Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research
Vol. 40, No. 3, Page 562-580 (2024)

DOI:10.22092/IJMAPR.2024.364529.3405

Foliar application of *Silybum marianum* L. Gaertn. with plant growth regulators under different soil moisture conditions

Sahar Fanai[1], Bohloul Abbaszadeh[2*] and Davood Bakhshi[3]

1- Ph.D. student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Sciences, University campus 2 University of Guilan, Rasht, Iran
2*- Corresponding author, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, E-mail: babaszadeh@rifr-ac.i
3- Department of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

Received: December 2023 Revised: January 2024 Accepted: May 2024

Abstract

Background and objectives: Plants are exposed to various environmental stresses during their growth period in nature and under field conditions. Due to its medicinal and therapeutic properties, *Silybum marianum* L. Gaertn. has been used since ancient times for the treatment of liver and gallbladder diseases. This study aimed to investigate the response of *Silybum marianum* to plant growth regulators under different soil moisture conditions.

Methodology: The present study was conducted in the agricultural year 1401-1400 at the Forests and Rangelands Research Institute research farm located in Karaj, Iran. The research farm is 5 kilometers southeast of Karaj city at a geographical latitude of 35 degrees and 48 minutes north and a longitude of 51 minutes east, with an elevation of 1320 meters above sea level. The study was carried out in a randomized complete block design with three replications. The experimental treatments included different levels of field capacity (90%, 75%, 50%, 25% FC) and foliar application with plant growth regulators such as salicylic acid (75-150 mg.l-1), spermine (70-140 mg.l-1), brassinosteroid (C28) (1-1.2 µM), and water (control). Soil moisture levels were determined daily using the weighing method and TDR (Time Domain Reflectometry) in the range between field capacity and 25% soil moisture content. Irrigation was conducted according to the desired treatments throughout the growth period based on the plotted graph and with the help of TDR. Foliar spraying was performed seven days apart in three stages, five months after seed sowing in April. At the end of the study, traits including average leaf number, leaf area, canopy diameter, number of lateral branches, root length, root collar diameter, days to leaf emergence, fruit antioxidant capacity, fruit color index, seed ash percentage, leaf sugar content, thousand seed weight, fruit yield, and oil content were measured.

Results: The study showed that the reduction of field capacity (FC) reduced growth and yield traits in the plant compared to the control treatment. However, the foliar application of plant growth regulators improved growth traits effectively. For instance, the leaf number in the 25% field capacity treatment was almost halved compared to the control treatment (90% field capacity). Foliar spraying with brassinosteroids prevented a significant decrease in leaf number in the plant under different field capacity levels. The highest leaf area was observed in the treatment with 140 mg.l-1spermine + 75% field capacity. Foliar spraying with spermine and brassinosteroids had a significant effect on improving growth traits under stress conditions. Foliar spraying with spermine or brassinosteroids resulted in the highest oil content in the fruit

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

under 50% field capacity conditions. Under 75% field capacity, foliar spraying with brassinosteroids (1 µM) increased fruit yield in the plant by 71% compared to the control treatment at the same stress level and by 5.5% compared to the control treatment under 90% field capacity conditions. The correlation analysis between color indices and fruit antioxidant capacity showed a positive and significant correlation between the percentage of fruit antioxidant capacity and brightness index (L), indicating that fruits with darker colors had higher antioxidant capacity. However, the redness index (a) and yellowness index (b) had a negative and significant correlation with fruit antioxidant capacity.

Conclusion: The research findings have shown that reducing field capacity reduces plants' vegetative and reproductive growth parameters. However, foliar spraying plants with plant growth regulators improves plant growth conditions under water-limited conditions. In general, based on the research results, foliar spraying of plants with spermine at a concentration of 140 mg.l-1 helps improve the growth and performance characteristics, increasing the plant's resistance to moisture stress conditions in the soil.

Keywords: Spermine, salicylic acid, brassinosteroids, foliar spraying.

محلول‌پاشی گیاه خارمریم (*Silybum marianum* L. Gaertn.) با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در شرایط مختلف رطوبت خاک

سحر فنائی[۱]، بهلول عباس‌زاده*[۲] و داود بخشی[۳]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی باغبانی، پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲*- نویسنده مسئول، دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

پست الکترونیک: babaszadeh@rifr-ac.ir

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۲ تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۳

چکیده

سابقه وهدف: گیاهان در طول دوره رشد خود در طبیعت و در شرایط مزرعه در معرض تنش‌های محیطی مختلفی قرار می‌گیرند. گیاه دارویی خارمریم به دلیل ویژگی‌های دارویی و درمانی آن، از زمان باستان به منظور درمان بیماری‌های کبدی و کیسه صفراوی استفاده می‌شده است. این پژوهش با هدف بررسی پاسخ گیاه دارویی خارمریم به تنظیم‌کننده‌های رشدی در شرایط مختلف رطوبتی خاک انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور واقع در کرج انجام شد. این مزرعه تحقیقاتی، واقع در پنج کیلومتری جنوب‌شرقی شهرستان کرج در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی و ۵۱ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۳۲۰ متری از سطح دریا قرار دارد. این پژوهش به صورت کرت‌های خردشده بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سطوح مختلف ظرفیت زراعی خاک (۹۰٪، ۷۵٪، ۵۰٪، ۲۵٪ ظرفیت زراعی) و محلول‌پاشی با تنظیم‌کننده رشد گیاهی مانند اسید سالیسیلیک ($mg.l^{-1}$ ۱۵۰- ۷۵)، اسپرمین ($mg.l^{-1}$ ۱۴۰- ۷۰)، براسینواستروئید (C28) (µM ۱/۲-۱) و آب (شاهد) بود. برای اعمال تیمارهای رطوبتی، میزان رطوبت خاک در حد فاصله بین ظرفیت زراعی تا ۲۵٪ با استفاده از روش وزنی به‌صورت روزانه و همزمان با TDR (Time Domain Reflectometry) تعیین شد. آبیاری با توجه به تیمارهای مورد نظر در کل دوره رشد براساس نمودار ترسیم‌شده و با کمک TDR انجام گردید. محلول‌پاشی پنج ماه پس از کشت بذر در اردیبهشت‌ماه به فاصله زمانی هفت روز یک‌بار در سه مرحله انجام شد. در پایان پژوهش میانگین صفات تعداد برگ، سطح برگ، قطر تاج پوشش گیاه، تعداد ساقه فرعی، طول ریشه، قطر طوقه، تعداد روز تا ظهور برگ، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه، شاخص رنگ میوه، درصد خاکستر دانه، محتوای قند برگ، وزن هزاردانه، عملکرد میوه و میزان روغن در گیاه اندازه‌گیری شد.

نتایج: نتایج پژوهش نشان داد که کاهش رطوبت خاک، صفات رشدی و عملکردی را در مقایسه با تیمار شاهد کاهش داد. با این حال محلول‌پاشی گیاه با تنظیم‌کننده رشد در بهبود شاخص‌های رشدی مؤثر بود. به‌طوری که تعداد برگ در تیمار ۲۵٪ ظرفیت زراعی خاک در مقایسه با تیمار شاهد (۹۰٪ ظرفیت زراعی) تقریباً به نصف کاهش یافت. محلول‌پاشی گیاه با براسینواستروئیدها در سطح مختلف رطوبتی خاک از کاهش معنی‌دار تعداد برگ در گیاه ممانعت بعمل آورد. بیشترین سطح برگ در تیمار $mg.l^{-1}$ ۱۴۰ اسپرمین+ FC ۷۵٪ مشاهده شد. محلول‌پاشی گیاه با اسپرمین و براسینواستروئید در بهبود صفات رویشی در شرایط تنش مؤثر بود. محلول‌پاشی گیاه با اسپرمین در شرایط ۵۰٪ ظرفیت زراعی منجر به ثبت بیشترین میزان روغن در میوه شد. در شرایط ۷۵٪ ظرفیت زراعی، محلول‌پاشی گیاه با براسینواستروئید (۱ میکرومولار) عملکرد میوه در گیاه را ۷۱/۶٪ در مقایسه با تیمار شاهد در همان سطح تنش و ۵/۶٪ در مقایسه با تیمار شاهد در شرایط ۹۰٪ ظرفیت زراعی افزایش داد. بررسی همبستگی شاخص‌های رنگ با ظرفیت

آنتی‌اکسیدان در گیاه نشان داد که درصد ظرفیت آنتی‌اکسیدان در گیاه با شاخص روشنایی (L) دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار می‌باشد که بیانگر این است که میوه‌های با رنگ تیره‌تر دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری هستند. این در حالی است که دو شاخص قرمزی (a) و زردی (b) با ظرفیت آنتی‌اکسیدان میوه دارای همبستگی منفی و معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: نتایج پژوهش نشان داد که کاهش میزان رطوبت خاک شاخص‌های رشدی و عملکردی گیاه را کاهش می‌دهد، با این حال محلول‌پاشی گیاه با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی منجر به بهبود شرایط رشدی گیاه در شریط کم آبی می‌گردد. به‌طور کلی، با توجه به نتایج پژوهش می‌توان بیان کرد که محلول‌پاشی گیاه با استفاده اسپرمین در غلظت ۱۴۰ میلی‌گرم در لیتر با بهبود صفات رشدی و عملکردی در افزایش مقاومت گیاه به شرایط تنش رطوبتی در خاک کمک می‌کند.

واژه‌های کلیدی: اسپرمین، اسید سالیسیلیک، براسینواستروئید، محلول‌پاشی.

مقدمه

گیاهان دارویی از گذشته‌های دور در پیشگیری و درمان بیماری‌های مختلف قابل استفاده بوده‌اند (Fallah Huseini *et al*., 2023). گیاه خارمریم با نام انگلیسی Milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.)، گیاه علفی یک یا دو ساله بوده که به‌عنوان گیاه دارویی شناخته شده و کشت می‌گردد (Andrzejewska & Ramin, 2008؛ Karkanis *et al*., 2011؛ *et al*., 2011). محصولات حاصل از این گیاه همانند عصاره از ۲۰۰۰ سال پیش به دلیل ویژگی‌های دارویی و درمانی آن استفاده می‌شده است (Tamayo & Diamond, 2007). از زمان باستان از گیاه خارمریم به منظور درمان بیماری‌های کبدی و کیسه صفرا استفاده شده است (Libster, 2002؛ Abenavoli *et al*., 2010). مهمترین ترکیب فیتوشیمیایی موجود در این گیاه، سیلیمارین بوده که مجموعه‌ای از فلاونولیگنان‌ها شامل سیلیبین A و B (silybin)، ایزوسیلیبین A و B (isosilybin)، سیلی‌دیانین (silydianin) و سیلی‌کریستین (silychristin) بوده که عمدتاً در میوه وجود دارد (Aziz *et al*., 2021). علاوه بر این، میوه گیاه شامل ترکیبات فلاونوئیدی مانند اسید هیدروکسی‌سینامید (hydroxycinnamic acids) و فلاونوئیدها بوده که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانتی است (Wojdyło *et al*., 2007؛ Lucini *et al*., 2016). مطالعات متعددی در ارتباط با فعالیت محافظتی و ضدسرطانی سیلیمارین و ترکیبات آن وجود دارد (Tamayo & Diamond, 2007؛ Anestopoulos *et al*., 2016؛ Abdulrazzaq *et al*., 2019؛ Kim *et al*., 2019؛ Li *et al*., 2019).

