Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Plant Production Research

Print ISSN: 2322-2050
Online ISSN: 2322-2778

(OPEN ACCESS)

Studying the Effect of Cultivation Distance and Green Husk Extract of Walnut and Pistachio on Morphological and Biochemical Traits of Chia Plant (*Salvia hispanica* L.)

Fatemeh Javadifard[1], Khodayar Hemmati[*2], Nastaran Hemmati[3]

1. M.Sc. Graduate of Medicinal Plants, Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: f.javadifard20@gmail.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: kh_hemmati@gau.ac.ir
3. Ph.D. Graduate of Medicinal Plants, Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail: nastaran.hemmati@alumni.um.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 09.25.2024
Revised: 01.02.2025
Accepted: 02.06.2025

Keywords:
Antioxidant activity,
Chia,
Height,
Mucilage

ABSTRACT

Background and Objectives: Chia (*Salvia hispanica* L.) is an annual plant belonging to the *Lamiaceae* family, native to Mexico and northern Guatemala. Its seeds are commercially valuable due to their high omega-3 and omega-6 content, as well as being a potential source of antioxidants and dietary fiber, making them widely used in the food and pharmaceutical industries. Given the limited cultivation of this plant in Iran, this study aimed to identify the optimal planting density and biostimulant treatments to enhance growth, increase yield, and improve the biochemical quality of chia seeds under the climatic conditions of Gorgan.

Materials and Methods: White chia seeds were obtained from the Agricultural and Natural Resources Research and Training Center of Tehran and cultivated in a 6 × 10 m² field. The experiment was conducted in a factorial design based on a randomized complete block design (RCBD) with three replications at the research farm of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Treatments included aqueous extracts of green walnut and pistachio husks at a concentration of 1000 ppm, along with different planting distances (50, 60, and 70 cm). The measured variables included morphological traits and yield components (dry weight, plant height, leaf area, number of inflorescences per plant, fresh seed weight per plant, and stem diameter), as well as phytochemical properties (total phenols, total flavonoids, antioxidant activity assessed by TAOC and FRAP methods in leaves and seeds, and seed mucilage content).

Results: The findings indicated that plant extracts and planting distances significantly influenced plant height, leaf area, number of inflorescences, fresh seed weight, and some phytochemical traits. The tallest plants (238 cm) were observed in the control treatment with a 50 cm planting distance, while the shortest plants (194 cm) were recorded in the walnut extract treatment with a 60 cm planting distance. The highest number of inflorescences (268) and fresh seed weight per plant (14.28 g) were obtained in the control treatment with a 70 cm planting distance. The

largest leaf area (183.11 cm²) was found in the control treatment with a 60 cm planting distance, whereas the smallest (82.48 cm²) was observed in the walnut extract treatment with a 70 cm planting distance. Regarding phytochemical traits, the highest total phenol content in seeds (19.5 mg gallic acid. $g^{-1}{}_{DW}$) was obtained in the walnut extract treatment at a 60 cm planting distance, while the highest total flavonoid content in seeds (0.66 mg quercetin. $g^{-1}{}_{DW}$) was observed in the walnut extract treatment at a 70 cm planting distance. The highest antioxidant activity in seeds, as measured by the FRAP method (165.95 mg. g^{-1}), was recorded at a 70 cm planting distance, whereas the highest antioxidant activity using the TAOC method (301 mg. g^{-1}) was observed at a 50 cm planting distance in the walnut husk extract treatment. Additionally, the pistachio husk extract treatment at a 50 cm planting distance resulted in the highest seed mucilage content (0.1 mg $g^{-1}{}_{DW}$), showing a 1.5-fold increase compared to the control at the same planting distance.

Conclusion: The application of green walnut and pistachio husk extracts as biostimulants, along with appropriate planting density, positively influenced the growth and yield of chia plants. Both planting density and the type of extract significantly affected chia's morphological and phytochemical characteristics. Notably, walnut husk extract played a crucial role in controlling plant height and enhancing seed antioxidant activity. These results could contribute to improving chia cultivation and productivity in similar climatic conditions while promoting the use of plant extracts in sustainable agriculture.

Cite this article: Javadifard, Fatemeh, Hemmati, Khodayar, Hemmati, Nastaran. 2025. Studying the Effect of Cultivation Distance and Green Husk Extract of Walnut and Pistachio on Morphological and Biochemical Traits of Chia Plant (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Plant Production Research*, 32 (3), 17-37.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/jopp.2025.22663.3173
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

شاپا چاپی: ۲۰۵۰-۲۳۲۲
شاپا آنلاین: ۲۷۷۸-۲۳۲۲

مطالعه تأثیر فاصله کشت و عصاره پوست سبز گردو و پسته بر شاخص‌های مورفولوژیکی و زیست‌شیمیایی گیاه چیا (*Salvia hispanica* L.)

فاطمه جوادی‌فرد[۱]، خدایار همتی*[۲]، نسترن همتی[۳]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: f.javadifard20@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: kh_hemmati@gau.ac.ir

۳. دانش‌آموخته دکتری گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران. رایانامه: nastaran.hemmati@alumni.um.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۰۴
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۱۸

واژه‌های کلیدی:
ارتفاع،
چیا،
فعالیت آنتی‌اکسیدانی،
موسیلاژ

چکیده

سابقه و هدف: چیا با نام علمی *Salvia hispanica* L. گیاهی یک‌ساله، از خانواده Lamiaceae و بومی کشور مکزیک و شمال گواتمالا است. دانه آن به‌دلیل دارا بودن امگا-۳ و امگا-٦ و منبع بالقوه آنتی‌اکسیدان‌ها و فیبر غذایی، دارای ارزش تجاری بوده و در صنایع غذایی و دارویی استفاده فراوان دارد. با توجه به کشت و کار محدود این گیاه در ایران، هدف این مطالعه شناسایی بهترین تیمار تراکم کاشت و محرک‌های زیستی برای بهبود رشد، افزایش عملکرد و ارتقای کیفیت زیست‌شیمیایی بذر چیا در شرایط اقلیمی گرگان می‌باشد.

مواد و روش‌ها: رقم سفید بذرهای گیاه چیا از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی تهران تهیه و در زمینی به ابعاد ٦×۱۰ مترمربع کشت شدند. این پژوهش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار در مزرعه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. تیمارها شامل محرک‌های زیستی عصاره آبی پوست سبز گردو و پسته در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و فاصله کشت (۵۰، ٦۰ و ۷۰ سانتی‌متر) بودند. متغیرهای اندازه‌گیری‌شده شامل صفات ریخت‌شناسی و اجزای عملکرد (وزن خشک، ارتفاع بوته، سطح برگ، تعداد گل‌آذین در هر بوته، وزن‌تر بذر در بوته و قطر ساقه) و صفات فیتوشیمیایی (فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دو روش TAOC و FRAP در برگ و بذر و موسیلاژ بذر) بودند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره‌های گیاهی و فاصله‌های کاشت بر ارتفاع گیاه، سطح برگ، تعداد گل‌آذین، وزن‌تر بذر و برخی صفات فیتوشیمیایی تأثیر معنی‌داری داشتند. بیش‌ترین

ارتفاع (۲۳۸ سانتی‌متر) در تیمار شاهد در فاصله کاشت ۵۰ سانتی‌متر و کم‌ترین ارتفاع (۱۹٤ سانتی‌متر) در تیمار عصاره گردو بافاصله کاشت ٦۰ سانتی‌متر مشاهده شد. بیش‌ترین تعداد گل‌آذین (۲٦۸ عدد) و وزن‌تر بذر در بوته (۱٤/۲۸ گرم) مربوط به تیمار شاهد بافاصله کاشت ۷۰ سانتی‌متر بود. بیش‌ترین سطح برگ (۱۸۳/۱۱ سانتی‌مترمربع) در تیمار شاهد بافاصله کاشت ٦۰ سانتی‌متر و کم‌ترین (۸۲/٤۸ سانتی‌مترمربع) در تیمار گردو بافاصله ۷۰ سانتی‌متر مشاهده شد. در صفات فیتوشیمیایی، بیش‌ترین فنول کل بذر (۱۹/۵ میلی‌گرم اسید گالیک در گرم وزن خشک) در تیمار عصاره گردو بافاصله ٦۰ سانتی‌متر و بیش‌ترین فلاونوئید کل بذر (۰/٦٦ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) در تیمار عصاره گردو بافاصله ۷۰ سانتی‌متر بود. بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بذر به روش FRAP (۱٦۵/۹۵ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در فاصله ۷۰ سانتی‌متر و به روش TAOC (۳۰۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) بافاصله ۵۰ سانتی‌متر در تیمار عصاره پوست گردو مشاهده شد. هم‌چنین تیمار عصاره پسته در فاصله کشت ۵۰ سانتی‌متر، دارای بیش‌ترین درصد موسیلاژ بذر (۰/۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در بین تیمارهای دیگر بود که افزایش ۱/۵ برابری نسبت به شاهد در فاصله کشت مشابه داشت.

نتیجه‌گیری: استفاده از عصاره پوست سبز گردو و پسته به‌عنوان محرک‌های زیستی همراه با تراکم مناسب کاشت، بر رشد و عملکرد گیاه چیا تأثیر مثبتی داشت. تراکم کاشت و نوع عصاره مورد استفاده می‌توانند به‌طور معنی‌داری بر صفات ریخت‌شناسی و فیتوشیمیایی چیا تأثیرگذار باشند. به‌ویژه، عصاره پوست گردو که در کنترل ارتفاع و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی بذر تأثیر بیش‌تری داشت. این نتایج می‌تواند به بهبود تولید و بهره‌وری چیا در شرایط اقلیمی مشابه کمک کند و کاربرد عصاره‌های را در کشاورزی پایدار ترویج دهد.

