ارزیابی اثر بیوچار بر کاهش تنش اکسیداتیو و بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاهچه کلزا در مواجهه با آللوپاتی یونجه

سعید گلشن‌دوست[۱]، پریسا شیخ‌زاده[۲*]، سعید خماری[۳] و محمدتقی آل‌ابراهیم[۴]
۱، ۲ و ۴) گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۳) گروه اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
نویسنده مسئول*: p_sheikhzadeh@uma.ac.ir

این مقاله برگرفته از رساله دکتری می‌باشد.

تاریخ دریافت:۱۴۰۴/۰۵/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۲

چکیده

به منظور بررسی اثر عصاره آللوپاتیک یونجه بر ویژگی‌های جوانه‌زنی، رشد اولیه و پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاهچه کلزا و ارزیابی نقش بیوچار و نانوبیوچار در کاهش اثرات این تنش، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی طی سال ۰۳-۱۴۰۲ اجرا گردید. تیمارها شامل نوع بیوچار (شاهد، بیوچار و نانوبیوچار) و عصاره یونجه (۰، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ درصد) بود. نتایج نشان داد که افزایش غلظت عصاره یونجه موجب کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های کلزا گردید. در شرایط عدم استفاده از بیوچار و نانوبیوچار، کاربرد غلظت ۵۰ درصد عصاره آللوپاتیک یونجه موجب شد تا درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه به‌ترتیب در حدود ۲۵/۴۷، ۲۵/۴۵، ۳۵/۲۳ و ۳۵/۴۱ درصد نسبت به تیمار عدم کاربرد عصاره یونجه (شاهد) کاهش یابد. در مقابل، در شرایط وجود و عدم وجود اثرات آللوپاتیک، کاربرد بیوچار و به‌ویژه نانوبیوچار این کاهش را تعدیل کرد، به‌گونه‌ای که بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمار نانوبیوچار مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار بیوچار نداشت. همچنین، نانوبیوچار در تمامی غلظت‌های عصاره، به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر، موجب بهبود شاخص‌های رشد گیاهچه شد. استفاده از بیوچار و نانوبیوچار سبب افزایش معنی‌دار محتوای قند محلول و فنل کل در تمامی غلظت‌های کاربرد عصاره شد. نانوبیوچار بیشترین اثر را بر افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در تمامی سطوح تنش آللوپاتیک داشت. در غلظت ۵۰ درصد عصاره، کاربرد نانوبیوچار به‌ترتیب موجب افزایش ۱۳/۵۴، ۸/۵۳ و ۲۷/۰۶ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در مقایسه با تیمار فاقد بیوچار گردید. در مجموع، استفاده از نانوبیوچار می‌تواند به‌عنوان راهبردی نوین و سازگار با محیط زیست برای کاهش اثرات آللوپاتی بقایای گیاهی، بهبود استقرار گیاهچه‌ها و افزایش پایداری تولید کلزا مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: آللوپاتی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، رشد گیاهچه، کلزا و نانوبیوچار.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

مقدمه

در سیستم‌های زراعی متمرکز، کاهش تنوع در تناوب‌های زراعی و افزایش شدت بهره‌برداری از اراضی، چالش‌های مرتبط با برهم‌کنش‌های شیمیایی گیاهان را به یکی از عوامل محدودکننده در پایداری تولید تبدیل کرده است. در این میان، آللوپاتی به‌عنوان یک راهبرد بیوشیمیایی، نقشی تعیین‌کننده در ساختار جوامع گیاهی ایفا می‌کند؛ فرآیندی که طی آن، ترشحات ریشه‌ای و متابولیت‌های ثانویه‌ی آزادشده از بقایای گیاهی، پتانسیل القای اثرات بازدارنده بر جوانه‌زنی، نمو و استقرار گیاهان هم‌جوار یا گونه‌های جانشین در تناوب را دارند (Vajja *et al*., 2025). یونجه (*Medicago sativa* L.)، به‌عنوان یک گیاه علوفه‌ای شاخص در تناوب‌های زراعی، از طریق ترشح ترکیبات آللوشیمیایی (اسید پارا-کوماریک، اسید ترانس-سینامیک، اسید اورتو-کوماریک، کومارین، اسکوپولتین) در ریزوسفر، بر پویایی رشد گیاهان بعدی تأثیرگذار است. این برهم‌کنش‌های دگرآسیبی، به‌ویژه در مراحل حساس استقرار گیاهچه، با تداخل در فرایندهای فیزیولوژیک نظیر تقسیم سلولی در مریستم ریشه، اختلال در جذب عناصر غذایی و مهار فعالیت‌های آنزیمی، منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی و افت رشد رویشی گیاهان زراعیِ پیرو می‌گردد که این امر می‌تواند کارایی تناوب زراعی را به‌طور محسوسی تحت‌الشعاع قرار دهد (Abouzeid *et al*., 2023; Zhang *et al*., 2021a).

کلزا (*Brassica napus* L.) یکی از مهم‌ترین دانه‌های روغنی در جهان است که به‌دلیل ارزش اقتصادی بالا، نقش کلیدی در تأمین روغن خوراکی و توسعه الگوهای کشت پایدار دارد. با این حال، استقرار موفق کلزا در مزرعه به‌شدت به شرایط اولیه بستر رشد و عدم وجود تنش‌های شیمیایی وابسته است. از آنجا که کلزا در مراحل ابتدایی رشد نسبت به مواد آللوپاتیک حساس است، باقی‌مانده‌های گیاهی حاوی ترکیبات آللوپاتیک می‌توانند موجب کاهش یکنواختی سبز شدن، کاهش بنیه گیاهچه و در نهایت افت عملکرد شوند (Rehman *et al*., 2019; Raboanatahiry *et al*., 2021). بنابراین، یافتن راهکارهای مؤثر برای تعدیل اثرات آللوپاتیک بقایای یونجه بر کلزا، از نظر علمی و کاربردی حائز اهمیت است.

در سال‌های اخیر، بیوچار به‌عنوان یک اصلاح‌کننده زیست‌پایه و پایدار خاک، توجه زیادی را به خود جلب کرده است. بیوچار از طریق پیرولیز زیست‌توده در شرایط کم‌اکسیژن تولید می‌شود و به‌دلیل ساختار متخلخل، سطح ویژه بالا، پایداری شیمیایی و ظرفیت جذب بالا، قادر است طیف متنوعی از ترکیبات آلی و معدنی را در خاک جذب و تثبیت کند (Chen *et al*., 2022; Khatri *et al*., 2025). مکانیسم‌های اثر بیوچار شامل جذب فیزیکی و شیمیایی آللوشیمیایی‌ها، تغییر pH و ظرفیت تبادل کاتیونی خاک، بهبود نگهداشت آب و مواد غذایی و تعدیل فعالیت میکروبی ریزوسفر است (Alshahrani and Suansa, 2020). بر این اساس، کاربرد بیوچار می‌تواند به کاهش زیست‌فراهمی ترکیبات آللوپاتیک و کاهش اثرات منفی آن‌ها بر گیاهان زراعی کمک کند. با وجود مزایای بیوچار، در بسیاری از موارد کارایی آن به‌تنهایی محدود است؛ زیرا

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

اندازه ذرات بزرگ‌تر، پراکنش کمتر در خاک و سطح فعال محدودتر ممکن است سرعت و شدت برهم‌کنش آن با آللوشیمیایی‌ها را کاهش دهد. در همین راستا، نانوبیوچار به‌عنوان نسل پیشرفته‌تر بیوچار، با اندازه ذرات کوچک‌تر، سطح ویژه بیشتر و قابلیت واکنش‌پذیری بالاتر، به‌عنوان یک گزینه نوآورانه مطرح شده است. نانوبیوچار می‌تواند ظرفیت بیشتری برای جذب ترکیبات آلی آب‌گریز، کاهش حرکت آللوشیمیایی‌ها در محلول خاک، و بهبود تعاملات ریزوسفری داشته باشد (Bieser *et al.,* 2022; Sujeeun, and Thomas, 2023).

با وجود رشد سریع پژوهش‌ها در زمینه بیوچار و نانوبیوچار، هنوز شکاف علمی قابل‌توجهی در خصوص ارزیابی کارایی نانوبیوچار در کاهش اثرات آللوپاتیک بقایای یونجه بر کلزا وجود دارد. بیشتر مطالعه‌ها پیشین یا بر نقش بیوچار در اصلاح خاک و جذب آلاینده‌ها تمرکز داشته‌اند، یا به‌صورت کلی اثرات آن بر رشد گیاهان را بررسی کرده‌اند (Zhang *et al*., 2021a). در حالی‌که برهم‌کنش اختصاصی میان بقایای آللوپاتیک یونجه، نانوبیوچار و پاسخ رشدی کلزا کمتر مورد توجه قرار گرفته است. از این‌رو، بررسی این موضوع می‌تواند به توسعه راهبردهای مدیریتی نوین در کشاورزی پایدار، بهبود استقرار کلزا و کاهش خسارت ناشی از بقایای آللوپاتیک کمک کند. بر این اساس، هدف این پژوهش بررسی اثر نانوبیوچار بر کاهش اثرات آللوپاتیک یونجه و بهبود جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه کلزا است. نتایج این مطالعه می‌تواند ضمن روشن‌سازی بخشی از سازوکارهای فیزیولوژیک و خاک‌زاد این برهم‌کنش، مبنایی برای کاربرد عملی نانوبیوچار در مدیریت تناوب‌های زراعی و کاهش تنش‌های زیستی ناشی از ترکیبات آللوپاتیک را فراهم آورد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی طی سال ۰۳-۱۴۰۲ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. شرایط محیطی گلخانه در طول دوره آزمایش در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی حدود ۸۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی در شبانه‌روز تنظیم و کنترل شد. فاکتورهای آزمایشی شامل دو عامل بودند. فاکتور اول شامل انواع بیوچار در سه سطح (شاهد، بیوچار معمولی و نانوبیوچار) و فاکتور دوم شامل غلظت‌های مختلف عصاره آللوپاتیک اندام‌های هوایی و زمینی یونجه در پنج سطح (صفر، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ درصد) بود.

