دانشکده : کشاورزی

رساله دکتری رشته: علوم باغبانی

عنوان رساله:

بررسی بیان ژن آنزیم‌های سینامات ۴-هیدروکسیلاز، ۴-کومارات کوآ لیگاز و فنیل آلانین آمونیالیاز در گیاه دارویی آگاستاکه

نام دانشجو:

فاطمه رؤف فرد.

استاد راهنما(اصلی):

دکتر رضا امید بیگی

استاد راهنما(دوم):

دکتر مظفر شریفی.

شهریور ۱۳۹۱

بسم الله الرحمن الرحیم

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

خانم فاطمه رؤف فرد رساله ۱۸ واحدی خود را با عنوان : بررسی بیان ژن آنزیم‌های سینامات ۴ -هیدروکسیلاز، ۴-کوماراتکوآ لیگاز و فنیل آلانین آمونیالیاز در گیاه دارویی آگاستاکه

در تاریخ ۹۱/۶/۲۶ ارائه کردند.

اعضای هیأت داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آن را برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می کنند.

اعضاء	رتبه علمی	نام و نام خانوادگی	اعضای هیأت داوران
	استاد	دکتر رضا امید بیگی	۱- استاد راهنمای اصلی
	دانشیار	دکتر مظفر شریفی	۲- استاد راهنمای دوم
	دانشیار	دکتر مهرداد بهمنش	۳- استاد مشاور اول
	استاد	دکتر فاطمه سفیدکن	۴- استاد مشاور دوم
	استادیار	دکتر عبدالعلی شجاعیان	۵- استاد ناظر
	دانشیار	دکتر قاسم کریم زاده	۶- استاد ناظر
	دانشیار	دکتر سید رضا طبائی عقدائی	۷- استاد ناظر
	استاد	دکتر محمد رضا تقوی	۸- استاد ناظر
	استادیار	دکتر عبدالعلی شجاعیان	۹- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما با مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب .فاطمه رؤف فرد دانشجوی رشته علوم باغبانی ورودی سال تحصیلی ۸۶ مقطع دکترا دانشکده کشاورزی متعهد می‌شوم کلیه نکات مندرج در آئین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا:

تاریخ: ۸۷/۷/۲۶

آیین نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه‌دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل رساله دکتری نگارنده در رشته علوم باغبانی است که در سال ۱۳۹۱ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر رضا امیدبیگی و جناب آقای دکتر مظفر شریفی، مشاوره جناب آقای دکتر مهرداد بهمنش و مشاوره سرکار خانم دکتر فاطمه سفیدکن از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت‌چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت‌مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب فاطمه رؤف فرد دانشجوی رشته علوم باغبانی مقطع دکترا تعهد فوق وضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: فاطمه رؤف فرد

تاریخ و امضا

۹۱/۷/۱۲

دانشکده :کشاورزی

رساله دکتری رشته: علوم باغبانی

عنوان رساله:

بررسی بیان ژن آنزیم‌های سینامات ۴-هیدروکسیلاز، ۴-کومارات کوآ لیگاز و فنیل آلانین آمونیالیاز در گیاه دارویی آگاستاکه

نام دانشجو:

فاطمه رؤف فرد

استاد راهنما(اصلی):

دکتر رضا امیدبیگی

استاد راهنما(دوم):

دکتر مظفر شریفی

استاد مشاور(اول):

دکتر مهرداد بهمنش

استاد مشاور(دوم):

دکتر فاطمه سفیدکن

شهریور ۱۳۹۱

تقدیم به همسر صبورم

تشکر و قدردانی

ای هستی بخش، وجود مرا بر نعمات بی کرانت توان شکر نیست...

الهی مرا مدد کن تا دانش اندکم نه نردبانی باشد برای فزونی تکبر و غرور، نه حلقه ای برای اسارت و نه دست مایه ای برای تجارت، بلکه گامی باشد برای تجلیل از تو و متعالی ساختن زندگی خود و دیگران.

حال که توفیق انجام این رساله را یافته ام بر خود واجب می دانم از تمامی عزیزانی که در طی انجام این پژوهش از راهنمایی و یاری شان بهره مند گشته ام تشکر و قدردانی کنم و برای ایشان از درگاه پروردگار مهربان آرزوی سعادت و پیروزی نمایم.

بدین وسیله از استاد راهنمای گرانقدرم زنده یاد **دکتر رضا امید بیگی** که با راهنمایی و نظارت بر انجام مراحل این تحقیق زحمات فراوانی را تقبل فرموده، قدردانی نموده و از خداوند متعال علو درجات معنوی را برای ایشان خواستارم.

رهنمودهای بی دریغ و ارزنده استاد راهنمای ارجمندم جناب آقای **دکتر شریفی** در مراحل انجام این پروژه مرا بر آن می دارد تا با این جملات، هرچند کوتاه و ناکافی، سپاس گذاری خود را از این بزرگوار بیان کنم.

از اساتید مشاور ارجمندم جناب آقای **دکتر بهمنش** و سرکار خانم **دکتر سفیدکن** که در طول این تحقیق، با رهنمودها و تشویق های خود مرا مورد لطف خویش قرار دادند، صمیمانه سپاسگزارم.

