بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده کشاورزی
گروه باغبانی

تاثیر تنش خشکی و قارچ میکوریز بر رشد و متابولیت های ثانویه مرزه

اساتید راهنما:
دکتر بهروز اسماعیل پور
دکتر جواد هادیان

اساتید مشاور:
دکتر علی رسول زاده
مهندس قباد سلیمی

توسط :

پریسا جلیل وند

دانشگاه محقق اردبیلی

زمستان ۱۳۸۹

تقدیر و تشکر

سپاس و ستایش مر خدایی را که بندگان خویش را به علم اندوزی ترغیب نمود و به این بنده حقیر نیز کمک نمود تا بتوانم گامی هر چند اندک در راه دانش اندوزی بردارم.

اینک که این پژوهش به پایان رسیده است بر خود لازم می دانم از اساتید راهنمای گرانقدر جناب آقایان دکتر بهروز اسماعیل پور و دکتر جواد هادیان به خاطر راهنماییهای ارزنده شان در مراحل اجرایی و نگارش پایان نامه کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم. همچنین از ارشادات ارزنده اساتید مشاور بزرگوار جناب آقایان دکتر علی رسول زاده و مهندس قباد سلیمی نیز کمال سپاس و امتنان را دارم. دقت نظر و راهنماییهای بی شائبه اساتید گرانقدر دکتر اسماعیل چمنی داور داخلی پایان نامه و دکتر جابر پناهنده داور خارجی پایان نامه نیز در خور ستایش و سپاس می باشد. از زحمات آقای دکتر محمد صدقی نماینده محترم تحصیلات تکمیلی نیز تشکر و قدردانی می شود. از همکلاسی عزیزم جناب آقای مهندس مهدی رحمانیان کمال تشکر و قدردانی دارم که بدون کمکهای بی دریغ و صمیمانه ایشان انجام این پژوهش میسر نبود. همچنین از کمکهای سایر همکلاسی های عزیزم آقایان مهندسین یونس پوربیرامی، حسن ملکی و رحیم قادری و خانم ها نسترن حسینی، لیلا کشاورزی و فاطمه بیرانوند نیز کمال تشکر را دارم. از دوستان عزیزم ماریا اسماعیل پور، سمیه دولتی و زیبا امیدی و خانم ها مهندسین بهی، نعمتی، افتخاری و حاتمی به خاطر کمک های بی شائبه و دلگرمی هایشان تشکر و قدردانی می شود. از آقایان مهندسین عباسی، پسندیده، شیرزاد، کامرانی و چتر نور نیز به خاطر کمک های بی دریغ در اجرای پایان نامه تشکر و قدردانی می شود. از مسئولین آزمایشگاههای گروه علوم باغبانی، زراعت و اصلاح نباتات و علوم خاک که همواره در طی اجرای آزمایش یار و مددکار بنده بودند سپاسگزاری می شود. از همسر و دختر عزیزم که در طی این دوره مرا یاری نمودند تشکر می نمایم. در پایان این پایان نامه را به پدر و مادر عزیزم تقدیم می‌کنم که هر چه دارم ثمره کمک های مادی و معنوی این عزیزان می‌باشد و از خداوند برایشان در زندگی آرامش و خوشبختی آرزو دارم.

نام خانوادگی: **جلیل وند** نام: **پریسا**

عنوان پایان نامه: **تاثیر تنش خشکی و قارچ میکوریز بر رشد و متابولیت های ثانویه مرزه**

استادان راهنما: **دکتر بهروز اسماعیل پور- دکتر جواد هادیان**

استادان مشاور: **دکتر علی رسول زاده - مهندس قباد سلیمی**

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: باغبانی گرایش: سبزیکاری دانشگاه : محقق اردبیلی

دانشکده: کشاورزی تاریخ فارغ التحصیلی: ۱۳۸۹/۱۱/۲۰ تعداد صفحه:۹۶

واژه های کلیدی: تنش خشکی، ظرفیت نگهداری، مرزه، میکوریز

چکیده:

تنش کمبود آب به طور دائم یا موقت، در رشد و توزیع پوشش طبیعی گیاهان بیشتر از سایر عوامل محیطی، محدودکننده است. مرزه *Satureja hortensis* یکی از مهمترین گیاهان خانواده نعناع است که مصارف خوراکی و دارویی دارد. به منظور بررسی تاثیر تنش خشکی و قارچ میکوریز بر رشد، عملکرد و متابولیت های ثانویه گیاه دارویی مرزه توده بومی شهر ری دو آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در مزرعه و گلخانه پژوهشی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو گونه قارچ میکوریز-آربوسکولار *Glomus etunicatum* و *Glomus versiformis*و تنش خشکی در سه سطح بدون تنش، ۶۰ و ۳۰ درصد آب قابل نگهداری بود. نتایج نشان داد که تنش خشکی اثر معنی داری بر پارامترهای رشدی، عملکرد اندام رویشی و انباشت پرولین داشت و با افزایش تنش خشکی، ارتفاع بوته، تعداد ساقه جانبی، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه، طول ریشه، تعداد و مساحت سطح برگ، محتوای نسبی آب گیاه و میزان فسفر برگ کاهش و مقدار پتاسیم و میزان پرولین برگ افزایش یافت. تلقیح با قارچ میکوریز شاخصهای رشد رویشی، محتوای نسبی آب گیاه و محتوای فسفر و پتاسیم برگ گیاه مرزه را در شرایط تنش خشکی در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده به طور معنی داری افزایش، ولی میزان پرولین برگ را کاهش داد. به طور کلی کاربرد قارچ میکوریز سبب افزایش مقاومت به تنش خشکی در گیاه مرزه شد.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: کلیات و بررسی منابع	۱
مقدمه	۲
۱- ۱- خاستگاه	٤
۱-۲-گیاهشناسی	٥
۱-۳- اکولوژی رشد	٥
۱-٤- ترکیبات موثره	٦
۱-٤-۱- موارد کاربرد مواد موثره	۹
۱-٥- متابولیت های اولیه و ثانوی	۱۰
۱-٥-۱- نقش متابولیت های ثانوی در گیاهان	۱۱
۱-٦- نقش آب در رشد گیاهان	۱۲
۱-٦-۱- تنش خشکی	۱۳
۱-٦-۱-۱- واکنش گیاه به تنش خشکی	۱۳
۱-٦-۱-۲- تنظیم اسمزی	۱٥
۱-۷- میکوریز و اهمیت آن	۱٦
۱-۷-۱- افزایش جذب عناصر غذایی	۱۸
۱-۷-۲- افزایش شاخصهای رشد و فتوسنتز	۲۰
۱-۷-۳- اصلاح ساختمان خاک	۲۲
۱-۷-٤- زنده مانی نشا و گیاهچه های حاصل از کشت بافت	۲۲
۱-۷-٥- کاهش خسارت پاتوژن های گیاهی	۲٤
۱-۷-٦- افزایش مقاومت به تنش های محیطی	۲٤
۱-۷-۷- تولید مواد موثره در گیاهان دارویی	۲۷
۱-۸- هدف و ضرورت تحقیق	۲۸
فصل دوم: مواد و روش ها	۲۹
۲-۱- تهیه مواد گیاهی و قارچ میکوریز	۳۰
۲-۲- محل اجرای آزمایش ها	۳۰
۲-۳-آماده نمودن خاک و تلقیح با قارچ میکوریز	۳۰
۲- ٤-کاشت	۳۰

