نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال چهاردهم، شماره ۵۳، بهار ۱۳۹۸ / صفحات: ۱۵-۱

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 (*Echinaceae prupurea*)، 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 هوگلند 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 میز 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 سویی 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

*نویسنده مسئول: aghdasi1346@gmail.com

مقدمه

سرخارگل (*Echinaceae prupurea*)، 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 اخیرتبدیل شده است (Kayser and Quax, 2007).

سرخارگل حاوی مواد موثره متعددی نظیر ترکیبات فلاونوئیدی، پلی‌ساکاریدها مانند اکیناسئین، اکینوکوزید و اکینون، 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 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. purpurea* و *E. pallida* 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 میلی‌مولار تولید آن در گیاه کاهش می‌یابد. در حالی که در گونه *E. pallida* میزان شیکوریک اسید در تیمار ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار 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

حاضر بررسی امکان کشت این گیاه در خاک‌های شور می‌باشد. از طرفی دیگر تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه با ارزش این گیاه نظیر کافئیک اسید و مشتقات آن در تیمار شوری از دیگر اهداف بررسی حاضر است.

مواد و روش‌ها

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 ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی (با شدت نور ۱۵۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. پس از جوانه‌زنی بذرها بر روی کاغذ صافی مرطوب، گیاهچه‌ها به محیط کشت ۱/۲ هوگلند انتقال یافتند. در طی دوره رشد، محیط‌های کشت با استفاده از پمپ آکواریوم هوادهی شدند. pH محیط به‌صورت روزانه کنترل شده و تعویض محیط‌های کشت به طور هفتگی انجام شد. سپس گیاهچه‌های ۴۵ روزه با غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میلی‌مولار) تیمار شدند. آزمایش به صورت طرح بلوک‌های تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. پس از گذشت ۲۰ روز از تیمار، نمونه‌ها برداشت شده و وزن تر و خشک اندام هوایی (برگ‌ها) و ریشه اندازه‌گیری شدند. نمونه‌های ریشه و اندام هوایی گیاهچه‌های سرخارگل به طور جداگانه تا مرحله سنجش پارامترهای مورد نظر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد در فریزر نگهداری شدند.

اندازه‌گیری وزن خشک: نمونه‌های ریشه و اندام هوایی به‌طور جداگانه در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ روز خشک شده و سپس وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد.

سنجش پروتئین محلول: ابتدا ۰/۱۵ گرم بافت تر با ۱ میلی‌لیتر بافر ماتریس و یک قطره مرکاپتواتانول عصاره‌گیری و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. به ۲۰ میکرولیتر از محلول شفاف رویی، ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد و ۸۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه و به‌مدت 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 میلی‌لیتر فنل ۵ درصد به آن اضافه و مخلوط شدند. پس از افزودن ۵ میلی‌لیتر 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 داده‌ها بر اساس میلی‌گرم گلوکز بر گرم وزن خشک گیاه بیان شدند (McCready et al., 1950).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز: مقدار ۰/۰۵ گرم بافت گیاهی درهاون چینی سرد با ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات مونوسدیک ۰/۱ مولار با اسیدیته ۶/۸ هموژن گردید. هموژن حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۶۰۰۰g در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد (Kar and Mishra, 1976). از فاز رویی به دست آمده برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به روش Maehly و Chance (۱۹۵۵) همراه با تغییراتی انجام شد. مخلوط واکنش آنزیم کاتالاز با حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸، آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی تهیه شد. با افزودن سوبسترا (H_2O_2) به محیط واکنش، تجزیه پراکسید

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 $mM^{-1}\ cm^{-1}$ ۴۰) 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 تتراگایاکول تشکیل شده (ضریب خاموشی $mM^{-1}\ cm^{-1}$ [1] ۲۶/۶) 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 سانتریفوژ 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- سیوکالتئو اضافه شد. محلول حاصل به خوبی با ورتکس مخلوط شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط 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، دتکتورDiod Array، پمپ L-Merck Hitachi ۷۱۰۰ با نرم‌افزارEZ 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 ۳۳۰ و ۲۷۸ 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 به‌دست آید. به‌منظور رسم

