نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و دوم، شماره چهارم، ۱۳۹٤
http://jopp.gau.ac.ir

اثر سمیت یونی کلرید سدیم بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نعناع سبز (*Mentha spicata* L.)

زهرا صفری محمدیه[۱]، *محمد مقدم[۲]، بهرام عابدی[۲] و لیلا سمیعی[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، [۲]استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، [۳]استادیار، گروه گیاهان زینتی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۲۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۱۰

چکیده

سابقه و هدف: شوری خاک یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولیدات گیاهی می‌باشد. خشکی فیزیولوژیکی ناشی از تنش شوری یکی از علل اصلی محدود کننده جذب آب از خاک است. علاوه‌بر این افزایش جذب نمک توسط گیاهان باعث اختلال در فرآیندهای سلولی و فیزیولوژیکی می‌شود. نعناع سبز (*Mentha spicata* L.) از خانواده نعناعیان در خاک‌های شنی اسیدی به خوبی رشد می‌کند و شرایط نوری متوسط و رطوبت بالای خاک را ترجیح می‌دهد. نعناع از منابع غنی ترکیبات پلی فنلی می‌باشد، بنابراین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است. این آزمایش به‌منظور بررسی اثر شوری بر برخی فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نعناع سبز انجام شد.

مواد و روش‌ها: این تحقیق در سال ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٤ تکرار انجام شد. در این آزمایش اثر سمیت عناصر کلر و سدیم بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نعناع سبز مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای آزمایش شامل ۵ سطح شوری (صفر ۳۰، ٦۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار) کلرید سدیم و سه زمان نمونه‌برداری (۹۰، ۱۰۰ و ۱۱۰ روز پس از کاشت) بودند. صفات اندازه‌گیری شده شامل غلظت کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت، پرولین، قندهای محلول، شاخص سبزینگی گیاه (SPAD)، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، فنل کل و هدایت روزنه‌ای بودند.

*مسئول مکاتبه: m.moghadam@um.ac.ir

یافته‌ها: نتایج نشان داد که شوری و زمان نمونه‌برداری هر کدام به تنهایی اثر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، شاخص سبزینگی، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و نشت الکترولیت داشتند. شوری همچنین اثر معنی‌داری بر هدایت روزنه‌ای داشت، در حالی‌که زمان نمونه‌برداری تأثیری بر این صفت نداشت. اثرات متقابل شوری و زمان نمونه‌برداری بر شاخص سبزینگی، پرولین و محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار شد. بیشترین (۱۰٦/۷۲ درصد) و کمترین (٦٥/۳۸ درصد) محتوای نسبی آب برگ به‌ترتیب در تیمار شاهد و اولین زمان نمونه‌برداری و تیمار ۹۰ میلی‌مولار و سومین زمان نمونه‌برداری مشاهده شد. بیشترین (۵۰/٤۹ درصد) و کمترین (۱۹/٤۲ درصد) نشت الکترولیت به ترتیب در تیمار ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و شاهد به‌دست آمد. زمان نمونه‌برداری بر مقدار قند محلول، فنل کل و پرولین اثرمعنی‌داری داشت. با گذشت زمان محتوای نسبی آب برگ، پایداری غشاء، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل کاهش یافتند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده افزایش سطوح شوری سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل و هدایت روزنه‌ای، افزایش نشت الکترولیت و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی نعناع سبز گردید؛ ولی بر میزان پرولین، قند محلول و فنل کل تأثیری نداشت. به‌نظر می‌رسد که نعناع سبز گیاهی حساس به شوری است و شوری بیش از ۳۰ میلی‌مولار کلرید سدیم را نمی‌تواند تحمل کند.

واژه‌های کلیدی: شوری، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای نسبی آب برگ، نعناع سبز

مقدمه

از مهمترین عوامل محدود کننده تولیدات گیاهی شوری خاک و آب می‌باشد که مساحت زیادی از اراضی جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲). به‌علت قرار گرفتن ایران در مناطق خشک و نیمه خشک نزدیک به ۵۰ درصد سطح زیر کشت محصولات کشاورزی، با درجه‌های مختلف شوری و قلیائیت روبرو می‌باشد (۲۱). نمک از طریق کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک، سمیت یون‌ها و اختلال در تعادل یون‌ها یا کمبود تغذیه‌ای باعث آسیب به گیاه می‌شود (۱۷). خشکی فیزیولوژیکی حاصل از تنش شوری یکی از مهمترین عواملی است که جذب آب را از خاک محدود می‌کند. همچنین افزایش جذب نمک توسط گیاهان باعث اختلال در فرآیندهای سلولی و فیزیولوژیکی می‌شود (۲۵). گیاهان سازوکارهای متعددی برای جلوگیری از فروپاشی تعادل ترمودینامیکی یا شیمیایی بین محیط بیرون و درون سلول دارند که از آن جمله می‌توان به سازوکارهای حفاظتی و تحمل در جهت اجتناب از تنش و توانایی پرتوپلاسم‌های گیاهی برای تحمل در برابر تنش اشاره کرد (۱۲). کنترل محتوای آب در شرایط شور قسمتی از فرآیند تحمل به آن به‌شمار می‌آید، چرا که محتوای آب و املاح با کمک هم میزان فشار آماس را مشخص می‌کنند و مهم این‌که محتوای هر دو با درجه شوری دقیقاً مطابقت نشان می‌دهند (۱۲). از اثرات دیگر شوری در گیاهان تخریب ساختمان کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل می‌باشد که می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت کلروفیلاز و تغییر در متابولیسم نیتروژن در رابطه با ساخت ترکیباتی نظیر پرولین باشد (۳). ترکیبات آلی (محلول‌های سازگار کننده) نظیر ترکیبات نیتروژونه (پرولین، گلیسین و بتائین) و کربوهیدارات‌های محلول (مانیتول، ساکارز، رافینوز و الیگوساکارید) در فرآیندهای شیمیایی گیاه خللی وارد نمی‌کنند و در تنظیم اسمزی نقش دارند و با حفظ تورژسانس و نگهداری حجم سلول آثار تنش را کاهش می‌دهند (۱۸). تحقیقات نشان داده است که مقاومت به شوری در گیاهان با قابلیت تنظیم اسمزی مرتبط می‌باشد (۱۳). مقاومت در برابر تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری وابسته به دو لایه لیپیدی و اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد که پایداری غشاء را تضمین می‌کنند. در تنش شوری تولید H_2O_2 افزایش می‌یابد و پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب غشا را باعث می‌شود (۲۷).