از اعضاء محترم هیأت داوران آقایان **دکتر شجاعیان**، **دکتر کریم زاده**، **دکتر ظبائی عقدائی** و **دکتر نقوی** که زحمت بازخوانی و داوری این رساله را به عهده داشتند، صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از اساتید گرانقدر گروه علوم باغبانی خصوصا آقایان **دکتر احمدی**، **دکتر ارزانی** و **دکتر بابایی** کمال تشکر و امتنان را دارم.

از زحمات جناب آقای **مهندس توکلی** و سرکار **خانم خرمی شاد** مسئولین آزمایشگاه علوم باغبانی و علوم گیاهی سپاسگزارم.

از زحمات آقای معرفت اسماعیل زاده تشکر می نمایم.

از دوستانم به واسطه تمام همدلی ها و یاریشان تشکر می کنم.

از **همسرم** که با صبر و بردباری همواره همراه من بود بسیار سپاسگزارم.

و

از خدا می خواهم که توان سپاسگزاری از **پدر و مادر عزیزم** و نعمت نیکی کردن به این دو بزرگوار را به من عطا کند که در تمام طول زندگی، پشتوانه ام مهربانی ها، حمایت ها و راهنمایی های ایشان بود.

چکیده

آگاستاکه (*Agastache foeniculim* [Pursh] Kuntze) گیاهی علفی، چندساله و متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) می‌باشد. ماده موثره آن از نوع اسانس است که در برگ‌ها و گل‌ها ساخته می‌شود. متیل چاویکول، به عنوان جزء اصلی اسانس است که در صنایع عطرسازی و طعم‌دهندگی دارای اهمیت است. این ترکیب از طریق مسیر فنیل‌پروپانوئیدی که مسیر بیوسنتزی اغلب ترکیبات فنلی است ساخته می‌شود. در این مسیر سه واکنش اصلی وجود دارد ۱) آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)، برای تولید ترانس سینامیک اسید، آمین‌زدایی فنیل‌آلانین را کاتالیز می‌کند ۲) آنزیم سینامات ۴-هیدروکسیلاز (C4H)، ترانس سینامیک اسید را به p-کوماریک اسید تبدیل می‌کند ۳) آنزیم ۴-کومارات‌کوآلیگاز (4CL)، p-کوماریک اسید را برای ساختن p-کوماریل COA مصرف می‌کند. واکنش‌های متوالی کاتالیز شده توسط این سه آنزیم مسیر فنیل‌پروپانوئیدی عمومی را تشکیل می‌دهند. جاسمونیک‌اسید و متیل‌استر آن، متیل‌جاسمونات، ترکیباتی سیکلوپنتانونی از مشتقات اسید لینولنیک می‌باشند که از طریق مسیر اکتادکانوئید ساخته می‌شوند. شواهدی وجود دارد که جاسمونیک‌اسید و متیل‌جاسمونات به عنوان یک گروه از انتقال‌دهندگان مهم پیام در دفاع از گیاه در برابر زخم، حشره، حمله پاتوژن و غیره می‌باشند. این مولکول‌های سیگنال در برخی از مسیرهای انتقال پیام که القا کننده آنزیم‌های خاص کاتالیز کننده واکنش‌های بیوسنتزی برای تشکیل ترکیبات دفاعی هستند، دخالت می‌کنند و منجر به القای واکنش‌های دفاعی می‌گردند. در این پژوهش، تاثیر متیل‌جاسمونات بر مقدار و محتوای اسانس آگاستاکه و بر فعالیت آنزیم‌های PAL و 4CL، مقدار فنل کل و مقدار پروتئین کل بررسی شد و تاثیر آن بر بیان ژن‌های PAL، C4H و 4CL مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار و در شرایط هیدروپونیک انجام شد و گیاهان در معرض غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات (۰، ۰/۱و ۱mM) قرار گرفتند. همچنین در این پژوهش، قسمتی از cDNA ی مربوط به هر یک از ژن های PAL، C4H و 4CL برای اولین بار از این گیاه جداسازی و تعیین توالی شد. نتایج نشان داد که بعد از گذشت ۲۴ ساعت از شروع تیمار، متیل جاسمونات با غلظت ۰/۱mM در مقایسه با غلظت ۱mM و شاهد، درصد اسانس را به طور معنی داری افزایش داد با این وجود، غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار، تاثیر معنی داری بر مقدار متیل‌چاویکول نداشتند. ادامه آزمایش با غلظت ۰/۱mM متیل جاسمونات نشان داد که بعد از گذشت ۴۸ ساعت از شروع تیمار، گیاهان دریافت‌کننده متیل‌جاسمونات در مقایسه با گیاهان شاهد همین زمان، دارای مقادیر بیشتری متیل چاویکول بودند اما بعد از سپری شدن ۷۲ ساعت از تیمار، با گیاهان شاهد همین زمان از نظر مقدار متیل چاویکول اختلافی نداشتند. همچنین بعد از گذشت ۲۴ ساعت از شروع تیمار، فعالیت آنزیم PAL در گیاهان تیمار شده با ۱mM متیل جاسمونات، در مقایسه با گیاهان شاهد و تیمار شده با ۰/۱mM متیل‌جاسمونات به طور معنی‌داری افزایش یافت. به طور مشابه، فعالیت آنزیم 4CL نیز بعد از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار با ۱mMمتیل‌جاسمونات، در مقایسه با شاهد و تیمار ۰/۱mM، به طور معنی‌داری افزایش یافت. با این وجود تیمارهای متیل‌جاسمونات هیچ اثر معنی‌داری بر مقدار فنل کل بعد از گذشت ۸ ، ۱۲ و ۲۴ ساعت از تیمار در مقایسه با تیمارهای شاهد هر یک از زمان‌های یاد شده نداشتند. مقدار پروتئین کل با تیمارهای ۱ یا ۰/۱mM متیل‌جاسمونات بعد از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار در مقایسه با شاهد، به طور معنی‌داری افزایش یافت. متیل جاسمونات با هر دو غلظت ۱ و ۰/۱mM، باعث افزایش بیان ژن های PAL، C4H و 4CL در محدوده زمانی ۸ و ۱۲ ساعت پس از کاربرد آن در مقایسه با تیمار شاهد مربوط به همان زمان شد. نتایج این تحقیق پیشنهاد می کند که متیل جاسمونات با تاثیر بر بیان ژن ها (PAL، C4H و 4CL) و فعالیت آنزیم‌های (PAL و 4CL) مسیر بیوسنتز فنیل پروپانوئیدی احتمالا موجب افزایش متیل چاویکول در گیاهان آگاستاکه در سیستم کشت هیدروپونیک گردید.

