

## اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان قندهای محلول پونه معطر (*Mentha pulegium* L.)

منصور افشارمحمدیان<sup>۱\*</sup>، فائزه قناتی<sup>۲</sup>، سارا احمدیانی<sup>۱</sup> و کمال صدرزمانی<sup>۱</sup>

دریافت: ۱۳۹۴/۳/۱۵ / پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۲۴ / چاپ: ۱۳۹۵/۹/۳۰

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

گروه علوم گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

\*مسئول مکاتبات: afshar@guilan.ac.ir

**چکیده.** پونه معطر (*Mentha pulegium* L.) از خانواده نعنائیان، گیاهی دارویی است که خواص آنتی‌اکسیدانی فراوانی دارد. تنش‌های محیطی مانند خشکی می‌تواند سبب تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای بیوشیمیایی گیاهان شود. در این تحقیق اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز، قندهای محلول و محتوای مالون‌دی‌آلدئید اندام هوایی و ریشه پونه معطر ارزیابی شد. برای ایجاد تنش کمبود آب، گیاهچه‌های ۲۴ روزه پونه معطر به مدت ۲۴ ساعت در محلول ۱/۲ هوگلدن حاوی غلظت‌های PEG 6000 (صفر و ۵ درصد (w/v)) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب افزایش فعالیت کاتالاز و میزان پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز اندام هوایی و افزایش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز ریشه پونه معطر شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی و ریشه تفاوت معنی‌داری را در گیاهان تحت تیمار نشان نداد. تنش خشکی نیز سبب افزایش میزان قندهای محلول گلوکز، گالاکتوز، رامنوز و زایلوز در اندام هوایی شد. بنابراین، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی و همچنین افزایش میزان قندهای محلول تحت تنش خشکی در پونه معطر می‌تواند نشانه‌ای از تحمل نسبی این گیاه به سطوح پایین خشکی باشد.

**واژه‌های کلیدی.** کاتالاز، پراکسیداسیون لیپیدی، نعنائیان، کم‌آبی

## Effect of drought stress on the activity of antioxidant enzymes and soluble sugars content of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.)

Mansour Afsharmohammadian<sup>1\*</sup>, Faezeh Ghanati<sup>2</sup>, Sara Ahmadiani<sup>1</sup> & Kamal Sadrzamani<sup>1</sup>

Received 05.06.2015 / Accepted 13.06.2016 / Published 20.12.2016

<sup>1</sup>Department of Biology, University of Guilan, Rasht, Iran

<sup>2</sup>Department of Biology, University of Tarbiat Modarres, Tehran, Iran

\*Correspondent author: afshar@guilan.ac.ir

**Abstract.** Pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) from the Lamiaceae family is a medicinal plant which has great antioxidant properties. Environmental stresses such as drought can result in changes in the activity of antioxidant enzymes and the content of some biochemical factors in plants. In this investigation, the effects of drought stress on the activity of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, catalase, peroxidase, malondialdehyde and soluble sugars content in pennyroyal shoots and roots were evaluated. To create the water deficit, 24-day seedlings of pennyroyal were placed in 1/2 strength Hoagland solution, containing PEG 6000 (0 and 5% (w/v)) for 24 hours. The results showed that drought stress increased catalase activity and lipid peroxidation and decreased superoxide dismutase and peroxidase activity of the shoots. On the other hand, the activity of catalase and peroxidase increased in the roots. Ascorbate peroxidase activity showed no significant difference in the shoots and the roots. Moreover, drought stress significantly increased the amount of soluble sugars of glucose, galactose, xylose and rhamnosus in the shoots. Therefore, the increased activity in antioxidant enzymes as well as the amount of soluble sugars under drought stress might be a sign of tolerance of *M. pulegium* under low levels of drought.

**Keywords.** catalase, lipid peroxidation, Lamiaceae, water deficit

### مقدمه

مصارف دارویی استفاده می‌شود (Hajlaoui et al., 2009). از جمله خواصی که به گونه‌های مختلف نعناع نسبت داده‌اند می‌توان به این موارد اشاره کرد: ضدباکتریایی، ضدخارش، ضد-تورم، درمان ناراحتی‌های معده، درمان ناراحتی‌های کبدی،

جنس نعناع (*Mentha*) یکی از مهم‌ترین و پرمصرف‌ترین گیاهان متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است و قدمت استفاده از گونه‌های آن به دوهزارسال قبل برمی‌گردد. از برگ‌ها، ساقه‌ها و اسانس گونه‌های مختلف نعناع برای

فتوستنتز تحت وضعیت کم‌آبی، نشت بالای الکترون به سمت  $O_2$  اتفاق می‌افتد و انواع مختلف ROS نظیر سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و رادیکال اکسیژن تولید می‌کند. گیاهان جهت مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن، سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی دارند. رادیکال سوپراکسید ممکن است به وسیله آنزیم سوپر-اکسیددیسموتاز تبدیل به  $H_2O_2$  شود و سپس به وسیله آسکوربات پراکسیداز در کلروپلاست تبدیل به آب شود. همچنین  $H_2O_2$  منتشرشده به قسمت بیرونی کلروپلاست به وسیله آنزیم کاتالاز در سلول‌های برگ پاک‌سازی می‌شود. در وضعیت خشکی به دلیل محدود شدن جذب و تثبیت  $CO_2$  و افزایش فعالیت اکسیژنازی آنزیم روبیسکو، تنفس نوری افزایش می‌یابد که این امر نیز افزایش تولید  $H_2O_2$  را به همراه خواهد داشت (Miller, 2010). گزارش شده است که تنفس نوری ۷۰ درصد کل میزان  $H_2O_2$  تولیدشده در خشکی را سبب می‌شود (Noctor et al., 2002; Cruz de Carvalho, 2008).

