Journal of
Plant Environmental Physiology
Print ISSN: 2423-7671
Online ISSN: 2783-4689
Phycological Society of Iran

Analysis of sage essential oil components in Ahar and Urmia regions in vegetative growth and flowering stages by GC / MS method

Elham Kafiehsanj[1], Kamaluddin Dilmaghani[2*], Nader Chaparzadeh[3], Sara Saadatmand[4]

[1] Department of Plant Physiology, Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Email: Ghafiyehsanjelham@gmail.com
[2] Marand branch, Islamic Azad University, Marand, Iran, email: K0_dil@marandiau.ac.ir
[3] Shahid Madani University of Azerbaijan, Maragheh, Iran, email: nchapar@azarunive.ac.ir
[4] Department of Plant Physiology, Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran, Email: Sadatmandsara@gmail.com

Article type:
Research article

Article history
Received: 03.11.2021
Revised: 09.02.2022
Accepted: 18.02.2022
Published:20.03.2024

Keywords
Salvia nemorosa
essential oils
GC/MS
oxygenated sesquiterpenes
caryophyllen oxide

Abstract

Present experiment was conducted on essential oil constituents of (save) *Salvia nemorosa* L. plants at two different growth stages viz.- vegetative and flowering- at two regions of Ahar and Urmia. Aerial parts of *Salvia* were collected and dried to extract their essential oils by hydro–distillation method. The essential oils constituents were analyzed and identified based on GC/MS and GC analysis and calculating Kovats retention index. The results showed that the percentage of essential oils in sage flowers in each two regions was higher than vegetative leaves stage. The highest percentage and number of essential oils compounds were seen in flowers and in vegetative stage leaves of Ahar region and the lowest essential oils percentage was seen in flowers and vegetative stage leaves of Urmia region. Caryophyllen oxide was the main composition in the essential oils of flowers and vegetative stage leaves in plants of both regions. The percentage of caryophyllen oxide in essential oils of sage flowers (26.41) was higher than vegetative stage leaves (18.19) in Urmia region but the percentage of caryophyllen oxide was higher in vegetative stage leaves of Ahar region (28.37) than in its flowers (12.79). In addition to caryophyllen oxide, there were compositions such as spathulenol, trans–beta-caryophyllen, para–cymene, 1–octen–3-ol and terpinen-4-ol with different percentages in the essential oil of sage flower of plants of both regions and there were trans-beta-caryophyllen, beta-ionone, and camphor in the essential oil of vegetative stage leaves of plants of Ahar region. Oxygenated sesquiterpenes had the highest amount in sage flowers and vegetative stage leaves in both regions compared to other chemical groups of essential oils. Amount of oxygenated sesquiterpenes in essential oil of flowers of the plants of Urmia region and essential oil of vegetative stage leaves of plants of Ahar region were 46/31% and 34/3%, respectively.

Cite this article as: Kafiehsanj, E., Dilmaghani, K., Chaparzadeh, N., Saadatmand, S. (2023). Analysis of sage essential oil components in Ahar and Urmia regions in vegetative growth and flowering stages by GC / MS method. *Journal of Plant Environmental Physiology*,19(1): 49-62.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

فیزیولوژی محیطی گیاهی
شاپا چاپی: ۲۴۲۳-۷۶۷۱
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۸۹
PSI
انجمن جلبک شناسی ایران
Phycological Society of Iran
دانشگاه آزاد اسلامی
واحد گرگان

آنالیز اجزای اسانس مریم گلی (*Salvia nemorosa* L.) مناطق اهر و ارومیه در مراحل رشد رویشی و گل‌دهی به روش GC/MS

الهام قافیه‌سنج[۱]، کمال الدین دیلمقانی[۲*]، نادر چاپارزاده[۳]، سارا سعادتمند[٤]

[۱] گروه فیزیولوژی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. رایانامه: ghafiyehsanjelham@gmail.com
[۲] واحد مرند، دانشگاه آزاد اسلامی، مرند، ایران، رایانامه: k0_dil@marandiau.ac.ir
[۳] دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، مراغه، ایران، رایانامه: nchapar@azarunive.ac.ir
[٤] گروه فیزیولوژی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، رایانامه: sadatmandsara@gmail.com

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۰۸/۱۲
تاریخ بازنگری: ۱٤۰۰/۱۱/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۱۱/۲۹
تاریخ چاپ: ۱٤۰۳/۰۱/۰۱

واژه‌های کلیدی:
مریم گلی جنگلی
روغن‌های فرار
GC/MS
سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار
کریوفیلن اکساید

چکیده

هدف از تحقیق حاضر بررسی اجزای اسانس گیاهان مریم گلی جنگلی (*Salvia nemorosa* L.) دو منطقه اهر و ارومیه در دو مرحله فنولوژیکی، رویشی و گل‌دهی، بود. بخش‌های هوایی گیاهان در این دو مرحله جمع‌آوری و خشکانده شده و اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب توسط کلونجر انجام شد. اسانس‌ها با استفاده از دستگاه‌های GC و GC/MS و با محاسبه شاخص بازداری کواتس تجزیه و شناسایی شدند. نتایج نشان دادند که درصد اسانس سرشاخه‌های گل‌دار در هر دو منطقه اهر و ارومیه در مقایسه با برگ‌های مرحله رویشی بالاتر بود. بیش‌ترین درصد و اجزای اسانس در سرشاخه‌های گل‌دار و در برگ مرحله رویشی در گیاهان منطقه اهر و کم‌ترین میزان درصد اسانس در سرشاخه‌های گل‌دار و در برگ مرحله رویشی در گیاهان منطقه ارومیه مشاهده شد. کریوفیلن اکساید در اسانس سرشاخه‌های گل‌دار و در برگ مرحله رویشی گیاهان هر دو منطقه ترکیب اصلی بود. درصد کریوفیلن اکساید در اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گیاهان ارومیه (۲٦/٤۱ درصد) نسبت به اسانس برگ مرحله رویشی (۱۸/۱۹ درصد) بیش‌تر و برعکس، درصد این ماده در برگ مرحله رویشی گیاهان اهر (۲۸/۳۷ درصد) در مقایسه با سرشاخه‌های گل‌دار این گیاهان (۱۲/۷۹درصد) بالاتر بود. علاوه بر کریوفیلن اکساید، ترکیباتی مانند اسپاتولنول، ترانس- بتا-کریوفیلن، پاراسیمن، ۱-اکتن۳-ال و ترپینن-٤-ال با درصدهای متفاوت در اسانس سرشاخه گل‌دار در گیاهان هر دو منطقه و ترانس-بتا کریوفیلن، بتا-ایونن و کامفور در اسانس برگ مرحله رویشی گیاهان اهر وجود داشتند. سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار در اسانس سرشاخه گل‌دار و برگ مرحله رویشی در گیاهان هر دو منطقه در مقایسه با سایر گروه‌های شیمیایی اسانس بالاترین مقدار را نشان دادند. مقدار سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار در اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گیاهان جمع‌آوری شده از منطقه ارومیه (٤٦/۳۱٪) و اسانس برگ مرحله رویشی گیاهان اهر (۳٤/۳٪) بود.

