

**بررسی تاثیر میزان فعالیت پس از برداشت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL) بر تشکیل لیگنین، کنترل عارضه خمیدگی ساقه و تلفات پس از برداشت گل شاخه بریده ژربرا (*Gerbera jasmesonii*)**  
مسعود عزیزی<sup>1</sup>، محمد جواد نظری دلجو<sup>2</sup>، بهاره کاشفی<sup>3</sup>

1- دانشجوی کارشناسی ارشد تولیدات گیاهی، تولید محصولات باغی دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان. 2- عضو هیات علمی گروه مهندسی تولیدات گیاهی، تولید محصولات باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد، ایران. 3- عضو هیات علمی گروه مهندسی تولیدات گیاهی، تولید محصولات باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، ایران.

masoudazizi64@yahoo.com\*

### چکیده

فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL; EC 4,3,1,5) مهمترین آنزیم دخیل در متابولیسم فنیل پروپانوئید و کاتالیزور ترانس سینامیک اسید (پیش ساز مواد فنلی) از طریق د-آمینو کردن L- فنیل آلانین و در نتیجه بیوسنتز مونولیگنول ها، انتقال آنها به دیواره سلولی و نهایتا پلیمریزه شدن و نهایتا فرایند ترکیب درشت مولکول های فنیل پروپانوئید یعنی لیگنین می باشد. با توجه به مطالعات بسیار اندک در خصوص بررسی فعالیت آنزیم های دخیل در تشکیل لیگنین و نقش آن در خمیدگی ساقه و تلفات پس از برداشت ژربرا، در پژوهش حاضر میزان فعالیت پس از برداشت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز و تشکیل لیگنین در دو ناحیه بالا و پایین ساقه، طی 7 روز روی دو رقم مقاوم به خمیدگی ('Aqua') و حساس به خمیدگی ('Beaudine') (حاصل از آزمایش اولیه غربالگری) با 3 تکرار در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی انجام گرفت. بر اساس نتایج آزمایش بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز و تشکیل لیگنین طی 7 روز بترتیب مربوط به ارقام مقاوم و حساس به خمیدگی 'Aqua' و 'Beaudine' بود. بر اساس نتایج آزمایش افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL) توام با افزایش تشکیل لیگنین منجر به افزایش استحکام ساقه گل و در نتیجه کاهش عارضه خمیدگی ساقه و تلفات پس از برداشت ژربرا می شود.

کلمات کلیدی: ژربرا، تلفات پس از برداشت، خمیدگی ساقه، آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL)، تشکیل لیگنین

### مقدمه

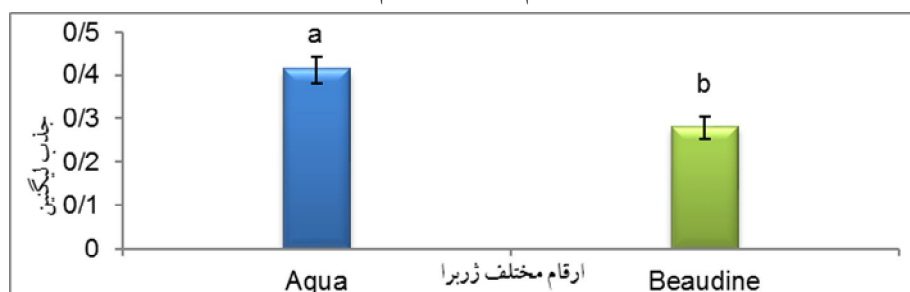
خمیدگی ساقه ژربرا مهمترین عامل تلفات پس از برداشت ژربرا شاخه بریده می باشد که تحقیقات بسیار زیادی را در این خصوص به خود اختصاص داده است. از جمله دلایل احتمالی این عارضه پدیده تشکیل لیگنین و استحکام ساقه در این گل می باشد. آنزیم های فنیل آلانین آمونیا لایز، پراکسیداز و سینامیل الکل دهیدروژناز در بیوسنتز لیگنین نقش بسزایی دارند (بودت و همکاران، 2003). در این بین آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL; EC 4,3,1,5) مهمترین آنزیم دخیل در متابولیسم فنیل پروپانوئید و کاتالیزور ترانس سینامیک اسید (پیش ساز مواد فنلی) از طریق د-آمینو کردن L- فنیل آلانین و در نتیجه بیوسنتز مونولیگنول ها، انتقال آن ها به دیواره سلولی، پلیمریزه شدن و نهایتا فرایند ترکیب درشت مولکول های فنیل پروپانوئید یعنی لیگنین می باشد (شوستر و ریتی، 1995). فرانتی و همکاران (2007) در پژوهشی بیان نمودند تیمار ساقه گل دهنده ژربرا با بازدارنده های آنزیم PAL منجر به افزایش قابل توجه خمیدگی ساقه می گردد؛ لیکن میزان لیگنین در آن ساقه ها مورد بررسی قرار نگرفت. در همین راستا و با توجه به تاثیر احتمالی لیگنین در پدیده خمیدگی ساقه تحت تاثیر فعالیت آنزیم PAL و اطلاعات اندک و همچنین عدم بررسی تشکیل لیگنین، این آزمایش روی 2 رقم ژربرا با درجات مختلف خمیدگی ساقه طراحی و مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش ها

