Archive of SID

دوماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۲، شماره ۱، صفحه ۸۲-۷۱ (۱۳۹۵)

بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین، قندهای محلول، رنگریزه‌های فتوسنتزی و اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در واکنش به محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید و تنش منگنز

دیاکو رسولی[1*]، محمود سلوکی[2]، براتعلی فاخری[2] و صدیقه اسمعیل‌زاده بهابادی[3]

۱*- نویسنده مسئول، دانشجوی دکترا، بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران
پست الکترونیک: diakorasouli@yahoo.com

۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، ایران

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۳ تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۳

چکیده

به‌منظور بررسی اثر منگنز و سالیسیلیک اسید در سه زمان مختلف بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین و قندهای محلول، رنگریزه‌های فتوسنتزی و اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زابل اجرا شد. نمونه گیاهی در سه زمان ۱، ۳ و ۵ روز بعد از محلول‌پاشی با تیمارهای منگنز (۵۰۰ میکرومولار) و سالیسیلیک اسید (۱ میلی‌مولار) برداشت شدند. نتایج نشان داد که تنش منگنز اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز و محتوای پرولین برگ‌های گیاه نعناع فلفلی در هر سه زمان داشت. محتوای پرولین و قندهای محلول تحت تنش منگنز و سالیسیلیک اسید در طول سه زمان نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار داشتند. از طرفی کاهش معنی‌داری در رنگریزه‌های فتوسنتزی تحت تنش منگنز مشاهده نشد. همچنین میزان اسانس در برگ‌های نعناع فلفلی، در تیمارهای منگنز و سالیسیلیک اسید افزایش یافت، البته این افزایش تحت تیمار سالیسیلیک اسید بیشتر بود. نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر آن بود که افزایش فعالیت آنزیم APX و محتوای پرولین، پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه نعناع فلفلی در مقابل تنش اکسیداتیو ناشی از منگنز بودند و سالیسیلیک اسید به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد در تعدیل میزان اثرات تنش منگنز بر گیاه نعناع فلفلی، نقش مؤثری داشت.

واژه‌های کلیدی: کلروفیل، اسانس، نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین.

مقدمه

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. متعلق به خانواده Lamiaceae می‌باشد. این گیاه گونه‌ای هیبرید است و از تلاقی بین گونه‌های *Mentha aquatica* و *Mentha spicata* حاصل شده‌است. بومی مناطق معتدله دنیا به‌ویژه اروپا، آمریکای شمالی و شمال آفریقا می‌باشد، اما امروزه در سراسر دنیا کشت می‌شود (Singh *et al.*, 2015). نعناع فلفلی محتوی ۱/۲٪ تا ۱/۵٪ روغن‌های فرّار است که ۳۰٪

www.SID.ir

Archive of SID

تا ۵۰٪ آن را منتول و استرهای منتول و بیش از ۴۰ ترکیب دیگر تشکیل می‌دهد. ترکیب‌های اصلی اسانس نعناع فلفلی را منتول (۴۰٪ تا ۵۰٪)، منتون (۲۰٪ تا ۳۰٪)، متیل استات (۱٪ تا ۳٪) و غیره تشکیل می‌دهند. مقدار منتول در نعناع با توجه به نوع آن از ۳۵٪ تا ۵۵٪ تغییر می‌کند که البته اگر نعناع دیر برداشت شود مقدار منتول آن تا حدود ۳۰٪ پایین می‌آید (Klayman, 1985). تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی تحت کنترل ژنتیکی است، ولی عوامل محیطی به‌ویژه شرایط تنش‌زا، نقش عمده‌ای در کمّیت و کیفیت این مواد به عهده دارند (Bupesh *et al*., 2007).

