دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2017.107594.1848
جلد ۳۳، شماره ۳، صفحه ۴۶۵- ۴۴۹ (۱۳۹۶)

اثر متیل‌جاسمونات و تنش شوری بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

الهه وطن‌خواه[1*]، بهناز کلانتری[2] و بابک عندلیبی[3]

۱*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، ایران، پست الکترونیک: elahe_vatankhah@znu.ac.ir

۲- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، ایران

۳- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۵ تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۵

چکیده

جاسمونات‌ها ترکیب‌های مهم علامت‌دهنده در پاسخ‌های گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی ازجمله نمو هستند. از طریق ارزیابی رشد، محتوای یونی و فنلی، کمّیت و کیفیت اسانس، نقش متیل‌جاسمونات (MeJA) در مقابله با تنش شوری القاء شده با NaCl در گیاه *Mentha piperita* L. بررسی گردید. برای این منظور، گیاهان ۲۴ ساعت بعد از کاربرد برگی صفر، ۶۰ و ۱۲۰ میکرومولار MeJA، تحت غلظت‌های شوری ۱/۸۶ (شاهد)، ۵، ۷/۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به مدت ۲ هفته قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تنش شوری وزن تر و خشک بخش‌های هوایی و غلظت‌های K^+، Ca^{2+}، Mg^{2+}، نسبت K^+/Na^+ و ترکیب‌های فنلی را کاهش داد، در حالی‌که محتوای Na^+ به‌طور معنی‌داری طی تنش شوری افزایش یافت. گرچه بازده اسانس با افزایش غلظت شوری افزایش یافت اما در غلظت شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر کاهش یافت. اما کاربرد برون‌زای MeJA، محتوای K^+، Ca^{2+}، Mg^{2+}، نسبت K^+/Na^+ و ترکیب‌های فنلی را افزایش داد، در حالی‌که میزان Na^+ را در گیاهان تحت تنش شوری کاهش داد. به‌علاوه اینکه پیش‌تیمار با ۶۰ میکرومولار MeJA، رشد و بازده اسانس را بهبود داد. بیشترین محتوای منتون و منتول در شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر و غلظت ۶۰ و ۱۲۰ میکرومولار MeJA بدست آورده شد. به‌طور خلاصه، نتایج بدست آمده نشان داد که کاربرد MeJA می‌تواند تا حدی اثرات مضر تنش شوری را در *M. piperita* کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، شوری، متیل‌جاسمونات، رشد گیاهی، عناصرمعدنی، متابولیت‌های ثانوی.

مقدمه

در سال‌های اخیر گیاهان دارویی و معطر در صنایع غذایی، عطرسازی و داروسازی کاربرد فراوان دارند. مواد مؤثره گیاهان دارویی اگرچه اساساً با هدایت فرایندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، اما سنتز آنها به‌طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد، به‌طوری که فاکتورهای مختلف زیستی و غیر زیستی ازجمله عوامل مهم تأثیرگذار روی رشد، کمّیت و کیفیت متابولیت‌های ثانوی گیاهان دارویی می‌باشند (Clark & Menary, 1980؛ Russo *et al*., 2013).

شوری یکی از تنش های محیطی است که موجب بروز اختلالاتی در فرایندهای حیاتی گیاه مثل جذب و انتقال مواد غذایی، تعرق و فتوسنتز شده و فرایندهای بیوشیمیایی (بیوسنتز

Archive of SID
www.SID.ir

متابولیت‌های اولیه و ثانویه) و فیزیولوژیکی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Hendaway & Khalid, 2005). به‌عنوان مثال تنش شوری موجب کاهش پارامترهای رشد و درصد اسانس در گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) شد. میزان ترکیب‌های فنلی گیاهان نیز می تواند تحت تأثیر شوری تغییر کند اما به طور اساسی حساسیت گیاهان به شوری وابسته است (Kim *et al.*, 2008). همچنین تنش شوری به دلیل رقابت سدیم با کاتیون‌های ضروری لازم برای عملکرد سلول موجب محدودیت در جذب مواد غذایی معدنی می‌شود (Tester & Davenport, 2003). بکارگیری هورمون‌های گیاهی از راهبردهای مهم برای مقابله با تنش شوری در گیاهان می باشد که مهمترین آنها شامل اسید آبسیزیک (ABA)، اسید سالیسیلیک (SA)، براسینواستروئیدها (BRs) و جاسمونات‌ها (JAs) می‌باشد. متیل‌جاسمونات (MeJA) و اسید جاسمونیک (JA) که تحت عنوان JAs معرفی می شوند، از تنظیم‌کننده‌های مهم گیاهی هستند که در فرایندهای نموی متنوع و همچنین پاسخ‌های دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی درگیر می‌شوند (Dar *et al.*, 2015). همچنین گزارش‌های بسیاری مبنی بر نقش جاسمونات‌ها برای مقابله با تنش شوری در بسیاری از گیاهان وجود دارد (Fedina & Tsonev, 1997؛ Yoon *et al.*, 2009). همچنین جاسمونات‌ها به‌عنوان ترکیب‌های پیام‌رسان کلیدی در فرایند القاء که منجر به تجمع متابولیت‌های ثانوی می شود، معرفی شده‌اند (Yu *et al.*, 2002).

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* از خانواده Lamiaceae ازجمله گیاهان دارویی و معطری است که اسانس آن مصارف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی فراوانی دارد (Wildung & Croteau, 2005) و مقدار مصرف سالانه اسانس آن در جهان به حدود ۷۰۰۰ تن می‌رسد. ترکیب های تشکیل‌دهنده اسانس نعناع فلفلی عبارتند از: منتول، منتون، منتوفوران، پولگن، اکالیپتول و ایزومنتون که ترکیب این اجزا تعیین‌کننده کیفیت اسانس می باشد. سایر ترکیب هایی که در این گیاه یافت می شوند، شامل فلاوونوئیدها، پلی‌فنل‌های پلیمریزه شده، کاروتن، توکوفرول، بتائین و کولین می‌باشند (Mahmoud & Croteau, 2003).

اثر تنش شوری بر پارامترهای رشد و درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی بررسی شده‌است. همچنین افزایش ترکیب های فنلی گیاه نعناع فلفلی با محلول‌پاشی JA و MeJA گزارش شده‌است (Krzyzanowska *et al.*, 2012). از آنجایی‌که تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر بکارگیری برون‌زای MeJA در گیاه نعناع فلفلی در شرایط تنشی وجود ندارد، بنابراین هدف از این تحقیق، بررسی پیش‌تیمار MeJA بر رشد، میزان فنل کل، درصد و ترکیب های اسانس و محتوای یونی گیاه نعناع فلفلی تحت تنش شوری می باشد. نتایج این تحقیق می تواند برای پرورش‌دهندگان این گیاه به‌منظور کاربرد بهینه آن در صنایع مفید باشد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور کشت، ابتدا ریزوم‌های نعناع فلفلی از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان تهیه شدند و ریزوم‌های هم‌اندازه (به طول ۴ سانتی‌متر) انتخاب شده و در گلدان‌هایی به قطر ۲۰ سانتی متر (قطر بزرگ) و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر کاشته شدند. خاک درون هر گلدان مخلوطی از خاک زراعی (خاک لومی شنی، pH ۷/۹۲، درصد اشباع ۳۴٪)، ماسه و کود دامی پوسیده به نسبت ۱:۳:۶ (این نسبت مناسب برای کشت ریزوم های نعناع فلفلی) بود. برای هر تیمار ۳ گلدان به‌عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در هر گلدان ۴ ریزوم کاشته شد. گلدان‌ها پس از کشت در اتاق رشد در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (Li *et al.*, 2014) و یک روز در میان با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر آبیاری شدند.

