

## اثر تیمار شوری بر رشد و برخی پارامترهای بیوشیمیایی گیاه سرخارگل ارغوانی (*Echinacea purpurea* L.)

آسیه اسدی رکابدارکلایی، مهناز اقدسی\*، سیدمحمد فاطمی

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۶/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۱۸

### چکیده

سرخارگل (*Echinacea purpurea*)، گیاهی علفی و چند ساله از تیره‌ی کاسنی است که خواص دارویی متعددی از آن گزارش شده است. هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر تنش شوری بر رشد و برخی پارامترهای بیوشیمیایی این گیاه است. به این منظور گیاهچه‌های سرخارگل به مدت ۲۰ روز در محیط کشت هوگلدن حاوی غلظت‌های مختلف نمک (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میلی‌مولار) تیمار شدند. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. نتایج حاصل نشان داد که شوری در سطوح مختلف اثر معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی نداشت. اما تیمار گیاهچه‌ها با غلظت ۲۵ میلی‌مولار نمک سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک و تر ریشه گشت. همچنین تیمار شوری به‌ترتیب سبب افزایش و کاهش قندهای محلول بخش هوایی و ریشه شد. بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نشان داد که شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز اثر معنی‌داری نداشته و تنها در تیمار ۷۵ میلی‌مولار سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو بخش هوایی و ریشه شد. سنجش ترکیبات فنلی نیز نشان داد که تیمار شوری به‌ترتیب سبب کاهش و افزایش میزان این ترکیبات در بخش هوایی و ریشه گشت. نتایج حاصل از آنالیز HPLC نیز نشان داد که بالاترین میزان شیکوریک اسید (۱/۳ میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک) مربوط به گیاهچه‌های شاهد بود. در حالی که تیمار گیاهچه‌ها با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار نمک اثر معنی‌داری بر میزان شیکوریک اسید بخش هوایی نداشت. از سوی دیگر تیمار ۷۵ میلی‌مولار نمک سبب کاهش میزان این ترکیب شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار ۵۰ میلی‌مولار نمک به ترتیب سبب افزایش ۲ و ۵ برابری در میزان کافئیک اسید (پیش ماده شیکوریک اسید) و کلروژنیک اسید در اندام ریشه شد. با توجه به شواهد حاضر به نظر می‌رسد که با اعمال تنش شوری بتوان تولید ترکیبات با ارزش دارویی گیاه سرخارگل را افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: رشد، سرخارگل، شیکوریک اسید، کافئیک اسید، کلروژنیک، فنل

عناصر مختلف نظیر فسفر، پتاسیم و نیترات سبب کاهش رشد گیاه می‌شود. مسمومیت یونی و کمبود مواد معدنی که در شوری رخ می‌دهد سبب به هم خوردن توازن متابولیکی و در پی آن تنش می‌شوند (Munns, 2002; Koyro, 2006). تاکنون گزارش‌های متعددی در ارتباط با اثر شوری بر تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان مختلف منتشر شده است. اما گزارش‌های اندکی در ارتباط با اثرات مستقیم سطوح مختلف شوری بر تجمع شیکوریک اسید در گیاهان زراعی در دست می‌باشد. نتایج منتشر شده در این باره نشان می‌دهد که حساسیت تولید شیکوریک اسید به تنش شوری در گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است. در برخی گیاهان شوری اثر تحریک کننده بر تولید شیکوریک اسید داشته، در حالی که در برخی دیگر از گیاهان اثر بازدارنده دارد. در گروه دیگری از گیاهان نیز نشان داده شده که شوری اثری بر تولید شیکوریک اسید ندارد. به عنوان مثال دو گونه *E. pallida* و *E. purpurea* در سطوح مختلف شوری پاسخ‌های متفاوتی نشان داده‌اند. نتایج نشان داده که چنانچه گونه *E. purpurea* با غلظت‌های مختلف نمک تیمار شود، میزان اسید شیکوریک تا غلظت ۷۵ میلی مولار نمک افزایش یافته اما در تیمار با غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میلی مولار تولید آن در گیاه کاهش می‌یابد. در حالی که در گونه *E. pallida* میزان شیکوریک اسید در تیمار ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار به بالاترین میزان خود می‌رسد (Sabra et al., 2012). از طرفی دیگر گزارش‌ها نشان می‌دهد که شوری سبب کاهش وزن خشک و میزان شیکوریک اسید در برگ‌های گونه *E. angustifolia* می‌شود. در حالی که میزان شیکوریک اسید در ریشه این گونه گیاهی در تنش شوری تا ۴ برابر افزایش می‌یابد (Montanari et al., 2008).

با توجه به ارزش دارویی گیاه سرخارگل و نیز وسعت بالای زمین‌های شور در ایران، هدف از تحقیق

سرخارگل (*Echinaceae purpurea*)، گیاهی علفی، چند ساله و از تیره‌ی کاسنی (*Asteraceae*) است. این گیاه بومی آمریکای شمالی بوده، اما در بیشتر نقاط اروپا، آسیا و همچنین ایران کشت می‌شود (Qu et al., 2005). از گیاه سرخارگل خواص دارویی گوناگونی گزارش شده است که به عنوان مثال می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدقارچی و نقش آن در تقویت سیستم ایمنی بدن اشاره کرد. به همین دلیل سرخارگل به یکی از پرفروش‌ترین گیاهان دارویی در بسیاری از کشورهای توسعه یافته در سال‌های اخیر تبدیل شده است (Kayser and Quax, 2007).

سرخارگل حاوی مواد موثره متعددی نظیر ترکیبات فلاونوئیدی، پلی‌ساکاریدها مانند اکتیناسئین، اکتینوکوزید و اکتینون، ترکیبات آلکیل آمیدی مانند ایزوبوتیل آمید، ۲-متیل بوتیل آمید، متیل بوتیل آمید، گلیکوپروتئین‌ها، آلکالوئیدها، اینولین‌ها، شیکوریک اسید و نیز حاوی اسانس است (Barnes et al., 2005; Lee and Scagel, 2010). یکی از ترکیبات مهم سرخارگل شیکوریک اسید است. این ترکیب از مشتقات کافئیک اسید و تارتاریک اسید بوده و از مسیر فنیل پروپانوئیدها سنتز می‌شود (Molgaard et al., 2003). تاکنون وجود شیکوریک اسید در برخی گونه‌های گیاهی نظیر ریحان، کاسنی و کاهو گزارش شده است (Elansary and Mahmoud, 2015; Saad et al., 2015). شیکوریک اسید یکی از ترکیبات مهم در تهیه مکمل‌های غذایی است و در مقایسه با سایر اسیدهای فنولیک در بازار محصولات غذایی دارویی شاخص‌تر است (Barnes et al., 2005; Lee and Scagel, 2010).

شوری یکی از مهم‌ترین انواع تنش‌های غیر زیستی است که اثرات زیانباری بر عملکرد گیاه و کیفیت محصول دارد. شوری با تاثیر بر روی جذب

سنجش پروتئین محلول: ابتدا ۰/۱۵ گرم بافت تر با ۱ میلی لیتر بافر ماتریس و یک قطره مرکاپتواتانول عصاره گیری و سپس در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. به ۲۰ میکرولیتر از محلول شفاف رویی، ۵ میلی لیتر 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 (Bradford, 1976).