منگنز یکی از عناصر ضروری و کم‌مصرف در تغذیه گیاهان محسوب می‌شود و به‌دلیل امکان تبدیل حالت‌های اکسیداسیون آن به یکدیگر، در واکنش‌های اکسایش و احیا نقش مهمی دارد (حاجی‌بلند و خسروپناه، ۱۳۸۴). نشانه‌های سمّیت منگنز در بین گیاهان مختلف متفاوت است. ازجمله مهمترین علائم مسمومیت منگنز در اندام هوایی توقف رشد، کلروز بین رگبرگی، کاهش کلروفیل، کلروز لبه‌ها، نکروز و پیچ‌خوردگی برگ‌هاست (Shi & Zhu, 2008). در شرایط بروز تنش، گیاهان به‌منظور ادامه حیات و جذب آب، از طریق تجمع ترکیب‌های اسمزی ازجمله کربوهیدرات و پرولین پتانسیل اسمزی خود را کاهش می‌دهند (Pessarkli, 1999). آثار سمّی عناصر سنگین، اعم از عناصر ضروری و غیرضروری از طریق تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) اعمال می‌شود (Woźniak & Błasiak, 2003). ROSها عامل پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و آسیب‌رسانی به غشاء هستند، یکی از مهمترین علائم این آسیب از بین رفتن سلامت غشاء است. برای تخفیف خسارت اکسیداتیو ناشی از تولید ROSها، گیاهان از یک‌سری ترکیب‌های آنزیمی و غیرآنزیمی به‌عنوان سیستم آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌کنند. در بین ترکیب‌های غیرآنزیمی، آسکوربات، توکوفرول‌ها و کاروتنوئیدها قابلیت از بین بردن ROSها را دارند. از ترکیب‌های آنزیمی می‌توان به سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیدازها اشاره کرد (Jain *et al*., 2001). در مطالعات انجام شده توسط محققان ازجمله Grattan و Grieve (۱۹۹۸) مشخص شد که تنش فلزات سنگین، شوری و یا خشکی باعث برهم‌زدن تعادل تغذیه‌ای در گیاهان می‌شوند. آنان بیان کردند که با تکمیل عناصر مورد نیاز از طریق خاک یا محلول‌پاشی می‌توان وضعیت رشد را تا حدی بهبود بخشید. امروزه با توجه به ملاحظات زیست محیطی استفاده از سالیسیلیک اسید برای بهبود خصوصیات کمّی و کیفی محصولات زراعی، دارویی و باغی رواج پیدا کرده است. سالیسیلیک اسید به دلیل نقش‌های متنوع تنظیم‌کنندگی در متابولیسم گیاه یک هورمون گیاهی قوی شناخته شده است که به‌عنوان یک مولکول سیگنالی نقش کلیدی مهمی را در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی و مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد (He *et al*., 2005). مشخص شده است که SA در محافظت از گیاهان در برابر تنش فلزات سنگین دخالت دارد (Pal *et al*., 2005). Drazic و Mihailovic (۲۰۰۵) در مطالعه‌ای نشان دادند که اسید سالیسیلیک سمّیت کادمیوم در جوانه‌های سویا را تعدیل می‌کند. فاضلیان و اسرار (۱۳۹۰) در بررسی تأثیر برهم‌کنش آرسنیک و سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه بابونه (*Matricaria recutita* L.) به این نتیجه رسیدند که سالیسیلیک اسید توانسته است باعث بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه بابونه نسبت به تنش آرسنیک گردد. همچنین کاربرد سالیسیلیک اسید، تخریب غشای ایجاد شده توسط سرب در گیاه برنج (Mishara & Choudhuri, 1999)، سمّیت منگنز در گیاه خیار (Shi & Zhu, 2008)، تنش اکسیداتیو القاء شده توسط جیوه در گیاه یونجه (Zhou *et al*., 2009) و سمّیت کادمیوم در گیاهان جو و ذرت (Metwally *et al*., 2003) را بهبود بخشیده است.

با توجه به اینکه نعناع فلفلی از گیاهان دارویی معطر و اسانس‌دار با مصارف متعدد دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی است، از این‌رو شناخت و بررسی عوامل مؤثر در تولید مواد مؤثره در این گونه دارویی در شرایط تنش‌زا مهم می‌باشد. داده‌های این پژوهش می‌توانند در شناخت

www.SID.ir

Archive of SID

واکنش‌های فیزیولوژیک، مکانیزم‌های دفاعی و تغییرات فیتوشیمیایی گیاه نعناع فلفلی در پاسخ به تنش منگنز مؤثر باشند و نقش تعدیل‌کنندگی سالیسیلیک اسید را به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی نشان دهند.

مواد و روشها

برای بررسی اثرات منگنز و سالیسیلیک اسید بر صفات مورد بررسی و میزان اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی آزمایشی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سال زراعی ۱۳۹۳-۱۳۹۲ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل انجام شد. ریزوم‌های نعناع فلفلی از کلکسیون گیاهان دارویی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل تهیه شدند. ریزوم‌های جوان در گلدان‌هایی به ابعاد ۲۰×۲۵ کشت داده شدند. کشت ریزوم‌ها در عمق ۱ سانتی‌متری از سطح خاک انجام شد. هر گلدان حاوی ۳ تا ۴ ریزوم بوده و خاک گلدان‌ها نیز مخلوط مساوی از خاک برگ و خاک هوموس بود. گلدان‌ها در شرایط یکسان در دمای روزانه ۲۵ تا ۳۰ و شبانه ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. آبیاری به‌صورت روزانه طوری که خاک گلدان‌ها مرطوب باشد، انجام شد. پس از یک هفته جوانه‌های نعناع فلفلی ظاهر شده و سر از خاک درآوردند. پس از ۲ ماه که رشد گیاه به حد مطلوب رسید تیمارها اعمال شدند. تیمارها شامل منگنز به‌صورت سولفات منگنز ($MnSO_4$) در غلظت ۵۰۰ میکرومولار (با توجه به پژوهش‌های انجام شده این غلظت برای اغلب گیاهان دارویی سمّی است) و سالیسیلیک اسید در غلظت ۱ میلی‌مولار و به‌منظور بررسی برهم‌کنش آنها ابتدا منگنز و به فاصله ۲۴ ساعت بعد سالیسیلیک اسید اعمال شد. آب مقطر نیز به‌عنوان تیمار شاهد مورد استفاده قرار گرفت. اعمال تیمار به‌صورت محلول‌پاشی بود. برداشت بخش هوایی نعناع فلفلی در ۳ زمان به‌صورت ۱، ۳ و ۵ روز بعد از اعمال تیمار انجام شد. استخراج اسانس و شناسایی ترکیب‌های شیمیایی گیاه به‌دلیل تأثیر تیمارهای منگنز و سالیسیلیک اسید با گذشت زمان فقط در زمان سوم برداشت انجام گردید. برای استخراج و اندازه‌گیری اسانس، بوته‌ها در دمای اتاق (حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در سایه خشک گردیدند و بعد با استفاده از دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری شدند. تعیین ترکیب‌های اسانس با استفاده از دستگاه GC/MS انجام شد. از هر نمونه خشک شده ۱۰۰ گرم آسیاب گردید و به مدت دو ساعت با استفاده از روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری و درصد آن تعیین شد. ترکیب‌های تشکیل‌دهنده توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) (کروماتوگرافی گازی (GC) مدل Agilent 7890 متصل شده به طیف‌سنج جرمی (Mass) مدل (Agilent 5975) ستون HP-5MS و نیمه‌قطبی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ستون ۰/۲۵ میکرون، دتکتور MS، گاز حامل هلیوم (He)، سرعت جریان گاز حامل ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه، برنامه حرارتی ۲۲۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و دمای محفظه تزریق ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد) در مؤسسه دانش پژوهان تهران تجزیه شد. پس از تزریق اسانس به دستگاه‌های ذکر شده، با استفاده از زمان بازداری ترکیب‌ها (tR)، اندیس بازداری (RT) طیف جرمی و مقایسه این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد و یا با اطلاعات موجود در کتابخانه نسبت به شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس اقدام گردید. درصد کمّی این ترکیب‌ها نیز با محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگراف‌ها محاسبه شد (Ozturk *et al*., 2004).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)، آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) از روش Urbanek و همکاران (۱۹۹۱) استفاده شد. سنجش پرولین به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) بدست آمد. همچنین میزان قندهای محلول (RWC: Relative water content) بر اساس روش Irigoyen و همکاران (۱۹۹۲) محاسبه شد و میزان کلروفیل a، b و کارتنوئید نیز از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) بدست آمد.

