

دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران

جلد ۳۰، شماره ۳، صفحه ۴۴۴-۴۳۳ (۱۳۹۳)

بررسی ترکیب‌های شیمیایی و خواص آللوباتیک اسانس گیاه آنفوزه (*Ferula assa-foetida* L.)

حسن دلاور^۱، محمدجمال سحرخیز^{۲*} و نرگس خاتون کازرانی^۳

۱- کارشناس ارشد، اداره جهاد کشاورزی شهرستان نی ریز، مرکز ترویج ریزاب

۲- نویسنده مسئول، دانشیار، دانشگاه شیراز، دانشکده کشاورزی، بخش علوم باگبانی، پست الکترونیک: saharkhiz@shirazu.ac.ir

۳- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، برآذجان

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۱

تاریخ اصلاح نهایی: خرداد ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۰

به منظور بررسی ترکیب‌ها و خواص آللوباتیک گیاه دارویی آنفوزه (*Ferula assa-foetida* L.), آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول مشتمل از ۶ غلاظت اسانس آنفوزه شامل ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر و فاکتور دوم شامل ۵ گونه گیاهی، سه گونه علف هرز به نام‌های خردل وحشی (*Sinapis arvensis*), تلخه (*Hordeum vulgare*) و ازمک (*Triticum aestivum*) همراه با دو گونه زراعی گندم (*Acroptilo repens*) و جو (*Cardaria draba*) استفاده از دستگاه GC و GC-MS نشان داد که ۱۳ ترکیب قابل شناسایی در اسانس وجود دارد که عمده‌ترین آنها شامل آلفا-پینن (۲۱٪)، بتا-پینن (۱۸٪) و ۲-دی‌تیولان (۴٪) بودند. صفات مورد اندازه‌گیری جهت ارزیابی اثر آللوباتیک اسانس بر گونه‌های مورد بررسی شامل: درصد جوانه‌زنی، طول ساقچه و ریشه‌چه، وزن تر و خشک ساقچه و ریشه‌چه و درصد ناهنجاری گیاهچه‌ها بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که واکنش گیاهان نسبت به اسانس آنفوزه به طور معنی‌داری ($p \leq 0.05$) متفاوت می‌باشد. بیشترین درصد جوانه‌زنی در غلاظت‌های مختلف اسانس آنفوزه مربوط به گیاه زراعی گندم بdest آمد، در حالی که در گیاه زراعی جو نسبت به گندم حساسیت بیشتری مشاهده شد. به طور کلی کمترین حساسیت به اثرات آللوباتیک اسانس مربوط به گونه زراعی گندم بود که در تمام صفات مشاهده شد. از طرفی گونه زراعی جو، علف هرز تلخه و ازمک بیشترین حساسیت را به اسانس آنفوزه نشان دادند. البته اثر بازدارندگی آنفوزه بر علف هرز تلخه و ازمک نسبت به خردل وحشی بیشتر بود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، آنفوزه (*Ferula assa-foetida* L.), آللوباتی، علف هرز، بازدارندگی، درصد جوانه‌زنی.

در کنترل علف‌های هرز مورد مطالعه و تحقیق بیشتری قرار داد (Saharkhiz et al., 2010; Saharkhiz et al., 2009). آللوباتی از دیرباز شناخته شده‌است و صفاری، (۱۳۸۰). آللوباتی از گونه‌های گیاهی دارای اثرات مشاهده گردیده که بسیاری از گونه‌های گیاهی دارای اثرات شیمیایی بر روی خود و یا سایر گونه‌های دیگر هستند. به عنوان مثال نخود سفید یا نخود ایرانی باعث از بین رفتگ خارخسک (*Tribulus terrestris*) می‌شود. همچنین معتقدند که قبل از کشت ذرت نباید در همان زمین جو، شبکلیله، نخود و یا خلر کاشت و یا درخت گردو در انسان

امروزه هر چند کنترل شیمیایی در مورد بسیاری از علف‌های هرز مؤثر است، اما بالا بودن هزینه کنترل شیمیایی، راهیابی علفکش‌های مصنوعی به ذخایر آب‌های زیرزمینی، اثرات نامطلوب آنها بر محیط زیست و دیگر موجودات و افزایش مقاومت به علفکش‌ها در گونه‌های مختلف علف هرز، نیاز به روشهای دیگر برای کنترل علف‌های هرز را ضروری می‌سازد. به همین دلیل بسیاری از محققان بر این باورند که باید استفاده از خاصیت آللوباتی را

در میلیون به طور کامل از جوانهزنی چند گونه علف هرز مورد مطالعه مانع و یا فاکتورهای رشدی را به طور قابل توجهی کاهش دادند (Saharkhiz *et al.*, 2010). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که اسانس گیاه آنفوزه بیشتر از ترکیب‌های گوگردی که بازدارنده فعالیت‌های بیولوژیک می‌باشد، تشکیل شده است. طی پژوهشی بیست و پنج ترکیب در اسانس حاصل از شیرابه آنفوزه جمع‌آوری شده از ارتفاعات زرند واقع در استان کرمان شناسایی شد که عمدت‌ترین ترکیب‌های اسانس شامل E-1-propenyl sec-butyl disulfide و جرمکرون B بودند که به ترتیب مقادیر آنها برابر با ۴۰٪ و ۸٪ بود (Khajeh *et al.*, 2005). در تحقیق دیگری ۱۳ ترکیب در اسانس آنفوزه جمع‌آوری شده از ارتفاعات کرمان شناسایی گردید که مهمترین آنها عبارت بودند از: (E)-1-propenyl sec-butyl disulfide (۵۸٪)، (Z)-بتا-اوسمین (۱۱٪)، (E)-بتا-اوسمین (۹٪)، (Z)-1-propenyl sec-butyl disulfide (۵٪) و ترکیب (Sefidkon *et al.*, 1998) که برابر با ۳٪ بود.

با توجه به بحث کشاورزی ارگانیک و استفاده از ترکیب‌هایی که در محیط زیست سبب آلودگی نمی‌شوند، استفاده از مواد آللوباتیک مشتق از گیاهان می‌تواند نقش مهمی در این راستا ایفاء نماید. گزارش‌های فراوانی پیرامون خواص آللوباتیک گیاهان منتشر شده است که بیشتر در مورد گونه‌های زراعی و علف‌های هرز بوده اما استفاده از توان آللوباتیک گیاهان دارویی در کنترل علف‌های هرز کمتر توجه شده است. براساس اطلاعات موجود تاکنون تحقیقی پیرامون خواص آللوباتیک اسانس گیاه دارویی آنفوزه در کنترل علف‌های هرز نشده است. بنابراین با توجه به اینکه خواستگاه این گیاه کشور ایران می‌باشد، هدف از اجرای این پژوهش بررسی نوع ترکیب‌های موجود در اسانس این گیاه و تعیین اثرات آللوباتیک آن بر برخی گونه‌های زراعی و علف‌های هرز بوده است تا بتوان در صورت امکان از پتانسیل آللوباتیک آن برای فرمولاسیون و تهیه علف‌کش‌های طبیعی استفاده نمود.

