بررسی پتانسیل علف کشی اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis*) بر علف های هرز *Cynodon dactylon* و *Loloium perenne*

آیت اله رضایی*، شاهپور خانقلی
گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
arezaei@shahed.ac.ir

چکیده- پتانسیل علف کشی طبیعی اسانس رزماری بر رشد و مقدار کلروفیل گیاهچه علفهای هرز *Cynodon dactylon* و *Lolium perenne* در شرایط آزمایشگاهی و خاک مورد بررسی قرار گرفت. پس از استخراج اسانس، غلظت های ۱۰۰، ۶۰۰، ۱۲۰۰و ۲۴۰۰ ppm از آن تهیه و روی علفهای هرز تیمار گردید. نتایج نشان داد که در هر دو شرایط آزمون با افزایش غلظت اسانس میزان جوانه زنی، رشد ریشه چه و شاخساره و مقدار کلروفیل در علفهای هرز کاهش یافت. در شرایط خاک، اثرات منفی اسانس تا غلظت ۶۰۰ ppm تعدیل گردید. اثرات منفی اسانس روی *Cynodon dactylon* نسبت به *Lolium perenne* بیشتر بود.

کلید واژه: رزماری، اسانس، علف کش طبیعی، رشد، علف هرز

مقدمه

علف های هرز باعث کاهش کمی و کیفی تولیدات کشاورزی شده و خسارت های اقتصادی زیادی به کشاورزان وارد می کنند. کنترل علف های هرز به روشهای مختلف مکانیکی، شیمیایی و بیولوژیک میتواند صورت می گیرد. روش های شیمیایی مستلزم استفاده از علف کش های مصنوعی بوده که بطور وسیعی مورد استفاده قرار می گیرد. به عنوان مثال در سال ۲۰۰۲ تقریباً ۲۸ میلیارد دلار علف کش که ۴۷ درصد ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در کشاورزی را تشکیل می دهد در مقیاس جهانی استفاده شده است (Anon. 2003). متاسفانه استفاده بی رویه این ترکیبات در دهه های اخیر منجر به اثرات سم شناختی مختلف روی محیط زیست و موجودات زنده از جمله انسان گردیده است. علاوه براین گزارشاتی در خصوص ظهور سریع جمعیت های علف هرز مقاوم به چنین علف کش هایی وجود دارد. برای مقابله با این مشکلات امروزه تلاش بر کاهش اتکا به علف کش های مصنوعی و تغییر جهت به سمت کشاورزی پایدار به عنوان جزئی از مدیریت تلفیقی علف های هرز (Integrated weed management) است. امروزه محققین بدنبال ترکیباتی هستند که موثر، سازگار با محیط زیست و دارای شیوه های عمل جدید بوده و بتواند جایگزین علف کش های مصنوعی موجود شود (Duke et al.

2000). بنابراین تعداد کثیری از ترکیبات و فراورده های طبیعی به عنوان علف کش های زیستی ممکن مورد بررسی قرار می گیرند. در بین ترکیبات طبیعی، اسانسها که از اجزای گیاهان معطره و دارویی می باشند برای کشف علف کش های جدید مورد بررسی قرار می گیرند چونکه در خاک پایدار نبوده، آبهای زیر زمینی را آلوده نکرده و باعث سمیت در انسان و دیگر پستانداران نمی شوند (Isman 2000). مشخص شده است که اسانس ها در ویژگی های آللوپاتیک (دگر آسیبی) گیاهان تولید کننده این نوع ترکیبات نقش دارند (Vokou 1999). همچنین تورکوسکی (۲۰۰۰) خاطر نشان کرده است که اسانس ها میتوانند به عنوان تکنولوژی زیستی کنترل علف های هرز در سیستم های کشاورزی ارگانیک و پایدار مورد استفاده قرار گیرند.

با توجه به پتانسیل بالای تنوع گیاهان معطره و دارویی کشور و عواقب وخیم زیست محیطی استفاده گسترده از سموم شیمیایی برای کنترل علف های هرز، ضرورت پژوهش پیرامون ترکیبات زیست تجزیه پذیر و بکارگیری مبتنی بر دانش آنها در عرصه ملی و کشاورزی کاملاً مشهود است. بدین منظور گیاه رزماری به عنوان یکی از گیاهان مطرح اسانس دار که کاربردهای متعددی در عرصه های دارویی، بهداشتی، کشاورزی و فضای سبز دارد انتخاب گردید، اسانس آن استخراج و سپس اثر آن بر رشد علف های هرز *Cynodon dactylon* و *Loloium prenne* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه و استخراج اسانس