استناد: جوادی‌فرد، فاطمه، همتی، خدایار، همتی، نسترن (۱۴۰۴). مطالعه تأثیر فاصله کشت و عصاره پوست سبز گردو و پسته بر شاخص‌های مورفولوژیکی و زیست‌شیمیایی گیاه چیا (*Salvia hispanica* L.). *نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی*، ۳۲ (۳)، ۳۷-۱۷.
DOI: 10.22069/jopp.2025.22663.3173

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

چیا با نام علمی *Salvia hispanica* L. گیاهی علفی و یک‌ساله از جنس مریم‌گلی و از خانواده نعناعیان است (شکل ۱). این گیاه بومی آمریکای جنوبی است که در کشورهای مکزیک، آرژانتین، استرالیا و هند به‌صورت تجاری کشت می‌شود. این گیاه که با نام‌های چیا، چیای مکزیکی و چیای سیاه شناخته می‌شود، به‌دلیل خواص تغذیه‌ای و دارویی ارزشمند خود، موردتوجه پژوهش‌گران و تولیدکنندگان مواد غذایی و دارویی قرارگرفته است (۱).

دانه چیا با داشتن اسیدکلروژنیک، اسیدکافئیک، میریستین، کورستین و کامپفرول منبع بالقوه آنتی‌اکسیدان‌ها است و دارای اثرات محافظتی قلبی، کبدی، ضدپیری و ضدسرطان می‌باشد. امگا-۳ و امگا-٦ موجود در چیا برای بدن مورد نیاز بوده و نمی‌توان آن‌ها را به‌طور مصنوعی تولید کرد (۲). هم‌چنین این گیاه منبع مهمی از پروتئین، فیبر خوراکی، لیپید، مواد معدنی و ترکیبات فعال زیستی، توکوفرول‌ها، فیتواسترول‌ها، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنولی در نظر گرفته می‌شود که دارای پتانسیل محافظت‌کننده در مقابل انواع بیماری‌ها بوده و تأثیرات مفیدی بر سلامتی انسان دارد (۳).

در سال‌های اخیر، استفاده از محرک‌های زیستی طبیعی، ازجمله عصاره‌های گیاهی، به‌عنوان جایگزینی پایدار برای کودها و تنظیم‌کننده‌های رشد شیمیایی مورد توجه قرارگرفته است. عصاره‌های حاصل از برگ، دانه، میوه و ریشه گیاهان می‌توانند به‌واسطه دارا بودن هورمون‌های طبیعی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان را تحت‌تأثیر قرار دهند. تأثیر این ترکیبات بر رشد، عملکرد و ترکیب شیمیایی گیاهان، بسته به نوع عصاره، گونه گیاهی و شرایط محیطی، متفاوت است (٤، ٥). در برخی موارد، یک ترکیب خاص می‌تواند رشد یک گیاه را تحریک کند، درحالی‌که در گیاه دیگر اثر بازدارنده داشته باشد. این تفاوت‌ها ناشی از تأثیرات متقابل متابولیت‌های ثانویه گیاهی و ویژگی‌های اکولوژیکی محل رشد گیاه است؛ بنابراین، بررسی عصاره‌های گیاهی به‌عنوان محرک‌های زیستی و شناسایی شرایط بهینه استفاده از آن‌ها، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (٦).

متابولیت‌های ثانویه دارای اثرات آنتاگونیسمی و سینرژیستی بر یک‌دیگر هستند؛ بنابراین تأثیر متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان محرک و یا بازدارنده رشد نتایج متفاوتی را در مطالعات مختلف نشان داده است (٤)؛ به‌طوری‌که تفاوت در پاسخ گیاهان مختلف به متابولیت‌های موجود در عصاره و اسانس‌های گیاهی قابل بررسی می‌باشد. تفاوت در عوامل محیطی و اکولوژیکی محل رویش گیاه دارویی اثر بسیار زیادی بر درصد و نوع متابولیت‌های ثانویه دارد؛ به‌گونه‌ای که اعلام نظر قطعی در رابطه با ترکیبات موجود در عصاره‌های گیاهی بر اساس مطالعات قبلی، امکان‌پذیر نیست (۷). اگرچه این عصاره‌ها مانند مواد شیمیایی مصنوعی به‌سرعت واکنش نشان نمی‌دهند؛ اما استفاده طولانی‌مدت از آن‌ها، پایدار و سازگار با محیط‌زیست است (۸). در کره جنوبی، درمجموع ١٦٤٢ ماده کشاورزی سازگار با محیط‌زیست برای بهبود خاک، کنترل رشد و کنترل بیماری‌ها و حشرات ثبت‌شده است که ٤٥ مورد از آن‌ها عصاره‌های گیاهی هستند (۹). عصاره‌های گیاهی می‌توانند در کشاورزی به‌عنوان محرک‌های زیستی بالقوه برای کاهش هزینه تولید مواد غذایی و دستیابی به عملکرد باکیفیت بهتر مورد استفاده قرار گیرند و اثر نهایی عمل آن‌ها به عوامل متعددی بستگی دارد (به‌عنوان‌مثال: نوع ماده خام، روش استخراج، روش کاربرد، نوع گیاه و شرایط رشد). انجام پژوهش‌های بیش‌تر برای دستیابی به درک بهتر سازوکار آن‌ها ضروری است و برای درک

اثرات متعدد محرک‌های زیستی، توسعه آزمایش‌های طراحی‌شده مناسب بسیار مهم است. با توجه به اثرات مثبت آن‌ها بر گیاهان و احتمالات تحقیقاتی جدید، این محرک‌های زیستی هرساله توجه فزاینده‌ای را در میان دانشمندان، تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان احتمالی به خود جلب می‌کنند. محصولات زیستی که به‌طور مناسب تهیه و آزمایش شده‌اند، می‌توانند جزء جدایی‌ناپذیر کشاورزی پایدار در آینده باشند (۱۰).

رشد طولی گیاهان به دلیل رقابت برای دریافت نور در تراکم بالا، افزایش می‌یابد؛ زیرا نور کمتری بین گیاهان نفوذ می‌یابد (۱۱). در فاصله کاشت مناسب حداکثر عملکرد با افزایش بهره‌مندی گیاه از عوامل محیطی حاصل خواهد شد و با استفاده از فاصله کاشت مناسب می‌توان عملکرد مطلوبی را به‌دست آورد (۱۲). باسوکی (۱۹۹۰) گزارش کرد تراکم بالای استویا (حدود ۲٤ تا ۳۰ گیاه در مترمربع)، علف‌های هرز را کنترل کرده اما باعث افت بیش‌ازحد عملکرد زیست‌توده گیاه می‌شود (۱۳). با تنظیم تراکم بوته در واحد سطح و آرایش کاشت گیاه، اثر رقابت بین‌گونه‌ای و درون‌گونه‌ای حداقل و استفاده از عوامل رشد حداکثر شده و هم‌چنین حداکثر عملکرد دانه محقق می‌گردد. صدقی و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که در آفتابگردان تراکم کم‌تر از حد مطلوب باعث کاهش عملکرد، افزایش علف‌های‌هرز و کاهش طبق در واحد سطح می‌گردد و همین‌طور تراکم بالاتر از حد مطلوب، عملکرد دانه و روغن دانه را کاهش داده و با سایه‌اندازی روی برگ‌های پایینی سبب ایجاد ورس و حساسیت به آفات و بیماری‌ها می‌شود (۱٤).

در مطالعه دیگری تراکم بوته و تاریخ کاشت بر عملکرد دانه ریحان معنی‌دار گزارش‌شده است (۱۵). هم‌چنین مشخص‌شده با کاهش فاصله بین ردیف‌ها و افزایش رقابت برای دریافت نور، قطر ساقه‌ها و تعداد شاخه‌های فرعی در گوجه‌فرنگی کاهش می‌یابد (۱٦).

کاشت و تولید روغن دانه چیا در حال حاضر هنوز به‌طور کامل نیاز بازار جهانی را برآورده نکرده است و مطالعات اخیر بیش‌تر روی دانه‌های چیا و استخراج ترکیبات آن متمرکزشده و مطالعات بسیار کمی برای کشت آن انجام‌شده است. هم‌چنین کاشت و تولید دانه چیا هنوز به‌طور گسترده در ایران مورد بررسی قرار نگرفته است و اطلاعات محدودی در مورد شرایط رشد بهینه آن در کشور وجود دارد. با توجه به اهمیت این گیاه در صنایع غذایی و دارویی، شناسایی روش‌های بهبود عملکرد و کیفیت آن از اهمیت بالایی برخوردار است. ازاین‌رو، این پژوهش باهدف بررسی تأثیر فاصله کاشت و استفاده از عصاره‌های گیاهی (پوست سبز گردو و پسته) بر شاخص‌های رشدی، عملکرد و ویژگی‌های فیتوشیمیایی گیاه چیا در شرایط اقلیمی گرگان انجام شد. هدف اصلی این مطالعه، شناسایی بهترین ترکیب تراکم کاشت و تیمار زیستی برای بهبود رشد، افزایش عملکرد و ارتقای کیفیت زیست‌شیمیایی دانه چیا در ایران است. یافته‌های این پژوهش می‌تواند به توسعه کشت این گیاه و استفاده از محرک‌های زیستی در راستای کشاورزی پایدار کمک کند.