برای تهیه عصاره، بوته‌های یونجه جمع‌آوری و در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند. سپس نمونه‌های خشک‌شده آسیاب گردیدند. برای استخراج ترکیبات آللوپاتیک مقدار ۱۰۰ گرم از پودر خشک یونجه در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد و مخلوط حاصل به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی شیکر نگهداری شد. سپس عصاره از کاغذ واتمن شماره ۲ عبور داده شد و به‌عنوان عصاره خالص در نظر گرفته شد. بر اساس این

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

عصاره، غلظت‌های ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ درصد تهیه شد. به طوری که برای تهیه غلظت ۵۰ درصد، ۵۰ میلی‌لیتر از عصاره خالص با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای غلظت صفر درصد نیز از آب مقطر استفاده شد. سایر غلظت‌ها نیز بر اساس درصد عصاره مورد نیاز محاسبه و تهیه شد (Lalbiakdika *et al.*, 2022).

بیوچار مورد استفاده در این پژوهش از زیست‌توده کاه و کلش گندم و از طریق فرایند پیرولیز در شرایط محدود از نظر اکسیژن و در دمای ۴۵۰ درجه سانتی‌گراد تهیه شد. برای تهیه نانوبیوچار، بیوچار تولیدشده با استفاده از روش‌های فیزیکی- مکانیکی، نظیر آسیاب پرانرژی و فراصوت (Retsch PM 100)، به ذرات در مقیاس نانو (۵۰-۱۰۰ نانومتر) تبدیل گردید (Lopez-Tenllado *et al*., 2021). به منظور تهیه عصاره فیلتر شده از انواع بیوچارها، مقدار مشخصی از نانوبیوچار تهیه شده در ستون شیشه‌ای بستر ثابت قرار داده شد و عصاره‌های آللوپاتیک یونجه با غلظت‌های مختلف از آن عبور داده شد. سپس محلول خروجی جمع‌آوری و از صافی عبور داده شد. عصاره نهایی حاصل، عصاره‌ای بود که در تماس با بیوچار و نانوبیوچار قرار گرفته و اثر آن بر ترکیبات آللوپاتیک اعمال شده بود (Wang *et al*., 2016).

برای انجام آزمون جوانه‌زنی، از بذر کلزا (رقم ناتالی) تهیه شده از شرکت پاکان بذر استفاده شد. آزمایش در ظروف پتری‌دیش با قطر ۱۰ سانتی‌متر انجام گرفت. پیش از کاشت، بذرها به‌منظور حذف آلودگی‌های احتمالی قارچی، با محلول هیپوکلرید سدیم ۱/۵ درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر شست‌وشو شدند. در هر پتری، ۲۵ بذر کلزا قرار داده شد و برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد. سپس عصاره‌های آللوپاتیک یونجه در غلظت‌های ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ درصد به پتری‌دیش‌ها اضافه شدند و آب مقطر به‌عنوان تیمار شاهد (غلظت صفر) در نظر گرفته شد. برای بررسی اثر بیوچارها (نانوذره‌ای و معمولی)، از عصاره‌های فیلتر شده دو نوع بیوچار استفاده شد. به‌این صورت که در مرحله پایانی، عصاره‌های فیلترشده یونجه در پنج سطح غلظتی توسط بیوچار و نانوبیوچار بر روی پتری‌دیش‌ها اعمال شدند. پس از اعمال تیمارها، ظروف پتری در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. شمارش بذرهای جوانه‌زده به‌صورت روزانه انجام شد بذرهایی جوانه‌زده محسوب شدند که طول ریشه‌چه آن‌ها در حدود ۲ میلی‌متر بود (ISTA, 2017). در پایان آزمایش، تعداد جوانه‌های نرمال و غیرنرمال ثبت و درصد و سرعت جوانه‌زنی محاسبه شد. در تکمیل آزمون‌های جوانه‌زنی آزمایشگاهی، بذور کلزا در شرایط کنترل‌شده گلخانه‌ای و در سینی‌های نشاء تحت تیمارهای معادل با شرایط ظرف پتری کشت گردیدند. پس از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله ۴ تا ۶ برگی، نمونه‌ها جهت اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک (طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و وزن خشک) برداشت شدند. ابعاد ریشه‌چه و ساقه‌چه با استفاده از کولیس دیجیتال تعیین گردید و وزن خشک گیاهچه‌ها پس از ۲۴ ساعت خشک کردن در آون (۸۰°C)، با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

اندازه‌گیری شد. همچنین، جهت بررسی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، نمونه‌ها بلافاصله پس از برداشت به آزمایشگاه منتقل شده و جهت حفظ پایداری ترکیبات، در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای استخراج قندهای محلول، ۰/۱ گرم از بافت تر گیاهچه کلزا با غلظت ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد و در دو مرحله ۳۰ دقیقه‌ای به مدت ۶۰ دقیقه استخراج شد. سپس عصاره‌ها از کاغذ صافی عبور داده شدند و الکل تبخیر شد. رسوب حاصل در غلظت ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید. از هر نمونه، ۲۰۰ میکرولیتر در لوله آزمایش ریخته و ۵ میلی‌لیتر معرف آنترون به آن افزوده شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۷ دقیقه در بن‌ماری ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس پس از سرد شدن، جذب آن در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت شد. غلظت قند محلول با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش شد (Irigoyen *et al*., 1992). برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز، ابتدا عصاره آنزیمی تهیه شد (Dhindsa *et al.,* 1981). برای تهیه عصاره آنزیمی، ۰/۱گرم از بافت برگ با ۱۰ میلی‌لیتر عصاره در هاون چینی کاملاً سائیده شد و سپس مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع رویی به‌عنوان عصاره آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (Mayer et al., 1965) و فعالیت آنزیم کاتالاز (Chance and Maehnly, 1955) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکول به‌عنوان دهنده الکترون اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=7)، ۳/۳۵ میکرولیتر گایاکول و ۴/۵۱ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد (حجمی/حجمی) بود. این مخلوط در کووت تهیه شد و سپس ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به آن افزوده گردید. افزایش جذب نوری در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر، که مربوط به تشکیل تتراگایاکول است، بلافاصله پس از افزودن عصاره به مدت ۲ دقیقه ثبت شد. فعالیت پراکسیداز با استفاده از ضریب خاموشی ۲۶/۶ میلی‌مولار در سانتی‌متر محاسبه و به صورت میکرومول تتراگایاکول تشکیل‌شده در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (Chance and Maehnly, 1955). مقدار ترکیبات فنلی موجود در گیاهچه کلزا بر حسب میلی‌گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک گزارش شد (Meda *et al*., 2005).

داده‌ها ابتدا از نظر نرمال بودن با آزمون شاپیرو-ویلک و از نظر همگنی واریانس‌ها با آزمون لون بررسی شدند. سپس تجزیه واریانس برای آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. در صورت معنی‌دار بودن اثر تیمارها، مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. کلیه تجزیه‌های آماری با نرم‌افزار SAS انجام شد و نمودارها نیز با نرم‌افزار Microsoft Excel نسخه ۲۰۰۳ ترسیم شدند.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

نتایج و بحث

درصد و سرعت جوانه‌زنی

بررسی نتایج تجزیه واریانس صفات نشان دهنده اثر معنی‌دار اثرات بیوچار و عصاره آللوپاتیک یونجه بر درصد و سرعت جوانه بذرهای کلزا در سطح احتمال یک درصد بود. این درحالی بود که بر همکنش بیوچار× عصاره آللوپاتیک یونجه بر میزان این دو صفت در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات نشان دهنده اثر مثبت بیوچار و نانوبیوچار بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور کلزا طی زمان استفاده از عصاره‌های آللوپاتیک یونجه بود (شکل ۱). نتایج نشان داد که افزایش غلظت عصاره آللوپاتیک سبب شد تا درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در بذور کلزا کاهش یابد. به‌طوری که کمترین درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در تیمار کاربرد غلظت ۵۰ درصد عصاره یونجه و در شرایط عدم کاربرد بیوچار (شاهد) حاصل شد که به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار عدم کاربرد عصاره بود (شکل ۱). این در حالی بود که استفاده از انواع بیوچارها در شرایط بدون کاربرد عصاره یونجه سبب شد تا درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بذرهای کلزا افزایش یابد. استفاده بیوچار و نانوبیوچار ضمن افزایش میزان این دو صفت در شرایط عدم استفاده از عصاره‌آللوپاتیک یونجه، از کاهش این دو شاخص در غلظت‌های بالاتر عصاره یونجه جلوگیری کرده است (شکل ۱). در شرایط عدم وجود اثرات آللوپاتیک، بیشترین میزان درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه زنی در تیمار کاربرد نانوبیوچار مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار کاربرد بیوچار نداشت (شکل ۱). در شرایط وجود اثرات آللوپاتیک عصاره یونجه در غلظت‌های مختلف نیز، کاربرد بیوچار و نانوبیوچار موجب افزایش درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بذرهای کلزا نسبت به شاهد شدند (شکل ۱). در بالاترین غلظت عصاره یونجه (۵۰ درصد) نیز استفاده از بیوچارها موجب کاهش اثرات بازدارنده عصاره بر درصد و سرعت جوانه‌زنی شدند، به‌طوری‌که بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در این غلظت در تیمار نانوبیوچار و کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده گردید. یافته‌های این پژوهش نشان داد که کاربرد بیوچار، به‌ویژه در فرم نانویی، توانست اثرات بازدارنده عصاره آللوپاتیک یونجه را بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه کلزا را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. این امر حاکی از آن است که بیوچار، علاوه بر توانایی جذب ترکیبات آللوپاتیک، از طریق کاهش تنش اکسیداتیو و بهبود وضعیت تغذیه‌ای، سازوکارهای فیزیولوژیک افزایش تحمل را نیز تقویت می‌کند. این نتایج با یافته‌های Ren و همکاران (۲۰۲۱)، Fang و همکاران (۲۰۲۱) همسو است که نقش بیوچار را در کاهش تنش‌های شیمیایی و زیستی و بهبود ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تأیید کرده است. عصاره یونجه با دارا بودن غلظت قابل توجهی از متابولیت‌های ثانویه آللوپاتیک، به‌ویژه ترکیبات فنلی و کومارین، نقش محرک در بروز اختلالات فیزیولوژیک و مهار رشد گیاهچه‌های کلزا ایفا کرد. این ترکیبات با ایجاد اثرات بازدارنده، فرآیند جوانه‌زنی و پارامترهای عملکردی گیاه

