

تأثیر تنش خشکی و جاسمونیک اسید روی صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

عزیزاله خیری^{۱*}، هانیه توری^۲ و نجم‌الدین مرتضوی^۳

۱- نویسنده مسئول، استادیار، بخش گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران

پست الکترونیک: kheiry@znu.ac.ir

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، بخش گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران

تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۵

تاریخ اصلاح نهایی: شهریور ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۵

چکیده

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. از خانواده نعناعیان، یکی از گیاهان دارویی پرمصرف است که علاوه بر آثار درمانی به‌عنوان طعم‌دهنده در تولید محصولات غذایی و دارویی مختلف بکار می‌رود. کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی علاوه بر ژنوتیپ، تحت تأثیر عوامل محیطی نیز قرار می‌گیرد. از این رو به‌منظور بررسی اثرات تنش خشکی و جاسمونیک اسید بر روی کمیت و کیفیت نعناع فلفلی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۴ در دانشگاه زنجان اجرا شد. سطوح آبیاری در سه سطح (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ (شاهد) درصد ظرفیت زراعی) به‌عنوان فاکتور اصلی و غلظت جاسمونیک اسید در سه سطح (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) به‌عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد. برای تکثیر از ریزوم‌های گیاه استفاده گردید. نمونه‌ها در مرحله گلدهی جمع‌آوری و پس از خشک شدن در سایه، به روش تقطیر با آب، اسانس گیاه استخراج شد و شناسایی ترکیب‌های اسانس به کمک دستگاه GC و MS/GC انجام گردید. نتایج نشان داد که بیشترین میزان ارتفاع، وزن تر و خشک، کلروفیل کل و محتوای نسبی آب برگ در تیمار شاهد با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید بدست آمد. همچنین بیشترین میزان آنزیم پراکسیداز در تنش خشکی ۵۰٪ ظرفیت زراعی با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید حاصل شد. همچنین بیشترین درصد اسانس در تنش خشکی ۷۵٪ ظرفیت زراعی با کاربرد ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید بدست آمد. ترکیب‌های اصلی شناسایی شده اسانس شامل منتول، ۸،۱-سینئول، سیکلوهگزانونول و متیل استات بودند که بیشترین مقادیر منتول، منتون و ۸،۱-سینئول در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید و بیشترین مقدار سیکلوهگزانونول در تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید بدست آمد. اما با کاربرد جاسمونیک اسید میزان متیل استات از ۷/۲۴٪ در تیمار شاهد به ۰/۵۶٪ در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: الیسیاتور، کم آبیاری، کروماتوگرافی گازی، درصد اسانس، نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.).

مقدمه

خانواده نعناع (Lamiaceae) از بزرگترین خانواده‌های گیاهی با انتشار و توزیع جهانی از قطب شمال تا قطب جنوب است، این خانواده دارای ۲۰۰ جنس و ۳۳۰۰ گونه است و معمولاً دارای اسانس می‌باشد (FAO, 2008). نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. از مهمترین گیاهان دارویی این تیره بوده که گیاهی است چند ساله، با ارتفاع ۵۰ تا ۶۰ سانتی‌متر، عموماً علفی و بوته‌ای، دارای ساقه چهار گوش ارغوانی رنگ و صاف، برگ‌ها کوتاه، تخم‌مرغی کشیده و دندانه متقابل، وجود خطوط برجسته روی کاسه گل و ظاهر جام گل، کمک مؤثری در تشخیص این گیاهان است (Omidbaigi, 2009; Azadbakht, 1999). از این گیاه در بیشتر فرماکوپه‌های معتبر به‌عنوان یک گیاه دارویی ارزشمند یاد شده است. از مواد مؤثره نعناع در صنایع داروسازی، داروهای برای مداوای دل‌درد و نفخ شکم استفاده می‌شود. از عطر و طعم نعناع برای خوش طعم شدن داروهای بدمزه استفاده می‌شود. اسانس نعناع فلفلی در صنایع غذایی، بهداشتی و آرایشی، شیرینی‌پزی، نوشابه‌سازی و صنایع ادویه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (Omidbaigi, 2009). اسانس این گیاه یکی از معروفترین و رایج‌ترین روغن‌های اسانسی مورد استفاده است و این به‌دلیل ترکیب‌های اصلی آن یعنی منتول و منتون می‌باشد (Gul, 2005). تولید و میزان مواد مؤثره گیاهان دارویی، به‌عنوان یک متغیر تحت تأثیر بسیاری از عوامل محیطی قرار می‌گیرد (Niyakan et al., 2000). از این رو روش‌هایی که بتواند تولید و افزایش ترکیب‌های ثانویه را در گیاهان دارویی موجب گردد در حال گسترش می‌باشد. براساس گزارش فائو حدود ۹۰٪ از کشور ایران در نواحی خشک و نیمه‌خشک قرار دارد (Daneshmand et al., 2009). تنش عبارت است از یک فاکتور زنده و یا غیرزنده که از عمل طبیعی گیاه جلوگیری کرده و باعث کاهش رشد و عملکرد آن می‌شود (Hamed, 2009). تنش خشکی می‌تواند از یک یا چند فعالیت فیزیولوژیکی مانند تعرق، فتوسنتز، طول

شدن بافت و اندام و یا فعالیت‌های آنزیمی سلول ممانعت کرده و یا حتی باعث توقف آنها شود (Gul, 2005).

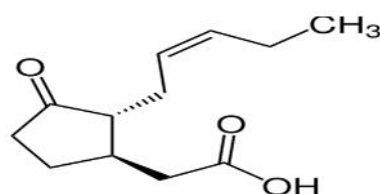
Hasani و Omidbaigi (۲۰۰۲) بیان کردند که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر رشد، عملکرد، مقدار کلروفیل و اسانس ریحان داشت. Misra و Sricastatva (۲۰۰۰) مشاهده کردند که در گیاه نعناع، تنش آبی باعث کاهش معنی‌داری در سطح برگ، ماده تر و خشک، مقدار کلروفیل و عملکرد اسانس شد.