استناد: قافیه‌سنج، الهام؛ دیلمقانی، کمال الدین؛ چاپارزاده، نادر؛ سعادتمند، سارا. (۱٤۰۳). آنالیز اجزای اسانس مریم گلی (*Salvia nemorosa* L.) مناطق اهر و ارومیه در مراحل رشد رویشی و گل‌دهی به روش GC/MS. *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۱۹(۱)، ٦۲-٤۹.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

مریم گلی جنگلی با نام علمی *Salvia nemorosa* L. از تیره Lamiaceae می‌باشد (Walker and Sytsma, 2007). از سرده سالویا در ایران بیش از ۵۸ گونه شناسایی شده است که ۱۷ گونه آن بومی ایران می‌باشند (Jamzadeh, 2012). گیاهان دارویی در پزشکی سنتی از زمان‌های بسیار گذشته به کار برده شده‌اند. گیاهان هزاران ترکیب شیمیایی را برای اعمالی مانند دفاع در برابر حشرات، قارچ‌ها و جانوران گیاه‌خوار می‌سازند. متابولیت‌های ثانویه اثرات بیولوژیکی گوناگونی دارند. در پزشکی مدرن، متابولیت‌های ثانویه ترکیبات پیشگام برای تولید داروهایی برای درمان بیماری‌های گوناگون فراهم کردند. آن‌ها مطابق ساختار شیمیایی‌شان به گروه‌های مختلف دسته‌بندی می‌شوند. گروه‌های اصلی مواد شیمیایی گیاهی شامل آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، ترکیبات فنلی و ترپن‌ها می‌باشند. گونه‌های گیاهان مریم گلی دارای متابولیت‌های ثانویه مختلف، شامل روغن‌های فرار (اسانس‌ها)، اسیدهای فنلی، فلاوونوئیدها، دی‌ترپنوئیدها و سزکویی‌ترپن‌ها، هستند. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که این متابولیت‌ها فعالیت‌های زیستی زیادی، مانند فعالیت‌های ضدسرطانی، ضدباکتریایی، آنتی‌اکسیدانی، ضدعفونی کننده، ضد تشنج، ضد قابض، ضد دیابت و ضد رعشه را نشان می‌دهند (Rashid et al., 2009). همچنین، این گیاهان به خاطر اثرات آللوپاتیک مورد توجه واقع بوده و یکی از گیاهان طبیعی استفاده شده در بین گیاهان دارویی ایران می‌باشند (Nagibi et al., 2005).

مطالعات نشان داده‌اند که مریم گلی یکی از منابع بعضی آنتی اکسیدان‌ها است. برگ‌های این گیاهان به عنوان یک منبع ترکیبات فنلی سودمند و آنتی‌اکسیدان‌های موثر طبیعی شناسایی شده‌اند. معلوم شده است که ویژگی‌های آنتی اکسیدانی آن‌ها در ارتباط با وجود اسید رزماریک و اسید کارنوزئیک می‌باشد (Yadav et al., 2017). همچنین، مطالعه دیگری روی گیاهان مریم‌گلی جنگلی (*Salvia nemorosa* L.) جمع‌آوری شده از ارومیه و صربستان نشان داد که مواد شیمیایی تشکیل دهنده در روغن‌های فرار برگ‌ها و گل‌های این گیاه، هیدروکربن‌های سزکوئی‌ترپنی، سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار و هیدروکربن‌های مونوترپنی در بالاترین مقدار و مونوترپن‌های اکسیژن‌دار، ترکیبات آلیفاتیک، هیدروکربن‌های مونوترپنی، سابینن و لیمونن در مقادیر پایین‌تر بودند (Bozin et al., 2012; Bahadori et al., 2017). مریم گلی دارای تعداد زیادی از ترکیبات با فعالیت‌های زیستی گوناگون می‌باشد و نیز محتوی مقادیر نسبتاً بالایی از پلی‌ساکاریدها است که نشان دهنده فعالیت‌های ضد سرفه و ایمنی آن می‌باشد (Capek and Hribalova, 2004).

مشاهده شده است که مریم گلی ویژگی‌های بی‌نظیری در بازداری پراکسیداسیون لیپید دارد و این فعالیت اساسا به حضور ترکیبات فنلی، مانند اسید کارنوزئیک، کارنوزول و اسید رزماریک نسبت داده می‌شود (Zhng et al., 1990 و Cuvelier et al., 1996).

همچنین *Salvia nemorosa* فعالیت‌های قابل ملاحظه‌ای از نظر ضد باکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و مهار آنزیمی دارد (Bahadori et al., 2017). این مطالعه برای بررسی اجزای اسانس گیاهان مریم گلی جنگلی (*Salvia nemorosa* L.) دو منطقه اهر و ارومیه در دو مرحله فنولوژیکی، رویشی و گل‌دهی، به منظور تاثیر تعیین شرایط اقلیمی و روی درصد اجزای اسانس در دو اندام برگ و سرشاخه گل‌دار انجام شد.

مواد و روش‌ها

گیاهان مریم‌گلی (*Salvia nemorosa* L.) در دو مرحله رویشی و گل‌دهی گیاه، از دو منطقه در شمال غرب کشور، شامل ۷۵ کیلومتری تبریز به اهر (آذربایجان شرقی) و روستای قاسملو در ارومیه (آذربایجان غربی) برداشت شدند (جدول ۱). شناسایی

تاکسونومیک گیاه توسط خانم فخر رنجبر در هرباریوم باغ گیاه‌شناسی تبریز انجام گرفت. زمان برداشت مرحله رویشی ۱۵ام اردیبهشت لغایت ۲۰ام اردیبهشت ماه سال ۹۶ و زمان برداشت مرحله گل‌دهی (گل‌دهی کامل) ۲۵ام خرداد لغایت ۳۰ام خرداد ماه همان سال بود.