کلمات کلیدی: آگاستاکه، متیل‌جاسمونات، متیل‌چاویکول، بیان ژن، سینامات ۴-هیدروکسیلاز، ۴-کومارات‌کوآلیگاز، فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

۱. مقدمه ۱
۲. بررسی منابع ۵
۲-۱. تاریخچه ۵
۲-۲. خاستگاه و پراکنش ۵
۲-۳. رده‌بندی ۶
۲-۴. خصوصیات گیاهشناسی ۶
۲-۵. مواد مؤثره ۸
۲-۶. محل تشکیل اسانس ۱۰
۲-۷. موارد استفاده ۱۰
۲-۷-۱. موارد استفاده دارویی ۱۰
۲-۷-۲. استفاده در صنایع غذایی ۱۲
۲-۷-۳. سایر موارد استفاده ۱۲
۲-۸. نیازهای اکولوژیکی ۱۳
۲-۸-۱. نور ۱۳
۲-۸-۲. آب ۱۳
۲-۸-۳. دما ۱۳
۲-۸-۴. خاک ۱۴
۲-۹. نیازهای تغذیه‌ای ۱۴
۲-۱۰. کاشت ۱۵
۲-۱۱. مراقبت های پس از کاشت ۱۶
۲-۱۱-۱. مبارزه با علفهای هرز ۱۶
۲-۱۱-۲. آفات و بیماریها ۱۶
۲-۱۲. برداشت ۱۷
۲-۱۳. متابولیسم اولیه و ثانویه ۱۷

۲-۱۳-۱. پیش ماده‌های ساختاری متابولیت‌های ثانویه ۱۹
۲-۱۳-۲. مسیر شیکیمات- کوریسمات ۲۰
۲-۱۳-۳. مسیرعمومی فنیل پروپانوئیدی ۲۲
۲-۱۳-۴. بیوسنتز متیل‌چاویکول ۲۷
۲-۱۴. پاسخ‌های دفاعی گیاه ۲۹
۲-۱۴-۱. نقش الیسیتورهای زیستی و غیر زیستی در افزایش متابولیت‌های گیاهی ۳۱
۲-۱۴-۲. مسیر جاسمونات ۳۳
۲-۱۴-۳. ساز و کار عمل متیل جاسمونات در پاسخ گیاهان به تنشهای محیطی ۳۵
۲-۱۵. مروری بر پژوهش‌های انجام شده ۳۶
۲-۱۶. پژوهش های انجام شده بر روی آگاستاکه در ایران ۴۳
۲-۱۷. اهداف مطالعه ۴۳
۳. مواد و روشها ۴۵
۳-۱. مبدأ بذر مورد استفاده ۴۵
۳-۲. عملیات کاشت در مزرعه ۴۵
۳-۳. عملیات کاشت در آزمایشگاه ۴۶
۳-۳-۱. آماده سازی محلول غذایی ۴۶
۳-۳-۲. تهیه محلول استوک متیل جاسمونات ۴۶
۳-۳-۳. انتقال گیاهان به محیط های کشت هیدروپونیک ۴۷
۳-۴. استخراج اسانس ۵۰
۳-۵. شناسایی ترکیب های تشکیل دهنده اسانس ۵۰
۳-۵-۱. مشخصات دستگاههای مورد استفاده ۵۱
۳-۶. سنجش‌های بیوشیمیایی ۵۲
۳-۶-۱. سنجش مقدار فنل کل ۵۲
۳-۶-۲. سنجش پروتئین کل ۵۲
۳-۶-۳. سنجش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) ۵۴