همچنین تنش خشکی پارامترهای رشد را در گیاهان دارویی مانند ریحان (Khalil et al., 2010)، جعفری (Petropoulos et al., 2008) و ریحان بنفش (Moeini et al., 2006) کاهش داد. کاهش وزن تر و خشک اندام‌های گیاه تحت تنش خشکی می‌تواند به‌دلیل کاهش قابل توجه در فتوسنتز، تورژسانس سلولی و فعالیت کیناز وابسته به سایکلین در تحقیق باشد (Sankar et al., 2007). Tazikehmiyandare و همکاران (۲۰۱۲) نیز در تحقیقات خود اعلام کردند که تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک برگ نعناع فلفلی در تنش خشکی شدید نسبت به شاهد شد. از سوی دیگر در برخی گزارش‌ها به افزایش طول ریشه در آفتابگردان (Tahir et al., 2002) و پرپوش (Jaleel et al., 2008) اشاره شده است. تنش خشکی می‌تواند بر کمیت و کیفیت اسانس‌های گیاهی تأثیرگذار باشد و گیاهان مناطق معتدله از زمان‌های گذشته در معرض شرایط تنش خشکی قرار گرفته‌اند (Boush et al., 1999). متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی نتیجه بارز تنش‌ها می‌باشند. بنابراین محصولات دارویی بر خلاف اغلب محصولات کشاورزی که در اوضاع تنشی از نظر تولید لطمه می‌بینند در این شرایط، معمولاً تولید شیمیایی بیشتر و در نتیجه بازده اقتصادی برتری پیدا می‌کنند. بنابراین در پرورش این گیاهان همان قدر که وجود آب یکی از امکانات مهم زیست محیطی است، نبود آب هم یک واقعیت است که توان افزایش مواد مؤثره را دارد. با این تلقی محدودیت آب نه تنها یک عامل نامساعد، بلکه راهکاری بدون هزینه برای

جاسمونیک اسید تحت تنش خشکی باعث فعال‌سازی سیستم‌های آنزیمی (سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز) و آنتی‌اکسیدانت غیر آنزیمی (پرولین و قندهای محلول) و توقف پراکسیداسیون لیپید (مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن) می‌شود. جاسمونیک اسید همچنین محتوای آب نسبی برگ و سطح اسید آسبیزیک درونی را تحت شرایط تنش خشکی افزایش داد (Wu et al., 2012). تحت تنش خشکی، تیمار جاسمونیک اسید افزایش فعالیت پراکسیداز را کاهش می‌دهد و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز و میزان اسید آسکوربیک را حفظ می‌کند. به علاوه اینکه تیمار جاسمونیک اسید باعث کاهش تعرق و کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌شود (Wang et al., 2001). Mousavi (۲۰۱۱) گزارش کرد که محلول پاشی جاسمونیک اسید در سطح ۱۰۰ میکرولیتر اثرات مطلوبی بر میزان ترکیب‌های مؤثره و همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره گل همیشه‌بهار داشته است. Ashrafi و همکاران (۲۰۱۲) عنوان کردند که محلول پاشی با جاسمونیک اسید ممکن است سبب افزایش و یا کاهش برخی متابولیت‌های ثانویه به‌ویژه ترکیب‌های فنلی مهم در اسانس آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Celak) شود. کاربرد خارجی آنها در گیاهان دارویی مانند آویشن دناپی ممکن است منجر به تغییر میزان برخی از ترکیب‌های ثانویه مهم مثل تیمول شود (Hamedi et al., 2014).

تهییج (Elicitation)، فرایندی است که طی آن ساخت متابولیت‌های ثانویه به‌وسیله گیاهان تحریک شده یا زیاد می‌شود و به این ترتیب بقاء، دوام و قدرت رقابت آنها تضمین می‌شود (Kheiry & Sanikhani, 2014). Angelova et al., 2006). الیستورها ترکیب‌هایی هستند که سیستم دفاعی گیاهان را تحریک می‌کنند و دارای دو منشأ زیستی و غیرزیستی می‌باشند. الیستورها می‌توانند به‌عنوان افزایش‌دهنده سنتز متابولیت‌های ثانویه استفاده شوند و یک نقش کلیدی را در مسیر بیوسنتزی برای افزایش تولیدات مهم تجاری داشته باشند (Angelova et al., 2006).

نوعی تولید می‌باشد (Fakhr Tabatabai, 1997). یکی دیگر از جنبه‌های افزایش ترکیب‌های مؤثره گیاهان دارویی را می‌توان کاربرد مواد تنظیم‌کننده گیاهی دانست. مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی در تمام جنبه‌های چرخه حیاتی گیاه کاربرد دارد. به‌طوری که این مواد می‌توانند اثر عمیقی بر روی واکنش‌های گیاه داشته باشند (Creelman & Mullet, 2008). افزایش مقاومت گیاهان از راه‌های مختلف، شامل به‌نژادی و استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد، عملی است. در مقایسه با روش‌های به‌نژادی که اغلب بلندمدت و هزینه‌بر هستند، استفاده از مواد شیمیایی مانند جاسمونیک اسید آسان‌تر و ارزان‌تر می‌باشد (Daneshmand et al., 2009). جاسمونیک اسید (شکل ۱) و مشتقات آن مثل متیل جاسمونات تنظیم‌کننده‌های رشد درونی یا بازدارنده‌های رشد گیاه هستند که نقش کلیدی در رشد و نمو و پاسخ به تنش‌های محیطی ایفاء می‌کنند. در سال ۱۹۶۲ برای اولین بار اسید جاسمونیک متیل استر به‌عنوان یک متابولیت ثانویه از اسانس گیاه *Jasminum grandiflorum* از تیره زیتون جدا شد. دو دهه پس از شناسایی اولیه جاسمونات‌ها نخستین تأثیرهای فیزیولوژیکی آنها شناسایی شد و این مواد به‌عنوان ترکیب‌های پیش‌برنده پیری، بازدارنده رشد و محرک‌هایی برای متابولیسم ثانویه در گونه‌های مختلف گیاهی شناخته شدند (Ghanati et al., 2000).



شکل ۱- ساختار شیمیایی جاسمونیک اسید

اثرات فیزیولوژیکی جاسمونات‌ها در گیاهان با توجه به گونه گیاهی، مرحله نمو، نوع جاسمونات و غلظت بکار رفته متفاوت است (Martin et al., 2002). تیمار با جاسمونیک اسید تحمل به استرس خشکی را از طریق افزایش تجمع کلروفیل و میزان فتوسنتز خالص افزایش می‌دهد. کاربرد

۵۰٪، ۵۰۰ میلی لیتر، ۷۵٪، ۷۵۰ میلی لیتر و همچنین تیمار شاهد ۱۰۰۰ میلی لیتر آب برای آبیاری هر گلدان با ۴ کیلوگرم وزن محاسبه گردید. برای اعمال تیمار جاسمونیک اسید مقدار لازم از جاسمونیک اسید برای هر تیمار وزن شده و در ۱۰ میلی لیتر اتانول حل گردید، سپس به حجم مورد نظر رسانده شد و در مکان سرد و سایه نگهداری شد. پس از رسیدن گیاهان به ارتفاع مشخص اولین محلول پاشی برگگی در تاریخ ۲۰ فروردین ماه سال ۹۴ و دومین و سومین محلول پاشی برگگی نیز با فاصله دو هفته از هم (سوم و هفدهم اردیبهشت ماه ۹۴) انجام شد. داده‌ها با کمک نرم‌افزار SAS9.0 تجزیه و تحلیل شدند و مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گردید. رسم نمودار به کمک نرم‌افزار Excel 2007 انجام شد.

