مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
دوره سوم، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۳
صفحه ۸-۱

اثر منگنز و اسید سالیسیلیک بر بیان ژن منتون ردوکتاز و میزان منتول در گیاه دارویی نعناع فلفلی

The effect of manganese and salicylic acid on gene expression of Menthone reductase and menthol content in *Mentha piperita*

دیاکو رسولی[۱*]، محمود سلوکی[۲]، براتعلی فاخری[۲]، صدیقه اسمعیل زاده بهابادی[۳]

Diako Rasouli[1*], Mahmood Solouki[2], Barat Ali Fakheri[2], Sedigheh Esmaeilzadeh Bahabadi

۱- کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۲-دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل

1- M.S.c of Agriculture Biotechnology, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol.
2- Associated Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol.
3- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Zabol.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: diakorasouli@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۱۵)

چکیده

به منظور بررسی اثر منگنز و اسید سالیسیلیک بر بیان ژن منتون ردوکتاز (MR) و میزان منتول در گیاه نعناع فلفلی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل زمان (۱، ۳ و ۵ روز بعد از اعمال تیمار) و تیمار (منگنز با غلظت ۵۰۰ میکرو مولار و اسید سالیسیلیک با غلظت یک میلی مولار) انتخاب شدند. نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان‌داد اثر منگنز و اسید سالیسیلیک در طول سه زمان تأثیر معنی‌داری بر بیان ژن MR و میزان منتول داشتند. کمترین میزان بیان ژن MR و میزان منتول تحت تأثیر منگنز در روز پنج بعد از اعمال تیمار بود که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. بیشترین میزان بیان ژن MR و میزان منتول نیز تحت تأثیر اسید سالیسیلیک در پنج روز بعد از اعمال تیمار مشاهده‌شد. نتایج اثر متقابل منگنز و اسید سالیسیلیک نشان‌داد که اسید سالیسیلیک تا حدودی باعث کاهش سمیت ناشی از منگنز هم در بیان ژن MR و هم در میزان منتول شد. نتایج کلی این آزمایش بیانگر آن بود که ارتباط مستقیمی بین ژن MR و میزان منتول در گیاه نعناع فلفلی وجود داشت، به‌طوری‌که با گذشت زمان با افزایش بیان ژن MR تحت تأثیر اسید سالیسیلیک میزان منتول نیز افزایش یافت درحالی‌که تحت تأثیر منگنز هم بیان ژن MR و هم میزان منتول کاهش نشان‌داد. از طرفی مشاهده‌شد که اسید سالیسیلیک به عنوان یک هورمون قوی عمل‌کرده و باعث تعدیل اثر منگنز در بیان ژن MR و میزان منتول در گیاه نعناع فلفلی شد.

واژه‌های کلیدی

بیان ژن
منتول ردوکتاز
منتون
Mentha piperita

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-03]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.3.4]

مقدمه

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. متعلق به خانواده Lamiaceae است. این گیاه گونه‌ای هیبرید است و از تلاقی بین گونه‌های *M. aquatica* و *M. spicata* حاصل شده‌است. بومی مناطق معتدله دنیا به ویژه اروپا، آمریکای شمالی و شمال آفریقا است، اما امروزه در سراسر دنیا کشت می‌شود (Singh *et al.*, 2011). نعناع فلفلی محتوی ۱/۲ تا ۱/۵ درصد روغن‌های فرار است که ترکیب‌های اصلی آن را منتول، منتون منتوفوران، متیل استات و غیره تشکیل می‌دهد. (Klayman, 1985).

منتول جزء اصلی اسانس نعناع فلفلی است و شناخته شده‌ترین مونوترپن است که هم به‌عنوان یک ترکیب خالص از مواد تشکیل دهنده و هم یک جزء از روغن‌های ضروری گیاهان گونه *Mentha* از خانواده Lamiaceae است (Bauer *et al.*, 1997). منتول دارای خاصیت تسکین دهنده است و برای دردهای موضعی مفید و ضدعفونی کننده است (Macro and Barbera, 1990).

