



Investigation of Morpho-physiological and Phytochemical Changes in Sage (*Salvia officinalis* L.) in Response to High Environmental Temperature

Hamid Mohammadi¹ | Rana Alipour-Fakhry² | Mehdi Joudi³ |
Mohammad Esmailpour⁴

1. Corresponding Author, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran. Email: hmohammadi@azaruniv.ac.ir
2. Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran. Email: ralipour@azaruniv.ac.ir
3. Department of Plant Science and Medicinal Herbs, Meshgin Shahr Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. Email: joudi@uma.ac.ir
4. Department of Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran. Email: esmailpour@jahromu.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received 19 August 2023
Received in revised form
11 October 2024
Accepted 16 October 2024
Published online 5 March 2025

Keywords:

Antioxidant properties
Biomass
Essential oil yield
Phenols
Secondary metabolites

ABSTRACT

Objective: In order to investigate the response of sage to delayed planting, the present study was performed as a randomized complete block design with three replications in the Meshkin Shahr Faculty of Agriculture research farm in 2020.

Methods: The treatments were two planting dates including conventional planting date (as control) and delayed planting which were cultivated on May 5th and June 15th, respectively.

Results: The results showed that delayed planting-mediated high temperature significantly increased total phenol, total flavonoids, anthocyanin, essential oil yield, and antioxidant properties by 25, 44, 85, 80, and 39 percent, respectively and decreased plant height, leaf width, and shoot fresh and dry weight by 8, 13, 41 and 34 percent, respectively compared to control. There were also negative and significant correlations between plant fresh or dry weight and essential oil percentage as well as the other measured phytochemical constituents. In addition, some essential oil constituents including α -Thujone, β -Thujone, β -Pinene, Borneol, and Viridiflorol were increased by 23, 15, 28, 37, and 46, respectively under heat stress compared to the control.

Conclusion: In general, an increase in secondary metabolite in delayed planting treatment indicates that sage plants probably employed the strategy of allocating more photosynthetically fixed carbon to the biosynthesis of secondary metabolites to improve plant tolerance to high-temperature conditions via a decrease in reactive oxygen species production and/or increase in the scavenging potential of those radicles.

Cite this article: Mohammadi, H., Alipour-Fakhry, R., Joudi, M., & Esmailpour, M. (2025). Investigation of Morpho-physiological and Phytochemical Changes in Sage (*Salvia officinalis* L.) in Response to High Environmental Temperature. *Journal of Crops Improvement*, 27 (1), 91-107. DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2024.364042.2840>





بررسی تغییرات مورفو-فیزیولوژیک و فیتوشیمیایی مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) در واکنش به دمای بالای محیط

حمید محمدی^۱ | رعنا علیپور-فخری^۲ | مهدی جودی^۳ | محمد اسماعیل پور^۴

۱. نویسنده مسئول، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران. رایانامه: hmoammadi@azaruniv.ac.ir

۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران. رایانامه: ralipour@azaruniv.ac.ir

۳. گروه علوم گیاهی و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی مشکین شهر، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: joudi@uma.ac.ir

۴. گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران. رایانامه: esmailpour@jahromu.ac.ir

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

هدف: به منظور بررسی واکنش مریم‌گلی به تأخیر در تاریخ کشت، پژوهش حاضر به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی مشکین شهر در سال ۱۳۹۹ اجرا گردید.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۲۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۵

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۱۲/۱۵

روش پژوهش: تیمار مورد بررسی شامل تاریخ کاشت در دو سطح تاریخ کاشت، کشت به موقع (شاهد) و تیمار کاشت تأخیری بود که به ترتیب در ۱۵ اردیبهشت‌ماه و ۲۵ خردادماه اجرا شدند. یافته‌ها: نتایج نشان داد که دمای بالای ناشی از کشت تأخیری، موجب افزایش معنی‌دار میزان فنل کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین‌ها، عملکرد اسانس، خاصیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب به میزان ۸۰، ۸۵، ۴۴، ۲۵، β -پینن، بورنئول و ۳۹ درصد و در عین حال، کاهش ارتفاع بوته، عرض برگ و وزن تر و خشک اندام هوایی به ترتیب به میزان هشت، ۱۳، ۴۱ و ۳۴ درصد نسبت به شاهد گردید. همبستگی منفی و معنی‌داری نیز بین وزن تر یا خشک بوته با درصد اسانس و سایر ترکیبات فیتوشیمیایی اندازه‌گیری شده وجود داشت. همچنین در شرایط کشت تأخیری، میزان برخی از اجزای اسانس شامل α -توجون، β -توجون، β -پینن، بورنئول و وریدیفلورل در مقایسه با تاریخ کاشت رایج به ترتیب به میزان ۲۳، ۱۵، ۲۸، ۳۷ و ۴۶ درصد افزایش یافت.

کلیدواژه‌ها:

خاصیت آنتی‌اکسیدانی

زیست‌توده

عملکرد اسانس

فنل‌ها

متابولیت‌های ثانویه

نتیجه‌گیری: افزایش متابولیت‌های ثانویه در کشت تأخیری نشان‌دهنده این است که احتمالاً مریم‌گلی در مواجهه با دمای بالای محیط از راهبرد تخصیص بیش‌تر کربن تثبیت شده فتوسنتزی به تولید و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه استفاده کرده تا به واسطه کاهش تولید و یا افزایش پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن، میزان تحمل به شرایط نامساعد گرمایی را بهبود دهد.

استناد: محمدی، حمید؛ علیپور-فخری، رعنا؛ جودی، مهدی و اسماعیل پور، محمد (۱۴۰۴). بررسی تغییرات مورفو-فیزیولوژیک و فیتوشیمیایی مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) در واکنش به دمای بالای محیط. به‌زراعی کشاورزی، ۲۷ (۱)، ۹۱-۱۰۷.

DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2024.364042.2840>



۱. مقدمه

افزایش شدت دما و تشعشع ناشی از پدیده گرمایش جهانی که در آینده نیز تشدید خواهد شد، مرفولوژی، فیزیولوژی و متابولیسم گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار داده و عملکرد و کیفیت دانه آن‌ها را کاهش خواهد داد و به‌طور مشابه می‌تواند اقتصاد و معیشت تولیدکنندگان و بهره‌برداران گیاهان دارویی را دچار چالش کند (بن‌ماریئم^۱ و همکاران، ۲۰۲۱؛ حسن^۲ و همکاران، ۲۰۲۱؛ هاریش^۳ و همکاران، ۲۰۱۲). مریم‌گلی^۴ گیاهی است درختچه‌ای به ارتفاع تا ۶۰ سانتی‌متر با ساقه‌های ایستاده و شاخه‌های فراوان و دارای برگ‌های با کرک‌های انبوه و گل‌های به رنگ بنفش، صورتی و سفید و از خانواده نعنائیان که در سال‌های اخیر در استان‌های مازندران، گیلان، اصفهان، تهران و غیره بعنوان گیاه دارویی کشت و کار می‌شود (مظفریان، ۱۳۹۴). به‌علت داشتن خواص درمانی فراوان از جمله اثرات ضد باکتریایی، ضد دیابتی، ضد التهابی، ضد افسردگی، خاصیت قوی آنتی‌اکسیدانی، تقویت قوای شناختی و غیره، مریم‌گلی از دیر باز در بسیاری از نقاط معتدل دنیا کشت می‌شده است (آسگاف^۵ و همکاران، ۲۰۲۲؛ لوپرستی^۶ و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین متابولیت‌های ثانویه در گیاه دارویی مریم‌گلی در صنعت داروسازی، صنایع غذایی، تولید محصولات آرایشی بهداشتی و نیز در طب سنتی کاربردهای گسترده و بسیار متنوعی دارند (شریفی‌راد^۷ و همکاران، ۲۰۱۸؛ حمیدپور^۸ و همکاران، ۲۰۱۴). با این حال، مریم‌گلی در بین پنج رقم تجاری جنس سالویا^۹، یکی از حساس‌ترین گونه‌ها به دمای بالای محیط است. لذا مطالعه و ارزیابی اثرات افزایش دما بر مرفولوژی و تولید و تجمع انواع متابولیت‌های ثانویه و اسانس در مریم‌گلی، برای برنامه‌های به‌نژادی و مدیریت مزرعه و همچنین تعیین امکان کشت آن در اقلیم‌های مختلف در آینده بسیار دارای اهمیت می‌باشد (لین^{۱۰} و همکاران، ۲۰۲۱).

