

"Research Paper"

The Effect of Drought Stress on Some Morphological, Phytochemical, and Biochemical Characteristics of the Medicinal Plant Field Sowthistle (*Sonchus arvensis* L.)

Roghaieh Azizyan¹ and Babak Abdollahi Mandoulakani²

1- Ph.D. Student, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

2- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Urmia University, Urmia, Iran,
(Corresponding author: b.abdollahi@urmia.ac.ir)

Received: 14 September, 2022 Accepted: 19 February, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Field Sowthistle (*Sonchus arvensis* L.) is a plant with high potential medicinal and nutritional values, the medicinal properties of this plant are due to the presence of important phytochemical compounds, especially phenols, and flavonoids. Drought is an important abiotic stress and the most limiting factor for plant growth and production. *S. arvensis* has valuable secondary metabolites, hence investigation on the responses of this plant against drought stress is of great importance. The purpose of this research was to study the effect of drought stress on morphological characteristics and some phytochemical and biochemical parameters in *S. arvensis*.

Materials and Methods: To investigate the effect of drought stress on the morphological, phytochemical, and biochemical characteristics of Field Sowthistle, a pot experiment was carried out as a completely randomized design in three replications. The treatment of drought stress included four levels of 100% (non-stress), 75%, 50%, and 25% of field capacity. The morphological traits studied were shoot and root fresh weight, shoot and root dry weight, plant height, and root length. Also, phytochemical traits include photosynthetic pigments, relative water content, total phenol, total flavonoid, antioxidant capacity with two DPPH and FRAP methods, proline and soluble sugar, and biochemical traits such as activity of antioxidant enzymes catalase, superoxide dismutase, glutathione Peroxidase, ascorbate peroxidase, and total protein were also measured in middle and lower leaves.

Results: The results showed that drought stress had a significant effect on the growth components, the relative content of leaf water, proline, soluble sugar, chlorophyll a and b and total chlorophyll, carotenoid, total phenol, total flavonoid, antioxidant activity of catalase, superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase and inhibition of DPPH radical activity and iron reducing power (FRAP). With the decrease in soil water content, plant height, fresh and dry weight of shoots and roots, relative water content, chlorophyll a and total chlorophyll decrease, and in contrast to root length, chlorophyll b, carotenoid, proline, soluble sugar, total protein, phenol and Total flavonoid, antioxidant enzymes, inhibition of DPPH radical activity and iron reducing power (FRAP) increased. Also, some traits were investigated in the middle and lower leaves, and there was a difference between the above traits between the middle and lower leaves, and the middle leaves contained more of the examined traits.

Conclusion: The results of the present study indicated that drought stress decreases morphological traits except for root length. Also, a higher amount of phytochemical traits were observed in the middle leaves compared to the lower leaves. In general, drought stress caused an increase in the biochemical and phytochemical traits, except for the relative water content, chlorophyll a, and total chlorophyll.

Keywords: Antioxidant activity, Drought stress, Lower and middle leaves, Secondary metabolites, *Sonchus arvensis* L.



"مقاله پژوهشی"

تاثیر تنش خشکی بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی، فیتوشیمیایی و بیوشیمیایی گیاه دارویی شیر تیغک وحشی (*Sonchus arvensis* L.)

رقیه عزیزیان^۱ و بابک عبدالهی مندولکانی^۲

۱- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، (b.abdollahi@urmia.ac.ir) (نویسنده مسوول)
۲- استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۳۰
صفحه: ۴۱ تا ۵۵

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: شیر تیغک (*Sonchus arvensis* L.) گیاهی با پتانسیل بالای دارویی و تغذیه‌ای است که خواص دارویی این گیاه به دلیل وجود ترکیبات فیتوشیمیایی مهم به ویژه فنول‌ها و فلاونوئیدها می‌باشد. خشکی یک تنش غیر زیستی مهم بوده و محدود کننده‌ترین عامل برای رشد و تولید گیاهان است. گیاه شیر تیغک دارای متابولیت‌های ثانویه‌ی ارزشمندی می‌باشد، بنابراین درک پاسخ‌های فیزیولوژیکی این گیاه در واکنش به تنش خشکی ضروری است. هدف از این تحقیق، مطالعه تاثیر تنش خشکی بر خصوصیات مورفولوژیکی و برخی پارامترهای فیتوشیمیایی و بیوشیمیایی گیاه دارویی شیر تیغک وحشی است. **مواد و روش‌ها:** به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیتوشیمیایی و بیوشیمیایی گیاه شیر تیغک وحشی، یک آزمایش گلدانی به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای تنش خشکی شامل چهار سطح ۱۰۰٪ (بدون تنش)، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی بود. صفات مورفولوژیکی مطالعه شده شامل مؤلفه‌های رشدی مانند وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه، ارتفاع گیاه و طول ریشه بود. همچنین صفات فیتوشیمیایی شامل رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای نسبی آب، فنول کل، فلاونوئید کل، ظرفیت آنتی اکسیدانی با دو روش DPPH و FRAP، پرولین و قند محلول و همچنین صفات بیوشیمیایی مانند فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، آسکورات پراکسیداز و پروتئین کل در برگ‌های میانی و پایینی اندازه گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر مؤلفه‌های رشدی، محتوای نسبی آب برگ، پرولین، قند محلول، کلروفیل a و b و کلروفیل کل، کارتنوئید، فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، آسکورات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و مهار فعالیت رادیکال DPPH و قدرت احیاء کنندگی آهن (FRAP) دارد. با کاهش مقدار آب خاک، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، محتوای نسبی آب، کلروفیل a و کلروفیل کل کاهش و در مقابل میزان طول ریشه، کلروفیل b، کارتنوئید، پرولین، قند محلول، پروتئین کل، فنول و فلاونوئید کل، آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، مهار فعالیت رادیکال DPPH و قدرت احیاء کنندگی آهن (FRAP) افزایش یافت. همچنین برخی صفات در برگ میانی و پایینی مورد بررسی قرار گرفتند که از نظر صفات فوق بین برگ میانی و پایینی اختلاف وجود داشت و برگ‌های میانی حاوی میزان بیشتری از صفات مورد بررسی بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش صفات مورفولوژیکی به جز طول ریشه شد. همچنین میزان بیشتری از صفات فیتوشیمیایی در برگ‌های میانی نسبت به برگ‌های پایینی مشاهده شد. بطور کلی تنش خشکی باعث افزایش صفات بیوشیمیایی و همچنین افزایش در صفات فیتوشیمیایی به جز محتوای نسبی آب، کلروفیل a و کلروفیل کل شد.

واژه‌های کلیدی: برگ میانی و پایینی، تنش خشکی، شیر تیغک، فعالیت آنتی اکسیدانی، متابولیت‌های ثانویه

مقدمه

مانند کامفرول، روتین و کوئرستین، ترکیبات آلکالوئیدی و ساپونین‌ها و تانن‌ها است (Tandi et al., 2020). تاکنون مطالعات زیادی در این گیاه صورت نگرفته است. بنابراین شناخت این گیاه و اثرات فارماکولوژیکی آن بسیار ضروری می‌باشد (Thasa, 2021).

تنش خشکی از تنش‌های غیر زیستی و یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولید محصولات زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد (Muhammad Aslam et al., 2022; Yahaya & Shimelis, 2022). در پاسخ به تنش، ژن‌های خاصی بیان شده و آنزیم‌های لازم برای راه اندازی برخی مسیرهای متابولیک ساخته می‌شوند که در نهایت سبب افزایش غلظت مواد محلول از جمله پرولین، قند محلول و پروتئین محلول در سلول‌ها می‌شود (An et al., 2016; Meena et al., 2019). این ترکیبات نقش مهمی در تنظیم اسمزی ساختارهای درون سلولی ایفا می‌کنند. سلول‌های گیاهی از مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی آنزیمی مانند کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، آسکورات پراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز و غیر آنزیمی برخوردارند که گیاهان را در برابر خسارت اکسیداتیو محافظت می‌کند (Yang et al., 2021). تنش‌های محیطی در مورد گیاهان دارویی، یکی از عوامل مهم

گیاهان دارویی نقش حیاتی در پیشگیری و درمان بیماری‌ها دارند. طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت، بیش از ۸۰ درصد از مردم جهان به ویژه در کشورهای در حال توسعه به طور معمول برای مراقبت‌های بهداشتی اولیه و درمان فوری از داروهای گیاهی استفاده می‌کنند (Aware et al., 2022) و در بین گیاهان دارویی، شیر تیغک وحشی (*Sonchus arvensis* L.) گیاهی علفی و یک ساله از خانواده‌ی کاسنی بوده (Asteraceae) که متشابه آن آسیا می‌باشد. این گیاه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی، کاهش دهنده‌ی اوریک اسید، فعالیت ضد التهابی، تعدیل کننده‌ی سیستم ایمنی و فعالیت ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد فشارخون و ضد هایپراوریسمی و ضد مالاریایی است. شیر تیغک به صورت سبزیجات برگ‌دار و گیاه دارویی در اندونزی استفاده می‌شود و یکی از هفت گیاه دارویی محبوب در برنامه‌ی تحقیق و توسعه‌ی داروهای سنتی از مواد خام است که توسط وزارت بهداشت اندونزی حمایت می‌شود (Seal, 2016; Subositi & Mujahid, 2019; Wahyuni et al., 2019; Wahyuni et al., 2020). خواص دارویی این گیاه به دلیل وجود ترکیباتی مانند فنل‌ها (کاروئیک اسید و شیکوریک اسید)، فلاونوئید (اپی ژنین) و مشتقات آن

تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای تنش خشکی شامل چهار سطح ۱۰٪ (بدون تنش)، ۷۵٪، ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی بود. ظرفیت زراعی خاک مورد استفاده (دارای بافت شنی لومی رسی شامل ۵۵ درصد شن، ۲۲/۵ درصد لومی و ۲۲ درصد رسی) با استفاده از دستگاه صفحات فشاری (آذر خاک آب، ارومیه) اندازه گیری شد. ابتدا بذور (زرین تاک، ارومیه) در سینی نشاء کاشته شد و پس از آماده سازی گلدان ها با نسبت دو به یک از خاک و خاکبرگ، نشاء ها به گلدان ها (چهار نشاء در هر گلدان) انتقال و تا رسیدن به مرحله ۶-۸ برگ، بوته ها به طور یکسان آبیاری شدند. از این مرحله به بعد تنش خشکی بر اساس ظرفیت مزرعای اعمال شد. به منظور اندازه گیری رطوبت خاک از سیستم توزیع گلدان ها استفاده شد. دو هفته پس از اعمال تنش، نمونه برداری از برگ های میانی و پایینی انجام گرفت و نمونه ها تا قبل از انجام آزمایشات در فریزر -۷۰ درجه ی سانتی گراد نگهداری شدند.

