اثر سولفات و نانو ذرات آهن و روی بر زیست توده، مقدار و ترکیبات روغن‌های اسانسی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) تحت تنش شوری

قادر رستمی[۱]، محمد مقدم[۱*]، عبدالله قاسمی پیربلوطی[۲] و علی تهرانی فر[۱]

[۱] ایران، مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی

[۲] ایران، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرقدس، گروه گیاهان دارویی

تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۱۵

چکیده

به‌منظور بررسی اثر محلول‌پاشی کودهای آهن و روی به دو شکل سولفاته و نانو ذارت بر مقدار و ترکیبات روغن‌های اسانس نعناع فلفلی تحت تنش شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش شوری در چهار سطح (۰، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ میلی‌مولار (NaCl) و محلول‌پاشی کودی در پنج سطح (شاهد (بدون کاربرد کود)، سولفات آهن ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، نانو ذرات آهن ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، سولفات روی ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، نانو ذرات روی ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. کاربرد کودهای روی و آهن بخصوص به‌صورت نانو باعث بهبود زیست توده گیاه شد و بهترین زیست توده نعناع فلفلی در تیمار نانو کود آهن مشاهده شد. همه گیاهان در تیمارهای شوری شدید (۱۲۰ میلی‌مولار) کاهش رشد شدیدی داشتند و فقط گیاهانی که با نانو کود آهن تیمار شده بودند در این سطح شوری به‌اندازه کافی ماده گیاهی تولید کردند و جهت اسانس‌گیری استفاده شدند. بقیه تیمارها در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار به دلیل حجم کم پیکر رویشی قابل اسانس‌گیری نبودند. نتایج نشان داد که تیمار نانو کود آهن در شرایط تنش شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار موجب افزایش ۱۳/۹۶و ۲۵/۱۳ درصدی مقدار اسانس نسبت به تیمار شاهد (عدم تنش و کاربرد کود) شدند. بیشترین مقدار منتول (۴۲/۲۲ درصد) مربوط به تیمار تنش ۸۰ میلی‌مولار و کاربرد نانو کود آهن بود. کمترین مقدار منتول (۳۱/۵۷ درصد) نیز در تنش ۱۲۰ میلی‌مولار و کاربرد نانو کود آهن مشاهده شد. براساس نتایج این تحقیق، تنش شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار توانست تأثیر مثبتی در مقدار منتول اسانس نعناع فلفلی داشته باشد. به‌طورکلی می‌توان گفت استفاده از نانو کودها به‌ویژه نانو کود آهن می‌تواند باعث افزایش مقدار ترکیبات اصلی اسانس (منتول و منتون) و زیست توده نعناع فلفلی تحت تنش شوری شود.

واژه‌های کلیدی: روغن‌های اسانسی، شوری، منتول، منتون، نعناع فلفلی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۵۵۵۹۴۱۲۸ ، پست الکترونیکی: m.moghadam@um.ac.ir

مقدمه

نعناع فلفلی (*Mentha pipireta* L.) ازجمله گیاهانی است که توجه بیشتر محققین را به دلیل اهمیت اقتصادی و دارویی به خود جلب نموده است. نعناع فلفلی متعلق به تیره نعناعیان، گیاهی چندساله و علفی است که قسمت مورد استفاده آن برگ و سرشاخه‌های جوان است که از آن اسانس تهیه می‌شود (۱). اسانس این گیاه از ابتدای رشد در اندام‌های رویشی ساخته‌شده و در کرک‌های غده مانندی ذخیره می‌شود (۳۶). مهمترین اجزای اسانس را منتول، منتون و متیل‌استات تشکیل می‌دهند (۱۳). سایر ترکیب‌های که دراین گیاه یافت می‌شود، شامل فلاونوئیدها، پلی‌فنل‌های پلیمریزه شده کاروتن، آلفا-توکوفرول، بتایین و کولین می‌باشند (۳۹). از این ترکیب‌ها

تاکنون به‌عنوان گندزدا، تب‌بر، ضد اسپاسم، ضد استفراغ، ضد نفخ، معرق، ضد درد، ضد اسهال، ضد میکروب و همچنین در درمان سندروم روده، بیماری‌های التهابی روده و نارسایی کیسه صفرا و مشکلات کبدی استفاده شده است (۲۲).

امروزه شوری خاک و آب یکی از موانع و محدودیت‌های استفاده از این منابع در تولید بهینه محصولات کشاورزی است (۱۵). وسعت خاک‌های شور در ایران حدود ۲۴ میلیون هکتار است که معادل ۱۵ درصد اراضی کشور می‌باشد (۴). سنتز مواد مؤثره گیاهان دارویی به‌طور بارزی تحت تأثیر عوامل محیطی (زیستی و غیرزیستی) قرار می‌گیرند (۲۳). تنش‌های محیطی و غیرزیستی به‌ویژه تنش‌های شوری و خشکی بیشتر از عوامل دیگر موجب تغییرات در تولید گیاهان دارویی می‌گردند (۲۷). تنش شوری همانند بسیاری از تنش‌های غیرزیستی دیگر، رشد گیاه را محدود می‌کند. کاهش رشد یک نوع سازگاری برای زنده ماندن گیاه در شرایط تنش است (۲۴). در آزمایشی گزارش کردند که تنش شوری باعث کاهش میزان اسانس در رازیانه (*Foeniculum vulgar*) زنیان (*Trachyspermum ammi*) و ریحان (*Ocimum bacilicum*) شد (۳۷). خراسانی نژاد و همکاران (۳۲) در آزمایشی گزارش کردند که تنش شوری در گیاهان تیره نعناعیان باعث کاهش عملکرد اسانس می‌شود و این کاهش عملکرد احتمالاً به دلیل محدود شدن حرکت سایتوکنین از ریشه‌ها به شاخه‌ها و تغییر در نسبت سایتوکنین به اسید آبسزیک باشد. نفاتی و مرزوک در تحقیقی اثر سطوح مختلف (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی-مولار) کلرید سدیم بر مقدار اسانس در برگ‌های گیاه گشنیز (*Coriandrum sativum*) گزارش نمودند که با افزایش سطوح شوری تا سطح ۵۰ میلی‌مولار مقدار اسانس افزایش و در سطح ۷۵ میلی‌مولار کاهش یافت (۴۱).

در خاک‌های زراعی ایران به دلیل بالا بودن pH، وجود آهک فراوان و مصرف بیش‌ازحد کودهای فسفاتی، مشکل جذب عناصر کم‌مصرف نظیر آهن و روی عمومیت بیشتری دارد (۱۱). به‌طوری که در یک بررسی گزارش کردند که محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی (آهن و روی) در اراضی شور سبب افزایش کمیت و کیفیت گیاه دارویی بابونه می‌شود (۴۰).

مصرف عناصر کم‌نیاز از طریق کاهش اثرات منفی یون‌های سمی می‌تواند مقاومت گیاهان را در برابر تنش افزایش دهد (۲۵). یکی از مهمترین کاربردهای فناوری نانو در کشاورزی، استفاده از نانو کودها (nano-fertilizers) برای تغذیه گیاهان می‌باشد (۹). نانو ذرات در سطح برگ از طریق منافذ روزنه‌ای و یا پایه کرک‌ها وارد گیاه می‌شوند و سپس به بافت‌های مختلف منتقل می‌گردند (۴۰). آهن یکی از عناصر ضروری، کم‌مصرف و کم‌تحرک برای گیاهان است. این عنصر بخشی از گروه کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیاء بوده و برای ساخت کلروفیل مورد نیاز می‌باشد (۱۰). عنصر روی نیز از عناصر کم‌مصرف بوده که در سنتز تریپتوفان، پیش ماده اکسین، طول عمر رنگدانه‌های کلروفیل و پیری برگ، متابولیسم کربوهیدرات‌ها و ساخت پروتئین‌های گیاهان اثرگذار است (۳۰). نانو ذرات از طریق پدیده اندوسیتوز، پروتئین‌های ترانسپورت (پروتئین‌های ناقل) و کانال‌های یونی می‌توانند وارد سلول شوند. بعد از ورود به سیتوپلاسم، می‌توانند بااتصال به اندامک‌های مختلف، باعث تغییر عملکرد فیزیولوژیکی سلول‌ها شوند. بعضی از محققان بیان داشتند که نانو ذرات آهن تأثیر مثبت و تحریکی بر روی میزان کلروفیل و رشد گیاه دارد (۴۲). همچنین در تحقیقی دیگر دریافتند که آهن در غلظت‌های پایین باعث افزایش میزان کلروفیل و در غلظت‌های بالا باعث کاهش محتوای کلروفیلی گیاه می‌شود (۴۵). در آزمایشی مشخص شد که ریز مغذی‌هایی چون آهن، روی و غیره در گیاه ترخون (*Artimisia dracunculus*) بیشتر روی میزان مواد مؤثره

نظیر آرتمیزین و آرتمیزیک اسید و کیفیت اسانس تأثیر گذاشته است (۲۷). همچنین در تحقیقی دیگر مشخص شد که محلول‌پاشی سولفات روی در نعناع فلفلی باعث افزایش بیوسنتز منتول به مقدار ۱۸/۸-۱۵/۶ درصد شد (۴۶). باتوجه به افزایش روزافزون زمین‌های شور و تأثیر تنش شوری بر میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان، در این مطالعه اثر محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی آهن و روی به دو شکل سولفاته و نانوذرات بر مقدار و ترکیبات اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی تحت تنش شوری موردبررسی قرارگرفت.

