بررسی اثر شرایط محیطی بر عملکرد و اجزای تشکیل‌دهنده اسانس جعفری مکزیکی (*Tagetes minuta* L.)

محمد فرشباف مقدم[1]*، رضا امیدبیگی[2]، فاطمه سفیدکن[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- استاد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۳- دانشیار، عضو هیات علمی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

*آدرس مکاتبه: دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه باغبانی، صندوق‌پستی: ۳۳٦ - ۱٤۱۱٥

تلفن: ۳-٤٤۱۹٦٥۲۲ (۰۲۱)، نمابر: ٤٤۱۹٦٥۲٤ (۰۲۱)

پست الکترونیک: moghaddam75@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۳/۱۲/۲٦ **تاریخ تصویب:** ۸٤/۷/۲٤

چکیده

مقدمه: جعفری مکزیکی[1] گیاهی یک‌ساله و متعلق به خانواده **Asteraceae** است. این گونه به صورت خودرو در ایران وجود ندارد. جعفری مکزیکی یکی از مهمترین گیاهان دارویی مورد استفاده در صنایع عطرسازی، دارویی و غذایی است. اسانس این گیاه کاربرد وسیعی در این صنایع دارد.

هدف: در این تحقیق اثر شرایط محیطی مختلف بر عملکرد و اجزای تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه بررسی شد.

روش بررسی: بذر گیاه در دو منطقه به طور هم‌زمان کشت گردید. قسمت‌های هوایی گیاه در مرحله تمام گل برداشت و پس از خشک شدن مواد گیاهی در سایه و هوای آزاد، اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب به عمل آمد. شناسایی کمی و کیفی ترکیبات نمونه‌های اسانس به وسیله دستگاه‌های گاز کروماتوگراف (GC) و گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی (GC-MS) انجام شد.

یافته‌ها: نتایج حاصله نشان داد که میزان و اجزای تشکیل‌دهنده اسانس بین دو منطقه کشت متفاوت است. بازده اسانس به ترتیب ۱/٤٤ و ۰/۸ درصد از غرب و شمال تهران به دست آمد. تعداد ۲۰ و ۱۹ ترکیب به ترتیب در اسانس حاصل از گیاهان کشت شده در غرب و شمال تهران شناسایی گردید. ترکیبات عمده اسانس از گیاهان کشت شده در غرب تهران دی هیدروتاجتون (۲۱/٤ درصد)، آلفا- ترپینئول (۱٥/٦ درصد)، سیس- تاجتون (۱۳/۱ درصد)، ترانس- اُسیمنون (۱۱/۸ درصد)، سیس – بتا - اُسیمن (۸/۳ درصد)، اسپاتولنئول (٤/۸ درصد)، سیس- اُسیمنون (٤/٥ درصد)، لیمونن (٤ درصد) و از شمال تهران آلفا- ترپینئول (۲۰/۸ درصد)، سیس- بتا- اُسیمن (۱۷/۷ درصد)، دی هیدروتاجتون (۱۳/۷ درصد)، ترانس- اُسیمنون (۱۳/۳ درصد)، سیس- تاجتون (۸/٤ درصد)، سیس - اُسیمنون (٦/۱ درصد) و سیس - دی هیدروکارون (٥ درصد) بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که شرایط محیطی بر عملکرد و اجزای تشکیل‌دهنده گیاه جعفری مکزیکی موثر است.

گل‌واژگان: جعفری مکزیکی، تیره کاسنی، اسانس، شرایط محیطی، ترکیبات شیمیایی

[1] *Tagetes minuta*

مقدمه

گیاه جعفری مکزیکی متعلق به خانواده کاسنی[1] از گیاهان بومی آمریکای جنوبی می‌باشد که به جهت بهره‌برداری از اسانس آن در سطوح وسیعی مورد کشت و کار قرار می‌گیرد. این گیاه از دیرباز به عنوان یک گیاه دارویی و ادویه‌ای مورد استفاده بومیان قاره آمریکا قرار می‌گرفته است. جعفری مکزیکی گیاهی یک‌ساله، معطر و دارای ساقه‌ای خشبی و عمودی به طول ۱ تا ۲ متر است. برگ‌های آن متقابل و کیسه‌های تجمع‌کننده اسانس آن در سطح زیرین برگ‌ها و بر روی گل‌ها و شاخه‌های فرعی آن یافت می‌شود. علاوه بر ترپن‌ها و سزکویی‌ترپن‌ها متابولیت‌های ثانویه دیگری چون فلاونوییدها و تیوفن از این گیاه گزارش شده است [۱۲،۱۳].

