به زراعی کشاورزی
دوره ۱۸ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۵
صفحه‌های ۳۴۳-۳۳۳

بررسی تأثیر تیمارهای پس از برداشت واکس و متیل سالیسیلات بر فعالیت برخی آنزیم‌های مرتبط با سرمازدگی در دو رقم پرتقال 'مورو' و 'تامسون ناول'

سونیا جمالی انجیلانی[1]*، ولی ربیعی[2] و جواد فتاحی مقدم[3]

۱. کارشناسی ارشد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۲. دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۳. استادیار گروه فنی مهندسی، مؤسسه تحقیقات مرکبات کشور، رامسر، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۲/۲۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۴/۰۲

چکیده

تیمار پوشش‌دهی با پوشش‌های مختلف و کاربرد متیل‌سالیسیلات و سالیسیلیک‌اسید برای کاهش آسیب سرمازدگی و حفظ کیفیت مرکبات طی انبارمانی استفاده می‌شود. تحقیق حاضر به منظور بررسی فعالیت آنزیمی دخیل در کاهش آسیب سرمازدگی و حفظ کیفیت میوه پرتقال تامسون و مورو در قالب طرح اسپیلت پلات با سه تکرار، در مرکز تحقیقات مرکبات ایران رامسر، در سال ۹۲-۱۳۹۱ انجام شد. میوه‌ها پس از تیماردهی با واکس بریتکس و بخار متیل‌سالیسیلات به مدت ۸۰ روز در سردخانه با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵ درصد قرار داده شدند و با نمونه‌گیری به فاصله هر ۲۰ روز فعالیت آنزیمی میوه‌ها ارزیابی شد. براساس نتایج میوه‌های تیمار شده با متیل‌سالیسیلات بیشترین میزان (۰/۲۶ mMmg/FW) و میوه‌های پوشش داده شده با واکس بریتکس کمترین میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (۰/۲ mMmg/FW) را نشان دادند. بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز میوه مورو به میوه‌های بخاردهی شده با متیل‌سالیسیلات در ۲۰ روز اول نگهداری در سردخانه (۲۳/۱۹ umg/FW) تعلق داشت. فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در هر دو رقم 'تامسون' و 'مورو' طی انبارمانی روند افزایشی داشت. به نظر می‌رسد تیمارهای واکس بریتکس و متیل سالیسیلات به کمک تعدیل در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات‌پراکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز آسیب سرمازدگی طی انبارداری را کاهش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های تحت تنش سرما را افزایش می‌دهند.

کلیدواژه‌ها: آنتی‌اکسیدانت، آنزیم آسکوربات پراکسیداز، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، کیفیت

* نویسنده مسئول Email: s.jamali849@yahoo.com

۱. مقدمه

انبارمانی یکی از مهم‌ترین فرآیندهای پس از برداشت است زیرا شرایط نامناسب انبار از علل مهم آسیب کمی و کیفی در میوه‌ها است [۲۳]. طبق برآوردهای انجام شده میزان ضایعات مرکبات بین ۲۸ تا ۳۰ درصد تخمین زده می‌شود. به‌طورکلی، شرایط بهینه انبارمانی بسته به نوع رقم متفاوت است و به میزان مقاومت میوه به دماهای پایین، رطوبت بالا، اکسیژن پایین و دی‌اکسیدکربن بالا، میزان اتیلن و درنهایت میزان صدمات مکانیکی وارده به میوه بستگی دارد. میوه‌های مرکبات به لحاظ تنفس خیلی ضعیف و برای مدت طولانی قابل نگهداری هستند [۴].

دمای پایین به عنوان یکی از مؤثرترین روش‌ها برای افزایش عمر انبارمانی محصولات کشاورزی به‌کار می‌رود [۲۸]، لذا تغییرات فیزیولوژیکی و آناتومیکی زیادی در اثر خسارت سرمازدگی در فرآورده و بافت میوه ایجاد می‌شود [۱۲ و ۱۷]. کاهش تعرق و تنفس پس از برداشت مهم‌ترین عامل در افزایش عمر انباری پرتقال 'والنسیا' است. بر این اساس، دلیل اصلی استفاده از پوشش روی میوه کنترل از دست‌دهی آب میوه پس از برداشت است [۳]. استفاده از پوشش واکس عمر انبارمانی مرکبات را افزایش داده و موجب بهبود ظاهر آنها است [۸]. در سطح تجاری از پوشش دهی با واکس برای کاهش تعرق طی انبارداری استفاده می کنند [۳].

