بسم الله الرحمن الرحيم

مدیریت تحصیلات تکمیلی

دانشکده کشاورزی

گروه باغبانی و فضای سبز

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته اصلاح گیاهان باغی

عنوان:

ارزیابی سطوح مختلف اسید سالیسیلیک و باکتری باسیلوس آمیلولیکوفاسینس بر بیان ژن فنیل آلانین آمونیالیاز در گیاه بادرشبو

استاد راهنما:

دکتر محمود سلوکی

استاد مشاور:

مهندس فروزان حیدری

تهیه و تدوین:

سوران امینی

آذر 93

تقدیم به

پدرم و چشمان پر امید مادرم

از شما آموختم چگونه زندگی کنم تا هجرتم نیز سبکبال باشد. این بال های پرواز قناعت، امید و عشق را شما به من بخشید

ممنونم پدر

ممنونم مادر

و ممنونم از برادران عزیز و ارزشمندم و خواهران دوست داشتنی و مهربانم

برای:

همه ی محبت و شکیبایی که نثار من کردید. به پاس آن همه عشق بی دریغی که چراغ پرفروغ این راه دور و صعب بود.

جملات در بیان سپاس من از تو ای یگانه، عاجز و حقیرند. لحضه لحضه ی سطرهای این سال های سپری شده با نام تو گره خورده اند

سپاسگزاری

حمد و سپاس یگانه نگارنده کتاب؛ هستی را که با الطاف بیکرانش این توفیق را ارزانی ام داشت تا بتوانم در راه ارتقای دانش خویش گامی بردارم. نگاشتن این رساله داعیه شناخت علم نیست، بلکه نشانه دوست داشتن آن است. در هدف پرستش زیبایی به سوی کمال بهتر دیدم که در تار و پود علم به جستجویش باشم.

اکنون که مجال سپاسگزاری فراهم شده به رسم ادب مراتب تقدیر خویش را نثار همه عزیزانی می کنم که در این مسیر همراه لحظاتم بودند و از خداوند متعال کمال بهروزی و موفقیت برای ایشان خواستارم.

از **جناب آقای دکتر محمود سلوکی** استاد راهنمای پایان نامه ام، که راهنمایی ها و ارشاد ایشان از ابتدای این دوره شامل حال من بوده و در تمام مراحل از حمایت های ایشان بهره مند بوده ام، سپاسگزارم. از استاد مشاور پایان نامه ام، **سرکار خانم مهندس فروزان حیدری**، به خاطر مساعدت ها و راهنمائی هایشان کمال تشکر را دارم. از سرکار خانم دکتر نفیسه مهدی نژاد داور محترم پایان نامه و جناب آقای دکتر محمدرضا اصعری پور نماینده محترم تحصیلات تکمیلی کمال تشکر را دارم.

اکنون که به مدد الهی به این مرحله از کسب دانش دست یافته ام، شایسته است قدردان وجود گوهرانی مهربان، پدر و مادرم، آنانی که در تمام این دوران زیر چتر مهربانی و حمایت هایشان گام برداشتم، باشم. همچنین سپاس می گویم همه بودن ها، همراهی ها و همدلی های خانواده عزیزم را که در تمام این مدت قدم به قدم تنهایم نگذاشتند و مشوقان من در این راه بودند، برای تمام روزهایی که گذشت و به پاس تحمل تمام دغدغه ها و نگرانی هایم. مرا یارای سپاس از زحماتشان نیست، مگر آرزوی شکوفاشدن لحظه به لحظه ی غنچه های خوشبختی شان.

و تمامی دوستانی که مراد اتمام این پایان نامه یاری نمودند مینهایت سپاسگزارم. با آرزوی سربلندی و سرافرازی برای همگی شما عزیزان.

این پروژه در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل انجام گرفته و مجریان این تحقیق مراتب سپاس گذاری خود را از مسئولین پژوهشکده ابراز می دارند.