همچنین، گیاه خارمریم در درمان بیماری‌های مختلف از قبیل ضددیابت، محافظ کبد، کاهش کلسترول خون، ضد التهاب و ضد سرطان استفاده می‌شود (García-Ramírez *et al*., 2018؛ Pradhan & Girish, 2006؛ Fanoudi *et al*., 2020؛ Patel, 2015؛ Porwal *et al*., 2019). گیاهان در طول دوره رشد خود در طبیعت و در شرایط مزرعه در معرض تنش‌های محیطی مختلفی قرار می‌گیرند. در این بین، تنش خشکی یکی از شدیدترین تنش‌های محیطی مؤثر بر بهره‌وری گیاه می‌باشد (Seleiman *et al*., 2021). شاخص‌های مختلف مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه تحت تأثیر تنش خشکی است (Ortiz *et al*., 2015) و در شرایط کمبود آب عملکرد و کیفیت گیاه نیز به شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Battaglia & Lee, 2018). اعمال تنش خشکی در گیاه آفتابگردان (*Heliantus annuus* L) در پی کاهش ظرفیت آب برگ، سرعت تقسیم سلولی و آماس سلولی منجر به کاهش بهره‌وری و رشد گردید (Kiani *et al*., 2007؛ Hussain *et al*., 2009). اخیراً، روش‌های جدیدی به منظور بهبود عملکرد گیاهان در شرایط تنش‌های زیست محیطی توصیه می‌شود. مطالعات نشان داده است که کاربرد خارجی انواع مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (PGRs) مانند هورمون‌ها، پلی‌آمین‌ها، عناصر غذایی،

آنتی‌اکسیدان‌ها، محافظت‌کننده‌های اسمزی و سایر موارد منجر به افزایش تحمل به تنش خشکی می‌شود (Raza *et al.*, 2012؛ Latif *et al.*, 2016؛ Vaidya *et al.*, 2019؛ Hassan *et al.*, 2020؛ Huan *et al.*, 2020؛ Veroneze-Junior *et al.*, 2020). کاربرد این ترکیبات منجر به بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی ظرفیت فتوسنتزی، محتوای آب برگ و تبادل گاز در گیاه می‌گردد. علاوه بر این، استفاده از این ترکیبات تجمع اسمولیت‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها را به منظور حفظ تعادل اسمزی و حذف گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) افزایش می‌دهد؛ که در نتیجه آن پایداری ساختارهای غشایی، آنزیم‌ها و سایر ماکرومولکول‌ها تحت تنش خشکی تضمین می‌شود (Xiao *et al.*, 2017).

اسید سالیسیلیک یک فیتوهورمون فنولیکی بوده که نقش مهمی در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی از قبیل رشد و توسعه گیاه (Vicente & Plasencia, 2011؛ Jakhar & Sheokand, 2015)، فتوسنتز (Hayat & Ahmad, 2003؛ Jakhar & Sheokand, 2015)، جذب و انتقال یون‌ها، جوانه‌زنی بذر و گلیکولایسیز (Rajjou *et al.*, 2006؛ Vicente & Plasencia, 2011) موثر است. تعدادی از پژوهش‌ها تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک در افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی را گزارش کرده‌اند (Singh & Usha, 2003؛ Mardani *et al.*, 2012؛ Fayez & Bazaid, 2014). محلول‌پاشی گیاه با براسینواستروئید از راه‌های کاربردی به منظور کاهش صدمه‌های ایجاد شده به دلیل تنش خشکی در گیاه می‌باشد (Lima & Lobato, 2017؛ Khamsuk *et al.*, 2018). کاربرد خارجی براسینواستروئید اثرهای منفی تنش خشکی در گیاه را کاهش می‌دهد. این ترکیب بر شاخص‌های تبادل گاز، کارایی مصرف آب و محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی مؤثر است (Khamsuk *et al.*, 2018؛ Lima & Lobato, 2017؛ Talaat, 2020). کاربرد خارجی اسپرمین با حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه منجر به تعدیل شرایط تنش می‌گردد (Yiu *et al.*, 2009). اسپرمین در تنظیم چندین ژن مرتبط با اسید آبسیزیک که در باز و بسته شدن روزنه‌ها، بیان ژن‌های پاسخ به تنش و تولید اسمولیت‌ها نقش دارند، مؤثر است (Fujita *et al.*, 2011).

در پژوهش Ghanbari Moheb Seraj و همکاران (۲۰۲۲) کاهش ظرفیت زراعی خاک در گیاه خارمریم (*Silybum marianum* L.) منجر به افزایش محتوای پرولین و پراکسیداسیون لیپید و کاهش وزن هزاردانه در مقایسه با تیمار شاهد شد. در شرایط تنش خشکی، محلول‌پاشی گیاه خارمریم با اسید سالیسیلیک محتوای نسبی آب برگ، عملکرد گیاه و تنظیم اسمزی را در گیاه بهبود بخشید (Estaji & Niknam, 2020). امروزه کشت گیاه خارمریم به دلیل خواص درمانی و دارویی آن رو به افزایش است. با این حال، قرارگیری گیاه در شرایط تنش رطوبتی به صورت طولانی منجر به کاهش شاخص‌های رشد و بهره‌وری گیاه می‌گردد. این پژوهش با هدف بررسی پاسخ گیاه دارویی خارمریم به تنظیم کننده‌های رشدی در شرایط مختلف رطوبتی خاک انجام شد.

مواد و روش‌ها

محل انجام پژوهش

این پژوهش در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور واقع در کرج انجام شد. این مزرعه تحقیقاتی، در پنج کیلومتری جنوب‌شرقی شهرستان کرج در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی و ۵۱ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۳۲۰ متری از سطح دریا قرار دارد. میانگین دمای سالیانه برای این شهرستان ۱۴ درجه سلسیوس و متوسط بارندگی سالیانه حدود ۲۳۵ میلی‌متر است.

مواد گیاهی و تیمارهای آزمایش

ابتدا کشت بذرهای گیاه در کرت‌هایی به ابعاد ۴×۳ متر در عمق ۱ تا ۲ سانتی‌متر انجام شد. فاصله بلوک‌ها از یکدیگر ۲ متر و فاصله بین کرت‌های اصلی و فرعی به‌ترتیب ۳ و ۱ متر بود. فاصله ردیف کشت ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی

ردیف ۶۰ سانتی‌متر بود. بذرهای گیاه از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه و در نیمه اول آذرماه کشت شدند. پس از اتمام بارندگی‌ها و استقرار کامل گیاهچه‌ها، میزان رطوبت خاک در حد فاصله بین ظرفیت زراعی و ۲۵٪ ظرفیت زراعی با استفاده از روش وزنی به‌صورت روزانه و همزمان با TDR (Time Domain Reflectometry) تعیین گردید. آبیاری براساس تیمارهای مورد نظر در کل دوره‌ی رشد براساس نمودار ترسیم شده و با کمک TDR انجام شد. این پژوهش به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه‌ی طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل سطوح مختلف آبیاری ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۹۰ درصد ظرفیت زراعی و محلول‌پاشی شامل اسید سالیسیلیک ($mg.l^{-1}$ ۱۵۰ – ۷۵)، اسپرمین ($mg.l^{-1}$ ۱۴۰ – ۷۰)، براسینواستروئید (۱ و ۱/۲ میکرومولار) و آب به‌عنوان شاهد بودند. محلول‌پاشی ۵ ماه پس از کشت بذر (اردیبهشت ماه) در سه نوبت به فاصله زمانی هفت روز یک‌بار، ساعت ۶ صبح انجام شد.

صفات مورد مطالعه در پژوهش

۷ ماه پس از کشت بذر و ۱ ماه پس از محلول‌پاشی میانگین صفات تعداد برگ، سطح برگ، قطر تاج پوشش گیاه، تعداد ساقه فرعی، طول و قطر طوقه، تعداد روز تا ظهور برگ، ظرفیت آنتی‌اکسیدان میوه، شاخص رنگ میوه، درصد خاکستر میوه، محتوای قند برگ، وزن هزاردانه، عملکرد میوه و میزان روغن در گیاه اندازه‌گیری شد.

به منظور اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه، ابتدا به ۱ گرم میوه آسیاب شده گیاه خارمریم ۶ میلی‌لیتر حلال استخراج متانول اسیدی حاوی ۸۵٪متانول و ۱۵٪ اسید استیک اضافه شد. پس از آن، محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. محلول شفاف بالایی جدا و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ، محلول شفاف بالایی به میکروتیوپ منتقل گردید (Bakhshi & Arakawa, 2006). پس از آماده‌سازی عصاره، به منظور تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره حاصل به روش مهار فعالیت رادیکال آزاد DPPH، از روش Wu و همکاران (۲۰۰۳) استفاده شد. در مرحله نهایی به ۱ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۱ میلی‌لیتر معرف DPPH اضافه شد و پس از ورتکس و قرارگیری نمونه‌ها در دمای اتاق در شرایط تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (T80+ UV/VIS Spectrometer PG Instruments Ltd). از نمونه فاقد عصاره به‌عنوان نمونه شاهد استفاده شد. در پایان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از روابط محاسبه گردید.