آنزیم کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در حذف  $H_2O_2$  نقش مهمی ایفا می‌کنند و هرکدام میل ترکیبی متفاوتی با این نوع ROS دارند. افزایش فعالیت CAT نشان‌دهنده مهار کارآمد  $H_2O_2$  توسط این آنزیم است که این افزایش در نتایج تحقیقات انجام‌شده درباره برخی گونه‌های تیره نعنائیان (Ozen et al., 2006)، یونجه (Wen-Bin et al., 2009)، کدو (Zhong-Jing et al., 2009) گزارش شده است. کاتالاز برای عمل، به نیروی احیایی نیاز ندارد، ولی آسکوربات پراکسیداز جهت فعالیت به عامل احیایی نیاز دارد. سطح تمایل کاتالاز به  $H_2O_2$  پایین‌تر از آسکوربات پراکسیداز است. آسکوربات پراکسیداز در بیشتر اندامک‌های سلولی وجود دارد، درحالی‌که کاتالاز فقط در پراکسیزوم یافت می‌شود. با توجه به این دلایل پیشنهاد شده است که آسکوربات پراکسیداز ممکن است یک تنظیم‌کننده و کنترل‌کننده داخل سلولی خوبی جهت حفظ تعادل ROS باشد (Mittler, 2002).

از جمله سازوکارهای پاسخ به تنش‌های محیطی، تنظیم اسمزی است. تنظیم اسمزی، نوعی سازگاری با تنش کمبود آب است که از طریق تجمع مواد محلول درون سلول‌ها، می‌تواند به حفظ تورژسانس سلول‌ها و فرآیندهای وابسته به آن در پتانسیل‌های

خنثی‌کننده رادیکال‌های آزاد و غیره (Hussain et al., 2010; Kamkar et al., 2010; Cherrat et al., 2014).

پونه معطر (*Mentha pulegium* L.) گیاهی دارویی، علفی و پایا است که به حالت وحشی در دشت‌های مرطوب و حاشیه جریان‌های آب می‌روید و بومی اروپا، آفریقای شمالی و آناتولی است (Chalchat et al., 2000). در ایران در دامنه‌های شمال و شمال شرقی البرز، به خصوص نواحی مرطوب گیلان و مازندران و برخی نقاط دیگر، انتشار دارد (Jafari et al., 2013). پونه معطر در گیلان به خالواش مشهور و گیاهی به شدت معطر است و به صورت سبزی خوراکی، طعم‌دهنده، دمنوش گیاهی و غیره استفاده می‌شود (Nickavar et al., 2008). اسانس پونه معطر از نظر دارویی، غذایی و صنعتی بسیار توجه‌برانگیز است. بخش‌های مختلف پونه معطر کاربرد دارویی دارد و اندام هوایی آن به طور سنتی برای درمان بسیاری از بیماری‌های گوارشی و التهاب مجاری تنفسی استفاده می‌شود (Naghbi et al., 2005). از برخی مصارف دارویی اسانس آن می‌توان به فعالیت ضدسرطانی در برابر لاین‌های مختلف سلول‌های انسانی (Shirazi et al., 2014; Nikolić et al., 2004) و ضداسپاسم عضلانی (Soares et al., 2012) اشاره کرد. همچنین خواص ضد-میکروبی، ضدقارچ و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس و عصاره متانولی این گیاه در پژوهش‌های دیگری نیز بیان شده است (Mahboubi & Haghi, 2008; Shahmohamadi et al., 2011, 2014).

تنش خشکی از جمله تنش‌های محیطی است که علاوه بر کاهش رشد رویشی و تغییر در ساختارهای آناتومیکی گیاه، از طریق ایجاد تنش ثانویه نظیر تنش اکسیداتیو، سبب تغییر در مسیرهای سنتز ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Foyer et al., 1994; Sharma et al., 2012). مطالعات فراوانی حاکی از افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تحت تنش خشکی گزارش شده است. گیاهان از طریق سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی گونه‌های فعال اکسیژنی ایجاد شده را کاهش می‌دهند (Cruz de Carvalho, 2008; Miller et al., 2010; Hasanuzzaman et al., 2014). تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در سلول موجب آسیب‌رساندن به لپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود. در طی

۶ روز، گیاهچه‌ها به محیط کشت محلول ۱/۲ هوگلد (شدت نور محیط  $410 \mu\text{Ms}^{-1} \text{m}^{-2}$ ، فتوپریود ۱۶ ساعت روز و ۸ ساعت تاریکی، دمای  $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد) منتقل شدند. تعویض محیط کشت هر ۴۸ ساعت یک‌بار انجام شد. بعد از ۱۸ روز از استقرار گیاهچه‌ها، PEG 6000 جهت ایجاد تنش خشکی در دو غلظت صفر و ۵ درصد به بستر کشت هیدروپونیک اضافه شد و گیاهچه‌های ۲۴ روزه ۲۴ ساعت تحت تأثیر تنش قرار گرفتند و پس از آن جهت سنجش فعالیت آنزیم‌ها و تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدی و تغییرات قندهای محلول، گیاهچه‌ها در نیتروژن مایع منجمد شدند و تا زمان انجام تحلیل‌های بیوشیمیایی در فریزر  $80^{\circ}\text{C}$  - درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

#### فعالیت سوپراکسید دیسموتاز

بر اساس روش Giannopolitis و Ries (1977)، ۰/۲ گرم نمونه منجمد گیاهی از بخش هوایی و ریشه نمونه‌های شاهد و تحت تیمار را به تفکیک در ۳ میلی لیتر بافر HEPES-KOH با pH ۷/۸ حاوی ۰/۱ EDTA میلی‌مولار در هاون روی یخ ساییده شد و عصاره با استفاده از کاغذ صافی صاف شد. محلول‌های همگن حاصل در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و بخش‌های رویی برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز استفاده شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفت و سپس جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. همچنین از یک لوله آزمایش حاوی مخلوط واکنش به جز عصاره آنزیمی به‌منزله شاهد (بلاتک) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل بافر HEPES-KOH ۵۰ میلی‌مولار با pH ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH ۱۰/۲، L-methionine ۱۲ میلی‌مولار، نیتروبولوترازولیوم ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین ۱ میکرومولار و ۳۰۰ ماکرولیت عصاره آنزیمی بود.

