مجله کشاورزی، جلد 9، شماره 1، بهار 1386، صص 75-67

مطالعه بیوسنتز ترکیبات سیانوژنیک در بادام (*Prunus dulcis*) تلخ و شیرین

عباس یداللهی [*]، کاظم ارزانی [**]، علی عبادی [***]، میشل ویرتنسون [****] و تریشیا فرانکس [****]

چکیده

سیانوژنز در جنس *Prunus* منجر به تولید ترکیبات سیانوژنیک گلیکوزیدی (نظیر ماده تک قندی پرونازین و دو قندی آمیگدالین) می‌شود. با وجود شناخته شدن مکانیسم توارث تلخی در جنس *Prunus* و گونه بادام، چرخه بیوسنتز ترکیبات سیانوژنیک در ژنوتیپ‌های مختلف آن مشخص نیست. لذا نمونه‌های میوه از ژنوتیپ‌های تلخ و شیرین بادام جمع‌آوری و پروتئین‌های محلول آنها استخراج شد. پروتئین‌های محلول با استفاده از مندلونیتریل گلوکوزیل ترانسفراز و آنتی بادی پلی‌کلونال تهیه شده برای آن، با روش ایمیونولوژیک وسترن و با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارآیی زیاد (HPLC) محصولات حاصل از این پروتئین مطالعه شدند. نتایج نشان داد که این آنزیم در همه ژنوتیپ تلخ و شیرین وجود داشته و در مراحل اولیه نمو بذر شروع به بیان شدن می‌کند و بیان آن در کلیه ژنوتیپ‌ها تا اواسط مراحل نمو قابل ردیابی است. در ژنوتیپ‌های شیرین با وجود افزایش غلظت پروتئین‌های محلول بذر، سنتز این پروتئین در 26-25 هفته بعد از گلدهی متوقف شده و فقط ژنوتیپ‌های تلخ همچنان به سنتز این آنزیم (پروتئین) ادامه می‌دهند. نتایج تجزیه متابولیت‌ها با HPLC نشان داد که همزمان با افزایش بیان این پروتئین از مقدار پرونازین کاسته شده و آمیگدالین در بذرها تجمع می‌یابد. بنابراین فقط ژنوتیپ‌های تلخ قادر به حفظ سطح زیاد از بیان پروتئین تا پایان نمو بذر هستند که نهایتاً باعث تبدیل پرونازین به آمیگدالین در بذر و ایجاد مزه تلخی می‌شود.

کلمات کلیدی: آمیگدالین، آنتی‌بادی، پرونازین، تلخی، سیانوژنز

[*] - دانشجوی دکترای باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران – ایران

[**] - دانشیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران – ایران (نویسنده مسئول مکاتبات : arzani_k@modares.ac.ir)

[***] - دانشیار، گروه باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران، تهران – ایران

مقدمه

سیانوژنز به معنای تولید متابولیت‌های ثانویه ازت داری است که به ترکیبات سیانوژنیک مشهورند (13). ترکیبات گلیکوزید سیانوژنیک در بافت‌های مختلف گیاهان مانند بافت‌های رویشی یا بذر وجود دارند و گیاهان بسیاری قادر به سنتز این ترکیبات هستند. حداقل 2500 گونه گیاهی از خانواده‌های رزاسه [1]، گرامینه [2]، لیناسه [3] و کمپوزیته قادر به سنتز یکی از ترکیبات سیانوژنیک هستند (1، 10 و 13). سیانید هیدروژن در گیاهان اساساً از ترکیبات سیانوژنیک آزاد می‌شود. اغلب ترکیبات سیانوژنیک دارای ترکیبات قندی ساده (مونوگلکیوزید) مانند لیناماریـن [4]، پرونازین و دورین [5] هستند ولی برخی از آنها نیز مانند آمیگدالین، ویسیانین [6] و گزراننین [7] دو قندی یا چند قندی هستند. حدود 75 نوع ترکیب سیانوژنیک در گیاهان شناخته شده است (1). دو ترکیب سیانوژنیک گلیکوزیدی در بافت‌های مختلف جنس *Prunus* یافت شده‌اند. مونوگلیکوزید پرونازین در بافت‌های رویشی اغلب گیاهان یافت می‌شود. ولی آمیگدالین دی‌گلیکوزیدی است که فقط محدود به خانواده رزاسه است و وجود آن در بذرها گزارش شده است (11). تنها ترکیبات سیانوژنیک شناخته شده در بادام آمیگدالین و پرونازین هستند (2، 13 و 14).

