

مورفولوژی کرک‌ها و بررسی ترکیبات اسانس در مراحل مختلف تکوین پونه معطر (*Mentha pulegium* L.)



فاطمه زرین کمر* و نسترن عرب زاده

ایران، تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم گیاهی

تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۱۲

تاریخ دریافت: ۹۵/۱/۱۶

چکیده

پونه معطر، گیاهی است با نام علمی *Mentha pulegium* از خانواده Lamiaceae. گیاهان این تیره شامل حدود ۲۰۰ سرده و بیش از ۴۰۰۰ گونه گیاهی هستند. پونه معطر گیاهی با ارزش‌های سودمند تجاری و صنعتی می‌باشد و در طب سنتی مصارف متعددی دارد. در این تحقیق آنالیزهای تشریحی و ریخت‌شناسی کرک‌های موجود در این گونه با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی انجام گرفت. به منظور بررسی ترکیبات اسانس در دو مرحله رویشی و زایشی نمونه‌ها جمع‌آوری و آنالیز توسط دستگاه GC, GC/MS انجام گرفت. بررسی‌های ریخت‌شناسی انجام شده مشخص کرد که این گونه دارای سه نوع کرک غیر غده‌ای و سه نوع کرک غده‌ای می‌باشد. با استفاده از روش‌های رنگ‌آمیزی حضور ترکیباتی نظیر ترکیبات پکتیکی لپیدهای خنثی، ترکیبات فنولی، آلکالوئیدها و اسانس در کرک‌های غده‌ای این گونه مشخص گردید. نتایج حاصل از آنالیز اسانس در دو مرحله تکوینی نشان‌دهنده حضور ترکیبات متنوعی می‌باشد از میان این ترکیبات بیش از ۹۰٪ اسانس از دو ترکیب پولگون و متون تشکیل شده است. بررسی اسانس بیانگر کاهش میزان پولگون و افزایش متون می‌باشد. با توجه به کاهش درصد این دو ترکیب و هم‌چنین حضور ترکیبات جدید در فاز زایشی و افزایش تراکم کرک در فاز زایشی به نسبت فاز رویشی گمان بر این است که گیاه مقداری از انرژی تولید این ترکیبات را برای تولید ترکیبات جدید که فراریت و عطر بیشتری دارند، به مصرف می‌رساند و مسیر سنتز ترپنوئیدها دستخوش تغییر می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پونه معطر، کرک‌های ساده و غده‌ای، ریخت‌شناسی، آنالیز اسانس.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۸۲۸۸۴۷۱۷، پست الکترونیکی: zarinkamar@modares.ac.ir

مقدمه

pulegium یک گیاه معطر با ارزش‌های سودمند تجاری و صنعتی می‌باشد و در طب سنتی به عنوان برطرف‌کننده سوءهاضمه، عفونت‌های مجاری تنفسی، سرفه، درد گلو و درد‌های عصبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. روغن‌های ضروری پونه معطر دارای ویژگی‌های خاص و منحصر به فردی هستند به عنوان مثال دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی می‌باشد همچنین توانایی جلوگیری از فساد و افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی این ترکیبات طی تحقیقات به اثبات رسیده است (۱۶). ترکیبات ثانویه

سرده *Mentha* عضوی از تیره Lamiaceae است که خود در رده Lamiales دسته‌بندی می‌شود. از آنجایی که تمامی گونه‌ها و هیبریدهای *Mentha* تولیدکننده اسانس هستند این سرده از مهم‌ترین اعضای تیره نعناعیان به شمار می‌آید (۱۷). این سرده دارای پراکنش جهانی است و به صورت همه‌جا‌زی بر روی تمامی قاره‌ها به جز منطقه قطب جنوب وجود دارد (۱۷). گونه‌های نعناعیان در بیشتر نقاط ایران بویژه در دامنه‌های البرز، شمال، شمال شرقی و برخی نقاط دیگر ایران انتشار دارند (۲). *Mentha*

بررسی های ریخت‌شناسی

میکروسکوپ نوری (LM): بررسی مورفولوژیکی کرک های اپیدرمی بر روی برش های دستی و تازه از برگ انجام شد. برای این منظور برش های عرضی از برگ ها تهیه و پس از قرار دادن برش ها بر روی لام و در گلیسرین ۳۰٪، با میکروسکوپ نوری Olympus مدل BH2 ساخت کشور ژاپن بررسی شدند. برگ ها، گلبرگ ها و کاسبرگ های گیاه در مراحل مختلف تکوین از گره و میان گره اول تا پنجم انتخاب و پس از قرارگیری در هیپوکلرید سدیم ۵٪ به مدت ۶ ساعت رنگ بری شد و به وسیله میکروسکوپ نوری مجهز به لنز مدرج ابتدا قطر عدسی با فرمول زیر بدست آمد سپس مساحت عدسی با بزرگ نمایی ۴۰× بدست آمده و تعداد کرک ها در واحد سطح محاسبه شد.

