Evaluation of Allelopathic and Antifungal Effects of Extracts of Leaves and Corm of Saffron (*Crocus sativus* L.) on Milk thistle (*Silybum marianum* L.) and *Aspergillus* sp.

Masood Dehghani[1], Mehdi Jahani[2*], Hossein Hammami[3,4]

1- MSc. Student of plant protection, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran
2- Associated Prof, Department of plant protection, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran
3- Associated Prof, Department of plant production and genetics, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.
4- Member of the Plant and Environmental Stresses Research Group, University of Birjand, Birjand, Iran.

***Corresponding Author: mjahani@birjand.ac.ir**

Abstract

Introuduction: Saffron (*Crocus sativus* L.), belonging to the family Iridaceae, is a perennial plant with unique ecological adaptations. This plant is native to the Iranian Plateau and exhibits good compatibility with its specific climatic conditions, especially warm, dry, and moderate regions. This is a perennial crop with a longevity up to 12 years but the stands start self thinning after 5 or 6 years, therefore after 5-6 years the economic yield start reducing. It is well known that saffron leaves and corms produce bioactive compounds. Some of these compounds have a role in inhibition of plant growth and seed germination in their vicinity. The present research was conducted with the aim of evaluating the allelopathic and antifungal effect of extraction solution of leaves and corms of saffron on milk thistle and *Aspergillus* sp.

Materials and Methods: In order to evaluate the allelopathic and fungicidal properties of saffron leaf and corm extracts on the germination and growth characteristics of milk thistle and Aspergillus, three separate experiments were conducted as factorials in a completely randomized design with three replications in the Seed Research Laboratory, Research Greenhouse, and Plant Disease Laboratory of the Faculty of Agriculture, University of Birjand in 2021. The treatments for the inhibitory effect of saffron extract on the germination characteristics of milk thistle seeds (first experiment) included two types of saffron organs (leaf and corm) and seven extract concentrations (0, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, and 2% w/v). The treatments for the inhibitory effect of saffron extract on the germination characteristics of milk thistle in pots (second experiment) were similar to the first experiment, and the treatments for the inhibitory effect of saffron extract on the growth of *Aspergillus* sp. (third experiment) were similar to the previous two experiments.

Results and Discussion: The results of the first experiment showed that the interaction effect of extract type and extract concentration on germination percentage, allometric coefficient and stem dry weight was significant, and the lowest of the mentioned traits was obtained from the 2% concentration of leaf extract. The results of the analysis of variance of the second experiment showed that the simple effect of extract type on germination percentage, allometric coefficient and root length was significant, and the lowest of the mentioned indices was obtained from the leaf extract. The simple effect of extract concentration on germination percentage, germination rate and root length was significant, and the 2% concentration of extract had the lowest values of the mentioned

traits. The interaction effect of treatments on stem length, stem dry weight and root dry weight was significant. The lowest stem length was obtained from the 0.5% concentration of corm extract. The 2% concentration of leaf extract had the lowest stem dry weight. The results of the antifungal experiment showed that the diameter of the *Aspergillus* fungus colony on the sixth and ninth days was affected by the interaction effect of extract type and extract concentration. The lowest fungal colony diameter on the sixth day was obtained from a concentration of 2% leaf extract, which had no statistically significant difference with a concentration of 1% leaf extract and concentrations of 1 and 2% corm extract. The concentration of 2% corm extract had the lowest colony diameter on the ninth day.

Conclusion: Finally, the results of these experiments showed that the antifungal effect and also the effect of inhibiting the germination and growth of milk thistle in saffron leaf extract are greater than in corm extract. Therefore, by considering the results of this study and conducting more research in the field of fungicidal and allotoxic effects of saffron organ extracts, it is possible to produce natural fungicides and herbicides.

Key words: Aqueous Extract, Biological Control, Inhibition, Pathogen, Weed

بازنویسی شده نهایی - قبل از چاپ

ارزیابی خاصیت دگرآسیبی و قارچ‌کشی عصاره آبی برگ و بنه زعفران (*Crocus sativus* L.) بر علف‌هرز خار مریم (*Silybum marianum* L.) و قارچ *Aspergillus* sp.

مسعود دهقانی[1]، مهدی جهانی [2]، حسین حمامی [3,4]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

۲. دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

۳. دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

۴. عضو گروه پژوهشی گیاه و تنش های محیطی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.

نویسندهٔ مسئول: **mjahani@birjand.ac.ir**

چکیده

به‌منظور ارزیابی خاصیت دگرآسیبی و قارچ‌کشی عصاره برگ و بنه زعفران بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشدی گیاه خار مریم و قارچ آسپرژیلوس سه آزمایش مجزا به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تحقیقات بذر، گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه بیماری‌های گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۱۴۰۰ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل عصاره دو اندام زعفران (برگ و بنه) و هفت غلظت عصاره (صفر، ۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد وزنی- حجمی) بودند. نتایج آزمایش جوانه‌زنی نشان داد که اثر متقابل نوع عصاره و غلظت عصاره بر درصد جوانه‌زنی، ضریب آلومتریک و وزن خشک ساقه معنی‌دار بود و کمترین صفات مذکور از غلظت ۲ درصد عصاره برگ حاصل شد. نتایج تجزیه واریانس آزمایش گلخانه‌ای نشان داد که اثر ساده نوع عصاره بر درصد جوانه‌زنی، ضریب آلومتریک، طول ریشه، طول ساقه و وزن خشک ساقه در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل تیمارها بر طول ساقه، وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار بود. نتایج آزمایش ضد قارچی نشان داد که قطر پرگنه قارچ آسپرژیلوس روز ششم و نهم تحت تأثیر اثر متقابل نوع عصاره و غلظت عصاره قرار گرفت. کم‌ترین قطر پرگنه قارچ روز ششم از غلظت ۲ درصد عصاره برگ به دست آمد. غلظت ۲ درصد عصاره بنه دارای کم‌ترین قطر پرگنه در روز نهم بود. در کل نتایج تحقیق حاضر نشان از اثر ممانعت کنندگی از جوانه‌زنی و رشد خار مریم در عصاره برگ زعفران و اثر ضدقارچی عصاره بنه زعفران دارد.

واژه‌های کلیدی: **کنترل بیولوژیک، بازدارندگی، عامل بیماری‌زا، علف هرز، عصاره آبی.**

مقدمه

خار مریم (*Silybum marianum* L. Gaertn) گیاهی خاردار متعلق به خانواده Asteraceae است ((Abenavoli et al., 2010). این گیاه در شرایط وحشی، اولین فصل رشد خود را پس از جوانه‌زنی بذر در مرحله رویشی سپری می‌کند، بنابراین معمولاً به‌عنوان یک گیاه دوساله طبقه‌بندی می‌شود (Pignatti et al., 1982). در شرایط مزرعه، بیشتر به‌عنوان یک محصول یک‌ساله با مدت زمان چرخه‌های مختلف بسته به زمان کاشت، کشت می‌شود (Young et al., 1978; Gresta et al., 2007). این گیاه که

در ابتدا در اروپای جنوبی و آسیا کشت می‌شد، اکنون در سراسر جهان یافت می‌شود (POWO, 2022). علف‌هرز خار مریم، گیاهی بسیار رقابتی است که رشد رویشی تهاجمی آن باعث رکود گیاهان مجاور می‌شود و در برخی از نقاط جهان به‌عنوان یک علف‌هرز خطرناک در نظر گرفته می‌شود (Gabay et al., 1994; Khan et al., 2009; Vereš & Týr, 2012; Týr, 2015).

