Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 49, No 3, Autumn 2018 (601-612)
DOI: 10.22059/ijhs.2018.209518.1028

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۴۹، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۷ (ص ۶۱۲-۶۰۱)

بررسی کمی و کیفی اسانس توده‌هایی از پونه‌سا (*Nepeta* spp.) و تعیین کارآمدی اجزای اسانس در بررسی روابط درون و بین‌گونه‌ای

نجمه هادی[۱]، عبدالعلی شجاعیان[۲*]، فاطمه سفیدکن[۳] و علی‌اشرف جعفری[٤]

۱. دانشجوی سابق دکتری، دانشگاه تربیت مدرس، و استادیار پژوهشی بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۲. استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳. استاد بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

٤. استاد بخش تحقیقات مرتع، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/٤/۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۱٦)

چکیده

پونه‌سا (*Nepeta*) از بزرگ‌ترین جنس‌های تیره نعنا بوده و ایران از خواستگاه‌های اصلی آن است. در مورد بررسی فعالیت‌های زیستی متابولیت‌های ثانویه جنس پونه‌سا، گزارشات متعددی وجود دارد که نشان‌دهنده اهمیت این جنس است. در این پژوهش، کمیت و کیفیت اسانس ۱۲ توده از گونه‌های ایرانی پونه‌سا، *N. cataria*، *N. menthoides* و *N. crassifolia*، کشت‌شده در منطقه غرب تهران، مطالعه شد. همچنین، کارآمدی اجزای اسانس، در بررسی روابط درون و بین گونه‌ها ارزیابی شد. اندام‌های گیاهی در مرحله گل‌دهی کامل، برداشت شده و پس از خشک‌شدن در سایه، به‌روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری شدند. بررسی کمی و کیفی اجزای اسانس، به‌ترتیب با استفاده از دستگاه‌های GC و GC/MS انجام شد. به‌منظور تعیین نقش هر یک از اجزای اسانس در تنوع درون و بین‌گونه‌ای، از روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی استفاده شد. بیشترین بازده اسانس به توده مرکزی از گونه *N. cataria* (۲/۵ ٪) تعلق گرفت. در گونه *N. cataria*، نپتالاکتونII (٤a-آلفا، ۷-آلفا، ۷a-بتا نپتالاکتون)، در گونه *N. menthoides*، دو جزء ۸،۱- سینئول و نپتالاکتون II و در *N. crassifolia*، سه جزء نپتالاکتونI (٤a-آلفا، ۷-آلفا، ۷a-آلفا نپتالاکتون)، ۸،۱- سینئول و نپتالاکتون II، ترکیب(های) غالب اسانس را تشکیل دادند. گونه‌های *N. crassifolia* و *N. cataria* به‌ترتیب از نظر میزان نپتالاکتونI و II، جایگاه‌های اول را به‌خود اختصاص دادند. از نظر میزان کل نپتالاکتون در اسانس، گونه *N. cataria* (۹۹/۱-۹۷/۸٪) رتبه اول را داشت. همچنین، نتایج، کارآمدی اجزای اسانس در تمایز گونه‌ها و تعیین روابط درون و بین گونه‌ها را به اثبات رساند. در این پژوهش، بر اساس اجزای اسانس، گونه‌های *N. crassifolia* و *N. cataria* در یک گروه مجزا از گونه *N. menthoides* قرار گرفتند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، پونه‌سا، تیره نعنا، روابط درون و بین‌گونه‌ای، نپتالاکتون.

Quantitative and qualitative study of essential oil in some accessions of *Nepeta* spp. and determination of essential oil components capability in intra and inter-specific relationships analysis

Najmeh Hadi[1], Abdolali Shojaeiyan[2*], Fatemeh Sefidkon[3] and Ali-Ashraf Jafari[4]

1. Former Ph.D. Student, Tarbiat Modares University (TMU), Tehran, Iran and Assistant Professor of Medicinal Plants and By-products Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University (TMU), Tehran, Iran
3. Professor of Medicinal Plants and By-products Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
4. Professor of Rangelands Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

(Received: Jun. 28, 2016 - Accepted: Nov. 6, 2016)

ABSTRACT

Nepeta is one of the largest genera of the Lamiaceae family, and Iran is one of the main centers of origin of the genus. There are lots of reports related to biological activities of secondary metabolites of *Nepeta* that shows the importance of the genus. Quantity and quality of essential oil (EO) components of 12 accessions of three Iranian *Nepeta* species, *N. cataria*, *N. menthoides* and *N. crassifolia*, cultivated in West of Tehran, were studied. Also, EO components capability on intra and inter-specific relationships was investigated. Plant aerial parts were harvested at full bloom stage. EO was extracted by hydrodistillation method from shade-dried plant materials. EO was quantitatively and qualitatively analyzed by GC and GC/MS, respectively. Principal component analysis was used in order to determine the role of each EO components in intra and inter-specific diversity. The most part of EO yield (w/w) belonged to "Markazi" accession of *N. cataria* (2.5%). Main EO component(s) of species were NepII (4aα,7α,7aβ-nepetalactone) in *N. cataria*, 1,8-cineole and NepII in *N. menthoides* and NepI (4aα,7α,7aα-nepetalactone), 1,8-cineole and NepII in *N. crassifolia*. *N. crassifolia* and *N. cataria* species, respectively, allocated on the first positions based on the quantity of NepI and II. *N. cataria* had the most total quantity of nepetalactone (97.8-99.1%). Results indicated that EO components were able to distinguish species, and to identify intra and inter-specific relationships. *N. crassifolia* and *N. cataria* species were separated from *N. menthoides* by cluster and PCA analysis based on EO components.

Keywords: *Nepeta* spp., Lamiaceae, essential oil, nepetalactone, intra and inter-specific relationships.

* Corresponding author E-mail: shojaeiyan@modares.ac.ir

مقدمه

پونه‌سا (*Nepeta*)، یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های تیره نعنا (Lamiaceae)، متعلق به زیرتیره نپتوئیده (Nepetoideae) و طایفه منته (Mentheae) است (Pojarkova, 1954). این جنس به‌طور تقریبی ۴۰۰ گونه علفی چندساله و به‌ندرت یک‌ساله دارد؛ که بیشتر آن‌ها در بخش بزرگ‌تر اروپای مرکزی و جنوبی، خاور نزدیک، آسیای مرکزی و جنوبی و بعضی مناطق آفریقا گسترش دارند (Lewis, 1977; Perry, 1980; Moerman, 1982; Duke & Ayensu, 1985" به‌نقل از Miceli *et al*., 2005). بیشترین تنوع و غنای گونه‌ها در دو منطقه آسیای جنوب‌غربی شامل ترکیه و ایران و رشته‌کوه‌های هیمالیای غربی، شامل هندوکش یافت شده است. به‌طور ویژه، ایران یکی از خواستگاه‌های اصلی آن است (Pojarkova, 1954). این جنس در ایران دارای ۷۹ گونه است (Jamzad, 2013)؛ که تعداد زیادی از آن‌ها (حدود ۷۷درصد گونه‌ها) انحصاری هستند (Mozaffarian, 1998, 2013).