۲۵ روز پس از کشت ریزوم‌ها در گلدان، گیاهانی که کاملاً رشد کرده بودند برای تیمار با شوری و متیل‌جاسمونات آماده شدند. از آنجایی‌که MeJA در آب حلالیت کمی دارد ابتدا در اتانول حل شد، سپس با آب مقطر رقیق شد و یک استوک ۰/۱ مولار تهیه گردید. محلول‌های متیل‌جاسمونات با غلظت‌های ۶۰ و ۱۲۰ میکرومولار از طریق رقیق‌سازی استوک با آب مقطر تهیه گردیدند و برگ‌های گیاه با ۲۰۰ میلی لیتر محلول ها اسپری شدند. گیاهان شاهد با استفاده از

Archive of SID
www.SID.ir

آب مقطر حاوی چند قطره اتانول اسپری شدند (Qiu *et al.*, 2014). عمل محلول پاشی ۳ بار و به صورت یک روز در میان انجام شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین محلول پاشی، گیاهان تحت تیمار شوری قرار گرفتند. از آنجایی‌که گیاه نعناع فلفلی نسبتاً متحمل به شوری است و در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار قادر به رشد نمی‌باشد، بنابراین محدوده سطوح شوری تا ۱۰۰ میلی‌مولار (۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) انتخاب شد. سطوح شوری بکار برده شده در ۴ سطح ۱/۸۶ (شاهد)، ۵، ۷/۵، ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بود که با اضافه کردن NaCl به خاک گلدان‌ها (۱/۵۱ گرم برای سطح ۵، ۲/۷۱ گرم برای سطح ۷/۵ و ۳/۹۵ گرم برای سطح ۱۰) این مقادیر بدست آمد. برای این منظور، درصد اشباع، هدایت الکتریکی خاک با دستگاه هدایت‌سنج (CMD500-WPA) و وزن خاک هر گلدان با ترازو (مدل GR200) اندازه گیری شد. کمبود نمک برای دستیابی به تیمارهای موردنظر با استفاده از برنامه Saltcalc (Soltani & Madah, 2010) محاسبه و بعد میزان نمک مورد نیاز را به خاک افزوده و با دستگاه هدایت‌سنج مقدار هدایت الکتریکی (EC) زهاب گلدان‌ها هر روز کنترل گردید. در صورت تغییر EC، از طریق تفاوت آن با EC تیمار موردنظر و فرمول TDS=640×EC مقدار نمک اضافه شده برحسب میلی‌گرم در لیتر مشخص شد. ۲۰ روز پس از اعمال تنش، بوته‌ها برداشت شده و نسبت به ارزیابی صفات زیر اقدام گردید.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک نمونه‌ها

ابتدا اندام هوایی هر گیاه از ریشه جدا شده و وزن تر آنها با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ (مدل GR200) اندازه‌گیری شد. وزن خشک اندام هوایی هم پس از انتقال نمونه‌ها به دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری محتوای فنل کل

محتوای فنل کل نمونه‌ها براساس روش Ranganna (۱۹۸۶) و با استفاده از معرف فولین–دنیس اندازه‌گیری شد. برای تهیه عصاره گیاهی، ۰/۱ گرم بافت گیاهی خشک در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ (v/v) در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد حمام آبگرم (GD100) به مدت ۳ ساعت قرار گرفت. سپس عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید و الکل آن در مجاورت هوا تبخیر شد. رسوب حاصل در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر حل گردید. برای سنجش محتوای فنل، ۱ میلی لیتر از هر نمونه در یک لوله آزمایش ریخته شد و حجم آن با آب مقطر بر روی ۱۷ میلی‌لیتر تنظیم گردید. سپس به هر یک ۱ میلی لیتر معرف فولین–دنیس و ۲ میلی لیتر معرف کربنات سدیم اشباع افزوده شد. بلافاصله پس از افزودن معرف دوم لوله‌ها مخلوط شده و پس از ۳۰ دقیقه، جذب نمونه ها در ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل GEN WAY 3605 خوانده شد. برای محاسبه مقدار فنل از منحنی استاندارد اسید تانیک استفاده شد. برای این منظور غلظت های ۲۵ تا ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسید تانیک تهیه شد و از هر نمونه ۱ میلی‌لیتر برداشته شد و مطابق نمونه‌ها عمل گردید. منحنی جذب بر حسب غلظت رسم و از رابطه آن (y=0.0028x+0.031) برای محاسبه فنل نمونه‌ها استفاده شد.

استخراج اسانس و شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

به‌منظور اسانس‌گیری بخش هوایی بوته‌های برداشت شده در محیط سایه خشک شده و اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه اسانس گیری کلونجر (شرکت گلدیس ایران) انجام شد. برای اسانس گیری، ۳۰ گرم از بخش هوایی خرد شده درون بالن ریخته شد و بعد ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. اسانس گیری به‌مدت ۲ ساعت ادامه یافت تا زمانی که دیگر استخراج اسانسی مشاهده نشد. پس از اتمام اسانس گیری شیر دستگاه باز و اسانس گرفته شد. بازده اسانس با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

بازده اسانس = (وزن اسانس / وزن خشک گیاه) × ۱۰۰

Archive of SID
www.SID.ir

جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) Hewlett Packard مدل Agilent 6890 با ستون HP-5، فشار گاز سر ستون Psi ۶/۹۸ و دمای ۳۲۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. قطر داخلی ۰/۵ میکرومتر، طول ۳۰ متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر بوده و گاز بکار رفته هلیوم با سرعت ۳۵ ثانیه بر سانتی‌متر و انرژی یونیزاسیون برابر ۷۰ الکترون ولت بود و برنامه حرارتی ۶۰-۲۴۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و دمای محفظه تزریق ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی ترکیبات به کمک شاخص بازداری و مقایسه آنها با شاخص های موجود در کتب مرجع و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد انجام گرفت. درصد کمّی این ترکیب‌ها نیز با محاسبه سطوح زیرمنحنی در کروماتوگرام‌ها محاسبه شد (Adams, 1995).

اندازه‌گیری غلظت یون‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها به روش Kalra و Maynard (۱۹۹۸) انجام شد. برای این منظور ۰/۱ گرم از پودر بافت گیاهی خشک (اندام هوایی) در ۱۰ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا نمونه گیاهی به خوبی در اسید حل گردید. بعد از این مدت، محصول حاصل گرم شد تا بخارات اسیدی از محلول خارج شود. سپس حجم محلول را با استفاده از آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده و از کاغذ صافی عبور داده شد. از محلول بدست آمده برای اندازه‌گیری عناصر با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی پلاسمای جفت‌شده القایی ICP-OES (sop) استفاده شد و غلظت یون ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی و تحلیل داده‌ها با استفاده از مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال $P\leq ۰/۰۵$ با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. همچنین رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel 2007 انجام گردید.

نتایج

مطابق جدول ۱ (تجزیه واریانس)، اثر MeJA و شوری بر وزن تر اندام هوایی به‌ترتیب در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ معنی‌دار بود، اما اثر متقابل آنها تأثیر معنی‌داری بر وزن تر اندام هوایی گیاه نداشت و تنها محلول‌پاشی برگی MeJA، اثر معنی داری ($P<۰/۰۱$) بر وزن خشک اندام هوایی داشت. با افزایش شوری وزن تر اندام هوایی کاهش معنی داری را نشان داد، به طوری که بیشترین وزن تر اندام هوایی مربوط به گیاهان شاهد و کمترین مربوط به گیاهان سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بود (شکل ۱-A). همچنین نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که افشانه غلظت های ۶۰ و ۱۲۰ میکرومولار MeJA بر روی گیاه به‌ترتیب موجب افزایش و کاهش وزن‌های تر و خشک اندام هوایی گیاه نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد متیل‌جاسمونات) شد (شکل‌های ۱-B و ۱-C). اما از لحاظ آماری اختلاف معنی داری بین گیاهان تیمار شده با غلظت ۶۰ میکرومولار MeJA و گیاهان شاهد (عدم کاربرد MeJA) مشاهده نشد.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، نشانگر اثر معنی‌دار شوری، محلول‌پاشی با MeJA و برهم‌کنش شوری و MeJA بر محتوای فنل در سطح احتمال ۱٪ بود (جدول ۱). با توجه به شکل ۲، شوری در سطح ۵ دسی‌زیمنس بر متر اثر معنی‌داری بر محتوای فنل برگ نداشت اما در سطوح شوری بالاتر (۷/۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) کاهش معنی‌دار محتوای فنل برگ نسبت به تیمار شاهد (۱/۸۶ دسی‌زیمنس بر متر) مشاهده گردید. افشانه MeJA نیز در سطوح پایین‌تر شوری اثر معنی‌داری بر محتوای فنل نداشت، در مقابل در سطوح شوری بالاتر (۷/۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) موجب افزایش محتوای فنل در برگ گیاهان نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد MeJA) شد.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس وزن تر و خشک اندام هوایی، محتوای فنل، بازده اسانس و محتوای یونی در گیاه نعناع فلفلی تحت تنش شوری و محلول‌پاشی با متیل‌جاسمونات