محل اجرای آزمایش

این آزمایش در ایستگاه جهاد کشاورزی ریزاب از توابع نی‌ریز فارس انجام گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در

باعث سردد و به گیاهانی که مجاور آن قرار دارند صدمه می‌رساند (Narval & Tauro, 1994). ترکیب‌های آللوباتیک جزء مواد ثانویه گیاهی و یا محصولات فرعی مسیرهای متابولیکی گیاهان دسته‌بندی می‌شوند و شامل ترین‌ها و تانن‌ها، آلالکالوئیدها، فلاونوئیدها، کوئینون‌ها و فنل‌ها می‌باشند (Einhelling & Rasmussen, 1979). آللوباتیک باعث تغییر در الگوی رشد و پراکنش اجتماعات گیاهی می‌شود. در بسیاری از گونه‌های گیاهی مشاهده شده که از ورود گونه‌های خارجی به قلمرو خود جلوگیری کرده و به عنوان گونه غالب به زندگی خود ادامه می‌دهند. در اغلب موارد این الگوی رشدی تنها توسط پدیده رقابت توجیه نمی‌شود، بلکه پدیده آللوباتیک در این امر دخیل است. تحقیقات انجام شده روی گونه‌ای از سلوی با نام *Saliva leucopilla* نشان داده است که به دلیل متصاعد شدن ترکیب‌های ترپن‌وئیدی از اندام‌های هوایی مانع از رشد اغلب گونه‌های گیاهی در قلمرو رویشی خود می‌شود و به گونه‌ای غالب تبدیل می‌شود. با توجه به اینکه اکوسیستم‌های طبیعی نظیر جنگل و مرتع برای ما از اهمیت زیادی برخوردار هستند، ظهور و یا حذف برخی از این گونه‌ها در این مناطق می‌تواند به دلیل خاصیت آللوباتیک باشد. به عنوان مثال در مناطق تحت کشت گیاه اکالیپتوس پوشش گیاهی دیگری رشد نمی‌کند. کشت گیاهی زراعی یکساله و دوساله در اطراف این درختان با مشکل مواجه شده و در اغلب موارد موجب کاهش بسیار معنی‌داری در عملکرد آنها می‌شود (میقانی، ۱۳۸۲).

تحقیقات نشان داده است که استفاده اسانس‌های گیاهی با توجه به نوع ترکیب‌های موجود در آنها، غلظت‌های به کار گرفته شده اسانس و نوع گونه‌هایی که تحت تأثیر آنها قرار می‌گیرند، اثرات بازدارندگی قابل توجهی را بر جوانهزنی و رشد بذر علف‌های هرز دارا می‌باشند. گزارش شده است که اسانس‌های مربوط به تیپ‌های شیمیایی مختلف آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) با توجه به غلظت اسانس، نوع ترکیب‌ها و گونه‌های مورد بررسی دارای اثرات متفاوت و معنی‌داری بر جوانهزنی و رشد برخی از علف‌های هرز پهن برگ و باریک برگ بودند. براساس نتایج بدست آمده، تیپ شیمیایی کارواکرول (دارای بیش از ۷۷٪ ترکیب کارواکرول) با غلظت ۲۲۰ قسمت در میلیون و تیپ شیمیایی لینالول (شامل ۹۰٪ ترکیب لینالول) در غلظت ۶۴۰ قسمت

سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۷ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما نگه داشته شد. دمای قسمت تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز نیتروژن با سرعت ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد.

مشخصات دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیفسنج جرمی (GC/MS)

برای آنالیز نمونه‌های ارسالی از دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیفسنج جرمی Trace Model Thermoquest-Finnigan DB-1 به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۰۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۰۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده گردید. ابتدا نمونه‌های آماده شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شد و مناسب‌ترین برنامه ریزی دمایی ستون برای جداسازی کامل ترکیب‌های انسان بدست آمد. همچنین درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده هر نمونه انسان و عدد کواتس هر ترکیب محاسبه گردید. سپس انسان‌ها به دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌نگار جرمی نیز تزریق شده و طیف جرمی ترکیب‌ها بدست آمد. شناسایی ترکیب‌های انسان با استفاده از اندیس بازداری و بررسی طیف‌های جرمی ترکیب‌ها و مقایسه آنها با طیف‌های جرمی پیشنهادی توسط کتابخانه‌های کامپیوتر دستگاه کروماتوگراف متصل به طیفسنج جرمی و با مطالعه و مقایسه با منابع (Adams, 2007) انجام شد.

نحوه انجام آزمایش‌های آللوپاتیک و صفات مورد اندازه‌گیری در ابتدا بذرهای علف هرز و گونه‌های زراعی جمع‌آوری شد. سپس بذرها و پتربی دیش‌ها ضدغوفونی گردیدند و در کف هر یک دو لایه کاغذ صافی قرار داده شد. سپس تعداد ۵۰ عدد بذر در هر پتربی دیش قرار داده شد. سپس براساس تیمارهای مورد آزمایش و غلظت‌های مورد نظر اعمال تیمار

قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل شش غلط از انسان گیاه دارویی آنفووز شامل ۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکرولیتر در لیتر در نظر گرفته شد. از آنجا که جنبه کاربردی بودن پژوهش مد نظر بود، علف‌های هرز منطقه ریزاب که فراوانی و زیان‌های بیشتری در مزارع و باغ‌های زارعان داشتند، انتخاب گردیدند. نابرابرین فاکتور دوم شامل سه گونه علف هرز رایج منطقه شامل: خردل وحشی (*Sinapis arvensis*), تلخه (*Cardaria draba*) و ازمک (*Acroptilo repens*) همراه با دو گونه زراعی گندم (*Triticum aestivum*) و جو (*Hordeum vulgare*) در نظر گرفته شد.

جمع‌آوری شیرابه آنفووز و انسان‌گیری پس از تعیین محل رویش گیاه دارویی آنفووز، جمع‌آوری نمونه از ارتفاعات داراب فارس، منطقه شکرویه (چشمۀ عاشق) در ۱۴۰ کیلومتری جنوب شرق نی‌ریز با آب و هوای معتدل و کوهستانی و ارتفاع ۲۰۰ متری از سطح دریا با انجام عملیات تیغ زدن و استحصال شیرابه انجام شد. پس از حل نمودن مقدار ۵۰ گرم از شیرابه آنفووز در آب مقطر، انسان‌گیری توسط دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب و به مدت ۳ ساعت انجام گردید. انسان بدست آمده با استفاده از سولفات‌سدیم خشک آبگیری و در یخچال نگهداری شد تا در مراحل بعد برای تجزیه ترکیب‌های تشکیل‌دهنده و انجام آزمایش‌های آللوپاتی مورد استفاده قرار گیرد.

