نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دهم، شماره ۳۸، تابستان ۱۳۹۴ / صفحات: ۸۱-۶۸

آنالیز کمی و کیفی برخی متابولیت‌های اولیه و ثانویه علف‌های هرز رایج منطقه گنبد کاووس

ابراهیم غلامعلی‌پور علمداری*[۱]، جواد بیات کوهسار[۲]، امیر قربانی[۳]، علی‌محمد خوجه[٤]، فاطمه حسنعلی‌زاده چاری[٥]

[۱] استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس

[۲] استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس

[۳] دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه تولیدات گیاهی دانشگاه گنبد کاووس

[٤] دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه علوم دامی دانشگاه گنبد کاووس

[٥] دانشجوی دکتری، گروه شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزاد شهر

تاریخ دریافت: ۹٤/۲/۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹٤/۳/۲۰

چکیده

هدف از این آزمایش آنالیز کیفی برخی متابولیت‌های ثانویه و ارزیابی کمی برخی ترکیبات شیمیایی اولیه و ثانویه در علف‌هایهرز رایج منطقه گنبد کاووس شامل *Amaranthus retroflexus*، *Chenopodium album*، *Sorghum halepense*، *Echinochloa crus-galli*، *Cynodon dactylon* و *Portulaca oleracea* در مرحله رسیدگی بود. آنالیز کیفی نشان داد که ساپونین‌ها و ترپنوئیدها در همه گونه‌های مورد بررسی حاضر بودند. تنها تانن‌ها در *Cynodon dactylon* ، آنتوسیانین‌ها در *Chenopodium album* و فلاونوئیدها در *Sorghum halepense* و *Cynodon dactylon* مشاهده نشد. در حالی که فلاوون‌ها تنها در *Cynodon dactylon* شناسایی شد. نتایج آنالیز کمی نشان داد که بین گونه‌ها از لحاظ مقدار ماده‌آلی، خاکسترخام، پروتئین‌خام، نشاسته، قندهای احیاء کننده، میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و فنل‌کل اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بیشترین میزان ماده آلی، نشاسته و فنل‌کل مربوط به *Sorghum halepense* بود. در حالی که بیش‌ترین مقدار خاکسترخام، پروتئین‌خام و قندهای احیاءکننده در *Portulaca oleracea* به‌دست آمد. در این مطالعه هم‌چنین مشاهده شده است که گونه *Cynodon dactylon* بیشترین میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی و شوینده اسیدی را نسبت به دیگر گونه‌ها داشت.

واژه‌های کلیدی: آنالیز کمی و کیفی، ترکیبات شیمیایی، علف‌های‌هرز، ماده خشک، متابولیت‌های ثانویه

مقدمه

گیاهان حاوی متابولیت‌های اولیه می‌باشند که طی فرآیند فتوسنتز تولید شده و سپس در ساخت ترکیبات سلول نقش آفرینی می‌کنند. این ترکیبات در حجم زیاد و با ارزش اقتصادی پایین تولید می‌شوند و به‌عنوان ماده خام صنعت، مواد غذایی و افزودنی‌ها کاربرد دارد. کربوهیدرات‌هایی مانند ساکارز، نشاسته، پکتین، سلولز، اسیدهای چرب، روغن‌های گیاهی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک به‌عنوان مواد متابولیتی اولیه مطرح می‌باشند. همچنین گیاهان گروه بزرگ و متنوعی از ترکیبات آلی به‌نام متابولیت‌های ثانویه را نیز تولید می‌کنند که پراکنش محدودی در سلسله گیاهان دارند. این ترکیبات معمولاً دارای وزن مولکولی پایینی

*نویسنده مسئول: eg.alamdari@gmail.com

(کمتر از ۱۵۰ کیلو دالتون) هستند و تاکنون بیش از ده‌ها متابولیت ثانویه شناسایی شده‌اند و هنوز هم تعداد بیش‌تری در حال اضافه شدن و بررسی هستند (Oksman-Caldentey, and Inzé, 2004).

متابولیت‌های ثانویه دارای عملکردهای اکولوژیکی مهم در گیاهان هستند. این دسته از ترکیبات، در حفاظت گیاهان مقابل گیاهخواران و عوامل بیماریزای میکروبی، به‌عنوان جذب گرده افشان‌ها و جانوران منتشر کننده بذر، رقابت گیاه با گیاه و همزیستی گیاه با میکروب نقش دارند (Wink, 2010). استفاده از متابولیت‌های ثانوی به‌عنوان دارو، علف‌کش‌های زیستی، عوامل طعم دهنده، رنگ‌های طبیعی، سم‌ها، مواد توهم‌زا مانند (کوکائین، هروئین، مورفین) و عطرها، آن‌ها را در زیست فناوری مورد توجه ساخته است (Mazid et al., 2011). عموماً متابولیت‌های ثانویه در سه خانواده مولکولی بزرگ، گروه ترکیبات نیتروژن‌دار، ترپن‌ها و فنل‌ها در نظر گرفته می‌شوند. ترکیباتی که در این گروه قرار دارند ترکیبات دفاعی ضد گیاهخواران هستند که آلکالوئیدها و گلیکوزیدهای سیانوژنی در این دسته از این ترکیبات قرار می‌گیرند. این ترکیبات به علت ایجاد مسمومیت در انسان و خواص دارویی به‌شدت مورد توجه قرار گرفته‌اند (Bourgaud et al., 2001).

آلکالوئیدهای دارای حلقه هتروسایکلیک به‌عنوان متابولیت ثانویه نقش دفاعی در حفاظت گیاه در برابر علفخواران و عوامل بیماری‌زا به‌عهده دارند. به‌نظر می‌آید که بیشتر آلکالوئیدها علاوه بر نقش زیستی، نقش دارویی، تحریک‌کننده و سمی نیز دارند (Facchini and St-Pierre, 2005). ترپن‌ها یا ترپنوئیدها بزرگ‌ترین گروه متابولیت ثانوی را در گیاهان شامل می‌شوند (Sangwan et al., 2001). در تحقیقی که توسط Gholamalipour Alamdari (۲۰۱۱) انجام شده، وجود متابولیت‌های ثانویه مثل تانن‌ها، ساپونین‌ها و آنتراکوئینون‌ها در عصاره آبی و ترپنوئیدها، استروئیدها و گلیکوزیدها در عصاره الکلی در برخی از اندام‌های مختلف (ریشه، ساقه و برگ) علف‌های‌هرز اویارسلام، سوروف، بندواش و تیرکمان آبی شناسایی و مورد تأیید قرار گرفت.