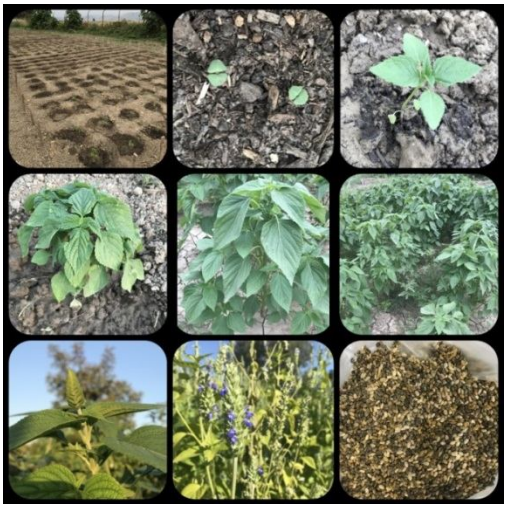
شکل ۱- بذر و اندام هوایی گیاه چیا (*Salvia hispanica* L.). عکس از نویسنده.

Fig. 1. Chia plant seeds and aerial parts (*Salvia hispanica* L.) Photograph taken by the author.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌منظور بررسی رشد و عملکرد گیاه چیا در شرایط اقلیمی گرگان در مزرعه شماره ۱ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان با موقعیت جغرافیایی E ″۲۳′۱۹ °۵٤ و N ″٤۷′٤۹ °۳٦ با ارتفاع ۹۰ متر از سطح دریا در سال ۱٤۰۱ انجام گرفت. رقم‌های سفید از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی تهران تهیه شد و قدرت جوانه‌زنی آن‌ها به روش کشت روی کاغذ صافی در پتری‌دیش (Top of paper: TP) آزمایش گردید (۱۷). سپس در مزرعه در اردیبهشت‌ماه ۱٤۰۱ کشت شد (شکل ۲).

این طرح در زمینی به ابعاد ٦×۲ متر، در ۹ ردیف انجام شد. کرت‌ها با ابعاد ۱۵۰×۱۵۰ سانتی‌متر ۱۵۰×۱۸۰ سانتی‌متر و ۱۵۰×۲۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تیمار و در سه تکرار اجرا شد. عامل اول شامل سه فاصله کشت (۵۰×۵۰، ۵۰×٦۰ و ۵۰×۷۰ سانتی‌متر)، عامل دوم محلول‌پاشی با عصاره گردو (غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) و عامل سوم محلول‌پاشی با عصاره پسته (غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) بود. تیمارها ۲ بار بافاصله یک هفته روی گیاه اسپری شدند. محلول‌پاشی در مرحله رشد رویشی گیاه و در اواخر روز با خنک شدن هوا و کاهش شدت نور و در هوای ملایم انجام شد؛ زیرا در دمای پایین و شدت نور پایین، تبخیر کاهش پیدا می‌کند و محلول زمان بیش‌تری برای نفوذ به برگ‌ها دارد و جذب مواد افزایش می‌یابد. ٦ هفته پس از آخرین محلول‌پاشی نمونه‌برداری از برگ‌ها و پس از تشکیل بذر، نمونه‌برداری از بذرها در آذرماه انجام شد. در طول رشد گیاه در فصل بهار و تابستان آبیاری دو بار در هفته و در انتهای فصل رشد یک‌بار در هفته انجام گرفت. درنهایت صفات ریخت‌شناسی و اجزای عملکرد (وزن خشک برگ، ارتفاع بوته، سطح برگ، تعداد گل‌آذین در هر بوته، وزن‌تر بذر در هر بوته و قطر ساقه) و صفات فیتوشیمیایی (فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دو روش (TAOC, FRAP) در برگ و بذر و موسیلاژ بذر) مورد بررسی قرار گرفت.



شکل ۲- مراحل کاشت تا برداشت گیاه چیا (*Salvia hispanica* L.).

Fig. 2. Steps from planting to harvesting the chia plant (*Salvia hispanica* L.).

تهیه عصاره گیاهی پوست سبز گردو و پسته: برای تهیه عصاره‌های گیاهی از پوست سبز گردو و پسته به روش خیساندن با نسبت وزنی- حجمی ۱:۱۰ w/v، ۵۰ گرم از پوست خردشده به ارلن حاوی ۵۰۰ میلی‌لیتر آب اضافه گردید و به‌مدت هفتاد و دو ساعت روی شیکر (۹۰ دور در دقیقه) قرار داده شد. سپس مخلوط حاصله با کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف‌شده و از آن غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام تهیه و به‌صورت اسپری روی گیاه مورد استفاده قرار گرفت (۱۸).

مشخصات خاک: قبل از کشت گیاه، خاک مزرعه مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین بافت خاک نیز از روش غربال (رسوب‌گذاری) استفاده شد (۱۹). در این روش ابتدا ذرات شن (Sand)، سیلت (Silt) و رس (clay) با درصد مشخص گردید (جدول ۱). برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی (EC)، ابتدا گل اشباع تهیه و یک‌شب در دمای محیط قرار داده شد و سپس با کمک پمپ تخلیه عصاره اشباع تهیه گردید و از عصاره اشباع، هدایت الکتریکی (EC) قرائت شد (۲۰). آزمایش pH خاک با استفاده از pH متر انجام شد.

جدول ۱- مشخصات خاک.

Table 1. Soil specifications.

نوع خاک Soil type	سیلت (%) Silt	رس (%) Clay	شن (%) Sand	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	اسیدیته pH
سیلت لومی Silt Loam	59.5	26	14.5	1538	5.42

اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناسی: برخی از صفات ریخت‌شناسی گیاه چیا در مزرعه و برخی دیگر پس از انجام نمونه‌برداری و انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، اندازه‌گیری شدند. صفات ریخت‌شناسی بررسی‌شده شامل ارتفاع گیاه، وزن خشک برگ، وزن‌تر بذر، تعداد گل‌آذین، سطح برگ و قطر ساقه بود.

ارتفاع گیاه برحسب سانتی‌متر با استفاده از متر، وزن‌تر بذر و وزن خشک برگ با استفاده از ترازوی آزمایشگاهی مدل WT2003G برحسب گرم و تعداد گل‌آذین از طریق شمارش تعداد گل‌آذین در هر بوته ثبت گردید. هم‌چنین سطح برگ از طریق اندازه‌گیری متوسط سطح ۱۰ برگ در هر بوته و با استفاده از دستگاه سطح برگ‌سنج مدل DELTA-T DEVICE برحسب سانتی‌مترمربع و قطر ساقه با استفاده از کولیس دیجیتال و برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری صفات زیست‌شیمیایی

تهیه عصاره: برای تهیه عصاره الکلی برگ و بذر به روش خیساندن، ابتدا نمونه در دمای ٤٠ درجه خشک و آسیاب گردید. سپس یک گرم از نمونه خشک‌شده به ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه و به مدت ٢٤ ساعت روی شیکر[1] با سرعت ۵۰ دور در دقیقه قرار گرفت و در انتها با کاغذ صافی واتمن ٠/٤ میکرون صاف گردید (۲۱).

فنول کل: برای اندازه‌گیری فنول کل در وزن خشک، ۲۰ میکرولیتر از عصاره الکلی تهیه‌شده با ١/١٦ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر فولین[2] مخلوط شد. پس از ۵ دقیقه استراحت ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه و به‌مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری (٤٠ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. برای شاهد به‌جای عصاره از متانول استفاده شد. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ٧٦٠ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر[3] قرائت گردید (۲۲). از استاندارد اسیدگالیک[4] برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد و نتایج برحسب میلی‌گرم اسیدگالیک در ۱۰۰ گرم نمونه خشک محاسبه گردید.

فلاونوئید کل: برای محاسبه فلاونوئید کل، از روش رنگ‌سنجی کلریدآلومینیم استفاده شد. بدین‌منظور ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی را با ۱۰۰ میکرولیتر آلومینیم‌کلرید ۱۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر استات‌پتاسیم یک مولار، ١/٥ میلی‌لیتر متانول و ٢/٨ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. محلول حاصل نیم ساعت در تاریکی قرار گرفت. سپس جذب مخلوط واکنش توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ٤١٥ نانومتر قرائت گردید (برای شاهد به‌جای عصاره از متانول استفاده شد). از غلظت‌های مختلف کوئرستین برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج برحسب میلی‌گرم کوئرستین در یک گرم نمونه خشک محاسبه گردید (۲۳).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

TAOC[5]: برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش TAOC نیاز به تهیه محلول پایه می‌باشد. بدین‌منظور ٠/٣٨ گرم سدیم‌فسفات[6]، ٠/٠٧٨ گرم آمونیوم‌مولیبدات[7]، ٣/٣٦ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک[8] را مخلوط و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس یک میلی‌لیتر از محلول پایه تهیه‌شده با ۱۰۰ میکرولیتر عصاره ترکیب شد و ۹۰ دقیقه در بن‌ماری ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد شدن نمونه در طول موج ٦٩٥ نانومتر قرائت شد (٢٤).