درخت نمایی عدسی کوچک X قطر عدسی کوچک = قطر عدسی بزرگ
درخت نمایی عدسی بزرگ

$$S = \pi r^2$$

میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM): قطعات ریزی از برگ به مدت یک شبانه روز در محلول تثبیت کننده FAA (فرمالدئید، اسید استیک، اتانول) قرار داده شدند و سپس در اتانول با درجات رو به افزایش به تدریج عمل آبگیری صورت گرفت. نمونه ها جهت خشک شدن داخل هود قرار گرفتند. عمل پوشاندن سطح نمونه با لایه بسیار نازک فلز توسط دستگاه پوشاننده یون صورت گرفت و نمونه های پوشش دار به وسیله چسب هادی روی پایه های مخصوص چسبانده شدند و برای تهیه ریز نگاره با میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)، مدل XL30 و KYKY-EM3200 ساخت شرکت فیلیپس از کشور هلند مورد مطالعه قرار گرفتند.

بررسی های هیستوشیمیایی: مطالعات هیستوشیمیایی بر روی برش های تازه برگ صورت گرفت. تست های هیستوشیمیایی شامل موارد فوق می باشد: $FeCl_3$ برای ترکیبات تانن (۱۴)، سافرانین برای ترکیبات پکتیکی (۶)،

گیاهان بسته به جنس، گونه و شرایط زیست محیطی می تواند متفاوت و متغیر باشد. (۳ و ۴). وجود اسانس فقط در حدود ۲۰۰۰ گونه از ۲۵۰۰۰ گونه گیاهان گلداری که تا کنون شناخته شده، گزارش گردیده است. مهم ترین گیاهان دارویی حاوی اسانس، متعلق به تیره های نعناع، سداب، مورد، گشنیز، کاسنی، کاج، سرو و تعداد کمی تیره های دیگر می باشند (۱). این ترکیبات موجب محافظت از گیاهان در برابر خورده شدن توسط گیاه خواران و آلوده شدن آنها به عوامل بیماری زای میکروبی می شوند. همچنین عنوان ترکیبات جاذب (از نظر بو، رنگ و طعم) حشرات گرده افشان و حیوانات پراکنش دهنده بذور گیاهان عمل می کنند. سطح اندام های هوایی در اغلب گیاهان توسط زوائد مو مانندی پوشیده شده که در زیر میکروسکوپ تنوعی از شکل و ساختار را نشان می دهند. کرک ها اغلب در مراحل ابتدایی تکوین اندام، از سلول های اپیدرمی یا زیر اپیدرمی منشاء گرفته شروع به تمایز می کنند (۱۰). دو مدل اساسی کرک ها تمایز می شود به: کرک های غده ای و غیر غده ای (۱۵) کرک های غده ای در گیاهان ساختارهای مناسبی برای تولید و ذخیره تولیدات ثانویه گیاهان هستند.

مواد و روشها

کاشت بذور: بذورهای پونه معطر پس از تهیه، به منظور ضد عفونی کردن به مدت ۱۰ دقیقه درون ظرف محتوی هیپوکلریت سدیم ۵٪ قرار گرفتند و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند و به منظور جوانه زنی در گلدان های حاوی پیت و پرلیت به نسبت (۲ به ۱) در شرایط گلخانه ای در دمای حداقل ۱۸ و حداکثر ۲۳ درجه سانتی گراد و ۴۰-۴۵٪ رطوبت کشت داده شدند. عمل آبیاری در طول فصل رشد هر ۲ روز یک بار صورت گرفت. پس از گذشت ۳۰ روز از کشت بذرها جوانه های گیاه به پرلیت منتقل شده و یک روز در میان به وسیله محلول هوگلند کامل آبیاری شدند.