سوران امینی

چکیده

به منظور ارزیابی تاثیرات اسید سالیسیلیک[1] و باکتری باسیلوس آمیلولیکوفاسینس پی‌تی‌سی-سی[2]1732 بر بیان ژن و برخی خصوصیات فیزیولوژیک بادرشبو[3]، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار، در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل انجام شد. در این آزمایش اثر سه سطح اسید سالیسیلیک (0، 1 و 2 میکرومولار) به صورت محلول پاشی و باکتری در دو سطح (0 و 1×10^{-7} CFU/ml) به‌صورت تزریق پای ریشه، بررسی شدند. بیان ژن فنیل آلانین آمونیالیاز[4] و آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیالیاز، پرولین، کربوهیدرات، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b، کارتنوئید)، آنتی اکسیدانها (پلی فنیل اکسیداز و کاتالاز)، فنل کل و فلاونوئید اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که باکتری باسیلوس و اسید سالیسلیک تاثیر معنی‌داری بر روی میزان بیان ژن و مقدار فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز، رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلاونوئید، فنل کل، پرولین و کربوهیدرات نسبت به شاهد داشته و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان روند کاهشی پیدا کرد اما باکتری اثر بیشتری نسبت به اسید سالیسیلیک بر صفات ذکر شده نشان داد. در این پژوهشش به منظور ارزیابی الگوی بیان ژن PAL تحت تیمار اسید سالیسیلیک و باکتری باسیلوس آمیلولیکوفاسینس با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی (Real time PCR) بررسی شد و نتایج نشان داد که تیمارهای اعمال شده باعث افزایش بیان

[1] Salicylic Acid
[2] Bacillus amyloliquefaciensPTCC1732
[3] *Dracocephalum moldavica*
[4] Phenylalanine ammonia lyase (PAL)

ژن شدند. با توجه به یافته‌های این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد باکتری *Bacillus amyloliquefaciensPTCC1732* و سالیسیلیک اسید در جهت افزایش عملکرد و صفات مطلوب؛ موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: بادرشبو، باکتری، سالیسیلیک اسید، صفات فیزیولوژیک، ژن فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز

فهرست مطالب

عنوان

صفحه

فصل یک 1
1-1 مقدمه 2
1-1-1 گیاه دارویی بادرشبو 2
1-1-2 اسید سالیسیلیک 3
1-1-3 باکتری *Bacillus amyloliquefaciensPTCC1732* 3
1-2 کلیات 4
1-2-1 خانواده نعناعیان در ایران 4
1-2-2 تاریخچه و منشا بادرشبو 4
1-2-3 مشخصات گیاه شناسی 5
1-2-4 مواد موثره (اسانس) 5
1-2-5 مقدار و نوع اسانس 5
1-2-6 استخراج مواد متشکله گیاهان دارویی 6
1-2-7 خواص مهم دارویی 6
1-2-8 مکانیزم عمل مواد موثره 6
1-2-9 طول دوره رشد 7
1-2-10 نیازهای اکولوژیکی 7
1-2-11 تاریخ و فواصل کشت 7
1-2-12 مراقبت و نگهداری 7
1-2-13 برداشت محصول 8
1-2-14 گونه های دیگر 8

1-3 آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز 9
1-3-1 عوامل موثر بر آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز 11
1-3-2 فراساختاری و بررسی‌های مولکولی ایزوزیم‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز 12
1-4 اسید سالیسیلیک 13
1-4-1 نقش اسید سالیسیلیک در گیاهان 15
1-4-2 کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید بر روی گیاهان 16
1-4-3 باکتری باسیلوس و نقش آن در گیاهان 16
1-5 بررسی الگوی بیان ژن 18
1-5-1 واکنش زنجیره ای پلی مراز 19
1-5-2 کاربردهای PCR 21
1-5-3 استفاده از PCR در مطالعات فیلوژنتیک گیاهی 21
1-5-4 بطور کلی PCR به دو منظور اصلی بکار می‌رود 21
1-5-5 واکنش رونویسی معکوس RT-PCR 21
1-5-6 معرفی تکنیک Real-Time PCR 22
1-5-7 تفاوت RT-PCR و Real Time PCR 23
1-5-8 روش‌های مختلف REAL TIME PCR 23
1-5-8-1 سایبر گرین 23
1-5-8-2 هیدرولیز پروب 24
1-5-8-3 هیبریداسیون پروب 25
1-5-8-4 MOLECULAR BEACONS 26
1-5-9 مزایای تکنیک Real-Time PCR 26
1-5-10 مفاهیم مهم در Real Time PCR 26
1-5-11 مفهوم Threshold و مقدار CT 27