نپتالاکتون‌ها، فلاونوئیدها (Formisano *et al*., 2011) و اسیدهای فنولیک (Mišić *et al*., 2015) به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه اصلی گونه‌های پونه‌سا گزارش شده‌اند. نپتالاکتون‌ها، از مونوترپنوئیدهای سیکلوپنتانوئید هستند که در مقادیر مختلف، به‌طور انحصاری، به‌عنوان اجزای اسانس گونه‌های مختلف پونه‌سا، یافت می‌شوند (Javidnia *et al*., 2002). گزارشات متعدد در مورد فعالیت‌های زیستی متابولیت‌های ثانویه جنس پونه‌سا نشان‌دهنده اهمیت این جنس می‌باشد. از جمله این فعالیت‌ها، می‌توان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (Tepe *et al*., 2007; Kraujalis *et al*., 2011)، سیتوتوکسیک (Hussain *et al*., 2009; Kahkeshani *et al*., 2014)، فیتوتوکسیک (Hussain *et al*., 2009; Mutlu & Atici, 2009)، آرام‌بخشی اعصاب (Rabbani *et al*., 2008) و ضدلختگی خون (Hussain *et al*., 2009) را نام برد.

ضرورت بهره‌برداری پایدار و حفاظت از ذخایر ژنتیک گونه‌های دارویی، به‌ویژه از سوی کشت و صنعت‌های گیاهان دارویی، احساس می‌شود؛ که باید نسبت به اهلی‌سازی و معرفی گونه‌های مذکور به سیستم‌های کشاورزی اقدام نمود. اولین، مهم‌ترین و البته پرهزینه‌ترین راه‌کار، اهلی‌کردن، شامل بررسی دقیق جنبه‌های شیمیایی، ژنتیک، اکوفیزیولوژیک و همچنین مشخص‌کردن ظرفیت متفاوت تولید متابولیت ثانویه تیپ‌های گوناگون گونه گیاهی موردنظر می‌باشد (Németh *et al*., 2000; Bernáth, 2002).

در گزارشات موجود در مورد ترکیب اسانس گونه‌های مختلف پونه‌سا در ایران، از اندام‌های گیاهی جمع‌آوری‌شده از طبیعت استفاده شده، لذا نتایج حاصل، همواره متأثر از عوامل طبیعی رویشگاه است. به‌منظور استفاده از گیاه در صنایع گوناگون، به‌ویژه صنایع دارویی، کمیت و کیفیت اسانس باید مشخص و ثابت باشد. از این‌رو، باید پس از طی‌کردن مراحل به‌نژادی، به کشت گیاه موردنظر در شرایط اقلیمی خاص پرداخت و بدین‌ترتیب از وضعیت تولید و ترکیب اسانس در شرایط اقلیمی موردنظر به‌میزان زیادی اطمینان حاصل کرد. لذا در این پژوهش، کمیت و کیفیت اسانس تعدادی توده، از سه گونه چندساله ایرانی پونه‌سا، کشت‌شده در منطقه غرب تهران (حذف اثر محیط در ارزیابی‌ها)، طی دو سال زراعی اول استقرار در مزرعه، گزارش می‌شود. گونه‌های موردمطالعه شامل گونه‌های بومی *N. cataria*، *N. menthoides* و گونه انحصاری *N. crassifolia* می‌باشند (Jamzad, 2013). نتایج حاصل از بررسی‌های کمی و کیفی اسانس، در کنار سایر ارزیابی‌ها از جمله، مطالعات ترکیب‌های فنولی، مورفولوژیک، فنولوژیک و مولکولی، به‌منظور انتخاب توده و گونه مناسب برای ورود به عرصه کشت و اهلی‌سازی و همچنین پروژه‌های آتی به‌نژادی، مورد استفاده قرار خواهد گرفت. در این پژوهش، همچنین، کارآمدی اجزای اسانس در تعیین روابط درون و بین گونه‌ها بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج اسانس

ژرم‌پلاسم مورداستفاده در این پژوهش شامل ۱۲ توده وحشی از سه گونه *N. cataria*، *N. menthoides* و *N. crassifolia* بود. بذر توده‌ها از بانک ژن مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، با مشخصات

ذکرشده در جدول ۱ تهیه شد. به‌منظور حذف اثر محیط در ارزیابی‌ها، دانهال‌های گلخانه‌ای تولید، و پس از سازگارسازی آن‌ها به شرایط آب و هوایی بیرون گلخانه، در مزرعه واقع در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، با مشخصات ذکرشده در جدول‌های ۲ و ۳، کشت و نگهداری شدند. دانهال‌ها در مزرعه با فواصل بین گیاه‌ها بر روی ردیف ۵۰ سانتی‌متر و بین ردیف‌ها ۸۰ سانتی‌متر و فاصله بین بلوک‌ها یک متر، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه بلوک کاشته شدند. در هر بلوک، از هر توده ۲۱ گیاه کشت شد و دو گیاه ابتدا و انتهای ردیف کشت، به‌عنوان گیاه حاشیه‌ای در نظر گرفته شدند و در ارزیابی‌ها مورد استفاده قرار نگرفتند. اندام‌های هوایی گیاه در مرحله گل‌دهی کامل (تقریبا ۷۰ درصد گل‌دهی)، جمع‌آوری و در سایه خشک شدند. استخراج اسانس از ۸۰ گرم ماده گیاهی برای هر نمونه، با روش تقطیر با آب (دستگاه کلونجر) به‌مدت ۲/۵ ساعت و رطوبت‌گیری با سولفات‌سدیم انجام شد. برای هر نمونه، اسانس‌گیری سه بار تکرار شد و میانگین بازده اسانس به‌دست آمد. در هر مرحله اسانس‌گیری، جهت تعیین بازده اسانس بر اساس وزن خشک گیاه، درصد رطوبت گیاه محاسبه شد. اسانس‌گیری و ارزیابی کمیت و کیفیت اسانس، طی دو سال متوالی انجام شد.

شناسایی اجزای تشکیل‌دهنده اسانس

پس از تزریق اسانس‌ها به دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) و یافتن مناسب‌ترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون، جهت دست‌یابی به بهترین جداسازی، اسانس‌ها با دی‌کلرومتان رقیق و به دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) تزریق شدند. سپس با استفاده از زمان بازداری، شاخص بازداری کواتس (با تزریق هیدروکربن‌های نرمال C9-C25 به GC در شرایط حرارتی ستون مشابه با نمونه) و مقایسه با شاخص‌های بازداری در منابع معتبر (Adams, 2004)، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در نرم‌افزار SATURN، ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها، مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفتند. کتابخانه‌های Wiley version 1996 و TR version 2002 برای شناسایی ترکیب‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

جدول ۱. اطلاعات ۱۲ توده از سه گونه ایرانی پونه‌سای مورد مطالعه

Table 1. Information of 12 accessions of three studied Iranian *Nepeta* species

Species	Origin of seeds	Accession code	Year of collection
N. cataria L.	18317, Zarand, Kerman, Iran	C20	2004
	21030, Behabad, Yazd, Iran	C23	2005
	21132, Bafq1, Yazd, Iran	C24	2005
	33531, Bafq2, Yazd, Iran	C25	2010
	21094, Taft, Yazd, Iran	C26	2005
	15062, Markazi, Arak, Iran	C27	2004
N. menthoides Boiss. et Buhse	13308, Meshginshahr1, Ardabil, Iran	M31	2003
	13306, Meshginshahr2, Ardabil, Iran	M32	2003
	13301, Meshginshahr3, Ardabil, Iran	M34	2003
	9879, Borujen, Chaharmahal and Bakhtiari, Iran	M35	2002
N. crassifolia Boiss. et Buhse	3133, Mazandaran, Mazandaran, Iran	Cr29	1998
	5816, Guilan, Guilan, Iran	Cr30	2001

جدول ۲. خصوصیات محل کشت ژرم‌پلاسم پونه‌سای مورد مطالعه

Table 2. Characteristics of field location of the studied nepeta germplasm

Location	Longitude (E)	Latitude (N)	Altitude (m)	Annual mean temperature (℃)	Annual mean humidity (%)	Annual precipitations (mm)	Annual mean number of sunny hours
West of Tehran, Iran	51°08'	35°43'	1215	18.05	36.4	132.4	254.3

جدول ۳. نتایج تجزیه فیزیکوشیمیایی خاک محل کشت ژرم‌پلاسم پونه‌سای مورد مطالعه
Table 3. Chemophysical analysis on soil of nepeta germplasm experimental field

Soil sample	Text	Organic carbon (%)	Organic matter (%)	pH	EC	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Cu (ppm)	Mg (ppm)	Zn (ppm)
Soil from the depth of 20 cm	Sandy Loamy	1.5	2.7	7.9	0.6	0.2	53	478	4.5	10.2	0.9	344	1.4
Soil from the depth of 40 cm	Loamy Sandy	1.6	2.8	7.9	0.6	0.2	48	504	5.4	12.1	0.4	348	1.4

Physical and chemical characteristics of soil were commertially analysed by Babol Edaphology Laboratory (Iran).

دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) مدل Thermo-UFM مجهز به ستون Ph-5 به‌طول ۱۰ متر و قطر ۰/۱ میلی‌متر با ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۴ میکرومتر استفاده شد. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۶۰ درجه سانتی‌گراد شروع شد و پس از ۳ دقیقه ماندگاری در همان دما، به‌تدریج با سرعت ۸۰ درجه در دقیقه افزایش یافته، تا به ۲۸۵ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای محفظه تزریق و دتکتور (نوع FID) ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. هلیم به‌عنوان گاز حامل و با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌متر در دقیقه استفاده شد.

دستگاه گاز کروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) مدل واریان۳۴۰۰، مجهز به ستون DB-5 به‌طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، با ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از ۴۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، با افزایش دمای ۳ درجه در دقیقه تنظیم شد. دمای محفظه تزریق ۱۰ درجه بالاتر از دمای نهایی ستون در نظر گرفته شد. هلیم به‌عنوان گاز حامل و با سرعت جریان ۳۱/۵ سانتی‌متر در ثانیه مورد استفاده قرار گرفت. انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت و ناحیه جرمی از ۴۰ تا ۳۰۰ بود.

تجزیه آماری داده‌ها

به‌منظور تعیین نقش هر یک از اجزای اسانس در تنوع درون و بین‌گونه‌ای، از روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی استفاده شد. گروه‌بندی گونه‌ها و توده‌ها از نظر اجزای اسانس به‌وسیله تجزیه خوشه‌ای به‌روش گروه‌های جفتی وزن نشده و ماتریس فاصله تشابه گوور (Gower)، انجام شد. توان‌مندی خوشه‌ها با استفاده از آزمون بوت‌استرپ با ۱۰۰۰ نمونه مدل محاسبه شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار PAST ver.1.89 (Hammer *et al*., 2001) انجام شد.

نتایج و بحث

با توجه به داده‌های دو ساله حاصل از ارزیابی گیاهان، به‌طور کلی، در اسانس گونه‌های *N. cataria*، *N. menthoides* و *N. crassifolia*، به‌ترتیب ۹، ۱۶ و ۱۶ ترکیب شناسایی شد. تعداد ترکیب‌های شناسایی شده در توده‌های مختلف گونه‌های مورد مطالعه، براساس داده‌های سال دوم استقرار گیاهان در مزرعه، بین ۳ و ۸ ترکیب برای *N. cataria*، ۱۵ ترکیب برای *N. menthoides* و بین ۷ و ۱۵ ترکیب برای *N. crassifolia* متغیر بود. بازده اسانس (وزنی/وزنی)، تعداد و درصد ترکیب‌ها شناسایی‌شده در اسانس، به‌همراه شاخص بازداری ترکیب‌ها، در جدول ۴ نشان داده شده است. بیشترین و کمترین بازده اسانس در بین توده‌های مورد مطالعه، به‌ترتیب به توده‌های مرکزی از گونه *N. cataria* (۲/۵ درصد) و مازندران از گونه *N. crassifolia* (۰/۳ درصد) تعلق گرفت. در بین توده‌های گونه *N. menthoides*، بروجن بیشترین بازده اسانس (۱/۱ درصد) را داشت.

درخت‌واره حاصل از تجزیه‌خوشه‌ای و بای‌پلات حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، در شکل‌های ۱ و ۲ آورده شده‌اند. همچنین، مقدار ویژه، درصد واریانس، درصد واریانس تجمعی و ضریب بردارهای ویژه حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در جدول ۵ مشاهده می‌شوند.

اجزای شناسایی‌شده اسانس در دو سال اول استقرار گیاهان، به زمان‌های مختلف برداشت اندام‌های گیاهی ارتباط دارد. برداشت اندام‌های گیاهی برای سال اول در تابستان و برای سال دوم در بهار انجام شد. سال اول، دانهال‌های گلخانه‌ای در بهار به مزرعه منتقل شدند و در تابستان برای برداشت آماده شدند، اما در سال دوم، گیاهان از اواخر اسفندماه شروع به رشد کرده و با قدرت رشدی قابل‌توجه، در بهار برای برداشت آماده شدند. بنابراین تغییرات در برخی اجزای اسانس یا تعداد اجزای

شناسایی‌شده اسانس و همچنین تغییرات در بازده اسانس طی دو سال، می‌تواند حاکی از زمان‌های مختلف برداشت باشد. آن‌چه در این تحقیق حائز اهمیت است تمرکز بر روی داده‌های حاصل از ارزیابی‌های سال دوم استقرار گیاهان، به‌عنوان سال اصلی می‌باشد.

در مورد گونه‌های مورد مطالعه در پژوهش حاضر، مقایسه نتایج با گزارش(های) قبلی در خصوص ترکیب اسانس، نشان‌دهنده تفاوت‌هایی است که می‌تواند ناشی از شرایط محیطی رویشگاه مواد گیاهی، تفاوت در روش استخراج اسانس و سایر عوامل باشد.

جدول ۴. بازده اسانس (وزنی/وزنی)، تعداد و درصد ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس ۱۲ توده از سه گونه ایرانی پونه‌سا طی دو سال ارزیابی، به‌همراه شاخص بازداری ترکیب‌ها

Table 4. Essential oil (EO) yield (W/W), number and percentage of identified compounds in EO of 12 accessions of three Iranian *Nepeta* species evaluated over two years, along with retention index of the compounds

	Retention Index	*α*-Thujene 928		*α*-Pinene 939		Sabinene 974		*β*-Pinene 978		Myrcene 991		*p*-Cymene 1025		Limonene 1029		1,8-Cineole 1031		*γ*-Terpinene 1058		Terpinolene 1088	
Species	Accession code	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2
Nepeta cataria	C20	-	-	-	-	-	0.1	-	-	0.4	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C23	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-
	C26	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	0.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N. crassifolia	Cr29	-	-	0.6	0.3	-	-	0.3	0.2	1.7	1.6	1.9	-	-	0.3	37.4	28.0	-	-	-	-
	Cr30	-	-	-	-	-	-	-	0.6	-	1.0	-	3.5	-	-	-	13.6	-	-	-	-
N. menthoides	M31	0.5	0.3	1.2	1.1	-	-	2.0	1.5	7.4	6.5	2.5	0.6	-	0.6	58.1	62.8	2.8	-	1.5	1.8
	M34	0.5	0.3	1.2	1.1	-	-	2.1	1.8	6.4	6.4	2.4	0.3	-	0.5	61.5	58.9	2.6	-	0.5	2.0
	M35	0.3	0.3	1.0	1.0	-	-	1.5	1.8	5.8	6.2	1.5	0.5	-	0.8	56.7	55.4	1.7	-	0.8	2.8
	M32	1.0	0.6	1.7	1.0	-	-	2.9	2.4	7.3	5.3	2.6	0.4	-	0.7	54.7	51.8	2.8	-	1.0	3.3

