تأثیر تاریخ و تراکم کاشت بر ماده خشک و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه گیاه دارویی سرخارگل *Echinacea purpurea* (L.) Moench

سمانه اسدی صنم[۱]، محسن زواره*[۱]، همت‌اله پیردشتی[۲]، فاطمه سفیدکن[۳] و قربانعلی نعمت‌زاده[٤]

[۱] گروه زراعت، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، [۲]گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، [۳]گروه فیتوشیمی، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، [٤]گروه اصلاح نباتات، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۱٤، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹٤/۰۳/۱۲)

چکیده:

با هدف بررسی اثر تاریخ کاشت و تراکم بوته بر ویژگی‌ها، عملکرد ماده خشک، ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه گیاه دارویی سرخارگل، آزمایشی به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه‌ی پژوهشی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان، در سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱، اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه تاریخ کاشت (۲۰ فروردین، ۱۹ اردیبهشت و ۱۸ خرداد در بهار ۱۳۹۲) و سه تراکم بوته (هفت، ۱۰ و ۱٦ بوته در متر مربع) بودند. تراکم بوته با تغییر فاصله بوته‌ها روی ردیف اعمال شد. اندازه‌گیری‌ها در زمان گل‌دهی کامل سرخارگل انجام شد. نتایج آزمایش افزایش معنی‌دار عمق نفوذ ریشه سرخارگل را در تاریخ کاشت ۱۹ اردیبهشت و تراکم ۱٦ بوته در متر مربع نشان داد. بیش‌ترین حجم و ماده خشک ریشه مربوط به تاریخ کاشت ۱۸ خرداد و تراکم پایین هفت بوته در متر مربع بود در حالی‌که بیش‌ترین ماده خشک کل بوته (۱۳۰/۵ گرم در بوته) مربوط به گیاهان کشت‌شده در تاریخ ۲۰ فروردین و تراکم ۱۰ بوته در متر مربع بود. بیش‌ترین نسبت ماده خشک ریشه به ماده خشک کل و نیز، ماده خشک ریشه به شاخساره در گیاهان تاریخ کاشت ۱۸ خرداد با تراکم هفت بوته در متر مربع به‌دست آمد. بیش‌ترین مقدار اسید شیکوریک (۱۹/۵ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) و فنل کل (۳۰/۸ میلی‌گرم گالیگ اسید در گرم ماده خشک) ریشه مربوط به سرخارگل‌های کشت‌شده در تاریخ ۱۹ اردیبهشت و تراکم ۱٦ بوته در متر مربع بود. بیش‌ترین مقدار فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه در سرخارگل‌هایی اندازه‌گیری شد که در بالاترین تراکم و در ۱۸ خرداد ماه کشت شدند. در کل، می‌توان چنین استنباط کرد که احتمالاً تاریخ کاشت دیر ۱۸ خرداد برای تولید بیش‌تر ماده خشک، محتوای فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه و تاریخ کاشت میانه ۱۹ اردیبهشت برای تولید بیش‌تر اسید شیکوریک و فنل کل در ریشه‌های سرخارگل در شرایط این آزمایش، مناسب است. هم‌چنین، تراکم پایین هفت بوته در متر مربع منجر به افزایش تولید ماده خشک ریشه و کاهش مقدار اسید شیکوریک، محتوای فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه سرخارگل‌ها شد.

واژه‌های کلیدی: اسید شیکوریک، سرخارگل، فنل کل، ماده خشک ریشه.

مقدمه:

جنس *Echinacea* از خانواده آستراسه و بومی آمریکای شمالی است که جایگاه مهمی بین گیاهان دارویی شرق ایالات متحده دارد (Hobbs, 1989). گونه *E. purpurea* با نام فارسی سرخارگل،

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: mzavareh@guilan.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]

گیاهی چندساله و علفی است که قدمتی طولانی در مصرف دارویی در آمریکای شمالی، اروپا (Speroni *et al*., 2002) و استرالیا (Wills and Stuart, 1999) دارد. در حدود ۱۰۰۰ سال پیش، سرخ‌پوستان آمریکا برای اولین بار از این گیاه به عنوان دارویی مؤثر در قبایل خود استفاده کردند. هم‌اکنون، سرخارگل برای اهداف دارویی در درمان عفونت‌های حاد دستگاه تنفسی و ادراری، سوختگی‌ها و اختلالاتی از جمله عفونت‌های ویروسی، ناراحتی‌های پوستی و بیماری‌های مزمن به علت نقص در پاسخ‌های ایمنی، کشت و استفاده می‌شود (Tsai *et al*., 2012; Linde *et al*., 2009). پلی ساکاریدهای این گیاه محرک سیستم ایمنی و پلی استیلن‌های آن دارای اثر ضدالتهابی می‌باشند (Bone, 1997). مصرف موضعی سرخارگل از راه مکانیسم‌های مختلفی از جمله فعالیت‌های ضدعفونی کننده، تحریک فیبروبلاست‌ها و مهار التهاب، موجب بهبود زخم‌ها می‌شود (Hara *et al*., 1998). در اروپا، این گیاه به مدت چندین سال از پرفروش‌ترین گیاهان دارویی بود (Stanisavijevic *et al*., 2009). در ایالات متحده، فرآورده‌های این گیاه دارویی جزو ششمین گیاه دارویی پرفروش در سال ۲۰۱۰ شناخته شد (Blumenthal *et al*., 2011).

فنل‌های گیاهی در واقع، متابولیت‌های ثانویه هستند که در شرایط مطلوب محیطی، از مسیر شیکمیک اسید و از متابولیسم فنیل پروپانوئید سنتز می‌شوند (Razali *et al*., 2008). این ترکیبات نقش فیزیولوژیک و بوم‌شناختی برجسته‌ای بر برهم‌کنش گیاهان با محیط، جذب حشرات گرده‌افشان، محافظت گیاهان در مقابل عوامل تنش‌زای زیستی و غیرزیستی، رشد و تولید مثل گیاهان، ویژگی‌های ضدگیاه‌خواری و ضدمیکروبی و کارکرد آنتی‌اکسیدانی دارند (Sun *et al*., 2001; Curir *et al*., 1990). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های سرخارگل ناشی از ترکیبات پلی‌فنلی مانند فنیل پروپانوئیدها، اسیدهای فنلی به‌ویژه اسید شیکوریک و فلاونوئیدها است (Dalby-Brown *et al*., 2005; Pellati *et al*., 2004) که در میان این ترکیبات، پلی‌فنل‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های بهتری از مونوفنل‌ها گزارش شدند (Duff Sloley *et al*., 2001). آزمایش‌ها نشان داده که مقدار فنل‌های کل اندام‌های مختلف سرخارگل با یکدیگر متفاوت و ترتیب کاهشی آن‌ها به صورت گل‌ها > برگ‌ها > ساقه‌ها > ریشه‌ها بوده است (Lin *et al*., 2011). از طرفی، تجزیه‌های کمی عصاره‌های اتانولی و آبی سرخارگل هم، نشان داده است که غلظت‌های بالای محتوای فنلی در گیاه، هنگامی به‌دست می‌آید که به گیاه برای تولید و ذخیره این ترکیبات بیش از یک سال فرصت داده شود (Cech *et al*., 2006). با این وجود، اطلاعات کمی در مورد ترکیبات فنلی موجود در عصاره ریشه سرخارگل وجود دارد که لازم است بررسی‌های بیش‌تری در این زمینه انجام شود (Tsai *et al*., 2012; pellati *et al*., 2004).

عملکرد و مواد مؤثره گیاهان دارویی بسته به مکان‌های رشد، شرایط اقلیمی، عملیات زراعی، مراحل رشد و ویژگی‌های ژنتیکی تغییر می‌کند که این تغییر در بین جمعیت‌های زراعی و وحشی به روشنی دیده می‌شود (Millauskas *et al*., 2004). پژوهش‌گران تولید گیاهان دارویی را وابسته به شرایط بوم‌شناختی دانستند و کنترل عناصر محیطی و مدیریت اجزای سیستم رشدی گیاه از جمله تاریخ و تراکم کشت را راهکاری مناسب در دستیابی به عملکرد بهینه‌ی ترکیبات مؤثر در گیاهان دارویی معرفی کردند (Rafieiolhossaini *et al*., 2010). از طرفی، استقرار تراکم مناسبی از بوته‌ها در مناسب‌ترین تاریخ کاشت، اساس یک سیستم زراعی موفق گزارش شده است (Coffelt *et al*., 2009). اگرچه در مورد کشت موفقیت‌آمیز سرخارگل در برخی از مناطق (Chen *et al*., 2008; Thomsen *et al*., 2012) و سازگاری آن با شرایط محیطی مختلف (Callan *et al*., 2005; Parmenter and Littlejohn, 1997; Shalaby *et al*., 1997)، پژوهش‌هایی انجام شده است ولی اطلاعات در مورد اثر اقلیم رشد و تراکم بوته بر تولید ماده خشک و مواد مؤثره سرخارگل هنوز، خیلی محدود می‌باشد.

استاندارد کیفی مواد گیاهی ریشه در سرخارگل می‌تواند تا محتوای بیش از ۱۵ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک برای اسید شیکوریک در نظر گرفته شود. کم‌ترین استاندارد برای بازار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]

پسندی قابل‌قبول اسید شیکوریک در ریشه‌ها، بیش از پنج میلی‌گرم بر گرم ماده خشک بیان شده است (Wills and Stuart, 1999). در بررسی تغییرات فیتوشیمیایی ریشه جمعیت‌های اهلی و وحشی سرخارگل در کانادا، بیش‌ترین مقدار اسید شیکوریک با میانگین ۸/۰۶ میلی‌گرم در گرم ماده خشک در ریشه‌های جوان سرخارگل به دست آمد و به کاهش مقدار این ترکیب در ریشه‌ها با افزایش سن گیاه تأکید شد (Binns *et al.*, 2002). در آزمایش Thomsen و همکاران (۲۰۱۲)، مقدار این اسید فنلی در ریشه سرخارگل‌های رشدیافته در دانمارک از ۲/۶۵ تا ۲/۸۹ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک متغیر بود. در مطالعه Callan و همکاران (۲۰۰۵)، تراکم ۹ تا ۱۰ گیاه در متر مربع سرخارگل، غلظت اسید شیکوریک را در ریشه حدود ۱۲ میلی‌گرم در گرم ماده خشک در سال دوم رشد حفظ کرد.

مقدار فنل کل در ریشه سرخارگل‌ها در مطالعه Wu و همکاران (۲۰۰۸)، ۵۱/۶ میلی‌گرم در گرم ماده خشک و مقدار فلاونوئید کل، ۳۲/۸ میلی‌گرم در گرم ماده خشک گزارش شده است. Pellati و همکاران (۲۰۰۴) در پژوهشی، مقدار فنل کل اندام‌های هوایی و زیرزمینی سرخارگل را متفاوت گزارش کردند به‌طوری که اسید شیکوریک در ریشه‌های اصلی حدود ۷۸ درصد فنل کل را تشکیل داده بود. در مطالعه‌ای در دانمارک، میانگین غلظت کل محتوای فنلی ریشه سرخارگل، ۳/۹۴ میلی‌گرم در گرم ماده خشک به‌دست آمد که با توجه به مقدار پایین اسید شیکوریک اندازه‌گیری شده، این مقدار قابل انتظار بود (Thomsen *et al.*, 2012). در پژوهش دیگری که در پنج منطقه از نیوزیلند انجام شد، سرخارگل به شکل دو ردیفه با فاصله ۰/۶ متر از هم روی بسترهای پهن با عرض ۱/۵ متر مربع و با تراکم ۶/۷ گیاه در متر مربع کشت شد. نتایج این آزمایش نشان داد که عملکرد ماده خشک ریشه پس از دو فصل رشد نسبتاً پایین و به‌طور متوسط ۲۴۲ گرم در متر مربع بوده است (Parmenter *et al.*, 1992). در مطالعه‌ای مشابه، Parmenter و همکاران (۱۹۹۲) به این نتیجه رسیدند که تراکم کشت می‌تواند اثر مهمی بر ساختار گیاه سرخارگل داشته باشد به طوری‌که بیش‌ترین عملکرد ریشه در تراکم پایین ۲۰ بوته در متر مربع به‌دست آمد.