12-5-1 منحنی ذوب 28
سؤالات تحقیق 29
فرضیه‌های تحقیق 30
فصل دوم 30
2-1 مروری بر پژوهشهای انجام شده 31
2-2 جمع بندی 35
فصل سوم 36
3-1 زمان و مکان تحقیق 37
3-2 کاشت بذر 37
3-3 تهیه محلول اسید سالیسیلیک و باکتری *Bacillus amyloliquefaciensPTCC1732* 37
3-3-1 کشت باکتری 37
3-3-2 مراحل باز کردن آمپول شامل 38
3-3-3 تهیه سوسپانسیون باکتری 39
3-3-4 جهت نگهداری باکتری 39
3-3-5 اسید سالیسیلیک 40
3-4 نحوه اعمال تیمار 40
3-4-1 برداشت گیاه 40
3-5 ویژگی‌های مورد بررسی 41
3-5-1 پرولین 41
3-5-2 میزان قندهای محلول 42
3-5-3 اندازه گیری مقدار کلروفیل a ، bو کل و کاروتنوئیدها 42
3-5-4 آنزیم کاتالاز 43
3-5-5 فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز 44

3-5-6 بررسی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز 44
3-5-7 نحوه استخراج ترکیبات فنولی از بافت گیاه 46
3-5-8 اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنلی 46
3-5-9 سنجش میزان فلاونوئید 48
3-6 بررسی های مولکولی 48
3-6-1 محلولها و بافرها 48
3-6-2 طرز تهیه محلول ها و بافرهای مورد نیاز در الکلروفورز 48
3-7 کوبیدن و هموژنیزه کردن نمونه ها 49
3-7-1 استخراج RNA 49
3-7-2 استخراج Total RNA از برگ بادرشبو 50
3-7-3 تعین کیفیت RNA توسط ژل آگارز 52
3-7-4 الکتروفورز ژل آگارز 53
3-7-4-1 بافر الکتروفورز TAE 53
3-7-4-2 تهیه محلول اتیدیوم برماید (10mg/ml) 53
3-7-4-3 نحوه کار 53
3-8 سنتز cDNA 54
3-9 انجام RT-PCR 55
3-9-1 مشخصات توالی ژن فنیل آلانین آمونیالیاز در NCBI 56
3-9-2 طراحی آغازگرها 56
3-9-3 آماده سازس آغازگرهای PCR 57
3-9-4 انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR 57
3-9-5 اجزاء واکنش PCR 58
3-9-6 وسایل لازم برای انجام واکنش‌های PCR 58

3-9-7 بهینه سازی شرایط PCR 58
3-9-8 PCR شیب دمایی 59
3-10 انجام Real time PCR 60
3-10-1 رسم منحنی استاندارد 60
3-10-2 انجام واکنش Real time PCR 60
3 -11 Threshold و مقدار Ct 61
3-11-1 پردازش اطلاعات 62
3-12 آنالیزهای آماری 63
فصل چهارم 64
4-1 نتایج استخراج RNA کل 65
4-2 نتایج مربوط به PCR شیب دمایی 65
4-3 سنتز cDNA با PCR 66
4-4 نتایج واکنش Real Time PCR 67
4-4-1 تکثیر ژن توبولین 67
4-4-2 تکثیر ژن PAL 68
4-4-3 نتایج آنالیز منحنی ذوب 68
4-4-4 منحنی تغییرات ذوب بر حسب دمای ژن Tubuline 69
4-4-5 آنالیز منحنی ذوب ژن Tubuline 69
4-4-6 منحنی تغییرات ذوب بر حسب دمای ژن PAL 70
4-5 مقایسه میزان بیان ژن PAL در طی برداشت گیاه دارویی بادرشبو تحت تیمارهای باکتری و اسید سالیسیلیک 71
4-5-1 نتایج آماری 71
4-5-1-1 تجزیه واریانس ژن و آنزیم PAL 71