محتوای قند برگ با استفاده از روش فنل–اسیدسولفوریک اندازه‌گیری گردید (Irigoyen *et al.*, 1992). ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از برگ‌های خشک گیاه در ۵ میلی‌لیتر حلال اتانول ۹۵٪ آسیاب شد. پس از آن، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره حاصل با ۳ میلی‌لیتر معرف انترون (۱۵۰ میلی‌گرم انترون، ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲٪) مخلوط گردید. در مرحله بعدی، عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. در پایان جذب نمونه‌های حاصل در طول موج ۶۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکترفتومتر (T80+ UV/VIS Spectrometer PG Instruments Ltd) خوانده شد. مقدار قند محلول برگ با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز برحسب میلی‌گرم بر گرم محاسبه شد.

به منظور استخراج روغن میوه، ابتدا میوه گیاه خارمریم کاملاً پودر شده و به ۳ گرم از پودر حاصل ۱۰cc دی اتیل اتر اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه به خوبی تکان داده شد. قابل ذکر است که در این مدت محلول حاصل در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد آب گرم شیک شد. پس از آن قسمت بالایی (روغن) از محلول جدا گردید (Parry *et al.*, 2006).

برای اندازه‌گیری وزن هزاردانه، از گیاهان وسط کرت‌ها انتخاب و پس از جداسازی دانه‌های گیاه، وزن هزاردانه محاسبه شد. عملکرد میوه در گیاه نیز پس از حذف اثرهای

حاشیه‌ای در هر کرت در واحد سطح تعیین شد.

به منظور مطالعه شاخص‌های رنگ میوه، ابتدا میوه گیاه خارمریم به دلیل کاهش نویز و کنترل اثرها و محیط در یک ظرف پلاستیکی لبه‌دار سفید رنگ قرار داده شد. در مرحله بعد میوه توسط دستگاه رنگ‌سنجی مدل TES-135A ساخت کشور تایوان b*، a*، l*CIE با کمی تغییرات رنگ‌سنجی شد. زاویه هیو از طریق فرمول مربوط (Hue=aratanb(b*/a*)) محاسبه شد که a شاخص قرمزی و b شاخص زردی است. برای اندازه‌گیری درصد خاکستر میوه نیز ابتدا ۲ گرم از میوه پودر شده خارمریم در یک بوته چینی پس از سرد شدن وزن گردید. نمونه برای سوزانده شدن در داخل کوره با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا زمانی که به رنگ خاکستری درآید. پس از آن از کوره خارج و دوباره در دسیکاتور قرار داده شد تا به وزن ثابت برسد. درصد خاکستر میوه به‌وسیله فرمول زیر محاسبه شد (Beheshti *et al.*, 2014).

$$S=(W_3-W_1)/(W_2-W1)\times100$$

S: درصد خاکستر، W_1: وزن کپسول چینی خالی، W_2: وزن کپسول چینی و نمونه قبل از کوره‌گذاری، W_3: وزن کپسول چینی و خاکستر بعد از کوره‌گذاری

تجزیه‌وتحلیل آماری

تجزیه‌وتحلیل آماری پژوهش با استفاده از نرم افزار JMP-8 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید.

نتایج

نتایج پژوهش نشان داد که قرارگیری گیاه در شرایط کاهش رطوبت خاک و کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشدی، بر صفات مورفولوژیک مورد مطالعه در گیاه به‌طور قابل توجهی مؤثر می‌باشد. بدین صورت که میانگین صفات تعداد برگ، سطح برگ، قطر تاج پوشش گیاه، تعداد ساقه فرعی، طول ریشه و قطر طوقه تحت تأثیر اثر متقابل ظرفیت زراعی خاک و محلول‌پاشی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی قرار گرفتند و با سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شدند ($p\leq0.01$) (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیشترین تعداد برگ در شرایط ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک (تیمار شاهد) (۷۱/۶۶ عدد) و در شرایط کاربرد مواد مختلف تنظیم‌کننده رشد گیاهی مشاهده شد. کاهش ظرفیت زراعی خاک در گیاه به‌طور معنی‌داری تعداد برگ را در گیاه کاهش داد. به‌طوری که کمترین تعداد برگ گیاه، در تیمار ۲۵٪ ظرفیت زراعی خاک و محلول‌پاشی با اسپرمین (۷۰ میلی‌گرم در لیتر) بود (۹ عدد). به‌طور کلی، تعداد برگ در تیمار ۲۵٪ ظرفیت زراعی خاک در مقایسه با تیمار شاهد (۹۰٪ ظرفیت زراعی) تقریباً به نصف کاهش یافت.

محلول‌پاشی گیاه با ترکیبات مختلف مانند براسینواستروئیدها در سطح مختلف تنش خشکی از کاهش معنی‌دار تعداد برگ در گیاه ممانعت بعمل آورد. یادآوری می‌شود که تعداد برگ در این تیمار تفاوت معنی‌دار با تیمار شاهد در سطوح ۷۵ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک نداشت (جدول ۲).

نتایج مرتبط با سطح برگ نشان داد که بیشترین سطح برگ در گیاه در تیمار ۷۵٪ ظرفیت زراعی خاک و اسپرمین (۱۴۰ میلی‌گرم بر لیتر) مشاهده شد (۹۴۵۱ سانتی‌متر مربع). سطح برگ در این تیمار در مقایسه با تیمار شاهد (۹۰٪ ظرفیت زراعی) (۴۰۱۷ سانتی‌متر مربع) بیشتر از ۲ برابر بود. به‌طور کلی قرارگیری گیاه در شرایط ۷۵٪ ظرفیت زراعی خاک منجر به افزایش سطح برگ در گیاه گردید. اعمال شرایط تنش در سطوح ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی خاک منجر به کاهش معنی‌دار سطح برگ در گیاه گردید. به‌طوری که سطح برگ در تیمار شاهد (فاقد محلول‌پاشی) ۵۰٪ و ۲۵٪ ظرفیت زراعی خاک به‌ترتیب ۱۵۷۸ و ۱۱۶۱ سانتی‌متر مربع بود. محلول‌پاشی گیاهان در این دو سطح ظرفیت زراعی خاک از کاهش معنی‌دار سطح برگ جلوگیری کرد. سطح برگ در سایر تیمارهای آزمایش تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد در هر سطح ظرفیت زراعی خاک نداشت (جدول ۲).

بررسی قطر تاج پوشش گیاه نشان داد که کاهش ظرفیت زراعی خاک منجر به کاهش معنی‌دار قطر تاج پوشش می‌شود. بیشترین قطر تاج پوشش در شرایط ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک و محلول‌پاشی با اسپرمین (۱۴۰ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد (۶۱/۸۶ سانتی‌متر). یادآوری می‌شود که در بالاترین سطح تنش (۲۵٪ ظرفیت زراعی) محلول‌پاشی گیاه با اسپرمین در غلظت‌های ۷۰ و ۱۴۰ میلی‌گرم در لیتر قطر تاج پوشش گیاه را به‌ترتیب ۴۹/۹۰٪ و ۴۳٪ در مقایسه با تیمار شاهد در همان سطح ظرفیت زراعی خاک (۲۵٪ FC) افزایش داد (جدول ۲).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که محلول‌پاشی گیاه با استفاده از اسپرمین در غلظت‌های ۷۰ و ۱۴۰ میلی‌گرم در لیتر تعداد ساقه فرعی در گیاه را به‌ترتیب ۱۱۰/۹٪ و ۵۳/۳٪ در مقایسه با تیمار شاهد (فاقد محلول‌پاشی) در شرایط ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک افزایش داد. یادآوری می‌شود که استفاده از اسید سالیسیلیک در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نیز تعداد ساقه فرعی در گیاه را ۳۴/۶٪ در مقایسه با تیمار شاهد (فاقد محلول‌پاشی) افزایش داد. کاهش ظرفیت زراعی خاک منجر به کاهش معنی‌دار تعداد ساقه فرعی در گیاه گردید، با این حال محلول‌پاشی گیاه با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه منجر به افزایش آن شد. در شرایط ۷۵٪ ظرفیت زراعی خاک محلول‌پاشی گیاه با براسینواستروئید (۱ میکرومولار) و اسپرمین (۷۰ میلی‌گرم در لیتر)، تعداد ساقه فرعی در گیاه را در مقایسه با تیمار شاهد در همان سطح ظرفیت زراعی خاک (۱۵/۹۴ عدد) به‌ترتیب ۲۰/۷۶٪ و ۲۰/۲٪ افزایش داد. در ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک کاربرد اسید سالیسیلیک (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) (۱۸/۵۸ عدد) تعداد ساقه فرعی در گیاه را در مقایسه با تیمار شاهد در همان سطح ظرفیت زراعی خاک (۱۵/۲۵ عدد) به‌طور معنی‌داری افزایش داد. در شرایط کمترین ظرفیت زراعی خاک نیز محلول‌پاشی گیاه با اسپرمین و اسید سالیسیلیک منجر به افزایش معنی‌دار تعداد ساقه فرعی در مقایسه با تیمار شاهد در همان سطح تنش شد (جدول ۲).

بررسی طول ریشه و قطر طوقه در گیاه نشان داد که کاهش میزان رطوبت خاک از طول ریشه و قطر طوقه می‌کاهد. با این حال محلول‌پاشی گیاه با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مختلف منجر به بهبود شرایط رشدی در گیاه شده است. به‌طوری که بیشترین طول ریشه در گیاه خارمریم در تیمار محلول‌پاشی گیاه با اسپرمین در بالاترین غلظت و در شرایط ۲۵٪ ظرفیت زراعی خاک مشاهده شد. در ۹۰٪ و ۷۵٪ ظرفیت زراعی خاک نیز محلول‌پاشی گیاه با استفاده از اسپرمین (۱۴۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌ترتیب منجر به افزایش ۱۷ و ۸/۳ درصدی طول ریشه در مقایسه با تیمار شاهد در هر سطح از ظرفیت زراعی خاک شد (جدول ۲). نتایج پژوهش نشان داد که کاهش ظرفیت زراعی خاک منجر به افزایش معنی‌دار تعداد روز تا ظهور برگ در گیاه گردید (جدول ۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر خشکی و تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر صفات مورفولوژیک گیاه دارویی خار مریم

Table 1. ANOVA of drought and plant growth regulator effects on *Silybum marianum* morphological traits