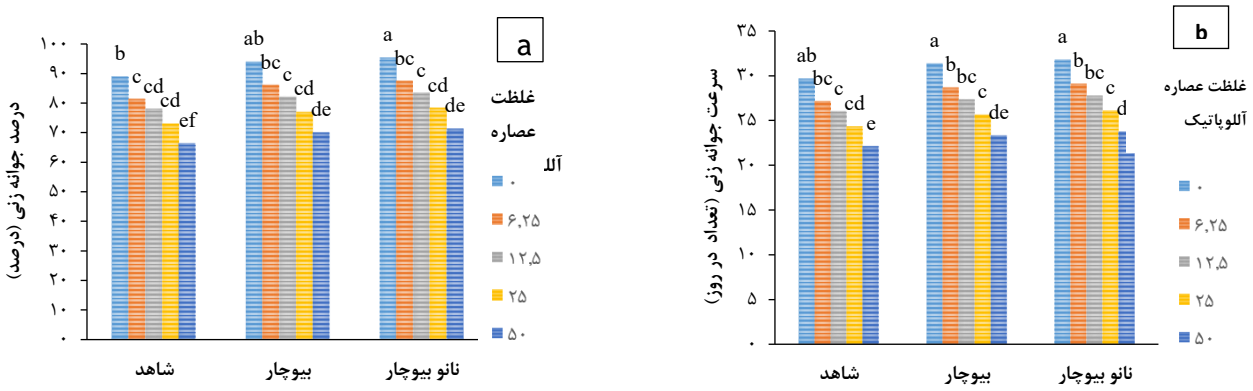
[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار دادند. کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی در غلظت‌های بالاتر عصاره، همسو با گزارش‌های پیشین مبنی بر نقش کلیدی ترکیبات فنولی در مهار تقسیم و طویل شدن سلولی است، که ناشی از کاهش فعالیت هورمون‌های محرک رشد و اختلال در تعادل آب سلولی تفسیر شده است. این یافته‌ها با دیدگاه‌های ارائه‌شده توسط Wu و همکاران (۲۰۱۶) و Zhang و همکاران (۲۰۱۸) انطباق دارد و بار دیگر قدرت بازدارندگی آللوپاتیک یونجه را در سیستم‌های زراعی تأیید می‌کند به‌طور کلی، کارایی بیوچار را می‌توان حاصل مجموعه‌ای از سازوکارهای فیزیکی، شیمیایی و زیستی دانست که هم بر محیط ریزوسفر و هم بر پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه اثر می‌گذارند (Inderjit and Duke, 2003).

جدول ۱: تجزیه واریانس اثرات تیمار عصاره یونجه و بیوچار بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های کلزا

		میانگین مربعات					
منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	وزن خشک ساقه‌چه	وزن خشک ریشه‌چه
عصاره یونجه	۴	۶۷۱/۶۸**	۷۹/۰۷۷**	۳۳/۰۸۵ **	۶۴۲/۷۲**	۰/۰۲۱۷ **	۰/۰۱۲۶۹ **
بیوچار	۲	۲۲۶/۳۵ **	۱۴/۲۶۱**	۸۷/۰۲۵ **	۱۶۷/۹۴ **	۰/۰۰۵۶ **	۰/۰۰۳۳۱ **
عصاره یونجه × بیوچار	۸	۱۶۰/۰۳ *	۱۰/۰۳۳ *	۴۱/۳۹ **	۹۰/۶۸ *	۰/۰۰۰۱۹ *	۰/۰۰۰۵۱ *
خطا	۳۰	۰/۳۹	۱/۳۹	۰/۰۸۴	۱/۲۲	۰/۰۱۴	۰/۰۰۵۴
ضریب تغییرات	-	۸/۴۷	۹/۸۷	۱۰/۵۲	۱۳/۵۲	۷/۹۸	۹/۵۲

**: اختلاف در سطح یک درصد و *: در سطح پنج درصد معنی دار است.



شکل ۱: میانگین درصد جوانه‌زنی (a) و سرعت جوانه‌زنی (b) بذرهای کلزا در واکنش به خواص آللوپاتیک عصاره یونجه و انواع بیوچار

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

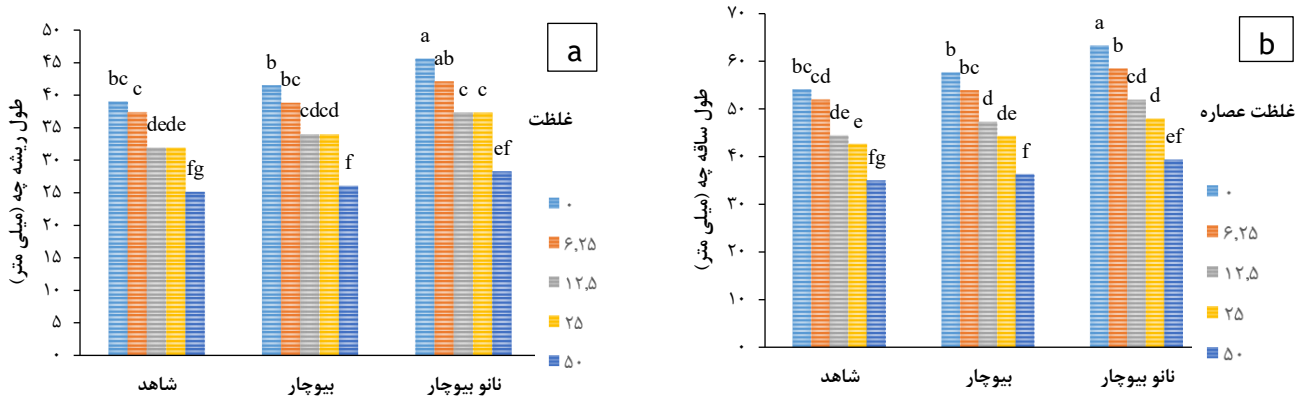
طول ریشه‌چه و ساقه‌چه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات نشان داد میزان طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در واکنش به اثرات ساده بیوچار و عصاره آللوپاتیک یونجه در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). همچنین نتایج نشان داد که بر همکنش بیوچار× عصاره آللوپاتیک یونجه بر میزان طول ریشه‌چه و ساقه‌چه به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد اثر معنی-داری داشت.

طی بررسی اثرات عصاره آللوپاتیک یونجه بر میزان طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در شرایط استفاده از فرم‌های مختلف بیوچار، مشاهده شد که میزان این دو صفت با افزایش غلظت عصاره یونجه روندی کاهشی داشت، که این کاهش در نمونه-های فاقد بیوچار (شاهد) بیشتر بود (شکل ۲). کمترین مقادیر هر دو صفت در غلظت ۵۰ درصد عصاره یونجه و در تیمار شاهد (عدم کاربرد بیوچار) مشاهده شد که از نظر آماری به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود. به‌طوری‌که در مقابل، استفاده از انواع بیوچار در شرایط عدم کاربرد عصاره یونجه موجب افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نسبت به شاهد گردید. در این شرایط، بیشترین طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در تیمار نانوبیوچار مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار عدم کاربرد بیوچار (شاهد) بود. هرچند اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارهای بیوچار و نانوبیوچار مشاهده نشد، اما هر دو تیمار نسبت به شاهد برتری معنی‌داری داشتند (شکل ۲). در شرایط اعمال اثرات آللوپاتیک عصاره یونجه نیز، کاربرد بیوچار و نانوبیوچار موجب بهبود رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه در تمامی سطوح عصاره گردید. در غلظت ۶/۲۵ درصد عصاره یونجه، کاربرد نانوبیوچار افزایش معنی‌داری در طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نسبت به تیمار شاهد ایجاد کردند به طوری که میزان طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در حدود ۱۲/۵ درصد بیشتر از نمونه‌های شاهد در این غلظت بود و این روند در غلظت‌های ۱۲/۵ و ۲۵ درصد نیز ادامه یافت. بین تیمارهای کاربرد نانوبیوچار و بیوچار معمولی از نظر آماری در این دو صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در بالاترین غلظت عصاره یونجه (۵۰ درصد)، کاربرد بیوچارها توانست تا حدودی اثرات بازدارنده عصاره را کاهش دهد، به‌طوری‌که بیشترین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در این غلظت در تیمار نانوبیوچار و کمترین مقادیر در تیمار شاهد مشاهده شد. یافته‌ها نشان می‌دهد، کاربرد بیوچارها، به‌ویژه نانوبیوچار، موجب بهبود رشد اولیه گیاهچه‌های کلزا و افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در تمامی سطوح عصاره یونجه شد، هرچند با افزایش غلظت عصاره، هر دو صفت روندی کاهشی داشتند. همچنین، مقایسه دو اندام نشان داد که شدت کاهش طول ریشه‌چه در پاسخ به افزایش غلظت عصاره یونجه بیشتر از ساقه‌چه بود که بیانگر حساسیت بالاتر ریشه‌چه به ترکیبات آللوپاتیک عصاره یونجه است. در مجموع، نانوبیوچار در اکثر غلظت‌های عصاره یونجه عملکرد بهتری نسبت به بیوچار معمولی در حفظ رشد طولی گیاهچه‌های کلزا داشت و توانست اثرات بازدارنده ناشی از ترکیبات آللوپاتیک را مؤثرتر تعدیل کند. از منظر تغذیه‌ای، بیوچار با افزایش

