

## اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر تولید شیکوریک اسید در کاهوی موجدار (*Lactuca undulata*)

### Impact of Different Levels of Drought Stress on Cichoric Acid Production in *Lactuca undulata*

عبدالله سقالی<sup>۱</sup>، مهناز اقدسی<sup>۲\*</sup> و سیدمحمد فاطمی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۹

(مقاله پژوهشی)

#### چکیده

کاهوی موجدار (*Lactuca undulata* Ledeb.) گیاهی یک‌ساله از خانواده Asteraceae است. یکی از ترکیبات مهم این گیاه شیکوریک اسید است که در صنایع دارویی و غذایی از اهمیت زیادی برخوردار است. مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر رشد و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه کاهوی موجدار انجام شده است. به این منظور گیاهچه‌های ۴۵ روزه به مدت ۷ روز تحت تیمار خشکی با پتانسیل ۰ (صفر)، ۰/۳، ۰/۶، ۰/۹ و ۱/۲- بار (با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول ۴۰۰۰) استفاده شد. نتایج حاصل نشان داد که با افزایش تنش خشکی گیاهان به تدریج پژمرده شدند. بیش‌ترین میزان وزن خشک و تر ریشه و برگ، وزن کل گیاهچه‌ها، فنل کل ریشه و برگ، فلاونوئید کل برگ، قند محلول ریشه و برگ، پروتئین محلول ریشه، و فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه در تیمار با پتانسیل خشکی ۰/۶- بار مشاهده شد. بالاترین میزان فلاونوئید کل ریشه و فعالیت پراکسیداز برگ در تیمار با پتانسیل خشکی ۰/۹- بار مشاهده شد. میزان پروتئین محلول ریشه با افزایش تنش خشکی به تدریج افزایش یافت. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو نمونه ریشه و برگ با افزایش تنش خشکی کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. نتایج حاصل از آنالیز HPLC نشان داد که تنش خشکی با پتانسیل ۰/۶- و ۰/۹- بار سبب افزایش معنی‌دار در میزان شیکوریک اسید ریشه نسبت به شاهد شده است. در مجموع داده‌های حاضر نشان داد که تیمار خشکی با پتانسیل ۰/۶- بار سبب بهبود فاکتورهای رشد و افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه آن می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** پتانسیل آب، متابولیت ثانویه، مشتقات کافئیک اسید، رشد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۱، ۲ و ۳. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

\* نویسنده مسئول Email: Aghdasi1346@gmail.com

مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول به راهنمایی مهناز اقدسی می‌باشد.

## مقدمه

سرخس و بادرنجبویه شناسایی شده است (لی و اسکگل<sup>۸</sup>، 2013). در حال حاضر مهم‌ترین منبع تولید شیکوریک اسید گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) است که بومی ایران نمی‌باشد.

در بین گونه‌های مختلف جنس سرخارگل، ریشه سرخارگل ارغوانی بیش‌ترین مقدار شیکوریک اسید (۱۹/۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) را در خود دارد (پلاتی<sup>۹</sup> و همکاران، 2004). میزان شیکوریک اسید برحسب گونه، اندام و شرایط رشد گیاه متغیر است (مورچ و همکاران<sup>۱۰</sup>، 2006). تاکنون خواص دارویی مهمی از شیکوریک اسید گزارش شده است. مطالعات انجام شده در شرایط درون شیشه‌ای (*In Vitro*) و شرایط موجود زنده (*In Vivo*) نشان داده که این ترکیب در تحریک فعالیت‌های فاگوسیتوزی و ممانعت از فعالیت هیالورونیدازی (آنزیم کلیدی شرکت‌کننده در عفونت‌های باکتریایی) (بوآر<sup>۱۱</sup>، 1998)، ممانعت از تکثیر ویروس HIV (پلاتی و همکاران، 2004؛ لیو<sup>۱۲</sup> و همکاران، 2006) خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی (تسای و همکاران<sup>۱۳</sup>، 2012) خاصیت ضددیابتی (آستو و بنتیراس<sup>۱۴</sup>، 2012) نقش دارد.

تا به امروز اثر شرایط محیطی بر کیفیت و کمیت متابولیت‌های ثانویه در گیاهان مختلف به‌طور گسترده مطالعه شده است. این تحقیقات نشان داده که عوامل محیطی مانند دما، نور، رطوبت، مواد غذایی موجود در خاک و ارتفاع از سطح دریا بر رشد، نمو و پروفایل شیمیایی گیاه تأثیر مستقیم دارند (سعید<sup>۱۵</sup> و همکاران، 2011؛ جووانسویک<sup>۱۶</sup> و همکاران، 2011). همچنین اثر تنش‌های محیطی (مانند گرما، نور، امواج ماوراء صوت و هورمون‌ها) روی تولید شیکوریک اسید در تعداد کمی از گونه‌های زراعی بررسی شده است. در بیش‌تر این گزارش‌ها نشان داده شده که تنش‌های محیطی سبب انباشته شدن شیکوریک اسید می‌شود. به‌عنوان مثال تنش گرمایی (۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه در رطوبت نسبی ۹۰ درصد) سبب افزایش شیکوریک اسید در کاهوی قرمز در سومین روز پس از تیمار شده است. همچنین تنش سرما (۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک روز در اتاقک کشت) سبب افزایش شیکوریک اسید در اولین ساعت پس از تیمار شده است. اما شدت نور بالا ۸۰۰ میکرومول در مترمربع در ثانیه

در دنیای امروز گیاهان دارویی و ترکیبات مشتق شده از منابع طبیعی از اهمیت زیادی برخوردار هستند. با توجه به انتقال بسیاری از آلودگی‌ها و بیماری‌ها از طریق غذا و محصولات آرایشی و بهداشتی، استقبال عموم مردم به سمت محصولات طبیعی روزبه‌روز در حال افزایش است. این امر اهمیت مطالعه هرچه بیش‌تر درخصوص ترکیبات طبیعی به‌دست‌آمده از گیاهان دارویی را نشان می‌دهد. از طرفی دیگر دنیای امروز با انواعی از تنش‌های محیطی مانند تغییرات گسترده آب و هوایی کره زمین، بروز خشک‌سالی و تشدید تنش شوری مواجه است که بر راندمان و عملکرد محصولات زراعی تأثیر دارد. از طرفی دیگر تنش‌های محیطی بر مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه در گیاهان اثر گذارده و کمیت و کیفیت این ترکیبات را تحت تأثیر قرار می‌دهند (سودا و رویشانکا<sup>۱</sup>، 2008). کمبود آب و خشکی را می‌توان از مهم‌ترین مشکلات مناطق خشک و نیمه‌خشک دانست که بر رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارد. بیش از نیمی از مساحت ایران جزو مناطق خشک بوده که میزان بارندگی سالانه آن حدود ۲۵۰ میلی‌متر یا کم‌تر از آن است (پیراوی<sup>۲</sup> و همکاران، 2015).

کاهوی موجدار با نام علمی *Lactuca undulata* L. یک‌ساله و متعلق به خانواده Asteraceae است که در مناطق مختلف اروپا، ترکیه، ایران، قفقاز، روسیه، افغانستان، پاکستان، عراق و اردن رویش دارد. این گیاه بومی ایران است و در مناطق وسیعی از کشور پراکنش دارد (اسدی و همکاران، 2013). نخستین بار رمضان‌نژاد و همکاران (2019) خصوصیات شیمیایی کاهوی موجدار را مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که شیکوریک اسید<sup>۳</sup> مهم‌ترین ماده مؤثره این گیاه است. از دیگر ترکیبات موجود در کاهوی موجدار می‌توان به کلروژنیک اسید<sup>۴</sup>، کافئیک اسید<sup>۵</sup>، فنل‌ها و فلاونوئیدها اشاره کرد.

شیکوریک اسید با فرمول شیمیایی  $C_{22}H_{18}O_{12}$  اولین بار از بخش‌های هوایی کاسنی جداسازی شد (اسکارپاتی و ارینت<sup>۶</sup>، 1958). شیکوریک اسید، از مشتقات کافئیک اسید و تارتاریک اسید است که با نام دی‌کافئول تارتاریک اسید نیز شناخته می‌شود (مولگار<sup>۷</sup> و همکاران، 2003). این ترکیب در بسیاری از گونه‌های گیاهی مانند سرخارگل، ریحان، کاهو، اسطوخودوس،

8. Lee and Scagel
9. Pellati
10. Murch
11. Bauer
12. Liu
13. Tsai
14. Aceto and Bentires
15. Saeed
16. Jovancevic

1. Sudha and Ravichandran
2. Peiravi
3. Cichoric acid
4. Chlorogenic acid
5. Caffeic acid
6. Scarpati and Oriente
7. Molgaard

### مواد و روش‌ها

بذر کاهوی موجدار از منطقه بیارجمند- روستای دزیان با طول و عرض جغرافیایی "۱۹۱.۳۴°۵۹'۵۵ و "۰۵.۰۷۳°۳۶ و ارتفاع ۱۲۲۶ متر از سطح دریا جمع‌آوری شد.

### جوانه‌زنی بذر

به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر تولید متابولیت‌های ثانویه با ارزش دارویی گیاه کاهوی موجدار، ابتدا جوانه‌زنی بذر را بر روی کاغذ صافی مرطوب انجام شد. به این منظور تعداد ۵۰ تا ۶۰ عدد بذر در الکل ۷۰ درجه به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر چندین بار شسته شدند. سپس بذر را در آب ژاول به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و به دنبال آن با آب مقطر مجدداً شستشو شدند. در پایان بذر را لای کاغذ صافی مرطوب و در یخچال به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سرمادهی گردید. پس از آن ظروف حاوی بذر را به اتاقک کشت با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و فتوپریود ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت انتقال داده شد تا جوانه‌زنی صورت گیرد.