با توجه به آغاز تولید تجاری این گیاه در کشور و نبود اطلاعات درباره تاریخ کاشت و تراکم مناسب این گیاه، پژوهش حاضر با هدف بررسی ویژگی‌ها، عملکرد ماده خشک، ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه سرخارگل در واکنش به تاریخ و تراکم کاشت، طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها:

این آزمایش در مزرعه‌ی پژوهشی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۹ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۳ درجه و چهار دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۱ متر پایین‌تر از سطح دریا به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح پایه‌ی بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۲، طراحی و اجرا شد. پیش از شروع آزمایش، از خاک هر تکرار سه نمونه‌ی مجزا برداشت و پس از اختلاط جهت بررسی ویژگی‌های آن به آزمایشگاه خاک منتقل شد که برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن در جدول ۱ آورده شده است. میانگین پارامترهای هواشناسی برای سال اجرای آزمایش (۱۳۹۲ هجری خورشیدی) از اداره تحقیقات هواشناسی کشاورزی قراخیل – قائمشهر تهیه شد (جدول ۲).

عوامل آزمایش شامل سه تاریخ کاشت ۲۰ فروردین، ۱۹ اردیبهشت و ۱۸ خرداد به عنوان عامل اصلی در کرت‌های اصلی و سه تراکم کاشت هفت، ۱۰ و ۱۶ بوته در متر مربع به عنوان عامل فرعی در کرت‌های فرعی قرار داده شد. کشت به صورت نشاکاری انجام شد و نشاها در مرحله سه تا چهار برگی از گلخانه پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج به زمین اصلی منتقل و جهت دستیابی به تراکم‌های مورد نظر به ترتیب در فاصله‌ی ۳۵، ۲۵ و ۱۵ سانتی‌متر روی ردیف در کرت‌هایی با ابعاد ۵×۳ متر نشاکاری شدند. در هر کرت، شش ردیف به فاصله ۴۰ سانتی‌متر کاشته شد. فاصله بین کرت‌های هر تراکم کشت، یک ردیف نکاشت و فاصله بین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایش

عمق نمونه‌برداری (سانتی‌متر)	هدایت الکتریکی ($ds.m^{-2}$)	واکنش گل اشباع	کربن آلی	نیتروژن کل	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب	آهن قابل جذب	منگنز قابل جذب	روی قابل جذب	بافت خاک
			درصد		پی‌پی‌ام		(میلی‌گرم بر کیلوگرم)			
۳۰-۰	۰/۹۲	۷	۲/۶	۰/۲۲	۲۸/۴	۴۵۱	۲۰۶	۹۸	۱۵/۳	سیلتی رسی

جدول ۲- اطلاعات هواشناسی مربوط به نه ماه از فصل رشد سرخارگل در سال ۱۳۹۲

ماه های سال	تعداد روز	دما (درجه سلسیوس)		رطوبت نسبی (درصد)		ساعات آفتابی
		کمینه	بیشینه	کمینه	بیشینه	
فروردین	۳۱	۱۰/۲	۱۹/۸	۶۲	۹۴	۱۴۴/۶
اردیبهشت	۳۱	۱۳/۶	۲۴/۷	۵۳	۹۵	۲۴۴/۱
خرداد	۳۱	۱۹/۲	۲۸/۷	۵۵	۹۴	۲۳۹/۱
تیر	۳۱	۲۱/۴	۳۰/۹	۵۲	۹۰	۲۵۶/۸
مرداد	۳۱	۲۱/۷	۲۹/۱	۶۴	۹۶	۱۳۵/۳
شهریور	۳۱	۲۱/۸	۳۰/۱	۶۶	۹۶	۱۵۹/۴
مهر	۳۰	۱۶/۶	۲۶/۱	۶۲	۹۶	۱۶۵/۹
آبان	۳۰	۷۱۰	۱۹/۵	۶۵	۹۷	۱۳۰/۱
آذر	۳۰	۶/۳	۱۵/۱	۶۶	۹۷	۱۲۴/۳
جمع	۲۷۶	۱۴۱/۵	۲۲۴	۵۴۵	۸۵۵	۱۵۹۹/۶
میانگین		۱۵/۷	۲۴/۹	۶۰/۶	۹۵	۱۷۷/۷

تاریخ‌های کشت، دو ردیف نکاشت درنظر گرفته شد. هم‌چنین، فاصله بین بلوک‌های آزمایش دو متر بود. عملیات آماده‌سازی بستر شامل شخم پاییزه، تسطیح و دو دیسک عمود برهم پیش از کاشت بود. سپس ردیف‌های کاشت به حالت پشته طراحی شد. از آنجایی که در بستر کاشت نشاها در خزانه، ماسه غالب بود، در هنگام انتقال نشاها به زمین اصلی نیز، مقداری ماسه نرم دریا با خاک پشته مخلوط شد. بلافاصله پس از کاشت نشاها و پس از آن، با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه، آبیاری به صورت قطره‌ای انجام شد. برای جلوگیری از اثرات احتمالی علف‌کش‌های شمیایی بر ترکیبات دارویی گیاه، سه بار وجین دستی علف‌های هرز (در مرحله استقرار بوته‌ها، ابتدای گل‌دهی و ۵۰ درصد گل‌دهی) انجام شد. در این آزمایش، به‌جز کود پایه نیتروژن (۲۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص از منبع اوره بر اساس عرف منطقه) از هیچ‌گونه کود شیمیایی دیگری در کرت‌ها استفاده نشد.

مراحل ۵۰ درصد گل‌دهی بر اساس خروج گل‌ها در ۵۰ درصد میان‌گل‌های موجود و پایان گل‌دهی بر اساس خروج گل‌ها در بیش از ۹۰ درصد میان‌گل‌های موجود تعیین شدند. برای اندازه‌گیری رشد و عملکرد ریشه سرخارگل، در پایان گل‌دهی سرخارگل‌ها، ریشه‌های چهار بوته با رعایت اثرات حاشیه‌ای به‌طور کامل و به وسیله بیل از خاک نمناک اطراف ریشه خارج و سپس، شستشو و تمیز شدند. برای تعیین عمق نفوذ ریشه، طول بلندترین ریشه از محل طوقه گیاه اندازه‌گیری شد. حجم ریشه از طریق اختلاف حجم ایجاد شده پس از قرار دادن ریشه در حجم مشخصی از آب (۵۰۰ میلی لیتر) محاسبه شد. سپس ریشه‌ها در محیط خشک و سایه به مدت شش روز هواخشک شده و پس از آن در خشک‌کن (آون) تهویه‌دار در دمای ۳۲ درجه سلسیوس تا زمان رسیدن به رطوبت ۱۰ درصد خشک شدند و در نهایت برای تعیین ماده خشک ریشه‌ها وزن شدند. پس از اندازه‌گیری ماده خشک (Chen *et al.*, 2008)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]

ریشه‌ها و شاخساره (داده‌ها نشان داده نشده‌اند)، ماده خشک کل بوته (ریشه + شاخساره) و نسبت ماده خشک ریشه به شاخساره تعیین شد.

استخراج عصاره فنلی: استخراج عصاره فنلی از بافت ریشه سرخارگل بر اساس روش Thygesen و همکاران (۲۰۰۷) با کمی تغییر انجام شد. ابتدا نمونه‌های خشک ریشه‌ها توسط دستگاه قهوه خردکن (مدل E G 90 W-120205) پودر و از الک ٤٠ مش عبور داده شدند. سپس به ٠/٤گرم از پودر الک شده، ١٠ میلی‌لیتر متانول:آب (٧٠:٣٠) اضافه شد. نمونه‌ها پس از ورتکس کوتاهی به مدت ٢٠ دقیقه در حمام اولتراسونیک (Ultrasonic Cleaner) با بسامد ٤٠ کیلوهرتز نگهداری شده و سپس به مدت دو ساعت شیک شدند. عصاره‌های متانولی به‌دست آمده در دور ١٠٠٠٠ rpm به مدت ١٠ دقیقه سانتریفیوژ (مدل Sigma 3-30K) و فاز رویی آن‌ها جدا شد. کار سانتریفیوژ دو بار انجام شد. نمونه‌های به‌دست آمده تا زمان تجزیه‌ی شیمیایی در دمای ٢٠- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

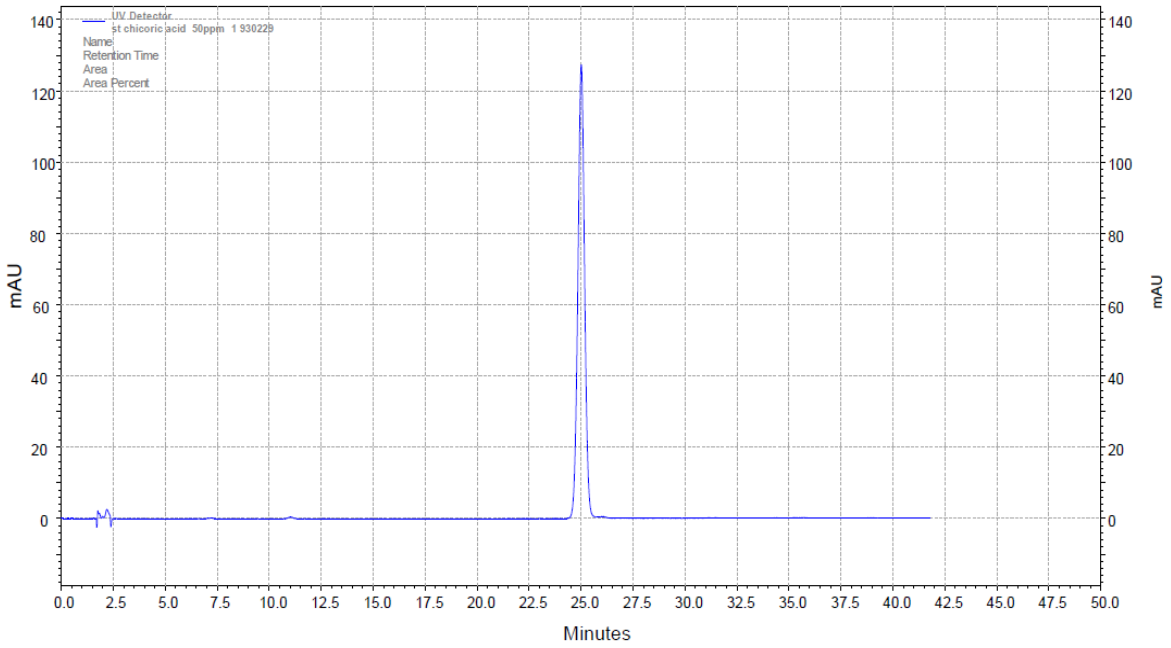
ارزیابی اسید شیکوریک ریشه: مقدار اسید شیکوریک ریشه در عصاره فنلی استخراجی بر اساس روش Hu و Kitts (٢٠٠٠) و با استفاده از دستگاه HPLC (Kanuer, Germany) تعیین شد. بدین منظور، در ابتدا با توجه به بالابودن غلظت ترکیبات فنلی در عصاره استخراجی، نمونه‌ها چهار بار با متانول ٧٠ درصد رقیق شدند. سپس یک میلی‌لیتر از عصاره استخراج‌شده ریشه، پیش از تزریق به دستگاه با استفاده از فیلترهای سرنگی PVDF (٤٥ میکرومتر × ١٣ میلی‌متر) صاف و درون ظرف مخصوص HPLC ریخته شد. دستگاه HPLC مجهز به پمپ Smart line 1000، شناساگر فرابنفش، اتوسمپلر (Auto sampeler)، ستون RP-C18 (5×4.6 mm×250 µm) بود. فاز متحرک شامل دو حلال (A و B) بود. حلال A شامل استونیتریل/آب حاوی ٠/١ درصد اسید فسفریک با نسبت ١٠:٩٠ و حلال B شامل استونیتریل/آب حاوی ٠/١ درصد اسید فسفریک با نسبت ٢٥:٧٥ بود. پروفایل شیب جریان، با افزایش حلال B از صفر تا ١٠٠ درصد در نیم ساعت و حفظ آن در ١٠٠ درصد برای ١٠ دقیقه بود. سپس جریان خطی ١٠٠ درصد حلال B، به صفر درصد در ١٠ دقیقه کاهش یافت. سرعت جریان ١/٥ میلی‌لیتر در دقیقه و طول موج شناساگر فرابفش در ٣٣٠ نانومتر، تنظیم شد. حجم نمونه تزریق‌شده ٢٠ میکرولیتر بود. پیش از تزریق نمونه‌ها، ابتدا از استاندارد اسید شیکوریک، پنج غلظت مختلف تهیه و به دستگاه HPLC تزریق شد تا زمان اندازه‌گیری، نسبت و شیب جریان حلال‌ها در ستون HPLC به منظور جداسازی بهتر این ترکیب کالیبره شود. سپس با استفاده از کروماتوگرام به‌دست آمده (شکل ١)، منحنی استاندارد مربوط به اسید شیکوریک رسم شد تا با استفاده از منحنی استاندارد مربوطه، غلظت این ترکیب بر حسب میلی‌گرم بر گرم ماده خشک محاسبه و بیان شود. کروماتوگرام اسید شیکوریک در نمونه استخراج شده از ریشه سرخارگل‌ها تحت تیمار برهم‌کنش تاریخ کشت ١٨ خرداد و تراکم ١٥ بوته در متر مربع در شکل ٢ نشان داده شده است.

