

## بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) در واکنش به محلول پاشی سالیسیلیک اسید و تنش کادمیوم

منیژه سبکدست نودهی<sup>۱\*</sup>، ترانه کریمی مقدم<sup>۱</sup>، بابک متشروع زاده<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران  
<sup>۲</sup> گروه علوم و مهندسی خاک، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

\*نویسنده مسئول: [sabokdast@ut.ac.ir](mailto:sabokdast@ut.ac.ir)

### چکیده

کادمیوم فلز آلاینده محیطی و دارای آثار منفی بر رشد و عملکرد گیاه است. یکی از راه‌کارهای مورد استفاده جهت کاهش تأثیرات منفی ناشی از تنش‌های فلزات در گیاهان کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد از جمله اسید سالیسیلیک می‌باشد. در پژوهش حاضر برای اولین بار به منظور بررسی اثر کادمیوم و سالیسیلیک اسید بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو و اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار اجرا گردید. کادمیوم کلراید در چهار سطح (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم برلیتر کادمیوم) و سالیسیلیک اسید در دو سطح (صفر و ۱ میلی‌گرم برلیتر) بر روی گیاه نعناع فلفلی محلول‌پاشی شد. نتایج نشان داد که تنش کادمیوم اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز و کاتالاز و ترکیبات اسانس در برگ‌های گیاه نعناع فلفلی داشت. میزان منتول کاهش و سایر ترکیبات مانند منتو فوران و پولگون افزایش یافت. کاربرد سالیسیلیک اسید باعث افزایش بیشتر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز نسبت به تنش کادمیوم شد. همچنین میزان منتول نسبت به سایر ترکیبات اسانس در برگ نعناع فلفلی افزایش یافت که سبب افزایش کیفیت اسانس گردید. نتایج پژوهش حاضر نشان داد پیش تیمار سالیسیلیک اسید با بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی و افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان در معرض تنش کادمیوم باعث افزایش تحمل گیاه و کیفیت اسانس نسبت به کادمیوم شد.

**واژه‌های کلیدی:** اسانس، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش غیر زیستی، نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

### مقدمه

گیاهان دارویی منابع طبیعی ارزشمندی هستند که امروزه مورد توجه کشورهای پیشرفته جهان قرار گرفته و به‌عنوان مواد اولیه جهت تبدیل به داروهای بی‌خطر برای انسان تلقی می‌شوند. در این زمینه ایران یکی از غنی‌ترین منابع گیاهان دارویی جهان به شمار می‌رود که دارای تنوع بالای شرایط زیستگاهی برای انواع این گیاهان هست. نعناع فلفلی از تیره لامیاسه از جمله گیاهان دارویی است که مصارف گسترده‌ای در صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی دارد. بومی مناطق معتدله دنیا به‌ویژه اروپا، آمریکای شمالی و شمال آفریقا هست، اما امروزه نعناع فلفلی در سراسر دنیا کشت می‌شود. نعناع فلفلی حاوی ۱/۲٪ تا ۱/۵٪ روغن فرار است که ۳۰٪ تا ۵۰٪ آن را منتول و استرهای منتول و بیش از ۴۰٪ ترکیب دیگر تشکیل می‌دهد. ترکیب‌های اصلی اسانس نعناع فلفلی را منتول (۴۰٪ تا ۵۰٪)، منتون (۲۰٪ تا ۳۰٪)، متیل استات (۱٪ تا ۳٪) و غیره تشکیل می‌دهند. (Singh et al., 2015). تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی تحت کنترل ژنتیکی است، ولی عوامل محیطی به ویژه شرایط تنش‌زا، نقش عمده‌ای در کمیت و کیفیت این مواد به عهده‌دارند. کادمیوم یک عنصر سمی غیر ضروری است که به‌طور طبیعی در اکثر خاک‌ها وجود داشته و نیمه‌عمر طولانی دارد. این عنصر اغلب از طریق کودهای فسفره و منابع مختلف دیگر نظیر آفت‌کش‌ها و حفاری معادن به خاک‌های کشاورزی و زراعی افزوده شده و در گیاهان انباشته می‌شود. یکی از دلایل تجمع بالای این فلز در گیاهان انتقال و جابجایی سریع آن در بافت‌ها و اندام‌ها است. انباشته کادمیوم سبب تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و ساختاری بسیاری نظیر عدم تعادل آب، مهار جوانه‌زنی، مهار فتوسنتز، کاهش رشد به ویژه در رشد ریشه، اختلال در تغذیه معدنی و متابولیسم قند در گیاه شده و بنابراین به شدت بر روی تولید بیومس تأثیر گذاشته و در نهایت می‌تواند سبب مرگ گیاه شود. بعلاوه کادمیوم با ایجاد تنش اکسیداتیو و در نتیجه تولید رادیکال‌های آزاد سبب توقف

