

## اثر متیل جاسمونات بر برخی پاسخ های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) تحت تنش شوری

الهه وطن خواه<sup>۱\*</sup>، بهناز کلانتری<sup>۱</sup> و بابک عندلیبی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

<sup>۲</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۵/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۹/۲۴)

### چکیده:

تنش شوری یکی از مهمترین فاکتورهای محیطی محدود کننده رشد گیاهان و محصولات آنهاست. بنابراین تحقیقات گسترده ای برای به حداقل رساندن اثرات مضر تنش شوری بر گیاهان صورت گرفته است. به منظور بررسی اثر متیل جاسمونات بر کاهش صدمات ناشی از تنش شوری در گیاه دارویی نعناع فلفلی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سه غلظت مختلف از متیل جاسمونات (صفر، ۶۰ و ۱۲۰ میکرو مولار) به صورت محلول پاشی برگ و چهار سطح شوری (۱/۸۶، ۵، ۷۵ و ۱۰ dS/m) بودند. نتایج نشان داد افزایش شوری موجب کاهش شاخص های رشد، میزان پروتئین و کلروفیل، غلظت پتاسیم، نسبت پتاسیم به سدیم و افزایش میزان پرولین، قندهای محلول، سدیم اندام هوایی و سدیم ریشه گردید. پیش تیمار ۶۰ میکرومولار متیل جاسمونات، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، سطح برگ، محتوای نسبی آب برگ، محتوای کلروفیل a و کلروفیل کل برگ را افزایش داد. در شرایط تنش شوری، تیمار متیل جاسمونات موجب افزایش میزان پرولین، قندهای محلول و پروتئین برگ شد. همچنین میزان پتاسیم، نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی و ریشه در گیاهان تیمار شده با متیل جاسمونات افزایش یافت اما میزان سدیم کاهش یافت. بر اساس نتایج به دست آمده به نظر می رسد پیش تیمار متیل جاسمونات اثرات مضر تنش شوری در گیاه نعناع فلفلی را کاهش داده است.

واژه های کلیدی: اسمولیت، شاخص های رشد، تنش شوری، متیل جاسمونات، نعناع فلفلی.

### مقدمه:

محصول گیاه می گردد (Kumer Parida, 2005). یکی دیگر از اثرات مضر شوری، افزایش سرعت پیری برگ می باشد. پیری برگ در نتیجه کاهش محتوای کلروفیل به علت تنش شوری است (Kummar et al., 2003). در طی تنش شوری گیاهان سعی در تنظیم اسمزی خود با استفاده از ترکیبات آلی همانند پرولین و کربوهیدرات دارند. این ترکیبات تا حدی شرایط لازم برای ادامه رشد و فتوسنتز را برای گیاهان فراهم می کنند. مطالعات بیوشیمیایی نشان داده که در گیاهان تحت تنش

تنش شوری بعد از خشکی مهمترین عامل کاهش تولیدات محصولات زراعی، باغی و دارویی در سراسر جهان به شمار می رود (Munns, 2005). شوری با کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک، میزان آب قابل دسترس برای گیاهان را کاهش داده و در نتیجه گیاهان را با تنش خشکی مواجه می سازد (Sreenivasulu, 2007). تنش شوری همچنین با افزایش غلظت یون های سمی درون پیکر گیاه منجر به کاهش رشد و

از یک هزار تن اسانس در سال، از گیاهان تیره نعناع تهیه می‌شود و این خود درجه اهمیت و توسعه کشت آنها را در نقاط مختلف کره زمین نشان می‌دهد (زرگری، ۱۳۷۶). گزارش‌هایی مبنی بر اثر تنش‌های شوری و خشکی بر شاخص‌های رشد، بازده اسانس و اجزای اسانس گیاه نعناع فلفلی وجود دارد به طوری که این تنش‌ها، صفات اندازه‌گیری شده را کاهش داد (Khorasaninejad *et al.*, 2010; Aziz *et al.*, 2010; Khorasaninejad *et al.*, 2011; Roodbari *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2015). همچنین Li و همکاران (۲۰۱۵)، اثر تنش شوری بر مرگ سلولی، تولید گونه‌های اکسیژن واکنشگر (Reactive Oxygen Species: ROS)، وضعیت اندامک‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را در گیاه نعناع فلفلی مورد بررسی قرار دادند. ولی تاکنون گزارشی مبنی بر اثر پیش‌تیمار متیل جاسمونات بر تحمل شوری در این گیاه مشاهده نشده است. بنابراین در این پژوهش سعی شده است اثر تنش شوری و متیل جاسمونات بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی نعناع فلفلی مورد بررسی قرار گیرد. همچنین در این مطالعه، فرضیه اثر بهبود دهندگی متیل جاسمونات در شرایط شوری روی گیاهان بررسی می‌شود.

#### مواد و روش‌ها:

**کشت و اعمال تیمارها:** به منظور بررسی اثر متیل جاسمونات و تنش شوری بر گیاه دارویی نعناع فلفلی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار طراحی شد. ابتدا ریزوم‌های نعناع فلفلی تهیه شده (شرکت گیاهان دارویی گیاهان طلایی تبریز) و پس از انتخاب ریزوم‌های هم‌اندازه و تقریباً هم‌وزن، ریزوم‌ها در خاک گلدان‌هایی به قطر ۲۰ و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر کاشته شدند. خاک درون هر گلدان مخلوطی از خاک زراعی، ماسه و کود دامی پوسیده به نسبت ۶:۳:۱ بود. گلدان‌ها پس از کشت، در اتاق رشد تحت شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و یک روز در میان آبیاری شدند. ۲۵ روز پس از کشت ریزوم‌ها در گلدان، گیاهانی که کاملاً رشد کرده بودند برای تیمار با شوری و متیل جاسمونات

شوری و خشکی، تعدادی از ترکیبات آلی (محلول‌های سازگار) تجمع می‌یابند. این ترکیبات تداخلی در فرآیندهای شیمیایی آن‌ها وارد نمی‌کنند. از این ترکیبات می‌توان به انواعی از کربوهیدرات‌های محلول (مانیتول، ساکارز، رافینوز و الیگوساکارید) و ترکیبات نیتروژنه (اسیدآمینو پرولین و گلوسین-بتائین) اشاره کرد. ترکیبات سازگار کننده نقش مهمی در بهبود تنظیم اسمزی در گیاهان تحت تنش دارند (Good and Zaplachinski, 1994). سدیم و کلر دو یون کلیدی هستند که در تنش شوری نقش اساسی دارند. اثرات ویژه تنش شوری بر متابولیسم گیاهان بخصوص بر برگ‌های حساس، با تجمع یون‌های سمی  $Na^+$  و  $Cl^-$  یا با کاهش یون‌های  $K^+$  و  $Ca^{2+}$  در ارتباط است (Demiral and Türkan, 2005).

گیاهان پس از درک شرایط تنش، پیام‌هایی را به مسیرهای مختلف متابولیسم سلول می‌فرستند تا سازوکارهای دفاعی فعال شوند. مولکول‌های زیادی از جمله اسید جاسمونیک، اتیلن و اسید سالسیلیک به عنوان انتقال دهنده پیام در شرایط تنش معرفی شده‌اند (Senaratna *et al.*, 2000). اسید جاسمونیک و متیل استرها آن‌ها که در حالت کلی به جاسمونات‌ها معروف هستند گروهی از هورمون‌ها هستند که با دخالت در بیان ژن‌های مختلف، گیاهان را در مقابل تنش‌های مختلف محیطی محافظت می‌کنند (Gao, 2004). این مواد فرآورده نهایی اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع همانند اسید لینولنیک می‌باشند که به صورت مولکول‌های علامتی، سیستم‌های دفاعی گیاهان را در مقابل عوامل تنش‌زای محیطی فعال می‌کنند (Vick, 1984). گزارش‌های زیادی مبنی بر تأثیر جاسمونات‌ها از جمله متیل جاسمونات بر تحمل گیاهان نسبت به تنش شوری وجود دارد (Fedina and Tsonew, 1997; Fedina and Benderliw, 2000; Yoon *et al.*, 2009; Del Amor, 2011).