پس از ۲۰ روز، گیاهچه‌ها به ماسه شسته شده انتقال یافته و با محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند. سپس گیاهچه‌های ۴۵ روزه تحت تیمار خشکی با پتانسیل (۰ (صفر)، ۰/۳-، ۰/۶-، ۰/۹- و ۱/۲- (بار) تیمار شدند. برای ایجاد تنش خشکی از PEG4000 (پلی‌اتیلن گلیکول) استفاده شد. در این تحقیق پتانسیل‌های موردانتظار بر اساس دستورالعمل میشل و کوفمان<sup>۵</sup> (1973) محاسبه شد. بر اساس این دستورالعمل میزان (۰) صفر، ۵۵/۲، ۷۵/۶، ۱۰۰/۴ و ۱۲۸/۸ گرم PEG توزین و به حجم ۴۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از ۷ روز تیمار خشکی، نمونه‌ها برداشت شده و وزن تر بخش‌های هوایی و ریشه اندازه‌گیری شدند. قسمتی از نمونه‌های ریشه و برگ به‌طور جداگانه تا مرحله سنجش پارامترهای موردنظر در فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

### اندازه‌گیری وزن خشک

نمونه‌های ریشه و برگ به‌طور جداگانه در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز خشک و سپس توزین شدند.

### سنجش محتوی کلروفیل

سنجش محتوی کلروفیل در استون ۸۰ درصد، به روش آرنون<sup>۶</sup> (1949) انجام شد. به این منظور، ۰/۰۵ گرم بافت تر برگ در ۲ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و سپس در حمام یخ

به مدت ۱ روز) تأثیری بر روی میزان شیکوریک اسید در ساعات اولیه تیمار نداشته است. درحالی‌که اعمال تنش پس از ۱ و ۳ روز سبب افزایش این ماده در گیاهان مورد بررسی شده است. این نتایج نشان می‌دهد که تنش سرما و گرما به‌طور متوسط سبب افزایش دو برابری در میزان شیکوریک اسید شده است، درحالی‌که تابش نور شدید سبب افزایش تقریباً هفت برابری در میزان این ماده شده است (بکر<sup>۱</sup> و همکاران، 2013). نتایج تحقیقات گری<sup>۲</sup> و همکاران (2003) نیز نشان داده که اعمال دوره‌های کوتاه مدت تنش خشکی بر روی گیاه سرخارگل (در ابتدای دوره گل‌دهی) سبب افزایش قابل توجه میزان شیکوریک اسید در ریشه‌های این گیاه شده است. این محققان نشان دادند که تنش خشکی تغییرات معنی‌داری را در مقدار آلکامیدها و کلروژنیک اسید پدید نیاورده است. همچنین نتایج تحقیقات خراسانی‌نژاد<sup>۳</sup> و همکاران (2018) نشان داده که تنش خشکی سبب افزایش مقدار شیکوریک اسید و کلروژنیک اسید در گیاهان سرخارگل کشت شده در مزرعه شده است.

تاکنون گزارشی در ارتباط با اثر تنش خشکی بر تولید شیکوریک اسید در گیاه کاهوی موجدار منتشر نشده است. بررسی‌های اولیه نشان داده که کاهوی موجدار مقادیر قابل توجهی شیکوریک اسید در خود داشته و می‌تواند به‌عنوان یک گیاه بومی ایران منبعی برای تولید این ماده با ارزش باشد. نتایج تحقیقات رمضان‌نژاد<sup>۴</sup> و همکاران (2019) نشان داد که میزان شیکوریک اسید در ساقه کاهوی موجدار در مرحله زایشی ۲/۳۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک است. این درحالی است که میزان این ترکیب در ریشه‌های سرخارگل ۲/۸۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک گزارش شده است.

با توجه به ارزش اقتصادی شیکوریک اسید در جهان، بالغ بر ۵۸ میلیون دلار در سال، یافتن راهکارهای مناسب که به کمک آن بتوان میزان تولید این ماده با ارزش را به‌ویژه در گونه‌های بومی ایران افزایش داد، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از طرف دیگر با توجه به کمبود آب در کشور ایران، یافتن گیاهانی که با حداقل نیاز آبیاری بتوانند ترکیبات با ارزش دارویی را تولید نمایند، قابل توجه خواهد بود. به همین دلیل هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر خشکی بر تولید متابولیت‌های با ارزش دارویی کاهوی موجدار است.

1. Becker
2. Gray
3. Khorasaninejad
4. Ramezannezhad

5. Michel and Kaufman  
6. Arnon

هو/نگ<sup>۴</sup>، 2000). محلول شاهد، حاوی ۲۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۰/۶ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است. واکنش با افزودن عصاره آنزیمی آغاز شد. تغییرات جذب نور محلول واکنش نسبت به شاهد در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه در فواصل زمانی ۱۰ ثانیه ثبت گردید. در نهایت فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس میکرومول تترآگایاکول تشکیل شده (ضریب خاموشی ۲۶/۶ میکرومول در سانتی‌متر) در دقیقه به ازای ۱ میلی‌گرم بافت تر بیان شد.

### سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

محلول واکنش در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر شامل ۲۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=۶/۸، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسیدهدروژن ۰/۴۵ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است. غلظت نهایی پراکسیدهدروژن در ۳ میلی‌لیتر محلول واکنش، ۱۵ میلی‌مولار می‌باشد. محلول شاهد حاوی ۲۹۰۰ میکرولیتر بافر و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است. با افزودن عصاره به محیط واکنش، تجزیه پراکسیدهدروژن توسط آنزیم شروع می‌شود. تغییرات جذب نور محلول واکنش نسبت به شاهد در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۱۲ دقیقه در فواصل زمانی ۱۰ ثانیه ثبت شد. در نهایت فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میکرومول پراکسیدهدروژن مصرف شده (ضریب خاموشی ۴۰/۱ میکرومول در سانتی‌متر) در دقیقه به ازای ۱ میلی‌گرم بافت تر بیان گردید.

### سنجش مقدار فنل، فلاونوئید کل

#### عصاره‌گیری

مقدار ۰/۱ گرم از پودر خشک شده بخش‌های مختلف گیاه (برگ، ریشه) توزین شده و در ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد (حجمی-حجمی) خیسانده شد و سپس به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. سپس عصاره‌ها صاف شدند. روش استخراج ۳ بار انجام شد و در نهایت عصاره‌های به دست آمده در هر ۳ مرحله با یکدیگر مخلوط شدند. پس از تبخیر حلال در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، حجم تمامی عصاره‌ها با آب مقطر یکسان‌سازی شدند. پس از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ در ۱۳۰۰۰ دور، عصاره‌های به دست آمده برای انجام آزمایشات بعدی در درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (مد/۵ و همکاران، 2005).

سنجش فنل کل در عصاره‌های تهیه شده با استفاده از معرف فولین سیوکالچو و به روش مد/ و همکاران (2005)

هموژنیزه شد. هموژنات به دست آمده، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. فاز روئی جداسازی و سپس به حجم رسانده شد. جذب نور در دو طول‌موج، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر نسبت به نمونه شاهد (استون ۸۰ درصد) با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (SHIMADZU-UV-160) خوانده شد. مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل بر اساس میلی‌گرم در گرم وزن تر گیاه طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$C_a = (12.7 A_{663} - 2.69 A_{645}) V/W$$

$$C_b = (22.9 A_{645} - 4.68 A_{663}) V/W$$

$$C_{tot} = (20.2 A_{645} - 8.02 A_{663}) V/W$$

### سنجش پروتئین محلول

مقدار ۰/۱۵ گرم بافت تر نمونه‌های مختلف با ۱ میلی‌لیتر بافر تریس و یک قطره مرکاپتواتانول بر روی یخ عصاره‌گیری شدند. در گام بعدی محلول به دست آمده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۲۰۰۰ g دور به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به ۲۰ میکرولیتر از محلول شفاف روئی، ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد و ۸۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس و در نهایت در طول موج ۵۹۵ نانومتر، جذب آن خوانده شد (برادفورد، 1976).

### اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز بر اساس روش چانس و مهلی<sup>۲</sup> (1995) با اندکی تغییرات صورت گرفت. عصاره‌گیری به روش کار و میشر<sup>۳</sup> (1975) با کمی تغییر صورت گرفت. مقدار ۰/۱ گرم از بافت تر گیاه با ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته ۶/۸ در یک هاون چینی سرد و در حمام یخ هموژن شد. هموژن حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۶۰۰۰ دور و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. فاز روئی به عنوان عصاره آنزیمی برای بررسی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت.

### سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

محلول واکنش با حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر، حاوی ۲۷۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با pH=۶/۸، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۰/۶ مولار، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسیدهدروژن ۱/۲ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است. غلظت نهایی پراکسیدهدروژن و گایاکول در ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش به ترتیب ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار است (لیو و

1. Bradford
2. Chance and Maehly
3. Kar and Mishra

4. Liu and Huang
5. Meda

عصاره شفاف رویی جهت سنجش شیکوریک اسید استفاده شد (لو<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۳).

### آنالیز HPLC

سنجش شیکوریک اسید با استفاده از دستگاه HPLC با آشکارساز UV/VIS، دکتور Diod Array، پمپ L-۷۱۰۰ Merck Hitachi با نرم‌افزار EZ chrome (Hitachi-Japon) به روش ایزوکراتیک انجام شد. فاز متحرک شامل استیک اسید ۰/۱ درصد در استونیتریل ۲۰ درصد با pH=۴ بود. فاز تهیه شده به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه اولتراسونیک در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا حباب‌های هوا از آن خارج شود. سپس در دستگاه فیلتراسیون با فیلتر ۰/۴۵ میکرون صاف شد. سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه، طول موج انتخابی دستگاه ۲۷۶ نانومتر و مدت زمان خروج نمونه‌ها از ستون ۲۰ دقیقه بود. پس از ظهور پیک‌های موردنظر از عصاره‌های تزریق شده، سطح زیر منحنی پیک‌ها محاسبه و سپس در فرمول حاصل از خط رگرسیون مربوط به منحنی استاندارد شیکوریک اسید قرار داده شد تا غلظت آن به دست آید.

### آنالیز آماری

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۱۴ نمونه تکرار در هر تیمار طراحی و در اتاقک کشت با شرایط دما و نور کنترل شده انجام شد. پارامترهای رشد گیاهان در همه نمونه‌ها و در همه تیمارها اندازه‌گیری شد. میزان کلروفیل، فعالیت آنزیم‌ها، مقدار قند محلول، فنل و فلاونوئید کل در ۵ نمونه از هر تیمار سنجیده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس و آزمون توکی و ترسیم نمودارها در نرم‌افزار R انجام شد.