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

ظرفیت تبادل کاتیونی، بهبود نگهداشت عناصر غذایی و کاهش آبشویی، شرایط مناسب‌تری را برای جذب عناصر ضروری فراهم می‌سازد (Gamiz *et al*., 2018). وجود ساختار متخلخل، سطح ویژه بالا و گروه‌های عاملی اکسیژنی روی سطح بیوچار موجب می‌شود یون‌هایی مانند K^+، Ca، Mg و تا حدی NH_4 در سطح آن نگهداری شوند و در دسترس ریشه باقی بمانند (Cheema *et al*., 2013). افزون بر این، در خاک‌های اسیدی، بیوچار می‌تواند pH را افزایش دهد و با کاهش اسیدیته، جذب برخی عناصر را تسهیل کرده و سمیت بالقوه برخی یون‌ها را کاهش دهد (Lehmann and Joseph, 2015). این اثر در بهبود جوانه‌زنی و استقرار اولیه گیاهچه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، زیرا مرحله گیاهچه‌ای یکی از حساس‌ترین مراحل چرخه زندگی گیاه بوده و نسبت به شرایط نامساعد محیطی آسیب‌پذیری بیشتری دارد. در این مرحله، هرگونه افزایش تنش اکسیداتیو می‌تواند رشد و استقرار گیاهچه را به‌طور قابل‌توجهی محدود کند (Taiz *et al*., 2018).



شکل ۲: میانگین طول ریشه‌چه (a) و ساقه‌چه (b) گیاهان کلزا در واکنش به خواص‌آللوپاتیک عصاره یونجه و انواع بیوچار

وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه

طی بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مشاهده شد که اثرات ساده عصاره آللوپاتیک یونجه و بیوچار در سطح یک درصد بر میزان وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). همچنین وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه کلزا به‌طور معنی‌داری در واکنش به برهمکنش بیوچار× عصاره آللوپاتیک یونجه در سطح احتمال پنج درصد قرار گرفت (جدول ۲).

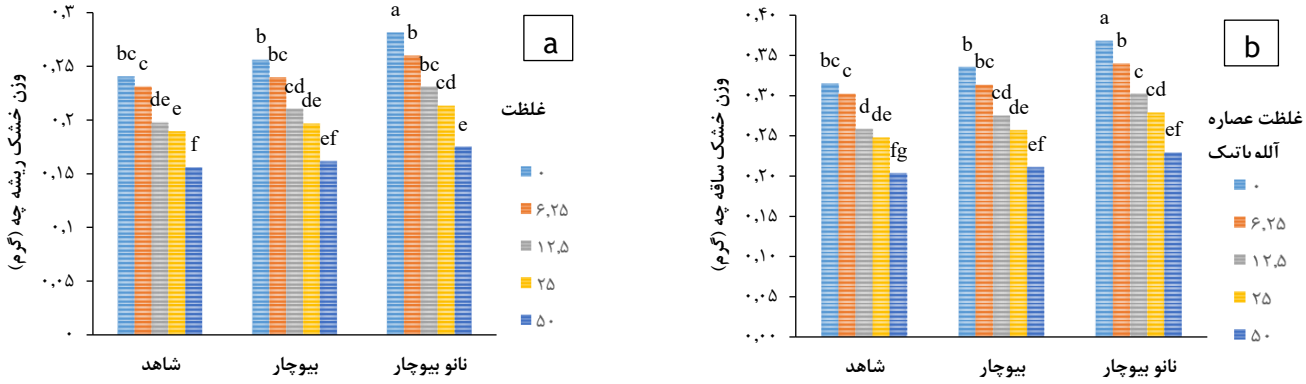
همان‌گونه که در شکل‌های ۳a و ۳b مشاهده می‌شود، افزایش غلظت عصاره یونجه موجب کاهش تدریجی وزن خشک هر دو اندام شد. بیشترین وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در شرایط عدم کاربرد عصاره یونجه و با کاربرد نانوبیوچار حاصل

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

شد، در حالی که کمترین مقادیر این صفات در غلظت ۵۰ درصد عصاره یونجه و در تیمار شاهد مشاهده گردید. در این شرایط، نانوبیوچار بیشترین وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه را تولید کرد و از نظر آماری برتری معنی‌داری نسبت به بیوچار و تیمار عدم کاربرد بیوچار (شاهد) داشت (شکل ۳). اگرچه با افزایش شدت اثرات آللوپاتیک، میزان تجمع ماده خشک در تمامی تیمارها روندی کاهشی نشان داد، اما کاربرد بیوچار و نانوبیوچار در تمامی غلظت‌های عصاره یونجه موجب افزایش تجمع ماده خشک نسبت به شاهد شد. در تمامی غلظت‌های عصاره یونجه، کاربرد نانوبیوچار به‌طور معنی‌داری سبب افزایش وزن خشک ریشه‌چه در مقایسه با تیمار فاقد بیوچار گردید که اختلاف معنی‌داری با تیمار کاربرد بیوچار نداشت (شکل ۳a). در غلظت ۶/۲۵ و ۱۲/۵ درصد عصاره، کاربرد نانوبیوچار توانست کاهش وزن خشک ساقه‌چه را به‌طور معنی‌داری جبران کند و حتی در بالاترین غلظت عصاره (۵۰ درصد)، استفاده از نانوبیوچار موجب حفظ بخش قابل توجهی از ماده خشک ساقه‌چه شد، در حالی که کمترین تجمع ماده خشک در هر این اندام به تیمار فاقد بیوچار اختصاص داشت (شکل ۳b).

کاهش وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در پاسخ به افزایش غلظت عصاره یونجه را می‌توان به حضور ترکیبات آللوشیمیایی نسبت داد که با اختلال در تقسیم و طویل‌شدن سلول‌ها، کاهش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم بذر، ایجاد تنش اکسیداتیو و برهم زدن تعادل هورمون‌های رشد، موجب محدود شدن رشد گیاهچه و کاهش تجمع ماده خشک می‌شوند (Wu *et al.*, 2016). مقایسه دو اندام همچنین نشان داد که وزن خشک ریشه‌چه نسبت به ساقه‌چه حساسیت بیشتری به افزایش غلظت عصاره یونجه داشت که احتمالاً ناشی از تماس مستقیم ریشه با ترکیبات آللوشیمیایی موجود در محیط و حساسیت بالاتر سیستم ریشه به ترکیبات آللوپاتیک است. بهبود وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در اثر کاربرد بیوچار و نانوبیوچار نشان می‌دهد که این اصلاح‌کننده‌ها توانسته‌اند بخشی از اثرات بازدارنده عصاره یونجه را تعدیل کنند. این پاسخ احتمالاً ناشی از ظرفیت بالای بیوچار و نانوبیوچار در جذب و تثبیت ترکیبات آللوشیمیایی، افزایش ظرفیت نگهداری آب، بهبود تبادل کاتیونی، افزایش فراهمی عناصر غذایی و ایجاد محیطی مناسب‌تر برای رشد گیاهچه است (Wang and Wang, 2019). نانوبیوچار به دلیل سطح ویژه بسیار بالا، تخلخل بیشتر و تعداد بالاتر گروه‌های عاملی فعال، توانایی بیشتری در جذب ترکیبات فنلی و کاهش فراهمی زیستی آن‌ها دارد (Wang and Wang, 2019)؛ ازاین‌رو در تمامی غلظت‌های عصاره عملکرد مطلوب‌تری نسبت به بیوچار معمولی نشان داد.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]



شکل ۳: میانگین وزن خشک ریشه‌چه (a) و ساقه‌چه (b) کلزا در واکنش به خواص‌آللوپاتیک عصاره یونجه و انواع بیوچار

محتوای قند محلول

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده عصاره آللوپاتیک یونجه و نوع بیوچار بر میزان قند محلول گیاهچه‌های کلزا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، در حالی که اثر متقابل بیوچار × عصاره آللوپاتیک یونجه نیز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). معنی‌داری اثر متقابل بیانگر آن است که پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاهچه‌های کلزا به تغییرات غلظت عصاره آللوپاتیک یونجه، تحت تأثیر کاربرد و نوع بیوچار به‌کاررفته قرار گرفته وابسته بوده است.