جدول ۱: مشخصات جغرافیایی و اقلیمی مناطق جمع‌آوری گیاهان *S. nemorosa* در سال ۹۶

مناطق جمع‌آوری گیاهان *S. nemorosa*	مشخصات جغرافیایی			مشخصات اقلیمی		
	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (m)	میانگین دمای سالیانه (درجه سانتی‌گراد)	مجموع بارش سالیانه (میلی‌متر)	رطوبت نسبی (درصد)
اهر (آذربایجان شرقی)	٤٧°٠٤ E '	٣٨°٢٦ N	١٣٩١	١٣/٩٩	٢٦٠/٩٩	٥١/٥٣
روستای قاسملوی ارومیه (آذربایجان غربی)	٤٥°٠٥ E '	٣٧°٦٥°N	١٣٢٨	١٢/٤	٣٦١/٢	٥٢/٩١

اسیدیته (pH) و هدایت الکتریکی (EC) خاک محل رویش اندازه‌گیری شد (جدول ۲) (Mccleskey et al., 2012).

جدول ۲: اسیدیته (pH) و هدایت الکتریکی (EC) خاک مناطق اهر و ارومیه

محل جمع‌آوری	**اسیدیته خاک**	هدایت الکتریکی خاک (EC)	نوع خاک
اهر (آذربایجان شرقی)	٨/٣٤	٧/٥١ ms/cm	خاک شور- قلیایی
روستای قاسملوی ارومیه	٧/٦٣	٠/١٤٣ ms/cm	خاک غیرشور- قلیایی کم

اسانس‌گیری و آنالیز اسانس‌ها توسط دستگاه‌های GC و GC-MS: پس از خشک شدن نمونه‌ها، اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت ٤ ساعت انجام و اسانس حاصله به وسیله دستگاه‌های GC-MS (نوع HP مدل ٦٨٩٠ مجهز به ستون HP-5) و GC (نوع SHIMADZU مدل ٢٠١٠PLUS مجهز به ستون BP-5) آنالیز شد. اسانس استخراج شده برای شناسایی اجزاء آن به دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) وکروماتوگرافی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS) (شرایط کار بر اساس استفاده از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت ۲ میلی‌لیتر در دقیقه، پتانسیل یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، محدوده جرم u ٤٠ تا ٣٠٠ و برنامه‌ریزی دمایی ستون به صورت تغییر دمای ستون بین ٦٠ تا ٢٨٠ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه در دقیقه، دمای محفظه تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد) تزریق شد. در هر مورد پس از تزریق مقادیر کروماتوگرام حاصل و طیف‌های جرمی ترکیب‌های مختلف موجود در آن بررسی شدند. همچنین، شناسایی طیف‌ها به کمک بانک اطلاعات جرمی، زمان بازداری، شاخص‌های بازداری کواتس، مطالعه طیف‌های جرمی هر یک از اجزای اسانس و مقایسه با طیف‌های استاندارد صورت گرفت (ADAMS, 2017). به علاوه، با توجه به سطح زیر منحنی هر یک از پیک‌های کروماتوگرام GC-MS و مقایسه آن با سطح کل زیر منحنی، درصد نسبی هر یک از اجزای متشکله اسانس تعیین شد. برای رسم نمودارهای ستونی از نرم‌افزار EXCELL 2016 استفاده شد.

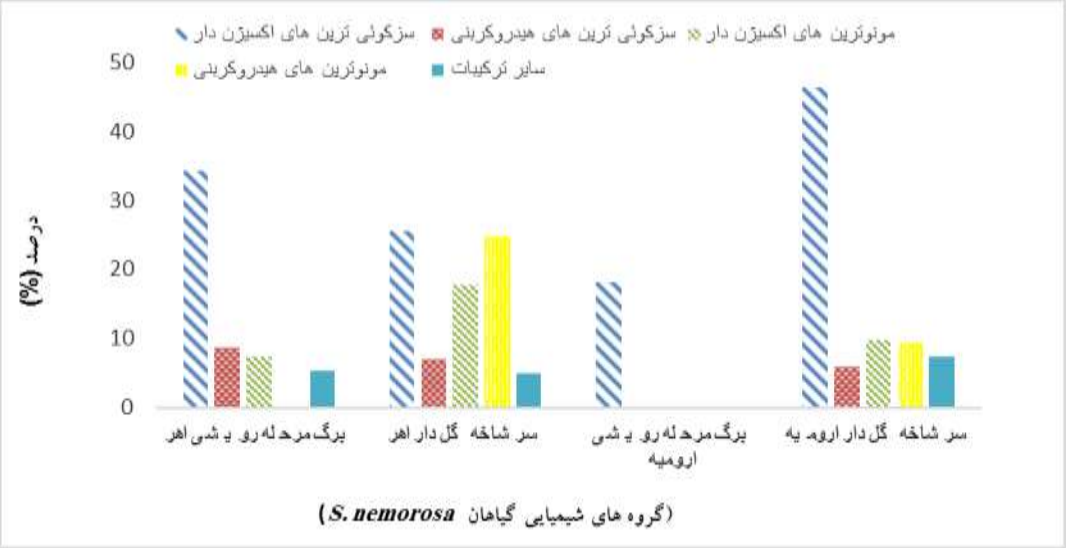
نتایج

مقایسه ترکیبات فرار شناسایی شده در اسانس سرشاخه‌های گل‌دار و برگ مرحله رویشی نشان داد که در هر دو منطقه درصد اسانس در سرشاخه‌های گل‌دار در مقایسه با درصد اسانس برگ مرحله رویشی بالاتر بود (شکل ۱). در مقایسه اجزای اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گیاهان مریم گلی جنگلی جمع‌آوری شده از مناطق اهر و ارومیه مشاهده شد که اسانس سرشاخه‌های گل‌دار در منطقه اهر با ۱۹ ترکیب شناسایی شده درصد ترکیبات فرار (۸۰/۲۰ درصد) بیش‌تری نسبت به اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گیاهان منطقه ارومیه با ۱٤ ترکیب شناسایی شده (۷۸/٥٦ درصد) داشت (جداول ۳ و ٤). در میان ترکیبات فرار شناسایی شده در اسانس سرشاخه‌های گیاهان مناطق اهر و ارومیه کریوفیلن اکساید و اسپاتولنول، به ترتیب، ترکیبات اصلی بودند. همچنین، ترکیباتی مانند پاراسیمن، ترپینن ٤-ال، ترانس- بتا کریوفیلن، سابینن و آلفا توجون جزء ترکیبات اصلی دیگر اسانس سرشاخه‌های گل‌دار در گیاهان منطقه اهر و ۱- اکتن-۳- ال، ترانس- بتا-کریوفیلن، ترپینن-٤-ال و پاراسیمن جزء ترکیبات اصلی دیگر اسانس سرشاخه‌های گل‌دار در گیاهان منطقه ارومیه بودند (جداول ۳ و ٤).