درجه سانتی‌گراد، زمان رویش ۰/۴ ثانیه، گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ۱٫۱ میلی‌لیتر در دقیقه و انرژی یونیزاسیون معادل ۷۰ الکترون‌ولت بود.

شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده روغن‌های اساسی: شناسایی ترکیبات موجود در روغن‌های اساسی با مقایسه طیف‌های جرمی و شاخص‌های بازداری بدست‌آمده، با طیف‌های جرمی و شاخص‌های بازداری ترکیب‌های استاندارد صورت گرفت (۵). درصد نسبی هر یک از ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام بدست‌آمد.

نتایج و بحث

بررسی‌های ریخت‌شناسی: مطالعات مورفولوژیک اولیه بر روی گیاه پونه معطر نشان داد، بر روی برگ، گلبرگ و کاسبرگ این گیاه کرک‌های ظریفی وجود دارد. این کرک‌ها، شامل کرک‌های پوششی و کرک‌های ترشچی می‌باشند. کرک‌های پوششی از لحاظ ساختاری به دو قسمت تقسیم می‌شوند، کرک‌های پوششی تک سلولی و کرک‌های پوششی چند سلولی که شامل یک سلول پایه که توسط چندین سلول اپیدرمی پشتیبانی می‌شود. در ساقه به دلیل تنوع در تعداد سلول‌های تشکیل‌دهنده، شاهد تقسیم بندی فرعی هستیم که این تقسیم بندی شامل کرک‌های پوششی چند سلولی کوتاه، دارای ۲ تا ۴ سلول و کرک‌های پوششی چند سلولی بلند، دارای ۶ تا ۸ سلول می‌باشد. سلول راسی^۲ دارای انتهایی نوک تیز می‌باشد (شکل ۱). کرک‌های غیر غده‌ای بر روی سطح خود دارای برجستگی‌های زگیل‌مانندی هستند.

کرک‌های ترشچی پونه معطر از نوع راسی و سپری می‌باشند. کرک‌های غده‌ای راسی به دو دسته تقسیم می‌شوند، دسته اول دارای یک سلول ساقه و سری گرد و تخم مرغی هستند که دارای سطحی صاف می‌باشند (شکل ۲) و

قرمز سودان 7B برای لیپیدهای خثی (۸)، معرف نادی برای اسانس (۹)، دی کرومات پتاسیم برای تمام ترکیبات فنولی (۱۲) و معرف واگنر برای آلکالوئیدها (۱۱).

آنالیز اسانس به وسیله GC-GC/MS: به منظور انجام این آنالیز نمونه‌ها در دو مرحله رویشی پس از گذشت ۹۰ روز از جابه‌جایی جوانه‌ها به پرلیت و در مرحله زایشی ۱۲۰ روز پس از انتقال نمونه‌ها به پرلیت جمع‌آوری شده و در سایه خشک شدند. استخراج اسانس از ۳۰ گرم پودر گیاه خشک شده در سایه به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت ۵ ساعت انجام گرفت و بلافاصله توسط سولفات سدیم خشک‌آبگیری شده و در محل تاریک با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان تجزیه دستگاهی نگهداری شد.

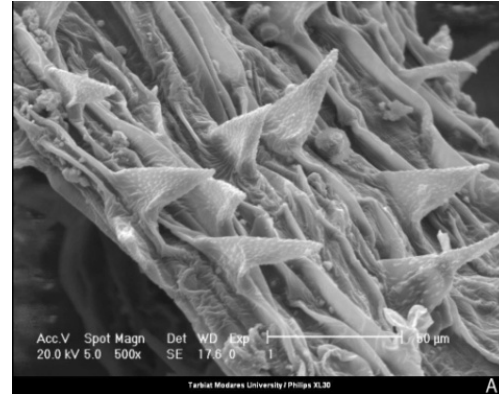
مشخصات دستگاه GC: کروماتوگراف گازی TRACEGC، مجهز به ستون DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر و دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود. در برنامه ریزی حرارتی، دمای اولیه ستون به مدت ۳ دقیقه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگهداشته شد و تا دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت و در دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه متوقف شد. آشکارساز از نوع FID (آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای) با دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حامل نیتروژن با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه بود.