آسپرژیلوس جنس متنوعی است که درآن تعداد زیادی گونه وجود دارد و در شرایط آب و هوایی مختلف و همچنین در انواع مختلف خاک یافت می‌شود (Burrough et al., 2012; Monmi et al., 2022). گونه‌های آسپرژیلوس مرتبط با بیماری‌های گیاهی عموماً بیمارگرهای فرصت‌طلب هستند و زخم‌ها یا جراحات برای ایجاد آلودگی و کلونیزاسیون میزبان گیاهی ضروری هستند (Sexton & Howlett, 2006). گونه‌های بیماری‌زای گیاهی آسپرژیلوس، محصولات کشاورزی را در مزرعه و همچنین پس از برداشت تحت تأثیر قرار می‌دهند و اغلب با پوسیدگی خوشه ذرت، پوسیدگی غوزه پنبه، کپک زرد بادام‌زمینی، کپک سیاه پیاز و سیر، پوسیدگی میوه انگور، انار، زیتون، مرکبات و سیب مرتبط هستند (Zakaria, 2024). ازاین‌رو کنترل علف‌هرز خار مریم و قارچ آسپرژیلوس برای تولید مناسب محصول ازنظر کمی و کیفی ضروری است.

برای کاهش خسارت‌های ناشی از علف‌های هرز و عوامل بیماری‌زا بر محصولات کشاورزی، علف‌کش و آفت‌کش‌هایی با نحوه عملکرد و کاربرد متفاوت به‌طور گسترده در محصولات زراعی استفاده می‌شوند. این سموم تأثیرات نامطلوبی بر سلامت انسان، موجودات غیر هدف و اکوسیستم دارند. پیشرفت‌های اخیر در تحقیقات دگرآسیبی، نقش مثبت مواد آللوپاتیک را در مدیریت علف‌های هرز و بیماری‌های گیاهی نشان می‌دهد (Muhammad et al., 2019). دگرآسیبی عمدتاً درنتیجه فعالیت متابولیت‌های ثانویه در گیاهان و میکروارگانیسم‌ها (مانند باکتری‌ها، ویروس‌ها، جلبک‌ها و قارچ‌ها) تولید می‌شوند و می‌توانند به‌طور قابل‌توجهی بر چندین فرآیند بیولوژیکی در اکوسیستم‌های طبیعی و اکوسیستم‌های کشاورزی تأثیر بگذارند (Heidari et al., 2014). تولید این ترکیبات به وجود مولکول‌های پیش‌ساز و فعال شدن ژن‌های خاصی که برای بیوسنتز آللوپاتی‌ها موردنیاز هستند، بستگی دارد. فعال شدن این ژن‌ها اغلب تحت تأثیر محرک‌های محیطی قرار می‌گیرد (Macias et al., 2007; Mirmostafaee et al., 2020; Muzell Trezzi et al., 2016). دگرآسیبی عموماً به‌عنوان یک پدیده بین‌گونه‌ای شناخته می‌شود، اما اگر دهنده و گیرنده یکسان باشند، به‌عنوان خود-مسمومیتی شناخته می‌شود (Batish et al., 2002). ترشحات ریشه برخی از گیاهان در مدیریت عوامل بیماری‌زای خاک‌زاد مؤثر است (Muhammad et al., 2019).

مطالعه خواص دگرآسیبی گیاهان، حوزه تحقیقاتی امیدوارکننده‌ای در سراسر جهان است (Kheirabadi et al., 2020; Janusauskaite, 2023). با توجه به ترکیب بیوشیمیایی اندام‌های مختلف زعفران، فعالیت دگرآسیبی آن مدت‌هاست که موردمطالعه قرار گرفته است. طبق نتایج خیرآبادی و همکاران (Kheirabadi et al., 2020)، مشخص شده که زعفران را می‌توان تا ۱۲ سال در یک مکان کشت نمود، اما از سال پنجم و یا ششم به بعد، عملکرد بنه‌ها کاهش می‌یابد. بنه‌ها و برگ‌های زعفران

(*Crocus sativus* L.) ترکیبات فعالی تولید می‌کنند که می‌توانند بر سایر گیاهان نیز تأثیر بگذارند. برخی از این ترکیبات مانع رشد و جوانه‌زنی بذر گیاهان مجاور می‌شوند. به همین دلیل، بسیاری از زعفران‌کاران معتقدند که پس از برداشت بنه‌های زعفران از زمین، نباید تا چند سال هیچ گیاه دیگری در آن زمین کشت شود (Hassani & Khalajzadeh, 2011). نتایج آزمایش توکلی و همکاران (Tavakoli et al., 2023a) نشان داد که عصاره‌های زعفران، اثر بازدارندگی بر شاخصه‌های جوانه‌زنی علف‌هرز خاکشیر تلخ داشتند و با افزایش غلظت آن‌ها صفات جوانه‌زنی و رشد گیاه‌چه کاهش یافته و بازدارندگی عصاره بنه بیشتر از برگ بود. در بررسی اثر دگرآسیبی عصاره آبی برگ و بنه زعفران بر روی گیاه خرفه مشخص شد که عصاره بنه به‌ترتیب باعث کاهش ۸/۵ ،۲۱/۵ ،۲۰/۷ و ۱۹/۲ درصدی میانگین زمان جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه در مقایسه با عصاره برگ شد (Hammami et al., 2020). فیضی و همکاران (Feizi et al., 2018) نشان دادند که عصاره برگ و بنه زعفران به ترتیب ۱۷/۴ و ۳۶ درصد بر وزن گیاه‌چه، طول گیاه‌چه و طول ریشه‌چه چغندر قند تأثیر منفی دارند. موسوی و همکاران (Musavi et al., 2018) نشان دادند که استفاده از عصاره زعفران در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد، به‌طور معنی‌داری بر رشد و نمو علف‌های هرز جو موشی (*Hordeum murinum* L.) و خاکشیر شیرین (*Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl) در مرحله جوانه‌زنی تأثیر منفی گذاشت. نتایج نشان داد که کاربرد عصاره ۲۰ درصد (به‌دست‌آمده از ترکیب بافت برگ و بنه) بیش‌ترین بازدارندگی رشد و کمترین سرعت جوانه‌زنی را در سلمه تره (*Chenopodium album*) و علف هرز سوروف (*Echinochloa crus-galli*) ایجاد کرد (Mousavi et al., 2023). در تحقیقی دیگر مشخص شد که نوع عصاره زعفران تأثیری بر صفات گیاه‌چه شاهی وحشی نداشت. اما غلظت عصاره زعفران تا ۰/۵ درصد اثر تحریک‌کنندگی و در غلظت‌های بالاتر اثر بازدارندگی بر صفات گیاه‌چه شاهی وحشی داشتند (Tavakoli et al., 2024).

اثرات ضد قارچی عصاره‌های گیاهی را می‌توان به اثر ضد قارچی ترکیبات استخراج شده از گیاهانی نظیر ریحان، چریش، اکالیپتوس، تاتوره و خرزهره و سیر برای کنترل قارچ آلترناریا (*Alternaria solani*)در شرایط آزمایشگاهی و درون شیشه‌ای اشاره نمود. در شرایط آزمایشگاهی، عصاره برگ‌های تاتوره، چریش و سیر در غلظت ۵ درصد موجب کاهش رشد میسیلیومی آلترناریا شد درحالی‌که عصاره ریحان در غلظت ۱ و ۵ درصد و عصاره خرزهره در غلظت ۵ درصد پایین‌ترین اثر بازدارندگی رشد میسیلیومی پاتوژن را نشان دادند (Nashwa & Ab- Elyousr, 2012). همچنین اثر ضد قارچی بنه زعفران بر روی برخی قارچ‌ها نظیر فوزاریوم (*Fusarium oxysporum*)، پنی‌سیلیوم (*Penicillium raistriicki*)، آسپرژیلوس (*Aspergillus niger*) و بایپولاریس (*Bipolaris spicifera*) گزارش شد (Rubio-Moraga et al., 2013). تحقیق توکلی و همکاران نشان‌دهنده عدم تاثیر بازدارنده غلظت‌های بکار برده شده از عصاره‌های زعفران بر روی رشد قارچ آسپرژیلوس نیجر است. بنابراین این محققین بیان کردند که برای جلوگیری از رشد این قارچ نیاز به کاربرد غلظت های بالاتر است (Tavakoli et al., 2024). این مطالعه با هدف ارزیابی توان

