

تعیین زمان ایجاد خسارت سرمازدگی میوه انار (*Punica granatum* L.) در طول نگهداری در سردخانه

سید حسین میردهقان^{۱*} و مجید راحمی^۲
۱، استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان
۲، استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز
(تاریخ دریافت: ۸۷/۴/۳۱ - تاریخ تصویب: ۸۹/۴/۱۲)

چکیده

این پژوهش به منظور تعیین زمان ایجاد خسارت سرمازدگی میوه انار در سردخانه انجام گردید. دو رقم میوه انار به نام‌های 'ملس یزدی' و 'گل گزی ترش هراورجان' در مرحله بلوغ تجاری برداشت و به آزمایشگاه پس از برداشت گروه علوم باغبانی دانشگاه شیراز انتقال یافت. میوه‌ها بدون هیچ تیماری در انبار با دمای 1 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی $85 \pm 3\%$ به مدت ۳ ماه قرار گرفتند. هر ۱۰ روز تعدادی از آنها که شامل ۴ تکرار بود، از انبار خارج شد و پس از ۷۲ ساعت میزان نشت الکترولیت‌ها و کاهش وزن تعیین گردید. نشت الکترولیت‌ها به عنوان شاخصی برای خسارت سرمازدگی به کار گرفته شده، و بیانگر تغییرات در غشای پلاسمایی است. همچنین قطعاتی از پوست به منظور بررسی آناتومیکی در FAA (فرمالین، الکل، استیک اسید) تثبیت شد. نتایج حاصل نشان داد که با گذشت زمان انبارداری نشت یون و کاهش وزن افزایش یافته، تا اینکه پس از گذشت ۴۰ روز در رقم 'گل گزی ترش هراورجان' و ۵۰ روز در رقم 'ملس یزدی'، این افزایش با شدت بیشتری صورت گرفت، که مبین زمان ایجاد تغییرات در غشا و بروز خسارت سرمازدگی است. این خسارات در رقم 'گل گزی ترش هراورجان' زودتر و با شدت بیشتری صورت گرفت، که بیانگر حساسیت بیشتر این رقم به دمای سرد بود. زمان ایجاد تغییرات آناتومیکی در طول دوران انباری قابل تشخیص نبود، با این وجود در مراحل آخر تغییر در نفوذپذیری تونوپلاست و خروج مواد فنلی از آن باعث قهوه ای شدن سلول‌های پوست گردید.

واژه‌های کلیدی: میوه انار، سرمازدگی، نشت الکترولیت، کاهش وزن.

مقدمه

فرآورده‌های حساس مشاهده می‌شود، جایی که دمای سرد موثرترین روش برای افزایش عمر انباری محصولات کشاورزی به کار می‌رود (Kays, 1991). تغییرات فیزیولوژیکی و آناتومیکی زیادی در اثر خسارت سرمازدگی در سلول و بافت میوه ایجاد می‌شود. مهمترین علائم سرمازدگی در فرآورده‌های باغی شامل پوست‌مردگی سطحی^۱، قهوه‌ای شدن^۲، تغییر شدت

بسیاری از گونه‌های گیاهان گرمسیری و نیمه‌گرمسیری (موز، انبه، گریپ فروت، گوجه فرنگی و انار) و برخی از گیاهان سردسیری (سیب، هلو و آلو) به دماهای بین صفر تا ۱۳ درجه سانتی‌گراد حساس هستند (Mirdehghan & Rahemi, 2002; Artes et al., 1998; Kays, 1991). این گونه‌ها در اثر مواجه شدن با این دماها دچار خسارت سرمازدگی می‌شوند. این پدیده به ویژه پس از برداشت، در حین جابجایی و انبار