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. متعلق به خانواده Lamiaceae، گیاهی علفی و چندساله و از جمله گیاهان دارویی و معطری است که اسانس آن مصارف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی فراوانی دارد (Wildung and Croteau, 2005). امروزه در کشورهای مختلف جهان، متجاوز

مدت ۵-۴ ساعت غوطه‌ور گردیدند. دیسک‌ها پس از این مدت از پتری خارج شده و با استفاده از کاغذ صافی خشک و دوباره وزن گردیدند تا وزن حالت تورژسانس کامل (TW) به دست‌آید. برای محاسبه وزن خشک (DW) دیسک‌ها درون فویل آلومینیوم پیچیده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد انکوباتور قرار داده شدند و سپس وزن گردیدند. محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد (Weatherley, 1950).

$$RWC(\%) = [(FW-DW)/(TW-DW)] \times 100$$

**سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی:** اندازه‌گیری کلروفیل a، b،

کل و کاروتنوئیدها با استفاده از روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۳) انجام شد. بدین منظور ۰/۲۵ گرم بافت تازه در ۲۰ میلی لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شد و محلول حاصل با کاغذ صافی، صاف گردید و حجم نهایی به ۲۰ میلی لیتر رسانده شد و جذب محلول‌ها به طور جداگانه در طول موج های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها توسط اسپکتروفوتومتر قرائت شد. در نهایت با استفاده از روابط زیر، میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها برحسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد.

$$Chl. a = (19/3 A663 - 0/86 A645) V/100W$$

$$Chl. b = (19/3 A645 - 3/6 A663) V/100W$$

$$Chl. T = Chl. a + Chl. b$$

$$Car = 100 A470 - 3/27 Chl. a - 104 Chl. b / 227$$

در این روابط W: وزن تر نمونه برحسب گرم، A: جذب

نور در طول موج های موردنظر و V: حجم محلول صاف شده می‌باشد.

**سنجش قندهای محلول:** سنجش قندهای محلول با استفاده

از معرف آنترون و براساس روش Roe (۱۹۵۵) انجام شد. ابتدا، ۰/۰۵ گرم بافت تر در ۲/۵ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد در بن ماری با دمای ۹۵°C به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفت و کربوهیدرات‌های محلول استخراج شدند. عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی، صاف گردید و سپس الکل آن تبخیر شد. رسوب حاصل در ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر حل گردید. برای سنجش قندهای محلول، ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه در

آماده گردیدند. محلول متیل جاسمونات با غلظت‌های ۶۰ و ۱۲۰ میکرومولار تهیه گردید و برگهای گیاهان، با این محلول ها اسپری شدند. گیاهان شاهد با استفاده از آب مقطر حاوی چند قطره اتانول اسپری شدند. محلول پاشی گیاهان با ۳ بار تکرار و به صورت یک روز در میان صورت گرفت و ۲۴ ساعت پس از آخرین محلول پاشی، گیاهان تحت تیمار شوری قرار گرفتند. سطوح شوری به کار برده شده در ۴ سطح ۱/۸۶ (بدون اضافه کردن نمک به خاک)، ۵، ۷/۵ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر (dS/m) بود که با اضافه کردن نمک طعام به خاک گلدان‌ها این مقادیر به دست آمد. برای این منظور، پس از تعیین درصد اشباع و هدایت الکتریکی خاک در آزمایشگاه و وزن خاک درون گلدان با استفاده از ترازو، کمبود نمک برای دست‌یابی به تیمارهای موردنظر با استفاده از برنامه Saltcalc (سلطانی و مداح، ۱۳۸۹) محاسبه و سپس میزان نمک مورد نیاز به خاک افزوده و با دستگاه هدایت سنج مقدار هدایت الکتریکی خاک نمونه‌های خاک گلدان‌ها کنترل گردید. ۲۰ روز پس از اعمال تنش شوری، بوته‌ها برداشت شده و نسبت به ارزیابی صفات زیر اقدام گردید:

**شاخص‌های رشد:** برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک

نمونه‌ها، ابتدا اندام هوایی هر گیاه از ریشه جدا شده و وزن تر آنها اندازه‌گیری شد. وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه پس از انتقال نمونه‌ها به دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری سطح برگ، از هر گلدان یک بوته انتخاب شد. تمام برگ‌های بوته انتخابی جدا گردید و بر روی کاغذ شطرنجی قرار داده شد و از آنها کپی کاغذی تهیه گردید و سپس مساحت برگ‌ها با شمارش مربعات کوچک بر حسب سانتی‌متر مربع محاسبه گردید.

**اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ:** برای اندازه‌گیری این

پارامتر، هر گلدان به عنوان یک تکرار و هر گیاه به عنوان یک نمونه در نظر گرفته شد. از هر گیاه دو برگ تهیه و از هر برگ ۳ دیسک با قطر ۱ سانتی‌متر تهیه شد و با ترازو وزن گردید (FW). سپس دیسک‌ها در ظروف پتری حاوی آب مقطر به

استفاده گردید و مقدار پروتئین بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

**اندازه گیری غلظت یون‌ها:** آماده سازی نمونه‌ها به روش Kalra و Maynard (۱۹۹۸) انجام شد. برای این منظور ۰/۱ گرم از پودر بافت گیاهی خشک را در ۱۰ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ به مدت ۲۴ ساعت قرار داده تا نمونه گیاهی به خوبی در اسید حل شود. بعد از این مدت محصول حاصل را گرم کرده تا بخارات اسیدی از محلول خارج شوند. سپس حجم محلول را با استفاده از آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده و از کاغذ صافی عبور داده شدند. از محلول بدست آمده جهت اندازه گیری عناصر با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی پلاسما-جفت‌شده‌القای (ICP) استفاده شد و غلظت یون‌ها بر حسب میلی گرم 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  $p \leq 0.05$  با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام شد همچنین رسم نمودارها با نرم افزار Excel 2007 انجام گرفت.

### نتایج و بحث:

نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثرپیش تیمار متیل جاسمونات و تنش شوری را بر پارامترهای رشد نشان داد اثر شوری تنها بر وزن تر اندام هوایی در سطح ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۱). با افزایش شوری وزن تر اندام هوایی کاهش معنی‌داری نشان داد. به طوریکه بیشترین وزن تر اندام هوایی مربوط به گیاهان شاهد (سطح  $1/86$  dS/m) و کمترین مربوط به گیاهان سطح  $10$  dS/m شوری بود (شکل ۱A).

همچنین مطابق جدول ۱، اثر متیل جاسمونات بر کلیه پارامترهای رشد مورد بررسی در سطوح ۱ و ۵ درصد معنی دار بود. به طوریکه بیشترین میزان صفات مذکور مربوط به گیاهانی بود که با غلظت ۶۰ میکرومولار متیل جاسمونات محلول پاشی شده بودند اما گیاهانی که با غلظت ۱۲۰ میکرومولار محلول پاشی شده بودند تفاوت معنی‌داری با

یک لوله آزمایش ریخته شد و ۵ میلی لیتر معرف آنترون به آن اضافه گردید. پس از مخلوط شدن به مدت ۱۷ دقیقه در بن ماری با دمای  $95^{\circ}\text{C}$  قرار گرفت و پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در ۶۲۵ نانومتر خوانده شد. مقادیر نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز بر اساس میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

**سنجش مقدار پرولین:** اندازه گیری مقدار پرولین طبق روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام گرفت. در ابتدا، ۰/۰۴ گرم از بافت خشک، در ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد سائیده شد و سپس با کاغذ صافی واتمن صاف کرده و مخلوط یکنواختی تهیه شد. سپس، ۲ میلی لیتر از مایع رویی حاصل از صاف کردن عصاره با ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال مخلوط گردید و یک ساعت در دمای  $100$  درجه سانتی گراد حمام آب گرم قرار گرفت. بعد از این مدت جهت قطع انجام کلیه واکنش‌ها، لوله‌های محتوی مخلوط در حمام آب سرد قرار داده شدند. سپس ۴ میلی لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شد و لوله‌ها به خوبی مخلوط شدند. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه، دو لایه مجزا در آنها تشکیل شد. از فاز صورتی که حاوی تولوئن و پرولین بود برای اندازه گیری غلظت پرولین استفاده گردید. جذب این ماده در طول موج  $520$  نانومتر تعیین و مقدار پرولین هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد پرولین، مقدار این ماده بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه و ارائه شد.

