

Biochemical and physiological responses of peppermint (*Mentha piperita* L.) plant to heavy metal stress in urban areas

Keyvan Poorhossein¹- Bahram Abedy^{2*}- Mahmoud Shoor³

Introduction

Urban agriculture, as one of the basic features of urban planning, helps to increase the quality of urban life due to its cultural, economic and social benefits. However, pollution with heavy metals in cities causes the accumulation of these metals in different parts of planted plants and also the risk of consuming them for food in urban green spaces.

Material and methods

This study was conducted to assess the amount of heavy metal absorption and its effect on some biochemical and physiological properties of peppermint plant (*Mentha piperita* L.), in Mashhad city in 2021. The experiment was carried out as a factorial in the form of randomized complete block design in three replications. The first factor (location) were phase 4 Park (with high degree of contamination) and Nasim Park (with low degree of contamination). The second factor was the times of harvest (June 15, July 15 and August 15). At the time of every harvest fully developed leaves were collected to evaluate the traits.

Results and discussion

The results of analysis of variance indicated that the effect of location was significant on all traits except for the yield of essential oil. Also, the effect of harvest time was significant on all traits except for peroxidase activity and the yield of essential oil. However, the interaction of location and harvest was significant only on phenol, flavonoid, proline, cadmium and lead concentration.

The results indicated that the ascorbate peroxidase, catalase and peroxidase activities were higher in phase 4 Park. Moreover, the highest activities of ascorbate peroxidase, catalase and peroxidase were recorded in phase 4 + first harvest. Heavy metals cause the production of reactive free radicals and also increase the activity of antioxidant enzymes. However, the chlorophyll a, b, carotenoid and total chlorophyll contents were higher in Nasim. Thus, the highest contents of Chl_a, Chl_b, Chl_{total} and carotenoid were observed in Nasim + first harvest. The higher amount of chlorophyll and carotenoids in the first harvest is due to the optimal growth conditions such as day length and sunlight and ambient temperature. In addition, total phenol, flavonoid, proline, Cd and Pb elements indicated a reducing trend in phase 4 compared to Nasim Park in different harvest times, but the amount of these traits were higher in the first harvest than in the subsequent harvests. Increased amount of total phenol in the first harvest can be related to the high air temperature at the first harvest which caused stressful conditions in this stage. Proline production also improves under heavy metal stress in order to protect the plant against toxicity. Nevertheless, the percentage of essential oil showed an increasing trend via enhancing the absorption of Pb and Cd in phase 4 compared to Nasim Park. The higher percentage of essential oil in phase 4 can be due to the lower growth of leaves due to the

presence of more heavy elements in this area. In general, despite the fact that only the concentration of Pb was higher than the world standard level in both parks, the contamination with Cd and Pb (especially Pb) was more in phase 4 than in Nasim Park, which was a factor in diminishing the growth traits of peppermint plants. In a case of harvest times, the first harvest recorded better growth characteristics and higher absorption of heavy metals due to the higher strength of the plant, while in the third harvest, due to spending more energy for re-growth, it had lower growth characteristics and weaker absorption of Pb and Cd metals.

Key words: antioxidant enzymes, growth traits, green space, Lead, Cadmium

مجله علمی پژوهشی
پایان نامه
انتشار

پاسخ های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) به تنش فلزات سنگین در محیط های شهری

کیوان پورحسین^۱ - بهرام عابدی^{۲*} - محمود شور^۳

۱- دانش آموخته کارشناس ارشد علوم و مهندسی باغبانی گرایش سبزی ها، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، شهرستان مشهد، ایران

۲- دانشیار، بخش باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، شهرستان مشهد، ایران
(* نویسنده مسئول: Email: Abedy@um.ac.ir)

۳- دانشیار، بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، شهرستان مشهد، ایران

چکیده

کشاورزی شهری به عنوان یکی از ویژگی های اساسی برنامه ریزی شهری، به علت داشتن مزایای فرهنگی، اقتصادی و اجتماعی به افزایش کیفیت زندگی شهری کمک می کند. با این حال آلودگی به فلزات سنگین در شهر ها موجب تجمع این فلزات در قسمت های مختلف گیاهان کاشته شده و نیز خطر مصرف خوراکی آنها را در فضای سبز شهری در پی خواهد داشت. این تحقیق به منظور ارزیابی میزان جذب عناصر سرب و کادمیوم و تاثیر آن بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در دو بوستان از فضای سبز شهری منطقه ۹ مشهد (بوستان فاز ۴ کلانتری و بوستان نسیم) اجرا گردید. گیاه نعناع فلفلی نیز بعنوان یک گیاه پوششی با رشد سریع که علی رغم زیبایی در شکل برگها و ایجاد رایحه مطبوع برای مخاطبین بوستانها، توانایی تولید محصول را نیز بصورت اقتصادی دارد بعنوان گیاه هدف انتخاب شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار شکل گرفت. عامل اول مکان، که دو بوستان فاز ۴ کلانتری (به عنوان منطقه با درجه آلودگی بالاتر) و نسیم (به عنوان منطقه با درجه آلودگی کم تر) با توجه به آنالیز خاک، در نظر گرفته شدند. عامل دوم نیز زمان های برداشت (۱۵ خرداد، ۱۵ تیر و ۱۵ مرداد) در نظر گرفته شد. نتایج حاکی از آن بود که در بوستان فاز ۴ فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز بالاتر بود. از سوی دیگر محتویات غلظت کلروفیل های a، b و کاروتنوئید و کلروفیل کل در بوستان نسیم بالاتر بود. علاوه بر این، در بوستان فاز ۴ نسبت به بوستان نسیم در زمان های مختلف برداشت، محتوی فنل کل، فلاونوئید، پرولین، غلظت عناصر کادمیوم و سرب روند کاهشی داشت، اما میزان این صفات در برداشت اول نسبت به برداشت های بعدی بیشتر بود. درصد اسانس نیز با افزایش جذب عناصر سرب و کادمیوم در بوستان فاز ۴ نسبت به بوستان نسیم روند افزایشی نشان داد. به طور کلی، می توان بیان داشت آلودگی به فلزات سنگین سرب و کادمیوم در بوستان فاز ۴ نسبت به بوستان نسیم بیشتر بود که این خود عاملی در جهت کاهش خصوصیات رشدی گیاه نعناع فلفلی گردید.

کلمات کلیدی: آنزیم های آنتی اکسیدانی، خصوصیات رشدی، فضای سبز، سرب، کادمیوم

مقدمه

کشاورزی شهری، یکی از ویژگی های اساسی برنامه ریزی شهری (Antisari et al., 2015) بوده که به افزایش کیفیت زندگی شهری از طریق کاهش آلودگی آب و هوای شهر، حفظ و افزایش تنوع زیستی و همچنین استفاده مجدد از زباله های شهری کمک می کند (La Greca et al., 2011). طبق پیش بینی های سازمان ملل، بیش از ۶۵ درصد از

جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ در مراکز شهری قرار خواهند گرفت. از این رو، رژیم غذایی سالم برای بسیاری از ساکنان شهری به دلیل درآمد محدود، افزایش هزینه‌های غذا و دسترسی ناعادلانه به غذاهای سالم از نظر فرهنگی محدود می‌گردد (United Nations, 2018). به همین دلیل طی چند سال اخیر، کشاورزی شهری به دلیل مزایای اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی آن اهمیت قابل توجهی یافته است (Montaño López, 2021). با این وجود، مطالعات نشان داده‌اند که خاک‌های شهری می‌توانند دارای غلظت بالایی از عناصر کمیاب خاص باشند (Heidary Monfared, 2011). آلودگی خاک شهری توسط فلزات سنگین در این مناطق بسیار نگران کننده است، زیرا ممکن است خطر بالقوه‌ای برای سلامتی انسان داشته باشند (He et al., 2015). به طور کلی، فلزات سنگین توسط گیاه از محلول خاک جذب شده (Sarwar et al., 2010) و در بافت‌های ریشه تجمع یافته یا به بخش‌های هوایی گیاه منتقل می‌شوند (Sarwar et al., 2017). همچنین، فلزات سنگین مانند آهن، کادمیوم، سرب، مس، کروم، نیکل، روی و منگنز از آلیاژ، لاستیک‌ها و لوله‌های وسایل نقلیه به محیط اطراف جاده آزاد می‌شوند (Osman, 2018). فلزات سنگین سمی مانند سرب و کادمیوم به دلیل عدم تجزیه زیستی، در موجودات زنده انباشته شده و متعاقباً باعث ایجاد بیماری‌ها و اختلالات مختلف حتی در غلظت‌های نسبتاً پایین‌تر می‌گردند (Pahlavan Rad et al., 2009). آلودگی سرب و کادمیوم در گیاهان موجب توقف رشد، کاهش طول ریشه، تغییر نفوذپذیری غشای سلولی، کاهش محتوای آب، اختلال در تغذیه معدنی و در نتیجه کاهش عملکرد گیاه می‌گردد (Zhao et al., 2021) و با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی را مختل کند (Gallego and Benavides, 2019).

نعناع فلفلی (*Mentha piperita L.*)، از تیره نعناعیان (*Lamiaceae*) است. اسانس این گیاه به دلیل خصوصیات ضدعفونی‌کنندگی می‌تواند به بهبود سردرد سینوزیتی و جلوگیری از پوسیدگی دندان کمک کند (McKay and Bumberg, 2006). سطوح بالای فلزات سنگین باعث ایجاد کلروز و نکروز، افزایش تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و همچنین استرس اکسیداتیو در گیاهان نعناع می‌گردند (Gupta et al., 2019). در تحقیقی با هدف تعیین غلظت فلزات سنگین کادمیوم و سرب در کاهو، نعناع و تره کشت شده در اراضی مختلف جنوب تهران، مشاهده شد که میانگین غلظت کادمیوم در سه گیاه در مناطق مورد مطالعه معنی‌دار بوده است؛ با این حال، در مورد سرب اختلاف معناداری مشاهده نگردید (Giviand et al., 2011).