مسیرهای متابولیکی گیاه و تخریب ساختارهای سلولی می‌شود (Zheng *et al.*, 2010). بنابر تحقیقات متعدد یکی از راهکارهای کاهش آثار زیان‌بار فلزات سنگین در گیاه به کارگیری تنظیم‌کننده‌های رشد قابل‌دسترس همچون اسید سالیسیلیک است (Popova *et al.*, 2008). طی سال‌های اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای بر نقش اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان مهم در واکنش گیاه به تنش‌های غیر زیستی انجام شده است. سالیسیلیک قابل‌حل در آب بوده و یک ترکیب آنتی‌اکسیدان و از جمله هورمون‌های گیاهی است که نقش مهمی در پاسخ گیاه به تنش‌های غیرزنده مانند خشکی، سرما، فلزات سنگین، گرما و تنش اسمزی دارد (Moussa and Gamal., 2010). همچنین این هورمون اثرات زیان‌آور کادمیوم را روی رشد گیاهان کتان کاهش داده است (Belkhandi *et al.*, 2010). احتمال می‌رود که سالیسیلیک اسید بتواند با کادمیوم کمپلکس تشکیل داده و تعادل کادمیوم را در گیاه ایجاد کند (Chien *et al.*, 2001). با توجه به اینکه نعنای فلفلی از گیاهان دارویی معطر و اسانس‌دار با مصارف متعدد دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی است، از این رو شناخت و بررسی عوامل مؤثر در تولید مواد مؤثره در این گونه دارویی در شرایط تنش‌زا مهم هست. با توجه به نبود اطلاعاتی در این زمینه، داده‌های این پژوهش می‌توانند در شناخت واکنش‌های فیزیولوژیکی، مکانیزم‌های دفاعی و تغییرات فیتوشیمیایی گیاه نعنای فلفلی در پاسخ به تنش کادمیوم مؤثر باشند و نقش تعدیل‌کنندگی سالیسیلیک اسید را به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی نشان دهند.

### مواد و روش‌ها

برای بررسی اثرات کادمیوم و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان اسانس گیاه دارویی نعنای فلفلی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار در گلخانه گروه زراعت و اصلاح نباتات واقع در پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام شد. دو فاکتور مورد مطالعه شامل چهار غلظت کادمیوم (صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر) و اسید سیالیکی در غلظت یک میلی‌گرم بر لیتر بود. در ابتدا خاک با غلظت‌های مختلف نمک نیترات کادمیوم تیمار شد. بدین صورت که نمک نیترات کادمیوم در غلظت‌های مشخص (۱۰، ۲۰، ۴۰ میلی‌گرم در لیتر) در آب مقطر حل شده و به‌صورت لایه‌لایه به خاک اسپری شد. سپس به مدت دو ماه، در گلدان‌های سه کیلویی، در گلخانه نگهداری شد و آبیاری به‌منظور تثبیت کادمیوم در خاک در حدود ۸۰٪ ظرفیت زراعی با آب مقطر به‌طور منظم انجام گرفت.

