تغییرات میزان ماده موثره گیاه ماریتیغال (*Silybum marianum*) در تنش خشکی

فاطمه اعلم[۱]، علی اکبر رامین[۱] و فریبا امینی*[۲]

[۱] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان و [۲] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک

(تاریخ دریافت ۱۳۹۲/۰۳/۰۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۸/۰۸)

چکیده:

تنش خشکی نه تنها رشد و نمو گیاهان را کاهش می‌دهد، بلکه موجب تغییر در مسیر برخی از فرآیندهای متابولیسمی نیز می‌گردد. این تغییرات می‌تواند گیاه را در مقابل استرس مقاوم سازد. در واقع سازش با خشکی به واکنش‌هایی نیاز دارد تا از طریق آن فرآیندهای متابولیسمی اولیه ادامه پیدا کند و گیاه را برای مقابله با آن آماده کند. معمولا در شرایط تنش خشکی تولید مواد مؤثره به دلیل جلوگیری از اکسیداسیون درون سلولی افزایش می‌یابد. در این آزمایش به منظور بررسی تأثیر تنش خشکی بر تغییرات میزان ماده موثره گیاه ماریتیغال، پژوهشی به صورت گلدانی و مزرعه‌ای اجرا شد. آزمایش بخش اول در قالب طرح کامل تصادفی با ۴ سطح تنش خشکی (پتانسیل آب خاک ۰/۳۳-، ۴-، ۸- و ۱۲- بار) انجام شد. بخش دوم به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار تنش خشکی (پتانسیل آب خاک ۰/۳۳-، ۴-، ۸- و ۱۲- و۱۵- بار) و هر یک شامل ۴ کرت اجرا گردید. بر اساس نتایج این آزمایش تحت تأثیر تنش خشکی میزان سیلی‌بین، سیلی‌مارین و درصد روغن بطور معنی‌داری تغییر نمود. در آزمایش گلدانی بیشترین میزان سیلی‌بین a، b و کل مربوط به تیمار پتانسیل آب خاک ۴- بار بود در حالی که در آزمایش مزرعه‌ای بیشترین میزان مربوط به تیمار ۱۲- بار بود. بیشترین میزان سیلی‌مارین و درصد روغن در هر دو آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای مربوط به تیمار پتانسیل آب خاک ۴- بود. بنابراین بطور کلی می‌توان عنوان کرد تیمار پتانسیل آب خاک ۴- بار بهترین تیمار تنش رطوبتی جهت افزایش مواد موثره گیاه ماریتیغال است و شرایط مزرعه‌ای و گلدانی در مقاومت این گیاه به تنش خشکی بی‌تاثیر بود.

کلمات کلیدی: تنش خشکی، سیلی‌بین، سیلی‌مارین، ماریتیغال.

مقدمه:

گیاه دارویی به گیاهی گفته می‌شود که دارای مواد مؤثر مشخصی است و در درمان بیماری یا پیشگیری از بروز آن مورد استفاده قرار می‌گیرد(مجنون حسینی و دوازده امامی، ۱۳۸۶). گیاهان دارویی بر اساس قسمت‌های مورد استفاده، عادت رویشی، نیازهای اقلیمی، خواص دارویی و غیره در گروه‌های مجزا دسته‌بندی می‌شوند. در این میان بر اساس دسته‌بندی خاصیت دارویی، ماریتیغال به عنوان گیاه دارویی مؤثر در درمان بیماری‌های کبدی شناخته شده است (Belitz and Sams, 2007). Wagner (۱۹۶۵) مواد مؤثره ماریتیغال را جداسازی و آن را سیلی‌مارین (Silymarin) نامید. فرمول شیمیایی سیلی‌مارین $C_{25}H_{22}O_{10}$ و جرم مولکولی آن را ۴۸۲/۲ گرم تعیین نمودند که از نوع فلاونوئیدها و متعلق به گروه فنل‌ها می‌باشد (Nyiredy *et al.*, 2008).

در طب جدید از مواد مؤثره دانه این گیاه در تهیه داروهای درمان کننده بیماری‌های کبدی و مسمومیت‌های

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: F-Amini@araku.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.2.6]

ناشی از الکل و دیگر مواد شیمیایی استفاده می‌شود (Minakhmetov *et al*., 2001; Hadolin *et al.*, 2001). عنوان شده است که سیلی‌مارین با جلوگیری از پراکسیداسیون غشا سبب حفظ و تثبیت فعالیت غشا و در نهایت موجب بهبود کارآیی کبد می‌شود (Yago-cheng, 1991). قابل ذکر است، گیاه ماریتیغال به دلیل سازگاری به شرایط آب و هوایی ایران و مقاومت به تنش رطوبتی و همچنین به عنوان یکی از مؤثرترین گیاهان دارویی در درمان بیماری های کبدی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (مجنون حسینی و دوازده امامی، ۱۳۸۶).