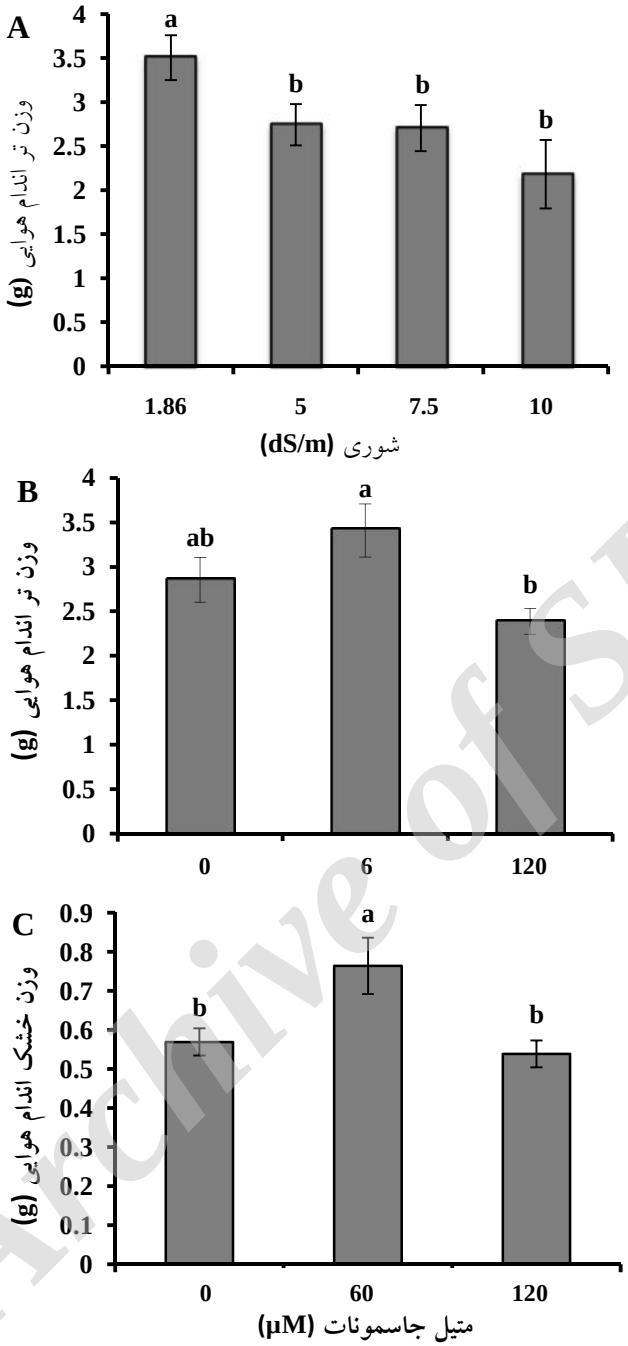
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	فنل کل	بازده اسانس	سدیم	پتاسیم	کلسیم	منیزیم	نسبت پتاسیم به سدیم
تکرار	۲	۰/۰۷۵ns	۰/۰۶۳ ns	۰/۵۱۶ ns	۰/۱۸**	۰/۱۲**	۰/۰۸**	۰/۰۳**	۰/۰۳**	۰/۶۲**
MeJA	۲	۳/۴۳**	۰/۱۷۸**	۱۵/۸۶۹**	۰/۱۷۲**	۰/۰۴۱**	۰/۴۱**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۵**	۱۰/۵۲**
Salt	۳	۲/۳۶*	۰/۰۵۳ ns	۱۰/۹۲۶**	۰/۱۸۳**	۰/۰۹**	۰/۲۱**	۰/۰۰۶**	۰/۱۳**	۱۷/۹۸**
MeJA×Salt	۶	۱/۶۶ ns	۰/۰۰۸ ns	۷/۶۰۲**	۰/۰۶۲**	۰/۰۳**	۰/۰۱**	۰/۰۰۳**	۰/۰۱**	۰/۵۹**
خطا	۲۲	۰/۵۱	۰/۰۳۰	۱/۹۳۸	۰/۰۰۸	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۶	۰/۰۱۹
ضریب تغییرات (٪)	–	۲۴/۱۳	۲۷/۸۳	۶/۶	۳/۱۹	۷/۹۹	۵/۵۷	۶/۵۲	۷/۶۴	۴/۴۳

ns، * و **: به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

۱: میانگین مربعات، Salt: شوری، MeJA: متیل‌جاسمونات

Archive of SID

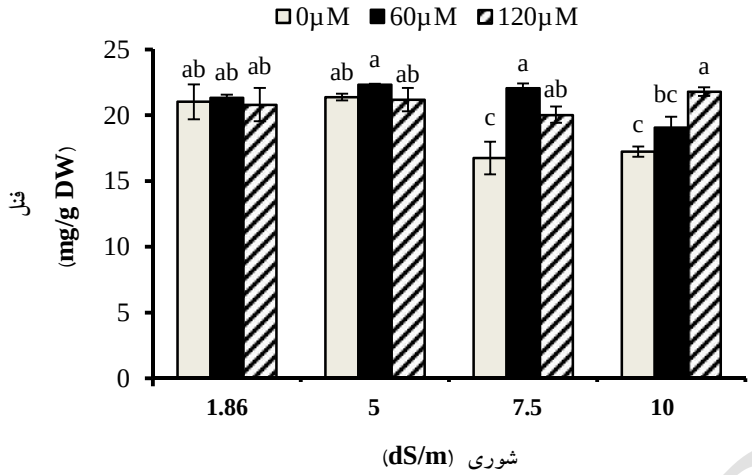
www.SID.ir



شکل ۱– اثر سطوح مختلف شوری بر وزن تر اندام هوایی (**A**) و اثر غلظت‌های متفاوت متیل‌جاسمونات **MeJA** بر وزن تر اندام هوایی (**B**) و وزن خشک اندام هوایی (**C**) گیاه نعناع فلفلی (مقادیر میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (**SE**) و حروف غیرمشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد.)

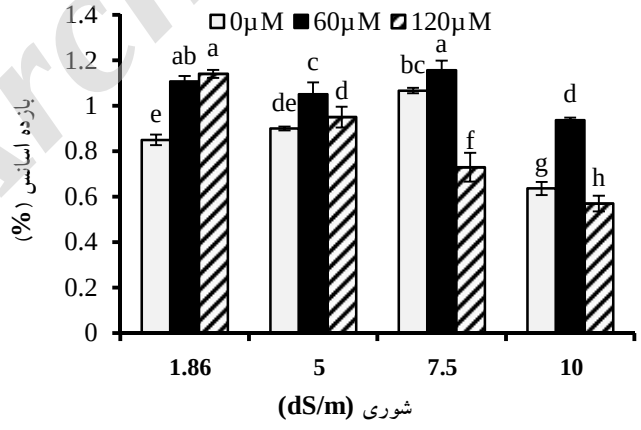
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف MeJA و شوری بر محتوای فنل کل (مقادیر میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) و حروف غیرمشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد.)

بازده اسانس در گیاه نعناع فلفلی تحت تأثیر تنش شوری، محلول‌پاشی MeJA و برهم‌کنش این دو عامل قرار گرفت (جدول ۱). شوری تا غلظت ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر موجب افزایش بازده اسانس در گیاه شد، اما در غلظت بالا (۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) کاهش اسانس در گیاه مشاهده شد. بیشترین بازده اسانس را غلظت ۶۰ میکرومولار MeJA در سطح شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر (۱/۱۵٪) و همچنین غلظت ۱۲۰ میکرومولار MeJA در سطح شوری ۱/۸۶ دسی‌زیمنس بر متر (۱/۰۶٪) به خود اختصاص داد (شکل ۳). به‌طور کلی محلول‌پاشی ۶۰ میکرومولار MeJA موجب افزایش معنی‌دار بازده اسانس در تمام سطوح شوری گردید.