### نتایج

#### اثر تیمار خشکی بر فاکتورهای رشد

نتایج حاصل نشان داد که با افزایش غلظت PEG و در نتیجه تنش خشکی، گیاهان به تدریج پژمرده شدند. به‌ویژه در تنش خشکی با پتانسیل ۰/۹- و ۱/۲- بار این اثر کاملاً واضح و مشهود بود (شکل ۱). همچنین نتایج نشان داد که وزن تر برگ‌ها در نمونه شاهد، تقریباً ۱/۸۲ گرم است، اما در تیمار خشکی با پتانسیل ۰/۳- بار وزن تر اندام هوایی اندکی کاهش یافته و از آن پس افزایش نشان داد. در مجموع بالاترین وزن تر برگ‌ها در تیمار خشکی با پتانسیل ۰/۶- بار مشاهده شد (شکل ۲ الف). نتایج به دست آمده نشان داد که وزن تر ریشه گیاهچه‌ها

صورت گرفت. به این ترتیب که مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی رقیق شده با آب مقطر، در لوله‌های آزمایش ریخته شد. سپس به هریک از لوله‌های آزمایش فوق به ترتیب مقادیر ۲/۸ میلی‌لیتر آب دیونیزه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین اضافه شد. محلول حاصل به خوبی با ورتکس مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس جذب محلول‌ها در طول موج ۷۲۰ نانومتر نسبت به نمونه شاهد اندازه‌گیری شد. با قرار دادن مقدار جذب نمونه‌ها در معادله مربوط به نمودار استاندارد گالیک اسید، مقدار فنل موجود در عصاره‌ها محاسبه شد. در نهایت داده‌ها بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک بیان گردید. اندازه‌گیری فلاونوئید کل به روش کلریمتری آلومینیوم کلراید انجام شد (چانگ<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۲). مقدار فلاونوئید کل موجود در هر یک از نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین سنجش شد.

#### اندازه‌گیری قند محلول

به روش فنل اسید سولفوریک (کوچرت<sup>۲</sup>، ۱۹۷۸) انجام شد. به این منظور مقدار ۰/۱ گرم، پودر بافت خشک اندام هوایی و ریشه را در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد ریخته و در یخچال نگهداری شد و پس از یک هفته از بخش رویی محلول (از بخش هوایی ۰/۵ میلی‌لیتر و از ریشه ۱ میلی‌لیتر) برداشته و با آب مقطر به ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد به محلول افزوده و خوب بهم زده شد. در گام بعدی ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به محلول اضافه شد. نیم ساعت پس از خنک شدن کامل محلول، میزان جذب نور در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد. با قرار دادن مقدار جذب در معادله استاندارد، مقدار قند محلول در عصاره گیاهی به دست آمد. در نهایت داده‌ها بر اساس میلی‌گرم گلوکز در گرم وزن خشک گیاه بیان شد.

#### سنجش شیکوریک اسید

#### عصاره‌گیری

مقدار ۰/۵ گرم از نمونه‌های خشک شده در ۱۰ میلی‌لیتر استونیتریل ۲۰ درصد (حجمی-حجمی) خیسانیده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و در تاریکی بر روی شیکر قرار داده شد. پس از صاف کردن عصاره حاصل با کاغذ صافی، محلول به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. از

1. Chang  
2. Kochert

کاهش یافت. اما با افزایش بیش تر تنش خشکی وزن خشک ریشه افزایش یافت. در مجموع بالاترین وزن خشک ریشه در تیمار خشکی با پتانسیل  $-0/6$  بار و کم ترین وزن خشک در تنش خشکی با پتانسیل  $-0/3$  بار مشاهده شد (شکل ۲ د).

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد که وزن کل گیاهچه کاهوی موجدار در نمونه شاهد  $2/15$  گرم است. تیمار تنش خشکی با پتانسیل  $-0/6$  بار سبب افزایش وزن کل گیاهچه ها شد. با افزایش غلظت PEG، وزن کل گیاهچه ها به تدریج کاهش یافت. کم ترین میزان وزن کل گیاهچه ها ( $1/558$  گرم) در پتانسیل خشکی  $1/2$  - بار مشاهده شد (شکل ۲ ه).

در تیمار شاهد  $0/73$  گرم است. تنش خشکی با پتانسیل  $-0/3$  - بار سبب کاهش معنی دار وزن تر ریشه شد (شکل ۲ ب). از طرفی وزن خشک برگ ها در تیمار شاهد، تقریباً  $0/11$  گرم به دست آمد. اما در تیمار خشکی با پتانسیل  $-0/3$  - بار، وزن خشک برگ ها تغییر معنی داری نشان نداد. با افزایش بیش تر تنش خشکی، وزن خشک برگ ها افزایش یافت. در مجموع بالاترین وزن خشک اندام هوایی در تیمار خشکی با پتانسیل  $-0/6$  - بار مشاهده شد (شکل ۳ ج). بر اساس نتایج به دست آمده میانگین وزن خشک ریشه در تیمار شاهد، تقریباً  $0/03$  گرم است. با افزایش سطح خشکی تا  $-0/3$  - بار، وزن خشک ریشه



شکل ۱: گیاهچه های ۴۵ روزه کاهوی موجدار (*Lactuca undulata*) در الف) قبل از تیمار خشکی و ب) پس از ۷ روز تیمار با سطوح مختلف خشکی. در این آزمایش برای ایجاد تنش خشکی از غلظت های مختلف پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰۰ (PEG) استفاده شده است.

اعداد نوشته شده در زیر گیاهچه ها نشان دهنده پتانسیل خشکی ایجاد شده (بار) توسط غلظت های مختلف PEG است

Fig. 1: Forty-five days old seedlings of *Lactuca undulata* A) before drought stress and B) seven days after treatment with different level of drought stress. In current experiment, different concentrations of Polyethylen glycol 4000 (PEG) was applied to produce drought stress. The numbers written below the seedlings show the drought potential (Bar) produced by different concentrations of PEG

کلروفیل b نسبت به تیمار شاهد شده است. کم ترین میزان کلروفیل b  $1/18$  میلی گرم در گرم) در تنش خشکی با پتانسیل  $-1/2$  - بار مشاهده شد (شکل ۳ ب).

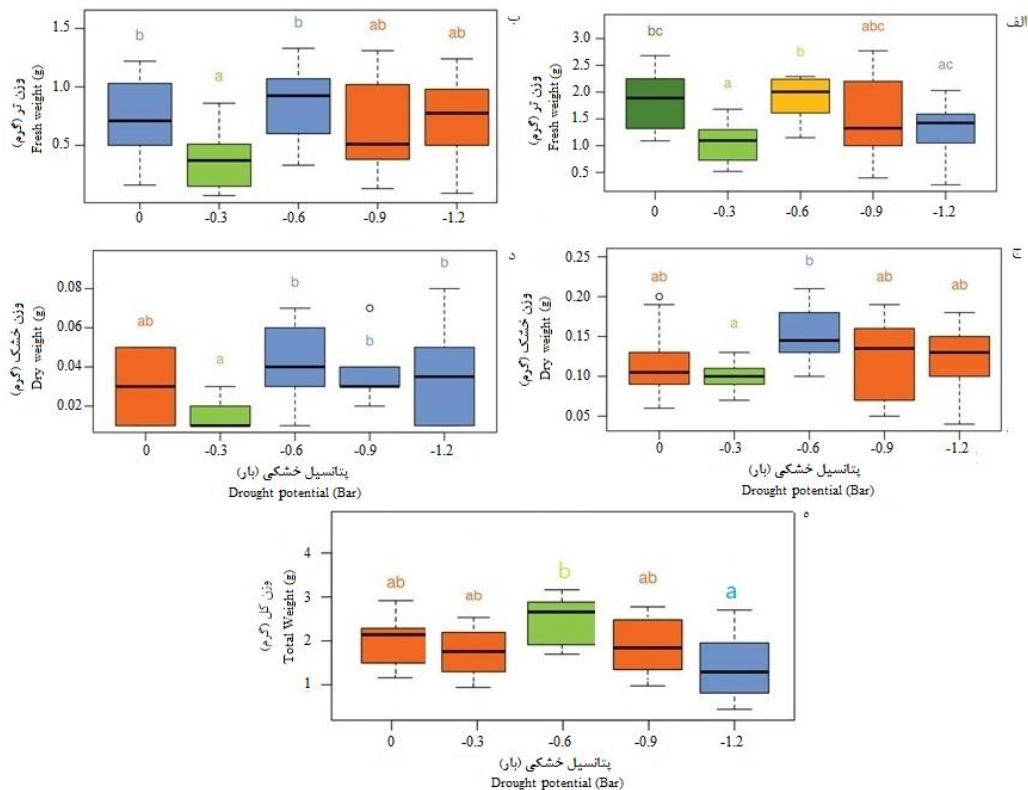
علاوه بر این نتایج نشان داد که میزان کلروفیل کل در تیمار شاهد، تقریباً  $4/13$  میلی گرم در گرم است اما تنش خشکی با پتانسیل  $-0/6$  - تا  $-0/9$  - بار سبب افزایش میزان کلروفیل کل شد. افزایش بیش تر تنش خشکی سبب کاهش میزان کلروفیل کل شد. کم ترین میزان کلروفیل کل در تیمار با پتانسیل خشکی  $-1/2$  - بار مشاهده شد (شکل ۳ ج).

از طرفی دیگر نسبت کلروفیل a/b در تیمار شاهد، تقریباً  $2/2$  است اما افزایش تنش خشکی سبب افزایش این نسبت شده است. در مجموع بالاترین و پایین ترین نسبت کلروفیل a/b به ترتیب در نمونه شاهد و تیمار با پتانسیل خشکی  $-1/2$  - بار مشاهده شده است (شکل ۳ د).

