

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

محمد فرشباغ مقدم^{۱*}، رضا امیدبیگی^۲، فاطمه سفیدکن^۳

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، صندوق پستی: ۳۳۶ - ۱۴۱۱۵

تلفن: ۰۲۱-۴۴۱۹۶۵۲۲-۳، نمابر: ۰۲۱-۴۴۱۹۶۵۲۴

پست الکترونیک: moghaddam75@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۴/۷/۲۴

تاریخ دریافت: ۸۳/۱۲/۲۶

چکیده

مقدمه: جعفری مکزیکی^۱ 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 تشکیل دهنده 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 تشکیل دهنده اسانس بین دو منطقه کشت متفاوت است. بازده اسانس به ترتیب ۱/۴۴ 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 (۲۱/۴ درصد)، آلفا- ترپینئول (۱۵/۶ درصد)، سیس- تاجتون (۱۳/۱ درصد)، ترانس- اسیمنون (۱۱/۸ درصد)، سیس- بتا - اسیمن (۸/۳ درصد)، اسپاتولئول (۴/۸ درصد)، سیس- اسیمنون (۴/۵ درصد)، لیمونن (۴ درصد) و از شمال تهران آلفا- ترپینئول (۲۰/۸ درصد)، سیس- بتا- اسیمن (۱۷/۷ درصد)، دی هیدروتاجتون (۱۳/۷ درصد)، ترانس- اسیمنون (۱۳/۳ درصد)، سیس- تاجتون (۸/۴ درصد)، سیس- اسیمنون (۶/۱ درصد) و سیس- دی هیدروکارون (۵ درصد) بود.

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

کل واژگان: جعفری مکزیکی، تیره کاسنی، اسانس، شرایط محیطی، ترکیبات شیمیایی

¹ *Tagetes minuta*



مقدمه

گیاه جعفری مکزیکی متعلق به خانواده کاسنی^۱ از گیاهان بومی آمریکای جنوبی می باشد که به جهت بهره برداری از اسانس آن در سطوح وسیعی مورد کشت و کار قرار می گیرد. این گیاه از دیرباز به عنوان یک گیاه دارویی و ادویه ای مورد استفاده بومیان قاره آمریکا قرار می گرفته است. جعفری مکزیکی گیاهی یک ساله، معطر و دارای ساقه ای خشبی و عمودی به طول ۱ تا ۲ متر است. برگ های آن متقابل و کیسه های تجمع کننده اسانس آن در سطح زیرین برگ ها و بر روی گل ها و شاخه های فرعی آن یافت می شود. علاوه بر ترپن ها و سزکویی ترپن ها متابولیت های ثانویه دیگری چون فلاونوئیدها 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 می رود [۱۲، ۱۳]. حضور آسیمون^۲، دی هیدروتاجتون^۳، سیس-تاجتون^۴، ترانس-تاجتون^۵، سیس-آسیمون^۶ و ترانس-آسیمون^۷ در اسانس این گیاه منابع خوبی از مواد خام برای ساخت ترکیبات معطر می باشند. اسانس این گیاه همچنین دارای فعالیت بیولوژیکی بوده و در نتیجه از آن در بخش صنایع داروسازی استفاده می شود. اسانس به دست آمده از آن فعالیت اتساع مجاری دستگاه تنفسی، آرام بخشی، ضد اسپاسم و ضد التهابی از خود نشان می دهد [۱۱، ۱۲].

طبق نظر امیدبگی متابولیت های ثانویه در گیاهان دارویی اساساً با هدایت فرآیندهای ژنتیکی ساخته می شوند، ولی ساخت آنها به طور بارزی تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می گیرد [۱]. بنابراین میزان و کیفیت مواد موثر یک گیاه دارویی در رویشگاه ها و مناطق مختلف تغییر می یابد و دلیل این امر نوسان فعالیت های متابولیکی گیاه تحت تاثیر عوامل مختلف