اسانس جعفری مکزیکی بازار خوبی در صنایع عطرسازی و غذایی دارد. اسانس این گیاه برای ساخت عطرهای درجه یک و در صنایع غذایی به عنوان طعم دهنده برای تولید نوشابه، بستنی، شیرینی و شکلات، ژلاتین، پودینگ و غیره به کار می‌رود [۱۲،۱۳]. حضور اُسیمن[2]، دی‌هیدروتاجتون[3]، سیس- تاجتون[4]، ترانس- تاجتون[5]، سیس- اُسیمنون[6] و ترانس- اُسیمنون[7] در اسانس این گیاه منابع خوبی از مواد خام برای ساخت ترکیبات معطر می‌باشند. اسانس این گیاه همچنین دارای فعالیت بیولوژیکی بوده و در نتیجه از آن در بخش صنایع داروسازی استفاده می‌شود. اسانس به دست آمده از آن فعالیت اتساع مجاری دستگاه تنفسی، آرام‌بخشی، ضد اسپاسم و ضدالتهابی از خود نشان می‌دهد [۱۱،۱۲].

طبق نظر امیدبیگی متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی اساساً با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، ولی ساخت آنها به طور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد [۱]. بنابراین میزان و کیفیت مواد موثر یک گیاه دارویی در رویشگاه‌ها و مناطق مختلف تغییر می‌یابد و دلیل این امر نوسان فعالیت‌های متابولیکی گیاه تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی می‌باشد. هتلی و همکارانش مطالعاتی را روی ترکیبات اسانس جعفری مکزیکی که بذور آنها از باغ‌های گیاه‌شناسی مختلف به دست آمده بود انجام دادند [۸]. نتایج کار آنها نشان داد که درصد ترکیبات شیمیایی اسانس در بین منابع مختلف بذور متفاوت است. یک سال بعد کراویرو و همکارانش اختلاف در اجزای تشکیل‌دهنده اسانس جعفری مکزیکی برداشت شده از دو ایالت مختلف در برزیل را نشان دادند [٦]. آنها پی بردند که اسانس به دست آمده از منطقه باهیا[1] حاوی دی‌هیدروتاجتون (۹۹ درصد) به عنوان تنها جزء شناخته شده بود در صورتی که اسانس به دست آمده از منطقه پرنامبوکو[2] حاوی دی‌هیدروتاجتون (٦۹/۷ درصد)، ترانس-تاجتون (۱٦/٦ درصد) و تیمول[3] (۷/٤ درصد) بود. زیگادلو و همکارانش تغییر در درصد ترکیبات شیمیایی اسانس جعفری مکزیکی به دست آمده از گیاهان رشد یافته در مناطق مختلف آرژانتین را نشان دادند [١٤]. ترکیبات عمده اسانس سیس- بتا- اُسیمن (٤۹/۰۵ - ١٤/۷۹ درصد)، ترانس- بتا- اُسیمن (٤۷/۵۱ - ۱/٦۳ درصد)، سیس - تاجتون (۵/۹٦ - ۱/۷٤ درصد)، ترانس- تاجتون (۱۳/۹۳ - ٤/۹٤ درصد) و تاجتنون (٦۲/۰۱ - ۲/۲۱ درصد) بود. گراون و همکارانش نشان دادند که دسترسی ازت و فسفر اثرات چشمگیری بر روی عملکرد و ترکیبات اسانس جعفری مکزیکی دارد [۷]. بن‌ونایست و آزو در مصر ۲۱ ترکیب در اسانس این گیاه شناسایی کردند که ترکیبات عمده آن دی‌هیدروتاجتون (٤۷/۰۵ درصد)، سیس- بتا- اُسیمن (۲۱/۱ درصد)، ترانس- تاجتون (۷/٤۹ درصد)، لیمونن[4] (۵ درصد)، سیس- تاجتنون[5] (۱/٤۲ درصد)، ترانس- تاجتنون[6] (۱/۳ درصد) و سیس- تاجتون (۰/۹۵ درصد) بود. در تحقیقات انجام شده توسط چالچات و همکارانش در کشور رواندا تغییر در عملکرد و اجزای تشکیل‌دهنده اسانس این گیاه در مناطق مختلف و با توجه به قسمت‌های مختلف گیاه (برگ و گل) نشان داده شد [۳،۵]. ترکیبات عمده شناسایی شده از اسانس به دست آمده از برگ گیاه در مراحل مختلف برداشت

