



Determining the Salt Tolerance Threshold of *Mentha suaveolens* Ehrh. under Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) Influence

Mohammad Reza Morshedloo^{*1,2}, Habib Farhadi¹, Hosein Ahmadi³, Filippo Maggi⁴

1. Corresponding author; Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran. E-mail: morshedlooreza@gmail.com; morshedloo@maragheh.ac.ir
2. Center of International Scientific and Collaborations (CISSC), Ministry of Science, Research and Technology, Tehran, Iran.
3. Department of Horticulture Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
4. School of Pharmacy, Chemistry Interdisciplinary Project (ChIP), University of Camerino, Italy.

Article Info	Abstract
Article type: Research Full Paper	Background and objectives: Salinity stress poses a significant challenge worldwide, particularly in arid and semi-arid regions, impacting the physiological processes and secondary metabolites of medicinal plants like <i>Mentha suaveolens</i> Ehrh. Distributed in humid rangelands, this species is notably affected by environmental salinity rise and excessive exploitation. Therefore, enhancing or preserving the quality and quantity of its metabolites under natural or cultivated conditions, including irrigation with unconventional saline waters, using modern methods, becomes imperative. Recently, gamma-aminobutyric acid (GABA), a biomolecule known to induce plant tolerance in various physiological processes, has been explored to optimize conditions and enhance plant performance under stress. This study aimed to model and evaluate the effects of GABA concentrations on the secondary metabolites and physiological characteristics of <i>Mentha suaveolens</i> under varying salinity levels.
2024; Vol 17, Issue 4	Methodology: The influence of GABA concentrations ranging from 0 to 2.4 mM on secondary metabolites and physiological traits of apple mint species under salinity levels of 0 to 150 mM NaCl was assessed in a greenhouse at the Faculty of Agriculture, Maragheh University, during the year 1401. At the end of the trial period, parameters such as biomass performance, relative water content of aerial organs, and secondary metabolites including flavonoids, phenols, DPPH radical scavenging activity, proline, malondialdehyde (MDA), carotenoids, chlorophyll, and essential oil content were evaluated. Statistical analysis and Principal Component Analysis (PCA) were performed on the collected data.
Article history: Received: 09.09.2023 Revised: 29.11.2023 Accepted: 19.12.2023	Results: Salinity stress led to reductions in root and shoot dry weight, piperitone oxide content, relative water content, chlorophyll content, and PSII maximum quantum yield (Fv/Fm). Conversely, malondialdehyde (MDA), total flavonoids, and DPPH radical scavenging activity increased under salinity. Application of GABA mitigated the negative effects of salinity stress, with the most significant changes observed under higher salinity (150 mM) and GABA (2.4 mM) levels. PCA
Keywords: Plant biomass, Environmental stresses, Functional characteristics, Principal component analysis (PCA).	

analysis accounted for 90.58% of changes under different treatments. DPPH activity, piperitone oxide, and essential oil content showed the highest gradients, indicating their sensitivity to salinity levels and GABA application. Notably, NaCl(0)-GABA(0) and NaCl(0)-GABA(2.4) treatments exhibited the most significant combined effects on plant physiological characteristics. Salinity stress had varying effects on phenol and biomass content, while GABA application showed minimal to moderate effects on these parameters. Overall, severe salinity stress (>120 mM NaCl) adversely impacted plant performance and evaluated characteristics.

Conclusion: Salinity stress significantly altered functional characteristics of *Mentha suaveolens*, inducing metabolic changes to cope with or enhance tolerance to salinity stress. Modeling indicates that optimal GABA application could maintain or improve medicinal performance under moderate salt stress conditions. However, extreme salinity stress (120 to 150 mM) adversely affects plant performance, suggesting limited efficacy of GABA application in such conditions.

Cite this article: Morshedloo, M.R., H. Farhadi, H. Ahmadi, F. Maggi, 2024. Determining the Salt Tolerance Threshold of *Mentha suaveolens* Ehrh. under Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) Influence. Journal of Rangeland, 17(4): 622-639.



© The Author(s).

Publisher: Iranian Society for Range Management

DOR: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.8.3

مرتع

تعیین آستانه تحمل شوری گونه *Mentha suaveolens Ehrh.* تحت کاربرد گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA)

محمد رضا مرشدلو^{۱*}، حبیب فرهادی^۱، حسین احمدی^۲، فیلیپو مگی^۳

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران. رایان نامه: morshedlooreza@gmail.com; morshedloo@maragheh.ac.ir
 ۲. مرکز همکاری‌های علمی و بین‌المللی (CISSC)، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران.
 ۳. گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
 ۴. دانشکده داروسازی، پژوهه میان‌رشته‌ای شیمی (ChIP)، دانشگاه کامرین، ایتالیا.

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل - پژوهشی	نششش و هدف: نتش شوری همواره به عنوان یک مسئله جدی در سراسر جهان مخصوصاً در مناطق خشک و نیمه‌خشک، فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی را بهشت تحت تأثیر قرار داده است. گونه دارویی نعناع آناناسی (<i>Mentha suaveolens Ehrh.</i>) با پراکنش در مراتع مرتبط شدیداً تحت تأثیر افزایش شوری محیط و بهره‌برداری بی‌رویه قرار گرفته است. لذا بهبود یا حفظ کیفیت و کمیت متابولیت‌های آن تحت شرایط طبیعی یا کشت و آبیاری با آبهای نامتعارف شور به کمک روش‌های مدرن مؤثر ضروری به نظر می‌رسد. امروزه کاربرد انواع اصلاح‌گرها و آمینو اسیدها مانند گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) که یک مولکول زیستی نشانگر القاگذاره تحمل در فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی گیاه است، برای تعیین شرایط بهینه و بهبود عملکرد گیاهان تحت نتش معروفی شده است که مدل‌سازی و ارزیابی این اثرات نتایج دقیق‌تری را ارائه خواهد داد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۱۸ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۹/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۸	۱۴۰۲؛ جلد ۱۷، شماره ۴
واژه‌های کلیدی: زی توده گیاهی، تنش‌های محیطی، خصوصیات عملکردی، تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA).	مواد و روش‌ها: در این پژوهش تأثیر غلظت‌های ۰ تا ۲/۴ میلی‌مولار GABA بر متابولیت‌های ثانویه و خصوصیات فیزیولوژیکی گونه نعناع آناناسی تحت سطوح شوری ۰ تا ۱۵۰ میلی‌مولار نمک طعام (NaCl) تحت شرایط گلخانه در دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در سال ۱۴۰۱ مورد ارزیابی قرار گرفت. در انتهای دوره آزمایش خصوصیات فیزیولوژیکی مانند عملکرد زی توده، رطوبت نسبی اندام‌های هوایی و متابولیت‌های ثانویه گیاه از جمله محتوای کل فلاونوئیدها، فلی‌ها، فعالیت مهار رادیکال DPPH، محتوای پرولین، مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، کاروتونوئیدها، محتوای کلروفیل و مقدار اسانس مورد ارزیابی قرار گرفت. برای داده‌های بدست‌آمده، آنالیز آماری و تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) انجام شد. نتایج: نتش شوری به طور اجتناب‌ناپذیری ویژگی‌هایی مانند وزن خشک ریشه و اندام هوایی، محتوای اکسید پپریتون، محتوای نسبی آب، محتوای رنگدانه و حداقل عملکرد کواتومی PSII (Fv/Fm) را کاهش داد. اما محتوای مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و فلاونوئید کل و فعالیت مهار رادیکال DPPH تحت شوری افزایش یافت. از سوبی کاربرد GABA تا حدودی اثرات منفی نتش شوری را کاهش داد. بیشترین تغییرات تحت سطوح بالاتر شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) و GABA (۲/۴ میلی‌مولار) مشاهده شد. آنالیز ۹۰/۵۸ PCA درصد تغییرات را تحت

تأثیر سطوح مختلف تیمارها توجیه نمود. بر این اساس فعالیت DPPH، اکسید پیپریتنون و محتوای اسانس به ترتیب با گرادیان ۰/۹۴۱، ۰/۸۵۰ و ۰/۹۰۱ به ترتیب بالاترین گرادیان را تحت تأثیر سطوح شوری و کاربرد GABA داشتند. همچنین تیمار NaCl(0)-GABA(0) و (2.4)-GABA(0)-NaCl به ترتیب با طول گرادیان ۰/۷۵۴ و ۰/۷۶۱ مؤثرترین اثر ترکیبی را بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه داشتند. تنش شوری با ضرایب استاندارد شده ۰/۰۰۸ و ۰/۰۳- به ترتیب حداقل و حداکثر تأثیر را بر محتوای فنل و زی توده ریشه داشته‌اند. کاربرد GABA نیز به ترتیب با ضرایب ۰/۰۰۳ و ۰/۲۷۴ حداقل و حداکثر تأثیر را بر محتوای فنل و زی توده هوازی داشته‌اند. به طور کلی، تنش بسیار شدید NaCl (یعنی بیش از ۱۲۰ میلی مولا) بالاتر از تحمل گیاه نعناع آناناسی بوده که کاهش شدید در مقدار و عملکرد ویژگی‌های مورد ارزیابی را موجب شد.

نتیجه‌گیری: تنش شوری کلیه خصوصیات عملکردی گونه نعناع آناناسی را تغییر داد. درواقع تنش اسمزی ایجاد شده تحت تنش اعمال شده موجب تغییر در فرایندهای متابولیسمی گیاه شده که بهمنظور دفع اثر تنش و یا افزایش تحمل خود در مقابل تنش شوری، موجب تغییرات شده است. بر اساس مدل‌سازی صورت گرفته و با توجه به جنبه ارزش دارویی متابولیت‌های ثانویه گیاه نعناع آناناسی می‌توان با اعمال نمودن مقدار بهینه GABA در تنش‌های نه‌چندان شدید موجب حفظ و یا بهبود عملکرد دارویی گیاه شد. تحت تنش شدید شوری در (۱۲۰ تا ۱۵۰ میلی مولا) حفظ و یا بهبود عملکرد گیاه از طریق کاربرد GABA نتایج مطلوبی را نخواهد داشت.