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل کل و آنزیم پراکسیداز

محتوای نسبی آب برگ، براساس روش Yamasaki و Dillenburg (۱۹۹۹) محاسبه شد. همچنین میزان کلروفیل کل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر به روش Arnon (۱۹۶۷) اندازه‌گیری شد. برای سنجش آنزیم پراکسیداز از عصاره‌هایی که به وسیله بافر فسفات استخراج شدند، استفاده شد. در نهایت میزان جذب در طول موج ۴۳۶ نانومتر طی سه دقیقه و هر ۱۵ ثانیه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Mac Adam et al., 1992).

استخراج اسانس

پس از پایان دوره اعمال تیمارها، استخراج اسانس به صورت تقطیر با آب و به وسیله دستگاه کلونجر انجام شد. پس از محاسبه میزان اسانس بر حسب گرم در وزن خشک در هر تیمار، اسانس‌های حاصل در ظروف شیشه‌ای مخصوص جمع‌آوری و با بستن پوشش فویل آلومینیومی اطراف شیشه‌ها، تا زمان آنالیز اسانس در شرایط خنک و تاریک در یخچال نگهداری شدند.

بنابراین تنش خشکی و جاسمونیک اسید به عنوان یک ایسیتور یا مهیج مطرح بوده و ممکن است سبب افزایش تولید اسانس در این گیاه دارویی با ارزش شود، اگرچه تنش خشکی خود به تنهایی سبب کاهش عملکرد بخش رویشی گیاه شده ولی انتظار می‌رود که کاربرد این دو ایسیتور به صورت همزمان سبب گردد تا تأثیراتی منفی که تنش خشکی می‌تواند از لحاظ رشدی بر گیاه وارد کند کاهش یافته و رشد و عملکرد و به نسبت آن تولید متابولیت‌های ثانویه به میزان قابل توجهی افزایش یابد. از این رو هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر تنش خشکی و محلول پاشی جاسمونیک اسید روی خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی (ترکیب‌های اسانسی) گیاه دارویی نعناع فلفلی بود.

مواد و روش‌ها

کاشت گیاه

این آزمایش در سال زراعی ۹۴-۹۳ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. ریزوم‌های نعناع فلفلی از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان تهیه و در گلدان‌های پلاستیکی با ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر و گنجایش ۵ کیلوگرم با بستر کاشت مخلوط ماسه و کود حیوانی و خاک باغچه با نسبت ۱:۱:۱ به وزن ۴ کیلوگرم و عمق ۴ سانتی‌متر کشت گردید. برای رسیدن هر گلدان ۴ کیلوگرمی به حد ظرفیت زراعی، میزان آب مورد نیاز برابر یک کیلوگرم بدست آمد. سطوح آبیاری در سه سطح (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و جاسمونیک اسید نیز در سه غلظت (۰، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) در نظر گرفته شد. گلدان‌ها در شرایط نوری طبیعی و در دما و رطوبت کنترل شده گلخانه‌ای نگهداری و حد ظرفیت زراعی هر گلدان توسط تانسومتر سنجیده شده و تا پایان اعمال تیمارها رطوبت گلدان‌ها در حد ظرفیت زراعی (FC) نگه داشته شد.

اعمال تیمار تنش خشکی و جاسمونیک اسید روی نعناع فلفلی تیمارهای تنش خشکی و جاسمونیک اسید به صورت همزمان اعمال شد، به طوری که برای اعمال تنش خشکی

دمای اولیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد (با زمان نگهداری ۳ دقیقه)، گرادیان دمایی ۵ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه، دمای نهایی ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد گاز حامل هلیوم ۹۹/۹۹٪ با شدت یک میلی‌متر بر دقیقه بود.

نتایج

نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی بر ارتفاع گیاه در سطح ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). به‌نحوی که با افزایش تنش خشکی ارتفاع گیاه کاهش یافت، به‌طوری که بیشترین میزان ارتفاع گیاه مربوط به تیمار شاهد (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) به میزان ۵۴/۷۷ سانتی‌متر بود (جدول ۲). کاربرد جاسمونیک اسید به‌طور معنی‌داری (در سطح ۱٪) موجب افزایش ارتفاع گیاه گردید، به‌نحوی که بیشترین میزان ارتفاع گیاه مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید بود (جدول ۳).

در رابطه با وزن تر و خشک نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی بر وزن تر و خشک گیاه در سطح ۱٪ از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌های این صفت نشان داد که بیشترین میزان وزن تر و وزن خشک در تیمار آبیاری شاهد (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) با ۹۴/۷۷ گرم و ۲۳/۰۷ گرم مشاهده شد. از طرفی کاربرد جاسمونیک اسید به‌طور معنی‌داری سبب افزایش وزن تر و خشک به‌ترتیب ۷۰/۳۴ گرم و ۱۸/۷۳ گرم از تیمار شاهد به ۸۲/۴۸ گرم و ۲۳/۱۵ گرم در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید گردید.

طبق نتایج، اثر تنش خشکی بر کلروفیل کل در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمار شاهد (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) با میانگین ۹/۶۷ میلی‌گرم بر گرم و کمترین آن نیز در تیمار تنش خشکی شدید (۵۰٪ ظرفیت زراعی) با میانگین ۷/۳۶ میلی‌گرم بر گرم حاصل شد (جدول ۲). تأثیر کاربرد جاسمونیک اسید بر کلروفیل کل در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱).

آنالیز و شناسایی ترکیب‌های اسانس

به‌منظور جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس، از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) موجود در مرکز دانشکده شیمی دانشگاه تبریز استفاده شد.

