Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 51, No 4, Winter 2021 (175-189)
DOI: 10.22059/ijfcs.2020.275690.654583

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۵۱، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۹ (ص۱۸۹-۱۷۵)

بررسی خصوصیات فیزیولوژیک، فعالیت آنزیمی و کیفیت نعناع‌فلفلی تحت تاثیر اسید سالیسیلیک، سولفات روی و تنش آبی

فاطمه جهانی[۱]، حمیدرضا توحیدی مقدم*[۲]، حمید رضا لاریجانی[۲]، فرشاد قوشچی[۲]، میثم اویسی[۲]
۱و۲- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا.
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۹/۱۷)

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر اسید سالیسیلیک و روی، بر ویژگی‌های فیزیولوژیک، رشد و منتول نعناع‌فلفلی (*Mentha piperita* L.) در شرایط تنش آبی در سال ۱۳۹۷ در ورامین، به‌صورت طرح کرت های خرد شده فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. سه سطح ۵۰، ۷۰ و ۹۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک کلاس A در کرت-های اصلی و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در دو سطح صفر و یک میلی مولار و محلول‌پاشی روی مقادیر صفر، دو و چهار گرم در لیتر در کرت های فرعی قرار گرفتند. بیشترین میزان کاتالاز در شرایط کاربرد چهار گرم روی در لیتر به همراه مصرف اسید سالیسیلیک و در تیمار تنش ۵۰ میلی‌لیتر تبخیر از تشتک تبخیر به مقدار ۱/۲٤ میلی‌مول بر میلی‌گرم پروتیئن حاصل شد. در تمامی سطوح تنش آبی، مصرف اسید سالیسیلیک و سولفات روی موجب افزایش مقدار کاتالاز شد. اثر اصلی و متقابل تمامی تیمارها غیر از اثر متقابل تنش آبی در اسید سالیسیلی‌ک بر آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار آسکوربات پراکسیداز در تیمار چهار گرم روی در لیتر به همراه مصرف اسید سالیسیلیک و در تیمار تنش ۹۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر به مقدار ۱/٦۳ میلی‌مول بر میلی‌گرم پروتیئن به‌دست آمد. کمترین مقدار نیز در تیمار عدم مصرف روی و اسید سالیسیلیک و در حالت تنش ۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر به مقدار ۰/۵۳ میلی‌مول بر میلی‌گرم پروتیئن حاصل شد. مصرف سولفات روی و اسید سالیسیلیک می‌تواند در افزایش مقدار آنزیم‌ها و همچنین افزایش مقدار منتول موثر باشد که افزایش مقدار منتول در بحث صنایع دارویی کاربرد بسیاری دارد. بیشترین فعالیت کاتالاز در تیمار مصرف چهار گرم روی در لیتر به همراه مصرف اسید سالیسیلیک و در تیمار تنش ۵۰ میلی لیتر تبخیر از تشتک تبخیر به مقدار ۱/۲٤ میلی‌مول بر میلی‌گرم پروتیئن مشاهد شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم کاتالاز، تنش خشکی، نعناع‌فلفلی، منتول.

Effects of salicylic acid and zinc sulfate application on physiological properties, enzymatic activity and quality of peppermint under water stress

Fatemeh Jahani[1], Hamid Reza Tohidi Moghaddam*[2], Hamid Reza Larijani[3], Farshad Ghooshchi[3], Meysam Oveisi[3]
1,2,3- Department of Agriculture, Islamic Azad University of Varamin-Pishva
(Received: May 20, 2019- Accepted: December 8, 2019)

ABSTRACT

The present study was conducted to investigate the effect of salicylic acid and zinc applications on physiological, growth and menthol properties of peppermint (*Mentha piperita* L.) under water stress conditions in 2019 at Varamin as a split plot factorial arrangement in a randomized complete block design with three replications. The experiment consisted of three factors, including water stress based on evaporation from Class A evaporation pan (50, 70 and 90 mm evaporation from Class A pan) as main plots and salicylic acid foliar application at two levels of 0 and 1 mM and zinc spraying at 0, 2 and 4 g/L in the sub plots. The highest amount of catalase (1.24 Units/mg proteins) was obtained under the application of 4 g Zn per L with salicylic acid and 50 mm evaporation from evaporation pan at. At all levels of drought stress, salicylic acid and zinc sulfate applications increased the catalase content. The main and interaction effects of all treatments except the interaction effects of salicylic acid on ascorbate peroxidase were significant. The results showed that the highest amount of ascorbate peroxidase (1.63 Units/mg protein) was obtained in the treatment of 4 g Zn/L with salicylic acid and in the 90 ml evaporation treatment the evaporation pan. The lowest value (0.53 Units/mg protein) was obtained in the zero zinc and salicylic acid treatments at 50 mm evaporation from the evaporation pan. Zinc sulfate and salicylic acid consumption can be effective in the enzymes activity enhancement, especially catalase, where the highest catalase activity (1.24 unit / mg protein) was obtained in 4 g zinc per liter with salicylic acid and 50 ml evaporation in the evaporation pan, as well as increasing the amount of menthol, which is highly used in the pharmaceutical industry.

Keywords: Catalase, drought stress, menthol, peppermint.

* Corresponding author E-mail: tohidi@ iauvaramin.ac.ir

مقدمه

نعناع‌فلفلی (*Mentha piperita* L.) از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) با نام رایج پپرمینت[1]، یکی از گیاهان مهم دارویی است. این گیاه بومی اروپا است و کشت آن در سرتاسر جهان گسترش پیدا کرده است و به عنوان طعم دهنده در آدامس سازی، صنایع آرایشی، دارویی و غیره استفاده می‌شود (Çoban & Baydar, 2016; De Sousa Guedes *et al*., 2016). این گونه، دورگه طبیعی بین گونه های *M. aqutica* و *M. spicata* می‌باشد و تعداد کروموزوم آن با 2n بین ۶۶، ۷۲، ۸۴ و ۱۲۰ متغیر است (Çoban & Baydar, 2016). نعناع‌فلفلی در اکثر نواحی زمین پراکنده است، ولی بیشینه انتشار آن در نواحی مدیترانه‌ای می‌باشد. بر اساس مطالعات انجام شده، ماده موثره اصلی گونه *M. piperita*، منتول (۵۵-۳۰ درصد) است و از سایر ترکیب‌ها می‌توان به متیل استات (۱۷/۴ درصد) و منتون (۱۲/۷ درصد) پلی‌گن، منتوفوران، لیمونن و لیمون اشاره کرد. در بین متابولیت‌های دومی تولید شده در این گیاه، ترپن‌ها سهم عمده‌ای را به خود اختصاص داده‌اند (Hasani *et al*., 2015; Çoban & Baydar, 2017). نعناع‌فلفلی یکی از گیاهان مهم دارویی است، اما مصرف بالای آب می‌تواند یکی از تنگناهای کشت این گیاه برجسته در کشور باشد. با توجه به روند روز افزون کشت نعناع‌فلفلی در ایران و حجم بالای مصرف آب، ظاهرا می‌توان با کمک روش هایی از قبیل مصرف اسید سالیسیلیک و سولفات روی، میزان مصرف آب را کاهش داد.