[1] Asteraceae
[2] *Z*-β-Ocimene
[3] Dihydrotagetone
[4] *Z*-Tagetone
[5] *E*-Tagetone
[6] *Z*-Ocimenone
[7] *E*-Ocimenone

[1] Bahia
[2] Pernambuco
[3] Thymol
[4] Limonene
[5] *Z*-Tagetenone
[6] *E*-Tagetenone

سیس- بتا- اُسیمن (۳ - ۰/٤ درصد)، دی هیدروتاجتون (٦۳/۸ - ۱٦/۵ درصد)، ترانس - تاجتون (۱۸/۸ - ۳/۹ درصد)، سیس- تاجتون (۲٦ - ۸/۷ درصد)، ترانس- تاجتون (٦/۷ - ۰/۱ درصد)، سیس - تاجتون (٤/۸ - ۰/۱ درصد) و از گل گیاه در مراحل مختلف برداشت سیس- بتا- اُسیمن (۳۷/۸ - ۲۱/۳ درصد)، دی هیدروتاجتون (۳/۲ - ۲/۳ درصد)، ترانس- تاجتون (٤/۹ - ۲/۷ درصد)، سیس- تاجتون (٤۸/۸ - ۱۰/۹ درصد)، ترانس- تاجتون (۷/٤ - ۰/۲ درصد)، سیس- تاجتون (۲۸/۸ - ۰/۲ درصد) بود. در تحقیق دیگر چاگاندا و همکارانش تغییر در درصد ترکیبات اسانس این گیاه در مناطق مختلف زیمباوه گزارش نمودند [٤]. ترکیبات عمده سیس- بتا- اُسیمن (٤۱/٤ - ۸/۵ درصد)، دی هیدروتاجتون (٦۰/۳ - ۲/۲ درصد)، ترانس- تاجتون (٦/۱ - ۰/۳ درصد)، سیس- تاجتون (۲۱ — ۱ درصد)، ترانس- تاجتون (۱٦ - ۰/۲ درصد) و سیس- تاجتون (۳۱/٤ - ۰/۳ درصد) بود.

بنابراین عوامل درونی و بیرونی تاثیر مهمی بر عملکرد و ترکیبات اسانس جعفری مکزیکی دارند. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر شرایط محیطی مختلف بر عملکرد و اجزای تشکیل‌دهنده اسانس جعفری مکزیکی است.

مواد و روش‌ها

تکثیر جعفری مکزیکی از طریق بذر صورت می‌گیرد. بذر آن به رنگ قهوه‌ای تیره و به طول ۱۰ تا ۱۲ میلی‌متر است. قبل از کشت قوه نامیه بذر مورد آزمایش قرار گرفت که در حدود ۸۵ درصد در شرایط آزمایشگاهی بود. بذر این گیاه از کشور نامیبیا به ایران آورده شد. به منظور مطالعه اثر شرایط محیطی بر روی تغییرات کمی و کیفی اسانس جعفری مکزیکی، بذر آن در دو منطقه یکی مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، واقع در غرب تهران که دارای خاکی سبک با بافت لومی شنی و اسیدیته ٦/۷ و دیگری باغ تحقیقاتی شرکت کشت وصنعت گیاهان دارویی زردبند، واقع در شمال تهران که خاک آن دارای بافتی لومی رسی و اسیدیته ۷/۱ بود به طور همزمان کشت گردید. مشخصات اقلیمی محل‌های انجام تحقیق در جدول شماره ۱ آورده شده است.