۲. پیشینه پژوهش

هرچند شدت خسارت ناشی از دمای بالای محیط بستگی به مرحله‌نموی که گیاه با آن مواجه می‌شود، دارد اما به‌طور کلی، عملکرد زیست‌توده گیاهان دارویی تحت تأثیر تنش گرمایی به‌ویژه در مراحل رشد رویشی کاهش می‌یابد چرا که مانند سایر تنش‌ها، تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن^{۱۱} (نظیر $\cdot\text{OH}$, O_2^- , H_2O_2) تشدید شده و گیاه در معرض تنش اکسیداتیو قرار می‌گیرد (حیدری^{۱۲} و همکاران، ۲۰۱۸؛ ایساح^{۱۳}، ۲۰۱۹؛ حسن^۲ و همکاران، ۲۰۲۱). در این شرایط گیاه برای اجتناب از تنش اکسیداتیو سطح برخی از ترکیبات دخیل در افزایش مقاومت به تنش مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و اسانس‌ها را افزایش می‌دهد (سلمار^{۱۴} و کلینواچتر^{۱۵}، ۲۰۱۸). در این زمینه، گزارش شده است همبستگی مثبت و بسیار قوی بین محتوای فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مریم‌گلی وجود دارد (خیا^{۱۶} و همکاران، ۲۰۲۱).

1. Ben Mariem
2. Hassan
3. Harish
4. *Salvia officinalis L.*
5. Assaggaf
6. Lopresti
7. Sharifi-Rad
8. Hamidpour
9. Salvia
10. Lin
11. Reactive Oxygen Species (ROS)
12. Heydari
13. Isah
14. Selmar
15. Kleinwachter
16. Khiya

همچنین با افزایش دما از ۳۰ به ۴۰ درجه سانتی‌گراد در شرایط آزمایشگاهی و کنترل‌شده، متابولیسم مریم‌گلی دچار تغییر شد به طوری که سرعت فتوسنتز خالص، میزان کلروفیل a و b و محتوای ترکیبات فنلی کل در بوته‌های مریم‌گلی کاهش یافت و محتوای فلاونوئیدها و میزان متصاعدشدن منوترپن‌ها از گیاه افزایش یافت (کوپولوویسی^۱ و همکاران، ۲۰۲۲).

با توجه به این‌که عواملی نظیر شدت نور، مجموع ساعات آفتابی، دمای شب و روز، طول شب و روز، رطوبت نسبی، میزان بارندگی و غیره در هر ماه از سال به‌شدت متغیر است، صفات بیوشیمیایی، فیزیولوژیک و حتی فنوتیپی مریم‌گلی می‌تواند تحت تأثیر این عوامل در طول ماه‌های مختلف دست‌خوش تغییر شود. در این زمینه گزارش شده است که نور عامل تعیین‌کننده مهمی در نمو کرک‌های غده‌ای و سایر ساختارهای دخیل در تولید و تجمع اسانس است (حضرتی^۲ و همکاران، ۲۰۲۲). همچنین اجزای اسانس مریم‌گلی تحت تأثیر کیفیت نور (طول موج نور) دچار تغییر می‌شوند (ایوانیتسکیخ^۳ و تاراکانو^۴، ۲۰۱۴). این موضوع می‌تواند حتی باعث تغییر در خواص درمانی مریم‌گلی (از جمله کاربرد اسانس آن در رایحه درمانی) در طول ماه‌های مختلف گردد (موت^۵ و همکاران، ۲۰۲۲). از طرف دیگر کمیت و کیفیت اسانس مریم‌گلی در مراحل مختلف رشد (رویشی، شروع گلدهی و گلدهی کامل) به‌طور طبیعی و به‌شدت تغییر می‌کند و لذا ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و خواص درمانی اسانس در مراحل مختلف رشد نیز دچار تغییر می‌شود (آساکاف^۶ و همکاران، ۲۰۲۲). همچنین طول مراحل نمو می‌تواند تحت تأثیر شرایط آب‌وهوایی هر ماه کوتاه‌تر و یا طولانی‌تر از معمول گردد.

تاریخ کشت دیر هنگام منجر به مواجه‌شدن گیاه با دمای بالای محیط می‌شود (حسن^۷ و همکاران، ۲۰۲۱). لذا یکی از راه‌کارهای احتمالی برای ارزیابی و شبیه‌سازی اثر افزایش جهانی دمای هوا بر تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه در شرایط مزرعه‌ای، تأخیر در کشت بهاره به‌منظور مواجه‌شدن مراحل رشدی گیاه با شرایط دمایی بالا و جدید است. مثلاً با تأخیر در کشت، مرحله گلدهی گیاه که به‌طور طبیعی در خرداد ماه رخ می‌داد به تیر ماه منتقل شود. با توجه به این‌که شرایط نوری و دمایی هر ماه تأثیر متفاوتی بر میزان تولید متابولیت‌های ثانویه در هر مرحله از رشد گیاه دارد، ممکن است تغییرات شرایط دمایی/نوری هر ماه و مرحله رشدی، اثر هم‌افزایی یا کاهندگی بر تولید متابولیت‌های ثانویه داشته باشند. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی اثرات کشت تأخیری بر برخی صفات مرفولوژیک و ترکیبات فیتوشیمیایی و اجزای اسانس مریم‌گلی و نیز سازوکارهای سازگاری این گیاه در مواجهه با دمای بالای محیط در شرایط آب‌وهوایی مشکین‌شهر بود.

۳. روش‌شناسی پژوهش

این آزمایش در سال ۱۳۹۹ به‌صورت آزمایش مزرعه‌ای در مزرعه دانشکده کشاورزی مشکین‌شهر با موقعیت جغرافیایی ذکرشده در جدول (۱) اجرا شد. شرایط آب‌وهوایی مشکین‌شهر در بازه زمانی اجرای آزمایش، در جدول (۲) و خصوصیات خاک محل آزمایش در جدول (۳) نشان داده شده است. پژوهش حاضر به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با سه تکرار انجام شد. تیمار موردبررسی شامل تاریخ کاشت در دو سطح کاشت معمول (به‌موقع) و کاشت تأخیری نشاهای مریم‌گلی بود. کشت به موقع نشاها در پانزدهم اردیبهشت‌ماه و کشت تأخیری آن در ۲۵ خردادماه انجام شد. در تاریخ

1. Copolovici
2. Hazrati
3. Ivanitskikh
4. Tarakanov
5. Mot
6. Assaggaf
7. Hassan

کشت دوم، رشد نشاها از ابتدا با دمای بالا و تابش زیاد اوایل تابستان مواجه شد. در پژوهش حاضر تاریخ کشت معمول معادل تیمار شاهد و تاریخ کشت دوم معادل کشت تأخیری در نظر گرفته شده است. در هر تکرار چهار ردیف کشت به طول دو متر وجود داشت. فاصله ردیف‌ها از هم ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها (نشاها) ۳۰ سانتی‌متر بود. نشاهای سه تا چهار برگی مریم‌گلی بعد از تهیه از شرکت معتبر در اردبیل در تاریخ‌های کاشت مذکور کشت شده و بلافاصله آبیاری شدند. آبیاری در هر کدام از تاریخ‌های کاشت به‌طور مرتب و تا استقرار کامل گیاهان و برداشت نمونه‌ها انجام شد. در زمان برداشت (هفته اول مهرماه در تیمار شاهد و هفته سوم شهریورماه در کشت تأخیری) تعداد شش بوته به‌طور تصادفی از هر کرت با حذف اثرات حاشیه‌ای انتخاب و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند.

جدول ۱. موقعیت جغرافیایی منطقه مورد مطالعه

| طول جغرافیایی | عرض جغرافیایی | ارتفاع از سطح دریا (متر) |
|--------------------|--------------------|--------------------------|
| ۴۷ درجه و ۴۰ دقیقه | ۳۸ درجه و ۲۳ دقیقه | ۱۱۵۰ |

جدول ۲. شرایط آب‌وهوایی مشکین‌شهر در بازه زمانی انجام آزمایش

| ماه | دمای حداکثر | مجموع بارش ماهانه | مجموع ساعات آفتابی |
|---------|-------------|-------------------|--------------------|
| مه | ۳۰/۲ | ۵۲/۷ | ۲۱۸/۱ |
| ژوئن | ۲۹/۸ | ۳۹ | ۳۱۳/۳ |
| ژوئیه | ۳۶/۱ | ۱۳/۵ | ۱۹۹/۰ |
| اوت | ۳۱ | ۲ | ۷۶/۶ |
| سپتامبر | ۳۱/۱ | ۴۵/۷ | ۱۰/۶ |
| اکتبر | ۲۶/۶ | ۲۷/۱ | ۶/۵ |

جدول ۳. خصوصیات خاک محل آزمایش

| بافت خاک | فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم) | پتاسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم) | نیترژن (درصد) | ماده آلی (درصد) | اسیدیته | هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) |
|----------|----------------------------|------------------------------|---------------|-----------------|---------|-----------------------------------|
| لوم رسی | ۸/۵۴ | ۵/۴ | ۰/۰۹ | ۰/۷۹ | ۷/۳ | ۱/۸۵ |

۱.۳ صفات مورفولوژیک

در آزمایشگاه ابتدا وزن تر شش بوته در هر کرت با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. سپس صفات طول پهنک، عرض پهنک و ارتفاع بوته به‌وسیله خط کش و قطر ساقه با کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد و تعداد شاخه‌جانبی و تعداد میانگره در هر ساقه نیز شمارش گردید. در نهایت بوته‌ها در آزمایشگاه در محیطی عاری از آلودگی و در شرایط سایه، خشک و با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و به‌عنوان وزن خشک بوته در نظر گرفته شد.

