



به زراعی کشاورزی

دوره ۱۸ ■ شماره ۴ ■ زمستان ۱۳۹۵
صفحه‌های ۷۷۴-۷۶۵

تأثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید و آلفا-آمینوآکسی-بتا-فنیل پروپیونیک اسید به عنوان محرک و بازدارنده فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز بر عمر گلجای و عطر گل مریم

مهران کنعانی^۱ و محمد جواد نظری دلجو^{۲*}

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 پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۸/۱۳

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۷/۰۷

چکیده

باتوجه به مطالعات اندک در خصوص ترکیبات معطر گل‌های شاخه بریده، آزمایشی گلدانی با هدف بررسی تأثیر محلول پاشی پیش از برداشت، سالیسیلیک اسید (۰، ۱/۵ و ۲/۲۵ میلی‌مولار) و آلفا-آمینوآکسی-بتا-فنیل پروپیونیک اسید (۰، ۱/۵ و ۳ میلی‌مولار) به ترتیب به عنوان محرک و بازدارنده اختصاصی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز 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 محلول پاشی تیمارهای مورد بررسی قرار گرفتند ($P < 0/01$). تیمار آلفا-آمینوآکسی-بتا-فنیل پروپیونیک اسید (۳ میلی‌مولار) و سالیسیلیک اسید (۱/۵ میلی‌مولار) به ترتیب 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 به روش 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-آمینوآکسی-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 فنیل آلانین-آمونیا لیاز، به ترتیب 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 فنیل پروپانویدها

۱. مقدمه

گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.) از گیاهان پیازی چندساله و از مهم ترین گل های معطر ایران می باشد. یکی از صفات بارز گل ها، عطر آنها بوده که علاوه بر نقش-آفرینی در جلب حشرات گرده افشان، سبب افزایش ارزش تجاری گیاهان زینتی و گل های شاخه بریده می شود [۱۱]. متأسفانه امروزه بسیاری از گل های شاخه بریده به دلیل اصلاح و تمرکز بیشتر بر صفات ظاهری (شکل گل، رنگ گل و غیره)، عطر خود را از دست داده اند. مسیر فنیل پروپانوئیدها یکی از مهمترین مسیرهای بیوسنتز ترکیبات ثانویه و مواد معطر در گیاهان می باشد که با فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز^۱ آغاز شده [۲۶] و منجر به سنتز ترکیبات معطر متعدد (۳۲۹ ترکیب فنیل پروپانوئیدی مؤثر در عطر گل ها) از قبیل ترکیبات بنزنوئیدی/فنیل پروپانوئیدی [۷] می شود. بر همین اساس، تحریک و افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز 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 روزنه ها [۱۵]، تأثیر بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و جاروب رادیکال های اکسیژن [۳]، نقش به سزایی در بهبود عمر گلجایی گل ها، از قبیل گل رز [۳]، داوودی [۲۸] و میخک [۲۰] ایفا نمود. بررسی تأثیر پس از برداشت سالیسیلیک اسید بر ترکیبات فنولی ساقه گل دهنده گل شاخه بریده ژربرا، بیانگر تأثیر مثبت این شبه هورمون بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز و در نتیجه افزایش ترکیبات فنولی از قبیل لیگنین بود [۲]. همچنین، آلفا-آمینوآکسی-بتا-فنیل پروپیونیک اسید^۲ به عنوان بازدارنده اختصاصی فعالیت

آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز [۱۰] می تواند نقش مؤثری در تنظیم و کاهش ترکیبات فنیل پروپانوئیدی 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 فنیل پروپانوئیدها گردید [۱۰].

باتوجه به توسعه سطح زیرکشت گل شاخه بریده مریم به عنوان 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 به عنوان محرک و بازدارنده فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز، به عنوان یکی از مهمترین آنزیم های مؤثر در مسیر فنیل پروپانوئیدها و در نتیجه تغییرات ترکیبات معطر و همچنین عمر گلجایی 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. محلول دهی براساس فرمول تجاری کشت گیاهان پیازی با هدایت الکتریکی برابر ۱/۲ دسی زیمنس 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 -aminoxy- β -phenyl propionic acid (AOPP)

تأثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید و آلفا-آمینوآوکسی-بتا-فنیل پروپیونیک اسید به عنوان محرک و بازدارنده فعالیت آنزیم ...