در مسیر بیوسنتز ترپن‌ها موسوم به مسیر متیل اریتریتول فسفات (MEP) منتول طی هشت مرحله تولید می‌شود که ابتدا ایزوپنتنیل دی فسفات (IPP) و دی متیل الیل دی فسفات (DMAPP) بوسیله آنزیم ژرانیل دی فسفات سنتاز (GPPS) به ژرانیل دی فسفات (GDP) تبدیل می‌شود و سپس بوسیله آنزیم لیمونن سنتاز (LS) حلقوی شده و به لیمونن تبدیل می‌شود، لیمونن هم طی یک سری واکنش‌های اکسید و احیاء و ایزومریزاسیون به منتون تبدیل می‌شود. منتون هم تحت تأثیر آنزیم منتون ردوکتاز (MR) یا منتول دهیدروژناز که وابسته به NADPH است به منتول تبدیل می‌شود (Croteau *et al.*, 2005). مسیر بیوسنتز اجزاء تشکیل دهنده اسانس در گیاه مورد پژوهش مسیری چند آنزیمی است که فعالیت هر یک از این آنزیم‌ها می‌تواند مقدار هر یک از مواد موجود در اسانس به خصوص ترکیبات اصلی را تحت تأثیر قرار دهد. عوامل مؤثر بر کیفیت اسانس گیاهان نیز ممکن است با تأثیر بر آنزیم‌های ذکرشده وارد عمل شوند. Kjonaas و همکاران (1982) در پژوهشی به بررسی متابولیسم مونوترپن‌ها و تشکیل منتول و نئومنتول از منتون توسط آنزیم‌های دهیدروژناز در برگ نعناع فلفلی پرداختند و عنوان کردند که منتول اصلی‌ترین ترکیب اسانس نعناع فلفلی بوده که توسط آنزیم منتون ردوکتاز از منتون تولید می‌شود. چگونگی تنظیم روند انباشته شدن مونوترپن‌ها در برگ نعناع نیز از نظر فیزیولوژیک مشخص شده است (Gershenzon *et al.*, 1989). از طرفی مشخصات ملکولی، توالی آمینواسیدی و نقش آنزیم منتون ردوکتاز نعناع فلفلی در تشکیل منتول برگ مشخص شده است (Davis *et al.*, 2005).

تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی تحت کنترل عوامل ژنتیکی است از طرفی عوامل محیطی به‌ویژه شرایط تنش‌زا مانند فلزات سنگین نقش عمده‌ای در کمیت و کیفیت این مواد به عهده دارند (Bupesh *et al.*, 2007). منگنز یکی از عناصر ضروری و کم‌مصرف در تغذیه گیاهان محسوب شده که فراوانی آن در گیاه به‌صورت فلز سنگین عمل کرده و باعث ایجاد مسمومیت می‌شود (Haji boland and Khosropanah, 2005). از جمله مهمترین علائم مسمومیت منگنز در اندام هوایی توقف رشد، کلروز بین رگبرگی، کاهش کلروفیل و درنتیجه کاهش مواد مؤثره گیاه است (Blamey *et al.*, 1999).

در پژوهش‌های صورت گرفته توسط Grattan و Grieve (1999) مشخص شد که تنش فلزات سنگین باعث برهم‌زدن تعادل تغذیه-ای و کاهش متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌شود. آن‌ها بیان کردند با تکمیل عناصر مورد نیاز از طریق خاک یا محلول‌پاشی می‌توان وضعیت رشد و در نتیجه مواد مؤثره گیاه را تا حدی بهبود بخشید. امروزه با توجه به ملاحظات زیست محیطی استفاده از اسید سالیسیلیک برای بهبود خصوصیات کمی، کیفی و شیمیایی محصول‌های زراعی، دارویی و باغی رواج پیدا کرده

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-03]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.3.4]

است. اسید سالیسیلیک به خاطر نقش‌های متنوع تنظیم‌کنندگی در سوخت‌و-ساز گیاه و القاء بیان ژن یک هورمون گیاهی قوی شناخته شده است که به‌عنوان یک مولکول سیگنالی نقش کلیدی مهمی را در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی، متابولیت‌های ثانویه و مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی و غیر زیستی دارد (He *et al.*, 2005). بنابراین در این تحقیق اثر منگنز به عنوان یک قلز سنگین و اسید سالیسیلیک به عنوان یک القاء کننده گیاهی، بر بیان ژن منتون ردوکتاز که در مسیر بیوسنتز منتول دخالت دارد مورد پژوهش قرار گرفت. به‌طورکلی هدف از این تحقیق بررسی رابطه مقدار منتول با بیان ژن منتون ردوکتاز تحت تأثیر منگنز و اسید سالیسیلیک است.

