی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز	48
نمودار 3-13- بررسی فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز	48
نمودار 3-14- بررسی فعالیت آنزیم پروتئاز	48

فهرست علائم اختصاری

مفهوم یا توضیح	علامت اختصاری
آبسزیک اسید	ABA
سرم آلبوم گاوی	BSA
سدیم دو دسیل سولفات-پلی آکریل آمید	SDS-PAGE

فصل اول:

مقدمه و کلیات پژوهش

1-1- مقدمه و تاریخچه آلوپاتی^۱

کلمه آلوپاتی برای نخستین بار توسط یک محقق آلمانی به نام Hans Molish در سال 1937 بکار گرفته شد. این واژه در اصل مشتق شده از دو کلمه یونانی آلون (allelon) به معنای دیگری و پاتوز (pathos) به معنای آسیب بوده و در فارسی کلمه دگرآسیبی معادل آلوپاتی در نظر گرفته می شود (Sodaeizadeh & et al, 2012). تاکنون تعاریف زیادی از آلوپاتی ارائه شده است، در سال ۱۹۹۶ انجمن بین المللی آلوپاتی، آلوپاتی را شامل هر گونه تاثیرات مستقیم یا غیر مستقیم با اثرات مفید یا مضر توسط یک گیاه و میکروارگانیسم ها بر روی گیاه دیگر که از طریق آزاد کردن ترکیبات شیمیایی به محیط اطراف تعریف نمود. بعدها آلوپاتی بصورت وسیع تر تعریف شد بدین گونه که آلوپاتی هرگونه فرآیندی است که در آن متابولیت های ثانویه تولید شده توسط گیاهان، میکروارگانیسم ها، ویروس ها و قارچ ها، رشد و گسترش سیستم های زراعی و زیستی دیگر را تحت تاثیر قرار می دهد (Sampietro & et al, 2009). این پدیده بیش از 2000 سال است که شناخته شده، اولین گزارش از این پدیده مربوط به گیاهان زراعی از جمله نخود (*Cicer arietinum*) و جو (*Hordeum vulgare*) است که رشد علف های هرز و گیاهان زراعی دیگر را مهار می کنند. در حدود 300 سال قبل از میلاد گیاه شناس یونانی، تئوفراست^۲ اولین شخصی بود که به این پدیده طبیعی پی برد، او مشاهده کرد که بقایای نخود در خاک باعث از بین رفتن علف های هرز می شود. معدودی از متابولیت های ثانویه ی تولید شده توسط گیاهان و میکروارگانیسم ها دارای توانایی آلوکمیkal^۳ می باشند که نقش بسزایی در شکل دهی انواع تداخلات بین گیاهان در طبیعت دارند (Singh & et al, 2001). امروزه آلوپاتی به عنوان یک علم استراتژیک در کاهش آلودگی های محیطی با تولید علم کش ها و حشره کش ها و آفت کش های ارگانیک مطرح است (Sampietro & et al, 2009).

1-Allelopathy

2-Teofrast

3-Allelochemical

2-1- گیاه شناسی کاهو (*Lactuca sativa L.*)

کاهو یکی از قدیمی‌ترین سبزی‌های دنیا است. منشأ آن هندوستان و آسیای مرکزی می‌باشد. کاهو طبق مدارک به دست آمده از شش قرن قبل از میلاد به روم راه یافته و غذای مهمی برای رومیان بوده است. کریستف کلمب تخم کاهو را به دنیای جدید برد، به طوری که از اوایل قرن پانزدهم میلادی کاهو در هائیتی و باهاما کشت شده است. کاهو از تیره مرکبیان و خانواده کلپرک‌ها (*Compositae*)، گیاهی یک ساله که دارای برگ‌های پهن و دراز و سبز روشن و با طعم کمی شیرین می‌باشد (دانشور، 1379). در پژوهش‌های مربوط به آللوپاتی، گیاه هدف و مدل، گیاه کاهو می‌باشد یعنی کاهو به عنوان یک گیاه استاندارد در پاسخ به آزمایشات مربوط به آللوپاتی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