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

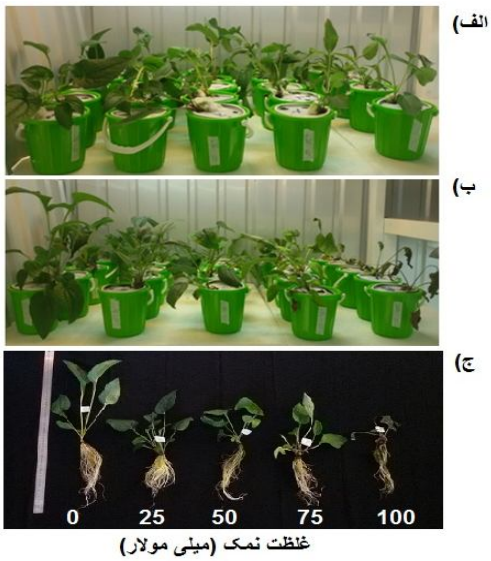
بررسی صفات ظاهری و مورفولوژیکی گیاهچه‌های سرخارگل رشد یافته در غلظت‌های مختلف نمک کلریدسدیم نشان داد که در تیمار ۱۰۰ میلی مولار گیاهچه‌ها قادر به رشد نبوده و به‌تدریج زرد شده و از بین رفتند. به همین دلیل در ادامه آزمایشات سنجش‌های مربوط به این تیمار حذف شدند (شکل ۱).

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، تقریبا 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).

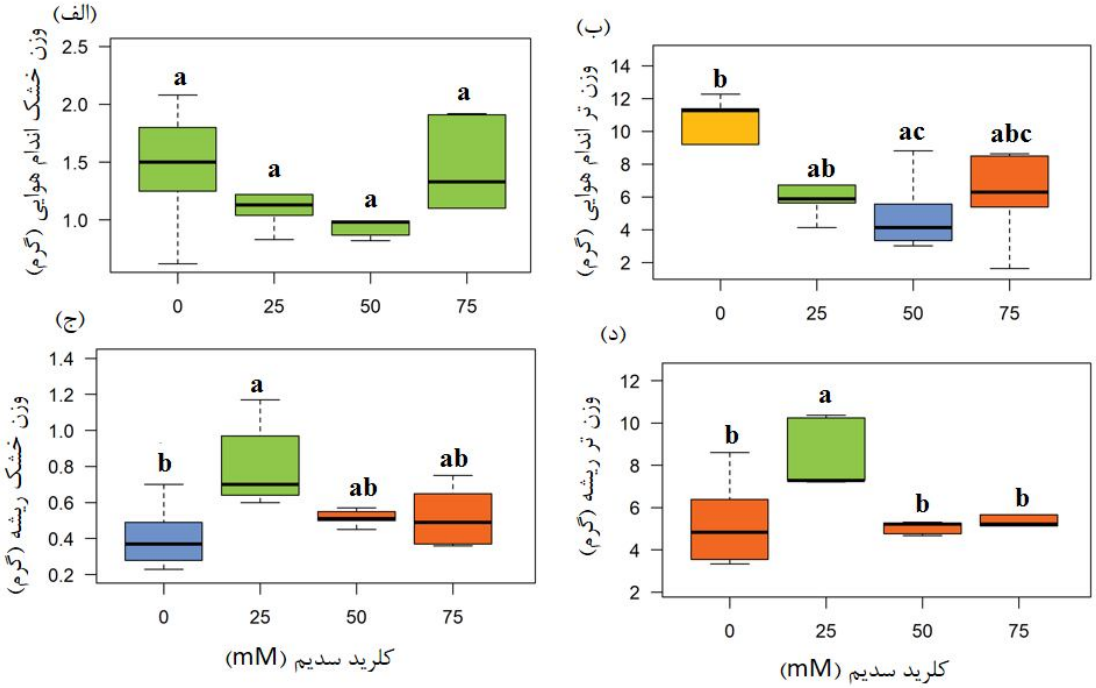
بر اساس نتایج بدست آمده وزن خشک ریشه در گیاهچه‌های شاهد، تقریباً ۰/۴ گرم بوده است. تیمار گیاهچه‌ها با غلظت ۲۵ میلی‌مولار نمک، سبب افزایش معنی‌دار در وزن خشک ریشه شد (شکل ۲- ج). از طرفی وزن تر ریشه در گیاهچه‌های شاهد ۵/۵ گرم بود. تیمار گیاهچه‌ها با غلظت ۲۵ میلی‌مولار نمک سبب افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه 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 تقریبا 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 به‌ترتیب در گیاهچه‌های شاهد و نمونه‌های تیمار شده با غلظت ۷۵ میلی‌مولار نمک مشاهده شد (شکل ۳-ب).