نعناع از جنس ***Mentha*** و متعلق به خانواده نعناعیان است که دارای گونه‌های مختلفی می‌باشد. در بین آن‌ها گونه نعناع سبز (*M. spicata* L.) به‌طور وسیعی در ایالات‌متحده، چین، اروپا، آسیا و کشورهای مدیترانه از جمله ایران کشت می‌شود (۲۶). گیاه نعناع سبز در خاک‌های شنی اسیدی به

خوبی رشد کرده و شرایط نوری متوسط و رطوبت بالای خاک را ترجیح می‌دهد. قسمت‌های هوایی این گیاه که شامل برگ‌ها و سرشاخه‌های گلدار آن می‌باشد معطر بوده و در صنعت و دارو مصرف بالایی دارد (۹). خانواده نعناعیان از منابع غنی ترکیبات پلی‌فنلی بوده و بنابراین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۳۵). ترکیبات فنلی در شرایط تنش آنتی‌اکسیدانت‌های قوی می‌باشند و این خاصیت به دلیل ساختار اسکلتی و گروه فنل آن‌ها می‌باشد. گروه‌های هیدروکسیل آزاد متصل به حلقه آروماتیک اثرات رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یون‌های سمی را از بین برده و ساختار سیتوپلاسمی و کلروپلاستی را از اثرات منفی شوری حفظ می‌کند (۳۰). هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر شوری بر برخی فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نعناع سبز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ٤ تکرار صورت گرفت. تیمارهای آزمایش شامل ۵ سطح شوری (صفر، ۳۰، ٦۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و سه زمان نمونه‌برداری (هر کدام به فاصله ۱۰ روز)، ۹۰، ۱۰۰ و ۱۱۰ روز پس از کاشت بودند. تیمارهای شوری در محیط آبکشت (هیدروپونیک) اعمال شدند. بستر کشت گیاه از کوکوپیت و پرلیت به نسبت ۲ به ۱ بود که در گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع ٤۰ و قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر ریخته شد. از کود کامل محصول شرکت اورتکس اسپانیا با نسبت NPK ۲۰:۲۰:۲۰ که دارای سایر ریز مغذی‌ها بود برای تغذیه گیاه استفاده گردید. تیمار شوری زمانیکه ارتفاع گیاه به حدود ۳۰ سانتی‌متر (گیاه به اندازه کافی رشد کرد) رسید اعمال گردید. به منظور جلوگیری از شوک ناگهانی به گیاه تیمار شوری از کمترین سطح (۳۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) اعمال شد و در طول آزمایش به سطوح موردنظر افزایش یافت. اندازه‌گیری صفات مورد نظر به فاصله ۱۰ روز صورت گرفت. صفات مورد اندازه‌گیری شامل: غلظت کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت، پرولین، قندهای محلول، شاخص سبزینگی گیاه (SPAD)، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، فنل کل و هدایت روزنه‌ای بودند.

اندازه‌گیری کلروفیل a، b و کل به روش دره انجام و بر اساس روابط زیر محاسبه گردید (۸)، و از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل ۲۱۰۰ ساخت کشور انگلستان برای تعیین غلظت کلروفیل استفاده گردید.

$$Chl_a = 15.65A_{666} - 7.340A_{653} \quad (۱)$$

$Chl_b = 27.05\ A_{653} - 11.21\ A_{666}$ (۲)

$Chl_t = Chl_a + Chl_b$ (۳)

در این روابط Chl_a: کلروفیل a، Chl_b: کلروفیل b و Chl_t: کلروفیل کل را نشان می‌دهد.

محتوای نسبی آب (RWC) که نشان دهنده مقدار آب گیاه در زمان نمونه‌گیری نسبت به مقدار آب در حالت آماس سلولی است، با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۳٦).

RWC = WF- WD/ WT- WD*100 (٤)

WF: وزن تر برگ، WD: وزن خشک برگ، WT: وزن آماس برگ

میزان نشت الکترولیت‌ها از طریق معادله زیر محاسبه گردید (۱۹). در این رابطه E_1 و E_2 به‌ترتیب نشت الکترولیت اولیه و ثانویه می‌باشند.

$EL= (E_1/E_2)*100$ (۵)

تعیین فنل کل با استفاده از معرف فولین سیکالتو در طول موج ٦٦۰ نانومتر صورت گرفت. مقادیر فنل کل با استفاده از منحنی استاندارد با اسیدگالیک اندازه‌گیری شد (۳۲).

محاسبه فعالیت آنتی‌اکسیدانتی به روش پالایندگی رادیکال $DPPH^*$ انجام شد (۱۱). به این منظور ۲ میلی‌لیتر از عصاره برگ نعناع به ۱ میلی‌لیتر محلول $DPPH^*$ ۰/۲ میلی‌مولار تهیه شده در متانول خالص اضافه شد. محلول به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. سپس مقدار جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل ۲۱۰۰ ساخت کشور انگلستان اندازه‌گیری شد و درصد پالایندگی رادیکال $DPPH^*$ طبق رابطه زیر محاسبه گردید.