FRAP[9]: این روش یکی از روش‌های رایج برای ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات زیستی است. این روش بر اساس توانایی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در احیای یون‌های آهن (Fe^{3+} به Fe^{2+}) عمل می‌کند و

1- ROTATOR2002
2- Folin ciocalteu
3- Spectrophotometer UV2800
4- Gallic acid

5- Total antioxidant capacity
6- Na_3Po_4
7- $MoO_4(NH_4)$
8- H_2SO_4
9- Ferric reducing antioxidant power

به‌طور مستقیم نشان‌دهنده پتانسیل احیاکنندگی آنتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه است. برخلاف برخی روش‌های دیگر که به توانایی ترکیبات در مهار رادیکال‌های آزاد (مانند DPPH یا ABTS) متکی هستند، آزمون FRAP مستقیماً ظرفیت احیای الکترونی نمونه را می‌سنجد. این ویژگی اهمیت زیادی در مطالعه ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و دیگر آنتی‌اکسیدان‌های موجود در گیاهان دارد، زیرا بسیاری از این ترکیبات از طریق سازوکارهای انتقال الکترون در کاهش استرس اکسیداتیو و محافظت سلولی نقش دارند (۲۵).

با احیای یون‌های فریک (Fe^{3+}) و تبدیل آن به یون‌های فرو (Fe^{2+}) در pH اسیدی و در حضور تری پریدیل اس تریازین (TPTZ)، ترکیبات پیچیده Fe-TPTZ تشکیل می‌شود که رنگ آن آبی است. پس‌ازآن، سنجش جذب نوری مخلوط واکنش در طول موج ۵۹۳ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری گردید. البته باید اشاره کرد توانایی یک آنتی‌اکسیدان برای غلبه بر رادیکال‌های آزاد الزاماً منطبق بر توانایی آن برای احیاء Fe^{3+} به Fe^{2+} نیست (۲۶).

برای تهیه معرف FRAP ابتدا سه محلول پایه زیر تهیه شد:

- ۰/۳۱ گرم استات‌سدیم سه آبه[1] با ۱۶۰ میکرولیتر اسیداستیک مخلوط و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد.
- ۱۶ میلی‌گرم TPTZ[2] با ۱۷ میکرولیتر اسیدکلریدریک ۳۷ درصد مخلوط و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد.
- ۱۶ میلی‌گرم کلرید آهن وزن شده و در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد.

محلول‌های ۱، ۲ و ۳ با نسبت ۱۰: ۱: ۱ مخلوط شد و ۱/۵ میلی‌لیتر از این محلول FRAP تهیه و با ۵۰ میکرولیتر عصاره ترکیب گردید و پس از مخلوط‌کردن و یکنواخت کردن نمونه‌ها با دستگاه ورتکس سپس به‌مدت چهار دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری انکوبه شد. پس از سرد شدن، عدد جذب نمونه‌ها نسبت به شاهد (همه ترکیبات به‌جز عصاره) در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت گردید.

موسیلاژ: ابتدا بذرها آسیاب شد و یک گرم از پودر با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و پس از ۲۴ ساعت استراحت در یخچال، محلول حاصله صاف گردید. ۱۰ میلی‌لیتر از محلول صاف‌شده برداشته و به آن ۲۰ میلی‌لیتر الکل ۹۵ درصد اضافه شد. سپس مخلوط ۲۴ ساعت در یخچال قرار گرفت و بعدازآن صاف شد و رسوبات وزن گردید. در ادامه موسیلاژ حاصل در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. اندازه‌گیری راندمان استخراج، بر اساس وزن اولیه دانه محاسبه گردید (۲۷).

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها: تجزیه تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS (ver 9.1)، مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD و رسم نمودار با نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

نتایج و بحث

اثر فاصله کشت و عصاره پوست گردو و پسته بر صفات ریخت‌شناسی گیاه چیا: براساس نتایج، اثرات متقابل تیمارها در سطح احتمال یک درصد روی ارتفاع، وزن خشک برگ، سطح برگ، تعداد گل‌آذین و وزن تر بذر در هر بوته تأثیر معنی‌داری داشت. درصورتی‌که اثر متقابل تیمارها تأثیر معنی‌داری بر قطر ساقه نداشت.

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، استفاده از عصاره‌های گردو و پسته اثر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه

1- $CH_3COONa.3H_2O$
2- 2,4,6-tripyridyl-1,3,5-triazine

چیا نسبت به شاهد داشت؛ به‌طوری‌که عصاره گردو در هر سه فاصله کشت، نسبت به عصاره پسته بهتر توانست ارتفاع را کنترل کند. بیش‌ترین ارتفاع (۲۳۸ سانتی‌متر) مربوط به تیمار شاهد در فاصله کشت ۵۰ سانتی‌متر و کم‌ترین ارتفاع (۱۹٤ سانتی‌متر) در عصاره پوست گردو در فاصله ٦۰ سانتی‌متر مشاهده شد. تراکم زیاد، فضای موجود برای شاخه‌ها و برگ‌ها را کاهش می‌دهد و گیاهان را مجبور به رشد عمودی به‌جای افقی می‌کند (۲۸). کوندو و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که فاصله کشت بیش‌تر منجر به افزایش تعداد انشعابات ساقه می‌شود؛ زیرا گیاه در فاصله کشت بیش‌تر فضای بیش‌تری دارد درنتیجه مواد مغذی، نور و آب بیش‌تری دریافت می‌کند و رقابت بین گیاهان کم‌تر است. در مقابل فاصله نزدیک‌تر بین گیاهان باعث ایجاد سایه می‌شود که درنتیجه سبب سرکوب رشد جانبی و افزایش ارتفاع گیاه می‌گردد (۲۹).

با افزایش فاصله کشت در شاهد تعداد گل‌آذین افزایش یافت؛ درنتیجه می‌توان بیان کرد فاصله کشت در تعداد گل‌آذین تأثیرگذار است. بیش‌ترین تعداد گل‌آذین (۲٦۸ عدد) و وزن‌تر بذر در بوته (۱٤/۲۸ گرم) مربوط به تیمار شاهد در فاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر بود که وزن‌تر بذر تفاوت معنی‌داری با شاهد در فاصله کشت ٦۰ سانتی‌متر نداشت؛ و کم‌ترین تعداد گل‌آذین (٤۵ عدد) و وزن‌تر بذر در بوته (۵/۱۱ گرم) مربوط به تیمار عصاره گردو در فاصله کشت ۵۰ سانتی‌متر بود. با تنظیم تراکم بوته در واحد سطح و آرایش کاشت گیاه، اثر رقابت بین‌گونه‌ای و درون‌گونه‌ای حداقل و استفاده از عوامل رشد حداکثر شده و هم‌چنین حداکثر عملکرد دانه محقق می‌گردد. بیش‌ترین تعداد گل‌آذین و وزن‌تر بذر در تیمار شاهد بافاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر مشاهده شد که نشان می‌دهد احتمالاً با کاهش تراکم گیاهان و افزایش دسترسی به منابع غذایی و نور، افزایش فاصله کشت می‌تواند تأثیر مثبتی برافزایش تعداد گل‌آذین و وزن‌تر بذر داشته باشد. نتایج پژوهش‌های پراوالیکا و همکاران (۲۰۲٤) نشان داد که فاصله کشت و شیوه‌های مدیریت مواد مغذی آلی به‌طور قابل‌توجهی بر عملکرد چیا (ارتفاع بوته، تعداد شاخه/ بوته، کل تولید ماده خشک و تعداد گل‌آذین) اثرگذار است و مؤثرترین تیمار در فاصله ٦۰×۱۵ سانتی‌متر همراه با ۱۰۰ درصد کمپوست مشاهده شد که این تیمار بیش‌ترین ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی در بوته و کل ماده خشک را داشت (۳۰). یبوآ و همکاران (۲۰۱٤) بیان کردند که در گیاه چیا در تراکم کمتر عملکرد دانه بیش‌تر می‌شود و بیش‌ترین عملکرد دانه در فاصله کشت ۵۰×۵۰ سانتی‌متر مشاهده شد (۳۱). در پژوهشی که در آمریکای‌جنوبی انجام گرفت؛ مشخص شد در فاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر تا ۸۰ سانتی‌متر گیاه چیا بیش‌ترین عملکرد را داشته است (۳۲).

بیش‌ترین سطح برگ (۱۸۳/۱۱ سانتی‌مترمربع) مربوط به تیمار شاهد در فاصله کشت ٦۰ سانتی‌متر و کم‌ترین مربوط به تیمار گردو در فاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر مشاهده گردید. به‌طورکلی در فاصله کشت‌های ۷۰ سانتی‌متر، سطح برگ کم‌تری نسبت به دو فاصله کشت دیگر مشاهده شد. کاهش سطح برگ در این شرایط ممکن است به دلیل اثرات بازدارنده عصاره گردو بر توسعه برگ‌ها باشد. ترکیبات آللوپاتیک موجود در این عصاره می‌توانند منجر به کاهش تعداد سلول‌های مزوفیل، تغییر در ساختار بافت برگ و کاهش میزان توسعه پهنک شوند. از طرفی، کاهش تراکم کشت نیز می‌تواند از طریق کاهش رقابت برای نور و مواد غذایی، بر فیزیولوژی برگ اثر گذاشته و سطح آن را تحت‌تأثیر قرار دهد.

در وزن خشک برگ، فاصله کشت در شاهد تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد؛ به‌طوری‌که وزن خشک در سه فاصله کشت تفاوت چشمگیری نداشتند؛ اما با اعمال تیمارها روند کاهشی مشاهده گردید؛ به‌طوری‌که کم‌ترین وزن خشک در تیمار عصاره گردو (۳۳/۳۳ گرم) در فاصله کشت ۵۰ سانتی‌متر و بیش‌ترین وزن خشک در شاهد (٤٩/٦٦) در فاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با شاهد در فاصله کشت ٦۰ و ۵۰ سانتی‌متر نداشت.

