

تأثیر برخی محرک‌های زیستی بر پایه اسیدهای آمینه روی گیاه نعناع سبز دارویی (*Mentha spicata* L) تحت تنش شوری

ادریس آذریپرا^۱، شهناز فتحی^{۲*}، یاور شرفی^۳، شراره نجفیان^۴

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

edrisazarpira71@gmail.com

۲-نویسنده مسئول و استادیار گروه گیاهان دارویی، مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

sh.fathi@urmia.ac.ir Email

۳-استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

y.sharafi@shahed.ac.ir

۴-دانشیار گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

sh.najafian@pnu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۳

چکیده

امروزه استفاده از فرآورده‌های زیستی سازگار با اکوسیستم مانند زیست محرک‌ها مورد توجه است؛ زیرا علاوه بر تأمین عناصر غذایی مقداری اسیدهای آمینه آزاد نیز دارند. این تحقیق به منظور بررسی تأثیر دو فرآورده زیستی هیومی فورته و کادوستیم بر پایه اسیدهای آمینه آزاد روی گیاه نعناع سبز دارویی (*Mentha spicata* L.) تحت تنش شوری (NaCl) در چهار سطح (آب مقطر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار) بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب انجام شد. نتایج نشان داد که اثرات ساده و متقابل شوری و اسیدهای آمینه بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. بیشترین ارتفاع بوته، وزن تر بوته و کلروفیل b در تیمار شاهد (بدون شوری) و محلول پاشی کادوستیم بدست آمد. از نظر افزایش میزان قندهای محلول تیمار ۷۵ میلی مولار شوری و محلول پاشی کادوستیم تأثیر بهتری داشت. بیشترین طول ریشه، وزن خشک بوته و کلروفیل a در تیمار بدون شوری و هیومی فورته بدست آمد. بیشترین مقدار کلروفیل کل مربوط به تیمار ۲۵ میلی مولار شوری و هیومی فورته بود و بیشترین میزان پرولین در تیمار ۷۵ میلی مولار شوری و هیومی فورته حاصل شد. از نظر درصد اسانس در صفر میلی مولار شوری بین تیمار کادوستیم و هیومی فورته تفاوت معنی داری نبود ولی نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشت. کمترین میزان اسانس در شوری ۷۵ میلی مولار مربوط به تیمار شاهد بود. کلمات کلیدی: کلروفیل، پرولین، قندهای محلول، هیومی فورته، کادوستیم

مقدمه

پروتئین هستند (Paleckiene, 2007). این ترکیب‌ها در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و هورمونی نقش مهمی داشته (Gawronska, 2008) و با تأثیر بر افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی، افزایش غلظت کلروفیل و در نتیجه تأثیر بر فتوسنتز، بر رشد و عملکرد گیاهان موثر واقع می‌شوند. به‌طور کلی مواد بیولوژیکی هستند که باعث تحریک متابولیسم و فرآیندهای متابولیکی در جهت افزایش کارایی گیاهان می‌شوند. از جمله این ترکیبات می‌توان به محرک زیستی هیومی فورته و کادوستیم اشاره کرد که دارای فرمول پایه اسیدهای آمینه بوده و رشد کمی و کیفی گیاهان را تحریک می‌کنند. این مواد در شرایط تنش بویژه تنش شوری اهمیت زیادی دارند.

گیاهان در شرایط نامساعد محیطی می‌توانند اسیدهای آمینه تولید کنند، اما این سنتز انرژی زیادی مصرف می‌کند. بنابراین اسیدهای آمینه آماده جذب، نیاز ساخت آن را توسط گیاه برطرف نموده و این امکان را به گیاه می‌دهد که انرژی ذخیره شده خود را صرف رشد بیشتر و بالا بردن عملکرد و کیفیت محصول نماید (Popko et al., 2014). نتایج مطالعات نشان داده است که محلول‌پاشی برگ‌های اسیدهای آمینه می‌تواند شاخص‌های فیزیولوژیکی، ترکیب‌های بیوشیمیایی و عملکرد بوته چای را به نحو گسترده‌ای بهبود بخشد (Thomas et al., 2009). همچنین در کاهو (Shumaila Khan, et al., 2019)، کلم بروکلی (Shekari and Javanmardi, 2017) و سیر (Shalaby and Ramady, 2014) تأثیر مثبت محلول‌پاشی برگ‌های اسیدهای آمینه بر روی صفات کمی و کیفی گیاه گزارش شده است. در مطالعه بابایی و همکاران (2019) تأثیر مثبت محلول‌پاشی با اسیدهای آمینه بر روی میزان کلروفیل و صفات رویشی مشخص شد. صبوری و

استفاده‌ی بی‌رویه و نامتعادل کودهای شیمیایی در کشاورزی رایج سبب افزایش هزینه‌ها، تخریب خاک، از بین رفتن میکروارگانسیم‌ها، کاهش تنوع زیستی، نامتعادل شدن pH خاک و در نهایت تهدید ثبات و پایداری بوم‌نظام‌ها و سلامت انسان شده است. به همین دلیل، متخصصان تلاش دارند تا جایگزین‌های بوم‌سازگاری را به منظور جایگزینی با کودهای شیمیایی به کشاورزان و دست‌اندرکاران تولیدات کشاورزی معرفی نمایند. امروزه در صنعت گیاهان دارویی نیز رویکرد جهانی در جهت به کارگیری نظام‌های کشاورزی پایدار است. در این راستا گروه نسبتاً جدیدی به نام محرک‌های رشد گیاهی (Plant Growth Stimulants) به‌ویژه در شرایط نامساعد و تنش‌زا برای افزایش عملکرد و بهبود صفات کمی و کیفی گیاهی وارد بازار شده‌اند (Du Jardin, 2015). نقش محرک‌های زیستی (Biostimulants) کنترل و تحریک فرایندهای زیستی، افزایش مقاومت و تحریک رشد و نمو گیاه است (Du Jardin, 2015). این ترکیبات برای محیط زیست ایمن هستند و به تولید محصول در جهت اهداف کشاورزی پایدار با حداقل هزینه و عملکرد بالا کمک می‌کنند (Radkowski et al., 2013; Du Jardin, 2015). مصرف آن‌ها منجر به کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی می‌شود نوعی از این محرک‌های زیستی برپایه اسیدهای آمینه است (Nardi et al., 2016; Calvo et al., 2014). مطالعات نشان داده‌اند که اسیدهای آمینه به صورت مستقیم و غیرمستقیم بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی و رشد و نمو گیاه موثر واقع می‌شوند (Faten et al., 2010). اسیدهای آمینه به عنوان ترکیبات نیتروژنی آلی، بلوک‌های ساختمانی

محلول‌پاشی با اسیدهای آمینه (ترکیبات در جدول ۱) در سه سطح کادوستیم، هیومی فورته و شاهد (اسپری با آب مقطر) طی ۶ مرحله محلول‌پاشی، هر دو هفته یکبار و تنش شوری کلرید سدیم در چهار سطح صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار در گلخانه تحقیقاتی مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب اجرا شد. به منظور جلوگیری از شوک اسمزی، تیمارهای اسمزی در ابتدا رقیق‌تر و به تدریج به غلظت‌های مورد نظر رسید.

در هر گلدان ۲ نشاء کشت شد. بستر کشت خاکی بود که صفات فیزیکی و شیمیایی آن در جدول ۲ آمده است. مراقبت و نگهداری برای تمامی گیاهان بلافاصله بعد از کاشت به صورت یکسان صورت گرفت. آبیاری گیاهان شاهد با آب مقطر و تیمارهای شوری با آب حاوی غلظت‌های مورد نظر نمک انجام شد. بر حسب نیاز گیاه و به طور متوسط هر ۳-۲ روز یکبار انجام شد. دمای گلخانه در روز 30 ± 5 و در شب 20 ± 5 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰-۸۰ درصد بود. محلول‌پاشی در ساعات صبح زود انجام شد مدت زمان محلول‌پاشی بوته‌ها تا هنگام جاری شدن قطره‌های محلول از روی سطح بوته‌ها ادامه یافت. و اندام هوایی گیاهان توسط پوشش پلاستیکی از تبخیر و تعرق حفظ شد. قبل از برداشت گیاهان رطوبت نسبی، کلروفیل a و b و کل، قندهای محلول و پرولین اندازه‌گیری شد. در مرحله آغاز گلدهی گیاهان برداشتند (البته در تنش ۷۵ میلی‌مولار تعدادی از گیاهان خشک شده بودند) و طول ریشه، قطر ریشه، ارتفاع بوته، قطر طوقه، تعداد برگ، وزن تر و خشک بوته، اندازه‌گیری شد و سپس گیاهان در سایه خشک و درصد اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شد. میزان قندهای محلول به روش فنل سولفوریک سنجش شد (Dubois et al, 1956)

همکاران (2014) نیز با بررسی تاثیر اسیدهای آمینه بر عملکرد کمی و اسانس ریحان سبز نشان دادند که محلول-پاشی اسیدهای آمینه آمینول فورته و هیومی فورته در افزایش رشد، عملکرد پیکره رویشی و درصد اسانس ریحان تأثیر مثبت و معنی‌داری داشته است.