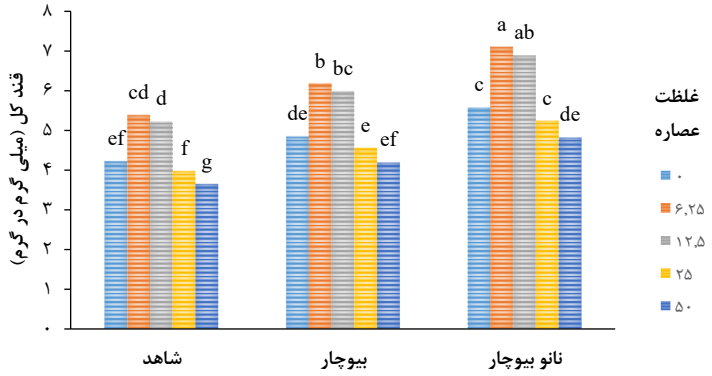
مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در شرایط عدم استفاده از بیوچار (شاهد)، با افزایش غلظت عصاره آللوپاتیک یونجه از صفر به غلظت ۶/۲۵ درصد مقدار قند کل به بیشترین مقدار خود رسید و همچنین در غلظت ۱۲/۵ درصد نیز مقدار قند کل در سطح بالایی حفظ شد و اختلاف معنی‌داری با تیمار ۶/۲۵ درصد از نظر مقدار قند گیاهچه‌ها مشاهده نشد (شکل ۴). با این حال، افزایش بیشتر غلظت عصاره به ۲۵ و ۵۰ درصد موجب کاهش معنی‌دار قند محلول شد، به‌طوری که کمترین مقدار در بالاترین غلظت عصاره (۵۰ درصد) ثبت گردید. در تیمارهای کاربرد بیوچار و نانوبیوچار، با افزایش غلظت عصاره آللوپاتیک یونجه از صفر به ۱۲/۵، میزان قند محلول به‌طور معنی‌داری افزایشی داشت. بیشترین افزایش در تیمارهای حاوی نانوبیوچار مشاهده شد. با افزایش غلظت عصاره به ۲۵ و ۵۰ درصد، میزان قند محلول کاهش یافت، اما شدت این کاهش در حضور بیوچار و به‌ویژه نانوبیوچار به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود. استفاده از بیوچار معمولی و نانوبیوچار سبب افزایش معنی‌دار قند محلول در تمامی غلظت‌های عصاره آللوپاتیک نسبت به تیمار فاقد بیوچار شد.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

جدول ۲: تجزیه واریانس اثرات تیمار عصاره یونجه و بیوچار بر صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌های کلزا

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		قند محلول	محتوای فنل کل	آنزیم کاتالاز	آنزیم پراکسیداز	آنزیم پلی‌فنل اکسیداز
عصاره یونجه	۴	۷/۱۳۱ **	۴۸/۳۸ **	۰/۰۰۷۹۴ **	۰/۰۲۸۹ **	۰/۴۴۵۹ **
بیوچار	۲	۷/۷۲۰ **	۴۰/۷۶ **	۰/۰۰۲۸۴ **	۰/۰۰۶۲ **	۰/۵۳۳۶ **
عصاره یونجه × بیوچار	۸	۴/۰۴۲ *	۱۹/۲۰ *	۰/۰۰۰۵۱ *	۰/۰۰۰۴۱ *	۰/۳۰۲۴ **
خطا	۳۰	۰/۲۱۶	۱/۵۵۹	۰/۰۱۰۹	۰/۱۲۹	۰/۰۹۶
ضریب تغییرات	-	۴/۱۷۴	۹/۳۸	۸/۳۸	۱۲/۶۷	۱۰/۴۳

**: اختلاف در سطح یک درصد و *: در سطح پنج درصد معنی دار است.



شکل ۴: میانگین میزان قند محلول گیاهچه‌های کلزا در واکنش به خواص آللوپاتیک عصاره یونجه و انواع بیوچار

به طور کلی، مقایسه تیمارها نشان داد که نانوبیوچار در تمامی سطوح تنش آللوپاتیک موجب افزایش قند محلول نسبت به بیوچار معمولی و تیمار شاهد شد. همچنین بیشترین پاسخ فیزیولوژیکی گیاهچه‌های کلزا در غلظت‌های پایین تا متوسط عصاره آللوپاتیک (۶/۲۵ و ۱۲/۵ درصد) مشاهده شد، در حالی که افزایش شدت تنش آللوپاتیک به ۲۵ و ۵۰ درصد موجب کاهش تدریجی قند محلول گردید. با وجود این، کاربرد بیوچار، به‌ویژه در مقیاس نانو، توانست روند کاهش قند محلول را در شرایط تنش شدید تا حد زیادی تعدیل کند (شکل ۴). قندهای محلول یکی از مهم‌ترین متابولیت‌های اسمزی در گیاهان هستند که علاوه بر تأمین انرژی، نقش اساسی در تنظیم فشار اسمزی، حفظ پایداری غشاها، حفاظت از پروتئین‌ها و مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در شرایط تنش ایفا می‌کنند. افزایش قند محلول در غلظت‌های پایین عصاره آللوپاتیک یونجه (۶/۲۵ و ۱۲/۵ درصد) نشان می‌دهد که تنش ملایم آللوپاتیک موجب فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی گیاهچه‌ها و تحریک سنتز کربوهیدرات‌های محلول شده است. این پاسخ، یکی از سازوکارهای شناخته‌شده گیاهان

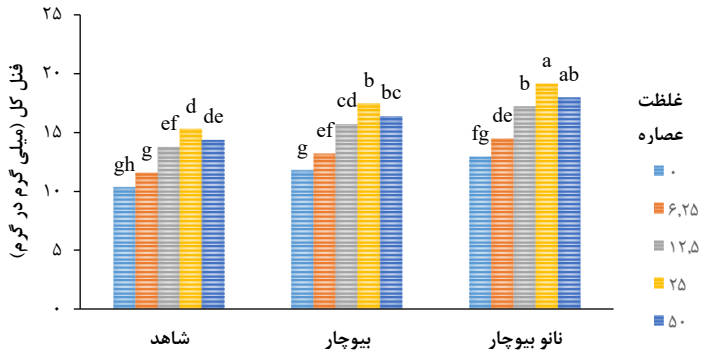
[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

برای افزایش تحمل به تنش‌های محیطی محسوب می‌شود (Ozpinar *et al*., 2017; دسترس و همکاران، ۱۳۹۱). برتری نانوبیوچار نسبت به بیوچار معمولی در این پژوهش احتمالاً به دلیل اندازه ذرات کوچک‌تر، سطح ویژه بیشتر و ظرفیت جذب بالاتر آن است که از طریق بهبود رشد ریشه سبب بهبود جذب عناصر غذایی می‌شود (شکل‌های ۲a و ۳a). این شرایط موجب حفظ بهتر متابولیسم کربوهیدرات‌ها و افزایش تجمع قندهای محلول در گیاهچه‌های کلزا شده است. نتایج این پژوهش با یافته‌های (Agegnehu *et al*. 2017) همخوانی دارد که گزارش کردند کاربرد بیوچار موجب افزایش فتوسنتز، بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و افزایش تجمع قندهای محلول تحت شرایط تنش می‌شود. همچنین نانوبیوچار با کاهش تنش اکسیداتیو، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بهبود تعادل اسمزی، موجب حفظ بیشتر قندهای محلول در گیاهان تحت تنش‌های محیطی می‌شود (Chen *et al.,* 2022). افزایش قندهای محلول یکی از مهم‌ترین پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی است و با افزایش تحمل گیاه ارتباط مستقیم دارد (Sami *et al.,* 2016).

محتوای فنل کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده عصاره آللوپاتیک یونجه و نوع بیوچار بر میزان فنل کل گیاهچه‌های کلزا معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل بیوچار × عصاره آللوپاتیک یونجه نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد که بیانگر متفاوت بودن پاسخ گیاهچه‌های کلزا به غلظت‌های مختلف عصاره آللوپاتیک در حضور فرم‌های مختلف بیوچار بود (جدول ۲). محتوای فنل کل در گیاهچه‌های کلزا در واکنش به غلظت‌های مختلف عصاره‌آللوپاتیک یونجه قرار گرفت، به‌طوری که در تمامی سطوح بیوچار، محتوای فنل کل تا غلظت ۲۵ درصد عصاره آللوپاتیک یونجه با افزایش همراه بود و با افزایش غلظت عصاره به ۵۰ درصد روندی کاهشی داشت. با این وجود، مقدار فنل کل در این غلظت همچنان از تیمار بدون عصاره بیشتر بود. در این شرایط، کمترین میزان فنل کل در غلظت صفر عصاره آللوپاتیک مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود (شکل ۴). فرم‌های بیوچار (بیوچار معمولی و نانوبیوچار) طی شرایط استفاده از عصاره آللوپاتیک یونجه سبب افزایش معنی‌دار محتوای فنل کل نسبت به گیاهان شاهد شد. بیشترین میزان فنل کل در تیمار نانوبیوچار در تیمار کاربرد غلظت ۲۵ درصد عصاره آللوپاتیک یونجه مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. اما اختلاف معنی‌داری با تیمار نانوبیوچار در غلظت ۵۰ درصد نشان نداد (شکل ۵). بالا بودن مقادیر فنل کل در تیمارهای حاوی نانوبیوچار در تمامی سطوح عصاره آللوپاتیک نشان‌دهنده کارایی بیشتر نانوبیوچار در افزایش تجمع ترکیبات فنلی در گیاهچه‌های کلزا است.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]



شکل ۵: میانگین محتوای فنل کل در گیاهچه های کلزا در واکنش به خواص‌آللوپاتیک عصاره یونجه و انواع بیوچار.

