Research Article

Iranian Journal of Seed Research, 2025, 11(2): 41-62

Studying the allelopathic potential of *Caccinia macranthera* on the germination, growth, physiological, and biochemical traits of *Pisum sativum*

Karim Dosieni[1], Ebrahim Gholamalipour Alamdari[*2], Ziba Avarseji[2], Ali Nakhzari Moghaddam[2], Masoumeh Naeemi[3]

Extended abstract

Introduction: Borage plant (*Caccinia macranthera*) belongs to the family of Boraginaceae. Botanically, it is an annual, herbaceous, and wild plant. Secondary metabolites are often limited to a small group of plants within a species whose bioactive compounds, unlike primary metabolites, are found in specific organs or phenological stages of plants. Borage plant shows potent antioxidant, antibacterial and medicinal properties and it has high biomass in the arid and semi-arid regions of the eastern areas of the Golestan province. Usually, the release of allelopathic compounds from some wild plants and weeds into the environment, poses a serious challenge to the germination, morphological, and physiological characteristics of crops and even weeds. This study was conducted to evaluate the allelopathic potential of *C. macranthera* on germination, seedling growth, physiological, biochemical characteristics, and antioxidant activity of *Pisum sativum* as a plant sensitive to allelochemicals.

Materials and Methods: The experiment was carried out based on a completely randomized design with three replications in 2024. For extracting, 5 g of the whole powdered *C. macranthera* (by weight) was mixed with 100 mL of distilled water (by volume). Then different concentrations (i.e., 20, 40, 60, 80 and 100%) were prepared from the extract obtained from the base solution. Distilled water was also used as a control sample.

Results: The results showed that germination characteristics such as percentage and rate of germination, length of radicle, plumule and seedling, allometric coefficient, seedling length vigor index, dry weight of radicle, plumule and seedling, seedling weight vigor index in addition to the total chlorophyll pigment content of *P. sativum* were significantly reduced under different concentrations of *C. macranthera*. In contrast, the mean time to 50% germination of *P. sativum* increased with increasing the concentration of aqueous extract of *C. macranthera*. So that the difference in the effect of different concentrations of *C. macranthera* was dependent on their concentration threshold. This may be due to the accumulation of more harmful compounds present in the aqueous extract with increasing concentration, especially alkaloids and phenol. The physiological characteristics such as adaptive osmolytes (proline content and soluble sugars), total phenol, and antioxidant activity in *P. sativum* radicle and plumule had an increasing trend under allelopathic stress of *C. macranthera* aqueous extract. Therefore, the decrease in germination characteristics and seedling growth of pea can be related to the insufficiency of these protectors against high oxidative stress of *C. macranthera*.

Conclusions: Considering the demonstrated harmful effects of wild plant of *C. macranthera* and its high biomass in arid and semi-arid regions, especially in the east of Golestan province. It may be possible to use the bioactive compounds in this plant as an environmentally friendly herbicide. Further studies are needed to confirm its positive effects on other species before its application as a bioherbicide.

Keywords: Antioxidant activity, Chlorophyll, Extract, Germination rate, Proline, Total phenol

***Highlights*:**

1. The difference in the accumulation of allelopathic compounds of the aqueous extract from *C. macranthera* causes a different reduction effect in morphophysiological traits *Pisum sativum*.
2. The bioactive compounds in *C. macranthera* can be a suitable option for the production of environmentally friendly herbicide.

[1]Student in Weed Science, Plant Production Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.
[2]Associate professor, Plant Production Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.
[3]Asistance professor, Plant Production Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

*Corresponding author, E-mail: eg.alamdari@gonbad.ac.ir

Received: 7.7.2024; Revised: 17.11.2024;
Accepted: 20.11.2024; Online Published: 21.3.2025

http://dx.doi.org/10.61882/yujs.11.2.41

ISSN: 2383-1480 (On-Line); 2383-1251 (Print)

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

مقاله پژوهشی

پژوهش‌های بذر ایران/ سال یازدهم/ شماره دوم/ ۱۴۰۳/ صفحات: ۶۲-۴۱

بررسی توان دگرآسیبی گیاه گاوزبان آسا (*Caccinia macranthera*) بر خصوصیات جوانه‌زنی، رشدی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نخود فرنگی (*Pisum sativum*)

کریم دزینی[۱]، ابراهیم غلامعلی‌پور علمداری[۲،*]، زیبا اورسجی[۲]، علی نخزری مقدم[۲]، معصومه نعیمی[۳]

چکیده مبسوط

مقدمه: گیاه گاوزبان آسا با نام علمی *Caccinia macranthera* از خانواده **Boraginaceae** و از لحاظ گیاه‌شناسی، یک‌ساله، علفی و خودرو است. متابولیت‌های ثانویه اغلب به یک گروه کوچک از گیاهان درون یک گونه منحصر می‌شوند که ترکیبات زیست فعال حاصل از آن‌ها برخلاف متابولیت‌های اولیه در اندام‌ها و یا مراحل فنولوژیک خاصی از گیاهان یافت می‌شوند. گیاه گاوزبان آسا، با دارا بودن خواص پاداکسیدانی، پاد باکتریایی و دارویی از زیست‌توده زیاد در مناطق خشک و نیمه‌خشک شرق استان گلستان برخوردار می‌باشد. معمولاً رهاسازی ترکیبات دگرآسیبی از برخی از گیاهان خودرو و هرز به محیط، خصوصیات جوانه‌زنی و ریخت شناسی و فیزیولوژیک محصولات زراعی و حتی علف‌های هرز را با چالش جدی روبرو می‌سازد. این تحقیق به‌منظور ارزیابی پتانسیل دگرآسیبی گیاه گاوزبان آسا بر خصوصیات جوانه‌زنی، رشد گیاهچه‌ای، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و فعالیت پاداکسیدانی نخود فرنگی به‌عنوان گیاه حساس به ترکیبات دگرآسیب رسان انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۴۰۳ انجام شد. برای عصاره‌گیری، ۵ گرم از پودر کل گیاه گاوزبان آسا (وزنی) با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال آب مقطر (حجمی)، مخلوط شد. سپس از عصاره به‌دست آمده از محلول پایه، غلظت‌های مختلف (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد) تهیه شد. از آب مقطر خالص نیز به‌عنوان نمونه شاهد استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که خصوصیات جوانه‌زنی نظیر درصد جوانه‌زنی، نرخ جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه، ضریب آلومتریک، شاخص طولی بنیه گیاهچه، وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه، شاخص وزنی بنیه گیاهچه و به‌علاوه محتوای رنگیزه کلروفیل کل نخود فرنگی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه گاوزبان آسا کاهش یافت. در مقابل، متوسط زمان رسیدن نخود فرنگی به ۵۰ درصد از جوانه‌زنی با افزایش غلظت عصاره آبی، افزایش نشان داد. به‌طوری‌که تفاوت در تأثیر غلظت‌های مختلف گیاه گاوزبان آسا وابسته به حد آستانه غلظت آن‌ها بود. این امر احتمالاً به‌دلیل تجمع بیشتر ترکیبات دگرآسیب حاضر در عصاره آبی به‌ویژه آلکالوئیدها و فنول‌ها با افزایش غلظت می‌باشد. صفات فیزیولوژیک نظیر اسمولیت‌های سازگار (محتوای پرولین و قندهای محلول)، فنول کل و فعالیت پاداکسیدانی در ریشه‌چه و ساقه‌چه نخود فرنگی تحت تنش دگرآسیبی عصاره آبی نیز از روند افزایشی برخوردار بودند. بنابراین کاهش در خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای نخود فرنگی را می‌توان به عدم کفایت این حفاظت کننده‌ها در برابر تنش اکسیداتیو زیاد گاوزبان آسا مرتبط دانست.

نتیجه‌گیری: باتوجه به اثبات اثر دگرآسیبی گیاه خودرو گاوزبان آسا و درا بودن زیست‌توده زیاد در مناطق خشک و نیمه‌خشک به‌ویژه در شرق استان گلستان، شاید بتوان از ترکیبات زیست فعال موجود در این گیاه به‌عنوان علفکش سازگار با محیط زیست استفاده نمود. این امر نیازمند اثبات اثر مثبت آن بر سایر گونه‌ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، عصاره، فنول کل، فعالیت پاداکسیدانی، کلروفیل، نرخ جوانه‌زنی

جنبه‌های نوآوری:

۱- تفاوت در تجمع ترکیبات دگرآسیب ناشی از غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا سبب اثر کاهشی متفاوت در صفات مورفوفیزیولوژیک در نخود فرنگی می‌شود.

۲- ترکیبات زیست فعال موجود در گاوزبان آسا می‌توانند به‌عنوان گزینه مناسبی برای تولید علفکش‌های سازگار با محیط زیست باشند.

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم علف‌های هرز گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران.

[۲] دانشیاران گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران.

[۳] استادیاران گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران.

[*] رایانامه نویسنده مسئول: eg.alamdari@gonbad.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۱۷؛ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۸/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۳۰؛ تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۳/۱۲/۲۹

http://dx.doi.org/10.61882/yujs.11.2.41

شاپا: ۱۴۸۰-۲۳۸۳ (برخط)؛ ۱۲۵۱-۲۳۸۳ (چاپی)

مقدمه

گاوزبان آسا با نام علمی *Caccinia macranthera* از خانواده Boraginaceae است. از لحاظ گیاه‌شناسی، گیاهی یک‌ساله، علفی و خودرو است که برگ‌های آن شبیه برگ زیتون بوده و ریشه آن سیاه رنگ می‌باشد. ریشه‌های این گیاه بعد از حدود ۱۰ سانتی‌متر نفوذ در خاک، ۳۰ تا ۵۰ سانتی‌متر به‌صورت افقی رشد می‌کند. در گذشته از گاوزبان آسا در ساخت ظروف نگهدارنده آب و غذا استفاده می‌شد (خوجه[1]، ۲۰۲۰).

به‌طور معمول، حضور گیاهانی از یک یا چند گونه در یک محیط تحت شرایطی که برای رشد و نمو آن‌ها ظرفیت کافی وجود نداشته باشد، ایجاد رقابت درون گونه‌ای و بین گونه‌ای قوی جهت دسترسی به نور، آب، مواد غذایی و غیره می‌نماید. در این رابطه، زمانی که گیاهی برای خارج کردن رقبای خود از قلمرو زندگی‌اش به مواد شیمیایی تکیه می‌کند، نوع خاصی از رقابت یا ارتباط گونه‌ای پیش می‌آید که به نام دگرآسیبی شناخته می‌شود (مردانی[2] و همکاران، ۲۰۱۴). این امر نتیجه تولید مولکول‌های فعال زیستی توسط گیاهان در حال رشد یا بقایای حاصل از آن‌ها می‌باشد که ممکن است پس از تغییر شکل و ورود به محیط بر جوانه‌زنی، رشد و توسعه افراد همان گونه تأثیر مستقیم یا غیرمستقیم بگذارند. به‌طوری‌که این اثرات مفید و یا مضر به‌واسطه ترکیبات شیمیایی است که دگرآسیب‌رسان شیمیایی[3] نام دارند (فیدر[4]، ۲۰۰۳). گیاهان این مواد دگرآسیبی را از طریق تجزیه بقایای گیاهی[5]، ترشحات ریشه‌ای[6]، آبشویی[7] و تبخیر[8] به محیط اطراف آزاد می‌کنند (رایس[9]، ۱۹۸۴).

