

اثر محلول پاشی پراکسید هیدروژن بر رنگدانه‌های فتوسنتزی نعنای فلفلی در شرایط محدودیت آبی

پریناز نوبخت^۱، علی عبادی^{۱*}، قاسم پرمون^۱ و رسول نیکخواه بهرامی^۲

^۱گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، آهیئت علمی، مرکز تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی، اردبیل.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۴/۳۱)

چکیده

رشد گیاهان بوسیله عامل مختلف کنترل می‌شود که در میان آنها آب نقش اساسی دارد و بسته به مرحله فیزیولوژیکی می‌تواند اثرات مختلفی بر گیاه می‌گذارد. به منظور ایجاد سیگنال‌های تحریک کننده تحمل به تنش خشکی در نعنای فلفلی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۴ اجرا گردید. تیماری‌های آزمایشی شامل تنش خشکی در ۳ سطح (۸۵، ۶۰ و ۳۵ درصد ظرفیت زراعی) و محلول پاشی پراکسید هیدروژن در ۴ سطح (صفر، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌مولار) و صفات مورد بررسی شامل محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و نسبت کلروفیل (a به b)، رنگدانه‌های کمکی (کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی)، شاخص‌های فلورسانس کلروفیل (نسبت فلورسانس لحظه‌ای به فلورسانس پایه (Fv/F0)، نسبت فلورسانس لحظه‌ای به بیشینه در تاریکی (Fv/Fm)، فلورسانس متغیر به پایه در شرایط روشنایی (F'v/F'm)، خاموش‌شدگی فتوشیمیایی (qP)، غیر فتوشیمیایی (qNP) و عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (PSII) و وزن خشک بوته بود. نتایج نشان داد که اثرات اصلی تنش خشکی و محلول پاشی بر صفات مورد بررسی تأثیر معنی‌داری داشت. تنش موجب کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی، رنگدانه‌های کمکی (به جزء کاروتنوئیدها)، کاهش فلورسانس Fv/F0 و qP و کاهش وزن خشک بوته (۲۵ درصد) گردید. تنش همچنین باعث افزایش شاخص‌های فلورسانس (F'v/F'm)، (Fv/Fm) گردید. محلول پاشی پراکسید هیدروژن نیز صفات نام‌برده به جزء آنتوسیانین‌ها و Fv/F0 و qP را افزایش داد. به طور کلی می‌توان گفت تنش خشکی موجب کاهش توان فتوسنتزی گیاه و کاهش میزان ماده خشک تولیدی شد، محلول پاشی غلظت‌های ملایم پراکسید هیدروژن (۲/۵ میلی‌مولار) نیز توانست در جهت بهبود سیستم‌های فتوسنتزی گیاه عمل نماید.

کلید واژه‌ها: آنتوسیانین‌ها، تنش، فلاونوئیدها، کلروفیل a، نعنای فلفلی

مقدمه

محسوب می‌شود (امید بیگی و همکاران، ۱۳۸۹). در طب سنتی از نعنای برای کاهش اشتها، سرماخوردگی، سرفه، تب، تهوع، سردرد، آماس روده بزرگ، ضد اسپاسم، ضد نفخ، سوء هاضمه و اثرات ضد التهابی ضد میکروبی ضد ویروسی استفاده

نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.) گیاهی از خانواده نعناعیان، علفی و به ندرت دارای نمونه‌های رونده یا بوته‌ای بوده و یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی متعلق به خانواده Lamiaceae

اکسیژن، پراکسید هیدروژن برای سیگنالینگ از بقیه فرم‌های فعال اکسیژن مناسب تر باشد، زیرا پایداری و نیمه عمر بالاتری دارد. گونه‌های فعال اکسیژن از طریق واکنش‌های انتقال الکترون در میتوکندری و کلروپلاست تشکیل شده و سریعاً به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود. همچنین در سلول‌ها، پراکسید هیدروژن از طریق واکنش‌هایی که واسطه آنزیمی دارند، مانند گلیکولات اکسیداز در تنفس نوری ایجاد می‌شود و اگسالات اکسیداز و اگسالات، اکسیژن را به پراکسید هیدروژن و دی‌اکسید کربن تبدیل می‌کند.

گلدانی و همکاران (۱۳۹۱) در مطالعه اثر کاربرد خارجی پراکسید هیدروژن بر برخی از شاخص‌های تحمل به شوری در مرزنجوش نشان دادند، محلول پاشی پراکسید هیدروژن می‌تواند وزن خشک ریشه و شاخساره در مرزنجوش را افزایش دهد و از این طریق کاهش وزن ناشی از تنش شوری را جبران نماید. همچنین آنها نشان داد کاربرد ۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن موجب افزایش در میزان کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای برگ شد. Liheng و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه تأثیر پراکسید هیدروژن بر افزایش به تحمل به تنش خشکی گیاهچه‌های گندم نشان داد که پیش‌تیمار ۶۰ میلی‌مولار این ماده موجب حصول بالاترین وزن خشک گیاهچه شد. تیمار بذور با این ماده موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، میزان پرولین و کاهش میزان پراکسید هیدروژن بافت شده است. Ishibashi و همکاران (۲۰۱۱) نیز در بررسی محلول پاشی پراکسید هیدروژن در کاهش تأثیرات تنش خشکی در سویا نشان دادند، کاربرد این ماده موجب کاهش پژمردگی برگ‌ها شد. علاوه بر این محتوای آب نسبی بافت‌ها در برگ‌های تیمار شده تحت تنش بیشتر از برگ‌های تیمار شده با آب مقطر بود. همچنین مشاهده شد، سرعت فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای در برگ‌ها در اثر استفاده پراکسید هیدروژن افزایش پیدا کرد. محلول پاشی پراکسید هیدروژن به سرعت موجب افزایش سطح mRNA، اینوزیتول ۳- فسفات سنتاز ۲ (GmMPS2) و گلاکتینول سنتاز (GoIS) که هر کدام کد کننده کلیدی آنزیم‌های بیوسنتز الیگوساکاریدها

می‌شود (Sydney et al., 2010; Bozin et al., 2008). ترکیبات اصلی اسانس نعنای را منتول (۲۹ درصد)، منتون (۲۰ تا ۳۰ درصد) و متیل استات (۱ تا ۳ درصد) تشکیل می‌دهد (Anonymous, 2009).

