

اثر اسید سالیسیلیک و پوتریسین بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)

سمیه نجارزاده^۱، جابر پناهانده^{۲*}، سعیده علیزاده سالته^۳ و فریبرز زارع نهندی^۴
۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۸)

چکیده

نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. از خانواده Lamiaceae از جمله گیاهان دارویی و معطری است که اسانس آن در صنایع مختلف داروسازی استفاده می‌شود. به منظور ارزیابی برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و اسانس نعناع فلفلی آزمایشی به صورت فاکتوریل با استفاده از تیمارهای اسید سالیسیلیک (۰، ۰/۱، ۱ میلی‌مولار) و پوتریسین (۰، ۰/۱، ۱ میلی‌مولار) در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. همه صفات در دو چین ارزیابی شدند. نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که میانگین همه صفات (به جز نسبت سبزینه (کلروفیل) a/b، کاروتنوئید، آنتوسیانین و مواد جامد محلول) در چین اول به طور معنی‌داری بیشتر از چین دوم بودند. کاربرد غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک منجر به کاهش میزان سبزینه کل و a، کاروتنوئید و آنتوسیانین شد. همچنین تیمارهای ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک درصد اسانس شاخساره نعناع فلفلی را در مقایسه با مصرف نکردن آن، ۱۶/۰۲ و ۳۲/۹۱ درصد و نیز درصد اسانس برگ گیاه را نسبت به شاهد، ۲/۵۴ و ۲۹/۶۶ درصد افزایش داد. با افزایش مقادیر پوتریسین، عملکرد تر و خشک در واحد سطح، سبزینه a، سبزینه کل، کاروتنوئید و درصد اسانس برگ افزایش یافت. با به کارگیری ۱ میلی‌مولار پوتریسین میزان آنتوسیانین و درصد اسانس برگ در مقایسه با شاهد به ترتیب ۳۳/۹۱ و ۲۱/۳۶ درصد افزایش یافت. افزون بر آن اثر متقابل دو عامل مورد بررسی روی عملکرد تر در واحد سطح، سبزینه a و b، سبزینه کل، کاروتنوئید، آنتوسیانین، مواد جامد محلول و اثر متقابل سه عامل بر عملکرد خشک در واحد سطح، کاروتنوئید و مواد جامد محلول معنی‌دار بودند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، اسید سالیسیلیک، پلی‌آمین، تنظیم‌کننده‌های رشد، صفات رویشی، گیاه دارویی.

Effect of salicylic acid and putrescine on some physiological characters and essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.)

Somayeh Najjarzadeh¹, Jaber Panahandeh^{2*}, Saeedeh Alizadeh Salteh³ and Fariborz Zaare-Nahandi⁴

1, 2, 3. M.Sc. Student, Associate Professor and Assistant Professor, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
(Received: Feb. 4, 2015 - Accept: Jun. 29, 2015)

ABSTRACT

Peppermint (*Mentha piperita* L.) is a medicinal and aromatic plant belonging to Lamiaceae family that its essential oil is used in different pharmaceutical industries. In order to study the effect salicylic acid and putrescine on some physiological characters and essential oil of peppermint, an experiment was conducted as a factorial using treatments of salicylic acid (0, 0.1, 1 mM) and putrescine (0, 0.1, 1 mM) in randomized complete block design with three replications. All traits were evaluated in two harvests. Results showed that all traits (except the ratio of chlorophyll a/b, carotenoid, anthocyanin and soluble solids) in the first harvest were significantly higher than the second harvest. Application of different concentrations of salicylic acid led to decrease the amount of chlorophyll a, total chlorophyll, carotenoid and anthocyanin. Also the treatments of 0.1 and 1 mM salicylic acid increased shoot essential oil percentage in comparison to no consumption 16.45% and 32.91% and leaf oil percentage in comparison to control 2.54% and 29.66%, respectively. With increasing the putrescine, yield per unit area, chlorophyll a, total chlorophyll, carotenoid and leaf essential oil percentage were increased. Applying of 1mM putrescine increased the amount of anthocyanin and leaf essential oil percentage in comparison to control 33.91% and 21.36%, respectively. In addition to, the interaction effect of two studied factors on fresh yield per unit area, chlorophyll a and b, total chlorophyll, carotenoid, anthocyanin, soluble solids and interaction effect of three factors on dry yield per unit, careatotal and soluble solids were significant.

Keywords: Essential oil, growth regulators, medicinal plant, polyamin, salicylic acid, vegetative traits.

مقدمه

گیاهان دارویی اصلی‌ترین منبع دارویی در جهان هستند. امروزه به دلیل روشن شدن عوارض جانبی داروهای شیمیایی، مصرف داروهای گیاهی در حال افزایش است. *Mentha piperita* L. حد واسط دو گونه قدیمی‌تر *Mentha spicata* و *Mentha aquatica* است، به‌طور عمده با نام peppermint نامیده می‌شود. ولی ممکن است با اسامی دیگری مانند Brandy mint، نعناع فرفری (curled mint) و Balm mint نیز خوانده شود (Grieve, 1974; Trease & Evans, 1983). رشد و تولید اسانس گیاهان دارویی می‌تواند تحت تأثیر استفاده از مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی قرار بگیرد. در طب سنتی از گیاه خشک‌شده نعناع فلفلی و اسانس آن برای کاهش اشتها، درمان سرماخوردگی، تهوع، سردرد، سرفه، تب، آماس روده بزرگ (Galeottia et al., 2002)، ضداسپاسم، ضدنفخ و همچنین در درمان التهاب ریه‌ها (Clark & Cameron, 2002; Sydney et al., 2010) استفاده می‌شود. اسانس این گیاه دارویی در زمینه‌های مختلف صنایع غذایی به‌عنوان طعم‌دهنده‌ها و یا افزودنی‌های غذایی، فرمولاسیون دارویی، خمیردندان و دیگر محصولات بهداشتی کاربرد دارند (Valmorbida & Boaro, 2007). بررسی‌های انجام‌شده در زمینه اثرگذاری بیولوژیک این گیاه گویای آن است که اسانس نعناع فلفلی نیز خاصیت ضد باکتری و قارچی (Behnam et al., 2006; Eteghad et al., 2009)، پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) (Seun-Ah et al., 2010)، ضد تومور و ضد حساسیتی (Kumar et al., 2004) دارد. اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنولیکی طبیعی، سالم و بی‌خطر است که به‌عنوان هورمون گیاهی نیز شناخته می‌شود و بر طیف گسترده‌ای از واکنش‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی در گیاهان مؤثر است (Raskin, 1992). این هورمون نقش مهمی در تنظیم و نمو گیاهی، نسخه‌برداری، عملکرد روزنه‌ها، محتوای سبزینه (کلروفیل)، جوانه‌زنی، میوه دهی، گلیکولیز، گلدهی، تقسیم سیتوپلاسم، تأثیر بر جذب مواد، جذب و انتقال یون‌ها، جلوگیری از جذب پتاسیم و فسفر، جلوگیری از ساخت (سنتز) اتیلن، افزایش