دلایل زیادی در جهت تغییر میزان و نقشه متابولیت های ثانویه در گیاهان وجود دارد که از جمله آن‌ها می‌توان به بیان متابولیت‌هایی که به‌منظور حفظ گیاه در برابر آفات و پاتوژن‌ها، کاهش سطوح فاکتورهای مضر و افزایش سطح ترکیبات مفید در تولیدات کشاورزی و همین‌طور تولید ترکیبات جدید و یا افزایش میزان ترکیباتی که به مقدار کم در گیاه وجود دارند، اشاره کرد (Gomez-Galera *et al.*, 2007). علی رغم اهمیت متابولیت‌های ثانویه در زندگی بشر هنوز مکانیسم اثر تنش‌های محیطی بر میزان این مواد مسئله‌ای پیچیده و مبهم است. شواهد زیادی بر افزایش چند برابری این مواد تحت شرایط تنش‌های محیطی وجود دارد اما دلایل زیادی نیز موجود است که نشان می‌دهد این تأثیر همیشگی نیست و در بسیاری موارد نیز کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه تحت شرایط تنش‌های محیطی دیده می‌شود و از طرفی کیفیت مواد مؤثره نیز تحت تأثیر تنش قرار می‌گیرد. قابل ذکر است که اثرات کمبود آب در عملکرد و تغییرات مواد مؤثره گیاهان دارویی دارای ویژگی های خاصی است که باید به طور کامل مورد ارزیابی قرار گیرد. افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی از طریق افزایش عملکرد یا اعمال تنش میسر می‌شود که به نظر می‌رسد تنش خشکی می‌تواند راهکاری برای بهره برداری بهتر از شرایط طبیعی کشورمان را امکان پذیر سازد. فلاونوئیدهای ماریتیغال اساساً شامل فلاونول‌ها (Flavonols) و فلاولیگنان‌ها (Flavonelignans) است، که فلاونول‌ها جزء کوچکی از فلاونوئیدهای این گیاه را تشکیل می‌دهند. غلظت فلاولیگنان‌ها بیشتر بوده و از آن‌ها به عنوان یک نشانگر میزان فلاونوئیدها در ماریتیغال استفاده می‌شود (Wallace *et al.*, 2008; Nyiredy *et al.*, 2008). قبلاً تصور می‌شد سیلی‌مارین ترکیب خاصی با ساختار ۷- کرومانول-۳- متیل- تاکسی فولین است ، اما با کشف روش‌های دقیق برای تجزیه و جداسازی سیلی‌مارین مشخص شد که سیلی‌مارین شامل مخلوطی از شش ترکیب فنولیک است که عبارتند ازسیلی دیانین (Silidianin)، سیلی کریستین (Silychristin)، دی‌استروایزومرهای (Diastereoisomers) سیلی‌بین (Silybin) (سیلی‌بین A و B) و دی‌استروایزومرهای ایزوسیلی‌بین (ایزوسیلی‌بین A و B) (Lee *et al*., 2007). سیلی‌بین جزء اصلی سیلی‌مارین است که ۳۰-۲۰ درصد از کل فلاولیگنان‌ها را شامل می‌شود. سیلی‌بین یک فلاولیگنان با فرمول شیمیایی $C_{25}H_{22}O_{10}$ است (Nyiredy *et al.*, 2008). سیلی‌بین از مدت‌ها قبل شناخته شده و دو ایزومر آن به نسبت تقریبی ۱:۱ (SA:SB ۱:۱) وجود دارند. دو ایزومر ایزوسیلی‌بین (IS) نیز به نسبت تقریبی ۷:۳ یافت می‌شوند (ISA:ISB ۷:۳). سیلی‌دیانین به یک شکل وجود دارد و با SD نشان داده می‌شود. سیلی‌کریستین به دو صورت ایزوسیلی‌کریستین و سیلی‌کریستین وجود داشته و بصورت A و B نشان داده می‌شود (Wallace *et al*., 2008) .

دانه‌های ماریتیغال حاوی بتائین، تری متیل گلیسین و ماده تلخی است که منشأ آن ترکیبات رزینی و روغنی است. بنابر گزارش گلی و همکاران (۱۳۸۶) مقدار روغن دانه ۰/۵±۲۲/۷ درصد است و با بررسی نقشه اسیدهای چرب، میزان اسیدهای چرب پالمیتیک، استئاریک، اولئیک، لینولئیک و لینولنیک را در روغن دانه‌ی ماریتیغال به ترتیب ۸/۷۷، ۵/۰۵، ۲۸/۸۴، ۵۱/۲۷ و ۳/۶۵ درصد گزارش کردند. با توجه به ضروری بودن اسیدلینولئیک و اسیدلینولنیک برای انسان (اسیدهای چرب ضروری) و میزان بالای آن‌ها در روغن دانه‌ی ماریتیغال، می‌توان گفت که این روغن از ارزش تغذیه‌ای بالایی برخوردار است. گزارش شده است که روغن دانه خشک این گیاه فاقد خواص دارویی است

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.2.6]

(فلاح حسینی و همکاران، ۱۳۸۳)، این در حالی است که بنابر گزارش‌ها Hadolin و همکاران (۲۰۰۱) روغن ماریتیغال منبع غنی از ویتامین E است که این ویتامین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان از پراکسیداسیون بافت‌های بدن جلوگیری می‌کند.

یک استراتژی برای بهبود عملکرد گیاهان دارویی و معطر تولید ترکیباتی است که نسبتاً به خشکی مقاوم هستند و تحت شرایط تنش تولید بیشتری نشان می‌دهند. یکی از کاربردهای مؤثر و کارآمد القای خشکی، افزایش کیفیت در گیاهان است بدین صورت که کاربرد رژیم‌های رطوبتی خاص باعث افزایش متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Selmar, 2008). اثرات کمبود رطوبت در عملکرد و تغییرات مواد مؤثره گیاهان دارویی دارای ویژگی‌های خاصی است که باید به طور کامل مورد ارزیابی قرار گیرد. به نظر می‌رسد که گیاهان دارویی واکنش‌های متفاوتی نسبت به تنش خشکی در عملکرد و مواد مؤثر تولیدی داشته باشند. برای درک این ویژگی‌ها تحقیقات گسترده بر روی گیاهان با ارزش دارویی و اعمال تیمارهای مختلف نیاز می‌باشد (لباسچی و شریفی عاشورآبادی، ۱۳۸۳).

تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد تنش آبی سبب افزایش عملکرد روغن‌های فرار در بادرنجبویه (Aliabadi Farahani *et al*., 2009) و زیره سیاه (Laribi *et al*., 2009) و عملکرد سالوانیک اسید در *Salvia miltorhiza* می‌شود (Liu *et al*., 2011). همچنین گزارش شده است تنش رطوبتی ملایم سبب افزایش درصد روغن‌های فرار در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis*) و زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) شده است (Bettaieb *et al*., 2009; Bettaieb *et al*., 2011). تنش رطوبتی ملایم در دوره کوتاه سبب افزایش میزان بربرین در کورتکس ساقه درخت فیلودندرون (*Phellodendron amurense*) شد (Xia *et al*., 2007). همچنین طبق گزارش Marchese و همکاران (۲۰۱۰) از میان تیمارهای تنش رطوبتی اعمال شده (۱۴، ۳۸، ۶۲ و ۸۶ ساعت بدون آبیاری)، تنها تیمار ۳۸ ساعت بدون آبیاری سبب افزایش معنی‌دار در میزان آرتمیزین در گیاه درمنه (*Artemisia annua* L.) شد.

