مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۵ شماره ۱ صفحه‌های ۴۷ تا ۶۴ (۱۴۰۳)
مقاله پژوهشی

تاثیر محلول پاشی اسیدهای آمینه بر ترکیبات و میزان اسانس مریم‌گلی ایرانی (*Salvia Mirzayanii* L.) در طول دوره انبارمانی

Changes in the Content and Compositions of Iranian Sage (*Salvia Mirzayanii* L.) Essential Oil under the Influence of Amino Acid Foliar Application and Storage Duration

مریم بهادر[۱]، عبدالحسین ابوطالبی جهرمی[۱]*، بهنام بهروزنام [۱] و وحید روشن[۲]

۱. گروه علوم باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم

۲. استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز

*نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (aa84607@gmail.com)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۵/۲۴، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۳

چکیده

مریم‌گلی ایرانی (*Salvia mirzayanii* L.) گیاهی دارویی متعلق به خانواده نعناعیان بوده که از گذشته‌های دور به علت داشتن خواص دارویی فراوان مورد توجه بوده است به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسید آمینه (صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر) و مدت‌زمان نگه‌داری (صفر، ۲، ۴ و ۶ ماه) در انبار بر میزان و تغییرات اسانس مریم گلی ایرانی آزمایشی فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی به صورت گلدانی انجام شد. محلول‌پاشی اسید آمینه تأثیر مثبتی بر صفات رویشی و زایشی اندازه‌گیری شده گیاه مریم‌گلی ایرانی و همچنین درصد ترکیبات پس از برداشت داشت. در این بررسی مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس مریم‌گلی ایرانی بعد از برداشت، ۵-نئو سدرانول (۲۰/۱۱ درصد)، لینالیل استات (۱۶/۵۲) و آلفاترپینیل استات (۱۴/۲۸ درصد) بود. محتوای فنول کل با افزایش سطح محلول‌پاشی اسید آمینه تا سطح ۱ میلی‌گرم در لیتر افزایش (۸۲/۶ میلی‌گرم در لیتر) و پس‌ازآن کاهش یافت و با ادامه نگه‌داری در انبار به مدت ۶ ماه پس از برداشت به میزان ۲۳/۱۵ درصد نسبت به نگه‌داری چهارماهه در انبار کاهش یافت. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی از محلول‌پاشی اسید آمینه با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد و انبارمانی به مدت ۶ ماه پس از برداشت باعث کاهش آن به میزان ۲۹ درصد نسبت به زمان برداشت شد. براساس نتایج این آزمایش استفاده از اسید آمینه تا غلظت ۰/۵ گرم در لیتر به منظور حصول حداکثری وزن تر و خشک گیاه توصیه می شود.

واژه‌های کلیدی: ۵- نئو سدرانول، لینالیل استات، انبار مانی، ترکیبات اسانس، فنول کل، آنتی‌اکسیدان.

مقدمه

تیره نعناسانان یکی از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهی است. تقریباً در تمام نقاط جهان به‌خصوص در نواحی مدیترانه‌ای می‌رویند و دارای حدود ۲۳۶ جنس و ۶۹۰۰ تا ۷۲۰۰ گونه از بوته‌های معطر و درختچه‌های کوتاه می‌باشد (Rowshan *et al*., 2013). جنس مریم‌گلی (*Salvia*) بزرگ‌ترین جنس تیره نعناعیان است و نزدیک به ۱۰۰۰ گونه دارد که بیشتر در آمریکای مرکزی و جنوبی، غرب و شرق آسیا پراکنش دارد. گونه‌های زیادی از این جنس در ایران رویش دارند که از میان آن‌ها ۱۷ گونه بومی می‌باشند (Jamzad, 2013). از گذشته‌های دور، مریم‌گلی به علت داشتن خواص دارویی فراوان مورد توجه بوده است که حاوی متابولیت‌های مختلف از جمله ترپنوئیتدها، انواع ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، اسیدهای چرب و استرول‌ها می‌باشند که در صنایع دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی کاربردهای فراوانی دارند (Rowshan *et al*., 2013). بررسی پژوهشگران روی ترکیب‌های فیتوشیمیایی گیاه مریم‌گلی سهندی (*S. sahendica*) در مراحل مختلف رشد و نموی نشان داد که میزان فنول کل در

مراحل مختلف از ۰/۱۳ تا ۰/۳۲ میلی‌مول اسیدگالیک بر میلی‌گرم عصاره و میزان فلاونوئید کل از ۳/۱۲ تا ۵/۵۲ میلی‌مول کوئرستین بر میلی‌گرم عصاره و همچنین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن به روش FRAP از ۱۰/۱ تا ۲۱/۲۷ میلی‌مول بر میلی‌گرم عصاره متغیر بوده است (Hedayat *et al*., 2018). با توجه به ملاحظات زیست‌محیطی، اخیراً استفاده از انواع اسیدهای آمینه برای بهبود کمی و کیفی محصولات زراعی و باغی رواج فراوان یافته است. این مواد با تأثیر بر روند پروتئین‌سازی در سطوح ژنی و با تأثیر بر سوخت‌وساز گیاهی، رشد و تکوین گیاه را منظم می‌نماید که محلول‌پاشی برگی آن‌ها تأثیر زیادی را بر روی گیاهان خواهد داشت. در واقع تغذیه برگی اسید های آمینه می‌تواند یک منبع مهم برای بیوسنتز پروتئین در گیاهان باشد (Ramasubramania Raja, 2012).

در این خصوص گزارش‌شده است محلول‌پاشی بابونه با اسید آمینه های اورنیتین، پرولین و فنیل آلانین موجب افزایش رشد در مرحله رویشی و گلدهی می‌شود (Gamal and and El-din, 2005). همچنینSaburi و همکاران نیز با بررسی تأثیر اسید های آمینه بر عملکرد کمی و کیفی اسانس ریحان سبز نشان دادند که محلول‌پاشی اسید آمینه های آمینول‌فورته و هیومی‌فورته درافزایش رشد، عملکرد پیکره رویشی و درصد اسانس ریحان (*Ocimum basilicum* L) تأثیر مثبت و معنی‌داری داشته است (Saburi *et al*., 2014). نتایج به‌دست‌آمده روی گیاه دارویی بابونه (*Matricaria recutita* L) نیز بیان‌گر حصول بیشترین تعداد ساقه فرعی با استفاده از کاربرد محلول‌پاشی برگی اسید آمینه از ترکیب آمینول فورته می‌باشد (Niakan *et al*., 2004). اسیدهای آمینه به‌عنوان منبع تأمین نیتروژن، در تولید پروتئین گیاهی و سبزینه (کلروفیل) و درنتیجه افزایش سطح برگ و نورساخت گیاه مؤثرند. بررسی دی فنیل آمین و تریپتوفان حاکی از تأثیر معنی‌دار این دو اسیدآمینه روی سطح برگ گیاه شیپوری بوده است (Abou Dahab and Abdel-Aziz, 2006).

امروزه بیشتر گیاهان دارویی به‌صورت فرآوری شده مورداستفاده قرار می‌گیرند، اما یکی از مهم‌ترین مسائل در بحث فرآوری گیاهان دارویی، حفظ مواد مؤثره آن‌ها می‌باشد. اندام‌های گیاهان دارویی شامل برگ‌ها، گل‌ها، ریشه‌ها و غیره، پس‌ازبرداشت یا جمع‌آوری به دلیل داشتن رطوبت بالا، قابل نگهداری حتی برای زمان کوتاه نیز نمی‌باشند. از طرف دیگر با توجه به عدم امکان فرآوری گیاهان بلافاصله پس از برداشت، باید راهکارهایی جهت نگهداری گیاهان بدون کاهش مواد مؤثره آن‌ها مورد بررسی قرارداد. انبار کردن گیاهان می‌تواند تغییرات زیادی را در ترکیب‌های مؤثره مواد گیاهی ایجاد کند. بر این اساس، گزارش‌شده است که اسانس گل محمدی ۳۶ ساعت پس از انبارداری، ۴۰ درصد کاهش می‌یابد (Baydar and Gokturk Baydar, 2005). علاوه بر این، گزارش‌هایی وجود دارد مبنی‌براینکه ترکیبات اسانس نیز تحت تأثیر روش‌های مختلف خشک‌کردن و انبارداری قرار می‌گیرند. در تحقیقی گزارش‌شده که با افزایش زمان انبارداری از ۱۰ به ۳۰ روز در ۴ درجه سلسیوس مقدار ژرانیول در گیاه رز از ۱۹/۷ به ۲/۲۹ کاهش‌یافته است (Baydar and Gokturk Baydar, 2005). یکی از اهداف اصلی در مطالعات مربوط به گیاهان دارویی فراهم سازی ساز و کارهای متفاوت به منظور افزایش عملکرد و کیفیت اسانس این گیاهان پس از برداشت و نهایتا حفظ مواد مؤثره آن ها با به‌کارگیری عملیات مناسب فرآوری و ایجاد شرایط مناسب در انبار می باشد. لذا این آزمایش به منظور بررسی تأثیر اسید آمینه و طول دوره انبار مانی بر خصوصیات مرفولوژیک، میزان و ترکیبات اسانس مریم گلی ایرانی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوکهای کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه و آزمایشگاه ایستگاه بعثت شیراز وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس با ارتفاع متوسط حدود ۱۴۸۶ متر از سطح دریا، میانگین بارش ۳۳۷ میلی‌متر و متوسط دمای ۱۸ درجه سلسیوس در سال ۱۳۹۸ انجام شد.

فاکتورهای آزمایش شامل محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید آمینه (جدول ۱) در چهار غلظت صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ در هزار و مدت زمان انبار مانی در ۴ زمان صفر، ۲، ۴ و ۶ ماه پس از برداشت مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

جدول ۱- مشخصات اسید آمینه مورد استفاده در آزمایش.

Table 1. Amino acid specifications used in the experiment.