عمل بازدارندگی دگرآسیبی پیچیده بوده و حاصل برهمکنش انواع ترکیب‌های شیمیایی مانند فنول‌ها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها، استروئیدها، کربوهیدرات‌ها و آمینواسیدها است. برهمکنش این ترکیبات در اکثر مواقع عملکرد برجسته‌تری نسبت به عملکرد تنهای آن‌ها دارد (ایندجیت و دوک[10]، ۲۰۰۳). ترکیبات فنولی از مهم‌ترین و رایج‌ترین دگرآسیب‌رسان‌های شیمیایی در طبیعت به‌شمار می‌روند و دارای گروه هیدروکسیل متصل به هیدروکربن‌های آروماتیک هستند (زنگ[11] و همکاران، ۲۰۰۸). این ترکیبات بر تعادل یونی، میزان فیتوهورمون‌ها، آنزیم‌ها، فتوسنتز و تنفس تأثیر می‌گذارند. در تحقیقات نشان داده است که ترکیبات فنولی نیز مانند سایر مواد شیمیایی دگرآسیب روی فرآیندهای مختلف فیزیولوژیک در گیاهان اثر می‌گذارند (کی‌ویلا[12] و همکاران، ۲۰۰۸).

بهداد[13] و همکاران (۲۰۱۵) در آزمایشی گزارش نمودند که کاربرد ترکیبات دگرآسیبی موجب مهار یا کاهش جوانه‌زنی، تقلیل سطح برگ، کاهش تولید ماده خشک، محتوای رنگیزه‌ها، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و در نتیجه کاهش و یا توقف رشد گیاهچه‌ها می‌شوند. عده‌ای دیگر از محققین نیز اظهار داشتند کـه با افزایش غلظت ترکیبات دگرآسیبی، درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای گیاهان کاهش بیشتری می‌یابد (توتنوکالی[14] و همکاران، ۲۰۲۲؛ میری و آرمین[15]، ۲۰۱۳). اسفندیاری[16] و همکاران (۲۰۲۳) نیز گزارش نمودند که عصاره اندام‌های مختلف گیاه قیچ (*Zygophyllum eurypterum* L.) تأثیر کاهنده‌ای روی صفات جوانه‌زنی و رشد گیاه زراعی گندم و علف‌هرز پیچک (*Convolvulus arvensis* L.) داشت. عبدی و عابدی[17] (۲۰۱۹) با مطالعه رفتار جوانه‌زنی بذر چاودار وحشی (*Secale cereale*) و دم روباهی (*Alopecurus ouroides*) تحت اثر دگرآسیب گیاهان نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)، کاسنی و مریم گلی (*Salvia officinalis*) گزارش نمودند که عصاره‌های این گیاهان دارای اثرات دگرآسیبی قوی‌تری بر رفتار جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های چاودار وحشی بود. در این مطالعه، کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به علف‌هرز دم روباهی بود

[1] Khojeh
[2] Mardani
[3] Allelochemical
[4] Fitter
[5] Plant decomposition
[6] Root exudation
[7] Leaching
[8] Volatilization
[9] Rice
[10] Inderjit and Duke
[11] Zeng
[12] Cayuela
[13] Behdad
[14] Tutenocakli
[15] Miri and Armin
[16] Esfandiari
[17] Abdi and Abed

که تحت عصاره نعناع فلفلی به‌دست آمد. صابری[1] و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی تأثیر دگرآسیبی آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus* Boiss and Hohe) بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های دو گونه شبدر سفید (*Trifolium repens* L.) و علف پشمکی (*Bromus tomentellus* Boiss) گزارش نمودند که با افزایش غلظت عصاره، درصد و سرعت جوانه‌زنی و موٴلفه‌های رشدی هر دو گونه مورد بررسی کاهش محسوس یافت.

در اصل بذرهای نخود فرنگی (*Pisum sativum* L.) از جمله بذرهایی است که به‌دلیل سرعت جوانه‌زنی زیاد به‌عنوان گیاه مرجع در سنجش‌های زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد (مندزا و سلزا[2]، ۲۰۲۲). به‌طورکلی، با توجه به‌سرعت تجزیه‌پذیری و ایمنی بالای ترکیبات ثانویه با منشاء زیستی، بهره‌وری از گیاهان با خاصیت‌های دگرآسیبی جهت تولید علفکش‌ها و آفتکش‌ها و حتی پاداکسیدان‌های زیستی ضروری به‌نظر می‌رسد (لی[3] و همکاران، ۲۰۰۳؛ قربانی[4] و همکاران، ۲۰۰۹). بطور معمول گیاهان زراعی به‌دلیل پوشش ضعیف و کارایی پایین در مصرف نور در ابتدای فصل رشد از سرعت جوانه‌زنی پایینی برخوردار می‌باشند، بنابراین تداخل علف‌های هرز از جمله رهاسازی ترکیبات دگرآسیب‌رسان شیمیایی به محیط پیرامونی محصولات زراعی، آن‌ها را با چالش جدی مواجه می‌سازند. بررسی منابع نشان می‌دهد که گاو زبان آسا از جمله گیاهان خودرو مهم در مناطق خشک و نیمه‌خشک شرق استان گلستان می‌باشد. در مجموع در زمینه شناسایی و خواص ترکیبات موثره گاوزبان آسا پژوهش‌هایی وجود دارد، اما تحقیقات پیرامون اثر دگرآسیبی آن بر گیاهان زراعی، علف‌های هرز و امکان استفاده از آن به‌عنوان پتانسیلی برای تهیه علفکش سبز و سازگار با محیط زیست در ایران انجام نشده است. بنابراین هدف از تحقیق حاضر، ارزیابی پتانسیل دگرآسیبی گاوزبان آسا بر صفات جوانه‌زنی، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و فعالیت پاداکسیدانی نخود فرنگی به‌عنوان بذرهای حساس به دگرآسیب‌رسان شیمیایی بود.

مواد و روش‌ها

مختصات جغرافیایی محل جمع‌آوری نمونه گیاهی، شناسایی و آماده‌سازی آن‌ها

نمونه‌های گاوزبان آسا از مناطق خشک و نیمه‌خشک گلیداغ واقع در شرق استان گلستان با طول جغرافیایی ۵۵ درجه، ۹۴ دقیقه و ۶۹ ثانیه و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه، ۶۴ دقیقه و ۳۲ ثانیه در مرحله فنولوژیکی رویشی جمع‌آوری شدند. در ابتدا، نمونه‌های گیاهی گاوزبان آسا توسط فلور رنگی ایران (قهرمان[5]، ۱۹۹۶) و کارشناس خبره سیستماتیک دانشگاه گنبدکاووس به‌طور دقیق مورد شناسایی گونه‌ای قرار گرفتند. در ادامه، قبل از خشک نمودن گیاه، خاک و ذرات گردو غبار روی نمونه‌های گیاهی با کمک برس برداشته شد. نمونه‌ها در نور غیر مستقیم در ابتدا نیمه پژمرده و سپس با کمک آون در دمای ۴۰ درجه سلسیوس (جهت جلوگیری از شکست دگرآسیب‌رسان‌های شیمیایی) تا رسیدن به وزن ثابت (۱۰ درصد وزن پایه تر) خشک گردیدند (کسرس[6]، ۲۰۰۰). در در ادامه، نمونه‌ها توسط آسیاب برقی خرد و سپس از الک‌هایی با مش ۴۰ (تعداد مربع در یک اینچ) عبور داده شدند و در پایان نمونه‌ها تا زمان شروع آزمایش در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار در شرایط یخچال نگه‌داری شدند.

روش تهیه عصاره آبی گاوزبان آسا

برای آماده‌سازی نمونه‌ها، ابتدا ۵ گرم از پودر کل اندام رویشی گاوزبان آسا (ریشه، ساقه و برگ) (وزنی) با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال آب مقطر (حجمی) عصاره‌گیری شدند. متابولیت‌های ثانویه نظیرآلکالوئیدها (قاسمی خلیل آباد و اکبرلو[7]، ۲۰۱۶)، فنول‌ها و اسانس‌ها (قنبری[8] و همکاران، ۲۰۲۳) در گاوزبان آسا گزارش شده است. در این مطالعه، محتوای متابولیت ثانویه فنول کل در عصاره اندام‌های ریشه، ساقه و برگ گاوزبان آسا به‌ترتیب ۳۹/۳۳، ۶۰/۰۷ و ۶۶/۲۳ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم نمونه خشک بوده است. در ادامه، نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه لرزاننده قرار داده و در مرحله بعد، با سرعت

[1] Saberi
[2] Mendoza and Salazar
[3] Li
[4] Ghorbani
[5] Ghareman
[6] Caceres
[7] Ghasemi Khalil Abad and Akbarlo
[8] Ghanbari

۱۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه، سانتریفیوژ (مدل NF 200) شدند. این امر به‌واسطه ممانعت از بالا رفتن دما و شکستن ساختار ترکیبات شیمیایی موجود در نمونه‌ها می‌باشد. در ادامه، از عصاره حاصل از محلول پایه، غلظت‌های مختلف ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد با کمک آب مقطر تهیه شدند. از آب مقطر خالص نیز به عنوان نمونه شاهد استفاده شد.

روش آزمایش‌های زیست‌سنجی در شرایط آزمایشگاهی

برای شروع آزمایش، بذرهای گواهی شده گیاه حساس به دگرآسیب‌رسان شیمیایی نخود فرنگی، رقم کرمانشاهی از شرکت پاکان بذر خریداری شد. سپس بذرها با هیپوکلریت سدیم ۰/۱ درصد برای مدت یک دقیقه سترون و به‌دنبال آن برای چندین مرتبه مورد شستشو قرار گرفتند. در ادامه، ۲۵ عدد بذر نخود فرنگی در پتری با قطر ۱۱ سانتی‌متر روی کاغذ صافی کشت شدند. ۵ میلی‌لیتر عصاره حاصل از غلظت‌های مختلف به محیط کشت پتری حاوی کاغذ صافی و بذرها (برای یک‌بار) به‌طور جداگانه اعمال شدند. پتری‌های کشت شده در شرایط اتاقک رشد با طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و تاریکی ۸ ساعت، شدت نور ۱۴۰۰۰ لوکس، رطوبت ۷۵ درصد و دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. نور قرمز اثر مثبتی در تحریک شکل‌گیری نوع فعال فیتوکروم‌ها (Pfr) دارد و این رنگدانه‌ها نقش فعالی در تبدیل نور به سیگنال‌های داخلی (بیوشیمیایی) ایفا می‌کنند (اوحدی[1] و همکاران، ۲۰۱۰؛ چن و کوری[2]، ۲۰۱۱). سپس تعداد بذرهای جوانه‌زده (ظهور جزئی جوانه‌ها با اندازه تقریبی ۳ میلی‌متر (غلامی و امینی دهقی[3]، ۲۰۲۲) درون هر پتری از روز دوم به‌طور روزانه در یک نوبت و در ساعت معین تا روز دهم ثبت گردیدند (ایستا[4]، ۲۰۰۳). این آزمایش‌ها، در آزمایشگاه‌های علوم علف‌های هرز و گیاه‌شناسی دانشگاه گنبدکاووس به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در سال ۱۴۰۳ انجام شد. در پایان این مدت، خصوصیات جوانه‌زنی، رشد گیاهچه‌ای، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و فعالیت پاداکسیدانی نخود فرنگی تحت تیمار به‌شرح ذیل مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

روش اندازه‌گیری خصوصیات جوانه‌زنی

درصد جوانه‌زنی با استفاده از رابطه ۱ مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (هاردگری و ون وکتر[5]، ۲۰۰۰).

رابطه ۱: $$GP = \sum_{i=1}^{n} \frac{ni}{N} \times 100$$

که در آن، GP: درصد جوانه‌زنی، n_i: تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز i ام، N: تعداد کل بذرها می‌باشد.

متوسط زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (MTG[6]) که شاخصی از سرعت و شتاب جوانه‌زنی محسوب می‌گردد از طریق رابطه ۲ به‌دست آمد (الیس و رابرتز[7]، ۱۹۸۱). همچنین نرخ جوانه‌زنی (سرعت)، عکس زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی می‌باشد بر اساس برنامه Germin محاسبه شد.