کاربرد و مشخصات کروماتوگرافی گازی (GC): Gas Chromatography

کروماتوگرافی گازی یکی از روش‌های کروماتوگرافی است که برای بررسی و جداسازی مواد فرار بدون تجزیه شدن آنها، بکار می‌رود. در کروماتوگرافی گازی، فاز گازی یک فاز بی‌اثر (برای مثال هلیوم، نیتروژن، آرگون و دی‌اکسید کربن) است و به فاز متحرک گاز حامل نیز می‌گویند. فاز ساکن یک جسم جامد جاذب و یا لایه نازکی از یک مایع غیر فرار است که به دیواره داخلی ستون یا به‌صورت پوششی روی سطح گلوله‌های شیشه‌ای یا فلزی قرار داده شده‌است. در صورتی که فاز ساکن جسم جامد جاذب باشد اصطلاحاً کروماتوگرافی گازی می‌گویند، در کروماتوگرافی گازی، جداسازی اجزا یک مخلوط متناسب با میزان توزیع اجزا تشکیل‌دهنده مخلوط بین فاز متحرک گازی و فاز ساکن جامد یا مایع انجام می‌شود. در این روش گاز حامل مخلوط را درون ستون حرکت می‌دهد و بین دو فاز در حالت تعادل (گاز-مایع) اجزا تشکیل‌دهنده مخلوط توزیع می‌شوند. بنابراین فاز متحرک اجزا تشکیل‌دهنده نمونه را به طرف بیرون ستون حرکت می‌دهد و هر مولکولی که با ارتباط سست‌تر جذب ستون شده است، زودتر و جزئی که قدرت جذب بیشتری با ستون دارد، دیرتر از ستون خارج می‌شوند. بنابراین، اجزا مخلوط از یکدیگر جدا می‌شوند. کروماتوگرافی گازی برای جداسازی و شناسایی اجزا تشکیل‌دهنده یک مخلوط و تجزیه کمی آنها نیز کاربرد دارد. مشخصات دستگاه: دستگاه GC مورد استفاده، گاز کروماتوگرافی مدل HP-6890 ساخت شرکت Agilent آمریکا به ستون HP-SMS (به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۳۲ میکرون) بود.

بدست آمد (جدول ۲). همچنین نتایج نشان داد که اثر کاربرد جاسمونیک اسید بر میزان آنزیم پراکسیداز در سطح ۵٪ از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین میزان آنزیم پراکسیداز در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید به میزان ۰/۴۷۶ میلی‌گرم بر گرم حاصل شد (جدول ۳) اثرات متقابل تنش خشکی و جاسمونیک اسید برای این صفت در سطح ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۱). به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به تنش خشکی ۵۰٪ ظرفیت زراعی با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید بود.

بیشترین میزان کلروفیل با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید به میزان ۹/۴۱ میلی‌گرم بر گرم و کمترین آن نیز در تیمار شاهد بود (جدول ۳). اثرات متقابل تنش خشکی و جاسمونیک اسید در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح ۱٪ از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین میزان آنزیم پراکسیداز در تیمار تنش خشکی ۵۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۰/۴۵۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کمترین آن در تیمار شاهد به میزان ۰/۲۶۲

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی و جاسمونیک اسید بر صفات فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شده

میانگین مربعات		درجه آزادی		منابع تغییر				
محتوای نسبی آب برگ	کلروفیل کل	آنزیم پراکسیداز	وزن خشک	وزن تر	ارتفاع گیاه			
۰/۱۰۴ ***	۲۴/۵۹ ***	۱۰/۸۴ ***	۰/۰۹۵ ***	۵۶/۵۶ *	۳۳۴/۷۶ *	۲۷۱/۷۷ ***	۲	جاسمونیک اسید
۰/۰۷۶ ***	۲۰۱/۵۰ ***	۱۲/۵۶ ***	۰/۰۸۶ ***	**	**	۱۲۶/۹۸ *	۲	خشکی
۰/۰۰۴ ns	۱/۳۴ ns	۰/۹۱ ***	۰/۰۰۵ ***	۱/۲۴ ns	۷/۵۵ ns	۲۵/۸۱ ns	۴	جاسمونیک اسید×خشکی
۰/۰۰۷	۷/۸۰	۰/۲۹۹	۰/۰۰۰۵	۱۳/۵۱	۷۷/۲۹	۵۴۹/۲۶	۸	خطای آزمایش
۱۵/۸۳۴	۱۲/۵۸۸	۹/۵۳۴	۱۶/۳۷۵	۱۸/۰۵	۱۱/۴۵	۱۰/۸۶	-	ضریب تغییرات

ns: * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح ۵٪ و ۱٪ احتمال

نسبی آب برگ گردید، به نحوی که بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ مربوط به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر جاسمونیک اسید به میزان ۵۱/۶۱٪ بود (جدول ۳). براساس نتایج، اثر تنش خشکی بر درصد اسانس در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین درصد اسانس در تنش خشکی ۷۵٪ ظرفیت زراعی با میانگین ۰/۷۸٪ و کمترین آن نیز در تیمار ۵۰٪ ظرفیت زراعی با میانگین ۰/۶۹٪ بدست آمد (جدول ۲). کاربرد جاسمونیک اسید موجب افزایش

طبق جدول تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر محتوای نسبی آب برگ در سطح ۱٪ از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت، به طوری که بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ مربوط به تیمار شاهد (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی) و کمترین میزان مربوط به تنش خشکی ۵۰٪ ظرفیت زراعی به ترتیب با مقادیر ۵۵/۱۳٪ و ۴۵/۸۴٪ بود (جدول ۲). کاربرد جاسمونیک اسید (در سطح ۱٪) موجب افزایش محتوای

معنی دار اسانس گردید، به نحوی که بیشترین میزان اسانس مربوط به غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر جاسمونیک اسید بود (جدول ۳). اثر متقابل بین سطوح خشکی و جاسمونیک اسید برای این صفت از نظر آماری معنی داری نداشت.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مربوط به خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی نعنای فلفلی در سطوح مختلف تنش خشکی

سطوح خشکی (درصد ظرفیت زراعی)	ارتفاع گیاه (cm)	وزن تر (g)	وزن خشک (g)	آنزیم پراکسیداز (mg g ⁻¹)	کلروفیل کل (mg g ⁻¹)	محتوای نسبی آب برگ (%)	درصد اسانس (%)
۱۰۰	۵۴/۷۷ a	۹۴/۷۷ a	۲۳/۰۷ a	۰/۲۶۲ c	۹/۶۷ a	۵۵/۱۳ a	۰/۷۰ b
۷۵	۵۰/۴۰ ab	۷۶/۱۲ b	۲۱/۰۳ a	۰/۳۵۰ b	۸/۰۷ b	۴۸/۹۵ b	۰/۷۸ a
۵۰	۴۷/۲۹ b	۵۹/۴۱ c	۱۶/۹۸ b	۰/۴۵۷ a	۷/۳۶ c	۴۵/۸۴ c	۰/۶۹ b

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف آماری معنی دار می‌باشند (دانکن ۵٪).