مواد و روش‌ها

کشت ریزوم

جهت بررسی اثر منگنز و اسید سالیسیلیک بر بیان ژن منتون ردوکتاز و میزان منتول در گیاه دارویی نعناع فلفلی آزمایشی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در پاییز ۱۳۹۲ در پژوهشکده زیست فناوری (بیوسنتر) دانشگاه زابل انجام شد. ریزوم‌های نعناع فلفلی از کلکسیون گیاهان دارویی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل تهیه شد. ریزوم‌های جوان در گلدان‌هایی به ابعاد ۲۰×۲۵ در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده زیست فناوری کشت شوند. کشت ریزوم‌ها در عمق یک سانتی‌متری از سطح خاک صورت گرفت. هر گلدان حاوی سه تا چهار ریزوم بوده و خاک گلدان‌ها نیز مخلوط مساوی از خاک برگ و خاک هوموس بود. گلدان‌ها در شرایط یکسان در دمای روزانه ۲۵ تا ۳۰ و شبانه ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. آبیاری بصورت روزانه طوری که خاک گلدان‌ها مرطوب باشد صورت گرفت. پس از دو تا سه ماه گیاه نعناع فلفلی آماده محلول‌پاشی و برداشت شد (soltani *et al.*, 2008).

فاکتورهای آزمایش شامل زمان و تیمار بود که بخش هوایی نعناع فلفلی در سه زمان مختلف بصورت یک، سه و پنج روز بعد از محلول‌پاشی با منگنز و اسید سالیسیلیک برداشت شد و تیمار نیز شامل منگنز به صورت سولفات منگنز (MnSO4) در غلظت ۵۰۰ میکرومولار (hashemi *et al.*, 2012) و اسید سالیسیلیک در غلظت یک میلی مولار (sayyari *et al.*, 2009) بود. همچنین به منظور بررسی اثر متقابل منگنز و اسید سالیسیلیک ابتدا منگنز و به فاصله یک روز بعد، اسید سالیسیلیک اعمال و در سه زمان مختلف برداشت شد. آب مقطر نیز به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج منتول

برای استخراج و اندازه‌گیری منتول ، بوته‌ها در دمای اتاق (حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در سایه خشک شوند و سپس با استفاده از دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری شدند. تعیین منتول با استفاده از دستگاه GC/Mass انجام شد. از هر نمونه خشک شده ۱۰۰ گرم آسیاب شد و به مدت دو ساعت با استفاده از روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری (Gerhart) و درصد آن تعیین شد. ترکیب‌های تشکیل‌دهنده فرجهٔ تجاری توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف سنج جرمی (GC/MS) (کروماتوگرافی گازی (GC) مدل Agilent 7890 متصل شده با طیف سنج جرمی (Mass) مدل (Agilent 5975) ستون HP-5MS و نیمه قطبی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ستون ۰/۲۵ میکرون، دتکتور MS، گاز حامل هلیوم (He)، سرعت جریان گاز حامل یک میلی‌لیتر بر دقیقه، برنامه حرارتی ۶۰- ۲۲۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت ٤ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه و دمای محفظه تزریق ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد) در مؤسسه دانش پژوهان تهران تجزیه شد. پس از تزریق اسانس به دستگاه‌های نامبرده، با استفاده از زمان بازداری ترکیب‌ها (tR)، اندیس بازداری (RT) طیف جرمی و مقایسه این پارامترها با ترکیب‌های استاندارد و یا با اطلاعات موجود در کتابخانه نسبت به شناسایی منتول اقدام شد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.3.4]

درصد کمّی این ترکیب نیز با محاسبه سطوح زیر منحنی در کروماتوگراف‌ها محاسبه شد (Ozturk *et al.*, 2004).

مطالعه بیان ژن منتون ردوکتاز

استخراج RNA از برگ‌های نعناع فلفلی بر اساس دستورالعمل پیشنهادی از کیت CinnaPure RNA (شرکت سیناژن، ایران) صورت گرفت. کمیت RNA کل به وسیله اسپکتوفتومتر و کیفیت آن توسط الکتروفورز ژل آگارز تعیین شد. سنتز cDNA (دی.ان.اِ معکوس) با استفاده از کیت 2-Steps RT-PCR kit شرکت ویوانتیس انجام گرفت.

کمیت سنجی cDNAهای ساخته شده با استفاده از دستگاه نانودراپ ۲۰۰۰ (Themo, Wilmington, USA) به روش طیف سنجی انجام شد. پس از طیف سنجی به منظور همسان‌سازی غلظت cDNAهای تولید شده، رقیق سازی cDNAها با آب مقطر فاقد DNase به غلظت تقریبی ۳۰۰ ng/µl صورت گرفت و غلظت نهایی توسط نانودراپ تایید شد.

