به‌زراعی کشاورزی

دوره ۱۸ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۵

صفحه‌های ۷۷۴-۷۶۵

تأثیر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید و آلفا-آمینواوکسی-بتا-فنیل پروپیونیک اسید به عنوان محرک و بازدارنده فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز بر عمرگلجای و عطر گل مریم

مهران کنعانی[1] و محمد جواد نظری دلجو[2]*

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد مهندسی علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد – ایران
۲. دانشیار گروه مهندسی علوم باغبانی، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد – ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۷/۰۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۸/۱۳

چکیده

باتوجه به مطالعات اندک در خصوص ترکیبات معطر گل‌های شاخه بریده، آزمایشی گلدانی با هدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی پیش از برداشت، سالیسیلیک اسید (۰، ۱/۵ و ۲/۲۵ میلی‌مولار) و آلفا-آمینواوکسی-بتا-فنیل پروپیونیک اسید (۰، ۱/۵ و ۳ میلی‌مولار) به ترتیب به‌عنوان محرک و بازدارنده اختصاصی فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز روی گل مریم پُرپر بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار مورد مطالعه قرار گرفت. براساس نتایج آزمایش، محتوای نسبی آب، پایداری غشای سلولی و عمر گلجای به طور معنی‌داری تحت تأثیر محلول‌پاشی تیمارهای مورد بررسی قرار گرفتند ($P<0/01$). تیمار آلفا-آمینواوکسی-بتا-فنیل پروپیونیک اسید (۳ میلی‌مولار) و سالیسیلیک اسید (۱/۵ میلی‌مولار) به‌ترتیب منجر به افزایش حدود ۶۸ و ۳۴ درصدی عمر گلجای در مقایسه با شاهد گردید. در بررسی پس از برداشت ترکیبات معطر گل مریم پُرپر به‌روش فضای فوقانی و به وسیله تکنیک کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری حجمی، ۳۷ ترکیب مختلف شناسایی گردید. متیل بنزوات، بنزیل بنزوات، پنتاکوسان و متیل سالیسیلات به ترتیب مهمترین ترکیبات دخیل در عطر گل مریم بودند. تیمار آلفا-آمینواوکسی-بتا-فنیل پروپیونیک اسید سبب افزایش میزان بنزیل بنزوات و پنتاکوسان و کاهش متیل بنزوات و متیل سالیسیلات شد که تأثیر متضادی در مقایسه با سالیسیلیک اسید داشت. تیمار محرک و بازدارنده فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین-آمونیالیاز، به‌ترتیب سبب افزایش و کاهش محتوای کل عطر گل مریم نسبت به شاهد گردید.

کلیدواژه‌ها: ترکیبات معطر، سالیسیلیک اسید، کروماتوگرافی گازی، متیل بنزوات، متیل سالیسیلات، مسیر فنیل‌پروپانوییدها

*نویسنده مسئول Email: safariv@uk.ac.ir

۱. مقدمه

گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.) از گیاهان پیازی چندساله و از مهم‌ترین گل‌های معطر ایران می‌باشد. یکی از صفات بارز گل‌ها، عطر آن‌ها بوده که علاوه بر نقش-آفرینی در جلب حشرات گرده‌افشان، سبب افزایش ارزش تجاری گیاهان زینتی و گل‌های شاخه بریده می‌شود [۱۱]. متأسفانه امروزه بسیاری از گل‌های شاخه‌بریده به دلیل اصلاح و تمرکز بیشتر بر صفات ظاهری (شکل گل، رنگ گل و غیره)، عطر خود را از دست داده‌اند. مسیر فنیل‌پروپانوئیدها یکی از مهمترین مسیرهای بیوسنتز ترکیبات ثانویه و مواد معطر در گیاهان می‌باشد که با فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز[1] آغاز شده [۲۶] و منجر به سنتز ترکیبات معطر متعدد (۳۲۹ ترکیب فنیل‌پروپانوئیدی مؤثر در عطر گل‌ها) از قبیل ترکیبات بنزنوئیدی/فنیل‌پروپانوئیدی [۷] می‌شود. برهمین اساس، تحریک و افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز ممکن است منجر به افزایش بیوسنتز ترکیبات معطر گردد.