مواد و روشها

مواد گیاهی و اعمال تیمارها: این تحقیق به‌منظور بررسی تأثیر کودهای آهن و روی به دو شکل سولفاته و نانو ذرات بر زیست توده، مقدار و ترکیبات اسانس نعناع فلفلی تحت تنش شوری در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی اجرا شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل تنش شوری در چهار سطح (۰، ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ میلی-مولار (NaCl) و فاکتور دوم شامل محلول‌پاشی کود در پنج سطح (شاهد (بدون کاربرد کود)، سولفات آهن ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، نانو کود آهن ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، سولفات روی ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نانو کود روی ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. کودهای سولفات روی و آهن به ترتیب با خلوص ۲۲ و ۳۴ درصد از شرکت ایرانی دنا تهیه شد. نانو ذرات روی و آهن به ترتیب با اندازه ۱۸ و ۳۹ نانومتر و با خلوص ۹۹ درصد در آزمایشگاه شیمی آلی دانشکده شیمی دانشگاه فردوسی مشهد سنتز شدند (۴۳ و ۴۴).

تعداد ۵ ریزوم به طول ۱۰ سانتی‌متر که دارای جوانه‌های سالمی بودند در هر گلدان (گلدان‌های با قطر دهانه ۳۰ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر) در عمق ۵ سانتی‌متری خاک کاشته شدند. خاک گلدان‌ها از ترکیب یکسان خاک زراعی، ماسه و خاک برگ تشکیل شده بود (هدایت الکتریکی ۱/۲ دسی زمنس، اسیدیته کل اشباع ۷/۹، بافت خاک لومی رسی). گلدان‌ها در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی قرار داده شدند. با استقرار کامل گیاهان در مرحله ۱۰ تا ۱۲ برگی آبیاری با آب‌شور هر دو روز یک‌بار به‌گونه‌ای انجام گرفت که محتوای آب گلدان به حد ظرفیت زراعی برسد و آبشویی گلدان به‌منظور جلوگیری از تجمع نمک هر دو هفته یک‌بار انجام گرفت. محلول-پاشی با عناصر ریزمغذی ۳ بار انجام شد. اولین محلول-پاشی یک هفته قبل از اعمال تنش شوری صورت گرفت، دومین و سومین محلول‌پاشی هم بعد از اعمال تنش شوری، بافاصله ۳ هفته از هم انجام شد. اندام هوایی گیاهان در زمان گلدهی کامل از ۵ سانتی‌متری بالای سطح خاک برداشت شده و در سایه در دمای اتاق خشک شدند.

استخراج و شناسایی ترکیبات اسانس: برای استخراج اسانس ۲۵ گرم از نمونه‌های خشک شده اندام هوایی حاوی برگ، گل و سرشاخه‌های نازک گیاه خرد و به روش تقطیر با آب، توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد. بازده اسانس به روش حجمی- وزنی و براساس وزن خشک نمونه‌ها محاسبه گردید. سپس اسانس‌ها با استفاده از سولفات سدیم خشک آبگیری و تا زمان آنالیز در یخچال و در تاریکی نگهداری شدند.

جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس با استفاده از دستگاه‌های کروموتوگرافی گازی (GC) و کروموتوگرافی گازی مجهز به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) انجام شد. نمونه‌های اسانس پس از آماده‌سازی به دستگاه کروماتوگرافی گازی و گاز کروماتوگرافی مجهز به طیف‌سنج جرمی تزریق شد. دستگاه GC مدل Agilent Technologies 7890 مجهز به FID و ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه دمایی آون به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۶۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در

این دما به مدت ۵ دقیقه، دمای انتهایی ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و گرادیان حرارتی ۴ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

طیف‌سنج جرمی Agilent مدل 5975C، متصل به کروماتوگراف گازی Agilent مدل 7890A، ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. در برنامه‌ریزی حرارتی، دمای اولیه ستون به مدت ۵ دقیقه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داشته شد و تا دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت و در دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه متوقف شد. گاز حامل، هلیوم با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۵۰ تا ۵۵۰ بود.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها با مقایسه طیف‌های جرمی و شاخص‌های بازداری به دست آمده، با طیف‌های جرمی و شاخص‌های بازداری ترکیب‌های استاندارد و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در منابع معتبر و همچنین با استفاده از بانک اطلاعاتی WILLY موجود در دستگاه GC/MS انجام شد. درصد نسبی هریک از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده روغن‌های اسانسی، با توجه به سطح زیر منحنی آن‌ها در کروماتوگرام حاصل از GC با روش Area Normalization به دست آمد.

لازم به ذکر است که دراین پژوهش همه گیاهان در تیمارهای شوری شدید (۱۲۰ میلی‌مولار) قبل از رسیدن به مرحله گلدهی کاهش رشد شدیدی داشتند و فقط گیاهانی که دراین سطح شوری با نانو کود آهن تیمار شده بود به‌اندازه کافی ماده خشک گیاهی جهت اسانس‌گیری تولید کردند. بقیه تیمارها در این سطح شور (۱۲۰ میلی‌مولار) به دلیل حجم کم پیکر رویشی قابل اسانس‌گیری نبودند.

تجزیه آماری: داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار JMP8 مورد تجزیه آماری قرارگرفت. مقایسه میانگین‌ها نیز براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

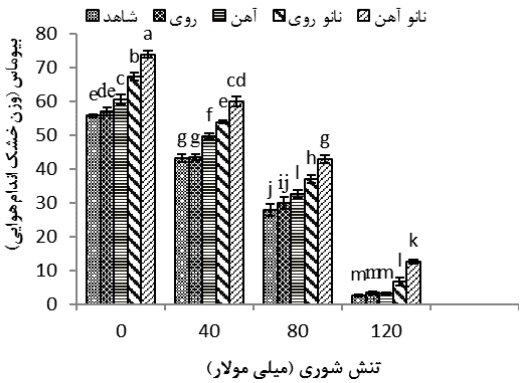
نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که تأثیر نوع کود، تنش شوری و همچنین اثر متقابل آنها بر زیست توده، مقدار اسانس و ترکیبات مهم تشکیل دهنده روغن‌های اسانس نعناع فلفلی شامل منتول، منتون، منتوفوران، متیل‌استات، ۱ و ۸ سینول و پولگون در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند (جدول۱). همچنین اثر ساده تنش شوری بر ترکیب لیمونین در سطح احتمال یک درصد و اثر ساده نوع کود و اثر متقابل آن اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول۱).