1. Pitting
2. Browning

(2002). به دنبال این تغییر فاز در غشاهای سیتوپلاسمی خصوصیات بیولوژیکی و بیوفیزیکی سلول‌های گیاهی تغییر کرده، و فعالیت‌ها و اعمال آنها نیز تغییر می‌کند و در نهایت علایم خسارت سرمازدگی نمایان می‌شود (Saltveit, 2002). این حقیقت که بسیاری از علایم سرمازدگی نظیر پوست مردگی سطحی، آب‌گز شدن، کاهش وزن بیشتر و افزایش نشت یون عموماً در بافت‌های سرمازده مشاهده می‌شود، بیانگر عدم توانایی غشاء در حفظ ساختار سلولی است (Murata, 1990). افزایش تراوایی غشاء و افزایش نشت یون‌ها جزء لاینفک بافت‌های حساس به سرما است که معمولاً قبل از ظهور علایم صورت می‌پذیرد (King & Ludford, 1983; Murata & Tatsumi, 1979; Saltveit, 2002). افزون بر تغییرات فیزیولوژیکی ذکر شده، تغییرات آناتومیک در سلول‌های گیاهی نیز در اثر سرمازدگی ایجاد می‌شود (Abe, 1990; Brand et al., 1979; McCollum & McDonald, 1991). Abe & Ogata (1978) با استفاده از میکروسکوپ صدمات پوست‌مردگی روی میوه‌های بادمجان نگهداری شده در دمای 1°C را مشاهده کردند. ابتدا نقاط قهوه‌ای رنگ، تغییر شکل داده شده و چند لایه پایین‌تر از اپیدرم قابل مشاهده بود. ریزش سلول‌های پارانشیمی در مراحل بعدی باعث ایجاد سوراخ‌های کوچک روی پوست شده که در نهایت پوست مردگی سطحی را ایجاد می‌کرد. همچنین گزارش شده است که سلول‌های اپیدرمی خیار که در دمای سرد نگهداری شده بود، کاملاً از بین رفت و در مراحل نهایی پوست‌مردگی روی سطح میوه مشخص گشت. اگرچه رطوبت نسبی کم باعث تشدید این علایم شد، ولی خسارت اولیه به سلول توسط سرما ایجاد شده بود (Rhee & Iwata, 1982).

روش‌های زیادی برای کاهش خسارت سرمازدگی قبل و در طول انبارداری در دمای سرد پیشنهاد شده است. استفاده از تیمارهای گرمادهی نشان داده است که باعث کاهش خسارت سرمازدگی در میوه انار می‌شود (Mirdehghan & Rahemi, 2002; Artes et al., 2000; Mirdehghan & Rahemi, 2005). روش‌هایی نظیر گرم کردن متناوب که طی انبارداری برای کاهش خسارت سرمازدگی انار به کار می‌رود، زمانی می‌تواند موثر باشد

تنفس، تشدید از دست‌دهی آب، رسیدن غیر طبیعی و تغییرات فراساختاری شامل به هم ریختگی ماتریکس و کریستاها در میتوکندری، باز شدن شبکه اندوپلاسمی، نشت الکترولیت‌ها و تغییر در پلاستیدها می‌باشند (Abe, 1990; Brand et al., 1979; McConnel & Sheehan, 1978; Murata, 1990).

در دهه اخیر پژوهش‌های متعددی روی انبارداری ارقام مختلف انار در ایران انجام گرفته است. نتایج حاصل از این پژوهش‌ها بیانگر آن است که نگهداری انار در دماهای سرد باعث افزایش عمر انباری و حفظ کیفیت میوه خواهد شد. همچنین مشخص گردید، رقم‌های مختلف انار که یکی از میوه‌های مناطق نیمه‌گرمسیری بوده و حساس به سرمازدگی معرفی شده است، واکنش‌های متفاوتی به انبار سرد نشان دادند (Mirdehghan & Rahemi, 2002; Talaei et al., 1984). در اولین مطالعه بر حساسیت به خسارت سرمازدگی Elyatem & Kader (1984) نشان دادند، زمانی که میوه‌های انار به مدت ۸ هفته در دمای 5°C نگهداری شد، خسارت سرمازدگی بروز و با کاهش دما و افزایش مدت نگهداری شدت خسارت سرمازدگی بیشتر شد. مهم‌ترین نشانه خسارت سرمازدگی در انار قهوه‌ای شدن است که به صورت بیرونی (روی پوست) و درونی (روی غشاهای جداکننده آریل‌ها) قابل مشاهده است (Mirdehghan & Rahemi, 2007). این پدیده به دلیل غلظت بالای مقدار ترکیبات فنلی در پوست انار می‌باشد و تغییر در تراوایی غشای واکوئل و نشت مواد فنلی باعث قهوه‌ای شدن پوست می‌شود (Abe, 1990; Vela et al., 2003). وجود این ناهنجاری کیفیت میوه‌های انبار شده را کاهش داده و سالیانه ضررهای اقتصادی فراوانی به جا می‌گذارد. چندین تئوری برای بیان خسارت سرمازدگی در نظر گرفته شده است. تقریباً تمام تئوری‌هایی که مکانیسم ایجاد خسارت و بروز علایم سرمازدگی را بیان می‌کند، به گونه‌ای به غشاهای سلولی مربوط می‌شود. اولین بار Lyons (1973) تغییر غشاء از حالت کریستال انعطاف پذیر به جامد غیر قابل انعطاف را در اثر سرما مطرح کرد. این نظر بعدها توسط دیگر پژوهشگران مورد تایید قرار گرفت (Murata & Tatsumi, 1979; Saltveit,