تخریب غشای سلولی اولین مرحله ایجاد آسیب سرمایی است که سبب توسعه علائم سرمازدگی می‌شود [۳۱]. تحقیقات در زمینه میوه مرکبات در نواحی مختلف نشان داد که وضعیت آب پوست میوه فاکتور کلیدی در عارضه پیتینگ (PPI)[1] در ارقام مرکبات پس از برداشت در انبار با دمای پایین است [۵]. میوه مرکبات منبع مهمی برای آنتی‌اکسیدان‌های نظیر آسکوربیک‌اسید، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنلی است [۸]. اثر تیمارهای پوششی (واکس و کیسه پلاستیکی) و بخار متیل‌سالیسیلات بر کیفیت و آسیب سرمایی میوه پرتقال خونی 'مورو' طی انبارداری بررسی شد. فنل کل پوست در انتهای انبارداری در پوشش واکس با متیل‌سالیسیلات با میزان ۰/۲۶ میلی‌گرم، کمترین کاهش را داشت. همچنین، فنل کل گوشت در کیسه پلاستیک با دو میوه (۰/۲۵ میلی‌گرم)، کمترین تغییرات را طی انبارداری نشان داد. پوشش‌دهی همراه متیل‌سالیسیلات با حفظ رطوبت و ساختار سلولی سبب کند شدن فرایند پیری و حفظ ترکیبات مفید در میوه شد.

به‌طورکلی، میزان آنتوسیانین کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گوشت طی انبارداری افزایش یافت. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پوست به ترتیب در پوشش واکس (۴۲/۹۸ درصد) و کیسه پلاستیک بادو میوه (۳۷/۴۶ درصد) و کیسه پلاستیک با دو میوه با متیل‌سالیسیلات (۳۷/۴۲ درصد) بالاترین میزان بود. پوشش واکس با متیل‌سالیسیلات با ۰/۱۸ و کیسه پلاستیک با دو میوه با ۰/۱۷ میلی‌مول کمترین پراکسیداسیون لیپید را در انتهای انبارداری داشت. میزان نشت یونی در میوه‌های پوشش داده شده در تلفیق با متیل سالیسیلات نسبت به شاهد میزان کمتری را نشان داد [۱]. استفاده از تیمار حرارتی، پوشش‌دهی با پوشش‌های مختلف و کاربرد متیل‌سالیسیلات و سالیسیلیک‌اسید برای کاهش آسیب‌های سرمازدگی و حفظ ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر ترکیبات فنلی و ویتامین ث در پژوهش‌های قبلی مورد بررسی قرار گرفته است [۱، ۷، ۱۳، ۱۵ و ۲۰]. سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی که شامل ترکیبات فنلی، نظیر آنتوسیانین‌ها است گیاه را در برابر تنش‌های محیطی مانند سرمازدگی محافظت می‌نماید [۱۱ و ۱۲].

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند پراکسیدازها، H_2O_2 تولید

1 Peel pitting induxe

شده ناشی از تنش سرمایی را با اکسیداسیون ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدان‌های حاوی گروه CO^- (آسکوربیک‌اسید، فلاونوئیدها و ...) متلاشی می‌سازند و اثر رادیکال‌های آزاد ایجاد شده را خنثی می‌سازند [۲۳]. اثر تیمار واکس و متیل سالیسیلات در کاهش آسیب سرمازدگی و حفظ کیفیت میوه پرتقال 'مورو' طی انبارداری مشاهده شده است [۱]. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی فعالیت برخی آنزیم‌های دخیل در کاهش آسیب سرمازدگی و حفظ کیفیت میوه می‌باشد.

مواد و روشها

در پژوهش حاضر، از میوه درختان پرتقال مورو پیوند شده روی پایه نارنج در هفته اول دی‌ماه و پرتقال تامسون نوسلار پیوند شده روی پایه پونسیروس در هفته دوم آذرماه و براساس شاخص بریکس میوه (۱۲ درصد) واقع در مؤسسه تحقیقات مرکبات کشور (واقع در شهر رامسر) استفاده شد.

میوه‌های عاری از آسیب مکانیکی و آلودگی‌های قارچی جداسازی و پس از انتقال به آزمایشگاه، در گروه‌های ۶۰ تایی، با سه تکرار (سه جعبه حاوی ۲۰ میوه) مرتب شدند. متوسط وزن میوه‌ها ۱۶۳/۵ گرم بود. تیمارها شامل ۱ – شاهد (بدون پوشش و بخاردهی درون جعبه)، ۲ – واکس بریتکس[1]، واکس بریتکس (۱۸ درصد وزنی واکس، ۰/۲ درصد ایمازالیل و ۰/۵ درصد وزنی تیابندازول از شرکت کارول) و ۳ – بخار متیل سالیسیلات[2] بود که به منظور اعمال تیمار متیل‌سالیسیلات، ابتدا میوه‌ها در ظروف پلاستیکی با حجم ۲۰ لیتری قرار داده شدند. سپس در هر ظرف سه قطعه ۱۰ × ۱۵ سانتی‌متری کاغذ صافی آغشته به ۸ میکرولیتر متیل‌سالیسیلات (جمعاً ۲۴ میکرولیتر) روی ردیف‌های میوه گذاشته شد. درب ظروف کاملاً بسته و در شرایط دمای اتاق به مدت ۱۸ ساعت (تمام شب) باقی ماند. پس از این مدت درب ظروف باز و برای تبادل هوایی میوه‌ها در فضای آزاد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت.

