

تأثیر سدیم نیتروپروساید بر ویژگی‌های عملکردی، فیتوشیمیایی و فیزیولوژیکی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) تحت تنش شوری

کلثوم ارشان^۱، داود صمصام‌پور^{۱*} و حسین پاسالاری^۲

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

^۲ گروه کشاورزی، گروه مهندسی تولید و اصلاح نباتات، مرکز آموزش عالی میناب، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۹/۰۸)

چکیده

شوری تنش عمده‌ای است که کشت و کار گیاهان را محدود می‌کند. سدیم نیتروپروساید (SNP) یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکسید است که به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر در کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهان نقش دارد. هدف از مطالعه حاضر کاهش اثر تنش شوری توسط سدیم نیتروپروساید بر شاخص محتوای نسبی آب برگ، سبزیگی گیاه، فلورسانس کلروفیل و برخی ترکیبات مهم مواد مؤثره گیاه نعناع فلفلی است. ریزوم‌های چهار سانتی‌متری نعناع فلفلی از مزرعه تحقیقاتی پاکان گیاه شیراز تهیه شد. آزمایش در سال ۱۴۰۰ در گلخانه دانشگاه هرمزگان به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در این پژوهش، اثر SNP با غلظت‌های صفر، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار بر پارامترهای محتوای نسبی آب برگ، سبزیگی گیاه، فلورسانس کلروفیل و ترکیبات مؤثره مهم گیاه نعناع فلفلی تحت تنش شوری (با غلظت‌های صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تهیه عصاره متانولی از روش خیساندن استفاده شد و جهت شناسایی ترکیبات موجود در عصاره از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مدل Agilent 6890 با ستون HP-5 با ستون ۲۰۱۳ مورد بررسی آماری و میانگین مقادیر با آزمون LSD در سطح معنی‌داری ۵ درصد مقایسه شد ($P < 0.05$) و خوشه‌بندی با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) انجام شد. نتایج نشان داد اثر برهمکنش سدیم نیتروپروساید و شوری بر محتوای نسبی آب برگ، سبزیگی گیاه و فلورسانس کلروفیل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در سطوح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، کاربرد سدیم نیتروپروساید ۰/۲ میلی‌مولار به‌میزان ۲۹/۷۸ و ۱۴/۷۰ درصد سبزیگی گیاه و فلورسانس کلروفیل نعناع فلفلی را افزایش داد. بسیاری از ترکیبات تشکیل‌دهنده مواد مؤثره از جمله منتول با افزایش شدت تنش شوری کاهش یافتند؛ این درحالی است که بیشترین مقدار منتول (۱۴/۲۰) در تیمار شوری ۱۰۰ میلی‌مولار با کاربرد سدیم نیتروپروساید ۰/۲ میلی‌مولار مشاهده شد. به‌طورکلی نتایج نشان داد استفاده از سدیم نیتروپروساید باعث افزایش رشد گیاه نعناع فلفلی و افزایش ترکیبات مؤثره از جمله منتول تحت تنش شوری می‌شود. به نظر می‌رسد نیتریک اکساید حاصل از محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید از راه افزایش محتوای نسبی آب برگ باعث افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و موجب کاهش خسارت رادیکال‌های آزاد و در نتیجه افزایش تحمل گیاه نعناع فلفلی و بهبود نسبی آن‌ها تحت تنش شوری شود.

کلمات کلیدی: محتوای نسبی آب برگ، فلورسانس کلروفیل، نیتریک اکساید

مقدمه

شوری، تنش عمده‌ای است که توسعه کشت‌وکار گیاهان را محدود می‌کند. تخمین زده شد که تقریباً بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی تحت تأثیر شوری قرار گرفته است که تقریباً ۲۰ درصد از کل زمین‌های آبی را شامل می‌شود و انتظار می‌رود این نسبت تا سال ۲۰۵۰ به ۵۰ درصد برسد. شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که بهره‌وری محصول را در سراسر جهان مختل می‌کند (Flowers, 2004; Munns and Tester, 2008). تنش شوری شامل تغییرات در فرآیندهای فیزیولوژیک و متابولیک مختلف بسته به شدت و مدت تنش است و در نهایت تولید محصول را مهار می‌کند (James et al., 2011; Rahnema et al., 2010).