مشخصات دستگاه GC/MS: طیف‌سنج جرمی Quadrupole متصل به کروماتوگراف گازی TRACEGC، ستون DB-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵، و به همراه ضخامت لایه نازک فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر و دمای محفظه تزریق به همراه آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود. برنامه ریزی حرارتی ستون از ۴۰ تا ۴۶۰ درجه سانتی‌گراد، دمای محفظه یونش ۲۰۰

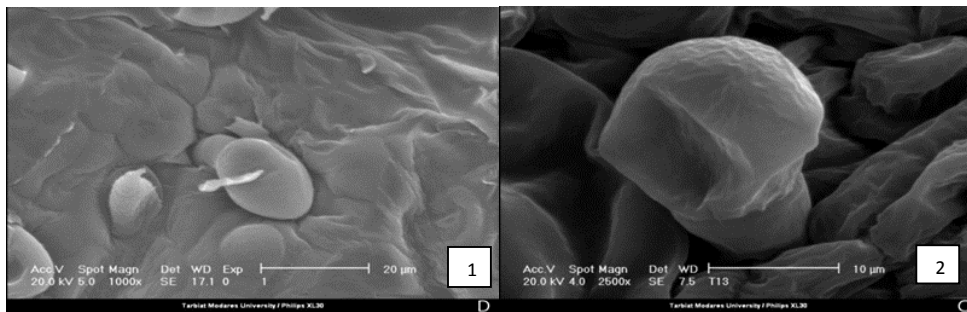
کرک‌های راسی مشاهده شده با آنچه Werker و همکارانش (۱۹۸۵) به عنوان کرک‌های راسی نوع اول و دوم شرح داده‌اند مطابقت دارند (۱۹).

کرک‌های غده‌ای سپری دارای یک سلول کوتاه به عنوان ساقه و سری بزرگ و صاف هستند (شکل ۴). نتایج حاصل از مطالعات ساختاری و رنگ‌آمیزی هسته‌ها نشان می‌دهد که کرک‌های غده‌ای سپری دارای ۱۲ تا ۱۶ سلول ترشحی هستند و در دو ردیف دایره‌ای شکل قرار می‌گیرند که شامل ۴ سلول در دایره داخلی و ۸ تا ۱۲ سلول در دایره خارجی می‌باشند. حضور کرک‌های سپری در گزارشات Turner و همکارانش (۲۰۰۰) بر روی نعناع فلفلی (Piperment) مشاهده شده است (۱۸).

دسته دوم دارای یک سلول پایه برجسته یک تا دو سلول ساقه و سری گرد با سطحی صاف می‌باشند (شکل ۳).

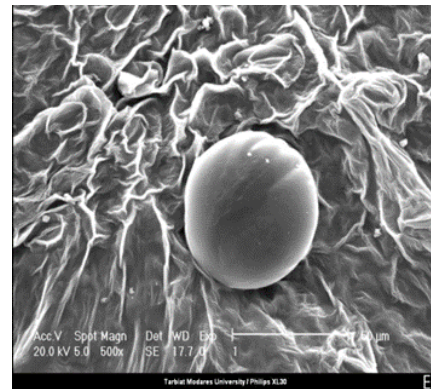


شکل ۱- کرک‌های غیر غده‌ای



شکل‌های ۲ و ۳- کرک‌های راسی ۱. نوع اول ۲. نوع دوم

زایشی افزایش می‌یابد و این تراکم در سطح تحتانی برگ‌های مرحله زایشی بیشتر از سطح فوقانی می‌باشد. در مرحله رویشی نیز تراکم کرک‌های غیر غده‌ای در سطح فوقانی بیشتر از سطح تحتانی می‌باشد در حالی که تراکم کرک‌های غده‌ای در سطح تحتانی نسبت به سطح فوقانی بیشتر است. همچنین الگوی تراکم کرک‌ها در سطح برگ به گونه‌ای است که در منطقه‌ی پایه‌ای (Basal) میزان کرک‌ها به نسبت منطقه‌ی راسی (Apical) برگ متراکم‌تر می‌باشند و شاهد توزیع بیشتر کرک‌ها در منطقه‌ی پایه‌ای هستیم. توزیع مشابه از کرک‌های سپری، با بیشترین فراوانی بر روی سطح تحتانی برگ برای انواع گونه‌های تیره نعناعیان گزارش شد (۷، ۱۳).