رابطه ۲: $$MTG = \sum_{i=1}^{n} \frac{Ni \times DI}{N}$$

Ni: تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز iام، Di: تعداد روز از شروع آزمون (هنگام کشت) تا شمارش i (پایان دوره آزمون) و N : تعداد کل بذرهای جوانه‌زده می‌باشد.

هم‌چنین طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه با خطکش میلی‌متری مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

ضریب آلومتریک (نسبت ریشه‌چه به ساقه‌چه) با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد.

رابطه ۳: $$\text{Allometric coefficient} = \frac{RL}{SL}$$

RL: طول ریشه‌چه، SL: طول ساقه‌چه برحسب میلی‌متر

برای اندازه‌گیری وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه نخود فرنگی، ابتدا ۱۰ نمونه در هر پتری به‌طور تصادفی انتخاب و سپس با کمک ترازوی دیجیتال با دقت یک‌هزارم مورد اندازه‌گیری و برحسب میلی‌گرم در بوته گزارش گردیدند.

[1] Ohadi
[2] Chen and Chory
[3] Gholami and Amini Dehagi
[4] ISTA
[5] Hardgree and Van Vactor
[6] Mean time to 50% germination
[7] Ellis and Roberts

شاخص طولی و وزنی بنیه گیاهچه نیز با استفاده از روابط ۴ و ۵ محاسبه گردیدند (عبدالباکی و اندرسن[1]، ۱۹۷۳).

رابطه ۴:

$$\text{شاخص طولی بنیه گیاهچه} = \frac{\text{طول گیاهچه} \times \text{درصد جوانه زنی نهایی}}{۱۰۰}$$

رابطه ۵:

$$\text{شاخص وزنی بنیه گیاهچه} = \frac{\text{وزن گیاهچه} \times \text{درصد جوانه زنی نهایی}}{۱۰۰}$$

روش اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک

بدین منظور، در پایان روز دهم از جوانه‌زنی (ثابت شدن بذرهای جوانه‌زده در تیمار شاهد)، مقدار معین از اندام تازه و یا خشک نمونه‌ها از میان ۲۵ عدد بذرهای جوانه‌زده انتخاب و سپس بر اساس روش استاندارد فیتوشیمیایی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

روش اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی

روش استون سرد[2] برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی انجام شد (آرنون[3]، ۱۹۴۹). بدین منظور، مقدار مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه برگچه‌های نخود فرنگی درون هر پتری با ۱۰ میلی‌لیتر استون سرد ۸۰ درصد به‌طور جداگانه کاملاً له شده و محلول حاصل با سرعت پایین ۱۰۰۰ دور در دقیقه (جهت جلوگیری از شکست دگرآسیب‌رسان‌های شیمیایی) به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ (مدل NF 200) شد. سپس فاز محلول از فاز رسوب جدا شده و با استون سرد ۸۰ درصد به حجم معین ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. مقداری از هر نمونه محلول داخل بالن را در کووت از جنس کوارتز به‌طور جداگانه ریخته و در نهایت مقدار جذب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر به‌ترتیب برای رنگیزه‌های کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدلBiochrom libera- S22) قرائت شد. سپس با استفاده از روابط ۶-۸ محتوای رنگیزه‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تازه نمونه برآورد شد.

رابطه ۶:

$$\text{Chlorophyll a} = [(19.3\times A663) - (0.86\times A645)\ V/100W]$$

رابطه ۷:

$$\text{Chlorophyll b} = [(19.3\times A645) - (3.6\times A663)\ V/100W]$$

رابطه ۸:

$$\text{Carotenoids} = [100(A470) - 3.27\ (\text{mg chl a}) - 104\ (\text{mg chl b})/227]$$

که در آن V: مقدار حجم محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ؛ W: وزن تازه نمونه برحسب گرم؛ A: مقدار جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر.

روش اندازه‌گیری محتوای پرولین

بدین منظور، ۵۰۰ میلی‌گرم از اندام تازه ریشه‌چه و ساقه‌چه نخود فرنگی با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد به‌طور جداگانه مخلوط و سپس مخلوط‌های حاصل با کاغذ صافی، صاف شدند. ۲ میلی‌لیتر از محلول‌های حاصل را در لوله آزمایش ریخته و سپس ۲ میلی‌لیتر اسید نایین هیدرین به آن‌ها اضافه شد. در ادامه، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هریک از محلول حاصل افزوده و به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه به‌خوبی تکان داده شدند، به‌طوری که لایه رویی زرد رنگ تولوئن نمایان گردید. سپس این لایه جدا و به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومترخوانده شد. در پایان، محتوای پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین برحسب میکرومول بر گرم وزن تازه نمونه تعیین شد (بیتس[4] و همکاران، ۱۹۷۳).

روش اندازه‌گیری محتوای قندهای محلول

اندازه‌گیری محتوای بر اساس روش کوکت[5] (۱۹۷۸) انجام شد. بدین منظور، ۰/۱ گرم از ماده خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه نخود فرنگی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به‌طور جداگانه مخلوط شدند. سپس به‌مدت یک هفته در یخچال نگهداری شدند تا قندهای محلول آن‌ها آزاد گردند. پس از یک هفته، از محلول رویی نمونه‌ها، یک میلی‌لیتر برداشته و حجم آن‌ها با آب مقطر به دو میلی‌لیتر رسانده شد. پس از اضافه کردن یک میلی‌لیتر فنل ۵ درصد، ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ بعد از گذشت ۴۵ دقیقه، میزان جذب نمونه‌های حاصل به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شدند. در پایان، محتوای قندهای محلول با استفاده از

[1] Abdul-Baki and Anderson
[2] Chill acetone
[3] Arnon
[4] Bates
[5] Kochert

منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه محاسبه شد.

روش اندازه‌گیری محتوای فنول کل

اندازه‌گیری محتوای فنول کل بر اساس روش فولین سیوکالتو انجام شد (ملک و سینگ[1]، ۱۹۸۰). بدین ترتیب که مقدار ۰/۱ گرم از پودر خشک حاصل از ریشه‌چه و ساقه‌چه نخود فرنگی تحت تیمارها با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول داغ ۸۰ درصد در هاون چینی در دمای اتاق به‌طور جداگانه ساییده شدند. سپس مخلوط‌های حاصل با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از آن مخلوط رویی هریک از نمونه‌ها در حمام آب جوش قرار داده تا کاملاً غلیظ گردند. در ادامه، یک میلی‌لیتر از محلول تغلیظ شده با کمک آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در مرحله بعد، دوباره نیم میلی‌لیتر از محلول‌های حاصل با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم سه میلی‌لیتر رسانده شدند، سپس روی هریک از محلول‌های به‌دست آمده، نیم میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو ۵۰ درصد اضافه شد. بعد از سه دقیقه، دو میلی‌لیتر کربنات سدیم۲۰ درصد نیز به هریک از محلول اضافه شد. در مرحله بعد، محلول‌های حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند و پس از سرد شدن به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۵۰ نانومتر قرائت شدند. در نهایت، محتوای فنول کل برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم نمونه خشک گزارش گردید.

اندازه‌گیری فعالیت پاداکسیدانی

اندازه‌گیری فعالیت پاداکسیدانی بر اساس روش براند-ویلیام[2] و همکاران (۱۹۹۵) انجام شد. بدین منظور، ۳/۹ میلی‌لیتر از ۲-۲- دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل[3] استوک ساخته شده (۰/۰۰۰۴ گرم DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول)، داخل لوله آزمایش ریخته و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره حاصل از ریشه‌چه و ساقه‌چه نخود فرنگی را به‌طور جداگانه به آن اضافه و به‌مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شدند. میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شدند. سپس درصد مهار رادیکال DPPH هر یک از نمونه‌ها با استفاده از رابطه ۹ محاسبه شدند.

رابطه ۹: $$I(\%) = 100 \times \frac{A0 - As}{A0}$$

که در آن A0: جذب کنترل (حاوی همه اجزا واکنشگر بدون نمونه) و As : جذب نمونه بود.

اندازه‌گیری درصد بازدارندگی و یا تحریک کنندگی بذرهای

محاسبه درصد تحریک کنندگی و یا بازدارندگی صفات تحت تیمار بذرها با استفاده از رابطه ۱ برآورد شد (اموo[4] و همکاران، ۲۰۰۸).

رابطه ۱۰: $$I = 100 \times \frac{R2 - R1}{R1}$$

که در آن، I: درصد بازدارندگی و یا تحریک کنندگی، R_1: پاسخ گیاه شاهد و R_2: پاسخ گیاه تیمار شده می‌باشد.

روش تجزیه آماری داده‌ها

ابتدا، نرمال سنجی داده‌ها توسط نرم افزار Minitab با نسخه ۱۴ مورد ارزیابی قرار گرفت و داده‌های غیر نرمال، نرمال گردید. از تبدیل لگاریتمی در مبنای ده (داده‌های شمارشی) با توجه به برقراری شروط تجزیه واریانس استفاده گردید (سلطانی و ترابی[5]، ۲۰۱۴). سپس تجزیه واریانس داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SAS با نسخه ۹/۳ انجام شد. هم‌چنین مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای نخود فرنگی

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که درصد جوانه‌زنی، متوسط زمان رسیدن بذرها به ۵۰ درصد از جوانه‌زنی، نرخ جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه، شاخص طولی بنیه گیاهچه، وزن خشک

[1] Malick and Singh
[2] Brand-Williams
[3] 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
[4] Amoo
[5] Soltani and Torabi

جدول ۱. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا بر صفات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای نخود فرنگی

Table 1. Analysis of variance (mean squares) for the effect of different concentrations of *Caccinia macrantera* aqueous extract on germination and seedling growth traits of *Pisum sativum*

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی Time to 50% germination	نرخ جوانه‌زنی Germination rate	طول ریشه‌چه Radical length	طول ساقه‌چه Plumule length	ضریب آلومتریک Alometric coefficient	طول گیاهچه Seedling length	شاخص طولی بنیه گیاهچه vigor length index	وزن خشک ریشه‌چه Radicle dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Plumule dry weight	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص وزنی بنیه vigor weight index
تیمار Treatment	5	2241.39**	1.79**	0.04**	895.07**	1822.82**	0.25**	3413.04**	25980.76**	395.66**	130.08**	828.86**	1760.34**
خطا Error	12	43.06	0.05	0.001	167.77	158.71	0.03	209.84	608.36	2.51	6.99	9.89	8.78
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)		9. 34	8.02	7.65	7.25	9.54	13.30	4.66	11.12	6.24	12.28	6.70	8.27

** نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

** Indicates significance at the 1% probability level

جدول ۲. مقایسه میانگین (میانگین ± انحراف از معیار) اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا بر صفات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای نخود فرنگی

Table 2. Mean comparison (mean ± standard deviation) for the effect of different concentrations of *Caccinia macranthera* aqueous extract on germination and seedling growth traits of *Pisum sativum*