تجزیه ترکیب‌های انسان آنفووز قبل از انجام آزمایش‌های مربوط به تعیین خواص آللوپاتیک، به‌منظور جداسازی و شناسایی ترکیب‌های انسان از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیفسنج جرمی (GC-MS) استفاده شد.

مشخصات دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) به‌منظور آنالیز انسان از دستگاه گاز کروماتوگراف Trace Model Thermoquest DB-5 به سرعت ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۰۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۰۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون از ۶۰ درجه

ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس آنفووزه نتایج مربوط به تجزیه اسانس گیاه دارویی آنفووزه در جدول ۱ نشان داده شده است. به طور کلی ۱۳ ترکیب در اسانس مورد مطالعه شناسایی شد که ۹۷/۸۵٪ از کل اسانس را شامل گردید. براساس نتایج حاصل از تجزیه، بیشترین ترکیب اسانس مربوط به ترکیب بتا-پین و برابر با ۴۷٪ بود. سپس ترکیب آلفا-پین به عنوان دومین ترکیب عمدۀ اسانس ۶۸٪ آن را شامل گردید. در کل این دو ترکیب تقریباً ۲۱٪ مجموعه ترکیب‌های اسانس آنفووزه را تشکیل دادند. یکی دیگر از ترکیب‌های اصلی اسانس در این پژوهش ۲،۱-دی‌تیولان بود که ۱۸/۶٪ اسانس را شامل شد. سایر ترکیب‌های اسانس که در برگیرنده مقادیر کمتری هستند در جدول ۱ نشان داده شده است.

انجام گردید. پتری‌دیش‌ها برای ادامه آزمایش‌ها و اندازه‌گیری‌های مورد نظر در دمای اتاق قرار داده شدند. صفات مورد اندازه‌گیری شامل: ۱- تعیین درصد جوانه‌زنی بذرهایی که ریشه‌چه آنها کاملاً سالم است، ۲- شمارش گیاهچه‌هایی که ناهنجار رشد کرده‌اند، ۳- تعیین طول ریشه‌چه، ۴- تعیین طول ساقه‌چه و ۵- تعیین وزن تر و خشک گیاهچه با استفاده از ترازوی حساس.

تجزیه آماری

تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام و رسم نمودار با استفاده از نرم‌افزار اکسل و سیگماپلات انجام شد.

جدول ۱- نتایج تجزیه اسانس گیاه دارویی آنفووزه

ردیف	ترکیب‌ها	شاخص بازداری	مقدار ترکیب (%)
۱	α -pinene	۹۸۶	۲۱/۴
۲	camphene	۹۸۹	جزئی
۳	β -pinene	۹۹۶	۴۷/۱
۴	β -myrcene	۹۹۷	۰/۶
۵	limonene	۱۰۸۶	۰/۳
۶	cis- β -ocimene	۱۰۸۷	۲/۴
۷	trans- β -ocimene	۱۰۸۹	۰/۴
۸	1,2-dithiolane	۱۱۹۶	۱۸/۶
۹	thionol	۱۱۹۶	۲/۶
۱۰	propyl nitrite	۱۴۹۴	۳/۷
۱۱	α -humulene	۱۴۹۷	۰/۱
۱۲	patchoulane	۱۵۹۱	۰/۱
۱۳	longipinene epoxide	۱۵۹۳	۰/۸

جزئی = کمتر از ۰/۰۵٪

مورد مطالعه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و واکنش گونه‌ها به اسانس و غلظت‌های آن متفاوت است (جدول ۲). براساس شکل ۱، درصد جوانه‌زنی دو گیاه زراعی و سه گونه علف

درصد جوانه‌زنی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اسانس آنفووزه از نظر آماری به طور معنی‌داری جوانه‌زنی، رشد و نمو گونه‌های

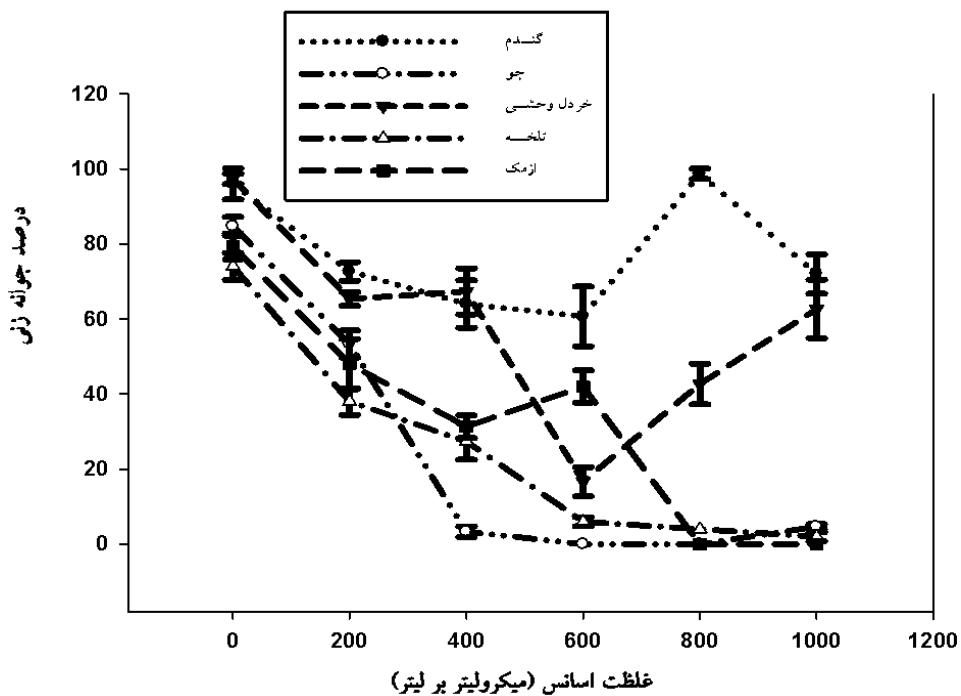
هرز ازمک درصد جوانهزنی زمانی به صفر نزدیک گردید که غلظت اسانس معادل ۸۰۰ بود. درصد جوانهزنی علف هرز خردل وحشی زمانی که غلظت اسانس به ۶۰۰ رسید، معادل ۱۵٪ بود و در غلظت‌های ۸۰۰ تا ۱۰۰۰، درصد جوانهزنی از ۴۴٪ به ۶۲٪ افزایش یافت. همین حالت برای گیاه گندم بدست آمد و از غلظت ۶۰۰ که درصد جوانهزنی معادل ۶٪ بود با افزایش غلظت به ۸۰۰، درصد جوانهزنی به ۹۸٪ افزایش یافت و از غلظت ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ دوباره درصد جوانهزنی از ۹۸٪ به ۷۲٪ کاهش یافت.

