دانشگاه گنبد کاووس
نشریه " تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهان "
دوره اول، سال اول، پاییز ۹۲
http://arpe.gonbad.ac.ir

ارزیابی پتانسیل آللوپاتیکی علف هرز پیچک‌بند (*Polygonum convolvulus* L.) بر گندم (*Triticum aestivum* L.)

امین قرنجیک[۱]، *ابراهیم غلامعلی‌پور علمداری[۲]، عباس بیابانی[۳] و عبدالعزیز حقیقی[۴]

[۱] دانشجوی کارشناسی‌ارشد آگرواکولوژی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع‌طبیعی گنبد کاووس،
[۲]استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس،
[۳]دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس
[۴] مربی پژوهشی و عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گنبد کاووس

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۱۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۲۵

چکیده

تداخل در گیاهان، رقابت جهت دریافت پتانسیل محیط و آللوپاتی را در بر می‌گیرد. آزمایشی جهت شناسایی برخی از متابولیت‌های ثانویه نظیر: تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها، ساپونین‌ها و آنتراکوئینون‌ها در عصاره آبی و ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، فلاوون‌ها در عصاره اتانولی به روش‌های استاندارد فیتوشیمیایی در علف هرز پیچک‌بند (*Polygonum convolvulus* L.) مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس پتانسیل آللوپاتیکی غلظت‌های مختلف عصاره آبی (شاهد، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) حاصل از سوسپانسیون ۱۰ درصد علف هرز مورد مطالعه بر مولفه‌های جوانه‌زنی و مراحل رشدی (از مرحله سه برگی تا مرحله فنولوژیکی بوتینگ) گندم در شرایط آزمایشگاه و گلدان به طور جداگانه مورد آزمایش قرار گرفت. ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، فلاوون‌ها در عصاره اتانولی در علف هرز تحت مطالعه شناسایی شد. در حالی که ترکیب تانن‌ها تنها در عصاره آبی مشاهده شد. آنالیز داده‌های غلظت‌های مختلف عصاره آبی پیچک‌بند بر مولفه‌های جوانه‌زنی گندم نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف بر صفات مورد مطالعه به جز سرعت جوانه‌زنی در سطح یک درصد بسیار معنی‌دار بود. بیشترین اثر بازدارندگی بر طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد به‌ترتیب به میزان ۰۸/ ۴۷/۶۶،۹۳، ۸۴/۹۳ و ۹۶/۰۹ درصد بود. تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی پیچک‌بند بر صفات مورد بررسی در شرایط گلدان نشان داد که غلظت‌های مختلف تنها بر صفات سطح برگ، وزن خشک برگ و وزن خشک ساقه در سطح پنج درصد تاثیر معنی‌داری داشتند. مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف علف هرز پیچک‌بند بر سطح برگ، وزن خشک برگ و وزن خشک ساقه بیانگر اثر تحریک‌کنندگی بر صفات مورد مطالعه نسبت به شاهد بود.

واژه‌های کلیدی: **رقابت، متابولیت‌های ثانویه، شناسایی، غلظت‌های مختلف، مولفه‌های جوانه‌زنی، مراحل رشدی**

