

## The effect of foliar application of salicylic acid and putrescine on the essential oil yield and composition of peppermint (*Mentha piperita* L.)

Saeideh Alizadeh Salteh<sup>1\*</sup> , Somayeh Najjarzadeh<sup>2</sup>, Jaber Panahandeh<sup>3</sup>, Ghasem Eghlima<sup>4</sup>

1. Associate Professor of Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. Masters' student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3. Associate Professor of Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
4. Assistant Professor, Department of Agriculture, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

**Citation:** Najjarzadeh, S., Alizadeh Salteh, S., Panahandeh, J., Eghlima, GH. (2024). The effect of foliar application of salicylic acid and putrescine on essential oil yield and composition of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Plant Productions*, 47(1), 147-160

### Abstract

#### Introduction

Secondary metabolites have a complex structure which is produced by chemical bio-synthesis. Therefore, they are mostly extracted from wild or cultivated plants. The essences are natural, complex and volatile secondary metabolites which are mostly produced in medicinal and aromatic plants. Peppermint (*Mentha piperita* L.), a hybrid from *M. aquatica* and *M. spicata*, is an herbaceous and perennial plant belonging to Lamiaceae family. It is widely cultivated in temperate regions of Europe, Asia, America, India and Mediterranean countries due to its commercial value and unique odor.

#### Materials and Methods

In order to investigate the influence of putrescine treatment at three levels including 0, 0.1 and 1 mM, and salicylic acid treatment at three levels including 0, 0.1 and 1 mM, on the yield performance and essence components of peppermint, a field factorial experiment was performed based on complete blocks design with three replications at Research Station of Tabriz University during 2019. Peppermint seedling were prepared from Agricultural Jihad Organization of Bostan Abad and cultivated at a distance of 30×30 cm. Foliar application of salicylic acid and putrescine was carried out twice during vegetative stage of plants (with one week interval). Harvesting and bio-chemical assessments were done at stage of 25 % flowering. The essential oil of peppermint was assessed to identify its main components.

#### Results and Discussion

The results of the current study showed that the average yield of essential oil in plants treated with 1 mM salicylic acid was significantly increased compared to the control. A total of 24 compounds were identified in the essential oil of peppermint aerial parts. The main components of the essential oil were included menthone, menthol, L-menthol and 1,8-cineole. Menthone and menthol constituted 26.14 and 23.21 % of

\* Corresponding Author: S. Alizadeh Salteh  
E-mail: s.alizadeh@tabrizu.ac.ir



essential oil, respectively. Different concentrations of salicylic acid and putrescine increased the production rate of menthone, menthol, l-menthol and methyl acetate compounds in the essential oil compared to the control. The concentration of 1 mM salicylic acid had the greatest effect on the production of essential oil compounds. The correlation results between essential oil compounds showed that menthone has a positive and significant correlation with methyl acetate. Similarly, foliar application of salicylic acid (10 mM) and indole-3-acetic acid ( $1.5 \text{ mg L}^{-1}$ ) increased the content of main component of peppermint and lemon balm. In the other study, foliar application of lemon balm plants with salicylic acid and putrescine caused a considerable increase in monoterpenes and sesquiterpenes content which was in line with obtained results of the present study.

### Conclusion

The plant growth regulators used in this research increased the yield and composition of the essential oil of aerial parts of peppermint, which shows that both salicylic acid and putrescine have a high potential in increasing the potency and chemical composition of the essential oil in the peppermint plant and probably in other aromatic crops. Therefore, foliar application of salicylic acid and putrescine during vegetative growth of peppermint could be introduced as influential technique to improve qualitative and quantitative characteristics of this aromatic and medicinal plant.

**Key words:** Essential oil compounds, Biological elicitor, Menthone, Peppermint

## تأثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید و پوتریسین بر عملکرد و اجزای اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

سعیده علیزاده سالطه<sup>۱\*</sup>، سیمه نجارزاده<sup>۲</sup>، جابر پناهنده<sup>۳</sup>، قاسم اقلیما<sup>۴</sup>

- ۱- دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
- ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
- ۳- دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
- ۴- استادیار گروه کشاورزی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

### چکیده

متابولیت‌های ثانویه ساختارهای پیچیده‌ای دارند که سنتز شیمیایی برخی از آنها در بسیاری از موارد بسیار سخت یا غیر ممکن می‌باشد و ناچار باید از گیاهان استخراج شوند. نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، از گیاهان دارویی مهم است که ترکیبات آن ارزش اقتصادی بالایی دارند. کاربرد الیستورها یکی از راهکارهای موجود برای افزایش عملکرد و تغییر در میزان اجزای اسانس می‌باشد. آزمایش حاضر با هدف بررسی اثر سالیسیلیک اسید و پوتریسین بر تغییر عملکرد و نیز ترکیبات اسانس نعناع فلفلی انجام شد. به این منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل با استفاده از تیمارهای پوتریسین (۰، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار) و اسید سالیسیک (۰، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار) در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بصورت مزرعه‌ای اجرا شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که میانگین عملکرد اسانس با کاربرد سالیسیک‌اسید ۱ میلی‌مولار به طور قابل توجهی نسبت به شاهد (۴۱/۱ درصد) افزایش یافت. در مجموع ۲۴ ترکیب در اسانس اندام هوایی نعناع فلفلی شناسایی شد که ترکیبات اصلی اسانس شامل منتون (۲۶/۱۴)، منتول (۲۳/۲۱)، ۸،۱-سیننول (۷/۴۹) و ال-منتول (۶/۷۳) درصد بود. بنا بر نتایج بدست آمده، غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید و پوتریسین تولید ترکیبات منتون، منتول، ال منتول و متیل استات اسانس را نسبت به شاهد افزایش داد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میزان ال-منتول از ۴/۵۷ تا ۶/۷۳ درصد متغیر بود. بیشترین میزان آن در تیمار با سالیسیلیک‌اسید ۱ میلی‌مولار حاصل شد. اثرات غلظت‌های مختلف پوتریسین تأثیر معنی‌داری در افزایش ال-منتول نسبت به شاهد نداشت. نتایج نشان داد که تیمار با سالیسیلیک‌اسید موجب کاهش میزان پولگون در اسانس نسبت به شاهد شد. کمترین میزان پولگون در تیمار پوتریسین ۰/۱ میلی‌مولار (۲/۷۹ درصد) و سالیسیلیک‌اسید ۱ میلی‌مولار (۳/۰۴ درصد) بدست آمد. نتایج همبستگی بین ترکیبات اسانس نشان داد که منتون با متیل استات، کاریوفیلین اکسید و منتوفوران دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح یک درصد و با نئومنتول دارای همبستگی منفی و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد

\* نویسنده مسئول: سعیده علیزاده سالطه

می‌باشد. کمیت و کیفیت اسانس نعناع فلفلی تحت تاثیر محلول پاشی غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک و پوتریسین قرار گرفت. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از تیمار اسیدسالیسیلیک ۱ میلی‌مولار بیشترین تاثیر را در افزایش اسانس و ترکیبات اصلی اسانس در نعناع فلفلی داشت. نتایج این پژوهش می‌تواند برای کاربرد در کشاورزی مدرن جهت افزایش کیفیت اسانس نعناع فلفلی مفید باشد.