گیاهان مانند سایر موجودات دارای مکانیسم دفاعی هستند که در شرایط تنش فعال می‌شوند تا بتوانند زنده بمانند. بدین صورت که تحت تنش، تولید گونه‌های فعال اکسیژن، سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی از جمله سوپراکسیددسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز، و متابولیت‌های غیر آنزیمی مانند کاروتنوئید، ترکیبات فنلی و فلاونوئید و پرولین افزایش می‌یابد (De Pinto and De Gara, 2004). مشخص شده است که خطر انباشته شدن آلاینده‌ها در هوا، خاک و آب می‌تواند بر کیفیت و سلامت محصول تأثیر بگذارد (Leake et al., 2009). از این رو، اتحادیه اروپا حداکثر سطوح سرب (کمتر از ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر به ترتیب در حبوبات، براسیکا و همه سبزیجات) و کادمیوم (کمتر از ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن تر به ترتیب در میوه، ساقه/ریشه و برگ سبزیجات) را تعریف کرده است (Antisari et al., 2015). مطالعه حاضر در مقیاس منطقه‌ای، به منظور بررسی آلودگی فلزات سنگین و تعیین اثرات آنها بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و همچنین غلظت کادمیوم و سرب در گیاه نعناع فلفلی کشت شده در فضای سبز شهری، انجام شد.

مواد و روش‌ها

مشخصات طرح و محل آزمایش

این مطالعه به منظور ارزیابی میزان جذب فلزات سنگین و تاثیر آن بر برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، در شهرستان مشهد در سال ۱۴۰۱ انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. بدین منظور در هر آدرس سه پلات به ابعاد ۱۰۰*۷۰ با فاصله حداقل ۵ متر از هم در نظر گرفته شد و سپس در پنجم اردیبهشت ماه نسبت به کاشت ریزوم ها به فواصل ۲۰ سانتی متر از هم اقدام گردید. عامل اول شامل ۲ لکه فضای سبز در منطقه ۹ شهرداری مشهد، بوستان فاز ۴ کلانتری (با طول و عرض جغرافیایی به ترتیب ۵۴-۵۹ و ۲۹-۳۶) با درجه آلودگی بالا و بوستان نسیم (با طول و عرض جغرافیایی به ترتیب ۳۲-۵۹ و ۱۷-۳۶) با درجه آلودگی کم، در نظر گرفته شد. داده‌های مربوط به میزان آلودگی فلزات سرب و کادمیوم دو منطقه مذکور در جدول آنالیز خاک آمده است (**Error! Reference source not found.**). عامل دوم نیز شامل زمان‌های مختلف برداشت (۱۵ خرداد، ۱۵ تیر و ۱۵ مرداد) بود بطوریکه در زمان برداشت اول ۴۰ روز از کاشت ریزومها گذشته بود. آبیاری به روش رایج و با آب شهری بصورت شلنگی انجام شد و سعی شد شرایط نگهداری یکسانی برای گیاه در نظر گرفته شود. در هر زمان برداشت، از جوان‌ترین برگ‌های توسعه یافته جهت بررسی صفات رویشی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و غلظت عناصر کادمیوم و سرب، استفاده شد.

جدول ۱. آنالیز خاک بوستان فاز ۴ و نسیم بر اساس غلظت عناصر سنگین سرب و کادمیوم بر حسب میلی گرم در کیلوگرم خاک
Table 1. Soil analysis of phase 4 and Nasim based on the concentration of lead and cadmium heavy elements in

| | mg/kg of soil | | | |
|--------------------|-----------------------------|---------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | کادمیوم cadmium(mg/kg) | | سرب Lead(mg/kg) | |
| | بوستان فاز ۴ Phase4 Park | بوستان نسیم Nasim Park | بوستان فاز ۴ Phase 4 Park | بوستان نسیم Nasim Park |
| بلوک ۱ Block 1 | 0.814 | 0.612 | 193 | 96 |
| بلوک ۲ Block 2 | 0.993 | 0.619 | 189 | 92 |
| بلوک ۳ Block 3 | 0.921 | 0.657 | 191 | 91 |
| میانگین average | 0.889 | 0.629 | 191 | 93 |

اندازه گیری آنزیم های آنتی اکسیدانی

فعالیت کاتالاز (EC 1.11.1.6) مطابق با روش Velikova و همکاران (Velikova *et al.*, 2000) ارزیابی شد. میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در یک دقیقه و میکرومول پراکسید هیدروژن مصرف شده در دقیقه به عنوان یک واحد کاتالاز تعریف می‌شود (ضریب خاموشی ۴۰ میلی مولار در سانتی متر).

فعالیت گایاکول پراکسیداز (EC 1.11.1.7) بر اساس روش Srinivas و همکاران (Srinivas *et al.*, 1999) بر اساس شکل گیری تتراگایاکول با جذب در ۴۷۰ نانومتر اندازه گیری شد. یک واحد فعالیت پراکسیداز نشان دهنده فعالیت آنزیم که یک میکرومول گایاکول را در یک دقیقه اکسید کند، تعریف می‌شود.

فعالیت آسکوربات پراکسیداز (EC 1.11.1.11) مطابق روش Yamaguchi و همکاران (Yamaguchi *et al.*, 1995) اندازه گیری شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز وابسته به کاهش میزان جذب در ۲۹۰ نانومتر اکسیداسیون آسکوربات است (ضریب خاموشی ۲/۸ میلی مولار در سانتی متر).

اندازه گیری محتوی رنگدانه های فتوسنتزی در گیاه

جهت استخراج رنگدانه های فتوسنتزی، ۱۰۰ میلی گرم برگ تازه با استون ۸۰ درصد مخلوط شد. میزان جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۶۴ و ۶۴۸، ۴۷۰ و ۶۴۸ نانومتر ثبت شد. بر اساس معادله های زیر غلظت کلروفیل های a، b و کاروتنوئید محاسبه گردید (Arnon, 1949).

$$\text{Chl}_a = 13.36 \times A_{664} - 5.19 \times A_{648} \quad (1)$$

$$\text{Chl}_b = 27.43 A_{648} - 8.12 A_{664} \quad (2)$$

$$C(x+c) = (1000 \times A_{470} - 2.13 \times Ca - 97.64 \times Cb) / 209 \quad (3)$$

بررسی صفات بیوشیمیایی

مقدار فنل کل (TPC) از روش فولین سیکالتو (Singleton *et al.*, 1999) و با استفاده از محلول استاندارد گالیک-اسید (GLA) اندازه گیری شد. مقدار جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر ثبت و سپس TPC بر حسب میلی گرم بر گرم بر وزن خشک محاسبه شد.

مقدار فلاونوئید کل (TFC)، با روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید (AlCl_3) اندازه گیری شد. جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت و TFC به واحد میلی گرم بر گرم بر وزن خشک محاسبه شد (Chang *et al.*, 2002).

برای اندازه گیری پرولین (Pro)، از معرف ناین هیدرین استفاده شد. در این روش، عصاره گیاه تهیه شده با ۲ میلی لیتر معرف ناین هیدرین و استیک اسید به مدت ۳۰ دقیقه واکنش داده و سپس جذب فاز رنگی در ۵۲۰ نانومتر قرائت و مقدار پرولین در واحد میلی گرم بر گرم بر وزن خشک گزارش شد (Bates *et al.*, 1973).

اندازه گیری اسانس در گیاه

جهت اسانس گیری نمونه ها، مقدار ۳۰ گرم از نمونه خشک شده و پودر شده را همراه با ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر درون بالن دستگاه کلونجر ریخته و اسانس گیری انجام و در نهایت جهت جداسازی آب از اسانس از سولفات سدیم (Na_2SO_4) استفاده شد (Singleton and Rossi, 1965). عملکرد اسانس از حاصل ضرب درصد اسانس در عملکرد اندام هوایی بر اساس معادله ۳-۴ محاسبه شد.

$$100 / (\text{عملکرد اندام هوایی} \times \text{درصد اسانس}) = \text{عملکرد اسانس (گرم در متر مربع)} \quad (4)$$

اندازه گیری غلظت فلزات سنگین در گیاه

برای اندازه‌گیری مقدار سرب و کادمیوم، نمونه‌های گیاهی به مدت ۲۴ ساعت در آون (۷۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. سپس ۰/۳ گرم از نمونه خشک شده در ارلن مایر ۵۰ میلی‌لیتری ریخته و اسید نیتریک (۶۵٪) و اسید پرکلریک (۷۰٪) به نسبت ۵ به ۱/۵ به آن افزوده شد. نمونه‌ها در حمام آب گرم (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. در نهایت، میزان فلز با استفاده از دستگاه جذب اتمی تعیین شد (Ebrahimpour and Mushrifah, 2008).

تجزیه آماری

داده‌های بدست آمده توسط نرم‌افزار SAS (JMPver 13.2) تجزیه و تحلیل شدند و میانگین صفات مختلف با آزمون LSD در سطح ۵٪ مقایسه شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که اثر مکان بر همه صفات بجز عملکرد اسانس، معنی دار بود. همچنین اثر تاریخ برداشت نیز بر همه صفات بجز فعالیت پراکسیداز و عملکرد اسانس معنی دار بود. با این حال برهمکنش مکان و تاریخ برداشت تنها بر فنل، فلاونوئید، پرولین، غلظت کادمیوم و سرب معنی دار بود (جدول ۲).

جدول ۲. تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اسانس نعناع و غلظت عناصر سنگین تحت تاثیر تیمارهای مختلف. **، * و ns به ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشند.

Table 2. Analysis of variance of antioxidant enzymes, peppermint essential oil and the concentration of heavy elements under the influence of different treatments. **, * and ns indicate a significant difference at the probability level of one percent, five percent and no significant difference, respectively.