جدول ۱- آنالیز واریانس اثر نوع کودهای آهن و روی به‌صورت سولفاته و نانو بر زیست توده، مقدار اسانس و ترکیبات شاخص تشکیل دهنده اسانس نعناع فلفلی در شرایط تنش شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	زیست توده	مقدار اسانس	منتول	منتون	منتوفوران	متیل استات	۱ و۸ سینول	لیمونین	پولیگون
تنش	۳	۹۱۳۹/۹۷**	۷/۱۶**	۳۵۹۰/۵۸**	۱۸۳/۷۵**	۹۱۷/۵۱**	۱۳۸/۵۰**	۱۳۱/۴۷**	۳۵/۴۷**	۲۷/۵۹**
نوع کود	۴	۴۵۷/۱۰**	۰/۲۳۴**	۲۸۲/۰۱**	۵۹/۴۷**	۵۶/۵۹**	۳/۶۹**	۵/۱۸**	۱/۵۸^{ns}	۱/۲۸**
تنش*کود	۱۲	۹/۹۵**	۰/۱۲۸**	۱۴۲/۱۷**	۴۵/۲۴**	۷۶/۳۹**	۶/۶۶**	۳/۰۵**	۰۰/۲۰^{ns}	۶/۳۹**
خطا	۴۰	۳/۵۷	۰/۰۵	۱/۶۵	۰/۸۰	۰/۸۴	۰/۱۹	۰/۵۷	۰/۶۹	۰/۰۵

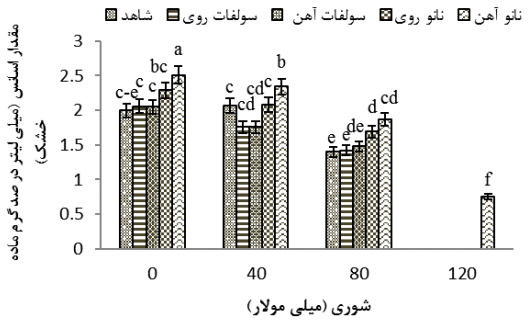
^{ns}، *و**، به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح ۵ و ۱ درصد

وزن خشک اندام هوایی (زیست توده): نتایج این آزمایش نشان داد که تیمارهای شوری، محلول‌پاشی کودی و اثر متقابل آنها در سطح احتمال ۱ درصد بر این صفت اثر معنی‌داری داشت. درواقع شوری باعث کاهش وزن خشک اندام هوایی (زیست توده) نعناع فلفلی شد (شکل۱). به‌طوری که با افزایش سطح شوری میزان کاهش این صفت بیشتر بود. بیشترین اثر سوء بر زیست توده نعناع فلفلی در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار مشاهده شد، اما کاربرد کودهای سولفات روی و آهن بخصوص به‌صورت نانو باعث بهبود زیست توده گیاه شد و بهترین بیوماس نعناع فلفلی در تیمار نانو کود آهن مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش شوری و محلول‌پاشی کود آهن و روی به دو شکل سولفاته و نانوذرات بر زیست توده اندام هوایی نعناع فلفلی (حروف غیرمشترک در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد بیانگر اختلاف معنی‌دار است)

مقدار اسانس: افزایش تنش شوری به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای مقدار اسانس را در گیاه نعناع فلفلی کاهش داد. اثر متقابل تیمار تنش شوری و کاربرد کودها نشان داد که با افزایش تنش شوری از مقدار اسانس نعناع فلفلی کاسته شده، اما کاربرد کودها در این شرایط آن را بهبود بخشید. به‌طوری‌که از ۲ درصد در تیمار شاهد (عدم کاربرد کودها و بدون تنش شوری) به ۱/۴ درصد در تنش شوری ۸۰ میلی‌مولار در شرایط عدم کاربرد کود رسید، درحالی‌که مقدار اسانس در تیمار ۴۰ میلی‌مولار شوری و عدم کاربرد کود تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد (شرایط بدون شوری) نشان نداد. بیشترین مقدار اسانس در شرایط بدون تنش و با کاربرد نانو کود آهن حاصل شد. همچنین تیمار نانو کود آهن در شرایط تنش شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار با افزایش ۱۳/۹۶ و ۲۵/۱۳ درصدی مقدار اسانس نسبت به شاهد (عدم کاربرد کود) سبب جبران خسارت تنش شوری گردید. در تنش شوری ۱۲۰ میلی‌مولار تمام گیاهان به‌جز گیاهان تحت تیمار نانو کود آهن کاهش رشد شدیدی داشتند به‌طوری که به‌اندازه کافی ماده خشک گیاهی جهت اسانس‌گیری تولید نکردند. البته مقدار اسانس در این تیمار و سطح شوری کاهش چشم‌گیری یافت (شکل ۲).



شکل ۲- اثر متقابل تنش شوری و کاربرد کودهای آهن و روی به دو شکل سولفاته و نانو ذرات بر مقدار اسانس نعناع فلفلی (حروف غیرمشترک در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد بیانگر اختلاف معنی‌دار است)

ترکیبات روغن‌های اسانسی: طبق جدول ۲ مطالعات حاصل از آنالیز اسانس نشان داد که بیشترین اجزای تشکیل‌دهنده روغن‌های اسانسی نعناع فلفلی به ترتیب شامل منتول، منتون، منتوفوران، متیل استات، ۱ و ۸- سینئول، لیمونین و پولیگون می‌باشد. منتول و منتون از مهمترین اجزای ترکیبات روغن‌های اسانسی نعناع فلفلی بوده و بیشترین مقدار را در ترکیب روغن‌های اسانسی این گیاه تشکیل می‌دهد. به‌طوری که هرچه درصد منتول و منتون بیشتر و درصد منتوفوران کمتر باشد اسانس حاصل از کیفیت بیشتری برخوردار است. لازم به ذکر است که در این تحقیق گیاهانی که تحت تیمار شدید تنش شوری (۱۲۰ میلی‌مولار) بودند به دلیل حساسیت زیاد به تنش

مذکور نابود شدند. فقط گیاهانی که با نانو کود آهن تیمار شده بودند توانستند تا حدودی این سطح شوری را تحمل کنند.

براساس نتایج حاصل از آنالیز روغن‌های اسانسی، مقایسه تیمارهای مختلف کودی نشان داد که میانگین بیشترین مقدار منتول حاصل از آنالیز اسانس مربوط به تیمار کاربرد نانو کود آهن می‌باشد. به‌طوری که بررسی تیمارهای کودی و سطوح مختلف تنش شوری نشان داد بیشترین مقدار منتول (۴۲/۲۲ درصد) اسانس مربوط به تیمار تنش شوری ۸۰ میلی‌مولار و محلول‌پاشی نانو کود آهن است. کمترین مقدار منتول (۳۱/۵۷ درصد) در تیمار ۱۲۰ میلی‌مولار (تنش شدید و کاربرد نانو کود آهن) مشاهده شد. طبق نتایج فوق، اعمال تنش شوری بین ۴۰ تا ۸۰ میلی‌مولار می‌تواند تأثیر مثبتی بر مقدار منتول اسانس داشته باشد. همچنین بر اساس نتایج حاصله از آنالیز روغن‌های اسانس بیشترین مقدار منتون در تنش شوری ۸۰ میلی‌مولار بدون کاربرد کود به دست آمد. به‌طوری که نسبت به تیمار شاهد (عدم تنش شوری و کاربرد کود) ۸/۷۴ درصد افزایش داشته است. این در حالی است که در تنش ۴۰ میلی‌مولار میزان منتون حالت کاهشی نسبت به گیاهان شاهد (بدون تنش و کاربرد کود) داشته است. همچنین مقایسه تیمارهای کودی مختلف نشان داد که بیشترین مقدار منتون (۱۷/۸۳ درصد) در تنش ۱۲۰ میلی‌مولار و کاربرد نانو کود آهن حاصل شد. به‌طوری که از ۱۱/۲۵ درصد در تنش ۸۰ میلی‌مولار (بدون کود) به ۱۷/۸۳ درصد در سطوح تنش ۱۲۰ میلی‌مولار و کاربرد نانو کود آهن رسید.