2-1-5-4 نتایج مقایسه میانگین‌ها اثرات متقابل باکتری باسیلوس و سالیسیلیک اسید 72
4-6 تجزیه واریانس صفات 73
4-6-1 نتایج تجزیه واریانس کلروفیلa ، کلروفیل b و کاروتنوئید 73
4-6-2 مقایسه میانگین اثرات متقابل 74
4-6-3 نتایج تجزیه واریانس فنل کل و فلاونوئید 75
4-6-4 نتایج مقایسه میانگین اثر ساده فنل کل و فلاونوئید 75
4-6-5 نتایج تجزیه واریانس برای کاتالاز و گایاکول 76
4-6-6 نتایج تجزیه واریانس پرولین و کربوهیدرات 77
4-6-7 نتایج مقایسه میانگین اثر ساده پرولین و کربوهیدرات 77
4-7 بحث 78
4-8 نتیجه گیری 87
4-9 پیشنهادها 88
فصل پنجم 89
منابع 90

فهرست جداول

عنوان

صفحه

3-1 مواد و مقادیر مورد نیاز برای بافر الکتروفورز 10X 49
3-2 مخلوط اول جهت ساخت cDNA 54

3-3 مخلوط دوم جهت ساخت cDNA 55
3-4 مشخصات آغازگرهای ژن 57
3-5 میزان بهینه اجزای واکنش PCR 59
3-6 PCR شیب دمایی 59
3-7 مشخصات آغازگرهای ژنهای PAL و Tubulin 60
3-8 مقدار مواد لازم جهت واکنش Real time PCR برای آغازگرهای فنیل آلانین آمونیالیاز و توبولین 61
3-9 شرایط دمایی و زمانی واکنش Real time PCR برای فنیل آلانین آمونیالیاز و توبولین ... 61
4-1 نتایج تجزیه واریانس اثرات باکتری *Bacillus amyloliquefaciens PTCC1732* و سالیسیلیک اسید بر بیان ژن فنیل آلانین آمونیالیاز 72
4-2 مقایسه میانگین تیمارهای باکتری *Bacillus amyloliquefaciens PTCC1732* و اسید سالیسیلیک بر بیان فنیل آلانین آمونیالیاز 73
4-3 نتایج تجزیه واریانس رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تیمارهای مختلف 74
4-5 مقایسه میانگین رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تیمارهای مختلف 74
4-6 نتایج تجزیه واریانس برای فنل کل و فلاونوئید تحت تیمارهای مختلف 75
4-7 مقایسه میانگین فنل کل و فلاونوئید تحت تیمارهای مختلف 76
4-8 نتایج تجزیه واریانس برای کاتالاز و گایاکول تحت تیمارهای مختلف 76
4-9 نتایج تجزیه واریانس برای پرولین و کربوهیدرات تحت تیمارهای مختلف 77
4-10 مقایسه میانگین فعالیت پرولین و کربوهیدرات تخت تیمارهای مختلف 78

فهرست اشکال

عنوان

صفحه

1-1 مسیر بیوسنتز فنیل آلانین آمونیالیاز 10

2-1 فرمول ساختاری سالیسیلیک اسید 14
3-1 نمودار تکثیر 27
4-1 مفهوم Threshold و Ct 28
3-1 توالی ژن فنیل آلانین آمونیالیاز 56
4-1 نتایج استخراج RNA گیاه بادرشبو 65
4-2 PCR شیب دمایی برای ژن فنیل آلانین آمونیالیاز با طول قطعه bp118..... 66
4-3 سنتز cDNA با آغازگرهای ژن فنیل آلانین آمونیالیاز 67
4-4 منحنی تکثیر ژن توبولین 67
4-5 منحنی تکثیر ژن *Dracocephalum moldavica* 68
4-6 تغییرات فلورسانت بر حسب دما برای ژن توبولین. در این منحنی دما در محور افقی و شدت نور فلورسانت در محور عمودی قرار دارد 69
4-7 منحنی ذوب ژن توبولین. هر Peack نمایانگر یک محصول PCR است که اختصاصی بودن محصول را نشان می‌دهد 70
4-8 منحنی ذوب ژن PAL. هر Peack نمایانگر یک محصول PCR است که اختصاصی بودن محصول را نشان می‌دهد 71