سنجش قندهای محلول: ۰/۱ گرم، پودر خشک شده را در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد خیسانیده و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری شد. پس از جداسازی فاز رویی، ۱ میلی لیتر فنل ۵ درصد به آن اضافه و مخلوط شدند. پس از افزودن ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ و خنک شدن کامل محلول، مقدار جذب آن در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد. با قرار دادن مقدار جذب در معادله استاندارد، مقدار قندهای محلول در عصاره گیاهی بدست آمد. در نهایت داده ها بر اساس میلی گرم گلوکز بر گرم وزن خشک گیاه بیان شدند (McCready et al., 1950).

اندازه گیری فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز: مقدار ۰/۰۵ گرم بافت گیاهی درهاون چینی سرد با ۲ میلی لیتر بافر فسفات مونوسدیک ۰/۱ مولار با اسیدیتته ۶/۸ هموزن گردید. هموزن حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۶۰۰۰g در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد (Kar and Mishra, 1976). از فاز رویی به دست آمده برای اندازه گیری فعالیت آنزیم ها استفاده شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز به روش Maehly و Chance (۱۹۵۵) همراه با تغییراتی انجام شد. مخلوط واکنش آنزیم کاتالاز با حجم نهایی ۳ میلی لیتر شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با اسیدیتته ۶/۸، آب اکسیژنه ۱۵ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی تهیه شد. با افزودن سوبسترا (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) به محیط واکنش، تجزیه پراکسید

حاضر بررسی امکان کشت این گیاه در خاک های شور می باشد. از طرفی دیگر تحریک تولید متابولیت های ثانویه با ارزش این گیاه نظیر کافئیک اسید و مشتقات آن در تیمار شوری از دیگر اهداف بررسی حاضر است.

## مواد و روش ها

**شرایط رشد و کشت گیاه:** ابتدا بذرهای گیاه سرخارگل به مدت ۱۰ دقیقه با آب ژاول ۲۰٪ ضدعفونی و سپس با آب شستشو شدند. جهت شکسته شدن خواب، بذرها به مدت ۲ روز لای کاغذ صافی مرطوب در یخچال نگهداری شده و سپس به اتاقک کشت با دمای ۲۴±۲ درجه سانتی گراد و دوره ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی (با شدت نور ۱۵۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. پس از جوانه زنی بذرها بر روی کاغذ صافی مرطوب، گیاهچه ها به محیط کشت ۱/۲ هوگلند انتقال یافتند. در طی دوره رشد، محیط های کشت با استفاده از پمپ آکواریوم هوادهی شدند. pH محیط به صورت روزانه کنترل شده و تعویض محیط های کشت به طور هفتگی انجام شد. سپس گیاهچه های ۴۵ روزه با غلظت های مختلف نمک کلرید سدیم (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میلی مولار) تیمار شدند. آزمایش به صورت طرح بلوک های تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. پس از گذشت ۲۰ روز از تیمار، نمونه ها برداشت شده و وزن تر و خشک اندام هوایی (برگ ها) و ریشه اندازه گیری شدند. نمونه های ریشه و اندام هوایی گیاهچه های سرخارگل به طور جداگانه تا مرحله سنجش پارامترهای مورد نظر در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد در فریزر نگهداری شدند.

**اندازه گیری وزن خشک:** نمونه های ریشه و اندام هوایی به طور جداگانه در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳ روز خشک شده و سپس وزن خشک آنها اندازه گیری شد.

نگهداری شد. پس از طی این مدت 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، بر گرم وزن خشک بیان گردید.

#### سنجش شیکوریک، کلروژنیک و کافئیک اسید:

عصاره‌گیری به روش Liu و همکاران (۲۰۰۶) با اندکی تغییرات انجام شد. مقدار ۰/۱ گرم پودر اندام‌های مختلف گیاه (ریشه و برگ) را در استونیتریل ۲۰ درصد (V/V) خیسانده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی روی شیکر قرار داده شد. عصاره حاصل بعد از فیلترشدن توسط کاغذ صافی به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۵۰۰ دور سانتریفیوژ شد. از عصاره شفاف رویی به منظور سنجش شیکوریک، کلروژنیک و کافئیک اسید استفاده شد. مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره پس از فیلترشدن (۰/۴۵ میکرون) به دستگاه HPLC تزریق شدند.

به‌منظور سنجش ترکیبات مورد نظر از دستگاه HPLC با آشکار ساز UV/VIS، دکتور Diod Array، پمپ ۷۱۰۰ L-Merck Hitachi با نرم‌افزار EZ chrome (Hitachi-Japon) به روش ایزاکراتیک انجام شد. فاز متحرک شامل استونیتریل و اسید فسفریک ۰/۱ درصد و آب دیونیزه 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 شوند. سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه، طول موج انتخابی دستگاه ۲۷۸ و ۳۳۰ نانومتر بود. بعد از ظهور پیک‌های مورد نظر از عصاره‌های تزریق شده، سطح زیر منحنی پیک‌ها محاسبه و سپس در فرمول حاصل از خط رگرسیون مربوط به منحنی استاندارد ترکیبات شیکوریک، کلروژنیک و کافئیک اسید قرار داده شد تا غلظت هر یک از ترکیبات مورد نظر به دست آید. به‌منظور رسم

هیدروژن توسط آنزیم شروع شد. تغییرات جذب نور محلول واکنش نسبت به شاهد در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۱۲۰ ثانیه ثبت گردید. در نهایت فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده (ضریب خاموشی  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) در دقیقه به ازای گرم وزن تر بافت بیان گردید.

مخلوط واکنش آنزیم گایاکول پراکسیداز به حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر شامل بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸، گایاکول ۲۰ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۴۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. واکنش با افزودن پراکسید هیدروژن آغاز شد. تغییرات جذب نور محلول واکنش نسبت به شاهد در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۱۲۰ ثانیه ثبت گردید. در نهایت فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس میکرومول تراگایاکول تشکیل شده (ضریب خاموشی  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) در دقیقه به ازای گرم وزن تر بافت بیان گردید.

**اندازه‌گیری مقدار فنل کل:** مقدار ۰/۱ گرم از پودر خشک شده بخش‌های مختلف گیاه (برگ و ریشه) در ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ (V/V) به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق خیسانیده و به دنبال آن صاف شدند. عصاره‌گیری ۳ بار تکرار شده و در نهایت عصاره‌های بدست آمده با یکدیگر مخلوط شدند. سپس عصاره‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. عصاره‌ها برای انجام آزمایشات بعدی در درون یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Pourmorad et al., 2006).

سنجش فنل کل به روش Meda و همکاران (۲۰۰۵) صورت گرفت. ابتدا به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی به دست آمده از مرحله قبل مقدار ۲/۸ میلی‌لیتر آب دیونیزه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین-سیوکالتنو اضافه شد. محلول حاصل به خوبی با ورتکس مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط

بود. تیمار گیاهچه‌ها با غلظت ۲۵ میلی‌مولار نمک سبب افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه شد. تیمار گیاهچه‌های با غلظت‌های بالاتر نمک تفاوت معنی‌داری را در وزن تر ریشه در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد ایجاد نکرد (شکل ۲-د).