S.O.V.	d.f.	Crown diameter	Root length	Number of branches	Canopy diameter	Leaf area	Number of leaves	Number of days to leaf emergence
Plant growth regulator (PGR)	6	0.48**	42.4**	87.0**	645**	463177**	204**	2.76**
Block	2	0.16	0.34	3.05	15.5	3860009	14.6	4.76
Experimental error a	12	0.11	1.44	8.52	22.2	530735	10.0	5.00
Drought stress (D)	3	0.14**	38.0**	447**	165**	9.89e+7**	11098**	115**
PGR × D	18	0.36**	25.9**	51.5**	239**	1.09e+7**	48.7**	1.82^{ns}
Experimental error	42	0.08	6.96	10.7	58.3	640124	8.34	1.01
C.V. (%)		23.52	15.27	23.21	17.69	30.05	6.63	1.33

n.s. and **: non-significant and significant at 1% probability level, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل خشکی × تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر صفات مورفولوژیک گیاه دارویی خار مریم

Table 2. Means comparison of drought × plant growth regulator interaction on *Silybum marianum* morphological traits

F.C. (%)	Plant growth regulator	Number of leaves	Leaf area (cm^2)	Canopy diameter (cm)	Number of branches	Root length (cm)	Crown diameter (cm)
90	Control	71.66^{a}	4017.7^{t}	52.20^{a-f}	16.83^{d-h}	19.66^{a-c}	1.70^{a-d}
	Br (1 µM)	69.00^{ab}	6980.1^{bc}	35.80^{h-k}	18.71^{c-e}	14.26^{e-h}	1.14^{e-k}
	Br (1.2 µM)	71.00^{a}	3846.7^{t}	58.66^{ab}	18.25^{c-f}	17.53^{b-e}	1.23^{d-k}
	SA (75 mgL^{-1})	71.00^{a}	2078.5^{g}	54.27^{a-d}	22.66^{bc}	14.85^{d-h}	1.16^{e-k}
	SA (150 mgL^{-1})	67.50^{a-c}	8291.3^{ab}	36.57^{h-k}	17.50^{c-g}	18.83^{a-d}	1.99^{ab}
	SP (70 mgL^{-1})	71.50^{a}	4761.2^{ef}	$33.16j^{k}$	35.50^{a}	14.13^{e-h}	1.09^{g-k}
	SP (140 mgL^{-1})	69.50^{ab}	6364.2^{cd}	61.86^{a}	25.81^{b}	23.01^{a}	1.87^{a-c}
75	Control	65.50^{bc}	6143.1^{cd}	54.03^{a-e}	15.94^{d-i}	17.56^{b-e}	1.85^{a-c}
	Br (1 µM)	63.50^{c}	6895.8^{c}	41.82^{e-j}	19.25^{cd}	11.50^{g-i}	1.44^{c-i}
	Br (1.2 µM)	65.00^{bc}	4021.1^{t}	49.41^{a-g}	11.31^{i-l}	12.65^{f-h}	0.99^{i-k}
	SA (75 mgL^{-1})	65.00^{bc}	6385.1^{cd}	39.93^{f-j}	12.75^{g-k}	16.60^{b-f}	1.39^{c-j}
	SA (150 mgL^{-1})	58.50^{d}	516.0^{h}	32.90^{jk}	13.58^{e-k}	16.66^{b-f}	1.20^{e-k}
	SP (70 mgL^{-1})	56.00^{de}	5438.4^{de}	39.72^{f-j}	19.16^{cd}	11.12^{g-i}	0.80^{k}
	Sp (140 mgL^{-1})	57.50^{de}	9451.7^{a}	46.72^{b-i}	11.99^{h-l}	19.02^{a-d}	1.62^{a-e}
50	Control	50.50^{f}	1578.9^{gh}	55.30^{a-c}	15.25^{d-i}	16.59^{b-f}	2.05^{a}
	Br (1 µM)	43.50^{h}	1426.0^{gh}	45.32^{c-j}	13.31^{f-k}	15.05^{d-g}	1.40^{c-j}
	Br (1.2 µM)	53.00^{ef}	2132.5^{g}	38.18^{g-j}	14.49^{d-j}	10.71^{hi}	1.05^{h-k}
	SA (75 mgL^{-1})	48.50^{fg}	1791.1^{gh}	37.35^{g-j}	8.25^{kl}	14.15^{e-h}	0.95^{jk}
	SA (150 mgL^{-1})	44.00^{gh}	2269.9^{g}	41.05^{g-j}	18.58^{c-f}	15.45^{cd-g}	1.55^{b-g}
	SP (70 mgL^{-1})	42.50^{h}	1426.8^{gh}	24.55^{kl}	11.58^{h-l}	14.24^{e-h}	1.13^{f-k}
	Sp (140 mgL^{-1})	37.50^{i}	1502.3^{gh}	53.62^{a-d}	13.99^{d-j}	14.77^{d-h}	1.17^{e-k}
25	Control	34.50^{i}	1161.3^{gh}	34.85^{i-k}	9.25^{j-l}	7.48^{l}	0.90^{k}
	Br (1 µM)	20.54^{j}	1276.7^{gh}	44.56^{c-j}	9.06^{j-l}	16.88^{b-f}	1.48^{c-i}
	Br (1.2 µM)	18.00^{j}	2070.4^{g}	47.81^{b-h}	9.25^{j-l}	15.37^{c-g}	1.45^{c-i}
	SA (75 mgL^{-1})	16.00^{jk}	1760.4^{gh}	41.82^{d-j}	7.28^{l}	14.04^{e-h}	0.95^{jk}
	SA (150 mgL^{-1})	12.50^{kl}	2008.1^{g}	16.10^{kl}	12.72^{g-k}	16.80^{b-f}	0.92^{jk}
	SP (70 mgL^{-1})	9.00^{l}	1146.4^{gh}	52.25^{a-f}	16.50^{d-i}	17.69^{b-e}	1.59^{a-f}
	Sp (140 mgL^{-1})	12.50^{kl}	1083.1^{gh}	49.86^{a-g}	16.77^{d-h}	20.21^{ab}	1.52^{b-i}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

Soil moisture percentage based on the farm agricultural capacity is considered as a criterion for different levels of dryness.

Br: brassinosteroid; SA: salicylic acid; SP: spermine

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر خشکی و تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر تعداد روز تا ظهور برگ گیاه دارویی خار مریم

Table 3. Means comparison of drought and plant growth regulator effects on number of days until leaf emergence of *Silybum marianum*

F.C. (%)	Number of days to leaf emergence	Plant growth regulator	Number of days to leaf emergence
90	94.78^{c}	Control	97.62^{ab}
75	95.64^{c}	Br (1 µM)	97.72^{a}
		Br (1.2 µM)	96.87^{bc}
50	97.42^{b}	SA (75 mgL^{-1})	96.50^{c}
		SA (150 mgL^{-1})	96.87^{bc}
25	100.12^{a}	SP (70 mgL^{-1})	96.62^{c}
		Sp (140 mgL^{-1})	96.75^{c}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).

Soil moisture percentage based on the farm agricultural capacity is considered as a criterion for different levels of dryness.

Br: brassinosteroid; SA: salicylic acid; SP: spermine

درصد خاکستر میوه، وزن هزاردانه، عملکرد میوه و میزان روغن میوه تحت تأثیر کاهش ظرفیت زراعی خاک و محلول‌پاشی گیاه با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد قرار گرفت و در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد ($p\leq0.01$) (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین درصد خاکستر میوه در شرایط ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک و محلول‌پاشی گیاه با اسید سالیسیلیک (۷۵ میلی‌گرم در لیتر) (۷/۶۷٪) و تیمار شاهد در همین سطح ظرفیت زراعی خاک (۷/۵۵٪) مشاهده شد. درصد خاکستر میوه در گیاهان تیمار شاهد (فاقد محلول‌پاشی) در شرایط ۷۵٪ ظرفیت زراعی خاک نیز در مقایسه با تیمار شاهد در شرایط ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک ۱۵/۲٪ افزایش یافت (جدول ۵).

نتایج مرتبط با عملکرد میوه نشان داد که بیشترین عملکرد میوه در تیمار FC ۹۰٪ + اسپرمین ۷۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (۵۰/۱۰ گرم در مترمربع). در شرایط ۷۵ درصد ظرفیت زراعی خاک، محلول‌پاشی گیاه با استفاده از براسینواستروئید (۱ میکرومولار) عملکرد دانه در گیاه را ۷۱/۶٪ در مقایسه با تیمار شاهد در همان سطح ظرفیت زراعی خاک و ۵/۶٪ در مقایسه با تیمار شاهد در شرایط FC ۹۰٪ افزایش داد. در شرایط ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک نیز محلول‌پاشی گیاه با استفاده از اسید سالیسیلیک (۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) (۱۸/۷۱ گرم در مترمربع) عملکرد میوه در گیاه را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد در همان سطح ظرفیت زراعی خاک (۹/۷۷ گرم در مترمربع) افزایش داد (جدول ۵).

در شرایط ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک، محلول‌پاشی گیاه با استفاده از اسپرمین در غلظت ۷۰ میلی‌گرم در لیتر (۴۶/۴۱ گرم) منجر به افزایش معنی‌دار و ثبت بیشترین وزن هزاردانه در مقایسه با تیمار شاهد شد (۲۳/۹۱ گرم). در تمامی سطوح ظرفیت زراعی خاک، محلول‌پاشی گیاه با استفاده از ترکیبات مختلف منجر به افزایش وزن هزاردانه در مقایسه با تیمار شاهد در همان سطح ظرفیت زراعی خاک شد. در سطح ۷۵٪ ظرفیت زراعی خاک، تنش بیشترین وزن هزاردانه در شرایط محلول‌پاشی گیاه با براسینواستروئید (۱/۲ میکرومولار) مشاهده شد (۳۱/۷۷ گرم). در شرایط ۵۰٪ ظرفیت زراعی، محلول‌پاشی گیاه با استفاده از اسپرمین در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر منجر به افزایش ۲۲/۴۹ گرم وزن هزاردانه در مقایسه با تیمار شاهد در ظرفیت زراعی ۹۰٪ شد. این تیمار (FC ۵۰٪ + Sp ۱۴۰ میلی‌گرم در لیتر) وزن هزاردانه در گیاه را در مقایسه با تیمار شاهد در همان سطح (FC ۵۰٪)، ۳۵/۶۸٪ افزایش داد (جدول ۲). بررسی درصد روغن میوه نشان داد که محلول‌پاشی گیاه با استفاده از اسپرمین در غلظت‌های ۷۰ و ۱۴۰ میلی‌گرم در لیتر در شرایط ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک منجر به ثبت بیشترین درصد روغن در میوه شد (به‌ترتیب ۳۰/۶۰٪ و ۲۶/۹۲ ٪). میزان روغن در تیمار شاهد در شرایط ۹۰٪ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک به‌ترتیب ۴/۱۰٪ و ۳/۷۵ ٪ بود. کمترین مقدار روغن در میوه در شرایط ۲۵٪ ظرفیت زراعی خاک بدون توجه به تیمارهای محلول‌پاشی بود (جدول ۲). اعمال تنش خشکی در سطح ۵۰٪ ظرفیت زراعی منجر به کاهش معنی‌دار محتوای قند برگ گردید (جدول ۶). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های مرتبط با رنگ میوه تحت تأثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفته و در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد ($p\leq0.01$) (جدول ۴).

