ارزیابی و مقایسه مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه عصاره متانولی اندام‌های مختلف گیاه *Cynara Scolymus* L. تحت تاثیر تنش آبی و تراکم کاشت

منوچهر طهماسبی[1*]، یوسف حمیداوغلی[2]، محمدباقر رضایی[3]، علیرضا حسینی[4]

[1]دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

[2]دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

[3]استاد، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

[4]استادیار، گروه مهندسی آب و خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام ، ایلام، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۹/۳/۳ تاریخ پذیرش: ۹۹/۶/۱۰

چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی و مقایسه مهم‌ترین ترکیبات فنلی دارویی در عصاره اندام‌های مختلف کنگرفرنگی (*Cynara Scolymus* L.)تحت تنش خشکی و تراکم، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در ایستگاه تحقیقات کشاورزی سرابله–ایلام و طی سال‌های زراعی ۹۵-۱۳۹٤ اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل تنش خشکی در چهار سطح (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد نیاز آبی) به‌عنوان عامل اصلی و تراکم در چهار سطح (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ٤۰ هزار بوته در هکتار به‌ترتیب با فواصل ۲، ۱، ۰/٦۷ و ۰/۵ متر در طول و ۰/۵ متر بین ردیف) به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. برگ و غنچه در سال دوم برداشت و پس از خشک شدن در دمای محیط جهت استخراج عصاره استفاده شد. شناسایی و میزان نارنجین، کافئیک و کلروژنیک اسید با استفاده از دستگاه HPLC مشخص شد. نتایج نشان داد که افزایش تنش رطوبتی باعث کاهش ۷۸ و ۱۱ درصدی میزان نارنجین نسبت به شاهد در عصاره غنچه و برگ شد. بیش‌ترین میزان کافئیک اسید در عصاره برگ (۰/۷٤ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) و اثر متقابل آبیاری کامل و تراکم ۱۰ هزار بوته مشاهده شد. خشکی باعث افزایش بیوسنتز کافئیک و کلروژنیک اسید غنچه شد اما در اثر متقابل با تراکم، فقط کلروژنیک اسید در تنش شدید آبی و تراکم ۱۰ هزار بوته بیش‌ترین مقدار را داشت. بین عصاره اندام‌های مصرفی، کافئیک اسید و نارنجین در عصاره برگی و کلروژنیک اسید در عصاره غنچه بیش‌ترین مقدار را داشتند.

واژه‌های کلیدی: آرتیشو، تنش خشکی، تراکم، کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، نارنجین

*نویسنده مسئول tahmasebi564@gmail.com

مقدمه

کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L.) یکی از گیاهان مهم مدیترانه‌ای و اروپای مرکزی با سطح زیر کشت ۱۲٤۹٤۱ و ۹۱٤ هکتار در جهان و ایران است (FAO, 2018) که پس از سه قرن مصرف خوراکی غنچه (Allahdadi and Mosharraf, 2019)، در اوایل قرن بیستم در اکثر کتاب‌های دارویی و گیاهان باغی با طیف وسیعی از اثرات دارویی به دلیل وجود ترکیبات زیست فعال مثل پلی‌فنل‌ها، اینولین، آنتوسیانین‌ها، فیبر و مواد معدنی ضروری آورده شده است (Siadat – Jamian et al., 2019; Sekara et al., 2015; Melilli et al., 2007). در طب سنتی عصاره برگ کنگرفرنگی برای درمان کبد چرب، کاهش کلسترول و قند خون و افزایش ادرار استفاده می‌شود (Mohammadifar et al., 2017). برخی از پژوهشگران ترکیبات زیست فعالی مثل کافئیک اسید، کلروژنیک اسید، سینارین و لوتئولین را در عصاره این گیاه جداسازی و شناسایی کرده‌اند (Siadat – Jamian et al., 2019; Heidarian and Rafieian-Kopaei, 2013). این ترکیبات جزو متابولیت‌های ثانویه جاذب رادیکال‌های مضر هستند که می‌توانند از مردم در برابر بیماری‌هایی مثل انواع سرطان و اختلال در عملکرد قلب محافظت کنند (Pandino et al., 2013). اثرات درمانی کنگرفرنگی به کافئیک اسید، کلروژنیک اسید و سینارین نسبت داده شده است که به وفور در برگ و ساقه‌های گیاه یافت می‌شود (Allahdadi and Raei, 2017).

مواد ثانویه ترکیباتی هستند که توسط گیاهان سنتز می‌شوند و فعالیت‌های فیزیولوژیکی اساسی که مواد اولیه در گیاه انجام می‌دهند را بر عهده ندارند اما نقش اساسی در سازگاری گیاهان به محیط اطراف دارند (Allahdadi and Mosharraf, 2019). ترکیبات فنلی از مهم‌ترین گروه‌های متابولیت‌های ثانویه هستند که در اکثر گونه‌های گیاهی ساخته می‌شوند. کافئیک اسید مربوط به این گروه از ترکیبات است که در مکانیسم دفاعی گیاهان در برابر حشرات، آفات و آلودگی‌ها شرکت کرده و رشد قارچ‌ها و باکتری‌ها را مهار می‌کند (Espindola et al., 2019). خواص آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد ویروسی، کاهش دهنده فشار خون، ضد التهابی و ضد توموری آن به اثبات رسیده است (Modarres and Ghasimi-Hagh, 2019). کلروژنیک اسید نوعی پلی فنل و از مشتقات کافئیک اسید با اثرهای آنتی اکسیدانی، مهار رادیکال‌های آزاد و ضد دیابت است (Farah and Lima, 2019). این ترکیب دارای خواص ضد التهابی بوده و باعث کاهش نسبی بیماری‌های قلبی – عروقی و آلزایمر می‌شود (Ramezannezhad et al., 2019). نارنجین متعلق به گروه فلاونوئیدها یکی از بزرگترین گروه‌های ترکیبات فنلی هستند که با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد پوکی و ضد سرطان جایگاه ویژه‌ای در سلامت انسان دارند (Bacanli etal., 2019; Chen et al., 2016)

خشکی یکی از تنش‌های مهم محیطی است که منجر به تغییرات متابولیکی گسترده و سنتز متابولیت‌های خاص در گیاهان می‌شود. میزان اثربخشی تنش خشکی به ژنتیک گیاه، مدت زمان پایداری و میزان تنش بستگی دارد (Ghilavizadehet al., 2019; Ahmadizadeh et al., 2011). آبیاری کامل کنگرفرنگی منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد نسبت به تیمار ۵۰ درصد تبخیر از سطح تشتک شد (Grabowska et al., 2018; Shinohara et al., 2011). طبق نتایج گزارش شده در رابطه با اثربخشی تنش خشکی روی متابولیت‌های مرزه سهندی، تیمول افزایش ۳۱ درصدی و بتابیسابولن کاهش معنی‌دار داشت. به علاوه، تنش خشکی منجر به تغییر و افزایش معنی‌دار آماری در ترکیبات اصلی عصاره گیاه (رزمارینیک اسید و کافئیک اسید) شد (Shariat et

al., 2018). در بررسی اثر تنش خشکی بر علف چای (*Hypericum brasiliense*) مشخص شد که در گیاهان تحت تنش، غلظت و میزان ترکیبات فنلی افزایش یافت (De Abreu and Mazzafera, 2005).