بذرها در ردیف‌هایی به فاصله ٤۰ سانتی‌متر و به عمق ۵ - ٤ میلی‌متر کشت شدند. کلیه امور زراعی شامل تنک کردن، سله شکنی و مبارزه با علف‌های هرز در هر دو منطقه به طور یکسان انجام گردید. فاصله بوته‌ها در روی ردیف ۱۵ سانتی‌متر بود. برداشت در هر دو منطقه در مرحله تمام گل انجام شد. بدین منظور قسمت‌های هوایی گیاه قطع گردید. با توجه به اینکه ساقه اصلی گیاه فاقد اسانس است، قسمت‌های حاوی اسانس (برگ، گل و سرشاخه‌های فرعی) از ساقه اصلی جدا شد [۹]. سپس مواد گیاهی در دمای محیط و به

جدول شماره ۱- مشخصات اقلیمی محل‌های انجام تحقیق*

مشخصات	محل‌های انجام تحقیق	
	غرب تهران	شمال تهران
طول جغرافیایی	۵۱ درجه و ۸ دقیقه شرقی	۵۱ درجه و ۳۷ دقیقه شرقی
عرض جغرافیایی	۳۵ درجه و٤۳ دقیقه شمالی	۳۵ درجه و ٤۷ دقیقه شمالی
ارتفاع از سطح دریا (متر)	۱۲۱۵	۱۵٤۸/۲
میانگین دما در دوره تحقیق (درجه سانتی‌گراد)	۲۲/۹	۲۱/۲
میانگین تعداد ساعات آفتابی در دوره تحقیق	۲۳۵۱/۱	۲۱۸۰/۷
حداکثر درجه حرارت ثبت شده	٤۰	۳۹
حداقل درجه حرارت ثبت شده	-۷/۲	-٦/۸
میانگین رطوبت نسبی (درصد)	۳٦	٤٤
میانگین بارندگی سالیانه (میلی‌متر)	۳۲۵/۷	٤۸۹/۲
رژیم آب وهوایی	نیمه خشک	نیمه خشک

* مشخصات اقلیمی هر منطقه از مرکز اطلاعات و آمار هواشناسی استان تهران به دست آمده است.

دور از تابش آفتاب خشک گردید. آن‌گاه مقدار ۱۰۰ گرم از نمونه‌های خشک شده گیاهی وزن و به روش تقطیر با آب و به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد. اسانس‌های به دست آمده با استفاده از سولفات سدیم خشک رطوبت زدایی و تا زمان تجزیه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به منظور آنالیز ترکیبات اسانس از دستگاه کروماتوگراف گازی و کروماتوگراف گازی – طیف‌سنجی جرمی استفاده شد. دستگاه کروماتوگراف گازی از نوع Shimazu GC-9A مجهز به دتکتور (ردیاب) FID، ستون مورد استفاده DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرون، برنامه‌ریزی حرارتی برای ستون DB-5 از ۵ تا ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ٤ درجه در دقیقه، دمای محفظه تزریق و دتکتور ۲٦۰ درجه سانتی‌گراد و گاز هلیوم با فشار ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع بود. دستگاه کروماتوگراف گازی – طیف سنجی جرمی از نوع Saturn با ستون مورد استفاده DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر، برنامه‌ریزی حرارتی از ۵۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ٤ درجه در دقیقه، دمای محفظه تزریق ۲٦۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود. شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از اندیس بازدارندگی کواتس[1] و بررسی طیف‌های جرمی و مقایسه با طیف‌های جرمی پیشنهادی توسط کتابخانه کامپیوتر دستگاه کروماتوگرافی گازی – طیف‌سنجی جرمی و با ترکیبات استاندارد و همچنین اطلاعات منتشر شده در منابع صورت گرفت [۲،۱۰].