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی | میانگین مربعات Mean square | | | | | | |
|-----------------------|------------|-------------------------------|-----------------------|----------------------------|--|--|----------------------|-------------------------|
| | | کادمیوم Cadmium | سرب Lead | اسانس % Essential oil % | عملکرد اسانس Essential oil function | آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase | کاتالاز Catalase | پراکسیداز peroxidase |
| بلوک Block | 2 | 0.007 ^{ns} | 3.38 ^{**} | 0.006 ^{ns} | 0.0007 ^{ns} | 0.0005 ^{ns} | 0.0003 ^{ns} | 0.0005 ^{ns} |
| مکان (A) Location | 1 | 1.280 ^{**} | 3793.20 ^{**} | 0.672 ^{**} | 0.0012 ^{ns} | 0.088 ^{**} | 0.0288 ^{**} | 0.02738 ^{**} |
| برداشت (B) Harvest | 2 | 0.2038 ^{**} | 264.48 ^{**} | 0.206 ^{**} | 0.0002 ^{ns} | 0.013 ^{**} | 0.003 ^{**} | 0.0153 ^{ns} |
| مکان × زمان A × B | 2 | 0.316 ^{**} | 41.41 ^{**} | 0.007 ^{ns} | 0.0001 ^{ns} | 0.0001 ^{ns} | 0.0001 ^{ns} | 0.003 ^{ns} |
| خطا Error | 10 | 0.020 | 2.7 | 0.005 | 0.0003 | 0.0003 | 0.0002 | 0.004 |

ادامه جدول ۲. تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی تحت تاثیر تیمارهای مختلف. **، * و ns به ترتیب بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشند.

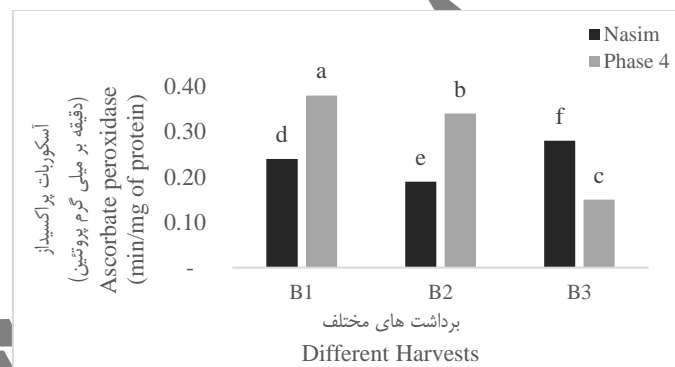
Rest of Table 2. Analysis of variance of physiological and biochemical traits under the influence of different treatments. **, * and ns indicate a significant difference at the probability level of one percent, five percent and no significant difference, respectively.

میانگین مربعات
Mean square

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی | پرولین Proline | فنل Phenol | فلاونوئید Flavonoid | کلروفیل a Chlorophyll a | کلروفیل b Chlorophyll b | کاروتنوئید Carotenoid | کلروفیل کل Total chlorophyll |
|-----------------------|---------------|------------------------|---------------------|------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------|------------------------------------|
| بلوک Block | 2 | 0.000004 ^{ns} | 0.261 ^{ns} | 0.221 ^{ns} | 0.002 ^{ns} | 0.0004 ^{ns} | 5.99 ^{ns} | 0.003 ^{ns} |
| مکان (A) Location | 1 | 0.0598 ^{**} | 68.44 ^{**} | 41.40 ^{**} | 1.0804 ^{**} | 0.1352 ^{**} | 0.080 ^{**} | 2.85 ^{**} |
| برداشت (B) Harvest | 2 | 0.0025 ^{**} | 4.46 ^{**} | 3.88 ^{**} | 0.0760 ^{**} | 0.0469 ^{**} | 0.005 ^{**} | 0.318 ^{**} |
| مکان × زمان A × B | 2 | 0.0004 ^{**} | 3.78 ^{**} | 1.62 [*] | 0.0004 ^{ns} | 0.0003 ^{ns} | 0.0015 ^{ns} | 0.232 ^{ns} |
| خطا Error | 10 | 0.0007 | 3.176 | 0.26 | 0.0048 | 0.0015 | 0.0005 | 0.009 |

آنزیم های آنتی اکسیدانی

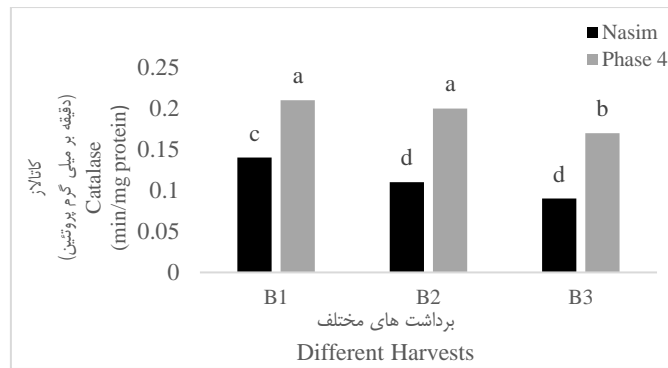
با توجه به شکل ۱، برداشت اول برای هر دو مکان دارای بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بود. همچنین در برداشت های مختلف، بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در بوستان فاز ۴ بود. به طوریکه بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برهمکنش بوستان فاز ۴ + برداشت اول (۰/۳۸ دقیقه در میلی گرم پروتئین) بدست آمد. کمترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز در برهمکنش بوستان فاز ۴ + برداشت سوم (۰/۱۵ دقیقه در میلی گرم پروتئین) حاصل شد.



شکل ۱. برهمکنش مکان (بوستان های نسیم و فاز ۴) و برداشت های مختلف (B1 ۱۵ خرداد، B2 ۱۵ تیر، B3 ۱۵ مرداد) بر فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز (دقیقه بر میلی گرم پروتئین)

Fig1. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the activity of ascorbate peroxidase enzyme (min/mg of protein)

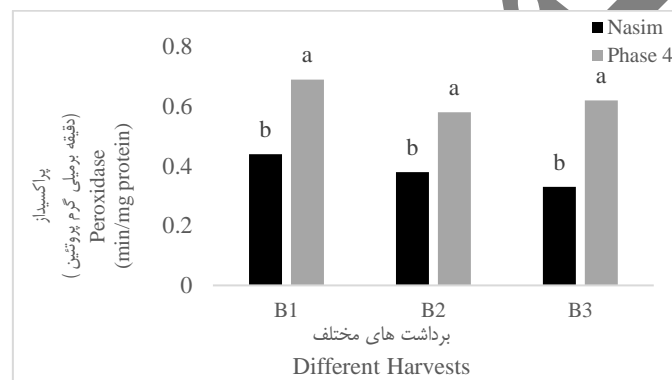
مشابه با آنزیم آسکوربات پراکسیداز، برداشت اول برای هر دو مکان دارای بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز بود. همچنین در برداشت های مختلف، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در بوستان فاز ۴ بود. به طوریکه، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در برهمکنش بوستان فاز ۴ + برداشت اول (۰/۲۱ دقیقه در میلی گرم پروتئین) بدست آمد هرچند با برداشت دوم، تفاوت معنی داری نداشت. کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در برهمکنش بوستان نسیم + برداشت سوم (۰/۰۹ دقیقه در میلی گرم پروتئین) حاصل شد که با برداشت دوم در همین بوستان تفاوت معنی داری نداشت (شکل ۲).



شکل ۲. برهمکنش مکان (بوستان‌های نسیم و فاز ۴) و برداشت‌های مختلف (B1 ۱۵ خرداد ۱۵ B2 تیر ۱۵ B3 مرداد) بر فعالیت آنزیم کاتالاز (دقیقه بر میلی گرم پروتئین) - گرم پروتئین)

Fig2. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the activity of catalase enzyme (min/mg of protein)

مطابق با نتایج، بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب در بوستان فاز ۴ (۰/۶۹ دقیقه در میلی گرم پروتئین) و بوستان نسیم (۰/۳۳ دقیقه در میلی گرم پروتئین) بدست آمد (شکل ۳). با این حال نتایج نشان داد برداشت‌های مختلف در هر مکان تفاوت معنی داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز نداشتند.



شکل ۳. برهمکنش مکان (بوستان‌های نسیم و فاز ۴) و برداشت‌های مختلف (B1 ۱۵ خرداد ۱۵ B2 تیر ۱۵ B3 مرداد) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز (دقیقه بر میلی گرم پروتئین) - میلی گرم پروتئین)

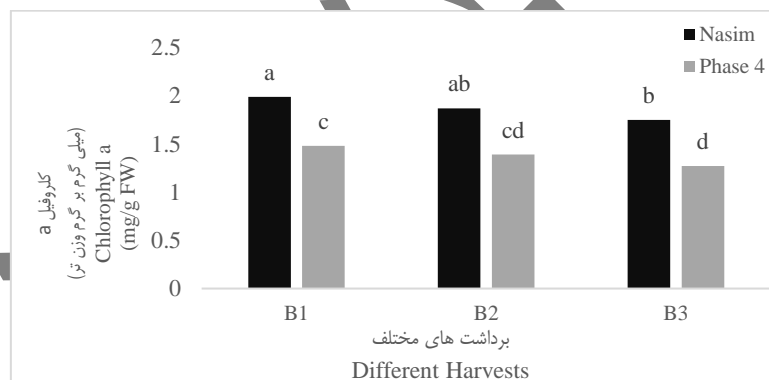
Fig3. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the activity of peroxidase enzyme (min/mg of protein)