(25 ± 3) درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. سپس درصد کاهش وزن (گرم) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از پوست میوه‌های موجود در هر تیمار تعداد ۶ دیسک به قطر ۱۱ میلی‌متر توسط چوب پنبه سوراخ کن^۱ جدا گردید. دیسک‌های تهیه شده در ظروف حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۴ مولار مانیتول قرار گرفت و به مدت ۴ ساعت در دمای اتاق روی دستگاه تکان‌دهنده قرار گرفت. هدایت الکتریکی اولیه این محلول‌ها توسط دستگاه EC متر (series 01 64) اندازه‌گیری گردید. سپس هر یک از ظروف حاوی بافت‌های میوه و محلول مانیتول در فشار ۱ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شد. پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی مجدداً اندازه‌گیری و با استفاده از رابطه زیر درصد هدایت الکتریکی تعیین گردید (McCollum & McDonald, 1991):

$$\text{هدایت الکتریکی اولیه} \times 100 = \frac{\text{هدایت الکتریکی اولیه}}{\text{هدایت الکتریکی ثانویه}} = \text{هدایت الکتریکی (\%)}$$

به منظور بررسی هیستولوژیکی هر ۱۰ روز یکبار، از میوه‌های خارج شده از انبار، قطعاتی از پوست به ابعاد $3 \times 3 \times 3$ میلی‌متر در FAA (فرمالین، استیک اسید، الکل) قرار گرفت. ظروف محتوی ماده تثبیت کننده و نمونه‌های داخل آن به مدت ۰/۵ ساعت در محیط خلا قرار گرفت تا نفوذ ماده تثبیت کننده به خوبی انجام شود. سپس نمونه‌ها با اتانول ۵۰٪ شستشو و با یک سری از محلول‌های Tert- Butyl Alcohol به تدریج آب‌گیری شدند و به پارافین انتقال داده شدند. در مراحل بعدی نمونه‌ها در جعبه‌های کوچک قرار گرفت و با استفاده از میکروتوم برش‌هایی به قطر ۱۰ میکرون تهیه گردید و پس از قرار گرفتن روی اسلاید با گذاشتن روی صفحه داغ $45-40^{\circ}\text{C}$ به مدت ۲۴ ساعت خشک گردیدند. برای رنگ آمیزی از سافرانین^۲ (۹۰ دقیقه) و فاست‌گرین^۳ (۰/۵٪ (۳۰-۴۵ ثانیه) استفاده شد (Ma et al., 1993). تهیه شکل‌ها با استفاده از میکروسکوپ Olympus در بزرگنمایی $40 \times$ و $400 \times$ با استفاده از دوربین Sony صورت پذیرفت.

که قبل از اینکه این صدمات غیر قابل برگشت شود، به کار روند (Mirdehghan & Rahemi, 2002)، لذا تعیین زمان ایجاد خسارت سرمازدگی بسیار بحرانی است. از آنجا که وقوع خسارت سرمازدگی به گونه، دمای نگهداری و مدت انبارداری بستگی دارد، در گیاهان عالی افزایش نشت یون فقط پس از گذشت ساعت‌ها، روزها و ماه‌ها از انبارداری در دمای سرد قابل اندازه‌گیری است (Saltveit & Morris, 1990). (King & Ludford, 1983) و همچنین Wesley & Bramlag (1986) نشان دادند که در بافت‌های سرمازده، افزایش تدریجی نشت یون قبل از وقوع خسارت دایمی صورت می‌گیرد. این پژوهش به منظور تعیین زمان ایجاد خسارت سرمازدگی با استفاده از شاخص نشت الکترولیت‌ها انجام گرفت، همچنین شاخص کاهش وزن و بررسی هیستولوژیکی پوست میوه انار در طول انبارداری به کار گرفته شد، تا مکانیسم ایجاد خسارت سرمازدگی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق از میوه دو رقم انار به نام‌های 'ملس یزدی'^۱ و 'گل گزی ترش هراورجان'^۲ استفاده شد، که از لحاظ ضخامت پوست با هم تفاوت داشتند (رقم 'ملس یزدی'^۱ پوست ضخیم‌تری داشت). میوه مورد نیاز جهت انجام پژوهش از درختان موجود در مرکز تحقیقات کشاورزی استان یزد تهیه شد. میوه‌ها در مرحله رسیدگی معمول منطقه برداشت و تحت مراقبت کامل به آزمایشگاه پس از برداشت گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز منتقل و در دمای (25 ± 3) درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از گذشت یک روز میوه‌های سالم هر رقم جدا شده و به ۹ گروه تقسیم شدند، به طوری که در هر گروه ۴ واحد آزمایشی (هر کدام شامل ۴ میوه) قرار داشت. میوه‌ها درون کیسه‌های توری قرار گرفت و پس از توزین در دمای $1 \pm 0/5$ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی $85 \pm 3\%$ به مدت ۳ ماه انبار گردید. درصد نشت یون، pH، مواد جامد محلول، اسید قابل تیتراسیون و ویتامین ث هر دو رقم میوه انار قبل از انبار اندازه‌گیری شد. میوه‌ها هر ۱۰ روز از انبار خارج شده و به مدت ۷۲ ساعت در دمای

1. Cork borer
2. Safranin
3. Fast green

خسارت به غشاء پلاسمایی یاخته انار نشت یون‌ها با شدت بیشتری انجام شد. پس از این نقطه میزان نشت به تدریج کاهش می‌یابد. تغییرات نشت یون در فواصل ۴۰ تا ۶۰ روز در رقم 'ملس یزدی' و ۴۰ تا ۵۰ روز در رقم 'گل گزی ترش هراورجان' اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد (جدول ۲).