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف MeJA و شوری بر بازده اسانس (مقادیر میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) و حروف غیرمشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد.)

Archive of SID

www.SID.ir

با توجه به داده‌های حاصل از تجزیه اسانس، بین ۳۱ تا ۳۵ ترکیب در اسانس تیمارهای مختلف مشاهده شد (جدول ۲). از میان ترکیب‌های شناسایی شده در سطح شوری ۱/۸۶ دسی‌زیمنس بر متر و بدون محلول‌پاشی MeJA (شاهد)، منتول (۳۵/۵٪)، منتون (۲۸/۲٪) و ترانس کاران (۸/۶٪) در سطح شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر و بدون محلول‌پاشی MeJA، منتول (۴۰/۳٪) و منتون (۲۱/۶٪) در سطح شوری ۱/۸۶ دسی‌زیمنس بر متر و غلظت ۶۰ میکرومولار MeJA، منتول (۳۴/۹٪) و منتون (۳۲/۰٪) در سطح شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر و غلظت ۶۰ میکرومولار MeJA، منتول (۴۴/۷٪)، منتون (۲۳/۲٪) و ۸،۱- سینئول (۶/۵٪) در سطح شوری ۱/۸۶ دسی‌زیمنس بر متر و غلظت ۱۲۰ میکرومولار MeJA، منتول (۳۶٪) و منتون (۲۸/۸٪) در سطح شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر و غلظت ۱۲۰ میکرومولار MeJA منتول (۴۷/۲٪)، منتول (۲۲/۱٪) و ۸،۱- سینئول (۶/۴٪) بالاترین درصد را داشتند. بیشترین میزان منتول (۴۷/۲٪) در سطح شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر و غلظت ۱۲۰ میکرومولار MeJA و کمترین (۳۴/۹٪) در سطح شوری ۱/۸۶ دسی‌زیمنس بر متر و غلظت ۶۰ میکرومولار MeJA مشاهده گردید. بیشترین میزان منتون (۳۲٪) نیز در سطح شوری ۱/۸۶ دسی‌زیمنس بر متر و غلظت ۶۰ میکرومولار MeJA و کمترین (۲۱/۶٪) در سطح شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر و بدون کاربرد MeJA مشاهده شد.

تجزیه واریانس میزان عناصر معدنی نشان داد که محتوای سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم و نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی به‌طور معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) تحت تأثیر محلول پاشی با MeJA، تنش شوری و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول ۱).

با افزایش شوری، محتوای سدیم در اندام هوایی به میزان قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت، به طوری که کمترین محتوای سدیم، در تیمار شاهد (۱/۸۶ دسی‌زیمنس بر متر) و بیشترین در سطح شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. افشانه MeJA بر روی برگ گیاه از افزایش سدیم در اندام هوایی با افزایش شوری جلوگیری کرد، به طوری که گیاهانی که MeJA بر روی آنها افشانه شده بود محتوای سدیم پایین‌تری نسبت به گیاهان شاهد (عدم کاربرد MeJA) در سطوح یکسان شوری داشتند (شکل ۴-A). اما با افزایش شوری، میزان پتاسیم در اندام هوایی کاهش معنی‌داری یافت. در مقابل افشانه غلظت ۱۲۰ میکرومولار MeJA بر روی گیاه موجب افزایش محتوای پتاسیم در اندام هوایی شد، به طوری که گیاهانی که غلظت ۱۲۰ میکرومولار MeJA بر روی آنها افشانه شده بود محتوای پتاسیم بالاتری نسبت به گیاهان شاهد (عدم کاربرد MeJA) در سطوح یکسان شوری داشتند (شکل ۴-B).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات و شوری بر ترکیب اجزای اسانس گیاه نعناع فلفلی

	غلظت متیل‌جاسمونات (µM)		صفر		۶۰		۱۲۰	
	شوری (dS/m)		۱/۸۶	۷/۵	۱/۸۶	۷/۵	۱/۸۶	۷/۵
	ترکیب شیمیایی	شاخص بازداری	درصد ترکیب					
۱	α-pinene	۹۲۶	۰/۴	۰/۴	۰/۷	۰/۶	۰/۷	۰/۵
۲	Sabinene	۹۶۷	۰/۳	۰/۴	۰/۵	۰/۴	۰/۵	۰/۴
۳	β-pinene	۹۷۰	۰/۶	۰/۴	۰/۹	۰/۸	۰/۹	۰/۸
۴	β-myrcene	۹۸۶	۰/۱	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
۵	3-octanol	۹۹۲	۰/۱	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
۶	α-terpinene	۱۰۱۲	۰/۱	۰/۱	۰/۲	۰/۱	۰/۲	۰/۱
۷	p-cymene	۱۰۲۰	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲
۸	limonene	۱۰۲۴	۰/۶	۰/۶	۰/۲	–	۰/۵	–
۹	1,8-cineole	۱۰۲۶	۳/۱	۳/۴	۴/۹	۶/۵	۳/۷	۶/۴
۱۰	cis-ocimene	۱۰۳۴	۰/۱	–	۰/۲	–	–	–
۱۱	γ-terpinene	۱۰۵۴	۰/۲	۰/۲	۰/۳	۰/۲	۰/۳	۰/۲
۱۲	cis-β-Terpineol	۱۰۶۲	۱/۳	۱/۳	۱/۶	۱/۴	۱/۴	۱/۵
۱۳	α-terpinolene	۱۰۸۳	–	۰/۲	–	۰/۱	۰/۱	۰/۱
۱۴	linalool	۱۰۹۷	۰/۲	۰/۲	۰/۳	۰/۲	۰/۳	۰/۳
۱۵	amyl isovalerate	۱۱۰۳	–	–	۰/۱	–	۰/۱	–
۱۶	Sabinol	۱۱۳۵	۰/۱	–	–	–	–	–
۱۷	Isopulegol	۱۱۴۱	۰/۱	۰/۱	۰/۲	–	۰/۲	–
۱۸	menthone	۱۱۵۱	۲۸/۲	۲۱/۶	۳۲/۰	۲۳/۲	۲۷/۸	۲۲/۱
۱۹	menthofuran	۱۱۵۹	۲/۹	۳/۳	۲/۶	–	۲/۱	–
۲۰	neo-menthol	۱۱۶۰	۱/۶	۱/۱	۱/۴	۰/۶	۱/۳	۰/۷
۲۱	terpinen-4-ol	۱۱۷۲	۰/۴	–	–	–	–	–
۲۲	menthol	۱۱۷۵	۳۵/۵	۴۰/۳	۳۴/۹	۴۴/۷	۳۶/۰	۴۷/۲
۲۳	α-terpineol	۱۱۸۵	۰/۱	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۲	۰/۵