آمیگدالین موجود در بذرها یک ترکیب دی‌گلیکوزیدی است که در برخی ژنوتیپ‌ها از مونوگلیکوزید پرونازین توسط عمل آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز ساخته می‌شود. درک رابطه بین این دو ممکن است به اصلاح یک گونه با پتانسیل تولید مقادیر زیاد از ترکیبات سیانوژنیک در ریشه منجر شود زیرا گزارش شده است که وجود پرونازین در ریشه ها مانع حمله نماتدها به ریشه گیاه می‌شود (3 و 5).

تولید پرونازین در بافت‌های رویشی ممکن است یک صفت کمّی باشد درحالی‌که تبدیل آن به آمیگدالین در بذرها توسط یک تک ژن کنترل می‌شود. بنابراین ژنوتیپ‌های دارای مغز تلخ باید مقادیر زیادی پرونازین در ریشه داشته باشند درحالی‌که ژنوتیپ‌های شیرین ممکن است که دارای پرونازین یا فاقد آن باشند (3). شیرینی و تلخی در بادام توسط یک ژن دوآللی کنترل می‌شود و شیرینی بر تلخی غالب است (7). با این وجود همواره بادام‌هایی وجود دارند که درجات مختلفی از تلخی را نشان می‌دهند که به نام نیمه تلخ یا کمی تلخ [8] مشهور هستند. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که بادام‌های اهلی کاشته شده تجاری، به میزان زیاد هتروزیگوت هستند و اغلب والدین انتخاب شده در تلاقی‌های اصلاحی از

1- Rosaceae
2 - Greaminae
3 - Linaceae
4 - Linamarin
5 - Dhurrin
6 - Vicianin
7 - Xeranthin
8 - Semi Bitter

نظر ژن تلخی هتروزیگوت می‌باشند (3 و 14). در بادام، ژنوتیپ شیرین دارای یک آلل غالب (S) است درحالی‌که ژنوتیپ تلخ دارای دو آلل مغلوب (ss) می‌باشد. بنابراین احتمال دارد که ژنوتیپ‌های (Ss) باتوجه به تغییر نسبی سیستم غلبه درجات مختلفی از مزه تلخی را بیان کنند که در این صورت می‌توان انتظار ژنوتیپ‌های با مزه نیمه تلخ یا کمی تلخ را داشت.

گرده‌افشانی با منابع مختلف دانه گرده تأثیری بر مزه میوه ندارد و طعم میوه فقط به ژنوتیپ والد مادری وابسته است. بنابراین والد نر تأمین‌کننده گرده به همراه والد مادری ژنوتیپ میوه درخت یا بذر آن را تعیین می‌کنند و ژنوتیپ بذر کشت شده برای تولید نهال در طعم میوه آن مؤثر نیست. کلیه بذرهای یک درخت شیرین یا تلخ هستند و فقط ژنوتیپ بذر کشت شده در فنوتیپ (طعم) شیرینی و تلخی میوه بادام مؤثر است (2، 3 و 4). علی‌رغم این که مشخص شده است که توارث تلخی بادام تحت کنترل تک ژن است ولی جنبه‌های فیزیولوژیک متابولیسم این ترکیبات کاملاً روشن نیست و پروسه شروع سنتز و تجمع مواد سیانوژنیک در بذرها کاملاً مشخص نشده است (6). در پژوهش حاضر روند بیوسنتز و فعالیت آنزیم مندلو نیتریل گلیکوزیل ترانسفراز [1] و محصولات حاصل از آن در بادام‌های تلخ و شیرین بررسی شد.

مواد و روشها

مواد گیاهی شامل میوه‌های در حال رشد بادام بود که از درختان بادام حاصل از تلاقی ارقام میشن [2] و نونپاریل [3] جمع‌آوری شدند. گیاهان حاصل از تلاقی‌های فراوان در سال‌های 1998 و 1999 در محل لیندسی پوینت [4] ویکتوریا، استرالیا، (34/04 شمالی و 140/68 شرقی) بدون پیوند کاشته شده بودند. فنوتیپ گیاهان با آزمون تلخی و شیرینی مغزها معین شد. در دو فصل رویشی 6-2005 دو ژنوتیپ تلخ و شیرین با کدهای خاص انتخاب شده و در طول فصل در زمان‌های مشخص از میوه‌ها نمونه‌برداری انجام شد. در فصل دوم به منظور بررسی دقیق‌تر از سه ژنوتیپ تلخ و پنج ژنوتیپ شیرین نیز در 18 و 26 هفته بعد از گلدهی نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌ها بلافاصله با ازت مایع منجمد شده و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه آدلاید منتقل شدند.