#### اثر تیمار شوری بر مقدار قندهای محلول و پروتئین

**محلول:** نتایج حاصل نشان داد میزان قندهای محلول در اندام هوایی گیاهچه‌های شاهد تقریباً ۶۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. اما تیمار گیاهچه‌ها با غلظت ۲۵ میلی‌مولار نمک سبب افزایش معنی‌دار آن شد. تیمار گیاهچه‌ها با غلظت‌های بالاتر نمک تفاوت معنی‌داری را در میزان قندهای محلول اندام هوایی در مقایسه با تیمار ۲۵ mM ایجاد نکرد. همچنین کمترین مقدار قند در گیاهچه‌های شاهد مشاهده شد (شکل ۳-الف). نتایج بررسی حاضر نشان داد که مقدار قندهای محلول در ریشه گیاهچه‌ها با افزایش غلظت نمک در محیط کشت هوگلند کاهش یافت. در مجموع بالاترین و پایین‌ترین مقدار قند به ترتیب در گیاهچه‌های شاهد و نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۷۵ میلی‌مولار نمک مشاهده شد (شکل ۳-ب).

مقدار پروتئین محلول اندام هوایی گیاهچه‌ها در شاهد، تقریباً ۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به دست آمد. اما با افزایش غلظت نمک تا ۵۰ میلی‌مولار، مقدار پروتئین در اندام هوایی افزایش معنی‌داری یافت. کمترین مقدار پروتئین نیز در گیاهچه‌های شاهد مشاهده شد (شکل ۳-ج). همچنین نتایج حاصل نشان داد که مقدار پروتئین در ریشه گیاهچه‌های شاهد ۱۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. اما با افزایش غلظت نمک تا ۵۰ میلی‌مولار، مقدار پروتئین در ریشه‌ها افزایش معنی‌داری یافت. کمترین مقدار پروتئین محلول در تیمار ۷۵ میلی‌مولار نمک مشاهده شد (شکل ۳-د).

منحنی استاندارد، محلول‌هایی با غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام از هر یک از ترکیبات استاندارد تهیه و به دستگاه HPLC تزریق شد.

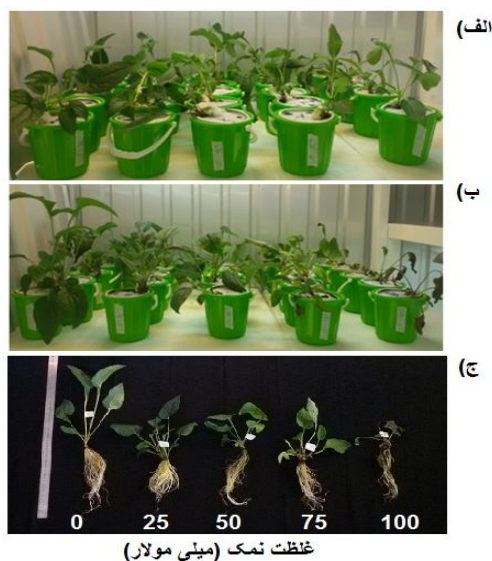
تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار R انجام شد. همچنین از تست TUKEY جهت معنی‌دار بودن میانگین‌ها استفاده شد.

#### نتایج

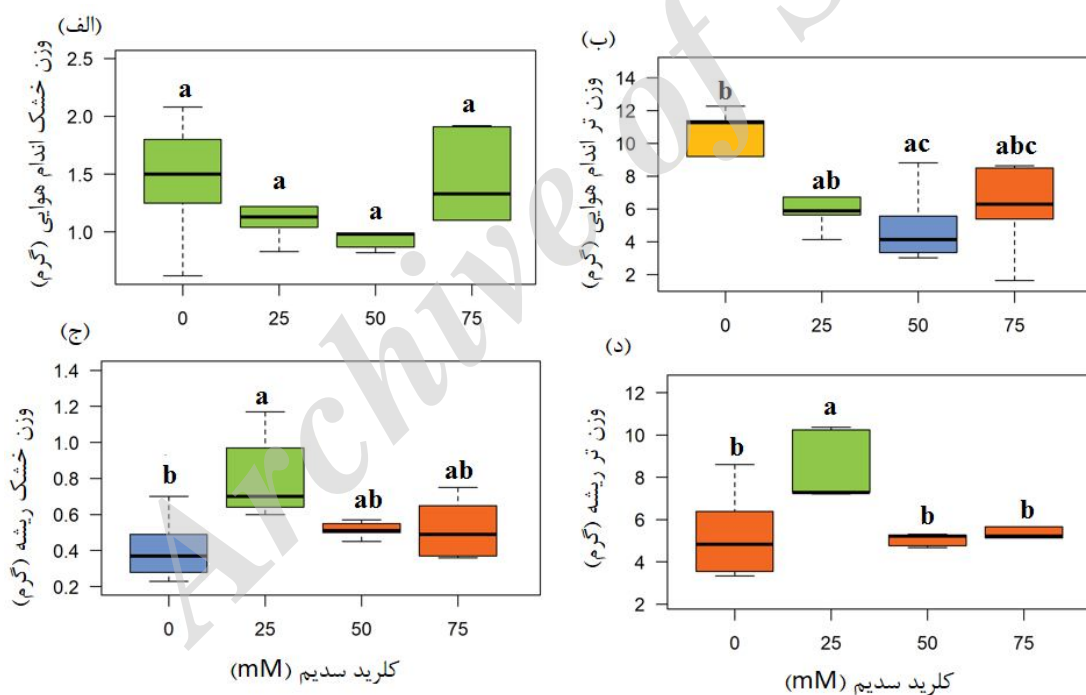
بررسی صفات ظاهری و مورفولوژیکی گیاهچه‌های سرخارگل رشد یافته در غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم نشان داد که در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار گیاهچه‌ها قادر به رشد نبوده و به تدریج زرد شده و از بین رفتند. به همین دلیل در ادامه آزمایشات سنجش‌های مربوط به این تیمار حذف شدند (شکل ۱).

**اثر تیمار شوری بر وزن خشک و تر بخش هوایی و ریشه:** نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که وزن خشک اندام هوایی در گیاهچه‌های شاهد، تقریباً ۱/۵ گرم بود. نتایج به دست آمده نشان داد که تیمار گیاهچه‌های سرخارگل با غلظت‌های مختلف نمک تفاوت معنی‌داری را در وزن خشک اندام هوایی در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد ایجاد نکرد (شکل ۲-الف). همچنین نتایج نشان داد که وزن تر اندام هوایی در گیاهچه‌های شاهد، ۱۱ گرم بود. اما تیمار گیاهچه‌ها با غلظت‌های مختلف نمک سبب کاهش وزن تر اندام هوایی در مقایسه با شاهد شد. (شکل ۲-ب).

