تحریک فعالیت پس از برداشت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز(PAL) و جلوگیری از عارضه خمیدگی ساقه از طریق تیمار نبضی سالیسیلیک اسید

پروین صیادی [۱*]، محمد جواد نظری دلجو [۲]، منصوره شمیلی [۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی تولیدات گیاهی، تولید محصولات باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد، مهاباد، ایران. ۲- عضو هیات علمی گروه مهندسی تولیدات گیاهی، تولید محصولات باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد، مهاباد، ایران. ۳- عضو هیات علمی گروه علوم باغبانی دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

* Sayadi_2012@yahoo.com

چکیده

گل شاخه بریده ژربرا با بیش از ۵۰۰ رقم جزء ده گل شاخه بریده برتر در جهان می باشد. با توجه تنوع بسیار زیاد ارقام با درجات مختلف خمیدگی ساقه و کمبود اطلاعات در خصوص تاثیر فعالیت آنزیم¬های دخیل در مسیر لیگنینی شدن ساقه گل دهنده و درنتیجه کنترل عارضه خمیدگی، در این پژوهش تاثیر تیمار نبضی (کوتاه مدت) اسید سالیسیلیک (۱۵۰و ۷۵، ۰ میلی مولار) روی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، تشکیل لیگنین و خمیدگی ساقه ۲ رقم حساس و مقاوم به خمیدگی ژربرا بر اساس طرح آزمایشی فاکتوریل با فاکتورهای رقم و اسید سالیسیلیک برپایه طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه پس ازبرداشت انجام شد. بر اساس نتایج آزمایش رقم، اسید سالیسیلیک و اثر متقابل رقم و هورمون تاثیر بسزایی در افزایش فعالیت آنزیمPAL ، تشکیل لیگنین و در نتیجه خمیدگی ساقه نشان دادند. برهمین اساس کمترین درصد خمیدگی ساقه، بیشترین فعالیت آنزیم PAL و دوام عمر(۹روز) در تیمار اسید سالیسیلیک ۱۵۰ میلی مولار در مقایسه با شاهد (۷ روز) و در رقم مقاوم به خمیدگی "Aqua" حاصل گردید. با توجه به نتایج آزمایش تیمار اسید سالیسیلیک می تواند به عنوان محرکی مناسب جهت افزایش فعالیت آنزیم PAL و کاهش خمیدگی ساقه ژربرا پیشنهاد شود.

کلمات کلیدی: ژربرا، سالیسیک اسید، خمیدگی ساقه، آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز(PAL)، تشکیل لیگنین

مقدمه

گل ژربرا با نام علمی *Gerbera jamesonii* از خانواده Asteraceae و جزء ده گل مطرح جهان از لحاظ اقتصادی و تجاری می باشد (چودهاری، ۲۰۰۲). خمیدگی ساقه در ژربرا دلایل مختلفی از جمله ژنتیک (فرانتی و همکاران، ۲۰۰۷ و نظری دلجو و همکاران، ۲۰۱۱)، تغذیه (گراسوپولوس و چبلی، ۱۹۹۹) و تشکیل لیگنین و استحکام ساقه (رنه، ۲۰۱۲) است. تعداد زیادی از محلول های نگهدارنده برای افزایش کیفیت و ماندگاری گل های شاخه بریده معرفی شده اند، ولی تحقیق کاملی در خصوص کاربرد ترکیبات شیمیایی مختلف بر دوام عمر و کیفیت ژربرا انجام نپذیرفته است (لورنزو و همکاران،۱۹۹۲). سالیسیلیک اسید (SA) به گروهی از ترکیبات فنلی تعلق دارد که به عنوان القاء کننده موثر در بیان ژن های مقاومت شناخته شده است (ال-تائب،۲۰۰۵) و تاثیر فیزیولوژی آن به علت تغییر و فعال کردن برخی آنزیم های مشخص و همچنین باعث به تاخیر انداختن پیری و افزایش سرعت فعالیت های متابولیکی درون سلول می شود (مت والیت و همکاران، ۲۰۰۳) SA .منجر به افزایش تجمع فنیل پروپانوئیدها همچون اسیدهای فنولیک می گردد (جیان-یت چن و همکاران، ۲۰۰۶). مسیر فنیل پروپانویئد مسیر مهمی در سوخت وساز ثانوی گیاه می¬باشد که منجر به تولید انواع گوناگون فنولیک های دارای کارکردهای ساختاری از جمله لیگنین ها ، اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها می شود. درهمین راستا و به منظور افزایش فعالیت آنزیم PAL، تحریک تشکیل لیگنین و در نتیجه خمیدگی ساقه که تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است، این آزمایش طراحی و موارد مذکور روی دو رقم با درجات مختلف خمیدگی مورد بررسی قرار گرفت.