۲- ۵- مراقبت های زمان داشت ۳۱
۲- ۵-۱- آبیاری ۳۱
۲- ۵-۱- کوددهی ۳۱
۲- ۵-۱- سله شکنی ۳۱
۲- ٦- اعمال تنش خشکی ۳۱
۲- ٦- ۱- تعیین بافت خاک ۳۱
۲- ٦- ۲- تعیین جرم مخصوص ظاهری خاک ۳۱
۲- ٦- ۳- تعیین رطوبت ظرفیت مزرعه ۳۲
۲- ٦- ٤- تعیین رطوبت نقطه پژمردگی ۳۲
۲- ٦- ۵- تعیین آب قابل نگهداری ۳۲
۲- ٦- ٦- اعمال تنش خشکی برگیاهان ۳۳
۲-۷- اندازه گیری صفات ۳۵
۲ -۷-۱- اندازه گیری صفات رویشی ۳۵
۲-۷- ۱-۱- ارتفاع بوته ۳۵
۲-۷- ۱-۲- وزن تر بخش هوایی ۳۵
۲-۷- ۱-۳- طول ریشه ۳۵
۲-۷- ۱-٤- مساحت سطح برگ ۳٦
۲-۷- ۱-۵- وزن تر و خشک ریشه ۳٦
۲ -۷- ۱-٦- وزن خشک ساقه ۳٦
۲-۷- ۱-۷- تعداد برگ و شاخه فرعی ۳٦
۲-۸- اندازه گیری پرولین ۳٦
۲-۸-۱- تهیه محلول ناین هیدرین ۳٦
۲-۸-۲- تهیه پرولین استاندارد ۳۷
۲-۸-۳- استخراج پرولین از بافت گیاهی ۳۷
۲-۹- محتوای نسبی آب ۳۷
۲- ۱۰- سنجش کلروفیل کل ۳۸
۲-۱۱- اندازه گیری پتاسیم ۳۸
۲-۱۲- اندازه گیری فسفر ۳۸
۲-۱۳- روش اسانس گیری ۳۹
۲-۱٤- طرح آزمایشی مورد استفاده ٤۰

۲- ۱۵- تجزیه آماری ٤٠
۲-۱٦- نتایج مربوط به خواص فیزیکی خاک ٤٠
فصل سوم: نتایج و بحث ٤١
۳-۱- تجزیه واریانس صفات ٤٢
۳-۱-۱- تجزیه واریانس صفات در آزمایش اول ٤٢
۳-۱-۲- تجزیه واریانس صفات در آزمایش دوم ٤٢
۳-۲- نتایج و بحث ٤٦
۳-۲-۱- تعداد برگ ٤٦
۳-۲-۲- وزن تر بوته ٥٠
۳-۲-۳- وزن تر ریشه ٥١
۳-۲-٤- تعداد شاخه فرعی ٥٢
۳-۲-٥- ارتفاع بوته ٥٣
۳-۲-٦- وزن خشک ریشه ٥٥
۳-۲-۷- وزن خشک ساقه ٥٧
۳-۲-۸- وزن خشک برگ ٥٨
۳-۲-۹- کلروفیل ٥٩
۳-۲-۱۰- طول ریشه ٦١
۳ -۲-۱۱- فسفر ٦٢
۳-۲-۱۲- پتاسیم ٦٦
۳-۲-۱۳- سطح برگ ٦٨
۳-۲-۱٤- محتوای پرولین ۷٠
۳-۲-۱٥- محتوای نسبی آب ۷٤
۳-۳- نتیجه گیری و پیشنهادات ۷۷
منابع ۷۹

فصل اول

کلیات و بررسی منابع

مقدمه

از اواسط قرن بیستم به دنبال مشخص شدن عوارض سوء ناشی از مصرف داروهای شیمیایی، گیاهان دارویی و داروهای گیاهی در بسیاری موارد جایگزین داروهای شیمیایی شدند و بیشتر مردم دنیا برای مراقبتهای بهداشتی اولیه به طور سنتی به گیاهان دارویی و تولیدات طبیعی وابستگی و تمایل پیدا کردند.