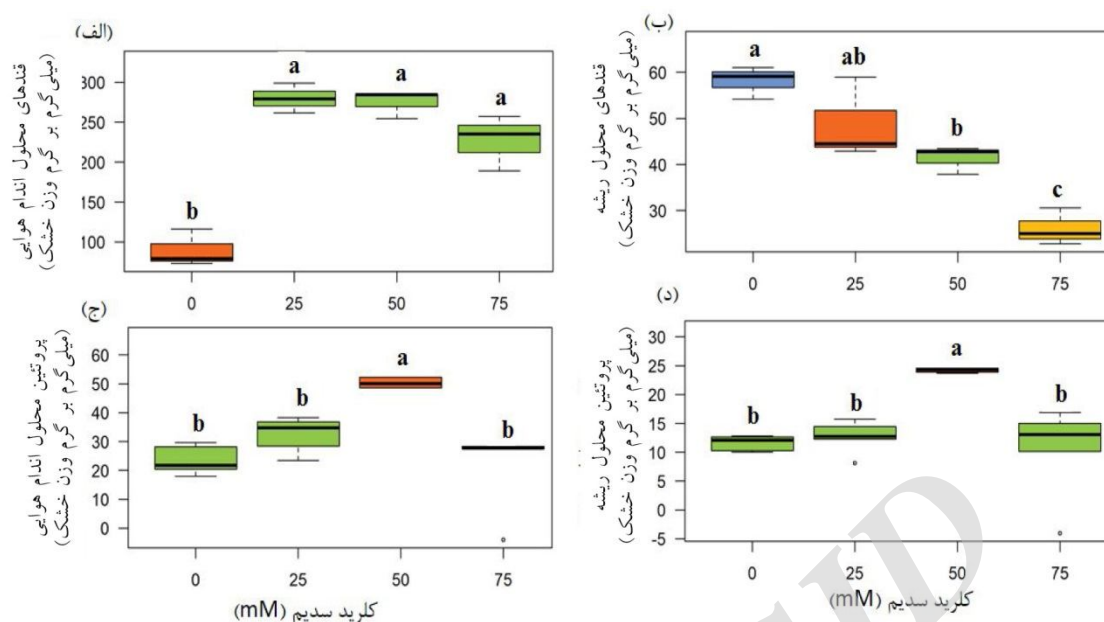
بر اساس نتایج بدست آمده وزن خشک ریشه در گیاهچه‌های شاهد، تقریباً ۰/۴ گرم بوده است. تیمار گیاهچه‌ها با غلظت ۲۵ میلی‌مولار نمک، سبب افزایش معنی‌دار در وزن خشک ریشه شد (شکل ۲-ج). از طرفی وزن تر ریشه در گیاهچه‌های شاهد ۵/۵ گرم



شکل ۱: گیاهچه‌های سرخارگل رشد یافته در محیط کشت ۱/۲ هوگلدن الف) قبل از تیمار، ب) بعد از تیمار با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم و ج) پس از جمع‌آوری از محیط کشت هوگلدن حاوی غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم.



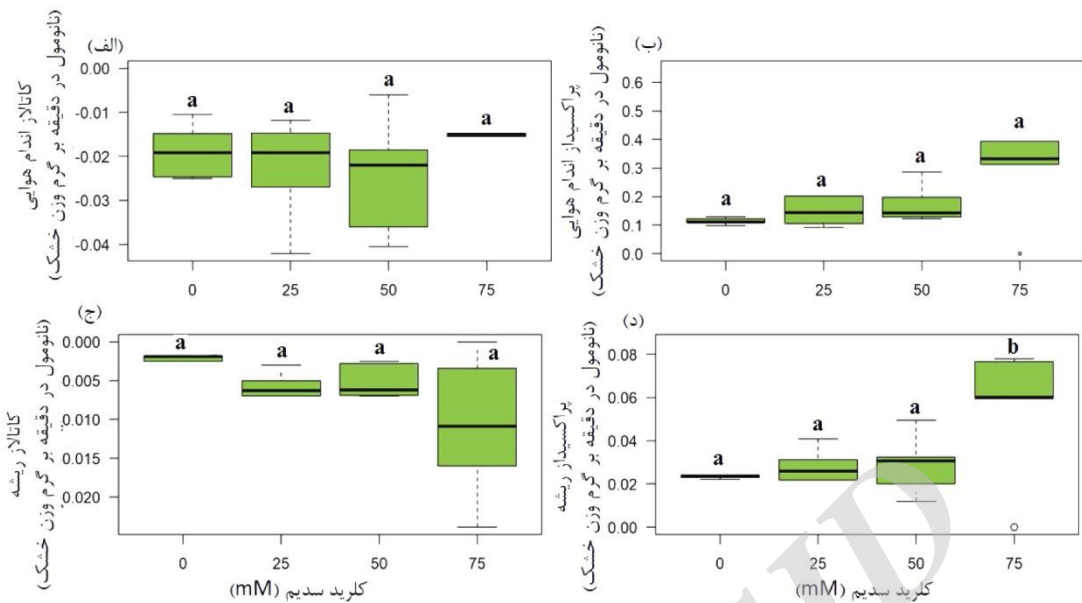
شکل ۲: اثر تیمار شوری بر الف) وزن خشک اندام هوایی، ب) وزن تر اندام هوایی، ج) وزن خشک ریشه و د) وزن تر ریشه گیاهچه‌های سرخارگل. نتایج حاصل میانگین ۵ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با تست TUKEY نشان نمی‌دهند.



شکل ۳: اثر تیمار شوری بر مقدار الف) قندهای محلول اندام هوایی، ب) قندهای محلول ریشه، ج) پروتئین محلول اندام هوایی و د) پروتئین محلول ریشه گیاهچه‌های سرخارگل. نتایج حاصل میانگین ۵ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با تست TUKEY نشان نمی‌دهند.

کاتالاز در ریشه گیاهچه‌های شاهد، تقریباً ۰/۰۰۲ میکرومول بر دقیقه در میلی‌گرم بود، اما با افزودن غلظت ۲۵ میلی‌مولار نمک به محیط کشت هوگلند، فعالیت این آنزیم کاهش یافت. از طرفی تیمار ۵۰ میلی‌مولار نمک سبب افزایش فعالیت آنزیم شد. همچنین داده‌های حاضر نشان دادند که تیمار ۷۵ میلی‌مولار سبب کاهش مجدد فعالیت آنزیم کاتالاز گشت. (شکل ۴-ج). داده‌های حاصل از سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم در گیاهچه‌های شاهد، تقریباً ۰/۱ میکرومول بر دقیقه در میلی‌گرم بود. این نتایج نشان داد که افزایش غلظت نمک در محیط کشت (تا ۷۵ میلی‌مولار) سبب افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم پراکسیداز شد (شکل ۴-د).

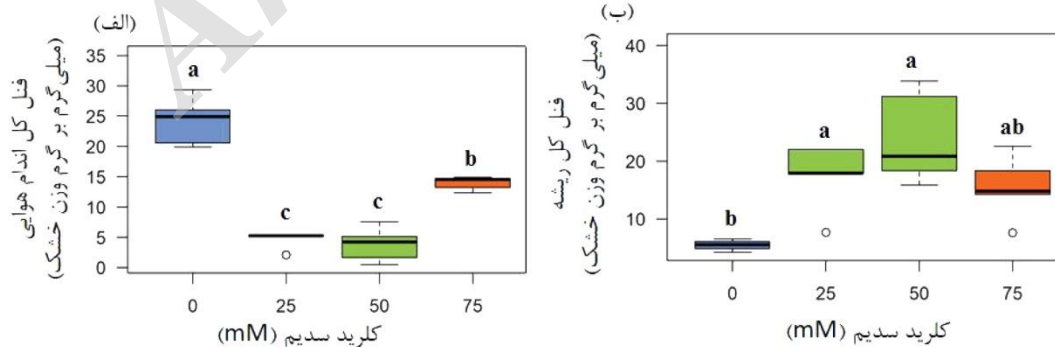
اثر تیمار شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت: نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی نشان داد که مقدار فعالیت آنزیم در گیاهچه‌های شاهد، ۰/۰۲ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم بود. تیمار گیاهچه‌ها با غلظت‌های مختلف نمک تفاوت معنی‌داری را در فعالیت این آنزیم در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد پدید نیاورد (شکل ۴-الف). نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز در اندام هوایی نیز نشان داد تیمار گیاهچه‌ها با غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار نمک تفاوت معنی‌داری در فعالیت این آنزیم در مقایسه با نمونه شاهد ایجاد نکرد. در حالی که تیمار گیاهچه‌ها با غلظت ۷۵ میلی‌مولار نمک سبب افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در بخش هوایی شد (شکل ۴-ب). همچنین نتایج بدست آمده نشان داد که فعالیت آنزیم



شکل ۴: اثر تیمار شوری بر فعالیت آنزیم الف) کاتالاز اندام هوایی، ب) پراکسیداز اندام هوایی (ج) کاتالاز ریشه و د) پراکسیداز ریشه گیاهچه‌های سرخارگل. نتایج حاصل میانگین ۵ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با تست TUKEY نشان نمی‌دهند.