Archive of SID

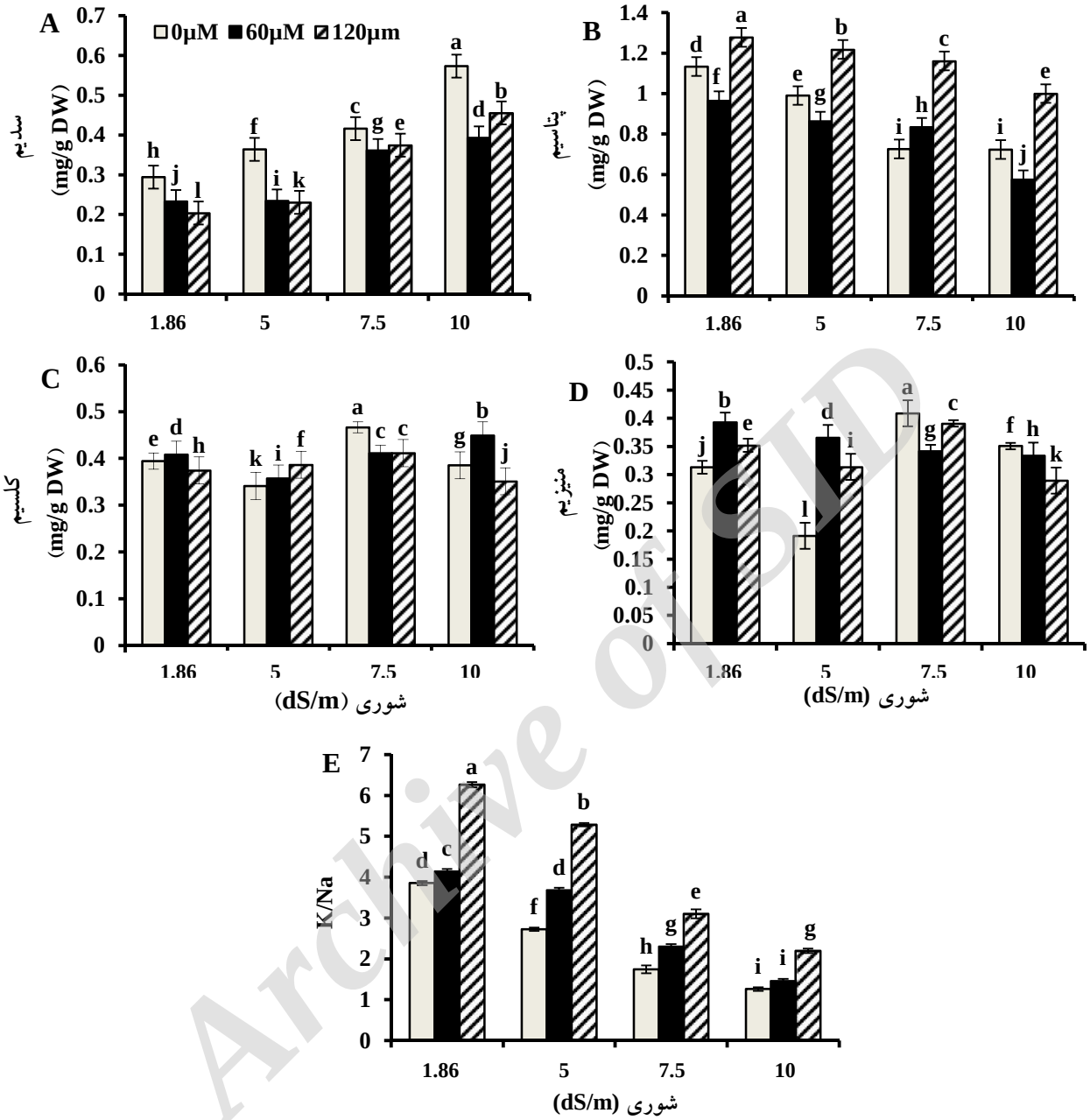
www.SID.ir

ادامه جدول ۲-

	غلظت متیل‌جاسمونات (µM)		صفر		۶۰		۱۲۰	
	شوری (dS/m)		۱/۸۶	۷/۵	۱/۸۶	۷/۵	۱/۸۶	۷/۵
	ترکیب شیمیایی	شاخص بازداری	درصد ترکیب					
۲۴	pulegone	۱۲۳۵	۱/۹	۲/۰	۲/۴	۱/۹	۲/۳	۱/۵
۲۵	piperitone	۱۲۵۰	۰/۸	۰/۹	۰/۷	۰/۹	۰/۸	۱/۰
۲۶	menthyl acetate	۱۲۷۲	۰/۵	۰/۴	۰/۴	۰/۴	۰/۵	۰/۴
۲۷	anethole	۱۲۸۲	–	۰/۶	–	–	–	–
۲۸	trans-carane	۱۲۹۰	۸/۵	–	–	–	–	–
۲۹	camphene	۱۳۰۳	۰/۴	–	۰/۳	۳/۲	–	–
۳۰	β-bourbonene	۱۳۷۹	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
۳۱	trans-caryophyllene	۱۴۱۳	۲/۲	۲/۲	۱/۸	۲/۰	۲/۴	۱/۹
۳۲	menthene	۱۴۴۰	–	۰/۱	–	–	–	–
۳۳	α-humulene	۱۴۴۸	–	۰/۱	–	۰/۱	–	۰/۱
۳۴	β-farnesene	۱۴۵۴	۰/۳	۰/۴	۰/۳	۰/۳	۰/۳	۰/۳
۳۵	Germacrene-D	۱۴۷۶	۲/۷	۲/۷	۱/۹	۲/۲	۲/۳	۱/۲
۳۶	bicyclogermacrene	۱۴۹۱	۰/۴	۰/۴	۰/۳	۰/۳	۰/۴	۰/۴
۳۷	spathulenol	۱۵۷۳	۰/۱	–	–	۰/۱	۰/۱	۰/۱
۳۸	caryophyllene oxide	۱۵۷۷	۰/۲	۰/۲	۰/۱	۰/۲	۰/۲	۰/۲
۳۹	viridiflorol	۱۵۸۷	۱/۳	۱/۲	۰/۸	۱/۰	۱/۱	۱/۱
۴۰	α-cadinol	۱۶۵۱	۰/۱	۰/۱	–	۰/۱	۰/۱	۰/۱
۴۱	hexadecane	۲۱۷۳	–	–	–	۰/۲	–	۰/۲
۴۲	bis (2-ethylhexyl) phthalate	۲۲۳۶	–	–	۰/۳	–	۰/۲	۰/۲
۴۳	tricosane	۲۲۹۳	–	۰/۲	–	–	–	–
	Total		۹۷/۲	۹۳/۹	۹۹/۰	۹۷/۲	۹۷/۰	۹۸/۳

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۴- اثر متقابل MeJA و شوری بر میزان سدیم (A)، پتاسیم (B)، کلسیم (D)، منیزیم (F) و نسبت پتاسیم به سدیم (E) اندام هوایی (مقادیر میانگین ۳ تکرار ± خطای استاندارد (SE) و حروف غیرمشابه روی هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد.)

همچنین بررسی مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که سطوح شوری بالاتر (۷/۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر)، محتوای کلسیم و منیزیم اندام هوایی را در مقایسه با تیمار شاهد (۱/۸۶ دسی‌زیمنس بر متر) افزایش داد. اما محلول‌پاشی برگی MeJA در سطوح شوری پایین‌تر (۱/۸۶ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر) منجر به افزایش

Archive of SID

www.SID.ir

کلسیم و منیزیم اندام هوایی گردید (شکل‌های C-۴ و D-۴).

با افزایش شوری، نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی و ریشه کاهش یافت، در مقابل افشانه MeJA به‌ویژه غلظت ۱۲۰ میکرومولار موجب افزایش این نسبت در اندام هوایی گیاه شد (شکل E-۴).

بحث

در این پژوهش مشاهده شد که شوری موجب کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی شد که این کاهش رشد طی تنش شوری در گونه‌های مختلف نعناع مانند *M. piperita* (Roodbari *et al*., 2013)، *M. suaveolens* (Kasrati *et al*., 2014) و *M. Canadensis* (Yu *et al*., 2015) گزارش شده است. Zhu (۲۰۰۱) مطرح کرده است که شوری منجر به بسته شدن روزنه و در نتیجه کاهش جذب دی‌اکسیدکربن می‌شود و این کاهش موجب تأمین ناکافی کربن برای رشد می‌گردد. شوری با کاهش سنتز تحریک‌کننده‌های رشد گیاه مانند سیتوکینین و افزایش بازدارنده‌های رشد مانند اسید آبسیزیک باعث کاهش رشد گیاه می‌شود (Ungar, 1991). در این پژوهش مشاهده شد که افشانه ۶۰ میکرومولار MeJA موجب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام هوایی شد. این نتایج موافق با نتایج قبلی است که گزارش کردند کاربرد MeJA، بیومس گونه‌های گیاهی مختلف را در شرایط شوری افزایش داد (Yoon *et al*., 2009؛ Salimi *et al*., 2016). MeJA از طریق کاهش هدایت روزنه‌ای و میزان تعرق موجب ذخیره آب و افزایش فشار تورژسانس در بافت‌ها و بهبود وزن تر و خشک گیاه می‌گردد (Ma *et al*., 2014).