اندازه گیری صفات مورفولوژیکی

صفات مورفولوژیکی شامل طول ریشه و ارتفاع بوته به وسیله ی خط کش (سانتی گراد) اندازه گیری شد. برای اندازه گیری وزن خشک اندام هوایی و ریشه، ابتدا وزن تر اندام هوایی و ریشه با ترازوی حساس توزین شد. سپس، تمام بخش های هوایی و ریشه ی گیاه به طور جداگانه جمع آوری و در پاکت های کاغذی قرار داده شد و نمونه های مذکور به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه ی سانتی گراد خشک و سپس با ترازوی حساس وزن شد.

اندازه گیری صفات فیتوشیمیایی

محتوای نسبی آب (RWC)

محتوی نسبی آب به روش ریتیچی و همکاران (۱۹۹۰) بر اساس رابطه ی زیر محاسبه شد.

$$RWC = \frac{WF - WD}{WT - WD} \times 100$$

RWC = میزان محتوی نسبی آب برگ، WF = وزن تر برگ، WD = وزن خشک برگ، WT = وزن آماس برگ

رنگیته های گیاهی

برای سنجش میزان کلروفیل و کارتنوئید از روش آرون (۱۹۶۷) استفاده شد. میزان جذب عصاره ی رویی در طول موج های ۶۴۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. در نهایت میزان کلروفیل ها و کارتنوئید برای هر عصاره با استفاده از فرمول های زیر محاسبه گردید.

$$a = \text{کلروفیل} = (0.00127 \times OD_{663}) - (0.000269 \times OD_{645})$$

$$b = \text{کلروفیل} = (0.000468 \times OD_{663}) - (0.00229 \times OD_{645})$$

$$\text{کلروفیل کل} = (0.0082 \times OD_{663}) - (0.00202 \times OD_{645})$$

$$227/27 \text{ Chla} - 81/27 \text{ Chlb} - 2/27 \text{ OD}_{670} = \text{کارتنوئید}$$

که در رابطه ی فوق OD_{663} ، OD_{645} و OD_{670} به ترتیب میزان جذب در طول موج های ۴۷۰، ۶۴۳ و ۶۴۵ نانومتر می باشد.

قند محلول

از روش معروف آنترون (Carroll et al., 1956) جهت اندازه گیری قند محلول استفاده شد. مقدار کربوهیدرات کل با استفاده از فرمول زیر به دست آمد.

$$Y = 0.0004x - 0.533$$

برای القای متابولیت های ثانویه ی گیاه از قبیل ترکیبات فنلی و انواع مختلف ترین ها هستند چرا که این ترکیبات به گیاهان کمک می کنند در مواجه با تنش ها مقاومت کرده و به حیات خود ادامه دهند (Walpola & Arunakumara, 2010). اله دادی و بحرینی نژاد (Allahdadi & Bahreininejad, 2019) گزارش کردند که در کنگر فرنگی (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.) با افزایش سطح تنش، وزن تر و خشک گیاه کاهش ولی میزان قند محلول و تانن کل در گیاه افزایش می یابد. (Fuadini et al., 2009) گزارش کردند که با افزایش شدت تنش خشک، ارتفاع ساقه، رشد ریشه، وزن اندام هوایی و ریشه در کاسنی (*Cichorium intybus* L.) کاهش می یابد. (Khorasaninejad et al., 2011) در گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperita*) و (Eskandari, 2013) در مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*) به نتایج مشابهی دست یافتند. در گیاه آویشن (*Thymus daenensis*) نیز گزارش شده که تنش خشکی رشد و مقدار کلروفیل را کاهش می دهد (Bistgani et al., 2017). مینایی و همکاران (Minaei et al., 2019) با بررسی تاثیر تنش خشکی بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی مرزنجوش (*Origanum vulgare* L. ssp. *Gracile*) نشان دادند که میزان فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش می یابد (Sharifi Soltani et al., 2022) در گیاه کرچک (*Ricinus communis* L.) شیولی (Shivli, 2020) در گیاه *Atractylodes chinensis* (DC.) Koid در گیاه غریبی (Gharibi, 2016) در گونه های بابونه، ریحان (Reyhan, 2017) در بومادران (*Achillea millefolium*) و سالم (Salem, 2014) در گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) نتایج مشابهی را گزارش کردند. برای به حداکثر رساندن کیفیت مواد موثره مورد استفاده، شناسایی برگ های (میانی، بالایی یا پایینی) حاوی مقادیر بالای ترکیبات، مهم و ضروری می باشد. به طور مثال در گیاه شاهپسند (*Lantana camara* L.) غلظت های آنتی اکسیدانی برای موقعیت های مختلف برگ بررسی شده که برگ های میانی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالایی نسبت به برگ های پایینی بودند (Zhang et al., 2018). درک مکانیسم های بیوشیمیایی و مورفولوژی مقاومت از مهم ترین اهداف در تولید مطلوب گیاهان در شرایط تنش های محیطی به منظور سازگاری به این شرایط است. از طرفی با بررسی ارتباط بین تنش های محیطی از جمله خشکی و تولید و تجمع متابولیت های ثانویه در گیاهان، می توان امکان افزایش تولید این ترکیبات در گیاهان را فراهم ساخت. تاکنون اثر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیک و پارامترهای بیوشیمیایی در گیاه شیرتیغک مطالعه نشده است بنابراین هدف از تحقیق حاضر مطالعه برخی خصوصیات بیوشیمیایی و مورفولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی شیر تیغک در شرایط تنش خشکی می باشد.

مواد و روش ها

به منظور انجام این پژوهش، آزمایشی گلدانی در گلخانه (با دمای کمینه و بیشینه به ترتیب ۱۶ و ۲۷ درجه سانتی گراد) دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه به صورت طرح کاملاً

پرولین

مقدار پرولین با استفاده از روش پاکین و لیشاسور (۱۹۷۹) و از فرمول زیر محاسبه شد.

$$Y = 0.0121X + 0.0379$$

اندازه‌گیری فنول و فلاونوئید کل

عصاره‌گیری متانولی

ابتدا ۵/۰ گرم از وزن تر برگ‌ها در داخل هاون به وسیله‌ی نیتروژن مایع پودر شد و سپس ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به آن اضافه شد. عصاره‌گیری از برگ‌ها به روش اولتراسونیک در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد (Zhang et al., 2018).

اندازه‌گیری فنول کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو^۱ به روش سلینکارد و سینگلتون (۱۹۷۷) انجام گرفت. منحنی استاندارد بر اساس اسید گالیک، ترسیم و نتایج بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن تر گزارش شد. فلاونوئید بر اساس روش چانگ (۲۰۰۲) اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد از کوئرتستین استفاده شد و میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها بر اساس میلی‌گرم کوئرتستین بر گرم وزن تر به دست آمد.

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی DPPH^۲ و قدرت احیاءکنندگی آهن (FRAP^۳)

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی DPPH به روش مهار رادیکال آزاد (Jadid et al., 2017) انجام و فرمول زیر برای محاسبه استفاده شد.

$$RSA = [(Abs\ control - Abs\ sample) / Abs\ control] \times 100$$

Abs control: میزان جذب بلنک، Abs sample: میزان

جذب نمونه

برای سنجش میزان FRAP برگ‌ها، از روش زوجیک و همکاران (۲۰۱۴) استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد از سولفات آهن استفاده گردید و داده‌های نهایی بر اساس mmol Fe²⁺/g FW گزارش شدند.

اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی پروتئین کل

به‌منظور سنجش پروتئین کل از روش برادفورد (1976) استفاده شد. برای منحنی استاندارد هم از غلظت‌های مشخص (۰ تا ۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)، آلبومین سرم گاوی استفاده گردید.

تهیه عصاره‌ی گیاهی و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

عصاره‌گیری آنزیمی جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه به روش Sudhakar (2001) انجام گرفت. اندازه‌گیری فعالیت SOD با روش جیانوپولیتیس و ریس (1977) و به کمک سنجش مهار احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم (NBT)^۴ در طول موج ۵۶۰ نانومتر، انجام گرفت. یک واحد آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی است که موجب ۵۰ درصد ممانعت از احیای نوری NBT می‌گردد. فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش ابی (1984) در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. همچنین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با روش مک-آدام و همکاران (1992) در ۴۳۶

نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر سنجش شد. سنجش فعالیت آنزیم APX طبق روش ناکانو و آسادا (1987) با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر انجام گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین تیمارها به روش SNK با استفاده از برنامه آماری SAS (نسخه ۹/۴) انجام گرفت. نرمال بودن اشتباهات و داده‌های حاصل با استفاده از روش کلموگراف-اسمیرنوف تک نمونه‌ای (1933) در نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت، نمودار همبستگی بین صفات در بسته‌ی آماری corrplot برنامه‌ی R ترسیم گردید. این تحقیق بصورت طرح کاملاً تصادفی اجرا شد ولی از آنجاییکه صفات فیتوشیمیایی و بیوشیمیایی (بغیر از صفات مورفولوژیک) هم در برگ میانی و هم در برگ پایینی اندازه‌گیری شد بنابراین برگ به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شد و برای این صفات تجزیه واریانس بصورت فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی انجام گرفت. لازم به توضیح است که برای صفات مورفولوژیک، تجزیه واریانس بصورت کاملاً تصادفی انجام گرفت.