فنل به ترتیب در گیاهچه‌های شاهد و در تیمار ۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۵-الف). نتایج حاضر نشان داد که مقدار فنل در ریشه گیاهچه‌های شاهد، ۵ میلی‌گرم بر گرم در وزن خشک بود. اما با افزایش غلظت نمک تا ۵۰ میلی‌مولار، مقدار فنل در ریشه‌ها افزایش معنی‌داری یافت. در مجموع بالاترین و پایین‌ترین مقدار فنل به ترتیب در تیمار ۵۰ میلی‌مولار نمک و نمونه شاهد مشاهده شد (شکل ۵-ب).

اثر تیمار شوری بر مقدار فنل کل: نتایج حاصل از سنجش برخی متابولیت‌های ثانویه در اندام هوایی نشان داد که مقدار فنل در گیاهچه‌های شاهد، تقریباً ۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود، اما با افزایش غلظت نمک تا ۵۰ میلی‌مولار، کاهش معنی‌داری نشان داد. در حالی که تیمار ۷۵ میلی‌مولار سبب افزایش معنی‌دار در مقدار فنل کل نسبت به تیمار ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار شد. در مجموع بالاترین و پایین‌ترین مقدار



شکل ۵: اثر تیمار شوری بر مقدار فنل کل الف) اندام هوایی و ب) فنل ریشه گیاهچه‌های سرخارگل. نتایج حاصل میانگین ۵ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با تست TUKEY نشان نمی‌دهند.

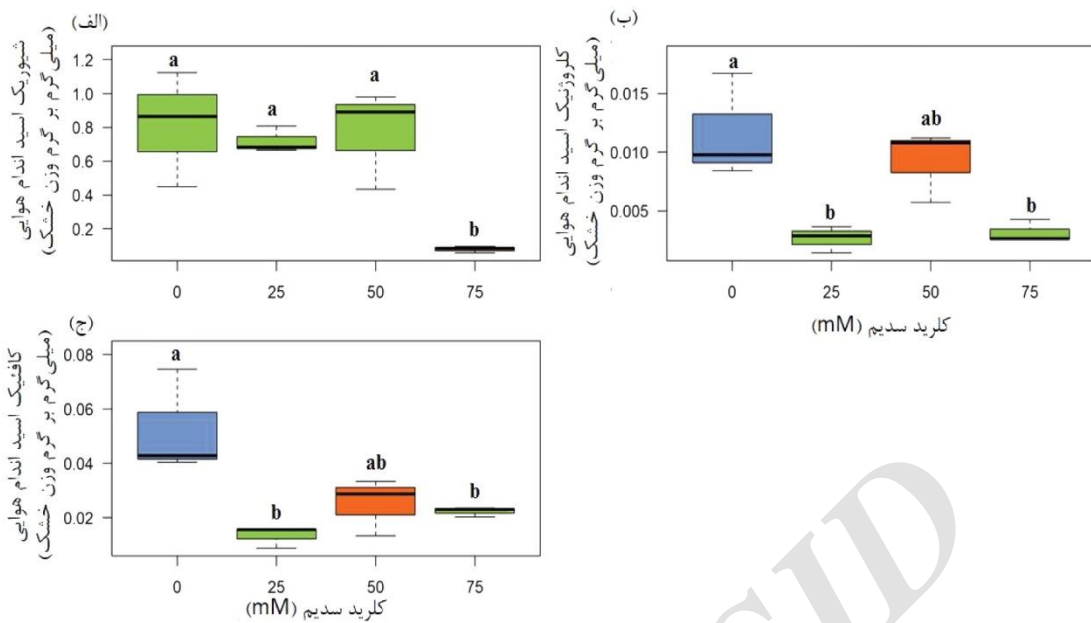


پایین‌ترین مقدار مقدار کافنیک اسید به‌ترتیب در گیاهچه‌های شاهد و تیمار ۲۵ میلی‌مولار دیده شد (شکل ۶-ج).

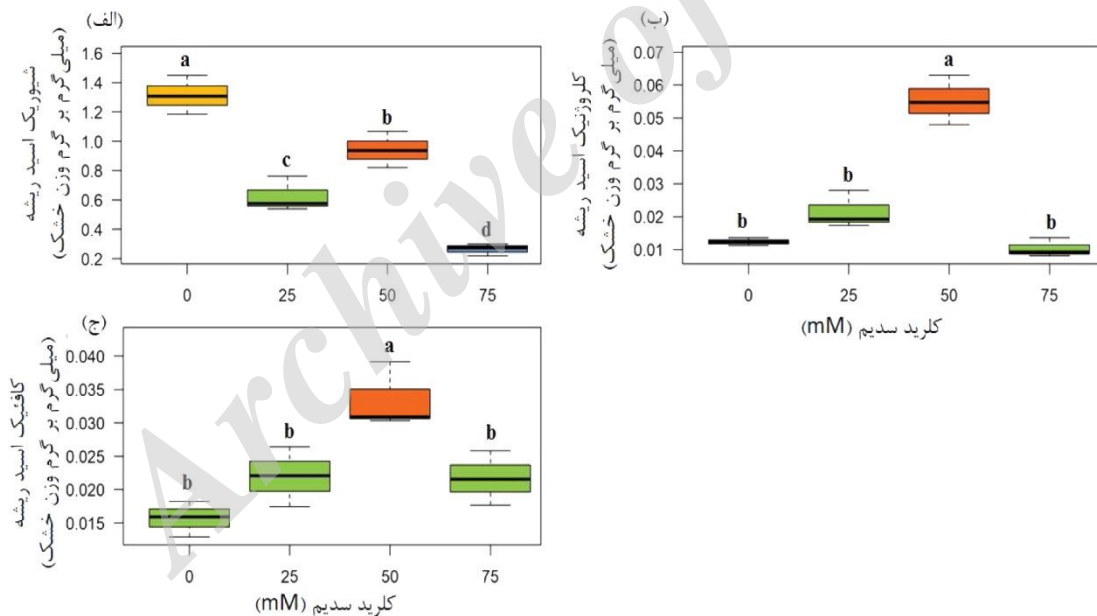
سنجش‌های صورت گرفته نشان داد که مقدار شیکوریک اسید در ریشه گیاهچه‌های شاهد، ۱/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. اما با افزایش غلظت نمک تا ۲۵ میلی‌مولار، مقدار آن کاهش معنی‌داری در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد یافت. داده‌های به دست آمده نشان داد که تیمار ۵۰ میلی‌مولار نمک سبب افزایش مقدار شیکوریک اسید شد (در مقایسه با تیمار ۲۵ میلی‌مولار). همچنین داده‌های حاضر نشان دادند که تیمار ۷۵ میلی‌مولار سبب کاهش مجدد مقدار شیکوریک اسید در ریشه‌ها شد. بالاترین و پایین‌ترین مقدار شیکوریک اسید به‌ترتیب در گیاهچه‌های شاهد و تیمار ۷۵ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۷-الف). علاوه بر این، نتایج حاصل نشان داد که مقدار کلروژنیک اسید در ریشه‌ها گیاهچه‌های شاهد، ۰/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود که با افزایش غلظت نمک در محیط کشت تا ۵۰ میلی‌مولار، مقدار آن افزایش معنی‌داری یافت. کمترین مقدار کلروژنیک اسید نیز در تیمار ۷۵ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۷-ب). از طرفی دیگر نتایج حاضر نشان داد که مقدار کافنیک اسید در ریشه‌ها گیاهچه‌های شاهد، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. اما با افزایش غلظت نمک تا ۵۰ میلی‌مولار، مقدار کافنیک اسید در ریشه‌ها بیش از ۲ برابر افزایش یافته و کمترین مقدار کافنیک اسید در ریشه‌ها در نمونه شاهد مشاهده شد (شکل ۷-ج).

