

مراحل تکوین کیسه های ترشعی اسانس میوه در حین نمو بکرایی از دیدگاه ساختاری و فیتوشیمیایی

بنفشه نصرتی^{۱*} و هما رجایی^۲

۱- عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون (عهده دار مکاتبات) banafsheh_nosrati@yahoo.com

۲- دانشیار بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز

چکیده

گونه های جنس *Citrus* (مرکبات)، دارای خاصیت تولید دو رگه های فراوان می باشند. بکرایی، دورگه دو گونه نارنگی (*Citrus reticulata* L.) و لیمو شیرین (*Citrus limetta* Risso.) است که در مناطق مختلف استان فارس یافت می شود. در این پژوهش پایه های بکرایی در باغهای جهرم، طی دو سال متوالی مورد بازدید مرتب قرار گرفتند. میوه های این گیاهان در سه مرحله نمو جمع آوری شدند و مراحل مختلف آماده سازی برای بررسی های ساختاری آنها با میکروسکوپ نوری انجام پذیرفت. در مراحل اولیه نمو میوه، سه گروه بافتی دارای سلول های کاملاً فشرده و در حال تقسیم بودند و طی تکوین، تقسیم در سلول های اپیدرمی کاهش یافت، تمایز بافت پاراننشیمی منحصر به افزایش ابعاد سلولها، ضخامت دیواره ای و فضای بین سلولی شد و تعداد و اندازه دسته های آوندی نیز در طی مراحل نمو میوه افزایش یافت. شکل گیری کیسه های ترشعی در میوه، به این صورت می باشد که بنیان گذاری کیسه منحصر به اولین مرحله تکوین است و همزمان با رشد میوه، این ساختار فقط افزایش ابعاد می دهد. با مشاهدات بافت شناسی ۵ مرحله برای بررسی تغییرات این ساختار در نظر گرفته شد.

ترکیبات اسانس در پوست میوه نارس و بالغ توسط دستگاه (Gas chromatography-Mass spectrometry) GC/MS شناسایی شدند. اسانس پوست میوه نارس و پوست میوه رسیده، به ترتیب دارای ۱۶ و ۲۳ ترکیب هستند. در نمونه های مورد مطالعه، لیمونن به عنوان ترکیب غالب شناسایی گردید. در عین حال، ترکیبات اسانس در طی تکوین میوه تغییراتی را متحمل می شود و به ترکیبات جدیدی تحول می یابد.

واژه های کلیدی: مرکبات، بکرایی، تکوین کیسه ترشعی

مقدمه

نموده است (۲). رایحه خوش مرکبات همیشه انگیزه ای برای استخراج اسانسهای روغنی معطر بوده و به همین علت آن را محصول دوم مرکبات به شمار می آورند. اسانس این گیاهان در صنعت دارو سازی نیز به دلیل خواص ضد میکروبی و ضد قارچی، مورد استفاده بسیار قرار می گیرد (۳). با توجه به قدمت مرکبات، کشت گسترده و خاصیت دو رگه گیری، هیبرید های فراوانی از آنها به وجود آمده اند (۴). از جمله بکرایی که دورگه نارنگی و

گیاهان متعلق به جنس *Citrus* معروف به مرکبات، به علت ویژگیهای اختصاصی از جمله وجود کیسه های ترشعی و تولید اسانس با رایحه مطبوع، همچنین داشتن میوه های خوراکی در مناطق مختلف مورد کشت قرار داشته و دارند (۱). محصول فراوان مرکبات در سواحل دریای خزر و جنوب کشور ایران، این کشور را به عنوان یکی از تولید کننده های مهم مرکبات به جهان معرفی

آبگیری، نمونه ها از یکسری محلول استن با درجه بندی های رو به افزایش (%۱۰-۵) عبور داده شدند. پس از آن در مرحله نفوذ پذیری ترکیب ویژه ای تحت عنوان Spurr's resin مورد استفاده قرار گرفت به این صورت که نمونه ها پس از آخرین مرحله آبگیری توسط استن %۱۰۰، به مخلوط استن و رزین به نسبت های مختلف (۲۵:۷۵، ۵۰:۵۰ و ۷۵:۲۵) منتقل شده و در نهایت در رزین خالص قرار گرفتند. قالب گیری، با قالب های مسطح (Flat mold) و ترکیب رزین و سپس برشهایی که توسط دستگاه اولترامیکروتوم LKB به ضخامت ۱ میکرومتر گرفته شده توسط چند قطره آبی تولوئیدین (Toluidin blue) %۱ رنگ آمیزی گردیدند. مشاهده و عکسبرداری توسط میکروسکوپ نوری مدل Zeiss مجهز به سیستم عکسبرداری Photo automat انجام پذیرفت (۷ و ۸). در هر بار اسانس گیری، قطعات پوست میوه در مراحل مختلف نموی، توزین و برای خرد کردن نمونه ها از دستگاه مخلوط کن (Blender) استفاده گردید. مخلوط حاصل را در بالن دستگاه مخصوص اسانس گیری (Clevenger) ریخته و به مدت ۳ ساعت حرارت دادیم. با استفاده از حلال پنتان (Pentane) از مخلوط شدن آب و اسانس جلوگیری به عمل آمد.