### کلید واژه‌ها: عملکرد اسانس، محرک‌های زیستی، منتون، نعناع فلفلی

#### مقدمه

اسانس‌ها دسته‌ای از متابولیت‌های ثانویه فرار و معطری هستند که در ساختارهای ویژه‌ای مانند ساختارهای و غدد ترشحی گیاهان تولید می‌شود (Edris, 2007). نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، گیاه علفی، چند ساله از خانواده Lamiaceae و یک هیبرید طبیعی از *M. aquatica* × *M. spicata* است. این گیاه به دلیل ارزش تجاری و دارا بودن اسانس بالا، در مناطق معتدل اروپا، آسیا، ایالات متحده، هند و کشورهای مدیترانه‌ای کشت می‌شود (Mahendran and Rahman, 2020; Goudarzi and Kalvandi, 2018). نعناع فلفلی یک گیاه دارویی و معطر مهم در سراسر جهان است که علاوه بر کاربردهای بالقوه آن به عنوان یک عامل طعم دهنده و یا افزودنی‌های غذایی، در صنایع آرایشی و بهداشتی و دارویی نیز کاربرد فراوانی دارد (Rita and Animesh, 2011; Brahmi et al., 2017). نعناع فلفلی حاوی ۱/۲-۳/۹ درصد اسانس هستند که ترپن‌ها شامل حدود ۵۲ درصد مونوترپن‌ها و ۹ درصد سزکویی ترپن‌ها از مهم‌ترین اجزای اسانس برگ نعناع فلفلی هستند (Sahib et al., 2013). ترکیب اسانس استخراج شده از اندام هوایی نعناع فلفلی موضوع مطالعات گسترده‌ای بوده است (Seif Sahandi et al., 2019; Ahmadi et al., 2018; Taherpour et al., 2017). اسانس نعناع حاوی غلظت بالایی از منتول و منتون بوده که در طب سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله عفونت، کاهش اشتها، درمان سرماخوردگی، تهوع، سردرد، تب، ضدنفخ و همچنین به عنوان دافع حشرات استفاده می‌شود (Mahendran and Rahman, 2020). مطالعات مختلف درون و برون تنی خواص بیولوژیکی منتول مانند اثرات ضد درد، ضد باکتری، ضد

قارچی، بیهوشی و همچنین اثرات تعدیل‌کننده ایمنی را گزارش کرده‌اند (Brahmi et al., 2017; Kamatou et al., 2013). نعناع در کنار وانیل و اسانس مرکبات یکی از مهم‌ترین افزودنی‌های طعم دهنده است (Kamatou et al., 2013). در اکثر تحقیقات، منتول و منتون به عنوان ترکیبات اصلی اسانس نعناع فلفلی گزارش شده‌اند (Ahmadi et al., 2017; Taherpour et al., 2018). کیفیت گیاهان دارویی مورد استفاده برای تولید ترکیبات مفید فارماکولوژیک معمولاً با محتوای ترکیبات فعال بیولوژیکی ارزیابی می‌شود (Kuzel et al., 2009). روش‌های متعددی مانند استفاده از محرک‌های زنده یا غیرزنده می‌تواند راه مناسبی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی باشد (Abbasi et al., 2007). که به دلیل هزینه کم و سادگی استفاده در حال حاضر به‌طور گسترده در حال اجراء است (Isah et al., 2018). انگیزش شامل القا یا افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه توسط گیاهان برای اطمینان از بقا، ماندگاری و رقابت آن‌ها است (Gorelick and Bernstein, 2017). اسید سالیسیلیک یک ماده شبه هورمونی است که نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو گیاهان دارد (Ahmadi et al., 2018). مطالعاتی بسیاری اثر اسیدسالیسیلیک بر تولید بسیاری از ترکیبات فعال زیستی در گیاهان دارویی را گزارش کردند (Mehrpooya et al., 2021; Ghasem Pirbalouti et al., 2019; Saharkhiz et al., 2014). پلی‌آمین‌ها یک گروه جدید از تنظیم‌کننده‌های رشد طبیعی گیاهی هستند که امروزه به عنوان هورمون‌های گیاهی شناخته می‌شوند و در بسیاری از فرآیندهای رشد و نمو نقش دارد. در واقع پلی‌آمین‌ها، مولکول‌هایی با وزن مولکولی کم می‌باشند که در طیف گسترده‌ای از فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند جنین‌زایی، تقسیم

سیگما) دو مرتبه صورت گرفت. محلول پاشی اول در مرحله رشد رویشی (اوایل تیر ماه، در مرحله ۸ برگگی) و محلول پاشی دوم یک هفته پس از محلول پاشی اول انجام شد. برای افزایش سطح تماس و اطمینان از نفوذ محلول‌ها به برگ‌های نعناع فلفلی از محلول تووین ۲۰ درصد استفاده گردید. برداشت گیاه پس از حذف اثر حاشیه گیاهان کاشته شده در مرحله گلدهی کامل با دست صورت گرفت. گیاهان برداشت شده چند روز در شرایط سایه و در دمای اتاق (دمای تقریبی ۲۵ درجه سانتی‌گراد) پهن شدند و پس از خشک شدن توزین گردیدند.

### استخراج و شناسایی ترکیبات اسانس

استخراج اسانس با روش تقطیر با آب و توسط دستگاه کلونجر انجام شد. به این منظور پس از آسیاب کردن نمونه‌های گیاهی، حدود ۳۰ گرم از نمونه گیاهی در کلونجر و به مدت ۳ ساعت حرارت داده شد. اسانس بدست آمده توسط سولفات سدیم آبیگری گردید و اسانس استخراج شده تا زمان آنالیز در شیشه‌های مخصوص نگهداری و جهت جلوگیری از نفوذ نور به دور آن‌ها فویل پیچیده شده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بازده اسانس نمونه‌ها بر اساس وزن خشک ماده گیاهی محاسبه گردید. عملکرد اسانس از حاصلضرب عملکرد گیاه (گرم در متر مربع) در بازده اسانس بدست آمد.

