

Study of some morphological, physiological traits and antioxidant enzymes activity in *Sonchus arvensis* L. under salt stress

Fariba Ghaderi¹, Babak Abdollahi Mandoulakani^{*2}

1. Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
E-mail: fariba.ghaderi88@gmail.com
2. Corresponding Author, Professor, Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran,
E-mail: b.abdollahi@urmia.ac.ir

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 02.06.2023

Revised: 02.26.2023

Accepted: 03.19.2023

Keywords:

Relative water content,
Root dry weight,
Salinity,
Sonchus arvensis,
Superoxide dismutase

ABSTRACT

Background and Objectives: Perennial sow-thistle (*Sonchus arvensis* L.) is a medicinal plant belong to the sunflower family with anti-diabetic, anti-depressant and anti-cancer properties. The crisis of salinization of agricultural lands is considered as one of the most important problems of the world and Iran, and as an environmental stress, it has a direct effect on many plant characteristics under stress. Since there is little information about the response of *Sonchus* plant to salinity stress, the present experiment was conducted to investigate the effect of salinity on some morphological and physiological traits as well as the activity of antioxidant enzymes under salinity conditions.

Materials and Methods: The experiment was conducted as a completely randomized design with three repetitions in 2018 in the greenhouse of the Faculty of Agriculture of Urmia University. Salinity stress was applied at four levels (0, 50, 100 and 150 mM of NaCl salt) at the 6-8 leaf stage, and shoot dry weight, root dry weight and root length were recorded. Also, photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids), protein content, relative leaf water content (RWC), proline and carbohydrate contents, antioxidant capacity (DPPH and FRAP) and the activity of antioxidant enzymes including catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (PX) were measured in the lower and middle leaves of the plants. Analysis of variance (ANOVA) for the obtained data and comparison of the means of the treatments using Duncan's test were implemented in SAS 9.4 software.

Results: The results showed that root length, root dry weight and shoot dry weight decrease significantly with increasing salinity level. Also, the content of chlorophyll a and b increased in salinity conditions, while salinity decreased the amounts of carotenoids. The highest amount of chlorophyll was observed in the lower leaf under 150 mM NaCl. The content of protein, proline and soluble sugar was enhanced with increasing salinity level; the maximum amount of these parameters was observed in the middle leaf at 150 mM NaCl. The highest amount of total phenolic and flavonoid compounds was observed at the stress level of 50 mM NaCl. The content of sodium ion (Na⁺) increased with increasing salinity level, while the amount of potassium ion (K⁺) declined. The activity of superoxide dismutase, catalase, peroxidase and ascorbate peroxidase enzymes, as well as FRAP and DPPH antioxidant capacity increased in salinity conditions.

Conclusion: According to the obtained results, it can be concluded that *Sonchus arvensis* plant copes with salinity through increasing some osmolytes under stress conditions. Moreover, an enhancement of the amount of chlorophyll a and b at high levels of salinity showed that *Sonchus arvensis* is probably a salt-tolerant plant.

Cite this article: Ghaderi, Fariba, Abdollahi Mandoulakani, Babak. 2024. Study of some morphological, physiological traits and antioxidant enzymes activity in *Sonchus arvensis* L. under salt stress. *Journal of Plant Production Research*, 31 (2), 65-84.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/JOPP.2023.21053.3012

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

مطالعه برخی صفات ریخت‌شناسی، فیزیولوژیک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه شیرتیغ (*Sonchus arvensis* L.) تحت تنش شوری

فربا قادری^۱، بابک عبدالهی مندولکانی^{۲*}

۱. دانشجوی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
رایانامه: fariba.ghaderi88@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
رایانامه: b.abdollahi@urmia.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی	سابقه و هدف: شیرتیغ (<i>Sonchus arvensis</i> L.) گیاهی دارویی از خانواده آفتابگردان (<i>Asteracea</i>) است که دارای خواص ضد دیابتی، ضد افسردگی و ضد سرطانی می‌باشد. بحران شور شدن زمین‌های کشاورزی به عنوان یکی از مهم‌ترین مشکلات حال حاضر جهان و ایران می‌باشد و شوری به عنوان یک تنش محیطی تأثیر مستقیمی بر بسیاری از خصوصیات گیاه دارد. از آنجایی که اطلاعات کمی در مورد پاسخ گیاه شیرتیغ به تنش شوری وجود دارد، آزمایش حاضر به منظور بررسی اثر شوری بر برخی صفات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی و هم‌چنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه شیرتیغ انجام شد.
واژه‌های کلیدی: سوپراکسید دیسموتاز، شوری، شیرتیغ، محتوای نسبی آب، وزن خشک ریشه	مواد و روش‌ها: آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۸ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. تنش شوری در چهار سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار نمک NaCl) در مرحله ۶ تا ۸ برگی اعمال و وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و طول ریشه اندازه‌گیری شد. هم‌چنین میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئیدها)، محتوای پروتئین، محتوای نسبی آب برگ (RWC)، محتوای پرولین و کربوهیدرات، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH و FRAP) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و پراکسیداز (PX)، در برگ‌های پایینی و میانی مطالعه شد. تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 انجام گرفت.
	یافته‌ها: نتایج نشان داد که با افزایش سطح شوری طول ریشه، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. هم‌چنین با افزایش سطح شوری میزان کلروفیل a

و b افزایش ولی میزان کارتنوئید کاهش یافت به طوری که بیشترین میزان کلروفیل در برگ پایینی در تیمار ۱۵۰ میلی مولار نمک مشاهده شد. محتوای پروتئین، پرولین و قند محلول با افزایش سطح شوری افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان این پارامترها در برگ میانی در تنش ۱۵۰ میلی مولار مشاهده شد. بیشترین مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئید کل در تنش ۵۰ میلی مولار مشاهده شد. محتوای یون سدیم (Na^+) با زیاد شدن سطح شوری افزایش ولی میزان یون پتاسیم (K^+) کاهش نشان داد. فعالیت آنزیمهای سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و فعالیت ظرفیت آنتی اکسیدانتهی FRAP و DPPH با افزایش سطح شوری افزایش یافت.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصل می توان چنین بیان نمود که گیاه شیرتیغک از طریق افزایش برخی اسمولیتها در شرایط تنش با شوری مقابله می کند. هم چنین افزایش میزان کلروفیل a و b در سطوح بالای شوری نشان داد که احتمالاً گیاه شیرتیغک یک گیاه مقاوم به شوری می باشد.

استناد: قادری، فریبا، عبدالهی مندولکانی، بابک (۱۴۰۳). مطالعه برخی صفات ریخت شناسی، فیزیولوژیک و فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی در گیاه شیرتیغک (*Sonchus arvensis* L.) تحت تنش شوری. نشریه پژوهش های تولید گیاهی، ۳۱ (۲)، ۸۴-۶۵.

DOI: 10.22069/JOPP.2023.21053.3012



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

شیرتیغک (*Sonchus arvensis* L.) گیاهی دارویی از خانواده آفتابگردان (*Asteracea*) است و بیش از ۵۰ گونه مختلف در سرتاسر جهان دارد (۱). ساقه این گیاه تو خالی و شیره شیری رنگ دارد و قسمت‌های پایینی آن بعداً در بهار رنگ بنفش به خود می‌گیرد. شکل برگ‌ها با توجه به سن گیاه متفاوت بوده و برگ‌های قدیمی بسیار خراشیده هستند. گونه *S. arvensis* چندساله است و در نواحی مختلف آب و هوایی پراکندگی دارد. این گیاه بومی اروپا، آفریقای شمالی و آسیای شرقی است و در اغلب زمین‌های کشاورزی، حاشیه مزارع، باغات و زمین‌های بایر یافت می‌شود (۲). گیاهان دارویی به دلیل ترکیبات مفیدی که از آنها شناسایی و استخراج می‌شود بیش‌تر مورد توجه قرار گرفته‌اند (۳). دانشمندان و متخصصان تغذیه نشان دادند که کیفیت تغذیه‌ای و دارویی گونه‌های مختلف شیرتیغک بسیار بیش‌تر از سایر سبزیجات برگ‌دار است (۴). بیش‌تر پژوهش‌گران بر این باورند که خواص دارویی شیرتیغک مربوط به ترکیبات فنلی آن است (۵). تجزیه فیتوشیمیایی عصاره شیرتیغک وجود متابولیت‌های ثانویه از جمله اسید کلروژنیک، اپی ژنین، لوتئولین، کافئیک اسید، کافتاریک اسید، روتین، ایزوکوئرستین و کوئرستین را نشان داده که اسید کلروژنیک ترکیب عمده آن محسوب می‌شود (۶ و ۷). اسید کلروژنیک یک ترکیب فنلی مهم است که به‌وسیله گونه‌های خاصی از گیاهان تولید می‌شود. ترکیبات فنلی در نقش آنتی‌اکسیدان‌ها نمایان شده و نقش مهمی در مقابله با بیماری‌های قلبی-عروقی و برخی سرطان‌ها ایفا می‌کنند (۸).