توالی ژن MR و ژن B-actin به عنوان ژن مرجع (Housekeeping gene) از NCBI دانلود شد. طراحی آغازگرهای اختصاصی ژن-های MR و B-actin با استفاده از نرم افزار Oligo Therapeutics و سایت Oligonucleotid Properties Calculator انجام گرفت.

جدول ۱- آغازگرهای اختصاصی طراحی شده ژن‌های منتون ردوکتاز و بتا اکتین

Table 1- Specific primers designed genes of mentone reductase and beta-actin

ژن Gene	توالی آغازگرها Primer sequence	دمای اتصال Annealing temperature	طول قطعه پی.سی.آر Length of PCR product	کد دسترسی Accession number
منتون ردوکتاز MR	F: 5'CGGGTTCGAGATATGCAGGCAG 3' (22mer) R: 5' GCAACAGCGCTAGCAGGGTCAG 3' (22mer)	58	204	AY288138.1
بتا اکتین B-actin	F: 5' GACCACCTCATGAAGATCTTAACC 3' (24mer) R: 5' ATTCTCGTAGTCCAAAGC3' (18mer)	58	138	AW255057.1

تکثیر ژن‌های MR و B-actin به‌منظور اندازه‌گیری بیان ژن توسط واکنش Real time PCR بر اساس دستورالعمل پیشنهادی کیت HotTaq EvaGreen qPCR Mix (شرکت سیناژن، ایران) صورت گرفت. تعیین کمیت نسبی در Real time PCR به‌وسیله اندازه-گیری افزایش تشعشع فلورسنس در نتیجه اتصال رنگ (Eva Green) با استفاده از دستگاه (RG-3000 Corbett Research) انجام شد.

برنامه حرارتی برای تکثیر هر دو ژن با استفاده از Real time PCR یکسان و شامل: ۹۵ درجه به مدت ۱۵ دقیقه جهت فعال سازی ابتدایی آنزیم طی ٤٠ دوره، سپس ۹۵ درجه به مدت ۳۰ ثانیه به منظور واسرشت شدن، ۵۸ درجه به مدت ٤٥ ثانیه جهت اتصال آغازگرها و درنهایت ۷۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه جهت بسط ترکیبی بود. الگویابی منحنی ذوب از ۵۰ تا ۹۹ درجه در پایان واکنش برای هر PCR جهت تشخیص اختصاصی بودن واکنش انجام شد. برای هر نمونه سه تکرار تکنیکی و دو تکرار بیولوژیکی وجود داشت که اغلب تفاوت آن‌ها کمتر از ۰/۵ بود. پس از انجام واکنش تکثیر به روش QReal time PCR داده‌های خام به صورت Ct (Threshold cycle) از دستگاه استخراج شد. برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته‌شد و از روش ΔΔCt برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها استفاده شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری

همه آزمایش‌ها با سه تکرار و سه نمونه مستقل انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نسخه ۹/۲ نرم افزار SAS و آزمون چند دامنه‌ای درسطح احتمال پنج درصد انجام شد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-03]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.3.4]