اعمال تنش رطوبتی (۳۰-۴۵ درصد کاهش و ۴۵-۶۰ درصد کاهش) در ۳ رقم جعفری سبب افزایش اسانس برگ (در واحد وزن تر)، در رقم برگ ساده و برگ فری شد، این در حالی بود که در جعفری ریشه‌ای این افزایش مشاهده نشد. همچنین گزارش شده اعمال تنش سبب تغییر در نسبت ترکیبات آروماتیک اسانس این گیاه شدکه این تفاوت بسته به رقم تفاوت‌هایی نشان داد (Petropoulos *et al*., 2008). Baghalian و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی اثر تنش رطوبتی بر میزان و ترکیبات روغن گیاه بابونه گزارش کردند تنش رطوبتی روی این دو صفت تأثیر معنی‌دار ندارند. کاهش میزان اسیدهای چرب تحت سطوح مختلف تنش رطوبتی (شاهد، تنش ملایم و تنش شدید) در گیاه مریم گلی، زیره سبز (Bettaieb *et al*., 2009; Bettaieb *et al*., 2011) و زیره سیاه (Laribi *et al*., 2009) گزارش شده است.

بر این اساس، این پژوهش به منظور مطالعه اثر تنش خشکی بر عملکرد روغن و میزان مواد مؤثره گیاه ماریتیغال در دو آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای طراحی و انجام گرفت.

مواد و روش‌ها:

کشت بذر و اعمال تیمار خشکی: در این تحقیق از بذرهای گیاه ماریتیغال (*Silybum marianum* L.) رقم مجارستانی تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی استان اصفهان استفاده گردید. آزمایش‌ها در ۲ بخش مجزا انجام گرفت. ابتدا به منظور برطرف کردن خواب بذر، بذور مرطوب شده به مدت ۷ شبانه روز در دمای ۵°C قرار گرفتند. در بخش اول آزمایش، بعد از جوانه زنی، بذور به گلدان هایی به قطر ۲۴ سانتی متر حاوی بستری با نسبت حجمی مساوی ماسه و پرلایت منتقل شدند. ماسه مورد استفاده قبل از استفاده سرند شده و به وسیله متام سدیم ضدعفونی گردید. قبل از کشت بذور، آبشویی بستر انجام گرفت. در هر گلدان ۱۰ بذر کشت شد که پس از دو

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.2.6]

مرحله تنک به ۲ گیاه در هر گلدان کاهش پیدا کرد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ سطح تنش خشکی انجام شد و برای هر تیمار چهار تکرار و برای هر تکرار چهار گلدان (۱۶ گلدان برای هر تیمار) و برای هر گلدان دو گیاه در نظر گرفته شد. در بخش دوم آزمایش بذور در کرت‌هایی به ابعاد ۱/۲*۱/۵ متر به صورت جوی و پشته با فاصله ۲۰ سانتی‌متر روی ردیف کشت شد. فاصله کرت‌ها ۳۰ سانتی‌متر بود. این بخش از آزمایش به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با ۵ تیمار و هر یک شامل ۴ کرت اجرا گردید. به منظور تأمین عناصر مورد نیاز گیاه از مخلوط کودی Floral، NPK (۲۰-۲۰-۲۰)+ (B+Cu+Fe+Mn+Mo+Zn) (محصول کشور ایتالیا و شرکت CIFO) با غلظت ۱ در هزار (pH= ۶/۵) همراه با آب آبیاری انجام گرفت. در هر دو آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای تنش در مرحله ۵۰ درصدگلدهی اعمال شد. در آزمایش گلدانی تیمارها در ۴ سطح، T_1 (معادل پتانسیل آب خاک ۰/۳۳- بار به عنوان تیمار شاهد)، T_2 (معادل پتانسیل آب خاک ۴- بار)، T_3 (معادل پتانسیل آب خاک ۸- بار) و T_4 (معادل پتانسیل آب خاک ۱۲- بار) اعمال شد. در آزمایش مزرعه‌ای تنش خشکی در ۵ سطح T_1 (معادل پتانسیل آب خاک ۰/۳۳- بار به عنوان تیمار شاهد)، T_2 (معادل پتانسیل آب خاک ۴- بار)، T_3 (معادل پتانسیل آب خاک ۸- بار) و T_4 (معادل پتانسیل آب خاک ۱۲- بار) و T_5 (معادل پتانسیل آب خاک ۱۵- بار) القا گردید. برای تعیین زمان آبیاری از دستگاه IDRG SMS-T1 استفاده شد. روش کار بدین ترتیب بود که قبل از اعمال تنش با قرار گیری پروب رطوبت سنج و دماسنج در گلدان، رطوبت حجمی خاک در فاصله کامل یک دورآبیاری به صورت روزانه اندازه‌گیری شد. با نمونه‌گیری روزانه از خاک در محدوده توسعه ریشه و از عمق ۱۵ سانتی متری و اندازه گیری وزن تر و خشک (بعد از ۴۸ ساعت قرار دادن نمونه در آون در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد) درصد حجمی آب خاک اندازه‌گیری شد. با توجه به رابطه درصد حجمی آب و پتانسیل خاک، سطوح مختلف تنش اعمال شد. به منظور کنترل رطوبت خاک (پتانسیل آب خاک) روی سطوح مورد نظر، پروب‌ها در بازه زمانی کوتاه در خاک قرار گرفته و در صورت نیاز آبیاری انجام گرفت.

اندازه گیری ترکیبات مؤثره بذر: جهت اندازه‌گیری مواد مؤثره ابتدا توده بذری کاپیتول اصلی و فرعی هر تیمار به‌خوبی مخلوط شده و سپس نمونه‌برداری صورت گرفت. به منظور افزایش تماس حلال با نمونه، هر تیمار به‌صورت جداگانه آسیاب شد. برای روغن‌گیری از حلال هگزان و دستگاه سوکسله (Soxhlet) استفاده شد. روش کار بدین صورت بود که ۱ گرم از پودر بذرهای هر تیمار درون پاکت‌هایی ساخته شده از جنس کاغذ صافی ریخته و درون کارتوش دستگاه سوکسله قرار داده شد. بالن‌ها قبل از قرارگیری در دستگاه سوکسله وزن شده و مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر از حلال هگزان در بالن متصل به سوکسله ریخته شد و بالن بر روی هیتر با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (نقطه جوش هگزان ۷۰-۶۵ درجه‌سانتی‌گراد است). مدت زمان جوشیدن ۸ ساعت در نظر گرفته شد. بدین ترتیب روغن از نمونه جدا شده و در هگزان محلول گردید. بعد از اتمام کار، کیسه محتوی پودر از دستگاه سوکسله خارج شده و به مدت ۲۴ ساعت درون آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا کاملاً عاری از هگزان شود. روغن نمونه‌ها با بازیابی هگزان توسط دستگاه تبخیر در خلأ (Rotary evaporator) به مدت ۳۰ دقیقه و دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. برای اطمینان از عدم وجود حلال در روغن، نمونه‌ها با استفاده از کپسول ازت مایع و قرار گرفتن در معرض ازت مایع حلال زدایی شدند (Karimzadeh, 2001).