سالیسیلیک اسید به عنوان کندکننده فرایند پیری، از طریق کاهش بیوسنتز اتیلن [۱]، تأثیر بر عملکرد روزنه‌ها [۱۵]، تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و جاروب رادیکال‌های اکسیژن [۳]، نقش به‌سزایی در بهبود عمر گلجایی گل‌ها، از قبیل گل رز [۳]، داوودی [۲۸] و میخک [۲۰] ایفا نمود. بررسی تأثیر پس از برداشت سالیسیلیک اسید بر ترکیبات فنولی ساقه گل‌دهنده گل شاخه بریده ژربرا، بیانگر تأثیر مثبت این شبه هورمون بر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز و درنتیجه افزایش ترکیبات فنولی از قبیل لیگنین بود [۲]. همچنین، آلفا-آمینواوکسی-بتا-فنیل پروپیونیک اسید[2] به‌عنوان بازدارنده اختصاصی فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز [۱۰] می‌تواند نقش مؤثری در تنظیم و کاهش ترکیبات فنیل‌پروپانوییدی ایفا نماید [۱۷]. تیمار پس از برداشت AOPP بر روی گل ژربرا (ژاله)، منجر به کاهش ترکیبات فنولی از قبیل لیگنین از طریق کاهش فعالیت آنزیم PAL طی مسیر فنیل‌پروپانوییدها گردید [۱۰].

باتوجه به توسعه سطح زیرکشت گل شاخه بریده مریم به‌عنوان یکی از مهمترین گل های معطر در ایران و دنیا [۲۴]، اهمیت و نقش ترکیبات معطر این گل در مشتری پسندی در بازارهای جهانی و تحقیقات بسیار اندک در زمینه ترکیبات معطر، تحقیق حاضر در راستای بررسی تأثیر سالیسیلیک اسید و AOPP به ترتیب به‌عنوان محرک و بازدارنده فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز، به‌عنوان یکی از مهمترین آنزیم‌های مؤثر در مسیر فنیل پروپانوییدها و درنتیجه تغییرات ترکیبات معطر و همچنین عمر گلجای گل مریم طراحی و اجرا گردید.

مواد و روشها

تحقیق حاضر به صورت آزمایش گلدانی در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه آزاد مهاباد در شرایط کشت بدون خاک، با پوشش پلی اتیلن، طی سال ۱۳۹۳ اجرا گردید. بستر کشت، مخلوط حجمی پرلایت و فیبر نارگیل (۳۰ پرلایت و ۷۰ فیبر نارگیل) بود. محلول‌دهی براساس فرمول تجاری کشت گیاهان پیازی با هدایت الکتریکی برابر ۱/۲ دسی‌زیمنس بر متر و pH برابر ۵/۸ اعمال گردید (جدول ۱). جهت کنترل تغییرات pH از اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال با اضافه کردن به محلول غذایی استفاده شد.

1 . Phenylalanine ammonia-lyase (PAL)
2 . α-aminooxi-β-phenyl propionic acid (AOPP)

جدول ۱ . غلظت و منابع کودی مورد استفاده در آزمایش

ردیف	عنصر	غلظت (پی‌پی‌ام)	منبع کودی
۱	ازت	۱۲۰	نیترات پتاسیم، نیترات کلسیم و نیترات آمونیوم
۲	فسفر	۴۵	مونوپتاسیم دی‌هیدروژن فسفات
۳	پتاسیم	۱۴۶	نیترات پتاسیم و مونوپتاسیم دی‌هیدروژن فسفات
۴	کلسیم	۹۶	نیترات کلسیم
۵	منیزیم	۲۱	سولفات منیزیم
۶	آهن	۲/۵	کلات آهن (Fe-EDDHA)
۷	منگنز	۱	سولفات منگنز
۸	مس	۰/۱۵	سولفات مس
۹	روی	۰/۶۷	سولفات روی
۱۰	بر	۰/۱	اسید بوریک
۱۱	مولیبدن	۰/۰۱	مولیبدات آمونیوم

محلول‌پاشی برگی سطوح مختلف سالیسیلیک اسید (SA): ۲/۲۵ و ۱/۵، ۰ میلی‌مولار) (ساخت شرکت مرک آلمان) به عنوان محرک و آلفا-آمینواوکسی-بتا-فنیل-پروپیونیک اسید (AOPP): ۳ و ۱/۵، ۰ میلی‌مولار) (ساخت شرکت واکو آلمان) به‌عنوان بازدارنده فعالیت آنزیم فنیل-آلانین‌آمونیالیاز، تیمار شاهد (آب مقطر + مقدار حلال استفاده شده (اتانول))، طی دوره رشدی با فواصل دو هفته درمیان در سیستم کشت بدون خاک، پس از تعدیل pH محلول‌ها، بر گل مریم پُرپر[1] اعمال گردید. پس از برداشت شاخه‌های گل مریم، عطر آن به روش فضای فوقانی[2] جمع‌آوری و سپس ترکیبات به‌وسیله تکنیک کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری حجمی[3] شناسایی شد.

