دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
سال سیزدهم، شماره چهل و چهارم، ۱۴۰۰

اثر هیومیک‌اسید بر خصوصیات رشدی و تغییرات مواد مؤثره گیاه دارویی مریم‌گلی ایرانی (*Salvia mirzayanii* L.)

مریم بهادر[۱]، عبدالحسین ابوطالبی جهرمی[۲]، بهنام بهروزنام[۳]، وحید روشن[٤]

دریافت: ۹۹/۸/۲۰ پذیرش: ۹۹/۱۱/۲۰

چکیده

مریم‌گلی ایرانی (*Salvia mirzayanii* L.) گیاهی دارویی متعلق خانواده نعناعیان از گذشته‌های دور به علت داشتن خواص دارویی فراوان و همچنین متابولیت‌های مختلف شامل ترپنوئیدها، انواع ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، اسیدهای چرب و استرول‌ها مورد توجه بوده و در صنایع دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی کاربردهای فراوانی دارد. به‌منظور بررسی اثرهیومیک‌اسید بر خصوصیات رشدی و تغییرات مواد مؤثره گیاه دارویی مریم‌گلی ایرانی، این آزمایش مزرعه‌ای با سه تکرار در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس انجام شد. براساس نتایج بیشترین میزان وزن‌تر (۱/۹٦ گرم)، وزن خشک برگ(۰/۵ گرم) و تعداد گل‌آذین(۳۵ عدد) و وزن گل‌آذین (۱/۸ گرم) در اثر استفاده از ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر هیومیک‌اسید به دست آمد. مقدار و نوع ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس با دستگاه GC و MS/GC تعیین و درمجموع ٦۲ ترکیب از اسانس مریم‌گلی ایرانی جدا شد. مهم‌ترین ترکیبات کل موجود در اسانس مریم‌گلی ایرانی، ۵-نئو سدرانول (۲۰/۱۱ درصد)، لینالیل استات (۱٦/۵۲)، آلفاترپینیل استات (۱٤/۲۸ درصد)، لینالول (۵/۲۲) و بی‌سیکلوگرماکرون (٤/٦۸ درصد) بود. با افزایش غلظت هیومیک‌اسید درصد ۵-نئو سدرانول، آلفاترپینیل استات، بی سیکلوگرماکرن و لینالیل استات به ترتیب برابر ۳۷/۵، ۲۲/۳۲،۷/۵ و ۲۰/۵۹ درصد نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار یافت. مجموع ترکیبات فنلی موجود در عصاره گیاه در اثر استفاده از ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر هیومیک‌اسید به‌طور معنی‌دار و به میزان ۷۲/۸ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. در این تیمار بیشترین ترکیب فنلی موجود در عصاره مریم‌گلی ایرانی، رزمارینیک اسید به میزان ٤۲۱/٦٤ میلی‌گرم‌درلیتر بود. استفاده از هیومیک‌اسید باعث افزایش معنی‌دار میزان آنتی‌اکسیدان در عصاره گیاه شد.

واه‌های کلیدی: گیاهان داروئی، هیومیک‌اسید، ترکیبات فنلی، آنتی‌اکسیدان

بهادر، م.، ع. ابوطالبی جهرمی، ب. بهروزنام و و. روشن. ۱٤۰۰. اثر هیومیک‌اسید بر خصوصیات رشدی و تغییرات مواد مؤثره گیاه دارویی مریم‌گلی ایرانی (*Salvia mirzayanii* L.). مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ٤٤: ۱۱۱۵-۱۰۲.

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه شآزاد اسلامی، جهرم، ایران

۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران- مسئول مکاتبات. aa84607@gmail.com

۳- ستادیار گروه علوم باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

٤- استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران

مقدمه

خانواده نعناعیان یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های گیاهی است که تقریباً در تمام نقاط جهان به‌خصوص در نواحی مدیترانه‌ای می‌رویند (سانچز و همکاران، ۲۰۱۶) و دارای حدود ۲۳۶ جنس و ۶۹۰۰ تا ۷۲۰۰ گونه از بوته‌های معطر و درختچه‌های کوتاه می‌باشد (راماسبرامانیا،۲۰۱۰). جنس مریم‌گلی (*Salvia*) بزرگ‌ترین جنس خانواده نعناعیان است و نزدیک به ۱۰۰۰ گونه دارد که بیشتر در آمریکای مرکزی و جنوبی، غرب و شرق آسیا پراکنش، دارد (مک کی و بلومبرگ،۲۰۰۶). گونه‌های زیادی از این جنس در ایران رویش، دارند که از میان آن‌ها ۱۷ گونه بومی هستند (جمزاد،۱۳۹۱). از گذشته‌های دور، مریم‌گلی به علت داشتن خواص دارویی فراوان مورد توجه بوده است. مریم‌گلی حاوی ترپنوئیدها، انواع ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، اسیدهای چرب و استرول‌ها است که در صنایع دارویی، غذایی، بهداشتی و آرایشی کاربردهای فراوانی دارند. محمدیان و همکـــاران (۱۳۹۲) در تحقیقی روی ترکیب‌های فیتوشیمیایی گیـاه مریم‌گلی سـهندی (*S. sahndica*) گزارش کردند کـه میزان فنل، فلاونئید کل و همچنـــین میـــزان فعالیـــت آنتی‌اکسیدانی در مراحل مختلف رشد به طور معنی‌داری متغیـــر بـــوده اســـت. با توجه به ملاحظات زیست‌محیطی، اخیراً استفاده از انواع اسیدهای آلی برای بهبود کمی و کیفی محصولات زراعی و باغی رواج فراوان یافته است. هیومیک‌اسید از منابع مختلف نظیر خاک، هوموس، پیت لیگنیت اکسیدشده، زغال‌سنگ و غیره استخراج می‌شود (سایتو و سکلر،۲۰۱٤). در ارتباط با اثرات مفید ترکیبات هیومیکی به افزایش رشد گیاهان گزارش‌شده است که غلظت‌های کم هیومیک‌اسید رشد گیاه را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (نیکبخت و همکاران،۱۳۸٦). نتایج متفاوتی از تأثیر هیومیک‌اسید بر اسانس گیاهان دارویی گزارش شده است. در بررسی عملکـرد اسـانس و ارتفـاع گیـاه آویشـن بـاغی (*Thymus vulgaris*)، هیومیک‌اسید سـبب کـاهش این دو شاخص شد اما به‌طور معنی‌داری وزن‌تر و خشـک گیـاه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن را افزایش داد (کاسیلیا و همکاران،۲۰۱۱). بررسی‌ها نشان داد که هیومیک‌اسید میزان اسانس، شاخص‌های رشـد و بیومـاس گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis*) را افزایش می‌دهد (خزایی و همکاران، ۲۰۱۱). افزایش غلظت محلول‌پاشی هیومیک‌اسید همچنین باعث افزایش شاخص‌های رویشی و عملکرد اسانس گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) شد (عزیزی و صفایی،۱۳۹٤). با توجه به بروز چالش‌های زیست‌محیطی مانند آلودگی منابع آب، افت کیفیت محصولات کشاورزی، کاهش تنوع زیستی، ایجاد مقاومت در برابر آفات و کاهش حاصلخیزی خاک، تغییر در نظام‌های زراعی متداول را ضروری و حرکت به‌سوی نظام‌های کشاورزی پایدار را توجیه می‌کند (شارما،۲۰۰۲). با توجه به اهمیت توسعه کشاورزی پایدار و کاربرد فرآورده‌های گیاهان دارویی به‌عنوان داروهای طبیعی بدون استفاده از کودهای شیمیائی، این تحقیق باهدف بررسی تأثیر کاربرد محلول‌پاشی هیومیک‌اسید بر ویژگی‌های رشدی و میزان اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی ایرانی در شرایط مزرعه انجام شد.