یکی از پاسخ‌های گیاهان در برابر شرایط تنش، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است. این آنزیم‌ها با کاهش اثرات منفی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، از پراکسیداسیون لیپیدی غشا و نابودی سلول‌های گیاهی جلوگیری می‌کنند (Dumont and Rivoal, 2019). کاهش میزان این آنزیم‌های اکسیدانی در برداشت‌های دوم و سوم نسبت به برداشت اول می‌تواند به این دلیل باشد که در برداشت‌های دوم و سوم گیاه جذب کمتری از فلزات سنگین توسط گیاه صورت گرفته و به طبع آن در شرایط تنشی کمتری نسبت به برداشت اول قرار داشته است، لذا آثار منفی ناشی از تولید ROS در این شرایط کمتر بوده و به تبع آن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تولیدشده نیز در سطح کمتری قرار داشتند. نتایج به دست آمده از این تحقیق با مطالعه صورت گرفته توسط امانی ماچینی و همکاران (Amani Machiani *et al.*, 2021) در بررسی اثر برداشت‌های مختلف بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در آویشن باغی مطابقت دارد. در مطالعه‌ای مشاهده شد که تنش کادمیوم باعث افزایش در فعالیت آنزیم‌های SOD, CAT و APX شد که می‌تواند دلیل غیرمستقیمی بر افزایش فعالیت رادیکال‌های آزاد تحت تنش کادمیوم باشد (Kavousi and Barandeh, 2016). سوپراکسیددسموتاز، اولین و مهم‌ترین آنزیم در فرآیند سمیت‌زدایی ترکیبات ROS، با تبدیل رادیکال سوپراکسید به

پراکسید هیدروژن، نقش حیاتی در مکانیسم‌های دفاعی سلول، ایفاء می‌کند. پراکسید هیدروژن حاصل، در مرحله بعدی به وسیله آنزیم‌هایی نظیر کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز پاکسازی می‌شود (Rajput et al., 2021). در آزمایشی نیز مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش کادمیوم در برگ‌های عدس افزایش پیدا کرد. القاء فعالیت کاتالاز با جلوگیری از تولید رادیکال‌های هیدروکسیل، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها را در برابر ترکیبات ROS محافظت می‌کند. همچنین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در طول فعالیت سایر آنزیم‌های آنتی-اکسیدان در پاسخ به فاکتورهای تنش‌زا افزایش می‌یابد (Kavousi and Barandeh, 2016). از طرفی، عنصر کادمیوم احتمالاً با ایجاد رادیکال‌های آزاد واکنش‌پذیر، باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌گردد (Gill and Tuteja, 2010). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تنش عناصر سنگین در *Brassica juncea* (Irfan et al., 2014) و گندم (Çatav et al., 2020) مشاهده شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارند.

محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه

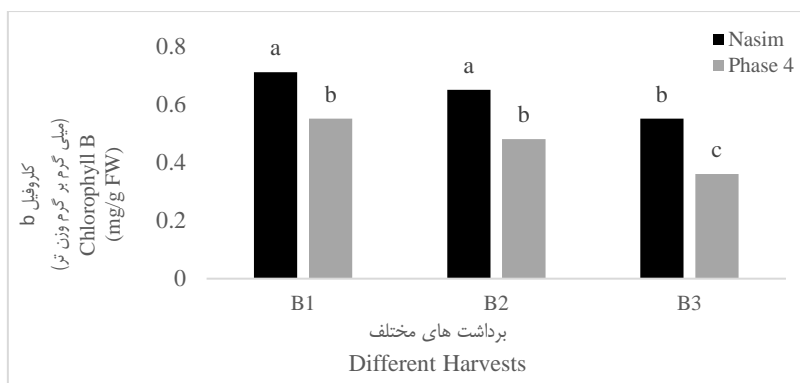
با توجه به نتایج، بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به ترتیب در بوستان نسیم (۱/۹۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و بوستان فاز ۴ (۱/۲۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. هرچند برداشت‌های دوم و سوم در هر دو منطقه، تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ولی بیشترین میزان کلروفیل a در برداشت اول، بدست آمد. کمترین میزان نیز در مربوط به برداشت سوم بود (شکل ۴).



شکل ۴. برهمکنش مکان (بوستان‌های نسیم و فاز ۴) و برداشت‌های مختلف (B1 ۱۵ خرداد، B2 ۱۵ تیر، B3 ۱۵ مرداد) بر محتوی کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)

Fig 4. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the content of chlorophyll a (mg/g FW)

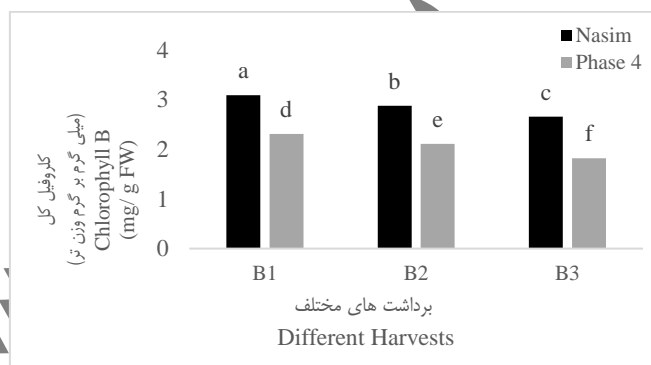
در خصوص کلروفیل b، برداشت اول برای هر دو مکان دارای بیشترین میزان بود. به طوریکه، بیشترین میزان کلروفیل b در برهمکنش بوستان نسیم و برداشت اول (۰/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان نیز در برهمکنش بوستان فاز ۴ و برداشت سوم (۰/۳۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) حاصل (شکل ۵).



شکل ۵. برهمکنش مکان (بوستان‌های نسیم و فاز ۴) و برداشت‌های مختلف (B1 ۱۵ خرداد ۱۵ B2 تیر ۱۵ B3 مرداد) بر محتوی کلروفیل b (میلی گرم بر گرم بر گرم وزن تازه)

Fig 5. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the content of chlorophyll b (mg/g FW)

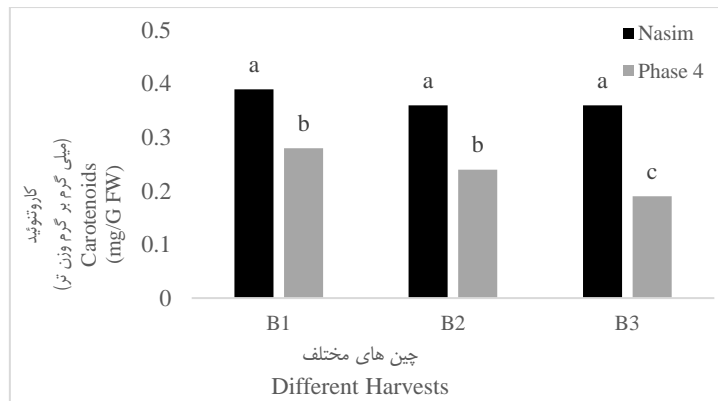
نتایج مشابهی برای میزان کلروفیل کل حاصل شد. بطوریکه در برداشت‌های مختلف، بیشترین میزان کلروفیل در بوستان نسیم گزارش شد. همچنین، بیشترین میزان کلروفیل در برهمکنش بوستان نسیم و برداشت اول (۳/۰۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان در برهمکنش بوستان فاز ۴ و برداشت سوم (۱/۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بدست آمد (شکل ۶).



شکل ۶. برهمکنش مکان (بوستان‌های نسیم و فاز ۴) و برداشت‌های مختلف (B1 ۱۵ خرداد ۱۵ B2 تیر ۱۵ B3 مرداد) بر محتوی کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تازه)

Fig 6. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on Total chlorophyll (mg/g FW)

همانند کلروفیل‌های a، b، میزان کارتنوئید نیز در برداشت اول برای هر دو مکان دارای بیشترین میزان بود. همچنین در برداشت‌های مختلف، بیشترین میزان کارتنوئید در بوستان نسیم بود، هرچند نسبت به برداشت‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت. از این رو، بیشترین میزان کارتنوئید در برهمکنش بوستان نسیم + برداشت اول (۰/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان در برهمکنش بوستان فاز ۴ + برداشت سوم (۰/۱۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) ثبت شد (شکل ۷).



شکل ۷. برهمکنش مکان (بوستان‌های نسیم و فاز ۴) و برداشت‌های مختلف (B1 ۱۵ خرداد ۱۵ B2 تیر ۱۵ B3 مرداد) بر محتوی کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تازه) وزن تازه

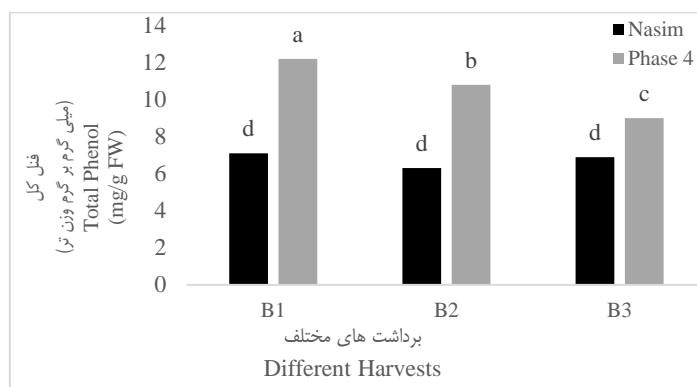
Fig 7. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on carotenoid content (mg/g FW)