شناسایی و اندازه‌گیری ترکیب‌های اسانس توسط دستگاه‌های GC و GC/MS در آزمایشگاه خدماتی دانشکده شیمی دانشگاه تبریز انجام شد. بدین ترتیب که برای آنالیز کروماتوگرافی گازی اسانس از گاز کروماتوگراف گازی واریان مدل ۶۸۹۰ N Agilent مجهز به ستون از نوع HP-5MS 5متر به طول ۳۰متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ساکن ۰/۲۵ میکرومتر و طیف سنج جرمی Agilent 5973 N استفاده شد. دمای آون به مدت ۱ دقیقه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما نگه‌داشته شد. دمای تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود و از گاز هلیوم با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه به عنوان حامل استفاده شد. شناسایی ترکیبات با مقایسه جرم آن با طیف‌های جرم مرجع داخلی (Adams and Wiley 7.0) یا با ترکیب معتبر انجام شد و با

سلولی، توسعه و گسترش برگ‌ها و تنش‌ها دخیل هستند (Pedraza et al., 2007). تاثیر تحریک کننده پوتریسین بر افزایش محتوا و ترکیبات اسانس گیاهان دارویی بابونه (Mahgoub et al., 2011)، ریحان (Talaat and Balbaa, 2010) و مرزه تابستانه (Faraji et al., 2015) گزارش شده است.

بنابراین برای تولید اقتصادی متابولیت‌های ثانویه از اسانس، استفاده بهینه از محرک‌های زیستی در گیاهان دارویی ضروری به نظر می‌رسد. به دلیل کاربرد فراوان اسانس نعناع فلفلی در انواع صنایع آرایشی، بهداشتی و دارویی، توسعه یک روش بهینه برای به دست آوردن مواد گیاهی استاندارد با پارامترهای کیفی خاص مهم است. بنابراین، هدف از این مطالعه انتخاب غلظت‌های مناسب محلول پاشی اسیدسالیسیلیک و پوتریسین برای افزایش تولید ترکیبات اصلی اسانس نعناع فلفلی و بررسی میزان عملکرد و تغییرات اجزای اسانس بود.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار (شامل محلول پاشی برگگی با سالیسیلیک اسید در دو سطح ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار بر لیتر و پوتریسین در دو سطح ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار و شاهد) و سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۴۰۰ انجام شد. مشخصات فیزیکوشیمیایی خاک محل آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.

نشا‌های نعناع فلفلی از جهاد کشاورزی استان آذربایجان تهیه شد. کرت‌هایی با ابعاد ۱/۵ در ۲/۱۰ متر با فاصله یک متر از یکدیگر تهیه و نشاها به روش جوی پشته داخل کرت‌ها به صورت دستی در اوایل اردیبهشت ماه کاشته شدند. فاصله بین ردیف و روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر (۳۰×۳۰) در نظر گرفته شد. آبیاری بلافاصله پس از کاشت انجام شد و آبیاری‌های بعدی در طول رویش با توجه به شرایط آب‌وهوایی و نیاز گیاه صورت گرفت. کنترل علف‌های هرز به روش وجین دستی انجام شد. محلول پاشی برگگی الیستیورهای اسیدسالیسیلیک (تهیه شده از شرکت مرک) و پوتریسین (تهیه شده از شرکت

ترتیب ۲۶/۱۴ و ۲۳/۲۱ درصد اسانس را تشکیل دادند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک‌اسید و پوترین بر ترکیبات منتول، منتول و ال-منتول در سطح احتمال یک درصد و ترکیبات  $\alpha$ -پینن، پولگون و منتیل استات در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲)، در حالیکه بر روی ترکیبات ۸،۱-سینول، پیریتون، ترانس کاریوفیلین و ژرماکریل دی، ساینین،  $\beta$ ۲-پینن، ترانس ساینین هیدرات، سیس بتا ترینثول،  $\alpha$ -ترپینولن، Cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene، بتا بوربونن، نئو ایزو منتول، نئو منتول، ترانس بتا فارنسن، Bicyclogermacrene و اکسید کاریوفیلین اثر معنی‌دار نداشت.

نتایج تجزیه واریانس بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بین تیمارهای مختلف از لحاظ منتول است. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان منتول از ۲۳/۵۱ تا ۲۹/۰۹ درصد در بین تیمارهای مختلف متغیر بود. مقدار منتول بصورت وابسته به غلظت افزایش یافت بطوریکه بیشترین مقدار آن در سالیسیلیک‌اسید ۱ میلی‌مولار (۲۹/۰۹ درصد) و پوترین ۱ میلی‌مولار (۲۸/۸۹ درصد) بدست آمد که تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند. در حالیکه کمترین میزان (۲۳/۵۱ درصد) متعلق به شاهد بود (جدول ۳).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که منتول در تیمار با سالیسیلیک‌اسید و پوترین نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری پیدا کرد (جدول ۳) به طوریکه بیشترین میزان منتول (۲۷/۵۸ درصد) متعلق به تیمار محلول پاشی با سالیسیلیک‌اسید ۱ میلی‌مولار بود و کمترین آن (۲۰/۲۲ درصد) نیز مربوط به شاهد بود (جدول ۳). بنا بر نتایج، با افزایش غلظت سالیسیلیک‌اسید میزان منتول از ۲۰/۲۲ درصد در شاهد به ترتیب به ۲۷/۵۸ و ۲۵/۲۷ درصد به ترتیب در غلظت‌های ۰/۱، ۱ میلی‌مولار افزایش یافت. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش غلظت پوترین از ۰/۱ به ۱ میلی‌مولار، میزان منتول از ۲۰/۲۵ به ۲۲/۷۸ درصد افزایش یافت (جدول ۳).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میزان ال-منتول از ۴/۵۷ تا ۶/۷۳ درصد متغیر بود. بیشترین میزان آن در تیمار با سالیسیلیک‌اسید ۱ میلی‌مولار حاصل شد. اثرات

مقایسه شاخص‌های نگهداری آن (RI) با ترکیب معتبر یا با موارد گزارش شده در منابع تأیید شد (Adams, 2007).

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از برنامه آماری SAS 9.1 انجام شد و میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. همبستگی پیرسون با نرم افزار R 4.0.0 محاسبه و ترسیم شد.

### نتایج

#### عملکرد اسانس

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که عملکرد تر و خشک نعنای فلفلی به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر اسید سالیسیلیک و پوترین قرار گرفت ( $P < 0.01$ ). افزایش غلظت پوترین و اسید سالیسیلیک باعث افزایش عملکرد تر و خشک شد و بیشترین و کمترین میزان عملکرد تر و خشک به ترتیب در غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و شاهد مشاهده شد (شکل ۱). عملکرد اسانس نعنای فلفلی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اسید سالیسیلیک و پوترین قرار گرفت ( $P < 0.01$ ). با این حال اثر متقابل پوترین و اسید سالیسیلیک بر این صفت غیر معنی‌دار بود. افزایش غلظت اسید سالیسیلیک به بهبود عملکرد اسانس شاخساره انجامید. بیشترین عملکرد اسانس در واحد سطح (با میانگین  $1/85 \text{ g/m}^2$ ) با کاربرد یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به دست آمد. کمترین میزان هم به تیمار شاهد (با میانگین  $1/31 \text{ g/m}^2$ ) مربوط بود (شکل ۲).