تنش شوری باعث عدم تعادل یونی شده و غلظت سدیم، کلر، منیزیم، کلسیم و پتاسیم را در سلول‌ها افزایش می‌دهد و باعث تجمع زیاد کلر و سدیم از طریق مسیر سیمپلاستی می‌شود. شوری با کاهش درصد جوانه‌زنی و تأخیر در ظهور گیاهچه، تولید محصول را مختل می‌کند (Dias et al., 2017) و با ایجاد اختلال در تعادل آب، بر رشد گیاه تأثیر منفی می‌گذارد و باعث عدم تعادل در تغذیه گیاهان شده و فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Yeo et al., 1985). خاک‌هایی با سطوح نمک بالا باعث عدم تعادل تغذیه‌ای، تنش بیش از حد اسمزی و کاهش فتوسنتز، رشد و جذب مواد مغذی در گیاهان می‌شوند (Banerjee and Roychoudhury, 2017). متابولیت‌های ثانویه گیاهی ممکن است در پاسخ به تنش اسمزی ناشی از شوری یا سمیت یونی خاص، افزایش یا کاهش پیدا کنند (Akula and Ravishankar, 2011). گزارش شده که ترکیبات موجود در اسانس گیاهان به‌طور متفاوتی تحت تأثیر تنش شوری قرار می‌گیرند (Neffati and Marzouk, 2008). تحمل نمک گیاهی توسط یک شبکه پیچیده شامل اندام، بافت، فیزیولوژی و مولکول گیاه کنترل می‌شود و تغییرات متابولیت‌های ناشی از تنش نیز بسیار پیچیده است. بیوستز متابولیت‌های ثانویه بدون شک تحت تأثیر ژن‌های مختلف تنظیم‌کننده، آنزیم‌ها و عوامل رونویسی قرار

می‌گیرد و تنش شوری منجر به ناپایداری تجمع یا تولید متابولیت‌های ثانویه مختلف می‌شود. سطح این متابولیت‌های ثانویه با توجه به نیاز آن‌ها توسط گیاهان به‌عنوان مولکول‌های دفاعی برای زنده‌ماندن در شرایط نامساعد تغییر می‌کند (Kumar et al., 2017).

سدیم نیتروپروسیاید یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکسید است که در حالت محلول به‌شدت به نور حساس بوده و تجزیه آن توسط اکسیژن و دمای زیاد تسریع می‌شود (Floryszak-Wieczorek et al., 2006). رهاسازی نیتریک اکسید از دهنده، نیازمند تابش نور یا احیای آن توسط عوامل کاهنده، مثل آسکوربیک اسید، تیول‌ها و هموپروتئین‌ها مانند NADH و NADPH است. نیتریک اکسید در گیاهان توسط مسیر آنزیمی و غیرآنزیمی تولید می‌شود (Floryszak-Wieczorek et al., 2006). تأثیرات گوناگون این ترکیب مربوط به توانایی واکنش شیمیایی با دی‌اکسیژن، آهن و پروتئین‌های حاوی تیول است (Wendehenne et al., 2001). مشخص شده که کاربرد خارجی نیتریک اکسید در کاهش تنش نقش دارد (Sung and Hong, 2010; Hossain et al., 2010; Xiong et al., 2010)، اما اثرات آن به غلظت نیتریک اکسید بستگی دارد. اثرات مثبت نیتریک اکسید بر تحمل به شوری یا کاهش تنش به فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و تعدیل سیستم سم‌زدایی ROS نسبت داده شده است (Mishra et al., 2011). کشور ایران از لحاظ آب‌وهوا و موقعیت جغرافیایی برای کشت کار گیاهان دارویی یکی از بهترین مناطق جهان محسوب می‌گردد، اما سطح وسیعی در ایران حدود ۱۴/۷ درصد از مساحت کل کشور را اراضی شور تشکیل داده‌اند و نزدیک به ۵۰ درصد از زمین‌های مورد استفاده در بخش کشاورزی با درجات مختلف با مشکل شوری یا قلیایی بودن روبرو هستند (Askary et al., 2017; Li et al., 2015). نعنای فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. از خانواده Lamiaceae از جمله گیاهان دارویی و معطری است که اسانس آن مصارف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی فراوانی دارد (Wildung and Croteau, 2005) و مصرف سالانه اسانس آن در جهان به

محلول‌پاشی و ۷۵ روز پس از کاشت، گیاهان تحت تیمار شوری قرار گرفتند.

سه هفته پس از اعمال آخرین تیمار شوری صفات فیزیولوژیک مانند محتوای نسبی آب برگ (Ritchie *et al.*, 1990)، سبزیگی و فلورسانس کلروفیل (Rivero *et al.*, 2009) و نیز عصاره‌گیری برای تعیین کیفیت و کمیت مواد مؤثره گیاه انجام شد.