نتایج

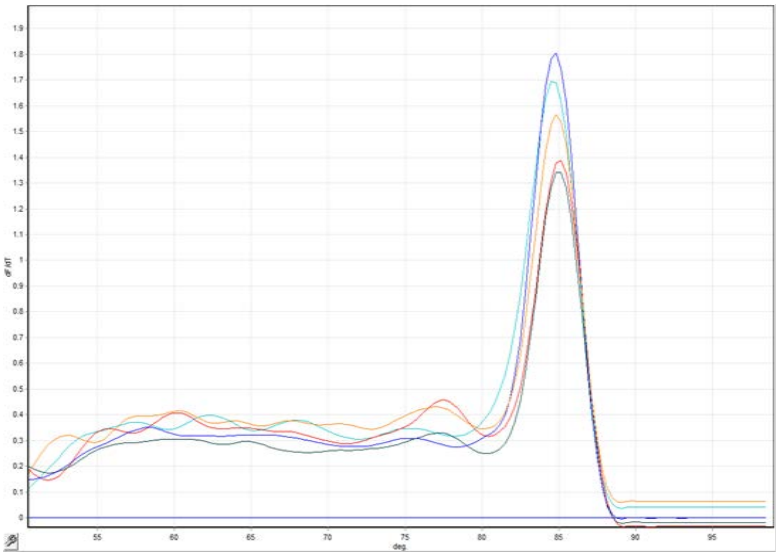
نتایج تجزیه‌وتحلیل در Real Time PCR

تغییرهای بیان ژن منتون ردوکتاز در سه زمان مختلف تحت تـأثیر منگنز و اسید سالیسیلیک اندازه‌گیری شد. منحنـی تکثیـر ژن‌هـای MR و B-actin با استفاده از Real Time PCR نشـان دادنـد کـه تکثیر به خوبی و با عملکرد مناسـب و بـدون هیچگونـه آلـودگی صورت گرفته است (شکل ۱).

اثر اسید سالیسیلیک و منگنز بر بیان ژن MR در طول سـه زمـان نشان داد بیشترین میزان بیان ژن تحت تأثیر اسـید سالیسـیلیک در پنج روز بعد از اعمال تیمار بود که اخـتلاف معنـی‌داری بـا سـایر تیمارها داشت. کمترین بیان ژن نیز تحت تأثیر منگنز در پـنج روز بعد از اعمال تیمار مشاهده‌شد که منجر به کاهش معنی‌دار بیان ژن MR نسبت به شاهد شد (شکل ۲).

اثر منگنز و اسید سالیسیلیک بر میزان منتول

ترکیب غالب اسانس بخش هوایی نعناع فلفلی در تحقیق حاضر در گروه شاهد و گروه تحت تیمار منتول بود. بررسی مقدار منتول تحت تأثیر منگنز و اسید سالیسیلیک نشان‌داد که بیشترین میزان منتول در پنج روز بعد از اعمال تیمار و تحت تأثیر اسید سالیسیلیک بود درحالی‌که کمترین میزان آن تحت تأثیر منگنز مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. همچنین در سه روز بعد از اعمال تیمار اختلاف معنی‌داری بین منگنز و اسید سالیسیلیک با شاهد وجود داشت. از طرفی در پنج روز بعد از محلول‌پاشی نشان داده شد که اسید سالیسیلیک در اثر متقابل با منگنز تا حدودی باعث افزایش منتول شد اما این افزایش به اندازه اسید سالیسیلیک نبود.

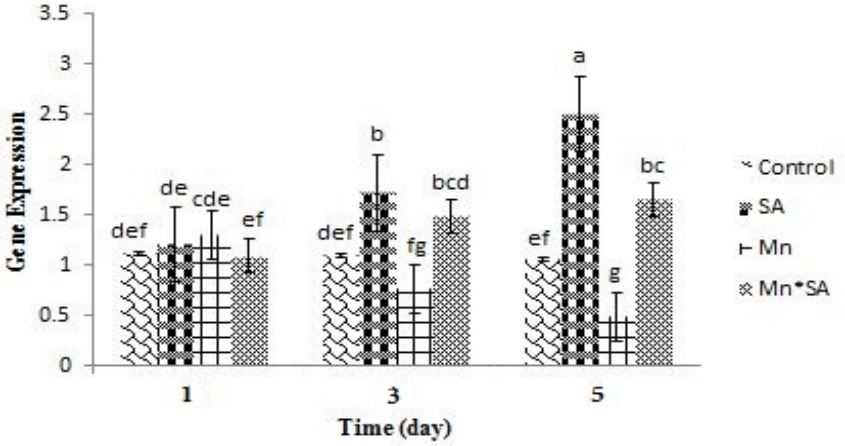


شکل ۱- منحنی ذوب ژن MR. هر Peack نمایانگر یک محصول PCR است که اختصاصی بودن محصول را نشان می‌دهد.

Figure 1- The melting curve of MR gene. Each Peack represents a PCR product that indicates specificity of the product.