#### فعالیت آسکوربات پراکسیداز

بر اساس روش Nakano و Asada (1981)، ۰/۲ گرم نمونه منجمد گیاهی از بخش هوایی و ریشه نمونه‌های شاهد و تحت تیمار، به تفکیک با ۳ میلی لیتر بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی مولار با pH ۷/۸ حاوی EDTA ۵ میلی مولار، دی تیوتریتول ۵ میلی-

پاین آب منجر شود. در زمان تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی، مولکول‌های آلی با وزن مولکولی کمتر مانند قندهای محلول، پرولین، پروتئین، بتائین در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی گیاهان به-منزله تنظیم‌کننده‌های اسمزی عمل می‌کنند (Lokhande et al., 2010). قندهای محلول به‌منزله تنظیم‌کننده‌های اسمزی، ثابت-دهنده غشاهای سلولی و حفظ‌کننده تورژسانس سلول‌ها عمل می‌کنند. درحقیقت، در گیاهانی که قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی تجمع می‌یابند، تنظیم اسمزی بهتر صورت می‌گیرد (Slama et al., 2007).

در موقعیت آزمایشگاهی، جهت مشاهده صدمات ناشی از تنش خشکی از ماده Polyethylene glycol (PEG) استفاده می‌شود (Sivritepe et al., 2008). PEG مولکول‌هایی با وزن مولکولی زیاد است که پتانسیل آب را به روشی مشابه با خشکی خاک کاهش می‌دهد (Van Den Berg & Zeng, 2006).

مطالعات اخیر درباب اثر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه پونه معطر در مرحله رویشی، نشان داده است که این گیاه دارای پتانسیل کشت در موقعیت خشکی است (Candan & Tarhan, 2012; Hassanpour et al., 2013). با توجه به ویژگی‌های گیاه پونه معطر به لحاظ ارزش دارویی و مصرف غذایی و ازطرفی فقدان اطلاعات کافی درباره ویژگی‌های این گیاه در اوضاع نامساعد اقلیمی نظیر خشکی، این تحقیق به منظور بررسی اثر خشکی بر تغییرات برخی آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز) و نیز بررسی میزان پراکسید شدن لیپیدهای غشایی و تغییرات برخی قندهای محلول سلول‌های پونه معطر انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

بذر پونه معطر از مرکز تحقیقات کشاورزی استان گیلان تهیه-شد. به منظور انجام ضد عفونی سطحی، بذرها به مدت ۲۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۲ درصد (حجم/وزن) قرار داده شدند و پس از ۵ بار شست‌وشو با آب مقطر استریل، به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد قرار گرفتند و دوباره با آب مقطر استریل شسته شدند. سپس، جهت جوانه‌زنی بذرها، آنها را در محیط کشت LS (Linsmaier & Skoog, 1965) قرار گرفتند و بعد از گذشت

### تعیین پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء

براساس روش De Vos و همکاران (1991) و از طریق اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید به‌مثابه فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدی غشاء انجام شد. نمونه‌های منجمد شده به میزان ۰/۳ گرم در ۳ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰ درصد (وزن به حجم) در هاون روی یخ ساییده و عصاره‌گیری شد و سپس به ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون صاف‌شده، ۱ میلی‌لیتر تیوباریب‌توریک‌اسید ۰/۵ درصد (وزنی به حجمی) به هر کدام از نمونه‌ها اضافه شد و در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. لوله‌ها از حمام خارج شد و پس از سرد شدن، میزان مالون‌دی‌آلدهید با اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ( $\epsilon=155 \mu\text{M}^{-1}\text{Cm}^{-1}$ ) محاسبه شد.

### اندازه‌گیری قندهای محلول

برای اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول، ۰/۲ گرم از بخش‌های هوایی و ریشه گیاه به‌طور جداگانه در ۴ میلی‌لیتر بافر سدیم-فسفات ۲۵ میلی‌مولار (pH ۶/۸) ساییده و محلول رویی جهت اندازه‌گیری قند کل استفاده شد. برای اندازه‌گیری قند نمونه، به هر لوله ۰/۵ میلی‌لیتر محلول قندی، ۰/۵ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۲/۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک خالص اضافه شد. مخلوط واکنش ۱۰ دقیقه در دمای اتاق خنک شد. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف قندهای گلوکز، گالاکتوز، رامنوز و زایلوز، از صفر تا ۳۰ میکروگرم در میلی‌لیتر ترسیم شد. جذب استاندارد-دها، به‌همراه جذب نمونه، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Cintra 6 GBC) در طول موج‌های ۴۸۰ (رامنوز، زایلوز) و ۴۸۵ (گلوکز، گالاکتوز) نانومتر اندازه‌گیری و مقدار قند نمونه بر مبنای میکروگرم بر گرم وزن تر نمونه تعیین شد (Dubois *et al.*, 1956).

### تجزیه آماری

آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام و برای تجزیه واریانس داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. برای مقایسه میانگین از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد و نمودارها نیز با کمک نرم‌افزار Excel رسم شد.

### نتایج

#### اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز

مولار، کلریدسدیم ۱۰۰ میلی‌مولار و پلی‌وینیل پیرولیدون ۲ درصد (وزنی به حجمی)، در هاون روی یخ ساییده و عصاره با استفاده از کاغذ صافی صاف شد. محلول‌های همگن حاصل در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز استفاده شد. مخلوط واکنش شامل بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار، آب‌اکسیژنه ۴۴ میکرومولار، آسکوربات ۵ میلی‌مولار و عصاره آنزیمی بود. کاهش جذب آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر تعیین و به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد.

### فعالیت آنزیم کاتالاز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Horst و Cakmak (1991) انجام شد. ۰/۲ گرم نمونه منجمد گیاهی در ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم‌فسفات ۲۵ میلی‌مولار با pH ۶/۸ در هاون روی یخ ساییده و عصاره با استفاده از کاغذ صافی صاف شد. محلول‌های همگن حاصل در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. مخلوط واکنش شامل بافر سدیم‌فسفات ۲۵ میلی‌مولار، آب‌اکسیژنه ۱۰ میلی‌مولار و عصاره آنزیمی است. تجزیه آب‌اکسیژنه با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر تعیین و به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد.