ادامه جدول ۴. بازده اسانس (وزنی/وزنی)، تعداد و درصد ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس ۱۲ توده از سه گونه ایرانی پونه‌سا طی دو سال ارزیابی، به‌همراه شاخص بازداری ترکیب‌ها

Continued table 4. Essential oil (EO) yield (W/W), number and percentage of identified compounds in EO of 12 accessions of three Iranian *Nepeta* species evaluated over two years, along with retention index of the compounds

	Retention Index	Linalool 1098		*δ*-Terpineol 1164		Terpinene-4-ol 1176		*α*-Terpineol 1187		Citronellol 1226		4a*α*,7*α*,7a*α*-Nepetalactone (NepI) 1360		Neryl acetate 1362		4a*α*,7*α*,7a*β*-Nepetalactone (NepII) 1387	
Species	Accession code	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2	Year1	Year2
N. cataria	C20	-	-	-	-	-	-	-	-	0.3	0.1	30.6	22.0	-	-	64.8	69.5
	C23	-	-	-	-	-	-	-	-	0.2	0.1	23.3	20.3	-	-	72.6	72.2
	C24	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4	-	28.5	21.2	-	-	67.1	69.7
	C26	-	-	-	-	-	-	-	-	0.7	0.2	11.4	10.1	-	-	84.5	78.9
	C27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11.4	-	-	-	78.9
	C25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30.7	-	-	-	59.5
N. crassifolia	Cr29	0.2	0.3	-	-	0.6	0.2	1.1	0.5	4.6	4.9	41.5	44.4	1.0	2.8	3.1	11.7
	Cr30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	55.9	-	-	-	15.5
N. menthoides	M31	3.2	2.5	1.8	1.5	2.6	1.9	3.1	2.4	-	-	-	1.1	-	-	5.7	9.9
	M34	2.7	2.7	1.6	1.5	2.7	1.6	2.9	2.6	-	-	-	0.4	-	-	4.6	9.9
	M35	2.0	2.9	1.9	1.5	2.1	1.2	3.5	2.4	-	-	0.2	1.5	-	-	10.8	13.6
	M32	2.6	2.9	1.6	1.6	2.8	2.0	3.6	3.7	-	-	1.5	1.3	-	-	5.0	14.5

ادامه جدول ۴. بازده اسانس (وزنی/وزنی)، تعداد و درصد ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس ۱۲ توده از سه گونه ایرانی پونه‌سا طی دو سال ارزیابی، به‌همراه شاخص بازداری ترکیب‌ها

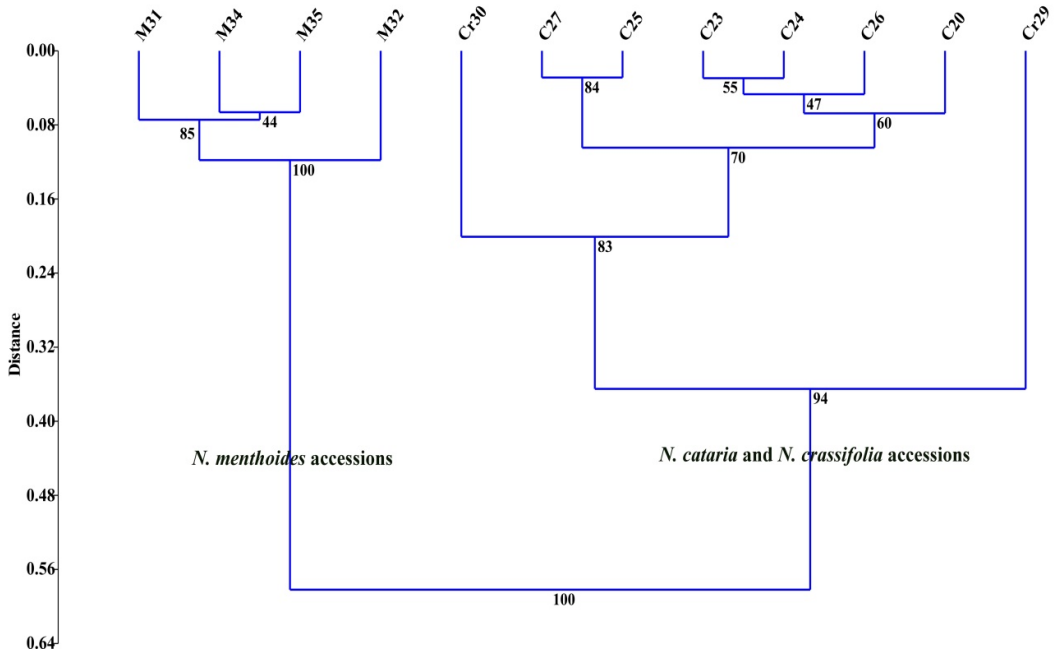
Continued table 4. Essential oil (EO) yield (W/W), number and percentage of identified compounds in EO of 12 accessions of three Iranian *Nepeta* species evaluated over two years, along with retention index of the compounds

	Retention Index	4a*α*,7*β*,7a*α*-Nepetalactone (NepIII) 1392		E-*β*-Farnesene 1457		Valencene 1493		Spathulenol 1575		Caryophyllene oxide 1580		Viridiflorol 1593		Total identified compounds in EO (%)		Number of identified compounds in EO		EO yield (%)	
Species	Accession code	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1	Year1
Nepeta cataria	C20	3.5	6.4	0.1	0.4	-	-	-	-	-	-	0.3	0.5	99.9	99.6	7	8	1.1	1.7
	C23	3.2	5.8	0.1	0.3	-	-	-	-	-	-	0.3	0.5	100.0	99.5	7	7	1.4	0.7
	C24	2.8	7.3	-	0.5	-	-	-	-	-	-	0.3	0.4	99.2	99.5	5	7	1.2	0.8
	C26	2.7	8.8	-	0.6	-	-	-	-	-	-	0.4	0.5	100.0	99.6	6	7	1.1	1.1
	C27	-	8.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	99.1	-	3	-	2.5
	C25	-	8.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	98.5	-	3	-	2.0
N. crassifolia	Cr29	0.3	1.1	-	-	-	-	2.4	1.1	0.6	0.9	-	-	97.3	98.1	15	15	0.3	0.3
	Cr30	-	3.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	93.1	-	7	-	0.7
N. menthoides	M31	-	-	-	-	1.9	1.9	-	-	-	-	-	-	94.3	99.2	14	15	0.5	0.9
	M34	-	-	-	-	1.5	3.0	-	-	-	-	-	-	93.0	93.0	14	15	0.7	0.7
	M35	-	-	-	-	2.5	2.8	-	-	-	-	-	-	91.9	94.7	15	15	0.8	1.1
	M32	-	-	-	-	2.4	4.1	-	-	-	-	-	-	93.3	95.4	15	15	0.7	0.6

جدول ۵. مقدار ویژه، درصد واریانس، درصد واریانس تجمعی و ضریب بردارهای ویژه دو مؤلفه اول حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