Simopoulos و همکاران (۱۹۹۲) طی گزارشی بیان نمودند گیاه خرفه سرشار از ترکیبات فنلی، پلی‌فنلی و مواد آنتی‌اکسیدان است که از مهم‌ترین مواد موجود در این گیاه می‌توان به اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-٦، فیبر، ویتامین‌های A،C،E، بتاکاروتن و توکوفرول‌ها اشاره نمود. Liu و همکاران (۲۰۰۰) نیز مقدار اسیدهای چرب در برگ‌های خرفه را ۱/۵ تا ۲/۵ میلی‌گرم بر گرم، در ساقه ۰/٦ تا ۰/۹ میلی‌گرم بر گرم و در دانه ۸۰ تا ۱۷۰ میلی‌گرم بر گرم عنوان نمودند که ٦۰ درصد اسیدهای چرب دانه، شامل اسید چرب آلفا لینولنیک می‌باشد. همچنین این گیاه به‌عنوان گیاه ضد قارچ و باکتری و عفونت شناخته شده‌است (Anthony, 2001). در گزارشی ترکیبات تشکیل‌دهنده خرفه شامل آب ۹۵-۹۱/۲ درصد، خاکستر ۱/٤ درصد، کربوهیدرات ۳/۵۵ درصد، چربی ۰/۱۹ درصد، چربی دانه ۱۷/٤درصد، فیبر ۰/۸ درصد و پروتئین ۱/۳ درصد بیان شد (Grewal, 2000).

Daizy و همکاران (۲۰۰۷) گزارش نمودند که چهار اسید فنلی در بقایای گیاه سلمه‌تره (*Chenopodium album*) وجود دارد که به‌عنوان توکسین‌های گیاهی موجب کاهش میزان کلروفیل در جو می‌شوند. ترکیبات ضد دیابتی متعددی ازجمله فلاونوییدها در برگ‌های گزنه شناسایی‌شده‌اند (مبصری و همکاران، ۱۳۸۸). Modarresi Chahardehi و همکاران (۲۰۰۹) گزارش نمودند که گزنه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی در حد متوسط می‌باشد. وجود تانن، اسیدفرمیک، لیسیتین (Lecithin) و املاح معدنی مفید در گیاه گزنه تأیید

شده‌است و از سرشاخه‌های آن ماده‌ای به نام اورتیسین (Urticine) گرفته می‌شود (میرحیدر، ۱۳۷۳).

امیدبیگی (۱۳۸۷) گزارش نمود گلیسیریزیک موجود در ریشه شیرین‌بیان بسته به نوع گیاه، واریته و شرایط اقلیمی محل رویش بین ۵ تا ۲۰ درصد متغیر است. با جمع‌آوری و بررسی ریشه‌های شیرین‌بیان ۱۲ منطقه مختلف ایران شامل: کرمان، سیرجان، سرحد فارس، قصرالدشت فارس، استهبان فارس، کرمانشاه، اردبیل، مهاباد، اکباتان همدان، گنج‌نامه همدان، نجف آباد اصفهان و خرم‌آباد و تعیین مقدار اسیدگلیسیزیک در هر نمونه بر اساس فارماکوپه مشخص شد که میزان اسید گلیسیریزیک به‌دست‌آمده از کرمانشاه، سرحد فارس و کرمان بیش‌تر بوده و بنابراین از کیفیت بیش‌تری در صنایع داروسازی برخوردار بودند (حاجی مهدی‌پور و همکاران، ۱۳۸۷). قسمت مورد استفاده گیاه شیرین‌بیان ریشه و ریزوم است و مواد مؤثر آن جز دسته ساپونین گلیکوزیدها است. به‌طورکلی می‌توان به وجود مواد تریترپن، فلاوونوئید، ایزوفلاوونوئید و کومارین در این گیاه اشاره شده است. در این راستا گزارش شده است که عصاره این گیاه به‌علت داشتن برخی مواد، خاصیت آنتی باکتریال دارد (Fukai Eslami et al., 2006; et al., 2002).

استفاده از گونه‌های مختلف گیاهی به‌ویژه گونه‌های گیاهی مطالعه حاضر نظیر خرفه، تاج‌خروس، سلمه‌تره، قیاق، سوروف به‌عنوان گیاهان خوراکی هرز و یا بهره‌وری از مواد مؤثره آن‌ها به‌عنوان علف‌کش‌های طبیعی و دارویی در زمان‌های گذشته مطرح بوده است؛ اما متأسفانه تحقیقات اندکی در زمینه‌های مختلف این گیاهان صورت گرفته است. روی‌هم‌رفته بررسی‌های منابع نشان داد که نقش گیاهان وحشی به‌عنوان خوراکی هرز و امکان بهره‌وری از مواد مؤثره آن‌ها به‌عنوان علف‌کش‌های طبیعی در ایران چندان توجهی نشده است. با توجه به پتانسیل بالای تولید گیاهان وحشی، گزارش‌های کافی قابل‌دسترس موجود نیست. بنابراین هدف از این تحقیق، شناسایی کیفی برخی از متابولیت‌های ثانویه و اندازه‌گیری کمی برخی از ترکیبات شیمیایی اولیه و ثانویه علف‌های هرز رایج منطقه گنبد کاووس در استان گلستان بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی نمونه‌های گیاهی: در این آزمایش نمونه‌های گیاهی *Amaranthus retroflexus*، *Chenopodium album*، *Sorghum halepense*، *Echinochola crus-galli*، *Cynodon dactylon* و *Portulaca oleracea* در مرحله رسیدگی از منطقه گنبد کاووس با مختصات جغرافیایی ۵۵ درجه و ۱۲ دقیقه طول شرقی و ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه عرض شمالی و ٤٥ متر ارتفاع از سطح دریا، متوسط بارندگی ده ساله درحدود ٤٥٠ میلی‌متر و میانگین دمای سالانه ۲۰ درجه سانتی‌گراد، جمع‌آوری شد. در ابتدا نمونه‌های گیاهی مورد بررسی با کمک فلور گیاهان استان گلستان مورد شناسایی و سپس جهت برداشتن گرد و غبار با آب مقطر برای مدت کوتاهی مورد شستشو قرار گرفتند. نمونه‌های گیاهی در آون با دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند و سپس توسط آسیاب با مش ۸ پودر شدند. نمونه‌ها تا قبل از استفاده در کیسه‌های پلاستیکی نگهداری شدند. سپس شناسایی کیفی برخی متابولیت‌های ثانویه و اندازه‌گیری کمی تعدادی از متابولیت‌های اولیه و ثانویه گونه‌های گیاهی مورد بررسی در آزمایشگاه علوم علف‌های هرز دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس در سال ۱۳۹٤ انجام گردید.

شناسایی کیفی برخی از متابولیت‌های ثانویه: برای شناسایی تانن‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر عصاره آبی حاصل از سوسپانسیون ۱۰ درصد نمونه گونه‌های گیاهی برداشته، به آن چند قطره از محلول یک درصد فریک کلراید ($FeCl_3$) اضافه شد. مشاهده رنگ آبی مایل به سیاه و یا قهوه‌ای- سبز، بیانگر حضور آللوکمیکال تانن‌ها بود (Trease and Evans, 1972).

برای مشاهده ساپونین‌ها نیز ۱۰ میلی‌لیتر عصاره آبی نمونه‌ها را برداشته، به آن چند قطره آب یونیزه شده اضافه شد و در دستگاه لرزاننده با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۳۰ ثانیه قرار داده شد. کف دائمی برای مدت ۱۵ دقیقه بیانگر حضورآللوکمیکال ساپونین‌ها بود (Trease and Evans, 1989).