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات مربوط به خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی نعنای فلفلی در سطوح مختلف جاسمونیک

سطوح جاسمونیک اسید (mg l ⁻¹)	ارتفاع گیاه (cm)	وزن تر (gr)	وزن خشک (gr)	آنزیم پراکسیداز (mg g ⁻¹)	کلروفیل کل (mg g ⁻¹)	محتوای نسبی آب برگ (%)	درصد اسانس (%)
۰	۴۴/۰۶ b	۷۰/۳۴ b	۱۸/۷۳ b	۰/۲۷۲ c	۷/۲۲ c	۴۸/۳۰ b	۰/۶۴ c
۵۰	۵۲/۳۸ a	۷۷/۴۸ ab	۱۹/۶۴ ab	۰/۳۳۱ b	۸/۴۷ b	۵۰/۰۲ ab	۰/۸۷ a
۱۰۰	۵۵/۳۶ a	۸۲/۴۸ a	۲۳/۱۵ a	۰/۴۷۶ a	۹/۴۱ a	۵۱/۶۱ a	۰/۷۴ b

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف آماری معنی دار می‌باشند (دانکن ۵٪).

بر لیتر جاسمونیک اسید بدست آمد، در حالیکه میزان آن در تیمار شاهد کمترین مقدار (۲۷/۴۴٪) را داشت (شکل ۲).

بین میزان منتون نیز در تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری مشاهده شد؛ به طوری که میزان منتون در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر جاسمونیک اسید بیشترین میزان (۱۹/۹۶٪) را به خود اختصاص داد، در حالیکه میزان آن در شاهد کمترین مقدار (۱۷/۴۴٪) بود.

از نظر میزان ۸،۱-سینئول، بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف معنی داری وجود داشت؛ به طوری که میزان آن در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر از بیشترین میزان (۸/۹۵٪) و در تیمار شاهد کمترین مقدار (۶/۷۶٪) را داشت.

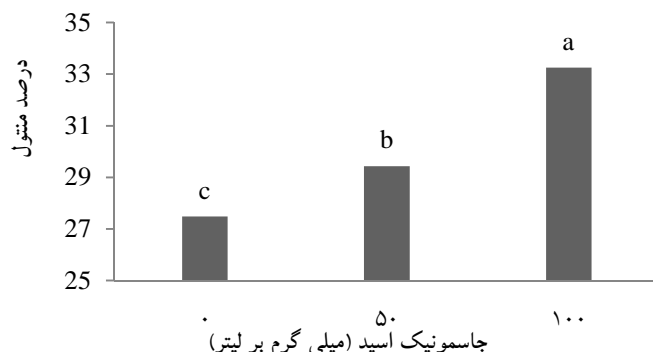
میزان سیکلوهگزانونول در بین تیمارها اختلاف معنی داری داشت، به طوری که میزان سیکلوهگزانونول در تیمار ۵۰ میلی گرم بر لیتر جاسمونیک اسید بیشترین میزان

طبق نتایج حاصل از تجزیه فیتوشیمیایی اسانس نعنای فلفلی، در تیمارهای مختلف با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیفسنج جرمی (GC-Mass)، حدود ۲۲ ترکیب شناسایی گردید که در مجموع ۹۸٪ اسانس را تشکیل می‌دادند (جدول ۱). همان گونه که مشخص است تیمارهای مختلف اثر متفاوتی بر ترکیب‌های ثانویه در اسانس نعنای فلفلی داشته است. به طوری که دامنه ترکیب منتول بین ۲۷/۴۴٪ تا ۳۳/۲۵٪، منتون ۱۷/۴۴٪ تا ۱۹/۴۶٪، ۸،۱-سینئول ۶/۸۶٪ (شاهد) تا ۸/۹۵٪، سیکلوهگزانونول ۱۰/۸۳٪ تا ۱۶/۴۳٪ و متیل استات بین ۷/۲۴٪ تا ۰/۵۶٪ بود (جدول ۴).

نتایج در مورد میزان ترکیب منتول در نمونه‌های اسانس گیاه نشان داد که بین تیمارها اختلاف بارزی وجود داشت. بیشترین میزان منتول با مقدار ۳۳/۲۵٪ در تیمار ۱۰۰ میلی گرم

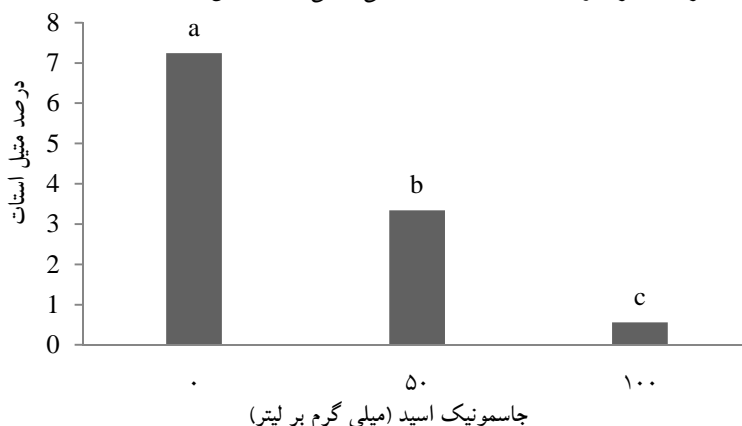
۷/۲۴ بود و کمترین میزان آن نیز در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر جاسمونیک اسید با ۰/۵۶٪ مشاهده شد (شکل ۳).

و در تیمار شاهد کمترین مقدار (۱۰/۸۳٪) را داشت. بیشترین میزان متیل استات در تیمار شاهد با مقدار



شکل ۲- مقایسه درصد ترکیب متیل استات در تیمارهای مختلف جاسمونیک اسید

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف آماری معنی دار می‌باشند (دانکن ۵٪).



شکل ۳- مقایسه درصد ترکیب متیل استات اسانس نعنای در تیمارهای مختلف جاسمونیک اسید

میانگین‌های حداقل دارای یک حرف مشترک در هر ستون، فاقد اختلاف آماری معنی دار می‌باشند (دانکن ۵٪).

بحث

افزایش یافت. بنابراین به نظر می‌رسد که جاسمونیک اسید طولی شدن و تقسیم سلولی را به همراه مواد دیگری از قبیل اکسین تنظیم کند و با افزایش میزان تقسیم سلولی مریستم انتهایی ریشه‌های اولیه سبب افزایش رشد طولی گیاه می‌شود. نتایج آزمایش نشان داد که کاربرد جاسمونیک اسید سبب بهبود وزن تر و خشک اندام هوایی در شرایط تنش خشکی شد. تنش خشکی با محدودیت‌هایی که در جذب آب توسط گیاه و همچنین جذب عناصر غذایی برای گیاه ایجاد می‌کند باعث کاهش بیوماس تولیدی می‌شود (Ashraf & Foolad, 2007).