طبق گزارش فائو بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار زمین در سراسر جهان در معرض تنش شوری واقع می‌باشد. این مقدار در حدود ۶ درصد از مجموع

مساحت زمین‌های جهان را شامل می‌شود (۹). معمولاً خاکی که رسانایی الکتریکی آن در حدود ۴ دسی‌زیمنس بر متر یا بیش‌تر باشد (برابر با ۴۰ میلی‌مولار NaCl) خاک شور در نظر گرفته می‌شود (۱۰). تنش شوری باعث ایجاد فشار اسمزی در گیاه شده و نهایتاً باعث کمبود آب در دسترس گیاهان می‌شود (۱۱). شوری از جهات مختلف فیزیولوژیکی، ریخت‌شناسی و زیست‌شیمیایی گیاهان را دچار تغییرات اساسی می‌کند. از جمله سازگاری‌های گیاهان در مواجهه با تنش می‌توان به تغییرات در میزان انباشت پروتئین‌ها، تغییرات فشار اسمزی، کاهش سطح برگ، تغییر رنگدانه‌ها و گسترش ریشه اشاره کرد (۱۲). همچنین تنش شوری با افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در سطح درون‌سلولی می‌شود (۹). گیاهان در مقابله با تنش اکسیداتیو از مکانیسم‌های سم‌زدایی آنزیمی و غیرآنزیمی استفاده می‌کنند (۱۳). از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌توان سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD) و کاتالاز (CAT) را نام برد (۱۴). در گیاه عدس الملک (*Securidaca securigera* L.) افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سطوح بالای تنش شوری گزارش شده است (۱۵). اقدسی و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که در گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) در پی افزایش تیمار شوری افزایش قابل‌توجهی در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد (۱۶). در اغلب گیاهان مانند کتان (۱۷)، آویشن باغی (۱۸) و بسیاری از گیاهان دیگر (۱۴)، تجمع ROSها منجر به از بین رفتن رنگدانه‌های فتوسنتزی شده و این گیاهان با کاهش میزان کلروفیل مواجه می‌شوند. البته در برخی گیاهان رنگیزه‌های کلروپلاستی در شرایط تنش افزایش می‌یابند. در پژوهشی که روی گیاه دارویی بابونه (*Matricaria chamomilla*) انجام گرفت

دارویی، بررسی گونه‌های دارویی تحت استرس شوری و استفاده بهینه از این تنش در جهت کسب راندمان بهتر اقتصادی از زمین‌هایی که به حالت نکاشت درخواهند آمد موضوعی مهم و کاربردی است. از آنجایی که گیاه شیرتیغک دارای خواص دارویی ارزشمندی می‌باشد و تاکنون پژوهش مشابهی بر روی آن در وضعیت استرس شوری صورت نگرفته است بنابراین آزمایش حاضر با هدف بررسی برخی صفات ریخت‌شناسی، فیزیولوژیک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط شوری در گیاه شیرتیغک انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه شیرتیغک از شرکت زرین گیاه (ارومیه، ایران) تهیه شد. جهت شکستن خواب بذر، ابتدا بذرها به مدت سه شبانه‌روز در دمای یخچال نگهداری و سپس به مدت دو روز در دمای اتاق قرار گرفت. بذرها در سینی کشت با بستر پیت ماس در فضای گلخانه کشت شد. بعد از آن نشاهای چندبرگی به گلدان‌های بزرگ‌تری انتقال داده شد. برای هر واحد آزمایشی ۳ گلدان (پلاستیکی ۱۰ کیلویی) با خاک شنی، لومی، رسی (جدول ۱) پر شد و به هر گلدان سه نشا انتقال داده شد.

افزایش میزان رنگیزه‌ها در تنش شوری ملایم گزارش شد (۱۹). از دیگر مکانیسم‌های فیزیولوژیکی گیاهان در مواجهه با تنش شوری می‌توان تجمع املاح سازگار مانند پرولین، قند محلول و پروتئین محلول را ذکر کرد (۲۰). افزایش پرولین در آویشن باغی (۱۸) و افزایش قند محلول و پروتئین در گیاه دارویی سرخارگل (۱۶) با افزایش سطح تنش شوری در اندام‌های هوایی این گیاهان گزارش شده است.

در بسیاری از پژوهش‌ها مشخص شده که نوع برگ‌های گیاه (برگ‌های پیر یا پایینی و برگ‌های میانی ساقه و جوان‌تر) بر کیفیت مواد استحصالی از گیاه تأثیر دارد به طوری که برگ‌های میانی گیاه دارای غلظت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تری نسبت به برگ‌های پایینی می‌باشد. اوپو و همکاران (۲۱) در گیاه شیرتیغک نیز نشان دادند که تغییرات ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های میانی بیش‌تر از برگ‌های پایینی است به طوری که میزان غلظت سه ترکیب کلیدی، اسید کلروژنیک، شیکوریک اسید و کافتاریک اسید در برگ‌های میانی بیش‌تر از برگ‌های پایینی این گیاه بودند.

با توجه به شرایط اقلیمی ایران و بحران شور شدن زمین‌های زراعی به خصوص در شمال‌غرب کشور (به‌خاطر خشک شدن دریاچه ارومیه)، و با تکیه بر پتانسیل بالقوه این منطقه در تنوع گونه‌های وحشی

جدول ۱- خصوصیات خاک مورد استفاده در آزمایش.

Table 1. Characteristics of soil used in the experiment.

K	P	N	رس Clay	لوم Loam	شن Sand
	(mg.kg ⁻¹)			(%)	
188	19.7	0.08	22	22.5	55

سفید رنگ حاصله با اسیدکلریدریک ترکیب و مقادیر این عناصر با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر (Model 926, Sherwood scientific, UK)، تعیین گردید (۲۵ و ۲۶). جهت سنجش غلظت پروتئین‌های محلول از روش برادفورد (۲۷) استفاده گردید و منحنی استاندارد در چهار غلظت متفاوت تهیه شد. سپس قرائت در طول موج ۵۹۵ نانومتر انجام گرفت. برای سنجش پرولین از روش باتیس و همکاران (۲۸) استفاده شد و قرائت در طول موج ۵۲۰ نانومتر صورت گرفت. قندهای محلول به روش فالس (۲۹) در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید. برای سنجش فنول کل از روش مدا و همکاران (۳۰) استفاده شد و قرائت در طول موج ۷۶۰ نانومتر انجام شد. فلاونوئید کل با روش سینگلتن و روسسی (۳۱) استخراج و در طول موج ۴۱۴ قرائت شد. برای ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (FRAP و DPPH) از روش لی و همکاران (۳۲) استفاده شد و قرائت به ترتیب در طول موج‌های ۵۹۳ و ۵۱۵ صورت گرفت.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: به منظور سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز از روش چانک و میلهی (۳۳) استفاده شد و فعالیت این دو آنزیم به وسیله اسپکتروفتومتر و به ترتیب در طول موج‌های ۲۴۰ و ۴۲۰ قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از آسکوربات انجام و قرائت آن در طول موج ۲۹۰ نانومتر صورت گرفت (۳۴). فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به روش بیوچامپ و فریدوویچ (۳۵) و در طول موج ۲۶۰ نانومتر قرائت شد. قرائت شاهد در اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز یکبار در تاریکی و یکبار در روشنایی انجام گرفت.