کلروفیل جزء مهمی از رنگدانه‌های فتوسنتزی است که محتوی آن در تاج گیاهان، ارتباط نزدیکی با فتوسنتز، میزان عناصر غذایی و بهره‌وری محصول دارد (Mandal and Dutta, 2020). بیشتر بودن میزان کلروفیل و کاروتنوئید در برداشت اول به دلیل بهینه بودن شرایط رشدی از قبیل طول روز و تابش آفتاب، دمای محیط و غیره و همچنین زیادبودن طول دوره رشدی گیاه در برداشت اول نسبت به برداشت دوم است (Amani Machiani *et al.*, 2017). امانی ماچیانی و همکاران (Amani Machiani *et al.*, 2021) نیز بیشتر بودن رنگدانه‌های فتوسنتزی را در برداشت اول در گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) نسبت به برداشت دوم گزارش دادند. محتوای کلروفیل به عنوان شاخصی از سیستم فتوسنتزی و همچنین استحکام گیاه می‌تواند پاسخ‌هایی را نسبت به کیفیت خاک ارائه دهد. با این حال فلزات سنگین می‌توانند منجر به آسیب سیستم فتوسنتزی شود (Nigam *et al.*, 2019). محققان در آزمایشی بیان کردند که گیاه *Mentha piperita* پس از سه ماه قرار گرفتن در معرض عناصر آرسنیک، کادمیم، نیکل و سرب اثرات فیتوتوکسیک رخ داد، و به عبارتی کلروز و ریزش برگ در گیاه صورت گرفت (Dinu *et al.*, 2021). در گیاهان دارویی، فلزات می‌توانند با جذب عناصر پر مصرف توسط گیاه، رقابت کنند، بنابراین منجر به کمبود عناصر مغذی پر مصرف و به دنبال آن کلروز، تغییر رشد و نکروز برگ شوند. کاهش غلظت کلروفیل تحت تنش فلز سنگین، می‌تواند به دلیل جایگزینی یون فلز سنگین به جای منیزیم (اتم مرکزی کلروفیل) باشد. مشخص شده است که کاروتنوئید نسبت به کلروفیل حساسیت کمتری به فلزات سنگین کمتر دارد و در ترکیب با فلزات سنگین کمتر تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در تحقیقی با هدف بررسی اثرات تخریبی نیترات سرب بر میزان کاروتنوئید در جلبک انترومورفا (*Entromorpha intestinalis*) مشاهده شد که محتوی کاروتنوئید با افزایش غلظت نیترات سرب، افزایش می‌یابد (Biyok *et al.*, 2022).

صفات بیوشیمیایی

مطابق با شکل ۸، بیشترین میزان فنل کل در برهمکنش بوستان فاز ۴ + برداشت اول (۱۲/۲۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بدست آمد. همچنین در بوستان نسیم برای هر سه برداشت، از نظر میزان فنل تفاوت معنی‌داری نداشتند. با این حال، کمترین میزان فنل کل نیز در برهمکنش بوستان نسیم + برداشت دوم (۶/۳۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) حاصل شد. ترکیبات فنلی در سیستم دفاعی گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارای نقش مهمی می‌باشند (Ghasemi *et al.*, 2014) و قادر به مهار نمودن پراکسیداسیون لیپید بوده و تحت تنش‌های مختلف، انواع مختلف اکسیژن فعال را از بین می‌برند (Zhang *et al.*, 2021). افزایش میزان فنل کل در برداشت اول را می‌توان به بالا بودن دمای هوا در زمان برداشت اول و بنابراین ایجاد شرایط تنش‌زا در این مرحله مرتبط دانست؛ در حالی که در

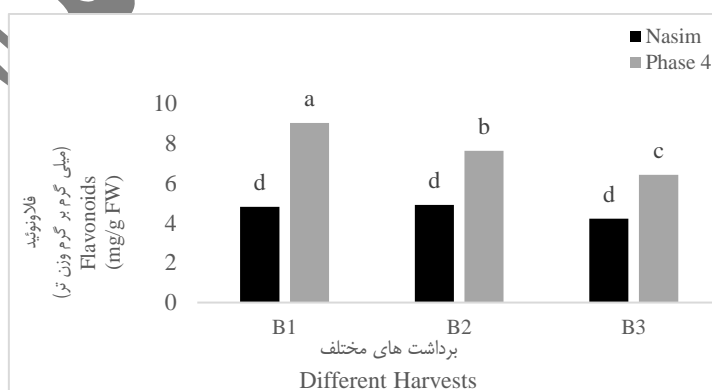
برداشت‌های بعدی هوا به سمت خنک شدن و بنابراین کاهش میزان فنل می‌گردد. نتایج آزمایش فرسرابی و مقدم (Farsaraei and Moghaddam, 2020) نیز افزایش میزان فنل کل را در برداشت اول در گیاه ریحان نشان داد. در تحقیق کاوسی و بارنده (Kavousi and Barandeh, 2016) مشاهده شد که با افزایش غلظت کادمیوم میزان فنل کل در عدس افزایش یافت.



شکل ۸. برهمکنش مکان (بوستان‌های نسیم و فاز ۴) و برداشت‌های مختلف (B1 ۱۵ خرداد، B2 ۱۵ تیر، B3 ۱۵ مرداد) بر محتوی فنل کل (میلی گرم بر گرم بر گرم وزن تازه)

Fig 8. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on total phenol content (mg/g FW)

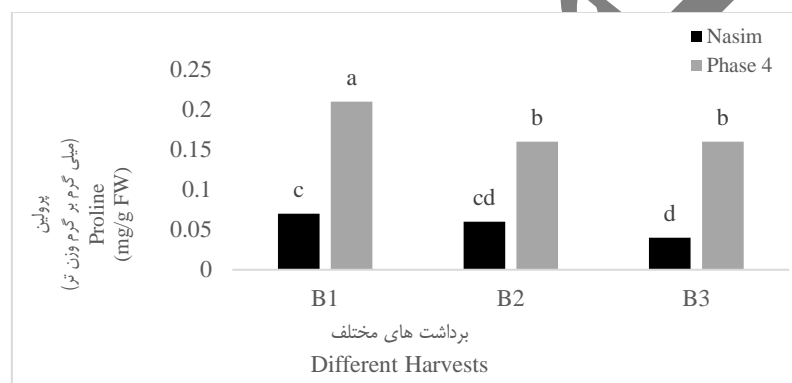
مشابه با فنل کل، بیشترین میزان فلاونوئید در برهمکنش بوستان فاز ۴ + برداشت اول (۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) بدست آمد. همچنین در بوستان نسیم برای هر سه برداشت، از نظر میزان فلاونوئید تفاوت معنی داری نداشت. کمترین میزان فلاونوئید نیز در برهمکنش بوستان نسیم + برداشت سوم (۴/۲۰ میلی گرم بر گرم وزن تر) حاصل شد (شکل ۹). EL-Leithy و همکاران (EL-Leithy *et al.*, 2017) بیشترین میزان محتوای فلاونوئید کل در گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) را در برداشت اول گزارش دادند که دلیل آن را شرایط بهتر آب و هوایی در این زمان نسبت به برداشت دوم عنوان کردند. فلاونوئیدها هم به عنوان عوامل آنتی اکسیدان و هم به عنوان ترکیبات کلاته کننده فلزات، نقش مهمی در ایجاد تحمل نسبت به تنش فلزات سنگین در گیاهان به عهده دارند (Korkina, 2007). افزایش محتوای فلاونوئید کل در اندام هوایی و ریشه گیاهچه‌های یونجه در پاسخ به تنش سرب، نشان‌دهنده نقش ترکیب در افزایش تحمل به تنش سرب می‌باشد (Ghlich *et al.*, 2015).



شکل ۹. برهمکنش مکان (بوستان‌های نسیم و فاز ۴) و برداشت‌های مختلف (B1 ۱۵ خرداد، B2 ۱۵ تیر، B3 ۱۵ مرداد) بر محتوی فلاونوئید (میلی گرم بر گرم بر گرم وزن تازه)

Fig 9. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on flavonoid content (mg/g FW)

با توجه به شکل ۱۰، بیشترین و کمترین میزان پرولین به ترتیب در برداشت اول + بوستان فاز ۴ (۰/۲۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) و برداشت سوم + بوستان نسیم (۰/۰۴ میلی گرم بر گرم وزن تر) بود. هرچند در هر دو مکان، برداشت دوم و سوم تفاوت معنی داری با هم نداشتند؛ اما بطور کلی، بیشترین میزان پرولین در برداشت اول بدست آمد. پرولین به عنوان یک محافظ شیمیایی باعث پایداری فرم طبیعی پروتئین‌ها شده و کلات کننده فلزات است و از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کند و باعث حفظ تمامیت غشاء می‌شود. بنابراین، در هنگام تنش فلزات سنگین، تولید پرولین افزایش می‌یابد تا گیاه را در مقابل سمیت حفظ نماید (Liang *et al.*, 2013). پرولین در اندام‌های هوایی گیاه تجمع می‌یابد و هرچقدر که این اندام‌ها طول عمر و رشد بیشتری داشته باشند میزان پرولین افزایش می‌یابد (Hosseinifard *et al.*, 2022). با توجه به اینکه هنگام برداشت اول میزان رشد گیاه بیشتر است، بنابراین بیشتر بودن میزان پرولین در برداشت اول قابل انتظار است. از طرفی به دلیل اینکه در برداشت اول دمای هوا بیشتر از سایر برداشت‌ها است و گیاه در این شرایط، تنش بیشتری را احساس می‌کند و بعد از آن هوا به سمت خنک شدن پیش می‌رود، افزایش میزان پرولین در این برداشت توجیه پذیر است. نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج Zaid و همکاران (Zaid *et al.*, 2020) در نعنای (*Mentha arvensis* L.) و Azimychetabi و همکاران (Azimychetabi *et al.*, 2021) در نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.) و کاووسی و بارنده (Kavousi and Barandeh, 2016) در عدس مطابقت داشت.



