

اثرات علف‌کشی اسانس چهار گونه پونه‌سا بر خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.) و یولاف وحشی زمستانه (*Avena ludoviciana* Dur.)

مرجان دیانت^{۱*} و فریدون قاسم خان قاجار^۱

۱- استادیاران دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۹/۱۷)

چکیده

در این تحقیق، اثرات علف‌کشی اسانس گونه‌های *Nepeta menthoides*، *N. mahanensis*، *N. elymaitica* و *N. binalodensis* در کنترل علف‌های هرز خردل وحشی و یولاف وحشی زمستانه مورد بررسی قرار گرفت. در کل، ۶۸ ترکیب در اسانس گونه‌های پونه‌سای مورد ارزیابی، شناسایی شدند. نپتالاکتون، جزء اصلی اسانس گونه *N. mahanensis* بود اما اسانس گونه *N. menthoides* فاقد این ترکیب بود. یک و هشت-سینتول، ترکیب اصلی اسانس گونه‌های *N. menthoides*، *N. elymaitica* و *N. binalodensis* بود. در زیست‌سنجی آزمایشگاهی، غلظت‌های متفاوت (صفر، یک، دو، چهار و هشت میکروگرم در میلی‌لیتر) اسانس چهار گونه پونه‌سا بر جوانه‌زنی بذر علف‌های هرز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقچه نسبت به شاهد کاهش یافت. در آزمایش‌های گلخانه‌ای، کاربرد پس‌رویشی اسانس‌های گونه‌های پونه‌سا روی گیاهچه‌های علف‌های هرز خردل وحشی و یولاف وحشی زمستانه، منجر به خسارت چشمی در فاصله هفت روز بعد از کاربرد اسانس شد. اسانس همه گونه‌های پونه‌سا، مقدار کلروفیل را کاهش داد. و موجب نشت الکترولیتی شد که نشان‌دهنده خسارت به غشاء سلولی بود. افزایش سطح پرولین نیز نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط اسانس‌ها بود. حساسیت خردل وحشی به اثرات سمی اسانس گونه‌های پونه‌سا بیشتر از یولاف وحشی بود. در مجموع نتایج مطالعه نشان داد که اسانس‌های گونه‌های پونه‌سا، از توان علف‌کشی برخوردار است و می‌تواند به عنوان علف‌کش زیستی بالقوه جهت کنترل انتخابی خردل وحشی و یولاف وحشی در گیاهان زراعی مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پرولین، نپتالاکتون، نشت الکترولیتی، یک و هشت-سینتول

Herbicidal activity of essential oils from four *Nepeta* species against wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) and winter wild oat (*Avena ludoviciana* Dur.)

Marjan Diyanat^{*1} and Fereydoon Ghasemhkan-Ghajar¹

1. Department of Agricultural Sciences and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University of Tehran

(Received: January 12, 2019 - Accepted: December 8, 2019)

ABSTRACT

In the present study, the bioherbicidal activity of essential oils from *Nepeta menthoides*, *N. mahanensis*, *N. elymaitica* and *N. binalodensis* were investigated on two weed species (wild mustard and winter wild oat). A total of 68 components were identified from the essential oils of *Nepeta* species. Nepetalactone was the main component of the essential oil of *N. mahanensis* but no nepetalactones were found in *N. menthoides* essential oil. 1,8-cineole was the major component of *N. menthoides*, *N. elymaitica* and *N. binalodensis* essential oils. In the laboratory bioassay, different concentrations (0, 1, 2, 4 and 8 $\mu\text{g ml}^{-1}$) of four *Nepeta* essential oils effects on germination, root and shoot length were studied. Results showed that germination percentage, and root and shoot length were significantly reduced in a dose-response bioassay. In a greenhouse bioassay, post-emergence application of *Nepeta* essential oils (1.25%, 2.5%, 5% and 10% v/v) on 3-week-old weed plants caused visible injury. Under greenhouse conditions, foliar application all *Nepeta* essential oils reduced chlorophyll content. In addition, *Nepeta* essential oils induced an electrolyte leakage showing membrane damage and loss of integrity and enhanced the level of proline suggesting induction of oxidative stress. Wild mustard was more susceptible to phytotoxic effects of all *Nepeta* essential oils rather than winter wild oat. Totally, the study showed that *Nepeta* essential oils have phytotoxic effects and could be used as bioherbicides to control wild mustard and winter wild oat.

Keywords: 1,8-cineole; nepetalactone, proline, relative electrolyte leakage

* Corresponding author E-mail: M.diyanat@srbiau.ac.ir

مقدمه

نعناع است که دارای حدود ۳۰۰ گونه علفی چندساله و یک‌ساله است (Formisano et al., 2011). بیشترین تنوع و غنای گونه‌ای آن در جنوب غربی آسیا و غرب هیمالیا یافت می‌شود. ۷۹ گونه از جنس پونه‌سا در ایران یافت می‌شود که ۳۹ گونه آن بومی هستند (Jamzad, 2012). تحقیقات زیادی روی تنوع و ویژگی‌های شیمیایی گونه‌های پونه‌سا انجام شده است. اکثر گونه‌های پونه‌سا غنی از اسانس هستند. فعالیت‌های بیولوژیکی متنوع اسانس این گونه مانند جلب‌کننده سگ‌ها و گربه‌ها، دورکننده حشرات، ضد باکتری، ضد قارچ و ضد ویروس قبل از گزارش شده است (Tucker & Tucker, 1988). گزارشاتی در مورد اسانس گونه پونه‌سا در ایران وجود دارد (Jamzad, 2012).

ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس گونه‌های *N. meyeri* Benth (Sefidkon, 2004)، *N. mahanensis*، *N. crispa*، *N. eremophila*، *N. isphahanica*، *N. eremophila* و *N. rivularis* (Sefidkon et al., 2005)، *N. asintensis* Bornm. (Sajjadi, 2005) و *N. involucrate* (Sonboli et al., 2005) قبل از مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین موتلا و اتیکی (Mutlu & Atici, 2009) و بابا احمدی و همکاران (Babaahmadi et al., 2013) اثرات سمی عصاره گونه‌های پونه‌سا را مورد مطالعه قرار دادند و عنوان کردند که این عصاره‌ها از جوانه‌زنی بذر تاج-خروس وحشی (*Amaranthus retroflexus*) و قدومه (*Alyssum hirsutum*) جلوگیری کردند.

مطالعات زیست‌سنجی یا مزرعه‌ای روی خاصیت علف‌کشی گونه‌های *N. menthoides*، *N. elymiatica* Bornm، *N. mahanensis* و *N. binaludensis* که بومی ایران هستند تاکنون انجام

علف‌کش‌های شیمیایی مورد استفاده جهت کنترل علف‌های هرز باعث خسارت‌های زیست‌محیطی می‌شوند و برای سلامتی انسان نیز مضر هستند (Singh et al., 2003; Dayan et al., 2009)؛ از این رو در سال‌های اخیر، استفاده از روش‌های جایگزین در مدیریت علف‌های هرز، بسیار مورد توجه واقع شده است (Duke, 2010; Vokou, 2007). در حال حاضر، بیشتر تحقیقات روی راهکارهای مبتنی بر استفاده از ترکیبات طبیعی متمرکز هستند (Angelini, 2003; Mao et al., 2004; Vurro et al., 2009).

اسانس‌های گیاهان معطر متعلق به خانواده‌های نعناع^۱، کاسنی^۲، مورد^۳، سرو^۴، سداب^۵ و شاهپسند^۶، دارای اثرات آلوپاتیک هستند (Amri et al., 2013; Angelini et al., 2003, Dudai et al., 1999; Kaur et al., 2010, Verdeguer et al., 2011). همچنین پتانسیل دگرآسیبی اسانس گونه‌های متفاوت از خانواده نعناع مانند مریم‌گلی (*Salvia apiana*) (Muller et al., 1964)، مرزه (*Satureja hortensis*)، آویشن (*Thymus vulgaris*) (Tworkoski, 2002)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) (Saharkhiz et al., 2010)، رزماری (*Rosmarinus officinalis*) (Angelini et al., 2003)، لاوند (*Lavandula spp.*)، نعناع فلفلی (*Mentha × piperita* L. CV. Mitcham) (Campiglia et al., 2007, Mahdavi et al., 2015) و گونه‌های مرزه (*S. bachtiarica*) (Saharkhiz, 2015) و *S. khuzestanica* (Taban et al., 2013) مشخص شده است.