برای تشخیص آنتوسیانین‌ها، حضور رنگ قرمز و تغییر رنگ با تغییرات pH با اضافه کردن اسیدکلریدریک یک درصد به عصاره آبی حاصل از سوسپانسیون ۱۰ درصد گونه‌های گیاهی، مورد نظر بیانگر حضور آللوکمیکال آنتوسیانین‌ها بود (Brain and Turner, 1975).

شناسایی ترپنوئیدها با استفاده از روش سالکووسکی انجام شد. بدین ترتیب که پنج میلی‌لیتر از عصاره اتانولی حاصل از سوسپانسیون ۱۰ درصد گونه‌های گیاهی را با دو میلی‌لیتر کلروفرم مخلوط کرده و سه میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ (H_2SO_4) به مخلوط قبلی اضافه شد. محلول دارای دو فاز کف مانند و مایع در زیر آن است. وجود رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز نشان‌دهنده‌ی حضور آللوکمیکال ترپنوئیدها بود. برای شناسایی متابولیت ثانویه فلاوون‌ها و فلاونوئیدها نیز یک میلی‌لیتر از عصاره اتانولی گونه‌های گیاهی را برداشته، به آن چند قطره اسیدکلریدریک غلیظ و مقداری براده منیزیم اضافه شد. پیدایش رنگ صورتی نشان‌دهنده حضور فلاونوئیدها و رنگ نارنجی نشان دهنده حضور فلاوون‌ها بود (Trease and Evans, 1972).

اندازه‌گیری کمی برخی ترکیبات شیمیایی اولیه و ثانویه

اندازه‌گیری خاکسترخام و ماده‌آلی: ترکیب شیمیایی شامل ماده‌آلی و خاکسترخام مطابق با روش‌های توصیه شده توسط AOAC (۱۹۹۰) اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری پروتئین خام به روش کجلدال: میزان پروتئین خام بر اساس روش AOAC (۲۰۰۵) تعیین شد. بر این اساس، مقدار ۱ گرم از ماده خوراکی در لوله هضم ریخته شد. سپس ٤ گرم کاتالیزور (۳/۵ گرم سولفات پتاسیم و ۰/۵ گرم سولفات مس) و ۱۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک تجاری غلیظ به لوله هضم افزوده و به مدت ۳/۵ ساعت در دستگاه هضم کجلدال قرار داده شد. پس از انجام هضم، لوله‌ها کاملاً سرد شدند. بعد از هضم با دستگاه تمام اتوماتیک کجلدال تقطیر کرده تا پروتئین آن جدا شود. به‌این‌صورت که اسید بوریک ۲٪ به مقدار ٤۰ میلی‌لیتر همراه چند قطره معرف درون بشر ریخته و در یک قسمت دستگاه قرار داده و در طرف دیگر لوله آزمایش حاصل از هضم قرار داده شد. پس از ۱۲ دقیقه، محلول موجود در بشر با اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال تیتر شد. سپس میزان پروتئین خام هر نمونه از فرمول زیر تعیین شد.

$$CP=\text{اسید مصرفی} \times ۰/۱ \times ۱/٤۰۰۷ \times ٦/۲۵$$

اندازه‌گیری میزان نشاسته: ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های گیاهی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول داغ ۸۰ درصد خرد گردیدند. سپس برای مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در فاز رسوب حاصل ۱۵ میلی‌لیتر معرف A (٤ میلی‌گرم کربنات سدیم + ۰/۸ گرم سود + ۲۰

میلی‌لیتر آب مقطر) اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. به فاز رسوب حاصل ٦/٥ میلی‌لیتر پرکلریک اسید ۵۲ درصد (PCA) و ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. مخلوط حاصل در دمای صفر درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲۰ دقیقه نگه‌داشته شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره را برداشته و با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ٤ میلی‌لیتر معرف آنترون (Dissolve 200 mg anthrone in 100 ml of ice – cold %96 sulphuricacid) به محلول حاصل اضافه شد و در دمای اتاق سرد گردید و در نهایت توسط دستگاه اسپکتروفتومتر با مدل Biochrom Libera- S22 در نقطه جذب ٦۳۰ نانومتر خوانده شد. در کووت دیگری که تنها حاوی ٤ میلی‌لیتر آنترون بود به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد؛ و در پایان میزان نشاسته در نمونه موردبررسی با استفاده از نمودار استاندارد، برآورد شد (Thayumanavan and Sadasivam, 1984).

اندازه‌گیری محتوی قندهای احیاء کننده به روش دی نیترو سالیسیلیک اسید: ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه گیاهی با ۱۰ میلی لیتر اتانول داغ ۸۰ درصد مخلوط گردید. سپس به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد که دو فاز مایع و جامد مشاهده شد. بخش مایع در داخل حمام آب جوش قرار داده شد تا کاملاً غلیظ شده و به کمتر از ۱ میلی‌لیتر برسد. سپس به وسیله آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه را برداشته و به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ٤ میلی‌لیتر محلول DNSA (Dinitro salicylic acid) اضافه نموده، محلول حاصل برای مدت ۷ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده و سپس در شرایط معمول حرارت اتاق سرد گردید. در نهایت به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب در ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. در ضمن کووت دیگری که تهی از نمونه بوده ولی بقیه مراحل شبیه هم اما با حجم دو برابر، درنظر گرفته شد. سپس میزان قندهای احیاء کننده در نمونه مورد بررسی را با استفاده از نمودار استاندارد مربوطه برآورد شد (Miller, 1972).

اندازه‌گیری محتوی فنل‌کل بر اساس روش فولین سیوکالتو: بدین‌ترتیب که مقدار ۰/۱ گرم از پودر گیاه مورد بررسی با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول داغ ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده شد. مخلوط حاصل با دور پایین ۱۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. پس از آن مخلوط رویی در حمام آب جوش قرار گرفت تا غلیظ شده و حدود دو میلی‌لیتر از آن برای ادامه آزمایش باقی بماند. سپس یک میلی‌لیتر از محلول تغلیظ شده برداشته شد و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسید و در مرحله بعدی نیم میلی‌لیتر از محلول حاصل برداشته با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر به حجم سه میلی‌لیتر رسانده شد، سپس بر روی محلول بدست آمده نیم میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو ۵۰ درصد افزوده و بعد از سه دقیقه، دو میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد نیز به آن اضافه گردید. محلول حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. پس از سرد شدن به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در نقطه جذب ٦۵۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت، با توجه به منحنی استاندارد گالیک اسید، میزان فنل کل نمونه بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن نمونه‌ها محاسبه شد (Malick and Singh, 1980).

اندازه‌گیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF): برای اندازه‌گیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) مطابق با روش Clovis و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد. مقدار نیم‌گرم نمونه را به همراه ٦۰ میلی‌لیتر از محلول شوینده خنثی و با محلول شوینده اسیدی به داخل ویال‌های شیشه ای قرار داده و به

مدت ٤٠ دقیقد در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. سپس محتویات شیشه‌ها با استفاده از پارچه پلی استر (قطر منافذ ٤٦ تا ٥٢ میکرومتر) با آب مقطر و استن صاف گشته و در داخل کروزه ریخته شد. پس از خشک شدن نمونه‌ها در آون (دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت) نمونه همراه با کروزه توزین و سپس به داخل کوره (۵۵۰ درجه سانتی‌گراد) منتقل و مقدار NDF یا ADF محاسبه شد.