پروتئین‌های محلول با استفاده از بافر جونز[5] 2000 (9) که کمی تغییر یافته بود استخراج شدند. بافت‌ها توسط هاون چینی و ازت مایع و به کمک دستگاه IKA® A11 کاملاً پودر شده و سپس به نسبت 1:1 تا 1:4 (بافت گیاه به بافر استخراج) برحسب به نوع بافت با دستگاه لرزاننده و همزن مغناطیسی مخلوط شدند. سپس

1 - Glucosyl Transferase

2 - Mission

3 - Nonpariel

4 - Lindsy Point

5 - Jones, 1999

مخلوط در سرعت 14000 دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریوفوژ شده و مایع روشناور برداشته شد.

تجزیه وسترن

جدا کردن پروتئین‌ها با روش الکتروفورز پروتئین‌ها در ژل پلی اکریلامید دو قسمتی (ژل متراکم‌کننده و جداکننده) انجام شد. سپس پروتئین به غشاء نیتروسلولزی (Hybond Tm-C Extra , Amersham) با روش انتقال نیمه خشک و انتقال تانکی [1] منتقل شدند (سلول انتقال Mini Trans – Blot ® Bio – Rad). پروتئین مندلونیتریل گلوکوزیل ترانسفراز بادام از طریق توالی‌یابی آمینواسید مشابه در سورگوم (*Sorghum bicolar*) جداسازی و استخراج شد (6). آنتی بادی پلی کلونال به این پروتئین از آزمایشگاه علوم دامی دانشگاه آدلاید با تزریق به خرگوش تهیه شد و آنتی بادی با غلظت یک به 300 برای پروب کردن بلات به کار رفت. آنتی بادی‌های باند شده با هورس ردیش پراکسیداز [2] با استفاده از (ECL Tm Western Blottog Analysis system Amersham) قابل شناسایی شده و سیگنال‌های بیوشیمیایی آن توسط دستگاه اسکنر (Bio–Rad) .Chem..Chemi Doc×Rs عکس‌برداری گردیدند.

بررسی کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا

آنالیز با دستگاه HPLC سری آجیلنت [3] 1100 انجام شد. عصاره گیاهی حاوی متانول ابتدا با استفاده از فیلتر (Millex-Hv Unit,0/45µm) خالص شده و با دستگاه تزریق‌کننده خودکار به میزان 7/5 مایکرولیتر برای هر نمونه تزریق شد. دمای ستون 25 درجه سانتی‌گراد، ستون آجیلنت ZORBAX Eclipse XDB-C18 و 5µm، ابعاد 150mm × 4/6 بود. فاز متحرک آب (A) و استونیتریل (B) و شرایط فازی شامل 1- 20 درصد B در 200 مایکرولیتر در دقیقه، 2 - صفر درصد B برای شش دقیقه، 3 – صفر درصد B تا 28/8 درصد B برای 10 دقیقه، 4 - 28/8 درصد B برای دو دقیقه، 5 - 28/8 درصد تا 100 درصد B برای 10 دقیقه، 6 - 100 درصد B برای دو دقیقه، 7 - 100 درصد B تا صفر درصد B برای پنج دقیقه، 8 - صفر درصد B برای هفت دقیقه بود. خروجی ستون توسط آشکارساز U.V با طول موج 190 تا 440nm اندازه‌گیری شد. سایر شرایط مطابق روش دیستنا و همکاران [4] (2002) بود (2).