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که استفاده از عصاره‌های گیاهی مختلف به همراه تغییرات در فاصله کشت‌های کشت می‌تواند تأثیرات قابل‌توجهی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی گیاه چیا داشته باشد. به‌طوری‌که در این پژوهش، صفات ریخت‌شناسی مانند ارتفاع و تعداد گل‌آذین، پس از استفاده از عصاره‌های گیاهی، در مقایسه با شاهد کاهش پیدا کردند. عصاره گردو در کنترل ارتفاع گیاه چیا نسبت به عصاره پسته مؤثرتر بود؛ به‌ویژه در فاصله کشت ٦۰ سانتی‌متری که کم‌ترین ارتفاع (۱۹٤ سانتی‌متر) مشاهده شد. این امر می‌تواند ناشی از ترکیبات فعال موجود در عصاره گردو (مانند ژوگلون) و اثرات آللوپاتیک مربوط به آن باشد که رشد طولی گیاه را کاهش می‌دهند. علت اثرات متفاوت عصاره‌های گیاهی بر صفات ریخت‌شناسی، اثرات بازدارنده آن‌ها می‌باشد که این اثرات در غلظت‌هایی خاص ظاهر می‌شوند و به نوع گونه گیاهی مورد استفاده و نوع عصاره وابسته هستند (۳۳). در پژوهشی اثر عصاره آبی- الکلی گردو و آقطی روی خرفه مورد بررسی قرار گرفت؛ نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره آبی- الکلی گردو بر تمامی صفات مورد بررسی اثر معنی‌داری داشتند. به‌طوری‌که نشان داد که با افزایش میزان غلظت عصاره‌های آبی- الکلی گردو و آقطی، طول ساقه، تعداد برگ در بوته، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها به‌طور معنی‌داری کاهش و میزان پرولین افزایش یافت (۳٤). استفاده از عصاره اوکالیپتوس روی ماش باعث افزایش رشد و جوانه‌زنی شد، اما هنگامی‌که در غلظت بالاتر (نسبت ۵:۱ وزنی- حجمی) استفاده گردید؛ رشد و جوانه‌زنی را کاهش داد (۳۵). از طرفی، کاربرد عصاره برگ و ساقه پیازچه چینی (*Allium tuberosum Rottler*; *cv Sanbuchu*) و عصاره آبی برگ سویا، تغییری در ارتفاع بوته و وزن‌تر اندام هوایی کلم پیچ و کلم‌برگ ایجاد نکرد (۳٦). برخی اوقات اثرات آسیب‌زنندگی اسانس و عصاره گیاهان دارویی بر گیاهان دیگر به‌دلیل ترکیبات آللوپاتیک و سمی نیست؛ بلکه تأثیرات اسمزی این ترکیبات عاملی برای کاهش رشد می‌شوند. تولید آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و آنزیمی در شرایط حاصل از تنش اسمزی عصاره‌ها و یا تنش آللوپاتیک در مطالعات زیادی به اثبات رسیده است (۳۷).

اثرات منفی عصاره‌ها بیش‌تر در کاهش عملکرد بذر، کاهش سطح برگ و تغییر در برخی از ویژگی‌های رشد گیاه چیا مشاهده شد. ترکیبات آللوپاتیک موجود در عصاره‌های گردو و پسته، به‌ویژه ترکیبات فنولیک و ژوگلون، می‌توانند با ایجاد تنش فیزیولوژیکی، تنظیمات هورمونی گیاه را مختل کرده و فرآیندهای مهمی مانند تقسیم سلولی، طویل شدن سلولی و فتوسنتز را تحت‌تأثیر قرار دهند. کاهش عملکرد بذر در تیمارهای حاوی عصاره ممکن است به‌دلیل تأثیر این ترکیبات بر پر شدن دانه و کاهش تجمع مواد فتوسنتزی باشد. علاوه‌بر این، کاهش سطح برگ در برخی از تیمارهای حاوی عصاره گردو نشان می‌دهد که این ترکیبات احتمالاً از طریق تأثیر بر توسعه بافت برگ و کاهش نرخ رشد سلولی، بر گسترش پهنک‌برگ اثر منفی داشته‌اند. این نتایج نشان می‌دهد که علی‌رغم برخی اثرات مثبت عصاره‌ها،

استفاده از آن‌ها ممکن است محدودیت‌هایی برای رشد و عملکرد نهایی گیاه چیا ایجاد کند. توضیح تأثیر عصاره‌ها روی گیاهان دشوار است زیرا عصاره‌ها حاوی ترکیبات زیست‌فعال متعددی هستند که پیچیدگی آن‌ها مشخص نشده است. مطالعات نیز نشان داده‌اند که عصاره‌های گیاهی می‌توانند اثرات منفی بر رشد و جوانه‌زنی گیاهان داشته باشند. به‌عنوان‌مثال، در پژوهشی اثرات آللوپاتیک عصاره آبی هفت گیاه مختلف بر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاه دارویی وسمه بررسی شد و نتایج نشان داد که کاربرد این عصاره‌ها موجب کاهش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی بذرها شد (۳۸). هم‌چنین، در مطالعه‌ای دیگر، اثر بازدارندگی عصاره‌های گیاهان مریم‌گلی، نعناع فلفلی و کاسنی بر گیاه چاودار وحشی بیش‌تر از علف هرز دم‌روباهی بوده و عصاره‌های نعناع فلفلی و مریم‌گلی دارای اثرات دگرآسیبی قوی‌تری نسبت به کاسنی بودند که منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی و سرعت آن شدند (۳۹).

جدول ۲- اثر عصاره پوست سبز گردو و پسته و فاصله کشت بر خصوصیات ریخت‌شناسی گیاه دارویی چیا (*Salvia hispanica* L.).

Table 2. The effect of walnut and pistachio green hull extracts on chia (*Salvia hispanica* L.) morphological characteristics.

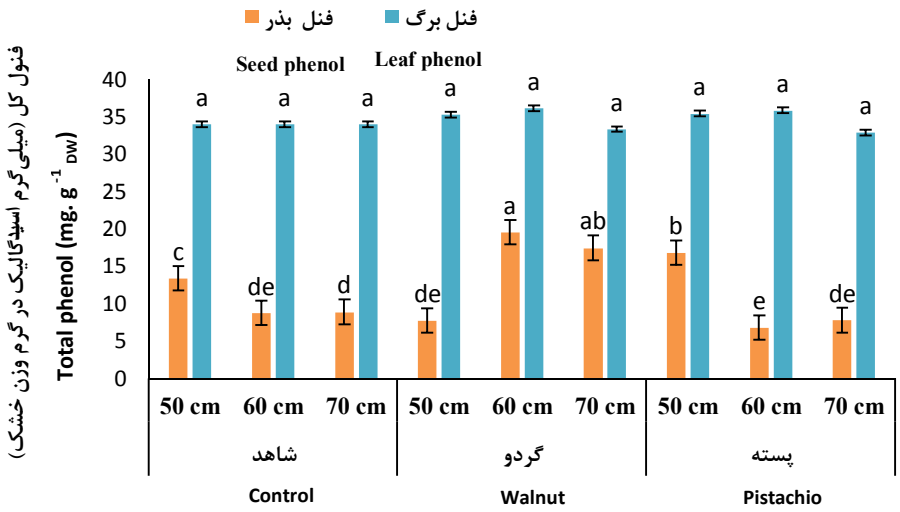
	فاصله کشت Row distance	ارتفاع Height (cm)	وزن خشک برگ Leaf dry weight (g)	تعداد گل‌آذین در هر بوته Number of inflorescence per plant	وزن‌تر بذر در بوته Number of seed per plant (g)	سطح برگ Leaf area (cm2)
شاهد Control	50	238^{a}	47.66^{ab}	165^{d}	10.38^{c}	147.13^{c}
	60	221^{b}	49^{a}	228^{b}	13.68^{ab}	183.11^{a}
	70	223^{b}	49.66^{a}	$268/66^{a}$	14.28^{a}	107.79^{e}
عصاره گردو Walnut extract	50	208^{c}	33.33^{d}	45.66^{h}	5.11^{g}	164.54^{b}
	60	194^{e}	44.33^{a-c}	144^{f}	8.19^{e}	182.15^{a}
	70	195^{de}	40.66^{cd}	179^{c}	13.01^{b}	82.48^{g}
عصاره پسته Pistachio extract	50	206^{c}	44.33^{a-c}	179^{c}	8.23^{e}	146.19^{c}
	60	197^{d}	33.66^{cd}	133^{g}	6.54^{f}	139.07^{d}
	70	205^{c}	36.66^{cd}	152^{e}	9.42^{d}	94.02^{f}

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، باهم اختلاف معنی‌داری ندارند

اثر فاصله کشت و عصاره پوست گردو و پسته بر صفات فیتوشیمیایی گیاه چیا

فنول کل: براساس نمودار مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۳)، بالاترین میزان فنول کل بذر (۱۹/۵ میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم وزن خشک) مربوط به تیمار عصاره گردو در فاصله کشت ۶۰ سانتی‌متر بود که تفاوت معنی‌داری بافاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر نداشت. هم‌چنین حداقل میزان فنول کل بذر (۶/۷۶ میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم وزن خشک) مربوط به تیمار عصاره پسته در فاصله کشت ۶۰ سانتی‌متر بود که این نتایج نشان می‌دهد تیمارهای مورد بررسی در میزان فنول کل بذر اثرگذار بود؛ اما بر فنول کل برگ

