فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲٤، شمارهٔ ٤، صفحهٔ ٥٤٠-٥٣٠ (۱۳۸۷)

اثر مقدار اضافی عنصر روی بر میزان تجمع برخی عناصر ضروری و پاسخهای آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی نعناع سبز (*Mentha spicata* L.)

سعید زارع ده‌آبادی۱ و زهرا اسرار۲*

۱- مربی پژوهشی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۲*- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، پست الکترونیک: Zasrar@mail.uk.ac.ir

تاریخ دریافت: اسفند ۸٦ تاریخ اصلاح نهایی: آذر ۱۳۸۷ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۸۷

چکیده

به‌منظور مطالعه تأثیر غلظتهای مختلف عنصر روی بر گیاه نعناع سبز (*Mentha spicata* L.)، گیاه مورد نظر به مدت ۱۲ هفته در اتاق رشد با شرایط کنترل شده کشت شد. سپس میزان پراکسیداسیون لیپیدها، ترکیبهای فنلی، پروتئین کل و غلظت یونهای آهن، روی و منیزیم در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. براساس نتایج بدست آمده محتوای ترکیبهای فنلی مانند فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌های برگ، مقدار پروتئین کل و میزان مالون دآلدهید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در برگها با افزایش غلظت روی در محلول غذایی نسبت به گیاه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. غلظتهای بالای روی در محلول غذایی موجب کاهش تمرکز عنصر آهن در اندام هوایی نسبت به ریشه، کاهش میزان جابجایی این عنصر و تجمع بالای فلز روی در اندام هوایی گیاه شد. به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا در گیاه نعناع را اثبات می‌کند.

واژه‌های کلیدی: *Mentha spicata* L.، آنتوسیانین‌ها، تنش اکسیداتیو، فلاونوئیدها، روی.

مقدمه

فلزات سنگین یا یونهای فلزی سمی به دسته‌ای از فلزات جدول مندلیف گفته می‌شود که چگالی آنها از عنصر آهن (۵/۵ g/cm^3) بیشتر باشد (Prasad & Strzatka, 2002). این ترکیبها اغلب در قالب آلاینده‌های محیطی از جمله آلودگیهای جوی مراکز صنعتی، استفاده افراطی از کودهای کشاورزی و فاضلابهای شهری و صنعتی به‌صورت برگشت‌ناپذیر وارد خاک می‌شوند. در بسیاری از خاکهای اسیدی سراسر دنیا و حدود نیمی از زمینهای زراعی که پتانسیل تولید مواد غذایی دارند، فلزات سنگین به‌عنوان عامل اصلی محدودیت رشد گیاهان می‌باشند (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۷۹). برخی از این فلزات از جمله روی (Zinc) در مقدار کم به‌عنوان میکرومغذی ضروری برای گیاهان محسوب می‌شوند، در حالی که مقدار اضافی آنها در خاک موجب اختلالات متابولیکی و در نهایت بازدارندگی رشد در بیشتر گونه‌های گیاهی می‌شود. فلز روی به‌عنوان فعال‌کننده و کوفاکتور برخی آنزیمهای حیاتی گیاه از جمله کربونیک انیدرازها، دهیدروژنازها، آلکالین فسفاتازها، فسفولیپازها و RNA پلیمرازها در متابولیسم پروتئینها، قندها، اسیدهای نوکلئیک

Archive of SID
www.SID.ir

و چربیها، فتوسنتز گیاه و بیوسنتز اکسین به‌عنوان یک هورمون محرک رشد ایفای نقش می‌کند. با این وجود همچون سایر فلزات سنگین، هنگامی که فلز روی در خاک و در نهایت در بافتهای گیاهی تجمع می‌یابد، با توجه به گونه گیاهی موجب اختلال در برخی فرایندهای متابولیکی گیاه می‌شود (Rion & Alloway, 2004).

پاسخ گیاهان دارویی به عوامل محیطی از جمله ماکروالمانها و میکروالمانها و چگونگی تغییرات فیزیولوژیکی و متابولیکی از جمله مباحثی است که همواره مد نظر محققان بوده است. گیاهان دارویی به‌طور پراکنده در محدوده‌های جغرافیایی گسترده یافت شده و جمع‌آوری و دسترسی به آنها از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نمی‌باشد، بنابراین استفاده از رویشگاههای طبیعی جوابگوی صنایع داروسازی نخواهد بود و چنین استفاده انبوه از گیاهان به‌طور حتم موجبات نابودی آنها را فراهم می‌سازد. از این رو، باید نسبت به کشت این گیاهان در سطوح زراعی و گلخانه‌ای اقدام نمود (نیاکان و همکاران، ۱۳۷۹). در بین گیاهان دارویی گونه‌های موجود در تیره نعناع از اهمیت بالایی برخوردارند. برخی از آنها در زمینه تهیه اسانس مورد استفاده قرار می‌گیرند، عده زیادی از آنها به مصارف تغذیه‌ای می‌رسند و یا گونه‌هایی از آنها به علت دارا بودن گلهای زیبا و معطر، پرورش می‌یابند، از برخی از آنها هم در پزشکی استفاده بعمل می‌آید (امیدبیگی، ۱۳۷۹). در این تحقیق اثر غلظتهای متفاوت فلز روی بر القای تنش اکسیداتیو و میزان تجمع برخی عناصر ضروری در گیاه دارویی نعناع مورد بررسی قرار گرفت. نعناع سبز (*Mentha spicata* L.) گیاهی چند ساله، علفی، پایا و متعلق به خانواده (Labiatae) Lamiaceae با سرشاخه‌های معطر است که مصارف صنعتی و دارویی فراوانی دارد (Choudhury *et al.*, 2006). اندامهای هوایی این گیاهان به‌ویژه برگ و سرشاخه گلدار آنها معطر است و اگر در بین انگشتان فشرده شوند بوی قوی و مطبوع از آنها استشمام می‌شود. از اسانس این گیاه در زمینه تهیه لوازم آرایشی، تهیه داروهای مسکن در درمان تب، سردرد، سرماخوردگی و غیره و در صنایع غذایی به‌عنوان طعم دهنده غذاها و شیرینی‌ها استفاده می‌شود (Diaz Marota *et al.*, 2003).