نتایج حکایت از کاهش ارتفاع نعنای فلفلی در اثر تنش خشکی و افزایش ارتفاع آن در اثر کاربرد جاسمونیک اسید داشت. کاهش مقدار آب آبیاری و تنش ناشی از آن موجب کاهش پتانسیل آب بافت‌های مریستمی در طول روز شده که موجب نقصان پتانسیل فشاری به حدی کمتر از میزان لازم برای بزرگ شدن سلول‌ها شده و سبب کاهش ارتفاع بوته می‌گردد (Hassani, 2006). نتایج مشابهی توسط Farzaneh و Tafazoli (۲۰۱۴) گزارش شد که نشان می‌داد با اعمال تیمار جاسمونیک اسید ارتفاع گیاه گوجه‌فرنگی

جدول ۴- نوع و مقدار ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس حاصل از تیمارهای مختلف جاسمونیک اسید در نعنای فلفلی

شماره	نام ترکیب	K.I	شاهد	JA 50	JA 100
۱	-pinene	۹۳۱	۱/۱۴	۰/۶۰	۰/۶۷
۲	sabinene	۹۷۰	۲/۰۶	۱/۳۵	۰/۲۴
۳	-pinene	۹۳۷	۰/۷۹	۰/۹۵	۱/۱۲
۴	-terpinen	۱۰۲	۰/۱۹	۰/۲۳	۰/۱۲
۵	1,8-cineole	۱۰۲۹	۶/۷۶	۷/۷۴	۸/۹۵
۶	-terpinene	۱۰۵۳	۰/۳۹	۰/۳۲	۰/۲۷
۷	trans-sabinene hydrate	۱۰۶۶	۱/۶۵	۱/۷۴	۱/۰۲
۸	terpinolene	۱۰۸۲	۰/۴	۰/۳۲	۰/۲۷
۹	mentone	۱۱۵۳	۱۷/۴۴	۱۷/۹۵	۱۹/۹۶
۱۰	cyclohexanone	۱۱۶۲	۷/۵۲	۴/۸۴	۳/۸۳
۱۱	cyclohexanol	۱۱۷۲	۱۰/۸۳	۱۶/۴۳	۱۵/۱۱
۱۲	menthol	۱۱۷۸	۲۷/۴۸	۲۹/۴۳	۳۳/۲۵
۱۳	pulegone	۱۱۹۲	۱/۵۲	۲/۹۸	۲/۷۲
۱۴	cyclohexen	۱۲۵۳	۱/۱۷	۱/۱۱	۱/۰۷
۱۵	methyl acetate	۱۲۹۸	۷/۲۴	۳/۳۴	۰/۵۶
۱۶	-bourbonene	۱۳۲۷	۰/۷۳	۰/۲۰	-
۱۷	trance- -caryophyllene	۱۳۸۴	۳/۲۸	۳/۶۳	۳/۵۳
۱۸	trans- -farnesen	۱۴۴۱	۰/۸۵	۰/۷۵	۰/۹۲
۲۹	germacrene-D	۱۴۷۸	۴/۶۱	۴/۳۲	۳/۱
۲۰	bicyclogermacrene	۱۴۹۲	۰/۸۸	۰/۹۴	۱/۰۰
۲۱	caryophyllene oxide	۱۵۳۲	۰/۳۰	۰/۴۳	۰/۵۹
۲۲	viridiflorol	۱۵۹۲	۱/۵۳	۱/۹۳	۲/۱۴

خشکی، به علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن باشد، که این رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون و در نتیجه تجزیه این رنگیزه می‌گردد (Schutz & Fangmeir, 2001). نتایج نشان داد که جاسمونیک اسید با فعال کردن آنزیم‌های ضداکسایشی در کلروپلاست از تخریب کلروفیل و کاروتنوئید و به دنبال آن کاهش فتوسنتز جلوگیری کرده، بدین ترتیب موجب بهبود رشد گیاه مورد آزمایش گردید، که با نتایج Salari و Mansouri (۲۰۱۲)

Agayi و Mohebalipour (۲۰۱۴) بیان کردند، با افزایش غلظت جاسمونیک اسید از صفر به ۱ میلی‌مولار وزن تر و خشک گیاهچه بادرنجبویه افزایش یافت. از طرفی نتایج حکایت از کاهش میزان کلروفیل کل در شرایط تنش خشکی داشت، چون انواع اکسیژن‌های واکنش‌گر که طی تنش خشکی تولید می‌شود، باعث کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌گردد (Sairam et al., 1998). بنابراین به نظر می‌رسد این کاهش در اثر تنش

Mousavi (۲۰۱۱) گزارش کرد که محلول‌پاشی جاسمونیک اسید در سطح ۱۰۰ میکرولیتر، اثرات مطلوبی بر میزان ترکیب‌های مؤثره و همچنین خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گل همیشه‌بهار داشته‌است.

در یک بررسی دیگر جاسمونیک توانست ماده مؤثره گیاه دارویی جین‌سینگ (*Panax ginseng*) به نام جینسنوزید (*Ginsenoside*) را در کشت سلولی افزایش دهد (Yu et al., 2002). Kim و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه اثر جاسمونیک اسید بر روی ترکیب‌های ثانویه ریحان به این نتیجه دست یافتند که افزایش جاسمونیک اسید از ۰/۱ به ۰/۵ میلی‌مولار سبب افزایش میزان فتل تام در ریحان شده‌است. این ترکیب‌ها شامل رزمارینیک اسید و کافتیک اسید بود که تیمار ۰/۵ میلی‌مول جاسمونات توانست نسبت به سایر تیمارها و شاهد سبب افزایش بسیار معنی‌دار ترکیب‌های فنولیک در ریحان شود و نیز باعث افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس ریحان شود. نتایج این پژوهش نیز نشان داد که جاسمونیک اسید بر میزان ترکیب‌ها و مواد مؤثره نعنای فلفلی تأثیرگذار بوده، به طوری که غلظت‌های مختلف بکار رفته روی نوع و مقدار ترکیب‌های اسانسی تأثیرات معنی‌داری داشتند.

بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاربرد جاسمونیک اسید و تنش خشکی به‌عنوان الیستور در گیاه نعنای فلفلی می‌تواند علاوه بر کاهش تأثیرات منفی تنش خشکی بر روی عملکرد رویشی، به‌صورت تنشی هدفمند در جهت افزایش کمیّت و کیفیت اسانس، به‌عنوان یکی از مهمترین اهداف در کشت این گیاه دارویی بکار گرفته شود. از این‌رو با توجه به نتایج این پژوهش و با در نظر گرفتن این موضوع که مهمترین مواد موجود در اسانس نعنای فلفلی مربوط به دو ماده منتول و منتون است، استفاده از غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر این ماده باعث تحریک مسیر بیوسنتزی ترکیب‌های منتول و منتون و افزایش بازده اسانس در گیاه نعنای فلفلی می‌شود.