**سنجش پروتئین:** برای عصاره گیری پروتئین برگ‌ها از بافر استخراج محتوی ۵۰ میلی مولار Tris-HCl (pH 8) شامل ۱ میلی مولار PMSF و ۵ میلی مولار DTT به نسبت ۱:۲ استفاده شد (Escribano et al., 1999). سپس در  $4^{\circ}\text{C}$  با  $12000$  rpm سانتریفوژ و محلول رویی جدا گردید و از آن برای سنجش پروتئین استفاده شد. سنجش پروتئین با استفاده از معرف برادفورد انجام شد (Bradford, 1976). میزان جذب عصاره در طول موج  $595\text{nm}$  توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از آلبومن سرم انسانی

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرپیش تیمار متیل جاسمونات و تنش شوری بر برخی شاخص های رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نعنای فلفلی

منابع تغییرات	df	FW <sub>S</sub>	FW <sub>R</sub>	DW <sub>S</sub>	DW <sub>R</sub>	LA	RWC	chla	chlb	chlT	car
MJ	۲	**	*	**	*	**	**	**	ns	*	ns
S	۳	*	ns	ns	ns	ns	ns	**	**	**	ns
MJ×S	۶	Ns	ns	ns	ns	**	ns	**	**	*	ns
اشتباه آزمایشی	۲۲	۰/۵۱	۰/۳۹	۰/۳۰	۰/۰۰۰۶	۶۸/۱۵۸	۶۸/۷۴	۰/۳۴۴	۰/۲۱۲	۰/۷۳۷	۸۳/۲۴
ضریب تغییرات (%)		۲۴/۱۳	۲۳/۷	۲۷/۸۳	۲۷/۸۳	۱۶/۵۵	۱۸/۶	۱۲/۸۳	۲۱	۱۳/۳۸	۱۵/۴۸

ادامه جدول ۱-

منابع تغییرات	df	SS	P	Pro	Na <sub>S</sub>	Na <sub>R</sub>	K <sub>S</sub>	K <sub>R</sub>	K/Na <sub>R</sub>	K/Na <sub>S</sub>
MJ	۲	**	**	*	**	**	**	**	**	**
S	۳	**	**	**	**	**	**	**	**	**
MJ×S	۶	**	**	**	**	**	**	**	**	**
اشتباه آزمایشی	۲۲	۰/۳۱۳	۰/۲۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۶	۰/۰۰۲	۰/۰۰۶	۰/۰۰۱	۰/۰۱۹
ضریب تغییرات (%)		۹/۲۴	۱۲/۱	۸/۲	۷/۹۹	۳/۵۸	۵/۵۷	۱/۹۰	۱/۸۵	۴/۴۳

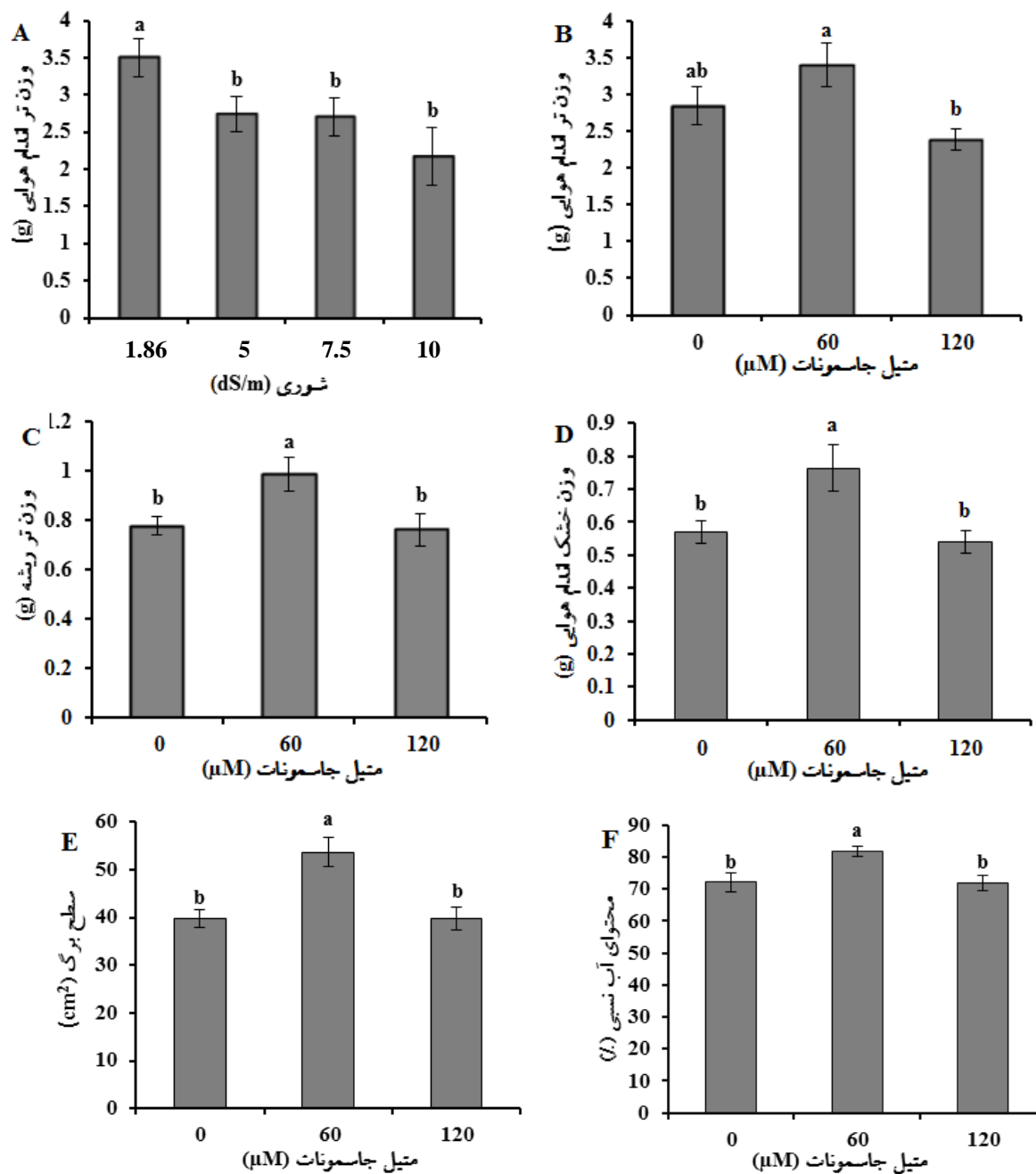
ns و \*\*: به ترتیب نشان دهنده عدم معنی دار بودن، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، FW<sub>S</sub>: وزن تر اندام هوایی، FW<sub>R</sub>: وزن تر ریشه، DW<sub>S</sub>: وزن خشک اندام هوایی، DW<sub>R</sub>: وزن خشک ریشه، LA: سطح برگ، RWC: محتوای نسبی آب برگ، chla: کلروفیل a برگ، chlb: کلروفیل b برگ، chlT: کلروفیل کل برگ، car: کاروتنوئید برگ، P: پرولین برگ، Pro: پروتئین برگ، Na<sub>S</sub>: سدیم اندام هوایی، Na<sub>R</sub>: سدیم کلروفیل برگ، K<sub>S</sub>: پتاسیم اندام هوایی، K<sub>R</sub>: پتاسیم ریشه، K/Na<sub>S</sub>: نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی، K/Na<sub>R</sub>: نسبت پتاسیم به سدیم ریشه، S: شوری، MJ: متیل جاسمونات.

شاهد نداشتند (شکل های ۱B-F).

اثر متقابل شوری و محلول پاشی متیل جاسمونات تنها بر وزن خشک ریشه در سطح ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۱). به طوریکه بیشترین وزن خشک ریشه مربوط به گیاهانی بود که در شوری ۵dS/m قرار داشتند و غلظت ۱۲۰ و ۶۰ میکرومولار متیل جاسمونات بر روی آنها افشانه شده بود (شکل ۲).