جدول ۱. غلظت و منابع کودی مورد استفاده در آزمایش

ردیف	عنصر	غلظت (پی پی ام)	منبع کودی
۱	ازت	۱۲۰	نترات پتاسیم، نترات کلسیم و نترات آمونیوم
۲	فسفر	۴۵	مونوپتاسیم دی هیدروژن فسفات
۳	پتاسیم	۱۴۶	نترات پتاسیم و مونوپتاسیم دی هیدروژن فسفات
۴	کلسیم	۹۶	نترات 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

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 آن با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت جهت سنجش وزن خشک منتقل شدند (DW). در نهایت محتوای نسبی آب برگ از فرمول (۱) محاسبه گردید [۱۹]:

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100 \quad (1)$$

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

محلول پاشی برگ‌گی سطوح مختلف سالیسیلیک اسید (SA): ۲/۲۵ و ۱/۵، ۰ میلی‌مولار) (ساخت شرکت مرک آلمان) به عنوان محرک و آلفا-آمینوآوکسی-بتا-فنیل- پروپیونیک اسید (AOPP): ۳ و ۱/۵، ۰ میلی‌مولار) (ساخت شرکت واکو آلمان) به عنوان بازدارنده فعالیت آنزیم- فنیل- آلانین آمونیا لایز، 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^۱ اعمال گردید. پس از برداشت شاخه‌های گل مریم، عطر آن به روش فضای فوقانی^۲ جمع‌آوری و سپس ترکیبات به وسیله تکنیک کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری حجمی^۳ شناسایی شد.

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

به زراعی کشاورزی

تشکیل شده جدا و باقیمانده در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا تبخیر شود. سپس باقیمانده که همان اسید سینامیک است در ۳ میلی لیتر 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 می شود. یک واحد از فعالیت آنزیم PAL معادل ۱ میکرومول از اسید سینامیک تولید شده در یک دقیقه است.

نمونه برداری و شناسایی عطر گل مریم

به منظور نمونه گیری و شناسایی ترکیبات معطر گل مریم، گل های شاخه بریده پس از برداشت در مرحله نیمه باز (باز شدن ۵۰ درصد شکوفه ها) به شیشه های کاملاً مسدود منتقل و پس از ۲۴ ساعت نمونه برداری از طریق مکش به وسیله سرنگ همپلتون^۱ ترکیبات معطر از محفظه تعبیه شده و انتقال آن به درون لوله های آزمایش حاوی ماده جاذب تیناکس انجام پذیرفت (شکل ۱). برای شناسایی و سنجش ترکیبات معطر گل مریم از روش پیون و همکاران استفاده شد [۱۶]. نمونه های پودر تیناکس به ۵ برابر حجم نمونه اتانول مطلق منتقل و سپس به مدت ۳۵ دقیقه در حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد در شیکرانکوباتور قرار گرفتند. نمونه ها پس از عبور از صافی ۰/۴ میکرون در مبرد اتانول تبخیر شده و مجدداً ۱ میلی لیتر اتانول اضافه گردید. محلول حاصل برای سنجش ترکیبات معطر توسط گاز کروماتوگرافی (HP-6890) متصل به جرم سنج دتکتور (HP-5973) استفاده گردید. شناسایی ترکیبات عطر براساس تطبیق پیک طیف آن با الگوهای موجود در داده های کتابخانه ای - نرم افزاری Willey 7nl انجام گرفت. سطح زیر منحنی پیک ها نیز برای تعیین درصد هر ماده استفاده شد.

نشت یونی نمونه ها با استفاده از هدایت سنج الکتریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد (EC_1) و دمای ۹۵ درجه سانتی گراد (EC_2) براساس فرمول (۲) محاسبه گردید:

$$(2) \quad \text{پایداری غشای سلولی} = (EC_1/EC_2) \times 100$$

عمر گلجای

شاخه های بریده گل مریم بلافاصله پس از انتقال به آزمایشگاه پس از برداشت، از ارتفاع ۶۰ سانتی متری بریده، توزین و سپس به بطری های شیشه ای حاوی ۳۵۰ میلی لیتر آب منتقل شدند. عمر گلجایی گل مریم با شمارش تعداد روز پس از برداشت تا پژمرده شدن بیش از ۵۰ درصد گلچه ها و تغییر رنگ آن ها، به تعداد ۸ شاخه برای هر تکرار، در شرایط آزمایشگاهی شدت نور ۲۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه، دما 1 ± 20 درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی 5 ± 60 درصد مورد ارزیابی قرار گرفت [۲].