این تحقیق در پژوهشکده بیوتکنولوژی شمالغرب و غرب کشور - تبریز، در سال 1391 در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با 3 تکرار با زمان، ناحیه و رقم انجام گرفت. برای انجام این آزمایش ابتدا آزمایش غربالگری 7 رقم ژربرای شاخه بریده تجاری و بازارپسند انجام و سپس 2 رقم با حداقل و حداکثر خمیدگی انتخاب گردیدند و میزان لیگنین در 10 سانتیمتری بالا و پایین ساقه و آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL) در طی 7 روز متوالی در دو رقم حساس و مقاوم به خمیدگی اندازه گیری شد. اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم PAL بر اساس روش ردمن (1999) و سنجش از طریق اسپکتروفتومتر با طول موج 290 نانومتر در ازای 100 میکروگرم وزن تر ساقه اندازه گیری و بیان گردید همچنین به منظور سنجش دقیق میزان لیگنین با توجه به علفی بودن گیاه مورد مطالعه از روش کالریمتری و سنجش از طریق اسپکتروفتومتر با طول موج 280 نانومتر استفاده گردید (بروس و ست، 1989).

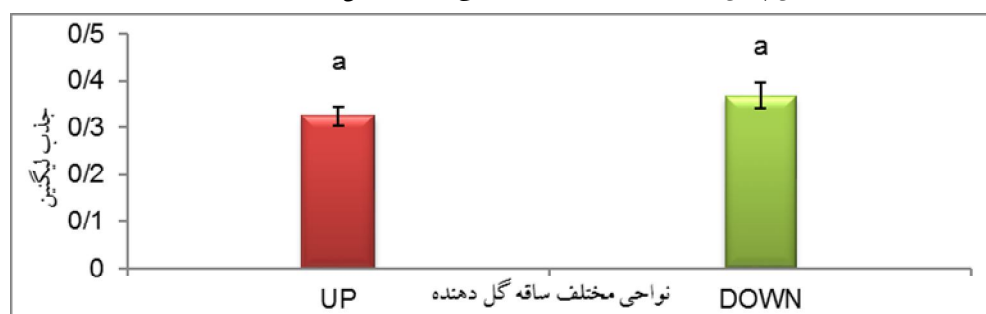
## نتایج

تاثیر رقم بر تشکیل لیگنین در ارقام حساس و مقاوم و نواحی بالا و پایین ساقه گل دهته ژربرا بر اساس نتایج آزمایش رقم تاثیر معنی داری بر میزان لیگنین در ارقام مختلف داشت؛ اما نواحی مختلف ساقه و اثر متقابل ناحیه و رقم غیر معنی دار بود ( $P < 0,05$ ). نتایج مقایسه میانگین اندازه گیری جذب لیگنین در دو رقم حساس و مقاوم به خمیدگی نشان می دهد که بیشترین و کمترین میزان جذب لیگنین به ترتیب مربوط به رقم 'Aqua' و رقم 'Beaudine' می باشد.