نعناع سبز دارویی (*Mentha spicata* L.) یا پونه سنبله‌ای متعلق به تیره نعناعیان (Lamiaceae) است. این تیره حدود ۲۰۰ جنس و ۲۰۰۰ تا ۵۰۰۰ گونه از بوته‌های معطر تا درختچه‌های کوتاه را شامل می‌شود. برخی از پژوهشگران، خواص ضدانگلی و آنتی‌اکسیدانی این گونه نعناع را اثبات نموده‌اند و استفاده از آن را برای پیشگیری از بیماریهای قلبی-عروقی و سرطان پیشنهاد می‌کنند. همچنین اندام‌های هوایی این گیاه دارای خواص دارویی متعددی مانند ضداسپاسم، ضدنفخ و ضدعفونی کننده هستند (Karray et al., 2009). ترکیب‌های عمده این گیاه شامل کاروون، لیمونن، منتون، استات‌منتیل، سیس دی هیدروکارول، ترانس کاریوفیلین، بتا بوربونن، ترپینن، آلفاپینن-بتا-پینن، بورنویل، آلفا-ترپینول و پولگون می‌باشد (Moosavy, 2014). امروزه به دلیل نگرانی‌های اثرات زیست محیطی کودهای شیمیایی، تمایل به کاربرد ترکیبات طبیعی (از جمله اسیدهای آمینه) جهت بهبود رشد گیاهان افزایش یافته است. بنابراین در این پژوهش، تاثیر این گونه ترکیبات بر صفات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی، و درصد اسانس گیاه نعناع سبز دارویی تحت تنش شوری بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار، شامل دو فاکتور

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

Table 1. Physical and chemical properties of the experimental soil

K (mg/kg)	P (mg/kg)	N (%)	pH	EC (dS/m)	Organic material (%)	Clay (%)	Sand (%)	Lom (%)
183.3	11.08	0.09	7.64	1.3	1.36	26	25	49

میزان کلروفیل a، b و کل بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست می‌آید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افز SPSS24 و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار SPSS رسم شدند.

اندازه‌گیری پرولین بر اساس روش بیتس و همکاران (1973) انجام شد و رطوبت نسبی برگ به روش ریچی و همکاران (1990) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری محتوای کلروفیل به روش آرنون (1967) با استفاده از استن ۸۰ درصد و قرائت میزان جذب نمونه در طول موج ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ در دستگاه اسپکتوفتومتر صورت گرفت و در نهایت

جدول ۲. ترکیبات کودهای آلی آمینواسیددار

Table 2. Amino Acid Organic Fertilizer Compounds

Humiforte	Free amino acids 3750 mg/L - Organic matter 2% - Total nitrogen (N) 6% - P ₂ O ₅ 5% - K ₂ O 3%
Kadostim	Free amino acids 3750 mg/L - Organic matter 2% - Total nitrogen (N) 5% - K ₂ O 6%
Quantity and kind of free amino acids	Glycin 11.2%, Valine 5.1%, Proline 8.3%, Alanin 13.2%, Aspartic acid 4.4%, Arginine 8.3%, Glutamic acid 0.9%, Lysine 5.1%, Lucine 16.4%, Isolucine 4.4%, Phenylalanin 5.1%, Methionine 4.2%, Serin 3.9%, Treonine 0.3%, Histidine 0.3%, Tyrosine 1.5%, Glutamine 0.9%, Systeine 0.3%, Asparagine 0.4%, and Tryptophan 0.4%

تیمار ۷۵ میلی‌مولار و هیومی فورته بود. بیشترین وزن خشک بوته (۱۸/۷۲ گرم) مربوط به تیمار صفر میلی‌مولار شوری و ترکیب هیومی فورته بود و کمترین مقدار آن (۲/۱۲ گرم) مربوط به تیمار ۷۵ میلی‌مولار و ترکیب هیومی فورته بود، البته در شوری ۷۵ میلی‌مولار بین تیمار هیومی فورته (۲/۱۲ گرم)، شاهد (۲/۳۶ گرم) و کادوستیم (۲/۲۷ گرم) تفاوت معنی داری نبود. در این تحقیق مشخص شد افزایش سطوح تنش شوری منجر به کاهش وزن تر و خشک بوته می‌شود. در خاک‌های شور غلظت

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد، اثرات ساده شوری، اسید آمینه و اثرات متقابل دو فاکتور بر صفات رویشی وزن تر و خشک بوته ارتفاع بوته، قطر طوقه، تعداد برگ ساقه، طول ریشه و قطر ریشه در سطح احتمال یک درصد ($P < 0.01$) معنی‌دار بود. نتایج مقایسات میانگین نشان داد بیشترین وزن تر بوته (۴۵/۳۵ گرم) مربوط به تیمار صفر میلی‌مولار شوری و ترکیب کادوستیم بود و کمترین مقدار آن (۶/۴۹ گرم) مربوط به

گیاه نمی‌تواند به میزان کافی از این عناصر بهره‌مند شده و ترکیبات ساختاری از جمله اسیدهای آمینه را تولید کند؛ بنابراین حتی اقدامات مدیریتی همچون افزودن انواع کودهای مورد نیاز در زمان مناسب باز هم پاسخگوی نیاز گیاه نیست و گیاه دچار نقصان رشد و کاهش عملکرد می‌شود (Gawronska, 2008). محلول‌پاشی با ترکیبات حاوی اسیدهای آمینه آماده مصرف گیاه با فراهم کردن زمینه لازم جهت جذب عناصر غذایی سبب افزایش حجم سلولی و در نهایت سبب افزایش وزن گیاه می‌شود (Porcel, and Ruiz-Lozano., 2004) گزارش‌های متعدد دیگری از افزایش عملکرد گیاهان در اثر کاربرد اسیدهای آمینه گزارش شده است (Naghdibadi, 2015). در این تحقیق مشخص شد تاثیر هیومی فورته در افزایش وزن خشک در شرایط بدون تنش بهتر عمل کرده که شاید به دلیل تاثیرش در افزایش طول ریشه (جدول ۴) و در نتیجه افزایش جذب آب و مواد معدنی از یک طرف و از طرف دیگر وجود عناصر بیشتر بوئزه فسفر و نیتروژن در ترکیبات آن باشد. اولین شرط جهت دستیابی به عملکرد بالا در واحد سطح به‌ویژه در گیاهان دارویی، تولید ماده خشک بیشتر است بنابراین اگر اولویت تولید ماده خشک نعناع باشد در شرایط بدون تنش هیومی فورته نسبت به کادوستیم ارجحیت دارد ولی در شرایط تنش تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت (جدول ۴).

سدیم و کلر در محلول خاک به‌طور کلی بیشتر از عناصر دیگر است که نه تنها باعث تنش اسمزی و تأثیرات یونی ویژه، بلکه منجر به اختلال در جذب دیگر عناصر و انتقال به اندام‌های هوایی گیاه و ایجاد بیماری‌های تغذیه‌ای و به تبع آن کاهش عملکرد گیاه می‌گردد (Said-Al Ahl and Omer, 2011). همچنین کاهش فتوسنتز ناشی از تنش شوری به دلیل هدایت روزنه‌ای پایین، کاهش در جذب کربن و سوخت و ساز، مهار ظرفیت فتوشیمیایی، یا ترکیبی از همه این صفات می‌باشد که در نهایت باعث کاهش عملکرد می‌گردد (Farkhondeh, 2012). کاربرد ترکیبات هیومی فورته و کادوستیم باعث تعدیل اثرات شوری و افزایش وزن تر و خشک گیاه نسبت به شاهد در هر یک از سطوح شوری شد. زیرا آمینو اسیدها باعث افزایش میزان کلروفیل (شکل ۳) در گیاه و در نتیجه افزایش میزان فتوسنتز و ساخت کربوهیدرات شده و در نتیجه وزن تر و خشک گیاه افزایش یافته است. همچنین این ترکیبات باعث افزایش میزان ترکیبات اسمولیتی نظیر پرولین و قندهای محلول (شکل ۴ و ۵) و رطوبت نسبی (شکل ۶) در گیاه شدند. افزایش میزان رطوبت نسبی برگ نقش مهمی در تنظیم هدایت روزنه‌ای و در نتیجه سرعت فتوسنتز گیاه دارد. آمینو اسیدهای موجود در محرک های زیستی در بیوسنتز ترکیبات ثانویه متابولسمی و هورمونی هم نقش مهمی ایفا می‌کند. طی دوره رشد نیاز فیزیولوژیکی گیاه به جذب عناصر غذایی و انجام فعالیت های متابولسمی بسیار زیاد است، اما در تنش شوری جذب مواد غذایی از خاک به خوبی انجام نشده و

شهناز فتحی و همکاران: تأثیر برخی محرک‌های زیستی بر پایه اسیدهای آمینه روی گیاه نعنای سبز دارویی ...