میزان رشد، نورساخت (فتوسنتز) و تولید گرما ایفا می‌کند (Horvath et al., 2007). همچنین اسید سالیسیلیک از راه اثر روی پلی‌آمین‌هایی مانند پوتریسین باعث افزایش پوتریسین درونی گیاه شده و با ایجاد کمپلکس‌های پایدار از غشا محافظت می‌کند (Qinghua & Zhujun, 2008). پاشش اسید سالیسیلیک روی بخش‌های هوایی گیاهان ریحان و مرزنجوش باعث افزایش ارتفاع، شمار (انشعابات، گره‌ها، برگ‌ها) در هر گیاه، وزن تر و خشک، پلی‌آمین‌ها (پوتریسین، اسپرمیدین)، قندها و همچنین درصد و عملکرد اسانس می‌شود (Gharib, 2006). تیمار ۰/۱ میلی‌مولار نسبت به غلظت‌های ۱ و ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و اسید سولفوسالیسیک بذره‌های فلفل بیشترین تأثیر را در افزایش ارتفاع دانه‌ها، شمار برگ، وزن تر و خشک داشته است (Mendoza et al., 2002). میزان سبزینه در پژوهشی که روی گندم (*Triticum aestivum*) و انبه (*Mangifera indica*) انجام شده با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک کاهش پیدا کرده، این در مورد کاروتنوئید برعکس بوده یعنی با افزایش غلظت آن میزان کاروتنوئید افزایش یافته است (Moharekar et al., 2003). همچنین نتایج محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک روی گیاهان گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای (*Lycopersicon esculentum*) در غلظت‌های (۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) نشان داده که میزان مواد جامد قابل‌حل در تیمارهای حاوی اسید سالیسیلیک، افزایش پیدا کرده است (Yildirim & Dursun, 2009). پلی‌آمین‌ها یک گروه جدید از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند که باعث تحریک رشد از راه افزایش زیست‌ساخت (بیوسنتز) آن‌ها در بافت‌های گیاهی می‌شوند (Arias et al., 2005). پلی‌آمین‌ها در ارتباط با جنین‌زایی، تشکیل ریشه، تشکیل دانه گرده و گل‌انگیزی، نمو زودتر میوه و واکنش در برابر تنش‌ها نقش دارند (Sood & Nagar, 2008). با افزایش غلظت پوتریسین (۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) ارتفاع، وزن تر و خشک، نیتروژن، فسفر، پتاسیم، شمار شاخه‌های جانبی، قندها، درصد و عملکرد اسانس در هر دو چین

گیاهی و همچنین تأثیر شایان توجه تنظیم‌کننده‌های رشد و نبود اطلاعات کافی در مورد اثر سینترژیستی این دو ترکیب بر نعنای فلفلی این آزمایش برای بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک و پوتریسین بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و اسانس در گیاه نعنای فلفلی انجام شد تا بهترین تیمار از این لحاظ تعیین شود.

مواد و روش‌ها

عملیات مزرعه‌ای این بررسی در ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان دانشگاه تبریز در سال ۱۳۹۱ با طول جغرافیایی ۴۷°/۲۸'، عرض جغرافیایی ۳۸°/۰۲' و ارتفاع ۱۵۶۷ متر از سطح دریا انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با نه تیمار شامل اسید سالیسیلیک و پوتریسین هرکدام در سه سطح (۰، ۰/۱، ۱ میلی‌مولار) و در سه تکرار روی گیاه دارویی نعنای فلفلی اجرا شد. مشخصات خاک مورد آزمایش، در جدول ۱ ارائه شده است.

بهبود می‌یابد (Talaat & Balbaa, 2010). در پژوهشی دیگر، محلول‌پاشی ۱ میلی‌مولار پوتریسین روی گل پروانش (*Catharanthus roseus* L.) باعث افزایش معنی‌دار و متوالی رشد در مرحله نمو شده است (Talaat et al., 2005). اثر کاربرد پوتریسین در ۴ غلظت (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مول بر لیتر) روی انبه (*Mangifera indica*) نشان داده که مه‌افشانی پیش از برداشت مؤثرتر از غوطه‌وری پس از برداشت بوده و صفاتی چون سفتی و مواد جامد محلول میوه‌های تیمار شده افزایش پیدا کرده است (Malik et al., 2003). در بررسی دیگر گزارش شده که افزایش غلظت پوتریسین (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ پی‌پی‌ام) در گل کاغذی (*Bougainvillea glabra* L.) منجر به افزایش وزن تر و خشک ریشه، شمار گل، وزن تر و خشک گل، میزان سبزینه کل، a، b، کاروتنوئید و قندها می‌شود (El-Quesni et al., 2007). با توجه به اهمیت فراوان گیاه دارویی نعنای فلفلی در تأمین اسانس حاوی ترکیب‌های مناسب در زمینه تولید داروهای

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

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

تیمار وزن شده و در ۵ میلی‌لیتر اتانول حل شد سپس به حجم رسانده شد و با توجه به ابعاد کرت برای تسهیل محلول‌پاشی و همچنین افزایش دقت آن از سم‌پاش تلمبه‌ای دستی که پاشش محلول را به‌طور یکنواخت روی کانوپی (آسمانه) گیاه انجام می‌دهد استفاده شد. محلول‌پاشی برگ‌های هورمون‌های اسید سالیسیلیک (تهیه‌شده از شرکت مرک) و پوتریسین (تهیه‌شده از شرکت سیگما) در هر چین دو مرتبه صورت گرفت. پاشش اول در چین‌ها در مرحله رشد رویشی (چین اول اوایل تیرماه، چین دوم اواسط مهرماه) و پاشش دوم یک هفته پس از پاشش اول انجام شد. همچنین برای جلوگیری از تأثیر نامطلوب نور خورشید محلول‌پاشی به هنگام غروب آفتاب انجام گرفت. برای بهتر چسبیدن و اطمینان از نفوذ

عملیات تهیه بستر شامل شخم و دو دیسک عمود برهم، تسطیح و کرت‌بندی (به ابعاد ۱/۵ m × ۲/۱۰ m) پیش از کشت بنا بر نقشه کاشت انجام شد. نشاهای نعنای فلفلی از جهاد کشاورزی بستان‌آباد تهیه شد و در عمق مناسب با فاصله ۳۰cm×۳۰cm در اوایل اردیبهشت‌ماه کشت شدند. بی‌درنگ پس از کاشت، گیاهان آبیاری شدند و در طول رویش آبیاری بسته به شرایط آب و هوایی و نیاز گیاه انجام گرفت. از هیچ علف‌کشی برای کنترل علف‌های هرز در این آزمایش استفاده نشد و برای کنترل آن‌ها وجین دستی صورت گرفت. در ضمن به علت نبود آفات و بیماری‌ها در کرت‌های آزمایشی از سموم آفت‌کش استفاده نشد. نحوه عمل محلول‌پاشی بدین صورت بود که میزان لازم از هورمون‌های اسید سالیسیلیک و پوتریسین برای هر

سنجش آنتوسیانین

از روش Wagner *et al.* (1979) برای اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین برگ استفاده شد. محاسبه غلظت آنتوسیانین با استفاده از ضریب خاموشی $33000 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ انجام و نتایج برحسب مول بر گرم وزن تر ارائه شد.

سنجش مواد جامد محلول کل

اندازه‌گیری مواد جامد محلول کل برگ با دستگاه رفرکتومتر دیجیتالی Atago مدل (PAL-1) و برحسب درصد (درجه بریکس) تعیین شد.