امروزه با افزایش جمعیت و نیاز به غذا و محدودیت منابع آب، ارزش این ماده بیش از پیش روشن شده است. بیشتر از آن‌چه افزایش عملکرد در واحد سطح مد نظر باشد، افزایش عملکرد در واحد حجم آب مصرفی اهمیت یافته است (Keshavarz, 2020). تنش آبی در گیاهان، باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. برآورد شده که تقریباً یک درصد از اکسیژن مصرفی در گیاه، صرف تولید ROS در قسمت‌های مختلف سلول می‌شود (Cruz de Carvalho *et al*., 2012). سامانه‌های آنتی‌اکسیدان در سلول‌های گیاهی، غالباً در مواجه گیاه با تنش‌های محیطی افزایش می یابد و از این طریق گیاهان قادرند از خسارت ROS های ایجاد شده بکاهند (Rasool *et al*., 2013). ازجمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توان به سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آنزیم‌های چرخه گلوتاتیون‌آسکوربات شامل آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، دهیدروآسکوربات ردوکتاز، مونو دهیدروآسکوربات ردوکتاز و آنزیم‌های گلوتاتیون رداکتاز اشاره کرد که نقش اساسی در متابولیزه کردن ROS و جلوگیری از خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو به عهده دارند (Foyer and Noctor, 2013).

رشد و نمو گیاهان، علاوه بر فراهمی عناصر پر مصرف مانند نیتروژن، به فراهمی عناصر کم مصرف نیز بستگی دارد. با توجه به نقش روی در فعالیت آنزیمی گیاه، عرضه این عنصر از طریق محلول‌پاشی می‌تواند تأثیر به‌سزایی در کیفیت و کمیت تولید محصولات داشته باشد (Rasool *et al*., 2013). کمبود ریزمغذی-ها در اغلب گیاهان، گسترش جهانی دارد. کشت مداوم، آهکی بودن خاک‌ها و عدم مصرف کودهای حاوی عناصر غذایی لازم، از جمله عوامل بروز کمبود روی در اغلب خاک‌های ایران می‌باشد. روی از جمله عناصر ضروری و کم مصرف برای گیاهان است که به صورت کاتیون دو ظرفیتی (Zn^{+2}) جذب می‌شود و در تشکیل اسید ایندول استیک دخالت داشته و رشد گیاه را تنظیم می‌کند (Bagheri Kholenjani, 2011). وقتی که کمبود عناصر غذایی به‌وسیله کاربرد عناصر غذایی از طریق خاک امکان‌پذیر نباشد، محلول‌پاشی عناصر غذایی، یک انتخاب است (Keshavarz, 2020). یکی از راه‌های تامین روی مورد نیاز گیاه، محلول‌پاشی سولفات روی است روی عنصری است که قادر به انتقال مجدد در درون گیاه نیست، بنابراین محلول‌پاشی آن مناسب‌تر می‌باشد (Bagheri Kholenjani, 2011).

اسید سالیسیلیک از عوامل موثر بر رشد و نمو گیاهان می‌باشد. این ماده نوعی تنظیم کننده‌ی رشد درونی و از گروه ترکیبات فنلی طبیعی می‌باشد که در تنظیم

[1] Peppermint

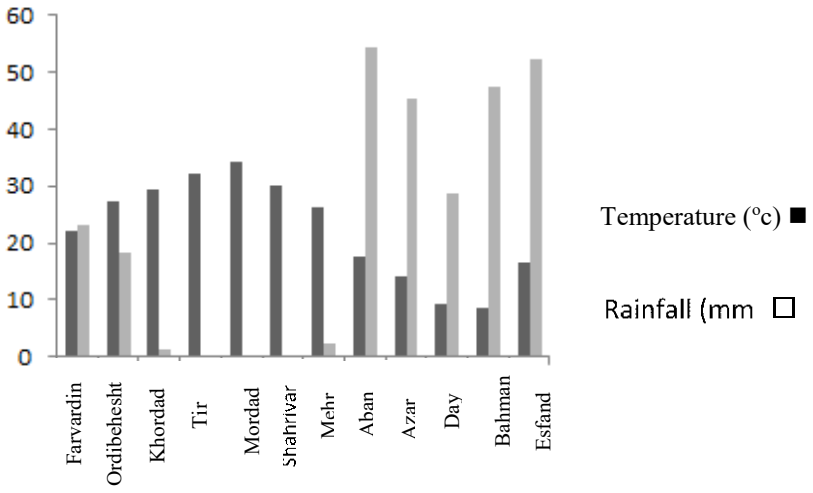
فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه نقش دارد. القای گل-دهی، رشد و نمو، سنتز اتیلین، تأثیر در باز و بسته شدن روزنه‌ها و تنفس، از نقش‌های مهم اسید سالیسیلیک به‌شمار می‌رود. اسیدسالیسیلیک باعث طویل شدن سلول‌ها و همچنین تقسیم سلولی می‌شود که این فرآیند با همکاری سایر تنظیم کننده‌ها از جمله اکسین انجام می‌شود (Kabiri, 2011). مقدار زیادی اسید سالیسیلیک در نمونه‌های خاک محتوی ریزوسفر گزارش شده است. از جمله کاربردهای مهم اسید سالیسیلیک، کاهش اثر مضر تنش آبی و کم آبی می-باشد (Kabiri, 2011). در خصوص اثر اسید سالیسیلیک بر کاهش اثر منفی تنش آبی و افزایش عملکرد کمی و کیفی، مطالعات متعددی انجام شده است که همگی حاکی از اثر مثبت اسید سالیسیلیک بر کاهش اثر مضر تنش آبی است (Dolatabadian *et al.*, 2008; Kabiri, 2011).

هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر اسید سالیسیلیک و روی بر خصوصیات فیتوشیمیایی و عملکرد نعناع‌فلفلی در شرایط تنش آبی بود.

مواد و روش‌ها

مکان اجرای آزمایش

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا، در فاصله هفت کیلومتری شهر ورامین، با مختصات جغرافیایی "۴۰ ˚۵۱ طول شرقی و "۱۷ ˚۳۵ عرض شمالی و ارتفاع حدود ۱۰۰۰ متر از سطح دریا، در سال ۱۳۹۷ انجام شد. شکل ۱ میانگین بارندگی و دمای شهرستان ورامین در سال‌های آزمایش رانشان می‌دهد. در مرداد، میزان بارش در کمترین حد خود قرار داشت که میانگین آن صفر میلی‌متر بود و بیشترین میزان بارش در دی ماه رخ داد. با دمای میانگین ۲۹/۵ درجه سانتی‌گراد، تیر ماه گرم ترین ماه سال بود. دی ماه با ۳/۳ درجه سانتی-گراد، کمترین میانگین دما را در تمام سال داشت.



شکل ۱- نمودار بلند مدت دما و بارندگی شهرستان ورامین.

Figure 1. Long term temperature and rainfall diagram in Varamin.

طرح آزمایش

آزمایش بصورت اسپلت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. این آزمایش دارای سه فاکتور، شامل ۵۰، ۷۰ و ۹۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک کلاس A در کرت‌های اصلی و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک در دو سطح صفر و یک میلی مولار و محلول‌پاشی سولفات روی با مقادیر صفر، دو و چهار گرم در لیتر قرار در کرت‌های فرعی بود.

عملیات زراعی

پیش از کشت، عملیات آماده سازی زمین شامل شخم، دیسک و تسطیح انجام شد. سپس از عمق ۳۰ سانتیمتری خاک محل اجرای آزمایش، نمونه‌گیری

مرکب به عمل آمد تا برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و عناصر غذایی آن اندازه‌گیری شود. پس از در آوردن شیارها، نقشه آزمایش بر روی زمین پیاده شد. فاصله بوته‌ها روی خطوط ۳۰ سانتی متر و بین ردیف‌های کاشت ۴۰ سانتی‌متر بود. طول هر خط کاشت، چهار متر و هر کرت دارای چهار خط کاشت بود و فاصله بین دو تکرار دو متر بود. نشاءها از مرکز تحقیقات کشاورزی شهرستان کرج (استان البرز) تهیه شدند. تنش آبی بر اساس تشتک‌های تبخیر نصب شده در زمین، سه هفته پس از کاشت نشاءها اعمال شد و تا پایان فصل رشد ادامه یافت.