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف اسید آمینه بر خصوصیات مورفولوژیکی گیاه نعنای سبز دارویی تحت تنش شوری
Table 3. Analysis of variance of impact of amino acid based compounds on some morphological traits of *Mentha spicata* under salinity stress

Mean Square								
Plant Dry weight	Plant Fresh weight	Leaves number	Crown diameter	Plant height	Root diameter	Root length	df	Source of variation
.215 ns	0.218 ns	1.750ns	0.017 ns	1.130 ns	0.01 ns	0.77ns	2	Replication
6.18**	59.95**	387.89**	0.321**	120.89**	0.99**	428.36**	2	Amino Acid
390.23**	2008.76**	3609.61**	3.426**	556.65**	7.94**	2757.44**	3	Salinity
1.61**	34.84**	34.28**	0.06**	52.29**	0.39**	85.47**	6	Amino Acid × Salinity
0.41	0.51	5.42	0.01	0.45	0.006	0.80	22	Error
15.2	14.2	12.4	19.2	10.4	11.5	10.16		CV %

ns, * and ** non- significant and significant at 5 and 1% probability level, respectively.

آسیمیلات بیشتر و بهبود رشد و ارتفاع گیاه می‌شود (Abo Sedera et al., 2010). از جمله اسیدهای آمینه موجود در ترکیبات کادوستیم و هیومی فورته، تریپتوفان، ماده پیش‌ساز ساخت هورمون اکسین است که باعث افزایش طول شدن سلولها و در نتیجه افزایش ارتفاع بوته می‌شود (Tarek and Hassan, 2014). محلول‌پاشی با اسید آمینه در گیاهان همیشه بهار (Saburi et al. 2014)، بابونه (Golzadeh et al., 2012)، کرفس وحشی (Shehata et al. 2011) و مرزه (Nahed et al., 2010) باعث افزایش ارتفاع بوته شد.

مقیاسات میانگین (جدول ۴) نشان داد با افزایش سطح تنش شوری ارتفاع بوته کاهش می‌یابد. بیشترین ارتفاع بوته مربوط به تیمار صفر میلی‌مولار شوری و کادوستیم (۳۳/۳۲ سانتیمتر) و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد و ۷۵ میلی‌مولار شوری (۵ سانتیمتر) بود (جدول ۴). کاهش رشد در شرایط تنش شوری به دلیل اختلال در فرایند تولید انرژی یعنی فتوسنتز و تنفس و کاهش تقسیم سلولی است. محرک‌های زیستی مانند اسیدهای آمینه با افزایش جذب آب و عناصر غذایی بویژه نیتروژن، موجب افزایش فتوسنتز شده و این امر موجب تولید

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل شوری و اسیدهای آمینه بر صفات مورفولوژیک گیاه نعنای سبزدارویی

Table 4. Mean comparison of interaction effect between salinity and Amino Acid on morphological traits of *Mentha spicata*

Shoot dry weight per plant (g)	Shoot fresh weight (g/plant)	Leaves number	Crown diameter (cm)	Plant height (cm)	Root diameter (cm)	Root length (cm)	Treatment	
							Salinity (mmol)	Amino Acid
16.78b	35.02d	115.00b	1.78b	25.20d	3.103a	52.66b	0	Control
11.94c	31.40e	78.33d	1.44c	23.00fg	2.93b	49.33d	25	
8.74d	24.23f	63.33e	1.06c	17.66k	1.90f	37.33f	50	
2.36e	7.00i	20.00h	0.40f	5.00m	0.56i	8.33h	75	
17.39b	46.3a	129.66a	2.05a	32.33a	3.200a	52.66b	0	Kadostim
12.18c	38.94c	115.33b	1.78c	31.00b	2.16e	51.000	25	
9.24d	23.94g	85.00d	.976d	21.83i	1.50g	30.66g	50	
2.27e	5.62k	29.00g	.43f	8.00l	0.70h	8.33h	75	
18.72a	41.44b	123.66a	1.95ab	27.53c	3.00ab	55.66a	0	Humiforte
12.82c	30.33e	106.66c	1.81b	24.00f	2.780c	54.66a	25	
9.65d	23.71h	82.66d	1.45c	22.00h	2.54d	45.66e	50	
2.12e	6.49ij	38.33f	0.76e	19.00j	1.53g	30.33g	75	

The same letters in each column show non-significant difference at $P \leq 0.05$ by Duncan test

انتقال فراورده‌های فتوسنتزی به بخش‌های در حال رشد شده و در نتیجه کاهش تولید ماده خشک و کاهش قطر گیاه می‌شود که محلولپاشی با اسیدهای آمینه و افزایش جذب آب و عناصر باعث تعدیل اثرات شوری می‌گردد. در کاربرد اسیدهای آمینه بر روی گیاه مرزه هم گزارش شد که تمام پارامترهای رشدی از جمله قطر طوقه با افزایش غلظت اسیدهای آمینه افزایش یافت (Nahed, et al., 2010). مقایسات میانگین (جدول ۴) نشان داد با افزایش سطح تنش شوری در همه تیمارهای اسید آمینه طول ریشه کاهش می‌یابد. بیشترین طول ریشه مربوط به تیمار صفر میلی‌مولار شوری و هیوم‌فورته (۵۵/۶۶ سانتیمتر) و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد و ۷۵ میلی‌مولار شوری (۸/۳۳ سانتیمتر) بود (جدول ۴). در این

مقایسات میانگین (جدول ۴) نشان داد با افزایش سطح تنش شوری در همه تیمارهای اسید آمینه قطر طوقه کاهش یافت. بیشترین قطر طوقه مربوط به تیمار صفر میلی‌مولار شوری و کادوستیم (۲/۰۵ سانتیمتر) و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد و ۷۵ میلی‌مولار شوری (۰/۴ سانتیمتر) بود (جدول ۴). با افزایش سطوح شوری قطر طوقه کاهش یافت. البته در تیمار شوری ۷۵ میلی‌مولار بین تیمار شاهد (بدون اسید آمینه) و کادوستیم اختلاف معنی‌داری نبود. به عبارتی تاثیر اسیدهای آمینه در افزایش قطر در شرایط نرمال بهتر از شرایط تنش ناشی از شوری بوده است. عواملی مانند اختلال در عمل روزنه‌ها، تخریب غشای سلولی به ویژه در بافت‌های فتوسنتزی و اختلال در عمل آنزیم‌های فتوسنتزی سبب کاهش تولید و

شوری کاملاً مشهود بود. در این تحقیق تأثیر منفی شوری روی قطر ریشه و تأثیر مثبت ترکیبات کادوستیم و هیومی‌فورته نسبت به شاهد هم در شرایط نرمال و هم در شرایط تحت تنش مشاهده شد (جدول ۴). مقایسات میانگین (جدول ۴) نشان داد با افزایش سطح تنش شوری در همه تیمارهای اسید آمینه تعداد برگ کاهش می‌یابد. بیشترین تعداد برگ مربوط به تیمار صفر میلی‌مولار شوری و کادوستیم (۱۲۹ عدد) بود البته بین تیمار کادوستیم و هیومی‌فورته (۱۲۳ برگ) در شوری صفر میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری نبود. کمترین تعداد برگ مربوط به تیمار شاهد (بدون اسید آمینه) و ۷۵ میلی‌مولار شوری (۲۰ عدد برگ) بود (جدول ۴). شوری باعث ریزش برگ و کاهش تعداد برگ شد در واقع کاهش تعداد برگ سازوکاری جهت مقاومت به شوری است. اسیدهای آمینه با تسریع در جذب آب و مواد غذایی و افزایش رشد رویشی، باعث توسعه تعداد برگ گیاه شده است. کاربرد اسیدهای آمینه در این تحقیق باعث افزایش تعداد برگ در گیاه نعنای شد که این نتیجه موافق با نتایج تأثیر اسیدهای آمینه روی گیاه فلفل بود (Dinoo et al., 2009). همچنین در گیاه ریحان کاربرد اسیدهای آمینه منجر به افزایش تعداد شاخه‌های فرعی و افزایش تعداد برگ شد (Saburi et al., 2014). نتایج مشابهی نیز از تأثیر مثبت اسیدهای آمینه بر تعداد برگ در مرزه تابستانی (Mehrabi, et al., 2013) گزارش شده است. ترکیبات اسیدهای آمینه به عنوان منبع اسدهای آمینه باعث افزایش متابولیسم‌های گیاهی، افزایش پروتئین‌های گیاهی مورد نیاز برای ساخت سلولهای گیاهی و در نتیجه افزایش رشد گیاه و تعداد برگ می‌شوند.