www.SID.ir

Archive of SID

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نسخه ۹/۲ نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر منگنز و سالیسیلیک اسید بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین و قندهای محلول، رنگریزه‌های فتوسنتزی و درصد اسانس در گیاه دارویی نعناع فلفلی در زمان‌های مختلف در جدول ۱ آمده است.

نتایج تجزیه آماری داده‌های حاصل از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (جدول ۱) نشان داد که تیمار اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های اسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) دارد. مقایسه میانگین داده‌ها در سطح ۵٪ نشان داد با افزایش زمان از روز اول به روز پنجم تنش منگنز باعث افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم APX شد (جدول ۲). در این آزمایش زمان اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های اسکوربات و گایاکول پراکسیداز داشت (جدول ۱). همچنین اثر متقابل زمان و تیمار فقط بر فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. اثر متقابل منگنز و سالیسیلیک اسید در طی سه زمان تا حدودی سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم GPX شد، اما این افزایش معنی‌دار نبود (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس داده‌های پرولین و قندهای محلول نشان داد که اثر تیمار تأثیر معنی‌داری بر میزان تجمع قندهای محلول و پرولین در بافت سبز برگ‌های گیاه نعناع فلفلی داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها بیان کرد با گذشت زمان تنش منگنز باعث افزایش معنی‌دار میزان پرولین شد. افزایش محتوای قندهای محلول در هر سه زمان تأثیر معنی‌داری نداشت اما به نسبت شاهد بر میزان آن افزوده شد (جدول ۳). البته اثر زمان بر میزان پرولین و قندهای محلول معنی‌دار بود، به‌طوری که با گذشت زمان بر میزان آنها افزوده شد. همچنین اثر متقابل زمان و تیمار بر میزان پرولین معنی‌دار بود. استفاده از سالیسیلیک اسید در این آزمایش تأثیر معنی‌داری بر میزان تجمع پرولین در زمان سوم در بافت سبز نعناع فلفلی داشت و سبب افزایش آن شد. اثر متقابل منگنز و سالیسیلیک اسید نشان داد که تجمع پرولین افزایش معنی‌داری در زمان‌های دوم و سوم نسبت به شاهد داشت، در حالی که تجمع قندهای محلول در طول سه زمان اختلاف معنی‌داری نداشت، اما به نسبت تیمار شاهد افزایش معنی‌دار بود.

نتایج تجزیه واریانس داده‌های کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید یا (جدول ۱) نشان داد که اثر تیمار بر کلروفیل a و میزان کارتنوئید اثر معنی‌داری داشت، اما اثر آن بر کلروفیل b معنی‌دار نبود. به‌نحوی که با گذشت زمان از محلول‌پاشی منگنز از میزان کلروفیل a و کلروفیل b کاسته شد، اما این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ۳). اثر زمان بر هیچ‌یک از رنگدانه‌های فتوسنتزی معنی‌دار نبود. همچنین اثر متقابل زمان و تیمار فقط بر میزان کلروفیل a در سطح ۵٪ معنی‌دار بود.

نوع و میزان ترکیب‌های سازنده اسانس موجود در بخش هوایی گیاه نعناع فلفلی پس از استخراج، با دستگاه GC و GC/MS تعیین شدند (جدول ۴). ترکیب غالب اسانس بخش هوایی نعناع فلفلی در تحقیق حاضر در گروه شاهد و گروه تحت تیمار شامل منتول، منتون و منتوفوران بودند. همه تیمارها باعث افزایش درصد اسانس شدند. بیشترین میزان اسانس در تیمار سالیسیلیک اسید مشاهده شد. بیشترین و کمترین میزان منتول تحت تیمارهای منگنز و سالیسیلیک اسید به‌ترتیب مربوط به سالیسیلیک اسید و منگنز بود. اثر متقابل سالیسیلیک اسید و منگنز باعث افزایش منتول شد، اما این افزایش در مقایسه با تیمار سالیسیلیک اسید کمتر بود. همچنین ترکیب‌های منتون و منتوفوران در همه تیمارها افزایش نشان داد و برخلاف منتول تحت تنش منگنز کاهش نشان ندادند. علاوه‌بر ترکیب‌های غالب سازنده اسانس، در بخش هوایی گیاه نعناع فلفلی حدود ۳۰ ترکیب دیگر نیز شناسایی شدند که تأثیر تیمارها بر این ترکیب‌ها در مقایسه با نمونه‌های شاهد قابل ملاحظه نبودند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پرولین، کربوهیدرات و رنگریزه‌های فتوسنتزی گیاه نعناع فلفلی در تیمارهای تنش منگنز و سالیسیلیک اسید