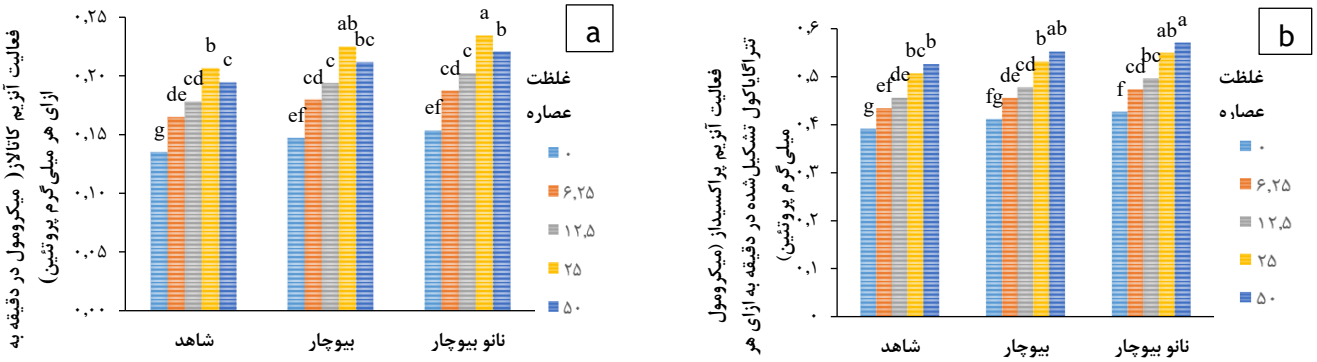
در این پژوهش، بیوچار توانست اثرات‌آللوپاتیکی عصاره یونجه را تا حد زیادی کاهش دهد. یکی از مهم‌ترین توضیحات برای این پدیده، توانایی بیوچار در جذب یا غیرفعال‌سازی ترکیبات آللوشیمیایی در سطح متخلخل خود است (El-Naggar *et al*., 2019). به این ترتیب، غلظت مؤثر مواد بازدارنده در محیط اطراف ریشه کاهش می‌یابد و شدت اثر منفی آن‌ها کم می‌شود. این ویژگی در نانوبیوچار برجسته‌تر بود، که احتمالاً ناشی از سطح ویژه بالاتر، اندازه ذرات کوچک‌تر، نسبت سطح به حجم بیشتر و فراوانی بیشتر جایگاه‌های فعال سطحی است (Sohi *et al*., 2010). در نتیجه، نانوبیوچار ظرفیت بیشتری برای برهم‌کنش با مولکول‌های‌آللوپاتیک و کاهش زیست‌فراهمی آن‌ها دارد. از نظر ساختاری و شیمیایی نیز، نانوبیوچار نسبت به بیوچار معمولی واکنش‌پذیری سطحی بیشتری دارد و می‌تواند برهم‌کنش مؤثرتری با محیط ریزوسفر برقرار کند (Shafiq *et al*., 2023). این ویژگی‌ها نه‌تنها باعث افزایش قدرت جذب ترکیبات آلی می‌شوند، بلکه ممکن است در تعدیل pH موضعی، بهبود تبادل یونی و افزایش کارایی تغذیه‌ای نیز نقش داشته باشند. بنابراین، برتری نانوبیوچار در مقایسه با بیوچار معمولی را می‌توان نتیجه ترکیب ویژگی‌های فیزیکی ممتاز و شیمی سطح فعال‌تر آن دانست (Abed Hussein *et al*., 2022).

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثرات بیوچار و عصاره یونجه بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز نشان داد که اثرات ساده بیوچار و عصاره یونجه در سطح احتمال یک درصد و برهمکنش عصاره‌آللوپاتیک یونجه × بیوچار بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در سطح احتمال پنج درصد و بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری داشت (جدول ۲).

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در واکنش به خواص آللوپاتیک عصاره یونجه در گیاهچه‌های کلزا تا غلظت ۲۵ درصد روند افزایشی و معنی‌داری نشان داد، اما در غلظت ۵۰ درصد عصاره، فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به غلظت ۲۵ درصد کاهش یافت (شکل ۶a). در حالی که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزایش غلظت عصاره آللوپاتیک تا غلظت ۵۰ درصد روند افزایش داشت (شکل ۶b). در بین فرم‌های مختلف بیوچار (تیمار فاقد بیوچار و تیمارهای کاربرد بیوچار و نانوبیوچار)، نانوبیوچار بیشترین اثر را بر افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در تمامی سطوح تنش آللوپاتیک داشت. به‌طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت غلظت ۲۵ درصد عصاره آللوپاتیک یونجه و در تیمار کاربرد نانوبیوچار مشاهده شد (شکل ۶a). همچنین نتایج نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در واکنش به عصاره آللوپاتیک در غلظت ۵۰ درصد و در تیمار کاربرد نانوبیوچار مشاهده شد (شکل ۶b). کمترین فعالیت این آنزیم‌ها نیز در گیاهچه‌های شاهد و در غیاب عصاره آللوپاتیک یونجه مشاهده شد (شکل ۶). به طور کلی، کاربرد بیوچار و به‌ویژه نانوبیوچار موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در تمامی سطوح عصاره آللوپاتیک یونجه شد. این افزایش در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت‌های متوسط و میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در غلظت‌های بالای عصاره نسبت به تیمار شاهد بارزتر بود که بیانگر نقش مؤثر بیوچار، به‌ویژه نانوبیوچار، در تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های کلزا در شرایط تنش آللوپاتیک است.

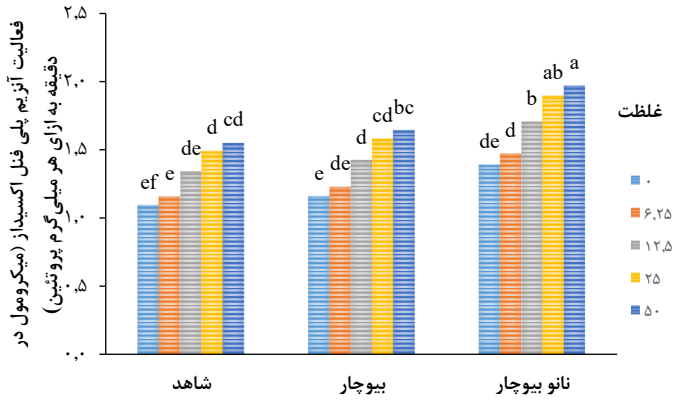


شکل ۶: میانگین فعالیت کاتالاز (a) و پراکسیداز (b) در گیاهچه های کلزا در واکنش به خواص‌آللوپاتیک عصاره یونجه و انواع بیوچار .

بررسی اثر متقابل تیمارها نشان داد که فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در هر سه تیمار شاهد، بیوچار و نانوبیوچار با افزایش غلظت عصاره آللوپاتیک یونجه روندی افزایشی داشت. به‌طوری‌که افزایش غلظت عصاره از صفر تا ۵۰ درصد موجب افزایش تدریجی فعالیت این آنزیم شد و بیشترین مقادیر در بالاترین غلظت عصاره (۵۰ درصد) مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با غلظت‌های پایین‌تر داشت (شکل ۷). در شرایط عدم کاربرد عصاره و نیز در غلظت ۶/۲۵ درصد عصاره،

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

اختلاف فعالیت آنزیم بین تیمارهای کاربرد انواع بیوچار و تیمار فاقد بیوچار محدود بود، اما این افزایش در حضور نانوبیوچار بیشتر بود. اختلاف بین نانوبیوچار و بیوچار معمولی با افزایش شدت تنش آللوپاتیک افزایش یافت، به‌گونه‌ای که در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ درصد عصاره، بیشترین اختلاف بین این دو تیمار مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد که نانوبیوچار نسبت به بیوچار معمولی کارایی بیشتری در افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز و تقویت پاسخ‌های دفاعی گیاهچه‌های کلزا در شرایط تنش آللوپاتیک دارد. بیشترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در تیمار کاربرد نانوبیوچار در غلظت ۵۰ درصد عصاره آللوپاتیک یونجه مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد. اما با تیمار کاربرد نانوبیوچار در شرایط وجود ۲۵ درصد عصاره اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل۷).



شکل ۷: میانگین فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاهچه های کلزا در واکنش به خواص‌آللوپاتیک عصاره یونجه و انواع بیوچار.

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در پاسخ به تنش‌آللوپاتیک، یک مکانیسم دفاعی شناخته‌شده در گیاهان است. ترکیبات آللوشیمیایی موجود در عصاره یونجه از طریق القای تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، موجب ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهچه‌ها می‌شوند. این ترکیبات با تداخل در زنجیره انتقال الکترون میتوکندری و کلروپلاست، باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد نظیر سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می‌گردند (Zhang *et al*., 2021b). در چنین شرایطی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان خط اول دفاعی برای خنثی‌سازی این ترکیبات سمی و جلوگیری از آسیب به لیپیدهای غشایی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک افزایش می‌یابد (Ahmad *et al*., 2014). کاتالاز به‌عنوان یکی از آنزیم‌های کلیدی در متابولیسم پراکسید هیدروژن، وظیفه تبدیل H_2O_2 به آب و اکسیژن را بر عهده دارد. پراکسیدازها علاوه بر نقش در خنثی‌سازی H_2O_2، در واکنش‌های مرتبط با لیگنین‌سازی و استحکام دیواره سلولی نیز مشارکت دارند که می‌تواند در شرایط تنش به حفظ یکپارچگی ساختاری گیاهچه کمک نماید (Gill and

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

Tuteja, 2010). پلی‌فنل اکسیداز نیز با اکسیداسیون ترکیبات فنولی به کینون‌ها و نقش در دفاع در برابر عوامل تنش‌زا، سهم مهمی در پاسخ به آللوپاتی ایفا می‌کند (Cheema *et al*., 2013). مشاهده افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت ۲۵ درصد عصاره آللوپاتیک نشان‌دهنده پاسخ سریع گیاه به تنش اکسیداتیو است. با این حال، کاهش نسبی فعالیت کاتالاز در غلظت‌های بالاتر (۵۰ درصد) ممکن است به دلیل افزایش بیش از حد تولید ROS و غیرفعال‌سازی آنزیم توسط پراکسید هیدروژن اضافی یا آسیب به ساختار پروتئینی آنزیم باشد (Wang *et al.,* 2019). در مقابل، فعالیت پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در غلظت ۵۰ درصد به حداکثر خود رسید که نشان‌دهنده نقش مکمل این آنزیم‌ها در مقابله با سطوح بالاتر تنش است. افزایش فعالیت پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در غلظت‌های بالاتر عصاره‌آللوپاتیک (۵۰ درصد) نشان می‌دهد که این دو آنزیم نقش اصلی‌تری در سطوح بالای تنش ایفا می‌کنند، در حالی که فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت ۲۵ درصد عصاره یونجه بیشترین فعالیت را دارد. چنین الگوی پاسخ نشان از وجود سازوکارهای تنظیمی متفاوت برای هر آنزیم و اختصاصی بودن پاسخ آن‌ها به سطوح مختلف تنش دارد (Gill and Tuteja, 2010).