نتایج و بحث

این تحقیق به منظور بررسی تاثیر شرایط محیطی بر تغییرات کمی و کیفی اسانس جعفری مکزیکی انجام شد. نتایج بررسی‌ها نشان داد که میزان و ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس جعفری مکزیکی تحت تاثیر شرایط محیطی قرار گرفتند. بازده اسانس در نمونه به دست آمده از غرب تهران ۱/٤٤ درصد و از شمال تهران ۰/۸ درصد بود. کروماتوگرام اسانس‌های به دست آمده از دو منطقه در شکل‌های شماره ۱ و ۲ مشاهده می‌شود.

تعداد ۲۰ ترکیب در اسانس به دست آمده از غرب و ۱۹ ترکیب از اسانس به دست آمده از شمال تهران شناسایی شد. ترکیبات شناسایی شده به همراه شاخص‌های بازداری آنها و نیز درصد هر ترکیب (براساس ستون DB-5) در جدول شماره ۲ آورده شده است. همان‌طور که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود، ترکیبات عمده اسانس (بیش از ٤ درصد) از گیاهان کشت شده در غرب تهران دی‌هیدروتاجتون (۲۱/٤ درصد)، آلفا- ترپینئول[1] (۱۵/٦ درصد)، سیس- تاجتون (۱۳/۱ درصد)، ترانس- اُسیمنون (۱۱/۸ درصد)، سیس – بتا - اُسیمن (۸/۳ درصد)، اسپاتولنول[2] (٤/۸ درصد)، سیس- اُسیمنون (٤/۵ درصد) و لیمونن (٤ درصد) بود. ترکیبات عمده اسانس در مزرعه تحقیقاتی شرکت زردبند آلفا- ترپینئول (۲۰/۸ درصد)، سیس- بتا- اُسیمن (۱۷/۷ درصد)، دی‌هیدروتاجتون (۱۳/۷ درصد)، ترانس- اُسیمنون (۱۳/۳ درصد)، سیس- تاجتون (۸/٤ درصد)، سیس- اُسیمنون (٦/۱ درصد) و سیس- دی‌هیدروکارون[3] (۵ درصد) بود.

با مقایسه نتایج به دست آمده از دو منطقه کشت (جدول شماره ۲) و همچنین مقایسه آنها با نتایج به دست آمده با منابع مختلف موارد زیر استنباط می‌گردد:

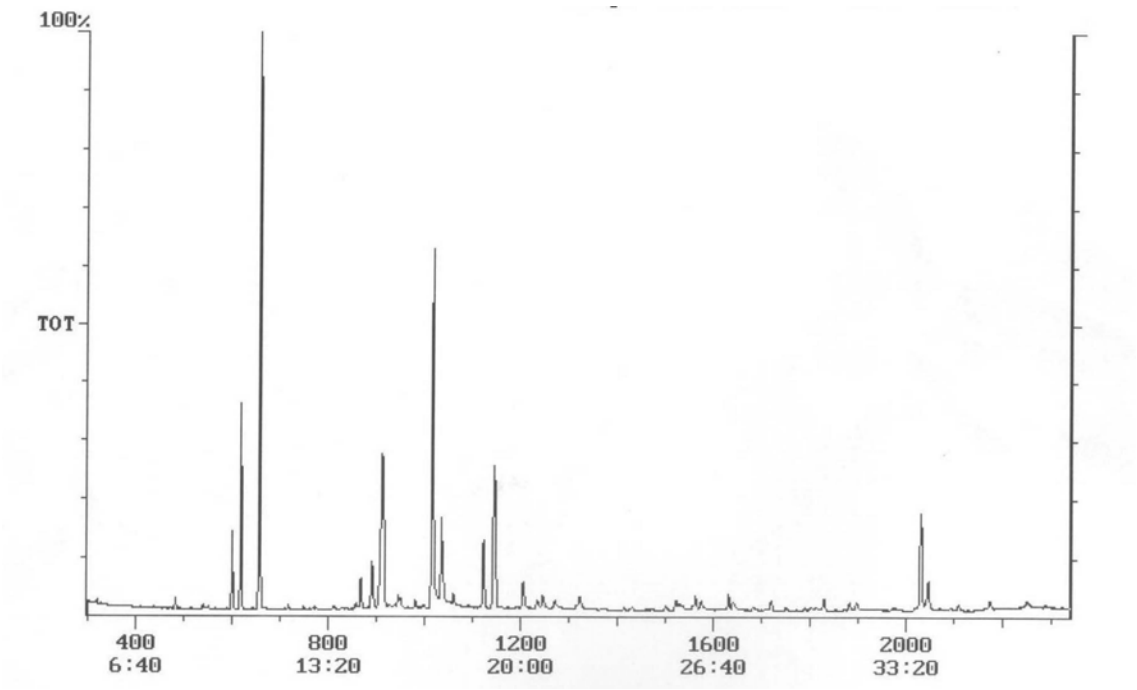
همان‌طور که در جدول ترکیبات دیده می‌شود، بین دو منطقه کشت به لحاظ میزان اجزای تشکیل‌دهنده آن تفاوت وجود دارد. وجود این اختلاف در اجزای تشکیل‌دهنده و درصد ترکیبات اسانس به دست آمده از دو منطقه را می‌توان در نتیجه تاثیر شرایط محیطی (آب و هوا و خاک) بیان کرد.

تفاوت در بازده اسانس نیز در نتیجه وجود اختلاف شرایط محیطی بین دو منطقه کشت است به طوری‌که منطقه غرب تهران دارای بازده اسانس بیشتری (بیش از ۵۵ درصد) نسبت به منطقه شمال تهران بود.

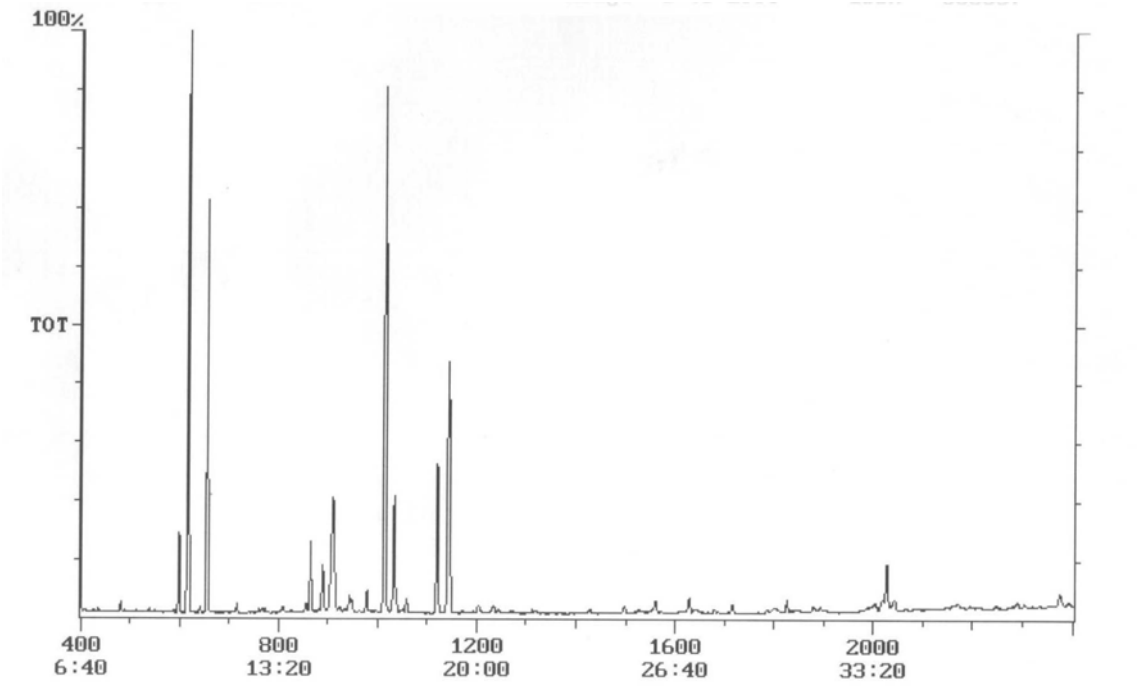
در این مطالعه آلفا- ترپینئول به عنوان جز عمده اسانس این گیاه در هر دو منطقه کشت شناسایی شد که قبلاً به عنوان ترکیب عمده اسانس این گیاه گزارش نشده بود. این خود می‌تواند پتانسیل مهمی برای این گیاه محسوب گردد.