هرز در غلظت شاهد نسبت به سایر غلظت‌ها بالاترین بود. در غلظت صفر درصد جوانهزنی گندم و خردل وحشی نسبت به سایر گیاهان بیشتر بود. با افزایش غلظت اسانس، درصد جوانهزنی در تمام گونه‌ها کاهش یافت اما شیب کاهش برای گندم نسبت به سایر گونه‌ها کمتر بدست آمد. از غلظت ۲۰۰ به بعد تنها درصد جوانهزنی گیاه زراعی جو بود که نسبت به سایر گیاهان روند کاهش آن بیشتر بود، به نحوی که از غلظت ۴۰۰ به بعد درصد جوانهزنی جو برابر با صفر درصد گردید. برای علف هرز تلخه زمانی که غلظت به ۶۰۰ رسید، درصد جوانهزنی به صفر نزدیک گردید. برای علف

جدول ۲- تجزیه واریانس مربوط به اثر اسانس آنگوزه بر جوانهزنی و سایر صفات گیاهان مور مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانهزنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	وزن تر	وزن خشک	ناهنجری‌ها
گونه	۴	۹۷۹۵/۷۱ ***	۱۸/۲۵ ***	۲۲/۶۳ ***	۳۳/۶۱ ***	۶/۷۴ ***	۲۲۰۰/۵۶ ***
غلظت	۵	۸۳۲۵/۵۲ ***	۲/۴۸ ***	۱۲/۰۴ ***	۱/۳۳ ***	۰/۴۵ ***	۷۰۷/۳۲ ***
گونه × غلظت	۲۰	۹۱۷/۳۶ ***	۰/۵۱ ***	۱/۷۹ ***	۰/۴۴ ***	۰/۱۵ ***	۲۹۵/۹۶ ***
خطا	۶۰	۴۲/۹۷	۰/۰۶	۰/۰۵	۰/۰۰۸	۰/۰۰۳	۱۲/۴۶
ضریب تغییرات		۱۴/۹۶	۱۴/۵۶	۱۵/۰۵	۷/۶۳	۱۰/۲۲	۴۶/۶۲

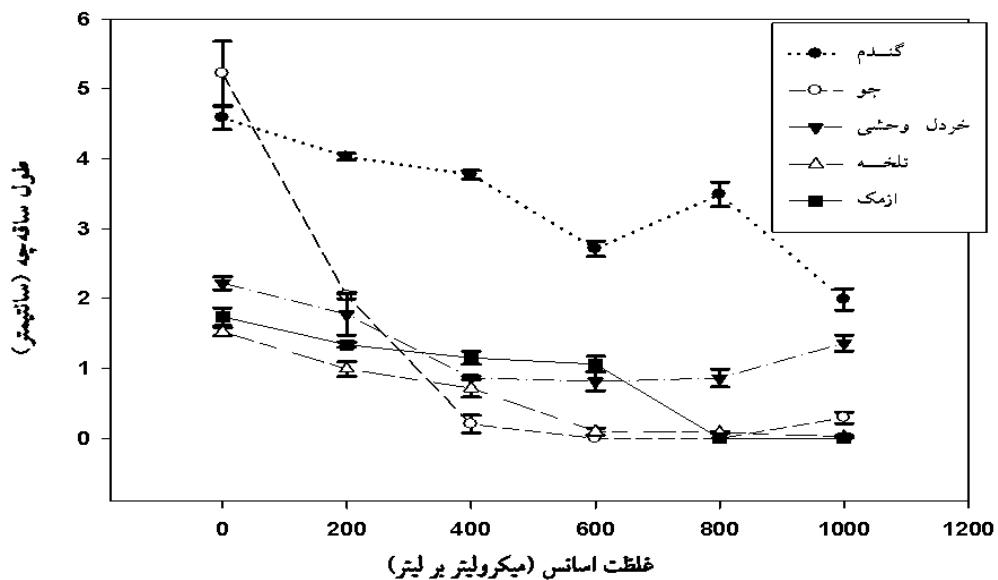
***: معنی‌داری در سطح ۱٪



شکل ۱- رابطه بین غلظت و درصد جوانهزنی در گیاهان مختلف

میکرولیتر بر لیتر دوباره روند افزایشی یافت، اما مجدداً با افزایش غلظت اسانس به ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر طول ساقه‌چه گندم به حداقل میزان خود رسید (شکل ۲). از غلظت ۴۰۰ به بعد طول ساقه‌چه جو معادل صفر بود و نشان‌دهنده اثر بازدارندگی غلظت ۴۰۰ اسانس بر طول ساقه‌چه بود. برای علف هرز ازمک از غلظت ۶۰۰ به بعد طول ساقه‌چه روند کاهشی شدیدی را نشان داد و در غلظت‌های ۸۰۰ و ۱۰۰۰ رشد ساقه‌چه کاملاً متوقف شد. نکته قابل توجه این بود که در علف هرز خردل وحشی با افزایش غلظت اسانس طول ساقه‌چه کاهش یافت، اما از غلظت ۶۰۰ به بعد مجدداً طول ساقه‌چه روند افزایشی را نشان داد که بیانگر نقش محركی اسانس در غلظت‌های معین نمی‌باشد (شکل ۲).

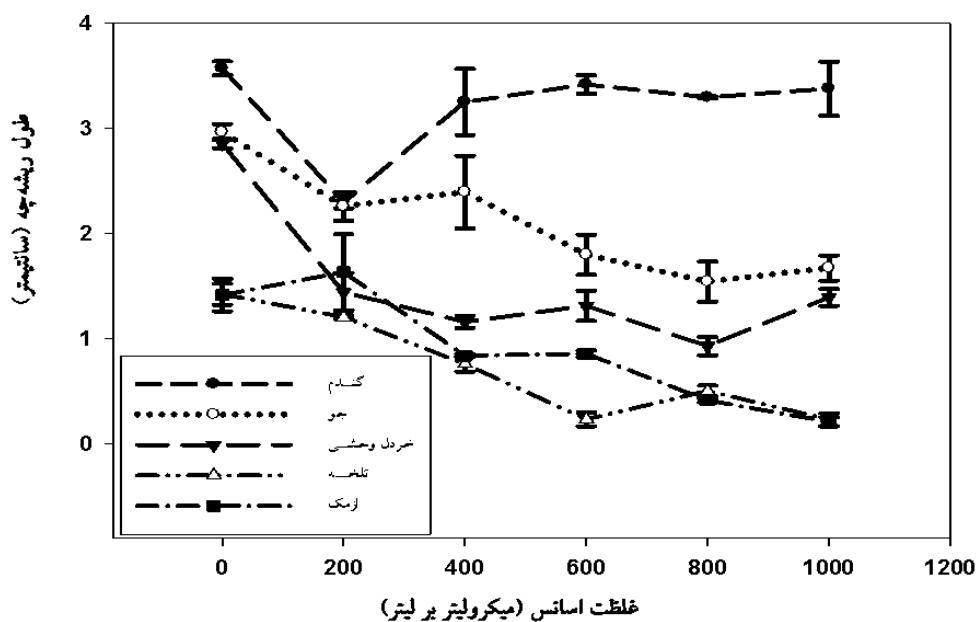
طول ساقه‌چه
نتایج مربوط به تغییرات طول ساقه‌چه گیاهان مورد مطالعه تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج مربوط به تغییرات طول ساقه‌چه نشان داد که طول ساقه‌چه جو در غلظت صفر نسبت به گندم بیشتر بدست آمد، اما با افزایش غلظت اسانس از صفر به ۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر طول ساقه‌چه گندم نیم سانتی‌متر کاهش یافت، در حالی‌که طول ساقه‌چه جو ۳ سانتی‌متر کاهش یافت. در کل با افزایش غلظت اسانس، طول ساقه‌چه گندم کاهش یافت، اما روند کاهش طول ساقه‌چه دارای شبیه ملایم‌تری نسبت به گیاه زراعی بود. نکته قابل توجه در این پژوهش کاهش طول ساقه‌چه گندم تا غلظت ۶۰۰ میکرولیتر بر لیتر به دلیل افزایش غلظت اسانس به ۸۰۰



