نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷، ص. ۹۰-۸۳

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 1, Spring 2018, P. 83-90

بررسی فیتوشیمیایی و توان دگرآسیبی اسانس برگ بنگرو (*Vitex pseudo-negundo*) بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه پنیرک و چاودار

محمدرضا بازیار[۱]- محمود عطارزاده[۲*]- محمود دژم[۳]- غلامرضا نیک‌فرجام[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۳

چکیده

کاربرد مواد دگرآسیب در مدیریت علف‌هرز سودمند است و به همین دلیل توجه زیادی را در دو دهه‌ی اخیر به خود جلب کرده است. پس از جمع‌آوری نمونه‌هایی از برگ بنگرو، عملیات اسانس‌گیری در آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شیراز صورت گرفت. سپس پتانسیل دگرآسیبی این اسانس بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های علف‌هرز پنیرک (*Malva neglecta*) و چاودار (*Secale montanum*) مورد بررسی قرار گرفت. این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. فاکتور اول شامل علف‌های هرز پنیرک و چاودار و فاکتور دوم شامل غلظت‌های صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از اسانس برگ بنگرو بود. در این پژوهش، آنالیز اسانس برگ بنگرو به‌دست آمده به‌روش تقطیر با آب به وسیله کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی امکان شناسایی ۵۳ ترکیب که در برگیرنده ۹۸/۹۱ درصد کل اسانس بود را فراهم ساخت. بیشترین جوانه‌زنی پنیرک و چاودار با میزان ۸۷/۶ درصد در شرایط بدون اسانس بنگرو (شاهد) و همچنین بیشترین سرعت جوانه‌زنی در پنیرک و چاودار به ترتیب با ۱۰/۹ و ۱۲/۱ بذر در روز در شرایط شاهد بدست آمد. با افزایش غلظت اسانس بنگرو، درصد و سرعت جوانه‌زنی در پنیرک و چاودار روند کاهشی را نشان داد، به‌طوری‌که کمترین درصد جوانه‌زنی در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. همچنین با افزایش غلظت اسانس درختچه بنگرو، سبب کاهش در میانگین وزن خشک پنیرک و چاودار شد. در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس بنگرو دارای توان دگرآسیبی بالایی بر روی گیاهان پنیرک و چاودار است و علف هرز پنیرک حساسیت بیشتری نسبت به چاودار به اسانس بنگرو نشان داد.

واژه‌های کلیدی: شاخص بنیه گیاهچه، علف هرز، کروماتوگرافی گازی، وزن خشک گیاهچه

مقدمه

درختچه بنگرو یا هنده‌بید با نام علمی *Vitex pseudo-negundo* از خانواده Malvaceae، با ارتفاع ۱ الی ۲ متر، با شاخه‌های چهار گوش و دارای گل‌آذین پانیکول بزرگ انتهایی می‌باشد. برگ‌های این گیاه قلبی شکل با رگبرگ‌های مشخص و برجسته به صورت کرک‌دار می‌باشد (۱۳). ساریکورکو و همکاران (۱۵) در پژوهشی به بررسی ترکیب شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره‌های تهیه شده با حلال‌های متفاوت گیاه *Vitex agnus-castus* L. پرداختند. این محققان ۲۷ ترکیب مختلف را از اسانس این گیاه شناسایی نمودند که ۹۴/۵ درصد ترکیبات را شامل می‌شد. ترکیبات عمده اسانس شامل ۱و ۸-سینئول (۲۴/۹۸ ٪)، سابینن (۱۳/۴۵ ٪)، آلفاپینن (۱۰/۶۰ ٪)، آلفاترپینیل استات (۶/۶۶ ٪) و (Z)-β-فارنسن (۵/۴۰ ٪) بود.

گیاهان ترکیبات شیمیایی متعددی را در طول دوره رشد و نمو خود تولید می‌کنند. این ترکیبات یا به شکل گاز هستند که از سطح اندام‌های هوایی آزاد یا آبشویی می‌شوند و یا ترشحات ریشه‌ها و یا در اثر تجزیه بقایای گیاهی در محیط آزاد می‌شوند که این ترکیبات مختلف مواد شیمیایی دگرآسیب[۵] باعث بوجود آمدن خاصیت دگرآسیبی[۶] می‌شود (۱۰). هدف اصلی تحقیقات دگرآسیبی، ارایه‌ی دلیلی برای تداخل مواد شیمیایی در شرایط طبیعی و معرفی ترکیبات مختلف دگرشیمیایی است که رشد گیاهان دیگر را در اکوسیستم‌های