ارزیابی فنل کل ریشه: ارزیابی فنل کل با روش Folin–Ciocalteu انجام شد (Singleton *et al.*, 1999). به علت بالابودن غلظت ترکیبات فنلی، ابتدا نمونه‌ها ١٠ بار رقیق شدند. ١٢٥ میکرولیتر از عصاره متانولی استخراج شده با ٣٧٥ میکرولیتر آب و ٢/٥ میلی‌لیتر معرف فولین ١٠ درصد مخلوط شدند. به مخلوط حاصل پس از شش دقیقه، دو میلی‌لیتر کربنات سدیم ٧/٥ درصد اضافه شد. میزان جذب مخلوط واکنش، پس از ٩٠ دقیقه نگهداری در شرایط بدون نور در طول موج ٧٦٥ نانومتر به وسیله دستگاه طیف سنج (Unico, USA) اندازه‌گیری شد. در نهایت مقدار فنل کل از روی منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم اکی‌والان اسید گالیک در یک گرم ماده خشک بیان شد. درصد رقیق‌کردن نیز، در محاسبات منظور گردید.

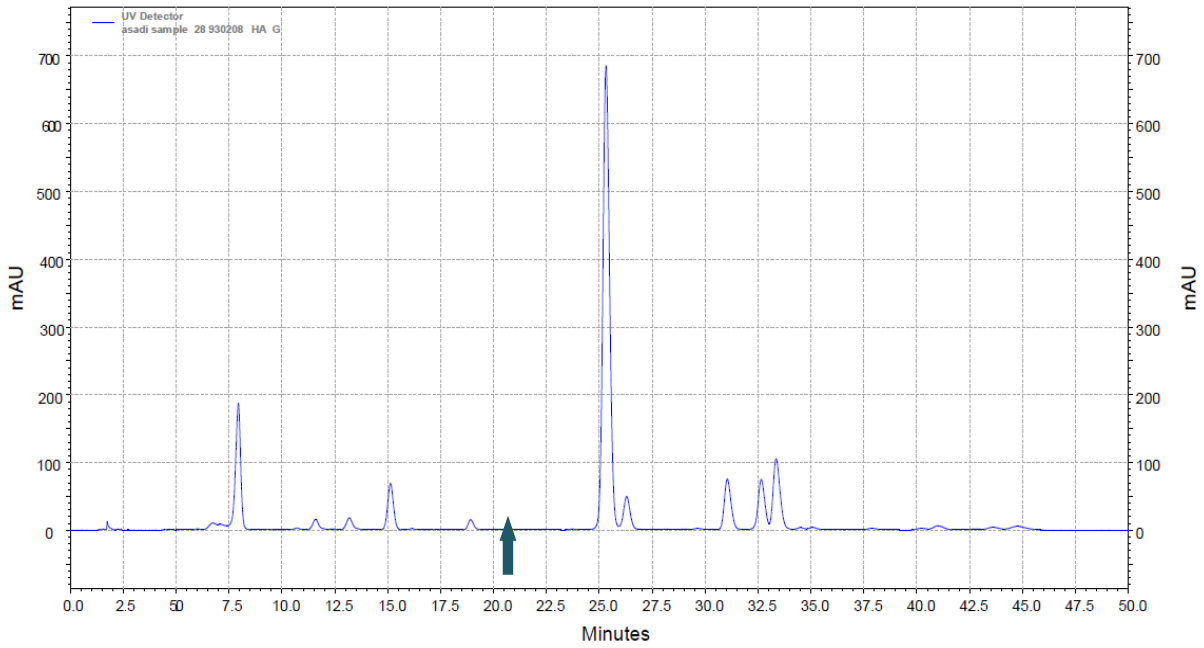
ارزیابی فلاونوئید کل ریشه: مقدار فلاونوئید کل با روش کالریمتری آلومینیوم کلراید اندازه‌گیری شد (Du *et al.*, 2009). ابتدا به ١٥٠ میکرولیتر عصاره استخراج‌شده به‌ترتیب ١٧٠٠ میکرولیتر اتانول ٣٠ درصد، ١٥٠ میکرولیتر نیتریت سدیم ٠/٥

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]



شکل ۱- کروماتوگرام اسید شیکوریک در نمونه استاندارد



شکل ۲- کروماتوگرام اسید شیکوریک در نمونه استخراج شده از ریشه سرخارگل‌ها تحت تیمار برهم‌کنش تاریخ کشت ۱۸ خرداد و تراکم ۱۵ بوته در متر مربع

میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۰/۳ میلی‌مولار اضافه و بلافاصله به‌هم زده شد. پس از گذشت پنج دقیقه، ۱۰۰ میکرولیتر محلول هیدروکسید سدیم یک میلی‌مولار اضافه شد. پس از ۱۵-۱۰ دقیقه، مقدار جذب با دستگاه طیف سنج در طول موج ۵۰۶ نانومتر ثبت شد. درنهایت محتوای فلاونوئید کل با استفاده از رسم منحنی استاندارد کوئرستین برحسب میلی‌گرم کوئرستین در گرم ماده خشک محاسبه و بیان شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]

ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه: ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ریشه، از راه خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH (۲-۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) با استفاده از روش طیف سنجی تعیین شد (Brand-William *et al*., 1995). برای این منظور، به ۵۰ میکرولیتر عصاره استخراج‌شده نمونه‌ها، ۹۵۰ میکرولیتر محلول DPPH اضافه شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شد. سپس، مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

رابطه (۱):

$$\%DPPH_{sc} = (A_{cont} - A_{samp}) / A_{cont} \times 100$$

برای تجزیه آماری داده‌ها، از نرم‌افزار SAS نسخه ۹ SAS (Institute, 2002) استفاده شد. مقایسه میانگین تیمارها، با آزمون LSD و در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند و نمودارها، با نرم‌افزار SigmaPlot نسخه ۱۲ رسم شدند.

نتایج:

عمق نفوذ ریشه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش تاریخ کاشت و تراکم بوته بر عمق نفوذ ریشه سرخارگل تأثیر معنی‌داری (P<۰/۰۵) داشته است (جدول ۳). برش‌دهی این برهم‌کنش به وسیله تراکم بوته روشن کرد که این برهم‌کنش در همه‌ی تاریخ کشت‌ها بسیار معنی‌دار بوده است (جدول ٤). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در همه‌ی تاریخ‌های کشت، تراکم بالاتر منجر به عمق نفوذ بیش‌تر شده است (شکل ۳). بیش‌ترین عمق نفوذ (۲۹/۳ سانتی‌متر) در سرخارگل‌هایی ثبت شد که در میانه‌های فصل بهار (۱۹ اردیبهشت ماه) و در بالاترین تراکم کشت شدند (شکل ۳). این عمق (۲۹/۳ سانتی‌متر)، حدود ٦٥ درصد بیش‌تر از کم‌ترین عمق نفوذی با میانگین ۱۷/۸ سانتی‌متر بود که در تاریخ کشت ۱۸ خرداد و تراکم هفت بوته در متر مربع به‌دست آمد (شکل ۳).

حجم ریشه: تجزیه واریانس داده‌های حجم ریشه نشان داد که این ویژگی تحت تأثیر معنی‌دار برهم‌کنش تاریخ و تراکم کاشت قرار گرفته است (جدول ۳). نتایج برش‌دهی این اثر با تراکم بوته گویای این است که تراکم کاشت در همه‌ی تاریخ‌های کشت تأثیر بسیار معنی‌داری بر حجم ریشه بوته‌ها داشته است (جدول ٤). مقایسه میانگین‌های این ویژگی نشان داد که با تأخیر در کاشت و هم‌چنین، با کاهش تراکم بوته، حجم ریشه‌ها افزایش یافته است (شکل ٤) که با نتایج عمق نفوذ ریشه تفاوت دارد. بیش‌ترین حجم ریشه (۹۸/٤ سانتی‌متر مکعب) در کرت‌هایی به‌دست آمد که سرخارگل در آن‌ها در تاریخ کشت ۱۸ خرداد با تراکم هفت بوته در متر مربع کشت شدند (شکل ٤). کم‌ترین حجم ریشه با میانگین ۲۲/۵ سانتی متر مکعب از کشت سرخارگل در ۲۰ فرودین ماه و تراکم ١٦ بوته در متر مربع حاصل شد که نسبت به بیشینه میانگین عدد حجم، حدود ۷۷ درصد کاهش داشت (شکل ٤).

ماده خشک ریشه: تأثیر برهم‌کنش تاریخ و تراکم کاشت بر ماده خشک ریشه بسیار معنی‌دار (P<۰/۰۱) بود (جدول ۳). برش‌دهی این برهم‌کنش‌ها به وسیله تراکم بوته نشان داد که در همه‌ی تاریخ‌های کاشت، سطوح تراکم بوته منجر به ایجاد اختلاف معنی‌دار در ماده خشک ریشه‌ها شده است (جدول ٤). بر اساس مقایسه میانگین داده‌های برهم‌کنش تاریخ کاشت و تراکم بوته، اگرچه تأخیر در کاشت در همه‌ی تراکم‌ها منجر به افزایش انباشت ماده خشک در ریشه‌ها شد، ولی افزایش تراکم اثر معکوس داشت (شکل ۵). به بیان دیگر، بیش‌ترین ماده خشک ریشه (۳۹/۱ گرم در بوته) در کرت‌هایی به‌دست آمد که دیرتر ولی با فاصله کشت بیش‌تر (تراکم هفت بوته در متر مربع) کشت شده بودند (شکل ۵). این روند بر خلاف روند انباشت ماده خشک شاخساره بود (داده‌ها نشان داده نشده‌اند).