تجزیه داده‌ها: آزمایش حاضر در گلخانه به صورت طرح کاملاً تصادفی پیاده شد. تجزیه واریانس برای صفات ریخت‌شناسی اندازه‌گیری شده شامل وزن

تیمار شوری در سطوح صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار نمک NaCl اعمال شد. برای جلوگیری از اعمال استرس آبی و یکدفعه‌ای به گیاهان، تیمارهای شوری به تدریج اعمال شد. بدین صورت که در ابتدا تیمارها به غیر از تیمار شاهد، با آب شور ۵۰ میلی‌مولار آبیاری شدند و در روزهای بعد در هر سری آبیاری ۵۰ میلی‌مولار به آب آبیاری اضافه شد. هر بار از آب خروجی از ته گلدان‌ها برای اندازه‌گیری EC خاک استفاده شد و تا رسیدن به شوری موردنظر، آبیاری با آب شور ادامه یافت (۲۲). در واقع تنش شوری در مرحله ۶ تا ۸ برگی به صورت تدریجی تا زمان کامل شدن رشد رویشی گیاه (به مدت دو ماه) اعمال شد. بعد از اعمال تنش، در مرحله قبل از گلدهی نمونه‌برداری از برگ‌های میانی و پایینی گیاهان انجام گرفت و نمونه‌های برگی تهیه شده بعد از منجمد شدن در ازت مایع به فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل و نگهداری شدند.

اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناسی: به منظور محاسبه وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه در دستگاه آون قرار داده شد و سپس با ترازوی دیجیتال دقیق با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند. طول ریشه نیز اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک: محتوای نسبی آب برگ (RWC) به روش ریچی و نگوین (۲۳) اندازه‌گیری شد. سنجش کلروفیل و کارتنوئید به روش لیچنتنالر و همکاران (۲۴) انجام شد و جذب نوری عصاره به دست آمده در طول موج‌های ۶۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر (Dynamica Halo DB-20، انگلستان) قرائت شد (۲۴).

محتوای کلروفیل a و b نمونه‌ها و مقدار کارتنوئید، بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک اندازه‌گیری شد. به منظور اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم بخش هوایی، ابتدا نمونه‌ها در کوره سوزانده شدند. سپس خاکستر

شد (شکل ۱). در گیاه دارویی خار مریم، کاهش ۳۸ درصدی در ارتفاع و مؤلفه‌های رشدی این گیاه از سطح شاهد تا ۱۲۰ میلی‌مولار شوری گزارش شد (۳۶). هم‌چنین حدود ۶۴ درصد کاهش در وزن خشک اندام هوایی گیاه کاسنی از سطح شاهد تا شوری ۲۰۰ میلی‌مولار گزارش شده است (۳۷). کاهش در مقدار وزن اندام هوایی یکی از اولین واکنش‌های ریخت‌شناسی گیاه در مواجهه با استرس شوری می‌باشد. شوری پتانسیل اسمزی در محلول خاک را کاهش می‌دهد و دسترسی گیاه به آب را مختل می‌کند و به دنبال آن پیامدهای ناشی از کمبود آب از جمله لوله‌ای شدن برگ و کوچک شدن پهنای برگ، کاهش ارتفاع گیاه، کاهش فتوسنتز و مواد فتوسنتزی در گیاه پدیدار شده و در پی آن منجر به کاهش وزن خشک اندام هوایی گیاه می‌شود (۳۸). طول ریشه و وزن خشک ریشه نیز در راستای بیش‌تر شدن تیمار شوری کاهش یافت (شکل ۱). در گیاه کاسنی کاهش ۵۰ و ۸۰ درصدی در وزن خشک ریشه در شوری به ترتیب ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک طعام نسبت به تیمار شاهد گزارش شد (۳۹). به نظر می‌رسد زمانی که گیاه تحت استرس شوری قرار می‌گیرد به دلیل کاهش توانایی گیاه در جذب آب، رشد ریشه‌ها کاهش پیدا کرده و در نتیجه وزن خشک ریشه نیز کاهش می‌یابد (۴۰).

خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و طول ریشه به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت ولی از آنجایی که سایر صفات از جمله فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات اسمولیتی، میزان پرولین و پروتئین و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به صورت جداگانه هم در برگ میانی هم در برگ پایینی اندازه‌گیری شد بنابراین برای این صفات برگ به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شد و تجزیه واریانس مربوط به این صفات به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین تیمارها بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن با استفاده نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام گرفت.

نتایج و بحث

صفات ریخت‌شناسی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اعمال استرس شوری تأثیر معنی‌داری بر هر سه صفت وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و طول ریشه دارد (جدول ۲). با افزایش سطوح تیمار شوری طول ریشه، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی به میزان قابل توجهی کاهش یافت به طوری که در تیمار شاهد بیش‌ترین میزان و کم‌ترین میزان برای هر سه صفت اندازه‌گیری شده (کاهش ۶۵/۶۳ درصد وزن خشک اندام هوایی نسبت به تیمار شاهد) در تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار (معادل ۱۰ دسی‌زیمنس نمک کلرید سدیم) مشاهده

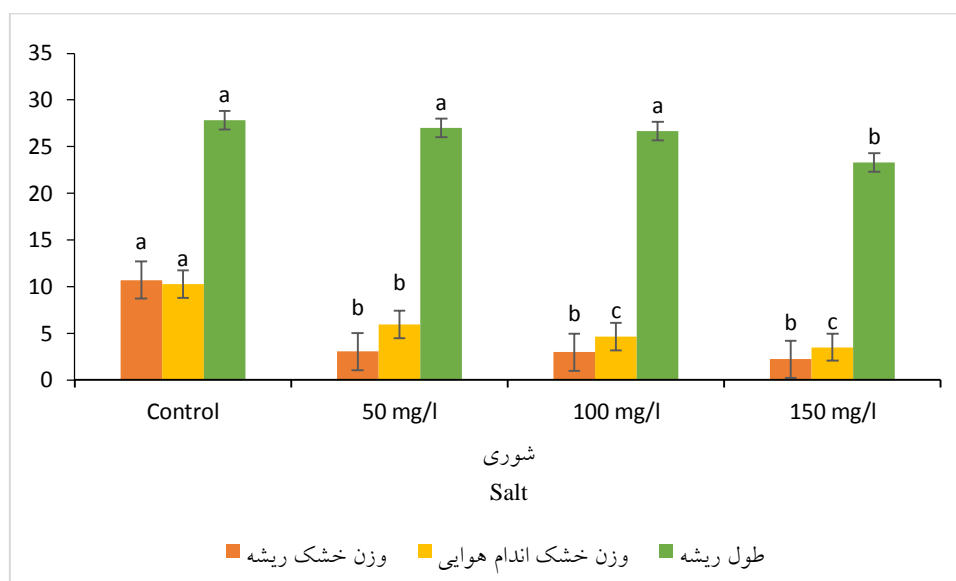
جدول ۲- تجزیه واریانس صفات ریخت‌شناسی در گیاه شیرتیغک در شرایط تنش شوری.

Table 2. Analysis of variance for morphological traits in *Sunchus arvensis* L. in salt stress conditions.

طول ریشه Root Length	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V
11.74**	47.54**	25.97**	3	شوری Salinity
1.93	0.309	0.44	8	خطا Error
5.31	11.69	10.85		ضریب تغییرات CV (%)

**، *، ns به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم تأثیر معنی‌دار هستند

**، *، ns Show significant differences at 1% and 5% levels and no significant difference, respectively



شکل ۱- اثر شوری بر طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه در گیاه شیرتیغک.

Fig. 1. The effect of salinity stress on root length, shoot dry weight and root dry weight in *Sonchus arvensis*.

مواجهه با تنش انجام می‌دهد کاهش محتوای نسبی آب است. افزایش شوری سبب از بین رفتن آماس سلولی شده و در نهایت منجر به کاهش محتوای نسبی آب گیاه می‌شود. این کاهش احتمالاً به دلیل به هم خوردن تعادل بین تعرق و جذب آب در گیاه می‌باشد. البته ضعف در سیستم‌های ریشه گیاه در وضعیت تنش شوری نیز ممکن است در کاهش محتوای نسبی آب مؤثر باشد. در پی افزایش تنش شوری املاح در اطراف ریشه بیش‌تر تجمع می‌یابد، ریشه‌ها سنگین شده و سطح جذب آب تحلیل رفته و برای گیاه امکان جبران میزان آبی که به دلیل وضعیت تنشی در آن قرار گرفته فراهم نیست (۴۲).