شیشه های حاوی اسانس پس از پیچیده شدن در پارافیلیم و فویل آلومینیومی جهت شناسایی ترکیبات به روش Gaschromatography & Mass GC/MS (spectrometry) به موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، بخش تحقیقات گیاهان دارویی واقع در تهران و همچنین دانشکده داروسازی دانشگاه شیراز ارسال شدند. (۹ و ۱۰)

نتایج

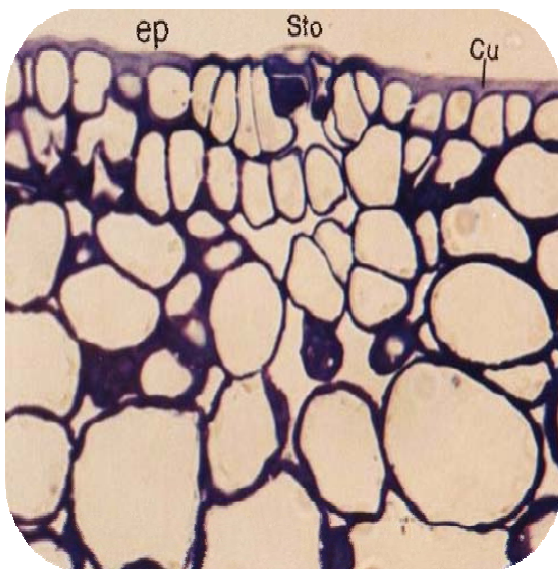
برش عرضی از پوست میوه در مراحل مختلف تکوین، نشان می دهد که بافت اپیدرمی به تدریج دارای افزایش ابعاد سلولها، کوتیکول ضخیمتر و تعداد کمی روزنه از نوع هم سطح (level) می شود. در این مراحل، در دیواره های سلولی به خصوص دیواره های آنتی کلین، افزایش ضخامت مشاهده می شود. در مرحله میوه نارس، در بعضی از سلولها تقسیم از نوع آنتی کلین وجود دارد (شکل ۱).

لیمو شیرین است. این گیاهان برای اولین بار از شهرستان کازرون واقع در استان فارس، جمع آوری شدند و به کلکسیون مرکبات دانشگاه ریورساید آمریکا اضافه شده اند. بکرایی مجموعه ای از خواص والدین خود را دارد. به عنوان مثال: پوست میوه مانند نارنگی به آسانی از قسمت خوراکی جدا شده و طعم لیمو شیرین را داراست. میوه مرکبات، نوعی سته آبدار تحت عنوان hesperidium است که فرابرا (pericarp) آن از ۳ قسمت برون بر (exocarp, flavedo)، میان بر (mesocarp, albedo) و درون بر (endocarp) تشکیل شده است. کیسه های ترشحي (oil gland) بیشتر در قسمت flavedo و به تعداد کمتر در بخش albedo قرار دارد (۵ و ۶). به دلیل اهمیت مرکبات در ایران و به خصوص استان فارس، از لحاظ تولید فراوان و استفاده در صنایع مختلف بهداشتی و دارویی، شناسایی ساختارهای ترشح کننده اسانس در این گروه، حائز اهمیت فراوان است. پژوهش حاضر، از دو جنبه تشریحی و فیتو شیمیایی به این مسئله مهم پرداخته است. با توجه به اینکه گیاه بکرایی، بومی کشور ایران است و در رابطه با ساختار کیسه های ترشحي و ترکیبات شیمیایی اسانس آن تا کنون گزارشی ارائه نشده است، تکوین کیسه های ترشحي میوه این گیاه، در مراحل مختلف نموی (میوه نارس، میوه در حال تغییر رنگ و میوه رسیده) مورد بررسی و در دو مرحله میوه نارس و بالغ، اسانس درون این ساختار استخراج و ترکیبات شیمیایی آن مورد مطالعه کمی و کیفی قرار گرفته است.

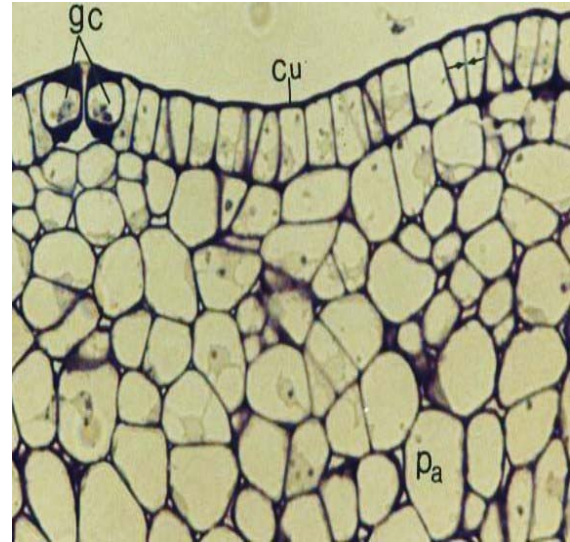
مواد و روشها

نمونه مورد بررسی طی دو سال متوالی (۸۱-۸۲) از باغهای مرکبات شهرستان جهرم (واقع در استان فارس)، جمع آوری و به منظور بررسی خصوصیات بافت شناسی به آزمایشگاه علوم گیاهی بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، منتقل شدند.