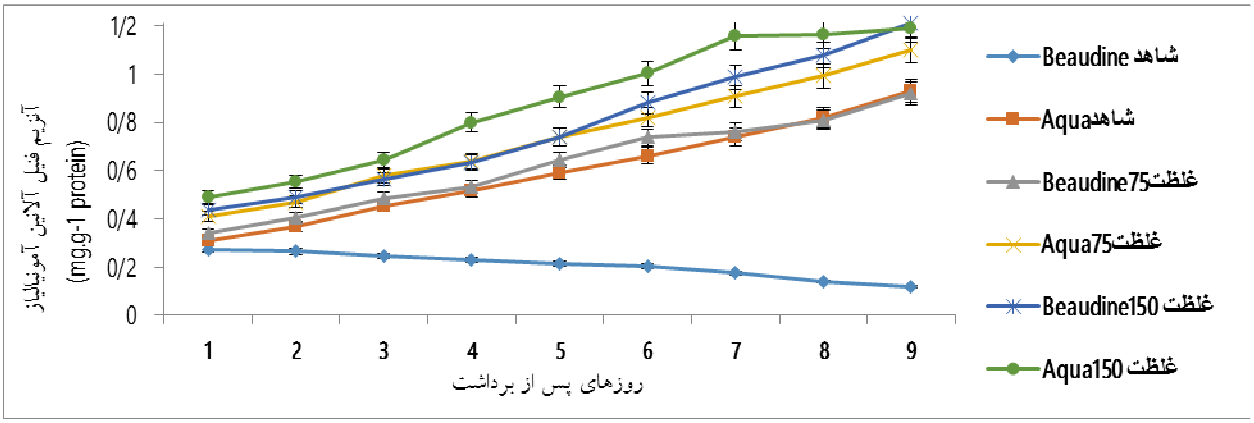
مواد و روش ها

این تحقیق در ۲ مرحله بترتیب در آزمایشگاه پس از برداشت علوم باغبانی دانشگاه آزاد مهاباد (آزمایش غربالگری) و دانشگاه هرمزگان (سنجش لیگنین) در سال ۱۳۹۱ در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملا" تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. جهت انجام این آزمایش ابتدا ۷ رقم ژربرای شاخه بریده تجاری و بازار پسند تهیه و آزمایش غربالگری انجام گردیده وسپس دو رقم با حداقل و حداکثر خمیدگی انتخاب و نهایتا پس از تهیه مجدد ارقام مذکور به مدت ۲۴ ساعت در محلول حاوی سالیسیلیک اسید با غلظت های (۱۵۰و ۷۵، ۰ میلی مولار) جهت بررسی های آنزیمی، تشکیل لیگنین و خمیدگی ساقه قرار داده شدند. اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم PAL بر اساس روش ردمن (۱۹۹۹) و سنجش از طریق اسپکتروفتومتر با طول موج ۲۹۰ نانومتر طی ۹ روز مداوم پس ازبرداشت انجام گرفت؛ همچنین به منظور سنجش میزان دقیق لیگنین با توجه به علفی بودن گیاه مورد مطالعه از روش کالریمتری و سنجش از طریق اسپکتروفتومتر با طول موج ۲۸۰ نانومتر استفاده گردید (بروس و وست،۱۹۸۹).