رشد گیاهان بوسیله عوامل مختلف کنترل می‌شود که در میان آنها آب نقش اساسی دارد. بسته به مرحله فیزیولوژیکی که گیاه در آن به سر می‌برد و شدت تنش، کم آبی اثرات مختلفی بر گیاه می‌گذارد (رضاپور و همکاران، ۱۳۹۰). مقادیر کم آب در جریان تولید گیاهان می‌تواند صدمات سنگینی بر رشد و نمو و همچنین بر مواد مؤثره دارویی گیاهان وارد نماید (امید بیگی و همکاران، ۱۳۸۹). تنش خشکی رشد و نمو گیاهان را در مراحل مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهد (Jongdee et al., 2002). خشکی موجب توقف فتوسنتز گیاه، تغییر در محتوای کلروفیل و صدمه به ساختارهای فتوسنتزی می‌شود. این تنش همچنین با ایجاد اختلال در تعادل بین تولید و مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن، منجر به تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و القاء تنش اکسیداتیو، خسارت به پروتئین‌ها، لیپیدهای غشاء و سایر اجزای سلولی می‌شود و از این طریق موجب کاهش رشد و توانایی فتوسنتزی گیاه می‌گردد (Fuand Huang, 2001). در شرایط تنش کمبود آب، روزه‌ها در گیاه بسته می‌شوند و متعاقب آن غلظت CO_2 در بافت مزوفیل کاهش می‌یابد و به دنبال این وضعیت واکنش‌های تاریکی فتوسنتز مختل شده و محصولات حاصل از واکنش‌های روشنایی (ATP و NADPH)، مصرف نمی‌شود. به دلیل عدم اکسیداسیون مولکول NADPH، مصرف $NADP^+$ جهت دریافت الکترون کاهش می‌یابد؛ بنابراین مولکول اکسیژن در مسیر زنجیره انتقال الکترون به عنوان مولکول پذیرنده جانشین الکترون عمل می‌کند و منجر به شکل‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Turkan and Koca, 2005; Sairam and Srivastava, 2001).

حسیبی و همکاران (۱۳۸۷) نشان دادند که در اثر تنش‌های محیطی گونه‌های فعال اکسیژن مانند O_2^- ، H_2O_2 ، OH^- تولید می‌شوند. به نظر می‌رسد در میان گونه‌های مختلف فعال

بعد از تجزیه خاک (جدول ۱) مورد استفاده در گلدان‌ها محاسبه و بر مبنای ۱۰۰، ۶۰ و ۴۰ کیلو گرم در هکتار در خاک هر گلدان اضافه گردید. تنش بر اساس ظرفیت زراعی به روش وزنی (توزین گلدانی) در مرحله پنج برگی اعمال شد. محلول پاشی پراکسید هیدروژن نیز سه روز قبل از اعمال تنش خشکی به صورت دو مرحله‌ای در دو روز متوالی انجام گرفت. مدت ۱۰ روز گیاهچه‌های نعنای بعد از محلول پاشی تحت تنش قرار گرفتند. بعد از این مدت نمونه برداری برای آزمایش‌ها انجام گرفت.

رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدها: برای سنجش میزان کلروفیل از بافت تازه برگ‌های انتهایی استفاده شد. در این روش ۰/۱ گرم از بافت برگ را با استن ۸۰ درصد به تدریج سائیده تا کلروفیل وارد محلول استن شده و در نهایت حجم محلول با استن ۸۰ درصد به ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس جذب نوری محلول رویی (روشنار) در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۷۰ و ۶۶۳/۲ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر (مدل یو وی ۲۱۰۰ ساخت یونیکوامریکا) قرائت شد. مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها طبق معادله‌های زیر محاسبه شد (Arnon, 1967).

رابطه ۱: $Chl_a = 12.25 A_{663.2} - 2.798 A_{646.8}$

رابطه ۲: $Chl_b = 21.50 A_{646.8} - 5.10 A_{663.2}$

رابطه ۳: $Chl_{Total} = Chl_a + Chl_b$

رابطه ۴: $Carotenoid_x = (1000 a_{470} - 1.82 Chl_a - 85.02 Chl_b) / 198$

سنجش میزان آنتوسیانین‌ها: برای اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌ها از روش Wagner (۱۹۷۹) استفاده شد. ۰/۱ گرم از بافت تازه در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و کلریدریک اسید خالص به نسبت حجمی ۹۹ به ۱) به طور کامل ساییده و عصاره حاصل به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و جذب محلول روشنار در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت ضریب خاموشی (e)

هستند که در تحمل به تنش به گیاه کمک می‌کنند (Ishibashi et al., 2011). Azevedo Neto و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه تیمار پراکسید هیدروژن در افزایش تحمل به تنش شوری در ذرت دریافتند که کاربرد یک میکرومولار پراکسید هیدروژن در محلول هیدروپونیک برای دو روز سبب افزایش تحمل به شوری شد. آنها با اندازه‌گیری مقدار پراکسیداز چربی‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به این نتیجه رسیدند. آنها همچنین اعلام کردند که متابولیسم پراکسید هیدروژن به عنوان یک سیگنال در فرآیند سازگاری ذرت به تنش شوری عمل می‌کند. در مطالعه‌ای با بررسی اثر متقابل کم‌آبایی و پراکسید هیدروژن بر برخی صفات رشدی، فتوسنتزی و میزان پرولین در گیاه گل تکمه‌ای و تاج خروس زیتی نشان داد که استفاده خارجی از پراکسید هیدروژن می‌تواند در بهبود تنش ناشی از افزایش فواصل آبیاری در صفاتی نظیر وزن خشک ریشه و اندام هوایی میزان نسبی آب و تعداد برگ مؤثر باشد (Misra and Sricastava, 2000). با توجه به مطالب بیان شده هدف از انجام این پژوهش بررسی تنش خشکی و همچنین تأثیر محلول پاشی پراکسید هیدروژن بر سیستم فتوسنتزی نعنای فلفلی و ایجاد تحمل به تنش در گیاه با استفاده از پراکسید هیدروژن بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۴ اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل تنش خشکی در ۳ سطح (۸۵ (شاهد عدم تنش)، ۶۰ (تنش ملایم) و ۳۵ درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید) و محلول پاشی پراکسید هیدروژن در ۴ سطح (صفر، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میلی‌مولار) بود (گلدانی و همکاران، ۱۳۹۱). این آزمایش طی دو ماه اجرا شد. در ماه اول کشت انجام شد. برای کشت گیاهچه‌های نعنای از گلدان‌های ۵ کیلوگرمی استفاده شد که در هر گلدان ۵ عدد گیاهچه کشت گردید. آبیاری به صورت منظم تا استقرار کامل گیاهچه‌ها صورت گرفت. میزان کودهای NPK