1 . Double
2 . Headspace
3 . Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

محتوای نسبی آب برگ و سنجش پایداری غشای سلولی

جهت برآورد محتوای نسبی آب، برگ‌های میانی، پس از برداشت گل‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و سپس ۴ دیسک با قطر ۱ سانتی‌متر از هر برگ جدا و توزین (FW) گردید و سپس به پتری‌دیش حاوی آب مقطر به درون انکوباتور (۴ ساعت با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) منتقل و مجدداً پس از حذف آب اضافی از روی نمونه‌ها وزن آماس آنها توزین شد (TW) پتری‌دیش‌های حاوی دیسک به آون با دمای ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت جهت سنجش وزن خشک منتقل شدند (DW). درنهایت محتوای نسبی آب برگ از فرمول (۱) محاسبه گردید [۱۹]:

$$RWC=\frac{FW-DW}{TW-DW}\times 100 \qquad (۱)$$

اندازه‌گیری پایداری غشای سلولی یا نشت الکترولیت پس از برداشت گل‌ها (روز سوم)، به روش لاتس و همکاران [۱۳] و براساس سنجش محتوای الکترولیت یا

نشت یونی نمونه‌ها با استفاده از هدایت سنج‌الکتریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (EC_1) و دمای ۹۵ درجه‌سانتی‌گراد (EC_2) براساس فرمول (۲) محاسبه گردید:

$$\text{پایداری غشای سلولی} = (EC_1/EC_2) \times 100 \qquad (۲)$$

عمر گلجای

شاخه‌های بریده گل مریم بلافاصله پس از انتقال به آزمایشگاه پس از برداشت، از ارتفاع ۶۰ سانتی متری بریده، توزین و سپس به بطری‌های شیشه‌ای حاوی ۳۵۰ میلی‌لیتر آب منتقل شدند. عمر گلجایی گل مریم با شمارش تعداد روز پس از برداشت تا پژمرده شدن بیش از ۵۰ درصد گلچه‌ها و تغییر رنگ آن‌ها، به تعداد ۸ شاخه برای هر تکرار، در شرایط آزمایشگاهی شدت نور ۲۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه، دما ۱ ± ۲۰ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۵ ± ۶۰ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت [۲].

اندازه‌گیری آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم PAL از روش وانگ و همکاران استفاده شد [۲۵]. گلچه‌های گل مریم بلافاصله پس از برداشت در ازت مایع منجمد شد. به فاصله ۳ روز پس از برداشت، ۰/۳ گرم از بافت گلبرگ، توزین و در ۶/۵ میلی‌لیتر بافر Tris-Hcl ۵۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۸/۸) که حاوی بتامرکاپتواتانول ۱۵ میلی‌مولار بود ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد و محلول رویی جهت سنجش استفاده گردید. مخلوطی از ۱ میلی‌لیتر بافر استخراجی بالا، ۰/۵ میلی‌لیتر فنیل‌آلانین ۱۰ میلی‌مولار، ۰/۴ میلی‌لیتر آب و ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت قرار داده شد. سپس، واکنش توسط ۰/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۶ مولار متوقف شد. درنهایت به محلول حاصل ۱۵ میلی‌لیتر اتیل‌استات افزوده شد. فاز روغنی تشکیل شده جدا و باقیمانده در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا تبخیر شود. سپس باقیمانده که همان اسید سینامیک است در ۳ میلی‌لیتر سود ۰/۰۵ مولار حل و غلظت اسید سینامیک با اندازه گیری جذب نوری در طول موج ۲۹۰ نانومتر محاسبه شد. فعالیت آنزیم PAL براساس سرعت تبدیل به ترانس سینامیک اسید تعیین می‌شود. یک واحد از فعالیت آنزیمPAL معادل ۱ میکرومول از اسید سینامیک تولید شده در یک دقیقه است.