عصاره‌های برگ و بنه زعفران در جلوگیری از جوانه‌زنی و رشد بذر و گیاهچه علف هرز خارمریم در شرایط آزمایشگاه و گلخانه و همچنین توانایی بازدارندگی از رشد قارچ آسپرژیلوس در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور ارزیابی خاصیت دگرآسیبی و قارچ‌کشی عصاره برگ و بنه زعفران بر خصوصیات جوانه‌زنی و رشدی علف‌هرز خار مریم و قارچ آسپرژیلوس سه آزمایش مجزا به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تحقیقات بذر، گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه بیماری‌های گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۱۴۰۰ انجام شد. تیمارهای آزمایش اثر بازدارندگی عصاره زعفران بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر خار مریم (آزمایش اول)، اثر بازدارندگی عصاره زعفران بر خصوصیات جوانه‌زنی خار مریم در گلدان (آزمایش دوم)، و اثر بازدارندگی عصاره زعفران بر رشد قارچ *Aspergillus* sp. (آزمایش سوم) شامل دو اندام زعفران (برگ و بنه) و هفت غلظت عصاره (صفر، ۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد وزنی- حجمی) بودند (Tavakoli et al., 2024). صفات مورد مطالعه در آزمایش دگرآسیبی در شرایط آزمایشگاه شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، ضریب آلومتریک، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک ساقه خار مریم بود. ضمناً در شرایط آزمایش گلخانه‌ای نیز صفت‌های مذکور اندازه‌گیری شدند. در آزمایش ضد قارچی میانگین قطر پرگنه قارچ *Aspergillus* sp. اندازه‌گیری شد.

بذرهای خار مریم از مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند تهیه شد. برگ‌ها و بنه‌های زعفران از مزارع شهرستان سرایان (استان خراسان جنوبی) جمع‌آوری شد. برگ‌ها و بنه‌های زعفران پس از جمع‌آوری به‌منظور جداسازی بقایای خاک با آب شستشو شده و به‌مدت یک هفته در شرایط سایه خشک شدند و به تفکیک به‌وسیله آسیاب پودر شدند. برای تهیه عصاره آبی، مقدار ۲۰ گرم پودر خشک برگ و بنه زعفران با ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و به مدت دو ساعت بر روی شیکر (۲۰۰ دور در دقیقه) قرار داده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت، محلول حاصل، از کاغذ صافی واتمن عبور داده شدند و عصاره مادر تهیه شد (بیشترین غلظت در تیمارها). سپس با رقیق‌سازی عصاره به دست آمدهٔ غلظت‌های موردنیاز جهت اجرای آزمایش تهیه‌شده و مورد استفاده قرار گرفت (Mojab & Mahmodi, 2008).

جهت آزمایش دگرآسیبی (شرایط آزمایشگاهی) از تشتک های پتری شیشه‌ای با قطر نه سانتی‌متر استفاده شد. سترون سازی تشتک‌های پتری شیشه‌ای به‌وسیله اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. بذرها نیز به کمک محلول هیپوکلریت سدیم نیم درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی شده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند. در هر واحد آزمایشی ۲۵ بذر سالم بر روی یک لایه کاغذ واتمن شماره یک قرار داده شده و ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره‌ها به آن‌ها اضافه شد. پتری دیش‌ها در انکوباتور قرار داده شده و به‌مدت ۱۰ روز شمارش بذرهای جوانه‌زده که دارای حداقل دو میلی‌متر

طول ریشه‌چه بود در ساعت نه صبح هر روز انجام شد (Tavakoli et al., 2024; Tavakoli et al., 2023). در انتهای روز دهم طول ریشه‌چه و ساقه چه اندازه‌گیری شد. سپس وزن خشک ریشه‌چه و ساقه چه پس از ۴۸ ساعت قرار دادن در آون در دمای ۶۰ درجه اندازه‌گیری شد. درصد جوانه‌زنی (تعداد بذر جوانه‌زده در روز آخر آزمایش×۱۰۰)، سرعت جوانه‌زنی (مجموع حاصل تقسیم تعداد بذر جوانه‌زده در هر روز بر همان روز (Feizi et al., 2013))، میانگین زمان جوانه‌زنی طبق معادله ۱ و ضریب آلومتریک بر اساس معادله ۲ محاسبه شد.

معادله ۱ $$MGT = \Sigma\,(Di \times Ni)/\,\Sigma Ni$$

در این معادله MGT میانگین زمان جوانه‌زنی N تعداد بذرهایی که در روز D ام جوانه زدند و D تعداد روزهایی‌که از آغاز زمان جوانه‌زنی گذشته می‌باشند

معادله ۲ $$\text{ضریب آلومتریک} = \frac{\text{میانگین طول ریشه‌چه}}{\text{میانگین طول ساقه‌چه}}$$

برای انجام آزمایش گلخانه‌ای، ابتدا گلدان‌ها (یک لیتری) با یک کیلوگرم خاک (ماسه، خاک و خاکبرگ به نسبت مساوی) پر شدند. سپس در هر گلدان ۱۰ عدد بذر خار مریم کشت گردید. مقدار ۲۰ سی‌سی عصاره (در غلظت‌های مختلف) در چهار مرحله (یک، دو، سه و چهار هفته بعد از سبز شدن) به هر واحد آزمایشی اضافه شد و به منظور جلوگیری از خروج آب آبیاری، برای هر گلدان از زیر گلدانی استفاده و در صورت ورود آب به زیر گلدانی، آب به گلدان برگشت داده شد. آبیاری هر دو روز یک بار و به مقدار ۱۰۰ سی‌سی برای هر گلدان انجام می‌شد (بر اساس ظرفیت زراعی). پس از گذشت ۲ ماه از کاشت گیاه، گیاهان از سطح خاک برداشت شده و طول اندام هوایی اندازه‌گیری شده و سپس توزین شدند. به‌منظور اندازه‌گیری وزن خشک به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. علاوه بر اندام هوایی، ریشه‌ها نیز به‌دقت از خاک جدا شده و شستشو شدند و طول آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از خشک شدن سطح ریشه‌ها وزن تر و وزن خشک (۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری شدند.

در آزمایش ضد قارچی، از غلظت‌های عصاره آبی در هفت سطح (صفر، ۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد وزنی-حجمی) استفاده شد (Tavakoli et al., 2024 Tavakoli et al., 2023 b; Tavakoli et al., 2023 a;). جدایه قارچ مورد استفاده در این آزمایش از مزارع زعفران شهرستان سرایان جداسازی و با استفاده از خصوصیات ریخت شناسی در آزمایشگاه بیماری‌های گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند شناسایی و در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان اجرای آزمایش نگهداری شد. به‌منظور بررسی اثر ضدقارچی عصاره‌های زعفران از محیط کشت PDA[1] استفاده شد. در این روش، محیط کشت در ارلن‌های یک لیتری تهیه گردید و اتوکلاو شد. بعد از سرد شدن محیط عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف به محیط اضافه گردید و به هم زده

[1] -Potato Dextrose Agar

شدند تا امولسیونی کاملاً یکنواخت ایجاد گردد. سپس محیط‌های حاصل درون پتری دیش‌هایی به قطر نه سانتیمتر تقسیم و اجازه داده شد تا محیط کاملاً جامد گردد. قبل از بستن کامل محیط کشت، دیسک‌هایی به قطر پنج میلی‌متر به‌وسیله کورک بورر[2] از حاشیه میسیلیوم‌های قارچ هفت‌روزه به‌صورت معکوس در مرکز پتری دیش‌ها روی محیط کشت قرار داده شد. برای هر غلظت سه پتری دیش به‌عنوان تکرار استفاده شد. سپس پتری دیش‌ها با پارافیلم بسته شده و به داخل انکوباتور[3] با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شده و تا پایان هر دوره آزمایش در این شرایط نگهداری شدند (Tavakoli et al., 2023 a; Tavakoli et al., 2024). برای هر گروه از تیمارها، تیمار بدون عصاره به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. رشد رویشی هاله قارچ‌ها تا زمانی که سطح محیط کشت پتری شاهد توسط قارچ کاملاً اشغال شد به‌طور روزانه اندازه‌گیری شد. داده‌ها پس از بررسی نرمال بودن توسط نرم‌افزار SAS 9.4 آنالیز شد. به‌منظور مقایسه میانگین از آزمون LSD محافظت‌شده در سطح معنی‌داری ۵٪ استفاده گردید.