جدول ۱- نتایج تجزیه خاک مورد استفاده در آزمایش

بافت خاک	ذرات تشکیل دهنده خاک (%)			میزان عناصر قابل جذب (mg.kg ⁻¹)			کربن آلی (%)	pH	شوری (دسی زیمنس بر متر)
	رس	سیلت	شن	پتاسیم	فسفر	نیتروژن			
شنی لومی	۳	۱۴	۸۳	۱۶۵	۸/۱	۰/۰۶۲	۰/۶۶	۷/۸۱	۰/۶۰۵

میلی لیتر کربنات سدیم ۵ درصد اضافه شد. شدت جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۲۵ نانومتر پس از یک ساعت نگهداری در تاریکی خوانده شد. برای محاسبه غلظت ترکیبات های فنلی از منحنی استاندارد گالیک اسید استفاده شد (Ronald and Laima, 1999).

اندازه گیری محتوای فلاونوئید: برای اندازه گیری محتوای فلاونوئیدی از روش Krizek (۱۹۹۸) استفاده شد، به این منظور مقدار ۰/۱ گرم از برگ را در اتانول اسیدی (شامل اتانول و اسید استیک گلاسیال به نسبت ۹۹ به ۱) خوب سائیده و عصاره حاصل به مدت ده دقیقه با ۳۶۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول رویی جدا و به مدت ۱۰ دقیقه در آب گرم ۸۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس میزان جذب عصاره توسط اسپکتروفتومتر در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر قرائت شدند. ضریب خاموشی $\epsilon = 3300 \text{mM cm}^{-1}$ برای محاسبه محتوای فلاونوئید کل مورد استفاده قرار گرفت و بر حسب میکرو مولار بر گرم گزارش گردید.

ماده خشک بوته: برای اندازه گیری وزن خشک بوته بعد از اینکه بوته ها رشد مناسبی پیدا کردند (۴۵ روز بعد از استقرار در داخل گلدان و ظهور علائم تغییر از فاز رویشی به زایشی در برخی از بوته ها)، سه بوته از هر گلدان برداشت و به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی گراد خشک و سپس توزین شد.

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد صورت گرفت. برای نرمال کردن داده ها از نرم افزار Minitab و برای تعیین روابط رگرسیون صفات مورد بررسی با ماده خشک نیز از نرم افزار SPSS استفاده شد.

۳۳۰۰۰ سانتی متر بر مول در نظر گرفته شد. $A = \text{ جذب}$ ، $b =$ عرض کووت، $C =$ غلظت محلول مورد نظر می باشد. میزان آنتوسیانین ها بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر بافت محاسبه گردید.
رابطه ۵: $A = ebc$

فلورسانس رنگدانه ها: برای اندازه گیری فلورسانس کلروفیل از انتهای ترین برگ کاملاً توسعه یافته استفاده شد. این کار با استفاده از دستگاه Chlorophyll Fluorometer مدل Optic Science- OS-30 USA صورت گرفت. شاخص های فلورسانس کلروفیل در برگ های سازش یافته با تاریکی شامل F_0 (فلورسانس پایه) و F_m (فلورسانس بیشینه) و شاخص های فوق در برگ های سازش یافته با روشنایی شامل F_o' (شدت فلورسانس پایه)، $F'm$ (شدت فلورسانس بیشینه) و F_s (شدت فلورسانس پایدار) اندازه گیری شد. سپس محاسبات لازم برای به دست آوردن سایر شاخص ها از جمله نسبت فلورسانس متغیر به پایه $(F'v/F'm)$ ، خاموش شدگی فتوشیمیایی (qP) و غیرفتوشیمیایی (qNP) و عملکرد کوانتومی $(\text{PSII})^\circ$ انجام گردید (Yong et al., 2009).

$$F'v / F'm = (F'm - F'o) / F'm' \quad \text{رابطه ۶:}$$

$$\text{PSII}^\circ = (F'm - F_s) / F'm' \quad \text{رابطه ۷:}$$

$$qP = (F'm - F_s) / F'm - F_o' \quad \text{رابطه ۸:}$$

$$NPQ = (F_m - F'm) / F'm \quad \text{رابطه ۹:}$$

سنجش میزان ترکیب های فنلی کل: این اندازه گیری بر اساس روش Folin-Ciocalteu به صورت زیر انجام شد. ۰/۱ گرم از هر نمونه در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد عصاره گیری و عصاره حاصل به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار داده شد. سپس به محلول حاصل ۱ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۵ میلی لیتر فولین ۵۰ درصد و ۱