۳-۶-۴. سنجش فعالیت آنزیم ۴-کومارات‌کوآلیگاز (4CL) ۵۵
۳-۷. بررسی‌های مولکولی ۵۶
۳-۷-۱. محلول ها و بافر ها (Sambrook et al., 1989) ۵۶
۳-۷-۲. استخراج RNA کل از پیکر رویشی آگاستاکه (CinnaGen kit) ۵۸
۳-۷-۳. بررسی کمیت و کیفیت RNAی استخراج شده ۵۹
۳-۷-۴. الکتروفورز ژل آگارز (Sambrook et al., 1989) ۶۰
۳-۷-۵. واکنش رونویسی معکوس (Sambrook et al., 1989) ۶۱
۳-۷-۶. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ۶۳
۳-۷-۷. عکس برداری از ژل آگارز و کمی کردن باندهای حاصله ۶۶
۳-۷-۸. تعیین توالی ژن های PAL، C4H، 4CL و توبولین ۶۶
۳-۷-۹. رسم درخت فیلوژنی ۶۷
۳-۸. تجزیه های آماری ۶۷
۴. نتایج ۶۸
۴-۱. تاثیر متیل جاسمونات بر کمیت و کیفیت اسانس ۶۸
۴-۱-۱. محیط کشت هیدروپونیک اول ۶۸
۴-۱-۲. محیط کشت هیدروپونیک دوم ۶۹
۴-۲. نتایج بررسی های بیوشیمیایی ۷۱
۴-۲-۱. تاثیر متیل جاسمونات بر فنل کل ۷۱
۴-۲-۲. تاثیر متیل جاسمونات بر مقدار پروتئین کل ۷۲
۴-۲-۳. تاثیر متیل‌جاسمونات بر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز ۷۳
۴-۲-۴. تاثیر متیل‌جاسمونات بر فعالیت آنزیم 4CL ۷۴
۴-۳. نتایج بررسی های مولکولی ۷۶
۴-۳-۱. نتایج بهینه سازی استخراج RNA و سنتز cDNA از پیکر رویشی *Agastache foeniculum* ۷۶
۴-۳-۲. تعیین دمای مناسب Annealing (اتصال) برای توبولین، سینامات-۴-هیدروکسیلاز (C4H)، کومارات کوآلیگاز (4CL) و فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) ۷۷

۴-۳-۳. تعیین تعداد سیکل مناسب برای توبولین، سینامات-۴-هیدروکسیلاز (C4H)، کومارات کوآلیگاز (4CL) و فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL)..... ۷۸
۴-۳-۴.- جداسازی قسمتی از cDNA (Partial cDNA) از ژن توبولین، با استفاده از آغازگرهای طراحی شده..... ۷۸
۴-۳-۵. جداسازی قسمتی از cDNA (Partial cDNA) از ژن C4H ، با استفاده از آغازگرهای طراحی شده..... ۸۰
۴-۳-۶. جداسازی قسمتی از cDNA (Partial cDNA)از ژن 4CL، با استفاده از آغازگرهای طراحی شده..... ۸۳
۴-۳-۷. جداسازی قسمتی از cDNA (Partial cDNA) از ژن PAL، با استفاده از آغازگرهای طراحی شده..... ۸۵
۴-۳-۸. نتایج بررسی بیان ژن آنزیم سینامات -۴ –هیدزوکسیلاز به روش Semi quantitative-RT PCR تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل جاسمونات در زمان های مختلف پس از برداشت..... ۸۷
۴-۳-۹. نتایج بررسی بیان ژن آنزیم ۴-کومارات کوآ لیگاز به روش Semi quantitative-RT PCR تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل جاسمونات در زمان های مختلف پس از برداشت..... ۹۴
۴-۳-۱۰. نتایج بررسی بیان ژن آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز به روش Semi quantitative-RT PCR تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل جاسمونات در زمان های مختلف پس از برداشت..... ۱۰۰
۵. بحث..... ۱۰۶
۵-۱. متیل جاسمونات، مقدار و کیفیت اسانس آگاستاکه را تحت تاثیر قرار می دهد..... ۱۰۶
۵-۲. متیل جاسمونات با تاثیر بر بیان و فعالیت آنزیم های مسیر بیوسنتزی متیل چاویکول، باعث افزایش میزان آن می شود..... ۱۰۷
۵-۳. نتیجه گیری کلی..... ۱۱۶
۵-۴. پیشنهادها..... ۱۱۶
۶. منابع..... ۱۱۷