تأثیری نداشت. گزارش‌شده است که عصاره‌های طبیعی گیاهان، حاصل از اندام‌های مختلف گیاه که حاوی ترکیبات مختلفی هستند؛ می‌توانند بر فرایندهای فیزیولوژیکی اثر داشته باشند. تأثیرات مثبت این ترکیبات روی عملکرد، رشد و برخی ترکیبات شیمیایی گیاهان تحت تیمارهای مختلف اثبات‌شده است (٤). هم‌چنین دروبک و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که عصاره‌های گیاهی می‌توانند فعالیت آنزیم‌ها را تغییر داده و بر خواص آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی تأثیر بگذارند (٤٠). براساس نتایج پژوهش دارت و همکاران (۲۰۰۸) مشخص شد عصاره گیاه گزنه (*Urtica dioica*) موجب افزایش میزان فنول کل در بافت‌های میوه گیاه گوجه‌فرنگی گردید (٤١). امینی‌فرد و قادری (۲۰۲۰) با بررسی تراکم کشت و اثر اسید هیومیک بر گیاه شنبلیله اعلام داشتند؛ بیش‌ترین میزان فنول (٤٢/٠٧ میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک) در تیمار ۱۰ کیلوگرم بر هکتار اسید هیومیک با تراکم کاشت ۲۵ بوته در مترمربع و کم‌ترین میزان فنول (٤١/٨٦ میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک) در تیمار شاهد با تراکم کاشت ۲۵ بوته در مترمربع به‌دست آمد (٤٢). در پژوهشی دیگر، کاربرد پاراگزانتین موجود در تفاله‌های چای و قهوه، میزان آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها، آلکالوئید کل و ترکیبات فنولی در گیاه کاهو (*Lactuca sativa cv. Siahoo*) را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد (٤٣). با کاربرد عصاره برگ گردو با غلظت‌های ١٦ و ۲۵ و ۵۰ و ۱۰۰ روی سه گیاه مرزه، ریحان و جعفری مشخص شد میزان فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مرزه و ریحان با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت (٤٤).



شکل ۳- اثر عصاره پوست سبز پسته و گردو و فاصله کشت بر فنول کل بذر و برگ گیاه دارویی چیا (*Salvia hispanica* L.).

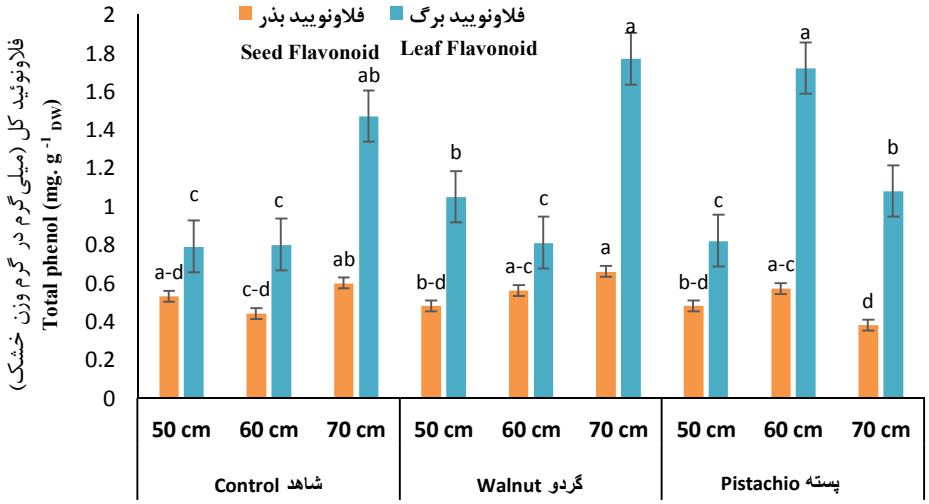
Fig. 3. The effect of pistachio, walnut green hull extracts, and row spacing on the total phenol of the chia (*Salvia hispanica* L.) leaf and seed.

فلاونوئید کل: نمودار مقایسه میانگین فلاونوئید کل بذر (شکل ٤) نشان داد که بیش‌ترین میزان فلاونوئید کل بذر (٠/٦٦ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) مربوط به تیمار کاربرد عصاره پوست سبز گردو و فاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر بود که تفاوت معنی‌داری با شاهد در فاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر

(۰/۶۰ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) نداشت. کم‌ترین میزان فلاونوئید کل بذر (۰/۳۸ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) مربوط به تیمار عصاره پوست سبز پسته در فاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر بود. در تیمار گیاهان با عصاره پوست سبز گردو با افزایش فاصله کشت، روند افزایشی در میزان فلاونوئید کل بذر مشاهده شد. در این تیمار، گیاهان با تراکم کم‌تر فلاونوئید بیش‌تری داشتند.

براساس نتایج مقایسه میانگین فلاونوئید کل برگ (شکل ٤)، مشخص شد که کاربرد عصاره پوست سبز گردو در فاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر میزان فلاونوئید برگ را نسبت به شاهد افزایش داد که تفاوت معنی‌داری بافاصله ٦۰ سانتی‌متری در عصاره پسته نداشت. هم‌چنین با توجه به نمودار می‌توان بیان نمود که کم‌ترین میزان فلاونوئید کل برگ (۰/۷۹ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) در تیمار شاهد در فاصله کشت ۵۰ سانتی‌متر مشاهده شد.

در پژوهشی که روی گیاه شنبلیله انجام شد؛ بیش‌ترین میزان فلاونوئید با ٦/٤۳ (میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) در تراکم ۲۵ بوته در مترمربع و کم‌ترین میزان فلاونوئید با ٥/٤٦ میلی‌گرم بر گرم در تراکم کاشت ۵۰ بوته در مترمربع مشاهده گردید. براساس نتایج این آزمایش، استفاده از ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک و تراکم کاشت ۲۵ بوته در مترمربع، نقش مؤثری در افزایش صفات زیست‌شیمیایی (میزان فنول کل، فلاونوئید، آنتوسیانین) گیاه شنبلیله داشت. با توجه به نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد که تراکم کاشت مناسب و استفاده بهینه از نهاده‌های آلی ازجمله اسید هیومیک می‌تواند میزان متابولیت‌های ثانویه را بهبود بخشد (٤۲). در بررسی که روی گیاه کُهَن‌دار یا ژینگو (*Ginkgo biloba*) انجام شد؛ نتایج نشان داد که تراکم متوسط منجر به تجمع بیش‌تر متابولیت‌های ثانویه مختلف، ازجمله ۱۳ فلاونوئید (مانند هوموئریودکتیول، بایماسید و لادانئین)، جین‌گولیدها و بیلوبالید شد (٤٥).



شکل ٤- اثر عصاره پوست سبز پسته و گردو و فاصله کشت بر فلاونوئید کل برگ و بذر گیاه دارویی چیا (*Salvia hispanica* L.).

Fig. 4. The effect of pistachio, walnut green hull extracts, and row spacing on the total flavonoid of the chia (*Salvia hispanica* L.) leaf and seed.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی: بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳)، بیش‌ترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بذر به روش FRAP (۱۶۵/۹۵ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در تیمار عصاره پوست سبز گردو در فاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر بود. بعدازآن تیمار عصاره پوست سبز پسته در فاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر دارای بیش‌ترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۱۵۶/۹۴ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) بود. کم‌ترین میزان (۶۰/۰۸ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در تیمار عصاره گردو در فاصله کشت ۶۰ سانتی‌متر مشاهده شد.

در بررسی درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ به روش FRAP بیش‌ترین مقدار این صفت (۸۳/۲۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در تیمار پوست سبز پسته در فاصله کشت ۶۰ سانتی‌متر مشاهده شد و پس‌ازآن نیز اثر متقابل تیمار پسته در فاصله کشت ۵۰ سانتی‌متر بالاترین مقدار را به خود اختصاص داد، کم‌ترین مقدار (۲۰/۲۸ و ۲۰/۹۵ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) به ترتیب مربوط به تیمار شاهد در فاصله کشت ۶۰ و ۷۰ سانتی‌متر بود؛ همان‌طورکه در جدول قابل‌مشاهده است؛ این تیمار تفاوت معنی‌داری با تیمار (۲۰/۴۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) عصاره پوست سبز گردو در فاصله کشت ۶۰ سانتی‌متر ندارد (جدول ۳).

بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بذر به روش TAOC (۳۰۱ و ۲۹۹ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در تیمار اثرات متقابل عصاره پوست سبز گردو در فاصله کشت ۵۰ و ۶۰ سانتی‌متر و کم‌ترین میزان (۱۸۲/۷۹ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در تیمار عصاره پوست سبز پسته در فاصله کشت ۶۰ سانتی‌متر بود؛ که تفاوت معنی‌داری با شاهد در همین فاصله نداشت.

بیش‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ به روش TAOC در تیمار تلفیقی عصاره پوست سبز پسته در فاصله کشت ۶۰ سانتی‌متر مشاهده شد که با روش FRAP مطابقت داشت و پس‌ازآن نیز اثر متقابل تیمار عصاره پوست سبز پسته در فاصله کشت ۵۰ سانتی‌متر (۱۸/۲۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) بالاترین مقدار را به خود اختصاص داد. هم‌چنین حداقل مقدار (۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) مربوط به تیمار شاهد در فاصله ۶۰ سانتی‌متر بود که همان‌طورکه در جدول قابل‌مشاهده است، این تیمار تفاوت معنی‌داری با تیمار عصاره پوست سبز گردو در فاصله کشت ۶۰ سانتی‌متر و تیمار شاهد در فاصله ۷۰ سانتی‌متر نداشت. درنهایت تیمار عصاره پوست سبز پسته تأثیر بهتری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ به روش TAOC داشت (جدول ۳).