نتایج و بحث

آزمایش اول: اثر عصاره‌های زعفران بر شاخصه‌های جوانه‌زنی و خصوصیات گیاه‌چه خار مریم: نتایج تجزیه واریانس اثر نوع عصاره و غلظت عصاره زعفران بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر خار مریم در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان دهنده تأثیر معنی‌دار اثرات ساده و متقابل نوع و غلظت عصاره بر درصد جوانه‌زنی بذر خار مریم بود. نتایج اثر متقابل تیمارها نشان داد که درصد جوانه‌زنی بذر خار مریم در غلظت صفر عصاره برگ ۱۰۰ درصد بود که با غلظت صفر عصاره بنه اختلاف آماری معنی‌داری نداشت و کمترین درصد جوانه‌زنی (۱۳/۳۳ درصد) مربوط به غلظت ۲ درصد عصاره برگ و بنه زعفران بود (جدول ۳). سرعت جوانه‌زنی تنها تحت تأثیر اثر ساده غلظت عصاره قرار گرفت. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش غلظت عصاره از سرعت جوانه زنی کاسته شد و غلظت ۲ درصد با ۸/۶۶ بذر در روز کمترین سرعت جوانه‌زنی را داشت (جدول ۲). متوسط زمان جوانه‌زنی نیز تنها تحت تأثیر اثر ساده غلظت قرار گرفت. غلظت ۱ درصد دارای بیش‌ترین متوسط زمان جوانه‌زنی بود (جدول ۲). اثر ساده غلظت و اثر متقابل نوع و غلظت عصاره بر ضریب آلومتریک معنی‌دار بود. نتایج اثر متقابل تیمارها نشان داد که غلظت ۰/۵ درصد عصاره برگ دارای بیش‌ترین و غلظت ۲ درصد عصاره برگ دارای کم‌ترین ضریب آلومتریک بود (جدول ۳).

در نتایجی مشابه قسمتی و همکاران (Ghesmati et al., 2018) گزارش کردند که کمترین درصد جوانه‌زنی بذر علف‌هرز جو وحشی از غلظت ۲ درصد عصاره برگ به‌دست آمد که با غلظت ۲ درصد عصاره بنه اختلاف معنی‌دار آماری نداشت. موسوی و

---

[2] -Cork borer

[3] -Incubator

همکاران (Musavi et al., 2018) نشان دادند که استفاده از عصاره زعفران در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد، به‌طور معنی‌داری بر رشد و نمو علف‌های هرز *Hordeum murinum* L. و *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl در مرحله جوانه‌زنی بذر تأثیر منفی گذاشت. در بررسی اثر عصاره آبی برگ و بنه زعفران بر رشد علف‌های هرز تاج خروس و سلمه تره (*Chenopodium album*) در مقایسه دو گونه علف هرز مشخص شد که در تاج خروس، تأثیر بازدارندگی عصاره برگ بیشتر بود، در حالی که در مورد سلمه تره، تأثیر کاهندگی عصاره بنه بیشتر بود (Rashed Mohassel et al., 2009). همچنین در بررسی اثر دگرآسیبی اندام‌های مختلف زعفران بر جوانه‌زنی گونه‌های علف هرز شامل شلمبیک (*Rapistrum rugosum*) و گچ دوست (*Gypsophila pilosa*) با افزایش غلظت عصاره آبی برگ و بنه زعفران، درصد و سرعت جوانه زنی و طول ریشه‌چه و ساقه چه بذر این دو علف هرز کاهش پیدا کرد. در مقایسه دو اندام بنه و برگ زعفران، اثرات دگرآسیبی برگ بیشتر از بنه بود (Azizi et al., 2013). سرعت جوانه‌زنی بذر تاج‌خروس نیز با افزایش غلظت عصاره آبی برگ و بنه زعفران کاهش یافت (Asgarpour et al., 2015).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر ساده غلظت و اثر متقابل نوع و غلظت عصاره بر طول ریشه معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج اثر متقابل تیمارها نشان داد که بیش‌ترین طول ریشه در غلظت صفر عصاره بنه مشاهده شد و غلظت ۲ درصد عصاره برگ دارای کمترین طول ریشه بود (جدول ۳). وزن خشک ساقه نیز تحت تأثیر اثرات ساده و متقابل نوع و غلظت عصاره قرار گرفت (جدول ۱). نتایج اثر متقابل تیمارها نشان داد که غلظت صفر عصاره برگ بیش‌ترین وزن خشک ساقه را داشت که با غلظت‌های صفر، ۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵ عصاره بنه اختلاف معنی‌دار آماری نداشت و کمترین وزن خشک ساقه از غلظت ۲ درصد عصاره برگ به‌دست آمد (جدول ۳). وزن خشک ریشه تنها تحت تأثیر اثر ساده غلظت عصاره قرار گرفت (جدول ۱). بیش‌ترین وزن خشک ریشه از غلظت ۰/۱۲۵ درصد و کمترین آن از غلظت ۲ درصد به دست آمد (جدول ۲). فلاحی و همکاران (Fallahi et al., 2014) در پژوهش خود گزارش کردند که اثرات دگرآسیبی عصاره زعفران بر شاخصه‌ای رشد گیاهچه‌ای آروگوالا معنی‌دار بوده و با افزایش غلظت عصاره، طول و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه کاهش یافت. حمامی و همکاران در سال ۱۳۹۹ در پژوهش خود گزارش کردند که غلظت‌ها و تیپ‌های عصاره تأثیر معنی‌داری بر طول ریشه، طول ساقه‌چه، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی داشتند. میانگین زمان جوانه زنی، طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه در مقایسه با شاهد در بالاترین غلظت عصاره تا ۷۱/۴، ۸۱/۷ و ۷۹/۲ درصد کاهش یافت که با پژوهش حاضر مطابقت دارد (Hammami et al., 2020). مردانی و همکاران (Mardani et al., 2015) گزارش دادند که ترکیب زیست فعال فرار سافرانال که توسط زعفران تولید می‌شود، فعالیت مهاری قوی بر رشد و نمو گیاه دارد. مردانی و همکاران (Mardani et al., 2019) نیز نشان دادند که محلول‌پاشی ۱۵ میکرومولار سافرانال باعث آسیب شدید به *Trifolium pratense* L. می‌شود و می‌تواند پس از ۴۸ ساعت منجر به مرگ گیاهان شود. در

نهایت به‌نظر می‌رسد مواد آللوپاتیک با کاهش تقسیم میتوزی در مریستم ریشه و رشد طولی سلول‌ها و هم‌چنین مختل کردن جذب یون‌های معدنی، سبب کاهش میزان رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه علف‌های‌هرز می‌شوند (Soltanipor et al., 2007).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس صفات جوانه‌زنی بذر خار مریم تحت تأثیر عصاره‌های برگ و بنه زعفران (شرایط آزمایشگاهی)

Table 1. Analysis of variance results of germination and seedling characteristics of milk thistle under the effect of leaf and corm saffron extracts (lab conditions)

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی DF	درصد جوانه‌زنی Germination percent	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean germination time	ضریب آلومتریک Allometric coefficient	طول ریشه‌چه Radicle length	وزن خشک ساقه‌چه Dry weight of plumule	وزن خشک ریشه‌چه Dry weight of radicle
نوع عصاره Extract type (E)	1	1281.52 **	0.33 ns	1.24 ns	0.008 ns	282.88 ns	0.0004 **	0.000003 ns
غلظت عصاره Extract concentration (C)	6	7547.04 **	10.96 **	6.68 *	0.65 **	677.20 **	0.0008 **	0.000007 *
نوع عصاره × غلظت E×C	6	149.96 *	0.72 ns	2.32 ns	0.30 *	610.93 **	0.0002 **	0.0000007 ns
خطای آزمایشی Error	28	56	0.61	2	0.088	171.45	0.00004	0.000002
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)	-	14.93	37.70	35.35	19.48	21.15	18.54	29.35

NS، * و ** : به ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد است.