[1] Retention index

[1] α-Terpineol
[2] Spathulenol
[3] *Cis*-Dihydrocarvone



شکل شماره ۱ – گازکروماتوگرام اسانس جعفری مکزیکی در مرحله تمام گل از غرب تهران



شکل شماره ۲ – گازکروماتوگرام اسانس جعفری مکزیکی در مرحله تمام گل از شمال تهران

جدول شماره ۲- اجزا و درصد ترکیبات اسانس به دست آمده از مناطق مورد تحقیق

ردیف	ترکیبات	RI	درصد ترکیبات	
			شمال تهران	غرب تهران
۱	Sabinene	۹۷٤	۰/۳	۰/٦
۲	Limonene	۱۰۲۹	۲/٦	٤
۳	*Z*-*β*-Ocimene	۱۰۳۹	۱۷/۷	۸/۳
٤	Dihydrotagetone	۱۰۵۲	۱۳/۷	۲۱/٤
۵	*L*-Terpineol	۱۱۳٤	۲/۸	۱/۷
٦	*E*-Tagetone	۱۱٤٦	۱/۹	۲/٦
۷	*Z*-Tagetone	۱۱۵۳	۸/٤	۱۳/۱
۸	*trans*-*β*-Terpineol	۱۱٦۱	۰/۷	۰/۵
۹	Borneol	۱۱٦۳	۰/٦	۰/۷
۱۰	Terpinen-4-ol	۱۱۷۵	۰/۸	۰/٦
۱۱	*α* - Terpineol	۱۱۸۷	۲۰/۸	۱۵/٦
۱۲	*cis* - Dihydrocarvone	۱۱۹۱	۵/۰	۳/۸
۱۳	*Z* - Ocimenone	۱۲۳۰	٦/۱	٤/۵
۱٤	*E* - Ocimenone	۱۲۳۸	۱۳/۳	۱۱/۸
۱۵	*cis*-Jasmone	۱۳۹۲	۰/۷	۰/٤
۱٦	*β*- Caryophyllene	۱٤۱۸	۰/٦	۰/۹
۱۷	*α* - Humulene	۱٤۵۲	۰/٤	۰/٦
۱۸	Bicyclogermacrene	۱٤۹۲	۰/۵	۰/۷
۱۹	Spathulenol	۱۵۷۹	۱/۸	٤/۸
۲۰	Caryophyllene oxide	۱۵۸۰	-	۱/۳

بررسی منابع مختلف نشان می‌دهد که ترکیبات ترانس- تاجتنون و سیس- تاجتنون به عنوان ترکیبات اصلی این گیاه گزارش شده‌اند. در این مطالعه هیچ‌کدام از دو ترکیب فوق در نمونه اسانس‌های به دست آمده از هر دو منطقه شناسایی نشد. عدم وجود این ترکیبات در این نمونه‌ها نشانه تاثیر شرایط محیطی مختلف بر ترکیبات اسانس این گیاه می‌باشد.

شناسایی کاریوفیلن اکساید در اسانس به دست آمده از گیاهان کشت شده در منطقه غرب تهران و عدم شناسایی آن در اسانس به دست آمده از گیاهان کشت شده از شمال تهران نیز موید تاثیر شرایط محیطی بر ترکیبات اسانس جعفری مکزیکی می‌باشد.