1 - Semi Dry Tank Transfer

2 - Horse Radish Peroxidase

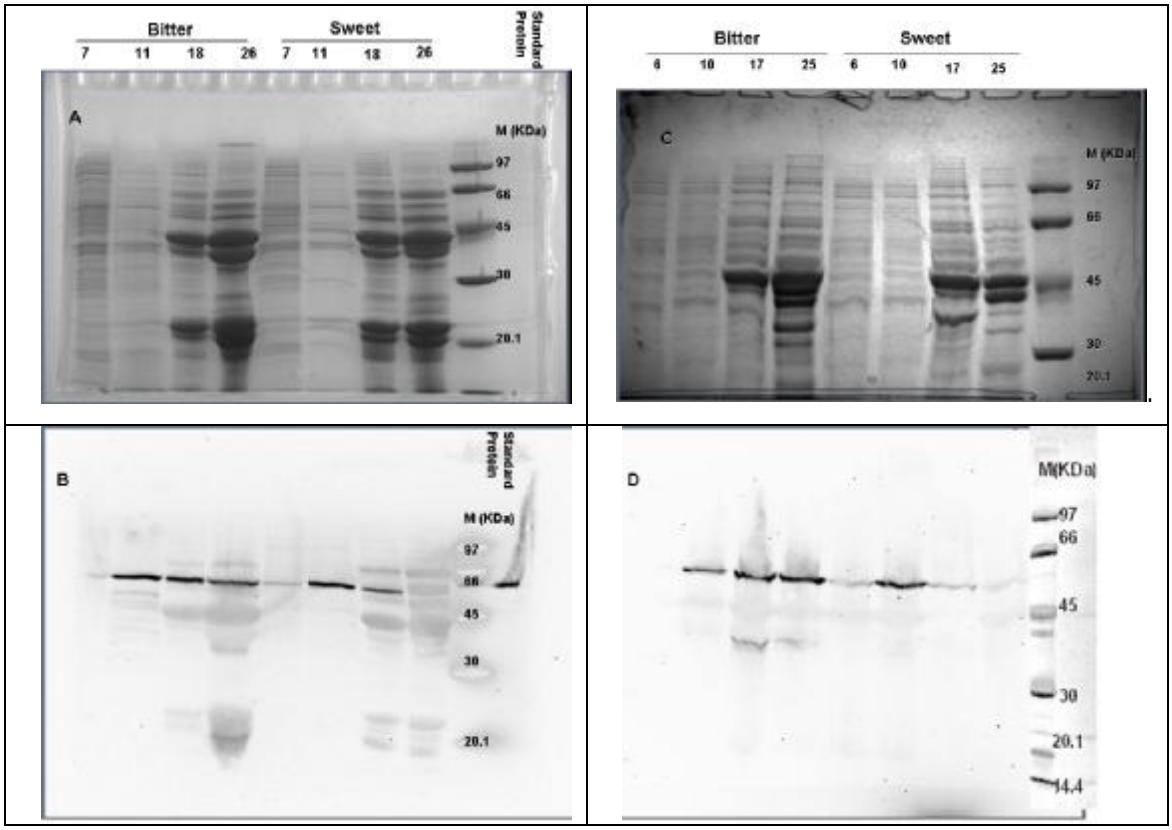
3 - Agilent 1100 series

4 - Dicenta *et al.*, 2002

نتایج و بحث

آنتی‌بادی پلی کلونال نسبت به گلوکوزیل ترانسفراز کاملاً اختصاصی عمل نمود و یک باند مشخص صحیح در محل پروتئین حدود 54 کیلودالتون را نشان داد که با سایر نتایج کاملاً مطابقت داشت (5). بررسی ترکیبات حاصل از گلوکوزیل ترانسفراز بادام در محیط *In vitro* نشان داد که این آنزیم بنزیل الکل و مندلونیتریل را به آر-پرونازین و سپس به آمیگدالین تبدیل می‌کند (5). بنابراین درصورت بیوسنتز آن می‌توان انتظار داشت که مقدار فرآورده آن افزایش پیدا کند. آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز در برخی گیاهان با افزودن گلوکز به مندلونیتریل تولید پرونازین و مجدداً با افزودن یک گلوکز دیگر تولید آمیگدالین می‌کند (8 ، 9 و 10).