کاهش وزن

نتایج حاصل از اندازه‌گیری کاهش وزن میوه‌ها در طول انبارداری نشان داد که با افزایش زمان، کاهش وزن میوه‌ها افزایش یافت (جدول ۳). این افزایش ابتدا به تدریج صورت گرفته که ناشی از افزایش مدت انبارداری است، ولی پس از گذشت ۴۰ روز در رقم 'گل گزی ترش هراورجان' و ۵۰ روز در رقم 'ملس یزدی'، این کاهش با سرعت بیشتری صورت گرفته به طوری که تفاوت معنی‌داری با نمونه‌برداری بعدی نشان می‌دهد (جدول ۳).

این افزایش ناگهانی ممکن است ناشی از خسارت وارده به غشای سیتوپلاسمی باشد. نتایج جدول ۲ بیانگر آن است که بیشترین کاهش وزن با ارزش ۱۱/۹۸ در رقم 'گل گزی ترش هراورجان' پس از ۹۰ روز انبارداری در سردخانه ایجاد می‌شود. مقایسه بین ارقام مورد آزمایش نشان داد که رقم 'گل گزی ترش هراورجان' با میانگین کل ۹/۸ در مقایسه با رقم 'ملس یزدی' با میانگین کل ۶/۹۸ گرم، درصد کاهش وزن بیشتری نشان می‌دهد، که مبین حساسیت بیشتر این رقم به سرما است. با توجه به اینکه میوه‌های سرمازده کاهش وزن بیشتری نشان می‌دهند، تشدید کاهش وزن می‌تواند بیانگر افزایش تراوایی غشای یاخته باشد.

این آزمایش به صورت فاکتوریل (فاکتورها شامل: ۱- رقم در دو سطح ۲- زمان بیرون آوردن از انبار در ۹ سطح)، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار اجرا گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام گردید و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج

ویژگی‌های کیفی میوه ارقام مورد استفاده قبل از انبار در جدول شماره ۱ بیان شده است.

جدول ۱- صفات کیفی اندازه‌گیری شده رقم‌های مختلف انار قبل از انبارداری

رقم‌ها	'ملس یزدی'	'گل گزی ترش هراورجان'
نشت یون (%)	۳۲/۷۳	۳۴/۳۱
pH	۳/۶۱	۳/۵۳
TSS (°Brix)	۱۱/۹	۱۰/۶
اسید کل (g/100g)	۰/۸۱	۰/۹۲
ویتامین ث (mg/100g)	۱۵/۷	۱۴/۲۱

نشت الکترولیت‌ها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها نشان داد که آهنگ نشت به تدریج تا ۷۰ روز پس از انبارداری افزایش و سپس کاهش یافت (جدول ۲). این افزایش ابتدایی به تدریج صورت گرفته تا اینکه پس از گذشت ۴۰ روز در رقم 'گل گزی ترش هراورجان' و ۵۰ روز در رقم 'ملس یزدی'، این افزایش با شدت بیشتری صورت گرفت. به نظر می‌رسد در زمان‌های ذکر شده با ایجاد

جدول ۲- اثرات متقابل رقم و زمان انبارداری بر میزان نشت الکترولیت (% میوه انار)

رقم	زمان انبارداری (روز)									
	۹۰	۸۰	۷۰	۶۰	۵۰	۴۰	۳۰	۲۰	۱۰	
ملس یزدی	۵۰/۵۳	۴۸/۵۳	۵۳/۰۱	۶۰/۹۷	۵۱/۱	۴۶/۰۴	۵۰/۳۴	۵۱/۲۸	۴۴/۸۸	۴۸/۵۹
گل گزی ترش هراورجان	۶۵/۹۲	۶۴/۷۶	۷۹/۶۶	۸۳/۴۲	۶۷/۳۹	۶۵/۸۶	۵۵/۳۸	۶۳/۴۳	۵۸/۳۴	۵۵/۰۸
میانگین	A	b	a	a	b	b	cdef	bc	bcde	cdef
	۵۶/۶۵	۶۶/۳۴	۷۲/۲۰	۵۹/۲۵	۵۵/۹۵	۵۲/۸۶	۵۷/۳۶	۵۱/۶۱	۵۱/۸۴	
	BC	A	A	B	BC	BC	BC	C	BC	