### فعالیت آنزیم پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز بر طبق روش Ghanati و همکاران (2002) انجام شد. ۰/۲ گرم از بافت تازه منجمد شده در نیتروژن مایع در بافر پتاسیم فسفات ۶۰ میلی‌مولار (pH ۶/۱) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در هاون روی یخ ساییده و عصاره با استفاده از کاغذ صافی صاف شد. محلول‌های همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی جهت اندازه‌گیری فعالیت پراکسیداز استفاده شد. فعالیت آنزیمی با افزودن مقادیر مناسب از عصاره آنزیمی، بافر، گایاکول با غلظت نهایی ۲۸ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت نهایی ۵ میلی‌مولار در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده و به‌ازای تغییرات جذب به میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

تحت تنش خشکی، در ریشه پونه معطر نسبت به نمونه‌های شاهد مشاهده نشد.

### بحث

تنش خشکی منجر به القای تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود. سطح بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد موجود در گیاهان، مبین افزایش تحمل آن‌ها به تنش‌های محیطی است (Hojati *et al.*, 2011).

بر اساس نتایج این تحقیق، سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید-دیسموتاز در اندام هوایی پونه معطر در اثر تنش خشکی کاهش معنی‌داری نشان‌داد، ولی میزان فعالیت آن در ریشه با تغییر معنی‌داری همراه نبود. در پژوهشی درباره گیاه ذرت تحت تأثیر تنش خشکی به وسیله PEG در ۱۲ ساعت اول پس از تنش خشکی، افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مشاهده شد، ولی پس از ۲۴ ساعت از آغاز تنش خشکی، فعالیت آنزیم رو به کاهش نهاد (Jiang & Zhang, 2002). آنزیم سوپراکسیددیسموتاز غلظت هیدروژن پراکسید و سوپراکسید سلول را تنظیم می‌کند و عاملی مهم در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در نظر گرفته می‌شود (Sharma *et al.*, 2012). از آنجا که گیاهان در پژوهش حاضر ۲۴ ساعت تحت تنش خشکی قرار گرفتند، احتمال آن وجود دارد که سطح فعالیت آنزیم بعد از افزایشی در طول دوره تیمار، مجدداً در زمان برداشت کاهش یافته باشد. مطالعات نشان داده‌است که تنش خشکی و شوری هر دو موجب تغییرات اسمزی در گیاهان می‌شوند و به دنبال آن نتایج مشابهی را در فعالیت آنزیم‌ها نشان می‌دهند (Lokhande *et al.*, 2010). همانطور که در نتایج این تحقیق مشاهده شد، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در ریشه گیاهان تحت تنش خشکی تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان نداد، که با گزارش‌ها درباره پونه معطر (Oueslati *et al.*, 2010) و آرابیدوپسیس *تالیانا* (Attia *et al.*, 2008) تحت تنش شوری مشابه است.

آسکوربات پراکسیداز در سم‌زدایی هیدروژن پراکسید تولید شده در اثر فعالیت سوپراکسیددیسموتاز نقش دارد. در این تحقیق، فعالیت آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی و ریشه پونه معطر تحت تنش خشکی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. مطالعه بر روی گیاهی از تیره علف‌ماریان نیز نتیجه مشابهی از عدم افزایش

بر اساس نتایج این تحقیق، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در اندام هوایی پونه معطر در اثر تنش خشکی کاهش معنی‌داری نشان داد، ولی در میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز ریشه تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. به‌طور کلی، سطح فعالیت سوپراکسید-دیسموتاز در اندام هوایی نمونه‌های شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از ریشه بود (شکل ۱A).

### اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

نتایج این تحقیق نشان داد که هرچند تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی و کاهش فعالیت آن در ریشه پونه معطر شد، هیچ‌کدام از این تغییرات معنی‌دار نبودند. به‌طور کلی، سطح فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ریشه نمونه‌های شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از اندام هوایی بود (شکل ۱B).

### اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج این آزمایش نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی و ریشه پونه معطر شد. ضمن اینکه سطح فعالیت کاتالاز در اندام نمونه‌های شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر از سطح فعالیت کاتالاز ریشه بود (شکل ۲A).

### اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

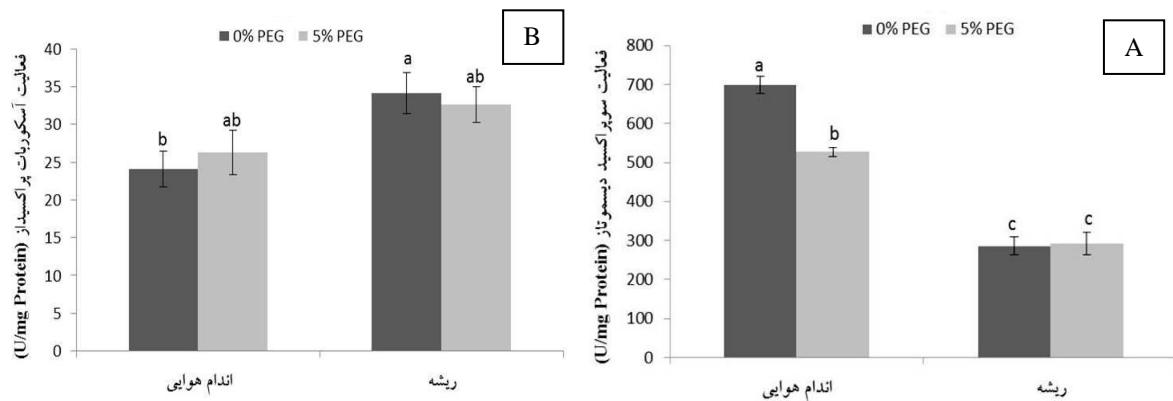
بر اساس نتایج این تحقیق، تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز در اندام هوایی و افزایش معنی‌دار فعالیت آن در ریشه پونه معطر شد. همچنین به‌طور کلی، سطح فعالیت پراکسیداز نمونه‌های شاهد در اندام هوایی بیشتر از ریشه بود (شکل ۲B).