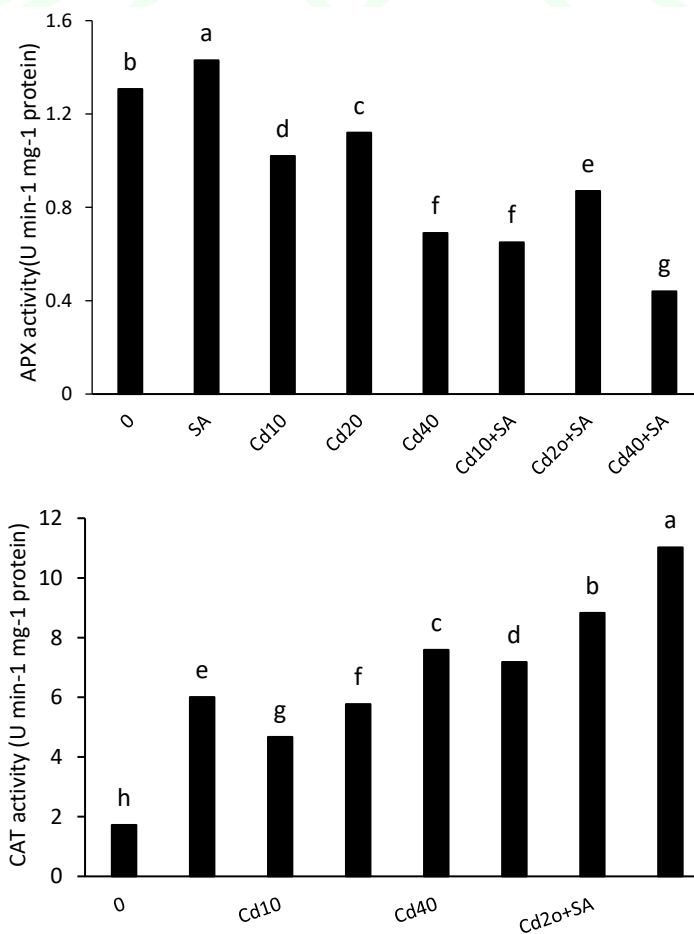
ریزوم‌های نعنای فلفلی از دانشگاه شهید بهشتی تهیه و در گلدان‌های حاوی خاک‌آلوده به کادمیوم، کاشته شدند. بعد از دو ماه قبل از مرحله گلدهی تیمار سالیسیلیک به‌صورت محلول‌پاشی بر روی اندام‌های هوایی انجام شد. آب مقطر نیز به‌عنوان تیمار شاهد مورد استفاده قرار گرفت. برداشت بخش‌های نعنای فلفلی یک روز پس از اعمال تیمار انجام شد. برای استخراج و اندازه‌گیری اسانس، بوته‌ها در دمای اتاق (حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در سایه خشک گردیدند و بعد با استفاده از دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری شدند. تعیین ترکیب‌های اسانس با استفاده از دستگاه GC/MS انجام شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) از روش Meahly و Chance (1995) استفاده شد.