در این مطالعه با افزایش شوری از سطح شاهد تا غلظت ۱۰dS/m وزن خشک ریشه کاهش یافت. کاهش وزن تر، وزن خشک و ارتفاع گیاه نعنای فلفلی طی تنش شوری گزارش شده است (Aziz et al., 2008). کاهش رشدی گیاهان تحت شرایط تنش شوری می تواند به دلیل کاهش ذخایر انرژی گیاه باشد که این امر از طریق کاهش و اختلال فعالیت های زیستی و

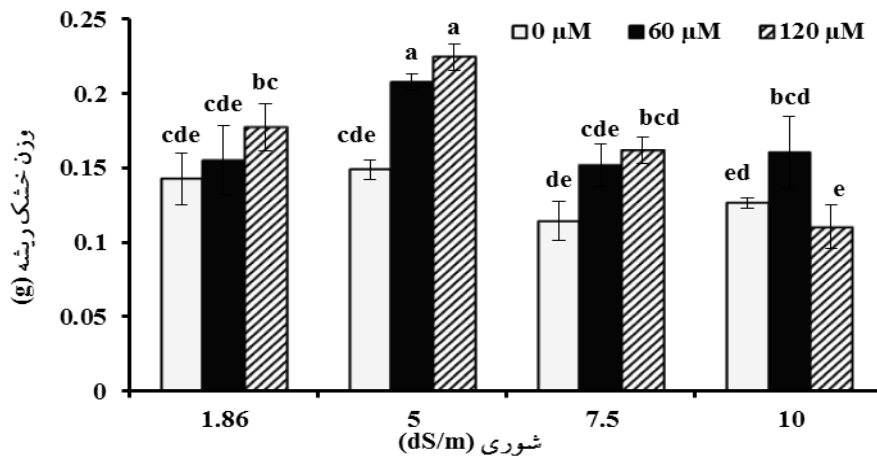
متابولیسمی در گیاهان مختلف نظیر جو، لوبیا و پنبه گزارش شده است (Kerepesi & Galiba, 2000; Penuelas et al., 1997; 1999). در مقابل محلول پاشی ۶۰ میکرومولار متیل جاسمونات موجب افزایش وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، سطح برگ و محتوای نسبی آب برگ نسبت به گیاه شاهد گردید. متیل جاسمونات با توجه به غلظت استفاده شده، گونه گیاهی و مرحله رشد تأثیرهای متفاوتی بر رشد و نمو گیاهان دارد. این ماده به طور معمول در غلظت های بسیار پایین اثر مثبت دارد و در غلظت های بالا تنش زا می باشد (Reymond, 2000; Lorenzo, 2003). افزایش سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی در گیاه بابونه تیمار شده با غلظت ۷۵ میکرومولار متیل جاسمونات و همچنین افزایش وزن خشک



شکل ۱- اثر سطوح مختلف شوری بر وزن تر اندام هوایی (A) و اثر غلظت های متفاوت متیل جاسمونات بر وزن تر اندام هوایی (B)، وزن تر ریشه (C)، وزن خشک اندام هوایی (D)، سطح برگ (E) و محتوای نسبی آب برگ (F) گیاه نعنای فلفلی. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن می باشد.

شوری شد. Sairam و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که مقایسه محتوای نسبی آب در ارقام گوجه فرنگی از بهترین شاخص ها برای تمایز ارقام حساس و غیرحساس بوده و این پارامتر همبستگی خوبی با سایر پارامترهای فیزیولوژیکی نظیر آنتی اکسیدان ها و شاخص های رشدی داشته است. به نظر می

هوایی در گیاه سویا تیمار شده با غلظت های ۱ و ۱۰ میکرومولار متیل جاسمونات گزارش گردیده است (سلیمی و شکاری، ۱۳۹۰؛ کرامت و دانشمند، ۱۳۹۱). همچنین El-Sayed و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند محلول پاشی برگ گیاه زیتون با اسید جاسمونیک منجر به افزایش سطح برگ در طی تنش



شکل ۲- اثر متقابل متیل جاسمونات و شوری بر مقدار وزن خشک ریشه. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد با استفاده از آزمون دانکن می باشد.

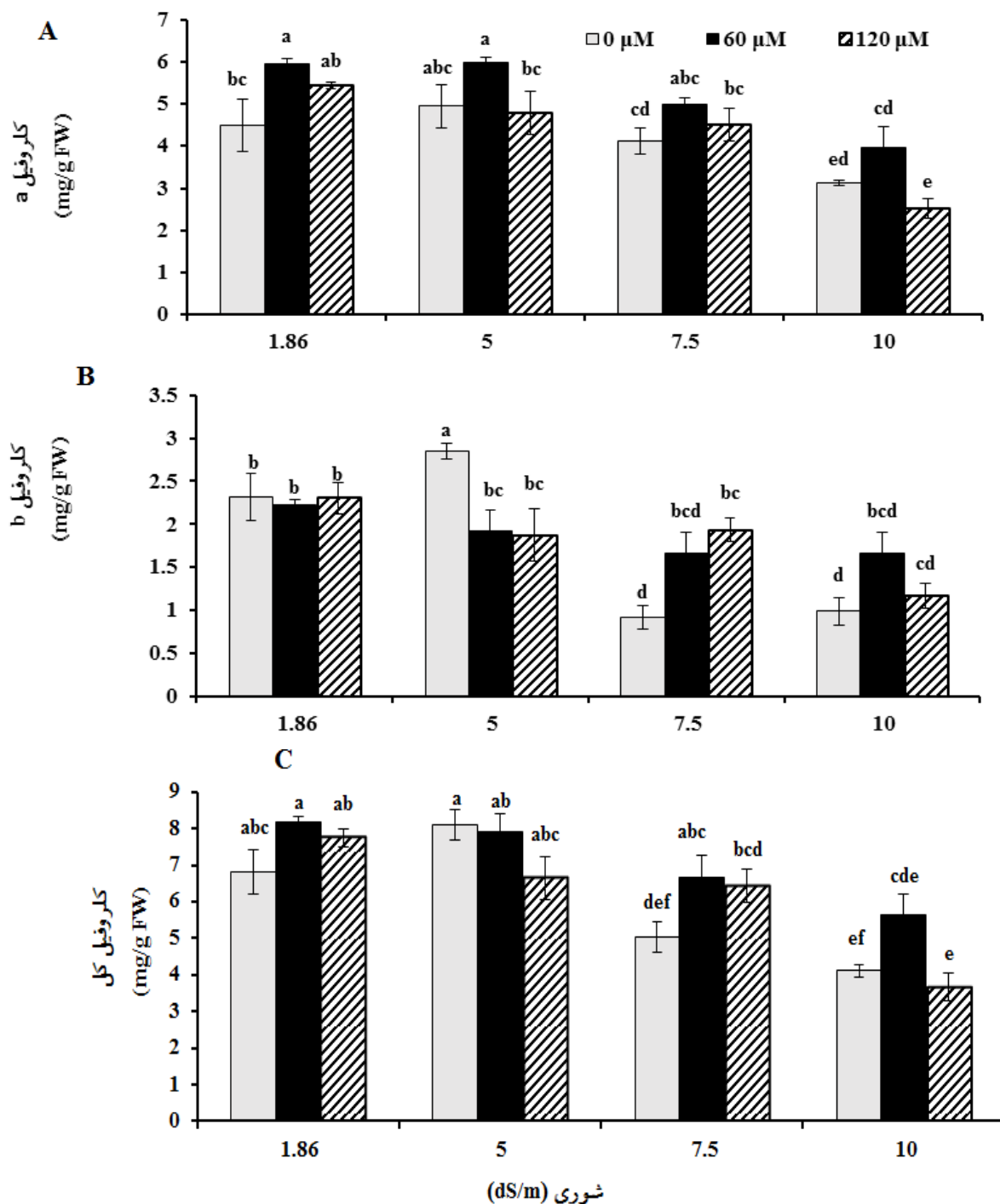
(شکل ۳B). نتایج بیانگر این است که افشانه ۶۰ میکرومولار متیل جاسمونات تأثیر مثبت و معنی داری بر روی مقدار کلروفیل a و کل داشته است. در ارتباط با کاروتنوئیدها تفاوت معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد.