مواد و روشها

کشت گلدانی

به‌منظور از بین بردن مواد زاید، آلودگیهای احتمالی و عدم رشد بذرهای مزاحم، ورمیکولیت در انکوباتور به مدت ۲ ساعت در ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده و چندین بار با آب مقطر شستشو شد. ریزومهای نعناع سبز (Spearmint) پس از چندین بار شستشو با آب مقطر به گلدانهایی با ابعاد ۱٤×۱۲ سانتی‌متر حاوی ورمیکولیت منتقل شدند. در هر گلدان ۳ عدد ریزوم با طول ٤ سانتی‌متر قرار داده و گلدانها در اتاق رشد با شرایط کنترل شده تحت دوره نوری ۱٦/۸ ساعت (تاریکی/ نور)، دوره دمایی ۲۸/۱۸ درجه سانتی‌گراد (شب/ روز) و رطوبت نسبی ٦۰-۵۰ درصد نگهداری شدند. در طول دو هفته اول گلدانها با آب مقطر و محلول غذایی هوگلند با pH تقریبی ۱± ۵/۷ آبیاری شدند. پس از دو هفته جهت تهیه محلولهایی با غلظتهای متفاوت روی (۰، ۵، ۱۰، ۲۰ و ٤۰ میکرومولار)، به محلول هوگلند با مقدار مناسب نمک سولفات روی ($ZnSO_4, 7H_2o$) اضافه شده و pH محلولها با استفاده از اسیدسولفوریک و سود تنظیم شد. محلولها به‌صورت یک روز در میان به حجم ۵۰ میلی‌لیتر به

Archive of SID

www.SID.ir

گلدانها اضافه شد و در فواصل بین تیمارها به منظور مرطوب نگه‌داشتن خاک و ممانعت از تجمع بیش از حد نمک در گلدان از آب مقطر استفاده می‌شد. پس از ۱۲ هفته پارامترهای مورد نظر به شرح زیر در نمونه‌های گیاهی مورد سنجش قرار گرفتند.

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها

برای سنجش این پارامتر غلظت مالون دآلدهید (MDA) به‌عنوان محصول شاخص واکنش پراکسیداسیون اسیدهای چرب با استفاده از روش Heath و Packer (۱۹٦۸) اندازه‌گیری شد. طبق این روش، ۱ گرم برگ را برداشته و در ٤ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد کاملا ساییده شد. عصاره بدست آمده به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شد، سپس به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی ٤ میلی‌لیتر محلول تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد حاوی تیوباربیتوریک اسید (TBA) اضافه شد. این مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم در حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بلافاصله در یخ سرد قرار داده شد. ماده مورد نظر برای جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر ماده قرمز رنگ TBA–MDA بود و جذب سایر رنگریزه‌های غیر اختصاصی در ٦۰۰ نانومتر از این مقدار کم شد. برای محاسبه غلظت MDA بر حسب مول در گرم برگ تر گیاه از فرمول A= εbc استفاده شد که مقدارε یا ضریب خاموشی آن معادل $mMcm^{-1}$ ۱۵۵بود.

اندازه‌گیری ترکیبهای فنلی

برای تعیین مقدار آنتوسیانین‌ها از روش Wanger (۱۹۷۹) و برای مطالعه میزان فلاونوئیدها از روش مقایسه جذبی استفاده شد (Krizek *et al.*, 1998). برای خواندن جذب‌ها در دامنه‌های مرئی و نامرئی به‌ترتیب از اسپکتوفتومتر Unico2100 مدل A0509089 و اسپکتوفتومتر نوع Uv-Visible استفاده شد.