برای آماده سازی نمونه ها برای بررسی با میکروسکوپ نوری، ابتدا قطعات کوچک پوست میوه مربوط به مراحل مختلف نموی، در شیشه های حاوی گلوآرالدهید %۵ در بافر کاکودیلات ۰/۱ مولار به مدت ۲۴ ساعت و سپس به منظور تثبیت مضاعف توسط تتراکسید اسمیوم %۱ در بافر کاکودیلات، به مدت ۱ ساعت قرار داده شدند. در مرحله



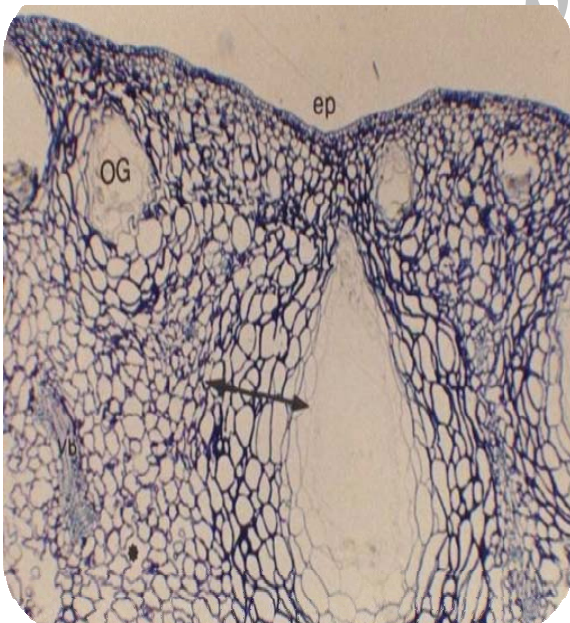
شکل ۳: برش عرضی از برون بر میوه رسیده
ep: اپیدرم، cu: کوتیکول، sto: روزنه



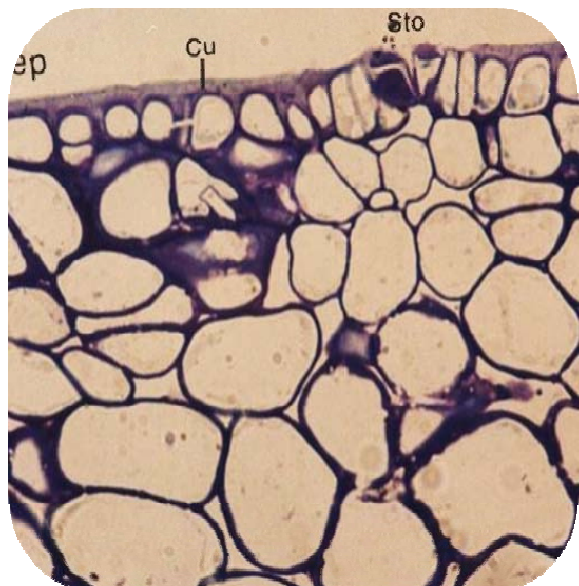
شکل ۱: برش عرضی پوست میوه نارس (×۴۰)
Cu: کوتیکول، gc: سلول نگهدارنده، Pa: پارانشیم (فلش نشان دهنده تقسیم آنتی کلین می باشد)

تعداد دسته های آوندی از مرحله میوه نارس به سوی مرحله میوه رسیده افزایش می یابد، به طوریکه در مراحل ابتدایی تنها آوندهای چوبی قابل تشخیص هستند، در صورتیکه در مراحل پیشرفته آوندهای آبکشی نیز قابل تشخیص می شوند (شکل ۴ و ۵).

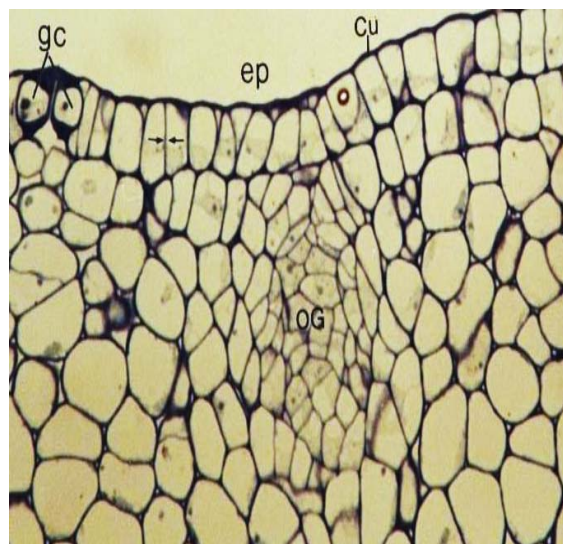
سلولهای پارانشیمی در زیر اپیدرم با فضای سلولی قرار گرفته اند که به تدریج به سمت میان بر، این فضاها بیشتر شده است. این سلولها در قسمت میان بر به فرم کشیده درآمده که به نظر می رسد این سلولهای پارانشیمی از طریق بازوهایی که به سمت هم می فرستند، با یکدیگر ارتباط برقرار می کنند (شکل ۳ و ۲).