صفات فیزیولوژیک: نتایج نشان داد که اثر متقابل شوری در برگ بر محتوای نسبی آب معنی‌دار می‌باشد (جدول ۳). بیش‌ترین میزان محتوای نسبی آب در تیمار شاهد در برگ پایینی و کم‌ترین مقدار آن در تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار نمک در برگ میانی مشاهده شد (جدول ۴). در گیاه خارمریم نیز کاهش محتوای نسبی آب در سطوح بالاتر شوری مشاهده شد (۴۱). حسینی و همکاران (۱۸) در مطالعه اثر تیمار شوری ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار بر گیاه دارویی آویشن باغی گزارش کردند که در پی بالا رفتن سطوح تیمار شوری به‌طور معنی‌داری محتوای آب نسبی برگ کاهش می‌یابد. یکی از اولین واکنش‌هایی که گیاه در

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک در گیاه شیرتیغک در شرایط تنش شوری.

Table 3. Analysis of variance for physiological traits in *Sunchus arvensis* L. under salt stress conditions.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	محتوای نسبی آب Relative water content	کلروفیل Chlorophyll a	کلروفیل Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid	محتوای پتاسیم Potassium content	محتوای سدیم Sodium content	نسبت سدیم به پتاسیم Na ⁺ /K ⁺	قند محلول Soluble sugars
شوری Salinity	3	429.82**	0.59**	100.33**	3.54**	366/53**	270.68**	1.10**	1.87**
برگ Leaf	1	43.190**	0.71**	257.33**	0.69 ^{ns}	3.01 ^{ns}	2.041 ^{ns}	0.124**	0.035**
شوری × برگ Salinity × Leaf	3	43.490**	0.32**	88.35**	0.78*	77.28**	6.40**	0.142**	0.092**
خطا Error	16	3.30	0.0025	1.11	0.23	5.25	0.854	0.013	0.0037
ضریب تغییرات CV (%)		2.77	5.86	17.06	19.72	6.25	2.80	11.64	2.27

**، *، ^{ns} به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم تأثیر معنی‌دار هستند

**، *، ^{ns} Show significant differences at 1% and 5% levels and no significant difference, respectively

ادامه جدول ۳-

Continue Table 3.

منابع تغییرات S.O.V	Df	درجه آزادی Prolin	پروتئین Protein	کاتالاز Catalase	سوپرااکسید دیسموتاز Superoxide dismutase	پراکسیداز peroxidase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	DPPH	FRAP	فنل کل Total phenol	فلاونوئید Flavnoed
شوری Salinity	3	79.20**	0.0017**	42.015**	40.08**	0.64**	1.039**	676.10**	0.546**	523.36**	34.79**
برگ Tissu	1	0.49 ^{ns}	0.0002**	11.39**	21.96**	0.524**	1.073**	138.03**	2.026**	104.88**	7.106**
شوری * * Salinity	3	5.125**	0.00001 ^{ns}	1.97**	0.522 ^{ns}	0.385**	0.43**	227.459**	0.190**	54.26**	0.32**
خطا Error	16	0.777	0.00002	0.37	0.986	0.0006	0.014	9.808	0.023	2.544	0.019
ضریب تغییرات CV (%)		19.64	12.19	10.29	17.57	0.59	22.37	0.023	8.89	31.7	1.80

**، *، ^{ns} به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم تأثیر معنی‌دار هستند

**، *، ^{ns} Show significant differences at 1% and 5% levels and no significant difference, respectively

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل شوری × برگ برای برخی صفات در برگ‌های میانی و پایینی گیاه شیرتیغک.

Table 4. Mean comparison for the interaction effect of salinity × leaf on some traits in middle and lower leaves of *Sonchus arvensis*.

نسبت سدیم به پتاسیم Na ⁺ /K ⁺ (%)	محتوای سدیم Sodium content (mg.g ⁻¹ .fw)	محتوای پتاسیم Potassium content (mg.g ⁻¹ .fw)	کارتنوئید Carotenoid (mg.g ⁻¹ .fw)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g ⁻¹ .fw)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g ⁻¹ .fw)	محتوای نسبی آب Relative water content (%)	سطح شوری Salinity level (mM.m ⁻³)	برگ Leaf
0.58 ^{ef}	24.60 ^e	42.04 ^{bc}	0.37 ^b	1.81 ^d	1.80 ^f	75.09 ^b	شاهد Control	برگ
0.80 ^d	30.77 ^d	38.38 ^{cd}	1.61 ^a	2.08 ^d	3.25 ^c	63.55 ^d	50	میانی
1.01 ^c	36.43 ^b	35.88 ^{de}	1.80 ^a	3 ^{cd}	3.79 ^b	63.69 ^d	100	Middle leaf
1.24 ^b	38.93 ^a	31.54 ^f	1.89 ^a	2.35 ^d	3.09 ^{cd}	54.54 ^f	150	
0.49 ^f	22.93 ^f	46.21 ^a	1.13 ^a	2.32 ^d	2.34 ^{de}	78.70 ^a	شاهد Control	برگ
0.77 ^{ed}	34.10 ^c	44.04 ^{ab}	0.50 ^b	3.96 ^c	2.67 ^e	69.59 ^c	50	پایینی
1.11 ^{bc}	36.93 ^b	33.21 ^{ef}	0.07 ^b	7.56 ^b	3.69 ^b	59.35 ^e	100	Lower leaf
1.83 ^a	39.10 ^a	21.54 ^g	-2.26 ^c	6.64 ^a	4.35 ^a	59.95 ^{de}	150	

اعداد با حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند

Means with similar letters in each column are not significantly different at the 5% level based on the duncan test

ادامه جدول ۴-

Continue Table 4.

فلاونوئید Flavonoid (mg.g ⁻¹ .fw)	فنل Phenol (mg.g ⁻¹ .fw)	FRAP %	DPPH %	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (μM.mgpro ⁻¹ .mint)	پراکسیداز Peroxidase (μM.mgpro ⁻¹ .mint)	کاتالاز Catalase (μM.mgpro ⁻¹ .mint)	قند محلول Soluble sugars (mg.g ⁻¹ .fw)	پروتئین Protein (μM.g ⁻¹ .fw)	سطح شوری Salinity levels (mM.m ⁻³)	بافت Tissue
4.32 ^e	20.22 ^{ef}	1.55 ^{cd}	22.93 ^e	1.49 ^d	0.07 ^{fg}	3.61 ^{ed}	1.91 ^g	1.32 ^d	شاهد Control	برگ
9.87 ^a	43.17 ^a	2.43 ^a	59.91 ^a	3.63 ^a	0.11 ^{ef}	10.77 ^a	2.30 ^e	1.94 ^{cd}	50	میانی
8.94 ^b	33.71 ^c	1.85 ^c	46.27 ^c	2.38 ^{bc}	0.30 ^c	7.15 ^c	3.12 ^b	4.02 ^c	100	Middle leaf
9.66 ^a	25.31 ^d	2.13 ^b	53.62 ^b	2.77 ^b	0.25 ^d	4.82 ^d	3.25 ^a	11.24 ^a	150	
3.89 ^f	17.69 ^f	0.97 ^e	35.31 ^d	1.74 ^{cd}	0.031 ^g	3.30 ^e	2.10 ^f	2.20 ^{cd}	شاهد Control	برگ
8.78 ^b	39.49 ^b	1.46 ^d	43.51 ^c	3.93 ^a	0.13 ^e	8.32 ^b	2.59 ^d	2.91 ^{cd}	50	پایینی
8.78 ^b	21.27 ^e	1.74 ^{cd}	36.44 ^d	2.82 ^b	0.45 ^b	4.88 ^d	3.22 ^{ab}	3.99 ^c	100	Lower leaf
8.22 ^c	27.25 ^d	1.48 ^d	48.79 ^{bc}	1.87 ^{cd}	1.29 ^a	4.35 ^{ed}	2.97 ^c	8.26 ^b	150	