برای تهیه عصاره متانولی از روش خیساندن استفاده شد. برگ گیاه در سایه و دمای اتاق خشک شد، سپس توسط آسیاب به صورت پودر درآمده و از الک (سایز مش ۶۰) عبور داده شد. ۲۰۰ گرم پودر در یک لیتر اتانول به مدت ۲۴ ساعت در شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ عبور داده شد. برای تغلیظ عصاره از دستگاه روتاری با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. تغلیظ نهایی در آن ۴۵ درجه سانتی‌گراد انجام و نمونه تا زمان آزمایش در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جهت شناسایی ترکیبات موجود در عصاره از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مدل Agilent 6890 با ستون HP-5 با ستون ۵-HP استفاده شد. قطر داخلی ستون ۰/۵ میکرومتر، طول ۳۰ متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. گاز حامل به کار رفته هلیوم با سرعت ۳۵ ثانیه بر سانتی‌متر و انرژی یونیزاسیون برابر ۷۰ الکترون ولت بود و برنامه حرارتی 60°C – 240°C با سرعت $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ و دمای محفظه تزریق 220°C بود. با استفاده از زمان بازداری ترکیبات شاخص (Tr) طیف جرمی و مقایسه این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد و با اطلاعات موجود در کتابخانه نسبت به شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره اقدام شد. درصد کمی این ترکیب‌ها نیز با محاسبه سطوح زیرمنحنی در کروماتوگرام‌ها محاسبه شد.

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۳ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و میانگین مقادیر با آزمون

حدود ۷۰۰۰ تن می‌رسد. از جمله مهم‌ترین ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس نعناع فلفلی می‌توان به منتول، منتون، منتوفوران، پولگن اکالیپتول و ایزومنتون اشاره نمود که ترکیب این اجزا تعیین‌کننده کیفیت اسانس است. سایر ترکیب‌هایی که در این گیاه یافت می‌شوند، شامل فلاونوئیدها، پلی‌فنل‌های پلیمریزه‌شده، کاروتن، توکوفرول، بتائین و کولین هستند (Mahmoud and Croteau, 2003). هدف از مطالعه حاضر کاهش اثر تنش شوری توسط سدیم نیتروپروپوساید بر شاخص محتوای نسبی آب برگ، سبزیگی گیاه، فلورسانس کلروفیل و برخی ترکیبات مهم مواد مؤثره گیاه نعناع فلفلی است.

مواد و روش‌ها

ریزوم‌های چهار سانتی‌متری نعناع فلفلی از مزرعه تحقیقاتی پاکان گیاه شیراز تهیه شد. این آزمایش به صورت گلدانی در گلخانه دانشگاه هرمزگان در سال ۱۴۰۰ انجام شد. برای این منظور آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج سطح شوری (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و سه سطح سدیم نیتروپروپوساید با غلظت‌های (صفر، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار) در سه تکرار اجرا شد. جهت تهیه بستر کشت نشاء، ابتدا گلدان‌ها توسط خاک زراعی، ماسه و کود دامی پوسیده به نسبت ۱:۳:۶ پر شد و ریزوم‌ها به تعداد چهار عدد در هر گلدان به قطر ۲۰ و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متری تا زمان مناسب رشد گیاه که دو ماه طول کشید، کاشته شده و یک روز در میان با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب آبیاری شدند. مقدار آب مورد نیاز برای آبیاری با آب شور براساس مقدار اختلاف وزن خاک گلدان از وزن مرجع در ۷۰ درصد رطوبت قابل استفاده خاک انجام شد (Sepaskhah and Bazrafshan-Jahromi, 2006). پس از رشد گیاه که دو ماه طول کشید، گیاه با ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول سدیم نیتروپروپوساید محلول‌پاشی شدند. گیاهان شاهد با استفاده از آب مقطر محلول‌پاشی شدند. عمل محلول‌پاشی سه بار در اوایل صبح به میزان ۱۰ میلی‌لیتر به هر گلدان و به صورت سه روز یکبار انجام شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر شوری و سدیم نیتروپروساید بر خصوصیات فیزیولوژیک نعنای فلفلی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		سبزینگی	فلورسانس کلروفیل
سدیم نیتروپروساید	۲	۱۱۰/۰۶**	۰/۰۲۶۸**
شوری	۴	۴۴/۷۴**	۰/۰۰۴۷**
سدیم نیتروپروساید × شوری	۸	۷۸/۵۱**	۰/۰۰۱۴**
خطای آزمایش	۳۰	۱/۴۵	۰/۰۰۰۱۶
ضریب تغییرات (%)	-	۳/۶۱	۱/۶۵

LSD در سطح معنی داری ۵ درصد مقایسه شد ($P < 0.05$) و خوشه‌بندی با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) انجام شد.