نام عمومی Generic name	نام تجاری Brand name	فرمولاسیون Formulation	غلظت Density	ترکیبات Contents
اسید آمینه آزاد Free Amino Acid	پیگما آمین ۵۰ (ساخت کشور اسپانیا) Pigma Amin	جامد Solid	52%	مجموع اسید آمینه Total amino acid
			48%	اسید آمینه آزاد Free amino acid
			38%	مجموع مواد آلی Total organic matter
			7.5%	مجموع نیتروژن Total nitrogen

بذرها از توده سروستان جمع آوری شده توسط مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس تهیه و در گلدان های اژدری با طول ۲۰ سانتی متر و قطر دهانه ۱۰ سانتیمتر در مخلوط مساوی خاک، ماسه و کود دامی پوسیده در اوایل اسفندماه سال ۱۳۹۷ کاشته شدند و در مرحله ۶ تا ۸ برگی در اواخر اسفندماه به زمین اصلی در کرت‌های ۲×۱/۵ متر در فواصل بین ردیف ۵۰ سانتی‌متر و روی ردیف ۵۰ سانتی‌متر منتقل شدند و تا فرارسیدن زمان برداشت (گلدهی بالای ۵۰ رصد) در زمین اصلی باقی ماندند. عملیات محلول‌پاشی با اسید آمینه با غلظت‌های تعیین‌شده شامل چهار غلظت (صفر، ۰/۵، ۱و ۱/۵ در هزار ازماده تجاری پیگما آمین) در دو نوبت (قبل از گلدهی و ابتدای گل دهی) روی گیاه مریم گلی انجام شد و در ادامه عملیات مراقبت از گیاهان تا مرحله برداشت ادامه یافت. بافت خاک لومی رسی و pH آن ۷/۵۲ بود. در جدول ۲ برخی خواص فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش آمده است.

جدول ۲- نتایج تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی قبل از اجرای آزمایش.

Table 2. Results of physical and chemical analysis of farm soil before the experiment.

رس	سیلت	شن	مس	منگنز	روی	آهن	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	کربن آلی	اسیدیته	هدایت الکتریکی
Clay	Silt	Sand	Cu	Mn	Zn	Fe	K	P	N	OC	pH	EC
	%		ppm						%			dS.m-1
28.3	45.1	31.6	1.52	19.8	1.55	7.6	449	15.4	0.07	0.68	7.52	3.6

اسانس گیری، استخراج و اندازه‌گیری میزان اسانس

بیدرنگ پس از برداشت وزن‌تر بوته‌ها با ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری و بوته‌هایی از هر کرت برای محاسبه وزن خشک جدا گردید که پس از قرار گرفتن در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت توزین و وزن خشک آن‌ها محاسبه شد. اسانس گیری توسط روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام گرفت. اسانس حاصل تا زمان استفاده، پس از آبگیری درون ظرف درب‌دار تیره‌رنگ و در دمای ۴ درجه نگه‌داری شد. تعیین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس با استفاده از گاز کروماتوگرافی و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC, GC/MS)، مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از اندازه گیری میزان اسانس با تقسیم آن بر وزن خشک میزان بازده اسانس بر اساس وزن به وزن به دست آمد.

ویژگی‌های دستگاه‌های مورداستفاده

دستگاه کروماتوگراف گازی

گازکروماتوگراف Agilent technologies و مدل A ۷۸۹۰، ستون HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی‌متر ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، برنامه‌ریزی دمایی ستون از ۶۰ تا ۲۱۰ درجه سلسیوس با افزایش دمای سه درجه سلسیوس در دقیقه، نوع آشکارساز: FID با دمای ۲۹۰ درجه سلسیوس، گاز حامل: نیتروژن با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه، دمای تزریق ۲۸۰ درجه سلسیوس.

دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج

گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی از نوع Agilent technologies و مدل 5975A، ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ تا ۲۱۰ درجه سلسیوس با افزایش دمای سه درجه سلسیوس در دقیقه و ۲۱۰ تا ۲۴۰ با افزایش دمای بیست درجه سلسیوس در دقیقه، دمای محفظه تزریق: ۲۸۰ درجه سلسیوس، انرژی یونیزاسیون: ۷۰ الکترون‌ولت، گاز حامل: هلیوم

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده هر اسانس پس از جداسازی به همراه شاخص بازداری محاسبه گردید. طیف‌های جرمی مربوط به ترکیب‌های موجود در اسانس به‌منظور بررسی کیفی (شناسایی) به دست آمد. شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازداری کواتس که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C_7-C_{25}) در شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها انجام شد و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده بود، مقایسه شد. بررسی طیف‌های جرمی نیز برای شناسایی ترکیب‌ها انجام شد و شناسایی‌های انجام‌شده با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و استفاده از کتابخانه‌های مختلف تأیید گردید. درصد نسبی هریک از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرافی گازی به دست آمد و با مقادیری که در منابع مختلف با در نظر گرفتن اندیس کواتس منتشر شده، مقایسه گردید (Adams, 2011).

عصاره‌گیری و اندازه‌گیری پلی فنول‌ها

به‌منظور تهیه عصاره، ۲۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ‌های خشک‌شده در سایه در هاون به‌طور کامل آسیاب گردید. در هر یک از تیمارها سه تکرار در نظر گرفته شد. پس از انتقال بافت پودر شده به درون میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری، مقدار ۲ میلی‌لیتر حلال متانول-استیک اسید به نسبت حجمی ۸۵ به ۱۵ به هر یک از آن‌ها اضافه شد. در مرحله بعد به درون هر یک از میکروتیوب‌ها، به‌منظور جلوگیری از اکسید شدن فنول‌ها به‌وسیله اکسیژن، گاز ازت دمیده و پس از پیچیدن فویل دور آن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲ درجه سلسیوس و در تاریکی نگهداری شدند. سپس میکروتیوب‌های حاوی عصاره همراه با فویل درون دستگاه اولتراسونیک به مدت ۱۵ دقیقه در دمای پایین و در تاریکی قرار گرفتند. در این مرحله به‌منظور جلوگیری از بالارفتن دما به دستگاه مقدار کمی یخ اضافه گردید. میکروتیوب‌های حاوی عصاره پس از خارج شدن از دستگاه اولتراسونیک و خارج کردن فویل دور آن‌ها در سانتریفیوژ یخچال دار به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای صفر درجه سلسیوس و به‌منظور جدا کردن فاز مایع از جامد منتقل شدند. فاز رویی به درون میکروتیوب های جدید انتقال داده شدند و هم حجم آن‌ها n- هگزان اضافه گردید. سپس میکروتیوب‌ها به مدت چند ثانیه ورتکس شده تا به‌طور کامل مخلوط گردند. در مرحله بعد نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای صفر درجه سلسیوس مجدداً سانتریفیوژ گردیدند. به دلیل غیر قطبی بودن حلال n- هگزان، کلروفیل، پروتئین و چربی‌های موجود در نمونه‌ها که دارای بخش غیرقطبی هستند در خود حل می‌کند و از ترکیبات فنولی جدا می‌کند. در این مرحله فاز رویی ترکیبات مزاحم هگزانی و فاز زیری فنول‌ها می‌باشند که ترکیبات فنولی با سرنگ و به‌آرامی برداشته‌شده، به درون ویال‌های شیشه‌ای و تیره‌رنگ منتقل گردیده و گاز ازت به درون آن‌ها دمیده شد (Justesen *et al*., 1998).

به منظور اندازه گیری فنول کل ۲۰۰ میکرولیتر عصاره تهیه‌شده و رقیق‌شده (به نسبت ۱ به ۱۰) در مرحله قبل با یک میلی‌لیتر محلول فولین یک درصد در لوله آزمایش مخلوط گردید و به مدت ۶ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۸۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۱۰ درصد به آن اضافه نموده و نمونه‌ها را به مدت ۹۰ دقیقه در محیط تاریک و دمای محیط نگهداری شد. در این مرحله مقدار ۲۲۰ میکرولیتر از محتوای درون لوله آزمایش را در هر یک از چاهک‌های میکروپلیت ریخته و برای هر نمونه سه تکرار در نظر گرفته شد. میزان جذب محلول‌ها در همه تیمارها و تکرارها در یک‌زمان و در طول‌موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر مدل BioTek ELx 808 اندازه‌گیری گردید. به‌منظور تهیه لوله بلانک به‌جای ۲۰۰ میکرولیتر عصاره حاوی ترکیبات فنولی، آب مقطر اضافه گردید. اعداد به‌دست‌آمده در منحنی استاندارد گالیک اسید قرار داده شد و درنهایت برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک گزارش گردید. برای رسم منحنی استاندارد نیز پس از تهیه غلظت‌های مختلف گالیک اسید (۰-۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر)، به‌جای ۲۰۰ میکرولیتر عصاره ۲۰۰ میکرولیتر از هر غلظت استاندارد تهیه‌شده در شروع آزمایش اضافه گردید (Singleton and Rossi, 1965).

برای اندازه‌گیری پلی‌فنول‌ها از دستگاه HPLC به مدل سری ۱۲۰۰ از شرکتAgilent ، ستون C18 سانتی‌متر ۱۵×۴/۶ و قطر ذرات ۵ میکرومتر، دتکتور (Diode Array Detector) DAD در طول‌موج‌های ۳۲۰ و ۲۸۰ نانومتر و دمای آون ۳۰ درجه سلسیوس و به روش Justesen و همکاران (۱۹۹۸) با تغییرات استفاده شد. برنامه شویش گرادیان، با سرعت شویش ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه و حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر انتخاب گردید. فاز متحرک گرادیان شامل متانول و اسید فرمیک ۱٪ بود.

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی

به‌منظور تهیه عصاره، ۲ گرم از بافت برگ‌های گیاهان شاهد و تیمار در سایه و به مدت یک هفته خشک گردیدند. در هر یک از تیمارها سه تکرار در نظر گرفته شد. بافت های خشک‌شده پس از قرار گرفتن در آسیاب پودر شده و سپس به مدت ۳۰ دقیقه با ۲۰ میلی‌لیتر محلول متانول به‌طور کامل هموژنه گردیدند. سپس عصاره به‌دست‌آمده به همراه بافت های هموژنه شده به بشرهای کوچک پوشیده شده با فویل آلومینیومی منتقل گردیدند و بشرها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس و در تاریکی نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت عصاره با کاغذ واتمن شماره ۴ فیلتر گردید و با استفاده از دستگاه خشک‌کن روتاری (rotary evaporator) با دمای ۴۵ درجه سلسیوس خشک گردیدند. عصاره خشک‌شده در دمای ۴ درجه سلسیوس به‌منظور استفاده برای سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نگهداری شدند.