سنجش پروتئین کل

در روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) اساس کار بر هیدرولیز پروتئینها و واکنش اسیدهای آمینه با معرف فولن و ایجاد کمپلکس‌های رنگی می‌باشد. در این تحقیق پس از انجام مراحل اولیه کار مطابق با روش فوق و بدست آوردن جذب نمونه‌های مورد نظر با استفاده از منحنی استاندارد غلظت پروتئین کل در نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

اندازه‌گیری غلظت یونهای آهن، روی و منیزیوم

جهت سنجش این یونها از روش جذب اتمی استفاده شد (White, 1976). ۰/۵ گرم از نمونه گیاهی خشک را در ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ حل نموده و سوسپانسیون حاصل به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا نمونه بخوبی در اسید حل شود. در پایان، محلولها با آب دیونیزه به حجم رسیده و مقدار جذب آنها با دستگاه جذب اتمی مدل VARIAN SpertrAA-220 خوانده شد. در نهایت با استفاده از منحنی استاندارد مربوط به یونها مقدار آنها تعیین شد.

آنالیز آماری

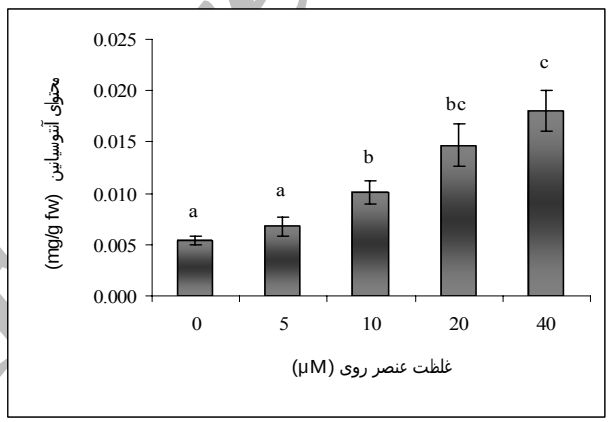
این تحقیق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری PSS. V.9، آزمون ANOVA و نرم‌افزار MSTAT-C، مقایسه میانگینها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵

Archive of SID
www.SID.ir

درصد و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

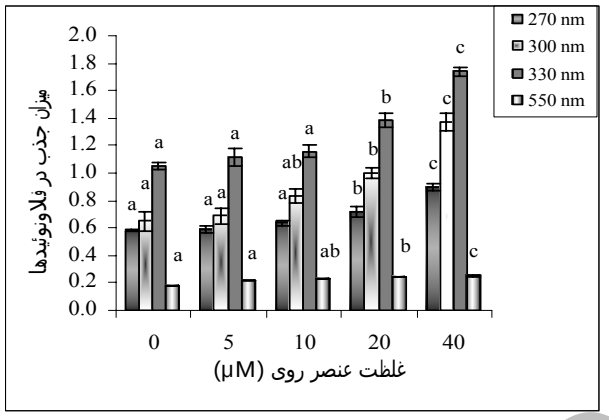
اثرهای فلز سنگین روی بر میزان ترکیبهای فنلی در شکلهای ۱ و ۲ نشان داده شده است. در این تحقیق محتوای ترکیبهای فنلی آنتی‌اکسیدان مانند آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها در برگ با افزایش غلظت روی در محلول غذایی به‌خصوص در تیمار ٤۰ میکرومولار افزایش نشان داد. مقدار پروتئین کل در برگهای نعناع با افزایش غلظت فلز سنگین روی به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد، ولی در غلظتهای بالای این فلز اندکی از مقدار آن کاسته شد (شکل ۳). میزان سنتز ترکیبهای غیرفعال کننده تیوباربیتوریک اسید مانند مالون دآلدهید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و آلدهیدهایی چون پروپانال، بوتانال، هگزانال، هپتانال و غیره تنها در تیمار بالای فلز روی در مقایسه با گیاه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد (شکل ٤). مطابق با شکل ۵ کاربرد روی در سطوح مختلف موجب افزایش تجمع این فلز در بخشهای ریشه‌ای در مقایسه با گیاه کنترل می‌شود. این در حالی است که متناسب با افزایش غلظت این فلز در محلول غذایی میزان غلظت عنصر آهن در اندامهای هوایی کاهش و برعکس در ریشه اندکی افزایش نشان می‌دهد (شکل ٦). همان طور که در شکل ۷ نشان داده شده است، افزایش غلظت فلز روی تأثیر معنی‌داری بر مقدار یون منیزیوم در ریشه و اندامهای هوایی گیاه نعناع نداشته است.



شکل ۱- تغییر محتوای آنتوسیانین‌های برگ در گیاه نعناع تحت تیمار غلظتهای مختلف فلز روی ($p<0.05$)

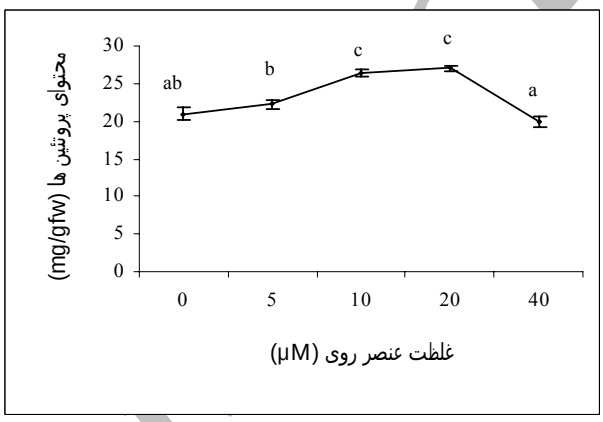
مقدار آنتوسیانین برگ به تبعیت از فلز روی افزایش یافته است. هر عدد میانگین از سه نمونه در سه تکرار می‌باشد.
براساس آزمون دانکن و MSTAT-C حروف متفاوت در روی ستونهای مربوط به یک فاکتور (a, b, c, d) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح معنی‌داری $\alpha=0.05$ می‌باشند.