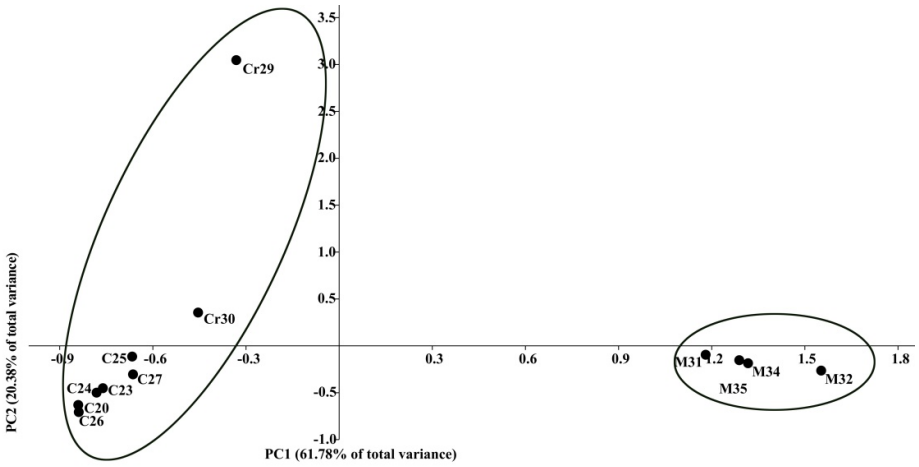
Table 5. Eigenvalues, the percent of variance, the percent of cumulative variance and the coefficient of specific vectors of the first two components obtained from principal components analysis (PCA)

Essential oil compound	PC1	PC2
α-Thujene	0.25	0.06
α-Pinene	0.26	-0.01
β-Pinene	0.26	0.03
Myrcene	0.25	0.00
Limonene	0.25	-0.08
Linalool	0.26	0.04
Citronellol	-0.03	-0.43
4a*α*,7*α*,7a*α*-Nepetalactone (NepI)	-0.16	-0.24
4a*α*,7*α*,7a*β*-Nepetalactone (NepII)	-0.21	0.22
4a*α*,7*β*,7a*α*-Nepetalactone (NepIII)	-0.23	0.17
Neryl acetate	-0.03	-0.43
α-Terpineol	0.26	0.02
Sabinene	-0.07	0.09
p-Cymene	0.02	-0.04
Terpinene-4-ol	0.25	0.03
1,8-Cineole	0.25	-0.08
E-*β*-Farnesene	-0.15	0.19
Viridiflorol	-0.15	0.19
Terpinolene	0.25	0.06
δ-Terpineol	0.26	0.06
Valencene	0.25	0.06
Spathulenol	-0.03	-0.43
Caryophyllene oxide	-0.03	-0.43
Eigenvalues	14.83	4.89
Variance (%)	61.78	20.38
Cumulative variance (%)	61.78	82.16



شکل ۱. تجزیه خوشه‌ای و روابط بین سه گونه پونه‌سا (*Nepeta cataria*، *N. menthoides* و *N. crassifolia*) و توده‌های داخل هر گونه براساس اجزای اسانس (ضریب کوفنتیک = ۰/۹۸)

Figure 1. Dendrogram of cluster analysis constructed from quantitative data of essential oil components in 12 *Nepeta* accessions of *N. cataria* (C), *N. menthoides* (M) and *N. crassifolia* (Cr). Bootstrap values (1000 replicates) are presented at each node (Coph. corr. 0.98)



شکل ۲. بای‌پلات تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و پراکنش سه گونه پونه‌سا (*Nepeta cataria*، *N. menthoides* و *N. crassifolia*) و توده‌های داخل گونه‌ها بر اساس اجزای اسانس

Figure 2. Biplot of principal component analysis (PCA) based on quantitative data of essential oil components in 12 *Nepeta* accessions of *N. cataria* (C), *N. menthoides* (M) and *N. crassifolia* (Cr)

طبق گزارش Zomorodian *et al.* (2012)، نپتالاکتون II در دامنه ۵۸-۵۵ درصد و نپتالاکتون III در دامنه ۳۱/۲-۳۰ درصد در گونه *N. cataria* اندازه‌گیری شده است. Safaei-Ghomi *et al.* (2009) نپتالاکتون I را به‌میزان ۸۷/۱ درصد، بیشترین جزء اسانس این گونه معرفی کردند. آن‌ها همچنین نپتالاکتون‌های II و III را به‌ترتیب به‌میزان ۳/۱ و ۱/۳ درصد، اندازه‌گیری کردند. در گزارشی دیگر، Morteza-Semnani & Saeedi (2004) مجموع سه جزء اسانس شامل نپتالاکتون II، ۸،۱-سینئول و نپتالاکتون III را به‌ترتیب به‌میزان ۲۸/۸، ۱۳/۵ و ۱۱/۹ درصد، به‌عنوان بخش عمده اسانس در این گونه نشان دادند.

نتایج حاصل از پژوهش حاضر بر روی گونه *N. cataria*، نپتالاکتون II (۷۸/۹-۵۹/۵ درصد) را جزء غالب اسانس نشان داد. همچنین، نپتالاکتون‌های I و III به‌ترتیب به‌میزان ۳۰/۷-۱۰/۱ درصد و ۸/۸-۵/۸ درصد اندازه‌گیری شدند.

در مورد گونه *N. menthoides*، Mojab *et al.* (2009)، ۸،۱-سینئول را به‌میزان ۴۱/۱ درصد جزء عمده اسانس معرفی کردند. Nazemiyeh *et al.* (2009) و Sonboli *et al.* (2009) مجموع دو ترکیب نپتالاکتون I و ۸،۱- سینئول را به‌عنوان بخش عمده اسانس در این گونه نشان دادند. در مجموع ترکیب‌های مذکور، طبق گزارش Nazemiyeh *et al.* (2009)، نپتالاکتون I (۳۶/۹ درصد) بیشتر از ۸،۱-سینئول (۳۱/۳ درصد) و طبق گزارش Sonboli *et al.* (2009)، ۸،۱- سینئول (۳۳/۸ درصد) بیشتر از نپتالاکتون I (۲۳/۲ درصد) اندازه‌گیری شد. Kahkeshani *et al.* (2014) حضور نپتالاکتون III را نیز در اسانس گونه *N. menthoides* گزارش کردند. آن‌ها مجموع سه جزء اسانس شامل نپتالاکتون III، نپتالاکتون I و ۸،۱-سینئول، به‌ترتیب به‌میزان ۱۸/۴، ۱۷/۶ و ۱۶/۷ درصد، را به‌عنوان بخش عمده اسانس در این گونه نشان دادند. این درحالی است که طبق نتایج حاصل از پژوهش حاضر، نپتالاکتون III در اسانس گونه *N. menthoides* حضور نداشت و نپتالاکتون I در محدوده ۱/۵-۰/۴ درصد اندازه‌گیری شد. طبق نتایج به‌دست‌آمده، مجموع دو جزء ۸،۱-سینئول (۶۲/۸-۵۱/۸ درصد) و نپتالاکتون II (۱۴/۵-۹/۹ درصد) به‌عنوان بخش عمده اسانس در گونه *N. menthoides* نشان داده شد. طبق پژوهش‌های قبلی در مورد ترکیب اسانس گونه *N. crassifolia*، حضور نپتالاکتون‌های I، II و III و همچنین 4a-بتا، 7-آلفا، 7a-آلفا-نپتالاکتون (IV)، 4a-بتا، 7-آلفا، 7a-بتا-نپتالاکتون (V) و 4a-آلفا، 7-بتا، 7a-بتا-نپتالاکتون (VI) در اسانس این گونه، گزارش شده است.

Morteza-Semnani & Saeedi (2004)، نپتالاکتون III به‌میزان ۸۱/۱ درصد را ترکیب غالب اسانس این گونه گزارش کردند. آن‌ها همچنین نپتالاکتون I را به‌میزان ۵/۹ درصد در اسانس اندازه‌گیری کردند. Dabiri & Sefidkon (2003a)، نپتالاکتون I به‌میزان ۹۲/۶ درصد را در اسانس این گونه اندازه‌گیری کردند و همچنین حضور نپتالاکتون‌های II و IV به‌میزان جزئی و نپتالاکتون V به‌میزان ۰/۶ درصد در اسانس را نشان دادند. Matloubi Moghaddam & Hosseini (1996)، استریوایزومرهای نپتالاکتون به‌میزان ۷۲/۸ درصد و ۸،۱-سینئول به‌میزان ۹ درصد را در اسانس *N. crassifolia* گزارش کردند و همچنین توانستند نپتالاکتون VI را در اسانس شناسایی کنند.