۲.۳ صفات فیتوشیمیایی

۱.۲.۳ استخراج عصاره

برای استخراج عصاره گیاه مریم‌گلی از دستگاه اولتراسونیک (مدل SONICA، کشور ایتالیا) استفاده شد. بدین ترتیب که به ۰/۱ گرم از گیاه خشک شده ۱۰ میلی‌لیتر محلول متانول ۸۰ درصد اضافه شد. سپس محلول موردنظر به‌مدت یک

ساعت در حمام اولتراسونیک با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه ساتریفیوژ (مدل HERMLE 236 HK، کشور آلمان) با ۱۳۰۰۰ دور قرار گرفتند. در مرحله بعد عصاره رو شناور درون پتری‌دیش ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد درون آن قرار گرفت (اوزکان^۱ و همکاران، ۲۰۰۷).

۲.۲.۳. محتوای فنل کل

برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل از روش مک‌دونالد^۲ و همکاران (۲۰۰۱) استفاده شد. به این صورت که به عصاره مورد نظر به ترتیب ۱ سی‌سی متانول و دو میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم دو درصد و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲۵۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو اضافه و سپس محلول به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگه داشته شد. سپس نمونه‌ها درون کووت ریخته شد و میزان جذب آن‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل PG Instrument LTD T80⁺ UV/VIS، کشور انگلستان) قرائت شد. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده شد.

۳.۲.۳. سنجش محتوای فلاونوئید

برای اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید ابتدا به ۰/۱ گرم گیاه خشک آسیاب شده مقدار ۳ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (۹۹ درصد اتانول و یک درصد استیک اسید) اضافه شد و محلول به دست آمده در ورتکس قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در حمام بن ماری و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نمونه‌ها پس از سرد شدن به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه ساتریفیوژ با ۶۰۰۰ دور قرار گرفتند و در انتها میزان جذب آن‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر نسبت به شاهد قرائت شد (چانگ^۳ و همکاران، ۲۰۰۲).

۴.۲.۳. آنتوسیانین

برای اندازه‌گیری آنتوسیانین به ۰/۱ گرم گیاه خشک آسیاب شده مقدار ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی (۹۹ درصد متانول و یک درصد HCl) اضافه و به مدت ۲۴ ساعت در محیط تاریک و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه درون دستگاه ساتریفیوژ در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد با ۶۰۰۰ دور قرار گرفتند و پس از اتمام این مدت بلافاصله مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۵۷ نانومتر و ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل PG Instrument LTD T80⁺ UV/VIS، کشور انگلستان) نسبت به شاهد قرائت شد (سوتاروت^۴ و سودارات^۵، ۲۰۱۲).

۵.۲.۳. سنجش میزان پاکسازی رادیکال‌های DPPH^۶

DPPH (۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) یک رادیکال آزاد پایدار است که به‌طور عمده از نیتروژن تشکیل شده و از آن می‌توان برای سنجش میزان فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی عصاره استفاده کرد. برای سنجش میزان جمع‌آوری یا پاکسازی^۷ رادیکال‌های DPPH به‌وسیله عصاره‌های گیاهی، یک میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف نمونه مورد آزمایش به یک میلی‌لیتر از محلول DPPH (۰/۲ میلی‌مولار در متانول) به‌عنوان منبع رادیکال‌های آزاد اضافه شد. پس از آن نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در

1. Ozkan
2. McDonald
3. Chang
4. Sutharut
5. Sudarat
6. 1,1- dipheny-2- picrylhydrazyl
7. Scavenging

دمای آزمایشگاه انکوبه شدند. تبدیل رنگ بنفش به رنگ زرد همراه با کاهش جذب در ۵۱۷ نانومتر رابطه مستقیمی با میزان قدرت پروتون دهنده گی آنتی‌اکسیدان‌ها دارد (بلویس^۱، ۱۹۵۸). سپس در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل PG Instrument LTD T80+ UV/VIS، کشور انگلستان) (مدل PG Instrument LTD T80+ UV/VIS، کشور انگلستان)، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت، و در نهایت از طریق فرمول زیر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH محاسبه گردید (برند-ویلیامز^۲ و همکاران، ۱۹۹۵).

IC50 (%) = (رابطه ۱)

$100 \times \frac{(\text{میزان جذب DPPH})}{(\text{میزان جذب DPPH} + \text{عصاره})} - (\text{میزان جذب DPPH})$

که در آن، IC₅₀ نشان‌دهنده غلظتی از نمونه است که برای پاکسازی ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد DPPH مورد نیاز می‌باشد (بلویس^۳، ۱۹۵۸). هرچه عدد IC₅₀ کمتر باشد نشان‌دهنده توانایی و ظرفیت بالاتر عصاره در پاکسازی رادیکال DPPH می‌باشد (قاسمی پیربلوتی^۴ و همکاران، ۲۰۱۴).

۳.۲.۶. درصد اسانس

برای استخراج اسانس، مقدار ۲۵ گرم از نمونه‌های گیاهی خشک‌شده به‌صورت پودر در آورده شد و در داخل بالن شیشه‌ای ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته و ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و سپس بالن در دستگاه کلونجر قرار داده شد و پس از رسیدن به نقطه جوش دو ساعت و نیم در حرارت ملایم قرار گرفت. اسانس تولیدشده از دستگاه کلونجر به داخل میکروتیوب‌های شیشه‌ای ریخته و بعد از آگیری با سولفات سدیم‌انیدرید، توزین شد و درصد اسانس براساس رابطه (۲) محاسبه گردید (تریت^۵ و همکاران، ۲۰۰۹).

رابطه ۲) $100 \times (\text{وزن خشک گیاه} / \text{وزن اسانس}) = \text{درصد اسانس}$

۳.۲.۷. تجزیه شیمیایی اسانس

پس از تزریق اسانس‌ها به دستگاه کروماتوگراف گازی (GC)^۶ (مدل 7890B، کشور آمریکا) و یافتن مناسب‌ترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون DB-5، جهت دستیابی به بهترین جداسازی، اسانس‌های حاصل با دی‌کلرومتان رقیق شده و به دستگاه کروماتوگراف گازی کوپل‌شده با طیف‌سنج جرمی (GC/MS)^۷ (مدل Single Quadrupole 5977A شرکت Agilent کشور آمریکا) تزریق شد. دمای ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. از گاز حامل هلیوم با سرعت ۱/۱ میلی‌متر بر دقیقه و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت، با دمای منبع یونیزه‌کننده ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد استفاده به‌عمل آمد و در نهایت بعد از تزریق، طیف‌های جرمی و کروماتوگرام‌های مربوطه به‌دست آمد. بعد با استفاده از زمان بازداری، اندیس بازداری کواتس، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در نرم‌افزار SATURN، ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها موردشناسایی کمی و کیفی قرار گرفت. برای محاسبه اندیس‌های بازداری از تزریق هیدروکربن‌های نرمال نه تا ۲۲ کربنه، در شرایط برنامه‌ریزی حرارتی ستون (مشابه با تزریق نمونه) استفاده گردید.

1. Blois
2. Brand-Williamms
3. Blois
4. Ghasemi Pirbalouti
5. Taarit
6. Gas chromatography
7. Gas chromatography/Mass Spectrometry

۳.۳. محاسبات آماری

تجزیه داده‌های حاصل از آزمایش با نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱)، آزمون مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون t و همبستگی بین صفات با نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۷/۰) انجام شد.