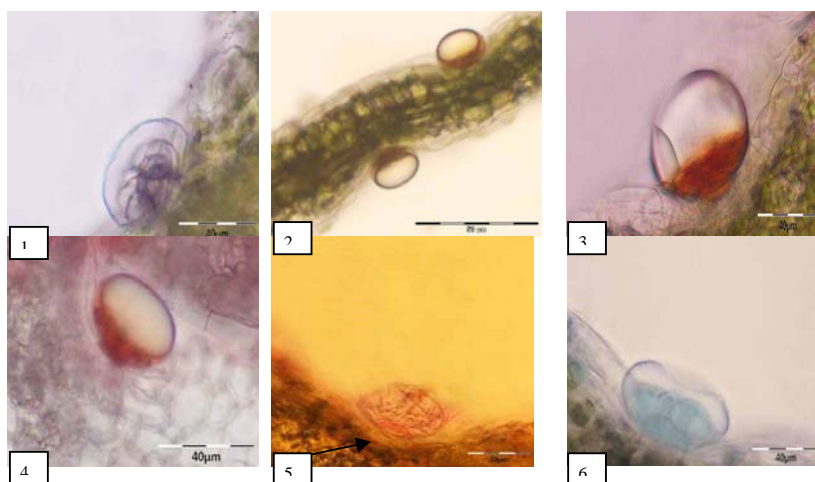
شکل ۴- کرک غده‌ای

توزیع و تراکم کرک‌ها: میزان تراکم کرک‌ها در دو مرحله رویشی و زایشی متفاوت می‌باشد به طوری که تراکم هر دو نوع کرک غده‌ای و غیر غده‌ای در مرحله

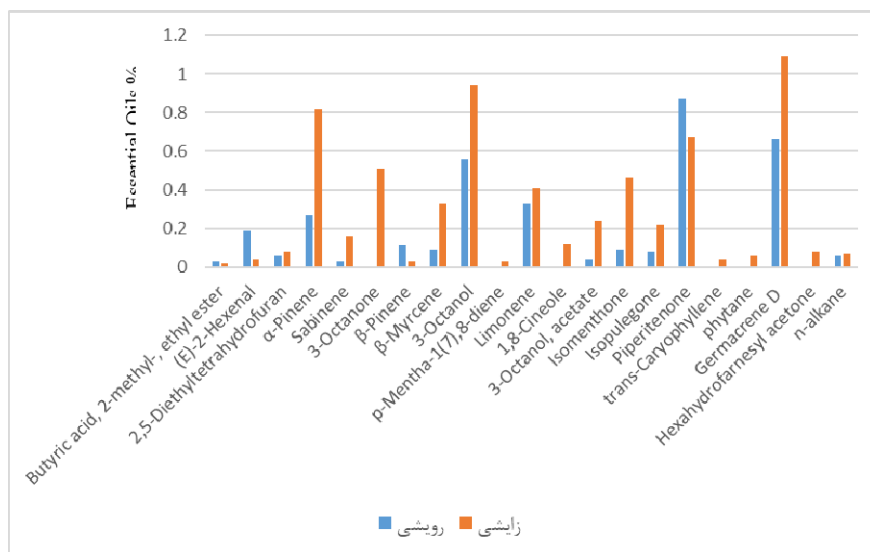
حضور تمامی این ترکیبات در کرک‌های راسی و سپری پونه معطر می‌باشد (شکل ۵).

بررسی اسانس: اسانس پونه معطر ۱۷ ترکیب مختلف را در مرحله رویشی و ۲۳ ترکیب را در مرحله زایشی نشان می‌دهد که در نمودار ۱ نشان داده شده است.

هیستوشیمی کرک‌ها: نتایج تست‌های هیستوشیمیایی ماهیت پیچیده‌ی ترکیبات را مشخص می‌کند که شامل ترکیبات چربی دوست ۷ و آبدوست ۸ می‌باشد. نتایج آزمایشات هیستوشیمیایی انجام شده با معرف‌های اختصاصی برای شناسایی و تشخیص حضور ترکیبات تانن، آلکالوئیدها، فنول، پکتین، لیپید و اسانس‌ها حاکی از



شکل ۵-۱- حضور ترکیبات تانن ۲. حضور ترکیبات آلکالوئیدی ۳. حضور ترکیبات فنولی ۴. حضور ترکیبات پکتین ۵. حضور ترکیبات لیپیدی ۶. حضور ترکیبات اسانس