نمونه‌برداری و شناسایی عطر گل مریم

به منظور نمونه‌گیری و شناسایی ترکیبات معطر گل مریم، گل‌های شاخه بریده پس از برداشت در مرحله نیمه باز (باز شدن ۵۰ درصد شکوفه‌ها) به شیشه‌های کاملاً مسدود منتقل و پس از ۲۴ ساعت نمونه‌برداری از طریق مکش به‌وسیله سرنگ همیلتون[1] ترکیبات معطر از محفظه تعبیه شده و انتقال آن به درون لوله‌های آزمایش حاوی ماده جاذب تیناکس انجام پذیرفت (شکل ۱). برای شناسایی و سنجش ترکیبات معطر گل مریم از روش پیبون و همکاران استفاده شد [۱۶]. نمونه‌های پودر تیناکس به ۵ برابر حجم نمونه اتانول مطلق منتقل و سپس به مدت ۳۵ دقیقه در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شیکرانکوباتور قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از عبور از صافی ۰/۴ میکرون در مبرد اتانول تبخیر شده و مجدداً ۱ میلی‌لیتر اتانول اضافه گردید. محلول حاصل برای سنجش ترکیبات معطر توسط گاز کروماتوگرافی (HP-6890) متصل به جرم‌سنج دتکتور (HP-5973) استفاده گردید. شناسایی ترکیبات عطر براساس تطبیق پیک طیف آن با الگوهای موجود در داده-های کتابخانه‌ای – نرم‌افزاری Willey 7nl انجام گرفت. سطح زیر منحنی پیک‌ها نیز برای تعیین درصد هر ماده استفاده شد.

1. Gastight syringe

شکل ۱ . ظروف شیشه‌ای طراحی شده جهت نمونه‌برداری و تعیین عطر گل مریم

تجزیه و تحلیل آماری

این تحقیق گلخانه‌ای، بر پایه طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۲) و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب برگ و پایداری غشای سلولی

محتوای نسبی آب برگ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی قرار گرفت (P<۰/۰۱). براساس نتایج مقایسه میانگین تیمارها، بیشترین و کمترین محتوای نسبی آب به ترتیب در تیمار محلول‌پاشی AOPP (۳ میلی-مولار) و تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول ۲). احتمالاً دلیل تأثیر مثبت تیمار AOPP می‌تواند به دلیل کاهش میزان فعالیت آنزیم PAL و درنتیجه کاهش میزان تولید ترکیبات ثانویه نظیر سوبرین بوده که موجب کاهش انسداد آوندی شده و افزایش محتوای نسبی آب گل شاخه‌بریده مریم را در پی داشته است [۱۲ و ۲۷]. سالیسیلیک اسید نیز بسته به غلظت مورد استفاده سبب افزایش محتوای نسبی آب گل شاخه‌بریده مریم شد که می‌تواند به دلیل افزایش جذب آب از بستر بر اثر تبادلات گازی برگ با اتمسفر و همچنین نقش سالیسیلیک اسید در فرایند آنتی‌باکتریایی [۸] و درنتیجه جلوگیری از مسدودیت آوندی باشد که سبب افزایش محتوای نسبی آب گردیده است که با نتایج سایر تحقیقات بر روی گل‌های شاخه بریده میخک [۲۰] و گل رز [۳] مطابقت دارد.

بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت نشان داد که بین تیمارهای محلول‌پاشی انجام شده، اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P< ۰/۰۱). نتایج حاصل از مقایسات میانگین نشان داد که بیشترین و کمترین پایداری غشای سلولی به ترتیب در تیمار AOPP (۳ میلی‌مولار) و تیمار شاهد وجود داشت (جدول ۲). همچنین، سالیسیلیک اسید در هر دو غلظت اعمالی سبب افزایش پایداری غشای سلولی نسبت به شاهد گردید. نشت یونی به عنوان شاخص پایداری غشای سلولی نقش

مهمی در دوام عمر پس از برداشت گل‌ها دارد [۲]. به نظر می‌رسد که سالیسیلیک اسید از طریق تأثیر بر پلی‌آمین‌ها و همچنین ایجاد کمپلکس‌های پایدار با غشای سلولی، از غشاء محافظت می‌کند [۱ و ۱۴]. سالیسیلیک اسید سبب افزایش پایداری غشای سلولی گل تکمه‌ای [۱] و گوجه‌فرنگی رقم روم [۲۱] شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

جدول ۲ . نتایج مقایسه میانگین برخی صفات فیزیولوژیکی گل شاخه‌بریده مریم

تیمار محلول‌پاشی	غلظت مصرفی (mM)	محتوای نسبی آب (٪)	نشت یونی (٪)	عمر گلجای (d)	فعالیت آنزیم PAL (nM/g/h)
شاهد	۰	۷۰/۵ ± ۳/۹ c†	۶۶/۱ ± ††۲/۹ d	۸/۷۵ ± ۰/۴۷ d	۸/۹۷ ± ۱ b
AOPP (میلی مولار)	۱/۵	۹۲ ± ۱ b	۵۵/۸ ± ۱/۶ cd	۱۲/۲۵ ± ۰/۸۵ b	۶/۳ ± ۰/۸۵ bc
	۳	۹۵/۵ ± ۱/۳ a	۴۰/۳ ± ۰/۷ a	۱۴/۷۵ ± ۰/۴۷ a	۴/۸ ± ۰/۳۶ c
سالیسیلیک اسید (میلی مولار)	۱/۵	۹۰/۹ ± ۰/۸ b	۴۱/۳ ± ۰/۷ b	۱۱/۷۵ ± ۰/۲۵ c	۱۳/۲ ± ۰/۹۴ a
	۲/۲۵	۷۸/۱ ± ۰/۴ c	۴۵/۵ ± ۱/۵ c	۱۰/۵ ± ۰/۲۸ cd	۱۳/۱۵ ± ۱/۴۸ a