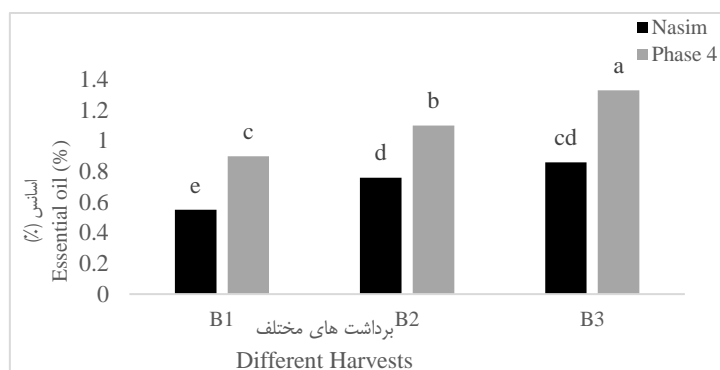
شکل ۱۰. برهمکنش مکان (بوستان‌های نسیم و فاز ۴) و برداشت‌های مختلف (B1 ۱۵ خرداد، B2 ۱۵ تیر، B3 ۱۵ مرداد) بر محتوی پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تازه)

Fig 10. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on proline content (mg/g FW)

درصد و عملکرد اسانس

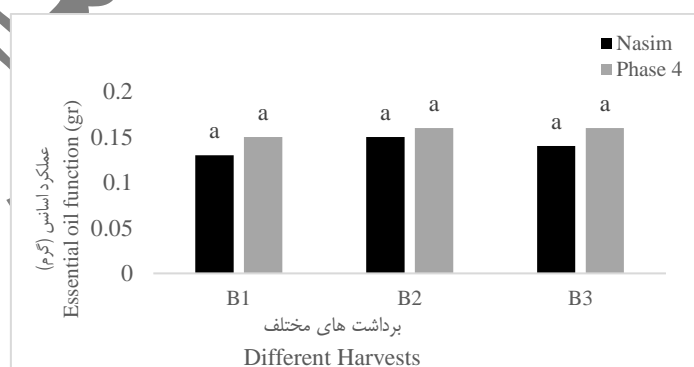
درصد اسانس در برداشت سوم برای هر دو مکان دارای بیشترین میزان بود. بطور کلی، بیشترین درصد اسانس در برهمکنش بوستان فاز ۴ + برداشت سوم (۱/۳۳ درصد) بدست آمد. کمترین درصد اسانس نیز در برهمکنش بوستان نسیم و برداشت اول (۰/۵۵ درصد) حاصل شد (شکل ۱۱). زمان برداشت در گیاهان دارویی به عنوان یکی از مهمترین عوامل مدیریتی، نقش بسیار ارزنده‌ای در افزایش کمیت و کیفیت تولید مواد مؤثره گیاهان دارویی دارد (Khakpour *et al.*, 2020). به طور کلی میزان اسانس نعنای فلفلی تحت تأثیر فاکتورهای محیطی مانند نور، دما، روشنایی و فاکتورهای زراعی مانند تیمارهای خاکی، مواد غذایی و یا عناصر کم مصرف قرار می‌گیرد (Zheljazkov *et al.*, 2006). نعنای فلفلی یک گیاه روز بلند است و طبق نظر محققان طی روزهای گرم و بلند به دلیل رشد و فتوسنتز بیشتر حداکثر میزان اسانس را تولید می‌کند (Zeinali *et al.*, 2014). همچنین بیشترین میزان اسانس این گیاه در برگ‌ها تولید می‌شود و میزان تولید اسانس در این گیاه به شدت به عملکرد برگ بستگی دارد. به نظر می‌رسد در برداشت سوم برگ‌های گیاه به دلیل اینکه فرصت کافی برای رشد نداشته‌اند، دارای سطح کمتری بوده و درصد اسانس به ازای واحد سطح کمتر عدد

بزرگتری نشان داد. بیشتر بودن درصد اسانس در فاز ۴ می‌تواند به دلیل رشد کمتر برگ‌ها ناشی از وجود عناصر سنگین بیشتر در این منطقه باشد. در واقع با کاهش سطح برگ در این منطقه به ازای واحد سطح کمتر، درصد اسانس بیشتری حاصل شد.



شکل ۱۱. برهمکنش مکان (بوستان‌های نسیم و فاز ۴) و برداشت‌های مختلف (B1 خرداد ۱۵، B2 تیر ۱۵، B3 مرداد ۱۵) بر درصد اسانس (%)
 Fig 11. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on essential oil (%)

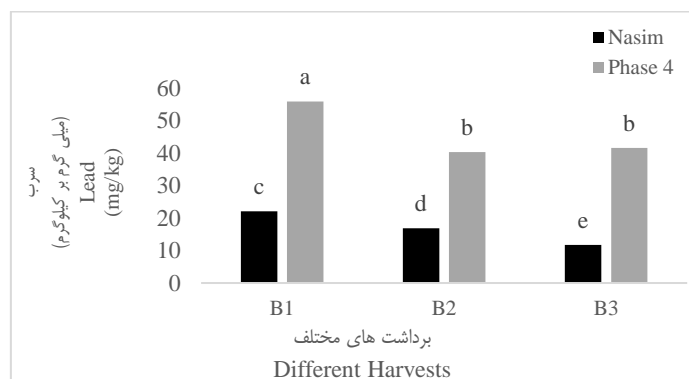
نتایج نشان داد بوستان نسیم و فاز ۴ از نظر عملکرد اسانس تفاوت معنی داری نشان ندادند. بیشترین و کمترین عملکرد اسانس به ترتیب در فاز ۴ + برداشت دوم و سوم (۰/۱۶ گرم) و بوستان نسیم + برداشت اول (۰/۱۳ گرم) بدست آمد (شکل ۱۲). به علت اینکه عملکرد اسانس تابع عملکرد ماده خشک گیاه می‌باشد (Czepak, 1998)، با کاهش عملکرد در مناطقی که دارای آلودگی زیادی هستند، میزان عملکرد اسانس نیز می‌تواند کاهش یابد. ترپنوئیدهای سنتز شده در غده‌های اپیدرمی گیاه نعنای فلفلی مصرف کننده کربنی می‌باشند که از طریق فتوسنتز تأمین می‌شود (Croteau and Johnson, 1984). در نتیجه سنتز اسانس در غده‌های اپیدرمی تابع تأمین مداوم کربن فتوسنتزی است و اختلال در تغذیه کربن توسط عناصر سنگین می‌تواند باعث کاهش مقدار اسانس شود (Srivastava and Luthra, 1994). محققان گزارش دادند که سرب (۵-۵۰ میلی‌گرم در لیتر) می‌تواند باعث علائم قابل مشاهده سمیت شود که باعث آسیب به ساختارهای سلولی، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و تغییر ترکیب اسانس‌ها می‌شود (Hu et al., 2007). در مقابل، بیان شد که نعنای که در معرض سرب و کروم قرار می‌گیرد می‌تواند عملکرد اسانس و زیست‌توده خود را بهبود بخشد (Kumar et al., 2009).



شکل ۱۲. برهمکنش مکان (بوستان‌های نسیم و فاز ۴) و برداشت‌های مختلف (B1 خرداد ۱۵، B2 تیر ۱۵، B3 مرداد ۱۵) بر عملکرد اسانس
 Fig 12. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the function of essential oil

غلظت سرب و کادمیوم در گیاه

در خصوص مقادیر فلزات سنگین، نتایج نشان داد که عنصر سرب در برداشت اول برای هر دو مکان، دارای بیشترین میزان بود. همچنین در برداشت‌های مختلف، بیشترین میزان کادمیوم در بوستان فاز ۴ گزارش شد؛ هرچند در برداشت دوم و سوم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بطور کلی، بیشترین میزان سرب در برهمکنش بوستان فاز ۴ + برداشت اول (۵۵/۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کمترین میزان نیز در برهمکنش بوستان نسیم + برداشت سوم (۱۱/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ثبت شد (شکل ۱۳).

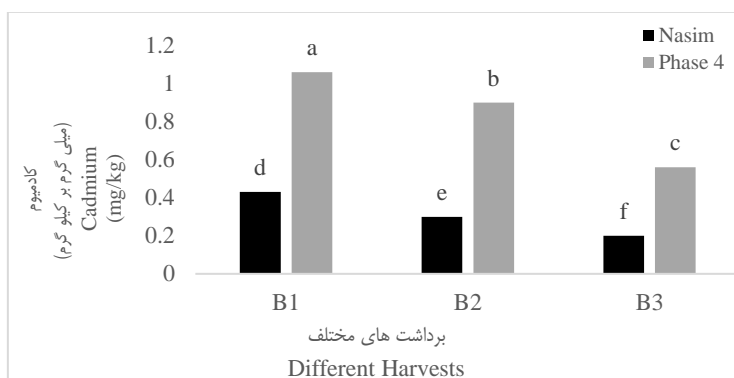


شکل ۱۳. برهمکنش مکان (بوستان‌های نسیم و فاز ۴) و برداشت‌های مختلف (B1 ۱۵ خرداد، B2 ۱۵ تیر، B3 ۱۵ مرداد) بر غلظت سرب (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
 Fig 13. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the concentration of Lead (mg/kg)

در مطالعه‌ای مشاهده شد که غلظت سرب در اندام‌های هوایی *Erigeron annuus* قبل از برداشت بیشتر از زمان برداشت آنها بود و با افزایش دفعات برداشت از میزان این عنصر در اندام‌های هوایی گیاه کاسته شد (Pliszko *et al.*, 2020). دلیل آن را می‌توان عدم وجود زمان کافی احیای گیاه و جذب بیشتر عناصر دانست. از طرفی با توجه به اینکه در برداشت اول میزان رشد گیاه بیشتر از سایر برداشت‌ها است، میزان جذب سرب نیز بیشتر صورت می‌گیرد. محققان بیان کردند که غلظت فلزات سنگین در گیاهان دارویی به محیط رشد و همچنین نوع گونه گیاهی، بستگی دارد (Maleki *et al.*, 2017). از این رو، بیشتر بودن میزان آلودگی در فاز ۴، افزایش میزان سرب در گیاهان این منطقه را توجیح می‌کند. در بررسی دیگری محققان گزارش دادند که کاربرد آب‌های آلوده به عناصر سنگین منجر به افزایش مقدار فلزات سنگین کادمیوم و سرب در خاک گردید و با افزایش این عناصر در خاک، جذب آنها توسط رازیانه افزایش یافت (Merrikhpour and Izadifar, 2016).