شکل ۴: برش عرضی از پوست میوه نارس
OG: کیسه ترشچی، vb: دستجات آوندی (فلش دو سر افزایش لایه های تشکیل دهنده کیسه ترشچی را نشان می دهد)

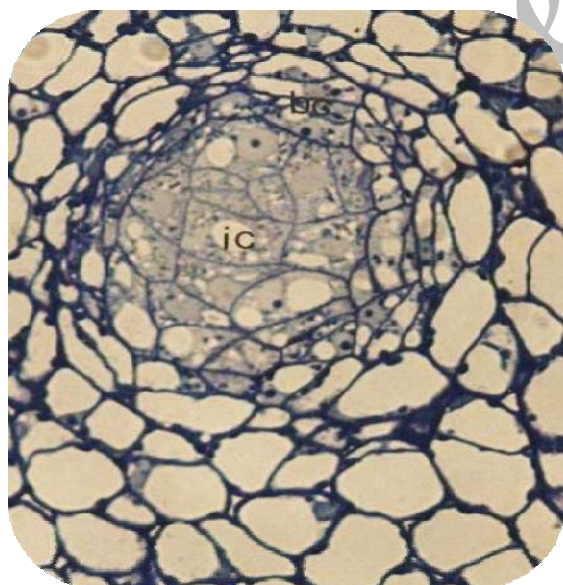


شکل ۲: برش عرضی از برون بر میوه در حال تغییر رنگ
ep: اپیدرم، cu: کوتیکول، sto: روزنه



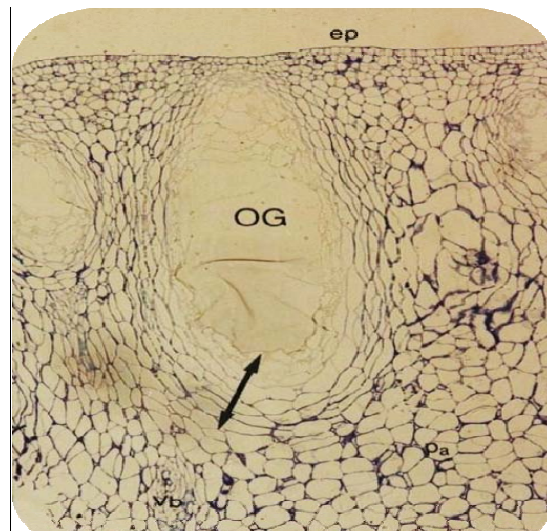
شکل ۷: مرحله دوم تشکیل کیسه ترشخی
OG: کیسه ترشخی در حال تکوین

بعد از این مرحله، تمایز بین سلولها آغاز شده، سلولهای داخلی (inner cells) دارای دیواره نازک و سیتوپلاسم غلیظ می شوند، سلولهای اطراف را که دیواره ای ضخیم و سیتوپلاسمی رقیق تر دارند سلولهای مرزی (boundary cells) می نامند (شکل ۸).



شکل ۸: مرحله تمایز سلولهای کیسه ترشخی
ic: سلولهای داخلی، bc: سلولهای مرزی

در مرحله تجزیه سلولی، ابتدا به علت از هم پاشیدن و از بین رفتن سلول مرکزی، حفره کوچکی تشکیل شده و در نهایت حفره بزرگی شکل می گیرد. سلولهایی که اطراف حفره قرار دارند دارای دیواره نازک و سیتوپلاسم

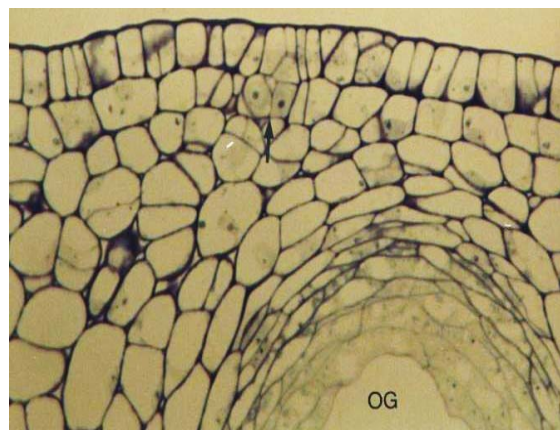


شکل ۵: برش عرضی از پوست میوه رسیده
OG: کیسه ترشخی، vb: دستجات آوندی (فلش دو سر افزایش لایه های تشکیل دهنده کیسه ترشخی را نشان می دهد)

در تکوین کیسه های ترشخی، مشاهدات بافت شناسی، روند تکوینی مشابهی را در کیسه های ترشخی میوه نشان می دهد. برای بررسی تغییرات این ساختار ۵ مرحله در نظر گرفته شده است:

۱- مرحله ۲-۶ سلولی، ۲- مرحله تشکیل یک توده بیضی شکل نامتمایز، ۳- مرحله تمایز بین سلولهای داخلی و خارجی کیسه ترشخی، ۴- شروع تحلیل رفتن سلولی، ۵- کیسه ترشخی کامل شده.