نتایج و بحث

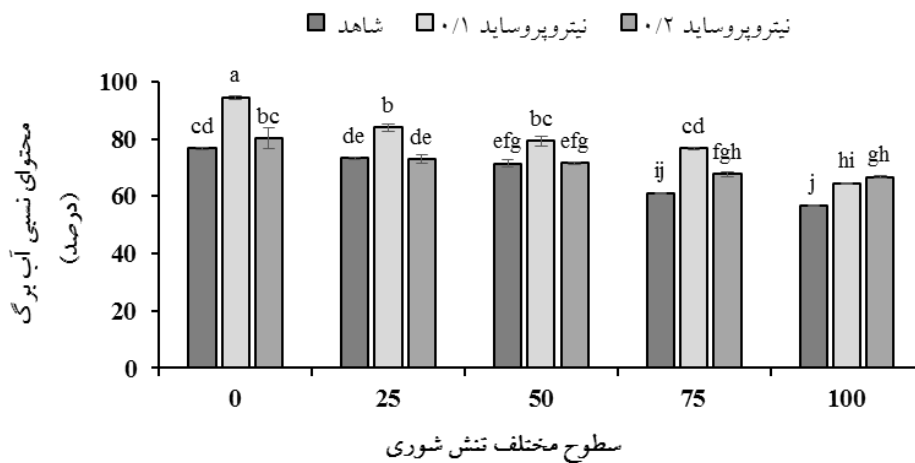
محتوای نسبی آب برگ: بررسی نیتروپروساید، شوری و اثر متقابل شوری و نیتروپروساید بر محتوای نسبی آب برگ گیاه نعنای فلفلی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین محتوای نسبی آب برگ در کاربرد سدیم نیتروپروساید ۰/۱ میلی‌مولار در سطح شوری صفر به میزان (۹۴/۴۸ درصد) و کمترین میزان در حضور سدیم نیتروپروساید صفر میلی‌مولار در سطح شوری ۱۰۰ (۵۶/۶۶ درصد) مشاهده شد. همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در حضور سدیم نیتروپروساید ۰/۲ میلی‌مولار حتی با وجود افزایش تنش، محتوای آب نسبی برگ کاهش پیدا نکرد. (شکل ۱). در این پژوهش میزان نشت یونی در حضور تنش شوری با کاربرد سدیم نیتروپروساید نیز اندازه‌گیری شده بود (نتایج نشان داده نشده است). سدیم نیتروپروساید یک ترکیب آزادکننده نیتریک اکسید در گیاهان است. نشت یونی میزان نیتریک اکسید را افزایش داده، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع تنظیم‌کننده‌های اسمزی مانند پرولین را افزایش داد و در نتیجه محتوای نسبی آب برگ را حفظ و افزایش می‌دهد. در این پژوهش سدیم نیتروپروساید محتوای نسبی آب برگ را افزایش داد که منجر به بهبود رشد

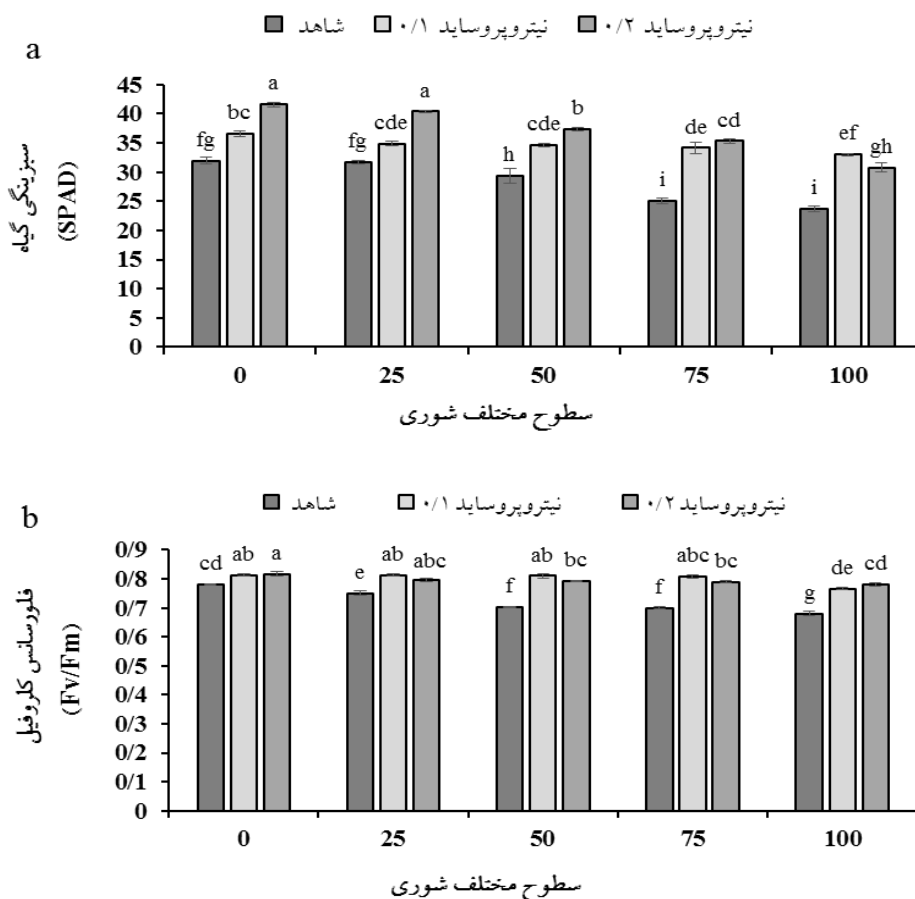
گیاه شد. این نتایج با مطالعات قبلی (Boon et al., 2013; Camilios-Neto et al., 2014) تطابق دارد.