† میانگین‌هایی که در ستون با حروف مشترک مشخص شده‌اند، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

†† بیانگر خطای استاندارد (Mean ±SEM; n=4) می‌باشد.

عمر گلجای

براساس نتایج آزمایش عمر گلجای گل شاخه‌بریده مریم به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی قرار گرفت (P< ۰/۰۱). برهمین اساس، بیشترین دوام عمر گل شاخه بریده مریم در تیمار AOPP (۳ میلی‌مولار) بود که نسبت به شاهد و تیمار سالیسیلیک اسید (۱/۵ میلی‌مولار) به ترتیب سبب افزایش حدود ۶۸ و ۲۵ درصدی عمر گلجای گل مریم شد (جدول ۲). اس-کاروون[1] به عنوان بازدارنده آنزیم PAL به دلیل ممانعت از تشکیل سوبرین، سبب افزایش عمر گلجایی *Hakea Francisiana* شد [۲۷]. همچنین بازدارنده مذکور، باعث افزایش دوام عمر گل "Crimson Yul-lo" *Grevillea* شد [۱۲] که با نتایج ما مبنی بر افزایش عمر گلجای گل مریم تحت تأثیر تیمار بازدارنده آنزیم PAL همخوانی دارد. احتمالاً تیمار AOPP به عنوان بازدارنده فعالیت آنزیم PAL، با کاهش میزان تشکیل سوبرین و درنتیجه جلوگیری از مسدود شدن آوندها [۱۲ و ۲۷]، سبب افزایش محتوای نسبی آب گل شاخه‌بریده مریم به عنوان یکی از اساسی‌ترین فاکتورها در عمر پس از برداشت گل‌های شاخه بریده [۲۲] و همچنین افزایش پایداری غشای سلولی شده است (جدول ۲). در نتایج دیگر تحقیقات، بین میزان جذب آب و دوام عمر گل ژربرا ارتباط مستقیمی وجود داشت که با نتایج آزمایش مطابقت دارد [۲ و ۲۳].

همچنین محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید در غلظت پایین‌تر (۱/۵ میلی‌مولار) سبب افزایش بیشتر دوام عمر گل مریم نسبت به شاهد شد. باتوجه به نتایج آزمایش، بهبود دوام عمر گل تحت تأثیر سالیسیلیک اسید در مقایسه با شاهد می‌تواند به دلیل تأثیر مثبت سالیسیلیک اسید بر افزایش محتوای نسبی آب و افزایش پایداری غشای سلولی و درنتیجه افزایش عمر گلجای گل شاخه بریده مریم باشد (جدول ۲). در بررسی تأثیر ۵-اسید سولفوسالیسیلیک بر روی گل گلایول گزارش

1. S-carvone

شد که کاهش فعالیت آنزیم لیپوکسی‌ژناز، تراوایی غشای سلولی و کاهش تسریع روند پیری تحت تأثیر این هورمون سبب افزایش جذب آب گردیده که دلیل اصلی افزایش دوام عمر گل‌های مورد مطالعه، افزایش جذب آب ذکر گردید که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد [۹]. همچنین تأثیر مثبت سالیسیلیک اسید بر افزایش پایداری غشای سلولی و بهبود عمر گلجای گل شاخه بریده لیزیانتوس نیز با نتایج این آزمایش مطابقت دارد [۲۱ و ۱۵].

فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز

فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار محلول‌پاشی قرار گرفت ($P< ۰/۰۱$). براساس نتایج مقایسات میانگین، بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم PAL به‌ترتیب مربوط به تیمار سالیسیلیک اسید (۱/۵ میلی-مولار) و تیمار AOPP (۳ میلی‌مولار) بود که به ترتیب افزایش و کاهشی در حدود ۴۷ و ۸۶ درصدی نسبت به شاهد را نشان داد (جدول ۲).