نتایج و بحث

صفات مورفولوژیک

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مورفولوژیک (جدول ۱) نشان داد که اثر تنش خشکی بر صفات وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، طول ریشه و ارتفاع گیاه در سطح یک درصد ($p < 0.01$) معنی‌دار بود. همچنین افزایش تنش خشکی منجر به کاهش معنی‌دار صفات مورفولوژیکی به جز طول ریشه شد. طبق نتایج مقایسه‌ی میانگین (جدول ۲)، بیشترین مقدار صفات وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و ارتفاع، در تیمار ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (شاهد) و کمترین مقادیر این صفات در تیمار ۲۵٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد. برخلاف این صفات، طول ریشه در تنش ۲۵٪ ظرفیت زراعی ۳۱/۳۳ گرم بود که نسبت به شاهد (۲۴/۰۰)، افزایش داشت. کمبود آب باعث کاهش آماس و کاهش تقسیم و توسعه سلول در قسمت‌های هوایی گیاه به ویژه در ساقه و برگ‌ها می‌شود، بنابراین اولین اثر محسوس کم آبی بر گیاهان، اندازه‌ی کوچکتر برگ‌ها یا کاهش ارتفاع گیاهان می‌باشد. به‌علاوه اینکه در شرایط کم آبی، جذب مواد و عناصر غذایی کاهش یافته و بنابراین رشد و توسعه برگ‌ها محدود می‌گردد. به دنبال کاهش سطح برگ، جذب نور نیز کاهش یافته و ظرفیت کل فتوسنتزی گیاه کاهش می‌یابد. بدیهی است که با محدود شدن فرآورده‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، رشد گیاه و در نهایت عملکرد آن دچار نقصان می‌شود (Hlaváčová et al., 2018; Jampeetong & Brix, 2009). کاهش رشد و عملکرد گیاه در اثر تنش خشکی در بادرشبی (*Dracocephalum moldavica*) گزارش شده است (Hassani, 2006). منیوانان و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که کاهش وزن خشک گیاه در شرایط تنش خشکی احتمالاً به دلیل کاهش قابل توجه رشد گیاه و فتوسنتز می‌باشد که به صورت پیری برگ در شرایط تنش خشکی نمایان

گرچه طول ریشه در تیمار ۲۵٪ ظرفیت زراعی بیشترین مقدار بود، اما به لحاظ آماری با تیمارهای ۵۰٪ و ۷۵٪ ظرفیت زراعی اختلافی نداشت. پایین بودن میزان وزن خشک ریشه و همچنین بالا بودن طول ریشه در تیمار ۲۵٪ ظرفیت زراعی احتمالاً ناشی از کاهش قطر ریشه تحت چنین شرایط رشدی بوده است توسعه ریشه‌های گیاه علاوه بر اینکه یک صفت ژنتیکی می‌باشد، به وضعیت محیطی که گیاه در آن رشد می‌کند نیز بستگی دارد (Nakano & Asada, 1987). در مطالعه رمضانی و همکاران (2016) در گیاه دارویی گل گاو زبان (*Echium amoenum*)، تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار تمامی صفات مورفولوژیک مورد مطالعه به استثناء طول ریشه شد.

می‌گردد. همچنین کاهش وزن گیاه تحت تنش می‌تواند تحت تأثیر تخصیص بیشتر بیوماس تولیدی گیاه به سمت ریشه‌ها (Albouchi et al., 2003) و یا در اثر کاهش میزان کلروفیل II و یا بازدهی فتوسنتز باشد (Viera et al., 1991). کاهش وزن تر اندام هوایی در شرایط خشکی در گونه‌های نعنای فلفلی (*Menta piperita*) و ثومون (*T. capitatus*) نیز گزارش شده است (García-Caparrós et al., 2019). اکرن و همکاران (2012) نیز در ریحان (*Ocimum basilicum*) کاهش وزن تر اندام هوایی تحت شرایط خشکی را گزارش کردند. افزایش طول ریشه تحت تنش حاکمی از این است که گیاه جهت تأمین کمبود آب از رشد اندام هوایی کاسته و به طول و قطر ریشه‌ها می‌افزاید که یک مکانیزم سازش اساسی برای خشکی محسوب می‌شود.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک در شیرتیغ وحشی در شرایط تنش خشکی

Table1. Analysis of variance for morphological traits in *Sonchus arvensis* L. in drought stress conditions

میانگین مربعات Mean of squares						درجه آزادی (df)	منابع تغییرات S.O.V
ارتفاع (سانتی متر) plant height(cm)	طول ریشه (سانتی متر) root length(cm)	وزن خشک ریشه(گرم) root dry weight(gr)	وزن تر ریشه(گرم) root fresh weight(gr)	وزن خشک اندام هوایی(گرم) shoot dry weight(gr)	وزن تر اندام هوایی(گرم) shoot fresh weight(gr)		
1634.89**	30.57**	3.51**	06/60**	12/18**	1393.48**	2	تیمار treatment
98	6	0.12	1.14	0.43	1.722	8	خطا Error
19.93	8.80	10.51	5.49	7.056	7.05	-	ضریب تغییرات CV (%)

**؛ معنی‌دار در سطح احتمال ۰.۰۱ و *؛ معنی‌دار در سطح احتمال ۰.۰۵

***significant at 0.01 probability level and * significant at 0.05 probability level

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک در شیر تیغ (*Sonchus arvensis* L.) تحت تنش خشکیTable2. Comparison of the means for morphological traits in *Sonchus arvensis* L. under drought stress conditions

ارتفاع بوته (سانتی متر) plant height(cm)	وزن تر اندام هوایی(گرم) shoot fresh weight(gr)	وزن خشک اندام هوایی(گرم) shoot dry weight(gr)	وزن تر ریشه (گرم) root fresh weight(gr)	وزن خشک ریشه(گرم) root dry weight(gr)	طول ریشه (سانتی متر) root length(cm)	سطوح تنش خشکی Drought stress levels
74.67 ^a	78.79 ^a	11.11 ^a	24.49 ^a	4.27 ^a	24.00 ^b	100% ظرفیت زراعی 100%Field capacity
63.67 ^a	77.03 ^a	10.12 ^a	21.63 ^b	3.67 ^{ab}	26.67 ^{ab}	75% ظرفیت زراعی 75%Field capacity
35.33 ^b	56.13 ^b	7.97 ^b	17.42 ^c	3.20 ^b	29.34 ^{ab}	50% ظرفیت زراعی 50%Field capacity
25.00 ^b	33.00 ^c	5.58 ^c	14.37 ^d	1.73 ^c	31.33 ^a	25% ظرفیت زراعی 25%Field capacity

در هر ستون اعدادی با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال درصد پنج ندارند

In each column, numbers with the same letters do not have a significant difference at the five percent probability level

صفات فیتوشیمیایی

فعالیت رادیکال DPPH و رنگ‌ده‌های فتوسنتزی در سطح یک درصد ($p < 0.01$) ولی بر صفت FRAP و محتوای کاروتنوئید در سطح پنج درصد ($p < 0.05$) معنی‌دار می‌باشد.

تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی (جدول ۳) نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی در برگ بر صفات محتوای پرولین، قند محلول، محتوای نسبی آب، فلاونوئید، فنول کل، مهار

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی در شیرتیغ وحشی در شرایط تنش خشکی
Table 3. Analysis of variance for phytochemical traits in *Sonchus arvensis* L. under drought stress conditions

میانگین مربعات Mean of squares						درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V
کلروفیل کل total chlorophyll	کلروفیل b chlorophyll b	کلروفیل a chlorophyll a	قند محلول soluble sugar	پرولین proline	محتوای نسبی آب Relative water content		
0.002806**	0.004071**	0.00001235**	2.61**	5.75**	976.43**	3	تنش stress
0.000006**	0.000120**	0.0000057**	0.23**	1.51**	995.23**	1	برگ leaf
0.000338**	0.000041**	0.0000017**	0.08**	0.18**	5.37**	3	تنش × برگ Stress × leaf
0.000006	0.000001	0.0000003	0.01	0.31	3.12	16	خطا Error
4.816	7.919	7.503	4.47	6.07	2.56	-	ضریب تغییرات (%) CV

**معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۱ و * معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵
**significant at 0.01 probability level and * significant at 0.05 probability levelادامه جدول ۳- تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی در شیرتیغ وحشی در شرایط تنش خشکی
Continued Table 3. Analysis of variance for phytochemical traits in *Sonchus arvensis* L. under drought stress

میانگین مربعات Mean of squares					درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V
FRAP	DPPH	فلاونوئید flavonoid	فنول کل total phenol	کاروتنوئید carotenoid		
0.544**	1004.19**	24.888*	187.53**	15.89**	3	تنش stress
0.089*	220.02**	3.60**	36.36**	0.67*	1	برگ leaf
0.042*	99.18**	5.88**	48.57**	0.69*	3	تنش × برگ leaf × Stress
0.10	4.94	0.30	3.13	0.13	16	خطا Error
8.28	5.61	7.89	8.70	10.12	-	ضریب تغییرات (%) CV

**معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۱ و * معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵
**significant at 0.01 probability level and * significant at 0.05 probability level

محتوای نسبی آب (RWC)

محتوای نسبی آب با افزایش شدت تنش در برگ میانی و پایینی کاهش یافت. بیشترین محتوای نسبی آب مربوط به تیمار شاهد در برگ میانی (۸۶/۳۹) و کمترین آن مربوط به تنش ۲۵٪ ظرفیت زراعی در برگ پایینی (۵۳/۰۸) بود (جدول ۴). محتوای نسبی آب برگ شاخص بیان وضعیت آب در گیاه می باشد. در نتیجه تنش خشکی تعادل آب گیاه به هم خورده و میزان تعرق بیش از جذب آب گیاه بوده و در نتیجه محتوای نسبی آب برگ ها کاهش یافته و در نهایت فشار تورژسانس برگ ها کاهش می یابد (Deka et al., 2018; Farooq et al., 2009). وانگ و بوگارا (۲۰۰۷) گزارش کردند که با تنش خشکی در *Festuca mairei* گیاه وارد مرحله پژمردگی می شود.