از علائم تنش های محیطی در گیاهان، کاهش میزان رنگیزه های فتوسنتزی می باشد که این کاهش به ژنوتیپ گیاه بستگی دارد (Juan, 2005). در این پژوهش نیز مثل بسیاری از تحقیقات دیگر کاهش کلروفیل با افزایش شوری تناسب داشت، یعنی با افزایش شوری میزان کلروفیل کمتر شد. Parida و Das (۲۰۰۵) بیان کردند که محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدهای گیاهان، تحت شرایط شوری کاهش پیدا می کند. در واقع تنش شوری منجر به افزایش رادیکال های آزاد اکسیژن در کلروپلاست ها شده و در نتیجه غشا کلروپلاستی صدمه دیده و قابلیت حیاتی خود را از دست می دهد (Zhang, 2003). از سوی دیگر کاهش در محتوای کلروفیل ممکن است در اثر افزایش فعالیت آنزیم کلروپلاز و یا اثر مستقیم سمیت یونی ناشی از غلظت بالای سدیم نیز باشد (Zhang, 2007). در این مطالعه محلول پاشی متیل جاسمونات بر روی گیاه موجب افزایش مقدار کلروفیل در گیاه نعنای فلفلی گردید. در مورد نقش متیل جاسمونات بر مقدار رنگیزه های فتوسنتزی نتایج متفاوتی ذکر شده است. اگرچه گزارشات متعددی مبنی

رسد که غلظت ۶۰ میکرومولار متیل جاسمونات با تسریع رشد ریشه در جذب آب کارا عمل کرده و موجب افزایش شاخص های رشدی گیاه نظیر سطح برگ و وزن تر و خشک اندام هوایی گردیده است.

همچنین تجزیه واریانس میزان کلروفیل نشان داد که شوری، محلول پاشی متیل جاسمونات و اثر متقابل شوری و متیل جاسمونات اثر معنی داری ( $P \leq 0.05$ ) بر میزان کلروفیل ها داشت (جدول ۱). به طوریکه شوری در سطح ۵ dS/m موجب افزایش تنها کلروفیل های b و کل نسبت به شاهد گردید ولی در سطوح بالاتر شوری، مقدار کلروفیل های a, b و کل نسبت به شاهد کاهش یافت و در سطح ۱۰ dS/m کمترین میزان کلروفیل مشاهده شد (شکل های A-C).

افشانه متیل جاسمونات در دو غلظت ۶۰ و ۱۲۰ میکرومولار بر روی گیاه موجب افزایش کلروفیل کل نسبت به شاهد گردید در صورتی که تنها افشانه ۶۰ میکرومولار متیل جاسمونات، کلروفیل a را افزایش داد. بیشترین مقدار کلروفیل a و کل در گیاهان تیمار شده با غلظت ۶۰ میکرومولار متیل جاسمونات بود که به ترتیب در شوری ۵ و ۱/۸۶ دسی زیمنس بر متر قرار داشتند (شکل های A, C). بیشترین میزان کلروفیل b نیز مربوط به گیاهانی بود که در سطح شوری ۵ dS/m قرار داشتند و متیل جاسمونات بر روی آن ها افشانه نشده بود



شکل ۳- اثر متقابل متیل جاسمونات و شوری بر مقدار کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B) و کلروفیل کل (C). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد برای کلروفیل کل با استفاده از آزمون دانکن می باشد.

(Ueda and Saniewski, 2006). این محققان اظهار نموده‌اند که متیل جاسمونات در بیان یکسری از ژن‌های آنزیم‌های کلیدی در بیوسنتز کلروفیل از طریق تشکیل آمینو لوولینیک

بر نقش متیل جاسمونات در تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی ارائه شده است اما در لاله در حضور نور و با استفاده از متیل جاسمونات تشکیل کلروفیل a و b تحریک شده است



مستقیم با ماکرومولکولها اثر متقابل داشته و از این طریق به حفظ شکل پروتئینها و ساختار طبیعی غشاهای زیستی تحت شرایط تنش کمک می کند ( Kuznetsov and Shevyakova, 1999). افزایش میزان پرولین و قندهای محلول در اثر شوری توسط محققین زیادی گزارش شده است ( Ashraf and Tufail, 1995; Zidan, 1995; Sheteawi, 2007; Singh et al., 2000; Khosravinejad et al., 2009). طبق نتایج Fedina و Benderliev (۲۰۰۰)، کاربرد متیل جاسمونات در هنگام تنش های مختلف از جمله شوری، کم آبی و جراحت با القای آنزیم سنتز کننده پرولین، باعث افزایش تولید پرولین گردید که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. همچنین El-Sayed و همکاران (۲۰۱۴)، اثر مثبت اسید جاسمونیک بر میزان پرولین برگ زیتون طی تنش شوری را گزارش کردند.

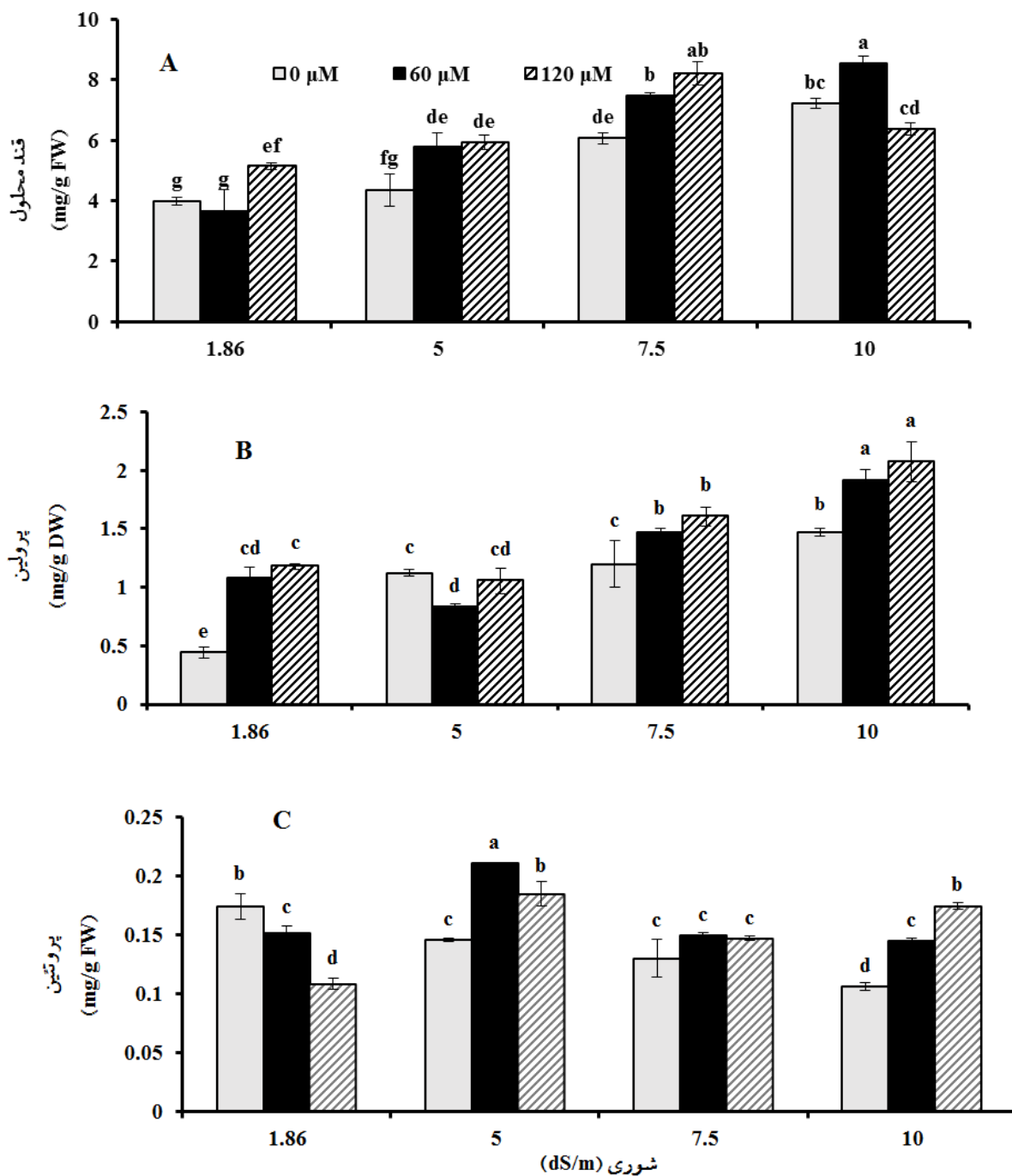
مطابق جدول ۱، اثر شوری، متیل جاسمونات و اثر متقابل آنها بر میزان پروتئین برگ معنی دار بود. با افزایش سطوح شوری، محتوای پروتئین برگ کاهش معنی داری یافت. افشانه متیل جاسمونات محتوای پروتئین را نسبت به شاهد (عدم کاربرد متیل جاسمونات) با افزایش سطوح شوری، افزایش داد به طوری که بیشترین مقدار پروتئین برگ در تیمارهای سطح شوری ۵ dS/m و غلظت ۶۰ میکرومولار متیل جاسمونات مشاهده شد و کمترین نیز مربوط به سطح شوری ۱۰ dS/m بود که متیل جاسمونات بر روی آنها افشانه نشده بود (شکل ۴C).