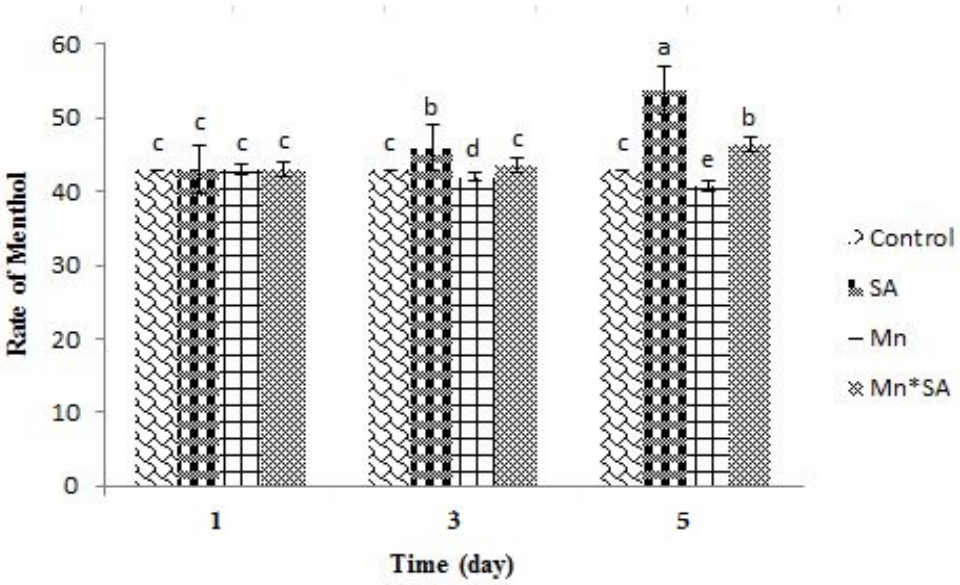
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-03]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.3.4]



شکل ۲- بیان ژن MR تحت تأثیر منگنز و اسید سالیسیلیک در زمان‌های مختلف. حروف یکسان بیانگر عدم معنی‌داری درسطح پنج درصد است.

Figure 2- Gene expression of menthone reductase under manganese and salicylic acid at different times. Similar letters are not significantly different at %5 probability.



شکل ۳- مقدار منتول تحت تأثیر منگنز و اسید سالیسیلیک در زمان‌های مختلف. حروف یکسان بیانگر عدم معنی‌داری درسطح پنج درصد است.

Figure 3- Rate of menthol under manganese and salicylic acid at different times. Similar letters are not significantly different at 5% probability.

بحث ونتیجه گیری

همان‌طور که در شکل دو مشاهده شد اسید سالیسیلیک به‌عنوان القاء کننده بیان ژن عمل کرده و باعث افزایش معنی‌دار بیان ژن MR در پنج روز بعد از اعمال تیمار نسبت به شاهد شد، درحالی‌که منگنز به عنوان فلز سنگین کاهش معنی‌دار بیان ژن MR در همان زمان را باعث شد. در مقایسه بیان ژن MR با میزان منتول تحت تأثیر منگنز مشاهده شد که با کاهش بیان ژن MR میزان منتول هم کاهش پیدا کرد که با تحقیقات Davis و همکاران (2005) و همچنین Kjonnas و همکاران (1982) در مورد این‌که

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.3.4]

بیان ژن MR تأثیر مستقیمی در تولید منتول داشته است، مطابقت دارد. Zarinkamar و همکاران (2012) پژوهشی را با عنوان بیان ژن لیمونن سنتاز تحت غلظت‌های مختلف منگنز در گیاه زیره انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که منگنز در غلظت‌های پایین (۲۰ و ٤٠ ppm) باعث افزایش بیان ژن لیمونن سنتاز می‌شود درحالی‌که در غلظت بالا (١٦٠ ppm) باعث کاهش معنی‌دار بیان آن ژن می‌شود. در این بررسی نیز با توجه به بالا بودن غلظت منگنز و در نتیجه سمی بودن آن به عنوان فلز سنگین، مشاهده شد که این عنصر باعث کاهش بیان ژن MR و در نتیجه میزان منتول گیاه نعناع فلفلی شد. در توجیه این نتیجه این‌گونه می‌توان بیان کرد که با توجه به این‌که منگنز (در غلظت‌های بسیار پایین) به عنوان یک ریزمغذی بر بیوسنتز لیمونن که ابتدایی‌ترین مونوترپن حلقوی در مسیر بیوسنتزی مونوترپن‌ها بوده و نقش پیش‌ساز جهت تولید بخش عمده‌ای از ترکیب‌های ترپنی دارد، به اثبات رسیده است(Maruyama *et al*., 2001)، اما در این بررسی احتمالا به دلیل غلظت بالای منگنز و در نتیجه سمی بودن آن به عنوان فلز سنگین در ترکیب بیوسنتزی منوترپن‌ها و به طبع آن کاهش میزان منتول نقش عکس را بر بیوسنتز منوترپن‌ها داشته و در نتیجه باعث کاهش بیان ژن MR و میزان منتول شده است.