### نتایج و بحث

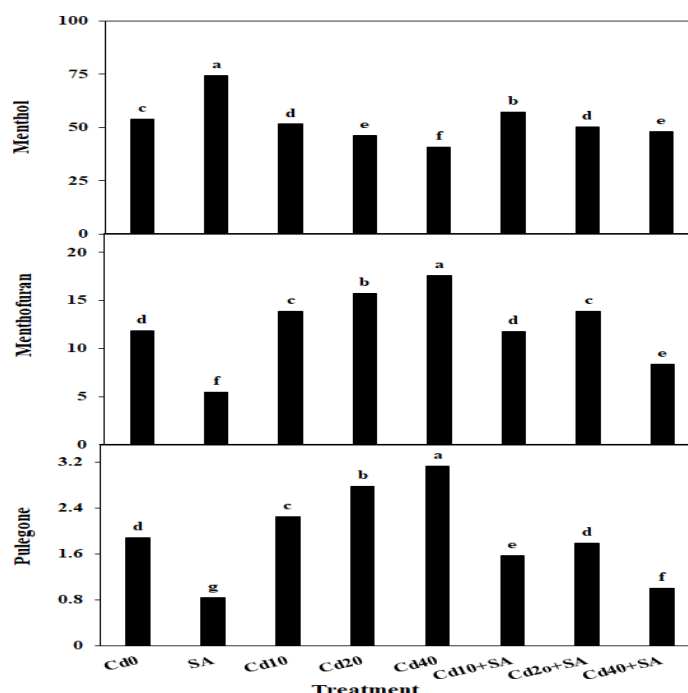
نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان که تیمار کادمیوم باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌شود و تیمار اسید سیالیکی باعث افزایش بیشتر این ترکیبات در تمامی سطوح کادمیوم می‌شود (شکل ۱). این امر نشان‌دهنده القای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به وسیله سالیسیلیک اسید با از بین بردن رادیکال‌های آزاد به‌طور مستقیم یا توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که خسارت ناشی از این گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهد و این با نتایج Lu و همکاران (۲۰۱۸) و Mohamed و Agami (۲۰۱۳) مطابقت دارد.

نوع و میزان ترکیب‌های سازنده اسانس موجود در بخش‌های گیاه نعنای فلفلی پس از استخراج، با دستگاه GC/MS و تعیین شدند. ترکیب غالب اسانس بخش‌های نعنای فلفلی در تحقیق حاضر در گروه شاهد و گروه تحت تیمار شامل منتول، پولگون و منتوفوران بودند. در مورد منتول که یکی از اجزاء اصلی اسانس نعنای فلفلی می‌باشد می‌توان گفت بیشترین میزان منتول در تیمار سالیسیلیک اسید مشاهده شد. در مورد ترکیب منتوفوران و پولگون که به‌عنوان یک ترکیب نامطلوب در اسانس نعنای فلفلی

شناخته شده‌اند در نمونه‌های تیمار شده با کادمیوم به‌تنهایی، با افزایش غلظت کادمیوم مقدار این ماده نیز افزایش یافت در حالی که در نمونه‌های تیمار شده با کادمیوم و سالیسیلیک اسید، میزان این ترکیب کاهش نشان داد. Popova و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که اسید سالیسیلیک و جاسمونات دارای نقش دوگانه در تکامل و دفاع می‌باشند. این ترکیبات می‌توانند با القای مسیرهای علامت رسانی باعث فعال شدن واکنش‌های دفاعی در گیاه شده در نتیجه باعث افزایش فعالیت تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه می‌شود.



شکل ۱- اثر اسید سالیسیلیک (یک میلی‌گرم در لیتر) در غلظت‌های مختلف کادمیوم (میلی‌گرم بر لیتر) بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه نعنا فلفلی



شکل ۲- اثر اسید سالیسیلیک (یک میلی‌گرم در لیتر) در غلظت‌های مختلف کادمیوم (میلی‌گرم بر لیتر) بر میزان منتول، منتوفوران و پولگون در نعنا فلفلی

### نتیجه‌گیری

این نتایج اولین گزارش از اثر کاربرد اسید سالیسیلیک تحت تنش کادمیوم بر روی گیاه داروی نعنا فلفلی است. نتایج به‌خوبی نشان داد که اسید سالیسیلیک به‌واسطه تنظیم فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان، به بهبود شرایط تنش کادمیوم و افزایش مقاومت نعنا فلفلی در مقابل تنش، کمک می‌کند؛ بنابراین اسید سالیسیلیک می‌تواند دامنه وسیعی از امکانات را برای برنامه‌های کاربردی بالقوه در کشاورزی ایجاد کند و به‌عنوان یک رویکرد مفید برای کاهش اثرات مخرب تنش‌های غیر زیستی در بهره‌وری گیاهان دارویی استفاده گردد.