مواد و روش‌ها

محل و نحوه اجرای آزمایش

این تحقیق در سال ۱۳۹۸ در مزرعه ایستگاه بعثت شیراز وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس با ارتفاع ۱٤۸٦ متر از سطح دریا، میانگین بارش ۳۳۷ میلی‌متر و متوسط دمای ۱۸ درجه سانتیگراد اجرا شد. آزمایش به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی شامل ٤ سطح محلول‌پاشی هیومیک‌اسید (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر) از ترکیب تجاری اگری‌هیومیک (Agrihumic) مایع حاوی۱٤ درصد هیومیک‌اسید ساخت شرکت اگری‌تکنو اسپانیا در سه تکرار انجام شد. قبل از کاشت و به‌منظور تهیه نشاء، در اسفندماه بذر گیاه مریم‌گلی ایرانی (*Salvia mirzaianii* L.) درون گلدان‌های اژدری کشت شد و مراقبت‌های لازم تا زمان انتقال صورت گرفت. هم‌زمان با این کار، نمونه‌برداری از خاک جهت تعیین خصوصیات فیزیکی وشیمیائی آن (جدول ۱) و سپس عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم زدن و کرت بندی انجام شد. پس از پنج برگی شدن، نشاها در اول اردیبهشت‌ماه به زمین اصلی منتقل و روی ردیف‌هایی به فاصله ۵۰ سانتی‌متر، در فاصله ۳۰ سانتی‌متر از هم کشت شدند. تیمارها به‌صورت محلول‌پاشی پس از استقرار گیاه در دو نوبت و به فاصله دو هفته انجام شد. گیاهان تا زمان گل‌دهی کامل نگه‌داری شده و در پایان پس از برداشت نسبت به اندازه‌گیری وزن‌تر و خشک گیاه، تعداد و وزن گل‌آذین گل و درصد ماده خشک برگ اقدام گردید.

جدول ۱- نتایج تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه آزمایشی قبل از اجرای آزمایش

رس	سیلت	شن	مس	منگنز	روی	آهن	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	کربن آلی	پی‌اچ	هدایت الکتریکی
درصد			قسمت در میلیون						درصد			$dS.m^{-1}$
۲۸/۳	٤۰/۱	۳۱/٦	۱/۵۲	۱۹/۸	۱/۵۵	۷/٦	٤٤۹	۱۵/٤	۰/۰۷	۰/٦۸	۷/۵۲	۷/٦

اسانس‌گیری، استخراج و اندازه‌گیری میزان اسانس

بلافاصله پس از برداشت وزن‌تر گیاه با ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری و بوته‌هایی از هر کرت برای محاسبه وزن خشک جدا گردید که پس از قرار گرفتن در آون در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و رسیدن به وزن ثابت، توزین و وزن خشک آن‌ها محاسبه شد (یزدانی و همکاران،۱۳۸٤). اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر انجام گرفت. اسانس حاصل تا زمان استفاده، پس از آبگیری درون ظرف درب‌دار رنگی و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. تعیین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس با استفاده از گاز کروماتوگرافی (گازکروماتوگراف Agilent Technologies و مدل ۷۸۹۰A، ساخت آمریکا، ستون HP-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی‌متر ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، برنامه‌ریزی دمایی ستون از ٦۰ تا ۲۱۰ با افزایش دمای سه درجه سانتی‌گراد در دقیقه، نوع آشکارساز: FID با دمای ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل، نیتروژن با سرعت یک میلی‌لیتر در دقیقه، دمای تزریق ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد) و گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (از نوع Agilent Technologies مدل ۵۹۷۵A، ساخت آمریکا، ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ٦۰ تا ۲۱۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای سه درجه سانتی‌گراد در دقیقه و ۲۱۰ تا ۲٤۰ با افزایش دمای بیست درجه سانتی‌گراد در دقیقه، دمای محفظه تزریق: ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد، انرژی یونیزاسیون: ۷۰ الکترون‌ولت، گاز حامل: هلیوم)، مورد ارزیابی قرار گرفت. شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص‌های بازداری کواتس که با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C7-C25) در شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها انجام شد و با مقادیری که در منابع مختلف منتشر گردیده بود، مقایسه شد.

برای اندازه‌گیری میزان اسانس، ابتدا شیشه‌های جمع‌آوری اسانس توسط ترازوی دیجیتال تا دو رقم اعشار وزن شدند و پس از جمع‌آوری اسانس در شیشه‌ها دوباره وزن شدند که اختلاف وزن آن‌ها میزان اسانس را به‌صورت وزنی نشان داد و با یک تناسب ساده میزان اسانس به‌صورت درصد وزنی اندازه‌گیری شد.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

عصاره‌گیری و اندازه‌گیری ترکیبات فنلی

اندازه گیری پلی فنل: اندازه گیری پلی‌فنل‌ها توسط دستگاه HPLC و به روش جاستیسن و همکاران (۱۹۹۸) با تغییرات انجام شد. ابتدا ۰/۲گرم از پودر خشک برگ را با حلال ۰/۸۵ متانول + ۰/۱۵ اسیداستیک مخلوط کرده سپس به حجم ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس درب میکروتیوپ زیر گاز ازت بسته شد و درون فویل ۲٤ ساعت در یخچال نگهداری گردید. بعد از آن نمونه‌ها ۱۵ دقیقه در دستگاه ultrasonic cleaner قرار گرفت. سپس نمونه-ها در سانتریفیوژ یخچال‌دار با دمای صفر درجه و ۱۰۰۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت. فاز رویی به میکروتیوپ انتقال داده و روی آن ان هگزان ریخته و به مدت چند ثانیه روی ورتکس قرار داده شد و دوباره با همان شرایط سانتریفیوژ گردید که باعث ایجاد دو فاز شد و پس از آن فاز زیرین به دستگاه HPLC تزریق گردید. اندازه‌گیری میزان فنول‌ها با ستفاده از دستگاه HPLC مدل ۱۲۰۰ از شرکت Agilent آمریکا ستون C_{18} ، ٦/٤×۱۵سانتیمتر قطر ذرات ۵ میکرومتر، دتکتورDAD (Detector Array Diode) در طول موج های ۳۲۰ و ۲۸۰ نانومتر و دمای آون ۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. برنامه شویش گرادیان، با سرعت شویش یک میلی‌لیتر بر دقیقه و حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر انتخاب گردید. فاز متحرک گرادیان شامل متانول و اسید فرمیک یک درصد بود.

اندازه گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

به منظور اندازه گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ها از رادیکال آزاد DPPH (۲،۲ دی فنیل پیکریل هیدرازیل) استفاده شد. پس از انجام آزمایش‌های ابتدایی عصاره های گیاهی با غلظت ۱۰

الی ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر متانول تهیه شدند. سپس مخلوطی به نسبت ۱:۱ از محلول DPPH (8mg/100) و عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف تهیه شد. جذب نمونه‌ها پس از گذشت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه و تاریکی در طول موج ۵۱۷ نانومتر درسه تکرار خوانده شد (سان و همکاران، ۲۰۰۷). درصد مهار رادیکال آزاد DPPH از رابطه زیر به دست آمد:

((A517Blank-A517Sample)/A517Blank)×100

در رابطه فوق A517 Blank و A517 Sample به ترتیب شدت نور جذب شده توسط نمونه و شاهد در طول موج ۵۱۷ نانومتر است. به منظور مقایسه فعالیت عصاره‌ها از مفهومIC50 استفاده شد. IC50 غلظتی از عصاره است که ٪۵۰ رادیکال آزاد را از بین می‌برد. برای مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمارها (آنتی‌اکسیدان طبیعی)، از یک آنتی‌اکسیدان صنعتی (بوتیل هیدروکسی تولوئن (BHT) که یک آنتی‌اکسیدان پرکاربرد در صنایع غذایی است) استفاده شد.