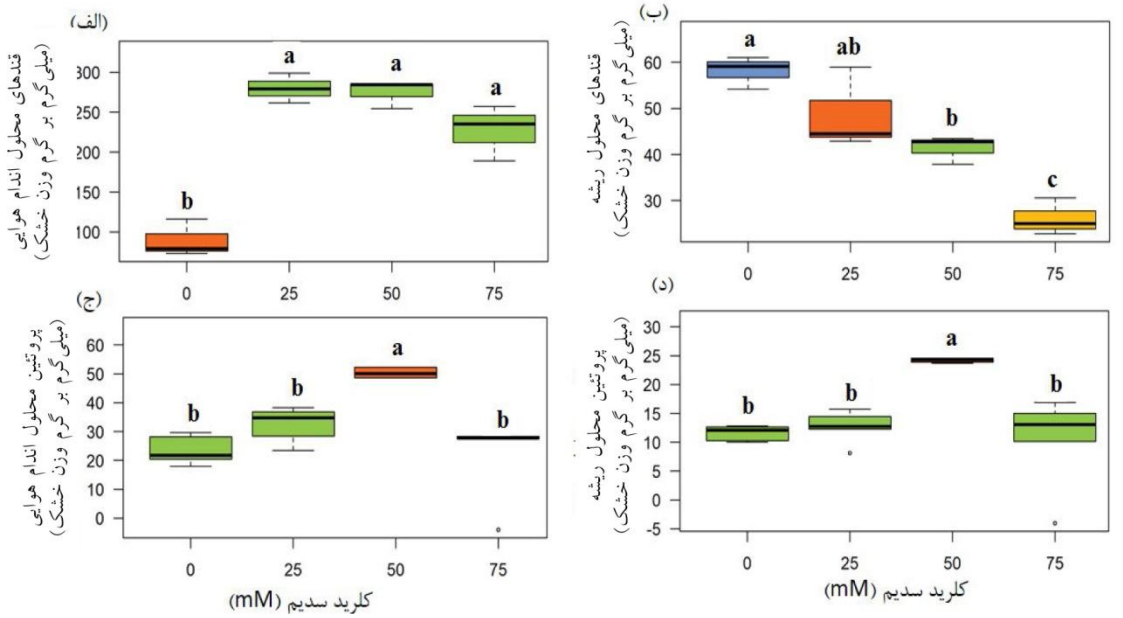
مقدار پروتئین محلول اندام هوایی گیاهچه‌ها در شاهد، تقریبا ۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک به دست آمد. اما با افزایش غلظت نمک تا ۵۰ میلی‌مولار، مقدار پروتئین در اندام هوایی افزایش معنی‌داری یافت. کمترین مقدار پروتئین نیز در گیاهچه‌های شاهد مشاهده شد (شکل ۳- ج). همچنین نتایج حاصل نشان داد که مقدار پروتئین در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



شکل ۱: گیاهچه‌های سرخارگل رشد یافته در محیط کشت ½ هوگلند الف) قبل از تیمار، ب) بعد از تیمار با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم و ج) پس از جمع‌آوری از محیط کشت هوگلند حاوی غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم.