### منابع

- Ahkami, A., Johnson, S.R., Srividya, N., Lange, B.M. 2015. Multiple levels of regulation determine monoterpenoid essential oil compositional variation in the mint family. *Molecular Plant*; 8 (1): 188-191.
- Agami, R. A. and Mohamed, G. F. 2013. Exogenous treatment with indole-3-acetic acid and salicylic acid alleviates cadmium toxicity in wheat seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 94: 164-171.
- Belkhadi, A., Hediji, H., Abbes, Z., Nouairi, I., Barhoumi, Z., Zarrouk, M., Chabi, W., Djebali, W. 2010. Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73:1004-1011.
- Chance, B., Meahly, A.C. 1955. Assay of catalases and peroxidase. *Methods Enzymology*, 2: 764-775.
- Chien, H. F., Wang, J. W., Chi Lin, C., Huei Kao, C. 2001. Cadmium toxicity of rice leaves is mediated through lipid peroxidation. *Plant Growth Regulation*, 33: 205- 21.

- Lu, Q., Zhang, T., Zhang, W., Su, C., Yang, Y., Hu, D. and Xu, Q. 2018. Alleviation of cadmium toxicity in *Lemna minor* by exogenous salicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147: 500-508.
- Moussa, H. R., S. M. EL-Gamal. 2010. Effect of salicylic acid pretreatment on cadmium toxicity in wheat. *Biologia Plantarum*, 54 (2): 315- 320.
- Popova, L., Maslenkova, L. Yordanova, R., Krantev, A., Szalai, G., Janda, T. 2008. Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. *General and Applied Plant Physiology*, 34 (3-4): 133- 148.
- Singh, R., Shushni, M.A.M., Belkheir, A. 2015. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3): 322-328.
- Zheng, G., Lv, H.P., Gao, S., Wang, S.R., 2010. Effects of cadmium on growth and antioxidant responses in *glycyrrhiza uralensis* seedlings. *Plant, Soil Environ.* 56, 508-515

دوازدهمین کنگره علوم باغبانی ایران - ۱۴ تا ۱۷ شهریور ماه ۱۴۰۰ - دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان

## Evaluation of antioxidant enzymes activities and essential oils of *Mentha piperita* L. in response to foliar application of salicylic acid and cadmium stress

Manijeh Sabokdast <sup>\*1</sup>, Taraneh Karami Moghadam<sup>1</sup>, Babak Motsharzadeh<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

<sup>1</sup>Department of Soil Science Engineering Faculty of Agricultural Engineering & Technology College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

\*Corresponding author: [sabokdast@ut.ac.ir](mailto:sabokdast@ut.ac.ir)

### Abstract

Cadmium (Cd) is an environmentally polluting metal that has a negative effect on plant growth and yield. One of the strategies used to reduce the negative effects of various stresses on plants is the application of growth regulators such as salicylic acid. In the present study, for the first time, in order to investigate the effect of cadmium stress and salicylic acid treatments on the activity of antioxidant enzymes and essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.), a factorial experiment in a completely randomized design with four replications was conducted. Cadmium chloride on four levels (zero, 10, 20 and 40 mg / ml) and salicylic acid at two levels (zero and 1 mg / l) was sprayed on peppermint. The results showed that cadmium stress had a significant effect on the activity of ascorbate peroxidase and catalase and essential oil compounds in the leaves of peppermint. The amount of menthol decreased and other compounds such as menthofuran and, pulegone increased. Application of salicylic acid increased the activity of catalase and ascorbate peroxidase enzymes more than cadmium stress. Also, the amount of menthol increased compared to other essential oil compounds in peppermint leaves, which increased the quality of essential oil. The results of the present study showed that salicylic acid pretreatment increased plant tolerance and essential oil quality compared to cadmium by improving the antioxidant system and increasing secondary metabolites in plants exposed to cadmium stress.

**Keywords:** Abiotic stress, Antioxidant enzyme. Essential oil, peppermint (*Mentha piperita* L.)