اعداد با حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند

Means with similar letters in each column are not significantly different at the 5% level based on the duncan test

برگ پایینی بود (جدول ۴). در واقع با افزایش سطح شوری محتوای سدیم بیش‌تر و میزان پتاسیم کم‌تر شده است. بالاترین میزان نسبت Na^+/K^+ نیز مربوط به تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار شوری در برگ پایینی بود. تفاوت معنی‌دار بین میانگین این صفت در سطوح مختلف تیمار شوری با تیمار شاهد در هر دو برگ میانی و پایینی مشهود بود. با وجود این‌که در سطح شوری صفر (شاهد) و شوری ۵۰ میلی‌مولار میزان پتاسیم بیش‌تر از سدیم است ولی روند پتاسیم کاهش‌ی است و نسبت Na^+/K^+ به دلیل روند افزایشی سدیم نسبت به پتاسیم رو به افزایش است. زمانی‌که گیاه تحت استرس شوری قرار می‌گیرد به سبب افزایش مقدار غلظت یون‌های سدیم، تعادل یونی در سلول‌های گیاه بهم می‌خورد متعاقباً گیاه در جذب عناصر ضروری از جمله پتاسیم دچار اختلال شده و میزان این عنصر کاهش پیدا می‌کند (۴۷). در گیاه خارمریم (*Silybum maranum* L.) کاهش ۶۹ درصدی نسبت پتاسیم به سدیم در سطوح بالاتر شوری مشاهده شده است (۴۱). ربانی و همکاران (۲۰۲۱) نیز در شاهدانه (*Cannabis sativa* L.) گزارش کردند که در نتیجه اعمال استرس شوری منجر به افزایش مقدار غلظت یون سدیم و به دنبال آن کاهش در جذب یون پتاسیم می‌شود (۴۸). تأثیر معنی‌دار شوری بر گیاه دارویی آویشن نیز نتایج مشابهی را نشان داده است (۱۸). پتاسیم از جمله عناصر غذایی پرمصرف گیاه محسوب می‌شود که نقش مهمی در رشد و نمو و واکنش گیاه به استرس‌های غیرزنده نشئت گرفته از محیط دارد. افزایش میزان جذب پتاسیم می‌تواند با پایین نگه‌داشتن پتانسیل اسمزی و حفظ تورژسانس در گیاه باعث کم‌تر شدن تأثیر مخرب افزایش مقدار یون‌های سدیم شود (۴۹). هر اندازه غلظت نمک بیش‌تر باشد، سرعت توسعه برگ کم‌تر و کاهش رشد بیش‌تری اتفاق می‌افتد.

نتایج نشان داد که اثر متقابل شوری \times برگ بر محتوای کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کارتنوئید معنی‌دار می‌باشد (جدول ۳). مقایسه میانگین این اثر متقابل نشان داد که با افزایش تیمار شوری مقدار رنگیزه‌های کلروفیل افزایش می‌یابد. به طوری‌که بیش‌ترین میزان محتوای کلروفیل *a* و *b* مربوط به تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نمک در برگ پایینی و کم‌ترین مقدار آن در سطح شاهد در برگ میانی بود (جدول ۴). تنش شوری منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود. با افزایش اکسیژن آزاد رنگیزه‌های گیاه دچار پراکسیداسیون شده و بر بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌ها، فاکتورهای کنترلی و عوامل رونویسی اثر می‌گذارد (۴۳). اثر تنش شوری بر روی کارتنوئید با تغییرات کلروفیل تحت تنش شوری مطابقت نداشت. به طوری‌که با بالا رفتن سطوح تیمار شوری کاهش چشمگیر کارتنوئید در برگ‌های پایینی مشاهده شد. احتمالاً افزایش میزان کلروفیل در مواجهه با استرس به‌خاطر افزایش تعداد کلروپلاست در برگ‌های گیاه تحت تنش باشد (۴۴). ماچادو و پائولسن (۲۰۰۱) لوله‌ای شدن، کاهش سطح برگ، افزایش تحمل روزنه‌ای و متعاقباً افزایش محتوای کلروفیل را از جمله مکانیسم‌های گیاه برای اجتناب از تنش عنوان کرده‌اند (۴۵). لاولور و کورنیک (۲۰۰۲) مشخص نمودند که کارتنوئیدها به عنوان یک رنگیزه کمکی فعالیت اثر بخشی در حفاظت از غشای تیلاکوئیدی و جلوگیری از فتواکسیداسیون کلروفیل ایفا می‌کند (۴۶).

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) و مقایسه میانگین اثر متقابل شوری \times برگ (جدول ۴) برای محتوای سدیم و پتاسیم و نسبت Na^+/K^+ نشان داد که مقدار یون سدیم در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در برگ پایینی و میانی بیش‌ترین میزان را داشت ولی بیش‌ترین مقدار یون پتاسیم مربوط به تیمار شاهد در

این آنزیم برای تولید پرولین می‌شود (۵۱). عبدالعظیم و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند در گیاه بومادران (*Achillea fragratissima*) در مواجهه با استرس شوری، پرولین نقش تنظیمی و علامت‌دهنده در گیاه دارد (۵۵). در واقع پرولین مقاومت گیاه را از طریق کاهش پتانسیل اسمزی با تجمع مواد محلول افزایش می‌دهد و بر حسب سرعت، میزان توسعه تنش و سن اندام گیاهی شدت و میزان انباشت پرولین متفاوت است (۵۶).

قندهای محلول یکی دیگر از اسمولیت‌های مهم در تنظیم فشار اسمزی گیاه تحت تنش است. سیستم فعالیت این اسمولیت به اینگونه است که با جداسازی Na^+ در واکوئل، پتانسیل اسمزی در سیتوپلاسم منفی‌تر می‌شود (۵۷)، گیاهان با تجمع این ترکیبات مهم (پروتئین، پرولین و قندها) از طریق ایجاد یک پتانسیل اسمزی منفی باعث هدایت بیش‌تر آب به درون گیاه می‌شوند و به این طریق توانایی گیاه برای مقابله با تنش را افزایش می‌دهند و از گیاه محافظت می‌کنند (۵۱). در پژوهش حاضر با بالا رفتن غلظت تیمار شوری مقدار قند محلول نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد (جدول ۴). در بیش‌تر مطالعاتی که در تنش‌های شوری بر روی گیاهان متفاوتی انجام گرفته افزایش میزان قند محلول با افزایش سطح تنش گزارش شده است، در گیاه دارویی سرخارگل ارغوانی در شرایط استرس شوری بیش‌ترین میزان تجمع قندهای محلول در بالاترین سطوح شوری گزارش شده است (۱۶). افزایش میزان تجمع قند محلول در اثر افزایش سطوح تنش شوری در گیاهانی مانند آویشن دناپی و خرفه نیز گزارش شده است (۵۸ و ۵۹).

به‌طورکلی کاهش رشد گیاه ارتباط مستقیمی با سطح تنش شوری دارد بنابراین می‌تواند شاخص خوبی برای برآورد توان گیاه در مقابله با تنش شوری لحاظ گردد (۵۰).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) اثر متقابل شوری \times برگ بر محتوای پرولین و قندهای محلول گیاه معنی‌دار بود. هم‌چنین اثر متقابل شوری در برگ بر میزان پروتئین معنی‌داری نشان‌داد ولی تأثیر تیمار شوری بر میزان پروتئین معنی‌دار بود. طبق نتایج مقایسه میانگین (جدول ۵)، با زیاد شدن تیمار شوری مقدار پروتئین روند افزایشی داشت. بیش‌ترین میزان پروتئین در تیمار شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین مقدار آن در سطح صفر (شاهد) بود. پژوهش‌ها نشان‌داده تغییرات محتوی پروتئین در تنش می‌تواند متغیر باشد و به صورت کاهشی، افزایشی و یا بدون تغییر نمایان شود (۵۱). در گیاهان تحت تنش با القای تنش اکسیداتیو پروتئین‌ها در اثر فعالیت گونه‌های اکسیژن واکنشگر دچار تخریب شده (۵۲) و این حالت باعث اکسیداسیون پروتئین‌ها، هیدرولیز و کاهش سنتز آن‌ها می‌شود (۵۳). چنین به نظر می‌رسد که افزایش پروتئین تحت تنش شوری با افزایش واکنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مرتبط باشد (۵۴).