۴. یافته‌های پژوهش

۴.۱. صفات مورفولوژیک

براساس نتایج تجزیه واریانس بین تاریخ کشت معمول (شاهد) و کشت تأخیری از نظر صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد میانگره ساقه، عرض پهنک برگ و وزن تر و خشک بوته اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد وجود داشت و از نظر صفات قطر ساقه، طول پهنک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴). مقایسه میانگین نتایج نشان داد صفات عرض پهنک، تعداد انشعابات ساقه، تعداد میانگره‌های ساقه، ارتفاع بوته، وزن تر و وزن خشک بوته در تیمار کشت تأخیری نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۵). در تیمار کشت تأخیری، نشاها تقریباً از ابتدای رشد با دمای بالای محیط و تابش زیاد اوایل تابستان مواجه شدند چراکه حداکثر دما در ماه ژوئیه (دهم تیرماه تا نهم مردادماه) به حداکثر خود (۳۶/۱ درجه سانتی‌گراد) رسید (جدول ۲). هرچند مجموع ساعات آفتابی در این ماه کم‌تر از ماه‌های قبل بود، اما احتمالاً شدت تابش در حداکثر خود بوده که سبب افزایش دما شده است. به‌طور کلی، طول مراحل رشدی گیاهان در مواجهه با افزایش دما، کاهش می‌یابد (حسن^۱ و همکاران، ۲۰۲۱). در پژوهش حاضر نیز گلدهی در تیمار کشت تأخیری، به فاصله کوتاه‌تری پس از کاشت در مقایسه با تاریخ کشت معمول رخ داد که این موضوع بر تولید زیست‌توده تأثیر منفی داشت (جدول ۴). همچنین، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین وزن خشک بوته (زیست‌توده) با ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد میانگره و طول و عرض پهنک وجود داشت (جدول ۶).

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک مورد مطالعه تاریخ کشت معمول و کشت تأخیری

| منابع تغییرات | درجه آزادی | ارتفاع بوته | میانگین مربعات | | | | تعداد شاخه جانبی | تعداد میانگره | قطر ساقه | طول پهنک | عرض پهنک | وزن تر بوته | وزن خشک بوته |
|---------------|------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|----------------------|---------------------|--------------|
| | | | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | | | | | | | |
| بلوک | ۲ | ۱۳/۹۷ ^{ns} | ۴/۳۷ ^{ns} | ۰/۰۴ ^{ns} | ۰/۰۱ ^{ns} | ۰/۰۱ ^{ns} | ۰/۰۱ ^{ns} | ۰/۰۱ ^{ns} | ۰/۰۱ ^{ns} | ۰/۰۱ ^{ns} | ۱۶۲/۸۱ ^{ns} | ۴۹/۵۳ ^{ns} | |
| تیمار | ۱ | ۲۴/۰۰ [*] | ۳۲/۶۶ [*] | ۹/۱۲ [*] | ۰/۰۳ ^{ns} | ۰/۱۹ ^{ns} | ۰/۲۰ [*] | ۲۳۸۵۵/۵۹ [*] | ۳۵۵۹/۴۸ [*] | | | | |
| اشتباه | ۲ | ۰/۷۸ | ۱/۷۱ | ۰/۱۴ | ۰/۰۱ | ۰/۰۳ | ۰/۰۱ | ۳۴۲/۳۸ | ۱۱۷/۰ | | | | |

ns و **: به ترتیب بدون اختلاف معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۵. آزمون t برای صفات مورد بررسی

| صفات | مقدار تفاوت میانگین | t | $Pr > t $ |
|-------------------------|---------------------|-------|------------|
| وزن خشک گیاه (گرم) | ۴۸/۷۱۳ | ۶/۵۳۸ | ۰/۰۰۳ |
| وزن تر گیاه (گرم) | ۱۲۶/۱۱۱ | ۹/۷۱۸ | ۰/۰۰۱ |
| ارتفاع بوته (سانتی‌متر) | ۴/۰ | ۱/۸۰۳ | ۰/۱۴۶ |
| تعداد میانگره ساقه | ۲/۴۶۷ | ۹/۶۹۸ | ۰/۰۰۱ |
| تعداد انشعابات ساقه | ۴/۶۶۶ | ۳/۲۷۱ | ۰/۰۳۱ |
| قطر ساقه (سانتی‌متر) | ۰/۱۴۴ | ۱/۹۶۰ | ۰/۱۲۲ |
| عرض پهنک (سانتی‌متر) | ۰/۳۶۸ | ۷/۸۵۲ | ۰/۰۰۱ |
| طول پهنک (سانتی‌متر) | ۰/۳۵۶ | ۳/۰۲۴ | ۰/۰۳۹ |

جدول ۶. همبستگی بین صفات مورد مطالعه در گیاه مریم‌گلی در تاریخ کشت معمول و کشت تأخیری

| وزن خشک بوته | وزن تر بوته | تعداد میانگه | قطر ساقه | عرض پهنک | طول پهنک | تعداد شاخه جانبی | ارتفاع بوته | IC50 | محتوای آنتوسیانین | محتوای فلاونوئید | محتوای فنل کل | درصد اسانس |
|--------------|-------------|--------------|----------|----------|----------|------------------|-------------|---------|-------------------|------------------|---------------|----------------|
| -.۰۸۸** | -.۰۹۰** | -.۰۹۱** | -.۰۸۵** | -.۰۹۰** | -.۰۸۷** | -.۰۶۸ | -.۰۸۱** | -.۰۹۱** | ۰/۹۴** | ۰/۹۳** | ۰/۷۷* | ۱ درصد اسانس |
| -.۰۹۱** | -.۰۹۴** | -.۰۹۱** | -.۰۴۹ | -.۰۹۳** | -.۰۷۵* | -.۰۸۳** | -.۰۴۶ | -.۰۹۵** | ۰/۹۰** | ۰/۹۳** | ۱ | فنل کل |
| -.۰۹۳** | -.۰۹۶** | -.۰۹۶** | -.۰۷۵* | -.۰۹۸** | -.۰۸۰** | -.۰۸۳** | -.۰۶۵ | -.۰۹۸** | ۰/۹۵** | ۱ | ۱ | فلاونوئید |
| -.۰۹۷** | -.۰۹۷** | -.۰۹۸** | -.۰۷۳* | -.۰۹۳** | -.۰۸۷** | -.۰۷۵* | -.۰۷۸* | -.۰۹۷** | ۱ | ۱ | ۱ | آنتوسیانین |
| ۰/۹۳** | ۰/۹۹** | ۰/۹۸** | ۰/۷۳* | ۰/۹۸** | ۰/۷۹* | ۰/۷۹* | ۰/۶۷ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | IC50 |
| ۰/۷۵* | ۰/۷۱* | ۰/۷۵* | ۰/۸۳** | ۰/۵۹ | ۰/۶۳ | ۰/۳۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ارتفاع بوته |
| ۰/۶۸ | ۰/۷۴* | ۰/۷۵* | ۰/۳۴ | ۰/۷۷* | ۰/۷۳* | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | شاخه‌های جانبی |
| ۰/۷۵* | ۰/۷۷* | ۰/۷۶* | ۰/۵۱ | ۰/۷۷* | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | طول پهنک |
| ۰/۹۳** | ۰/۹۷** | ۰/۹۴** | ۰/۷۴* | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | عرض پهنک |
| ۰/۷۳* | ۰/۷۴* | ۰/۷۶* | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | قطر ساقه |
| ۰/۹۸** | ۰/۹۹** | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | تعداد میانگه |
| ۰/۹۹** | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | وزن تر بوته |
| ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | ۱ | وزن خشک بوته |

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

۲.۴. محتوای فنل کل

نتایج نشان داد کشت تأخیری به‌طور معنی‌داری (در سطح احتمال ۵ درصد) سبب افزایش ۲۵/۶۸ درصدی محتوای فنل کل نسبت به شرایط شاهد شد (جدول‌های ۷ و ۸). نتایج مطالعات مختلف نشان داده است که کمبود آب، اغلب محتوای فنل کل و سایر متابولیت‌های ثانویه را در سلول‌های گیاهی تغییر می‌دهد (امامی بیستگانی^۱ و همکاران، ۲۰۱۷؛ توحیدی^۲ و همکاران، ۲۰۱۹). در این راستا افزایش محتوای فنل کل در آویشن دنایی^۳ (امامی بیستگانی^۱ و همکاران، ۲۰۱۷) و زیره سبز^۴ (ادیب^۵ و همکاران، ۲۰۲۰) و کاهش آن در گیاه سالویا دولومیتیکا^۶ (کاسر^۷ و همکاران، ۲۰۱۹) گزارش شده است. به‌طور کلی بین محتوای فنل کل و وزن خشک بوته همبستگی منفی و معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۶).

