

مقایسه ترکیبات شیمیایی اسانس مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) جمع آوری شده از جنوب چالوس در مراحل گلدهی و بذردهی

سید علی اندی^۱، وحیده ناظری^{۲*}، جواد هادیان^۳ و ذبیح اله زمانی^۴
۱، ۲، ۴، به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی
دانشگاه تهران،
۳، استادیار دانشگاه شهید بهشتی، پژوهشکده گیاهان دارویی، تهران
(تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۱۷ - تاریخ تصویب: ۹۰/۳/۲۲)

چکیده

مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) گیاهی از خانواده نعناع و بومی ایران می باشد. این گیاه علاوه بر استفاده در طب سنتی به عنوان داروی مسکن، مدر، معرق و ضد عفونی کننده، در درمان بیماری های مربوط به معده و روده و همچنین یبوست کاربرد فراوانی دارد. گونه های جنس مرزنجوش به طور گسترده ای در صنعت ادویه مورد استفاده قرار می گیرند. در این مطالعه، پیکره ی رویشی یک زیرگونه از این گیاه (*Origanum vulgare* ssp. *vulgare*) پس از جمع آوری از منطقه جنوب چالوس در دو مرحله ی نمودی گل و بذر به روش تقطیر با آب اسانس گیری شد. اسانس های استخراج شده بوسیله دستگاههای GC و GC/MS آنالیز شدند. ۱۹ ترکیب در مرحله ی گلدهی شناسایی گردید که ۹۹ درصد از ترکیبات اسانس را تشکیل دادند. ترکیبات غالب اسانس مربوط به این مرحله از گیاه عبارت بودند از: لینالیل استات (۲۷/۲٪)، گاما-تریپنین (۱۶/۵٪)، ۳-اکتانون (۱۰/۹٪)، بتا-پینن (۸/۴٪) و کارواکرول (۶/۴٪). در مرحله ی بذردهی نیز ۹۸/۶ درصد از ترکیبات شناسایی شده ی اسانس شامل ۲۲ ترکیب بودند که کارواکرول (۲۳/۲٪)، آلفا-پینن (۱۵/۸٪)، بتا-پینن (۱۰/۷٪) و ترانس-کاریوفیلن (۵/۳٪) به عنوان غالب ترین ترکیبات شناسایی شدند. بر طبق نتایج GC/MS مونوترپن ها به عنوان مهمترین اجزای اسانس در هر دو مرحله تشخیص داده شدند. درصد ترکیبات دیگر اسانس برای مراحل نمودی گل و بذر به ترتیب برابر با ۱۶/۸ و ۵/۷ بود.

واژه های کلیدی: مرزنجوش (*Origanum vulgare* ssp. *vulgare*)، اسانس، آنالیز

GC/MS، مراحل گلدهی و بذردهی، لینالیل استات، کارواکرول

مقدمه

جنس مرزنجوش با نام علمی *Origanum* متعلق به خانواده Labiatae می باشد که از تنوع مورفولوژیکی و شیمیایی بالایی در دنیا برخوردار است (Kokkini, 1997). به دلیل تنوع مورفولوژیکی بالا، این جنس به ۱۰ بخش^۱ و ۴۲ گونه تقسیم بندی شده است. بخش *Origanum* تنها شامل یک گونه به نام *Origanum vulgare* L. و شش زیر گونه در سراسر جهان می باشد که عبارت اند از: *ssp. hirtum* (Link)، *ssp. vulgare* L. Jetswaart، *ssp. virens* (Hoffmannsegg et Link) Jetswaart، *ssp. viride* (Boissier) Hayek، *ssp. gracile* (Kock) Ietswaart، *ssp. glandulosum* (Destontaines) Carlström، 1984؛ Danin, 1990؛ Danin & Künne, 1996). این جنس در ایران تنها شامل یک گونه (*O. vulgare*) و سه زیر گونه (*ssp. vulgare*، *ssp. viride*) است (Rechinger, Mozaffarian, 1995). مرزنجوش یک گیاه چند ساله با پراکنش وسیعی در نواحی مدیترانه، ایران- سیبرین و یورو-سیبرین است و بر روی شیب های سنگی در دامنه وسیعی از ارتفاعات (۴۰۰۰-۰ متر) رشد می کند (Snogerup, 1971; Aligiannis et al., 2001). این گونه در سراسر جهان به عنوان یک ادویه بسیار پسنندیده مورد استفاده قرار می گیرد و علاوه بر استفاده های سنتی، در درمان بیماری های معده و روده و همچنین یبوست کاربرد فراوانی دارد (Kordali et al., 2008). مطالعات زیادی فعالیت های ضد قارچی، ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانتی اسانس های مختلف جنس مرزنجوش را نشان داده اند (Aureli et al., 1992; Biondi et al., 1993; Muller et al., 1995; Gouladis et al., 2003). در ایران ترکیبات اسانس گیاه مرزنجوش (*O. vulgare* ssp. *viride*) از منطقه کجور مورد ارزیابی قرار گرفته است. ترکیبات غالب شناسایی شده در این تحقیق عبارت بودند از: لینالیل استات، سابینن، گاما-ترپینن و بتا-اوسیمین از مونوترپن ها و

بتا-کاریوفیلین، کاریوفیلین اکسید، جرماکرن D و گاما-المن از سزکویی ترین ها (Afsharypour et al., 1997). Barazandeh (2000) ترکیبات غالب اسانس دو گونه از جنس مرزنجوش (*O. vulgare* L. و *O. majorana* L.) کاشته شده در باغ گیاهشناسی ملی ایران را اینگونه گزارش کرد: از *O. vulgare*، بتا-کاریوفیلین (۲۴/۵٪)، جرماکرن D (۱۵/۲٪)، ترانس-سابینن هیدرات (۹/۰٪) و از *O. majorana*، لینالیل استات (۳۶/۱٪) و سابینن (۱۲/۰٪). ترکیبات اسانس *O. vulgare* ssp. *vulgare* در چهار منطقه از کشور ایتالیا پس از آنالیز به صورت کموتایپ های بتا-کاریوفیلین (۱۷/۲٪)، تیمول (۳۹/۳٪)، ترپینن-۴-ال (۳۱/۳٪) و پی-سیمین (۱۸/۹٪) معرفی شدند (Melegari et al., 1995). اجزای تشکیل دهنده ترکیبات اسانس گیاه مرزنجوش (*O. vulgare* ssp. *vulgare*) وابسته به شرایط آب و هوایی و جغرافیایی محل های جمع آوری می باشند (Chalchat & Pasquier, 1998; Mockute et al., 2003). تاثیر این فاکتورها و فاکتور های اکولوژیکی دیگر روی مسیرهای بیوسنتزی ترین ها و تولید متابولیت های مجزا در هر منطقه می تواند منجر به شناسایی کموتایپ های جدید گردد. در این مطالعه به منظور شناخت ترکیبات اسانس یک زیر گونه از گیاه مرزنجوش در ایران آنالیز اسانس این گیاه در دو مرحله گلدهی و بذردهی انجام گردید.

مواد و روش ها

مواد گیاهی و استخراج اسانس ها

بخش های هوایی گیاه مرزنجوش (*O. vulgare* ssp. *vulgare*) پس از جمع آوری از منطقه جنوب چالوس در دو مرحله ی نموی گل (تابستان ۸۸) و بذر (پاییز ۸۸) به آزمایشگاه گیاهان دارویی دانشگاه تهران انتقال داده شدند. شناسایی این گیاهان با استفاده از کلید فلورا ایرانیکا^۲ (Rechinger, 1982) صورت گرفت. گیاهان در دمای اتاق خشک شدند و پس از خرد کردن، توسط

شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس

پس از آماده سازی اسانس و تزریق آن به دستگاه GC شرایط مناسب برای بهترین جداسازی بدست آمد. سپس با استفاده از دستگاه GC/MS ترکیبات تشکیل دهنده اسانس مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفت. شناسایی ترکیبات با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل شاخص بازداری (RI)، مطالعه طیف های جرمی و مقایسه این طیف ها با ترکیب های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه رایانه دستگاه GC-MS صورت گرفت (Adams, 2007). درصد نسبی هر کدام از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس با توجه به سطح زیر منحنی آن در کروماتوگرام GC به روش نرمال کردن سطح و نادیده گرفتن ضرایب پاسخ بدست آمد.

نتایج و بحث

شاخص بازداری و درصد ترکیبات اسانس استخراج شده از بخش های هوایی یک زیر گونه از گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare ssp. vulgare*) در دو مرحله نموی گل و بذر از منطقه جنوب چالوس در جدول ۱ نشان داده شده اند. ۱۹ ترکیب شناسایی شده از اسانس مربوط به مرحله ی گل، ۹۹ درصد از اجزای اسانس را تشکیل دادند. اسانس استخراج شده از این مرحله غنی از ترکیبات لینالیل استات (۲۷/۲٪)، گاما-ترپینن (۱۶/۵٪)، ۳-کتانن (۱۰/۹٪)، بتا-پینن (۸/۴٪) و کارواکرول (۶/۴٪) بود. درصد ترکیبات مونوترپن، سزکویی ترین و غیر ترپنی از این مرحله به ترتیب برابر با ۷۸/۷، ۳/۵ و ۱۶/۸ بود. از بین ترکیبات مونوترپنی، مقدار ترکیبات هیدروکربن (۴۲/۳ درصد) از ترکیبات اکسیژنه (۳۶/۴ درصد) بیشتر بود. دیگر ترکیبات مهم اسانس آنالیز شده در مرحله گلدهی، آلفا-ترپینن (۴/۷٪)، آلفا-پینن (۳/۴٪) و سابینن (۳/۲٪) بودند. بر اساس آنالیز GC/MS، ۲۲ ترکیب شناسایی شده از مرحله ی بذری گیاه ۹۸/۶ درصد از ترکیبات اسانس را شامل شدند که از این بین کارواکرول (۲۳/۲٪)، آلفا-پینن (۱۵/۸٪)، بتا-پینن (۱۰/۷٪)، ترانس-کاریوفیلن (۵/۳٪) و گاما-ترپینن (۴/۶٪) به عنوان ترکیبات غالب گزارش شدند. ترکیبات پی-سیمن (۴/۳٪)، ۱-اکت-

دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب به مدت چهار ساعت اسانس گیری شدند. بازده اسانس برای هر دو مرحله ۰/۱ درصد (حجمی به وزنی) بود. اسانس ها پس از آب گیری توسط سولفات سدیم تا زمان آنالیز GC/MS در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شدند.

مشخصات دستگاههای مورد استفاده

دستگاه GC

برای آنالیز کروماتوگرافی گازی اسانس از گاز کروماتوگراف واریان مدل سی پی ۳۸۰۰ مجهز به ستون از نوع دی بی ۲۵ به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد.

دمای آون به مدت ۱ دقیقه در ۶۰ درجه سانتی گراد نگه داشته شد و سپس تا ۲۵۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۵ درجه سانتی گراد بر دقیقه افزایش یافت و بمدت ۱۰ دقیقه در این دما نگه داشته شد. دمای قسمت تزریق^۳ و آشکارساز^۴ به ترتیب ۲۵۰ و ۳۰۰ درجه سانتی گراد بود. دتکتور مورد استفاده در دستگاه GC از نوع FID بوده و از گاز نیتروژن با سرعت جریان ۱/۱ میلی متر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد.

دستگاه GC/MS

برای آنالیز اسانس از دستگاه گاز کروماتوگراف کوپل شده با طیف سنج جرمی^۵ مجهز به ستون دی بی ۵ به طول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد.

دمای آون از ۶۰ درجه سانتی گراد تا ۲۵۰ درجه سانتی گراد با سرعت ۵ درجه سانتی گراد بر دقیقه افزایش یافت و به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰ درجه سانتی گراد نگه داشته شد. از گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه استفاده شد و از انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۳ تا ۴۵۶ استفاده گردید.

1. Varian CP 3800
2. DB-5
3. Injector
4. Detector
5. Thermoquest- Finnigan Trace

در اسانس مربوط به هر دو مرحله مونوترپن ها به عنوان غالب ترین ترکیبات شناسایی شدند. علاوه بر این از بین ترکیبات مونوترپنی ترکیبات هیدروکربن از ترکیبات اکسیژنه در هر دو مرحله بیشتر بودند. به عنوان یک نتیجه ترکیبات اسانس گیاه مرزنجوش در دو مرحله نمودی و دو فصل جمع آوری شده متفاوت بودند که این می تواند به علت تاثیر شرایط آب و هوایی متفاوت بین فصول جمع آوری، فاکتورهای اکولوژیکی دیگر و همچنین شرایط فنولوژیکی گیاه باشد.

۳-ال (۴/۳)، (ای)-بتا-اوسیمین (۴/۰)، (ای)-گاما-بیسابولن (۴/۰)، بتا-بوربونن (۳/۹) و کامفن (۳/۱) در رده های بعدی قرار داشتند. مونوترپن های هیدروکربنی با ۴۵/۱ درصد و مونوترپن های اکسیژنه با ۲۹/۱ درصد در مجموع ۷۴/۲ درصد از کل اسانس گیاه در مرحله ی بذردهی را تشکیل دادند. ترکیبات سزکویی ترین با ۱۸/۷ درصد و ترکیبات غیر ترپنی با ۵/۷ درصد سایر اجزای اسانس استخراج شده در مرحله بذردهی را شامل شدند. همان طور که مشاهده می شود

جدول ۱: ترکیبات شناسایی شده از اسانس مرزنجوش (*O. vulgare* ssp. *vulgare*) جمع آوری شده از جنوب چالوس در مراحل گلدهی و بذردهی

| نام ترکیب | شاخص بازداری | درصد ترکیبات در مرحله گل (فصل تابستان) | درصد ترکیبات در مرحله بذردهی (فصل پاییز) |
|-----------------------------|--------------|---|---|
| (E)-2-Hexenal | ۸۴۸ | ۱/۴ | - |
| α -Thujene | ۹۳۱ | ۱/۳ | - |
| α -Pinene | ۹۴۱ | ۳/۴ | ۱۵/۸ |
| Camphene | ۹۵۸ | ۱/۹ | ۳/۱ |
| 1-Octen-3-ol | ۹۷۶ | ۱/۹ | ۴/۳ |
| Sabinene | ۹۸۰ | ۳/۲ | ۱/۱ |
| 3-Octanone | ۹۸۴ | ۱۰/۹ | ۱/۴ |
| β -Pinene | ۹۸۶ | ۸/۴ | ۱۰/۷ |
| Myrcene | ۹۹۲ | ۱/۳ | - |
| α -Terpinene | ۱۰۲۲ | ۴/۷ | - |
| <i>p</i> -Cymene | ۱۰۳۰ | - | ۴/۳ |
| (Z)- β -Ocimene | ۱۰۳۶ | - | ۱/۵ |
| 1,8-Cineole | ۱۰۳۸ | ۲/۸ | - |
| (E)- β -Ocimene | ۱۰۴۱ | ۱/۶ | ۴/۰ |
| γ -Terpinene | ۱۰۵۷ | ۱۶/۵ | ۴/۶ |
| Linalool | ۱۰۹۶ | - | ۱/۴ |
| 1-Octen-3-yl acetate | ۱۱۰۰ | ۲/۶ | - |
| Borneol | ۱۱۶۸ | - | ۲/۵ |
| Linalyl acetate | ۱۲۴۹ | ۲۷/۲ | - |
| Thymol | ۱۲۸۴ | - | ۱/۰ |
| Carvacrol | ۱۲۹۳ | ۶/۴ | ۲۳/۲ |
| Geranyl acetate | ۱۳۷۳ | - | ۱/۰ |
| β -Bourbonene | ۱۳۹۷ | - | ۳/۹ |
| <i>trans</i> -Caryophyllene | ۱۴۳۱ | ۱/۴ | ۵/۳ |
| (E)- β -Farnesene | ۱۴۵۰ | ۱/۰ | - |
| α -Humulene | ۱۴۶۵ | - | ۲/۲ |
| Bicyclogermacrene | ۱۵۰۹ | ۱/۱ | - |
| β -Sesquiphellandrene | ۱۵۳۳ | - | ۱/۲ |
| (E)- γ -Bisabolene | ۱۵۴۹ | - | ۴/۰ |
| Spathulenol | ۱۵۴۹ | - | ۰/۹ |

ادامه جدول ۱: ترکیبات شناسایی شده از اسانس مرزنجوش (*O. vulgare* ssp. *vulgare*) جمع آوری شده از جنوب چالوس در مراحل گلدهی و بذردهی

| ۱/۲ | - | ۱۵۹۷ | Caryophyllene oxide |
|------|------|------|---------------------------|
| ۹۸/۶ | ۹۹/۰ | | درصد کل ترکیبات |
| ۶۱/۷ | ۴۵/۸ | | ترکیبات هیدروکربن |
| ۴۵/۱ | ۴۲/۳ | | هیدروکربن های مونوترپن |
| ۲۹/۱ | ۳۶/۴ | | مونوترپن های اکسیژنه |
| ۱۶/۶ | ۳/۵ | | هیدروکربن های سزکویی ترین |
| ۲/۱ | - | | سزکویی ترین های اکسیژنه |
| ۵/۷ | ۱۶/۸ | | ترکیبات دیگر |

مرزنجوش بدون ذکر نام زیرگونه، سزکویی ترین ها به نسبت از ترکیبات مونوترپن بیشتر بودند که این می تواند به علت اختلاف در محل های جمع آوری و یا تفاوت ژنتیکی بین دو زیرگونه باشد. ترکیبات اسانس گزارش شده از این زیر گونه در منطقه ی جنوب چالوس ایران با گزارشات قبلی از ایتالیا (Melegari et al., 1995)، فرانسه (Chalchat and Pasquier, 1998) و لیتوانی (Mockute et al., 2001; Mockute et al., 2003) متفاوت بودند که احتمالاً این مغایرت نیز می تواند بر اساس اختلاف در شرایط اکولوژیکی بین محل های جمع آوری باشد.

در نتیجه ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه مرزنجوش (*O. vulgare* ssp. *vulgare*) وابسته به فصول جمع آوری و مراحل فنولوژیکی گیاه می باشند که بر این اساس و با جمع آوری این گیاه مهم دارویی در مراحل مختلف رشدی در محدوده پراکنش آن در کشور می توان به اطلاعات ارزنده ای برای اهداف دارویی دست یافت.

نتیجه گیری کلی

بر اساس اطلاعات حاصل از این تحقیق می توان عنوان کرد که اگرچه در میزان اسانس گیاه مرزنجوش در دو مرحله گلدهی و بذردهی تفاوتی مشاهده نمی شود اما محتوای اسانس شدیداً تحت تاثیر مراحل فنولوژیک این گیاه تغییر می کند، بطوری که محتوای اسانس که به طور عمده شامل مونوترپن ها می باشد، در مرحله گلدهی به ترتیب با غالبیت لینالیل استات،

بر اساس نتایج به دست آمده از این مطالعه بازده اسانس استخراج شده برای دو مرحله ی نموی گل و بذردهی (۱/۰ درصد حجمی به وزنی) اختلاف نداشتند که این می تواند به علت شرایط رطوبتی واقع در شمال ایران باشد. ترکیبات اسانس گیاه مرزنجوش به شدت وابسته به فصل جمع آوری می باشند (Kokkini et al., 1997)، در مطالعه ی ما در مرحله گلدهی، لینالیل استات^۱ و در مرحله بذردهی کارواکرول^۲ ترکیب اصلی اسانس را تشکیل دادند و این در حالی است که لینالیل استات در مرحله بذردهی شناسایی نشده بود ولی میزان کارواکرول با عبور از مرحله گلدهی و رسیدن به مرحله بذردهی افزایش یافته است. درصد ترکیبات ایزومرهای پینن شامل آلفا و بتا با عبور از مرحله گلدهی به بذردهی افزایش یافته بود در حالی که برخی از ترکیبات از جمله ۳-اکتانون و گاما-ترپینن در مرحله گلدهی از میزان بالاتری برخوردار بودند که این اختلافات، تاثیر شرایط فیزیولوژیکی گیاه را بر روی مسیرهای بیوسنتزی ترین ها توجیه می کند. در ترکیبات اسانس گزارش شده از کار ما در هر دو مرحله مونوترپن ها به عنوان غالب ترین ترکیبات بودند در حالی که در کار انجام شده قبلی روی *ssp. viride* (Afsharypour et al., 1997) و Barazandeh (2000) بر روی اسانس

1. Linalyl acetate
2. Carvacrol

سپاسگزاری

نویسندگان نهایت تشکر و قدرانی خود را از آقایان مرتضی اکرمیان و علی مهدیزاده به خاطر کمک در جمع آوری نمونه های گیاهی اعلام می دارند.

گاما-تریپنین و ۳-اکتانون و در مرحله ی بذردهی با غالبیت کارواکرول ، آلفا-پینن و بتا-پینن تغییر می کند. با توجه به این اطلاعات و نیاز به هر یک از این ترکیبات می توان به کشت و یا برداشت از این گیاه مهم دارویی در مراحل نموی متفاوت اقدام نمود .

REFERENCES

1. Adams, R. P., (2007). *Identification of Essential oils Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy*, 4th ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, USA, p. 804.
2. Afsharypuor, S., Sajjadi, E. S. & Erfan-Manesh, M. (1997). Volatile constituents of *Origanum vulgare* ssp. *viride* (syn. *O. heracleoticum*) from Iran. *Planta Medica*, 63, 179-180.
3. Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S. & Chinou, I. B. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4168-4170.
4. Aureli, P., Costantini, A. & Zolea, S. (1992). Antimicrobial activity of some essential oils against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 55, 344-348.
5. Barazandeh, M. M. (2000a). Identification of the essential oil composition from *Origanum vulgare* L. cultivated in Iran Botanical Garden. *Pajohesh and Sazandegi Journal*, 14 (3), 65-67. (In Farsi).
6. Barazandeh, M. M. (2000b). Identification of the essential oil composition from *Origanum majorana* L. *Pajohesh and Sazandegi Journal*, 14 (4), 38-40. (In Farsi).
7. Biondi, D., Cianci, P., Geraci, C., Ruberto, G. & Piattelli, M. (1993). Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic plants. *Flavour and Fragrance Journal*, 8, 331-337.
8. Carlström, A. (1984). New species of *Allyssum*, *Consolida*, *Origanum* and *Umblicus* from the SE Aegean Sea. *Willdenowia*, 14, 15-26.
9. Chalchat, J. C. & Pasquier, B. (1998). Morphological and chemical studies of *Origanum* clones: *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*. *Journal of Essential Oil Research*, 10, 119-125.
10. Danin, A. & KÜnne, I. (1996). *Origanum jordanicum* (Labiatae) , a new species from Jordan, notes on the other species of *Origanum* sect. *Campanulaticalyx*. *Willdenowia*, 25, 601-611.
11. Danin, A. (1990). Two new species of *Origanum* (Labiatae) from Jordan. *Willdenowia*, 19, 401-404.
12. Gouladis, M., Tzakoy, O., Verykokidoy, E. & Harvala, C. (2003). Screening of some Greek aromatic plants for antioxidant activity. *Phytotherapy Research*, 17, 194-195.
13. Ietswaart, J. H. (1980). A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). Ph.D. thesis. Leiden Botanical Series 4. Leiden University Press, The Hague.
14. Kokkini, S. (1997). Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum* species. In: Padulosi, S. (ed.) *Oregano*, Proceeding of the 14th IPGRI International Workshop. Italy, Rome, pp, 2-12.
15. Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek., M. & Mete, E. (2008). Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and *p*-cymene. *Journal of Bioresource Technology*, 99, 8788-8795.
16. Melegari, M., Severi, F., Bertoldi, M., Benvenuti, S., Circetta, G., Morone, F. I., Bianchi, A., Leto, C. & Carrubba, A. (1995). Chemical characterization of essential oils of some *Origanum vulgare* L. subspecies of various origin. *Rivista Italiana EPPOS*, 16, 21-28.
17. Mockute, D., Bernotiene, G. & Judzentiene, A. (2001). The essential oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* growing wild in Vilnius district (Lithuania). *Phytochemistry*, 57, 65-69.
18. Mockute, D., Bernotiene, G. & Judzentiene, A. (2003). The β -ocimene chemotype of essential oils of the inflorescences and the leaves with stems from *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* growing wild in Lithuania. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 269-278.
19. Mozaffarian, V. (1995). *A dictionary of Iranian plant names*, Farhang Moaser Publication, 671 pages. (In Farsi).
20. Muller, R. F., Berger, B. & Yegen, O. (1995). Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 43, 2262-2266.
21. Rechinger, K. H. (1982). Labiatae, In: *Flora Iranica* (No. 150, Vol. 17). Graz: Akademische Druck- und Verlagsanstalt. pp, 527-532.

22. Snogerup, S. (1971). Evolutionary and plant geographical aspects of Chasmophytic communities. In Davis, P. H., Harper, P. C. & Hedge, I. C. (Eds.), *Plant life of South-West Asia* (pp, 157-170). Edinburgh: The Botanical Society.