چنس پونه‌سا^۷ یکی از بزرگترین جنس‌های خانواده

¹ Lamiaceae

² Astearceae

³ Myrtaceae

⁴ Cupressaceae

⁵ Rutaceae

⁶ Verbenaceae

⁷ Nepeta

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

برگ‌ها و سرشاخه گل‌دار گونه‌های پونه‌سا در خرداد ماه ۱۳۹۷ از مناطق مختلف ایران جمع‌آوری شدند (جدول ۱). اندام‌های گیاهان در سایه خشک پودر شدند و اسانس‌ها آن‌ها به روش تقطیر با آب، توسط دستگاه کلونجر در طی سه ساعت استخراج شد (Sefidkon et al., 2002).

نشده است. هدف از این تحقیق، بررسی اثرات دگرآسیبی و علف‌کشی اسانس چهار گونه پونه‌سا بر جوانه‌زنی، رشد گیاهچه، خسارت چشمی و ویژگی‌های فیزیولوژیکی (مقدار کلروفیل، نشت الکترولیتی و تجمع پرولین) خردل وحشی و یولاف وحشی زمستانه به عنوان دو گونه از مهم‌ترین علف‌های هرز یک ساله زمستانه ایران بود.

جدول ۱- گونه‌های گیاهی استفاده شده در آزمایش

Table 1. Plant species used for this study

Species	Collecting data
<i>N. menthoides</i>	Ardabil Province, Sabalan Mountains
<i>N. mahanensis</i>	Kerman Province, between Mahan and Kerman
<i>N. elymiatica</i> Bornm.	Lorestan Province, Azna
<i>N. binaludensis</i>	Razavi Khorasan Province, Tandoreh

میلی‌متر که ضخامت لایه ساکن آن ۰/۲۵ میکرومتر بود انجام شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و پس از سه دقیقه توقف در همان دما، به تدریج با سرعت شش درجه در دقیقه افزایش یافت تا به دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد رسید. از گاز هلیوم به عنوان حامل استفاده شد و دمای شناساگر و محفظه تزریق، ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد بود (Sefidkon et al., 2002).

زیست‌سنجی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه

بذرهای خردل وحشی (*Sinapis arvensis* L.) و یولاف وحشی زمستانه (*Avena ludoviciana* Dur.) از گیاهان بالغ در مزرعه جمع‌آوری شدند. آزمون جوانه‌زنی در پتری‌دیش‌هایی با قطر نه سانتی‌متر که در ژرمناتوری با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد روز (۱۴ ساعت) و ۱۰ درجه سانتی‌گراد شب (۱۲ ساعت) قرار داشتند، انجام شد. امولسیون روغن در آب اسانس هر چهار گونه در غلظت‌های یک، دو، چهار و هشت میکرولیتر در میلی‌لیتر آماده شد و برای تهیه امولسیون، از توئین ۲۰ (۰/۱ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) استفاده شد؛ آب مقطر نیز به عنوان شاهد استفاده شد. آزمایش به

جداسازی و شناسایی ترکیبات

برای شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، از دستگاه کروماتوگرافی گاز و کروماتوگرافی گاز متصل به طیف سنج جرمی استفاده شد. شناسایی طیف‌ها با محاسبه شاخص بازداری و با تزریق هیدروکربن‌های نرمال، تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها انجام شد و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر شده بود، مقایسه شد. بررسی طیف‌های جرمی نیز جهت شناسایی ترکیب‌ها انجام شد و شناسایی‌های صورت گرفته، با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه‌های مختلف (Wiley version 1996) تأیید شد. درصد نسبی هر کدام از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام بدست آمد و با مقادیری که در منابع مختلف و با در نظر گرفتن اندیس بازداری منتشر شده است، مقایسه شد (Adams, 1989, 2007). کروماتوگرافی گازی با استفاده از دستگاه مجهز به شناساگر^۱ FID و ستون سیلیکای DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵

^۱ Flame Ionization Detector

برای پاشش به میزان ۳۵۰ لیتر در هکتار مورد انجام شد. هفت روز بعد از تیمار، خسارت چشمی با توجه به مناطق کلروز و نکروز شده مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از برگ‌های تازه هر دو گونه علف-هرز، ۱۰۰ میلی‌گرم برگ تازه در پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد هموژنیزه شدند. سپس محلول از کاغذ صافی واتمن شماره یک عبور داده شد و حجم کلروفیل بر حسب میلی‌گرم در گرم برگ تازه بیان شد (Lichtenthaler, 1987).

اندازه‌گیری نشت الکترولیتی نسبی

برای مطالعه اثرات سمی اسانس گونه‌های پونه‌سا بر کاهش پایداری غشاء، نشت الکترولیتی نسبی^۱ در برگ گونه‌های علف‌های‌هرز مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، دیسک‌های برگ به مدت ۶۰ دقیقه در آب مقطر غوطه‌ور شدند و هدایت الکتریکی آن‌ها توسط دستگاه EC متر مولتی رنج (Hanna HI8033) اندازه‌گیری شد (EC1). بعد از جوشیدن در آب داغ به مدت ۳۰ دقیقه و سرد شدن، هدایت الکتریکی (EC2) برای دومین بار اندازه‌گیری شد و در نهایت نشت الکترولیتی با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد (Singh et al., 2006b).

$$\%REL = (EC1/EC2) * 100 \quad \text{معادله ۱}$$

که در آن: REL، نشت الکترولیتی نسبی؛ EC1، نشت اولیه و EC2، نشت ثانویه بود.

اندازه‌گیری میزان پرولین

میزان پرولین با استفاده از روش بیتز و همکاران (Bates et al., 1973) اندازه‌گیری شد. ۰/۱ گرم بافت برگ در اسید سولفوسالیسیلیک حل شد و سپس به مدت پنج دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با ۲۰۰۰ دور در چه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. دو میلی‌لیتر معرف گلاسیال استیک و دو میلی‌لیتر نین‌یدرین به آن‌ها اضافه شد. نمونه‌ها بعد از جوشیدن

صورت فاکتوریل (چهار گونه × پنج غلظت) و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. در هر پتری‌دیش، ۲۵ عدد بذر روی کاغذ صافی قرار گرفت. از سرمادهی مرطوب به مدت دو ماه برای شکستن خواب بذر یولاف وحشی (Salimi & Ghorbani, 2001) و از نیترات پتاسیم برای شکستن خواب بذر خردل وحشی (Goudey et al., 1987) استفاده شد. سرمادهی مرطوب و نیترات پتاسیم، به ترتیب جوانه‌زنی خردل وحشی و یولاف وحشی زمستانه را ۴۸ و ۵۵ درصد افزایش دادند. شش میلی-لیتر از امولسیون اسانس‌ها در هر پتری استفاده شد. برای پیشگیری از تبخیر شدن اسانس، هر پتری‌دیش با پارافیلیم پوشیده شد. بعد از ۱۴ روز، کل تعداد بذرهای جوانه‌زده شمارش شد و بذرهای دارای دو میلی‌متر ریشه‌چه، به عنوان بذرهای جوانه‌زده در نظر گرفته شدند. سپس طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با خط-کش اندازه‌گیری شد.