#### ترکیبات اسانس

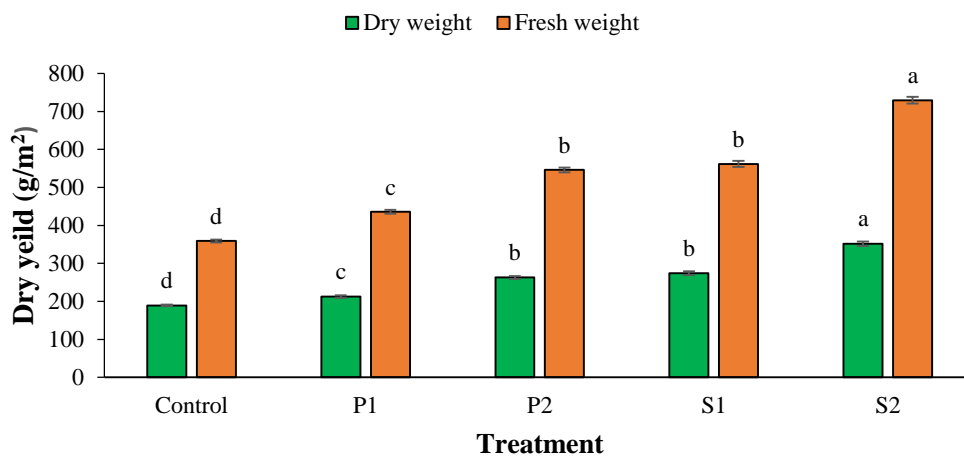
اسانس پیکره رویشی نعنای فلفلی با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل شده به طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) آنالیز و کمی سازی شد. اثرات محلول پاشی سالیسیلیک‌اسید و پوترین بر اجزای اسانس پیکره رویشی گیاه در جداول ۲ و ۳ نشان داده شده است. نتایج GC-MS نشان داد که در مجموع ۲۴ ترکیب در اسانس پیکره رویشی نعنای فلفلی تحت تیمار سالیسیلیک‌اسید و پوترین شناسایی شد. اجزای ترکیبات اسانس در جدول ۳ ارائه شده است. براساس نتایج، ترکیبات عمده اسانس شامل؛ منتول، منتول، ال-منتول و ۸،۱-سینول بود. در این مطالعه، منتول و منتول به

میلی مولار (۳/۰۴ درصد) بدست آمد. با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک، در میزان پولگون روند کاهشی مشاهده شد (جدول ۳).

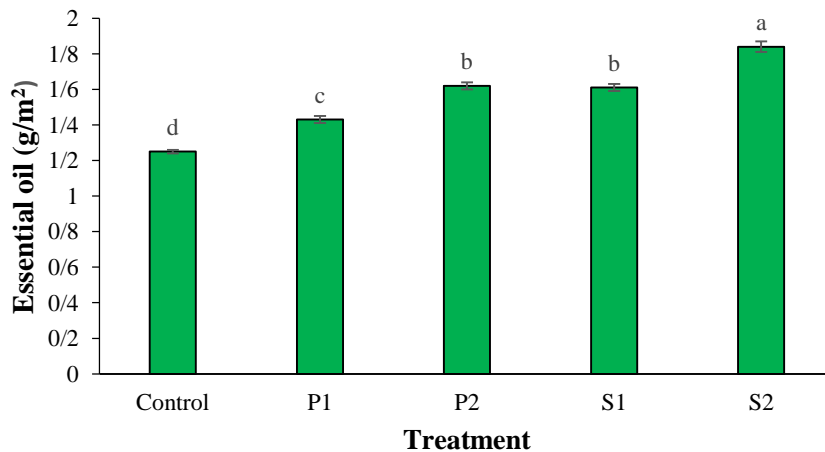
غلظت‌های مختلف پوتریسین تاثیر معنی داری در افزایش ال-منتول نسبت به شاهد نداشت (جدول ۳). نتایج نشان داد که تیمار با سالیسیلیک اسید موجب کاهش میزان پولگون در اساس نسبت به شاهد شد. کمترین میزان پولگون در تیمار پوتریسین ۰/۱ میلی مولار (۲/۷۹ درصد) و سالیسیلیک اسید ۱

**Table 1. Physical and chemical characteristics of field soil**

Silt (%)	Clay (%)	Sand (%)	N (mg/kg)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Organic Carbon (%)	Saturated paste extract pH	EC (dS/m)	Saturation (%)
6	18	76	0.5	36	480	1.2	7.8	2.33	37



**Figure 1. The effect of different concentrations of putrescine (P1=0.1 mM, P2=1mM) and salicylic acid (S1=0.1 mM, S2=1 mM) on fresh and dry yield of peppermint**



**Figure 2. The effect of different concentrations of putrescine (P1=0.1 mM, P2=1mM) and salicylic acid (S1=0.1 mM, S2=1 mM) on essential oil yield of peppermint**

علیزاده سالطه و همکاران: تاثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید...

**Table 2. Analysis of variance for the effect of salicylic acid and putrescine foliar application on essential oil components (%) in *M. piperita***

Source of variation (S.O.V)	df	Mean of Squares							
		$\alpha$ -Pinene	Sabinene	2 $\beta$ -Pinene	1,8-Cineole	Trans-Sabinene hydrate	Cis beta Terpineol	Terpinolene - $\alpha$	Menthone
Treatment	4	0.342	0.543	0.827	2.53	0.495	0.731	0.271	6.83**
Block	2	0.147	0.251	0.391	1.413	0.126	0.236	0.085	4.808
Error	8	0.053	0.045	0.034	0.205	0.072	0.061	0.021	0.324
C.V. (%)		8.39	4.83	9.42	10.64	6.12	4.29	6.34	5.93

Source of variation (S.O.V)	df	Mean of Squares							
		Menthofuran	L-Menthol	Menthol	Cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene	Pulegone	Piperitone	Menthyl acetate	$\beta$ -Bourbonene
Treatment	4	2.61	4.39	8.17**	0.391	3.85**	1.77	2.89**	0.484
Block	2	1.319	2.739	4.173	0.109	2.571	0.146	1.718	0.107
Error	8	0.134	0.331	0.512	0.012	0.183	0.010	0.291	0.019
C.V. (%)		15.43	10.32	4.63	9.51	5.51	8.31	3.62	4.52

Source of variation (S.O.V)	df	Mean of Squares							
		Neo iso Menthol	Trans Caryophyllene	Neo Menthol	Trans-beta-Farnesene	Germacrene D	Bicyclogermacrene	Caryophyllene oxide	Veridiflorol
Treatment	4	0.173	0.152	0.108	0.261	0.872	0.319	0.734	0.281
Block	2	0.083	0.083	0.043	0.183	0.632	0.239	0.631	0.183
Error	8	0.071	0.063	0.028	0.031	0.042	0.032	0.054	0.015
C.V. (%)		9.44	5.83	11.53	3.85	7.93	14.38	8.93	4.02