غلظت‌ها (درصد) Concentrations (%)	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی (روز) Time to 50% germination (day)	نرخ جوانه‌زنی (بر روز) Germination rate (d^{-1})	طول ریشه‌چه (میلی‌متر) Radicle length (mm)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر) Plumule length (mm)	ضریب آلومتریک Alometric coefficient	طول گیاهچه (میلی‌متر) Seedling dry weight (mm)	شاخص طولی بنیه Vigor length index	وزن خشک ریشه‌چه (میلی‌گرم) Radicle dry weight (mg)	وزن خشک ساقه‌چه (میلی‌گرم) Plumule dry weight (mg)	وزن خشک گیاهچه (میلی‌گرم) Seedling dry weight (mg)	شاخص وزنی بنیه Vigor weight index
0	100.00±0.00^{a}	1.81±0.02^{d}	0.55±0.01^{a}	193.0± 10.1^{ab}	101.6±9.0^{c}	1.92±0.27^{a}	294.6±6.3^{c}	294.6±6.3^{a}	48.6±2.31^{a}	29.5±0.50^{a}	78.17±2.36^{a}	78.1±2.36^{a}
20	93.33±5.77^{ab}	1.85±0.15^{d}	0.54±0.05^{a}	203.6±20.6^{a}	132.3±8.6^{b}	1.54±0.23^{b}	336.0±11.9^{a}	313.5±26.3^{a}	22.5±2.50^{b}	25.0±1.00^{ab}	47.50±6.29^{b}	42.5±4.05^{b}
40	86.67±11.55^{b}	2.42±0.29^{c}	0.41±0.05^{b}	177.1±18.5^{bc}	155.9±14.1^{a}	1.14±0.23^{c}	333.1±13.4^{b}	287.7±40.0^{a}	20.5±0.50^{bc}	23.3±5.77^{bc}	43.83±0.50 ^{b}	39.4±4.85^{b}
60	63.33±5.77^{c}	3.07±0.12^{b}	0.32±0.01^{c}	173.9±5.8^{bc}	158.4±17.4^{a}	1.11±0.11^{c}	332.4±19.8^{b}	211.1±29.7^{b}	21.6±1.65^{b}	22.0±1.00^{bc}	43.65±2.65^{bc}	27.5±1.27^{c}
80	45.00±5.00^{d}	3.17±0.38^{b}	0.32±0.04^{c}	167.3±8.8^{c}	139.7±16.9^{ab}	1.21±0.13^{bc}	307.0±21.4^{bc}	137.8±14.3^{c}	20.5±0.50^{bc}	19.3±1.53^{bc}	39.83±1.89^{c}	17.8±1.43^{d}
100	33.33±5.77^{d}	3.72±0.10^{a}	0.27±0.01^{c}	126.1±4.5^{d}	104.0±2.3^{c}	1.21±0.10^{bc}	230.2±6.2^{d}	76.7±14.7^{d}	18.5±0.50^{c}	10.0±2.00^{d}	28.50±1.80^{d}	9.5±1.88^{e}

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)

Different letters in each column indicate significance at the 5% probability level based on the least significant difference (LSD) test

ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه و شاخص وزنی بذرهای نخود فرنگی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف گیاه گاوزبان آسا در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱).

مطابق نتایج، بیشترین بازدارندگی عصاره آبی گاوزبان آسا بر موءلفه درصد جوانه‌زنی نخود فرنگی مربوط به تیمار عصاره کامل آن به‌میزان ۶۶/۶۷ درصد بود، اگرچه اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری با تیمار ۸۰ درصد عصاره نشان نداد. در مقابل، کمترین درصد بازدارندگی معنی‌دار مربوط به دو تیمار ۴۰ و ۶۰ درصد عصاره آبی به‌ترتیب به‌میزان ۱۳/۳۳ و ۳۶/۶۷ درصد بود (جدول ۲).

نتایج به‌دست آمده نیز نشان داد که زمان رسیدن نخود فرنگی به ۵۰ درصد از جوانه‌زنی تحت غلظت‌های مختلف عصاره آبی در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد. بیشترین افزایش و به‌عبارتی تأخیر در زمان رسیدن به ۵۰ درصد از جوانه‌زنی مربوط به تیمار غلظت ۱۰۰ درصد به‌میزان ۱۰۵/۵۲ درصد بود. در مقابل، کمترین درصد افزایش معنی‌دار در زمان رسیدن نخود فرنگی به ۵۰ درصد از جوانه‌زنی تحت تیمار غلظت ۴۰ درصد به‌میزان ۳۳/۷۰ درصد مشاهده شد (جدول ۲). مطابق نتایج، نرخ جوانه‌زنی نسبی نخود فرنگی تحت تیمارهای مختلف گاوزبان آسا از روند کاهش معنی‌دار در کلیه تیمارها بجز غلظت ۲۰ درصد از عصاره آبی برخوردار بود. نکته قابل توجه در این مطالعه کاهش معنی‌دار یکسان نرخ جوانه‌زنی نخود فرنگی در غلظت‌های ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد عصاره آبی از گاوزبان آسا بود (جدول ۲).

کاهش خصوصیات جوانه‌زنی با افزایش غلظت گاوزبان آسا می‌تواند احتمالاً به‌دلیل حضور متابولیت‌های ثانویه نظیر آلکالوئیدها، فنول‌ها و اسانس باشد که منجر به اثر منفی بر آنزیم‌ها و هورمون‌های دخیل در جوانه‌زنی و رشد سلولی می‌شود. مقادیر مناسب از ترکیبات فنولی حاضر در عصاره اندام‌های ریشه، ساقه و برگ گاوزبان آسا موید این امر می‌باشد. این نتیجه مطابق نتیجه ماسیاس[1] و همکاران (۲۰۰۷) می‌باشد. به‌طوری‌که این محققین گزارش نمودند که تفاوت در تاثیر بین عصاره‌های گیاهی مربوط به حد آستانه غلظت آن‌ها می‌باشد. همچنین هن[2] و همکاران (۲۰۰۸) گزارش نمودندکه میزان کاهش و بازدارندگی به‌طور مستقیم به غلظت عصاره وابسته است. ال- شورا و عبدالگواد[3] (۲۰۱۵) گزارش نمودند که مقدار بازدارندگی عصاره آبی ریشه و برگ خرفه (*Portuleca oleraceae* L.) بر کدوی تخمه کاغذی (*Cucurbita pepo* L.) وابسته به غلظت بود.

نتایج به‌دست آمده هم‌چنین نشان داد که افزایش غلظت عصاره آبی گاوزبان آسا موجب کاهش طول ریشه‌چه نخود فرنگی در کلیه غلظت‌ها بجز غلظت ۲۰ درصد شد. بیشترین بازدارندگی در تیمار غلظت کامل به میزان ۳۴/۶۵ درصد مشاهده شد. (جدول ۲). مطابق یافته‌ها، طول ساقه‌چه نخود فرنگی، پاسخ افزایشی متفاوتی به غلظت‌های مختلف گاوزبان آسا نشان داد. بیشترین افزایش این صفت در غلظت ۶۰ درصد عصاره آبی به میزان ۵۵/۹۷ درصد مشاهده شد، اما اختلاف آن در دو حد پایین و بالای غلظت معنی‌دار نبود. در مقابل، کمترین اثر تحریک‌کنندگی بر طول ساقه‌چه گیاه نخود فرنگی در غلظت ۱۰۰ درصد عصاره آبی گاوزبان آسا (۲/۳۹ درصد) مشاهده شد، اما این اثر معنی‌دار نبود (جدول ۲). با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان استباط نمود که میزان بازدارندگی و یا تحریک‌کنندگی عصاره آبی گاوزبان آسا بر اندام‌های نخود فرنگی علاوه بر وابستگی به غلظت عصاره، به تفاوت در پاسخ ریخت شناسی آن‌ها نیز مرتبط می‌باشد. این نتیجه مطابق نتایج کروز- اورتگا[4] و همکاران (۱۹۹۸) می‌باشد. این محققین گزارش نمودند که فرآیندهای مورفو-فیزیولوژیک در گیاهان پاسخ‌های متنوعی به غلظت‌های مختلف مواد دگرآسیبی نشان می‌دهند. در مطالعه دیگر، کوهلی[5] و همکاران (۲۰۰۱) نیز بیان داشتند که واکنش‌های تحریکی و یا بازدارندگی دگرآسیب-رسان‌های شیمیایی به غلظت ماده شیمیایی دریافت شده توسط اندام‌های گیاه هدف بستگی دارد.

روند تغییرات ضریب آلومتریک (نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه) نخود فرنگی نشان داد که این

[1] Macias

[2] Han
[3] El-Shora and Abd El- Gawad
[4] Cruz- Ortega
[5] Kohli

صفت با افزایش غلظت عصاره آبی گیاه گاوزبان آسا، به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد. بیشترین درصد بازدارندگی بر این صفت در غلظت ۶۰ درصد به‌میزان ۴۲/۱۹ درصد مشاهده شد، اما اختلاف آن‌ها با تیمارهای ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد عصاره آبی معنی‌دار نبود (جدول ۲). با توجه به این که ریشه‌چه به‌عنوان اولین اندامی است که در تماس مستقیم با ترکیبات دگرآسیب‌رسان شیمیایی قرار می‌گیرد، بنابراین تأثیرپذیری زیاد آن دور از انتظار نیست. باند و تنر[1] (۲۰۰۶) در مطالعه‌ای، گزارش نمودند که کاهش رشد ریشه‌چه‌ها تحت تأثیر مواد دگرآسیب‌رسان شیمیایی به‌دلیل اثر کاهنده این مواد بر تقسیم سلولی و تأثیر بازدارنده آن‌ها بر اکسین (القاء کننده رشد ریشه) و دخالت در تنفس و فسفوریلاسیون اکسیداتیو می‌باشد.

نتایج مطالعه حاضر همچنین نشان داد که طول گیاهچه‌های نخود فرنگی تحت غلظت‌های ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد گیاه خودرو گاوزبان آسا به‌ترتیب ۱۴/۰۳، ۱۳/۰۵و ۱۲/۸۲ درصد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. در مقابل طول گیاهچه‌های نخود فرنگی تنها در غلظت کامل به‌طور معنی‌داری به‌میزان ۲۱/۸۷ درصد کاهش نشان داد (جدول ۲).

در این مطالعه، شاخص طولی بنیه گیاهچه نخود فرنگی در دو غلظت ۲۰ درصد عصاره آبی گاوزبان آسا از روند افزایشی در مقایسه با شاهد برخوردار بود، اما این اثر معنی‌دار نبود. در مقابل، صفت مورد بررسی در غلظت‌های بیش از ۲۰ درصد به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد. به‌طوری‌که کمترین شاخص طولی بنیه گیاهچه در غلظت کامل به‌میزان ۷۶/۷۳ مشاهده شد (جدول ۲). شاخص طولی بنیه گیاهچه تابعی از درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه می‌باشد. بنابراین دلیل کاهش شدید این مولفه در غلظت کامل می‌تواند به‌واسطه کاهش درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه نخود فرنگی تحت تنش دگرآسیبی باشد.