اثر عصاره‌های متانولی به‌دست‌آمده در هر یک از تیمارها بر میزان تجزیه رادیکال‌های آزاد موردسنجش قرار گرفت. برای این منظور مقدار ۳/۲ میلی‌گرم از عصاره‌های خشک به‌دست‌آمده از مرحله قبل در ۱ میلی‌لیتر متانول خالص به‌طور کامل حل گردید و غلظت نهایی ۳۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد. از محلول به‌دست‌آمده غلظت‌های مختلف به‌صورت سریال (۱۶۰۰، ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۳/۲ میکروگرم در میلی‌لیتر) با استفاده از حلال متانول خالص تهیه گردید. در مرحله بعد ۲۰۰ میکرولیتر از محلول متانولی DPPH با غلظت ۱۰۰ میلی مول در لیتر به همراه ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های به‌دست‌آمده از عصاره‌های فوق در چاهک‌های میکروپلیت ریخته شد. برای هر تکرار ۴ بار خوانش انجام شد. پس از قرار دادن میکروپلیت‌ها درون دستگاه میکروپلیت ریدر(microplate reader) مدل BioTek ELx 808، محتوی هر چاهک به‌طور کامل مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، در تاریکی و درون دستگاه فوق نگهداری شد. سپس جذب محلول‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر به‌طور هم‌زمان سنجش گردید. در این سنجش، متانول (۲۰۰ میکرولیتر) به همراه ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره به‌عنوان چاهک بلانک و همچنین متانول (۲۰ میکرولیتر) و ۲۰۰ میکرولیتر از محلول متانولی DPPH به‌عنوان چاهک شاهد (منفی) در نظر گرفته شد. محلول DPPH متانولی به همراه غلظت‌های مختلف گالیک اسید نیز به‌عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. مراحل تهیه بلانک و شاهدهای منفی و مثبت همانند نمونه‌های حاوی عصاره و هم‌زمان با آن‌ها و درون یک میکروپلیت ۹۶ تایی صورت گرفت. درصد خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد توسط عصاره‌های هر یک از تیمارها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

[عدد جذب شاهد منفی / ۱۰۰× (عدد جذب بلانک –عدد جذب نمونه)] -DPPH۱۰۰= درصد خنثی سازی رادیکال های آزاد

درنهایت پتانسیل احیاکنندگی هر یک از عصاره‌ها به‌صورت IC۵۰ یا غلظتی از عصاره که قادر است نصف رادیکال های آزاد را احیا و در نتیجه خنثی سازد، گزارش گردید. برای به دست آوردن IC۵۰ از منحنی درصد خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد DPPH در مقابل سریال غلظت‌های تهیه‌شده از عصاره‌ها که در ابتدای آزمایش به دست آمد، استفاده گردید.

واکاوی آماری و نرم‌افزارهای مورداستفاده

واکاوی آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD توسط نرم‌افزارهای SAS و MSTATC انجام و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel 2016 استفاده شد.

نتایج و بحث

خصوصیات مرفولوژیک و درصد اسانس

خلاصه نتایج آنالیز واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف اسید آمینه بر صفات اندازه‌گیری شده گیاه مریم‌گلی ایرانی مطابق جدول ۳ بود. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی اسید آمینه وزن‌تر و خشک و تعداد و وزن گل‌آذین و همچنین بازده اسانس مریم‌گلی در سطح یک درصد معنی‌دار بود ($P\leq0.01$).

جدول ۳- خلاصه تجزیه واریانس برای وزن‌تر و خشک برگ، تعداد و وزن گل‌آذین و بازده اسانس در سطوح مختلف محلول‌پاشی اسید آمینه.

Table 3. Summary of analysis of variance for leaf fresh and dry leaf, inflorescence number and weight, and essential oil yield at different levels of amino acid foliar application.

منابع تغییر		درجه آزادی	میانگین مربعات Mean Square				
			وزن‌تر برگ	وزن خشک برگ	تعداد گل‌آذین در بوته	وزن گل‌آذین	بازده اسانس
S.O.V		D.F	Fresh weight	Dry weight	Inflorescence number	Inflorescence weight	Essential oil yield
تکرار	Rep.	2	0.30	0.01	70.14	0.29	0.04
اسید آمینه	Amino acid	3	0.31**	0.01**	125.30**	0.22**	0.07**
خطا	Error	6	0.01	0.01	1.67	0.01	0.01
ضریب تغییرات	Cv%		4.6	6.7	6.4	6.1	3.4

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد **: Significant at the 1% probability level

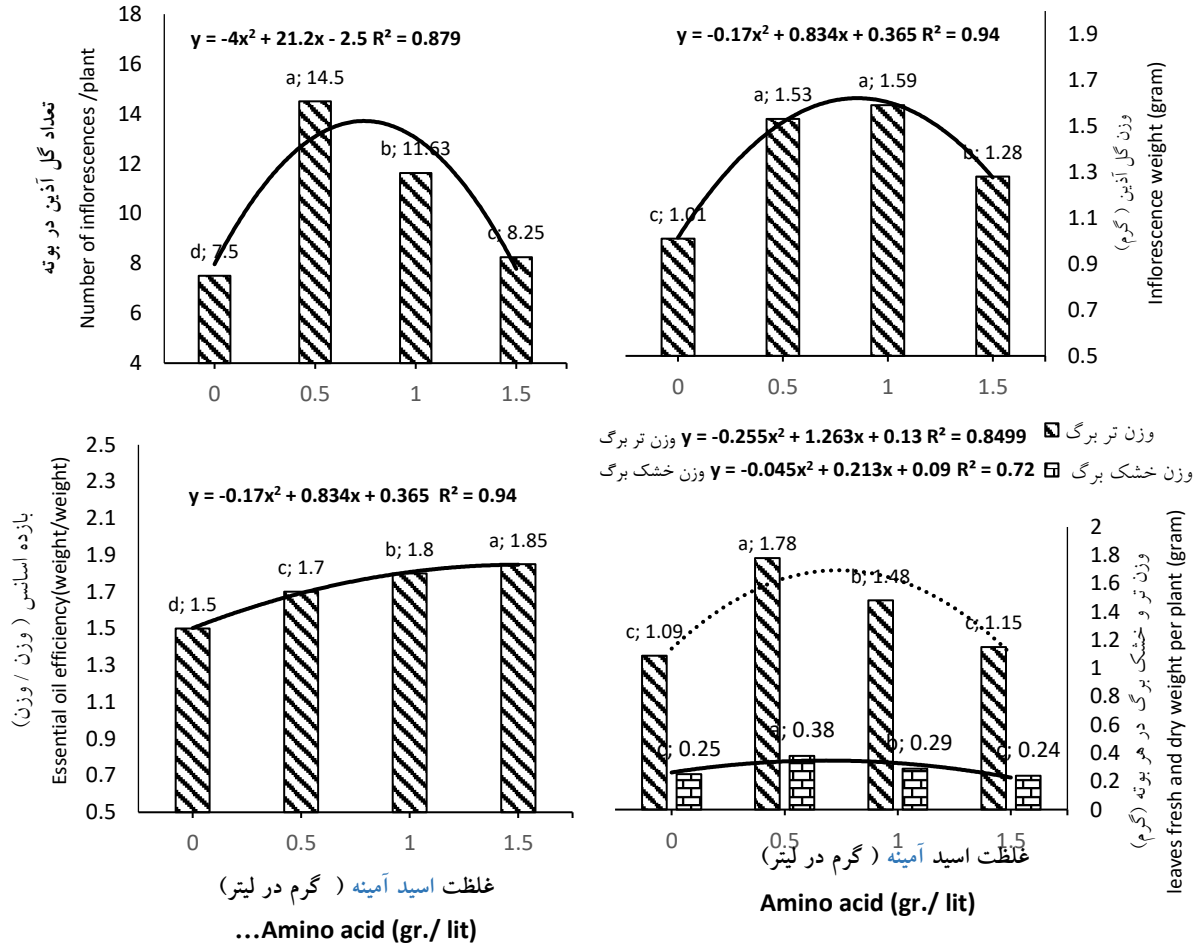
محلول‌پاشی با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر اسید آمینه باعث افزایش وزن‌تر و خشک برگ به ترتیب به میزان ۶۳/۸ و ۵۱/۵ درصد نسبت به شاهد بدون محلول پاشی شد با افزایش سطح محلول‌پاشی به ۱ گرم در لیتر وزن‌تر و خشک برگ کاهش یافت. افزایش غلظت محلول‌پاشی اسید آمینه بیشتر از این مقدار باعث کاهش کارایی اسید آمینه بر وزن‌تر و خشک برگ شد (شکل ۱) به‌نحوی‌که وزن‌تر و خشک برگ در اثر محلول‌پاشی اسید آمینه با غلظت ۱/۵ گرم در لیتر اسید آمینه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت.

بیشترین تعداد گل‌آذین متعلق به تیمار محلول‌پاشی با سطح ۰/۵ گرم بر لیتر اسید آمینه بود و پس‌ازآن با افزایش غلظت اسید آمینه بر اساس یک رابطه درجه دوم معنی‌دار رو به کاهش گذاشت. سطوح ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر اسید آمینه بدون اختلاف معنی‌دار آماری بیشترین متوسط وزن گل‌آذین در بوته را داشت (به ترتیب ۵۲/۵ و ۵/ ۵۸ درصد افزایش نسبت به شاهد بدون محلول‌پاشی، شکل ۱).

با افزایش سطح محلول‌پاشی اسید آمینه درصد اسانس در سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم بر لیتر بازده اسانس به ترتیب ۱۳/۳، ۲۰ و ۲۳/۳ درصد نسبت به شاهد بدون محلول‌پاشی افزایش یافت. بیشترین بازدهی اسانس متعلق به تیمار ۱/۵ گرم در لیتر اسید آمینه بود (شکل ۱). نتایج به‌دست‌آمده نشان داد کارایی محلول‌پاشی اسید آمینه بر اساس یک‌روند درجه دوم افزایش و سپس کاهش یافت.

ترکیبات اسانس

نتایج مربوط به اثر سطوح مختلف اسید آمینه بر مقدار و نوع ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس در گیاه مریم‌گلی ایرانی در جدول ۴ مشاهده می‌شود. بررسی ترکیبات نشان‌دهنده حداکثر ۴۴ نوع ترکیب در اسانس گیاه مریم‌گلی ایرانی تحت تیمارهای مختلف اسید آمینه و انبار مانی بود. در پژوهش حاضر مشخص گردید که تعداد ترکیبات اسانس در تیمارها باهم متفاوت بودند با افزایش مدت انبار مانی تعداد ترکیبات اسانس کاهش یافت. با محلول‌پاشی اسید آمینه در زمان‌های ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ روز انبار مانی بیشترین تعداد ترکیبات متعلق به سطح ۰/۵ گرم در لیتر اسید آمینه بود و پس‌ازآن تعداد این ترکیبات کاهش پیدا کرد. در تیمارهای مختلف اسید آمینه، ترکیبات با درصدهای متفاوتی شناسایی شد که مجموعا تعداد آن ها در تمام تیمار ها ۶۷ ترکیب بود.



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف اسید آمینه بر خصوصیات مورفولوژیک و بازده اسانس گیاه مریم‌گلی ایرانی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌دار ندارند (LSD 5%)

Fig. 1. The effect of different concentrations of amino acid on the morphological characteristics and percentage of essential oil of Iranian sage plant. In each column, means with the same letter are not statistically significant difference (LSD 5%).