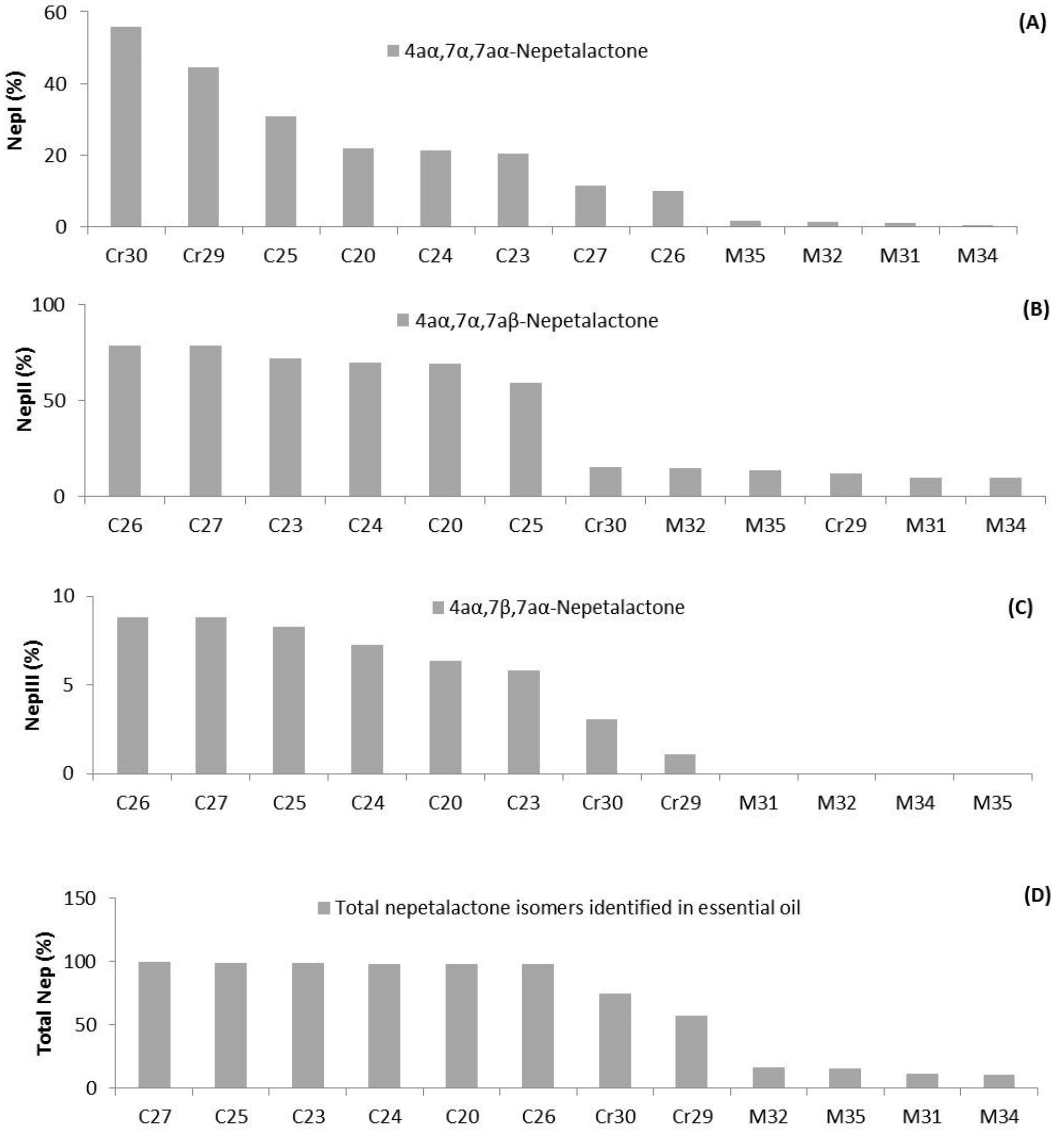
نتایج پژوهش حاضر در مورد گونه *N. crassifolia* نشان داد که مجموع سه جزء نپتالاکتون I (۵۵/۹-۴۴/۴ درصد)، ۸،۱-سینئول (۲۸-۱۳/۶ درصد) و نپتالاکتون II (۱۵/۵-۱۱/۷درصد)، بخش عمده اسانس را تشکیل می‌دهد. همچنین، نپتالاکتون III در دامنه ۳/۱-۱/۱ درصد در اسانس این گونه اندازه‌گیری شد.

گونه‌هایی از پونه‌سا که ترکیب عمده اسانس آن‌ها، نپتالاکتون است از اهمیت به‌نژادی بیشتر برخوردارند. گونه‌های مختلف پونه‌سا از نظر حضور نپتالاکتون در اسانس و مقدار کلی آن، حضور ایزومرهای مختلف نپتالاکتون در اسانس و مقادیر آن‌ها و ترکیب همراه نپتالاکتون در اسانس، با توجه به تأثیر بر خواص بیولوژیک و کاربرد آن، حائز اهمیت می‌باشند.

در بین گونه‌های مورد مطالعه در پژوهش حاضر، از نظر میزان نپتالاکتون I، گونه *N. crassifolia* و از نظر میزان نپتالاکتون II، گونه *N. cataria* جایگاه‌های اول را به‌خود اختصاص دادند. همچنین، بیشترین میزان نپتالاکتون III در توده‌های تفت و مرکزی از گونه *N. cataria* (۸/۸ درصد) اندازه‌گیری شد. از نظر میزان کل نپتالاکتون در اسانس، گونه *N. cataria* (۹۹/۱-۹۷/۸ درصد) رتبه اول را به‌خود اختصاص داد. شکل ۳ نشان می‌دهد که گونه‌ها و توده‌های مورد مطالعه در مقایسه با یکدیگر از نظر میزان کلی نپتالاکتون، و ایزومرهای شناسایی‌شده آن به‌تفکیک، در چه وضعیتی قرار دارند.

پژوهش‌های صورت‌گرفته در ایران بر روی ترکیب اسانس گونه‌های جنس پونه‌سا، حضور نپتالاکتون I در گونه‌های *N. persica* (Mahboubi *et al*., 2011)، *N. racemosa* (Rustaiyan *et al*., 2000a; Dabiri & Sefidkon, 2003b)، *N. cephalotes* (Rustaiyan *et al*., 2000b; Sefidkon & Jamzad, 2007)، *N. mirzayanii* (Sefidkon & Jamzad, 2007)، *N. crispa* (Sonboli *et al*., 2004; Sefidkon *et al*., 2006)، *N. rivularis*، *N. eremophila* (*al*., 2006)، *N. binaludensis* (Rustaiyan & Nadji, 1999)، *N. meyeri* (Sefidkon & Shaabani, 2004; Esmaeili *et al*., 2006) و *N. bornmuelleri* (Akhgar *et al*., 2014) را گزارش کرده‌اند. بیشترین مقدار این ایزومر نپتالاکتون، طبق گزارش Dabiri & Sefidkon (2003a) در *N. crassifolia* (۹۲/۶ درصد) نشان داده شده است. همچنین، حضور نپتالاکتون II در گونه‌های *N. persica* (Javidnia *et al*., 2002; Khajeh *et al*., 2010; Shafaghat & Oji, 2010)، *N. racemosa* (Rustaiyan *et al*., 2000a; Dabiri & Sefidkon, 2003b)، *N. pogonosperma* (Sefidkon & Akbarinia, 2003)، *N. crispa* (Sonboli *et al*., 2004)، *N. meyeri* (Sefidkon & Shaabani, 2004; Esmaeili *et al*., 2006)، *N. heliotropifolia* (Rustaiyan *et al*., 2006) و *N. sintenisii* (Sajjadi, 2005) و حضور نپتالاکتونIII در گونه *N. betonicifolia* (Salehi *et al*., 2012) بیان شده است. بیشترین مقدار نپتالاکتون‌های II و III، به‌ترتیب طبق گزارش‌های Esmaeili *et al*. (2006) در *N. meyeri* (۶۸/۱ درصد) و Morteza-Semnani & Saeedi (2004) در *N. crassifolia* (۸۱/۱ درصد) مشاهده شده است.