در خصوص عنصر کادمیوم نیز نتایج مشابه با سرب بدست آمد. به طوریکه، بیشترین میزان کادمیوم در برهمکنش بوستان فاز ۴ + برداشت اول (۱/۰۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و کمترین میزان در برهمکنش بوستان نسیم + برداشت سوم (۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) حاصل شد (شکل ۱۴). به نظر می‌رسد در برداشت اول با رشد بیشتر گیاه تجمع کادمیوم در گیاه افزایش می‌یابد. Oancea و همکاران (Oancea *et al.*, 2005) گزارش نمودند که با افزایش غلظت فلزات سنگین در محیط کشت بر غلظت آن‌ها در گیاه افزوده می‌شود. حضور کادمیم منجر به کاهش سرعت رشد، تبخیر و تعرق و جذب یون توسط گیاه شده و با کاهش جذب آب و غلظت سایر یون‌ها، مانع از انجام فعالیت ریشه می‌گردد (Rizwan *et al.*, 2016; Naeem *et al.*, 2016). گزارش شده است که با افزایش وزن خشک گیاه، غلظت کادمیوم در بافت‌های گیاهی خرفه (*Portulaca eoleracea*) افزایش یافت (Fallah *et al.*, 2016). با توجه به آلودگی بیشتر فاز ۴ نسبت به سایر مناطق، تجمع بیشتر فلزات سنگین در بافت‌های گیاهی در این منطقه قابل انتظار است. همچنین در گزارش

دیگری مشاهده شد که با افزایش غلظت کادمیوم، میزان تجمع این فلز در اندام هوایی گیاهان یونجه به میزان چشمگیری افزایش یافت (Aghaei et al., 2021).



شکل ۱۴. برهمکنش مکان (بوستان های نسیم و فاز ۴) و برداشت های مختلف (B1 ۱۵ خرداد ۱۵ B2 تیر ۱۵ B3 مرداد) بر غلظت کادمیوم (میلی گرم بر کیلوگرم)

Fig 14. The interaction of location (Nasim and phase 4 Parks) and different harvests (B1 June 4, B2 July 5, B3 August 5) on the concentration of Cadmium (mg/kg)

نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که زمان برداشت در مناطق مختلف با درجه آلودگی متفاوت، بر خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه نعنای تاثیر داشت بصورتیکه در بوستان کلانتری فاز ۴ با میزان بیشتر آلودگی به سرب و کادمیوم نسبت به بوستان نسیم، اکثر صفات ناشی از تنش فلزات سنگین مانند آنزیم های آنتی اکسیدانی، محتویات فنلی و همچنین درصد اسانس، مقادیر بالاتری نشان دادند. از طرف دیگر در بوستان نسیم هم بدلیل اثرات کمتر تنش فلزات سنگین، میزان محتویات کلروفیلی بیشتری دیده شد. در مورد میزان سرب و کادمیوم جذب شده توسط گیاه، این مقدار در بوستان کلانتری فاز ۴ از بوستان نسیم بیشتر بود، که خود باعث کاهش خصوصیات رشدی گیاه نعنای فلفلی شد. همچنین در برداشت اول به دلیل قدرت بالاتر گیاهچه و خصوصیات رشدی بهتر، جذب فلزات سنگین بیشتری ثبت شد، در حالی که در برداشت سوم، به دلیل صرف انرژی بیشتر برای رشد مجدد، دارای خصوصیات رشدی کمتر و جذب ضعیف تر فلزات سرب و کادمیوم بود. در مورد مصرف خوراکی محصول تولیدی نیز با توجه به اینکه میزان غلظت سرب و کادمیوم تجمع یافته در برگهای نعنای فلفلی در هر دو مکان بیشتر از استاندارد بهداشت جهانی WHO (سرب (10 mg/kg) و کادمیوم (0.3 mg/kg)) بود مصرف آن توصیه نمی شود.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی و شهرداری منطقه ۹ مشهد انجام شد. بدین وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی سپاسگزاری می گردد.

References

- 1- Aghaei, K., Bouryaei, M., & Zamani, A. (2021). Study of cadmium contamination and its effects on some physiological and nutritional characteristics of alfalfa plants. *Environmental Sciences*, 18(4), 109-124. (In Persian)
- 2- Amani Machiani, M., Javanmard, A., Ostadi, A., & Morshedloo, M.R. (2021). Evaluation of Essential Oil Yield and Ecological Indices in the Intercropping of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and soybean (*Glycine max* L.) with Application of Arbuscular Mycorrhizal Fungus. *Sustainable Agriculture and Production science*, 31 (3), 32- 50. (In Persian)

- 3- Amani Machiani, M., Javanmard, A., Nasiri, Y., & Morshedloo, M. (2017). Advantage of Peppermint (*Mentha piperita* L.) and Faba Bean (*Vicia faba* L.) Intercropping in Different Cropping Patterns. *Sustainable Agriculture and Production science*, 27 (3), 45- 62.
- 4- Antisari, L.V., Orsini, F., Marchetti, L., Vianello, G. & Gianquinto, G. (2015). Heavy metal accumulation in vegetables grown in urban gardens. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 1139–1147 (2015). <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0308-z>.
- 5- Arnon, D.I., (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts Polyphenoloxidase in: (*Beta Vulgaris*). *Journal of Plant Physiology*, 24, 1–15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>.
- 6- Azimychetabi, Z., Sabokdast Nodehi, M., Moghadam, T. & Motesharezadeh, B. (2021). Cadmium stress alters the essential oil composition and the expression of genes involved in their synthesis in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Industrial Crops and Products*, 168 (15), 113602.
- 7- Bates, L.S., Waldran, R.P. & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water studies. *Plant Soil*, 39, 205–208.
- 8- Biyok, B., Soltani, S., Hashemi, A.S. (2022). Investigation of heavy metal (Pb⁺) effect in presence of (Ca²⁺) on photosynthetic pigments and antioxidant enzymes activity of *Entromorpha* sp. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 68(4), 55-68. (in Persian)
- 9- Çatav, Ş.S., Genç, T.O., Oktay, M.K. & Küçükakyüz, K. (2020). Cadmium Toxicity in Wheat: Impacts on Element Contents, Antioxidant Enzyme Activities, Oxidative Stress, and Genotoxicity. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 104, 71–77. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02745-4>.
- 10- Croteau, R. & Johnson, M.A. (1984). Biosynthesis of terpenoids in glandular trichomes. *Chemistry of Plant Trichomes*, 133-185.
- 11- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. & Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3): 178-182.
- 12- Czepak, M.P. (1998). Produção de óleo bruto e mentol cristal-izável em oito frequências de colheita da menta (*Menta arvensis* L.). *Sci Botucatu*, 53-80.
- 13- De Pinto, M.C. & De Gara, L. (2004). “Changes in the ascorbate metabolism of apoplastic and symplastic spaces are associated with cell differentiation,” *Journal of Experimental Botany*, 55 (408), 2559–2569.
- 14- Dinu, C., Gheorghe, S., Tenea, A.G., Stoica, C., Vasile, G.G., Popescu, R.L., Serban, E.A. & Pascu, L.F. (2021). Toxic Metals (As, Cd, Ni, Pb) Impact in the Most Common Medicinal Plant (*Mentha piperita*). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18, 3904. <https://doi.org/10.3390/ijerph18083904>.
- 15- Dumont, S. & Rivoal, J. (2019). Consequences of Oxidative Stress on Plant Glycolytic and Respiratory Metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 10, 166.
- 16- Gallego, S. M. & Benavides, M. P. (2019). Cadmium-induced oxidative and nitrosative stress in plants. *Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants*, 233–274.
- 17- Ebrahimpour, M. & Mushrifah I. (2008). Heavy metal concentrations (Cd, Cu and Pb) in five aquatic plant species in Tasik Chini, Malaysia. *Journal of Environmental Geology*, 54, 689 – 698.
- 18- EL-Leithy, A.S., EL-Hanafy, S.H., Khattab, M.E., Ahmed, S.S. & Ghafour, A. (2017). Effect of Nitrogen Fertilization Rates, Plant Spacing and Their Interaction on Essential Oil Percentage and Total Flavonoid Content of Summer Savory