آزمایش مشخص شد که کاهش رشد طولی ریشه تا ۵۰ میلی‌مولار به کندی صورت می‌گیرد ولی تحت تیمار شوری ۷۵ میلی‌مولار هم در تیمار شاهد و هم تیمار کادوستیم طول ریشه شدیداً کاهش یافت. در تیمار ۷۵ میلی‌مولار تیمار هیومی‌فورته مانع کاهش بیشتر طول ریشه نسبت به کادوستیم شد. در این پژوهش طول ریشه و شوری باهم رابطه عکس دارند، زیرا هرگونه اختلال در سیستم جذب و انتقال ریشه در اثر مسمومیت با یون سدیم سبب پاسخ ریشه به مکانیسم‌های اجتناب شده که در این صورت نمک در سیتوپلاسم در حد پایین نگاه داشته می‌شود، که این عمل باعث عدم توسعه ریشه، چوب پنبه‌ای شدن و کاهش در رشد و طول آن می‌شود (Blum, 1988). در گیاه نعنای فلفلی نیز مشاهده شد که با افزایش غلظت شوری طول ریشه کاهش یافت (Khorasaninejad et al., 2010). این مطالعه نشان داد در تیمار شوری صفر میلی‌مولار بین تیمار شاهد (بدون اسید آمینه) و کادوستیم اختلاف معنی‌داری نبود و در تمام سطوح شوری تیمار هیومی‌فورته تأثیر بیشتری بر طول افزایش طول ریشه داشت که احتمالاً ناشی از وجود عنصر فسفر در ترکیبات آن باشد. محرکهای زیستی حاوی آمینو اسید سبب افزایش فرایند سوخت‌وساز در بافت گیاهی می‌شود. نتایج مقایسات میانگین نشان داد بیشترین قطر ریشه در تیمار صفر میلی‌مولار و تیمار کادوستیم (۳/۲ سانتیمتر) و کمترین مقدار آن (۰/۵۶ سانتیمتر) مربوط به تیمار ۷۵ میلی‌مولار شوری و شاهد (بدون اسید آمینه) بود البته در تیمار صفر میلی‌مولار شوری، قطر ریشه تحت تیمار کادوستیم (۳/۲ سانتیمتر) و قطر گیاهان تحت تیمار شاهد (۳/۱ سانتیمتر) تفاوت معنی‌دار نبود (جدول ۴). به طور کلی کاهش قطر ریشه با افزایش سطوح

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی

همانطور که جدول ۵ نشان می‌دهد اثرات شوری، اسید آمینه و اثر متقابل آنها بر محتوای کلروفیل a، b و کل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.01$). در شکل ۱ مشاهده می‌شود که با افزایش سطح تنش شوری محتوای کلروفیل a، b و کل کاهش می‌یابد البته کاهش پارامترهای کلروفیلی تا سطح ۵۰ میلی مول بر لیتر ملایم است ولی با افزایش بیشتر تنش، کاهش محتوای کلروفیلی شدیدتر می‌شود. در این تحقیق مشخص شد که کاربرد اسیدهای آمینه کاهش پارامترهای کلروفیلی را

تعدیل نمود طوری که بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار صفر میلی مول شوری و هیومی فورته بود ولی در تنش شوری شدید تر یعنی در ۵۰ و ۷۵ میلی مول بر لیتر تاثیر کادوستیم در افزایش میزان کلروفیل a بیشتر بود (شکل ۱). از نظر کلروفیل a بیشترین مقدار مربوط به شرایط صفر میلی مول شوری و تیمار کادوستیم و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد و هیومی فورته در تنش ۷۵ میلی مول بر لیتر بود. همانطور که در شکل ۱ مشخص است در تمام تنشهای شوری تاثیر تیمار کادوستیم در افزایش کلروفیل b بهتر از تیمار

جدول ۵. تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف اسید آمینه و شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه نعناع سبز دارویی

Table 5. Analysis of variance of impact of amino acid based compounds on physiological traits of *Mentha spicata* under salinity stress

Mean Square								df	Source of variation
Essential oil percentage	Relative water content (%)	Proline	Soluble sugars	Total chlorophyll	Chlorophyll b	Chlorophyll a			
2.72E-6 ^{ns}	1.258 ^{ns}	0.254 ^{ns}	1.55 ^{ns}	0.003 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.002 ^{ns}	2	Replication	
0.001 ^{**}	802.91 ^{**}	464.76 ^{**}	21.87 ^{**}	0.564 ^{**}	0.141 ^{**}	0.035 ^{**}	2	Amino Acid	
0.035 ^{**}	2672.62 ^{**}	322.28 ^{**}	359.24 ^{**}	2.351 ^{**}	0.484 ^{**}	0.929 ^{**}	3	Salinity	
0.002 ^{**}	58.39 ^{**}	421.53 ^{**}	9.24 ^{**}	0.103 ^{**}	0.008 ^{**}	0.017 ^{**}	6	Amino Acid × Salinity	
1.645E-5	2.334	0.153	2.10	0.004	0.001	0.001	22	Error	
19.3	10.9	9.4	9.01	3.7	11.5	9.2		CV %	

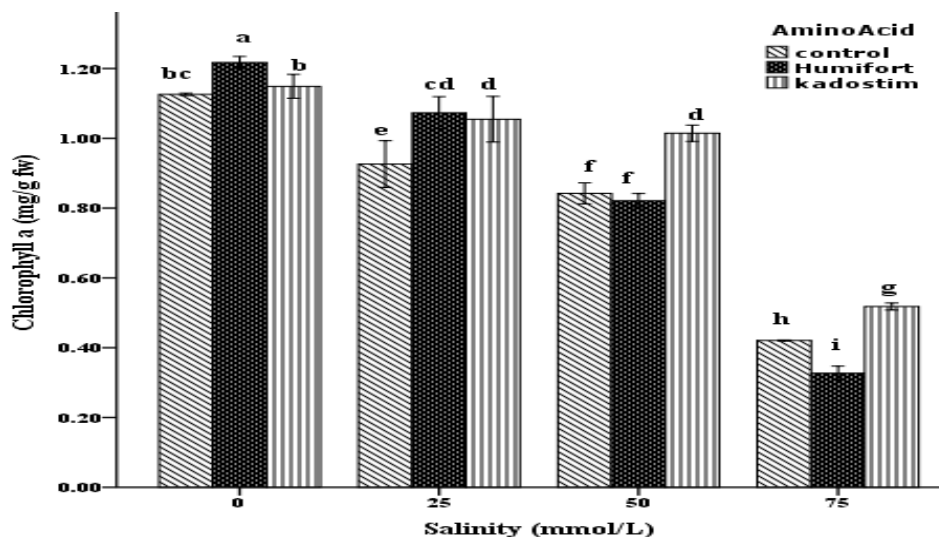
^{ns}, * and ** non- significant and significant at 5 and 1% probability level, respectively.

کاهش محتوای آن و ممانعت از ساخت کلروفیل جدید می‌شود. به نظر می‌رسد چون گلوتامات ماده اولیه پرولین و کلروفیل می‌باشد بدلیل افزایش تولید پرولین در اثر تنش شوری (شکل ۵) ساخت کلروفیل کاهش می‌یابد. دلیل دیگر افزایش استفاده از نیتروژن برای سنتز پرولین و در نتیجه کاهش کلروفیل، می‌باشد (Bybordi, 2012). از طرف دیگر شوری باعث کاهش جذب عناصری همچون آهن، منیزیم و نیتروژن که در ساختمان کلروفیل شرکت دارند می‌شود، بنابراین میزان کلروفیل برگ کاهش می‌یابد،

هیومی فورته بوده است. از نظر کلروفیل کل در تنش ملایم صفر و ۲۵ میلی مولار بر لیتر هیومی فورته بهتر بود و در تنش شدیدتر یعنی ۵۰ و ۷۵ میلی مولار بر لیتر کادوستیم تاثیر بهتری داشت. شرایط تنش شوری منجر به افزایش بعضی تنظیم کننده‌های رشد نظیر آبسزیک اسید و اتیلن می‌شود و در نتیجه فعالیت آنزیم کلروفیلاز افزایش یافته و کلروپلاست گیاهی تخریب می‌شود (Reddy and Vora, 2005). همچنین افزایش گونه‌های فعال اکسیژن تحت تنش شوری منجر به آسیب به ساختار کلروفیل،

