



Effect of Humic Acid and Wood Vinegar on Changes of Biochemical Traits and Main Compounds of Peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential Oil under Drought Stress Conditions

Seyed Ali Alavi Asl¹ | Majid Majidian^{2✉} | Seyed Ali Mohammad Modares Sanavy³ | Masoud Esfahani⁴

1. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran.
2. Corresponding Author, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail: ma_majidian@guilan.ac.ir
3. Department of Agronomy, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
4. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran.

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: August 06, 2023

Received in revised form:

November 10, 2023

Accepted: November 14, 2023

Published online: June 21,

2024

Keywords:

Antioxidant capacity, essential oil, menthol, menthone, total phenol.

ABSTRACT

Peppermint is one of the valuable plants in the pharmaceutical industry. The reduction of water in Iran is one of the most important production limitations. The use of organic materials such as humic acid and wood vinegar can be useful to help produce medicinal plants to reduce the effects of drought stress. This research was carried out in order to investigate the effect of humic acid and wood vinegar foliar spraying on plant traits and main compounds of peppermint essential oil under drought stress conditions. A field experiment was conducted as a split plot based on a randomized complete block design with three replications in the research farm of the Faculty of Agriculture of the Tarbiat Modares University in 2019. The experimental treatments included low irrigation regime at three levels (irrigation up to the field capacity and respectively after draining 25 (no stress), 40 (moderate drought stress) and 55 (severe drought stress) percentage of available water in the root zone) as the main plots factor was foliar application at seven levels (humic acid (1, 2, and 3%), wood vinegar (5, 10, and 15%) and no foliar application (control)) as a sub plots. The results showed that the interaction of foliar application and irrigation regimes had a significant effect on plant height, total dry weight, total chlorophyll, flavonoid, total phenol, essential oil percentage and yield, and essential oil profile. Maximum total dry weight was produced with foliar spraying of 2 and 3% humic acid in normal irrigation conditions with 3204 and 3259 kg ha⁻¹, respectively, and moderate and severe water deficit stress, respectively, caused a decrease of 15.34 and 27.42% of the total dry weight compared to the control. Water deficit stress harmed the yield of essential oil; so that with the increase of the stress intensity, its value decreased, and moderate and severe water deficit stress, a decrease of 9.38 and 40.2 percent of essential oil yield, respectively, was observed. Increasing the concentration of humic acid from zero to 3% increased the total chlorophyll by 10.4%. The flavonoids increased by 14.6, 22.5, and 33.1 percent with the use of 1, 2, and 3 percent humic acid, respectively, and this increase with the use of 5, 10, and 15 percent wood vinegar was 14.3, 34.7, and 37.1 percent, respectively. It was 34.34 and 37.15 percent. By increasing the concentration of humic acid from zero to 3%, the essential oil content increased by 60.6%. While increasing the concentration of wood vinegar from zero to 15%, its amount increased by 90.7%. The highest amount of menthol was obtained from the application of 10% wood vinegar in normal irrigation conditions at 61.04%, and it was placed in a statistical group with the treatment of 2% humic acid application in moderate water stress conditions (60.1%). In addition, the results showed that with the use of humic acid and wood vinegar, the amount of menthol increased by 21.88 and 17.84%, respectively, compared to not using them. According to the water limitation and the results of this research, it is recommended to use 3% humic acid in optimal irrigation conditions and moderate water deficit stress and use 15% wood vinegar in severe water deficit stress conditions.

Cite this article: Alavi Asl, S.A., Majidian, M., Modares Sanavy, S.A.M., & Esfahani, M. (2024). The effect of humic acid and wood vinegar on changes of biochemical traits and main compounds of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil under drought stress conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 55(2), 29-42. DOI: 10.22059/ijfcs.2023.363279.655022.





تأثیر اسیدهیومیک و سرکه چوب بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و ترکیبات عمده اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در شرایط تنش خشکی

سیدعلی علوی اصل^۱ | مجید مجیدیان^۲ | سیدعلی محمد مدرس ثانوی^۳ | مسعود اصفهانی^۴

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۲. نویسنده مسئول، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: ma_majidian@guilan.ac.ir

۳. گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۴. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

نعناع فلفلی یکی از گیاهان باارزش در صنعت داروسازی است. کمبود آب یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های تولید این گیاه در ایران می‌باشد. کاربرد مواد آلی مانند اسیدهیومیک و سرکه چوب با کاهش اثرات تنش خشکی می‌تواند به تولید گیاهان دارویی کمک کند. این پژوهش با هدف بررسی اثر محلول‌پاشی اسیدهیومیک و سرکه چوب بر صفات گیاهی و ترکیبات اصلی اسانس نعناع فلفلی در شرایط تنش خشکی اجرا شد. آزمایش مزرعه‌ای به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل رژیم کم‌آبیاری در سه سطح (آبیاری تا حد ظرفیت مزرعه و به ترتیب بعد از تخلیه ۲۵ (بدون تنش)، ۴۰ (تنش متوسط خشکی) و ۵۵ (تنش شدید خشکی) درصد آب قابل استفاده در منطقه ریشه) به عنوان عامل اصلی و محلول‌پاشی در هفت سطح (اسیدهیومیک (یک، دو و سه درصد)، سرکه چوب (پنج، ۱۰ و ۱۵ درصد) و عدم محلول‌پاشی (شاهد)) به عنوان عامل فرعی بود. نتایج نشان داد که برهمکنش تیمارهای محلول‌پاشی و آبیاری اثر معنی‌داری روی صفات ارتفاع بوته، وزن خشک گیاه، محتوای کلروفیل، فلاونوئیدها، فنل کل، درصد و عملکرد اسانس و ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس داشت. بیشترین وزن خشک گیاه با محلول‌پاشی دو و سه درصد اسیدهیومیک در شرایط آبیاری مطلوب به ترتیب با ۳۲۰۴ و ۳۲۵۹ کیلوگرم در هکتار به دست آمد و تنش خشکی متوسط و شدید نیز به ترتیب باعث کاهش ۱۵/۳۴ و ۲۷/۴۲ درصد وزن خشک گیاه نسبت به شاهد (بدون تنش) شد. تنش خشکی تأثیر منفی روی عملکرد اسانس داشت؛ به طوری که با افزایش شدت تنش، مقدار آن کاهش یافت و در تنش خشکی متوسط و شدید، به ترتیب، کاهش ۹/۳ و ۴۰/۲ درصدی در عملکرد اسانس مشاهده شد. افزایش غلظت اسیدهیومیک از صفر به سه درصد باعث افزایش ۱۰/۴ درصدی محتوای کلروفیل شد. میزان فلاونوئیدها در تیمارهای یک، دو و سه درصد اسیدهیومیک به ترتیب ۱۴/۶، ۲۲/۵ و ۳۳/۱ درصد افزایش یافت و این افزایش در تیمارهای پنج، ۱۰ و ۱۵ درصد سرکه چوب به ترتیب ۱۴/۳، ۳۴/۷ و ۳۷/۱ درصد بود. با افزایش غلظت اسیدهیومیک از صفر به سه درصد، محتوای اسانس بوته‌های نعناع فلفلی ۶۸/۶ درصد افزایش یافت؛ در حالی که با افزایش غلظت سرکه چوب از صفر به ۱۵ درصد، میزان اسانس ۹۰/۷ درصد افزایش داشت. بیشترین مقدار منتول (۶۱/۰۴ درصد) در تیمار ۱۰ درصد سرکه چوب و در شرایط بدون تنش خشکی به دست آمد و با تیمار دو درصد اسیدهیومیک در شرایط تنش خشکی متوسط (۶۰/۱ درصد) در یک گروه آماری قرار گرفت. نتایج نشان داد که با محلول‌پاشی اسیدهیومیک و سرکه چوب، محتوای منتول اسانس نسبت به عدم استفاده از آنها به ترتیب ۲۱/۸۸ و ۱۷/۸۴ درصد افزایش داشت. با توجه به محدودیت آب و نتایج این پژوهش، به منظور افزایش کیفیت اسانس و عملکرد اسانس استفاده از محلول‌پاشی سه درصد اسیدهیومیک در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی متوسط، و کاربرد ۱۵ درصد سرکه چوب در شرایط تنش خشکی شدید پیشنهاد می‌شود.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۱۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۸/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۳

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۴/۰۱

کلیدواژه‌ها:

اسانس،

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی،

فنل کل،

منتول،

منتون.