در تجزیه خوشه‌ای (شکل۱)، گونه *N. menthoides* به‌وضوح از دو گونه دیگر در ضریب فاصله ۰/۵۶ و حمایت بوت‌استرپ ۱۰۰ جدا شد و این در تطابق با نتایج طبقه‌بندی تاکسونومیک جنس پونه‌سا می‌باشد. طبق طبقه‌بندی مذکور (“Budantsev, 1993” به‌نقل از Jamzad *et al*., 2003)، گونه‌های *N. cataria* و *N. crassifolia* در بخش مشابه (*Nepeta* sect.) و گونه *N. menthoides* در بخش دیگر (*Spicatae* sect.) جای گرفتند.



شکل ۳. درصد ایزومرهای نپتالاکتون در توده‌های *Nepeta cataria*، *N. menthoides* و *N. crassifolia*؛ (A) 4a-آلفا، ۷-آلفا، ۷a-آلفا-نپتالاکتون، (B) 4a-آلفا، ۷-آلفا، ۷a-بتا-نپتالاکتون، (C) 4a-آلفا، ۷-بتا، ۷a-آلفا-نپتالاکتون و (D) کل نپتالاکتون

Figure 3. Percent of nepetalactone isomers in *Nepeta cataria* (C), *N. menthoides* (M) and *N. crassifolia* (Cr) accessions; (A) 4a*α*,7*α*,7a*α*-Nepetalactone, (B) 4a*α*,7*α*,7a*β*-Nepetalactone, (C) 4a*α*,7*β*,7a*α*-Nepetalactone and (D) total nepetalactone

همچنین در ضریب فاصله تقریبی ۰/۰۹ می‌توان گروه‌بندی‌هایی را نیز داخل گونه‌ها داشت (شکل ۱). در این ضریب فاصله، توده‌های زرند، بهاباد، بافق۱و تفت از گونه *N. cataria* در یک ژنوتیپ و توده‌های مرکزی و بافق۲ در ژنوتیپ دیگر قرار گرفتند. همچنین در گونه *N. menthoides*، توده‌های بروجن،مشگین‌شهر۱و مشگین‌شهر۳ در یک ژنوتیپ و توده مشگین‌شهر۲ در ژنوتیپ جداگانه دیگر جای گرفتند. دو توده مورد مطالعه از گونه *N. crassifolia* نیز در قالب دو ژنوتیپ مجزا گروه‌بندی شدند.

در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، دو مؤلفه اصلی اول و دوم در مجموع ۸۲/۱۶ درصد از تنوع موجود بین گونه‌ها و توده‌های مورد بررسی را توجیه کردند (شکل۲). مؤلفه اول، ۶۱/۷۸ درصد از تغییرات را

به‌خود اختصاص داد. مقادیر ضرایب بردارهای ویژه در مؤلفه اول نشان داد که ترکیب‌های آلفا-توجن، آلفا-پینن، بتا-پینن، میرسن، لیمونن، لینالول، آلفا-ترپینئول، ترپینن-۴-اُل، ۱، ۸- سینئول، ترپینولن، دلتا-ترپینئول و والنسن، بیشترین سهم از تنوع بین گونه‌ها و توده‌ها را داشتند (جدول ۵). همچنین، ترکیب‌های سیترونلول، نریل‌استات، اسپاتولنول و کاریوفیلن‌اکسید، بیشترین سهم از تنوع مرتبط با مؤلفه دوم که ۲۰/۳۸ درصد از تغییرات را به‌خود اختصاص می‌دهد، را داشتند (جدول ۵). تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای را تأیید کرد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر درحالی به‌دست آمد که توده‌های مورد بررسی در یک محل کشت شدند. بنابراین با حذف یا کم‌اثر کردن عوامل محیطی از آزمایش، می‌توان داده‌های حاصل را ناشی از توان‌مندی ژنتیکی توده‌ها و گونه‌های مورد بررسی در شرایط اقلیمی محل کشت‌شان دانست. لذا با توجه به داده‌های دو سال اول استقرار گیاهان در مزرعه، در همین زمان هم می‌توان تا میزان قابل‌ملاحظه‌ای به وضعیت تولید و ترکیب اسانس آن‌ها اطمینان داشت. همچنین، نتایج حاکی از کارآمدی اجزای اسانس در گروه‌بندی درون و بین‌گونه‌ای جنس پونه‌سا می‌باشد.

سپاسگزاری

از سرکار خانم دکتر زیبا جم‌زاد، به‌خاطر تأیید گیاه‌شناسی گونه‌های مورد مطالعه، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Adams, R. P. (2004). *Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy*. Allured Publishing Corp., Carol Stream, USA.
2. Akhgar, M. R., Ghazanfari, D. & Rahbari, H. (2014). Chemical composition of the essential oils from leaves, flowers, stems and roots of *Nepeta bornmuelleri* Hausskn. ex Bornm. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30(2), 223-230. (in Farsi)
3. Bernáth, J. (2002). Strategies and recent achievements in selection of medicinal and aromatic plants. *Acta Horticulturae*, 576, 115-128.
4. Dabiri, M. & Sefidkon, F. (2003a). Chemical composition of *Nepeta crassifolia* Boiss. & Buhse oil from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(3), 225-227.
5. Dabiri, M. & Sefidkon, F. (2003b). Chemical composition of the essential oil of *Nepeta racemosa* Lam. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(2), 157-158.
6. Esmaeili, A., Rustaiyan, A. H., Masoudi, S. & Nadji, K. (2006). Composition of the essential oils of *Mentha aquatica* L. and *Nepeta meyeri* Benth. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 18(3), 263-265.
7. Formisano, C., Rigano, D. & Senatore, F. (2011). Chemical constituents and biological activities of Nepeta species. *Chemistry & Biodiversity*, 8(10), 1783-1818.
8. Hammer, Ø., Harper, D. A. T. & Ryan, P. D. (2001). PAST: palaeontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), 9 p.
9. Hussain, J., Jamila, N., Gilani, A., Abbas, G. & Ahmed, S. (2009). Platelet aggregation, antiglycation, cytotoxic, phytotoxic and antimicrobial activities of extracts of *Nepeta juncea*. *African Journal of Biotechnology*, 8(6), 935-940.
10. Jamzad, Z. (2013). *Flora of Iran*, No.76: Lamiaceae family. Agricultural Research, Education and Extension Organization, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran. (in Farsi)
11. Jamzad, Z., Chase, M. W., Ingrouille, M., Simmonds, M. S. J. & Jalili, A. (2003). Phylogenetic relationships in *Nepeta* L. (*Lamiaceae*) and related genera based on ITS sequence data. Taxon, 52(1), 21-32.
12. Javidnia, K., Miri, R., Safavi, F., Azarpira, A. & Shafiee, A. (2002). Composition of the essential oil of *Nepeta persica* Boiss. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 17, 20-22.
13. Kahkeshani, N., Razzaghirad, Y., Ostad, S. N., Hadjiakhoondi, A., Shams Ardekani, M. R., Hajimehdipoor, H., Attar, H., Samadi, M., Jovel, E. & Khanavi, M. (2014). Cytotoxic, acetylcholinesterase inhibitor and antioxidant activity of *Nepeta menthoides* Boiss & Buhse essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(4), 544-552.
14. Khajeh, M., Yamini, Y. & Shariati, S. (2010). Comparison of essential oils compositions of Nepeta persica obtained by supercritical carbon dioxide extraction and steam distillation methods. *Food and Bioproducts Processing*, 88, 227-232.