منابع تغییرات	درجات آزادی	میانگین مربعات							
		اسکوربات پراکسیداز	گایاکول پراکسیداز	کاتالاز	پرولین	قندهای محلول	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید
تکرار	۲	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۰۳ ns	۰/۰۰۷ *	۰/۰۲۴ ns	۱/۶۹۱ ns	۰/۳۹۵ ns	۹۳۹۴ ns
تیمار	۳	۰/۰۰۲ **	۰/۰۰۲ *	۰/۰۰۰۰۴ ns	۰/۰۱۹ **	۰/۱۹۳ **	۶/۶۱۵ *	۲/۶۷۹ ns	۱۶۴۶۸۰ **
زمان	۲	۰/۰۰۲ **	۰/۰۰۳ *	۰/۰۰۰۰۲ ns	۰/۰۵ **	۰/۱۲۹ *	۲/۸۹۷ ns	۰/۳۴۲ ns	۲۷۵۲ ns
تیمار× زمان	۶	۰/۰۰۰۹ *	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۰۰۵ ns	۰/۰۰۷ **	۰/۰۲۹ ns	۳/۸۶۱ *	۱/۱۷۵ ns	۱۲۱۹۵ ns
خطا	۲۲	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۳۲	۱/۴۵۴	۰/۹۷۰	۲۱۴۴۶
ضریب تغییرات		۶/۹۰	۱۲/۹۱	۳/۶۸	۷/۶۱	۱۱/۶۸	۸/۸۹	۱۶/۳۰	۶/۳۱
ضریب تبیین (٪)		۷۲/۹۴	۵۳/۷۳	۳۴/۴۰	۸۵/۶۲	۵۹/۵۸	۶۲/۰۰	۴۳/۶۸	۵۵/۶۲

**، * و ns: به‌ترتیب وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ و عدم اختلاف معنی‌دار

جدول ۲- مقایسه میانگین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه نعناع فلفلی در تیمارهای تنش منگنز و سالیسیلیک اسید

زمان	اسکوربات پراکسیداز			گایاکول پراکسیداز			کاتالاز		
	۱ روز	۳ روز	۵ روز	۱ روز	۳ روز	۵ روز	۱ روز	۳ روز	۵ روز
شاهد	۰/۲۳ c	۰/۲۳ c	۰/۲۴ c	۰/۱۸۰ b	۰/۱۹۰ b	۰/۱۹۳ b	۰/۱۳۲ a	۰/۱۳۷ a	۰/۱۳۳ a
SA	۰/۲۳ c	۰/۲۵ bc	۰/۲۶ bc	۰/۱۸۶ b	۰/۲۰۰ ab	۰/۲۱۰ ab	۰/۱۳۵ a	۰/۱۳۸ a	۰/۱۳۹ a
Mn	۰/۲۳ c	۰/۲۸ ab	۰/۳۱ a	۰/۲۰۶ ab	۰/۲۳۰ ab	۰/۲۵۰ a	۰/۱۳۱ a	۰/۱۳۴ a	۰/۱۳۳ a
Mn×SA	۰/۲۶ bc	۰/۲۵ bc	۰/۲۶ bc	۰/۱۸۳ b	۰/۲۰۶ ab	۰/۲۳۰ ab	۰/۱۳۳ a	۰/۱۳۴ a	۰/۱۳۴ a

در هر ستون و برای هر تیمار، دارای حداقل یک حرف مشترک، براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- مقایسه میانگین پرولین، کربوهیدرات و رنگریزه‌های فتوسنتزی گیاه نعناع فلفلی در تیمارهای تنش منگنز و سالیسیلیک اسید

زمان	پرولین			قندهای محلول			کلروفیل a			کلروفیل b			کاروتنوئید		
	۱ روز	۳ روز	۵ روز	۱ روز	۳ روز	۵ روز	۱ روز	۳ روز	۵ روز	۱ روز	۳ روز	۵ روز	۱ روز	۳ روز	۵ روز
شاهد	۰/۴۹ de	۰/۴۹ de	۰/۴۹ de	۱/۳۶ cd	۱/۳ d	۱/۳۳ cd	۱۲/۹۸ bc	۱۳/۵۵ abc	۱۳/۱۳ abc	۶/۴ ab	۶/۷۱ a	۶/۵۵ ab	۲۲۶۷/۱ abcd	۲۲۶۹/۹ abcd	۲۲۶۷/۹ abcd
SA	۰/۴۶ e	۰/۵ de	۰/۵۹ bc	۱/۴۵ abcd	۱/۶۷ abc	۱/۷۹ abcd	۱۳/۳۴ abc	۱۵/۱۴ ab	۱۵/۴ a	۶/۴۵ ab	۶/۳۱ ab	۶/۶ ab	۲۵۰۰/۳ ab	۲۵۳۲/۲ a	۲۴۷۱/۱ ab
Mn	۰/۵ de	۰/۶۳ ab	۰/۶۸ a	۱/۴۹ abcd	۱/۶۵ abcd	۱/۷۶ abcd	۱۳/۶۵ abc	۱۲/۱۷ c	۱۲ c	۶/۸۲ a	۵/۶۴ ab	۴/۷ b	۲۱۳۸/۶ d	۲۲۲۴/۱ cd	۲۱۸۱/۴ cd
Mn×SA	۰/۴۳ e	۰/۵۴ cd	۰/۶۳ ab	۱/۴۳ bcd	۱/۷۲ ab	۱/۷۶ ab	۱۲/۰۵ c	۱۳/۹ abc	۱۵/۳ ab	۵/۰۵ ab	۵/۷ ab	۵/۵۸ ab	۲۴۴۴/۴ abc	۲۲۴۴/۱bcd	۲۳۱۰/۸ abcd