ابتدا نرمال بودن داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. سپس آنالیز واریانس داده‌ها به رویه GLM و مقایسه میانگین‌ها به کمک آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) با نرم‌افزار SAS با نسخه ۹/۳ انجام و نمودارها با نرم افزار Excel رسم شد.

نتایج

شناسایی کیفی متابولیت‌های ثانویه: براساس جدول ۱، ساپونین‌ها در همه گونه‌های مورد بررسی *Amaranthus retroflexus*، *Chenopodium album*، *Sorghum halepense*، *Echinochola crus-galli*، *Cynodon dactylon* و *Portulaca oleracea* مورد شناسایی قرار گرفت. همچنین متابولیت ثانویه تانن‌ها در تمام گیاهان مورد آزمایش به‌جزء گونه *Cynodon dactylon* مشاهده شد. نتایج در مورد آللوکمیکال آنتوسیانین‌ها به‌جزء در مورد گونه *Chenopodium album* مشابه نتایج ساپونین‌ها بود. براساس جدول ۲، آللوکمیکال ترپنوئیدها، در همه گونه‌های مورد بررسی مشاهده شد. در مورد آللوکمیکال فلاونوئیدها در گونه‌های *Amaranthus retroflexus*، *Chenopodium album*، *Echinochola crus-galli* و *Portulaca oleracea* مورد شناسایی قرار گرفت. در حالی در گونه‌های *Sorghum halepense* و *Cynodon dactylon* مشاهده نشد. بر اساس این جدول، آللوکمیکال فلاوون‌ها تنها در *Cynodon dactylon* مورد شناسایی و تایید قرار گرفت.

جدول ۱: شناسایی متابولیت‌های ثانویه تانن‌ها، ساپونین‌ها و آنتوسیانین‌ها در عصاره آبی گیاهان مورد بررسی

گونه گیاهی	تانن‌ها	ساپونین‌ها	آنتوسیانین‌ها
Amaranthus retroflexus	+	+	+
Chenopodium album	+	+	–
Sorghum halepense	+	+	+
Echinochola crus-galli	+	+	+
Cynodon dactylon	–	+	+
Portulaca oleracea	+	+	+

+ و – به ترتیب بیانگر حضور و عدم حضور متابولیت‌های ثانویه

جدول ۲: شناسایی متابولیت‌های ثانویه ترپنوئیدها، فلاونوئیدها و فلاوون‌ها در عصاره اتانولی گیاهان مورد بررسی

گونه گیاهی	ترپنوئیدها	فلاونوئیدها	فلاوون‌ها
Amaranthus retroflexus	+	+	–
Chenopodium album	+	+	–
Sorghum halepense	+	–	–
Echinochola crus-galli	+	+	–
Cynodon dactylon	+	–	+
Portulaca oleracea	+	+	–

+ و – : به‌ترتیب بیانگر حضور و عدم حضور متابولیت‌های ثانویه.

میزان ماده‌آلی: نتایج آنالیز شیمیایی میزان ماده‌آلی در هر یک از گیاهان *Amaranthus retroflexsus*، *Chenopodium album*، *Sorghum halepense*، *Echinochola crus-galli*، *Cynodon dactylon* و *Portulaca oleracea* نشان داد که گونه‌های مورد بررسی از لحاظ میزان ماده آلی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد دارند (جدول ۳). میزان ماده آلی در گونه‌های مورد مطالعه از ۷۱۰ تا ۹۰۲/۲۲ گرم بر کیلوگرم ماده خشک متغیر بود. در این مطالعه بیشترین میزان مواد آلی مربوط به گونه سورگوم بوده است و کمترین میزان مربوط به گونه خرفه بود (شکل ۱).

میزان خاکسترخام: نتایج میزان خاکسترخام نشان داد که گیاه خرفه در مقایسه با سایر گیاهان به‌طور معنی‌داری دارای میزان خاکستر (۲۹۰ گرم بر کیلوگرم ماده خشک) بالاتری بود (P<۰/۰۱). کم‌ترین میزان خاکستر مربوط به گونه سورگوم به‌میزان ۹۷/۷۸ گرم بر کیلوگرم ماده خشک بود (جدول ۳ و شکل ۲).

میزان پروتئین خام: تجزیه شیمیایی اندام‌های هر یک از گیاهان نشان داد که بین گیاهان مختلف از لحاظ تولید میزان پروتئین‌خام اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۱) وجود دارد (جدول ۳). میزان معنی‌دار پروتئین خام در گرم بر کیلوگرم ماده خشک گیاهان مختلف عبارت بود از خرفه (۱۹۱/۵۳)> سلمه‌تره (۱۸۲/۲۶)= سوروف (۱۸۱)> تاج خروس (۱٦٤/۷٦)> سورگوم (٦٦/ ۱۱۱ گرم بر)= مرغ (۱۰۹) (شکل ۳).

میزان نشاسته: میزان نشاسته گونه‌ها در این آزمایش، دامنه‌ای بین ۳۷٤/۵۲ تا ٤۰٤/۱۸ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک را داشت. بیشترین میزان نشاسته مربوط به گونه *Sorghum halepense* و کمترین این میزان مربوط به هر دو گونه *Amaranthus retroflexus* و *Chenopodium album* بود (شکل ٤).

میزان قندهای احیاء کننده: میانگین میزان ترکیب شیمیایی قندهای احیاء کننده در گونه‌های مختلف مورد بررسی در شکل ۵ نشان داده شده است. همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود میزان قندهای تثبیت شده در گونه‌های گیاهی مختلف متفاوت و در دامنه‌ای بین ۲/۳۷ و ۳/۹۳ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک بود. بیش‌ترین میزان قندهای احیاء کننده مربوط به گونه *Portulaca oleracea* و کم‌ترین میزان مربوط به گونه *Chenopodium album* بود.

میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی(NDF): با توجه معنی‌داری تجزیه ترکیب شیمیایی NDF در سطح احتمال یک درصد (جدول ۳)، میزان این ترکیب در گونه‌های مور آزمایش از ۳۳۱ تا ٦۳۹ گرم بر کیلوگرم ماده خشک متغیر بود. گونه گیاهی *Cynodon dactylon* و *Sorghum halepense* به‌ترتیب دارای بیش‌ترین و کمترین میزان این ترکیب بودند شکل (٦).