۱، ۳ و ۴- به ترتیب استادیاران و دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فسا
۲- دانشگاه فنی و حرفه‌ای، آموزشکده فنی کشاورزی فسا
(*- نویسنده مسئول: Email: attarzadeh2012@yahoo.com)
DOI: 10.22067/jpp.v32i1.61473

5- Allelochemical
6- Allelopathy

طبیعی یا زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. هدف دیگر این علم، جداسازی و شناسایی ترکیبات مختلف دگرشیمیایی گیاهان است. نقش دگرآسیبی در مدیریت کنترل علف‌های هرز سودمند است و توجه پژوهشگران زیادی را به خود جلب کرده است. بازدارندگی رشد علف‌هرز در دوران استقرار اولیه توسط دگرآسیبی گیاهان می‌تواند نیاز به علف‌کش‌های تجاری و کاربرد آن‌ها را در اوایل فصل کاهش دهد و پس از آن گیاه زراعی با تشدید کردن رقابت، علف‌هرز را کنترل کند (۱۴).

جوانه‌زنی بذر مرحله مهمی در چرخه زندگی گیاهان می‌باشد. علاوه بر عامل درونی و بیرونی، ترکیبات شیمیایی موجود در خاک نیز ممکن است روی جوانه‌زنی بذر و استقرار اولیه گیاهچه تأثیرگذار باشد. با مطالعه سمیت نسبی این ترکیبات در گیاهان زراعی و علف‌های‌هرز امکان توسعه علف‌کش‌های جدید نیز وجود دارد (۶). کاویتا و همکاران (۷) اثر دگرآسیبی *Vitex negundol* را بر جوانه‌زنی و رشد ماش سبز (*Vigna radiata*) مورد بررسی قرار داده و گزارش کردند که غلظت‌های بالای عصاره‌های آبی برگ این گیاه (۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد)، درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه‌ها را کاهش داد، در حالی‌که غلظت‌های پایین آن باعث تحریک جوانه‌زنی و رشد این گیاه گردید. با توجه به موارد مذکور، شناخت اثرات دگرآسیبی گیاهان می‌تواند در شرایط حاضر که تلاش گسترده‌ای به منظور افزایش عملکرد در گیاهان زراعی در سطح جامعه‌ی جهانی وجود دارد، سبب کمک شایانی در مدیریت‌های صحیح کنترل علف‌های‌هرز در قالب اصول کشاورزی پایدار تعیین کند. در نتیجه این پژوهش با هدف شناسایی ترکیبات متشکله اسانس برگ درختچه بنگرو و همچنین بررسی پتانسیل دگرآسیبی غلظت‌های مختلف اسانس درختچه بنگرو بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های علف‌های هرز پنیرک و چاودار در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های برگ درختچه بنگرو از درختچه‌های خودرو در مراتع شهرستان فسا با طول جغرافیایی ۵۳ درجه و ۳۷ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۲۹ درجه و ۲ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۴۵۰ متر از سطح دریا در سال ۱۳۹۳ جمع‌آوری گردید. جهت استخراج اسانس، ابتدا برگ‌های جمع‌آوری شده در سایه خشک گردید و سپس توسط آسیاب برقی پودر شدند. در هر مرحله صد گرم نمونه پودر شد. عملیات استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و با دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت صورت گرفت. در پایان هر مرحله اسانس‌گیری، میزان اسانس بدست آمده توزین گردید و در پایان بازده اسانس به صورت درصد وزنی محاسبه شد. بازده اسانس برگ بنگرو به روش تقطیر با آب ۰/۴ درصد وزنی بود. عملیات اسانس‌گیری در آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس در شیراز صورت گرفت. جهت آنالیز و بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، یک میلی‌لیتر از نمونه به دستگاه کروماتوگراف گازی[1] مدل Agilent-7890 دارای آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای[2] و دستگاه کروماتوگراف گازی کوپل شده با طیف نگار جرمی[3] مدل Agilent-5975C تزریق گردید. در این پژوهش از نرم‌افزار Chemstation ورژن B برای تعیین نوع ترکیبات و محاسبه میزان آن‌ها استفاده شد. برای شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازداری کوآتس که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال ۸ تا ۲۴ کربنه تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها صورت گرفت و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده بود، مقایسه شد. ترکیبات اسانس با استفاده از شاخص‌های بازداری آلکان‌های مختلف که در شرایط کروماتوگرافی یکسانی با اسانس تزریق گردیدند، محاسبه شدند. شناسایی ترکیبات اسانس با مقایسه طیف جرمی و شاخص‌های بازداری نسبی آن‌ها با اطلاعات مربوط به نمونه‌های اصلی ترکیبات (۱) انجام شد. درصد مساحت نسبی هر ترکیب اسانس، بدون در نظر گرفتن فاکتور تصحیح، برای تعیین میزان هر ترکیب موجود در نمونه اسانس مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز روی یک ستون سیلیسی HP-5 به طول ۳۰ متر، قطر ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر انجام شد. برنامه‌ریزی دمایی ستون از ۶۰ تا ۲۱۰ درجه سلسیوس با افزایش دمای ۳ درجه سلسیوس در دقیقه و سپس تا ۲۴۰ درجه سلسیوس با سرعت ۲۰ درجه سلسیوس در دقیقه بود و به مدت ۸/۵ دقیقه در دمای نهایی نگهداری شد. دمای تزریق‌کننده و آشکارساز به ترتیب ۲۸۰ و ۲۹۰ درجه سلسیوس بود. همچنین از گاز حامل نیتروژن با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