بازدارنده AOPPموجب کاهش فعالیت آنزیم PAL و کاهش تولید متابولیت‌های ثانویه از قبیل ترکیبات فنولی شد [۱۰]. همچنین، بازدارنده AOPP به نحو مؤثری سبب کاهش فعالیت آنزیم PAL در گیاه راش گندم (*Fagopyrum esculantum*) شده و بدون هیچ تأثیر مخرب مشهودی بر رشد و نمو گیاه، از سنتز ترکیبات فنیل-پروپانوئیدی تا حد زیادی جلوگیری کرد [۵]. سالیسیلیک اسید سبب افزایش فعالیت آنزیم PAL در کشت سلولی مریم‌گلی (*Salvia miltiorrhiza*) و متعاقباً سنتز بیشتر ترکیبات فنولی شد [۶].

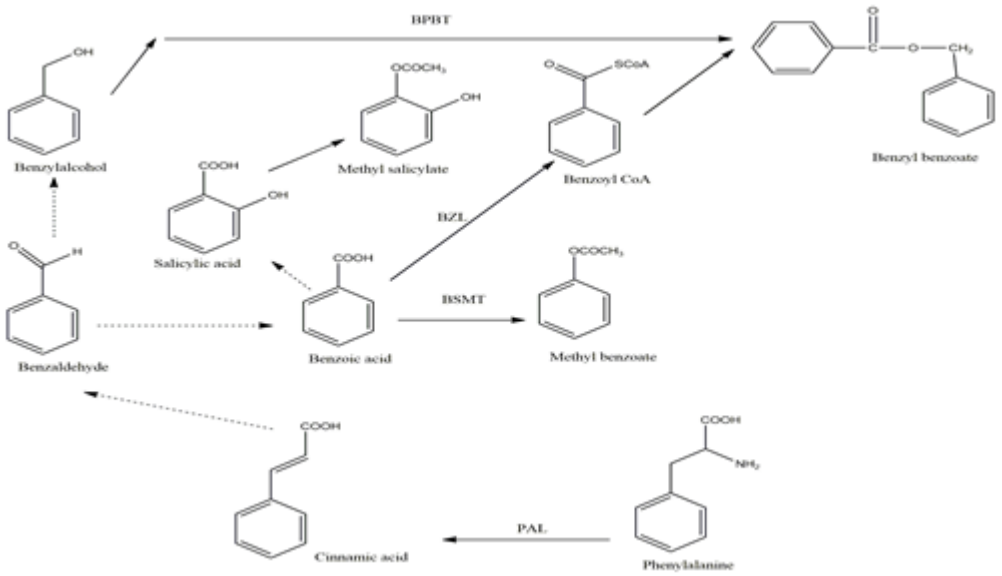
عطر گل مریم

آنالیز ترکیبات معطر گل مریم به روش GC-MS بیانگر ۳۷ ترکیب مختلف بود که از میان آن‌ها چهار ترکیب متیل بنزوات، بنزیل بنزوات، پنتاکوسان و متیل سالیسیلات به ترتیب بیشترین درصد ترکیب عطر گل مریم را تشکیل دادند (جدول ۳). همچنین تیمار سالیسیلیک اسید سبب افزایش محتوای کل عطر گل مریم نسبت به شاهد شد، ولی تیمار بازدارنده AOPP محتوای کل عطر گل مریم را نسبت به شاهد کاهش داد.

جدول ۳ . تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی بر ترکیبات اصلی عطر گل مریم در استخراج به روش هداسپیس

نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	تیمار شاهد (٪)	سالیسیلیک اسید (۱/۵ میلی‌مولار) (٪)	AOPP (۳ میلی‌مولار) (٪)
متیل بنزوات	۱۱/۰۸	۱۱	۱۴/۴	۹/۱
متیل سالیسیلات	۱۲/۹۲	۷/۹	۹/۷۲	۵/۲
نرولیدول	۱۷/۶۸	۵/۵۵	۶/۲۶	۴/۶۲
۱-هگزادسن	۱۸/۵۹	۷/۵۷	۶/۷۴	۸/۵
ژرانیول	۱۹/۸۲	۱/۷	۳/۶	۳/۴
بنزیل بنزوات	۲۱/۸۲	۱۰/۰۶	۷/۴۷	۱۱/۷
اوژنولس	۳۵/۶۳	۱/۶	۱/۵	۰/۹
پنتاکوسان	۳۶/۸۵	۸/۴۷	۶/۵۷	۹/۶

سالیسیلیک اسید و AOPP به ترتیب سبب افزایش و کاهش محتوای کل عطر گل مریم شد، ولی عمر گلجای گل شاخه‌بریده مریم در تیمار AOPP نسبت به سالیسیلیک اسید افزایش بیشتری نشان داد. در تحقیق حاضر، سالیسیلیک اسید سبب افزایش میزان متیل بنزوات و متیل سالیسیلات شد، ولی میزان بنزیل بنزوات و پنتاکوسلان را کاهش داد، درحالی‌که تیمار AOPP بالعکس سبب افزایش میزان برخی ترکیبات از قبیل بنزیل بنزوات و پنتاکوسان و کاهش میزان متیل بنزوات و متیل سالیسیلات شد (جدول ۳). همچنین، سالیسیلیک اسید همزمان با افزایش میزان عطر گل مریم، عمر گلجایی آن را نیز نسبت به شاهد افزایش داد. بین میزان عطر گل و عمر گلجایی گل شاخه-بریده رز هیچ همبستگی منفی وجود ندارد [۴].