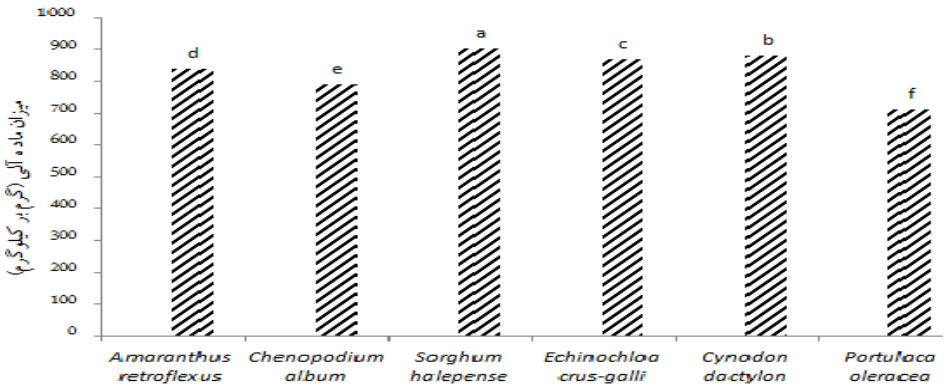
میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF): همانطوری که در جدول ۳ مشاهده می‌شود بین گونه‌های مختلف از لحاظ میزان ADF اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۱). میزان ADF در گونه‌های *Amaranthus retroflexus*، *Chenopodium album*، *Sorghum halepense*، *Echinochola crus-galli*، *Cynodon dactylon* و *Portulaca oleracea* به‌ترتیب ۲٦۰، ۲۰۱، ۲٦٦، ۱۸٤/٦٦، ۳٦۵/٦٦ و ۱۱۹ گرم در کیلوگرم ماده خشک بود (شکل ۷).

میزان فنل‌کل: در این آزمایش بین گونه‌های مختلف از لحاظ میزان سنتز ترکیب فنل‌کل اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد وجود داشت (جدول ۳). میزان این ترکیب در گونه‌های مورد آزمایش از ۵/۱٤ تا ۱۹/۰۳ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک متغیر بود. بیشترین میزان مربوط به گونه *Sorghum halepense* و کم‌ترین این میزان مربوط به گونه *Chenopodium album* بود (شکل ۸).

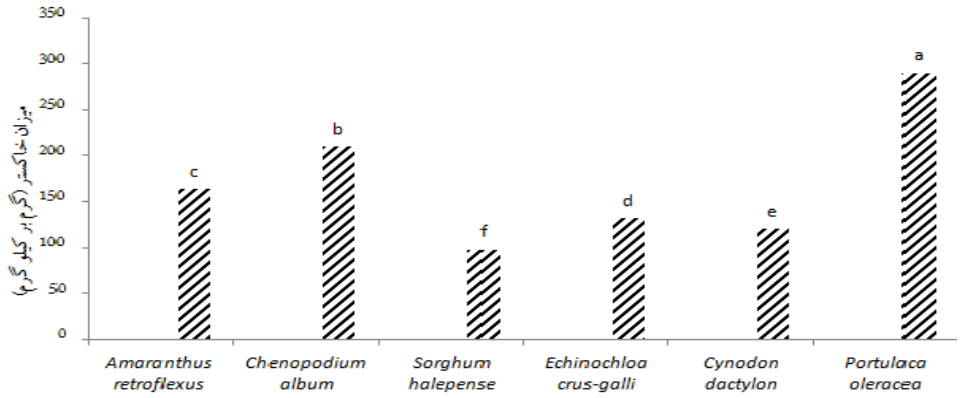
جدول ۳: آنالیز واریانس برخی از ترکیبات شیمیایی علف‌هایهرز *Amaranthus retroflexus*، *Chenopodium album*، *Sorghum halepense*، *Echinochola crus-galli*، *Cynodon dactylon* و *Portulaca oleracea*

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		میزان ماده آلی	میزان خاکستر	میزان پروتئین خام	میزان نشاسته	میزان قندهای احیا کننده	میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی	میزان الیاف نامحلول در شوینده‌اسیدی	میزان فنل‌کل
تیمار	۵	۱۵۱۰۸/۰۷۸**	۱۵۱۰۸/۰۷**	٤۰۹۵/۵۲**	۳۰۸/۰۰*	۱/۲۹*	۳٦۲٦۱/۳۳**	۲۱٤٦٤/٤۵**	٦۱/٤۰*
خطا	۱۲	۱٤/۱۹	۱٤/۱۹	۱۳/۳۲	۱۰۲/٦۹	۰/۲۸	۹۷/۱۱	۳۰/٤٤	۹/۱۸
ضریب‌تغییرات		۰/٤۵	۲/۲۳	۲/۳۲	۲/٦۱	۱٦/۹۸	۲/۱۱	۲/۳۷	۲۳/۷۲

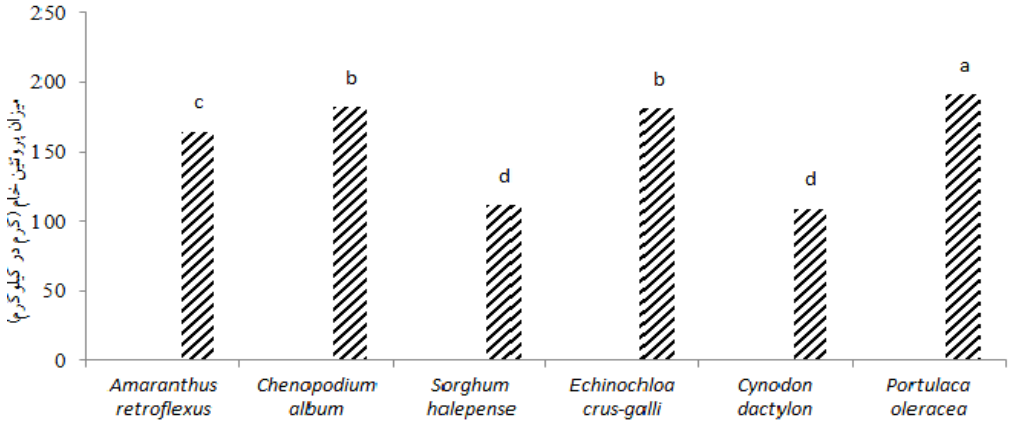
**،* به‌ترتیب بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد



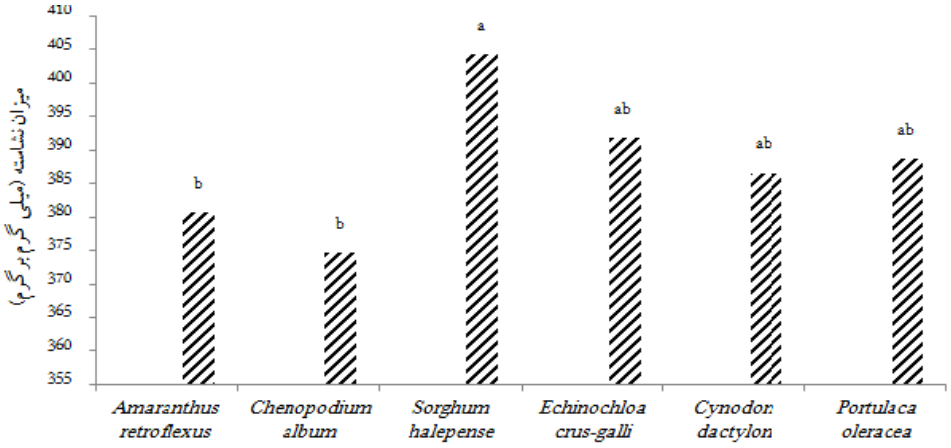
شکل ۱: مقایسه میانگین میزان ماده‌آلی در علف‌هایهرز مورد مطالعه