Archive of SID
www.SID.ir

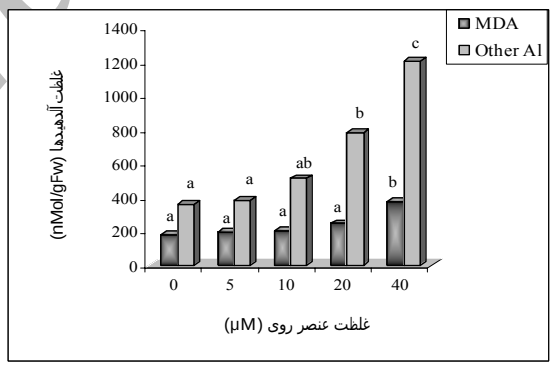


شکل ۲- تأثیر غلظتهای مختلف روی (Zn) بر میزان جذب برخی از فلاونوئیدها در برگ گیاه نعناع (P<0.05)

نتایج براساس میزان جذب گزارش شده است و هر عدد میانگین از سه نمونه در سه تکرار می‌باشد.

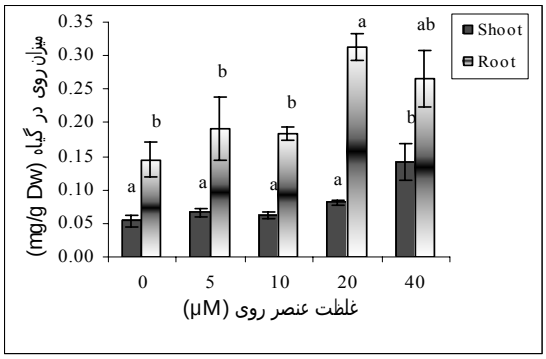


شکل ۳- اثر فلز روی بر محتوای پروتئین کل در برگهای گیاه نعناع (p<0.05)

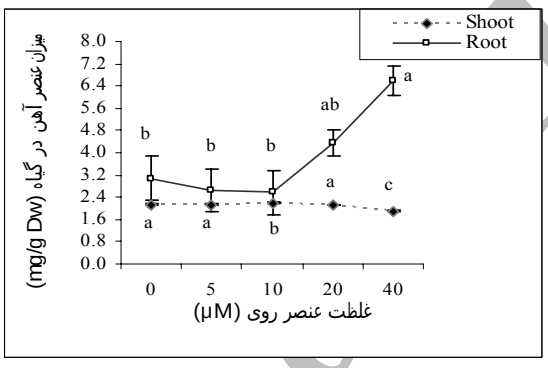


شکل٤- تغییرات محتوای مالون دآلدهید و سایر آلدهیدها در برگهای گیاه نعناع تحت تیمار فلز روی (P<0.05)

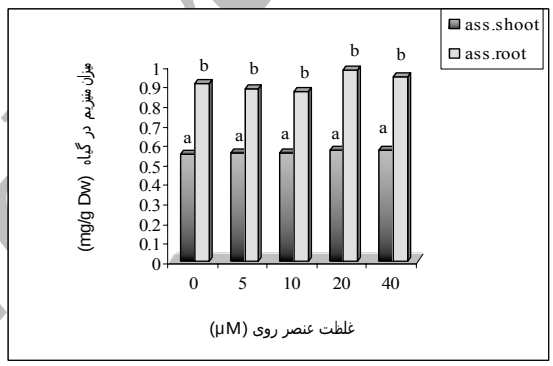
Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۵- تأثیر تیمار فلز روی بر میزان غلظت روی (Zn) در قسمتهای مختلف گیاه نعناع (P<0.05)



شکل ٦- تأثیر تیمار فلز روی بر محتوای آهن (Fe) در قسمتهای مختلف گیاه نعناع (P<0.05)



شکل ۷- تأثیر تیمار فلز روی بر محتوای منیزیوم (Mg) در قسمتهای مختلف گیاه نعناع (P<0.05)

بحث

به‌رغم نقش حیاتی روی در ساختار و راه‌اندازی بسیاری از فرایندهای متابولیکی گیاه، تجمع بالای این فلز در سیتوزول سلولها از طریق اختلال در عملکرد طبیعی سلولها و مهار فرایند تنفس و واکنشهای انرژی‌خواه مرتبط با رشد سلول می‌تواند سبب کاهش رشد و نمو ایده‌آل گیاهان شود (گروه مترجمین انجمن زیست‌شناسی ایران، ۱۳۸٦). گزارشهایی وجود دارد که یونهای فلزی سنگین پس از ورود به گیاه تا

www.SID.ir

زمان القای تشکیل فیتوکلاتین‌ها در اثر فیتوکلاتین سنتتاز در سیتوزول سلولها باقی می‌مانند و این تجمع بالای فلز در سیتوزول باعث مهار برخی از فرایندهای متابولیسمی می‌شود (Bonnet *et al*., 2000).