همچنین بررسی نتایج بیان ژن MR در گیاه *M. Piperita* تحت تأثیر اسید سالیسیلیک نشان داد که این هورمون در پنج روز بعد از اعمال تیمار، نقش القاءکننده داشته و باعث افزایش معنی‌دار بیان ژن MR نسبت به شاهد شد. بیان ژن MR تحت تأثیر اسید سالیسیلیک به عنوان یک ماده علامت‌رسان کلیدی که در فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی گیاهان شرکت می‌کند، افزایش یافت (Durner *et al*., 1997). اسید سالیسیلیک در تنظیم و ایجاد علامت‌هایی برای تجلی ژن‌ها در زمان پیری در گیاه آرابیدوبسیس (*Arabidopsis thaliana*) دخالت دارد (Morris *et al*., 2000). Taguchi و همکاران (2001) در پژوهشی نشان دادند اسید سالیسیلیک موجب افزایش بیان ژن‌های مربوط به بیوسنتز و تولید گروهی از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌شود. با توجه به نقش اسید سالیسیلیک در القاء بیان ژن در این تحقیق نیز مشاهده شد که اسید سالیسیلیک باعث افزایش بیان ژن MR شد. مقایسه بیان این ژن با میزان منتول نشان داد که با افزایش بیان این ژن تحت تأثیر اسید سالیسیلیک در سه و پنج روز بعد از اعمال تیمار، میزان منتول هم افزایش یافت. در اثر متقابل منگنز و اسید سالیسیلیک بر بیان ژن MR در سه و پنج روز بعد از اعمال تیمار مشاهده شد که اسید سالیسیلیک تا حدودی از اثر منفی منگنز بر بیان ژن MR کاسته و باعث تعدیل سمیت ناشی از منگنز شد به‌طوری‌که در میزان منتول نیز این افزایش مشاهده شد که با پژوهش Hashemi و همکاران (2012) مطابقت دارد.

پژوهش‌هانشان داده است که عوامل محیطی و استرس‌زا همواره ترکیب شیمیایی و اسانس گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Zheljazkov and Warman, 2003). در تحقیق حاضر هر چند منگنز باعث افزایش کلی اسانس شد اما این تنش باعث کاهش میزان منتول (بیشترین ترکیب اسانس نعناع فلفلی) اسانس شد که می‌توان دلیل آن را کاهش بیان ژن منتون ردوکتاز تحت تأثیر غلظت بالای منگنز دانست. غلظت بالای منگنز ممکن است با کاهش محتوای کلروفیل و یا فتوسنتز همراه شده (Chatterjee *et al*., 2006) و بدین ترتیب از یک‌سو به کاهش رشد و از سوی دیگر به کاهش میزان فراهم شدن برخی پیش‌سازهای ترکیب‌های فنلی مورد نیاز مانند منتول برای سنتز اسانس‌ها، منتهی شود.

در این تحقیق مشخص شد بیان ژن MR تأثیر مستقیمی با تولید منتول در گیاه نعناع فلفلی دارد به‌طوری‌که با افزایش بیان ژن MR میزان منتول نیز افزایش یافت در حالی که با کاهش بیان این ژن درصد منتول نیز کاهش نشان داد. همچنین باتوجه به‌این‌که تنش ناشی از فلزات سنگین به خصوص منگنز به‌عنوان یک عامل سمی و محدودکننده در بیان ژن و تولید اسانس است بنابراین مقابله با این تنش‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده که در این تحقیق با توجه به خواص القاءکنندگی و هورمونی اسید سالیسیلیک، نقش این ترکیب بر تعدیل تنش حاصل و همچنین افزایش بیان ژن و تولید منتول ضروری بوده و توانسته اثرات مخرب منگنز را مهار

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.3.4]

کند. بنابراین با در نظر گرفتن خواص دارویی منتول و ارزش اقتصادی آن در صنایع داروسازی، بهداشتی و آرایشی می‌توان افزایش تولید آن را از طریق افزایش بیان ژن منتون ردوکتاز تحت تأثیر الیسیتورهای دیگر در پژوهش‌های آینده پیشنهاد نمود.

منابع

Bauer K, Garbe D and Surburg H. 1997. Common fragrance and flavor materials. Wiley-VCH, New York, NY, pp 50–54.

Blamey FPC, Joyce DC, Edwards DG and Asher CJ. 1999. Role of trichomes in sunflower tolerance to manganese toxicity. Journal of Plant and Soil Science 91(2): 171-180.