در بخش دیگری از این پژوهش، بررسی پتانسیل دگرآسیبی اسانس برگ درختچه بنگرو بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های علف هرز پنیرک و چاودار مورد بررسی قرار گرفت. این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار در سال ۱۳۹۳ انجام گرفت. فاکتور اول شامل علف‌های هرز پنیرک و چاودار و فاکتور دوم شامل غلظت‌های صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از اسانس برگ درختچه بنگرو بود. قبل از شروع آزمایش‌های اصلی، نمونه‌ی بذرها در پتری‌دیش کشت گردید تا از جوانه‌زنی و عدم وجود خواب در بذور اطمینان حاصل شود. برای تهیه غلظت‌های مورد نظر ابتدا مقدار مورد نیاز از اسانس توزین گردیده و با کمک سمپلر متغیر برداشته و پس از حل کردن آن در حلال دی‌متیل‌سولفوکسید، با آب مقطر به حجم لازم رسانده شد.

جهت انجام آزمایش ابتدا بذرها با محلول یک درصد هیپوکلریت‌سدیم به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی و با آب مقطر شستشو شدند. تعداد ۲۵ عدد بذر در هر پتری‌دیش که حاوی دو برگ کاغذ

1- Gas chromatography
2- Flame Ionization Detector
3- Gas Chromatography Mass Spectrometry

صافی بود، قرار داده شد. از هر کدام از غلظت‌های تهیه شده ۵ میلی‌لیتر به پتری‌دیش‌ها اضافه شده و نمونه‌ها در دمای ۵±۲۰ درجه سلسیوس و در شرایط ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی در ژرمیناتور قرار داده و به مدت ۱۴ روز به صورت روزانه تعداد بذور جوانه‌زده شمارش شدند. بذری جوانه‌زده در نظر گرفته شد که ریشه‌چه‌ی آن دو میلی‌متر از پوسته‌ی بذر خارج شده بود. درنهایت شاخص‌هایی از جمله درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شد. درصد جوانه‌زنی (۱۱ و ۹) با استفاده از معادله ۱ محاسبه گردید.

(معادله ۱) ۱۰۰× (تعداد بذر اولیه در پتری‌دیش / تعداد کل بذر جوانه‌زده) = درصد جوانه‌زنی

به منظور اندازه‌گیری سرعت جوانه‌زنی در فواصل زمانی ۲۴ ساعته تعداد بذرهای جوانه‌زده شمارش و سپس از طریق محاسبه تعداد بذر جوانه‌زده در روز (ظهور ریشه‌چه) و با استفاده معادله ۲ محاسبه شد (۲).

(معادله ۲) تعداد روز تا آخرین شمارش/ تعداد بذر جوانه‌زده+...+تعداد روز تا اولین شمارش/ تعداد بذر جوانه‌زده= سرعت جوانه‌زنی

طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه به کمک خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری گردید. وزن خشک آن‌ها با قرار دادن در آون با ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، تعیین گردید. همچنین شاخص بنیه گیاهچه از طریق معادله ۳ بدست آمد (۱۶).

(معادله ۳) ((طول ریشه‌چه+ طول ساقه‌چه) ×۱۰۰/ درصد جوانه‌زنی) = شاخص بنیه گیاهچه

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار تجزیه و تحلیل آماری[1] SAS نسخه ۹,۱,۳ و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