استناد: علوی اصل، س.ع.، مجیدیان، م.، مدرس ثانوی، س.ع.م.، و اصفهانی، م. (۱۴۰۳). تأثیر اسیدهیومیک و سرکه چوب بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و ترکیبات عمده اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در شرایط تنش خشکی. *علوم گیاهان زراعی ایران*، ۵۵(۲)، ۲۹-۴۲. DOI: 10.22059/ijfcs.2023.363279.655022



۱. مقدمه

گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) بومی مناطق مدیترانه‌ای است و در تمام نقاط دنیا برای مصارف غذایی، دارویی، عطرسازی و درمانی کشت می‌شود (McKay & Blumberg, 2006). اسانس نعناع فلفلی به دلیل بهبود ناراحتی‌های دستگاه گوارشی، سندروم روده تحریک‌پذیر، کولیک کودکان و قابلیت تسکین دردهای آرتزیتی، روماتیسمی و دردهای مزمن در صنایع داروسازی کاربرد فراوانی دارد (Adel *et al.*, 2015). منتول، مهم‌ترین جزء اسانس نعناع فلفلی است که همراه با منتون و سایر ترکیبات اسانس، مسئول ایجاد طعم و عطر خنک نعناع می‌باشند (Kamatou *et al.*, 2013). در پروفایل اسانس نعناع فلفلی، هر چه مقدار منتول و منتون بالاتر باشد، اسانس دارای کیفیت بالاتری خواهد بود (Rios-Esteva *et al.*, 2008). اسانس این گیاه یکی از معروف‌ترین و رایج‌ترین روغن‌های اسانس مورد استفاده است و این به دلیل ترکیب‌های اصلی آن یعنی منتول و منتون می‌باشد که خاصیت ضد میکروبی دارند (SeifSahandi *et al.*, 2019)، لذا توسعه کشت نعناع فلفلی و بکارگیری روش‌های صحیح مدیریتی برای بهبود کیفیت اسانس آن اهمیت فراوانی دارد (Mucciarelli *et al.*, 2001).

نعناع فلفلی در شمال اروپا (انگلستان، اسکاتلند و آلمان)، ایالات متحده و کانادا، آسیا (هند، چین و ژاپن) و مناطق مدیترانه‌ای (ایتالیا، یونان و ترکیه) کشت می‌شود. میزان عملکرد نعناع فلفلی به عواملی مانند نوع خاک، مقدار آبیاری، کوددهی، انتخاب ژنوتیپ، شرایط آب و هوایی و سایر عوامل بستگی دارد. در شرایط معمول، میزان عملکرد نعناع فلفلی ممکن است بین یک تا پنج تن در هکتار یا حتی بیشتر وابسته به شرایط مختلف باشد (Court *et al.*, 1993). میزان عملکرد اسانس نعناع فلفلی نیز ممکن است متغیر باشد و از ۰/۳ تا یک درصد وزن خشک گیاه (درصد وزنی) متفاوت است (Court *et al.*, 1993). با توجه به روند افزایشی جمعیت و تغییرات اقلیمی، تنش خشکی به عنوان یکی از مشکلات مهم در دنیا و به‌عنوان یک چالش جدی محسوب می‌شود (FAO, 2020). کمبود آب بزرگ‌ترین عامل محدودکننده در تولید، به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا از جمله ایران می‌باشد (Munns, 2002) و تهدیدی جدی برای تولید پایدار محصولات کشاورزی و امنیت غذایی در شرایط تغییر اقلیم به شمار می‌رود (Anjum *et al.*, 2011). تنش خشکی باعث ایجاد تنش اکسیدتیو و در نتیجه تجزیه پروتئین و آسیب به ساختار و عملکرد پروتئین‌ها و کلروپلاست (Munne-Bosh *et al.*, 2001)، کاهش سطح برگ (Taiz & Zeiger, 2002)، پیری زودرس برگ (Munne-Bosh *et al.*, 2001)، بسته‌شدن روزنه‌ها، کاهش تنفس و فتوسنتز (Bacon, 2004)، کاهش جذب عناصر غذایی (Chaves *et al.*, 2002) و کاهش تولید محصول می‌شود (Zhang & Yang, 2004).

کیفیت ماده مؤثره در زراعت گیاهان دارویی اهمیت بیشتری نسبت به کمیت محصول دارد، اما با توجه به اهمیت و نقش گیاهان دارویی در صنایع مختلف، امروزه رویکرد جهانی در تولید این گیاهان، بهبود کمیت و کیفیت ماده مؤثره می‌باشد. نتایج تحقیقات نشان داده است که یکی از عوامل زراعی مؤثر در رشد و عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی، تغذیه گیاهان می‌باشد (Heidarzadehet *et al.*, 2020). اسیدهیومیک ($C_{187}H_{186}O_{89}N_9S$) یک ترکیب آلی است که اثرات آن بر رشد گیاهان مورد توجه قرار گرفته است. نتایج بررسی‌های محققان نشان داده‌اند که استفاده از اسیدهیومیک می‌تواند به عنوان یک روش مؤثر در کاهش تنش خشکی در گیاهان عمل کند (Ahmad *et al.*, 2020). اسیدهیومیک می‌تواند با افزایش قابلیت نفوذپذیری خاک، بهبود جذب آب و عناصر غذایی و افزایش پایداری خاک در برابر تنش خشکی کمک کند. همچنین، اسیدهیومیک می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی گیاه، بهبود مقاومت گیاهان در برابر تنش خشکی را فراهم کند. در مجموع، به نظر می‌رسد که استفاده از اسیدهیومیک، به‌عنوان یک روش پایدار و مؤثر در کاهش تنش خشکی در گیاهان، می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد (Ahmad *et al.*, 2020). نتایج مطالعات اخیر نشان داده‌اند که استفاده از اسیدهیومیک می‌تواند بهبود عملکرد گیاهان در شرایط خشکی را تسریع کرده و تأثیرات مثبتی روی رشد و عملکرد گیاهان داشته باشد. به‌علاوه، اسیدهیومیک می‌تواند بهبود خصوصیات فیزیولوژیکی گیاهان مانند فعالیت آنزیم‌های دفاعی و جذب آب و عناصر غذایی را افزایش دهد (Canellas *et al.*, 2015). مطالعات دیگری نیز نشان داده‌اند که اسیدهیومیک می‌تواند با بهبود خصوصیات خاک و افزایش توانایی خاک در نگهداری آب، تأثیرات مثبتی روی کاهش تنش خشکی در گیاهان داشته باشد (Chen *et al.*, 2019).

سرکه چوب یک ماده آلی است که به دلیل داشتن ترکیبات مفیدی مانند اسیداستیک، فنول‌ها، کربوکسیلات و آلدهیدها، به عنوان یک عامل مؤثر در بهبود رشد و عملکرد گیاهان در شرایط تنش کم‌آبی شناخته شده است. نتایج برخی از تحقیقات نشان داده‌اند که استفاده از سرکه چوب می‌تواند باعث افزایش تعداد ریشه‌های فرعی در گیاهان شود که بهبود جذب آب و عناصر غذایی را به دنبال داشته و در نتیجه باعث بهبود رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Khan et al., 2019). علاوه بر این، شیوع بیماری‌ها و آفت‌های گیاهی در شرایط تنش خشکی به دلیل ضعف گیاه، افزایش می‌یابد، اما استفاده از سرکه چوب می‌تواند به عنوان یک ماده ضد قارچ و ضد آفت برای گیاهان عمل کند. به‌طور کلی، به دلیل داشتن ترکیبات مفید، سرکه چوب می‌تواند به عنوان یک راه حل طبیعی و مؤثر در بهبود رشد و عملکرد گیاهان در شرایط تنش خشکی مورد استفاده قرار گیرد (Khan et al., 2019). تحقیقات نشان داده‌اند که استفاده از سرکه چوب به عنوان یک محرک رشد گیاه در شرایط تنش خشکی می‌تواند باعث افزایش رشد گیاه و افزایش مقاومت آن در برابر تنش خشکی شود (Khan et al., 2019). سرکه چوب به دلیل داشتن ترکیبات آلی مفید، می‌تواند به عنوان یک راه حل طبیعی، عامل محرک و مؤثر در بهبود عملکرد گیاهان در شرایط تنش کم‌آبی استفاده شود (Uddin et al., 2014; Ahmed et al., 2019).

با توجه به موارد بالا، این پژوهش به منظور بررسی محلول‌پاشی اسیدهیومیک و سرکه چوب در شرایط تنش خشکی روی صفات بیوشیمیایی و ترکیبات اصلی اسانس نعناع فلفلی در استان تهران اجرا شد.

۲. روش‌شناسی پژوهش

این آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در بهار سال ۱۳۹۸ انجام شد. ارتفاع محل اجرای آزمایش از سطح دریا ۱۲۱۵ متر با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و هشت دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۳ دقیقه شمالی می‌باشد. بر اساس آمار هواشناسی نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی (چیتگر) در دانشکده کشاورزی، این منطقه با ۲۴۲ میلی‌متر بارندگی سالانه دارای رژیم آب و هوایی نیمه‌خشک بوده و متوسط درجه حرارت سالانه آن ۲۲ درجه سانتی‌گراد است. نیاز آبی این گیاه حدود ۶۶۴/۴ میلی‌متر می‌باشد (Ghamarnia & Mousabeygi, 2014).