جدول ۷. نتایج تجزیه واریانس صفات فیتوشیمیایی مورد مطالعه تحت شرایط تاریخ کشت معمول و کشت تأخیری

| منابع تغییرات | درجه آزادی | محتوای فنل کل | محتوای فلاونوئید | محتوای آنتوسیانین | IC50 | درصد اسانس |
|---------------|------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| بلوک | ۲ | ۱۴/۴۱ ^{ns} | ۰/۱۲ ^{ns} | ۰/۰۱ ^{ns} | ۲/۸۱ ^{ns} | ۰/۰۰۱ ^{ns} |
| تیمار | ۱ | ۳۹۸/۵۳* | ۲۳۹/۷۷** | ۰/۷۶** | ۸۴۴/۱۹** | ۰/۰۰۸* |
| اشتباه | ۲ | ۷/۴۳ | ۲/۱۵ | ۰/۰۰۱ | ۴/۰۰ | ۰/۰۰۱ |

ns و **: به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

1. Emami Bistgani
2. Tohidi
3. *Thymus daenensis* Celak
4. *Cuminum cuminum* L.
5. Adib
6. *Salvia dolomitica* Codd
7. Caser

جدول ۸. آزمون t برای صفات موردبررسی

| صفات | مقدار تفاوت میانگین | t | Pr > t |
|----------------------------------------|---------------------|----------|---------|
| فنل کل (میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم) | - ۱۶/۳۰۳ | - ۶/۰۴۴ | ۰/۰۰۴ |
| درصد اسانس | - ۰/۳۴۷ | - ۴/۷۹۴ | ۰/۰۰۹ |
| IC ₅₀ (درصد) | ۲۳/۷۲۲ | ۱۵/۷۴۵ | ۰/۰۰۰۱ |
| فلاونوئیدها (میلی‌گرم کوئرستین بر گرم) | - ۱۲/۳۸۱ | - ۱۴/۲۱۲ | ۰/۰۰۰۱ |
| آنتوسیانین (میلی‌گرم بر گرم) | - ۰/۷۱۳ | - ۹/۱۳۳ | ۰/۰۰۱ |

۳.۴. محتوای فلاونوئیدها

کشت تأخیری تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر محتوای فلاونوئیدها داشت، به طوری که منجر به افزایش ۴۴/۵۶ درصدی نسبت به شاهد گردید (جدول‌های ۷ و ۸). همان‌طور که در جدول (۶) نشان داده شده است، محتوای فلاونوئیدها با محتوای فنل کل همبستگی مثبت و با وزن خشک بوته همبستگی منفی داشت.

۴.۴. محتوای آنتوسیانین

نتایج آزمایش تأثیر معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد بر محتوای آنتوسیانین نشان داد، به طوری که کشت تأخیری سبب افزایش ۸۵/۷۱ درصدی آنتوسیانین نسبت به شرایط شاهد شد (جدول‌های ۷ و ۸).

۵.۴. سنجش میزان پاکسازی رادیکال‌های آزاد (DPPH)^۱

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، بین تیمار کشت تأخیری و شاهد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد از نظر IC₅₀ وجود داشت به طوری که کشت تأخیری موجب کاهش ۲۸/۰۸ درصدی IC₅₀ شد که نشان‌دهنده افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه است (جدول‌های ۷ و ۸). بین IC₅₀ و محتوای فنل کل و فلاونوئیدها و آنتوسیانین همبستگی منفی و معنی‌داری وجود داشت (جدول ۶).

۶.۴. درصد اسانس

بر اساس جدول تجزیه واریانس، در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری بین تیمار کشت تأخیری و شاهد از نظر درصد اسانس وجود داشت (جدول ۷)، به طوری که تنش گرمایی در کشت تأخیری باعث افزایش ۸۰ درصدی در درصد اسانس نسبت به شاهد گردید (جدول ۸). گزارش شده است که ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده اسانس گیاه مریم‌گلی مانند α-توجون و کامفور در شرایط تنش افزایش پیدا کرد (بتائیب^۲ و همکاران، ۲۰۰۹).

۷.۴. ترکیبات اسانس

تأثیر کشت تأخیری بر ترکیب اسانس گیاه دارویی مریم‌گلی در جدول (۹) نشان داده شده است. به‌طور کلی ۲۲ نوع ترکیب فرار از جمله α-توجون، α-پینن، کامفن، β-پینن، α-۸-سینئول، α-توجون، β-توجون، کامفور، بورنتول، بورنیل استات، کارواکرول، α-هومولن، ترانس کاریوفیلین و وریدیفلورول در اسانس گیاه مریم‌گلی شناسایی شد. در تیمار کشت تأخیری و شاهد، بیش‌ترین ترکیب مربوط به آلفا-توجون، کامفور و بتا-پینن بود. در پاسخ به دمای بالای محیط ناشی از

1. 1,1- dipheny-2- picrylhydrazyl
2. Bettaieb

کشت تأخیری، برخی از اجزای اسانس افزایش و برخی کاهش یافتند و برخی تغییری نکردند. به عنوان مثال، در شرایط کشت تأخیری میزان α -توجون و β -توجون، β -پینن، بورنتول و وریدیفلورول افزایش و میزان کامفور، α -سینئول، α -پینن و α -توجون کاهش یافت. در بین این ترکیبات، بیش‌ترین تغییر در α -توجن، β -پینن، α -سینئول، α -توجون، β -توجون و کامفور مشاهده شد.

جدول ۹. ترکیبات اسانس گیاه مریم‌گلی در تاریخ کشت معمول و کشت تأخیری

| تعداد | نام ترکیب | RI | تاریخ کشت معمول (شاهد) | کشت تأخیری |
|-------|--------------------|------|------------------------|------------|
| ۱ | cis-سالون | ۸۴۵ | ۰/۷۷۶ | ۰/۱۲۸ |
| ۲ | α -توجون | ۹۲۰ | ۲/۰۵۸ | ۰/۸۸۰ |
| ۳ | α -پینن | ۹۳۵ | ۳/۴۱۰ | ۲/۹۰۶ |
| ۴ | سایپین | ۹۳۹ | ۰/۷۷۶ | ۰/۷۸۸ |
| ۵ | کامفن | ۹۴۵ | ۱/۰۱۹ | ۱/۲۴۴ |
| ۶ | β -پینن | ۹۷۵ | ۷/۵۳۲ | ۹/۶۴۶ |
| ۷ | p-سیمن | ۹۸۵ | ۰/۴۰۳ | ۰/۳۰۰ |
| ۸ | cis-سایپین هیدرات | ۹۹۵ | ۰/۵۰۲ | ۰/۴۴۰ |
| ۹ | α -سینئول | ۱۰۲۶ | ۲/۵۳۰ | ۰/۴۱۱ |
| ۱۰ | α -تریپنولن | ۱۰۲۸ | ۰/۲۱۰ | ۰/۲۹۰ |
| ۱۱ | α -توجون | ۱۱۰۳ | ۳۶/۷۹۱ | ۴۵/۵۰۸ |
| ۱۲ | β -توجون | ۱۱۱۲ | ۶/۸۵۴ | ۷/۹۰۰ |
| ۱۳ | کامفور | ۱۱۴۰ | ۱۵/۶۹۶ | ۱۳/۱۹۸ |
| ۱۴ | بورنتول | ۱۱۶۷ | ۲/۸۶۰ | ۳/۹۳۷ |
| ۱۵ | تریپن-۴-آل | ۱۱۸۴ | ۰/۷۵۰ | ۰/۳۸۴ |
| ۱۶ | بورنیل استات | ۱۲۸۶ | ۱/۴۷۷ | ۰/۴۲۸ |
| ۱۷ | کارواکرول | ۱۳۸۶ | ۲/۲۵۴ | ۰/۰۸۹ |
| ۱۸ | α -هومولن | ۱۴۵۲ | ۲/۲۶۷ | ۱/۹۶۷ |
| ۱۹ | δ -کادینن | ۱۵۱۸ | ۰/۴۹۷ | ۰/۲۱۶ |
| ۲۰ | ترانس کاربوفیلن | ۱۵۸۰ | ۳/۱۷۹ | ۲/۲۲۰ |
| ۲۱ | وریدیفلورول | ۱۵۹۱ | ۲/۲۵۱ | ۳/۳۰۰ |
| ۲۲ | مانول | ۲۰۵۰ | ۰/۸۰۹ | ۰/۹۰۳ |
| | مجموع | | ۹۵/۱۸۹۵ | ۹۷/۰۸۱۵ |

۵. بحث

در پژوهش حاضر، دمای بالای محیط ناشی از کشت تأخیری، اکثر صفات مورفولوژیک مانند ارتفاع گیاه، وزن تر بوته، وزن خشک بوته، تعداد شاخه جانبی، تعداد میان گره و عرض پهنک را به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۵). بین وزن خشک بوته با صفات طول و عرض پهنک، ارتفاع بوته و قطر ساقه همبستگی مثبتی وجود داشت (جدول ۶) که نشان می‌دهد با کاهش یافتن هر یک از این صفات در شرایط تنش، وزن خشک بوته نیز کاهش خواهد یافت. یکی از اولین نشانه‌های تنش گرمایی، کاهش تورژسانس و در نتیجه کاهش رشد و توسعه سلول به ویژه در ساقه‌ها و برگ‌هاست. در این راستا گزارش شده است تنش موجب کاهش ارتفاع و نازکی ساقه و کوچک‌تر شدن برگ‌های مریم‌گلی شد (بتایب^۱ و همکاران، ۲۰۰۹). هم‌چنین با انتقال بوته‌های باقلا^۲ فقط به مدت ۴۸ ساعت از دمای ۲۵ به ۳۷