در این پژوهش آنالیز اسانس برگ درختچه بنگرو به‌دست آمده به روش تقطیر با آب به وسیله کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی امکان شناسایی ۵۳ ترکیب که در برگیرنده ۹۸/۹۱ درصد کل اسانس بود را فراهم ساخت (جدول ۱ و نمودار ۱). آنالیز کروماتوگرافی نشان داد که اسانس برگ درختچه بنگرو در این پژوهش مخلوطی پیچیده از ترکیبات ترپنی مختلف بود، هرچند مونوترپن‌ها بخش عمده اسانس را تشکیل دادند (۶۷/۰۰۲ درصد). در مجموع اسانس برگ درختچه بنگرو در این پژوهش در برگیرنده ۳۷/۷۴۳ درصد مونوترپن‌های هیدروکربنه، ۲۸/۸۶۵ درصد مونوترپن‌های اکسیژنه، ۲۵/۵۸۵ درصد سزکویی‌ترپن‌های هیدروکربنه، ۶/۳۲۰ درصد سزکویی‌ترپن‌های اکسیژنه و ۰/۳۹۷ درصد سایر ترکیبات بود. در این پژوهش ترکیبات اصلی و غالب تشکیل دهنده اسانس برگ درختچه بنگرو به ترتیب شامل α-Terpinyl acetate (۲۲/۰۰۷ درصد)، α-Pinene (۱۶/۳۷۸ درصد)، (E)-Caryophyllene (۱۱/۷۲۴ درصد) و Limonene (۹/۷۲ درصد)، (Z)-b-Farnesene (۴/۷۱ درصد) بودند (جدول ۱). ساریکورکو و همکاران (۱۵) در پژوهشی ۲۷ ترکیب مختلف را به کمک آنالیز GC و GC-MS از اسانس گیاه *Vitex agnus castus* L. شناسایی نمودند که ۹۴/۵ درصد ترکیبات را شامل می‌شد. ترکیبات عمده این اسانس شامل ۱و۸-سینئول (۲۴/۹۸ درصد)، سابینن (۱۳/۴۵ درصد)، آلفاپینن (۱۰/۶۰ درصد)، آلفاترپینیل‌استات (۶/۶۶ درصد) و (Z)-β-فارنسن (۵/۴۰ درصد) بود. اسدادی و همکاران (۳) با بررسی ترکیبات شیمیایی روغن دانه *Vitex agnus-castus* L. گزارش کردند که ترکیبات β-sitostrol و sigmastrol به عنوان ترکیبات غالب روغن دانه بنگرو شناسایی شده و مجموعا ۶۹ درصد از کل استرول این عصاره را تشکیل دادند. کوکرا و همکاران (۸) در پژوهشی ترکیبات اسانس *Vitex negundo* Linn. را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها ترکیبات اصلی را در اسانس برگ شامل δ-guaiene، carryophyllene epoxide و ethyl-hexadecenoate، در اسانس گل شامل α-selinene، carryophyllene epoxide، germacren-4-ol و (E)-nerolidol و در اسانس میوه شامل β-selinene، α-cedrene، germacrene D و hexadecanoic acid گزارش شد.

درصد و سرعت جوانه‌زنی

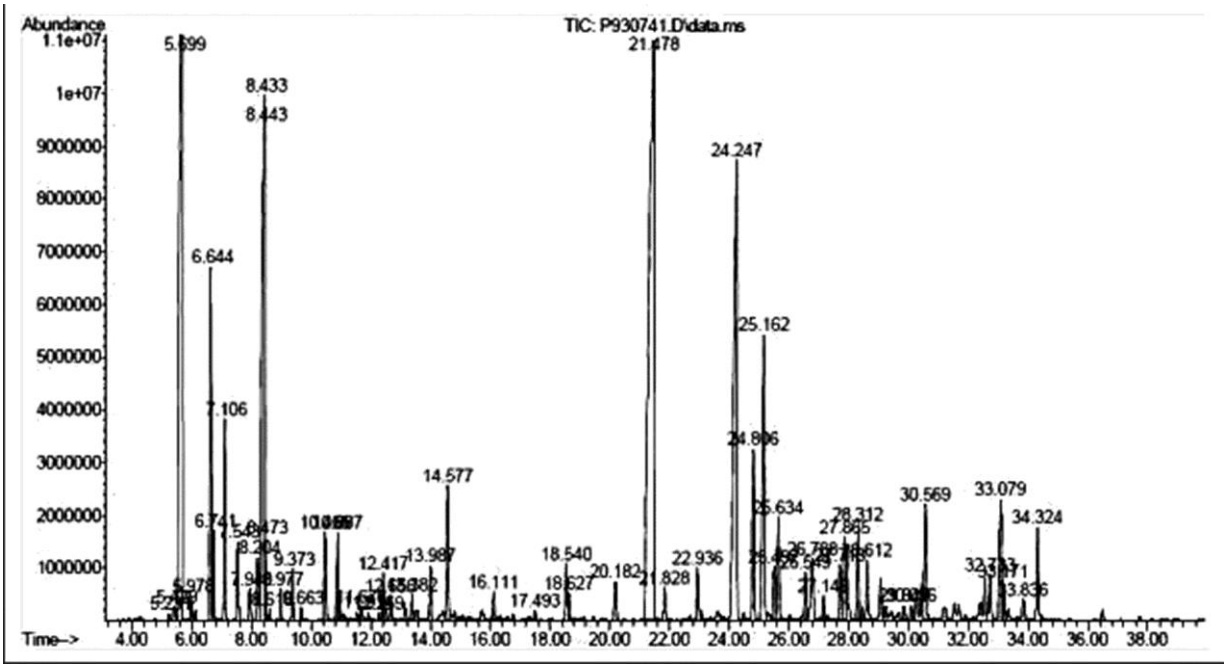
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به درصد جوانه‌زنی نشان داد که اثر سطوح مختلف غلظت اسانس درختچه بنگرو و نوع علف‌هرز و اثر متقابل آن‌ها درصد جوانه‌زنی را به طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) تحت تأثیر قرار داد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین درصد جوانه‌زنی پنیرک در شرایط بدون اسانس درختچه بنگرو (شاهد) با میانگین ۸۷/۶ درصد بود که نسبت به غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس درختچه بنگرو اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۳). همچنین درصد جوانه‌زنی در چاودار در شرایط بدون اسانس درختچه بنگرو (شاهد) با ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت اسانس درختچه بنگرو اختلاف معنی‌داری نشان نداد. با افزایش غلظت اسانس درختچه بنگرو، درصد جوانه‌زنی در پنیرک و چاودار روند کاهشی را نشان داد، به‌طوری‌که کمترین درصد جوانه‌زنی در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت اسانس درختچه بنگرو در پنیرک سبب اختلال بیشتری در فرآیند جوانه‌زنی نسبت به چاودار شده است که در نهایت باعث کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی گردیده است (جدول ۳).