میوه‌ها پس از تیماردهی در سردخانه با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵ درصد (داده‌ها به فاصله هر چهار ساعت طی روز ثبت و سپس متوسط روزانه و ماهیانه محاسبه شد) قرار داده شدند. میوه کلیه تیمارها در روزهای ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ روز پس از برداشت با نمونه‌گیری از سردخانه (۳ نمونه از هر تکرار) به آزمایشگاه منتقل و صفات زیر مورد ارزیابی قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم

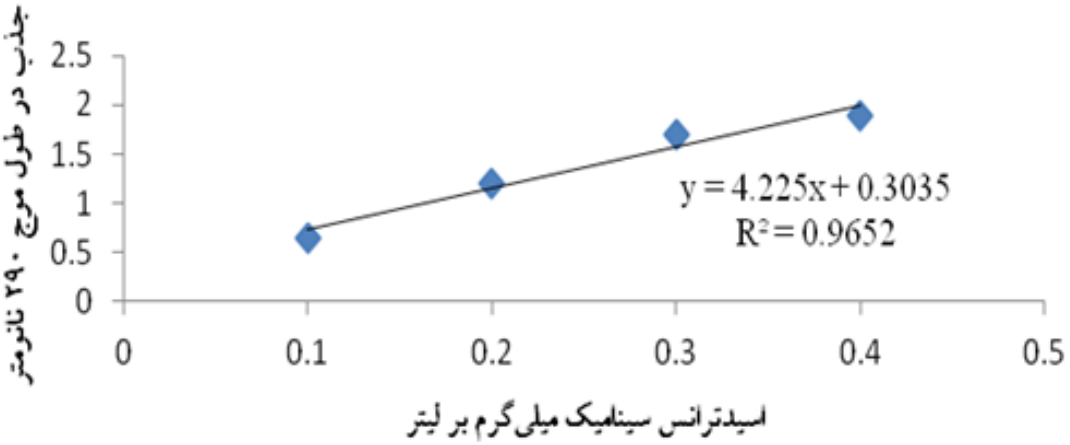
تهیه بافر استخراج

به منظور تهیه بافر استخراج از بافرفسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH =۷) استفاده شد. محلول باز و اسید تهیه و با نسبت معین مخلوط و pH =۷ آن تنظیم شد. محلول اول باز شامل ۲/۶۱ گرم نمک مونوهیدروژن فسفات (K_2HPO_4) که در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و به حجم ۳۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول دوم، شامل ۲/۰۴ گرم نمک پتاسیم‌دی‌هیدروژن‌فسفات (KH_2PO_4) بود که در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و به حجم ۳۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز با استفاده از روش بیان شده توسط یو و همکاران (۲۰۱۲) با کمی تغییرات در حجم عصاره اندازه‌گیری شد [۳۰]. سپس برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم برحسب میلی‌گرم ترانس‌سینامیک تولید شده در هر گرم عصاره در مدت یک ساعت از خط استاندارد غلظت‌های اسیدترانس‌سینامیک استفاده شد (شکل ۱).

1 Britex-Ti
2 Methyl salicylate[MeSA]



شکل ۱. معادله خط جذب غلظت‌های مختلف محلول استاندارد اسیدترانس‌سینامیک

آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (APX)

فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز با استفاده از روش توسط تاجور و همکاران (۲۰۱۱) اندازه‌گیری شد. سپس میزان فعالیت آنزیم برحسب میزان واحد آنزیمی که یک میکرومول آسکوربیک‌اسید را در مدت یک دقیقه اکسید می‌کند، بیان شد. ضریب خاموشی این آنزیم ۲/۸ بر میلی‌مولار بر سانتی‌متر است [۲۴].

(رابطه ۱)

× تغییرات جذب) =گرم وزن تر در دقیقه / واحد آنزیمی (حجم ×ضریب خاموشی آنزیم) / حجم مخلوط واکنش) آنزیمی

آنزیم سوپراکسیددیسموتاز SOD

فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز SOD با استفاده از روش وانگ و گائو (۲۰۱۳) اندازه‌گیری شد [۲۸]:

رابطه ۲)

۱۰۰ × $A_{\text{شاهد}}$ (A/نمونه $A_{\text{شاهد}}$ - A)) = درصد بازدارندگی

رابطه ۳)

(حجم عصاره آنزیمی/ (حجم استخراج × (۰/۵/ درصد بازدارندگی)) = گرم وزن در دقیقه/ واحد آنزیمی

تجزیه آماری

بعد از آزمون نرمال، داده‌های حاصل براساس آزمون اسپیلت پلات معمولی (تیمار زمان کرت اصلی و تیمارهای پوششی و متیل سالیسیلات کرت فرعی (شاهد میوه‌های بدون پوشش و بدون بخار متیل سالیسیلات)) در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با نرم‌افزار آماری Mstat-C (نسخه؟) تجزیه واریانس شد. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و سنجش همبستگی بین صفات با نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ؟) انجام شد.

نتایج و بحث

با تجزیه واریانس داده‌های مربوط به هر دو رقم 'تامسون' و 'مورو' مشخص شد که تیمارهای به‌کار رفته تأثیر معنی‌داری بر آنزیم‌های مرتبط با آسیب سرمازدگی به‌جز آنزیم PAL داشتند (جدول ۱).