مطالعه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه نشان داد که محلول‌پاشی گیاه با براسینواستروئید در سطح مختلف ظرفیت زراعی خاک منجر به کاهش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایش گردید. سایر تیمارهای آزمایش از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یگدیگر نشان ندادند (جدول ۵). با این حال، بیشترین مقدار شاخص a (شاخص قرمزی) در میوه در تیمار محلول‌پاشی با براسینواستروئید (۱/۲ میکرومولار) در شرایط ۵۰٪ ظرفیت زراعی خاک و تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک + ۷۵٪ ظرفیت زراعی خاک مشاهده شد. به‌طور کلی، اعمال تیمارهای مختلف

در گیاه منجر به افزایش مقدار شاخص l (شاخص روشنایی) و b (شاخص زردی) در گیاه در مقایسه با تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی+ FC ۹۰٪) گردید. این در حالی است که بیشترین مقدار شاخص b (شاخص زردی) و l (شاخص روشنایی) به‌ترتیب در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک + ۷۵٪ ظرفیت زراعی خاک و تیمار ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک و ۱۴۰ میلی‌گرم بر لیتر اسپرمین در شرایط ۹۰٪ ظرفیت زراعی خاک مشاهده شد (جدول ۵). بررسی همبستگی شاخص‌های رنگ با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه نشان داد که درصد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه با شاخص روشنایی میوه دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار می‌باشد. این در حالی است که دو شاخص a (شاخص قرمزی) و b (شاخص زردی) با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه دارای همبستگی منفی و معنی‌دار بود (جدول ۷).

جدول ۴- تجزیه واریانس تأثیر خشکی و تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر محتوای قند برگ و برخی صفات بذر گیاه دارویی خار مریم

Table 4. ANOVA of drought and plant growth regulator effects on leaf carbohydrate content and some seed traits of *Silybum marianum*

S.O.V.	d.f.	Seed ash	Leaf soluble carbohydrate content	1000-seed weight	Seed yield	Seed oil content	Antioxidant capacity	a	b	l
Plant growth regulator (PGR)	6	2.38**	16.07^{ns}	222.8**	152.2**	164.7**	509.8**	116.9**	207.5**	455.7**
Block	2	0.60	0.807	55.08	75.59	2.97	6.69	0.012	13.10	8.20
Experimental error a	612	0.261	2.55	5.65	5.71	0.31	2.62	0.614	11.22	13.53
Drought stress (D)	3	1.79*	33.13**	341.9**	881.5**	688.4**	578.4**	265.2**	147.51**	288.6**
PGR × D	18	2.02**	11.06^{ns}	145.1**	175.5**	106.0**	390.29**	163.5**	67.53**	291.8**
Experimental error	42	0.077	7.59	42.50	26.78	0.082	4.38	2.03	10.81	12.64
C.V. (%)		5.95	25.85	24.73	48.65	10.11	11.54	6.69	14.73	7.24

n.s., *, and **: non-significant, significant at 1, and 5% probability levels, respectively.

Soil moisture percentage based on the farm agricultural capacity is considered as a criterion for different levels of dryness.

a: Redness index, b: Yellow index, and l: light (brightness) index.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل خشکی × تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر برخی صفات بذر گیاه دارویی خار مریم

Table 5. Means comparison of drought × plant growth regulator interaction on some seed traits of *Silybum marianum*

F.C. (%)	Plant growth regulator	Seed ash (%)	1000-seed weight	Seed yield ($g.m^{-2}$)	Seed oil content	Antioxidant capacity (%)	a	b	l
90	Control	5.25^{e-i}	23.91^{defg}	24.82^{bc}	4.10^{jk}	86.75^{ab}	16.66^{gh}	13.14^{i}	47.66^{g-i}
	Br (1 µM)	$5.14f^{g-k}$	20.13^{efg}	21.11^{b-d}	2.95^{m}	87.32^{ab}	5.37^{l}	17.06^{e-i}	27.72^{l}
	Br (1.2 µM)	5.05^{g-l}	20.82^{efg}	16.57^{c-f}	12.79^{e}	75.92^{c}	6.53^{kl}	15.02^{f-i}	49.55^{f-h}
	SA (75 mgL^{-1})	5.19^{f-j}	23.63^{defg}	19.03^{b-e}	8.94^{h}	86.79^{ab}	18.19^{e-g}	17.64^{e-i}	71.33^{a}
	SA (150 mgL^{-1})	6.40^{b}	45.79^{ab}	18.97^{b-e}	3341^{m}	86.84^{ab}	8.00^{jk}	16.67^{e-i}	42.79^{ij}
	SP (70 mgL^{-1})	4.45^{no}	46.41^{a}	50.10^{a}	1097^{g}	86.13^{ab}	6.60^{kl}	$15.85f^{g-i}$	47.75^{f-i}
	Sp (140 mgL^{-1})	4.59^{m-o}	21.722^{defg}	19.05^{b-e}	14.96^{d}	87.70^{ab}	18.69^{e-g}	14.42^{g-i}	71.64^{a}
75	Control	6.05^{bc}	18.93^{fg}	15.28^{d-h}	4.24^{g}	87.18^{ab}	17.77^{e-g}	15.99^{e-i}	49.45^{f-h}
	Br (1 µM)	5.35^{e-h}	19.50^{fg}	26.23^{b}	11.79^{f}	84.28^{b}	21.94^{cd}	18.61^{e-h}	58.39^{c-e}
	Br (1.2 µM)	5.65^{c-e}	31.77^{cd}	5.78^{i-k}	7.64^{i}	86.99^{ab}	17.47^{e-h}	28.29^{bc}	62.93^{bc}
	SA (75 mgL^{-1})	4.68^{k-n}	20.40^{efg}	8.58^{f-k}	10.60^{g}	85.66^{ab}	17.41^{e-h}	19.43^{d-g}	63.15^{bc}
	SA (150 mgL^{-1})	4.64^{l-n}	26.36^{cdef}	12.75^{d-j}	8.50^{h}	87.03^{ab}	31.72^{a}	35.42a	36.00^{k}
	SP (70 mgL^{-1})	5.50^{d-g}	30.53^{cde}	14.02^{d-i}	0.30^{n}	88.27^{a}	4.76^{l}	17.16e-i	47.28^{g-i}
	Sp (140 mgL^{-1})	4.85^{i-n}	24.20^{defg}	19.11^{b-e}	15.62^{c}	85.09^{ab}	17.17^{f-h}	17.03e-i	68.27^{ab}
50	Control	7.55^{a}	16.74^{fg}	9.77^{-k}	3.75^{kl}	87.89^{a}	18.83^{e-g}	17.31^{e-i}	50.15^{f-h}
	Br (1 µM)	4.85^{i-n}	19.25^{fg}	7.91^{g-k}	11.55^{f}	64.86^{d}	6.75^{kl}	16.77^{e-i}	48.32^{f-i}
	Br (1.2 µM)	4.80^{i-n}	21.91^{defg}	12.60^{e-j}	1.90^{g}	26.73^{e}	32.33^{a}	32.41^{ab}	36.08^{k}
	SA (75 mgL^{-1})	7.67^{a}	21.12^{defg}	5.88^{i-k}	3.85^{jk}	88.03^{a}	18.86^{e-g}	18.26^{e-i}	45.63^{h-j}
	SA (150 mgL^{-1})	4.74^{j-n}	24.43^{defg}	18.71^{b-e}	11.67^{f}	86.84^{ab}	27.90^{b}	23.30^{ab}	40.23^{jk}
	SP (70 mgL^{-1})	4.56^{m-o}	16.16^{fg}	$5.20j^{k}$	30.60^{a}	86.13^{ab}	19.16^{ef}	15.42^{f-i}	52.90^{e-g}
	Sp (140 mgL^{-1})	5.55^{d-f}	35.86^{bc}	11.57^{e-k}	26.92^{b}	86.94^{ab}	12.48^{i}	14.42^{g-i}	53.53^{d-f}
25	Control	5.39^{d-h}	14.64^{g}	6.97^{h-k}	0.23^{n}	87.93^{a}	18.17^{e-g}	15.04^{fg-i}	50.16^{f-h}
	Br (1 µM)	5.02^{j-m}	16.13^{fg}	6.85^{h-k}	0.18^{n}	78.83^{c}	15.17^{h}	14.00^{g-i}	57.82^{c-e}
	Br (1.2 µM)	5.82^{cd}	21.10^{defg}	16.11^{d-g}	0.13^{n}	86.13^{ab}	22.90^{c}	24.03^{cd}	59.28^{cd}
	SA (75 mgL^{-1})	4.72^{k-n}	22.47^{defg}	3.92^{k}	0.13^{n}	85.85^{ab}	18.17^{e-g}	15.04^{f-i}	50.16^{f-h}
	SA (150 mgL^{-1})	4.65^{l-n}	20.74^{efg}	12.20^{e-k}	0.14^{n}	87.98^{a}	8.47^{jk}	16.35^{e-i}	48.98^{f-h}
	SP (70 mgL^{-1})	4.17^{o}	20.82^{efg}	14.99^{d-h}	0.26^{n}	88.03^{a}	19.67^{de}	21.35^{de}	61.34^{c}
	Sp (140 mgL^{-1})	5.12^{f-k}	19.62^{fg}	14.27^{d-i}	0.24^{n}	87.03^{ab}	9.63^{j}	13.48^{hi}	49.25^{f-h}

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).
Soil moisture percentage based on the farm agricultural capacity is considered as a criterion for different levels of dryness.
a: Redness index, b: Yellow index, and l: light (brightness) index.
Br: brassinosteroid; SA: salicylic acid; SP: spermine

جدول ۶- مقایسه میانگین تأثیر خشکی بر محتوای قند برگ گیاه دارویی خار مریم

Table 6. Means comparison of drought effects on leaf carbohydrate content of *Silybum marianum*

F.C. (%)	90	75	50	25
Leaf soluble carbohydrate content	11.64[a]	11.24[a]	8.80[b]	10.76[a]

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (LSD test).
Soil moisture percentage based on the farm agricultural capacity is considered as a criterion for different levels of dryness.