قبل از تجزیه واریانس، برقراری فرض‌های نرمال بودن توزیع انحرافات و یکنواختی واریانس‌های درون تیماری مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. واکاوی آماری با استفاده از نرم افزار SAS ver.9.2 انجام گردید.

نتایج و بحث

بررسی صفات مورفولوژیک و درصد اسانس

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر مصرف هیومیک‌اسید بر وزن‌تر، وزن خشک و نسبت رطوبت گیاه بر اساس وزن خشک، ارتفاع و وزن گل‌آذین در سطح یک درصد معنی‌دار بود (P ≤ ۰/۰۱).

وزن‌تر و خشک برگ، تعداد و وزن گل‌آذین و درصد اسانس

متوسط وزن‌تر و خشک برگ و تعداد و وزن گل‌آذین در بوته در غلظت ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر هیومیک‌اسید نسبت به شاهد بدون هیومیک‌اسید، به ترتیب ۲/۳، ۱/۸، ۳/۵ و ۲/۱ برابر افزایش یافت (جدول ۲). افزایش هیومیک‌اسید باعث افزایش میزان ذخیره آب درون بافتی گیاه شد و درنتیجه درصد ماده خشک گیاه کاهش یافت. بیشترین میزان ماده خشک از تیمار بدون استفاده از هیومیک-اسید به دست آمد. نتایج نشان داد استفاده از هیومیک‌اسید در غلظت ۱۵ میلی‌لیتر در لیتر باعث افزایش درصد اسانس گیاه به میزان ۳۹/۱ درصد نسبت به شاهد شد (جدول ۲).

بررسی‌ها نشان‌دهنده اثر مثبت هیومیک‌اسید بر خصوصیات رویشی در گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis*)، ریحان (*Ocimum basilicum*) و سیاه‌دانه(*Nigella sativa*) می‌باشد (خرم‌دل و همکاران،۱۳۸۹؛ بفروز فر و همکاران، ۲۰۱۱ و خزایی و همکاران، ۲۰۱۱). کودهای آلی با بهبود وضعیت pH خاک، ظرفیت نگه‌داری آب در خاک و افزایش قابلیت دسترسی گیاه به عناصر غذایی موجب افزایش رشد گیاه می‌شوند. گزارش شده است که افزایش وزن اندام‌های هوایی در اثر استفاده از هیومیک-اسید درنتیجه فعالیت بیشتر فتوسنتزی گیاه در اثر افزایش میزان فعالیت آنزیم روبیسکو می‌باشد (دلفین و همکاران،۲۰۰۵). نتایج سایر بررسی‌ها نیز نشان‌دهنده تأثیر مثبت هیومیک‌اسید بر خصوصیات زایشی گیاهان می‌باشد. این مواد از طریق تحرک بخشیدن یون‌ها و نیز تاثیر بر فیزیولوژی گیاه، سبب بهبود جذب عناصر غذایی شده و این امر باعث افزایش رشد زایشی گیاه می‌شود (قربانی و همکاران،۱۳۸۹). هیومیک‌اسید از طریق اثرات هورمونی و با تأثیر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی سبب افزایش رشد و افزایش جذب آب میان‌بافتی می‌شود (ناردی و همکاران،۲۰۰۲).

با استفاده از مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر هیومیک‌اسید درصد اسانس گیاه مریم‌گلی به ترتیب ۱۱، ۹ /۲۳ و ۵۸/۸ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. تحقیقات زیادی گزارش کرده‌اند که استفاده از کودهای آلی باعث افزایش درصد اسانس در گیاهان دارویی می‌شوند (کاپور و همکاران، ۲۰۰٤؛ آتیه و همکاران،۲۰۰٤ و درزی و همکاران،۱۳۸۷). ازآنجاکه اسانس‌ها، ترکیبات ترپنوئیدی بوده و بیوسنتز واحدهای سازنده آن‌ها (ایزوپرونوئیدها) نیازمند ATPو NADPH هستند و با توجه به این مطلب که حضور عناصری نظیر فسفر نقش مهمی در ساختار واحدهای سازنده اسانس‌ها یعنی ایزوپنتینیل پیروفسفات (IPP) و دی متیل آلیل پیروفسفات (DMAPP) دارند (سنگوان و همکاران، ۲۰۰۱)، هیومیک‌اسید از طریق فراهم نمودن جذب بیشتر فسفر و نیتروژن که در اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس حضور دارند، موجب افزایش میزان اسانس پیکر رویشی می‌گردد. همچنین نیتروژن از طریق افزایش تعداد و سطح برگ 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 (نیاکان و همکاران،۱۳۸۳).

جدول ۲- اثر مقادیر مختلف هیومیک‌اسید بر خصوصیات مورفولوژیک گیاه مریم‌گلی ایرانی

هیومیک اسید (میلی‌لیتردرلیتر)	وزن‌تر برگ (گرم در بوته)	وزن خشک برگ (گرم در بوته)	تعداد گل‌آذین در بوته	وزن گل‌آذین (گرم در بوته)	درصد ماده خشک برگ	درصد اسانس
۰	۰/۸۲ d	۰/۲۱ d	۸ d	۰/۷۳ d	۲٦/۸a	۱/٤d
۵	۱/۱٦ c	۰/۲۳ c	۲۰ c	۱/۱٤ c	۲۰/۲ c	۱/٦c
۱۰	۱/٤۵ b	۰/۳۱ b	۲٦ b	۱/۲۸ b	۲۱/۲ b	۱/۸b
۱۵	۱/۸۹ a	۰/۳۹ a	۲۸ a	۱/۵٤ a	۲۰/٤c	۲/۳a

حروف یکسان در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ است.

ترکیبات اسانس

هرچند مقدار متابولیت‌های ثانویه گیاهان تحت کنترل ژن‌ها قرار دارد، تجمع و غلظت آن‌ها تا حد زیادی تحت تأثیر شرایط محیطی است. هیومیک‌اسید از طریق فراهم نمودن جذب بیشتر فسفر و نیتروژن که در اجزاء تشکیل‌دهنده اسانس حضور دارند، موجب افزایش میزان اسانس پیکر رویشی می‌گردد. درمجموع ٦۲ ترکیب از اسانس مریم‌گلی ایرانی تحت تأثیر تیمارهای آزمایش شناسایی شد. تعداد ترکیبات جداشده از هر تیمار به شرح جدول شماره ۳ بود. نتایج نشان داد با افزایش غلظت هیومیک‌اسید تعداد ترکیبات اسانس افزایش‌یافته است. در پژوهش‌های دیگر نیز، هیومیک‌اسید باعث افزایش ترکیبات اسانس در گیاهان شده است. گرگینی شبانکاره و همکاران (۱۳۹٦) دریافتند که کابرد هیومیک اسید موجب افزایش متابولیت‌های ثانویه در گیاه دارویی بادرنجبویه شد. همچنین افزایش میزان اسانس و ترکیبات آن در اثر استفاده از هیومیک‌اسید در گیاهان دارویی بادرشبو (نریمانی و همکاران، ۲۰۰۲)، ریحان (شاه حسینی و همکاران،۱۳۹۱) و زوفا (خزایی و همکاران،۲۰۱۱) نیز گزارش شده است.