سبزینگی گیاه و فلورسانس کلروفیل: یافته‌های حاصل از

نتایج تجزیه واریانس جدول ۱ نشان داد که اثر عامل شوری، سدیم نیتروپروساید و اثر متقابل آن‌ها بر سبزینگی گیاه و فلورسانس کلروفیل نعنای فلفلی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین سبزینگی در گیاه نعنای فلفلی در حضور نیتروپروساید ۰/۲ میلی‌مولار در سطح شوری صفر و شوری ۲۵ میلی‌مولار به ترتیب به میزان (۴۱/۶۰ و ۴۰/۳۶) و کمترین میزان (۲۵/۰۳ و ۲۳/۷۰) مربوط به عدم حضور سدیم نیتروپروساید در سطوح شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در سطوح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کاربرد سدیم نیتروپروساید ۰/۲ میلی‌مولار به میزان ۲۹/۷۸ درصد سبزینگی گیاه نعنای فلفلی را افزایش داد (شکل ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین فلورسانس کلروفیل در کاربرد سدیم نیتروپروساید ۰/۲ میلی‌مولار در سطح شوری صفر به میزان (۰/۰۸۱) و کمترین میزان در عدم حضور سدیم نیتروپروساید (شاهد) و شوری ۱۰۰ میلی‌مولار به میزان (۰/۶۸) مشاهده شد. همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در شرایط حضور سدیم نیتروپروساید ۰/۲ میلی‌مولار در سطوح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار فلورسانس کلروفیل به میزان ۱۴/۷۰ درصد افزایش یافت (شکل ۲). کاربرد سدیم نیتروپروساید تحت شرایط تنش شوری در مطالعه Asafova و Boyatshinov (۲۰۱۱)، توانست مقدار



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر برهمکنش سدیم نیتروپروساید (صفر، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار) و تنش شوری (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار) بر محتوای نسبی آب برگ گیاه نعنای فلفلی در شرایط گلخانه. (میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر برهمکنش سدیم نیتروپروساید (صفر، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار) و تنش شوری (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار) بر سبزیگی گیاه و فلورسانس کلروفیل گیاه نعنای فلفلی در شرایط گلخانه. (میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند).

جدول ۲- اثر سدیم نیتروپروساید بر ترکیبات مواد مؤثره گیاه نعناع لفظلی تحت سطوح مختلف تنش شوری (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار)

نام ترکیب	تنش شوری (میلی مولار)														
	سدیم نیتروپروساید ۰/۲					سدیم نیتروپروساید ۰/۱					شاهد				
	۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵	۰	۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵	۰	۱۰۰	۷۵	۵۰	۲۵	۰
A	-	۱۶/۸۷	-	-	-	۹/۷۱	۷/۷۳	۱۱/۳۶	۶/۶۸	۳/۵۱	-	-	-	۹/۱۴	۴/۰۰
B	۸/۰۱	۴/۸۶	-	-	۷/۹۵	-	-	۵/۷۳	۵/۴۸	۱/۴۸	۱/۵۴	۱/۷۴	۴/۵۰	-	۱/۳۵
C	-	-	-	۰/۸۴	۲/۲۴	-	۲/۱۲	۰/۷۶	۲/۴۸	۰/۸۷	۱/۰۰	۱/۰۳	۱/۱۷	۲/۱۷	۱/۵۶
D	-	۱۵/۶۸	۴/۰۰	۲/۵۳	۱۵/۰۳	۱۴/۶۵	۱۱/۳۷	۱۸/۳۱	۶/۰۴	۴/۵۳	۳/۷۸	۴/۸۷	۱۵/۲۳	۱۶/۶۹	۱۰/۳۲
E	۲/۳۷	۲/۱۱	۳/۷۳	۴/۸۲	۱۰/۲۲	۷/۷۳	۷/۳۴	۹/۳۱	۱۶/۸۸	۳۷/۸۹	۱/۳۲	۱/۵۶	۱۶/۶۰	۱/۳۷	۱/۳۶
F	-	۳/۰۱	-	-	۴/۱۳	-	۳/۹۰	-	۲/۱۶	-	-	-	۱/۰۲	-	۱/۴۸
G	۱۴/۲۰	-	۷/۶۲	-	۱/۸۶	-	-	-	-	-	-	۴/۲۷	۷/۱۰	-	۶/۳۶
H	۳/۹۰	-	-	-	-	-	-	-	۳/۸۶	-	-	-	-	۲/۲۸	۷/۷
I	۵/۵۰	-	۴/۸۷	-	-	-	-	۶/۴۲	۱۴/۳۳	-	-	۱۳/۲۴	-	۱۲/۸۲	۱۱/۰۳
J	۱۴/۲۰	-	۷/۶۲	-	۱/۸۶	-	-	-	-	-	-	۴/۲۷	۷/۱۰	-	۶/۳۶