در هر ستون و برای هر تیمار، دارای حداقل یک حرف مشترک، براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- ترکیب‌های شیمیایی گیاه دارویی نعناع فلفلی تحت تیمار منگنز و سالیسیلیک اسید

ترکیب‌ها	شاهد	اسید سالیسیلیک	منگنز	منگنز×اسید سالیسیلیک
α-pinene	۰/۲۸	۰/۳۴	۰/۲	۰/۳۱
β-pinene	۰/۳۹	۰/۴۹	۰/۳۱	۰/۳۷
β-myrcene	۰/۲۴	۰/۱۴	–	–
limonene	۱/۰۹	۱/۲۴	۰/۸	۱/۰۱
1,8-cineol	۳/۵۶	۲/۸۸	۲/۳۷	۲/۴۹
menthol	۴۴/۹۶	۵۳/۹۳	۴۲/۲۳	۴۶/۲
camphene	۰/۶	۰/۴۲	۰/۲۷	۰/۱۹
tymol	۰/۲۵	۰/۲۲	–	۰/۱۱
pulegone	۳/۸۳	۴/۳۹	۶/۳	۴/۰۰
neo-menthol	۲/۱۳	۱/۵۶	۱/۳۴	۱/۸۶
neoisomenthol	۰/۵۶	۰/۱۷	۰/۴۸	۰/۴۲
menthone	۱۸/۴۳	۱۹/۵۴	۲۷/۲	۲۵/۷۹
α-terpineol	۰/۲۲	۰/۳۲	۰/۱۷	–
menthofuran	۶/۲۴	۶/۸۱	۸/۱۴	۱۰/۲۱
sabinene	۰/۲۵	۰/۲۸	۰/۱۷	۰/۲۹
γ-terpinene	۰/۲۷	۰/۳۱	۰/۳۳	۰/۳۴
menthyl acetate	۲/۶۰	۱/۹۶	۱/۳۲	۱/۵۲
menthol acetate	۰/۷۲	–	۰/۳	۰/۱۸
viridiflorol	۰/۹۶	۰/۷۱	۱/۰۵	۰/۵
somintlactone	۱/۰۲	۰/۸۹	۱/۳۳	۱/۰۱
farnesene	۰/۲۹	۰/۲۶	–	۰/۲
α-humulene	۰/۱۸	۰/۱۲	۰/۱۹	–
β-bourbonene	۰/۳۵	۰/۴۲	۰/۲۸	۰/۳۸
octanol	۰/۲۱	۰/۱۱	۰/۳۱	۰/۱
ethylamyl carbinol	۰/۶۲	۰/۷۴	۰/۳۴	۰/۴۶
spathulenol	۰/۲۷	۰/۴۲	۰/۱۸	۰/۳۱
isospathulenol	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۳۲	۰/۲۵
caryophyllene oxide	۰/۹۵	۰/۶۸	۰/۴۱	۰/۶۶
carvomenthenone	۱/۴۹	۱/۶۲	۰/۷۹	۰/۹۸
cis-sabinene hydrate	۰/۲۵	۰/۳۹	–	۰/۳۲
carvacrol	۱/۳۴	۱/۵۲	۱/۰۳	۱/۲۱
borneol	۰/۱	۰/۰۵	۰/۲۶	۰/۱
total	۹۴/۹۱	۱۰۳/۱۹	۹۸/۴۲	۱۰۰/۰۸

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز و کاتالاز

با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، با گذشت زمان، تأثیر منگنز در افزایش معنی‌دار آنزیم APX در بافت سبز گیاه نعناع فلفلی مشخص شد. تحت شرایط تنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل کاتالازها و تعداد زیادی از پراکسیدازها فعال می‌شوند (Ozkur *et al*., 2009). Verma و Duey (۲۰۰۳) بیان کردند که پراکسیدازها ازجمله آنزیم‌هایی هستند که نقش بسیار مهمی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی مثل تنش فلزات سنگین دارند. تنش‌های غیرزنده نظیر شوری، خشکی و فلزات سنگین تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن را القاء می‌کنند که در غلظت‌های بالا برای سلول زیان‌آور هستند. تولید این ترکیب‌ها نظیر رادیکال سوپر اکسید (O^{-})، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^{-}) باعث پراکسیداسیون کردن چربی‌ها، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاء سلول می‌شوند (Bailly, 2004). در این بین تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز (CAT) و اسکوربات پراکسیداز (APX) باعث حذف و غیرفعال کردن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (McDonald, 1999). در این بررسی نتایج حکایت از آن داشت که افزایش آنزیم APX در گیاه نعناع فلفلی به نوعی بیانگر فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در این گیاه در مواجه با تنش منگنز بوده است. در خصوص نحوه تأثیر سالیسیلیک اسید گزارش‌های متعددی وجود دارد، اما می‌توان آن را به‌عنوان یک تنظیم‌کننده هورمونی تلقی کرد که از طریق حفظ نفوذپذیری غشاء و افزایش متابولیسم سلولی، رشد گیاهان را در شرایط متفاوت محیطی افزایش می‌دهد (Cooper *et al*., 1998).