منحنی رشد میوه در بادام نشان می‌دهد که دو هفته پس از تمام گل وزن خشک میوه شروع به افزایش می‌کند که تا 20 هفته بعد از گلدهی نیز ادامه دارد. در این زمان جنین کاملاً نمو یافته و میوه به حجم نهایی خود رسیده است ولی میوه‌ها هنوز سبز هستند و اندوکاپ سخت و چوبی شده است. سنتز و تجمع روغن‌ها در بذر حدود هفت هفته بعد از گلدهی انجام می‌گیرد (6). در سال دوم اجرای این تحقیق به علت افزایش میانگین دمای روزانه تغییرات نموی نسبت به سال قبل یک هفته زودتر انجام شد. بنابراین تغییرات نموی با یک هفته اختلاف زمانی نشان داده می‌شود. وقتی که آنتی بادی برای مقایسه پروتئین‌های محلول در طول فصل (سال‌های 2005 و 2006) در بادام‌های تلخ و شیرین استفاده شد، عدم حضور باند در محل مورد انتظار در هفته 7-6 نشانه عدم سنتز پروتئین موردنظر در میوه‌های تلخ و شیرین تا این زمان بود. از هفته 7-6 تا هفته 11-10 بعد از گلدهی میوه‌ها رشد سریعی داشتند درحالی‌که هیچ اثری از آمیگدالین دیده نشد و فقط مطابق انتظار مقدار کمی پرونازین ثبت گردید (12). در هفته 11-10 پس از گلدهی در هر دو ژنوتیپ تلخ و شیرین سیگنال‌های قوی در محل باند دیده شد. در این زمان پروتئین موردنظر در همه ژنوتیپ‌های تلخ و شیرین شروع به سنتز نمود و شدت بیان آن نیز ربطی به نوع ژنوتیپ نداشت. غلظت پروتئین‌های کل باتوجه به شکل (1) (A و C) از 18-17 هفته پس از گلدهی شروع به افزایش نمود که این امر با نتایج سایر تحقیقات مطابقت داشت (6). با وجود این سنتز پروتئین موردنظر فقط در ژنوتیپ تلخ افزایش یافت و در ژنوتیپ‌های شیرین کاهش یافت به‌طوری‌که در هفته 26-25 بیان پروتئین در ژنوتیپ شیرین تقریباً به صفر رسید (شکل 1 B و D). حداقل 10 روز پس از شروع سنتز آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز می‌توان انتظار داشت که فرآورده‌های آنزیم در گیاه تجمع یابند (1). تا زمان شروع تجمع ترکیبات سیانوژنیک (حدود هفته 13) کلیه مواد سیانیدی در میوه‌ها فقط شامل پرونازین بود و بعد از آن مقدار آمیگدالین به دلیل حضور آنزیم شروع به افزایش نمود که نشان وجود پرونازین در مراحل اولیه نمو میوه در بادام مطابق پژوهش‌های قبلی است (11 و 13).



شکل 1 - SDS-PAGE با رنگ‌آمیزی ژل با کوماسی آبی (بالا) و آنالیز وسترن ژل مشابه با استفاده از آنتی‌بادی پلی کلونال برای تشخیص وجود پروتئین گلوکوزیل ترانسفراز (پایین) در مغز بادام‌های تلخ و شیرین به منظور نشان دادن غلظت و پروتئین‌های مغز. A و B - 7، 11، 18 و 26 هفته پس از گلدهی (سال 2006)، C و D - 6، 10، 17، 25 هفته پس از گلدهی (سال 2005).

مطالعات بر روی بذر *P. Virganiana* و *Prunus serotina* Ehrh نشان داد که میوه‌ها در اوایل دوره نمو حاوی هر دو ترکیب پرونازین و آمیگدالین به نسبت 16 به یک هستند. این الگوی تجمع مواد سیانوژنیک با این حقیقت که در بادام‌های تلخ آمیگدالین ترکیب سیانوژنیک اصلی است کاملاً مطابقت دارد. الگوی مشابهی در تجمع آمیگدالین و افزایش نسبت آن به پرونازین در گیلاس (*P. Avium*) و شیر خشت (*C. bullata*) گزارش شده است (6). در یک تحقیق مشخص شد که در گیاه *P. serotina* Ehrh همزمان با افزایش سریع در مقدار وزن میوه در مرحله I رشد میوه، پرونازین نیز افزایش یافت و به 3/1 مایکرومول در هر میوه تا چهار هفته بعد از گلدهی رسید (12). از این مرحله بذرها و فرابر میوه حاوی مقدار مساوی پرونازین بوده و پس از آن مقدار پرونازین شروع به کاهش نمود و تا پایان مرحله III رشد میوه این کاهش ادامه یافت. ولی مقدار آمیگدالین از پنج هفته بعد از گلدهی که مقدار آن صفر بود شروع به افزایش نمود و در 11 هفته بعد گلدهی به پنج مایکرومول در میوه رسید. در شروع نمو لپه‌ها (هفته 6) آمیگدالین شروع به افزایش کرد به‌طوری‌که در هفته 11 بعد از گلدهی مقدار آن به سه