استخراج سیلی مارین از بذر: جهت استخراج سیلیمارین از الکل اتانول استفاده شد. به ۱ گرم بذرخشک شده درون ارلن ۱۰ میلی‌لیتر اتانول اضافه شدو درحمام آب گرم با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد وارد شد. پس از ۳۰ دقیقه، اتانول بالن که با حل شدن سیلی‌مارین در آن به رنگ زرد درآمده بود تخلیه و در یک ارلن جمع‌آوری شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.2.6]

جدول ۱- شرح کار پمپ‌های دستگاه HPLC طی اندازه‌گیری سیلی‌بین در روش گرادیان (تغییر نسبت دو حلال در زمان)

حلال B (درصد)	حلال A (درصد)	سرعت جریان (میلی‌لیتر در دقیقه)	زمان (دقیقه)
۱۰	۹۰	۱	...
۴۵	۵۵	۱	۱۲
۵۵	۴۵	۱	۴۵

بازیابی اتانول توسط دستگاه تبخیر در خلاء انجام شد. در این مرحله اتانول تا رسیدن حجم نمونه به کمتر از ۵ میلی لیتر تحت عمل تبخیر قرار گرفت. پس از صاف کردن محلول حاصل، نمونه جهت استحصال سیلی‌مارین آماده شد (Karimzadeh *et al.*, 2001). پس از رسیدن حجم نمونه به کمتر از ۵ میلی‌لیتر، نمونه‌ها در یک ظرف لبه‌دار آلومینیومی ساخته شده از فویل ضخیم ریخته شد. به منظور حذف کامل اتانول، نمونه به مدت ۲۴ ساعت در داخل آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از این مدت جهت اطمینان از عدم وجود اتانول، نمونه چندبار به فاصله یک ساعت توزین و در صورت عدم مشاهده تغییر وزن، مرحله بعدی کار آغاز شد. در پایان این مرحله، عصارهٔ حاصل به صورت رگه‌های زرد رنگ بر روی فویل قابل مشاهده است. وزن سیلی‌مارین موجود در نمونه (میلی‌گرم) از اختلاف وزن فویل حاوی نمونه و وزن فویل خالی محاسبه شد. برای تهیه هر نمونه حدود ۵ میلی‌لیتر اتانول داخل فویل حاوی سیلی‌مارین ریخته و سیلی‌مارین با دقت تراشیده شد تا کاملاً در اتانول حل شود. سپس محلول حاصل در یک لوله آزمایش ۵ میلی-لیتری درب‌دار ریخته شد. در ادامه فرآیند اندازه‌گیری ترکیبات فنلی، با استفاده از یک سرنگ ۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی نمونه برداشته شد و پس از فیلتر کردن با فیلترهای سرنگی یک بار مصرف با منافذ ۰/۴۵ میکرومتری در یک میکروتیوب ریخته شد.

رسم کروماتوگرام سیلی بین استاندارد: استاندارد مورد استفاده، سیلی‌بین سیگما بود. برای تهیه نمونه‌ی استاندارد، یک میلی‌گرم از سیلی‌بین با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین و یک میلی‌لیتر محلولی که شامل ۸۵ درصد متانول و ۱۵ درصد اسیداستیک بود به آن اضافه شد. محلول در میکروپیپت ریخته شد و از فیلتر سرنگی یکبار مصرف با منافذ ۰/۴۵ میکرومتری عبور داده شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از این محلول به دستگاه HPLC تزریق شد. جهت رسم گراف وانجام محاسبات، استاندارد با ۴ غلظت ۱، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دستگاه تزریق شد. با محاسبهٔ سطح زیر پیک کروماتوگرام سیلی‌بین استاندارد و مقایسه آن با سطح زیر پیک بدست آمده در دقایق ۳۱ تا ۳۵ از نمونه تزریق شده به دستگاه، میزان سیلی‌بین قابل محاسبه است.

تعیین میزان ترکیبات فنلی: ترکیبات فنلی با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد. ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌ی آماده شده به دستگاه تزریق شد. سیستم HPLC (Breeze system, Waters, Ma, USA)، مجهز به یک پمپ دوگانه و شناساگر UV-Visible(Dual λ Waters Absorbance 2487) می‌باشد. جداسازی ترکیبات فنلی در یک ستون Symentery C_{18}(۱۵۰*۴/۶ میلی‌متر با قطر منافذ ۵ میکرومتر، (Waters, Dublin Ireland)) که در دمای اتاق قرار داشت با استفاده از دو حلالA (۹۵ درصد آب: ۵ درصد متانول (HPLC grade)) و B (۵ درصد آب: ۹۵ درصد متانول) و۳= pH با سرعت ۱ میلی لیتر در دقیقه انجام شد (جدول ۱). مدت زمان آنالیز و سنجش هر نمونه ۴۵ دقیقه بود. در این آزمایش طول موج ۲۸۰ نانومتر مورد استفاده قرار گرفت. به منظور آنالیز کمی، کروماتوگرام‌های حاصل از تزریق هر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.2.6]

نمونه در هر تیمار با کروماتوگرام بدست آمده از تزریق نمونه‌ی استاندارد مقایسه و در نهایت غلظت سیلی‌بین بر حسب میلی‌گرم بر وزن خشک محاسبه شد. میزان سیلی-بین نیز با محاسبه سطح زیر نمودار کلیه پیک‌های ثبت شده در این طول موج قابل اندازه‌گیری است. وزن عصاره از اختلاف وزن فویل حاوی عصاره و وزن فویل در پایان مرحله استخراج مواد مؤثره با استفاده از ترازوی دیجیتال به دست آمد.

آنالیز های آماری: پس از اندازه‌گیری صفات و جمع‌آوری داده‌ها مقایسه میانگین تیمارها به روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام گرفت.کلیه محاسبات آماری شامل تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و MSTATC و داده‌پردازی و ترسیم نمودارها و جداول با نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج:

تاثیر تنش خشکی بر میزان سیلی‌بین: با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده گردید تأثیر تنش خشکی بر میزان سیلی‌بین a، b و کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. در آزمایش گلدانی بالاترین میزان سیلی‌بین a، b و کل مربوط به تیمار پتانسیل آب خاک ۴- بار و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار پتانسیل آب خاک ۱۲- بار بود. به گونه‌ای که میزان سیلی‌بین a، b و کل در تیمار پتانسیل آب خاک ۴- بار نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۴، ۳/۸ و ۳/۹ برابر افزایش نشان داد (شکل A ۱). در آزمایش مزرعه‌ای بالاترین میزان سیلی‌بین a مربوط به تیمار پتانسیل آب خاک ۱۲- بار و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار پتانسیل آب خاک ۸- بار بود. این روند در مورد سیلی‌بین b و سیلی بین کل نیز به همین ترتیب مشاهده گردید(شکل B ۱).