صفات مورد ارزیابی

صفات مورد ارزیابی در این پژوهش در مزرعه و در آزمایشگاه، با استفاده از ابزارهای مورد نظر اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC) به روش Richie et al. (1990) انجام شد و اندازه‌گیری منتول در عصاره هیدروالکلی نعناع‌فلفلی انجام گرفت. برای اندازه‌گیری پارامترهای رشد، در شروع گلدهی، گیاهان کف بر شدند و وزن اندم هوایی آن‌ها با ترازوی دیجیتالی با دقت یک هزارم اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها در آون ۹۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و سپس وزن خشک آن ها تعیین شد. در مرحله گلدهی کامل، با استفاده از یک کوادرات یک متر مربعی، بوته‌های وسط هر کرت مشخص، از سطح خاک کف بر و در سایه خشک شدند. بعد از اندازه‌گیری وزن، عملکرد زیستی به کیلوگرم در هکتار تعمیم داده شد. اندازه‌گیری آسکوربات کل، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نیز با روش‌های آزمایشگاهی انجام شد.

استخراج فعالیت‌های آنزیمی با استفاده از روش Kar & Mishra (1976) صورت گرفت. مقدار ۰/۰۵ گرم بافت در هاون چینی سرد با دو میلی‌لیتر بافر فسفات مونوسدیک ۰/۱ مولار با اسیدیته ۶/۸ هموژن شد. هموژن حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با شتاب ۱۶۰۰۰g در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. از روشناور (سوپرناتانت) به‌دست آمده برای اندازه گیری فعالیت آنزیم‌ها و همچنین مقدار پروتئین‌های محلول استفاده شد. میزان پروتئین محلول به روش Bradford (1976) اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش به حجم نهایی دو میلی‌لیتر شامل‌بافر فسفات مونوسدیک ۲۵۰ میلی مولار، اسید آسکوربیک ۰/۵ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۱/۲ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. محلول بلانک، فاقد آب اکسیژنه بود و کاهش جذب نور ناشی از پراکسیداسیون اسید آسکوربیک در طول موج۲۹۰ نانومتر، به مدت سه دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی معادل با $8/2 mM^{-1}\ cm^{-1}$ مربوط به آسکوربات محاسبه شد (Asada and Nakano, 1981).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز با استفاده از روش Maehly & Chance (1954) و اندازه گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز بر اساس روش Maehly & Chance (1954) همراه با تغییراتی انجام شد. مخلوط واکنش آنزیم کاتالاز، به حجم نهایی سه میلی‌لیتر شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸، آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با اضافه کردن عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش، تجزیه H_2O_2 شروع شد. ضریب خاموشی برای H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر $mM^{-1}.cm^{-1}$ ۴۰[1] بود که از آن برای محاسبه فعالیت آنزیم استفاده شد.

مخلوط واکنش آنزیم گایاکول پراکسیداز، به حجم نهایی سه میلی‌لیتر شامل بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸، گایاکول ۲۰ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۴۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. ضریب خاموشی تتراگایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر $mM^{-1}.cm^{-1}$ ۲۶/۶ بود که از آن برای محاسبه فعالیت آنزیم استفاده شد. مخلوط واکنش آنزیم پلی فنل‌اکسیداز به حجم نهایی سه میلی‌لیتر، شامل بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸، پیروگالل ۱۰ میلی‌مولار و۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تنش کم آبی، سولفات روی و اسید سالیسیلیک بر صفات مختلف نعناع‌فلفلی.

Table 1. Variance analysis (mean squares) of water deficit stress, zinc sulfate and salicylic acid effects on various traits of peppermint.

								Relative Water Content			Dry		
SOV	DF	Superoxide dismutase-peroxidase	Catalase	Ascorbate peroxidase	Total ascorbate	Menthol	Biological yield	Steming	Flowering	Maturity	Steming	Flowering	Maturity
Replication	2	21.16ns	0.004ns	0.046ns	0.062ns	2.12ns	203609.7ns	4.092ns	20.74ns	12.96ns	512.3ns	19988.8ns	54610.3ns
Water Stress	2	73.84*	0.881**	1.520**	0.107ns	16.22**	276114.1**	598.455**	808.5**	1511.3**	16949.7**	8032.9ns	470518.2**
Main error	4	14.28	0.002	0.036	0.053	0.50	3142.4	4.139	5.47	33.33	405.1	9724.2	23340.0
Zinc	2	17.88ns	0.453**	0.860**	0.130ns	59.28**	195013.7**	89.823**	1040.7**	2407.7**	9587.0**	31289.1*	354802.0**
Zinc x Stress	4	24.67ns	0.069**	0.259**	0.109ns	0.73ns	9290.3**	12.836ns	87.11**	575.9**	2887.4**	5216.3ns	31310.1*
Salicylic Acid	1	42.69*	0.931**	1.605**	0.476*	24.34**	101532.2*	51.375*	1522.5**	1635.6**	17903.0**	29110.5*	705865.2**
Stress x Salicylic Acid	2	8.60ns	0.004ns	0.018ns	0.062ns	15.68**	9549.8**	2.328ns	65.98**	39.94ns	202.8ns	2128.0ns	5250.6ns
Zinc x Salicylic Acid	2	15.37ns	0.080**	0.054*	0.008ns	2.53ns	12058.2ns	0.507ns	19.43ns	1.43ns	604.1*	243.1ns	44269.0**
Stress x Zinc x Salicylic Acid	4	16.56ns	0.013**	0.057*	0.007ns	0.54ns	2759.5ns	0.336ns	16.35ns	1.11ns	632.7*	5418.1ns	3691.3ns
Error	30	6.44	0.003	0.014	0.030	1.94	3075.0ns	9.056	9.86	13.00	160.9	4219.6	6120.3
CV	-	4.5	8.7	7.9	10.4	6.5	12.4	7.3	6.5	10.3	12.5	8.7	6.3

*،** و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد و عدم تفاوت معنی‌دار.

*, ** and ns: significant at 5% and 1% of probability levels and non significant, respectively.

آنزیم در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و ضریب خاموشی برای پورپوروگالین تولید شده mM^{-1} $۴۷/۲^{1}.cm^{-1}$ بود که برای برآورد فعالیت آنزیم به‌کار رفت (Resende *et al*., 2002).