شکل ۱: مقایسه درصد اسانس در سرشاخه‌های گل‌دار و اندام برگ در مرحل رویشی *S. nemorosa* جمع‌آوری شده از دو منطقه اهر و ارومیه

در ترکیبات فرار اسانس برگ مرحله رویشی گیاه مریم گلی جنگلی جمع‌آوری شده از منطقه اهر ۱۰ ترکیب فرار شناسایی شد که در مجموع ٥٥/٥٤ درصد کل اسانس را شامل می‌شدند، در حالی که در اسانس برگ مرحله رویشی منطقه ارومیه فقط دو ترکیب فرار شناسایی شدند که ٢٤/٦٢ درصد کل اسانس را تشکیل می‌دادند. در میان ترکیبات فرار شناسایی شده در اسانس برگ‌های مرحله رویشی در هر دو منطقه اهر و ارومیه کریوفیلن اکساید بالاترین درصد را نشان داد. بالاترین درصد این ترکیب در اسانس برگ گیاهان مریم گلی منطقه اهر (۲۸/۳۷ درصد) و کم‌ترین آن در اسانس برگ گیاهان مریم گلی منطقه ارومیه (۱۸/۱۹ درصد) مشاهده شد. ترکیبات اصلی اسانس برگ رویشی گیاهان منطقه اهر ترانس- بتا- کریوفیلن و بتا-ایونن بودند (جداول ۳ و ٤).

با مقایسه گروه‌های شیمیایی موجود در اسانس سرشاخه گل‌دار و برگ رویشی گیاهان مناطق اهر و ارومیه مشاهده شد که سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار بالاترین درصد گروه‌های شیمیایی موجود در اسانس را دارا بودند (شکل ۲). بدین ترتیب که سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار ٤٦/٣١ درصد اسانس سرشاخه‌های گل‌دار را در گیاهان منطقه ارومیه و ۲۵/٦۰ درصد در گیاهان منطقه اهر تشکیل می‌دادند. همچنین، درصد سزکوئی‌ترپن‌های کسیژن‌دار با ۳٤/۳ درصد در اسانس برگ مرحله رویشی در گیاهان منطقه اهر بالاتر از مقدار آن با ۱۸/۱۹ درصد در اسانس برگ مرحله رویشی در گیاهان منطقه ارومیه بود. در منطقه ارومیه بعد از سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار مونوترپن‌های اکسیژن‌دار، مونوترپن‌های هیدروکربنی و سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنی، به ترتیب، با ۹/۸۱، ۹/۳۲ و ۵/۸۲ درصد در مقادیر پایین‌تر وجود داشتند (جداول ۳ و ٤). در گیاهان منطقه اهر مقدار سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار در اسانس برگ رویشی بیشتر از اسانس سرشاخه‌های گل‌دار بود، در حالی که مقادیر مونوترپن‌های هیدروکربنی و مونوترپن‌های اکسیژن‌دار در اسانس سرشاخه‌های گل‌دار به‌طور چشم‌گیری در مقایسه با مقادیر این ترکیبات در اسانس برگ رویشی بالاتر بود. در اسانس برگ مرحله رویشی در منطقه اهر مونوترپن‌های هیدروکربنی شناسایی نشدند در حالی که اسانس سرشاخه گل‌دار دارای مقادیر بالایی از مونوترپن‌های هیدروکربنی (۲٤/۹۱ درصد) بود. تفاوت بین سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنی در نمونه‌های آنالیز شده ناچیز بود (جداول ۳ و ٤ و شکل ۲).



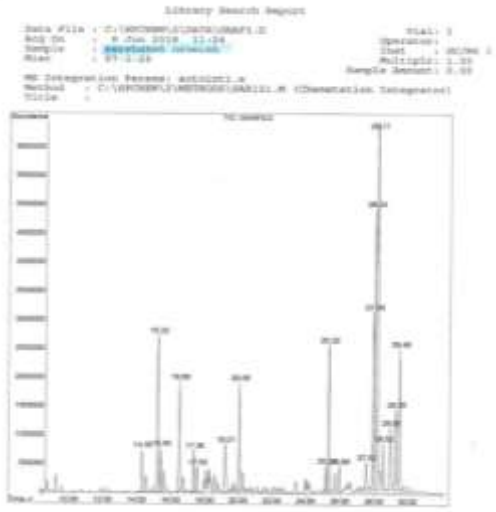
شکل ۲: مقایسه درصد گروه‌های شیمیایی در اسانس سرشاخه‌های گل‌دار و اندام برگ در مرحله رویشی *S. nemorosa* گیاهان اهر و ارومیه

جدول ۳: درصد اجزای اسانس شناسایی شده در سر شاخه گل‌دار و اندام برگ مرحله رویشی *S. nemorosa* گیاهان منطقه اهر