شکل ۲- رابطه بین غلظت اسانس و طول ساقه‌چه در گیاهان مختلف

از غلظت ۲۰۰ به بعد مجدداً روند افزایش طول ریشه‌چه گندم مشاهده شد و از غلظت ۴۰۰ به بعد روند افزایش طول ریشه‌چه تا حدودی ثابت بود. در غلظت‌های بالا یعنی ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر کمترین طول ریشه‌چه مربوط به علف هرز ازمک و تلخه بود که در این غلظت طول ریشه‌چه معادل 0.23 سانتی‌متر بدست آمد. بعد از علف هرز ازمک و تلخه کمترین طول ریشه‌چه در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر مربوط به خردل وحشی بود که طول ریشه‌چه برابر 0.14 سانتی‌متر بدست آمد (شکل ۳).

طول ریشه‌چه
نتایج مربوط به تغییرات طول ریشه‌چه گیاهان مورد مطالعه تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس در شکل ۳ نشان داده شده است. طول ریشه‌چه بین غلظت‌ها و گیاهان مختلف تحت تیمار اسانس آنفوزه تفاوت معنی‌داری را نشان داد. به‌طوری‌که بیشترین طول ریشه‌چه مربوط به گندم و در غلظت صفر بدست آمد که این مقدار معادل 0.27 سانتی‌متر بود. با افزایش غلظت از صفر به ۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر طول ریشه‌چه از 0.27 سانتی‌متر به 0.14 سانتی‌متر کاهش یافت. اما بعد

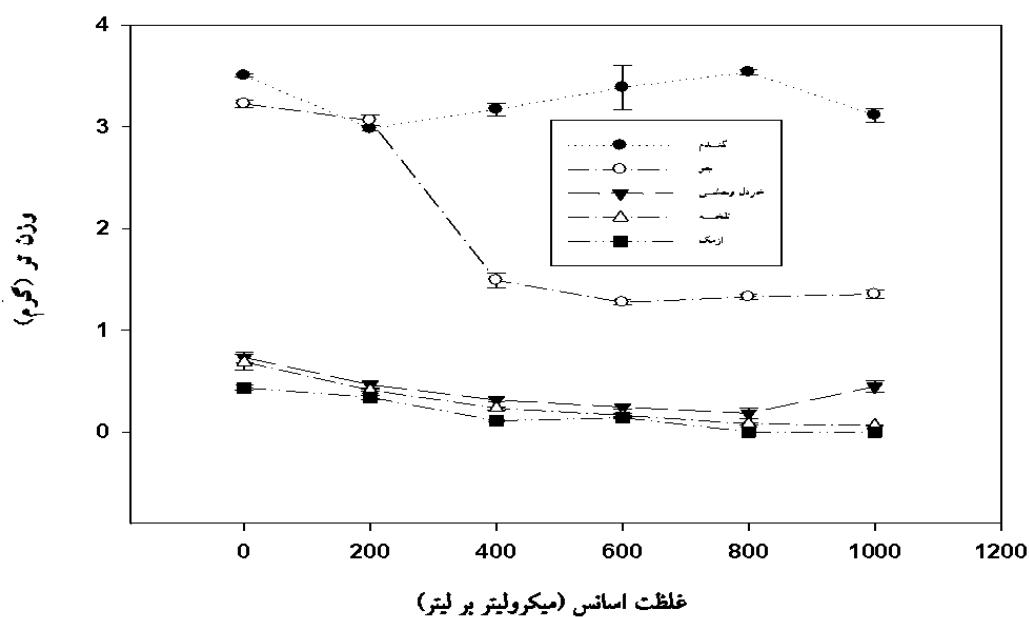


شکل ۳- رابطه بین غلظت اسانس و طول ریشه‌چه در گیاهان مختلف

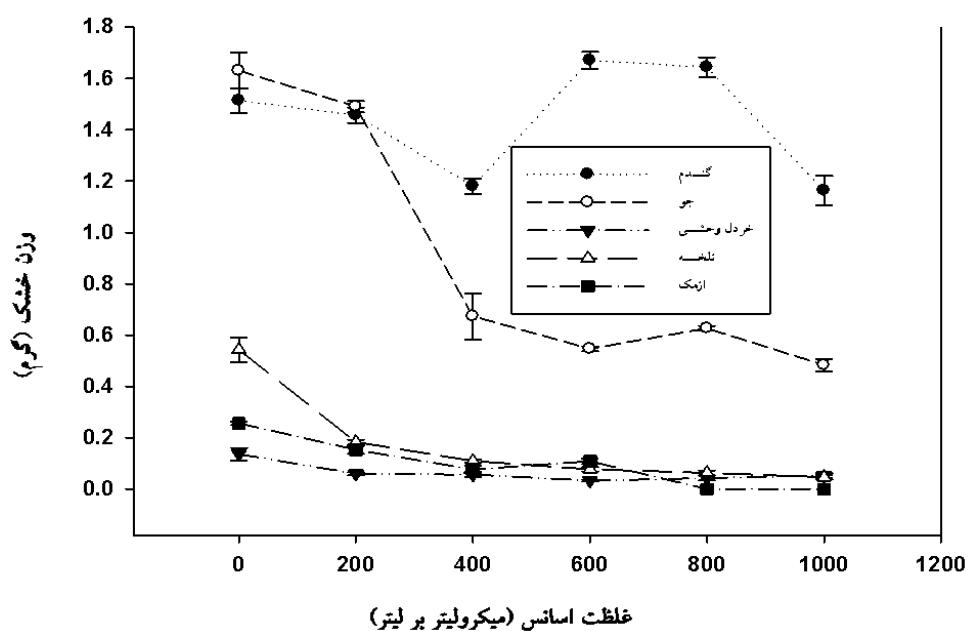
تر بود و در واقع با افزایش غلظت اسانس وزن ترازمک به سمت صفر کاهش یافت (شکل ۴). وزن خشک علف‌های هرز نسبت به دو گیاه زراعی کمتر بود. با افزایش غلظت اسانس از صفر به ۲۰۰ وزن خشک جو نسبت به گندم کاهش بیشتری داشت و با افزایش غلظت از ۲۰۰ به ۴۰۰ گرم بدهست آمد و با افزایش غلظت از صفر به ۲۰۰ به ۴۰۰ گرم کاهش یافت، اما مجدداً با افزایش غلظت از ۴۰۰ به بعد وزن ترازمک کاهش یافت و این افزایش تا غلظت ۶۰۰ در وزن خشک روند افزایشی وجود داشت و از غلظت ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ مجدداً روند کاهش وزن خشک بدست آمد و در حقیقت وزن خشک در غلظت ۱۰۰۰ برابر وزن خشک در غلظت ۴۰۰ بدست آمد. وزن خشک سه گونه علف‌های هرز با افزایش غلظت اسانس کاهش یافت، اما در بین سه گونه علف هرز، علف هرز تلخه نسبت به دو علف هرز دیگر یعنی خردل وحشی و ازمک روند کاهش وزن خشک بیشتری را نشان داد، به طوری که با افزایش غلظت از صفر به ۲۰۰ بیشترین کاهش وزن خشک تلخه مشاهده شد (شکل ۵).