A: Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)- (CAS)

B: MINT FURANONE 2

C: 2-Hexadecene, 3,7,11,15-tetramethyl

D: 9, 12, 15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)

E: NEOPHYTADIENE

F: Hexadecanoic acid (CAS)

G: L-(-)-Menthol

H: CAMPHOLYTIC ACID METHYL ESTER

I: Phytol

J: L-(-)-Menthol

و ایزومنتون ب با افزایش شدت تنش شوری کاهش یافتند؛ درحالی که میزان منتول با افزایش تنش افزایش یافت و بیشترین مقدار منتول (۱۴/۲۰) در تیمار شوری ۱۰۰ میلی مولار و با کاربرد سدیم نیتروپروساید ۰/۲ میلی مولار مشاهده شد (جدول ۲). در حقیقت، اثر شوری بر مواد مؤثره و اجزای سازنده آن، ممکن است به علت تأثیر بر فعالیت‌های آنزیمی و متابولیسم گیاه باشد. کاربرد سدیم نیتروپروساید تأثیر مثبتی روی گیاه داشته و اثرات مخرب شوری را تا حدی کاهش داده است. ترکیب سدیم نیتروپروساید در شرایط تنش و هم به عنوان عامل پیام‌رسان و هم به عنوان تنظیم‌کننده رشد، سبب فعال شدن سیستم دفاعی گیاه و تحریک تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله روغن‌های مواد مؤثره می‌شود (Goyal and Ramawat, 2008). همچنین کاربرد سدیم نیتروپروساید، محتوای متابولیت‌های ثانویه مانند منتول را تحت تأثیر قرار داده

کلروفیل برگ گندم را افزایش دهد. همچنین Lei و همکاران (۲۰۰۷) با کاربرد غلظت ۰/۲ میلی مولار سدیم نیتروپروساید، جلوگیری از تخریب کلروفیل و تأخیر در پیری برگ‌های گندم را گزارش کردند. در بین رنگیزه‌های فتوسنتز، کاروتنوئیدها نقش حفاظتی مهمی در مقابل تنش اکسیداتیو القاشده دارند؛ کاهش این رنگیزه‌ها در تنش شوری و نیز عملکرد صحیح روزنه‌ها با افزایش سدیم در محیط رشد گیاه می‌تواند در نهایت منجر به کاهش فتوسنتز و رشد گیاهچه‌ها شود (Netondo et al., 2004). با این حال، ترکیب سدیم نیتروپروساید استفاده شده در این آزمایش احتمالاً می‌تواند از راه کاهش خسارت به رنگیزه‌ها در مقابل تنش اکسیداتیو از گیاهچه‌ها محافظت نموده (Nasibi et al., 2010) و در حفظ رنگیزه‌ها نقش مؤثری داشته باشد.

ترکیبات مواد مؤثره: بسیاری از ترکیبات تشکیل‌دهنده مواد مؤثره از جمله منتول، منتون، منتوفوران، پولگن، اکالیپتول

شاخص سبزی‌نگی و فلورسانس کلروفیل شود و همچنین مهمترین مواد مؤثره گیاه نعناع فلفلی در این تحقیق با افزایش میزان سدیم نیتروپروساید (۰/۲ میلی‌مولار) در تنش شوری (۱۰۰ میلی‌مولار) افزایش یافت. در کل به نظر می‌رسد نیتریک اکساید حاصل از محلول‌پاشی سدیم نیتروپروساید از راه افزایش محتوای نسبی آب برگ باعث افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و موجب کاهش خسارت رادیکال‌های آزاد و در نتیجه افزایش تحمل گیاه نعناع فلفلی و بهبود نسبی آن‌ها تحت تنش شوری شود.