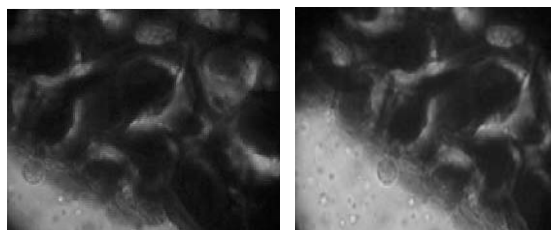
* میانگین‌هایی که در هر ردیف و ستون دارای حروف مشترک کوچک و بزرگ می‌باشند، از نظر آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۳- اثرات متقابل رقم و زمان انبارداری بر میزان کاهش وزن (% میوه انار رقم‌های 'ملس یزدی' و 'گل گزی ترش هراورجان'

رقم	زمان پس از شروع انبارداری (روز)									
	۱۰	۲۰	۳۰	۴۰	۵۰	۶۰	۷۰	۸۰	۹۰	
ملس یزدی	۳/۶۳	۵/۶۹	۵/۷۰	۶/۶۵	۶/۲۰	۷/۷۴	۸/۴۷	۸/۹۹	۹/۷۸	۶/۹۸
	g	f	F	ef	f	de	cd	bc	b	B
گل گزی ترش هراورجان	۵/۸۴	۸/۲۳	۸/۸۷	۹/۰۲	۱۰/۰۰	۱۱/۲۳	۱۱/۲۷	۱۱/۷۹	۱۱/۹۸	۹/۸۰
	f	cd	bcd	bc	b	a	a	a	a	A
میانگین	۴/۷۴	۶/۹۶	۷/۲۹	۷/۸۴	۸/۱۰	۹/۴۹	۹/۸۷	۱۰/۳۹	۱۰/۸۸	
	F	E	DE	D	D	C	BC	AB	A	

* میانگین‌هایی که در هر ردیف و ستون دارای حروف مشترک کوچک و بزرگ می‌باشند، از نظر آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

مواد موجود در واکوئل‌ها به سیتوزول و فضاهای سیتوپلاسمی می‌شود. به نظر می‌رسد تراوش مقادیر زیاد مواد فنولی موجود در واکوئل‌های پوست انار به فضای بین‌سلولی و واکنش با آنزیم‌های اکسیدکننده باعث ایجاد ترکیبات قهوه‌ای رنگ شده و پوست انار تیره گردید. خسارت وارد شده به غشای واکوئل باعث خروج مواد فنلی شده، که در اثر آنزیم پلی فنل اکسیداز موجود در سیتوپلاسم، قهوه‌ای شدن را در پی دارد.



شکل ۲- برش عرضی از پوست انار رقم ملس یزدی در اواخر دوره انبارداری در دمای سرد (بزرگنمایی ۴۰۰x)

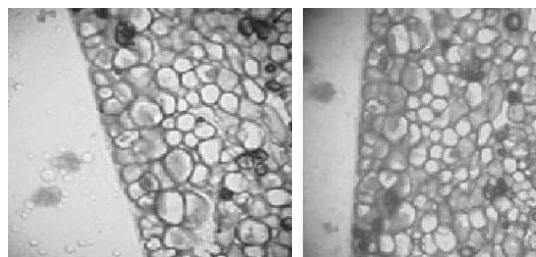
نتایج و بحث

افزایش تدریجی نشت یون‌ها طی انبارداری در دماهای سرد در بسیاری از میوه‌ها از جمله گوجه‌فرنگی (Saltveit, 2005) و گریپ‌فروت و McCollum & McDonald, 1991) گزارش شده است، که مبین صدمه به غشا و افزایش نفوذپذیری آن به یون‌ها می‌باشد. این حساسیت در بین گونه‌ها و ارقام مختلف (King & Ludford, 1983) و مراحل مختلف رسیدگی (Wesley & Bramlage, 1986) متفاوت می‌باشد. با گذشت مدت زمان سرمادهی و ایجاد خسارت دائمی، افزایش قابل توجهی در شدت و میزان نشت یون صورت می‌گیرد. در

بررسی جدول ۳ بیانگر آن است که درصد کاهش وزن میوه انار رقم 'ملس یزدی' از ۶/۲۰ درصد، در پنج‌هفتمین روز پس از انبارداری به ۷/۷۴ درصد در شصتمین روز می‌رسد که اختلاف معنی‌داری بین این دو زمان وجود دارد. همچنین در رقم 'گل گزی ترش هراورجان' این مقدار از ۹/۰۲ به ۱۰ درصد رسید.