با افزایش تنش شوری مقدار منتوفوران و پولیگون در روغن‌های اسانس نعناع فلفلی به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافت به‌طوری که مقدار منتوفوران از ۱۸/۵۴ درصد در تیمار شاهد به ۲۳/۱۴ درصد در تنش ۸۰ میلی‌مولار و میزان پولیگون از ۲/۷۳ درصد در تیمار شاهد به ۵/۳ درصد در تنش شوری ۸۰ میلی‌مولار رسید. همچنین کاربرد کودها به‌ویژه کودهای نانو سبب کاهش مقدار منتوفوران و پولیگون گردید که اثر کاهشی کاربرد کودهای نانو به‌ویژه نانو کود آهن به‌وضوح در جدول ۱ مشخص می‌باشد. همچنین تحت اثر شوری (۴۰و ۸۰ میلی‌مولار) مقدار لیمونین کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد (عدم تنش شوری و کاربرد کود) ندارد، این در حالی است که میزان ۱و۸-سینئول در شوری ۴۰ میلی‌مولار از ۶/۸۸ درصد به ۷/۱۴ درصد رسید، ولی در شوری ۸۰ میلی‌مولار میزان ۱و۸-سینئول ۲۰/۴۹ درصد نسبت به شاهد کاهش می‌یابد. همچنین مقایسه تیمارهای مختلف کودی نشان داد کمترین مقدار ۱و۸-سینئول (۴/۵۶ درصد) در تنش ۱۲۰ میلی‌مولار و کاربرد نانو کود آهن حاصل شد. بیشترین مقدار این ترکیب در شرایط تنش ۴۰ میلی‌مولار و کاربرد نانو کود روی مشاهده شد که تفاوتی با کاربرد نانو کود آهن در شرایط تنش ۸۰ میلی‌مولار نداشت (جدول ۲). دسته گروه ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده روغن‌های اسانس نعناع فلفلی مشخص شدند (جدول ۳). بر اساس جدول ۳ بیشترین دسته گروه ترکیبات روغن‌های اسانس نعناع فلفلی مربوط به گروه مونوترپن‌های اکسیژن‌دار (منتون، منتول، منتوفوران، پولیگون، لینالول، ۱و۸-سینئول، ترپینن-۴-اُل، آلفا-ترپینول) است که در شوری ۸۰ میلی‌مولار و کاربرد نانو آهن بالاترین مقدار آن (۸۳/۵۶ درصد) بدست آمد.

بحث و نتیجه‌گیری

وزن خشک اندام هوایی (زیست توده): رشد گیاه به شرایط محیطی که در آن رشد می‌کند وابسته است. یکی از این شرایط، فراهم بودن آب کافی برای گیاه است. در صورت عدم تأمین آب مورد نیاز گیاه، فشار تورژسانس سلول‌ها کاهش می‌یابد و با اثر بر طول سلول‌ها، کاهش ارتفاع بوته رخ می‌دهد.

جدول ۲- اجزای تشکیل دهنده روغن‌های اسانس گیاه نعناع فلفلی تحت تیمارهای تنش شوری و کاربرد کودهای آهن و روی به دو شکل سولفاته و نانو ذرات

ترکیبات اسانس	RI	عدم مصرف کود			سولفات روی (۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)			سولفات آهن (۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)		
		شوری(میلی‌مولار)								
		۰	۴۰	۸۰	۰	۴۰	۸۰	۰	۴۰	۸۰
α-Terpinene	۱۰۱۷	۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۱۳	۰/۲۴	۰/۲۸	۰/۱۳	۰/۲۲	۰/۲۷	۰/۱۱
p-Cymen	۱۰۲۴	۰/۱۵	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۱۵	۰/۱۳	۰/۳۸	۰/۱۲	۰/۱۳	۰/۱۲
Limonene	۱۰۲۶	۳/۹۷	۳/۷۳	۳/۷۵	۳/۰۳	۳/۲۹	۳/۱۱	۳/۱۶	۳/۶۴	۳/۰۷
1,8–Cineole	۱۰۳۲	۶/۸۸	۷/۱۹	۵/۷۱	۶/۹۱	۷/۱۵	۵/۱۳	۷	۶/۸۵	۶/۳۵
cis-β-Ocimene	۱۰۳۳	۰/۱۷	۰/۱۴	۰/۱	۰/۱۴	۰/۱۵	۰/۰۹	۰/۱۴	۰/۱۴	۰
-Terpinene	۱۰۵۵	۰/۴	۰/۴۱	۰/۲۲	۰/۳۸	۰/۴۵	۰/۴۷	۰/۳۷	۰/۴۴	۰/۱۹
trans-Sabinene hydrate	۱۰۶۶	۰/۲۷	۰/۵	۰/۹۹	۰/۵۱	۰/۵۴	۱/۰۳	۰/۵۹	۰/۶	۱/۰۴
α-Terpinolene	۱۰۸۷	۰/۱۳	۰/۱۳	۰/۰۸	۰/۱۲	۰/۱۳	۰/۰۸	۰/۱۱	۰/۱۴	۰
Linalool	۱۰۹۹	۱/۹	۰/۸	۱/۱۷	۰/۶	۰/۵۶	۱/۰۲	۰/۴۵	۰/۶۷	۰/۶۳
Isopulegol	۱۱۴۶	۰/۱۶	۰/۱۴	۰/۱۶	۰/۱۵	۰/۱۳	۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۲
Menthone	۱۱۵۵	۱۰/۶۵	۹/۷۳	۱۱/۶۷	۱۰/۱۳	۸/۷۷	۱۲	۹/۲۴	۷/۶۴	۱۰/۵۱
Menthofuran	۱۱۶۲	۱۸/۵۴	۱۹/۴۶	۲۳/۱۴	۱۸/۳۱	۱۹/۰۵	۲۳/۵	۱۸/۱۸	۱۸/۶۴	۲۲/۵۲
Menthol	۱۱۷۳	۳۵	۳۸/۰۷	۳۱/۹۲	۳۶/۹۱	۴۰/۲۱	۲۹/۸	۳۷/۲۴	۳۹/۱۳	۳۶/۳۷
Terpinene-4-ol	۱۱۷۷	۱/۰۹	۱/۰۶	۰/۶۶	۱/۰۷	۱/۱۳	۰/۷	۰/۹۶	۰/۸۶	۰/۷۱
α-Terpineol	۱۱۹۰	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۳۷	۰/۴۳	۰/۴۴	۰/۲۸	۰/۴۲	۰/۴۵	۰/۳۴
Pulegone	۱۲۵۰	۲/۷۳	۲/۹۲	۵/۳	۲/۵۱	۲/۳۶	۵/۵۱	۳/۰۹	۲/۵۸	۴/۴۸
Piperitone	۱۲۸۰	۰/۶۱	۰/۳۹	۰/۳۷	۰/۶۷	۰/۳۸	۰/۳۹	۰/۷۲	۰/۴۴	۰/۳۲
Menthyl acetate	۱۳۲۶	۸/۲۱	۶/۲۷	۵/۵۳	۸/۷۷	۶/۵	۶/۷۱	۹/۳۴	۷/۲۸	۵/۸۷
β-Bourbonene	۱۳۸۳	۰/۲۳	۰/۱۸	۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۱۴
β-Elemene	۱۳۹۰	۰/۱	۰	۰/۰۹	۰/۰۷	۰	۰/۰۷	۰	۰/۰۹	۰
β-Caryophyllene	۱۴۱۸	۱/۸۶	۲/۱۷	۲/۳۵	۲/۲۱	۲/۳۴	۲/۲	۲/۱۱	۲/۶۳	۲/۰۸
trans-β-Farnesene	۱۴۵۳	۰/۲۹	۰/۳۲	۰/۳۹	۰/۳۳	۰/۳۳	۰/۳۹	۰/۳۱	۰/۴۲	۰/۲۸
Germacrene-D	۱۴۸۰	۱/۶۵	۱/۹	۲/۰۱	۲/۰۶	۲/۱۵	۱/۹۴	۱/۸۸	۲/۲۵	۱/۶۸
Bicyclogermacrene	۱۴۹۵	۰/۲۲	۰/۲۴	۰/۲۳	۰/۲۵	۰/۲۸	۰/۲۱	۰/۲۲	۰/۲۹	۰/۲۱
delta-Cadinene	۱۵۲۲	۰/۰۶	۰	۰/۰۶	۰	۰	۰/۰۷	۰	۰/۰۷	۰
Spathulenol	۱۵۷۷	۰/۱	۰	۰/۱	۰	۰	۰/۰۹	۰	۰/۰۷	۰
Caryophyllene oxide	۱۵۸۳	۰/۱۴	۰/۱۲	۰/۲۵	۰/۱۳	۰/۱۱	۰/۲۲	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۹
Veridiflorol	۱۵۹۱	۰/۴۶	۰/۴۱	۰/۴۸	۰/۵۳	۰/۴۹	۰/۴۳	۰/۵۱	۰/۵۲	۰/۴۲
α-Cadinol	۱۶۴۰	۰/۴	۰/۱۶	۰/۲۳	۰	۰	۰/۱۸	۰	۰/۱۳	۰

ادامه جدول ۲- اجزای تشکیل دهنده روغن‌های اسانس گیاه نعناع فلفلی تحت تیمارهای تنش شوری و کاربرد کودهای آهن و روی به دو شکل سولفاته و نانو ذرات