شکل و ترکیب کاشت یکی از فاکتورهای مهم در زراعت تک کشتی است (Khajehpour, 2014) و تراکم مطلوب با توجه به ژنتیک گیاه، روش تکثیر، شرایط آب و هوایی و حاصلخیزی خاک هر منطقه متفاوت است (Lima et al., 2016; Huse Santosh et al., 2011). تراکم مطلوب در واحد سطح منجر به ایجاد فضای تغذیه‌ای مناسب برای تک بوته و تعادل آن در رقابت با دیگر بوته‌ها و حصول بیش‌ترین عملکرد می‌شود. علاوه بر این، افزایش تراکم تا اندازه‌ای باعث افزایش شاخص سطح برگ، فتوسنتز و عملکرد گیاه می‌شود (Afshon et al., 2018; Hasanvand et al., 2018).براساس گزارش رسینی (Rossini et al., 2012)، تراکم ۸ بوته کنگرفرنگی در متر مربع باعث افزایش معنی‌دار عملکرد غنچه و تولید ماده خشک ساقه شد. افزایش تراکم غنچه گل گاوزبان در متر مربع باعث افزایش عملکرد و کاهش معنی‌دار درصد روغن شد (Hasanvand et al., 2018; Tazeh et al., 2015).

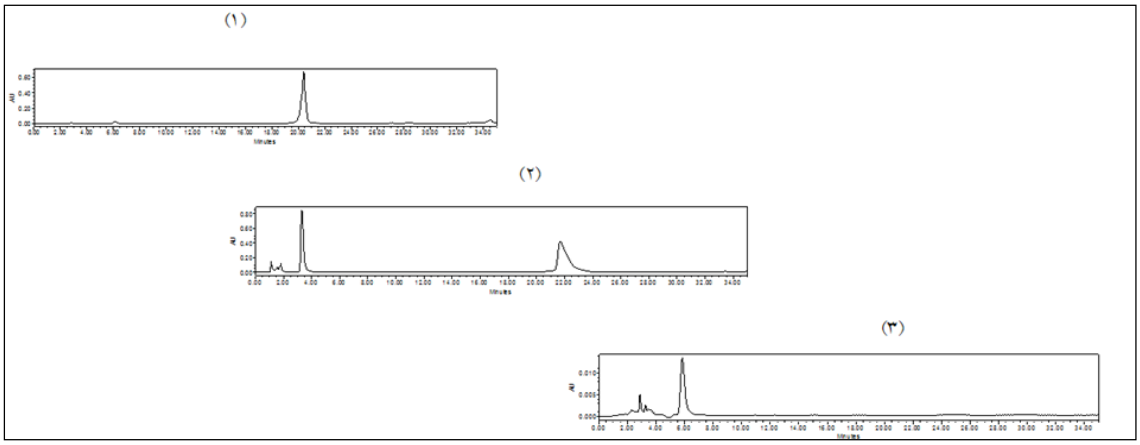
با توجه به اهمیت گیاه کنگرفرنگی در صنایع غذایی و دارویی، مشکل کم‌آبی و فقدان اطلاعات کافی از میزان آبیاری و تراکم مناسب این گیاه در مناطق مختلف کشور و استان ایلام، این تحقیق با هدف ارزیابی پاسخ فیزیولوژیکی گیاه از نظر تجمع متابولیت‌های ثانویه تحت سطوح مختلف تنش خشکی و تراکم بوته اجرا شد.

مواد و روش‌ها

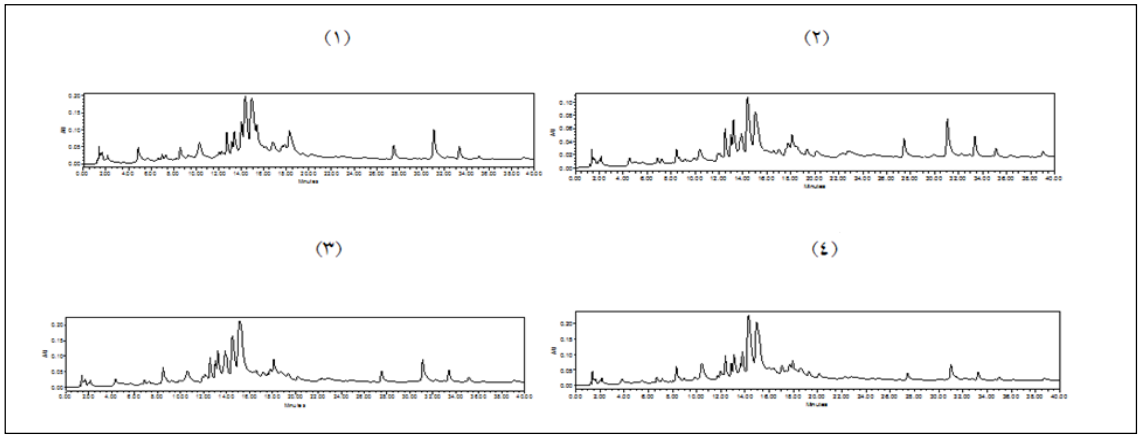
این تحقیق به صورت کرت‌های خرد شده (اسپلیت پلات) در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در ایستگاه تحقیقاتی سرابله - ایلام طی سال‌های زراعی ۹۵-۱۳۹٤ اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل تنش خشکی در چهار سطح (عدم تنش (۱۰۰ درصد نیاز آبی)، تنش ملایم (۷۵ درصد نیاز آبی)، تنش متوسط (۵۰ درصد نیاز آبی) و تنش شدید (۲۵ درصد نیاز آبی))، به عنوان عامل اصلی و تراکم بوته در چهار سطح (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ٤۰ هزار بوته در هکتار به ترتیب با فواصل بین بوته‌ای ۲، ۱، ۰/٦۷ و ۰/۵ متر در طول ردیف و ۰/۵ متر بین ردیف) به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. با توجه به رشد زایشی گیاه در سال دوم کشت، غنچه‌ها و برگ‌ها در سال دوم زراعی برداشت و جهت تهیه عصاره آماده گردید. به منظور تهیه عصاره متانولی ابتدا نمونه برگ و غنچه در دمای طبیعی (دمای اتاق) خشک شد، سپس با آسیاب برقی به خوبی پودر و از الک شماره ۱۸ گذرانده شد. جهت آماده‌سازی نمونه، نیم گرم برگ و غنچه پودر شده با دقت هزارم توزین گردید و در ۵ میلی‌لیتر متانول خالص (۱:۱۰) در هاون سرد همگن شد. نمونه‌های همگن شده به مدت ۱۰ دقیقه التراسوند شده (لوله محتوی محلول کاملاً به وسیله فویل آلومینیومی در برابر نور محافظت گردید) و به مدت ۱۲ ساعت روی شیکر قرار داده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۵۰۰ سانتریفیوژ گردید. بخش فوقانی محلول بعد از گذشتن از فیلتر سرنگی، به ظروف مخصوص HPLC منتقل شده و آماده تزریق به دستگاه HPLC شد. شناسایی و ارزیابی ترکیبات، با یک سیستم HPLC (Breeze system, Waters, MA,USA) مجهز به شناساگر UV-Visible (Waters Dual λ Absorbance-2487) با ستون فولادی(4/6 × 150 mmODSSymentery, C18) با قطر منافذ پنج میکرومتر (Waters, Dublin Ireland) انجام شد. برای اندازه‌گیری ترکیب فوق دتکتور روی ۳۰٦ نانومتر تنظیم شد. جداسازی مواد