وزن ترازمک و خشک

نتایج مربوط به تغییرات وزن ترازمک و خشک گیاهان مورد مطالعه تحت تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس در شکل ۴ نشان داده شده است. در این پژوهش، بیشترین وزن ترازمک مربوط به غلظت صفر و گیاه گندم بود که وزن ترازمک معادل ۳/۵۰ گرم بدست آمد و با افزایش غلظت از صفر به ۲۰۰ به بعد گندم کاهش یافت، اما مجدداً با افزایش غلظت از ۴۰۰ به بعد وزن ترازمک ۸۰۰ گرم کاهشی در وزن ترازمک مشاهده شد (اثر تحریکی اسانس که پیشتر توضیح داده شد). بر خلاف گندم، گیاه زراعی جو با افزایش غلظت ۲۰۰ اسانس، وزن ترازمک کاهش یافت، به نحوی که از غلظت ۴۰۰ بیشترین کاهش وزن ترازمک بدست آمد و از غلظت ۴۰۰ به بعد شیب کاهش وزن ترازمک روند آهسته‌تر و تا حدی ثابت را نشان داد (شکل ۴). نکته قابل توجه در مورد وزن ترازمک این است که در سه گونه علف هرز وزن ترازمک بیشترین کاهش را نشان داد، به طوری که در سه گونه علف هرز وزن ترازمک دارای کمترین وزن ترازمک بود.



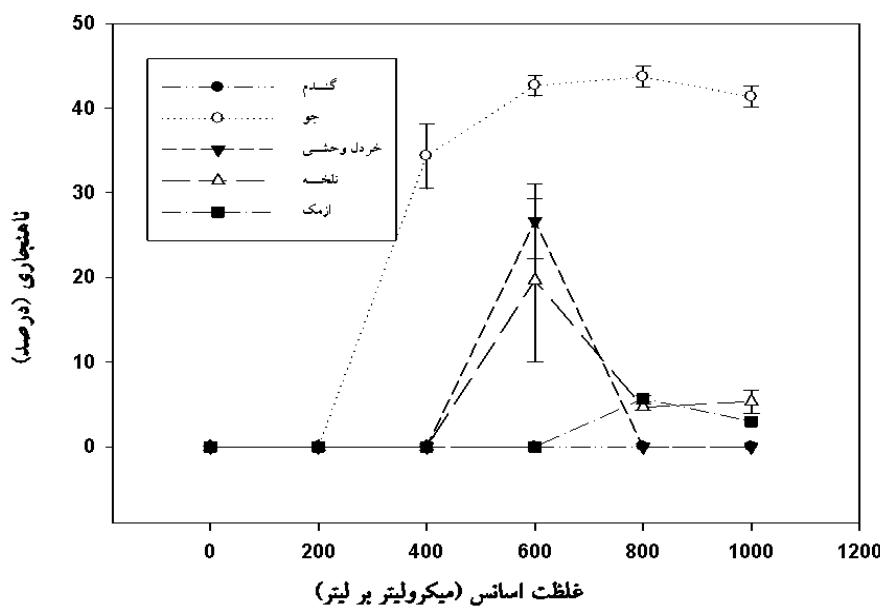
شکل ۴- رابطه بین غلوظت اسانس و وزن تر در گیاهان مورد تیمار



شکل ۵- رابطه بین غلوظت اسانس و وزن خشک در گیاهان مختلف

بیشترین درصد ناهنجاری در غلوظت ۶۰۰ بدست آمد. کمترین درصد ناهنجاری مربوط به گیاه زراعی گندم بود که در تمام غلوظت‌های اسانس آنفوزه مقدار آن برابر صفر بود (شکل ۶).

درصد ناهنجاری بیشترین درصد ناهنجاری مربوط به گیاه زراعی جو بود که این درصد ناهنجاری در غلوظت‌های بالا (۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰) بیشترین بود. برای علف هرز خردل و حشی



شکل ۶- رابطه بین غلظت اسانس و درصد ناهنجاری در گیاهان مختلف

آلولیاتیک متفاوت می‌باشد و نوع ترکیب موجود در مواد آلولیاتیک بر اثر بازدارندگی آن می‌تواند نقش کلیدی را ایفاء نماید. از طرف دیگر غلظت مواد آلولیاتیک نیز می‌تواند در تأثیر و عدم تأثیر بر درصد جوانهزنی مؤثر باشد (شکل ۱). در آزمایشی اثر آلولیاتیک پسمانهای جو روی کنترل علف‌های هرز شیر سگ، گل گندم، گوش خرگوش و علف هفت‌بند و رشد نخود مطالعه شد. نتایج نشان داد که ترکیب‌های بازدارنده موجود در جو بر پیدایش جوانه و رشد علف‌های هرز اثر بازدارنده داشته ولی روی تعداد بوته نخود بدون تأثیر بود (جعفرزاده، ۱۳۸۴). Azizi و همکاران (۲۰۰۶) در یک بررسی به اثرات بازدارنده اسانس زیره سیاه کرمانی و زیره سبز بر درصد جوانهزنی علف‌های هرز علف پشمکی، گل گندم و خاکشیر پی بردن. نتایج آنها نشان داد که غلظت‌های ۷۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام اسانس زیره سیاه کرمانی جوانهزنی بذرها گل گندم و علف پشمکی را کاملاً متوقف نمود، در حالی که بذرها خاکشیر حساس‌تر بوده و جوانهزنی آن در غلظت ۵۰۰ پی پی ام کاملاً متوقف گردید. همچنین جوانهزنی بذرها علف پشمکی، گل گندم و خاکشیر به ترتیب با تیمارهای ۲۰۰۰، ۱۰۰۰ و ۵۰۰ پی پی ام اسانس زیره سبز کاملاً متوقف گردید.