*نویسنده مسئول: ebrahim_19730@yahoo.com

مقدمه

تداخل[1] در گیاهان، رقابت جهت پتانسیل محیط و آللوپاتی را شامل می‌شود. رقابت به‌عنوان جزیی از تداخل، حاصل بر هم‌کنش افراد یک گونه یا گونه‌های متفاوت در پاسخ به ذخیره محدود یک یا بیش از یک عامل محیطی است. همچنین آللوپاتی یک واکنش بیوشیمیایی موثر بر گیاهان (Mighani, 2003) است که در اثر اضافه شدن مواد شیمیایی، عمدتاً از نوع متابولیت‌های ثانویه، از طریق فرآیندهای مختلف، نظیر شسته‌شدن از بخش‌های هوایی گیاهان، ترشحات ریشه، تبخیر، فعالیت میکروبی و تجزیه بقایای گیاهی به محیط ریزوسفر گیاه است که در یک غلظت معین بر روی خود و گیاه مجاور ممکن است اثر تحریک کنندگی و یا بازدارندگی داشته باشد (Rizvi *et al.*,1992). یکی از دلایل عمده کاهش محصول در گیاهان زراعی، هجوم علف‌های هرز است. در بیشتر مطالعات انجام شده این کاهش محصول به اشکال مختلف رقابت بین علف‌های هرز و گیاهان زراعی نسبت داده شده و برهم‌کنش آللوپاتی بین آن‌ها مورد توجه واقع نشده است. اما یافته‌های علمی پس از ۱۹۵۰ میلادی نشان داد که برهم‌کنش آللوپاتی بین گیاهان زراعی و علف‌های هرز تا حدی عامل کاهش محصول در گیاهان زراعی است. بیشتر گونه‌های علف‌های هرز بر محصولات زراعی اثر بازدارنده دارند؛ اما بعضی از گونه‌های علف‌های هرز جوانه‌زنی دانه، رشد و محصول گیاهان زراعی را تحریک می‌کنند (Marianne *et al.,* 2000; Bais *et al.,* 2003). به هر حال، چنان‌چه اثرات آللوپاتیکی علف هرزی بر روی محصولی منفی (تحریک کننده) باشد، ترغیب کننده‌ی رشد سبز در محصول است و برعکس، اگر اثرات آللوپاتیکی علف هرز یا محصولات بر روی علف هرزی، مثبت (بازدارنده) باشد، علف‌کش‌های سبز طبیعی[2] را توسعه خواهند داد (Oudhia *et al.,* 1999). ترکیبات متابولیت ثانویه معمولاً به چهار گروه اصلی، آلکالوئیدها، گلیکوزوئیدها، اسانس‌ها و سایر ترکیبات با ساختمان شیمیایی ناهمگن نظیر فلاوون‌ها، فلاونوئیدها، موسیلاژها، آنتی‌بیوتیک‌ها، ویتامین‌ها، فنل‌ها، ترپن‌ها، تانن‌ها، اسیدسالسیلیک و مواد تلخ تقسیم می‌شوند (Aivazi, 2011). متابولیت‌های ثانویه در حلال‌های شیمیایی آلی نظیر استون، کلروفرم، الکل اتیلیک، متانول و آب مقطر بسته به نوع ترکیب قابل حل می باشند. در تحقیقی توسط غلامعلی پورعلمداری (Gholamalipour Alamdari, 2011)، متابولیت‌های ثانویه مثل تانن‌ها، ساپونین‌ها و آنتراکوئینون‌ها در عصاره آبی و ترپنوئیدها، استروئیدها و گلیکوزوئیدها در عصاره الکلی در اندام‌های مختلف (ریشه، ساقه و برگ) علف‌های هرز اویارسلام، سوروف، بندواش و تیرکمان آبی شناسایی و مورد تایید قرار گرفت. علف هرز پیچک‌بند (*Polygonum convolvulus* L.) یا علف هفت‌بندپیچ، از علف‌های هرز مهم مزارع مناطق معتدله است که نه‌تنها در غلات مشکل‌ساز است بلکه در سیب‌زمینی، چغندرقند و سبزیجات نیز رویش

1- Interference
2- Green herbicides

یافته و ایجاد خسارت می‌کند. قابلیت رویش علف هرز پیچک‌بند در خاک‌هایی که دارای مقدار زیادی رس هستند، بیشتر از خاک‌های معدنی و آلی است. طبق گزارش‌ها،یک علف‌هرز پیچک‌بند می‌تواند ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ بذر تولید کند که دارای خفتگی عمیق اولیه بوده و پس از چند ماه جوانه‌زنی در آن شروع می‌شود (Ghahreman, 2005). السادوی و رایس (Alsaadawi and Rice, 1982) اثر دخالت (آللوپاتی و رقابت) *Polygonum aviculare* را بر روی برخی از محصولات گزارش کردند. جنس Polygonum با تولید متابولیت‌های ثانویه نظیر Phenylpropanoids، Acetophenones، Chalcones، Coumarins، Flavonoids، Lignans، Naphtoquinones، Anthraquinones، Sesquiterpenoids، Triterpenoids، Tannins به خوبی شناخته شده است (Wang *et al*., 2012; Datta *et al.,* 2000). تینین و مولار (Tinnin and Muller, 2006) بیان کردند که اندام‌های مختلف علف‌های هرز حاوی مواد آللوپاتیک است؛ اما کمیت و کیفیت این ترکیبات در اندام‌های مختلف متفاوت است. مجاب و محمودی (Mojab and Mahmoudi, 2007) با بررسی اثر عصاره آبی اندام‌های هوایی، زیرزمینی و ترکیب دو اندام اُزمک (*Cardaria draba*) در پنج تیمار غلظت (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰) بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ذرت خوشه‌ای (*Sorghum bicolor)* به وجود اثر آللوپاتیکی *C. draba* پی بردند. نتایج آن‌ها نشان داد که با افزایش غلظت عصاره آبی اندام‌های هوایی و زیرزمینی ازمک *C. draba* درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن‌تر ریشه‌چه، وزن‌تر ساقه‌چه، وزن‌تر گیاهچه، نسبت وزن‌تر ریشه‌چه به ساقه‌چه و نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ درصد حجمی از عصاره اندام‌های مورد بررسی و مخلوط آن‌ها هیچ جوانه‌زنی مشاهده نشد. تومیناگا و ازو (Tominaga and Uezu, 1995) بیان کردند که عصاره آبی پیچک‌بند به‌طور معنی‌داری رشد ریشه‌چه و گیاهچه گونه‌های علف هرز سوروف و خرفه را کاهش داد. عبدالوهاب و رایس (Abdul-Wahab and Rice, 1967) گزارش کردند که ترشحات حاصل از بقایای پوسیده علف‌هرز قیاق، از جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های علف هرز تاج خروس، دم روباهی و قیاق جلوگیری کرد. آللوپاتی گیاهچه گندم نیز در مقابل علف‌های هرز خاص مورد بررسی قرار گرفته است. اسپروال (Spruell, 1984) طی تحقیقی، ۲۸۶ ژنوتیپ گندم را برای پتانسیل آللوپاتی در ایالات متحده مورد مطالعه قرار داد. ترشحات ریشه هر ژنوتیپ با نژاد تجاری T64 مقایسه شده و بازدارندگی آن‌ها برای علف‌های هرز برروموس (*Bromus japonicus*) و سلمه‌تره (*Chenopodium album*) بررسی شد. در پنج ژنوتیپ، ترشحات ریشه بیش از ژنوتیپ تجاری بود. باتیش و همکاران (Batish *et al.,* 2007) در پژوهش خود نشان دادند که کاربرد دو تن در هکتار از پودر ریشه گیاه آنیزوملس (*Anisomeles indica*)، علف‌هرز خونی‌واش و بعضی از علف‌های هرز پهن برگ را که از علف‌های هرز اصلی مزارع گندم بودند، بدون آن‌که بر رشد و عملکرد گندم اثر منفی بگذارد، به خوبی کنترل کرد. هدف