برخی از محققان معتقدند، فلز روی از طریق تأثیر بر میزان جذب و جابجایی عناصر ضروری و نیز اثر بر میزان فعالیت برخی از آنزیمها در جایگاه عملکردشان موجب اختلال در متابولیسم گیاه می‌شود. Ambler و همکاران (۱۹۷۰) نشان دادند، روی سبب مهار انتقال آهن از ریشه به اندامهای هوایی و القای کلروزگی در گیاه می‌شود. نتایج بدست آمده در این تحقیق نیز نشان می‌دهد که افزایش روی در محلول غذایی منجر به کاهش سطح آهن در اندامهای هوایی و تجمع آن در ریشه گیاه نعناع می‌شود. اثر منفی افزایش فلز روی بر کاهش جذب آهن در گیاه *Mentha arvensis* نیز توسط برخی محققان مورد مطالعه قرارگرفته است. این محققان چنین پیشنهاد کردند که سمیت روی سبب القای علائم کمبود آهن در گیاه می‌شود (Candan & Tarhan, 2003). گزارشی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد افزایش سطح روی در خاک موجب تسریع میزان جابجایی منگنز از ریشه به بخش هوایی و ایجاد کلروزگی در برگها می‌شود. بنابراین شاید دو فلز روی و منگنز مانع عملکرد آهن در برگ در جهت سنتز کلروفیل شوند (Pavlikova *et al*., 2002). در این تحقیق نیز در غلظتهای پایین روی تجمع این عنصر در بخشهای ریشه‌ای گیاه افزایش یافته است (شکل ۵). این نتیجه می‌تواند شاهدی بر این فرضیه باشد که گیاه نعناع از طریق کاهش انتقال فلز روی از ریشه به اندامهای هوایی میزان سمیت این فلز را کاهش می‌دهد. بنابراین براساس این داده‌ها چنین پیشنهاد می‌شود که گیاه نعناع مطابق با تئوری طبقه‌بندی Baker و همکاران (1994) می‌تواند در دسته گیاهان تحمل کننده با استراتژی اجتناب یا منع کنندگی (Excluder) قرار گیرد؛ بدین صورت که این گیاه تا یک سطح بحرانی از غلظت فلز از تجمع آن در اندامهای هوایی جلوگیری نموده و آن را در ریشه نگه‌می‌دارد ولی در مافوق این غلظت بحرانی، میزان تجمع فلز در اندامهای هوایی نیز افزایش پیدا می‌کند.

تأثیر روی بر القای تنش اکسیداتیو و پاسخهای آنتی‌اکسیدانی گیاه نعناع

یکی از مهمترین مکانیسمهای سمیت در گیاهان در حضور فلزات سنگین از جمله روی به‌عنوان عامل تنش‌زای محیطی تشویق تولید رادیکالهای آزاد و ایجاد تنش اکسیداتیو می‌باشد (Tripathi *et al*., 2006). محققان معتقدند اگر فلز روی مشابه با سایر فلزات سنگین در غلظت بالا منجر به سمیت در بافت گیاهی می‌شود، ممکن است به این دلیل باشد که این ترکیب از طریق مهار فرایند انتقال الکترون فتوسنتزی به‌عنوان یک تولید کننده فعال رادیکالهای سمی اکسیژن در سلول عمل می‌کند. فلز روی به‌طور غیر مستقیم نیز از طریق کاهش میزان جذب و جابجایی آهن در گیاه واکنشهای اکسیداتیو را راه‌اندازی می‌کند. یون آهن به‌عنوان گروه پروستتیک هموپروتئینهایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دسموتاز در نابودی رادیکالهای آزاد اکسیژن در گیاه نقش دارد (Alia Prasad & Pardha Sradhi, 1995).

یکی از اختلالات ناشی از القای تنش اکسیداتیو در گیاهان اثر بر لیپیدهای غشایی و تغییر وضعیت تمامیت غشاهای سلولی می‌باشد. رادیکالهای آزاد اکسیژن با اثر بر پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیر اشباع در غشا واکنشهای زنجیره‌ای پراکسیداسیون را تحریک کرده و منجر به تخریب اسیدهای چرب می‌شوند. مقدار مالون دآلدهید