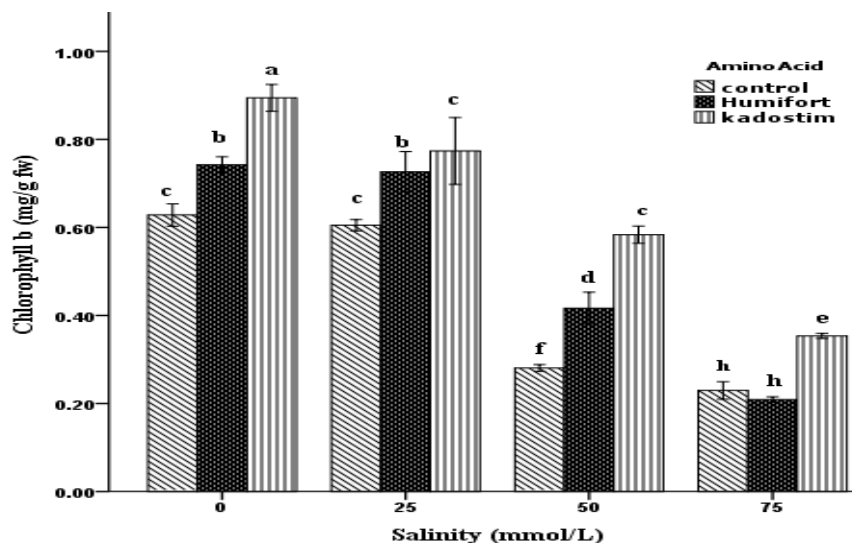
عملکرد گیاه می‌شود. در مطالعات دیگر هم کاربرد اسیدهای آمینه منجر به افزایش کلروفیل شد (Faten et al., 2010) که موافق با مطالعه حاضر است.

در این تحقیق اسیدهای آمینه با افزایش میزان نیتروژن، پتاسیم و فسفر در گیاه، باعث افزایش میزان رنگیزه‌ها (کلروفیل) شده که به دنبال توانایی جذب نور خورشید، تولید مواد فتوسنتزی و در نهایت باعث بهبود رشد و



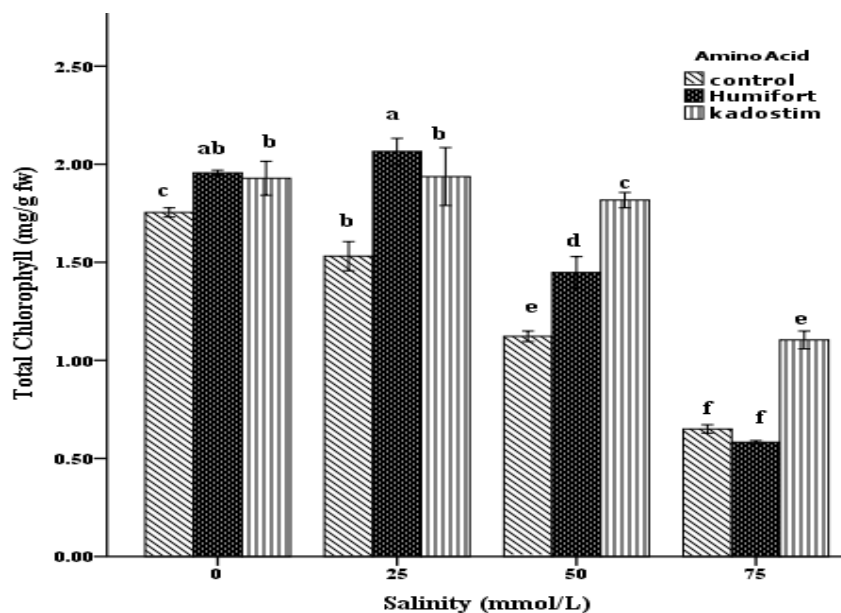
شکل ۱. مقایسه میانگین اثرات متقابل ترکیبات حاوی اسید آمینه و شوری بر محتوای کلروفیل a در گیاه نعناع سبز دارویی

Figure 1. Mean comparison of interaction of amino acid based compounds and salinity on chlorophyll a contents in *Mentha spicata*



شکل ۲. مقایسه میانگین اثرات متقابل ترکیبات حاوی اسید آمینه و شوری بر محتوای کلروفیل b در گیاه نعناع سبز دارویی

Figure 2. Mean comparison of interaction of amino acid based compounds and salinity on chlorophyll b contents in *Mentha spicata*



شکل ۳. مقایسه میانگین اثرات متقابل ترکیبات حاوی اسید آمینه و شوری بر محتوای کلروفیل کل در گیاه نعناع سبز دارویی

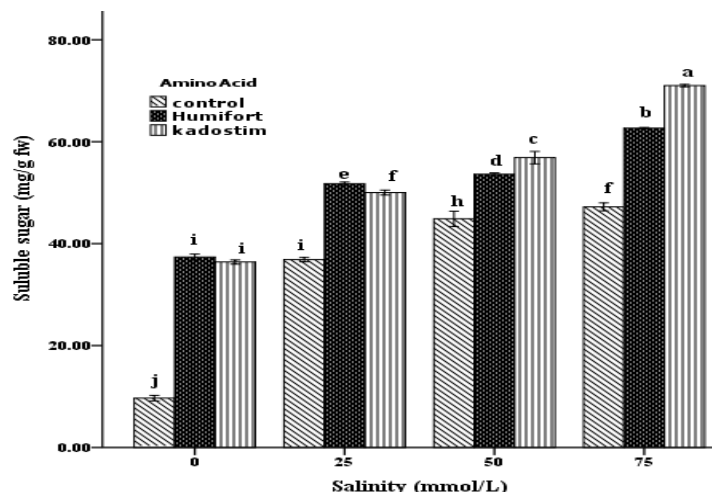
Figure 3. Mean comparison of interaction of amino acid based compounds and salinity on total chlorophyll contents in *Mentha spicata*

قندهای محلول

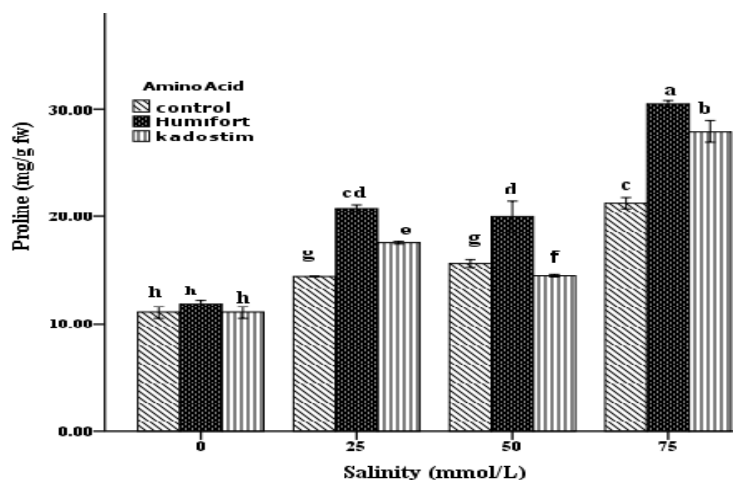
به همین دلیل ممکن است که محتوای قندهای محلول روشی مفید در انتخاب گونه‌های مقاوم به شوری و خشکی باشد. کافی و همکاران (2012) گزارش کردند که افزایش قندهای محلول در شرایط تنش شوری ممکن است بیانگر اختلال در انتقال کربوهیدراتهای محلول از اندامهای هوایی به ریشه باشد. افزایش قندها در شرایط تنش شوری ناشی از افزایش آنزیم‌های هیدرولیتیکی و تجزیه نشاسته (Bartels and Ramanjulu, 2005) است، که به این طریق سلول قادر به حفظ پتانسیل اسمزی و کاهش خطر دهیدراتاسیون سلول می‌شود.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساد و متقابل شوری و اسید آمینه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۵).

بیشترین مقدار قندهای محلول در تیمار ۷۵ میلی‌مولار شوری و کادوستیم بود و کمترین مقدار آن در تیمار بدون صفر میلی‌مولار شوری و بدون کاربرد ترکیب اسید آمینه بدست آمد (شکل ۴). در این تحقیق مشخص شد با افزایش تنش شوری میزان قندهای محلول افزایش یافت زیرا قندهای محلول موجب تنظیم اسمزی، حفظ تمامیت غشاها و پایداری پروتئین‌های موجود در سلول می‌شوند.