NS, * and **: non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۲. نتایج مقایسه میانگین اثر ساده غلظت عصاره بر صفات جوانه‌زنی و گیاه‌چه خار مریم (شرایط آزمایشگاهی)

Table 2. Mean comparisons of simple effect of extract concentration of saffron on germination and seedling characteristics of milk thistle (lab conditions)

غلظت عصاره (وزنی–حجمی) Extract concentration (M.V)	سرعت جوانه زنی (بذر در روز) Germination rate (seed/d)	متوسط زمان جوانه‌زنی (بذر در روز) Mean germination time (seed/d)	وزن خشک ریشه‌چه (گرم) Dried weight of radicle (g)
0	99.33 a	3.37 b	0.0068 ab
0.0625	77.33 b	2.88 b	0.0055 abc
0.125	81.33 b	3.17 b	0.0074 a
0.25	36 c	3.91 b	0.0056 abc
0.5	32 c	4.42 ab	0.0054 abc
1	16 d	6.08 a	0.0053 bc
2	8.66 d	4.20 b	0.0040 c
LSD (5 %)	8.85	1.67	1.99

میانگین‌های هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار محافظت‌شده اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means in each column, followed by similar letter are not significant based on FLSD (Fisher less significant difference) test.

جدول ۳. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل نوع عصاره و غلظت عصاره بر صفات جوانه‌زنی و و خصوصیات گیاه‌چه خار مریم (شرایط آزمایشگاهی)

Table 3. Mean comparisons of interaction effects of extract concentration and type extract of saffron on germination traits and seedling characteristics of milk thistle (lab conditions)

نوع عصاره Extract type	غلظت عصاره (وزنی-حجمی) Extract concentration (M.V)	درصد جوانه‌زنی Germination percent	ضریب آلومتریک Allometric coefficient	طول ریشه‌چه (میلی‌متر) Radicle length (mm)	وزن خشک ساقه‌چه (گرم) Dried weight of plumule (g)
عصاره برگ Extract leaf	0	100 ^{a}	1.70 ^{abc}	71.33 ^{abcd}	0.055 ^{a}
	0.0625	64 ^{c}	1.86 ^{ab}	65 ^{abcd}	0.046 ^{ab}
	0.125	80 ^{b}	1.56 ^{abc}	71.66 ^{abcd}	0.035 ^{bc}
	0.25	28 ^{ef}	1.7 ^{abc}	73.33 ^{abc}	0.035 ^{bc}
	0.5	24 ^{fg}	2.02 ^{a}	76.66^{ab}	0.035 ^{bc}
	1	14.66 ^{g}	1.32 ^{c}	70 ^{abcd}	0.033 ^{c}
	2	13.33 ^{h}	0.38 ^{d}	23.33 ^{e}	0.001 ^{d}
عصاره بنه Extract cormظ	0	98.96 ^{a}	1.75 ^{abc}	78.33 ^{a}	0.054 ^{a}
	0.0625	90.66 ^{ab}	1.65 ^{abc}	63.33 ^{abcd}	0.049 ^{a}
	0.125	82.66 ^{b}	1.58 ^{abc}	58.33 ^{abcd}	0.048 ^{a}
	0.25	44 ^{d}	1.57 ^{abc}	50 ^{d}	0.034 ^{c}
	0.5	40 ^{de}	1.44 ^{bc}	55 ^{bcd}	0.033 ^{c}
	1	17.33 ^{fg}	1.47 ^{bc}	53.33 ^{cd}	0.034 ^{c}
	2	13.33 ^{h}	1.27 ^{c}	56.66 ^{abcd}	0.033 ^{c}
LSD (5 %)		12.51	0.49	21.89	1.17

میانگین‌های هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار محافظت‌شده اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means in each column, followed by similar letter are not significant based on FLSD (Fisher less significant difference) test.

آزمایش دوم: اثر عصاره‌های زعفران بر شاخص‌های جوانه‌زنی و خصوصیات گیاه‌چه علف‌هرز خار مریم در شرایط گلخانه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده نوع عصاره و غلظت عصاره بر درصد جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول ۴).

عصاره برگ دارای کمترین درصد جوانه‌زنی بود (جدول ۵). با افزایش غلظت عصاره از درصد جوانه‌زنی کاسته شد و غلظت ۲ درصد دارای کمترین درصد جوانه‌زنی بود (جدول ۶). سرعت جوانه‌زنی تنها تحت تأثیر اثر ساده غلظت عصاره قرار گرفت (جدول ۴). بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی از غلظت صفر به‌دست آمد و کمترین صفت مذکور از غلظت ۲ درصد حاصل شد (جدول ۶). اثر

ساده عصاره بر ضریب آلومتریک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). کم‌ترین ضریب آلومتریک مربوط به عصاره برگ بود (جدول ۵).

زعفران گیاهی دارویی با کاربردهای صنعتی و دارویی متعدد است. ثابت شده است که عصاره زعفران حاوی ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی است (Goli et al., 2012; Goupy et al., 2013). در میان آللوکمیکال‌ها، ترکیبات آروماتیک مانند فنول‌ها، کومارون، فلاونوئیدها، تانن‌ها، مشتقات سینامیک اسید و کینون‌ها به عنوان مهم‌ترین مواد آللوپاتیک در نظر گرفته می‌شوند. علاوه بر این، فنول‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و گلیکوزیدها به عنوان ترکیبات بازدارنده جوانه‌زنی در نظر گرفته می‌شوند (Kohli et al., 2001). مکانیسمی که منجر به کاهش جوانه‌زنی می‌شود، احتمالاً مربوط به کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی مانند آلفا آمیلاز است (Vivian, 2002). محققین نشان دادند که عصاره برگ زعفران سبب کاهش سرعت جوانه‌زنی دو علف هرز شلمی (*Rapistrum rogosum* L.) و گچ‌دوست (*Gypsophilla pillosa* L.) شد (Alimoradi et al., 2008).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده نوع عصاره و غلظت عصاره در سطح احتمال یک درصد بر طول ریشه معنی‌دار بود (جدول ۴). عصاره برگ دارای کمترین طول ریشه بود (جدول ۵). بیش‌ترین طول ریشه مربوط به غلظت صفر بود که با غلظت‌های ۰/۰۶۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ اختلاف آماری معنی‌داری نداشت و کمترین آن از غلظت ۲ درصد به‌دست آمد که با غلظت ۱ درصد اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (جدول ۶). اثرات ساده و متقابل نوع عصاره و غلظت عصاره در سطح احتمال یک درصد بر طول ساقه معنی‌دار بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها نشان داد که غلظت ۰/۵ درصد عصاره برگ دارای بیش‌ترین طول ساقه بود که با غلظت ۰/۱۲۵ درصد اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (جدول ۷). وزن خشک ساقه تحت تأثیر اثرات ساده و متقابل نوع عصاره و غلظت عصاره قرار گرفت (جدول ۵). نتایج اثر متقابل تیمارها نشان داد که بیش‌ترین وزن خشک ساقه از غلظت صفر عصاره بنه حاصل شد که با غلظت‌های ۰/۰۶۲۵ و ۰/۱۲۵ عصاره بنه و غلظت صفر عصاره برگ اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (جدول ۷). اثر ساده غلظت عصاره و اثر متقابل نوع عصاره و غلظت عصاره بر وزن خشک ریشه معنی‌دار بود (جدول ۴). نتایج اثر متقابل تیمارها نشان داد که غلظت صفر عصاره برگ دارای بیش‌ترین وزن خشک ریشه بود و سایر سطوح با هم اختلاف معنی‌دار آماری نداشتند (جدول ۷).

علیپور و محمودی (Alipoor & Mahmoodi, 2015) گزارش دادند که بیش‌ترین اثرات آللوپاتیک عصاره بنه و برگ زعفران بر رشد و جوانه‌زنی *Bromus tectorum* L. مربوط به عصاره برگ و برای *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl مربوط به عصاره بنه بود. همچنین گزارش شده است که هر چه بقایای برگ زعفران بیشتر به محیط کشت بستر اضافه شود، طول ساقه‌های سورگوم بیشتر کاهش می‌یابد و هر چه بقایای بنه زعفران بیشتر به محیط کشت اضافه شود، طول ریشه‌های گیاه گندم بیشتر کاهش می‌یابد. از سوی دیگر، در این مطالعه، اثرات افزایشی ناشی از افزودن بقایای بنه و در برخی موارد افزودن بقایای برگ را مشاهده کردیم که نشانه‌ای از اثرات هورمونی است (Carvalhoa et al., 2020).