جدول ۳ – تعداد ترکیبات جداشده از اسانس مریم‌گلی ایرانی تحت تأثیر مقادیر مختلف اسید هیومیک

	غلظت هیومیک اسید (میلی‌لیتر بر لیتر)			
	۰	۵	۱۰	۱۵
تعداد ترکیب در اسانس	٤۸	۵۳	۵۵	٦۲

در تیمارهای مختلف هیومیک‌اسید، ترکیبات با درصدهای متفاوتی شناسایی شد که ٤٤ ترکیب مشابه در تمام تیمارها و میانگین درصد کل آن در اسانس مطابق جدول شماره ٦ بود. این ترکیبات درمجموع ۹۹/۳۳ درصد ترکیبات اسانس را تشکیل دادند. مقادیر بالای 5-neocedranol نسبت به سایر ترکیبات در بررسی‌های روشن و تراکمه (۲۰۱۳)، حقیقت و همکاران (۲۰۱۲) و ضیایی و همکاران (۲۰۱۱) گزارش‌شده است. در بررسی اسانس ۱۲ نمونه مریم گلی مشاهده شد که عمده ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه مونوترپن هستند در ترکیبات اسانس این ۱۲ نمونه سینئول و آلفاترپنیل استات ازجمله ترکیبات مهم در همه نمونه‌ها بود. همچنین لینالول ولینالیل استات از مهم‌ترین ترکیبات در چندین نمونه روغن مریم‌گلی ایرانی گزارش شده است (زرشناس و کرن،۲۰۱۵) که با نتایج حاصل از بررسی حاضر مطابقت دارد. 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 (یمینی و همکاران،۲۰۰۸؛ خواجه و قنبری، ۲۰۱۱).

بر اساس نتایج آزمایش حاضر پنج ترکیب اصلی اسانس مریم‌گلی عبارت بود از ۵-نئو سدرانول (۲۰/۱ ٪)، لینالیل استات (۱٦/۲۵٪)، آلفاترپینیل استات (۱٤/۸٪)، لینالول (۵/۲۲٪) و بی سیکلوگرماکرن (٤/٦٤٪) که درمجموع ٦۰/۸ درصد ترکیبات اسانس را تشکیل دادند (جدول ٦). نتایج آنالیز واریانس درصد این پنج ترکیب در اسانس مریم‌گلی ایرانی در اثر استفاده از مقادیر مختلف اسیدآمینه و هیومیک‌اسید به شرح جدول ٤ بود.

جدول ٤- ترکیبات مشترک جداشده از اسانس مریم‌گلی ایرانی (*S. mirzaianii* L.)

ردیف	نام ترکیب	نمایه بازداری	درصد کل	ردیف	نام ترکیب	نمایه بازداری	درصد کل
۱	b-Pinene	۹۳٤	۰/۲٤	۲۳	(E)-Caryophyllene	۱٤۲۲	۱/٤۲
۲	a-Pinene	۹۳٤	۰/۰۹	۲٤	Aromadendrene	۱٤۳۹	۰/۳٤
۳	Sabinene	۹۷۱	۰/۲۱	۲۵	allo-Aromadendrene	۱٤۳۹	۰/۱۲
٤	Myrcene	۹۹۰	۰/۷۸	۲٦	Germacrene D	۱٤۷۹	۰/۲۵
۵	Limonene	۱۰۲۸	۰/۵٤	۲۷	d-Selinene	۱٤۸۸	۰/۰۳
٦	1,8-Cineole	۱۰۳۱	۳/٤۲	۲۸	Bicyclogermacrene	۱٤۹۸	٤/٦۸
۷	(E)-b-Ocimene	۱۰٤۵	۰/٤۱	۲۹	g-Cadinene	۱۵۱۵	۰/۱۲
۸	cis-Sabinene hydrate	۱۰٦۵	۲/۷۹	۳۰	n-Decanal	۱۵۲۲	۰/۱۵
۹	Terpinolene	۱۰۸۷	۰/۵۰	۳۱	a-Cadinene	۱۵۲۵	۰/۲۹
۱۰	Linalool	۱۰۹۹	۵/۲۲	۳۲	trans-Cadina-1(2),4-diene	۱۵۲۹	۲/۹۲
۱۱	d-Terpineol	۱۱٦۵	۰/۳۳	۳۳	d-Cadinene	۱۵۳٦	۳/۹٦
۱۲	Terpinen-4-ol	۱۱۷۸	۰/۰۹	۳٤	Elemol	۱۵٤۷	۰/۲۸
۱۳	α-Terpineol	۱۱۹۰	۳/۱۲	۳۵	Germacrene D-4-ol	۱۵۷۵	۳/۳۹
۱٤	Nerol	۱۲۲۸	۰/۳۸	۳٦	Spathulenol	۱۵۷۹	۲/۳۹
۱۵	Linalyl acetate	۱۲۵۸	۱٦/۵۲	۳۷	Caryophyllene oxide	۱۵۸۱	۰/۲۷
۱٦	n-Decanol	۱۲۷۱	۰/۲۱	۳۸	Viridiflorol	۱۵۹۷	۰/۰۸
۱۷	δ-Elemene	۱۳۳۸	۱/۱۰	۳۹	epi-a-Cadinol	۱٦٤۰	۰/٦۱
۱۸	α-Terpinyl acetate	۱۳٤۸	۱٤/۲۸	٤۰	b-Eudesmol	۱٦۵۱	۱/۱۹
۱۹	Neryl acetate	۱۳٦۳	۰/٦۷	٤۱	a-Cadinol	۱٦۵٤	۱/۵۰
۲۰	Geranyl acetate	۱۳۸٤	۱/۵۹	٤۲	5-neo-Cedranol	۱٦۸۸	۲۰/۱۱
۲۱	β-Elemene	۱۳۹۳	۱/۷۹	٤۳	Sclareol oxide	۱۸۷٤	۰/۱۹
۲۲	α-Gurjunene	۱٤۰۸	۰/٦۲	٤٤	epi-13-Manoyl oxide	۲۰۱۰	۰/۰۸

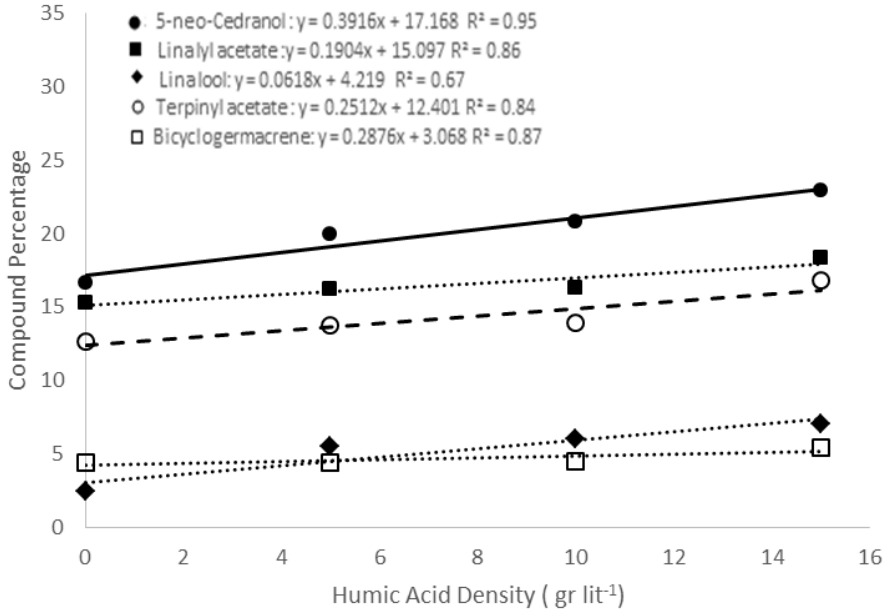
با افزایش غلظت هیومیک‌اسید درصد ترکیبات مورد بررسی افزایش یافت. بیشترین درصد ترکیبات در اثر استفاده از غلظت ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر هیومیک‌اسید به دست آمد. مقدار لینالول در این غلظت از هیومیک‌اسید نسبت به تیمار شاهد ۲/۹٤ برابر شد و در بین ترکیبات مورد بررسی بیشترین میزان تغییر را داشت. میزان تغییر در ۵-نئو سدرانول، آلفا-ترپینیل استات، بی سیکلوگرماکرن ولینالیل استات به ترتیب برابر ۳۷/۵، ۲۲/۳۲،۷/۵ و ۲۰/۵۹ درصد بود (جدول ۵). با افزایش سطح هیومیک اسید، درصد ۵ -نئو سدرانول (r^2 =۰/۹۵)، لینالیل استات (r^2 =۰/۸٦)، بی سیکلوگرماکرن (r^2 =۰/۸۷)، آلفا-ترپینیل استات (r^2 =۰/۸۷) و

لینالول (r^2 =۰/٦۷) به‌طور معنی‌دار بر اساس یک رابطه خطی مثبت و معنی‌دار افزایش یافت (شکل ۱).