مطالعات گلخانه‌ای

اثرات پس‌رویشی اسانس گونه‌های پونه‌سا بر گیاهچه‌های سه هفته‌ای علف‌های‌هرز در شرایط گلخانه‌ای مورد مطالعه قرار گرفتند (گیاهان مورد بررسی در مرحله چهار تا شش برگی بودند). بذرهای گونه‌های علف‌های‌هرز در گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۲ سانتی‌متر کاشته شدند. هر گلدان با ۷۳۰ گرم خاک باغچه حاوی خاک، شن و کود دامی (۳:۱:۱) پر شد و ۱۰ عدد بذر در هر گلدان کاشته شد. یک هفته بعد از کاشت، گلدان‌ها تنک شدند و تنها پنج گیاه سالم در هر گلدان باقی ماند. تیمارهای ۱/۲۵، ۲/۵، پنج و ۱۰ درصد حجمی اسانس گونه‌های پونه‌سا به همراه آب مقطر شاهد مورد مطالعه قرار گرفتند. آزمایش به صورت فاکتوریل (چهار گونه × پنج غلظت) و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. سم‌پاش با استفاده از سم‌پاش کتابی پستی کالیبره شده

¹ Relative Electrolyte Leakage

دادند. نپتالاکتون، یک و هشت- سینتول، ژرماکرن- دی، کاریوفیلن اکسید و بتاپینن اجزای تشکیل دهنده اسانس *N. mahanensis* بودند. در اسانس *N. elymaitica* ۲۵ ترکیب که در کل ۹۷/۴۴ درصد اسانس را تشکیل می‌دادند شناسایی شدند. ترکیبات اصلی این اسانس یک و هشت- سینتول، نپتالاکتون، ای-کاریوفیلن، ترپینن-چهار-ال و لینالول بودند. میزان سایر ترکیبات کمتر از چهار درصد بود. در اسانس *N. binalodensis*، ۲۷ ترکیب شناسایی شدند که ترکیبات اصلی آن یک و هشت- سینتول، آلفا- ترپینتول و بتاپینن بودند و در کل ۹۷/۳۸ درصد ترکیبات را تشکیل دادند (جدول ۲).

نپتالاکتون، ترکیب اصلی تشکیل‌دهنده گونه *N. mahanensis* بود. بسیاری از محققان نیز این ترکیب را جزء اصلی تشکیل‌دهنده اسانس چند گونه پونه‌سا در غلظت نسبتا بالا معرفی کرده‌اند (Rustaiyan et al., 2000, Sefidkon & Shaabani, 2004). اسانس *N. menthoides* فاقد نپتالاکتون بود. کوکدیل و همکاران (Kokdil et al., 1998) اظهار کردند که اسانس *N. nuda* L. ssp. *Nuda* حاوی نپتالاکتون نیست و ترکیب اصلی آن را بتا-کاریوفیلن اکسید (۲۱/۸ درصد)، اسپاتوانول (۱۳/۸ درصد)، الو-آرمادندرن (نه درصد) و بتا-کاریوفیلن (۵/۴ درصد) تشکیل می‌دهند.

یک و هشت- سینتول که ترکیب اصلی اسانس گونه‌های *N. menthoides*، *N. elymaitica* و *N. binalodensis* را تشکیل می‌دهد، در اسانس سایر گونه‌های پونه‌سای ایران قبلا گزارش شده است (Rustaiyan et al., 2000). هندلیدو و همکاران (Handlidou et al., 2012) گزارش کردند که اسانس گونه‌های بومی یونان (*N. argolica* ssp. *Malacotrichos* و *N. argolica* ssp.) عمدتا از یک و هشت- سینتول تشکیل شده‌اند.

به مدت یک ساعت، سرد شدند و چهار میلی‌لیتر تولوئن به آن‌ها اضافه شد. جذب نوری محلول قرمز رنگ فاز رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. غلظت پرولین بر حسب میکروگرم در گرم وزن برگ تازه محاسبه شد (Bates et al., 1973).

تجزیه آماری

برای آنالیز واریانس داده‌ها از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ استفاده شد. قبل از آنالیز واریانس، نرمال بودن داده‌ها با استفاده از روش Kolmogorov-Smirnov بررسی شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی ($P < 0.05$) انجام شد. رگرسیون غیرخطی با برازش دادن داده‌های جوانه‌زنی به منحنی سه پارامتره پاسخ به دز (معادله ۲) جهت محاسبه LC_{50} و با استفاده از نرم‌افزار سیگماپلات نسخه ۱۱ انجام شد (Streibig, 1993).

$$y = \frac{c}{1 + \left(\frac{x}{LC_{50}}\right)^b} \quad \text{معادله ۲}$$

که در آن: y ، جوانه‌زنی در تیمار شاهد؛ c ، حد بالایی؛ b ، شیب خط؛ x ، غلظت اسانس و LC_{50} ، غلظت اسانس لازم برای بازدارندگی جوانه زنی به میزان ۵۰ درصد نسبت به شاهد بود.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده اسانس‌ها

ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده اسانس چهارگونه پونه‌سا در جدول شماره ۲ آورده شده است. در مجموع، ۶۷ ترکیب با استفاده از روش کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی شناسایی شدند. ۲۴ ترکیب که جمعا ۹۶/۳ درصد کل اسانس *N. menthoides* را تشکیل می‌دادند در این گونه شناسایی شدند. اجزای اصلی اسانس *N. menthoides* را یک و هشت- سینتول، دی‌هیدرومایرسن-یک-ال، چهار-ترپینتول، ژرانیل استات، آلفا-ترپینتول و بتا-پینن تشکیل می-

جدول ۲- درصد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس چهارگونه پونه سا

Table 2. Composition percentage of the four *Nepeta* species essential oils

No	Compound	IR	%			
			<i>N.menthoides</i>	<i>N.mahanensis</i>	<i>N.elymaitica</i>	<i>N.binalodensis</i>
1	α -Thujene	927	-	-	-	0.89
2	α -Pinene	942	0.2	1.5	0.2	1.54
3	Camphene	954	-	1.0	-	0.69
4	Sabinene	972	4.8	-	0.2	0.69
5	β -Pinene	974	5.6	4.3	2.8	4.74
6	3-Octanone	988	-	-	0.2	-
7	2-Dehydro-1,8-Cineole	997	-	-	-	0.22
8	Myrcene	987	-	-	0.6	0.72
9	n-Decane	999	0.7	-	-	-
10	δ -3-Carene	1011	-	-	-	-
11	α -Terpinene	1024	-	-	-	0.33
12	p-Cymene	1034	-	0.4	2.7	2.53
13	1,8-Cineole	1041	40.6	28.2	22.1	64.91
14	(Z)- β -Ocimene	1040	-	-	0.7	-
15	(E)- β -Ocimene	1050	-	-	0.5	-
16	γ -Terpinene	1058	0.2	-	0.2	0.98
17	cis-Sabinene hydrate	1068	-	-	-	0.33
18	Tepinolene	1078	-	-	0.5	1.07
19	trans-Sabinene-hydrate	1098	-	-	-	0.3
20	Nonana	1105	-	-	1.04	-
21	Linalool	1107	1.3	-	5.8	0.53
22	α -Fenchol	1117	1.4	-	-	-
23	trans-Pinocarveole	1129	-	1.5	-	0.45
24	cis-p-menth-2-en-1-ol	1131	-	-	-	-
25	Verbenol	1134	-	-	-	0.17
26	Allo-ocimene	1137	-	-	-	-
27	1-Terpineol	1139	-	-	-	0.2
28	Nopinone	1142	-	-	-	0.2
29	Isopulegol	1146	0.1	-	-	-
30	trans-Sabinole	1149	-	-	-	-
31	Menth-3-en-1-ol	1150	0.8	-	-	-
32	p-Menth-3-en-8-ol	1152	-	-	0.4	-
33	Pinocarvone	1160	0.4	1.6	-	-
34	Pinocamphone	1161	3.9	-	-	-
35	4-Terpineol	1167	7.1	-	-	-
36	Neo-menthol	1168	-	-	2.1	-
37	Pinovarvone	1172	-	-	-	-
38	δ -Terpineole	1177	0.9	-	-	2.57
39	Myrtenol	1184	-	2.1	-	-
40	Terpinen-4-ol	1187	-	0.7	6.2	2.04
41	Cryptone	1186	-	-	0.1	-
42	α -Terpineole	1189	5.7	1.9	3.2	6.84
43	Myrtenal	1192	-	2.3	-	1.26
44	Myrthanol	1207	2.8	-	-	0.22
45	Geraniol	1226	0.2	-	-	-
46	Pulegone	1238	-	-	6.2	-
47	Geranial	1270	0.5	-	-	-
48	trans-Anethol	1283	0.9	-	-	-
49	Bornyl acetate	1287	-	-	0.8	-
50	Carvacrol	1305	-	-	-	0.08
51	4 α ,7 α ,7 α -Nepetalactone	1369	-	-	16.5	2.1
52	β -bourbonene	1385	-	-	3.6	-
53	Benzyl pentanoate*	-	0.8	-	-	-
54	Geranyl acetate*	-	6.9	-	-	-
55	Dihydromyrcen-1-ol*	-	9.2	-	-	-
56	E-caryophyllene	1420	-	-	14.8	-
57	β -Caryophyllene	1421	-	1.0	-	-
58	α -humulene	1455	-	-	3	-
59	E- β -farnesene	1460	-	-	1.8	-
60	Germacrene D	1473	-	6.4	-	-
61	Bicyclogermacrene	1512	-	-	-	0.2
62	Caryophyllene oxide	1567	-	4.5	-	-
63	4 α β ,7 α ,7 α -Nepetalactone	1574	-	36.1	1.1	0.98
64	Spathulenole	1575	-	0.1	-	-
65	Spathulenol	1576	0.5	-	-	-
66	β -caryophyllene oxide	1585	-	-	0.1	-
67	Ethyl hexadecanoate	1927	0.8	-	-	-
Total			96.3	94.1	97.44	97.38