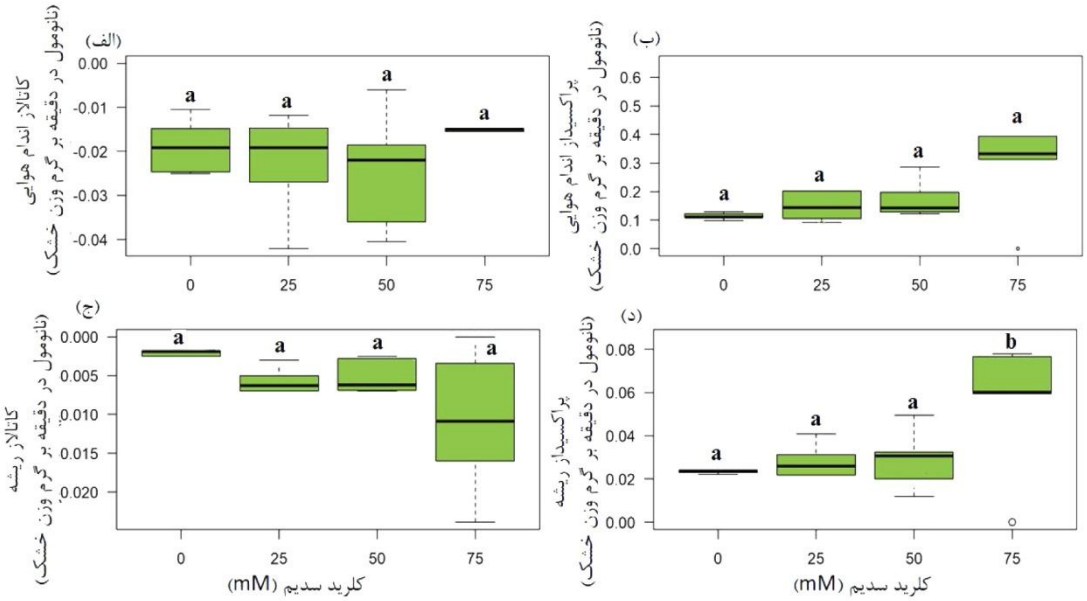


شکل ۲: اثر تیمار شوری بر الف) وزن خشک اندام هوایی، ب) وزن تر اندام هوایی، ج) وزن خشک ریشه و د) وزن تر ریشه گیاهچه‌های سرخارگل. نتایج حاصل میانگین ۵ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با تست TUKEY نشان نمی‌دهند.



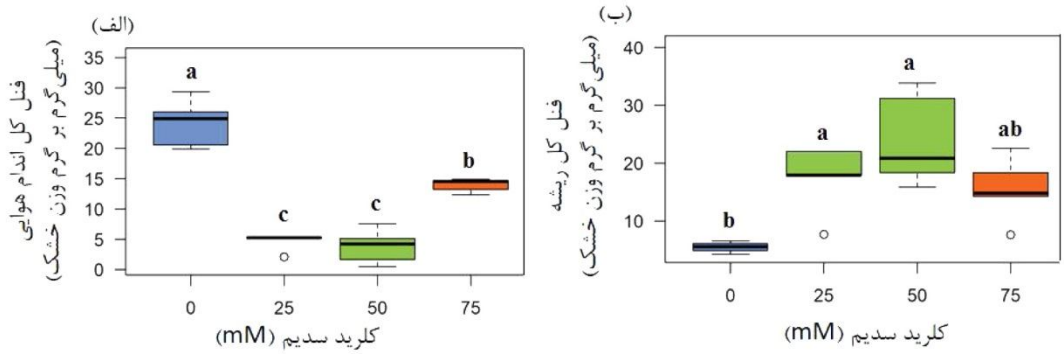
شکل ۳: اثر تیمار شوری بر مقدار الف) قندهای محلول اندام هوایی، ب) قندهای محلول ریشه، ج) پروتئین محلول اندام هوایی و د) پروتئین محلول ریشه گیاهچه‌های سرخارگل. نتایج حاصل میانگین ۵ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با تست TUKEY نشان نمی‌دهند.

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 معنی داری 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 کاتالاز در ریشه گیاهچه‌های شاهد، تقریبا 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، تقریبا ۰/۱ میکرومول بر دقیقه در میلی‌گرم بود. این نتایج نشان داد که افزایش غلظت نمک در محیط کشت (تا ۷۵ میلی‌مولار) سبب افزایش‌معنی دار در فعالیت آنزیم پراکسیداز شد (شکل ۴-د).



شکل ٤: 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.

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 حالی‌که تیمار ۷۵ میلی‌مولار سبب افزایش معنی‌دار در مقدار فنل کل نسبت به تیمار ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار شد. در مجموع بالاترین و پایین‌ترین مقدار فنل به‌ترتیب 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 به‌ترتیب در تیمار ۵۰ میلی‌مولار نمک و نمونه شاهد مشاهده شد (شکل ۵- ب).