با استفاده از دو حلال A (۹۷ درصد آب: ۳ درصد استیک اسید) و B (استونیتریل خالص) و طبق برنامه زمانی پیشنهادی منابع موجود (Zhang et al., 2011) صورت گرفت (جدول ۱). شناسایی و آنالیز کمی هر کدام از ترکیبات در نمونه‌ها به کمک استاندارد داخلی و خارجی انجام شد (شکل ۱). به این منظور کروماتوگرام‌های حاصل از تزریق هر نمونه با کروماتوگرام‌های به دست آمده از تزریق استاندارد و زمان بازداری آن‌ها مقایسه و در نهایت غلظت ترکیبات کافئیک اسید، کلروژنیک اسید و نارنجین بر حسب میکروگرم بر گرم ماده خشک در هر نمونه گزارش شد. به عنوان مثال نمونه‌ای از کروماتوگرام‌های عصاره غنچه در تنش رطوبتی ۲۵ درصد نیاز آبی و تراکم‌های تحت بررسی در شکل ۲ آورده شده است که پس از مقایسه زمان بازداری آن‌ها با نمونه‌های استاندارد، مقدار ترکیبات فنلی دارویی مد نظر محاسبه و برای تجزیه آماری ثبت شد. استاندارد سازی نیز به کمک تزریق غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۰۶۲ و ۰/۰۳۱ میلی‌گرم در لیتر از استاندارد هر کدام از ترکیبات انجام گرفت.

تجزیه آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS ver.16 و مقایسه میانگین آن‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.



شکل ۱: کروماتوگرام HPLC نمونه‌های استاندارد: ۱: کافئیک اسید، ۲: کلروژنیک اسید و ۳: نارنجین



شکل ۲: کروماتوگرام HPLC از نمونه عصاره غنچه کنگرفرنگی در تنش رطوبتی ۲۵ درصد نیاز آبی و تراکم‌های مختلف؛ ۱: تراکم ۱۰ هزار بوته در هکتار، ۲: تراکم ۲۰ هزار بوته در هکتار، ۳: تراکم ۳۰ هزار بوته در هکتار و ٤: تراکم ٤۰ هزار بوته در هکتار

جدول ۱: برنامه زمانی و تغییرات نسبت حلال‌های فاز متحرک

زمان (دقیقه)	حلال A%	حلال B%	سرعت (میلی‌لیتر در دقیقه)
۰-۵	۸	۹۲	۱
۵-۱۶/۵	۲	۹۸	۱
۱۶/۵-۳۵	۱۸	۸۲	۱
۳۵-۵۰	۲۰	۸۰	۱
۵۰-۶۵	۳۰	۷۰	۱
۶۵-۷۰	۰	۱۰۰	۱

نتایج

طبق نتایج جدول تجزیه واریانس، اثر تکرار روی کلروژنیک و نارنجین در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید. هر سه ترکیب عصاره غنچه کنگرفرنگی تحت تاثیر سطوح مختلف آبیاری، تراکم کاشت و اثر متقابل آن‌ها در سطح ۱ درصد آماری قرار گرفت (جدول ۲).

جدول ۲: تجزیه واریانس اثر رژیم‌های مختلف آبی و تراکم کاشت بر مواد موثره عصارهغنچه کنگر فرنگی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کافئیک اسید	کلروژنیک اسید	نارنجین
تکرار	۲	۸/۹۵ns	۰/۱۰**	۰/۰۰۳**
رژیم آبیاری	۳	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۴**	۰/۳۸**
خطای رژیم آبیاری	۶	۲/۲۹	۳/۳۳	۵/۶۲
تراکم کاشت	۳	۰/۱۰**	۰/۰۰۸**	۰/۳۵**
رژیم آبیاری × رژیم آبیاری	۹	۰/۰۳**	۰/۰۰۱**	۰/۰۸**
خطای کل	۲۴	۰/۰۰	۳/۳۳	۶/۴۶
ضریب تغییرات (CV%)	-	۰/۰۰	۸/۶۸	۳۶/۶۴

ns، * و **: به‌ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

مقایسه میانگین اثر رژیم‌های مختلف آبیاری بر ترکیبات غنچه نشان داد که بیش‌ترین میزان کافئیک اسید در تنش متوسط خشکی (۵۰ درصد نیاز آبی) با میزان ۰/۲۰ میلی‌گرم در گرم مشاهده شد و با افزایش میزان آبیاری به ۷۵ درصد نیاز آبی حدود ۱۵ درصد کاهش یافته و در پایین‌ترین گروه معنی‌دار آماری جای گرفت. تنش شدید خشکی باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروژنیک اسید (۰/۲۲ میلی‌گرم در گرم) و با کاهش تنش خشکی مقدار این ماده موثره کاهش یافت، بطوری‌که تیمار شاهد در پایین‌ترین گروه آماری قرار گرفت. اما بیشینه مقدار نارنجین در گروه شاهد با میانگین ۰/۵۴ میلی‌گرم در گرم مشاهده شد. افزایش تنش باعث کاهش معنی‌دار این ماده در عصاره غنچه شد بطوریکه کم‌ترین مقدار نارنجین (۰/۱۲ میلی‌گرم در گرم) در رژیم ۲۵ درصد نیاز آبی ملاحظه گردید (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر رژیم‌های مختلف آبیاری بر ترکیبات عصاره غنچه کنگرفرنگی

ترکیبات / رژیم آبیاری	کافئیک اسید (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)	کلروژنیک اسید (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)	نارنجین (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)
۱۰۰٪ نیاز آبی	۰/۱۹ab	۰/۱۸d	۰/۵٤a
۷۵٪ نیاز آبی	۰/۱۷c	۰/۲۰c	۰/٤۰b
۵۰٪ نیاز آبی	۰/۲۰a	۰/۲۱b	۰/۲۷c
۲۵٪ نیاز آبی	۰/۱۸bc	۰/۲۲a	۰/۱۲d

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها است.

طبق نتایج بدست آمده، تراکم ۳۰ هزار بوته در هکتار مناسب‌ترین تراکم برای دست‌یابی به بالاترین مقدار کافئیک اسید (۰/۲۷ میلی‌گرم در گرم) و نارنجین (۰/٤٤ میلی‌گرم در گرم) در عصاره غنچه کنگرفرنگی است. بیش‌ترین (۰/۲٤ میلی‌گرم در گرم) و کم‌ترین (۰/۱۸ میلی‌گرم در گرم) مقدار کلروژنیک اسید به ترتیب در تراکم‌های ۱۰ و ٤۰ هزار بوته در هکتار مشاهده شد (جدول ٤).

جدول٤: مقایسه میانگین اثر تراکم‌های مختلف کاشت بر ترکیبات عصاره غنچه کنگر فرنگی

تراکم کاشت / ترکیبات	کافئیک اسید (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)	کلروژنیک اسید (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)	نارنجین (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)
۱۰ هزار بوته در هکتار	۰/۲۱b	۰/۲٤a	۰/۰۸c
۲۰ هزار بوته در هکتار	۰/۲۱b	۰/۲۱b	۰/۳۷b
۳۰ هزار بوته در هکتار	۰/۲۷a	۰/۱۹c	۰/٤٤a
٤۰ هزار بوته در هکتار	۰/۰٦c	۰/۱۸c	۰/٤٤a

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها است.