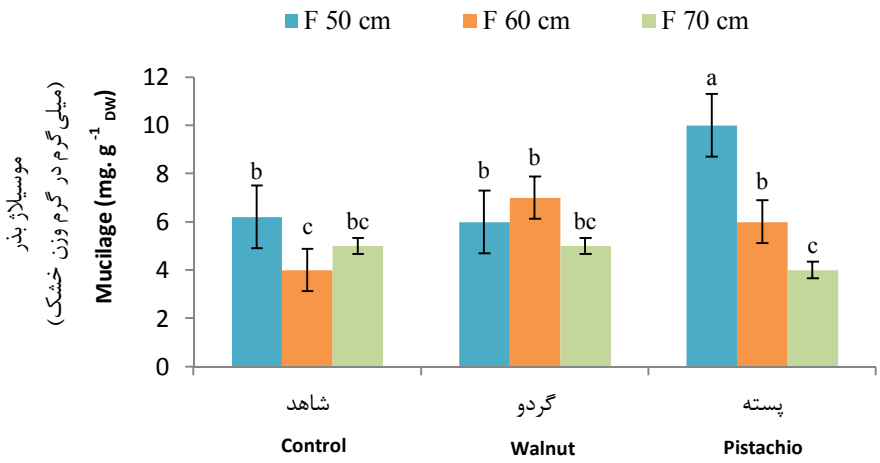
در پژوهشی گزارش شد که عصاره شیرین‌بیان به همراه کودهای زیستی به ترتیب سبب افزایش ۴۵ و ۵۰ درصدی وزن خشک و اسانس رازیانه شد. عصاره‌های گیاهی می‌توانند فعالیت آنزیم‌ها را تغییر داده و بر خواص آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی تأثیر بگذارند (۴۶). هم‌چنین تأثیر مثبت بر کیفیت میوه و عملکرد حاصل از افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی در حضور عصاره‌های گیاهان مختلف در گوجه‌فرنگی، گندم و آووکادو نشان داده‌شده است (۵، ۳۰، ۳۱). هانا و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که اسانس برخی گیاهان دارویی می‌تواند سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی گیاه در دانهال‌های گوجه‌فرنگی شود (۴۷). براساس نتایج پژوهشی، استفاده از برخی عصاره‌های گیاهی (سنبل‌الطیب، گزنه، شبدر قرمز و قاصدک) محتوای ترکیبات فنولی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH در برگ تربچه را نسبت به شاهد کاهش، اما در ریشه افزایش داد. هم‌چنین روند مخالف در مورد فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری‌شده با روش FRAP نسبت به DPPH مشاهده شد؛ در روش FRAP، درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ‌ها افزایش یافت، اما در ریشه کاهش یافت (۱۰).

جدول ۳- اثر عصاره پوست سبز پسته و گردو و فاصله کشت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی چیا (*Salvia hispanica* L.).

Table 3. The effect of pistachio, walnut green hull extracts, and row spacing on the antioxidant activity of the chia (*Salvia hispanica* L.) leaf and seed.

TAOC		FRAP		فاصله کشت Row distance	
برگ Leaf	بذر Seed	برگ Leaf	بذر Seed		
7.62[de]	223.76[c]	30.66[e]	65.40[e]	50	شاهد control
7[e]	185.52[g]	20.28[f]	64.31[ef]	60	
7.24[e]	217.3[d]	20.59[f]	76.63[c]	70	
8.29[d]	299[a]	39.84[d]	70.34[d]	50	گردو Walnut
6.88[e]	301[a]	20.46[f]	60.08[f]	60	
11.91[c]	213[e]	64.41[c]	165.95[a]	70	
15.21[b]	202.88[f]	71.67[b]	61.36[ef]	50	پسته Pistachio
18.21[a]	182.79[g]	83.72[a]	73.46[cd]	60	
8.4[d]	233.65[b]	39.21[d]	156.94[b]	70	

موسیلاژ: با توجه به نتایج (شکل ۵)، تیمار پوست پسته در فاصله کشت ۵۰ سانتی‌متر، دارای بیش‌ترین درصد موسیلاژ (۱۰ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در بین تیمارهای دیگر بود که افزایش ۱/۵ برابری نسبت به شاهد در فاصله کشت مشابه داشت. هم‌چنین هر دو عصاره پوست گردو و پسته موجب افزایش میزان موسیلاژ در فاصله کشت ٦۰ سانتی‌متر نسبت به شاهد شدند. کم‌ترین میزان موسیلاژ هم، در تیمار شاهد در فاصله کشت ٦۰ سانتی‌متر (٤ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) و تیمار عصاره پوست پسته در فاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر (٤ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) مشاهده شد. بحرانی و سیدی (۲۰۰۵) بیان نمودند که افزایش فاصله بوته منجر به افزایش عملکرد زیستی می‌شود (٤٨). در مقابل، شپیرو و ورتمن (۲۰۰٦) بیش‌ترین عملکرد زیستی را در فاصله کشت‌های باریک گزارش کردند (٤٩). بااین‌وجود خاوری و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی اثر تراکم کشت و کودهای آلی بر گیاه دارویی اسفرزه گزارش کردند میزان موسیلاژ گیاه اسفرزه تحت‌تأثیر فاصله کشت قرار نگرفته است (۵۰). در پژوهش دیگر یا بررسی عملکرد موسیلاژ در تراکم کاشت متفاوت بر دانه گیاه دارویی اسفرزه مشخص شد با افزایش تراکم از ۱۰۰ بوته به ٤۰۰ بوته در مترمربع در چالکی گرگان عملکرد ۲/۹ برابر و در مراوه‌تپه ۱/۸٦ برابر افزایش یافت (۵۱).



شکل ۵- اثر عصاره پوست سبز پسته و گردو و فاصله کشت بر موسیلاژ بذر گیاه دارویی چیا (*Salvia hispanica* L.).

Fig. 5. The effect of pistachio, walnut green hull extracts, and row spacing on the chia (*Salvia hispanica* L.) seed mucilage.

نتیجه‌گیری کلی

این پژوهش نشان داد که فاصله کشت و کاربرد عصاره‌های پوست گردو و پسته می‌توانند تأثیرات متفاوتی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی، زیست‌شیمیایی و عملکرد بذر چیا داشته باشند. فاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر موجب بهبود عملکرد بذر شد، درحالی‌که کاربرد عصاره‌های گیاهی، علی‌رغم کاهش عملکرد بذر، تأثیرات مثبتی بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و زیست‌شیمیایی گیاه داشت. این موضوع نشان‌دهنده اثرات پیچیده ترکیبات آللوپاتیک موجود در عصاره‌های گیاهی است که می‌توانند به‌طور هم‌زمان تأثیرات مفید و محدودکننده‌ای بر رشد و عملکرد گیاه داشته باشند. به‌طورکلی، نتایج این پژوهش اهمیت در نظر گرفتن تمامی جنبه‌های رشد گیاه را در برنامه‌های زراعی و مدیریت کشت نشان می‌دهد. اگرچه افزایش عملکرد بذر ازنظر اقتصادی دارای اهمیت است، اما بهبود ویژگی‌های ریخت‌شناسی و زیست‌شیمیایی نیز می‌تواند نقش مهمی در کیفیت محصول ایفا کند. بااین‌وجود برای دستیابی به حداکثر عملکرد اقتصادی، توصیه می‌شود که چیا در شرایط بدون کاربرد عصاره پوست گردو و پسته و بافاصله کشت ۷۰ سانتی‌متر کشت شود.

منابع

1. Salgado, V. D. S. C. N., Zago, L., Antunes, A. E. C., & Miyahira, R. F. (2022). Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Germination: a Brief Review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 77(4), 485-494. **https:// doi.org/10.1007/ s11130-022-01011-z.**
2. Agarwal, A., Rizwana, Tripathi, A. D., Kumar, T., Sharma, K. P., & Patel, S. K. S. (2023). Nutritional and functional new perspectives and potential health benefits of quinoa and chia seeds. *Antioxidants*, 12(7), 1413.
3. Katunzi-Kilewela, A., Kaale, L. D., Kibazohi, O., & Rweyemamu, L. M. (2021). Nutritional, health benefits and usage of chia seeds (*Salvia hispanica*): A review. *African Journal of Food Science*, 15(2), 48-59.
4. Semida, W. M., & Rady, M. M. (2014). Presoaking application of propolis and maize grain extracts alleviates salinity

stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Scientia Horticulturae*, 168, 210-217.