پرولین

نتایج مقایسه میانگین پرولین (جدول ۴) نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی به ۲۵٪ ظرفیت زراعی، میزان پرولین هم در برگ های میانی و هم در برگ های پایینی بطور معنی داری افزایش یافت. بیشترین میزان پرولین در سطح تنش ۲۵٪ ظرفیت زراعی در برگ های میانی به مقدار ۴/۶۱۱ میکرومول بر گرم وزن تر و کمترین میزان آن در ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (شاهد) در برگ پایینی به مقدار ۱/۶۹۲ میکرومول بر گرم وزن تر مشاهده شد. پرولین از اسید آمینه های مهم جهت تعیین ساختارهای غشایی و پروتئینی و حذف گونه های اکسیژن فعال تحت تنش است (Chang et al., 2002). فرآورده های حاصل از تجزیه ی پروتئین ها، اسیدهای آمینه ای مانند پرولین می باشد که در طی تنش

خشکی تجمع یافته و در سازگاری اسمزی شرکت می کنند و به عنوان موادی جهت بازسازی ترکیبات ثانویه مورد استفاده قرار می گیرند (Lee et al., 2019). هندوای و خالد (2005) گزارش کردند که با کاهش پتانسیل آب، میزان پرولین در برگ های گیاه آویشن باغی (*Thymus Vulgaris*) افزایش یافت. رضاپور و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی تأثیر تنش خشکی روی تنظیم کننده های اسمزی در گیاه دارویی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)، جلال و همکاران (۲۰۰۷) در پروانش (*Hyssopus officinalis* L.) و خالد (۲۰۰۶) در گونه هایی از جنس ریحان افزایش میزان تجمع پرولین در پاسخ به تنش آبی را گزارش کرده اند.

قند محلول

مطابق نتایج مقایسه میانگین، با افزایش سطح تنش خشکی میزان قند محلول در هر دو برگ میانی و پایینی افزایش نشان داد. بیشترین میزان قند محلول در تنش ۲۵٪ ظرفیت زراعی در برگ های میانی (۳/۲۶۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان قند محلول در تیمار ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی (شاهد) (۱/۶۱۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۴). مکانیسم عمل کربوهیدرات ها تحت تنش خشکی به این صورت می باشد که گروه های کربوهیدرات ها جانشین آب شده و موجب حفظ برهم کنش های هیدروفیلی در غشاء ها و پروتئین ها در زمان تنش می شوند و از این طریق مانع از تخریب پروتئین ها و غشاء ها می شوند (Yamada & Osakabe, 2018). افزایش قندهای محلول را می توان به تخریب کربوهیدرات های نامحلول، متوقف شدن رشد و سنتز این قندها از مسیرهای غیر فتوسنتزی نسبت داد (Wu & Garg, 2003).

Origanum majorana) و دشتی و همکاران (۲۰۱۴) در گیاه دارویی نوروبک (*Salvia leriifolia* Benth) نشان دادند که افزایش کارتنوئید تحت تنش می‌تواند مکانیسم‌هایی در جهت مقابله با اکسیداسیون نوری و محافظت از کلروفیل‌ها تحت تنش باشد.

فنول و فلاونوئید

مقدار فلاونوئید با افزایش سطوح تنش خشکی در گیاه شیرتیغ وحشی افزایش یافت. بیشترین میزان فلاونوئید در برگ‌های پایینی در تنش شدید (۱۰ میلی‌گرم کروسین بر گرم وزن تر) و کمترین مقدار آن ۳/۹۴۰ میلی‌گرم کروسین بر گرم وزن تر بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد برگ میانی نداشت. از نظر مقایسه میانگین بین تیمارهای تنش ملایم و متوسط در برگ‌های میانی و پایینی اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

مقایسه میانگین اثر متقابل تنش خشکی در برگ بر میزان فنل نشان داد که بیشترین میانگین این صفت در تنش خشکی ملایم با میانگین ۳۰/۳۱۴ میلی‌گرم گالیک بر گرم وزن تر بود که در مقایسه با تیمار بدون تنش افزایش ۴۳/۷۷۸ درصدی داشت. کمترین میزان فنل کل در تیمار شاهد در برگ پایینی با میانگین ۱۳/۲۷۱ میلی‌گرم گالیک بر گرم وزن تر بود. به طور کلی، در پاسخ به تنش‌ها، گیاهان ظرفیت خود را برای بیوسنتز ترکیبات فنلی افزایش می‌دهند (Punkte-Garza et al., 2017). در مطالعات بسیاری، ارتباط مثبت بین محتوای فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گزارش شده است. از جمله مکانیسم‌های فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات، غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد لیپیدی و جلوگیری از تجزیه هیدروپروکسیدها به رادیکال‌های آزاد و نیز توانایی آن‌ها در کلاته کردن یون‌های فلزی، بیان شده است. محتوای فنل کل در دو گونه از ریحان شامل *Ocimum* و *Ocimum ciliatum* و *basilicum* (Pirbalouti et al., 2017) و مقادیر فنل و فلاونوئیدها در گیاه *Lamisia pumila* (Jaafar et al., 2012) در شرایط تنش آبی افزایش یافت. همچنین بیستگانی امامی و همکاران (۲۰۱۷a) نیز گزارش کردند که تنش خشکی اثر مثبتی بر محتوای فنل کل در گیاه آویشن *Thymus daenensis* Celak دارد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش (-Diphenyl-1-Ferric reducing DPPH) و (picrylhydrazyl FRAP) (power) مهار فعالیت رادیکال DPPH با افزایش تنش خشکی افزایش معنی‌داری پیدا کرد. میزان افزایش مهار فعالیت رادیکال DPPH در تیمار تنش ملایم در برگ‌های میانی و پایینی نسبت به شاهد به ترتیب ۱/۵ و ۱/۳ بود. بیشترین مقدار DPPH در برگ میانی در تنش ملایم و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد در برگ پایینی مشاهده شد.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین، بیشترین میزان FRAP (مقدار کمی شده‌ی فعالیت احیاء کنندگی عصاره) در تنش شدید (حدود ۱/۸۱۸) در برگ‌های میانی و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد در برگ پایینی (۰/۹۴۳) بود. گیاه تحت تنش برای جلوگیری از آسیب دیدگی پروتئین‌ها از دو طریق آنزیمی و

تجمع قندهای محلول در شرایط تنش خشکی در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) (Subbarao et al., 2000)، رازیانه (*Foeniculum vulgare*) (Rezaei Chiyaneh et al., 2012) و سورگوم دانه‌ای (*Sorghum bicolor*) (۲۰۱۶) گزارش شده است.

رنگیزه‌های گیاهی

در این بررسی در اثر تنش خشکی میزان کلروفیل a به شدت کاهش یافت. همچنین میزان کلروفیل کل هم در اثر تنش خشکی کاهش یافت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کلروفیل a در شرایط بدون تنش با میانگین ۰/۰۱۴ میلی‌گرم در لیتر بیشترین مقدار را در برگ‌های میانی نسبت به برگ‌های پایینی دارا بود. کمترین مقدار کلروفیل a در شرایط تنش شدید در برگ‌های پایینی با مقدار ۰/۰۴۲ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. روند تغییرات کلروفیل b و کارتنوئیدها برعکس تغییرات کلروفیل a و کل بود. بیشترین مقدار کلروفیل b و کارتنوئیدها (به ترتیب ۰/۰۲۵۵ و ۵/۶۷ میلی‌گرم در لیتر) در تنش ملایم در برگ‌های میانی مشاهده شد و کمترین مقدار آنها (به ترتیب ۰/۰۴۲ و ۱/۵۰ میلی‌گرم در لیتر) در تیمار شاهد در برگ‌های میانی مشاهده شد. بیشترین مقدار کلروفیل کل مربوط به تیمار شاهد در برگ پایینی (۰/۱۰۸ میلی‌گرم در لیتر) بود که با تیمار شاهد برگ میانی اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار کلروفیل کل در برگ‌های میانی در تیمار ۵۰٪ ظرفیت زراعی (۰/۰۵۶ میلی‌گرم در لیتر) که با تیمارهای ۲۵٪ ظرفیت زراعی برگ پایینی و ۲۵٪ ظرفیت زراعی برگ میانی اختلاف معنی‌داری نداشت. بسته شدن روزنه‌ها باعث می‌شود که جذب CO₂ توسط گیاه کاهش یابد و از اتلاف آب تعرق به دلیل فشار تورگر و یا کاهش پتانسیل آب جلوگیری می‌کند (Yang et al., 2021). کاهش تولید رنگیزه به دلیل افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال می‌باشد که این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون و در نتیجه افزایش تخریب رنگدانه‌ها می‌شوند (Nematpour et al., 2020; Zhang et al., 2018). همچنین می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد (Sreenivasulu et al., 2012). زیگوئی و همکاران (۲۰۱۷) اظهار داشتند که کاهش در رنگیزه‌ها در شرایط تنش می‌تواند به دلیل کاهش تجمع ۵-آمینو لوولیئیک اسید باشد که این اسید پیش ساز سنتز تتراپیرول‌ها پروتوکلروفیلیدها بوده و در معرض نور به کلروفیل تجزیه می‌شود. در شرایط تنش خشکی فعالیت فتوسنتز II نیز در گیاه کاهش می‌یابد (Qi et al., 2019). در پژوهشی که توسط ایزدی و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه نعنای فلفلی (*Mentha piperita*) و عباس‌زاده و همکاران (۲۰۰۸) در بادنجه‌یوه (*Melissa Officinalis*) انجام گرفت، نشان دادند که تنش خشکی، میزان کلروفیل a را به شدت کاهش ولی کلروفیل b را افزایش می‌دهد. در شرایط تنش خشکی بر میزان کارتنوئیدها که به عنوان حمایت کننده‌های کلروفیل‌ها به حساب می‌آیند، افزوده می‌شود تا مانع از تخریب بیشتر کلروفیل‌ها شوند. بنابراین کارتنوئیدها نقش حفاظتی ویژه‌ای را تحت تنش خشکی در گیاه بازی می‌کنند (Egert & Tevini, 2002). فارسی و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی تاثیر کمبود آب در گیاه دارویی مرزنجوش یکساله

سنجش توانایی آنتی اکسیدانی در نظر گرفته می شود در عصاره ی دو گونه *Coleus* (*Coleus forskholii*) و *Coleus amboinicus* (Prathyusha & Chaitanya, 2019)، مریم گلی (*Salvia officinalis*) (Bhakta & Ganjewala, 2009) و زبان گنجشک (*Fraxinus syriaca*) (Štajner et al., 2011) با افزایش شدت تنش خشکی افزایش یافت. افزایش، میزان، آنته، اکسیدان های گیاه در گونه ای از گل راعی (*Hypericum perforatum*) (de Abreu & Mazzafera, 2005) و پروانش (*Hyssopus officinalis* L.) (Jaleel et al., 2007) نیز تحت تنش خشکی گزارش شده است.