محیطی می باشد. هتلی و همکارانش مطالعاتی را روی ترکیبات اسانس جعفری مکزیکی که بذور آنها از باغ های گیاه شناسی 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 تشکیل دهنده اسانس جعفری مکزیکی برداشت شده از دو ایالت مختلف در برزیل را نشان دادند [۶]. آنها پی بردند که اسانس به دست آمده از منطقه باهیا^۱ حاوی دی هیدروتاجتون (۹۹ درصد) به عنوان تنها جزء شناخته شده بود در صورتی که اسانس به دست آمده از منطقه پرنامبوکو^۲ حاوی دی هیدروتاجتون (۶۹/۷ درصد)، ترانس-تاجتون (۱۶/۶ درصد) و تیمول^۳ (۷/۴ 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 [۱۴]. ترکیبات عمده اسانس سیس-بتا-آسیمین (۴۹/۰۵ - ۱۴/۷۹ درصد)، ترانس-بتا-آسیمین (۴۷/۵۱ - ۱/۶۳ درصد)، سیس-تاجتون (۵/۹۶ - ۱/۷۴ درصد)، ترانس-تاجتون (۱۳/۹۳ - ۴/۹۴ درصد) و تاجتون (۶۲/۰۱ - 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]. بن وناپست و آزو در مصر ۲۱ ترکیب در اسانس این گیاه شناسایی کردند که ترکیبات عمده آن دی هیدروتاجتون (۴۷/۰۵ درصد)، سیس-بتا-آسیمین (۲۱/۱ درصد)، ترانس-تاجتون (۷/۴۹ درصد)، لیمون^۴ (۵ درصد)، سیس-تاجتون^۵ (۱/۴۲ درصد)، ترانس-تاجتون^۶ (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 تشکیل دهنده اسانس این گیاه در مناطق مختلف و با توجه به قسمت های 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 Bahia
³ Thymol
⁵ Z-Tagetenone

² Pernambuco
⁴ Limonene
⁶ E-Tagetenone

¹ Asteraceae
³ Dihydrotagetone
⁵ E-Tagetone
⁷ E-Ocimenone

² Z-β-Ocimene
⁴ Z-Tagetone
⁶ Z-Ocimenone



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 ۶/۷ و دیگری باغ تحقیقاتی شرکت کشت و صنعت 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 ۴۰ سانتی‌متر و به عمق ۵ - ۴ 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

سیس - بتا - اسیمن (۳ - ۰/۴ درصد)، دی هیدروتاجتون (۶۳/۸ - ۱۶/۵ درصد)، ترانس - تاجتون (۱۸/۸ - ۳/۹ درصد)، سیس - تاجتون (۲۶ - ۸/۷ درصد)، ترانس - تاجتون (۶۷ - ۰/۱ درصد)، سیس - تاجتون (۴/۸ - ۰/۱ درصد) و از گل گیاه در مراحل مختلف برداشت سیس - بتا - اسیمن (۳۷/۸ - ۲۱/۳ درصد)، دی هیدروتاجتون (۳/۲ - ۲/۳ درصد)، ترانس - تاجتون (۴/۹ - ۲/۷ درصد)، سیس - تاجتون (۴/۸ - ۱۰/۹ درصد)، ترانس - تاجتون (۷/۴ - 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 زیماوه گزارش نمودند [۴]. ترکیبات عمده سیس - بتا - اسیمن (۴۱/۴ - ۸/۵ درصد)، دی هیدروتاجتون (۶۰/۳ - ۲/۲ درصد)، ترانس - تاجتون (۶۱ - ۰/۳ درصد)، سیس - تاجتون (۲۱ - ۱ درصد)، ترانس - تاجتون (۱۶ - ۰/۲ درصد) و سیس - تاجتون (۳۱/۴ - 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

جدول شماره ۱ - مشخصات اقلیمی محل‌های انجام تحقیق*

محل‌های انجام تحقیق		مشخصات
شمال تهران	غرب تهران	
۵۱ درجه و ۳۷ دقیقه شرقی	۵۱ درجه و ۸ دقیقه شرقی	طول جغرافیایی
۳۵ درجه و ۴۷ دقیقه شمالی	۳۵ درجه و ۴۳ دقیقه شمالی	عرض جغرافیایی
۱۵۴۸/۲	۱۲۱۵	ارتفاع از سطح دریا (متر)
۲۱/۲	۲۲/۹	میانگین دما در دوره تحقیق (درجه سانتی‌گراد)
۲۱۸۰/۷	۲۳۵۱/۱	میانگین تعداد ساعات آفتابی در دوره تحقیق
۳۹	۴۰	حداکثر درجه حرارت ثبت شده
-۶/۸	-۷/۲	حداقل درجه حرارت ثبت شده
۴۴	۳۶	میانگین رطوبت نسبی (درصد)
۴۸۹/۲	۳۲۵/۷	میانگین بارندگی سالیانه (میلی‌متر)
نیمه خشک	نیمه خشک	رژیم آب و هوایی