- (*Satureja hortensis* L.) Plant. *Egyptian Journal of Chemistry*, 5 (5), 805-816. DOI:10.21608/ejchem.2017.1296.1074.
- 19- Fallah, F., Soltaninejad, M. & Taddayon, R. (2016). Effects of Cattle Manure, Chemical Fertilizers, and Their Combination on Cadmium Accumulation and Growth of Purslane (*Portulaca eoleracea*). *Soil research (soil and water sciences)*, 30 (4), 1-14. (In Persian)
 - 20- Farsaraei, S. & Moghaddam, M. (2020). Morphophysiological and biochemical response of basil cultivar Keshkeni luvluo under salinity stress and superabsorbent polymers application. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 33 (4), 982- 996. (In persian)
 - 21- Gupta, A., Sharma, S., & Verma, N. (2019). Oxidative stress and antioxidant responses in peppermint plants exposed to heavy metals. *Plant Physiology and Biochemistry*, 25(2), 123-136.
 - 22- Giviand Rad, M., Sadeghi, T., Larejani, K. & Hosseini, S. (2011). Determination of heavy metals of cadmium and lead in green straw cultivated in different lands of southern Tehran. *Food Science and Nutrition*, 8(2), 38-42.
 - 23- Ghasemi Pirbalouti, A., Samani, M. R., Hashemi, M. & Zeinali, H. (2014). Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under reduced irrigation. *Plant Growth Regulation*, 72(3), 289-301.
 - 24- Gill, S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48 (12), 909-930, <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.
 - 25- Ghlich, S., Zarrin Kamar, F& Niknam, V. (2015). Lead accumulation and it's effects on peroxidase activity, phenolic and flavonoid compounds in seedlings of *Medicago sativa* L. *Journal of Plant Research (Iran biology)*, 28 (1), 164-174. (In Persian)
 - 26- Hosseinifard, M., Stefaniak, S., Ghorbani Javid, M., Soltani, E., Wojtyla, L. & Garnczarska, M. (2022). Contribution of Exogenous Proline to Abiotic Stresses Tolerance in Plants: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 5186. <https://doi.org/10.3390/ijms23095186>.
 - 27- He, Z., Shentu, J., Yang, X., Baligar, V.C., Zhang, T.Q., & Stoffella, P.J. (2015). Heavy Metal Contamination of Soils: Sources, Indicators and Assessment. *Journal of Environmental Indicators*, 9, 17-18.
 - 28- Heidary Monfared, S. (2011). Community Garden Heavy Metal Contamination Study. *Environment Canada, Ecology Action Centre*, 4–20.
 - 29- Hu, J.Z., Shi, G.X., Xu, Q.S., Wang, X., Yuan, Q.H. & Du, K.H. (2007). Effects of Pb²⁺ on the active oxygen-scavenging enzyme activities and ultrastructure in *Potamogeton crispus* leaves. *Russian Journal of Plant Physiology*, 54, 414–419.
 - 30- Irfan, M., Ahmad, A. & Hayat, S. (2014). Effect of cadmium on the growth and antioxidant enzymes in two varieties of *Brassica juncea*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 21 (2), 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.08.001>.
 - 31- Kavousi, H.R. & Barandeh, F. (2016). Effect of cadmium on photosynthetic pigments, proline and soluble proteins in lentil (*Lens culinaris* Medik.) seedlings. *Plant Process and Function*, 5 (16), 117-132. URL: <http://jispp.iut.ac.ir/article-1-370-fa.html>. (In persian)
 - 32- Khakpour, A., Zolfaghari, M. & Sorkheh, K. (2020). A study on some secondary metabolites of *Glycyrrhiza glabra* L. in autumn and spring conditions in Khuzestan province. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 35 (6), 991-1000. (In persian)

- 33- Kumar, N.J.I., Soni, H., Kumar, R.N. & Bhatt, I. (2009). Hyperaccumulation and mobility of heavy metals in vegetable crops in India. *Journal of Agriculture and Environment*, 10, 34–45.
- 34- Korkina, L.G. (2007). Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: From plant defense to human health. *Cellular and Molecular Biology*, 53, 15-25.
- 35- La Greca, P., La Rosa, D., Martinico, F. & Privitera, R. (2011). Agricultural and green infrastructures: The role of non-urbanised areas for ecosustainable planning in a metropolitan region. *Environmental Pollution*, 159, 2193–2202. doi: 10.1016/j.envpol.2010.11.017
- 36- Leake, J., Adam-Bradford, A. & Rigby, J. (2009). Health benefits of ‘grow your own’ food in urban areas: implications for contaminated land risk assessment and risk management? *Environmental Health*, 8, S6. Doi: 10.1186/1476-069X-8-S1-S6.
- 37- Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S.K. & Becker, D.F. (2013). Proline Mechanisms of Stress Survival. *Antioxid. Redox Signal.* 19, 998–1011.
- 38- Mandal, R. & Dutta, G. (2020). From photosynthesis to biosensing: Chlorophyll proves to be a versatile molecule. *Sensors international*, 1, 100058. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100058>.
- 39- Maleki, M., Ghorbanpour, M. & Kariman, K. (2017). Physiological and antioxidative responses of medicinal plants exposed to heavy metals stress. *Plant Gene*, 11, 247-254. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2017.04.006>.
- 40- Merrikhpour, H. & Izadifar, Sh. (2016). Investigating the concentration of heavy elements in fennel plant under irrigation with water contaminated with lead and cadmium. *National conference of aromatic medicinal plants and spices*, 1-5. (In persian)
- 41- Mishra, B., Sangwan, R.S., Mishra, S., Jadaun, J.S., Sabir, F. & Sangwan, N.S. (2014). Effect of cadmium stress on inductive enzymatic and nonenzymatic responses of ROS and sugar metabolism in multiple shoot cultures of Ashwagandha (*Withania somnifera* Dunal). *Protoplasma*, 251(5), pp.1031-1045.
- 42- Montaña López, F. & Biswas, A. (2021). Are heavy metals in urban garden soils linked to vulnerable populations? A case study from Guelph, Canada. *Scientific Reports*, 11, 11286. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90368-3>
- 43- McKay, D.L. & Bumberg, J.B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy research*, 20, 619-633.
- 44- Naeem, A., Saifullah, Rehman, M.Z., Akhtar, T., Yong, S.O. & Rengel, Z. (2016). Genetic variation in cadmium accumulation and tolerance among wheat cultivars at the seedling stage. *Communications in Soil Science and Plant*, 47 (5), 554-562.
- 45- Nigam, N., Khare, P., Yadav, V., Mishra, D., Jain, S., Karak, T., Panja, S. & Tandon, S. (2019). Biochar-mediated sequestration of Pb and Cd leads to enhanced productivity in *Mentha arvensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 172, 411-422. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.006>.
- 46- Oancea, S., Foca, N. & Airinei, A. (2005). Effects of heavy metals on plant growth and photosynthetic activity. *Analele Științifice ale Universității .AL. I. CUZAI IAȘI*, 107–110.
- 47- Osman, K.T. (2018). Polluted Soils. In: Management of Soil Problems. *Springer, Cham*. 333- 408. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75527-4_12.
- 48- Pahlavan Rad, M., Keykha, Gh., Dahmardeh, Kh. & Moghaddam, A. (2009). The effect of using different sources of green manure in rotation with wheat on soil properties and wheat yield. *11th Soil Science Congress of Iran*, 11, 934-936. (In persian)

- 49- Pliszko, A., Klimek, B. & Kostrakiewicz-Gieralt, K. (2020). Effect of Shoot Cutting on Trace Metal Concentration in Leaves and Capitula of Potential Phytoaccumulator, Invasive *Erigeron annuus* (Asteraceae). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 104, 668–672. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02844-7>
- 50- Rajput, V.D., Harish, Singh, R.K., Verma, K.K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F.R., Meena, M., Gour, V.S., Minkina, T., Sushkova, S. & Mandzhieva, S. (2021). Recent Developments in Enzymatic Antioxidant Defence Mechanism in Plants with Special Reference to Abiotic Stress. *Biology*, 10, 267. <https://doi.org/10.3390/biology10040267>.
- 51- Rizwan, M., Meunier, J.D., Davidian, J.C., Pokrovsky, O.S., Bovet, N. & Keller, C. (2016) Silicon alleviates Cd stress of wheat seedlings (*Triticum turgidum* L. cv. Claudio) grown in hydroponics. *Environmental science and pollution research international*, 23, 1414–1427.
- 52- Sarwar, N., Saifullah, Malhi, S.S., Zia, M.H., Naeem, A., Bibi, S. & Farid, G. (2010). Role of plant nutrients in minimizing cadmium accumulation by plant. *Journal of the science of food and agriculture*, 90, 925-937.
- 53- Sarwar, N., Imran, M., Shaheen, M. R., Ishaque, W., Kamran, M. A., Matloob, A., Rehman, A. & Hussain, S. (2017). Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: Modifications and future perspectives. *Chemosphere*, 710-721.
- 54- Srinivas, N. D., Rashmi, K.R. & Raghavarao. K.S.M.S. (1999). Extraction and purification of a plant peroxidase by aqueous two-phase extraction coupled with gel filtration. *Process Biochemistry*, 35, 43–48.
- 55- Srivastava, N.K. & Luthra, R. (1994). Relationship between photosynthetic carbon metabolism and essential oil biogenesis in peppermint under Mn stress. *Journal of Experimental Botany*, 45, 1127-1132.
- 56- Singleton, U. L. & J. Rossi. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- 57- Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 152–178.
- 58- United Nations. (2018). Department of Economic and Social Affairs, P. D. World Urbanization Prospects: Te 2018 Revision. *World Urbanization Prospects*, the 2018 Revision.
- 59- Velikova, V., Yordanov, I. & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid raintreated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151, 59-66.
- 60- Yamaguchi, K., Mori, H. & Nishimura, M. (1995). A novel isoenzyme of ascorbate peroxidase localized on glyoxysomal leaf peroxisomal membranes in pumpkin. *Plant Cell Physiology*, 36, 1157–1162.
- 61- Zaid, A., Mohammad, F. & Fariduddin, Q. (2020). Plant growth regulators improve growth, photosynthesis, mineral nutrient and antioxidant system under cadmium stress in menthol mint (*Mentha arvensis* L.). *Physiology and molecular biology of plants: an international journal of functional plant biology*, 26, 25–39. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00715-y>.
- 62- Zeinali, H., Hosseini, H. & Shirzadi, M.H. (2014). Effects of nitrogen fertilizer and harvest time on agronomy, essential oil and menthol of *Mentha piperita* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30 (3) 486- 495. (In persian)

- 63- Zhang, H., Troise, A.D., Qi, Y., Wu, G., Zhang, H. & Fogliano, V. (2021). Insoluble dietary fibre scavenges reactive carbonyl species under simulated physiological conditions: The key role of fibre-bound polyphenols. *Food Chemistry*, 349, 129018.
- 64- Zheljzkov, V.D., Craker, L.E., & Xing, B. (2006). Effects of Cd, Pb, and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint and basil. *Environmental and Experimental Botany*, 58, 9–16.
- 65- Zhao, H., Guan, J., Liang, Q., Zhang, X., Hu, H., & Zhang, J. (2021). Effects of cadmium stress on growth and physiological characteristics of saffron seedlings. *Scientific reports*, 11(1), 9913. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89322-0>.

مجله دانش کشاورزی