دامنه تغییرات وزن خشک ریشه‌چه نخود فرنگی در پاسخ به غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه گاوزبان آسا بین ۴۸/۶۷ و ۱۸/۵۰ میلی‌گرم در بوته بود، به‌طوری‌که بیشترین وزن خشک ریشه‌چه مربوط به تیمار شاهد بود. در مقابل، تیمار غلظت کامل از کمترین مقدار این صفت برخوردار بود. نکته قابل توجه در این مطالعه، اثر دگرآسیبی معنی‌دار یکسان غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد از لحاظ سطح بازدارندگی بر وزن خشک ریشه‌چه نخود فرنگی بود (جدول ۲). به‌طور میانگین، اثر منفی غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا بر صفت وزن خشک ساقه‌چه نخود فرنگی کمتر از ریشه‌چه بود. بیشترین اثر بازدارندگی بر وزن خشک ساقه‌چه نظیر ریشه‌چه مربوط به اثر غلظت ۱۰۰ درصد عصاره آبی به‌میزان ۶۶/۱۱ درصد بود (جدول ۲). در مجموع، بیشترین وزن خشک گیاهچه در تیمار شاهد با مقدار ۷۸/۱۷ میلی‌گرم در بوته به‌دست آمد و کاربرد همه غلظت‌های عصاره آبی موجب کاهش معنی‌دار وزن خشک گیاهچه نخود فرنگی شد، به‌طوری‌که بیشترین اثر منفی در غلظت ۱۰۰ درصد (۶۳/۵۴ درصد) مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش غلظت عصاره آبی گاوزبان آسا، شاخص وزنی بنیه گیاهچه نخود فرنگی کاهش یافت. به گونه‌ای که این صفت در غلظت کامل از کمترین مقدار (۹/۵۲) برخوردار بود (جدول ۲). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در تیمار شاهد به‌دلیل عدم وجود مواد دگرآسیب گاوزبان آسا، شرایط برای رشد و نمو نخود فرنگی مطلوب بوده و سبب افزایش ماده خشک در گیاهچه‌های عادی این گیاه شد. هم‌چنین با توجه به این که شاخص وزنی بنیه گیاهچه تابعی از درصد جوانه‌زنی و مقدار ماده خشک گیاهچه می‌باشد، به‌مراتب وجود هرگونه تنش نظیر ترکیبات دگرآسیب با کاهش این دو مولفه موجب کاهش این شاخص می‌گردد. در مجموع، نتایج حاصل از پاسخ صفات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای نخود فرنگی به تنش دگرآسیب ناشی از غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا نشان داد که مواد دگرآسیب علاوه بر کاهش درصد و نرخ جوانه‌زنی، رشد طولی و وزن خشک ریشه‌چه‌ها و ساقه‌چه‌ها را به‌طور متفاوت مورد تأثیر قرار می‌دهد. شدت این تأثیر وابسته به غلظت مواد دگرآسیبی و تنوع در پاسخ ریخت شناسی در گیاه هدف می‌باشد. اثر افزایشی برخی از غلظت‌های گاو زبان آسا بر برخی از صفات مورد بررسی

[1] Bond and Turner

نشان‌دهنده اثر پاداکسیدانی و عدم محدود کنندگی ترکیبات زیست فعال حاضر می‌باشد. بوگتک[1] (۲۰۰۵) گزارش نمود که تأخیر و یا تحریک مواد ذخیره‌ای، فرآیندی که معمولاً به‌سرعت در طی جوانه‌زنی بذرها اتفاق می‌افتد و می‌تواند منجر به کمبود فرآورده‌های تنفسی گردد و در نهایت منجر به کمبود مستمر ATP در بذرهایی که در معرض دگرآسیب‌رسان‌های شیمیایی قرار گرفته‌اند، شود. معمولاً بی‌نظمی سلولی در جریان تنفس منجر به ایجاد محدودیت‌های انرژی متابولیک و در نهایت کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها می‌گردد.

اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا بر خصوصیات فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و فعالیت پاداکسیدانی نخود فرنگی

نتایج حاصل نشان داد که محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها)، محتوای اسمولیت‌های سازشی (پرولین و قندهای محلول)، محتوای فنول کل و فعالیت پاداکسیدانی ریشه‌چه‌ها، ساقه‌چه‌ها و گیاهچه‌های نخود فرنگی تحت تأثیر عصاره آبی گاوزبان آسا در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۳).

بر اساس مقایسه میانگین‌ها، افزایش غلظت عصاره آبی گیاه گاوزبان آسا از ۲۰ به ۱۰۰ درصد موجب کاهش محتوای رنگیزه کلروفیلی a برگچه‌های نخود فرنگی شد. کمترین محتوای کلروفیل a برگچه‌ها مربوط به تیمار غلظت کامل به‌میزان ۱/۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه نمونه بود، این در حالی است که بیشترین محتوای رنگیزه کلروفیل a به تیمار شاهد (۷/۸۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه نمونه) اختصاص داشت (جدول ۴). یافته‌ها نیز نشان داد که کاربرد غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا موجب کاهش معنی‌دار رنگیزه کلروفیل b شد (جدول ۴). در مجموع، محتوای رنگیزه کلروفیل کل در پاسخ به تنش دگرآسیب گیاه گاوزبان آسا در کلیه تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد. بیشترین اثر بازدارندگی بر محتوای کلروفیل کل مربوط به غلظت ۱۰۰ درصد (۸۱/۳۳ درصد) بود. در مقابل، غلظت ۲۰ درصد عصاره آبی کمترین اثر منفی (۶۲/۵۴ درصد) را بر رنگیزه مورد بررسی نشان داد (جدول ۴). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، محتوای رنگیزه کاروتنوئیدی نخود فرنگی در پاسخ به غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا نیز از روند کاهشی متفاوتی در مقایسه با شاهد برخوردار بود. بیشترین اثر دگرآسیبی معنی‌دار مربوط به دو تیمار ۸۰ و ۱۰۰ درصد به‌میزان ۸۸/۴۶ درصد بود (جدول ۴). کاهش محتوای رنگیزه‌های کلروفیل b و کاروتنوئیدی نخود فرنگی با افزایش غلظت عصاره آبی نشان‌دهنده شدت تنش بالای دگرآسیبی ناشی از گاوزبان آسا می‌باشد که در حفاظت از رنگیزه کلروفیل a و ممانعت از تشکیل تریپلت کلروفیل (کلروفیل برانگیخته) و پراکسیداسیون چربی‌های روی غشای سلولی فعالیت می‌نمایند. در این مطالعه، میزان تخریب کلروفیل b در غلظت‌های بالا بیشتر از کلروفیل a بود. با توجه به به این‌که در مرحله روشنایی از فتوسنتز، فتوسیستم II دارای محتوای کلروفیل b بیشتری در مقایسه با فتوسیستم I می‌باشد که به تنش‌های محیطی حساس است، بنابراین در اثر تنش شدید مقدار کمپلکس پروتئینی جذب کننده نور Chl a/b به‌شدت کاهش می‌یابد. در مجموع، این امر نشان‌دهنده نقش حفاظتی مهم رنگیزه کلروفیل b در شرایط تنش شدید در غلظت کامل می‌باشد. این نتیجه مطابق نتایج جنگیرمنت[2] و همکاران (۲۰۰۵) می‌باشد. این محققین در آزمایشی با ارزیابی تأثیر عصاره برگ گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus globules* Labill) بر سورگوم (*Sorghum*) گزارش نمودند که در شرایط تنش، کاهش محتوای کلروفیل b بیشتر از کلروفیل a است و ممکن است علت آن تبدیل کلروفیل b به کلروفیل a در گیاهان تحت تنش باشد. در پژوهش بهداد و همکاران (۲۰۱۵) نیز محتوای کلروفیل b برگ علف‌هرز بروموس در مقایسه با کلروفیل a تحت تاثیر عصاره اندام هوایی گیاه درمنه، کاهش بیشتری را نشان داد. سرائی[3] و همکاران (۲۰۱۲)، در مطالعه‌ای بر روی علف‌هرز خاکشیر (*Descurainia sophia* L.) و جو زراعی (*Hordeum vulgare* L.) دریافتند که محتوای کلروفیل کل تحت تأثیر عصاره‌های دانه و برگ گیاه اوکالیپتوس (*E. globules*) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. علت این امر احتمالاً افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز تحت تنش

[1] Bogatek

[2] Djanaguiramant

[3] Saraei

دگرآسیبی عصاره‌ها می‌باشد. معمولاً غلظت مواد تنظیم کننده رشد به‌ویژه آبسزیک اسید و اتیلن در گیاهان در معرض تنش افزایش می‌یابد که تحریک فعالیت آنزیم کلروفیلاز و در نتیجه تجزیه رنگیزه کلروفیلی را به‌دنبال خواهد داشت (میقانی[1]، ۲۰۰۳). ترک و تواها[2] (۲۰۰۲) گزارش نمودند که ترکیبات دگرآسیب‌رسان رشد و نمو گیاهان را از طریق تداخل در فرآیندهای مهم فیزیولوژیک آن‌ها نظیر تغییر در ساختار دیواره سلولی، نفوذپذیری و عمل غشاء، جلوگیری از تقسیم سلولی، فعالیت برخی از آنزیم‌ها، تعادل هورمونی، جوانه‌زنی بذرها و لوله گرده، جذب عناصر غذایی، جابجایی روزنه‌ها، فتوسنتز، تنفس، سنتز پروتئین‌ها و رنگیزه‌ها و به‌علاوه کاهش انتقال فعال و تغییر در ساختار DNA و RNA مختل می‌سازند.

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که محتوای پرولین ریشه‌چه‌های نخود فرنگی تحت غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه گاوزبان آسا از روند افزایشی متفاوتی برخوردار بود. کمترین و بیشترین تجمع محتوای پرولین به تیمار ۲۰ و ۱۰۰ درصد عصاره آبی به‌ترتیب با مقدار ۹/۱۰ و ۳۳/۷۷ میکرومول بر گرم وزن تازه نمونه در مقایسه با شاهد اختصاص داشت (جدول ۴). بررسی روند تغییرات محتوای پرولین ساقه‌چه نخود فرنگی نیز نشان داد که غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا سبب افزایش محتوای پرولین گیاه مورد آزمایش شد. محتوای پرولین در غلظت کامل به میزان ۴۶/۰۱ میکرومول بر گرم وزن تر بود. نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که افزایش محتوای پرولین در ریشه‌چه‌های نخود فرنگی تحت تنش دگرآسیبی ناشی از عصاره آبی بیشتر غلظت‌ها در مقایسه با ساقه‌چه‌ها بیشتر بوده است (جدول ۴). کاهش بیشتر طول و وزن خشک ریشه‌چه‌های نخود فرنگی در مقایسه با ساقه‌چه‌ها تحت تنش دگرآسیبی عصاره آبی گاو زبان آسا را می‌توان با انباشتگی بیشتر محتوای پرولین ریشه‌چه‌های نخود فرنگی (تنش اکسیداتیو زیاد) توجیه نمود. علی‌زاده[3] و همکاران (۲۰۱۹) با اندازه‌گیری محتوای پرولین و قندهای محلول در گیاهچه‌های جو نشان دادند که عصاره خردل وحشی سبب ایجاد شرایط تنش دگرآسیبی و در نتیجه کاهش رشد اندام‌های هوایی و زمینی گیاه جو شد. در مجموع، بیشترین و کمترین محتوای پرولین در گیاهچه‌های نخود فرنگی در تیمار غلظت ۱۰۰ درصد عصاره آبی گاوزبان آسا و شاهد به‌ترتیب به‌میزان ۷۹/۷۷ و ۲۲/۷۶ میکرومول بر گرم وزن تازه اختصاص داشت (جدول ۴).