### اثر تنش خشکی بر میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی

بر اساس نتایج بدست آمده، تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار محتوی مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در اندام هوایی پونه معطر شد، ولی به تغییر معنی‌دار محتوی MDA در ریشه پونه معطر منجر نشد (شکل ۳).

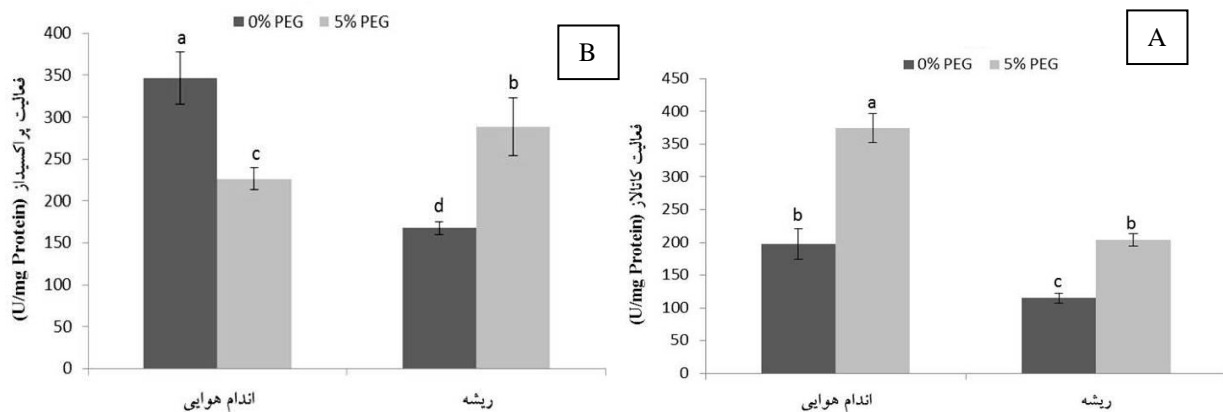
### اثر تنش خشکی بر میزان قندهای محلول

نتایج این آزمایش نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار قندهای محلول گلوکز (شکل ۴A)، گالاکتوز (شکل ۴B)، رامنوز (شکل ۵A) و زایلوز (شکل ۵B) در اندام هوایی پونه معطر شد. همچنین تفاوت معنی‌داری در سطح قندهای مذکور



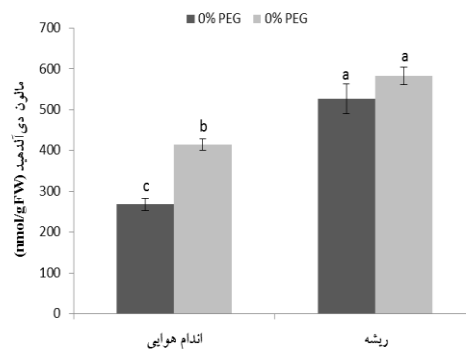
شکل ۱- اثر تنش خشکی بر A: میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و B: آسکوربات پراکسیداز در اندام هوایی و ریشه پونه معطر. (میانگین  $\pm$  SE). حروف یکسان مبین فقدان اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است ( $p \leq 0.05$ ).

**Fig. 1.** The effect of drought stress on the activity of **A:** superoxide dismutase and **B:** ascorbate peroxidase in the shoot and root of *Mentha pulegium* L. Different letters indicate significant differences at  $p \leq 0.05$ .



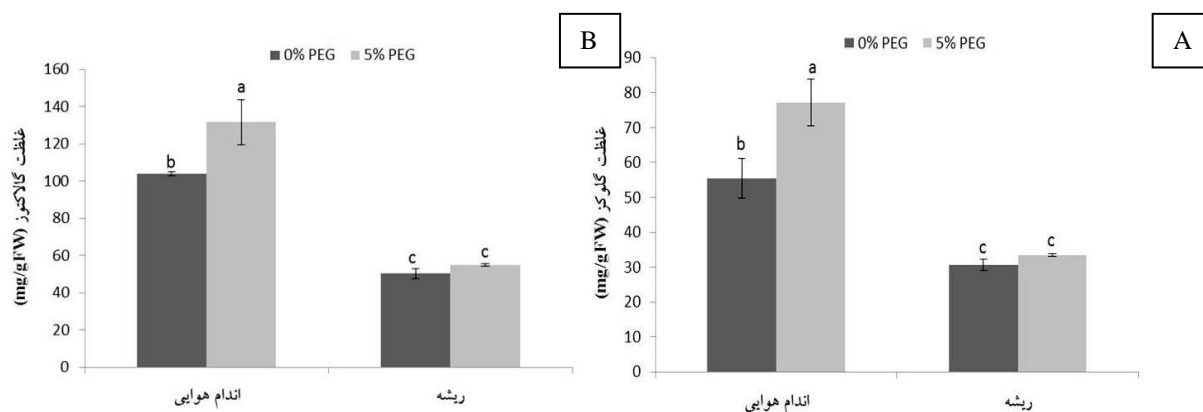
شکل ۲- اثر تنش خشکی بر A: میزان فعالیت کاتالاز و B: پراکسیداز در اندام هوایی و ریشه پونه معطر. (میانگین  $\pm$  SE). حروف یکسان مبین فقدان اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است ( $p \leq 0.05$ ).

**Fig. 2.** The effect of drought stress on the activity of **A:** catalase and **B:** peroxidase in the shoot and root of *Mentha pulegium* L. Different letters indicate significant differences at  $p \leq 0.05$ .