نمودار ۱- ترکیبات اسانس در دو مرحله رویشی و زایشی

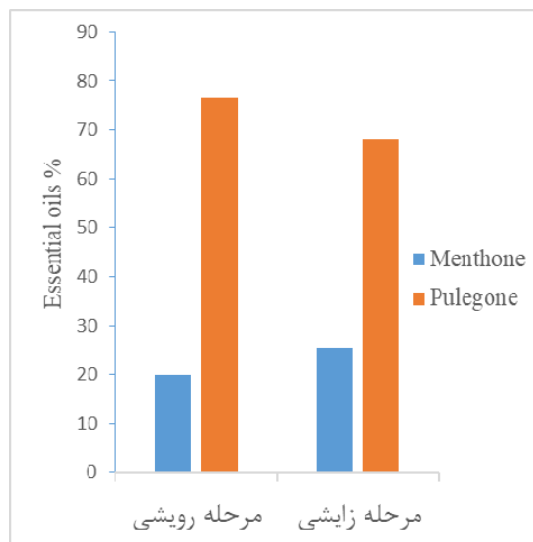
مرحله زایشی این دو ترکیب ۹۳/۵۳٪ از محتوای اسانس را به خود اختصاص داده‌اند که در نمودار شماره ۲ نمایش داده شده است.

اسانس پونه معطر شامل ترکیبات پیچیده‌ای است که به طور عمده حاوی مونوترپن‌های اکسیژنه پولگون ۴ و منتون ۵ است که در مرحله رویشی جمعاً ۹۶/۵۲٪ و در

درصد دو ترکیب پولگون و منتون از ۹۶/۵۲٪ به ۹۳/۵۹٪ و همچنین حضور شش ترکیب جدید شامل:

1, 8 Cineol, p-Mentha, 8-dien, 3 Octanone, Trans caryophyllen, Phytoene, Hexane hydro farnesyl acetone

می‌باشد. دو ترکیب از شش ترکیب فوق به عنوان مواد فرار معرفی شده‌اند و چهار ترکیب باقی مانده به عنوان رایحه و عطر شناسایی شده‌اند. حضور ترکیبات جدید فرار و خوشبو به همراه افزایش تراکم کرک غده‌ای در فاز زایشی نسبت به فاز رویشی، به عنوان رایحه در فاز زایشی به گیاه این امکان را می‌دهد تا برای عمل گرده افشانی و جذب حشرات گرده افشان دارای عطری مطبوع شود. به نظر می‌رسد که گیاه تولید این ترکیبات جدید را در عمل گرده افشانی در سلول‌های کرک غده‌ای به مصرف می‌رساند.



نمودار ۲- دو ترکیب منتون و پولگون در دو مرحله رویشی و زایشی مقایسه ترکیبات اسانس پونه معطر در مراحل رویشی و زایشی نشان دهنده تغییرات کمی و کیفی ترکیبات در این دو مرحله تکوینی می‌باشد. در مرحله زایشی کاهش