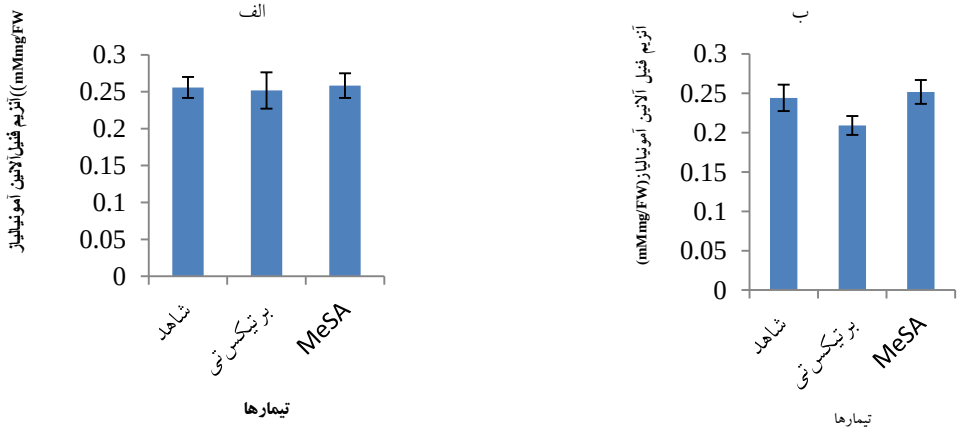
جدول ۱. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اثر تیمار و مدت انبارمانی روی برخی آنزیم‌های فعال در کاهش آسیب سرمازدگی میوه پرتقال رقم‌های 'مورو' و 'تامسون' در سردخانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		میوه مورو			میوه تامسون		
		PAL	SOD	APX	PAL	SOD	APX
مدت انبارمانی	۳	۰/۰۰۴^{ns}	۱۱۸/۶**	۰/۱۲۷**	۰/۰۲۱*	۱۸۶/۰۲**	۰/۱۶۳**
خطا	۸	۰/۰۰۳	۹/۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۴/۵	۰/۰۰۱
تیمار	۲	۰/۰۰۶^{ns}	۵۴/۳۵**	۰/۰۶۹**	۰/۰۰۱^{ns}	۱۵/۰۷^{ns}	۰/۰۵۷**
تیمار در مدت انبارمانی	۶	۰/۰۰۳^{ns}	۷۵/۲۴**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۲^{ns}	۷/۵۴^{ns}	۰/۰۰۵**
خطای آزمایش	۱۶	۰/۰۰۲	۱۳/۶۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۶/۱۲	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)		۱۹/۲۷	۲۴/۶۸	۱۵/۰۱	۱۸/۵۶	۱۹/۳۴	۱۲/۸۹

ns، * و ** – به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح ۵ و ۱ درصد

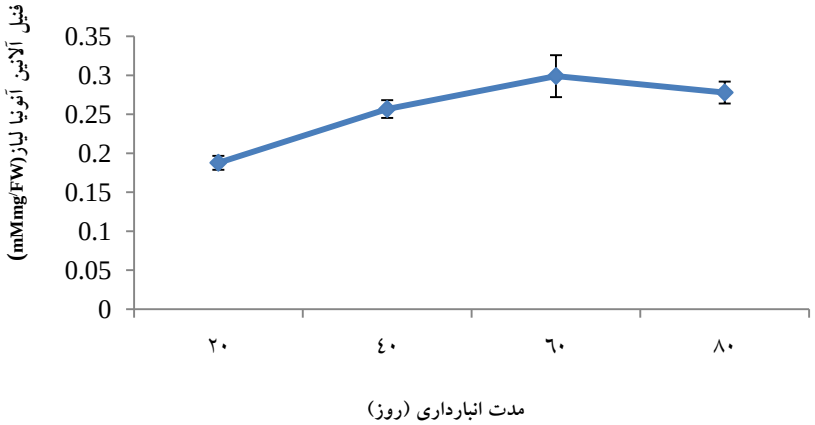
آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL)

هر دو رقم تیمارهای به‌کار رفته، اختلاف معنی‌داری از نظر میزان فعالیت آنزیم PAL با تیمار شاهد نداشتند. با این‌حال، میوه‌های تیمار شده با متیل‌سالیسیلات بیشترین و میوه‌های پوشش‌داده شده با واکس‌بریتکس کمترین میزان فعالیت آنزیم PAL را نشان دادند (شکل ۲). گزارش‌هایی مبنی بر نبود تفاوت معنی‌دار بین میوه‌های تیمار شده با بخار متیل‌سالیسیلات و پوشش‌دهی با شاهد وجود دارد [۲۱ و ۱۶]. فعالیت PAL در ۶۰ روز اول انبارمانی روند افزایشی و سپس روند کاهشی داشت (شکل ۳).



شکل۲. نوع تیمار به‌کار رفته بر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL). (الف – رقم 'تامسون' و ب – رقم 'مورو')

خطوط روی نمودارها نشان‌دهنده خطاهای استاندارد میانگین است.