در مطالعه حاضر با افزایش سطح تنش، بر میزان پرولین افزوده شد. تیمار شاهد دارای کم‌ترین مقدار پرولین بود و بیش‌ترین مقدار آن در تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار در برگ میانی مشاهده شد (جدول ۴). احتمالاً زیاد شدن مقدار پرولین در وضعیت تنش به‌خاطر افزایش میزان سنتز پرولین از گلوتامیک اسید باشد. آنزیم لیگاز گلوتامات باعث تبدیل گلوتامات به پرولین می‌شود و تنش شوری موجب تحریک بیش‌تر

جدول ۵- مقایسه‌های میانگین اثرات ساده شوری و برگ بر میزان پروتئین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاه شیرتیغک.

Table 5. Mean comparison for the simple effects of salinity and leaf for protein and superoxide dismutase activity in *Sonchus arvensis*.

سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase ($\mu\text{M.mgpro}^{-1}.\text{Mint}$)	پروتئین Protein ($\text{mg.g}^{-1}.\text{fw}$)		
3.0547 ^d	0.0162 ^d	شاهد Control	
4.4373 ^c	0.0421 ^b	50	شوری Salt
6.0450 ^b	0.0309 ^c	100	
9.0675 ^a	0.0566 ^a	150	
6.6077 ^a	0.0397 ^a	میانی Middle	برگ Leaf
4.6945 ^b	0.0332 ^b	پایینی Lower	

اعداد با حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند

Means with similar letters in each column are not significantly different at the 5% level based on the duncan test

فعالیت را نشان داد. در شوری‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار، رفته رفته از میزان فعالیت این آنزیم کاسته شد اما همچنان نسبت به شاهد بیش‌تر بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین برای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان داد که با افزایش مقدار تیمار شوری میزان فعالیت این آنزیم نیز به‌طور چشمگیری افزایش پیدا کرده است. بیش‌ترین میزان فعالیت آن در تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین فعالیت این آنزیم در برگ میانی بیش‌تر از برگ پایینی بود (جدول ۵). زمانی که گیاه طولانی‌مدت با شرایط استرس شوری مواجه می‌شود با تجمع بیش‌تر املاح در سلول سنتز رنگدانه‌ها کاهش می‌یابد. این شرایط تنش سرعت جذب CO_2 را کاهش می‌دهد و بنابراین چون نرخ فتوسنتز پایین می‌آید نور اضافه جذب شده توسط گیاه منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و به دنبال آن تنش اکسیداتیو می‌شود (۶۰). تجمع بیش از حد ROS ها می‌تواند منجر به آسیب‌های جدی از جمله

واکنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: نتایج تجزیه واریانس داده‌های اندازه‌گیری شده از فعالیت آنزیم‌ها نشان داد که اثر متقابل شوری \times برگ بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز معنی‌دار ولی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز غیرمعنی‌دار می‌باشد. روند واکنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به تنش وارد شده به‌صورت افزایشی-کاهشی بود به این‌صورت که آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد کم‌ترین فعالیت و در تیمار ۵۰ میلی‌مولار در برگ میانی بیش‌ترین فعالیت را داشت. در تیمارهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به تیمار ۵۰ میلی‌مولار، فعالیت این آنزیم در هر دو برگ میانی و پایینی کاهش یافت. کم‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار شاهد و بیش‌ترین فعالیت آن در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در برگ پایینی مشاهده شد. روند فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مشابه آنزیم کاتالاز بود به‌طوری‌که در تیمار شاهد کم‌ترین و در شوری ۵۰ میلی‌مولار در هر دو برگ میانی و پایینی بیش‌ترین

مختلف این گیاه تفاوت قابل توجهی در مهار رادیکالی نشان داد (۱). در پژوهشی که روی گیاه دارویی بابونه تحت تنش شوری انجام گرفته بود گزارش شد که با افزایش سطح تنش میزان فعالیت مهار رادیکالی DPPH در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار بیش‌ترین مقدار می‌باشد (۱۹). تنش‌های محیطی به دلیل از بین بردن شرایط همئوستازی سلول منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد می‌شوند میزان فعالیت پاداکسیدانی می‌تواند شاخص مناسبی در ارزیابی تحمل سلول در برابر رادیکال‌های آزاد باشد (۶۵).

نتایج نشان داد که اثر متقابل شوری در برگ با سطح اطمینان ۹۹ درصد بر محتوای آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله فنول و فلاونوئید معنی‌دار می‌باشد (جدول ۳). طبق نتایج مقایسه میانگین بیش‌ترین میزان ترکیب فنلی در برگ‌های میانی مشاهده شد. در تیمار ۵۰ میلی‌مولار نمک طعام، هم در برگ میانی و هم در برگ پایینی، بیش‌ترین میزان فنل و فلاونوئید مشاهده شد. در تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار از میزان ترکیبات فنولی قدری کاسته شد ولی در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری دوباره روند افزایشی مقدار این ترکیبات مشاهده شد (جدول ۴). در کنگر فرنگی نیز گزارش شد که ترکیبات فنلی گیاه در اولین سطح شوری ۲۵-۵۰ میلی‌مولار به‌طور قابل توجهی افزایش داشته سپس با بیش‌تر شدن مقدار نمک در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار میزان این ترکیبات روند نزولی داشته است (۶۶). نتایج این پژوهش با گزارش‌های متعددی مبنی بر افزایش مقدار کل و متغیر بودن روند افزایشی و کاهش ترکیبات فنلی در سطوح مختلف تیمار شوری در گیاهان دارویی مانند *Matricaria recutita* و *Satureja hortensis* همخوانی دارد (۱۹ و ۶۷). در هر مرحله از تنش شوری، آبشاری از آنزیم‌های ویژه درگیر در سنتز ترکیبات خاص موجود در گیاهان القا

از بین بردن لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در گیاهان شود (۶۱). نقش آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در از بین بردن اثرات مخرب گونه‌های اکسیژن و اکشنگر می‌باشد. این آنزیم‌ها با تجزیه H_2O_2 به آب باعث دفع مسمومیت ناشی از وجود گونه‌های اکسیژن و اکشنگر می‌شوند (۱۰). نقش تنظیمی مثبت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی در گونه‌های گیاهی مختلف، مانند کپر (۲۲)، استویا (۶۲) و کنگر فرنگی (۶۳) در شرایط تنش شوری گزارش شده است. هم‌چنین لیو و همکاران (۲۰۲۱) در گیاه *Lonicerae* گزارش کردند که واکنش و عکس‌العمل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با افزایش مقدار شوری افزایش پیدا می‌کند (۶۴).

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد که اثر متقابل شوری × برگ بر محتوای آنتی‌اکسیدانی که از طریق $DPPH^1$ و FRAP ارزیابی شده معنی‌دار می‌باشد. در تیمار ۵۰ میلی‌مولار، گیاه بیش‌ترین واکنش را نشان داده ولی در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار فعالیت پاداکسایشی گیاه تا حدودی نسبت به تیمار ۵۰ میلی‌مولار کاهش یافته است. در تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار شوری دوباره فعالیت بالای ختشی‌سازی رادیکال‌های آزاد DPPH نسبت به تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد. به این ترتیب کم‌ترین مقدار این پارامتر (۲۲/۹۳) در تیمار شاهد و بالاترین مقدار آن در اولین سطح شوری یعنی ۵۰ میلی‌مولار شوری در برگ میانی مشاهده شد. رادیکال DPPH به دلیل داشتن یک الکترون فرد به رنگ ارغوانی نمایان می‌شود زمانی که DPPH یک ترکیب از یک آنتی‌اکسیدانی دریافت کند دچار زنگ‌زدایی شده و به رنگ زرد درمی‌آید و با توجه به تغییر در جذب نور قابل سنجش خواهد بود. در مطالعه‌ای که روی *Sonchus arvensis* انجام گرفته بود بخش‌های

1- diphenyl-2-picryllyldrazyl radical

افزایش سطح شوری هم در برگ میانی و هم در برگ پایینی افزایش معنی‌داری نشان دادند. هم‌چنین تنش شوری اثر متغیری بر روند افزایشی ترکیبات فنلی داشت به طوری که بیش‌ترین میزان این ترکیبات در پایین‌ترین سطح شوری مشاهده شد. کوچک شدن سطح برگ، از دست رفتن محتوای نسبی آب و تجمع بیش‌تر میزان کلروفیل a و b در برگ از مکانیسم‌های اجتناب از شوری محسوب می‌شود اما از آن‌جا که در گیاه مورد مطالعه هم‌زمان با افزایش در میزان رنگیزه‌ها، افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هم مشاهده شد بنابراین احتمالاً گیاه شیرتیغک مقاوم به شوری باشد. از طرف دیگر افزایش اسمولیت‌های سازگار (قندهای محلول، پروتئین و پرولین) با تنش شوری هم احتمالاً با تلاش گیاه برای مقابله با استرس شوری در ارتباط باشد. پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های تکمیلی دیگر ترکیبات دارویی این گیاه در شرایط تنش شوری بررسی شود.