\*\* Significantly different at the 1 % probability level



**Table 3. Mean comparison for effects of salicylic acid and putrescine on essential oil components (%) in *M. piperita***

N o.	Retention index	Retenti on time	Compounds (%)	Treatment				
				Control	P-0.1	P-1	SA-01	SA-1
1	939	7.28	$\alpha$ -Pinene	1.06 <sup>a</sup>	0.75 <sup>b</sup>	1.02 <sup>a</sup>	1.04 <sup>a</sup>	0.91 <sup>ab</sup>
2	975	8.53	Sabinene	0.83 <sup>a</sup>	0.67 <sup>a</sup>	0.92 <sup>a</sup>	0.82 <sup>a</sup>	0.57 <sup>a</sup>
3	979	8.74	2 $\beta$ -Pinene	1.49 <sup>a</sup>	1.19 <sup>a</sup>	1.24 <sup>a</sup>	1.50 <sup>a</sup>	1.39 <sup>a</sup>
4	1033	10.97	1,8-Cineole	7.49 <sup>a</sup>	7.26 <sup>a</sup>	7.29 <sup>a</sup>	7.49 <sup>a</sup>	6.51 <sup>a</sup>
5	1070	12.59	Trans-Sabinene hydrate	1.74 <sup>a</sup>	1.63 <sup>a</sup>	1.27 <sup>a</sup>	1.10 <sup>a</sup>	1.06 <sup>a</sup>
6	1142	13.29	Cis beta Terpineol	1.30 <sup>a</sup>	1.48 <sup>a</sup>	1.07 <sup>a</sup>	1.75 <sup>a</sup>	1.98 <sup>a</sup>
7	1198	14.53	$\alpha$ -Terpinolene	0.47 <sup>a</sup>	0.51 <sup>a</sup>	0.57 <sup>a</sup>	0.63 <sup>a</sup>	0.58 <sup>a</sup>
8	1152	16.75	Menthone	23.51 <sup>c</sup>	24.94 <sup>b</sup>	28.89 <sup>a</sup>	24.25 <sup>b</sup>	29.09 <sup>a</sup>
9	1164	17.03	Menthofuran	1.27 <sup>a</sup>	1.23 <sup>a</sup>	1.44 <sup>a</sup>	1.45 <sup>a</sup>	1.49 <sup>a</sup>
10	1167	17.17	L-Menthol	4.57 <sup>d</sup>	4.74 <sup>c</sup>	4.95 <sup>bc</sup>	5.23 <sup>b</sup>	6.73 <sup>a</sup>
11	1171	18.32	Menthol	20.22 <sup>d</sup>	20.25 <sup>d</sup>	22.78 <sup>c</sup>	25.27 <sup>b</sup>	27.58 <sup>a</sup>
12	1183	19.43	Cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene	1.56 <sup>a</sup>	-	1.41 <sup>a</sup>	1.84 <sup>a</sup>	1.71 <sup>a</sup>
13	1209	20.02	Pulegone	5.45 <sup>a</sup>	4.79 <sup>b</sup>	5.10 <sup>b</sup>	5.28 <sup>a</sup>	2.04 <sup>c</sup>
14	1264	20.94	Piperitone	2.37 <sup>a</sup>	2.00 <sup>a</sup>	2.55 <sup>a</sup>	2.45 <sup>a</sup>	2.00 <sup>a</sup>
15	1295	22.53	Menthyl acetate	3.56 <sup>c</sup>	4.16 <sup>c</sup>	4.79 <sup>a</sup>	4.52 <sup>b</sup>	4.60 <sup>a</sup>
16	1318	26.27	$\beta$ -Bourbonene	0.97 <sup>a</sup>	0.58 <sup>a</sup>	0.95 <sup>a</sup>	0.94 <sup>a</sup>	1.01 <sup>a</sup>
17	1327	26.49	Neo iso Menthol	0.16 <sup>a</sup>	0.23 <sup>a</sup>	0.20 <sup>a</sup>	-	0.26 <sup>a</sup>
18	1342	27.65	Trans Caryophyllene	6.51 <sup>a</sup>	6.13 <sup>a</sup>	4.54 <sup>b</sup>	4.07 <sup>b</sup>	2.62 <sup>c</sup>
19	1354	28.06	Neo Menthol	0.84 <sup>a</sup>	0.75 <sup>a</sup>	0.53 <sup>a</sup>	0.59 <sup>a</sup>	0.61 <sup>a</sup>
20	1361	28.52	Trans-.beta.-Farnesene	1.12 <sup>a</sup>	0.89 <sup>a</sup>	1.11 <sup>a</sup>	0.98 <sup>a</sup>	1.13 <sup>a</sup>
21	1388	29.07	Germacrene D	4.68 <sup>a</sup>	4.58 <sup>a</sup>	4.63 <sup>a</sup>	4.48 <sup>a</sup>	3.80 <sup>a</sup>
22	1405	29.33	Bicyclogermacrene	0.90 <sup>a</sup>	0.71 <sup>a</sup>	0.80 <sup>a</sup>	0.81 <sup>a</sup>	0.85 <sup>a</sup>
23	1418	30.70	Caryophyllene oxide	0.24 <sup>a</sup>	0.19 <sup>a</sup>	0.29 <sup>a</sup>	0.18 <sup>a</sup>	0.26 <sup>a</sup>
24	1458	30.86	Veridiflorol	1.42 <sup>a</sup>	1.26 <sup>a</sup>	1.39 <sup>a</sup>	1.34 <sup>a</sup>	1.28 <sup>a</sup>
			Total	93.73	90.92	99.73	98.01	99.86

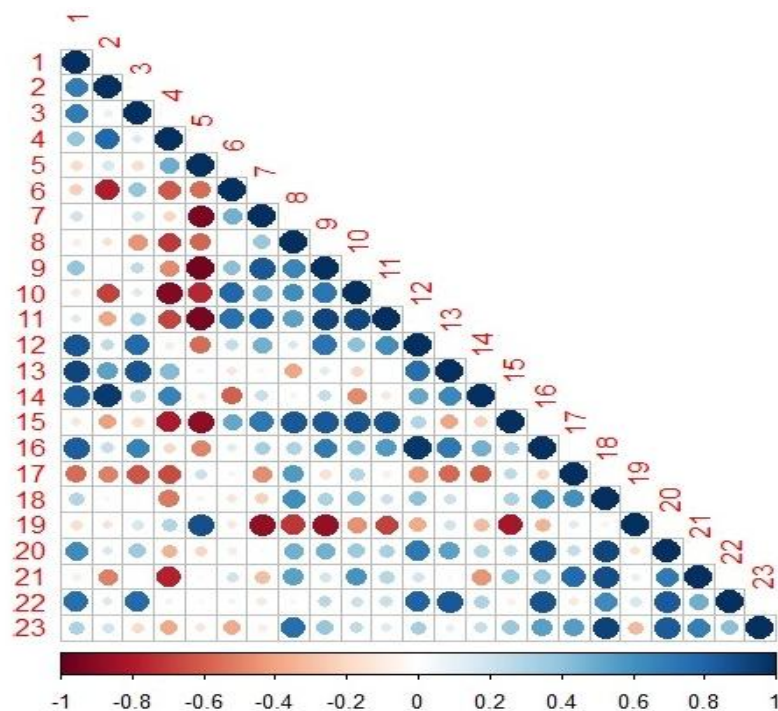
Means followed by similar letter (s) in each row are not significantly different by Duncan's multiple range test at  $P < 0.01$ .