شکل 1- تاثیر رقم در روی میزان لیگنین در دو رقم حساس و مقاوم به خمیدگی ساقه ژربرا

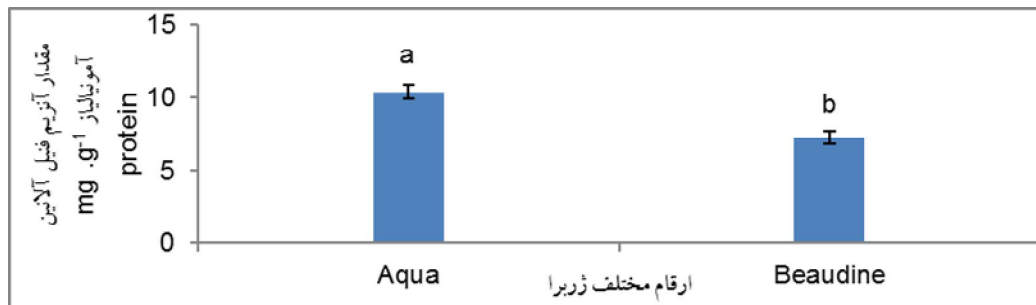
براساس نتایج میزان لیگنین در نواحی مختلف در ارقام مورد نظر تفاوت معنی داری نداشت. با وجود معنی دار نبودن نتایج، داده های آماری حاکی از بالا بودن میزان لیگنین پایین ساقه نسبت به بالای ساقه می باشد (شکل 2).



شکل 2- میزان جذب لیگنین در دو ناحیه بالا و پایین ساقه ژربرا

تاثیر رقم روی میزان فعالیت فنیل آلانین آمونیلایز

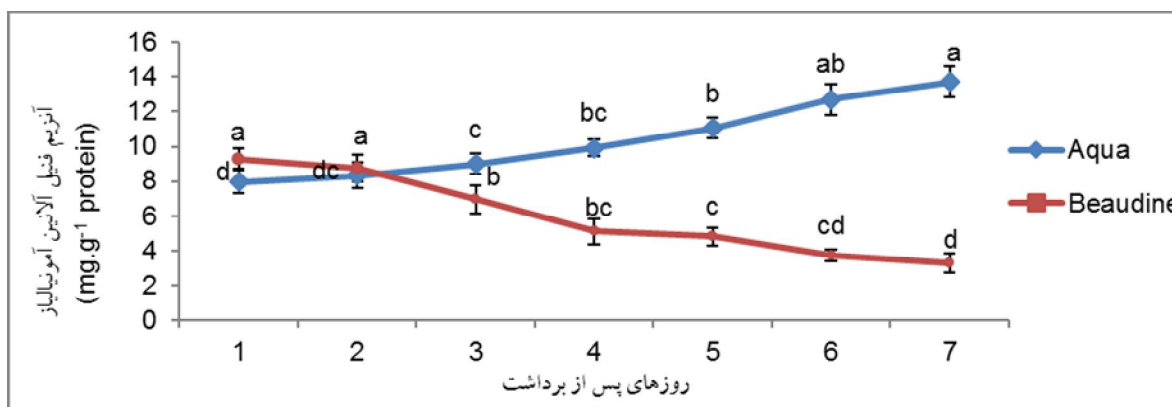
براساس نتایج میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز تاثیر معنی دار بر روی رقم و ناحیه و اثر متقابل ناحیه و رقم داشت ( $P < 0.05$ ). نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز در دو رقم حساس و مقاوم نشان داده است که در رقم مقاوم 'Aqua' با 10/38 mg.g<sup>-1</sup>protein و رقم حساس 'Beaudine' با 7/23 mg.g<sup>-1</sup>protein به ترتیب بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز را داشته اند (شکل 3).