بیوچار، به‌ویژه در فرم نانو، با افزایش قابل‌توجه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به تیمارهای فاقد بیوچار، نقش حمایتی خود را در تعدیل تنش آللوپاتیک به‌خوبی نشان داد. مکانیسم‌های متعددی برای این اثر تقویتی می‌توان در نظر گرفت: نخست، جذب و غیرفعال‌سازی نسبی ترکیبات آللوشیمیایی توسط سطح متخلخل و گروه‌های عاملی بیوچار، موجب کاهش غلظت مؤثر این بازدارنده‌ها در محیط ریشه‌چه می‌شود و در نتیجه بار اکسیداتیو وارد بر سلول‌ها کاهش می‌یابد (El-Naggar *et al*., 2019). دوم، بیوچار با بهبود جذب عناصر غذایی به‌ویژه پتاسیم، کلسیم و منیزیم که به‌عنوان کوفاکتورهای آنزیمی در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش دارند، زمینه را برای عملکرد بهتر این آنزیم‌ها فراهم می‌سازد. سوم، خود بیوچار ممکن است حاوی برخی ترکیبات با خواص آنتی‌اکسیدانی باشد که بتوانند به‌طور مستقیم با گونه‌های فعال اکسیژن واکنش دهند (Lehmann and Joseph, 2015). برتری نانوبیوچار نسبت به بیوچار معمولی در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، ناشی از ویژگی‌های ساختاری ممتاز آن شامل سطح ویژه بسیار بالا، تخلخل بیشتر، توزیع یکنواخت‌تر در محیط رشد و واکنش‌پذیری سطحی بیشتر است (Sohi *et al*., 2010). این ویژگی‌ها باعث می‌شود نانوبیوچار بتواند به‌طور مؤثرتری ترکیبات آللوشیمیایی را جذب کرده و هم‌زمان با آزادسازی تدریجی عناصر غذایی، نیاز تغذیه‌ای گیاه را در شرایط تنش تأمین نماید. همچنین اندازه نانومتری ذرات بیوچار ممکن است امکان برهم‌کنش مستقیم‌تر با سطح ریشه و جذب مؤثرتر عناصر را فراهم آورد که این خود به بهبود وضعیت فیزیولوژیک گیاه و افزایش توان دفاعی آن منجر می‌شود (Shafiq *et al*., 2023). افزایش هم‌زمان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

در حضور بیوچار نشان‌دهنده هماهنگی سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در پاسخ به تنش آللوپاتیک است (Chen *et al.*, 2022).

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش حاکی از آن است که عصاره آللوپاتیک یونجه با افزایش غلظت، اثرات بازدارنده‌ای بر فرایند جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کلزا اعمال می‌کند. افزایش غلظت عصاره موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، محدود شدن رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه، کاهش وزن خشک گیاهچه و تضعیف برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی شد که بیانگر افزایش شدت تنش آللوپاتیک و اختلال در استقرار اولیه گیاه است. این نتایج نشان می‌دهد که ترکیبات آللوشیمیایی موجود در بقایای یونجه می‌توانند استقرار و رشد گیاهچه‌های کلزا را، به‌ویژه در مراحل حساس اولیه رشد، در واکنش به قرار دهند. نتایج نشان داد که افزایش غلظت عصاره یونجه موجب کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کلزا گردید. در شرایط عدم استفاده از بیوچار و نانوبیوچار، کاربرد غلظت ۵۰ درصد عصاره آللوپاتیک یونجه موجب شد تا درصد جوانه‌زنی در حدود ۲۵/۴۷ درصد، سرعت جوانه‌زنی در حدود ۲۵/۴۵ درصد، طول ریشه‌چه در حدود ۳۵/۴۰ درصد، طول ساقه‌چه در حدود ۳۷/۴۰ درصد، وزن خشک ریشه‌چه در حدود ۳۵/۲۳ درصد، وزن خشک ساقه‌چه کلزا در حدود ۳۵/۴۱ درصد نسبت به تیمار عدم کاربرد عصاره یونجه (شاهد) کاهش یابد. در مقابل، کاربرد بیوچار و به‌ویژه نانوبیوچار توانست بخش قابل توجهی از آثار منفی ناشی از تنش آللوپاتیک را کاهش دهد. استفاده از نانوبیوچار نه تنها در شرایط بدون تنش موجب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد و تولید زیست‌توده شد، بلکه در شرایط تنش نیز با کاهش شدت افت این صفات، موجب حفظ توان رشد گیاهچه‌های کلزا گردید. به طوری که استفاده از نانوبیوچار در شرایط عدم کاربرد عصاره یونجه و در شرایط کاربرد غلظت ۵۰ درصدی عصاره یونجه به‌ترتیب موجب افزایش ۱۶/۹۷ درصدی و ۱۲/۴۹ درصدی میزان وزن خشک ریشه‌چه کلزا نسبت به تیمار عدم‌کاربرد بیوچار گردید. افزایش محتوای قندهای محلول و ترکیبات فنلی در تیمارهای حاوی نانوبیوچار نشان داد که این اصلاح‌کننده توانسته است از طریق بهبود تنظیم اسمزی، حفظ پایداری غشاهای سلولی، تحمل گیاهچه‌های کلزا را در برابر تنش آللوپاتیک افزایش دهد. همچنین، افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز بیانگر آن است که نانوبیوچار با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، موجب کاهش آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش شده است و پاسخ گیاه به تنش‌های‌آللوپاتیک را ارتقا داده است. در مجموع، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که نانوبیوچار نسبت به بیوچار معمولی کارایی بیشتری در کاهش اثرات فیتوتوکسیک عصاره آللوپاتیک یونجه دارد و می‌تواند به‌عنوان یک اصلاح‌کننده مؤثر و دوستدار محیط زیست برای بهبود استقرار، رشد اولیه گیاهچه کلزا مورد استفاده قرار گیرد. در نهایت، با توجه به افزایش توجه به کشاورزی پایدار و کاهش مصرف

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

نهاده‌های شیمیایی، استفاده از نانوبیوچار می‌تواند به‌عنوان راهبردی نوین و سازگار با محیط زیست برای کاهش اثرات آللوپاتی بقایای گیاهی، بهبود استقرار گیاهچه‌ها و افزایش پایداری تولید کلزا مورد توجه قرار گیرد. این یافته‌ها می‌تواند زمینه‌ساز توسعه فناوری‌های مبتنی بر نانومواد زیستی در مدیریت تنش‌های زیستی و غیرزیستی و ارتقای بهره‌وری سامانه‌های تولید محصولات زراعی باشد. در مجموع، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که نانوبیوچار نسبت به بیوچار معمولی کارایی بیشتری در کاهش اثرات فیتوتوکسیک عصاره آللوپاتیک یونجه دارد و می‌تواند به‌عنوان یک اصلاح‌کننده مؤثر و دوستدار محیط زیست برای بهبود استقرار و رشد اولیه گیاهچه کلزا مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

دسترس، ع.، صفاری، م. و مقصودی مود، ع. ا. (۱۳۹۱). بررسی اثر آللوپاتی عصاره آبی تلخه بیان (*Sophora alopecuriodes.* L) و پیچک صحرایی (*Convolvulus arvensis* L.) بر رشد گیاهان زراعی مختلف. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۴(۱۱): ۴۵-۵۸.

Abed Hussein, B., Mahdi, A. B., Emad Izzat, S., Acwin Dwijendra, N. K., Romero Parra, R. M., Barboza Arenas, L. A., and Thaeer Hammid, A. 2022. Production, structural properties nano biochar and effects nano biochar in soil: a review. Egyptian Journal of Chemistry, 65(12): 607-618.

Abouzeid, S., Beutling, U., Elekhnawy, E., and Selmar, D. 2023. Antibacterial and antibiofilm effects of allelopathic compounds identified in *Medicago sativa* L. seedling exudate against *Escherichia coli*. Molecules, 28(6): 2645. https://doi.org/10.3390/molecules28062645

Agegnehu, G., Srivastava, A. K., and Bird, M. I. 2017. The role of biochar in improving soil fertility and crop productivity. Applied Soil Ecology, 119: 156-170. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.06.00

Ahmad, M., Rajapaksha, A. U., Lim, J. E., Zhang, X., Bolan, N., Meththika Vithanage f, Sang Soo Lee A, Yong Sik Ok. 2014. Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: A review. Chemosphere, 99, 19–33. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.10.071.

Alshahrani, T. S., and Suansa, N. I. 2020. Application of biochar to alleviate effects of allelopathic chemicals on seed germination and seedling growth. BioResources, 15(1): 382-400.

Bieser, J. M., Al-Zayat, M., Murtada, J., and Thomas, S. C. 2022. Biochar mitigation of allelopathic effects in three invasive plants: evidence from seed germination trials. Canadian Journal of Soil Science, 102(1), 213-224. https://doi.org/10.1139/cjss-2020-0160

Chance, B. and Maehly, A.C. 1955 Assay of Catalase and Peroxidase. Methods in Enzymology, 2, 764-775. http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8

Cheema, Z. A., Farooq, M., and Wahid, A. 2013. Allelopathy: Current trends and future applications. In Managing weeds and pests for crops. Springer. 113-146.