1. Bettaieb
2. *Vicia faba* L.

درجه سانتی‌گراد، صفاتی نظیر ارتفاع بوته، وزن تر و وزن خشک بوته، سطح برگ و محتوای رطوبت نسبی برگ و کلروفیل کل به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد کاهش یافت و نشت الکترولیت‌ها و مقدار مالون‌دی‌آلدهید افزایش یافت (صدیقو^۱ و همکاران، ۲۰۱۵). همچنین با انتقال بوته‌های نعنای فلفلی^۲ به‌مدت هفت روز از دمای ۲۲ درجه به ۳۵ درجه سانتی‌گراد، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک شاخساره و وزن تر و خشک ریشه به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد کاهش یافت (آلهایتلول^۳ و همکاران، ۲۰۱۹). کاهش وزن خشک بوته را می‌توان به کاهش فتوسنتز نسبت داد. کاهش فتوسنتز در شرایط تنش به‌علت بسته‌شدن روزنه‌ها و یا کاهش سطح برگ‌ها رخ می‌دهد. از آنجایی‌که میزان بهینه سطح برگ برای فتوسنتز و تولید ماده خشک لازم است و تنش نیز باعث کاهش رشد برگ‌ها و در نتیجه کاهش سطح برگ‌ها در گیاه می‌گردد، بنابراین در شرایط تنش، فتوسنتز و تولید ماده خشک در گیاهان کاهش می‌یابد. همچنین کاهش وزن خشک گیاه را می‌توان به کاهش تثبیت کربن نسبت داد. در شرایط تنش به‌علت صدمات متابولیکی و تغییر سطح متابولیت‌های مربوطه، تثبیت دی‌اکسیدکربن کاهش می‌یابد. کاهش پارامترهای رشدی نظیر وزن خشک بوته، سطح برگ‌ها و تعداد برگ‌ها به‌عنوان سازوکار سازگاری برای کاهش اتلاف آب از برگ‌ها در شرایط تنش در نظر گرفته می‌شود.

در پژوهش حاضر، میزان فنل کل، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها در شرایط کشت تأخیری نسبت به شاهد به‌ترتیب ۲۵، ۴۴ و ۸۵ درصد افزایش یافت (جدول ۸). به‌طور کلی، تولید فنل در بافت‌های گیاهی تحت تأثیر تنش دچار نوساناتی می‌شود که مطالعات نشان می‌دهد افزایش مقدار این ترکیبات احتمالاً به‌دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در برابر انواع اکسیژن فعال می‌باشد (امامی بیستگانی^۴ و همکاران، ۲۰۱۷؛ توحیدی^۵ و همکاران، ۲۰۱۹). در شرایط تنش گرمایی، گونه‌های فعال اکسیژن تولید و منجر به تنش اکسیداتیو خواهد شد. ایجاد چنین شرایطی، باعث تأثیر بر فتوسنتز و درنهایت کاهش سرعت آن خواهد شد. در این شرایط تولید ترکیبات فنلی در گیاه افزایش می‌یابد. ترکیبات فنلی به‌دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، می‌توانند از بروز تنش اکسیداتیو جلوگیری و یا اثرات منفی ناشی از آن را بر سلول‌های گیاهی کاهش دهند. همچنین گیاهان در پاسخ به شرایط سخت محیطی، متابولیت‌های ثانویه پلی‌فنلی مانند فلاونوئیدها را تولید می‌کنند، تا بتوانند به‌واسطه تعدیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در بافت‌های گیاهی، نقش دفاعی خود را به‌عنوان آنتی‌اکسیدان ایفا کنند (خالید^۶ و همکاران، ۲۰۱۹). با این حال، تنش گرمایی در نعنای سبب کاهش مقدار فنل‌ها و فلاونوئیدها شد و در مقابل ترکیبات محافظتی دیگری نظیر پرولین، مانیتول، ترپنوئیدها، تانن‌ها و قندهای محلول افزایش یافتند (آلهایتلول^۵ و همکاران، ۲۰۱۹). جعفری^۷ و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی بر روی گیاه لابیسیا پامیلا^۸ اظهار داشتند که افزایش محتوای فلاونوئیدها در شرایط تنش، می‌تواند برای جبران نمودن کاهش محتوای کلروفیل در آن شرایط باشد. همچنین افزایش محتوای فلاونوئیدها در گیاه زیره سبز^۹ (آلینیا^{۱۰} و همکاران، ۲۰۱۶) و کاهش آن در گیاه سالویا دولومیتیکا^{۱۱} (کاسر^{۱۲} و همکاران، ۲۰۱۹) در پاسخ به شرایط تنش گزارش شده است.

1. Siddiqui
2. *Mentha piperita*
3. Alhathloul
4. Emami Bistgani
5. Tohidi
6. Khalid
7. Jaafar
8. *Labisia pumila* Benth.
9. *Cuminum cyminum* L.
10. Alinia
11. *Salvia dolomitica* Codd.
12. Caser

از طرف دیگر، آنتوسیانین‌ها که رنگدانه‌های محلول در آب و جزو ترکیبات فنلی طبیعی هستند، می‌توانند به‌عنوان مهارکننده‌های گونه‌های فعال اکسیژن عمل کنند تا از طریق سم‌زدایی و پاکسازی آن‌ها، از گیاهان در برابر تنش‌های محیطی مانند اشعه ماورای بنفش، خشکی و درجه حرارت پایین حفاظت کنند (جعفر^۱ و همکاران، ۲۰۱۲). برخی مطالعات نشان داده است که محتوی آنتوسیانین‌ها تحت شرایط تنش افزایش پیدا می‌کند و این افزایش ممکن است ناشی از کاهش محتوای کلروفیل کل به‌عنوان سیگنالی برای القای بیوسنتز آنتوسیانین باشد (جعفر^۹ و همکاران، ۲۰۱۲). افزایش محتوای آنتوسیانین در گیاه زیره‌سبز (آلینیا^۳ و همکاران، ۲۰۱۶)، و گیاه شنبلیله^۲ (باغبانی-آرانی^۳ و همکاران، ۲۰۱۷) نیز تحت شرایط تنش گزارش شده است.

در پژوهش حاضر، میزان IC₅₀ در شرایط کشت تأخیری نسبت به شاهد ۳۹ درصد افزایش یافت (جدول ۷) که بیانگر بهبود خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره تحت شرایط دمای بالای ناشی از کشت تأخیری می‌باشد. در پژوهشی که بر روی گیاه دارویی مرزنجوش بخارایی^۴ انجام گرفت مشخص گردید با افزایش شدت تنش خشکی از ۱۰۰ به ۴۰ درصد ظرفیت زراعی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی تا ۷۷/۳۶ درصد افزایش یافت (مینایی^۵ و همکاران، ۲۰۱۹). با این حال در پاسخ به تنش گرمایی در نعنای (انتقال به دمای ۳۵ درجه به مدت هفت روز)، خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کاهش یافت که علت آن نیز کاهش یافتن مقدار ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در مقایسه با شرایط بدون تنش بود (آلهایتلول^۶ و همکاران، ۲۰۱۹). بین میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پژوهش حاضر، همبستگی مثبت و معنی‌داری (در سطح احتمال یک درصد) وجود داشت (جدول ۶). در این زمینه خبییا^۷ و همکاران (۲۰۲۱) نیز با استخراج ترکیبات فنلی از مریم‌گلی که از دو منطقه از کشور مراکش جمع‌آوری شده بود، گزارش دادند همبستگی قوی بین میزان ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در این گیاه وجود داشت. لذا در پژوهش حاضر با توجه به افزایش میزان ترکیبات فنلی در شرایط دمای بالا، به نظر می‌رسد یکی از دلایل کاهش IC₅₀ (افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی) در این شرایط، افزایش تولید فنل‌ها بوده است. با این حال، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی بستگی به ساختار و به‌ویژه تعداد و جایگاه‌های گروه هیدروکسیل روی حلقه آروماتیک آن‌ها دارد (بالسوندرام^۸ و همکاران، ۲۰۰۶) و لزوماً و همیشه بین مقدار پلی‌فنل‌ها با فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه همبستگی وجود ندارد (مور^۹ و همکاران، ۲۰۰۱). وجود یا عدم وجود همبستگی بین ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در پژوهش‌های مختلف می‌تواند ریشه در این موضوع داشته باشد که احتمالاً روش استخراج عصاره و حلال مورد استفاده و حتی دمای حلال می‌تواند در تنوع بخشیدن به نوع و مقدار ترکیبات فنلی استخراج شده از گیاه دخیل باشند (خبییا^۷ و همکاران، ۲۰۲۱؛ جاکولجویچ^{۱۰} و همکاران، ۲۰۱۹). هم‌چنین احتمالاً تنش‌های مختلف و شرایط اقلیمی که گیاه در هر پژوهشی در آن رشد یافته است نیز ممکن است موجب تحریک سنتز ترکیبات فنلی مختلف با ساختارهای متنوعی در گیاه شوند که در نهایت میزان همبستگی ترکیبات فنلی کل با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره را تحت تأثیر قرار می‌دهند. علاوه بر محتوای فنل کل، همانطور که در جدول (۶) نشان داده شده است، همبستگی منفی و معنی‌داری

1. Jaafar
2. *Trigonella foenum-graceum L.*
3. Baghbani-Arani
4. *Origanum vulgare L. ssp. gracile*
5. Minaei
6. Alhailoul
7. Khiya
8. Balasundram
9. Moure
10. Jakovljević

(در سطح یک درصد) بین IC_{50} با فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و درصد اسانس مشاهده شد که نشان می‌دهد ترکیبات مذکور نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی در عصاره مریم‌گلی داشته‌اند.