جدول ۴ - تعداد ترکیبات اسانس تحت تأثیر عوامل مورد بررسی.

Table 4 - Number of essential oil compounds under the influence of the studied factors

غلظت اسید آمینه	طول زمان انبار مانی (روز) Length of storage duration (days)			
Amino acid concentration	0	60	120	180
0	41	34	33	27
0.5	44	41	41	33
1.0	36	32	32	25
1.5	30	31	30	27

جدول ۵ - ترکیبات جداشده از اسانس مریم‌گلی ایرانی (*S. mirzayanii*) تحت تأثیر سطوح مختلف اسید آمینه.

Table 5. Extracted compounds from Iranian sage (*S. mirzayanii* L.) essential oil under the influence of different amino acid levels.

ردیف	ترکیب	نمایه بازداری	غلظت اسید آمینه Amino Acid				ردیف	ترکیب	نمایه بازداری	غلظت اسید آمینه Amino Acid			
No.	Compound	RI	0	0.5	1	1.5	No.	Compound	RI	0	0.5	1	1.5

1	α-Thujene	*927*	0.1		0.1	0.5	35	Unknown	*1403*	1.8	1.6	1.3	2.8
2	α-Pinene	*934*	0.1	0.0	0.1	0.1	36	α-Gurjunene	*1408*	0.1	0.2	0.1	
3	Sabinene	*974*	0.3	0.2	0.2	0.6	37	(E)-Caryophyllene	*1422*	0.7	0.6	0.6	1.0
4	β-Pinene	*979*	0.2	0.1	0.1	0.3	38	Unknown	*1428*	1.3	1.1	0.7	2.6
5	Myrcene	*990*	0.7	0.8	0.7	0.3	39	Aromadendrene	*1441*				0.1
6	Unknown	*994*	0.1	0.1	0.2		40	allo-Aromadendrene	*1459*	0.8	1.1	0.7	0.5
7	cis-dehydroxy-Linalool oxide	*1008*	0.1		0.1		41	γ-Muurolene	*1474*	0.2	0.5	0.2	0.2
8	p-Cymene	*1025*	0.1		0.1	0.2	42	Germacrene D	*1478*	0.1	0.3		0.5
9	Limonene	*1029*	0.6	0.6	0.4	0.7	43	β-Selinene	*1482*	0.3	0.1	0.3	
10	1,8-Cineole	*1031*	5.1	2.6	3.7	5.1	44	δ-Selinene	*1488*		0.1		
11	(E)-β-Ocimene	*1046*	0.5	0.6	0.5		45	Unknown	*1494*	0.0	0.2	0.1	0.2
12	g-Terpinene	*1058*				0.1	46	Bicyclogermacrene	*1498*				0.4
13	cis-Sabinene hydrate	*1065*	0.2		0.2	0.3	47	Unknown	*1507*	4.2	4.2	4.3	5.9
14	trans-Linalool oxide	*1070*	0.1	0.1	0.3		48	γ-Cadinene	*1514*				0.1
15	Terpinolene	*1089*	0.2	0.2	0.2	0.1	49	δ-Cadinene	*1522*	0.1	0.1	0.1	0.1
16	Linalool	*1099*	6.9	7.8	6.5	2.0	50	trans-Cadina-1(2),4-diene	*1530*	5.3	5.8	5.5	7.6
17	Unknown	*1142*	0.1	0.4			51	α-Cadinene	*1536*	3.4	3.7	3.4	4.8
18	δ-Terpineol	*1169*	0.4	0.1	0.5	0.4	52	Elemol	*1552*	0.2	0.2	0.2	0.3
19	Terpinen-4-ol	*1178*	0.1		0.1	0.2	53	Unknown	*1558*	0.2	0.2	0.4	0.3
20	α-Terpineol	*1190*	3.0	3.8	2.7	1.5	54	Unknown	*1569*	0.1	0.1		0.1
21	n-Decanal	*1204*	0.2	0.2	0.3	0.2	55	Germacrene D-4-ol	*1576*				0.1
22	Unknown	*1212*					56	Spathulenol	*1579*	2.7	2.7	3.1	3.8
23	trans-Carveol	*1222*	0.1		0.2	0.1	57	Caryophyllene oxide	*1582*	2.6	2.0	2.3	2.3
24	Nerol	*1230*	0.5	0.5	0.4	0.2	58	Viridiflorol	*1597*	0.3	0.2	0.2	0.5
25	Linalyl acetate	*1258*	15.5	14.8	21.0	2.3	59	Unknown	*1607*	0.1	0.1	0.1	0.2
26	n-Decanol	*1270*	0.7	0.2	0.5	0.3	60	epi-α-Cadinol	*1640*		0.1	0.9	
27	Thymol	*1290*					61	β–Eudesmol	*1651*	0.8	0.8	1.2	1.1
28	Carvacrol	*1298*					62	α-Cadinol	*1654*	0.8	0.7	1.3	1.4
29	δ-Elemene	*1338*	1.0	0.9	0.8	1.6	63	Unknown	*1677*	1.2	1.3	0.3	1.9
30	α-Terpinyl acetate	*1348*	15.0	14.8	11.9	18.2	64	Unknown	*1682*				
31	Neryl acetate	*1363*	0.8	0.8	0.7	0.2	65	5-neo-Cedranol	*1688*	0.3	0.2	18.9	0.2
32	Geranyl acetate	*1385*	1.7	1.7	1.4	0.5	66	Sclareol oxide	*1872*	17.8	19.9	0.3	23.9
33	Unknown	*1387*				0.2	67	epi-13-Manoyl oxide	*2010*		0.2		0.2
34	β-Elemene	*1393*	1.8	1.6	1.3	2.8							

تغییرات میزان اسید آمینه و دوره انبار مانی به طور مستقل و بر هم کنش آن ها بر مقادیر ۵-نئو سدرانول، آلفانرپینیل استات و لینالیل استات تأثیر معنی دار ($P\leq 0.01$) داشت (جدول ۶). با افزایش غلظت اسید آمینه درصد ۵-نئو سدرانول در اسانس افزایش یافت. بیشترین درصد ۵-نئو سدرانول در اثر استفاده از غلظت ۱ و ۱/۵ گرم در لیتر اسید آمینه به دست آمد. بیشترین میزان آلفانرپینیل استات با غلظت ۱۸ درصد متعلق به سطح ۱/۵ گرم بر لیتر اسید آمینه بود. غلظت لینالیل استات در آزمایش حاضر با افزایش سطح محلول‌پاشی اسید آمینه به‌طور معنی‌دار کاهش یافت این میزان کاهش در سطح ۱/۵ درصد اسید آمینه نسبت به شاهد بدون محلول‌پاشی ۲/۴ درصد بود.

جدول ۶- خلاصه نتایج تجزیه واریانس تغییرات ۵-نئوسدرانول، لینالیل استات و آلفانرپینیل استات در اثر مقادیر مختلف اسید آمینه و زمان‌های انبار مانی.

Table 6. Summary of variance analysis results of changes in 5-neusedranol, linalyl acetate and □-Terpinyl acetate due to different amounts of amino acids and storage duration.

منابع تغییر S.O.V.		درجه آزادی df	میانگین مربعات Means of squares		
			۵-نئو سدرانول 5-Neo-cedranol	آلفا- تریپنیل استات □-Terpinyl acetate	لینالیل استات Linalyl acetate
تکرار	rep	2	332.65**	66.42**	2.40**
اسید آمینه	Amino acid	3	168.87**	975.25**	8.09**
زمان انبار مانی	Duration	3	464.46**	302.75**	16.33**
زمان × اسید آمینه	Amino× Duration	9	81.94**	14.58**	6.12**
خطا	Error	30	0.55	0.88	0.03
ضریب تغییرات	CV%		۴.۵	14.2	12.3

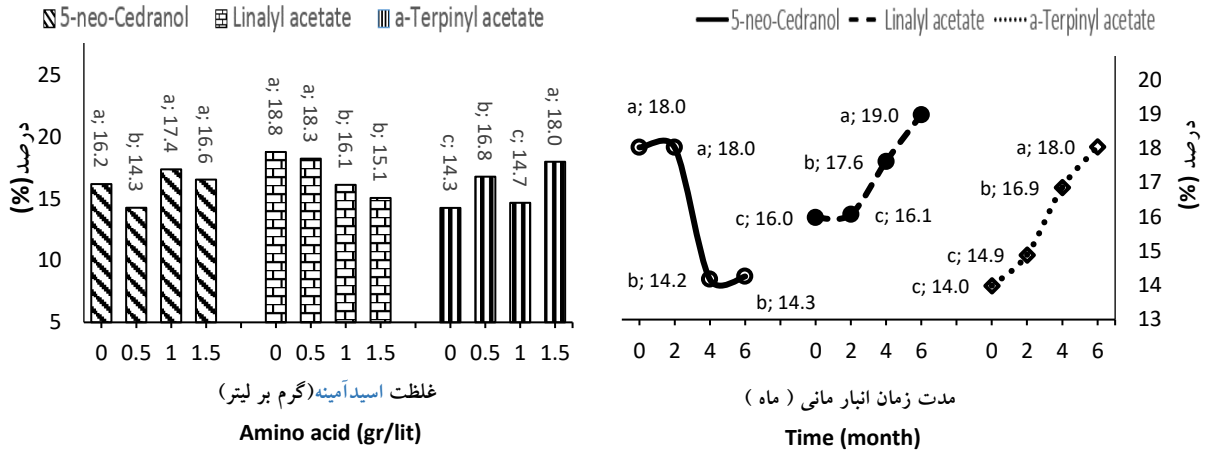
**: معنی دار درسطح ۱ درصد ** Significant at the 1% level

بررسی روند تغییرات میزان ۵-نئوسدرانول تحت تأثیر زمان‌های مختلف انبار مانی نشان داد بیشترین میزان این ترکیب متعلق به ابتدای دوره انبار مانی و بلافاصله پس از برداشت بوده است و پس‌ازآن با افزایش طول مدت انبار مانی درصد این ترکیب در اسانس کاهش یافت. متوسط درصد ۵-نئوسدرانول در اسانس در زمان‌های ۲، ۴ و ۶ ماه بعد از برداشت نسبت به زمان برداشت به ترتیب ۰/۰۳، ۲۱/۴ و ۲۰/۹ درصد کاهش یافت. با افزایش مدت انبار مانی درصد لینالیل استات و آلفانرپینیل استات در اسانس افزایش یافت بیشترین غلظت این دو ترکیب در ۶ ماه پس از انبار مانی بود که به ترتیب ۱۸/۸ و ۲۸/۹ درصد نسبت به ابتدای دوره انبار مانی افزایش داشت.