برای اندازه‌گیری منتول در عصاره هیدروالکلی نعناع-فلفلی، ابتدا ۲۰۰ سی سی عصاره تقطیر شد و ۱۰۰ سی سی فاز الکلی به‌دست آمده را جدا شد و دوباره تقطیر ادامه یافت تا حدود ۷۰ سی سی آب موجود در عصاره تا جایی که ممکن بود تقطیر شود. کل فاز آبی در طی سه مرحله و هر مرحله با ۲۰ سی سی نرمال پنتان استخراج شد و فاز آلی را جدا کرد و در نهایت فازهای آلی با هم مخلوط شدند (حدود ۶۰۰ سی سی). فاز آلی زیر گاز هلیم با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد تبخیر شد تا حجم آن به ۱۰۰ سی‌سی برسد. در آخر، ۱۰ سی‌سی باقیمانده با ۱۰۰ سی‌سی فاز الکلی به‌دست آمده در مراحل اول، به‌خوب ترکیب شد و حدود دو سی‌سی از آن از فیلتر سر سرنگی و بعد از سدیم سولفات عبور داده شد و به ویال‌های دو سی‌سی انتقال یافت و محلول صاف شد. هنگام صاف کردن، مقداری سدیم سولفات روی کاغذ صافی ریخته شد تا محلول صاف و آب‌گیری شود. بعد از آن، حدود دو سی سی از آن با فیلتر سرسرنگی به داخل ویال دو سی سی و یک میکرولیتر از آن به GC تزریق شد (Resende *et al*., 2002).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

جهت مرتب کردن داده‌ها از Excel و برای تجزیه و تحلیل آمار داده‌های حاصل از نمونه برداری، از برنامه آماری SAS استفاده شد. مقایسه میانگین صفات مورد نظر با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

سوپر اکسید دیسموتاز- پراکسیداز

نتایج نشان داد که اثر اصلی تنش آبی و اسید سالیسیلیک بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز-پراکسیداز معنی‌دار بود، ولی سایر تیمارها تاثیری بر سوپر اکسید دیسموتاز- پراکسیداز نداشتند (جدول ۱). تنش آبی ۹۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر با فعالیت سوپراکسید دیسموتاز-پراکسیداز ۲۸/۲۹ میلی‌مول بر میلی‌گرم پروتئین، موجب افزایش ۲۷ درصدی این صفت نسبت به تنش ۵۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر شد (جدول ۲). با مصرف اسید سالیسیلیک، سوپر اکسید دیسموتاز- پراکسیداز به میزان ۲۷/۱۷ میلی‌مول بر میلی‌گرم پروتئین به‌دست آمد که ۱۵ درصد بیشتر از حالت عدم مصرف بود (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر اثرات اصلی تنش‌کم‌آبی، محلول‌پاش سالیسیلیک اسید و سولفات روی.

Table 2. Mean comparison of the effects of water deficit stress and foliar application of zinc sulfate and salicylic acid treatment on various traits of peppermint.

Treatment	Dosage	Superoxide dismutase-peroxidase (mM mg protein)	Total ascorbate (mM/mg protein)	Relative Water Content at steming (%)	Dry matter at flowering (kg ha^{-1})
water stress (mm evaporation from evaporation pan)	50	24.83b	1.80	50.2a	424.7a
	70	26.07ab	1.92	46.1b	426.7a
	90	28.29a	1.90	40.3c	394.1b
Zinc sulfate (g L^{-1})	0	25.41	1.80c	43.5c	376.9
	2	27.00	1.87b	45.6b	448.7
	4	26.78	1.95a	47.4a	419.9
Salicylic acid (mM)	0	25.63b	1.79	44.7b	395.1
	1	27.17a	1.95	46.4a	435.3

در هر ستون و برای هر یک از فاکتورهای آزمایش، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، از لحاظ آماری بر اساس آزمون دانکن، اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد ندارند.

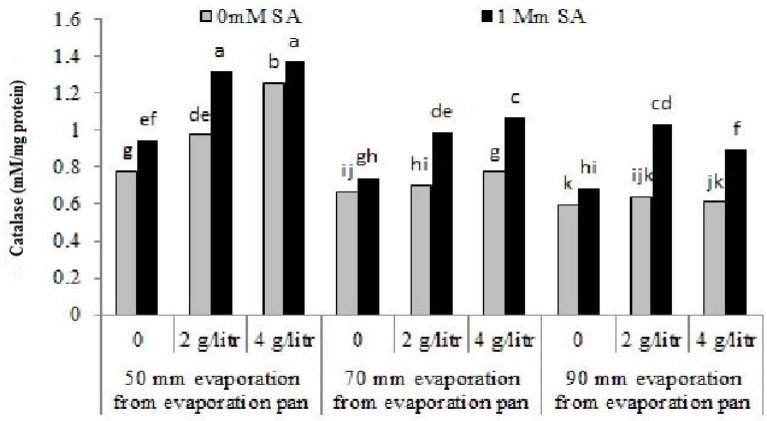
Means with the same letters in the same column are not significantly different based on Duncan test at 5% of probability level.

کاتالاز

نتایج نشان داد که اثر اصلی و برهمکنش تمامی تیمارها غیر از برهمکنش تنش آبی در اسید سالیسیلیک، بر کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که بیشترین فعالیت کاتالاز در تیمار مصرف چهار گرم روی در لیتر به همراه مصرف اسید سالیسیلیک و در تیمار تنش ۵۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر به مقدار ۱/۲۴ میلی‌مول بر میلی‌گرم پروتیئن حاصل شد. کمترین مقدار نیز در تیمار عدم مصرف روی و اسید سالیسیلیک و در حالت تنش ۹۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر به مقدار ۰/۶۴ میلی-مول بر میلی‌گرم پروتیئن به‌دست آمد که نسبت به حداکثر میزان کاتالاز، ۴۸ درصد کاهش نشان داد. در تمامی سطوح تنش آبی، مصرف اسید سالیسیلیک و سولفات روی، موجب افزایش مقدار کاتالاز شد (شکل ۲).

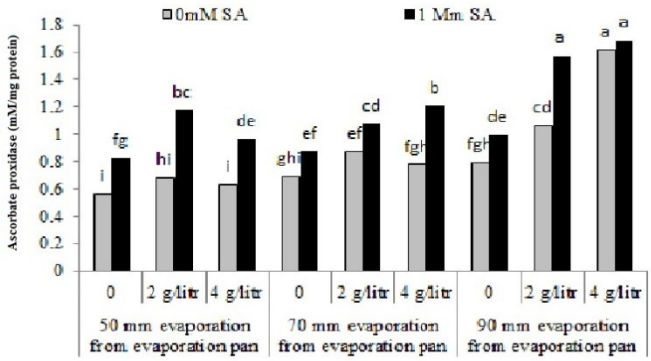
آسکوربات پراکسیداز

نتایج نشان داد که اثر اصلی و متقابل تمامی تیمارها غیر از اثر متقابل تنش آبی در اسید سالیسیلیک، بر آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که بیشترین مقدار آسکوربات پراکسیداز، از تیمار چهار گرم روی در لیتر به همراه مصرف اسید سالیسیلیک و در تیمار تنش ۹۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر به مقدار ۱/۶۳ مولار به دست آمد و کمترین آن نیز در تیمار عدم مصرف روی و اسید سالیسیلیک و در حالت تنش ۵۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر به مقدار ۰/۵۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین تولید شد که نسبت به حداکثر میزان، ۶۵ درصد کاهش نشان داد. در تمامی سطوح تنش آبی، مصرف اسید سالیسیلیک و سولفات روی، موجب افزایش میزان آسکوربات پراکسیداز شد (شکل ۳).



شکل ۲- اثر متقابل تنش آبی، اسید سالیسیلیک و سولفات روی بر میزان کاتالاز نعناع‌فلفلی (ستون‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند).

Figure 2. Interaction effects of water stress, salicylic acid and zinc sulfate on peppermint catalase (columns with the same letters are not significantly different based on Duncan test at the 5% of probability level).



شکل ۳- اثر متقابل تنش آبی، اسید سالیسیلیک و سولفات روی بر آسکوربات پراکسیداز نعناع‌فلفلی (ستون‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند).