1- Statistical Analysis System

جدول ۱- نوع، درصد و شاخص بازداری ترکیبات اسانس برگ بنگرو

Table 1- The type, percent and retention index essential oil leaf *Vitex pseudo negundo*

شماره Number	نوع ترکیبات Type compounds	شاخص بازداری Retention index	درصد Percent
1	Tricyclene	918	0.065
2	a-Thujene	926	0.225
3	a-Pinene	936	16.378
4	Camphene	946	0.222
5	Sabinene	971	3.205
6	b-Pinene	975	0.644
7	Myrcene	988	1.744
8	a-Phellandrene	1004	0.756
9	a-Terpinene	1015	0.403
10	p-Cymene	1022	0.850
11	Limonene	1026	9.720
12	b-Phellandrene	1029	0.997
13	1,8-Cineole	1030	0.288
14	(Z)-b-Ocimene	1034	0.093
15	(E)-b-Ocimene	1044	0.278
16	g-Terpinene	1055	0.510
17	cis-Sabinene hydrate	1063	0.124
18	Terpinolene	1086	0.985
19	Linalool	1097	0.979
20	trans-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	1117	0.188
21	a-Campholenal	1123	0.101
22	cis-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	1131	0.084
23	trans-Pinocarveol	1135	0.534
24	cis-Verbenol	1141	0.256
25	Pinocarvone	1159	0.270
26	Terpinene-4-ol	1174	0.640
27	a-Terpineol	1188	1.644
28	Citronellol	1225	0.379
29	Methyl citronellate	1257	0.125
30	Bornyl acetate	1282	0.641
31	Methyl geranate	1321	0.608
32	a-Terpinyl acetate	1347	22.007
33	neo iso-Dihydro carveol acetate	1360	0.391
34	7-epi-Sesquithujene	1387	0.668
35	(E)-Caryophyllene	1419	11.724
36	trans-a-Bergamotene	1433	2.178
37	(Z)-b-Farnesene	1441	4.718
38	a-Humulene	1450	0.671
39	(E)-b-Farnesene	1453	1.322
40	g-Curcumene	1476	0.567
41	b-Selinene	1484	1.137
42	a-Selinene	1490	0.377
43	b-Bisabolene	1505	0.676
44	b-Curcumene	1511	1.065
45	b-Sesquiphellandrene	1520	1.150
46	(E)-Nerolidol	1560	0.223
47	(3Z)-Hexenyl benzoate	1566	0.185
48	Caryophyllene oxide	1578	1.612
49	epi-a-Cadinol	1636	0.668
50	b-Eudesmol	1646	1.649
51	a-Eudesmol	1648	0.382
52	epi-b-Bisabolol	1666	0.357
53	a-Bisabolol	1679	1.244