مرزه در بسیاری از کشورها به عنوان یکی از گیاهان مهم ادویه‌ای محسوب می شود. از اسانس مرزه در صنایع کنسرو سازی و نوشابه سازی استفاده می شود. عطر قوی این گیاه به خاطر وجود روغن های فرار مخصوصا تیمول است. در تعدادی از فارماکوپه ها مرزه به عنوان یک گیاه دارویی معرفی شده است. پیکره رویشی مرزه حاوی مواد مؤثره ای است که سبب افزایش فشار خون و مداوای سرفه میگردد، این گیاه ضد نفخ بوده و به هضم غذا کمک می کند. این گیاه در درمان ناراحتیهای معده و روده نیز به کار برده می شود.

یکی از عوامل اقلیمی که توزیع و پراکنش گیاهان را در سرتاسر دنیا مشخص می کند و ممکن است باعث تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاهان گردد، کمبود میزان آب در دسترس است. تنش رطوبتی از مهمترین مشکلات در مناطق خشک و نیمه خشک می باشد و در ایران همواره به عنوان یک عامل محدود کننده کشت و پرورش گیاهان مطرح بوده و باعث کاهش عملکرد محصولات کشاورزی می شود. تنش های سرما، یخ زدگی، گرما، باد و شوری در نهایت به تنش خشکی و صدمه به گیاه از این طریق منجر می گردند. در مورد گیاهان دارویی نیز که برای تشکیل مواد موثره، به رشد کامل رویشی و زایشی نیاز دارند، تنش خشکی موجب کاهش رشد رویشی و به حداقل رسیدن پیکره رویشی، باعث کاهش عملکرد اسانس،کاهش مواد موثره و کیفیت آنها می گردد.

یکی از ارکان اصلی در کشاورزی پایدار استفاده از کودهای زیستی در اکوسیستم هـای زراعـی بـا هدف حذف یا کاهش قابل ملاحظه در مصرف کودهای شیمیایی، افـزایش کیفیـت و پایـداری عملکـرد محصولات کشاورزی تحت شرایط تنش های زیستی و تعدیل اثرات ناشی از استرس های محیطی روی گیاهان می باشد. کودهای زیستی شامل مواد نگهدارنده ای با جمعیت متراکم یک یا چند نـوع ارگانیسـم مفید خاکزی و یا به صورت فراورده متابولیکی این موجودات می باشند.

مطالعات انجام شده روی گیاهان دارویی در اکوسیستم های طبیعی و زراعی گویای آن اسـت کـه استفاده از نظام کشاورزی پایدار و کودهای زیستی بهترین شرایط را برای تولید این گیاهان فراهم آورده و حداکثر عملکرد کمی و کیفی را در چنین شرایطی سبب می گردد، بنابراین رویکـرد جهـانی در تولیـد گیاهان دارویی به سمت استقرار این سیستم و به کارگیری روشهای مدیریتی آنهـا مـی باشـد. قارچهـای میکوریزای وزیکولار – آربوسکولار یکی از انواع کودهای زیستی بـوده کـه دارای رابطـه همزیسـتی بـا ریشه اغلب گیاهان می باشند و از طریق افزایش جذب عناصـر غـذایی ماننـد فسـفر، نیتـروژن و برخـی عناصر ریز مغذی، افزایش جذب آب و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماریزا، سبب بهبود رشـد، نمـو و عملکرد گیاهان میزبان در سیستم های کشاورزی پایدار می شوند. با در نظر گـرفتن اثـرات همزیسـتی قارچ میکوریزا آربوسکولار روی رشد و سلامتی گیاهان، قابـل انتظـار اسـت کـه مـدیریت مناسـب ایـن همزیستی می تواند باعث کاهش اثرات تنشهای محیطی غیر قابل اجتناب به ویژه تنش خشکی و کمبـود آب شود همچنین کارایی مصرف آب و کود بهبود پیدا می کند. استفاده از قارچ میکـوریز از جنبـه هـای کلیدی در تولید گیاهان باغی و به ویژه در سیستم کشاورزی پایدار بـه حسـاب مـی آیـد و یکـی از راه حلهای بیولوژیک برای مقابله با تنش خشکی، می باشـد. تشـخیص وضـعیت رشـد گیاهـان دارویـی در شرایط مختلف آبیاری و تنش خشکی و اعمال مدیریت استراتژیک جهت مقابله بـا خشـکی مـی توانـد راهنمای کشت گیاهان مقاوم در مناطق خشک یا کم آب باشد.

میکوریز آربو سکولار[1] (AM) متداول ترین نوع میکوریز در سیستم های کشاورزی است و اکثـر محصولات باغبانی اعم از سبزیها، درختان میوه، درختان و درختچه های زینتی قادر به تشکیل میکوریز

1 - *Arbuscular mycorrhizaL*

هستند. بنابراین قارچ میکوریزی با برقراری همزیستی با ریشه گیاهان، قادر است فسفر و آب را از بافت خاک جذب نموده و آن را در اختیار گیاه قرار دهد. این امر سبب کاهش مصرف کودهای فسفره در مزارع شده بدون آنکه عملکرد کمی و کیفی گیاه کاهش پیدا کند. مصرف بی رویه کودهای شیمیایی فسفره نه تنها سبب افزایش تولید محصول نمی گردد، بلکه موجب ایجاد اشکال در جذب عناصر غذایی کم مصرف توسط گیاهان به ویژه در خاک های آهکی می شود. کلنیزه شدن قارچ میکوریز آربوسکولار غالباً باعث افزایش جذب فسفر، نیتروژن، روی، مس و بعضی وقتها پتاسیم در گیاه می شود. ملاحظه می شود که با تلقیح گیاهان به قارچ های میکوریزی می توان مصرف کودهای فسفری را کاهش داد و از طرف دیگر این همزیستی می تواند مقاومت گیاه را به تنش های مختلف از جمله شوری و خشکی افزایش دهد. لذا بایستی با طراحی روشهای قابل استفاده بتوان از این قارچ ها به عنوان کود بیولوژیک در سیستم های کشاورزی استفاده کرد. از طرف دیگر ملاحظه می شود که گونه های مختلف قارچی می توانند کارایی های متفاوتی داشته باشند از این رو با تحقیقات گسترده، گونه ها را برای شرایط مختلف و خاک های مختلف شناسایی کرده و در آینده بتوان از آنها برای اهداف مشخص مثلا مقاومت به شوری، افزایش جذب عناصر غذایی، مقاومت به خشکی و غیره استفاده کرد.