RSA% = (جذب نمونه شاهد/جذب نمونه مورد ارزیابی- جذب نمونه شاهد) *۱۰۰ (٦)

اندازه‌گیری پرولین به روش بیتس محاسبه گردید (٤). هدایت روزنه‌ای با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج روزنه‌ای[1] مدل SC-1 به دست آمد. اندازه‌گیری شاخص کلروفیل با استفاده از دستگاه SPAD meter (مدل 502 PLUS ساخت کشور چین) صورت گرفت. اندازه‌گیری در قسمت میانی برگ‌های کاملاً توسعه یافته انجام شد. برای تعیین میزان قندهای محلول، ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره تهیه شده در اتانول را به ۳ میلی‌لیتر آنترون (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون + ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۷۲ درصد) تازه تهیه شده اضافه شد. سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت، تا ماده رنگی

1. Leaf Porometer

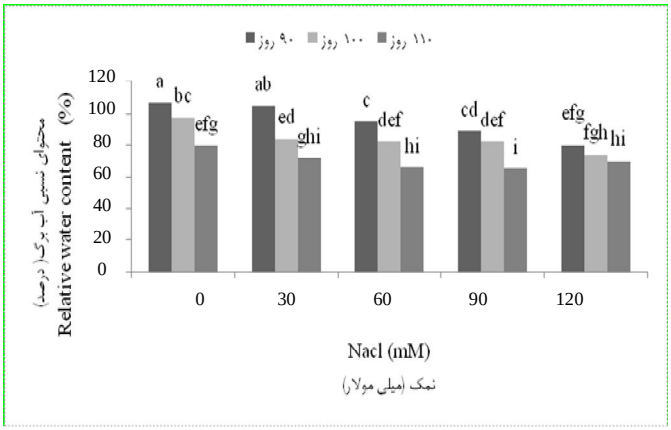
تشکیل گردید. پس از خنک شدن نمونه‌ها میزان جذب آن‌ها در طول موج ٦٢٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد و با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف گلوکز میزان قند تعیین گردید (١٤).

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار جمپ[1]، مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد و ترسیم نمودارها توسط نرم‌افزار MS EXCEL انجام شد.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب برگ: اثر شوری بر میزان محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار گردید (جدول ١). اثر زمان نمونه‌برداری بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار شد (جدول ١). اثر متقابل زمان نمونه‌برداری و شوری بر محتوای نسبی آب برگ نیز معنی‌دار گردید (جدول ١). با افزایش سطوح کلرید سدیم میزان محتوای نسبی آب برگ در تیمار ٩٠ میلی‌مولار شوری نسبت به تیمار شاهد ٤١/٣٣ درصد کاهش یافت (شکل ١). اثر متقابل شوری و زمان نمونه‌برداری نشان داد که بیشترین محتوای نسبی آب برگ در تیمار شاهد و اولین زمان نمونه‌گیری و کمترین آن در تیمار ٩٠ میلی‌مولار کلرید سدیم و سومین مرحله نمونه‌گیری به‌دست آمد (شکل ١). توانایی گیاه برای جذب آب از یک محیط شور یک عامل مقاومتی برای گیاه محسوب می‌گردد (٢٨). حفظ آماس مثبت سلولی یک سازوکار سازشی بسیار مهم برای اجتناب از کمبود آب در برگ‌ها محسوب می‌شود (٢٠). با افزایش غلظت نمک و کاهش پتانسیل آبی، جذب آب در گیاه نعناع سبز کاهش یافت، به‌طوری که نتوانست محتوای آب برگ‌های خود را حفظ کند. با گذشت زمان و اعمال شوری محتوای نسبی آب برگ‌ها کاهش پیدا کرد. از طرف دیگر کاهش محتوای نسبی آب برگ‌ها می‌تواند به‌دلیل تجمع یون‌های سدیم و کلر باشد (٢٣). نتایج این آزمایش با نتایج کمالی و همکاران (٢٠١٢) در گیاه آمارانتوس زینتی (١٦)، ثابت تیموری و همکاران (٢٠٠٧) در گیاه کنجد (٢٩) و جوادی پور و همکاران (٢٠١٢) در چند رقم گلرنگ (١٥) مطابقت دارد.

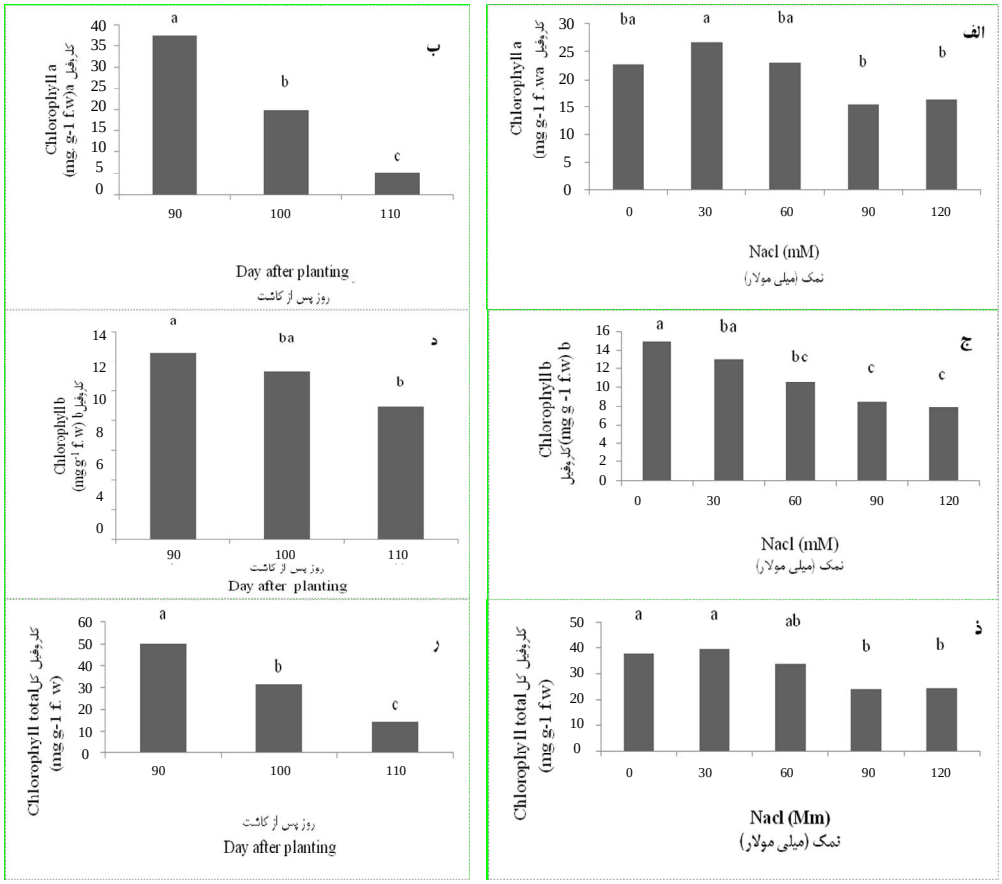
1. John’s Macintosh Program



شکل ۱- اثر متقابل شوری و زمان نمونه‌برداری بر محتوای نسبی آب برگ. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

Figure 1. Interaction effect of salinity and sampling time on relative water content. Same letters indicate no significant different at 5% level probability.