مطالعات آناتومیکی

بررسی نمونه‌های به دست آمده در طول ۳ ماه انبارداری بیانگر آن بود که دمای سرد تغییراتی را روی سلول‌های پوست انار ایجاد می‌کند. زمان دقیق تغییرات به صورت تدریجی (هر ۱۰ روز یکبار) قابل تشخیص نبودند. نمونه‌های حاصل از مراحل نخست انبارداری بیانگر آن بودند که اپیدرم و سلول‌های زیرین پوست کاملاً مجزا و قابل تفکیک می‌باشند (شکل ۱).



شکل ۱- برش عرضی از پوست انار رقم ملس یزدی در اوایل دوره انبارداری در دمای سرد (بزرگنمایی ۴۰x)

شکل‌های تهیه شده از نمونه‌های به دست آمده از مراحل پایانی انبارداری مبین آن است که ساختار غشای پلاسمایی و اندامک‌های داخلی از جمله تونوپلاست در اثر خسارت‌های ناشی از سرمازدگی از هم پاشیده و قابل تشخیص نمی‌باشد (شکل ۲). این خسارت‌ها باعث نشت

پوست مردگی‌های ناشی از سرمازدگی روی پوست ایجاد می‌شود. آن‌ها همچنین نشان دادند که گرمادهی متناوب باعث کاهش خسارت سرمازدگی و کاهش اتلاف رطوبت میوه‌ها گردید.

نتایج حاصل از جداول ۲ و ۳ با استفاده از دو شاخص نشت یون‌ها و افزایش از دست دهی آب زمان دقیق خسارت را در رقم‌های 'گل گزی ترش هراورجان' و 'ملس یزدی' نشان می‌دهد. بنابر این اعمال روش‌های جلوگیری از خسارت سرمازدگی در ارقام مذکور الزامی است. باید قبل از این زمان صورت پذیرد. همچنین مقایسه ارقام مورد آزمایش در این بررسی بیانگر حساسیت بیشتر رقم 'گل گزی ترش هراورجان' در مقایسه با رقم 'ملس یزدی' است. این نتایج با پژوهش‌های انجام شده در ارقام مختلف گوجه‌فرنگی (King & Ludford, 1983) که بیانگر تفاوت در حساسیت ارقام مختلف نسبت به خسارت سرمازدگی می‌باشد، مطابقت دارد.

نتایج حاصل از بررسی‌های آناتومیکی زمان دقیق ایجاد خسارت سرمازدگی را نشان نمی‌دهد. با این وجود تغییرات ناشی از افزایش نفوذپذیری غشای پلاسمایی و غشای تونوپلاست که در نهایت منجر به قهوه‌ای شدن پوست می‌شود قابل مشاهده می‌باشد. مطالعات بسیاری نشان داده است که قهوه‌ای شدن پوست میوه‌های سرمازده ناشی از اکسید شدن مواد حاصل از واکنش بین مواد فنولیکی خارج شده از واکوئل در اثر افزایش نفوذپذیری غشای تونوپلاست و آنزیم‌های موجود در سیتوپلاست می‌باشد (Abe, 1990; Vela et al., 2003). ترکیب اکسید شده باعث از بین رفتن غشاهای سیتوپلاستی از جمله میتوکندری و تونوپلاست می‌شود. این ایده در آزمایش روی بادمجان بیشتر مورد تایید قرار گرفت، بدین صورت که اضافه کردن اسید کلروژنیک^۲ بر قطعات میوه باعث افزایش نشت یون پتاسیم و کاهش فسفولیپید گردید، که از علایم خسارت سرمازدگی محسوب می‌شوند (Abe & Ogata, 1978).

Ben-Arie & Or (1986) نشان دادند که قهوه‌ای شدن پوست میوه انار یک واکنش آنزیمی بوده و کاربرد مواد ضد اکسید کننده فعالیت آنزیم و آب گرم باعث

بسیاری از میوه‌ها از جمله گوجه‌فرنگی (King & Ludford, 1983). هلو (Furmanski & Buescher, 1979) و گریپ فروت (McCollum & McDonald, 1991) نشت یون‌ها به عنوان شاخص مناسبی جهت سرمازدگی معرفی شده است. بررسی نتایج حاصل از جدول ۲ و نتایج حاصل از دیگر پژوهش‌ها مبین آن است که شاخص نشت الکترولیت‌ها می‌تواند به عنوان شاخص مناسبی در میوه انار محسوب شود. با این وجود بیان شده که خسارت‌های اولیه به غشاء پلاسمایی قابل برگشت است، و اگر تیمارهای دمایی مناسبی مانند گرمادهی متناوب در زمان مناسب و قبل از دایمی شدن خسارت سرمازدگی اعمال شود، می‌تواند به طور موثری میزان خسارت را کاهش دهد. Mirdehghan & Rahemi (2002) با گرمادهی متناوب توانستند میزان خسارت سرمازدگی را کاهش دهند، ولی زمانی که این تیمار بسیار زود و یا دیر به کار برده شود، نتایج مناسبی نخواهد داشت و باعث افزایش نشت یون‌ها می‌گردد. اعمال تیمارهای گرمادهی متناوب برای کاهش خسارت سرمازدگی انار در رقم 'گل گزی ترش هراورجان' قبل از چهلمین روز و در رقم 'ملس یزدی' قبل از پنجاهمین روز از انبارمانی در دمای سرد می‌تواند به کاهش خسارت سرمازدگی منجر شود.