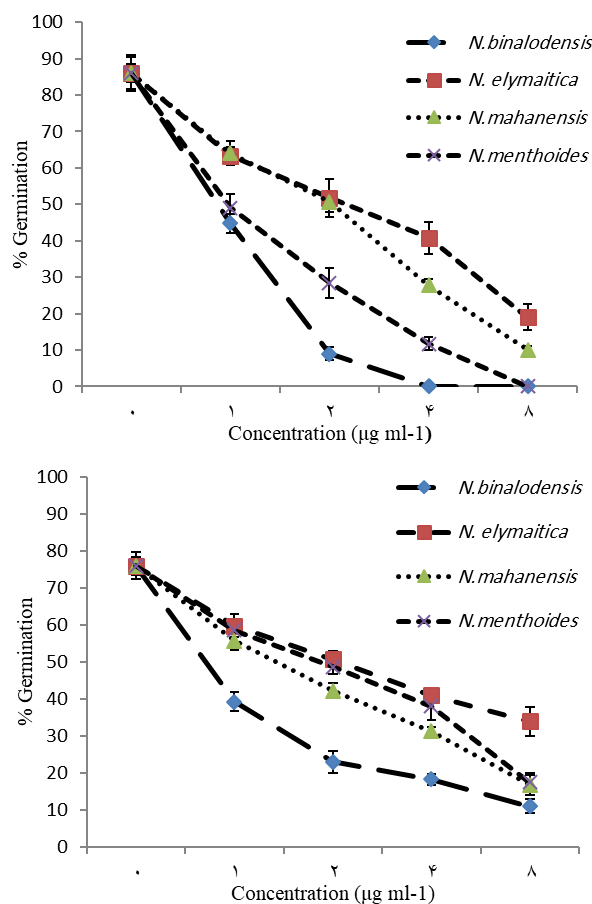
Retention Indices (The retention indices were determined on DB-5 column)

*Identified by comparison with mass spectra.

زیست‌سنجی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه

مختلف گونه‌های پونه‌سای مورد مطالعه وجود داشت. اسانس همه گونه‌های پونه‌سا، جوانه زنی هر دو گونه علف‌هرز را کاهش دادند (شکل ۱).

اثر اسانس گونه‌های پونه‌سا بر جوانه‌زنی خردل وحشی و یولاف وحشی زمستانه در شکل ۱ نشان داده شده است. تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های



شکل ۱- منحنی پاسخ به دز اثر اسانس گونه‌های پونه‌سا بر درصد جوانه‌زنی خردل وحشی (a) و یولاف وحشی (b) زمستانه دو هفته بعد از تیمار. اعداد، میانگین‌ها ± خطای استاندارد در چهار تکرار می‌باشند.

Fig 1. Dose-response curve of the effect of *Nepeta* species essential oils on germination percentage of wild mustard (a) and winter wild oat (b) measured 2 weeks after treatments. Values are means ± standard error.

(هشت میکرولیتر در میلی‌لیتر)، کاهش درصد جوانه‌زنی توسط اسانس گونه‌های *N. binalodensis*، *N. elymaitica*، *N. mahanensis* و *N. menthoides* به ترتیب ۱۰۰، ۷۷، ۸۱ و ۸۶ درصد بود درحالی‌که همین غلظت اسانس‌ها باعث کاهش درصد جوانه‌زنی یولاف وحشی زمستانه به ترتیب به میزان ۸۵، ۷۷، ۵۵ و ۷۶ درصد نسبت به شاهد شد. خردل وحشی در مقایسه با یولاف وحشی زمستانه نسبت به اسانس

به‌علاوه تفاوت بین تیمار شاهد و کمترین غلظت اسانس در هر دو گونه علف‌هرز معنی‌دار بود. غلظت یک میکروگرم در میلی‌لیتر *N. binalodensis*، *N. elymaitica*، *N. mahanensis* و *N. menthoides* به ترتیب ۴۷، ۲۵، ۲۹ و ۴۳ درصد جوانه‌زنی خردل وحشی را کاهش دادند (شکل ۱a)؛ میزان این کاهش در گونه یولاف وحشی زمستانه به ترتیب ۴۸، ۲۹، ۲۶ و ۲۳ درصد بود (شکل ۱b). در بالاترین غلظت

نتایج این دو محقق با نتایج تحقیق حاضر همراستا بود. همین‌طور میزان LC_{50} محاسبه شده برای منحنی-های پاسخ به دز جوانه‌زنی خردل وحشی، تحت تاثیر اسانس‌های *N. binalodensis*، *N. elymaitica*، *N. mahanensis* و *N. menthoides* به ترتیب ۱/۰۲، ۳/۰۲، ۲/۳۹ و ۱/۴۸ بود درحالی‌که میزان این شاخص در یولاف وحشی زمستانه به ترتیب ۰/۹۷، ۵/۴۷، ۲/۶۰ و ۳/۴۱ برآورد شد (جدول ۳).

گونه‌های پونه‌سا حساس‌تر بود، به‌گونه‌ای که جوانه-زنی آن در غلظت‌های چهار و هشت میکروگرم در میلی‌لیتر توسط گونه *N. binalodensis* و غلظت هشت میکروگرم در میلی‌لیتر توسط گونه *N. menthoides* کاملاً بازدارنده شد (شکل ۱).

موتلا و اتیکی (Mutlu & Atici, 2009) گزارش کردند که *N. meyeri* از جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه بعضی از گونه‌های گیاهان زراعی جلوگیری کردند.

جدول ۳- پارامترهای برازش منحنی رگرسیون غیرخطی به داده‌های جوانه‌زنی خردل وحشی و یولاف وحشی زمستانه

Table 3- Non linear regression parameters fitted to wild mustard and winter wild oat germination data

	c	b	LC_{50}	R^2 adjusted
Wild mustard				
<i>N. binalodensis</i>	86.58	3.16	1.02	0.99
<i>N. elymaitica</i>	85.42	1.05	3.02	0.97
<i>N. mahanensis</i>	85.16	1.47	2.39	0.98
<i>N. menthoides</i>	97.05	1.21	1.48	0.99
Winter wild oat				
<i>N. binalodensis</i>	76.09	0.88	0.97	0.98
<i>N. elymaitica</i>	76.17	0.71	5.47	0.99
<i>N. mahanensis</i>	75.94	1.05	2.60	0.99
<i>N. menthoides</i>	75.28	1.14	3.41	0.97

یولاف وحشی زمستانه را ۷۴ به ترتیب ۸۰، ۵۳ و ۸۳ درصد نسبت به شاهد کاهش دادند (جدول ۴). در غلظت یک میکروگرم در میلی‌لیتر، میان اثر اسانس گونه‌های پونه‌سا بر طول ساقچه خردل وحشی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴). در بالاترین غلظت اسانس، کاهش رشد ساقچه خردل وحشی توسط گونه‌های *N. menthoides*، *N. binalodensis*، *N. elymaitica* و *N. mahanensis* به ترتیب ۱۰۰، ۶۶، ۴۱ و ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد بود. گونه *N. elymaitica* کمترین میزان بازدارندگی از رشد ساقچه را در علف‌هرز یولاف وحشی زمستانه ایجاد کرد. *N. binalodensis* و *N. mahanensis* به میزان زیادی از رشد ساقچه در همه غلظت‌ها جلوگیری کردند.