اثر تیمار شوری بر مشتقات کافنیک اسید: نتایج حاصل از سنجش مشتقات کافنیک اسید نشان داد که میانگین مقدار شیکوریک اسید در اندام هوایی در تیمار شاهد، ۰/۰۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. اما با افزایش غلظت نمک در محیط کشت تا ۵۰ میلی‌مولار، تغییر معنی‌داری در مقدار شیکوریک اسید صورت نگرفت. این در حالی است که تیمار ۷۵ میلی‌مولار نمک سبب کاهش معنی‌دار در مقدار شیکوریک اسید شد. در مجموع بالاترین و پایین‌ترین مقدار شیکوریک اسید به‌ترتیب در نمونه شاهد و تیمار ۷۵ میلی‌مولار نمک مشاهده شد (شکل ۶-الف). همچنین نتایج نشان داد که مقدار کلروژنیک اسید در اندام هوایی در تیمار شاهد، حدود ۰/۰۱۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. اما با افزایش غلظت نمک تا ۲۵ میلی‌مولار، مقدار کلروژنیک اسید کاهش معنی‌داری یافت. افزایش غلظت نمک در محیط کشت تا ۵۰ میلی‌مولار، سبب افزایش مقدار کلروژنیک اسید در مقایسه با تیمار ۲۵ میلی‌مولار نمک شد. تیمار ۷۵ میلی‌مولار نیز سبب کاهش معنی‌دار مقدار کلروژنیک اسید در مقایسه گیاهچه شاهد گشت (شکل ۶-ب).

سنجش مقدار کافنیک اسید نیز نشان داده که مقدار این متابولیت ثانویه در اندام هوایی گیاهچه‌های شاهد، ۰/۰۵ گرم بر گرم وزن بود. اما با افزودن نمک تا غلظت ۲۵ میلی‌مولار، مقدار آن کاهش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشت. تیمار ۵۰ میلی‌مولار نمک (در مقایسه با غلظت ۲۵ میلی‌مولار) سبب افزایش در مقدار کافنیک اسید شد. اما تیمار ۷۵ میلی‌مولار سبب کاهش مجدد مقدار کافنیک اسید شد. بالاترین و



شکل ۶: اثر تیمار شوری بر مقدار الف) شیکوریک اسید، ب) کلروژنیک اسید، ج) کافئیک اسید در اندام هوایی گیاهچه‌های سرخارگل. نتایج حاصل میانگین ۵ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با تست TUKEY نشان نمی‌دهند.



شکل ۷: اثر تیمار شوری بر مقدار الف) شیکوریک اسید، ب) کلروژنیک اسید، ج) کافئیک اسید در ریشه گیاهچه‌های سرخارگل. نتایج حاصل میانگین ۵ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با تست TUKEY نشان نمی‌دهند.

بیوشیمیایی در گیاهان می‌شود ( Munns, 2002; Rajaravindran and Natarajan, 2012). بسیاری از ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان در

#### بحث

شوری یکی از مهمترین انواع تنش‌های غیر زیستی است که سبب اختلالات فیزیولوژیکی و

می‌شود (Bandehhagh et al., 2008). داده‌های به دست آمده در این تحقیق نشان داد که با افزایش نمک در محیط کشت، میزان پروتئین‌های محلول افزایش یافت. تولید انواع مختلف اکسیژن‌های سمی و واکنشگر از جمله عواملی است که در هنگام بروز تنش‌های محیطی، مانند شوری، سبب آسیب رساندن به سلول‌های گیاهی و جلوگیری از رشد آنها می‌شود (Jiang and Zhang, 2001). رادیکال‌های اکسیژن سبب اکسیداسیون پروتئین‌ها، تغییر آمینواسیدها، شکسته شدن زنجیره‌های پپتیدی، تغییر بار الکتریکی و افزایش حساسیت پروتئین‌ها به پروتئولیز می‌شوند. کاهش مقدار پروتئین در غلظت‌های بالای نمک ممکن است به دلیل هیدرولیز یا کاهش سنتز پروتئین‌ها باشد. اما ممکن است سنتز برخی پروتئین‌ها در تنش شوری افزایش یابد. همچنین بسته به اندام مورد مطالعه شوری سبب کاهش یا افزایش سطح کل و یا پروتئین‌های محلول می‌شود (Dubey, 1994).

فنل‌ها، کاروتنوئیدها و ویتامین‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی هستند. در بین این ترکیبات پلی‌فنل‌ها نقش مهمی در مهار گونه‌های اکسیژن فعال در گیاهان تحت تنش شوری دارند (Navarro et al., 2006). این ترکیبات نقش آنتی‌اکسیدانتی خود را با قطع کردن واکنش‌های زنجیره‌وار اکسیداسیون، اهدای هیدروژن، کلات کردن یون‌های فلزی یا قرار گرفتن به صورت سویسترای آنزیم‌های پراکسیداز ایفا می‌کنند (Chunha et al., 2012). در بسیاری از گیاهان مانند *Lactuca sativa* افزایش فنل‌ها تحت تنش شوری گزارش شده است (Lee et al., 2014). نتایج حاضر نیز نشان داد که تیمار شوری سبب افزایش معنی‌دار در میزان فنل کل ریشه در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد شده است.