تأثیر تنش خشکی بر میزان سیلی‌مارین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار از نظر میزان سیلی‌مارین در سطح احتمال ۱ درصد بین سطوح تنش خشکی اعمال شده بود. بالاترین میزان سیلی‌مارین در هر دو آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای مربوط به تیمار پتانسیل آب خاک ۴- بار بود. کمترین میزان سیلی‌مارین نیز در دو آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای به‌ترتیب مربوط به تیمار پتانسیل آب خاک ۱۲- و ۸- بدست آمد (شکل ۲, A و B).

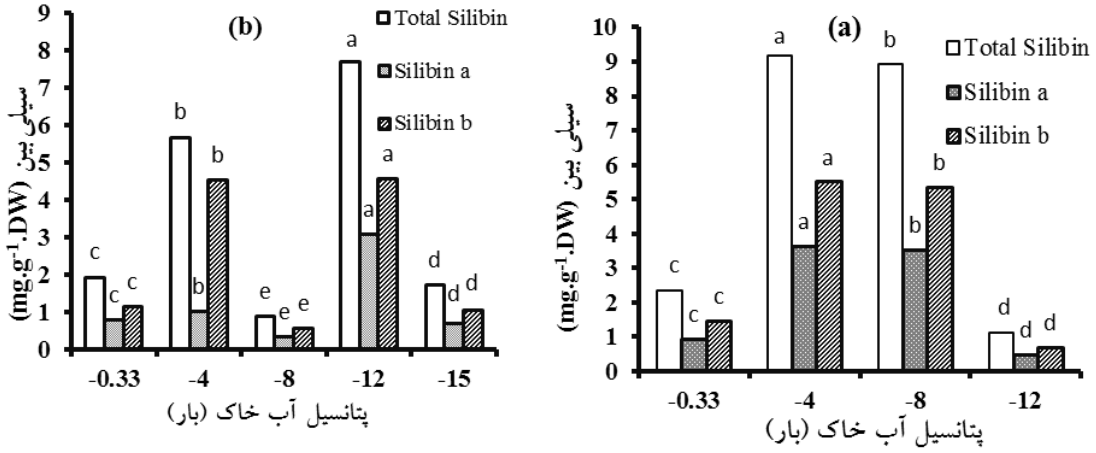
تأثیر تنش خشکی بردرصد روغن: بر اساس نتایج تجزیه واریانس اختلاف بین تیمارها از نظر درصد روغن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. در آزمایش گلدانی بالاترین درصد روغن در تیمار پتانسیل آب خاک ۴- بار مشاهده شد که از نظر آماری با تیمار شاهد و پتانسیل آب خاک ۸- بار اختلاف معنی‌دار نشان نداد و کمترین مقدار مربوط به تیمار پتانسیل آب خاک ۱۲- بار بود، هر چند بین این تیمار و تیمار پتانسیل آب خاک ۸- بار و شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل A ۳). در آزمایش مزرعه‌ای بالاترین و کمترین درصد روغن به ترتیب مربوط به تیمار پتانسیل آب خاک ۴- و ۱۵- بار بود. همچنین نتایج حاکی از عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمار شاهد، ۸- و ۱۲- بار بود (شکل B ۳).

بحث:

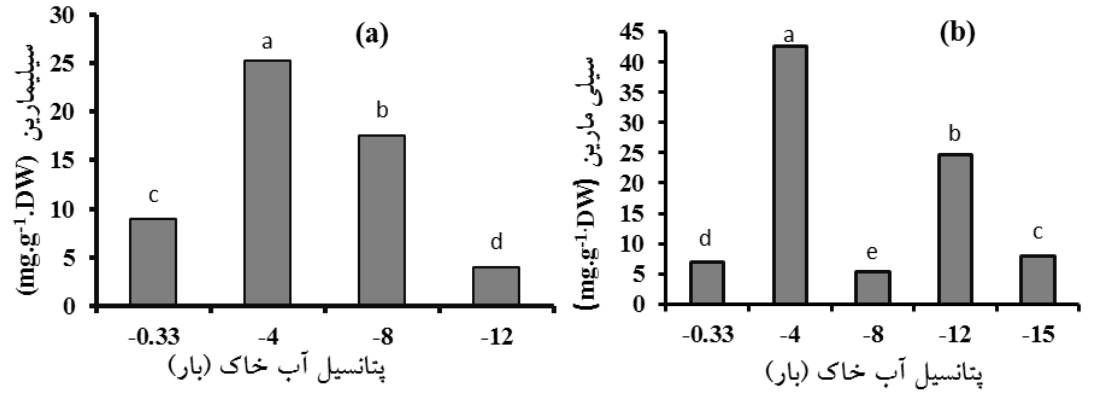
با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایش گلدانی، بیشترین میزان سیلی‌بین a، b و کل و همچنین بیشترین میزان سیلی مارین مربوط به تیمار پتانسیل آب خاک ۴- بار بود (شکل ۱A و ۲A) این در حالی بود که در آزمایش مزرعه‌ای بیشترین میزان سیلی‌بین a، b و کل در تیمار پتانسیل آب خاک ۱۲- بار مشاهده شد (شکل B ۱) و بیشترین میزان سیلی‌مارین مربوط به تیمار پتانسیل آب خاک ۴- بار بود (شکل B ۲). گزارشاتی مبنی بر افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه در اثر القای تنش خشکی در گیاهان وجود دارد. گزارش شده است که بیوسنتز این متابولیت ها تنها تحت تأثیر ژنتیک گیاه نیست بلکه با توجه به الگوهای محیطی نیز تغییر می‌کند (Aliabadi Farahani *et al.*, 2009). به عنوان مثال تنش خشکی سبب افزایش میزان رزماریک

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-20]