اثر اسانس گونه‌های پونه‌سا بر رشد ریشه‌چه خردل وحشی و یولاف وحشی زمستانه دو هفته بعد از تیمار در جدول ۴ نشان داده شده است. هر چهار گونه پونه‌سا، رشد ریشه‌چه دو گونه علف‌هرز را کاهش دادند. در غلظت یک میکروگرم در میلی‌لیتر، اسانس گونه *N. binalodensis* بیشترین بازدارندگی از رشد ریشه‌چه را موجب شد. همانطورکه از جدول ۴ پیداست، بازدارنده‌ی از رشد ریشه‌چه با افزایش غلظت اسانس در چهار گونه پونه‌سا افزایش یافت. کاهش رشد ریشه‌چه خردل وحشی در غلظت شش میکروگرم در میلی‌لیتر اسانس در مقایسه با شاهد توسط گونه‌های *N. menthoides*، *N. mahanensis*، *N. elymaitica* و *N. binalodensis* به ترتیب ۱۰۰، ۷۲، ۵۴ و ۱۰۰ درصد بود. در همین غلظت، اسانس گونه‌های *N. menthoides*، *N. mahanensis*، *N. elymaitica* و *N. binalodensis* رشد ریشه‌چه

جدول ۴- اثر اسانس گونه‌های پونه‌سا بر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه خردل وحشی و یولاف وحشی زمستانه دو هفته بعد از تیمار

Table 4. Effect of *Nepeta* essential oils on wild mustard and winter wild oat root and shoot lengths (cm) measured 2 weeks after treatments.

		Root length			
		wild mustard			
Concentration ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	<i>N. menthoides</i>	<i>N. mahanensis</i>	<i>N. elymaitica</i>	<i>N. binalodensis</i>	
0	1.8±0.19 a	1.8±0.14 a	1.8±0.25 a	1.8±0.14 a	
1	1.35±0.03 bc	1.35±0.17 bc	1.5±0.18 ab	1.22±0.09 bcd	
2	1.05±0.17 cdef	1.05±0.1 cdef	1.17±0.23 bcde	0.77±0.22 efg	
4	0.47±0.17 g	0.72±0.22 fg	1.1±0.14 bcdef	0±0 h	
8	0±0 h	0.5±0.08 g	0.81±0.08 defg	0±0 h	
		winter wild oat			
Concentration ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	<i>N. menthoides</i>	<i>N. mahanensis</i>	<i>N. elymaitica</i>	<i>N. binalodensis</i>	
0	4.87±0.15 a	4.87±0.22 a	4.87±0.10 a	4.87±0.22 a	
1	3.78±0.19 bc	3.18±0.10 de	3.86±0.19 b	2.58±0.15 f	
2	3.17±0.11 de	2.31±0.22 f	3.29±0.13 cd	1.56±0.18 g	
4	2.50±0.22 f	1.45±0.42 gh	2.69±0.04 ef	1.26±0.09 ghi	
8	1.22±0.14 ghi	0.97±0.07 hi	2.25±0.24 f	0.81±0.11 i	
		Shoot length			
		wild mustard			
Concentration ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	<i>N. menthoides</i>	<i>N. mahanensis</i>	<i>N. elymaitica</i>	<i>N. binalodensis</i>	
0	2±0.32 a	2±0.24 a	2±0.16 a	2±0.08 a	
1	1.67±0.25 abc	1.7±0.25 ab	1.72±0.25 ab	1.35±0.12 bcd	
2	1.17±0.41 bcde	1.12±0.25 cde	1.2±0.28 bcde	0.87±0.09 de	
4	0.75±0.2 e	0.92±0.09 de	1.1±0.14 de	0±0 f	
8	0±0 f	0.67±0.17 e	1.17±0.12 bcde	0±0 f	
		winter wild oat			
Concentration ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	<i>N. menthoides</i>	<i>N. mahanensis</i>	<i>N. elymaitica</i>	<i>N. binalodensis</i>	
0	4.7±0.47 a	4.72±0.5 a	4.72±0.12 a	4.72±0.15 a	
1	4.33±0.14 ab	3.63±0.41 cd	4.51±0.13 ab	3.44±0.12 cde	
2	3.72±0.14 cd	2.76±0.31 f	3.94±0.31 bc	1.92±0.11 g	
4	3.05±0.32 ef	1.90±0.22 g	3.34±0.14 de	1.63±0.1 gh	
8	1.77±0.17 g	1.42±0.19 gh	2.9±0.1 ef	1.17±0.21 h	

مقادیر، میانگین‌ها±خطای استاندارد در چهار تکرار هستند. در هر گونه، میانگین‌های دارای حروف متفاوت، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۹۵ درصد دارند.

Values are means ±standard error of four replicates. Within each weed species, different letters indicate that means are different at the 95% of probability level (Tukey's multiple-range test, HSD).

Echinochloa crusgalli (L.) P. Beauv.) و تاج-خروس بیشتر بوده است (Chowhan et al., 2011; Zhao et al., 2011). این نتایج، یافته‌های مطالعات قبلی است را که نشان دادند اسانس‌ها و مونوترپن‌ها، اثرات علف‌کشی زیادی دارند (Singh et al., 2005, 2006a) تایید می‌کند. اثرات علف‌کشی اسانس گونه‌های پونه‌سای مورد مطالعه می‌تواند به دلیل دارا بودن غلظت‌های بالا از یک و هشت-سینتول و نپتالاکتون باشد. این یافته‌ها با یافته‌های گیکنینز و همکاران (Ghikinis et al., 2003) که ترکیب شیمیایی اسانس *N. parnassica* و فعالیت بیولوژیکی نپتالاکتون جدا شده از آن را گزارش کردند، مطابقت دارد. موتلا و همکاران (Mutlu et al., 2010) گزارش

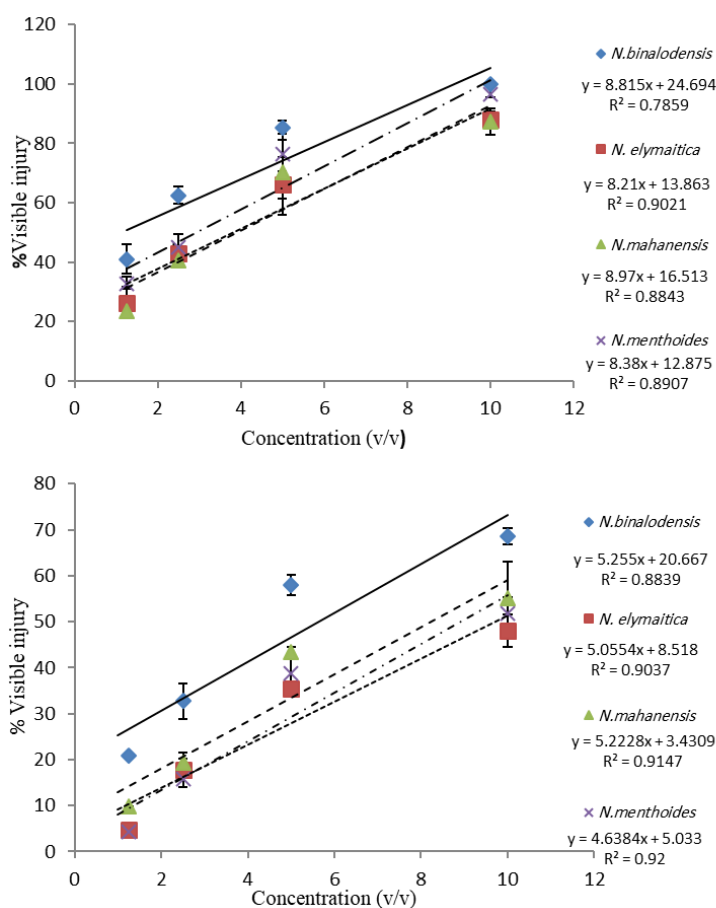
در غلظت هشت میکروگرم در میلی‌لیتر، میزان بازداری ایجاد شده در رشد ساقه‌چه یولاف وحشی زمستانه توسط گونه‌های *N. menthoides*، *N. binalodensis* و *N. elymaitica*، *N. mahanensis* به ترتیب ۶۲، ۶۹، ۳۸ و ۷۵ درصد بود (جدول ۴). اثرات دگرآسیبی اسانس‌ها در این مطالعه، به غلظت و گونه وابسته بود. این نتایج با نتایج ایباز و بلازکوئیک (Ibáñez & Blázquez, 2017) مطابقت داشت؛ آنان اظهار کردند اثر این ترکیبات بر طول ریشه‌چه و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه به غلظت و گونه وابسته است. تحقیقات زیادی نشان دادند که اثرات بازدارندگی اسانس بر طول ریشه‌چه نسبت به ساقه‌چه در برنج، سلمه‌تره (*Chenopodium album* Linn.)، سوروف