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس صفات جوانه‌زنی و گیاهچه خار مریم تحت تأثیر عصاره‌های زعفران (شرایط گلخانه)

Table 4. Analysis of variance germination and seedling characteristics of milk thistle under the effect saffron extract (Greenhouse conditions)

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی DF	درصد جوانه‌زنی Germination percent	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	ضریب آلومتریک Allometric coefficient	طول ریشه root length	طول ساقه shoot length	وزن خشک ساقه Dry weight of shoot	وزن خشک ریشه Dry weight of root
نوع عصاره Extract type (E)	1	877.71 **	0.58 ns	4.98 **	372.02 **	201.52 **	0.0000018 **	0.035 ns
غلظت عصاره Extract concentration (C)	6	6717.71**	14.74 **	0.096 ns	186.60 **	100.99 **	0.0000028 **	0.034 **
نوع عصاره × غلظت E×C	6	109.71 ns	0.66 ns	0.38 ns	20.85 ns	62.24 **	0.00000058 **	0.033 **
خطای آزمایشی Error	28	77.33	0.66	0.23	23	15.04	0.000000079	0.008
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)	-	15.13	28.05	29.52	16.49	19.96	7.30	26.48

NS، * و ** : به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد است.

NS, * and **: non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۵. نتایج مقایسه میانگین اثر ساده نوع عصاره بر صفات جوانه‌زنی و گیاه‌چه خار مریم

Table 5. Mean comparisons of simple effect of extract type of saffron on germination and seedling characteristics of milk thistle

نوع عصاره Extract type	درصد جوانه زنی Germination percent	ضریب آلومتریک Allometric coefficient	طول ریشه (سانتی‌متر) Radicle length (cm)
برگ	53.52 b	1.28 b	26.09 b
بنه	62.66 a	1.97 a	32.04 a
LSD (5 %)	5.55	0.30	3.03

میانگین‌های هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار محافظت‌شده اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means in each column, followed by similar letter are not significant based on FLSD (Fisher less significant difference) test.

جدول ۶. نتایج مقایسه میانگین اثر ساده غلظت عصاره بر صفات جوانه‌زنی و گیاه‌چه خار مریم

Table 6. Mean comparisons of simple effect of extract concentration of saffron on germination and seedling characteristics of milk thistle

غلظت عصاره (وزنی–حجمی) Extract concentration (M.V)	درصد جوانه زنی Germination percent	سرعت جوانه زنی Germination rate	طول ریشه (سانتی‌متر) Radicle length (cm)
0	98.66 a	4.73 a	35.5 a
0.0625	94 ab	4.61 a	32.83 a
0.125	85.33 b	4.15 a	32 a
0.25	42 c	2.45 b	30 a
0.5	38 cd	1.94 bc	30 a
1	31.33 d	1.43 c	23.66 b
2	17.33 e	1.0005 c	19.5 b

LSD (5 %)	10.40	0.96	5.67

میانگین‌های هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار محافظت‌شده اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means in each column, followed by similar letter are not significant based on FLSD (Fisher less significant difference) test.

جدول ۷. نتایج مقایسه میانگین اثر ساده غلظت عصاره بر صفات جوانه‌زنی و گیاه‌چه خار مریم

Table 7. Mean comparisons of simple effect of extract concentration of saffron on germination and seedling characteristics of milk thistle

نوع عصاره Extract type	غلظت عصاره (وزنی-حجمی) Extract concentration (M.V)	طول ساقه Shoot Length (cm)	وزن خشک ساقه (گرم) Dried weight of shoot (g)	وزن خشک ریشه (گرم) Dried weight of root (g)
عصاره برگ Extract leaf	0	25.33 ^{ab}	0.0049 ^{a}	0.405 ^{a}
	0.0625	21.66 ^{abcd}	0.0036 ^{b}	0.0055 ^{b}
	0.125	26.66 ^{a}	0.0035^{bc}	0.0051 ^{b}
	0.25	16.33 ^{defg}	0.0035^{bc}	0.0201 ^{b}
	0.5	27.33 ^{a}	0.0035^{bc}	0.0051 ^{b}
	1	21.66 ^{abcd}	0.0033 ^{bc}	0.0053 ^{b}
	2	12.33 ^{fg}	0.0031 ^{c}	0.0028 ^{b}
عصاره بنه Extract corm	0	24.33 ^{abc}	0.0052 ^{a}	0.0061 ^{b}
	0.0625	21 ^{abcd}	0.0049 ^{a}	0.0055 ^{b}
	0.125	19.33 ^{bcde}	0.0048 ^{a}	0.0075 ^{b}
	0.25	18.66 ^{cdef}	0.0034 ^{bc}	0.0062 ^{b}
	0.5	12 ^{g}	0.0033 ^{bc}	0.0053 ^{b}
	1	12.33 ^{fg}	0.0034 ^{bc}	0.0047 ^{b}
	2	13^{efg}	0.0033 ^{bc}	0.0051 ^{b}
LSD (5 %)		6.48	4.72	0.15

میانگین‌های هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار محافظت‌شده اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means in each column, followed by similar letter are not significant based on FLSD (Fisher less significant difference) test.

آزمایش سوم: اثر عصاره‌های زعفران بر قطر پرگنه قارچ آسپرژیلوس (*Aspergillus* sp.): نتایج تجزیه واریانس نشان داد که قطر پرگنه قارچ روز سوم تنها تحت تأثیر اثر ساده غلظت عصاره قرار گرفت (جدول ۸). اثرات ساده و متقابل نوع عصاره و غلظت عصاره بر قطر پرگنه روز ششم و نهم معنی‌دار بود (جدول ۸). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها نشان داد که کمترین قطر پرگنه اندازه‌گیری شده در روز ششم مربوط به عصاره ۲ درصد برگ بود که با غلظت ۱ درصد عصاره برگ و غلظت ۱ و ۲ درصد عصاره بنه اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (جدول ۹). کمترین قطر پرگنه اندازه‌گیری شده در روز نهم مربوط به غلظت ۲ درصد عصاره بنه بود (جدول ۹). در نتایجی توکلی و همکاران (Tavakoli et al., 2023) نشان دادند که غلظت‌های ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد عصاره بنه و غلظت ۱ درصد از عصاره برگ مانع ۱۰۰ درصدی رشد پرگنه قارچ آلترناریا

(*Alternaria* sp) شدند. گزارش شده است که افزایش غلظت عصاره زعفران باعث کاهش رشد و توسعه میسیلیوم قارچ پنی‌سیلیوم شد و عصاره بنه نسبت به عصاره برگ باعث اثر بازدارندگی بیشتر رشد میسیلیوم قارچ پنی‌سیلیوم (*Penicillium* sp) شد (Hammami et al., 2020). اثر ضدقارچی بنه زعفران به‌دلیل وجود ترکیبات ضدقارچی گزارش شده است (Rubi-Moraga et al., 2011). مهار رشد عوامل بیماریزای گیاهی توسط عصاره‌های آبی زعفران به این دلیل است که عصاره‌ها دارای متابولیت‌های ثانویه با فعالیت ضد قارچی مانند سافرانال، پلی فنل‌ها و تری ترپنوئیدها هستند (Milajerdi et al., 2015; Mardani et al., 2015).