از این بررسی، شناسایی برخی از متابولیت‌های ثانویه در علف هرز پیچک‌بند (*Polygonum convolvulus*) در حلال‌های خاص الکلی و آبی و سپس ارزیابی پتانسیل آللوپاتیکی غلظت‌های مختلف آن بر برخی مولفه‌های جوانه‌زنی (طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، طول گیاهچه، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر) و مراحل رشدی (از مرحله سه برگی تا مرحله فنولوژیکی بوتینگ) و فیزیولوژیکی (کلروفیل‌های a، b و کل) گندم در شرایط آزمایشگاه و گلدان به‌طور جداگانه، بود.

مواد وروش‌ها

آزمایشات فیتوشیمیایی مقدماتی استاندارد جهت شناسایی برخی از آللوکمیکال‌ها نظیر آنتوسیانین‌ها، ساپونین‌ها، ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، فلاوون‌ها، تانن‌ها و آنتراکوئینون‌های موجود در علف هرز پیچک‌بند در آزمایشگاه علوم علف‌های هرز دانشگاه گنبد کاووس در سال ۱۳۹۱ به اجرا درآمد. سپس آزمایش زیست‌سنجی به‌منظور ارزیابی پتانسیل آللوپاتیکی غلظت‌های مختلف علف هرز تحت مطالعه بر روی مولفه‌های جوانه‌زنی گندم رقم کوهدشت انجام شد. مطالعات گلدانی نیز جهت ارزیابی پتانسیل آللوپاتیکی عصاره‌های مختلف علف هرز انتخابی تا مرحله فنولوژیکی بوتینگ (Booting) بر برخی پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی (کلروفیل a، b و کل) گندم به اجرا درآمد.

مطالعات شناسایی آللوکمیکال‌ها: ابتدا کل اندام علف هرز پیچک‌بند در مرحله گلدهی کامل (اواخر بهار) جمع آوری شد. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه انتقال یافت. نمونه‌ها برای مدت کوتاهی (چند ثانیه) جهت برداشتن گرد و غبار و عدم اختلاط با آللوکمیکال‌ها با آب مقطر شستشو شد. سپس نمونه‌ها با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت در آون خشک شدند (Narwal, 2004). برای به‌دست آوردن عصاره‌های یکنواخت، نمونه‌ها به‌وسیله آسیاب و الک با قطر یک میلی‌متر به قطعات بسیار ریز تبدیل گردیدند. ابتدا سوسپانسیون ۱۰ درصد وزنی-حجمی تهیه شد. بدین‌ترتیب که ۱۰ گرم پودر نمونه گیاهی انتخابی در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر یا اتانول روی دستگاه لرزاننده به‌مدت ۲ ساعت قرار داده شد و پس از آن به‌وسیله کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف شد. شناسایی برخی از آللوکمیکال‌ها نظیر ساپونین‌ها، آنتوسیانین‌ها، آنتراکوئینون‌ها و تانن‌ها در عصاره آبی و آللوکمیکال‌هایی نظیر ترپنوئیدها، فلاونوئیدها و فلاوون‌ها در عصاره اتانولی به شرح زیر انجام شد.

شناسایی ساپونین‌ها: چند قطره آب یونیزه شده به سوسپانسیون ۱۰ درصد حاصل، اضافه شد و توسط دستگاه لرزاننده با سرعت ۲۰۰ دور به مدت ۳۰ ثانیه حرکت داده شد. لایه فوم مانند (کف مانند) تشکیل شده روی عصاره‌ها که شبیه لانه زنبور عسل و دارای کف دائمی است؛ بیانگر حضور آللوکمیکال ساپونین‌ها بود (Trease and Evans, 1972).

شناسایی آنتوسیانین‌ها: حضور رنگ قرمز و تغییر رنگ با تغییرات pH با اضافه کردن اسید کلریدریک

یک درصد به عصاره آبی ده درصد علف هرز انتخابی بیانگر حضور آللوکمیکال آنتوسیانین‌ها بود (Brain and Turner, 1975).