مایکرومول رسید. ولی مقدار پرونازین روند کاهشی داشت و مقدار آن در این روز تقریباً صفر شد. در 18-17 هفته بعد از گلدهی، بیان پروتئین گلوکوزیل ترانسفراز در ژنوتیپ‌های تلخ قوی‌تر از شیرین بود (شکل 1- B و D، شکل 2- B و C). با وجود جداسازی مقدار کمی پرونازین در ژنوتیپ‌های شیرین (6-8 mg/L)، مقدار پرونازین (50-60mg/L) و آمیگدالین (200-300mg/L) در ژنوتیپ‌های تلخ بسیار بیشتر بود. در هفته 26-25 بعد از گلدهی آنتی بادی فقط در ژنوتیپ‌های تلخ پروتئین را شناسایی کرد در همین حال مقدار پرونازین در این ژنوتیپ‌ها کاهش (10-20mg/L) و مقدار آمیگدالین (500-600mg/L) بسیار افزایش یافت و بعد از هفته 26 آمیگدالین بیش از 95 درصد مواد سیانوژنیک بادام‌های تلخ را تشکیل می‌داد (شکل 2-E و F).

تغییرات بیوشیمیایی مربوط به تولید ترکیبات سیانوژنیک در میوه *P.serotina* Ehrh نیز بررسی شده است (12). در مدت سه هفته بعد از گلدهی سه میکرومول پرونازین میوه‌های نارس تجمع نمود ولی قادر به تولید سیانید هیدروژن نبودند. زیرا در این زمان آنزیم‌های تجزیه‌کننده (پرونازین هیدرولاز [1]، آمیگدالین هیدرولاز [2] و مندلونیتریل لیاز [3]) وجود نداشت. به تدریج همراه با نمو لپه‌ها در اواسط مرحله II رشد میوه، میوه‌ها شروع به تجمع آمیگدالین (سه میکرومول در میوه) و آنزیم‌های تجزیه‌کننده نمودند و درصورت خرد کردن میوه‌ها، به شدت قادر به تولید سیانید هیدروژن بودند. در همین زمان مقدار پرونازین کاهش یافت و در هنگام رسیدن میوه مقدار آن در حد صفر بود. در مدت مرحله II (سه تا نه هفته بعد گلدهی) و مرحله III (12-10 هفته بعد گلدهی) فرابر میوه نیز آمیگدالین تولید نمود و مقدار پرونازین آن تدریجاً به صفر رسید. با این حال این قسمت از میوه به‌طورکلی فاقد آنزیم‌های ذکر شده بود و بنابراین توانایی تولید سیانید هیدروژن را نداشت. لذا بررسی روند بیوسنتز آنزیم‌های تجزیه‌کننده فوق در ژنوتیپ‌های مختلف بادام در سایر پژوهش‌ها می‌تواند مکانیسم بیوسنتز ترکیبات سیانوژنیک را کاملاً روشن نماید.