شکل ۱- طیف آنالیز ترکیبات اسانس برگ بنگرو

Figure 1- The chromatogram of analysis essential oil leaf *Vitex pseudo negundo*

اثر سطوح مختلف غلظت اسانس درختچه بنگرو و نوع علف‌هرز و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد بر سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول ۱). سرعت جوانه‌زنی پنیرک در تیمار بدون اسانس درختچه بنگرو (شاهد) ۱۰/۹ عدد در روز بود که نسبت به تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت اسانس درختچه بنگرو (به ترتیب ۱۰/۱ و ۹/۶ عدد در روز) تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برای صفات مورد بررسی

Table 2- Analysis of variance (mean square) for studied traits

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول ریشه‌چه Radicle length	طول ساقه‌چه Plumule length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص بنیه گیاهچه Seedling vigor index
تکرار Repeatlication	3	69.10 ns	23.94 **	1.82 ns	20.02 *	1.10 ns	4.60 ns
اسانس Essential oil	4	388.8 **	13.08 **	5905.2 **	5603.6**	1.40 ns	13517 **
علف‌هرز Weeds	1	2523.6 **	96.75 **	210.7 **	159.5 **	38.5 **	1323.4 **
اسانس× علف‌هرز Essential oil× Weeds	4	1261.2 **	45.2 **	756.8 **	712.2 **	17.5 **	2199.1**
خطا Error	30	43.7	0.91	3.99	6.04	0.66	4.9
ضریب تغییرات C.V (٪)	–	9.5	11.93	9.2	12.6	12.3	7.3

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم معنی‌دار

** ,* and ns is significant at the 5 and 1 percent probability level, respectively and non-significant

جدول ۳- مقایسه میانگین برهمکنش نوع علف هرز و غلظت اسانس برگ بنگرو بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه و شاخص بنیه گیاهچه پنیرک و چاودار

Table 3- The comparison of the mean interactions weeds type and oil concentration leaf *Vitex pseudo negundo* on germination percentage, germination rate, radicle length, plumule length, seedling dry weight and seedling vigor index of *Malva neglecta* and *Secale montanum*

علف‌هرز Weeds	غلظت اسانس (گرم در لیتر) Essential oil concentration (g/l)	جوانه‌زنی (درصد) Germination (percent)	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (Seed per day)	طول ریشه‌چه (میلی‌متر) Radicle length (mm)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر) Plumule length (mm)	وزن خشک گیاهچه (میلی‌گرم) Seedling dry weight (mg)	شاخص بنیه گیاهچه Seedling vigor index
پنیرک *Malva neglecta*	**شاهد** Control	87.6 a	10.9 bc	12.6 e	13.7 e	9.4 a	23.1 ef
	250	82.7 ab	10.1 cd	11.4 e	12.9 e	8.7 a	20.1 f
	500	81.3 ab	9.6 cd	7.3 f	11.3 ef	6.1 b	15.2 g
	1000	49.6 c	4.4 ef	4.4 fg	10.5 fg	4.0 cd	7.2 h
	2000	28.3 d	1.6 g	2.2 g	7.2 f	2.9 d	2.5 i
چاودار *Secale montanum*	**شاهد** Control	87.6 a	12.9 a	43.6 a	45.2 a	9.2 a	77.8 a
	250	83.0 ab	12.1 ab	41.1 a	44.8 ab	8.4 a	71.3 b
	500	76.6 ab	9.1 d	37.3 b	40.6 b	6.7 b	59.7 c
	1000	71.0 b	6.1 e	31.0 c	35.0 c	5.2 bc	44.8 d
	2000	47.3 c	3.3 f	25.3 d	26.6 d	3.7 d	24.7 e

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌داری با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند

Means followed by the same letters in each column are not significantly different by Duncan test at 5% probability level

با افزایش غلظت اسانس درختچه بنگرو، سرعت جوانه‌زنی در پنیرک و چاودار روند کاهشی را نشان داد، به‌طوری‌که کمترین سرعت جوانه زنی در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. نتایج این پژوهش نشان داد که در تیمار ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت اسانس درختچه بنگرو، سرعت جوانه‌زنی در پنیرک و چاودار تفاوت معنی‌داری نشان نداد. همچنین در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت اسانس درختچه بنگرو، سرعت جوانه‌زنی در پنیرک ۱/۶ عدد در روز بود که نسبت به چاودار (۳/۳ عدد در روز) کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۳).