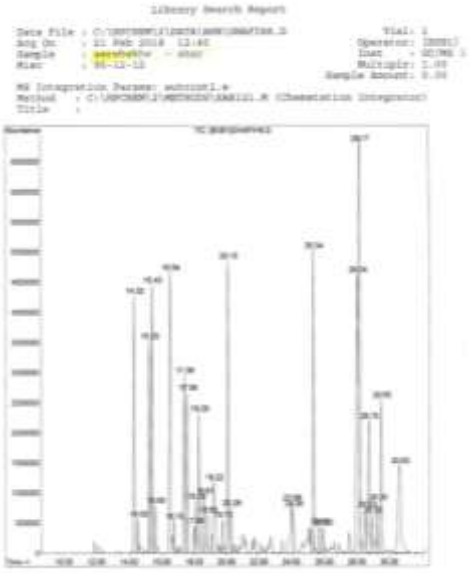
نام ترکیب	اسانس سرشاخه گل‌دار		اسانس برگ در مرحله رویشی	
	شاخص بازداری	درصد	شاخص بازداری	درصد
آلفا-توجون	۹۳۰/۱	۵/۰۲	–	–
آلفا-پینن	۹۳۹/۹	۰/۵۲	–	–
۱-اکتن-۳-ال	۹۶۷/۶	٤/٤۳	۹۶۵/۶	۱/۱۳
سابینن	۹۷۵/۳	۵/۶۶	–	–
بتا-پینن	۹۸۲/۷	۱/۰٤	–	–
پارا-سیمن	۱۰۲۰/۹	۸/۱۲	–	–
گاما-ترپینن	۱۰۵۶/۹	۳/۲۸	–	–
سیس-سابینن هیدرات	۱۰۶۵/٤	۳/۲۱	–	–
۶-متیل-۳ و ۵-هپتادی ان-۲ ان	۱۰۸۲/۸	۰/۵۲	–	–
آلفا-ترپینولن	۱۰۸۷	۱/۲۷	–	–
آلفا-توجون	–	–	۱۰۹۷/۲	۰/۸۶
بتا-توجون	۱۱۰۹/۶	۱/۱٤	–	–
کامفور	۱۱۳۶/۷	۲/۹۷	۱۱۳۷/۱	۳/۵۰
ترپینن-٤-ال	۱۱۷۶/۸	۷/۳۱	۱۱۷٤	۱/۱٤
اسید هگزادکانوئیک	–	–	۱۳۵۷	٤/۱۸
سیس-کریوفیلن	–	–	۱٤۱۷/۹	۱/٤۶
ژرانیل استون	–	–	۱٤۳٤	۱/۸۲
ترانس-بتا-کریوفیلن	۱٤۳۵/۳	۵/۹۳	۱٤۳٤/۲	۷/۱۵
الو-آرومادندرن	۱٤۵۳/۸	۰/۵۹	–	–
بتا-ایونن	–	–	۱٤۶۹/۶	۵/۹۳
الفا هومولن	۱٤۶۷/٤	۰/۵۲	–	–
اسپاتولنول	۱۵۸۸/٤	۹/۳٤	–	–
کریوفیلن اکساید	۱۵۹۶/۶	۱۲/۷۹	۱۵۹۳	۲۸/۳۷
کریوفیلنول	۱۶۲۵/۷	۳/٤۷	–	–
سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار		۲۵/۶		۳٤/۳
سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنی		۷/۰٤		۸/۶۱
مونوترپن‌های اکسیژن‌دار		۱۷/۷		۷/۳۲
مونوترپن‌های هیدروکربنی		۲٤/۹۱		–
ترکیبات دیگر		٤/۹۵		۵/۳۱
کل ترکیبات شناسایی شده		۸۰/۲۰		۵۵/۵٤

جدول ٤: درصد اجزای اسانس شناسایی شده در سر شاخه گل‌دار و اندام برگ در مرحله رویشی *S. nemorosa* گیاهان منطقه ارومیه

نام ترکیب	اسانس سرشاخه گل‌دار		اسانس برگ در مرحله رویشی	
	شاخص بازداری	درصد	شاخص بازداری	درصد
توجون	۹۲۹/۳	۱/۵۸	–	–
۱-اکتن-۳-ال	۹٦٦/۸	۷/۳۰	۹٦٥/۲	٦/٤۳
سابینن	۹۷٤/۱	۱/٦۳	–	–
پارا-سیمن	۱۰۱۹/۲	٤/٤۸	–	–
گاما-ترپینن	۱۰٥٦/۱	۱/٦۳	–	–
سیس-سابینن هیدرات	۱۰٦۳/٥	۱/۰۱	–	–
کامفور	۱۱۳٦/۷	۳/۳۱	–	–
ترپینن-٤-ال	۱۱۷٥	٤/٥۷	–	–
نریل استون	۱٤۲٥/٥	۰/۹۲	–	–
ترانس-بتا-کریوفیلن	۱٤۳٤/۲	٥/۸۲	–	–
بتا-ایونن	۱٤٦۷/۹	۱/٥۹	–	–
اسپاتولنول	۱٥۸۸/٤	۱٤/۸٤	–	–
کریوفیلن اکساید	۱٥۹٥/٤	۲٦/٤۱	۱٥۹۰/۷	۱۸/۱۹
کریوفیلا-٤(۱۲) و ۸(۱۳)-دی ان-٥-بتا-ال	۱٦۳۰/۰۱	۳/٤۷	–	–
سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار		٤٦/۳۱		۱۸/۱۹
سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنی		٥/۸۲		–
مونوترپن‌های اکسیژن‌دار		۹/۸۱		–
مونوترپن‌های هیدروکربنی		۹/۳۲		–
ترکیبات دیگر		۷/۳۰		٦/٤۳
کل ترکیبات شناسایی شده		۷۸/٥٦		۲٤/٦۲



شکل ۳: کروماتوگرام GC/MS اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گیاهان مریم گلی (*Salvia nemorosa*) منطقه ارومیه



شکل ٤: کروماتوگرام GC/MS اسانس سرشاخه‌های گل‌دار گیاهان مریم گلی (*Salvia nemorosa*) منطقه اهر

بحث

نتایج به دست آمده از آنالیز اسانس گیاه *S. nemorosa* در دو مرحله فنولوژیکی رویشی و گل‌دهی کامل در بخش‌های هوایی گیاه شامل برگ مرحله رویشی و سرشاخه گل‌دار گیاهان جمع‌آوری شده از دو منطقه نشان داد که در هر منطقه اسانس موجود در سرشاخه گل‌دار در مقایسه با اسانس برگ مرحله رویشی بالاترین درصد و اجزاء اسانس را دارا بود. بالاترین درصد اسانس در سرشاخه‌های گل‌دار و برگ‌های مرحله رویشی در منطقه اهر وجود داشت. این نتایج نشان می‌دهند که درصد اسانس و اجزای تشکیل دهنده آن تحت تاثیر شرایط محیطی تغییر می‌کند. چون در شرایط طبیعی، گیاهان هم زمان در معرض چندین عامل محیطی متغیر هستند. تغییرات آب و هوایی فصلی سبب انواعی از عوامل تنشی مرکب می‌شود و بنابراین پاسخ گیاهان همیشه قابل پیش‌بینی نیست و بسیار پیچیده می‌باشد. تاثیر عوامل تنشی چند گانه که معمولا توسط گیاهان تجربه می‌شود، اغلب برهم‌کنشی است که به این معنی است که اثر ترکیبی تنش‌های مختلف متنوع‌تر است. هنگامی که دو یا بیش از دو عامل هم زمان رخ می‌دهند، اثرات آن‌ها گاهی افزایشی است، در حالی که در سایر موارد یک عامل برتری دارد. بالا بودن میزان اسانس در سرشاخه گل‌دار منطقه اهر و در برگ‌های مرحله رویشی این منطقه می‌تواند به دلیل شوری بالاتر خاک این منطقه باشد. تنش شوری ممکن است انباشتگی روغن‌های فرار را به صورت غیرمستقیم به واسطه اثراتش روی آسیمیلاسیون خالص یا تخصیص آسیمیلات‌ها بین فرآیندهای رشد و تمایزیابی تحت تاثیر قرار دهد. افزایش مقدار اسانس در گیاهان تحت تنش شوری ممکن است به دلیل کاهش تولید متابولیت‌های اولیه در این شرایط باشد که باعث فراهمی مواد حد واسط برای بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، از جمله اسانس‌ها، می‌شود. اثر شوری در این مورد ممکن است به دلیل تاثیر آن‌ها روی متابولیسم و فعالیت آنزیم‌های دخیل روی بیوسنتز این مواد باشد (Odjeba and Alokolaro., 2013).

بالاتر بودن درصد اسانس در سرشاخه‌های گل‌دار و برگ‌های مرحله رویشی گیاهان اهر می‌تواند به دلیل شورتر بودن خاک این مناطق باشد. هنگامی که گیاهان تحت تنش، مانند تنش شوری، باشند ممکن است تولید متابولیت‌های ثانویه افزایش یابد زیرا رشد اغلب بیش

از فتوسنتز بازداشته می‌شود و بنابراین کربن تثبیت شده در طی فتوسنتز عمدتا به متابولیت‌های ثانویه اختصاص داده می‌شود (Akula et al., 2015). بالا بودن دما در فصل گل‌دهی در منطقه اهر نسبت به منطقه ارومیه ممکن است دلیل بالا بودن درصد اسانس در گیاهان این منطقه باشد که می‌توان آن را عامل تبخیر بیش‌تر آب و در نتیجه خشکی خاک این مناطق دانست. بالا بودن درصد اسانس در مرحله گل‌دهی در گیاهان هر دو منطقه ممکن است به این علت باشد که گیاهان در این مرحله مقادیر قابل توجهی از روغن‌های فرار را برای جذب گرده افشان‌ها تولید می‌کنند. پایین بودن بیوسنتز این ترکیبات در طی مرحله رویشی ممکن است به دلیل غیرفعال‌سازی نسبی آنزیم‌های ضروری برای بیوسنتز بعضی مواد، از جمله روغن‌های فرار، باشد. زمان برداشت باید به دقت تعیین شود تا بالاترین میزان تولید اسانس تضمین گردد. در مورد گیاه مریم گلی مرحله گل‌دهی برای برداشت نمونه‌ها می‌تواند مطلوب باشد. فصل برداشت و تفاوت‌های مربوط به اندام گیاهی باعث تفاوت در ترکیب اسانس می‌گردد. این تفاوت‌ها هم به دلیل تاثیر عوامل زیستی و هم به دلیل عوامل غیرزیستی می‌باشد که رشد و بیوسنتز گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهند. برای مثال، تفاوت در اجزای اسانس به دلیل حاصل خیزی خاک، شدت نور، سن و نوع اندام، فصل و مکان کشت گزارش شده است (Verma et al., 2015).

همچنین، بالا بودن میزان اسانس در مرحله گل‌دهی می‌تواند به دلیل بالا بودن دما در این مرحله نسبت به مرحله رویشی باشد. تنش دمایی در گیاهان ممکن است منجر به تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، مولکولی و متابولیسمی شود. بسیاری از این تغییرات می‌توانند مقدار متابولیت‌های ثانویه را در بافت‌های گیاهی تغییر دهند. افزایش تصاعدی انواعی از ترکیبات فرار با افزایش خطی دما در گستره‌ای از گیاهان دیده شده است. مطالعات روی گیاه گل اطلسی هیبرید نشان داد که تولید و آزادسازی سزکوئی‌ترپن کل، با افزایش دما به طور چشم‌گیری افزایش یافت و تولید و آزادسازی مونوترپن و سزکوئی‌ترپن در دمای بالاتر به اوج خود رسید (Yang et al., 2018).

نتایج این تحقیق نشان دادند بالاترین درصد اسانس در سرشاخه‌های گل‌دار و برگ‌های مرحله رویشی در منطقه اهر که بارش سالانه کم‌تری نسبت به محل برداشت گیاهان در ارومیه دارد و نسبت به آن خشک‌تر است، وجود داشت. مشابه با نتایج این تحقیق، مشاهده شده است که گیاهان معطر غنی از اسانس در مناطق خشک و نیمه خشک نسبت به مناطق مرطوب خیلی فراوان‌تر هستند و مقدار اسانس در گیاهانی مانند افسنطین، بابونه، اسطوخودوس و اکالیپتوس در شرایط خشکی و کم آبی افزایش می‌یابد، احتمال می‌رود که اسانس‌ها در سازوکار مقاومت به خشکی از راه کاهش تعرق مؤثر باشند. ترکیب اسانس و کیفیت آن نیز در اثر کم آبی تغییر می‌کند. گزارش شده است که در گیاه مریم‌گلی (*S. officinalis*) در ۷۰ درصد تامین آبیاری بهینه مقادیر مونوترپن‌ها تقریباً ۳۳ درصد بالاتر از گیاهان کشت شده در شرایط به خوبی آبیاری شده بود (Nowak et al., 2010). همچنین گزارش شده است که سطوح فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) پس از قرار گرفتن دانه رست‌های ذرت و گیاهان کلزای دانه روغنی در معرض دماهای پایین، افزایش می‌یابد که منجر به افزایش مربوطه در مقدار متابولیت‌های ثانویه آن‌ها می‌شود (Ncube et al., 2012).

Cardence-Ortega و همکاران (۲۰۱۵) با آنالیز روغن‌های فرار گیاه *S. ballotiflora* مشاهده کردند که ترکیبات اصلی اسانس کریوفیلن اکساید (۱۵/۹۷ درصد) و بتا-کریوفیلن (۱۲/۷٤ درصد) بودند. در مطالعات انجام شده روی روغن‌های فرار سایر

گونه‌های سالویا دیده شد که اجزای اصلی مشابه بودند، برای مثال *S. verticillata* دارای ۱۶/۰۳ درصد بتا–کریوفیلن و ۱۵/۲۴ درصد کریوفیلن اکساید بود (Coisin et al., 2012). در *Salvia hydrangea* بتا–کریوفیلن ۲۵/۱ درصد و کریوفیلن اکساید ۱۱/۵ درصد وجود داشت (Sonboli, 2006). در مطالعه دیگر در مورد روغن‌های فرار *S. verticillata*، *S. sclarea*، *S. chloroleuca* و *S. multicaulis* بتا–کریوفیلن ترکیب اصلی بود (Paknejadi et al., 2012). روغن‌های فرار *S. nemorosa* و *S. aethiopi* نیز دارای غلظت‌های بالای بتا–کریوفیلن بودند (Coisin et al., 2012). در گیاه *S. verbenaca* کریوفیلن اکساید با ۷/۲۸ درصد جز اصلی اسانس گزارش شد (Taarit et al., 2014). در مطالعه انجام شده روی روغن فرار سه گونه سالویا دیده شد که ترکیبات اصلی روغن فرار سرشاخه‌های گل‌دار *S. nemorosa* کشت شده، به ترتیب، ای–کریوفیلن و کریوفیلن اکساید بودند (Farajzadeh et al., 2019).

در مطالعه روی ترکیبات شیمیایی اسانس بخش‌های هوایی گیاه *S. hypoleuca* در مراحل مختلف رشد، رویشی، گل‌دهی و میوه‌دهی، مشاهده شد که ترکیبات اصلی روغن فرار بخش‌های هوایی گیاه کریوفیلن اکساید و E–کریوفیلن به همراه بی‌سیکلوجرماکرن و جرماکرن D و فراوان‌ترین گروه شیمیایی ترکیبات اسانس در مرحله رویشی و گل‌دهی در این گیاه سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنی و دومین گروه فراوان سزکوئی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار بودند (Kiani-Dehkian et al., 2016).

در مطالعه روی بعضی گونه‌های وحشی *S. nemorosa* و *S. glutinosa* رشد یافته در صربستان مشاهده شد که در اسانس گل *S. nemorosa* اجزای اصلی روغن فرار، به ترتیب، کریوفیلن اکساید (۱۳/۴ درصد)، بتا–کریوفیلن (۱۰/۱ درصد)، جرماکرن D (۵/۷ درصد) و سابینن (۴/۷ درصد) و در اسانس گل *S. glutinosa* کریوفیلن اکساید (۲۶/۵ درصد)، هومولن پراکساید (۹/۶ درصد) و اسپاتولنول (۳/۵ درصد) ترکیبات اصلی بودند. به علاوه، در روغن‌های بررسی شده این گیاهان دسته اصلی ترکیبات سزکوئی‌ترپن‌ها بودند (Chalchat et al., 2004). Kashefi و Hassani Shariyatpanahi (۲۰۱۹) در مطالعات انجام شده روی سازگاری رشد و پتانسیل دارویی چهار گونه سالویا در شرایط اقلیمی سمنان – ایران و Ghafiyehsanj و همکاران (۲۰۲۰) با مطالعه اجزای اسانس مریم گلی جنگلی (*Salvia nemorosa* L.) در شمال غرب ایران مشاهده کردند که اجزای فعال این گیاهان در مراحل فنولوژیکی مختلف در گونه‌های مختلف متفاوت بودند. کریوفیلن و کریوفیلن اکساید اجزای اصلی در تقریبا همه نمونه‌ها و مراحل بودند. در گونه *S. nemorosa* در مرحله دانه‌رست کریوفیلن (۴۳/۹۱ درصد)، کریوفیلن اکساید (۱۹/۶۵ درصد) و فارنزن (۱۲/۱۳ درصد) و در میانه فصل رشد کریوفیلن اکساید (۳۷/۸۹ درصد)، ترانس–کریوفیلن (۱۱/۹۳ درصد) و ترانس– بتا– فارنزن (۱۱/۴۹ درصد) و در پایان فصل رشد کریوفیلن (۳۰/۱۳ درصد)، ترانس–کریوفیلن (۲۸/۹۴ درصد) و آلفا–کادینن (۵/۶۹ درصد) فراوان‌ترین اجزای اسانس بودند. در مرحله دانه‌رست در *S. sclarea* اجزاء اصلی اسانس کریوفیلن (۶۲/۶۵ درصد)، کریوفیلن اکساید (۲۸/۷۴ درصد) و در *S. officinalis* کریوفیلن اکساید (۴۱/۰۲ درصد) بود. در این گیاهان پیش و پس از گل‌دهی نیز کریوفیلن و کریوفیلن اکساید در درصدهای بالاتری نسبت به سایر ترکیبات اسانس وجود داشتند. در حالی که، در انتهای فصل رشد علی‌رغم بالا بودن مقدار کریوفیلن اکساید، کریوفیلن در این مرحله به مقدار ناچیز وجود داشت. کریوفیلن سه ایزومر آلفا، بتا و گاما دارد که در تعدادی از گیاهان معطر مانند سالویا، میخک و دارچین یافت

می‌شود (Hooshidari et al., 2015).

نتیجه‌گیری نهایی

این تحقیق نشان داد که عوامل اقلیمی، ویژگی‌های جغرافیایی، ویژگی‌های خاک، مراحل فنولوژیکی گیاهان و نوع زیستگاه در درصد و اجزاء اسانس در گیاهان جمع‌آوری شده از دو منطقه تاثیرگذار بودند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که بهترین زمان برداشت گیاهان از نظر درصد و اجزاء اسانس در مناطق اهر و ارومیه فصل گل‌دهی (اواخر خرداد ماه) می‌باشد. اسانس‌ها هم از نظر مقدار و هم از نظر ترکیبات سازنده تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی و درونی هستند. این عوامل علاوه بر این که از نظر مقدار تولید اسانس دارای اهمیت هستند بلکه از جنبه‌های مختلف دیگر، مانند تغییراتی که در نوع اسانس و مقدار برخی از اجزای آن به وجود می‌آورند، نیز اهمیت دارند. تغییرات ژنتیکی را که افراد یک گونه در نقاط مختلف جغرافیایی پیدا کرده‌اند اکوتیپ (تیپ اکولوژیکی) می‌گویند. به عبارت دیگر، اکوتیپ انشعاب ژن‌شناختی از یک جمعیت است که با زیستگاهی ویژه سازگار شده‌اند. با توجه به تفاوت‌های اقلیمی و خاک دو زیستگاهی که گیاهان مریم گلی جنگلی از آن‌ها جمع‌آوری شده بودند، این تفاوت‌ها موجب ایجاد اکوتیپ‌های مختلف از این گیاهان در این مناطق شده و تفاوت‌های دیده شده در این تحقیق از نظر درصد و اجزای اسانس و سایر تفاوت‌ها، می‌تواند ناشی از این تغییرات ژنتیکی نیز باشد.

سپاسگزاری

سپاس و قدردانی از مسئولین آزمایشگاه‌های واحد علوم و تحقیقات تهران و واحد مرند و کلیه اساتید و دوستانی که در انجام این تحقیق ما را یاری کردند.

References

Adams, R.P. (2017). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Allured Publishing Corporation. Carol Stream, IL.

Akula, R. and Gokare Aswathanarayana, R. (2015). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signaling and Behavior. 6: (11): 1720-1731.

Bahadori, M.B., Asghari, B., Dinparast, L., Zengin, G., Sarikurkcu, C., Abbas- Mohammadi, M. and Bahadori, S. (2017). *Salvia nemorosa* L. A novel source of bioactive agents with functional connections. Food Science and Technology. 75: 42-50.

Božin, B., Lakic, N., Srdenovic Conic, B., Kladar, N. and Mimica-Dukic, N. (2012). Antioxidant and antimicrobial properties of a new chemotype of woodland sage (*Salvia nemorosa* L. subsp. nemorosa, Lamiacea) essential oil. Biologia Serbica. 34 (1-2): 51-60.

Capek, P. and Hribalova, V. (2004). Water-soluble polysaccharides from *Salvia officinalis* L. possessing immunomodulatory activity. Phytochemistry. 65(13): 1983–1992.

Cárdenas-Ortega, N.C., González-Chávez, MM., Figueroa-Brito, R., Flores-Macías, A., Romo-Asunción, D., Elizabeth Martínez-González, D., Pérez-Moreno, V. and Ramos-López, MA. (2015). Composition of the essential oil of *Salvia ballotiflora* (Lamiaceae) and its insecticidal activity. Journal Molecules. 20: 8048-8059.

Chalchat, J.C., Ptrovic. S.D., Maksimovic, Z.A. and Gorunovic, M.S. (2004). Composition of essential oils of some wild *salvia* species growing in Serbia. Journal of Essential Oil Research. 16(5): 476-478.

Coisin, M., Burzo, I., Stefan, M., Rosenhech, E. and Zamfirache, M.M. (2012). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of three *Salvia* species, widespread in Eastern Romania. Biologie Vegetala. 58(1): 51-58.

Cuvelier, M-E., Richard, H. and Berset, C. (1996). Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. Journal of the American Oil Chemists' Society. 73(5): 645-652.

Farajzadeh, F., Asadi-Gharneh, H.A. and Sabaghnia, N. (2019). Assessment of Qualitative and Quantitative Composition of Essential Oil of Three *Salvia* Species. Research on Crop Physiology. 14(1): 1-8.

Ghafiyehsanj, E., Dilmaghani, K.A., Chaparzadeh, N. and Saadatmand, S. (2020). Study on essential oil compositions of sage (*Salvia nemorosa* L.) at different growth stages collected from the North West of Iran. Periodico Tche Quimica. 7 (35): 934-947.

Hooshidari, F., Sephidkon, F., Naderi, M., and Tooghi, G.A. (2015). Extraction and determination of essence components of *Satureja avromanica* Maroofi plant species from Kordestan. Journal of Plant Environmental Physiology. 37: 53-61.

Jamzadeh, Z. (2012). Flora of Iran, Lamiacea Family. No.76. ed. Asadi, M., Mozaffarian, V-A., Masoumi, A.A. and Babakhanlou, P. Research Institute of Forests and Rangelands.

Kashefi, B. and Hassani Shariyatpanahi, S.F. (2019). Growth compatibility and medicinal potential of four *Salvia* species in Semnan climatic conditions. Journal of Chemical Health Risks. 9(4): 283-292.

Kiani-Dehkian, H., Barzin, G. and Mazooji, A. (2016). Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from *Salvia hypoleuca* at different growth stages. Nusantara Bioscience. 8 (2): 145-149.

Mccleskey, R.B., Nordstrom, D.K., Ryan, J.N. and Ball, J.W. (2012). A new method of calculating electrical conductivity with applications to natural waters. Geochimica et Cosmochimica Acta. 77: 369-382.

Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed, M. and Ghorbani, A. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran: From ethnobotany to pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2(2): 63-79.

Ncube, B., Finnie, JF. and Van Staden, J. (2012). Quality from the field: The impact of environmental factors as quality determinants in medicinal plants. South African Journal of Botany. 82: 11-20.

Nowak, M., Kleinwaechter, M., Manderscheid, R., Weigel, H.-J. and Selmar, D. (2010). Drought stress increases the accumulation of monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*), an effect that is compensated by elevated carbon dioxide concentration. Journal of Applied Botany and Food Quality. 83(2): 133-136.

Odjegba, V. J. and Alokolaro, A.A. (2013). Simulated drought and salinity modulates the production of phytochemicals in *Acalypha wilkesiana*. Journal of Plant Studies. 2 (2): 105-112.

Paknejad, M., Foroohi, F. and Yousefzadi, M. (2012). Antimicrobial activities of the essential oils of five *Salvia* species from Tehran province, Iran. Journal of Paramedical Sciences. 3(2): 12-18.

Rashid, R. Mukhtar, F. and Mohammad Niaz, M. (2009). Biological screening of *Salvia cabulica*. Pakistan Journal of Botany. 41(3): 1453-1469.

Sonboli, A., Babakhani, B. and Mehrabian, A.R. (2006). Antimicrobial activities of six constituents of essential oil from *Salvia*. Zeitschrift fur Naturforschung C. 61(3-4): 160-164.

Taarit, M. B., Msaada, K., Hosni, K. and Marzouk, B. (2014). GC analyses of *Salvia* seeds as valuable essential oil source. Advances in Chemistry. 2014(1): 1-6.

Verma, R.S., Padalia, R.C. and Chauhan, A. (2015). Harvesting season and plant part dependent variations in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. grown in northern India. Journal of Herbal Medicine. 5: 165-171.

Walker, J.B. and Sytsma, K.J. (2007). Staminal evolution in the genus *salvia* (Lamiaceae): molecular phylogenetic evidence for multiple origins of the staminal lever. Annals of Botany. 100(2): 375-391.

Yadav, A., Joshi, A., Kothari, SL., Kachhwaha, S., and Purohit, S. (2017). Medicinal, nutritional and industrial applications of *salvia* species. International Journal of Pharmaceutical Sciences. 43(2):27-37.

Yang, L., Wen, K-S., Ruan, X., Zhao, Y-X., Wei, F. and Wang, Q. (2018). Response of plant metabolites to environmental factors. Molecules. 23(4): 762-773.

Zhang, K.Q., Bao, Y., Wu, P., Rosen, R.T. and Ho, C. T. (1990). Antioxidative components of tanshen *(Salvia miltiorrhiza* Bung). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 38(5): 1194– 1197.