غیرآزمیمی فعالیت هایی را تنظیم می کند تا رادیکال های آزاد را مهار کند. روش غیرآزمیمی با تولید آنتی اکسیدان هایی مثل فنول ها و فلاونوئیدها، کمبود الکترون رادیکال های آزاد را جبران می کنند و باعث مهار می شود که با DPPH یا درصد مهار رادیکال آزاد سنجیده می شود و به عنوان ظرفیت آنتی اکسیدانی شناخته می شود (Alkadi, 2020; Caunii et al., 2015). تحقیقات مختلف نشان داده است که یک ارتباط قوی بین تحمل تنش های اکسیداتیو و افزایش درغلظت فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان وجود دارد (Sairam & Srivastava, 2001). فعالیت جارویی DPPH که به عنوان معیاری برای

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات فیتوشیمیایی در گیاه شیر تیغک (*Sonchus arvensis* L.) تحت تنش خشکی

پروлін (میلی گرم در گرم ماده تر) Proline (mgr/gr fresh weight)	محتوای نسبی آب (%) Relative water content	فنول کل (میلی گرم گالیک اسید در گرم ماده تر) mg GA/gr dry weight	فلاونوئید (میلی گرم کوئرستین در گرم ماده تر) mg QE/gr dry weight	DPPH (میکروگرم در میلی لیتر) μgr/ml	FRAP (میلی گرم آهن در گرم وزن تر) mgr Fe ²⁺ /gr fresh weight	سطوح تنش خشکی Drought stress levels
1.83 ^c	86.39 ^a	13.76 ^d	4.46 ^d	23.94 ^b	0.94 ^d	100%
2.98 ^c	78.25 ^b	30.31 ^a	8.23 ^b	57.87 ^a	1.17 ^{dc}	75%
3.20 ^c	68.46 ^d	24.26 ^b	8.74 ^b	50.49 ^b	1.39 ^{dc}	50%
4.61 ^a	54.86 ^f	17.91 ^c	8.07 ^b	38.17 ^c	1.82 ^a	25%
1.69 ^c	77.47 ^b	13.27 ^d	3.94 ^d	22.15 ^c	0.94 ^d	100%
2.42 ^d	72.02 ^c	19.39 ^c	5.87 ^c	40.12 ^c	1.21 ^c	75%
2.83 ^c	63.47 ^e	25.64 ^d	6.59 ^c	50.96 ^b	1.14 ^{dc}	50%
3.65 ^b	53.08 ^f	18.05 ^c	10.00 ^a	33.02 ^d	1.52 ^b	25%

٪۱۰۰ ظرفیت زراعی، ٪۷۵ ظرفیت زراعی، ٪۵۰ ظرفیت زراعی و ٪۲۵ ظرفیت زراعی، در هر ستون اعدادی با حروف مشابه تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند. 100% Field capacity, 75% Field capacity, 50% Field capacity and 25% Field capacity, in each column of numbers with similar letters, do not have a significant difference at the 5% probability level

ادامه جدول ۴- مقایسه میانگین صفات فیتوشیمیایی در گیاه شیر تیغک (*Sonchus arvensis* L.) تحت تنش خشکی

کاروتنوئید (میلی گرم در گرم ماده تر) Carotenoid (mgr/gr fresh weight)	کلروفیل کل (میلی گرم در گرم ماده تر) total chlorophyll (mgr/gr fresh weight)	کلروفیل b (میلی گرم در گرم ماده تر) chlorophyll b (mgr/gr fresh weight)	کلروفیل a (میلی گرم در گرم ماده تر) chlorophyll a (mgr/gr fresh weight)	قند محلول (میلی گرم در گرم ماده تر) soluble sugar (mgr/gr fresh weight)	سطوح تنش خشکی Drought stress levels
1.50 ^a	0.106 ^a	0.0042 ^c	0.0143 ^a	1.62 ^c	100%
5.67 ^a	0.094 ^b	0.0255 ^a	0.0072 ^b	2.33 ^b	75%
3.42 ^c	0.056 ^d	0.0122 ^c	0.0050 ^c	2.95 ^b	50%
3.33 ^c	0.058 ^d	0.0143 ^c	0.0048 ^c	3.263 ^a	25%
1.74 ^d	0.108 ^a	0.0066 ^d	0.0138 ^a	1.72 ^c	100%
5.41 ^a	0.075 ^c	0.0252 ^a	0.0046 ^c	2.04 ^d	75%
4.73 ^b	0.074 ^c	0.0240 ^a	0.0047 ^c	2.49 ^c	50%
3.38 ^c	0.061 ^d	0.0188 ^b	0.0042 ^c	3.12a ^b	25%

٪۱۰۰ ظرفیت زراعی، ٪۷۵ ظرفیت زراعی، ٪۵۰ ظرفیت زراعی و ٪۲۵ ظرفیت زراعی، در هر ستون اعدادی با حروف مشابه تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵٪ دارند. 100% Field capacity, 75% Field capacity, 50% Field capacity and 25% Field capacity, in each column of numbers with similar letters, do not have a significant difference at the 5% probability level.

فعالیت آنزیم های SOD، APX، GPX و CAT در سطح یک درصد ($p < 0.01$) معنی دار می باشد (جدول ۵).

صفات بیوشیمیایی

تجزیه واریانس داده های بیوشیمیایی (جدول ۵) نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی در برگ بر صفات پروتئین کل و

جدول ۵- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه در شیرتیغک وحشی در شرایط تنش خشکی

Table 5. Analysis of variance for studied biochemical traits in *Sonchus arvensis* L. in drought stress conditions

GPX	SOD	APX	CAT	پروتئین کل total protein	درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V
0.00125263**	25.047**	0.32339**	67.331**	0.000458**	3	تنش stress
0.00041064**	10.427**	0.096658**	1.470**	0.0000260 ^{ns}	1	برگ leaf
0.00003135**	21.449**	0.075979**	2.011**	0.00487**	3	تنش × برگ leaf×Stress
0.00000751	3.243	0.000140	0.018	0.031	16	خطا Error
3.87	6.67	3.24	2.22	17.613	-	ضریب تغییرات (%) CV

** معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱ و * معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵

**significant at 0.01 probability level and * significant at 0.05 probability level

پروتئین کل

بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۶)، با افزایش تنش خشکی میزان پروتئین کل نسبت به شاهد در برگ‌های میانی و پایینی افزایش یافت. بطوریکه در برگ‌های میانی پروتئین در شرایط تنش ملایم و متوسط افزایش یافت ولی در تنش ۲۵٪ ظرفیت زراعی نسبت به تنش ملایم و متوسط کاهش مقدار پروتئین مشاهده شد. بیشترین میزان پروتئین کل در برگ‌های میانی در تیمار ۵۰٪ ظرفیت زراعی (۰/۰۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان آن در تیمار شاهد (۰/۰۱۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. همان‌طور که ملاحظه گردید روند ثابت افزایشی و یا کاهشی در میزان پروتئین کل در ترتیب تیمارهای اعمال شده مشاهده نشد. اگرچه میزان پروتئین در کل نسبت به شاهد افزایش داد ولی کاهش محتوای پروتئین در مراحل پایانی تنش، بیانگر تخریب پروتئین‌ها به واسطه رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS)، مهار ماشین‌های سنتز پروتئین و یا دنا توره شدن پروتئین است (Lamaoui et al., 2018). در برگ‌های پایینی بیشترین مقدار پروتئین کل در تنش ملایم (۷۵٪ ظرفیت زراعی) مشاهده شد که با تنش شدید (۲۵٪ ظرفیت زراعی) اختلاف معنی‌داری نشان نداد. پاندی و همکاران (۲۰۲۱) با بررسی دو گیاه دارویی *Hedychium spicatum* و *Valeriana jatamansi* Jones تحت تنش خشکی، به این نتیجه رسیدند که در همه‌ی تیمارهای تنش خشکی، محتوای پروتئین و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ابتدا افزایش و پس از آن در مراحل پایانی تنش کاهش می‌یابند. از آنجایی که گیاهان در تنش‌های کم آبی با ذخیره مواد تنظیم کننده اسمزی از جمله پروتئین‌ها، با این تنش‌ها مقابله می‌کنند (Kishor et al., 2005)، بنابراین با افزایش میزان پروتئین کل به عنوان یک اسمولیت طبیعی از ساختارهای سلولی محافظت نموده و منجر به پایداری آنزیم‌ها می‌گردند تا از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن جلوگیری کنند (Fu & Huang, 2001). زهیر و همکاران (۲۰۱۴) افزایش محتوای پروتئین کل را در گیاه دارویی خار مریم (*Silybum marianum*) همرا با افزایش محتوای فنول کل و فلاونوئید کل و افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گزارش کردند.

آنزیم‌های آنتی اکسیدان

نتایج نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی در برگ به طور معنی‌داری بر فعالیت تمام آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مورد مطالعه در گیاه شیرتیغک وحشی تاثیر معنی‌داری دارد. فعالیت

آنزیم‌های آنتی اکسیدانی با افزایش سطح تنش خشکی در برگ‌های میانی و پایینی افزایش یافت. تقریباً تمام آنزیم‌های آنتی اکسیدان تغییرات یکسانی را در پاسخ به افزایش تنش خشکی نشان دادند (جدول ۶). تنش خشکی در مقایسه با گیاهان رشد یافته در شرایط نرمال، فعالیت SOD، CAT، GPX و APX را به ترتیب تا ۲۰۲/۲۹، ۲/۷۸ و ۴/۷۵ برابر در برگ‌های میانی و ۲/۳۲، ۰/۴۴، ۰/۵۴ و ۱/۴۲ برابر در برگ‌های پایینی افزایش داد. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی SOD، CAT، GPX و APX در تنش شدید با مقدار ۱۱/۱۵۶، ۱۰/۸۰۳، ۰/۰۹۷ و ۰/۰۹۱۸ در برگ‌های میانی مشاهده شد. بطور کلی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در برگ‌های میانی بیشتر بود. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز یک پاسخ سازشی برای غلبه بر آسیب‌های ناشی از سطوح بالا، سمی و احیاکننده H₂O₂ می‌باشد که طی متابولیسم سلول تولید می‌گردد. آسکوربات پراکسیداز نقش کلیدی در پاکسازی ROS و حفاظت سلول‌ها در مقابل اثرات مخرب آن‌ها در گیاهان عالی دارد (Mishra & Jha, 2011). میزان بالای H₂O₂ تولید شده در گیاهان در معرض تنش خشکی به دلیل فعالیت آنزیم SOD می‌باشد که رادیکال‌های آزاد سوپراکسید را به O₂ و H₂O₂ تبدیل می‌کند (Yang et al., 2021). از دیگر آنزیم‌های اکسیدکننده ترکیبات فنولی، آنزیم گایاکول پراکسیداز می‌باشد. این آنزیم‌ها گلیکوپروتئین‌هایی هستند که ترکیبات فنولی را مانند یک دهنده هیدروژن مصرف کرده و در فرایندهای نمو، بیوسنتز اتیلن، لیگنین سازی، دفاع و التیام زخم‌ها شرکت می‌کنند (Verma & Dubey, 2003). خراسانی نژاد و همکاران (۲۰۲۰)، تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گیاه روغنی گلرنگ (*Carthamus tinctorious* L.)، داداشی و همکاران (۲۰۲۰) گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.) السید و همکاران (۲۰۱۹) تغییرات گیاه دارویی خارمریم (*Silybum marianum*) را تحت تنش خشکی بررسی کردند و اظهار کردند که فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت تنش افزایش می‌یابد. در بررسی که جیا و همکاران (۲۰۱۸) روی سه گونه شیرتیغک وحشی شامل *Sonchus oleraceus*، *S. wightianus* و *S. uliginosus* در مراحل رشدی مختلف، برای تحمل به تنش خشکی روی برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی مانند آنزیم‌های آنتی اکسیدان (سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز)، اسمولیت‌های محلول (پرولین، قند محلول و پروتئین محلول)، رنگدانه‌های فتوسنتزی

توجهی در شرایط خشکی افزایش یافت. از آنجا که پرولین می‌تواند ساختار و فعالیت آنزیم‌ها را تثبیت کند، افزایش پرولین را تا حدی زیادی به افزایش فعالیت‌های بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در گونه *S. oleraceus* نسبت دادند.

(کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها) انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که *S. oleraceus* L. تحمل بالاتری به تنش خشکی طولانی مدت نسبت به دو گونه دیگر به دلیل ظرفیت بهتر در جلوگیری از آسیب اکسیداتیو به اجزای سلولی و تنظیم اسمزی و توانایی فتوسنتزی بالا دارد و مقدار پرولین با بلوغ بیشتر در گونه‌ی *S. oleraceus* به طور قابل

جدول ۶- مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی گیاه شیر تیغک (*Sonchus arvensis* L.) تحت تنش خشکیTable ۶. Comparison of the means for biochemical traits in *Sonchus arvensis* L. under drought stress conditions

سوپر اکسید دیسموتاز superoxide dismutase	گایاکول پراکسیداز guaiacol peroxidase	آسکوربات پراکسیداز ascorbate peroxidase	کاتالاز catalase	پروتئین کل (میکروگرم پروتئین در ۱۰۰ گرم) total protein (μgpro/100gr)	سطوح تنش خشکی
(میلی گرم بر گرم ماده تر) mg /gr dry weight					
3.601 ^d	0.0598 ^e	0.1595 ^g	3.385 ^f	0.0184 ^{de}	100% ظرفیت زراعی 100%Field capacity
4.565 ^c	0.0701 ^d	0.2271 ^e	4.152 ^c	0.0293 ^b	75% ظرفیت زراعی 75%Field capacity
7.910 ^b	0.0781 ^c	0.4060 ^c	4.824 ^d	0.0464 ^a	50% ظرفیت زراعی 50%Field capacity
10.803 ^a	0.097 ^a	0.9183 ^a	11.156 ^a	0.0240 ^d	25% ظرفیت زراعی 25%Field capacity
5.401 ^c	0.0530 ^f	0.1885 ^f	3.385 ^f	0.0128 ^d	100% ظرفیت زراعی 100%Field capacity
10.675 ^a	0.0625 ^e	0.2175 ^e	4.751 ^d	0.0398 ^{ab}	75% ظرفیت زراعی 75%Field capacity
8.295 ^b	0.0741 ^{de}	0.3383 ^d	6.908 ^c	0.0202 ^{de}	50% ظرفیت زراعی 50%Field capacity
7.781 ^b	0.0829 ^b	0.4591 ^d	10.638 ^b	0.0368 ^{ab}	25% ظرفیت زراعی 25%Field capacity

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون چند دامنه‌ای SNK در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

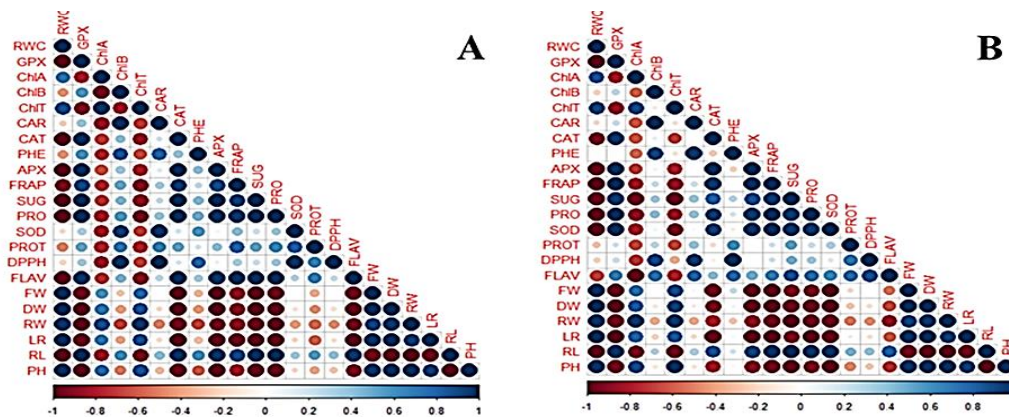
Means with common letters in each column are not significantly different at the 5% level according to the SNK multi-domain test.

حاکمی از آن است که افزایش طول ریشه منجر به تقویت واکنش‌های بیوشیمیایی می‌گردد. همچنین، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین صفات با خصوصیات مورفولوژی همبستگی مثبت و با اکثر صفات بیوشیمیایی همبستگی منفی داشت. در میان صفات مورد مطالعه، پروتئین کل با هیچ صفتی رابطه خطی معنی‌داری نشان نداد. از آنجایی که آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز برای مقابله با صدمات پراکسید هیدروژن در شرایط تنش تولید می‌شوند، با افزایش پراکسید هیدروژن، فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نیز افزایش می‌یابند (Navvabpour et al., 2013). لذا، وجود همبستگی مثبت بین آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در مطالعه حاضر منطقی به نظر می‌رسد و با گزارش ابراهیمی و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه جو (*Hordeum vulgare*) هم‌خوانی دارد.

مقایسه نتایج صفات مورفوفیزیولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه شیرتیغک وحشی و مطالعه نتایج همبستگی بین صفات مختلف گویای آن است که گیاه در شرایط تنش به جای تخصیص انرژی به‌منظور تولید اندام‌های رویشی به سمت تولید متابولیت‌های ثانویه و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌منظور مقاومت به شرایط نامساعد روی می‌آورد.

همبستگی بین صفات

نتایج همبستگی بین صفات مختلف به تفکیک برای برگ‌های میانی و پایینی در شکل ۱ ارائه شده است. چنانچه انتظار می‌رفت، در اکثر موارد مقدار ضریب همبستگی در هر دو برگ یکسان بود. ولی در برگ‌های میانی این مقدار در برخی صفات نسبت به برگ پایینی بیشتر بود. طبق نتایج همبستگی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کلروفیل در برگ‌های پیرتر (پایینی) کمتر است. گزارش شده است که پاسخ‌های گیاه نتیجه‌ی تعادل بین تنش اکسیداتیو و فعالیت آنتی‌اکسیدانی است (Foyer et al., 1994). افزایش تنش اکسیداتیو به طور معمول در برگ‌های پایینی تجربه می‌شود. کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی منجر به انحطاط ماکرومولکول‌ها و رنگدانه‌های سلولی و در نتیجه پیری برگ‌ها می‌شود (Prathyusha & Chaitanya, 2019). صفات مورد مطالعه نظیر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، FRAP، قند محلول، پرولین و فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز با صفات مورفولوژی مانند وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر ریشه، طول ریشه و ارتفاع گیاه همبستگی منفی داشتند. طول ریشه صفتی بود که رفتار متفاوتی با سایر صفات مورفومتريک از خود نشان داد. این امر



شکل ۱- نمودار همبستگی بین صفات مورد بررسی در برگ‌های میانی و پایینی (A: همبستگی صفات در برگ پایینی؛ B: همبستگی صفات در برگ میانی)

Figure 1. Correlation diagram between the investigated traits in the middle and lower leaves (A: correlation of traits in the lower leaf; B: correlation of traits in the middle leaf):

PH: ارتفاع گیاه، RL: طول ریشه، LR: وزن تر ریشه، DW: وزن خشک اندام هوایی، FW: وزن تر اندام هوایی، FLAV: فلاونوئید، DPPH: مهار فعالیت رادیکال، PROT: پروتئین کل، SOD: سوپر اکسید دیسموتاز، PRO: پرولین، SOD: قند محلول، FRAP: قدرت احیاء کنندگی آهن، APX: آسکوربات پراکسیداز، PHE: فنول کل، CAT: کاتالاز، CAR: کارتنوئید، ChIT: کلروفیل کل، ChlB: کلروفیل b، ChlA: کلروفیل a، GPX: گایاکول پراکسیداز، RWC: محتوای نسبی آب

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش صفات مورفولوژیک مورد مطالعه به جز طول ریشه شد. صفات فیزیولوژیک شامل شاخص محتوای کلروفیل a و کل، محتوای نسبی آب برگ در شرایط تنش خشکی کاهش ولی میزان پرولین، قند محلول، کلروفیل b و کارتنوئیدها در برگ‌ها افزایش یافت. از نظر صفات فیتوشیمیایی مانند فنول کل، فلاونوئید، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، DPPH و FRAP نیز با افزایش سطح تنش صفات مورد بررسی افزایش نشان دادند.