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه

اثر سطوح مختلف غلظت اسانس درختچه بنگرو و نوع علف هرز و اثر متقابل آنها طول ریشه‌چه را به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) تحت تأثیر قرار داد (جدول ۲). بیشترین طول ریشه‌چه پنیرک در شرایط بدون اسانس درختچه بنگرو (شاهد) با میانگین ۱۲/۶ میلی‌متر بود که نسبت به غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسانس درختچه بنگرو (۱۱/۴ میلی‌متر) اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۳). از سوی دیگر طول ریشه‌چه در پنیرک در شرایط تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت اسانس درختچه بنگرو ۴/۴ میلی‌متر بود که با تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (۲/۲ میلی‌متر) اختلاف معنی‌داری نشان نداد. همچنین طول ریشه‌چه چاودار در شرایط بدون اسانس درختچه بنگرو (شاهد) با تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت اسانس درختچه بنگرو اختلاف معنی‌داری نشان نداد. نتایج بدست آمده دیگر نشان می‌دهد که با افزایش غلظت اسانس درختچه بنگرو، طول ریشه‌چه در پنیرک و چاودار روند کاهشی را نشان داد، به‌طوری‌که کمترین طول ریشه‌چه در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد (جدول ۳).

اثر سطوح مختلف غلظت اسانس درختچه بنگرو و نوع علف‌هرز و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد بر طول ساقه‌چه معنی‌دار بود (جدول ۲). طول ساقه‌چه پنیرک در تیمار بدون اسانس درختچه بنگرو (شاهد) ۱۳/۷ میلی‌متر بود که نسبت به تیمار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت اسانس درختچه بنگرو (به ترتیب ۱۲/۹ و ۱۱/۳ میلی‌متر) تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳). کمترین طول ساقه‌چه پنیرک در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد که با تیمار ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت اسانس درختچه بنگرو تفاوت معنی‌داری نشان نداد. نتایج این پژوهش نشان داد که در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر درختچه بنگرو، طول ساقه‌چه چاودار ۴۰/۶ میلی‌متر بود که نسبت به تیمار شاهد (۴۵/۲ میلی‌متر) کاهش معنی‌داری نشان داد. همچنین کمترین طول ساقه‌چه چاودار با میانگین ۲۶/۶ میلی‌متر بود در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت اسانس درختچه بنگرو بدست آمد (جدول ۳).

وزن خشک گیاهچه و شاخص بنیه بذر

اثر سطوح مختلف غلظت اسانس درختچه بنگرو در سطح احتمال ۵ درصد و نوع علف‌هرز و اثر متقابل غلظت اسانس درختچه بنگرو و نوع علف‌هرز در سطح احتمال ۱ درصد بر وزن خشک گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین وزن خشک گیاهچه پنیرک در شرایط بدون اسانس درختچه بنگرو (شاهد) با میانگین ۹/۴ میلی‌گرم و کمترین مقدار این صفت در ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت اسانس درختچه بنگرو با میانگین ۲/۹ میلی‌گرم بدست آمد (جدول ۳). همچنین با افزایش غلظت اسانس درختچه بنگرو، سبب کاهش در میانگین وزن خشک گیاهچه پنیرک و چاودار شد. نتایج بدست آمده دیگر نشان می‌دهد که وزن خشک گیاهچه پنیرک با چاودار در سطوح مختلف با غلظت یکسان اسانس درختچه بنگرو اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۳).

اثر سطوح مختلف غلظت اسانس درختچه بنگرو و نوع علف هرز و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد بر شاخص بنیه بذر معنی‌دار بود (جدول ۲). شاخص بنیه بذر پنیرک و چاودار با افزایش غلظت اسانس روند کاهشی را نشان داد، به‌طوری‌که کمترین شاخص بنیه بذر در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت اسانس درختچه بنگرو بدست آمد (جدول ۳). اما بیشترین شاخص بنیه بذر در تیمار بدون اسانس درختچه بنگرو (شاهد) در پنیرک و چاودار به ترتیب با میانگین ۲۳/۱ و ۷۷/۸ بدست آمد (جدول ۳).