15. Kraujalis, P., Venskutonis, P. R. & Ragazinskiene, O. (2011). Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Nepeta plant species. *FOODBALT*, 79-83.
16. Mahboubi, M., Kazempour, N., Ghazian, F. & Taghizadeh, M. (2011). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of *Nepeta persica* Boiss. essential oil. *Herba Polonica*, 57(1), 62-71.
17. Matloubi Moghaddam, F. & Hosseini, M. (1996). Composition of the essential oil from Nepeta crassifolia Boiss. & Buhse. *Flavour and Fragrance Journal*, 11(2), 113-115.
18. Miceli, N., Taviano, M. F., Giuffrida, D., Trovato, A., Tzakou, O. & Galati, E .M. (2005). Anti-inflammatory activity of extract and fractions from *Nepeta sibthorpii* Bentham. *Journal of Ethnopharmacology*, 97, 261-266.
19. Mišić, D., Šiler, B., Gašić, U., Avramov, S., Živković, S., Nestorović Živković, J., Milutinović, M. & Tešić, Ž. (2015). Simultaneous UHPLC/DAD/±HESI-MS/MS analysis of phenolic acids and nepetalactones in methanol extracts of *Nepeta* species: a possible application in chemotaxonomic studies. *Phytochemical Analysis*, 26, 72-85.
20. Mojab, F., Nickavar, B. & Hooshdar Tehrani, H. (2009). Essential oil analysis of *Nepeta crispa* and *N. menthoides* from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(1), 43-46.
21. Morteza-Semnani, K. & Saeedi, M. (2004). Essential oils composition of *Nepeta cataria* L. and *Nepeta crassifolia* Boiss. and Buhse from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 7(2), 120-124.
22. Mozaffarian, V. (1998). *Dictionary of Iranian Plant Names*. Farhang Moaser, Tehran. (in Farsi)
23. Mozaffarian, V. (2013). *Identification of medicinal and aromatic plants of Iran*. Farhang Moaser, Tehran. (in Farsi)
24. Mutlu, S. & Atici, O. (2009). Allelopathic effect of *Nepeta meyeri* Benth. extracts on seed germination and seedling growth of some crop plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 89-93.
25. Nazemiyeh, H., Razavi, S. M., Asnaashari, S., Talebpour, A. H., Ghahramani, M. A. & Imani, Y. (2009). Chemical composition of the essential oil of *Nepeta menthoides* Boiss & Buhse. *Pharmaceutical Sciences*, 14(4), 283-289. (in Farsi)
26. Németh, É., Bernáth, J. & Héthelyi, É. (2000). Chemotypes and their stability in *Achillea crithmifolia* W. et K. populations. *Journal of Essential Oil Research*, 12, 53-58.
27. Pojarkova, A. I. (1954). Nepeta. In: *Flora of the USSR*. Academy of Science of the U.S.S.R., Moskva-Leningrad.
28. Rabbani, M., Sajjadi, S. E. & Mohammadi, A. (2008). Evaluation of the anxiolytic effect of *Nepeta persica* Boiss. in mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine (eCAM)*, 5(2), 181-186.
29. Rustaiyan, A. H., Jamzad, M., Masoudi, S. & Ameri, N. (2006). Volatile constituents of *Nepeta heliotropifolia* Lam., *Mentha mozaffarianii* Jamzad and *Ziziphora persica* Bunge. three labiatae herbs growing wild in Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 18(3), 348-351.
30. Rustaiyan, A. H., Khosravi, M., Larijany, K. & Masoudi, S. (2000a). Composition of the essential oil of *Nepeta racemosa* Lam. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 12(2), 151-152.
31. Rustaiyan, A. H., Komeilizadeh, H., Monfared, A., Nadji, K., Masoudi, S. & Yari, M. (2000b). Volatile constituents of *Nepeta denudata* Benth. and *N. cephalotes* Boiss. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 12(4), 459-461.
32. Rustaiyan, A. H. & Nadji, K. (1999). Composition of the essential oils of *Nepeta ispahanica* Boiss. and *Nepeta binaludensis* Jamzad from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 14(1), 35-37.
33. Safaei-Ghomi, J., Djafari-Bidgoli, Z. & Batooli, H. (2009). Volatile constituents analysis of *Nepeta cataria* from central Iran. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(6), 913-915.
34. Sajjadi, S. E. (2005). Analysis of the essential oil of *Nepeta sintenisii* Bornm. from Iran. *Daru*, 13(2), 61-64.
35. Salehi, P., Sonboli, A., Khaligh, P. & Mirzajani, F. (2012). Essential oil composition and antioxidant activity of different extracts of *Nepeta betonicifolia* C.A. Meyer and *Nepeta saccharata* Bunge. *Flavour and Fragrance Journal*, 26(8), 736-743.
36. Sefidkon, F. & Akbarinia, A. (2003). Essential oil composition of *Nepeta pogonosperma* Jamzad et Assadi from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 15(5), 327-328.
37. Sefidkon, F. & Jamzad, Z. (2007). Essential oil composition of four Iranian *Nepeta species* (*N. cephalotes*, *N. bornmuelleri*, *N. mirzayanii* and *N. bracteata*). Jo*urnal of Essential Oil Research*, 19(3), 262-265.
38. Sefidkon, F., Jamzad, Z. & Mirza, M. (2006). Chemical composition of the essential oil of five Iranian *Nepeta species* (*N. crispa*, *N. mahanensis*, *N. ispahanica*, *N. eremophila* and *N. rivularis*). *Flavour and Fragrance Journal*, 21(5), 764-767.
39. Sefidkon, F. & Shaabani, A. (2004). Essential oil composition of *Nepeta meyeri* Benth. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(3), 236-238.

40. Shafaghat, A. & Oji, K. (2010). Nepetalactone content and antibacterial activity of the essential oils from different parts of *Nepeta persica*. *Natural Product Communications*, 5(4), 625-628.
41. Sonboli, A., Gholipour, A., Yousefzadi, M. & Mojarrad, M. (2009). Antibacterial activity and composition of the essential oil of *Nepeta menthoides* from Iran. *Natural Product Communications*, 4(2), 283-286.
42. Sonboli, A., Salehi, P. & Yousefzadi, M. (2004). Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Nepeta crispa* Willd. from Iran. *Zeitschrift für Naturforschung*, 59c, 653-656.
43. Tepe, B., Daferera, D., Tepe, A. S., Polissiou, M. & Sokmen, A. (2007). Antioxidant activity of the essential oil and various extracts of *Nepeta flavida* Hub.-Mor. from Turkey. *Food Chemistry*, 103, 1358-1364.
44. Zomorodian, K., Saharkhiz, M. J., Shariati, S., Pakshir, K., Rahimi, M. J. & Khashei, R. (2012). Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils from *Nepeta cataria* L. against common causes of food-borne infections. *International Scholarly Research Network Pharmaceutics*, 1-6.