نتایج و بحث

عملکرد تر

بر پایه نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، عملکرد تر نعنای فلفلی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر پوتریسین و چین (در سطح ۱ درصد) و همچنین اثر متقابل تیمارها (سطح ۵ درصد) قرار گرفت (جدول ۲). افزایش غلظت پوتریسین تا ۱ میلی‌مولار باعث افزایش عملکرد تر شد (جدول ۴). همچنین بوته‌های چین اول نسبت به بوته‌های چین دوم عملکرد تر بیشتری داشتند (جدول ۵). در مجموع در این بررسی بیشترین و کمترین عملکرد تر به ترتیب با مصرف همزمان محلول ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۱ میلی‌مولار (S_1P_2) و شاهد به دست آمد (جدول ۶). محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک باعث افزایش زیست‌توده (بیوماس) در گیاه سویا می‌شود (Eraslan *et al.*, 2007). افزون بر این گزارش شده که اسید سالیسیلیک و استیل‌سالیسیلیک اسید و دیگر آنالوگ‌های اسید سالیسیلیک در گیاهان ذرت (Zea mays) و سویا (*Glycine max*)، موجب افزایش رشد و عملکرد خشک گیاهان شده‌اند (Khan *et al.*, 2003). به‌احتمال اسید سالیسیلیک از راه تقویت سلامت نظام ریشه‌ای، باعث جذب بیشتر آب و مواد غذایی شده و در نهایت منجر به افزایش رشد گیاه می‌شود. کاربرد پوتریسین با غلظت ۱ میلی‌مولار روی گل پروانش (*Catharanthus roseus* L.) شایان‌توجهی در رشد شده است (Talaat *et al.*,

محلول‌ها به برگ‌های نعنای فلفلی از محلول تووین ۲۰ درصد استفاده شد. پس از محلول‌پاشی نسبت به آبیاری مزرعه اقدام شد. پس از حذف اثر حاشیه گیاهان کاشته شده در ۲۵ درصد گلدهی با دست و توسط قیچی باغبانی چیده شدند. بوته‌های باقی‌مانده در هر کرت به‌صورت یکنواخت سرزنی شده و آزمایش برای چین دوم تکرار شد. چین اول و دوم به ترتیب در اوایل مردادماه و در اواسط آبان ماه برداشت شدند. بی‌درنگ پس از برداشت عملکرد تر در واحد سطح (شامل کل اندام‌های هوایی) اندازه‌گیری شد. پس از تعیین عملکرد رویشی، نمونه‌ها در دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت (تا هنگامی که وزن خشک گیاه ثابت بماند) در آون قرار گرفت سپس عملکرد خشک آن‌ها در واحد سطح محاسبه شد. از برگ‌ها و شاخساره‌های که در شرایط سایه و دمای اتاق (دمای تقریبی ۲۵ درجه سلسیوس) خشک شده بودند، ۳۰ گرم انتخاب کرده و پس از خرد کردن نمونه‌ها با استفاده از روش تقطیر با آب^۱ با دستگاه کلونجر^۲ اقدام به استخراج اسانس گیاه شد. مدت‌زمان استخراج اسانس برای همه نمونه‌ها به‌طور یکسان سه ساعت بود. از آنجایی که درصد اسانس برحسب میزان اسانس (g) در وزن خشک ماده اولیه (g) محاسبه می‌شود، بنابراین پیش از انجام اسانس‌گیری میزان رطوبت نمونه‌ها توسط دستگاه رطوبت‌سنج اندازه‌گیری شد. تجزیه داده‌های به‌دست‌آمده از یک سال با استفاده از برنامه آماری Mstat-C و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

سنجش رنگیزه‌های نورساختی

غلظت رنگیزه‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر و بر پایه رابطه‌های زیر محاسبه شد (Rangana, 1977).

1. $\text{Chl(a) mg/g} = 12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645}) \times V/1000W$
2. $\text{Chl(b) mg/g} = 22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663}) \times V/1000W$
3. $\text{Chltatol mg/g} = 20.2(A_{645}) - 8.20(A_{663}) \times V/1000W$
4. $\text{Carotenoid mg/g} = 7.6(A_{480}) - 1.49(A_{510}) \times V/1000W$

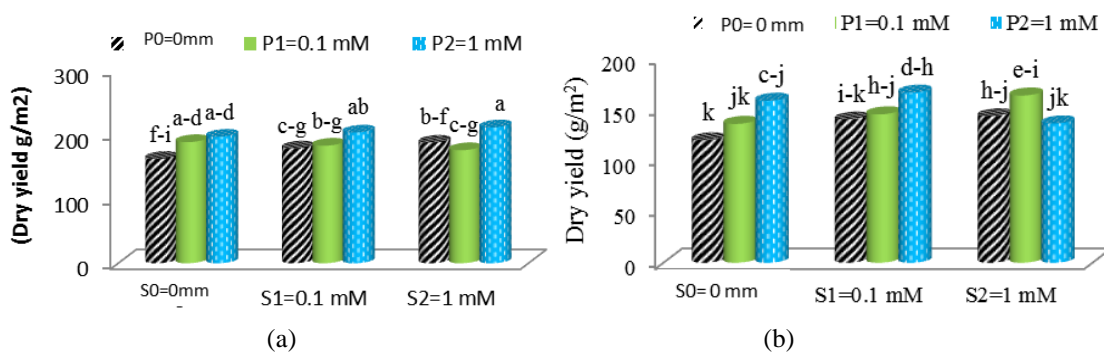
1. Hydro distillation
2. Clevenger

۱ میلی‌مولار (S_1P_2) و شاهد به دست آمد (شکل ۱-ب). غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بیشترین اثر را بر وزن خشک گیاه کلزا (*Brassica juncea*) داشته است (Fariduddin *et al.*, 2003). افزایش مشاهده شده در وزن خشک شاخساره ریشه و ماده خشک به نقش هورمون اسید سالیسیلیک در افزایش غلظت هورمون‌های رشد مربوط می‌شود. گزارش شده است که این ماده از راه افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو و افزایش سبزینه، میزان نورساخت کل را افزایش می‌دهد (Singh & Usha, 2003). چنین وضعیتی شرایط را برای تجمع مواد نورساختی و همچنین انتقال آن‌ها به محل‌های مصرف فراهم می‌سازد. در حالت اول ذخایر هیدروکربنی گیاه افزایش می‌یابد ولی در حالت دوم تحریک رشد دیده می‌شود که به نظر می‌رسد در مورد گیاه نعناع فلفلی حالت دوم صادق باشد. کاربرد پوتریسین در گیاه شمعدانی عطری (*Pelargonium graveolens* L.) ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک، DNA، RNA، درصد و محتوای اسانس را افزایش داده به‌ویژه در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر این افزایش معنی‌دار بوده است (Ayad *et al.*, 2010). نتایج به‌دست‌آمده با یافته‌های بالا در یک راستا قرار دارند.

از سوی دیگر، تیمار خارجی پلی‌آمین‌های اسپرمیدین و پوتریسین، وزن تر برگ توت‌فرنگی را افزایش می‌دهند (Movahed *et al.*, 2012). نقش پوتریسین در افزایش رشد گیاهان به‌احتمال مربوط به اثر آنتی‌اکسیداتیو، کمک به تعادل کاتیون-آنیون (Tang & Newton, 2005) و یا به‌احتمال عمل به‌عنوان منبع نیتروژن بوده است.