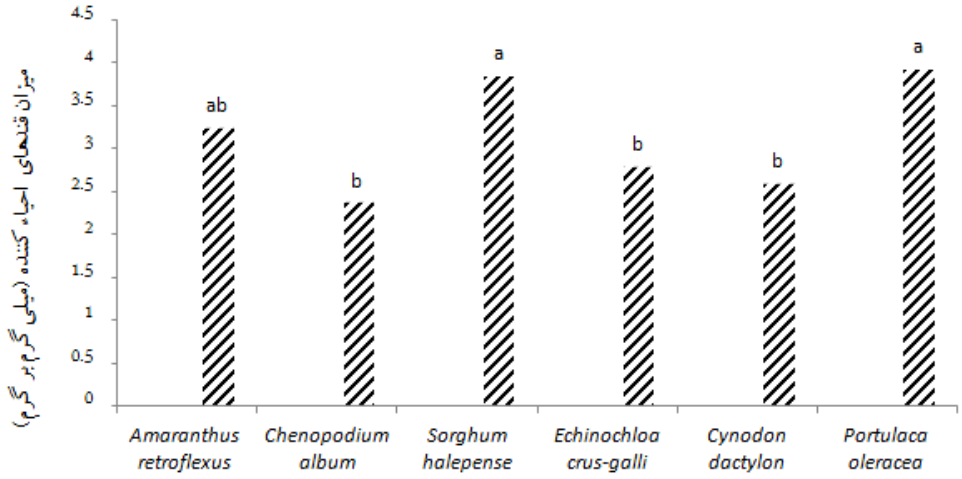
شکل ۲: مقایسه میانگین میزان خاکسترخام در علف‌های هرز مورد مطالعه



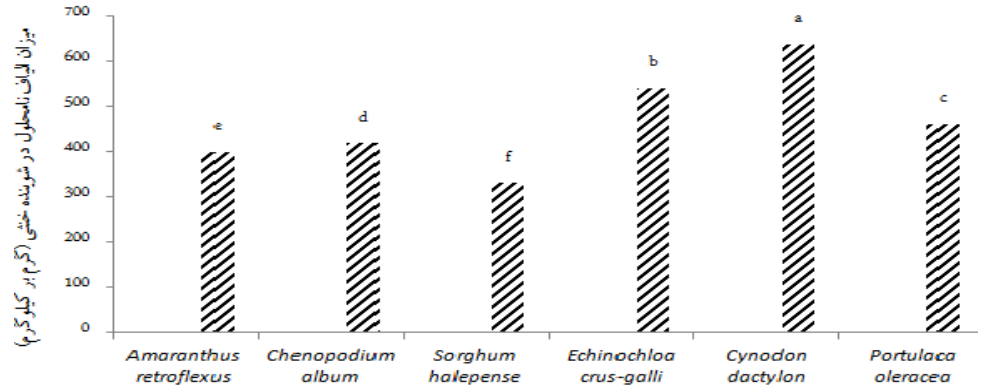
شکل ۳: مقایسه میانگین میزان پروتئین خام در علف‌های‌هرز مورد مطالعه



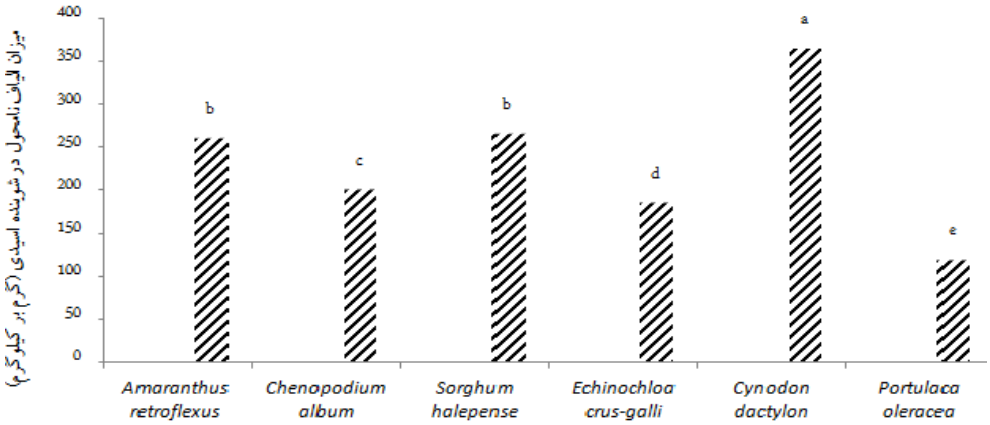
شکل ٤: مقایسه میانگین میزان نشاسته در علف‌های‌هرز مورد مطالعه



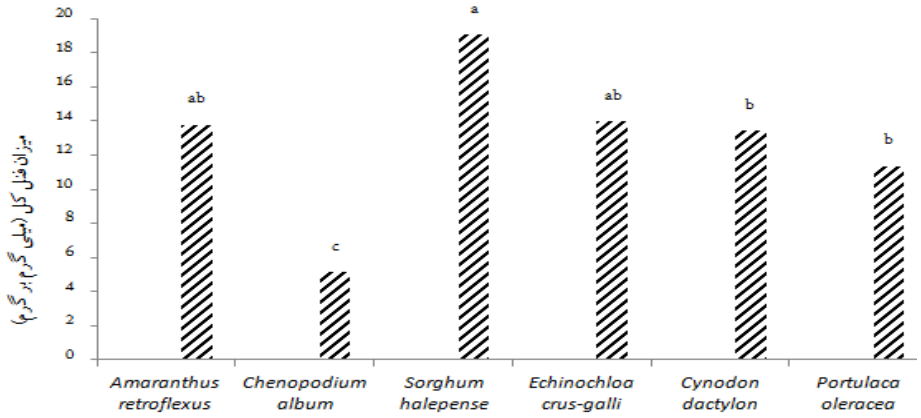
شکل ٥: مقایسه میانگین میزان قندهای احیاء کننده در علف‌های‌هرز مورد مطالعه



شکل ٦: مقایسه میانگین میزان الیاف در شوینده خنثی در **علف‌های‌هرز** مورد مطالعه



شکل ۷: مقایسه میانگین میزان الیاف در شوینده اسیدی در علف‌های‌هرز مورد مطالعه



شکل ۸: مقایسه میانگین میزان فنل‌کل در علف‌های‌هرز مورد مطالعه

بحث

در این مطالعه میزان پروتئین‌خام در گیاهان *Amaranthus retroflexus*، *Chenopodium album*، *Sorghum halepense*، *Echinochola crus-galli*، *Cynodon dactylon* و *Portulaca oleracea* دامنه‌ای بین ۱۰/۹ و ۱۹/۱۵۳ درصد داشتند. Kaboli (۲۰۰۱) میزان پروتئین حاصل از تجزیه چند گونه شور پسند خانواده اسفناجیان را از ۱۹ تا ۲۲ درصد گزارش کرد. Kocheki و همکاران (۱۹۹۳) میزان پروتئین برای ۱۲ گونه شور پسند بین ۸/۲ تا ۱۹/۲

درصد بدست آوردند. داده‌های این آزمایش نیز در محدوده نتایج سایر محققین می‌باشد.