5. Sellamuthu, P. S., Sivakumar, D., Soundy, P., & Korsten, L. (2013). Essential oil vapours suppress the development of anthracnose and enhance defence related and antioxidant enzyme activities in avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 81, 66-72.
6. Rezvanypour, S., & Hatamzadeh, A. (2016). Influence of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) essential oils on growth, flowering and peroxidase activity of gladiolus *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 32(2), 309-320. **https://doi.org/10.5555/20173186583.**
7. Delavar, H., Saharkhiz, M. J., & Kazerani, N. (2014). Essential oil analysis and phytotoxic activity of *Ferula assa-foetida* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(3), 434-444. **https://doi.org/10.5555/20173165043.**
8. Ijaz, M., Muhammad, H., Sher, A., Sattar, A., Saleem, M. Z., & Asif, M. (2022). Effect of Plant Extracts on Improvement of Crop Yield. *Biostimulants for Crop Production and Sustainable Agriculture*, 205.
9. RDA. (2018). List of eco-friendly organic products. Sangrocksa, Korea.
10. Godlewska, K., Pacyga, P., Michalak, I., Biesiada, A., Szumny, A., Pachura, N., & Piszcz, U. (2021). Systematic investigation of the effects of seven plant extracts on the physiological parameters, yield, and nutritional quality of radish (*Raphanus sativus* var. sativus). *Frontiers in Plant Science*, 12, 651152.
11. Qiu, R., Song, J., Du, T., Kang, S., Tong, L., Chen, R., & Wu, L. (2013). Response of evapotranspiration and yield to planting density of solar greenhouse grown tomato in northwest China. *Agricultural Water Management*, 130, 44-51.
12. Gardner, F. P., Pearce, R. B., & Mitchell, R. L. (2017). *Physiology of crop plants*. Scientific publishers.
13. Basuki, B., & Sumaryono, S. (1990). Effects of black plastic mulch and plant density on the growth of weeds and stevia. *Biotrop special publication*, 38, 107-113. **https://doi.org/10.5555/19912306560.**
14. Sedghi, M., Seyed Sharifi, R., Namvar, A., Khandan Bejandi, T., & Molaei, P. (2008). Responses of Sunflower Yield and Grain Filling Period to Plant Density and Weed Interference. *Research Journal of Biological Sciences*, 3(9), 1048–1053.
15. Sadeghi, S., Rahnavard, A., & Ashrafi, Z. Y. (2009). The effect of plant density and sowing date on yield of Basil (*Ocimum basilicum* L.) in Iran. *Journal of Agricultural Technology*, 5(2), 413-422.
16. Heuvelink, E. (1995). Effect of plant density on biomass allocation to the fruits in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Scientia Horticulturae*, 64(3), 193-201.
17. Shahmoradi, S. (2020). Genebank standards for seed germination testing.
18. Behbahani, B. A., Yazdi, F. T., Noorbakhsh, H., Riazi, F., Jajarmi, A., & Yazdi, F. T. (2016). Study of the antibacterial activity of methanolic and aqueous extracts of *Myrtus communis* on pathogenic strains causing infection. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 18(2).
19. Hamdan, M. A., Refaat, A. A., Anwar, E. A., & Shallaly, N. A. (2015). Source of the aeolian dune sand of Toshka area, southeastern Western Desert, Egypt. *Aeolian Research*, 17, 275-289.
20. Page, A. L. (1982). *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties.* Retrieved from **https://doi.org/10.5555/19841981415.**
21. Ebrahimzadeh, M. A., Hosseinimehr, S. J., Hamidinia, A., & Jafari, M. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of Feijoa sellowiana fruits peel and leaves. *Pharmacologyonline*, 1, 7-14.

22. Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology*, 299, 152-178.
23. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
24. Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L., & Zhang, Y. (2011). Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food and chemical toxicology*, 49(10), 2689-2696.
25. Shah, P., & Modi, H. A. (2015). Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *Int. J. Res. Appl. Sci. Eng. Technol.* 3(6), 636-641.
26. Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
27. Koocheki, A., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., Razavi, S. M. A., Kadkhodaee, R., & Milani, J. M. (2010). Optimization of Mucilage Extraction from Qodume Shirazi Seed (*Alyssum homolocarpum*) using Response Surface Methodology. *Journal of Food Process Engineering*, 33(5), 861-882. **https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2008.00312.x.**
28. Mounika, Y., Dorajeerao, A. V. D., Reddy, V. K., Suneetha, S., & Umakrishna, K. (2021). Effect of spacing and planting season on growth and leaf yield of sacred basil (*Ocimum sanctum*). *Journal of Pharmaceutical Innovation*, 10(8), 552-56.
29. Kundu, C. K., Anand, N. R., Banerjee, H., Devi, N. M., Gunri, S. K., Nayak, L., … De, S. K. (2023). Growth, yield and quality of medicinal plant Chia (*Salvia hispanica*) as influenced by planting methods and density. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, 93(9), 991-996.
30. Pravalika, K., Yogananda, S., Thimmegowda, P., Fathima, P., & Ananth Kumar, M. (2024). Influence of row spacing and organic nutrient management practices on growth, yield and nutrient uptake of chia (*Salvia hispanica*). *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, 94(5), 518-522.
31. Yeboah, S., Owusu Danquah, E., Lamptey, J. N. L., Mochiah, M. B., Lamptey, S., Oteng-Darko, P., … Agyeman, K. (2014). Influence of planting methods and density on performance of chia (*Salvia hispanica*) and its suitability as an oilseed plant. *Agric. Sci*. 2(4), 14-26.
32. Coates, W. (2011). Whole and ground chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, chia oil–effects on plasma lipids and fatty acids. In *Nuts and seeds in health and disease prevention* (pp. 309-315). Elsevier.
33. Taban, A. (2012). *Comparison of different alelopathic potentialsOn germination and growth of some* (*Satureja* spp) *Garden and weed products* (Master Thesis). Shiraz University, Department of Horticulture Science.
34. Salahi, M., Abedi, B., Morshadloo, M., Ahangarani, M., Jabbari Ghaleh Khaki, S., Asghari Dashtabi, Z., & Esmaeili, E. (n.d.). The inhibitory effect of Walnut and Elderberry hydro-alcoholic extract on germination, morphological and biochemical characteristics of *Portulaca oleracea*, 7(4), 477-489. **https://doi.org/10.22124/jms.2020.4644.**
35. Khan, M. A., Hussain, I., & Khan, E. A. (2007). Effect of Aqueous Extract of *Eucalyptus camaldulensis* L. on Germination and Growth of Maize (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal Weed Science Resources*, 13(4), 177-182.
36. Jang, S. J., & Kuk, Y. I. (2019). Growth promotion effects of plant extracts on various leafy vegetable crops. *Horticultural Science and Technology*, 37(3), 322-336.

37. Amin, A. A., Gharib, F. A., El-Awadi, M., & Rashad, E. S. M. (2011). Physiological response of onion plants to foliar application of putrescine and glutamine. *Scientia horticulturae*, 129(3), 353-360.
38. Ansori, A., Shahgholi, H., Asghari, H., & Azarnia, M. (2012). Study of Allelopathic Effects of Seven Plants on Germination and Initial Growth of Medicinal-industrial Plant Indigo (*Indigofera tinctoria*). *Plant Production Technology*, 12(1), 65-74.
39. Abdi, S., & Abedi, R. (2019). Nonlinear Regression Modelling of Rye and Foxtail Germination Behavior under Allelopathic Effects of Peppermint, Chicory and Sage. *Journal of Plant Research*, 32(3), 623-635.
40. Drobek, M., Frąc, M., & Cybulska, J. (2019). Plant biostimulants: Importance of the quality and yield of horticultural crops and the improvement of plant tolerance to abiotic stress-A review. *Agronomy*, 9(6), 335.
41. Duarte, L. M. L., Salatino, M. L. F., Salatino, A., Negri, G., & Barradas, M. M. (2008). Effect of Potato virus X on total phenol and alkaloid contents in *Datura stramonium* leaves. *Summa Phytopathologica*, 34, 65-67.
42. Aminifard, M. H., & Ghaderi, H. (2020). Effects of different levels of humic acid and planting density on antioxidant activity and biochemical properties of *Trigonella foenum- graecum* L. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 1(8), 77-89.
43. Asadi, N., & Razavi, S. M. (2018). Allelopathic Effects of Paraxanthine on Some Phytochemical Parameters of Lettuce. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 13(2), 53-62.
44. Dadi, M., Bakhshi, D., & Peivast, G. (2011). Allelopathic effect of walnut leaf extract on growth, development, total phenol content and antioxidant activity of savory, basil and parsley. Presented at the 7th Iranian Congress of Horticultural Sciences, Esfahan, Iran.: Iranian Horticultural Sciences Association.
45. Lu, J., Xu, Y., Meng, Z., Cao, M., Liu, S., Kato-Noguchi, H., … Wang, L. (2021). Integration of morphological, physiological and multi-omics analysis reveals the optimal planting density improving leaf yield and active compound accumulation in *Ginkgo biloba*. *Industrial Crops and Products*, 172, 114055.
46. El-Azim, A., Khater, W. M., & Badawy, R. M. R. (2017). Effect of bio-fertilization and different licorice extracts on growth and productivity of *Foeniculum vulgare*, Mill. plant. *Middle East J. Agric. Res*. 6, 1-12.
47. Hanaa, R. F., Abdou, Z. A., Salama, D. A., Ibrahim, M. A., & Sror, H. A. M. (2011). Effect of neem and willow aqueous extracts on Fusarium wilt disease in tomato seedlings: Induction of antioxidant defensive enzymes. *Annals of Agricultural Sciences*, 56(1), 1-7.
48. Bahrani, M. J., & Seyedi, A. (2005). effect of plant density and nitrogen application methods on yield and yield components of grain maize. *Journal of Agricultural Science and Natural Resources*, 12(3), 128-135.
49. Shapiro, C. A., & Wortmann, C. S. (2006). Corn Response to Nitrogen Rate, Row Spacing, and Plant Density in Eastern Nebraska. *Agronomy Journal*, 98(3), 529-535. **https://doi.org/10.2134/agronj2005.0137.**
50. Khavari, M., Bahdani, M. A., & Fallahi, M. R. (2019). Influence of Plant Density, Single and Combined Application of Cow Manure and Chemical Fertilizer on Seed and Mucilage Yields in Isabgol (*Plantago ovata* Forssk.). *Journal of Agroecology*, 11(3), 1139-1150.
51. Dorri, M. A., & Naseri, G. (2016). Seed and mucilage yield of *Plantago ovata* Forsk. in different densities under rainfed and dry farming conditions of Golestan province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 32(5), 833-843.