تاکنون گزارش‌های متنوعی از میزان تولید شیکوریک اسید در گونه‌های مختلف گیاهی در پاسخ

مواجهه با تنش شوری تغییر می‌کند (Amirjani, 2010). بسته به گونه گیاهی، مرحله رشد و نموی و نیز غلظت و نوع نمک مقدار این تغییرات متفاوت است (De Oliveira et al., 2013). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که وزن خشک بخش هوایی در تیمار با غلظت‌های مختلف نمک تفاوت معنی‌داری را با گیاهچه‌های شاهد نداشت. این نتایج با گزارش Sabra و همکاران در سال ۲۰۱۲ همخوانی دارد. این محققان نیز در مطالعات خود بر روی اثر سطوح مختلف شوری (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار) بر سه گونه مختلف *Echinacea* نشان دادند که وزن خشک اندام هوایی تحت تاثیر تنش شوری قرار نمی‌گیرد (Sabra et al., 2012). از طرفی دیگر نتایج حاصل نشان داد که وزن خشک و تر ریشه در تیمار با غلظت ۲۵ mM نمک اندکی افزایش یافته، در حالیکه تیمار با غلظت‌های بالاتر نمک سبب کاهش آن شد. نتایج تحقیقات Jamil و همکاران (۲۰۰۶) نیز نشان داد که شوری سبب کاهش رشد اندام‌های مختلف گیاهی می‌شوند (Jamil et al., 2006). تنش شوری با کاهش پتانسیل اسمزی سبب کاهش پتانسیل آب، تغییر در جذب یون‌های ضروری، بر هم خوردن تعادل یونی و نیز کاهش سرعت فتوسنتز و رشد گیاهان می‌شود (Sairam et al., 2002).

نتایج حاضر نشان داد که مقدار قندهای محلول در اندام هوایی گیاه سرخارگل با افزایش غلظت نمک در محیط کشت افزایش یافت. تاکنون گزارش‌های مشابهی در گیاهان مختلف در پاسخ به تنش شوری منتشر شده است. تجمع قندهای محلول در بخش‌های هوایی سیب‌زمینی (Aghaei et al., 2009) و محور زیر لپه سویا (Aghaei et al., 2008) در تنش شوری گزارش شده است. همچنین نشان داده شده که تجمع قندهای محلول در تنش شوری در گیاه رزماری، سبب حفظ فشار اسمزی و کاهش اثرات زیانبار تنش

امر می‌تواند بیان‌کننده‌ی کامل نشدن مسیر بیوسنتز اسید شیکوریک باشد که احتمالاً دلایل مختلفی از قبیل سن کم گیاه، زمان برداشت (مرحله رویشی) و شرایط کشت می‌تواند بر آن تاثیر گذار باشد. از طرفی دیگر افزایش تولید کلروژنیک اسید و کافئیک اسید در ریشه در تنش شوری، با توجه به اهمیت آنتی‌اکسیدانتی این ترکیبات قابل توجه است. اگرچه چنین فرضی نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. Ghasemnezhad و همکاران (۲۰۱۳) در آزمایشات خود بر روی گیاه کنگر فرنگی در شرایط گلخانه‌ای نشان دادند که با افزایش غلظت نمک (تا غلظت ۳/۵ دسی‌زیمنس) مقدار کلروژنیک اسید، کافئیک اسید و ترکیبات فلاونوئیدی در برگ گیاه افزایش می‌یابد. این محققان نشان دادند که با توجه به داده‌های بدست آمده رابطه‌ی مستقیمی بین سطح شوری و ترکیبات فنلی از جمله کافئیک اسید و مشتقات آن وجود دارد.

#### نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر نشان داد که شوری اثرات پیچیده‌ای بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و فیتوشیمی گیاه سرخارگل داشت. باید توجه داشت که میزان ماده خام تولید شده (بیومس) از پارامترهای مهم در تولید و استخراج متابولیت‌های با ارزش دارویی است. داده‌های حاضر نشان داد که تنش شوری اثری بر وزن خشک بخش هوایی نداشته و حتی وزن خشک و تر ریشه در تیمار ۲۵ mM افزایش معنی‌داری را در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد نشان داد. از طرف دیگر تیمار شوری در غلظت ۵۰ میلی‌مولار نمک سبب افزایش معنی‌دار در میزان کافئیک اسید (پیش ماده مهم شیکوریک اسید) و کلروژنیک اسید گشت. با توجه به شواهد حاضر به نظر می‌رسد که با اعمال تنش شوری بتوان تولید ترکیبات با ارزش دارویی گیاه سرخارگل را افزایش

به تنش شوری منتشر شده است. این گزارش‌ها نشان داده که در گیاهان مختلف شوری اثر تحریک‌کننده و یا حتی ممانعت‌کننده بر بیوسنتز شیکوریک اسید دارد. برخی گزارش‌ها نیز نشان داده‌اند که شوری هیچ اثری بر تولید شیکوریک اسید در تعدادی از گیاهان ندارد. به‌عنوان مثال دو گونه *E. pallida* و *E. purpurea* پاسخ‌های متفاوتی را در تیمار با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (۰، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار)، در محیط کشت هیدروپونیک نشان داده‌اند (Sabra et al., 2012). نتایج حاضر نشان داد که تیمار شوری سبب کاهش معنی‌دار میزان شیکوریک اسید در ریشه گیاه سرخارگل شده است. از طرفی دیگر تیمار ۷۵ میلی‌مولار نمک سبب کاهش معنی‌دار میزان شیکوریک در اندام هوایی گشت. این در حالی است که Sabra و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که تیمار سرخارگل با غلظت ۷۵ میلی‌مولار نمک به مدت ۲ هفته سبب افزایش قابل توجه در تولید شیکوریک اسید شده است. این تفاوت می‌تواند به دلیل سن گیاهان در زمان تیمار باشد. Sabra و همکاران (۲۰۱۲) از گیاهان ۶ ماهه برای انجام آزمایش و تیمار شوری استفاده کردند، در حالی که در این آزمایش از گیاهان ۴۵ روزه استفاده شد.

از طرفی دیگر نتایج حاضر نشان داد که تنش شوری تولید کلروژنیک اسید و کافئیک اسید در ریشه را تحریک نمود. Murthey و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه مسیر بیوسنتز شیکوریک اسید نشان داده‌اند که کافئیک اسید پیش‌ساز مهمی است که پس از تبدیل به کافئیکول کوانزیم A یا به سمت تولید کلروژنیک اسید پیش‌رفته و یا پس از تبدیل به کافتاریک اسید شیکوریک اسید را تولید می‌کند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار شوری در غلظت ۵۰ میلی‌مولار به ترتیب سبب افزایش ۲ و ۵ برابری در میزان کافئیک اسید و کلروژنیک اسید در اندام ریشه شده است. این

### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از حوزه تحصیلات تکمیلی دانشگاه گلستان به دلیل حمایت مالی این تحقیق نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

داد. اگرچه آزمایشات بیشتر و دقیقتری (نظیر اعمال دوره‌های مختلف زمانی تنش شوری، سن برداشت، تعیین سن مناسب جهت انجام تیمار شوری و نیز بررسی کلیه ترکیبات فیتوشیمیایی سازنده این گیاه) جهت تایید این فرض لازم می‌باشد.