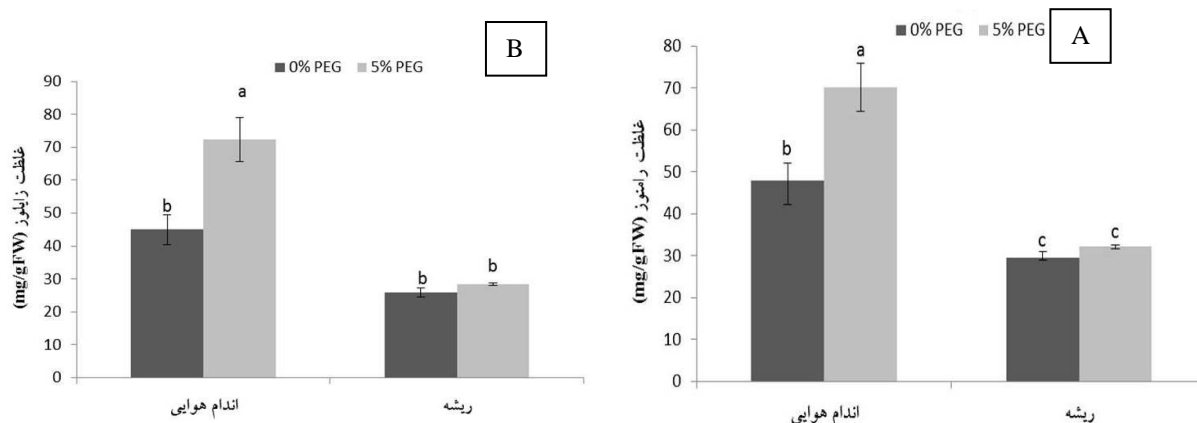
شکل ۳- اثر تنش خشکی بر محتوی MDA در اندام هوایی و ریشه پونه معطر (میانگین  $\pm$  SE). حروف یکسان مبین فقدان اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است ( $p \leq 0.05$ ).

**Fig. 3.** The effect of drought stress on the content of malondialdehyde in the shoot and root of *Mentha pulegium* L.. Different letters indicate significant differences at  $p \leq 0.05$ .



**شکل ۴-** اثر تنش خشکی بر **A:** غلظت گلوکز و **B:** گالاکتوز در اندام هوایی و ریشه پونه معطر. (میانگین  $\pm$  SE). حروف یکسان مبین فقدان اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است ( $p \leq 0.05$ ).

**Fig. 4.** The effect of drought stress on the content of **A:** glucose and **B:** galactose in the shoot and root of *Mentha pulegium* L. Different letters indicate significant differences at  $p \leq 0.05$ .



**شکل ۵-** اثر تنش خشکی بر **A:** غلظت رامنوز و **B:** زایلوز در اندام هوایی و ریشه پونه معطر. (میانگین  $\pm$  SE). حروف یکسان مبین فقدان اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون دانکن است ( $p \leq 0.05$ ).

**Fig. 5.** The effect of drought stress on the content of **A:** rhamnosus and **B:** xylose in the shoot and root of *Mentha pulegium* L. Different letters indicate significant differences at  $p \leq 0.05$ .

پژوهشی بر روی گیاه کلزا که با غلظت‌های مختلف PEG انجام گرفت، افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در رقم مقاوم کلزا تحت تیمار PEG ۵ درصد به صورت معنی دار مشاهده شد، در حالی که در رقم حساس آن تفاوت معنی داری در فعالیت آنزیم مشاهده نشد (Mirzaei, 2000). این مسئله نشان‌دهنده وجود سازوکارهای دفاعی متفاوت در برابر گونه‌های فعال اکسیژن در ارقام مقاوم نسبت به ارقام حساس است. کاتالاز در تبدیل پراکسید-هیدروژن به آب و اکسیژن نقش دارد تا از اثر سمی پراکسید-هیدروژن جلوگیری نماید. تنش خشکی در این مطالعه موجب افزایش فعالیت کاتالاز در اندام هوایی و ریشه گیاه پونه معطر شد.

فعالیت آسکوربات پراکسیداز نشان داد (Ozkur et al., 2009). شواهد تجربی نشان داده‌است که آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش اکسیداتیو نسبت به سوپراکسیددیسموتاز ناپایدارتر است (Chagas et al., 2008). با توجه به کاهش معنی دار فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در اندام هوایی و عدم تغییر معنی دار فعالیت آن در ریشه، به نظر می‌رسد تولید هیدروژن پراکسید که محصول فعالیت سوپراکسیددیسموتاز است، کاهش یافته، بنابراین نیاز به حذف هیدروژن پراکسید به کمک آسکوربات پراکسیداز کاهش پیدا کرده‌است و می‌تواند دلیلی بر عدم تغییر معنی دار فعالیت آسکوربات پراکسیداز در پونه معطر تحت تنش خشکی باشد. در

میزان قند در گیاهان دیگری مانند ارقام مختلف برنج (Mostajeran & Rahimi-Eichi, 2009) و گندم (Johari-Pireivatlou, 2010) شد. در شرایط تنش خشکی، تنظیم‌کننده‌های اسمزی می‌توانند قدرت جذب آب را توسط سلول گیاهی افزایش دهند (Slama et al., 2007; Hassanpour et al., 2013; Ahanger et al., 2013). بنابراین، میزان تجمع این تنظیم‌کننده‌های اسمزی می‌تواند با مقاومت به خشکی مرتبط باشد و احتمالاً به‌همین دلیل کشت گیاه پونه‌معطر در مناطق خشک نیز بازدهی خوبی دارد.

### نتیجه‌گیری

بنابراین نتایج این تحقیق نشان داد که تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و میزان پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز اندام هوایی و افزایش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز ریشه پونه‌معطر شد. گرچه فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز در اندام هوایی و ریشه تفاوت معنی‌داری را در گیاهان تحت تیمار نشان نداد. همچنین تنش خشکی سبب افزایش میزان قندهای محلول گلوکز، گالا-کتوز، رامنوز و زایلوز در اندام هوایی گیاه پونه‌معطر شد. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و همچنین میزان قندهای محلول تنش خشکی در پونه‌معطر نشان‌دهنده تحمل نسبی این گیاه در سطوح پایین خشکی است.

### سپاسگزاری

نویسندگان سپاس‌گزار همکاری‌های مسئولین آزمایشگاه‌های دانشگاه گیلان و دانشگاه تربیت مدرس تهران در طول اجرای این تحقیق هستند.