بخش های هوایی گیاه معطر و اسانس دار رزماری (*Rosmarinus officinalis*) شامل ساقه، برگ ها و گلها در تیرماه جمع آوری و سپس در سایه و در دمای آزمایشگاه به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند. نمونه های خشک شده ابتدا به قطعات ریز تبدیل شده و سپس از آنها به کمک دستگاه کلونجر (طرح دارونامه بریتانیا) به روش تقطیر با بخار آب به مدت ۴ ساعت اسانس گیری به عمل آمد. پس از استخراج اسانس، برای جداسازی آب از آن به کمک سدیم سولفات خشک، آبگیری بعمل آمد. برای نگهداری نمونه های اسانس از شیشه های درب دار تیره رنگی استفاده شد و تا زمان مورد نیاز در یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفتند.

تهیه محلول اسانس و اعمال تیمار

با توجه به عدم انحلال اسانس در آب، برای بالا بردن حلالیت، حجم مشخصی از آن در حلال هگزان حل گردید. سپس به نسبت ۱۰ به ۱ به محلول ایجاد شده آب مقطر اضافه گردید. به مخلوط فوق ضمن هم زدن به آرامی و قطره قطره ماده امولسیون کننده توین اضافه شد عمل اضافه کردن تا زمان ایجاد محلولی شفاف ادامه یافت که به معنی تک فاز شدن آن و انحلال کامل بود. از حلال منهای اسانس به عنوان تیمار کنترل استفاده گردید. در این مطالعه اثر غلظت های ۱۰۰، ۶۰۰، ۱۲۰۰و ۲۴۰۰ ppm اسانس گیاه رزماری بر مراحل اولیه رشد علف های هرز مرغ (*Cynodon dactylon*) و *Loloium prenne* بررسی گردید. آزمایش در دو بخش آزمایشگاهی و در خاک صورت گرفت. طرح آماری بکار رفته طرح کرت های کاملا تصادفی با سه تکرار بود. بذرهای علف های هرز ابتدا با محلول هیپوکلریت سدیم با غلظت ۱ درصد ضد عفونی و سپس با آب مقطر استریل چندین بار شستشو شد. سپس از هر یک ۵۰ عدد بذر در هر ظرف پتری روی کاغذ صافی یا در گلدان (خاک شامل رس، ماسه و خاکبرگ به ترتیب با نسبت ۱:۱:۲) کشت گردید. برای بذرهای کشت شده در ظروف پتری در آزمایشگاه ابتدا از ۵ میلی لیتر محلول حاوی اسانس استفاده شد و سپس یک روز در میان ۲/۵ میلی لیتر از محلول مذکور به آنها افزوده گردید. برای بذرهای کشت شده در گلدان (خاک) نیز ابتدا ۲۵ میلی لیتر محلول حاوی اسانس به کار گرفته شد و سپس یک روز در میان به آنها ۱۰ میلی لیتر از محلول فوق الذکر افزوده گردید. حجم گلدان استفاده شده ۰/۲۵ لیتر بود. ظروف پتری حاوی بذرها در اتاقک رشد با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. شدت روشنایی حدود ۱۵۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه و رطوبت حدود ۷۵ درصد بود.

زیست سنجی رشد و اندازه گیری مقدار کلروفیل

پس از گذشت ۱۰ روز از شروع آزمایش، صفات مربوط به مراحل اولیه رشد که نقش مهمی در استقرار علف های هرز

دارند، شامل درصد جوانه زنی، رشد ریشه چه، رشد ساقه چه و همچنین محتوی کلروفیل گیاهک ها اندازه گیری گردید. برای اندازه گیری کلروفیل از ۲۰۰ میلی گرم نمونه تازه استفاده شد، استخراج آن به روش (Hiscox and Israelstam 1979) صورت گرفت و مقدار آن به روش (Arnon 1949) تعیین شد و بر اساس وزن خشک بیان گردید.