نتایج حاصل از سنجش محتوای قندهای محلول در ریشه‌چه‌های نخود فرنگی تحت تنش دگرآسیبی در جدول ۴ نشان داده شده است. بر این اساس، بیشترین درصد افزایش محتوای قندهای محلول ریشه‌چه‌ها مربوط به غلظت ۱۰۰ درصد عصاره آبی بود که از لحاظ آماری با غلظت‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ درصد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد، لذا در یک گروه از لحاظ آماری قرار گرفتند (جدول ۴). محتوای قندهای محلول ساقه‌چه‌های نخود فرنگی نیز در پاسخ به کلیه تیمارهای عصاره گاوزبان آسا بجز در غلظت ۲۰ درصد عصاره آبی، افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد. بیشترین مقدار معنی‌دار قندهای محلول در ساقه‌چه‌های نخود فرنگی متعلق به غلظت‌های ۱۰۰ و ۸۰ درصد عصاره گاوزبان آسا به‌ترتیب به‌میزان ۱۶/۰۴ و ۱۴/۵۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه بود (جدول ۴). به‌طورکلی محتوای قندهای محلول گیاهچه‌های نخود فرنگی در پاسخ به کلیه تیمارها افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد. بیشترین افزایش محتوای قندهای محلول گیاهچه‌ها در پاسخ به غلظت ۱۰۰ درصد مشاهده شد، اگرچه اختلاف آن با غلظت ۸۰ درصد معنی‌دار نبود (جدول ۴). معمولاً کاهش تورژسانس سلول، عامل اولیه تجمع اسمولیت‌های سازشی در جهت تحمل به تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌باشد. در حقیقت، افزایش پرولین و کربوهیدرات‌های محلول نشان‌دهنده مقاومت گیاه در برابر تنش اکسیداتیو سلولی ناشی از غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی گاوزبان آسا می‌باشد. در چنین مواقعی گیاهان تحت تنش با کاهش پتانسیل اسمزی سلول و تنظیم آن موجب ادامه رشد و توسعه سلولی می‌گردند. کو[4] (۱۹۸۱) گزارش نمود که افزایش غلظت آمینو اسید پرولین جهت تنظیم اسمزی

[1] Meighani
[2] Turc and Tawaha
[3] Alizadeh
[4] Kao

جدول ۳. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا بر صفات فیزیولوژیک نخود فرنگی

Table 3. Analysis of variance (mean squares) for the effect of different concentrations of *Caccinia macranthera* aqueous extract on physiological traits of *Pisum sativum*

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	محتوای کلروفیل a Chlorophyll a content	محتوای کلروفیل b Chlorophyll b content	محتوای کلروفیل کل Total chlorophyll content	محتوای کاروتنوئیدها Carotenoids content	محتوای پرولین ریشه‌چه Radicle proline content	محتوای پرولین ساقه‌چه Plumule proline content	محتوای پرولین گیاهچه Seedling proline content	محتوای قندهای محلول ریشه‌چه Radicle soluble sugars content	محتوای قندهای محلول ساقه‌چه Plumule soluble sugars content	محتوای قندهای محلول گیاهچه Seedling soluble sugars content
تیمار Treatment	5	18.24**	19.46**	73.39**	0.19**	298.71**	376.11**	1283.22**	55.60**	136.19**	341 .71**
خطا Error	12	0.16	0.51	0.95	0.002	1.64	8.43	7.58	3.01	1.92	5.49
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)		14.20	23.33	16.50	12.75	6.49	10.59	5.84	20. 23	14. 37	12.85

** نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

** Indicates significance at the 1% probability level

ادامه جدول ۳. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا بر محتوای فنول کل و فعالیت پاداکسیدانی نخود فرنگی

Continued Table 3. Analysis of variance (mean square) for the effect of different concentrations of *Caccinia macranthera* aqueous extract on total phenol content and antioxidant activity traits of *Pisum sativum*

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	محتوای فنول کل ریشه‌چه Radicle total phenol content	محتوای فنول کل ساقه‌چه Plumule total phenol content	محتوای فنول کل گیاهچه Seedling total phenol content	فعالیت پاداکسیدانی ریشه‌چه Radicle antioxidant activity	فعالیت پاداکسیدانی ساقه‌چه Plumule antioxidant activity	فعالیت پاداکسیدانی گیاهچه Seedling antioxidant activity
تیمار Treatment	5	1097.67**	740.78**	3617.92**	89.60**	123.94**	393.99**
خطا Error	12	12.05	20.033	45.20	4.81	15.06	23.44
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)		6.30	8.36	6.16	9.46	17.18	10.58

** نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

** Indicates significance at the 1% probability level

جدول۴. مقایسه میانگین (میانگین ± انحراف از معیار) اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا بر صفات فیزیولوژیک نخود فرنگی

Table 4. Mean comparison (mean ± standard deviation) for the effect of different concentrations of *Caccinia macranthera* aqueous extract on physiological traits of *Pisum sativum*

غلظت‌ها (درصد) Concentrations (%)	محتوای کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Chlorophyll *a* content (mg / g FW)	محتوای کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Chlorophyll *b* content (mg / g FW)	محتوای کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Total Chlorophyll content (mg / g FW)	محتوای کاروتنوئیدها (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Carotenoids content (mg / g FW)	محتوای پرولین ریشه‌چه (میکرومول برگرم وزن تر در دقیقه) Radicle proline content (µMol per g FW / min)	محتوای پرولین ساقه‌چه (میکرومول برگرم وزن تر در دقیقه) Plumule proline content (µMol per g FW / min)	محتوای پرولین گیاهچه (میکرومول برگرم وزن تر در دقیقه) Seedling proline content (µMol per g FW / min)	محتوای قندهای محلول ریشه‌چه (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) Radicle soluble sugars content (mg / 100 g DW)	محتوای قندهای محلول ساقه‌چه (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) Plumule soluble sugars content (mg / 100 g DW)	محتوای قندهای محلول گیاهچه (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک) Seedling soluble sugar content (mg / 100 g DW)
0	7.81±0.31^{a}	7.94±0.87^{a}	15.75±0.97^{a}	0.78±0.09^{a}	8.67±1.32^{e}	14.08±1.87^{e}	22.76±1.57^{f}	1.64±0.41^{c}	0.57±0.06^{d}	2.21± 0.41^{e}
20	2.13±0.33^{bc}	3.77±1.29^{b}	5.90±1.61^{b}	0.28±0.02^{b}	9.10±1.40^{e}	21.97±2.26^{d}	31.07±1.37^{e}	7.22±2.15^{b}	1.80±0.90^{d}	9.01±2.84^{d}
40	1.71±0.42^{bcd}	2.27±0.65^{c}	3.98±1.04^{c}	0.28±0.02^{b}	18.31±0.74^{d}	21.20±2.68^{d}	39.51±1.95^{d}	6.68±1.97^{a}	11.52±10.0^{c}	18.20±2.08^{c}
60	2.36±0.42^{b}	1.59±0.17^{c}	3.95±0.59^{c}	0.32±0.04^{b}	22.22±1.55^{c}	27.91±2.89^{c}	50.12±3.63^{c}	10.99±1.26^{a}	13.43±0.96^{bc}	24.42±2.21^{b}
80	1.40±0.49^{d}	1.50±0.43^{c}	2.90±0.64^{c}	0.09±0.01^{c}	26.24±1.53^{b}	33.32±3.87^{b}	59.56±2.40^{b}	11.14±1.00^{a}	14.56±2.72^{ab}	25.70±3.36^{ab}
100	1.57±0.40^{cd}	1.36±0.16^{c}	2.94±0.55^{c}	0.09±0.01^{c}	33.77±0.92^{a}	46.01±3.39^{a}	79.77±4.28^{a}	13.76±2.61^{a}	16.04±1.17^{a}	29.80±2.04^{a}

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)

Different letters in each column indicate significance at the 5% probability level based on the least significant difference (LSD) test

ادامه جدول ۴. مقایسه میانگین (میانگین ± انحراف از معیار) اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا بر فنول کل و فعالیت پاداکسیدانی نخود فرنگی

Continued Table 4. Mean comparison (mean ± standard deviation) for the effect of *Caccinia macranthera* aqueous extract on total phenol and antioxidant activity traits of *Pisum sativum*

غلظت‌ها (درصد) Concentrations (%)	محتوای فنول کل ریشه‌چه (میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک) Radicle total phenol content (mg GAE 100 g^{-1} DW)	محتوای فنول کل ساقه‌چه (میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک) Plumule total phenol content (mg GAE 100 g^{-1} DW)	محتوای فنول کل گیاهچه (میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک) Seedling total phenol content (mg GAE 100 g^{-1} DW)	فعالیت پاداکسیدانی ریشه‌چه (درصد) Radicle antioxidant activity (%)	فعالیت پاداکسیدانی ساقه‌چه (درصد) Plumule antioxidant activity (%)	فعالیت پاداکسیدانی گیاهچه (درصد) Seedling antioxidant activity (%)
0	27.43±3.35^{d}	32.00±6.13^{d}	59.43±5.72^{e}	14.42±1.23^{c}	12.94±0.20^{b}	27.35±1.04^{e}
20	36.40±2.08^{c}	39.74±4.36^{d}	76.14±6.42^{d}	22.79±2.26^{b}	16.51±1.18^{b}	39.31±3.44^{d}
40	58.66±2.47^{b}	51.85±2.04^{c}	110.51±3.73^{c}	20.82±2.57^{b}	24.29±2.38^{a}	45.12±0.43^{cd}
60	62.04±4.125^{b}	60.98±2.43^{b}	123.02±6.24^{b}	23.43±3.56^{b}	24.99±3.56^{a}	48.42±6.77^{bc}
80	72.31±5.80^{a}	67.91±5.75^{ab}	140.22±11.07^{a}	27.61±1.24^{a}	27.83±3.27^{a}	55.44±4.30^{ab}
100	74.00±0.26^{a}	71.33±4.71^{a}	145.33±4.65^{a}	30.04±1.19^{a}	28.95±7.74^{a}	58.99±7.95^{a}

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)

Different letters in each column indicate significance at the 5% probability level based on the least significant difference (LSD) test

سلول‌ها می‌تواند ناشی از افزایش تجزیه پروتئین و ممانعت از تجزیه پرولین باشد که ممکن است با کاهش رشد همراه باشد. پسراکلی[1] (۱۹۹۹) نیز گزارش نمود که انباشت پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در جهت تنظیم اسمزی در شرایطی روی می‌دهد که پتانسیل آب بیش از یک مگاپاسکال کاهش یابد. عده‌ای از محققین گزارش نمودند که افزایش قندهای محلول در اندام‌های گیاهان تحت تنش دگرآسیبی موجب مهار آنزیم‌های تنفسی، تجزیه قندهای محلول و در نتیجه کاهش سطح انرژی سلولی می‌شوند (ایون[2] و همکاران، ۲۰۰۶). وفائی[3] و همکاران (۲۰۱۵) گزارش نمودند که افزایش غلظت عصاره تفاله زیتون، موجب تجمع قندهای محلول در گندم شد.

روند تغییرات محتوای فنول کل ریشه‌چه‌های نخود فرنگی نشان داد که این صفت با افزایش غلظت عصاره آبی گاوزبان آسا از روند افزایشی برخوردار بود. بیشترین تجمع محتوای فنول کل مربوط به غلظت ۱۰۰ درصد عصاره آبی (۷۴ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک) بود، اگرچه اختلاف آن با غلظت ۸۰ درصد (۷۲/۳۱ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک) معنی‌دار نبود. در مقابل، کمترین افزایش در محتوای ترکیبات فنولی ریشه‌چه‌های نخود فرنگی مربوط به غلظت ۲۰ درصد عصاره آبی (۳۶/۴۰ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک) بود (جدول ۴). در این مطالعه، محتوای فنول کل ساقه‌چه‌های نخود فرنگی نیز تحت تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی گاوزبان آسا از روند افزایشی برخوردار بودند. بیشترین محتوای فنول کل به غلظت کامل عصاره آبی (۷۱/۳۳ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک) تعلق داشت، اما از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با غلظت ۸۰ درصد از عصاره آبی نشان نداد (جدول ۴). نتایج در مورد اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی بر محتوای فنول کل گیاهچه‌های نخود فرنگی مشابه صفات ریشه‌چه و ساقه‌چه بود (جدول ۴). عده‌ای از محققان گزارش نمودند که یکی از دلایل کاهش درصد جوانه‌زنی بذرهای حنا (*Lawsonia inermis* L.) می‌تواند وجود ترکیبات مختلف فنولی، ترپنی، کینونی، کومارینی (ال-عربی[4] و همکاران، ۲۰۰۶؛ لال و سینگ[5]، ۲۰۰۸؛ چودری[6] چودری[6] و همکاران، ۲۰۱۰؛ جینی ورگیز[7] و همکاران، ۲۰۱۰) در بذرها باشد، به‌طوری‌که بیان شده است که مقدار زیاد این ترکیبات سبب کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز می‌شوند (امام[8] و همکاران، ۲۰۱۳؛ شاه[9] و همکاران، همکاران، ۲۰۱۸). به‌طورکلی آلفا آمیلاز یکی از آنزیم‌های حیاتی در فرآیند جوانه‌زنی بذرها می‌باشد و کاهش فعالیت آن منجر به کاهش تجزیه نشاسته به قندها و به‌دنبال آن عدم تأمین انرژی لازم برای فرآیند جوانه‌زنی بذر می‌شود (وارنر[10]، ۱۹۶۴؛ هارتمن[11] و همکاران، ۱۹۹۰). محققین زیادی گزارش نمودند که تولید و تجمع برخی از مواد شیمیایی بازدارنده رشد از قبیل انواع فنول‌ها، کومارین‌ها و اسید آبسیزیک در پوسته بذر طی نمو و باقیماندن آن‌ها در بذرها حتی پس از برداشت می‌تواند عاملی تأثیرگذار بر جوانه‌زنی آن‌ها باشد (بوس و سوا[12]، ۲۰۰۱؛ اومبه و اگبولا[13]، ۲۰۰۸).