### محتوی کلروفیل

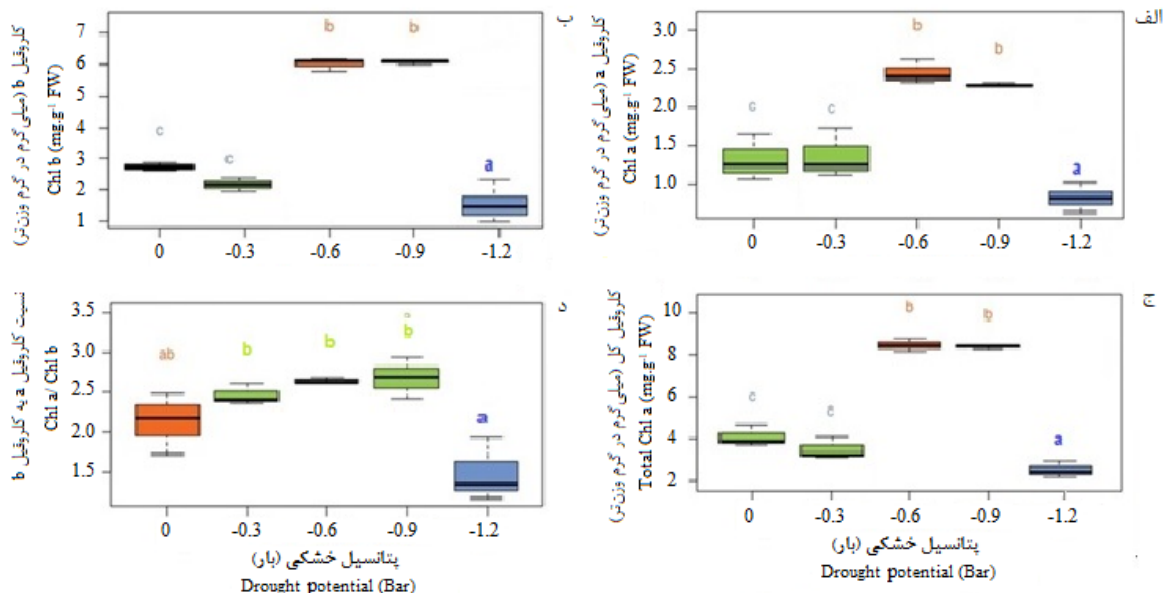
داده های به دست آمده نشان داد که مقدار کلروفیل a در تیمار شاهد، تقریباً  $2/75$  میلی گرم در گرم وزن تر است. تنش خشکی با پتانسیل  $-0/3$  - بار تعیینی در مقدار کلروفیل a در مقایسه با گیاه شاهد ایجاد نکرد. این در حالی است که تنش خشکی با پتانسیل  $-0/6$  - تا  $-0/9$  - بار سبب افزایش مقدار کلروفیل a شد. تیمار گیاهچه ها با غلظت های بالاتر PEG سبب کاهش مقدار کلروفیل a شد. این تیمار سبب نکروزه و زرد شدن برگ گیاهچه ها شد (شکل ۳ الف).

هم چنین نتایج حاصل از سنجش میزان کلروفیل b نشان داد که میزان این فاکتور فتوسنتزی در تیمار شاهد، تقریباً  $1/33$  میلی گرم در گرم وزن تر است. در حالی که در تنش خشکی با پتانسیل  $-0/6$  - تا  $-0/9$  - بار سبب افزایش میزان



شکل ۲: اثر تیمار خشکی بر الف) وزن خشک برگ، ب) وزن خشک ریشه، ج) وزن تر برگ، د) وزن تر ریشه و ه) وزن کل گیاهچه‌های کاهوی موجدار (*Lactuca undulata*). نتایج حاضر حاصل میانگین ۱۴ تکرار است. در این آزمایش برای ایجاد تنش خشکی از غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰۰ (PEG) استفاده شده است. در محور افقی پتانسیل خشکی ایجاد شده توسط غلظت‌های مختلف PEG نشان داده شده است

Fig. 2: The effect of drought stress on A) Leaf dry weight, B) Root dry weight, C) Leaf fresh weight, D) Root fresh weight and E) Total weight of *Lactuca undulata* seedlings (n=14). In current experiment, different concentrations of Polyethylen glycol 4000 (PEG) was applied to produce drought stress



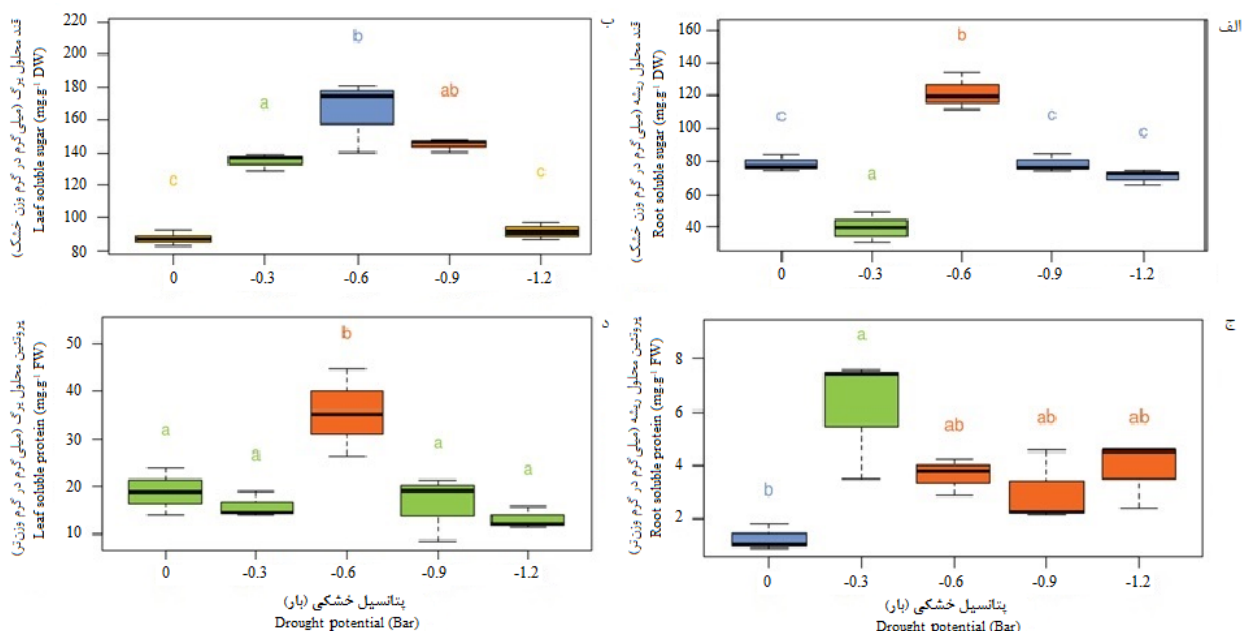
شکل ۳: اثر تیمار خشکی بر میزان کلروفیل الف) (a، b، c، d) نسبت کلروفیل a/b در گیاهچه‌های کاهوی موجدار (*Lactuca undulata*). نتایج حاضر حاصل میانگین ۵ تکرار است. در این آزمایش برای ایجاد تنش خشکی از غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰۰ (PEG) استفاده شده است. در محور افقی پتانسیل خشکی ایجاد شده توسط غلظت‌های مختلف PEG نشان داده شده است

Fig. 3: The effect of drought stress on A) Chl a, B) Chl b, C) total Chl, D) Chl a/b ratio of *Lactuca undulata* seedlings (n=5). In current experiment, different concentrations of Polyethylen glycol 4000 (PEG) was applied to produce drought stress

## فاکتورهای بیوشیمیایی

نمونه‌های تیمار شده با پتانسیل  $-1/2$  بار مشاهده شده است (شکل ۴ ب). نتایج حاصل نشان داد که میانگین میزان پروتئین محلول در برگ گیاهچه‌های شاهد تقریباً  $1/25$  میلی‌گرم در گرم وزن تر است. اما تنش خشکی با پتانسیل  $-0/3$  بار سبب افزایش معنی‌دار در میزان پروتئین محلول در برگ گیاهچه‌های کاهوی موجدار شد. افزایش بیش‌تر تنش خشکی سبب کاهش میزان این فاکتور شد. کم‌ترین میزان پروتئین محلول در گیاهچه‌های تحت تنش خشکی با پتانسیل  $-0/9$  بار مشاهده شد (شکل ۴ ج). هم‌چنین نتایج حاصل نشان داد که میزان پروتئین محلول در ریشه گیاهچه‌های شاهد تقریباً  $18/5$  میلی‌گرم در گرم وزن تر است. بالاترین میزان پروتئین محلول در ریشه گیاهچه‌های تیمار شده با تنش خشکی با پتانسیل  $-0/9$  بار مشاهده شد (شکل ۴ د).

نتایج حاصل نشان داد که در تیمار شاهد محتوی قند محلول در برگ‌ها، معادل  $86/98$  میلی‌گرم در گرم وزن خشک است. تنش خشکی با پتانسیل  $-0/6$  بار سبب افزایش در محتوی قند محلول برگ‌های گیاهچه‌های کاهوی موجدار در مقایسه با گیاه شاهد شد. محتوی قند محلول برگ‌ها در نمونه‌های تیمار شده با تنش خشکی با پتانسیل  $-0/9$  بار سبب کاهش مجدد قند محلول شد. کم‌ترین مقدار قند محلول در تیمار  $-0/3$  بار مشاهده شد (شکل ۴ الف). هم‌چنین نتایج حاضر نشان داد که میزان قند محلول در ریشه گیاهچه‌های شاهد معادل  $87$  میلی‌گرم در گرم وزن خشک است. تنش خشکی با پتانسیل  $-0/6$  بار سبب افزایش معنی‌دار در میزان قند ریشه گیاهچه‌ها شد. درحالی‌که افزایش بیش‌تر تنش خشکی سبب کاهش میزان قند محلول شد. پایین‌ترین میزان قند در ریشه



شکل ۴: اثر تیمار خشکی بر میزان الف) قند محلول ریشه، ب) قند محلول برگ، ج) پروتئین محلول ریشه و د) پروتئین محلول برگ گیاهچه‌های کاهوی موجدار (*Lactuca undulata*). نتایج حاضر حاصل میانگین ۵ تکرار است. در این آزمایش برای ایجاد تنش خشکی از غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول ۴۰۰۰ (PEG) استفاده شده است. در محور افقی پتانسیل خشکی ایجاد شده توسط غلظت‌های مختلف PEG نشان داده شده است

Fig. 4: The effect of drought stress on A) Root soluble sugar, B) Leaf soluble sugar, C) Root soluble Protein, D) Leaf soluble protein of *Lactuca undulata* seedlings (n=5). In current experiment, different concentrations of Polyethylene glycol 4000 (PEG) was applied to produce drought stress

در ریشه‌ها نشان داد که فعالیت این آنزیم در ریشه‌ها در تیمار شاهد، تقریباً  $0/08$  میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم است. بالاترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه‌ها  $0/15$  میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم) در تیمار خشکی با پتانسیل  $-0/6$  بار مشاهده شد (شکل ۵ ب).

نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ‌ها نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در نمونه شاهد برابر با

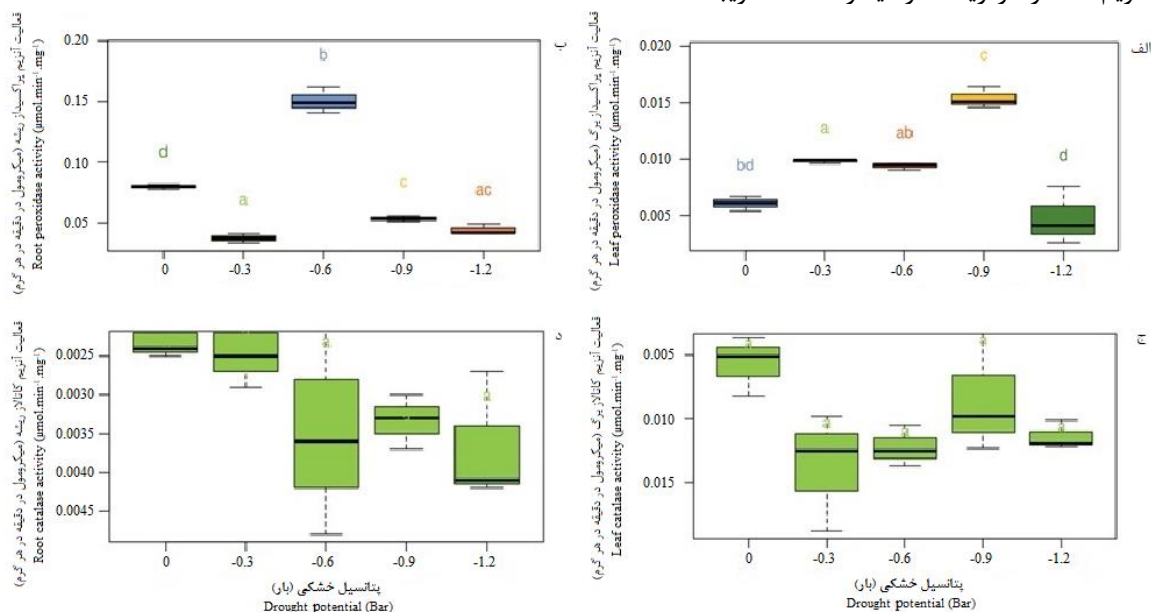
## فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

هم‌چنین نتایج حاضر نشان داد که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ‌ها در تیمار خشکی با پتانسیل  $-0/3$  تا  $-0/9$  بار در مقایسه با نمونه شاهد افزایش معنی‌داری یافته است. این درحالی است که میزان فعالیت این آنزیم در تیمار خشکی با پتانسیل  $-1/2$  در مقایسه با نمونه شاهد کاهش نشان داده است (شکل ۵ الف). نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز



میکرومول در دقیقه در میلی گرم است. این درحالی است که میزان فعالیت این آنزیم در تیمار خشکی کاهش معنی داری را در مقایسه با نمونه شاهد نشان داده است (شکل ۵ د).

۰/۰۰۵ میکرومول در دقیقه در میلی گرم است. اما تیمار خشکی سبب کاهش معنی دار فعالیت این آنزیم در مقایسه با نمونه شاهد شد (شکل ۵ ج). نتایج به دست آمده نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه در تیمار شاهد، تقریباً ۰/۰۰۲۵



شکل ۵: اثر تیمار خشکی بر فعالیت آنزیم الف) پراکسیداز برگ (ب) پراکسیداز ریشه، ج) کاتالاز برگ و د) کاتالاز ریشه گیاهچه‌های کاهوی موجدار (*Lactuca undulata*). نتایج حاضر حاصل میانگین ۵ تکرار است. در این آزمایش برای ایجاد تنش خشکی از غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰۰ (PEG) استفاده شده است. در محور افقی پتانسیل خشکی ایجاد شده توسط غلظت‌های مختلف PEG نشان داده شده است

Fig. 5: The effect of drought stress on A) Leaf peroxidase activity, B) Root peroxidase activity, C) Leaf catalase activity, D) Root catalase activity of *Lactuca undulata* seedlings (n=5). In current experiment, different concentrations of Polyethylen glycol 4000 (PEG) was applied to produce drought stress

خشک گیاه است. تنش خشکی با پتانسیل -۰/۶ بار سبب افزایش معنی دار در میزان فلاونوئید کل در مقایسه با نمونه شاهد شده است. پایین ترین محتوی فلاونوئید کل در تنش خشکی با پتانسیل -۰/۳ بار مشاهده شده است (شکل ۶ ج). همچنین نتایج به دست آمده نشان داد که محتوی فلاونوئید کل در ریشه گیاهچه‌های شاهد، تقریباً ۴/۱ میلی گرم در گرم وزن خشک بر اساس فلاونوئید کوئرستین است. اما تنش خشکی سبب افزایش معنی دار میزان فلاونوئید کل در مقایسه با نمونه شاهد شده است. بالاترین مقدار فلاونوئید کل در ریشه گیاهچه‌های تحت تنش خشکی با پتانسیل -۰/۹ بار مشاهده شد (شکل ۶ د).

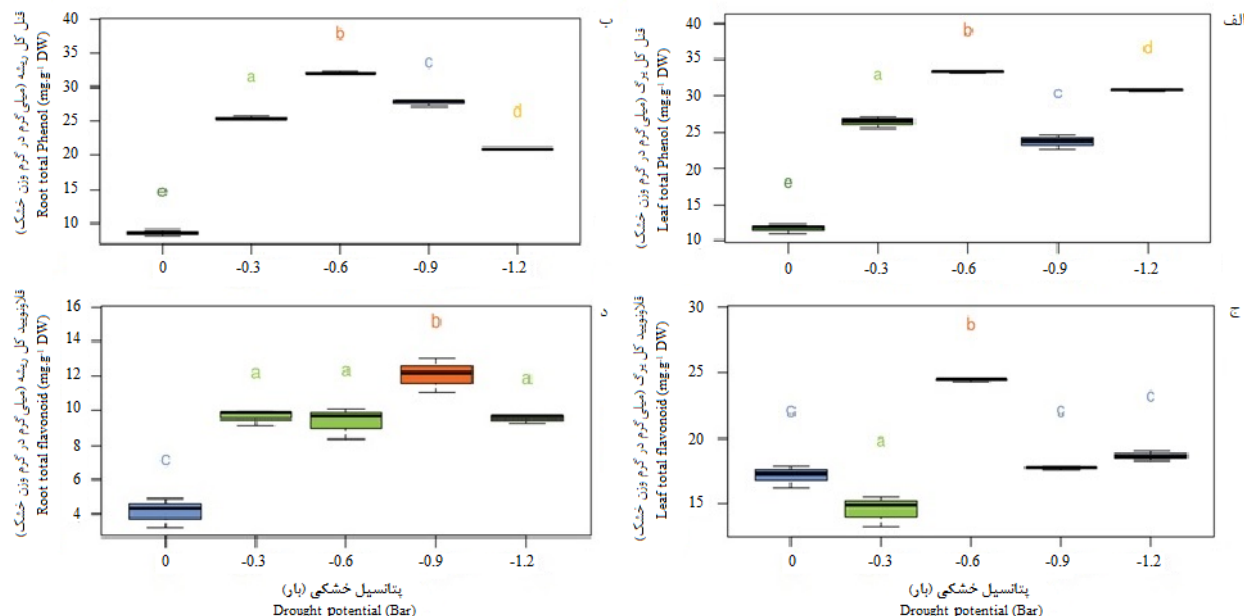
نتایج حاضر نشان داد که میزان شیکوریک اسید در نمونه شاهد، ۲/۲۴ میلی گرم در گرم در وزن خشک است. اما تنش خشکی با پتانسیل -۰/۳ بار سبب کاهش معنی دار میزان شیکوریک اسید در مقایسه با نمونه شاهد شده است. در این تیمار میزان شیکوریک اسید به ۲/۰۵ میلی گرم در هر گرم وزن خشک رسیده است. بالاترین میزان شیکوریک اسید در تیمار

#### متابولیت‌های ثانویه

نتایج حاصل از سنجش برخی متابولیت‌های ثانویه در برگ‌ها نشان داد که محتوی فنل در تیمار شاهد، تقریباً ۱۲/۵ میلی گرم در گرم وزن خشک است. اما تنش خشکی با پتانسیل -۰/۶ بار سبب افزایش بیش از ۲ برابری در میزان فنل کل در مقایسه با نمونه شاهد شده است. درحالی که تنش خشکی با پتانسیل -۰/۹ بار سبب کاهش در محتوی فنل کل شده است. در مجموع بالاترین و پایین ترین میزان فنل کل به ترتیب در تنش خشکی با پتانسیل -۰/۶ و نمونه شاهد مشاهده شده است (شکل ۶ الف). نتایج حاضر نشان داد که محتوی فنل در ریشه نمونه شاهد، ۷/۵ میلی گرم در گرم در وزن خشک است. اما اعمال تنش خشکی تا -۰/۹ بار سبب افزایش محتوی فنل کل در مقایسه با نمونه شاهد شده است. پایین ترین محتوی فنل کل در ریشه‌های نمونه شاهد مشاهده شد. بیش ترین مقدار فنل کل در تیمار -۰/۶ بار مشاهده شد (شکل ۶ ب). همچنین نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد محتوی فلاونوئید کل در تیمار شاهد حدود ۱۲/۵ میلی گرم در گرم وزن