ترکیبات اسانس	RI	نانوکود روی (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر)			نانوکود آهن (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر)			
		شوری (میلی مولار)						
		۰	۴۰	۸۰	۰	۴۰	۸۰	۱۲۰
α-Terpinene	۱۰۱۷	۰/۲۹	۰/۲۷	۰/۲	۰/۲۹	۰/۲۸	۰/۳	۰/۱۸
p-Cymene	۱۰۲۴	۰/۱۶	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱	۲/۴۸
Limonene	۱۰۲۶	۲/۷۶	۳/۵۹	۳/۳۵	۲/۵۱	۳/۵	۳/۱	۰
1,8-Cineole	۱۰۳۲	۷/۱	۷/۵	۶/۵۸	۷/۲۱	۶/۹۶	۷/۰۱	۴/۵۶
cis-β-Ocimene	۱۰۳۳	۰/۱۶	۰/۱۵	۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۱۵	۰/۰۹	۰
□-Terpinene	۱۰۵۵	۰/۴۶	۰/۴۳	۰/۳۲	۰/۴۷	۰/۴۶	۰	۰/۰۹
trans-Sabinene hydrate	۱۰۶۶	۰/۶	۰/۶۷	۰/۲۴	۰/۶۶	۰/۵۴	۰/۴۴	۱/۷۲
α-Terpinolene	۱۰۸۷	۰/۱۴	۰/۱۳	۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۱۱	۰
Linalool	۱۰۹۹	۰/۳۵	۰/۳۶	۰/۳۴	۰/۳۳	۰/۳۵	۰	۰/۳۱
Isopulegol	۱۱۴۶	۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۱۶	۰/۱۴	۰/۱۴	۰/۱۲	۰/۱۲
Menthone	۱۱۵۵	۱۰/۱۶	۹/۲۳	۱۰/۸۱	۱۱/۲۵	۸/۱۱	۱۲/۵۵	۱۷/۸۳
Menthofuran	۱۱۶۲	۱۸/۸۱	۱۸/۷۶	۱۸/۸۶	۱۹/۱۵	۱۸/۷۷	۱۹/۰۲	۲۱/۱۸
Menthol	۱۱۷۳	۳۷/۹۱	۴۰	۴۱/۱۲	۳۸/۴۷	۴۰/۱۹	۴۲/۲۲	۳۱/۵۷
Terpinene-4-ol	۱۱۷۷	۱/۱۹	۱/۰۱	۰/۸۶	۱/۲۲	۱/۰۴	۱/۳	۰/۶۵
α-Terpineol	۱۱۹۰	۰/۴۲	۰/۴۵	۰	۰/۴	۰/۴۵	۰/۲۲	۰/۲۸
Pulegone	۱۲۵۰	۳/۶۹	۲/۰۴	۳/۱۷	۱/۹۳	۲/۵۲	۳/۰۶	۴/۹۸
Piperitone	۱۲۸۰	۰/۴	۰/۳۹	۰/۶۴	۰/۴۴	۰/۴	۰	۰/۴
Menthyl acetate	۱۳۲۶	۷	۶/۶۱	۶/۰۸	۷/۵۶	۶/۸۲	۵/۱۱	۵/۷۱
β-Bourbonene	۱۳۸۳	۰/۱۵	۰/۲۱	۰/۲۳	۰/۱۴	۰/۲۳	۰/۲	۰/۱۱
β-Elemene	۱۳۹۰	۰	۰	۰/۰۸	۰	۰/۰۸	۰	۰
β-Caryophyllene	۱۴۱۸	۱/۹۷	۲/۲	۲/۱۸	۱/۸۲	۲/۴۳	۱/۱۱	۱/۷۴
trans-β-Farnesene	۱۴۵۳	۰/۲۸	۰/۳۲	۰/۱۱	۰/۲۵	۰/۳۷	۰/۲۳	۰/۲۴
Germacrene-D	۱۴۸۰	۱/۸۶	۱/۸۵	۱/۸	۱/۸۳	۲/۱۵	۱/۷۵	۱/۱۶
Bicyclogermacrene	۱۴۹۵	۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۰۹	۰/۲۲	۰/۲۵	۰/۱۸	۰/۱۳
delta-Cadinene	۱۵۲۲	۰	۰	۰/۰۷	۰	۰	۰	۰
Spathulenol	۱۵۷۷	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
Caryophyllene oxide	۱۵۸۳	۰/۱	۰/۱۲	۰/۴۱	۰/۱	۰/۱۴	۰	۰/۲۷
Veridiflorol	۱۵۹۱	۰/۵	۰/۴۱	۰	۰/۴۳	۰/۴۹	۰/۴۴	۰/۵۱
α-Cadinol	۱۶۴۰	۰	۰	۰/۰۹	۰	۰	۰	۰

تنش اسمزی حاصل از تنش شوری نیز موجب کاهش محتوای آب سلول‌ها می‌شود و طویل شدن سلول‌ها با مشکل مواجه می‌گردد (۱۲). به‌طوری که در پژوهشی، مرآتی و همکاران گزارش کردند با افزایش میزان شوری، پیکر رویشی گیاه دارویی پونه معطر (*Mentha Pulegium*) کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد داشته است (۶). همچنین ازآنجاکه در خاک‌های شور و آهکی حلالیت عناصر ریزمغذی نظیر آهن، روی و مس کم است، گیاهان اغلب ازنظر عناصر فوق دچار کمبود می‌باشند (۲۱). تغذیه برگی از راههای مؤثر در رفع نیاز غذایی گیاهان به عناصر کم‌مصرف می باشد، به‌طوری که مصرف عناصر ریزمغذی از طریق کاهش اثرات منفی یون‌های سمی می‌تواند مقاومت گیاهان را در برابر تنش شوری افزایش دهد (۲۵). در آزمایشی محلول‌پاشی عناصر آهن باعث افزایش ارتفاع و وزن خشک اندام هوایی در گیاه آفتاب‌گردان در شرایط تنش شوری شد (۳۱). باتوجه به این‌که آهن یکی از عناصر مهم در واکنش‌های اکسایش– احیاء در گیاهان می‌باشد و همچنین نقشی که در فتوسنتز گیاهان دارد، استفاده از نانو کود آهن موجب افزایش دسترسی این عنصر غذایی مورد نیاز گیاه و درنتیجه رشد اندام‌های هوایی و متعاقب آن افزایش زیست توده آن شده است (۲۶). نتایج آزمایشی نشان داد که مصرف مقادیر مختلفی از عناصر کم‌مصرف باعث افزایش وزن خشک گیاه ترخون (*Artimisia dracunculus*) شد (۲۷). همچنین بر طبق گزارش محلول‌پاشی گیاه علف‌لیمو (*Cymbopogon* spp.) با ترکیبات نانو کود آهن سبب افزایش عملکرد گیاه شد (۴۷). نتایج تحقیق حاضر با گزارش ترابیان و زاهدی (۱۳۹۲) بر روی ارقام آفتابگردان که محلول‌پاشی آهن به دو شکل سولفاته و نانو ذرات را به‌عنوان تیمار مؤثر در افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی اعلام نمودند، مطابقت دارد (۳). باتوجه به قطر نانو ذرات انتظار می‌رود سرعت جذب، انتقال و تجمع ذرات نانو بسیار بیشتر از ذرات معمول باشد. بالا بودن کارایی جذب و سطح مخصوص نانو ذرات در مقایسه با ذرات معمول، اثرگذاری بیشتر این ذرات را می‌تواند توجیه کند (۳۴).