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱- مواد مورد نیاز برای تهیه محلول غذایی هوگلند تغییر یافته (پوربزرگی رودسری ۱۳۸۶).....۴۷
جدول ۳-۲- مشخصات برنامه گرادیان دوره متحرک مورد استفاده در HPLC.....۵۵
جدول ۳-۳- آب دیونیزه تیمار شده با DEPC(۰/۱درصد).....۵۶
۳-۴- مواد مورد نیاز برای تهیه بافر TBE.....۵۷
جدول ۳-۵- تهیه بافر سنگین کننده.....۵۷
جدول ۳-۶- مخلوط شماره ۱ برای ساخت cDNA.....۶۲
جدول ۳-۷- مخلوط شماره ۲ برای ساخت cDNA.....۶۳
جدول ۳-۸- توالی نوکلئوتیدی آغازگرهای مورد استفاده.....۶۴
جدول ۴-۱- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر مقدار اسانس، ۲۴ ساعت پس از شروع تیمار ۶۸
جدول ۴-۲- درصد ترکیبات شناسایی شده در اسانس آگاستاکه تحت غلظت های مختلف متیل جاسمونات، ۲۴ ساعت پس از استعمال تیمار ۶۹
جدول ۴-۳- درصد اسانس و ترکیبات شناسایی شده در آن حاصله از گیاهان تیمار شده با ۰/۱ mM متیل‌جاسمونات به مدت ۴۸ و ۷۲ ساعت و گیاهان شاهد همین زمان‌ها.....۷۱
جدول ۴-۴- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر مقدار فنل کل در زمان‌های مختلف پس از شروع تیمار.....۷۲
جدول ۴-۵- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر مقدار پروتئین کل در زمان‌های مختلف پس از شروع تیمار.....۷۲
جدول ۴-۶- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر فعالیت PAL در زمان‌های مختلف پس از شروع تیمار ۷۳
جدول ۴-۷- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر فعالیت 4CL ، ۲۴ ساعت پس از شروع تیمار.....۷۴
جدول ۴-۸- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن C4H ، ۲ ساعت پس از شروع تیمار ۸۸
جدول ۴-۹- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن C4H ، ۴ ساعت پس از شروع تیمار ۸۸
جدول ۴-۱۰- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن C4H ، ۸ ساعت پس از شروع تیمار ۸۹
جدول ۴-۱۱- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن C4H، ۱۲ ساعت پس از شروع تیمار.....۹۱
جدول ۴-۱۲- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن C4H، ۲۴ ساعت پس از شروع تیمار.....۹۲
جدول ۴-۱۳- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن 4CL ، ۲ ساعت پس از شروع تیمار.....۹۴
جدول ۴-۱۴- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن 4CL ، ۴ ساعت پس از شروع تیمار.....۹۵
جدول ۴-۱۵- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن 4CL ، ۸ ساعت پس از شروع تیمار.....۹۶
جدول ۴-۱۶- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن 4CL ، ۱۲ ساعت پس از شروع تیمار ۹۷
جدول ۴-۱۷- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن 4CL ، ۲۴ ساعت پس از شروع تیمار.....۹۹
جدول ۴-۱۸- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن PAL ، ۲ ساعت پس از شروع تیمار ۱۰۰
جدول ۴-۱۹- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن PAL ، ۴ ساعت پس از شروع تیمار ۱۰۱
جدول ۴-۲۰- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن PAL ، ۸ ساعت پس از شروع تیمار ۱۰۲
جدول ۴-۲۱- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن PAL، ۱۲ ساعت پس از شروع تیمار.....۱۰۳
جدول ۴-۲۲- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر بیان ژن PAL ، ۲۴ ساعت پس از شروع تیمار ...۱۰۴

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱- اندام‌های مختلف آگاستاکه (Britton and Brown, 1913) ۷
شکل ۲-۲- مسیرهای اصلی بیوسنتز متابولیت های ثانویه و ارتباط آنها با متابولیسم اولیه (Wink, 2010)..... ۲۰
شکل ۲-۳- مسیر بیوسنتزی شیکیمات – کوریسمات منجر به تشکیل آمینو اسیدهای آروماتیک از جمله L- فنیل آلانین می شود (Dewick, 2002)..... ۲۱
شکل ۲-۴- واکنشهای اصلی مسیر فنیل پروپانوئیدی عمومی (Mizutani, 1997)..... ۲۳
شکل ۲-۵- گوناگونی متابولیت های ثانویه حاصل از مسیر فنیل پروپانوئیدی (Vogt, 2010)..... ۲۴
شکل ۲-۶- ساختار شیمیایی متیل‌چاویکول..... ۲۸
شکل ۲-۷- مسیر پیشنهادی برای بیوسنتز متیل‌چاویکول و متیل‌اوژنول (Gang et al., 2001)..... ۲۹
شکل ۲-۸- واکنش‌های دفاعی در سلول گیاهی (Ebel & Mithofer 1998)..... ۳۱
شکل ۲-۹- تصویر شماتیک مسیر بیوسنتز جاسمونات‌ها و دیگر اکسی‌لیپین‌ها و میانجیگری آنها در انتقال پیام الیسیتور که منجر به تجمع متابولیت‌های ثانویه می‌شود..... ۳۵
شکل ۲-۱۰- مکانیسم اثر متیل‌جاسمونات بر روی بیان ژن‌های پاسخ دهنده به تنش‌های محیطی (Howe and Jander, 2008). ۳۶
شکل ۳-۱-گیاهان در مرحله ۶ برگی (عکس از نگارنده)..... ۴۵
شکل ۳-۲- نمایی از سیستم هیدروپونیک شماره ۱ (عکس از نگارنده)..... ۴۹
شکل ۳-۳-نمایی از سیستم هیدروپونیک شماره ۲ ..... ۴۹
شکل ۳-۴-استخراج اسانس با دستگاه کلونجر (عکس از نگارنده)..... ۵۰
شکل ۴-۱- تاثیر غلظت های مختلف متیل جاسمونات بر درصد اسانس آگاستاکه، ۲۴ ساعت بعد از تیمار. میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد است. حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p≤۰/۰۵ می‌باشد..... ۶۹
شکل ۴-۲-اثر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر مقدار پروتئین کل در آگاستاکه، ۲۴ ساعت پس از شروع تیمار ،میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد است. حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p≤۰/۰۵ می‌باشد..... ۷۳
شکل ۴-۳- اثر تیمار غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر فعالیت آنزیم PAL در آگاستاکه، ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار. میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد است. حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p≤۰/۰۵ می‌باشد..... ۷۴
شکل ۴-۴- اثر تیمار غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر فعالیت آنزیم 4CL در آگاستاکه، ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار. میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد است. حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p≤۰/۰۵ می‌باشد..... ۷۵
شکل ۴-۶-تعیین کیفیت cDNA با استفاده از پرایمرهای توبولین ۷۷
شکل ۴-۵- طرح الکتروفورزی بررسی کیفیت RNA، باندهای ۲۸s rRNA و ۱۸s rRNA کاملا مشهود است..... ۷۶
شکل ۴-۷- طرح الکتروفورزی تعیین دمای مناسب Annealing با استفاده از گرادیان دمایی در PCR ۷۷
شکل ۴-۸- طرح الکتروفورزی تعیین تعداد سیکل مناسب در PCR ۷۸
شکل ۴-۹- توالی قسمتی از cDNA در توبولین آگاستاکه ۷۹
شکل ۴-۱۰- نتایج حاصل از بلاست توالی به دست آمدهٔ توبولین از آگاستاکه..... ۸۰
شکل ۴-۱۱- توالی قسمتی از cDNAی C4H در آگاستاکه ۸۱