تیمارهای آزمایشی شامل سه رژیم کم‌آبیاری (آبیاری تا حد ظرفیت مزرعه و به‌ترتیب بعد از تخلیه ۲۵، ۴۰ و ۵۵ درصد آب قابل استفاده در منطقه ریشه؛ به‌ترتیب: بدون تنش، تنش متوسط و تنش شدید خشکی) به عنوان عامل اصلی، و هفت سطح محلول‌پاشی (اسیدهیومیک (یک، دو و سه درصد)، سرکه چوب (پنج، ۱۰ و ۱۵ درصد) و عدم محلول‌پاشی (شاهد)) به عنوان عامل فرعی بودند. محلول‌پاشی سرکه چوب و هیومیک‌اسید از مرحله استقرار گیاه و هر ۲۰ روز یک‌بار تا مرحله برداشت انجام شد. اعمال محلول‌پاشی‌ها در ساعت چهار بعد از ظهر و در هوای ملایم و بدون باد و هوای صاف انجام شد. به‌طوری‌که برگ‌های گیاه نعناع کاملاً خیس شوند. گیاهان شاهد توسط آب مقطر محلول‌پاشی شدند. سرکه چوب از شرکت تعاونی فصل پنجم فرح‌بخش واقع در استان فارس - شهرستان داراب تهیه شد، اسیدهیومیک (شرکت تتاکو) از یکی از فروشگاه‌های فروش کود در کرج تهیه شد. ریزوم‌های (به طور متوسط ۱۵ سانتی‌متر) نعناع فلفلی (توده محلی البرز) برای کشت از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهیه و کاشت در تاریخ اول اردیبهشت ۱۳۹۸ صورت گرفت. هر کرت فرعی دارای شش ردیف کاشت به فاصله ردیف ۲۰ سانتی‌متر، فاصله بین هر بوته ۲۰ سانتی‌متر و به طول دو متر بود. علاوه‌براین، بین هر کرت با کرت مجاور یک متر به صورت نکاشت در نظر گرفته شد. قبل از اجرای آزمایش از خاک مزرعه از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری نمونه‌گیری و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن اندازه‌گیری شد. محتوای نیتروژن و ماده آلی خاک به‌ترتیب ۰/۱۴ و ۲/۴۱ درصد، میزان فسفر و پتاسیم به‌ترتیب ۲۷/۶ و ۳۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و بافت خاک مزرعه از نوع لومی-شنی بود. با توجه به آزمایش خاک و غنی‌بودن خاک مزرعه از فسفر و پتاسیم، نیازی به کوددادن در زمان تهیه بستر نبود، مقدار کود نیتروژن به میزان ۶۲ کیلوگرم در هکتار (از منبع اوره) اعمال شد.

آبیاری به صورت قطره‌ای و با استفاده از نوارهای آبیاری انجام شد. اولین آبیاری بلافاصله پس از کشت و آبیاری‌های بعدی به صورت نرمال تا مرحله استقرار گیاهچه انجام شد. حجم آبیاری برای هر تیمار با کنترل کنترل شد. برای تعیین سطوح مختلف آبیاری از روابط ارائه شده توسط Behera & Panda (2009) استفاده شد. در این روش، برنامه زمان‌بندی آبیاری بر اساس درصد تخلیه آب خاک در منطقه ریشه و یا بیشینه تخلیه مجاز MAD (Maximum Allowable Depletion) بود. درصد MAD با رابطه ۱ برآورد شد.

$$\text{MDA} = \frac{\text{FC} - \theta}{\text{FC} - \text{PWP}} \quad \text{رابطه (۱)}$$

FC رطوبت حجمی ظرفیت زراعی، θ رطوبت حجمی خاک و PWP رطوبت حجمی خاک در نقطه پژمردگی دائمی است. حجم آب مورد نیاز با رابطه‌های ۲ و ۳ محاسبه شد.

$$\text{ASW} = \text{FC} - \text{PWP} \quad \text{رابطه (۲)}$$

$$V = \text{ASW} * \text{MAD} * \text{RZ} * 10 \quad \text{رابطه (۳)}$$

که در آن ASW (Available Soil Water) آب قابل دسترس خاک، V (Volume of irrigation water) حجم آب آبیاری (بر حسب میلی‌متر)، RZ عمق موثر تو سعه ریشه و ۱۰ ثابت تبدیل سانتی‌متر به میلی‌متر است. اعمال تنش خشکی بعد از مرحله استقرار بوته‌ها تا ۲۰ در صد گلدهی در کرت‌های مربوطه به‌وسیله دستگاه رطوبت سنج زمان (TDR) مدل TRIME-FM کشور انگلستان و محاسبه میزان پتانسیل آب خاک توسط منحنی رطوبتی خاک به‌وسیله دستگاه صفحه فشاری برای تیمارهای مختلف اعمال شد. قبل از شروع آزمایش از منحنی‌های کالیبراسیون برای تعیین رابطه بین مقدار عددی قرائت‌شده توسط دستگاه TDR مقدار حجمی رطوبت خاک استفاده شد (Heidarzadehet *et al.*, 2021). مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام شد.

برای بررسی اثر تیمارهای آزمایشی، صفات ارتفاع بوته، وزن خشک کل، در صد و عملکرد اسانس، محتوای کلروفیل کل، فلاونوئیدها، فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات اسانس (متول، منتیل‌استات، منتون و 1,8-cinole) اندازه‌گیری شدند. برداشت گیاه نعناع فلفلی برای اندازه‌گیری ارتفاع بوته، وزن خشک کل و اسانس در زمان مشاهده ده درصد گل‌دهی در ۵۰ درصد از کرت‌ها انجام شده و نمونه‌های گیاهی با حذف حاشیه از وسط هر کرت و از فاصله پنج سانتی‌متری از کف زمین برداشت و پس از توزین به اتاق خشک‌کن منتقل شدند. پس از خشک شدن نمونه‌ها به صورت سایه‌خشک و در دمای اتاق ۱۸ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد، برای اندازه‌گیری وزن خشک کل ۴۸ ساعت در آون قرار داده شد و با استفاده از ترازوی دقیق آزمایشگاهی (با دقت چهار صفر) وزن خشک کل محاسبه شد. از هر کرت به اندازه ۵۰ گرم نمونه برگ سایه خشک با ترازو با دقت چهار صفر وزن و جدا شدند. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب مقطر با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت سه ساعت بعد از به‌جوش آمدن انجام شد (Omid Beigi, 2009).

سنجش محتوای کلروفیل کل به روش آرنون (Arnon, 1967)، فلاونوئیدها به روش کریزیک (Krizek *et al.*, 1993)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار DPPH و فنل کل به روش فولین-سینگلتون (Singleton & Rossi, 1965) انجام شد. اجزای اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS)، با مشخصات مدل Hewlett-Packard 6890 دارای انجکتور Splitless و ستون موئینه به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۲۵ میلی‌متر مدل DB-WAX (Agilent/J and W Scientific, Folsom, CA, USA) اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه شدند. مقایسه میانگین صفات به روش آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

۳. نتایج پژوهش و بحث

۳-۱. ارتفاع بوته و وزن خشک کل

جدول تجزیه واریانس نشان داد برهمکنش تنش خشکی و محلول‌پاشی تأثیر معنی‌داری روی ارتفاع بوته و وزن خشک نعناع فلفلی در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد تیمارهای دو در صد اسیدهیومیک، ۱۰ و ۱۵

در صد سرکه چوب به ترتیب با ۳۷/۴۸، ۳۸/۱۲ و ۳۸/۳۰ سانتی متر در شرایط آبیاری مطلوب نسبت به سایر تیمارها، ارتفاع بوته بیشتری داشتند (جدول ۲) و کمترین ارتفاع بوته ۱۷/۹ سانتی متر در تنش خشکی شدید مشاهده شد (جدول ۲).