به‌طورکلی مکانیزمی که سبب کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه تحت تأثیر مواد دگرآسیبی می‌شود به‌طور کامل شناسایی نشده است. مواد دگرآسیب مترشحه از گیاهان در بسیاری فرآیندهای زیستی از جمله توقف جذب مواد غذایی، کاهش تقسیم و بزرگ شدن سلول، کند کردن فرآیندهای تنفس، فتوسنتز و فعالیت‌های آنزیمی نقش دارند که در نهایت به کاهش رشد گیاهان منجر خواهد شد (۵). کاهش بیشتر طول ریشه‌چه نسبت به ساقه‌چه در این پژوهش ممکن است بیانگر این نکته باشد که ریشه‌چه اولین اندامی است که از بذر خارج می‌شود و در تماس مستقیم با مواد دگرآسیبی می‌باشد و ممکن است بیشتر تحت تأثیر این مواد قرار گیرد. بنابراین از طریق ممانعت از سنتز جیبرلین و ایندول استیک اسید، طویل‌شدن سلول‌ها به وسیله عوامل دگرآسیبی تحت تأثیر قرار گرفته است (۱۲). نقش مواد دگرآسیب بر روی جوانه‌زنی از طریق اختلال در متابولیسم سلولی و فعالیت آنزیم‌هایی است که روی انتقال ترکیبات ذخیره‌ای در طی جوانه‌زنی اثر می‌گذارد. همچنین نقش دیگر آللوکمیکال از طریق ایجاد خسارت به اندامک‌ها که در نهایت منجر به کاهش تجمع مواد ذخیره‌ای در گیاهچه‌ها می‌گردد (۴). سوسئو و همکاران (۱۷) در پژوهشی به منظور بررسی اثر دگرآسیبی عصاره برگ *Vitex negunda* بر *Lolium multiflorum*، *Cymbopogon tortilis* و *Miscanthus sinensis* اعلام داشتند که عصاره برگ این گیاه دارای ترکیبات بازدارنده‌ای در ارتباط با جوانه‌زنی بذر گیاهان مورد بررسی داشته و جوانه‌زنی آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس درختچه بنگرو دارای توان دگرآسیبی بالایی بر روی گیاهان پنیرک و چاودار است و علف هرز پنیرک حساسیت بیشتری نسبت به اسانس درختچه بنگرو نشان داد. همچنین با افزایش غلظت عصاره‌ها، این شدت بازدارندگی افزایش یافت، به گونه‌ای که در تمامی صفات اندازه‌گیری شده، بیشترین بازدارندگی در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد.

منابع

1- Adams R.P. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry. 4th ed. Allured Publ., Carol Stream, IL.
2- Agrawal R.L. 1982. Seed Technology. New Delhi. India, 685 p.
3- Asdadi A., Idrissi Hassani L.M., Chebli B., Moutaj R., Gharby S., Harhar H., Salghi R., and Hadek M.E.L. 2014. Chemical composition and antifungal activity of *Vitex agnus-castus* L. seeds oil growing in morocco. Journal of Materials and Environmental Science, 5(3): 823-830.
4- Hayat E., Mahe M., Mata M., Mighri Z., laurent G., and MahJoub A. 2010. Biologicel activites of Peganum harmala leaves. African Journal of Biotechnology, 3: 8199-8205.
5- Inderjit W. J., and Duke S.O. 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. Planta, 217(4): 125-132.
6- Ishii-Iwamoto E L., Coelho E. M. P., Reis B., Moscheta I. S., and Bonato C.M. 2012. Effect of monoterpenes on physiological processes during seed germination and seedling growth. Current Bioactive Compounds, 8: 50-64.
7- Kavitha D., Prabhakaram J., and Arumugam K. 2012. Allelopathic influence of *Vitex negundo* L. on germination and growth of Greengram (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) and Blackgram (*Vigna mungo* (L.) Hepper). International Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine, 2(1): 163-170.
8- Khokra S.L., Prakash O., Jain S., Aneja K.R., and Dhingra Y. 2008. Essential oil composition and antibacterial studies of *Vitex negundo* Linn. Extracts. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 70(4): 522–526.
9- Maguire J.D. 1962. Speed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. Crop Science, 2:176-177.
10- Mandal A., Tarai P., Kaushik S., Mahata A., and Chakarborti P. 2013. Allelopathic action of *Rauwolfia tetraphylla*

L. root extracts on gram (*Cicer arietinum* L.) seeds. Journal of Crop and Weed, 9: 72-75.
11- Nichols M. A., and Heydecker W. 1986. Two approaches to the study of germination date. Proc. International. Seed Test, 33:531-540
12- Nilda R., and Talbert E. 2000. Differential activity of allelochemical from secale cereale in seedling bioassays. Weed Science, 48(3): 302-310.
13- Pakravan M., and Nemati S. 2012. Cladistic analysis of the genus *Malva* L. in Iran based on morphological characters. Journal of Applied Biology, 23: 31-40. (In Persian with English abstract).
14- Sangeetha C., and Baskar P. 2015. Allelopathy in weed management: A critical review. African Journal of Agricultural Research, 10(9): 1004-1015.
15- Sarikurkcu C., Arisoy K., Tepe B., Cakir A., Abali G., and Mete E. 2009. Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of *Vitex agnus castus* L. fruits from Turkey. Food and Chemical Toxicology, 47: 2479–2483.
16- Soltani A., Zeinali E., Galeshi S., and Latifi N. 2001. Genetic variation for and interrelationships among seed vigor traits in wheat from the Caspian Sea Coast of Iran. Seed Science and Technology, 29: 653- 662.
17- Soo Seo B., Phil Mun S., and Hoon Son J. 2001. A study on the effect of allelopathy of *Vitex negundo* var. *incisa* leaves extracts. Korean Journal of Environment and Ecology, 15(2): 173-185.