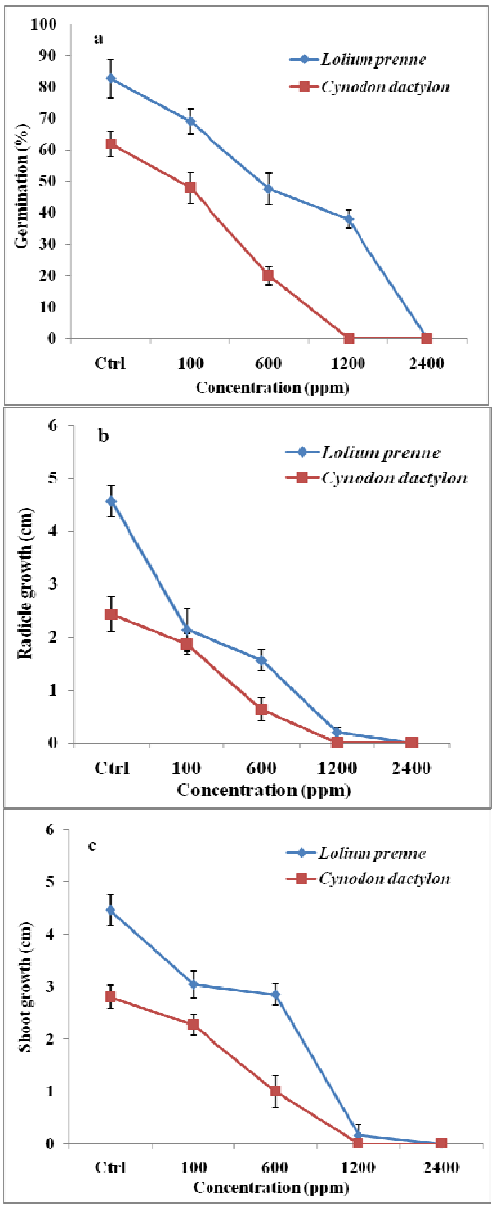
نتایج

آزمون در آزمایشگاه

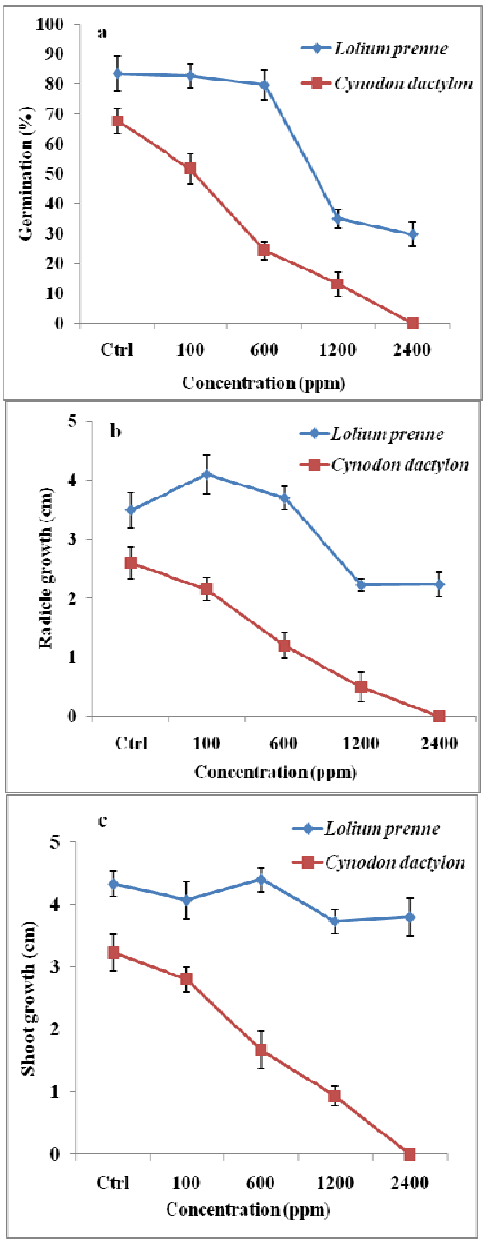
همان طوری که شکل ۱ نشان می دهد در آزمایشات صورت گرفته در آزمایشگاه، با افزایش غلظت اسانس، درصد جوانه زنی علف های هرز کاهش یافت و در غلظت ppm ۲۴۰۰ بذرهای هیچ کدام از علف های هرز جوانه نزد. همچنین جوانه زنی بذر علف هرز *Cynodon dactylon* بیشتر تحت تاثیر اثرات منفی اسانس قرار گرفت. رشد گیاهچه ها شامل رشد ریشه چه و شاخساره نیز تحت تاثیر اسانس قرار گرفت و با افزایش غلظت آن در مورد هر دو علف هرز کاهش نشان داد. در این خصوص رشد گیاهچه های علف هرز *Cynodon dactylon* بیشتر تحت تاثیر قرار گرفت. با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده گردید که اثرات منفی اسانس روی رشد ریشه چه ها در مقایسه با شاخساره تا حدودی بیشتر بود.