شکل ۴-۱۲- نتایج حاصل از Blastn توالی به دست آمده برای جداسازی C4H از آگاستاکه با سایر C4H های تعیین خصوصیت شده در سایر گونه های گیاهی ۸۲
شکل ۴-۱۳- توالی قسمتی از cDNA ی 4CL در آگاستاکه ۸۴
شکل ۴-۱۴- نتایج حاصل از Blastn توالی به دست آمده برای جداسازی 4CL از آگاستاکه با سایر 4CL های تعیین خصوصیت شده در سایر گونه های گیاهی ۸۴
شکل ۴-۱۵- توالی قسمتی از cDNA یPAL در آگاستاکه ۸۶
شکل ۴-۱۶- نتایج حاصل از Blastn توالی به دست آمده برای جداسازی PAL از آگاستاکه با سایر PAL های تعیین خصوصیت شده در سایر گونه های گیاهی ۸۶
شکل ۴-۱۷- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن C4H و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل جاسمونات ۲ ساعت پس از شروع تیمار ۸۸
شکل ۴-۱۸- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن C4H و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات ۴ ساعت پس از شروع تیمار ۸۹
شکل ۴-۱۹- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن C4H و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل جاسمونات ۸ ساعت پس از شروع تیمار ۹۰
شکل ۴-۲۰- اثر تیمار غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر مقدار نسبی بیان ژن C4H در آگاستاکه، ۸ ساعت پس از اعمال تیمار. میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد است. حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p\leq ۰/۰۵$ می‌باشد. ۹۰
شکل ۴-۲۱- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن C4H و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل جاسمونات ۱۲ ساعت پس از شروع تیمار ۹۱
شکل ۴-۲۲- اثر تیمار غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر مقدار نسبی بیان ژن C4H در آگاستاکه، ۱۲ ساعت پس از اعمال تیمار. میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد است. حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p\leq ۰/۰۵$ می‌باشد. ۹۲
شکل ۴-۲۳- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن C4H و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل جاسمونات ۲۴ ساعت پس از شروع تیمار ۹۳
شکل ۴-۲۴- اثر تیمار غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر مقدار نسبی بیان ژن C4H در آگاستاکه، ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار. میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد است. حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p\leq ۰/۰۵$ می‌باشد. ۹۳
شکل ۴-۲۵- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن 4CL و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل جاسمونات ۲ ساعت پس از شروع تیمار ۹۴
شکل ۴-۲۶- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن 4CL و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل جاسمونات ۴ ساعت پس از شروع تیمار ۹۵
شکل ۴-۲۷- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن 4CL و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل‌جاسمونات ۸ ساعت پس از شروع تیمار ۹۶
شکل ۴-۲۸- اثر تیمار غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر مقدار نسبی بیان ژن 4CL در آگاستاکه، ۸ ساعت پس از اعمال تیمار. میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد است. حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p\leq ۰/۰۵$ می‌باشد. ۹۷