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



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 ۴ درصد) از گیاهان کشت شده در غرب تهران دی‌هیدروتاجتون (۲۱/۴ درصد)، آلفا-ترپینئول^۱ (۱۵/۶ درصد)، سیس-تاجتون (۱۳/۱ درصد)، ترانس-آسیمون (۱۱/۸ درصد)، سیس-بتا-آسیمین (۸/۳ درصد)، اسپاتولنول^۲ (۴/۸ درصد)، سیس-آسیمون (۴/۵ درصد) و لیمونین (۴ درصد) بود. ترکیبات عمده اسانس در مزرعه تحقیقاتی شرکت زردبند آلفا-ترپینئول (۲۰/۸ درصد)، سیس-بتا-آسیمین (۱۷/۷ درصد)، دی‌هیدروتاجتون (۱۳/۷ درصد)، ترانس-آسیمون (۱۳/۳ درصد)، سیس-تاجتون (۸/۴ درصد)، سیس-آسیمون (۶/۱ درصد) و سیس-دی‌هیدروکارون^۳ (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 طوری که 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.

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 ۴ 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 Shimadzu 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 ۴ درجه در دقیقه، دمای محفظه تزریق و دتکتور ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد و گاز هلیوم با فشار ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع بود. دستگاه کروماتوگراف گازی - طیف‌سنجی 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 ۴ درجه در دقیقه، دمای محفظه تزریق ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد، گاز حامل و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود. شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از اندیس بازدارندگی کوئانس^۱ 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 ۱/۴۴ 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.