مطابق یافته‌ها، فعالیت پاداکسیدانی ریشه‌چه‌های نخود فرنگی در کلیه غلظت‌های عصاره آبی گاوزبان آسا افزایش نشان داد. کمترین و بیشترین افزایش در فعالیت پاداکسیدانی در نخود فرنگی در حضور غلظت‌های ۲۰ و ۱۰۰ درصد عصاره آبی به‌ترتیب ۵۸/۰۴ و ۱۰۸/۳۲ درصد به‌دست آمد، اگرچه فعالیت پاداکسیدانی گیاه تیمار شده در حداقل و حداکثر غلظت اختلاف معنی‌داری با برخی از تیمارها نشان نداد (جدول ۴). فعالیت پاداکسیدانی ساقه‌چه‌های نخود فرنگی نظیر ریشه‌چه در مقایسه با شاهد نیز از روند افزایشی معنی‌دار برخوردار بود، با این تفاوت که در تمام تیمارها بجز غلظت ۲۰ درصد با سطح معنی‌داری یکسانی افزایش یافت (جدول ۴). در مجموع، فعالیت پاداکسیدانی گیاهچه‌های عادی نخود فرنگی در پاسخ به کلیه تیمارها در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری

[1] Pessarkli
[2] Ivan
[3] Vafaei

[4] El- Araby
[5] Lal and Singh
[6] Chaudhary
[7] Jiny Varghese
[8] Imam
[9] Shah
[10] Varner
[11] Hartman
[12] Booth and Sowa
[13] Obembe and Agboola

افزایش نشان داد (جدول ۴). افزایش فعالیت پاداکسیدانی نشان‌دهنده تولید گونه‌های فعال اکسیژن نظیر اکسیژن یکتایی، سوپر اکسید، آب اکسیژنه، هیدروکسی و غیره می‌باشد. بنابراین در این مطالعه، فعالیت پاداکسیدانی بالای ریشه‌چه‌ها و ساقه‌چه‌های نخود فرنگی را می‌توان به بالا بودن تنش دگرآسیبی ناشی از گاوزبان آسا نسبت داد. در مجموع، کاهش خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای نخود فرنگی علی‌رغم تجمع اسمولیت‌های سازشی در جهت تنظیم اسمزی و کمک به جذب آب و به‌علاوه ترکیبات فنولی (خنثی‌سازی و مهار رادیکال‌های آزاد)، نشان‌دهنده عدم کفایت این حفاظت کننده‌ها در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از ترکیبات دگرآسیب گاوزبان آسا موجود در غلظت‌های عصاره آبی می‌باشد. شرما[1] و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند که گیاهان برای تصفیه و از بین بردن ترکیبات رادیکال‌های آزاد از سطح سلول، سامانه‌های دفاعی آنزیمی (کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و غیره) و غیرآنزیمی (فلاونوئیدی، فنولی و کاروتنوئیدی) را به‌کار می‌برند. در مطالعه‌ای، اثرات دگرآسیبی عصاره آبی سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) و تلخه بیان (*Acroptilon repens* L.) بر رشد گیاهچه‌ها و فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدانی گندم بررسی شد. نتایج این محققین نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌ها و تنش دگرآسیبی ناشی از آن‌ها، فعالیت آنزیم‌های پاداکسیدانی و رشد در گندم به‌ترتیب افزایش و کاهش یافتند (حاتمی همپا[2] و همکاران، ۲۰۱۸). عربشاهی دلوئی و عروج[3] (۲۰۰۶) همبستگی بالایی بین توانایی به دام انداختن رادیکال‌های آزاد و مقدار ترکیبات فنولی برای میوه‌ها، سبزیجات و غلات را گزارش نمودند. مطابق جدول ۵، وزن خشک گیاهچه نخود فرنگی، همبستگی مثبت و معنی‌داری را با درصد جوانه‌زنی و محتوای رنگیزه کاروتنوئیدی نشان داد. در مقابل رابطه بین وزن خشک گیاهچه‌ها با محتوای رنگیزه‌های کلروفیل a، b و کل، اسمولیت‌های سازشی پرولین و قندهای محلول، فنول کل و فعالیت پاداکسیدانی منفی و معنی‌دار بود. بنابراین با توجه به همبستگی منفی بین خصوصیات رشدی با برخی از صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی می‌توان استنباط کرد که افزایش میزان ترکیبات فنولی کل و اسمولیت‌های سازشی در اثر افزایش غلظت‌های مختلف گاوزبان آسا احتمالاً سبب کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و گلوتامات سنتاز (سنز رنگیزه‌های کلروفیلی) و در نتیجه کاهش خصوصیات جوانه‌زنی و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه نخود فرنگی شده است.

نتیجه‌گیری کلی

در تحقیق حاضر، غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه خودرو گاوزبان آسا، خصوصیات جوانه‌زنی، رشد گیاهچه‌ها، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و فعالیت پاداکسیدانی گیاه محک نخود فرنگی را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار دادند. به گونه‌ای که پاسخ این مولفه‌های مورد بررسی متفاوت بوده است. یکی از دلایل این موضوع، می‌تواند به‌دلیل تفاوت در حد آستانه غلظت ترکیبات دگرآسیب و تنوع در پاسخ فیزیولوژی رشدی اندام‌های مورد بررسی باشد. در حقیقت، با افزایش در غلظت عصاره آبی گاوزبان آسا ممانعت از جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های نخود فرنگی افزایش یافت. این امر احتمالاً به‌دلیل تنش اکسیداتیو ناشی از تجمع بیشتر ترکیبات دگرآسیب حاضر در عصاره آبی به‌ویژه فنول‌ها، آلکالوئیدها و اسانس‌ها می‌باشد. نتایج همچنین نشان داد که تجمع محتوای پرولین و قندهای محلول، فنول کل و به‌علاوه فعالیت پاداکسیدانی نخود فرنگی تحت تنش دگرآسیبی ناشی از عصاره گاوزبان آسا از روند افزایشی برخوردار بودند. بنابراین کاهش قابل ملاحظه خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های نخود فرنگی را می‌توان به عدم کفایت حفاظت کننده‌های مورد بررسی علیه تنش اکسیداتیو زیاد مرتبط دانست. بنابراین از آنجایی که در حال حاضر استفاده چندانی از گیاه خودرو گاوزبان آسا در مناطق خشک و نیمه‌خشک شرق استان گلستان به‌عمل نمی‌آید، شاید بتوان از ترکیبات زیست فعال آن به‌عنوان علفکش سازگار با محیط زیست استفاده نمود. این امر نیازمند استخراج ترکیبات دگرآسیب این گیاه و بررسی نحوه عمل و تأثیر آن‌ها بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک سایر گونه‌ها می‌باشد.

[1] Sharma
[2] Hatami Hampa
[3] Arabshahi- Delouee and Urooj

جدول ۵. همبستگی خصوصیات جوانه‌زنی، رشد گیاهچه‌ای، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و فعالیت پاداکسیدانی نخود فرنگی

Table 5. The correlation of the germination, seedling growth, physiological, biochemical and antioxidant activity traits of *Pisum sativum*

صفات Characteristics	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	محتوای کلروفیل *a* Chlorophyll *a* content	محتوای کلروفیل *b* Chlorophyll *b* content	محتوای کلروفیل کل Total chlorophyll content	محتوای کاروتنوئیدها Carotenoids content	محتوای پرولین گیاهچه Seedling proline content	محتوای قندهای محلول گیاهچه Seedling soluble sugars content	محتوای فنول کل گیاهچه Seedling total phenol content	فعالیت پاداکسیدانی گیاهچه Seedling antioxidant activity
درصد جوانه‌زنی Germination percentage	1									
وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	0.734**	1								
محتوای کلروفیل *a* Chlorophyll *a* content	-0. 677**	-0.567*	1							
محتوای کلروفیل *b* Chlorophyll *b* content	-0.832**	-0.645**	0.926**	1						
محتوای کلروفیل کل Total chlorophyll content	-0.771**	-0.619**	0.980**	0.982**	1					
محتوای کاروتنوئیدها Carotenoids content	-0.779**	0.704**	0.936**	0.905**	0.938**	1				
محتوای پرولین گیاهچه Seedling proline content	0.957**	-0.818**	0.794**	0.884**	0.856**	0.891**	1			
محتوای قندهای محلول گیاهچه Seedling soluble sugars content	-0.878**	-0.860**	0.576*	0.682**	0.642**	0.761**	0.900**	1		
محتوای فنول کل گیاهچه Seedling total phenol content	-0. 891**	-0.829**	0.584*	0.703**	0.658**	0.746**	0.912**	0.951**	1	
فعالیت پاداکسیدانی گیاهچه Seedling antioxidant activity	-0.860**	-0.870**	0.590**	0.746**	0.683**	0.732**	0.855**	0.921**	0.882**	1

**،*: نشان‌دهنده معنی‌داری به‌ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

** and *: indicate significant differences at a 1 and 5% probability level, respectively.

منابع

Abdi, S. and Abedi, R. 2019. Nonlinear regression modelling of rye and foxtail germination behavior under allelopathic effects of peppermint, chicory and sage. Journal of Plant Research, 32(3): 573-581.

Abdul-Baki, A.A. and Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. Journal of Crop Science, 13: 630-633. https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300060013x

Alizadeh, Y., Zeidali, E. and Hassaneian Khoshro, H. 2019. Allelopathic effects of mustard (*Sinapis arvensis*) on germination, morphological and biochemical characteristics of barley (*Hordeum vulgare*). Iranian Journal of Seed Research, 5(2): 59-71. [In Persian] https://doi.org/10.29252/yujs.5.2.59

Amoo, S.O., Ojo, A.U. and 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. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2007.08.010

Arabshahi- Delouee, S. and Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry, 102: 1233-1240. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.013

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-15. https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1

Bates, L.S., Walderen, R.D. and Taere, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Behdad, A., Abrishamchi, P. and Jankju, M. 2015. Relation to phonology, phenolics content and allelopathic effect of *Artemisia khorassanica* Krasch. on growth and physiology of *Bromus kopetdaghensis* Drobov. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 28(2): 243-256. [In Persian]

Bogatek, R. 2005. Sunflower allelochemicals mode of action in germinating mustard seeds. Allelopathy Congress. Australia, May 4-7, pp. 277-279.

Bond, W. and Turner, R. 2006. The biology and non- chemical control of common amaranth (*Amarantus retroflexus* L.). New York. John Wiley and Sons, INC.