با افزایش زمان انبار مانی در هر سطح اسید آمینه درصد لینالیل استات و آلفا تریپنیل استات روند افزایشی داشت. بیشترین درصد ۵ نئو سدرانول از برهمکنش سطح ۱ میلی‌لیتر اسید آمینه ۲ ماه بعد از انبار مانی به دست آمد. لینالیل استات در سطح صفر اسید آمینه، ۴ و ۶ ماه پس از انبار مانی و بیشترین میزان آلفا-ترپینیل از غلظت ۱/۵ میلی‌لیتر اسید آمینه ۶ ماه پس از انبار مانی به دست آمد (جدول ۵). در هر سطح اسید آمینه بیشترین غلظت لینالیل استات و آلفا تریپنیل استات مربوط به ۴ و ۶ ماه بعد از انبار مانی بود. بر اساس این نتایج در سطوح صفر و ۱/۵ گرم بر لیتر اسید آمینه بیشترین غلظت ۵- نئو سدرانول مربوط به ابتدای دوره انبار مانی بود اما بیشترین غلظت نئوسدرانول در سطوح ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر اسید آمینه مربوط به دو ماه بعد از انبار مانی بود.

ترکیبات فنولی مریم‌گلی ایرانی

با تزریق استاندارد از شرکت سیگما و عصاره گیاه، ۱۷ فنول عمومی مورد ارزیابی قرار گرفت. از این ۱۷ فنول، ۹ مورد آن در هیچ‌یک از تیمارها مشاهده نشد و همچنین نتایج حاصل از آنالیز نمونه‌های عصاره نشان داد که فنول‌های Caffeic acid، Rosmarinic acid، Hesperedin ، Trans-ferulic acid،Vanilin،Chloregenic acid ،p-Coumaric acid ،Quercetin، p-Coumaric acid و Hesperetin با مقادیر متفاوت در عصاره مریم‌گلی ایرانی تحت تأثیر مقادیر مختلف اسید آمینه و طول دوره انبار مانی حضور داشتند (جدول ۷).



شکل ۲ - میانگین تغییرات ۵-نئوسدرانول، لینالیل استات و آلفانرپینیل استات در اثر مقادیر مختلف اسید آمینه و زمان‌های انبارمانی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌دار ندارند (LSD 5%)

Fig. 2. Average changes of 5-neo-cedranol, linalyl acetate and α-terpinyl acetate due to different amounts of amino acids and storage times. In each column, means with the same letter are not statistically significant difference (LSD 5%).

جدول ۷ - نوع و میزان فنول‌ها ی موجود در مریم‌گلی ایرانی در اثر مقادیر مختلف اسید آمینه در دوره‌های انبار مانی (میلی‌گرم بر لیتر).

Table 7. The type and amount of phenols in Iranian sage due to different amounts of amino acid in the storage periods (mg/liter).

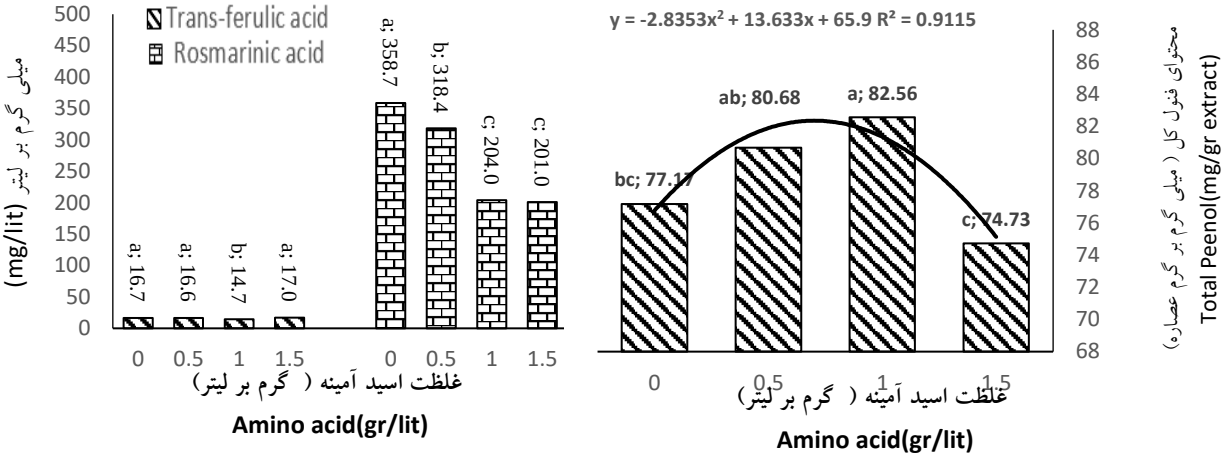
ردیف No.	ترکیب compound	طول دوره انبار مانی (ماه) Time (month)															
		0				2				4				6			
		غلظت اسید آمینه (گرم بر لیتر) Amino acid(gr/lit)															
		0	0.5	1	1.5	0	0.5	1	1.5	0	0.5	1	1.5	0	0.5	1	1.5
1	Chloregenic acid	10.2	nd	nd	nd	11.5	nd	nd	nd	11.9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2	Quercetin	9.9	nd	0.5	4.8	38.4	6.1	+	9.5	9.0	7.6	+	1.3	nd	nd	12.6	5.6
3	p-Coumaric acid	+	nd	nd	nd	1.2	+	+	+	+	+	+	+	nd	nd	nd	+
4	Vanilin	nd	6.9	0.6	+	14.1	3.4	0.5	0.1	10.8	1.2	2.1	1.0	4.7	5.5	2.8	0.5
5	Trans ferulic acid	21.9	15.4	12.1	11.9	28.0	nd	12.6	25.2	23.1	16.2	13.0	13.2	28.5	19.0	14.9	14.5
6	Hesperedin	49.1	44.9	10.4	13.2	24.9	13.3	0.4	17.0	37.0	20.3	13.6	7.2	34.5	nd	11.4	7.8
7	Hesperetin	nd	9.1	nd	nd	15.3	6.8	nd	6.4	5.4	8.9	5.4	nd	nd	10.3	9.7	5.6
8	Rosmarinic acid	978.9	332.4	189.0	186.3	1111	236.9	119.8	182.4	887.8	223.5	nd	151.2	952.6	234.5	141.1	141.2

nd:no detected

بیشترین میزان ترنس فرولیک اسید از سطح ۱/۵ گرم در لیتر اسید آمینه به دست آمد (۱۷ میلی‌گرم در لیتر) بر اساس نتایج به‌دست‌آمده میانگین غلظت این ترکیب فنولی در این سطح اسید آمینه با غلظت آن در سطوح صفر و ۰/۵ اسید آمینه اختلاف معنی‌دار نداشت و در یک گروه آماری قرار گرفت. میانگین غلظت رزمارینیک اسید با افزایش سطح اسید آمینه کاهش یافت بیشترین غلظت این ترکیب فنولی متعلق به سطح صفر اسید آمینه بود. (۳۵۸/۷ میلی‌گرم بر گرم). تغییرات رزمارینیک اسید در سطوح بالای اسید آمینه (۱ و ۱/۵ میلی‌لیتر) اختلاف معنی‌داری نداشت و این دو تیمار در آخرین گروه آماری قرار گرفتند.

روند تغییرات محتوای فنول کل با تغییرات غلظت اسید آمینه نشان داد با افزایش سطح محلول‌پاشی اسید آمینه محتوای فنول کل تا سطح ۱ میلی‌گرم در لیتر افزایش و پس‌ازآن کاهش یافت بالاترین محتوای فنول کل از سطح ۱ میلی‌لیتر اسید

آمینه به میزان متوسط ۸۲/۶ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. روند تغییرات بر اساس افزایش اسید آمینه بر اساس یک رابطه درجه دوم معنی‌دار (r^2 =۰/۹۳) تعریف شد (شکل ۳)



شکل ۳- میانگین تغییرات برخی از ترکیبات فنولی (ترنس فرولیک اسید و رزمارینیک اسید) و محتوای فنول کل در اثر مقادیر مختلف اسید آمینه. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌دار ندارند (LSD 5%)

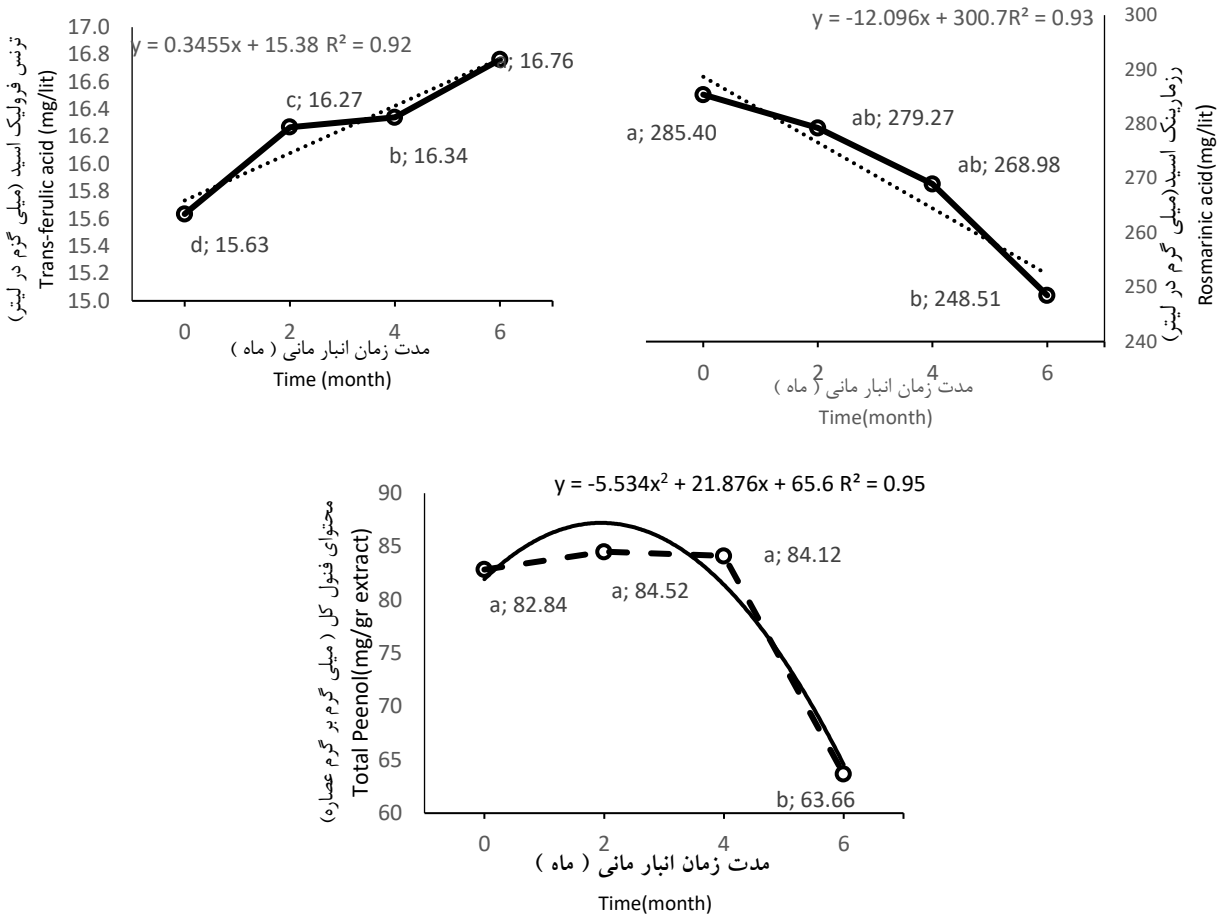
Fig. 3. Average changes of some phenolic compounds (trans-ferulic acid and Rosmarinic acid) and total phenol content due to different amounts of amino acids. In each column, means with the same letter are not statistically significant difference (LSD 5%).