Archive of SID
www.SID.ir

(MDA) که در بافتها تحت شرایط تنش بوجود می‌آید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها شناخته شده است. فلز روی فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز به‌عنوان مهمترین آنزیم مسیر پراکسیداسیون را افزایش داده و از این طریق نیز پراکسیداسیون لیپیدها را تحریک می‌کند (Chaoui *et al.*, 1997؛ Tripathi, 2006). در این تحقیق میزان مالون دآلدهید و سایر آلدهیدهای سلولی مانند پروپانال، بوتانال، هگزانال، هپتانال و پروپانال دی متیل استال در غلظت کم فلز روی تفاوت معنی‌داری با گیاه کنترل نشان نمی‌دهد، ولی غلظتهای سمی این فلز سبب افزایش محتوای این ترکیبها، القای تنش اکسیداتیو و در نهایت پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در گیاه شده است. این نتیجه مؤید این مطلب است که سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه نعناع در غلظت پایین فلز روی توانایی از بین بردن رادیکالهای آزاد را داشته و مانع از خسارتهای اکسیداتیو به گیاه شده است، در حالی که تجمع بالای گونه‌های فعال در غلظتهای بالای روی بر سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه غلبه کرده و پراکسیده شدن لیپیدهای غشایی را افزایش داده است. نتایج بدست آمده در مورد ترکیبهای آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز این فرضیه را تأیید می‌کند.

در حالت طبیعی بین مقدار تولید رادیکالهای آزاد و میزان جاروکردن آنها از سطح سلولی تعادلی وجود دارد که گیاه را در حالت نسبتاً پایدار نگه می‌دارد و تنش اکسیداتیو زمانی بروز پیدا می‌کند که میزان رادیکالها در سلول از مقدار ترکیبهای سمیت‌زدا و آنتی‌اکسیدان تجاوز کند. یکی از مهمترین سیستمهای دفاعی گیاهان برای کنترل و خنثی کردن رادیکالهای آزاد القای سنتز برخی ترکیبهای آنتی‌اکسیدان گیاه مانند آنتوسیانین‌ها، کاروتنوئیدها، آنزیمهای آنتی‌اکسیدان و ترکیبهای فنلی مانند فلاونوئیدها می‌باشد (Pandey *et al.*, 2002). این ترکیبها با رادیکالهای آزاد واکنش داده و با دادن الکترون به این رادیکالهای واکنش‌پذیر آنها را به فرم پایدار خود تبدیل می‌کنند (Asada, 1984). فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها از مهمترین ترکیبهای آنتی‌اکسیدانی هستند. این ترکیبها نه تنها رادیکالهای آزاد را از بین می‌برند بلکه از تولید بیشتر آنها در گیاه نیز جلوگیری می‌کنند. آنتوسیانین‌ها به احتمال زیاد باعث تسهیل ورود فلزات سنگین به واکوئول سلولها و در نتیجه جمع‌آوری آنها از سایر بخشها می‌شوند (Tripathi *et al.*, 2006). براساس نتایج این تحقیق، با افزایش فلز روی میزان آنتوسیانین‌ها افزایش یافته و این ترکیبها به‌عنوان سیستم محافظتی گیاه در برابر تنش اکسیداتیو از افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدها حتی تا غلظت ۲۰ میکرومولار عنصر روی جلوگیری کردند. این در حالی بود که غلظت بالاتر این فلز متابولیسم را مختل کرده و میزان رادیکالها را به حدی افزایش داده که بر سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه غلبه کرده و پراکسیداسیون لیپیدها را در غشای سلولها موجب شد. افزایش در مقدار این رادیکالها در حدی بوده است که حتی بالا رفتن مقدار ترکیبهای فلاونوئیدی با قدرت آنتی‌اکسیدانی بالا نیز قادر به خنثی نمودن اثر آنها نبوده و سبب خسارت به فرایندهای متابولیسمی گیاه شده است (شکلهای ٤-۱).

از دیگر مکانیسمهای دفاعی برای سمیت‌زدایی فلزات در سیتوزول، شلاته کردن آنها در کمپلکسهای پروتئینی و انتقال این کمپلکس‌های غیر سمی به واکوئول می‌باشد (Hall, 2002؛ کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۷۹). قرارگرفتن گیاه در معرض تنشهای محیطی مانند حرارت بالا، شوری، سرما و سطوح بالای فلزات سنگین موجب سنتز پروتئینهای ویژه تنشی به نام پروتئینهای شوک حرارتی (Heat Shock proteins; HSPs) در سلولها می‌شود. برخی از محققان با مطالعه سلولهای ریشه گیاهان مسموم شده با روی دریافتند