مقدار و ترکیبات روغن‌های اسانس: به نظر می‌رسد که شوری مقدار اسانس را در تیره نعناعیان کاهش می‌دهد و این مسئله احتمالاً به دلیل محدود شدن عرضه سیتوکنین از ریشه‌ها به شاخه‌ها و درنتیجه تغییر نسبت بین سیتوکنین و اسید آبسیزیک برگ باشد (۱۸). بطوریکه در پژوهشی با افزایش میزان شوری، کاهش معنی‌داری در خصوصیات رشدی، میزان و عملکرد اسانس در گیاه دارویی شمعدانی معطر (*Pelargonium graveolens L.*) مشاهده شد (۱۴). نتایج تحقیقات مختلف حاکی از کاهش مقدار و عملکرد اسانس در گیاهان تحت تنش شوری دارد. شوری باعث کاهش مقدار اسانس ریحان (*Ocimum bacilicum*) (۵) و آگاستاکه (*Agastache foeniculum*) (۵ و ۷) از تیره نعناعیان شد که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. در تحقیقی مقدار اسانس تحت تنش شوری در گیاه بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica*) معنی‌دار نگردید، اما عملکرد اسانس استحصالی در واحد سطح به علت اختلاف در عملکرد بیولوژیکی خشک، در تیمارهای مختلف با یکدیگر تفاوت معنی‌دار داشت و با افزایش سطوح شوری کاهش یافت (۸،۲۸). آبیاری *M. spicata* با یک محلول شور رشد گیاه را کاهش داده و تشکیل اسانس را در آن متوقف ساخت (۱۸). در بررسی اثر شوری آب آبیاری بر مرزنگوش (*Origanum vulgare*) مشخص شد که شوری موجب کاهش ۲۰ درصدی مقدار اسانس می‌شود (۱۹). همچنین تنش شوری موجب کاهش مقدار اسانس در گیاه رازیانه شد (۱۶). ترکیب‌های معطر موجود در نعناع فلفلی در طعم‌دهندگی و فرآوری انواع چای گیاهی کاربرد دارد و برخی از این ترکیبات در گیاهان چند ساله همچون نپتا موجود می‌باشند (۴۹). منتول و منتون خاصیت ضد ویروسی و ضد باکتریایی دارد (۲).

جدول ۳- طبقه‌بندی ترکیبات شیمیایی اساس نعناع فلفلی

علم مصرف کرد	سرلفات روی				سرلفات آهن				نانو روی				نانو آهن			
	شوری (میلی مولار)				شوری (میلی مولار)				شوری (میلی مولار)				شوری (میلی مولار)			
	۰	۴۰	۸۰	۱۲۰	۰	۴۰	۸۰	۱۲۰	۰	۴۰	۸۰	۱۲۰	۰	۴۰	۸۰	۱۲۰
مونوترین هیدروکربن دار	۵/۶۸	۵/۱۸	۴/۷۹	۴/۷۳	۴/۸۴	۴/۶۵	۴/۸۱	۴/۷۳	۴/۲۳	۴/۹۷	۴/۷۸	۳/۹۷	۳/۸۱	۵/۲	۶/۰۱	۴/۵۳	۴/۷	۴/۹	۴/۹۹	۴/۴۴	۱۰/۴۹	۱۰/۸۱	۹/۸۸	۹/۸۵	۱۱/۱	۹/۱۱	۹/۸۱	۹/۸۸	۱۰/۷۵	۱۲/۸۸	۱۲/۸	۱۱/۷۶	۱۱/۴۴	۹/۶۵	۱۱/۴۵
مونوترین اکسیژن‌دار	۷۴/۹۱	۷۷/۳۹	۷۵/۷۱	۷۴/۹۹	۷۴/۱۹	۷۳/۵۴	۷۷/۹۸	۷۴/۹۹	۷۶/۶۸	۷۸/۱۱	۷۹/۸۲	۷۸/۸۲	۷۸/۴۷	۷۴/۹۸	۷۴/۹۸	۷۳/۵۴	۷۴/۹۹	۷۸/۱۱	۷۹/۸۲	۷۸/۸۲	۷۷/۳۷	۸۳/۵۶	۷۸/۱											
سزکوئی ترین هیدروکربن دار	۴/۵۲	۴/۹	۵/۳۷	۵/۳۳	۴/۹۴	۵/۰۲	۵/۴۳	۵/۳۳	۴/۷	۴/۹	۴/۹۹	۴/۴۴	۴/۵۳	۶/۰۱	۴/۵	۴/۴۳	۴/۴۴	۴/۹	۴/۹۹	۴/۴۴	۹/۸۵	۹/۹۵	۳/۶۵											
سزکوئی ترین اکسیژن‌دار	۰/۶۴	۰/۲۸	۰/۵۸	۰/۱۳	۰/۱۵	۰/۴۹	۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۸۳	۰/۱	۰/۱۹	۰/۳۵	۰/۱۴	۰	۰/۲۷																	
ترکیبات دیگر	۱۱/۴۵	۹/۶۵	۱۱/۴۴	۱۱/۷۶	۱۲/۸۸	۱۲/۸	۹/۳۲	۱۱/۷۶	۱۱/۱	۹/۱۱	۱۰/۸۱	۹/۸۸	۱۰/۷۵	۱۰/۴۹	۹/۸۵	۱۱/۰۵																	

در بررسی اثر شوری در گستره ۰/۷ تا ۵/۶ دسی زیمنس بر روی نعناع فلفلی بیشترین مقدار و کیفیت اسانس در شوری ۱/۴ و ۲/۸ دسی زیمنس بدست آمد (۴۸).

براساس جدول ۱ مقدار منتول، منتون، منتوفوران و پولیگون در تنش ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار افزایش و مقدار متیل‌استات و ۱و۸-سینئول کاهش می‌یابد. تغییر در مواد مؤثره گیاهان دارویی در اثر شوری گزارش شده است. شرایط شوری متوسط باعث افزایش مقادیر کاردنولاید در برگ‌های گل انگشتانه (*Digitalis purpurea*) می‌شود (۳۸).

در آزمایشی با افزایش غلظت نمک در آب آبیاری ریحان مقدار ترکیب‌هایی نظیر میرسن، ۱و۸- سینئول، متیل کاویکول، بورنیل استات، ژرانیل استات و سیس- آلفا - برگاموتن افزایش و برعکس مقدار لینالول، متیل اوژنول و آلفا-هومولن کاهش می‌یابد. همچنین در تحقیقی که در همین زمینه روی نعناع فلفلی انجام شده بود مشخص گردید تیمار تنش شوری سبب کاهش اندازه گیاه و کاهش مقدار روغن‌های اسانس نسبت به گیاهان شاهد شد (۱۷). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نعناع فلفلی به شوری حساس است و شوری شدید بیوماس و مقدار روغن‌های اسانس آن را به‌شدت کاهش می‌دهد. دلیل این امر شاید محدود شدن متابولیسم و انتقال سایتوکینین تولیدی از ریشه‌ها باشد، زیرا در تحقیقی مشخص شد که با محلول-پاشی گیاهان مذکور با سایتوکینین، می‌توان رشد و تولید روغن‌های اسانس را افزایش داده و اثرات شوری را تا حد زیاد تعدیل نمود (۱۷). در مطالعه‌ای روی تأثیر تنش اسمزی بر ترکیبات روغن‌های اسانس نعناع فلفلی مشخص شد در شرایط تنش اسمزی، ۸۰ درصد روغن‌های اسانس را منتون و منتول تشکیل می‌دهد و تحت این شرایط سسکویی‌ترپن‌ها مقداری افزایش پیدا می‌کنند که این با نتایج تحقیق حاضر تا حدودی مطابقت دارد (۲۰). در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که تحت تنش شوری منتون و منتول بخش اعظم ترکیب اسانس را در نعناع فلفلی تشکیل می‌دهد (۴۸). مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که کاربرد کود و نانو کودها به‌طور معنی‌داری روی ترکیبات اسانس در گیاهان دارویی مختلف تأثیرگذار هستند به‌طوری که در پژوهشی گزارش کرده‌اند که کاربرد کودهای ریزمغذی در نعناع فلفلی باعث می‌شود که مقدار منتول افزایش و مقدار منتون و بتا-کاریوفیل کاهش پیدا کند (۳۳). حنیف همچنین گزارش کرد که ریحان‌های تیمار شده با ۰/۰۹۵ میلی‌گرم در لیتر کود روی دارای لینالول بالایی هستند (۲۹). محققان در مطالعه‌ای روی گیاه *Lallemantia iberica* گزارش نموده‌اند که کاربرد نانو کود موجب می-شود که لینانول (۹/۱۷ درصد)، ژرماکرین و بتاکوبن (به ترتیب ۱۵ و ۱۱/۵ درصد) نسبت به سایر ترکیبات روغن-های اسانس در بیشترین مقدار باشند (۳۵). خراسانی نژاد و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه خود روی تأثیر تنش شوری در نعناع فلفلی بیان داشته‌اند که تحت سطوح تنشی ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم منتول و منتون بیشترین مقدار را نسبت به سایر ترکیبات روغن‌های اسانس دارند. این در حالی است که مقدار کادینین تحت این سطوح از تنش در کمترین میزان خود بود (۳۲). درنتیجه تنش شوری متابولیسم گیاه و تولید آنزیم‌های سازنده روغن‌های اسانس تحت تأثیر قرار می‌گیرد و درنتیجه در مقدار نهایی اجزای روغن‌های اسانس تغییر ایجاد می‌گردد (۲۴). تغییر در ترکیبات روغن‌های اسانس به دلیل اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز مونوترپن‌ها می‌باشد. به‌عبارتی تجمع مونوترپن‌ها در گیاهان تحت تنش شوری، نقش فیزیولوژیکی و اکولوژیکی به‌عنوان یک حفاظت کننده در مقابل تنفس نوری دارد. بنابراین باتوجه به موارد گفته شده شرایط محیطی و ژنوتیپ ازجمله عوامل تأثیرگذار بر کیفیت روغن‌های اسانس می‌باشند و افزایش منتول نسبت به منتوفوران در این تحقیق را علاوه بر نقش آنزیم‌های دخیل می‌توان نتیجه این موارد دانست.