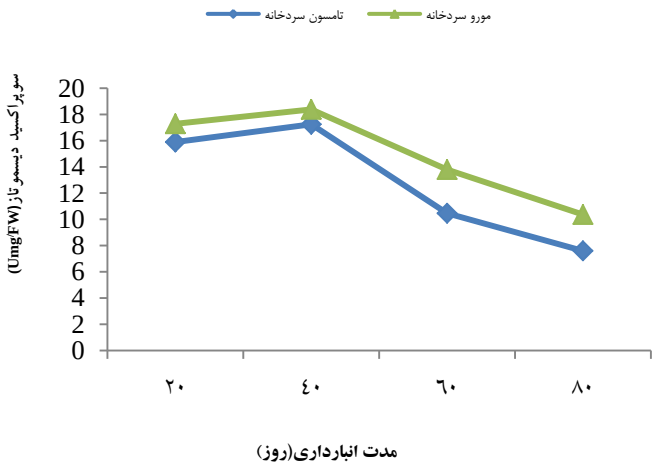
شکل ۳. میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) در میوه پرتقال رقم 'تامسون' طی انبارمانی در سردخانه

خطوط روی نمودارها نشان‌دهنده خطاهای استاندارد میانگین است.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر با نتایج دیگر تحقیقات مبنی بر افزایش فعالیت PAL و تجمع فنیل پروپانوئیدها در اثر کاربرد متیل‌سالیسیلات پس از برداشت میوه مطابقت دارد [۲ و ۱۹]. فعالیت آنزیم PAL در میوه تازه کمتر و در شرایط نامناسب انبارمانی افزایش می‌یابد [۳۰]. افزایش آنزیم PAL به عنوان یکی از مکانیزم‌های مقاومت به سرما در میوه‌ها شناخته شده است، افزایش فعالیت PAL و تجمع پروپانوئیدها در گیاهان سازگار به سرما مشاهده شد [۱۴]. پاسخ‌های دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی با متابولیسم‌های ثانویه گیاه همراه است آنزیم PAL در سنتز فنل‌ها (متابولیت‌های ثانویه گیاه) آنزیم کلیدی است، متابولیسم اولیه (مسیر شیکمیک اسید) را به متابولیسم ثانویه (مسیر فنیل پروپانوئید) اتصال می‌دهد [۲۹]. آسیب سرمازدگی سبب افزایش فعالیت PAL می‌شود [۱۵]. کاربرد متیل‌سالیسیلات به دلیل تحریک افزایش فعالیت PAL سبب کاهش آسیب سرمایی می‌شود [۲]. در مقابل پوشش‌دهی با بهبود شرایط نگهداری میوه از آسیب سرمازدگی کاسته و فعالیت آنزیم PAL را کاهش می‌دهد [۱۶]. در میوه‌های واکس زده در ۲۰ روز اول انبارمانی فعالیت این آنزیم کمتر از تیمار شاهد بود. در پایان انبارمانی نیز در کلیه تیمارها فعالیت این آنزیم یکسان بود. به نظر می‌رسد محدود شدن تبادل گازی با استفاده از پوشش‌ها و واکس‌های تجاری طی انبارمانی، دی‌اکسیدکربن در اتمسفر درونی بافت میوه تجمع می‌یابد، افزایش بیش از حد دی‌اکسیدکربن سبب کاهش فعالیت آنزیم PAL می‌شود [۳۰].

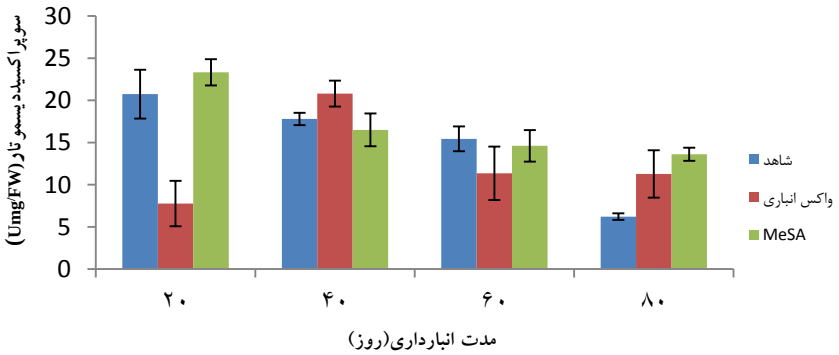
آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD)

در هر دو رقم طی نگهداری در سردخانه فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ابتدا روند افزایشی و سپس تا کمترین میزان خود در پایان انبارمانی کاهش یافت (شکل ۴). نتایجی مشابه جدای از نوع تیمار مبنی بر افزایش تدریجی فعالیت SOD و سپس کاهش آن با افزایش مدت انبارمانی (مجزا از نوع تیمار) گزارش شده است [۱۰].



شکل ۴. تغییرات فعالیت آنزیم SOD طی نگهداری در انبار و سردخانه

فعالیت SOD در تیمارهای به‌کار رفته، نوع رقم تفاوت معنی‌داری نداشت. با این‌حال، فعالیت SOD در شاهد به‌طور غیرمعنی‌داری کمترین و در میوه‌های تیمار شده با متیل‌سالیسیلات بیشترین بود. بیشترین فعالیت آنزیم SOD میوه 'مورو' به میوه‌های بخاردهی شده با متیل‌سالیسیلات در ۲۰ روز اول نگهداری در سردخانه تعلق داشت (شکل ۵).