Archive of SID

www.SID.ir

که در این سلولها سیتوپلاسم ساختار خود را از دست داده، اکثر اندامکها از بین رفته، واکوئولهای سلولی گسترش و تعداد هستکهای درون هسته در پاسخ به روی افزایش می‌یابد و این موجب سنتز بیشتر یکسری پروتئینهای مقاوم در برابر فلزات سنگین در گیاه می‌شود (White, 1976). این ترکیبها سایر پروتئینها و غشاهای سلولی را در برابر آسیبهای برگشت‌ناپذیر ناشی از تنش حمایت کرده و در مقاومت گیاه در برابر فلز سنگین نقش اساسی دارند (Hall, 2002؛ گروه مترجمین انجمن زیست‌شناسی ایران، ۱۳۸٦؛ کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۷۹). افزایش در پروتئین کل گیاه در پاسخ به غلظتهای بالای روی در این تحقیق شاید با مهار خسارت به پروتئینهای غشاهای سلولی نقش حفاظتی مهمی را برای گیاه داشته باشد. سنتز فیتوکلاتین‌ها یا کادیستین‌ها (Cadystins) در حضور فلزات سنگین نیز می‌تواند دلیل دیگری برای افزایش محتوی کل پروتئینها در گیاه نعناع در پاسخ به روی باشد. فیتوکلاتین‌ها گروهی از تیول‌های گیاهی از دسته متالوتیونین‌های III هستند که با اتصال به فلزات سنگین فعالیت یونهای آزاد در سیتوزول را کاهش می‌دهند. کمپلکس فلز- فیتوکلاتین (HM-PCs) به راحتی از تونوپلاست عبور کرده و به واکوئول انتقال می‌یابد (Pandey *et al.*, 2002).

فیتوکلاتین‌ها در گیاهان توسط آنزیم سیتوزولی به نام آلفا-گلوتامیل سیستئین ترانسفراز یا فیتوکلاتین سنتتاز (Phytoclatine Synthesis; PCs) از گلوتامین ساخته می‌شوند (Prasad & Strzatka, 2002). این آنزیم در وهله اول به‌طور مداوم در سلولهای گیاهان عالی وجود دارد و از طرف دیگر فعالیت آن توسط حضور درون سلولی یونهای آزاد فلزات سنگین تحریک و تنظیم می‌شود (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۷۹). مطالعات برخی از محققان نیز نشان داده است، فعالیت آنزیم PCs به‌عنوان مرحله محدودکننده بیوسنتز گلوتاتیون و فیتوکلاتین در حضور فلزاتی مانند کادمیوم، مس و روی افزایش می‌یابد (Prasad & Strzatka, 2002). گزارش شده است که ترکیب ایجاد شده میان یون فلزی با گلوتاتیون برای مثال به‌صورت ترکیب $Zn\text{-}GS_2$ با عنوان فلز-گلوتاتیون تیولات به‌عنوان سوبسترای آنزیم فعالیت می‌کند. کاهش مختصر میزان پروتئینها در غلظتهای بالای عنصر روی می‌تواند به علت کاهش در سنتز برخی از پروتئینها و یا افزایش فعالیت برخی از آنزیمهای پروتئولیتیک در اثر القای تنش اکسیداتیو در گیاه باشد. رادیکالهای فعال ناشی از تنش اکسیداتیو نیز ممکن است به پروتئینها حمله برده و در آمینواسیدها تغییراتی ایجاد نمایند و یا سبب قطعه قطعه شدن زنجیره پپتیدی و اجتماع محصولات واکنش اتصال متقاطع بین قطعات شوند و از این طریق بار الکتریکی را تغییر داده و حساسیت به آنزیمهای پروتئولیز را افزایش می‌دهند (Hall, 2002). از مجموع نتایج چنین برمی‌آید که فلز روی به‌عنوان یک میکروالمنت ضروری در غلظت کم تا حدودی سبب تحریک رشد در گیاه نعناع شده، در حالی که غلظتهای بالا و بحرانی این فلز در خاکها با القای تنش اکسیداتیو سبب مسمومیت و کاهش رشد در این گیاه دارویی می‌شود.

به‌عنوان جمع‌بندی، به‌طور کلی براساس نتایج موجود در مورد تجمع عناصر چنین پیشنهاد می‌شود که گیاه نعناع مطابق با طبقه‌بندی گیاهان تحمل کننده سمیت فلزات سنگین، استراتژی منع‌کنندگی یا اجتناب را برای کاهش اثرهای سمی فلز روی بکار می‌گیرد. گیاه نعناع سبز در غلظتهای کم فلز روی با القای سنتز ترکیبهای آنتی‌اکسیدانی مانند آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها و پروتئینهای تنشی بر استرس اکسیداتیو القاء شده در اثر فلز روی غلبه می‌نماید.

Archive of SID
www.SID.ir

در حالی که با افزایش غلظت این فلز میزان رادیکالهای فعال به حدی افزایش پیدا کرده که بر سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه غلبه نموده و موجب خسارتهای اکسیداتیوی به گیاه می‌شود. در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش مؤید ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا در گیاه نعناع می‌باشد.