آزمون در خاک

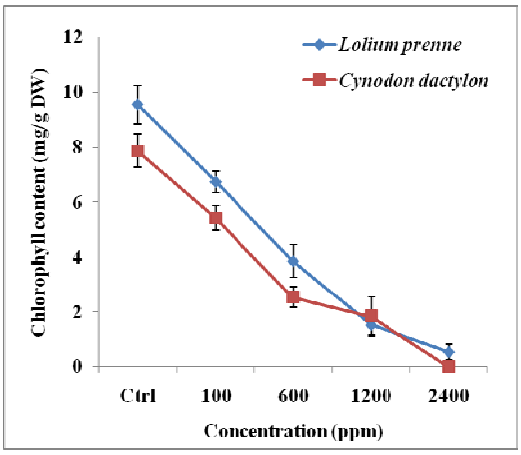
میزان جوانه زنی بذرهای هر دو گونه علف هرز در محیط خاک با افزایش غلظت اسانس کاهش نشان داد و مشاهده گردید که اثرات منفی اسانس روی این صفت در علف هرز *Cynodon dactylon* بیشتر بود. به طوریکه در غلظت ppm ۲۴۰۰ اسانس، هیچ گونه جوانه زنی در این گیاه مشاهده نشد و تا غلظت ppm ۶۰۰ نیز جوانه زنی بذرهای علف هرز *Loloium prenne* کاهش محسوسی نشان نداد. رشد گیاهچه های علف های هرز مورد بررسی به طور متفاوتی تحت تاثیر اسانس قرار گرفت. رشد ریشه چه و شاخساره در علف هرز *Cynodon dactylon* با افزایش غلظت اسانس شدیداً کاهش یافت. در خصوص *Loloium prenne* رشد ریشه چه و شاخساره تا غلظت ppm ۶۰۰ اسانس تقریباً بدون تغییر ماند اما در غلظت های بالاتر این صفات کاهش نشان دادند و این کاهش در خصوص ریشه چه بیشتر بود.



شکل ۱: تغییر میزان جوانه زنی (a)، رشد ریشه چه (b) و شاخساره (c) گیاهچه های علف های هرز *Cynodon dactylon* و *Loloium prenne* تحت اثر غلظت های مختلف اسانس گیاه رزماری در شرایط آزمایشگاه. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SD ± (انحراف معیار) می باشد.



شکل ۲: تغییر میزان جوانه زنی (a)، رشد ریشه چه (b) و شاخساره (c) گیاهچه های علف های هرز *Cynodon dactylon* و *Loloium prenne* تحت اثر غلظت های مختلف اسانس گیاه رزماری در شرایط خاک. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SD ± (انحراف معیار) می باشد.



شکل ۳: تغییر میزان کلروفیل گیاهچه های علف های هرز *Cynodon dactylon* و *Loloium prenne* تحت اثر غلظت های مختلف اسانس گیاه رزماری در شرایط خاک. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SD ± (انحراف معیار) می باشد.

میزان تشکیل کلروفیل نیز در گیاهچه های هر دو علف هرز شدیداً تحت تاثیر اسانس قرار گرفت و با افزایش غلظت آن مرتباً کاهش یافت (شکل ۳).

بحث

اسانس ها برای تهیه دارو، کنترل حشرات مضر، فعالیت ضد میکروبی و اخیراً به عنوان آللوکمیکال در کشاورزی مورد استفاده قرار می گیرند (Batish et al. 2008). سابان و همکاران (۲۰۰۵) فعالیت های ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس چند گونه درمنه شامل *A. dracunculus*، *A. spicigera*، *A. santonicum* و *A. absinthium* را بررسی کردند. آنها مشاهده کردند که این اسانس ها دارای فعالیت قوی ضد قارچی روی رشد قارچهای پاتوژن کشاورزی دارند. در خصوص فعالیت ضد باکتریایی اسانس ها، اسانس *A. santonicum* و *A. spicigera* تاثیر بیشتری داشتند. همچنین سینگ و همکاران (۲۰۰۵) اثر اسانس برگ های نوعی اوکالیپتوس به نام *Eucalyptus citriodora* را روی علف هرز *Parthenium hysterophorus* بررسی کردند. آنها مشاهده کردند که جوانه زنی، رشد گیاهک و مقدار کلروفیل علف هرز با افزایش غلظت اسانس کاهش یافت. مکانیسمی که توسط آن اسانس رزماری رشد و بیوسنتز کلروفیل را در

علفهای هرز در این مطالعه مهار نمود معلوم نیست و نیازمند پژوهش های بیشتر است. اما برخی از مطالعات نشان داده اند که مونوترپن های موجود در اسانس نظیر سینئول ها، مهار کننده های قوی میتوز هستند (Baum et al. 1998, Romagni et al. 2000). بنابراین از دست دادن یا اختلال در فعالیت میتوزی ممکن است مکانیسم کاهش مشاهده شده در جوانه زنی و رشد گیاهچه های علف های هرز در مطالعه حاضر باشد. علاوه بر این مکانیسم تاثیر اسانس رزماری روی بیوسنتز و محتوای کلروفیل علفهای هرز مشخص نیست. با این حال، کاهش قابل توجه در محتوای کلروفیل به احتمال زیاد بازده فتوسنتز گیاهچه ها را کاهش داده و بدنبال آن کاهش رشد مشاهده گردید.