تشکیل کیسه ترشخی از تقسیم دو سلول زیر اپیدرمی با هسته مشخص آغاز و تا مرحله ۳۲ سلولی مشابه ادامه می یابد. سلولها دارای سیتوپلاسم غلیظ و هسته درشت مشخص هستند و اختلافی از نظر غلظت پروتوپلاسمی در سلولهای در حال تقسیم مشاهده نمی شود (شکل ۷و ۶).



شکل ۶: آغاز شکل گیری کیسه ترشخی
(فلش منشا دو سلولی را نشان می دهد)

میان بر (albedo) قرار دارند. در پوست میوه نارس، اکثر کیسه های ترشخی مراحل پایانی تکوین را طی کرده و تعداد کمی در مراحل اولیه شکل گیری می باشند (شکل ۴). به تدریج در مرحله میوه در حال تغییر رنگ، حجم و تعداد لایه ها افزایش یافته و سلولهای ترشح کننده اسانس، سیتوپلاسم خود را از دست می دهند. در مرحله میوه رسیده، تعدادی کیسه های ترشخی در اندازه های مختلف می شوند که همگی در مراحل پایانی نمو هستند. تعداد لایه های تشکیل دهنده کیسه های ترشخی متغیر است (بین ۴-۸ لایه) (شکل ۵). در این پژوهش اسانس پوست میوه نارس و بالغ بکرایی نیز از لحاظ کمی و کیفی مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج حاصل از آنالیز اسانس، مشخص گردید تعداد و نوع ترکیبات متشکله اسانس در مراحل مختلف با هم تفاوت دارند. طیف GC/MS اسانس پوست میوه نارس بکرایی، نشانگر ۲۳ ترکیب می باشد که لیمونن دارای بیشترین مقدار (۵۴/۵۹٪) است. طیف GC مربوط به اسانس پوست میوه رسیده ۱۶ ترکیب دارد که در آن نیز لیمونن با ۸۱ /۳۳٪ بیشترین مقدار را دارد. جدول شماره ۱ نشانگر ترکیبات تجزیه شده از اسانس پوست میوه نارس و بالغ می باشد.

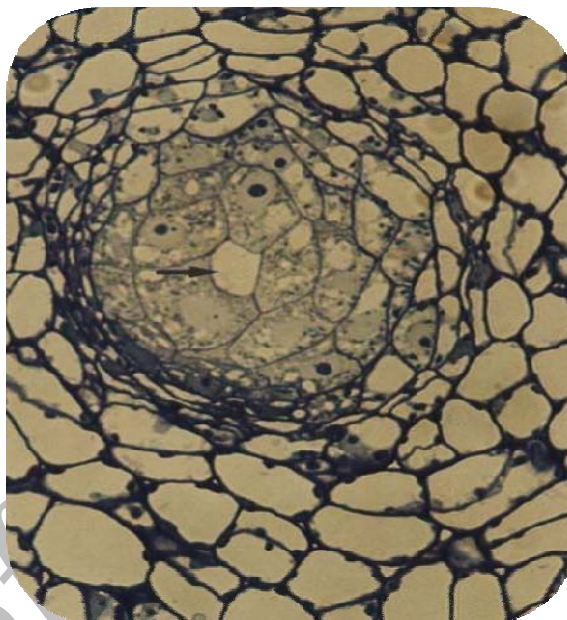
جدول ۱: ترکیبات تریپنی موجود در اسانس پوست میوه نارس و رسیده بکرایی (تنها ترکیبات بالاتر از میزان ۱٪ نشان داده شده اند)

پوست میوه رسیده		پوست میوه نارس	
ترکیب	درصد	ترکیب	درصد
Limonene	۸۱/۳۳	Limonene	۵۴/۵۹
Ocimene	۶/۵۵	Terpinene	۱۱/۴
verbenon	۲/۷۳	Sabinene	۸/۸
Myrcene	۲/۱۶	Myrcene	۵/۱۲
Pinene	۱/۶	Pinene	۳/۵۳
Citronellol	۱/۵۹	Linalool	۱/۹۴
Sabinene	۱/۵۹	Terpinolene	۱/۵۳
Trans-verbenol	۱/۵۲	Ocimene	۱/۱۳