شکل ۴-۲۹- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن 4CL و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل‌جاسمونات ۱۲ ساعت پس از شروع تیمار ۹۸
شکل ۴-۳۰- اثر تیمار غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر مقدار نسبی بیان ژن 4CL در آگاستاکه، ۱۲ ساعت پس از اعمال تیمار. میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد است. حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p\leq ۰/۰۵$ می‌باشد. ۹۸
شکل ۴-۳۱- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن 4CL و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل‌جاسمونات ۲۴ ساعت پس از شروع تیمار ۹۹
شکل ۴-۳۲- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن PAL و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل‌جاسمونات ۲ ساعت پس از شروع تیمار ۱۰۰
شکل ۴-۳۳- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن PAL و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل‌جاسمونات ۴ ساعت پس از شروع تیمار ۱۰۱
شکل ۴-۳۴- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن PAL و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل‌جاسمونات ۸ ساعت پس از شروع تیمار ۱۰۲
شکل ۴-۳۵- اثر تیمار غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر مقدار نسبی بیان ژن PAL در آگاستاکه، ۸ ساعت پس از اعمال تیمار. میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد است. حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p\leq ۰/۰۵$ می‌باشد. ۱۰۲
شکل ۴-۳۶- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن PAL و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل‌جاسمونات ۱۲ ساعت پس از شروع تیمار ۱۰۳
شکل ۴-۳۷- اثر تیمار غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات بر مقدار نسبی بیان ژن PAL در آگاستاکه، ۱۲ ساعت پس از اعمال تیمار. میله‌های عمودی نشان‌دهنده انحراف استاندارد است. حروف غیر یکسان نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p\leq ۰/۰۵$ می‌باشد. ۱۰۴
شکل ۴-۳۸- طرح الکتروفورزی محصول PCR ژن PAL و توبولین به عنوان کنترل داخلی تحت تاثیر غلظت های مختلف متیل‌جاسمونات ۲۴ ساعت پس از شروع تیمار ۱۰۵

۱. مقدمه

قدمت شناخت خواص دارویی گیاهان، شاید بیرون از حافظه تاریخ باشد. یکی از دلایل مهم این قدمت، حضور باورهای ریشه‌دار مردم سرزمین‌های مختلف در خصوص استفاده از گیاهان دارویی است. اطلاعات مربوط به اثرها و خواص دارویی گیاهان، از زمان‌های بسیار دور به تدریج سینه به سینه منتقل گشته، با آداب و سنن قومی درآمیخته و سرانجام در اختیار نسل‌های معاصر قرار گرفته است. طبق برخی از "سنگ نبشته"ها و شواهد دیگر، به نظر می‌رسد مصریان و چینیان در زمره نخستین اقوام بشری بوده باشند که بیش از ۲۷ قرن قبل از میلاد مسیح، از گیاهان به عنوان دارو استفاده کرده و حتی برخی از گیاهان را برای مصرف بیشتر در درمان دردها کشت داده‌اند (امید بیگی، ۱۳۸۴ الف).

در قرن حاضر تحقیقات گسترده‌ای بر روی گیاهان دارویی انجام پذیرفته و داروهایی با ماده مؤثره طبیعی افق‌های جدیدی را برای جامعه پزشکان و داروسازان پژوهشگر گشوده است. به طوری که در حال حاضر حدود یک سوم داروهای مورد استفاده در جوامع انسانی را داروهایی با منشاء طبیعی و گیاهی تشکیل می‌دهد و صنایع داروسازی جهان تلاش می‌کنند ساخت شیمیایی اقلام مربوط به دو سوم بقیه داروها نیز به تدریج منسوخ و به منابع گیاهی متکی گردد. از این رو، صنایع داروسازی و گروه‌های تحقیقاتی بسیاری از کشورها توجه خود را به کشت و تولید گیاهان دارویی معطوف داشته‌اند (امید بیگی ، ۱۳۸۴ ب). فلات ایران با بیش از ۷۵۰۰ گونه گیاهی که تعداد بسیار زیادی از آنها به دلایلی ارزش دارویی دارند گنجینه ژنتیکی ارزشمندی از مواد مؤثر دارویی است (امید بیگی، ۱۳۸۴ الف). با این وجود غنی‌سازی هر چه بیشتر این فلور ارزشمند با انواع گونه‌های گیاهی خصوصا گونه‌های دارویی، منافع علمی و اقتصادی بی‌شماری برای کشورمان فراهم می‌سازد و نیز با توجه به افزایش سریع جمعیت ایران و نیاز مبرم و روزافزون صنایع دارویی کشور به گیاهان دارویی جدید، به عنوان مواد اولیه تولید دارو، ضرورت مطالعه و تحقیق روی این دسته از گیاهان، بیش از پیش آشکار می‌گردد.

در این راستا گیاه آگاستاکه از جمله گیاهان دارویی و معطر ارزشمند است که در فلور کشور ما وجود نداشته است و بذرهای آن در سال ۱۳۷۲ توسط زنده یاد دکتر امیدبیگی به کشور وارد شد و در حال حاضر در سطوح مختلف در ایران کشت می‌شود. این گیاه در صنایع داروسازی، بهداشتی، آرایشی و غذایی کاربرد فراوان دارد .