اثر متقابل فاکتورهای مورد بررسی بر ترکیبات عصاره غنچه کنگرفرنگی نشان داد که آبیاری کامل و تراکم ۳۰ هزار بوته در هکتار مناسب‌ترین تیمار با هدف افزایش کافئیک اسید عصاره غنچه است. اثر متقابل تمام سطوح آبیاری در تراکم ٤۰ هزار بوته در هکتار کم‌ترین میزان کافئیک اسید را نشان داد. بیش‌ترین مقدارکلروژنیک اسید در اثر متقابل تنش شدید خشکی و تراکم ۱۰ هزار بوته (۰/۲۷ میلی‌گرم در گرم) مشاهده گردید. اثر متقابل ۷۵ درصد نیاز آبی گیاه و تراکم ۱۰ هزار بوته در هکتار کم‌ترین مقدار کلروژنیک اسید (۰/۱٦ میلی‌گرم در گرم) در عصاره غنچه داشت. بیشینه (۰/۸۲ میلی‌گرم در گرم) و کمینه (۰/۰۷ میلی‌گرم در گرم) نارنجین به ترتیب در اثر متقابل آبیاری کامل با تراکم ٤۰ هزار بوته در هکتار و تنش شدید خشکی با همین تراکم بوته مشاهده شد (جدول ۵).

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تکرار، رژیم آبیاری، تراکم کاشت و اثر متقابل این دو عامل بر میزان کافئیک اسید، کلروژنیک اسید و نارنجین در سطح آماری ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ٦).

جدول ۵: مقایسه میانگین‌های اثر متقابل رژیم آبیاری و تراکم کاشت بر ترکیبات عصاره غنچه کنگرفرنگی

رژیم آبیاری	تراکم کاشت (هزار بوته در هکتار)	کافئیک اسید (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)	کلروژنیک اسید (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)	نارنجین (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)
۱۰۰٪ نیاز آبی	۱۰	۰/۱۳ij	۰/۲۰fg	۰/۰vl
	۲۰	۰/۱٦h	۰/۱۹gh	۰/٤۹e
	۳۰	۰/٤۳a	۰/۰۹g	۰/۷۸b
	٤۰	۰/۰٥k	۰/۱۹gh	۰/۸۲a
۷۵٪ نیاز آبی	۱۰	۰/۱٤i	۰/۱٦i	۰/۰۸kl
	۲۰	۰/۱۸g	۰/۲۱ef	۰/٤۰f
	۳۰	۰/۳۳b	۰/۱۸h	۰/٥٥d
	٤۰	۰/۰٥k	۰/۱۹gh	۰/٥vc
۵۰٪ نیاز آبی	۱۰	۰/۲٥e	۰/۲٥b	۰/۰۸kl
	۲۰	۰/۲vd	۰/۲۲e	۰/۳۸g
	۳۰	۰/۲۲f	۰/۲۰fg	۰/۳٤h
	٤۰	۰/۰٦k	۰/۱۸h	۰/۳۰i
۲۵٪ نیاز آبی	۱۰	۰/۳۱c	۰/۲va	۰/۰۹k
	۲۰	۰/۲۳ef	۰/۲٤c	۰/۲۳j
	۳۰	۰/۱۲j	۰/۲۱ef	۰/۰۸kl
	٤۰	۰/۰vk	۰/۱۸h	۰/۰vl

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها است.

جدول ٦: تجزیه واریانس اثر رژیم‌های مختلف آبی و تراکم کاشت بر مواد موثره عصاره برگ کنگر فرنگی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کافئیک اسید	کلروژنیک اسید	نارنجین
تکرار	۲	۰/۰٥**	۰/۰۰۱**	۰/۰۹**
رژیم آبیاری	۳	۰/۲۷**	۰/۰۰۲**	۰/۰۱**
خطای رژیم آبیاری	٦	۸/۳۳	۲/۲۹	۰/۰۰
تراکم کاشت	۳	۰/۲۷**	۰/۰۱**	۱/٤۲**
رژیم آبیاری × تراکم کاشت	۹	۰/۰۲**	۰/۰۰۷**	۰/۰٦**
خطای کل	۲٤	۸/۳۳	۸/۱۲	۰/۰۰
ضریب تغییرات (CV%)		۱۸/٦۰	۱۳/٥٦	۰۰/۰

ns، * و **: به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

نتایج جدول مقایسه میانگین سطوح مختلف آبیاری نشان داد که بیش‌ترین (۰/۵۳ میلی‌گرم در گرم) و کم‌ترین (۰/۱۹ میلی‌گرم در گزم) میزان کافئیک اسید به ترتیب از اعمال ۱۰۰ و ۲۵ درصد نیاز آبی حاصل شد. اعمال تنش بسیار شدید (۲۵ درصد نیاز آبی) منجر به افزایش معنی‌دار کلروژنیک اسید تا ۰/۱۵ میلی‌گرم در گرم شد و ۲۰ درصد افزایش نسبت به گروه شاهد داشت. آبیاری کامل (شاهد) بالاترین میزان نارنجین را با میانگین ۰/۷٦ میلی‌گرم در گرم به خود اختصاص داد و تنش ملایم و متوسط با کاهش

۱۱ درصدی در جایگاه سوم آماری قرار گرفت (جدول ۷).

نتایج جدول مقایسه میانگین تراکم‌های مختلف کاشت نشان داد که بیش‌ترین مقدار کافئیک اسید (۰/۵۳ میلی‌گرم در گرم) در تیمار ۱۰ هزار بوته و کم‌ترین (۰/۱۶ میلی‌گرم در گرم) آن در تراکم ۴۰ هزار بوته در هکتار مشاهده شد. تراکم ۴۰ هزار بوته در هکتار با میانگین ۰/۱۶ میلی‌گرم در گرم بالاترین مقدار کلروژنیک اسید را به خود اختصاص داد و با کاهش تراکم به ۲۰ هزار بوته در هکتار ۴۴ درصد کاهش یافته و در آخرین گروه معنی‌دار آماری قرار گرفت. بیش‌ترین مقدارنارنجین در تیمار ۳۰ هزار بوته در هکتار با میانگین ۱/۰۵ میلی‌گرم در گرم به دست آمد که با کاهش تراکم میزان این ماده نیز کاهش یافت (جدول ۸).

جدول ۷: مقایسه میانگین اثر رژیم‌های مختلف آبیاری بر ترکیبات عصاره برگ کنگرفرنگی

ترکیبات / رژیم‌های آبیاری	کافئیک اسید (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)	کلروژنیک اسید (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)	نارنجین (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)
۱۰۰٪ نیاز آبی	۰/۵۳a	۰/۱۲c	۰/۷۶a
۷۵٪ نیاز آبی	۰/۴۱b	۰/۱۳b	۰/۶۸c
۵۰٪ نیاز آبی	۰/۲۸c	۰/۱۴b	۰/۶۸c
۲۵٪ نیاز آبی	۰/۱۹d	۰/۱۵a	۰/۷۰b

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها است.