نتایج و بحث

رنگدانه‌ها: نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد، میزان کلروفیل a (در سطح ۱ درصد)، کلروفیل b (در سطح ۵ درصد)، کلروفیل کل (در سطح ۵ درصد) و نسبت a به b (در سطح ۵ درصد) تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۲). تنش موجب کاهش همه این صفات شد، به طوریکه مقادیر این صفات به ترتیب برابر ۱۶/۴۳، ۶/۸۸، ۲۳/۳۱ و ۰/۴۲۸ بود که در اثر تنش ۳۵ درصد ظرفیت زراعی به ۱۱/۷۶، ۴/۲۳، ۱۵/۹۹ و ۰/۳۴۳ رسید (جدول ۳). کاربرد خارجی پراکسید هیدروژن نیز بر میزان کلروفیل a، کلروفیل کل و نسبت a به b در سطح ۱ درصد و بر میزان کلروفیل b در سطح ۵ درصد تأثیر گذار بود (جدول ۲). کاربرد پراکسید هیدروژن موجب افزایش میزان کلروفیل شد به طوریکه بالاترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل با میانگین‌های ۱۸/۳۰، ۶/۶۲ و ۲۴/۹۲ میلی‌گرم بر گرم در غلظت ۷/۵ میلی‌مولار این ماده مشاهده شد. بالاترین نسبت کلروفیل b/a (با میانگین ۰/۴۲) نیز از غلظت ۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن به دست آمد (جدول ۳). در مطالعه ایزدی و همکاران (۱۳۸۸) نیز تنش خشکی موجب کاهش میزان رنگدانه‌ها به ویژه کلروفیل a در نعنای فلفلی شد. چنین نتایجی توسط رسام و همکاران (۱۳۹۳) بر روی گیاه دارویی زوفا نیز گزارش شده است. کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی به علت افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن در اثر تنش می‌باشد. رادیکال‌های فعال باعث پراکسیداسیون و تجزیه رنگدانه‌ها می‌شود (De la Luz, 2004). در جریان تنش‌های محیطی ترکیباتی تولید و فرآیندهایی فعال می‌شوند که علیرغم افزایش وزن مخصوص برگ به کاهش غلظت کلروفیل می‌انجامد. کاهش سنتز کمپلکس اصلی رنگدانه کلروفیل، تشدید فعالیت آنزیم‌های کلروفیل‌لاز و پراکسیداز، تولید ترکیبات فنلی، افزایش رادیکال‌های فعال اکسیژن و آسیب رساندن به غشاء کلروپلاست و اختلال در جذب نیتروژن از خاک به عنوان مهم‌ترین عوامل کاهنده غلظت کلروفیل در تنش‌های شدید شناخته شده‌اند (Tambussi et al., 2000).

رنگدانه‌های کمکی: میزان کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها،

فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی نیز تحت تأثیر تنش و محلول پاشی قرار گرفتند. تنش در سطح پنج درصد بر میزان کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌ها و در سطح یک درصد بر میزان فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی تأثیر معنی‌داری داشت. محلول پاشی پراکسید هیدروژن نیز در سطح یک درصد بر میزان آنتوسیانین‌ها، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها و در سطح پنج درصد بر میزان ترکیبات فنلی اثرگذار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌های اثرات اصلی این صفات نشان داد، میزان آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها در اثر تنش کاهش و میزان کاروتنوئیدها و ترکیبات فنل افزایش یافت. میزان کاروتنوئیدها در شرایط بدون تنش (۸۵ درصد ظرفیت زراعی) ۲/۸۵ میلی‌گرم بر گرم بود که در اثر تنش شدید (۳۵ درصد ظرفیت زراعی) با افزایش ۳۸ درصدی به ۳/۹۶ میلی‌گرم بر گرم رسید، این در حالی بود که بالاترین مقدار ترکیبات فنلی از تنش ملایم (۶۰ درصد ظرفیت زراعی) با میانگین ۵/۸۳ میکروگرم بر گرم به دست آمد. میزان آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها نیز به ترتیب با کاهش ۲۹ و ۲۵ درصدی به ۱/۶۵ و ۱۹/۴۹ میلی‌گرم بر گرم رسیدند (جدول ۳). کاربرد پراکسید هیدروژن نیز موجب افزایش میزان کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی و کاهش مقدار آنتوسیانین‌ها شد. بالاترین مقدار کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها به ترتیب با میانگین‌های ۴/۱۲ و ۲۵/۱۱ از کاربرد ۷/۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن حاصل شد این در حالی بود که بیشترین ترکیبات فنلی از غلظت ۵ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۳).

افزایش میزان کاروتنوئیدها در گیاه زوفا در اثر تنش خشکی توسط رسام و همکاران (۱۳۹۳) و در بابونه توسط لطف الهی و همکاران (۱۳۹۴) نیز گزارش شده است. افزایش ترکیبات فنلی نیز در اثر تنش‌های اکسیداتیو ناشی از فلزات سنگین نیز توسط قلیچ و همکاران (۱۳۹۴) و کاهش میزان آنتوسیانین‌ها در گوجه‌فرنگی در اثر تنش خشکی نیز گزارش شده است (حاجی بلند و همکاران، ۱۳۹۳). با توجه به نتایج مشاهده شد که در نعنای فلفلی میزان کاروتنوئیدها و ترکیبات

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تنش خشکی و محلول پاشی پراکسید هیدروژن.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
تنش خشکی	۲	۱/۲۲۶**	۱/۲۱۵*	۲/۲۴۶*
پراکسید هیدروژن	۳	۱/۶۴۹**	۱/۱۸۷*	۲/۵۵۲**
اثرات متقابل	۶	۰/۱۵۹ ^{ns}	۰/۰۳۲۱ ^{ns}	۰/۰۲۱۹ ^{ns}
خطا	۲۴	۰/۱۸۶	۰/۲۸۱	۰/۲۶۸
ضریب تغییرات	-	۱۱/۶۲	۲۴/۰۵	۱۱/۹۴

ns، * و ** به ترتیب غیره معنی دار، معنی داری در سطح ۵ و ۱ درصد

ادامه جدول ۲-

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کاروتنوئیدها	آنتوسیانین‌ها	فلاونوئیدها
تنش خشکی	۲	۰/۴۰۵*	۰/۲۴۷*	۱/۴۸۵**
پراکسید هیدروژن	۳	۰/۳۹۸**	۰/۸۰۴**	۰/۵۵۲**
اثرات متقابل	۶	۰/۰۲۵۴ ^{ns}	۰/۰۱۵۷ ^{ns}	۰/۰۸۱۸ ^{ns}
خطا	۲۴	۰/۱۰۴	۰/۰۶۲۴	۰/۰۹۴۷
ضریب تغییرات	-	۱۷/۹۱	۱۷/۸۷	۶/۵۱

ns، * و ** به ترتیب غیره معنی دار، معنی داری در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات اصلی رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تنش خشکی و پراکسید هیدروژن.