عملکرد خشک

نتایج مندرج در جدول ۲ گویای آن است که اثر پوتریسین (در سطح ۵ درصد)، چین و اثر سه‌گانه (در سطح ۱ درصد) بر عملکرد خشک نعناع فلفلی در واحد سطح معنی‌دار بود. افزایش غلظت پوتریسین تا ۱ میلی‌مولار باعث افزایش عملکرد خشک در واحد سطح شد (جدول ۴). همچنین بوته‌های چین اول نسبت به چین دوم عملکرد بیشتری داشتند (جدول ۵). در اثر متقابل این دو عامل در چین اول بیشترین و کمترین عملکرد خشک نعناع فلفلی به ترتیب تیمارهای ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۱ میلی‌مولار (S_2P_2) و شاهد مربوط بود (شکل ۱-ا). همچنین در چین بالاترین و پایین‌ترین میزان این صفت با کاربرد همزمان ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین



شکل ۱. اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و پوتریسین بر عملکرد خشک (a) در چین‌های اول و دوم (a) و دوم (b) Figure 1. The interaction effect of different concentrations of salicylic acid and putrescine on dry yield in the first (a) and second cutting (b)

پوتریسین (در سطح ۵ درصد) قرار گرفت (جدول ۲). با به‌کارگیری ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، سبزینه a در مقایسه با شاهد به ترتیب ۶/۹۸ و ۴/۸۳ درصد کاهش نشان داد (جدول ۳). همچنین افزایش

سبزینه a

نتایج گویای آن است که سبزینه a به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اسید سالیسیلیک، چین و اثر متقابل اسید سالیسیلیک×پوتریسین (در سطح ۱ درصد) و همچنین

راه کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک روی غشاهای تیلاکوئید کلروپلاست می‌گذارند (Valero et al., 2002). بنابر گزارش محققان در گیاه بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionanth*) بیشترین میزان سبزینه کل، a و b با کاربرد ۵۰ ppm پوتریسین به دست آمده است (Nanvakenary et al., 2013).

سبزینه کل

بر پایه نتایج مندرج در جدول ۲، پوتریسین، چین و اثر متقابل اسید سالیسیلیک × پوتریسین به طور معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) میزان سبزینه کل را تحت تأثیر قرار دادند. افزایش غلظت پوتریسین تا ۱ میلی‌مولار باعث افزایش سبزینه کل نعنای فلفلی شد (جدول ۴). بوته‌های چین اول نسبت به چین دوم سبزینه کل بیشتری داشتند (جدول ۵). در مجموع در این بررسی بیشترین و کمترین سبزینه کل به ترتیب با مصرف همزمان محلول ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۱ میلی‌مولار (S_1P_2) و تیمار ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۰/۱ میلی‌مولار (S_1P_1) به دست آمد (جدول ۶). نتایج بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک در گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) تحت تنش کادمیوم گویای آن است که پیش تیمار با اسید سالیسیلیک محتوای سبزینه و زیست‌ساخت آن را افزایش می‌دهد (Zawoznik et al., 2007) افزایش میزان رنگدانه‌ها در گیاهان تیمار شده با اسید سالیسیلیک احتمال دارد به دلیل تأثیر این هورمون بر کاهش میزان تولید رادیکال‌های آزاد باشد که در نتیجه از تخریب سبزینه جلوگیری می‌شود. محققان پی بردند در گیاه شمعدانی عطری سبزینه و محتوای پروتئین در همه غلظت‌ها به‌ویژه در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر پوتریسین افزایش یافته است (Ayad et al., 2010). به گزارش Ma et al. (1996) اثر پلی‌آمین‌ها در مهار تخریب سبزینه ممکن است به مهار فعالیت آنزیم پراکسیداز مرتبط باشد.

نسبت سبزینه a/b

نتایج گویای آن است که کاربرد غلظت‌های مختلف هورمون‌های مورد بررسی اثر معنی‌داری بر نسبت سبزینه a/b نعنای فلفلی نداشت (جدول ۲).

غلظت پوتریسین تا ۱ میلی‌مولار منجر به افزایش سبزینه a شد (جدول ۴). بوته‌های برداشت‌شده از چین اول نسبت به بوته‌های چین دوم سبزینه a بیشتری داشتند (جدول ۵). در اثر متقابل بیشترین سبزینه a به ترتیب شامل محلول ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۱ میلی‌مولار (S_1P_2) و تیمار ۰/۱ میلی‌مولار پوتریسین (S_0P_1) بود (جدول ۶). کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) میزان سبزینه a را افزایش داده است (Kaydan et al., 2007). از آنجایی که اسید سالیسیلیک بازدارنده ساخت اتیلن بوده و در بهبود فرآیندهای ساخت سبزینه نقش دارد، در نتیجه بر میزان سبزینه نیز مؤثر است. کاهش میزان سبزینه احتمال دارد به دلیل نبود ساخت این ماده و افزایش اتیلن باشد. افزون بر این، از دیگر دلایل کاهش سبزینه‌ها می‌توان به تخریب سبزینه‌ها به وسیله اکسیژن فعال اشاره کرد. با افزایش غلظت پوتریسین میزان سبزینه کل، a و b در گلابول (*Gladiolus grandiflorum* L.) افزایش می‌یابد (Abdel Aziz Nahed et al., 2009).

سبزینه b

بر پایه نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، سبزینه b به طور معنی‌داری تحت تأثیر چین و اثر ترکیبی دو هورمون مورد بررسی (در سطح ۱ درصد) قرار گرفت. میزان سبزینه b در گیاهان برداشت‌شده از چین دوم بیشتر از گیاهان چین اول بود (جدول ۵). در اثر متقابل این دو عامل بیشترین سبزینه b نعنای فلفلی به تیمار ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۱ میلی‌مولار (S_1P_2) مربوط بود (جدول ۶). نتایج بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک در گیاه گندم گویای آن است که تیمار با این هورمون میزان سبزینه b را افزایش می‌دهد (Kaydan et al., 2007). اسید سالیسیلیک بسته به غلظت، زمان و گیاه مورد استفاده آثار دوگانه‌ای دارد، اما در غلظت‌های مناسب با کاهش تخریب رنگیزه سبزینه (Belkhadi et al., 2010)، افزایش توان پاداکسندگی یاخته و ساخت پروتئین‌های جدید، از دستگاه نورساختی حمایت می‌کند (Popova et al., 2003). پلی‌آمین‌ها باعث کاهش تخریب سبزینه b می‌شوند و تأثیر خود را از

جدول ۲. تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و پوتریسین بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و اسانس نعناع فلفلی

Table 2. Analysis of variance of different concentration of salicylic acid and putrescine on some physiological characters and essential oil of peppermint

SOV	df	Mean of Squares										
		Fresh yield per unit area	Dry yield per unit area	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Chlorophyll (a/b)	Carotenoid	Anthocyanin	Soluble solids	Shoot essential oil percentage	Leaf essential oil percentage
Replaction	2	18932.165	1451.229	0.200**	0.207	0.405**	0.042	0.046**	1.655	1.764	0.141	0.053*
A (salicylic acid)	2	19507.872	513.551	0.082*	0.029	0.083	0.012	0.032*	11.580**	26.707**	0.687*	0.100**
B (putrescine)	2	68543.199**	2494.203*	0.153**	0.196	0.430**	0.003	0.085**	73.931**	7.385	0.124	0.058*
AB	4	29222.621*	367.409	0.172**	0.483**	0.601**	0.068	0.040**	10.689**	117.002**	0.018	0.012
Error1	16	6974.396	539.824	0.022	0.081	0.066	0.027	0.009	1.780	3.888	0.149	0.013
C (cut)	1	407307.387**	23521.743**	1.775**	0.476**	2.977**	0.064	0.014	323.645**	121.200**	12.603**	1.799*
AC	2	405.617	62.389	0.014	0.008	0.017	0.001	0.019	7.347	4.722	0.238	0.063
BC	2	5265.906	283.607	0.007	0.073	0.034	0.030	0.017	7.997	0.090	0.176	0.011
ABC	4	7031.235	634.411**	0.039	0.066	0.040	0.035	0.038**	4.937	26.841**	0.161	0.010
Error2	18	3263.478	154.477	0.018	0.062	0.048	0.018	0.007	2.426	1.694	0.197	0.021
CV	-	7.10	7.48	7.48	9.53	11.41	8.34	9.84	15.61	7.92	14.97	13.06

* and ** significant at 1% and 5%, respectively.