بر اساس نتایج، گیاه *Portulaca oleracea* در مقایسه با سایر گیاهان به‌طور معنی‌داری دارای میزان خاکستر (۲۹۰ گرم بر کیلوگرم ماده خشک) بالاتری بود. در حقیقت بالا بودن میزان خاکستر در این گونه را می‌توان به شورپسند بودن و نیز شوری خاک محل رویشگاه نسبت داد. این نتیجه مطابق نتایج Gorham (۱۹۹٦)؛ Khan و همکاران (۲۰۰٦) است. به‌طوری‌که بیان نمودند خرفه گیاهی یکساله و چهار کربنه و متحمل به شوری و خشکی می‌باشد و حتی می‌توان از آب‌های زهکشی برای آبیاری این گیاه استفاده نمود. در این آزمایش بیشترین میزان ADF و NDF متعلق به گونه *Cynodon dactylon* بود. Minson (۱۹۹۰) بیان نمود که اختلافات در NDF و ADF گونه‌های گیاهی می‌تواند به‌خاطر اختلافات ژنوتیپی گونه‌ها در فاکتورهایی باشد که تجمع فیبر در گیاه و مرحله رشد را کنترل می‌کند. مقدار فیبر با افزایش بلوغ علوفه به‌واسطه لیگنینی شدن گیاه افزایش می یابد. همچنین ترکیبات شیمیایی گیاه به باروری خاک (Jackson et al, 1994; Duguma et al, 1996; Palmer and Schlink, 1992) و مرحله رشد یا سن گیاه (Dzowela et al, 1995; Kaboli, 2001) بستگی دارد. در نتیجه، سبب اختلاف معنی‌داری بین گونه‌ها و حتی درون گونه‌ای می‌شود. Shorang و Nikkhah (۲۰۰۰) میزان دیواره سلولی علوفه‌های مرتعی را بین ۲۳/۹٤ و ٦۳/۸۲ درصد بیان کردند. Arzani و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که گونه گیاهی، اقلیم و اثر متقابل گونه بر محتوی پروتئین خام، دیواره سلولی دیواره سلولی منهای همی سلولز علوفه‌ای مرتعی اثر معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) داشت.

نتایج مطالعات مختلف بیانگر تفاوت‌هایی در میزان ترکیبات فنلی گیاهان مورد آزمایش بود به‌طوری‌که میزان فنل‌کل گونه‌ها ۵/۱٤ تا ۱۹/۰۳ میلی‌گرم بر گرم متغیر بود. بیشترین میزان این ترکیب مربوط به گونه *Sorghum halepense* و کمترین آن مربوط به گونه *Chenopodium album* بود. Hirt و Shinozaki (۲۰۰٤) بیان نمودند انباشتگی ترکیبات فنلی نوعی پاسخ دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی است. در مطالعه مرتضایی و همکاران (۱۳۹۲) بیشترین مقدار ترکیبات فنلی در هر گرم عصاره خشک در گیاه گل انار با ٤۸۰/٦۷ میلی‌گرم، آویشن با ۲۸۳/٤۳ میلی‌گرم و کمترین آن در گیاه چای کوهی با مقدار ٤٤/۵۳ میلی‌گرم وجود داشت. در مطالعه Mirzaee و همکاران (۲۰۱۲) که به منظور بررسی فعالیت‌های آنتی ا کسیدانی و میزان ترکیبات فنلی عصاره هیدروالکلی چند گیاه دارویی از جمله آویشن دنائی انجام شد. بیشترین مقدار ترکیبات فنل تام و فلاونوئید در گیاه مرزنجوش مشاهده شد.در مطالعه فوق مقدار فنل تام و فلاونوئید آویشن دنائی به‌ترتیب ۹۷/۷ میلی‌گرم و ۳۷/۵ میلی گرم بود.

نتیجه‌گیری نهایی

در این مطالعه بیشترین میزان ماده آلی، نشاسته و فنل‌کل مربوط به گونه *Sorghum halepense* بود. درحالی‌که بیش‌ترین مقدار خاکسترخام، پروتئین‌خام و قندهای احیاء کننده در گونه *Portulaca oleracea* به‌دست آمد. در این مطالعه هم‌چنین مشاهده شد که گونه *Cynodon dactylon* بیشترین میزان NDF و ADF را نسبت به دیگر گونه‌ها داشت. به‌طورکلی تفاوت‌های مشاهده شده در ترکیب شیمیایی گونه‌ها را می‌توان به فاکتورهای ژنتیکی گونه‌ها نسبت داد. به‌منظور بهینه‌سازی و تعیین سطح مناسب مصرف این گیاهان هرز، آزمایشات تکمیلی مورد نیاز است. با توجه به نقش اکولوژیکی مهم متابولیت‌های ثانویه در واکنش‌های دفاعی گیاهان به‌ویژه گیاهان هرز که

دارای پتانسیل تولیدی بالا و از طرفی کاربرد دارویی فراوانی دارند، استحصال و بهره‌وری پتانسیل مواد موثره این گیاهان به‌عنوان علفکش‌های طبیعی و دارویی توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از کارشناس محترم آزمایشگاه علوم علف‌های‌هرز به‌واسطه مساعدت و کمک در اجرای آزمایش تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

امید بیگی، ر. (۱۳۸۷). تولید و فرآوری گیاهان دارویی. به نشر انتشارات آستان قدس رضوی – ٤٧. مشهد. جلد ۱. صفحات ۵۰– ٤٧.

حاجی مهدی پور، ه.، امن زاده، ی.، حسنلو، ط.، شکرچی، م.، عابدی، ز. و پیر علی همدانی، م. (۱۳۸۷). بررسی کیفیت ریشه‌های شیرین بیان جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف ایران. فصلنامه گیاهان دارویی. جلد ۳. شماره ۲۷. صفحات ۱۱٤– ۱۰٦.

مبصری، م.، بهرامی، ا.، ضرغامی، ن.، علی عسکرزاده، ا.، رحمتی، م.، دل‌آذر، ع و دیگران. (۱۳۸۸). اثر عصاره اندام هوایی گیاه گزنه بر آزاد سازی انسولین و پپتید -C از رده سلول‌های بتای پانکراس موش صحرایی (RIN5F) و میزان مصرف گلوکز توسط سلول‌های ماهیچه انسان. مجله غدد درون ریز و متابولیسم ایران، دوره ۱۱، شماره ٦. صفحات ۷۲۱–۷۰۰.

مرتضایی، س.، رفیعیان، م.، انصاری سامانی، ر. و شاهین‌فرد، ن. (۱۳۹۲). مقایسه غلظت ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی هشت گیاه دارویی. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان. صفحات ۸۳۰–۸۱۹.

میر حیدر، ح. (۱۳۷۳). معارف گیاهی: کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری‌ها. تهران: انتشارات دفتر نشر فرهنگ اسلامی. شماره ٦. صفحات ۲۳۲–۲۲۲.

Anthony, C. (2001). Purslane (*Portulaca oleracea*)-the global panace. Personal Care Magazine, 7-15.

AOAC. (1990). Official methods of analysis. 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, USA.

AOAC. (2005). Official methods of analysis. Vol. 1. No. 1. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists Washing Town, D.C.