تیمار	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	نسبت b به a	کاروتنوئیدها	فصل کل	آنتوسیانین‌ها	فلاونوئیدها	تنش خشکی
	(mg per gFW)			-	(mg per gFW)	(mg per gFW)	(nM per gFW)	(mM per gFW)	
۳۵٪	۱۱/۷۶	۴/۲۳	۱۵/۹۹	۰/۳۴۳	۳/۹۶	۵/۵۷	۱/۶۵	۱۹/۴۹	
۶۰٪	۱۴/۱۲	۴/۵۷	۱۵/۶۹	۰/۳۳۱	۳/۳۰	۵/۸۳	۲/۲۶	۲۲/۱۴	
۸۵٪	۱۶/۴۳	۶/۸۸	۲۳/۳۱	۰/۴۲۸	۲/۸۵	۵/۵۹	۲/۳۵	۲۵/۹۸	
LSD _{0.05}	۲/۶۹	۲/۰۰	۳/۷۴	۰/۱۳۷	۰/۶۹	۰/۱۶۸	۰/۴۹	۲/۵۳	
LSD _{0.01}	۳/۶۵	۲/۷۲	۵/۰۶	۰/۱۸۶	۰/۹۴	۰/۲۲۸	۰/۶۷	۳/۲۹	
پراکسید هیدروژن									
صفر	۱۰/۶۱	۳/۴۶	۱۴/۰۷	۰/۳۱۳	۲/۶۶	۵/۶۰	۳/۰۱	۱۹/۷۹	
۲/۵	۱۳/۱۶	۴/۶۱	۱۷/۷۷	۰/۳۶۲	۲/۹۷	۵/۶۲	۲/۲۶	۲۱/۸۱	
۵	۱۴/۳۴	۶/۲۱	۲۰/۵۶	۰/۴۲۷	۳/۷۲	۵/۸۴	۱/۹۵	۲۳/۴۳	
۷/۵	۱۸/۳۰	۶/۶۲	۲۴/۹۲	۰/۳۶۶	۴/۱۲	۵/۶۰	۱/۱۲	۲۵/۱۱	
LSD _{0.05}	۳/۱۱	۲/۳۱	۴/۳۱	۰/۱۵۸	۰/۸۰	۰/۱۹	۰/۵۷	۲/۸۰	
LSD _{0.01}	۴/۲۲	۳/۱۴	۵/۸۵	۰/۲۱۵	۱/۰۸	۰/۲۶	۰/۷۸	۳/۸۰	

جز مقدار F_v/F_0 و qP شد. بالاترین F_v/F_m و NPQ با میانگین های 0.832 و 0.488 از مصرف $7/5$ میلی‌مولار این ماده و بالاترین $PSII$ و F'_v/F'_m با میانگین‌های 0.823 و 0.796 از 5 و $2/5$ میلی‌مولار پراکسیداز هیدروژن حاصل شد (جدول ۵). چنین نتایجی توسط حاج بلندی و همکاران (۱۳۹۴) نیز گزارش شده است. تنش و پراکسید هیدروژن موجب تغییرات معنی‌داری در واکنش‌های فتوشیمیایی برگ شد که به خوبی در شاخص‌های فلورسانس کلروفیل منعکس گردید. کاهش نسبت F_v/F_0 نشانگر کاهش تعداد مراکز واکنشی و کاهش نسبت F_v/F_m بیانگر آسیب جدی به دستگاه فتوسنتزی است که در شرایط تنش مقدار آنها کاهش پیدا کرده که نشان می‌دهد، تنش موجب آسیب به مراکز واکنش و تخریب سیستم‌های فتوسنتزی را سبب می‌شود (Maxwell and Johnson, 2000). تأثیر تنش بر روی واکنش‌های فتوشیمیایی می‌تواند به طور غیرمستقیم باشد. تنش موجب توقف واکنش‌های تاریکی فتوسنتز شده که این امر موجب تولید الکترون‌های آزاد و qP می‌شود. از طرف دیگر بسته شدن روزنه‌ها برگ را دچار کمبود دی اکسید کربن می‌نماید که به نوبه خود دلیل دیگری برای کاهش سرعت واکنش‌های تاریکی، افزایش الکترون‌های آزاد، بازدارندگی نوری و آسیب دستگاه فتوسنتزی است (Krause and Jahns, 2004). در شرایط تنش برگ‌ها با افزایش واکنش‌های غیرفتوشیمیایی (qN) موجب خاموشی الکترون‌های پرانرژی از طریق تبدیل به انرژی گرمایی و کاهش آسیب آنها به دستگاه فتوسنتزی می‌شوند (Krause and Jahns, 2004). در بررسی حاضر افزایش qN تنها در شرایط تنش و مصرف پراکسید هیدروژن علاوه بر تولید بیشتر الکترون‌های پرانرژی و مازاد در اثر تیمارها، می‌تواند از آسیب زیاد دستگاه فتوسنتزی جلوگیری کند. کاهش تثبیت خالص دی اکسید کربن می‌تواند هم به دلیل محدودیت روزنه‌ای و هم کاهش واکنش‌های فتوشیمیایی باشد (Hawkesford et al., 2012).

وزن خشک بوته: وزن خشک بوته نیز تحت تأثیر اثرات اصلی تنش و محلول پاشی در سطح ۱ درصد قرار گرفت (جدول ۴). تنش خشکی موجب کاهش میزان ماده خشک

فنلی به عنوان رنگدانه‌های کمکی در شرایط تنش عمل نموده و مقدار آنها افزایش یافت ولی میزان دیگر رنگدانه‌های کمکی (آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها) کاهش یافتند. افزایش کاروتنوئیدها در گیاهان تحت تنش به واسطه نقش حفاظتی این رنگیزه‌ها است که باعث محافظت کلروفیل در برابر اکسیداسیون نوری می‌شوند (Inze and Montagu, 1995). همچنین ترکیبات فنلی هم به‌عنوان عوامل آنتی اکسیدان و هم به‌عنوان ترکیبات کلاته‌کننده فلزات، نقش مهمی در ایجاد تحمل نسبت به تنش در گیاهان بر عهده دارند (Kovacic et al., 2010). کاهش میزان ترکیبات فلاونوئیدی در این مطالعه نیز می‌تواند به علت سنتز این ترکیبات به سایر ترکیبات فنولی از جمله لیگنین باشد. تحقیقات نشان داده است در شرایط تنش، فنول‌های متصل به دیواره بیشتر از فنل‌های محلول تحت تأثیر قرار می‌گیرند (Matsouka et al., 2011). کاهش غلظت آنتوسیانین‌ها نیز می‌تواند موجب افزایش حساسیت به شدت های بالای نور در گیاهان دچار تنش خشکی شده و بازدارندگی نوری را کاهش می‌دهد (Farrant, 2000).