پرولین و قندهای محلول

مقدار پرولین تحت تنش منگنز در گیاه نعناع فلفلی نسبت به شاهد افزایش یافت که با یافته‌های Siripornadulsil و همکاران (۲۰۰۲) مطابقت دارد. تحقیقات Heuer (۱۹۹۴) نشان داد که طی بروز تنش بر میزان تجمع ترکیب‌های آلی همانند پرولین و قندهای محلول در اندام‌های گیاهان افزوده می‌شود. بسیاری از شرایط تنش‌زای محیطی بر متابولیسم قندها و تسهیم مواد فتوسنتزی در گیاهان در حال رشد اثر می‌گذارند. افزایش مقدار قندهای محلول و پرولین تحت شرایط تنش فلزات سنگین گزارش شده‌است (سلطانی و همکاران، ۱۳۸۵). پرولین اسیدآمینه ذخیره شده در سیتوپلاسم بوده و در حفاظت از ساختمان ماکرومولکول‌های درون سلول در طی تنش‌های محیطی ازجمله فلزات سنگین نقش مؤثری دارد. پرولین احتمالاً در سلول‌های تحت تنش نقش آنتی‌اکسیدانی دارد. بالا رفتن میزان این ترکیب در بافت‌های گیاهان به نوعی بیانگر فعال شدن مکانیسم تنظیم اسمزی است که شرایط را برای جذب بیشتر آب و املاح از محیط ریشه فراهم می‌کند (Siripornadulsil *et al*., 2002). افزایش غلظت پرولین در گیاهانی که تحت تنش قرار گرفته‌اند، نوعی سازگاری برای غلبه بر شرایط تنش می‌باشد (Manivannan *et al*., 2007). استفاده از سالیسیلیک اسید در این آزمایش باعث افزایش میزان پرولین شده‌است، در حالی‌که تأثیری بر قندهای محلول در طول سه زمان نداشته است (جدول ۳). اثر متقابل منگنز و سالیسیلیک اسید نیز باعث افزایش معنی‌دار پرولین در طول سه زمان گردید. همچنین میزان قندهای محلول نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار بود، اما اختلافی در طول سه زمان مشاهده نشد. سالیسیلیک اسید تقریباً بر بیشتر واکنش‌های متابولیسمی گیاه تأثیر می‌گذارد و موجب تغییراتی در آنها می‌شود، این تغییرات اغلب به‌صورت سازش‌هایی است که مقدار تحمل و سازگاری گیاهان را در مقابل عوامل محیطی افزایش می‌دهد (Metwally *et al*., 2003). در گیاه جو، گندم، لوبیا و گوجه‌فرنگی طی تنش اکسیداتیو مقدار تجمع پرولین با تیمار هورمون سالیسیلیک اسید افزایش یافته است و این افزایش منجر به مقاومت در برابر از دست رفتن آب، افزایش محتوای اندام هوایی و تسریع رشد گیاهان در شرایط تنش شده‌است (Tasgin, 2003).

www.SID.ir

Archive of SID

تغییرات کلروفیل

میزان کلروفیل در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است (Jiang & Huang, 2001). با توجه به نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین داده‌ها، مقادیر کلروفیل‌های a، b و کارتنوئید تحت تیمار منگنز با گذشت زمان نسبت به شاهد کاهش نشان داد، اما اختلاف معنی‌دار نبود. یکی از علل کاهش مقدار کلروفیل، مهار بیوسنتز کلروفیل به‌وسیله فلزات سنگین می‌باشد (Cai *et al*., 2007). یکی از اثرات فلزات سنگین بر بیوسنتز کلروفیل می‌توان به جانشین شدن فلزات سنگین مانند منگنز (Mn) به جای Mg مرکزی کلروفیل اشاره کرد که این جانشینی سبب کاهش دریافت نور به‌وسیله کلروفیل شده و منجر به زردی برگ‌ها و در نهایت کاهش فتوسنتز می‌شود (Jiang & Huang, 2001). سالیسیلیک اسید بر میزان کلروفیل a و کارتنوئید نسبت به تیمار منگنز معنی‌دار بود، اما تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند (جدول ۳). سالیسیلیک اسید سبب تداوم بافت‌های فتوسنتزکننده شده و عملکرد گیاهان را افزایش می‌دهد. همچنین سالیسیلیک اسید از طریق اثرات مثبت فیزیولوژیکی ازجمله اثر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ باعث افزایش عملکرد در گیاهان می‌شود (Nardi *et al*., 2002). طبق نتایج با گذشت زمان، تنش منگنز باعث کاهش میزان کلروفیل‌های a و b گردید که با بکارگیری سالیسیلیک اسید بر گیاه اثرات منگنز تعدیل یافت و باعث افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل a در ۵ روز بعد از محلول‌پاشی نسبت به زمان اول شد که با یافته‌های Zhou و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد. Khodary (۲۰۰۴) دریافت که تیمار سالیسیلیک اسید محتوای کلروفیل و کارتنوئید را در گیاه ذرت افزایش می‌دهد. براساس نتایج تحقیقات انجام شده سالیسیلیک اسید به‌طور معنی‌داری سرعت فتوسنتز، توسعه ریشه و محتوای مواد غذایی در گیاهان را افزایش می‌دهد، از این‌رو سالیسیلیک اسید می‌تواند در بهبود سنتز کلروفیل و کارتنوئید در شرایط متفاوت محیطی مؤثر باشد.