P: Putrescine (mM). SA: Salicylic acid (mM).

همبستگی منفی و معنی داری داشت. همچنین همبستگی مثبت و معنی داری بین آلفا-پینن با cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene، پولگون، پیپریتون، بتا-بوربونن و بی سیکلوژرماکرن در سطح احتمال پنج درصد مشاهده شد. ۸۱-سینئول با ال منتول و متیل استات در سطح یک درصد و با ژرماکرن دی و منتول در سطح ۵ درصد دارای همبستگی منفی و معنی داری بود.

### ضرایب همبستگی ترکیبات اسانس

ضریب همبستگی پیرسون برای نشان دادن رابطه بین اجزای ترکیبات اسانس نعناع فلفلی توسط نرم افزار R4.0.4 انجام شد (شکل ۲). منتون با متیل استات، کاریوفیلن اکسید و منتوفوران دارای همبستگی مثبت و معنی دار در سطح یک درصد و با نئومنتول دارای همبستگی منفی و معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می باشد. منتول با متیل استات در سطح یک درصد دارای همبستگی مثبت و معنی داری بود، ولی با نئومنتول و ۸۱-سینئول در سطح پنج درصد



**Figure 2. Pearson's correlation coefficients between some essential oil components in peppermint under salicylic acid and putrescine foliar application (The combination number is presented in Table 3)**

اسانس نعنا فلفلی تحت شرایط مختلف ژنتیکی، محیطی، نموی و زراعی از جمله عملیات به زراعی مانند استفاده از الیستورهای مختلف قرار می گیرد (Rios-Esteva *et al.*, 2010). بر اساس تحقیقات انجام شده عملکرد نعنای فلفلی و ترکیبات تشکیل دهنده آن در این مطالعه، ترکیبات اسانس شناسایی شده اندام هوایی نعنای فلفلی در جدول ۲ ارائه شده است. اثرات انگیزش اسیدسالیسیلیک و پوتریسن بررسی و ۲۴ ترکیب در اسانس نعنای فلفلی با استفاده از GC-MS شناسایی شد که منتون و منتول ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس بودند که به ترتیب ۲۶/۱۴ و ۲۳/۲۱ درصد از اجزای تشکیل دهنده اسانس را تشکیل دادند. نتایج این مطالعه و سایر بررسی های مشابه نشان می دهد که ترکیبات منتون و منتول از اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس نعنای فلفلی می باشند (Ahmadi *et al.*, 2018; Taherpour *et al.*, 2017; Golparvar and Hadipanah, 2013; Kamatou *et al.*, 2013). بر اساس نتایج آنالیز اسانس اندام هوایی نعنای فلفلی کشت شده که با روش تقطیر با آب بدست آمده بود، اجزای اصلی اسانس را منتول (۴۵/۳۴ درصد)، منتون (۱۶/۰۴ درصد) و

### بحث

کیفیت گیاهان مورد استفاده برای تولید ترکیبات دارویی معمولاً با محتوای متابولیت ثانویه ارزیابی می شود (Kuzel *et al.*, 2009). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کاربرد اسید سالیسیلیک موجب افزایش عملکرد بیوماس و اسانس در نعنای فلفلی شد. اسید سالیسیلیک در برخی از گیاهان دارویی در اثر افزایش رشد رویشی، جذب مواد غذایی بیشتر توسط ریشه ها به دلیل افزایش فعالیت های فتوسنتزی گیاه و هم چنین تغییر در جمعیت غده های تولید کننده اسانس در برگ ها سبب افزایش عملکرد ماده خشک و میزان اسانس شده است (Figurea *et al.*, 2014). بر اساس تحقیقات انجام شده ۳۰ تا ۷۰ درصد ترکیبات اسانس نعنای فلفلی را منتول و استرهای آن تشکیل می دهد، از جمله در تحقیقی که انجام شده، منتول (۲۹ درصد)، منتون (۲۰ تا ۳۰ درصد) و متیل استات (۱-۳ درصد) ترکیبات اسانس این گیاه را شامل می شود (Murray, 1995). منتول همراه با منتون و ایزومنتون و دیگر ترکیبات مسئول ایجاد طعم و عطر خنکی در نعنا محسوب می شود. عملکرد

طریق تأثیر بر بیان برخی ژن‌های خاص در مسیر بیوسنتز این متابولیت‌ها تحریک کند و بنابراین با توجه به این که قسمت زیادی از اسانس نعناعیان از ترکیبات ترپنوئیدی و فلاونوئیدی تشکیل شده است، کاربرد این هورمون می‌تواند غلظت اسانس در یک بافت گیاهی را افزایش دهد (Tounekti et al., 2013). از طرفی همین مورد در مورد ترکیب پلی آمینی پوتریسین نیز به اثبات رسیده است. برای مثال به عنوان مثال، یک مطالعه بر روی *Salvia officinalis* L نشان داد که کاربرد پوتریسین منجر به افزایش محتوای مونوترپن‌هایی مانند ۱،۸-سینئول، کامفور و توجون می‌شود که همگی از گروه ترپنوئیدها هستند (Mohammadi-Cheraghbabadi et al., 2021). همچنین تیمار اسیدسالیسیلیک و پوتریسین سبب تغییر در ترکیبات تشکیل دهنده اسانس و درصد آن‌ها شد. نتایج آزمایش ما نشان داد که ترکیبات اسانس اندام هوایی نعناع فلفلی را می‌توان به‌طور قابل توجهی توسط محرک زنده اسیدسالیسیلیک و محرک غیر زنده پوتریسین تحریک کرد. به طوریکه کمترین میزان تولید اجزای اصلی اسانس در گیاهان شاهد حاصل شد که از آب مقطر برای محلول پاشی استفاده شد. در مطالعه حاضر با افزایش غلظت اسیدسالیسیلیک، میزان منتون، منتول، ال منتول و متیل استات افزایش یافت و بیشترین درصد این اجزا در گیاهان تیمار شده با اسیدسالیسیلیک ۱ میلی مولار به دست آمد. گزارشات متعددی اثرات مثبت کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک بر تولید بسیاری از ترکیبات فعال زیستی در گیاهان دارویی را گزارش کرده‌اند (Ghasemi Pirbalouti et al., 2019; Ahmadi et al., 2018; Saharkhiz and Goudarzi, 2014; Kuzel et al., 2009). به طور مشابه، محلول پاشی اسیدسالیسیلیک (۱۰ میلی مولار) و ایندول استیک اسید (۱/۵ میلی گرم بر لیتر) موجب افزایش اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس اندام هوایی نعناع فلفلی و بادرنجوبیه شد (Ahmadi et al., 2018). در آزمایش دیگری، مشخص شد که محلول پاشی گیاهان بادرنجوبیه با اسیدسالیسیلیک به‌طور قابل توجهی متابولیت‌های ثانویه مونوترپن اکسیژن‌دار و سسکوی‌ترین‌ها