بیشترین وزن خشک کل (زیست توده) با محلول پاشی دو و سه در صد اسیدهیومیک در شرایط آبیاری مطلوب به ترتیب با ۳۲۰۴ و ۳۲۵۹ کیلوگرم در هکتار تولید شد (جدول ۲) و کمترین مقدار آن در تیمار عدم محلول پاشی (شاهد) در شرایط تنش خشکی شدید با ۱۶۰۴ کیلوگرم در هکتار مشاهده شد (جدول ۲). در حالی که مقدار آن در غلظت‌های کاربرد پنج، ۱۰ و ۱۵ درصد سرکه چوب، به ترتیب ۸/۸۸، ۲۸/۸۸ و ۴۳/۰۲ درصد افزایش داشت (جدول ۲). وزن خشک کل با ارتفاع همبستگی مثبت و معنی داری ($r=0/۸۹^{**}$) داشت (جدول ۵)؛ به طوری که با افزایش ارتفاع بوته، وزن خشک کل نیز افزایش یافت. اسیدهیومیک یکی از مهم ترین ترکیبات شیمیایی موجود در خاک است که از تجزیه باکتری‌ها و قارچ‌ها به دست می‌آید. این ترکیب باعث افزایش نقطه نموی رشد بوته و ارتفاع آن می‌شود. بررسی‌ها نشان داده است که استفاده از اسیدهیومیک به طور میانگین باعث افزایش ارتفاع بوته حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد در مقایسه با شاهد (بدون استفاده از اسیدهیومیک) می‌شود. همچنین، این ترکیب باعث رشد ریشه‌ها و افزایش ظرفیت خاک برای نگهداری آب و عناصر غذایی می‌شود (Chen *et al.*, 2004; Nardi *et al.*, 2002). اولین دلیل اینکه اسیدهیومیک باعث افزایش ارتفاع بوته می‌شود، افزایش نقطه نموی رشد بوته است. بررسی‌ها نشان داده است که اسیدهیومیک باعث افزایش طول سلول‌های گیاه می‌شود و در نتیجه به افزایش ارتفاع بوته کمک می‌کند. این موضوع در تحقیقات مختلف نیز تأیید شده است. Jia *et al.* (2017) نشان دادند که کاربرد اسیدهیومیک باعث افزایش ارتفاع گیاهان ذرت شده و این افزایش به دلیل افزایش طول سلول‌های گیاه بوده است. دلیل دومی که اسیدهیومیک باعث افزایش ارتفاع بوته می‌شود، بهبود رشد ریشه‌های گیاه است. اسیدهیومیک باعث رشد ریشه‌های گیاه می‌شود و در نتیجه باعث افزایش ارتفاع بوته می‌شود. بررسی‌های انجام شده در این زمینه نشان داده است که اسیدهیومیک باعث افزایش تعداد ریشه‌های ثانویه در گیاهان مختلف می‌شود و این موضوع بهبود رشد ریشه‌های گیاه را تسهیل می‌کند (Nardi *et al.*, 2002). محلول پاشی اسیدهیومیک باعث افزایش ارتفاع سپاه‌دانه (Azizi & Safaei, 2017) شد. افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاهان یکی از دلایل علمی افزایش وزن خشک بوته آنها پس از کاربرد اسیدهیومیک است. بررسی‌ها نشان داده است که اسیدهیومیک می‌تواند باعث افزایش جذب عناصر غذایی از خاک توسط ریشه‌های گیاه شود (Nardi *et al.*, 2002). این افزایش جذب عناصر غذایی، باعث تسهیل فرآیند فتوسنتز و افزایش تولید آنزیم‌های مسئول در فعالیت متابولیسم گیاه می‌شود که در نتیجه باعث افزایش وزن خشک بوته گیاه می‌شود (Chen *et al.*, 2004). استفاده از کود آلی اسیدهیومیک باعث جذب بهتر آب و انتقال مواد غذایی توسط گیاه شده و از این طریق باعث افزایش رشد ریشه و ساقه می‌شود (Moghbeli & Arvin, 2014) و به علت افزایش جذب سایر عناصر غذایی باعث افزایش رشد اندام‌های هوایی می‌شود (Yuan *et al.*, 2017). علاوه بر این، اسیدهیومیک باعث افزایش تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین‌ها و جیبرلین‌ها می‌شود که باعث رشد بوته و افزایش وزن خشک آن می‌شوند (García-Mina *et al.*, 2004). از جمله دلایلی که می‌تواند باعث افزایش ارتفاع بوته و وزن خشک کل (زیست توده) گیاهان تحت تأثیر کاربرد سرکه چوب شود، می‌توان به افزایش تولید و رشد سلول‌های گیاهی اشاره کرد. بررسی‌ها نشان داد که کاربرد سرکه چوب می‌تواند باعث افزایش تعداد سلول‌های گیاهی و در نتیجه افزایش ارتفاع بوته شود. همچنین، کاربرد سرکه چوب می‌تواند باعث افزایش وزن خشک کل (زیست توده) گیاهان شود. به طور خاص، کاربرد سرکه چوب می‌تواند باعث افزایش تولید کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های مسئول در فرآیند فتوسنتز گیاه شود که در نتیجه باعث افزایش وزن خشک کل (زیست توده) گیاه می‌شود (Sanchez-Moreiras *et al.*, 2014). یکی از دلایل کاهش ارتفاع بوته و وزن خشک کل (زیست توده) گیاهان در اثر تنش کم‌آبی، کاهش فعالیت فتوسنتز و کاهش تولید کلروفیل است. تحت تنش کم‌آبی، گیاهان به دلیل کمبود آب، قادر به فتوسنتز بهینه نیستند و در نتیجه، تولید کلروفیل کاهش می‌یابد. این کاهش تولید کلروفیل، باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های مسئول در فرآیند فتوسنتز و در نتیجه، کاهش تولید آنزیم‌های مسئول در فعالیت متابولیسم گیاه می‌شود که منجر به کاهش وزن خشک کل (زیست توده) گیاه می‌شود (Flexas *et al.*, 2004). همچنین، تحت تنش کم‌آبی، عمق ریشه‌های گیاهان کاهش می‌یابد و رشد

آنها محدود می‌شود. این موضوع باعث کاهش جذب آب و عناصر غذایی توسط گیاه می‌شود که در نتیجه، باعث کاهش ارتفاع بوته و وزن خشک کل (زیست‌توده) آن می‌شود (Chaves *et al.*, 2003).

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر تیمارهای محلول‌پاشی اسیدهیومیک و سرکه چوب در شرایط تنش خشکی بر صفات نعناع فلفلی.

| S.O.V | df | Mean Squares | | | | | |
|--------------------------|----|--------------|------------------|-------------------|------------|--------------------------|---------------------|
| | | Plant height | Total dry weight | Total chlorophyll | Flavonoids | Essential oil percentage | Essential oil yield |
| Block | 2 | 0.026 | 18592 | 0.000 | 0.000 | 0.002 | 6.575 |
| Water deficit stress (W) | 2 | 443** | 3059055** | 0.130** | 0.013** | 0.280** | 649.43** |
| Error 1 | 4 | 0.084 | 67577 | 0.005 | 0.0001 | 0.003 | 3.106 |
| Foliar application(S) | 6 | 233** | 1175374** | 0.105** | 0.007** | 0.354** | 535.487** |
| W*S | 12 | 21.26** | 57799** | 0.011** | 0.001** | 0.038** | 43.895** |
| Error 2 | 36 | 0.287 | 8308 | 0.003 | 0.000 | 0.002 | 1.940 |
| C.V (%) | - | 1.90 | 3.83 | 1.71 | 1.79 | 4.60 | 6.31 |

ns و * به ترتیب نشانگر عدم معنی‌داری و معنی‌دار بودن در سطح احتمال یک درصد می‌باشند.

۲-۳. غلظت کلروفیل کل و فلاونوئید

غلظت کلروفیل کل و فلاونوئید تحت تأثیر برهمکنش تنش خشکی و محلول‌پاشی در سطح احتمال خطای یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). جدول مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین میزان کلروفیل کل در تیمارهای کاربرد دو و سه درصد اسیدهیومیک در شرایط آبیاری مطلوب به ترتیب با ۳/۱۸۵ و ۳/۲۰۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ و کاربرد سه درصد اسیدهیومیک در شرایط تنش خشکی متوسط با ۳/۲۴۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ مشاهده شد (جدول ۲). ولی تیمارهای کاربرد ۱۰ و ۱۵ درصد سرکه چوب در شرایط تنش خشکی متوسط (به ترتیب ۰/۳۳۸ و ۰/۳۳۷ میکرومول در گرم وزن تر برگ) نسبت به سایر تیمارها، فلاونوئید بالاتری داشتند (جدول ۲). کلروفیل کل با ارتفاع بوته ($r=0.75^{**}$) و وزن خشک کل ($r=0.76^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد (جدول ۵). همچنین، فلاونوئید با ارتفاع ($r=0.53^{*}$) و وزن خشک کل ($r=0.49^{*}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت (جدول ۵). یکی از دلایل افزایش محتوای کلروفیل در گیاهان با کاربرد اسیدهیومیک، افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول در فرآیند ساخت کلروفیل است. تحت تأثیر اسیدهیومیک، فعالیت آنزیم‌های مسئول در فرآیند ساخت کلروفیل افزایش می‌یابد که در نتیجه، تولید کلروفیل نیز افزایش می‌یابد. همچنین، اسیدهیومیک می‌تواند باعث افزایش جذب نور توسط برگ‌ها و افزایش میزان فتوسنتز گیاه شود که در نتیجه، تولید کلروفیل نیز افزایش می‌یابد (Canellas *et al.*, 2002). کاربرد اسیدهیومیک در گیاهان برنج مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که کاربرد اسیدهیومیک باعث افزایش محتوای کلروفیل در برگ‌ها و بهبود عملکرد فتوسنتزی گیاهان برنج می‌شود (Ahmad *et al.*, 2012). اسیدهیومیک با قرار دادن آب و مواد غذایی بیشتر و مناسب‌تر در اختیار گیاه، میزان ساخت رنگیزه‌ها را افزایش داده و انتقال مواد فتوسنتزی را به صورت راحت‌تری در اختیار گیاه قرار می‌دهد (Davoodifard *et al.*, 2012). فلاونوئیدها یک گروه از ترکیبات فنلی هستند که در برگ‌ها و سایر اندام‌های گیاهی تولید می‌شوند و نقش مهمی در مقاومت گیاهان به تنش‌های مختلف دارند. Tian *et al.* (2016) گزارش کردند کاربرد اسیدهیومیک در گیاهان سیر مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که کاربرد اسیدهیومیک باعث افزایش تولید فلاونوئیدها در سیر می‌شود (Tian *et al.*, 2016). سرکه چوب حاوی اسید است که می‌تواند فعالیت آنزیم‌های مسئول در فرآیند ساخت فلاونوئید را افزایش دهد و در نتیجه، تولید فلاونوئید نیز افزایش می‌یابد (Ghasemzadeh *et al.*, 2010). کاربرد سرکه چوب در گیاهان آلوئه‌ورا نشان داد که کاربرد سرکه چوب باعث افزایش تولید فلاونوئید در آلوئه‌ورا می‌شود (Khorasaninejad *et al.*, 2019).