جدول ۵- اثر هیومیک اسید بر درصد برخی از ترکیبات اسانس مریم‌گلی ایرانی

Bicyclo germacrene	Linalool	α-Terpinyl acetate	Linalyl acetate	5-neo-Cedranol	هیومیک اسید (میلی‌لیتردرلیتر)
٤/٤١c	۲/۳۹d	۱۲/٦۸c	۱۵/۲۵c	۱٦/٦۸d	۰
٤/٤١c	۵/۵۱c	۱۳/۷۳b	۱٦/۱۸b	۲۰/۰۰c	۵
٤/۵۰b	۵/۹۷b	۱۳/۹۳b	۱٦/۲۸b	۲۰/۸۰b	۱۰
۵/٤۱a	۷/۰۳a	۱٦/۸۰a	۱۸/۳۹a	۲۲/۹٤a	۱۵

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ است



شکل ۱- رابطه همبستگی برخی از ترکیبات اسانس با مقادیر مختلف هیومیک‌اسید

میزان ترکیبات فنلی

نتایج حاصل از بررسی میزان ۱۷ ترکیب فنلی با محاسبه سطح زیر منحنی‌های HPLC و مقایسه آن‌ها با منحنی‌های استاندارد برای مریم‌گلی ایرانی در سطوح مختلف کاربرد هیومیک‌اسید مطابق جدول ٦ بود. بررسی مجموع ترکیبات فنلی موجود در عصاره گیاه نشان داد، بیشترین میزان ترکیبات فنلی به میزان ۵۱٦/٤۳ میلی‌گرم در لیتر متعلق به سطح استفاده از هیومیک‌اسید به میزان ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر بود. میزان ترکیبات فنلی در این تیمار نسبت به شاهد بدون هیومیک‌اسید به‌طور معنی‌دار و به میزان ۷۲/۸ درصد افزایش یافت (شکل ۲).

در تیمار شاهد بیشترین میزان ترکیب فنلی متعلق به رزمارینیک اسید، به میزان ۲۲۵/۳۷ میلی‌گرم‌درلیتر بود. استفاده از هیومیک‌اسید در میزان‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر باعث افزایش این ماده به ترتیب به میزان ۵/۷، ۱۳/۷ و ۸۷/۱ درصد نسبت به شاهد بدون هیومیک‌اسید شد. میزان هسپردین نیز در اثر استفاده از هیومیک‌اسید در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی‌لیتردرلیتر هیومیک‌اسید نسبت به شاهد کاهش یافت. بیشترین میزان این ماده از استفاده ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر

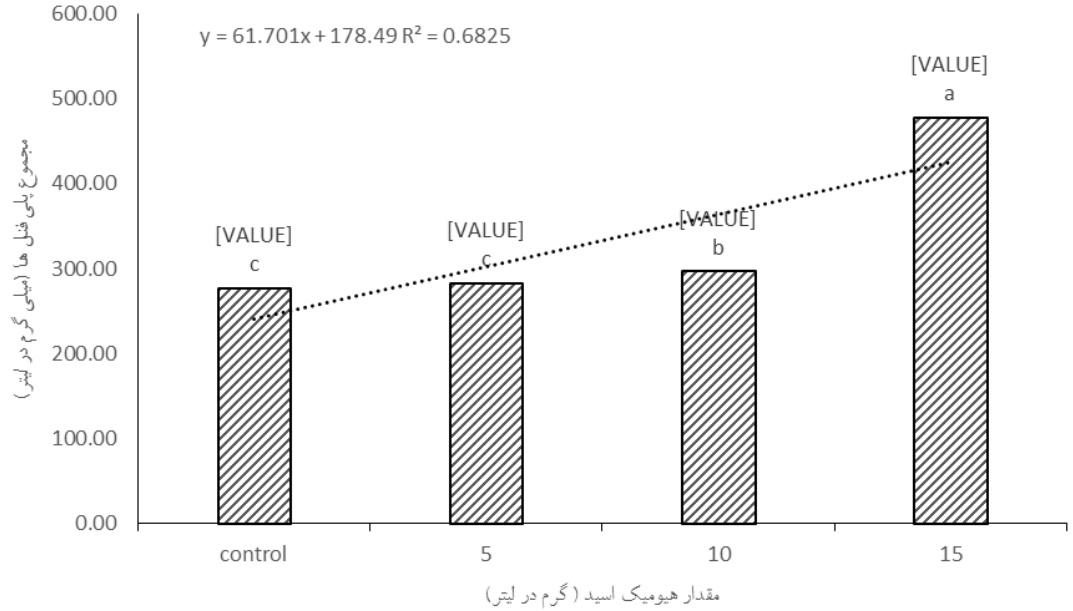
هیومیک‌اسید با متوسط ۲۹/۳٦ میلی‌گرم‌برلیتر به دست آمد. میزان هسپرتین در تیمار شاهد برابر ۳/۷۲ میلی‌گرم‌برلیتر بود که در اثر استفاده مقدار ۵ میلی‌لیتردرلیتر هیومیک اسید، ۹/۱ درصد افزایش و پس‌ازآن با استفاده از مقادیر ۱۰ و ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر هیومیک‌اسید به ترتیب ۲۲/۳ و ۳۹ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. کلروژنیک‌اسید فقط در تیمار استفاده از هیومیک‌اسید به میزان ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر به میزان ۲/٥٤ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد و در سایر تیمارها تشخیص داده نشد. بیشترین درصد کاهش در اثر استفاده از سطح ۵ میلی‌لیتردرلیتر هیومیک اسید متعلق به ترکیب فنلی کوئرستین بود که در این تیمار نسبت به تیمار شاهد ۵۹/۷ درصد کاهش یافت (جدول ٦). میزان کوئرستین در اثر غلظت ۱۰ میلی‌لیتردرلیتر هیومیک‌اسید۲/٦٤ میلی‌گرم بر لیتر بود که نسبت به تیمار شاهد ۲۲/۳ درصد کاهش یافت. میزان وانیلین در تیمار شاهد ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر بود که با استفاده از مقادیر ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر هیومیک‌اسید به ترتیب به ۱/٤۳، ۱/۸۱ و ۱/۸۱ میلی‌گرم در لیتر افزایش پیدا کرد (جدول ٦).

مطالعات نشان داده است که عوامل مختلفی بر درصد و میزان ترکیبات فنلی 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 واریته‌های زراعی یک‌گونه نیز از نظر درصد و میزان ترکیبات فنلی تفاوت وجود دارد. همچنین میزان رسیدن و زمان برداشت بر محتوای فنلی مؤثرند (جاکوپیک و همکاران، ۲۰۰۷). در پژوهشی بر روی گیاه سر خار گل (*Echinacea purpurea* L.) نشان داده شد کودهای زیستی بر ترکیبات فنلی سرخارگل مؤثر بوده و میزان ترکیبات فنلی نسبت به شاهد افزایش پیدا کرده است (آقا علیخانی و همکاران، ۱۳۹۲). نتایج بررسی استفاده از هیومیک‌اسید بر روی گیاه کتان نیز نشان‌دهنده اثر معنی‌دار هیومیک اسید بر روی فنل-ها و ترکیبات شیمیایی و مقدار روغن این گیاه بوده است (بکری و همکاران، ۲۰۱۳).