### REFERENCES

- Ahanger, M., Tyagi, S., Wani M. and Ahmad, P. 2013. Drought tolerance: role of organic osmolytes, growth regulators, and mineral nutrients. – *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants Under Changing Environment*, eds Ahmad P., Wani M. R., editors. (New York, NY: Springer; Science), 1: 25-55.
- Attia, H., Arnaud, N., Karray, N. and Lachaâl, M. 2008. Long-term effects of mild salt stress on growth, ion

افزایش فعالیت کاتالاز، نشان‌دهنده مهار کارآمد نسبت به پراکسید-هیدروژن می‌باشد. نتایج مشاهده شده در این پژوهش با مطالعه Candan و Tarhan (2012) بر روی پونه‌معطر تحت تنش خشکی همخوانی داشت. اگرچه در مطالعه Hasanpour و Niknam (2014) تأثیر تنش کمبود آب سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات‌پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز شد، ولی فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت. در حالی که در طول دوره تنش، غشای پلاسمایی دچار آسیب می‌شود، آنزیم پراکسیداز در جمع‌آوری گونه‌های فعال اکسیژن به منظور جلوگیری از آسیب بیش از حد بر روی غشای پلاسمایی فعال است. یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در اثر آسیب گونه‌های فعال اکسیژن، مالون‌دی‌آلدئید (MDA) است. پایین بودن میزان MDA، نشان‌دهنده پایین بودن آسیب وارده در اثر تنش به غشای سلولی است که خود به معنای مقاوم‌تر بودن گیاه به تنش وارده است (Hasanuzzaman et al., 2014). از آنجا که فعالیت پراکسیداز در ارتباط با میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است، افزایش معنی‌دار میزان MDA اندام هوایی گیاهان تحت تنش، نشان‌دهنده عدم کفایت سطح فعالیت آنزیم پراکسیداز در جمع‌آوری گونه‌های فعال اکسیژن جهت جلوگیری از آسیب به غشاء و تولید MDA است، که با کاهش معنی‌دار فعالیت پراکسیداز در اندام هوایی پونه‌معطر همبستگی دارد. از سوی دیگر می‌توان ملاحظه کرد که افزایش فعالیت پراکسیداز در ریشه گیاهان تحت تنش نسبت به حالت شاهد، با عدم تغییر در سطح MDA ریشه این گیاهان هم‌خوانی داشت. نتایج به‌دست آمده با مشاهدات Mirzaei (2000) بر روی دو رقم حساس و مقاوم کلزا تحت تنش خشکی مطابقت دارد.

بسیاری از شرایط تنش‌زای محیطی بر متابولیسم قندها در گیاهان در حال رشد اثر می‌گذارند. نتایج این آزمایش نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار قندهای محلول گلوکز و گالاکتوز، رامنوز و زایلوز در اندام هوایی پونه‌معطر شد. افزایش مقدار قندهای محلول تحت شرایط خشکی و شوری توسط محققین دیگری نیز گزارش شده است. اعمال تنش خشکی موجب افزایش



- accumulation and superoxide dismutase expression of Arabidopsis rosette leaves. – *Physiol. Plant.* 132: 293-305.
- Cakmak, I. and Horst, W.** 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). – *Pl. Physiol.* 83: 463-468.
- Candan, N. and Tarhan, L.** 2012. Tolerance or sensitivity responses of *Mentha pulegium* to osmotic and waterlogging stress in terms of antioxidant defense systems and membrane lipid peroxidation. – *Environm. Exp. Bot.* 75: 83-88.
- Chagas, R., Silveira, J., Ribeiro, R., Vitorello, V. and Carrer, H.** 2008. Photochemical damage and comparative performance of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in sugarcane leaves exposed to paraquat-induced oxidative stress. – *Pestic. Biochem. Physiol.* 90: 181-188.
- Chalchat, J., Gorunovic, M., Maksimovic, Z. and Petrovic, S.** 2000. Essential oil of wild growing *Mentha pulegium* L. from Yugoslavia. – *J. Essential Oil Res.* 12: 598-600.
- Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., Pagán, R. and Laglaoui, A.** 2014. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. – *Innov. Food Sci. Emer. Technol.* 22: 221-229.
- Cruz de Carvalho, M.** 2008. Drought stress and reactive oxygen species. – *Pl. Signal. Behav.* 3: 156-165.
- De Vos, C., Schat, H., De Waal, M., Vooijs, R. and Ernst, W.** 1991. Increased resistance to copper-induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. – *Physiolol. Plant.* 82: 523-528.
- DuBois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P. and Smith, F.** 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. – *Anal. Chem.* 28: 350-356.
- Foyer, C., Lelandais, M. and Kunert, K.** 1994. Photooxidative stress in plants. – *Physiol. Plant.* 92: 696-717.
- Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H.** 2002. Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in tobacco cell. – *Soil Sci. Plant Nutr.* 48: 357-364.
- Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K.** 1977. Superoxide dismutases I. occurrence in higher plants. – *Pl. Physiol.* 59: 309-314.
- Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R. and Bakhrouf, A.** 2009. Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. – *World J. Microb. Biot.* 25: 2227-2238.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Gill, S.S. and Fujita, M.** 2014. Drought stress responses in plants, oxidative stress, and antioxidant defense. – In: Gill, S.S., Tuteja, N. (ed.): *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance* 18: 209-249.
- Hassanpour, H., Khavari-Nejad, R.A., Niknam, V., Najafi, F. and Razavi, K.** 2012. Effects of penconazole and drought stress on physiological and antioxidative responses in pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). – *Acta Physiologiae Plantarum* 34: 1537-1549.
- Hassanpour, H. and Niknam, V.** 2014. Effects of water stress on plant growth and activity of antioxidant enzymes fragrant oregano (*Mentha pulegium* L.) at flowering stage. – *Plant Proc. Funct. J.* 8: 25-34.
- Hassanpour, H., Khavari-Nejad, R.A., Niknam, V., Najafi, F. and Razavi, K.** 2013. Penconazole induced changes in photosynthesis, ion acquisition and protein profile of *Mentha pulegium* L. under drought stress. – *Physiol. Mol. Bio. Plants* 19: 489-498.
- Hojati, M., Modarres-Sanavy, S.A.M., Karimi M. and Ghanati, F.** 2011. Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. – *Acta Physiolog. Plant.* 33: 105-112.
- Hussain, A.I., Anwar, F., Nigam, P.S., Ashraf, M. and Gilani, A.H.** 2010. Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. – *J. Sci. Food Agri.* 90: 1827-1836.
- Jafari, S., Majd, A. and Sharei, F.** 2013. The effect of salinity stress on growth of *Mentha pulegium* L. vegetative. – *J. Pl. Res.* 30: 41-51.
- Jiang, M. and Zhang, J.** 2002. Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. – *J. Exper. Bo-tany* 53: 2401-2410.
- Johari-Pireivatlou, M.** 2010. Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines. – *African J. Biotec.* 9: 36-40.
- Kamkar, A., Jebelli Javan, A., Asadi, F. and Kmali-nejad, M.** 2010. The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. – *Food Chem. Toxicol.* 48: 1796-1800.
- Linsmaier, E.M. and Skoog, F.** 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. – *Physiol. Plant.* 18: 100-127.
- Liu, Z.J., Zhang, X.L., Bai, J.G., Suo, B.X., Xu, P.L. and Wang, L.** 2009. Exogenous paraquat changes antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in drought-stressed cucumber leaves. – *Sci. Horticu.* 121: 138-143.
- Lokhande, V.H., Nikam, T.D. and Penna, S.** 2010. Biochemical, physiological and growth changes in response to salinity in callus cultures of *Sesuvium portulacastrum* L.. – *Plant Cell. Tiss. Org.* 102: 17-25.
- Mahboubi, M. and Haghi, G.** 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. – *J. Ethnopharmacol.* 119: 325-327.
- Miller, G., Suzuki, N. and Ciftci-Yilmaz, S.** 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses. – *Plant Cell and Environ.* 33: 453-467.
- Mirzaei, M.** 2000. The study of drought stress on germination and seedling growth in some of canola cultiv-