۳-۳. درصد و عملکرد اسانس

جدول تجزیه واریانس نشان داد درصد و عملکرد اسانس نعناع فلفلی تحت تأثیر برهمکنش تنش خشکی و محلول‌پاشی در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین محتوای اسانس در تیمار ۱۵ درصد سرکه چوب در شرایط تنش خشکی متوسط

(۱/۱۸۳ درصد) تولید شد و با تیمار ۱۰ درصد سرکه چوب در شرایط تنش خشکی متوسط (۱/۱۵۵ درصد)، تیمار ۱۰ درصد سرکه چوب (۱/۱۵۶ درصد)، ۱۵ درصد سرکه چوب (۱/۱۴۷ درصد) و سه درصد اسیدهیومیک (۱/۱۴۹ درصد) در شرایط آبیاری مطلوب در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول ۲). جدول همبستگی نشان داد درصد اسانس با ارتفاع بوته ($r=0/72^{**}$)، وزن خشک کل ($r=0/72^{**}$)، کلروفیل کل ($r=0/52^*$) و فلاونوئید ($r=0/78^{**}$) همبستگی مثبت و معنی داری دارد (جدول ۵). عملکرد اسانس با ارتفاع بوته ($r=0/85^{**}$)، وزن خشک کل ($r=0/91^{**}$)، کلروفیل کل ($r=0/67^{**}$)، فلاونوئید ($r=0/68^{**}$) و درصد اسانس ($r=0/94^{**}$) همبستگی مثبت و معنی داری داشت (جدول ۵). لذا با توجه به نتایج همبستگی صفات مشخص شد که وزن خشک کل و درصد اسانس روی عملکرد اسانس تأثیر دارند و در این پژوهش با توجه به ضرایب همبستگی، میزان تأثیر درصد اسانس بیشتر از وزن خشک کل بود (جدول ۵).

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات نعنای فلفلی در برهمکنش تیمارهای محلول پاشی اسیدهیومیک و سرکه چوب در شرایط تنش خشکی.

| Treatments | Plant height (cm) | Total dry weight (kg ha ⁻¹) | Total chlorophyll (mg gF.W ⁻¹) | Flavonoids (μmol gF.W ⁻¹) | Essential oil (%) | Essential oil yield (kg ha ⁻¹) | |
|-------------------------------|-------------------|---|--|---------------------------------------|-------------------|--|--------------|
| Normal irrigation | H-1% | 28.40±0.22f | 2514±27d-f | 3.094±0.037d-f | 0.244±0.002fg | 0.824±0.031ef | 20.73±1.00h |
| | H-2% | 37.48±0.07a | 3204±29ab | 3.185±0.033a-c | 0.247±0.003f | 1.072±0.025bc | 34.35±0.79b |
| | H-3% | 35.11±0.33b | 3259±34a | 3.206±0.032ab | 0.269±0.002cd | 1.149±0.033a | 37.48±1.45a |
| | WV-5% | 32.49±0.34d | 2482±110e-g | 3.031±0.014e-h | 0.238±0.003fg | 0.594±0.023hi | 14.76±0.95ij |
| | WV-10% | 38.12±0.09a | 2627±112de | 3.126±0.012b-d | 0.252±0.002ef | 1.156±0.011a | 30.36±1.36de |
| | WV-15% | 38.30±0.31a | 3057±138bc | 2.948±0.020h-j | 0.269±0.002cd | 1.147±0.019a | 35.07±1.79b |
| Control | 20.71±0.24k | 2296±86hi | 2.951±0.034h-j | 0.205±0.003ij | 0.541±0.035i | 12.35±0.35kl | |
| Moderate water deficit stress | H-1% | 23.40±0.49i | 2083±21jk | 2.988±0.027g-j | 0.266±0.001de | 0.949±0.01d | 19.77±0.35h |
| | H-2% | 26.89±0.35g | 2502±79e-g | 3.104±0.030c-e | 0.284±0.002c | 1.054±0.016c | 26.38±0.95fg |
| | H-3% | 33.84±0.14c | 2978±12c | 3.249±0.033a | 0.312±0.001b | 1.13±0.02ab | 33.65±0.74bc |
| | WV-5% | 25.19±0.28h | 1981±60k | 2.909±0.028jk | 0.246±0.002fg | 0.843±0.019e | 16.67±0.13i |
| | WV-10% | 30.88±0.42e | 2478±41e-g | 3.013±0.028f-i | 0.338±0.003a | 1.155±0.009a | 28.63±0.68ef |
| | WV-15% | 34.73±0.23b | 2656±93d | 3.09±0.016d-f | 0.337±0.001a | 1.183±0.004a | 31.40±1.01cd |
| Control | 19.97±0.19k | 1780±52l | 2.899±0.020jk | 0.231±0.003gh | 0.633±0.007h | 11.25±0.22k-m | |
| Severe water deficit stress | H-1% | 21.95±0.25j | 1791±39l | 2.969±0.039h-j | 0.218±0.002hi | 0.576±0.005hi | 10.31±0.15lm |
| | H-2% | 28.33±0.44f | 2008±65k | 3.098±0.042c-f | 0.248±0.000f | 0.751±0.037fg | 15.04±0.44ij |
| | H-3% | 28.81±0.27f | 2356±94g-i | 3.064±0.020d-g | 0.264±0.003de | 0.715±0.015g | 16.83±0.55i |
| | WV-5% | 18.87±0.05l | 1722±18lm | 2.797±0.044l | 0.243±0.005fg | 0.745±0.042g | 12.82±0.6jkl |
| | WV-10% | 23.81±0.50i | 2216±65j | 2.847±0.046lk | 0.266±0.004de | 0.926±0.026d | 20.54±1.09h |
| | WV-15% | 26.75±0.17g | 2411±45f-h | 2.934±0.032i-k | 0.265±0.002de | 1.058±0.019bc | 25.52±0.74g |
| Control | 17.90±0.06m | 1604±50m | 2.767±0.004l | 0.200±0.003j | 0.602±0.045hi | 9.64±0.62m | |

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار براساس آزمون LSD می‌باشند. بعد از علامت ± خطای استاندارد قرار دارد (H-1%: محلول پاشی یک در صد اسیدهیومیک، H-2%: محلول پاشی دو در صد اسیدهیومیک، H-3%: محلول پاشی سه در صد اسیدهیومیک، WV-5%: محلول پاشی سرکه چوب پنج در صد، WV-10%: محلول پاشی سرکه چوب ۱۰ درصد، WV-15%: محلول پاشی سرکه چوب ۱۵ درصد و Control: شاهد (بدون محلول پاشی)).

یکی از دلایل افزایش در صد و عملکرد اسانس با کاربرد اسیدهیومیک، افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول در فرآیند ساخت اسانس در گیاهان است. اسیدهیومیک می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول در فرآیند ساخت اسانس، تولید اسانس را افزایش دهد (Khalid et al., 2018). اسیدهیومیک از طریق فراهم کردن جذب بیشتر فسفر و نیتروژن که در اجزای تشکیل دهنده

اسانس حضور دارند، موجب افزایش میزان اسانس پیکر رویشی گیاه می‌شود (Niakan & Khavarinezhad, 2003). در یک تحقیق، کاربرد اسیدهیومیک در گیاهان ریحان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که کاربرد اسیدهیومیک باعث افزایش در صد و عملکرد اسانس در ریحان می‌شود (Rouhiet *et al.*, 2018). همچنین، در یک تحقیق دیگر، استفاده از کودهای حاوی اسیدهیومیک باعث افزایش در صد و عملکرد اسانس در گیاهان نعناع و یونجه شده است (Gomaa *et al.*, 2017). به‌طور کلی، افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول در فرآیند ساخت اسانس و افزایش جذب عناصر غذایی توسط گیاهان به عنوان دو دلیل اصلی افزایش در صد و عملکرد اسانس با کاربرد اسیدهیومیک مطرح شده‌اند. در یک تحقیق، کاربرد سرکه چوب در گیاهان نعناع و ریحان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که کاربرد سرکه چوب باعث افزایش در صد و عملکرد اسانس در این گیاهان می‌شود. همچنین، در این تحقیق مشاهده شد که کاربرد سرکه چوب باعث افزایش محتوای کلروفیل در نعناع و ریحان نیز می‌شود (Mohamed & El-Maghraby, 2016). کاهش عملکرد اسانس در شرایط تنش کم‌آبی در گیاهان ریحان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که در شرایط تنش کم‌آبی، عملکرد اسانس در گیاه ریحان کاهش می‌یابد. همچنین، در این تحقیق مشاهده شد که تنش کم‌آبی باعث افزایش محتوای اسانس در گیاه ریحان می‌شود، دلیل افزایش در صد اسانس در شرایط تنش، محافظت گیاه در برابر شرایط تنش می‌باشد (Ramoliya *et al.*, 2018).