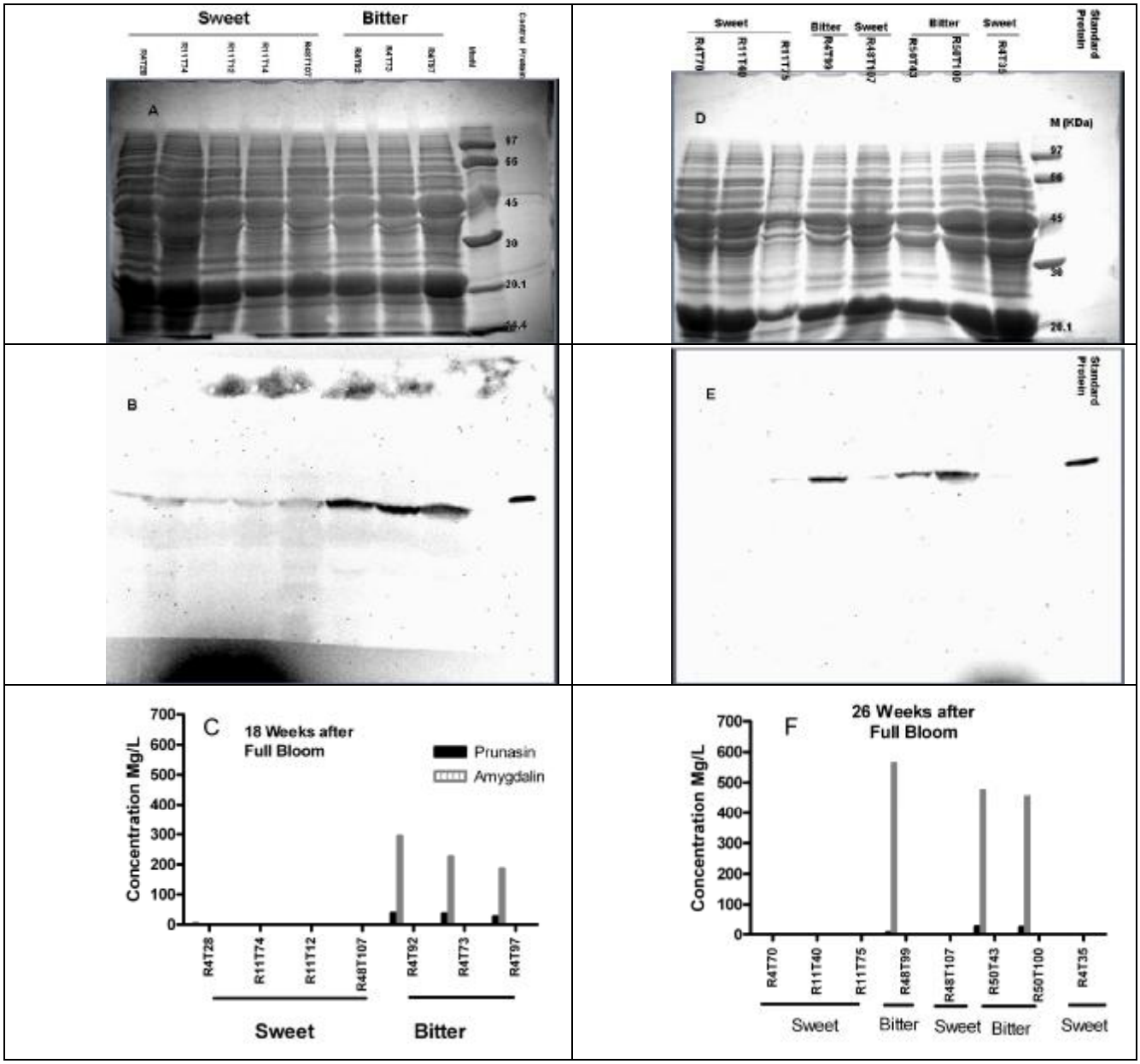
به‌طورکلی آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز در کلیه ژنوتیپ‌ها تولید می‌شود و تا اواسط فصل رویشی نیز ادامه می‌یابد. بنابراین مزه تلخ میوه به توانایی تولید این آنزیم بستی ندارد. بیان این پروتئین در ژنوتیپ‌های شیرین در اواسط فصل رشد متوقف می‌شود [4]. بنابراین تبدیل پرونازین به آمیگدالین نیز در این ژنونیپ‌ها اتفاق نمی‌افتد. ولی در ژنوتیپ‌های تلخ پروتئین همچنان تا اواخر فصل بیان شده و موجب سنتز آمیگدالین به عنوان ماده اصلی مزه تلخ در مغز میوه می‌شود. زیرا سنتز این پروتئین با فعالیت افزاینده گلوکز به مندلونیتریل و تولید آمیگدالین ارتباط مستقیم دارد.

1 - Prunasin Hydrolase

2 - Amygdalin Hydroase

3 - Mandelonytril Lyase

4 - Suppress



شکل 2 - SDS-PAGE با رنگ‌آمیزی ژل با کوماسی آبی (بالا) و آنالیز وسترن ژل مشابه با استفاده از با آنتی‌بادی پلی کلونال برای تشخیص وجود آنزیم گلوگوزیل ترانسفراز، باند سمت راست پروتئین استاندارد را نشان می‌دهد (وسط) و غلظت متابولیت‌های موجود توسط HPLC (پایین) در مغز بادام‌های تلخ (3 ژنوتیپ) و شیرین (5 ژنوتیپ) به منظور نشان دادن غلظت و پروتئین‌های مغز در سال 2006. A و B و C - 18 هفته پس از گلدهی،D، E و F - 26 هفته پس از گلدهی

References

1 . Chassagne D, Crouzet JC, Bayonove CL and Baumes RL (1996) Identification and quantification of passion fruit cyanogenic glycosides. J Agr Food Chem 44: 3817-3820.