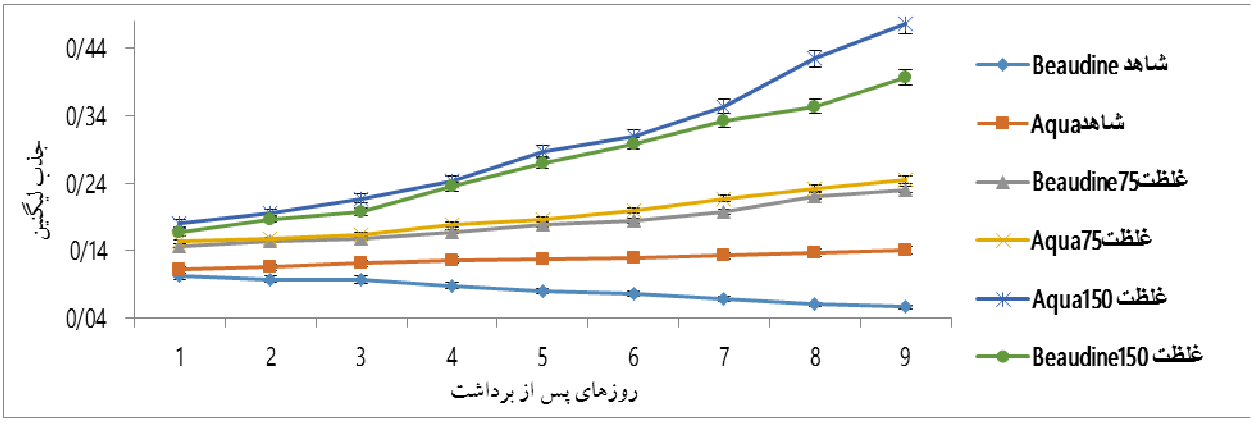
نتایج

تاثیر غلظت های مختلف SA بر میزان فعالیت آنزیم PAL و تشکیل لیگنین در رقم حساس (’Beaudine’) و مقاوم (’Aqua’) به خمیدگی طی روزهای پس ازبرداشت:

اثرات اصلی رقم، هورمون و اثرات متقابل روی صفات لیگنین و خمیدگی ساقه معنی دار بوده است و بر اساس نتایج بدست آمده، غلظت های مختلف تیمار SA تاثیر معنی داری در سطح ۵ درصد بر میزان فعالیت آنزیم PAL و میزان جذب لیگنین در ارقام حساس و مقاوم داشته و باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز و افزایش میزان جذب لیگنین در ارقام ذکر شده می باشد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم و جذب لیگنین بترتیب در تیمار ۱۵۰ میلی مولار و شاهد مشاهده گردید. همچنین بیشترین میزان فعالیت آنزیمی وجذب لیگنین در رقم (’Aqua’) مشاهده شد و مقدار جذب لیگنین و فعالیت آنزیم PAL شاهد در رقم حساس (’Beaudine’) روند کاهشی داشته است. در آزمایش انجام شده SA تاثیر معنی داری در سطح ۵ درصد طی روزهای مختلف بر تشکیل لیگنین و فعالیت آنزیم PAL در دو رقم مقاوم و حساس داشته و هر چه به تعداد روزهای آزمایش افزوده شده بر میزان فعالیت آنزیم و میزان تشکیل لیگنین نیز اضافه شده است به طوری که این مقدار در روز نهم به اوج خود می رسد به علاوه میزان فعالیت آنزیم PAL و میزان لیگنین دررقم مقاوم بیشتر از رقم حساس بوده و بیشترین فعالیت در هر دو رقم مربوط به غلظت ۱۵۰ میلی مولار در مقایسه با شاهد بود (شکل ۲و۱).



شکل ۱- تاثیر سالیسیک اسید بر میزان فنیل آلانین آمونیالیاز در دو رقم حساس و مقاوم به خمیدگی ساقه ژربرا



شکل ۲- تاثیر سالیسیک اسید در روی میزان لیگنین در دو رقم حساس و مقاوم به خمیدگی ساقه ژربرا