کلروفیل و شاخص سبزینگی: شوری و زمان نمونه‌برداری بر میزان کلروفیل a، b و کل تأثیر داشت (جدول ۱). اثر متقابل شوری و زمان نمونه‌برداری بر میزان کلروفیل a، b و کل معنی‌دار نشد (جدول ۱). شوری باعث افزایش کلروفیل a در تیمار ۳۰ میلی‌مولار شد و با افزایش سطوح شوری از میزان کلروفیل a کاسته شد، به‌طوری که بیشترین میزان آن در تیمار ۳۰ و کمترین آن در تیمار ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به دست آمد (شکل ۲- الف). با گذشت زمان از میزان کلروفیل a، b و کل کاسته شد. بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل در اولین زمان نمونه‌برداری و کمترین آنها در سومین زمان نمونه‌گیری به‌دست آمد (شکل ۲- ب. د. ر). با اعمال سطوح مختلف شوری از میزان کلروفیل b کاسته شد به‌طوری که بیشترین میزان کلروفیل b در شاهد و کمترین آن در تیمار ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده گردید (شکل ۲- ج). با افزایش سطوح شوری تا ۳۰ میلی‌مولار کلروفیل کل تغییری نیافت، اما بالاتر از آن باعث کاهش میزان کلروفیل کل گردید. بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمار شاهد و ۳۰ و کمترین آن در تیمار ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به دست آمد (شکل ۲- ذ). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که شوری و زمان نمونه‌برداری بر شاخص سبزینگی گیاه معنی‌دار بود (جدول ۱). تأثیر شوری و زمان نمونه‌برداری بر کلروفیل نسبی معنی‌دار گردید (جدول ۱). با افزایش سطوح شوری سبزینگی گیاه کاهش یافت، همچنین گذشت زمان باعث کاهش سبزینگی گیاه گردید (شکل ۳).

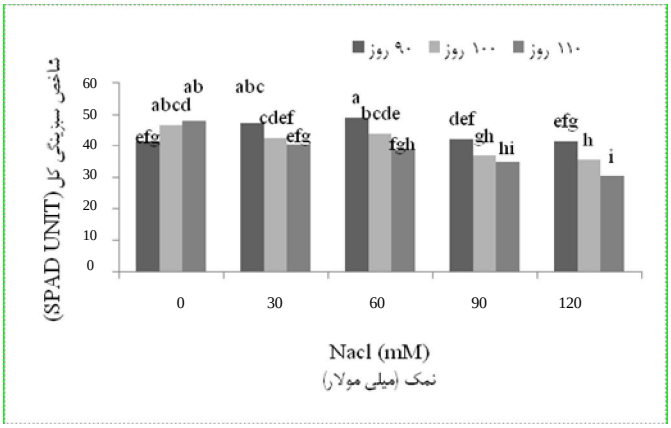


شکل ۲- الف) اثر سطوح مختلف کلرید سدیم بر میزان کلروفیل a. ب) اثر زمان‌های مختلف نمونه‌برداری بر میزان کلروفیل a. ج) اثر سطوح مختلف کلرید سدیم بر میزان کلروفیل b. د) اثر زمان‌های مختلف نمونه‌برداری بر میزان کلروفیل b. ذ) اثر سطوح مختلف کلرید سدیم بر میزان کلروفیل کل. ر) اثر زمان‌های مختلف نمونه‌برداری بر میزان کلروفیل کل نعناع سبز. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

Figure 2. A) Effect of different leveles of NaCl on chlorophyll a. B) Effect of different sampling time on chlorophyll a. C) Effect of different leveles of NaCl on chlrophyll b. D) Effect of different sampling time on chlorophyll b. E)) Effect of different leveles of NaCl on total chlorophyll. F) Effect of different sampling time on total chlorophyll of spearmint. Same letters indicate no significant different at 5% level probability.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در اثر متقابل شوری و زمان نمونه‌گیری، بیشترین شاخص سبزینگی گیاه در تیمار ٦٠ میلی‌مولار و اولین زمان نمونه‌گیری مشاهده شد و کمترین آن در تیمار

۱۲۰ میلی‌مولار شوری و سومین زمان نمونه‌گیری به دست آمد (شکل ۳). در این آزمایش شوری باعث افزایش کلروفیل a در سطح ۳۰ میلی‌مولار گردید که با توجه به نقش کلروفیل a در فتوسنتز، نشان می‌دهد نعناع تا این سطح شوری را می‌تواند تحمل کند. ولی بعد از این سطح کلروفیل a کاهش می‌یابد. در سطوح بالای شوری میزان کلروفیل کاهش یافت. افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش تجمع یون‌ها در برگ‌ها (۳٤) باعث تجزیه و کاهش کلروفیل و سبزینگی می‌گردد. گذشت زمان باعث کاهش کلروفیل a، b کل و شاخص سبزینگی گردید که نشان می‌دهد با افزایش سن گیاه مقدار کلروفیل کاهش می‌یابد. تنش شوری باعث کاهش کلروفیل در گونه‌های سیب‌زمینی (۷) و مرزنجوش (۳۱) گردید.