در پژوهشی ۱۳ ترکیب در اسانس آنفوزه گزارش شد که عمدۀ ترین آنها شامل دو ترکیب trans-propenyl s-butyl disulfide به مقدار ۵۸/۹٪ و سیس-اوسمین به میزان ۱۱/۹٪ بود، در صورتی که دو ترکیب بتا-پین و آلفا-پین به ترتیب ۵ و ۲/۱٪ از اسانس را تشکیل دادند (عسکری، ۱۳۷۸). همچنین در گزارشی دیگر که ترکیب‌های مورد شناسایی تقريباً مشابه با نتایج عسکری (۱۳۷۸) بودند، دو ترکیب بتا-پین و آلفا-پین به ترتیب ۵/۹ و ۵/۵٪ را شامل شدند (Khajeh *et al.*, 2005). عدم تشابه کامل ترکیب‌های شناسایی شده و مقدار آنها در مطالعه حاضر با پژوهش‌های پیشین می‌تواند به علت عوامل محیطی و اکولوژیکی محل رویش و یا حتی وجود اکوتبپ‌ها و تیپ‌های شیمیایی دیگری در این گیاه باشد که نیازمند مطالعات بیشتری است. در مورد اثر تحریکی غلظت‌های خاصی از اسانس بر جوانهزنی بذرها که در این پژوهش مشاهده شد، پیش‌تر نیز گزارشی مبنی بر اثرات تحریکی غلظت‌هایی از اسانس گونه‌هایی از مرزه بر جوانهزنی بذرها برخی از علف‌های هرز گزارش شده است (تابان، ۱۳۹۰). واکنش گیاهان نسبت به سطوح مختلف اسانس آنفوزه جهت صفت درصد جوانهزنی نشان داد که واکنش گیاهان نسبت به ترکیب‌های

پژوهش مذکور با افزایش غلظت ترکیب‌های یاد شده، میزان ممانعت از رشد نیز افزایش می‌باید (Nishida *et al.*, 2005).

از دیگر ترکیب‌های اصلی انسانس آنفوزه ترکیب ۱۸/۶ دی تیولان بود که ۱۸/۶٪ انسانس را شامل شد. این ترکیب از جمله ترکیب‌های گوگردار می‌باشد که قبل از خواص علفکشی و حشره‌کشی آن تأثیر شده است (Berger & Schager, 2003). بنابراین می‌توان بخشی از اثرات آللوباتیک مشاهده شده در پژوهش حاضر را به این ترکیب‌ها نسبت داد. لازم به ذکر است که اثرات آللوباتیک ارزیابی شده در این پژوهش فقط مربوط به یک ترکیب معین و انفرادی نیست، بلکه براساس پژوهش‌های پیشین در واقع مجموعه ترکیب‌های موجود در انسانس هستند که به صورت گروهی عمل نموده و نقش بسیار مؤثری را در بروز خواص آللوباتیک آن دارند. بنابراین ترکیب‌های انسانس به تنها اثرات آللوباتیک کمتری را در مقایسه با شرایطی که به صورت یک مجموعه می‌باشند، نشان می‌دهند. دلیل این امر نیز روابط و اثرات سینرژیستی (هم‌افزایی) بین ترکیب‌های موجود در انسانس گزارش شده است (Saharkhiz *et al.*, 2009; Saharkhiz *et al.*, 2010).

این پژوهش برای اولین بار جهت تعیین پتانسیل آللوباتیک انسانس گیاه دارویی آنفوزه انجام شد. نتایج تحقیقات اندک ما در این زمینه نشان داد که واکنش گیاهان به انسانس و غلظت‌های آن، متفاوت و همان‌طور که بیان گردید گونه زراعی گندم حساسیت کمتری نشان داد، در حالی که گونه زراعی جو برخلاف گندم حساسیت بالاتری را داشت و گونه‌های هرز نیز به تناسب حساسیت‌های متفاوتی نشان دادند.

به‌هرحال، انجام تحقیقات بیشتر برای فرموله کردن مواد مؤثره گیاهان دارویی، تجاری‌سازی و استفاده عملی از آنها به عنوان علفکش‌های طبیعی، ضروری می‌باشد.

- احمدیان، ا. و قنبری، ا. ۱۳۸۵. بررسی اثر آللوباتیک زیره سبز بر شاخص‌های جوانهزنی بذور علف‌های هرز. گزارش طرح پژوهشی، دانشگاه زابل، ۱۷۵ صفحه.

- بهشتی، ع.، موسوی سروینه باغی، ر. و بازویندی، م. ۱۳۸۴. ارزیابی کنترل جوانهزنی علف هرز تاج خروس

علت اثرات متفاوت انسانس بر صفاتی مثل طول ساقه‌چه، علاوه بر اثرات بازدارنده، اثرات هورمونی می‌باشد که از بکارگیری انسانس‌ها در غلظت‌های خاصی ظاهر می‌شوند و به نوع انسانس و گونه مورد تیمار نیز کاملاً وابسته می‌باشد (تابان، ۱۳۹۰). از طرفی اثر بازدارنده‌گی غلظت‌های خاصی از انسانس‌های گونه‌های مختلف مرزه و همچنین کموتاپ‌های آویشن شیرازی بر کاهش طول ریشه‌چه، ساقه‌چه، وزن تر و خشک چند گونه علف هرز پیش‌تر گزارش شده است (تابان، ۱۳۹۰؛ Saharkhiz *et al.*, 2010).

احمدیان و قنبری (۱۳۸۵) دریافتند اثرات آللوباتی انسانس حاصل از مواد گیاهی زیره سبز بر جوانهزنی و شاخص‌های جوانهزنی بذر علف هرز تاج خروس بیشتر از بذر علف‌های هرز سس و بارهنگ بود. بهشتی و همکاران (۱۳۸۴) بیان داشتند که مواد شیمیایی و احتمالاً آللوباتی موجود در بقایای گیاهی یونجه می‌تواند در کنترل تاج خروس مؤثر باشد. در تحقیق انجام شده توسط Najafi و همکاران (۲۰۰۸) اثرات سطوح مختلف عصاره برگ بهاره و زمستانه اکالیپتوس بر طول گیاهچه، درصد جوانهزنی، سرعت جوانهزنی، بنیه بذر، نسبت ریشه به ساقه و زمان زنده‌مانی علف هرز سلمک بررسی شد. نتایج نشان داد که تیمارهای ۶ و ۹ گرم در لیتر عصاره برگ بهاره و زمستانه حداکثر اثر بازدارنده‌گی را روی صفات مورد بررسی داشتند و همچنین انسانس برگ بهاره تأثیر بیشتری نسبت به انسانس برگ زمستانه داشت.