روند تغییرات رزمارینیک اسید با افزایش زمان انبار مانی نزولی بود. بیشترین میزان این ترکیب فنولی بلافاصله پس از برداشت به دست آمد (۲۸۵/۴ میلی‌گرم در لیتر) و در بالاترین گروه آماری قرار گرفت. با افزایش زمان نگه‌داری در انبار غلظت رزمارینیک اسید بر اساس یک رابطه خطی منفی و معنی‌دار (r^2 =۰/۹۳) کاهش یافت.

تغییرات ترانس فرولیک اسید بر اساس افزایش زمان نگه‌داری در انبار صعودی بود بیشترین میزان این ترکیب فنولی با انبار مانی به مدت ۶ ماه به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد (بلافاصله بعد از برداشت) ۷/۲ درصد افزایش یافت. ارتباط زمان انبار مانی و تغییرات ترانس فرولیک اسید بر اساس یک رابطه خطی مثبت و معنی‌دار (r^2 =۰/۹۱) تعریف شد (شکل ۴).

برهمکنش مقادیر مختلف اسید آمینه و مدت‌زمان انبار مانی بر ترانس فرو لیک اسید نشان داد بیشترین میزان این ترکیب در سطح ۱/۵ گرم در لیتر اسید آمینه بلافاصله بعد از برداشت بیشترین میزان را در بین برهم‌کنش تیمارهای موردبررسی داشته است (۲۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) در بررسی رزمارینیک اسید مشخص شد که برهمکنش سطح صفر اسید آمینه در کل تاریخ‌های یادداشت‌برداری بالاترین میزان را نسبت به سایر غلظت‌ها داشته است (جدول ۸).

در هریک از سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ با افزایش سطح اسید آمینه محتوای فنول کل افزایش و پس‌ازآن کاهش یافت در سطوح ۱ و ۱/۵ اسید آمینه افزایش محتوای فنول کل تا ۴ ماه پس از برداشت و در سطح ۰/۵ افزایش تا ماه دوم ادامه و پس‌ازآن کاهش یافت محتوای فنول کل در سطح صفر اسید آمینه نزولی بود (جدول ۸).



شکل ۴- میانگین غلظت ترانسفرولیک اسید، رزمارینیک اسید و محتوای فنول کل در زمان‌های مختلف انبار مانی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌دار ندارند (LSD 5%).

Fig. 3. Average changes of some phenolic compounds (trans-ferulic acid and rosmarinic acid) and total phenol content due to different amounts of amino acids. In each column, means with the same letter are not statistically significant difference (LSD 5%)

جدول ۸ - تأثیر برهمکنش مقادیر مختلف اسید آمینه و زمان انبار مانی بر برخی از ترکیبات فنولی و محتوای فنول کل.

Table 8 - the interaction effect of amino acid different amounts and storage time on some phenolic compounds and total phenolic content.

غلظت اسید آمینه (گرم بر لیتر) Amino acid(gr/lit)	زمان انبار مانی (ماه) Time(month)	ترانس فرولیک اسید (میلی‌گرم بر لیتر) Trans-ferulic acid(mg/lit)	رزمارینیک اسید (میلی‌گرم بر لیتر) Rosmarinic acid (mg/lit)	محتوای فنول کل (میلی‌گرم بر گرم) Total phenol(mg/gr)
0	0	15.01 efg	358.41 ab	99.86 a
	2	18.05 b	372.01 a	79.05 d
	4	15.89 def	365.90 a	78.67 d
	6	17.71 bc	338.50 abc	51.10 f
0.5	0	14.11 gh	338.78 abc	84.53 bc
	2	18.05 b	327.55 bcd	96.14 a
	4	16.14 de	314.31 cd	86.91 b
	6	18.16 b	292.96 d	55.13 f
1	0	13.18 h	230.78 e	78.75 d
	2	14.38 gh	206.50 ef	83.62 bc
	4	16.55 cd	196.38 ef	87.17 b

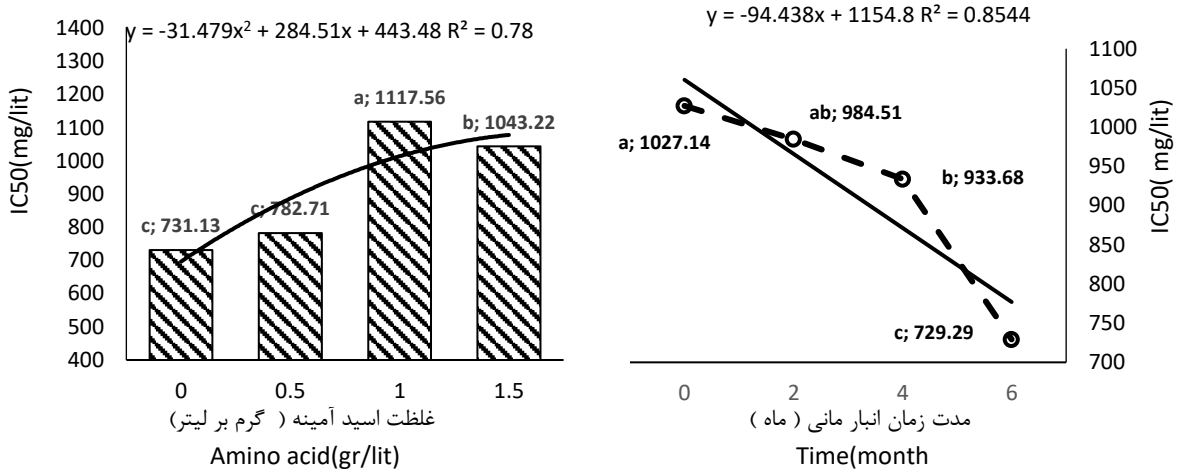
	6	14.61 fgh	182.41 f	80.69 cd
	0	20.25 a	213.62 ef	68.23 e
	2	14.60 fgh	211.03 ef	79.25 d
1.5	4	16.79 bcd	199.31 ef	83.72 bc
	6	16.56 cd	180.16 f	67.71 e

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌دار ندارند (LSD 5%)

In each column, means with the same letter are not statistically significant difference (LSD 5%)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

روند تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی در سطوح مختلف اسید آمینه در هر سطح اسید آمینه با افزایش زمان انبار مانی کاهشی بود. با افزاش سطح اسید آمینه در هر دوره انبار مانی فعالیت آنتی‌اکسیدانی تا سطح ۱ گرم در لیتر افزایش و پس‌ازآن کاهش یافت. بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی از برهمکنش سطح ۱ میلی‌لیتر اسید آمینه بلافاصله پس از برداشت به دست آمد (۱۵۶۹/۰۵ میلی‌گرم در لیتر) که در بالاترین گروه آماری قرار گرفت (جدول ۹).



شکل ۵- میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اثر مقادیر مختلف اسید آمینه طول مدت انبار مانی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌دار ندارند (LSD 5%)

Table 5. The average of antioxidant activity due to different amounts of amino acids during storage time. In each column, means with the same letter are not statistically significant difference (LSD 5%).

جدول ۹- تأثیر برهمکنش مقادیر مختلف اسید آمینه و زمان انبار مانی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی مریم‌گلی ایرانی (میلی‌گرم در لیتر).

Table 9. The effect of the interaction of different amounts of amino acids and storage time on the antioxidant activity of Iranian sage (mg/liter).

طول دوره انبار مانی (ماه) Time(month)	اسید آمینه (میلی‌گرم در لیتر) Amino acid (gr/lit)			
	0	0.5	1	1.5
0	1090.86 cd	1013.44 def	1569.05 a	1228.99 b
2	946.06 fgh	802.22 ij	1144.71 c	1073.64 cde
4	566.38 k	774.12 j	930.62 gh	1000.41 efg
6	321.23 l	541.07 k	825.87 ij	869.85 hi

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌دار ندارند (LSD 5%)

In each column, means with the same letter are not statistically significant difference (LSD 5%)

بحث

گیاه مریم‌گلی ایرانی یکی از گونه‌های مهم خانواده نعنائیان محسوب می‌شود لذا مطالعه بر روی روش‌های دستیابی به رشد مطلوب زراعی و کیفیت اسانس این‌گونه ارزشمند ازنظر اقتصادی حائز اهمیت است. ازاین‌رو باید با مدیریت‌های مهم زراعی مانند محلول‌پاشی عناصر غذایی و مدیریت انبار مانی این گیاه پس از برداشت به این هدف مهم یعنی افزایش کیفیت دست‌یافت.

در این بررسی ماده خشک گیاه در اثر استفاده از اسیدآمینه تا سطح ۰/۵ گرم در لیتر افزایش و با افزایش سطح اسیدآمینه کاهش یافت. استفاده از اسید آمینه ضمن فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، موجبات افزایش پیکره رویشی و تولید زیست‌توده گیاهی نیز می‌شود. به عبارتی، افزایش وزن برگ در اثر استفاده از اسیدآمینه، از طریق بهبود رشد و نمو در عملکرد رویشی مریم‌گلی مشاهده شد که حاصل تخصیص مواد فتوسنتزی بیشتر و به دنبال آن افزایش وزن‌تر و خشک برگ‌ها و سایر اندام‌های هوایی است (Gamal and El-din, 2005).