محتوای اسانس و ترکیب‌های آن

اسانس‌ها شامل دو گروه عمده ترکیب‌های ترپنوئیدی و فنیل پروپانوئیدها هستند که به‌ترتیب شامل allylphenol و propenylphenol می‌باشند. مسیر دقیق متابولیسم برخی از این ترکیب‌ها هنوز کاملاً مشخص نیست. مطالعات نشان داده‌است که عوامل محیطی و استرس‌زا همواره ترکیب شیمیایی و اسانس گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Zheljazkov & Warman, 2003). در تحقیق حاضر هر چند منگنز باعث افزایش کلی اسانس شد، اما این تنش باعث کاهش میزان منتول (بیشترین ترکیب اسانس نعناع فلفلی) گردید. غلظت بالای منگنز ممکن است با کاهش محتوای کلروفیل و یا فتوسنتز همراه شده (Chatterjee *et al*., 2006) و بدین ترتیب از یکسو به کاهش رشد و از سوی دیگر به کاهش میزان فراهم شدن برخی پیش‌سازهای ترکیب‌های فنلی مورد نیاز مانند منتول برای سنتز اسانس‌ها منتهی گردد. همچنین سالیسیلیک اسید که باعث افزایش معنی‌دار اسانس شد موجب افزایش بیان ژن‌های مربوط به بیوسنتز و تولید گروهی از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان گردید (Taguchi *et al*., 2001). اعمال تنش خشکی مقدار منتون و کل سزکویی‌ترپن‌ها در نعناع، مقدار کل لیپیدها در مرزنگوش، لینالول و متیل کاویکول در ریحان را افزایش داد. در مقابل میزان منتول، سینئول، پولگون و منتوفوران در اسانس نعناع، سزکویی‌ترپن‌ها در ریحان و کارواکرول در مرزه کاهش نشان دادند. در دو گیاه ریحان و نعناع گزارش شده که بالا بودن تراکم غده‌های مترشحه اسانس در اثر کاهش سطح برگ ناشی از تنش، باعث تجمع بیشتر اسانس می‌شود (Charles *et al*., 1990). البته در این آزمایش نیز شاید بتوان درصد بالای اسانس برای برخی ترکیب‌های غالب در گیاه نعناع فلفلی را در تیمارهای سالیسیلیک اسید و منگنز با کاهش سطح برگ و متعاقب آن افزایش تراکم غده‌های ترشح کننده اسانس توجیه کرد.

بنابراین در پژوهش فوق مشخص شد که عنصر منگنز، فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی APX و پرولین را افزایش داد که این ترکیب‌ها در تنش‌های مختلف به‌عنوان مکانیزم

www.SID.ir

Archive of SID

دفاعی ثانویه در مقابل تنش اکسیداتیو بکار می‌روند. همچنین با توجه به اینکه تنش ناشی از فلزات سنگین به‌خصوص منگنز به‌عنوان یک عامل سمّی و محدودکننده در تولیدات گیاهیست، بنابراین مقابله با این تنش‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده که در این پژوهش با توجه به ویژگی آنتی‌اکسیدانی و تنظیم‌کنندگی سالیسیلیک اسید، نقش این ترکیب بر تعدیل تنش و تولید اسانس حاصل شد.

منابع مورد استفاده

- حاجی‌بلند، ر. و خسروپناه، م.ک.، ۱۳۸۴. تحمل مسمومیت منگنز در گیاهان آفتابگردان، برنج و ذرت در شرایط آبکشتی. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۹(۴): ۱۰۸-۹۱.
- سلطانی، ف.، قربانلی، م. و منوچهری کلانتری، خ.، ۱۳۸۵. اثر کادمیوم بر مقدار رنگریزه‌های فتوسنتزی، قندها و مالون دآلدئید در کلزا. زیست‌شناسی ایران، ۱۹: ۱۴۵-۱۳۶.
- فاضلیان، ن. و اسرار، ز.، ۱۳۹۰. تأثیر برهم‌کنش آرسنیک و سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه بابونه (*Matricaria recutita* L.). زیست‌شناسی گیاهی، ۳: ۱۲-۱.
- Bailly, C., 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Science Research, 14: 93-107.
- Bates, L.S., Waldem, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
- Bupesh, G., Amutha, C., Nandagopal, S., Ganeshumar, A., Sureshkumar, P. and Murali, K.S., 2007. Antibacterial activity of *Mentha piperita* L. (peppermint) from leaf extracts-a medicinal plant. Acta Agriculturae Slovenica, 89(1): 73-79.
- Cai, H., Biswas, D.K., Shang, A.Q., Zhao, L.J. and Li, W.D., 2007. Photosynthetic response to water stress and changes in metabolites in *Jasminum sambac*. Photosynthetica, 45(4): 503-509.
- Charles, D.J, Joly, R.J. and Simon, J.E., 1990. Effect of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. Phytochemistry, 29(9): 2837-2840.
- Chatterjee, C., Gopal, R. and Dube, B.K., 2006. Impact of iron stress on biomass, yield, metabolism and quality of potato (*Solanum tubersum* L.). Science Horticulturae, 108: 1-6.
- Cooper, R.J., Liu, C.H. and Fisher, D.S., 1998. Influence of humic substances on rooting and nutrient content of creeping bentgrass. Crop Science, 38(6): 1639-1644.
- Drazic, G. and Mihailovic, N., 2005. Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid. Plant Science, 168(2): 511-517.
- Grattan, S.R. and Grieve, C.M., 1998. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. Scientia Horticulturae, 78: 127-157.
- He, Y., Liu, Y., Cao, W., Huai, M., Xu, B. and Huang, B., 2005. Effects of salicylic acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in Kentucky bluegrass. Journal of Crop Science, 45(3): 988-995.
- Heuer, B., 1994. Osmoregulatory role of proline in water stress and salt-stressed plants: 363-481. In: Pessarkli, M., (Ed.). Handbook of Plant and Crop stress. Marcel Dekker Publication, New York, 619p.
- Irigoyen, J., Emerich, J. and Sanches-Daiz, M., 1992. Water stress induced changes in concentration of praline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plants. Physiologia Plantarum, 84: 55-60.
- Jain, M., Mathur, G., Koul, S. and Sarin, N.B., 2001. Ameliorative effects of proline on salt stress induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogeal* L.). Plant Cell Reports, 20(5): 463-468.
- Jiang, Y. and Huang, B., 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antiaxdant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science, 41: 436-442.
- Khodary, S.E.A., 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plant. International Journal of Agriculture and Biology, 8530: 1-6.
- Klayman, D.L., 1985. Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial durg from China. Science, 228: 1049-1055.
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology, 148: 350-382.
- Manivannan, P., Jaleel, C.A., Sankar, B., Kishurekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G.M. and Panneerselvam, R., 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 59: 141-149.
- McDonald, M.B., 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. Seed Science and Technology, 27(1): 177-237.
- Metwally, A., Finkermeier, I., Georgi, M. and Dietz, K.J., 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. Plant Physiology, 132: 272-281.