۱- ۱- خاستگاه:

مرزه گیاهی علفی ویکساله از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است که منشاء آن از شرق مدیترانه و جنوب اروپاست (ریشینگر، ۱۹۸۲؛ امید بیگی، ۱۳۷۹). گونه‌های مختلف نعناع عموما در مناطق با اقلیم مرطوب و خاک های عمیق تا مناطق با اقلیم خشک، آفتابی و خاک های سنگلاخی رشد می کنند (هادیان، ۱۳۸۷).

ایران یکی از مهمترین مخازن ژرم پلاسم مرزه در دنیاست. جنس *Satureja* در ایران دارای ۱۵ گونه می باشد که از میان آنها ۹ گونه *S. edmondi*، *S. sahendica*، *S. isophylla*، *S. rechinger*، *S. atropatana kallarica*، *S. intermedia*، *S. hortensis* و *S. khuzistanica* بومی ایران هستند (سفید کن و احمدی، ۲۰۰۲). این گونه ها بیشتر در دامنه های کوهستانی شمال غربی ایران، تبریز، خوی، نعمت آباد، ارسباران و نواحی مختلف خراسان به طور طبیعی می رویند. سایر گونه ها علاوه بر ایران در ترکیه، عراق و ... نیز می رویند.

۱-۲-گیاهشناسی

مرزه با نام علمی *Satureja hortensis* گیاهی علفی و یکساله از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است (ریشینگر، ۱۹۸۲؛ امید بیگی، ۱۳۷۹). ریشه مرزه مستقیم بوده و از انشعابهای فراوانی برخوردار است. دراین گیاه ساقه چهار گوش و مستقیم است و ارتفاع آن به شرایط اقلیمی محل رویش بستگی دارد و از ۳۰ تا۶۰ سانتی متر متغیر است. قسمت تحتانی دارای انشعابهای بیشتری است. پای ساقه (قسمت تحتانی) چوبی و بندرت کرکدار بوده و رنگ آن سبز تیره است و در مرحله گلدهی رنگ آن به بنفش یاقهوه ای روشن تبدیل می شود. برگها نیزه ای شکل (باریک وبلند)، متقابل و دارای دمبرگ کوتاه می باشند که رنگ آنها سبز تیره است. طول برگ ۱ تا ۳ سانتی متر و پهنای آن ۲ تا ۴ میلی متر است. اسانس در حفره های مخصوصی که در دو طرف برگ وجود دارند تشکیل می شود. گلها نامنظم، کوچک و دو جنسی اند که به رنگ بنفش یا صورتی وگاهی به رنگ سفید و در نواحی فوقانی ساقه ها به صورت خوشه روی چرخه های متعددی مشاهده می شوند. در هر چرخه ۱ تا ۵ گل وجود دارد. رنگ دانه قهوه ای تیره و وزن هزار دانه ۰/۶ – ۰/۵ گرم است. میوه کوچک کروی شکل و از نوع کپسول است.

۱-۳- اکولوژی رشد

مرزه دوره رویشی متوسطی دارد. از بدو رویش بذر تا تشکیل میوه، ۱۴۰ تا ۱۶۰ روز به طول می انجامد. بذر مرزه ۱ تا ۲ سال از قوه رویشی مناسبی برخوردار است. رویش بذر به شرایط آب و هوایی منطقه بستگی دارد. در صورت مساعد بودن شرایط اقلیمی، بذرها پس از ۲۵ تا۳۰ روز سبز می شوند. گیاه پس از سبز شدن رشد و نمو سریعی به خود می گیرد به طوری که ۷۵ تا۸۰ روز پس از سبزشدن، گیاهان به گل می نشینند و اولین گلها اواخر بهار- اوایل تابستان (خرداد- تیر) تشکیل می شوند. میوه ها به تدیج می رسند و پس از رسیدن آنها بذرها به اطراف ریزش می کنند (امیدبیگی، ۱۳۷۹).

مرزه در طول رویش به هوای گرم و نور کافی نیاز دارد. بذرها در دمای ۱۲ تا ۱۵ درجه سانتی گراد جوانه می زنند ولی دمای مطلوب برای جوانه زنی بین ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی گراد است. گیاهان جوان

به دمای پایین حساس می باشند. به طوری که در ۱- تا ۲ - درجه سانتی گراد دچار سرمازدگی شده و خشک می شوند. رشد مرزه در دمای ۱۰+ درجه سانتی گراد متوقف می شود. چنانچه مدتی قبل از گلدهی هوا ابری یا سرد شود نه تنها از عملکرد گیاه کاسته می شود بلکه در مقدار اسانس تاثیر منفی داشته و به نحو بارزی سبب کاهش آن می گردد. pH مناسب خاک برای کشت مرزه بین۵/۶ تا ۸/۲ است.