استناد: مرشدلو، م.ر، ح. فرهادی، ح. احمدی، ف. مگی، ۱۴۰۲. تعیین آستانه تحمل شوری گونه *Mentha suaveolens* Ehrh. تحت کاربرد گاما آمیتو بوتیریک اسید (GABA). مرتع، (۴)۱۷. ۶۲۲-۶۳۹.



DOI: 20.1001.1.20080891.1402.17.4.8.3

© نویسنده‌گان

ناشر: انجمن علمی مرتعداری ایران

تعیین آستانه تحمل شوری گونه *Mentha suaveolens* Ehrh. ... / مرشدلو و همکاران

مقدمه

عموماً از بین تنش‌های غیرزیستی، شوری محیط چه به صورت طبیعی و چه به شکل یک فرآیند غیرطبیعی به یک بحران نگران‌کننده تبدیل شده که می‌تواند رشد گیاه را از طریق عدم تعادل یونی شدید، سمیت یونی (مقدار بیش از حد سدیم و کلر)، انفجار اکسیداتیو، تخریب رنگدانه‌ها، محدود کردن جذب دی‌اکسیدکربن، و مهار جذب + K به عنوان یک عنصر ضروری برای رشد گیاه تحت تأثیر قرار دهد (۹ و ۱۰). به همین دلیل تنش شوری شدیداً عملکرد گونه‌هایی مانند نعناع را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۱).

تنش‌های محیطی ساختار و کارایی فتوسیستم را از بین می‌برد و موجب کاهش شدید در حداکثر بازده و عملکرد گیاهان یا موجب تغییر آن می‌شود (۹). از سویی متابولیت‌های ثانویه گیاهان نیز ممکن است تحت تنش افزایش یابند (۷ و ۱۰). با این حال امروزه بهمنظور کاهش خسارت ناشی از شوری از طریق محلول‌پاشی اسیدهای آمینه به روشنی سریع و جایگزین برای جلوگیری از خدمات اسمرزی از طریق تأمین کربن و نیتروژن کافی در هنگام مشکلات تغذیه‌ای گیاهان و همچنین با فعل کردن سیگنانلینگ تبدیل شده است. مسیرها، انتقال یون و متابولیسم مربوطه اقدام شده است (۱۱).

گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA)، یک اسیدآمینه غیر پروتئین زا بوده که دو مسیر متابولیک اولیه کربن و نیتروژن را به هم مرتبط می‌کند و اعتقاد بر این است که به عنوان یک مولکول زیستی سیگنانلینگ القاکننده تحمل در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف عمل می‌کند (۱۲). کاربرد GABA تأثیرات فیزیوشیمیایی متعددی را در گیاهان موجب می‌شود (۱۳) که مقاومت گیاهان در برابر انواعی از تنش‌های محیطی را موجب می‌شود (۱۴). اثرات میلت این آمینواسید برای افزایش مقاومت برخی گیاهان در مقابل تنش شوری تا حدودی مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۵).

بر اساس تحقیقات صورت گرفته بهبود تحمل تنش در گیاهان با کاربرد GABA معمولاً با فعالیت بیشتر سیستم آنتی‌اکسیدانی، تجمع پرولین بالاتر به دلیل پرولین، کربوکسیلات سنتاز بالاتر و فعالیت کمتر پرولین

جنس نعناع (Mentha) از تیره Lamiaceae شامل بیش از ۶۰ گونه است که به طور گسترده در مناطق معتدل و نیمه معتدل جهان پراکنده شده‌اند (۱). گونه‌های جنس نعناع به عنوان گونه‌های دارویی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس از مهم‌ترین ترکیبات تولید شده در این جنس هستند که از نظر اقتصادی اهمیت ویژه‌ای دارند.

در بین گونه‌های نعناع، گونه نعناع آناناسی با نام علمی *Mentha suaveolens* Ehrh. یکی از مهم‌ترین گونه‌های این جنس است که دارای برگ‌های انبوه و کرکی با حاشیه سفید است (۲). نعناع آناناسی عمدتاً در مراتع مرتبط رشد می‌کند و همچنین به عنوان یک گیاه زینتی معطر در زمین (مزروعه) و گاهی در سبدهای آویزان کاشته می‌شود. این گیاه دارویی عمدتاً به عنوان چاشنی مورد استفاده قرار می‌گیرد و در طب سنتی برای طیف وسیعی از اثرات دارویی استفاده می‌شود. اسانس نعناع آناناسی منبعی غنی از اسید پیپریتنون، یک مونوترپن اکسیژن‌دار با طیف گسترده‌ای از اثرات مفید مانند ضد درد، ضد میکروبی و دافع حشرات است (۳). این گونه به دلیل ارزشمندی دارویی در برخی از رویشگاه‌های اصلی به شدت مورد بهره‌برداری و حتی در معرض انقراض و نابودی قرار دارد (۴). از سویی با بحران کمبود آب و افزایش شوری منابع آب‌وخاک، عملکرد اولیه و ثانویه گیاه تحت شرایط کشت نیز دچار تغییر و تحول شده است.

متابولیت‌های ثانویه در گونه‌های دارویی مختلف به طور قابل توجهی تحت تنش‌های محیطی متعددی کنترل، افزایش یا کاهش می‌یابند (۵ و ۶). جنبه معکوس این پدیده یکی از موانع اولیه تولید گیاهان دارویی با بازده بالا است (۷). بیوسنتر متابولیت‌های ثانویه توسط عوامل مختلف مانند بیان ژن، آنزیم‌ها و انواع مختلف تنش‌های غیرزیستی تنظیم می‌شود که در نهایت یک مکانیسم دفاعی پیچیده را از طریق طیف گسترده‌ای از مولکول‌های سیگنانل برای زنده ماندن در شرایط نامساعد ایجاد می‌کند که عملکرد گیاه را شدیداً تحت تأثیر قرار می‌دهد (۶ و ۸).

۳۵/۲۴، ۴۲/۷۱، ۵۰/۷۰ و ۱۸/۷ درصد، میلی گرم بر کیلوگرم و ۲۵/۶۲ درصد بود.

اعمال تیمارهای آزمایش

یک ماه پس از کاشت، گیاهان در مععرض ۵ سطح مختلف تنش شوری شامل شاهد (آب خالص)، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ میلی مولار NaCl قرار گرفتند. برای این منظور نمک طعام با درجه خلوص ۹۹/۵ درصد (MERK) استفاده شد. برای جلوگیری از شوک اسمزی، تیمار NaCl با محلول ۲۰ میلی مولار NaCl آغاز شد و سپس غلظتها به تدریج (هر دو روز) افزایش یافت تا به حد اکثر مقادیر رسید. آبیاری گلدانها با محلول هر ۳ روز یکبار انجام شد. شرایط گلخانه دارای دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، دوره نوری ۱۶ ساعت و رطوبت نسبی ۸۰ درصد بود.

مقدار موردنیاز GABA از شرکت Sigma-Aldrich خردیداری شد. محلول پاشی پنج روز قبل از تیمارهای شوری شروع شد و در مجموع پنج غلظت مختلف (شاهد، ۱/۲، ۰/۸، ۰/۴ و ۱/۶ میلی مولار) اعمال شد. اعمال تیمارها به این شکل بود که هر یک از سطوح GABA با تمام سطوح شوری تتفیق شد که نهایتاً ۳۰ نمونه به دست آمد. تیمارهای شاهد تحت محلول پاشی آب مقطر قرار گرفتند. هر گلدان در هفته با ۰/۵ لیتر آب خالص (مقطر) آبیاری شد تا از تجمع بیش از حد موادمعدنی نمک جلوگیری شود. این امر به منظور جلوگیری از خطأ، برای تمام نمونه‌ها انجام شد. برای جلوگیری از کمبود مواد مغذی، تمام گیاهان درون گلدانها با محلول هوگلنده با قدرت یک‌چهارم هر دو هفته یکبار و در طول فصل رشد تغذیه شدند (۱۷). در نهایت، اجزای گیاهی موردنیاز در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی گراد برای آنالیزهای بیوشیمیایی بعدی نگهداری شدند و مواد گیاهی باقیمانده برای ارزیابی انسانس و پلی‌فنل کل در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد در آون خشک شدند.

ارزیابی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه

محتوای نسبی آب و وزن خشک

در مرحله رشد کامل (زمان گلدهی)، تمام قسمتهای گیاه به طور کامل برداشت شد. اجزاء ریشه و اندام هوایی به صورت مجزا خشک و وزن شدند. برای

دهیدروژناز و تجمع بیشتر ترکیبات فنلی به دلیل نسبت فعالیت آنزیم فیلآلاتین آمونیاک-لیاز/پلی‌فنل‌اکسیداز بالاتر همراه بوده است (۹ و ۱۶).