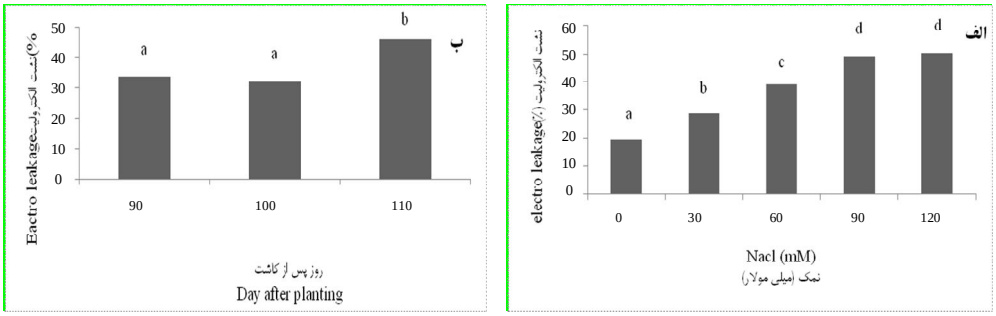


شکل ۳- اثر متقابل زمان‌های نمونه‌برداری و شوری بر شاخص سبزینگی. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

Figure 3. Interaction effect of different sampling time on SPAD. Same letters indicate no significant different at 5% level probability.

نشت الکترولیت: اثر شوری و زمان نمونه‌برداری بر میزان نشت الکترولیت معنی‌دار گردید (جدول ۱). اثر متقابل شوری و زمان نمونه‌برداری بر نشت الکترولیت تأثیری نداشت (جدول ۱). افزایش سطوح مختلف شوری باعث افزایش میزان نشت الکترولیت شد. بیشترین میزان نشت الکترولیت به‌ترتیب ۵۰/٤۹ درصد و ٤۸/۹۸ درصد در تیمار ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار و کمترین آن ۱۹/٤۲ درصد در شاهد مشاهده شد (شکل ٤- الف). گذشت زمان باعث افزایش نشت الکترولیت گردید، که در سومین زمان

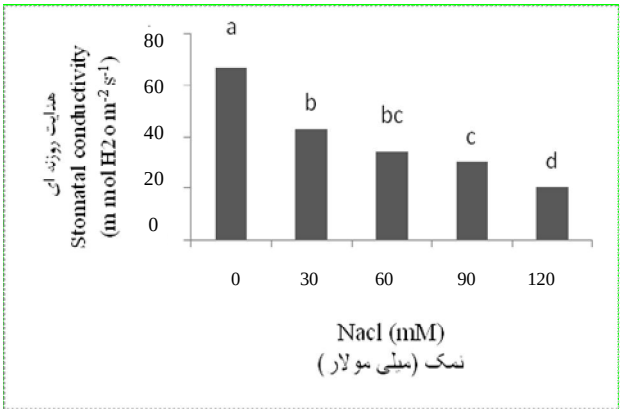
نمونه‌برداری بیشترین نشت الکترولیت به‌دست آمد (شکل ٤- ب). افزایش سطوح شوری در این تحقیق باعث افزایش نشت الکترولیت از سلول‌های برگ شد که با نتایج ارائه شده توسط سایر محققین مطابقت دارد (۲۷، ١٦). در تنش شوری رادیکال‌های آزاد و پراکسید هیدروژن در سلول‌ها تجمع می‌یابد، به‌طوری‌که پراکسیده شدن چربی‌های غشاء افزایش و پایداری غشاء کاهش و نشت الکترولیت‌ها افزایش می‌یابد (٢٤).



شکل ٤- الف) اثر سطوح مختلف کلرید سدیم بر میزان نشت الکترولیت برگ‌های نعناع سبز. ب) اثر زمان نمونه‌گیری بر نشت الکترولیت برگ‌های نعناع سبز. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥ درصد است.

Figure 4. A) Effect of different leveles of NaCl on electrolyte leakage. B) Effect of sampling time on electrolyte leakage of spearmint leaves. Same letters indicate no significant different at 5% level probability

هدایت روزنه‌ای: اثر شوری بر میزان هدایت روزنه‌ای معنی‌دار گردید (جدول ١). زمان نمونه‌گیری بر میزان هدایت روزنه‌ای تأثیری نداشت، همچنین اثر متقابل شوری و زمان نمونه‌گیری بر هدایت روزنه‌ای موثر نبود (جدول ١). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش سطوح شوری میزان هدایت روزنه‌ای کاهش یافت، بیشترین و کمترین هدایت روزنه‌ای در تیمار شاهد به‌میزان $m\ mol\ H_2O\ m^{-2}$ s^{-1} ٦٤/٧٣ و ١٢٠ میلی‌مولار ٢٠/٢٨ $m\ mol\ H_2O\ m^{-2}\ s^{-1}$ کلرید سدیم به‌دست آمد (شکل ٥). سمیت یونی و افزایش پتانسیل اسمزی محیط اطراف ریشه باعث بسته شدن روزنه‌ها می‌شود در نتیجه هر چه سطوح شوری در نعناع افزایش می‌یابد هدایت روزنه‌ای کاهش پیدا می‌کند (١). در شرایط تنش شوری گیاه به طور موقت دچار کمبود آب می‌شود که این شرایط باعث افزایش هورمون آبسزیک اسید و بسته شدن روزنه‌ها می‌گردد (١). نتایج این آزمایش با نتایج کمالی و همکاران (٢٠١٢) در گیاه آمارانتوس زینتی (١٦) و ثابت تیموری و همکاران (٢٠٠٧) در گیاه کنجد (٢٩) مطابقت دارد.



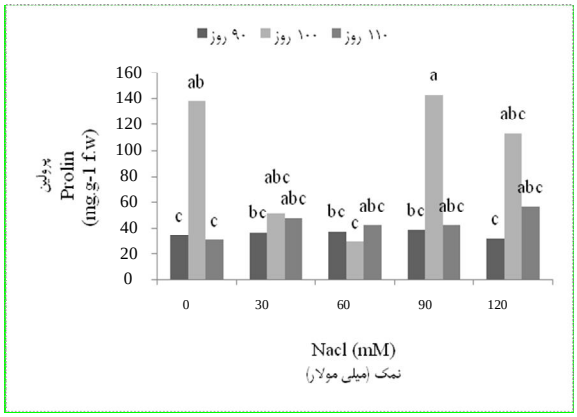
شکل ۵- اثر سطوح مختلف کلرید سدیم بر هدایت روزنه‌ای. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

Figure 5. Effect of different leveles of NaCl on stomatal conductance. Same letters indicate no significant different at 5% level probability.