۳-۴. فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

بررسی جدول تجزیه واریانس نشان داد برهمکنش تنش خشکی و محلول‌پاشی تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد روی فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گذاشت (جدول ۳). جدول مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین میزان فنل کل در تیمار کاربرد سه درصد اسیدهیومیک در شرایط تنش خشکی شدید با ۱۹/۲۸ میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم وزن تر برگ تولید شد (جدول ۴) و کمترین مقدار آن در تیمار کاربرد یک درصد اسیدهیومیک در شرایط آبیاری مطلوب مشاهده شد (جدول ۴). همچنین، تیمار کاربرد سه درصد اسیدهیومیک در شرایط تنش خشکی شدید، بیشترین مهار DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) را داشت که با تیمارهای کاربرد ۱۵ درصد سرکه چوب در شرایط تنش کم‌آبی شدید و کاربرد سه درصد اسیدهیومیک و ۱۵ درصد سرکه چوب در شرایط تنش کم‌آبی متوسط در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول ۴). بیشترین مقدار فنل کل از کاربرد ۱۰ درصد سرکه چوب در شرایط تنش کم‌آبی شدید به‌دست آمد (جدول ۴). فنل کل با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ($r=0/57^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت (جدول ۵)، ولی با سایر صفات همبستگی معنی‌داری نشان نداد (جدول ۵). لذا با افزایش فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافت. فنل کل یکی از ترکیبات فعال گیاهی است که در شرایط تنش خشکی می‌تواند به عنوان یک عامل محافظت از گیاه عمل کند. فنل کل با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، می‌تواند در محافظت از سلول‌های گیاهی در شرایط تنش خشکی نقش داشته باشد. همچنین، فنل کل باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های مسئول در فرآیند ساخت اسانس می‌شود که در نتیجه تولید اسانس در شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد (Bose *et al.*, 2014).

در یک تحقیق، تأثیر فنل کل در شرایط تنش خشکی در گیاه ریحان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که کاربرد فنل کل باعث کاهش تأثیرات منفی تنش خشکی روی رشد و عملکرد گیاه ریحان می‌شود. همچنین، در این تحقیق مشاهده شد که کاربرد فنل کل باعث افزایش عملکرد اسانس و محتوای فنلی در گیاه ریحان در شرایط تنش خشکی می‌شود (Sharma *et al.*, 2019). در یک تحقیق، تأثیر تنش خشکی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی در گیاه کینوا مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، این تحقیق نشان داد که استفاده از کودهای آلی و برخی ترکیبات آلی مانند اسیدهیومیک، باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنلی در گیاه کینوا در شرایط تنش خشکی می‌شود (Zhu *et al.*, 2021).

۳-۵. ترکیبات اصلی اسانس

ترکیبات اصلی اسانس (منتول، منتیل‌استات، منتون و 1,8-cinole) تحت تأثیر برهمکنش تنش خشکی و محلول‌پاشی در سطح احتمال یک درصد قرار گرفتند (جدول ۳). جدول مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین مقدار منتول از کاربرد ۱۰ درصد سرکه چوب در شرایط آبیاری مطلوب با ۶۱/۰۴ درصد به‌دست آمد (جدول ۴) و با تیمار کاربرد دو درصد اسیدهیومیک در شرایط تنش خشکی متوسط با ۶۰/۱۵ درصد در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول ۴). نتایج نشان داد مقدار منتول با کاربرد اسیدهیومیک و

سرکه چوب، نسبت به عدم استفاده از آنها در شرایط تنش خشکی متوسط و شرایط آبیاری مطلوب به ترتیب ۴۲/۱۹ و ۴۴/۳ درصد افزایش یافت (جدول ۴). منتیل استات در تیمار شاهد در شرایط آبیاری مطلوب (۲۴/۷۹ درصد) بیشتر از سایر تیمارها شد (جدول ۴). همچنین، بیشترین میزان منتون نیز در تیمار شاهد در شرایط آبیاری مطلوب با ۲/۹۵ درصد بیشتر از سایر تیمارها بود و با کاربرد سه درصد اسیدهیومیک در شرایط آبیاری مطلوب در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول ۴)؛ درحالی که بیشترین مقدار 1,8-cinole در تیمار محلول پاشی ۱۰ درصد سرکه چوب در شرایط تنش خشکی شدید با ۳/۹۱ درصد مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۳. تجزیه واریانس فنل کل، ظرفیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات عمده اسانس نناع فلفلی در تیمارهای محلول پاشی اسیدهیومیک و سرکه چوب در شرایط تنش خشکی.

| S.O.V | df | Mean Squares | | | | | |
|--------------------------|----|--------------|-----------|-----------|-----------------|----------|------------|
| | | Total Phenol | DDPH | Menthol | Menthyl acetate | Menthone | 1,8-cinole |
| Block | 2 | 0.115 | 0.558 | 0.304 | 2.190 | 0.001 | 0.20 |
| Water deficit stress (W) | 2 | 41.830** | 722.123** | 78.094** | 21.002** | 4.237** | 0.390** |
| Error 1 | 4 | 0.100 | 4.718 | 1.499 | 1.205 | 0.007 | 0.020 |
| Foliar application(S) | 6 | 9.063** | 272.721** | 194.707** | 27.286** | 1.335** | 0.615** |
| W*S | 12 | 4.546** | 34.479** | 12.784** | 3.279** | 0.576** | 0.141** |
| Error 2 | 36 | 0.101 | 7.151 | 0.486 | 0.753 | 0.005 | 0.017 |
| C.V (%) | - | 2.12 | 3.86 | 1.30 | 4.38 | 4.16 | 3.95 |

ns و ** به ترتیب نشانگر عدم معنی داری و معنی دار بودن در سطح احتمال یک درصد می باشند

جدول ۴. مقایسه میانگین فنل کل، ظرفیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات عمده اسانس نناع فلفلی در برهمکنش تیمارهای محلول پاشی اسیدهیومیک و سرکه چوب در شرایط تنش خشکی.

| Treatments | Total Phenol (mg Gallic acid gFW ⁻¹) | DDPH (%) | Menthol (%) | Menthyl acetate (%) | Menthone (%) | 1,8-cinole (%) | |
|-------------------------------|--|---------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|---------------|
| Normal irrigation | H-1% | 11.58±0.083k | 60.04±0.431gh | 52.50±0.599jk | 21.12±0.595c-e | 1.93±0.101c | 2.96±0.065kl |
| | H-2% | 12.82±0.115j | 66.85±2.807ef | 58.94±0.450c | 21.00±0.346c-e | 1.86±0.036c-e | 3.25±0.021f-i |
| | H-3% | 14.41±0.078gh | 70.05±2.237de | 56.75±0.414de | 19.12±0.775fg | 2.92±0.043a | 3.45±0.089c-f |
| | WV-5% | 13.55±0.028i | 62.97±1.623fg | 53.80±0.697hi | 19.35±0.641fg | 1.77±0.028de | 3.15±0.120h-k |
| | WV-10% | 15.64±0.128de | 61.78±1.005gh | 61.04±0.428a | 19.34±0.623fg | 1.37±0.02hi | 3.25±0.055f-i |
| | WV-15% | 15.57±0.112de | 60.28±0.833gh | 56.28±0.185ef | 21.51±0.735b-d | 2.38±0.033b | 3.38±0.094d-g |
| | Control | 13.42±0.145i | 57.98±1.052h | 50.21±0.111lm | 24.79±0.159a | 2.95±0.032a | 2.69±0.120m |
| Moderate water deficit stress | H-1% | 13.79±0.110i | 66.98±0.804ef | 51.35±0.317kl | 22.90±0.222b | 0.43±0.008j | 2.71±0.032m |
| | H-2% | 13.90±0.301hi | 70.96±0.156c-e | 60.15±0.350ab | 19.70±0.75e-g | 1.49±0.034fg | 3.43±0.021d-f |
| | H-3% | 14.42±0.244gh | 81.87±0.413a | 59.21±0.110bc | 16.40±0.015h | 1.44±0.036f-h | 3.03±0.060j-l |
| | WV-5% | 14.61±0.246fg | 71.86±1.836cd | 49.60±0.079mn | 18.30±0.382g | 1.54±0.027f | 3.05±0.112i-l |
| | WV-10% | 15.55±0.085de | 62.88±1.013fg | 55.33±0.224fg | 18.60±0.433g | 1.86±0.036c-e | 3.7±0.033ab |
| | WV-15% | 15.52±0.305de | 79.10±3.073ab | 54.33±0.524gh | 18.90±0.359g | 1.76±0.014e | 3.51±0.076b-e |
| | Control | 13.83±0.056i | 60.58±0.445gh | 42.30±0.837q | 22.30±0.653bc | 1.88±0.049cd | 3.21±0.018g-j |
| Severe water deficit stress | H-1% | 15.28±0.320e | 73.89±0.459cd | 48.93±0.184no | 19.70±0.289e-g | 0.37±0.014j | 3.14±0.155h-k |
| | H-2% | 18.73±0.068b | 73.31±1.161cd | 56.73±0.111de | 19.10±0.516fg | 1.94±0.038c | 3.66±0.063bc |
| | H-3% | 19.28±0.110a | 82.60±0.652a | 57.45±0.294d | 15.98±0.108h | 1.39±0.04g-i | 3.54±0.050b-d |
| | WV-5% | 15.13±0.338ef | 74.85±1.988bc | 48.33±0.344o | 18.40±0.267g | 1.32±0.014i | 2.89±0.035lm |
| | WV-10% | 15.85±0.214d | 72.70±1.224cd | 52.93±0.318ij | 19.42±0.297fg | 1.37±0.042hi | 3.91±0.037a |
| | WV-15% | 16.96±0.122c | 79.10±1.173ab | 53.76±0.422hi | 19.38±0.450fg | 1.38±0.037g-i | 3.52±0.038b-e |
| | Control | 14.71±0.119fg | 63.98±2.008fg | 44.79±0.878p | 20.49±1.18d-f | 1.46±0.053f-h | 3.31±0.086c-h |

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند. بعد از علامت \pm خطای استاندارد قرار دارد. (H-1%: محلول پاشی یک در صد اسیدهیومیک، H-2%: محلول پاشی دو در صد اسیدهیومیک، H-3%: محلول پاشی سه در صد اسیدهیومیک، WV-5%: محلول پاشی سرکه چوب پنج در صد، WV-10%: محلول پاشی سرکه چوب ۱۰ درصد، WV-15%: محلول پاشی سرکه چوب ۱۵ درصد و Control: شاهد (بدون محلول پاشی)).