برخی از مطالعات نشان داده که گیاهان می‌توانند نیتروژن را در قالب اسیدهایی آمینه بدون تکیه بر کانی سازی معدنی جذب کنند (Abou Dahab and Abdel-Aziz, 2006) هرچند که افزایش مقدار مصرف اسیدهای آمینه به دلیل افزایش تنش حاصل از افزایش مقدار نیتروژن می‌تواند باعث کاهش وزن اندام‌های هوایی گیاه نیز شود (Sangwan *et al*., 2001). کاربرد اسیدهای آمینه باعث افزایش تعرق در گیاه می‌شود. به نظر می‌رسد که عامل افزایش تعرق، افزایش فتوسنتز باشد. بدین‌صورت که افزایش تقاضای مواد معدنی و آب برای فتوسنتز موجب افزایش جریان شیره خام به‌طرف برگ‌ها می‌شود و این افزایش جریان شیره خام موجب باز شدن روزنه‌ها و درنتیجه افزایش میزان تعرق می‌شود (Gijo´n *et al*., 2009). افزایش نامتعادل تعرق باعث کاهش وزن زیست‌توده گیاه و متعاقب آن تأثیر بر اندام‌های زایشی می‌شود (Bayat *et al*., 2012). کاهش رشد اندام‌های هوایی گیاهان در اثر افزایش مقدار استفاده از اسیدهای آمینه در سویا و تنباکو نیز گزارش شده است (Gamborg *et al*., 1970).

در این بررسی محلول‌پاشی مقادیر مختلف اسیدآمینه و اثرمتقابل آن با زمان نگهداری بر ترکیبات موردبررسی اسانس اثر معنی‌دار داشت. متابولیسم اسیدهای آمینه می‌تواند بر مسیر بیوسنتزی متابولیت های ثانویه در گیاهان دارویی اثرات مختلفی داشته باشد. یکی از راه‌های تغییر بیوسنتز متابولیت های ثانویه در گیاهان دارویی (مانند متابولیت‌های اجزای اسانس) مواجه‌شدن با هر محرکی است که بتواند مسیر بیوسنتز را تحت تأثیر قرار دهد. این تحقیق نشان داد که محلول‌پاشی اسیدآمینه ممکن است با تأثیر بر مسیر بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان یک عامل محرک تولید، سبب افزایش یا کاهش میزان (درصد) ترکیبات اسانس در گیاه دارویی مریم‌گلی ایرانی شده باشد. روند تغییرات ترکیبات اسانس در اثر محلول‌پاشی گیاهان با اسید آمینه ممکن است در اثر تغییرات رشد رویشی، جذب مواد غذایی بیشتر توسط ریشه‌ها و فعالیت‌های فتوسنتزی گیاه و همچنین تغییر در جمعیت غده‌های تولیدکننده اسانس در برگ و گل‌ها باشد (Raeisi *et al*., 2014).

هرچند مقدار متابولیت‌های ثانویه گیاهان تحت کنترل ژن‌ها قرار دارد، تجمع و مقدار غلظت آن‌ها تا حد زیادی تحت تأثیر شرایط محیطی است با نظر به افزایش میزان اسانس در اثر مصرف تیمارهای مختلف اسید آمینه، می‌توان نتیجه گرفت ازآنجاکه اسانس‌ها، ترکیبات ترپنوئیدی بوده و بیوسنتز واحدهای سازنده آن‌ها (ایزوپرونوئیدها) نیازمند ATP و NADPH هستند و با توجه به این‌که حضور عناصری مانند فسفر نقش مهمی در ساختار واحدهای سازنده اسانس‌ها یعنی ایزوپنتینیل پیرو فسفات (IPP) و دی متیل آلیل پیروفسفات (DMAPP) دارند (Teixeira *et al*., 2017). اسید آمینه از طریق فراهم نمودن جذب بیشتر نیتروژن که در اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس حضور دارند، موجب افزایش میزان اسانس پیکر رویشی می‌گردد. همچنین نیتروژن از طریق افزایش تعداد برگ و سطح و فراهم نمودن زمینه مناسب جهت دریافت انرژی نورانی خورشید و نیز شرکت در ساختار کلروفیل و آنزیم‌های درگیر در متابولیسم کربن فتوسنتزی، موجب افزایش بازده فتوسنتزی شده و نقش کلیدی در افزایش میزان اسانس دارد (Omer *et al*., 2013). مقادیر بالاتر ۵-نئو سدرانول نسبت به سایر ترکیبات در بررسی‌ها نشان گزارش‌شده است (Saburi *et al*., 2014). در بررسی اسانس ۱۲ نمونه *S. mirzayani* مشاهده شد عمده ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه مونو ترپن هستند در ترکیبات اسانس این ۱۲ نمونه سینئول و آلفا تریپینیل استات ازجمله ترکیبات مهم در همه نمونه‌ها بود همچنین لینالول و لینالیل استات از مهم‌ترین ترکیبات در چندین نمونه روغن مریم‌گلی ایرانی گزارش شده است که با نتایج

حاصل از بررسی حاضر مطابقت داشته است. بدیهی است که منشأ، شرایط کشت و مرحله رشد و همچنین روش تهیه و استخراج تأثیر زیادی بر روی مشخصات کمی و کیفی اسانس دارد (Naghdi Badi *et al*., 2012).

تغییرات تعداد ترکیب‌های موجود در اسانس گیاه در اثر تیمارهای موردبررسی می‌تواند به دلیل تبخیر ترکیبات فرار و واکنش‌های اکسیداتیو باشد. در پژوهشی، Ebadi و همکاران (۲۰۱۷) دریافتند که با افزایش مدت‌زمان انبارداری مقدار تعداد ترکیبات اسانس گیاه به‌لیمو به‌طور چشمگیری کاهش یافت. نتایج بررسی Karami و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که ترکیبات اسانس به عنوان تابعی از دماها و زمان های مختلف نگهداری تغییر می کند. لینالول، کافور لیمونن و کامفن از ترکیبات اصلی اسانس گیاه مورد *Zhumeria majdae* بود که با افزایش طول دوره انبار مانی تا شش ماه پس از برداشت در مقایسه با تیمار شاهد بدون انبار مانی (بلافاصله بعد از برداشت) افزایش یافت (۱۵) که مطابق با نتایج آزمایش حاضر بود. با افزایش زمان انبار مانی در هر سطح اسید آمینه درصد لینالیل استات و آلفا تریپنیل استات روند افزایشی داشت. بیشترین درصد ۵ نئو سدرانول از برهمکنش سطح ۱ میلی‌لیتر اسید آمینه ۲ ماه بعد از انبارمانی به دست آمد. لینالیل استات در سطح صفر اسید آمینه، ۴ و ۶ ماه پس از انبار مانی و بیشترین میزان آلفا-ترپینیل از غلظت ۱/۵ میلی‌لیتر اسید آمینه ۶ ماه پس از انبار مانی به دست آمد. در هر سطح اسید آمینه بیشترین غلظت لینالیل استات و آلفا تریپنل استات مربوط به ۴ و ۶ ماه بعد از انبار مانی بود. بر اساس این نتایج در سطوح صفر و ۱/۵ گرم بر لیتر اسید آمینه بیشترین غلظت ۵- نئو سدرانول مربوط به ابتدای دوره انبار مانی بود اما بیشترین غلظت نئوسدرانول در سطوح ۰/۵ و ۱ گرم بر لیتر اسید آمینه مربوط به دو ماه بعد از انبار مانی بود.

روند تغییرات محتوای فنول کل با تغییرات غلظت اسید آمینه با افزایش سطح محلول‌پاشی اسید آمینه محتوای فنول کل بر اساس بر اساس یک رابطه درجه دوم معنی‌دار بود.

مطالعات نشان داده است که عوامل مختلفی بر درصد و میزان ترکیبات فنولی عصاره استخراجی از گیاهان مؤثر هستند، در این زمینه می‌توان به عوامل مختلفی مانند عوامل ژنتیکی، شرایط محیطی ازجمله سیستم‌های تغذیه‌ای و شرایط نگهداری اشاره کرد. حتی بین واریته های زراعی یک‌گونه نیز ازنظر درصد و میزان ترکیبات فنولی تفاوت وجود دارد. همچنین میزان رسیدن و زمان برداشت بر محتوای فنولی مؤثرند (Jacopic *et al*., 2007). در آزمایش حاضر براثر افزایش طول دوره انبار مانی محتوای فنول کل ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. هرچند در اکثر بررسی‌های انجام‌شده تغییرات فنول کل در اثر افزایش زمان انبار مانی به‌صورت خطی منفی بوده است (Jacopic *et al*., 2007). اما به نظر می‌رسد افزایش فنول کل تا دو ماه بعد از برداشت در آزمایش حاضر به دلیل تفاوت در شکل تغییر در محتوای هر یک از ترکیبات فنولی تشکیل‌دهنده محتوای فنول کل بوده باشد. محتوای فنول کل با نگه‌داری مریم‌گلی در یخچال افزایش یافت این نتیجه با نتایج به‌دست‌آمده قبلی بر روی گیاهان نعنا و جعفری مطابقت دارد (Hruschka and Wang, 1979).

فنول‌ها و فلاونوئیدها ازجمله ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان موجود در گیاه هستند که سبب فعالیت آنتی‌اکسیدانی و جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد می‌شوند شمار زیادی از فلاونوئیدهای گلیکوزیدی در عصاره متانولی برگ‌های گیاهان دارویی مشاهده‌شده است بررسی‌ها بر روی انواع توت نیز نشان داد مقدار فنول‌ها و فلاونوئیدها در طول انبار مانی به‌طور معنی‌داری کاهش می یابد این کاهش مربوط به زمان انبارداری می‌باشد که معمولاً مقدار فنول‌ها در طول انبار مانی با کاهش مواجه می‌شوند. باوجوداین، رفتار و تغییرات این ترکیبات در طول انبار مانی خیلی مشخص نیست و مقدار آن‌ها در طول انبار کردن می‌تواند کاهش یا افزایش یابد و یا تغییری نکند. همچنین این تغییرات در مورد انواع مختلف ترکیبات فنولی می‌تواند متفاوت باشد (Hakkinen *et al*.,2009).