شناسایی آنتراکوئینون‌ها: برای شناسایی آنتراکوئینون‌ها، پنج میلی‌لیتر از عصاره آبی را با ده میلی‌لیتر بنزن مخلوط کرده و با کاغذ صافی (واتمن شماره ۴۲) صاف شد. به محلول حاصل پنج میلی‌لیتر هیدروکسید آمونیوم ده درصد اضافه گردید و سپس مجدداً صاف شد. وجود رنگ‌های صورتی، قرمز و یا بنفش نشان دهندهٔ وجود آنتراکوئینون‌ها بود (Fransworth, 1960).

شناسایی تانن‌ها: حضور رنگ آبی مایل به سیاه و یا قهوه‌ای- سبز با اضافه کردن چند قطره از محلول یک درصد فریک کلراید ($Fecl_3$) به عصاره تغلیظ شده آبی ده درصد، نشانگر حضور تانن‌ها بود (Trease and Evans, 1972; 1989).

شناسایی ترپنوئیدها: شناسایی ترپنوئیدها با استفاده از روش سالکووسکی (Salkoweski) انجام شد. بدین ترتیب که پنج میلی‌لیتر از عصاره اتانولی را با دو میلی‌لیتر کلروفرم مخلوط کرده و سه میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ (H_2SO_4) به مخلوط قبلی اضافه شد. محلول دارای دو فاز کف مانند و مایع در زیر آن است. وجود رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز (مگنیتی) نشان دهنده‌ی حضور آللوکمیکال ترپنوئیدها بود (Trease and Evans, 1972; 1989).

شناسایی فلاونوئیدها و فلاوون‌ها: برای این منظور به یک میلی‌لیتر از عصاره اتانولی گیاه انتخابی، چند قطره اسیدکلریدریک غلیظ و مقداری براده منیزیم اضافه شد. پیدایش رنگ صورتی نشان دهنده‌ی حضور فلاونوئیدها و رنگ نارنجی نشان دهندهٔ حضور فلاوون بود (Trease and Evans, 1972;1989).

آزمایش‌های زیست‌سنجی: برای آزمایش‌های زیست‌سنجی نیز اندام هوایی و زیرزمینی علف هرز پیچک‌بند در مرحله گلدهی کامل جمع‌آوری شد تا شناسایی دقیق‌تری انجام شود. روند زدودن گرد و غبار بر روی اندام‌های گیاهی و خشک نمودن نمونه‌ها مشابه مطالعات شناسایی آللوکمیکال‌ها بود. در نهایت سوسپانسیون آبی ۱۰ درصد از کل اندام‌ها تهیه شد. از عصاره تغلیظ شده حاصل پنج غلظت مختلف آبی (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) تهیه گردید. جهت آزمایش‌های زیست‌سنجی، ابتدا بذور گواهی شده گندم رقم کوه‌دشت تهیه شد. سپس با مرکوریک کلراید یک دهم درصد مورد ضد عفونی قرار گرفت. ۲۵ عدد از بذور تهیه شده را در پتریدیش‌های استرلیزه شده حاوی کاغذ واتمن شماره ۴۲ با قطر ۱۱ سانتی‌متر قرار داده شد. در هر پتریدیش، ۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره آبی (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) در قالب طرح کاملاً تصادفی، در سه تکرار اعمال گردید. پتریدیش‌ها در شرایط تاریکی و در دمای معمولی محیط آزمایشگاه به مدت ۷ روز قرار داده شدند. برای محاسبه درصد

جوانه‌زنی، بذور جوانه‌زده با ریشه بلندتر از دو میلی‌متر (Hardgree and Van Vactor, 2000) شمارش شدند.

$$RG = \sum_{i=1}^{n}\left(\frac{n_i}{n}\right)\times 100$$ رابطه (۱)

که در آن، RG: درصد جوانه‌زنی، n_i: تعداد بذر جوانه زده در روز، n: تعداد کل بذرها می‌باشد.

سرعت جوانه‌زنی (S) نیز با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (Khandakar and Bradbeer, 1983).

$$S = \sum_{i=1}^{n}\left[\frac{n}{t}\right]$$ رابطه (۲)

که در آن، n تعداد بذرهای جوانه زده در زمان t و t تعداد روزها از زمان شروع آزمون می‌باشد.

طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در روز آخر جوانه‌زنی بذور، به‌وسیله خط‌کش میلی‌متری مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. شاخص بنیه بذر VI با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$VI=(RL+SL)\times RG$$ رابطه (۳)

که در آن، RL طول ریشه‌چه (بر حسب میلی‌متر)، SL طول ساقه‌چه (بر حسب میلی‌متر) و RG درصد جوانه‌زنی می‌باشد (Abdul- Baki and Anderson, 1973). محاسبه درصد تحریک‌کنندگی یا بازدارندگی (PLI) با استفاده از رابطه زیر برآورد شد (Amoo *et al.*, 2008).

$$PLI = [(R_2 - R_1)/R_1] \times 100$$ رابطه (۴)

که در آن، R_1 شاهد و R_2 تیمار می‌باشد.