پرولین: شوری بر مقدار پرولین تأثیری نداشت. در حالی‌که اثر زمان نمونه‌برداری بر میزان پرولین معنی‌دار شد (جدول ۱). همچنین اثر متقابل شوری و زمان نمونه‌برداری بر میزان پرولین معنی‌دار گردید (جدول ۱). با گذشت زمان تنش، میزان پرولین تغییر یافت به‌طوری که در دومین زمان نسبت به اولین زمان نمونه‌برداری میزان آن افزایش پیدا کرد و در سومین زمان نمونه‌گیری کاهش یافت (شکل ٦). اثر متقابل زمان نمونه‌برداری و شوری نشان داد که بیشترین مقدار پرولین در دومین زمان نمونه‌برداری و تیمار ۹۰ میلی‌مولار شوری به‌دست آمد (شکل ٦). در شرایط تنش، پرولین به‌عنوان یک ماده محافظت کننده و غیرسمی جهت تنظیم اسمزی می‌تواند افزایش یابد (٦). همچنین تجمع پرولین در شرایط تنش می‌تواند ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را افزایش دهد و باعث خنثی کردن رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل گردد (۳۳). در این تحقیق اعمال تنش شوری بر مقدار پرولین مؤثر نشد که نشان می‌دهد گیاه نعناع سبز نتوانسته میزان پرولین را در این شرایط افزایش دهد و با شوری مقابله کند. شوری باعث افزایش پرولین در برخی ارقام گلرنگ شد (۱۵).

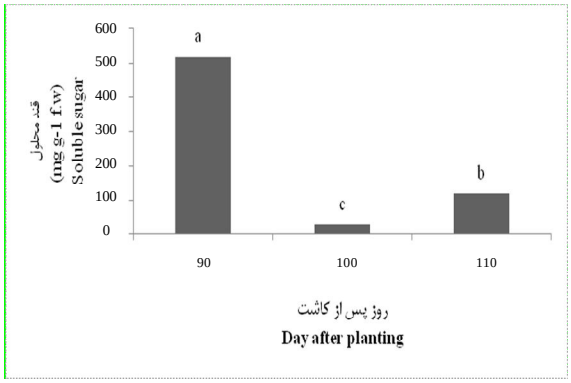
قند محلول: اثر زمان نمونه‌برداری بر میزان قند محلول معنی‌دار گردید. در حالی‌که شوری بر میزان قند محلول تأثیری نداشت (جدول ۱). همچنین اثر متقابل شوری و زمان نمونه‌برداری بر میزان قند محلول معنی‌دار نشد (جدول ۱). با گذشت زمان میزان قند محلول کاهش یافت، به‌طوری که کمترین مقدار آن

در دومین زمان نمونه‌برداری به‌دست آمد (شکل ۷). قندهای محلول نیز از ترکیبات محافظت کننده اسمزی هستند، که نقش آنها در تنظیم اسمزی و تسهیل جذب آب و حفظ غشاءهای سلولی می‌باشد (۵). نعناع سبز نتوانست مقدار قند محلول را در شوری افزایش دهد. گزارش شده است که شوری باعث افزایش قند محلول در ارقام گلرنگ گردید (۱۵).



شکل ٦- اثر متقابل زمان نمونه‌برداری و شوری بر میزان پرولین نعناع سبز. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

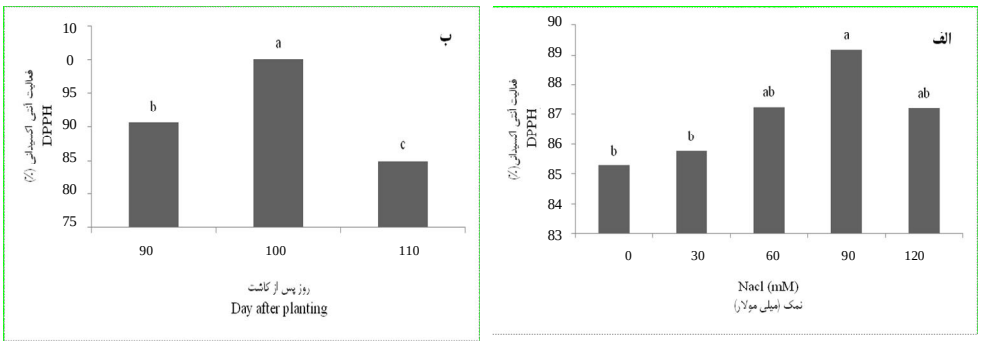
Figure 6. Interaction effect of salinity and sampling time on proline. Same letters indicate no significant different at 5% level probability.



شکل ۷- اثر زمان نمونه‌برداری بر میزان قند محلول. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

Figure 7. Effect of sampling time on soluble sugars. Same letters indicate no significant different at 5% level probability.

فعالیت آنتی‌اکسیدانتی: اثر شوری و زمان نمونه‌برداری هر کدام بر فعالیت آنتی‌اکسیدانتی نعناع سبز مؤثر بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که با افزایش سطوح شوری تا سطح ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ۸۹/۱۶ درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی نعناع سبز افزایش پیدا کرد، اما در سطح ۱۲۰ میلی‌مولار از میزان آن کاسته شد (شکل ۸- الف). با گذشت زمان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نعناع سبز تغییر پیدا کرد. به‌طوری که در دومین زمان نسبت به اولین زمان نمونه‌برداری فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت و در سومین زمان نسبت به دومین زمان نمونه‌برداری کاهش پیدا کرد (شکل ۸- ب). فعالیت آنتی‌اکسیدانی به خصوصیات ذاتی گیاه، منشاء جغرافیایی، شرایط اقلیمی گیاه و شرایطی که در آن رشد می‌کند بستگی دارد (۱۰). در این تحقیق شوری موجب افزایش فعالیت پالایندگی رادیکال $DPPH^*$ توسط عصاره برگ نعناع گردید به‌طوری که بیشترین فعالیت پالایندگی $DPPH^*$ در تیمار ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به‌دست آمد. برخی محققین افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی را مربوط ترکیبات فنلی می‌دانند؛ ولی برخی دیگر همبستگی ضعیف یا عدم همبستگی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی برگ را گزارش نمودند (۱۰).