ترکیب‌های فنلی دارای نقش‌های متعدد اکولوژیکی و فیزیولوژیکی مانند نقش‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. ترکیب‌های فنلی در شرایط طبیعی در سلول سنتز می‌شوند اما تنش‌های محیطی مقدار آنها را در سلول تغییر می‌دهد. تغییر در فعالیت آنزیم‌های بیوسنتزکننده یا تجزیه‌کننده این ترکیبها بر مقدار این ترکیب‌ها در سلول تأثیر می‌گذارد. تجمع ترکیب‌های فنلی در گیاهان در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی متعددی گزارش شده است (Kováčik & Bačkor, 2007). افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) که اولین آنزیم مسیر بیوسنتز فنل‌هاست نیز در بسیاری از تنش‌ها گزارش شده است (Kováčik *et al*., 2009). یعنی فنل‌ها احتمالاً به‌عنوان سازوکارهای دفاعی برای جمع‌آوری ROS تولید می‌شوند. از طرف دیگر کاهش مشاهده شده در این ترکیب‌ها حاصل کوچک‌تر بودن Ks به Kd است که نتیجه تشکیل ترکیب‌های فنلی نامحلول و یا پلیمریزاسیون فنل‌ها در نتیجه اکسیداسیون است (Anagnostopoulou *et al*., 2006). بنابراین می‌توان احتمال داد که کاهش ترکیب‌های فنلی در غلظت‌های بالای شوری در این پژوهش به‌دلیل فوق باشد. همچنین در این پژوهش مشاهده شد که کاربرد MeJA از کاهش ترکیب‌های فنلی گیاه در سطوح شوری بالاتر (۷۵ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) جلوگیری کرد. کاربرد ۱۰۰ میکرومولار MeJA و ۲۰۰ میکرومولار اسید جاسمونیک، محتوای اسید رزمارینیک (ترکیب فنلی) را در کشت‌های سلول *M. piperita* نسبت به شاهد ۱/۵ برابر افزایش داد (Krzyzanowska *et al*., 2012). مشخص شده که MeJA فعالیت آنزیم‌های PAL و ۴-هیدروکسی فنیل پیرووات ردوکتاز (HPR)، آنزیم‌های بحرانی مسیر فنیل پروپانوئید، را افزایش می‌دهد (Matsuno *et al*., 2002).

در ارتباط با اثر شوری بر روی افزایش متابولیت‌های ثانویه بر روی گیاهان دارویی گزارش‌های متناقضی وجود دارد. در تحقیقی که بر روی اثر تنش خشکی و شوری روی اسانس بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilia* L.) انجام شد، مشخص گردید که این تنش‌ها سبب کاهش برخی پارامترهای رشد و محتوای اسانس این گیاه شد (Razmjoo *et al*., 2008). Udagawa (۱۹۹۴) گزارش کرد که با افزایش EC محلول غذایی، غلظت کل اسانس در گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.) کاهش یافت ولی در آویشن (*Thymus vulgaris* L.) غلظت کل و عملکرد اسانس افزایش نشان داد. افزایش درصد اسانس ممکن است به‌دلیل

Archive of SID
www.SID.ir

تغییر در بیوسنتز اسانس تحت تنش و محدود شدن سطح برگ‌ها باشد که می‌تواند دلیل متراکم‌تر شدن غدد ترشحی اسانس در مقایسه با برگ‌های تحت شرایط غیرتنش باشد (Charles & Simon, 1990). همچنین، در دو گیاه ریحان و نعناع گزارش شده که زیاد بودن تراکم غده‌های مترشحه اسانس در اثر کاهش سطح برگ ناشی از تنش، باعث تجمع بیشتر اسانس می‌شود (Farzaneh *et al*., 2010). در توضیح افزایش اسانس در شرایط تنش می‌توان گفت که چون میزان متابولیت‌های اولیه در شرایط تنش کاهش می‌یابند گیاه با تنش مواجه می‌شود، و چون تولید متابولیت‌های ثانویه نوعی سازوکار دفاعی در شرایط نامساعد محیطی هستند تولید آنها در گیاه افزایش می‌یابد (Archangi, 2011). Hendawy و Khalid (۲۰۰۵) نیز بیان کردند که با افزایش شوری در مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) طی دو فصل رشد متوالی، عملکرد اسانس نیز به‌تدریج افزایش یافت. بدین‌نحو که با افزایش شوری تا سطح ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر، محتوای اسانس به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد اما شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر نه تنها موجب افزایش محتوای اسانس نگردید بلکه موجب کاهش معنی‌داری در محتوای اسانس گردید. Prasad و همکاران (۱۹۹۶) نیز اعلام کردند که شوری محتوای اسانس گونه‌های مختلف نعناع را به‌طور متغیری تحت تأثیر قرار داد که مطابق نتایج این پژوهش بود. مشابه نتایج این پژوهش، افزایش بازده اسانس در غلظت‌های متوسط شوری در گونه‌های معطر دیگر نیز مشاهده شده است (Ben Taarit *et al*., 2011). البته افزایش بازده اسانس در غلظت‌های متوسط شوری می‌تواند نوعی ویژگی سازش به شوری باشد. Pichersky و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که ترکیب‌های آروماتیک آزاد به‌صورت گلیکوزیله در واکوئول‌های سلول ذخیره می‌شوند و احتمالاً انبساط سلولی را افزایش می‌دهند و اثرات تنش اسمزی ناشی از شوری را کاهش می‌دهند. در حالیکه کاهش بازده اسانس مشاهده شده در غلظت‌های بیشتر شوری ممکن است بدلیل بافت‌مردگی القاء شده با شوری در برگ‌ها باشد که منجر به تجزیه تعدادی از غدد اسانس برگها و در نتیجه کاهش بازده اسانس می‌شود (Ben Taarit *et al*., 2011). بر این مبنا یک ارتباط مثبت بین کاهش ترپن‌ها و تغییرات فراساختاری سلول‌های غدد ترشحی در *M. pipierita* مشاهده شده است (Croteau 1987).

مطالعات زیادی بر روی تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد به‌ویژه جاسمونات‌ها بر گیاهان دارویی انجام شده است که نتایج آن نشان داده است این مواد تأثیر متفاوتی بر تعداد و نوع ترکیب‌های ثانویه گیاهان دارویی داشته‌اند (Goyal & Ramawat, 2008). Ghanati و همکاران (۲۰۱۰) تأثیر غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار MeJA را بر تولید متابولیت‌های ثانویه گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) بررسی کردند و نتایج آنان نشان داد که میزان فلاوونوئید ریشه در تیمار ۵۰ میکرومولار در مقایسه با نمونه شاهد افزایش معنی‌دار و در تیمار ۱۰۰ میکرومولار کاهش معنی‌داری را نشان داد. در این پژوهش نیز مشاهده شد که کاربرد غلظت ۶۰ میکرومولار MeJA موجب افزایش اسانس در گیاه نعناع فلفلی گردید که با تحقیقات سایر محققان همخوانی دارد (Ghanati *et al*., 2010).

مونوترپن‌ها از اجزای مهم اسانس هستند که تنش شوری میزان اجزای آن را تغییر می‌دهد و موجب افزایش، کاهش و بدون تغییر درصد اجزای متنوع اسانس می‌شود (Aziz *el al*., 2008). از مهمترین ترکیب‌های اسانس نعناع فلفلی منتول، منتون و منتوفوران می‌باشند و بیشترین مقدار را در ترکیب اسانس این گیاه تشکیل می‌دهند. به‌طوری که هر چه درصد منتول و منتون بیشتر و درصد منتوفوران کمتر باشد، کیفیت اسانس حاصل بیشتر است. همانطور که ملاحظه شد سطح شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر و غلظت‌های ۶۰ و ۱۲۰ میکرومولار MeJA بیشترین درصد منتون و منتول (به‌ترتیب ۶۹/۳۵٪ و ۶۷/۸۲٪) را داشته و فاقد منتوفوران بودند، در نتیجه کیفیت اسانس این دو تیمار نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود. در موافق با نتایج ما، Aziz (۲۰۰۸) بیان کرد درصد منتون اسانس نعناع فلفلی با تنش شوری افزایش یافت. همچنین Yu و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که تنش شوری میزان منتون و پولگن اسانس *M. Canadensis* L. را

Archive of SID

www.SID.ir

افزایش داد، در حالیکه غلظت منتول کاهش یافت. Ashrafi و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده کردند که غلظت‌های مختلف اسید جاسمونیک، نوع و مقدار ترکیبات اسانس آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Celak) را افزایش یا کاهش داد.