در مورد چگونگی مکانیسم اثر ترکیب‌های ثانویه مشتق از گیاهان دارویی بر رشد و نمو سایر گیاهان بحث‌ها و گزارش‌های فراوانی وجود دارد. براساس تحقیقات انجام شده دو ترکیب بتا-پینن و آلفا-پینن که حدود ۷۰٪ از انسانس آنفوزه را در مطالعه حاضر شامل شدند، متعلق به گروه ترکیب‌های دگرآسیب یا آللوكمیکال هستند (Nishida *et al.*, 2005). نقش ترکیب بتا-پینن در ممانعت از جوانهزنی بذر در مطالعه موردي که روی بذر گونه‌ای از کلم به نام *Brassica campestris* انجام شده است بسیار قویتر و بارزتر از آلفا-پینن بوده است. همچنین رشد ریشه‌چه نیز به طور قابل توجهی توسط این دو ترکیب با ممانعت از تشکیل هسته‌های سلولی در حال تقسیم و همچنین جلوگیری از تشکیل DNA متوقف می‌شود. براساس

- Berger, J. and Schager, M., 2003. Allelopathic activity of *Chara aspera*. *Hydrobiologia*, 501: 109-115.
- EinHELLING, F.A. and Rasmussen, J.A., 1979. Effects of three phenolic acids on chlorophyll content and growth of soybean and grain sorghum seedling. *Journal of Chemical Ecology*, 5(5): 815-824.
- Khajeh, M., Yamini, Y., Bahramifara, N., Sefidkon, F. and Pirmoradie, M.R., 2005. Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, 91(4): 639-644.
- Najafi Ashtiani, A., Assareh, M.H., Baghestani, M.A. and Angaji, S.J., 2008. The Effects of methanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. on growth and germination rates of *Chenopodium album* L., 24(3): 293-303.
- Narval, S.S. and Tauro, P., 1994. *Allelopathy in Agriculture and Forestry*. Scientific Publishers, Jodhpur, India, 312p.
- Nishida, N., Tamotsu, S., Nagata, N., Saito, C. and Sakai, A., 2005. Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: Inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. *Journal of Chemical Ecology*, 31(5): 1187-203.
- Saharkhiz, M.J., Ashiri, F., Salehi, M.R., Ghaemmaghami, J. and Mohammadi, Sh., 2009. Allelopathic potential of essential oils from *Carum copticum* L., *Cuminum cyminum* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Zataria multiflora* Boiss. *Journal of Medicinal Plant Science and Biotechnology*, 3(1): 32-35.
- Saharkhiz, M.J., Smaeili, S. and Merikhi, M., 2010. Essential oil analysis and phytotoxic activity of two ecotypes of *Zataria multiflora* Boiss. growing in Iran. *Natural Product Research*, 24(17): 1598-1609.
- Sefidkon, F., Askari, F. and Mirza, M., 1998. Essential oil composition of *Ferula assa-foetida* L. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 10(6): 687-689.
- (Amaranthus Retroflexus) با استفاده از مواد شیمیایی موجود در یونجه. طرح پژوهشی، دانشگاه آزاد اسلامی خوارسگان، ۱۸۰ صفحه.
- تابان، آ.، ۱۳۹۰. مقایسه پتانسیل آلوپاتیک چندگونه مرزه (Satureja spp) بر جوانهزنی و رشد و نمو برخی از محصولات باغی و علفهای هرز. پایان نامه کارشناسی ارشد، بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ۱۷۲ صفحه.
- جعفرزاده، ن.، ۱۳۸۴. پتانسیل آلوپاتیک پسمانهای جو روی کنترل علف هرز و رشد نخود (Hordeum vulgare). مجموعه مقالات اولین همایش ملی حبوبات، دانشگاه فردوسی مشهد، ۵۴۲ آبان: ۳۰-۲۹.
- صفاری، م.، ۱۳۸۰. علفهای هرز و روش‌های مبارزه با آنها. *جهاد دانشگاهی کرمان*, ۲۷۸ صفحه.
- عسکری، ف.، ۱۳۷۸. بررسی کمی و کیفی ترکیبیهای موجود در انسانس *Ferula assa-foetida*. *تحقیقات گیاهان دارویی و معطر*, ۳: ۷۶-۵۹.
- میقانی، ف.، ۱۳۸۲. آلوپاتی (دگرآسیبی): از مفهوم تا کاربرد. *انتشارات پرتو واقعه*, ۲۵۶ صفحه.
- Adams, R.P., 2007. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. Allured Publishing, 804p.
- Azizi, M., Alimardani, L. and Raselmoohassel, M.H., 2006. Allelopathic effects of *Bunium persicum* and *Cuminum cyminum* essential oils on seed germination of some weeds species. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 22(3): 198-208.

Essential oil analysis and phytotoxic activity of *Ferula assa-foetida* L.

H. Delavar¹, M.J. Saharkhiz^{2*} and N. Kazerani³

1- Agricultural expert of Jihad-e-Keshavarzi, Rizab Promotion Center, Neyriz, Iran

2*- Corresponding author, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

E-mail: saharkhiz@shirazu.ac.ir

3- Research Center for Agriculture and Natural Resources, Borazjan, Iran

Received: February 2012

Revised: June 2012

Accepted: August 2012

Abstract

This investigation was conducted to determine the essential oil composition and allelopathic properties of anghuzeh (*Ferula assa-foetida* L.) medicinal plant. The experiment was completely randomized design in a factorial arrangement with two factors and three replications. The factors were six concentrations of 0, 200, 400, 600, 800 and 1000 ppm of the essential oil and five plant species including three weed species, *Sinapis arvensis*, *Acroptilon repens*, and *Cardaria draba* as well as two crops i.e. *Triticum aestivum* and *Hordeum vulgare*. The essential oil used in this study was extracted by hydro-distillation from the latex of the plant. The obtained oil was analyzed by Gas chromatography (GC) and Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). To assess the allelopathic effects of the oil on the studied species, a number of growth parameters such as seed germination, radical and plumule length as well as their dry and fresh weight, and abnormality percent of the seedlings were evaluated. The results of this investigation showed that the Anghuzeh essential oil had significant ($p \leq 0.05$) allelopathic effect on the studied weeds and crops. The comparisons among the means indicated that the response of the species to the oil were quite different. For example, *Triticum aestivum* showed maximum germination percent in the presence of different oil concentrations. While, the germination of *Hordeum vulgare*, *Acroptilon repens*, and *Cardaria draba* showed more susceptibility to the oil. Moreover, the results of the essential oil analysis indicated that a total of 13 components were identified in the oil of which α -Pinene (21.3%), β - Pinene, (47.1%) and 1,2-Dithiolane (18.6%) were the major compounds. The observed allelopathic effects of the essential oil are regarded to oil components and their synergistic effects. The findings of this study are the first step to use of Anghuzeh essential oil as a natural herbicide. Further investigations are still required for practical and commercial application of this method.

Key words: Essential oil, *Ferula assa-foetida* L., allelopathy, weeds, growth parameters, Inhibition effect.