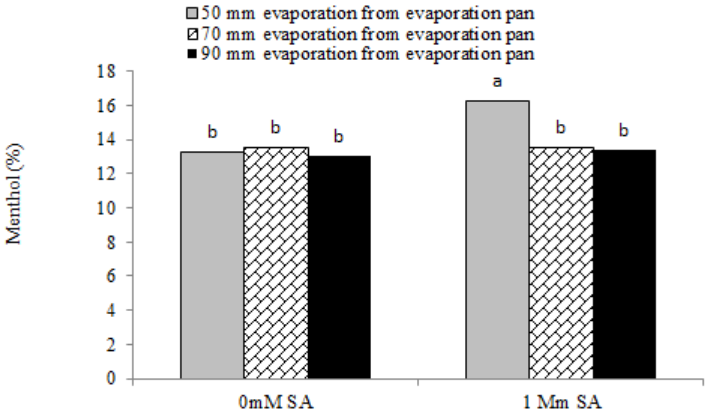
Figure 3. Interaction effects of water stress, salicylic acid and zinc sulfate on Peppermint ascorbate peroxidase (columns with the same letters are not significantly different based on Duncan test at the 5% of probability level).

آسکوربات کل

نتایج این بررسی نشان داد که اثر اصلی سولفات روی بر فعالیت پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۱). با مصرف چهار گرم سولفات روی در لیتر، آسکوربات کل به ۱/۹۵ میلی‌مول بر میلی‌گرم پروتیئن رسید که ۱۸ درصد بیشتر از حالت عدم مصرف بود.

منتول

نتایج این بررسی نشان داد که اثر اصلی تنش آبی، اثرات اصلی سولفات روی و اسید سالیسیلیک و اثر متقابل روی در اسید سالیسیلیک بر قندهای محلول معنی‌دار بود ولی سایر تیمارها، تاثیری بر منتول نداشتند (جدول ۱). در خصوص اثر متقابل تنش و سالیسیلیک، نتایج نشان داد که ۱۵/۹ درصد منتول در شرایط مصرف اسید سالیسیلیک و تنش ۵۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر تولید شد که بیشترین مقدار بود و کمترین مقدار نیز در تیمار تنش ۹۰ میلیمتر و عدم مصرف اسید سالیسیلیک حاصل شد که نسبت به حداکثر آن، ۲۵ درصد کاهش نشان داد. در تمامی سطوح تنش، همواره مصرف اسید سالیسیلیک موجب افزایش منتول شد (شکل ۴).



شکل ۴- اثر متقابل تنش آبی و اسید سالیسیلیک بر منتول نعناع‌فلفلی (ستون‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی داری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند).

Figure 4. Interaction effects of drought stress and salicylic acid on peppermint menthol (columns with the same letters are not significantly different based on Duncan test at the 5% of probability level).

عملکرد زیستی

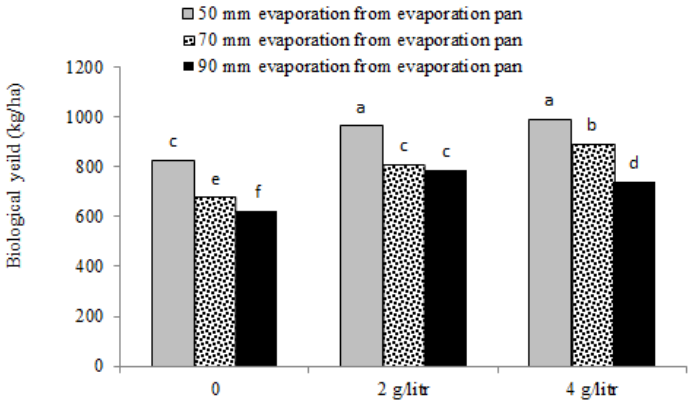
نتایج این بررسی نشان داد که اثرات اصلی تنش آبی، سولفات روی و اسید سالیسیلیک و اثر متقابل تنش آبی در سولفات روی و روی در اسید سالیسیلیک بر عملکرد زیستی معنی‌دار بود ولی سایر تیمارها تاثیری بر عملکرد زیستی نداشتند (جدول ۱). نتایج نشان داد که عملکرد زیستی در تیمار مصرف چهار گرم روی در لیتر و تنش ۵۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر بیشترین (۹۷۳/۸ کیلوگرم در هکتار) بود اما در تیمار عدم مصرف روی و تنش ۹۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر، کمترین بود که نسبت به حداکثر میزان عملکرد زیستی، ۳۱ درصد کاهش نشان داد. در تمامی سطوح تنش، همواره مصرف سولفات روی موجب افزایش عملکرد زیستی شد (شکل ۵).

محتوی نسبی آب در مرحله ساقه رفتن

نتایج این بررسی نشان داد که اثر اصلی تنش آبی، سولفات روی و اسید سالیسیلیک بر محتوی نسبی آب در مرحله ساقه رفتن معنی‌دار بود، ولی سایر تیمارها تاثیری بر محتوی نسبی آب در مرحله ساقه رفتن نداشتند (جدول ۱). تنش آبی ۹۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر با مقدار محتوی نسبی آب در مرحله ساقه رفتن، ۴۰/۲ درصد بود که موجب کاهش ۲۵ درصدی این صفت نسبت به تنش ۵۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر شد (جدول ۲). بیشترین محتوی نسبی آب در مرحله ساقه رفتن، در تیمار چهار گرم سولفات روی در لیتر به مقدار ۴۷/۴ درصد بود. با مصرف اسید سالیسیلیک، محتوی نسبی آب در مرحله ساقه رفتن، ۴۶/۴ درصد بود که نه درصد بیشتر از حالت عدم مصرف بود (جدول ۲).

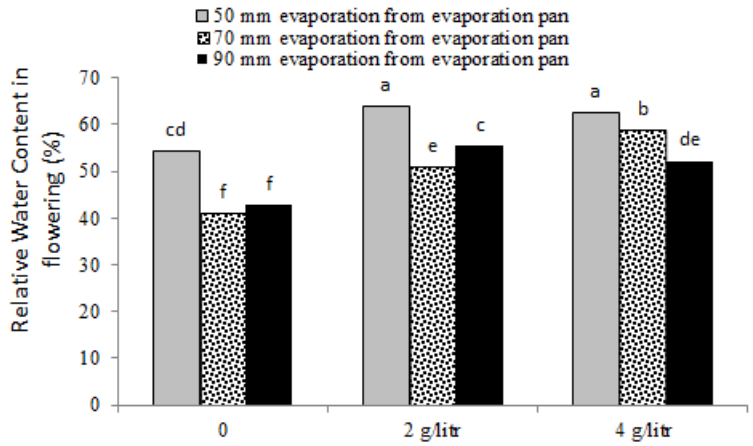
محتوی نسبی آب در مرحله گلدهی

اثر اصلی تنش آبی، سولفات روی و اسید سالیسیلیک و اثر متقابل تنش آبی در اسید سالیسیلیک و سولفات در تنش آبی بر محتوی نسبی آب در مرحله گلدهی معنی‌دار بود (جدول ۱). محتوی نسبی آب در مرحله گلدهی در تیمار مصرف دو گرم روی در لیتر و تنش ۵۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر، ۶۱/۳۸ بود که بیشترین میزان را داشت. کمترین مقدار نیز در تیمار عدم مصرف روی و تنش ۹۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر به‌دست آمد. در تمامی سطوح تنش، همواره مصرف سولفات روی، موجب افزایش محتوی نسبی آب در مرحله گلدهی شد (شکل ۶). محتوی نسبی آب در مرحله گلدهی در تیمار مصرف یک میلی مولار اسید سالسیلیک و تنش ۵۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر، ۵۴/۴ درصد بود که بیشترین مقدار را داشت. کمترین مقدار نیز در تیمار عدم مصرف و تنش ۹۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر حاصل شد که نسبت به حداکثر میزان، ۳۷ درصد کاهش نشان داد (شکل ۷).