گیاهان در مرحله گلدهی حاوی حداکثر مقدار اسانس می باشند. از این رو برداشت پیکر رویشی آنها از این مرحله آغاز می شود. چنانچه شرایط محل رویش گیاهان مناسب باشد می توان در طول سال ۲ یا حتی ۳ بار محصول را برداشت نمود. اولین برداشت همواره در آغاز گلدهی انجام می گیرد. دومین برداشت معمولا اواخر شهریور- اوایل مهر مناسب است. برداشت محصول به وسیله ماشین یا داس صورت می گیرد و کلیه اندامهای هوایی گیاهان برداشت می شوند. پس ازجمع آوری، محصول را خشک می کنند. دمای مناسب برای خشک کردن اندامهای رویشی مرزه ۴۰ درجه سانتی گراد است (سفیدکن و احمدی، ۲۰۰۲). پس از خشک کردن، آنها را تمیز و بسته بندی می کنند. مقدار عملکرد وزن خشک پیکر رویشی بین ۱/۴ تا ۱/۸ تن در هکتار است.

۱-٤- ترکیبات موثره

مقدار اسانس در اندامهای هوایی مرزه مختلف است، برگها و سر شاخه‌ی گلدهنده این گیاه حاوی بالاترین درصد اسانس می باشند. مقدار اسانس بین ۱ تا ۲ درصد است. اسانس دارای ترکیبات متفاوتی است، از مهمترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس میتوان کارواکرول (۳۰ تا۴۰ درصد)، تیمول (۲۰ تا۳۰ درصد) و ترکیبات فنلی دیگر نام برد، از مواد دیگر پیکر رویشی این گیاه می توان به ترکیبات آهن دار و ترکیبات قندی وتعدادی از اسیدهای آلی یاد کرد. اسانس مرزه که مایعی بیرنگ یا مایل به زرد است از تقطیر برگ‌ها و سرشاخه‌های جوان بدست می‌آید (امید بیگی، ۱۳۷۹). میزان ترکیبات موثره این گیاه با توجه به شرایط اقلیمی محل رویش و نوع تغذیه گیاه و تنش‌های محیطی متغیر خواهد بود. گونه های مختلف مرزه از نظر ترکیبات موجود در اسانس در دو گروه گونه های دارای ترکیبات فنولی تیمول و

کارواکرول و گونه های دارای ترکیبات غیر فنلی شامل مونوترپن های هیدروکربنه، مونوترپن های الکلی و مونوترپن های کتونی می باشند (کیریمر و همکاران، ، ۱۹۹۵). کارواکرول مهمترین ترکیب فعال بیولوژیکی موجود در اسانس مرزه تابستانه و مرزه زمستانه و برخی گونه های وحشی مرزه (همچنین آویشن و مرزنگوش) می باشد. این گونه ها غنی ترین منابع حاوی کارواکرول در خانواده نعناع هستند. کارواکرول علاوه بر خانواده نعناع در برخی دیگر از خانوادههای گیاهی چون چغندریان، پلانتاژنیاسه، چتریان، شاهپسند و غیره شناسایی شده است (کیریمر و همکاران، ۱۹۹۵). اسانس های محتوی کارواکرول دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجه می باشند. کارواکرول بازدارنده بیوسنتز پروستاگلاندین است که این بازدارندگی مکانیزم مهمی در تسکین درد و فرایندهای ضد التهابی است (واگنر و همکاران، ۱۹۸۶). فعالیت های بیولوژیکی دیگری از جمله آثار ضد اسپاسم، بازدارندگی استیل کولین استراز، لیپیدپراکسیداز، حذف رادیکال های آزاد، محرک ماکروفاژی گلبول های سفید خون در مورد کارواکرول گزارش شده است (کیریمر و همکاران، ۱۹۹۵).

افزایش میزان آنتی اکسیدان های فنلی ممکن است به عنوان مکانیزمی برای محافظت بافت های گیاهی در مقابل انواع رادیکال های فعال اکسیژن و نیتروژن تولید شده درون سلول، تحت شرایط تنش باشد (وانگ و زنگ، ۲۰۰۱). همچنین تولید و تجمع اسیدهای فنلی از جمله اسید رزمارینیک در بافت گیاه به عنوان مکانیزم دفاعی در مقابله با عوامل بیماری زای گیاهی القاء می شود (بایس و همکاران، ۲۰۰۳). تحقیقات متعدد نشان می دهد که فعالیت دارویی عصاره مرزه به شدت با حضور اسیدهای فنلی آزاد چون مشتقات اسید کافئیک از جمله اسید رزمارینیک در ارتباط است. برخی ترکیبات فلاونوئیدی از جمله آپیژنین، سیناروزید و غیره نیز در غلظت خیلی کم در عصاره های مرزه شناسایی شده است (کمرتلیتزه و همکاران، ۲۰۰۴). اسید کافئیک در بیوشیمی خانواده نعناع نقش محوری ایفا می کند و غالبا به فرم دیمر خود، یعنی اسید رزمارینیک دیده می شود. اسید کافئیک واحد ساختاری انواع مختلف متابولیت های گیاهی از ساده ترین مونومر تا ترکیبات متراکم چندگانه و انواع الیگومرهای آن است.

اسید رزمارینیک، از فراوان ترین دیمرهای اسید کافئیک است که عامل فعالیت های آنتی اکسیدانی قوی محسوب می شود. در واقع اسید رزمارینیک، استر اسید کافئیک و ۳، ۴ _ دی هیدروکسی فنیل اسید