ماده خشک کل (ریشه + شاخساره): در این آزمایش، ماده خشک کل گیاه (مجموع ماده خشک اندام‌های هوایی و زیرزمینی سرخارگل) تحت تأثیر معنی‌دار برهم‌کنش تاریخ و تراکم کاشت بوته‌ها در سطح آماری یک درصد قرار گرفت (جدول ۳). برش‌دهی این برهم‌کنش‌ها به وسیله تراکم بوته نشان داد که در همه‌ی تاریخ‌های کشت، سطوح تراکم بوته

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای آزمایشی بر ویژگی‌های مورد مطالعه

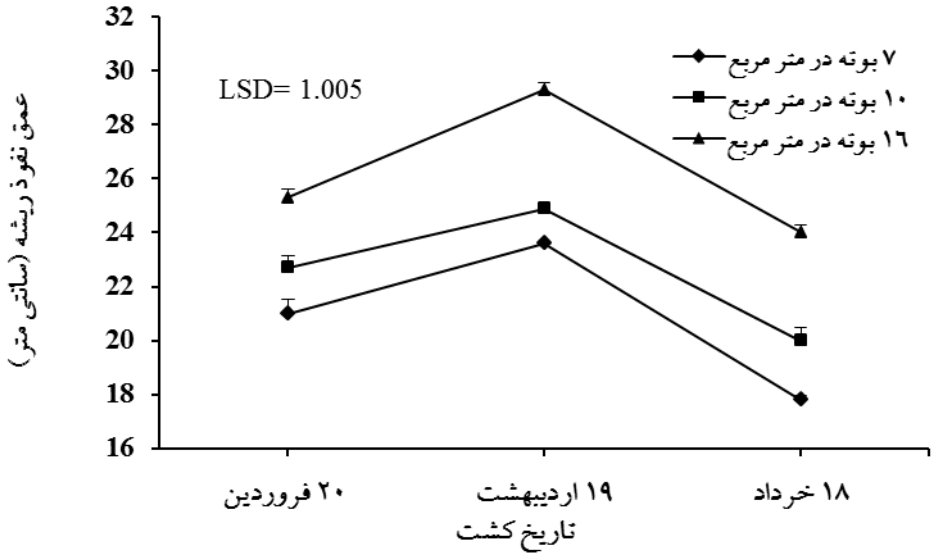
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		عمق نفوذ ریشه	حجم ریشه	ماده خشک ریشه	ماده خشک کل	نسبت ماده خشک ریشه به شاخساره	اسید شیکوریک ریشه	فنل کل ریشه	فلاونوئید کل ریشه	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه
تکرار	۲	۰/۲۲۸ns	۱۴/۱ns	۱/۱۴ns	۱/۷۱ns	۰/۰۰۱ns	۲/۱۷ns	۰/۷۴۰ns	۰/۹۷۸ns	۰/۰۰۰۱ns
تاریخ کشت	۲	۶۲/۶**	۳۴۴۹/۸**	۳۴۳/۱**	۱۳۱۲/۳**	۰/۵۰۹**	۵۰/۶**	۱۳۶/۲**	۱/۱۹*	۰/۰۰۵**
خطای عامل اصلی	۴	۰/۶۴۳	۴۴/۵	۰/۳۴۱	۱۸/۱	۰/۰۰۲	۱/۶۵	۱/۱۵	۰/۶۱۲	۰/۰۰۰۱
تراکم بوته	۲	۶۸/۱**	۳۸۱۱/۵**	۷۷۳/۲**	۷۵۹۵/۸**	۰/۴۱۱**	۱۷۹/۴**	۶۹/۱**	۳/۵۱**	۰/۰۱۳**
تاریخ کشت×تراکم بوته	۴	۰/۹۷۳*	۱۶۸/۸**	۱۴/۸**	۱۶۲/۶**	۰/۰۵۵**	۱۳/۵**	۲۰/۵**	۱/۲۲*	۰/۰۰۳**
خطای کل	۱۲	۰/۲۳۶	۱۹/۸	۱/۴۱	۲۶/۲	۰/۰۰۰۸	۱/۳۳	۰/۴۴۴	۰/۲۹۹	۰/۰۰۰۰۷
ضریب تغییرات (درصد)	-	۶/۱	۸/۳	۵/۷	۸/۵	۷/۵	۹/۷	۲/۷	۵/۱	۱/۱

Ns= عدم تفاوت معنی‌دار، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

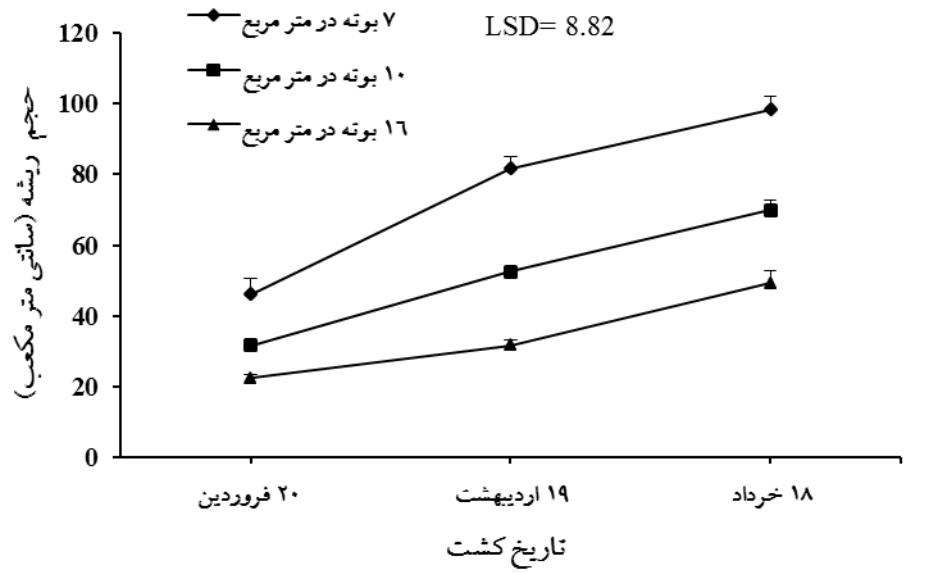
جدول ۴- برش‌دهی برهم‌کنش تیمارهای تاریخ کشت × تراکم بوته با استفاده از تراکم بوته

تراکم کاشت (بوته در متر مربع)	درجه آزادی	عمق نفوذ ریشه	حجم ریشه	ماده خشک ریشه	ماده خشک کل	نسبت ماده خشک ریشه به شاخساره	اسید شیکوریک ریشه	فنل کل ریشه	فلاونوئید کل ریشه	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه
		Pr>F								
۷	۲	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۶۶ns	<۰/۰۰۰۱
۱۰	۲	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۸۷۴ns	<۰/۰۰۰۱	۰/۴۶۰ns	<۰/۰۰۰۱
۱۶	۲	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۹	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]



شکل ۳- برهم‌کنش تاریخ کاشت و تراکم بوته بر عمق نفوذ ریشه در مرحله گل‌دهی کامل سرخارگل

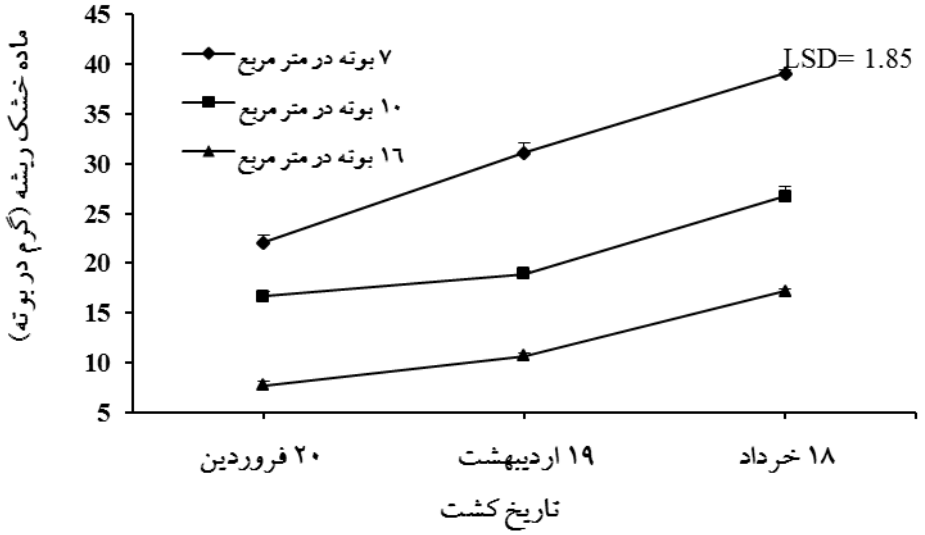


شکل ٤- برهم‌کنش تاریخ کاشت و تراکم بوته بر حجم ریشه در مرحله گل‌دهی کامل سرخارگل

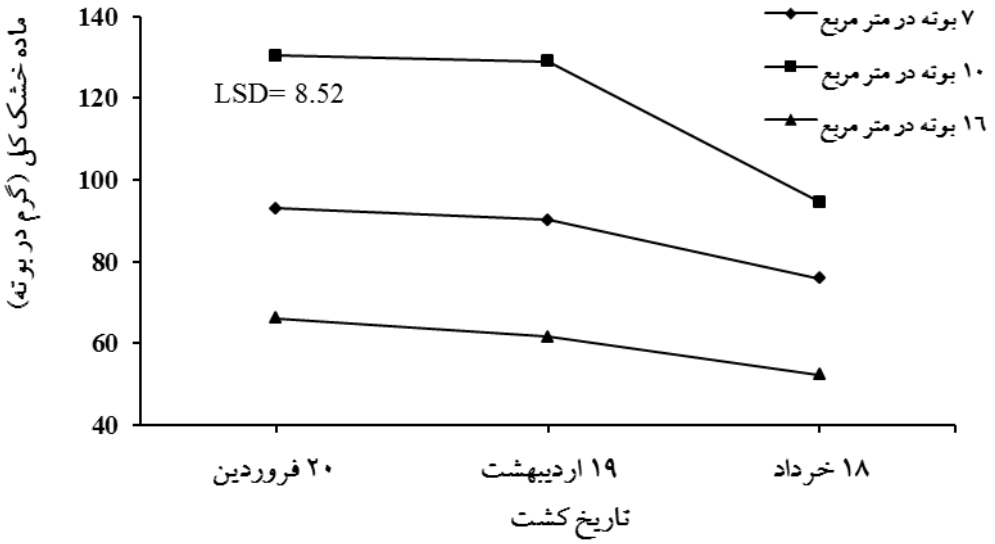
منجر به ایجاد اختلاف بسیار معنی‌دار در ماده خشک کل بوته شده است به‌جز، تراکم ١٦ بوته در متر مربع که در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ٤). مقایسه میانگین‌های ماده خشک کل در بوته نشان داد که کشت تأخیری در همه‌ی تراکم‌ها سبب کاهش ماده خشک بوته می‌شود (شکل ٦). با این‌حال، بیش‌ترین ماده خشک کل بوته (١٣٠/٥ گرم در بوته) در همه‌ی تاریخ‌ها در تراکم ١٠ بوته در متر مربع به‌دست آمد که نشان می‌دهد احتمالاً این تراکم از نظر تولید ماده خشک کل بوته، تراکمی بهینه است (شکل ٦). در حالی‌که، کم‌ترین مقدار ماده خشک کل بوته (٥٢/٤ گرم در بوته) در گیاهانی به‌دست آمد که در تراکم ١٦ بوته در متر مربع کشت شدند (شکل ٦).