فصل اول

مقدمه و کلیات

1-1مقدمه

گیاهان دارویی و ادویه‌ای از گیاهان اقتصادی مورد استفاده بشر هستند که مواد شیمیایی مخصوص و فعال مفیدی با مقادیر بسیار کم در پیکره خود تولید و ذخیره می‌کنند و سهم بزرگی از فرآوردهای دارویی تجاری را به خود اختصاص می دهند (مجنون حسینی و دوازده امامی، 1386). در حال حاضر در حدود 50 هزار گونه‌ی گیاهی به دلیل وجود ترکیب هایی مانند ترکیب‌های ثانویه، اسانس، مواد معطر، رزین، شیره و صمغ در اندام های مختلف آنها نظیر ریشه، ساقه، برگ، گل، میوه و بذر در تهیه دارو به کار گرفته می‌شود. این منابع دارویی یا به صورت مستقیم و خام یا مصرف اندام های گیاهی یا به شکل استخراج مواد موثره آن، و اشکال مختلف دارویی آنها مورد استفاده قرار می‌گیرند (قاسمی، 1388).

2-1-1 گیاه دارویی بادرشبو

بادرشبو با نام علمی *Dracocephalum moldavica L*. از خانواده Lamiaceae بوده این گیاه بومی آسیای مرکزی و شرق و مرکز اروپا است. (Rechinger, 1986) و گیاه علفی یک ساله معطر که درساقه برگ و گل دارای اسانس که حاوی ترکیباتی چون سیترال و استات ژرانیل است (دوازده امامی و حسینی، 1387). عصاره بادرشبو دارای ترکیبهای قطبی مثل هیدروکسی سینامیک اسید و فلاونوئیدها با اسیدهای فرولیک و کافئیک، اسید رزمارینیک، لوتئولین، 7-1-گلوکوزید، لوتئولین و آپی جنین است. به عصاره آبی بادرشبویه خواص آنتی اکسیدانی نسبت داده می شود (Dastmalchi *et al.*, 2007). ترکیبهای آنتی اکسیدان و فلاونوئید نقش مهمی در پیشگیری از آسیبهایی مانند گشودگی سایز قلب دارند (نجفی و همکاران، 1386). بادرشبو گیاهی دارای شاخ و برگ پر پشت و منشعب (Dastmalchi *et al.*, 2007). اسانس بادرشبو، بویی معطر و مطبوع شبیه بادرنجبویه دارد و در هندوستان از تخم این گیاه به عنوان قابض، بادشکن و پایین آورنده تب استفاده می‌شود. عرق

بادرشبو به عنوان تقویت کننده قلب، آرام بخش و اشتها آور بوده و دارای خاصیت ضد باکتری و اسانس آن در صنایع غذایی، نوشابه و بهداشتی و آرایشی استفاده می‌شود (Omidbaigi, 2003).

1-1-3 اسید سالیسیلیک

اسید سالیسیلیک[1] یک مولکول سیگنالی است که نقش مهمی در تنظیم فرایندهای فیزیولوژیکی و مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی دارد (Molina *et al.*, 2002). نقش حمایتی اسید سالیسیلیک مربوط به تنظیم رادیکال‌های آزاد، آنتی‌اکسیدان‌ها، القاء بیان ژن، جذب و پخش عناصر است (Methwelly *et al.*, 2003).

1-1-4 باکتری *Bacillus amyloliquefaciensPTCC1732*

جنس باسیلوس، باکتری‌های میله‌ای بلند، هوازی و گرم مثبت بوده که مانند زنجیر به دنبال یکدیگر قرار می‌گیرند. اکثر این باکتری‌ها، ساپروفیت بوده و در آب، خاک، هوا و سبزیجات یافت می‌شوند (Kennet, 2008). تولید بعضی آنتی بیوتیک‌ها و متابولیت‌ها، توسط برخی از باکتری‌ها نقش اساسی در سرکوب بیماری‌های گیاهی ایفا می‌کند (Asaka and Shoda, 1996). برخی از باکتری‌های گرم مثبت مخصوصا جدایه‌های مختلف باسیلوس سوبتیلیس طیف وسیعی از ترکیبات خانواده ایتورین[2] مانند ایتورین و سورفاکتین[3] (Stabb *et al.*, 1994) را تولید می‌نمایند.