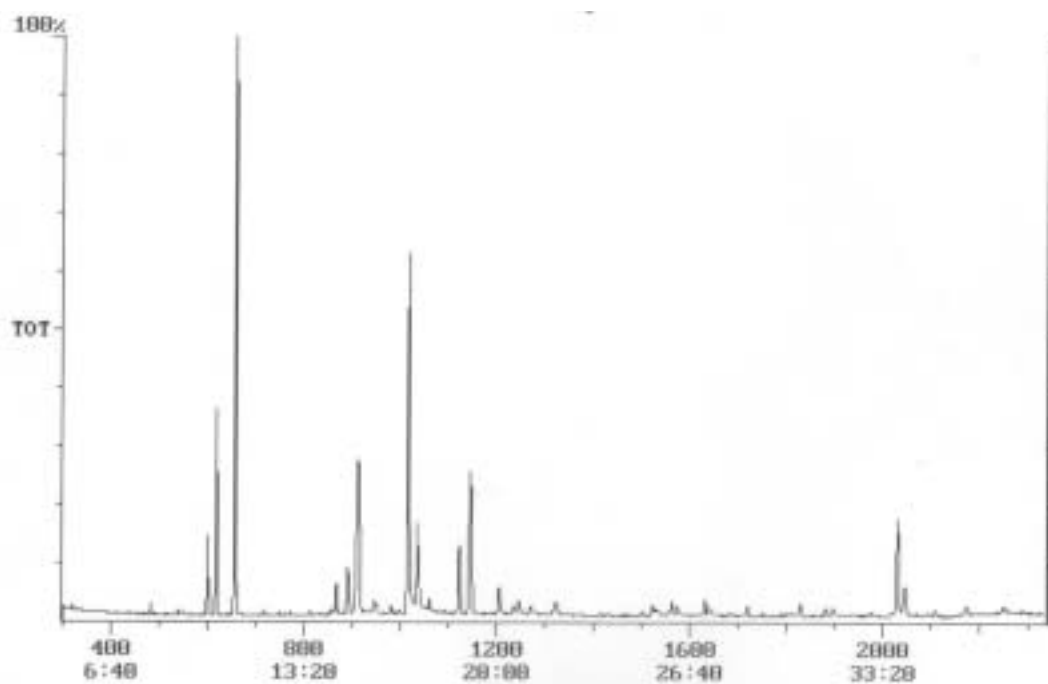
^۱ α -Terpineol

^۲ Spathulenol

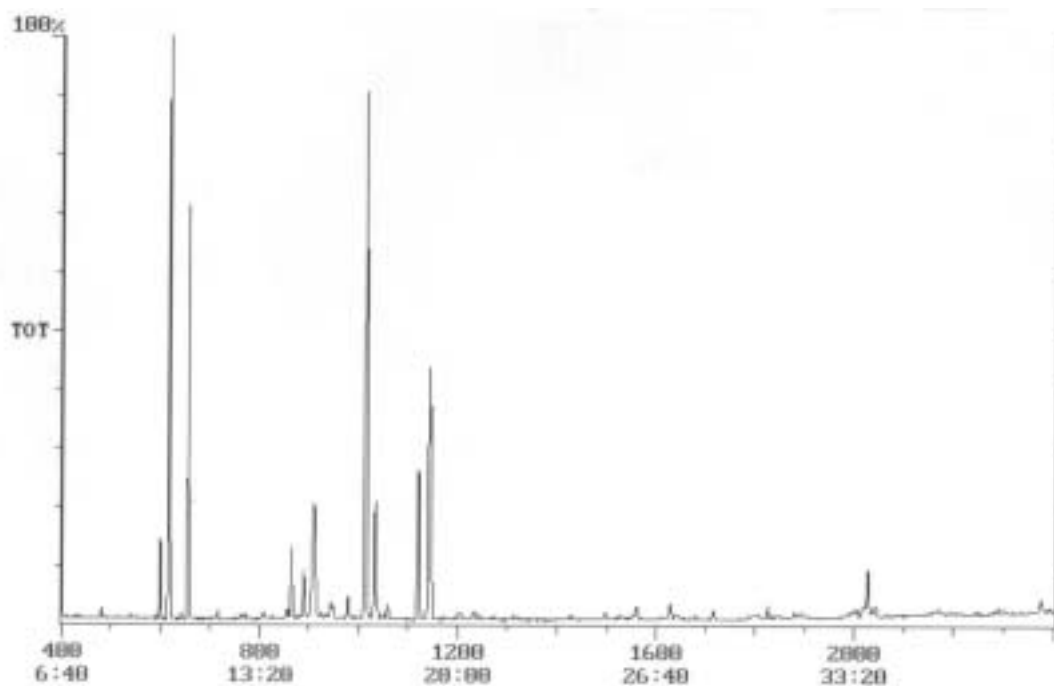
^۳ Cis-Dihydrocarvone

^۱ Retention index





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	۹۷۴	۰/۳	۰/۶
۲	Limonene	۱۰۲۹	۲/۶	۴
۳	Z- β -Ocimene	۱۰۳۹	۱۷/۷	۸/۳
۴	Dihydrotagetone	۱۰۵۲	۱۳/۷	۲۱/۴
۵	L-Terpineol	۱۱۳۴	۲/۸	۱/۷
۶	E-Tagetone	۱۱۴۶	۱/۹	۲/۶
۷	Z-Tagetone	۱۱۵۳	۸/۴	۱۳/۱
۸	trans- β -Terpineol	۱۱۶۱	۰/۷	۰/۵
۹	Borneol	۱۱۶۳	۰/۶	۰/۷
۱۰	Terpinen-4-ol	۱۱۷۵	۰/۸	۰/۶
۱۱	α - Terpineol	۱۱۸۷	۲۰/۸	۱۵/۶
۱۲	cis - Dihydrocarvone	۱۱۹۱	۵/۰	۳/۸
۱۳	Z - Ocimenone	۱۲۳۰	۶/۱	۴/۵
۱۴	E - Ocimenone	۱۲۳۸	۱۳/۳	۱۱/۸
۱۵	cis-Jasmone	۱۳۹۲	۰/۷	۰/۴
۱۶	β - Caryophyllene	۱۴۱۸	۰/۶	۰/۹
۱۷	α - Humulene	۱۴۵۲	۰/۴	۰/۶
۱۸	Bicyclogermacrene	۱۴۹۲	۰/۵	۰/۷
۱۹	Spathulenol	۱۵۷۹	۱/۸	۴/۸
۲۰	Caryophyllene oxide	۱۵۸۰	-	۱/۳

اسپاتولنول به عنوان ترکیب عمده از گیاهان کشت شده در غرب تهران (۴/۸ 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 حالی که 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 می باشد.

بررسی منابع مختلف نشان می دهد که ترکیبات ترانس- تاجتون و سیس- تاجتون به عنوان ترکیبات اصلی این گیاه گزارش شده اند. در این مطالعه هیچ کدام از دو ترکیب فوق در نمونه اسانس های به دست آمده از هر دو منطقه شناسایی نشد. عدم وجود این ترکیبات در این نمونه ها نشانه تاثیر شرایط محیطی مختلف بر ترکیبات اسانس این گیاه می باشد. شناسایی کاربوفیلین 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 مکزیک می باشد.

- 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.
1. 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.