بحث

سالیسیلیک اسید یک مولکول مهم دخیل در پاسخ دفاعی علیه استرس های زنده و غیر زنده محسوب می شود و دو مسیر برای بیوسنتز آن وجود دارد (چن، ۲۰۰۹). مطالعات بیوشیمیایی در گیاهان با استفاده از ایزوتوپ ها نشان داده که یک مسیر بیوسنتز SA گیاهی، از سینامات (مسیر فنیل پروپانوئید) و مسیر دیگر از ایزوکاریسمات به سمت تشکیل SA است. مسیر فنیل پروپانوئید اصلی ترین مسیر تولید متابولیت های ثانویه در گیاهان محسوب می شود که در نهایت منجر به تولید انواع ترکیبات همچون آنتوسیانین ها، فلانوئیدها، محافظین اشعه UV، لیگنین ها و استرهای فنولی خواهد شد (هرمان ، ۱۹۹۵). فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) به عنوان آنزیم حیاتی در این مسیر بوده که منجر به تبدیل ال-فنیل آلانین به ترانس-سینامیک اسید به عنوان پیش ساز فنیل پروپانوئیدهای گوناگون مانند لیگنین ها می¬باشد (شوستر و ریتی¬، ۱۹۹۵). سالیسیلیک اسید از طریق افزایش تجمع mRNA ی آنزیم PAL و همچنین از طریق افزایش سنتز پروتئین جدید PAL فعالیت آنزیم را افزایش می¬دهد (چن و همکاران، ۲۰۰۶ و چامخا و همکاران، ۲۰۰۳). بر اساس نتایج آزمایش تیمار اسید سالیسیلیک منجر به افزایش فعالیت آنزیم و در نتیجه افزایش لیگنین به عنوان ترکیب فنلی گردید؛ که با نتایج تحقیقات مذکور مطابقت دارد. به طور کلی میزان فعالیت آنزیم PAL طی دوره پس ازبرداشت در رقم مقاوم بدون تیمار هورمونی افزایش یافته و در رقم حساس کاهش پیدا کرده است؛ لیکن با توجه به روند سنتز لیگنین بیشترین میزان فعالیت آنزیمی و تشکیل لیگنین در مقایسه با شاهد در تیمار هورمونی مشاهده گردید. بنابراین تیمار اسید سالیسیلیک میزان فعالیت آنزیم PAL، میزان تشکیل لیگنین در دو رقم و به میزان بیشتر در رقم مقاوم را بیشتر تحت تاثیر قرار داد. برهمین اساس سالیسیلیک اسید به ویژه در غلظت ۱۵۰ میلی مولار می تواند به عنوان عامل محرک فعالیت آنزیم PAL، باعث افزایش تشکیل لیگنین در ساقه گل ژربرا شود. طبق آزمایشاتی که پی سر و همکارانش (۱۹۹۸) بر روی گل شاخه بریده ژربرا انجام دادند خمیدگی از رقمی به رقم دیگر متفاوت بود. این مسئله بیانگر این می باشد که یکی از دلایل خمیدگی در ارقام مختلف وابسته بودن آن به ژنتیک می باشد که آزمایشات انجام گرفته نیز موید این مطلب است. در آزمایشی کامپوس-وارگاس وسالتویت (۲۰۰۲) بیان کردند که استفاده از SA با غلظت ۱۵۰ مول بر لیتر فعالیت PAL را در انگورهای چیده شده پس از آغشتگی، به طور محسوسی افزایش داد.

نتیجه گیری کلی

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، تیمار کوتاه مدت ژربرا با SA به عنوان محرک پس از برداشت فعالیت آنزیم PAL منجر به افزایش فعالیت آنزیم و در نتیجه تشکیل و تجمع لیگنین در ساقه و نهایتا باعث استحکام ساقه و در نتیجه افزایش عمر پس از برداشت گل و کاهش خمیدگی می¬گردد.