شاخص‌های فلورسانس رنگدانه‌ها: نتایج نشان داد، فلورسانس رنگدانه‌ها (نسبت فلورسانس لحظه‌ای به فلورسانس پایه F_v/F_0)، نسبت فلورسانس لحظه‌ای به بیشینه در تاریکی F_v/F_m)، فلورسانس متغیر به پایه در شرایط روشنایی F'_v/F'_m)، خاموش شدگی فتوشیمیایی (qP)، غیر فتوشیمیایی (qNP) و عملکرد کوانتومی ($PSII^o$) تحت تأثیر اثرات اصلی تنش قرار گرفتند (جدول ۴). تنش موجب افزایش F_v/F_m ، NPQ و $PSII$ و کاهش مقدار F_v/F_0 و qP شد. بالاترین مقدار F_v/F_0 با میانگین $3/20$ از تنش ۸۵ درصد ظرفیت زراعی و qP با میانگین 0.933 از تنش ۵۵ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد. این در حالی بود که بالاترین F_v/F_m از تنش ۶۰ درصد و بالاترین F'_v/F'_m و NPQ و $PSII$ از تنش ۳۵ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۵). محلول پاشی پراکسید هیدروژن نیز بر شاخص‌های فلورسانس رنگدانه‌ها به جز NPQ دارای تأثیر معنی‌داری بود (جدول ۴). مصرف پراکسید هیدروژن موجب افزایش اکثر شاخص‌ها به

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس فلروسانس رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تنش خشکی و محلول پاشی پراکسید هیدروژن

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					وزن خشک گیاه
		PSII°	qP	NPQ	F'v/F'm	Fv/Fm	
تنش	۲	۰/۰۰۰۹*	۰/۰۰۵۳*	۰/۰۹۲*	۰/۰۰۴۹*	۰/۰۰۰۸*	۱۹/۴۳۷**
پراکسید هیدروژن	۳	۰/۰۰۱۱**	۰/۰۰۶۰**	۰/۱۴۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۲**	۰/۰۰۱۶*	۸/۸۰۶**
اثرات متقابل	۶	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۳۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۸ ^{ns}	۲/۲۹۲ ^{ns}
خطا	۲۴	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۱۳	۰/۰۱۷۶	۰/۰۰۱۴	۰/۰۰۰۲	۱/۸۳۹
ضریب تغییرات	-	۱/۵۱	۳/۸۴	۲۴/۲۶	۴/۱۴	۱/۶۱	۱۵/۰۳

ns، * و ** به ترتیب غیره معنی دار، معنی داری در سطح ۵ و ۱ درصد

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات اصلی فلروسانس رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تنش خشکی و پراکسید هیدروژن

تیمار	Fv/F0	Fv/Fm	F'v/F'm	NPQ	qP	PSII°	وزن خشک گیاه (g)
تنش خشکی	۲/۲۴	۰/۸۰۷	۰/۸۴۳	۰/۴۳۴	۰/۸۶۵	۰/۷۹۰	۷/۷۳
۳۵٪	۳/۱۲	۰/۸۱۳	۰/۸۱۹	۰/۳۱۲	۰/۹۳۳	۰/۷۷۳	۹/۰۸
۸۵٪	۳/۲۰	۰/۷۸۶	۰/۷۷۴	۰/۲۵۴	۰/۹۳۱	۰/۷۶۰	۱۰/۲۸
LSD 0.05	۰/۷۲۲	۰/۰۲۲	۰/۰۵۳	۰/۱۳۴	۰/۰۵۶	۰/۰۱۹	۱/۱۴
LSD 0.01	۰/۹۷۹	۰/۰۲۹	۰/۰۷۲	۰/۱۸۲	۰/۰۷۶	۰/۰۲۵	۱/۵۴
پراکسید هیدروژن	۰	۰/۷۷۶	۰/۸۰۵	۰/۱۸۲	۰/۹۴۷	۰/۷۷۱	۸/۵۷
۲/۵	۲/۶۷	۰/۷۹۲	۰/۸۱۲	۰/۳۰۲	۰/۹۳۷	۰/۷۹۶	۱۰/۲۸
۵	۲/۶۸	۰/۸۰۸	۰/۸۲۳	۰/۳۶۲	۰/۹۱۵	۰/۷۸۲	۹/۲۶
۷/۵	۲/۳۷	۰/۸۳۲	۰/۸۰۸	۰/۴۸۸	۰/۸۴۰	۰/۷۴۸	۷/۹۸
LSD 0.05	۰/۸۳۴	۰/۰۲۵	۰/۰۶۱	۰/۱۵۵	۰/۰۶۴	۰/۰۲۲	۱/۳۱
LSD 0.01	۱/۱۳	۰/۰۳۴	۰/۰۸۳	۰/۲۱۰	۰/۰۸۷	۰/۰۲۹	۱/۷۸

مولار پراکسید هیدروژن هرچند در مقایسه با شاهد بیشتر بوده ولی موجب روند نزولی وزن خشک شد و در نهایت در غلظت ۷/۵ میلی مولار به حداقل مقدار خود (۷/۹۸ گرم) رسید (جدول ۵). کاهش وزن خشک در اثر تنش توسط ایزدی و همکاران (۱۳۹۳) در نعناع و سایر ام و همکاران (۱۳۹۴) در زوفا و لطف الهی و همکاران (۱۳۹۴) در بابونه نیز گزارش شده است. کاهش میزان فتوسنتز به علت تخریب رنگدانه‌های فتوسنتزی و همچنین مصرف کربوهیدرات‌های تولید برای تولید اسمولیت‌ها در شرایط تنش، از علت‌های کاهش وزن

تولیدی نعناع فلفلی شد. بالاترین وزن خشک نعناع با میانگین ۱۰/۲۸ گرم در بوته از شرایط بدون تنش (۸۵ درصد ظرفیت زراعی) و کمترین وزن خشک نیز از تنش شدید (۳۵ درصد ظرفیت زراعی) با میانگین ۷/۷۳ گرم حاصل شد که این نشان‌دهنده کاهش ۲۵ درصدی وزن خشک در اثر تنش بود. همچنین محلول پاشی پراکسید هیدروژن تأثیر مثبتی بر وزن خشک داشت. مصرف ۲/۵ میلی مولار بهترین تأثیر را بر وزن خشک داشته، به طوریکه وزن خشک بوته از ۸/۵۷ گرم به ۱۰/۲۸ گرم افزایش یافت. مصرف مقادیر بالاتر از ۲/۵ میلی

جدول ۶- نتایج رگرسیونی پیش‌بینی وزن خشک بوته توسط رنگدانه‌های مختلف فتوسنتزی.