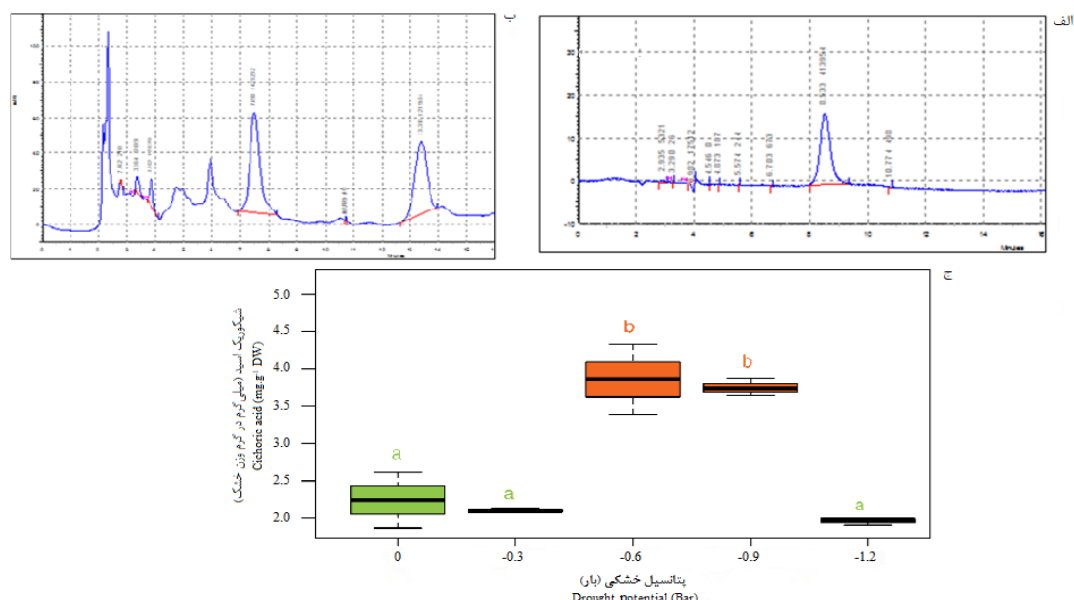
با پتانسیل خشکی ۱/۲- بار میزان این ترکیب ۲/۱ میلی گرم در هر گرم وزن خشک بوده که نسبت به شاهد کاهش یافته است (شکل ۷).

خشکی با پتانسیل ۰/۹- بار به میزان ۴/۱۲ میلی گرم در هر گرم وزن خشک مشاهده شد که تفاوت معنی داری در مقایسه با تیمار ۰/۶- بار نشان نداده است. این درحالی است که در تیمار



شکل ۶: اثر تیمار خشکی بر محتوی فنل کل (الف) برگ و (ب) ریشه و فلاونوئید کل (ج) برگ و (د) ریشه گیاهچه‌های کاهوی موجدار (*Lactuca undulata*). نتایج حاضر حاصل میانگین ۵ تکرار است. در این آزمایش برای ایجاد تنش خشکی از غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰۰ (PEG) استفاده شده است. در محور افقی پتانسیل خشکی ایجاد شده توسط غلظت‌های مختلف PEG نشان داده شده است

Fig. 5: The effect of drought stress on A) Leaf total Phenol, B) Root total Phenol, C) Leaf total flavonoid, D) Root total flavonoid of *Lactuca undulata* seedlings (n=5). In current experiment, different concentrations of Polyethylen glycol 4000 (PEG) was applied to produce drought stress



شکل ۷: (الف) کروماتوگرام نمونه استاندارد شیکوریک اسید، (ب) کروماتوگرام عصاره استونیتربلی ریشه کاهوی موجدار (*Lactuca undulata*) و (ج) اثر تیمار خشکی بر مقدار شیکوریک اسید در ریشه گیاهچه‌های کاهوی موجدار. نتایج حاضر حاصل میانگین ۵ تکرار است. در این آزمایش برای ایجاد تنش خشکی از غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰۰ (PEG) استفاده شده است. در محور افقی پتانسیل خشکی ایجاد شده توسط غلظت‌های مختلف PEG نشان داده شده است

Fig. 5: A) Chromatogram of cichoric acid standard, B) Chromatogram of acetone nitrile extract of *Lactuca undulata* root. The effect of drought stress on root cichoric acid content of *Lactuca undulata* seedlings (n=5). In current experiment, different concentrations of Polyethylen glycol 4000 (PEG) was applied to produce drought stress

## بحث

داده که خشکی سبب کاهش محتوای کلروفیل در گونه‌های مختلف گیاهی می‌شود (بایلو-جیمینز<sup>۷</sup> و همکاران، ۲۰۱۲؛ جمیل و رها<sup>۸</sup>، ۲۰۰۴). باتوجه به این که اساساً کاهوی موجدار در مناطق خشک رویش دارد، به نظر می‌رسد که این گیاه تا حدودی نسبت به تنش مقاوم باشد. به طوری که تنش خشکی را تا محدوده ۱/۲- بار تحمل کرده و پس از آن اثرات مخرب خشکی بر مسیرهای متابولیسمی از جمله بیوسنتز کلروفیل ظاهر شده است.

در تحقیق حاضر تیمار خشکی با پتانسیل ۰/۶- بار سبب افزایش معنی‌دار میزان قندهای محلول نسبت به شاهد در ریشه و برگ گیاهچه‌ها شده است. تاکنون در گیاهان دو مکانیسم متفاوت جهت تحمل خشکی شناسایی شده است: فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (مانند کاتالاز) و فعال شدن آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی مانند؛ تجمع قندها، کارتنوئیدها و پرولین (عبید و همکاران، ۲۰۱۸). در گیاهان، اسمولیت‌هایی مانند گلوکز و فروکتوز با تنظیم فشار اسمزی درون سلولی و حفظ تورژسانس سلولی سبب پایداری بیش‌تر غشای سلولی شده که نتیجه آن ممانعت از تخریب آنزیم‌ها و افزایش سطح تحمل به خشکی است. با افزایش مقدار قندهای محلول فشار اسمزی درون سلولی افزایش یافته که نتیجه آن جذب آب بیش‌تر از خاک است (آجیتخوماراند و پانیرسلوم<sup>۹</sup>، ۲۰۱۳). نتایج بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که افزایش میزان قندهای محلول با تنظیم فشار اسمزی سبب پایداری بیش‌تر غشاهای زیستی، پروتئین‌ها و در نهایت سبب مقاومت به خشکی در گیاه ذرت شده است (جوهری- پیریوالو<sup>۱۰</sup>، ۲۰۱۰).

داده‌های حاصل از این تحقیق نشان داده که تنش خشکی با پتانسیل ۰/۳- بار سبب افزایش معنی‌دار پروتئین‌های محلول در برگ گیاهچه‌ها نسبت به شاهد و سایر تیمارها شده است. اما با افزایش تنش خشکی کاهش قابل‌توجهی در میزان پروتئین‌های محلول در برگ مشاهده شده است. از طرفی دیگر میزان پروتئین محلول ریشه با افزایش تنش خشکی به تدریج افزایش یافت. به طوری که بالاترین میزان پروتئین محلول در تنش خشکی با پتانسیل ۰/۶- بار مشاهده شد. یکی از عوارض حاصل از تنش بر گیاهان تولید رادیکال‌های آزاد مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل است که سبب تخریب لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (نتوندو<sup>۱۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۴). هم‌چنین

تنش خشکی بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاهان مانند تنفس، فتوسنتز، انتقال مواد را به طور مستقیم و یا غیرمستقیم تحت‌تأثیر قرار داده و سبب کاهش رشد و بهره‌وری آن‌ها می‌شود (فلورز<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۰). گیاهان نیز به منظور مقابله با تنش خشکی، پاسخ‌ها و سازش‌های متنوع مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی را در سطوح مختلف از خود نشان می‌دهند (مونس و تستر<sup>۲</sup>، ۲۰۰۸). کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن با استفاده از سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش سنتز پروتئین و حفظ پایداری غشا از جمله پاسخ‌های گیاهان در مقابله با تنش است. در شناسایی گیاهان متحمل به تنش باید فاکتورهایی مانند زمان، شدت، مدت و سرعت رشد گیاهان را مورد توجه قرار داد (کاپور<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۲۰).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در تیمار با پتانسیل خشکی ۰/۶- بار، وزن خشک و تر ریشه و برگ افزایش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها و شاهد یافته است. اما افزایش بیش‌تر تنش خشکی سبب کاهش تدریجی فاکتورهای رشد شده، به طوری که در تیمار خشکی بالاتر گیاهچه‌ها به تدریج پژمرده شدند. تاکنون گزارش‌های متعددی نشان داده که در تنش خشکی وزن‌تر و خشک گیاهان کاهش محسوسی می‌یابد (گارسیا-کاپروسز<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۱۹).

نتایج حاضر نشان داد که میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل در تیمارهای با پتانسیل خشکی ۰/۶- و ۰/۹- بار افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داده است. این نتیجه با گزارش‌های زو<sup>۵</sup> و همکاران (۲۰۲۰) تطابق دارد. این محققان نشان دادند که تنش خشکی سبب افزایش میزان کلروفیل در گیاه کاسوا شده است. از طرفی دیگر نشان داده شده که در ارقام گندم مقاوم به خشکی نیز میزان کلروفیل به هنگام مواجهه با تنش خشکی افزایش یافته و این امر سبب توانایی بیش‌تر گیاه در حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده است (عبید<sup>۶</sup> و همکاران، ۲۰۱۸). اما در تیمار ۱/۲- کاهش شدیدی را نسبت به شاهد و سایر تیمارها نشان داده است. در این تیمار گیاهچه‌ها به شدت پژمرده شده و برگ‌ها کاملاً زرد بودند. تاکنون گزارش‌های متعددی از اثر خشکی بر فتوسنتز و تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی منتشر شده است. برخی گزارش‌ها نشان

7. Bayuelo-Jimenez  
8. Jamil and Rha  
9. Ajithkumarand  
10. Johari-Pireivatlou  
11. Netondo

1. Flowers  
2. Munns and Tester  
3. Kapoor  
4. Garcia-Caparroze  
5. Zhu  
6. Abid

افزایش مقدار پروتئین‌های محلول در تنش خشکی می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین و یا تجمع اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین باشد (باجی<sup>۱</sup> و همکاران، 2001).