است که می‌تواند به‌عنوان ماده محرک ترکیب‌های دارویی گیاه نعناع فلفلی در صنایع بکار رود.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های بدست آمده از این آزمایش می‌توان چنین استنباط کرد که شوری ایجادشده توسط نمک کلرید سدیم موجب ایجاد خسارت‌هایی به گیاه نعناع فلفلی می‌شود که احتمالاً مربوط به تجمع رادیکال‌های اکسیژن و تنش اکسیداتیو است. از بین تیمارهای اعمال‌شده، تیمار ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌مولار سدیم نیتروپروساید حتی در شرایط تنش ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم توانستند موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ،

منابع

- Akula, R., & Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling and behavior*, 6(11), 1720-1731. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>.
- Askary, M., Talebi, S. M., Amini, F., & Bangan, A. D. B. (2017). Effects of iron nanoparticles on *Mentha piperita* L. under salinity stress. *Biologija*, 63(1). <https://doi.org/10.6001/biologija.v63i1.3476>.
- Banerjee, A., & Roychoudhury, A. (2017). Effect of salinity stress on growth and physiology of medicinal plants. *Medicinal Plants and Environmental Challenges*, 177-188. https://doi.org/10.1007/978-3-319-68717-9_10.
- Boon, E., Zimmerman, E., St-Arnaud, M., & Hijri, M. (2013). Allelic differences within and among sister spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus etunicatum* suggest segregation at sporulation. *PLoS One*, 8(12), e83301. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083301>.
- Boyarshinov, A. V., & Asafova, E. V. (2011). Stress responses of wheat leaves to dehydration: Participation of endogenous NO and effect of sodium nitroprusside. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58, 1034-1039. <https://doi.org/10.1134/S1021443711060033>.
- Camilios-Neto, D., Bonato, P., Wassem, R., Tadra-Sfeir, M. Z., Brusamarello-Santos, L. C., Valdameri, G., Donatti, L., Faoro, H., Weiss, V. A., Chubatsu, L. S., & Souza, E. M. (2014). Dual RNA-seq transcriptional analysis of wheat roots colonized by *Azospirillum brasilense* reveals up-regulation of nutrient acquisition and cell cycle genes. *BMC Genomics*, 15(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-378>.
- Dias, M. P., Bastos, M. S., Xavier, V. B., Cassel, E., Astarita, L. V., & Santarem, E. R. (2017). Plant growth and resistance promoted by *Streptomyces* spp. in tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 479-493. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.07.017>.
- Floryszak-Wieczorek, J., Milczarek, G., Arasimowicz, M., & Ciszewski, A. (2006). Do nitric oxide donors mimic endogenous NO-related response in plants?. *Planta*, 224, 1363-1372. <https://doi.org/10.1007/s00425-006-0321-1>.
- Flowers, T. J. (2004). Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 55(396), 307-319. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh003>.
- Goyal, S., & Ramawat, K. G. (2008). Ethrel treatment enhanced isoflavonoids accumulation in cell suspension cultures of *Pueraria tuberosa*, a woody legume. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 849-853. <https://doi.org/10.1007/s11738-008-0190-2>.
- Hossain, K. K., Itoh, R. D., Yoshimura, G., Tokuda, G., Oku, H., Cohen, M. F., & Yamasaki, H. (2010). Effects of nitric oxide scavengers on thermoinhibition of seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Russian Journal of Plant Physiology*, 57, 222-232. <https://doi.org/10.1134/S1021443710020093>.
- James, R. A., Blake, C., Byrt, C. S., & Munns, R. (2011). Major genes for Na⁺ exclusion, Nax1 and Nax2 (wheat HKT1; 4 and HKT1; 5), decrease Na⁺ accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions. *Journal of Experimental Botany*, 62(8), 2939-2947. <https://doi.org/10.1093/jxb/err003>.
- Kumar, J., Singh, S., Singh, M., Srivastava, P. K., Mishra, R. K., Singh, V. P., & Prasad, S. M. (2017). Transcriptional regulation of salinity stress in plants: A short review. *Plant Gene*, 11, 160-169. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2017.04.001>.