به‌طورکلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی آهن و روی به شکل نانو ذرات در مقایسه با شکل سولفاته آنها تأثیر بیشتری بر عملکرد و تجمع ماده خشک (بیوماس) نعناع فلفلی دارد و می‌توان اظهار داشت که مصرف نانو کود آهن و روی در شرایط شوری ملایم می‌تواند، باعث افزایش عملکرد نعناع فلفلی شود. به‌عبارتی‌دیگر تنش شوری به‌ویژه ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار سبب کاهش اندازه گیاه و کاهش مقدار اسانس در بافت‌های تیمار شده نسبت به تیمار شاهد می‌گردد. به دلیل کاهش وزن‌تر و خشک اندام هوایی، بیوماس گیاه و مقدار اسانس در اثر تنش شوری شدید، مقدار ماده خشک گیاه و درنتیجه عملکرد اسانس کاهش می‌یابد. بیشترین مقدار منتول حاصل از آنالیز اسانس مربوط به تیمار کاربرد کود نانو آهن می‌باشد، به‌طوری که بررسی تیمارهای کودی و سطوح مختلف تنش شوری نشان داد بیشترین مقدار منتول (۴۲/۲۲ درصد) اسانس مربوط به تیمار تنش شوری ۸۰ میلی‌مولار و محلول‌پاشی نانو کود آهن بود. به‌طور کلی با توجه به ارزش دارویی و غذایی این گیاه انجام تحقیقات وسیع و گسترده به‌منظور ارزیابی قابلیت مصرف نانو کودهای مختلف در افزایش عملکرد و بهبود کیفیت گیاهان دارویی و کاربرد آنها به‌عنوان یک عامل جهت افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در کشور امری ضروری و اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. نکته قابل تأملی که در این تحقیق وجود دارد این است که چون ازنظر مقدر اسانس اختلاف معنی‌داری بین تیمار ۴۰ میلی‌مولار شوری و شاهد مشاهده نشد و ازآنجاکه گیاهان تولید شده در شرایط تنش ۴۰ میلی‌مولار، در اثر کاهش رشد کوچکتر بوده و حجم کمتری را اشغال می‌کنند، بنابراین شاید بتوان با افزایش تراکم کاشت در شوری‌های ۴۰ میلی‌مولار، میزان کمبود عملکرد اسانس را در شرایط بدون تنش جبران کرده و به عملکرد و ماده خشک قابل قبولی دست یافت.

منابع

۱- امید بیگی، ر.، ۱۳۸۶. تولید و فراوری گیاهان دارویی، جلد دوم، انتشارات آستان قدس رضوی، ۴۳۸ صفحه.

۲- بریمانی، م.، ۱۳۷۶. مطالعه تأثیر کودهای ازته در مراحل مختلف زندگی گیاه بادرشبو و میزان تولید اسانس آن، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت‌معلم، ۱۳۵ صفحه.

۳- ترابیان، ش.، و زاهدی، م.، ۱۳۹۲. تأثیر تغذیه برگی سولفات آهن و روی به دو شکل معمول و نانو ذرات بر رشد ارقام آفتابگردان تحت تنش شوری، مجله علوم گیاهی زراعی ایران، ۴۴(۱)، صفحات ۱۰۹-۱۱۸.

۴- جعفری، م.، ۱۳۷۳. سیای شوری و شور روی‌ها، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ۵۵ صفحه.

۵- حسنی، ع.، امیدبیگی، ر.، حیدری شریف آباد، ح.، سفیدکن، ف. ۱۳۸۲. اثرات تنش‌های آبی و شوری کلرور سدیم بر برخی از خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ریحان رقم کشکنی لولو، رساله دکتری علوم باغبانی. دانشکده کشاورزی. دانشگاه تربیت مدرس. صفحه ۱۳۵.

۶- حسنوند، ف.، رضایی نژاد، ع.، فیضیان، م. ۱۳۹۶. تاثیر سیلسیک اسید بر برخی ویژه گیهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی شمعدانی معطر (*Pelargonium graveolens L.*) تحت تنش شوری ناشی از کلرید کلسیم. مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۳۰(۲):۳۰۹-۳۱۷.

۷- خرسندی، ا.، حسنی، ع.، سفیدکن، ف.، شیرزاد، ح.، و خرسندی، ع.، ۱۳۸۹. اثر تنش شوری ناشی از کلرور سدیم، بر رشد، عملکرد و میزان و ترکیب‌های اسانس (*Agastache feoniculum* kunts)، فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳(۲۶)، صفحات ۴۳۸-۴۵۱.

۸- دوازده امامی، س.، جهانسوز، م.، مظاهری، د.، سفیدکن، ف. ۱۳۸۹. اثر شوری آب آبیاری بر جوانه‌زنی، سبز شدن، عملکرد بیولوژیکی و کمیت و کیفیت اسانس بادرشبویه. فن‌آوری تولیدات گیاهی، ۱(۱۰): ۲۳ تا ۲۵.

۹- رضایی، م.، حسینی، س.، شعبانعلی فمی، ح.، و صفا، ل.، ۱۳۸۸. شناسایی و تحلیل موانع توسعه و فناوری نانو در بخش

کشاورزی ایران از دیدگاه محققان، فصلنامه علمی- پژوهشی سیاست علم و فناوری، ۲(۱)، صفحات ۱۷-۲۶.

۱۰- کافی، م.، لاهوتی زند، م.، شریفی، ح، ر.، و گلدانی، م.، ۱۳۷۸. فیزیولوژی گیاهی، جلد اول، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۶۶۴ صفحه.

۱۱- ملکوتی، م، ج.، ۱۳۸۰. مصرف کود در اراضی فاریاب و دیم، انتشارات دانشگاه تربیت مدرس، چاپ اول، صفحات ۱۸۰-۱۸۴.

۱۲- مرتضی نژاد، ف.، خاوری نژاد، ر، ع.، و امامی، م.، ۱۳۸۵. بررسی برخی پارامترهای عملکرد و میزان پرولین ارقام برنج در شرایط تنش شوری، دانش نوین کشاورزی، ۲(۴)، صفحات ۶۵-۷۰.

۱۳- میرزا، م.، سفیدکن، ف.، ۱۳۷۵. اسانس‌های طبیعی، استخراج، شناسایی کمی و کیفی و کاربرد، انتشارات موسسه جنگل‌ها و مراتع تهران، ۲۲۵صفحه.

۱۴- مرآتی، م.، نیکنام، و.، حسن‌پور، ح.، و میرمعصومی، م.، ۱۳۹۴. مقایسه تأثیر تنش شوری بر رشد و پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در اندام‌های مختلف گیاه پونه معطر (*Mentha Pulegium L.*) مجله پژوهش‌های گیاهی (انجمن زیست‌شناسی ایران)، ۲۸(۵)، صفحات ۱۰۹۷-۱۱۰۷.

۱۵- همایی، م.، ۱۳۸۱. واکنش گیاهان به شوری، انتشارات کمیته ملی آبیاری و زهکشی ایران، تهران، ۹۷ صفحه.

16- Ashraf, M., Mukhtar, N., Rehman, S. and Rha, E.S. (2004) Salt-induced changes in photosynthetic activity and growth in a potential medicinal plant Bishop's weed (*Ammi majus* L.). Photosynthetica 42(2): 543-550.

17- Aziz, E.A., Al-Amier, H. and Craker, L.E. (2008) Influence of salt stress on growth and essential oil production in peppermint, pennyroyal, and apple mint. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants 14: 77 – 87.