منابع

- ۱- امید بیگی ر. ۱۳۷۴. رهیافتهای تولید و فرآوری گیاهان دارویی. فکر روز.
- ۲- قهرمان ا. ۱۳۷۳. کروموفیت‌های ایران سیستماتیک گیاهی، جلد سوم. تهران مرکز نشر دانشگاهی چاپ اول.
- ۳- کشاورزح، مدرس ثانوی م، زرین کمر ف. ۱۳۹۳. تفاوت در پاسخ آن‌تی اکسیدانی دو رقم کلزا بهاره و پاییزه در شرایط مزرعه‌ای leaf surfaces of *Nepeta racemosa*. *International Journal of Plant Sciences* 52, 623-632.
- ۱۰- Brundrett, M. C., Kendrick, B. & Peterson, C. A. 1991. Efficient lipid staining in plant material with Sudan Red 7B or Fluoral Yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotechnic & Histochemistry*, 66, 111-116.
- ۱۱- David, R. & Carde, J. 1964. Histochemie-coloration differentielle des inclusions lipidiques et terpeniques des pseudophylles du pin maritime au moyen du reactif NADI. *Comptes rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences* 258:1338-1340.
- ۱۲- Fahn, A. 2000. Structure and function of secretory cells. *Advances in botanical research*, 31, 37-75.
- تحت تاثیر اسید سالیسیلیک. مجله پژوهش‌های گیاهی جلد ۲۷ شماره ۲، ۲۸۸-۲۹۷.
- ۴- البوغیش ن، زرین کمر ف. ۱۳۹۳. بررسی تغییر ساختاری در اندام زایشی بابونه آلمانی ناشی از تنش سرب. جلد ۲۷ شماره ۳، ۳۳۶-۳۴۵.
- 5- Adam, R. 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. *Allured: Carol Stream, IL*.
- 6- Antunes, T. & Sevinat-Pinto, I. 1991. Glandular trichomes of *Teucrium scorodonia* L. *Morphology and Histochemistry*. *Flora*, 185, 65-70.
- 7- Ascensao, L. & PAIS, M. 1998. The leaf capitate trichomes of *Leonotis leonurus*: Histochemistry, ultrastructure and secretion. *Annals of Botany*, 81, 263-271.
- 8- Beckman, C. & Halmos, S. 1962. Relation of vascular occluding reactions in banana roots to pathogenicity of root-invading fungi. *Phytopathology*, 52, 893.
- 9- Bourett, T. M., Howard, R. J., Okeefe', D. P. & Hallahan, D. L. 1994. Gland development on

- 13- Furr, M. & Mahlberg, P. G. 1981. Histochemical analyses of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *Journal of Natural Products*, 44, 153-159.
- 14- GABE, M. 1968. *Techniques histologiques*, Masson.
- 15- Gavalas, N., Bosabalidis, A. M. & Kokkini, S. 1998. Comparative study of leaf anatomy and essential oils of the hybrid *Mentha x villosa-nervata* and its parental species *M. longifolia* and *M. spicata*. *Israel journal of plant sciences*, 46, 27-33.
- 16- Guerin, H. P., Delaveau, P. 1971. Localisations histochimiques. II: Procèeds simples de localization de pigments flavoniques. Application à quelques Phanérogames. *Bulletin de la Société botanique de France*, 118, 29-36.
- 17- Salamaki, Y., Zarre, S., Jamzad, Z. & Brauchler, C. 2009. Trichome micromorphology of Iranian *Stachys* (Lamiaceae) with emphasis on its systematic implication. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 204, 371-381.
- 18- Turner, G. W., Gershenzon, J. & Croteau, R. B. 2000. Development of peltate glandular trichome of peppermint. *Plant physiology*, 124, 665-680.
- 19- Werker, E., Ravid, U. & Putivsky, E. 1985. Structure of glandular hairs and identification of the main components of their secreted material in some species of the Labiatae. *Israel Journal of Botany*, 34, 31-45.

Trichomes micromorphology and essential oil variation at different developmental stages of *Mentha pulegium* L.

Zarinkamar F. and Arabzadeh N.

Dept. of Plant Biology, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Mentha pulegium is an aromatic plant in the Lamiaceae family. Plants of this family estimated to contain 200 genera with over 4,000 species. *M. pulegium* is an aromatic plant with high industrial and commercial values. In this study, morphological and anatomical analysis of the trichomes on leaves, sepals, and petals of *M. pulegium* were carried out using light microscopy and scanning microscopy. The essential oils were obtained using hydro distillation method and analyzed by Gas Chromatography (GC) and Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC/MS). Morphological investigation revealed that these species had three types of non-glandular trichomes and two types of glandular trichomes. Histochemical test demonstrated both of trichomes have a positive reaction to neutral lipids, pectin, alkaloid compounds, phenolic compounds, and terpenoids. The results of oil analysis in different development stages show the presence of several compounds. The composition analysis of the essential oils using GC and GC/MS in vegetative and flowering phases indicated that pulegone and menthone were the major compounds with more than 90% of total oil composition. In *mentha pulegium*, pulegone amount is reduced from 76.58% to 68.19% and menthone amount is increased from 19.94% to 25.40%. Regarding to the reduction of pulegone and menthone amount from 96.52% to 93.59% and also appearance of new chemical compounds in flowering phase and increasing in trichomes density at this phase, it can be concluded that the plant exchange some amount of energy to produce new compounds with special volatility and fragrance as well as changing the synthesis pathway in trichomes cells.

Key words: *Mentha pulegium*, simple and glandular trichomes, morphology, essential oil analyses.