نتایج حاضر نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش میزان فنل کل ریشه و برگ و فلاونوئید ریشه شده است. علاوه بر ژنتیک گیاهان، عوامل محیطی گوناگون از جمله دما، شدت و کیفیت نور، ویژگی‌های خاک، میزان آب در دسترس گیاه و ... با تأثیر بر مسیر سنتز و تجمع ترکیبات فنلی گیاهان باعث افزایش یا کاهش میزان آن‌ها می‌شوند (نیکولا<sup>۲</sup> و همکاران، 2004؛ رافائل<sup>۳</sup> و همکاران، 2012). تاکنون گزارش‌های متعددی به اثر انواع تنش‌های محیطی بر تولید متابولیت‌های ثانویه اشاره داشته‌اند (وارل<sup>۴</sup> و همکاران، 2016). ترکیبات فنلی به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسی قادر به حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن بوده و به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند. این ترکیبات می‌توانند به‌طور مؤثری رادیکال‌های گروه هیدروکسیل و پروکسیل را حذف کرده و از اکسید شدن چربی‌ها ممانعت به عمل آورند (پورمراد<sup>۵</sup> و همکاران، 2006؛ آگاتی و تاتینی<sup>۶</sup>، 2010). از طرفی دیگر برخی گزارش‌ها نشان داده‌اند که ترکیبات فنلی با تأثیر بر روی پارامترهایی نظیر تعداد روزنه در سطح برگ و نیز ضریب هدایت روزنه‌ای سطح تعرق را در گیاهان کاهش داده و سبب مقاومت گیاهان به تنش خشکی می‌شوند (آرو<sup>۷</sup> و همکاران، 2011).

تحقیقات انجام شده در زمینه تنش خشکی نشان داده که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت با حذف انواع گونه‌های فعال اکسیژن از تخریب غشاء سلولی ممانعت به عمل آورده و در نتیجه به بقای گیاه کمک می‌کنند (احمد<sup>۸</sup> و همکاران، 2014). اما چنانچه مدت و شدت تنش افزایش یابد، این آنزیم‌ها غیرفعال شده و دیگر قادر به حذف رادیکال‌های آزاد نمی‌باشند. نتیجه این امر تخریب غشای سلولی، کاهش شدید آب نسبی گیاه و پژمرده شدن برگ‌ها خواهد بود (ژانگ<sup>۹</sup> و همکاران، 2020). نتایج تحقیق حاضر نشان داده که در تیمار خشکی با پتانسیل ۰/۶ بار، فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه افزایش یافته است. پراکسیداز از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که در تحمل گیاهان به تنش خشکی نقش مهمی را بازی می‌کند. از

این آنزیم به‌عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی مهم در انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی یاد می‌شود. پراکسیداز در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند کنترل رشد (با چوبی شدن بافت‌ها و اندام‌ها، سنتز پکتین و پروتئین‌های ساختاری دیواره اسکلتی، اکسیداسیون فنل‌ها، کاتابولیسم اکسین و دفاع در برابر عوامل بیماری‌زا نقش دارد (کریستین<sup>۱۰</sup> و همکاران، 1982). این درحالی است که در تحقیق حاضر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو نمونه ریشه و برگ با افزایش تنش خشکی کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. این امر نشان می‌دهد که در این گیاه به هنگام مواجهه با تنش خشکی آنزیم کاتالاز فعال نشده و تحمل به خشکی با فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دیگر صورت می‌گیرد.

پیش از این رمضان‌نژاد و همکاران (2019) با بررسی میزان شیکوریک اسید در کاهوی موجدار جمع‌آوری شده از ناحیه خراسان نشان دادند که بالاترین مقدار این ترکیب در ساقه و در فاز رویشی این گیاه به میزان ۲/۳ میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک وجود دارد. هم‌چنین مفید بجنوردی<sup>۱۱</sup> و همکاران (2020) با جمع‌آوری ساقه گیاه کاهوی موجدار در فاز زایشی از ۵ منطقه قم، بیارجمند، دشت میرزابایلو در خراسان شمالی، فیروزکوه و چشمه‌علی دامغان نشان دادند که بالاترین مقدار این ترکیب در جمعیت فیروزکوه به میزان ۳/۵ میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک دیده شده است. در مطالعه حاضر از بذره‌های جمع‌آوری شده از ناحیه بیارجمند-روستای دزبان استفاده شده که مقدار شیکوریک اسید آن را پیش از این مفید بجنوردی و همکاران (2020) با جمع‌آوری گیاه از رویشگاه طبیعی آن به میزان ۱/۴ میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک گزارش داده‌اند. نتایج حاضر نشان داد که تنش خشکی با پتانسیل ۰/۶- تا ۰/۹- بار سبب افزایش معنی‌دار مقدار شیکوریک اسید در مقایسه با گیاه شاهد شده است. به نحوی که پس از اعمال تنش میزان این ترکیب تا ۶۰ درصد افزایش یافت. تاکنون گزارش‌های متعددی پیرامون اثر تنش‌های زیستی (پاتوژن‌ها) و غیرزیستی (شوری، خشکی، کمبود عناصر مغذی در خاک، نور UV و ...) بر تولید متابولیت‌های ثانویه منتشر شده است. در حال حاضر یکی از راهکارهای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان (در شرایط *In vitro* و *In vivo*) استفاده از انواع تنش‌ها است (ه<sup>۱۲</sup> و همکاران، 2009). پیش از این اثر تنش‌های مختلف بر تولید شیکوریک اسید در گونه‌های مختلف گیاهی مورد بررسی قرار گرفته است. این گزارش‌ها نشان داده پاسخ گیاهان مختلف به انواع تنش‌ها در تولید شیکوریک اسید

1. Bajji
2. Nicolle
3. Roupheal
4. Varela
5. Pourmorad
6. Agati and Tattini
7. Arve
8. Ahmad
9. Zhang

10. Christiansen
11. Mofid Bojnoordi
12. Oh

توصیه کشت آن‌ها در مناطق کم آب کمک قابل توجهی نماید.

### نتیجه‌گیری

نتایج حاضر نشان می‌دهد که تنش خشکی با پتانسیل ۰/۶- بار سبب افزایش پارامترهای رشد و نیز افزایش متابولیت‌های ثانویه مانند فنل کل و شیکوریک اسید در گیاه کاهوی موجدار شده است. با توجه به آن که بحران کم‌آبی یکی از مشکلات بزرگ و عمده در بسیاری از نقاط ایران می‌باشد، گیاه کاهوی موجدار را می‌توان به‌عنوان یک گیاه با ارزش دارویی جهت کشت در مناطق کم‌آب پیشنهاد داد تا ضمن داشتن یک منبع بومی در تولید شیکوریک اسید، از انقراض نسل این گونه ارزشمند دارویی جلوگیری کرد.

متفاوت است (صبر<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۱۲). خراسانی‌نژاد و همکاران نیز در سال ۲۰۱۸ نشان دادند که تنش کم‌آبی سبب افزایش مقدار شیکوریک اسید در گیاه سرخارگل می‌شود (خراسانی‌نژاد و همکاران، ۲۰۱۸). هم‌چنین رستمی و همکاران نشان دادند میزان شیکوریک اسید در گیاهان سرخارگلی که در منطقه خشک کشت شده بودند بالاتر از نمونه‌هایی است که در مناطق دیگر کشت شده بودند (رستمی و همکاران، ۱۳۹۲). این درحالی است که /ه و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که اثر تنش شوری بر تولید شیکوریک اسید در برخی گونه‌ها مثبت و روی برخی گونه‌ها کاملاً منفی و بازدارنده است.

با توجه به اهمیت کشت گیاهان دارویی و توسعه روزافزون این زمینه از کشاورزی، بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاهان دارویی به تنش خشکی یک ضرورت به حساب می‌آید. نتیجه تحقیقات حاضر می‌تواند به شناسایی گیاهان مقاوم به خشکی و

### منابع

- رستمی، ا.، کاشفی، ب. و مسعودیان، ن. ۱۳۹۲. مقایسه صفات مورفولوژیک و میزان اسید شیکوریک گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea*) در مناطق کوهستانی خشک و نیمه خشک (مطالعه موردی آهوان و چاشم در سمنان)، سومین همایش ملی گیاهان دارویی، ۲۹ آبان، مازندران- آمل، ۶ صفحه.
- Abid, M., Ali, S., Qi, L. K., Zahoor, R., Tian, Z., Jiang, D., Snider, J. L. and Dai, T. 2018. Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.). Scientific Reports, 8: 1-15.
- Aceto, N. and Bentires-Alj, M. 2012. Targeting protein-tyrosine phosphatases in breast cancer. Oncotarget, 3: 514-5.
- Agati, G. and Tattini, M. 2010. Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. New Phytologist, 186: 786-793.
- Ahmad, P., Jamsheed, S., Hameed, A., Rasool, S., Sharma, I., Azooz, M. M. and Hasanuzzaman, M. 2014. Drought Stress Induced Oxidative.
- Ajithkumarand, P. and Panneerselvam, R. 2013. Osmolyte accumulation, photosynthetic pigment and growth of *setaria italica* under droght stress. Asian Pacific Journal, 2: 220-228
- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-15.
- Arve, L. E., Torre, S. and Tanino, J. E. K. 2011. Stomatal responses to drought stress and air humidity in abiotic stress in plants mechanisms and adaptations. Journal of Plant Research, 119: 267-280.
- Asadi, M., Safavi, S. R., Naseh, Y., Jafari, E. and Heydarnia, N. 2013. Flora of Iran, Asteraceae Tribe Cichorieae (No. 77). Research Institute of Forests and Rangelands Press. 548.
- Bajji, M., Kient J. M. and Lutts, S. 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. Plant Growth Regulation, 36: 61-70.
- Bauer, R. 1998. Echinacea: biological effects and active principles. In: Phytomedicines of Europe: chemistry and biological activity, eds. L. D. Lawson and R. Bauer; American Chemical Society, Washington, pp. 140-157.
- Bayuelo-Jiménez, S. J., Jasso-Plata, N. and Ochoa, I. 2012. Growth and Physiological Responses of *Phaseolus* Species to Salinity Stress. International Journal of Agronomy, 13: 1-13.
- Becker, C., Kläring, H., Kroh, L. W. and Krumbein, A. 2013. Temporary reduction of radiation does not permanently reduce flavonoid glycosides and phenolic acids in red lettuce. Plant Physiology and Biochemistry, 72: 154-160.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
- Chance, B. and Maehly, A. C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology, 11: 764-755.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. Journal of Food and Druge Analysis, 10: 178-182.
- Christiansen, M.N. 1982. World environmental limitations to food and fiber culture. pp. 1-11. In: M.N. Christiansen and C.F. Lewis (eds.) Breeding Plants for Less Favourable Environments. John Wiley, USA.
- Flowers, T. J., Troke, P. F. and Yeo, A. R. 2000. The mechanism of salt tolerance in halophytes Annu. Journal of Plant Physiology, 28: 89-121.

- García-Caparrós, P., Romero, M. J., Llanderal, A., Cermeño, P., Lao, M. T. and Segura, M. L. 2019. Effects of drought stress on biomass, essential oil content, nutritional parameters, and costs of production in six Lamiaceae species. *Water (Switzerland)*, 11: 1-12.
- Gray D. E., Pallardy S. G., Garrett, H. E. and Rottinghaus, G. E. 2003. Acute drought stress and plant age effects on alkalamide and phenolic acid content in purple coneflower roots. *Planta Media*, 69: 50-55.
- Jamil, M. and Rha, E. S. 2004. The effect of salinity (NaCl) on the germination and seedling of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and cabbage (*Brassica oleracea* L.). *Plant Resources*, 7: 70-87.
- Johari-Pireivatlou, M. 2010. Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines M. *African Journal of Biotechnology*, 9: 036-040.
- Jovancevic, M., Balijagic, J., Menkovic, N., Savikin, K., Zdunic, G., Jankovic, T and, Dekic-Ivankovic, M. 2011. Analysis of Phenolic compounds in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) from Montenegro. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5: 910-914.
- Kapoor, D., Bhardwaj, S., Landi, M., Sharma, A., Ramakrishnan, M. and Sharma, A. 2020. The impact of drought in plant metabolism: How to exploit tolerance mechanisms to increase crop production. *Applied Sciences*, (Switzerland). 10: 5962-5972.
- Kar, M. and Mishra, D. 1975. Inorganic pyrophosphatase activity during rice leaf senescence. *Canadian Journal of Botany*, 53: 503-510.
- Khorasaninejad, S., Alizadeh Ahmadabadi M. and Hemati, K. 2018. The effect of humic acid on leaf morphophysiological and phytochemical properties of *Echinacea purpurea* L. under water deficit stress. *Scientia Horticulturae*, 239: 314-323.
- Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method, in Helebus. In: *Handbook physiological methods*. (ed. Craig, J. S.) 96-97. Cambridge University Press, Cambridge.
- Lee, J. and Scagel, C. F. 2013. Chicoric acid: chemistry, distribution, and production. *Frontiers of Chemistry*, 1: 40-45.
- Liu, C. Z., Abassi, B. H., Gao, M., Murch, S. J. and Saxena, P. K. 2006. Caffeic acid derivatives production by hairy root cultures of *Echinacea purpurea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 8456-8460.
- Liu, X. and Huang, B. 2000. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping Bentgrass. *Crop Science*, 40: 503-510.
- Luo, X. B., Chen, B., Yao, S. Z. and Zeng, J. G. 2003. Simultaneous analysis of caffeic acid derivatives and alkamides in roots and extracts of *Echinacea purpurea* by HPLC-photodiode array detection-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 986 (1): 73-81.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O. G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their scavenging activity. *Food Chemistry*, 91: 571-577.
- Michel, B. E. and Kaufman, M. R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51: 914-916.
- Mofid Bojnoordi, M., Aghdasi, M. and Fatemi, M. 2020. An investigation on phytochemical components and antioxidant activity of *Lactuca undulate* in 5 natural habitats of Iran. *Journal of medicinal plants. Journal of medicinal Plants*, 75: 65-75.
- Molgaard, P., Johnsen, S., Christensen, P. and Cornett, C. 2003. HPLC method validated for the simultaneous analysis of cichoric acid and alkamides in *Echinacea purpurea* plants and products. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 51: 6922-6933.
- Munns, R. and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651-681.
- Murch, S.J., Peiris, S.E., Shi, W.L., Zobayed, S.M.A., Saxena, P.K. 2006. Genetic diversity in seed populations of *Echinacea purpurea* controls the capacity for regeneration, route of morphogenesis and phytochemical composition. *Plant Cell Reports*, 25: 522-532.
- Netondo, G. W., Onyango, J. C. and Beck, E. 2004. Gas Exchange and Chlorophyll Fluorescence of Sorghum under Salt Stress. *Crop Physiology and Metabolism*, 44: 806-811.
- Nicolle, C., Carnat, A., Fraisse, D., Lamaison, J. L., Rock, E., Michel, H., Amouroux, P. and Remesy, C. 2004. Characterisation and variation of antioxidant micronutrients in lettuce (*Lactuca sativa* folium). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84: 2061-2069.
- Oh, M. M., Carey, E. E. and Rajashekar, C. B. 2009. Environmental stresses induce health-promoting phytochemicals in lettuce. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47: 578-583.
- Pellati, F., Benvenuti, S., Magro, L., Melegari, M. and Soragni, F. 2004. Analysis of phenolic compounds and radical scavenging activity of *Echinacea* spp. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 35: 289-301.
- Peiravi, R., Alidadi, H., Javid, A., Naiafpoor, A. A., Esmaili, H. and Joulaei, F. 2015. Modeling of drought effect on the Total Hardness and Total Dissolved Solids in ground water of Mashhad plain. *Iranian Journal of Research in Environmental Health*. Summer, 1: 85-94.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. J. and Shahabimajid, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5: 1142-1145.
- Ramezannezhad, R., Aghdasi, M. and Fatemi, M. 2019. An investigation on cichoric acid content and antioxidant activity in some Iranian native species compared to *Echinacea purpurea* L. in different developmental stages. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 34: 909-923.
- Rouphael, Y., Cardarelli, M., Bassal, A., Leonardi, C., Giuffrida, F. and Colla, G. 2012. Vegetable quality as affected by genetic, agronomic and environmental factors. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 10: 680-688.

- Sabra, A., Adam, L., Daayf, F. and Renault, S. 2012. Salinity-induced changes in caffeic acid derivatives, alkaloids and ketones in three *Echinacea species*. *Environment Experimental Botany*, 77: 234-241.
- Said, S. A., Fernandez, C. and Greff, S. 2011. Inter-population variability of terpenoid composition in leaves of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria: A chemoecological approach. *Molecules*, 16: 2646-2657.
- Scarpati, M. L. and Oriente, G. 1958. Chicoric acid (dicaffeoyltartaric acid): its isolation from chicory (*Chicorium intybus*) and synthesis. *Tetrahedron*, 4: 43-48.
- Sudha, K. K., Ravichandran, V., Jain, P. K., Sharma, S., Mouryac, V. K. and Agrawal, R. K. 2008. QSAR Analysis of chicoric acid derivatives as HIV-1 integrase inhibitors. *Acta Chimistry Slovenia*, 55: 138-145.
- Tsai, Y., Chiu, C., Chen, J., Chan, K. and Lin, S. 2012. Cytotoxic effects of *Echinacea purpurea* flower extracts and chicoric acid on human colon cancer cells through induction of 1100 apoptosis. *Journal of Ethnopharmacology*, 143: 914-919.
- Varela, M. C., Arslan, I., Reginato, M. A., Cenzano, A. M. and Luna, M. V. 2016. Phenolic compounds as indicators of drought resistance in shrubs from *Patagonian shrublands* (Argentina). *Plant Physiology and Biochemistry*, 104: 81-91.
- Zhang, X., Yang, Z., Li, Z., Zhang, F. and Hao, L. 2020. Effects of drought stress on physiology and antioxidative activity in two varieties of *Cynanchum thesioides*. *Revista Brasileira de Botanica*, 43: 1-10.
- Zhu, Y., Luo, X., Nawaz, G., Yin, J. and Yang, J. 2020. Physiological and Biochemical Responses of four cassava cultivars to drought stress. *Scientific Reports*, 10: 1-12.

## Impact of Different Levels of Drought Stress on Cichoric Acid Production in *Lactuca undulata*

Saghali<sup>1</sup>, A., Aghdasi<sup>2\*</sup>, M. and Fatemi<sup>3</sup>, S. M.

### Abstract

*Lactuca undulata* is an annual plant belonging to the Asteraceae family. Cichoric acid is one of the most important phytochemical compounds, which is used in the pharmaceutical and food industries. The main objective of the present study was to investigate the effects of drought stress on the morphological and physiological characteristics of *Lactuca undulata*. For this purpose, 45 days old seedlings were subjected to drought stress at water potential of 0, -0.3, -0.6, -0.9, and -1.2 bar. Polyethylene glycol 4000 was used to create and apply drought stress. The current results showed that by increasing drought stress, the plants gradually withered. The highest level of root and leaf dry and fresh weight, seedling total weight, root and leaf total phenol, leaf total flavonoid, root and leaf soluble sugar, root soluble protein, and root peroxidase enzyme activity were obtained under drought stress with water potential of -0.6 bar. However, the highest amount of root total flavonoid and leaf peroxidase enzyme activity were observed under drought stress with a potential -0.9 bar. The amount of root soluble protein gradually increased with increasing drought stress. But, root and leaf catalase activity showed a significant decrease by increasing drought stress, compared to control. Data from HPLC analysis showed that the highest amount of cichoric acid was obtained after drought stress with water potential of -0.6 and -0.9 bar. In conclusion, the present data showed that drought stress with a potential of -0.6 bar improves the growth factor and the amount of its secondary metabolites.

**Keywords:** Water potential, Secondary metabolite, Caffeic acid, Growth, Antioxidant activity

---

1, 2 and 3. MSc Student, Associated Professor and Assitant Professor, Respectively, Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, Iran

\*: Corresponding author      Email: Aghdasi1346@gmail.com

This paper has been extracted from the second author's MSc thesis under the supervision of Mahnaz Aghdasi.