منتوفوران (۸/۹۱ درصد) تشکیل داد (Taherpour et al., 2017). در مطالعه‌ای دیگر تحت تاثیر تیمارهای اسیدسالیسیلیک ۲۸ ترکیب در اسانس اندام‌هوایی نعناع فلفلی شناسایی شد که ترکیبات اصلی آن به ترتیب منتول، منتون و ایزومنتون بودند که ۷۰ درصد از اسانس را تشکیل دادند (Ahmadi et al., 2018). در پژوهشی دیگر در طی بررسی و آنالیز اسانس نعناع فلفلی ۲۸ ترکیب اصلی در اسانس شناسایی گردید و ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس شامل منتون (۱۳/۸۹ درصد)، منتول (۱۲/۳۷ درصد) بتا پینن (۷/۶۲ درصد) و پولگون (۶/۴۱ درصد) بود (Golparvar and Hadipanah, 2013). نتایج یک بررسی نشان داد که اجزای اصلی اسانس منتون، منتول، منتوفوران، پولگون، ۱،۸-سینئول و متیل استات می‌باشد (Soltani et al., 2009). در آزمایش دیگری، مشخص شد که ترکیبات اصلی شناسایی شده شامل ایزومنتون (۲۷/۴ درصد) منتول (۲۴/۳ درصد)، منتون (۹/۲ درصد)، لیمونن (۵/۸ درصد)، ۱،۸-سینئول (۵/۶ درصد)، منتوفوران (۴/۴ درصد) و ایزومنتول (۳/۲ درصد) بودند (Kamatou et al., 2013). علاوه بر این، نتایج یک تحقیق نشان داد که در مجموع ۳۳ ترکیب در نمونه‌های اسانس نعناع فلفلی تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک شناسایی شد که عمده‌ترین ترکیبات آن شامل منتون (۱۵/۸-۱۸/۱ درصد)، منتول (۴۶/۳-۴۷/۴ درصد)، متیل استات (۸/۵-۹/۷ درصد) و ۱،۸-سینئول (۴/۳-۴/۶ درصد) بود (Saharkhiz and Goudarzi, 2014). بطور کلی مشاهدات نشان داده که منتول و منتون جزء اصلی اسانس نعناع فلفلی بودند. مقایسه نتایج ما با گزارش‌های قبلی، تفاوت‌هایی را در کمیت و کیفیت اجزای اسانس گیاهان نشان می‌دهد. تنوع فیتوشیمیایی اسانس‌های نعناع فلفلی ممکن است به دلیل شرایط آب‌وهوایی و جغرافیایی، شیوه‌های زراعی، زمان برداشت و روش خشک کردن و همچنین روش استخراج اسانس باشد (Mahendran and Rahman, 2020). شواهد نشان می‌دهد که اسیدسالیسیلیک می‌تواند بیوسنتز ترپنوئیدها و فلاونوئیدها را از

### نتیجه گیری

کمیت و کیفیت اسانس نعنای فلفلی تحت تاثیر محلول پاشی غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک و پوتریسین قرار گرفت. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از تیمار اسیدسالیسیلیک ۱ میلی مولار بیشترین تاثیر را در افزایش اسانس و ترکیبات اصلی اسانس در نعنای فلفلی داشت. بالاترین ترکیبات موجود در اسانس نعنای فلفلی منتون، منتول و ۸،۱-سینئول بودند. با توجه به تاثیرات استفاده از الیسیتورهای نظیر پلی آمین‌ها بر افزایش میزان اسانس، و از سویی دیگر با توجه به ارزش بالای اقتصادی و کاربرد بیش از پیش و وسیع اسانس نعنای فلفلی در صنایع مختلف داروسازی و بویژه صنایع غذایی، نتایج این پژوهش می‌تواند برای کاربرد در کشاورزی مدرن جهت افزایش کیفیت اسانس نعنای فلفلی مفید باشد.

### سپاس‌گزاری

بدین وسیله از همکاری‌های جناب آقای دکتر محمد عدلی پور و پرسنل زحمت کش ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان تشکر می‌نمایم.

را افزایش می‌دهد (Ghasemi Pirbalouti *et al.*, 2019). نتایج تجزیه و تحلیل GC-MS اسانس اندام‌های هوایی نعنای فلفلی نشان داد که پوتریسین میزان برخی از ترکیبات اصلی را به طور قابل توجهی تغییر می‌دهد. در مطالعه حاضر، نتایج نشان داد که با افزایش غلظت پوتریسین از ۰/۱ به ۱ میلی مولار، میزان منتون، منتول، ال منتول و متیل استات افزایش یافت. تأثیر انگیزشی تیمار پوتریسین بر متابولیت‌های ثانویه بر روی گیاهان *Ocimum basilicum* (Talaat and Balbaa, 2010) L. و *Nepta cataria* (Young *et al.*, 2010) L. گزارش شده است. اکثر محرک‌های زیستی توسط گیرنده‌های خاص متصل به غشای سلولی شناسایی می‌شوند. این محرک‌ها سپس توسط یک سیستم انتقال سیگنال به سلول منتقل می‌شوند و تغییراتی را ایجاد می‌کنند که در نهایت منجر به تشکیل فیتوالکسین‌ها می‌شود (Baenas *et al.*, 2014). براساس نتایج محرک‌های مختلف می‌تواند تأثیرات متمایزی بر تجمع ترکیبات فیتوشیمیایی در نعنای فلفلی داشته باشند که نشان دهنده حساسیت بیوسنتز ترکیبات فعال بیولوژیکی نسبت به محرک‌های مختلف مورد استفاده در نعنای فلفلی است.

### References

- Abbasi, B., Saxena, P., Murch, S. & Liu, C. (2007). *Echinacea* biotechnology: challenges and opportunities. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 43: 481-492.
- Adams, R.P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Carol Stream, IL: Allured Publishing Corporation, pp: 456.
- Ahmadi, S., Yadegari, M. & Hamedi, B. (2018). Foliar application effects of salicylic acid and indole acetic acid on the essential oil composition of *Mentha piperita* L. and *Melissa officinalis* L. *Journal of Plant Process and Function*. 7(26): 251-262.
- Baenas, N., Garcia-Viguera, C. & Moreno, D.A. (2014). Elicitation: A tool for enriching the bioactive composition of foods. *Molecules*, 14(9): 13451-3563.
- Brahmi, F., Khodir, M., Mohamed, C. & Pierre, D. (2017). Chemical Composition and Biological Activities of *Mentha* species. In: El -Shemy HA. *Aromatic and Medicinal Plants-Back to Nature*. Rijeka: IntechOpen, 47-80.
- Edris, AE. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research*, 21 (4): 308-323.