2 . Dicenta F, Martinez-Gomez P, Grane N, Martin ML, Leon A, Canovas JA and Berenguer V (2002) Relationship between cyanogenic compounds in kernels, leaves, and roots of sweet and bitter kernelled almonds. J. Agr. F. Chem. 50: 2149-2152.

3 . Dicenta F, Berenguer V, Grane N, Martin ML, Leń A, and Martinez-Gomez P (1999) Relationship between cyanogenic compounds in seeds, leaves and roots of sweet and bitter kernelled almonds. VIII Congreso Nacional de la Sociedad Espaůola de Ciencias Hortcolas, Murcia (Spain) 351-355.

4 . Dicenta F, Martínez-Gomez P and Ortega E (2000) Cultivar pollinizer does not affect almond flavor. Hortscience 35: 1153-1154.

5 . Franks TK, Hayasaka Y, Choimes S and Heeswij RV (2005) Cyanogenic glucosides in grapevine: polymorphism, identification and developmental patterns. Phytochem. 66: 165-173.

6 . Frehner M, Scalet M and Conn EE (1990) Pattern of the cyanide-potential in developing fruits Plant Physiol. 94: 28-341.

7 . Heppner J (1926). Further studies on the factor for bitterness in the sweet almond. Genetics 8: 390-391.

8 . Jones DA (1998) Why are so many food plants cyanogenic? Phytochem. 47: 155-162.

9 . Jones PR, Andersen MD, Nielsen JS, HJ PB and Miller BL (2000) The biosynthesis, degradation, transport and possible function of cyanogenic glucosides. In: Ibrahim, R., Varin, L., DeLuca, V., Romeo, J.T. (Eds.), Recent Advances in Phytochemistry. The Biosynthesis, Degradation, Transport and Possible Function of Cyanogenic Glucosides, vol. 34. Elsevier Press, New York, London, pp. 191-247.

10 . Poulton JE (1990) Cyanogenesis in plants. Plant Physiol. 94: 401-405.

11 . Santamour JRFS (1998) Amygdalin in prunus leaves. Phytochem. 47(8): 1537-1538.

12 . Swain E, Li CP and Poulton JE (1992) Development of the potential for cyanogenesis in maturing black cherry (*Prunus serotina* Ehrh.) fruits. Plant Physiol. 98: 1423-1428.

13 . Vetter J (2000) Plant cyanogenic glycosides. Toxicon. 38: 11-36.

14 . Wirthensohn M, Collins G and Sedgley M (2004) Benefits to the Australian almond industry from international collaboration. Austral. Nutgrower. 18(1): 40.

Journal of Agriculture, Vol. 9, No. 1, Spring 2007

Study of Cyanogenic biosynthesis of bitter and sweet Almond (*Prunus dulcis*)

A. Yadolahi [*], K. Arzani [**], A. Ebadi [***], M. Winthensohn [****] and T. F. Franks [****]

Abstract

Cyanogenesis in *Prunus* species produces cyanogenic glycosides such as monoglycoside Prunasin and digelicosede amygdalin. Despite the mechanism of almond bitterness inheritance has been known, biosynthesis cycle of cyanogenic compounds among different genotypes is still unclear. Total soluble proteins of fruits was extracted from collected sweet and bitter almond genotypes and was studied using western immune blotting assay with Mandelonytril glycosidase and related polyclonal antibody, and products of this enzyme was studied by HPLC. Results showed that all of bitter and sweet genotypes had the ability of enzyme synthesis in the fruit and it is produced since mid stage of fruit development. Only bitter genotypes kept synthesis the enzyme and it was suppressed for sweet ones. The HPLC analysis of metabolites synthesized by the enzyme showed that the amount of cyanogenic content of bitter genotypes was much more than the sweet ones and merely in bitter genotype seeds prunasin content was reduced while amygdalin content was gradually increased. This means bitter genotypes could accumulate amygdalin in their seeds.

Key words: Amygdalin, Antibody, Bitterness, Cyanogenesis, Prunasin

[*] - Phd., Student, Department of Horticulture, Tarbiat Modarres University, Tehran - Iran

[**] - Associate Professor, Department of Horticulture, Agriculture Faculty, Tarbiat Modarres University, Tehran – Iran (Corresponding author: **arzani_k@modares.ac.ir**)

[***] - Associate Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran – Iran

[****] - Assistant Professor, The University of Adelaide, Adelaide – Australia