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر صفات اندازه‌گیری‌شده

Table 3. Mean comparison of salicylic acid on the measured traits

Different concentrations salicylic (mm)	Chlorophyll a (mg/g fw)	Carotenoid (mg/g fw)	Anthocyanin (mol/g fw)	Soluble solids (%)	Shoot essential oil percentage (%)	Leaf essential oil percentage (%)
0	1.86a	0.87a	10.74a	16.31ab	0.79b	1.18b
0.1	1.73b	0.86ab	9.14b	15.27b	0.92ab	1.21b
1	1.77ab	0.79b	10.04ab	17.70a	1.05a	1.53a

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر پوتریسین بر صفات اندازه‌گیری‌شده

Table 4. Mean comparison of putrescine on the measured traits

Different concentrations Putrescine (mm)	Fresh yield (g/m ²)	Dry yield (g/m ²)	Chlorophyll a (mg/g fw)	Total chlorophyll (mg/g fw)	Carotenoid (mg/g fw)	Anthocyanin (mol/g fw)	Leaf essential oil percentage (%)
0	768.44b	154.99b	1.72b	1.81b	0.77b	9.17b	1.17b
0.1	769.49b	164.99a	1.75b	1.85b	0.83b	8.48b	1.32a
1	875.33a	178.45a	1.89a	2.10a	0.91a	12.28a	1.42a

جدول ۵. مقایسه میانگین ویژگی‌های اندازه‌گیری‌شده در دو چین

Table 5. Mean comparison of the measured characteristics in two cutting

Cutting	Fresh yield (g/m ²)	Dry yield (g/m ²)	Chlorophyll a (mg/g fw)	Chlorophyll b (mg/g fw)	Total chlorophyll (mg/g fw)	Anthocyanin (mol/g fw)	Soluble solids (%)	Shoot essential oil percentage (%)	Leaf essential oil percentage (%)
1	890.93a	187.02a	1.97a	0.75a	2.15a	7.53b	14.93b	1.21a	1.72a
2	717.24b	145.27b	1.61b	0.64b	1.68b	12.43a	17.93a	0.63b	0.89b

کارتنوئید

نعناع فلفلی شد (جدول‌های ۳ و ۴). در اثر متقابل این دو عامل در چین اول بهترین تیمار شامل محلول ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۰/۱ میلی‌مولار (S₁P₁) و نیز تیمار ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۱ میلی‌مولار (S₁P₂) بود (شکل ۲-ا). همچنین در چین دوم بیشترین میزان کارتنوئید به ترتیب با کاربرد ۱ میلی‌مولار پوتریسین

میزان کارتنوئید در گیاه دارویی نعناع فلفلی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثر پوتریسین، اثر متقابل دوگانه و سه‌گانه (در سطح ۱ درصد) و همچنین اسید سالیسیلیک (در سطح ۵ درصد) قرار گرفت (جدول ۲). افزایش غلظت اسید سالیسیلیک و پوتریسین تا ۱ میلی‌مولار به ترتیب باعث کاهش و افزایش کارتنوئید

و اتیلن (Zhu, 2001) بسیاری از روندهای فیزیولوژیک و رشد گیاه را تنظیم می‌کند؛ به‌طور مثال با اثر روی هورمون اسیدآبسیزیک و تجمع این هورمون باعث خو گیری (acclimation) گیاهان نسبت به تنش‌های محیطی می‌شود. کاروتنوئیدها خود پیش ماده‌ای برای ساخت آبسزیک اسید هستند (Taiz & Zeiger, 2006)، می‌توان کاهش مشاهده‌شده در میزان کاروتنوئیدها را به دلیل تبدیل کاروتنوئیدها به اسیدآبسزیک نسبت داد. افزون بر این، با افزایش غلظت پوتریسین در گل کوبک (*Dahlia pinnata* L.) میزان کاروتنوئید افزایش یافته است (Mahgoub et al., 2011). کاربرد پوتریسین در گیاهان تحت تنش شوری با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب ماکرومولکول‌ها منجر به افزایش کاروتنوئیدها و میزان گلوکاتینون می‌شود (Tang & Newton, 2005).

(S_0P_2)، محلول ۰/۱ میلی‌مولار پوتریسین (S_0P_1)، مصرف همزمان ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۱ میلی‌مولار (S_1P_2) و ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۱ میلی‌مولار (S_2P_2) به دست آمد (شکل ۲-b). کاروتنوئیدها می‌توانند انرژی زیاد طول‌موج‌های کوتاه را گرفته، اکسیژن یک‌تایی را به سه‌تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولیدشده، نقش پاداکسندگی خود را ایفا می‌کنند (Qinghuo & Zhujun., 2008). در بررسی‌های انجام‌شده در مورد گیاهچه‌های گندم (*Triticum aestivum* L.)، تیمار با اسید سالیسیلیک تولید کاروتنوئیدها و گزانتوفیل را در این گیاه افزایش داده است (Kaydan et al., 2007). این گزارش‌ها با نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش همخوانی ندارد. همچنین اسید سالیسیلیک با تأثیر بر هورمون‌های اسیدآبسزیک

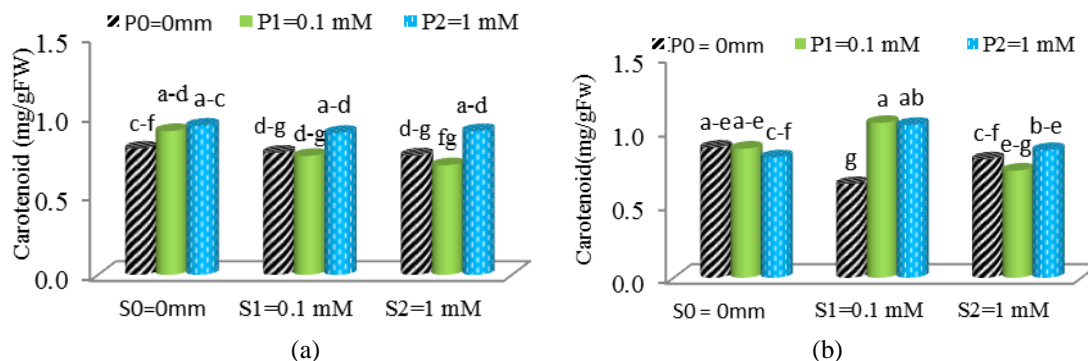
جدول ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و پوتریسین بر صفات اندازه‌گیری‌شده

Table 6. Mean comparison of the interaction effect of salicylic acid and putrescine on the measured traits

Treatments	Fresh yield (g/m ²)	Chlorophylla (mg/g fw)	Chlorophyllb (mg/g fw)	Total chlorophyll (mg/g fw)	Carotenoid (mg/g fw)	Anthocyanin (mol/g fw)	Soluble solids (%)
Control (S_0P_0)	692.19d	1.85abc	0.70b	1.98bcd	0.84ab	9.87cd	15.22de
putrescine 0.1mM (S_0P_1)	780.11bcd	1.97a	0.77b	2.17ab	0.89ab	9.22d	16.10d
putrescine 1mM (S_0P_2)	875.94ab	1.78bc	0.63b	1.84bcd	0.88ab	13.15a	17.62cd
salicylic acid 0.1mM (S_1P_0)	777.15bcd	1.66cd	0.57b	1.67de	0.70c	8.73d	13.20ef
salicylic acid 0.1 mM + putrescine 0.1 mM (S_1P_1)	788.74bcd	1.54d	0.59b	1.56e	0.90ab	6.18e	12.28f
salicylic acid 0.1 mM + putrescine 1 mM (S_1P_2)	960.17a	2.00a	1.00a	2.44a	0.97a	12.52ab	20.33ab
salicylic acid 1mM (S_2P_0)	832.97abc	1.66cd	0.68b	1.78cde	0.78bc	8.92d	18.72bc
salicylic acid 1 mM + putrescine 0.1 mM (S_2P_1)	738.90cd	1.74bc	0.65b	1.82cde	0.71c	10.03cd	21.50a
salicylic acid 1 mM + putrescine 1 mM (S_2P_2)	789.88bcd	1.91ab	0.67b	2.01bc	0.89ab	11.18bc	12.88ef

حروف مشترک در هر صفت بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها بر پایه آزمون دانکن ($p < 0.05$) است.