در مورد گیاه شاهدانه مطابقت داشت. نتایج حاصل از اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز حکایت از افزایش فعالیت این آنزیم با کاربرد جاسمونیک اسید در شرایط تنش خشکی داشت. تنش خشکی، موجب افزایش تولید انواع واکنشگر اکسیژن و در نتیجه افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود. به‌علاوه جاسمونیک اسید تولید انواع اکسیژن واکنشگر (ROS) را القاء می‌کند و باعث القای تنش اکسیداتیو در گیاهان تحت تیمار می‌شود (Chong et al., 2005). بنابراین یک دستگاه آنتی‌اکسیدانی مؤثر برای حفظ عملکردهای متابولیسم در شرایط القاء ضروریست که آنزیم پراکسیداز یکی از عناصر این دستگاه آنتی‌اکسیدانی آنزیمی است و نقش بسیار مهمی در غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول گیاه دارد و با توجه به گونه گیاهی و شدت تنش، میزان فعالیت آنها در گیاه تغییر می‌کند (Apel & Hirt, 2004). پراکسیداز مسئول حذف مقادیر H_2O_2 می‌باشد (Larque Saavedra, 1979). در گیاهچه بادام زمینی، جاسمونیک اسید در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شده است (Kumari et al., 2006). نتایج مربوط به اندازه‌گیری محتوای نسبی آب نیز حکایت از بهبود این صفت در اثر کاربرد جاسمونیک اسید در شرایط تنش داشت. قابلیت تنظیم اسمزی به میزان کاهش پتانسیل آب بستگی دارد و می‌توان گفت یکی از مکانیسم‌های مقاومت در برابر خشکی در گیاه، حفظ محتوای نسبی آب می‌باشد (Kafi & Damghani, 2001).

همچنین گزارش شده که تیمار جاسمونیک اسید، محتوای آب نسبی برگ و سطح اسید آبسزیک درونی را تحت شرایط تنش خشکی افزایش داد. جاسمونات‌ها یکی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بوده که نقش تحریک‌کننده یا بازدارنده را در گیاهان دارند. کاربرد خارجی آنها در گیاهان دارویی مانند نعنای فلفلی ممکن است منجر به تغییرات میزان برخی از ترکیب‌های ثانویه مهم مثل منتول شوند (Wu et al., 2012).

منابع مورد استفاده

- Fakhr Tabatabai, M., 1997. About Biology, Nature and other Articles on the General Ecology and Farming. Press Institute Majid, 329p.
- Farzaneh, M. and Tafazoli, A.S., 2014. Methyl jasmonic effect on carotenoid pigments and morphological characters of tomato under salt stress conditions. The First National Conference on Medicinal Plants and Sustainable Agriculture, 10 October: 125-135.
- FAO (Food and Agriculture Organization), 2008. Agricultural Biodiversity in FAO. Available at: <http://www.fao.org/biodiversity>
- Ghanati, F., Bakhtiarian, S. and Abdul maliki, P., 2000. Effects of methyl jasmonate on secondary metabolites pot marigold. Journal of Biotechnology and Lecturer, 1(3): 21-33
- Gul, P., 2005. Seasonal variation of oil and menthol content in *Mentha arvensis* Linn. Pakistan Journal of Forestry, 44: 16-20.
- Hamed, B.A., 2009. Effect of incorporation of data palm seeds with soil on the growth if parsley plant growing under drought stress. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, 5: 733-739.
- Hamed, B., Ghasemi Pirbalouti, A. and Moradi, P., 2014. The effect of foliar application of jasmonic acid on hypercine of Content of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.). Electronic Journal of Biology, 10(2): 35-39.
- Hasani, A.S. and Omidbaigi, R., 2002. Effects of water stress on some morphological, physiological and metabolic basil plant. Journal of Agricultural Knowledge, 12(3): 47-59.
- Hassani, A., 2006. Effect of water deficit stress on growth, yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 22(3): 256-261.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Lakshmanan, G.M.A., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R., 2008. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 61: 298-303.
- Kafi, F. and Damghani, A.S., 2001. Plant Resistance Mechanisms to Environmental Stresses. University of Mashhad, 472p.
- Khalil, S.E., Abd El- Aziz, N.G. and Abou Leila, B.H., 2010. Effect of water stress, ascorbic acid and spraying time on some morphological and biochemical composition of *Ocimum basilicum* plant. Journal of American Science, 6(12): 33-44.
- Kheiry, A. and Sanikhani, M., 2014. Stimulate cell
- Agayi, F. and Mohebalipour, N., 2014. Effect of different level of foliar spraying of salicylic acid, methyl jasmonate and medium on shoot growth characteristics of lemon balm to in vitro culture. First International and 13th Iranian of Crop Sciences Congress and 3rd Iranian Seed Science and Technology Conference, Seed and Plant Improvement Institute Karaj, 24-26 August: 1-4.
- Angelova, B., Angelova, A., Papahadjopoulos-Sternberg, B., Lesieur, S., Sadoc, J.F., Ollivon, M. and Couvreur, P., 2006. Detailed structure of diamond-type lipid cubic nanoparticles. Journal of American Chemical Society, 128(17): 5813-5817.
- Apel, K. and Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Annual Review of Plant Biology, 55: 373-399.
- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23: 112-121.
- Ashraf, M. and Foolad, M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.
- Ashrafi, M., Ghasemi Pir Baloti, A., Rahimmalek, M. and Hamid, B., 2012. The effect of jasmonic acid sprayed on the composition of (*Thymus daenensis* Celak.). Herbal Medicines, 3(2): 75-80.
- Azadbakht, M., 1999. Classification of Medicinal Plants. Teymorzadeh Publications Cultural Institute, Tehran, 258p.
- Boush, S.M., Schwrz, K. and Alegre, L., 1999. Enhanced formation of a-tocopherol and oxidized diterpenes in water-stressed Rosemary plants. Plant Physiology, 121: 1047-1052.
- Chong, T.M., Abdullah, M.A., Fadzillah, N.M., Lai, O.M. and Lajis, N.H., 2005. Jasmonic acid elicitation of anthraquinones with some associated enzymic and non-enzymic antioxidant responses in *Morinda elliptica*. Enzyme and Microbial Technology, 36: 469-477.
- Creelman, R.A. and Mullet, J.E., 2008. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 48: 355-381.
- Daneshmand, F., Arvin, M.J. and Kalantari, K.M., 2009. Effect of acetylsalicylic acid (Aspirin) on salt and osmotic stress tolerance in *Solanum bulbocastanum* in vitro: enzymatic antioxidants. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, 6: 92-99.