3-1- متابولیت‌های ثانویه

گیاهان ترکیبات آلی زیاد با آرایش‌های متنوعی تولید می‌کنند که به نظر می‌رسد هیچ کارکرد مستقیمی در رشد و نمو گیاه ندارند. به این مواد در اصطلاح متابولیت‌های ثانویه، تولیدات ثانویه یا تولیدات طبیعی گفته می‌شود. در کل برای متابولیت‌های ثانویه هیچ نقش مستقیمی در فرایندهای فتوسنتز، تنفس، انتقال مواد محلول، نقل و انتقالات، ساخت پروتئین، آسیمیلایسیون ترکیبات غذایی، تمایز یا شکل‌گیری هیدرات‌های کربن، پروتئین‌ها و لیپیدها تشخیص داده نشده است. همچنین بر خلاف متابولیت‌های اولیه (اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها، قندها، لیپیدهای آزاد)، متابولیت‌های ثانویه گسترش محدودی در سلسله گیاهان دارند. این به معنای آن است که یک متابولیت ثانویه خاص اغلب در یک گونه‌ی گیاهی یا گروه‌های خویشاوند گونه یافت می‌شود، در صورتی که متابولیت اولیه در سراسر سلسله گیاهان حضور دارند. این ترکیبات موجب محافظت از گیاهان در برابر خورده شدن توسط گیاه خواران و آلوده شدن آن‌ها به عوامل بیماری‌زای میکروبی می‌شوند. و همچنین این ترکیبات به عنوان ترکیبات جاذب (از نظر بو، رنگ و طعم) حشرات گرده افشان و حیوانات پراکنش دهنده بذور گیاهان

عمل می‌کنند و گروهی از این ترکیبات به عنوان عوامل رقابت گیاه- گیاه ایفای نقش می‌کند که ترکیبات آللوکیمیکال جز این گروه تقسیم‌بندی می‌شوند (تایز و زایگر، 2006).

4-1- آللوکیمیکال‌ها

منظور از ترکیبات آللوکیمیکال، ترکیباتی از متابولیت‌های ثانویه می‌باشند که اثر آللوپاتیک بر سایر گیاهان و ارگانیسم‌ها می‌توانند داشته باشند. این ترکیبات از متابولیسم کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و آمینو اسیدها از مسیر استات یا شیکمات ناشی می‌شوند. آللوکیمیکال‌ها از مواد بیوسنتزی و ذخیره‌ای در سلول‌های گیاهی محسوب می‌شوند و برفعالیت سلولی گیاه هیچ تأثیری ندارند اما بعد از آزادسازی آن‌ها از سلول گیاهی شروع به تأثیر بر سایر ارگانیسم‌ها می‌کنند (گیاهان-پاتوژن‌ها و آفات).

مواد آللوکیمیکال تقریباً در تمام بافت‌های گیاهی از جمله در برگ، ریشه، ساقه، میوه، ریزوم، بذر، گل، دانه‌گرده و جوانه وجود دارند و البته غلظت آن‌ها بر حسب نوع اندام، متفاوت است (Maighany, 2003). سمیت ترکیبات آللوکیمیکال تابع غلظت، سن و مرحله‌ی متابولیسمی گیاه، فصل، اقلیم و شرایط محیطی است. علاوه بر این، تولید آن‌ها نه تنها در طول سال، بلکه بر حسب سن، رقم و نوع اندام از نظر کمی و کیفی متغیر است (انتشاری و اهرابی، 1390). غلظت ترکیبات آللوکیمیکال بر اثر تنش‌های زیستی و غیر-زیستی افزایش می‌یابد.

1-5-1- طبقه‌بندی آللوکیمیکال‌ها

براساس تنوع در ساختار این ترکیبات، آللوکیمیکال‌ها به صورت زیر طبقه‌بندی شدند (تایز و زایگر، 2006).

1- اسیدهای آلی محلول در آب

2- الکل‌های راست‌زنجیر

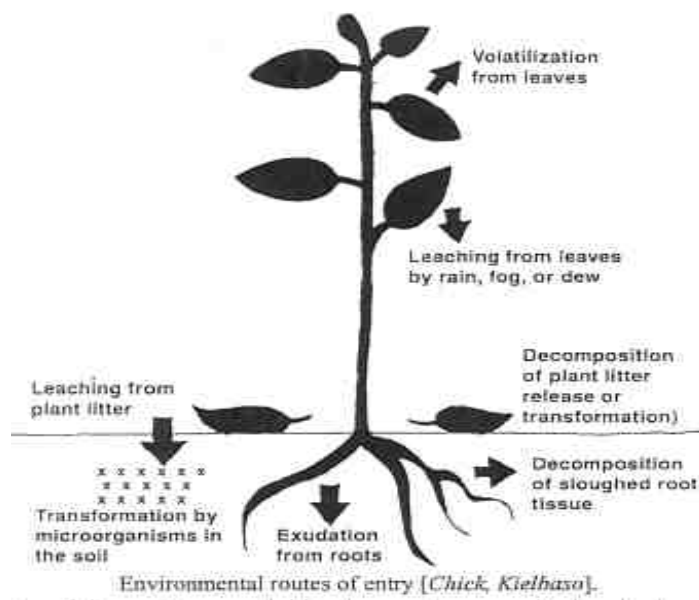
3- آلدئیدهای آلیفاتیک

4- کتون‌ها

- 5- لاکتون‌های ساده اشباع نشده
- 6- اسیدهای چرب راست زنجیر
- 7- پلی استیلن‌ها
- 8- کوئینون‌ها (بنزو کوئینون‌ها، آنترو کوئینون‌ها، کمپلکس کوئینون‌ها)
- 9- فنولیک‌ها
- 10- سینامیک اسید و مشتقات آن‌ها
- 11 - کومارین‌ها
- 12- فلاونوئیدها
- 13- تانین‌ها
- 14- استروئید و ترپنوئیدها (سزکوئی‌ترین لاکتون‌ها، دی‌ترین‌ها، تری‌ترین‌ها)