شکل ۵. اثر مدت انبارمانی و تیمار بر فعالیت SODمیوه 'مورو' در سردخانه
خطوط روی نمودارها نشان‌دهنده خطاهای استاندارد میانگین است.

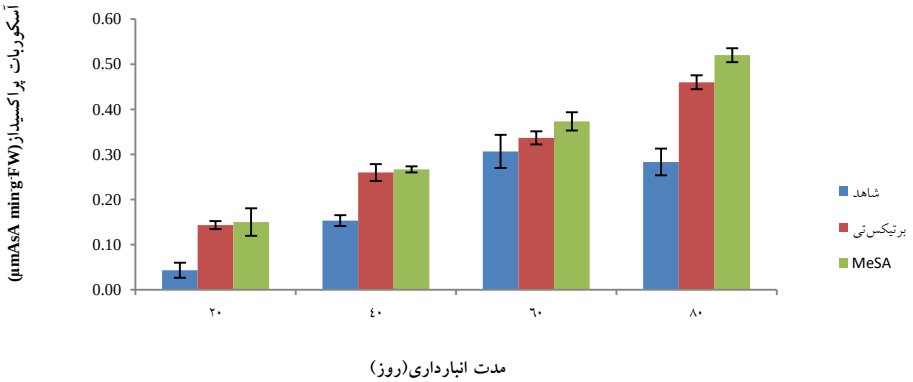
تنش دمای پایین سبب تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن مانند رادیکال سوپراکسید می‌شود. این رادیکال‌ها به عنوان سیگنال عمل نموده که فعال‌سازی SOD را به همراه خواهد داشت. فعالیت SOD سبب افزایش میزان پراکسید هیدروژن شده که یک سیگنال ثانویه بوده و سبب فعال شدن آسکوربات پراکسیداز و سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

می‌شود [۲۴]. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تشکیل رادیکال آزاد را متوقف و ممکن است سبب توقف زنجیره واکنش‌های اکسیداسیون و کاهش آسیب رادیکال‌های آزاد شود. همچنین ممکن است انرژی رادیکال‌های آزاد را کاهش داده و یا سبب اتصال الکترون به آنها شده و آنها را پایدار نمایند [۲۸]. SOD نقش خط مقدم را در مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی دارد رادیکال‌های سوپراکسید با فعالیت SOD به پراکسیدهیدروژن تبدیل می‌شوند و پراکسید هیدروژن با فعالیت کاتالاز و پراکسیدازها مانند آسکوربات پراکسیداز به آب و اکسیژن تبدیل می‌شود [۲۶]. کاربرد متیل‌سالیسیلات سبب تحریک فعالیت SOD می‌شود [۲۵، ۲۶ و ۳۰]. تجمع H_2O_2 در پیش‌تیمار متیل‌سالیسیلات را به افزایش فعالیت SOD ربط داده شده است [۱۰].

همچنین پوشش‌دهی سبب افزایش فعالیت آنزیم SOD است که دیگر محققین دلیل این امر را به ساختار پوشش مربوط دانستند. از طرف دیگر، بالا رفتن فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در میوه‌های پوشش داده شده برای حفظ میوه تازه مفید است. در شرایط پوشش داده شده واکس طبیعی سطح میوه حفظ شده و فعالیت SOD کم می‌شود، اما با گذشت زمان و اتلاف رطوبت، فعالیت SOD افزایش می‌یابد [۳۰]. در مقابل، کاهش فعالیت SOD در میوه‌های پوشش‌داده شده به دلیل کاهش تنفس و کند نمودن فرایند پیری بیان شد [۱۶].

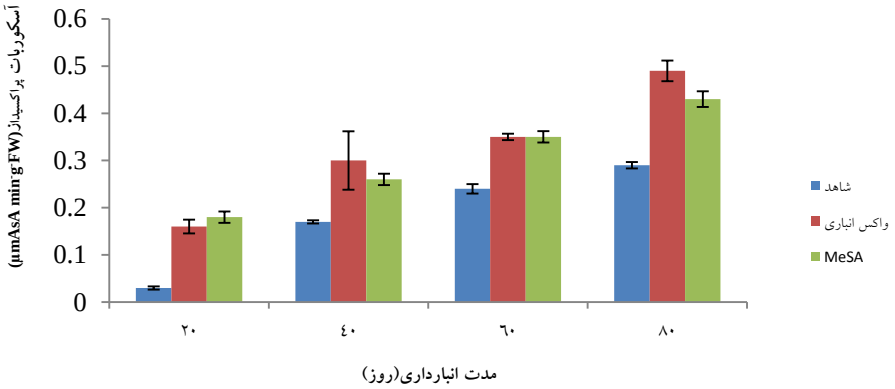
آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (APX)

فعالیت آنزیم APX در هر دو رقم 'تامسون' و 'مورو' طی انبارمانی روند افزایشی داشت. متیل‌سالیسیلات و پوشش‌دهی سبب افزایش فعالیت آنزیمAPX نسبت به تیمار شاهد شد. با استفاده از متیل‌سالیسیلات و واکس بریتکس مشخص شد که میوه‌ها پس از ۸۰ روز بالاترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را داشتند (شکل‌های ۵ و ۶). بالاترین فعالیت APX زمانی است که گیاهان مقاوم به سرما در معرض دمایی پایین قرار می‌گیرند. با افزایش مدت انبارمانی، میوه‌ها زمان بیشتری در شرایط دمای پایین قرار گرفته و درنتیجه فعالیت آنزیم APX بالا می‌رود [۹].