با توجه به اینکه تجزیه تحلیل ارتباط بین عملکرد گیاهان و خصوصیات محیطی برای تعیین شرایط بهینه رویش گیاه در انتخاب محیط مناسب و بهبود عملکرد گیاهی مؤثر است (۸)، لذا روش‌های آماری مختلفی برای کاهش روابط اکولوژیکی و دسته‌بندی عوامل محیطی مؤثر بر عملکرد گیاهان می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد. به همین منظور در مطالعه حاضر، تأثیر غلظتها ۰ تا ۲/۴ میلی مولار GABA بر متابولیت‌های ثانویه و خصوصیات فیزیولوژیکی گونه نعناع آناناسی تحت سطوح شوری ۰ (آب خالص)، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ و ۱۵۰ میلی مولار NaCl برای تعیین آستانه‌ها و شرایط بهینه رشد تحت تنش به کمک یکی از مدل‌های رسته‌بندی محدود مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

روش آزمایش

مطالعه حاضر تحت شرایط گلخانه در دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه انجام شد. برای انجام آزمایش از طریق تکثیر رویشی به عنوان اولین مرحله برای تضمین یکنواختی ژنتیکی مواد گیاهی اقدام شد. برای این منظور ریزوم گونه نعناع در سینی تکثیر حاوی محیط کوکوپیت-پریلیت (۵۰:۵۰) کشت داده شدند. با توجه به ماهیت این مطالعه و آنالیزی به روش رسته‌بندی، لذا تکرار تیمارها متغیر بوده که مجموعاً ۳۰ نمونه مورد ارزیابی قرار گرفت. به عبارتی متناظر برای هر یک از سطوح شوری، سطح مشخص شده از GABA مورد استفاده قرار گرفت که شش گلدان را شامل می‌شد. به همین ترتیب زمانی که نشاء‌ها رشد مستقل نموده و به ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر رسیدند، به ۳۰ گلدان ۱۰ لیتری حاوی خاک، ماسه و کودبرگ به نسبت‌های ۱، ۱ و ۱، منقل شدند. با توجه به درصد اجزای خاک، بافت نهایی خاک در گلدانها لوم شنی تعیین گردید. همچنین مقادیر pH، کربن آلی، نیتروژن، پتاسیم، فسفر و کربنات کلسیم خاک گلدانها به ترتیب معادل ۷/۵

محتوای کل فنل‌ها و فلاونوئیدها

۰/۲ گرم از برگ‌های خشک پودر شده را با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد مخلوط کرد. پروتکل با تکان دادن نمونه‌ها در ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۲ ساعت تکمیل شد. پس از سانتریفیوژ، مواد رویی جدا شدند و سپس باقیمانده‌ها برای بار دوم به مدت ۲۴ ساعت مجدداً استخراج شدند. محتوای کل پلی فنل با استفاده از معرف NaHCO₃ اندازه‌گیری شد. مقادیر جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر ثبت شد. محتوای کل پلی فنل در میلی‌گرم معادل اسید گالیک (GAE) به ازای هر گرم وزن خشکشده بیان شد (۲۱). محتوای کل فلاونوئیدها با استفاده از واکنش AlCl₃ و با خواندن جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر ادامه یافت. کل فلاونوئیدهای نمونه‌ها با استفاده از منحنی کالیبراسیون رسم شده کوئستین درنهایت اندازه‌گیری شدند.

فعالیت مهار رادیکال DPPH

تعیین فعالیت مهار رادیکال آزاد ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) عصاره‌های هیدرولکلی با استفاده از روش Morshedloo و همکاران (۲۲). در این سنجه آنتی‌اسیدانی، عصاره‌ها با محلول متانولی ۰/۳ میلی مولار DPPH به مدت ۳۰ دقیقه در یک اتاق تاریک مخلوط شدند. جذب نمونه‌های مورد بررسی در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. مقادیر تجربی بر حسب درصد مهار رادیکال‌های DPPH محاسبه شد.

محتوای انسانس

قسمت‌های هوایی گل‌دار هر گیاه تحت فرآیند استخراج انسانس قرار گرفت. بدین منظور ۵۰ گرم از مخلوط خشکشده گل و برگ با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت با آب تقطیر شد. آب اضافی از نمونه‌های انسانس با استفاده از سولفات سدیم به آب حذف شد. آنالیز GC-MS با استفاده از کروماتوگرافی گازی همراه با طیف‌سنج جرمی مطابق روش‌های پیشین انجام شد (۲۳). کروماتوگراف گازی با یک ستون موبین HP-5 MS درصد فنیل متیل پلی سیلوکسان، ۳۰ متر طول، ۰/۲۵ میلی‌متر قطر داخلی و ۰/۱ میکرومتر ضخامت (flm) مجهز شد. دمای آون به

اندازه‌گیری تغییرات محتوای نسبی آب برگ (RWC) در پاسخ به تیمارهای تنفس شوری، وزن تازه و وزن خشک نمونه اندام گیاهان که به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داشتند محاسبه و محتوای نسبی آب تعیین شد. با توجه به اینکه ماهیت آزمایش به شکل رسته‌بندی و شامل اثرات ترکیبی سطوح صفر تا سطوح حداقل تیمارها بود، لذا ارزیابی برای تمام ۳۰ نمونه انجام شد.

محتوای پرولین و مالون دی‌آلدئید (MDA)

محتوای پرولین برگ‌های تازه با استفاده از یک معرف نین‌هیدرین برآورد شد. به دنبال این روش، محتوای پرولین کل از فاز تولوئن استخراج و برای اندازه‌گیری‌های اسپکتروفتومتری (مدل UV/Vis1800) در صفحه کوارتز ۹۶ چاهی آمده شد (۱۸). درنهایت اندازه‌گیری‌ها توسط صفحه خوان در طول موج ۵۲۰ نانومتر انجام شد. محتوای کل پرولین به صورت میکرومول پرولین در ۱ گرم وزن تازه (MDA) بیان شد. همچنین محتوای مالون دی‌آلدئید (MDA) به عنوان شاخص یکپارچگی غشاء در برگ‌های تازه بر اساس روش پیشنهادی پیشین تعیین شد. بر این اساس، از معرف تیوبارتیک اسید (TBA) برای جذب ترکیب اضافی MDA-TBA در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر استفاده شد (۱۹).

محتوای کلروفیل و کاروتونوئیدها، فلورسانس کلروفیل مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتونوئید کل به روش Porra صورت گرفت (۲۰). برای این منظور، ۸۰ میلی‌لیتر محلول استون ۸۰ درصد ساییده برگ تازه در ۱۰ میلی‌لیتر محلول استون ۸۰ درصد ساییده شد و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. طیف جذبی عصاره‌های رنگدانه در ۶۴۵، ۴۷۰ و ۵۱۷ نانومتر ثبت شد و محتوای کل با استفاده از معادلات مربوطه محاسبه شدند. همچنین فلورسانس کلروفیل Fv/Fm، Fv/F0، Fm، F0 با استفاده از دستگاه فلورسانس سنج کلروفیل قابل حمل Pam 2500-Walz (آلمان) بین ساعت ۹ تا ۱۱ صبح ثبت شد.

خصوصیات مورد ارزیابی تحت تیمارهای GABA و NaCl

انجام شد.

نتایج

ارزیابی خصوصیات فیزیولوژی گونه نعناع تحت تأثیر کاربر سطوح GABA و تنش شوری نشان داد که تقریباً تمام فاکتورهای مورد ارزیابی تغییرات معناداری را داشته‌اند. در اغلب موارد اثر شوری (سطوح مختلف شوری و سطح GABA) بیشتر از اثرات GABA خصوصیات مورد ارزیابی از جمله محتوای کلروفیل a و b را به شکل معناداری دچار تغییر نموده است ($P < 0.05$). اثرات ترکیبی سطوح تیمارهای مورداستفاده بر برخی خصوصیات از جمله کاروتینوئیدها و نسبت Fv/Fm علی‌رغم تفاوت اما معنادار نبود. در جدول ۱، با در نظر گرفتن سطوح صفر تیمارهای مورد استفاده، و نیز اثرات سطوح مختلف (غیر صفر) ترکیبی GABA و تنش شوری، تغییرات ویژگی‌های مورد ارزیابی نشان داد شده است.

صورت زیر برنامه‌ریزی شد: ۵ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، متعاقباً دما با نرخ ۳ درجه سانتی‌گراد در دقیقه تا ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد افزایش پیدا کرد و سپس به مدت ۲ دقیقه در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد توقف داشت. همچنین دمای انژکتور و خط انتقال به ترتیب ۲۳۰ و ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. هلیوم به عنوان گاز حامل با نرخ ۱ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. طیف‌ها در محدوده جذب جرمی $400 - 40$ m/z اسکن شد. کمی کردن ترکیب انسانس با استفاده از نرمال‌سازی سطح پیک و بدون استفاده از ضرایب اصلاح انجام شد (۲۴).

آنالیز داده‌ها

ابتدا آزمون کلموگروف-اسمیرنوف برای بررسی نرمال بودن داده‌ها مورداستفاده قرار گرفت. پس از تأیید همگنی واریانس داده‌ها، آنالیز واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) در SPSS انجام شد. همچنین به منظور رسته‌بندی داده‌ها، طول گرادیان به روش DCA کمتر از ۳ به دست آمد، لذا تحلیل مؤلفه اصلی (PCA) به عنوان یکی از مهم‌ترین روش‌های رسته‌بندی برای خلاصه‌سازی ارتباطات

جدول ۱: تجزیه واریانس (میانگین مربعات و آماره F) صفات موربدرسی با کاربرد گاما آمینو بوتیریک اسید تحت سطوح تنش شوری