نسبت ماده خشک ریشه به شاخساره: بر اساس نتایج پژوهش حاضر، نسبت ماده خشک ریشه به شاخساره سرخاگل‌ها هم، تحت تأثیر برهم‌کنش معنی‌دار تاریخ کشت و تراکم بوته قرار گرفت (جدول ٣). برش‌دهی برهم‌کنش‌ها به‌وسیله تراکم بوته نشان داد که در بین تاریخ‌های کاشت،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]



شکل ۵- برهم‌کنش تاریخ کاشت و تراکم بوته بر ماده خشک ریشه در مرحله گل‌دهی کامل سرخارگل

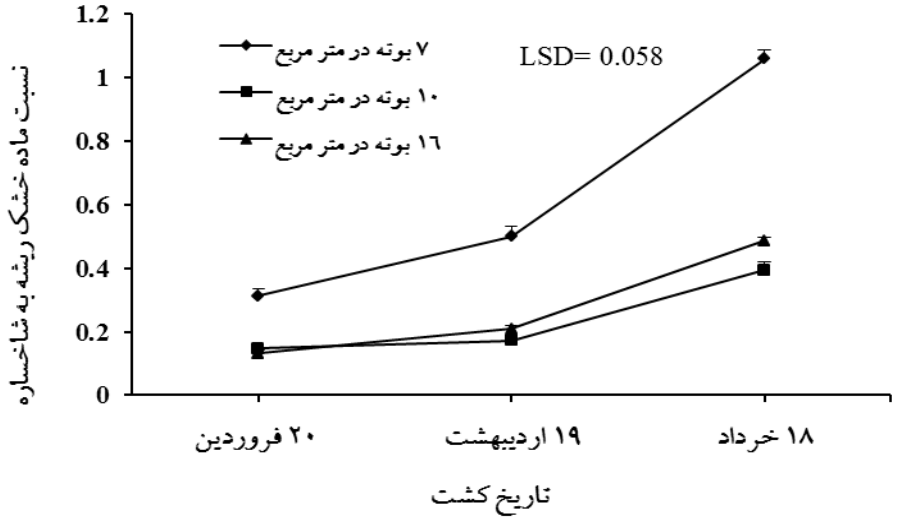


شکل ٦- برهم‌کنش تاریخ کاشت و تراکم بوته بر ماده خشک کل در واحد بوته در مرحله گل‌دهی کامل سرخارگل

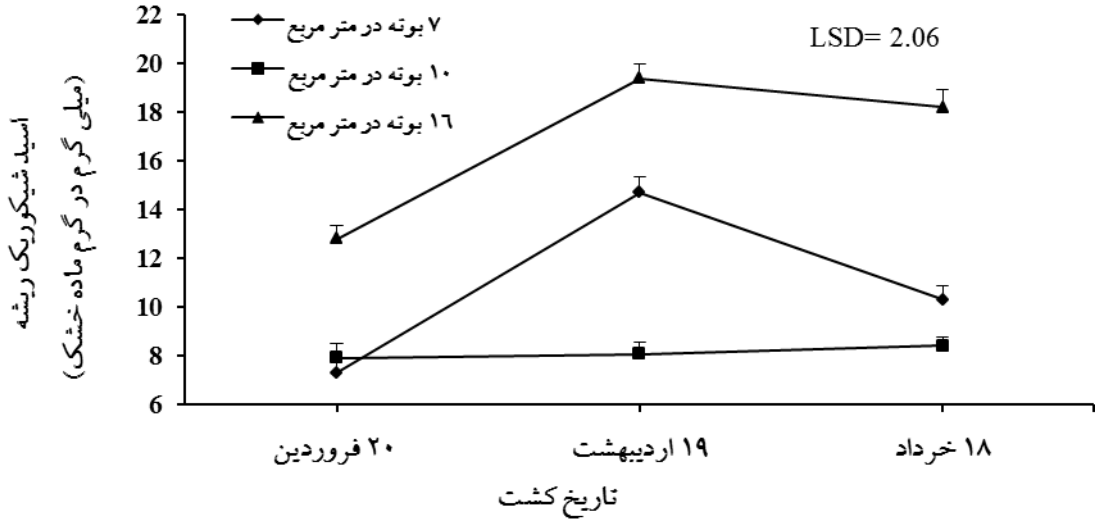
تراکم بوته منجر به ایجاد اختلاف بسیار معنی‌دار بر این اثر شده است (جدول ٤). بیش‌ترین نسبت ماده خشک ریشه به شاخساره سرخاگل‌ها، ۱/۰٦ محاسبه شد که هم‌راستا با نتایج ماده خشک ریشه در کرت‌هایی به‌دست آمد که گیاهان با تأخیر در خرداد ماه و با تراکم هفت بوته در متر مربع نشاکاری شدند (شکل ۷). در روند معکوس با این تیمار یعنی با کشت زود سرخارگل‌ها در ۲۰ فروردین و تراکم ۱٦ بوته در متر مربع، کم‌ترین نسبت ماده خشک ریشه به شاخساره محاسبه شد که ۰/۱۳ بود (شکل ۷).

اسید شیکوریک ریشه: اثر برهم‌کنش تراکم بوته و تاریخ‌های مختلف کاشت بر مقدار اسید شیکوریک ریشه سرخارگل بسیار معنی‌دار (P<۰/۰۱) بود (جدول ۳). برش‌دهی برهم‌کنش‌ها به وسیله تراکم بوته نشان داد که در همه‌ی تراکم‌های بوته به‌جز تراکم ۱۰ بوته در متر مربع، تاریخ‌های کشت بهاره منجر به ایجاد اختلاف بسیار معنی‌دار بر مقدار اسید شیکوریک ریشه شده است (جدول ٤). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار اسید شیکوریک ریشه با افزایش تراکم بوته در همه‌ی تاریخ‌های کشت بیش‌ترین مقدار بوده است به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]



شکل ۷- برهم‌کنش تاریخ کاشت و تراکم بوته بر نسبت ماده خشک ریشه به شاخساره در مرحله گل‌دهی کامل سرخارگل

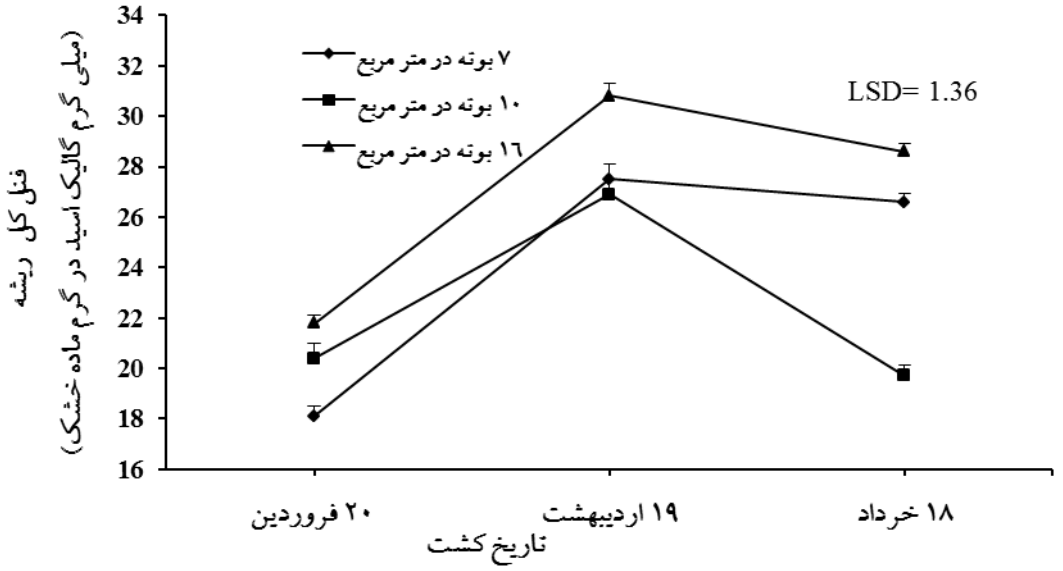


شکل ۸- برهم‌کنش تاریخ کاشت و تراکم بوته بر تغییرات اسید شیکوریک ریشه در مرحله گل‌دهی کامل سرخارگل

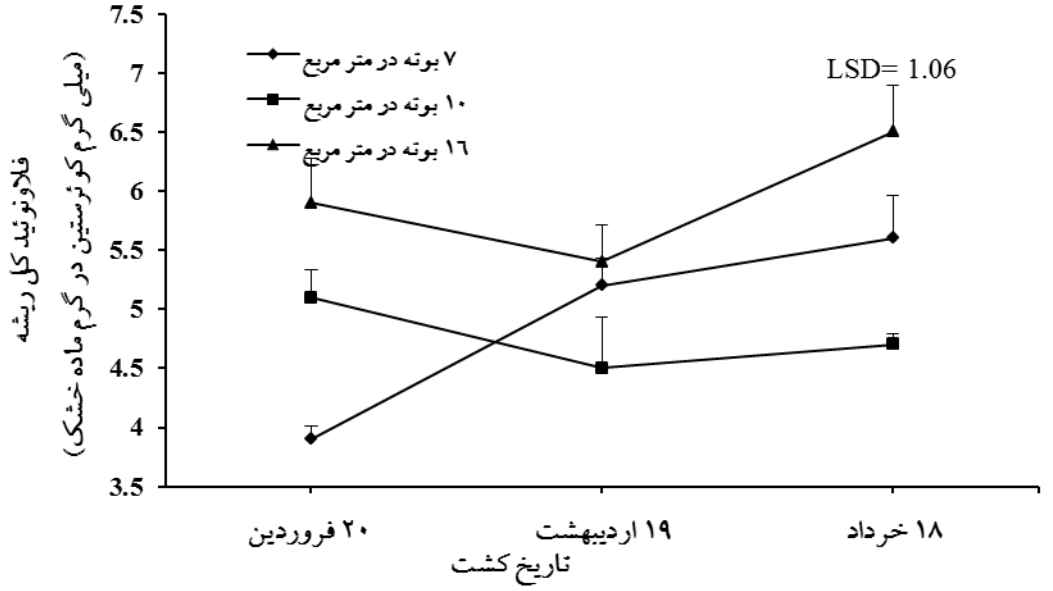
طوری که بیش‌ترین مقدار اسید شیکوریک ریشه با میانگین ۱۹/۵ میلی‌گرم در گرم ماده خشک از تراکم ١٦ بوته در متر مربع و در تاریخ کشت ۱۹ اردیبهشت به‌دست آمد (شکل ۸). کم‌ترین مقدار این ترکیب (۷/۳ میلی‌گرم در گرم ماده خشک) مربوط به تراکم هفت بوته در متر مربع در تاریخ کاشت زودهنگام (۲۰ فروردین) بود که با تیمار تراکم ۱۰ بوته در متر مربع و تاریخ کشت ۲۰ فروردین اختلاف معنی داری نداشت و در یک گروه آماری قرار گرفت (شکل ۸).