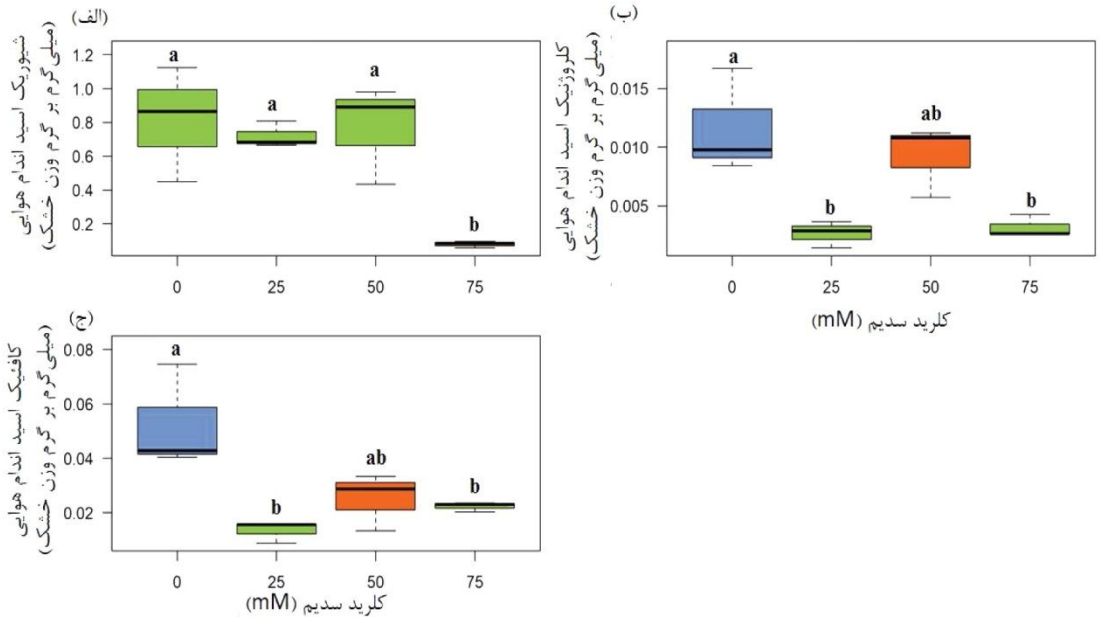


شکل ۵: اثر تیمار شوری بر مقدار فنل کل الف) اندام هوایی و ب) فنل ریشه گیاهچه‌های سرخارگل. نتایج حاصل میانگین ۵ تکرار است. ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با تست TUKEY نشان نمی‌دهند.

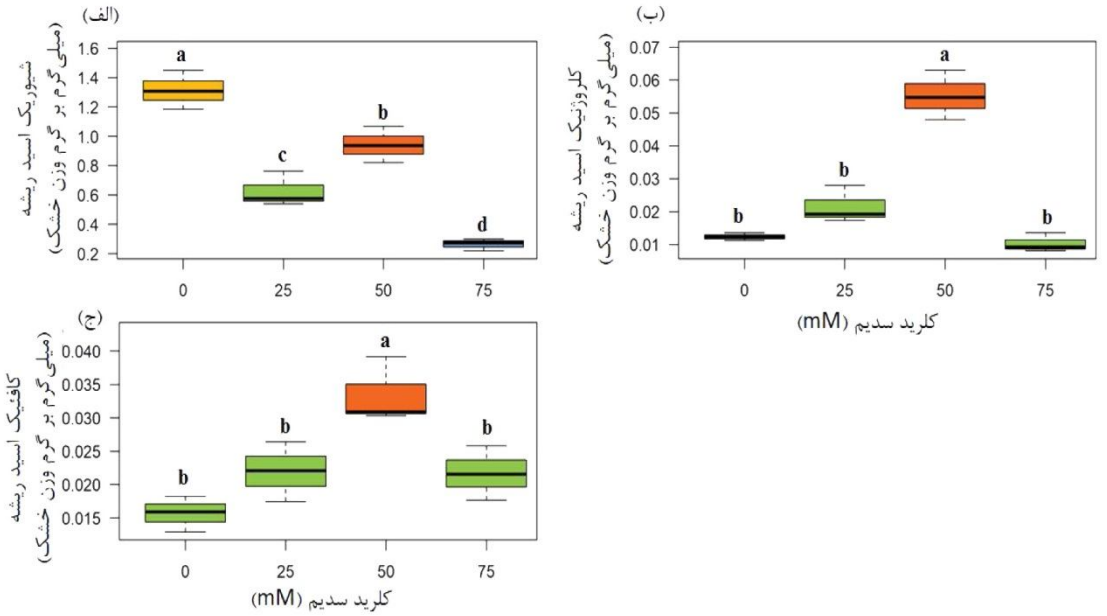
اثر تیمار شوری بر مشتقات کافئیک اسید: نتایج حاصل از سنجش مشتقات کافئیک اسید نشان داد که میانگین مقدار شیکوریک اسید در اندام هوایی در تیمار شاهد، ۰/۰۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. اما با افزایش غلظت نمک در محیط کشت تا ۵۰ میلی‌مولار، تغییر معنی‌داری در مقدار شیکوریک اسید صورت نگرفت. این در حالی است که 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 کافئیک 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 کافئیک اسید شد. اما تیمار ۷۵ میلی‌مولار سبب کاهش مجدد مقدار کافئیک اسید شد. بالاترین و پایین‌ترین مقدار مقدار کافئیک 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 براین، 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 کافئیک اسید در ریشه‌ها گیاهچه‌های شاهد، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود. اما با افزایش غلظت نمک تا ۵۰ میلی‌مولار، مقدار کافئیک اسید در ریشه‌ها بیش از ۲ برابر افزایش یافته وکمترین مقدار کافئیک اسید در ریشه‌ها در نمونه شاهد مشاهده شد (شکل ۷-ج).