شکل ۸- الف) اثر سطوح مختلف کلرید سدیم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانتی نعناع سبز. ب) اثر زمان نمونه‌برداری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانتی نعناع سبز. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

Figure 8. A) Effect of different leveles of NaCl on antioxidant activity of spearmint. B) Effect of sampling time on antioxidant activity of spearmint. Same letters indicate no significant different at 5% level probability.

فنل کل: شوری بر میزان فنل کل تأثیری نداشت، اما اثر زمان نمونه‌برداری بر میزان فنل کل معنی‌دار شد (جدول ۱). اثر متقابل شوری و زمان نمونه‌برداری بر فنل کل تأثیری نداشت (جدول ۱). با گذشت زمان نمونه‌برداری فنل کل کاهش پیدا کرد (شکل ۹).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر شوری و زمان نمونه‌برداری بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نعناع سبز

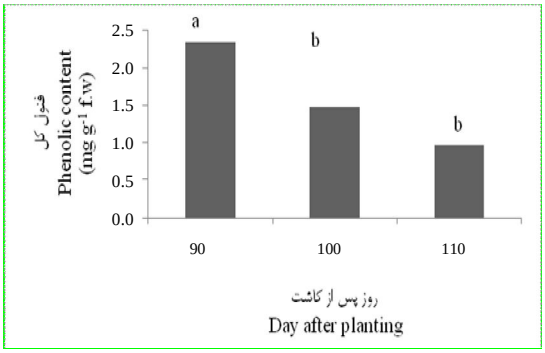
Table1. Analysis of variance of the effect of salinity and sampling time on physiological and biochemical characteristics of spearmint.

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی (df)	محتوای نسبی آب برگ (RWC)	کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl b	کلروفیل کل Total Chl	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance	شاخص سبزینگی SPAD	پرولین Proline	فنل کل Total Phenol	قند محلول Soluble sugars	فعالیت آنتی اکسیدانتی Antioxidant activity (DPPH)
شوری Salinity	4	722.35**	272.75*	107.93**	652.36*	2120.12**	3382.98**	209.59**	3285.06^{ns}	0.544^{ns}	179301.1^{ns}	27.72*
زمان نمونه‌برداری Sampling time	2	3046.87**	5220.66**	68.06*	6449.38**	1173.41**	21.55^{ns}	177.32**	20676.84**	9.77**	1143833.05**	777.93**
زمان نمونه‌برداری×شوری Salinity*Sampling time	8	90.82*	72.61^{ns}	17.44^{ns}	76.57^{ns}	100.67^{ns}	33.82^{ns}	55.11**	3945.17*	0.520^{ns}	14986.4^{ns}	18.18^{ns}
خطا Error	45	35.55	91.47	19.42	174.42	80.55	134.37	12.04	1630.67	0.794	9427	9.16
ضریب تغییرات C.V (%)		7.17	15.98	20.21	11.57	14.40	19.76	8.40	19.36	14.19	20.90	3.47

**،* و ^{ns} به‌ترتیب معنی‌داری در سطح یک درصد، پنج درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

**, * , ^{ns} significant effect at 1%, 5% and no significant, respectively

ترکیبات فنلی از اجزاء سیستم دفاعی غیرآنزیمی و آنتی‌اکسیدانی سلول‌های گیاهی می‌باشند که مهار اتواکسیداسیون لیپیدها، تجزیه رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسیدها را به عهده دارند (۲۲). ترکیبات فنلی تحت تنش شوری در گیاه نعناع سبز افزایش نیافت که نشان می‌دهد این گیاه نتوانسته است این سیستم دفاعی خود را فعال کند و با گذشت زمان از میزان ترکیبات فنلی آن کاسته شد. ترکیبات فنلی در گیاه ذرت تحت تنش شوری کاهش یافت (۲۲).



شکل ۹- اثر زمان نمونه‌برداری بر میزان فنل کل در نعناع سبز. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

Figure 9. Effect of sampling time on total phenolic content of spearmint. Same letters indicate no significant different at 5% level probability.

نتیجه‌گیری کلی

افزایش سطوح شوری محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل و هدایت روزنه‌ای را کاهش، نشت الکترولیت و فعالیت آنتی‌اکسیدانتی را افزایش و بر میزان پرولین، قند محلول و فنل کل تأثیری نداشت. با گذشت زمان نیز اکثر صفات فوق کاهش پیدا کرد که به دلیل افزایش سن گیاه و رسیدن به مرحله پیری حاصل از تنش شوری می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که نعناع سبز قادر به افزایش پرولین و قند محلول به عنوان تنظیم کننده اسمزی، فنل به‌عنوان ترکیب آنتی‌اکسیدانی و حفظ محتوای آب در این شرایط نمی‌باشد. بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که نعناع سبز گیاهی حساس به شوری است و تنش شوری را تحمل نمی‌کند.

منابع

1. Aldesuquy, H.S., and Ibrahim, A.H. 2001. Interactive effect of seawater and growth bio- regulators on water relations, absicisic acid concentration, and yield of wheat plants. Agro. Crop Sci. J. 187: 185-193.
2. Asareh, M.H., and Shariat, A. 2009. Salinity resistance in germination stage and growth stage in some *Eucalyptus* species. J. Agric. Sci. Nat. Res. 15(6): 145-157. (In Persian)
3. Barzoei, A., Kafi, M., Khazaei, H.R., Khorasani, A., and Majdabadi, A. 2011. Study of physiological characteristics and superoxide dismutase enzyme activity in two cultivar of sensitive and tolerance wheat in different growth stage and irrigation with salt water. Iran. J. Field Crops Res. 9(2): 190-201. (In Persian)
4. Bates, L.S., Waldran, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water studies. Plant Soil. J. 39: 205-208.
5. Bohnert, H.J., and Jensen, R.G. 1996. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. Trends Biotechnol. J. 14: 89-97.
6. Cayley, S., Lewis, B.A., and Record, M.T. 1992. Origins of the osmoprotective properties of betaine and proline in *Esherichia coli* K-12. Bacteriol. J. 174: 1586-1595.
7. Daneshmand, F., Arvin, M.J., and Kalantari, K.M. 2011. Response of wild species of potato to salt stress under in vitro culture J. Biol. Sci. 24(1): 65-78. (In Persian)
8. Dere, S., Gunes, T., and Sivaci, R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll - a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. Bot. J. 22: 13-17.
9. Diaz Marota, M.C., Perez-Coello, M.S., Gonzalez Vinas, M.A., and Cabezudo, M.D. 2003. Influence of drying on the flavor quality of spearmint (*Mentha spicata* L.). Agri. Food Chem. J. 51: 1265-1269.
10. Genena, A.K., Hence, H., Junior, A.S., and de Souza, S.M. 2008. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*)–a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. Ciencia e Tecnologia de Alimentos, Campinas. 28: 1-7.
11. Hanato, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., and Okuda, T. 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effect. Chem. and Pharmaceut. Bulletin J. 36(2): 2090-2097.
12. Heidari Sharif Abad, H. 2001. Plants and salinity. Research Institute of Forest and Rangelands.199p.
13. Heidari, M., and Mesri, F. 2011. Studying the effects of different salinity levels on physiological reaction and sodium and potassium uptake in wheat. J. Environ. Stress. Crop Sci. 3(1): 83-94. (In Persian)