شکل ۴. مقایسه میانگین اثرات متقابل ترکیبات حاوی اسید آمینه و شوری بر محتوای قندهای محلول در گیاه نعناع سبز دارویی
Figure 4. Mean comparison of interaction of amino acid based compounds and salinity on sububle sugar contents in *Mentha spicata*



شکل ۵. مقایسه میانگین اثرات متقابل ترکیبات حاوی اسید آمینه و شوری بر محتوای پرولین در گیاه نعناع سبز دارویی
Figure 5. Mean comparison of interaction of amino acid based compounds and salinity on proline contents in *Mentha spicata*

بدون تنش شوری اثری بر مقدار پرولین برگ نداشت، بیشترین غلظت پرولین در شوری ۷۵ میلی‌مولار و تیمار کادوستیم ایجاد شد. همانطور که در شکل ۵ مشخص است در تمام سطوح تنش تیمار هیومی فورته میزان پرولین را نسبت به کادوستیم بیشتر افزایش داده که احتمالاً به دلیل وجود فسفر در ترکیبات آن باشد. کمترین میزان پرولین در شرایط بدون تنش بود که بین سه تیمار شاهد (بدون ترکیب اسید آمینه) کادوستیم و هیومی فورته

پرولین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساد و متقابل شوری و اسید آمینه بر میزان پرولین گیاه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۵). مقایسات میانگین حاصل از اندازه‌گیری پرولین در شکل ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، تنش شوری مقدار پرولین در برگ‌های نعناع را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. تیمار اسید آمینه در شرایط

تفاوتی نبود. تجمع پرولین یکی از روش‌های متابولیکی بارز گیاهان در پاسخ به تنش اسمزی و یا سایر تنش‌ها توسط گیاهان عالی است. پرولین نقش کلیدی در برقراری فشار اسمزی، حفاظت غشای سلولی و آنزیم‌های سیتوپلاسمی ناشی از آسیب‌های وارده را دارد که از طریق جذب رادیکال‌های آزاد نقش خود را ایفا می‌نماید (Bybordi, 2012). پرولین در محافظت از ساختمان ماکرومولکولها و هیدروکسی پرولین در سنتز دیواره سلولی هم نقش دارد. در شرایط تنش شوری گیاه با کمک اسمولیت‌های چون پرولین پتانسیل اسمزی خود را نسبت به پتانسیل اسمزی محیط ریشه افزایش می‌دهد تا از این طریق آب و املاح مورد نیاز را جذب نماید. افزایش پرولین در گیاهانی نظیر بابونه شیرازی (Nouri, et al., 2013) و خرفه (Rahdari, 2012) گزارش شده است. در این تحقیق هیومی فورته در تمام شرایط بدون تنش و دارای تنش احتمالا به دلیل داشتن فسفر و مقدار نیتروژن بیشتر در افزایش پرولین بهتر از کادوستیم عمل کرده است.

رطوبت نسبی

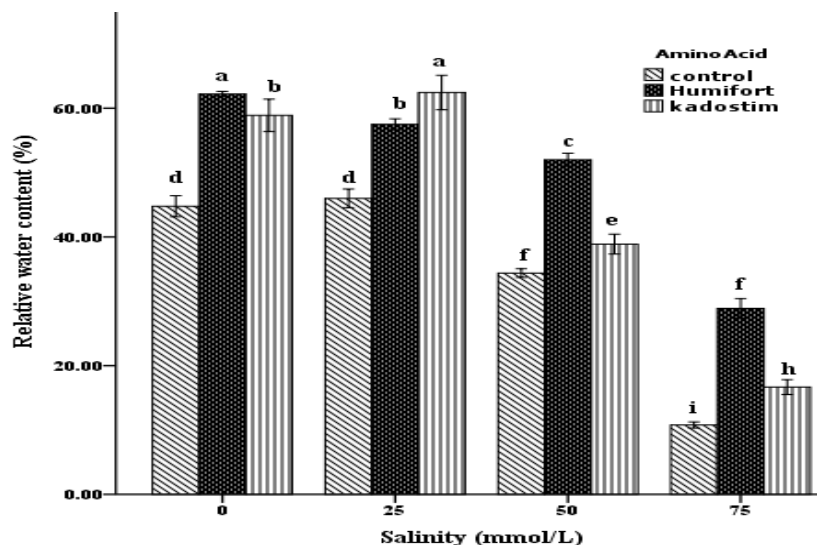
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساد و متقابل شوری و اسید آمینه بر محتوای رطوبت نسبی برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۵). بیشترین میزان رطوبت نسبی در تیمار ۲۵ میلی‌مولار شوری و کادوستیم بود و کمترین مقدار آن در تیمار ۷۵ میلی‌مولار شوری و بدون کاربرد ترکیب اسید آمینه بدست آمد (شکل ۴). همچنین در سایر سطوح شوری یعنی صفر، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار هیومی فورته تاثیر بهتری داشت. که احتمالا بدلیل تاثیر این ترکیب بر افزایش طول

ریشه (جدول ۳) و میزان عناصر بیشتر از جمله فسفر و نیتروژن آن باشد. تنش شوری موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ می‌شود. (Momeni et al., 2013) در گیاه کلزا نیز تنش شوری سبب کاهش میزان رطوبت نسبی برگ شد (Dehshiri et al., 2012). میزان محتوای نسبی آب برگ یکی از شاخص‌هایی است که مقاومت گیاه را به تنش شوری تخمین می‌زند. محتوای نسبی آب برگ در تنش شوری کاهش معنی‌داری نشان داد. کاربرد اسیدهای آمینه افزایش درصد آب بافت برگ را در همه شرایط بررسی شده نشان داد. میزان رطوبت نسبی برگ نقش مهمی در تنظیم هدایت روزنه‌ای و در نتیجه سرعت فتوسنتز گیاه دارد (Tarumingkeng and Coto, 2003). رطوبت نسبی برگ معرف بسیار خوبی از وضعیت آبی گیاه است. کاهش محتوای نسبی آب برگ مربوط به کاهش جذب آب توسط گیاه است، زیرا پتانسیل اسمزی بسیار منفی محلول‌های شور خاک مانع از جذب آب به گیاه می‌شود و در نتیجه پدیده‌ی خشکی فیزیولوژیک ایجاد می‌شود و گیاه دچار کم‌آبی شده و سبب بسته شدن روزنه‌ها می‌شود. در این تحقیق کاربرد ترکیبات حاوی اسید آمینه تحت تنش شوری، افزایش محتوای رطوبت نسبی برگ را باعث شد که به نظر می‌رسد دلیل احتمالی آن افزایش محلول‌های سازگار و در نتیجه کاهش پتانسیل اسمزی گیاهان باشد که افزایش جذب آب را در محیط‌های نامساعد سبب می‌شود (شکل ۴ و ۵). تولید اسمولیت‌ها فشار اسمزی داخل سلول را کاهش می‌دهد که هم به حفظ آب داخل سلول کمک می‌کند و مانع از خشکی سلول می‌شود و هم با کمک به جذب آب از محلول خاک افزایش فشار آماس و میزان محتوای نسبی آب برگ را باعث می‌شود.