منابع مورد استفاده

- امیدبیگی، ر.، ۱۳۷۹. رهیافتهای تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد اول، انتشارات طراحان نشر، تهران، ۲۸۳ صفحه.
- کافی، م. و مهدوی دامغانی، ع.م.، ۱۳۷۹. مکانیسمهای مقاومت گیاهان به تنشهای محیطی. (ترجمه)، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ٤٦۷ صفحه.
- گروه مترجمین انجمن زیست‌شناسی ایران، ۱۳۸٦. فیزیولوژی گیاهی. (ترجمه)، انتشارات خانه زیست‌شناسی، چاپ اول ۷۵۱ صفحه.
- نیاکان، م.، خاوری نژاد، ر. و رضایی، م.ب.، ۱۳۷۹. بررسی اثر کودهای ازت، فسفر و پتاس بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه نعناع (*Menthe piperata* L.). رساله دکتری علوم گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران.
- Alia Prasad, K.V.S.K. and Pardha Saradhi, P., 1995. Effect of Zinc on free radical and proline in *Brassica juncea* and *Cajanus cajan*. Phytochemistry, 39: 45-47.
- Ambler, J.E., Brown, J.C. and Gauch, H.G., 1970. Effect of zinc on translocation of iron in soybean plants. Plant Physiology, 46: 320-323.
- Asada, K., 1984. Chloroplast: formation of active oxygen and its scavenging. Method in Enzymology, 105: 422-429.
- Baker, A.J.M., Reeves, R.D. and Hajar, A.S.M., 1994. Heavy metal accumulation and tolerance in british polulations of metallophyte Thlaspi caerulescens J and C presl. New phytology, 172: 83- 92.
- Bonnet, M., Camares, O. and Veisseire, P., 2000. Effect of Zinc and influence of Acremonium Lolli on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activity of ryegrass. Experimental Botany. 51: 945-953.
- Candan, N. and Tarhan, L., 2003. Change in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn-stressed Mentha pulegium. Turkish Journal of Chemistry, 27: 21-30.
- Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M.H. and Elferjani, E., 1997. Cadmium and Zinc induction of lipid peroxidation and effect on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Plant Science, 127: 139-147.
- Choudhury, R.P., kumar, A. and Gary, A.N., 2006. Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behavior. Pharmaceutical and Biochemical Analysis, PBA: 5715.
- Diaz Marota, M.C., Perez Coello, M.S., Gonzalez Vinas, M.A. and Cabezudo, M.D., 2003. Influence of drying on the flavor quality of spearmint (*Mentha spicata* L.). Agricultural Food chemistry, 51: 1265-1269.
- Hall, J.L., 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. Experimental Botany, 53: 1-11.
- Heath, R.L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast. Kinetic and stochiometry of fatty acid peroxidation. Archive of Biochemistry & Biophysics, 125: 189-190.
- Krizek, D.T., Britz, S.J. and Mirecki, R.M., 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of c.v. new red fire lettuce. Physiologia Plantarum, 103: 1-7.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the folin-phenol reagent. Biological Chemistry, 193: 265-275.
- Pandey, N., Singh, A.K., Pathak, G.C. and Sharma, C.P., 2002. Effect of Zinc on antioxidant response in maize (*Zea mays* L.) leaves. Experimental Biology, 40: 954-956.
- Pavlikova, D., Pavlikova, M., Szakova, J., Vasikova, S., Tlustos, P. and Balik, J., 2002. The effect of Cadmium and Zinc contents in plants on Fe binding into organic substances of Spinach biomass. Rostelinna Vyroba, 48(12): 531-535
- Prasad, M.N.V. and Strzatka, K., 2002. Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants. Kluwer Academic Pub, Dordrecht, 432p.
- Rion, B. and Alloway, J., 2004. Fundamental aspects of Zinc in soils and plants. International Zinc Association. 1-128.
- Tripathi, B.N., Mehta, S.K., Amar, A. and Gaur, J.P., 2006. Oxidative stress in *Scenedemus* sp. During short- and long-term exposure to Cu and Zn. Chemosphere, 62: 538-544.
- Wanger, G.J., 1979. Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanis in protoplasts. Plant Physiology, 64: 88-93.
- White, R.E., 1976. Studies on the mineral ion absorption by plants, The interaction of aluminium phosphate and pH on the growth of *Medicago sativa*. Plant and soil, 46: 195-208.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of excess zinc on the concentration of some mineral element and antioxidant responses of spearmint (*Mentha spicata* L.*)*

S. Zare Dehabadi[1] and Z. Asrar[2*]

1- Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran
2*- Corresponding author, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran, E-mail: Zasrar@mail.uk.ac.ir, Bioscholar_85@yahoo.com

Received: Febrary 2008 Revised: November 2008 Accepted: November 2008

Abstract

The conditions used for spearmints growth in this work have been adequate for testing range of tolerance and adaptation to excess zinc. For studying oxidative changes, antioxidanic responses and metal accumulation in Spearmint (*Mentha spicata* L.) in reply to zinc, plants remained in a controlled environment for 12 weeks in nutrient solutions that contained different doses of zinc. This study showed that Zinc as heavy metal induced oxidative stress as evidenced by an increase in lipid peroxidation (malondialdehyde and other aldehydes). Under Zn treatments, phenolic compounds such as flavonoids and anthocyanins were increased significantly compared to control plants. The total protein content in leaves increased significantly by increment concentration of Zn but decreased with higher Zn supply. Lipid peroxidation (MDA) was increased only in the highest concentration of zinc. High levels of Zn decreased the shoot to root translocation of Zn and Fe which caused accumulation of these metals in root. In general, the results of this investigation proved high antioxidanic capacity in spearmint plants.

Key words: *Mentha spicata* L., anthocyanins, oxidative stress, flavonoids, Zinc.

Archive of SID

www.SID.ir