نوع معادله	معادله	ضرایب رگرسیونی				F	R Square	صفت مستقل
		B	B ₁	B ₂	B ₃			
مرکب	$Y = b + b^x_1$	۱۲/۰۴	۰/۹۷۸	ns	ns	۱۰/۲۷*	۰/۲۳۲	کلروفیل a
خطی	$Y = b + (b_1x)$	۹/۶۸	-۰/۱۲۵	ns	ns	۱/۱۰	۰/۰۳۱	کلروفیل b
معکوس	$Y = b + (b_1/x)$	۹/۰۹	-۰/۰۸۱	ns	ns	۰/۴۷۴	۰/۰۱۴	کارتونوئیدها
مرکب	$Y = b + b^x_1$	۱۱/۳۱	۰/۹۸۷	ns	ns	۶/۶۶*	۰/۱۶۴	کلروفیل کل
درجه سوم	$Y = b + (b_1x) + (b_2x^2) + (b_3x^3)$	-۱۰/۸۶	۴۰/۴۹	-۳۳/۸۱	ns	۰/۷۸۸	۰/۰۶۹	b/a
درجه دوم	$Y = b + (b_1x) + (b_2x^2)$	۷/۳۶	۲/۰۳	-۰/۴۹۵	ns	۱/۴۸	۰/۰۸۳	آنتوسیانین‌ها
توان	$Y = b + b^x_1$	۳۰/۰۵	-۰/۳۹۵	ns	ns	۶/۵*	۰/۱۶۱	فلاونوئیدها
S	$Y = e^{(b + (b_1/t))}$	۱/۹۲	۱۶/۷۲	ns	ns	۰/۱۱۲	۰/۰۰۳	فنل کل

* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد.

جدول ۷- نتایج رگرسیونی پیش‌بینی وزن خشک بوته توسط فلورسانس رنگدانه‌های .

نوع معادله	معادله	ضرایب رگرسیونی				F	R Square	صفت مستقل
		B	B ₁	B ₂	B ₃			
مرکب	$Y = b + b^x_1$	۱۵/۹۷	۱/۰۳	ns	ns	۷/۳۷*	۰/۱۷۸	PSII°
S	$Y = e^{(b + (b_1/t))}$	۰/۲۹۳	۱/۸۵	ns	ns	۰/۹۵۴	۰/۰۲۷	qP
مرکب	$Y = b + b^x_1$	۸/۳۷	۱/۱۸	ns	ns	۱/۰۴۹	۰/۰۳۰	NPQ
مرکب	$Y = b + b^x_1$	۴/۶۵	۲/۲۱	ns	ns	۲/۲۵	۰/۰۶۲	F'v/F'm
درجه سوم	$Y = b + (b_1x) + (b_2x^2) + (b_3x^3)$	-۲۲/۶۲	۰/۰۰	۱۴۵/۱	-۱۱۹/۳	۰/۷۳۱	۰/۰۴۲	Fv/Fm
معکوس	$Y = b + (b_1/x)$	۵/۹۱	۸/۲	ns	ns	۶/۸۷*	۰/۱۶۸	Fv/F0

* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی، افزایش برخی شاخص‌ها مانند فلورسانس و رنگدانه‌های کمکی و کاهش وزن خشک گیاه شد. محلول پاشی پراکسید هیدروژن نیز موجب بهبود سیستم فتوسنتزی، شاخص‌های فلورسانس رنگدانه‌ها و در نهایت وزن خشک بوته شد. مصرف ۲/۵ میلی‌مولار بهترین نتیجه را داشته، ولی نتوانست تأثیرات تنش را بهبود دهد به طوری که در اکثر صفات مورد بررسی اثر متقابل تنش در پراکسید هیدروژن معنی‌دار نبود. در بین رنگدانه‌های فتوسنتزی، میزان کلروفیل a بالاترین رابطه رگرسیونی با وزن خشک بوته در تمام شرایط را داشت

خشک می‌باشد. نتایج تجزیه رگرسیونی نشان داد، در بین رنگدانه‌های فتوسنتزی و کمکی تنها تغییرات میزان کلروفیل a، کل و فلاونوئیدها با تغییرات وزن خشک بوته دارای رابطه معنی‌داری بودند. تغییرات کلروفیل کل و a از نوع مرکب و تغییرات فلاونوئیدها از نوع توان‌دار بود. در بین این صفات بالاترین ضریب تبیین (۰/۲۳۲) از میزان کلروفیل a مشاهده شد (جدول ۶). در بین شاخص‌های فلورسانس رنگدانه‌ها نیز تنها PSII° و Fv/F0 با تغییرات وزن خشک دارای رابطه معنی‌داری بودند. تغییرات PSII° با ضریب تبیین ۰/۱۷۸ از نوع مرکب و تغییرات Fv/F0 با ضریب تبیین ۰/۱۶۸ از نوع معکوس بود (جدول ۷).

که می‌تواند شاخص مناسبی جهت پیش‌بینی وزن خشک به شمار آید.

منابع

امید بیگی، ر. و محمودی سورستانی، م. (۱۳۸۹). اثر تنش خشکی بر برخی صفات مورفولوژی، میزان و عملکرد اسانس گیاه گل مکزیکی *Agastache foeniculum*[pursh]kuntze. مجله علوم باغبانی ایران ۴: ۱۶۱-۱۵۳.

ایزدی، ز. اثنی عشری، م. و احمدوند، گ. (۱۳۸۸). تأثیر تنش خشکی بر عملکرد، میزان پرولین، قندهای محلول، کلروفیل، محتوای نسبی آب و میزان اسانس در نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.). مجله علوم و فنون باغبانی ایران ۱۰: ۲۳۴-۲۲۳.

حاجی بلند، ر. رادپور، ا. و پاسبانی، ب. (۱۳۹۳). تأثیر کمبود فسفر بر تحمل تنش خشکی در دو رقم گیاه گوجه فرنگی (*Solanum lycopersum* L.). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲۷: ۸۰۳-۷۸۸.