علائم خسارت را نشان دادند که این علائم به صورت کلروز، نکروز و پژمردگی کامل خردل وحشی بود. علائم خسارت با افزایش غلظت همه گونه‌های پونه-سا تشدید شدند. در بالاترین غلظت، خسارت چشمی ایجاد شده در خردل وحشی توسط گونه‌های *N. binalodensis*، *N. elymaitica*، *N. mahanensis* و *N. menthoides* به ترتیب ۸۸، ۸۷/۲۵ و ۹۶/۵ درصد بود (شکل ۲a).

کردند که فعالیت علف‌کشی اسانس *N. meyeri* Benth می‌تواند به دلیل حجم بالای نپتالاکتون در آن باشد. دی مارتینو و همکاران (De Martino *et al.*, 2010) اظهار کردند که در بین ۲۷ مونوترپن یک و هشت-سینئول از رشد ریشه تریچه (*Raphanus sativus* L.) و شاه‌ی (*Lepidium sativum* L.) در پایین‌ترین غلظت جلوگیری کرد.

مطالعات گلخانه‌ای

هفت روز پس از سم‌پاشی، هر دو گونه علف‌هرز



شکل ۲- اثر اسانس گونه‌های پونه‌سا بر خسارت چشمی خردل وحشی (a) و یولاف وحشی زمستانه (b) هفت روز بعد از سم‌پاشی. اعداد، میانگین‌ها \pm خطای استاندارد در چهار تکرار می‌باشند.

Fig 2. Effects of *Nepeta* essential oils on visible injury of wild mustard (a) and winter wild oat (b) 7 days after spraying. Values are means \pm standard error

۶۸/۵۳، ۴۸/۰۵ و ۵۵/۰۹ و ۵۱/۷۳ درصد بود (شکل ۲b). خردل وحشی نسبت به یولاف وحشی

میزان خسارت چشمی به گیاهچه یولاف وحشی زمستانه توسط اسانس گونه‌های فوق به ترتیب

زمستانه به اسانس گونه‌های پونه‌سا حساس‌تر بود. اسانس گونه‌های پونه‌سا، میزان کلروفیل را کاهش دادند؛ میزان این کاهش توسط گونه‌های *N. menthoides*، *N. mahanensis*، *N. elymaitica* و *N. binalodensis* در علف‌هرز خردل وحشی به ترتیب ۷۰، ۷۱، ۵۰ و ۷۷ درصد در غلظت ۱۰ درصد حجمی بود. در همین غلظت، میزان کاهش کلروفیل یولاف وحشی زمستانه به ترتیب ۱۱، ۷۴، ۲۱ و ۶۹ درصد بود (جدول ۵).

جدول ۵- اثر اسانس گونه‌های پونه‌سا بر میزان کلروفیل و نشت الکترولیتی (%) خردل وحشی و یولاف وحشی زمستانه دو هفته پس از سمپاشی

Table 5. Effect of *Nepeta* essential oils on total chlorophyll content and relative electrolyte leakage (%) of wild mustard and winter wild oat measured 2 weeks after treatments.

Total chlorophyll content				
wild mustard				
Concentration (v/v)	<i>N.menthoides</i>	<i>N.mahanensis</i>	<i>N.elymaitica</i>	<i>N.binalodensis</i>
0	2.24±0.13 a	2.24±0.21 a	2.24±0.1 a	2.24±0.07 a
1	2.00±0.11 b	1.78±0.18 c	2.08±0.12 ab	1.60±0.18 cd
2	1.63±0.09 cd	1.30±0.09 e	1.72±0.09 c	0.93±0.09 f
4	1.27±0.08 e	0.94±0.08 f	1.48±0.16 de	0.54±0.1 gh
8	0.59±0.1 gh	0.70±0.1 g	1.36±0.16 e	0.39±0.8 h
winter wild oat				
Concentration (v/v)	<i>N.menthoides</i>	<i>N.mahanensis</i>	<i>N.elymaitica</i>	<i>N.binalodensis</i>
0	2.27±0.07 a	2.27±0.10 a	2.27±0.04 a	2.27±0.10 a
1	1.80±0.1 bc	1.72±0.07 bc	1.83±0.08 b	1.41±0.21 def
2	1.56±0.12 cde	1.36±0.06 ef	1.60±0.16 bcd	0.83±0.08 ij
4	1.24±0.16 fgh	1.06±0.13 ghi	1.29±0.07 fg	0.74±0.16 jk
8	0.69±0.09 jk	0.67±0.09 jk	1.03±0.14 hi	0.52±0.06 k
Relative electrolyte leakage (%)				
wild mustard				
Concentration (v/v)	<i>N.menthoides</i>	<i>N.mahanensis</i>	<i>N.elymaitica</i>	<i>N.binalodensis</i>
0	10±0.81 gh	10±1.63 gh	10.25±1.25 gh	10±0.84 gh
1	11.27±0.96 gh	13.84±0.53 gh	15.52±4.29 gh	23.88±4.39 f
2	22.11±4.2 f	18.13±1.14 fg	20.34±1.44 fg	37.59±2.55 e
4	49.98±4.18 cd	44.45±8.3 de	40.69±4.02 de	66.56±1.96 ab
8	65.79±1.09 ab	59.49±3.98 bc	58.02±1.72 bc	74.26±2.38 a
winter wild oat				
Concentration (v/v)	<i>N.menthoides</i>	<i>N.mahanensis</i>	<i>N.elymaitica</i>	<i>N.binalodensis</i>
0	7.2±4.12 h	7.2±1.64 h	7.2±0.73 h	7.2±0.73 h
1	9.5±3.14 gh	11.97±0.85 gh	9.4±2.57 gh	16.89±3.43 g
2	15.51±3.27 gh	12.39±0.89 gh	14.12±1.13 gh	27.62±0.99 f
4	37.31±2.64 cde	32.99±5.23 def	30.04±3.14 ef	50.29±1.43 b
8	47.78±2.97 b	44.75±3.11 bc	41.45±2.26 bcd	59.88±4.28 a
Proline accumulation $\mu\text{M g}^{-1}$				
wild mustard				
Concentration (v/v)	<i>N.menthoides</i>	<i>N.mahanensis</i>	<i>N.elymaitica</i>	<i>N.binalodensis</i>
0	10.12±0.04 h	10.12±0.78 h	10.12±0.56 h	10.12±0.91 h
1	15.18±2.16 gh	16.80±4.49 gh	8.79±1.69 h	23.98±4.60 g
2	24.63±6.54 h	21.45±4.93 g	20.27±1.51 g	38.36±2.67 f
4	51.35±4.38 de	45.55±7.28 ef	41.61±4.21 f	68.74±2.05 b
8	66.81±1.90 bc	61.32±4.17 bc	58.51±2.35 cd	81.41±1.39 a
winter wild oat				
Concentration (v/v)	<i>N.menthoides</i>	<i>N.mahanensis</i>	<i>N.elymaitica</i>	<i>N.binalodensis</i>
0	13 ±0.95 j	13±0.81 j	13±1.31 j	13±0.81 j
1	18.66±2.16 ij	14.62±1.02 j	13.30±4.55 j	21.08±1.76 ij
2	24.16±2.14 hi	26.31±3.61 ghi	25.24±1.36 hi	31.52±2.40 fgh
4	43.21±3.91 de	37.99±6.55 ef	34.44±3.79 fg	58.86±1.85 b
8	57.13±1.71 bc	52.19±3.75 bc	49.66±2.12 cd	70.27±1.25 a

مقادیر، میانگین‌ها±خطای استاندارد در چهار تکرار هستند. در هر گونه میانگین‌های دارای حروف متفاوت، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۹۵ درصد دارند.