تنش شوری جذب عناصر از ریشه و انتقال آن به گیاه را کاهش می‌دهد. به همین علت در این پژوهش مقدار یون سدیم، پتاسیم، کلسیم و منیزیم در اندام هوایی مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که تنش شوری سبب افزایش سدیم و کاهش پتاسیم گردید. نسبت پتاسیم به سدیم از عوامل تعیین‌کننده حساسیت به شوری و بیانگر میزان جذب پتاسیم در طی بالا رفتن غلظت سدیم در محیط ریشه است. از آنجایی که نسبت پتاسیم به سدیم یک شاخص مناسب برای تعیین درجه مقاومت گیاه به شوری می‌باشد (Sairam *et al*., 2002)، بنابراین به نظر می‌رسد که MeJA با کاهش جذب سدیم توسط گیاه و افزایش نسبت پتاسیم به سدیم منجر به افزایش مقاومت به شوری شده است. همچنین کاهش کلسیم و منیزیم در سطح شوری پایین (۵ دسی‌زیمنس بر متر) مشاهده شد. نتایج این پژوهش با نتایج بسیاری از محققان همخوانی نشان داد (Kasrati *et al*., 2014؛ Salimi *et al*., 2016). تنظیم تعادل یون‌ها در گیاه، برای مقاومت در برابر تنش شوری ضروری است و اولین اختلال ایجاد شده، رقابت در جذب یون‌های ضروری مانند پتاسیم می‌باشد (Parida *et al*., 2004). همچنین کمبود آب القاء شده با شوری، توسعه سلول برگی را کاهش داد که منجر به افزایش سریع سدیم در نتیجه کاهش حجم سلول گردید (Hasegawa, 2013). نتایج ما نشان داد که کاربرد MeJA موجب کاهش سدیم و افزایش پتاسیم گردید. کاهش جذب سدیم با کاربرد MeJA در شرایط شوری در گیاه نخود فرنگی گزارش شده است. ثابت شده است که MeJA باز شدن روزنه‌ای را مهار می‌کند، در نتیجه میزان تعرق کاهش می‌یابد. بنابراین کاهش تعرق ممکن است منجر به انتقال محدود سدیم و کلر از ریشه به اندام هوایی گردد (Fedina & Tsonev, 1997). همچنین در مطالعه‌ای بر روی گیاه برنج در شرایط تنش شوری دریافتند که کاربرد اسید جاسمونیک سبب کاهش جذب سدیم (به‌ویژه در رقم حساس به شوری) گردید، در حالی‌که افزایش در سطوح کلسیم و منیزیم و نیز افزایش اندکی در سطوح پتاسیم با کاربرد اسید جاسمونیک مشاهده شد (Kang *et al*., 2005) که مطابق با نتایج این پژوهش بود. البته کلسیم به‌عنوان یک پیام‌آور ثانوی در مسیرهای علامت‌دهی منتهی به تحمل تنش عمل می‌کند. گزارش شده که کلسیم ممکن است عمل MeJA را از طریق سازوکار وابسته به کالمودولین تنظیم کند (Hsu *et al*., 2013). همچنین MeJA ممکن است بیان ژن تعدادی از آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز کلروفیل را القاء کند که یون منیزیم برای بیوسنتز کلروفیل لازم است (Ueda & Saniewski, 2006).

نتایج این تحقیق از یک طرف نشان داد که گیاه نعناع فلفلی دارای تحمل متوسطی به شوری می‌باشد و تا سطح شوری ۷/۵ دسی‌زیمنس بر متر را به خوبی می‌تواند تحمل کند. از طرف دیگر، کاربرد برون‌زای MeJA تأثیر مثبتی بر روی گیاه داشته و اثرات مخرب شوری را تا حدی کاهش داده است. همچنین کاربرد MeJA، محتوای متابولیت‌های ثانوی مانند فنل و اسانس را تحت تأثیر قرار داده است که می‌تواند به‌عنوان ماده محرک ترکیب‌های دارویی گیاه نعناع فلفلی در صنایع بکار رود.

منابع مورد استفاده

- Adams, R.P., 1995. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured Publishing Corporation, USA, 750p.
- Anagnostopoulou, M.A., Kefalas, P., Papageorgiou, V.P., Assimopoulou, A.N. and Boskou, D., 2006. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). Food Chemistry, 94(1): 19-25.
- Archangi, B., 2011. The effect of salinity on seed germination and growth of fenugreek and basil. MSc. thesis, Faculty of Agriculture, Research and Technology-Shahrekord University, Shahrekord.
- Ashrafi, M., Ghasemi Pirbalouti, A., Rahimmalek, M. and Hamedi, B., 2012. Effect of foliar application of

Archive of SID
www.SID.ir

under different salinity levels. Journal of Appiled Science Research, 1(2): 147-155.
- Hsu, Y.Y., Chao, Y.Y. and Kao, C.H., 2013. Methyl jasmonate-induced lateral root formation in rice: The role of heme oxygenase and calcium. Journal of Plant Physiology, 170: 63-69.
- Kalra, Y.P. and Maynard, D.G., 1998. Microwave digestion of plant tissue in an open vessel: 63-67. In: Kalra, Y.P., (Ed.). Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press, Boca Raton, 287p.
- Kang, D.J., Seo, Y.J., Lee, J.D., Ishii, R., Kim, K., Shin, D., Park, S., Jang, S. and Lee, I.J., 2005. Jasmonic acid differentially affects growth, ion uptake and abscisic acid concentration in salt-tolerant and salt-sensitive rice cultivars. Journal of Agronomy and Crop Science, 191: 273-282.
- Kasrati, A., Jamali, C.A., Bekkouche, K., Wohlmuth, H., Leach, D. and Abbad, A., 2014. Plant growth, mineral nutrition and volatile oil composition of *Mentha suaveolens* subsp. *timija* (Briq.) Hareley cultivated under salt stress. Industrial Crops and Products, 59: 80-84.
- Kim, H.J., Fonseca, J.M. and Choi, J.H., Kubota, C. and Kown, D.Y., 2008. Salt in irrigation water affects the nutritional and visual properties of romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 3772-3776.
- Kováčik, J. and Bačkor, M., 2007. Phenylalanine ammonia-lyase and phenolic compounds in chamomile tolerance to cadmium and copper excess. Water, Air, and Soil Pollution, 185(1-4): 185-193.
- Kováčik, J., Klejdus, B. and Bačkor, M., 2009. Nitric oxide signals ROS scavenger-mediated enhancement of PAL activity in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* roots: side effects of scavengers. Free Radical Biology and Medicine, 46(12): 1686-1693.
- Krzyzanowska, J., Czubacka, A., Pecio, L., Przybys, M., Doroszewska, T., Stochmal, A. and Oleszek, W., 2012. The effects of jasmonic acid and methyl jasmonate on rosmarinic acid production in *Mentha* × *piperita* cell suspension cultures. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 108: 73-81.
- Li, Z., Yang, H., Wu, X., Guo, K. and Li, J., 2014. Some aspects of salinity responses in peppermint (*Mentha piperita* L.) to NaCl treatment. Protoplasma, 52: 885-899.
- Ma, C., Wang, Z.Q., Zhang, L.T., Sun, M.M. and Lin, T.B., 2014. Photosynthetic responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) to combined effects of drought and exogenous methyl jasmonate. Photosynthetica, 52: 377-385.
- Mahmoud, S.S. and Croteau, R.B., 2003. Menthofuran regulates essential oil biosynthesis in peppermint by jasmonic acid (JA) on essential oil yield and its composition of *Thymus daenensis* Celak. Journal of Herbal Drugs, 3(2): 75-80.
- Aziz, E.E., Al-Amier, H. and Craker, L.E., 2008. Influence of salt stress on growth and essential oil production in peppermint, pennyroyal and apple mint. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants, 14(1): 77-87.
- Ben Taarit, M., Mseada, K., Hosni, K. and Marzouk, B., 2011. Physiological changes and essential oil composition of clary sage (*Salvia sclarea* L.) rosette leaves as affected by salinity. Acta Physiologia Plantarum, 33: 153-162.
- Charles, D.J. and Simon, J.E., 1990. Effect of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. Phytochemistry, 29: 2837-2840.
- Clark, R. and Menary, R., 1980. Environmental effects on peppermint (*Mentha piperita* L.). II. Effects of temperature on photosynthesis, photorespiration and dark respiration in peppermint with reference to oil composition. Functional Plant Biology, 7(6): 693-697.
- Croteau, R., 1987. Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids. Chemical Reviews, 87: 929-954.
- Dar, T.A., Uddin, M., Khan, M.M.A., Hakeem, K.R. and Jaleel, H., 2015. Jasmonates counter plant stress: a review. Environmental Experimental Botany, 115: 49-57.
- Farzaneh, A., Ghani, A. and Azizi, M., 2010. The effect of water stress on morphological characteristic and essential oil content of improved sweet basil (*Ocimum basillicum* L.). Journal of Plant Production Research, 17(1): 103-111.
- Fedina, I.S. and Tsonev, T.D., 1997. Effect of pretreatment with methyl jasmonate on the response of *Pisum sativum* to salt stress. Journal of Plant Physiology, 151: 735-740.
- Ghanati, F., Bakhtiyarian, S. and Abdolmaleki, P., 2010. Effects of methyl jasmonate on the secondary metabolites of *Calendula officinalis* L. Biotechnology Tarbiat Modares University, 1(1): 20-30.
- Goyal, S. and Ramawat, K., 2008. Ethrel treatment enhanced isoflavonoids accumulation in cell suspension cultures of *Pueraria tuberosa*, a woody legume. Acta Physiologiae Plantarum, 30(6): 849-853.
- Hasegawa, P.M., 2013. Sodium (Na+) homeostasis and salt tolerance of plants. Environmental and Experimental Botany, 92: 19-31.
- Hendaway, S. and Khalid, K.A., 2005. Response of sage (*Salvia officinalis* L.) plants to zinc application