2-5-1 آزادسازی مواد آلوکیمیکال

مواد آلوکیمیکال از طریق 1-آبشویی لاشه برگ و بخش‌های زنده گیاه 2- تراوش‌های ریشه، 3-تبخیر از اندام‌های هوایی 4- تجزیه بقایای گیاه، آزاد می‌شوند (Maighany, 2003).



شکل 1-1: روش‌های آزادسازی ترکیبات آلوکیمیکال از گیاه

حضور مواد آللوپاتیک در خاک اغلب وابسته به عواملی مانند تراکم برگ‌های ریخته شده، مقدار تجزیه این مواد، فاصله از دیگر گیاهان و میزان بارندگی می‌باشد (Jefferson & et al, 2003)

3-5-1- اثرات آللوکمیkalها

رایس (۱۹۸۴) تاثیر آللوپاتی در رشد گیاهان را از نظر برخی جنبه‌ها بررسی نمود از جمله: ۱- تقسیم سلولی و افزایش طول سلولی ۲- هورمون‌های گیاهی القا کننده رشد ۳- نفوذ پذیری غشا ۴- تغذیه معدنی ۵- تنفس ۶- سنتز پروتئین ۷- تغییر در متابولیسم لپیدها و... در کل ترکیبات آللوکمیkal آزاد شده از گیاهان یکی از تنش‌های محیطی است که بر رشد و فیزیولوژی گیاه از طریق اثر بر تقسیم سلولی، تولید هورمون‌های گیاهی و تعادل آنها، روابط آب، پایداری و نفوذ پذیری غشا، جذب یون، رویش دانه گرده، جذب مواد معدنی، حرکت روزنه، سنتز رنگیزه‌ها، فتوسنتز، تنفس، آمینو اسیدها، تثبیت نیتروژن، پراکسیداسیون لیپید و فعالیت آنزیم‌ها بر رشد و نمو گیاهان زراعی اثر می‌گذارد (Einhelling, 1995; Keating, 1999; Macias, 1995; Qasem & Foy, 2001; Munir & Abdel-Rahman, 2002; Wink & Burningm, 1998). و همچنین بر برخی از ویژگیهای اکوسیستمهای طبیعی و زراعی همچون تأثیر بر توالی گیاهی، ساختار جامعه گیاهی، غالبیت، گوناگونی، تثبیت نیتروژن، مشکلات کشت مجدد و تولید گیاهی به اثبات رسیده است (عباس دخت و چائی چی، 1382).

4-5-1- اثر آللوکمیkalها بر جوانه زنی

آللوپاتی خود را بیشتر در زمان جوانه زنی و رشد اولیه نشان می‌دهد و با افزایش غلظت آللوکمیkalها، اثرات بازدارندگی آنها بیشتر می‌شود (عزیزی و همکاران، 1385). مکانیزمی که سبب کاهش جوانه زنی بذر در اثر مواد آللوکمیkal می‌گردد، احتمالاً مربوط به کاهش فعالیت آنزیم‌هایی همچون آلفا آمیلاز است، که در جوانه زنی بذر نقش دارند (Soltanipour & et al, 2004). دودای^۴ و همکاران (2004) با کاربرد اسانس‌های گیاهی بر روی بذرهای گندم نشان دادند که ترکیبات آللوکمیkal

^۴.Dudai

از جوانه زنی بذرها جلوگیری می‌نمایند. آنها با بررسی‌های دقیق نشان دادند که اسانس پس از به کار بردن بر روی بذر به درون جنین نفوذ کرده و از جوانه زنی بذرها جلوگیری می‌کند (Dudai et al, 2004). پاتریس^۵ و همکاران گزارش نمودند که بقایای در حال تجزیه کلم (*Brassica oleracea*) اثر بازدارندگی روی جوانه زنی و رشد کاهو دارد. مطالعه جامعی توسط مولر^۶ نشان داد که جوانه زنی و رشد دانه رسته‌های تعدادی از گندمیان (*Grasses*) در مجاورت خردل سیاه (*Brassica nigra*) کاهش می‌یابد، او همچنین مشاهده کرد که عصاره آبی برگ‌ها و ساقه‌های خردل سیاه بازدارندگی شدیدی روی رشد ریشه چه جو موشی دارد. آنها علت این موضوع را ورود ترکیبات شیمیایی خردل سیاه به خاک بیان کردند.