جدول ٦- مقایسه میانگین مقادیر مختلف ترکیبات فنلی موجود در عصاره گیاه

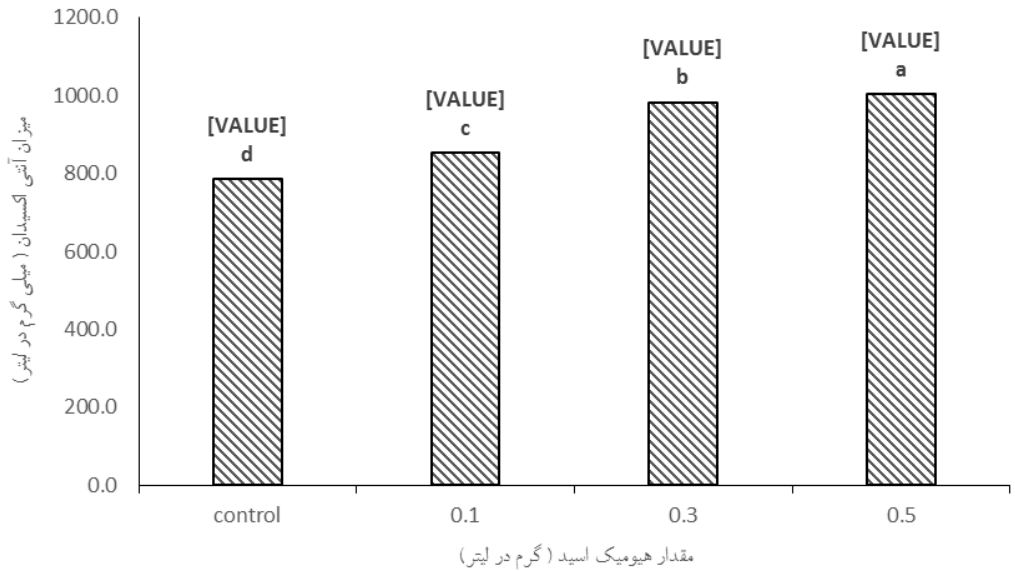
ردیف	ترکیبات پلی فنلی (میلی‌گرم‌درلیتر)	سطوح هیومیک اسید (میلی‌لیتردرلیتر)			
		۰	۵	۱۰	۱۵
۱	Sinapic acid	۰	۰	۰	۰
۲	Gallic acid	۰	۰	۰	۰
۳	Catechin	۰	۰	۰	۰
٤	Caffeic acid	۰	۰	۰	۰
۵	Chloregenic acid	۰	۰	۰	۲/۵٤a
٦	Quercetin	۹/٤۷a	٤/۱۳b	۲/٦٤c	۳/۸۱b
۷	p-Coumaric acid	۰/۰۰b	۰/۰٤a	۰/۰۰b	۰/۰۰b
۸	Coumarin	۰	۰	۰	۰
۹	Carvacrol	۰	۰	۰	۰
۱۰	Vanilin	۰/۰۵c	۱/٤۳b	۱/۸۱a	۱/۸٦a
۱۱	Trans-ferulic acid	۱۱/۱٦d	۱۸/۸۵a	۱۷/۲۰b	۱۵/۳۲c
۱۲	Hesperedin	۲٦/۰۹b	۱۵/۲۸c	۱۵/۳۸c	۲۹/۳٦a
۱۳	Ellagic acid	۰	۰	۰	۰
۱٤	Eugenol	۰	۰	۰	۰
۱۵	Hesperetin	۳/۷۲b	٤/۰٦a	۲/۸۹c	۲/۲۷d
۱٦	Rosmarinic acid	۲۲۵/۳۷d	۲۳۸/۲۵c	۲۵٦/۳۳b	٤۲۱/٦٤a
۱۷	Thymol	۰	۰	۰	۰

حروف یکسان در هر ردیف بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ است



حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ است

شکل ۲- غلظت مجموع پلی فنل های جداشده از عصاره گیاه تحت تأثیر مقادیر مختلف هیومیک اسید



حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ است

شکل ۳- غلظت مجموع آنتی‌اکسیدان‌های جداشده از عصاره گیاه تحت تأثیر مقادیر مختلف هیومیک اسید

غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها

بیشترین غلظت آنتی‌اکسیدان موجود در گیاه تحت تأثیر غلظت‌های پیش‌بینی شده با استفاده غلظت ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر هیومیک‌اسید به دست آمد. غلظت آنتی‌اکسیدان موجود در گیاه در این تیمار نسبت به شاهد بدون محلول‌پاشی ۲۷/۵۲ درصد افزایش یافت (شکل ۳).

نتایج آزمایش‌های انجام‌شده قبلی نیز نشان‌دهنده افزایش غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها و درنتیجه آن افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان دارویی می‌باشد. در بررسی استفاده از هیومیک‌اسید در گیاه شنبلیله، نقش مؤثر این ترکیب بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و صفات بیوشیمیایی شنبلیله مشاهده شد (امینی فرد و قادری،۲۰۲۰). هم‌سو با نتایج این آزمایش، نتایج تحقیق مظفری و همکاران (۱۳۹۵) نشان داد که با افزایش سطح هیومیک‌اسید، بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه خرفه افزوده شد. همچنین گزارش شده است که هیومیک‌اسید علاوه بر بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه و افزایش جذب عناصر غذایی، منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نیز می‌گردد (طباطبایی و نظری،۲۰۰۷). گزارش زنگ (۲۰۰۰) مبین آن است که مواد هیومیکی عموماً مانند تنظیم‌کننده‌های رشد نظیر اکسین وسایتوکنین 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 (کونتال و همکاران، ۲۰۰۷). گیاهان از بین این عوامل، نسبت به مقادیر مختلف کودهای مورد استفاده پاسخ‌های متفاوتی نشان می‌دهند و مدیریت تغذیه‌ای مناسب می‌تواند در افزایش عملکرد و کیفیت محصول حائز اهمیت باشد (هیکارو،۲۰۰۷). نوع خاک و میزان ترکیبات هیومیکی موجود در خاک می‌تواند اثرات قابل توجهی داشته باشد به‌گونه‌ای که هرچه ترکیبات هیومیکی خاک بیشتر باشد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه بیشتر است.

نتیجه گیری

به‌طورکلی استفاده از کود هیومیک اسید تأثیر مثبتی بر صفات درصد ترکیبات اسانس، پلی فنل ها و مقدار مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در ترکیبات اسانس این گیاه داشت. در این بررسی با افزایش غلظت هیومیک‌اسید تا سطح ۱۵ میلی لیتر در لیتر درصد ترکیبات ۵-نئو سدرانول، آلفاترپینیل استات، بی سیکلوگرماکرن و لینالیل استات نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار یافت. بنابراین با استناد به این نتایج استفاده خاکی از هیومیک‌اسید تا غلظت ۱۵ میلی‌لیتردرلیتر به‌منظور افزایش کمی و کیفی گیاه مریم‌گلی توصیه می‌شود.

منابع

آقاعلیخانی، م.، آ. ایرانپور و ح. نقدی بادی. ۱۳۹۲. تغییرات عملکرد زراعی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) تحت تأثیر اوره و کود زیستی. فصلنامه گیاهان دارویی. جلد۲ شماره ٤٦: ۱۳٦-۱۲۱.

جمزاد، ز. ۱۳۹۱. فلور ایران، خانواده نعنا (Lamiaceae). انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور (تهران) شماره ۷٦: ۱۰۷۲ صفحه.

خرم‌دل، م.،ع .کوچکی، م. نصیری محلاتی و ح. قربانی. ۱۳۸۹. اثر کودهای بیولوژیک بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.)، مجله پژوهش‌های زراعی ایران. جلد ۸ شماره ۵: ۷۵۸-۷٤٦.