حسیبی، پ.، مرادی، ف. و نبی پور، م. (۱۳۸۷). اثر دمای پایین بر سازوکار آنتی‌اکسیدان‌های ژنوتیپ‌های حساس و متحمل برنج در مرحله گیاهچه ای. مجله علوم زراعی ایران ۱۰: ۳-۲۶۲.

رسام، ق.، دادخواه، ع. و خوشنود یزدی، ا. (۱۳۹۳). ارزیابی تأثیر کمبود آب بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه دارویی زوفا. شریه دانش زراعت ۱۰: ۱-۱۲.

رضاپور، ع.، حیدری، م.، گلوی، م. و رمودی، م. (۱۳۹۰). تأثیر تنش خشکی و مقادیر مختلف گوگرد بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه و تنظیم‌کننده‌های اسمزی در گیاه دارویی سیاه دانه. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۷: ۸۲۷-۸۴۰.

قلیچ، س.، زرین کمر، ف. و نیکنام، و. (۱۳۹۴). بررسی میزان انباشتگی سرب و تأثیر آن بر فعالیت آنزیم پراکسیداز، محتوای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در مرحله جوانه‌زنی در گیاه یونجه. مجله پژوهش‌های گیاهی. مجله زیست‌شناسی ایران جلد ۲۸: ۱۷۴-۱۶۴.

گلدانی، م.، سلاح ورزی، ی.، نباتی، ج. و علیرضایی نغندر، م. ۱۳۹۱. اثر کاربرد خارجی پراکسید هیدروژن بر برخی از شاخص‌های تحمل به شوری مرزنجوش (*Origanum majorana* L.). نشریه علوم باغبانی ۲۶: ۱۶۱-۱۵۳.

لطف الهی، ل.، ترابی گلسفیدی، ح. و امید، ح. (۱۳۹۴). بررسی تأثیر سطوح مختلف شوری بر پرولین، رنگدانه‌های فتوسنتزی و رطوبت نسبی برگ گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.). در محیط آبکشت شریه پژوهش‌های تولید گیاهی. ۲۲: ۸۹-۱۰۴.

Anonymous. (2009) Peppermint. In Dombek .C .ed. Lawrence, Review of Natural Products. St. Louis: Facts and Comparison. 362:120-121

Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112- 121.

Azevedo Neto, A. D., Tarquinio Priscob, J., Eneas-Filho, J., Medeiros, J. V. R. and Gomes-Filho, E. (2005) Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. Journal Plant Physiology 162: 1114-1122.

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., and Mentha, L. (2008) Species (*Lamiaceae*) as promising sources of bioactive secondary metabolites. Current Pharmaceutical Design 14: 314 – 50.

Farrant, J. M. (2000) A comparison of mechanisms of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species. Plant Ecology 151: 21-39.

Fu, J. and Huang, B. (2001) Involvement of antioxidant and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Journal Environmental and Experimental Botany 45:105-114.

Handa, S., Handa, A. K., Hasegawa, P. M., and Bressan, R. A. (1986) Proline accumulation and the adaptation of cultured plant cell to water stress. Plant Physiology 80: 938-945.

Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Skrumsager Moller, I. and White, P. (2012) Functions of macronutrients. In: Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (ed. Marschner, P.) 135-189. Academic Press, London, U.K.

Inze, D., and Montagu, M. V. (1995) Oxidative stress in plants. Current Opinion in Biotechnology 153-158.

- Ishibashi, Y., Yamaguchi, H., Yuasa, T., Iwaya-Inoue, M., Arima, S. and Zheng, S. H. (2011) Hydrogen peroxide spraying alleviates drought stress in soybean plants. *Journal Plant Physiology* 168:1562-1567.
- Jongdee, B., Fukai, S. and Cooper, M. (2002) Leaf water potential and osmotic adjustment as physiological traits to improve drought tolerance in rice. *Field Crops Research* 76:153-163.
- Kovacik, J., Klejdus, B., Hedbavny, J., covska, S. and Zon, J. (2010) Significance of phenols in cadmium and nickel uptake. *Journal of Plant Physiology* 168: 576-584.
- Krause, G. H. and Jahns, P. (2004) No photochemical energy dissipation determined by chlorophyll fluorescence quenching: characterization and function. In: *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis* (eds. Papageorgiou, G. C. and Govindjee, P.) Pp. 463–495. Springer, Dordrecht, Netherland
- Krizek, D. T., Britz, S. J. and Mirecki, R. M. (1998) Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of, new red fire lettuce. *Physiology Plant* 103:1- 7.
- Liheng, H., Zhiqiang, G. and Runzhi, K. (2009) Pretreatment of seed with H₂O₂ enhances drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *African Journal Biotechnology* 8:6151-6157.
- Matsouka, I., Beri, D., Chinou, I., Haralampidis, K. G. and Spyropoulos, C. (2011) Metals and selenium induce medicarpin accumulation and excretion from the roots of fenugreek seedlings: a potential detoxification mechanism. *Plant Soil Published Online*.
- Maxwell, K. and Johnson, G. N. (2000) Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Journal Environmental and Experimental Botany* 51:659-668.
- Misra, A. and Sricastatva, N. K. (2000) Inference of Water stress on Japanese mint .*Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 7:51-58.
- Ronald, S. F. and Laima, S. K. (1999) Phenolic and cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agriculture* 1: 1-5.
- Sairam, R. K. and Srivastava, G. C. (2001) Water stress tolerance of wheat *Triticu aestivum* L. Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activiy in to lerant and susceptible genotype. *Journal Agronomy Crop Science* 186:63-70.
- Sydney, A, Soares, P. M. G, Saldanha, D. E., Almeida, A. N., Rufino Maia, A., Prata de Souza., E., and Sampaio Assreuy, A. N. (2010) Antispasmodic effect of *Mentha piperita* essential oil on tracheal smooth muscle of rats. *Journal Ethnopharmacol* 130: 433 -436.
- Tambussi, E. A., Bartoli, C. G. Bettran, J. Guiamet, J. J. and Araus, J. C. (2000) Oxidative damage to thylakoids proteins in water stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* 108: 398-404.
- Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. and Koca, H. (2005) Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought - tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. Subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science* 168:223-231.
- Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 88-93.
- Yong, H., Zhujun, Z., Jing, Y., Xiaolei, Ni. and Biao, Z. (2009) Grafting increases the salt tolerance of tomato by improvement of photosynthesis and enhancement of antioxidant enzymes activity. *Environmental and Experimental Botany* 66: 270-278.