کشاورزی رایج در چند دهه اخیر با کمک فناوری های نوین (استفاده از ابزار و ماشین آلات کشاورزی بهتر، استفاده از سموم جدیدتر و موثرتر و آموزش نیروی انسانی) در زمینه تامین غذای جمعیت روز افزون جهان پیشرفت های زیادی داشته است. با این وجود، آلودگی منابع آب، خاک، هوا و نگرانی مصرف کنندگان از سلامت و کیفیت مواد غذایی و همچنین برهم خوردن تعادل نظامهای اکولوژیکی به دلیل مداخله غیرمسئولانه در آن، از پیامدهای این پیشرفت بوده است. در این بین شاید بیشترین آسیب از طرف کشاورزی به محیط زیست و منابع طبیعی از طریق استفاده از سموم شیمیایی وارد شده است.

با توجه به مشکلاتی که استفاده از ترکیبات سنتزی شیمیایی در زمینه های مختلف کشاورزی و پزشکی و ... موجب شده اند، گرایش به سمت ترکیبات طبیعی دارای همان خاصیت افزایش یافته است. اسانس های گیاهی یک دسته از این مواد هستند که نشان داده اند دارای خواص بیولوژیکی فراوانی هستند. با توجه به تنوع و پتانسیل بالای گیاهان اسانس دار در کشور، پژوهش بیشتر در این زمینه برای بهره گیری از این ظرفیت جهت تولید ترکیبات زیست سازگار با فعالیت علف کشی، ضروری بنظر می رسد.

Evaluation of herbicidal potential of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil on *Cynodon dactylon* and *Lolium perenne* weeds

Ayatollah Rezaei*, Shahpour Khangholi
Department of Horticulture, Faculty of agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran
arezaei@shahed.ac.ir

Abstract- Natural herbicidal potential of rosemary essential oil on growth and chlorophyll content of *Cynodon dactylon* and *Lolium perenne* weeds seedling in laboratory and soil conditions was studied. After essential oil extraction, concentrations of 100, 600, 1200 and 2400 ppm were prepared and treated on the weeds. Results showed that in both test conditions with increasing oil concentration, germination rate, radicle and shoot growth and chlorophyll content decreased in the weeds. At soil conditions, the negative effects of essential oil upto 600 ppm concentration were adjusted. Negative effects of the essential oil on *Cynodon dactylon* was more than *Lolium perenne.*

Key words: Rosemary, Essential oil, Natural herbicide, Growth, Weed

References

Anon. 2003. Agrochemical sales flat in 2002. *Agrow: World Crop Protection News*: February 26–28 March 2003.

Arnon D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24: 1–15.

Batish D.R., Singh H.P., Kohli R.K., Kaur S. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. Forest Ecol. Manage. 256: 2166-2174.

Baum S.F., Karanastasis L., Rost T.L. 1998. Morphogenetic effects of the herbicide Cinch on *Arabidopsis thaliana* root development. J Plant Growth Regul. 17:107–114.

Duke S.O., Dayan F.E., Romagni J.G., Rimando A.M. 2000. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. Weed Res. 40: 99–111.

Hiscox T.D., Israelstam G.F. 1979. A method for extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Can. J. Bot. 57: 1332–1334.

Isman M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Prot. 19: 603–608.

Romagni J.G., Allen S.N., Dayan F.E. 2000. Allelopathic effects of volatile cineoles on two weedy plant species. J. Chem. Ecol. 26:303–313.

Saban K., Kotan R., Mavi A., Cakir A., Ala A., Yildirim A. 2005. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, *A. dracunculus*, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. J. Agric. Food Chem. 53: 9452–9458.

Singh H.P., Batish D.R., Setia N., Kohli R.K. 2005. Herbicidal activity of volatile oils from *Eucalyptus citriodora* against *Parthenium hysterophorus.* Ann. Appl. Biol. 146: 89–94.

Tworkoski T. 2002. Herbicide effects of essential oils. Weed Sci. 50:425–431.

Vokou D. 1999. Essential oils as allelochemicals: research advances in Greece. In *Allelopathy Update*. *Vol. 2. Basic and Applied Aspects*, pp. 47–63. Ed. S S Narwal. New York: Science Publishers.