جدول ۷- همبستگی شاخص‌های رنگ و ظرفیت آنتی اکسیدانی در بذور گیاه دارویی خار مریم

Table 7. Correlation between color indices and antioxidant capacity in *Silybum marianum* seed

Color index	Antioxidant capacity	l	a
l	0.358**	1	-
a	-0.264*	0.050	1
b	0.316**	-0.179	0.656**

* and **: significant at 1 and 5% probability levels, respectively.
a: Redness index, b: Yellow index, and l: light (brightness) index.

بحث

از آنجایی که رطوبت نقش بسیار مهمی در گیاه دارد، کاهش مقدار آن منجر به اثرهای منفی در شاخص‌های مورفولوژیکی و رشدی در گیاه می‌گردد. نتایج پژوهش نشان داد که کاهش ظرفیت زراعی خاک منجر به کاهش معنی‌دار صفات مورفولوژیک مانند سطح برگ، میانگین تعداد برگ، قطر تاج پوشش گیاه، تعداد ساقه فرعی و طول ریشه و قطر طوقه شد. پژوهش‌های قبلی نیز نشان داده است که اعمال تنش خشکی منجر به کاهش معنی‌دار صفات مورفولوژیک در گیاه می‌گردد (Jangpromma *et al.*, 2012؛ Khan *et al.*, 2015؛ Askari & Ehsanzadeh, 2015؛ Hazzoumi *et al.*, 2015؛ Tatrai *et al.*, 2016؛ Mohammadi *et al.*, 2018). کاهش شاخص‌های مورفولوژیکی گیاه تحت تأثیر تنش خشکی احتمالاً با کاهش تقسیم سلولی و کاهش تورژسانس سلولی در ارتباط می‌باشد (Mohammadi et al., 2015). علاوه بر این، مشخص شده است که کاهش ظرفیت آب و تورژسانس سلولی تحت تأثیر تنش خشکی، رشد و توسعه سلول‌ها در برگ و ساقه را کاهش می‌دهد.

ازاین‌رو، از اولین پیامدهای کمبود آب در گیاه، تولید برگ‌های کوچکتر با سطح برگ کمتر و کاهش ارتفاع می‌باشد. به دنبال کاهش سطح برگ در گیاه ظرفیت فتوسنتزی نیز کاهش یافته که در نتیجه آن رشد گیاه و عملکرد آن کاهش می‌یابد (Ashraf & Foolad, 2007). هم‌راستا با نتایج پژوهش، در گیاه مرزنجوش، کاهش تاج پوشش گیاه و ظرفیت فتوسنتزی منجر به کاهش عملکرد پیکره رویشی شد (Said-Al Ahl *et al.*, 2009). علاوه بر این، قرارگیری گیاه آویشن در شرایط تنش خشکی، تعداد و طول شاخه جانبی را کاهش داد (Tatrai *et al.*, 2016). کاهش ارتفاع بوته تحت تأثیر تنش خشکی در سایر پژوهش‌ها نیز تأیید شده است (Ahmed *et al.*, 2002). بیان شده است که کاهش تعداد گرده و میانگره منجر به کاهش ارتفاع در گیاه می‌گردد (Ahmed *et al.*, 2002). نتایج این پژوهش نشان داد که میزان روغن، عملکرد دانه و وزن هزاردانه در گیاه نیز تحت تأثیر تنش خشکی به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. هم‌راستا با نتایج این پژوهش، کاهش رطوبت خاک در گیاه خارمریم منجر به کاهش معنی‌دار وزن هزاردانه، تعداد دانه در کاپیتول، سطح برگ و تعداد شاخه فرعی شد (Mazaraie *et al.*, 2017). کاهش شاخص‌های مرتبط با عملکرد گیاه مانند وزن هزاردانه و تعداد میوه تحت تأثیر تنش خشکی در سایر پژوهش‌ها نیز بیان شده است (Askari & Ehsanzadeh, 2015). با توجه به اینکه تنش خشکی در کدام مرحله یا مراحل رشدی گیاه انجام شود، به یک یا برخی از اجزای عملکرد صدمه وارد می‌کند که در نتیجه آن عملکرد نهایی گیاه نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Paknezhad., 2005). با کاهش ظرفیت فتوسنتزی گیاه،

آسیمیلاسیون کربن دی‌اکسید در برگ، میزان ATP و مقدار آنزیم روبیسکو نیز کاهش می‌یابد. در نتیجه آن مقدار کلروفیل برگ نیز کاهش پیدا می‌کند. تمامی این عوامل اثر مستقیمی بر کاهش بیوماس گیاهی و عملکرد نهایی آن دارند (Silva *et al.*, 2010). به‌طور کلی، کاهش ماده‌سازی و انتقال آن به محل مصرف در شرایط تنش خشکی کاهش شاخص‌های مرتبط با عملکرد را در پی دارد (Reddy *et al.*, 2004).

نتایج پژوهش انجام شده بیانگر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه تحت تأثیر کاهش رطوبت خاک است. البته افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تحت تأثیر تنش در سایر پژوهش‌ها نیز بیان شده است (Khazaei *et al.*, 2019؛ Aghaei & Ahmadkhani, 2022). یکی از روش‌های دفاعی گیاهان در شرایط تنش، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی است. گیاهان به منظور کاهش تأثیرات تنش اکسیداتیو از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌کنند (Wang *et al.*, 2009؛ Lata *et al.*, 2011). رنگ میوه یکی از شاخص‌های کیفی مهم در ارزیابی میوه بوده که عوامل مختلفی مانند محیط و رقم بر آن مؤثر می‌باشد (Jabbari *et al.*, 2019). نتایج پژوهش انجام شده نشان داد که محلول‌پاشی گیاه با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه در شرایط کاهش ظرفیت زراعی خاک منجر به بهبود صفات رشدی در گیاه گردید. اثرهای مثبت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در شرایط تنش در سایر پژوهش‌ها نیز تأیید شده است (Zahedi *et al.*, 2019؛ Zahra *et al.*, 2021). بیان شده است که محلول‌پاشی گیاه با براسینواستروئید در شرایط تنش خشکی بیان ژن‌های مرتبط با پرآوری گیاه و طول شاخساره را افزایش داده است (Sahni *et al.*, 2016).

علاوه بر این، این ترکیب با افزایش تجمع اسید آبسیزیک در گیاه و به دنبال آن کاهش هدایت روزنه‌ای و افزایش نگهداری آب در گیاه تأثیر قابل توجهی در بهبود رشد گیاه در شرایط تنش دارد (Xia *et al.*, 2009). براسینواستروئید فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی را افزایش داده و منجر به کاهش پراکسیداسیون غشای سلول می‌گردد (Mazorra *et al.*, 2011). علاوه بر این، با افزایش تولید کاروتنوئید از تخریب کلروفیل در گیاه ممانعت بعمل می‌آورد (Ali *et al.*, 2007؛ Fariduddin *et al.*, 2009). همچنین استفاده از این ترکیب در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دسموتاز (Yuan *et al.*, 2010) و محتوای کل پروتئین را افزایش می‌دهد. این ترکیبات تحمل گیاه به شرایط تنش را بهبود می‌بخشند (Behnamnia, 2015). در این پژوهش نیز محلول‌پاشی گیاه با براسینواستروئید قطر طوقه، تعداد ساقه جانبی و قطر تاج پوشش گیاه را بهبود بخشید. بهبود تحمل تنش خشکی تحت تأثیر کاربرد پلی‌آمین‌ها مانند اسپرمین در گیاهان گزارش شده است (Doneva *et al.*, 2021؛ Zhang & Huang, 2013). این ترکیبات با بهبود شرایط فتوسنتزی، بیوسنتز هورمون‌های گیاهی (Li *et al.*, 2020)، تثبیت ساختار غشاء، از بین بردن رادیکال‌های آزاد و حفظ تعادل اسمزی (Kubis, 2003) در افزایش تحمل گیاه به تنش نقش دارند. حفظ ظرفیت فتوسنتزی گیاه در مراحل رشد زایشی افزایش تجمع ماده خشک در گیاه را در پی دارد که به دنبال آن عملکرد در گیاه نیز بهبود می‌یابد (Sun *et al.*, 2013؛ Martínez & Guiamet, 2004).

محلول‌پاشی گیاه با اسپرمین با توجه به تأخیر در پیری برگ و افزایش مدت زمان تجمع و ذخیره مواد فتوسنتزی در گیاه، مواد غذایی کافی به منظور تولید دانه میوه در گیاه را فراهم می‌آورد (Chen *et al.*, 2013). در این پژوهش نیز اسپرمین با افزایش قطر تاج پوشش گیاه و افزایش سطح برگ در بهبود شرایط فتوسنتزی گیاه نقش قابل توجهی داشت. ازاین‌رو، محلول‌پاشی گیاه با اسپرمین منجر به افزایش عملکرد میوه و وزن هزاردانه در گیاه گردید. این ترکیب با بهبود ظرفیت فتوسنتزی در تاج پوشش گیاه، تجمع ماده خشک را افزایش داده که در نتیجه آن شاخص‌های عملکردی نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرند. اسید سالیسیلیک به‌عنوان فیتوهورمون گیاهی در کنترل فرایند تنفس گیاهی و باز و بسته شدن روزنه‌ها در شرایط تنش نقش دارد

(Ghilavizadeh *et al.*, 2021). این ماده با افزایش تولید مواد فتوسنتزی و انتقال مواد تولید شده به محل مصرف در بهبود رشد گیاه نقش دارد (Yeganepur *et al.*, 2016). البته بهبود شاخص‌های رشدی و عملکردی گیاه به هنگام کاربرد اسید سالیسیلیک در شرایط تنش خشکی در گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) تأیید شده است (Ghilavizadeh *et al.*, 2021).