Mean within a column followed by the same letter are not significantly different at $p < 0.05$ according to the Duncan multiple range test ($p < 0.05$).



شکل ۲. اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و پوتریسین بر میزان کاروتنوئید در چین‌های اول (a) و دوم (b)
Figure 2. The interaction effect of different concentrations of salicylic acid and putrescine on carotenoid in the first (a) and second cutting (b)

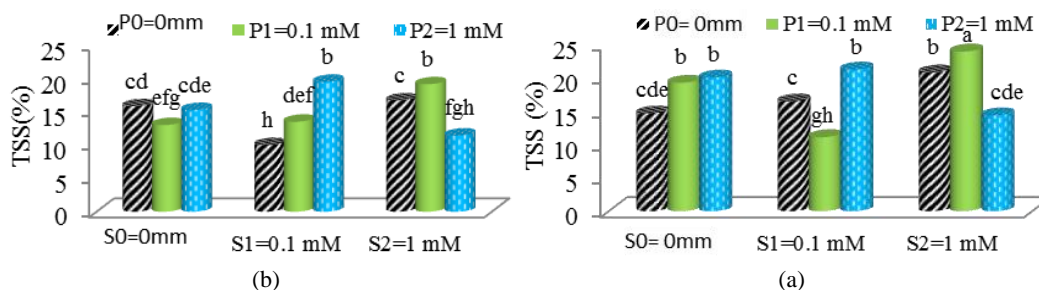
آنتوسیانین

بنابر نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، آنتوسیانین برگ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک، پوتریسین، چین و همچنین اثر متقابل هورمون‌ها (در سطح ۱ درصد) قرار گرفت. افزایش غلظت اسید سالیسیلیک تا ۱ میلی‌مولار منجر به کاهش آنتوسیانین برگ شد (جدول ۳) درحالی‌که افزایش غلظت پوتریسین میزان این صفت را افزایش داد (جدول ۴). میزان آنتوسیانین در گیاهان برداشت‌شده از چین دوم بیشتر از گیاهان چین اول بود (جدول ۵). احتمال دارد به علت افزایش سن و سرما آنتوسیانین برگ در چین دوم افزایش یابد. در اثر متقابل دو عامل بیشترین آنتوسیانین برگ نعنای فلفلی را تیمارهای ۱ میلی‌مولار پوتریسین (S_0P_2) و نیز ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۱ میلی‌مولار (S_1P_2) به خود اختصاص دادند. کمترین میزان هم به تیمار ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۰/۱ میلی‌مولار (S_1P_1) تعلق داشت (جدول ۶). آنتوسیانین‌ها به خاطر داشتن فعالیت ضد رگ‌زایی، ضد التهابی، پاداکسندگی و ویژگی‌های ضد سرطانی به سالم ماندن بدن کمک کرده و از این نظر قابل توجه هستند (Rossi et al., 2003; Khong et al., 2003). در گیاهان تولید آنتوسیانین تحت تأثیر متقابل عامل‌های درونی و بیرونی مانند نور، دما، کربوهیدرات، هورمون‌های گیاهی و تنش آبی است. این عامل‌ها اغلب از راه تأثیر بر عامل‌های رونویسی، میزان آنتوسیانین را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Kim et al., 2006). در گیاه شاهی (*Lepidium sativum*) با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک (۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱ میلی‌مولار) آنتوسیانین برگ کاهش یافته است (Hashemi et al., 2010). اسید سالیسیلیک باعث کاهش میزان آنتوسیانین شده و این امر به مهار ساخت اتیلن (Qinghua & Zhujun, 2008) ارتباط دارد. اتیلن با اثر بر آنزیم‌های مسیر زیست‌ساختی آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها از جمله فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL)، منجر به تجمع آنتوسیانین‌ها در گیاه می‌شود (Hyodo & Yang, 1997) که نتایج به‌دست‌آمده با یافته‌های بالا همسو بود. درحالی‌که افزایش آنتوسیانین در نتیجه مصرف اسید سالیسیلیک را می‌توان به بالا بردن ترکیب‌های فنولی و

فعال شدن آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز توسط اسید سالیسیلیک نسبت داد (Feiwen et al., 2005). بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که با کاربرد پوتریسین در گیاه بابونه (*Matricaria chamomilla* L.) میزان آنتوسیانین افزایش می‌یابد (Khorshid, 2013).

مواد جامد محلول

نتایج گویای آن است که مواد جامد محلول تحت تأثیر اسید سالیسیلیک، چین، اثر متقابل اسید سالیسیلیک و پوتریسین و نیز اثر سه‌گانه (در سطح ۱ درصد) بود (جدول ۲). با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک میزان مواد جامد محلول کاهش یافت (جدول ۳). همچنین بوته‌های چین دوم نسبت به بوته‌های چین اول مواد جامد بیشتری داشتند (جدول ۵). در چین اول بیشترین مواد جامد محلول را تیمار ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۰/۱ میلی‌مولار (S_2P_1) به خود اختصاص داد (شکل ۳-a). در اثر متقابل این دو عامل بهترین تیمار در چین دوم شامل محلول ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۱ میلی‌مولار (S_1P_2) و تیمار ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با پوتریسین ۰/۱ میلی‌مولار (S_2P_1) بود (شکل ۳-b). به گزارش (Srivastava & Dwivedi, 2000) شیرینی موزهای تیمار شده با اسید سالیسیلیک به‌طور چشمگیری کاهش یافته است. نتایج به‌دست‌آمده با یافته‌های بالا همخوانی دارد. از سوی دیگر، اسید سالیسیلیک به علت افزایش نفوذپذیری غشا میزان جذب و کاربرد مواد کانی را بهبود می‌بخشد و در نتیجه منجر به افزایش وزن و مواد جامد محلول می‌شود (Javaheri et al., 2012). به‌هرحال در مورد تأثیر اسید سالیسیلیک بر مواد جامد محلول نتایج ضدونقیضی وجود دارد و ارزیابی دقیق علت آن نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد. افزون بر این، با افزایش غلظت پوتریسین (۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۰ ppm) میزان مواد جامد محلول در گلابول (*Gladiolus grandiflorum* L.) افزایش یافته است (Abdel Aziz Nahed et al., 2009). به‌احتمال پل‌آمین‌ها در برخی فرآیندهای زیستی مرتبط با زیست‌ساخت کربوهیدرات دخالت دارند (Mahgoub et al., 2011).