اسپاتولنول به عنوان ترکیب عمده از گیاهان کشت شده در غرب تهران (٤/۸ درصد) شناسایی شد. اگرچه مقدار این ترکیب در اسانس گیاهان حاصل از شمال تهران ۱/۸ درصد بود. همچنین سیس- دی هیدروکارون نیز به عنوان جز عمده از گیاهان کشت شده در شمال تهران (۵ درصد) مورد شناسایی قرار گرفت. در حالی‌که این ترکیب در گیاهان کشت شده در غرب تهران ۳/۸ درصد بود. این تفاوت در تولید و درصد ترکیبات فوق نیز در نتیجه تغییرات شرایط محیطی مختلف بین دو منطقه کشت می‌باشد.

منابع

۱. امیدبیگی رضا. *رهیافت‌های تولید و فراوری گیاهان دارویی*. چاپ دوم، انتشارات طراحان نشر. ۱۳۷۹، جلد اول. صفحه ۲۸۳.

2. Adams RP. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy*. Allured: Carol Stream, IL; 1995.

3. Benveniste B and Azzo N. Tagetes oil. Technical Bulletin & Newsletter, Vol. IV, Kato Worldwide Ltd., NY. 1992.

4. Chagonda LS, Makanda C and Chalchat JC. Essential oils of four wild and semi-wild plants from Zimbabwe: *Colospermum mopane* (Kirk ex benth.) Kirk ex Leonard, *Helichrysum splendidum* (Thunb.) Less, *Myrothamnus flabellifolia* (Welw.) and *Tagetes minuta* L. *J. Essent. Oil Res*. 1999; 11: 573-578.

5. Chalchat JC, Garry RP and Muhayimana A. Essential oil of *Tagetes minuta* L. from Rwanda and France: chemical composition according to harvesting location, growth stage and part of plant extracted. *J. Essent. Oil Res*. 1995; 4: 375-386.

6. Craveiro AA, Matos FJA, Machado MIL and Alencar JW. Essential oils of *Tagetes minuta* L. from Brazil. *Perfumer & Flavorist*. 1988; 13: 35-36.

7. Graven EH, Webber L, Benians G, Venter M and Gardner JB. Effect of soil type and nutrient status on the yield and composition of Tagetes oil (*Tagetes minuta* L.). *J. Essent. Oil Res*. 1991; 3: 303-307.

8. Hethelyi E, Danos B, Tetenyi P and Koczka I. GC/MS analysis of essential oils of some *Tagetes* species. In: Progress in Essential Oil Research. Edit, Brunke EJ, Walter de Gruyter. Berlin. 1986; PP: 131 - 7.

9. Hethelyi E, Danos B, Tetenyi P and Juhasz G. Phytochemical studies on *Tagetes* species, information differences of the essential oil of *Tagetes minuta* L. and *Tagetes tenuifolia*. *Herba Hung*. 1987; 26: 145-158.

10. T. Shibamoto, Retention indices in essential oil analysis. In Capillary Gas Chromatography in Essential Oil Analysis, Sandra P, Bicch C (eds). Alfred Heuthing-Verlag: New York. 1987; PP: 259 - 75.

11. Singh B and Singh V. Crop productivity and variation in chemical composition of *Tagetes minuta* Linn. Essential oil and Absolute during crop maturity in Mid-Hill of western Himalayan Region. *J. Essential Oil Bearing Plant*. 2002; 5: 30-37.

12. Singh V, Singh B and Kaul VK. Domestication of wild marigold (*Tagetes minuta* L.) as a potential economic crop in western Himalaya and north Indian plants. *Economic Botany*. 2003; 57: 535-544.

13. Soule JA. *Tagetes minuta* L.: A potential new herb from South American. New crops. Wiley, New York. 1993; PP: 649-54.

14. Zygadlo JA, Grosso NR, Abburra RE and Guzman CA. Essential oil variation in *Tagetes minuta* L. populations. *Biochemical Systematic and Ecology*. 1990; 18: 405- 407.