درزی، م.، ا.قلاوند، ف. سفیدکن و ف.رجالی.۱۳۸۷، اثر کاربرد کودهای بیولوژیک بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare*). مجموعه مقالات دهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، کرج. صفحه۲۵٦.

شاه‌حسینی، ر.، ر.امیدبیگی ود. کیانی. ۱۳۹۱. بررسی اثر کودهای زیستی بیوسولفور و نیتروکسین و پلیمر سوپرجاذب بر رشد، عملکرد و کمیت اسانس گیاه دارویی ریحان. مجله علوم باغبانی ایران. جلد ۳ شماره ۲٦ :۱۳٦-۱۲۷

عزیزی، م. و ز.صفایی. ۱۳۹٤. اثر محلول‌پاشی هیومیک‌اسید و نانو کود فارمکس بر صفات مورفولوژیکی، عملکرد و میزان اسانس گیاه دارویی سیاه‌دانه. مجله علوم باغبانی ایران. جلد ۳۰ شماره ٤: ٦۸۰-٦۷۱.

قربانی، ص.، ح. خزاعی، م. کافی و م. بنایان اول. ۱۳۸۹. اثر کاربرد هیومیک‌اسیددر آب آبیاری بر عملکرد و اجزاء عملکرد ذرت، مجله بوم‌شناسی کشاورزی. جلد ۲ شماره ۱: ۱۱۱-۱۰۱.

گرگینی شبانکاره، ح.، ف.صبوری، ف.ساعدی و ب. فاخری. ۱۳۹٦ .اثر سطوح مختلف هیومیک‌اسید بر شاخص‌های رشد و اسانس گیاه دارویی بادرنجبویه تحت رژیم‌های خشکی، مجله تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک. شماره ۱ جلد ۲: ۱۷٦-۱٦٦.

محمدیان، ر. ۱۳۹۲. مطالعه فیتوشیمیایی گیاه مریم‌گلی سهندی در مراحل مختلف رشد و نمو، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم، دانشگاه تبریز، ۱۲۳ صفحه.

مظفری، س.، س.خراسانی نژاد و ح. گرگینی شبانکاره. ۱۳۹۵ .اثر مقادیر آبیاری بر اساس درصد ظرفیت زراعی و کاربرد هیومیک‌اسیدبر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه دارویی خرفه(*Portulaca oleracea* L.) . مجله تولید گیاهان زراعی. شماره ۹ جلد ۳: ۱۷۵-۱۵۳.

میر حاجیان، ح. ۱۳۹۱. هیومیک‌اسید چیست. ماهنامه تحلیلی خبری، آموزشی مهندسی کشاورزی .شماره ۳۳: ۱٦-۷

نیاکان، م.، ر.خاوری نژاد و م. رضایی. ۱۳۸۳. اثر نسبت‌های مختلف سه کود N,P,K بر وزن‌تر، وزن خشک، سطح برگ و میزان اسانس گیاه نعناع فلفلی. مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. شماره ۲۰ جلد ۲ : ۱٤۸-۱۳۱.

نیکبخت، ع.، م.کافی، م. بابالار، ن. اعتمادی، ، ح. ابراهیم‌زاده و ش. ییپینگ. ۱۳۸٦. اثـر هیومیـک اسـید بر جذب کلـسیم و رفتـار فیزیولوژیکی پس‌ازبرداشت گل ژربرا. مجله علوم و فنون باغبانی ایران. شماره ۸ جلد ۲: ۲٤۸-۲۳۷.

یزدانی، د. و ف. شهنازی.۱۳۸٤. بررسی تغییرات کمی و کیفی اسانس گیاهان آویشن (*Thymus vulgaris* L.) و ترخون (*Artemisia dracunculus* L.)در اندام های خشک و تر گیاه . فصلنامه گیاهان دارویی شماره ۱۷: ۱۵-۷.

Abou Dahab, TAM. 2006. Physiological Effect of Diphenylamin and Tryptophan on the Growth and Chemical Constituents of *Philodendron erubescens Plants*. World J. Agri. Sci. 2 (1): 75 - 81.

Aminifard, M. and H. Ghaderi. 2020. Effects of different levels of humic acid and planting density on antioxidant activity and biochemical properties of *Trigonella foenum- graecum* L. Eco-phytochem J. of Medici. Plants, 8 (1): 77-89.

Atiyeh, R.M., S. Subler, C.A. Edwards, G. Bachman, J.D. Metzger and W. Shuster. 2000. Effects of vermicomposts and compost on plant growth in horticultural container media and soil. Pedobiolog, 44: 579–590.

Ayas, H. and F. Gulser. 2005. Use of humic acid for improving soil organic matter and increasing crop yield. J. of Biolog. Sci. 5 (6): 801-804.

Bakry, A.B., Sh. Mervat, H.T. Sadak, E.M. Moamen and A. Abd El Lateef. 2013. Influence of humic acid and organic fertilizer on growth, chemical constituents, yield and quality of two flax seed cultivars grown under newly reclaimed sandy soils. Int. J. of acad. Res. 5 (5): 125-134.

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

Befrozfar, M.R., D. Habibi, A. Asgharzadeh, M. Sadeghi- Shoae and M.R. Tookalloo. 2013. Vermicompost, plant growth promoting bacteria and humic acid can affect the growth and essence of sweet basil (*Ocimumbasilicum*L.). Ann. of Biolog. Res. 4 (2): 8-12.

Cacilia, R., R. Juarez, L. Craker and A. Mendoza. 2011. Humic substances and moisture content in the production of biomass and bioactive constituents of Thyme (*Thymus vulgaris*.L.). Articulocientifico. 34 (3): 183-188.

Cangi, R., C. Tarakcioglu and H. Yasar. 2006. Effect of humic acid applications on yield, fruit characteristics and nutrient uptake in Ercis grape (*V. vinifera* L.) cultivar. Asian J. of Chem. 18: 1493-1499.

Delfine, S., R. Tognetti, E. Desiderio and A.Alvino. 2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. Agron. for Sustainable Develop. 25: 183-191.

Entezari, S., M. Khalatbari, M. Nasri and M. Zakeri. 2008. The effect of amino acid spraying on water deficit in wheat in Varamin condition. Plant and Ecosys. 4 (14): 64-76.

Faten, S. A., A. M. Shaheen, A. A. Ahmad and A. R. Mahmoud. 2010. Effect of foliar application of amino acids as antioxidants on growth, yield and characteristics of squash. Res. J. of Agric. and Biologi. Sci. 6 (5): 583-588.

Filner, P. 1966. Regulation of nitrate reductase in cultured tobacco cells. Biochimica et Biophysica Ada. 118: 299-310.

Gamborg, 0. L., R. A. Miller and K. Ogtma. 1970. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell. Res. 50: 151-158.

Gawronak, H. 2008. Biostimulators in modern agriculture (general aspects). Arysta Life Sci. Warsaw editorial House Wies Jutra, limited. 203 p.

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

Golzadeh, H, A Mehrafarin, H Naghdi Badi, F Fazeli, A Ghaderi, and N Zarincheh. 2011. Effects of bio-stimulants on quantitative and qualitative yield of German chamomile. J. of Medic. Plants, 11 (41): 195-207.

Golzari, M. 2016. Effect of bio-fertilizer and mother corm weight on growth, flower and stigma yield and qualitative criteria of saffron. Iran: M.Sc dissertation, Faculty of Agriculture, University of Birjand.132p.

Haghighat, M.H., A. Alizadeh and M.J. Nouroznejadfard . 2012. Essential oil composition and antimicrobial activity in Iranian *Salvia mirzayani* Rech. & Esfand. Adv Environ Biol. 6: 1985-1989.