آگاستاکه (*Agastache foeniculim* [Pursh] Kuntze) گیاهی علفی، چندساله و متعلق به خانواده نعناع (Lamiaceae) می‌باشد (امید بیگی و محمودی، ۱۳۸۹). این گیاه بومی آمریکا و کانادا است (Mallavarapu *et al*., 2004; Charles *et al*., 1991) که در ناحیه مدیترانه، شمال و مرکز اروپا کشت می‌شود. اسانس این گیاه رایحه‌ای شبیه انیسون دارد و اساسا در برگ‌ها و گل‌ها ساخته می‌شود (Omidbaigi *et al*., 2008). برگ‌ها و گل‌های این گیاه در تهیه دمنوش، کیک‌ها، شیرینی‌ها، سالادها و دسرها مصرف می‌شوند. همچنین برگ‌ها برای درمان ناراحتی‌های قلبی، درد قفسه سینه، القای عرق‌کردن جهت کاهش تب به کار می‌روند (Mallavarapu *et al*., 2004). اسانس این گیاه فعالیت ضدقارچی وضدمیکروبی دارد (Omidbaigi and Mahmoodi, 2010).

ماده مؤثره آگاستاکه از نوع اسانس است (شمس کیا، ۱۳۸۲). تمام پیکر رویشی گیاه حاوی اسانس است و مقدار اسانس در قسمتهای مختلف متفاوت است (Gershenzon and Croteav, 1990). در آگاستاکه اسانس‌ها، در کرک‌های ترشحی تولید و ذخیره می شود (Trilling *et al*., 1997).

اسانس‌ها اساساً دو گروهند ترپنوئیدها (مونوترپن‌ها و سزکوئی‌ترپن‌ها) و فنیل‌پروپانوئیدها (مانند اوژنول، چاویکول، متیل سینامات و ...). از نظر ژنتیکی، ترپنوئیدها و فنیل پروپانوئیدها از پیش سازهای متابولیسمی اولیه متفاوتی منشاء می‌گیرند و مسیر بیوسنتزی متفاوتی دارند (Sangwan *et al*., 2001).

فنیل پروپن‌ها مولکول‌های کوچک فنلی هستند که از مسیر بزرگ فنیل پروپانوئیدها مشتق می‌شوند و کلید عوامل گلدهی در گیاهان و گونه‌های بسیاری از جمله فلفل، چلیپائیان، دارچین، ترخون و ریحان می‌باشند (Gang *et al*., 2002). به علاوه، فنیل‌پروپن‌ها اجزای ضروری اسانس را تشکیل می‌دهند و طعم،

مزه و بو را برای اسانس به همراه دارند و در واکنش‌های دفاعی گیاهان و جذب گرده‌افشان‌ها دخالت دارند. بیوسنتز فنیل‌پروپانوئیدها از مسیر شیکمات (مسیر بیوسنتزی اسیدآمینه‌های حلقوی مانند فنیل آلانین و تیروزین) مشتق می‌گردد. مسیر شیکمات تنها در میکروارگانیزم‌ها و گیاهان وجود دارد (Sangwan *et al*., 2001).

مطالعات متعددی بر روی مقدار و محتوای اسانس آگاستاکه انجام شده است و در همه این مطالعات متیل‌چاویکول به عنوان جزء اصلی اسانس گزارش شده است (Charles *et al*., 1991; Mazza and Kiehn, 1992; Mallavarapu *et al*., 2004; Omidbaigi and Sefikon, 2003) که در صنایع عطرسازی و طعم‌دهندگی دارای اهمیت است (Fuentes-Granados and Widrlechner, 1995). متیل‌چاویکول از طریق مسیر فنیل‌پروپانوئیدی (Gang *et al*., 2001) که مسیر بیوسنتزی اغلب ترکیبات فنلی است ساخته می‌شود. در این مسیر سه واکنش اصلی وجود دارد ۱) آنزیم PAL[1]، برای تولید ترانس سینامیک اسید، آمین‌زدایی فنیل‌آلانین را کاتالیز می‌کند ۲) آنزیم C4H[2]، ترانس سینامیک اسید را به p-کوماریک اسید تبدیل می‌کند ۳) آنزیم 4CL[3]، p-کوماریک اسید را برای ساختن p-کوماریل COA مصرف می کند (Tuan *et al*., 2011). واکنشهای متوالی کاتالیز شده توسط این سه آنزیم مسیر فنیل‌پروپانوئیدی عمومی را تشکیل می‌دهند (Yamamura *et al*., 2001).

از آنجا که اغلب متابولیت‌های ثانویه دارای نقشی کلیدی در واکنش‌های دفاعی گیاه در برابر پاتوژن‌ها هستند، لذا افزودن مولکول‌هایی که در "پیام‌رسانی"[4] حمله پاتوژن دخالت دارند تولید متابولیت ثانویه را افزایش خواهد داد. اسید جاسمونیک و اشکال مشتق از آن نظیر متیل‌جاسمونات، مولکولهای مهم انتقال سیگنال گیاهی هستند که در واکنش به حمله پاتوژن‌ها دخالت می‌کنند از این رو می‌توانند متابولیزم

[1] phenylalanine ammonia-lyase

[2] cinnamate 4-hydroxylase

[3] 4-coumarate:CoA ligase

[4] signaling