14. Irriogyen, J.H., Emerich, D.W., and Sanchez Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant. Physiol. Planta. 84: 55-66.
15. Javadipuor, Z., Movahhedi Dehnavi, M., and Balouchi, H. 2012. Change in the rate of proline, soluble sugars, glycinebetaine and protein content in leaves of six spring safflower (*Carthamus tinctirius* L.) under salinity stress. J. Plant Proc. Func. 1(2): 13-24. (In Persian)
16. Kamali, M., Shour, M., Selahvarzi, Y., Goldani, M., and Tehranifar, A. 2012. Effects CO_2 enrichment on morphological characteristics in amaranths (*Amaranthus tricolor* L.). J. Hort. Sci. 26(2): 178-188. (In Persian)
17. Karimi, Gh., and Assareh, M.H. 2012. Effect of salinity on some physiological characteristics of *Khochia prostrata*. Iran. J. Range Desert Res. 18(4): 537-546. (In Persian)
18. Kiarostami, Kh., Abdolmaleki, N., and Heydari, M. 2012. Effect of salicylic acid on reduce salinity stress on *Brasica napus*. Iran. J. Plant Biol. 4(12): 69-82. (In Persian)
19. Marcum, K.B. 1988. Cell membrane the removability and whole-plant heat tolerance of Kentucky bluegrass. Crop Sci. J. 38: 1214-1218.
20. Meneguzzo, S., Navari-Izzo, F., and Izzo, R. 2000. NaCl effect on water relations and accumulation of mineral nutrients in shoots, roots and cell sap of wheat seedling. Plant Physiol. J.156: 711-716.
21. Mirmohammady Mibody, S., and Ghareyazie, B. 2002. Physiological aspects and breeding for salinity stress in plants. Isfahan University of Technology Press. 274p. (In Persian)
22. Momeni, N., Arvin, M.J., Khagoei Negad, Gh., and Keramat, B. 2013. Effects sodium chloride and salicylic acid on some photosynthetic parameters and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) plants. J. Biol. 15: 15-30. (In Persian)
23. Munns, R., James, R.A., and Lauchli, A. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Exp. Bot. J. 57: 1025-1043.
24. Noctor, G., and Foyer, C.H. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Ann. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol. J. 49: 249-279.
25. Norani Azad, H., and Haji Bajeri, M.R. 2008. Effects of salinity stress on some physiological characteristics of dill (*Anetum graveolens*). J. New Agri. Sci. 4(12): 93-100. (In Persian)
26. Rahim Malek, M., Khorami, M., Gharibi, Sh., Zynali Bady, H., and Talebi, M. 2012. Assessment of genetic diversity of some *Mentha spicata* L. accessions and their relationships with *M. piperata* L. and *M. longifolia* L. huds. using inter simple sequence repeat (ISSR) and morphological markers. Iran. J. Hort. Arts Sci. 13(1): 115-126. (In Persian)

27. Rezayatmand, Z., Khavari Nejad, R., and Asghari, Gh. 2013. The effect salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters of *Artemisia aucheri* Bios under salt stress. J. Plant Biol. 5(12): 57-70. (In Persian)
28. Rus. A.M., Panoff, M., Perez-Alfocea, F., and Bolarin, M.C. 1999. NaCl responses in tomato calli and whole plants. Plant Physiol. J. 155: 727-733.
29. Sabet Teimouri, M., Khazaei, H.R., Nazemi, A., and Nassiri Mahallati, M. 2009. Effect of different salinity levels on antioxidant enzymes activity in leaf and physiological characteristics of sesame (*Sesamum indicum* L.). J. Environ. Stres. Crop Sci. 7(14): 119-130. (In Persian)
30. Sarahi Nobar, M., Nicnam, V., and Moradi, B. 2010. Effect salinity stresses on content protein, pigments, soluble sugar, and phenolic compounds in tissue culture some species of *Trigonella*. J. Sci. Tehran Univ. 36(2): 53-59. (In Persian)
31. Selahvarzi, Y., Goldani, M., Nabati, J., and Alirezaei, M. 2011. The effects of ascorbic acid on some changes physio-chemical *Origanum majorana* L. under salinity stress. Iran. J. Hort. Sci. 42(2): 159-167. (In Persian)
32. Singleton, U.L., and Rossi, J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic posphotungustic acid reagent. Enol. Vitic. Am. J. 16: 144-158.
33. Smirnoff, N., and Cumbes, Q.J. 1989. Hydroxyl radical scavenging of compatible solutues. Phytochem. J. 28: 1057-1060.
34. Sultana, N., Ikeda, T., and Itho, R. 1999. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. Environ. Exp. Bot. J. 42(3): 211-220.
35. Sweetie, R., Kanatt, R.C., and Arun, S. 2007. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation–processed lamb meat. Food Chem. J. 100: 451-458.
36. Weatherley, P.E. 1950. Studies in the water relations of the cotton plant. The field measurement of water deficits in leaves. New Phytol. J. 49: 81-87.