Hikaru, A, H. Amzad, I. Yukio, and Y. Kenichi. 2007. Effect of application of N, P and K alone or in combination of growth, yield and curcumin content of turmeric (*Curcuma longa* L.). Plant Produc. Sci. 10 (1): 15-25.

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 Chem. 104 (1): 100 – 105.

Justesen, U., P. Knuthsen, and T. Leth. 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. J. of Chromatog. 799 (1): 101-110.

Kapoor, R., B. Giri and K.G. Mukerji. 2004. Improved growth and essential oil yield andquality in Foeniculum vulgare mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P fertilizer. Biores. Technol. 93: 307-311.

Khajeh, M. and A. Ghanbari. 2011. Application of factorial design and BoxBehnken matrix in the optimisation of a microwave-assisted extraction of essential oils from *Salvia mirzayanii*. Nat. Prod. Res. 25: 1766-1770.

Khazaie, H.R., E. EyshiRezaie and M. Bannayan. 2011. Application times and concentration of humic acid impact on above ground biomass and oil production of hyssop (*Hyssopus officinalis*). Med. Plants Res. 5 (20): 5148- 5154.

Kuntal, D., D. Raman, N.S. Thippenahalli, and N. Sekeroglu. 2007. Influence of bio-fertilizers on the biomass yield and nutrient content in (*Stevia rebaudiana* L.). J. of Med. Plants Res. 1 (1): 5-8.

McKay, D.L. and J.B. Blumberg. 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). Phytother. Res. 20: 619-633.

Moazzami Frida, H., T. Rajabi, A. Salami, M. Ranjbar, M. Taghizadeh and N Rahmani. 2015. Fatty acid composition and phytosterol contents of the seeds from three *Salvia* L. species growing in Iran. Bio.Sci. Prom. 28: 421-434.

Nardi, S., D. Pizzeghello, A. Muscolo and A. Vianel. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biolog. and Biochem. 34: 1527–1536.

Narimani, R., M. Moghaddam and P. Ghasemi Pirbalouti. 2020. Phytochemical changes of *Dracocephalum moldavica* L. Essential oil under different salinity stresses and application of humic and ascorbic acid. Eco-phytochemical J. of Medic. Plants, 7 (4): 34-48.

Omer, E., H. Said-Al Ahl, E. El Gendy and M. Wahby. 2013. Effect of Amino Acids Application on Production, Volatile Oil and Chemical Composition of Chamomile Cultivated in Saline Soil at Sinai. J. of Applied Sci. Res. 9: 3006-3021.

Ramasubramania Raja, R. 2012. Medicinally Potential Plants of Labiatae (Lamiaceae) Family: An Overview. Res. J of Medic. Plants, 6: 203-213.

Rowshan, V., and A. Tarakemeh. 2013. Comparison of *Salvia mirzayanii* volatile compounds extracted by headspace extraction and hydrodistillation methods. Int J. Plant Anim. Environ. Sci. 3: 136-140.

Sangwan, S.N., A.H.A. Farooqi, F. Shabih, and S.R. Sangwan. 2001. Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regul. 31: 3-21.

Saito, B. and M. M Seckler. 2014. Alkaline Extraction of Humic Substances from Peat Applied to Organic-Mineral Fertilizer Production. Braz. J. of Chem. Engin. 31 (3): 675 – 682.

Sánchez-Mata, D, and R Morales. 2016. The Mediterranean Landscape and Wild Edible Plants.

Sharma, A.K. 2002. A hand book organic farming. India: Agrobios. 96p.

Sun, T., Xu, Z., Wu, C.T., Janes, M., Prinyawiwatkul,W. and No, H.K. 2007. Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (Capsicum annuumL.). ‐ J. Food Sci. 72: 98-102.

Tabatabaie, J., and J. Nazari. 2007. Influence of nutrient concentrations and NaCl salinity on the growth, photosynthesis, and essential oil content of peppermint and *lemon verbena*.L. Turk. J. of Agric. and Fores. 31: 245-253.

Thomas, J., A. K. A. Mandal, R. Raj Kumar and A.Chrodia. 2009. Role of biologically active amino acid formulations on quality and crop productivity of Tea (*Camelia* sp.). InternationalJ. of Agri. Res. 4: 228-236.

Yamini, Y., M. Khajeh, E. Ghasemi, M. Mirza and K Javidnia. 2008. Comparison of essential oil compositions of *Salvia mirzayanii* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. Food Chem. 108: 341-346.

Yukui, R, P Yunfeng, W Zhengrui, and B Jian. 2009. Stem perimeter, height and biomass of maize (*Zea mays* L.) grown under different N fertilization regimes in Beiging. China. Int. J. Agron.Plant Prod. 3 (2): 85-90.

Zarshenas, M.M., and L. Krenn. 2015. Phytochemical and pharmacological aspects of *Salvia mirzayanii* Rech. F. and Esfand. J. Evid Based Complementary Altern Med 20 (1): 65-72.

Zhang, X. and R.E. Schmidt. 2000. Hormone-containing products impact on antioxidant status of tall fescue and creeping bent grass subjected to drought. Crop Sci. 40: 1344-1349.

Ziaei, A., M. Ramezani, L. Wright, C. Paetz, B. Schneider and Z. Amirghofran. 2011. Identification of spathulenol in *Salvia mirzayanii* and the immunomodulatory effects. Phytother Res. 25: 557-562.

Effect of humic acid application on growth characteristics and active ingredients of *Salvia mirzaiyanii* L.

M.Bahador[1], A. Aboutalebi-Jahromi[2], B. Behroznam[3], V. Rowshan[4]

Received: 2020-11-10 Accepted: 2021-2-8

Abstract:

Salvia mirzaiyanii L. (Iranian sage) is a medicinal plant belonging to the mint family that has long been considered for its medicinal properties as well as various metabolites including terpenoids, phenolic, flavonoids, fatty acids and sterols compounds and it has many applications in the pharmaceutical, food, health and cosmetics industries. In order to investigate the effect of different concentrations of humic acid (0, 5, 10 and 15 ml/l) an experiment in the form of randomize complete block design at the Fars Agricultural and Natural Resources Research in 2009. The use of humic acid fertilizer had a positive effect on the measured characteristics of Iranian sage and also the percentage of essential oil compounds. Dry weight of leaves (0.5 g) and number of inflorescences (35) and inflorescence weight (1.8 g) due to the use of 15 g of humic application was obtained. The amount and type of essential oil constituents were determined by GC and MS/GC devices and a total of 62 compounds were isolated from Iranian sage essential oil under the influence of experimental treatments, of which 18 similar compounds were present in all treatments. The most important compounds in Iranian sage essential oil was reported 5-neo-Cedranol (20.11%), Linalyl acetate (16.52), Terpinyl acetate (14.28%), Linalool (5.22) and Bicyclogermacrene (4.68%). Compounds percentage increased with increasing humic acid density. As a result using a concentration of 15 ml/l humic acid, the 5-neo-Cedranol, α-Terpinyl acetate, Bicyclogermacrene and Linalyl acetate compounds increased by 37.5, 22.5, 32.7 and 20.5 percent compared to control. The total phenolic compounds in the plant extract due to the use of 15 ml/l humic acid increased significantly and by 72.8% compared to the control without humic acid (516.43 mg/l). The highest phenolic composition in Iranian sage extract in this study was Rosmarinic acid at the rate of 421.64 mg/l at the level of 15 m/l humic acid. The use of humic acid caused a significant increase in the amount of antioxidants in the plant extract.

Key words: α-Terpinyl acetate, bicyclogermacrene, linalool, linalyl acetate, 5-neo-cedranol

1- PhD. Student, Department of Horticultural Sciences, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
2- Associated Professor Department of Horticulture Science, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
3- Assistant Professor Fars Agricultural and Natural Resources Research and Training Center, Research Organization, Agricultural Education and Promotion, Shiraz, Iran
4- Assistant Professor Department of Horticulture Science, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran