

## بررسی تغییرات کمی و کیفی اسانس پنج اکسشن مرزه گونه *Satureja mutica* Fisch. & C.A.Mey. در شرایط زراعی کردستان

فرحناز هوشیدری<sup>۱\*</sup>، فاطمه سفیدکن<sup>۲</sup>، سید رضا طبایی عقدایی<sup>۲</sup> و بایزید یوسفی<sup>۳</sup>

۱ و ۳. مربی و دانشیار، بخش تحقیقات جنگل و مرتع، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران

۲. استاد، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۹)

### چکیده

مرزه جنگلی (*Satureja mutica* Fisch. & C. A. Mey.) یکی از گونه‌های انحصاری تیره نعنا (Lamiaceae) است که در رویشگاه‌های طبیعی نواحی شمال و شمال شرق ایران پراکنش دارد. در این تحقیق به منظور بررسی امکان کشت و اهلی کردن و بررسی کمیت و کیفیت مواد مؤثره آن در حالت زراعی، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۱ به اجرا درآمد. در آغاز بذر پنج توده یا نمونه (اکسشن) از این گونه از رویشگاه‌های طبیعی استان‌های خراسان (دو نمونه)، مازندران، گیلان (دو نمونه) گردآوری و در گلخانه کشت و نشاء تولید شد. نشاءها در مزرعه تحقیقاتی ایستگاه گریزه سنندج کشت شد. سپس سرشاخه‌های گل‌دار آنها طی دو تا سه سال متوالی پس از کشت در مرحله گلدهی کامل به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. اسانس‌ها با استفاده از دستگاه‌های فام‌نگار (کروماتوگرافی) گازی و گاز فام‌نگار متصل به طیف‌سنج جرمی و با محاسبه شاخص بازداری تجزیه و شناسایی شدند. در شمار پنج نمونه بانک ژنی مورد بررسی گونه *S. mutica* ترکیب‌های عمده اسانس در سال اول تیمول (۵۱/۷-۸/۵ درصد)، پاراسیمین (۱۶/۲-۹/۸ درصد)، گاما-ترینین (۱۰/۰-۲۳/۲ درصد) و کارواکرول (۳/۷-۴۹/۷ درصد) و در سال دوم تیمول (۳/۵-۳۴/۱ درصد)، پاراسیمین (۱۷/۰-۳۹/۰ درصد)، گاما-ترینین (۱۵/۶-۲۲/۳ درصد) و کارواکرول (۳/۶-۴۴/۲ درصد) بود و در سال سوم تیمول (۲۶/۴-۲۸/۹ درصد)، پاراسیمین (۱۹/۸-۲۱/۸ درصد)، گاما-ترینین (۱۷/۲-۱۷/۸ درصد) و کارواکرول (۲۷/۰-۲۰/۹ درصد) بود. بازده اسانس توده‌های مورد بررسی این گونه به تدریج با رشد گیاه در سال دوم و سوم افزایش یافت. مجموع دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول اسانس در سال دوم نسبت به سال اول در همه نمونه‌ها کاهش یافت و بیشترین میزان تیمول در سال اول بود. به‌طور کلی می‌توان گفت گیاهان دو ساله و سه ساله بازده اسانس بالاتر و گیاهان یک‌ساله کیفیت اسانس بالاتری داشتند. بازده اسانس در سال سوم نسبت به سال دوم افزایش و کیفیت اسانس در نمونه خراسان ۱ افزایش و در نمونه خراسان ۲ کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: تیمول، کارواکرول، کشت، گاما-ترینین، پاراسیمین، مرزه جنگلی.

## Evaluation of quantitative and qualitative changes in essential oil of five accessions of *Satureja mutica* Fisch. in field conditions

Farahnaz Hooshidary<sup>1\*</sup>, Fatemeh Sefidkon<sup>2</sup>, Seyed Reza Tabaei-Aghdai<sup>2</sup> and Bayzid Yousefi<sup>3</sup>

1, 3. Instructor and Associate Professor, Forests and Rangelands Research Department, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, PO Box 6616936311-714, Sanandaj, Iran

2. Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), PO Box 13185-116, Tehran, Iran

(Received: May 21, 2016 - Accepted: Oct. 30, 2016)

### ABSTRACT

The genus *Satureja* L. (Lamiaceae) contains 16 species which are distributed all over Iran and 10 of which are endemics. Investigation on essential oils content and composition of five accessions of *S. mutica* Fisch. a native species in Iran, have been subject to our research. The seeds of five accessions of *S. mutica* were collected from their natural habitats in Khorasan (2 accessions), Mazandaran and Gilan (2 accessions) provinces in this study. The seeds were planted inside the green house, and then the seedlings were transplanted into the field in Grizeh-Sanandaj research station in 2010 and 2011. An experiment was undertaken to determine the oil production of *S. mutica* in complete randomized block design with three replications. The aerial parts of each accession were collected in full flowering stages in three consecutive years. The essential oils were obtained by hydro-distillation and analyzed by GC and GC/MS. The oil yields were increased for 5 accessions in the second year. The main constituents of the essential oils during three consecutive years were thymol (51.7 and 3.5%), p-cymene (39.0 and 9.8%),  $\gamma$ -terpinene (23.2 and 10.0%) and carvacrol (49.7 and 3.6%). Although the main components of all the oils were similar, but there were some differences between the percentages of major components and also minor constituents. It is remarkable that the most important phenolic compound, thymol, was decreased in the oils in the second year for most accessions.

**Keywords:** Carvacrol, Kurdistan, p-cymene, planting, thymol,  $\gamma$ -terpinene.

\* Corresponding author E-mail: Houshidar2009@yahoo.com

### مقدمه

گونه مرزه جنگلی یا مرزه سفید *Satureja mutica* گیاهی چندساله و بوته‌ای با قاعده به نسبت چوبی و ارتفاع ۳۰ تا ۵۰ سانتی‌متر و شاخه‌های گل‌دهنده پرشمار است. این گیاه در قاعده انشعاب زیاد با شاخه‌های باریک و پیچ‌وتاب‌دار و پوشیده از کرک‌های کوتاه خاکستری‌رنگ دارد. رویشگاه آن دامنه‌های صخره‌ای-سنگی و زمان گلدهی آن اواخر تابستان تا پاییز است. پراکندگی این گونه در ایران شمال و شمال شرق است. این گونه در قفقاز و آسیای مرکزی نیز می‌روید (Jamzad, 2012).

سرشاخه گلدار و به‌طور کلی اندام‌های هوایی گیاه مرزه مهم‌ترین بخش قابل استفاده این گیاه است که به‌طور معمول در زمان گلدهی برداشت و در سایه خشک می‌شود. گیاهی است معطر، نیروبخش، آسان‌کننده عمل هضم، مقوی معده، مدر، بادشکن، قابض خفیف، ضد نزله، رفع کننده اسهال و ضد کرم است (Zargari, 1972).

در تحقیقاتی که توسط سفیدکن و جمزاد در سال ۲۰۰۵ انجام گرفت اندام‌های هوایی گونه *S. mutica* در مرحله گلدهی کامل از استان خراسان گردآوری و اسانس به طریق تقطیر با آب تهیه شد. بازده اسانس ۲/۳۱ درصد (w/w) بود. ۴۵ ترکیب در اسانس *S. mutica* شناسایی شد که ترکیب‌های عمده آن کارواکرول (۳۰/۹ درصد)، تیمول (۲۶/۵ درصد)، گاماترپینن (۱۴/۹ درصد) و پارا سیمن (۱۰/۳ درصد) بود (Sefidkon & Jamzad, 2005).

اندام‌های هوایی گونه *S. mutica* از استان گیلان گردآوری و بازده اسانس ۰/۲ درصد گزارش شد. ترکیب‌های اصلی *S. mutica* تیمول (۶۲/۶ درصد)، پارا سیمن (۹/۴ درصد)، کارواکرول (۶/۶ درصد) و متیل تیمول (۵/۴ درصد) گزارش شد (Gohari et al., 2005).

در نتایج تحقیق دیگری که توسط Rustaiyan et al. (2004) انجام شد گونه *S. mutica* از استان گیلان (منجیل) گردآوری و به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. بازده اسانس ۱/۲ درصد بود. ۳۹ ترکیب (۹۵/۱ درصد اسانس) در اسانس *S. mutica* شناسایی شد. ترکیب‌های عمده آن منتول (۳۷/۴ درصد)، منتون (۱۷/۲ درصد)، ۱ و ۸ سینیول (۹/۳

درصد) بود. در اسانس گونه مورد بررسی درصد ترکیب‌های مونوترپن اکسیژنه بیشتر از سسکوئی ترپن‌ها بود (Rustaiyan et al., 2004).

ترکیب‌های اسانس هشت نمونه (اکسشن) مرزه گونه *S. sahendica* Bornm گردآوری شده از نقاط مختلف ایران در شرایط زراعی کردستان طی دو سال بررسی شد. نتایج بررسی‌ها نشان داد، بازده اسانس در سال دوم در شمار شش نمونه ۱/۰۹-۰/۱۹ درصد افزایش و در دو نمونه دیگر ۰/۴۶-۰/۱۸ درصد کاهش یافت. تیمول به‌عنوان مهم‌ترین ترکیب فنلی در سال دوم در بیشتر نمونه‌ها کاهش یافت. ترکیب‌های عمده اسانس در طول دو سال تیمول (۱۸/۲-۵۰/۳ درصد)، پارا-سیمن (۲۶/۵-۴۶/۴ درصد)، و گاما-ترپینن (۱۲/۱-۱۹/۳ درصد) بود (Hooshidary & Sefidkon, 2013).

ترکیب‌های اسانس مرزه گونه *S. avromanica* Maroofi در شرایط زراعی و وحشی در استان کردستان بررسی شد. نتایج بررسی‌ها نشان داد، بازده اسانس در رویشگاه ۱/۴ درصد و در مزرعه به ۰/۱۹ درصد کاهش یافت. ترکیب‌های عمده اسانس در مزرعه در سال اول و دوم به ترتیب شامل تیمول ۳۲/۳ و ۱۲/۷ درصد، کارواکرول ۲۳/۶-۴۸/۳ درصد، پارا-سیمن ۱۸/۱ و ۹/۹ درصد، گاما-ترپینن ۵/۴ و ۸/۴ درصد بود. در سال دوم میزان تیمول در اسانس به حدود نصف (۱۲/۷ درصد) کاهش یافت درحالی‌که میزان کارواکرول حدود دو برابر (۴۸/۳ درصد) افزایش یافت. (Hooshidary et al., 2015).

ترکیب‌های اسانس مرزه خوزستانی *S. khuzistanica* Jamzad وحشی و زراعی به روش تقطیر با آب بررسی و مقایسه شد و بازده اسانس نمونه وحشی و زراعی به ترتیب ۰/۶ درصد و ۰/۲ درصد گزارش شد کارواکرول در هر دو نمونه وحشی (۹۳/۹ درصد) و زراعی (۸۰/۶ درصد) ترکیب اصلی بود (Farsam et al., 2004).

در بررسی اسانس بیست نمونه وحشی و کشت‌شده از گونه *S. hortensis* L. نشان داده شد، در اسانس به‌دست‌آمده از گیاهان کشت‌شده در مزرعه کارواکرول ترکیب غالب (۶۳-۴۲ درصد)، درحالی‌که در اسانس به‌دست‌آمده از رویشگاه‌های طبیعی نواحی غربی ترکیه تیمول (۴۳-۲۹ درصد) ترکیب غالب اسانس بود. اگرچه

به زمین اصلی در مزرعه تحقیقاتی واقع در ایستگاه تحقیقاتی گریزه سنندج منتقل و طبق نقشه طرح به فاصله ۱×۱ متر کشت شدند. قالب طرح مورد نظر بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار بود. عملیات داشت شامل: آبیاری، وجین و سله‌شکنی انجام شد. ابعاد هر کرت ۴ در ۴ متر، فاصله کرت‌ها در هر تیمار از هم ۱ متر و فاصله تکرارها از هم ۲ متر در نظر گرفته شد در هر کرت ۵ ردیف و فاصله هر ردیف از هم ۱ متر و فاصله هر پایه در هر ردیف ۱ متر در نظر گرفته شد. با توجه به کاهش استقرار بوته‌ها در مزرعه، سال بعد نیز اقدام به گردآوری دوباره بذر از رویشگاه‌ها و کاشت بذرهای گردآوری شده و باز کاشت بوته‌های مستقر نشده شد.

#### تفسیر خاک مزرعه

خاک محل آزمایش، در سه تکرار، سه بافت خاک لومی، لومی رسی، و لومی رسی شنی داشت. واکنش خاک قلیایی بوده و میزان آهک خاک در حد کم ۱۰/۲ درصد قرار داشت. میانگین درصد کربن آلی خاک ۰/۸۲ درصد بوده و غلظت فسفر قابل جذب (۱۲/۶۷) و پتاسیم قابل جذب خاک (۳۵۵/۳) بالاتر از حد بحرانی است میانگین هدایت الکتریکی خاک ۰/۹ دسی زیمنس بر متر و میانگین اسیدیته خاک (PH) ۷/۸۹ بود و به لحاظ شوری خاک بدون مشکل بود.

#### گردآوری گیاه و استخراج اسانس

طی سال‌های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۱ پس از به گل رفتن نمونه‌های گونه مورد نظر مزرعه در ایستگاه تحقیقاتی گریزه سنندج، نمونه‌برداری از سرشاخه‌های مزرعه در مرحله گلدهی کامل، در اوایل تابستان تا اواسط پاییز از گیاهان یک‌ساله، دوساله و سه‌ساله انجام شد. سرشاخه سبز گیاه در مرحله گلدهی کامل به صورت تصادفی از بوته‌های مختلف یک کرت به گونه ای برداشت شد که نماینده کل کرت باشد. برای هر نمونه از هر سه تکرار کشت شده، به صورت جداگانه، نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌ها در محیط آزمایشگاه و در سایه در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس خشک شدند. سپس ۱۰۰-۸۰ گرم از قسمت‌های غیرچوبی

یک مورد استثناء هم بین نمونه‌های کشت شده مشاهده شد که میزان درصد کارواکرول و تیمول در اسانس آن همسان هم بود (Baser et al., 2004).

تغییر در ترکیب‌های موجود در اسانس مرزه بختیاری *S. bachtiarica* در مراحل پیش از گلدهی و گلدهی کامل در رویشگاه طبیعی (شهرکرد) و مزرعه بررسی شد، بازده اسانس در مرحله گلدهی کامل در رویشگاه طبیعی ۱/۱ درصد و در مزرعه ۲/۱ درصد گزارش شد. ترکیب‌های عمده در مرحله گلدهی کامل در رویشگاه طبیعی کارواکرول (۲۵/۸ درصد)، پارا- سیمن (۲۳/۲ درصد)، منتون (۱۸/۵ درصد)، تیمول (۱/۳ درصد) و در مزرعه کارواکرول (۶۲/۳ درصد)، پارا- سیمن (۲۱/۲ درصد) اعلام شد (Ahmadi et al., 2009).

هدف از این تحقیق مقایسه بازده و اجزای اسانس ۵ نمونه مختلف از گونه *S. mutica* در شرایط زراعی کردستان طی سه سال متوالی و انتخاب نمونه یا نژادگان (ژنوتیپ)های برتر از نظر مواد مؤثره بود.

#### مواد و روش‌ها

##### گردآوری بذر و کشت گیاهان

برای اجرای آزمایش بذر ۵ نمونه از مزرعه جنگلی از رویشگاه‌های طبیعی آن‌ها در کشور واقع در استان‌های خراسان (نمونه‌های ۱ و ۲)، مازندران (نمونه ۲۱)، گیلان (نمونه‌های ۳۴ و ۴۴) گردآوری و در گلخانه‌های مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان و مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور واقع در تهران کشت شدند. صحت و درستی نمونه‌های بذری از نظر جنس و گونه مورد تأیید هرباریوم مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور قرار گرفت. پس از تعیین آزمون جوانه‌زنی، بذرهای در سینی‌های نشایی حاوی پیت، پرلیت و کوکوپیت به نسبت ۱، ۱، ۲ کشت شدند. ثبت مراحل پدیدشناختی (فنولوژی) و تعیین درصد بذرهای جوانه‌زده و شمار نهال، عمل آبیاری گیاهچه‌ها و وجین علف‌های هرز به صورت مرتب انجام گرفت. گیاهچه‌های سالم در مرحله ۸ تا ۱۰ برگی به منظور سازگاری با محیط بیرون به مدت دو هفته در خارج از گلخانه نگهداری شدند. گیاهچه‌ها پس از تسطیح زمین و اجرای سامانه آبیاری قطره‌ای

انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۴۰ بوده است.

**تجزیه اسانس ها و شناسایی ترکیب های تشکیل دهنده**  
برای محاسبه شاخص یا نمایه (اندیس) های بازداری از تزریق هیدروکربن های نرمال ۹ تا ۲۳ کربنه در شرایط برنامه ریزی گرمایی (همسان با تزریق نمونه) استفاده شد. محاسبه های کمی (تعیین درصد هر ترکیب) به کمک داده پرداز R3A - Chromatepac به روش نرمال کردن سطح (Area normalization method) و نادیده گرفتن ضریب های پاسخ (Response factors) مربوط به طیف ها انجام شد. تجزیه اسانس ها در بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی مؤسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع و توسط نویسنده دوم انجام شد.

لازم به یادآوری است که این تحقیق قسمتی از طرح ملی با عنوان " معرفی گونه های ارزشمند جنس مرزه (*Satureja*) برای کشت و فراوری در مناطق مختلف بوم شناختی ( اکولوژیک) کشور به منظور تولید انبوه " متعلق به مؤسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع است که در مرکز تحقیقات کشاورزی کردستان به اجرا درآمده است.

### نتایج و بحث

تجزیه واریانس درصد بازده اسانس نمونه های گونه *S. mutica* جدول ۱ نشان می دهد نمونه ها از نظر درصد بازده اسانس در سطح ( $P \leq 0.05$ ) اختلاف معنی دار نشان دادند. همچنین اثر سال در میزان بازده اسانس معنی دار بود.

جدول ۱. تجزیه واریانس کمیت بازده اسانس اکسشن های گونه *S. mutica*

Table 1. Analysis of variance for essential oil yields accessions of *S. mutica*

Sources of variations	SS	DF	
Block (R)	0.57	2	ns
Accession (G)	1.97	4	*
Error <sub>a</sub>	0.44	8	
Year (Y)	1.71	2	**
Year*Acc. (GY)	0.04	8	ns
Year* Block (RY)	0.25	4	ns
Error <sub>b</sub>	0.17	6	
Coefficient of variation (CV)	36.55%		

ns و \*\* به ترتیب وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود اختلاف معنی دار.

\*, \*\*, ns: significantly differences at 5 and 1% probability levels, and nonsignificant, respectively.

گیاه خشک شده هر تکرار به روش تقطیر با آب با دستگاه کلونجر اسانس استخراج شد. برای تعیین بازده اسانس بر پایه وزن خشک گیاه، درصد رطوبت گیاه خشک با قرار دادن ۳-۵ گرم گیاه خشک در آون به مدت ۲۴ ساعت محاسبه شد. تجزیه واریانس (به صورت کرت های خرد شده یا اسپلیت پلات در زمان با طرح پایه بلوک های کامل تصادفی) و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد.

اسانس به دست آمده از نمونه های سه تکرار برای شناسایی اجزای آن ها با یکدیگر مخلوط و آنگاه به دستگاه های GC و GC/MS تزریق شدند.

### مشخصات دستگاه های مورد استفاده

#### دستگاه GC

گاز فامنگار (کروماتوگراف) شیمادزو (Shimadzu) مدل 9A مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر که ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر است. برنامه ریزی گرمای ستون از ۴۰ درجه سلسیوس آغاز و پس از ۵ دقیقه توقف در همان دما، به تدریج با سرعت ۴ درجه در دقیقه افزایش یافته تا به ۲۲۰ درجه سلسیوس رسیده است. دمای محفظه تزریق و آشکارساز (دکتور) در دمای ۲۴۰ درجه سلسیوس تنظیم شده است. آشکارساز مورد استفاده در دستگاه GC از نوع FID بوده و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل استفاده شده که با سرعت ۳۲ سانتی متر بر ثانیه در طول ستون حرکت کرده است.

#### دستگاه GC-MS

گاز فامنگار جفت (کوپل) شده با طیف سنج جرمی مدل واریان ۳۴۰۰ از نوع تله یونی مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر ضخامت لایه فاز ساکن در آن ۰/۲۵ میکرومتر بوده است. برنامه ریزی گرمایی ستون همسان با برنامه ریزی ستون در دستگاه GC بوده است. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بیش از دمای نهایی ستون تنظیم شده است. گاز حامل هلیوم بوده که با سرعت ۳۱/۵ سانتی متر بر ثانیه در طول ستون حرکت کرده است. زمان اسکن برابر یک ثانیه،

ترپین بودند. همان‌طور که در جدول ۵ آمده است افزون بر تغییر میزان اجزای اصلی اسانس در سال‌های مختلف پس از کشت، تغییرهای چندی در اجزای غیر عمده هم مشاهده می‌شود. ترکیب‌هایی مانند میرسن، بورنتول، متیل اتر تیمول تنها در اسانس سال اول و دوم قابل تشخیص بودند. افزون بر این در سال اول اجزایی مانند ترپینن ۴-ال و کاریوفیلین اکسید و در سال دوم اجزایی مانند آلفا-توژن، بتا-پینن، ترپینولن، ترانس کاریوفیلین، کاریوفیلین اکسید وجود ندارند درحالی‌که در گیاهان سه ساله دیده می‌شوند (جدول ۵).

جدول ۳. مقایسه میانگین بازده اسانس در سالهای مختلف با آزمون دانکن ( $p \leq 0.1$ )

Table 3. Comparison of means of essential oil yield (%) of *S. mutica* accessions among the years ( $p \leq 0.01$ )

Years	Yields of oil
Year1	1.63 b
Year2	1.95 a
Year3	1.98 a

جدول ۴. مقایسه میانگین بازده اسانس در اکسشن‌های مختلف گونه *S. mutica* با آزمون دانکن ( $p \leq 0.05$ )

Table 4. Comparison of means of essential oil yield (%) of *S. mutica* accessions ( $p \leq 0.05$ )

Accession	Yields of oil
1	2.10 ab
2	2.08 ab
21	2.48 a
34	1.58 bc
44	1.06 c

## خراسان ۲

در اسانس این نمونه در سال‌های اول، دوم و سوم کشت به ترتیب ۱۴، ۱۵، ۱۳ و ۱۳ ترکیب شناسایی شد که به ترتیب ۹۸/۳، ۹۶/۴ و ۹۷/۷ درصد از اسانس را تشکیل می‌دهند. عمده‌ترین اجزای اسانس ترکیب‌های تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن و گاما-ترپینن بودند. افزون بر تغییر در میزان اجزای اصلی اسانس در سال‌های مختلف پس از کشت، تغییرهای چندی در اجزای غیر عمده هم دیده شد. ترکیب‌هایی مانند میرسن، بورنتول، متیل اتر تیمول تنها در اسانس گیاهان سال اول و دوم مشاهده شد. در اسانس گیاهان سال اول اجزایی مانند ترپینن-۴-ال، اسپاتولنول، کاریوفیلین اکسید و در گیاهان سال دوم اجزایی مانند آلفا-توژن، بتا-پینن، اسپاتولنول و

میانگین بازده اسانس نمونه‌های مختلف *S. mutica* کشت‌شده در دو تا سه سال متوالی پس از کشت در جدول ۲ دیده می‌شود. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود برای همه نمونه‌ها یک‌روند افزایشی در بازده اسانس در طی رشد و استقرار گیاه در سال‌های متوالی پس از کشت دیده می‌شود.

جدول ۲. مقایسه بازده اسانس اکسشن‌های مختلف

*S. mutica* طی سال‌های پس از کشت

Table 2. Essential oil yield (%) of *S. mutica* accessions in the years

No	Accession	Yields of oil		
		Year 1	Year 2	Year 3
1	1	1.78	2.1	2.41
2	2	1.78	2.04	2.43
3	21	2.12	2.83	-
4	34	1.47	1.69	-
5	44	1.0	1.09	-

مقایسه میانگین بازده اسانس در سال‌های اجرای

تحقیق جدول ۳ نشان می‌دهد بین درصد بازده اسانس در سال‌های مختلف اختلاف معنی‌دار در سطح  $P \leq 0.1$  وجود دارد. بیشترین میانگین بازده اسانس در سال دوم و سوم به ترتیب ۱/۹۵ و ۲/۴۲ درصد و کمترین میزان در سال اول و به میزان ۱/۶۳ درصد به دست آمد. مقایسه میانگین نمونه‌های این‌گونه با آزمون دانکن  $P \leq 0.05$  جدول ۴ نشان داد که از نظر میانگین بازده اسانس، نمونه مازندران ۲۱ با میانگین ۲/۴۸ درصد و اکسشن گیلان ۴۴ با میانگین ۱/۰۶ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین میزان اسانس را به خود اختصاص دادند. اگرچه اختلاف مشاهده‌شده بین نمونه‌های خراسان ۱، خراسان ۲ و مازندران ۲۱ همین‌طور بین نمونه‌های گیلان ۳۴ و ۴۴ معنی‌دار نبود.

اجزای اسانس نمونه‌های مختلف *S. mutica* در سه

سال متوالی

خراسان ۱

از اسانس این نمونه در سال‌های اول، دوم و سوم کشت به ترتیب ۱۴، ۱۴ و ۱۳ ترکیب شناسایی شد که به ترتیب در مجموع ۹۷/۹، ۹۶/۶ و ۹۸/۴ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دهند. عمده‌ترین اجزای اسانس در هر سه سال تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن و گاما-

کارواکرول، پارا-سیمن، گاما-ترپینن بودند. ضمن تغییر میزان اجزای اصلی اسانس در سال‌های مختلف پس از کشت، تغییرهای چندی در اجزای غیر عمده هم دیده شد. ترکیب‌هایی مانند میرسن، ۸۱، سینئول، پی-متا ۸۳، دی ان، آلفا-ترپینئول و متیل اتر تیمول در اسانس تنها در سال اول مشاهده شد. اجزایی مانند آلفا-توژن، بتا-پینن، اسپاتولنول و کاریوفیلن اکسید تنها در گیاهان دو ساله دیده شد (جدول ۵).

#### گیلان ۴۴

در اسانس این نمونه در هر سال ۱۳ ترکیب شناسایی شد که در مجموع ۹۵/۳ و ۹۷/۶ درصد از اسانس را به ترتیب در گیاهان یک‌ساله و دو ساله تشکیل دادند. عمده‌ترین اجزای اسانس ترکیب‌های تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن و گاما-ترپینن بودند. ضمن تغییر میزان اجزای اصلی اسانس در سال‌های مختلف پس از کشت، تغییرهای چندی در اجزای غیر عمده هم دیده شد. ترکیب‌هایی مانند میرسن، ۸۱، سینئول، بورنتول، آلفا ترپینئول و متیل اتر تیمول تنها در اسانس سال اول قابل تشخیص بود. اجزایی مانند آلفا-توژن، بتا-پینن، آلفا فلاندرن، اسپاتولنول و کاریوفیلن اکسید تنها در گیاهان دو ساله دیده شد (جدول ۵).

کاریوفیلن اکسید مشاهده نشد درحالی‌که در گیاهان سه ساله شناسایی شد (جدول ۵).

#### مازندران ۲۱

در اسانس این نمونه در هر یک از سال اول و دوم ۱۳ ترکیب شناسایی شد که در مجموع ۹۷/۷ درصد از کل اسانس را تشکیل داد. عمده‌ترین اجزای اسانس ترکیب‌های تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن و گاما-ترپینن بودند. همان‌طوری که ملاحظه می‌شود ضمن تغییر میزان اجزای اصلی اسانس در سال‌های مختلف پس از کشت، تغییرهای چندی در اجزای غیر عمده هم دیده شد. ترکیب‌هایی مانند میرسن، ۸۱، سینئول، پی متا ۸۳، دی ان و آلفا ترپینئول در اسانس گیاهان سال دوم قابل تشخیص نبود. همچنین ترکیب‌هایی چون آلفا-توژن، بتا-پینن، ترپینولن، اسپاتولنول و کاریوفیلن اکسید تنها در گیاهان دو ساله دیده شد (جدول ۵).

#### گیلان ۳۴

در اسانس این نمونه در سال‌های اول، دوم کشت به ترتیب ۱۴ و ۱۳ ترکیب شناسایی شد که در مجموع ۹۵/۴ و ۹۶/۸ درصد از کل اسانس را تشکیل داد. عمده‌ترین اجزای اسانس ترکیب‌های تیمول،

جدول ۵. مقایسه مقادیر اجزای تشکیل‌دهنده اسانس اکسشن‌های مختلف *S. mutica* در سال‌های متوالی

Table 5. Essential oils components of *S. mutica* accessions in the years

No.	Componds	Accessions of <i>S. mutica</i>												IR
		1			2			34			44			
		1	2	3	1	2	3	1	2	1	2	1	2	
1	$\alpha$ -thujene	0.5	-	1.3	0.2	-	1.2	-	1.1	-	1.1	-	0.9	926
2	$\alpha$ -pinene	0.4	0.4	1.0	0.2	0.5	0.9	0.4	0.8	0.4	0.8	0.4	1.0	944
3	$\beta$ -pinene	0.2	-	1.8	0.1	-	1.6	-	1.7	-	1.5	-	1.5	990
4	myrcene	1.3	2.7	-	0.9	1.8	-	1.5	-	1.2	-	1.2	-	998
5	$\alpha$ -phellandrene	0.3	0.4	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	-	0.1	1003
6	$\alpha$ -terpinene	1.3	1.8	1.9	1.2	1.3	1.8	1.7	2.0	2.2	2.1	1.7	1.7	1018
7	<b>p-cymene</b>	<b>15.1</b>	<b>19.8</b>	<b>19.8</b>	<b>12.5</b>	<b>17.0</b>	<b>21.8</b>	<b>9.8</b>	<b>20.0</b>	<b>13.6</b>	<b>23.2</b>	<b>16.2</b>	<b>39.0</b>	1024
8	1,8-cineole	-	1.1	-	-	0.8	-	0.6	-	0.5	-	0.5	-	1031
9	<b><math>\gamma</math>-terpinene</b>	<b>13.6</b>	<b>18.2</b>	<b>17.2</b>	<b>10.0</b>	<b>15.6</b>	<b>17.8</b>	<b>23.2</b>	<b>22.3</b>	<b>17.3</b>	<b>19.9</b>	<b>14.6</b>	<b>19.2</b>	1063
10	p-menta,3,8-diene	-	0.4	-	-	0.3	-	0.3	-	0.1	-	-	-	1073
11	terpinolene	0.1	-	0.2	0.1	-	-	-	0.2	-	-	-	-	1083
12	borneol	0.6	0.6	-	0.3	0.3	-	-	-	-	-	0.1	-	1167
13	terpinen-4-ol	-	0.5	0.7	-	0.4	0.6	0.5	0.6	0.1	0.3	0.5	0.7	1178
14	$\alpha$ -terpineol	-	0.2	-	-	0.4	-	0.5	-	0.3	-	0.3	-	1189
15	methyl ether thymol	1.3	0.9	-	1.3	1.7	-	-	-	1.9	-	2.5	-	1238
16	<b>thymol</b>	<b>31.7</b>	<b>22.8</b>	<b>26.4</b>	<b>33.1</b>	<b>29.7</b>	<b>28.9</b>	<b>8.5</b>	<b>3.5</b>	<b>51.7</b>	<b>34.1</b>	<b>51.1</b>	<b>27.9</b>	1292
17	<b>carvacrol</b>	<b>29.6</b>	<b>26.8</b>	<b>27.0</b>	<b>36.6</b>	<b>25.9</b>	<b>20.9</b>	<b>49.7</b>	<b>44.2</b>	<b>4.2</b>	<b>11.9</b>	<b>3.7</b>	<b>3.6</b>	1300
18	e-caryophyllen	2.0	-	0.2	1.6	0.4	1.8	0.8	0.9	1.7	1.4	2.5	1.5	1417
19	spathulenol	-	-	-	-	-	0.1	-	0.1	-	0.2	-	0.3	1580
20	caryophyllen oxide	-	-	0.9	-	-	0.1	-	0.1	-	0.1	-	0.2	1587
	Total	97.9	96.6	98.4	98.3	96.4	97.7	97.7	97.7	95.4	96.8	95.3	97.6	

در نتایج تحقیق دیگری بازده اسانس *S. mutica* گردآوری شده از استان گیلان (منجیل) را ۱/۲ درصد گزارش کرد (Rustaiyan *et al.*, 2004) اما در این تحقیق بازده اسانس مرزه در مزرعه نمونه‌های خراسان ۱، خراسان ۲، مازندران ۲۱ و گیلان ۳۴ در سال‌های اول، دوم و سوم بیشتر از این میزان (۲/۸۳-۱/۴۷ درصد) هستند، درحالی‌که بازده اسانس نمونه گیلان ۴۴ در سال اول و دوم کشت در مزرعه کمتر از آن (۱/۰۹-۱/۰ درصد) بود. مقایسه بازده اسانس نمونه‌های گیلان ۳۴ و گیلان ۴۴ با منشأ بذر گیلان با این تحقیق نشان داد، بازده اسانس در نمونه گیلان ۳۴ در سال اول (۱/۴۷ درصد) و دوم (۱/۶۹ درصد) کشت در مزرعه نسبت به رویشگاه افزایش اما در نمونه گیلان ۴۴ در سال اول (۱/۰ درصد) و دوم (۱/۰۹ درصد) کشت در مزرعه نسبت به رویشگاه بالا کاهش یافت.

گزارش‌های همسانی در مورد دیگر گونه‌های مرزه نیز وجود دارد، برای مثال در مورد گونه *S. sahendica* در نتایج بررسی‌ها نشان داده شده، بازده اسانس در سال دوم در شش نمونه افزایش و در دو نمونه دیگر مورد بررسی کاهش یافت (Hooshidary & Sefidkon, 2013). همچنین در گونه *S. khuzistanica* گزارش شده است که بازده اسانس در مزرعه (۰/۲ درصد) نسبت به رویشگاه (۰/۶ درصد) کاهش یافت (Farsam *et al.*, 2004).

در نتایج تحقیقات پیشین، بازده اسانس سرشاخه گلدار یک نمونه *S. mutica* گردآوری شده از رویشگاه طبیعی خراسان ۲/۳۱ درصد گزارش شد (Sefidkon & Jamzad, 2005). در این تحقیق در شرایط مزرعه بیشترین میانگین بازده اسانس در سال دوم و سوم به ترتیب ۱/۹۵ و ۲/۴۲ درصد و کمترین میزان در سال اول و به میزان ۱/۶۳ درصد به دست آمد.

در نتایج تحقیقاتی که روی نمونه‌های گردآوری شده از رویشگاه‌های طبیعی استان گیلان انجام شد، بازده اسانس را از ۰/۲ تا ۱/۲ درصد گزارش کردند. بازده اسانس گیاهان نمونه‌های گیلان در این تحقیق در سال‌های اول و دوم به ترتیب تا ۱/۴۷ و ۱/۶۹ درصد به دست آمد.

در نتایج تحقیق دیگری بازده اسانس اندام‌های هوایی *S. mutica* گردآوری شده از استان گیلان ۰/۲ درصد گزارش شد (Gohari *et al.*, 2005). بازده اسانس در کمترین مورد از نتایج این تحقیق در نمونه‌های مورد بررسی در سال‌های متمادی در مزرعه تا حدودی تا ۵ برابر نسبت به نمونه‌های رویشگاه طبیعی افزایش نشان داد. به طوری که مقایسه بازده اسانس نمونه‌های گیلان ۳۴ و گیلان ۴۴ با منشأ بذر گیلان با آن نشان داد، بازده اسانس در سال اول (۱/۰-۱/۴۷ درصد) و دوم (۱/۰۹-۱/۶۹ درصد) کشت در مزرعه چند برابر افزایش یافت.

جدول ۶. مقایسه درصد ترکیب‌های اصلی اسانس پنج اکسشن گونه *S. mutica* در سال‌های مختلف پس از کشت

Table 6. The main components of essential oils of *S. mutica* accessions in the years

Accession	Years	main components(%)			
		carvacrol	$\gamma$ -terpinene	thymol	p-cymene
1	1	29.6	13.6	31.7	15.1
1	2	26.8	18.2	22.8	19.8
1	3	27.0	17.2	26.4	19.8
2	1	36.6	10.0	33.1	12.5
2	2	25.9	15.6	29.7	17.0
2	3	20.9	17.8	28.9	21.8
21	1	49.7	23.2	8.5	9.8
21	2	44.2	22.3	3.5	20.0
21	3	-	-	-	-
34	1	4.2	17.3	51.7	13.6
34	2	11.9	19.9	34.1	23.2
34	3	-	-	-	-
44	1	3.7	14.6	51.1	16.2
44	2	3.6	19.2	27.9	39.0
44	3	-	-	-	-

کاهش یافت و به‌طورکلی کیفیت اسانس با رشد گیاه در سال سوم نسبت به سال دوم در نمونه ۱ افزایش و باوجود ثبات نسبی میزان تیمول، در نمونه ۲ کاهش یافت. بنابر، این نتایج گرچه کیفیت اسانس نمونه خراسان ۱ در سال دوم نسبت به سال اول کاهش یافت ولی با رشد گیاه و استقرار در مزرعه کیفیت آن بهتر شد.

تحقیقات پیشین، ترکیب‌های عمده *S. mutica* گردآوری‌شده از استان خراسان را کارواکرول (۳۹/۹ درصد)، تیمول (۲۶/۵ درصد)، گاما-تریپنین (۱۴/۹ درصد) و پارا-سیمن (۱۰/۳ درصد) اعلام کرده است (Sefidkon & Jamzad, 2005). گزارش دیگری ترکیب‌های اصلی *S. mutica* گردآوری‌شده از استان گیلان را تیمول (۶۲/۶ درصد)، پارا سیمن (۹/۴ درصد)، کارواکرول (۶/۶ درصد) و متیل تیمول (۵/۴ درصد) گزارش کرده‌اند (Gohari et al., 2005). همچنین در نتایج تحقیق دیگری ترکیب‌های عمده در اسانس *S. mutica* گردآوری‌شده از منجیل واقع در استان گیلان را منتول (۳۷/۴ درصد)، منتون (۱۷/۲ درصد)، او ۱ سینیول (۹/۳ درصد) گزارش کرده‌اند (Rustaiyan et al., 2004). درحالی‌که اسانس این‌گونه در سال اول کشت در مزرعه ترکیب‌های عمده تیمول (۵۱/۷-۸/۵ درصد)، کارواکرول (۴۹/۷-۳/۷ درصد)، گاما-تریپنین (۲۳/۳-۱۰/۰ درصد) و پارا-سیمن (۱۶/۲-۹/۸ درصد) بود.

نوع ترکیب‌های عمده در این تحقیق با نتایج Sefidkon & Jamzad (2005) همخوانی دارد. اما ترکیب منتول و متیل تیمول در ترکیب‌های این‌گونه در مزرعه مشاهده نشد و او ۱ سینیول نیز در نمونه‌های او ۲ در سال دوم به ترتیب به میزان ۱/۱ و ۰/۸ درصد و در نمونه‌های او ۲۱، ۳۴ و ۴۴ در سال اول به ترتیب به میزان ۰/۶، ۰/۵ و ۰/۵ درصد مشاهده شد. متأسفانه گزارشی در مورد ترکیب‌های عمده این‌گونه در مزرعه وجود ندارد. در مورد دیگر گونه‌های این جنس گزارش‌هایی به شرح زیر وجود دارد: در گونه *S. sahandica* ترکیب‌های عمده اسانس در طول دو سال تیمول (۱۸/۲-۵۰/۳ درصد)، پارا-سیمن (۲۶/۵-۴۶/۴ درصد) و گاما-تریپنین (۱۲/۱-۱۹/۳

مقایسه اجزای اصلی اسانس پنج نمونه مختلف مرزه مورد بررسی در جدول ۱۰ دیده می‌شود. مقایسه مقادیر ترکیب‌های اصلی اسانس در جدول‌های ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹ نشان داد که از دو پیش ماده زیست‌ساخت (بیوسنتز) ترکیب‌های ارزشمند فنلی (پارا-سیمن و گاما-تریپنین) میزان پارا-سیمن در اسانس همه نمونه‌ها با رشد گیاه در سال دوم نسبت به سال اول افزایش یافت به‌گونه‌ای که این افزایش از ۴/۵ در نمونه خراسان ۱ تا ۲۲/۸ درصد در نمونه گیلان ۴۴ در سال دوم متغیر بود. میزان پارا-سیمن در نمونه‌های خراسان ۱، خراسان ۲، مازندران ۲۱، گیلان ۳۴ و گیلان ۴۴ به ترتیب از حدود ۱۵/۱، ۱۲/۵، ۹/۸، ۱۳/۶ و ۱۶/۲ درصد اسانس در سال اول به حدود ۱۹/۸، ۱۷/۰، ۲۰/۰، ۲۳/۲ و ۳۹/۰ درصد اسانس در سال دوم رسید. افزایش میزان گاما-تریپنین نیز (به‌جز نمونه ۲۱) در سال دوم از ۲/۶ در نمونه گیلان ۳۴ تا ۴/۶ در نمونه خراسان ۱ و گیلان ۴۴ متفاوت بود. اما در سال سوم هر دو ترکیب با رشد گیاه تا حدودی ثبات نسبی تا افزایش ۲-۴ درصدی نشان داد. افزایش ۴/۵-۲۲/۸ درصدی پارا-سیمن و ۲/۶-۵/۶ درصدی گاما-تریپنین در سال دوم نسبت به سال اول کشت و ثبات نسبی آن در سال سوم قابل‌توجه است. میزان تیمول در نمونه‌های مورد بررسی با رشد گیاه در سال دوم نسبت به سال اول کاهش یافت به‌طوری‌که تیمول در سال دوم حدود ۲۳/۲-۳/۴ درصد کاهش نشان داد اما در سال سوم با رشد گیاه نسبت به سال دوم تا حدودی ثبات نسبی تا افزایش ۴ درصد داشت. میزان کارواکرول نیز در نمونه‌های خراسان ۱، خراسان ۲ و مازندران ۲۱ در سال دوم نسبت به سال اول حدود ۱۰-۳ درصد کاهش یافت در سال سوم نیز نسبت به سال دوم در نمونه خراسان ۲ کاهش نشان داد به‌گونه‌ای که می‌توان گفت مجموع دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول در نمونه‌های خراسان ۱، خراسان ۲، مازندران ۲۱، گیلان ۳۴ و گیلان ۴۴ به ترتیب از حدود ۶۱، ۶۹، ۵۸، ۵۵، ۴۹، ۴۷، ۴۶، ۳۱ درصد در سال اول به حدود ۴۹، ۵۳ درصد در سال دوم کاهش یافت اما با رشد گیاه و در سال سوم در نمونه خراسان ۱ به حدود ۵۳ درصد افزایش و در نمونه خراسان ۲ به حدود ۴۹ درصد



مورد بررسی گونه *Satureja mutica* به تدریج با رشد گیاه در سال دوم و سوم افزایش یافت. افزایش بیش از دو برابری پارا-سیمن در سال دوم نسبت به سال اول کشت در مزرعه و ثبات نسبی آن در سال سوم می‌تواند مورد توجه تولیدکنندگان گیاهان دارویی و داروهای با منشأ گیاهی باشد. مجموع دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول اسانس در سال دوم نسبت به سال اول در همه نمونه‌ها کاهش یافت. به طور کلی می‌توان گفت گیاهان دو ساله و سه ساله بازده اسانس بالاتر و گیاهان یک‌ساله از نظر مجموع دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول کیفیت اسانس بالاتری داشتند. در دو نمونه مورد بررسی در سال سوم بازده اسانس در سال سوم نسبت به سال دوم افزایش و از نظر مجموع دو ترکیب فنلی تیمول و کارواکرول کیفیت اسانس در یک نمونه افزایش و در دیگری کاهش یافت.

درصد) بود (Hooshidary & Sefidkon, 2013)، در گونه *S. khuzistanica* Jamzad میزان کارواکرول به عنوان ترکیب عمده در مزرعه (۸۰/۶ درصد) نسبت به رویشگاه (۹۳/۹ درصد) کاهش یافت (Farsam et al., 2004). همچنین در گونه *S. hortensis* L. در شرایط مزرعه کارواکرول و در شرایط رویشگاه‌های طبیعی غرب ترکیه تیمول ترکیب غالب بود (Baser et al., 2004).

بر پایه نتایج پژوهش‌های بالا گونه‌های مورد بررسی مزرعه در شرایط مزرعه از نظر ترکیب‌های عمده و درصد اجزا تشکیل‌دهنده اسانس متفاوت هستند، لذا بررسی و مقایسه همه‌جانبه و بیشتر این گونه‌ها در رویشگاه‌ها مراحل پدیدشناختی مختلف گیاه ضروری است.

#### نتیجه‌گیری

نتایج این بررسی نشان داد، بازده اسانس در پنج نمونه

#### REFERENCES

1. Baser, K. H. C., Özek, T., Kirimer, N. & Tümen, G. (2004). A Comparative study of the essential oils of wild and cultivated *Satureja hortensis* L. *Journal of Essential Oil Research*, 16, 422-424.
2. Farsam, H., Amanlou, M., Radpour, M. R., Salehinia, A. N. & Shafiee, A. (2004). Composition of the essential oils of wild and cultivated *Satureja khuzistanica* Jamzad from Iran, *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 308-310.
3. Gohari, A. R., Hadjiakhoondi, A., Shafiee, A., Ebrahimi, E. S. & Mozaffarian, V. (2005). Chemical Composition of the Essential Oils of *Satureja atropatana* and *Satureja mutica* Growing Wild in Iran, *Journal of Essential Oil Research*, 17(1), 17-18.
4. Hooshidary, F., Sefidkon, F., Naderi, M. & Taoghi, Gh. (2015). The essential oils components of wild and cultivated *Satureja avromanica* Maroofi in Kurdistan province of Iran. *Quarterly Journal of Plant Environmental Physiology*, 10(1) (37), 53-61.
5. Hooshidary, F. & Sefidkon, F. (2013). Variability in essential oil content and composition of *Satureja Sahendica* Bornum. cultivated in Kurdistan Province. In: *Proceedings of The Secound International Conference on Agriculture and Natural Resources*, 25-26 Desember, Razi University, Kermanshah, Iran. pp.546-548
6. I.R. of Iran Meteorological Organization (IRIMO) *Data Processing Center* from <http://www.chaharmahalmet.ir/stat/archive/iran/kor/SANANDAJ/25.asp>
7. Jamzad, Z. (2012). *Flora of Iran, No.76: Lamiaceae*. Research Institute of Forests and Rangelands. pp.1066
8. Rustaiyan, A., Feizbakhsh, A., Masoudi, Sh. & Ameri, N. (2004). Comparison of the volatile oils of *Satureja atropatana* Bung. and *Satureja mutica* Fisch. et C.A. Mey. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 16(6), 594-596.
9. Sefidkon, F. & Jamzad, Z. (2000). Essential oil of *Satureja bachtiarica* Bunge.. *Journal of Essential Oil Research*, 12(5).
10. Sefidkon, F. & Jamzad, Z. (2005). Chemical composition of the essential oils of three Iranian *Satureja* species (*S. mutica*, *S. macrantha* and *S. intermedia*). *Food Chemistry*, 91, 1-4.
11. Shibamoto, T. (1987). Retention indices in essential oil analysis. In: *Capillary Gas chromatography in Essential oil Analysis*. Edits, P. Sandra and C. Bicchi, Dr. Alfred Heuthig Verlag, NewYork, P. 259-275.
12. Zargari, A. (1972). *Medicinal Plants*. Tehran Univercity Pub II. (3<sup>rd</sup> ed.).1001pp. (in Farsi)