- Li, Z., Yang, H., Wu, X., Guo, K., & Li, J. (2015). Some aspects of salinity responses in peppermint (*Mentha× piperita* L.) to NaCl treatment. *Protoplasma*, 252, 885-899. <https://doi.org/10.1007/s00709-014-0728-7>.
- Mahmoud, S. S., & Croteau, R. B. (2003). Menthofuran regulates essential oil biosynthesis in peppermint by controlling a downstream monoterpene reductase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(24), 14481-14486. <https://doi.org/10.1073/pnas.2436325100>.
- Mishra, S., Jha, A. B., & Dubey, R. S. (2011). Arsenite treatment induces oxidative stress, upregulates antioxidant system, and causes phytochelatin synthesis in rice seedlings. *Protoplasma*, 248, 565-577. <https://doi.org/10.1007/s00709-010-0210-0>.
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review Plant Biolology*, 59, 651-681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>.
- Nasibi, F., Manocheri Kalantari, K., & Khodashenas, M. (2010). Effect of sodium nitroprusside (SNP) on some biochemical characteristics of tomato seedlings (*Lycopersicum esculentum*) under drought stress. *Journal Agricultural Science Nature Research*, 16, 2-16. <https://doi.org/10.22058/JPMB.2022.561653.1262>.
- Neffati, M., & Marzouk, B. (2008). Changes in essential oil and fatty acid composition in coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves under saline conditions. *Industrial crops and products*, 28(2), 137-142. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.02.005>.
- Netondo, G. W., Onyango, J. C., & Beck, E. (2004). Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. *Crop Science*, 44(3), 806-811. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.8060>.
- Rahnama, A., James, R. A., Poustini, K., & Munns, R. (2010). Stomatal conductance as a screen for osmotic stress tolerance in durum wheat growing in saline soil. *Functional Plant Biology*, 37(3), 255-263. <https://doi.org/10.1071/FP09148>.
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T., & Holaday, A. S. (1990). Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30(1), 105-111. <https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x>.
- Rivero, R. M., Shulaev, V., & Blumwald, E. (2009). Cytokinin-dependent photorespiration and the protection of photosynthesis during water deficit. *Plant Physiology*, 150(3), 1530-1540. <https://doi.org/10.1104/pp.109.139378>.
- Sepaskhah, A. R., & Bazrafshan-Jahromi, A. R. (2006). Controlling runoff and erosion in sloping land with polyacrylamide under a rainfall simulator. *Biosystems Engineering*, 93(4), 469-474. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2006.01.003>.
- Sung, C. H., & Hong, J. K. (2010). Sodium nitroprusside mediates seedling development and attenuation of oxidative stresses in Chinese cabbage. *Plant Biotechnology Reports*, 4, 243-251. <https://doi.org/10.1007/s11816-010-0138-z>.
- Wendehenne, D., Pugin, A., Klessig, D. F., & Durner, J. (2001). Nitric oxide: Comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. *Trends in Plant Science*, 6(4), 177-183. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(01\)01893-3](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(01)01893-3).
- Wildung, M. R., & Croteau, R. B. (2005). Genetic engineering of peppermint for improved essential oil composition and yield. *Transgenic Research*, 14, 365-372. <https://doi.org/10.1007/s11248-005-5475-2>.
- Xiong, J., Fu, G., Tao, L., & Zhu, C. (2010). Roles of nitric oxide in alleviating heavy metal toxicity in plants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 497(1-2), 13-20. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.02.014>.
- Yeo, A. R., Caporn, S. J. M., & Flowers, T. J. (1985). The effect of salinity upon photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.): Gas exchange by individual leaves in relation to their salt content. *Journal of Experimental Botany*, 36(8), 1240-1248. <https://doi.org/10.1093/jxb/36.8.1240>.

The effect of sodium nitroprusside (SNP) on functional, phytochemical and physiological characteristics of peppermint (*Mentha piperita L.*) under salinity stress

Kolsoum Arshan ¹, Davood Samsampour ¹, Hossein Pasalari ²

¹ Horticulture Sciences Department, Faculty of Agriculture and Natural Resource, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

² Agriculture Department, Production engineering and plant breeding group, Minab Higher Education Center, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

(Received: 14/05/2022, Accepted: 29/11/2022)

Abstract

To investigate the effect of sodium nitroprusside (SNP) as an effective antioxidant and its optimal effect in reducing oxidative stress in peppermint under salinity stress, an experiment was conducted in 2021 in the Hormozgan University greenhouse in a completely randomized design with three replications. In this study, the effect of two levels of SNP as a source of nitric oxide (NO) release with concentrations of 0-, 0.1, and 0.2 mM sodium nitroprusside on the parameters of relative leaf water content, plant greenness, chlorophyll fluorescence, and active ingredients of peppermint under stress salinity was evaluated at concentrations (0, 25, 50, 75 and 100 mM) of sodium chloride solution (NaCl). The results showed that the effect of the interaction of sodium nitroprusside and salinity on the relative water content of leaves, plant greenness, and chlorophyll fluorescence was significant at a level of 1% probability. The highest relative leaf water content was observed in the application of 0.1 mM sodium nitroprusside in control (94.48%) and the lowest in the presence of 0.2 mM sodium nitroprusside in control (56.66%). The results of the mean comparison showed that at 100 mM salinity levels, the application of 0.2 mM sodium nitroprusside increased plant greenness and chlorophyll fluorescence of peppermint by 29.78% and 14.70%, respectively. Many of the active ingredients, including menthol, decreased with increasing salinity stress, while the highest amount of menthol (14.20) was observed in the 100 mM salinity treatment of 0.2 mM sodium nitroprusside. In general, the results show that the use of sodium nitroprusside increases the growth and secondary metabolites of peppermint under salinity stress.

Keywords: Relative leaf water content, Chlorophyll fluorescence, Nitric oxide

Corresponding author, Email: Samsampoor@hormozgan.ac.ir