Chen, Q., Lan, P., Wu, M., Lu, M., Pan, B., and Xing, B. 2022. Biochar mitigates allelopathy through regulating allelochemical generation from plants and accumulation in soil. Carbon Research, 1(6), 1-16.

Dhindsa, R. S., Plumb, P., Dhindsa and Thorpe, T. A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany, 32: 93-101. http://dx.doi.org/10.1093/jxb/32.1.93

El-Naggar, A., Lee, S. S., Rinklebe, J., Farooq, M., Song, H., Sarmah, A. K., Andrew R. Zimmerman, A. R., Mahtab Ahmad, M., Sabry M. Shaheen, S.M., and Ok, Y. S. 2019.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

Biochar application to low fertility soils: A review of current status, and future prospects. Geoderma, 337: 536-554. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.09.034

Fang, J., Jin, L., Meng, Q., Wang, D. and Lin, D. 2021. Interactions of extracellular DNA with aromatized biochar and protection against degradation by DNase I. Journal of Environmental Sciences, 101(2): 205-216. https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.08.01713

Gamiz, B., Velarde, P., Spokas, K., Celis, R., and Cox, L. 2018. Changes in sorption and bioavailability of herbicides in soil amended with fresh and aged biochar. Geoderma 337:341-349 https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.09.033

Gill, S. S., and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48(12): 909-930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016

Inderjit, and Duke, S. O. 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. Planta, 217(4): 529-539. https://doi.org/10.1007/s00425-003-1054-z

Irigoyen, J. J., Emerich, D.W. and M.sanchez-Diaz. 1992. Water stress induce changes in concentration of prolin and total soluble suger in nodulatedalfaalfa (*Medicgo sativa*) plants. Plants.Physiologia plantarum, 84:55-60. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x

ISTA, 2017. International rules for seed testing. International Seed Testing Association (ISTA). Bassersdorf, Switzerland. (Handbook)

Khatri, K., Bargali, K., and Bargali, S. S. 2025. Mitigating the toxic effects of Ageratina adenophora rhizospheric soil on wheat crop through biochar-based soil amendments. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 25(2): 5439-5454.

Lalbiakdika, I., Lalnunmawia, F., and Lalruatsanga, H. 2022. Allelopathic effect of commo weeds on germination and seedling growth of rice in wetland paddy fields of Mizoram, India. Plant, Soil and Environment, 68(8): 393-400. https://doi.org/10.17221/167/2022-PSE

Lehmann, J., and Joseph, S. 2015. Biochar for environmental management: Science, Technology and Implementation (2nd ed.). Routledge.

Lopez-Tenllado, F. J., Motta, I. L., Hill, J. M. 2021. Modification of biochar with high-energy ball milling: Development of porosity and surface acid functional groups. Bioresource Technology Reports, 15, 100704.

Mayer, A. M., Harel, E., and Shaul, R. B. 1965. Assay of catechol oxidase—a critical comparison of methods. Phytochemistry, 5: 783-78

Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and pra-lin contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. Food Chemistry. 91:571-577. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006.

Ozpinar, H., Dag, S., and Yigit, E. 2017. Alleophatic effects of benzoic acid, salicylic acid and leaf extract of *Persica vulgaris* Mill. (Rosaceae). South African Journal of Botany, 108: 102-109. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.10.009

Raboanatahiry, N., Li, H., Yu, L., and Li, M. 2021. Rapeseed (*Brassica napus*): Processing, utilization, and genetic improvement. Agronomy, 11(9): 1776. https://doi.org/10.3390/agronomy11091776

Rehman, S., Shahzad, B., Bajwa, A. A., Hussain, S., Rehman, A., Cheema, S. A., Abbas, T., Ali, A., Shah, L., Adkins, S., and Li, P. 2019. Utilizing the allelopathic potential of Brassica species for sustainable crop production: a review. Journal of plant growth regulation, 38(1): 343-356. https://doi.org/10.1007/s00344-018-9798-7

Ren, X., Tang, J., Wang, L. and Sun, H. 2021. Combined effects of microplastics and biochar on the removal of polycyclic aromatic hydrocarbons and phthalate esters and its potential microbial ecological mechanism. Frontiers in Microbiology, 12: 647766. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.647766

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

Sami, F., Yusuf, M., Faizan, M., Faraz, A., and Hayat, S. 2016. Role of sugars under abiotic stress. Plant Physiology and Biochemistry, 109:54-61. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.005

Shafiq, F., Anwar, S., Zhang, L., and Ashraf, M. 2023. Nano-biochar: properties and prospects for sustainable agriculture. Land Degradation and Development, 34(9): 2445-2463.

Sohi, S. P., Krull, E., Lopez-Capel, E., Bol, R. 2010. A review of biochar and its use and function in soil. In: Advances in Agronomy Academic Press, 105: 47-82. https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)05002-9

Sujeeun, L., and Thomas, S. C. 2023. Biochar mitigates allelopathic effects in temperate trees. Ecological Applications, 33(4): 2832. https://doi.org/10.1002/eap.2832

Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., and Murphy, A. 2018. Plant Physiology and Development (6th or 7th ed.). Sinauer Associates/Oxford University Press, pp. 705-730.

Vajja, N. R., Meinke, H., Kropff, M. J., Anten, N. P., Whitbread, A. M., Kumar, U., & Parsons, D. 2025. Incorporating knowledge of allelopathic interactions can improve productivity and sustainability of crop rotations in the semi-arid tropics. Journal of Agriculture and Food Research, 22, 102026.

Wang, D., Xie, Y., Jaisi, D. P., and Jin, Y. 2016. Effects of low-molecular-weight organic acids on the dissolution of hydroxyapatite nanoparticles. Environmental Science: Nano, 3(4): 768-779. https://doi.org/10.1039/c6en00085a

Wang, J., and Wang, S. 2019. Preparation, modification and environmental application of biochar: A review. Journal of Cleaner Production, 227: 1002-1022. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.101.

Wu, C. X., Zhao, G. Q., Liu, D. L., Liu, S. J., Gun, X. X., and Tiang, Q. 2016. Discovery and weed inhibition effects of coumarin as the predominant allelochemical of yellow sweetclover (*Melilotus officinalis*). International Journal of Agriculture and Biology, 18(1): 168-175. https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0082

Zhang, X. Y., Shi, S. L., Li, X. L., Li, C. N., Zhang, C. M., Yun, A., Wen-Juan Kang, W. J., and Li, G. 2021a. Effects of autotoxicity on alfalfa (*Medicago sativa*): Seed germination, oxidative damage and lipid peroxidation of seedlings. Agronomy, 11(6): 1027. https://doi.org/10.3390/agronomy11061027

Zhang, Z., Chen, L., Wang, J., Yao, J., and Li, J. 2018. Biochar preparation from *Solidago canadensisand* its alleviation of the inhibition of tomato seed germination by allelochemicals. RSC Advances, 8(40): 22370-22375. https://doi.org/10.1039/c8ra03284j

Zhang, Z., Liu, Y., Yuan, L., Weber, E., and Kleunen, V.M. 2021b. Effect of allelopathy on plant performance: a meta-analysis. Ecology letters, 24(2): 348-362. https://doi.org/10.1111/ele.13627

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]

Evaluation of the effect of biochar on reducing oxidative stress and improving the physiological characteristics of canola seedlings under alfalfa allelopathy

S. Golshan Doust[1], P. Sheikhzadeh[2*], S. Khomari[3] & M. Taghi Alebrahim[4]
1, 2 & 4) Department of Plant Production and Genetics, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
3) Department of Plant Ecophysiology, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Corresponding author: p_sheikhzadeh@uma.ac.ir
This article is taken from a doctoral dissertation.

Received date: 2025.07.30 **Accepted date: 2025.10.04**

Abstract

This study aimed to investigate the effects of alfalfa allelopathic extract on seed germination, early growth, and biochemical responses of canola seedlings and to evaluate the potential of biochar and nanobiochar to alleviate allelopathic stress. A factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with four replicates at the University of Mohaghegh Ardabili during 2023–24. The experimental treatments comprised three biochar levels (control, biochar, and nanobiochar) and five alfalfa extract concentrations (0, 6.25, 12.5, 25, and 50%). The results showed that increasing alfalfa extract concentration significantly reduced seed germination and seedling growth. In the absence of biochar and nanobiochar, application of 50% alfalfa extract reduced germination percentage, germination rate, radicle length, shoot length, radicle dry weight, and shoot dry weight by approximately 25.47, 25.45, 35.40, 37.40, 23.35, and 35.41%, respectively, compared with the untreated control. In contrast, biochar, particularly nanobiochar, alleviated these adverse effects. The highest germination percentage and germination rate were recorded in the nanobiochar treatment, although the differences between nanobiochar and biochar were not statistically significant. Nanobiochar also improved seedling growth indices at all extract concentrations, particularly at higher concentrations. Both biochar and nanobiochar significantly increased soluble sugar and total phenolic contents across all extract concentrations. Nanobiochar had the strongest effect on catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase activities under all levels of allelopathic stress. At the 50% extract concentration, nanobiochar increased the activities of these enzymes by 13.54, 8.53, and 27.06%, respectively, compared with the treatment without biochar. Overall, nanobiochar represents a promising and environmentally friendly approach to mitigating the allelopathic effects of plant residues and improving canola seedling establishment and crop production sustainability.

Key words: Allelopathy, antioxidant enzymes, seedling growth, rapeseed, and nanobiochar.

[Downloaded from cpj.ahvaz.iau.ir on 2026-11-13]