شکل ۶. اثر مدت انبارمانی و تیمار بر فعالیت APXمیوه تامسون در سردخانه

خطوط روی نمودارها نشان‌دهنده خطاهای استاندارد میانگین است.



شکل ۷. اثر مدت انبارمانی و تیمار بر فعالیت APXمیوه پرتقال رقم 'مورو' در سردخانه
خطوط روی نمودارها نشان‌دهنده خطاهای استاندارد میانگین است.

بهبود تحمل به استرس اغلب به افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاه مربوط است که عموماً سیستم آسکوربات در افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه درگیر است. آسکوربات پراکسیداز و آسکوربات، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) را تجزیه و اثر سمیت آن را تقلیل می‌دهند [۲۷ و ۳۰]. فعالیت آنزیم APX در میوه‌های تیمار شده با متیل‌سالیسیلات نسبت به تیمار شاهد بالاتر است [۶ و ۲۷]. متیل‌سالیسیلات با تحریک پروتئین‌های شوک سبب تحریک فعالیت SOD و تولید و تجمع پراکسید هیدروژن شده که خود سبب تحریک افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز می‌شود [۲۹ و ۳۰].

همچنین در مورد کاربرد پوشش‌دهی اثر مشابه با متیل‌سالیسیلات در تحریک فعالیت APX گزارش شده است. پوشش‌دهی سبب افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز است. پوشش‌دهی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (ویتامین ث و ترکیبات فنلی) و فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را حفظ می‌کند [۳ و ۲۸]. تعادل بین تولید و تجزیه H_2O_2 در سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی سبب کاهش آسیب‌های ناشی از تنش‌های اکسیداتیو و دمای پایین می‌شود [۳۰]. به نظر می‌رسد تیمار پوشش‌دهی و متیل‌سالیسیلات هر دو سبب برقراری این تعادل، درنتیجه سبب کاهش آسیب سرمایی می‌شوند.

نتیجه‌گیری

پوشش‌دهی همراه متیل‌سالیسیلات با حفظ رطوبت و ساختار سلولی سبب کند شدن فرایند پیری و حفظ ترکیبات مفید در میوه شد. به نظر می‌رسد تیمارهای واکس بریتکس و متیل‌سالیسیلات به کمک تعدیل در فعالیت آنزیم‌های PAL, APX, SOD آسیب سرمازدگی طی انبارداری را کاهش و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های تحت تنش سرما را افزایش می‌دهند.

منابع

۱. جمالی س، ربیعی و و فتاحی مقدم ج (۱۳۹۳) ارزیابی کاربرد پوشش و متیل‌سالیسیلات در میزان کیفیت و آسیب سرمایی پرتقال خونی 'مورو' در سردخانه. علوم باغبانی ایران. ۲۸(۴): ۲۸-۲۲.

۲. سیاری م، بابالار م، کلانتری س، علیزاده ه و عسگری م (۱۳۸۸) اثر سالیسیلیک‌اسید بر مقاومت به سرمازدگی و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز انار رقم ملس ساوه در انبار. علوم باغبانی ایران. ۴۰(۳): ۲۱-۲۸.

۳. صفی‌زاده م و راحمی م (۱۳۸۳) اثرهای التیام‌دهی و بسته‌بندی پیش از انبار بر پوسیدگی، کیفیت انباری پرتقال والنسیا. علوم و فنون باغبانی ایران. ۵(۱): ۹۳-۱۰۰.

۴. فتوحی قزوینی ر و فتاحی‌مقدم ج (۱۳۸۹) پرورش مرکبات در ایران. دانشگاه گیلان. ۳۰۵ ص.

5. Alferez F (2005) Low relative humidity at harvest and before storage at high humidity influence the severity of postharvest peel pitting in citrus. Horticultural Science. 130(2): 225-231.

6. Asghari M and Soleimani Aghdam M (2010) Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. Trends in Food Science and Technology. 21: 502-509.

7. Biolatto AE, Vazquez DM, Sancho AJ, Carduza FA and Pense N (2005) Effect of commercial conditioning and cold quarantine storage treatments on fruit quality of 'Rouge La Toma' grapefruit (*Citrus paradise* Macf). Postharvest Biology and Technology. 35: 167-176.

8. Chien PJ, Sheu F and Lin HR (2007) Coating citrus (Murcott tangor) fruit with low molecular weight chitosan increases postharvest quality and shelf life. Food Chemistry. 100: 1160-1164.