می‌شود که این می‌تواند موجب تنوع در واکنش و پاسخ‌دهی گیاه به تنش شوری باشد. فلاونوئیدها و مشتقات آن‌ها جزو بزرگ‌ترین گروه ترکیبات فنلی در گیاهات هستند (۶۸). در میان این گروه ترکیبات، فنل‌ها به واسطه نقش مهمی که در مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها ایفا می‌کنند و هم‌چنین به دلیل اهمیتی که در صنایع داروسازی دارند بسیار دارای اهمیت می‌باشند (۶۹). ترکیبات فنلی موجود در گیاهان در ازبین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده در تنش اکسیداتیو نقش پررنگی دارند و افزایش آن‌ها طی تنش از جمله راهکارهای گیاه برای مقاومت به تنش است (۷۰).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج به دست آمده نشان داد که تنش شوری صفات ریخت‌شناسی در گیاه شیرتیغک را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد اما دیگر صفات مانند محتوای یون‌ها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای پرولین، پروتئین و قند محلول و آنزیم‌های اکسایشی با

منابع

1. Khan, R. A. (2012). Evaluation of flavonoids and diverse antioxidant activities of *Sonchus arvensis*. *Chemistry Central Journal*, 6 (1), 1-7.
2. Alrekabi, D. G., & Hamad, M. N. (2018). Phytochemical investigation of *Sonchus oleraceus* (Family: Asteraceae) cultivated in Iraq, isolation and identification of quercetin and apigenin. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10 (9), 2242-2248.
3. Aharoni, A., Jongsma, M. A., Kim, T. Y., Ri, M. B., Giri, A. P., Verstappen, F. W., Schwab & Bouwmeester, H. J. (2006). Metabolic engineering of terpenoid biosynthesis in plants. *Phytochemistry Reviews*, 5, 49-58.
4. Guil-Guerrero, J. L., Giménez-Giménez, A., Rodríguez-García, I., & Torija-Isasa, M. E. (1998). Nutritional composition of *Sonchus* species (*S. asper*L., *S. oleraceus*L. and *S. tenerrimus*L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76 (4), 628-632.
5. Li, X. M., & Yang, P. L. (2018). Research progress of *Sonchus* species. *International journal of food properties*, 21 (1), 147-157.
6. Chen, L., Teng, H., Xie, Z., Cao, H., Cheang, W. S., Skalicka-Woniak, K., ... & Xiao, J. (2018). Modifications of dietary flavonoids towards improved bioactivity: An update on structure-activity relationship. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58 (4), 513-527.
7. Yin, H., & Luo, J. (2007). Ticks of small ruminants in China. *Parasitology research*, 101, 187-189.
8. Tajik, N., Tajik, M., Mack, I., & Enck, P. (2017). The potential effects

- of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. *European journal of nutrition*, 56, 2215-2244.
9. Acosta-Motos, J. R., Ortuño, M. F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M. J., & Hernandez, J. A. (2017). Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. *Agronomy*, 7 (1), 18.
 10. Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681.
 11. Bahmani, M., Naghdi, R., & Kartoolinejad, D. (2018). Milkweed seedlings tolerance against water stress: Comparison of inoculations with *Rhizophagus irregularis* and *Pseudomonas putida*. *Environmental Technology & Innovation*, 10, 111-121.
 12. Gharsallah, C., Fakhfakh, H., Grubb, D., & Gorsane, F. (2016). Effect of salt stress on ion concentration, proline content, antioxidant enzyme activities and gene expression in tomato cultivars. *AoB Plants*, 8, plw055.
 13. Zhang, J., & Kirkham, M. B. (1996). Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New phytologist*, 132 (3), 361-373.
 14. Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., Jutur, P. P., & Sumithra, K. (2004). Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. *Environmental and experimental botany*, 52 (1), 33-42.
 15. Mirvakili, F., Mosleh Arani, A., Sarafraz Ardakani, M. R., & Sodaee-Zadeh, H. (2018). The study of salinity stress influence on some morphological, biochemical and antioxidant responses of *Securigera securidaca* L. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 6 (1), 32-43.
 16. Aghdasi, M., Fatemi, M., & Asadi, A. (2019). The impact of salt stress on growth and some biochemical parameters of *Echinacea purpurea* L. *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, 14 (53), 1-15.
 17. Amraee, L., Rahmani, F., & Mandoulakani, B. A. (2020). Exogenous application of 24-epibrassinosteroid mitigates NaCl toxicity in flax by modifying free amino acids profile and antioxidant defense system. *Functional Plant Biology*, 47 (6), 565-575.
 18. Hosseini, H., Mousavi-Fard, S., Fatehi, F., & Qaderi, A. (2017). Changes in phytochemical and morpho-physiological traits of thyme (*Thymus vulgaris* CV Varico 3) under different salinity levels. *Journal of Medicinal plants*, 16 (61), 22-33.
 19. Rasekh, F., Rowshan, V., Vaziri, A., & Kholdebarin, B. (2019). Effects of salinity on biochemical and physiological characteristics of *Matricaria chamomilla*. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 32 (3), 583-595.
 20. Shao, H. B., Chu, L. Y., Wu, G., Zhang, J. H., Lu, Z. H., & Hu, Y. C. (2007). Changes of some anti-oxidative physiological indices under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at tillering stage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 54 (2), 143-149.
 21. Ou, Z. Q., Schmierer, D. M., Rades, T., Larsen, L., & McDowell, A. (2013). Application of an online post-column derivatization HPLC-DPPH assay to detect compounds responsible for antioxidant activity in *Sonchus oleraceus* L. leaf extracts. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 65 (2), 271-279.
 22. Baladi, R., Nabipour, M., & Farzaneh, M. (2022). Investigation of some physiological and antioxidant responses of caper (*Capparis spinosa* L.) plant to salt stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 15 (3), 741-750.
 23. 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.
 24. Lichtenthaler, H. K. (1987). [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments

- of photosynthetic biomembranes. In *Methods in enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press.
25. Chapman, H. D., & Pratt, P. F. (1962). Methods of analysis for soils, plants and waters. *Soil Science*, 93 (1), 68.
 26. Waling, I., Van Vark, W., Houba, V.J. G., & Van der Lee, J.J. (1989). *Soil and Plant Analysis, a Series of Syllabi, Part 7: Plant analysis procedures*; Wageningen Agriculture University: Wageningen, The Netherlands.
 27. 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 (1-2), 248-254.
 28. Bates, L. S., Waldren, R. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39, 205-207.
 29. Fales, F. (1951). The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells. *Journal of Biological Chemistry*, 193 (1), 113-124.
 30. Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry*, 91 (3), 571-577.
 31. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16 (3), 144-158.
 32. Li, D., Luo, Z., Mou, W., Wang, Y., Ying, T., & Mao, L. (2014). ABA and UV-C effects on quality, antioxidant capacity and anthocyanin contents of strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.). *Postharvest Biology and Technology*, 90, 56-62.
 33. Chance, B., & Maely, A. C. (1955). Assay of catalase and peroxidase methods. *Enzymology*, 2, 755-784.
 34. Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22 (5), 867-880.
 35. Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44 (1), 276-287.
 36. Safikhan, S., Chaichi, M. R., Khoshbakht, K., Amini, A., & Motesharezadeh, B. (2018). Application of nanomaterial graphene oxide on biochemical traits of Milk thistle (*Silybum marianum* L.) under salinity stress. *Australian Journal of Crop Science*, 12 (6), 931-936.
 37. Boyd, D. C., & Rogers, M. E. (2004). Effect of salinity on the growth of chicory (*Cichorium intybus* cv. Puna)-a potential dairy forage species for irrigation areas. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44 (2), 189-192.
 38. Saadatmand, A. R., Banihashemi, Z., Maftoun, M., & Sepaskhah, A. R. (2007). Interactive effect of soil salinity and water stress on growth and chemical compositions of pistachio nut tree. *Journal of Plant Nutrition*, 30 (12), 2037-2050.
 39. Sergio, L., De Paola, A., Cantore, V., Pieralice, M., Cascarano, N. A., Bianco, V. V., & Di Venere, D. (2012). Effect of salt stress on growth parameters, enzymatic antioxidant system, and lipid peroxidation in wild chicory (*Cichorium intybus* L.). *Acta physiologiae plantarum*, 34, 2349-2358.
 40. Ghanaatiyan, K., & Sadeghi, H. (2016). Evaluation of the effect of NaCl salt stress on some growth traits and antioxidant enzymes in two chicory (*Cichorium intybus*) seed ecotypes. *Iranian Journal of Seed Sciences and Research*, 3 (1), 33-45.
 41. Yazdani-Biouki, R., Banakar, M., Beyrami, H., Karimi, M., & Soltani Gerd Faramarzi, V. (2021). Estimation of some salinity-related growth characteristics and evaluation of salinity tolerance threshold of Milk thistle (*Silybum marianum* L.). *Iranian Journal of Irrigation & Drainage*, 14 (6), 2037-2046.
 42. Farahbakhsh, H., Pasandi Pour, A., & Reiahi, N. (2017). Physiological

- response of henna (*Lawsonia inermis* L.) to salicylic acid and salinity. *Plant Production Science*, 20 (2), 237-247.
43. Santos, C. V., Campos, A., Azevedo, H., & Caldeira, G. (2001). In situ and in vitro senescence induced by KCl stress: nutritional imbalance, lipid peroxidation and antioxidant metabolism. *Journal of Experimental Botany*, 52 (355), 351-360.
44. Mousavian Kalat, M. (2017). Effects of salinity on some morphological and physiological parameters in four canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Nova Biologica Reperta*, 4 (2), 98-106.
45. Machado, S., & Paulsen, G. M. (2001). Combined effects of drought and high temperature on water relations of wheat and sorghum. *Plant and Soil*, 233, 179-187.
46. Lawlor, D. W., & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, cell & environment*, 25 (2), 275-294.
47. Abdeshahian, M., Nabipour, M., Meskarbashi, M., & Rahdarian, S. (2014). Effect of salinity stress on photosynthesis, stomatal conductance and chlorophyll content of wheat leaf (*Triticum aestivum*). *13 th Iranian Conference on Agriculture and Plant Breeding and 3rd Iran Seed Science and Technology Conference. Karaj*. 5p.
48. Rabbani, A., Ardakani, M. R., Naghdi Badi, H., Rezazadeh, S., & Sarajooghi, M. (2021). Study on phytochemical changes of *Cannabis sativa* L. extract at vegetative growth stage under salinity stress. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 9 (3), 82-93.
49. Jing, Y. D., He, Z. L., & Yang, X. E. (2007). Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Journal of Zhejiang University Science B*, 8, 192-207.
50. Harati, E., Kashefi, B., & Matinizadeh, M. (2016). Investigation of reducing detrimental effects of salt stress on morphological and physiological traits of (*Thymus daenensis* Celak.) through salicylic acid application.
51. Fahmideh, L., Mazarie, A., Madadi, S., & Pahlevan, P. (2022). Comparing the antioxidant enzymes, osmotic regulators and photosynthetic pigments activities of two barley cultivars in Sistan region under salinity-stress conditions. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 15 (2), 485-499.
52. Sairam, R. K., Rao, K. V., & Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant science*, 163 (5), 1037-1046.
53. Weisany, W., Sohrabi, Y., Ahmadi, H., & Abasi, H. (2013). The effect of salinity stress and application of zinc on the chlorophyll content, soluble proteins, growth, yield and the mineral nutrients soybean. *Plant Ecosystem (Glycine max L.)*. 9, 75-96.
54. Agarwal, S., & Pandey, V. (2004). Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 48 (4), 555-560.
55. Abd EL-Azim, W. M., & Ahmed, S. T. (2009). Effect of salinity and cutting date on growth and chemical constituents of *Achillea fragrantissima* Forssk, under Ras Sudr conditions. *Res. J. Agr. Biol. Sci.* 5 (6), 1121-1129.
56. Calagari, M., Salehi Shanjani, P., & Banj Shafiei, S. (2017). Growth comparison of two poplar species (*Populus alba* and *Populus euphratica*) and their hybrid in the saline and non-saline soils. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 30 (1), 143-154.
57. Orcutt, D. M., & Nilsen, E. T. (2000). *Physiology of plants under stress: Soil and biotic factors* (Vol. 2). John Wiley & Sons.
58. Emami Bistgani, Z., Siadat, S. A., Bakhshandeh, A., & Ghasemi Pirbalouti, A. (2017). The effect of drought stress and elicitor of chitosan on photosynthetic pigments, proline, soluble sugars and lipid peroxidation in *Thymus daenensis* Celak. in Shahrekord climate. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 10 (1), 12-19.

59. Garshasbi, F., Fallah, S., & Tadayyon, A. (2016). Effect of source and rate of nitrogen on photosynthesis pigments, proline, soluble sugar, sodium and potassium in purslane (*portulaca oleracea*) irrigated by saline water. *Iranian Journal of water research*, 30 (2), 227-241.
60. Ma, Y., Dias, M. C., & Freitas, H. (2020). Drought and salinity stress responses and microbe-induced tolerance in plants. *Frontiers in Plant Science*, 11, 591911.
61. Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48 (12), 909-930.
62. Ahmadi, M., Ghasemnezhad, A., Sadeghi Mahoonak, A. R., & Rezaei Asl, A. (2016). The study variation of phytochemical and antioxidant activity of *Stevia rebaudiana* Bertoni. irrigated with magnetized saline water (Golestan province). *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 4 (2), 56-66.
63. Shahraki, H., Mahdi Nezhad, N., & Fakheri, B. A. (2021). The effect of synthesis nanosilver by plant extract on morphological and antioxidant properties of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) under salinity stress. *Plant Productions*, 44 (1), 103-114.
64. Cai, Z., Liu, X., Chen, H., Yang, R., Chen, J., Zou, L., ... & Wei, L. (2021). Variations in morphology, physiology, and multiple bioactive constituents of *Lonicerae Japonicae* Flos under salt stress. *Scientific Reports*, 11 (1), 3939.
65. Vickers, C. E., Gershenzon, J., Lerdau, M. T., & Loreto, F. (2009). A unified mechanism of action for volatile isoprenoids in plant abiotic stress. *Nature chemical biology*, 5 (5), 283-291.
66. Hanen, F., Ksouri, R., Megdiche, W., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Effect of salinity on growth, leaf-phenolic content and antioxidant scavenging activity in *Cynara cardunculus* L. In *Biosaline agriculture and high salinity tolerance* (pp. 335-343). Birkhäuser Basel.
67. Baher, Z. F., Mirza, M., Ghorbanli, M., & Bagher Rezaii, M. (2002). The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. *Flavour and Fragrance Journal*, 17 (4), 275-277.
68. Haslam, E. (1998). *Practical polyphenolics: from structure to molecular recognition and physiological action*. Cambridge University Press.
69. Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., & Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45 (3-4), 244-249.
70. Yeshi, K., Yangdon, P., Kashyap, S., & Wangchuk, P. (2017). Antioxidant activity and the polyphenolic and flavonoid contents of five high altitude medicinal plants used in Bhutanese sowa rigpa medicine. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 7 (1), 18-26.