همسو با نتایج این آزمایش، نتایج تحقیق کسیرا و همکاران نشان دادند که با افـزایش سـطح اسید آمینه بر میزان فعالیـت آنتـی‌اکسـیدانی گیاه سویا افـزوده شـد، نامبردگان همچنین گزارش کردند که اسید آمینه علاوه بر بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و افزایش جذب عناصر غذایی، منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز می‌گردد (Teixeira *et al*., 2017). گزارش Bielach و همکاران (۲۰۱۷) مبین آن است که اسید آمینه عموماً مانند تنظیم‌کننده‌های رشد نظیر اکسین و سایتوکنین عمل می‌کند و سبب بهبود تحمل به تنش‌های مختلف و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه می‌شود. میزان مواد مؤثره موجود در گیاهان دارویی به شرایط آب و هوایی، روش‌های زراعی، مدیریت آبیاری و همچنین تغذیه کودی بستگی دارد، بنابراین بهبود عملکرد کمی و کیفی می‌تواند توسط هریک از این عوامل حاصل گردد (Bielach *et al*., 2017). گیاهان از بین این عوامل، نسبت

به مقادیر مختلف کودهای مورداستفاده پاسخ‌های متفاوتی نشان می‌دهند و مدیریت تغذیه‌ای مناسب می‌تواند در افزایش عملکرد و کیفیت محصول حائز اهمیت باشد نوع ترکیبات اسید آمینه و مقدار آن بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه تأثیر دارد به‌نحوی‌که با افزایش این ترکیبات فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه افزایش می‌یابد (Raeisi *et al*., 2014).

در گیاهان تولید آنتی‌اکسیدان‌ها تحت تأثیر متقابل عوامل داخلی و خارجی مانند نور، دما، کربوهیدرات، هورمون‌های گیاهی و... است. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه مربوط به برهمکنش محلول‌پاشی اسید آمینه با غلظت ۰/۱ درصد و نگه‌داری به مدت ۶۰ روز در انبار بود. با توجه به کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در طول زمان افزایش سطح محلول‌پاشی اسید آمینه باعث جلوگیری از روند این کاهش شد به‌نحوی‌که شش ماه پس از انبار مانی درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار ۱/۵ گرم بر لیتر اسید آمینه کمترین میزان کاهش را در بین تیمارهای محلول‌پاشی اسید آمینه داشت.

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست‌آمده، نشان‌دهنده حصول بیشترین میزان وزن‌تر و خشک و همچنین تعداد و وزن سنبله گیاه مریم‌گلی ایرانی از سطح ۰/۵ گرم در لیتر اسید آمینه بود. با افزایش غلظت اسید آمینه این شاخص‌ها کاهش یافت. درمجموع محلول‌پاشی اسید آمینه تا غلظت ۰/۵ گرم در لیتر به‌منظور افزایش خصوصیات زراعی گیاه مریم‌گلی ایرانی توصیه می‌شود. با توجه به روند تغییرات محتوای فنول کل در اثر افرایش سطح اسید آمینه سطح ۱ گرم در لیتر اسید آمینه بدین منظور توصیه می‌شود. نگه‌داری در طول زمان باعث کاهش محتوای فنول کل شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش سطح اسید آمینه تا سطح ۱ گرم در لیتر آن افزایشی و پس‌ازآن روند کاهشی داشت. با افزایش طول دوره انبار مانی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با یک‌روند خطی منفی کاهش یافت با توجه به نتایج به‌دست‌آمده به نظر می‌رسد به‌منظور کسب بالاترین مطلوبیت کمی و کیفی مریم‌گلی ایرانی استفاده از سطح ۱ گرم در لیتر اسید آمینه قابل توصیه باشد.

منابع References

Abou Dahab, T. and Abdel-Aziz, N. (2006). Physiological effect of diphenylamine and tryptophan on the growth and chemical constituents of *Philodendron erubescens* plants. *World Journal Agricultural Science, 2 (1),* 75-81.

Adams, R.P. (2011). Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy. *Academic Press, New York,* 809p.

Bayat, H., Nemati, H. Selah Varzi, Y. and Abdollahi Saadabad, A. (2012) The effect of silicon on growth, evaporation and transpiration and reproductive function of Iranian Atlasi (*Petunia hybrida*). *Plant and Ecology Journal. 8(33),* 51 -60.

Baydar, H. and Gokturk Baydar, N. (2005). The effects of harvest date, fermentation duration and Tween 20 treatment on essential oil content and composition of industrial oil rose (*Rosa damascene* Mill.). *Indian Crops Production. 21*, 251–255.

Bielach, A., Hrtyan, M. Tognetti, V.B. (2017). Plants under Stress: Involvement of Auxin and Cytokinin. *International Journal Molecular Science. 18(7)*,1427-1435

Ebadi, MT., Sefidkon, F. Azizi, M. and Ahmadi, N. (2017) Packaging methods and storage duration affect essential oil content and composition of lemon verbena (*Lippia citriodora* Kunth.). *Food Science Nutrition. 5*,588 - 595.

Gamal K.M. and El-din, M. (2005). Effect of some amino acids on growth and essential oil content of chamomile plant. *International. Journal. Agricultural and Biology. 7(3)*,376-380.

Gamborg, O., Miller, R. and Ogtma, K.(1970). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research.50,* 151-158.

Gijo´n, M., J. Guerrero, J. Couceiro and A. Morian. (2009). Deficit irrigation without reducing yield or nut splitting in pistachio (*Pistacia vera* cv. Kerman on *Pistacia terebinthus* L.). *Agricultural Water Management. 96,*12 – 2 2.

Hakkinen, S.H. , Karenlampi, S.O. Mykkanen, H. M. and Torronen. A.R.(2000). Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. *Journal Agricultural and Food Chemistry. 48(7),* 2960-2965.

Hedayati,A. Hadian, J., Mir Jalili , M. (2018). Chemical Diversity in the Essential Oil from Different Plant Organs of *Salvia sahendica* Boiss. & Buhse, *Journal of Plant Research, 29(4),* 908-918.

Hruschka, H.W. and Wang. C.Y. (1979). Storage and Shelf Life of Packaged Watercress, Parsley and Mint. *U.S. Department of Agriculture, Science and Education Administration, Washington, 19p*

Jacopic, J., M. Colaric,R. Veberic, M. Hudina, A. Solar and F. Stampar. (2007). How much do cultivar and preparation time influence on phenolics content in walnut liqueur, *Food Chemistry. 104 (1),* 100 – 105.

Jamzad, Z. (2013). A survey of Lamiaceae in the flora of Iran. *Rostaniha, 14(1),*59–67. (in Persian)

Justesen, U., Knuthsen, P. and Leth, T. (1997). Determination of plant phenols in Danish foodstuffs by HPLC-UV and LC-MS detection. *Cancer Letter, 114,* 165–167.

Karami, A.; Tashani, F.; Tahmasebi, A.; Maggi, F. (2021). Chemical variability in the composition of *Zhumeria majdae* (Rech. F. & Wendell) essential oil according to storage time and *T. sahendica* Boiss and Buhse in different stages of growth and development. *Master's Thesis, Faculty of Science, Tabriz University*, 123 pages (in Persian)

Naghdi Badi, HA., Golzadeh, H. Mehrafarin, A. Fazeli, F. Qaderi, A. and Zarinpanjeh, N. (2012). Effect of bio-stimulators compounds on quantitative and qualitative yield of German chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Journal Medicinal Plants, 1(41),* 78 -85.

Niakan, M., Khavarinezhad, R. and Rezaei, M. (2004). Effect of different rates of N/P/K fertilizer on leaf freash weight, dry weight, leaf area and oil content in *Mentha piperita* L. *Iranian Journal of Medicial And Aromatic Plants*. *20(2),* 131-148(In persian)

Omer, E., Said-Al Ahl, H., El Gendy, A., and Wahby, M.(2013). Effect of amino acids application on production, volatile oil and chemical composition of chamomile cultivated in saline soil at sinai. *Journal of Applied Science Research. 9*, 3006-3021.

Raeisi, M, Farahani, L., and Palashi, M.(2014). Changes of qualitative and quantitative properties of radish (*Raphanus sativus* L.) under foliar spraying through amino acid. *International Journal of Bioscience. 4(1),*463-468.

Ramasubramania Raja, R. (2012). Medicinally potential plants of Labiatae (*Lamiaceae*) Family: An Overview. Res. JOURNAL. Medic. *Plants*, 6: 203-213.

Rowshan, V. and A. Tarakemeh. 2013. Comparison of *Salvia mirzayanii* volatile compounds extracted by headspace extraction and hydrodistillation methods. *International Journal of Plant Animal and Environment Science 3*, 136-140.

Saburi, M., Haj Seyed Hadi, M.R. and Darzi, M.T.(2014). Effects of amino acids and nitrogen fixing bacteria on quantitative yield and essential oil content of basil (*Ocimum basilicum*). *Journal Of Agricultural Science Development. 3(8)*, 265-268.

Sangwan, S., Farooqi, A., Shabih, F. and Sangwan. S.(2001). Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulators*. *31*, 3-21.

Teixeira, W.F., Fagan, E.B. and Soares, L.H. (2017). Foliar and seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean. *Crop, 14(2)*, 21-36.

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 25 (1): 47-64 (2024)
Research article

Changes in the Content and Compositions of Iranian Sage (*Salvia Mirzayanii* L.) Essential Oil under the Influence of Amino Acid Foliar Application and Storage Duration

Maryam Bahadour [1], Abdolhossein Aboutalebi Jahromi [*1], Behnam Behrooznam [1], Vahid Rowshan[2]

1. Department of Horticulture, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
2. Research and Education Center, Agriculture and Natural Resources, Research, Education and Extension Organization, Shiraz, Iran

Corresponding Author, Email: (aa84607@gmail.com)

Persian sage (*Salvia mirzayanii* L.) is a medicinal plant belonging to the mint family, which has been of interest since ancient times due to its many medicinal properties. In order to investigate the effect of different concentrations of amino acids (0, 0.5, 1 and 1.5 gr/L) and storage duration (0, 2, 4 and 6 months) on the amount and changes of Iranian sage essential oil, a factorial experiment was conducted in a randomized complete block design. Amino acid foliar application had a positive effect on the measured vegetative and reproductive traits of Iranian sage plant as well as the percentage of compounds after harvest. In this study, the most important compounds found in Iranian sage essential oil after harvesting were 5-neo-sedranol (20.11%), Lnalyl acetate (16.52%) and alphaterpinyl acetate (14.28%). The content of total phenol increased by increasing the level of amino acid foliar application up to the level of 1 mg/L (82.6 mg/L) and after that it decreased, and by continuing storage for 6 months after harvesting, it increased by 23.15% compared to four months. The highest antioxidant activity was obtained from foliar spraying of amino acid with a concentration of 1 mg/L, and storage for 6 months after harvest reduced it by 29% compared to the time of harvest. Based on the results of this study, it is recommended to use amino acid up to a concentration of 0.5 gr/L in order to achieve the maximum fresh and dry weight of the plant.

Keywords: 5-neo-sedranol, Antioxidant, Essential oil compounds, Linalyl acetate, Total phenol.