اسیدهیومیک یک ترکیب آلی است که در کودهای آلی استفاده می‌شود و می‌تواند روی پروفایل اسانس گیاهان تأثیر بگذارد. تحقیقات Hassani *et al.* (2018) نشان داده است که استفاده از اسیدهیومیک می‌تواند باعث افزایش محتوای اسانس و تغییر در پروفایل ترکیبات شیمیایی آن شود. در یک تحقیق، تأثیر اسیدهیومیک بر پروفایل اسانس گیاه آویشن (*Thymus vulgaris* L.) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از اسیدهیومیک، باعث افزایش محتوای اسانس و تغییر در پروفایل ترکیبات شیمیایی آن شده است. در این تحقیق، محتوای کارواکرول در گروهی که با اسیدهیومیک تیمار شده بودند، بیشتر از گروه شاهد بود. همچنین، میزان ترپنوئیدها و فنل‌ها در گروهی که با اسیدهیومیک تیمار شده بودند، بیشتر از گروه شاهد بودند (Hassani *et al.*, 2018). بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از اسیدهیومیک می‌تواند بر پروفایل اسانس گیاهان تأثیر بگذارد و باعث افزایش محتوای اسانس و تغییر در ترکیبات شیمیایی آن شود. در یک تحقیق دیگر، تأثیر اسیدهیومیک بر پروفایل اسانس گیاهان نعناع فلفلی و نعناع دشتی (*Mentha spicata* L.) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از اسیدهیومیک، باعث افزایش محتوای اسانس و تغییر در پروفایل ترکیبات شیمیایی آن‌ها شده است. در این تحقیق، استفاده از اسیدهیومیک باعث افزایش محتوای اسانس در گیاه نعناع دشتی شده است. همچنین، ترکیبات اصلی اسانس نعناع فلفلی شامل منتول، منتون و کاروفیل‌ها در گروهی که با اسیدهیومیک تیمار شده بودند، بیشتر از گروه کنترل بودند. در مورد گیاه نعناع دشتی، میزان محتوای اسانس و ترکیبات اسانس در گروهی که با اسیدهیومیک تیمار شده بود، بیشتر از گروه کنترل بودند، اما این تفاوت در مقادیر به دلیل تفاوت‌های محیطی و ژنتیکی در این دو گیاه بود (Javanmardi *et al.*, 2014). جدول همبستگی نشان داد درصد منتول با ارتفاع ($r=0/81^{**}$)، وزن خشک کل ($r=0/76^{**}$)، کلروفیل کل ($r=0/78^{**}$)، درصد اسانس ($r=0/68^{**}$)، عملکرد اسانس ($r=0/74^{**}$) و فلاونوئید ($r=0/53^*$) همبستگی مثبت و معنی‌داری دارد (جدول ۵). در حالی که درصد متیل‌استات با فلاونوئید ($r=-0/47^*$) همبستگی منفی و معنی‌داری نشان داد (جدول ۵). همچنین، درصد منتول با وزن خشک کل ($r=0/48^*$) و درصد 1,8-cinole با فنل کل ($r=0/60^{**}$) همبستگی مثبت و معنی‌داری دارد (جدول ۵). همبستگی مثبت از نظر فیزیولوژیکی نشان‌دهنده تغییرات مثبت (افزایش) یک صفت در بالابردن مقدار صفت دیگر می‌باشد. لذا با افزایش وزن خشک کل و فنل کل، محتوی منتول نیز افزایش داشت.

جدول ۵. ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی.

| Traits | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|------|------|------|
| A | 1.00 | | | | | | | | | | | |
| B | 0.89** | 1.00 | | | | | | | | | | |
| C | 0.75** | 0.76** | 1.00 | | | | | | | | | |
| D | 0.72** | 0.72** | 0.52* | 1.00 | | | | | | | | |
| E | 0.85** | 0.91** | 0.67** | 0.94** | 1.00 | | | | | | | |
| F | 0.03 | -0.17 | -0.08 | 0.03 | -0.07 | 1.00 | | | | | | |
| G | 0.53* | 0.49* | 0.45 | 0.78** | 0.68** | 0.19 | 1.00 | | | | | |
| H | 0.02 | 0.01 | 0.18 | 0.19 | 0.11 | 0.57** | 0.40 | 1.00 | | | | |
| I | 0.81** | 0.76* | 0.78** | 0.68** | 0.74** | 0.22 | 0.53* | 0.25 | 1.00 | | | |
| J | -0.28 | -0.12 | -0.27 | -0.26 | -0.21 | -0.54 | -0.47* | -0.74 | -0.40 | 1.00 | | |
| K | 0.31 | 0.48* | 0.22 | 0.11 | 0.30 | -0.16 | -0.01 | -0.39 | 0.14 | 0.25 | 1.00 | |
| L | 0.28 | 0.17 | 0.06 | 0.35 | 0.29 | 0.60** | 0.42 | 0.30 | 0.30 | 0.33 | 0.09 | 1.00 |

* و ** به ترتیب نشان‌دهنده همبستگی در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشد. A: ارتفاع، B: وزن خشک اندام هوایی، C: کلروفیل کل، D: درصد اسانس، E: عملکرد اسانس، F: فنل کل، G: فلاونوئید کل، H: درصد مهار DPPH، I: درصد منتول، J: درصد متیل‌استات، K: درصد منتون، L: درصد 1,8-cinole.

۴. نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول پاشی اسیدهیومیک و سرکه چوب باعث افزایش خصوصیات کیفی و کمی گیاه نعناع فلفلی شد؛ به طوری که کاربرد اسیدهیومیک و سرکه چوب در غلظت‌های مختلف باعث افزایش ارتفاع بوته، وزن خشک کل، کلروفیل کل و فلاونوئید شد. تنش خشکی تأثیر منفی روی عملکرد اسانس داشت. نتایج نشان داد کاربرد سرکه چوب و اسیدهیومیک باعث افزایش کیفیت اسانس نعناع فلفلی شد؛ به طوری که بیشترین مقدار منتول از کاربرد ۱۰ درصد سرکه چوب در شرایط آبیاری مطلوب با ۶۱/۰۴ درصد به دست آمد و با تیمار کاربرد دو درصد اسیدهیومیک در شرایط تنش خشکی متوسط با ۶۰/۱۵ درصد در یک گروه آماری قرار گرفت. با توجه به محدودیت آب و نتایج این پژوهش، استفاده از محلول پاشی سه درصد اسیدهیومیک شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی متوسط و کاربرد ۱۵ درصد سرکه چوب در شرایط تنش خشکی شدید به دلیل افزایش کیفیت اسانس و عملکرد اسانس در استان تهران و مناطق مشابه پیشنهاد می‌شود.

۵. منابع

- Adel, M., Abedian Amiri, A., Zorriehzahra, J., Nematolahi, A., & Esteban, M.A. (2015). Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita* L.) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*). *Fish Shellfish Immunology*, 45(2), 841-847.
- Ahmad, M., Zahir, Z.A., Asghar, H.N., Asghar, M., & Arshad, M. (2020). Humic acid application improves maize (*Zea mays* L.) performance under water stress. *Journal of Plant Nutrition*, 43(9), 1280-1290.
- Ahmad, R., Waraich, E.A., Nawaz, F., Ahmad, I., & Ahmad, M.S.A. (2012). Effect of humic acid on the growth, yield, and nutrient content of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Nutrition*, 35(2), 202-215.
- Ahmed, O.H., El-Bassiouny, H.M.S., & El-Hadidy, M.E. (2019). Effect of wood vinegar on the growth and yield of maize under different irrigation intervals. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 9(3), 275-285.
- Anjum, S.A., Xie, X.Y., Wang, L.C., Saleem, M.F., Man, C., & Lei, W. (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(9), 2026-2032.
- Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-150.
- Azizi, M., & Safaei, Z. (2017). Effect of using humic acid and formaxnano fertilizer on morphological traits, yield, essential content and (*Nigella sativa* L.). *Journal of Horticultural Sciences*, 30(4), 671-680.
- Bacon, M. (2004). Water use efficiency in plant biology. In water use efficiency in plant biology, (Ed Bacon M), Black well Publishing. 344 pp.
- Behera S.K., & Panda, R.K. (2009). Effect of fertilization and irrigation schedule on water and fertilizer solute transport for wheat crop in a sub-humid sub-tropical region. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 130, 141-155.
- Bose, S., Tripathi, A.K., Yadav, S., & Yadav, S.K. (2014). Influence of drought stress on growth, yield and physiological parameters of medicinal plants: A review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(21), 731-764.
- Canellas, L.P., Olivares, F.L., & Okorokova-Façanha, A.L. (2002). Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. *Plant and Soil*, 246(2), 185-196.
- Canellas, L.P., Olivares, F.L., Aguiar, N.O., Jones, D.L., Nebbioso, A., Mazzei, P., & Piccolo, A. (2002). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 103(1), 1-25.
- Canellas, L.P., Olivares, F.L., Okorokova-Façanha, A.L., & Façanha, A.R. (2015). Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. *Plant and Soil*, 395(1-2), 337-349.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P., & Pereira, J.S. (2003). Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30(3), 239-264.
- Chaves, M.M., Pereira, J.S., Maroco, J.P., Rodrigues, M.L., Picardo, C.P.P., Osorio, M.L., Carvalho, I., Faria, T., & Pinheiro, C. (2002). How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*, 89, 907-916.
- Chen, Y., Clapp, C.E., Magen, H., & Bloom, P.R. (2019). Humic and fulvic acids and their potential in crop production and environmental management. *Advances in Agronomy*, 154, 189-238.
- Chen, Y., Clapp, C.E., Magen, H., & Mikkelsen, R.L. (2004). The nature of soil organic matter affects phosphorus release from soil. *Soil Science Society of America Journal*, 68(6), 2048-2054.
- Court, W.A., Roy, R.C., & Pocs, R. (1993). Effect of harvest date on the yield and quality of the essential oil of peppermint. *Canadian Journal Plant Science*, 73, 815-824.