در این پژوهش با افزایش شوری، میزان پروتئینها در برگ گیاه کاهش یافت. در تحقیقات بسیاری از محققین نیز گزارش شده که پروتئینهای محلول برگ در پاسخ به تنش شوری کاهش یافتند ( Muthukumarasamy et al., 2000; Parida et al., 2002). کاهش در محتوای پروتئین می تواند به دلیل کاهش سنتز پروتئین، تسریع پروتئولیز، کاهش در اسیدهای آمینه فراهم و یا واسرشته شدن آنزیمهای درگیر در سنتز پروتئین باشد (Peltzer et al., 2002). همچنین گزارش شده که متیل جاسمونات باعث سنتز برخی از پروتئینهای خاص می شود. کاربرد متیل جاسمونات در گیاهچه های بادام زمینی، باعث افزایش محتوای پروتئین و افزایش فعالیت

اسید دخالت دارد. در تحقیقی دیگر گزارش شده است که جاسمونات در غلظت ۰/۱ میکرومولار باعث ترمیم رنگیزه های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a و کاروتنوئیدها در نوعی عدسک آبی گردید (Piotrowska et al., 2009). همچنین Yastreb و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند شوری منجر به کاهش میزان کلروفیل در گیاه آرابیدوپسیس شد اما پیش تیمار متیل جاسمونات باعث میزان طبیعی رنگیزه های فتوسنتزی بعد از تنش شوری در این گیاه شد.

نتایج تجزیه واریانس میزان پرولین و قندهای محلول نشانگر اثر معنی دار شوری، محلول پاشی متیل جاسمونات و برهم کنش شوری و محلول پاشی متیل جاسمونات بر مقدار پرولین و قندهای محلول برگ در سطح احتمال ۵ درصد بود (جدول ۱). با افزایش شوری میزان قند محلول و پرولین در برگ افزایش معنی داری یافت. همچنین محلول پاشی متیل جاسمونات نیز موجب افزایش مقدار قند محلول و پرولین در برگ گردید به طوری که بیشترین میزان قندهای محلول در گیاهان تیمار شده با غلظت ۶۰ میکرو مولار متیل جاسمونات و شوری ۱۰ dS/m و کمترین مقدار قندهای محلول در در گیاهان شاهد مشاهده گردید (شکل ۴A). همچنین بیشترین میزان پرولین در برگ گیاهانی مشاهده شد که در شوری ۱۰ dS/m قرارداشتند و غلظت ۱۲۰ و ۶۰ میکرو مولار متیل جاسمونات بر روی آنها افشانه شده بود (شکل ۴B).

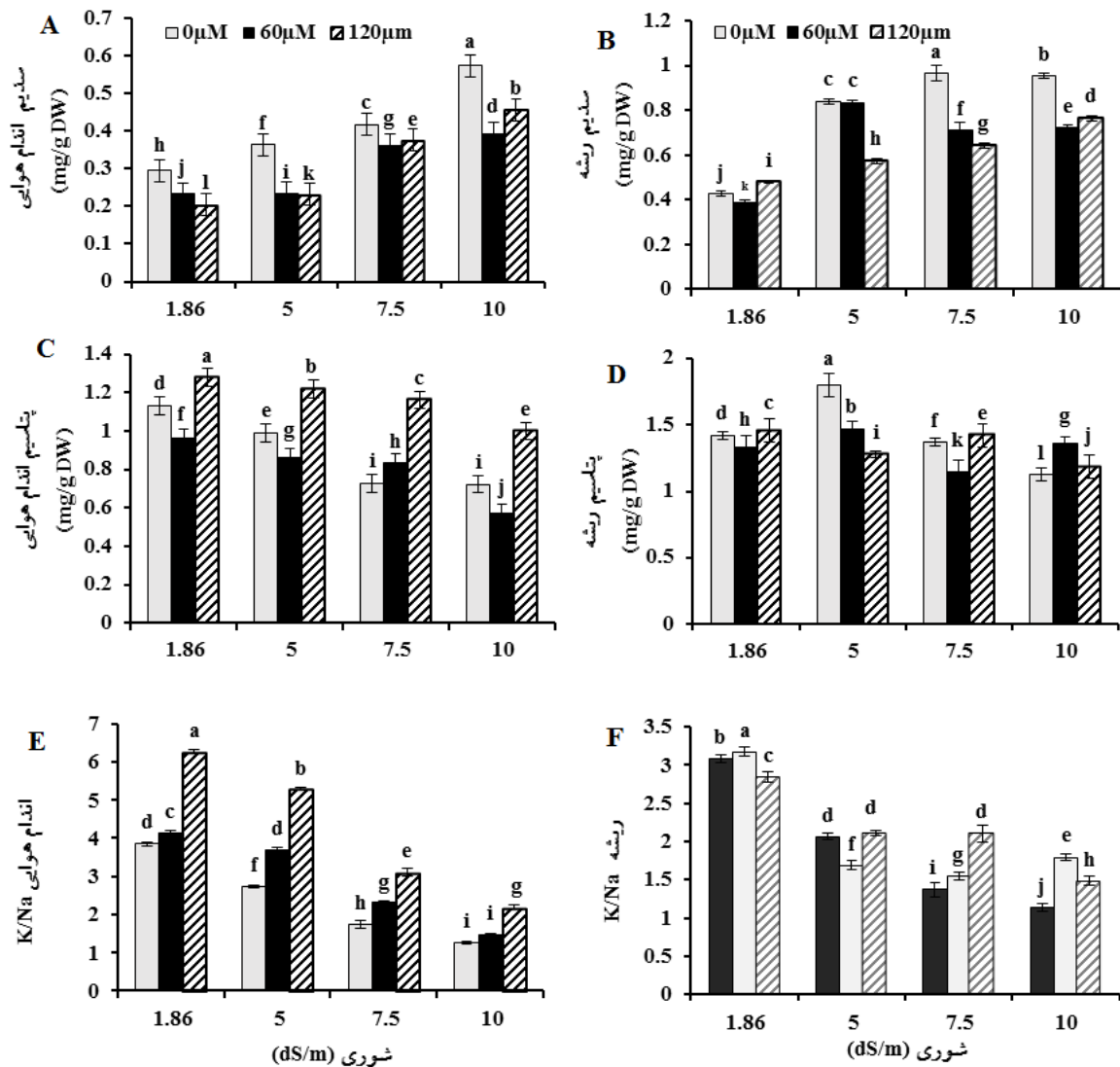
اسمولیتها ترکیباتی هستند که توسط همه موجودات ساخته می شوند و در شرایط تنش شوری این ترکیبات باعث منفی تر شدن پتانسیل آبی درون سلولها شده و به گیاه اجازه حفظ تورگر را می دهند (Ashraf and Foolad, 2007). قندها به عنوان اسمولیت های آلی بیش از ۵۰ درصد پتانسیل اسمزی کل را در گلیکوفیتها در شرایط تنش شوری ایجاد می کنند (Cram, 1976). تجمع قندهای محلول به عنوان شاخصی برای مقاومت به شوری در برنامه های اصلاح نباتات در بعضی از گونه های گیاهی مورد استفاده قرار می گیرد ( Ashraf and Harris, 2004). پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی، به عنوان محافظ در برابر تنش نیز عمل می کند، بدین ترتیب که به طور



شکل ۴- اثر متقابل متیل جاسمونات و شوری بر محتوای قندهای محلول (A)، پرولین (B) و پروتئین (C) برگ گیاه نعنای فلفلی. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون دانکن می باشد.