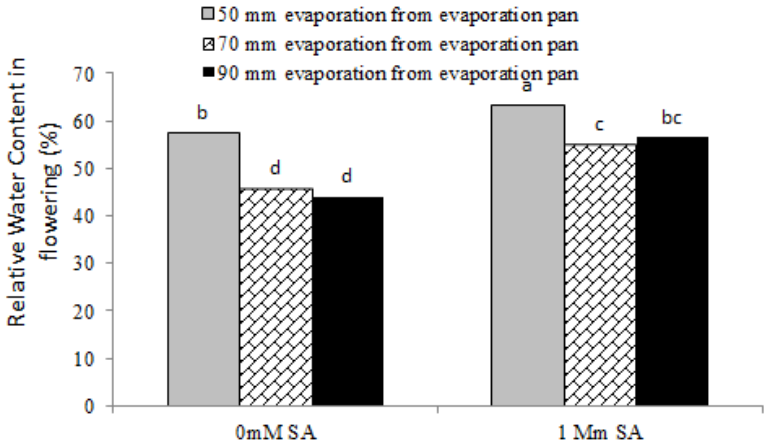
شکل ۵- اثر متقابل تنش آبی و سولفات روی بر عملکرد زیستی (ستون‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند).

Figure 5. Interaction effects of drought stress and zinc sulfate on peppermint biological yield (columns with the same letters are not significantly different based on Duncan test at the 5% of probability level).



شکل ۶- اثر متقابل تنش آبی و سولفات روی بر محتوی نسبی آب در مرحله گلدهی نعناع‌فلفلی (ستون‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند).

Figure 6. Interaction effects of drought stress and zinc sulfate on peppermint water content at flowering stage (columns with the same letters are not significantly different based on Duncan test at the 5% of probability level).

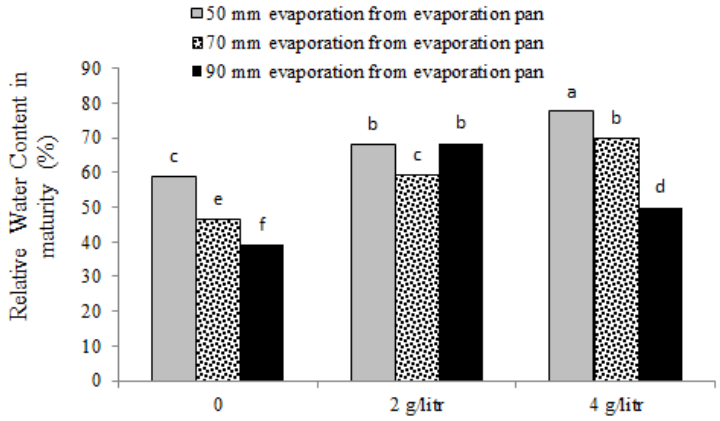


شکل ۷-اثر متقابل تنش آبی و اسید سالیسیلیک بر محتوی نسبی آب در مرحله گلدهی نعناع‌فلفلی (ستون‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند).

Figure 7. Interaction effects of drought stress and salicylic acid on peppermint water content at flowering stage (columns with the same letters are not significantly different based on Duncan test at the 5% of probability level).

محتوی نسبی آب در مرحله رسیدگی

اصلی تنش آبی، سولفات روی و اسید سالیسیلیک و اثر متقابل سولفات روی و تنش آبی بر محتوی نسبی آب در مرحله رسیدگی معنی‌دار بود ولی سایر تیمارها تاثیری بر محتوی نسبی آب در مرحله گلدهی نداشتند (جدول ۱). بیشترین نسبی آب در مرحله رسیدگی، در تیمار مصرف چهار گرم روی در لیتر و تنش ۵۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر، به میزان ۷۲/۳ درصد به‌دست آمد و کمترین مقدار نیز در تیمار عدم مصرف روی و تنش ۹۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر مشاهده شد که نسبت به میزان حداکثر، ۳۵ درصد کاهش نشان داد. در تمامی سطوح تنش، همواره مصرف سولفات روی موجب افزایش محتوی نسبی آب در مرحله رسیدگی شد (شکل ۸).

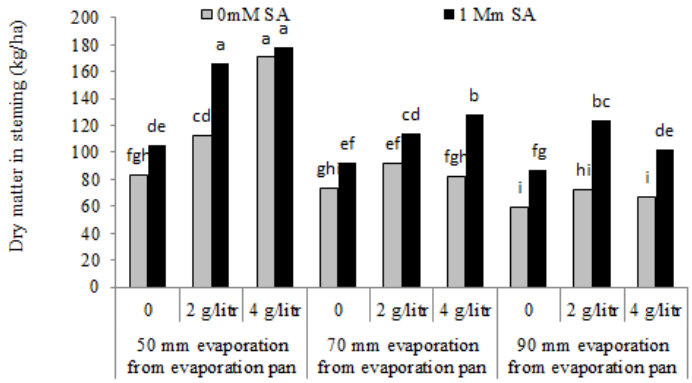


شکل ۸- اثر متقابل تنش آبی و سولفات روی بر محتوی نسبی آب در مرحله رسیدگی نعناع‌فلفلی (ستون‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند).

Figure 8. Interaction effects of drought stress and zinc sulfate on peppermint water content at flowering stage (columns with the same letters are not significantly different based on Duncan test at the 5% of probability level).

ماده خشک در مرحله ساقه رفتن

اثر اصلی و متقابل تمامی تیمارها بر ماده خشک در مرحله ساقه رفتن معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین میزان ماده خشک (۱۷۳/۳ کیلوگرم در هکتار) در مرحله ساقه رفتن در تیمار چهار گرم روی به همراه مصرف اسید سالیسیلیک و در تیمار تنش ۹۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر مشاهده شد. کمترین میزان (۵۷/۴ کیلوگرم در هکتار) نیز از تیمار عدم مصرف روی و اسید سالیسیلیک و در حالت تنش ۵۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر به‌دست آمد که نسبت به میزان حداکثر، ۳۷ درصد کاهش نشان داد. در تمامی سطوح تنش آبی، مصرف اسید سالیسیلیک و روی، موجب افزایش مقدار ماده خشک در مرحله ساقه رفتن شد (شکل ۹).



شکل ۹- اثر متقابل تنش آبی، اسید سالیسیلیک و سولفات روی بر آسکوربات پراکسیداز در نعناع‌فلفلی (ستون‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند).

Figure 9. Interaction effects of drought stress, salicylic acid and zinc sulfate on peppermint ascorbate peroxidase (columns with the same letters are not significantly different based on Duncan test at the 5% of probability level).