در پژوهش حاضر، درصد اسانس در کشت تأخیری نسبت به شاهد ۸۰ درصد افزایش یافت (جدول ۸). به‌طور کلی افزایش میزان اسانس در گیاهان تنش دیده می‌تواند به‌علت کاهش زیست‌توده گیاه و یا افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در تولید اجزای اسانس یا هر دو مورد باشد. هنگامی که گیاه با شرایط نامساعد محیطی از جمله دمای بالا و تشعشع زیاد مواجه می‌گردد، به‌منظور جلوگیری از اکسیداسیون درون سلولی، تولید مواد مؤثره را افزایش خواهد داد، زیرا تحت این شرایط، در سلول‌های گیاهی ممکن است گونه‌های فعال اکسیژن تولید و باعث تخریب رنگدانه‌های فتوسنتزی و همچنین آسیب به سایر مولکول‌های زیستی از جمله لیپیدهای غشایی، پروتئین‌ها و سایر ترکیبات گردد که در نهایت می‌تواند اثرات منفی و مخربی بر رشد و عملکرد گیاهان داشته باشد (سلماران^۱ و همکاران، ۲۰۱۸). گیاهان دارویی در شرایط تنش، میزان تخصیص کربن تثبیت‌شده حاصل از فتوسنتز را بیش‌تر به تولید و بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، ترکیبات فنلی و محتوای اسانس اختصاص خواهند داد، تا بتوانند ضمن پاکسازی رادیکال‌های آزاد حاصل از این شرایط، میزان تحمل به شرایط تنش را افزایش دهند (عسگری^۲ و همکاران، ۲۰۱۸). همچنین گزارش شده است که در شرایط تنش، گیاه برای ممانعت از انحراف الکترون‌ها در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی، تولید ترکیبات حلقوی آروماتیک به‌شدت احیا شده نظیر واحدهای ایزوپرن که در نهایت برخی از اجزای اسانس را می‌سازند را افزایش می‌دهند. با توجه به این‌که این ترکیبات فرار هستند، با متصاعد شدن این ترکیبات از گیاه، بخشی از انرژی مازاد فتوسنتزی نیز می‌تواند از این رهگذر پراکنده و دفع شود. با این‌حال، افزایش بیوسنتز اسانس تحت شرایط تنش فقط و تنها به‌خاطر تغییر غیرفعال^۳ جریان کربن به سمت تولید ترکیبات حلقوی آروماتیک نیست بلکه به‌خاطر بیش بیان فعالانه^۴ ژن‌های دخیل در سنتز ترکیبات حلقوی آروماتیک نیز است (رادوان^۵ و همکاران، ۲۰۱۷). در پژوهش حاضر از یک طرف ارتفاع گیاه، عرض برگ، وزن تر و خشک شاخساره در کشت تأخیری کاهش یافته و از طرف دیگر شدت نور و دما در ماه‌های تیر و مرداد به حداکثر خود رسیده است. همچنین همبستگی منفی و معنی‌داری نیز بین وزن تر و خشک بوته و طول و عرض پهنک با درصد اسانس و سایر ترکیبات فیتوشیمیایی اندازه‌گیری شده وجود داشت (جدول ۶). لذا افزایش میزان اسانس در کشت تأخیری احتمالاً ناشی از کاهش زیست‌توده و همچنین افزایش سنتز اجزای اسانس بوده است که در خصوص مورد دوم لازم است پژوهش‌های تکمیلی صورت پذیرد.

در پاسخ به دمای بالای محیط ناشی از کشت تأخیری، مقدار برخی از اجزای اسانس افزایش و مقدار برخی کاهش یافت. به‌عنوان مثال، در کشت تأخیری میزان α -توجون و β -توجون، β -پینین، بورنئول و وریدیفلورل در اسانس به‌ترتیب به میزان ۲۳، ۱۵، ۲۸، ۳۷ و ۴۶ درصد افزایش یافتند. در این زمینه گزارش شده است که در بوته‌های مریم‌گلی که تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته‌اند نسبت به گیاهان شاهد، مقدار α و β -توجون و کامفور و همچنین میزان بیان ژن‌های کلیدی در سنتز آن‌ها یعنی به‌ترتیب سابینین سینتاز و بورنیل دی‌فسفات سینتاز افزایش یافت و از طرف دیگر مقدار ۸،۱-سینئول و همچنین بیان ژن سینئول سینتاز کاهش یافت (رادوان^۳ و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین در پاسخ به تنش شوری (NaCl) گزارش شده است درصد α -پینین، کامفور، کامفن و β -توجون در اسانس مریم‌گلی افزایش و درصد

1. Selmar
2. Askary
3. Passive shift
4. Active up-regulation
5. Radwan

α -توجون کاهش یافت و ۸،۱-سینئول تحت تأثیر تنش شوری قرار نگرفت (کولاک^۱ و همکاران، ۲۰۲۰). بررسی ترکیبات اسانس گیاه مریم‌گلی تحت شرایط تنش کم‌آبی در سه سطح رطوبتی ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد)، ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش متوسط) و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید) نیز نشان داد که ترکیبات α -پینن، کامفن، ۸،۱-سینئول، لینالول، ترپینن-۴-آل و α -هومولن موجود در اسانس، در شرایط تنش متوسط افزایش و سپس در شرایط تنش شدید خشکی، کاهش پیدا کردند. در حالی که α -توجون موجود در اسانس، با کاهش رطوبت خاک، روند کاهشی را نشان داد (بتائب^۲ و همکاران، ۲۰۰۹). مطالعات نشان می‌دهد در طیف وسیعی از گونه‌های گیاهان دارویی در پاسخ به شرایط تنش، تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و متابولیتی بسیاری اتفاق می‌افتد. تغییر در میزان اسانس و اجزای آن از جمله مواردی است که ممکن است تحت تأثیر تنش قرار بگیرد. گیاهان قادرند مسیرهای بیوشیمیایی کلیدی خود را در پاسخ به تغییرات محیطی و به‌منظور کاهش اثرات مخرب تنش تعدیل و اصلاح نمایند. بنابراین تغییر در سنتز یا تجمع برخی از متابولیت‌های اولیه و ثانویه و تغییر در نوع و میزان ترکیب‌های موجود در اسانس ممکن است روی دهد (امامی بیستگانی^۳ و همکاران، ۲۰۱۷).

۶. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

در کشت تأخیری، بوته‌های مریم‌گلی در بخش بیش‌تری از دوره رشد خود در مقایسه با شاهد در معرض دمای بالا و شدت نور زیاد بودند و به‌علت کاهش طول دوره رشد، زیست‌توده گیاه کاهش و در مقابل نسبت متابولیت‌های ثانویه به ماده خشک افزایش یافت. لذا احتمالاً از مزایای کشت تأخیری مریم‌گلی در منطقه مشکین‌شهر این است که به‌علت کشت دیرتر و برداشت زودتر، آب و نهاده‌های زراعی کم‌تری مصرف می‌شود. از طرف دیگر به‌نظر می‌رسد در پاسخ به افزایش دما و شدت تشعشع در آینده، احتمالاً دست‌کم مقدار متابولیت‌های ثانویه در واحد سطح در مریم‌گلی تغییر محسوسی نخواهد کرد. با این‌حال، باید توجه داشت که افزایش دمای هوا ناشی از گرمایش جهانی در درجه اول به‌علت افزایش غلظت CO_2 اتمسفر است.

برای پیش‌بینی دقیق‌تر اثر گرمایش جهانی در آینده بر گیاهان دارویی پیشنهاد می‌شود همزمان با افزایش دما، افزایش میزان CO_2 در مجاورت گیاه و در شرایط کنترل شده نیز به‌عنوان یک فاکتور اعمال شود. با توجه به این‌که مریم‌گلی گیاهی C_3 است، ممکن است با افزایش CO_2 محیط، تنفس نوری آن کاهش یافته و بخشی از کاهش رشد و تولید زیست‌توده گیاه ناشی از افزایش دما جبران شود که این موضوع نیاز به پژوهش‌های تکمیلی بیش‌تری دارد.