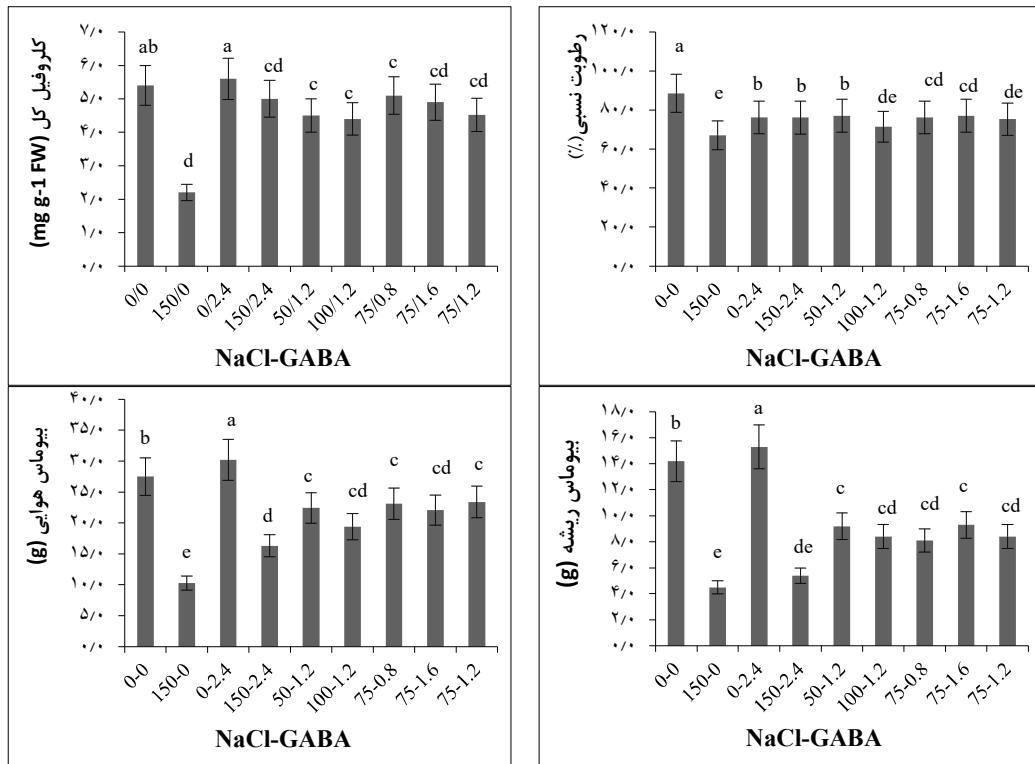
GABA*NaCl			GABA			NaCl			منبع تغیر
F	Mean squares	F	Mean squares	F	Mean squares				
*۶/۴	۳۳/۴۱۴	۹/۲۸**	۱۴۳/۴۲	۱۱/۲۸**	۲۴۶/۴۳۵	(mg GAE g ⁻¹) DW			محتوای کل فلاونوئیدها
۶/۱*	۷۵۲/۴۲۵	۷/۱۲**	۱۳۷۴/۵۷۲	۸/۲۴**	۱۴۵۸/۱۲۵	(mg QE g ⁻¹) DW			محتوای کل فللهای
۷/۲*	۳۶۶/۷۳۴	۸/۴۵**	۴۸۸/۴۳۲	۸/۶۸**	۵۸۵/۲۱۳	(%) DPPH			فعالیت مهار رادیکال
۱/۴ns	۳/۱۰۲	۴/۲۰*	۱۶/۳۲۶	۵/۱۰*	۱۹/۴۰۴	(mg g ⁻¹) FW			محتوای پرولین
۵/۱۵*	۷۸/۸۱۴	۶/۷۵**	۱۳۲/۴۱۱	۷/۱۱**	۱۲۸/۲۰۵	(mg g ⁻¹) FW (MDA)			محتوای مالون‌دی‌آلئید
۰/۷۸ns	۰/۱۲۲	۱/۱ns	۰/۰۲۱	۰/۷۴*	۰/۲۲۴	(mg g ⁻¹) FW			کاروتینوئیدها
۵/۱۳*	۶/۲۲۴	۶/۴۴*	۹/۲۷۱	**۱۲/۱۲	۱۶/۱۱۱	(mg g ⁻¹) FW a			محتوای کلروفیل a
۵/۱۲*	۵/۰۳۱	۵/۸۸*	۸/۳۴۲	**۱۰/۴۴	۱۱/۱۲۲	(mg g ⁻¹) FW b			محتوای کلروفیل b
۰/۴۸ns	۰/۲۳۳	۰/۸۳ns	۰/۱۱۱	۰/۲۱*	۰/۵۳۶	Fv/Fm			Nسبت Fv/Fm
۴/۳۲*	۰/۲۲۲	**۸/۸۵	۰/۳۴۴**	**۱۱/۰۲	۰/۷۵۴	محتوای انسان (%)			محتوای انسان (%)
۴/۴۵*	۴۱/۳۴۲	**۷/۷۶	۷۷/۳۵۲**	۵۰۳*	۱۵۵/۴۳۲	محتوای اکسید پیریتلون (%)			محتوای اکسید پیریتلون (%)
۱/۱۱ns	۱۴۳/۲۲۱	۵/۴۲*	۸۵۲/۳۵۲*	۵/۱۲*	۱۸۵۱/۱۳۲	محتوای نسبی آب برگ (%) (RWC)			محتوای نسبی آب برگ (%) (RWC)
۸/۴۲**	۳۰۱/۱۳۴	**۱۶/۲۴	۲۸۵/۴۴۵**	**۱۸/۴۱	۴۲۵/۱۴۵	وزن خشک اندام هوایی (g)			وزن خشک اندام هوایی (g)
۹/۱۲**	۱۰۵/۴۲۲	**۱۲/۷۴	۱۴۵/۲۳۴**	**۱۷/۴۲	۲۸۵/۴۳۵	وزن خشک اندام ریشه (g)			وزن خشک اندام ریشه (g)

**: وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۱، **: وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۵، ns: عدم معنی‌داری

تعیین آستانه تحمل شوری گونه *Mentha suaveolens* Ehrh. ... / مرشدلو و همکاران

هوایی و ریشه نیز نشان می‌دهد که اثر GABA و تنش شوری در سطح ۱ درصد برای وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار بود، درحالی‌که تنها تنش شوری به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۱) بر زی‌توده گیاه تأثیر گذاشت. تنش شوری در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار وزن اندام هوایی و خشک ریشه را به ترتیب ۱۷۰ و ۲۲۰ درصد در مقایسه با شاهد کاهش شدیدی داد. مطابق نتایج، بیشترین وزن خشک اندام هوایی (۱/۵۶ ± ۳۰/۳۳ گرم) و ریشه (۱۵/۴۵ ± ۲/۶۰ گرم) تحت غلظت ۲/۴ میلی‌مولار GABA بدون کاربرد نمک طعام به دست آمد (شکل ۱).

محتوای کلروفیل، رطوبت نسبی و زی‌توده سطوح تنش شوری به‌شدت موجب تغییر و کاهش میزان کلروفیل (a و b) در گیاه نعناع شد. این تغییرات در حدود ۶۰ درصد ارزیابی شد. از طرفی اثر GABA بر گیاه تحت تنش تا حدودی موجب بهبود عملکرد و افزایش کلروفیل برگ‌ها شده است. از سویی نتایج مقایسه میانگین نشان داد که محتوای نسبی آب اندام‌های هوایی گیاه تحت تنش شوری کاهش یافت. که روند تغییر این صفات را تحت به‌طور کلی اثرات کاربرد GABA بر محتوای نسبی آب گیاه ناچیز ارزیابی شد. همچنین میانگین وزن خشک اندام



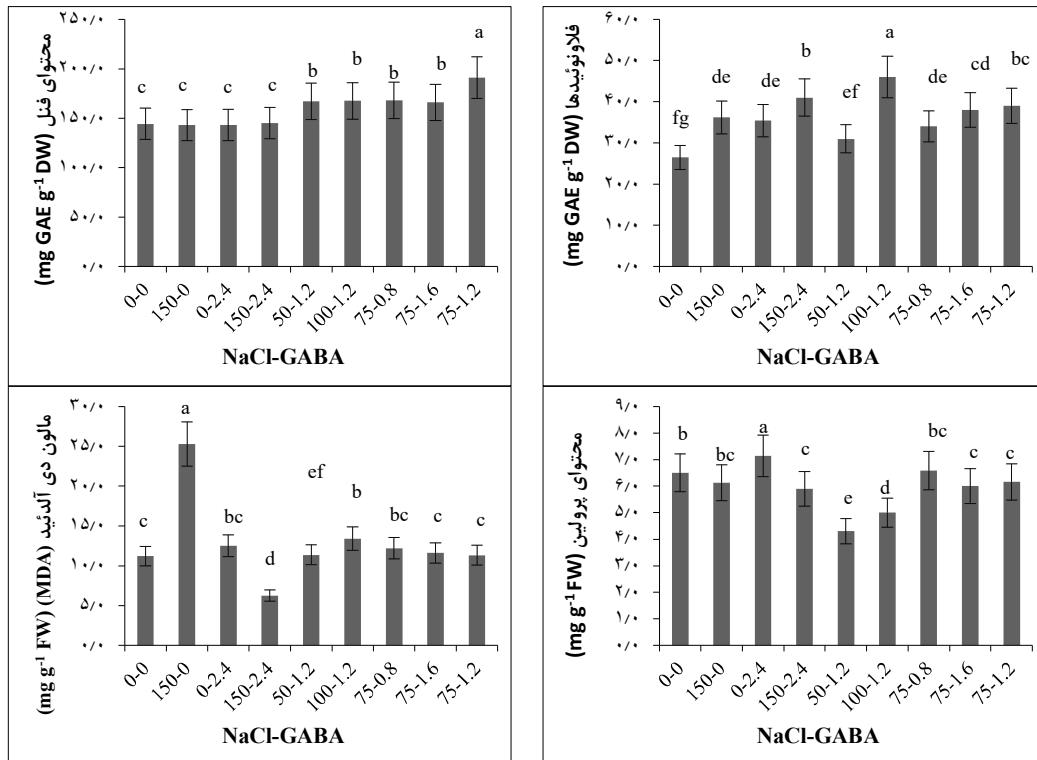
شکل ۱: تغییر زی‌توده، محتوای کلروفیل و رطوبت نسبی اندام گیاه با کاربرد گاما آمینو بوتیریک اسید تحت سطوح تنش شوری

شوری کاهش یافته است (P<۰/۰۱). در مقایسه با شاهد، تنش ۱۵۰ میلی‌مولار به‌طور قابل توجهی محتوای فتل‌ها و فلاونوئیدها، مالون‌دی‌آلدئید و پرولین تأثیر ۲۳، ۱۴، ۷۶ و ۱۱۵ درصد تغییر نموده است. محتوای MDA تحت یک تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl به بالاترین مقدار (۲۵/۳۷) در

محتوای فتل‌ها و فلاونوئیدها، مالون‌دی‌آلدئید و پرولین مقادیر به‌دست‌آمده برای محتوای پلی‌فنل کل، محتوای فلاونوئید کل، مالون‌دی‌آلدئید و پرولین تحت تأثیر کاربرد GABA و تنش شوری هر دو اثر ساده در سطح ۱ درصد خطأ معنی‌دار بودند. محتوای پرولین با افزایش غلظت

MDA را در بالاترین مقدار خود ($2/4$ میلی مولار) تحت شدیدترین سطح تنش شوری (150 میلی مولار) نشان داد.

مقایسه با شاهد ($11/27$) رسید. در شرایط عادی، محلول پاشی GABA در $2/4$ میلی مولار تأثیر معنی داری بر محتوای MDA نداشت. کاربرد GABA کمترین مقدار



شکل ۲: تغییرات محتوای فلانوئیدها، فنل، پرولین و مالون دی آلفا بوتیریک اسید تحت سطوح تنش شوری

از شاهد ($0/0.6$) بود. در تنش شدید شوری (150 میلی مولار) کمترین محتوای پیپریتنون یعنی 20 درصد کاهش داشت. محلول پاشی GABA باعث تولید اسانس و جزء اصلی آن (یعنی اکسید پیپریتنون) شد. تحت تنش 75 میلی مولار NaCl ، کاربرد GABA در $8/0$ میلی مولار بالاترین مقدار اکسید اسانس و پیپریتنون را به همراه داشت. داده های به دست آمده از اندازه گیری محتوای کاروتینوئیدها و حداکثر بازده کوانتمی PSII (نسبت Fv/Fm) اثرات معنادار تنش شوری و تأثیر کاربرد GABA را نشان داد. شدیدترین تنش شوری (150 میلی مولار) مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتینوئیدها و حداکثر بازده

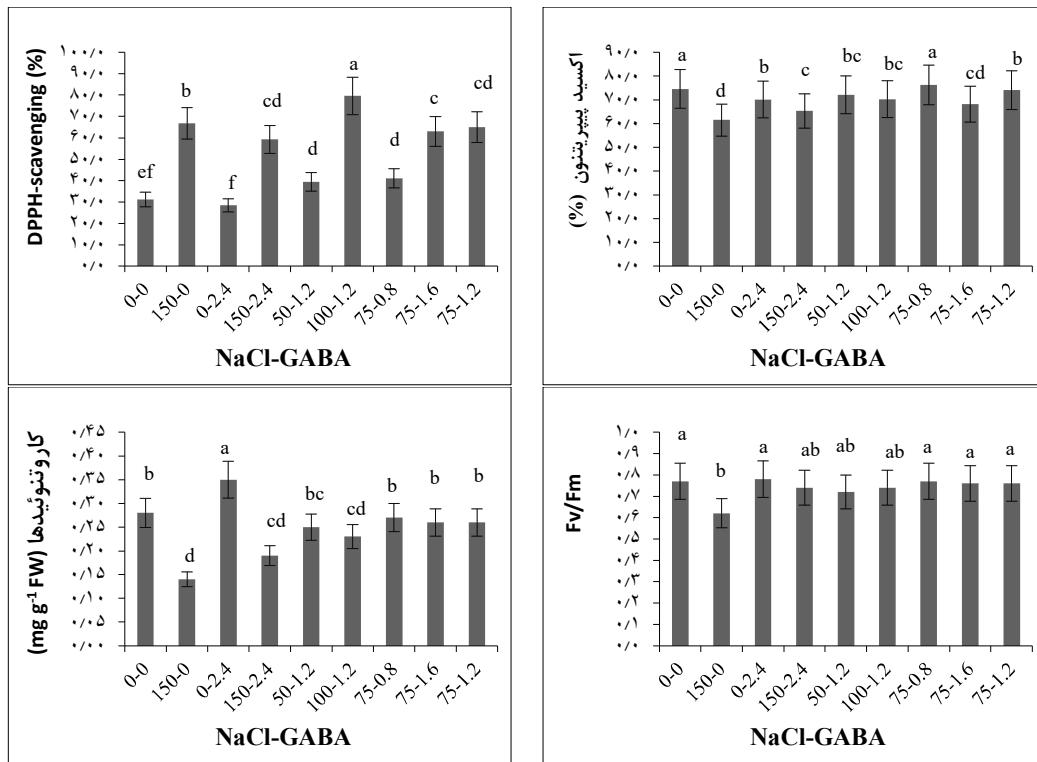
محتوای پیپریتنون، کاروتینوئیدها، فعالیت مهار رادیکال Fv/Fm ، DPPH

بر اساس نتایج NaCl و GABA به طور قابل توجهی بر متغیر اکسید پیپریتنون ($1/0.0 < P < 0.01$) تأثیر گذاشت (شکل ۳). بر اساس نتایج محتوای اکسید پیپریتنون تحت تنش های شدید شوری (تحت غلظت های بیش از 120 میلی مولار NaCl) به طور قابل ملاحظه ای کاهش می یابد. علاوه بر این، نتایج نشان داد که اعمال GABA (تا $8/0$ میلی مولار) تحت تنش های شوری متوسط (60 تا 90 میلی مولار) می تواند محتوای اکسید پیپریتنون بالایی داشته باشد. تحت تنش 150 میلی مولار NaCl مقدار اسانس ($0/18$) سه برابر بیشتر

تعیین آستانه تحمل شوری گونه ... / مرشدلو و همکاران

مقادیر این صفات با اعمال ۲/۴ میلی‌مولار GABA در شرایط بدون تنفس به دست آمد (شکل ۳).

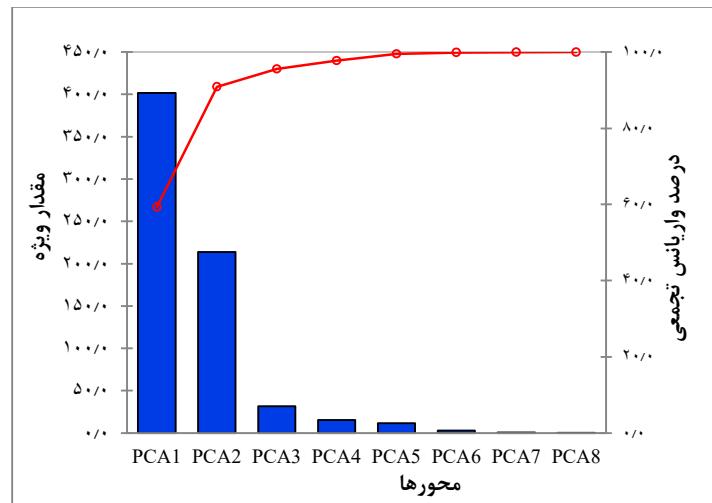
کوانتموی PSII را به ترتیب حدود ۶۴، ۵۰، ۵۷ و ۲۰ درصد کاهش داد. بدون در نظر گرفتن تیمار شاهد، بیشترین



شکل ۳: تغییرات محتواه اکسید پپيريتون، مهار DPPH با کاربرد گاما آمینو بوتیریک اسید تحت سطوح تنفس شوری

می‌کند) مربوط به محور اول و دوم حاصل از آنالیز PCA مشاهده شد (شکل ۴). خصوصیات قرارگرفته در دو محور اول به همراه طول گرادیان مربوطه در جدول ۲ در ادامه ارائه شده است.

ارزیابی و مدل‌سازی پارامترهای فیزیولوژیکی و متابولیت‌های ثانویه گیاه تحت تأثیر تنفس شوری و با کاربرد سطوح مختلف نشان داد که تغییرات اتفاق افتاده دارای ارتباط ویژه با تیمارها بوده به طوریکه بیشترین مقدار واریانس تجمعی (بیش از ۹۰ درصد تغییرت را توجیه



شکل ۴: مقادیر ویژه و درصد واریانس تجمعی برای محورهای اصل از آنالیز PCA در رابطه با فاکتورهای مورد ارزیابی

جدول زیر مقادیر ویژه صفات موردبررسی تحت شرایط سطوح تنش شوری و گاما آمینو بوتیریک اسید در آنالیز PCA در محورهای مربوطه نشان می‌دهد. با در نظر گرفتن مقدار ویژه ۰/۶ به عنوان مبدأ، خصوصیاتی از قبیل کل فلاونوئیدها، کل فنلهای، فعالیت DPPH، محتوای کلروفیل a، محتوای کل کلروفیل، محتوای انسانس و محتوای رطوبت برگ به ترتیب با ضریب ۰/۶۴۵، ۰/۶۴۲ و ۰/۶۱۲، ۰/۸۵۰، ۰/۶۱۳، ۰/۹۴۱

گرادیان در محور ۱ هستند. همچنین تنش شوری -۰/۷۵۴ با ضرایب ۰/۴/۰ و نیز شوری GABA-۰/۷۶۵ بالاترین گرادیان در محور اول را دارد. به همین ترتیب برخی خصوصیات و تیمارهای در محور دوم گرادیان بالاتری را نشان دادند (جدول ۲).

جدول ۲: مقادیر ویژه صفات موردبررسی تحت شرایط سطوح تنش شوری و گاما آمینو بوتیریک اسید در آنالیز PCA

متغیر	PCA3	PCA2	PCA1	اختصار	متغیر	PCA3	PCA2	PCA1	اختصار	متغیر	
کل فلاونوئیدها	-۰/۱۳۱	۰/۹۰۱	-۰/۲۱۱	POC	اکسید پپریتون	-۰/۷۳۲	-۰/۲۲۴	۰/۷۶۴	TFC	کل فلاونوئیدها	
کل فللهای	-۰/۴۰۱	۰/۴۲۵	-۰/۶۴۲	RWC	آب نسبی برگ	۰/۰۷۹	۰/۷۵۷	۰/۶۴۵	TPh	فعالیت DPPH	
فعالیت DPPH	-۰/۳۷۱	۰/۸۷۱	-۰/۵۵۲	ShDW	وزن خشک ساقه	۰/۹۳۱	-۰/۳۱۸	۰/۹۴۱	DPPH	محتوای پرولین	
محتوای آندید	-۰/۲۳۵	۰/۱۳۲	-۰/۷۵۴	S0 G0	· GABA-۰/۷۶۵	-۰/۰۸۶	-۰/۱۶۷	-۰/۴۵۵	PC	مالون‌دی‌آندید	
مالون‌دی‌آندید	-۰/۳۵۴	-۰/۱۴۵	۰/۱۴۱	S150 G0	· GABA-۰/۷۴۲	-۰/۷۴۲	-۰/۴۸۱	۰/۱۹۵	MDA	کاروتونوئیدها	
کاروتونوئیدها	-۰/۲۱۴	-۰/۰۷۵	-۰/۷۶۵	S0 G2.4	۲/۴ GABA-۰/۷۴۲	-۰/۴۱۲	۰/۵۲۱	-۰/۴۱۲	Ca	محتوای کلروفیل a	
محتوای کلروفیل a	-۰/۴۵۱	-۰/۲۶۱	-۰/۱۵	S150 G2.4	۲/۴ GABA-۰/۷۴۲	-۰/۷۴۲	۰/۵۴	-۰/۴۱۲	Cla	محتوای کلروفیل b	
محتوای کلروفیل b	-۰/۳۱۲	۰/۶۴۲	-۰/۲۶۱	S60 G1.2	۱/۲ GABA-۰/۷۴۲	-۰/۶۴۵	۰/۴۲۱	-۰/۶۱۲	Clb	محتوای کل کلروفیل	
محتوای کل کلروفیل	-۰/۴۱۲	-۰/۰۲۴	۰/۵۵۱	S120 G1.2	۱/۲ GABA-۰/۷۴۲	شوری-۰/۷۴۲	-۰/۴۰۵	-۰/۶۱۳	TCl	Nسبت Fv/Fm	
Nسبت Fv/Fm	-۰/۱۲۴	۰/۶۳۱	-۰/۴۸۱	S90 G0.8	۰/۸ GABA-۰/۷۴۲	شوری-۰/۷۴۲	-۰/۵۶۲۶	-۰/۷۳۲	Fv/Fm	وزن خشک ریشه	
وزن خشک ریشه	-۰/۲۴۵	۰/۲۲۱	-۰/۲۳۱	S90 G1.6	۱/۶ GABA-۰/۷۴۲	شوری-۰/۷۴۲	-۰/۷۲۹۱	-۰/۶۰۳	-۰/۴۸۴	EOC	محتوای انسانس
محتوای انسانس	-۰/۳۵۶	۰/۶۶۲	-۰/۲۸۱	S90 G1.2	۱/۲ GABA-۰/۷۴۲	شوری-۰/۷۴۲	-۰/۳۹۲	-۰/۱۲۲	-۰/۸۵۰		

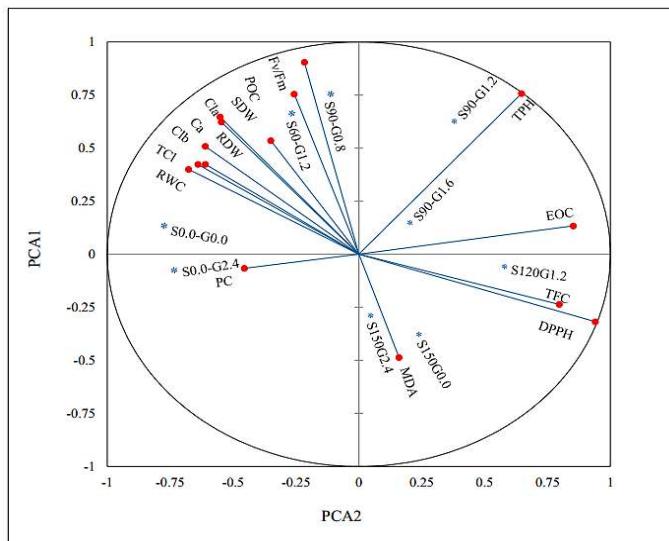
ارتباط با سطوح مورداستفاده GABA و تنش شوری نشان می‌دهد. بر اساس نتایج تغییر برخی از فاکتورهای مورد

شکل (۴) نمودار دو بعدی PCA فاکتورهای مورد ارزیابی و متabolیتها ثانویه گیاه نعناع آناناسی را در

تعیین آستانه تحمل شوری گونه ... / مرشدلو و همکاران

محتوای فنل (TPH) با شوری ۹۰ میلی‌مولار-۱/۲ GABA در یک گروه قرار می‌گیرند.

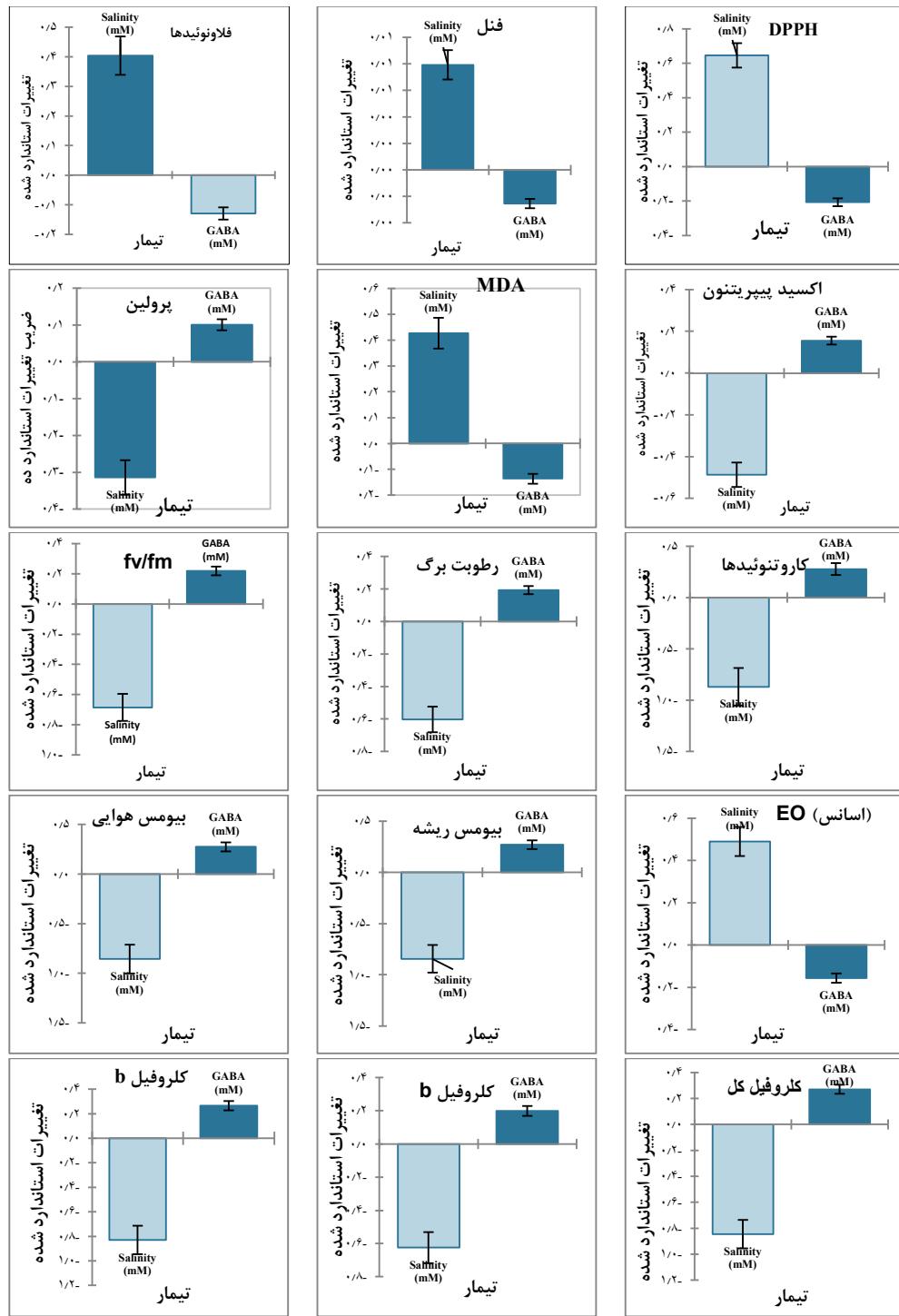
ارزیابی با تیمارهای مورداستفاده دارای ارتباط بوده به طوریکه برای مثال طول گرادیان و مختصات فضایی کل



شکل ۴: توزیع فضایی فاکتورهای فیزیولوژیکی گیاه در ارتباط با سطوح مورداستفاده گاما آمینو بوتیریک اسید و تنش شوری

TFC= Total flavonoids content, TPH= Total phenols content, DPPH= DPPH-scavenging, P= Proline, RWC= Relative water content, MDA, Clb= Chlorophyll a content, Clb= Chlorophyll b content, Ca= Carotenoids, Fv/Fm ratio, SDW= Shoot dry weight, content, RDW= Root dry weight, EOC= Essential oils content, POC= Piperitenone oxide content, TCI= Total Chlorophyll).

شکل زیر بیشینه اثر مثبت یا منفی سطوح مورداستفاده GABA و تنش شوری را بر عامل‌های فیزیولوژیکی و متابولیت‌های ثانویه گیاه نشان می‌دهد. تنش شوری با ضرایب -0.083 و 0.008 - به ترتیب حداقل و حداکثر تأثیر را بر محتوای فنل و زی توده ریشه داشته‌اند. کاربرد GABA نیز به ترتیب با ضرایب 0.003 و 0.0274 حداقل و حداکثر تأثیر را بر محتوای فنل و زی توده هوایی داشته‌اند. به طور کلی تأثیرات گاما آمینو بوتیریک اسید و تنش شوری کاملاً معکوس یکدیگر بوده است (شکل ۵).



شکل ۵: میزان تغییرات خصوصیات مورد ارزیابی در ارتباط با سطوح مورداستفاده گاما آمینو بوتیریک اسید و تنش سوری

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج و کاهش شدید عملکرد زی توده هوایی و ریشه، تنفس بسیار شدید شوری (یعنی بیش از ۹۰ میلی‌مolar) فراتر از آستانه تحمل شوری نعناع بود. با این حال، در شرایط شوری متوسط (یعنی ۳۰ تا ۹۰ میلی‌مolar)، اکثر شاخص‌های مرتبط با تنفس (کل پلی‌فلن‌ها، کل فلاونوئید، مهار رادیکال DPPH، محتوای نسبی آب، محتوای پرولین، محتوای رنگدانه‌ها و حداکثر بازده کوانتمی PSII) به مقدار قابل توجهی تغییر نمودند. همچنین اثرات تنفس شوری با استفاده هم‌زمان از سطوح میانی GABA (یعنی ۱/۶-۰/۸ میلی‌مolar) کاهش یافت. ۱۲۰ میلی‌مolar یا سطوح پایین‌تر تنفس NaCl استفاده از محلول رقیق GABA (یعنی ۰/۱-۰/۲ میلی‌molar) تأثیر مشبی بر وزن خشک شاخه، محتوای انسانس و مقدار اکسید پپریتنون برای به دست آوردن بالاترین مقدار دارد.

پرولین تحت تنفس تغییرات معنی‌داری را نشان داد. پرولین یک ایمینواسید سازگار است و به عنوان یک مخزن نیتروژن در سلول‌های گیاهی تحت تنفس‌های محیطی عمل می‌کند (۲۵). در واقع پرولین انباسته شده تحت شوری به بازیابی آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از استرس از طریق خاموش کردن کارآمد ROS و تنظیم ردوکس کمک می‌کند (۲۶، ۲۵). این تغییر پرولین در مطالعات پیشین نیز گزارش شده است (۱۴).

کلروفیل یک پیش‌نیاز برای فرایندهای فتوسنتری است و کاهش تولید رنگدانه‌های فتوسنتری و کاهش ظرفیت آن‌ها یک عامل تعیین‌کننده برای کاهش رشد گیاه در هنگام قرار گرفتن در معرض تنفس‌های محیطی است (۲۷). محتوای کلروفیل بیشتر گیاهان را قادر می‌سازد تحت منبع محدود نور ظرفیت فتوسنتری را بهبود بخشدند (۱۱). بنابراین کاربرد GABA می‌تواند کاهش سطح کلروفیل را تحت تنفس Cl به تأخیر بیندازد. در مقابل، تحقیقات دیگری نشان داد که تحت شرایط نرمال بدون تنفس، کاربرد GABA تغییر شکل از کلروفیل a به b را محدود می‌کند که این امر منجر به تغییر در نسبت

محتوای این دو کلروفیل شده و نهایتاً فتوسنتر را متحول می‌کند (۹).

از سویی محتوای کلروفیل بهشدت تحت تنفس شوری-قلیایی کاهش می‌باید، درحالی‌که پیش تیمار GABA این روند را معکوس کرد و الگوهای بیان ژن مرتبط را کاهش می‌دهد و تجمع بیش از حد کلروفیل و پیش سازه‌ای آن تحت تنفس شوری ممکن است باعث آسیب اکسیداسیون نوری شود که درنهایت می‌تواند باعث آسیب غشاء شود (۹). تحت تنفس شوری، پروتئین‌های فتوسیستم دناتوره می‌شوند، زنجیره انتقال الکترون مختلف می‌شود و بنابراین عدم تعادل ردوکس را می‌توان به وفور یافت (۲۸).

چنین می‌توان استنباط کرد که با افزایش ارزش رنگدانه‌های فتوسنتری Fv/Fm، مقدار بیشتری از زی توده تولید می‌شود. این یافته‌ها با نتایج گزارش شده پیشین مطابقت کامل دارد چنانچه سلامت سیستم‌های فتوسنتری، به‌ویژه واحدهای دریافت‌کننده نور PSII، برای تولید زیست‌توده بالاتر بسیار مهم است (۲۹).

تغییر مسیر متابولیک همراه با افزایش مقادیر محصولات مرتبط با استرس (به عنوان مثال ترکیبات انسانس و پلی‌فنل‌ها) ممکن است به سازوکار افزایش تحمل گیاه GABA کمک کند (۵). در تأیید از یافته‌های این تحقیق ما، GABA بیان ژن و مسیر بیوسترنزی فلاونوئیدها را در گیاه چای را دچار تغییر نموده است (۳۰)، و این امر می‌تواند به‌شدت از تأثیرات منفی گیاهان در برابر تنفس NaCl محافظت کند (۱۱). به‌هرحال مقاومت گیاه در برابر شوری به شبکه ژنی تنظیمی پیچیده، عوامل رونویسی، آنزیم‌ها و فیزیولوژی گیاه بستگی دارد (۶). تغییرات متابولیت‌های ثانویه این مطالعه نشان داد که این تغییر به دلیل نیاز گیاه به مولکول‌های دفاع‌کننده برای کمک به بقا آن‌ها در شرایط نامطلوب است. از طرفی آسیب‌های اسمزی و شوک‌های اکسیداتیو ناشی از NaCl متابولیسم طبیعی سلول‌های گیاهی را مختل می‌کند و رشد گیاه و عملکرد زی توده را محدود می‌کند (۱۵). در واقع شوری شدید می‌تواند باعث تحریک فرایندهای اکسیداسیون و باعث تشدید آسیب‌های فتوسنتری و کاهش فعالیت فتوسنتر شود که GABA این اثرات را تا حدودی خنثی می‌کند (۳۱).

یافته‌های کاربرد GABA تحت تنش شوری- قلیانی، محتوای MDA را از طریق تعدیل فعالیت آنزیم آنتی‌اسیدانی و تعادل ردوکس در گونه *Zoysia japonica* کاهش داده است (۱۵). در واقع تجمع اسیدهای آمینه مانند GABA در برگ‌ها ممکن است باعث ایجاد آب با پیوند هیدروژنی قوی در اطراف پروتئین‌ها شود و درنتیجه از آرایش ذاتی پلیمرهای پروتئین‌زای غشاها محافظت کند تا مقدار MDA را کاهش دهد (۱۱). یک ناقل در میتوکندری، GABA را از سیتوزول به داخل میتوکندری می‌برد تا واکنش تبدیل آن به نیمه آلدید سوکسینیک را از طریق آنزیم دیگری به نام GABA ترانس آمیناز کاتالیز کند. متعاقباً، نیمه آلدید سوکسینیک به سوکسینات تبدیل می‌شود، که می‌تواند وارد چرخه TCA شود و الکترون را به زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی برای پشتیبانی از تولید کافی ATP و کاهش تجمع ROS هدایت کند (۳۱).

به‌طور کلی نتایج رسته‌بندی خصوصیات موره ارزیابی تحت تیمارهای شوری به شکل معناداری متابولیت‌های اولیه و ثانویه گیاه نعناع آناناسی را تحت تأثیر قرارداد. کاربرد GABA موجب تقلیل تأثیر تنش شوری و بهبود عملکرد گیاه شد. با توجه به تنش‌های محیطی و اهمیت تولیدات گیاهان دارویی گیاه نعناع آناناسی مخصوصاً تحت تنش شوری می‌توان به کمک اصلاحگرهای بر پایه آمینواسید مانند GABA موجب حفظ و یا بهبود عملکرد این گونه ارزشمند شد. بنابراین، استفاده این از GABA نه تنها اقتصادی به نظر می‌رسد، بلکه می‌تواند امکان تولید نعناع آناناسی را به عنوان یک گیاه دارویی اسانس دار در خاک‌های شور نیز فراهم کند.

سپاسگذاری: این پژوهه با حمایت مالی مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی و بین‌المللی (CISSC) وزارت علوم، تحقیقات و فناوری انجام شده است.

به‌طور مشابه محتوای افزایش‌یافته پرولین و فلاونوئید و اسیدهای فنولیک تحت شوری در گونه *Thymus vulgaris* گزارش شده است (۷). در مطالعه قبلی نیز روند افزایشی فلاونوئیدها تحت تنش اسمزی به‌دست آمده است به‌طوری‌که استفاده از انواع اسید‌آمینه مانند سیترولین در ۲ میلی‌مولار و در شرایط کمبود شدید آب می‌تواند به‌طور قابل توجهی فعالیت مهار DPPH را افزایش دهد که به عنوان یک املاح سازگار و پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد با تسکین تنش کم‌آبی عمل می‌کنند (۲۲). در بیشتر تحقیقات انجام شده، افزایش مقادیر پلی فنل‌ها و فلاونوئیدها تحت کاربرد GABA یا سایر اسیدهای آمینه عمده‌تاً به افزایش بیان ژن و فعالیت آنزیم‌های فیل‌آلانین آمینولیاز (PAL) و همچنین به کاهش بیان و فعالیت پلی فنل اسیداز (PPO) نسبت داده می‌شود (۳۲).