Bupesh G, Amutha C, Nandagopal S, Ganeshumar A, Sureshkumar P and Murali K.S. 2007. Antibacterial activity of *Mentha piperita L.* (Peppermint) from leaf extracts – a medicinal plant. Acta Agriculturae Slovenica 89(1): 62–73.

Chatterjee C, Gopal R and Dube BK. 2006. Impact of iron stress on biomass, yield, metabolism and quality of potato (*Solanum tubersum* L.). Science Horticulturae 108: 1-6.

Croteau RB, Davis EM, Ringer KL and Wildung MR. 2005. (−)-Menthol biosynthesis and molecular genetics. Naturwissenschaften 92(12): 562-577.

Davis EM, Ringer KL, McConkey ME and Croteau R. 2005. Monoterpene metabolism. Cloning, expression, and characterization of menthone reductases from peppermint. Plant physiology 137(3): 873-881.

Durner J, Shah J, Klessig DF. 1997. Salicylic acid and disease resistance in plants. Trends Plant Science 7: 266-274.

Gershenzon J, Maffei M and Croteau K. 1989. Biochemical and histochemical localization of monoterpene biosynthesis in the glandular trichome of spearmint (*Mentha spicata*). Plant physiology 89: 1351-1357.

Grattan SR and Grieve CM. 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. Science Horticulturae 78: 127-157.

Haji boland R and Khosropanah MK. 2005. Manganese toxicity tolerance in plants, sunflower, rice and maize in hydroponic conditions. Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 9(4): 91-108. [In Farsi with English abstract]

Hashemi SH, Asrar Z and Pourseydi SH. 2012. Effect of Pretreatment of seeds with salicylic acid on manganese toxicity in Lepidium sativum L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 28(2): 248-259. [In Farsi with English abstract]

He Y, Liu Y, Cao W, Huai M, Xu B and Huang B. 2005. Effects of salicylic acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in Kentucky bluegrass. Journal of Crop Science 45(3): 988-995.

Kjonaas R, Martinkus-Taylor C and Croteau R. 1982. Metabolism of monoterpens: Conversion of l-menthone to l-menthone and neomenthol by sterospecific dehydrogenases from peppermint (*Mentha piperta*) leaves. Plant physiolology 69: 1013- 1017.

Klayman DL. 1985. Qingbaosu (artemisinin): An antimalarial durg from China. Science 228(4703): 1049-1055.

Maruyama T, Ito M, Kiuchi F and Honda G. 2001. Molecular cloning, functional expression and characterization of d- Limonene synthase from Schizonepeta tenuifolia. Biological & pharmaceutical bulletin 24(4): 373–377.

Macro J.A. and Barbera O. 1990. Natural products from the genus Artemisia L. Stud. Nat. Prod. Chem. 7: 201- 264.

Morris K and Mackerness SAH. 2000. Salicylic acid has a role in regulating gene expression during leaf senescence. The Plant Journal 23(5):677-685.

Ozturk A, Unlukara A, Ipek A and Gurbuz B. 2004. Effects of Salt Stress and Water Deficit on Plant Growth and Essential oil Content of Lemon Balm (*Melissa officialis* L.). Pak. J. Bot 36(4): 787-792.

Sayyari M, Babalar M, Kalantari, S, Serrando M and Valero D. 2009. Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. Postharvest Biology Technology, 53: 152-154.

Singh R, Shushni AM, Belkheir A. 2011. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita L.* Arabian Journal of Chemistry 1: 1-5.

Soltani F, Sharifi M, Khajeh K, Yousefzadi M. 2008. Study of essential oil composition, menthone reductase activity and antimicrobial activity of *Mentha piperita* in two stages of growth. Iranian Journal of Biology 21 (5): 62-70. [In Farsi with English abstract]

Taguchi G, Yazawa T, Hayashida N, Okazaki M. 2001. Molecular cloning and heterologous expression of novel glucosyltransferases from tobacco cultured cells that have broad substrate specificity and are induced by salicylic acid and auxin. European. Journal of Biochemistry 268(14): 4086-4094.

Zarinkamar F, Ghannadnia M, Haddad R. 2012. Limonene synthase gene expression under different concentrations of manganese in *Cuminum cyminum* L. African Journal of Plant Science 6(6): 203-212.

Zheljazkov VR, Warman PH. 2003. Application of high Cu compost to Swiss chard and basil. The Science of the Total Environment 302(1): 13-26.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-03]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1393.3.1.3.4]