### References

- Aghaei, K., Ehsanpour, A. A., Shah, A. H. and Komatsu, S. (2008).** Proteome analysis of soybean hypocotyl and root under salt stress. *Amino Acids*. 36: 91-98.
- Aghaei, K., Ehsanpour, A. A. and Komatsu, S. (2009).** Potato responds to salt stress by increased activity of antioxidant enzymes. *Journal of Integrated Plant Biology* 51: 1095-1103.
- Amirjani, M.R. (2010).** Effect of NaCl on some physiological parameters of rice. *European Journal of Biological Sciences*. 3: 06-16.
- Barnes, J., Anderson, L.A., Gibbons, S. and Philipson, J.D. (2005).** Echinacea species (*Echinacea angustifolia* (DC.) Hell., *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt., *Echinacea purpurea* (L.) Moench): A review of their chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 57: 929-954.
- Bandehhagh, A. Toorchi, M., Mohammadi, A., Chaparzadeh, N., Hosseini Salekdeh, G. and Kazemnia, H. (2008).** Growth and osmotic adjustment of canola genotypes in response to salinity. *Journal of Food Agriculture and Environment* 6: 201-208.
- 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. 140-157.
- Bayuelo-Jimenez, J.S. Jasso-Plata, N. and Ochoa, I. (2012).** Growth and physiological responses of Phaseolus species to salinity stress. *International Journal of Agronomy*. 3: 13-23.
- Bradford, M.M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-due binding. *Annual Biochemistry*. 72:284-254.
- Chance, B. and Maehly, A.C. (1955).** Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*. 11: 764-755.
- Charrouf, Z. and Guillaume, D. (2007).** Phenols and polyphenols from *Argania spinosa*. *American Journal of Food Technology*. 2: 679-683.
- Chunha, W.R., Silva, M.L.A., Veneziani, R.C.S., Ambrosio, S.R. and Bastos, J.K. (2012).** Lignans: Chemical and biological properties. In: Rao V (ed) *Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health*. InTech Europe, Rijeka, Croatia, pp 213-234.
- De Oliveira, V.P., Marques, E.C., de Lacerda, C.F., Prisco, J.T. and Gomes-Filho, E. (2013).** Physiological and biochemical characteristics of *Sorghum bicolor* and *Sorghum sudanense* subjected to salt stress in two stages of development. *African Journal of Agricultural Research*. 8: 660-670.
- Dubey, R.S. (1994).** Protein synthesis by plants under stressful conditions. In: *Handbook of Plant and Crop Stress* (Ed. M. Pessarakli) 277-299.
- Eckhardt, U., Grimm, B. and Hortensteiner, S. (2004).** Recent advances in chlorophyll biosynthesis and breakdown in higher plants. *Plant Molecular Biology* 56: 1-14.
- Elansary, H.O. and Mahmoud, E.A. (2015).** *In vitro* antioxidant and antiproliferative activities of six international basil cultivars. *Natural Product Research*. 29: 2149-54.
- Foyer, C.H. and Noctor, G. (2003).** Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum* 119: 355-364.
- Ghasemnezhad, A., Bagherifard, A. Asghari, A. (2013).** Study on the effect of drying temperature on some phytochemical characteristics of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaves. *Eco-Phytochemical Journal of Medical Plants*. 3: 10-21
- Jamil, M. and Rha, E.S. (2013).** NaCl stress-induced reduction in growth, photosynthesis and protein in Mustard. *Journal of Agricultural Science*. 5: 114-127.
- Jamil, M., Lee, D.B., Jung, K.Y., Ashraf, M.S. Lee, C. and Raha, E.S. (2006).** Effect of salt stress on germination and early seedling growth of four vegetable species.

- Journal of Central European Agriculture. 27: 47-59.
- Jiang, M. and Zhang, J. (2001).** Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiology*. 42: 1265- 1273.
- Kar, M. and Mishra, D. (1976).** Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase activities during Rice leaf senescence. *Plant Physiology*. 57: 315-319.
- Kayser, O. and Quax, W.J. (2007).** Medicinal Plant Biotechnology: From Basic Research to Industrial Applications. Weinheim, Wiley-VCH Press, 576p.
- Khan, M.A., Ungar I.A. and Showalter, A.M. (2005).** Salt stimulation and tolerance in an intertidal succulent halophyte. *Journal of Plant nutrition*. 28:1365-1374.
- Koyro, H.W. (2006).** Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). *Environmental and Experimental Botany*. 56: 136-146.
- Lee, J. and Scagel, C.F. (2010).** Chicoric acid levels in commercial basil (*Ocimum basilicum*) and Echinacea purpurea products. *Journal Functional Foods*. 2: 77-84.
- Lee, J. and Scagel, C.F. (2013).** Chicoric acid: chemistry, distribution, and production. *Frontiers in Chemistry*. 1:1-17.
- Lee, M.J., Son, J.E. and Oh, M.M. (2014).** Growth and phenolic compounds of *Lactuca sativa* L. Grown in a closed-type plant production system with UV-A, -B, or -C lamp. *Journal Science Food Agricultural*. 94: 197-204.
- 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 Agriculture and Food Chemistry*. 54: 8456- 8460.
- McCready, R.M., Guggolz, J., Silveira, V. and Owens, H.S. (1950).** Determination of Starch and amylose in vegetables. *Annual Chemistry*. 22:1156-1158.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G. (2005).** Determination of the total phenolic, flavonoid and pralin contents in Burkina Faso honey, as well as their scavenging activity. *Food Chemistry*. 91: 571-577.
- Milauskas, G., Venskutonis, P.R. and Beek, T.A. (2004).** Screening of radical activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food Chemistry*. 85:231-237.
- Mita, S., Murano, N. and Nakamura, K. (1997).** Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that is inducible by sugars. *Plant Journal*. 11: 841-851.
- 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 of Agriculture and Food Chemistry*. 51: 6922-6933.
- Montanari, M., Elene, R., Maggini, S., Pacifici, A., Pardossi, A. and Guidi L. (2008).** Effect of nitrate fertilization and saline stress on the contents of active constituents of *Echinacea angustifolia* DC. *Food Chemistry*. 107: 1461-1466.
- Munns, R. (2002).** Comparative physiology of salt and water stress. *Journal of Plant Cell Environment*. 25: 239-250.
- Murthy, H.N., Kim, Y.S., Park, K. and Paek, Y. (2014).** Biotechnological production of caffeic acid derivatives from cell and organ cultures of Echinacea species. *Applied Microbiol Biotechnology*. 98:7707-7717.
- Navarro, J.M., Flores, P., Garrido, C. and Martinez, V. (2006).** Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry* 96: 66-73.
- Pourmorad, F, Hosseinimehr, S.J. and Shahabimajd, N. (2006).** Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 5:1142-1145.
- Rajaravindran, M. and Natarajan, S. (2012).** Effects of salinity stress on growth and antioxidant enzymes of the halophyte *Sesuvium portulacastrum*. *International Journal of Research in Plant Science*. 2: 23-28.
- Saad, E.M., Madbouly, A., Ayoub, N. and El Nashar, R.M. (2015).** Preparation and application of molecularly imprinted polymer for isolation of chicoric acid from *Chicorium intybus* L. medicinal plant. *Annual Chemistry Acta*. 877: 80- 9.
- Sabra, A., Adam, L., Daayf, F., and Renault, S. (2012).** Salinity-induced changes in caffeic acid derivatives, alkamides and ketones in three *Echinacea* species. *Environment Experimental Botany*. 1:11-17.
- Sairam, R. K., Veerabhadra, K. and Srivastava, G.C. (2002).** Differential response of wheat genotypes to long term

salinity stress in relation to oxidative stress, Antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*. 163:1037-1046.

**Qu, L., Chen, Y. C., Wang, X., Scalzo, R. and Davis, J.M. (2005).** Patterns of variation in 1019 alkaloids and cichoric acid in roots and aboveground parts of *Echinacea*

*purpurea* (L.) 1020 Monench. *HortScience*. 40: 1239-1242.

**Tavakkoli, E., Rengasamy, P. and McDonald, G.K. (2010).** High concentrations of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. *Journal of Experimental Botany*. 61: 4449-4459.

Archive of SID