از نظر صفات فوق بین برگ میانی و پایینی اختلاف وجود داشت و برگ‌های میانی حاوی میزان بیشتری از این صفات بودند. بنابراین با توجه به این تحقیق و تحقیقات اندکی که روی گیاه دارویی شیرتیغ انجام شده، به نظر می‌رسد برای بررسی دقیق‌تر و بهتر واکنش گیاه شیرتیغ به تنش خشکی، از تیمارهای تنش در مراحل مختلف نموی نیز استفاده شود. همچنین پیشنهاد می‌شود میزان متابولیت‌های ثانویه مهم گیاه و بیان ژن‌های دخیل در بیوسنتز این متابولیت‌ها در شرایط تنش خشکی در این گیاه مطالعه شود.

منابع

- Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Lebaschi, M. H., Naderi hajibagher Kandy, M., & Moghadami, F. (2008). The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (*Melissa officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 23(4), 504-513.
- Aebi, H. (1984). [13] Catalase in vitro. In *Methods in enzymology* (Vol. 105, pp. 121-126). Elsevier.
- Albouchi, A., Béjaoui, Z., & El Aouni, M. H. (2003). Influence d'un stress hydrique modéré ou sévère sur la croissance de jeunes plants de *Casuarina glauca* Sieb. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 14(3), 137-142.
- Alkadi, H. (2020). A review on free radicals and antioxidants. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 20(1), 16-26.
- Allahdadi, M., & Bahreininejad, B. (2019). Effects of water stress on growth parameters and forage quality of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. scolymus L.). *Iran Agricultural Research*, 38(2), 101-110.
- An, X., Zhang, J., Dai, L., Deng, G., Liao, Y., Liu, L., . . . Peng, D. (2016). Isobaric tags for relative and absolute quantitation (iTRAQ)-based comparative proteome analysis of the response of ramie under drought stress. *International journal of molecular sciences*, 17(10), 1607.
- Arnon, A. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy journal*, 23(1), 112-121.
- Aware, C. B., Patil, D. N., Suryawanshi, S. S., Mali, P. R., Rane, M. R., Gurav, R. G., & Jadhav, J. P. (2022). Natural bioactive products as promising therapeutics: A review of natural product-based drug development. *South African Journal of Botany*, 151, 512-528.
- Azari Nasrabad, AS., SM. Mousavi Nick, M. Golavi, AS. Beheshti & AS. Sirus Mehr. (2016). Effect of drought stress in different growth stages on yield and its components and biochemical characteristics of grain sorghum genotypes. *Iranian Agricultural Research*, 2(2): 167- 176. (In persian).
- Bhakta, D., & Ganjewala, D. (2009). Effect of leaf positions on total phenolics, flavonoids and proanthocyanidins content and antioxidant activities in *Lantana camara* (L.). *Journal of scientific Research*, 1(2), 363-369.

- تأثیر تنش خشکی بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی، فیتوشیمیایی و بیوشیمیایی گیاه دارویی شیرتیغک وحشی (*Sonchus arvensis* L.) ۵۲
- Bistgani, Z. E., Siadat, S. A., Bakhshandeh, A., Pirbalouti, A. G., & Hashemi, M. (2017). Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *The Crop Journal*, 5(5), 407-415.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Carroll, N. V., Longley, R. W., & Roe, J. H. (1956). The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent. *J Biol Chem*, 220(2), 583-593.
- Caunii, A., Butu, M., Rodino, S., Motoc, M., Negrea, A., Samfira, I., & Butnariu, M. (2015). Isolation and separation of inulin from *Phalaris arundinacea* roots. *Revista de chimie*, 66(4), 472-476.
- 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).
- 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).
- Dadashi, G., Asghari, A., Ebadi, A., & Yousefi Azarkhanian, M. (2020). Evaluation of Biochemical and Antioxidant Characters in Fennel (*Foeniculum Vulgare*) Ecotypes under Drought Stress. *Journal of Crop Breeding*, 12(33), 140-149.
- Dashti, M., Kafi, M., Tavakoli, H., & Mirza, M. (2015). Investigation on some morphophysiological indices in *Salvia leriifolia* Benth. under water deficit stress. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 13(2), 298-307.
- de Abreu, I. N., & Mazzafera, P. (2005). Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43(3), 241-248.
- Deka, D., Singh, A. K., & Singh, A. K. (2018). Effect of drought stress on crop plants with special reference to drought avoidance and tolerance mechanisms: A review. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 7, 2703-2721.
- Ebrahimi, A., M.R. Naghavi and M. Sabokdast. 2009. Ivaluation and comparision of chlorophyll content, carotenoid, protein and enzyme in different barley species native in Iran. *Journal of Agricultural Science*, 40: 77-89. (in Persian).
- Egert, M., & Tevini, M. (2002). Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). *Environmental and Experimental Botany*, 48(1), 43-49.
- Ekren, S., Sönmez, Ç., Özçakal, E., Kurttaş, Y. S. K., Bayram, E., & Gürgülü, H. (2012). The effect of different irrigation water levels on yield and quality characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum* L.). *Agricultural water management*, 109, 155-161.
- Ekren, S., Sönmez, Ç., Özçakal, E., Kurttaş, Y. S. K., Bayram, E., & Gürgülü, H. (2012). The effect of different irrigation water levels on yield and quality characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum* L.). *Agricultural water management*, 109, 155-161.
- ElSayed, A. I., El-Hamahmy, M. A., Rafudeen, M. S., Mohamed, A. H., & Omar, A. A. (2019). The impact of drought stress on antioxidant responses and accumulation of flavonolignans in milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn). *Plants*, 8(12), 611.
- Eskandari, M. (2013). Changes in growth parameters and essential oil content of *Satureja bachtiarica* Bunge under the effects of 28-Homobrassinolid and drought stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 29(1).
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Sustainable agriculture*, 153-188.
- Farsi, M., Abdollahi, F., Salehi, A., & Ghasemi, S. (2017). Study of physiological characteristics of marjoram (*Origanum majorana*), as a medicinal plant in response to zinc levels under drought stress conditions. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 10(4), 559-570.
- Foyer, C., Descourvieres, P., & Kunert, K. (1994). Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant, Cell & Environment*, 17(5), 507-523.
- Fu, J., & Huang, B. (2001). Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 45(2), 105-114.
- García-Caparrós, P., Romero, M. J., Llanderal, A., Cermeño, P., Lao, M. T., & Segura, M. L. (2019). Effects of drought stress on biomass, essential oil content, nutritional parameters, and costs of production in six Lamiaceae species. *Water*, 11(3), 573.
- Gharibi, S., Tabatabaei, B. E. S., Saeidi, G., & Goli, S. A. H. (2016). Effect of drought stress on total phenolic, lipid peroxidation, and antioxidant activity of *Achillea* species. *Applied biochemistry and biotechnology*, 178, 796-809.
- Giannopolitis, C. N., & Ries, S. K. (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant physiology*, 59(2), 309-314.
- Hassani, A. (2006). Effect of water deficit stress on growth, yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica*. *Iranian journal of medicinal and aromatic plants research*, 22(3), 256-261.
- Hlaváčová, M., Klem, K., Rapantová, B., Novotná, K., Urban, O., Hlavinka, P., . . . Pohanková, E. (2018). Interactive effects of high temperature and drought stress during stem elongation, anthesis and early grain filling on the yield formation and photosynthesis of winter wheat. *Field crops research*, 221, 182-195.
- Izadi, Z., ESNA, A. M., & Ahmadvand, G. (2009). Effect of drought stress on yield, proline contents, soluble sugars, chlorophyll, relative water contents and essential oil in peppermint (*Mentha piperita* L.).