- Faraji, A., Esmailpoor, B., Sefidkon, F., Abaszadeh, B. & Khavazy, K. (2015). Effect of salicylic acid and putrescine on growth and essential oil compounds of summer savory (*Satureja hortensis* L.). *Iranian journal of medicinal and aromatic plants*, 31(4): 709-722.
- Figurera, P., Marely, G., Rocha, N.E. & Reynosa, R. (2014). Effect of chemical elicitors on peppermint (*Mentha piperita*) plants and their impact on the metabolite profile and antioxidant capacity of resulting infusion. *Food Chemistry* 156: 273-278.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Nekoei, M., Rahimmalek, M. & Malekpoor, F. (2019). Chemical composition and yield of essential oil from lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under foliar applications of jasmonic and salicylic acids. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 19: 101-144.
- Golparvar, A.R. & Hadipanah, A. (2013). Chemical compositions of the essential oil from peppermint (*Mentha piperita* L.) cultivated in Isfahan conditions. *Journal of Herbal Medicine*, 4(2): 75-80.
- Gorelick, J. & Bernstein, N. 2017. Chemical and physical elicitation for enhanced cannabinoid production in cannabis (*Cannabis sativa* L.). Botany and Biotechnology, Chandra S, Lata H and ElSohly MA. Eds.; Springer International Publishing: Cham. Switzerland, pp: 439 - 456.
- Goudarzi, F. & Kalvandi, R. (2018). Comparison of the effect of mint extract and chlorpropham on preventing potato sprouting in the storage. *Plant Productions*, 41(3): 51-62. (In Persian)
- Isah, T., Umar, S., Mujib, A., Sharma, M., Rajasekharan, P., Zafar, N. & Frukh, A. (2018). Secondary metabolism of pharmaceuticals in the plant in vitro cultures: strategies, approaches, and limitations to achieving higher yield. *Plant Cell, Tissue Organ Culture*, 132 (2): 239-265.
- Kamatou, G., Vermaak, I., Viljoen, A. & Lawrence, B. (2013). Menthol: A simple monoterpene with remarkable biological properties. *Phytochemistry*, 96 (1): 15-25.
- Kuzel, S., Vydra, J., Triska, J., Vrchotova, N., Hruby, M. & Cigler, P. (2009). Elicitation of pharmacologically active substances in an intact medical plant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(3): 7907 -7911.
- Mahendran, G. & Rahman, L.U. (2020). Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on peppermint (*Mentha piperita* L.) A review. *Phytotherapy Research*, 32(1):1 - 52.
- Mahgoub, M.H., Abd El Aziz, N.G. & Mazhar, A.M.A. (2011). Response of *Dahlia pinnata* L. plant to foliar spray with putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*, 10(5): 769-775.
- Mehrpooya, Zh., Abdoli, M. & Talebian, M.A. (2021). Effect of salicylic acid and yeast extract on caffeic acid derivatives production in *Echinacea purpurea* L. *Journal of Medicinal Plants*, 20 (78): 36-47.
- Mohammadi-Cheraghabadi, M., Modarres-Sanavy, S. A. M., Sefidkon, F., Rashidi-Monfared, S., & Mokhtassi-Bidgoli, A. (2021). Improving water deficit tolerance of *Salvia officinalis* L. using putrescine. *Scientific Reports*, 11(1): 21997.
- Murray, M.T. (1995). The healing power of herbs: the enlightened person's guide to the wonders of medicinal plants. Rocklin, CA: Prima Pub: xiv, 410.
- Pedraza, R.O., Motok, J., Tortora, M.L., Salazar, S.M. & Díaz-Ricci, J.C. (2007). Natural occurrence of *Azospirillum brasilense* in strawberry plants. *Plant and Soil*, 295 (2): 169-178.
- Rios-Estepa, R., Lange, I., Lee, J.M. & Lange, B.M. (2010). Mathematical Modeling-Guided Evaluation of Biochemical, Developmental, Environmental, and Genotypic Determinants of Essential Oil Composition and Yield in Peppermint Leaves. *Plant Physiology*, 152: 2105 – 2119.
- Rita, P. & Animesh, D.K. (2011). An updated overview on peppermint (*Mentha piperita* L.). *International Research Journal of Pharmacy*, 2 (2): 1-10.

- Saharkhiz MJ & Goudarzi T. (2014). Foliar application of salicylic acid changes essential oil content and chemical compositions of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17 (3): 435 -440.
- Saharkhiz, M.J. & Goudarzi, T. 2014. Foliar application of salicylic acid changes essential oil content and chemical compositions of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 17(3): 435-440.
- Sahib, N., Anwar, F., Gilani, A.H., Hamid, A.A., Saari, N. & Alkharfy, K.M. (2013). Coriander (*Coriandrum sativum* L.): a potential source of high-value components for functional foods and nutraceuticals - a review. *Phytotherapy Research*, 27(10): 1439 -1456.
- Seif Sahandi, M., Naghdi-Badi, H., Mehrafarin, A., Khalighi-Sigaroodi, F. & Sharifi, M. (2019). Changes in essential oil content and composition of peppermint (*Mentha piperita* L.) in responses to nitrogen application. *Journal of Medicinal Plants*, 18(72): 81 -97.
- Soltani, F., Sharifi, M., Khajeh, K. & Yousefzadi, M. 2009. Study of essential oil composition, menthone reductase activity and antimicrobial activity of *Mentha piperita* in two stages of growth. *Iranian Journal of Biology*, 22 (1): 62-70. (In Persian).
- Taherpour, A.A., Khaef, S., Yari, A., Nikeafshar, S., Fathi, M. & Ghambari, S. (2017). Chemical composition analysis of the essential oil of *Mentha piperita* L. from Kermanshah, Iran by hydrodistillation and HS/SPME methods. *Journal of Analytical Science and Technology*, 8: 11-24.
- Talaat, I.M. & Balbaa, L.K. (2010). Physiological response of sweet basil plants (*Ocimum basilicum* L.) to putrescine and trans-cinnamic acid. *American Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*, 8(4): 438-445.
- Tounekti, T., Hernández, I. & Munné-Bosch, S., (2013). Salicylic acid biosynthesis and role in modulating terpenoid and flavonoid metabolism in plant responses to abiotic stress. *Salicylic Acid: Plant Growth and Development*, 88(2): 141-162.
- Young, K.Y., Sook, Y.L., Woo, T.P., Nam, I.P. & Sang, U.P. (2010). Exogenous auxins and polyamines enhance growth and rosmarinic acid production in hairy root cultures of *Nepeta cataria* L. *Plant Omics Journal*, 3(6): 190-193.