شکل ٦: اثر تیمار شوری بر مقدار الف) شیکوریک اسید، ب) کلروژنیک اسید و 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 و 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.

بحث

شوری یکی از مهمترین انواع تنش‌های غیر زیستی است که سبب اختلالات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان می‌شود (Munns, 2002; Rajaravindran and Natarajan, 2012). بسیاری از ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان در

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). ازطرفی دیگر نتایج حاصل نشان داده 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 داده 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 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، شکسته‌شدن زنجیره‌های پپتیدی، تغییر بار الکتریکی و افزایش حساسیت پروتیین‌ها به پروتیولیز می‌شوند. کاهش مقدار پروتئین در غلظت‌های بالای نمک ممکن است به‌دلیل 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 پلی فنل‌ها 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 سوبسترای 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 داده 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

به تنش شوری منتشر شده است. این گزارش‌ها نشان داده که در گیاهان مختلف شوری اثر تحریک کننده و یا حتی ممانعت کننده 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 داده 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 میلی مولار نمک به‌مدت ۲ هفته سبب افزایش قابل توجه در تولید شیکوریک اسید شده است. این تفاوت می‌تواند به‌دلیل 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 داده 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 پیش ساز مهمی است که پس از تبدیل به کافئیول کوانزیم A یا به سمت تولید کلروژنیک اسید پیش رفته 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 به‌ترتیب سبب افزایش ۲ و ۵ برابری در میزان کافئیک اسید و کلروژنیک اسید در اندام ریشه شده است. این امر می‌تواند بیان کننده‌ی کامل نشدن مسیر بیوسنتز اسید شیکوریک باشد که احتمالا 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 آنتی اکسیدانتی این ترکیبات قابل توجیه 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 دسی زیمنس) مقدار کلروژنیک اسید، کافئیک اسید و ترکیبات فلانوئیدی 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 کافییک 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 داده 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 mM 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

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.

تشکر و قدردانی

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

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, Crotia, 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. Physiolgia Plantarum 119: 355-364.

Ghasemnezhad, A., Bagherifard, A. Asghari, A. (2013). Study on the effect of driing 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 Centeral Europian Agriculture. 27: 47-59.

Jiang, M. and Zhang, J. (2001). Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative efence 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 sativaL. 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., Silviera, 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 Fasan 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 Chemisrtry 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 Chimistry Acta. 877: 80- 9.

Sabra, A., Adam, L., Daayf, F., and Renault, S. (2012). Salinity-induced changes in caffeic acidderivatives, alkamides and ketones in three *Echinacea* species. Environment Experimental Botany.1:11-17.

Sairam, R. K., Veerrabhadra, 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 alkamides 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^+ and Cl^- ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. Journal of Experimental Botany. 61: 4449-4459.