اندازه گیری آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز

برای اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم PAL از روش وانگ و همکاران استفاده شد [۲۵]. گلچه های 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 میلی لیتر بافر Tris-Hcl ۵۰ میلی مولار (اسیدیته ۸/۸) که حاوی بتامرکاپتواتانول ۱۵ میلی مولار بود ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد و محلول رویی جهت سنجش استفاده گردید. مخلوطی از ۱ میلی لیتر بافر استخراجی بالا، ۰/۵ میلی لیتر فنیل آلانین ۱۰ میلی مولار، ۰/۴ میلی لیتر آب و ۰/۱ میلی لیتر از عصاره آنزیمی در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت قرار داده شد. سپس، واکنش توسط ۰/۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۶ مولار متوقف شد. در نهایت به محلول حاصل ۱۵ میلی لیتر اتیل استات افزوده شد. فاز روغنی

1. Gastight syringe



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

در پی داشته است [۱۲ و ۲۷]. سالیسیلیک اسید نیز بسته به غلظت مورد استفاده سبب افزایش محتوای نسبی آب گل شاخه بریده 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 در نتیجه 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 نشأت الکترولیت نشان داد که بین تیمارهای محلول پاشی انجام شده، اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.01$). 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. نشأت یونی به عنوان شاخص پایداری غشای سلولی نقش

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 به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای محلول پاشی قرار گرفت ($P < 0.01$). براساس نتایج مقایسه میانگین تیمارها، بیشترین و کمترین محتوای نسبی آب به ترتیب در تیمار محلول پاشی AOPP (۳ میلی‌مولار) و تیمار شاهد مشاهده گردید (جدول ۲). احتمالاً دلیل تأثیر مثبت تیمار AOPP می‌تواند به دلیل کاهش میزان فعالیت آنزیم PAL و در نتیجه کاهش میزان تولید ترکیبات ثانویه نظیر سوبرین بوده که موجب کاهش انسداد آوندی شده و افزایش محتوای نسبی آب گل شاخه بریده مریم را

محافظة می کند [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.

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

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

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

† 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

تشکیل سوبرین و در نتیجه 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 شاخه‌بریده [۲۲] و همچنین افزایش پایداری غشای سلولی شده است (جدول ۲). در نتایج دیگر تحقیقات، بین میزان جذب آب و دوام عمر گل ژریرا 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. با توجه 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 در نتیجه افزایش عمر گلجای گل شاخه‌بریده مریم باشد (جدول ۲). در بررسی تأثیر ۵-اسید سولفوسالیسیلیک بر روی گل گلابول گزارش

براساس نتایج آزمایش عمر گلجای گل شاخه‌بریده مریم به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای محلول‌پاشی قرار گرفت ($P < 0/01$). بر همین اساس، بیشترین دوام عمر گل شاخه‌بریده 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^۱ 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

1. S-carvone

تأثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید و آلفا-آمینوآکسی-بتا-فنیل پروپیونیک اسید به عنوان محرک و بازدارنده فعالیت آنزیم ...

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.

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].

فنیل آلانین آمونیاکساز

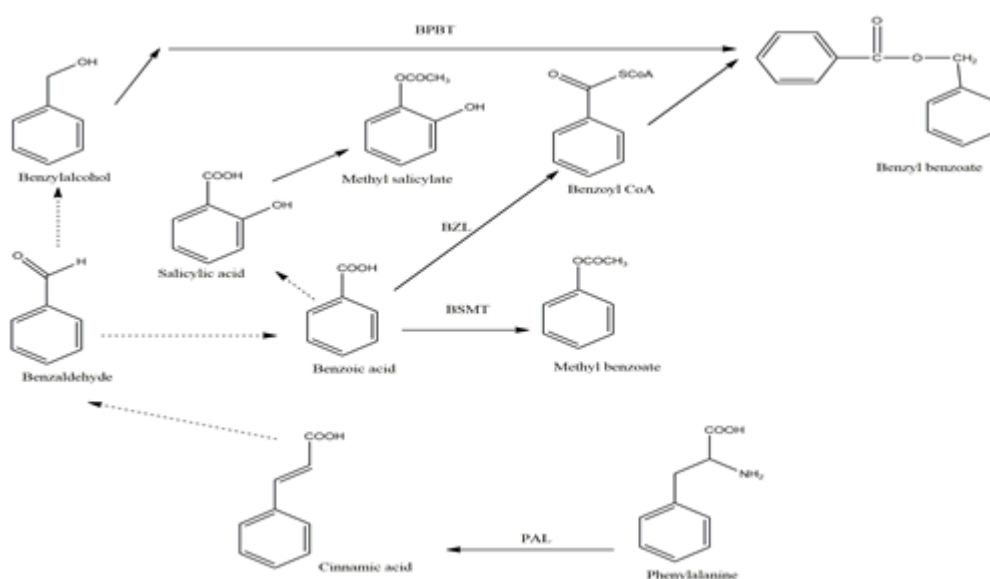
فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاکساز به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار محلول پاشی قرار گرفت ($P < 0/01$). براساس نتایج مقایسات میانگین، بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم PAL به ترتیب مربوط به تیمار سالیسیلیک اسید (۱/۵ میلی-مولار) و تیمار AOPP (۳ میلی-مولار) بود که به ترتیب افزایش و کاهش در حدود ۴۷ و ۸۶ درصدی نسبت به شاهد را نشان داد (جدول ۲). بازدارنده AOPP موجب کاهش فعالیت آنزیم PAL و کاهش تولید متابولیت‌های ثانویه از قبیل ترکیبات فنولی