لاکتیک می باشد (اگزارچو و همکاران، ۲۰۰۲). تعدادی از مشتاقات این اسید در گیاهان شناسایی شده است که متشکل از ۱ یا ۲ اسید رزمارینیک همراه با دیگر گروههای آروماتیک می باشند. اسید لیتوسپرمیک متشکل از اسید رزمارینیک و اسید کافئیک و اسید لیتوسپرمیک، دیمر اسید رزمارینیک معروف ترین مشتقات اسید رزمارینیک هستند. اسید رزمارینیک در گیاهان می تواند به عنوان یک عامل دفاعی در برابر عوامل بیماری زا و جانوران گیاه خوار عمل کند. اسید رزمارینیک و مشتقات آن دارای فعالیت های بیولوژیکی چند گانه ضد ویروسی، ضد باکتریایی، آنتی اکسیدانی، ضد التهاب یا بازدارندگی فعالیت سیکلواکسیژناز، قابل مقایسه با ایبوپروفن، ناپروکسن و آسپیرین می باشد (کلم و همکاران، ۲۰۰۰). این ترکیب همچنین موثر در برابر بیماریهای التهاب ریه، تورم مفاصل، بیماری قلبی و جلوگیری از پس خوردن پوست پیوند شده می باشد. همچنین فعالیت چندگانه آن علیه آنزیم های نسخه برداری معکوس در آلودگی اچ آی وی جالب توجه می باشد (فلچر و همکاران، ۲۰۰۵). علاوه بر این، اسید رزمارینیک به علت اثر آنتی اکسیدانی قوی در صنایع آرایشی، بهداشتی و به ویژه غذا – دارویی بسیار با ارزش است (شتی، ۲۰۰۱). مکانیزم فعالیت آنتی اکسیدانی اسید رزمارینیک مشابه با سایر پلی فنل ها و فلاونوئیدهاست (مونبوش و آلگره، ۲۰۰۱). حضور گروه کاتکول روی حلقه آروماتیک اسکلت فنلی دی ترپن اسید رزمارینیک مهم ترین عنصر ساختاری در فعالیت آنتی اکسیدانی این ترکیب است. دو ساختار کاتکول متصل به گروه اسید کربوکسیل فعالیت آنتی اکسیدانی را در محیط آبی یا آبی ــ الکلی افزایش می دهد (مادسن و برتلسن، ۱۹۹۶). تریمرهای مشتق شده از اسید کافئیک گروه وسیعی از متابولیت ها را تشکیل می دهند. اسید سالویانولیک آ، از این گروه، فعالیت آنتی اکسیدانی شدیدی از خود نشان می دهد (لی و همکاران، ۲۰۰۱). اسید رزمارینیک دارای ۲ حلقه فنلی است که هر دو دارای گروه هیدروکسی در موقعیت اورتو و یک گروه کربوکسیل، یک پیوند غیر اشباع دو گانه هستند و اسید کربوکسیلیک بین دو حلقه فنلی وجود دارد. اسید آمینه های فنیل آلانین و تیروزین پیش ماده های بیوسنتز اسید رزمارینیک می باشند. با استفاده از فنیل آلانین و تیروزین رادیواکتیو نشان داده شده است که این دو اسید آمینه به ترتیب در اسید کافئیک و ۴، ۳- دی هیدروکسی فنیل لاکتیک اسید موئیتاز وارد می شوند. آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز نقش کلیدی در بیوسنتز اسید رزمارینیک دارد. همانند سایر متابولیت های ثانوی که به

عنوان ابزار سازگاری گیاه به تنش های زنده و غیر زنده محل رویش می باشند. میزان تولید اسید کافئیک ها از جمله اسید رزمارینیک نیز به شدت به شرایط محیطی وابسته است (بوردا و همکاران، ۱۹۹۰).

۱-٤-۱- موارد کاربرد مواد موثره

از اسانس مرزه در صنایع کنسرو سازی و نوشابه سازی استفاده می شود، عطر قوی این گیاه به خاطر وجود روغن های فرار مخصوصا تیمول است (کاپن و همکاران، ۱۹۸۹؛ دینز و سووبودا، ۱۹۸۹). گونه های مرزه همانند دیگر گونه های خانواده نعناع از جمله آویشن و مرزنگوش دارای ترکیبات فعال بیولوژیک متعدد در اسانس و عصاره می باشند، که امروزه در صنایع دارویی و غذایی مورد استفاده قرار می گیرند. در بسیاری موارد ترکیبات فنلی موجود در اسانس و عصاره این گیاهان آثار تعیین کننده و تاثیر گذار بروز داده اند (هادیان، ۱۳۸۷).

نتایج زیست سنجی نشان داده اند که روغن های ضروری گیاه مرزه به طور معنی داری فعالیت حشره کشی دارند و می توانند یک منبع ارزان قیمت از مواد طبیعی برای کنترل حشرات باشند. ترکیبات اصلی این روغن ها هیدروکربن های مونوترپن و مواد فنولی هستند، که مقدار این مواد در روغن های گیاهی مختلف به مقدار زیادی متفاوت است (میکائیلیس و همکاران ، ۲۰۰۷). نتایج زیست سنجی نشان داده است که روغن گیاه مرزه خاصیت ضد میکروبی دارد. مطالعات اثبات کرده اند که علت اصلی فعالیت ضد میکروبی روغن مرزه به خاطر وجود تیمول در آن است. ترکیبات روغن های ضروری و فعالیت های ضد میکروبی بعضی از گونه های مرزه مطالعه شده اند (سفیدکن و جمزاد، ۲۰۰۰؛ سفیدکن و احمدی، ۲۰۰۲). قسمتهای هوایی مرزه به طور گسترده ای به عنوان مواد ادویه ای در انواع غذاها و نیز به عنوان یک گیاه علفی دارویی سنتی برای درمان بیماریهای معده و روده استفاده می شوند. قطره دنتول از روغن ضروری گیاه *S .khuzistanica* Jamzad به دست می آید که برای درمان دندان درد استفاده می شود (سفیدکن و جمزاد، ۲۰۰۰). نتایج نشان می دهد که عصاره آبی مرزه که در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد ایجاد شده می تواند علیه *Streptococcus cricetus* موثر باشد و عصاره الکلی این گیاه می تواند برای کنترل *Staphylococcus aureus* موثر باشد (میکائیلیس و همکاران، ۲۰۰۷). صرفنظر از