شکل 3- میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز در ارقام حساس و مقاوم

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز رابطه مستقیمی با میزان افزایش جذب لیگنین و همچنین با میزان خمیدگی دارد، بصورتی که با افزایش میزان لیگنین فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز نیز افزایش پیدا کرده است و فعالیت این آنزیم همزمان با افزایش جذب لیگنین باعث استحکام ساقه و کاهش خمیدگی گردن ساقه ارقام مورد بررسی شده است.

تاثیر زمان روی میزان فعالیت فنیل آلانین آمونیا لیا ز



شکل 4- اثر روزهای آزمایش روی فعالیت پس از برداشت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز ساقه گل دهنده در 'Aqua' و 'Beaudine'

براساس نتایج آزمایش و مقایسات میانگین (شکل 4) در طی 7 روز متوالی، فعالیت فنیل آلانین آمونیا لیا ز در رقم مقاوم به خمیدگی ('Aqua') روند افزایشی را داشته که این ناشی از فعالیت بیشتر این آنزیم در چرخه سنتز لیگنین می باشد. افزایش روز افزون فعالیت این آنزیم نشان دهنده مقاومت بیشتر این رقم به خمیدگی ساقه و در نتیجه استحکام ساقه آن می باشد. در رقم حساس به خمیدگی ('Beaudine') با افزایش روز از میزان فعالیت این آنزیم کاسته شده در نتیجه میزان تشکیل فنل و لیگنین در این رقم کاهش یافته در نتیجه ساقه دچار خمیدگی ساقه می گردد.

**بحث**

بر اساس نتایج آزمایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز رابطه مستقیمی با میزان افزایش جذب لیگنین و محتوای فنل و همچنین با میزان خمیدگی دارد، به طوری که با افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز، میزان لیگنین و فنل نیز در ارقام مورد بررسی افزایش پیدا کرده است و فعالیت این آنزیم همزمان با افزایش جذب لیگنین باعث استحکام ساقه و کاهش خمیدگی ساقه ارقام مورد بررسی شده است. ساخته شدن ترکیبات فنلی در گیاهان از طریق جدا شدن عامل آمینی از فنیل آلانین توسط آنزیم PAL صورت می گیرد. آنزیم PAL بصورت غیر مستقیم در ساختن چندین ترکیب فنلی از جمله پلیمرهای سازنده دیواره سلولی دخالت دارد که افزایش میزان فعالیت آنزیم های اکسید کننده فنل ها در ارقام مقاوم بسیار بیشتر از ارقام حساس می باشد در نتیجه در آزمایش فوق میزان فعالیت PAL در رقم مقاوم بیشتر از حساس می باشد و فعالیت این آنزیم باعث استحکام ساقه رقم مقاوم و کاهش عارضه خمیدگی آن گردیده است. آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز به عنوان آنزیم اولیه مسیر بیوسنتز مونولینگنول، تأثیر مستقیمی بر تجمع لیگنین دارد. PAL چندین کارکرد دارد که یکی از آنها تنظیم ترکیب مونومرهای لیگنین می باشد (رنه، 2012)، در نتیجه استحکام ساقه ها افزایش می یابد و خمیدگی در ساقه به تعویق می افتد در واقع با بالابردن تراکم فنیل پروپانویدها از قبیل اسید های فنولیک باعث تشکیل لیگنین و در نتیجه مقاومت گیاه به خمیدگی می شود. نتایج ثابت کردند که خمیدگی ساقه یا شکستگی ارتباط تنگاتنگی با فعالیت PAL دارد. کاملاً مشخص است که فعالسازی مسیر فنیل پروپانویدها موجب تولید ترکیب های فنلی و ساختار لیگنین می شود و بازدارندگی PAL می تواند شکل گیری لیگنین ساقه را کاهش داده و میزان بروز خمیدگی ساقه را افزایش دهد. فرائتی (2007) با بررسی فعالیت آنزیم فنیل آلانین در ژربرا تحت تاثیر محرک ها و بازدارنده های این آنزیم مانند AOPP, AOA نشان داد که کولتیوار Dalma دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین و کمترین درصد خمیدگی و برعکس کولتیوارهایی که دارای درصد خمیدگی زیادی بودند فعالیت آنزیمی کمتری داشتند از نتایج مذکور می توان نتیجه گرفت که هر عاملی که در بازدارندگی و تحریک فعالیت آنزیم PAL دخیل باشد می تواند موجب کاهش یا افزایش فعالیت آنزیم و در نتیجه موجب کاهش یا افزایش بافت چوبی، استحکام ساقه و نهایتاً خمیدگی ساقه شود.