آزمایش در شرایط گلدان: جهت مطالعات گلدانی، ابتدا گلدان‌هایی پلاستیکی به قطر ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر انتخاب گردیدند. خاک گلدان‌ها پس از الک کردن داخل گلدان‌ها ریخته شد. کودهای مورد نیاز خاک درون پلاستیک‌های آزمایشی بر اساس توصیه کودی ملکوتی و غیبی (Malakoti and Gheybi, 1997) اضافه شد. تعداد گیاهچه در هر گلدان سه بوته در نظر گرفته شد. سپس عصاره‌های مختلف (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد) از سوپانسیون ۱۰ درصد تهیه و بر اساس طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بر گلدان‌ها اعمال شدند. غلظت‌های مختلف عصاره‌ها از مرحله سه برگی به بعد بر روی گیاهچه‌های حاصل از گندم به طور هفتگی تا قبل از ظهور سنبله (به‌مدت ۱۱ هفته) در خاک گلدان اعمال گردیدند. سپس کل بوته‌های موجود در گلدان‌ها به همراه ریشه با شستن خاک اطراف آن‌ها خارج گردیدند.

در این آزمایش صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ، تعداد پنجه، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه، کلروفیل a، b و کل مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. اندازه‌گیری کلروفیل (a، b و کل) برگ پرچم گندم با استفاده از روش آرنن (Arnon, 1949) انجام شد. جهت اندازه‌گیری کلروفیل برگ پرچم، ۱۰۰ میلی‌گرم از برگ پرچم توسط ترازو دیجیتال (یک هزارم) وزن شد و توسط ۱۰ میلی‌لیتر استون سرد (۸۰ درصد) در هاون چینی ساییده شد تا یک محلول شفاف تهیه گردد. محلول تهیه شده، به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت پایین ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. پس از جدا کردن فاز محلول از فاز جامد، محلول شفاف به بالن حجمی ۲۵ میلی‌لیتر منتقل شد و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom Libera- S_{22}) در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت شد. از استون ۸۰ درصد جهت صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. برای جلوگیری از ضایع شدن کلروفیل موجود در محلول در برابر نور تا قبل از قرائت با دستگاه اسپکتروفتومتر، بالن ژوژه حاوی محلول کلروفیل در فویل آلومینیوم پیچیده شد. به‌منظور تخمین میزان کلروفیل a، b و کل از روابط زیر استفاده گردید:

$$\text{Chl a} = [12.7\times(D663) - 2.69\times(D645)] \times V / (1000\times W)$$
$$\text{Chl b} = [22.9\times(D645) - 4.68\times(D663)] \times V / (1000\times W) \quad \text{رابطه (۵)}$$
$$\text{ChlTotal} = [20.2\times(D645) + 80.2\times(D663)] \times V / (1000\times W)$$

D: میزان جذب نوری قرائت شده در طول موج مربوطه، V: حجم عصاره، W: وزن نمونه تر

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۷) انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج مطالعات شناسایی آللوکمیکال‌ها: مطالعات فیتوشیمیایی شناسایی برخی از آللوکمیکال‌ها نشان داد که آللوکمیکال‌های ترپنوئیدها، فلاونوئیدها و فلاوون‌ها در عصاره اتانولی علف هرز پیچک‌بند مورد شناسایی و تائید قرار گرفت. در حالی که در عصاره آبی این گیاه تنها آللوکمیکال تانن‌ها مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱- شناسایی برخی از آللوکمیکال‌های موجود در عصاره آبی و اتانولی علف هرز پیچک‌بند

	علف هرز پیچک‌بند
عصاره آبی	
تانن‌ها	+
آنتوسیانین‌ها	–
آنتراکوئینون‌ها	–
ساپونین‌ها	–
عصاره اتانولی	
ترپنوئیدها	+
فلاونوئیدها	+
فلاوون‌ها	+

+ و – به‌ترتیب بیانگرحضور و عدم حضور آللوکمیکال‌ها

زیست‌سنجی غلظت‌های مختلف علف هرز پیچک‌بند بر مولفه‌های جوانه‌زنی: آنالیز داده‌های اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی پیچک‌بند بر مولفه‌های جوانه‌زنی گندم نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف بر صفات مورد مطالعه به جز صفت سرعت جوانه‌زنی در سطح یک درصد بسیار معنی‌دار بوده است (جدول ۲). مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف عصاره آبی پیچک‌بند بر طول ریشه‌چه نشان داد که غلظت‌های مختلف به جز غلظت ۲۵ درصد به‌طور معنی‌داری طول ریشه‌چه را نسبت به شاهد کاهش دادند به‌طوری‌که بیشترین کاهش مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد (۶۶/۰۸ درصد) بوده است. اثر غلظت‌های مختلف پیچک‌بند بر طول ساقه‌چه و بنیه بذر مشابه اثر غلظت‌های مختلف بر طول ریشه‌چه بوده است. به‌طوری که تیمار ۱۰۰ درصد، طول ساقه‌چه، درصد جوانه‌زنی و بنیه بذر را به‌ترتیب به میزان ۹۳/۴۷، ۸۴/۹۳ و ۹۶/۰۹ درصد کاهش داده است. اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی علف هرز پیچک‌بند بر جوانه‌زنی بذر گندم نشان داد که غلظت ۷۵ و ۱۰۰ درصد به‌طور معنی‌داری درصد جوانه‌زنی را نسبت به شاهد کاهش دادند در حالی که غلظت ۲۵ و ۵۰ درصد تاثیر معنی‌داری بر صفت تحت مطالعه نداشتند (جدول ۳). این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره آبی کل اندام علف هرز پیچک‌بند در غلظت‌های بالا ممکن است دارای کمیت و کیفیت بیشتر از لحاظ تولید آللوکمیکال‌ها نظیر تانن‌ها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و فلاوون‌ها موجود در عصاره‌های انتخابی بوده است که بالطبع بر برخی از مولفه‌های جوانه‌زنی تاثیر دارد. این نتیجه مطابق با یافته‌های رایس (Rice, 1974) می‌باشد که بیان نموده است ترکیبات آللوپاتیک در برخی از غلظت‌های بالا و پایین به‌ترتیب ممکن است دارای اثر بازدارندگی و تحریک‌کنندگی باشند.