Arzani, H., Torkan, J., Jafari, M., Jalili, A. and Nikkhah, A. (2001). Effects of phonological stages and ecological factors on forage quality of some range species. Iranian Journal of Agriculture Sciences, 32(2): 385-397. (In Persian)

Award, J., Dawkins, N.L., Shikany, J. and Pace, R.D. (2009). Boost for purslane. FPD-Health and Wellness: 58-60.

Bourgaud, F., Gravot, A. and Miles, S. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Science. 161(5): 839–851.

Brain, K.R. and Turner, T.D. (1975). The practical evaluation of phytopharmaceuticals. Bristol: Wright-Scientechnica, Bristol: 10-30.

Clovis, C.D.S., Kozloski, G.V.L., Sanchez, M.B., Mesquita, F.R., Alves, T.P. and Castagnino, S. (2008). Evaluation of autoclave procedures for fiber analysis in forage and concentrate feedstuffs. Animal Feed Science Technology. 146: 169-174.

Dixon, R.A. and Sumner, L.W. (2003). Legume natural products. Understanding and manipulating complex pathways for human and animal health. Plant Physiology. 131(3): 878-885.

Daizy, R.B., Lavanya, K., Singh, H.P. and Kohli, R.K. (2007). Phenolic allelochemicals released by *Chenopodium murale* affect the growth nodulation and macromolecule content in chickpea and pea. Plant Growth Regulation. 51: 119-128.

Duguma, B., Tonye, J., Kanmegne, J., Manga, T. and Enoch, T. (1996). Growth of 10 multipurpose tree species on acid solids in Sangmelima. Cameroon Agroforestry System, 27(2): 107-119.

Dzowela, B.H., Hove, L., Topps, J.H. and Mafongoya, P.L. (1995). Nutritional and anti-nutritional characters and rumen degradability of dry matter and nitrogen for some multipurpose tree species with potential for agroforestry in Zimbabwe. Animal Feed Science and Technology. 55: 207-214

Eslami, G., Taghavi, A. and Nowrouzi, J. (2006). A suevey on corrolation between bacteria in patient with UTI and struvite at Labbafi Nejad hospital in 2004. Pejouhesh Dar Pezeshki.30: 97-100. [In Persian]

Facchini, P.J. and St-Pierre, B. (2005). Synthesis and trafficking of alkaloid biosynthetic enzymes. Current opinion in Plant Biology. 8: 657-666.

Fukai, T., Marumo, A., Kaito, U.K., Kanda, T., Terada, S. and Nomura, T. (2002). Anti- helicobacter pylori flavonoids form licorice extract. Life Science. 71: 1449-63.

Gholamalipour Alamdari, E. (2011). Preliminary phytoconstituts screening of some weeds and their potential toxicity on rice variety–Tarom via decomposition bioassay. International Conference on Environmental, Biomedical and Biotechnology, Vol. 16 (2011) .IACSIT Press, Singapore.

Gorham, J. (1996). Mechanisms of salt tolerance of halophytes. In: Halophytes Ecologic Agriculture. (eds: R. C. Allah, C. V. Nalcolm and A. Aamdy). Marcel Dekker. Inc. 30-53.

Grewal, R.C. (2000). Medicinal Plant. Campus Books International. 312-314.

Hirt, H. and Shinozaki, K. (2004). Plant responses to abiotic stress topics in current genetics. Spring berlin/New York. ISBN 978-3-540-20037-6.

Jackson, F.S., Barry, T.N., Lascano, C. and Palmer, B. (1994). The extractable and bound condensed tannin content of leaves from tropical tree, shrub and forage legumes. Journal of Science Food Agriculture. 71: 103-110.

Kaboli, S. (2001). Introducing of indexes of forage quality determination in some important range species. M.Sc. Thesis. Faculty of Natural Resources, Karaj: 102. (In Persian).

Khan, M. A. M. Zaheer, A. and Hameed, A. (2006). Effect of sea salt and L-ascorbic acid on the seed germination of halophytes. Journal of Arid Environments. 67: 535–540.

Kocheki, A., Nasiri Mahalati, M., Banaeiyan Aval, and Kolahi Ahari, M. (1993). Graze management in ranges (Authorship: John F. Valentayn). Mashad Publication, (In Persian).

Liu, L., Howe, P., Zhou, Y.F., Xu, Z.Q. and Hocart, C.R. (2000). Fatty acids and β-carotene in Australian purslane (*Portulaca oleracea*) varieties: Journal of Chromatography A. 893:207-13.

Malick, C.P. and Singh, M.B. (1980). In plant enzymology and histo enzymologhy, Kalyani Publishers, New Dehli.

Mazid, M., Khan, T. and Mohammad, F. (2011) Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. Advances in Experimental Medicine and Biology. 3 (2): 232-249.

Miller, G.L. (1972). Use of DNS reagent for determination of reducing**.** Analytical Chemistry. 31:426.

Minson, D.J. (1990). Forage in ruminnt nutrition. Academic Press Inc., San Diego, CA, USA.

Mirzaee, A., Jaberi Hafashani, H. and Madani, A. (2012) Antioxidant activities, total phenols and total flavonoids assay of *Origanurm vulgare, Teucrium polium* and *Thymus daensis*. Medical Journal of Hormozgan . 15(4): 285-294

Modarresi Chahardehi, A., Ibrahim, D. and Sulaiman, S.F. (2009). Antioxidant activity and total phenolic content of some medicinal plants in Urticaceae family. Journal of Applied Biology and Science. (4): 1-14.

Oksman-Caldentey, K.M. and Inzé, D. (2004). Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. Trends Plant Science. 9(9): 433-440.

Palmer, B. and Schlink, A.C. (1992). The effect of drying on the intake and rate of digestion of the shrub legume *Calliandra calothyrsus*. Tropical Grasslands Journal. 26: 89-93.

Sangwan, N.S., Farooqi, A.H., Shabih, F. and Sangwan, R.S. (2001). Regulation of essential oil production in plants, Plant Growth Regulation. 34: 21-34.

Shorang, P. and Nikkhah, A. (2000). Degradability of cell wall compositions of some range forages by nylon bag method. Proceeding of 2nd Research Seminar of Sheep and Goat, Iran, pp: 239-244. (In Persian)

Simopoulos, A.P., Norman, H.A., Gillaspy, J.E. and Duke, J.A. 1992. Common purslane: A source of omega-3 fatty acids and antioxidants. The Journal of the American College of Nutrition. 11:374-82.

Taiz, L. and Zeiger, E. (2006). Plant Physiology, 4th Edition. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts. USA. 260-287.

Thayumanavan, B and Sadasivam, S. (1984). Physicochemical basis for the preferential uses of certain rice varieties. Qualities Plant Foods for Human Nutrition 34-253.

Tian, X. and Li, Y. (2007). Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. Biologia Plantarum. 50: 775-778.

Trease, G.E. and Evans, W.C. (1972). Pharmacognosy. 10th Edn. Bailer Tindall, London.

Trease, G.E. and Evans, W.C. (1989). Pharmacognosy.11th Edn. Braillar Tiridall Can. Macmillian publishers.

Wink, M. (2010). Functions and biotechnology of plant secondary metabolites. Second edition. Inc. New Delhi, India. 2010: 20-30.