۷. تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان و دانشگاه محقق اردبیلی برای حمایت‌های لازم از این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. منابع

مظفریان، ولی‌الله (۱۳۹۴). شناخت گیاهان دارویی و معطر ایران. چاپ چهارم. تهران: انتشارات فرهنگ معاصر.

References

- Adib, S. S., Dehaghi, M. A., Rezazadeh, A., & Najji, A. (2020). Evaluation of sulfur and foliar application of Zn and Fe on yield and biochemical factors of cumin (*Cuminum cyminum* L.) under irrigation regimes. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 9(2), 161-170.
- Alhaithloul, H. A., Soliman, M. H., Ameta, K. L., El-Esawi, M. A., & Elkelish, A. (2019). Changes in ecophysiology, osmolytes, and secondary metabolites of the medicinal plants of *Mentha piperita* and *Catharanthus roseus* subjected to drought and heat stress. *Biomolecules*, 10(1), 43.
- Askary, M., Behdani, M. A., Parsa, S., Mahmoodi, S., & Jamialahmadi, M. (2018). Water stress and manure application affect the quantity and quality of essential oil of *Thymus daenensis* and *Thymus vulgaris*. *Industrial Crops and Products*, 111, 336-344.
- Assaggaf, H. M., Naceiri Mrabti, H., Rajab, B. S., Attar, A. A., Alyamani, R. A., Hamed, M., ... & Bouyahya, A. (2022). Chemical analysis and investigation of biological effects of *Salvia officinalis* essential oils at three phenological stages. *Molecules*, 27(16), 1-16.
- Baghbani-Arani, A., Modarres-Sanavy, S. A. M., Mashhadi-Akbar-Boojar, M., & Mokhtassi-Bidgoli, A. (2017). Towards improving the agronomic performance, chlorophyll fluorescence parameters and pigments in fenugreek using zeolite and vermicompost under deficit water stress. *Industrial Crops and Products*, 109, 346-357.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203.
- Ben Mariem, S., Soba, D., Zhou, B., Loladze, I., Morales, F., & Aranjuelo, I. (2021). Climate change, crop yields, and grain quality of C3 cereals: A meta-analysis of (CO₂), temperature, and drought effects. *Plants*, 10(6), 1052.
- Bettaieb, I., Zakhama, N., Wannas, W. A., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition. *Scientia Horticulturae*, 120(2), 271-275.
- Bistgani, Z. E., Siadat, S. A., Bakhshandeh, A., Pirbalouti, A. G., & Hashemi, M. (2017). Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *The Crop Journal*, 5(5), 407-415.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Caser, M., Chitarra, W., D'Angiolillo, F., Perrone, I., Demasi, S., Lovisollo, C., & Scariot, V. (2019). Drought stress adaptation modulates plant secondary metabolite production in *Salvia dolomitica* Codd. *Industrial Crops and Products*, 129, 85-96.
- Ghasemi Pirbalouti, A., Rahmani Samani, M., Hashemi, M., & Zeinali, H. (2014). Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under reduced irrigation. *Plant Growth Regulation*, 72(3), 289-301.
- Hamidpour, M., Hamidpour, R., Hamidpour, S., & Shahlari, M. (2014). Chemistry, pharmacology, and medicinal property of sage (*Salvia*) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease, and cancer. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 4(2), 82-88.
- Harish, B. S., Dandin, S. B., Umesha, K., & Sasanur, A. (2012). Impact of climate change on Medicinal Plants—A review. *Ancient Science of Life*, 32(Suppl 1), S23.
- Hassan, M. U., Chattha, M. U., Khan, I., Chattha, M. B., Barbanti, L., Aamer, M., & Aslam, M. T. (2021). Heat stress in cultivated plants: Nature, impact, mechanisms, and mitigation strategies-A review. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 155(2), 211-234.
- Hazrati, S., Beidaghi, P., Beyraghdar Kashkooli, A., Hosseini, S. J., & Nicola, S. (2022). Effect of harvesting time variations on essential oil yield and composition of Sage (*Salvia officinalis*). *Horticulturae*, 8(2), 149.

- Heydari, M., Zanfardino, A., Taleei, A., Shahnejat Bushehri, A. A., Hadian, J., Maresca, V., & Rigano, D. (2018). Effect of heat stress on yield, monoterpene content and antibacterial activity of essential oils of *Mentha x piperita* var. Mitcham and *Mentha arvensis* var. piperascens. *Molecules*, 23(8), 1903.
- Isah, T. (2019). Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*, 52.
- Ivanitskikh, A. S., & Tarakanov, I. G. (2014). Effect of light spectral quality on essential oil components in *Ocimum basilicum* and *Salvia officinalis* plants. *International Journal of Secondary Metabolite*, 1(1), 19.
- Jaafar, H. Z., Ibrahim, M. H., & Fakri, N. F. M. (2012). Impact of soil field water capacity on secondary metabolites, phenylalanine ammonia-lyase (PAL), malondialdehyde (MDA) and photosynthetic responses of Malaysian Kacip Fatimah (*Labisia pumila* Benth). *Molecules*, 17(6), 7305-7322.
- Jakovljević, M., Jokić, S., Molnar, M., Jašić, M., Babić, J., Jukić, H., & Banjari, I. (2019). Bioactive profile of various *Salvia officinalis* L. preparations. *Plants*, 8(3), 55.
- Khalid, M., Bilal, M., & Huang, D. F. (2019). Role of flavonoids in plant interactions with the environment and against human pathogens-A review. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(1), 211-230.
- Khiya, Z., Oualcadi, Y., Gamar, A., Berrekhis, F., Zair, T., & Hilali, F. E. (2021). Correlation of total polyphenolic content with antioxidant activity of hydromethanolic extract and their fractions of the *Salvia officinalis* leaves from different regions of Morocco. *Journal of Chemistry*, 2021, 1-11.
- Kulak, M., Gul, F., & Sekeroglu, N. (2020). Changes in growth parameter and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in response to various salt stresses. *Industrial Crops and products*, 145, 112078.
- Lin, K. H., Lin, T. Y., Wu, C. W., & Chang, Y. S. (2021). Protective effects of salicylic acid and calcium chloride on sage plants (*Salvia officinalis* L. and *Salvia elegans* Vahl) under high-temperature stress. *Plants*, 10(10), 2110.
- Lopresti, A. L. (2017). Salvia (Sage): A review of its potential cognitive-enhancing and protective effects. *Drugs in R&D*, 17(1), 53-64.
- McDonald, S., Prenzler, P. D., Antolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73(1), 73-84.
- Minaei, A., Hassani, A., Nazemiyeh, H., & Besharat, S. (2019). Effect of drought stress on some morphophysiological and phytochemical characteristics of oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. gracile). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 35(2), 252-265.
- Mot, M. D., Gavrilas, S., Lupitu, A. I., Moisa, C., Chambre, D., Tit, D. M., & Bungau, S. G. (2022). *Salvia officinalis* L. essential oil: Characterization, antioxidant properties, and the effects of aromatherapy in adult patients. *Antioxidants*, 11(5), 808.
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., Nunez, M. J., & Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145-171.
- Mozaffarian, V. (2015). *Identification of Medicinal and Aromatic Plants of Iran*. Tehran: Farhang Moaser Press. (In Persian).
- Ozkan, G., Sagdic, O., Ekici, L., Ozturk, I., & Ozcan, M. M. (2007). Phenolic compounds of *Origanum sipyleum* L. extract, and its antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Food Lipids*, 14(2), 157-169.
- Selmar, D., Kleinwächter, M., Abouzeid, S., Yahyazadeh, M., & Nowak, M. (2017). The impact of drought stress on the quality of spice and medicinal plants. *Medicinal Plants and Environmental Challenges*, 159-175.
- Sharifi-Rad, M., Ozcelik, B., Altın, G., Daşkaya-Dikmen, C., Martorell, M., Ramírez-Alarcón, K., & Sharifi-Rad, J. (2018). Salvia spp. plants-from farm to food applications and phytopharmacotherapy. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 242-263.
- Siddiqui, M. H., Al-Khaishany, M. Y., Al-Qutami, M. A., Al-Whaibi, M. H., Grover, A., Ali, H. M., & Al-Wahibi, M. S. (2015). Morphological and physiological characterization of different genotypes of faba bean under heat stress. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(5), 656-663.
- Sutharut, J., & Sudarat, J. (2012). Total anthocyanin content and antioxidant activity of germinated colored rice. *International Food Research Journal*, 19(1), 215-221.
- Taarit, M. B., Msaada, K., Hosni, K., Hammami, M., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2009). Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. *Industrial Crops and Products*, 30(3), 333-337.
- Tohidi, B., Rahimmalek, M., & Trindade, H. (2019). Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of *Thymus* species in Iran. *Industrial Crops and Products*, 134, 89-99.