جدول ۸: مقایسه میانگین اثر تراکم‌های مختلف کاشت بر ترکیبات عصاره برگ کنگر فرنگی

ترکیبات / تراکم کاشت	کافئیک اسید(میلی‌گرم در گرم ماده خشک)	کلروژنیک اسید(میلی‌گرم در گرم ماده خشک)	نارنجین(میلی‌گرم در گرم ماده خشک)
۱۰ هزار بوته در هکتار	۰/۵۳a	۰/۱۵b	۰/۳۵d
۲۰ هزار بوته در هکتار	۰/۳۴c	۰/۰۹d	۰/۹۴b
۳۰ هزار بوته در هکتار	۰/۳۷b	۰/۱۳c	۱/۰۵a
۴۰ هزار بوته در هکتار	۰/۱۶d	۰/۱۶a	۰/۴۸c

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها است.

طبق نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین اثر متقابل دو عامل مورد بررسی، آبیاری کامل (شاهد) با تراکم ۱۰، ۴۰ و ۳۰ هزار بوته در هکتار به ترتیب بالاترین میزان کافئیک اسید (۰/۷۴ میلی‌گرم در گرم)، کلروژنیک اسید (۰/۲۳ میلی‌گرم در گرم) و نارنجین (۱/۲۸ میلی‌گرم در گرم) را به خود اختصاص داد (جدول ۹).

جدول ۹: مقایسه میانگین‌های اثر متقابل رژیم آبیاری و تراکم کاشت بر ترکیبات برگ کنگر فرنگی

رژیم آبیاری	تراکم کاشت (هزار بوته در هکتار)	کافئیک اسید (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)	کلروژنیک اسید (میلی‌گرم در گرم ماده حشک)	نارنجین (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)
۱۰۰٪ نیاز آبی	۱۰	۰/۷٤a	۰/۱٤e	۰/٤٦h
	۲۰	۰/٤٥d	۰/۳۰i	۰/۸٤f
	۳۰	۰/٥٦c	۰/۰۹g	۱/۲۸a
	٤۰	۰/۲۲k	۰/۲۳a	۰/٤۹g
۷٥٪ نیاز آبی	۱۰	۰/٦۲b	۰/۱٥de	۰/۱۸j
	۲۰	۰/٤۰f	۰/۰۷h	۰/۹۱e
	۳۰	۰/٤۱e	۰/۱۲f	۱/۱٦b
	٤۰	۰/۱۸l	۰/۱۹b	۰/٤۸gh
۵۰٪ نیاز آبی	۱۰	۰/۳۸h	۰/۱٦cd	۰/۳۲i
	۲۰	۰/۲۷j	۰/۱۲f	۰/۹۷d
	۳۰	۰/۲۹i	۰/۱٤e	۰/۹۷d
	٤۰	۰/۱٥m	۰/۱٤e	۰/٤۸gh
۲٥٪ نیاز آبی	۱۰	۰/۲۹i	۰/۱۷c	۰/٤٥h
	۲۰	۰/۱۳o	۰/۱٦cd	۱/۰٥c
	۳۰	۰/۱٤n	۰/۱۷c	۰/۸۲f
	٤۰	۰/۱۱p	۰/۱۰g	۰/٤۷gh

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در بین میانگین‌ها است.

بحث

طبق نتایج تحقیق حاضر، تیمارهای مختلف خشکی بر میزان کافئیک اسید عصاره کنگرفرنگی اثر معنی‌دار داشت بطوریکه تنش متوسط (۵۰ درصد نیاز آبی) بیش‌ترین مقدار این ماده را در عصاره غنچه نشان داد(جدول ۳)، اما در عصاره برگ با افزایش تنش کاهش معنی‌دار کافئیک اسید مشاهده شد (جدول ۷). میزان کلروژنیک اسید عصاره برگ و غنچه در تنش شدید (۲۵ درصد نیاز آبی) بالاترین مقدار را داشت و سهم این ماده در عصاره حاصل از غنچه کنگرفرنگی ٤۷ درصد بیش‌تر از عصاره برگ بود (جدول ۳). اما میزان نارنجین با اعمال تنش آبی در هر دو عصاره کاهش داشت. تنش خشکی باعث محدودیت در جذب آب و مواد غذایی شده، ترکیبات فتوسنتزی موجود در گیاه صرف توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه، کاهش رشد و تقسیم سلولی در اندام هوایی (Jose Frutos et al., 2019)، افزایش و بهبود بیوسنتز ترکیبات ثانویه در برخی گیاهان می‌شود (Mahdavikia et al., 2019)، اما گزارشات متعددی نیز در رابطه با بهبود و افزایش بیوسنتز برخی از ترکیبات دارویی در صورت دسترسی مطلوب به عوامل محیطی دخیل در رشد مثل آب و مواد غذایی نیز وجود دارد (Abbaszadeh et al., 2016) که با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی داشت و تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار کافئیک اسید و نارنجین عصاره برگی نسبت به شاهد شد. اما میزان کافئیک اسید عصاره غنچه با تنش خشکی افزایش یافت. به نظر می‌رسد عکس‌العمل‌های متفاوت کمیت ترکیبات فنلی مورد ارزیابی ناشی از اثر متقابل تنش با اندام‌های گیاهی استفاده شده در عصاره‌گیری باشد (Grabowska et al., 2018; Chen et al., 2011).از طرفی، تنش خشکی شدید (۲۵ درصد نیاز آبی) باعث

افزایش ۲۰ و ۱۸ درصدی کلروژنیک اسید عصاره برگ و غنچه نسبت به تیمار شاهد و آبیاری کامل شد که با یافته‌های نورایی و همکاران (Nouraei et al., 2016) روی کنگرفرنگی مطابقت داشت. علی‌رغم کاهش تعداد برگ‌های گیاهان تحت تنش وتجمع بیش‌تر ترکیبات فنلی در برگ‌های جوان باز هم کلروژنیک اسید موجود در عصاره برگ بالا بود. به نظر می‌رسد برای نتایج دقیق‌تر بایستی نمونه‌های برگی در سال اول به هنگام رشد رویشی و قبل از رشد زایشی و از برگ‌های جوان تهیه شود چرا که مرحله نمو گیاه (مرحله رویشی یا زایشی) بر میزان تجمع ترکیبات فنلی در اندام‌های بررسی شده اثر معنی‌دار دارد (Ramezannezhad et al., 2019). بطوری‌که، میزان ترکیبات فنلی کنگرفرنگی در برگ‌ها در مرحله غنچه‌دهی بیش از مرحله گلدهی است (Allahdadi and Mosharraf, 2019). تنش خشکی باعث افزایش کافئیک اسید عصاره غنچه شد و از آنجایی که کافئیک اسید پیش‌ساز تولید کلروژنیک اسید است (Liang and Kitts, 2016) پس از افزایش تجمع کافئیک اسید در گیاه سنتز کلروژنیک اسید سرعت گرفت و همین امر منجر به مصرف کافئیک اسید و افزایش معنی‌دار کلروژنیک اسید شد. بطوریکه تنش رطوبتی ۵۰ درصد نیاز آبی گیاه بالاترین مقدار کافئیک اسید با میانگین ۰/۲۰ میلی‌گرم در گرم ماده خشک را داشت و با تجمع این ماده فنلی، بیوسنتز کلروژنیک اسید از این ماده سرعت گرفته و گیاه در تنش بسیار شدید بالاترین مقدار کلروژنیک اسید را نشان داد. بنابراین تنش خشکی باعث افزایش بیوسنتز و تجمع کافئیک اسید و در نهایت کلروژنیک اسید در غنچه زیادتر شده و خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی آن را افزایش داد (Meng et al., 2013). مقدار این ترکیب دارویی در عصاره غنچه بیش‌تر از برگ بود که می‌تواند ناشی از افزایش تولید کافئیک اسید در شرایط تنش و در اندام غنچه باشد. یکی دیگر از ترکیبات فنلی دارویی و ارزشمند این گیاه نارنجین است که با توجه به اثر آنتی اکسیدانی بالا، مهار رادیکال‌های آزاد و ضد ویروسی جایگاه ویژه‌ای در سلامت انسان دارد (Sivaci et al., 2015) و باعث افزایش عمر انبارمانی محصولات گیاهی می‌شود (Bacanli et al., 2019). سطوح مختلف تنش باعث کاهش میزان نارنجین شد، بنابراین عمر ماندگاری و تازه‌خوری محصول غنچه کاهش می‌یابد. لازم به ذکر است که در شرایط آبیاری کامل نیز عصاره برگ از نظر کمی غنی‌تر از عصاره غنچه بود که با یافته‌های سیادت جامیان و همکارانش (Siadat – Jamian et al., 2019) روی ترکیبات فنلی کنگرفرنگی تحت شرایط تنش رطوبتی و تراکم همخوانی داشت. این امر می‌تواند ناشی از اثر متقابل اندام، میزان سنتز و تجمع نارنجین باشد (Sivaci et al., 2015). بنابراین عصاره برگی کنگرفرنگی چنانچه از تیمارهای رشد یافته در شرایط مساعد آبی (آبیاری کامل) تهیه شود کمک بزرگی به صنعت بسته‌بندی، نگهداری تازه‌تر محصولات و افزایش عمر انبارمانی آن‌ها خواهد کرد (Bacanli et al., 2019).

تراکم بوته‌ای یکی از عواملی است که تاثیر بسزایی در رشد گیاه دارد. بطوریکه در تراکم مطلوب عوامل محیطی به نحو مناسب‌تری در اختیار گیاه قرار می‌گیرند و در عین حال رقابت‌های بین بوته‌ای به حداقل می‌رسد تا بالاترین عملکرد و کیفیت حاصل شود (Akbari et al., 2017). کافئیک اسید یک هیدروکسی سینامیک اسید متعلق به خانواده اسیدهای فنلی است که میزان تجمع آن تحت تاثیر نور در دسترس گیاه است و یکی از ترکیباتی است که به وفور در برگ‌ها و ساقه‌های کنگرفرنگی یافت می‌شود (Siadat – Jamian et al., 2019). بنابراین تراکم مطلوب باعث دسترسی بهینه تک بوته به نور، افزایش

بیوماس و تجمع متابولیت‌های ثانویه خصوصا کافئیک اسید می‌شود (Modarres and Ghasimi-Hagh, 2019; Anang et al., 2013). چنانچه میزان کافئیک اسید در گیاه افزایش یابد خاصیت ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی آن زیادتر می‌شود (Espindola et al., 2019). طبق نتایج حاصل از پژوهش حاضر، تراکم مطلوب جهت رسیدن به بیش‌ترین کافئیک اسید عصاره برگ تعداد ۱۰ هزار بوته در هکتار بود و با دسترسی مطلوب گیاه به نور بیوسنتز کافئیک اسید و تجمع آن در برگ‌ها بیش‌تر شد ولی با افزایش تراکم گیاه به ٤٠ هزار بوته، نور در دسترس تک بوته کاهش و سایه‌اندازی بوته‌ها بر هم افزایش یافت که منجر به کاهش ۷۰ درصدی کافئیک اسید عصاره متانولی برگ (۰/۱٦ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) شد. تراکم مناسب باعث افزایش رشد رویشی می‌شود و مواد فتوسنتزی به جای رشد زایشی بیش‌تر صرف پیکره رویشی گیاه می‌شود (Kmjaja et al., 2019; Ruttanaprasert et al., 2016). طبیعی است که تقویت رشد رویشی منجر به افزایش تعداد برگ‌ها در بوته شده و انباشت ترکیبات فنلی در برگ‌ها بالاتر می‌رود (Bahlgerdi et al., 2014). از طرفی، ترکیبات فنلی در برخی از عصاره‌های گیاهی در مرحله زایشی کاهش معنی‌داری نسبت به رویشی نشان می‌دهند (Allahdadi and Mosharraf, 2019; Ramezannezhad et al., 2019; Sivaci et al., 2015) که در پژوهش حاضر نیز اگرچه مقدار کافئیک اسید در تراکم ۳۰ هزار بوته و عصاره غنچه با میانگین ۰/۲۷ میلی‌گرم در گرم ماده خشک بالاترین مقدار را داشت اما حدود ۵۱ درصد کم‌تر از بیشینه این ماده در عصاره برگ و تراکم ۱۰ هزار بوته بود. با توجه به اینکه کافئیک اسید پیش‌ساز کلروژنیک اسید است انتظار می‌رفت در تراکم ۱۰هزار بوته و گذر از مرحله رویشی مقدار کلروژنیک اسید نیز در عصاره غنچه بالاترین مقدار را داشته باشد که بیش‌ترین مقدار کلروژنیک اسید (۰/۲٤ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) نیز در همین تراکم (۱۰ هزار بوته در هکتار) مشاهده شد. ولی با افزایش تراکم تا ٤٠ هزار بوته مقدار آن ۲۵ درصد کاهش نشان داد.

در بررسی اثر متقابل تنش خشکی و تراکم، مقدار ترکیبات فنلی تحت تاثیر شرایط محیطی رشد گیاه، فصل برداشت، مرحله برداشت (رویشی یا زایشی)، اندام، گونه گیاهی، روش خشک کردن و حتی نوع حلال مصرفی در استخراج عصاره است (Ramezannezhad et al., 2019; Blum-Silva et al., 2015).از طرفی، در شرایط آبیاری کامل و تراکم مطلوب منابع مورد رقابت محیطی نه تنها در فتوسنتز و عملکرد گیاهان دارویی بلکه در بیوسنتز ترکیب‌های ثانویه نقش کلیدی ایفا کرده باعث افزایش ترکیبات فنلی شد (Mahdavikia et al., 2019; Hasanvand et al., 2018; Abbaszadeh et al., 2016)که با یافته‌های سیادت جامیان روی کنگرفرنگی (Siadat – Jamian et al., 2019)، طالعی و همکاران روی استویا (Taleie et al., 2012) و گنجعلی و همکاران (Ganjali et al., 2010) روی گیاه همیشه بهار همخوانی داشت. تنها ترکیب فنلی که در اثر متقابل تنش و تراکم افزایش داشت کلروژنیک اسید در تنش شدید آبی و تراکم ۱۰ هزار بوته بود. با توجه به اثرات معجزه‌آسای کلروژنیک اسید در کنترل و مهار آلودگی‌های قارچی و باکتریایی (Siadat – Jamian et al., 2019) می‌توان از آن برای بسته‌بندی مواد غذایی و افزایش عمر تازه خوری غنچه کنگرفرنگی استفاده کرد (Meng et al., 2013).

نتیجه‌گیری نهایی

هر سه ترکیب فنلی ارزیابی شده تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفت. بطوریکه نارنجین روند کاهشی

در عصاره هر دو اندام، کافئیک اسید روند کاهشی در عصاره برگ و افزایشی در عصاره غنچه و کلروژنیک اسید سیر صعودی در عصاره هر دو اندام داشت. به نظر می‌رسد برای دستیابی به نتایج دقیق‌تر و اثر متقابل اندام، زمان برداشت و تنش، نمونه‌گیری در مراحل مختلف رشد رویشی و زایشی از اندام‌های ارزیابی شده انجام شود. از نظر کمی نارنجین سهم بیش‌تری در ترکیب عصاره هر دو اندام مصرفی کنگرفرنگی داشت و تراکم ۳۰ هزار بوته مناسب‌ترین تراکم برای دست‌یابی به بالاترین مقدار این ترکیب بود. با توجه به ارزش و اثرات دارویی نارنجین، حضور این ماده علاوه بر افزایش کیفیت عصاره باعث افزایش عمر غنچه پس از برداشت برای مصارف تازه خوری و خاصیت آنتی اکسیدانی می‌شود. تنها ترکیب فنلی که در اثر متقابل خشکی شدید و تراکم ۱۰ هزار بوته بیش‌ترین مقدار را داشت کلروژنیک اسید در عصاره غنچه بود. در حالت کلی، مقدار کمی ترکیبات ارزیابی شده در عصاره برگ بیش‌تر از عصاره غنچه بود. بنابراین، در شرایط آب و هوایی مشابه منطقه سرابله- ایلام و حصول عصاره با کیفیت از نظر ترکیبات ارزیابی شده، افزایش اثر دارویی از طریق افزایش بیوسنتز ترکیبات زیست فعال، خاصیت آنتی اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد عصاره برگی کنگر فرنگی توصیه می‌شود.

References

1. Abbaszadeh, B. and Ramezan, Gh. 2016. The effect of drought stress on yield content and percentage of essential oil of *Nepeta pogonosperma* under different plant density. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 31(6): 1071-1085.
2. Afshon, I., Jahansuz, M.R., Hosseini, M.B. and Moghadam, H. 2018. The effect of different tillage methods and planting density on yield and yield components of soybean cultivars (*Glycine max*) in Karaj. Iranian Journal of Field Crop Science. 49(2): 105-113.
3. Ahmadizadeh, M., Valizadeh, M., Zaefizadeh, M. and Shahbazi, H. 2011. Antioxidative protection and electrolyte leakage in durum wheat under drought stress condition. Journal of Applied Sciences Research. 7(3): 236-246.
4. Akbari, Sh., Kafi, M. and Rezvani, Sh. 2017. The effect of drought stress and plant density on Biochemical and characterestics of two garlic (*Allium sativum* L.) ecotypes. Iranian Journal of Field Crops Research, 14(2): 644-665.
5. Allahdadi, M. and Mosharraf, L. 2019. The effect of harvesting time on some phytochemical characteristics of *Cynara scolymus* L. leaves. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 24(4): 40-55.
6. Allahdadi, M. and Raei, Y. 2017. Growth and chlorogenic acid content of artichoke (*Cynara scolymus* L.) affected by bio and chemical fertilizer. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences, 11(5): 63-73.
7. Ananga, A., Georgiev, V., Ochieng, J.W., Phills, B. and Tsolova, V. 2013. Production of anthocyanins in grape cell cultures: A potential source of raw material for pharmaceutical, food, and cosmetic industries. 247-287. In: Sladonja, B. (ed.). The Mediterranean Genetic Code -Grapevine and Olive.
8. Bahlgerdi, M., Aroiee, H. and Azizi, M. 2014. The study of plant density and planting methods on some growth characteristics, seed and oil yield of medicinal pumpkin (*Cucurbita pepo* var. styriaca, cv. 'Kaki). American Journal of Life Sciences, 2(5): 319- 324.
9. Bacanil, M., Basaran, A.A. and Basaran, N. 2019. The major flavonoid of grapefruit: naringin. Research Gate, 37-44.
10. Chen, Y., Guo, Q., Liu, L., Liao, L. and Zhu, Z. 2011. Influence of fertilization and drought stress on the growth and production of secondary metabolites in

Prunella vulgaris L. Journal of Medicinal Plant Research, 5(9): 17- 49.
11. De Abreu, I.N. and Mazzafera, P. 2005. Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. Plant Physiology and Biochemistry, 43: 241-248.
12. Espindola, K., Ferreira, R.G., Narvaez, L.E.M., Rosario, A.C.R.S., Silva, A.H.M., Silva, A.G.B., Vieira, A.P.O. and Monteiro, M.C. 2019. Chemical and pharmacological aspects of caffeic acid and its activity in hepatocarcinoma. Frontiers in Oncology, 541 (9): 1- 10.
13. FAO. 2018. FAO Statistical Database. Available at: http://www.faostat.org/.
14. Farah, A., and Lima, J.D. 2019. Consumption of chlorogenic acids through coffee and health implications. Beverages, 10.3390/beverages5010011.
15. Fritsche, J., Christaan, M., Beindorff, M., Dachtler, M., Zhang, H., and Lammers, J.G. 2002. Isolation, characterization and determination of minor artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaf extract compounds.European Food Research and Technology, 215: 149-157.
16. Ganjali, H.R., Ayeneh Band, A., Heidari Sharif Abad, H. and Moussavi Nik, M. 2010. Effects of sowing date, plant density and nitrogen fertilizer on yield, yield components and various traits of *Calendula officinalis*. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 8(6): 672-679.
17. García-Tejero1, I.F., Durán-Zuazo, V.H., Pérez-Álvarez, R., Hernández, A., Casano, S., Morón, M. and Muriel-Fernández, J.L. 2014. Impact of plant density and irrigation on yield of hemp (*Cannabis sativa* L.) in a mediterranean Semi-arid environment. Journal of Agriculture Science Technology, 16: 887 – 895.
18. Ghasemnezhad, A., Khodayar Hemati, Kh., Hezarjeribi, A. and Baroze, H. 2014. Yield and antioxidant activity of artichoke Leaves (*Cynara scolymus* L.) affected by some agronomical factors in Golestan province of Iran. Journal of Medicinal Plants and By-products, 1: 27-33.
19. Ghilavizadeh, A., Hadidi Masouleh, E., Zakerin, H.R., Valadabadi, S.A.R., Sayfzadeh, S. and Yousefi, M. 2019. Influence of salicylic acid on growth, yield and macro-elements absorption of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) under water stress. Journal of Medicinal Plants and By-products, 1: 67-75.
20. Grabowska, A., Caruso, G., Mehrafarin, A., Kalisz, A., Gruszecki, R., Kunicki, E. and Sękara, A. 2018. Application of modern agronomic and biotechnological strategies to valorise worldwide globe artichoke (*Cynara cardunculus* L.) potential - an analytical overview. Italian Journal of Agronomy, 13(4):279-289.
21. Hasanvand, H., Siadat, S.A., Bakhshandeh, A.M., Moradi Telavat, M.R. and Poshtdar, A. 2018. Evaluation of yield and some physiological characterictics ofborage (*Borago officinalis* L.) under plant density and sowing dates in Ahwaz region.Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 34(1): 1-16.
22. Heidarian, E. and Rafieian-Kopaei, M. 2013.Protective effect of artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaf extract against lead toxicity in rat. Pharmaceutical Biology, 51(9): 1104-1109.
23. Huse Santoh, A., Narkhede, S.S., Zope, J.S. and Singh, N.B. 2011. Effect of spacing and irrigation in *Jatropha curcas* Linn. Progress Agriculture, 11(2): 364-366.
24. Jose Frutos, M., Ruiz-Cano, D., Valero-Cases, E., Zamora, S. and Pérez-Llamas, F. 2019. Artichoke (*Cynara scolymus* L.). 135 – 138. In: Nabavi, S.M. and Silva, A.S. (ed.). Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements. Academic publication.
25. Khajehpour, M. 2014. Fundamentals of Agriculture. Jihad University Publishing of Isfahan, 658p.
26. Krnjaja, V., Mandića, V., Stankovićb, S., Obradovićb, A., Vasićc, T., Lukića, M. and Bijelića, Z. 2019. Influence of plant density on toxigenic fungal and

mycotoxin contamination of maize grains. Crop Protection, 116: 126–131.
27. Liang, N. and Kitts, D.D. 2016. Role of Chlorogenic acids in controlling oxidativeand inflammatory stress conditions. Nutrients, 1-20.
28. Lima, R., Campos, A., Azevedo, C., Calado, J., Silva, S., Nascimento, R. 2016.Effects of planting density on vegetative growth and production components of Jatropha(*Physic nut* L). Australian Journal of Crop Science, 10(5):632-636.
29. Mahdavikia, H., Rezaei-Chiyaneh, E., Rahimi, A. and Mohammadkhani, N. 2019. Effects of fertilizer treatments on anioxidant activities and physiological traits of basil (*Ocmium basilicum* L.) under water limitation conditions. Journal of Medicinal Plants and By-products, 2: 143-151.
30. Melilli, M.G., Tringali, S., Riggi, E. and Raccuia, S.A. 2007. Screening of genetic variability for some phenolic constituents of globe artichoke head. International Society for Horticultural Science, 730: 85-91.
31. Meng, S., Cao, J., Feng, Q., Peng, J., and Hu, Y. 2013. Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1- 11.
32. Modarres, M. and Ghasimi-Hagh, Z. 2019. The effect of light, phenylalanine and caffeic acid on the production of phenolics acid suspension culture of *Salvia leriifolia.* Iranin Journal of Plant Process and Function. 8(29): 171-179.
33. Mohammadifar, M., Behnam, M., Talaei, S.A., Khamehchian, T., Mehran, M. and Taghizadeh, M. 2017. Investigating the effect of the combination of sage, artichoke and jujube extracts on non-alcoholic fatty liver in rats. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism, 19(6): 410-418.
34. Nouraei, S., Rahimmalek, M., Saeidi, G.H. and Bahreininejad, B. 2016. Variation in seed oil content and fatty acid composition of Globe artichoke under different irrigation regimes. Journal of the American Oil Chemists' Society, 93(7): 953-962.
35. Pandino, G., Lombardo, S. and Mauromicale, G. 2013. Globe artichoke leaves and floral stems as a source of bioactive compounds. Industrial Crops Product, 44: 44-49.
36. Ramezannezhad, R., Aghdasi, M. and Fatemi M. 2019. An investigation on cichoric acid, chlorogenic, caffeic acid content and antioxidant activity in some iranian native species compared to *Echinacea purpurea* L. in differentdevelopmental stages. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 34(6): 909-923.
37. Rossini, F., Provenzano, M.E. and Ruggeri, R. 2012. Tuber and Stalk Yield of Jerusalem Artichoke Clones as Affected by Planting Density. 20th European Biomass Conference and Exhibition, 18-22 June, Milan, Italy
38. Ruttanaprasert, R., Jogloya, S., Vorasoot, N., Kesmalaa, T., Kanwar, R., Holbrook, C. and Patanothai, A. 2016. Effects of water stress on total biomass, tuber yield, harvest index and water use efficiency in Jerusalem artichoke. Agricultural Water Management, 166: 130-138.
39. Sekara, A., Kalisz, R., Gruszecki, A., Grabowska, A. and Kunicki, E. 2015.Globe artichoke – a vegetable, herb and ornamental of value in central Europe: a review. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 90(4): 365-374.
40. Shariat, A., Karimzadeh, Q., Asareh, M.H. and Hadian, J. 2018. Promising use of drought stress in order to increase the quality of *Satureja sahendica* Bornm native to Iran. Iranian Journal of Field Crop Science, 49(1): 167-177.
41. Shinohara, T., Agehara, S., Yoo, K.S. and Leskovar, D. 2011. Irrigation and nitrogen management of artichoke: yield, head quality and phenolic content. HortScience hortsci, 46: 377- 386.
42. Siadat – Jamian, S., Aghaalikhani, M., Soufizadeh, S. and Mokhtassi – Bidgoli, A. 2019. Qualitative and quantitative response of artichoke to irrigation

treatments and planting densities. Scientia Horticulturae, 253: 422-428.
43. Sivaci, A., Binzet, R., Duman S. and Teke, H.I. 2015. The determination of total antioxidant activity, phenolics and pigments during vegetative and reproductive periods of *Onosma* species. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 21(2): 261-265.
44. Taleie, N., Hamidoghli, Y., Rabiei, B. and Hamidoghli, S. 2012. Effects of plant density and transplanting date on herbage, stevioside, phenol and flavonoid yield of *Stevia rebaudiana* Bertoni. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 4(6): 298-302.
45. Tazeh, K., Piri, I. and Mostafavi Rad, M. 2015. Effects of plant density on flower, essential oil yield and some important agronomic indices of borage (*Borago officinalis* L.). Plant Production Research, 22(4): 87-100.

Evaluation and comparison of the most important secondary metabolites of methanolic extract of different artichoke (*Cynara scolymus* L.) organs under drought stress and planting density

Tahmasebi, M.[1*], Hamidoghli, Y.[2], Rezaei, M.B.[3], Hosseini, A.R.[4]

[1]PhD Student, Department of Horticulture, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

[2]Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

[3]Professor, Forest and Rangeland Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran

[4]Assistant Professor, Department of Soil and Water Engineering, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

Received: 23-5-2020 Accepted: 31-8-2020

Abstract

In this project, in order to evaluate and compare the most important phenolic compounds in extract of different artichoke (*Cynara scolymus* L.) organs under water stress and planting density, an experiment was conducted as split plot in a randomized complete block design with three replications at Sarabelle-Ilam Agricultural Research Station during 2014-2015. The treatments comprised four irrigation regime (25, 50, 75 and 100 % of the water requirement of the plant) in the main plots and four densities (10, 20, 30 and 40 thousand bushes in hectare with 0.5, 0.67, 1 and 2m interval within the row, respectively, and 0.5m between rows) in sub plots. herbal sampels were harvested in the second year, and after drying in room temperature were used for methalonic extract. Identification and amount of naringin, caffeic and chlorogenic acid was done with HPLC methode. According to the obtained results, increasing drought stress caused 78 and 11% reduction in naringin amount compared to control treatment of bud and leaf extract, respectively. The maximum amount of caffeic acid (0.74 mg/g dry matter) was observed in leaf extract and interaction effect of full irrigation and 10 thousand bushes in hectare. Drought improved caffeic and chlorogenic acid biosynthesis of bud, but in interaction effect with density, only chlorogenic acid had the highest amount in sever water stress and 10 thousand bushes in hectare.Among consumed organs extract, caffeic acid and naringin had the highest amount in leaf extract, and chlorogenic acid in bud extract.

Keywords: Artichoke, Drought stress, Density, Caffeic acid, Chlorogenic acid, Naringin

[*]Corresponding author; tahmasebi564@gmail.com