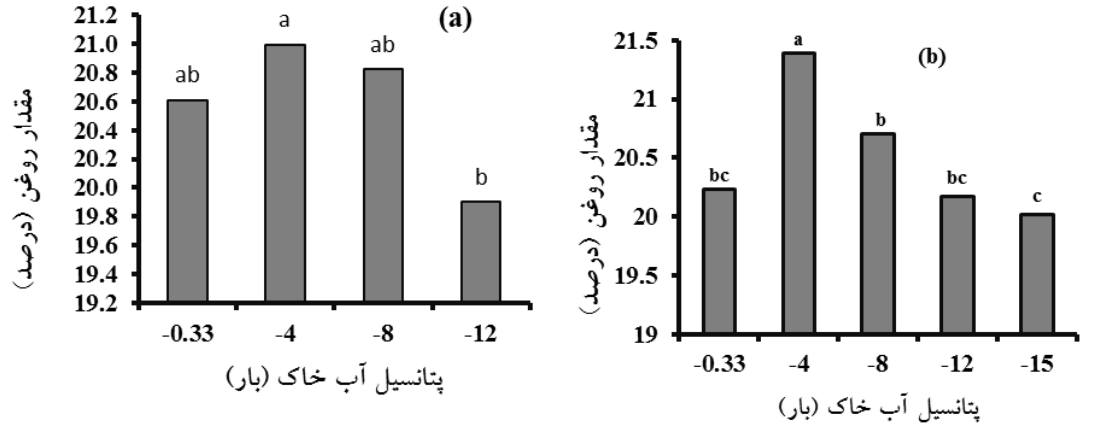
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.2.6]



شکل ۱- اثر تنش خشکی بر میزان سیلی‌بین بذر گیاه ماریتیغال رقم مجارستان A) آزمایش گلدانی B) آزمایش مزرعه‌ای (میانگین-هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند).



شکل ۲- اثر تنش خشکی بر میزان سیلی‌مارین بذر گیاه ماریتیغال رقم مجارستان A) آزمایش گلدانی B) آزمایش مزرعه‌ای (میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند).



شکل ۳ - اثر تنش خشکی بر مقدار روغن بذر گیاه ماریتیغال رقم مجارستان A) آزمایش گلدانی B) آزمایش مزرعه‌ای (میانگین-هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.2.6]

اسید در گیاه *Salvia miltorhiza* (Shi *et al.*, 2007) و افزایش سنتز بتا سیانوآلانین در ریشه و برگ گیاه تنباکو (Liang, 2003) می‌شود. طبق تحقیقات قربانلی و همکاران (۱۳۸۴) نیز اثر تنش شدید خشکی بر گیاه سویا سبب افزایش معنی‌دار ترکیبات فنلی در برگ‌های سویا رقم گرگان ۳ شد، در حالیکه در ساقه و ریشه این روند معنی دار نبود. Belitz و Sams (۲۰۰۷) با بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر میزان فلاوولیگنان‌ها در کشت هیدروپونیک شرایط گلخانه‌ای بر گیاه ماریتیغال گزارش کردند بالاترین میزان تاکسی‌فولین کاپیتول اصلی مربوط به سطح پائین آبیاری بود و بین سایر تیمارها تفاوت معنی داری مشاهده نشد. همچنین نتایج حاصل از آنالیز کاپیتول های فرعی نشان داد تأثیر سطوح تنش اعمال شده بر میزان فلاوولیگنان معنی‌دار نبود. Aziz و همکاران (۲۰۰۸) نیز ضمن بررسی اثر ۴ سطح خشکی (فواصل آبیاری ۳، ۵، ۷ و ۱۰ روز) بر گیاه آویشن مشاهده کردند که بالاترین درصد نسبی تیمول در تیمار فاصله‌ی آبیاری ۱۰ روز بدست آمد. همچنین در نتیجه بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی (۱۰۰، ۸۵، ۷۰ و ۵۵ درصد ظرفیت زراعی) بر گیاه بابونه آلمانی، بالاترین درصد اسانس مربوط به تیمار ۸۵ درصد ظرفیت زراعی بود (Pirzad *et al.*, 2006). عنوان شده است که بدلیل کاهش رشد در اثر القای تنش خشکی، تثبیت کربن در طی فتوسنتز صرف تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Turtola *et al.*, 2003) و بیشتر متابولیت‌ها یا تولیدات درگیاهان تحت تنش در جهت جلوگیری از اکسیداسیون سلولی است (Aliabadi Farahani *et al.*, 2009). نکته‌ای که باید در اینجا به آن اشاره کرد و در سطوح بالای تنش در این تحقیق نیز مشاهده گردید این است که همیشه همراه با افزایش شدت تنش، میزان متابولیت‌های ثانویه افزایش نمی یابد، زیرا در تنش‌های شدیدتر، گیاه بیشتر مواد فتوسنتزی خود را صرف تولید ترکیب‌های تنظیم کننده اسمزی از جمله پرولین، گلسین-بتائین و ترکیب‌های قندی مانند ساکاروز، فروکتوز و فروکتان‌ها می‌کند تا شرایط لازم برای ادامه حیات آن فراهم شود. بنابراین تنش خشکی به دلیل کاهش آب در خاک و با افزایش غلظت مواد محلول در محیط که منجر به یک جریان اسمزی آب در خارج از گیاه می‌گردد سبب فعال نمودن فرآیندهای مختلف در گیاه شده که با مصرف انرژی همراه می‌باشد و روی صفات کمی و کیفی گیاه تأثیر می‌گذارد (Aliabadi Farahani *et al.*, 2009). همچنین گزارش شده است تفاوت بین ترکیبات سازنده اسانس بستگی به سطوح تیمار اعمال شده دارد. تغییرات ایجاد شده بر روی اسا نس در شرایط تنش خشکی به علت ایجاد تغییر در نسبت اجزا سازنده اسانس است و نه به علت ایجاد یک ترکیب جدید و یا نبود و یا حذف یکی از اجزا سازنده. علت تفاوت در عملکرد اجزا سازنده و عملکرد اسانس ممکن است به علت اثر تنش خشکی روی فعالیت آنزیمی و متابولیسم سلولی باشد (Bettaieb *et al.*, 2009). همبستگی مثبت و معنی‌دار عملکرد سیلی‌مارین با میزان سیلی‌مارین در سطح ۵ درصد در آزمایش مزرعه‌ای (جدول ۲) نشان دهنده عملکرد بالای سیلی‌مارین با وجود قرارگیری در شرایط تنش خشکی و اقتصادی بودن کشت این گیاه در این شرایط است. گزارش شده است که تنش خشکی سبب افزایش درصد اسانس در بیشتر گیاهان دارویی و معطر می‌شود، این در حالی است که مقدار اسانس کاهش می‌یابد، زیرا رابطه بین درصد اسانس و عملکرد بسیار اهمیت دارد و کاهش عملکرد با وجود افزایش میزان اسانس در کل سبب کاهش میزان اسانس می‌گردد (Aliabadi Farahani *et al.*, 2009) .