فنل کل ریشه: برهم‌کنش تاریخ کاشت و تراکم بوته تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر مقدار فنل کل ریشه سرخارگل داشت (جدول ۳). نتایج برش‌دهی با استفاده از تراکم بوته نشان داد که این اثر در بین تاریخ‌های کشت بسیار معنی‌دار شده است (جدول ٤). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار فنل کل ریشه به عنوان آنتی‌اکسیدان در تاریخ کشت دوم (۱۹ اردیبهشت) در همه‌ی تراکم‌ها بیش‌ترین مقدار بوده است (شکل ۹). بیش‌ترین مقدار فنل کل، ۳۰/۸ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک در تراکم ١٦ بوته در متر مربع و در ۱۹ اردیبهشت ماه به‌دست آمد درحالی‌که کم‌ترین مقدار این ترکیب آنتی‌اکسیدانی (۱۸/۱ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک) مربوط به تراکم هفت بوته در متر مربع در تاریخ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]



شکل ۹- برهم‌کنش تاریخ کاشت و تراکم بوته بر تغییرات فنل کل ریشه در مرحله گل‌دهی کامل سرخارگل



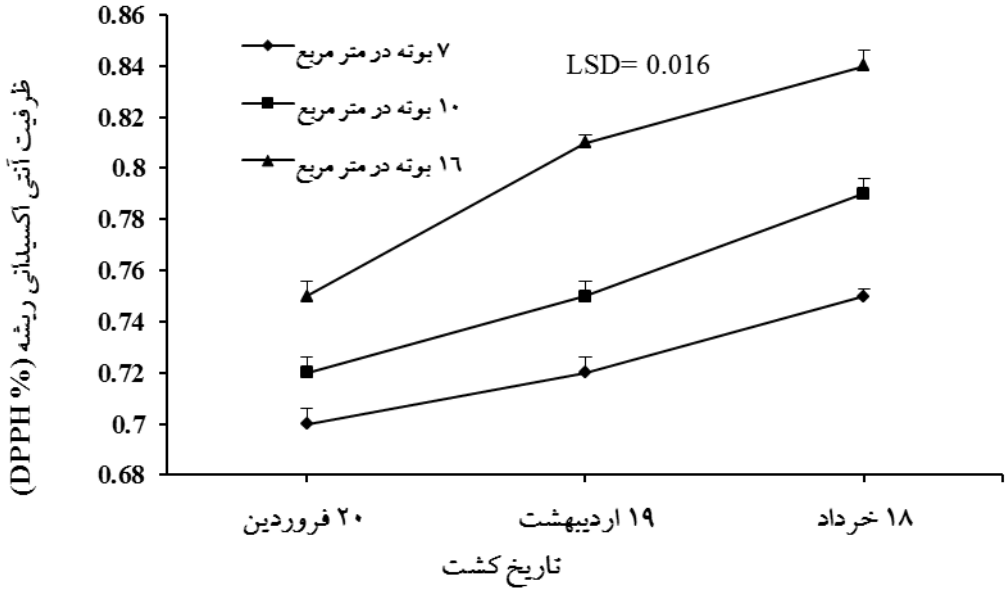
شکل ۱۰- برهم‌کنش تاریخ کاشت و تراکم بوته بر تغییرات فلاونوئید کل ریشه در مرحله گل‌دهی کامل سرخارگل

کاشت ۲۰ فروردین بود (شکل ۹).

فلاونوئید کل ریشه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش تاریخ و تراکم‌های مختلف کاشت بر محتوای فلاونوئید کل ریشه تأثیر بسیار معنی‌داری (P<۰/۰۱) داشته است (جدول ۳). نتایج برش‌دهی با تراکم بوته نشان داد که محتوای فلاونوئید کل ریشه به‌جز در تراکم ۱۶ بوته در متر مربع که در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، در دیگر تراکم‌های کاشت معنی‌دار نشده است (جدول ٤). در بررسی برهم‌کنش‌ها مشاهده شد که کاهش فاصله کشت نشاهای سرخارگل به ۱۵ سانتی‌متر و به بیانی تراکم بیش‌تر (تراکم ۱۶ بوته در متر مربع) توانست موجب افزایش میزان فلاونوئید کل ریشه گیاه سرخارگل‌شود (شکل ۱۰). در این تراکم بوته، بیشینه محتوای فلاونوئید کل با میانگین ٦/٦ میلی‌گرم کوئرستین در گرم ماده خشک در گیاهانی به‌دست آمد که در تاریخ ۱۸ خرداد نشاکاری شدند. کم‌ترین مقدار فلاونوئید با میانگین ۳/۹ میلی‌گرم کوئرستین در گرم بافت خشک از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]



شکل ۱۱- برهم‌کنش تاریخ کاشت و تراکم بوته بر تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه در مرحله گل‌دهی کامل سرخارگل

سرخارگل‌های نشاکاری شده در کشت زودهنگام (۲۰ فروردین) با تراکم کاشت کم‌تر (هفت بوته در متر مربع) به‌دست آمد (شکل ۱۰).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه: در این آزمایش، مقدار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه‌ها تحت تأثیر معنی‌دار برهم‌کنش تاریخ و تراکم کاشت بوته‌ها در سطح آماری یک درصد قرار گرفت (جدول ۳). برش‌دهی این برهم‌کنش با استفاده از تراکم بوته نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه‌ها در همه‌ی تراکم‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شده است (جدول ٤). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در همه‌ی تاریخ‌های کشت، تراکم بیش‌تر منجر به ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیش‌تر ریشه‌ها شده است (شکل ۱۱). بیش‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه (۰/۸٤ درصد) در سرخارگل‌هایی ثبت شد که در کشت تأخیری (۱۸ خرداد ماه) و در بیش‌ترین تراکم کشت شدند. با این‌حال کم‌ترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه‌ها، با کاهش حدود ۱٦/۷ درصدی، متعلق به پایین‌ترین تراکم بوته یعنی هفت بوته در متر مربع و تاریخ کاشت ۲۰ فروردین با میانگین ۰/۷ درصد بود.

بحث:

عملکرد و فعالیت بیولوژیک سرخارگل نه تنها به گونه مورد استفاده، بلکه به محل کشت و کار، قسمت مورد مصرف گیاه (ریشه یا اندام‌های هوایی)، شیوه عصاره‌گیری، مرحله و شرایط رشد و زمان برداشت بستگی دارد (Bauer, 1999; Percival, 2000). در این آزمایش، بیش‌ترین عمق نفوذ ریشه در سرخارگل‌هایی ثبت شد که در بالاترین تراکم، کشت شدند در حالی‌که تأثیر تراکم بالا بر دیگر ویژگی‌های ریشه منفی بوده که درنهایت سبب کاهش عملکرد ریشه در این تراکم شده است (شکل ۳). افزایش عمق نفوذ ریشه سرخارگل‌ها با تراکم بیش‌تر را می‌توان احتمالاً به علت محدودیت دسترسی به آب به سبب افزایش رقابت بین گونه‌ای برای منابع آبی در تراکم بالا، نسبت داد (Berenguer and Faci, 2001). Etoh (۲۰۰۱) تراکم بوته را یکی از عوامل مؤثر در عمق ریشه‌زایی و حجم ریشه دانسته است. از طرفی ثبت بلندترین ریشه‌ها در ۱۹ اردیبهشت ماه نشان داد که نیمه‌ی اردیبهشت، احتمالاً تاریخ کشت مناسبی برای این گیاه است زیرا هم در تاریخ‌های زودتر از آن و هم در کشت تأخیری پس از آن، عمق نفوذ ریشه کاهش یافته است. کمی عمق نفوذ ریشه می‌تواند بر کارایی گیاه در بهره‌وری از حجم خاک در دسترس اثر بگذارد. علی‌رغم بیش‌ترین عمق نفوذ ریشه در اردیبهشت ماه، بیش‌ترین حجم ریشه در ۱۸ خرداد ماه اندازه‌گیری شد (شکل ٤). در مطالعه‌ای،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]

افزایش تراکم سرخارگل به بیش از ۱۰ بوته در متر مربع، حجم تک ریشه را کاهش داد ولی هیچ اثری بر عملکرد کل ریشه پس از سه سال نداشت (Martin and Deo, 1997). در گزارش Aslam (۲۰۰۶) به کاهش حجم ریشه در کاشت دیرهنگام گیاهان دارویی خانواده چتریان از جمله زیره سبز و رازیانه اشاره شده است که مخالف با نتیجه‌ی این آزمایش بوده است.

در آزمایش حاضر، ماده خشک ریشه افزایش چشم‌گیری در کشت دیرهنگام سرخارگل‌ها در ۱۸ خرداد ماه نسبت به کشت زودهنگام آن‌ها در ۲۰ فروردین ماه داشت (شکل ۵). کاهش ماده خشک ریشه در گیاهان کشت شده در فرودین ماه می‌تواند احتمالاً به دلیل دمای پایین ناشی از دیرتر گرم شدن خاک نسبت به هوا و خنک‌تر بودن دوره رشد رویشی گیاه و تقاضای پایین اتمسفری و در نتیجه، نیاز کم‌تر به ریشه‌های عمیق‌تر و گسترده‌تر برای تامین رطوبت از دست رفته باشد. از سوی دیرگ، گیاهان کشت شده در خرداد ماه با شرایط دمایی و نوری بهتری نسبت به گیاهان کشت شده در فروردین ماه به ویژه در دوره رشد زایشی برخوردار بودند. زیادتر بودن ماده خشک ریشه در تراکم پایین (هفت بوته در متر مربع) هم، می‌تواند به رقابت کم‌تر در این تراکم و احیاناً تسهیم سهم ماده خشک ساقه‌ها به ریشه‌ها ارتباط داده شود. در اولین آزمایش‌های مزرعه‌ای در نیوزیلند که عملکرد ریشه سرخارگل در گستره وسیعی از تراکم‌ها از ۱/۵ بوته تا ٦٥ بوته در متر مربع بررسی شد؛ تغییرات ماده خشک ریشه از ۳۰ گرم در بوته در پایین‌ترین تراکم‌ها تا پنج گرم در بوته در بالاترین تراکم‌ها مشاهده شد (Parmenter and Littlejohn, 1997) که با تغییرات ماده خشک ریشه در این آزمایش (۳۹/۱ گرم در بوته در تراکم پایین هفت بوته در متر مربع تا ۷/۷ گرم در بوته در تراکم زیاد ١٦ بوته در متر مربع) مطابقت داشت (شکل ۵). در مطالعه‌ی دیگری که اثر تراکم کاشت و تغییرات فصل بر رشد و عملکرد سرخارگل مورد بررسی قرار گرفت، تولید بالا و قابل قبول ریشه در سرخارگل‌هایی به‌دست آمد که با تراکم ۱۰ بوته در متر مربع کشت شدند (Callan *et al*., 2005). عملکرد ریشه ٢٢٤ گرم در متر مربع برای تراکم ۷/۹ بوته (Bomme *et al*., 1992) و ٢٤٢ گرم در متر مربع در تراکم ٦/٧ بوته (Parmenter and Littlejohn, 1997) نیز، در برخی پژوهش‌ها گزارش شده است. با این حال، تراکم کشت مناسب برای سرخارگل با توجه به نوع خاک و حاصل‌خیزی آن و هم‌چنین شرایط کشت و سازگاری آن متفاوت می‌باشد (Callan *et al*., 2005).