شکل ۲ . برخی از مسیرهای بیوشیمیایی سنتز بنزنوئیدها/ فنیل پروپانوئیدها در عطر گیاهان مختلف (۱۸)

خطوط خط چین نشان‌دهنده واکنش‌های احتمالی که هنوز آنزیم‌های دخیل شناسایی نشده است، خطوط ثابت نشان‌دهنده واکنش‌های بیوشیمیایی صورت گرفته می‌باشد.

BSMT: Benzoic acid/Salicylic acid carboxyl methyltransferase, BPBT: Benzyl-CoA: Benzyl alcohol/2-Phenyletanol benzoyltransferase, BZL: Benzoate: CoA ligase, PAL: Phenylalanine ammonia-lyase

متیل بنزوات از ترکیبات استری بوده، عطر خوشایندی داشته و از مسیرهای گوناگونی در گیاهان سنتز می‌شود. اسید بنزوئیک پیش‌ماده مشترک سنتز متیل بنزوات و سالیسیلیک اسید در مسیر فنیل‌پروپانوئیدها بوده که تحت تأثیر آنزیم BSMT تبدیل به متیل بنزوات می‌شود و بر اثر فعالیت آنزیمی ناشناخته می‌تواند تبدیل به سالیسیلیک اسید شود (شکل ۲) [۱۸]. به نظر می‌رسد وجود ماده سالیسیلیک اسید سبب می‌شود این پیش‌ماده بیشتر به سمت سنتز متیل بنزوات پیش رفته و میزان آن افزایش یابد. همچنین اسید بنزوئیک به صورت غیرمستقیم پیش‌ماده سنتز بنزیل بنزوات نیز می‌باشد که از طریق سنتز بنزیل کوآنزیم آ، سبب سنتز بنزیل بنزوات در گیاه می‌شود و احتمالاً به دلیل مصرف

بیشتر آن در بیوسنتز بنزیل بنزوات تحت تأثیر سالیسیلیک اسید، مقدار سنتز بنزیل بنزوات کمتر شده است.

نتیجه‌گیری

باتوجه به افزایش محتوای کل ترکیبات عطر گل مریم و همچنین افزایش عمر گلجای گل شاخه‌بریده مریم به‌ترتیب در تیمار سالیسیلیک اسید (۱/۵ میلی‌مولار) و AOPP (۳ میلی‌مولار)، به منظور افزایش ترکیبات عطر گل مریم محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید و به منظور افزایش دوام عمر گل شاخه‌بریده مریم، محلول‌پاشی AOPP (۳ میلی‌مولار) به‌عنوان بازدارنده اختصاصی آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز پیشنهاد می‌گردد. همچنین، تحقیقات بیشتری جهت بررسی دلیل افزایش میزان برخی ترکیبات عطر در تیمار بازدارنده AOPP مورد نیاز می‌باشد.

منابع

۱. کمالی م، خرازی س م، سلاح‌ورزی ی و تهرانی‌فر ع (۱۳۹۱) اثر سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی صفات مورفوفیزیولوژیک گل تکمه‌ای در شرایط تنش شوری. علوم باغبانی. ۲۶(۱): ۱۱۲-۱۰۴.

۲. نظری دلجو م ج، خلیقی ا، عرب م، کرمیان ر و جابریان همدان ح (۱۳۹۴) تأثیر تیمار پس از برداشت اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز، تشکیل لیگنین و کنترل عارضه خمیدگی ساقه گل‌ژربرا. علوم باغبانی ایران. ۴۶(۲): ۲۹۰-۲۷۹.

3. Alaey M, Babalar M, Naderi R and Kafi M (2011) Effect of pre and postharvest salicylic acid treatment on physio-chemical attributes in relation to vase life of cut rose flowers. Postharvest Biology and Technology. 61: 91-94.

4. Borda AM, Clark DG, Huber DJ, Welt BA and Nell TA (2011) Effects of ethylene on volatile emission and fragrance in cut roses: the relationship between fragrance and vase life. Postharvest Biology and Technology. 59: 245-252.