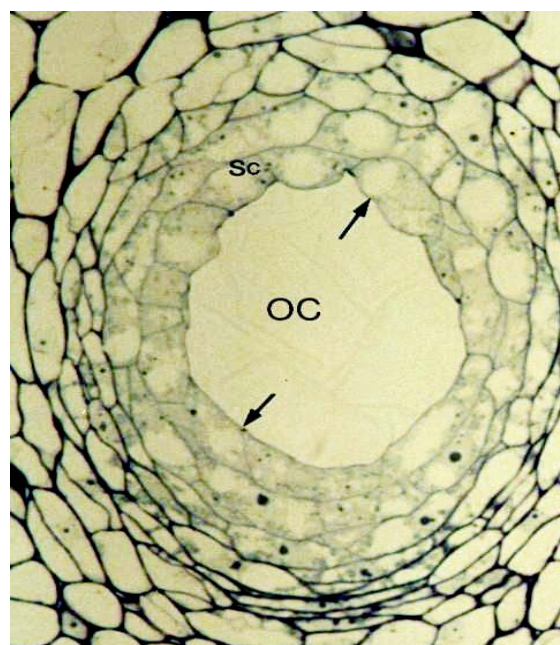
بحث و نتیجه گیری

با توجه به نتایج بافت شناسی پژوهش حاضر، رشد میوه بکرایی به ۳ مرحله قابل تفکیک است: در مرحله

غلیظ تر در مقایسه با سلولهای کشیده بیرونی هستند و به صورت غلاف سلولهای ترشخی را در بر می گیرد. ضخامت دیواره ای احتمالاً در جهت استحکام بخشیدن به کیسه ترشخی می باشد (شکل ۹ و ۱۰).



شکل ۹: آغاز تشکیل حفره مرکزی (فلش نشانگر حفره در حال شکل گیری است)



شکل ۱۰: کیسه ترشخی بالغ OC: حفره مرکزی، Sc: سلولهای ترشخی (فلشها افزایش حجم حفره مرکزی را نشان می دهد)

کیسه های ترشخی با اندازه های متفاوت در پوست میوه بکرایی، در قسمت برون بر (flavedo) و تا حدی در

رسیده در فواصل متفاوتی نسبت به اپیدرم تشکیل شده‌اند. آنهائی که در عمق پوست قرار دارند، دارای پایه بلند متشکل از چندین لایه سلولی هستند. در پژوهش انجام شده، نشان داده شده است که تشکیل کیسه های اسانس از تقسیم دو سلول زیر اپیدرمی آغاز می شود. بر اساس تعداد و ویژگیهای یاخته ای کیسه ترشحي، تکوین تدریجی این ساختار به ۵ مرحله مشخص قابل تفکیک است. نتایج مذکور با گزارش Knight و همکاران در سال ۲۰۰۱ که مراحل تکوین کیسه های ترشحي اسانس را در میوه پرتقال وارسته ناول با در نظر گرفتن ویژگیهای سلولی - بافتی، به ۶ مرحله تقسیم کردند، شباهت دارد (۱۲). همچنین گزارش Bosabalidis و Tsekos در مورد ابتدایی ترین مرحله تکوین کیسه های ترشحي گونه *Citrus deliciosa* مبنی بر دخالت دو سلول اپیدرمی و زیر اپیدرمی می باشد (۱۳ و ۱۴). بر اساس مشاهدات پژوهش حاضر، به نظر می رسد که تشکیل حفره مرکزی کیسه های ترشحي اسانس در پوست میوه بکرایی از طریق لیزوژنی باشد، اما به دلیل عدم برش گیری متوالی و پشت سر هم (Serial Sectioning) و همچنین وجود ساختار سه بعدی کیسه های ترشحي نمی توان نظر قطعی را اعلام کرد. Thomson و همکاران با مطالعه بر روی تکوین کیسه های ترشحي اسانس در پرتقال، تشکیل حفره را از طریق شیزوژنی (Schizogeny) اعلام نموده و جدایی دیواره سلولهای مرکزی را نتیجه کاهش مواد استحکام بخش دیواره می دانند (۱۵ و ۱۶). به اعتقاد Turner و همکاران پدیده لیزوژنی در کیسه های ترشحي *Citrus Lemon* به دلیل تشکیل مواد غیر واقعی ناشی از به کار بردن تثبیت کننده های کم غلظت می باشد، این محققین تشکیل حفره را در کیسه ترشحي این گونه، از طریق شیزوژنی اعلام کردند (۱۷). با استناد به یافته های پژوهش حاضر، به نظر می رسد که وجود لایه های منظم سلولی در اطراف حفره در کیسه بالغ، نظم در تشکیل حفره و گسترده تر شدن آن و فشردگی لایه ها در اطراف حفره، مخالف نظر Turner در توصیف وی از پدیده تحلیل رفتن به علت artefact باشد. در پژوهش حاضر مراحل تکوین کیسه های ترشحي در میوه بکرایی پرداخته شد و مشخص گردید که بنیان گذاری کیسه های ترشحي منحصر به مراحل اولیه تکوین میوه می باشد و همزمان با