در این آزمایش، ویژگی‌های رشد ریشه و عملکرد ماده خشک گیاه پاسخ مثبتی به فاصله کاشت نشان دادند. تفاوت‌ها در عملکرد ماده خشک گیاه در مرحله گل‌دهی کامل می‌تواند بین گیاهان کشت‌شده در فاصله ۱۵ سانتی‌متر و آن دسته از گیاهانی که در فاصله ۲۵ یا ۳۵ سانتی‌متر روی ردیف کشت شدند، نشان داده شود. در این مطالعه، ماده خشک کل بوته (شاخساره + ریشه) به‌طور معنی‌داری با افزایش فاصله کشت از ۱۵ به ۲۵ سانتی‌متر روی ردیف افزایش یافت به‌طوری که بیش‌ترین مقدار ماده خشک کل بوته در فاصله کشت ۲۵ سانتی‌متر (تراکم ۱۰ بوته در متر مربع) به‌دست آمد (شکل ٦). تفاوت در مقدار ماده خشک کل در تراکم‌های پایین‌تر و بالاتر می‌تواند احتمالاًبه علت تغییر در ساختار سایه انداز و دسترسی گیاه به منابع رشد در این تراکم‌ها باشد. افزایش ماده خشک کل بوته در فاصله کشت‌های بیش‌تر در برخی گیاهان دارویی ازجمله (گل جعفری آفریقایی؛ *Tagetes erecta*) (Bhati and Chitkara, 1987) و (بادرنجبویه؛ *Melissa officinalis*) (Shalaby *et al*., 1992) نیز، گزارش شده است. در مطالعه‌ای، گستره هفت تراکم کاشت سرخارگل از ۳/۱ تا ۱۸/۹ گیاه در متر مربع در شرق مونتانا مورد بررسی قرار گرفت. در نتایج آن به تولید ماده خشک بالاتر ریشه در جمعیت‌های بسیار متراکم گیاه (بیش از ۱۵ بوته در متر مربع) اشاره شده است (Callan *et al*., 2005). در این مطالعات اگر چه تراکم زیاد توانسته عملکرد ماده خشک کل سرخارگل را افزایش دهد و از رشد علف‌های هرز جلوگیری کند ولی این مزیت با معایبی از جمله گسترش پوسیدگی قارچی اسکلروتینیایی به‌ویژه در خاک‌های سنگین همراه بوده (Parmenter *et al*., 1992) و هزینه نشاکاری، برداشت و تمیزکردن ریشه‌ها را نیز، افزایش داده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]

است (Callan *et al*., 2005).

در این مطالعه، افزایش مقدار اسید شیکوریک ریشه در کشت گیاه سرخارگل در میانه‌های بهار (۱۹ اردیبهشت ماه) احتمالاً می‌تواند به‌علت شرایط دمایی و نور بهتر در طول دوره‌ی رشد گیاه سرخارگل در اواخر بهار و اوایل تابستان و ایجاد فرصت بیش‌تر برای استفاده از منابع رشد برای تولید این ترکیبات باشد. کاهش مقدار این ترکیب در ریشه در تاریخ کشت زودهنگام ۲۰ فروردین، می‌تواند به‌علت جابجاشدن نموی (developmental translocation) این گروه از ترکیبات فنلی از ریشه‌ها به اندام‌های رویشی و یا تغییرات وابسته به زمان و مکان در مسیرهای بیوسنتزی گیاهان این تاریخ کشت باشد (Binns *et al*., 2002). از طرفی، افزایش مقدار اسید شیکوریک در تراکم بالاتر می‌تواند به‌علت رقابت بیش‌تر گیاهان برای دسترسی به منابع رشد و محدودیت منابع (شرایط تنش) در تراکم زیاد باشد. در نمونه‌ای از پژوهش‌های مزرعه‌ای که به بررسی اثرات تراکم و تغییرات فصل بر مقدار اسید شیکوریک در ریشه‌های سرخارگل در نیوزیلند پرداخته شد؛ بیش‌ترین مقدار اسید شیکوریک ریشه در پیش از گل‌دهی سرخارگل‌ها در بهار به‌دست آمد. هم‌چنین در این مطالعه، کاهش اسید شیکوریک ریشه با افزایش تراکم بوته به‌دست آمد (Callan *et al*., 2005) که این نتیجه مغایر با نتیجه آزمایش حاضر است که بیش‌ترین مقدار اسید شیکوریک در تراکم ماکزیمم ۱۶ بوته در متر مربع با ۱/۶ برابر افزایش نسبت به تراکم پایین هفت بوته در متر مربع به‌دست آمد (شکل ۸). هم‌چنین در گزارش Callan و همکاران (۲۰۰۵) آمده است که اگرچه تراکم بالاتر موجب افزایش عملکرد ماده خشک ریشه‌ها می‌شود ولی اندازه ریشه‌ها را کاهش داده و با محدودیت‌هایی از جمله افزایش هزینه نشاکاری، برداشت و تمیزکردن ریشه‌ها مواجه می‌شود. در ریشه سرخارگل‌های رشدیافته در دانمارک نیز، غلظت اسید شیکوریک به بیش‌ترین مقدار خود در اوایل خرداد (اواخر می) رسید و پس از آن تا زمانی‌که گیاهان در گل‌دهی کامل بودند، کاهش نشان داد (Thomsen *et al*., 2012). در تشابه با این مطالعه، Liu و همکاران (۲۰۰۷) در چین به بیش‌ترین غلظت اسید شیکوریک در ریشه‌های یک‌ساله سرخارگل در اواخر بهار دست یافتند و به کاهش مقدار آن در گل‌دهی کامل سرخارگل‌ها در طول تابستان اشاره کردند. با این وجود، مقدار اسید شیکوریک در ریشه‌ها به‌طور معمول از مطالعه‌ای به مطالعه‌ی دیگر بسیار متفاوت است و مقدار آن از ۲/۶۵ تا ۳۰/۶ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک متغیر گزارش شده است (Thomsen *et al*., 2012). در آزمایش حاضر، مقدار اسید شیکوریک ریشه، ۱۹/۵ میلی‌گرم در گرم ماده خشک بود (شکل ۸) که پایین‌تر از مقادیر گزارش‌شده از پژوهش‌های Stuart و Wills (۲۰۰۰) در استرالیا با میانگین ۳۰/۶ میلی‌گرم در گرم ماده خشک و Mølgaard و همکاران (۲۰۰۳) در دانمارک با میانگین ۲۴ میلی‌گرم در گرم ماده خشک به‌دست آمد.

در آزمایش حاضر، کاشت سرخارگل در ۱۹ اردیبهشت در مقایسه با کاشت زودهنگام ۲۰ فروردین ماه موجب افزایش مقدار فنل کل ریشه شد (شکل ۹). افزایش غلظت این ترکیب در برهم‌کنش "تاریخ کاشت ۱۹ اردیبهشت × تراکم ۱۶ بوته در متر مربع" می‌تواند احتمالاً به‌علت افزایش مقدار اسید شیکوریک به عنوان ترکیب غالب فنلی سرخارگل در این برهم‌کنش تیماری باشد که با میانگین ۱۹/۵ میلی‌گرم در گرم ماده خشک توانسته ۶۳ درصد از مقدار فنل کل را تشکیل دهد (شکل ۹). عوامل ایجاد تفاوت‌های گسترده در غلظت ترکیبات فنلی سرخارگل توسط پژوهش‌گران زیادی گزارش شده است (Stuart and Wills, 2000; Binns, 2002; Lin *et al*., 2011; Thomsen *et al*., 2012)؛ آن‌ها به تفاوت در روش‌های استخراج، شیوه‌های مدیریت زراعی از جمله، زمان برداشت، سن گیاه و چگونگی زراعت آن‌ها، مکان رشد گیاه، تراکم کاشت، شرایط خشک‌شدن و ذخیره گیاهان به عنوان دلایل عمده تغییرات در غلظت این ترکیبات اشاره داشتند. همچنین، گزارش شده است که حتی بین واریته‌های زراعی یک گونه سرخارگل هم، از نظر درصد و مقدار ترکیبات فنلی تفاوت وجود دارد (Millauskas *et al*., 2004). با این‌حال، Chen و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که پارامترهای محیطی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]

تأثیرگذار بر تجمع فنل‌ها در سرخارگل، هنوز ناشناخته است. در پژوهش‌های انجام شده بر ریشه‌های یک‌ساله سرخارگل در چین (Liu *et al.*, 2007) و دانمارک (Thomsen *et al.*, 2012)، بیش‌ترین غلظت ترکیبات فنلی در بهار به‌دست آمد. در حالی‌که، نتایج Chen و همکاران (۲۰۰۸) در تایوان نشان داد که سرخارگل‌های رشدیافته در پاییز، ترکیبات فنلی بیش‌تری نسبت به سرخارگل‌های رشدیافته در بهار داشتند. با توجه به مشاهدات آن‌ها، زراعتی برای سرخارگل سودمند و کارآمد می‌باشد که گیاه بتواند رشد خود را در تابستان به پایان برساند، اندام‌های هوایی آن در پاییز در آذر ماه برداشت شود و به گیاه فرصت بازرویش از ریزوم در بهار بعدی داده شود و پس از آن زمین با گیاهچه‌های جدید جایگزین شود (Chen *et al.*, 2008). در حالی‌که kreft (۲۰۰۵) در مطالعه خود شخم ریشه‌های سرخارگل را هر سه سال توصیه کرده است. در شرایط مطالعه حاضر، مقدار فنل کل ریشه سرخارگل، ۳۰/۸ میلی‌گرم در گرم ماده خشک در مقدار ماکزیمم آن به‌دست آمد (شکل ۹) که کم‌تر از مقدار فنل کل هر یک از اندام‌های هوایی اندازه‌گیری شد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند).

فلاونوئیدها، گروه بزرگی از ترکیبات طبیعی هستند که با ساختار C6-C3-C6 با جایگاه‌های متفاوت مشخص شده‌اند. غلظت فلاونوئیدها در اندام‌های مختلف سرخارگل نسبتاً پایین گزارش شده است (Pellati *et al.*, 2004)؛ در آزمایش حاضر نیز، مقدار فلاونوئیدها در همه‌ی اندام‌های سرخارگل نسبتاً پایین بود (داده‌ها نشان داده نشده‌اند) و کم‌ترین مقدار در ریشه‌ها اندازه‌گیری شد. با این وجود، افزایش غلظت فلاونوئیدها در ریشه سرخارگل‌های کشت شده در ۱۸ خرداد ماه می‌تواند احتمالاً به‌علت رشد فعال ریشه گیاه در شرایط دمایی و رطوبتی خاک در تابستان باشد (Thygesen *et al.*, 2007) که احتمالاً برای گسترش ترکیبات فنلی متفاوت در سرخارگل مناسب و مزیت‌بخش است. از طرفی افزایش محتوای فلاونوئید ریشه در تراکم ۱۶ بوته در متر مربع هم، می‌تواند به‌علت رقابت بیش‌تر گیاهان برای دسترسی به منابع رشد و محدودیت منابع در تراکم بالاتر باشد (شکل ۱۰).

افزایش غلظت ترکیب‌های فنلی، مقدار توانایی عصاره‌های مختلف در مهار رادیکال‌های آزاد را به‌طور مستقیم افزایش می‌دهد. در غلظت‌های بالاتر ترکیب‌های فنلی، به‌دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد. به‌طوری که تفاوت مشاهده‌شده بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها را می‌توان به تفاوت در مقدار ترکیب‌های فنلی و پلی‌فنلی آن‌ها نسبت داد (Bai *et al.*, 2010). در مطالعه حاضر، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه در برهم‌کنش تیماری کشت تأخیری خرداد ماه × تراکم ۱۶ بوته در متر مربع (شکل ۱۱) می‌تواند احتمالاً به‌علت افزایش فلاونوئیدها (شکل ۱۰) در این تیمار باشد. Pellati و همکاران (۲۰۰٤) گزارش کردند که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرخارگل می‌تواند به مقدار فنل کل، فلاونوئید کل و اسید شیکوریک به عنوان ترکیب غالب فنل‌های کافئول، مربوط باشد. Thygesen و همکاران (۲۰۰۷) هم، محتوای فنلی و پلی فنلی استخراج‌شده از اندام‌های هوایی سرخارگل را از آنتی‌اکسیدان‌های کارآمد برای درمان انواع مختلف بیماری پیشنهاد کردند. با این‌حال، دلیل نتایج مختلف در ارتباط با ظرفیت نسبی حذف رادیکال‌های آزاد ممکن است تنها به ترکیبات شیمیایی آن نسبت داده نشود بلکه، به شیوه‌های مختلف استفاده شده در آزمون فعالیت جاروکنندگی رادیکال آزاد نیز، مرتبط باشد (Bai *et al.*, 2010).