استفاده معمولی مرزه در غذا به عنوان ماده معطر و خوشبو کننده، به عنوان ضد التهاب، آنتی اکسیدان، ضد باکتری و ضد قارچ نیز مورد استفاده واقع می شود (حاج هاشمی و همکاران، ۲۰۰۰). در یک تحقیق برای شناسایی اثر بازدارندگی روغن های ضروری بعضی از گیاهان دارویی ایرانی علیه آفلاتوکسین، مشخص شد که مرزه یکی از بازدارنده های قوی علیه آفلاتوکسین ایجاد شده توسط *Aspergillus parasiticus* می باشد. بازداشتن رشد قارچ به روش کاربرد بستگی داشت و از ترکیبات موثره مرزه، کارواکرول و تیمول مواد بازدارنده رشد قارچ آفلاتوکسین بودند (رازقی ابیانه و همکاران، ۲۰۰۸).

۱-۵-متابولیت های اولیه و ثانوی

ویژگی دارویی بودن گیاهان به واسطه ترکیبات متنوعی است که طی واکنش های متابولیسمی در پیکره این گیاهان تولید و تجمع می یابند. به طور کلی یک سری از واکنش های شیمیایی که واسطه آنزیمی دارند در گیاهان زنده به عنوان متابولیسم شناخته می شوند. با هماهنگی واکنش های جزئی، مسیرهای متابولیکی شکل می گیرند که به سنتز مولکول هایی مثل قندها، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، نوکلئوتیدها و پلیمرهای آنها شامل اسید دزاکسی ریبونوکلئیک و اسید ریبونوکلئیک منتهی می گردد. این تولید و تجمع به عنوان متابولیسم اولیه در نظر گرفته می شود و ترکیب های تولید شده از آن متابولیت اولیه نامیده می شوند که برای زنده ماندن و ادامه حیات گیاه ضروری هستند. علاوه بر این، در گیاهان مسیرهای متابولیکی دیگری نیز وجود دارد که نقش محصولات این مسیرها در گیاهان چندان مشخص و بارز نیست و آن ها را مسیر متابولیکی ثانوی (متابولیسم ثانوی) و مواد تولید شده از آن ها را متابولیت های ثانوی می نامند. گیاهان ترکیبات متنوعی با وزن مولکولی پایین تولید می کنند که تا به حال صدها نوع از این ترکیبات شناسایی شده اند اما فقط تعداد کمی از آن ها در گروه متابولیت های ثانوی قرار می گیرند. از آنجا که بسیاری از مولکول های کوچکی که به وسیله متابولیسم اولیه تولید می شوند، به عنوان واحد سازنده متابولیت های ثانوی ضروری هستند، ارتباط نزدیکی بین متابولیسم اولیه و ثانوی وجود دارد. مسیرهای متابولیکی بخشی از برنامه تکاملی به حساب می آیند. در واقع

متابولیسم ثانوی نشانه تمایز سلول است و شکل گیری متابولیت های ثانوی نشانه اختصاصی شدن سلول هاست (حیدری، ۱۳۶۸). تا کنون بالغ بر ۳۰ هزار نوع ترکیب طبیعی از عالم موجودات زنده مورد شناسایی قرار گرفته است که بیش از ۸۰ درصد این ترکیبات، متابولیت های ثانوی گیاهی تلقی می شوند و در حدود ۱۲۱ داروی دارای اثر بالینی مشخص از آن ها فرموله و عرضه شده است (راماچاندرا رائو و راویشانکار، ۲۰۰۲).

۱-۵-۱- نقش متابولیت های ثانوی در گیاهان

متابولیت ها ثانوی گروه عظیمی از ترکیبات طبیعی گیاهان را تشکیل می دهند. تنوع شگفت انگیز ساختار شیمیایی ترکیبات ثانوی نتیجه تلاش گیاهان برای ایجاد سازگاری با محیط غیر ثابت و تنش زای اطراف آن هاست. به عبارت دیگر، این ترکیبات شیمیایی مانع رسیدن آسیب به گیاهان توسط ویروس ها، باکتری ها، قارچ ها یا علف خوارها می شوند و رقابت آن ها با سایر گیاهان را به حداقل می رسانند. به عنوان مثال، مطالعات نشان داده است که مصرف برخی متابولیت های ثانوی در بدن شکارچی هدف، ایجاد نفخ (مانند ساپونین ها) می نماید و یا ناباروری (مانند ایزوفلاون ها) به همراه دارد (راماچاندرا رائو و راویشانکار، ۲۰۰۲).

نقش حفاظتی که این ترکیبات در برابر علف خوارها ایجاد می کنند بسیار مشهود است، به عنوان مثال، این پدیده به وضوح در گیاه قهوه (*Coffea arabica*) مشاهده می شود. برگ های جوان و آبکی این گیاه که فاقد حفاظت مکانیکی هستند، در حالت طبیعی یک منبع بسیار مغذی برای حشرات گیاه خوار به شمار می روند در صورتی که این برگ ها برای حفاظت از خود حاوی مقادیر زیادی آلکالوئید می باشند. در طول رشد و نمو گیاه و سخت تر شدن سلول های آن، میزان آلکالوئید برگ ها به تدریج کاهش می یابد به طوری که برگ های پیر کاملا فاقد آلکالوئید هستند (اصغری، ۱۳۸۵). متابولیت های ثانوی همچنین عامل ایجاد مقاومت گیاهان در مقابل تنش های غیر زنده، جذب گرده افشان ها (به ویژه رنگیزه های آنتوسیانینی و ترکیبات ترپنوئیدی) و برهمکنش با میکروارگانیزم های همزیست نیز می باشند، بنابراین از آنجا که متابولیت های ثانوی اصولا به منظور مقابله با علف خوارها، عوامل بیماری زا و شرایط نامساعد محیطی تولید می شوند. از نظر بیولوژیکی و فیزیولوژیکی جزء ترکیبات فعال