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی پیچک‌بند بر مولفه‌های جوانه‌زنی گندم

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات				
		طول‌ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	درصد جوانه‌زنی	بنیه بذر	سرعت‌جوانه‌زنی
تیمار	۴	۲۹/۹۸۴**	۱۴/۵۰۸**	۴۰۰۶/۹۳۳**	۱۴۱۰۷۷۴/۱۵۵**	۷۶/۱۲۲^{ns}
خطا	۱۰	۰/۹۷۸	۰/۷۴۱	۸۰	۱۳۱۹۷/۱۶۶	۲۳۷/۳۲۹
ضریب تغییرات		۸/۹۸	۱۹/۹۲	۱۲/۷۶	۱۷/۴۱	۱۵/۷۵

** بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد و ^{ns} بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار

جدول ۳- جدول مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی پیچک‌بند بر مولفه‌های جوانه‌زنی گندم

تیمار	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	درصد جوانه‌زنی	بنیه بذر	سرعت جوانه‌زنی
صفر	۱۱/۳۵۱^{a}	۵/۵۶^{a}	۹۷/۳۳^{a}	۱۶۴۷/۹۷۳^{a}	۲۹/۷۷۴^{a}
۲۵ درصد	۱۱/۴۴۶^{a}	۴/۶۰۶^{a}	۹۶^{a}	۱۵۴۰/۹۶^{a}	۲۳/۱۵۱^{a}
۵۰ درصد	۹/۴۷۳^{b}	۲/۰۸۷^{b}	۹۲^{a}	۱۰۵۶/۸۵۳^{b}	۲۳/ ۷۸۳ ^{a}
۷۵ درصد	۷/۵۹۳^{c}	۱/۳۸۷^{bc}	۵۰/۶۶۷^{b}	۴۵۱/۱۲^{c}	۲۰/۷۲۵ ^{a}
۱۰۰ درصد	۳/۸۵۳^{d}	۰/۳۶۳^{c}	۱۴/۶۶۷^{c}	۶۴/۳۶^{d}	۱۵/ ۹۰۵ ^{a}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند.

نتایج مطالعات اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی علف هرز مورد مطالعه بر پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی (کلروفیل a، b و کل) گندم در شرایط گلدان: جدول تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی پیچک‌بند بر صفات مورد بررسی نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره آبی در سطح پنج درصد اثر معنی‌داری بر سطح برگ، وزن خشک برگ و وزن خشک ساقه داشتند. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف علف هرز پیچک‌بند بر سطح برگ، وزن خشک برگ و وزن خشک ساقه بیانگر روند افزایشی (تحریک‌کنندگی) بر صفات ذکر شده نسبت به شاهد بود (جدول ۴).

جدول ۴- جدول تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف آبی پیچک‌بند بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی گندم در شرایط گلدان.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات				
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	ارتفاع بوته	تعداد پنجه
تیمار	۴	۰/۰۰۷^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۰/۰۱۸^{ns}	۴/۸۴۶^{ns}	۰/۳۰۶^{ns}
خطا	۱۰	۰/۰۱	۰/۰۰۴	۰/۰۲۴	۴/۷۶۱	۰/۲۲۹
ضریب تغییرات		۳/۷۶	۶/۸۹	۳/۴	۱/۵۵	۵/۲

*بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ns بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار

ادامه جدول ۴- جدول تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی پیچک‌بند بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی گندم در شرایط گلدان

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات				
		تعداد برگ	سطح برگ	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه
تیمار	۴	۲/۱۲۱^{ns}	۴۲۷/۷۰۱*	۰/۲۱۶*	۰/۰۲۶*	۰/۳۵۶^{ns}
خطا	۱۰	۲/۸۱۱	۸۸/۷۴۸	۰/۰۶۱	۰/۰۱۳	۰/۵۵۹
ضریب تغییرات		۳/۰۴	۵/۲۴	۶/۴۷	۶/۲۴	۸/۸۷

* بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح۵ درصد و ns بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار

جدول ۵- جدول مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی پیچک‌بند بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی گندم در شرایط گلدان