جدول ۳. تأثیر تیمارهای محلول پاشی بر ترکیبات اصلی عطر گل مریم در استخراج به روش هدا اسپیس

نام ترکیب	زمان بازداری (دقیقه)	تیمار شاهد (%)	سالیسیلیک اسید (۱/۵ میلی مولار) (%)	AOPP (۳ میلی مولار) (%)
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

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].

سالیسیلیک اسید و AOPP به ترتیب سبب افزایش و کاهش محتوای کل عطر گل مریم شد، ولی عمر گلجایی گل شاخه بریده 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 پنتاکوسان را کاهش داد، درحالی که تیمار AOPP بالعکس سبب افزایش



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

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

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

شود (شکل ۲) [۱۸]. به نظر می‌رسد وجود ماده سالیسیلیک اسید سبب می‌شود این پیش ماده بیشتر به سمت سنتز متیل بنزوات پیش رفته و میزان آن افزایش یابد. همچنین اسید بنزوئیک به صورت غیرمستقیم پیش ماده سنتز بنزیل بنزوات نیز می‌باشد که از طریق سنتز بنزیل کوآنزیم آ، سبب سنتز بنزیل بنزوات در گیاه می‌شود و احتمالاً به دلیل مصرف

متیل بنزوات از ترکیبات استری بوده، عطر خوشایندی داشته و از مسیرهای گوناگونی در گیاهان سنتز می‌شود. اسید بنزوئیک پیش ماده مشترک سنتز متیل بنزوات و سالیسیلیک اسید در مسیر فنیل پروپانوئیدها بوده که تحت تأثیر آنزیم BSMT تبدیل به متیل بنزوات می‌شود و بر اثر فعالیت آنزیمی ناشناخته می‌تواند تبدیل به سالیسیلیک اسید

تأثیر محلول پاشی سالیسیلیک اسید و آلفا-آمینوآکسی-بتا-فنیل پروپیونیک اسید به عنوان محرک و بازدارنده فعالیت آنزیم ...

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 ammonio-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.

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

نتیجه گیری

باتوجه به افزایش محتوای کل ترکیبات عطر گل مریم و همچنین افزایش عمر گلجای گل شاخه بریده مریم به ترتیب در تیمار سالیسیلیک اسید (۱/۵ میلی مولار) و AOPP (۳ میلی مولار)، به منظور افزایش ترکیبات عطر گل مریم محلول پاشی سالیسیلیک اسید و به منظور افزایش دوام عمر گل شاخه بریده مریم، محلول پاشی AOPP (۳ میلی مولار) به عنوان بازدارنده اختصاصی آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز پیشنهاد می گردد. همچنین، تحقیقات بیشتری جهت بررسی دلیل افزایش میزان برخی ترکیبات عطر در تیمار بازدارنده AOPP مورد نیاز می باشد.

منابع

۱. کمالی م، خرازی س م، سلاح ورزی ی و تهرانی فرح (۱۳۹۱) اثر سالیسیلیک اسید بر رشد و برخی صفات مورفوفیزیولوژیک گل تکمه ای در شرایط تنش شوری. *علوم باغبانی*. ۲۶(۱): ۱۱۲-۱۰۴.
۲. نظری دلجوم ج، خلیقی ا، عرب م، کرمان ر و جابریان همدان ح (۱۳۹۴) تأثیر تیمار پس از برداشت اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز، تشکیل لیگنین و کنترل عارضه خمیدگی ساقه گل ژربرا. *علوم باغبانی ایران*. ۴۶(۲): ۲۹۰-۲۷۹.
3. Alaei 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

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. Nikkha 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, Tembap N, Boonlue W, Jampachaisri K, Nuenqchamngong N, Waranuch N and Inqkaninan K (2011) Comparison and evaluation of volatile oils from three different extraction methods for some Thai fragrant flowers. *International Journal of Cosmet Science*. 33: 150-156.
17. Peiser G, Lopez-Galvez G, Canthwell M and Saltveit 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 yunnanensis* 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.