ماده خشک در مرحله گلدهی

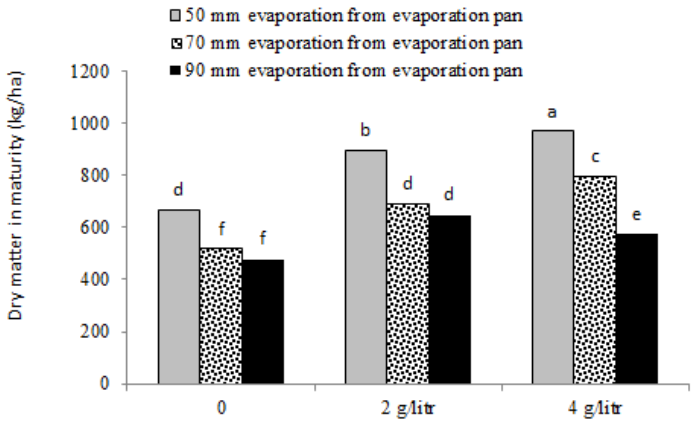
اصلی سولفات روی و اسید سالیسیلیک بر ماده خشک در مرحله گلدهی معنی‌دار بود ولی سایر تیمارها تاثیری بر ماده خشک در مرحله گلدهی نداشتند (جدول ۱). با مصرف اسید سالیسیلیک، ۴۳۵/۳ کیلوگرم در هکتار ماده خشک در مرحله گلدهی به

دست آمد که ۲۱ درصد کمتر از حالت عدم مصرف بود (جدول ۲). با مصرف سولفات روی به میزان دو گرم در لیتر، ۴۴۸/۷ کیلوگرم ماده خشک در هکتار در مرحله گلدهی به دست آمد که ۲۴ درصد کمتر از حالت عدم مصرف بود (جدول ۲).

ماده خشک در مرحله رسیدگی

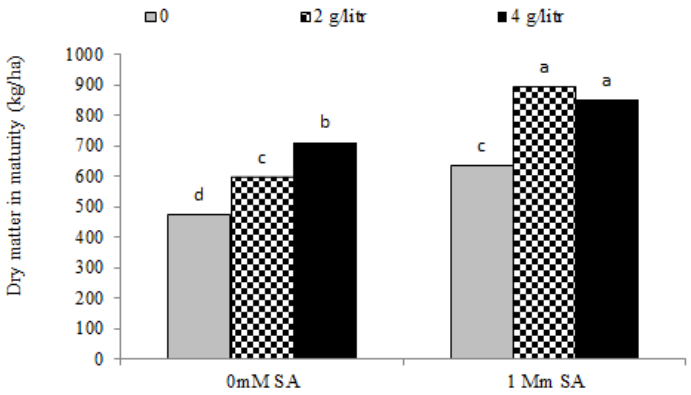
اثر اصلی تنش، سولفات روی و اسید سالیسیلیک و اثر متقابل تنش آبی در سولفات روی و سولفات روی در اسید سالیسیلیک بر ماده خشک در مرحله رسیدگی معنی‌دار بود ولی سایر تیمارها، تاثیری بر ماده خشک در مرحله رسیدگی نداشتند (جدول ۱). ماده خشک در مرحله رسیدگی در تیمار دو گرم روی در لیتر و تنش ۵۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر بیشترین (۹۷۶/۴ کیلوگرم در هکتار) و در تیمار عدم مصرف روی و تنش ۹۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر، کمترین بود. در تمامی سطوح تنش، همواره مصرف سولفات روی موجب افزایش ماده خشک در مرحله رسیدگی شد (شکل ۱۰). ماده خشک در مرحله رسیدگی در تیمار مصرف یک میلی مولار و دو گرم روی در لیتر به بیشترین میزان (۸۲۳/۳ کیلوگرم در هکتار) رسید و کمترین مقدار نیز در تیمار عدم مصرف و تنش ۹۰ میلیمتر تبخیر از تشتک تبخیر مشاهده شد (شکل ۱۱).

تنش رطوبتی با کاستن از جذب عناصر غذایی و آب، بر رشد و نمو تأثیر دارد و برگ‌ها را کوچک می‌کند، ارتفاع بوته‌ها و عملکرد محصول را کاهش می‌دهد. محققین دلیل کاهش وزن خشک اندام های هوایی در شرایط تنش خشکی را کاهش سطح برگ دانستند که باعث کاهش دریافت نور و میزان فتوسنتز می‌شود. همچنین کاهش میزان فتوسنتز به علت بسته شدن روزنه‌ها تحت شرایط تنش خشکی را به عنوان یکی از عوامل مهم کاهش میزان تولید ماده خشک در گیاهان مطرح کرده اند (Bahamin *et al.*, 2019). پیش تیمار کردن بذر با هورمون‌های رشد گیاهی، نه تنها جوانه زنی و سرعت سبز شدن، بلکه رشد و عملکرد نهایی گیاه را تحت شرایط معمولی و تنش افزایش می‌دهد. Dolatabadian *et al.* (2008) بیان کردند که سالیسیلیک اسید می‌تواند نقش مهمی در ایجاد مقاومت به تنش‌های محیطی ایفا کند.



شکل ۱۰- اثر متقابل تنش آبی و سولفات روی ماده خشک نعناع‌فلفلی (ستون‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی داری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند).

Figure 10. Interaction effects of drought stress and and zinc sulfate on peppermint water content at flowering dry matter (columns with the same letters are not significantly different based on Duncan test at the 5% of probability level).



شکل ۱۱- اثر متقابل اسید سالیسیلیک و سولفات روی بر محتوی نسبی آب در مرحله رسیدگی نعناع‌فلفلی (ستون‌های دارای حروف مشترک، اختلاف آماری معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ندارند).

Figure 11. Interaction effects of drought stress and and zinc sulfate on relative water content of peppermint at flowering stage (columns with the same letters are not significantly different based on Duncan test at the 5% of probability level).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی نشان داد که در اثر بروز تنش خشکی، فعالیت این آنزیم‌ها افزایش یافته است. افزایش این آنزیم‌ها در تیمار تنش، به خاطر نقش مهم آن‌ها در مقابله با رادیکال‌های آزاد تشکیل شده در اثر تنش خشکی است. ROS ها به برخی از ترکیبات سلولی نظیر لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها آسیب می‌رسانند که در نهایت به مرگ سلول منتج خواهد شد. آنزیم‌های آنتی اکسیدان، یکی از اجزای مهم در سازوکار دفاعی گیاهان در نظر گرفته می‌شود. به‌غیر از کاتالاز، در بقیه موارد، فعالیت آنزیم‌ها با مصرف سلنیوم نیز بیشتر شده است. از لحاظ مقدار، GPX بالاترین مقدار آنزیم را به‌خود اختصاص داده‌اند. در شرایط استفاده از سلنیوم و تنش آبی، بالاترین فعالیت آنزیم GPX را داشتند. همچنین نتایج Yazdan Panah (2015) نشان داد که تنش خشکی، سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز می‌شود.