1-2 کلیات

[1] Salicylic Acid (SA)
[2] Iturin
[3] Surfactin

1-2-1 خانواده نعناعیان در ایران

خانواده گیاهی نعناع(Lamiaceae) در ایران با 46 جنس و410 گونه و زیر گونه از تنوع و پراکندگی بالایی برخوردار است. از این گونه ها 124 گونه و زیر گونه بومی ایران هستند. Nepteta با 76 گونه،Salvia با 56 گونه، Stachys با 34 گونه، Scutellaria با 19 گونه، Phlomis با 17 گونه، Eromostachys با 16 گونه، Thymus با 16 گونه و Teucrium با 12 گونه بزرگترین جنس های این خانواده در ایران هستند (زرگری، 1372).

2-2-1 تاریخچه و منشا بادرشبو

گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) متعلق به خانواده نعنائیان[1]، گیاهی یکساله و علفی است، گل‌ها شهد آورند و رنگ آنها آبی یا بنفش و بندرت سفید یا صورتی است. منشا آن جنوب سیبری و دامنه های هیمالیا گزارش شده است. قسمت مورد استفاده این گیاه، برگ و یا کلیه قسمت های هوایی آنست و عموما بویی معطر و مطبوع از تمامی قسمت های هوایی استشمام می شود (امید بیگی، 1384). جنس *Dracocephalum* در دنیا 45 گونه علفی و درختچه ای و در ایران 8 گونه گیاه علفی یکساله و چندساله معطر دارد که برخی گونه ها انحصاری ایران هستند (مظفریان، 1382). گونه *D.kotschyi Boiss* اندمیک ایران بوده و پراکنش وسیعی دارا است، *D.subcapitatum(Kuntze) Lipsky* در ترکمنستان، آناتولی و مناطق محدودی از شمال شرق ایران می روید(Rechinger., et al 1986). در شرق دور و کشور ژاپن تنها یک گونه دیده شده است که در چین هم موجود می باشد به نام *D.arguense* که به عنوان گیاه زینتی کاشته می‌شود (زرگری، 1372).

[1]Lamiaceae

1-2-3 مشخصات گیاه شناسی

بادرشبو گیاهی علفی و یکساله که دارای شاخه های پر پشت و منشعب دارد. ریشه این گیاه مستقیم وطول آن 20 سانتی متر است که انشعابهای فراوان دارد. ساقه بادرشبو مستقیم، ارتفاع آن متفاوت و بین 80 تا 120 سانتی متر است. برگها متقابل به طول 1/7 تا2/8 و به عرض 0/9 تا 1/6 سانتی متر می باشند. رنگ برگها سبز تیره است ودر حاشیه آنها بریدگهای دندانه‌ای شکل وجود دارد. گل‌ها به رنگ بنفش تیره مایل به آبی و بندرت سفید رنگ هستند. گلهای بادرشبو شهد آورند. میوه فندوقه به طول 2/4 تا 2/8 میلی متر ورنگ آن قهوه‌ای تیره مایل به سیاه است. وزن هزار دانه، 1/7 تا 2/1 گرم است(امید بیگی، 1384).

1-2-4 مواد موثره (اسانس)

اسانس‌ها که اغلب ترکیبات معطر هستند، در سلول و بافت‌های خاصی نظیر غده های ترشحی، کرک‌های سرغده‌ای، مجاری و در اندام‌های خاصی از گیاهان تولید و ذخیره می شوند. اسانس ها موادی هستند که در الکل، چربی و تاحدودی در آب قابل حل هستند و از ترکیبات ثانویه مختلفی نظیر ترپنوئیدها، الدهیدها، استرها، اترهای فنلی، کتون‌ها، اکسیدها، اجزای گوگردی و غیره مشتق شده اند (قاسمی، 1388). در این گیاه 66 ترکیب به روش GC و GC/MS شناسایی شده که ژرانیل استات، ژرانیال، ژرانیول و نرال اصلی ترین ترکیبهای شناخته شده هستند(Venskutions *et al.*, 1995).

1-2-5 مقدار و نوع اسانس

مقدار اسانس با توجه به شرایط اقلیمی محل رویش متفاوت بوده و بین 0/6 تا 0/8 درصد است. اسانس از ترکیبات متفاوتی تشکیل شده است که مهمترین آنها «سیترال» (40 تا 45٪) و «استات ژرانیل» (10 تا 15٪) می باشد(امید بیگی، 1384).