تیمار	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	ارتفاع بوته	تعداد پنجه
صفر	۰/۶۹۸^{a}	۰/۲۵۳^{a}	۴/۹^{a}	۳۵/۱۶^{a}	۲/۵۵^{a}
۲۵ درصد	۰/۶۲۲^{a}	۰/۱۹۱^{a}	۴/۸۳^{a}	۳۵/۹۹۷^{a}	۲/۲۲^{a}
۵۰ درصد	۰/۷۰۷^{a}	۰/۲۳۳^{a}	۴/۸۵۷^{a}	۳۸/۲۷۳^{a}	۲/۹۹۶^{a}
۷۵ درصد	۰/۵۹۸^{a}	۰/۱۸۸^{a}	۵/۶۴۵^{a}	۳۶/۶۶۳^{a}	۲/۴۴^{a}
۱۰۰ درصد	۰/۶۸۵^{a}	۰/۲۱۱^{a}	۴/۵۸۶^{a}	۳۵/۲۷۶^{a}	۲/۲۲^{a}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

ادامه جدول ۵- جدول مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی پیچک‌بند بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی گندم در شرایط گلدان

تیمار	تعداد برگ	سطح برگ	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه
صفر	۱۳/۲۲^{a}	۵۱/۳۵۴^{c}	۰/۹۱۷^{b}	۰/۳۹۶^{b}	۱/۴۹۶^{a}
۲۵ درصد	۱۳/۵۵۳^{a}	۶۴/۵۴۱^{abc}	۱/۲۲۶^{ab}	۰/۵۱۹^{ab}	۱/۹۹۶^{a}
۵۰ درصد	۱۵^{a}	۸۰/۹۱۵^{a}	۱/۶۱۶^{a}	۰/۵۶۸^{ab}	۲/۲۵۱^{a}
۷۵ درصد	۱۳/۸۸۶^{a}	۷۶/۸۰۲^{ab}	۱/۴۷۹^{a}	۰/۶۵۱^{a}	۲/۳۸۲^{a}
۱۰۰ درصد	۱۲/۷۷۶^{a}	۶۱/۵۴۹^{bc}	۱/۲۳۸^{ab}	۰/۵۳۷^{ab}	۲/۱۷۳^{a}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند.

بحث و نتیجه‌گیری

آزمایش‌های زیست‌سنجی نشان داد که غلظت ۱۰۰ درصد عصاره آبی علف هرز پیچک‌بند بیشترین تاثیر کاهشی بر روی برخی از مولفه‌های جوانه‌زنی داشتند. این نتیجه مطابق با یافته‌های مجاب و محمودی و رایس (Mojab and Mahmodi, 2007; Rice, 1974) است. این امر ممکن است به‌دلیل ترکیبات آلی و غیرآلی مختلف موجود در عصاره‌ها و به علاوه کمیت و کیفیت بیشتر برخی از آللوکمیکال‌ها نظیر ترپنوئیدها، فلاونوئیدها ، فلاوون‌ها و تانن‌های موجود در عصاره انتخابی باشد. اثر غلظت‌های مختلف علف‌هرز پیچک‌بند بر صفات سطح برگ، وزن خشک برگ و وزن خشک ساقه بیانگر روند افزایشی (تحریک‌کنندگی) نسبت به شاهد بود. مطالعه حاضر نشان داد که واکنش گندم به عصاره‌های مختلف علف‌های هرز انتخابی بسته به غلظت عصاره‌ها و مراحل رشدی گندم متفاوت است. در مجموع، اثرات منفی بر روی برخی از مولفه‌های جوانه‌زنی در شرایط زیست‌سنجی ممکن است به‌دلیل پتانسیل قوی ترکیبات آللوپاتیکی باشد که بر روی فرآیندهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و آنزیمی موثر واقع می‌شوند. ترکیبات آللوپاتیکی به‌ویژه ترکیبات فنلی مانند تانن‌ها باعث کاهش تقسیمات سلولی و طویل شدن سلول‌ها به دلیل جلوگیری و کاهش سرعت تقسیم میتوز می‌شود و در مجموع مانع طویل شدن ریشه‌چه و ساقه‌چه شده، در مواردی از جوانه‌زنی بذور نیز جلوگیری می‌کنند (Mighani, 2003). انباشتگی ترکیبات فنلی نوعی پاسخ دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی است که موجب کاهش رشد و جوانه‌زنی بذور می‌گردد (Hirt and Shinozaki, 2004).

سپاسگزاری

بدین‌وسیله نویسندگان از ریاست دانشگاه گنبدکاووس جناب آقای دکتر ستاریان و کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های علوم علف‌های هرز و گیاه‌شناسی به‌واسطه مساعدت و فراهم آوردن امکانات اجرای آزمایش تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

Abdul-Baki A.A., Anderson J.D. 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. Journal of Crop Science, 13: 630-633.

Abdul-Wahab A.S., Rice E.L. 1967. Plant inhibition by Johnson grass and possible significant in old-field succession. Bulletin of the Torrey Botanical Club, 94: 486-497.

Aivazi A.R. 2011. Medicinal plant (With emphasis on breeding). Jahad Publications of Azarbayjan branch.169p.

Amoo S.O., Ojo A.U., Van Staden J. 2008. Allelopathic potential of *Tetrapleura tetraptera* leaf extracts on early seedling growth of five agricultural crops. South African Journal of Botany, 74: 149-152.