5-5-1- اثر آللوکمیkalها بر فتوسنتز

ترکیبات آللوپاتیک با تاثیر بر میزان جذب اکسیژن، سنتز میزان کلروفیل و بازداری از زنجیره انتقال الکترون و ایجاد اختلالات اساسی بین دو گروه دهنده (PSII) و گیرنده الکترون (PSI) در زنجیره انتقال الکترون بر میزان سرعت فرآیند فتوسنتز تاثیر می‌گذارد (Aro et al, 1993).

6-5-1- اثر آللوکمیkalها بر میزان کلروفیل

کلروفیل مهمترین کمپلکس پروتئینی درگیر در فعالیت های فتوسنتزی می باشد (Patterson, 1981) محققین در گیاهان مختلف زراعی گزارش نمودند که با افزایش تنش‌ها از جمله مواد آللوپاتیک، میزان نیتروژن اندام هوایی گیاهان، کاهش می‌یابد و بر روی میزان کلروفیل و محتوای کلروفیل برگ اثرگذار می‌باشد. به عنوان مثال کاهش در محتوای کلروفیل گیاه گاو پنبه و گل گندم در اثر به کار بردن غلظت-های مختلفی از عصاره ریحان گزارش شده است (فنایی و ابوظلابی، 1390). آللوکمیkalها به سه روش میزان تجمع کلروفیل را در یک گیاه تحت تاثیر قرار می‌دهند:

(ج) کاهش میزان فعالیت کلروفیل

(الف) بازداری از سنتز کلروفیل

(ب) تاثیر بر میزان تحرک کلروفیل

²Patric

³Muller

<p>Title of Thesis: Investigation of Allelopathic effects of coumarin on <i>Lactuca sativa</i> from some physiological and molecular aspects</p>	
<p>Supervisor(s): Dr.Seyed Mehdi Razavi Advisor(s): Dr.Saber Zahri</p>	
<p>Graduate Degree M.Sc</p>	
<p>Major: Biologi</p>	<p>Specialty: Plant Physiology</p>
<p>University: Mohaghegh Ardabili</p>	<p>Faculty: Science</p>
<p>Graduation date:</p>	<p>Number of pages: 62</p>
<p>Abstract:</p> <p>Coumarins are regarded as a class of plant secondary metabolites of phenyl propanoid group distributed in Apiaceae family. The simple coumarin is the first compound of the class. In the present work, allelopathic potential of coumarin on the charasteric plant in allelopathic studies, <i>Lactuca sativa</i> cv. <i>siahoo</i>, was investigated. At first stage, the effects of different concentration of the compound on some growth parameters of the plant such as seed germination, radicle and gemmule growth were studied. After determent of the compound optimal concentration, the germinated seeds of lettuce were cultured in peat contained pots and then were watered with Hoagland nutrition solution enriched with 2 and 10 µg/mL of coumarin. After plant growth, the effects of coumarin on some physiological and biochemical parameters were evaluated. Our results showed that lettuce seed germination was reduced by coumarin in a dose dependent manner. At the concentration of 1mg/mL the germination was inhibited entirely. Radicle and gemmule growth, wet and dried weight of roots and aerial parts of treated plants and spad chlorophyll significantly reduced by coumarin treating, as well as. However, no significant difference was recorded in chlorophyll florescence between control and coumarin treated plants. The specific activity of some antioxidant enzymes like catalase, protease and poly phenol oxidase were increased in treated plants than control, however, the activity of ascorbate peroxidase was decreased. Total protein decrease and quantitative and qualitative changes in electrophoretic pattern of aerial parts proteins were observed in treated group than control, as well as. It was concluded that coumarin as an allochemical infected lettuce of different physiological , biochemical and molecular aspects. The plant response to the stress as allochemical stress is similar to some abiotic stress such as drought or salinity.</p>	
<p>Keywords: Allelochemical, Biochemical, coumarin, Molecular, Physiological</p>	
<p>Keywords: Ascorbate peroxidase, coumarin, Catalase, <i>Lactuca sativa</i>, Polyphenol oxidase, Protease, Protein electrophoretic pattern.</p>	



University of Mohagheh Ardabili

Faculty of Science

Department of Biology

**Thesis submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of
M.Sc. in Department of Biology**

Title:

**Investigation of Allelopathic effects of coumarin on *lettuce* from physiological -
molecular and biochemical aspects**

Supervisor:

Dr.Seyed Mehdi Razavi

Advisor:

Dr.Saber zahri

By:

hadi hosseinzade

september.2015