شکل ۳. اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و پوتریسین بر میزان مواد جامد محلول در چین‌های اول (a) و دوم (b)
Figure 3. The interaction effect of different concentrations of salicylic acid and putrescine on soluble solids in the first (a) and second cutting (b)

نتایج بررسی تأثیر پلی‌آمین‌ها در گیاهان دارویی بابونه (*Chamomilla recutita*) و مرزنجوش (*Origanum majorana*) تحت تنش شوری گوبای آن است که تیمار با پوتریسین، اسپرمیدین و اسپرمین باعث افزایش میزان اسانس ریشه، ساقه و گل شده است (Ali et al., 2007). نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش با نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش‌ها (Youssef et al., 2004) در مورد گیاه شب بو و نتایج به‌دست‌آمده از تحقیقات (Ayad et al., 2010) در رابطه با بهبود میزان اسانس در شمعدانی عطری با استفاده از پاشش پوتریسین همانندی دارد. افزایش محتوای اسانس این گیاه در پی کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد راهکار مناسب در افزایش کیفیت گیاهان دارویی با صرف هزینه کمتری است.

نتیجه‌گیری کلی

بنابر نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش کاربرد بالاترین غلظت اسید سالیسیلیک، تأثیر بارزی بر مواد جامد محلول داشت. همچنین با افزایش غلظت پوتریسین صفاتی مانند عملکرد تر و خشک در واحد سطح، سبزینه کل، a، کاروتنوئید، مواد جامد محلول و درصد اسانس برگ افزایش یافت. افزون بر آن کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد به‌صورت همزمان روی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی نعنای فلفلی (عملکرد تر در واحد سطح، سبزینه a و b، سبزینه کل، کاروتنوئید، آنتوسیانین برگ و مواد جامد محلول) معنی‌دار بود. با توجه به افزایش روزافزون کاربرد گیاهان دارویی به‌ویژه نعنای فلفلی در صنایع مختلف و تقاضای زیاد این گیاه به‌منظور تولید بیشترین عملکرد تر، کاربرد

درصد اسانس شاخساره

نتایج مندرج در جدول ۲ نشانگر اثر معنی‌دار اسید سالیسیلیک و چین (در سطح ۱ درصد) بر درصد اسانس شاخساره است (جدول ۲). با مصرف ۱ میلی‌مولار از این هورمون، درصد اسانس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین میزان اسانس (با میانگین ۱/۰۵ درصد) تولید شد (جدول ۳).

درصد اسانس برگ

بر پایه نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) تأثیر اسید سالیسیلیک، چین (در سطح ۱ درصد) و پوتریسین (در سطح ۵ درصد) بر درصد اسانس برگ نعنای فلفلی معنی‌دار بود. با کاربرد ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، درصد اسانس نعنای فلفلی در مقایسه با نبود کاربرد آن به ترتیب ۲/۵۴ و ۲۹/۶۶ درصد افزایش یافت (جدول ۳). همچنین با به‌کارگیری ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار پوتریسین، درصد اسانس در مقایسه با شاهد، به ترتیب ۱۲/۸۲ و ۲۱/۳۶ درصد افزایش نشان داد (جدول ۴). کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان اسانس گیاه مریم‌گلی (*Salvia macrosiphon*) را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داده ولی بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشته است (Rowshan, et al., 2010). افزایش میزان اسانس در اثر پاشش با اسید سالیسیلیک ممکن است ناشی از افزایش رشد رویشی، جذب مواد غذایی بیشتر توسط ریشه‌ها به دلیل افزایش فعالیت‌های نورساختی گیاه و همچنین تغییر در جمعیت غده‌های تولیدکننده اسانس در برگ‌ها و گل‌ها باشد (Gharib, 2006).

- ۰/۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با ۱ میلی‌مولار پوتریسین (S₁P₂) و برای دستیابی به بالاترین درصد عملکرد اسانس شاخساره و برگ، غلظت ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک پیشنهاد می‌شود.

REFERENCES

1. Abdel Aziz Nahed, G., Taha Lobna, S. & Ibrahim Soad, M. M. (2009). Some Studies on the Effect of Putrescine, Ascorbic Acid and Thiamine on Growth, Flowering and Some Chemical Constituents of *Gladiolus* Plants at Nubaria. *Ozean Journal of Applied Sciences*, 2(2), 169-179.
2. Ali, R M., Abbas, H. M. & Kamal R. K. (2007). The effect of treatment with polyamines on dry matter, oil and flavonoid contents in salinity stressed chamomile and sweet marjoram. *Plant Soil Environment*, 53(12), 529-543.
3. Arias, M., Carbonell, J. & Agusti, M. (2005). Endogenous free polyamines and their role in fruit set of low and high parthenocarpic ability citrus cultivars. *Plant Physiology*, 126(8), 845-853.
4. Ayad, H.S., Reda, F. & Abdalla. M. S. A. (2010). Effect of putrescine and zinc on vegetative growth, photosynthetic pigments lipid peroxidation and essential oil content of geranium (*Pelargonium graveolens* L.). *World Journal Agriculture Science*, 6(5), 601-608.
5. Behnam. S., Farzaneh. M., Ahmadzadeh. M. & Tehrani. A. (2006). Composition and antifungal activity of essential oils of *Mentha piperita* & *Lavendula angustifolia* on post-harvest phytopathogens. *Commun Agriculture Apple Biology Science*, 71(3), 1321-6.
6. Belkhadi, A., Hediji, H., Abbas, Z., Nouairi, I., Barhoumi, Z., Zarrouk, M., Chaibi, W. & Djebali, W. (2010). Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in (*Linum usitatissimum* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(5), 1004-1011.
7. Clark, I. V. & Cameron, G. C. (2002). An aroma chemical profile menthol. *Perfumer & Flavorist*, 23(4), 33-46.
8. El-Quesni, F. E. M., kandil, M. M. & Mahgoub, M. H. (2007). Some studies on the effect of putrescine and paclobutrazol on the growth and chemical composition of *Bougainvillea glabra* L. at Nuboria. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Envirment Science*, 2(5), 552-558.
9. De Sousa, A A ., Soares, P. M., de Almeida, A. N., Maia, A. R., de Souza, E. P. & Assreuy, A. M. (2010). Antispasmodic effect of *Mentha piperita* L essential oil on tracheal smooth muscle of rats. *Journal Ethnopharmacol*, 130(2), 433-436.
10. Eraslan, F., Inal A., Gunes, A. & Alpaslan, M. (2007). Impact of exogenous Salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plant subjected to combined salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*, 27, 287-298.
11. Eteghad, S., Mirzaei, H. Pour, S. & Kahnemui, S. (2009). Inhibitory Effects of Endemic *Thymus vulgaris* and *Mentha piperita* Essential oils on *Escherichia coli* O157: H7. *Research Journal of Biological Sciences*, 4(3), 340-344.
12. Fariduddin, Q., Hayat, S. & Ahmad, A. (2003). Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassic juncea*. *Photosynthetica*, 41(2), 281-284.
13. Feiwen, P. F., Chen, J. Y., Kong, W. F., Pan, Q. H., Wan, S. B. & Huang, W. D. (2005). Salicylic acid induced the expression of phenylalanine ammonia-lyase gene in grape berry. *Plant Science*, 169(5), 928-934.
14. Galeottia, N. D., Cesare Mannellia, L., Mazzantib, G., Bartolinia, A. & Ghelardini, C. (2002). Menthol: a natural analgesic compound. *Neuroscience Letters*, 322(5), 145-148.
15. Gharib, F. A. L. (2006). Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and majoram. *International Journal of Agriculture and Biology*, 4, 485-492.
16. Grieve, M. (1974). *A modern herbal*. London: Jonathan Cape, pp 553-543.
17. Hashemi, Sh., Esrare, Z. & Pourseyedi, Sh. (2010). Effect of seed priming by Salicylic acid the growth, some physiological characters and biochemical of the King (*Lepidum sativum* L). *Plant Biology*, 2(2), 1-10. (in Farsi)
18. Horvath, E., Szalai, G. & Janda, T. (2007). Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Journal Plant Growth Regulation*, 26, 290-300.
19. Hyodo, H. & Yang, Sh. (1997). Ethylene enhance synthesis of phenylalanine ammonialyase in pea seedlings. *Plant Physiology*, 47, 765-770.
20. Javaheri, M., Mashayekhi, K., Dadkhah, A. & Zaker Tavallae, F. (2012). Effects of Salicylic acid on Yield and quality characters of tomato fruit (*Lycopersicum esculantum* Mill). *International Journal of Agriculture and Crop Science*, 4, 1184-1187.
21. Kaydan, D., Yagmur, M. & Okut, N. (2007). Effects of salicylic Acid on the Growth and some physiological characters in salt stressed wheat (*Triticum aestivum* L.) . *Tarim Bilimleri Dergisi*, 13(2), 114-119.