افزون بر تشدید نشت یون‌ها در میوه‌های خسارت دیده در اثر دمای پایین، افزایش درصد اتلاف آب^۱ سلول‌ها نیز در میوه‌های سرمازده گزارش شده است. کاهش وزن یکی دیگر از شاخص‌هایی است که در میوه‌های سرمازده افزایش می‌یابد. لذا به نظر می‌رسد که تشدید کاهش وزن میوه انار پس از ۴۰ و ۵۰ روز انبارداری در ارقام مورد آزمایش می‌تواند نشانگر ایجاد خسارت سرمازدگی باشد. لذا استفاده از تیمارهای مختلف جهت جلوگیری از خسارت سرمازدگی نظیر گرمادهی متناوب باید قبل از این زمان صورت پذیرد. Cohen et al. (1983) نشان دادند که میوه‌های لیمو رقم 'ویلا فرانکا' که در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده بودند، در اثر خسارت سرمازدگی کاهش وزن بیشتری داشتند. این افزایش عمدتاً به علت شکاف‌ها و

2. Chlorogenic acid

1. Water loss

بسیار محتمل به نظر می‌رسد. تغییرات بیان شده در رقم‌های مذکور عمدتاً پس از خسارات اولیه آغاز شده و پس از دائمی شدن خسارت غیر قابل برگشت می‌باشد، و هر گونه اقدامی جهت کاهش خسارت سرمازدگی باید قبل از این زمان صورت پذیرد.

سپاسگزاری

بخشی از هزینه انجام این پژوهش از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه ولی عصر رفسنجان طی پژوهانه شماره ۲۷۵۵/پ تامین شده است. نگارندگان مراتب سپاسگزاری خود را از مسئولین محترم ذریب اعلام می‌دارد. همچنین از مسئولین محترم ایستگاه تحقیقات کشاورزی استان یزد به منظور تهیه میوه مورد نیاز این طرح تشکر و قدردانی می‌گردد.

کاهش اسکالد در پوست میوه می‌شود. آن‌ها همچنین نشان دادند که انار دارای مواد فنولیکی بسیار زیادی مخصوصاً در پوست می‌باشد. به نظر می‌رسد در هنگام سرمازدگی میوه انار، مواد فنولیکی در اثر خسارت دیدن غشای واکوئل وارد سیتوپلاسم شده و در اثر واکنش با آنزیم‌های موجود در سیتوزول تولید ترکیبات قهوه‌ای رنگ می‌کند. Vela et al. (2003) در پژوهشی روی انبه نشان دادند که میزان قهوه‌ای شدن پوست میوه در دمای سرد ارتباط مستقیمی با فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز دارد. این همبستگی در آزمایش فوق در دمای ۶ درجه سانتی‌گراد برابر با $r = 0.98$ بود. آن‌ها نتیجه گرفتند که قهوه‌ای شدن پوست در نتیجه از هم‌پاشیدگی سلولی در اثر دمای پایین می‌باشد. فرضیه قهوه‌ای شدن پوست میوه انار در اثر سرمازدگی، افزایش نشت یون‌ها و به عبارت دقیق‌تر مواد فنلی اکسید شده