9. Chongchatuporn U, Ketsa S, Van G and Doorn W (2013) Chilling injury in mango (*Mangifera indica*) fruit peel: Relationship with ascorbic acid concentrations and antioxidant enzyme activities. Postharvest Biology and Technology. 86: 409-417.

10. Ding Z, Tian SP, Zheng XL, Zhou ZW and Xu Y (2007) Responses of reactive oxygen metabolism and quality in mango fruit to exogenous oxalic acid or salicylic acid under chilling temperature stress. Plant Physiology. 130: 112-121.

11. Gonzalez- Aguilar GA, Tiznado- Hernandez ME, Zavaleta- Gatica R and Martinez-Tellez MAO (2004) Methyl jasmonate treatments reduce chilling injury and activate the defense response of guava fruits. Biochemical and Biophysical Research Communication. 313: 694-701.

12. Han J, Tian SP, Meng XH and Ding ZH (2006) Response of physiologic metabolism and cell structures in mango fruits to exogenous methyl salicylate under low temperature stress. Physiologia Plantarum. 128: 125-13.

13. Hu Q, Fang Y, Yang Y and Ma N (2011) Effect of nanocomposite-based packaging on postharvest quality of ethylene treated kiwifruit during and storage. Food research international. 44: 1589-1596.

14. Lafuente MT, Zacaras L, Martnez-Tellez MA, Snchez-Ballesta MT and Granell A (2003) Phenylalanine ammonia-lyase and ethylene in relation to chilling injury as affected by fruit age in citrus. Postharvest Biology and Technology. 29: 308-317.

15. Luo Z, Chen CH and Xie J (2011) Effect of salicylic acid treatment on alleviating postharvest chilling injury of 'Qingnai' plum fruit. Postharvest Biology and Technology. 62: 115-120.

16. Meng X, Li B, Liu J and Tian SH (2008) Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. Food Chemistry. 106: 501-508.

17. Mirdehghan SH and Rahemi M (2002) Reduction of chilling injury in the pomegranate (*Punica granatum*) fruit by intermittent warming. Iranian Journal of Agricultural Science. 33(1): 75-80.

18. Moraes Barros HR, Castro Ferreira TA and Genovese MI (2012) Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. Food Chemistry. 134: 1892-1898.

19. Qin QZ, Tian SP, Xu Y and Wang YK (2003) Enhancement of biocontrol effect of antagonistic yeasts by salicylic acid in sweet cherry fruit. Physiological and Molecular Plant Pathology. 62: 147-154.

20. Reuck DK, Sivakumar D and Korsten L (2009) Effect of integrated application of chitosan coating and modified atmosphere packaging on overall quality retention in litchi cultivars. Journal of the Science of Food and Agriculture. 89(5): 915-920.

21. Soleimani Aghdam M, Motallebiazar A, Mostofi Y, Fattahi Moghaddam J and Ghasemnezhad M (2011) Methylsalicylate affects the quality of Hayward Kiwifruts during storage at low- temperature. Agricultural Science. 3(2): 149-156.

22. Sundar D, Chaitanya KV, Jutur PP and Reddy AR (2004) Low temperature-induced changes in antioxidative metabolism in rubber-producing shrub, guayule(*Parthenium argentatum* Gray). Plant Growth Regulators. 44: 175-181.

23. Tabatabaekoloor R (2012) Orange responses to storage conditions and polyethylene wrapped liner. Agricultural Engineer International: CIGR Journal. 14(2): 127-130.

24. Tajvar Y, Fotouhi Ghazvini R, Hamidoghli Y and Hassan Sajedi R (2011) Antioxidant Changes of Thomson Navel Orange (*Citrus sinensis*) on Three Rootstocks under Low Temperature Stress. Horticulture, Environment and Biotechnology. 52(6): 576-580.

25. Tareen MJ, Akhtar NA and Hafiz IA (2012) Postharvest application of salicylic acid enhanced antioxidant enzyme activity and maintained quality of peach cv. 'Flordaking' fruit during storage. Scientia Horticulturae. 142: 221-228.

26. Tian SP, Li BQ and Xu Y (2005) Effect of $O_2$and CO_2 concentrations on physiology and quality of litchi fruit in storage. Food Chemistry. 91: 659-663.

27. Wang L, Chen S, Kong W, Li S and Archbold D (2006) Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock proteins of peaches during cold storage. Postharvest Biology and Technology. 41: 244-251.

28. Wang ShY and Gao H (2013) Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries *Fragariaxaranassa Duch*. LWT- Food Science and Technology. 52: 71-79.

29. Yousefpour Dokhanieha A, Soleimani Aghdam M, Rezapour Fard J and Hassanpour H (2013**)** Postharvest salicylic acid treatment enhances antioxidant potential of cornelian cherry fruit. Scientia Horticulturae. 154: 31-36.

30. Yu Y, Zhang SH, Ren Y I, Li H, Zhang X and Di J (2012) Jujube preservation using chitosan film with nano-silicon dioxide. Journal of Food Engineering. 113: 408-414.

31. Zhang C and Tian S (2009) Crucial contribution of membrane lipids' unsaturation to acquisition of chilling-tolerance in peach fruit stored. Food Chemistry**.** 115(2):405-411.