Alsadaawi I.S., Rice E.L. 1982. Allelopathic effects of *Polygonum aviculare* L. II. Isolation, characterization, and biological activities of phytotoxins. Journal of Chemical Ecology, 8(7):1011-1023.

Arnon D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Journal of Polyphenoloxidase in Beta Plant physiology, 24(1): 1-15.

Bais H.P., Vepachedu R., Gilbory S., Calaway R., Vivanco J.M. 2003. Allelopathy and exotic plant invasion, from molecules and genes to communities, http://abstracts.aspb.org/pb/pubiic/p44/OQ34.

Batish D.R., Singh H.P., Kaur S., Kohli R.K. 2007. Root-mediated allelopathic interference of nettle-leaved goosefoot (*Chenopodium murale*) on wheat (*Triticum aestivum*). Journal of Agronomy and Crop Science, 193: 37-44.

Brain K.R., Turner T.D. 1975. The practical evaluation of phytopharmaceuticals. Bristol: Wright- Scientechnica, Bristol, 10-30.

Datta, B.K., Datta S.K., Sarker S.D. 2000. Quercetin 3-O-(6”-galloyl)-b-D-galactoside from Polygonum viscosum (Polygonaceae). Biochemical Systematic and Ecology, 28: 805-807.

Fransworth 1960. Handbook Der Deagenkunde, wilhen Mudrich Verlog, Wein Band, 279-298.

Ghahreman A. 2005. Basic Botany. Tehran University Press. 782 p.

Gholamalipour Alamdari E. 2011. Preliminary phytoconstituts screening of some weeds and their potential toxicity on rice variety–Tarom via decomposition bioassay. International Conference on Environmental, Biomedical and Biotechnology, Vol. 16 (2011) c (2011) IACSIT Press, Singapore.

Hardgree S.P., Van Vactor S.S. 2000. Germination and emergence of primed grass seeds under field and simulated-field temperature regimes. Annals of Botany, 85: 379-390.

Hirt H., Shinozaki K. 2004. Plant responses to abiotic stress topics in current genetics, Vol. 4. Springer, Berlin, p 300.

Hivazi A. 2011. Medicinal plant (With emphasis on breeding). Jahad Publications of west Azarbayjan branch.

Khandakar A.L., Bradbeer J.W. 1983. Jute seed quality, Bangladesh Agricultural Research Council, Dhaka.

Malakoti M.J., Gheybi M.N. 1997. Determination of critical level of strategies agricultural nutrients and correct recommendation of fertilizers in country. Proc. of the 1st National congers. Reduction of poisons consumption and suitable use of chemical fertilizers in agriculture. Report Agri. Ministry. Karaj. Iran. pp. 24-25. (In Persian).

Marianne K., Morten S. Beate S. 2000. Ecological effects of allelopathic plants, a review. NERY. Technical Report No.35 http://wwwdmu.du/1 viden.

Mighani F. 2003. Allelopathy (hetrotoxicity): from concept to application. Partove vaghe Publisher. 256p. (In Persian).

Mojab M. Mahmoudi, 2007. Survey of allelopathic effect of aerial and underground organ aqueous extract of *Cardaria draba* on germination and growth seedling of *Sorghum bicolor*. Electronic Journal of Crop Production, 1(4):65-78.

Narwal S.S., Sing R., Walia R.K. 2004. Research methods in plant science: Allelopathy. Plant Protection. Science Publisher (India), Vol. 2. 286 p.

Oudhia P., Tripathi R.S., Katiyar P. 1999. Weed Management through Green Allelochemicals: An eco friendly approach towards sustainable agriculture. In: Abstract, National Seminar on Chemistry of Environmental Pollution with Special Emphasis on Pesticides, Govt. D.B. Girls P.G College, Raiapur (India) 28-29 January1999.p: 22.

Rice E.L. 1974. Allelopathy. Academic Press, New York.

Rizvi S.J.H., Haque H., Singh V.K., Rizvi V. 1992. A discipline called allelopathy. In: Allelopathy, Basic and applied aspects (ed. S.J.H. Rizvi and V. Rizvi), Chapman & Hall, London. Pp: 1-8.

Spruell J.A. 1984. Allelopathic potential of wheat accessions. Dissertation Abstracts International, B Sciences and Engineering. Ph.D. Thesis, University of Oklahoma, USA, 45:1102.

Tinnin R.O. Muller C.H. 2006. The allelopathic influence of *Avena fatua*. The allelopathic mechanism. Bulletin of the Theory Botanical Club, 99: 287-292.

Tominaga T., Uezu T. 1995. Weed Suppression by Buckwheat. Current Advances in Buckwheat Research, 693-697.

Trease G.E., Evans W.C. 1972. Pharmacognosy. 10th Edn. Bailer Tindall, London.

Trease G.E., Evans W.C 1989. Pharmacognosy.11th Edn. Braillar Tiridall Can. Macmillian publishers.

Wang D.G., Liu W.Y., Chen G.T. 2012. A simple method for the isolation and purification of resveratrol from *Polygonum cuspidatum*. Journal of Pharmaceutical Analysis. 3(4): 241-247.