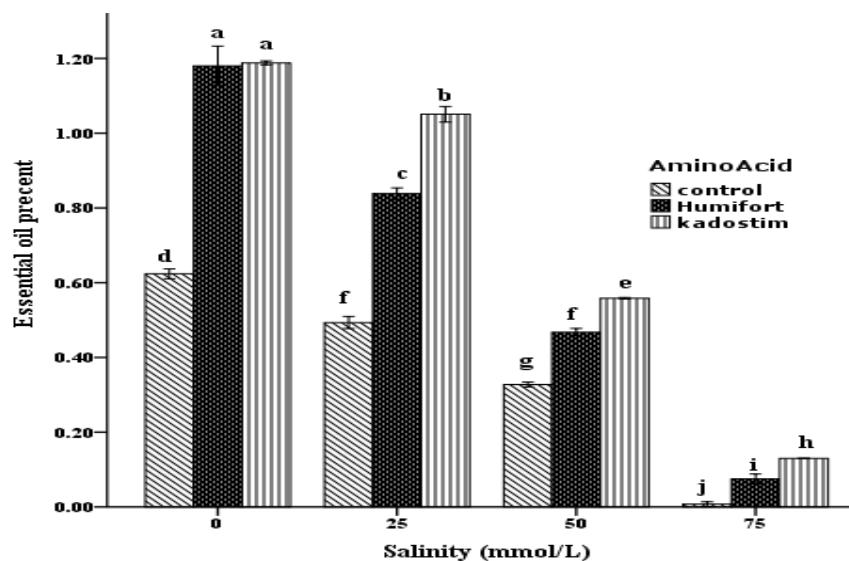
اسانس

(Sangwan et al., 2001). که چنین روندی در پژوهش حاضر نیز استنباط می‌شود. بنابراین می‌توان گفت گیاه نعناع سبز دارویی جزء گیاهان حساس به تنش شوری است و در نتیجه درصد تولید اسانس تحت این تنش کاهش یافته است. کاربرد اسیدهای آمینه منجر به افزایش درصد اسانس تحت تنش شوری نسبت به گیاهان شاهد شد که موافق با نتایج بررسی‌های کاربرد اسیدهای آمینه روی گیاهان گشنیز (Rezakhani et al., 2017)، بابونه آلمانی (Golzadeh et al., 2015) و ریحان سبز (Saburi, et al., 2014) می‌باشد. هیومی‌فورته و کادوستیم حاوی اسیدهای آمینه و ترکیبات نیتروژنی هستند که کاربرد آنها به صورت محلول‌پاشی باعث افزایش دسترسی سلول‌های گیاهی به نیتروژن جهت تولید ترکیبات ترپنویدی شده و در نهایت منجر به افزایش درصد اسانس نسبت به شاهد شده است.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساد و متقابل شوری و اسید آمینه بر درصد اسانس گیاه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین درصد اسانس در شرایط بدون تنش مربوط به تیمار محلول‌پاشی بود و بین دو ترکیب کادوستیم و هیومی فورته تفاوت معنی‌داری نبود. با افزایش شوری میزان درصد اسانس کاهش یافت. کمترین میزان درصد اسانس مربوط به تیمار شوری ۷۵ میلی‌مولار و شاهد (بدون تیمار ترکیب اسید آمینه) بود (شکل ۷). در تنش‌ها گیاه مقدار زیادی از مواد فتوسنتزی خود را صرف تولید ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی مانند پرولین، گلايسین بتائین و ترکیبات قندی همانند ساکاروز، فروکتوز و فروکتان می‌کنند تا بتوانند شرایط لازم جهت ادامه حیات خود را فراهم کنند. ساخت این ترکیبات اسمزی برای گیاهان هزینه‌بر است و برای جبران آن‌ها نیاز به کاهش تولید متابولیت‌های ثانویه مانند اسانس می‌باشد



شکل ۶. مقایسه میانگین اثرات متقابل ترکیبات حاوی اسید آمینه و شوری بر رطوبت نسبی در گیاه نعناع سبز دارویی
Figure 6. Mean comparison of interaction of amino acid based compounds and salinity on relative water content in *Mentha spicata*



شکل ۷. مقایسه میانگین اثرات متقابل ترکیبات حاوی اسید آمینه و شوری بر درصد اسانس گیاه نعناع سبز دارویی

Figure 7. Mean comparison of interaction of amino acid based compounds and salinity on essential oil present in *Mentha spicata*

و برخی عناصر معدنی سبب افزایش اسمولیت‌ها، رطوبت نسبی، افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی شده و در نتیجه ویژگی‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه نعناع سبز دارویی تحت تنش شوری بهبود یافت. در مجموع نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان داد که کاربرد ترکیبات حاوی اسیدهای آمینه در شرایط تنش می‌تواند نقش مؤثری در افزایش تحمل گیاهان به شرایط نامساعد و افزایش عملکرد گیاهان عمل نموده و با کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی گامی در جهت نیل به اهداف کشاورزی ارگانیک باشد.

نتیجه گیری کلی

سطوح مختلف شوری، ترکیبات اسید آمینه و همچنین اثرات متقابل آنها بر همه صفات اندازه‌گیری شده در سطح یک درصد معنی‌دار بود. با افزایش تنش شوری در گیاه نعناع سبز دارویی، قندهای محلول و پروتئین افزایش یافت و صفات مورفولوژیکی گیاه، میزان کلروفیل a، b، کلروفیل کل، رطوبت نسبی و درصد اسانس کاهش یافت. براساس نتایج بدست آمده از این پژوهش کاربرد ترکیبات حاوی اسیدهای آمینه با افزایش دسترسی گیاه به اسیدهای آمینه

منابع

Abo Sedera, F., Bader, L. A. and Rezk, S. M. 2010. Effect of NPK mineral fertilizer levels and foliar application with humic and amino acids on yield and quality of strawberry. Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences. 25: 54-169.

Arnon D. I. 1959. Photosynthesis by isolated chloroplast. IV. Central concept and comparison of three photochemical reactions. Biochemical et Biophysica Acta. 20: 440-446.

Babaei, M., Ajdanian, L., 2019. Effect of Amino Acid Spraying on Growth and Yield of Two Basil Varieties (Oral and Pharmaceutical). 11th Iranian Horticultural Science Congress, Urmia, Iran.

Bates L.S., Walderen, R.D., Taere, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil and Environment. 39: 205-207.

Calvo, P., Nelson, L. Kloepper, J.W. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. Plant Soil. 383: 3-41.

Dehshiri, A., Modares Sanavi, M., Rezai, H., and Shirani Rad, A. 2012. Effect of elevated concentration of atmospheric carbon dioxide on some traits of three rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties under saline conditions. Seed Plant Production Journal. 28(2): 35-52 (In Persian).

Dinoo, Y.S., Boodina, N., Sembhoo, C. 2009. Effects of naturally occurring amino acid stimulants on the growth and yield of hot peppers (*Capsicum annum* L.). Journal of Animal & Plant Sciences. 5 (1): 414 - 24.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Roberts, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Annual of Chemistry. 28: 350-356.

Du Jardin, P. 2015. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation, Scientia Horticulturae. 196: 3-14

Farkhondeh, R., Nabizadeh, E., and Jalilnezhad, N. 2012. Effect of salinity stress on proline content, membrane stability and water relations in two sugarbeet cultivars. International Journal of Agriculture Sciences. 2(5): 385-392.

Faten, S., Abd El-Aal, F.S., Shaheen, A.M., Ahmed, A.A. and Mahmoud, A.R. 2010. Effect of foliar application of urea and amino acids mixtures as antioxidants on growth, yield and characteristics of squash. Agriculture and Biological Sciences. 6: 583-588.

Gawronska, H. 2008. Bio stimulators in modern agriculture (General aspects). Plant Press Ryko. University of Life Sciences (WULS). 14: 23-89.

Golzadeh, H., Mehrafarin, A., Naghdi Badi, H., Fazeli, F., Qaderi, A. and Zarinpanjeh, N, 2012. Effect of Bio-Stimulators compounds on quantitative and qualitative yield of german chamomile (*Matricaria Recutita* L.). Journal of Medicinal plants. 1(41): 195-207.

Kafi, M., A. Borzouei, M. Salehi, A. Kamandi, A. Masoumi, and J. Nabati. 2012. Environmental stresses physiology in plants. Mashhad Jihad Daneshgahi Publications. (In Persian).

Karray-Bouraouia, N., Rabhib, M., Neffati, M., Baldand, B., Ranieri, A., Marzouk, B., Lachaâl, M., and Smaoui, A. 2009. Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. Industrial Crops and Product. 30: 338-343.

Khorasaninejad S, Mousavi A, Soltanloo H, Hemmati K, and Khalighi A. 2010. The effect of salinity stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of peppermint (*Mentha piperita* L.). *World Applied Sciences Journal*. 11(11): 1403-1407.

Momeni, N., Arvin, M., Khagoei negad, Gh., Keramat, B. and Daneshmand, F.2013. Effects of sodium chloride and salicylic acid on some photosynthetic parameters and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) plants. *Plant Biology*. 5(15): 15-30 (in Persian).

Moosavy, M.H., Shavisi, N. 2014. The combined effect of *Mentha spicata* essential oil and nisin on the growth of *Escherichia coli* O157:H7. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 23(3): 320-328. [In Persian].

Naghdibadi, H.A., Labafi, M.R., Ghavami, N., Ghaderi, A., Abdosi, V. and Mehrafrin, A. 2015. Phytochemical and morphological responses of *Thymus vulgaris* L. for biomimetic sprays based on amino acids and methanol. *Journal of Medicinal Plants*. 14(54): 146-158. (In Persian)

Nahed, G., Abdel Aziz, A., Mazher, A.M. and Farahat, M.M. 2010. Response of vegetative growth and chemical constituents of *Thuja orientalis* L. plant to foliar application of different amino acids at Nubaria. *The Journal of American Science*. 6 (3): 295 - 301.

Nardi, S.; Pizzeghello, D.; Schiavon, M.; Ertani, A. 2016. Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Scientia Agricola*. 73: 18–23.

Nouri, K., Omid, H., Naghd badi, H.A., Torabi, H. and Fotokian, M.H. 2013. Effects of soil and water salinity on flower yield, soluble compounds, content of saline elements and essential oil quality of German chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Journal of Water Research*. 26(4): 367-379

Paleckiene, R., Sviklas, A., Šlinkšiene, R. 2007. Physicochemical properties of a microelement fertilizer with amino acids. *Russian Journal of Applied Chemistry*. 80: 352–357.