منابع

1. Bruce, R.J., West, C.A., 1989. Elicitation of lignin biosynthesis andisoperoxidase activityby pectic fragments in suspension cultures ofcastor bean. Plant Physiol. 91, 889–897.
2. Campos-Vargas, R., Saltveit, M.E., 2002. Involvement of putative chemical wound signals in the induction of phenolic metabolism in wounded lettue. Physiol. Plantarum 114, 73–84.
3. Chamkha, M., Cathala, B., Cheynier, V., Douillard, R., 2003. Phenolic composition of champagnes from Chardonnay and Pinot Noir vintages
4. Chen, Z. Zheng, Z. Huang, J . Lai, Z. Fan, B. 2009. Biosynthesis of salicylic acid in plants. Plant Signaling & Behavior.
5. Dixon, R.A., Paiva, N.L., 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell 7, 1085–1097 J. Agric. Food Chem. 51, 3179–3184
6. El-Tayeb, M. A., 2005, Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid, Plant Growth Regulation, 45: 215-225.
7. Fraissinet-Tachet, L., Baltz, R., Chong, J., Kauffmann, S., Fritig, B., Saindrenan, P., 1998. Two tobacco genes induced by infection, elicitor and salicylic acid encode glucosyltransferases acting on phenylpropanoids and benzoic acid derivatives, including salicylic acid. FEBS Lett. 437, 319–323
8. Gerasopoulos, D. & B. Chebli. 1999. Effects of pre- and post harvest calcium application on the vase life of Gerbera. J. of Hort. Sci. and Biotech. 74(1): 78-81.
9. Herrmann, K. M., 1995. The Shikimate Pathway as an Entry to Aromatic Secondary Metabolism. Plant physiology.
10. Metwally, A., 1. Finkerneier, M. Georgi and K.J. Dietz, 2003, Salisylic asid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings, Plant physiol. 132: 272-281.
11. Nazari deljou, M.J., A. Khalighi, M. Arab and R. Karamian, 2011. Postharvest evaluation of vase life, stem bending and screening of cultivars of cut gerbera Gerbera jamesonii Bolus ex. Hook f.) flowers. Afr. J. Biotech., 10(4): 560-566.
12. Peiser, G., López-Gálvez, G., Cantwell, M. and Saltveit, M.E. 1998. Phenylalanine Reid, M.S. 198914:171-177.
13. René R.J. Perik, Dephine Razé, Harmannus Harkema, Yuan Zhong1, Wouter G. van Doorn. Bending in cut Gerbera jamesonii flowers relates to adverse water relations and lack of stem sclerenchyma development, not to expansion of the stem central cavity or stem elongation. Postharvest Biology and Technology 74 (2012) 11–18.
14. Schuster, B., Retey, J., 1995. The mechanism of action of phenylalanine ammonia-lyase: the role of prosthetic dehydroalanine. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 92, 8433–8437.
15. Yalpani, N., Le´on, J., Lawton, M.A., Raskin, I., 1993. Pathway of salicylic acid biosynthesis in healthy and virus-inoculated tobacco. Plant Physiol. 103, 315–321.

Postharvest Induction of PAL Enzyme Activity and inhibition of gerbera stem bending disorder by Salicylic Acid Pulse Treatment

P. Sayadi[1]*, M.J. Nazari Deljou, M. Shamili

1- MS.C. in plant production, horticultural crops production, Damghan branch, Islamic Azad University, Mahabad- Iran. 2- Department of Horticultural sciences, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad– Iran. 3- Department of Horticultural sciences, Hormozgan Branch, University, Bandarabbas- Iran.

*Sayadi_2012@yahoo.com

Abstract

Gerbera cut flower with more than 500 cultivars is one of the 10th important cut flower in the world. Based on the cultivar variation with different stem bending percentages and low information about lignification and lignifying enzymes, consequently their effects on stem strength and stem bending, an experiment was conducted to evaluate the effects of pulse treatment of salicylic acid (SA) (0. 75 and 150 mM) on PAL enzyme activity, lignification and stem bending of two gerbera cultivars with low and high stem bending percentages in a factorial experiment based on the completely randomized design with three replications. Results showed that cultivar, SA and their interaction effects had significant effect on PAL enzyme activity, lignification and stem bending. Accordingly, in comparison to control, the minimum stem curvature and maximum enzyme activity and vase life (9 days) were observed in 150 mM SA pulse treatment. Also, “Aqua” cultivar as resistance cultivar to stem break was affected more than sensitive cultivar “Beaudine” by SA. The results of the present study led to conclusion that SA pulse treatment of gerbera could be a proper treatment for induction of PAL activity and decreasing of stem bending.

Keywords: gerbera, salicylic acid, stem bending, PAL enzyme, lignification