Booth, D.T. and Sowa, S. 2001. Respiration in dormant and non- dormant bitterbrush seeds. Journal of Arid Environment, 48: 35-39. https://doi.org/10.1006/jare.2000.0737

Brand- Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C.L.W.T. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology, 28(1): 25- 30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Caceres, A. 2000. Calidad de la material prima para la elaboracion de productos fitofarma ceuticas. Primer Congreso International FITO 2000 Por la investigacion, conservacion y diffusion del conocimiento de las plantas medicinals 27-30 de septiembre, Lima, Peru.

Cayuela, M.L., Millner, P.D., Meyer, S.L.F. and Roig A. 2008. Potential of olive mill waste and compost as biobased pesticides against weeds, fungi and nematodes. Science of the Total Environment, 399: 11-18. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.03.031

Chaudhary, G., Goyal, S. and Poonia, P. 2010. Lawsonia inermis Linnaeus: A phytopharmacological review. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 2(2): 91-98. https://doi.org/10.25004/IJPSDR.2010.020202

Chen, M. and Chory, J. 2011. Phytochrome signaling mechanism and the control of plant development. Trends in Cell Biology, 21(11): 664-671. https://doi.org/10.1016/j.tcb.2011.07.002

Cruz- Ortega, R., Anaya, A.L., Hernandez- Bautista, B.E. and Laguna- Hernandez, G. 1998. Effects of allelochemical stress produced by *Sicyos deppei* on seedling root ultraestructure of *Phaseolus vulgaris* and *Cucurbita ficifolia*. Journal of Chemical Ecology, 24: 2039- 2057. https://doi.org/10.1023/A:1020733625727

Djanaguiramant, M., Vaidyanathan, R., Sheeba, A., Durga Devi, D. and Bangarusamy, U. 2005. Physiological response of Eucalyptus globules leaf leachate on seedling physiology of rice, sorghum and blackgram. International Journal of Agriculture and Biology, 7(1): 35- 38.

El- Araby, M.M., Moustafa, S.M.A., Ismail, A.I. and Hegazi, A.Z.A. 2006. Hormone and phenol levels during germination and osmopriming of tomato seeds, and associated variations in protein patterns and anatomical seed features. Acta Agronomica Hungarica, 54(4): 441-457. https://doi.org/10.1556/AAgr.54.2006.4.7

Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1981. The quantification of aging and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology, 9: 377- 409.

El-Shora, H.M., Abd El- Gawad A.M. 2015. Physiological and biochemical responses of Cucurbita pepo L. mediated by Portulaca oleracea L. allelopathy. Fresenius Environmental Bulletin Journal, 24: 386-393.

Esfandiari, S., Dadkhah, D. and Rezvani, R. 2023. Allelopathy effect of Zygophyllum euryterum on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum*) and Convolvulus arvensis. Iranian Journal of Seed Science and Research, 10(2): 21-36. [In Persian]

Fitter, A. 2003. Making allelopathy respectable. Science, 301(5638): 1337-1338. https://doi.org/10.1126/science.1089291

Ghanbari, H., Ghanbari, R., Delazar, A., Ebrahimi, S.N., Memar, M.Y., Moghadam, S.B., Hamedeyazdan. S. and Nazemiyeh, H. 2023. Caccinia macranthera Brand var. macranthera: Phytochemical analysis, phytotoxicity and antimicrobial investigations of essential oils with concomitant in silico molecular docking based on OPLS force- field. Toxicon, 234: e107291. https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107291

Ghareman, A. 1996. General code of families and genera of flora of Iran. The publication of Research Institute of Forests and Rangelands of Iran, 222 p. [In Persian]

Ghasemi Khalil Abad, M. and Akbarlo, M. 2016. Classification of medicinal plants based on chemical compounds and their use (case study: Kohsarakh region, Razavi Khorasan province). The 1st national conference of medicinal, aromatic and spicy plants, Gonbad Kavous University, Apr 20, 2016. pp. 1-7. [In Persian]

Gholami, Sh. and Amini Dehaghi, D. 2022. The effect of priming with different concentrations of selenium on germination indices of quinoa seeds and seedlings. Journal of Crops Improvement, 24(1): 85-95. [In Persian]

Ghorbani, R., Rashed Mohasel, M.H., Hosseini, A., Mosavi, K. and Haj Mohammadnia Ghalibaf, K. 2009. Sustanable weed management. Publishers University of Mashhad, Mashhad. [In Persian]

Han, C.M., Pan, K.W., Wu, N., Wang, J.C. and Li, W. 2008. Allelopathic effect of ginger on seed germination and seedling growth of soybean and chive. Scientia Horticulturae, 116: 330-336. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.01.005

Hardgree, S.P., and Van Vactor, S.S. 2000. Germination and emergence of primed grass seeds under field and simulated- field temperature regimes. Annals of Botany Journal, 85: 379-390. https://doi.org/10.1006/anbo.1999.1076

Hartman, H., Kester, D. and Davis, F. 1990. Plant propagation, principle and practices. Prentice Hall International Editions.

Hatami Hampa, A., Javanmard, A., Alebrahim, M. and Sofalian, O. 2018. Allelopathic effects of aqueous extracts from sorghum (Sorghum bicolor L.) and Russian knapweed (*Acroptilon repens* L.) on seedling growth and enzymes activity of wheat, sugar beet, common lambsquarters and redroot pigweed. Journal of Iranian Plant Protection Research, 32(1): 101-119. [In Persian]

Imam, H., Mahbub, N.U., Forhad Khan, M.D., Hana, H.K. and Sarker, M.R. 2013. Alpha amylase enzyme inhibitory and anti- inflammatory effect of Lawsonia inermis L. Pakistan Journal of Biological Sciences, 16 (32): 1796-1800. https://doi.org/10.3923/pjbs.2013.1796.1800

Inderjit, W.J. and Duke, S.O. 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. Planta, 217(4):125-132. https://doi.org/10.1007/s00425-003-1054-z

International Seed Testing Association. 2003. ISTA Handbook on Seedling Evaluation. 3rd edition. International Seed Testing Association publisher, 119 p.

Ivan, C., Sulmon, C., Gwenola, G. and Amrani, A. 2006. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. The Journal of Experimental Botany, 57(3): 449-459. https://doi.org/10.1093/jxb/erj027

Jiny Varghese, J., Silvipriya, K.S., Resmi, S. and Jolly, C.I. 2010. Lawsonia inermis (Henna): a natural dye of various therapeutic uses- a review. Inventi Journals, 1(1): 1-5.

Kao, C.H. 1981. Senescense of rice leaves. VI. Comparative study of the metabolic changes of senescing turgid and water- stressed excised leaves. Plant and Cell Physiology, 22: 683-685.

Khoje, V.M. 2020. Herbal Caccinia macranthera for making traditional dishes in Turkmen Sahara. Makhtumaghli Faraghi Publications. Gorgan province, Iran, 24 p. [In Persian]

Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method: 56-97. In: Helebust, J.A. and craig, J.S. (Eds.). Hand book of physiological method. Cambridge University Press. Cambridge.

Kohli, R.K., Singh, H.P. and Batish, D.R. 2001 Allelopathy in agro- ecosystems. Food Products Press, New York.

Lal, P. and Singh, Y.V. 2008. Effect of auxins on rooting and sprouting behaviour of stem cuttings of henna (*Lawsonia inermis*). Indian Journal of Agricultural Sciences, 78(12): 1013-1017.

Li, Y., Sun, Z., Zhuang, X., Xu, L., Chen, S. and Li, M. 2003. Research progress on microbial herbicides. Crop Protection, 22: 247-252. https://doi.org/10.1016/S0261-2194(02)00189-8

Macias, F.A., Molinillo, J., Varela, R.M. and Galindo, J.C.G. 2007. Allelopathy a natural alternative for weed control. Pest Management Science, 63: 327-348. https://doi.org/10.1002/ps.1342

Malick, C.P. and Singh, M.B. 1980. In plant enzymology and histo enzymologhy. Kalyani Publishers, New Dehli, 286 p.

Mardani, R., Yousefi, A. R., Fotovat, R. and Oveisi, M. 2014. New bioassay method to find the allelopathic potential of wheat cultivars on rye (*Secale cereale* L.) seedlings. Allelopathy Journal, 33(1): 53-62.

Meighani, F. 2003. Allelopathy from concept to application. Partov Vaghe publisher, Tehran, Iran. [In Persian]

Mendoza, N. and Salazar, S. 2022. Cytogenotoxicity of fifth- generation quaternary ammonium using three plant bioindicators. Environmental Toxicology and Pharmacology, 95: e 103972. https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.103972

Miri, H.R. and Armin, M. 2013. The use of plant water extracts in order to reduce herbicide application in wheat. European Journal of Experimental Biology, 3(5): 155-164.

Obembe, O. and Agboola, D.A. 2008. Seed pretreatments enhance germination in *Occimum gratissimum* (lameaceae). Life Science Journal, 5(1): 46-48.

Ohadi, H., Rahimian Mashhadi, H., Tavakkol Afshari, R. and Baheshtian, M. 2010. Modelling the effect of light intensity and duration of exposure on seed germination of *Phalaris minor* and *Poa annua*. Weed Research, 50 (3): 209-217. https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2010.00769.x

Pessarkli, M. 1999. Hand book of plant and crop stress. Marcel Dekker Inc, 697 p.

Saberi, M., Shariyari, A., Jafari, M., Tarnian, F. and Safari, H. 2012. Allelopathic effect of *Thymus kotschyanus* on seed germination and initial growth of *Bromus inermis* and *Agropyron elongatum*. Watershed Management Research Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 9: 18- 25. [In Persian]

Rice, E.L. 1984. In: Allelopathy. Second edition. Academic Press, New York, NY, 442 p.

Saraei, R., Lahouti, M. and Ganjeali, A. 2012. Evaluation of allelopathic effects of eucalyptus (*Eucalyptus globules* Labill.) on germination, morphological and biochemical criteria of barley (Hordeum vulgare L.) and flixweed (*Descurainia sophia* L.). Journal of Agroecology, 4(3): 215-222. [In Persian]

Shah, S.B., Sartaj, L., Ali, F., Shah, S.I.A. and Khan, M.T. 2018. Plant extracts are the potential inhibitors of α-amylase: a review. MOJ Bioequivalence and Bioavailability, 5(5): 270-273. https://doi.org/10.15406/mojbb.2018.05.00113

Sharma, A., Jha, A.M., Dubey, R.S. and Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plant under stressful conditions. Journal of Botany, 26: 1-26. https://doi.org/10.1155/2012/217037

Soltani, A. and Torabi, B. 2014. Design and analysis of agricultural experiments (with SAS programs). Jehad Daneshgahi Mashhad Press, Mashhad, Iran, 431 p. [In Persian]

Turc, M.A., and Tawaha, A.M. 2002. Inhibitory effects of aqueous extracts of black mustard on germination and growth of lentil. Pakistan Journal of Agronomy, 1: 28-30. https://doi.org/10.3923/ja.2002.28.30

Tutenocakli, T., Coskun, Y., Tas, I., Oral, A. and Turker, G. 2022. Allelopathic effects of some essential oil components on germination and seedling growth of wheat. Current Trends in Natural Sciences, 11(21): 513-520. https://doi.org/10.47068/ctns.2022.v11i21.055

Vafaei, M., Seyyed Nejad, S.M., Gilani, A. and Saboora, A. 2015. A study on allelopathic effect of olive pomace (*Olea europaea* L.) on some biochemical characteristics of three seedlings wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). Journal of Plant Research, 28: 243-256. [In Persian]

Varner, J.E. 1964. Gibberlic acid controlled synthesis of α- amylase in barley endosperm. Plant Physiology, 39: 413-415. https://doi.org/10.1104/pp.39.3.413

Zeng, R.S., Mallik, A.U. and Luo, S.M. 2008. Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry; Springer Science+Business Media, LLC, New York, USA. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77337-7