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی باید گفت که نتایج پژوهش نشان داده که گیاهان در شرایط رطوبت کافی بهترین عملکرد را داشتند، کاهش میزان رطوبت خاک شاخص‌های رشدی و عملکردی گیاه را کاهش می‌دهد، با این حال محلول‌پاشی گیاه با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی منجر به بهبود شرایط رشدی گیاه در شریط کم آبی می‌شود. کاربرد اسپرمین ۱۴۰ میلی‌گرم در لیتر و اسید سالسیلیک ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در شاخص رنگ بیشترین تأثیر را نسبت به سایر تنظیم‌کننده‌ها داشت. در شرایط کم آبیاری ۵۰٪ و اسپرمین ۱۴۰ میلی‌گرم در لیتر محتوای روغن دانه بیشترین مقدار را دارا بود. نتایج نشان داد که بکار بردن تنظیم‌کننده‌ها در شرایط تنش باعث شد که گیاهان در این شرایط رشد خود را حفظ کرده و عملکرد قابل قبولی داشته باشند. به‌طور کلی، می‌توان بیان کرد که محلول‌پاشی گیاه با استفاده از اسپرمین در غلظت ۱۴۰ میلی‌گرم در لیتر با بهبود صفات رشدی و عملکردی در افزایش مقاومت گیاه به شرایط تنش رطوبتی شده و برای شرایط تنش استفاده از این تنظیم‌کننده توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از دست‌اندرکاران دانشگاه گیلان و مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور به‌دلیل حمایت‌ها و همکاری بی‌دریغ در این پژوهش، قدردانی می‌گردد.

References

- Abdulrazzaq, A., Badr, M., Gammoh, O., Abu Khalil, A., Ghanim, B., Alhussainy, T. and Qinna, N., 2019. Hepatoprotective actions of ascorbic acid, alpha lipoic acid and silymarin or their combination against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Medicina, 55(5): 181.
- Abenavoli, L., Spagnuolo, R., Luppino, I. and Luzza, F., 2010. Recent Progress in Medicinal Plants. Spllc Press. 569p.
- Aghaei, K. and Ahmadkhani, F., 2022. Effect of drought stress on the activity of some antioxidant enzymes and total soluble proteins of thyme (*Thymus vulgaris* L.). Journal of Medicinal Plants Biotechnology, 7(2): 1-7.
- Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y. and Sakuratani, T., 2002. Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mung bean subjected to water logging. Journal Plant Science, 163: 117-123.
- Ali, B., Hayat, S. and Ahmad, A., 2007. 28-Homobrassinolide ameliorates the saline stress in chickpea (*Cicer arietinum* L). Environmental and Experimental Botany, 59: 217-223.
- Andrzejewska, J., Sadowska, K. and Mielcarek, S., 2011. Effect of sowing date and rate on the yield and flavonolignan content of the fruits of milk thistle *(Silybum marianum* L. Gaertn.) grown on light soil in a moderate climate. Industrial Crops and Products, 33: 462-468.
- Anestopoulos, I., Sfakianos, A., Franco, R., Chlichlia, K., Panayiotidis, M., Kroll, D. and Pappa, A., 2016. A novel role of silibinin as a putative epigenetic modulator in human prostate carcinoma. Molecules, 22-62.
- Ashraf, M. and Foolad, M.R., 2007. Roles of glycine, betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.
- Askari, E. and Ehsanzadeh, P., 2015. Osmoregulationmediated differential responses of field-grown fennel genotypes to drought. Industrial Crops and Products, 76: 494-508
- Aziz, M., Saeed, F., Ahmad, N., Ahmad, A., Afzaal, M., Hussain, S., Mohamed, A.A., Alamri, M.S. and Anjum, F.M., 2021. Food science and nutrition. Biochemical profile of milk thistle (*Silybum marianum* L.) with special reference to silymarin content. Food Science and Nutrition, 9: 244-250.
- Bakhshi, D. and Arakawa, O., 2006. Induction of phenolic compound biosynthesis with light irradiation in the Tesh of Red and Yellow Apple.

Journal of Applied Horticulture, 8(2): 101-104.
- Battaglia, M.L. and Lee, C., 2108. Thomason, W. Corn yield components and yield responses to defoliation at different row widths. Agronomy Journal, 110: 1-16.
- Beheshti, H.R., Zhiyani Asgharzadeh, M. and Feyzi, J., 2014. Investigating the physicochemical properties of wheat flours consumed in Razavi Khorasan province. The First National Congress on Snack Foods, 30 April-1 May, Mashhad, Iran.
- Behnamnia, M., 2015. Protective roles of brassinolide on tomato seedlings under drought stress. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 8: 455-462.
- Chen, X.C., Chen, F.J., Chen, Y.L., Gao, Q., Yang, X.L., Yuan, L.X., Zhang, F.S. and Mi, G.H., 2013. Modern maize hybrids in Northeast China exhibit increased yield potential and resource use efficiency despite adverse climate change. Global Change Biology, 19: 923-936.
- Doneva, D., Pal, M., Brankova, L., Szalai, G., Tajti, J., Khalil, R., Ivanovska, B., Velikova, V., Misheva, S. and Janda, T., 2021. The effects of putrescine pre-treatment on osmotic stress responses in drought-tolerant and drought-sensitive wheat seedlings. Physiologia Plantarum, 171: 200-216.
- Estaji, A. and Niknam, F., 2020. Foliar salicylic acid spraying effect on growth, seed oil content, and physiology of drought-stressed *Silybum marianum* L. plant. Agricultural Water Management, 234: 106-116.
- Fallah Huseini, H., Jasemi, E., Saberi, M., Gholibekian, M.R. and Foroutan, B., 2023. A review of medicinal plants used in the treatment of respiratory diseases in Iranian traditional medicine. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants, 2(1): 1-16.
- Fanoudi, S., Alavi, M.S., Karimi, G. and Hosseinzadeh, H., 2020. Milk thistle (*Silybum Marianum*) as an antidote or a protective agent against natural or chemical toxicities: A review. Drug and Chemical Toxicology, 43: 240-254.
- Fariduddin, Q., Khanam, S., Hasan, S.A., Ali, B., Hayat, S. and Ahmad, A., 2009. Effect of 28-homobrassinolide on drought stress induced changes in photosynthesis and antioxidant system of *Brassica juncea* L. Acta Physiology Plant, 31: 889-897.
- Fayez, K.A. and Bazaid, S.A., 2014. Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 13: 45-55.
- Fujita, Y., Fujita, M., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K., 2011. ABA-mediated transcriptional regulation in response to osmotic stress in plants. Journal of Plant Research, 124: 509-525.
- García-Ramírez, M., Turch, M., Simo-Servat, O., Hernandez, C. and Simo, R., 2018. Silymarin prevents diabetes-induced hyperperme ability in human retinal endothelial cells. Endocrinología, Diabetes y Nutrición, 65: 200-205.
- Ghanbari Moheb Seraj, R., Behnamian, M., Ahmadikhah, A., Shariati, V. and Dezhsetan, S., 2022. Effect of Drought Stress on Physiological and Phytochemical Traits of *Silybum marianum* L. Journal of Horticultural Science, 36(1): 135-147.
- Ghavami, N. and Ramin, A., 2008. Grain yield and active substances of milk thistle as affected by soil salinity. Commun. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 39: 2608-2618.
- Ghilavizadeh, A., Hadidi Msouleh, E., Zakerin, H. and Valadabadi, S.A., 2021. Effect of Drought Stress and Different Concentrations of Salicylic Acid on Yield, Yield Components, and Essential Oil of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Journal of Agroecology, 13(1): 89-101.
- Hassan, N., Ebeed, H. and Aljaarany, A., 2020. Exogenous application of spermine and putrescine mitigate adversities of drought stress in wheat by protecting membranes and chloroplast ultra-structure. Physiology and Molecular Biology of Plants, 26: 233-245.
- Hayat, S. and Ahmad, A., 2003. Brassinosteroids: Bioactivity and Crop Productivity, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 246p.
- Hazzoumi, Z., Moustakime,Y., Elharchli, H. and Joutei, K.M., 2015. Effect of *arbuscular mycorrhizal* fungi (AMF) and water stress on growth, phenolic compounds, glandular hairs, and yield of essential oil in basil (*Ocimum gratissimum* L.). Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 2: 1-11.
- Huan, L., Jin-Qiang, W. and Qing, L., 2020. Photosynthesis product allocation and yield in sweet potato with spraying exogenous hormones under drought stress. Journal of Plant Physiology, 253: 153265.
- Hussain, M., Malik, M.A., Farooq, M., Khan, M.B., Akram, M. and Saleem, M.F., 2009. Exogenous glycinebetaine and salicylic acid application improves water relations, allometry and quality of hybrid sunflower under water deficit conditions. Journal of Agronomy and Crop Science, 195: 98-109.
- Irigoyen, J., Einerich, D. and sanchez-Diaz, M., 1992.

Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Journal of plant physiology, 162: 413-420.
- Jabbari, M., Sharifian, M.M. and Yamchi, A., 2019. Relationship of Color Indices with Some Chemical Characteristic in Red and White Apple Cultivars. Plant Productions (Scientific Journal of Agriculture), 42(3): 359-372.
- Jakhar, S. and Sheokand, M., 2015. Effect of foliar application of salicylic acid on photosynthetic pigments and antioxidative enzymes of soybean plant. Agricultural and Food Sciences, 1: 7-15.
- Jangpromma, N., Thammasirirak, S., Jaisil, P. and Songsri, P., 2012. Effects of drought and recovery from drought stress on above ground and root growth, and water use efficiency in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). Australian Journal of Crop Science, 6(8): 1298-1304.
- Karkanis, A., Efthimadou, A. and Bilalis, D., 2011. Cultivation of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.), a medicinal weed. Industrial Crops and Products, 34: 825-830.
- Khamsuk, O., Sonjaroon, W., Suwanwong, S., Jutamanee, K. and Suksamrarn, A., 2018. Effects of 24-epibrassinolide and the synthetic brassinosteroid mimic on chili pepper under drought. Acta Physiologiae Plantarum, 40: 1-12.
- Khan, M.B., Hussain, M., Raza, A., Farooq, S. and Jabran, K., 2015. Seed priming with $CaCl_2$ and ridge planting for improved drought resistance in maize. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 39: 193-203.
- Khazaei, M., Galavi, M., Dahmardeh, M., Moosavi-Nik, S.M., Zamani, G. and Mahdi-Nejad, N., 2019. Effect of drought stress on antioxidant activity and yield in several genotype Foxtail Millet (*Setaria italica* L.) . Plant Process and Function, 7(27): 269-280.
- Kiani, S.P., Talia, P., Maury, P., Grieu, P., Heinz, R., Perrault, A., Nishinakamasu, V., Hopp, E., Gentzbittel, L., Paniego, N. and Sarrafi, A., 2007. Genetic analysis of plant water status and osmotic adjustment in recombinant inbred lines of sunflower under two water treatments. Plant Science, 172: 773-787.
- Kim, S.H., Choo, G.S., Yoo, E.S., Woo, J.S., Han, S.H., Lee, J.H. and Jung, J.Y., 2019. Silymarin induces inhibition of growth and apoptosis through modulation of the MAPK signaling pathway in AGS human gastric cancer cells. Oncology Reports, 42: 1904-1914.
- Kubis, J., 2003. Polyamines and "scavenging system": Influence of exogenous spermidine on catalase and guaiacol peroxidase activities, and free polyamine level in barley leaves under water deficit. Acta Physiologiae Plantarum, 25: 337-343.
- Lata, C., Jha, S., Sreenivasulu, N. and Prasad, M., 2011. Differential antioxidative responses to dehydration-induced oxidative stress in core set of foxtail millet cultivars. Protoplasm, 248: 817-828.
- Latif, M., Akram, N.A. and Ashraf, M., 2016. Regulation of some biochemical attributes in drought-stressed cauliflower (*Brassica oleracea* L.) by seed pre-treatment with ascorbic acid. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 91: 129-137.
- Li, G., Liang, Z., Li, Y., Liao, Y. and Liu, Y., 2020. Exogenous spermidine regulates starch synthesis and the antioxidant system to promote wheat grain filling under drought stress. Acta Physiologiae Plantarum, 42(7): 110.
- Li, J., Hu, L., Zhou, T., Gong, X., Jiang, R., Li, H., Kuang, G., Wan, J. and Li, H., 2019. Taxifolin inhibits breast cancer cells proliferation, migration and invasion by promoting mesenchymal to epithelial transition via β catenin signaling. Life Sciences, 232: 116617-116627.
- Libster, M., 2002. Delmar′s integrative herb guide for nurses. Thamson Learning. pp: 669-77.
- Lima, J.V. and Lobato, A.K.S., 2017. Brassinosteroids improve photosystem II efficiency, gas exchange, antioxidant enzymes and growth of cowpea plants exposed to water deficit. Physiology and Molecular Biology of Plants, 23: 59-72.
- Lucini, L., Kane, D., Pellizzoni, M., Ferrari, A., Trevisi, E., Ruzickova, G. and Arslane, D., 2016. Phenolic profile and in vitro antioxidant power of different milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] cultivars. Industrial Crops and Products, 83: 11-16.
- Mardani, H., Bayat, H., Saeidnejad, A.H. and Rezaie, E., 2012. Assessment of Salicylic Acid Impacts on Seedling Characteristic of Cucumber (*Cucumis sativus* L.) under Water Stress. Notulae Scientia Biologicae, 4(1): 112-115.
- Martínez, D. and Guiamet, J., 2004. Distortion of the SPAD 502 chlorophyll meter readings by changes in irradiance and leaf water status. Agronomie, 24: 41-46.
- Mazaraie, A., Sirousmehr, A.R. and Babaei, Z., 2017. Effect of mycorrhizal fungi on some morphological & physiological charactristics of Milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) under drought stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 33(4): 621-635.

- Mazorra, L.M., Holton, N., Bishop, G.J. and Nunez, M., 2011. Response in tomato brassinosteroid mutants indicates that thermotolerance is independent of brassinosteroid homeostasis. Plant Physiology Biochemistry, 49: 1420-1428.
- Mohammadi, H., Esmailpour, M., Ghorbi, S. and Hatami, M., 2018. Physiological and biochemical changes in *Matricaria chamomilla* induced by Pseudomonas fluorescens and water deficit stress. Acta Agriculturae Slovenica, 111(1): 63-72.
- Ortiz, N., Armada, E., Duque, E., Roldán, A. and Azcón, R., 2015. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. Journal of Plant Physiology, 174: 87-96.
- Paknezhad, F., 2005. Effects of water stress on indices, physiological function and yield components of wheat cultivars. Thesis Ph.D., Islamic Azad University, Science and Research,
- Parry, J., Hao, Z., Luther, M., Su, L., Zhou, K. and Yu, L.L., 2006. Characterization of cold-pressed onion, parsley, cardamom, mullein, roasted pumpkin, and milk thistle seed oils. Journal of the American Oil Chemistts' Society, 83: 847-854.
- Patel, S., 2015. Emerging bioresources with nutraceutical and pharmaceutical prospects. Springer, Berlin, 131p.
- Porwal, O., Mohammed Ameen, M.S., Anwer, E. Uthirapathy, S. and Ahmad, J., 2019. Silybum marianum (Milk Thistle): Review on Its chemistry, morphology, ethno medical uses, phytochemistry and pharmacological activities. Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 9: 199-206.
- Pradhan, S. and Girish, C., 2006. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. Indian Journal of Medical Research, 124: 491-504.
- Rajjou, L., Belghazi, M., Huguet, R., Robin, C., Moreau, A., Job, C. and Job, D., 2006. Proteomic Investigation of the Effect of Salicylic Acid on Arabidopsis Seed Germination and Establishment of Early Defense Mechanisms. Plant Physiology, 141: 910-923.
- Raza, M.A.S, Saleem, M.F., Anjum, S.A., Khaliq, T. and Wahid, M.A., 2012. Foliar application of potassium under water deficit conditions improved the growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Animal and Plant Sciences, 22: 431-437.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M., 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology, 161: 1189-1202.
- Sahni, S., Prasad, B.D., Liu, Q., Grbic, V., Sharpe, A., Singh, S.P. and Krishna, P., 2016. Overexpression of the brassinosteroid biosynthetic gene DWF4 in *Brassica napus* simultaneously increases seed yield and stress tolerance. Scientific Reports, 6: 1-4.
- Said-Al Ahl, H.A.H., Omer, E.A. and Naguib, N.Y. 2009. Effect of water stress and nitrogen fertilizer on herb and essential oil of oregano. International Agrophysics, 23(3): 269-275
- Seleiman, M.F., Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., Dindaroglu, T., Abdul-Wajid, H.H. and Battaglia, M.L., 2021. Drought Stress Impacts on Plants and Different Approaches to Alleviate Its Adverse Effects. Plants, 10(2): 259.
- Silva, E.N., Ribeiro, R.V., Ferreira-Silva, S.L., Viegas, R.A. and Silveira, J.A.G., 2010. Comparative effects of salinity and water stress on photosynthesis, water relations and growth of *Jatropha curcas* plants. Journal of Arid Environments, 74(10): 1130-1137.
- Singh, B. and Usha, K., 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regulation, 39:137-141.
- Sun, X.F., Ding, Z.S., Hou, H.P., Ge, J.Z., Tang, L. and Zhao, M., 2013. Post-anthesis photosynthetic assimilation and the changes of carbon and nitrogen in different varieties of spring maize. Acta Agronomica Sinica, 39: 1284-1292.
- Talaat, N.B., 2020. 24-Epibrassinolide and Spermine combined treatment sustains maize (*Zea mays* L.) drought tolerance by improving photosynthetic efficiency and altering phytohormones profile. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 20: 516-529.
- Tamayo, C. and Diamond, S., 2007. Review of clinical trials evaluating safety and efficacy of milk thistle (*Silybum marianum* [L.] Gaertn.). Integrative Cancer Therapies, 6: 146-157.
- Tatrai, Z.A., Sanoubar, R., Pluhr, Z., Mancarella, S., Orsini, F. and Gianquinto, G., 2016. Morphological and physiological plant responses to drought stress in *Thymus citriodorus*. International Journal of Agronomy, 20(16): 1-8.
- Vaidya, A.S., Helander, J., Peterson, F.C., Elzinga, D., Dejonghe, W., Kaundal, A., Park, S.Y., Xing, Z., Mega, R. and Takeuchi, J., 2019. Dynamic control of plant water use using designed ABA receptor agonists. Science, 366: eaaw8848.
- Veroneze-Junior, V., Martins, M., McLeod, L., Souza, K., Santos-Filho, P.R., Magalhaes, P.C., Carvalho, D.T., Santos, M.H. and Souza, T.C., 2020. Leaf application of chitosan and physiological evaluation

of maize hybrids contrasting for drought tolerance under water restriction. Brazilian Journal of Biology, 80: 631-640.
- Vicente, M.R. and Plasencia, J., 2011. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. Journal of Experimental Botany, 62(10): 3321-3338.
- Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y. and Deng, X.P., 2009. Analysis of antioxidant enzymes activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiology and Biochemistry, 47: 570-577.
- Wojdyło, A., Oszmianski, J. and Czemerys, R., 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food Chemistry, 105: 940-949.
- Xia, X.J., Wang, Y.J., Zhou, Y.H., Tao, Y., Mao, W.H., Shi, K., Asami, T., Chen, Z.X. and Yu, J.Q. 2009. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber. Plant Physiology, 150: 801-814.
- Xiao, W., Fulai, L. and Dong, J., 2017. Priming: a promising strategy for crop production in response to future climate. Journal of Integrative Agriculture, 16: 60345-60352.
- Yeganepur, F., Zehtab Salmasi, S., Shafagh, J. and Ghasemi Golozani, K., 2016. Effect of drought stress chemical and biofertilizer and salicylic acid on grain yield and yield components of coriander (*Coriandrum sativum* L.). Journal of Crop Production, 9: 37-55.
- Yiu, J.C., Liu, C.W., Fang, D.Y.T. and Lai, Y.S., 2009. Waterlogging tolerance of Welsh Onion (*Allium Fistulosum* L.) enhanced by exogenous spermidine and spermine. Plant Physiology and Biochemistry, 47: 710-716.
- Yuan, G.F., Jia, C.G., Li, Z., Sun, B., Zhang, L.P., Liu, N. and Wang, G.M., 2010. Effect of brassinosteroids on drought resistance and abscisic acid concentration in tomato under water stress. Scientia Horticulturae, 126: 103-108.
- Zahedi, M., Hosseini, M.S. and Karimi, M., 2019. The effects of drought stress and brassinosteroid solution spray on some morphological, physiological and biochemical characteristics of wild pear (*Pyrus biossieriana* Buhse. Plant Process and Function, 8(29): 181-192
- Zahra, N., Wahid, A., Bilal Hafeez, M., Alyemeni, M.N., Shah, T. and Ahmad, P., 2021. Plant growth promoters mediated quality and yield attributes of milk thistle (*Silybum marianum* L.) ecotypes under salinity stress. Scientific reports, 11: 23200.
- Zhang, C. and Huang, Z., 2013. Effects of endogenous abscisic acid, jasmonic acid, polyamines, and polyamine oxidase activity in tomato seedlings under drought stress. Scientia Horticulturae, 159: 172-177.