**نتیجه گیری کلی**

از این پژوهش می توان چینی نتیجه گیری کرد که آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز اولین و اصلی ترین آنزیم بیوسنتز کننده لیگنین می باشد که با افزایش بیشتر فعالیت این آنزیم میزان لیگنین افزایش پیدا می کند در نتیجه باعث افزایش استحکام دیواره سلولی و ساقه گل دهنده ژربرا و کاهش تلفات پس از برداشت در این گل می شود.

**منابع**

1. Boudet, A.M., Kajita, S., Grima-Pettenati, J., Goffner, D., ۲۰۰۳. Lignins and lignocellulosics: a better control of synthesis for new and improved uses. Trends Plant Sci. ۸, ۵۷۶-۵۸۱.
2. Bruce, R.J., West, C.A., ۱۹۸۹. Elicitation of lignin biosynthesis and isoperoxidase activity by pectic fragments in suspension cultures of castor bean. Plant Physiol. ۹۱, ۸۸۹-۸۹۷.
3. Ferrante, A., Alberici, A., Antonacci, S., Serra, G., ۲۰۰۷. Effect of promoter and inhibitors of phenylalanine ammonia lyase enzyme on stem bending of cut Gerbera flowers. Acta Horticulture ۷۵۵, ۴۷۱-۴۷۶.
4. René R.J. Perik, Dephine Razé, Harmannus Harkema, Yuan Zhong<sup>۱</sup>, outer G. van Doorn. Bending in cut Gerbera jamesonii flowers relates to adverse ater relations and lack of stem sclerenchyma development, not to expansion of the stem central cavity or stem elongation. Postharvest Biology and Technology ۷۴ (۲۰۱۲) ۱۱-۱۸.
5. Schuster, B., Retey, J., ۱۹۹۵. The mechanism of action of phenylalanine ammonia-lyase: the role of prosthetic dehydroalanine. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. ۹۲, ۸۴۳۳-۸۴۳۷.

**Evaluation of postharvest activity of PAL enzyme on lignification, control of stem bending disorder and postharvest losses of cut gerbera (*Gerbera jamesonii*) flower.****M. Azizi<sup>1\*</sup>, M.J. Nazari Deljou, B. Kashefi**

<sup>1</sup>- MS.C. in plant production, horticultural crops production, Damghan branch, Islamic Azad University, Damghan- Iran. <sup>۲</sup>- Department of Horticultural sciences, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad- Iran. <sup>۳</sup>- Department of Horticultural sciences, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan- Iran.

\*masoudazizi۶۴@yahoo.com

**Abstract**

Phenylalanine ammonia lyase (PAL; EC ۴,۳,۱,۵) is the most important enzyme contributing in phenylpropanoid metabolism and catalyzing of trans-cinnamic acid through deamination of L- Phenylalanine, consequently, biosynthesis and transferring of monolignols to the cell wall and their polymerization, which finally ends to the combination and production of phenylpropanoid macromolecules, such as lignin. According to low researches about evaluation of stem lignification and PAL enzyme activity and their effects on gerbera stem bending; this experiment was conducted on postharvest assessment of lignification and PAL enzyme activity (۷ days) in upper and lower parts of stem in two gerbera cultivars with high ('Beaudine') and low ('Aqua') stem bending percentage, in a factorial experiment based on the completely randomized design with three replications. Based on the results, the maximum and minimum PAL activity and stem lignification were observed in cultivars with low and high stem bending percentages, respectively. The results of the present study led to conclusion that increasing of PAL activity and consequently, stem lignification may result in stem strength and decreasing of postharvest stem bending disorder in cut gerberas flower.

Keywords: *Gerbera jamesonii*, postharvest losses; stem bending; Phenylalanine ammonia lyase, (PAL); lignification