علاوه بر این، پرولین، فنل، و فعالیت مهار رادیکال DPPH بر خلاف وزن خشک ریشه/ساقه، محتوای رنگدانه، Fv/Fm، محتوای پرولین و غلاظت MDA تغییر داشتند که مشابه تغییرات مرتبط با آنتی‌اسیدان و محتوای اسانس بود. مطالعات اخیر نیز تأیید نموده که تنش‌های محیطی به‌طور اجتناب‌ناپذیری می‌توانند از سطح راندمان سنتری گرم (Fv/Fm ratio) پایین بایند (۸، ۲۷). بنابراین کاربرد GABA می‌تواند از کاهش پارامترهای فتوسنترزی و محتوای رنگدانه‌ها جلوگیری کند، چه به‌نهایی یا همراه با شوری و استرنس اسمزی استفاده شود (۳۳).

همچنین محتوای MDA با افزایش تدریجی غلاظت افزایش یافت و کاربرد GABA موجب تحلیل اثرات NaCl منفی تنش شوری شد. محتوای MDA به عنوان یک شاخص مهم از شدت آسیب اسیدانیو به غشاها بیولوژیکی در نظر گرفته می‌شود (۳۵). کاربرد GABA می‌تواند آزادسازی گونه‌های فعال اکسیژن را مهار کند و سطوح MDA را کاهش دهد، بنابراین یکپارچگی غشای سلولی را تحت تنش اسمزی ناشی از شوری افزایش می‌دهد. مشابه با این

References

1. Benabdallah, A., M. Boumendjel, O. Aissi, C. Rahmoune, M. Boussaid & C. Messaoud, 2018. Chemical composition, antioxidant activity and acetylcholinesterase inhibitory of wild *Mentha* species from northeastern Algeria. South African Journal of Botany, 116:131–9.
2. Baek, J.P., K.W. Park, L.E. Craker & H.M. Kang, 2016. Changes in growth and quality of three mint cultivars at different harvesting periods. Hortic Environ Biotechnol, 57:207–12.
3. De Souza, A.V.V., U.S. Dos Santos, J. R. de Sá Carvalho, B.D.R. Barbosa, K.M. Canuto & T.H.S. Rodrigues, 2018. Chemical composition of essential oil of leaves from *Lippia schaueriana* Mart. collected in the Caatinga area. Molecules, 23(10): 2480.
4. Kasrati, A., C.A. Jamali, K. Bekkouche, H. Wohlmuth, D. Leach & A. Abbad, 2014. Plant growth, mineral nutrition and volatile oil composition of *Mentha suaveolens* subsp. *timija* (Briq.) Harley cultivated under salt-stress conditions. Industrial Crops and Products, 59: 80-84.
5. Selmar, D. & M. Kleinwächter, 2013. Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants. Industrial Crops and Products, 42: 558-566.
6. Li, Y., D. Kong, Y. Fu, M.R. Sussman & H. Wu, 2020. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. Plant Physiology and Biochemistry, 148: 80-89.
7. Bistgani, Z.E., M. Hashemi, M. DaCosta, L. Craker, F. Maggi & M.R Morshedloo, 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. Industrial Crops and Products, 135: 311-320.
8. Morshedloo, M.R., L.E. Craker, A. Salami, V. Nazeri, H. Sang & F. Maggi, 2017. Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono-and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. Plant Physiology and Biochemistry, 111: 119-128.
9. Jin, X., T. Liu, J. Xu, Z. Gao & X. Hu, 2019. Exogenous GABA enhances muskmelon tolerance to salinity-alkalinity stress by regulating redox balance and chlorophyll biosynthesis. BMC plant biology, 19(1):1-15.
10. Kumarzi, F., M.R. Morshedloo, S.M. Zahedi, H. Mumivand, F. Behtash, C. Hano & J. M. Lorenzo, 2022. Selenium nanoparticles (Se-NPs) alleviates salinity damages and improves phytochemical characteristics of pineapple mint (*Mentha suaveolens* Ehrh.). Plants, 11(10): 1384.
11. Wu, X., Q. Jia, S. Ji, B. Gong, J. Li, G. Lü & H. Gao, 2020. Gamma-aminobutyric acid (GABA) alleviates salt damage in Tomato by modulating Na⁺ uptake, the GAD gene, amino acid synthesis and reactive oxygen species metabolism. BMC Plant Biology, 20: 1-21.
12. Zarei, A., G.Z. Chiu, G. Yu, C.P. Trobacher & B.J. Shelp, 2017. Salinity-regulated expression of genes involved in GABA metabolism and signaling. Botany, 95(6): 621-627.
13. Routray, W & K. Rayaguru, 2018. 2-Acetyl-1-pyrroline: A key aroma component of aromatic rice and other food products. Food Reviews International, 34(6): 539-565.
14. Xie, W., U. Ashraf, D. Zhong, R. Lin, P. Xian, T. Zhao & Z. Mo, 2019. Application of γ-aminobutyric acid (GABA) and nitrogen regulates aroma biochemistry in fragrant rice. Food Science & Nutrition, 7(11): 3784-3796.
15. Li, S., H. Jin & Q. Zhang, 2016. The effect of exogenous spermidine concentration on polyamine metabolism and salt tolerance in Zoysiagrass (*Zoysia japonica* Steud) subjected to short-term salinity stress. Frontiers in Plant Science, 7:1221.
16. Aghdam, M.S. & J.R. Fard, 2017. Melatonin treatment attenuates postharvest decay and maintains nutritional quality of strawberry fruits (*Fragaria* × *anannasa* cv. Selva) by enhancing GABA shunt activity. Food Chemistry, 221: 1650-1657.
17. Hoagland, D.R. & D.I. Arnon, 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California agricultural experiment station, 347(2nd edit).
18. Bates, L.S., R.A. Waldren & I.D. Teare, 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil, 39: 205-207.

19. Heath, R.L. & L. Packer, 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1): 189-198.
20. Porra, R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, 73: 149-156.
21. Ahmadi, H., M.R. Morshedloo, R. Emrahi, A. Javanmard, F. Rasouli, F. Maggi & J.M. Lorenzo, 2022. Introducing three new fruit-scented mints to farmlands: Insights on drug yield, oil essential quality, and antioxidant properties. *Antioxidants*, 11(5): 866.
22. Morshedloo, M.R., S. Fereydouni, H. Ahmadi, M.B. Hassanpouraghdam, A. Aghaei, L.V. Mehrabani & F. Maggi, 2022. Natural diversity in fatty acids profiles and antioxidant properties of sumac fruits (*Rhus coraria* L.): Selection of preferable populations for food industries. *Food Chemistry*, 374: 131757.
23. Saadatfar, A., S. Hossein Jafari & I. Tavassolian, 2020. Effect of edaphic conditions on phytochemical latex yield of bitter asafetida (*Ferula assa-foetida* L.) medicinal plant in two natural habitats in Kerman province. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants*, 8(1): 1-15.
24. Adams, R.P. 2017. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. Gruver, TX USA: Texensis Publishing.
25. Ahmadi, H., M. Babalar, M.A.A. Sarcheshmeh, M.R. Morshedloo & M. Shokrpour, 2020. Effects of exogenous application of citrulline on prolonged water stress damages in hyssop (*Hyssopus officinalis* L.): Antioxidant activity, biochemical indices, and essential oils profile. *Food Chemistry*, 333: 127433.
26. Mohammadi, H., M. Ghorbanpour & M. Brešić, 2018. Exogenous putrescine changes redox regulations and essential oil constituents in field-grown *Thymus vulgaris* L. under well-watered and drought stress conditions. *Ind Crops Production*, 122:119–32.
27. Emrahi, R., M.R. Morshedloo, H. Ahmadi, A. Javanmard & F. Maggi, 2021. Intraspecific divergence in phytochemical characteristics and drought tolerance of two carvacrol-rich *Origanum vulgare* subspecies: Subsp. *hirtum* and subsp. *gracile*. *Industrial Crops and Products*, 168: 113557.
28. Kalamartzis, I., G. Menexes, P. Georgiou & C. Dordas, 2020. Efect of water stress on the physiological characteristics of fve basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Agronomy*, 10(7):1029.
29. Baghbani-Arani, A., S.A.M. Modarres-Sanavy, M. Mashhadi-Akbar-Boojar & A. Mokhtassi-Bidgoli, 2017. Towards improving the agronomic performance, chlorophyll fluorescence parameters and pigments in fenugreek using zeolite and vermicompost under deficit water stress. *Ind Crops Production*, 109:346–57.
30. Liao, J., Q. Shen, R. Li, Y. Cao, Y. Li, Z. Zou, T. Ren, F. Li, W. Fang & X. Zhu, 2021. GABA shunt contribution to flavonoid biosynthesis and metabolism in tea plants (*Camellia sinensis*). *Plant Physiol Biochem*, 166:849–56.
31. Aghdam, M.S., R. Naderi, A. Jannatizadeh, M. Babalar, M.A.A. Sarcheshmeh & MZ. Faradonbe, 2016. Impact of exogenous GABA treatments on endogenous GABA metabolism in anthurium cut flowers in response to postharvest chilling temperature. *Plant Physiol Biochem*, 106:11–5.
32. Shekari, A., R.N. Hassani & M.S. Aghdam, 2021. Exogenous application of GABA retards cap browning in *Agaricus bisporus* and its possible mechanism. *Postharvest Biology and Technology*, 174: 111434.
33. Sheteiwiy, M.S., H. Shao, W. Qi, Y.A. Hamoud, H. Shaghaleh, N.U. Khan & B. Tang, 2019. GABA-alleviated oxidative injury induced by salinity, osmotic stress and their combination by regulating cellular and molecular signals in rice. *International journal of molecular sciences*, 20(22):5709.