Values are means ±standard error of four replicates. Within each weed species, different letters indicate that means are different at the 95% of level probability (Tukey's multiple-range test, HSD).

N. binalodensis به ترتیب ۶/۶۰، ۶/۰۶، ۵/۷۸ و ۸/۰۴ برابر شاهد بود (جدول ۵). در همین غلظت، میزان پرولین در علف‌هرز یولاف وحشی زمستانه توسط گونه‌های *N. menthoides*، *N. mahanensis*، *N. elymaitica* و *N. binalodensis* به ترتیب نسبت به شاهد ۴/۳۹، ۴/۰۱، ۳/۸ و ۵/۴ برابر شاهد افزایش یافت. سینگ و همکاران (Singh et al., 2006b) عنوان کردند که ترین‌های تشکیل دهنده اسانس، در انتقال مواد در عرض غشای سلولی اختلال ایجاد می‌کنند و باعث آسیب به نفوذ پذیری غشا، به دلیل تنش اکسیداتیو می‌شوند. بکالی و همکاران (Bakkali et al., 2008) نتیجه گرفتند که اسانس‌ها از غشاء سلول عبور می‌کنند و به نفوذ پذیری غشا آسیب وارد می‌کنند. تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش، به واسطه سنتز پرولین و غیر فعال شدن تخریب آن است. افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش، باعث محافظت غشای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌های سیتوپلاسمی و مهار گونه‌های فعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد می‌شود (Liang et al., 2013)؛ بنابراین از جمله پاسخ‌های گیاهان در برابر تنش، افزایش سطح پرولین می‌باشد.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس گونه‌های پونه‌سای مورد مطالعه در این آزمایش، از جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه دو گونه علف‌هرز مورد بررسی جلوگیری کردند. اسانس گونه *N. binalodensis* اثرات بازدارندگی بیشتری نسبت به سایر گونه‌های پونه‌سای مورد بررسی داشت که می‌تواند به دلیل دارا بودن غلظت بیشتر یک و هشت- سینئول باشد. میزان این بازدارندگی به غلظت اسانس وابسته است و علف‌هرز خردل وحشی

کاهش مقدار کلروفیل مشاهده شده در این مطالعه، همراستا با گزارشات قبلی بود که نشان دادند که مونوترپن‌ها، باعث کاهش مقدار کلروفیل می‌شوند (Chowhan et al., 2011; Gouda et al., 2016; Kaur et al., 2010) این کاهش می‌تواند به دلیل بازدارندگی از سنتز کلروفیل و یا تجزیه کلروفیل باشد.

اثر اسانس‌های گونه‌های پونه‌سای بر نشت الکترولیتی علف‌های هرز خردل وحشی و یولاف وحشی زمستانه در جدول ۵ آورده شده است. اسانس همه گونه‌های پونه‌سای، منجر به کاهش پایداری غشاء سلول‌ها در برگ هر دو گونه علف‌هرز شد. درصد نشت الکترولیتی در بین گونه‌های پونه‌سای و غلظت‌های مختلف اسانس، متفاوت بود. همچنین میزان نشت الکترولیتی در خردل وحشی نسبت به یولاف وحشی زمستانه بیشتر بود. در غلظت یک درصد حجمی، اسانس همه گونه‌های پونه‌سای منجر به نشت الکترولیتی نسبی در یولاف وحشی زمستانه به میزان ۱۱/۷۲ تا ۲۳/۸۸ درصد شد که این طیف به ۵۹/۴۹ تا ۷۴/۲۶ درصد در غلظت ۱۰ درصد حجمی رسید. در بالاترین غلظت، نشت الکترولیتی ایجاد شده توسط اسانس گونه *N. binalodensis* در علف‌هرز یولاف وحشی زمستانه، بالاترین میزان (۵۹/۸۸ درصد) بود (جدول ۵). این نتایج تایید کننده نتایج قبلی بود که نشان دادند اسانس‌ها به دلیل نشت الکترولیتی، از رشد گیاه جلوگیری می‌کنند (Singh et al., 2005; Tworowski, 2002). حجم پرولین آزاد در گیاهچه‌های خردل وحشی و یولاف وحشی زمستانه با کاربرد اسانس گونه‌های پونه‌سای افزایش یافت (جدول ۵). افزایش حجم پرولین، به غلظت اسانس بستگی داشت. در علف هرز خردل وحشی و در غلظت ۱۰ درصد حجمی، میزان این افزایش توسط اسانس گونه‌های *N. elymaitica*، *N. mahanensis* و *N. menthoides*

مورد بررسی استفاده کرد اما برای بررسی اثرات علف‌کشی گونه‌های پونه‌سا تحت شرایط مزرعه‌ای و تعیین اثرات آن‌ها بر گونه‌های زراعی و سایر گونه‌های علف‌هرز، انجام مطالعات بیشتر لازم و ضروری است.

نسبت به یولاف وحشی زمستانه، حساس‌تر بود. اسانس گونه *N. binalodensis* در غلظت چهار میکروگرم در میلی‌لیتر به طور کامل از جوانه‌زنی بذر خردل وحشی جلوگیری کرد؛ بنابراین می‌توان از اسانس گونه‌های پونه‌سا به‌ویژه گونه *N. binalodensis* جهت کنترل گونه‌های علف‌هرز

منابع

- Abraham, D., Braguini, W.L., Kelmer-Bracht, A.M. and Ishii- Iwamoto, E.L. 2000. Effects of four monoterpenes on germination, primary root growth, and mitochondrial respiration of maize. *J. Chem. Ecol.* 26:611-624.
- Adams, R.P. 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/mass Spectrometry, 4th ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, USA.
- Amri, I., Hamrouni, L., Hanana, M. and Jamoussi, B. 2013. Reviews on phytotoxic effects of essential oils and their individual components: News approach for weeds management. *International J. Appl. Biol. Pharm. Tech.* 4:96-114.
- Angelini, L.G., Carpanese, G., Cioni, P.L., Morelli, I., Macchia, M. and Flamini, G. 2003. Essential oils from Mediterranean Lamiaceae as weed germination inhibitors. *J Agric. Food Chem.* 51:6158-6164.
- Armirante, F., De Falco, E., De Feo, V., De Martino, L., Mancini, E. and Quaranta, E. 2006. Allelopathic activity of essential oils from Mediterranean Labiatae. *Acta Hort.* 723:347-352.
- Babaahmadi, H., Ghanbari, A., Asadi, G. and Emami, M.K. 2013. Allelopathic effect from some medicinal plants on germination of *Alyssum hirsutum* and *Amaranthus retroflexus*. *IJAPP.* 4:3344-3347.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils-A review. *Food Chem. Toxicol.* 46:446-475.
- Bates, L.S., Walderen, R.D. and Taere, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.* 39:205-207.
- Campiglia, E., Mancinelli, R., Cavalieri, A. and Caporali, F. 2007. Use of essential oils of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* L.), lavender (*Lavandula* spp.) and peppermint (*Mentha x piperita* L.) for weed control. *IJA.* 2: 171-175.
- Chowhan, N., Singh, H.P., Batish, D.R. and Kohli, R.K. 2011. Phytotoxic effects of b-pinene on early growth and associated biochemical changes in rice *Acta Physiol. Plant.* 33:2369-2376
- Dayan, F.E., Cantrell, C.L. and Duke, S.O. 2009. Natural products in crop protection. *Bioorgan. Med. Chem.* 17:4022-4034.
- Dudai, N., Poljakoff-Mayber, A., Mayer, A.M., Putievsky, E. and Lerner, H.R. 1999. Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. *J. Chem. Ecol.* 25:1079-1089.
- Duke, S.O. 2010. Allelopathy: Current status of research and future of the discipline: A commentary. *Allelo. J.* 25:17-30.
- Formisano, C., Rigano, D. and Senatore, F. 2011. Chemical constituents and biological activities of *Nepeta* species. *Chem. Biodivers.* 8:1783-1818.
- Ghikinis, G., Tzakou, O., Iliopoulou, D. and Roussis, V. 2003. Chemical composition and biological activity of *Nepeta parnassica* oils and isolated nepetalactones. *Z. Naturforsch C. J. Biosci.* 58:681-686.
- Gouda, N.A.A., Saad, M.M.G. and Abdelgaleil, S.A.M. 2016. Pre and post herbicidal activity of monoterpenes against barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*). *Weed Sci.* 64:191-200.
- Goudey, J.S., Saini, H.S. and Spencer, M.S. 1987. Seed germination of wild mustard (*Sinapis arvensis*): factors required to break primary dormancy. *Can. J. Bot.* 65:849-852
- Hanlidou, E., Karousou, R. and Lazari, D. 2012. Essential oils of three taxa of the *Nepeta argolica* Aggregate from Greece. *Chem. Biodivers.* 9:1559-1566.
- Ibáñez M.D. and Blázquez. M.A. 2017. Herbicidal value of essential oils from oregano-like flavor species. *Food Agric. Immunol.* 28:1168-1180.
- Jamzad, Z. 2012. Flora of Iran: Lamiaceae. 76:577-580.