18- Barrett-Lennard, E.G. (2003) The interaction between waterlogging and salinity in higher plants: causes, consequences and implications. Plant and Soil 253(1): 35-54.

19- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39(1): 205-207.

20- Charles, D.J., Joly, R.J. and Simon, J.E. (1990) Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. Phytochemistry 29: 2837-2840.

21- Cramer, G.R., Lynch, J., Läuchli, A. and Epstein, E. (1987) Influx of Na^+, K^+, and Ca^{2+} into roots of salt-stressed cotton seedlings effects of supplemental Ca^{2+}. Plant Physiology 833: 510-516.

22- Chimenti, C. (2000) Activity and mechanism of action of natural antioxidants in lipids. Recent Research Develoil of Chemistry 2:1-14.

23- Clark, R.J. and Menary, R.C. (2008) Environmental effects on peppermint (*Mentha piperita l.*). II. Effects of temperature on photosynthesis, photorespiration and dark respiration in peppermint with reference to oil composition. Australian Journal of Plant Physiology 7(6): 693–697.

24- El-Keltawi, N.E. and Croteau, R. (1987) Salinity depression of growth and essential oil formation in spearmint and marjoram and its reverse foliar applied cytokinin. Phytochemistry 26:1333-1334.

25- El-Fouly, M.M., Mobarak, Z.M. and Salama, Z.A. (2011) Micronutrients (Fe, Mn, Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat *Triticum aestivum* L. African Journal of Plant Science 5(5): 314-322.

26- Gardner, F., Piers, R. and Michelle, L. (2011) Physiology of crop plants. Translation: Koocheki A, and Sarmadnia Gh: Mashhad SID Press. 327 p.

27- Glyn, M. (2002) Mineral nutrition, production and artemisinin content in *Artemisia annua*. Acta Horticulture 426: 721-728.

28- Hassani, A. (2006) Effect of water deficit stress on growth, yield and essential oil content of *Dracocephalum moldavica*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 22: 256- 261.

29- Hanif, M.A., Nawaz, H., Ayub, M.A., Tabassum, N., Kanwal, N., Rashid, N., Saleem, M. and Ahmad, M. (2017) Evaluation of the effects of zinc on the chemical composition and biological activity of basil essential oil by using Raman spectroscopy. Industrial Crops and Products 96: 91-101.

30- Hemant Ranjan, A. (1996) Physiology and biochemical significance of zinc in plants. Advanct of Micro Research 4: 151-178.

31- Jabeen, N. and Ahmad, R. (2011) Effect of foliar-application boron and manganese on growth and biochemical activities in sunflower under saline conditions. Pakistan Journal of Botany 43(2): 1271-1282.

32- 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.

33- Marotti, M., Piccaglia, R., Giovanelli, E., Deans, S. and Eaglesham, E. (1994) Effects of planting time and mineral fertilization on peppermint (*Mentha x piperita* L.) essential oil composition and its biological activity. Flavour and Fragrance Journal 9: 125-129.

34- Monica, R.C. and Cremonini, R. (2003) Nanoparticles and higher plants. Caryologia 22: 121-122.

35- Mafakheri, S., Asghari, B. and Shaltooki, M. (2016) Effects of biological, chemical and nano-fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of *Lallemantia iberica* (MB) Fischer & Meyer. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 32: 667-676.

36- Maffei, M., chialva, F. and Sacco, T. (2004) Are leaf area index (LAI) and flowering related to productivity in peppermint. Flavor and Fragrance Journal 9:119-124.

37- Montanari, M., Degl'Innocenti, E., Maggini, R., Pacifici, S., Pardossi, A. and Guidi, L. (2008) Effect of nitrate fertilization and saline stress on the contents of active constituents of *Echinacea angustifolia* DC. Food Chemistry 107(4): 1461-1466.

38- Morales, C., Cusido, R.M., Palazon, J. and Bonfill, M. (1993) Response of *Digitalis purpurea* plants to temporary salinity. Journal of Plant Nutrition 16(2):327-335.

39- Murray, M. (1999) The healing power of herbs. Amir. Bot. Council 46:45-63

40- Nasiri, Y., Zehtab-Salmasi, S., Nasrullahzadeh, S., Najafi, N. and Ghassemi-Golezani, K. (2010) Effects of foliar application of micronutrients (Fe and Zn) on flower yield and essential oil of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Journal of Medicinal Plants Research 4(17): 1733-1737.

41- Neffati, M. and Marzouk, B. (2008) Changes in essential oil and fatty acid composition in coriander (*Coriandrum sativum* L.) leaves under saline conditions. Industrial Crops and Products 28(2:137-142.

42- Pintilei, M., Oprica, L., Surleac, M., Dragut, I.C., Creanga, D.E. and Artenie, V. (2006) Enzyme activity in plants treated with magnetic liquid, Rom. Journal of Biophysics – Magnetic Effects 21: 221–222.

43- Qi, D., Zhang, H., Tang, J., Deng, C. and Zhang, X. (2010) Facile synthesis of mercaptophenylboronic acid-functionalized core-shell structure Fe3O4@C@Au magnetic microspheres for selective enrichment of glycopeptides and glycoproteins. Journal of Physiology Chemistry 114: 9221-9226.

44- Radzimska, A.K. and Jesionowski, T. (2014) Zinc oxide—from synthesis to application: a review. Journal of Materials 7: 2833-2881.

45- Rácuciu, M., Micláus, S. and Creangá, D. (2009) The response of plant tissues to magnetic fluid and electromagnetic exposure, Rom. Journal of Biophysics – Magnetic Effects 13: 53–32.

46- Tabatabaie, S.J. and Nazari, J. (2007) Influence of nutrient concentrations and NaCl salinity on the growth, photosynthesis, and essential oil content of peppermint and lemon verbena. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 31: 245-253.

47- Venskutonis, P.R., Dapkevičius, A. and Baranauskienė, M. (1995) Flavour composition of some lemon-like aroma herbs from Lithuania. Developments in Food Science 37: 833-847.

48- Ram, M., Singh, R. and Sang wan, R.S. (2000) Foliar application of Zinc sulfate increase the growth, essential oil in menthol mint (Mentha arvensis). Australian Journal of Expermental Agriculture 43(10): 1263-1268.

49- Singh, R., Shushni, M.A. and Belkheir, A. (2015) Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Arabian Journal of Chemistry 8: 322-328.

The effect of sulfate and nano particles of iron and zinc on biomass, content and compositions of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil under salt stress

Rostami G.,[1] Moghaddam M.,[1] Ghasemi Pirbalouti A.[2] and Tehranifar A.[1]

[1] **Dept. of Horticultural Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. of Iran**

[2] **Dept. of Medicinal Plants, ShahreQuds Branch, Islamic Azad University, I.R. of Iran**

Abstract

In order to investigate the effect of spraying iron and zinc fertilizers in two forms of sulphate and nano particles on the content and compositions of peppermint essential oil under salt stress, an experiment as a factorial based on completely randomized design with three replications was conducted. The experiments treatments were salt stress in four levels (0, 40, 80, and 120 mM NaCl) and spraying fertilizers in five levels including control (without application of fertilizer), 1500 mg/L of iron sulphate, 300 mg/L of Fe-nano, 1500 mg/L of zinc sulphate, and 300 mg/L of Zn-nano particles. The application of zinc and iron fertilizers, especially in nano form improved the biomass of peppermint and the highest biomass was observed in Fe-nano fertilizer treatment. All plants in high salinity level (120 mM) had the severe reduction in the growth and only plants treated with Fe-nano fertilizer produced plant material enough for extraction essential oil in this level. Other treatments in the 120 mM of salinity level were not measurable because of the low volume of the vegetative body. Results showed that Fe-nano treatment under 40 and 80 mM of salt stress caused 13.96 and 25.13 percent increase in the amount of essential oil compared to control treatment (without application of fertilizer). The highest amount of menthol (42.22 percent) was related to 80 mM of salinity stress and Fe-nano application treatment. The lowest amount of menthol (31.57 percent) was observed in 120 mM of salinity stress and Fe-nano application. According to the results of this research, 40 and 80 mM of salinity stress could have the positive effect on the amount of menthol of peppermint oil. Generally, it could be said that using nano fertilizers, especially Fe-nano, can increase the amount main compounds of essential oil (menthol and menthone) and biomass of peppermint under salt stress.

Key words: Essential oil, Salinity, Menthol, Menthone, Peppermint