- ars. – Master's thesis, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University.
- Mittler, R.** 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7: 405-410.
- Mostajeran, A. and Rahimi-Eichi, V.** 2009. Effects of drought stress on growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars and accumulation of proline and soluble sugars in sheath and blades of their different ages leaves. – *Am. Eurasian J. Agric. Environm. Sci.* 5: 264-272.
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed, M. and Ghorbani, A.** 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. – *Iranian J. Pharma. Res.* 2: 63-79.
- Nakano, Y. and Asada, K.** 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. – *Plant Cell Physiol.* 22: 867-80.
- Nickavar, B., Alinaghi, A. and Kamalinejad, M.** 2008. Evaluation of the antioxidant properties of five *Mentha* species. – *Iranian J. Pharma. Res.* 7: 203-209.
- Nikolić, M., Jovanović, K.K., Marković, T., Marković, D., Gligorićević, N., Radulović, S. and Soković, M.** 2014. Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxic properties of five Lamiaceae essential oils. – *Ind. Crop. Prod.* 61: 225-232.
- Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S.O.N.J.A., Driscoll, S., Novitskaya, L. and Foyer, C.H.** 2002. Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration. – *Ann. Bot.* 89: 841-850.
- Oueslati, S., Karray-Bouraoui, N., Attia, H., Rabhi, M., Ksouri, R. and Lachaal, M.** 2010. Physiological and antioxidant responses of *Mentha pulegium* (pennyroyal) to salt stress. – *Acta Physiolol. Plant.* 32: 289-296.
- Ozgen, U., Mavi, A., Terzi, Z., Yildirim, A., Coskun, M. and Houghton, P.J.** 2006. Antioxidant properties of some medicinal Lamiaceae (Labiatae) species. – *Pharm. Biol.* 44: 107-112.
- Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. and Turkan, I.** 2009. Ph-ysiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. to drought. – *Environm. Exp. Bot.* 66: 487-492.
- Shahmohamadi, R., Sariri, R., Rasa, M., Ghafoori, H., Ma-hmudreza, A., Nasuti, S. and Tahery, M.** 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of flowering ae-rial parts *Mentha Pulegium* from Gilan. – *Pharmacol.* 3: 651-659.
- Shahmohamadi, R., Sariri, R., Rasa, M. and Aghamali, M.** 2014. Antioxidant activity of Gilan *Mentha pulegium* du-ring growth. – *Pakistan J. Bio. Sci.* 17: 380-387.
- Sharma, P., Jha, A., Dubey, R. and Pessaraki, M.** 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and anti-oxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. – *J. Bot.* 14: 1-26.
- Shirazi, F.H., Ahmadi, N. and Kamelinejad, M.** 2004. Evaluation of northern Iran *Mentha pulegium* cytotoxicity. – *Daru J.* 12: 106-110.
- Sivritepe, N., Erturk, U., Yerlikaya, C., Turkan, I., Bor, M. and Ozdemir, F.** 2008. Response of the cherry rootstock to water stress induced in vitro. – *Bio. Plant.* 52: 573-576.
- Slama, I., Ghnaya, T., Hessini, K., Messedi, D., Savouré, A. and Abdelly, C.** 2007. Comparative study of the effects of mannitol and PEG osmotic stress on growth and solute accumulation in *Sesuvium portulacastrum*. – *Environm. Exp. Botany* 61: 10-17.
- Soares, P., de Freitas Pires, A., de Souza, E., Assreuy, A. and Criddle, D.** 2012. Relaxant effects of the essential oil of *Mentha pulegium* L. in rat isolated trachea and urinary bladder. – *J. Pharm. and Pharmacol.* 64: 1777-1784.
- Van Den Berg, L. and Zeng, Y.** 2006. Response of South African indigenous grass species to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. – *South African J. Bot.* 72: 284-286.
- Wen-Bin, W., Yun-Hee, K., Haeng-Soon, L., Ki-Yong, K. and Xi-Ping, D.** 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. – *Plant Physiol. Biochem.* 47: 570-577.

\*\*\*\*\*

**How to cite this article:**

**Afsharmohammadian, M., Ghanati, F., Ahmadiani, S. and Sadrzamani, K.** 2016. Effect of drought stress on the activity of antioxidant enzymes and soluble sugars content of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). – *Nova Biol. Rep.* 3: 228-237.

افشارمحمدیان، م.، قناتی، ف.، احمدیانی، س. و صدرزمانی، ک. ۱۳۹۵. اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان قندهای محلول پونه معطر (*Mentha pulegium* L.). – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۳: ۲۳۷-۲۴۸.