تجزیه واریانس میزان عناصر معدنی نشان داد میزان سدیم، پتاسیم، نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی و ریشه به طور معنی داری ( $P \leq 0.01$ ) تحت تأثیر محلول پاشی با متیل جاسمونات، تنش شوری و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۱).  
با افزایش شوری، میزان پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در

آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز گردیده است (Kumari et al., 2006; Yastreb et al., 2015).  
به نظر می‌رسد متیل جاسمونات با افزایش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی، از تخریب بیشتر پروتئین‌ها در اثر شوری جلوگیری کرده است.



شکل ۵- اثر متقابل متیل جاسمونات و شوری بر میزان سدیم اندام هوایی (A)، سدیم ریشه (B)، پتاسیم اندام هوایی (C)، پتاسیم ریشه (D)، نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی (E) و ریشه (F). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون دانکن می باشد.

روی آن‌ها افشانه شده بود محتوای پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم بالاتری نسبت به گیاهان شاهد (عدم کاربرد متیل-جاسمونات) در سطوح یکسان شوری داشتند (شکل های E-F). تنش شوری جذب عناصر از ریشه و انتقال آن به گیاه را کاهش می‌دهد. در این پژوهش تنش شوری سبب افزایش سدیم و کاهش پتاسیم در گیاه گردید. Kasrati و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند میزان  $Na^+$  بخش هوایی *Mentha suaveolens* طی تنش شوری افزایش یافت در حالی

اندام هوایی و ریشه کاهش معنی‌داری یافت اما میزان سدیم افزایش یافت (شکل ۵). افشانه متیل‌جاسمونات بر روی برگ گیاه از افزایش سدیم و کاهش پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در اندام هوایی و ریشه با افزایش شوری جلوگیری کرد. کمترین میزان سدیم اندام‌هوایی و ریشه به ترتیب مربوط به سطح شوری  $1/86$  dS/m بود که غلظت ۱۲۰ و ۶۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات بر روی آن‌ها افشانه شده بود (شکل های A-۵B). گیاهانی که غلظت ۱۲۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات بر

### نتیجه‌گیری کلی:

نتایج به دست آمده نشان داد غلظت‌های بالای شوری موجب کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، سطح برگ و محتوای نسبی آب برگ گردید. در مقابل کاربرد غلظت ۶۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات موجب افزایش صفات مذکور شد. همچنین محتوای کلروفیل در شوری پایین افزایش و در شوری بالا کاهش یافت و پیش‌تیمار گیاه با متیل‌جاسمونات از تخریب کلروفیل با افزایش شوری جلوگیری کرد. افزایش مقدار قند های محلول، پرولین و پروتئین با کاربرد متیل‌جاسمونات بر روی گیاه نشان‌دهنده نقش متیل‌جاسمونات در برقراری تعادل اسمزی در گیاه است. همچنین متیل‌جاسمونات با کاهش مقدار سدیم و افزایش پتاسیم و نسبت  $K^+/Na^+$  در گیاه که از شاخص‌های مقاومت به شوری می باشد، موجب افزایش تحمل گیاه به شوری گردید. بنابراین در نتیجه‌گیری کلی می توان بیان کرد که کاربرد متیل‌جاسمونات تأثیر مثبتی بر روی گیاه داشته و اثرات مخرب شوری بر روی گیاه را کاهش داده است. با توجه به اینکه کمترین غلظت متیل‌جاسمونات، بیشترین تأثیر مثبت را بر گیاه داشته پیشنهاد می‌شود اثر غلظت‌های پایین‌تر بر روی گیاه بررسی شود.

که میزان  $K^+$  و نسبت  $K^+/Na^+$  کاهش یافت که با نتایج ما مطابقت داشت. علت افزایش سدیم در گیاه به علت افزایش  $Na^+$  در محیط رشد گیاه می‌باشد. علت کاهش پتاسیم در گیاه به علت رقابت سدیم با پتاسیم می‌باشد. یون سدیم به دلیل شباهت با یون پتاسیم از طریق کانال‌های پتاسیمی، با قابلیت انتخاب کمتر که به آن کانال غیر اختصاصی کاتیونی گفته می‌شود وارد می‌شود (Parida et al., 2004). نسبت پتاسیم به سدیم از عوامل تعیین کننده حساسیت به شوری و بیانگر میزان جذب پتاسیم در طی بالا رفتن غلظت سدیم در محیط ریشه است. نسبت  $K^+/Na^+$  یک شاخص مناسب برای تعیین درجه مقاومت گیاه به شوری می‌باشد (Sairam et al., 2002). از آنجاییکه این نسبت در گیاه نعنای فلفلی با تنش شوری کاهش یافت، این گیاه به تنش شوری حساس می‌باشد. کاهش جذب سدیم و افزایش جذب پتاسیم با کاربرد متیل‌جاسمونات در گیاهان نخود فرنگی (Fedina and Benderliev, 2000) و برنج (Kang et al., 2005) گزارش شده است که با نتایج ما مطابقت داشت. به نظر می‌رسد که متیل‌جاسمونات با کاهش جذب سدیم توسط گیاه و افزایش نسبت پتاسیم به سدیم منجر به افزایش مقاومت به شوری شده است.

### منابع:

- زرگری، ع. (۱۳۶۸). گیاهان دارویی، جلد سوم، چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۵۳۸-۵۳۹.
- سلطانی، ا. و مداح، و. (۱۳۸۹). برنامه های کاربردی ساده برای آموزش و پژوهش در زراعت، انجمن علمی کشاورزی بوم شناختی ایران.
- سلیمی، ف.، شکاری، ف.، عظیمی، م. ر. و زنگانی، ا. (۱۳۹۰) نقش متیل‌جاسمونات در بهبود مقاومت به شوری از طریق تأثیر بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک در گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۷: ۷۰۰-۷۱۱.
- کرامت، ب. و دانشمند، ف. (۱۳۹۱) نقش دوگانه متیل‌جاسمونات بر عملکردهای فیزیولوژیک در گیاه سویا (*Glycine max* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی. ۱: ۲۶-۳۷.
- Ashraf, M., and Foolad, M. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.
- Ashraf, M., and Harris, P. (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science* 166: 3-16.
- Ashraf, M. and Tufail, M. (1995) Variation in salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Agronomy and Soil Sciences* 174: 351-362.