جدول ۸. نتایج تجزیه واریانس قطر پرگنه قارچ *Aspergillus sp* تحت تأثیر عصاره‌های زعفران

Table 8. Analysis of variance *Aspergillus* fungus colony diameter of under the effect saffron extracts

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی DF	قطر پرگنه روز ۳ Colony diameter in three day	قطر پرگنه روز ۶ Colony diameter in six day	قطر پرگنه روز ۹ Colony diameter in nine day
نوع عصاره Extract type (E)	1	0.02 ^{ns}	48.21**	40.02**
غلظت عصاره Extract concentration (C)	6	17.85 *	114.10 **	135.190 **
نوع عصاره × غلظت E×C	6	1.30 ^{ns}	7.21 *	5.30 *
خطای آزمایشی Error	28	0.64	2.5	2.07
ضریب تغییرات (درصد) C.V (%)	-	15.95	10.13	7.98

جدول ۹. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل نوع و غلظت عصاره زعفران بر قطر پرگنه قارچ *Aspergillus sp*

NS, * and **: به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد است.

NS, * and **: non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively

Table 9. Mean comparisons of interaction effects of extract concentration and type extract interaction of saffron on Aspergillus fungus colony diameter

نوع عصاره Extract type	غلظت عصاره (وزنی-حجمی) Extract concentration (M.V)	قطر پرگنه قارچ روز ششم (میلی‌متر) Colony diameter in six day (mm)	قطر پرگنه قارچ روز نهم (میلی‌متر) Colony diameter in nine day (mm)
عصاره برگ Leaf extract	0	21.66 ^{a}	25.33 ^{a}
	0.0625	18.33 ^{b}	24.33 ^{a}
	0.125	14.66 ^{c}	20.00 ^{b}
	0. 25	13.50 ^{cd}	16.50 ^{d}
	0. 5	11.75 ^{de}	17.50 ^{cd}
	1	8.66 ^{f}	15.33 ^{de}
	2	7.33 ^{f}	13.66 ^{ef}
عصاره بنه Corm extract	0	17.66 ^{b}	24.66 ^{a}
	0.0625	15.33 ^{c}	20.66 ^{b}
	0.125	14.33 ^{c}	19.66 ^{bc}
	0. 25	15.00 ^{c}	16.50 ^{d}
	0.5	11.25 ^{e}	16.50 ^{d}
	1	8.33 ^{f}	11.33 ^{fg}
	2	8.00 ^{f}	10 ^{g}
LSD (5 %)		2.20	2.40

میانگین‌های هر ستون که حداقل در یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار محافظت‌شده اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means in each column, followed by similar letter are not significant based on FLSD (Fisher less significant difference) test.

نتیجه گیری

به‌طور کلی نتایج آزمایش جوانه‌زنی در پتری دیش نشان داد که نوع عصاره بر درصد جوانه‌زنی و وزن خشک ساقه چه اثر گذار بود. در حالی که غلظت عصاره بر سرعت جوانه‌زنی (اثر کاهشی)، متوسط زمان جوانه‌زنی (اثر افزایشی) و وزن خشک ریشه‌چه (اثر کاهشی) اثر معنی‌داری نشان داد. با این وجود نتایج آزمایش گلخانه‌ای نشان داد که سرعت جوانه‌زنی و وزن خشک ریشه‌چه تحت تاثیر معنی‌دار نوع عصاره و ضریب آلومتریک تحت تاثیر معنی‌دار غلظت عصاره قرار نگرفتند. از سوی دیگر نتایج آزمایش تاثیر عصاره های زعفران بر قارچ آسپرژیلوس نشان داد که عصاره‌های زعفران دارای اثر ضد قارچی بوده‌اند به‌طوری‌که غلظت ۲ درصد عصاره‌ی بنه زعفران دارای کمترین قطر کلونی در روز نهم اندازه‌گیری بود. بنابراین به نظر می‌رسد که می‌توان از عصاره‌های برگ و بنه زعفران برای کنترل علف‌هرز خارمریم بصورت خاک‌مصرف و همچنین برای کنترل قارچ آسپرژیلوس به عنوان ترکیبات آفت‌کش زیستی استفاده کرد.

فهرست منابع

Abenavoli, L., Capasso, R., Milic, N., & Capasso, F. (2010). Milk thistle in liver diseases: past, present, future. *Phytotherapy research*, *24*(10), 1423-1432.

Alimoradi, L., Azizi, G., Jahani, M., Siahmarguee, A., & Keshavarzi, A. (2008). Allelopathy as an alternative method for weed control in saffron fields: a suitable approach to sustainable agriculture. Tropentag Conference "Competition for Resources in a Changing World: New Drive for Rural Development". Stuttgart-Hohenheim, Germany. Tropentag, October 7-9, 2008.

Alipoor, Z., & Mahmoodi, S. (2015). Allelopathic effects of leaf and corm water extract of saffron (*Crocus sativus* L.) on germination and seedling growth of flixweed (*Descurainia sophia* L.) and downy brome (*Bromus tectorum* L.). *Saffron agronomy and technology*, 3, 13-24. [in Persian]

Asgarpour, R., Khajeh-Hosseini, M., & Khorramdel, S. (2015). Effect of aqueous extract concentrations of saffron organs on germination characteristics and preliminary growth of three weed species. *Journal of Saffron Research*, 3(1), 81-96. [in Persian]

Azizi, E., Alimoradi, L., Jahani Kondori, M., & Siahmargouei, A. (2013). Evaluation of allelopathic effects of saffron extract on germination and early growth of *Gipsophylla pilosa* and *Rapistrum rugosum*. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 8(2), 1-12. [in Persian]

Batish, D.R., Singh, H.P., Pandher, J.K., Arora, V., & Kohli, R.K. (2002). Phytotoxic effect of Parthenium residues on the selected soil properties and growth of chickpea and radish. *Weed Biology and Management*, *2*(2), 73-78.

Burrough, E., Deitz, K., Kinyon, J., Andreasen, C., Frana, T., Sutton, D., Thompson, E., Fu, J., Wickes, B., & Hostetter, J. (2012). Disseminated aspergillosis in a dog due to *Aspergillus alabamensis*. *Medical Mycology* Case Reports, 1(1), 1-4.

Carvalho, M. E., Castro, P. R., & Azevedo, R. A. (2020). Hormesis in plants under Cd exposure: from toxic to beneficial element?. *Journal of Hazardous Materials*, *384*, 121434.

Fallahi, H.R., Paravar, A., Behdani, M.A., Aghavani, M., & Fallahi, M.J. (2014). Effect of saffron corm and leaf extract on early growth of some plants to germination using them as associated crop. *Notuale Scientica Biologica*, 6(3), 282-287.

Feizi, H., Kamali, M., Jafari, L., & Moghaddam, P.R. (2013). Phytotoxicity and stimulatory impacts of nanosized and bulk titanium dioxide on fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). *Chemosphere*, 91(4), 506-511.

Feizi, H., Salari, A., & Gharari, F. (2018). Study of the allelopathic effect of saffron (*Crocus sativus* L.) organs' aqueous extract on the seed germination and seedling growth of sugar beet and safflower at different concentrations. *Z Arznei- Gewurzpfla*, 22(4), 156–161.

Gabay, R., Plitmann, U., & Danin, A. (1994). Factors affecting the dominance of *Silybum marianum* L.(Asteraceae) in its specific habitats. *Flora*, *189*(3), 201-206.

Ghesmati, M., Aminifard, M.H., Abdollahi, M., & Shakeri, M. (2018). Allelopathic effects of saffron (*Crocus sativus* L.) on germination and seedling growth characteristics of wild barley (*Hordeum spontaneum*) and couch grass (*Agropayron repense*). *Saffron Agronomy and Technology*, *6*(1), 35-48. [in Persian]

Goli, S.A.H., Mokhtari, F., & Rahimmalek, P. (2012). Phenolic compounds and antioxidant activity from saffron (*Crocus sativus* L.) petal. *Journal of Agriculture Science*, 4, 175-181.

Goupy, P., Vian, M. A., Chemat, F., & Caris-Veyrat, C. (2013). Identification and quantification of flavonols, anthocyanins and lutein diesters in tepals of *Crocus sativus* by ultra performance liquid chromatography coupled to diode array and ion trap mass spectrometry detections. *Industrial crops and products*, *44*, 496-510.

Gresta, F., Avola, G., & Guarnaccia, P. (2007). Agronomic characterization of some spontaneous genotypes of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) in Mediterranean environment. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, *12*(4), 51-60.