اول (میوه نارس)، ضخامت برون بر و میان بر (flavedo, albedo) به علت تقسیمات سلولی در اپیدرم و سلولهای پارانشیمی افزایش می یابد. در مرحله دوم نمو، علاوه بر افزایش ابعاد در سلولها، تقسیمات سلولی به میزان کمتر در سلولهای اپیدرمی و پارانشیمی ادامه می یابد. در مرحله سوم (میوه رسیده)، تقسیمات سلولی تقریباً متوقف شده، سلولها تنها بزرگتر می شوند و همچنین ضخامت دیواره آنها افزایش می یابد. به اعتقاد Bain، رشد میوه پرتقال والنسیا نیز در ۳ مرحله اتفاق می افتد، مرحله اول بعد از افتادن گلبرگهاست که چندین ماه طول می کشد و با افزایش ضخامت فرابر (پری کارپ) در نتیجه تقسیمات سلولی، همراه می باشد. مرحله دوم، علاوه بر تغییر رنگ در میوه، شامل بزرگ شدن سلولها و تمایز سلولهای فرا بر است. در طی مرحله سوم، سرعت رشد کاهش یافته و میوه به رنگ اصلی خود در می آید (۱۱). در این پژوهش به بررسی مراحل تکوینی کیسه های ترشحي میوه پرداخته شده است. بر اساس نتایج بدست آمده، اندازه کیسه های ترشحي اسانس ارتباطی با درجه بلوغ آنها ندارد. بررسیهای ساختاری نشان می دهد که کلیه کیسه های ترشحي توسط پایه ای به فرم مخروطی، متشکل از چند لایه سلولی به اپیدرم متصل می باشند. Knight و همکاران با مطالعه بر روی میوه پرتقال وارسته ناول گزارش کردند کیسه های ترشحي از همان مراحل اولیه تکوین توسط یک ساختار پایه ای به اپیدرم متصل می باشند و سلولهای تشکیل دهنده پایه از اندازه کوچکتر و شکلی متفاوت نسبت به سلولهای پارانشیمی اطراف، برخوردار هستند (۱۲).

نظر به اینکه کیسه ترشحي ساختار سه بعدی دارد و با توجه به اینکه برش از چه قسمتی از آن گرفته شود، کیسه ترشحي به صورت پایه دار و یا بدون پایه قابل مشاهده است، به طوریکه اگر برش گیری از قسمت وسط کیسه ترشحي انجام شود، این ساختار به صورت پایه دار و اگر از قسمتهای کناری مقطع گیری شود، کیسه به صورت بدون پایه مشاهده می گردد. در واقع مسئله برش های متوالی (serial section) نوع کیسه را از نظر پایه دار و یا بدون پایه بودن مشخص می کند. دردو رگه بکرایی کیسه های ترشحي تا مرحله تغییر رنگ میوه در مجاورت اپیدرم مشاهده می شوند، در حالی که در پوست میوه

منابع

۱. خوبی، سلطنت (۱۳۷۱). اصول تغذیه مرکبات، موسسه تحقیقات خاک و آب. مرکز تحقیقات کشاورزی مازندران. ۲۶۶ صفحه.
۲. دلفر فرتیس، ولفانگ (۱۳۶۹). مرکبات کاشت و تغذیه. ترجمه دکتر محمود عظیمی تبریزی. انتشارات دانشگاه شهید چمران. ۲۴۸ صفحه.
3. British pharmacopeia (1993) .vol2., Appendix M-A 149.
4. Barrett, H. C. and A. M. Rhodes (1976). A numerical taxonomic study of affinity relationship in cultivated Citrus and its close relatives. Syst. Bot. 1:105-136
5. Fahn, A (1990). Plant anatomy. 4ed. Pergamon Press pp588.
6. Schneider, H., W. Reuther, L. D. Batchelor and H. J. Webber. (1968). The anatomy of *Citrus* in: *The Citrus industry*. Vol II university of California press. Berkley. pp:1-85.
7. Roland, J. C. (1978). General preparation and staining of thin section. Ruzin, S. E. (1999). Plant Microtechnique and Microscopy. New York: Oxford university press. pp 322.
8. Davies, N. W (1998). Gas chromatographic retention index of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl and cabowax 20M phases. *J. Chromatography*. 503:1-24.
9. Mitiku, S. B., M. Sawamura, T. Itoh and H. Ukeda. (2000). Volatile components of peel cold pressed oils of two cultivars of sweet orange (*Citrus Sinensis*) from Ethiop *Flavour and frag. J.* 15 (4) :240-244.
10. Bain, J. M. (1958). Morphological, anatomical and physiological changes in the developing fruit of the Valencia orange (*Citrus Sinensis*) *Aus. J. Bot.* 6(1):1-24.
11. Knight, T. G, A. Klieber and M. Sedgley (2001). The relationship between oil gland and fruit development in Washington Navel Orange (*Citrus Sinensis*) *Ann. Bot.* 88: 1039-1047.
12. Bosabilidis, A and I. Tsekos (1982a). Ultrastructure studies on the secretory cavities of *Citrus deliciosa* in the early رشد میوه کیسه های ترشحی صرفا افزایش ابعاد می یابند و بزرگ می شوند. مورد مشابهی نیز توسط Ford در رابطه با لیمو واریته Eureka اعلام شده است (۱۸). شناسایی ترکیبات اسانس از نظر کمی و کیفی در دوره بکرایی در مراحل مختلف نموی (پوست میوه نارس و پوست میوه بالغ) توسط دستگاه GC/MS انجام پذیرفت و نتایج بدست آمده نشان داد که ترکیبات موجود در اسانس اندام میوه در مراحل مختلف تکوین در نمونه مورد بررسی، بیشتر از نظر کمی اختلاف دارند تا کیفی. در نمونه های مورد مطالعه، Limonene ترکیب غالب اسانس را تشکیل می دهد و تعداد ترکیبات در مراحل مختلف نموی متفاوت است. علاوه بر این، در نمونه مورد بررسی و در مراحل مختلف نموی میوه، درصد ترکیب لیمونن از میوه نارس به میوه رسیده افزایش یافت. با توجه به کاهش تعداد ترکیبات در پوست میوه رسیده، می توان این چنین نتیجه گیری کرد که ترکیبات اسانس، با بلوغ اندام بطور تدریجی دچار یکسری واکنشهای شیمیایی گشته و ساختار آن تغییر می یابد. بطوریکه در نمونه مورد بررسی، قسمت عمده ترکیبات در اثر تغییرات شیمیایی، به لیمونن تبدیل شده اند. Nguyen و همکاران نیز در سال ۱۹۹۱، ترکیب لیمونن را به عنوان جزء اصلی اسانس گل *Citrus grandis* معرفی نمودند (۱۹). Dugo با مطالعه بر روی اسانس پوست میوه *Citrus reticulata* گزارش کرد ترکیب غالب اسانس را لیمونن تشکیل می دهد (۲۰). Faulhaber و همکاران نیز لیمونن را به عنوان ترکیب اصلی و α -pinene، myrcene و Sabinene را از جمله ترکیبات تشکیل دهنده اسانس پوست میوه *C. reticulata* معرفی کردند (۲۱ و ۲۲). Lota و همکاران در سال ۲۰۰۰ اسانس پوست میوه و برگ واریته های مختلف نارنگی (*Citrus reticulata*. Blanco) را مورد بررسی قرار داده و در پوست میوه، لیمونن و در برگ γ -terpinene را به عنوان مهمترین ترکیب تشکیل دهنده اسانس گزارش کردند (۲۳ و ۲۴). در پژوهش حاضر میوه نارس بکرایی با ۲۳ ترکیب، بیشترین تعداد ترکیبات را نسبت به میوه رسیده داشته است. در مورد ترکیبات تشکیل دهنده اسانس در پوست میوه بکرایی گزارشی در دست نیست.