REFERENCES

1. Abe, K. & Ogata, K. (1978). Chilling injury in eggplant fruits. V. Changes of K ion leakage and contents of phospholipids during storage and effects of phenolic compounds on K ion leakage, phospholipids content and ultrastructural changes of eggplant fruit sections. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 47, 111-120.
2. Abe, K. (1990). Ultrastructural changes during chilling stress. In: C. Y. Wang (ed), *Chilling Injury of Horticultural Crops*. (pp. 71-82.) CRC Press.
3. Artes, F., Tudela, J. A. & Gil, M. I. (1998). Improving the keeping quality of pomegranate fruit by intermittent warming. *Z. Lebensm Unters Forsch*, 207, 316-321.
4. Artes, F., Tudela, J. A. & Villaescusa, R. (2000). Termal postharvest treatment for improving pomegranate quality and shelf life. *Postharvest Biology and Technology*, 18, 245- 251.
5. Ben-Arie, R. & Or, E. (1986). The development and control of husk scald on 'wonderful' pomegranate fruit during storage. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 111, 395- 399.
6. Brand, J. J., Kirchanski, S. J. & Ramirez-Mitchell, R. (1979). Chilling-induced morphological alterations in *Anacystis nidulans* as a function of growth temperature. *Planta*, 145, 63-68.
7. Chan, H. T., Sanxter, J. S. & Couet. H. M. (1985). Electrolyte leakage and ethylene production induced by chilling injury of papayas. *Horticultuare Science*, 20, 1070-1072.
8. Cohen, E., Shuali, M. & Shalom, Y. (1983). Effect of intermittent warming on the reduction of chilling injury of 'Villa Franka' lemon fruits stored at cold temperature. *Journal of Horticultural Science*, 58, 593-598.
9. Elyatem, S. M. & Kader, A. A. (1984). Postharvest physiology and storage behavior of pomegranate fruits. *Scientia Horticultuarae*, 24, 287-298.
10. Furmanski, R. J. & Buescher, R. W. (1979). Influence of chilling on electrolyte leakage and internal conductivity of peach fruits. *Horticultuare Science*, 14, 167-168.
11. Kays, S. J. (1991). *Postharvest physiology of perishable plant products*. Van Nostrand Reinhold Press. New York, U.S.A. 532p.
12. King, M. M. & Ludford, P. M. (1983). Chilling injury and electrolyte leakage in fruit of different tomato cultivars. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 108, 74-77.
13. Lyons, J. M. (1973). Chilling injury in plant. *Annual Review in Plant Physiology*, 24, 445-446.
14. Ma, Y., Sawhney, V. K. & Steeves, T. A. (1993). Staining of paraffin-embedded plant material in safranin and fast green without prior removal of the paraffin. *Canadian Journal of Botany*, 71, 996-999.
15. McCollum, T. G. & McDonald, R. E. (1991). Electrolyte leakage, respiration and ethylene production as indices of chilling injury in grapefruit. *Horticultuare Science*, 26, 1191-1192.
16. McConnel, D. B. & Sheehan, J. T. (1978). Anatomical aspects of chilling injury to leaves of *phalaenopsis*. *Horticultuare Science*, 13, 705-709.

17. Mirdehghan, S. H. & 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. (In Farsi).
18. Mirdehghan, S. H. & Rahemi, M. (2005). Effects of hot water treatment on reducing chilling injury of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruits during storage. *Acta Horticulturae*, 682, 887-892.
19. Mirdehghan, S. H., Rahemi, M., Martinez-Romero, D., Guillen, F., Valverde, J. M., Zapata, P. J., Serrano, M. & Valero, D. (2007). Reduction of pomegranate chilling injury during storage after heat treatment: Role of polyamines. *Postharvest Biology and Technology*, 44, 19-25.
20. Murata, T. & Tatsumi, Y. (1979). Ion leakage in chilled plant tissues. In: J. M. Lyons, D. Graham and J. K. Raison (Eds), *Low Temperature Stress in Crop Plants*. (pp. 41-151.) Academic Press.
21. Murata, T. (1990). Relation of chilling stress to membrane permeability. In: C. Y. Wang (Ed), *Chilling Injury of Horticultural Crops*. (pp. 201-209) CRC Press.
22. Rhee, J. & Iwata, M. (1982). Histological observation on the chilling injury of cucumber fruit during cold storage. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 51, 231-236.
23. Saltveit, M. E. & Morris, L. L. (1990). Overview of chilling injury of horticultural crops. In: C. Y. Wang (Ed), *Chilling Injury of Horticultural Crops*. (pp. 3-15.) CRC. Press.
24. Saltveit, M. E. (2002). The rate of ion leakage from chilling-sensitive tissue does not immediately increase upon exposure to chilling temperatures. *Postharvest Biology and Technology*, 26, 295-304.
25. Saltveit, M. E. (2005). Influence of heat shocks on the kinetics of chilling-induced ion leakage from tomato pericarp discs. *Postharvest Biology and Technology*, 36, 87-92.
26. Talaei, A., Askari Sarcheshme, M. A., Bahadoran, F. & Sherafatian, D. (2004). The effects of hot water treatment and in polyethylene bag packaging on the storage life and quality of pomegranate (Cv: Malas-Saveh). *Iranian Journal of Agricultural Science*, 35(2), 369-377. (In Farsi).
27. Vela, G., Leon, D. M., Garcia, H. S. & Cruz, J. D. (2003). Polyphenoloxidase activity during ripening and chilling stress in 'Manila' mangoes. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 78, 104-107.
28. Wesley, R. A. & Bramlage, W. J. (1986). Chilling sensitivity of tomato fruit in relation to ripening and senescence. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 111, 201-204.