نتایج در خصوص میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با نتایج Yazdan Panah (2015) مطابقت دارد. محققان میزان فعالیت دو آنزیم کاتالاز و سوپر اکسید را در دو گونه خزه مقاوم و حساس به خشکی در شرایط تنش خشکی بررسی کردند. نتایج این آزمایش نشان داد که افزایش تنش خشکی در گونه مقاوم به خشکی خزه، سبب کاهش پراکسیداسیون چربی ها و برعکس، افزایش فعالیت دو آنزیم گفته شده می‌شود و درست عکس نتایج در مورد خزه حساس به خشکی صادق است. تنش آبی موجب کاهش عملکرد تر و خشک و عملکرد اسانس شده است، زیرا وقتی گیاه با تنش آبی رو به رو شود، روزنه‌هایش بسته یا نیمه بسته می‌شوند و این امر موجب کاهش جذب دی‌اکسیدکربن می‌شود. از طرفی، گیاه مقدار زیادی انرژی برای جذب آب هزینه می‌کند و از سویی دیگر برای کاهش تبخیر و تعرق، سطح برگ را هم کاهش می‌دهد و این خود منجر به کاهش تولید مواد فتوسنتزی می‌شود (Sirousmehr *et al*., 2014). تمام این اتفاقات که در اثر تنش رطوبتی در گیاه رخ می‌دهند، موجب کاهش عملکرد می‌شوند (Farooq *et al*., 2009). تنش آبی از طرفی، موجب افزایش درصد اسانس بوته و درصد اسانس برگ شده است، زیرا شرایط تنش، تولید و نگهداری مواد ثانویه در گیاه را افزایش می‌دهد. این مواد چون از اکسیداسیون درونی سلول‌ها جلوگیری می‌کنند، در شرایط تنش افزایش می‌یابند (Fathi & Tari, 2016). تنش آبی بر متابولیسم گیاه اثر می‌گذارد؛ از جمله این‌که تولید پروتئین‌ها و آنزیم‌ها دچار اختلال می‌شوند. در این شرایط، در اثر افزایش تجزیه کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، تولید آلکالوئیدها، اسانس‌ها و مواد معطر گیاهان افزایش می یابد (Sirousmehr *et al*., 2014). افزایش درصد

اسانس در بوته و برگ، موجب افزایش عملکرد اسانس نمی‌شود، چرا که کاهش عملکرد خشک گیاه بر اثر تنش، از افزایش عملکرد اسانس جلوگیری می‌کند. افزایش درصد اسانس بر اثر تنش آبی، در برگ ها از بوته‌ها مشهودتر است. با توجه به این‌که عمده اسانس موجود در گیاه نعناع‌فلفلی در گل‌هاست (چهار تا شش درصد) و ساقه حاوی اسانس نمی‌باشد و به دلیل این‌که اثر تحلیلی تنش، ابتدا روی گل‌ها و سپس روی برگ‌ها و پس ازآن روی ساقه بروز می‌کند، حداقل اثر کاهش وزن خشک در بین بخش‌های گیاه، در ساقه بروز می-کند که عمده وزن خشک بوته را در هر شرایطی تشکیل می‌دهد، بنابراین در شرایط تنش، افزایش درصد اسانس در بوته، کمتر از برگ‌ها است. بدین معنی که چون اثر تحلیل دهندگی تنش آبی روی رشد زایشی بیشتر از رشد رویشی است، نسبت گل‌ها به ساقه در شرایط تنش کاهش می‌یابد و بنابراین میزان افزایش درصد اسانس در شرایط تنش در بوته کمتر از برگ‌ها است (Rahimi *et al.*, 2017).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که تنش آبی، منجر به کاهش عملکرد گیاه نعناع‌فلفلی شد اما سولفات روی و اسید سالیسیلیک، سبب کاهش اثر مضر تنش آبی شدند. با توجه به نتایج به‌دست آمده خصوصا در مورد منتول و ماده خشک تولیدی به عنوان مهم‌ترین صفات در هر سه سطح تنش خشکی، استفاده همزمان از سالیسیلیک اسید یک میلی مولار و چهار گرم سولفات روی در هکتار توصیه می‌شود. به‌طورکلی نتایج نشان داد که مصرف سولفات روی و اسید سالیسیلیک می-تواند در افزایش فعالیت آنزیم‌ها و نیز افزایش مقدار منتول در گیاه نعناع‌فلفلی موثر باشد که منتول در صنایع داروسازی کاربرد مهمی دارد.

REFERENCES

1. Bagheri Khalvanjani, M. (2011). Effect of salinity and different zinc values on growth characteristics, yield and quality characteristics of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). MSc Thesis. Faculty of Agriculture, University of Birjand. (In Persian)
2. Bahamin, S., Kocheki, A., Nasiri Mahallati, M. & Beheshti, S. A. (2019). Effect of biological and chemical fertilizers of nitrogen and phosphorus on quantitative and qualitative function of maize under drought conditions. *Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences*, 11(4), 863-872. (In Persian)
3. Bradford, 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, 248-252.
4. Çoban, Ö. & Baydar, N. G. (2016). Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in peppermint (*Mentha piperita* L.) under salt stress. *Industrial Crops and Products*, 86, 251-258.
5. Çoban, Ö. & Baydar, N. G. (2017). Brassinosteroid modifies growth and essential oil production in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(1), 43-49.
6. Cruz de Carvalho, R., Catalá, M., da Silva, J. M., Branquinho, C. & Barreno, E. (2012). The impact of dehydration rate on the production and cellular location of reactive oxygen species in an aquatic moss. *Annals of Botany*, 110(5), 1007-1016.
7. De Sousa Guedes, J. P., da Costa Medeiros, J. A., e Silva, R. S. D. S., de Sousa, J. M. B., da Conceição, M. L. & de Souza, E. L. (2016). The efficacy of *Mentha arvensis* L. and *M. piperita* L. essential oils in reducing pathogenic bacteria and maintaining quality characteristics in cashew, guava, mango, and pineapple juices. *International Journal of Food Microbiology*, 238, 183-192.
8. Dolatabadian, A., Modares Sanavy, S. A. M. & Chashmi, N.A. (2008). The effects of foliar application of ascorbic acid (Vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid peroxidation and proline accumulation of canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stress. *Journal of Agronomy Crop Science*, 194, 206-213.
9. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. *Sustainable Agriculture,* 25, 153-188.
10. Fathi, A. & Tari, D. B. (2016). Effect of drought stress and its mechanism in plants. *International Journal of Life Sciences,* 10(1), 1-6.

11. Foyer, C. H. & Noctor, G. (2013). *Redox signaling in plants*, 18(16), 2087-2090.
12. Hasani, M., Nouri, M., Hakimzadeh, V. & Maleki, M. (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Mentha piperita* endemic in Khorasan-Iran. *BioTechnology: An Indian Journal*, *11*(5), 197-200.
13. Kabiri, R. (2011). Effect of salicylic acid and drought stress on quantitative and qualitative traits of black currant. MSc Thesis, Ilam University. (In Persian)
14. Kar, M. & Mishra, D. (1976) Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Pathology*, 57, 315-319.
15. Keshavarz, H. (2020). Study of water deficit conditions and beneficial microbes on the oil quality and agronomic traits of canola (*Brassica napus* L.). *Grasas Aceites*, 71(3), e373.
16. Maehly, A. & Chance, B. (1954). Catalases and peroxidases. *Methods Biochemistry and Analysis*, 1, 357-424.
17. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*, 22, 867-880.
18. Rahimi, Y., Taleei, A. & Ranjbar, M. (2017). Changes in the expression of key genes involved in the biosynthesis of menthol and menthofuran in *Mentha piperita* L. under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 203.
19. Rasool, S., Ahmad, A., Siddiqi, T. O. & Ahmad, P. (2013). Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, *35*(4), 1039-1050.
20. Resende, M. L. V., Nojosa, G. B. A., Cavalcanti, L. S., Aguilar, M. A.G., Silva, L. H. C. P., Perez, J. O., Andrade, G. C. G., Carvalho, G. A. & Castro, R. M. (2002) Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis perniciosa* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-s-methyl (ASM). *Plant Pathology*, 51, 621-628.
21. Richie, 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, 105-111.
22. Sirousmehr, A., Arbabi, J. & Asgharipour, M. R. (2014). Effect of drought stress levels and organic manures on yield, essential oil content and some morphological characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum*). *Advance Environemental Bioogyl,* 8(4), 880-885.
23. Yazdan Panah, M. (2015). Effect of drought stress and spray on quantitative and qualitative soybean yield. MSc Thesis, Islamic Azad University of Ilam. (In Persian)