- Jaafar, H. Z., Ibrahim, M. H., & Fakri, N. F. M. (2012). Impact of soil field water capacity on secondary metabolites, phenylalanine ammonia-lyase (PAL), malondialdehyde (MDA) and photosynthetic responses of Malaysian Kacip Fatimah (*Labisia pumila* Benth). *Molecules*, 17(6), 7305-7322.
- Jadid, N., Hidayati, D., Hartanti, S. R., Arraniry, B. A., Rachman, R. Y., & Wikanta, W. (2017). Antioxidant activities of different solvent extracts of *Piper retrofractum* Vahl. using DPPH assay. AIP conference proceedings,
- Jaleel, C. A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Sankar, B., Gopi, R., Somasundaram, R., & Panneerselvam, R. (2007). Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in *Catharanthus roseus* exposed to water deficit. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 59(2), 150-157.
- Jampeetong, A., & Brix, H. (2009). Effects of NaCl salinity on growth, morphology, photosynthesis and proline accumulation of *Salvinia natans*. *Aquatic Botany*, 91(3), 181-186.
- Jia, P.-Y., Zhang, L.-X., Huang, Z., Tian, F.-P., Hu, Y., & Wu, G.-L. (2018). Physiological characteristics of three wild *Sonchus* species to prolonged drought tolerance in arid regions. *Pak. J. Bot.* 50(1), 9-17.
- Khalid, K. A. (2006). Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs [*Ocimum* sp.]. *International agrophysics*, 20(4).
- Khorasaninejad, S., Mousavi, A., Soltanloo, H., Hemmati, K., & Khalighi, A. (2011). The effect of drought stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of Peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(22), 5360-5365.
- Khosrowshahi, Z. T., Ghassemi-Golezani, K., Salehi-Lisar, S. Y., & Motafakkerzad, R. (2020). Changes in antioxidants and leaf pigments of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) affected by exogenous spermine under water deficit. *Biologia Futura*, 71, 313-321.
- Kishor, P. K., Sangam, S., Amrutha, R., Laxmi, P. S., Naidu, K., Rao, K. S., . . . Sreenivasulu, N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current science*, 424-438.
- Kolmogorov, A. (1992). On the empirical determination of a distribution function. *Breakthroughs in Statistics: Methodology and Distribution*, 106-113.
- Lamaoui, M., Jemo, M., Datla, R., & Bekkaoui, F. (2018). Heat and drought stresses in crops and approaches for their mitigation. *Frontiers in chemistry*, 6, 26.
- Lee, B.-R., Islam, M. T., Park, S.-H., Jung, H.-i., Bae, D.-W., & Kim, T.-H. (2019). Characterization of salicylic acid-mediated modulation of the drought stress responses: Reactive oxygen species, proline, and redox state in *Brassica napus*. *Environmental and experimental botany*, 157, 1-10.
- MacAdam, J. W., Nelson, C. J., & Sharp, R. E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3), 872-878.
- Manivannan, P., Jaleel, C. A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G. A., & Panneerselvam, R. (2007). Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 59(2), 141-149.
- Meena, Y.K. and N. Kaur. (2019). Towards an understanding of physiological and biochemical mechanisms of drought tolerance in plant. *Annual Research and Review in Biology*, pp: 1-13.
- Minaei, A., Hassani, A., Nazemiyeh, H., & Besharat, S. (2019). Effect of drought stress on some morphophysiological and phytochemical characteristics of oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *gracile*). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 35(2).
- Minaei, A., Hassani, A., Nazemiyeh, H., & Besharat, S. (2019). Effect of drought stress on some morphophysiological and phytochemical characteristics of oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *gracile*). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 35(2).
- Mishra, A., & Jha, B. (2011). Antioxidant response of the microalga *Dunaliella salina* under salt stress.
- Muhammad Aslam, M., Waseem, M., Jakada, B. H., Okal, E. J., Lei, Z., Saqib, H. S. A., . . . Zhang, Q. (2022). Mechanisms of abscisic acid-mediated drought stress responses in plants. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1084.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and cell physiology*, 28(1), 131-140.
- Nakano, Y., & Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and cell physiology*, 28(1), 131-140.
- Navvabpour, S., SH. Mirkarimi and A. Mazandarani. 2013. Evaluation of changes in enzymatic and non-enzymatic defense system of soybean cultivars in response to carcinogenic B carcinoma during growth stages. *Crop Biotechnology*, 5: 63-73. (in Persian).
- Nematpour, A., Eshghizadeh, H. R., Zahedi, M., & Gheysari, M. (2020). Interactive effects of sowing date and nitrogen fertilizer on water and nitrogen use efficiency in millet cultivars under drought stress. *Journal of Plant Nutrition*, 43(1), 122-137.
- Paquin, R., & Lechasseur, P. (1979). Observations sur une méthode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*, 57(18), 1851-1854.
- Pirbalouti, A. G., Malekpoor, F., Salimi, A., & Golparvar, A. (2017). Exogenous application of chitosan on biochemical and physiological characteristics, phenolic content and antioxidant activity of two species of basil (*Ocimum ciliatum* and *Ocimum basilicum*) under reduced irrigation. *Scientia horticulturae*, 217, 114-122.

- Prathyusha, I. V. S. N., & Chaitanya, K. V. (2019). Effect of water stress on the physiological and biochemical responses of two different Coleus (*Plectranthus*) species. *Biologia Futura*, 70(4), 312-322.
- Puente-Garza, C. A., Meza-Miranda, C., Ochoa-Martínez, D., & García-Lara, S. (2017). Effect of in vitro drought stress on phenolic acids, flavonols, saponins, and antioxidant activity in *Agave salmiana*. *Plant physiology and biochemistry*, 115, 400-407.
- Qi, J., Sun, S., Yang, L., Li, M., Ma, F., & Zou, Y. (2019). Potassium uptake and transport in apple roots under drought stress. *Horticultural plant journal*, 5(1), 10-16.
- Ramezani, E., Ghajar Sepanlou, M., & Naghdi Badi, H. (2016). Studying the morphological and physiological changes of *Echium amoenum* Fisch. & Mey. medicinal plant under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 8(2), 339-343.
- Rezaei Chiyaneh, E., Zehtab Salmasi, S., Ghassemi Golezani, K., & Delazar, A. (2012). Physiological responses of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) to water limitation. *Journal of Agroecology*, 4(4), 347-355.
- Rezapour, A., Heidari, M., Galavi, M., & Ramrodi, M. (2011). Effect of water stress and different amounts of sulfur fertilizer on grain yield, grain yield components and osmotic adjustment in *Nigella sativa* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 27(3), 384-396.
- Rihan, H., Mahmood, B., Foulkes, M., & Burchett, S. (2017). The effect of drought on phytochemical active compounds content in chamomile and yarrow.
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T., & Holaday, A. S. (1990). Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop science*, 30(1), 105-111.
- Sairam, R., & Srivastava, G. (2001). Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.): variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 186(1), 63-70.
- Salem, N., Msaada, K., Dhifi, W., Sriti, J., Mejri, H., Limam, F., & Marzouk, B. (2014). Effect of drought on safflower natural dyes and their biological activities. *EXCLI journal*, 13, 1.
- Seal, T. (2016). Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, *Sonchus arvensis* and *Oenanthe linearis* of North-Eastern region in India. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(2), 157-166.
- Sharifi Soltani, S., Ranjbar, G. A., Kazemitabar, S. K., Pakdin Parizi, A., & Najafi Zarini, H. (2022). Evaluation of photosynthetic pigment, antioxidant and non-antioxidant activity and some morphological traits changes under drought stress in castor plant (*Ricinus Communis* L.). *Journal of Crop Breeding*, 0-0.
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28(1), 49-55.
- Sreenivasulu, N., Harshavardhan, V. T., Govind, G., Seiler, C., & Kohli, A. (2012). Contrapuntal role of ABA: does it mediate stress tolerance or plant growth retardation under long-term drought stress? *Gene*, 506(2), 265-273.
- Štajner, D., Orlovic, S., Popovic, B., Kebert, M., & Galic, Z. (2011). Screening of drought oxidative stress tolerance in Serbian melliferous plant species. *African Journal of Biotechnology*, 10(9), 1609-1614.
- Subbarao, G. V., Nam, N. H., Chauhan, Y. S., & Johansen, C. (2000). Osmotic adjustment, water relations and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water deficits. *Journal of plant physiology*, 157(6), 651-659.
- Subositi, D., & Mujahid, R. (2019). Keanekaragaman Genetik Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) berdasarkan Marka Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR). *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera: A Scientific Journal*, 36(2), 57-62.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A., & Giridarakumar, S. (2001). Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant science*, 161(3), 613-619.
- Tandi, J., Sutrisna, I. N. E., Pratiwi, M., & Handayani, T. W. (2020). Potential Test of nephropathy *Sonchus arvensis* L. leaves on male rats (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus. *Pharmacognosy Journal*, 12(5).
- Thasa, M. W. (2021). An Overview of the Traditional Uses, Phytochemicals, and Pharmacological Activities of Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.). *Journal of Pharmaceutical Sciences and Medicine (IJPSM)*, 6(6), 34-41.
- Verma, S., & Dubey, R. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant science*, 164(4), 645-655.
- Viera, H., Bergamaschi, H., Angelocci, L., & Libardi, P. (1991). Performance of two bean cultivars under two water availability regimes. II. Stomatal resistance to vapour diffusion, transpiration flux density and water potential in the plant. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 24(9), 1045-1053.
- Wahyuni, D. K., Purnobasuki, H., Kuncoro, E. P., & Ekasari, W. (2020). Callus induction of *Sonchus arvensis* L. and its antiparasitic activity. *African Journal of Infectious Diseases*, 14(1), 1-7.
- Wahyuni, D. K., Rahayu, S., Purnama, P. R., Saputro, T. B., Wijayanti, N., & Purnobasuki, H. (2019). Morpho-anatomical structure and DNA barcode of *Sonchus arvensis* L. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(8).
- Walpola, B., & Arunakumara, K. (2010). Effect of salt stress on decomposition of organic matter and nitrogen mineralization in animal manure amended soils.
- Wang, J. P., & Bughrara, S. S. (2007). Monitoring of gene expression profiles and identification of candidate genes involved in drought responses in *Festuca mairei*. *Molecular genetics and genomics*, 277, 571-587.
- Wu, R., & Garg, A. (2003). Engineering rice plants with trehalose-producing genes improves tolerance to drought, salt, and low temperature. *ISB news report*, 3-7.

- Xiuli, Z. (2020). Study on effect of drought stress on synthesis of pharmacodynamic components of *Atracylodes chinensis* and Its regulation mechanism. Master's Thesis, Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun, China, 14 (10): 6285.
- Yahaya, M. A., & Shimelis, H. (2022). Drought stress in sorghum: Mitigation strategies, breeding methods and technologies—A review. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 208(2), 127-142.
- Yamada, K., & Osakabe, Y. (2018). Sugar compartmentation as an environmental stress adaptation strategy in plants. *Seminars in Cell & Developmental Biology*,
- Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., & Chen, S. (2021). Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7(3), 50.
- Zegaoui, Z., Planchais, S., Cabassa, C., Djebbar, R., Belbachir, O. A., & Carol, P. (2017). Variation in relative water content, proline accumulation and stress gene expression in two cowpea landraces under drought. *Journal of Plant Physiology*, 218, 26-34.
- Zhang, T., Hu, Y., Zhang, K., Tian, C., & Guo, J. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi improve plant growth of *Ricinus communis* by altering photosynthetic properties and increasing pigments under drought and salt stress. *Industrial Crops and Products*, 117, 13-19.
- Žugić, A., Đorđević, S., Arsić, I., Marković, G., Živković, J., Jovanović, S., & Tadić, V. (2014). Antioxidant activity and phenolic compounds in 10 selected herbs from Vrujci Spa, Serbia. *Industrial Crops and Products*, 52, 519-527.