Archive of SID

www.SID.ir

- Salimi, F., Shekari, F. and Hamzei, J., 2016. Methyl jasmonate improves salinity resistance in German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) by increasing activity of antioxidant enzymes. Acta Physiologia Plantarum, 38(1): 1-16.
- Soltani, A. and Madah, V., 2010. Simple applied programs for education and research in agronomy. Iranian Society of Ecological Agriculture, Tehran, 80p.
- Tester, M. and Davenport, R., 2003. Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants. Annals of Botany, 91: 503-527.
- Udagawa, Y., 1994. Some responses of dill (*Anethum graveolens*) and thyme (*Thymus vulgaris*), grown in hydroponic, to the concentration of nutrient solution. Hydroponics and Transplant Production, 396: 203-210.
- Ueda, J. and Saniewski, M., 2006. Methyl jasmonate-induced stimulation of chlorophyll formation in the basal part of tulip bulbs kept under natural light conditions. Journal of Fruit Ornamental Plant Research, 14: 199-210.
- Ungar, I.A., 1991. Ecophysiology of Vascular Halophytes. CRC Press, Boca Raton, 221p.
- Wildung, M.R. and Croteau, R.B., 2005. Genetic engineering of peppermint for improved essential oil composition and yield. Transgenic Research, 14(4): 365-372.
- Yoon, J.Y., Hamayun, M., Lee, S.K. and Lee, I.J., 2009. Methyl jasmonate alleviated salinity stress in soybean. Journal of Crop Science and Biotechnology, 12: 63-68.
- 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* CA Meyer. Biochemical Engineering Journal, 11(2): 211-215.
- Yu, X., Liang, C., Chen, J., Qi, X., Liu, Y. and Li, W., 2015. The effects of salinity stress on morphological characteristics, mineral nutrient accumulation and essential oil yield and composition in *Mentha canadensis* L. Scientia Horticulturae, 197: 579-583.
- Zhu, J.K., 2001. Plant salt tolerance. Trends Plant Science, 6: 66-71.

controlling a downstream monoterpene reductase. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100(24): 14481-14486.
- Matsuno, M., nagatsua, A., Ogiharaa, Y., Ellisb, B.E. and Mizukami, H., 2002. CYP98A6 from *Lithospermum erythrorhizon* encodes 4-coumaroyl-4P-hydroxyphenyllactic acid 3-hydroxylase involved in rosmarinic acid biosynthesis. FEBS Letters, 514: 219-224.
- Parida, A.K., Das, A.B., Mittra, B. and Mohanty, P., 2004. Salt-stress induced alterations in protein profile and protease activity in the mangrove Bruguiera parviflora. Zeitschrift fur Naturforschung C-Journal of Biosciences, 59: 408-414.
- Pichersky, E., Noel, J.P. and Dudareva, N., 2006. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity-a review. Sciences, 311: 808-811.
- Prasad, A., Anwar, M., Patra, D. and Singh, D., 1996. Tolerance of mint plants to soil salinity. Journal of the Indian Society of Soil Science, 44(1): 184-186.
- Ranganna, S., 1986. Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products. Tata McGraw-Hill Education, New Delhi, 1112p.
- Razmjoo, K., Heydarizadeh, P. and Sabzalian, M.R., 2008. Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomile*. International Journal of Agriculture and Biology, 10(4): 451-454.
- Roodbari, N., Roodbari, S., Ganjali, A., Sabeghinejad, F. and Ansarifar, M., 2013. The effect of salinity stress on growth parameters and essential oil percentage of peppermint (*Mentha piperita* L.). International Journal of Advanced Biological and Biochemical Research, 1(9): 1009-1015.
- Russo, A., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Delfine, S., Cardile, V., Rosselli, S. and Bruno, M., 2013. Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. Food and Chemical Toxicology, 55: 42-47.
- Sairam, R.K., Rao, K.V. and Srivastava, G., 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science, 163: 1037-1046.

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of methyl jasmonate and salt stress on physiological and phytochemical characteristics of peppermint (*Mentha piperita* L.)

E. Vatankhah[1*], B. Kalantari[2] and B. Andalibi[3]

1*- Corresponding author, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran
E-mail: elahe_vatankhah@znu.ac.ir
2- MSc. Student, Department of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran
3- Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

Received: September 2016 Revised: February 2017 Accepted: February 2017

Abstract

Jasmonates are key signaling compounds in plant responses to biotic and abiotic stresses as well as in development. We studied the role of methyl jasmonate (MeJA) in alleviating NaCl-induced salt stress in *Mentha piperita* L. through evaluating its growth, mineral and phenolics contents, essential oil (EO) quantity and quality. Accordingly, plants were exposed to the NaCl concentrations of 1.86 (control), 5, 75 and 10 dS/m for two weeks, 24 h after foliar application of 0, 60 and 120 µM MeJA. The results showed that salt stress decreased fresh and dry weights of aerial parts and concentrations of potassium (K^+), calcium (Ca^{2+}), magnesium (Mg^{2+}), K^+/ Na^+ ratio and phenolic compounds, while sodium (Na^+) content increased significantly under salt stress. Also, EO yield increased with the increase of salinity concentration then decreased at the salinity concentration of 10 dS/m. However, exogenous application of MeJA enhanced the contents of K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^+/ Na^+ ratio and phenolics, while Na^+ content in salt stressed plants declined. In addition, pretreatment with 60 µM MeJA improved the growth and EO yield. The highest values of menthone and menthol were obtained at the salinity concentration of 7.5 dS/m and concentrations of 60 and 120 µM MeJA. In summary, our results indicated that application of MeJA could reduce the adverse of salinity stress in *M. piperita*.

Keywords: *Mentha piperita* L., salinity, methyl jasmonate, plant growth, mineral elements, secondary metabolites.

Archive of SID

www.SID.ir