- Davoodifard, M., Habibi, D., & Davoodifard, F. (2012). Effects of salinity stress on membrane stability, chlorophyll content and yield components of wheat inoculated with plant growth promoting bacteria and humic acid. *Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding*, 2(8), 76-81. (In Persian).
- Flexas, J., Bota, J., Escalona, J.M., Sampol, B., & Medrano, H. (2004). Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: An evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology*, 31(2), 123-131.
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2020). *The State of Food and Agriculture 2020*. Overcoming water challenges in agriculture. FAO: Rome. Retrieved from: <http://www.fao.org/3/ca9692en/ca9692en.pdf>.
- García-Mina, J.M., Antolín, M.C., & Sánchez-Díaz, M. (2004). Metal complexation by humic substances and their structural features. *Journal of Geochemical Exploration*, 82(1), 117-124.
- Ghamarnia, H., & Mousabeygi, F. (2014). Determination of *Mentha pipertia* (L.) water requirement, single and dual crop coefficients. *Journal of Water and Soil*, 28(4), 670-678.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z.E., & Rahmat, A. (2010). Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(24), 2674-2681.
- Gomaa, E.Z., El-Gizawy, A.M., Mohamed, H.I., & Abd El-Mawla, A.A. (2017). Effect of foliar application with humic acid and zinc on growth, yield and essential oil of peppermint and alfalfa. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(12), 25-34.
- Hassani, A., Azizi, M., & Ghorbanpour, M. (2018). Effect of humic acid on essential oil content and composition of *Thymus vulgaris* (L.) under drought stress. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(3), 675-684.
- Heidarzadeh, A., Modarres-Sanavy, S.A.M., & Mokhtassi-Bidgoli, A. (2020). Effect of nitrogen on some quantitative and qualitative traits of *Dracocephalum kotschy* Boiss. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51(3), 705-717. (In Persian).
- Heidarzadeh, A., Modarres-Sanavy, S.A.M., & Mokhtassi-Bidgoli, A. (2021) Changes in yield and essential oil compositions of *Dracocephalum kotschy* Boiss in response to azocompost, vermicompost, nitroxin, and urea under water deficit stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22, 896-913.
- Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., & Bais, H.P. (2014). Effect of salinity stress on yield, component of essential oil and physiological parameters of two species of mint (*Mentha × piperita* and *Mentha spicata*). *Industrial Crops and Products*, 53, 252-259.
- Jia, Y., Li, Y., Liu, Z., & Li, C. (2017). Humic acid promotes maize (*Zea mays* L.) root elongation by regulating endogenous hydrogen peroxide. *Plant Growth Regulation*, 83(3), 427-436.
- Kamatou, G.P.P., Vermaak, I., Viljoen, A.M., & Lawrence, B.M. (2013). Menthol: A simple monoterpene with remarkable biological properties. *Phytochemical*, 96, 15-25.
- Khalid, R., Aslam, R., Khan, M.Y., Shahid, M.A., & Ahmed, I. (2018). Effect of humic acid on growth, yield and quality of tomato grown under greenhouse conditions. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 18(1), 89-101.
- Khan, W., Mobin, M., Abbas, Z.K., & Alawlaqi, M.M. (2019). Wood vinegar: A potential tool to mitigate drought stress in plants. *Plants*, 8(12), 595.
- Khorasaninejad, S., Gohari, G., Mousavi, S.R., Asghari, H.R., Ramroudi, M., & Karimi, N. (2019). The effect of wood vinegar on growth and secondary metabolites of *Aloe vera* (L.). *Industrial Crops and Products*, 138, 111480.
- Krizek, D.T., Kramer, G.F., Upadhyaya, A., & Mirecki, R.M. (1993). UV-B Response of cucumber seedling grown under metal halid and high-pressure sodium/deluxe lamps. *Physiology of Plant*, 88, 350-358.
- McKay, D.L. & Blumberg, J.B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research*, 20, 619-633.
- Moghbali, T., & Arvin, M.J. (2014). Effect of seed preparation with application of growth regulators on germination, growth and yield melon fruit. *Journal Production and Processing of Agricultural and Horticultural Products*, 4(14), 23-33.
- Mohamed, H.A., & El-Maghraby, A.A. (2016). Effect of wood vinegar on growth, yield and quality of sweet basil and peppermint. *Journal of Applied Sciences Research*, 2(12), 13-20.
- Mucciarelli, M., Camusso, W., Berteà, C.M., Bossi, S., & Maffei, M. (2001). Effect of (+)-pulegon and other oil components of *Mentha piperita* on cucumber respiration. *Phytochemical*, 57, 91-8.
- Munne-Bosh, S., Jubany-Mari, T., & Alegre, L. (2001). Drought-induced senescence is characterized by a loss of antioxidant defenses in chloroplasts. *Plant, Cell and Environment*, 24, 1319-1327.
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment*, 25(2), 239-250.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., & Vianello, A. (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(11), 1527-1536.

- Niakan, M., Khavarnezhad, R.A., & Rezai, M.B. (2003). The effect of different amounts of fertilizer NPK on fresh and dry weight, leaf and oil content of *Mentha piperitae* (L.). *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Research of Iran*, 20, 131-148. (In Persian).
- Omid Baigi, R. (2009). Production and processing of medicinal plants (Vol. 2). Astan Quds Razavi. 438p. (In Persian).
- Ramoliya, P.J., Patel, P.G., & Patel, H.H. (2018). Effect of drought stress on growth, yield and quality of essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *International Journal of Chemical Studies*, 6(1), 149-152.
- Rios-Estepa, R., Turner, G.W., Lee, J.M., Croteau, R.B., & Lange, B.M. (2008). A systems biology approach identifies the biochemical mechanisms regulating monoterpenoid essential oil composition in peppermint. *PNAS*, 105(8), 2818-2823.
- Rouhi, H.R., Khoshgoftarmanesh, A.H., Shariatmadari, H., & Schulin, R. (2018). Humic acid promotes essential oil production of basil (*Ocimum basilicum* L.) by inducing the expression of genes involved in methanolic and shikimic acid pathways. *Industrial Crops and Products*, 112, 37-45.
- Sánchez-Moreiras, A.M., López, M.G., Miguel, M.G., Cámara, M., González, L., Escandón, A., Rambla, J.L., & Fernández, J.A. (2014). Vinegar residues as an alternative to herbicides: A study of their potential use as a natural mulching agent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(8), 1865-1874.
- SeifSahandi, 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(4), 81-98. (In Persian).
- Sharma, P., Yadav, M.R., & Sardana, V. (2019). Exogenous application of phenolic compounds improves growth, yield, and secondary metabolite content of *Ocimum basilicum* (L.) under water deficit stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(2), 457-468.
- Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. 3rd edition, Sinauer Associates, Sunderland. 690 pp.
- Tian, S., Lu, L., Labavitch, J.M., & Yang, X. (2016). Effect of humic acids on plant growth and nutrient uptake of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in two different soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 179(3), 406-411.
- Uddin, M.K., Juraimi, A.S., Ismail, M.R., Hossain, M.S., & Othman, R. (2014). Effect of wood vinegar on weed suppression, growth, yield and quality of tomato (*Solanum lycopersicum*). *PLoS One*, 9(7), e101857.
- Yuan, T., Wang, J., Sun, X., Yan, J., Wang, Z., & Niu, J. (2017). Effect of combined application of humic acid and nitrogen fertilizer on nitrogen uptake, utilization and yield of winter wheat. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 3, 74-82.
- Zhang, J., & Yang, J. (2004). *Crop yield and water use efficiency a case study in rice*. M.A, Bacon (ed.) Water use efficiency in Plant Biology, Blackwell Publishing. 344 pp.
- Zhu, Y., Wu, Y., Cheng, Y., Liu, Y., Li, Y., & Li, H. (2021). Effects of organic fertilizers on antioxidant activity and phenolic content of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under drought stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21(1), 197-206.