محسوب می گردند و چون در طی زمان به واسطه فشارهای تکاملی برای اعمال فعالیت های نسبتا قـوی گزینش شده اند، تجمع مقادیر زیاد آن ها در گیاهان ضروری نیست. این متابولیت ها در مقادیر بسیار کم تولید می شوند، علاوه بر موارد مذکور، کیفیت گیاهان خوراکی (طعم، رنـگ، بـو) و زینتـی (رنـگ، بـو، نقش) نیز وابسته به ترکیبات ثانوی است، به طور کلی نقش متابولیت های ثانوی را می تـوان بـه مـوارد ذیل خلاصه نمود (اصغری، ۱۳۸۵):

۱- جلوگیری از مسمومیت سلول ها توسط برخی ترکیبات حاصل از متابولیسم اولیه

۲- اعمال برخی اثرات فیزیولوژیکی در بدن موجودات هدف

۳- به عنوان پیام رسان های شیمیایی به منظور هماهنگ سازی در انـدام هـای متفـاوت و هماهنـگ سازی فعالیت گیاهان مختلف در یک گونه مشابه

۴- توسعه روابط اکولوژیکی

۱-۶- نقش آب در رشد گیاهان

آب در رشد گیاهان نقش عمده‌ای ایفا می‌کند و موجب آماس(تورژسانس) و بزرگ شدن سلول می گردد، آب از مواد متشکله مهم موجودات زنده به شمار می‌رود و حلالی است که املاح و کربوهیدرات‌ها در آن حل می‌شوند، بنابراین می‌تواند حرکت آنها را از یک یاخته به یاخته‌ی دیگر، از بافتی به بافت دیگر و از عضوی به عضو دیگر تسهیل کند و در فعالیت‌های فتوسنتزی گیاهان نقش مهمی را به عهده دارد. بنابراین کمبود آب می‌تواند میزان فتوسنتز و در نتیجه عملکرد را کاهش، میزان رشد ریشه‌ها، ساقه‌ها، کیفیت محصول، تشکیل گل و دانه را تغییر دهد. رشد گیاه به طور مستقیم تحت تاثیر تنش آب داخلی گیاه، و به طور غیرمستقیم تحت تاثیر تنش آب موجود در خاک قرار می‌گیرد و تنها ارزیابی مقدار آب موجود در خاک برای بررسی تاثیر آب در میزان عملکرد کافی نبوده در واقع تعادل داخلی آب گیاه است که در رشد گیاه دخالت دارد. به عنوان مثال، موقعی که مقدار جذب آب از خاک در مقایسه با مقدار تعرق کاهش می‌یابد، در داخل گیاه تنش رخ می دهد این بدان معنی است که در مواقعی که دمای محیط زیاد و رطوبت نسبی هوا کم است گیاه ممکن است حتی در نقطه‌ی نزدیک به ظرفیت مزرعه‌ای دستخوش تنش شدید قرار بگیرد، همچنین در مواقعی که دما پایین و رطوبت نسبی بالا

است بسیاری از گیاهان حتی در خاک نسبتاً خشک نیز در معرض پژمردگی قرار نمی‌گیرند (هاشمی دزفولی و همکاران، ۱۳۷۴).

۱-۶-۱- تنش خشکی

تنش (stress) واژه‌ای است که اولین بار توسط دانشمندان علوم بیولوژیک در مورد انسان به کار برده شد. این واژه از علم فیزیک گرفته شده و آن را به عنوان هر عاملی که امکان بالقوه‌ی وارد آوردن صدمه به موجودات زنده را دارد تعریف می‌کنند. تنش نتیجه‌ی روند غیرعادی فرایندهای فیزیولوژیک است که از تاثیر یک یا ترکیبی از عوامل زیستی و محیطی حاصل می‌شود، تنش دارای توان آسیب رسانی می‌باشد که به صورت نتیجه یک متابولیسم غیرعادی روی داده و ممکن است به صورت کاهش رشد و مرگ گیاه بروز کند (حکمت شعار، ۱۳۷۲).

۱-۶-۱-۱- واکنش گیاه به تنش خشکی

در یک سلول گیاهی فعال، آب مهم‌ترین ترکیب است. کمبود آب بر متابولیسم، فیزیولوژی و مورفولوژی گیاه تاثیر می‌گذارد. آب کنترل کننده‌ی رشد برگ و مورفولوژی آن است اغلب این اندام قدرتمندترین ابزار موثر بر اقتصاد گیاه و نهایتاً عملکرد آن به هنگام قرارگیری در شرایط خشکی است (لویت، ۱۹۸۰). گیاهی که شاخص سطح برگ بالایی دارد، قادر است با تغییر هدایت روزنه‌ای مقدار انرژی ورودی را کنترل کرده و با بستن روزنه‌ها آب را در طی خشکی حفظ کند (پاسیورا، ۱۹۸۲). واکنش‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان به کمبود آب، بسته به شدت تنش و طول دوره‌ی آن متغیر است، یک تنش بسیار ملایم تنها حساس‌ترین فرآیندها را تغییر می‌دهد با افزایش شدت تنش، اثرات آن تشدید شده و فرایندهای دیگر بسته به حساسیت آن‌ها به تنش، تحت تاثیر قرار می گیرند، علاوه بر شدت و طول دوره‌ی تنش خشکی، مرحله‌ی رشد گیاه که در تنش واقع می‌شود نیز در میزان تاثیر تنش بر رشد و عملکرد گیاه حائز اهمیت است. به عبارت دیگر مرحله‌ی بحرانی در رابطه با نوع گیاه و هدف از کشت آن توصیه می‌شود، مثلا برای سبزیجات برگی دوره‌ی بحرانی برای مواجه