- essential oils of parsley. *Science Horticultural*, 115: 393-397.
- Sairam, R.K., Deshmukh, P.S. and Saxena, D.C., 1998. Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biologia Plantarum*, 41: 387-394.
 - Salari, F. and Mansouri, H., 2012. Effect of jasmonic acid on terpenoids compounds in the *Cannabis sativa* L. at vegetative stage. *Journal of Plant Process and Function*, 1(2): 23-35.
 - Sankar, B., Jaleel, C.A., Manivanna, P., Kishorekummar, A., Somasundaram, R. and Panneerselva, R., 2007. Droughtinduced biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. *Acta Botanica Croatica*, 66: 43-56.
 - Schutz, M. and Fangmeir, E., 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Minaret) to elevated CO₂ and water limitation. *Environmental Pollution*, 114: 187-194.
 - Tahir, M.H.N., Imran, M. and Hussain, M.K., 2002. Evaluation of sunflower (*Helianthus annuus* L.) inbred lines for drought tolerance. *International Journal of Agricultural Biology*, 3: 398-400.
 - Tazikehmiyandare, M., Niyakan, M. and Ahmadigosefidi, M., 2012. Effect of pretreatment of salicylate on the growth and photosynthetic pigments parameters of peppermint (*Mentha piperita* L.) under different levels of stiffness, *Journal of Plant Science Research*, 28(4): 654-663.
 - Wang, D., Shannon, M.C. and Grieve, C.M., 2001. Salinity reduces radiation absorption and use efficiency in soybean. *Field Crops Research*, 69: 267-277.
 - Wu, H., Wu, X., Li, Z., Duan, L. and Zhang, M., 2012. Physiological evaluation of drought stress tolerance and recovery in cauliflower (*Brassica oleracea* L.) seedlings treated with methyl jasmonate and coronatine. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31: 113-123.
 - Yamasaki, S. and Dillenburg, L.R., 1999. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 11: 69-75.
 - Yu, K.W., Gao, W., Hahn, E.J. and Paek, K.Y., 2002. Jasmonic acid improves ginsenoside accumulation in adventitious root culture of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Biochemistry Engineering Journal*, 11: 211-215.
 - cultures to increase the production of secondary metabolites. National Conference of Medicinal Herbs, Traditional Medicine and Organic Farming, Shahid Mofateh University, 29 November: 10-22.
 - Kim, H.J., Chen, F., Wang, X. and Rajapakse, N.C., 2006. Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53: 3696-3701.
 - Kumari, G.J., Reddy, A.M., Naik, S.T., Kumar, S.G., Prasanthi, J., Sriranganayakulu, G., Reddy, P.C. and Sudhakar, C., 2006. Jasmonic acid induced changes in protein pattern, antioxidative enzyme activities and peroxidase isozymes in peanut seedlings. *Biologia Plantarum*, 50: 219-226.
 - Larque Saavedra, A., 1979. Stomatal closure in response to acetylsalicylic acid treatment. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 93(4): 371-375.
 - Mac Adam, J.W., Nelson, C.J. and Sharp, R.E., 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Plant Physiology*, 99(3): 872-878.
 - Martin, D., Tholl, D., Gershenzon, J. and Bohlmann, J., 2002. Methyl jasmonate induces traumatic resins, terpenoid resin biosynthesis, and terpenoid accumulation in developing xylem of Norway spruce stems. *Plant Physiology*, 129: 1003-1018.
 - Misra, A. and Sricastatva, N.K., 2000. Influence of water stress on Japanese mint. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 7: 51-58.
 - Moeini Ali-Shah, H., Heidari, R., Hassani, A. and Asadi Dizaji, A., 2006. Effect of water stress on some morphological and biochemical characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum*). *Journal of Biological Sciences*, 6: 763-767.
 - Mousavi, A., 2011. Effects of Jasmonic Acid and Salicylic Acid, Phytochemical Activity of Marigold (*Calendula officinalis* L.). Master's Thesis, Medicinal Herbs. Islamic Azad University of Shahrekord.
 - Niyakan, M., Khavari Nejad, P. and Rezaei, M.B., 2000. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium on the quantity and quality of essential oil of doctoral dissertation (*Mentha piperita* L.) mint biology, plant science. Islamic Azad University of Karaj, Iran.
 - Omidbaigi, R., 2009. Production and Processing of Medicinal Plants (Vol. 2). Astan Quds Razavi, 438p.
 - Petropoulos, S.A., Daferera, D., Polissiou, M.G. and Passam, H.C., 2008. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of

Effects of drought stress and jasmonic acid elicitors on morphological and phytochemical characteristics of peppermint (*Mentha piperita* L.)

A. Kheiry^{1*}, H. Tori² and N. Mortazavi²

1*- Corresponding Author, Medicinal Plants Section, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, E-mail: kheiry@znu.ac.ir

2- Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

Received: June 2016

Revised: August 2016

Accepted: November 2016

Abstract

Peppermint (*Mentha piperita* L.) from Lamiaceae family is one of the most widely used medicinal plants. In addition to therapeutic effects, it is used as flavoring in the production of various foods and medicinal products. In addition to genotype, the quality and quantity of active ingredients in medicinal plants are influenced by environmental factors. This research was aimed to study the effects of drought stress and jasmonic acid on the quality and quantity of peppermint as a factorial experiment in a completely randomized design at University of Zanjan in 2015. The treatments consisted of three irrigation levels [50%, 75%, and 100% (control) of field capacity] as main factor and three concentrations of jasmonic acid (0, 50, and 100 mg l⁻¹) as sub-factor. Rhizomes of plants were used for plant production. The plant samples were collected at flowering stage and after drying in the shade, the essential oil was extracted with water distillation method by Clevenger apparatus. The essential oil components were identified by GC and GC-MS. The results showed that the highest fresh and dry weight, height, total chlorophyll and relative leaf water content were obtained in control with 100 mg l⁻¹ jasmonic acid. The highest peroxidase enzyme content was obtained at 50% field capacity drought stress with 100 mg l⁻¹ jasmonic acid. The highest essential oil content was obtained at 75% field capacity drought stress with application of 50 mg l⁻¹ jasmonic acid. The main essential oil components were menthol, menthon, 1,8-cineole, cyclohexanol, and methyl acetate. The highest amounts of menthol, menton, and 1,8-cineole were obtained from 100 mg l⁻¹ jasmonic acid and the highest amount of cyclohexanol was obtained from 50 mg l⁻¹ jasmonic acid. However, application of jasmonic acid decreased the amount of methyl acetate from 7.24% in control to 0.56% in 100 mg l⁻¹ of JA treatment.

Keywords: Elicitor, essential oil, less irrigation, gas chromatography, *Mentha piperita* L.