- Aziz, E. E., Al- Amier, H. and Craker, L. E. (2008) Salt stress on growth and essential oil production in peppermint, pennyroyal and apple mint. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 14: 77-87.
- Aziz, E. E., Al- Amier, H., El- Danasoury, M. M. and Craker, L. E. (2010) Responses of peppermint to salt stress. *Acta Horticulturae* 854: 75-80.
- Bates, L., WAL-alderen, R., and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Cram, W. J. (1976) Negative feedback regulation of transport in cells. In: *The maintenance of turgor, volume and nutrient supply* (eds. Luttge U. and Pitman M.G.) Pp:284-316. Springer Verlag, Berlin.
- Del Amor, F. M. and Cuadra-Cres, P. (2011) Alleviation of salinity stress in broccoli using foliar urea or methyl-jasmonate :analysis of growth, gas exchange, and isotope composition. *Plant Growth Regulation* 63: 55-62.
- El-Sayed, O. M., El-Gammal, O. H. M. and Salama, A. S. M. (2014) Effect of ascorbic, proline and jasmonic acid foliar spraying on fruit set and yield of Manzanillo olive trees under salt stress. *Scientia Horticulturae* 176: 32-37.
- Escribano, J., Piqueras, A., Medina, J. N., Rubio, A., Alvarez-Ortí, M., and Fernández, J. A. (1999) Production of a cytotoxic proteoglycan using callus culture of saffron corms (*Crocus sativus* L.). *Journal of biotechnology* 73: 53-59.
- Fedina, I. S. and Tsonew, 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.
- Fedina I. S. and Benderliev, K.M. (2000) Response of *Scenedesmus incrassatulus* to salt stress as affected by methyl jasmonate. *Biologia Plantarum* 43:625-627.
- Gao, X., X. Zeng, K. Xia., T. Yoshihara and X. Zhou. (2004) Interactive effects of methyl jasmonate and salicylic acid on floret opening in spikelets of sorghum. *Journal of Plant Growth Regulation* 43:269-273.
- Good, A. and Zaplachinski, S. (1994) The effects of drought on free amino acid accumulation and protein synthesis in *Brassica napus*. *Physiologia Plantarum* 90: 9-14.
- Juan, N., Rivero, R. M., Romero, L. Ruiz, J. M. (2005) Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt- resistant *tomato* cultivars. *Environmental and Experimental Botany* 54: 193-201.
- Kalra, Y. P. and Maynard, D. G. (1998) Microwave digestion of plant tissue in an open vessel. In: *Handbook of reference methods for plant analysis* (ed. Kalra Y.P.). Pp: 63-67. CRC Press, Boca Raton.
- 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.) Harley cultivated under salt stress conditions. *Industrial Crops and Products* 59: 80-84.
- Kerepesi, H. and G. Galiba. (2000) Osmotic and salt stress Induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedling. *Crop Science* 40: 482-487.
- Khorasaninejad, S., Mousavi, A., Soltanloo, H., Hemmati, K., and Khalighi, A. (2010) The effect of salinity stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of peppermint (*Mentha piperita* L.). *World Applied Sciences Journal* 11: 1403-1407.
- Khorasaninejad, S., Mousavi, A., Soltanloo, H., Hemmati, K., and Khalighi, A. (2011) The effect of drought stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 5360-5365.
- Khosravinejad, F., Heydari, R. and Farboodnia, T. (2009) Effect of salinity on organic solutes contents in barley. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 12: 158-162.
- Kummar, S., Matta Reddy, G. and Sudhakar, C. (2003) NaCl effects on proline metabolism in two high yielding genotypes of mulberry with contrasting salt tolerance. *Plant Science* 165:1245-1251.
- Kumari, G. J., Reddy, A. M., Naik, S. T., Kumar, S. G., Prasanthi, J., Sriranganayakulu, G., Reddy, P., and Sudhakar, C. (2006) Jasmonic acid induced changes in protein pattern, antioxidative enzyme activities and peroxidase isozymes in peanut seedlings. *Biologia Plantarum* 50: 219-226.
- Kuznetsov, V. V., and Shevyakova, N. (1999) Proline under stress: biological role, metabolism, and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology* 46: 274-287.
- Li, Z., Yang, H. T., Wu, X. Q., Guo, K. and Li, J. S. (2015) Some aspects of salinity responses in peppermint (*Mentha × Piperita* L.) to NaCl treatment. *Protoplasma* 252: 885-899.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591 - 592.
- Lorenzo, O. (2003) Ethylene response factor 1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense. *Plant Cell* 15:165-178.

- Munns, R. (2005) Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist* 167:645-663.
- Muthukumarasamy, M., Gupta, S. D., and Panneerselvam, R. (2000) Influence of triadimefon on the metabolism of NaCl stressed radish. *Biologia Plantarum* 43: 67-72.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Parida, A., Das, A. B., and Das, P. (2002) NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. *Journal of Plant Biology* 45: 28-36.
- Parida, A. K., Das, A. B., Mitra, 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.
- Peltzer, D., Dreyer, E., and Polle, A. (2002) Differential temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species: *Fagus sylvatica* and *Coleus blumei*. *Plant Physiology and Biochemistry* 40: 141-150.
- Penuelas, J., Isla, R., Filella, I. and Araus, J. L. (1997) Visible and near-infrared reflectance assessment of salinity effects on barley. *Crop Science* 37: 198-202.
- Pessaraki, M., Tucker, T. C. and Nakabayashi, K. (1991) Growth response of barley and wheat to salt stress. *Journal of Plant Nutrition* 14: 331-340.
- Piotrowska, A., Bajguz, A., Godlewska Zylkiewicz, B. and Czerpak, R. (2009) Jasmonic acid modulator of lead toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). *Environmental and Experimental Botany* 66: 507-513.
- Reymond, P. (2000) Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 12:707-719.
- Roe, J. H. (1955) The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry* 212: 335-343.
- Roodbari, N., Roodbari, S., Ganjali, A., Sabeghinejad, F. and Ansarifard, 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 Biomedical Research* 1: 1009-1015.
- 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.
- Senaratna, T., D. Touchell, E. Bunn, and K. Dixon. (2000) Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plant. *Plant Growth Regulation* 30:157-161.
- Sheteawi, S. A. (2007) Improving growth and yield of salt-stressed soybean by exogenous application of jasmonic acid and ascorbin. *International Journal of Agriculture and Biology* 9: 473-478.
- Singh, S. K., Sharma, H. C., Goswami, A. M., Datta, S. P., Singh, S. P. (2000) *In vitro* growth and leaf composition of grapevine cultivar as affected by sodium chloride. *Biologia Plantarum* 43: 283-286.
- Sreenivasulu, N., Sopory, S. K. and Kavi Kishor, P. B. (2007) Deciphering the regulatory mechanisms of abiotic stress tolerance in plants by genomic approaches. *Gene* 388:1-13.
- 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 and Ornamental Plant Research* 14: 199-210.
- Vick, B. A and Zimmermann, D. C (1984) Biosynthesis of jasmonic acid by several plant species. *Plant Physiology* 75:458-461.
- Weatherley, P. (1950) Studies in the water relations of the cotton plant. The field measurement of water deficit in leaves. *New Phytologist* 49: 81-97.
- Wildung, M. R. and Croteau, R. B. (2005) Genetic engineering of Peppermint for improved oil composition and yield. *Transgenic Research* 14:365-372.
- Yastrebov, T. O., Kolupaev, Y. E., Shvidenko, N. V., Lugovaya, A. A. and Dmitriev, A. P. (2015) Salt stress response in *Arabidopsis thaliana* plants with defective jasmonate signaling. *Applied Biochemistry and Microbiology* 51: 451-454.
- Yoon, J.Y., Hamayun, M., Lee, S. K. and Lee, I. J. (2009) Methyl jasmonate alleviating salinity stress in soybean. *Journal of Crop Science and Biotechnology* 12:63-68.
- Zhang, S., Weng, J., Pan, J., Tu, T., Yao, S., and Xu, C. (2003) Study on the photogeneration of superoxide radicals in Photosystem II with EPR spin trapping techniques. *Photosynthesis Research* 75:41-48.
- Zhang, F., Wang, Y., and Wang, D. (2007) Role of Nitric Oxide and Hydrogen Peroxide During the Salt Resistance Response. *Plant Signaling and Behavior* 2:473- 474.
- Zidan, M. A., Elewa, M. A. (1995) Effect of salinity on germination, seedling growth and some metabolic changes in four plant species (Umbelliferae). *Indian Journal of Plant Physiology* 38: 57-61.

## Effect of methyl jasmonate on some physiological and biochemical responses of peppermint (*Mentha piperita* L.) under salt stress

Elahe Vatankhah<sup>1\*</sup>, Behnaz Kalantari<sup>1</sup> and Babak Andalibi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

<sup>2</sup>Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

(Received: 26 July 2015, Accepted: 15 December 2015)

### Abstract

Salinity is a major environmental limiting factor of plant growth and crop productivity. Therefore, many studies have been done to minimize the stress effects caused by salinity in agriculture and plant physiology. To access the effect of methyl jasmonate and salinity on peppermint, an experiment was conducted as factorial based on a randomized complete design (CRD) with three replications. In this research, methyl jasmonate (MeJA) sprayed at three levels including, 0 (without spraying or control treatment), 60 and 120  $\mu\text{M}$  and also salt stress applied at four levels including 1.86, 5, 7.5 and 10 dS/m. The results showed that with increasing salinity, growth parameters, protein and chlorophyll contents,  $\text{K}^+$  concentration and  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  ratio decreased while proline and soluble sugar contents, shoot  $\text{Na}^+$  and root  $\text{Na}^+$  concentrations increased. Pretreatment of 60  $\mu\text{M}$  MeJA increased fresh and dry weights of shoot and root, leaf area, relative water content and chlorophyll content. Under salinity conditions, application of MeJA increased leaf proline, soluble sugar and protein contents. Also,  $\text{K}^+$  concentration and  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  ratio of shoot and root increased in plants treated with MeJA compared with control plants but  $\text{Na}^+$  concentration decreased. According to these results, MeJA pretreatment could reduce the harmful effects of salinity in peppermint.

**Keywords:** Osmolyte, Growth parameters, Salt stress, Methyl jasmonate, Peppermint.

\*corresponding author, Email: elahe\_vatankhah@znu.ac.ir