Hammami, H., Jahani, M., Shoshtary, M., & Noferesti, F. (2020). Evaluation of allelopathic and antifungal effects of different concentrations of aqueous leaves and corm extracts of saffron (*Crocus sativus* L.) on common purslane and *Penicillium* fungi. *Journal of Saffron Research*, *8*(2), 255-267. doi: 10.22077/jsr.2020.3196.1123[in Persian]

Hasani dR., & Khalajzadeh, S.A. (2011). Allelopathic effects on germination and seedling growth organs saffron chic,ory. *Iranian Horticultural Science Congress*, 14–17 September. Isfahan University. [in Persian]

Heidari, S., Azizi, M., Soltani, F., & Hadian, J. (2014). Foliar application of Ca $(NO_3)_2$ and KNO_3 affects growth, essential oil content, and oil composition of French tarragon. *Industrial Crops and Products*, *62*, 526-532.

Janusauskaite, D. (2023). The allelopathic activity of aqueous extracts of *Helianthus annuus* L., grown in boreal conditions, on germination, development, and physiological indices of *Pisum sativum* L. *Plants*, 12(9), article number 1920. doi: 10.3390/plants12091920.

Khan, M. A., Blackshaw, R. E., & Marwat, K. B. (2009). Biology of milk thistle (*Silybum marianum*) and the management options for growers in north-western Pakistan. *Weed Biology and Management*, *9*(2), 99-105.

Kheirabadi, M., Azizi, M., Faezeh Taghizadeh, S., & Fujii, Y. (2020). Recent advances in saffron soil remediation: Activated carbon and zeolites effects on allelopathic potential. *Plants*, 9(12), article number 1714. doi: 10.3390/ plants9121714.

Kohli, R.K., Singh, H.P., & Batish, D.R. (2001). *Allelopathy in agro ecosystems*. Food Products Press, USA, 447p.

Macias, F. A., Molinillo, J. M., Varela, R. M., & Galindo, J. C. (2007). Allelopathy—a natural alternative for weed control. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, *63*(4), 327-348.

Mardani H, Sekine T, Azizi M, Mishyna M, Fujii Y. Identification of safranal as the main allelochemical from saffron (*Crocus sativus*). *Natural Product Communication*, 2015 May; 10(5):775-7.

Mardani, H., Maninang, J., Sarpong, K.A., Oikawa, Y., Azizi, M., & Fujii, Y. (2019). Evaluation of biological response of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and weeds to safranal allelochemical of saffron (*Crocus sativus* L.) by using static exposure method. *Molecules*, 24, 1788.

Mardani, H., Sekine, T., Azizi, M., Mishyna, M., & Fujii, Y. (2015). Identification of safranal as the main allelochemical from saffron (*Crocus sativus*). *Natural product communications*, *10*(5), 1934578X1501000519.

Milajerdi, A., Bitarafan, V., & Mahmoudi, M. (2015). A review on the effects of saffron extract and its constituents on factors related to neurologic, cardiovascular and gastrointestinal diseases. *Journal of Medicinal Plants*, 14 (55), 9-28. [in Persian]

Mirmostafaee, S., Azizi, M., & Fujii, Y. (2020). Study of allelopathic interaction of essential oils from medicinal and aromatic plants on seed germination and seedling growth of lettuce. *Agronomy*, 10, 163.

Mojab, M., & Mahmodi, M. (2008). Allelopathic effects of shoot and root water extracts of Hoary cress (*Cardaria draba*) on germination characteristic and seedling growth of Sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Crop Production*, 1(4), 65-78. [in Persian]

Monmi, P., Nguyen, T.T., & Lee, H.B. (2022). Seven undescribed *Aspergillus* species from different niches in Korea. *Mycobiology*, 50, 189-202.

Mousavi, S.A., Feizi, H., Ahmadian, A., & Izadi Darbandi, E. (2023). Extracts obtained from organs of saffron (*Crocus sativus*) alter growth and seed germination of common lambsquarters (*Chenopodium album*) and barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*). *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, *157*(4), 844-850.

Muhammad, Z., Inayat, N., Majeed, A., Ali, H., & Ullah, K. (2019). Allelopathy and agricultural sustainability: Implication in weed management and crop protection—An overview. *European journal of ecology*, *5*(2), 54-61.

Musavi, S. A., Feizi, H., Ahmadian, A., & Izadi Darbandi, E. (2018). The Allopathic Effects of Organs' Extracts of Saffron Plant on the Growth and Germination of *Hordeum Murinum* L. and *Descurainia sophia* L. *Saffron Agronomy and Technology*, *6*(2), 219-236.

Muzell Trezzi, M., Vidal, R. A., Balbinot Junior, A. A., von Hertwig Bittencourt, H., & da Silva Souza Filho, A. P. (2016). Allelopathy: driving mechanisms governing its activity in agriculture. *Journal of Plant Interactions*, *11*(1), 53-60.

Nashwa, S.M., & Ab- Elyousr, K.A. (2012). Evaluation of various plant extracts against the early blight disease of tomato palnts under greenhouse and field condition. *Plant Protectection Science*, 54, 74-79.

Pignatti, S. (1982). *Flora d'Italia*; Edagricole: Bologna, Italia, Volume 3, p. 163.

POWO, (2022). *Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew*. Available online: http://www.plantsoftheworldonline.org/ (accessed on 16 February 2022).

Rashed Mohassel, M.H., Gherekhloo, J., & Rastgoo, M. (2009). Allelopathic effects of saffron (*Crocus sativus*) leaves and corms on seedling growth of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) and lambsquarter (*Chenopodium album*). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 7(1), 53-61. [Persian]

Rubio-Moraga, Á., Gómez-Gómez, L., Trapero, A., Castro-Díaz, N., & Ahrazem, O. (2013). Saffron corm as a natural source of fungicides: The role of saponins in the underground. *Industrial crops and products*, 49, 915-921.

Sexton, A. C., & Howlett, B. J. (2006). Parallels in fungal pathogenesis on plant and animal hosts. *Eukaryotic cell*, *5*(12), 1941-1949.

Soltanipor, M., Hajebi, A., Dastjerdi, A., & Ebrahimi, S. (2007). Allelopathic effects of aqueous extract of *Zhumeria majdae* on seed germination of seven species of vegetables. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(1), 51-58. [in Persian]

Tavakoli, Z., Jahani, M., & Hammami, H. (2023a). Allelopathic and antifungal effects of saffron (*Crocus sativus* L.) aqueous extract on germination and seedling growth of London rocket (*Sisymbrium irio*) and *Fusarium solani*. *Saffron Agronomy and Technology*, *11*(3), 321-341. doi: 10.22048/jsat.2023.409228.1499[in Persian]

Tavakoli, Z., Jahani, M., & Hammami, H. (2023b). Evaluation of allelopathic and antifungal effects of Saffron (*Crocus sativus* L.) leaves and corm extracts on Wild mustard and *Alternaria* sp.. *Journal of Saffron Research*, *11*(2), 221-235. doi: 10.22077/jsr.2023.6578.1218[in Persian]

Tavakoli, Z., Jahani, M., & Hammami, H. (2024). Investigating the allelopathic and antifungal effects of saffron (*Crocus sativus*) leaves and corms water extract on the germination criteria and seedling growth of Whitetop (*Cardaria draba*) and Aspergilus (*Aspergilus niger*). *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 38(3), 241-258. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2024.86305.1174 [in Persian]

Týr, Š. (2015). Weed infestation in the stand of milk thistle and infestation in sustainable crop rotation. *Acta fytotechnica et zootechnica*, *18*(4), 90-94.

Vereš, T., & Týr, Š. (2012). Milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) as a weed in sustainable crop rotation. *In Research journal of agricultural science*, 44(2), 118–122.

Vivian, J.R. (2002). Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron*, 58, 1631-1646.

Young, J. A., Evans, R. A., & Hawkes, R. B. (1978). Milk thistle (*Silybum marianum*) seed germination. *Weed Science*, *26*(4), 395-398.

Zakaria, L. (2024). An overview of *Aspergillus* species associated with plant diseases. *Pathogens*, *13*(9), 813.