با وجود گزارش‌هایی مبنی بر کاهش مواد مؤثر و کیفیت آن‌ها در بعضی از گیاهان، باید عنوان کرد اعمال تنش خشکی علاوه بر افزایش کمیت سیلی‌مارین، با افزایش میزان سیلی‌بین سبب افزایش کیفیت عصاره گیاه ماریتیغال می‌گردد. بررسی اثر سطوح مختلف خشکی بر درصد روغن بذر نیز بیشترین درصد روغن بذر را در هر دو آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای در تیمار پتانسیل آب خاک

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.2.6]

جدول۲- همبستگی صفات مورد مطالعه در گیاه ماریتیغال رقم مجارستان(آزمایش مزرعه ای)

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
۱- میزان سیلی‌بین a ($mg.g^{-1}.DW$)	۱	۰/۷۵^{ns}	۰/۸۸*	۰/۴۱^{ns}	۰/۰۲^{ns}	-۰/۲۶^{ns}	-۰/۴^{ns}
۲- میزان سیلی‌بین b ($mg.g^{-1}.DW$)		۱	۰/۹۷**	۰/۹۱*	۰/۶۷^{ns}	۰/۳۷^{ns}	-۰/۰۵^{ns}
۳- میزان سیلی‌بین($mg.g^{-1}.DW$)			۱	۰/۷۹^{ns}	۰/۴۸^{ns}	۰/۱۶^{ns}	-۰/۱۸^{ns}
۴- میزان سیلی‌مارین($mg.g^{-1}.DW$)				۱	۰/۹۱*	۰/۶۷^{ns}	۰/۱۶^{ns}
۵- عملکرد سیلی‌مارین(گیاه/میلی‌گرم)					۱	۰/۸۶^{ns}	۰/۴۹^{ns}
۶- درصد روغن						۱	۰/۵۹^{ns}
۷- عملکرد روغن(گیاه/گرم)							۱

** و * به ترتیب نشان‌دهنده معنی دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد و ^{ns} نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی دار است.

جدول۳- همبستگی صفات مورد مطالعه در گیاه ماریتیغال رقم مجارستان(آزمایش گلدانی)

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
۱- میزان سیلی‌بین a ($mg.g^{-1}.DW$)	۱	۰/۹۹**	۰/۹۹**	۰/۹۴^{ns}	۰/۷۰^{ns}	۰/۸۵^{ns}	۰/۱۴^{ns}
۲- میزان سیلی‌بین b ($mg.g^{-1}.DW$)		۱	۰/۹۹**	۰/۹۴**	۰/۷۰^{ns}	۰/۸۵^{ns}	۰/۱۵^{ns}
۳- میزان سیلی‌بین ($mg.g^{-1}.DW$)			۱	۰/۹۴^{ns}	۰/۸۹^{ns}	۰/۸۵^{ns}	۰/۱۵^{ns}
۴- میزان سیلی‌مارین ($mg.g^{-1}.DW$)				۱	۰/۸۹^{ns}	۰/۹۰^{ns}	۰/۳۹^{ns}
۵- عملکرد سیلی‌مارین (گیاه/میلی‌گرم)					۱	۰/۸۳^{ns}	۰/۶۸^{ns}
۶- درصد روغن						۱	۰/۴۹^{ns}
۷- عملکرد روغن (گیاه/گرم)							۱

** و * به ترتیب نشان‌دهنده معنی دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد و ^{ns} نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی دار است.

۴- بار نشان داد (شکل ۳A,B). Laribi و همکاران (۲۰۰۹) نیز ضمن بررسی سطوح مختلف تنش خشکی (شاهد، تنش ملایم و تنش شدید) بر گیاه زیره سیاه مشاهده کردند تنش خشکی سبب کاهش میزان روغن شد ولی میلاری لاری و احسان‌زاده (۱۳۸۹) با بررسی اثر تنش خشکی بر گیاه گلرنگ بیان کردند تنش خشکی سبب افزایش درصد روغن شد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. با بررسی سطوح مختلف تنش خشکی (۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر) بر روغن در گیاه دارویی همیشه بهار، بیشترین درصد روغن از دور آبیاری ۱۲۰ میلی‌متر تبخیر بدست آمد و چون عملکرد روغن دانه تابعی از درصد روغن و عملکرد دانه می‌باشد، در شرایط تنش با وجود افزایش درصد روغن ، اما به علت کاهش شدید عملکرد دانه، عملکرد روغن در این گونه با افت مواجه شد (Rahmani *et al.*, 2011).

نتیجه گیری کلی:

در این تحقیق نیز همانگونه که نتایج جدول همبستگی ۲ و ۳ نشان می‌دهد با وجود افزایش درصد روغن، عملکرد روغن با کاهش مواجه شد. در شرایط تنش، تولید مواد ثانویه در گیاه افزایش می‌یابد. افزایش این مواد سبب جلوگیری از اکسیداسیون درونی سلول‌ها می‌شود. لازم به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.2.6]

ذکر است که عملکرد روغن با برخی صفات رویشی و زایشی مانند وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد و وزن دانه کاپیتول اصلی و فرعی و وزن هزار دانه در هر دو آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای همبستگی مثبت و معنی‌دار نشان داد (داده ها آورده نشده است). این نتایج نشان می دهد کاهش مواد فتوسنتزی و رشد در نهایت منجر به کاهش عملکرد روغن در گیاه ماریتیغال شده است.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان که حمایت مالی و اجرایی این تحقیق را انجام دادند تشکر می نمایند.

منابع:

گلی، س. ا. ح.، م. کدیور، ب. بهرامی و م. ر. سبزعلیان (۱۳۸۶) خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن دانه ماریتیغال، فصلنامه‌ی علوم و صنایع غذایی ایران ۴: صفحه: ۳۱-۲۷.

فلاح حسینی، ح.، ا. ر. همتی مقدم و س. م. علویان (۱۳۸۳) مروری بر گیاه دارویی خارمریم، فصلنامه‌ی گیاهان دارویی ۱۱: ۲۴-۱۴.