- Kaur, S., Singh, H.P., Mittal, S., Batish, D.R. and Kohli, R.K. 2010. Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide. *Ind. Crops Prod.* 32:54-61
- Kokdil, G., Kurucu, S. and Yildiz, A. 1998. Essential oil composition of *Nepeta nuda* L. ssp. *nuda*, *Flavour Frag. J.* 13:233-234.
- Li, H., Pan, K., Liu, Q. and Wang, J. 2009. Effect of enhanced Ultraviolet-B on allelopathic potential of *Zanthoxylum bungeanum*. *Hort. Sci.* 119:310-314.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148:350-382.
- Mao, L., Henderson, G. and Laine, R.A. 2004. Germination of various weed species in response to vetiver oil and nootkatone. *Weed Tech.* 18:236-267.
- Mahdavia F. and Saharkhiz M.J. 2015. Phytotoxic activity of essential oil and water extract of peppermint (*Mentha × piperita* L. CV. Mitcham). *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants.* 2:146-153.
- Muller, C.H., Muller, W.H. and Haines, B.L. 1964. Volatile growth inhibitors produced by aromatic shrubs. *Science.* 143:471-473.
- Mutlu, S. and Atici, O. 2009. Allelopathic effect of *Nepeta meyeri* Benth. extracts on seed germination and seedling growth of some crop plants. *Acta Physiol. Plant.* 31:89-93.
- Mutlu, S., Atici, O. and Esim, M. 2010. Bioherbicidal effects of essential oil of *Nepeta meyeri* Benth. on weed spp. *Allelopathy J.* 26:291-299.
- Mutlu, S., Atici, O., Esim, N. and Mete, E. 2011. Essential oils of catmint (*Nepeta meyeri* Benth.) induce oxidative stress in early seedlings of various weed species. *Acta Physiol. Plant.* 33:943-951.
- Rustaiyan, A. and Nadji, K. 1999. Composition of the essential oils of *Nepeta ispanhanica* Boiss. and *Nepeta binaludensis* Jamzad from Iran. *Flav. Fragr. J.* 14:35-37.
- Rustaiyan, A., Komeilizadeh, H., Monfared, A., Nadji, K., Masoudi, S. and Yari, M. 2000. Volatile constituents of *Nepeta denudata* Benth. and *N. cephalotes* Boiss. from Iran. *J. Essent. Oil Res.* 12:459-461.
- Saharkhiz, M.J., Esmaceli, S. and Merikhi, M. 2010. Essential oil analysis and phytotoxicity of two ecotypes of *Zataria multiflora* Boiss. growing in Iran. *Nat. Prod. Res.* 24:1598-1609.
- Salimi, H. and Ghorbani, M. 2001. A study on germination of *Avena luoviciana* and the effective factors in seed dormancy. *Rostaniha.* 2:37 - 40. (In Persian)
- Sajjadi, S.E. 2005. Analysis of the essential oil of *Nepet asintensisii* Bornm. from Iran. *Daru.* 13:61-4.
- Sefidkon, F., Dabiri, M. and Alamshahi, A. 2002. Analysis of the essential oil of *Nepeta fissa* CA Mey from Iran. *Flav. Fragr. J.* 17:89-90.
- Sefidkon, F. and Shaabani, A. 2004. Essential oil composition of *Nepeta meyeri* Benth. from Iran. *Flavour Fragr. J.* 19:236-238.
- Sefidkon, F., Jamzad, Z. and Mirza, M. 2005. Chemical composition of the essential oil of five Iranian *Nepeta* species (*N. crispa*, *N. mahanensis*, *N. ispanhanica*, *N. eremophila* and *N. rivularis*). *Flav. Fragr. J.* 21:764-767
- Singh, H.P., Batish, D.R. and Kohli, R.K. 2003. Allelopathic interactions and allelochemicals: New possibilities for sustainable weed management. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 22:239-311.
- Singh, H.P., Batish, D.R., Setia, N. and Kohli, R.K. 2005. Herbicidal activity of volatile essential oils from *Eucalyptus citriodora* against *Parthenium hysterophorus*. *Ann. Appl. Biol.* 146:89-94.
- Singh, H.P., Batish, D.R., Kaur, S., Kohli, R.K. and Arora, K. 2006a. Phytotoxicity of volatile monoterpene citronellal against some weeds. *Z. Naturforsch.* 61:334-340.
- Singh, P.H., Batish, R.D., Kaur, S., Arora, K. and Kohli, K.R. 2006b. α -pinene inhibits growth and induces oxidative stress in roots. *Ann. Bot.* 98:1261-1269.
- Sonboli, A., Salehi, P. and Allahyari, L. 2005. Essential oil composition of *Nepeta involucrate* from Iran. *Chem. Nat. Comp.* 41:683-5.
- Streibig, J.C., Rudemo, M. and Jensen, J.E. 1993. Dose-response curves and statistical models, in *Herbicide Bioassays*, ed. by Kudsk, P. and Streibig, J.C. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 29-55.
- Taban, A., Saharkhiz, M.J. and Hadian, J. 2013. Allelopathic potential of essential oils from four *Satureja* spp. *Biol. Agric. Hortic.* 29:244-257.
- Tucker, A.O. and Tucker, S.S., 1988. Catnip and the catnip response. *Econ. Bot.* 42:214-231.
- Tworokoski, T. 2002. Herbicide effects of essential oils. *Weed Sci.* 50:25-431.
- Verdeguer, M., García-Rellán, D., Boira, H., Pérez, E., Gan-dolfo, S. and Blázquez, M.A. 2011. Herbicidal activity of *Peumus boldus* and *Drimys winterii* essential oils from Chile. *Molecules.* 16:403-411.
- Vokou, D. 2007. Allelochemicals, allelopathy and essential oils: A field in search of definitions and

-
- structure. Allelopathy J. 19:119-134.
- Vurro, M., Boari, A., Evidente, A., Andolfi, A. and Zermane, N., 2009. Natural metabolites for parasitic weed management. Pest Manag. Sci. 65:566-571.
- Zhao, L.J., Yang, X.N., Lix, Y., Mu, W. and Liu, F. 2011. Antifungal, insecticidal and herbicidal properties of volatile components from *Paenibacillus polymyxa* strain BMP-11. Agri. Sci. China. 10:728-736.