22. Khan, W., Prithviraj, B. & Smith, D. L. (2003). Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology*, 160, 485-492.
23. Kim, J. S., Lee, B. H., Kim, S. H., Ok, K. H. & Cho, K. Y. (2006) Response to environmental and chemical signals for anthocyanin biosynthesis in nonchlorophyllous corn (*Zea mays* L.) leaf. *Journal of Plant Biology*, 49, 16-25.
24. Kong, J., Chia, L., Goh, N., Chia, T. & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64, 923-933.
25. Khorshid, M. (2013). Effect of putrescine on antioxidative properties in *Matricaria chamomilla*. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 612-617.
26. Kumar, A., Samarth, R. M. & Yasmeen, S. (2004). Anticancer and radioprotective potentials of *Mentha piperita* L. *BioFactors*, 22(1-4), 87 - 91.
27. Ma, J.Y., Zhou, R. & Cheng, B. S. (1996). Effect of spermine on the peroxidase activity of detached wheat leaves. *Journal Shandong Agriculture University*, 27, 176-180.
28. Mahgoub, M. H., Abb 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. *Journal Agriculture and Environment Science*, 10(5), 769-775.
29. Malik, A.U., Singh, Z. & Dhaliwal, S. S. (2003). Exogenous application of putrescine affects mango fruit quality and shelf life. *Acta Horticulturae*, 628, ISSN 0567-7572.
30. Mendoza, A. B., Godina, F. R., Torres, V. R., Rodriguez, H. R., & Maiti, R. K. (2002). Chilli seed treatment with salicylic and sulfosalicylic acid modifies seedling epidermal anatomy and cold stress tolerance. *Crop Research*, 24, 19-25.
31. Moharekar, S.T., Lokhande, S. D., Hara, T., Tanaka, R., Tanaka A. & Chavan, P. D. (2003). Effect of salicylic acid on chlorophyll and carotenoid contents of wheat and moong seedlings. *Photosynthetica*, 41(2), 315-317.
32. Movahed, N., Eshghi, S., Tafazoli, E. & Jamali, B. 2012. Effects of polyamins on vegetative characteristics, growth, flowering and yield of strawberry ('Paros' and 'Selva'). *Acta Horticulturae*, 926, 287-293.
33. Nanvakenary, R., Moradi, H. & Ghasemiomran, S. (2013). Effects of putrescine on morphological and physiological characteristics of ornamental plant African violet (*Saintpaulia ionantha*). *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 2(10), 118-122.
34. Popova, L., Ananieva, V., Hristova, V., Christov, K., Geovgieva, K., Alexieva, V. & Stoinova, Z. (2003). Salicylic acid and methyl jasmonate- induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* (Special issue) 133-152.
35. Qinghua, S. H. & Zhujun, Z. (2008) Effect of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. *Environmental and Experimental Botany*, 63, 317-326.
36. Rangana, S. (1977). Manual for analysis of fruit and vegetable products. *Total McGraw Hill Publishing Company, New Delhi*. pp. 73-76.
37. Raskin, I. (1992). Salicylate, a new plant hormone. *Plant Physiology*, 99(3), 799-803.
38. Rossi, A., Serraino, I., Dugo, P. D., Paola, R., Mondello, L., Genovese, T., Morabito, D., Dugo, G., Sautebin, L., Caputi, A. P. & Cuzzocrea, S. (2003). Protective effects of anthocyanins from blackberry in a rat model of acute lung inflammation. *Free Radical Research*, 37, 891-900.
39. Rowshan, V., Khoshkhai, M. & Javidnia, K. (2010). Effects of salicylic acid on quality and quantity of essential oil components in *Salvia macrosiphon*. *Journal Biology Environment Science*, 4(11), 77-82.
40. Seun-Ah, Y., Sang-Kyung, J., Eun-Jung, L., Chang-Hyun, S. & In-Seon, L. (2010). Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. *Natural Product Reports*, 24(2), 140-151.
41. Singh, B. & Usha, K. (2003). Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulation*, 39, 137-141.
42. Sood, S. & Nagar, P. K. (2008). Post-harvest alteration in polyamins and ethylene in two diverse rose species. *Acta Physiology Plant*, 30, 243-248.
43. Srivastava, M. K. & Dwivedi, U. N. (2000). Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Science*, 158, 87-96.
44. Talaat, I. M., Bekheta, M. A. & Mahgoub, M. H. (2005). Physiological response of periwinkle plants (*Catharanthus roseus* L.) to tryptophan and putrescine. *International Journal of Agricultural and Biological*, 7, 210-213
45. Talaat, I. M. & Balbaa, L. K. (2010). Physiological response of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) to putrescine and trans-cinnamic acid. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science*, 8(40), 438-445.

46. Tang, W. & Newton, J. R. (2005). Polyamines reduced salt induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. *Plant Growth Regulation*, 46, 31-43.
47. Taiz, L. & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology*. 4th Edition. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts. USA. P: 456.
48. Trease, G. E. & Evans, W. C. (1983). *Pharmacognosy*. 12th ed. Eastbourne: Bailliere Tindall, pp 421-424.
49. Valero, D., Vicente, A. P., Romero, D. M., Castilo, S. & Guillen, F. S. (2002). Plum storability improved after calcium and heat postharvest treatments. *Journal of Food Science*, 67, 2571-2575.
50. Valmorbidia, J. & Boaro, C. S. F. (2007). Growth and development of *Mentha piperita* L. in nutrient solution as affected by rates of potassium. *Brazilian Archives of Biology and Technol*, 50(3), 379-84.
51. Wagner, G. J. (1979). Content and vacuole/extra amino acids and anthocyanins in protoplast, vacuole distribution of neutral sugars. *Free Plant Physiology*, 64, 88-93.
52. Yildirim, E. & Dursun, A. (2009). Effect of foliar salicylic acid application in plant growth and yield of tomato under greenhouse condition. *Acta Horticulture*, 807, 395-400
53. Youssef, A. A., Mahgoub, M. A. & Talaat, I. M. (2004). Physiological and biochemical aspects of *Matthiola incana* L. plants under the effect of putrescine and Kinetin treatments. *Egyption Journal of Applied Science*, 19, 492-510.
54. Zawoznik, M. S., Gropp, M. D., Tomaro, M. & Benavides, M. P. (2007). Endogenous salicylic acid potentiates cadmium- induced oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*, 173, 190-197.
55. Zhu, J. K. (2001). Cell signaling under salt, water and cold stresses. *Plant Biology*, 4(1), 401-406.