Popko, M., Wilk, R., Górecki, H. 2014. New amino acid biostimulators based on protein hydrolysate of keratin. *Przemysł Chemiczny*. 93: 1012–1015.

Porcel, R. and Ruiz-Lozano, J.M. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany*. 55(403): 1743-1750.

Reddy, M.P. and Vora, A.B. 2005. Salinity induced changes in pigment composition and chlorophyllase activity of chelidonium. *Indian Journal Plant Physiology*. 29: 331-334.

Rahdari, P., Tavakoli, S. and Hosseini, S. M. 2012. Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in Purslane (*Portulaca oleracea* L.) Leaves. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. 8(1): 182- 193.

Rezakhani, A., Haj Seyed Hadi, M., 2017. Effect of manure and foliar application of amino acids on growth characteristics, seed yield and essential oil of coriander (*Coriandrum sativum* L.). Iranian Journal of Field Crop Science. 48(3):777-786.

Ritchie, S. W., and Nguyen, H. T. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science. 30: 105-111.

Saburi, M., Haj Seyed Hadi, Taghi Darzi M.R. 2014. Effects of amino acids and nitrogen fixing bacteria on quantitative yield and essential oil content of basil (*Ocimum basilicum*), Agriculture Science Developments. 3(8): 265-268

Said-Al Ahl, H.A.H., and Omer, E.A. 2011. Medicinal and aromatic plants production under salt stress. A review. Herba Polonica journal. 57(2): 72-87.

Sangwan, N.S., Farooqi, A.H.A., Shabih, F. and Sangwan, R.S. 2001. Regulation of essential oil production in plants. Plant growth regulatory. 34(1): 3-21.

Shehata, S. M., Abdel-Azem H. S., Abou El-Yazied A and El-Gizawy A. M., 2011. Effect of foliar spraying with amino acids and seaweed extract on growth chemical constitutes, yield and its quality of celeriac plant. European Journal of Scientific Research. 58(2): 257- 265.

Shekari, GH., and Javanmardi, J. 2017. Effects of foliar application pure amino acid and amino acid containing fertilizer on broccoli (*Brassica oleracea* L. var. italica) transplants. Advances in Crop Science and Technology. 5(3): 1-4

Shalaby, T.A. and H. El-Ramady, 2014. Effect of foliar application of bio-stimulants on growth, yield, components, and storability of garlic (*Allium sativum* L.). Australian Journal of Crop Science. 8(2):271-275.

Shumaila K., Hongjun, Y., Qiang, L, Yinan, G., Basheer Noman S., Heng W., Peng L. and Weijie J., 2019. Exogenous Application of Amino Acids Improves the Growth and Yield of Lettuce by Enhancing Photosynthetic Assimilation and Nutrient Availability. Agronomy. 9 (266): 2-17

Tarumingkeng, R.C. and Coto, Z. 2003. Effects of drought stress on growth and yield of soybean, Science PhilosophyPPs 702, Term paper, Graduate School, Borgor Agricultural University (Institute Pertainian Borgor).

Teimouri, A. and Jafari, M. 2010. The effects of salinity stress on some of anatomical and morphological characteristics in three Salsola species: *S. rigida*, *S. dendroides*, *S. richteri*, Iranian journal of Range and Desert Reseach. 17 (1): 21-34

Thomas, J., Mandal, A.K., Raj Kumar, R. and Chordia, A. 2009. Role of biologically active amino acid formulations on quality and crop productivity of tea (*Camellia sp.*). International Journal of Agricultural Research. 4: 228–36.

Effect of some amino acids based biostimulants on Medicinal Mint (*Mentha spicata* L) under salinity stress

Edris Azarpira¹, Shahnaz Fathi^{2*}, Yavar Sharafi³, Sharareh Najafian⁴

1- M.Sc student, Department of Medicinal Plants, Shahid Bakeri Higher Education Center of Miandoab, Urmia University, Urmia, Iran. edrisazarpira71@gmail.com

2- Corresponding author and Assistant Professor, Department of Medicinal Plants, Shahid Bakeri Higher Education Center of Miandoab, Urmia University, Urmia, Iran. sh.fathi@urmia.ac.ir

3- Assistant Professor, Department of Horticultural science, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran. y.sharafi@shahed.ac.ir

4- Associate Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran. sh.najafian@pnu.ac.ir

Received Date: 2019/12/26

Accepted Date: 2020/02/13

ABSTRACT

Introduction: Excessive and unbalanced use of chemical fertilizers in common agriculture have led to increased costs, soil degradation, destruction of microorganisms, reduced biodiversity, unbalanced soil pH, and ultimately threatened ecosystem stability and human health. For this reasons, specialists are trying to introduce sustainable eco-Friendly agricultural alternatives to chemical fertilizers to farmers and agricultural producers. Today's representative in the herb industry is also a global approach to implementing sustainable farming systems. In this regard, a relatively new group called plant growth stimulants, especially under adverse and stressful conditions, has been introduced to increase yield and improve plant quantitative and qualitative traits (Du Jardin, 2015). The role of biostimulant is to control and stimulate biological processes, increase resistance and stimulate plant growth (Du Jardin, 2015; Calvo et al., 2014). Some of these biostimulant are based on amino acids (Nardi et al., 2016; Calvo et al., 2014) Amino acids as organic nitrogen compounds are the building blocks of protein. Among these compounds can be mentioned the biomarkers of Humiforte and Kadostim which have basic amino acids formulation and stimulate the quantitative and qualitative growth of plants. They are very important in stress conditions, especially salinity. The results of amino acids application in *Datura* resulted in higher fresh and dry weight of the plant (Youssef et al., 2004). Numerous other reports have been reported of increased plant yield due to the use of amino acids *Satureja* (Nahed et al., 2010), Wild celery (Shehata et al. 2011) ، *Marygold* (Saburi et al., 2014). The aim of this study was to investigate the effect of two biostimulants based on free amino acids on, essential oil content, physiological, morphological traits, and essential oil percentage of medicinal mint in saline and normal stress conditions.

Materials and methods: The experiment was conducted as a factorial experiment in a randomized complete block design with three replications in the research greenhouse of Shahid Bakari Higher Education Research Center of Myandab. Care and maintenance for all plants was performed immediately after planting. Irrigation was carried out every 2 to 3 days, depending on the need of the plant. The greenhouse temperature was 25-18 ° C and 80-60% relative humidity. At the end of the growing season, root length, root diameter, plant height, crown diameter, leaf number, fresh and dry weight of plant, relative humidity, chlorophyll a, b, total soluble sugars and proline were measured. The plants were dried in the shade and oil percentage were extracted using Clevenger apparatus. The amount of soluble sugars was

measured by phenol sulfur method (Dubois et al, 1956). Proline measurement was performed according to the method of Bates et al. (1973) and relative leaf moisture content was measured by Ritchie et al. (1990) method. Chlorophyll content was measured by Arnon (1967) method using 80% acetone.

Results and discussion: Salinity and amino acid foliar application showed significant impact on measured traits at 1% probability level. The highest plant height, crown diameter, root diameter, plant fresh weight, chlorophyll b were obtained in 0 mM salinity and Kadostim foliar application, and soluble sugars in 75 mM salinity and Kadostim foliar treatment. Maximum root length, leaf number, plant dry weight, and chlorophyll a were obtained in 0 mM salinity and Humiforte treatment. The highest amount of total chlorophyll was obtained in 25 mM salinity and Humiforte and the highest proline content was in 75 mM salinity and Kadostim. The highest relative humidity content in salinity of 0, 50 and 75 mM salinity was related to Humiforte treatment but in 25 mM salinity treatment was related to Kadostim treatment. There was no significant difference in the percentage of essential oil at 0 mM salinity between the treatment of Kadostim and HumiForte but it was significantly higher than control.

Conclusion: Different salinity levels, amino acid compositions and their interactions on all measured traits were significant at 1% level. Morphological traits and chlorophyll a, b, total chlorophyll, relative humidity and essential oil content decreased with increasing salinity stress but increased soluble sugars and proline content in medicinal mint. According to the results of this study, application of amino acids compounds increased plant access to amino acids and some elements, increased Smolite, relative humidity, increased photosynthetic pigments and improved the growth and biochemical properties of medicinal mint. Overall, the results of this experiment showed that the use of amino acids in stress conditions can play an effective role in increasing plant tolerance to adverse conditions under salinity stress and thus increase plant yield, and be a step towards achieving sustainable agricultural systems goals.

Keywords: Chlorophyll, Proline, Soluble sugars, humiforte, kadostim