قربانلی، م. و م. نیاکان (۱۳۸۴) بررسی اثر تنش خشکی بر روی میزان قندهای محلول، پروتئین، پرولین و ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز گیاه سویا رقم گرگان۳، نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم ۱ و ۲: ۵۵۰-۵۳۷.

لباسچی، م. ح. و ا. شریفی عاشورآبادی (۱۳۸۳) شاخص های رشد برخی گونه‌های گیاهان دارویی در شرایط مختلف تنش خشکی، فصلنامه‌ی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳: ۲۶۱-۲۴۹.

مجنون حسینی، ن. و س. دوازده امامی(۱۳۸۶) زراعت و تولید برخی گیاهان دارویی و ادویه‌ای، انتشارات دانشگاه تهران.

میلاری لاری، ا. و پ. احسان‌زاده (۱۳۸۹) تأثیر منفی تنش خشکی بر عملکرد گلرنگ از طریق کاهش سطح فتوسنتز کننده و کارآیی کوانتومی فتوسیستم II، مجله علوم گیاهان زراعی ایران ۲: ۳۸۴-۳۷۵.

Aliabadi Farahani, H., Valadabadi, S. A. J., Daneshian and Khalvati, M. A. (2009) Evaluation changing of essential oil of balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress conditions. Journal of Medicinal Plant Research 3: 329-333.

Aziz, E. E., Hendawi, S. T., Din, E. E., A. Omer and Omer, E. A. (2008) Effect of soil type and irrigation intervals on plant growth, essential oil yield and constituents of *Thymus vulgaris* plant. American-Eurasian Journal of Agriculture Environment Science 4: 443-450.

Baghalian, K., Abdoshah, Sh., Khalighi Sigaroodi, F. and Paknejad, F. (2010) Physiological and phytochemical response to drought stress of German chamomile (*Matricaria recutita* L.). Plant Physiology and Biochemistry 30: 1-7.

Bettaieb, I., Knioua, S., Hamrouni, I., Limam F.and Marzouk, B. (2011) Water deficit impact on fatty acid and essential oil composition and antioxidant activities of Cumin (*Cuminum cyminum* L.) aerial parts. Journal of Agriculture Food Chemistry 59: 328–334.

Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannes, W. A., Kchouk, M. E. and Marzouk B. (2009) Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. Science Horticulture 120: 271-275.

Belitz, A. R. and Sams, C. E. (2007) The effect of population density on growth, yield, and flavonolignan content in milk thistle (*Silybum marianum*). Acta Horticulture 756: 251-257.

Gomez-Galera, S., Pelacho, A. M., Gene, A., Capell, T. and Christou, P. (2007) The genetic manipulation of medicinal and aromatic plants. Plant Cell Report 26: 1689–1715.

Hadolin, M., Skerget, M., Knez, Z. and Bauman, D. (2001) High pressure extraction of vitamin E-rich oil from *Silybum marianum*. Food Chemistry 74: 355-364.

Karimzadeh, G., Omidbaigi, R. and Bakhshi, D. (2001) Influence of irrigation and row spacing on the growth, seed yield and active substances of milk thistle (*Silybum marianum*) International Journal of Horticultural Science 7: 78-81

Laribi, B., Bettaieb, I., Kouki, K., Sahli, A., Mougou, A. and Marzouk, B. (2009) Water deficit effects on caraway (*Carum carvi* L.)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.2.6]

different irrigation regimes. Agronomy Journal 5: 451-455.

Rahmani, N., Daneshian, J., Farahani, H. A. and Taherkhani, T. (2011) Evaluation of nitrogenous fertilizer influence on oil variations of Calendula (*Calendula officinalis* L.) under drought stress conditions. Journal of Medicinal Plants Research 5: 696-701.

Selmar, D. (2008) Potential of salt and drought stress to increase pharmaceutical significant secondary compounds in plants. Agronomy Forest Research 58: 139-144.

Shi, M., Kwok, K. W. and Wu, J. Y. (2007) Enhancement of tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* Bunge (red or Chinese sage) hairy-root culture by hyperosmotic stress and yeast elicitor. Biotechnology and Applied Biochemistry 46: 191-196.

Turtola, S., Manninen, A., Rikala, R.and Kainulainen, P. (2003) Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in scots pine and Norway spruce seedling. Journal of Chemical Ecology 29: 1981-1995.

Wallace, S., Vaughn, K., Stewart, B. W., Viswanathan, T., Clausen, E., Nagarajan, S. and Carrier, D. J. (2008) Milk thistle extracts inhibit the oxidation of low-density lipprotein (LDL) and subsequent scavenger receptor dependent monocyte adhesion. Journal of Agriculture Food Chemistry 56: 3966-3972.

Yago-cheng, R. (1991) Advances in pharmacological studies of silymarin. Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz 86: 79-85.

growth, essential oil and fatty acid composition. Indian Crop Production 30: 372-379.

Lee, I. L., Narayan, M. and Barrett, J. S. (2007) Analysis and comparison of active constituents in commercial standardizes silymarin extract by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. Journal of Chromatography *B*. 845: 95-103.

Liu, H., Wang, X., Wang, D., Zou, Z. and Liang, Z. (2011) Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Indian Crop Production 33: 84-88.

Liang, W. S. (2003) Drought stress increases both cyanogenesis and β-cyanoalanine synthase activity in tobacco. Plant Science 165: 1109-1115.

Marchese, J. A., J. F. S. Ferreira, V. L. G. Rehder and O. Rodrigues (2010) Water deficit effect on the accumulation of biomass and artemisinin in annual wormwood (*Artemisia annua* L.). Brazilian Society of Plant Physiology. 22: 1-9.

Minakhmetov, R. A., Onuchak, L. A., Kurkin, V. A., Avdeeva, E. V. and Volotsueva, A. V. (2001) Analysis of flavonoids in *Silybum marianum* fruit by HPLC. Chemistry of Natural Compounds 37: 318-321.

Nyiredy, S., Szucs, Z., Antus, S. and Samu, Z. (2008) New components from *Silybum marianum* L. Fruits: a theory comes true. Chromatographia Supplement 68: 5-11.

Petropoulos, S. A., Daferera, D., Polissiou, M. G., and Passam, H. C. (2008) The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Science Horticulture 115: 393-397.

Pirzad, A., Alyari, H., Shakiba, M. R., Zehtab-Salmasi, S. and Mohammadi, A. (2006) Essential oil content and composition of German chamomile (*Matriciria Chamomilla* L.) at

*

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.2.6]