- Journal of essential oil Research*. 3(5): 359 - 360.
19. Dugo, G. (1994). High resolution gas chromatography for detection of adulteration of *Citrus* cold pressed essential oils. *Perfum.Flavor*.19: 29-51.
 20. Faulhaber, S., U. Hener and A. Mosandl. (1997). GC/IRM analysis of mandarin essential Oils. 1. $\delta^{13}C$ CPDB and $\delta^{15}N$ NAIR values of Methyl lanthranilate. *J. Agric. Food chem.* 45: 2579-2583.
 21. Faulhaber, S, U. Hener and A. Mosandl. (1997). GC/IRM analysis of mandarin essential Oils. 2. $\delta^{13}C$ PDB values of characteristic flavor Componentes. *J. Agric. Food chem.* 45: 4719-4725.
 22. Lota, M. L., D. Serra, F. Tomi, J. Casano (1999). Chemical composition of peel and leaf essential oils of *Citrus medica* and *Citrus Limonimeditica*. *Flavoran Fragrance Journal*. 14: 161-166.
 23. Lota, M. L., D. Serra, F. Tomi and J. Casanova. (2000). Chemical variability of peel and leaf essential oils mandarin from *Citrus reticulata*. *Biochemical systematic and ecology*. 28: 61-78.
 - stages of the gland cells differentiation. *Protoplasma*. 112: 55-62.
 13. Bosabilidis, A and I. Tsekos (1982b). Ultrastructural studies on the secretory cavities of *Citrus deliciosa*. Development of the essential oil accumulating central space of the gland and process of active secretion. *Protoplasma*. 112: 63-70.
 14. Thomson, W., K. Platt- Aloia and A. G. Endress. (1976). Ultrastructure of oil gland development in the leaf of *Citrus Sinensis*. *Bot. Gaz.* 137(4): 330 - 340.
 15. Thomson, W, and K. Platt - Aloia, K. A. (1976). Ultrastructural of the epidermis of developing, ripening and senescing Navel oranges. *Hilgardia*. 44: 61-82.
 16. Turner, G.W, A M. Berry and EM. Cifford. (1998). Schizogenous secretory cavities of *Citrus Limon* (L.) Burm. F. and a reevaluation of the Lysigenous gland concept. *International Journal of plant Science*. 159 (1): 75 - 88.
 17. Ford, ES. (1942). Anatomy and histology of The Eureka lemon. *Bot. Gaz.* 104: 288-305.
 18. Nguyen xuan Dung, M. Nguyen, Vugoclo Ann T. K. Leclercg P. A. (1991). The essential oil from the flowers of *Citrus maxima merril* from Vietnam.

Archive of SID