نتیجه‌گیری کلی:

در کل، نتایج این آزمایش نشان داد که با تغییر مدیریت زراعی از راه تغییر تاریخ کاشت و تراکم بوته می‌توان ویژگی‌های رشد، ترکیبات فنلی و تولید ریشه سرخارگل را در مرحله گل‌دهی کامل تغییر داد. با توجه به نتایج این آزمایش، می‌توان چنین استنباط کرد که احتمالاً کاشت دیرهنگام سرخارگل در بهار (۱۸ خرداد) برای تولید بیش‌تر ماده خشک، مقدار فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه و تاریخ کاشت میانه ۱۹ اردیبهشت برای تولید بیش‌تر اسید شیکوریک و فنل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]

کل در ریشه‌های سرخارگل در شرایط این آزمایش، مناسب است. هم‌چنین، تراکم پایین هفت بوته در متر مربع منجر به افزایش تولید ماده خشک ریشه و کاهش مقدار اسید شیکوریک، محتوای فنل و فلاونوئید کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ریشه سرخارگل‌ها شد.

تشکر و قدردانی:

بدین‌وسیله از حمایت و مساعدت مالی دانشگاه گیلان و پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، جهت اجرای این پژوهش سپاس‌گزاری می‌شود.

منابع:

Aslam, M. (2006) Guidelines for Cultivation, Collection, Conservation and Propagation of Medicinal Herbs. Introduction of Medicinal Herbs and Spices, Crop Ministry of Food, Agriculture and Livestock, Islamabad. Pp. 129

Bai, N., He, K., Roller, M., Lai, C. S., Shao, X., Pan, M. H. and Ho, C. T. (2010) Flavonoids and phenolic compounds from Rosmarinus officinalis. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58: 5363-5367.

Bauer, R. (1999) Chemistry, analysis and immunological investigations of *Echinacea* phytopharmaceuticals. In: Immunomodulatory agents from plants (ed. Wagner, H.) Pp. 41-88. Birkhauser Venag, Basel, Switzerland.

Berenguer, M. J. and Faci, J. M. (2001) Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) yield compensation processes under different plant densities and variable water supply. European Journal of Agronomy 15: 43-55.

Bhati, R. S. and Chitkara, S. D. (1987) Effect of pinching and planting distance on the growth and yield of marigold (*Tagetes erecta*). Research and Development Reports 4: 159-164.

Binns, S. E., Livesey, J. F., Arnason, J. T. and Baum, B. R. (2002) Phytochemical variation in *echinacea* from roots and flowerheads of wild and cultivated populations. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 3673-3687.

Blumenthal, M., Lindstrom, A., Lynch, M. E. and Rea, P. (2011) Herb sales continue growth–up 3.3 % in 2010. HerbalGram 90: 64-67.

Bomme, U., Hölzl, J., Heßler, C. and Stahn, T. (1992) Wie beeinflut die sorte wirkstoffgehalt undertrag von *Echinacea purpurea* (L.) Moench imhinblick auf die pharmazeutische nutzung? 2. Mitt.: Ergebnisse des zweiten standjahres undgesamtbeurteilung. Landwirtschaftliches jarhuch 69: 323-342.

Bone, K. (1997) *Echinacea*: what makes it work? Alternative Medicine Review 2: 87-93.

Brand-Williams, W., Cuvelier M. E. and Berset. C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant capacity. Food Science and Technology 28: 25-30.

Callan, N. W., Yokelson, T., Wall-MacLane, S., Westcott, M. P., Miller, J. B. and Ponder, G. (2005) Seasonal trends and plant density effects on cichoric acid in *Echinacea purpurea* (L.) Moench. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants 11: 35-46.

Cech, N. B., Eleazer, M. S., Shoffner, L. T., Crosswhite, M. R., Davisand, A. C. and Mortenson, A. M. (2006) High performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry for simultaneous analysis of alkamides and caffeic acid derivatives from *Echinacea purpurea* extracts. Journal of Chromatography A 1103: 219-228.

Chen, C. L., Zhang, S. C. and Sung, J. M. (2008) Biomass and caffeol phenols production of *Echinacea purpurea* grown in Taiwan. Journal of Experimental Agriculture 44: 497-507.

Coffelt, T. A., Nakayama, F. S., Ray, D. T., Cornish, K., McMahan, C. M. and Williams, C. F. (2009) Plant population, planting date, and germplasm effects on guayule latex, rubber, and resin yields. Industrial Crops and Products 29: 255-260.

Curir, P., VanSumere, C. F., Termini, A., Barthe, P., Marchesini, A. and Dolci, M. (1990) Flavonoeid accumulation is correlated with adventitious root formation in *Eucalyptus gunnii*. Hook micropropagated through axillary bud stimulation. Plant Physiology 92: 1148–1153.

Dalby-Brown, L., Barsett, H., Landbo, A. R., Meyer A. S. and Molgaard, P. (2005) Synergistic antioxidative effects of alkamides, caffeic acid derivatives, and polysaccharide fractions from *Echinacea purpurea* on in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 9413-9423.

Du, G., Li, M., Ma, F. and Liang, D. (2009) Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in actinidia fruits. Food Chemistry 113: 557–562.

Duff Sloley, B., Urichuk, L. J., Tywin, C., Coutts, R. T. P., Pang, K. T. and Shan, J. J. (2001) Comparison of chemical components and antioxidant capacity of different *Echinacea* species. Journal of Pharmacy and Pharmacology 53: 849-857.

Etoh, T. (2001) True seed garlic. Acta Horticulture 12: 433-437.

Hara, M., Kiefer, D., Farrell, K. and Kemper, K. (1998) A review of 12 Commonly used medicinal herbs. Archives of Family Medicine 7: 523-35.

Hobbs, C. B. (1989) The *Echinacea* Handbook. Botanica Press, Capitola. Pp. 118.

Hu, C. and Kitts, D. D. (2000) Studies on the antioxidant of *Echinacea* root extract. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48: 1466-1472.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]

Egypt. Effect of fertilization, spacing, and planting season. Acta Horticulture 331: 115-120.

Shalaby, A. S., El-Gengaihi, S. E., Agina, E. A., El-khayat, A. S. and Hendawy, S. F. (1997) Growth and yield of *Echinacea purpurea* L. as influenced by planting density and fertilization. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants 5: 69-76.

Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R. S. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau Reagent. Methods in Enzymology 299: 152-178.

Speroni, E., Govonib, P., Guizzardib, S., Renzullia, C. and Guerra, M. C. (2002) Anti-inflammatory and cicatrizing activity of *Echinacea pallida* Nutt. root extract. Journal of Ethnopharmacology 79: 265-272.

Stanisavijevic, I., Stojicevic, S., Velickovic, D., Veljkovic, V. and Lazic, M. (2009) Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Echinacea* (*Echinacea purpurea* L.) Extracts Obtained by Classical and Ultrasound Extraction. Biotechnology and Bioengineering 17: 478-483.

Stuart, D. L. and Wills, R. B. H. (2000) Alkylamide and cichoric acid levels in *Echinacea purpurea* tissues during plant growth. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants 7: 91–102.

Sun, F., Hayami, S., Ogiri, Y., Haruna, S., Tanaka, K., Yamada, Y., Tokumaru, S. and Kojo, S. (2001) Evaluation of oxidative stress based on lipid hydroperoxide, vitamin C and vitamin E during apoptosis and necrosis caused by thioacetamide in rat liver. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease 1535(2): 186-191.

Thomsen, M. O., Frette, X. C., Christensen, K. B., Christensen, L. P. and Grevsen., K. (2012) Seasonal variations in the concentrations of lipophilic compounds and phenolic acids in the roots of *Echinacea purpurea* and *Echinacea pallid*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60: 12131-12141.

Thygesen, L., Thulin, J., Mortensen, A., Skibsted, L. H. and Molgaard, P. (2007) Antioxidant activity of cichoric acid and alkamides from *Echinacea purpurea* alone and in combination. Food Chemistry 101: 74-81.

Tsai, Y. L., Chiou, S. Y., Chan, K. C., Sung, J. M. and Lin, S. D. (2012) Caffeic acid derivatives, total phenols, antioxidant and antimutagenic activities of *Echinacea purpurea* flower extracts. LWT-Food Science and Technology 46: 169-176.

Wills, R. B. H. and Stuart, D. L. (1999) Alkylamide and cichoric acid levels in *Echinacea purpurea* grown in Australia. Food Chemistry 67: 385-388.

Wu, C. H., Murthy, H. N., Hahn, E. J., Lee, H. L. and Paek, K. Y. 2008. Efficient extraction of caffeic acid derivatives from adventitious roots of *Echinacea purpurea*. Czech Journal of Food Sciences 26: 254–258.

Kreft, S. (2005) Cichoric acid content and biomass production of *Echinacea purpurea* plants cultivated in Slovenia. Pharmaceutical Biology 43: 662-665.

Lin, S. D., Sung, J. M. and Chen, C. L. (2011) Effect of drying and storage conditions on caffeic acid derivatives and total phenolics of *Echinacea Purpurea* grown in Taiwan. Food Chemistry 125: 226-231.

Linde, K., Barrett, B., Bauer, R., Melchart, D. and Woelkart, K. (2009) *Echinaceae* for preventing and treating the common cold. Cochrane Library, Issue 4. Pp. 1-94.

Liu, Y., Zeng, J., Chen, B. and Yao, S. (2007) Investigation of phenolic constituents in *Echinacea purpurea* grown in China. Planta Medica 73: 1600-1605.

Martin, R. J. and Deo, B. (1997) Agronomic influences on the yield of *Echinacea* and *Valerian* in Canterbury Proceedings. Agronomy Society of New Zealand 27: 73-77.

Millauskas, G., Venskutonis, P. R. and Van Beek, T. A. (2004) Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry 85: 231–237.

Mølgaard, 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.

Parmenter, G. A. and Littlejohn, R. P. (1997) Planting density effects on root yield of purple coneflower (*Echinacea purpurea* (L.) Moench.). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 25: 169-175.

Parmenter, G., Burgmans, J., Burton, L., Douglas, M., Follett, J., Gray, G. and Smallfield, B. (1992) Production of the medicinal crops *Valerian* and *Echinacea* in New Zealand. Proceedings of the Agronomy Society of New Zealand 2: 61-65.

Pellati, F., Benvenuti, S., Magro, L., Melegari, M. and Soragni, F. (2004) Analysis of phenolic compounds and radical scavengin activity of *Echinacea* spp. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 35: 289-301.

Percival, S. (2000) Use of *Echinacea* in medicine. Biochemical Pharmacology 50: 155-158.

Rafieiolhossaini, M., Sodaeizadeh, H., Adams, A., De Kimpe, N. and Van Damme, P. (2010) Effects of planting date and seedling age on agro-morphological characteristics, essential oil content and composition of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) grown in Belgium. Industrial Crops and Products 31: 145-152.

Razali, N., Razab, R., Mat Junit, S. and Abdulaziz, A. (2008) Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale* L.). Food Chemistry 111: 38–44.

SAS Institute. (2002) SAS/STAT user's Guide, Release G. 12. SAS Institute Cary. North Carolina. USA.

Shalaby, A. S., El-Gamassy, A., Khattab, M. and El-Gamassy, K. (1992) Cultivation of *Melissa officinalis* in

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-27]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.15.12.5]