www.SID.ir

Archive of SID

mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. The Plant Cell, 14: 2837- 2847.
- Taguchi, G., Yazawa, T., Hayashida, N. and Okazaki M., 2001. Molecular cloning and heterologous expression of novel glucosyltransferases from tobacco cultured cells that have broad substrate specificity and are induced by salicylic acid and auxin. European Journal of Biochemistry, 268(14): 4086-4094.
- Tasgin, E., Atici, O. and Nalbantoglu, B., 2003. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. Plant Growth Regulation, 41(3): 231-236.
- Urbanek, H., Kuzniak-Gebarowska, E. and Herka, K., 1991. Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. Acta Physiologiae Plantarum, 13: 43-50.
- Verma, S. and Duey, R.S., 2003. Lead toxicity induced lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plant. Plant Science, 164(4): 1645-1655.
- Woźniak, K. and Błasiak, J., 2003. Free radicals mediated induction of oxidized DNA-bases and DNA protein cross-links by nickel chloride. Mutagation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 514 (1-2): 233-243.
- Zheljazkov, V.R. and Warman, P.R., 2003. Application of high Cu compost to Swiss chard and basil. The Science of the Total Environment, 302: 13-26.
- Zhou, Z.S., Guo, K., Elbaz, A. and Yang, Z.M., 2009. Salicylic acid alleviates mercury toxicity by preventing oxidative stress in roots of *Medicago sativa*. Environmental and Experimental Botany, 65: 27-34.
- Mishara, A. and Choudhuri, M.A., 1999. Effect of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. Biologia Plantarum, 42(3): 409-415.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A. and Vianello, A., 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry, 34(11): 1527-1536.
- Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. and Turkan, I., 2009. Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. to drought. Environmental and Experimental Botany, 66(3): 487-492.
- Ozturk, A., Unlukara, A., Ipek, A. and Gurbuz, B., 2004. Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of lemon balm (*Melissa officialis* L.). Pakistan Journal of Botany, 36(4): 787-792.
- Pal, M., Horvath, E., Janda, T., Paldi, E. and Szalai, G., 2005. Cadmium stimulates the accumulation of salicylic acid and its putative precursors in maize (*Zea mays*) plants. Physiologia Plantarum, 125(3): 356-364.
- Pessarkli, M., 1999. Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker Inc, New York, 1254p.
- Shi, Q. and Zhu, Z., 2008. Effects of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany, 63: 317-326.
- Singh, R., Shushni, M.A.M. and Belkheir, A., 2015. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Arabian Journal of Chemistry, 8(3): 322-328.
- Siripornadulsil, S., Traina, S., Verma, D.P. and Sayre, R.T., 2002. Molecular mechanisms of proline

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of antioxidant enzymes activities, proline, soluble sugars, photosynthetic pigments and essential oils of *Mentha piperita* L. in response to foliar application of salicylic acid and manganese stress

D. Rasouli[1*], M. Solouki[2], B. Fakheri[2] and S. Esmaelzadeh Bahabadi[3]

1*- Corresponding author, Ph.D. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, E-mail: diakorasouli@yahoo.com
2- Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
3- Department of Biology and Sience, Faculty of Sience, University of Zabol, Zabol, Iran

Received: July 2014 Revised: January 2015 Accepted: January 2015

Abstruct

This study was aimed to investigate the effects of manganese stress and salicylic acid treatments at three different times on activities of antioxidant enzymes, proline, soluble sugars, photosynthetic pigments and essential oils of *Mentha piperita* L. The research was conducted in a greenhouse at the University of Zabol in 2012-13. A factorial experiment was performed in a randomized complete block design with three replications. Plant samples were harvested at three times in 1, 3 and 5 days after spraying with Mn stress (500µM) and salicylic acid (1mM). The results indicated that manganese stress significantly affected APX and proline content of peppermint leaves during all three times. The content of proline and soluble sugars significantly increased in three times compared to the control treatment under salicylic acid and manganese stress. On the other hand, the Mn stress did not significantly decrease the photosynthetic pigments. In addition, essential oils increased with manganese stress and salicylic acid. This increase was much under salicylic acid treatment. According to the obtained results, increased APX enzyme and proline content were the physiological responses of peppermint against oxidative stress. It was also observed that salicylic acid acted as a powerful growth regulator and caused modification in manganese stress response in *Mentha piperita*.

Keywords: Chlorophyll, essential oil, *Mentha piperita* L., oxidative enzymes, proline.

www.SID.ir