5. Conn EE (1986) The Shikimic acid pathway. Plenum press, New York. Page: 103.

6. Dong J, Wan G and Liang Z (2010) Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzymes in *salvia miltiorrhiza* cell culture. Journal of Biotechnology. 148: 99-104.

7. Dudareva N and Pichersky E (2007) Biology of floral scent. CRC production. Pp. 346.

8. El-mougy NS (2002) In vitro study on antimicrobial activity of salicylic acid and acetylsalicylic acid as pesticide alternatives against some soil born plant pathogens. Egypt Journal of Phytopathology. 30: 41-55.

9. Ezhilmathi K, Singh VP, Arora A and Sairam RK (2007) Effect of 5-sulfosalicylic acid on antioxidant activity in relation to vase life of gladiolus cut flowers. Plant Growth Regulator. 51: 99-108.

10. Ferrante A, Alberici A and Antonacci S (2007) Effect of promoter and inhibitors of phenylalanine ammoni-lyase enzyme on stem bending of cut gerbera flowers. Acta Horticulturae. 755: 471-476.

11. Hao RJ, Zhang Q, Yang WR, Wang J, Chang TR, Pan HT and Zhang QX (2014) Emitted and endogenous floral scent compounds of *Prunus mume* and hybrids. Biochemical Systematics and Ecology. 54: 23-30.

12. He S, Joyce DC, Irving DE and Faragher JD (2006a) Stem end blockage in cut Grevillea "Cromson Yul-lo" inflorescence. Postharvest Biology and Technology. 41: 78-84.

13. Lutts S, Kinet JM and Bouhamont J (1996) NaCl-induced senescence leaves of rice cultivars differing in salinity resistance. Annals of Botany. 78: 389-398.

14. Nemeth M, Janda T, Horvath E, Paldi E and Szalai G (2002) Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. Plant Science. 162: 569-574.

15. Nikkhah Bahrami S, Zakizadeh H, Hamidoglu Y and Ghasemnezhad M (2013) Salicylic acid retards petal senescence in cut lisianthus flowers. Horticulture and Environmental Biotechnology. 54: 519-523.

16. Paibon W, Yimnoi CA, Tembab N, Boonlue W, Jampachaisri K, Nuenqchamnong N, Waranuch N and Inqkaninan K (2011) Comparision and evaluation of volatile oils from three different extraction methods for some Thai fragrant flowers. Intertational Journal of Cosmet Science. 33: 150-156.

17. Peiser G, Lopez-Galvez G, Canthwell M and Saltiveit ME (1998) Phenylalanine ammonia lyase inhibitors control browning of cut lettuce. Postharvest Biology and Technology. 14: 171-177.

18. Pichersky E. and Dudareva N (2007) Scent engineering: toward the goal of controlling how flower smell. Trends in Biotechnology. 25(3):??

19. Ritchie SW and Nguyen HT (1990) Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science. 30: 105-111.

20. Roodbaraki F, Hashemabadi D and Hajivand S (2012) Effect of salicylic acid on vase life of cut carnation" Liberty Abgr". Annals of Biological Research. 3: 5127-5129.

21. Stevens J and Senaranta T (2006) Salicylic acid induces salinity stress tolerance in tomato-associated changes in gas exchange, water relation and membrane stabilization. Journal of Plant Growth Regulation. 49: 77-83.

22. Van Doorn WG (2012) Water relation of cut flowers. Horticultural reviews. Volume 40. First Ed.

23. Van Meetren U (1987) Water relations and keeping quality of cut gerbera flowers. The cause of stem break. Scientia Horticulturae. 8: 65-74.

24. Waithaka K, Reid MS and Dodge LL (2001) Cold storage and flower keeping quality of cut tuberose. Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 76: 271-275.

25. Wang W, Zheng L, Wu J and Tan R (2006) Involvement of nitric oxide burst, Phenylalanine ammonia-lyase activation and total production indeed by low energy ultrasound in *Taxus yannanensis* cell suspension cultures. Nitric Oxide. 15: 351-358.

26. Weisshaar B and Jenkins JI (1998) Phenylpropanoid biosynthesis and its regulation. Plant Biology. 1: 251-257.

27. Williamson VG, Faragher JD, Parson S and Franz P (2002) Inhibiting the postharvest wounding response in wild flowers. A report for the rural industries research and development corporation. Australia. Publication 02/114. Project no DAV-161A.

28. Zamani S, Hadavi E, Kazemi M and Hekmati J (2011) Effect of some chemical treatments on keeping quality and vase life of chrysanthemum cut flowers. Journal of World Applied Sciences. 12: 1962-1966.